

論文の内容の要旨

論文題目 Phylogenetic Study on the Subfamily Pontoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)

(カクレエビ亜科 (甲殻綱 : 十脚目 : テナガエビ科) の系統分類学的研究)

氏名 三橋 雅子

テナガエビ科カクレエビ亜科のエビは、熱帯から温帯の浅海に棲息し、その大きさは5mm~50mmほどである。現在、本亜科は450種以上からなり、多くの種は、海綿動物、刺胞動物、棘皮動物、脊索動物などの様々な動物と共生することが知られている。共生のために適応したと考えられる特異な形態をもつ種が多いことから、属が非常に細分化されている。現在までに86属が認められているが、その半分以上は1属1種で、属間の関係が不明な場合が多い。一方で、*Periclimenes* 属は自由生活のものから様々な動物と共生する約160種を含んでおり、多様な形態をもつことから多系統であることが示唆されている。

カクレエビ亜科のエビ類は共進化や種分化の研究のモデルとして興味深い分類群であるが、その系統関係について論じた研究はほとんどない。近年、Li and Liu (1997)が形態、生態および分布の80形質に基づき、カクレエビ亜科内の属単位での分岐分析を初めて試みた。しかし、この解析には相同性の不確かな形質が多く用いられているほか、同じ宿主に共生することによる形態的収斂が考慮されていないため、正しい系統関係が推定されたとは言い難い。

そこで本研究では、まず、1) 現時点において知られている全属の標徴、および各属間の相違の情報を整理し、直接標本を観察できた種については記載分類学的な研究を行った。次に、2) カクレエビ亜科ではほとんど報告がされていないが、高次の分類に有

効とされている第1ゾエア幼生の形態を、できるだけ多くの種について観察し、記載・比較を行った。そして3) できるかぎり多くの種について分子系統解析を行い、現在使用されている属の妥当性および分類に用いられている形質の評価、幼生の形態および属間の関係についての考察を行った。

材料・方法

標本は、おもに琉球列島のサンゴ礁域と伊豆半島周辺域で、素潜りもしくはスクーバダイビング採集を通して得た。種分類において重要とされる色彩パターンを記録するため、標本は新鮮なうちに写真撮影を行った。その後、99%エタノールで固定した。その他の標本は国内外の博物館および研究所から借用して、もしくは直接訪問して精査を行った。標本の観察はおもに実体顕微鏡で行い、微細な形態については生物顕微鏡、走査型電子顕微鏡を用いた。計測とスケッチには描画装置を使用した。

第1ゾエア幼生は採集した抱卵雌を飼育して得た。幼生は孵化を確認した後、できるだけ速やかに実体顕微鏡下で色彩をスケッチし、5%ホルマリンで固定後、75%エタノールで保存するか、50%エチレングリコール溶液で固定保存した。幼生の標本の詳細な形態は生物顕微鏡を用いて観察した。

分子系統解析には、ミトコンドリア DNA の COI 領域の一部と 16SrRNA 領域の一部を用いた。採集標本の卵または付属肢の筋肉から全 DNA を抽出し、PCR 法で各領域を増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。COI 領域ではコドンを考慮してアライメントを行い、飽和が予想された第3コドンを除いた配列と翻訳したアミノ酸の配列で解析を行った。16SrDNA 領域では ClustalX を用いてアライメントした後、変異の激しいギャップを含む配列を除いた。それぞれにおいて系統解析ソフト PAUP*4.0b で系統樹を作成した。

