

# ミトコンドリアDNA分析による 本州西部産トゲワレカラ *Caprella scaura* 亜種の検討

谷 良夫\*・阪口 正樹\*\*

## Examination of the skeleton shrimp *Caprella scaura* (Crustacea; Amphipoda) by the mitochondrial DNA analysis in western Honshu, Japan

Yoshio TANI \* & Masaki SAKAGUCHI\*\*

Abstract : The type locality of the skeleton shrimp *Caprella scaura* Templeton, 1836 is Mauritius Island of the Indian Ocean. It has many subspecies. There are three subspecies in western Honshu, Japan ; *C. s. typica*, *C. s. diceros* and *C. s. hamata*.

We analyzed the mitochondrial DNA of these skeleton shrimps. As a result, the 3 subspecies that are classified by morphology did not have any consistency with the result of the mitochondrial DNA. It is necessary for us to find out a new taxonomic character.

### I. はじめに

#### 1. トゲワレカラの分類

トゲワレカラ *Caprella scaura* Templeton, 1836 はマダガスカル島の東、南緯約20°にある熱帯のモーリシャス島が模式産地である。トゲワレカラは形態変異が大きく、その後7つの品種 (= 変種) あるいは亜種が世界中から報告された。

日本近海で採集できるものとして内海 (1947) が4品種 (= 変種) を挙げている。*C. scaura* f. *diceros* Mayer, 1890は兵庫県神戸沖が、*C. scaura* f. *hamata* Utinomi, 1947 は石川県七尾湾が模式産地である。そして *C. scaura* f. *typica* Mayer, 1890 と *C. scaura* f. *scauroides* Mayer, 1903が生息している。現在これらは変種として扱われている。さらに *C. scaura* の品種には、*C. scaura* f. *cornuta* Mayer, 1890, *C. scaura* f. *californica* Mayer, 1903 と *C. scaura* f. *spirostris* Mayer, 1903がある (Mayer 1903)。

#### 2. トゲワレカラ分類の歴史

モーリシャス島から報告されたトゲワレカラ *C. scaura* は、その後Mayer (1903) によって6品種の検

索表が示された。

Mayer (1903) によるトゲワレカラ6品種 (変種) の検索表

- a) 第2咬脚の付け根に突起なし  
雄の第1触角の節は融合している；頭部の突起は長い  
第4胸節後部に強い突起なし …… *C. s. typica*  
第4胸節後部に強い突起あり …… *C. s. diceros*  
雄の第1触角の節は融合していない；頭部突起は短い …………… *C. s. cornuta*
- b) 第2咬脚の付け根に突起あり  
第5胸節背側に1つの突起あり… *C. s. californica*  
第5胸節背側に1つの突起があり時にはなし  
…………… *C. s. scauroides*  
第5胸節に突起がない …………… *C. s. spirostris*

Laubitz (1970) は、第2咬脚間に突起のある3品種 (*californica*, *scauroides* そして *spirostris*) を *Caprella californica* Stimpson, 1857 とした。その後、Takeuchi & Oyamada (2013) は、詳細な形態比較によって、*C. californica* と *C. scauroides* をそれぞれ独立の種として報告した。

\* 兵庫県立尼崎小田高等学校  
\*\* 〒662-0824 兵庫県西宮市門戸東町1-26  
e-mail:warekara@bca.bai.ne.jp  
2014年3月29日受理

1994年、地中海でトゲワレカラが初めて見つかり、その後続々と報告がなされている。

現在、*C. scaura*のタイプ標本がどこにあるか不明であり、おそらく現存しない(Krappら 2006)なか、Guerra-Garcia (2003)は、モーリシャス島の*C. scaura*を描いた。Krappら(2006)は、現在の命名規約に則り、それを*C. scaura scaura*とし、*C. s. hamata*を加えた5亜種の検索表を次のように作成した。

