Aquatic Animals

水生動物 第 2019 巻
令和元年 12 月

# スジエビ *Palaemon paucidens* の B タイプにおける遺伝的分化

## Genetic diversity in type B of *Palaemon paucidens*

張　成年 [1*]・柳本　卓 [1]・小西光一 [1]・市川　卓 [2]・小松典彦 [3]・丸山智朗 [4]・池田　実 [5]・野原健司 [6]・大貫貴清 [6]・今井　正 [7]
Seinen Chow*, Takashi Yanagimoto, Kooichi Konishi, Takashi Ichikawa, Norihiko Komatsu, Tomoaki Maruyama, Minoru Ikeda, Kenji Nohara, Takakiyo Oonuki, Tadashi Imai

[1] 水産研究・教育機構中央水産研究所，神奈川県横浜市金沢区福浦 2-12-4
[2] 東京農業大学生物産業学部，北海道網走市八坂 196
[3] 長野県農政部園芸畜産課水産係，長野県長野市南長野幅下 692-2
[4] 建設環境研究所，東京都豊島区東池袋 2-23-2
[5] 東北大学農学部附属複合生態フィールド教育研究センター，宮城県牡鹿郡女川町小乗浜字向 3-1
[6] 東海大学海洋学部，静岡県静岡市清水区折戸 3-20-1
[7] 瀬戸内海区水産研究所，香川県高松市屋島東町 234
[1]National Research Institute of Fisheries Science, Japan Fisheries Research and Education Agency, 2-12-4 Fukuura, Kanazawa, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan, [2]Tokyo University of Agriculture, 196 Yasaka, Abashiri-shi, Hokkaido 099-2493, Japan, [3]Horticulture and Livestock Division, Agricultural Administration Department, Nagano Prefectural Government, Minaminaganohabashita 692-2, Nagano 380-8570, Japan, [4]Civil Engineering and Eco-technology Consultants, Higashi-Ikebukuro 2-23-2, Toshima-ku, Tokyo 170-0013, Japan, [5]Tohoku University, Oshika, Miyagi 986-2242, Japan, [6]School of Marine Science and Technology, Tokai University, 3-20-1 Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8610, Japan, [7]National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Japan Fisheries Research and Education Agency, 234 Yashimahigashi-machi, Takamatsu, Kagawa 761-0111, Japan.
*Corresponding author; e-mail: chow@affrc.go.jp

### Abstract

Genetically distinct three types (designated as A, B and C) in the common freshwater shrimp *Palaemon paucidens* in Japan have been determined using allozyme, 18S rDNA and 16S rDNA analyses. Based on the morphological and genetic analyses, Katogi et al. (2019) proposed type B population distributing in the northern Japan to be a new species *Palaemon septemtrionalis*. In the present study, phylogenetic analysis in amphidromous type B was performed using 16S rDNA sequences of 185 individuals collected throughout the distributional range of this species in Japan. Two highly divergent clades (designated as B-I and B-II) were observed in the phylogenetic tree, in which the mean nucleotide sequence divergence (K2P) between the clades was 3.9 %. B-II clade was further subdivided into subclades B-IIa and B-IIb, in which the mean K2P between the subclades was 1 %. Geographic distributions of these clades were clearly separated. B-I corresponding to *P. septemtrionalis* was distributed in the northern Japan (north of Miyagi Prefecture to Hokkaido) and rivers on the Sea of Japan side. B-IIa and B-IIb were observed in rivers on the Pacific Ocean side. B-IIa was distributed from the northern Japan (north of Miyagi Prefecture) to central Japan (Kanagawa Prefecture) and B-IIb from central Japan (Shizuoka Prefecture) to southern Japan (Kyushu). Northern area of Miyagi Prefecture was determined to be the boundary zone between B-I and B-IIa, where B-I and B-IIa individuals were observed to coexist in a river of the Oshika Peninsula. Sagami Bay at central Japan was considered to be the boundary between B-IIa and B-IIb. In the appendage morphology, longer propodus than carpus in the second pereiopod, that was reported as one of specific characteristics of *P. septemtrionalis*, but we found this to be size dependent characteristic and not to be applicable for species identification.

**Key words:** *Palaemon paucidens*, type B, 16S rDNA, population structure, morphology, *Palaemon septemtrionalis*

## 緒言

本邦の淡水産テナガエビ科のスジエビ属（*Palaemon*）では、外来種のチュウゴクスジエビ（*P. sinensis*）を除けば、スジエビ（*P. paucidens*）が唯一の在来種とされている。スジエビの自然分布は日本国内では北海道から奄美大島とされており、人為的拡散である沖縄も含め、各地で河川の中流域から下流域、湖沼、ダム湖まで多種多様な内水面に見られる。アイソザイム遺伝子分析や 18S rDNA 配列分析によってスジエビには遺伝的に異なる 2 タイプ（A と B）が存在することが明らかにされており（Chow and Fujio 1985; Chow et al. 1988; Fidhiany et al. 1988; 張ら 2018a; 張 2019）、タイプ間には浮遊幼生期間や成体及び幼生の塩分耐性に顕著な差違があること、生殖隔離があることが報告されている（張・藤尾 1986; Chow et al. 1988; Fidhiany et al. 1989, 1990, 1991）。A タイプは湖沼や河川といった多様な内水面に分布する一方、B タイプは河川だけに分布するという違いも明らかにされている（Chow et al. 1988; 張ら 2018a, b）。さらにミトコンドリア DNA（mtDNA）16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列分析によって奄美大島固有の第 3 のタイプ（C）の存在が明らかになった（張ら 2018b）。これら 3 タイプ間の 16S rDNA 部分配列における平均塩基置換率は 5.5 %から 6.8 %であり（張ら 2018b）、進化速度が遅い領域であることを考慮すればこれら 3 タイプは互いに独立した種と考えられる。18 世紀にシーボルトが採集し、オランダの国立民族学博物館に収蔵されているスジエビ模式標本の 16S rDNA が解析され、A タイプであることが明らかとなった（Chow et al. 2019）。すなわち、A タイプが *P. paucidens* であり、B と C タイプは隠蔽種ということになる。16S rDNA 解析によって B タイプ内にも比較的大きな遺伝的分化を示す 2 グループが検出されており、クレード B-I とクレード B-II と定義されたこれら 2 グループ間の平均塩基置換率は 3.7 %であった（張ら 2018b）。クレード B-I は宮城県以北から日本海側に見られ、クレード B-II は福島県以南に見られるという地理的分布の違いも報告されている（張ら 2018b）。さらに、Katogi et al.（2019）は宮城県で採集したスジエビ標本が 16S rDNA 配列において B-I と一致するとともに、第 2 胸脚前節が腕節より長いという特徴を持ち、腕節のほうが長い A タイプとは異なることなどに基づき、キタノスジエビ（*P. septemtrionalis*）として新種記載した。しかしながら、キタノスジエビ（クレード B-I）とクレード B-II との関係については検討されていない。また、B タイプの遺伝的分化の検討については北海道から屋久島まで本種の分布域を網羅した範囲からの標本を用いているものの、各地域から 1 個体のみの分析にとどまっている（張ら 2018b）。

