

トゲワレカラ (甲殻綱, 端脚目) の系統地理

谷 良夫*・阪口 正樹**

System geography of the skeleton shrimp *Caprella scaura* sensu lato (Crustacea, Amphipoda) by mtDNA molecular analysis

Yoshio Tani* and Masaki Sakaguchi**

Abstract: We collected 142 specimens of *Caprella scaura* Templeton, 1836 sensu lato (Crustacea, Amphipoda, Caprellidae) from 2012 through 2014 at fishing port and yacht harbor of 39 localities of Honshu (Mainland of Japan), Shikoku and Kyushu, and the gene analyses of mtDNA of these samples show 95 haplotypes. From molecular genealogical tree, the Japanese *C. scaura* can be divided into 4 clades (A1, A2, A3 and B). The A1 and A2 groups have inhabited in the temperate sea, the A3 group has inhabited in the cool temperate sea, A1, A2 and A3 groups are endemic in Japan. The B group has inhabited in the sub-tropical sea.

はじめに

漁港やヨットハーバーの浮き桟橋や岸壁のロープには、*Caprella scaura* Templeton, 1836 トゲワレカラがよく生息している。国内の海域に生息するトゲワレカラには、3 亜種が知られている。*C. scaura typica* Mayer, 1890, *C. scaura diceros* Mayer, 1890そして *C. scaura hamata* Utinomi, 1947である。背側の突起の有無で同定する。突起の変異が大きいので同定には困難が伴い、適切な分類形質の開発が求められている。

そこで、この3 亜種が遺伝子レベルから亜種として成立するかどうかを確認するために、本州西部に産するトゲワレカラを使って mtDNAのCO I 領域の塩基配列から分子系統樹を作成したところ、A1, A2, Bのグループに分かれたが、A1 グループに3 亜種が含まれ、B グループにも3 亜種が含まれていた。つまり3 亜種と分子系統樹の各グループとは対応しなかったのである (谷・阪口 2014)。

今回、北海道を除いた日本のほとんどの海域からトゲワレカラを得たので、再び mtDNAのCO I 領域の塩基配列から分子系統樹を作成したところ、新たなグループ (A3 と呼ぶ) を認め、トゲワレカラの各グループの地理的分布が明らかになったので報告する。

方法

2012年から2014年にわたり、本州、四国、九州の漁港やヨットハーバーの浮き桟橋につく海藻や動物を採集し、海水を入れたA4 版大の白いバットに入れ、拡大鏡で見ながら、ワレカラをピンセットではさみ、氷水で冷やした70%海水エタノール中に入れた。浮き桟橋のない漁港では、岸壁のロープに着くワレカラを採集した。

ニコン実体顕微鏡下で種の同定を行った。トゲワレカラ標本のうち142個体を解析に供した。

実体顕微鏡下で、トゲワレカラの第1 アンテナ、第2 咬脚、エラ、第5~7 胸脚を外し、DNA 抽出の材料とした。

Qiagen 社製の DNeasy Blood & Tissue Kit で所定の方法で DNA を抽出した。その後、国際塩基配列データベース (International Nucleotide Sequence Database :