Krappら(2006)による*C. scaura* 5亜種の検索表

1. 第1～3胸節の背中に1対の突起あり ……………  
*C. s. hamata*  
第1～3胸節の背中に突起なし …………… 2
2. 第4胸節背側後端に後向き鋭い突起がある。  
また雌雄ともに第5胸節背側後方に2対の突起  
がある…………… *C. s. diceros*  
第4胸節背側は突起なし …………… 3
3. 第5胸節背側後方に雌雄ともに1対の突起がある  
…………… *C. s. typica*  
第5胸節背側に突起なし …………… 4
4. 頭部背側の突起は短くて鈍い …… *C. s. cornuta*  
頭部背側の突起は長くて尖っている ……………  
*C. s. scaura*

(筆者ら注、「1. 第1～3胸節の背中に1対の突起あり」は間違いで、「第2～4胸節の背中に1対の突起あり」が正しい。)

また、Krappら(2006)は、地中海に侵入したトゲワレカラが、Templeton(1836)とGuerra-Garcia(2003)によって描かれたモーリシャス島のものと非常に良く似ているとし、また、バラスト水でなくヨットの船底について地中海にやって来たとするのがより妥当であると考えた。

さらに、Rosら(2013)は、地中海に侵入したトゲワレカラが5亜種(*C. s. scaura*, *C. s. typica*, *C. s. cornuta*, *C. s. diceros*, そして *C. s. hamata*)のうちのどれかを定めるために、形態的特徴を比較検討した。その結果、*C. s. scaura*と*C. s. typica*に合致した。そして、*C. s. scaura*と*C. s. typica*の第5胸節背側後方の突起数の違いは、成長や個体変異によるとした。また、それら以外の*C. s. cornuta*, *C. s. diceros*そして*C. s. hamata*は、それぞれ異なった種であるとした。トゲワレカラの形態による分類はこのような現状にある。

### 3. 目的

瀬戸内海およびその周辺で採集できるトゲワレカラには3亜種が知られている。筆者らは、形態により分類した3亜種が分子遺伝学的解析から支持されるかど

うかを検討した。

## II. 付着海藻によるトゲワレカラのグループ分けと分子遺伝学的解析

### 1. はじめに

私たちは3亜種を形態から分類するために、Krappら(2006)による検索表を応用した。すなわち、次の検索表を使って分類した。

トゲワレカラ*C. scaura*の亜種の検索表

1. 第2～4胸節の背側に1対の突起あり ……………  
*C. s. hamata*  
第2～4胸節の背側に突起なし …………… 2
2. 第4胸節背側後端に後向き鋭い突起がある ……  
*C. s. diceros*  
第4胸節背側後端に突起なし …… *C. s. typica*

なお、この検索表に基づいて、兵庫県立尼崎小田高等学校サイエンスリサーチ科の上田賢輔、河村祐希、西川直、福坂智也、山元拓実(以上、2年生)、中村亮祐(1年生)の諸君が共同執筆者の一人、谷の指導のもと、黒島でのワレカラの採集・同定を行った。またこれに続いてDNAの抽出、PCR法によるDNA増幅を行い、その後外注して塩基配列の決定を行った。

### 2. 方法

岡山県瀬戸市牛窓にある黒島で、潜水によりテングサ属(*Gelidium* sp.)・ミル(*Zostera marina*)・アマモ(*Codium fragile*)の採集を行い、それぞれの海藻(草)からトゲワレカラを採集した。組織脱水液A(エタノール86%・プロパノール14%;和光純薬)に海水を等量加えて調整した固定液に採集個体を投入した。各海藻に付着していた個体をそれぞれ7～9個体(合計24個体)選び、DNA抽出を行い、ミトコンドリアDNA(mtDNA)のCO I領域についてPCR法によるDNA増幅を行った。PCR産物は精製の後、業者委託(北海道システムサイエンス)により、シーケンスを行った。得られた塩基配列に加えてDNAデータベース上の相同性のある(類似した)配列を用い、MEGA 5(Molecular Evolutionary Genetics Analysis 5)により分子系統解析を行った(図4)。