本研究では B タイプ内の遺伝的分化についての理解を深めることを目的とし、特に B-I と B-II 間の分布境界と想定される宮城県を中心にして標本数を増やし、16S rDNA 配列分析による集団遺伝学的解析を行った結果を報告する。さらにキタノスジエビの形態的特徴について、B タイプの各クレード及び A タイプ標本間の比較を行った結果も併せて報告する。

## 材料と方法

16S rDNA 解析は B タイプのみを対象にし、形態解析については A タイプと B タイプの両者を対象に行った。張ら（2018b）によって調べられた B タイプ標本 49 個体を採

Table 1. Descriptions of local samples of type B *Palaemon paucidens* used in this study.

| Location No. | Prefecture | river | individual code | collection date | n | coordinate (N, E) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Hokkaido | Enbetsu River¶ | ONB1 | 2015/6/27 | 1 | 44.7176, 141.7922 |
| 2 | Hokkaido | Shozanbetsu River¶ | HYB2 | 2015/6/27 | 1 | 44.5301, 141.7689 |
| 3 | Hokkaido | Onne River¶ | HON7 | 2015/6/26 | 1 | 44.1539, 141.6629 |
| 4 | Hokkaido | Nobusha River¶ | HNB4 | 2015/6/26 | 1 | 43.8754, 141.5889 |
| 5 | Hokkaido | Gokibiru River* | HNN5, 6 | 2015/6/26 | 2 | 43.4783, 141.3920 |
| 6 | Aomori | Dedo River¶ | DEK5 | 2016/5/21 | 1 | 41.3610, 141.1977 |
| 7 | Aomori | Kodomari River* | KOD1, 3~5 | 2017/11/4 | 4 | 41.1264, 140.3090 |
| 8 | Aomori | Wakinosawa River¶ | WAK5 | 2017/8/13 | 1 | 40.5858, 139.9196 |
| 9 | Iwate | Kuji River† | KUJ5, 6 | 2018/10/9 | 2 | 40.1931, 141.7594 |
| 10 | Akita | Shibi River* | AMG1~3 | 2017/8/14 | 3 | 39.9846, 139.8728 |
| 11 | Akita | Kamo River¶ | AKR1 | 2017/8/14 | 1 | 39.9633, 139.7840 |
| 12 | Akita | Taki River* | AOT1~5 | 2016/6/29 | 5 | 39.9358, 139.8354 |
| 13 | Akita | Hizume River* | AHR2, 3 | 2017/8/15 | 2 | 39.9055, 139.8612 |
| 14 | Akita | Kimigano River* | KIM1~5 | 2017/11/4 | 5 | 39.5496, 140.0707 |
| 15 | Miyagi | Kitakami River† | Z1~6 | 2019/5/25 | 6 | 38.5404, 141.4174 |
| 16 | Miyagi | Old Kitakami River† | Z8~10, 13, 14 | 2019/5/25 | 6 | 38.4933, 141.2889 |
| 17 | Miyagi | Tani River* | MOT1~3, 5, 8~11, 20~31, Z20, 21 | 2016/4/27, 2019/5/26, 2019/7/26 | 19 | 38.3659, 141.4842 |
| 18 | Miyagi | Yodo River* | MOY1~8, 12, 14~16, 18, L, M, S | 2016/4/27, 2019/7/26 | 16 | 38.3123, 141.4931 |
| 19 | Fukushima | Oota River* | FSO1~4 | 2016/5/29 | 4 | 37.5980, 140.9260 |
| 20 | Fukushima | Kashiro River¶ | FKS7 | 2015/9/19 | 1 | 36.9487, 140.9229 |
| 21 | Fukushima | Same River* | SAM1, 2 | 2016/5/29 | 2 | 36.9287, 140.7385 |
| 22 | Ibaraki | Edokami River¶ | IE5 | 2015/9/19 | 1 | 36.8331, 140.7715 |
| 23 | Ibaraki | Tourenzu River* | IHR5, 6 | 2015/9/20 | 2 | 36.6445, 140.6909 |
| 24 | Chiba | Some River* | SOM1, 2 | 2017/8/10 | 2 | 35.2540, 139.8737 |
| 25 | Chiba | Hota River* | HOT1, 3, 6, 7 | 2017/8/10 | 4 | 35.1373, 139.8428 |
| 26 | Chiba | Fukurogura River* | KIY1~3 | 2017/8/10 | 3 | 35.1205, 140.1486 |
| 27 | Chiba | Choja River* | CH1~3, 11 | 2017/8/10 | 4 | 35.0487, 140.0251 |
| 28 | Chiba | Sunomiya River¶ | SM1 | 2017/9/30 | 1 | 34.9403, 139.8200 |
| 29 | Kanagawa | Morito River¶ | MOR1 | 2015/3/2 | 1 | 35.2824, 139.5790 |
| 30 | Kanagawa | Maeda River* | MAD9, Z44, 46, 47 | 2017/11/1, 2019/8/7 | 4 | 35.2362, 139.6042 |
| 31 | Shizuoka | Karasu River† | Z41,42 | 2019/8/7 | 2 | 35.0110, 139.0804 |
| 32 | Shizuoka | Yatsu River* | YAT1, 3, 4 | 2017/9/24 | 3 | 34.7461, 138.9930 |
| 33 | Shizuoka | Aono River* | IDU1~3 | 2017/10/27 | 3 | 34.6431, 138.8688 |
| 34 | Shizuoka | Nishina River† | NIG1~3 | 2018/1/21 | 3 | 34.7709, 138.7824 |
| 35 | Shizuoka | Kakida River† | KAK1~3 | 2018/1/21 | 3 | 35.0999, 138.9012 |
| 36 | Shizuoka | Abe River* | ABE1~3 | 2017/11/18 | 3 | 34.9589, 138.3652 |
| 37 | Shizuoka | Ooi River* | GIW1, 2, 5~7 | 2017/11/18 | 5 | 34.7693, 138.2856 |
| 38 | Shizuoka | Touzawa River† | X52~54 | 2019/5/4 | 3 | 34.6425, 138.1900 |
| 39 | Ishikawa | Orido River* | ORD1~3 | 2017/10/29 | 3 | 37.5244, 137.2803 |
| 40 | Kyoto | U River¶ | UR1 | 2015/8/20 | 1 | 35.7487, 135.1650 |
| 41 | Hyogo | Sui River† | SUG5 | 2018/8/18 | 1 | 35.6576, 134.7345 |
| 42 | Hyogo | Yasuki River¶ | YAK5 | 2016/5/4 | 1 | 35.6514, 134.7041 |
| 43 | Wakayama | Asaragi River* | MCG1, 2, 7, 8, 24 | 2017/10/8 | 5 | 33.6071, 135.3953 |
| 44 | Tokushima | Hiwasa River† | HIW2 | 2018/7/21 | 1 | 33.7352, 134.5206 |
| 45 | Kochi | Ozaki River† | OZK5~7 | 2018/7/21 | 3 | 33.3697, 134.2046 |
| 46 | Kochi | Moto River¶ | KOM1 | 2017/9/24 | 1 | 33.3004, 134.1284 |
| 47 | Kochi | Higashino River* | HIG1~3 | 2017/9/24 | 3 | 33.3287, 134.1021 |
| 48 | Kochi | Kumomo River* | IM6-8~10 | 2017/11/20 | 3 | 32.8451, 132.9520 |
| 49 | Nagasaki | Sasu River* | TUS5~7 | 2014/9/21 | 3 | 34.2301, 129.2105 |
| 50 | Miyazaki | Ibi River¶ | IB10 | 2017/11/23 | 1 | 31.7096, 131.4516 |
| 51 | Miyazaki | Ohno River* | DNG1, 2, 6, 15 | 2017/9/11 | 4 | 31.4155, 131.3457 |
| 52 | Kagoshima | Kedo River* | KED10, 11 | 2017/11/24 | 2 | 31.2959, 130.2836 |
| 53 | Kagoshima | Mawatari River¶ | BAW20 | 2017/11/8 | 1 | 31.2704, 130.4862 |
| 54 | Kagoshima | Atsumari River* | AT10~13 | 2017/11/24 | 4 | 31.2316, 130.4939 |
| 55 | Kagoshima | Kubota River* | KB10~12 | 2017/11/23 | 3 | 31.2263, 131.0120 |
| 56 | Kagoshima | Ichinotani River* | ITG41, 42, 44 | 2017/8/22 | 3 | 31.1632, 130.9701 |
| 57 | Kagoshima | Shidoko River* | STK5, 6 | 2017/8/3 | 2 | 30.4411, 130.5191 |
| 58 | Kagoshima | Issou River* | ISS1~3 | 2017/8/3 | 3 | 30.4401, 130.4724 |
| 59 | Kagoshima | Shirono River* | SIR1~4 | 2017/8/4 | 4 | 30.4107, 130.5969 |

