

本州初記録のナンヨウテナガエビ（甲殻亜門：十脚目：テナガエビ科）
の報告First record of *Macrobrachium ustulatum* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)
from Honshu, Japan皆川優作¹・福家悠介^{2*}
Yusaku Minagawa¹, Yusuke Fuke^{2*}¹株式会社三菱ケミカルリサーチ, 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000²国立遺伝学研究所, 生態遺伝学研究室, 静岡県三島市谷田1111¹Mitsubishi Chemical Research Corporation, 1000 Kamoshida, Aoba, Yokohama, Kanagawa 227-0033, Japan. ²Ecological Genetics Laboratory, National Institute of Genetics, 1111 Yata, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan.

*Corresponding author, e-mail: yfa73986@gmail.com

Abstract

The freshwater prawn *Macrobrachium ustulatum* (Nobili, 1899) is distributed throughout the western Pacific Ocean and was first identified in Japan in 2015 on Okinawa Island, Ryukyu Islands. Knowledge of its distribution and habitat is lacking due to difficulties in distinguishing it from a morphologically similar sister species, *Macrobrachium australe* (Guérin-Méneville, 1838). Here we report an adult male specimen of this species collected from the Kawazu-Yatsu River, Izu Peninsula, Japan. This specimen was morphologically intermediate between the two sister species but was consistent with *M. ustulatum* based on mitochondrial DNA 16S rRNA and nuclear DNA 28S rRNA sequences. This is not only the northernmost record of *M. ustulatum*, but also the second record from Japan based on a single male specimen, and the first from Honshu.

Key words: DNA barcoding; first record; *Macrobrachium*

緒言

ナンヨウテナガエビ *Macrobrachium ustulatum* (Nobili, 1899) は西部太平洋に分布する淡水性の甲殻類である。本種は形態的に類似した近縁種であるザラテテナガエビ *Macrobrachium australe* (Guérin-Méneville, 1838) と歴史的に混同されており、2017年に有効種として再記載されるまで長らくザラテテナガエビのシノニムとして扱われてきた (Castelin et al. 2017)。本種の再記載を行った Castelin et al. (2017) は塩基配列情報と6つの判別形質を提供したものの、両種を区別した研究は依然として少なく、その分布や生息環境に関する知見は不足している。日本では2015年に琉球列島の沖縄島において本種の成体雌1個体が確認され、これが本種の日本初記録および北限

記録となっている (Fuke and Imai 2018)。今回、伊豆半島の河津谷津川から本種の成体雄個体が得られたため、これを報告する。本記録はナンヨウテナガエビの北限記録であると同時に、標本に基づく日本からの2例目の記録であり、また本州における初記録である。

材料および方法

サンプリング

2023年11月25日に静岡県賀茂郡河津町河津川水系河津谷津川の下流で採集を実施した (Fig. 1)。採集地点より上流側では、複数箇所から安定的に温泉が流入しており、水温は冬季でも20℃前後と高い (今井ら 2008)。調査日のデータはないが、2023年10月28日14時30