### 3. 結果

形態から分類したトゲワレカラは、*C. s. diceros* 12個体、亜種まで分けることが困難なために*C. scaura*とした12個体であった。mtDNAのCO I領域636塩基の解析からは21種類のハプロタイプが存在した。付着海藻(草)内の平均遺伝距離は0.0129から0.164であった。また付着海藻(草)間の平均遺伝距離は0.0144

から0.0165であった。(表1, 表2)。

表1 トゲワレカラの付着海藻(草)内の平均遺伝距離

海藻(草)	個体数(n)	平均遺伝距離(D)	標準誤差(SE)
テングサ	7	0.0136	0.0029
アマモ	9	0.0164	0.0029
ミル	8	0.0129	0.0026

表2 トゲワレカラの付着海藻(草)間の平均遺伝距離

海藻(草)	平均遺伝距離(D)	標準誤差(SE)
テングサ-ミル	0.0144	0.0024
テングサ-アマモ	0.0146	0.0025
アマモ-ミル	0.0165	0.0026

#### 4. 考察

トゲワレカラの付着海藻(草)内の平均遺伝距離(表1)および付着海藻(草)間の平均遺伝距離(表2)はほぼ等しい値をとる。このことから、付着する海藻(草)によってトゲワレカラに遺伝的な違いがあるとする考えは否定された。それはトゲワレカラが海藻(草)を頻繁に自由に移動しているからと考えられる。

### Ⅲ. 形態で分類したトゲワレカラ3亜種と分子遺伝学的解析

#### 1. 材料と方法

瀬戸内海各地をはじめ本州西部で採集したトゲワレカラと瀬戸内市牛窓の黒島で採集したトゲワレカラを、形態から3亜種に分類した。特に第4胸節背側後端の突起の有無の判断が難しい場合は、*C. scaura*に止めた。黒島産トゲワレカラの同定および解析は、兵庫県立尼崎小田高校の生徒諸君による。

Ⅱと同様にミトコンドリアDNAの解析を行った。mtDNAのCO I領域に加えて16S ribosomal RNA領域についても解析を行った。この結果をもとに最尤系統樹を作成した(図4, 図5)。

#### 2. 結果

CO I領域と16S rRNA領域の解析によって、トゲワレカラはA1・A2・Bの3グループに分かれた。またCO I領域と16S rRNA領域の解析によって分けられたA1・A2・Bの構成個体は一致した。黒島で採集した個体はすべてA1グループに属した。またこの黒島で採集した個体はすべて海底に着生した海藻に生息するトゲワレカラであった。これ以外のA1グループおよびA2・Bの三つのグループの個体はすべて浮き桟橋・ロープに生息するトゲワレカラであった。また、

石川県能登町産の*C. s. hamata*がA1グループに含まれ、泉佐野市の*C. s. hamata*はBグループに含まれた(図4, 図5)。

COI領域におけるグループ内の平均遺伝距離は0.0163から0.0205であった。これに対しグループ間では0.114から0.245であった(表3, 表4)。

表3 トゲワレカラのmtDNAのCO I領域におけるグループ内の平均遺伝距離

グループ	個体数(n)	平均遺伝距離(D)	標準誤差(SE)
A1	34	0.0163	0.0027
A2	3	0.0205	0.0051
B	16	0.0126	0.003

表4 トゲワレカラのグループ間の平均遺伝距離

海藻(草)	平均遺伝距離(D)	標準誤差(SE)
A1-A2	0.114	0.017
A1-B	0.245	0.041
A2-B	0.215	0.035

#### 3. 考察

A1・A2・Bの三つのグループ内の平均遺伝距離は十分小さいが、各グループ間の平均遺伝距離はかなり大きいことから、それぞれを別種としてもおかしくない(表3, 表4)。