¶data from previous study (Chow et al. 2018b); *including additional individuals from rivers investigated in the previous studies (Chow et al. 2018a,b); †individuals from new rivers.

集した 49 河川のうち 33 河川についてさらに分析個体（n = 106）を追加するとともに（Table 1, asterisk）、新たに 10 河川で採集した 30 個体を追加した（Table 1, dagger）。DNA 抽出、mtDNA の 16S rDNA 部分領域の PCR 増幅と塩基配列の決定については張ら（2018a, b）と同様である。前報（張ら 2018b）で調べられた B タイプの配列データを加え、MEGA6（Tamura et al. 2013）を用いて塩基配列間の塩基置換率（Kimura's two parameter distance: K2P）の計算及び最尤系統樹の構築を行った。標本間でのハプロタイプ頻度分布の差異の検討にはモンテカルロシミュレーション（1,000 回）による $\chi^2$ test（Roff and Bentzen 1989）を用いた。

形態解析に用いた標本のうち B タイプは全て 16S rDNA 解析を行ったものである。一方、DNA 解析をしていない個体でも湖沼産標本及び過去に A タイプのみが採集されている河川の標本は全て A タイプとした。頭胸部及び取り外した第 2 胸脚を撮影し、画像から甲長（眼窩後縁から頭胸甲後端）（carapace length）、前節長（propodus length）、腕節長（carpus length）を測定した。雌雄は第 2 腹肢の雄性突起の有無によって識別した。甲長（CL）と前節長/腕節長比（PL/CaL）の回帰分析には共分散分析（ANCOVA）を用いた。標本間での CL と PL/CaL の差異は Kruskal-Wallis test を用いて検定した。

## 結果

### 16S rDNA ハプロタイプの系統関係

本研究で新たに分析した B タイプ 134 個体で決定した 16S rDNA 配列長は 415–484 bp であった。そのうち 19 個体で新規ハプロタイプが 19 種検出され DNA Data Bank of Japan (DDBJ)/GenBank データベースに登録した（LC500021–LC500039）。張ら（2018b）が 49 個体の B タイプ標本で検出した 18 ハプロタイプ（JB1 から JB18）も加え、総数 37 種のハプロタイプ間の最適塩基置換モデル（T92+G）を用いて構築した最尤系統樹を Fig. 1 に示した。尚、Katogi et al.（2019）が報告したキタノスジエビの 2 配列（LC425607, LC425608）も加えた。張ら（2018b）は B タイプがクレード B-I と B-II に大きく分けられることを示したが、今回新たに検出したハプロタイプを加えても同様に 2 クレードに分かれ、張ら（2018b）に従ってクレード B-I 及び B-II と定義した。Katogi et al.（2019）によって提唱されたキタノスジエビ（*P. septemtrionalis*）は明らかにクレード B-I に属したことから、本研究ではキタノスジエビをクレード B-I と定義する。クレード B-I 内のハプロタイプ間の平均塩基置換率（K2P ± S.E.）は 0.5 ± 0.1 %、クレード B-II 内のハプロタイプ間の平均塩基置換率は 0.8 ± 0.2 %、クレード B-I と B-II のハプロタイプ間の平均塩基置換率は 3.9 ± 0.8 %であった。これらの値は、張ら（2018b）の報告とほぼ一致する。

### クレード内地域間のハプロタイプ頻度比較

各地域標本におけるハプロタイプ頻度を Table 2 に示した。ここでは新たに検出されたハプロタイプ JB1.2 から JB1.7 を JB1 に統合、JB5.5 を JB5 に統合、JB9.5 を JB9 に統合、JB11.3 から JB11.8 を JB11 に統合、JB14.5 を JB14 に統合、JB18.2 から JB18.5 を JB18 に統合して表示した（詳細データは電子付録 http://aquaanimal.net/cgi-bin/appendix/Btypehaplotypes.xlsx を参照）。

系統樹で見られるクレードは、標本由来河川

の地理的配置と非常によく符号する（Fig. 2）。クレード B-I に属する JB1 から JB8 ハプロタイプ（Fig. 2, yellow circle）は宮城県の淀川（location No. 18）以北の東北地方、北海道から兵庫県日本海側の安木川（No. 42）まで見られた。クレード B-II のうち JB9 は日本海側の

Table 2. 16S rDNA haplotype frequency of 59 river samples of type B *Palaemon paucidens*.