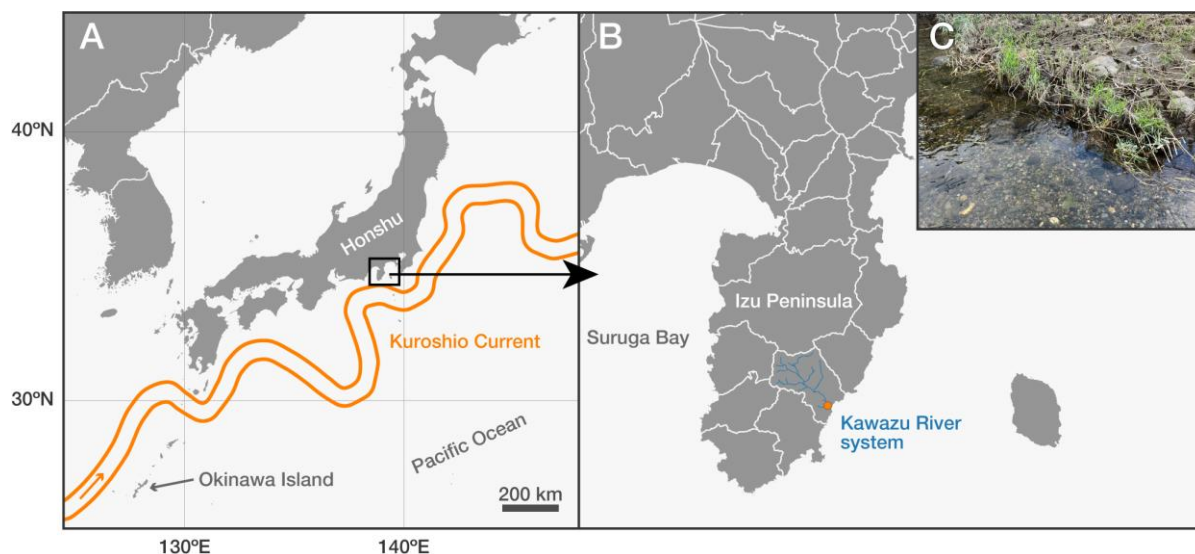


Fig. 1. Map of the sampling site. (A) Detailed map including the route of the Kuroshio Current. (B) Enlarged map around the Izu Peninsula. (C) Habitat of *Macrobrachium ustulatum* in the Kawazu-Yatsu River. The route of the Kuroshio Current is an estimated chart for January 3, 2023, obtained from the website of the Hydrographic and Oceanographic Department, Japan Coast Guard (<https://www1.kaiho.mlit.go.jp/>).

分に測定した際は 26.2 °C であった。採集には口径 40 cm、目合い 3 mm のタモ網を用いた。得られた標本は生かしたまま保管し、同年 12 月 2 日に標本撮影後 70 %エタノールで固定した。標本は神奈川県立 生命の星・地球博物館 (KPM) に登録した。標本写真は淡水生物の総合データベースである ffish.asia に登録した (<https://ffish.asia/?page=specimen&pid=57655>)。同定のために、形態形質の検討と DNA バーコーディングを行った (下記参照)。

形態形質の検討

ナンヨウテナガエビはザラテナガエビの姉妹種であり、形態的に類似している (Castelin et al. 2017)。本研究では、両種を再記載した Castelin et al. (2017) が提示した 6 つの判別形質、すなわち成体雄個体の第 2 胸脚における大鉗脚と小鉗脚長の比率、大鉗脚の各節の比率、小鉗脚の各節の比率、小鉗脚の絨毛の分布、口蓋葉 (Epistome lobes) の形態、第 4 胸節 (Fourth thoracic sternite) の形態を検討した (Castelin et al. 2017 の Table 3 を参照)。計測はデジタルノギス (ミットヨ CD67-S20PM) を用いて行った。

DNA 解析

DNA 抽出は片側の第 5 腹肢から Monarch Genomic DNA Purification Kit (New England Biolabs) を用いて行った。本研究ではミトコンドリア DNA の 16S rRNA と核 DNA の 28S rRNA の部分配列を決定した。16S rRNA の PCR 増幅にはプライマーセット 16S-F1 (5'-GTACCTTTTGTATCAGGG-3') と 16S-R1 (5'-CGGTYTGAACTCAAATCATG-3') (Fuke and Maruyama 2023) を、28S rRNA にはプライマーセット 28S-C1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCA T-3') と 28S-D2 (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') (Hassouna et al. 1984) を用いた。PCR は 12.5 μL 系で行い、反応液の構成は以下の通りとした: PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (TaKaRa) 0.25 μL、5× PrimeSTAR GXL Buffer 2.5 μL、dNTP Mixture 1.0 μL、5 μM PCR プライマー各 0.75 μL、DNA 溶液 0.8 μL、超純水 (Thermo Fisher Scientific) 6.45 μL。PCR は予熱を 98 °C で 30 秒、増幅を 98 °C 10 秒、55 °C 15 秒、68 °C 45 秒の 30 サイクル、最終伸長を 68 °C で 30 秒行った。その後、PCR 産物を ExoSAP-IT Express (Thermo Fisher Scientific) で精製し、サンガーシーケンシングをユーロフィンジェノミクス株式会社に委託