トゲワレカラの形態は変異が大きいので、同定者の主観にかなり左右されるものと思われる。それを含んで見ると、A1グループの黒島で採集したトゲワレカラの中には*C. scaura*までしか同定できない個体もあるが、ほとんどが亜種*C. s. diceros*としても良いと思われる。A2グループの個体も*C. s. diceros*であった。これらのことからAグループのほとんどの個体は*C. s. diceros*であると考えられる。これに対しBグループの個体はほとんど*typica*であった。

*C. s. diceros*は海藻および桟橋やロープに棲息したのに対し*C. s. typica*は桟橋やロープのみに棲息した。これらのことは、両者が生態的に異なる可能性を示している。

*C. s. hamata*は、A1グループにもBグループにも出現した。またさらに、*C. s. hamata*は*C. s. diceros*と一緒に採集できることがあるので、*C. s. hamata*は亜種として成り立たないことも考えられる。

以上から次のように考えることが出来る。

1 ここに挙げたトゲワレカラは、三つのグループに

分けることが出来る。

- 2 *C. s. hamata*は、分子遺伝学的解析からも分布からも亜種として成り立たない可能性がある。
- 3 本種の亜種について、形態による同定方法が未完成であることが示唆された。

mtDNAのCOI領域および16S rRNA領域の解析から上記を考察したが、核遺伝子については検討していない。今後は、そのことについても解析する必要があるだろう。

分類学に携わる者は同定に使うために適切な形態を探し出す努力が必要である。今後は形態による同定を可能にするために、ワレカラが基質につかまるための第5~7胸脚、餌を食べるための口器、繁殖のためのペニスなどを精査することが必要になる。遺伝学的解析と形態学的分類を統合する必要性が示された。

## 謝辞

採集にご協力いただいた岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所 坂本竜哉所長、秋山貞助教、牛堂和一郎技術専門職員に感謝を申し上げる。

この研究については、平成25年度スマスイ自然環境保全助成をいただいた。また、兵庫県立尼崎小田高等学校のサイエンスリサーチ科の生徒諸君の協力を受けた。英文は兵庫県立伊丹高等学校講師 Valeria Aiko Lignonに助言をいただいた。ともにお礼を申し上げる。

## 引用文献

- Guerra-Garcia, J. M. 2003. The Caprellidea (Crustacea:Amphipoda) from Mauritius Island, Western Indian Ocean. *Zootaxa*, 232:1-24.
- Krapp, T., C. Lang, A. Libertini & R. R. Melzer. 2006. *Caprella scaura* Templeton, 1836 sensu lato (Amphipoda: Caprellidae) in the Mediterranean. *Org. Divers. Evol.* 6, Electr. Suppl. 3:1-18.
- Laubitz, D. R. 1970. Studies on the Caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of the American North Pacific. *Publ. Biol. Oceanogr.* 1: v + vii, 1-89.
- Mayer, P. 1890. Die Caprelliden des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres Abschnitte. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, 17: i-viii + 1-157, pls.7.
- Mayer, P. 1903. Die Caprellidan der Siboga-Expedition. *Siboga Expedition*, 34:1-160, pls.10.
- Ros, M., J. M. Guerra-Garcia, C. Navvaro-Barranco, M. P. Cabezas & M. Vazquez-Luis. 2013. The spreading of the non-native caprellid (Crustacea:

Amphipoda) *Caprella scaura* Templeton, 1836 into southern Europe and northern Africa: a complicated taxonomic history. *Mediterranean Marine Science*, 15:145-155.

Takeuchi, I. & Oyamada, A. 2013. Description of two species of *Caprella* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) from the North Pacific; *C. californica* Stimpson, 1857 and *C. scauroides* Mayer, 1903, with a new appraisal of Species ranking for *C. scauroides*. *Helgol. Mar. Res.* 67:371-381.

内海富士夫. 1947. 日本近海産ワレカラ類, 生物, 増刊1号: 68-82.