| No. | river | total | number of haplotypes (JB) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| 1 | Enbetsu River | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | Shozanbetsu River | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Onne River | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Nobusha River | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Gokibiru River | 2 | | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | |
| 6 | Dedo River | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | Kodomari River | 4 | 2 | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | |
| 8 | Wakinosawa River | 1 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | Kuji River | 2 | | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | |
| 10 | Shibi River | 3 | 1 | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | Kamo River | 1 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | Taki River | 5 | 2 | | | | 2 | | | 1 | | | | | | | | | | |
| 13 | Hizume River | 2 | 1 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | Kimigano River | 5 | | | | | 3 | | | 2 | | | | | | | | | | |
| 15 | Kitakami River | 6 | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | |
| 16 | Old Kitakami River | 6 | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | |
| 17 | Tani River | 19 | 14 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 18 | Yodo River | 16 | 4 | 4 | | | | | | | | | 8 | | | | | | | |
| 19 | Oota River | 4 | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | |
| 20 | Kashiro River | 1 | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | |
| 21 | Same River | 2 | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | |
| 22 | Edokami River | 1 | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | |
| 23 | Tourenzu River | 2 | | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | |
| 24 | Some River | 2 | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | |
| 25 | Hota River | 4 | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | |
| 26 | Fukurogura River | 3 | | | | | | | | | | | 3 | | | | | | | |
| 27 | Choja River | 4 | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | |
| 28 | Sunomiya River | 1 | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | |
| 29 | Morito River | 1 | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | |
| 30 | Maeda River | 4 | | | | | | | | | | | 3 | | 1 | | | | | |
| 31 | Karasu River | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| 32 | Yatsu River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | 2 |
| 33 | Aono River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | 2 |
| 34 | Nishina River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 35 | Kakida River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 36 | Abe River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 37 | Ooi River | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | 3 |
| 38 | Touzawa River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 2 |
| 39 | Orido River | 3 | 2 | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | |
| 40 | U River | 1 | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | |
| 41 | Sui River | 1 | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | |
| 42 | Yasuki River | 1 | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | |
| 43 | Asaragi River | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | 1 | 1 |
| 44 | Hiwasa River | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| 45 | Ozaki River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | 2 |
| 46 | Moto River | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| 47 | Higashino River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 48 | Kumomo River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 49 | Sasu River | 3 | | | | | | | | | 3 | | | | | | | | | |
| 50 | Ibi River | 1 | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | |
| 51 | Ohno River | 4 | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | |
| 52 | Kedo River | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| 53 | Mawatari River | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| 54 | Atsumari River | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | | 1 |
| 55 | Kubota River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 56 | Ichinotani River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 57 | Shidoko River | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| 58 | Issou River | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| 59 | Shirono River | 4 | | | | | | | | | | | | | | 3 | | | | 1 |

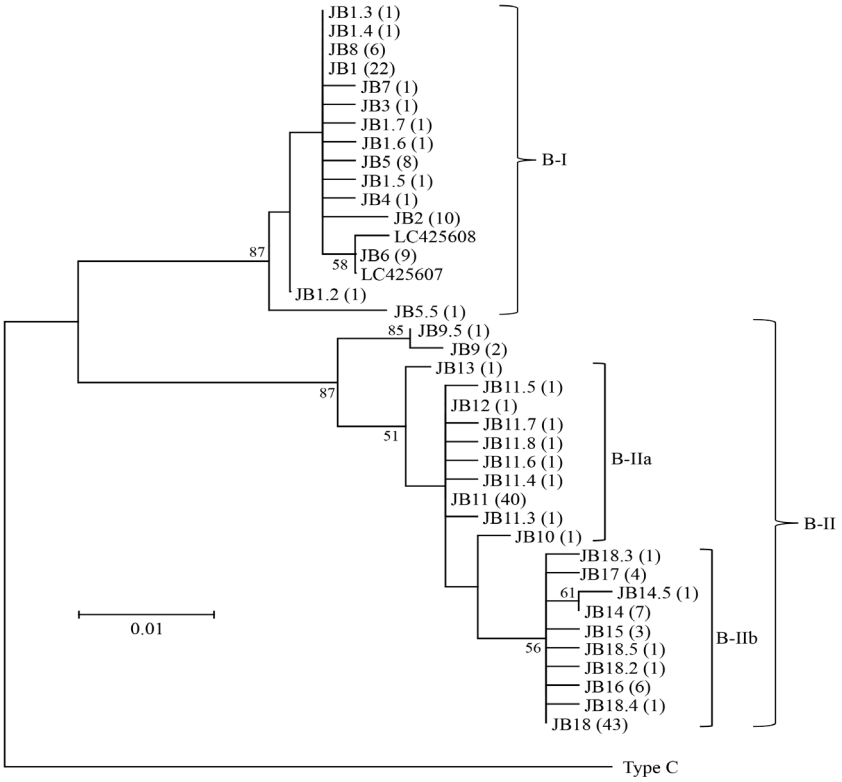


Fig. 1. A maximum-likelihood (ML) tree of mtDNA 16S rDNA sequences of 37 haplotypes detected in type B *Palaemon paucidens*. Number of individuals is shown in the parenthesis. Values on branches indicate bootstrap probability with 500 replications. Two sequences of *Palaemon septemtrionalis* n. sp. (LC425607 and LC425608) are incorporated. Type C sequence of *P. paucidens* was used as a root.

長崎県対馬（No. 49）（Fig. 2, gray circle）、JB10 から JB13 は太平洋側の宮城県北上川（No. 15）以南、神奈川県前田川（No. 30）まで（Fig. 2, blue circle）、そして相模湾を挟んで JB14 から JB18 は静岡県烏川（No. 31）以西（以南）、鹿児島県屋久島（No. 57-59）まで見られた（Fig. 2, red circle）。異なるクレードに属するハプロタイプが同一河川で採集された場所は宮城県牡鹿半島南西岸の淀川（No. 18）だけであり、ここでは JB1 と JB2 が各 4 個体、JB11 が 8 個体検出された。対照的に淀川から海岸線沿いに約 20km 離れた牡鹿半島北東岸の谷川（No. 17）で採集された 19 個体は全て B-I（JB1 が 14 個体、JB2 が 5 個体）であった。さらに、谷川より北へ約 70km 海岸線沿いに離れた北上川（No. 15）及び淀川から海岸線沿いに約 40 km 西の旧北上川（No. 16）ではそれぞれ B-IIa（JB11 が 6 個体）だけが採取された。

張ら（2018b）がクレード B-II 内で定義したサブクレード B-IIa と B-IIb には、本研究で類別した JB10 から JB13（Fig. 2, blue circle）と JB14 から JB18（Fig. 2, red circle）のハプロタイプがそれぞれ属する（Fig. 1）。B-IIa と B-IIb 間の平均塩基置換率は 1.0 ± 0.3 %であり、前報（張ら 2018b）での値とほぼ等しい。

各クレード及びサブクレード内でハプロタイプ頻度の地域差を検討した。採集河川の地理的配置に基づいてクレード B-I の 20 河川標本を 3 グループ、サブクレード B-IIa の 15 河川標本を 2 グループ、サブクレード B-IIb の

