

三浦半島と横浜南部に生息するヌカエビ集団の遺伝学のおよび形態学的変異

樋口文夫*・益子計夫**

The Genetic and morphological differentiation among populations of *Paratya compressa improvisa* KEMP in southern Yokohama and the Miura Peninsula

HIGUCHI Fumio * and MASHIKO Kazuo **

キーワード：三浦半島，横浜南部，ヌカエビ，アロザイム分析，遺伝子頻度，卵サイズ
Key words : Miura Peninsula, southern Yokohama, *Paratya compressa improvisa*, allozyme analysis, allelic frequency, egg size

三浦半島と横浜南部に生息するヌカエビについて、アロザイム分析による集団の遺伝的解析および形態、繁殖形質の計測を行った。アロザイム分析は、*Gpi*, *Mpi*, *Pgm*の3遺伝子座で行った。大岡川水系内の生息場所が異なる地域集団間では、有意な遺伝子の差異が検出されなかった。しかし額角歯数、卵サイズ等の形態、繁殖形質では大きな違いが観察された。大岡川、いたち川、宮川、滑川、森戸川、松越川の6水系の集団間では、有意な遺伝的差異が認められた。特に森戸川集団と他の集団とは遺伝的に異なり、この違いは*Gpi*で顕著であった。

Genetic structure in local populations of the Japanese freshwater shrimp *Paratya compressa improvisa* KEMP, which occurs in south Yokohama and the Miura Peninsula, was examined electrophoretically, together with morphological analysis. In the electrophoresis, the three loci of *Gpi*, *Mpi*, *Pgm* was used as diagnostic loci. The populations in distant habitats of the Ooka river were not significantly different from each other in their gene frequencies while their rostral tooth count and egg size significantly varied. The allele frequency of *Gpi* in the Morito river population was conspicuous among the populations examined. Average heterozygosity of the population in a pond of the Matsukoshi river, which was estimated from the three loci, was the lowest among the populations examined.

* 横浜市環境科学研究所 Yokohama Environmental Research Institute, Yokohama 235-0012.

** 帝京大学 Teikyo University, Hachioji, Tokyo 192-0395.

原稿受付 2000年10月30日。横須賀市博物館業績第553号

はじめに

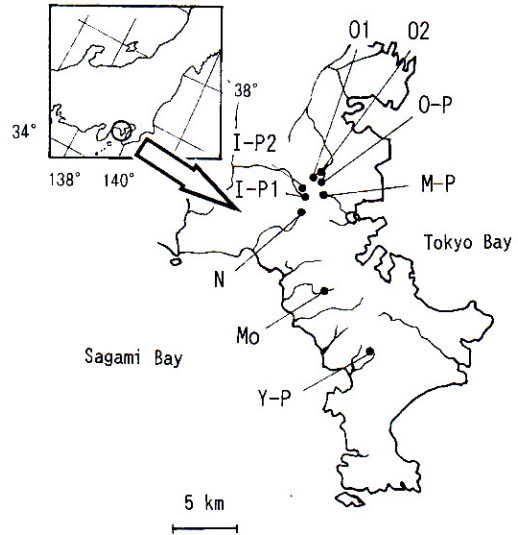
谷戸の溜池、水路等に生息する淡水性のエビ類は、水辺の改変、水質汚濁、外来種、移入種の放流等によって存続が危惧されている。このような状況は、狭く孤立化して人為的影響を受けやすい都市自然ではさらに進行していくと予想される。三浦半島の淡水エビ類の分布状況に関しては、横須賀市域の生息調査報告では3科8種2亜種が確認されており（相模湾海洋生物研究会, 1995）、また横浜市南部は3科4種1亜種が確認されている（樋口ほか, 1996）。この中でヌマエビ科のヌカエビ *Paratya compressa improvisa* KEMP は、横浜市南部と三浦半島では鎌倉、逗子、横須賀市内のいずれも自然が確保されている河川の上流、池等に分布している。本研究は、生息場所が断片化されつつあるヌカエビの地域個体群について、生物多様性の保全を考えていく上での基礎的資料を得ることを目的に、遺伝的構造および形態形質上からの把握を試みたものである。ヌマエビ属の遺伝子組成の分類学的、地理的変異についてはいくつかの研究報告がある（IKEDA *et al.* 1992; IKEDA *et al.* 1993; 池田, 1999）。しかし神奈川県内に生息する地域集団の遺伝的構造の解析等についてはあまりなされていない（樋口・益子, 2000）。