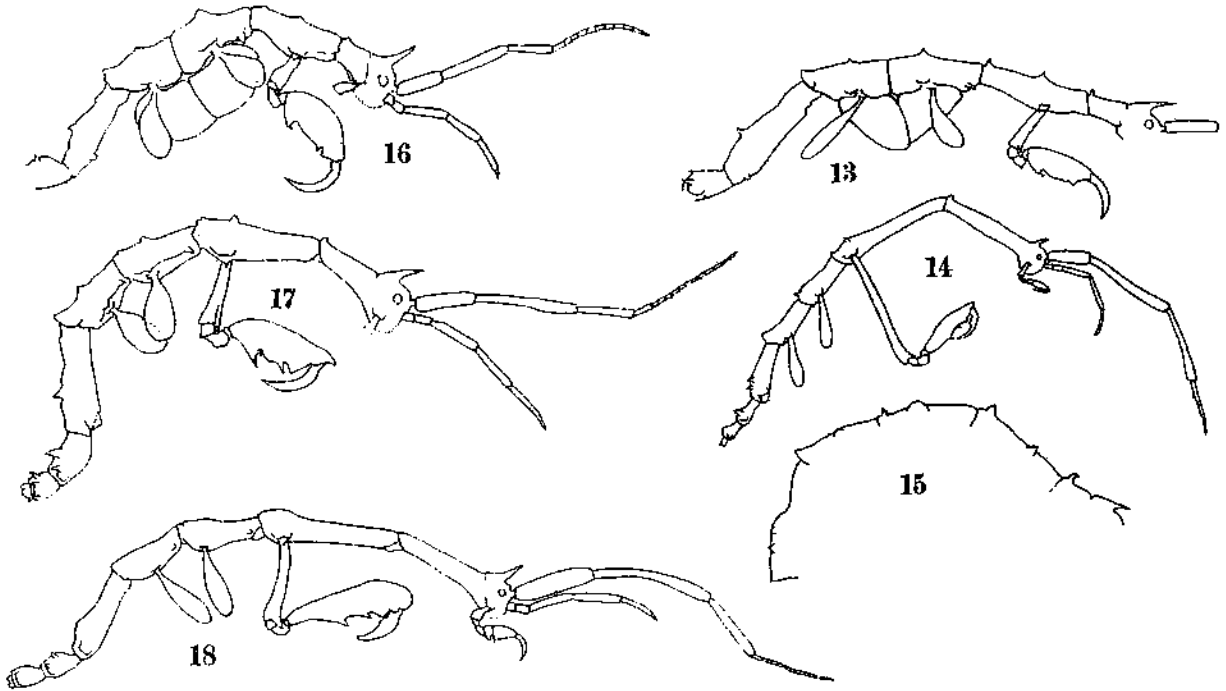


図1 *Caprella scaura* の3変種 (Mayer, P. 1903. pl.5より引用)  
 13: *C. scaura* var. *californica*, 14,15: *C. scaura* var. *typica*, 16-18: *C. scaura* var. *scauroides*.