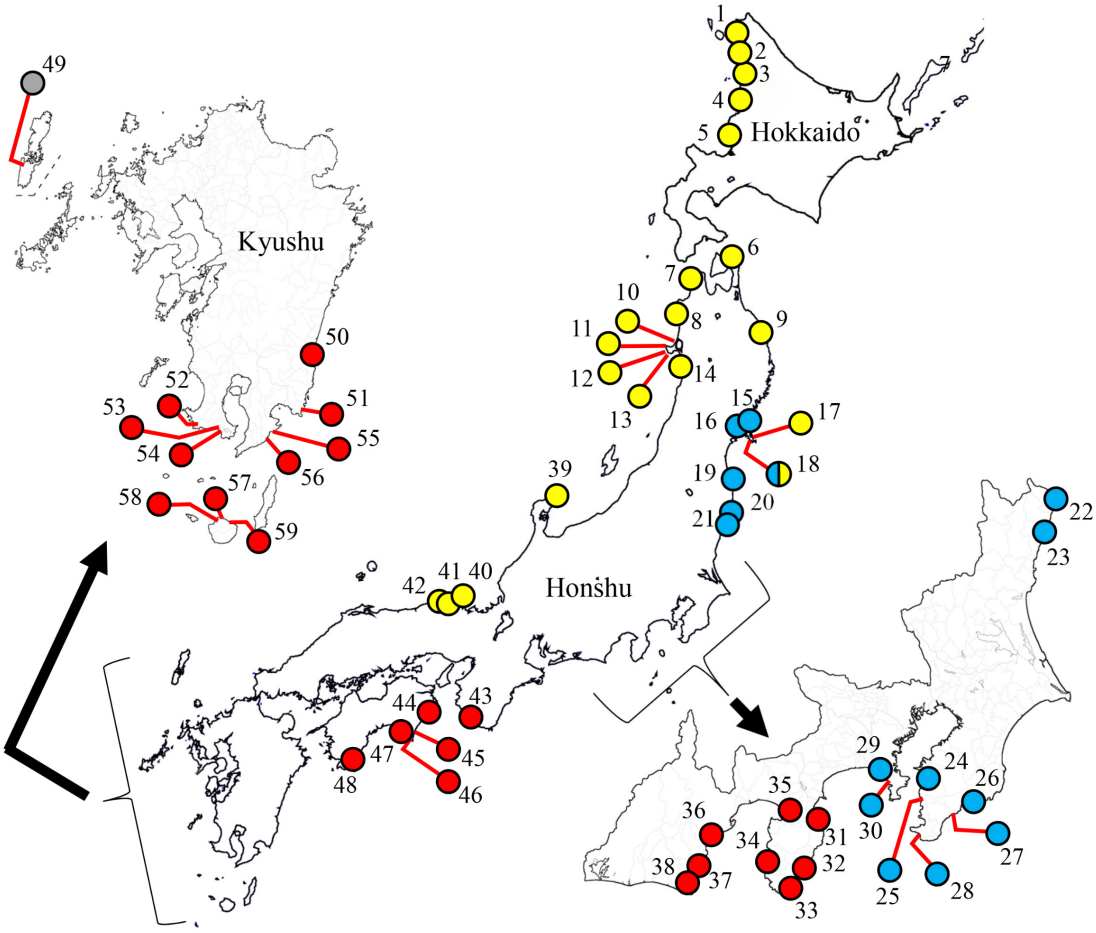


Fig. 2. Map showing collection localities of type B *Palaemon paucidens*, in which clade B-I, B-IIa, and B-IIb are represented by yellow, blue and red circles, respectively. See Table 1 for location numbers. Affiliation of No. 49 sample (grey circle) collected in Tsushima Island, Nagasaki Prefecture, is not determined.

Table 3. 16S rDNA haplotype frequencies of groups arranged by regions and clades.

| clade | group | n | number of individuals in each haplotype (JB) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| B-I | Hokkaido-Iwate[1] | 14 | 3 | | | 1 | 1 | 9 | | | | | | | | | | | | |
| | Sea of Japan[2] | 22 | 6 | | 1 | | 8 | | 1 | 6 | | | | | | | | | | |
| | Miyagi B-I | 27 | 18 | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B-IIa | Miyagi B-II | 20 | | | | | | | | | | | 20 | | | | | | | |
| | Fukushima-Kanagawa[3] | 29 | | | | | | | | | | 1 | 26 | 1 | 1 | | | | | |
| B-IIb | Shizuoka | 25 | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | 3 | 20 |
| | Wakayama-Kochi[4] | 16 | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 3 | 1 | 11 |
| | Kyushu[5] | 27 | | | | | | | | | | | | | | 8 | | 3 | | 16 |
| | Tsushima[6] | 3 | | | | | | | | | 3 | | | | | | | | | |

[1]Hokkaido, Aomori and Iwate; [2]Akita, Ishikawa, Kyoto and Hyogo; [3]Fukushima, Ibaraki, Chiba and Kanagawa; [4]Wakayama, Tokushima and Kochi; [5]Miyazaki and Kagoshima; [6]not included for $\chi^2$ test.

15 河川標本を 2 グループ、サブクレード B-IIb の 24 河川標本を 3 グループに統合して、ハプロタイプ頻度分布を検定した（Table 3）。標本サイズが小さく地理的にも離れている No. 49 の長崎県対馬標本は地域的な分化の検討には含めなかった。クレード B-I の 3 グループは、北海道+青森県+岩手県（Hokkaido-Iwate）、日本海側の秋田県+石川県+京都府+兵庫県（Sea of Japan）、そして宮城県の B-I（Miyagi B-I）である。サブクレード B-IIa の 2 グループは、宮城県の B-II（Miyagi B-II）と福島県+茨城県+千葉県+神奈川県（Fukushima-Kanagawa）である。サブクレード B-IIb の 3 グループは、静岡県（Shizuoka）、和歌山県+徳島県+高知県（Wakayama-Kochi）、そして宮崎県+鹿児島県（Kyushu）である。$\chi^2$ 検定の結果、クレード B-I 及びサブクレード B-IIb 内でのグループ間のハプロタイプ頻度分布はかなり異質であることが示されたが（$p < 0.001$）、サブクレード B-IIa の 2 グループ間には有意差がなかった（$p = 0.794$）。