結果

(1) 分類

自らの採集と協力者によってもたらされた標本および研究機関の収蔵標本の調査から、模式標本を含む 26 属 55 種の標本を確認することができた。このうち、6 つを未記載種と認め、*Coralliocaris tridens* Mitsuhashi et al., 2001, *Coralliocaris* sp.1, *Coralliocaris* sp.2, *Hamodactylus* sp.1, *Periclimenes* sp.1 (Okuno and Mitushashi, in press), *Philarius* sp.1 として記載した。また、模式標本を精査した結果、*Coralliocaris venusta* は *C. nudirostris* の同物異名であることが明らかになり、シノニムの整理および再記載を行った。*Jocaste lucina*, *Periclimenes lutescens*, *Philarius gerlachei* では、生時の色彩や第1胸脚の形態に変異が観察されたことから、複数種が含まれていることが示唆された。これらの種については、今後さらに標本数を増やして、詳細な検討を行う必要があると結論された。

(2) 幼生形態

カクレエビ亜科の幼生形態は、現在までに 5 属 9 種が報告されているだけであったが、本研究において 10 属 13 種の第1ゾエア幼生を確認することができた。これら幼生の形態について、生時の色彩を含めて記載を行った。また、形態の比較のためにカクレエビ亜科と近縁とされるテナガエビ亜科の *Urocaridella* の 1 種のゾエア幼生も確認、記載を行

った。

本研究で確認された種は第1ゾエア幼生の形態に基づき、大きく2つに分けることができた(以下タイプ1、2と呼ぶ)(表1)。

タイプ1には自由生活性の *Periclimenella spinifera* と、ミドリイシやハナヤサイサンゴと共生する *Periclimenes lutescens*、*Philarius gerlachei*、アザミサンゴと共生する *Ischnopontonia lophos* が含まれた。

一方、タイプ2にはいずれも共生性の種が含まれた: カイメンと共生する *Onyccaris* sp.1、主にミドリイシと共生する *Coralliocaris* 属3種と *Jocaste japonica*、アザミサンゴと共生する *Platycaris latirostris*、イソギンチャクと共生する *Periclimenes brevicarpalis*、ウニと共生する *Tuleariocaris zanzibarica*。

表1. 観察された幼生形態のタイプとそれに含まれた種。

| タイプ1 | タイプ2 |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">・第2小顎の基節内葉は2葉・第1顎脚の基節の内面が突出し、6本の棘を備える・第3顎脚の内肢は外肢よりも長い; 第3節は第2節の長さの約1/4で、先端に2本の太い棘がある。 | <ul style="list-style-type: none">・第2小顎の基節内葉は1葉・第1顎脚の基節の内面は突出せず、3本の棘を備える・第3顎脚の内肢は外肢よりも短い; 第3節は第2節の長さの約1/2で、先端に1本の太い棘がある。 |
| <i>Ischnopontonia lophos</i> , <i>Periclimenella spinifera</i> , <i>Periclimenes lutescens</i> , <i>Philarius gerlachei</i> | <i>Coralliocaris graminea</i> , <i>C. superba</i> , <i>C. taiwanensis</i> , <i>Hamodactylus</i> sp.1, <i>Jocaste japonica</i> , <i>Onyccaris</i> sp.1, <i>Periclimenes brevicarpalis</i> , <i>Platycaris latirostris</i> , <i>Tuleariocaris zanzibarica</i> |

テナガエビ上科のヨコシマエビ科の1種(*Gnathophyllum americanum*)とフリソデエビ科の1種(*Hymenocera picta*)は以前から第1ゾエア幼生の形態からカクレエビ亜科との近縁性が指摘されていた(Bruce, 1986, 1988)が、その幼生形態のはタイプ2であることがわかった。一方、タイプ1は第1・3顎脚の特徴が本研究で調査したテナガエビ亜科の *Urocaridella* 属の1種と Gurney (1938)が報告した *Leander tenuicornis* に似ており、それらとの近縁性が予想された。

(3) 分子系統

COI 領域についてはカクレエビ亜科12属20種、同じテナガエビ科で姉妹群とされるテナガエビ亜科2種、テナガエビ上科のフリソデエビ科1種の塩基配列、約640bpを決定した。

16SrRNA 領域についてはカクレエビ亜科19属39種と、テナガエビ亜科の2属5種、テナガエビ上科のフリソデエビ科1種の504~547bpの塩基配列を決定した。