* 兵庫県立尼崎小田高等学校

Hyogo Prefectural Amagasaki-Oda High School

** 〒662-0824 兵庫県西宮市門戸東町1-26

e-mail:warekara@bca.bai.ne.jp

2016年3月30日受理

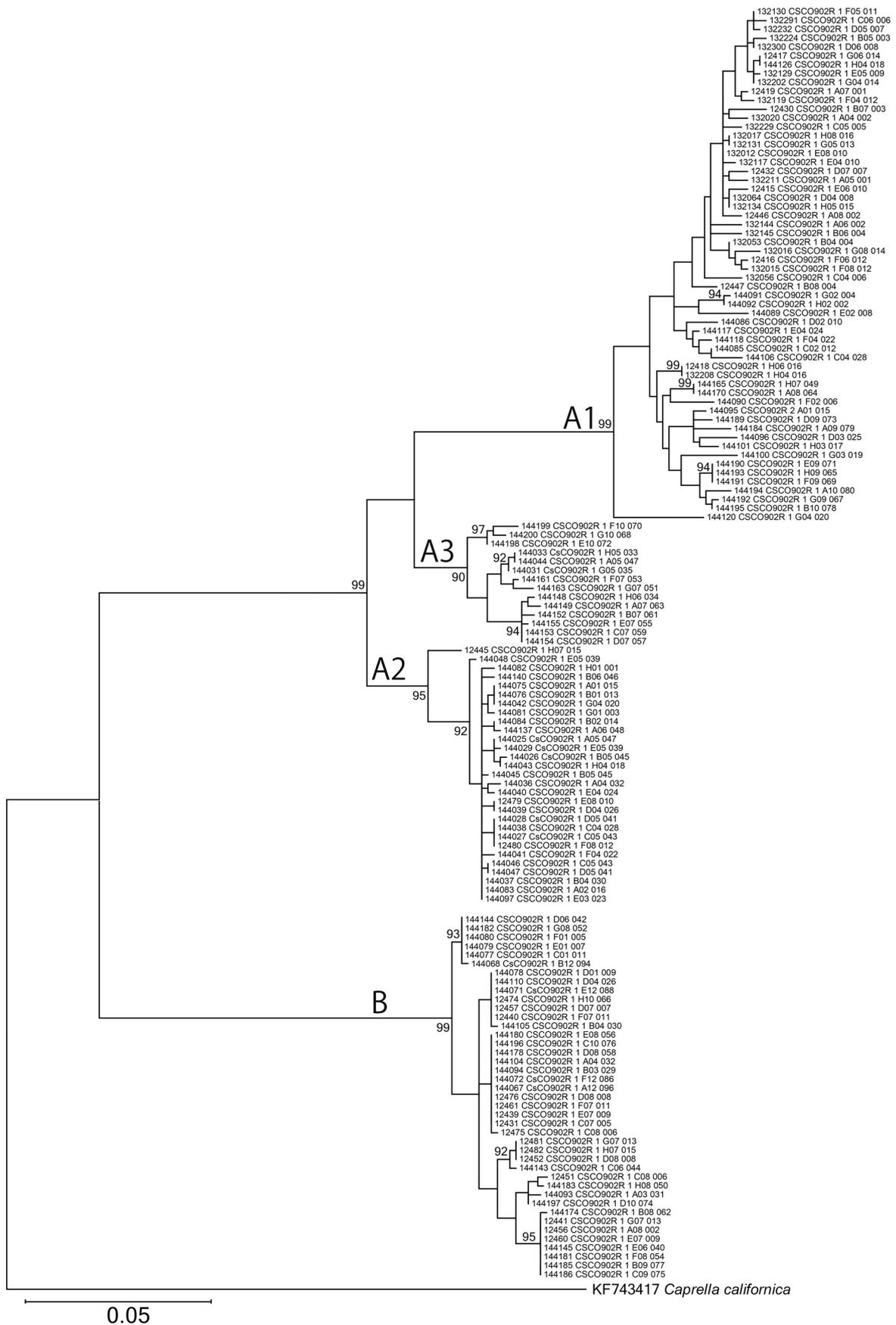


図1 日本産 *Caprella scaura* トゲワレカラの分子系統樹

A1, A2, A3 および B グループに分かれた。図中の採集地点は表 1 に示す。

C. californica を外群とし、トゲワレカラ 142 個体の mtDNA の CO I 領域 607 塩基対を使って Maximum Likelihood 法により、1000 回の試行により得たブートストラップ値 (%) を示した。90% 未満は省いた。