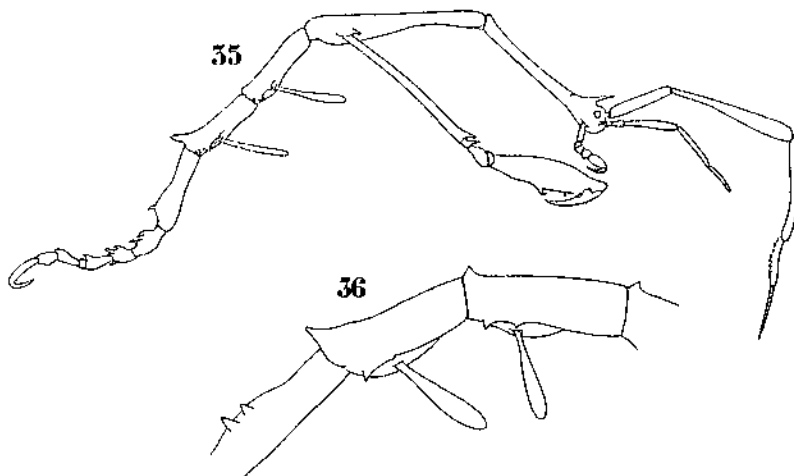
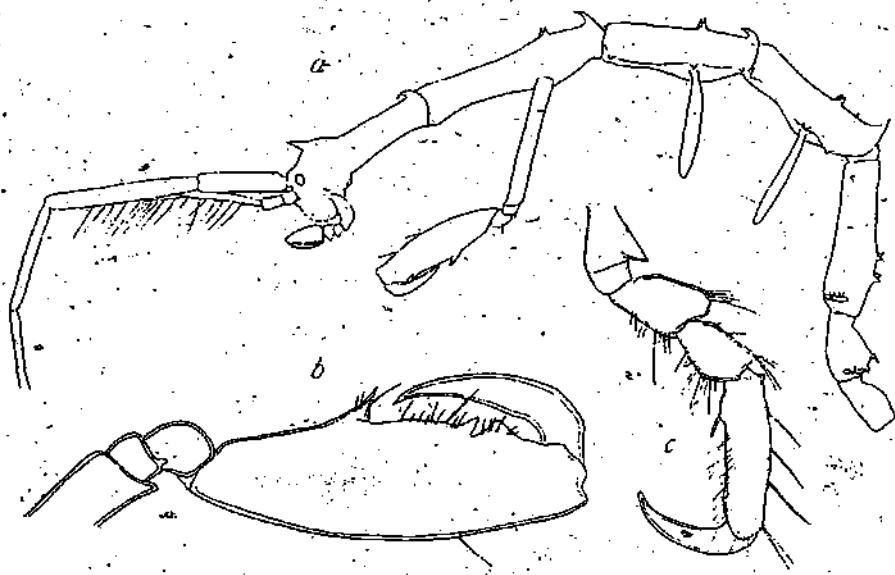


図2 *Caprella scaura diceros* (Mayer, P. 1890. pl.7より引用)



第7圖 *Caprella scaura* Templeton f. *hamata* nov.  
 a, ♀全形 (×8). b, ♂第2胸肢の手部 (×25). c, ♂第5胸肢 (×25).

図3 *Caprella scaura hamata* (内海, 1947. より引用。戦後直ぐのザラ半紙を使用したので汚れが見える。)