本報告では、これらの集団の遺伝的特徴と形態、繁殖形質との関係について検討した。

調査方法

1. 対象生物と調査地点

調査地点は第1図に示した。松越川水系の山田堰（以下地点名をY-Pと略記）、森戸川水系の上流部(Mo)、滑川水系の吉沢川(N)、境川水系のいたち川源流部(I-P1, I-P2)、宮川の上流にある池(M-P)の6水系、大岡川水系の上流部(O-P, O1, O2)の計9地域である。ここでPは、池に生息する集団を示し、それ以外は、川の淵に生息する集団を示す。松越川、森戸川、滑川、いた



第1図 三浦半島、横浜南部の調査地点。

ち川は、いずれも相模湾に流入し、大岡川、宮川は東京湾に流入する。採集時期は、山田堰が1999年5月7日、森戸川が1992年7月23日、1998年6月15日、滑川が1995年6月7日、1998年11月19日、宮川が1999年7月19日、1998年11月19日、大岡川水系の集団ではO-P, O1, O2とも1997年4月～12月、いたち川の集団ではI-P1が1994年5月31日、1998年8月6日、I-P2が1998年6月25日であった。アロザイム分析の供試エビの個体数は、合計393、頭胸甲長の平均値は、雌が5.72～6.69 mm、雄が4.86～5.51 mmの範囲、形態計測に供試したエビの個体数は1123、頭胸甲長の平均値は、雌が5.55～6.71 mm、雄が4.72～5.21 mmであった。

2. 分析方法

採集されたヌカエビは、生きたまま研究室に持ち帰り、-30℃で冷凍保存し、1年以内にアロザイム分析を行った。分析は、沼知（1989）およびMASHIKO and NUMACHI(1993)に従い腹部筋肉を用いて、グルコース6リン酸イソメラーゼ (*Gpi*)、マンノース6リン酸イソメラーゼ (*Mpi*)、ホスホグルコムターゼ (*Pgm*) の3酵素について行われた。緩衝液としてモルホリノ

エタンサルホン酸／トリエタノールアミン (MES/TEA) を用いた。形態と繁殖形質の測定方法は、10%ホルマリン固定後、80%エチルアルコールで固定したサンプルを形態計測に用いた。計測には5、6月の繁殖期初期の成エビ個体を用いた。頭胸甲長は実体顕微鏡下においてノギスで、また体重は上皿秤で測定された。卵重は湿重量で計り、体重から卵重を差し引いた値で徐して卵重%求めた。抱卵数は、発生段階1期(受精卵から顎脚原基出現まで)の全数をカウントした。光学顕微鏡とカメラ内臓型マイクロメータ (VM-31 オリンパス製) で一個体につき20個の長径と短径を測定し、 $\pi \times \text{長径} \times \text{短径}^2 \times 6^{-1}$ (mm³) の式を用いて平均卵体積を算出した。