表1 遺伝子解析個体の採集地一覧

					A1	A2	A3	B	n
1	AI	愛知県	蒲郡市	AI n=1				1	1
2	AK	秋田県	男鹿市	AK n=2			2		2
3	A01	青森県	津軽郡・西津軽郡	A01 n=4			4		4
4	A02	青森県	青森市	A02 n=2			2		2
5	F01	福岡県	行橋市・築上郡・北九州市	F01 n=8	6			2	8
6	F02	福岡県	福岡市箱崎・今津	F02 n=5		5			5
7	HG1	兵庫県	神戸市	HG1 n=22		19	3		22
8	HG2	兵庫県	淡路市岩屋	HG2 n=2				2	2
9	HG3	兵庫県	南あわじ市福良	HG3 n=4				4	4
10	HS1	広島県	東広島市安芸津町	HS1 n=3	2	1			3
11	HS2	広島県	福山市	HS2 n=3				3	3
12	IS	石川県	鳳珠郡穴水町	IS n=3			3		3
13	KN	神奈川県	横浜市金沢区洲崎町	KN n=1		1			1
14	K01	高知県	高知市・黒潮町	K01 n=4				4	4
15	K02	高知県	室戸市	K02 n=2				2	2
16	K03	高知県	土佐清水市	K03 n=2				2	2
17	K04	高知県	宿毛市	K04 n=2				2	2
18	KU	熊本県	八代市大島町	KU n=2	2				2
19	KY	京都府	宮津市・与謝郡伊根町	KY n=2	2				2
20	MZ	宮崎県	延岡市北浦町市振	MZ n=2				2	2
21	NS	長崎県	大村市	NS n=8	6			2	8
22	OI	大分県	臼杵市	OI n=1	1				1
23	OS	大阪府	泉佐野市	OS n=5		2		3	5
24	OY1	岡山県	笠岡市・倉敷市	OY1 n=6	5			1	6
25	OY2	岡山県	瀬戸内市・備前市	OY2 n=27	27				27
26	SG	佐賀県	伊万里市	SG n=4	2			2	4
27	SM	島根県	浜田市	SM n=3	1			2	3
28	SZ 1	静岡県	清水市	SZ 1 n=3				3	3
29	SZ 2	静岡市	湖西市	SZ2 n=1		1			1
30	WA	和歌山県	海南市・西牟婁郡白浜町	WA n=3				3	3
31	YA	山口県	萩市	YA n=5	4			1	5
					58	29	14	41	142

INSD) よりトゲワレカラのミトコンドリア DNA (mt DNA) データをダウンロードし, Primer3 (v. 0.4.0) により cytochrome c oxidase subunit I (COI) 領域に対しプライマーセット (CSCO173F : 5'-ATTAAACGA TGGCTACTTTTCGACAAACCAC-3', CSCO902R : 5'-AAATATAAACTTCTGGGTGCCCGAAAAATC-3') を設計した。この種特異的なプライマーセットを使って mtDNA の CO I 領域を PCR 法による DNA 増幅・塩基配列解読を行った。方法は谷・阪口 (2014) に従った。得られた塩基配列を用いて Molecular Evolutionary Genetics Analysis 6 (MEGA 6 と呼ぶ) (Tamura *et al.* 2013) を利用して解析を行った。

結果

607 塩基対についてノイズもなく, 上流側と下流側から解読した配列が一致した。MEGA6 により, Maximum Likelihood Method で, 分子系統樹を作成した (図 1)。分子系統樹からは, A グループと B グループが出現し, A グループ内では A1 グループ, A2 グループ, さらに今回新たに A3 グループが出現した。

これら 4 つのグループを地図上に表した (図 2)。

A1 グループは, 九州の八代湾, 大村湾, 伊万里湾, 瀬戸内海の各地, 山口県から京都府にかけて分布した。

A2 グループは, 博多湾と浜名湖, 横浜, また, 瀬戸内海の各地に分布した。

A3 グループは, 東北地方と石川県, そして兵庫運河に分布した。

B グループは九州, 四国から清水港にかけて黒潮の洗う海岸と日本海側では島根県浜田市まで分布した。

考察

C. scaura トゲワレカラは, インド洋のモーリシャス諸島を模式産地としている。日本では *C. scaura typica*, *C. scaura diceros* および *C. scaura hamata* の 3 亜種がいる。*C. scaura typica* はリオデジャネイロが, *C. scaura diceros* は神戸が, *C. scaura hamata* は石川県の七尾湾が模式産地である。これらは第 2~5 胸節背側の突起によって区別される (Krapp *et al.* 2006) が, 突起の変異が大きいので同定にはいつも困難が伴う。また, 一つの採集地点から複数の亜種が採集されるが,