### 第 2 胸脚の前節と腕節の比

測定に用いた個体の詳細データは電子付録（http://aquaanimal.net/cgi-bin/appendix/Pauci-densMorphology.xlsx）に示した。B タイプは 109 個体（甲長 4.0～19.0 mm、うち B-I が 45 個体、B-II が 64 個体）、A タイプは 108 個体（甲長 3.6～19.1 mm）である。雌雄比は B-I で 21:24、B-II で 44:20、A タイプで 65:43 であった。雌雄ごとで各グループ間の CL 分布には有意差がなかった（Kruskal-Wallis test, $p > 0.15$）。CL に対する PL/CaL についての雌雄差について検討するために A タイプ、クレード B-I、クレード B-II それぞれでの甲長（CL）に対する前節長（PL）と腕節長（CaL）の比（PL/CaL）を Fig. 3 に示した。いずれのグループでも CL と PL/CaL には明瞭な正の直線回帰が見られ、共分散分析の結果、全てのグループにおいて雌雄間で切片には有意差が見られた（$p < 0.001$）。傾きについては A タイプとクレード B-II において雌雄間で有意差が見られた（$p < 0.01$）。雌雄別での CL に対する PL/CaL の分布を Fig. 4 に示した。切片については雌雄ともに全グループ間で有意差が見られた（$p < 0.001$）。一方、傾きにおける有意差は雄のクレード B-I と B-II 間のみで見られた（$p = 0.008$）。いずれのグループでも小型個体では PL/CaL が 1 に満たない、すなわち腕節より前節のほうが短い個体が普通に見られた（Figs. 3, 4）。A タイプは B タイプに比べて PL/CaL が 1 を超える個体が明らかに少ないが大型個体では PL/CaL が 1 を超えるものも見られた（Figs. 3, 4）。PL/CaL の中央値についてはクレード B-I とクレード B-II 間には雌雄ともに有意差が見られなかった（Kruskal-Wallis test, $p > 0.5$）。一方、A タイプ雄の PL/CaL の中央値はクレード B-I と B-II より有意に小さく（$p < 0.001$）、A タイプ雌の PL/CaL の中央値はクレード B-I より有意に小さかった（$p = 0.011$）。

## 考察

B タイプは河川のみに分布し両側回遊性であることから地域集団間で遺伝的分化が起りにくいと考えられていたが（Chow et al. 1988）、地理的にかなり離れた集団間ではある程度分化していることが報告されている（池田ら 1993）。本研究では明瞭に異なるクレードが地理的に異なるブロックに配置していること、各クレード内でも地域集団間に分化が生じていることが把握できた。遺伝的に大きく分化した B-I と B-II クレードの分布

は、それぞれ対馬暖流＋津軽暖流＋宗谷暖流系と黒潮系に沿った地理的ブロックと対応している。B-I クレード内では日本海側河川、北海道＋北東北、宮城県という地理的ブロック間でハプロタイプ頻度が有意に異なることから、地域的にさらに細かく分化しているものと考えられる。また、B-II クレードは宮城県から神奈川県のサブクレード（B-IIa）と静岡県以南のサブクレード（B-IIb）に分化し、さらに B-IIb 内でも地域的な分化が見られている。

ここで、張ら（2018b）が見出し本研究で

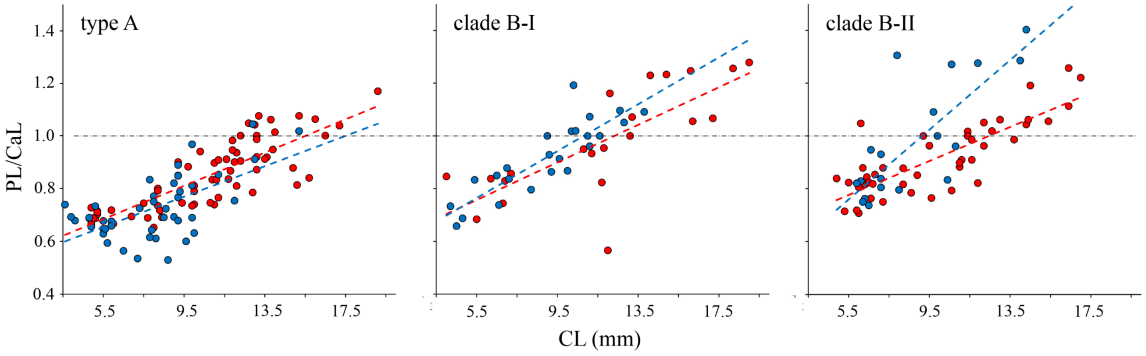


Fig. 3. Ratio of propodus length to carpus length (PL/CaL) plotted against carapace length (CL) of male (blue circle) and female (red circle) in type A (left), clade B-I (middle), and clade B-II (right). Blue and red dotted lines are regression lines for male and female, respectively. Horizontal dash dotted line represents PL/CaL of 1.

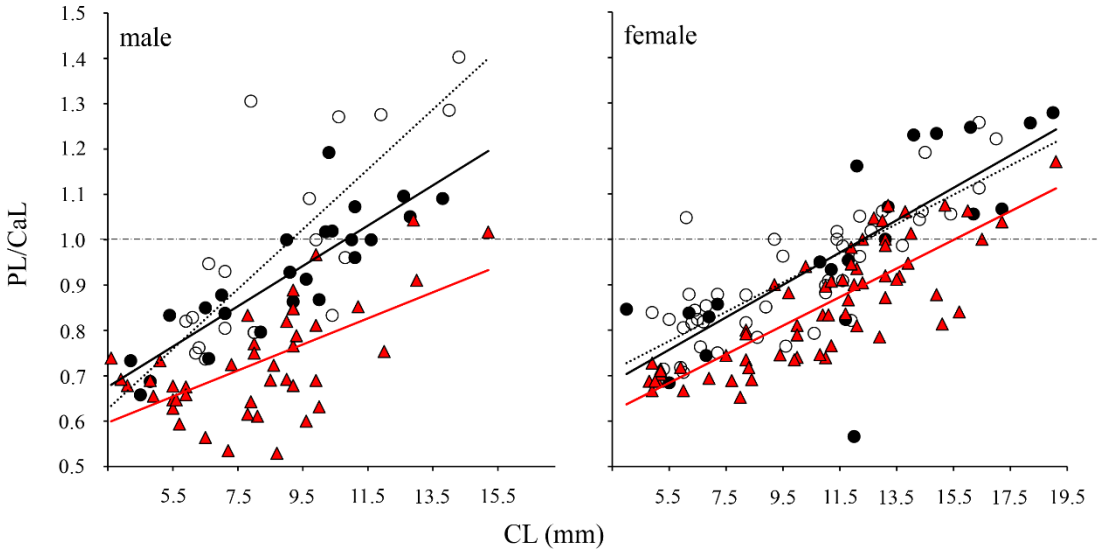


Fig. 4. Ratio of propodus length to carpus length (PL/CaL) plotted against carapace length (CL) in male (left) and female (right). Open and closed circles indicate clades B-I and B-II, respectively, and red triangles indicate type A. Black solid, dotted, and red solid lines are regression lines for B-I, B-II, and type A, respectively. Horizontal dash dotted line represents PL/CaL of 1.