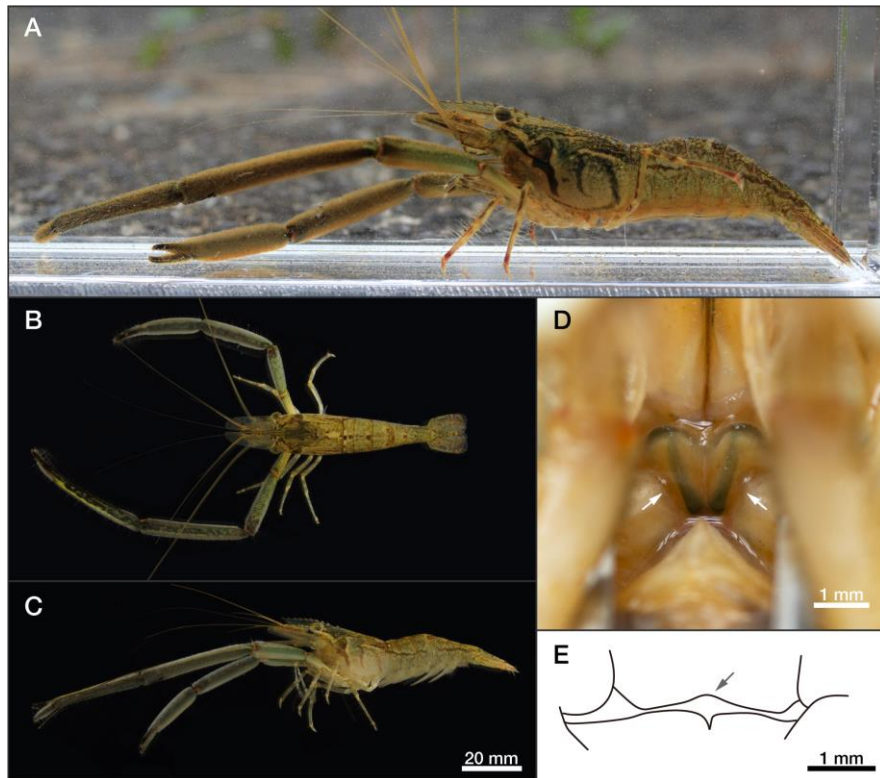


Fig. 2. *Macrobrachium ustulatum* (KPM-NH 4838, CL 21.2 mm). (A) Live condition. (B) Dorsal view. (C) Lateral view. (D) Epistome lobes. (E) Fourth thoracic sternite.

した。得られた配列は Unipro UGENE 49.0 (Okonechnikov et al. 2012) を用いて波形のチェックおよび編集を行った後、DDBJ を通じて国際塩基配列データベース (INSD) に登録した (アクセッション番号 : LC796868, LC796869)。

mtDNA および核 DNA の間で樹形を比較するために、16S rRNA と 28S rRNA のそれぞれで系統解析を行った。先行研究によって両領域の配列決定がなされているすべてのナンヨウテナガエビ (計 3 個体) と比較のためのザラテテナガエビ 5 個体の配列を INSD から取得し、データセットに加えた (Castelin et al. 2017; Fuke and Imai 2018)。アライメントは MAFFT 7.520 (Kato and Standley 2013) で行った。IQ-TREE 2.2.2.6 (Minh et al. 2020) を用いて、プログラム内に実装されている ModelFinder によって推定された分子進化モデル (16S rRNA で HKY+F+I モデル、28S rRNA で TN+F モデル) に基づいて、それぞれの領域について無根の最尤系統樹を推定した。得られた結果は、FigTree 1.4.4 (<https://github.com/rambaut/figtree>) で可視化した。

結果と考察

ナンヨウテナガエビ

Macrobrachium ustulatum (Nobili, 1899) (Fig. 2)