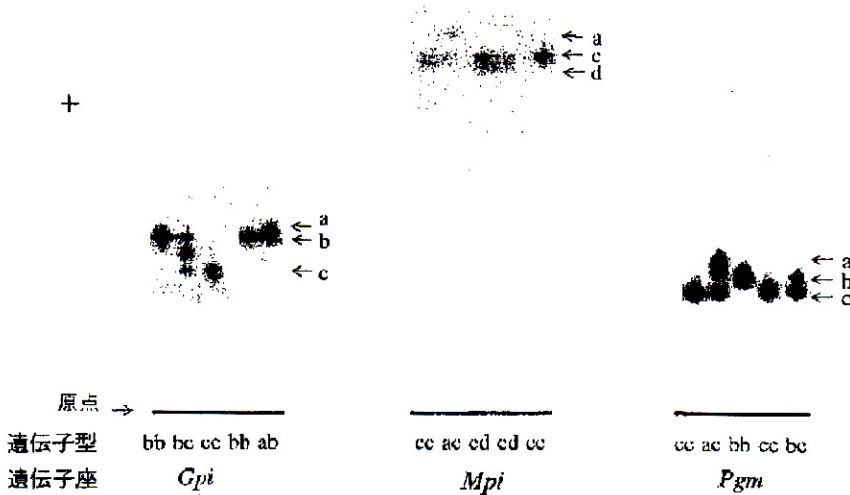
統計的解析の方法は、集団間の遺伝子頻度の有意性の検討は対数尤度比法のG検定 (SOKAL and ROHLF, 1985) で行った。ヘテロ接合体率は、 $1 - \sum Xi^2$ (Xi: 対立遺伝子iの頻度)、遺伝的距離はROJERSの式によって算出した (ROJERS, 1972)。

結果と考察

1. アロザイム分析

第2図に各酵素タンパクの泳動像を示した。第1表は、各集団の遺伝子頻度を示し、さらに各遺伝子座毎の遺伝子頻度を地図上に示した。

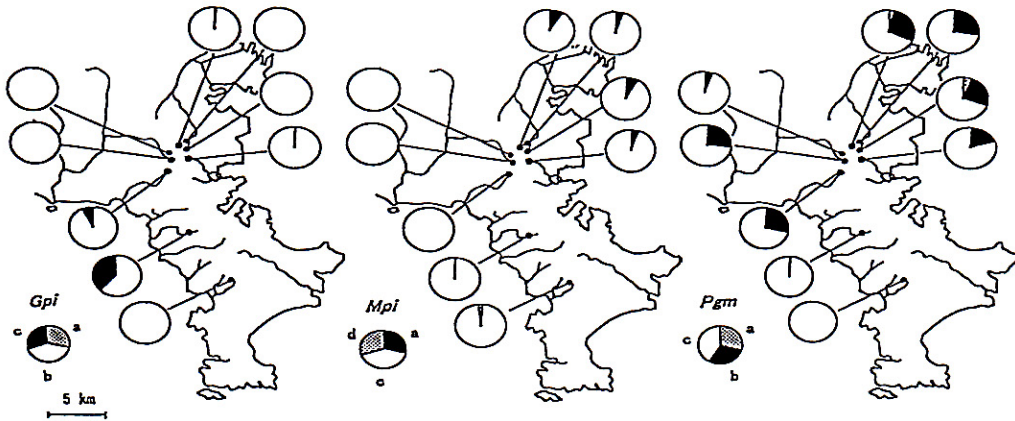
各集団の遺伝子型頻度に関して期待値と観察



第2図 *Gpi*, *Mpi*, *Pgm* の泳動像.

第1表 *Gpi*, *Mpi*, *Pgm* の遺伝子頻度.

地点	n	<i>Gpi</i>				<i>Mpi</i>				<i>Pgm</i>			
		a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
O-P	40	0.00	1.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.91	0.00	0.05	0.25	0.70	0.00
O1	40	0.02	0.98	0.00	0.00	0.10	0.00	0.90	0.00	0.03	0.29	0.68	0.00
O2	40	0.00	1.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.94	0.00	0.00	0.28	0.73	0.00
I-P1	40	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.06	0.94	0.00
I-P2	30	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.27	0.73	0.00
M-P	40	0.01	0.99	0.00	0.00	0.06	0.00	0.94	0.00	0.00	0.20	0.80	0.00
N	50	0.00	0.91	0.09	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.29	0.71	0.00
Mo	53	0.00	0.61	0.39	0.00	0.01	0.00	0.99	0.00	0.00	0.02	0.98	0.00
Y-P	60	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.97	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00

第3図 *Gpi*, *Mpi*, *Pgm* の遺伝子頻度

第2表 ヘテロ接合体率と平均値.