さらに裏付けられたこれらのクレードおよびサブクレード間の境界について考察する。北上川は仙台湾に注ぐ河川であるが昭和初期に宮城県北部太平洋側の追波湾への運河開口が完成し、本来の北上川は旧北上川、追波湾に開口したほうが北上川とされた。北上川（No. 15）及び旧北上川（No. 16）標本は両方とも B-IIa であるが、宮城県北部太平洋岸に新たな河口ができたにも関わらず旧北上川から北上川に侵入してきた B-IIa の分布範囲は広がっていないようである。牡鹿半島南西岸に注ぐ淀川（No. 18）では B-I と B-IIa が混在していた一方、北東岸の谷川（No. 17）では B-I しか見られなかったことは、牡鹿半島の沿岸に沿って B-IIa が北上していないことを示す。逆に、淀川から約 40 km 西にある旧北上川およびこれより南の標本には B-I が全く見られなかったことは B-I が南西方面への分布範囲をまだ広げていないことを示唆する。牡鹿半島は宮城県北部で南東に突出した形状をしており、親潮及び津軽海峡を抜けて南下してくる対馬暖流と北上してくる黒潮の効果的な地理的障壁の役割を果たしていると考えられる。スジエビと同じ両側回遊性のアユ（*Plecglossus altivelis*）を対象にマイクロサテライト DNA 分析を行った結果でも太平洋岸では牡鹿半島を境として南北に分化していることが示されている（Takeshima et al. 2016）。岩礁域潮間帯の貝類調査では牡鹿半島が北方種と南方種の混在域であることが報告されている（木島ら 2004）。また、牡鹿半島岩礁域の海藻組成は仙台湾以南よりも三陸沿岸（すなわち北方系）のものに類似していることが示されている（Ogawa and Machida 1977）。一方、遡河性のシロウオ（*Leuco-psarion petersii*）でも日本海+太平洋側東北以北と太平洋側東北以南に大きく分かれる点でスジエビと似るが、牡鹿半島はその境界にはなっておらず仙台湾付近が南北集団の遷移域になっている（Kokita and Nohara 2011）。若干の違いは認められるものの、これらのことは、スジエビにおいて牡鹿半島北岸の谷川で B-I のみが、南岸の淀川で B-I と B-IIa の両方が見られた本研究結果と類似し、牡鹿半島における B-I と B-IIa の分布が海流系に影響されていることと、幼生期での海域を通じた分散範囲が狭いことを示す。

神奈川県三浦半島西岸の森戸川（No. 29）と前田川（No. 30）標本は B-IIa であった一方、相模湾を境界として静岡県伊豆半島東北端の烏川（No. 31）から南の標本は全て B-IIb であった。相模湾に注ぐ河川の定性的な調査では相模川以東に比べ相模湾岸のほぼ中央部にある金目川より西側ではスジエビが確認された河川は少なく（神奈川県環境科学センター2014; 丸山 2018）、相模湾岸中部から西部にかけて最近行った金目川、酒匂川、早川、新崎川、千歳川での調査でもスジエビが確認できなかった（張未発表データ）。また、相模湾東部の河川である境川のスジエビは A タイプであった（張ら 2018a, b）。そのため、相模湾に注ぐ神奈川県の河川特に西よりの河川には元々スジエビの分布が少なく、特に B タイプが分布しない可能性があり、相模湾を境として隔離が働いていることを示唆する。一方で、上述のアユやシロウオでは相模湾が集団分化に何らかの影響を及ぼしている痕跡は一切見られず、スジエビとは本質的な違いがある。相模湾には大小様々な河川が流れ込んでいるにも関わらず、B タイプスジエビの分布が極めて少ないのであれば、スジエビ浮遊幼生期における河口間の移動を妨げるよう

な何らかの障壁があること、そして前述したように幼生期での分散範囲が狭いことを示す。以上のように宮城県と神奈川県―静岡県において、それぞれ B-I クレードと B-IIa サブクレード及び B-IIa と B-IIb サブクレードが地理的に狭い範囲で対峙していた現象を挙げたが、各クレード内でもさらに地理的に細かいレベルで地域分化が見られることは、両側回遊性というイメージから想定されるよりもスジエビの分散ポテンシャルは低いことを示唆する。Fidhiany et al.（1991）は海水、希釈海水（1/3 海水）及び淡水中で A と B タイプのふ化幼生を飼育した結果、いずれの飼育区においても B タイプの生残率が低いことを報告している。B タイプの浮遊幼生期間は 14 日から 37 日間で、A タイプ（7 日から 25 日間）よりも平均的に長いことが観察されているが（Fidhiany et al. 1989）、B タイプ幼生の塩分耐性の低さが海域を介した幼生期での分散を制限している可能性が高い。

No. 49 の長崎県対馬標本のハプロタイプは他の地域では見られない JB9 であり、B-II クレードに属するものの系統樹ではやや特異的な位置にあった。そのため、B-IIa や B-IIb とは異なった分化過程を経た、あるいは由来が異なっている可能性があり、今後、九州北部や中国地方日本海側あるいは朝鮮半島の標本を分析する必要がある。とはいえ、B-I クレード内、B-IIa と B-IIb サブクレード内で観察された地域集団間の分化については、幼生期での分散ポテンシャルの低さおよび海流、河口間の距離や地勢的障壁といった物理的要因で説明できる。一方、クレード間およびサブクレード間の遺伝的分化と地理的分布の違いはこれらの物理的要因だけでは説明できない。百万年当たり 0.83 %と想定されているスジエビ属での 16S rDNA の進化速度（Carvalho et al. 2014）を採用するならば、クレード B-I と B-II 間の塩基置換率（3.9 %）は約 230 万年前にこれらクレードの共通祖先から B-I と B-II が分岐したことを示し、サブクレード B-IIa と B-IIb 間の塩基置換率（1 %）は約 60 万年前にこれらサブクレードの共通祖先から B-IIa と B-IIb が分岐したことを示す。B-I と B-II クレード間及び B-IIa と B-IIb サブクレード間には共通するハプロタイプが無い。このことは、異なるクレードの個体が移住に成功してこなかった、あるいは少なくとも侵入すらしてこなかったことを意味する。しかし、各地理的ブロックの境界域において 60 万年超という期間にわたってそのような分断が維持されてきたということはありそうにない。おそらく、過去の各クレード・サブクレードの分布範囲は現在みられるものよりも狭く、分布範囲を広げてきた結果、現在のような接触域を持って対峙しているものと想像されるが、これらのクレードの起源及び分布拡大・縮小の軌跡を検討するためには進化速度の速い領域を用いる必要があり今後の課題である。宮城県牡鹿半島の B-I と B-IIa が混在していた河川はおそらく 2 次的接触域であり、各クレード内地域間の分化レベルを考慮するとその接触はおそらく数万年以下といったごく近年の出来事であろう。また、相模湾は B-IIa と B-IIb の 2 次的接触を阻害するうえで機能しているものと考えられるが、両サブクレードの個体が混在する河川が今後出現する可能性はあるだろう。