検討標本

KPM-NH 4838、1♂、頭胸甲長 (CL) 21.2 mm、静岡県賀茂郡河津町谷津 河津谷津川、34.746278, 138.993139、2023 年 11 月 25 日、皆川優作 採集。

採集環境

本種は、川岸に生えている植物の根が水に浸っている流れの緩やかな環境で採集された (Fig. 1C)。同所的にミナミテナガエビ *Macrobrachium formosense* S.C. Bate, 1868、ヒラテナガエビ *M. japonicum* (De Haan, 1849)、コンジンテナガエビ *M. lar* (Fabricius, 1798)、スジエビ *Palaemon paucidens* De Haan, 1844、ミゾレヌマエビ *Caridina leucosticta* Stimpson, 1860、ヒメヌマエビ *C. serratiostris* De Man, 1892、トゲナシヌマエビ *C. typus* H. Milne Edwards, 1837、また、ザラテテナガエビの未成体も確認された。ザラテテナガエビに類似するナンヨウテナガエビの未成体の形

Table 1. Six diagnostic characters of *Macrobrachium ustulatum* from Kawazu-Yatsu River, Japan (KPM-NH 4838). For comparison, the range and characters for *M. ustulatum* and *M. australe*, including type series, were cited from Castelin et al. (2017). Abbreviations: CAL, carpus length; CHL, chela length; FL, finger length; PL, palm length.

Diagnostic characters	<i>Macrobrachium ustulatum</i> (KPM-NH 4838, this study)	<i>Macrobrachium ustulatum</i> (Castelin et al. 2017)	<i>Macrobrachium australe</i> (Castelin et al. 2017)
Proportion between 2nd pereopods	1.37	1.37–1.59	1.48–2.00
Proportions of the joints of the major 2nd pereopod	CAL / CHL = 0.79 CAL / PL = 1.11 FL / PL = 0.40	CAL / CHL = 0.68–0.73 CAL / PL = 1.00–1.12 FL / PL = 0.46–0.58	CAL / CHL = 0.78–0.97 CAL / PL = 1.18–1.40 FL / PL = 0.32–0.55
Proportions of the joints of the minor 2nd pereopod	CAL / CHL = 0.79 CAL / PL = 1.17 FL / PL = 0.49	CAL / CHL = 0.67–0.75 CAL / PL = 1.01–1.25 FL / PL = 0.49–0.66	CAL / CHL = 0.79–1.04 CAL / PL = 1.19–1.60 FL / PL = 0.46–0.53
Velvety pappose setal pubescence of the minor 2nd pereopod	palm and carpus densely packed with velvety setae	palm and carpus densely packed with velvety setae	palm and bases of fingers only densely packed with velvety setae
Epistome lobes	strongly produced anteriorly	strongly produced antero-ventrally	strongly produced anteriorly
Fourth thoracic sternite	gently armed with a round median process	armed with a round median process	unarmed

態的特徴は明らかになっていないため、本研究ではザラテテナガエビの特徴である胸部の模様と額角の形状が確認できた個体は便宜的にザラテテナガエビと同定した (北野・寺田 2015; 吉郷 2002)。魚類ではオオクチュゴイ *Kuhlia rupestris* (Lacepède, 1802)、ユゴイ *Kuhlia marginata* (Cuvier, 1829)、ゴマフエダイ *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskål, 1775)、タナゴモドキ *Hypseleotris cyprinoides* (Valenciennes, 1837)、ナンヨウボウズハゼ *Stiphodon percnopterygionus* Watson and Chen, 1998、テンジクカワアナゴ *Eleotris fusca* (Bloch & Schneider 1801)、チチブモドキ *Eleotris acanthopoma* Bleeker, 1853、シマヨシノボリ *Rhinogobius nagoyae* Jordan and Seale, 1906、ヌマチチブ *Tridentiger brevispinis* Katsuyama, Arai and Nakamura, 1972、ミミズハゼ *Luciogobius guttatus* Gill, 1859 が確認された。この他に、第2著者が 2023 年 10 月 28 日に行った調査では、オオウナギ *Anguilla marmorata* Quoy and Gaimard, 1824 とボウズハゼ *Sicyopterus japonicus* (Tanaka, 1909) を確認している。