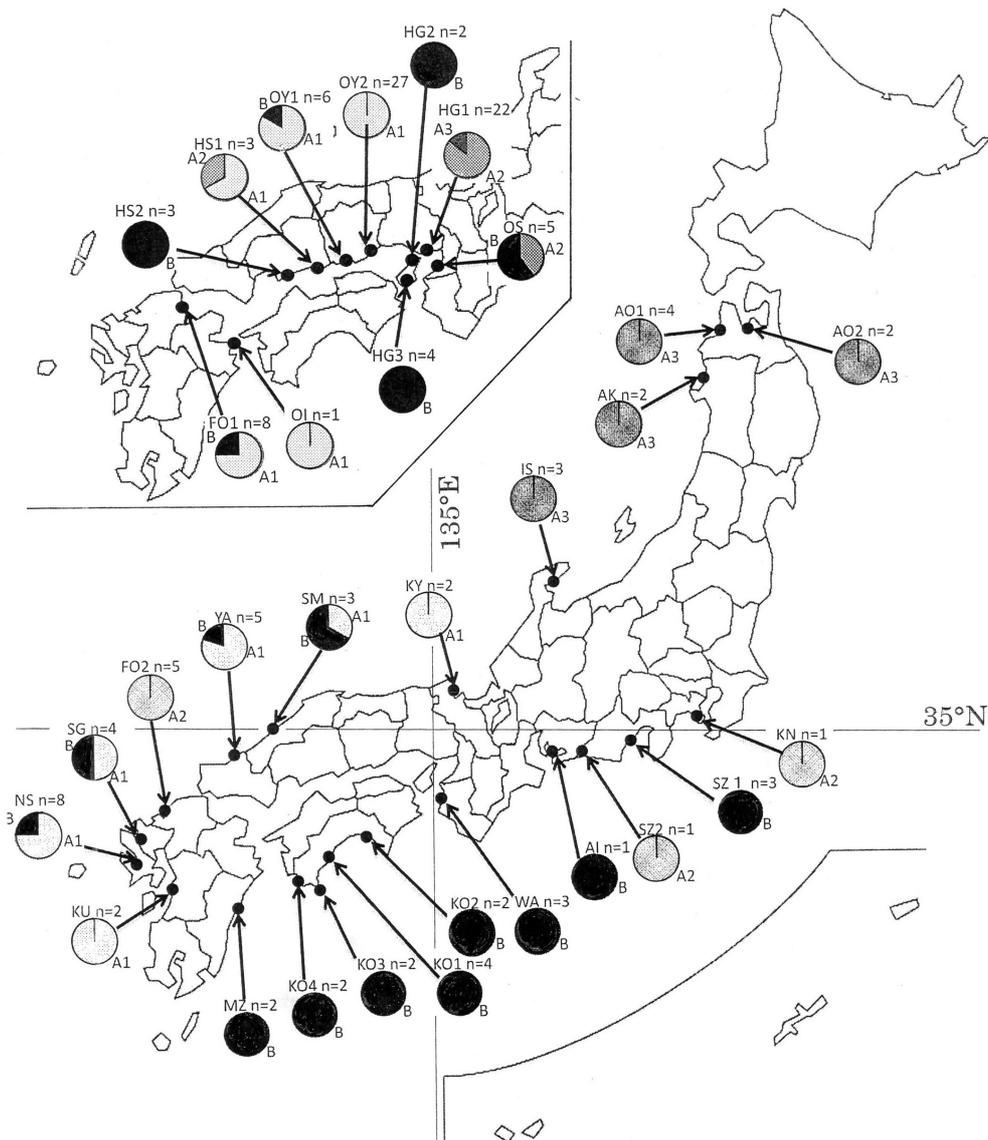


図2 日本産 *Caprella scaura* トゲワレカラの各グループ分布図

亜種を地理的隔離によるものとするなら、この混在した状態は同一種の個体変異と考えるのが自然であろう。トゲワレカラにおいて適切な分類形質の開発が求められている。

遺伝子の変異からこれらの亜種関係を明らかにするために、ミトコンドリア DNA の CO I 領域 607 塩基から分子系統樹を作成した (図1)。谷・阪口 (2014) は、本州西部のトゲワレカラを A1, A2 そして B グループに分かれることを示したが、今回、新たに東北地方を中心に A3 グループが現れた。