地点	<i>Gpi</i>	<i>Mpi</i>	<i>Pgm</i>	平均値
O-P	0.000	0.164	0.445	0.203
O1	0.039	0.180	0.453	0.224
O2	0.000	0.113	0.389	0.167
I-P1	0.000	0.000	0.113	0.038
I-P2	0.000	0.000	0.394	0.131
M-P	0.020	0.113	0.320	0.151
N	0.164	0.000	0.412	0.192
Mo	0.476	0.020	0.039	0.178
Y-P	0.000	0.058	0.000	0.019

第3表 3遺伝子座によるROJERSの遺伝的距離.

地点	O-P	O1	O2	I-P1	I-P2	M-P	N	Mo
O1	0.001							
O2	0.001	0.001						
I-P1	0.017	0.022	0.016					
I-P2	0.003	0.003	0.001	0.015				
M-P	0.003	0.005	0.002	0.007	0.003			
N	0.008	0.007	0.005	0.019	0.003	0.007		
Mo	0.097	0.103	0.093	0.056	0.088	0.076	0.069	
Y-P	0.027	0.033	0.026	0.002	0.025	0.013	0.031	0.054

値との間に有意な差は認められず ($p > 0.05$), 各集団は任意交配しているものと考えられる。

まず同一水系内の集団に注目してみると, 大岡川の地域集団間の3遺伝子座の比較ではい

れも有意差を示さなかった。しかしたち川では, 池集団間で*Pgm*の遺伝子座に有意な遺伝子頻度の違いが認められた ($p < 0.01$)。これは同一水系内でも生息場所が分断し, 遺伝的交流が制

第4表 額角歯数の平均値・標準偏差

地点	額角歯数		
		上縁	下縁
O-P	x	8.0	2.5
	sd	1.9	0.7
	min	4	1
	max	13	5
	n	107	107
O1	x	8.3	2.3
	sd	2.0	0.8
	min	3	0
	max	13	3
	n	139	139
O2	x	8.2	2.2
	sd	1.9	0.7
	min	4	0
	max	15	4
	n	207	207
I-P1	x	8.5	2.0
	sd	1.6	0.7
	min	5	1
	max	12	4
	n	66	66
I-P2	x	8.5	2.2
	sd	1.5	0.6
	min	5	1
	max	12	4
	n	103	103
M-P	x	8.4	2.5
	sd	1.8	0.7
	min	5	1
	max	14	4
	n	104	104
N	x	10.6	2.2
	sd	2.0	0.6
	min	6	1
	max	17	4
	n	171	171
Mo	x	8.6	2.4
	sd	2.2	0.8
	min	3	0
	max	13	6
	n	111	111
Y-P	x	8.8	1.4
	sd	1.5	0.7
	min	4	0
	max	13	3
	n	115	115

注) x : 平均値, sd : 標準偏差, min : 最小値, max : 最大値, n : 標本数

限されていることによるものと考えられる。

水系別集団間の遺伝子座毎の比較では、森戸川集団で *Gpi* の遺伝子頻度が *b* が 0.61, *c* が 0.3 を示し、他の全水系間とに有意差 ($p < 0.005$) を示し、また大岡川、宮川と滑川間でも有意差 ($p < 0.005$) を示した。大岡川集団といたち川、滑川、森戸川、山田堰集団間では、*Mpi* に有意差 ($p < 0.005$) を示した。宮川と森戸川、山田堰集団間でも有意差 ($p < 0.005$) を示した。