形態的特徴

得られた標本は頭胸甲長が 21.2 mm の成体雄

であった。額角は直線的で、その先端は第 1 触角柄部の先端をわずかに越えた。額角歯式は 3+6/3 であった。第 2 胸脚は左右で大きさが異なり、大鉗脚 (左) と小鉗脚 (右) の比率は 1.37 であった。右腕 (小鉗脚) の掌節と腕節は全体が絨毛で覆われていた。これらの特徴はナンヨウテナガエビとよく一致する。しかしながら、口蓋葉 (epistome lobes) の湾曲は弱く (Fig. 2D)、また第 4 胸節 (fourth thoracic sternite) の中央部はわずかにふくらむ程度で (Fig. 2E)、ナンヨウテナガエビ (強く湾曲する、突起がある) とザラテテナガエビ (湾曲しない、突起はない) の中間的な特徴を示した。第 2 胸脚の各節の比率では、大鉗脚の腕節と掌部、小鉗脚の腕節と掌部の比率はナンヨウテナガエビの範囲に含まれたが、大鉗脚の腕節と掌節、指部と掌部、小鉗脚の腕節と掌節の比率はザラテテナガエビの範囲に含まれた (Table 1)。以上の結果から、検討標本はナンヨウテナガエビとザラテテナガエビの両方の形態的特徴を有しており、形態に基づく同定は困難であった。

色彩

体色は薄い黄土色から緑青色で、全体に赤褐色の模様が入る。頭胸甲の側面には、赤褐色の縦線

が3本入り、口部側の線は最も太く明瞭で、尾部側の2本は細く不明瞭であった。頭胸甲の中程から尾節にかけて赤褐色の線が1本伸びる。第2胸脚は緑青色で指部は黒色であった。緑青色は第2胸脚の基部で最も薄く、先端部にかけて濃くなる。大鉗脚の掌部上面には縦に明色の模様が入る。

DNA 解析

ミトコンドリア DNA の 16S rRNA と核 DNA の 28S rRNA を用いた系統解析の結果、検討標本の配列はいずれも先行研究で報告されたナンヨウテナガエビの配列と単系統群を形成した (Fig. 3A)。検討標本の 28S rRNA 領域にヘテロのサイトは認められなかった (Fig. 3B)。ナンヨウテナガエビとザラテテナガエビの種間の塩基置換率は 16S rRNA で 4.9–5.3%、28S rRNA で 3.5–3.6% (ギャップ込み: 5.0–5.1%) であった。種内における塩基置換率は、ザラテテナガエビでは 16S rRNA で 0.0–1.2%、28S rRNA で 0.0–0.1% であった。ナンヨウテナガエビでは、両領域において変異は認められなかった。

形態的特徴と DNA 解析結果の不一致について

一般的に、種間交雑の第一世代の個体はそれぞれの親種の中間的な形質を示すため (Stelkens and Seehausen 2008)、検討標本もナンヨウテナガエビとザラテテナガエビの交雑が疑われた。今回検討

した 28S rRNA は核 DNA にコードされている領域であり、種間で 3.5–3.6% の差異が認められた。そのため、その変異サイトがヘテロになっている場合は種間交雑個体である可能性がある。ところが、検討標本の種間変異サイトはすべてホモであり、いずれもナンヨウテナガエビと一致していたことから、検討標本は交雑個体ではないと考えられた。交雑以外の説明として、種内変異、奇形、表現型可塑性に起因する偶然性が考えられたが、いずれも当該地域から得られたナンヨウテナガエビのサンプル数が不足しており、本研究では検討できなかった。今後、検討標本の形質が本種の特徴であるのか、詳細な検討が必要である。

謝辞

本研究を進めるにあたり、佐藤武宏氏には標本の登録にご協力いただいた。佐藤大義氏には標本の同定に関して助言をいただいた。丸山智朗氏と乾直人氏には調査地の水温データの取得にご協力いただいた。この場を借りて御礼申し上げます。本研究の一部は、JSPS 科研費 (JP23KJ2156) の助成を受けた。