A1 グループと A2 グループは、ともに西日本を中心に出現した。大阪湾では A2 グループ、A3 グループと B グループが占めるが、瀬戸内海の中央部はほとんど A1 グループが占める。広島県東広島市安芸津町 (図2の HS1, 表1) の漁港から A2 グループが出現した。また、博多湾の箱崎漁港と今津のヨットハー

バーからは A2 グループのみ出現した。飛び地のように分布している。解析個体数が少ないので多くは語れないが、A1 グループと A2 グループはもともと同一海域に混在していたのか、あるいは人為的拡散の結果ではないかと思う。

西村 (1974) は新生代鮮新世中～後期に東シナ海域の海岸線を推定し、沖縄の北西部に入り江 (古東シナ海) の存在を示すが、それはまさに沖縄トラフのある場所であろう。氷期には海面の低下により東シナ海のほとんどは陸地になっていたから、沖縄トラフが入り江となってトゲワレカラを育てていたことが考えられる。間氷期に海水面が上昇するにつれて西日本に分布を広げ、瀬戸内海にも海水の浸入とともに入り込んでいったのだろう。そうであるなら、中国大陸の海岸部、朝鮮半島の海岸部にも広がっていったであろう。東シナ海のそれらの海岸部には、トゲワレカラの A1 グル

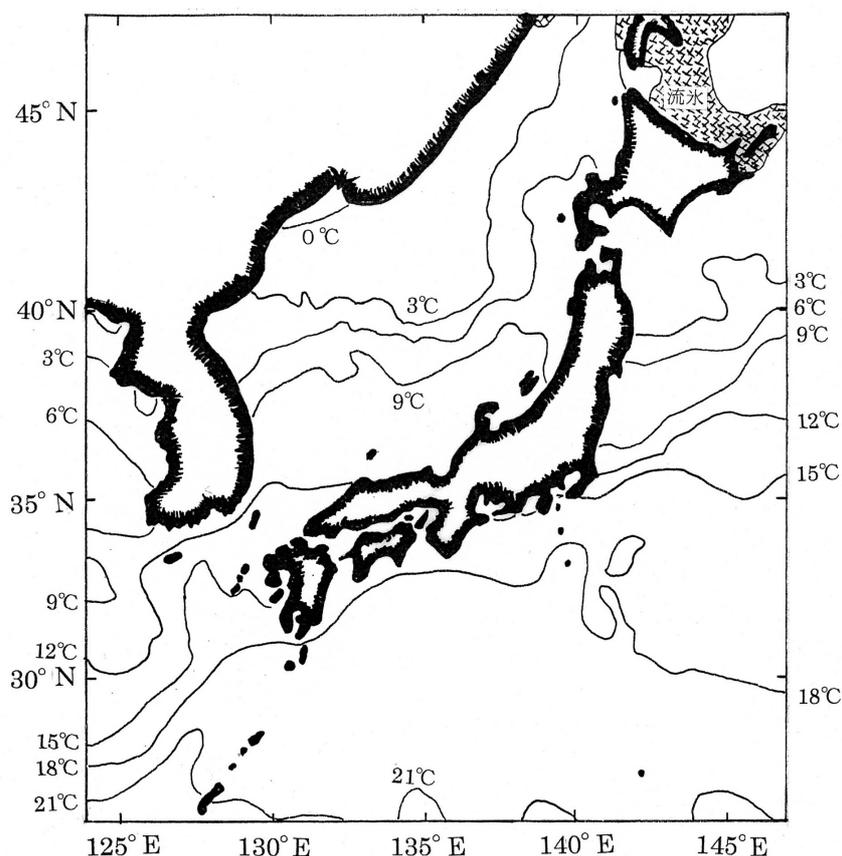


図3 2015年3月1日の海面水温分布図（気象庁の日別海面水温より）

表2 解析個体数とハプロタイプ数

グループ名	A1	A2	A3	B	計
解析個体数 (n)	58	29	14	41	142
ハプロタイプ数 (Hp)	51	18	12	14	95
n/Hp	1.14	1.61	1.17	2.93	1.49