各遺伝子座のヘテロ接合体率とその平均値を第2表に示した。

森戸川集団は、*Gpi* が高く、大岡川が *Mpi*、大岡川と滑川、またいたち川の I-P2 集団が *Pgm* で高かった。これら遺伝子座のヘテロ接合体率の平均値は、大岡川集団が約 0.2 で最も高く、山田堰集団が 0.02 と最も低かった。これらから大岡川の O-P を除いて、川より池 集団で低く、池、川の生息域の広さの違いを反映しているのかもしれない (FULLER and LESTER, 1980) 3 遺伝子座から算出した集団間の ROJERS による遺伝的距離を第3表に示した。

森戸川集団と他の集団との遺伝的距離は大きく、ついで山田堰集団と他の集団との距離が大きかった。

2. 額角歯数の比較

各集団の額角歯数の上縁歯数と下縁歯数に関して雌と雄の計の平均値等を第4表に示した。

大岡川では、上縁歯数に集団間の違いは認められなかったが、下縁歯数では地域集団間で有意差 ($p < 0.001$) が認められた。他水系の集団の上縁歯数は、大岡川集団の額角歯数に比べて一般に大きい値を示した。特に滑川集団では、平均値が 10.6 と他の集団と比べて有意に大きい値を示した ($p < 0.001$)。下縁歯数は、集団間で変異が大きかった。特に山田堰集団の平均値が 1.4 で、他集団と比べて有意に小さい値を示した ($p < 0.001$)。このように額角歯数は、同一水系集団内、水系集団間でも変異が認められたが、その要因は、今後検討すべき課題として残されている。

第5表 繁殖形質の平均値・標準偏差(発生段階1期).

地点		卵重% (%)	抱卵数	平均卵体積 (mm ³)	長径 (mm)	短径 (mm)
O-P	x	13.4	240.5	0.109	0.809	0.506
	u	1.7	55.9	0.010	0.022	0.019
	n	20	20	20	20	20
O1	x	15.1	294.3	0.113	0.812	0.515
	u	2.4	61.7	0.006	0.015	0.014
	n	10	10	10	10	10
O2	x	13.7	252.0	0.116	0.829	0.515
	u	3.3	67.0	0.009	0.017	0.018
	n	20	20	20	20	20
I-P1	x	11.9	154.5	0.124	0.863	0.523
	u	1.2	25.6	0.009	0.027	0.015
	n	6	6	6	6	6
I-P2	x	10.7	236.2	0.098	0.757	0.498
	u	1.7	63.3	0.008	0.016	0.018
	n	5	5	5	5	5
M-P	x	11.1	239.3	0.108	0.792	0.511
	u	1.9	53.7	0.006	0.022	0.013
	n	10	10	10	10	10
N	x	13.3	199.3	0.115	0.824	0.516
	u	1.4	30.0	0.006	0.021	0.011
	n	20	20	20	20	20
Mo	x	12.9	236.7	0.104	0.794	0.500
	u	4.4	62.8	0.010	0.036	0.017
	n	7	7	7	7	7
Y-P	x	10.9	228.2	0.104	0.803	0.498
	u	1.8	40.2	0.006	0.016	0.011
	n	17	17	17	17	17

x: 平均値, u: 不偏分数からの標準偏差, n: 標本数.

3. 繁殖形質の比較

大岡川の地域集団と他の水系集団の卵サイズ、卵重%等の繁殖形質値を第5表に示した。

ここでは大岡川集団内、各集団間の平均卵体積を比較した。繁殖努力量としての卵重%は、大岡川集団で高く、いたち川のI-P2集団、山田堰のY-P集団で低かった。平均卵体積を大岡川集団内で比較してみると、いずれも平均卵体積が0.109~0.116の範囲であったが、OPとO2間では有意差($p < 0.05$)がみられ、生息場所によっては異なることがわかった。また平均卵体積は水系間で0.098~0.116の範囲で変動し、大岡川集団と山田堰集団、いたち川のI-P1、宮川、山田堰集団、またいたち川のI-P1と滑川、滑川と山田堰間で有意差($p < 0.001$)を示した。形態と