引用文献

Castelin, M., Mazancourt, V. D., Marquet, G., Zimmerman, G., Keith, P. (2017). Genetic and morphological evidence for cryptic species in *Macrobrachium australe* and resurrection of *M.*

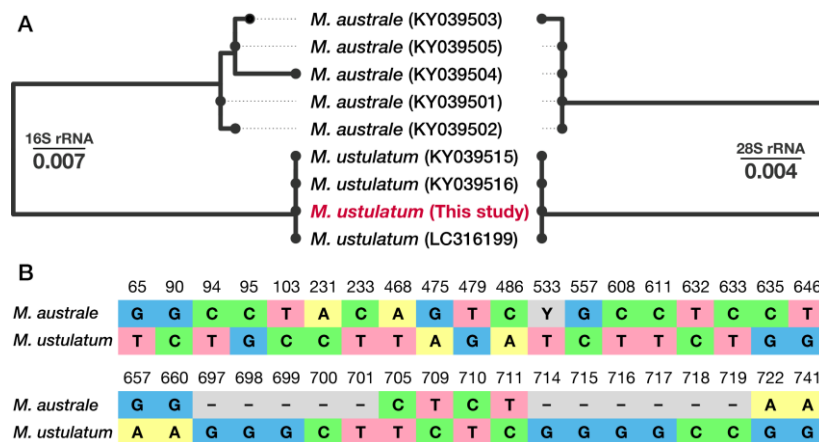


Fig. 3. Results of genetic analysis. (A) Unrooted tree of *Macrobrachium ustulatum* and *M. australe* estimated by IQ-TREE2 based on mtDNA 16S rRNA (left, 509 bp) and nDNA 28S rRNA (right, 743 bp). (B) Variable nucleotide sites of 28S rRNA between *M. ustulatum* and *M. australe*. Intraspecific variable site is represented by mixed base and gaps are represented by dashes.

- ustulatum* (Crustacea, Palaemonidae). Eur. J. Taxon. 289: 1–27. <https://doi.org/10.5852/ejt.2017.289>
- Fuke, Y., Imai, H. (2018). First Japanese record of *Macrobrachium ustulatum* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Okinawa-jima Island, Japan. Fauna Ryukyuna 44: 7–15.
- Fuke, Y., Maruyama, T. (2023). First record of *Macrobrachium mammillodactylus* (Thalwitzer, 1891) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) from Japan. Check List 19: 821–826. <https://doi.org/10.15560/19.6.821>
- Hassouna, N., Mithot, B., Bachellerie, J.-P. (1984). The complete nucleotide sequence of mouse 28S rRNA gene. Implications for the process of size increase of the large subunit rRNA in higher eukaryotes. Nucleic Acids Res. 12: 3563–3583. <https://doi.org/10.1093/nar/12.8.3563>
- 今井 正・大貫貴清・米田 透・梅木康太郎・秋山信彦 (2008). 伊豆半島谷津川におけるコンジテンナガエビの生息状況およびザラテナガエビの本州初記録. 神奈川自然保全研究会報告書 18: 1–8.
- Katoh, K., Standley, D. M. (2013). MAFFT Multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Mol. Biol. Evol. 30: 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- 北野 忠・寺田一美 (2015). 金目川で採集された神奈川県初記録のザラテナガエビ. 神奈川自然誌資料 36: 39–40.
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. Mol. Biol. Evol. 37: 1530–1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., the UGENE team. (2012). Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. Bioinformatics 28: 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Stelkens, R., Seehausen, O. (2009). Genetic distance between species predicts novel trait expression in their hybrids. Evolution 63: 884–897. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00599.x>
- 吉郷英範 (2002). 日本のテナガエビ属 (甲殻類: 十脚類: テナガエビ科). 比婆科学 206: 1–17.

Received: 5 February 2024 | Accepted: 14 March 2024 | Published: 17 March 2024