カクレエビ亜科を含むテナガエビ上科内の分類には諸説があり、単系統性が明確ではないため、各解析の外群にはテッポウエビ上科、ヌマエビ上科の配列を用いた。

解析の結果からは、カクレエビ亜科の明確な単系統性は示すことができなかったが、16SrRNA 領域の解析結果は以下のクレードを高いブートストラップ値で支持した。

- ・クレード 1 自由生活性の *Periclimenella spinifera*, *Periclimenes tenuipes*, *Periclimenes* sp.2, *Periclimenes* sp.3 : ミドリイシやハナヤサイサンゴと共生する *Periclimenes lutescens*, *Philarius gerlachei*, *Philarius imperialis*, *Vir orientalis* : アザミサンゴと共生する *Ischnopontonia lophos*.
- ・クレード 2 ミドリイシやハナヤサイサンゴと共生する *Coralliocaris graminea*, *Coralliocaris nudirostris*, *Coralliocaris superba*, *Coralliocaris taiwanensis*, *Coralliocaris viridis*, *Coralliocaris* sp. 1, *Coralliocaris* sp. 2, *Jocaste japonica*, *Jocaste lucina*, *Harpiliopsis beaupresii*, *Harpiliopsis depressa* : アザミサンゴと共生する *Platycaris latirostris*.
- ・クレード 3 二枚貝と共生する *Anchistus miersi* : ヒトデと共生する *Periclimenes soror* : ナマコまたはウミウシと共生する *Periclimenes imperator*.

考察

本研究からカクレエビ亜科には幼生形態の異なる 2 つのグループがあることがわかった。また、幼生の形態から、同じテナガエビ上科で独立した科とされているヨコシマエビ科の 1 種(*Gnathophyllum americanum*)とフリソデエビ科の 1 種(*Hymenocera picta*)はタイプ 2 の幼生を持つカクレエビ亜科の種に、テナガエビ亜科の *Urocaridella* 属の 1 種と *Leander tenuicornis* はタイプ 1 の幼生を持つカクレエビ亜科の種に近縁であることが予想された。しかし、分子系統解析の結果ではこれらの科・亜科の種の分岐ははっきり示されなかったため、今後さらに検討が必要と考えられる。

タイプ 1 の幼生形態をもつ種は全て分子系統解析で認められたクレード 1 に含まれ、単系統となった。このクレードには自由生活性の種とイシサンゴと共生する種が含まれており、カクレエビ亜科内で祖先的とされる *Vir orientalis* と *Periclimenella spinifera* が含まれるほか、アザミサンゴのポリプの隙間に棲み、極端に側扁した体型をしている *Ischnopontonia lophos* が含まれた。同じくアザミサンゴの隙間に棲み、背腹に扁平な体型をしている *Platycaris latirostris* はミドリイシやハナヤサイサンゴと共生している *Coralliocaris* 属 7 種, *Jocaste* 属 2 種, *Harpiliopsis* 属 2 種を含むクレード 2 に属していた。クレード 2 に含まれる種は幼生形態がタイプ 2 であったことから、これらのイシサンゴ共生性種はクレード 1 の種とは起源が異なることが明らかになった。

Periclimenes 属では両タイプの幼生形態が観察され、分子系統解析においても複数のクレードに分かれたことから、多系統であることが示された。クレード 1 に含まれる *Periclimenes* 属の種はいずれも成体において第 4 胸節の腹板に長い棘を有していたことから、この形質がこれらの種を認識するうえで有用であることが示唆された。

分子系統解析において二枚貝と共生する *Anchistus miersi* と *Conchodytes meleagrinae* はクレードを形成せず、前者はナマコまたはウミウシと共生する *Periclimenes imperator* および、ヒトデと共生する *Periclimenes soror* とクレード 3 を形成した。このことから、二枚貝と共生する種は多系統であることが示唆された。