繁殖形質との関係という点についてみると、大岡川集団内のOP集団とO1、O2集団は鰓角の下縁歯数に差があり、平均卵体積で異なり、同水系の地域集団であっても形態的な変異が大きいことがわかる。また水系集団間では山田堰集団が平均卵体積やその他の形質でも他の集団と顕著に異なっていた。筆者らは、すでに横浜市内のいくつかの地域で集団を構成する個体の体サイズが異なること、またそれに対応して卵数が地域個体群毎に異なっていることを明らかにした(樋口・益子, 2000)。これら形質変動の要因については、一概に特定できないが、本種地域個体群が生息環境に適応した柔軟な生活史、繁殖戦略を持っていることを示していると考えられる。

今回、森戸川集団のように他の集団と著しい

遺伝的差異を示す個体群もみられたが、アロザイム分析によって得られた遺伝的特性と繁殖形質との関係を明らかにするには至らなかった。

謝 辞

本報告をまとめるにあたり、三浦半島のエビ類に関する情報、調査等で多大な協力をしていたいただいた横須賀市自然・人文博物館の山本健一郎学芸員に厚くお礼を申し上げる。

まとめ

三浦半島と横浜市南部に生息するいくつかのヌカエビ集団を対象に、アロザイム分析 (*Gpi*, *Mpi*, *Pgm*) および形態形質と繁殖形質の解析を行った。1) アロザイム分析の結果、同一水系(大岡川)の地域集団間では遺伝子頻度の差異は見いだされなかったが、いたち川では差を示していた。2) 水系間の比較では、森戸川、滑川の集団が *Gpi* 遺伝子頻度から、また松越川の山田堰集団が *Pgm* 遺伝子頻度から他の集団と区別された。3) 3 遺伝子座から求めた平均ヘテロ接合体率は、一般に池集団が川の集団より低い値を示す傾向があった。4) 滑川集団の額角上縁歯数、また山田堰集団の下縁歯数は他の集団と有意に異なっていた。5) 同一水系内でも生息場所の異なった集団間では、抱卵数、平均卵体積に差がみられた。水系間では、山田堰集団が他の集団と大きく異なっていた。

引用文献

FULLER B. and LESTER L.J. 1980. Correlations

of allozymic variation with habitat parameters using the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Evolution*, 34(6): 1099-1104.

池田実 1999. 遺伝学的にみたヌカエビの「種」、海洋と生物, 21(4): 299-307.

IKEDA M., KIJIMA A. and FUJIO Y. 1992. Genetic divergence between two subspecies *paratya compressa* (Decapoda: Atyidae). *Nippon Sui-san Gakkaishi*, 58(5): 819-824.

IKEDA M., KIJIMA A. and FUJIO Y. 1993. Genetic differentiation among local populations of common freshwater shrimp *Paratya compressa improvisa*. *Japanese Journal of Genetics*, 68: 293-302.

樋口文夫・福嶋悟・水尾寛己・前川渡 1996. 横浜市南部及びその周辺に分布するヌカエビの形態、繁殖形質, 大岡川・境川水系生態調査報告書: 横浜市環境研試料, 123: 195-202.

樋口文夫・益子計夫 2000. アロザイム分析によるヌカエビ集団の遺伝学および形態学的研究. 横浜市環境科学研究所報, (24): 26-33.

MASHIKO K., NUMACHI K. 1993. Genetic evidence for the presence of distinct fresh-water prawn (*Macrobrachium nipponense*) populations in a single river system. *Zool. Sci.*, 10(1): 161-167.

沼知健一 1989. アイソザイムによる魚介類の集団解析, 昭和 61 ~ 63 年度, 海洋生物集団の識別等に関する先導的評価手法の開発事業報告書, 日本水産資源保護協会: 28-81.

ROJERS J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *In Studies in Genetic VII*: 145-153, Univ. Texas Publication.

相模湾海洋生物研究会 1995. 横須賀市内河川の大型甲殻類, 横須賀市内水生生物基礎調査報告書: 43-47.

SOKAL R.R. and ROHLF F.J. 1985. 藤井宏一訳, 生物統計学: 349-378, 共立出版.