*Caprella scaura*  
cytochrome oxidase subunit I (COI) gene  
636bp

Analysis

Statistical Method ----- Maximum Likelihood

Phylogeny Test

Test of Phylogeny ----- Bootstrap method

No. of Bootstrap Replications --- 1000

Substitution Model

Model/Method ----- Tamura 3-parameter model

● : collected in Kuro-shima, Seto Inland Sea

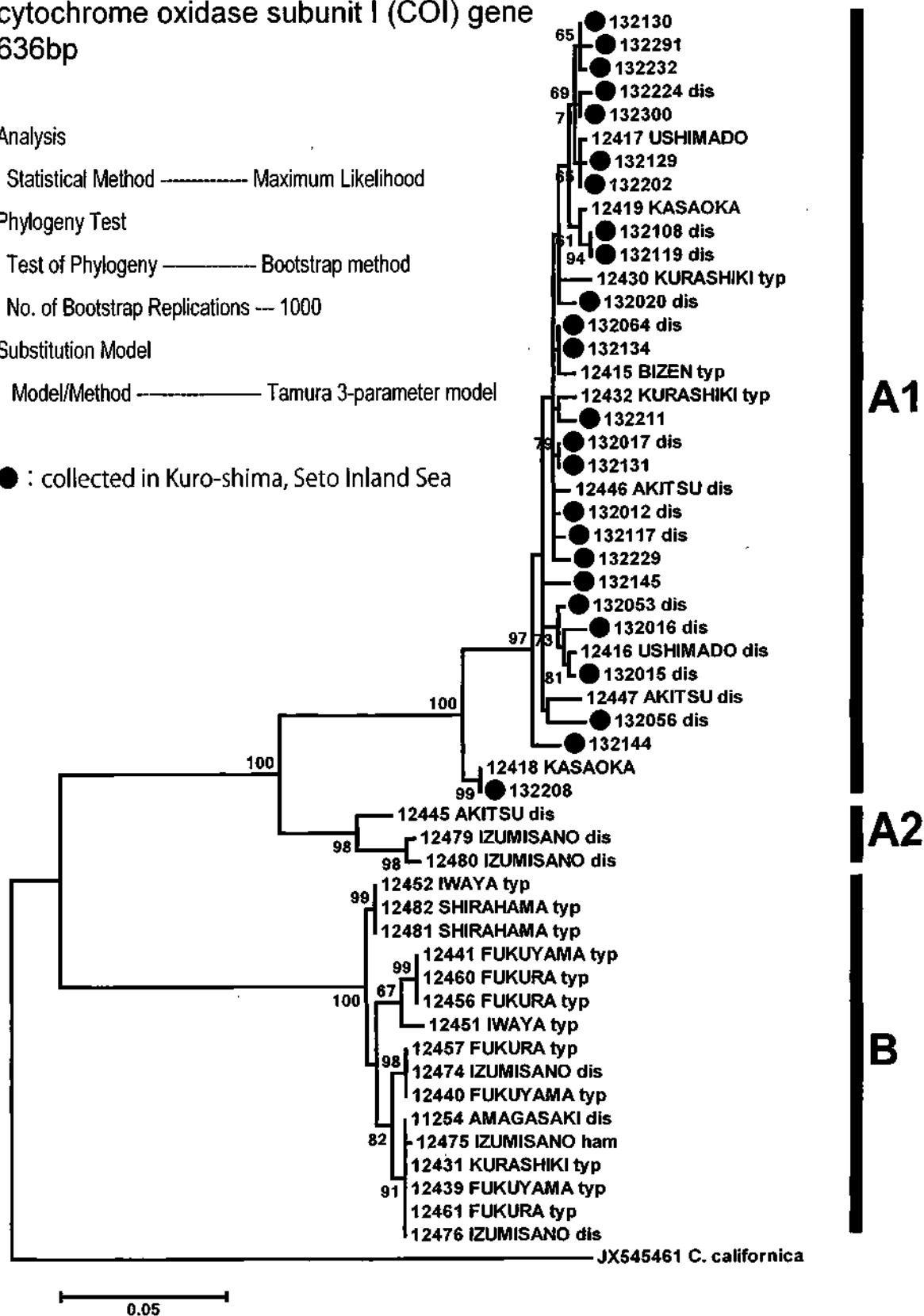


図4 トゲワレカラの mtDNA の CO I 遺伝子 636 塩基による最尤系統樹

分岐の数値は 1000 回のブートストラップ解析による各枝の支持率 (%) を示す。60% 以下の数値は省略した。●は、黒島で採集したトゲワレカラである。解析した個体番号と採集場所も示した。また次のように 3 亜種を示した。dis は *C. s. diceros* を、typ は *C. s. typica* を、ham は *C. s. hamata* を示す。

*Caprella scaura*  
16S ribosomal RNA gene  
311bp

Analysis  
Statistical Method ----- Maximum Likelihood  
Phylogeny Test ----- Bootstrap method  
Test of Phylogeny ----- Bootstrap method  
No. of Bootstrap Replications --- 1000  
Substitution Model  
Model/Method ----- Tamura 3-parameter model