プと A2 グループが分布していると推定できる。

A3 グループは、今回初めて出現した。青森県から秋田県、石川県を経て大阪湾の兵庫運河に飛び地のよう分布する。日本海で進化した冷水域のトゲワレカラが兵庫運河にまで運ばれたと考えてはどうだろうか。可能性としては江戸時代の北前船による人為的拡散が考えられる。北前船の寄港地を再調査することが必要である。あるいは、垂水海域は冷水性であるマボヤ、ヒトデが採集できる。A3 グループも同じように神戸に入り込んだのかもしれない。

B グループは、黒潮や対馬海流の洗う海岸に分布している。そして冬期海水温が最も低い2月下旬から3月上旬の時期の海面水温分布図（図3）を重ねると、最低水温 12°C以上の海域に B グループが分布している。日本海では島根県日御碕付近、また太平洋側では千葉県犬吠埼付近が 12°Cの値をとる。この最低海面水温 12°Cのラインは、西村(1981)が提唱する日本近海の区域区分の暖温帯区の北限と一致した。ここから、

対馬には B グループが生息するが、隠岐や佐渡には生息しないと推測できる。図3には表されていないが、瀬戸内海では 8°C近くまで低下する。図2では瀬戸内海に B グループが分布するが、冬期にも生息しているかどうかは不明で、今後の課題である。

B グループは、形態からは模式産地がリオデジャネイロの *C. scaura typica* と同定したものが多くを占める。模式産地のモーリシャス諸島のトゲワレカラ (Guerra-Garcia 2003) とその外部形態がよく似ている。熱帯域の海流によって分布を広げたことが考えられる。おそらく、冬の低温によって北上が阻まれているのだろう。太平洋側も千葉県犬吠埼を境に、ここより南には B グループが分布し、北は別のタイプ、例えば、A3 グループのトゲワレカラが分布すると思われる。日本海ではホンダワラ類の流れ藻にトゲワレカラが見つかる (伊藤ほか 1988) ので、海流による分布の拡散は十分考えられる。

淡路島の岩屋 (図2のHG2) と福良 (図2のHG3)

では、Bグループが出現する。紀伊水道から瀬戸内海へ外洋水が流れ込んでいると考えられている。豊後水道からも外洋水が流れ込んでいるのであろう。

A1, A2, A3そしてBグループの解析個体数とそこに出現したハプロタイプ数をまとめた(表2)。142個体から95のハプロタイプが出現した。Aグループのハプロタイプ数が多く、そのなかではA1グループが51を数え最も多い。解析個体数を増やす必要はあるが、現時点のハプロタイプの数からAグループが日本近海で長い期間生息し、進化をしてきたのであろう。Bグループは熱帯海域からその一部が流れてきたと思われる。

以上のことから、日本に生息するトゲワレカラについて次のことが考えられる。

- 1 トゲワレカラには遺伝子レベルで2つのグループがある。それぞれのグループに3つの亜種が含まれていた。
- 2 遺伝子レベルのこの2つのグループを識別するために、適切な分類形質の開発が求められる。
- 3 トゲワレカラは、古東シナ海、冷水域おそらく日本海北部および熱帯域の3つの海域を起源とすると思われる。

謝 辞

この研究には、平成26年度および27年度スマスイ自然環境保全助成をいただいた。お礼を申しあげる。

引用文献

- Guerra-Garcia, J. M. 2003. The Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Mauritius Island, Western Indian Ocean. *Zootaxa*, 232:1-24.
- 伊藤正一・池原宏二・本間義治. 1988. 日本海における流れ藻に付着したワレカラ類. *日本ベントス研究会誌*, 32:30-36.
- 気象庁. 2015. 気象庁各種データ・資料, 日別海面水温, 2015年3月1日.
- Krapp, T., C. Lang, A. Libertini and R. R. Melzer. 2006. *Caprella scaura* Templeton, 1836 Sensu lato (Amphipoda: Caprellidae) in the Mediterranean. *Org. Divers. Evol.*, 6, Electr. Suppl. 3:1-18.
- 西村三郎. 1974. 日本海の成立. 227pp. 築地書館, 東京.
- 西村三郎. 1981. 地球の海と生命—海洋生物地理学序説—, 284pp. 海鳴社, 東京.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30:2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197 PMID: 24132122
- 谷 良夫・阪口正樹. 2014. 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. *兵庫生物*, 14(5):339-346.