新種記載されたキタノスジエビ（*P. septemtrionalis*）の形態的特徴のひとつとして、

Katogi et al.（2019）は PL/CaL が 1 より大きいことを挙げている。本研究ではこの形質においてAとBタイプ間で統計的に大きな差異があることが示されたものの、この特徴はサイズ依存の形質であり、B-I すなわちキタノスジエビでも小型のものは PL/CaL が 1 未満のものが多いこと、A タイプでも大型になると PL/CaL が 1 より大きい個体がいることが明らかになった。Katogi et al.（2019）が分析したキタノスジエビ 20 個体は全て甲長 10 mm 以上の中～大型個体である。一方、比較対象とした A タイプ 32 個体のうち 13 個体は甲長 10 mm 未満の中～小型個体で、甲長 15 mm を超える大型個体が少ない。すなわち、分析標本のサイズが偏っていたことが本形質を種特異的な特徴とした原因であろう。PL/CaL はキタノスジエビという種を完全に判別できる形質とは言えないが、PL/CaL が 1 より大きい個体がスジエビ（A タイプ）よりも顕著に多いことから本種の形態的特徴であることは間違いない。しかし、クレード B-I と B-II 間では本形質において顕著な差異が見られず、種間の形態的特徴としては不十分である。Fidhiany et al.（1990）は A と B タイプ間および、各タイプ内での地域間で交配実験を行っている。使用された B タイプ標本は岩手県釜石市を流れる甲子川及び宮城県の鳴瀬川と広瀬川で採集されたものであり、甲子川が B-I、宮城県の 2 河川は B-IIa と考えられる。実験結果は A と B タイプ間の生殖隔離を明瞭に示している一方、B タイプ内河川間でも産卵脱皮した雌に反応しない、反応しても交尾しない、交尾しても胚発生しない、といったケースが少ないながら観察されている。ただし、どの河川間の組み合わせかが明示されておらず、また B-IIb は用いられていない。以上のことより、クレード間、サブクレード間の生殖隔離を検討するための交配実験や核遺伝子分析が今後の課題であろう。

## 謝辞

九州大学農学研究院望岡典隆博士、水産研究・教育機構丹羽健太郎博士にはサンプル収集においてご協力いただいた。東海大学海洋学部澤本彰三博士には形態観察でのご協力をいただいた。中央水産研究所林順子氏には DNA 抽出作業および標本整理に協力いただいた。以上の方々に深謝いたします。

## 引用文献

Carvalho, F. L., Magalhães, C., Mantelatto, F. L. (2014). Molecular and morphological differentiation between two Miocene-divergent lineages of Amazonian shrimps, with the description of a new species (Decapoda, Palaemonidae, *Palaemon*). Zookeys 457: 79–108.

Chow, S., Fujio, Y. (1985). Biochemical evidence of two types in the freshwater shrimp *Palaemon paucidens* inhabiting the same water system. Nippon Suisan Gakkaishi 51: 1451–1460.

張 成年・藤尾芳久 (1986). スジエビ（*Palaemon paucidens*）地域集団間における幼期発生と成長の差異. 水産育種 11: 29–33.

Chow, S., Nomura, T., Fujio, Y. (1988). Reproductive isolation and distinct population structures in the freshwater shrimp *Palaemon paucidens*. Evolution 42: 804–813.

張 成年・今井 正・池田 実・槇 宗市郎・大貫貴清・武藤文人・野原健司・古澤千春・七里浩志・渾川直子・浦垣直子・川村顕子・市川竜也・潮田健太郎・樋口正仁・手賀太郎・児玉晃治・伊藤雅浩・市村政樹・松崎浩二・平澤 桂・戸倉渓太・中畑勝見・児玉紗希江・箱山 洋・矢田 崇・丹羽健太郎・長井 敏・柳本 卓・斎藤和敬・中屋光裕・丸山智朗 (2018a). スジエビ *Palaemon paucidens* の 2 タイプを判別するための DNA マーカーおよび日本における 2 タイプの分布. 日本水産学会誌 84: 674–681.

張 成年・柳本 卓・丸山智朗・池田 実・松谷紀明・大貫貴清・今井 正 (2018b). スジエビ *Palaemon paucidens* の遺伝的分化. 日本生物地理学会報 73: 1–16.

Chow, S., Yanagimoto, T., Konishi, K., Fransen, C. H. J. (2019). On the type specimen of the common freshwater shrimp *Palaemon paucidens* De Haan, 1844 collected by Von Siebold and deposited in Naturalis Biodiversity Center. Aquat. Anim. 2019: AA2019-7.

張 成年 (2019). 水生動物の四方山話. デザインエッグ（株）.

Fidhiany, L., Kijima, A., Fujio, Y. (1988). Genetic divergence between two types in *Palaemon paucidens*. Tohoku J. Agricult. Res. 39: 39–45.

Fidhiany, L., Kijima, A., Fujio, Y. (1989). Trait differences among localities in *Palaemon paucidens*. Tohoku J. Agricult. Res. 40: 9–18.

Fidhiany, L., Kijima, A., Fujio, Y. (1990). Premating and postmating isolation among local populations of freshwater shrimp *Palaemon paucidens* in Japan. Nippon Suisan Gakkaishi 56: 1407–1411.

Fidhiany, L., Kijima, A., Fujio, Y. (1991). Adult salinity tolerance and larval salinity requirement of the freshwater shrimp *Palaemon paucidens* in Japan. Tohoku J. Agricult. Res. 42: 17–24.

池田 実・木島明博・藤尾芳久 (1993). スジエビBタイプにおける地域集団の遺伝的分化. 水産育種 19: 21–27.

神奈川県環境科学センター (2014). 神奈川県内河川の底生動物–II.. 平塚.

Katogi, Y., Chiba, S., Yokoyama, K., Hatakeyama, M., Shirai, S., Komai, T. (2019). A new freshwater shrimp species of the genus *Palaemon* Weber, 1795 (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) from northeastern Japan. Zootaxa 4576: 239–256.

木島明博・荒井永平・前 雄介 (2004). 牡鹿半島沿岸岩礁域潮間帯における貝類. 複合生態フィールド教育センター報告 20: 15–19.

Kokita, T., Nohara, K. (2011). Phylogeography and historical demography of the anadromous fish *Leucopsarion petersii* in relation to geological history and oceanography around the Japanese Archipelago. Mol. Ecol. 20: 143–164.

丸山智朗 (2018). 相模湾および周辺海域流入河川において 2016 年 8 月以降に採集された熱帯性コエビ類 5 種の記録. 神奈川自然誌資料 39: 31–38.

Ogawa, H., Machida, M. (1977). Marine algae of the Oshika Peninsula II. Rhodophyceae. Tohoku J. Agricult. Res. 28: 151–165.

Roff, D. A., Bentzen, P. (1989). The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: $X^2$ and the problem of small sample. Mol. Biol. Evol. 6: 539–545.

Takeshima, H., Iguchi, K., Hashiguchi, Y., Nishida,M. (2016). Using dense locality sampling resolves the subtle genetic population structure of the dispersive fish species *Plecoglossus altivelis*. Mol. Ecol. 25: 3048–3064.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30: 2725–2729.

Received: 13 October 2019 | Accepted: 26 November 2019 | Published: 1 December 2019