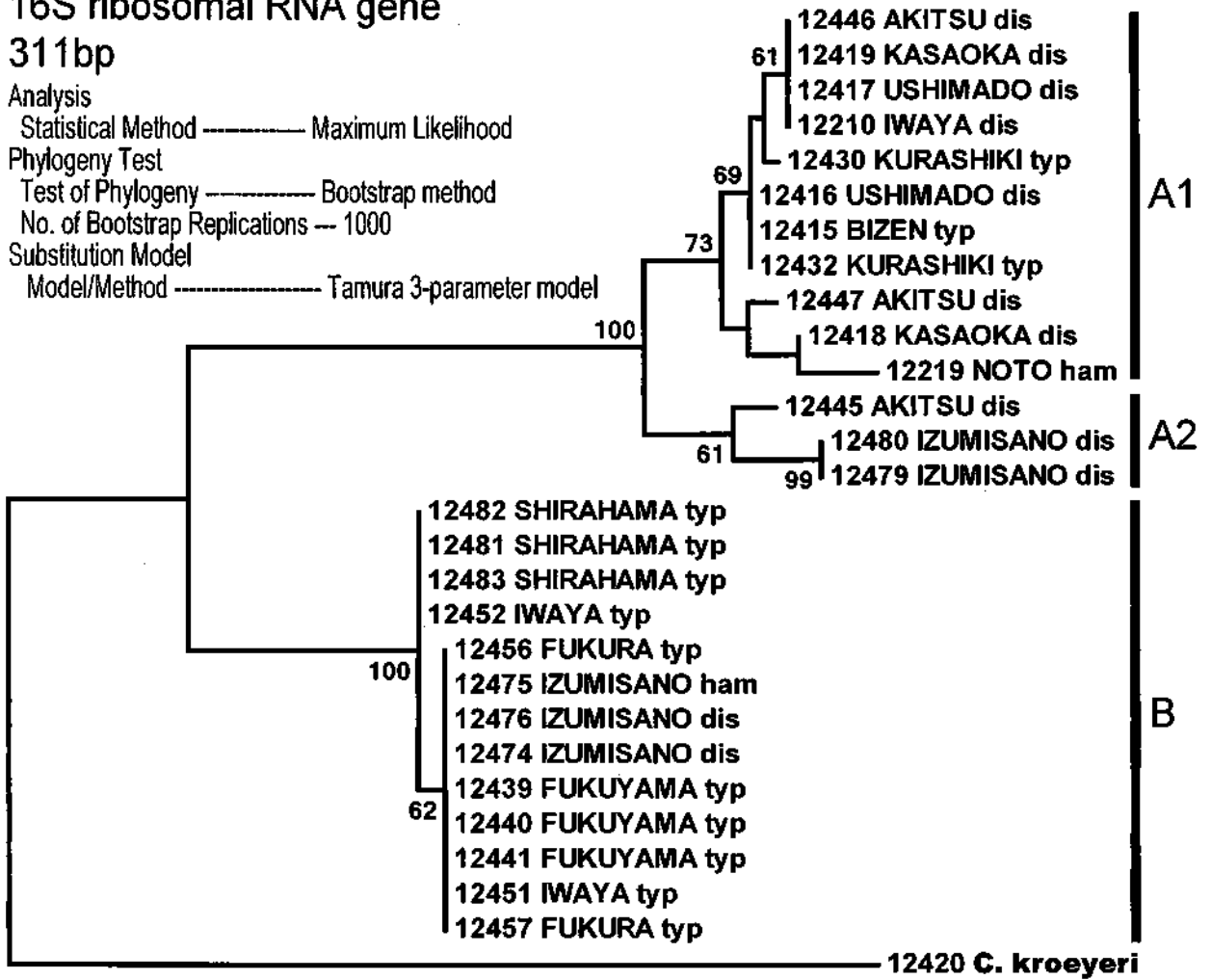


図5 トゲワレカラの mtDNA の 16S rRNA 遺伝子 311 塩基による最尤系統樹

分岐の数値は 1000 回のブートストラップ解析による各枝の支持率 (%) を示す。60% 以下の数値は省略した。解析した個体番号と採集場所も示した。また次のように 3 亜種を示した。dis は *C. s. diceros* を、typ は *C. s. typica* を、ham は *C. s. hamata* を示す。