

博士論文

東南アジアにおけるアミ類の多様性に関する研究

守屋 光泰

東南アジアにおけるアミ類の多様性に関する研究

東京大学大学院 農学生命科学研究科 水圏生物科学専攻

守屋 光泰

The University of Tokyo

Mitsuyasu Moriya

2016

## 目次

|   |    |
|---|----|
| 第 1 章 緒論  | 1  |
| 第 2 章 出現種と地理分布  | 7  |
| 2-1. 諸言   | 7  |
| 2-2. 採集地点   | 7  |
| 2-3. 出現種  | 8  |
| 2-4. 考察   | 15 |
| 2-4-1. 器具による採集効率の差                                      | 15 |
| 2-4-2. 地理分布   | 15 |
| 第 3 章 <i>Anisomysis</i> 属における未記載種の報告と分類                 | 21 |
| 3-1. 諸言   | 21 |
| 3-2. 材料と方法  | 23 |
| 3-2-1. 採集と形態学的測定  | 23 |
| 3-2-2. DNA 抽出、PCR 法及び塩基配列の決定                            | 24 |
| 3-2-3. DNA 解析   | 26 |
| 3-3. 結果   | 27 |
| 3-3-1. 種の記載   | 27 |
| <i>A. (Javanisomysis) similis</i>                       | 27 |
| <i>A. (A.) spinaintus</i>                               | 37 |
| <i>A. (A.) phuketensis</i>                              | 44 |
| 3-3-2. 東南アジア海域からの出現種                                    | 48 |
| 3-3-3. 種間の遺伝学的関係  | 50 |
| 3-4. 考察   | 51 |
| 3-4-1. 地理分布   | 51 |
| 3-4-2. 亜属・種間の関係   | 54 |
| 3-5. <i>Anisomysis</i> 亜属及び <i>Anisomysis</i> 亜属の種への検索表 | 56 |
| Appendix 1  | 62 |
| 第 4 章 <i>Mesopodopsis</i> 属の分布と種内、種間の遺伝的關係              | 64 |
| 4-1. 諸言   | 64 |
| 4-2. 材料と方法  | 65 |
| 4-2-1. 採集   | 65 |
| 4-2-2. 種査定  | 69 |
| 4-2-3. DNA 抽出、PCR 法及び塩基配列の決定                            | 69 |

|  |     |
|--|-----|
| 4-2-4. DNA 解析  | 70  |
| 4-3. 結果  | 73  |
| 4-3-1. 出現種   | 73  |
| 4-3-2. <i>Mesopodopsis</i> 属の系統解析                      | 73  |
| 4-3-3. <i>M. orientalis</i> 及び <i>M. tenuipes</i> の分布  | 76  |
| 4-3-4. <i>M. orientalis</i> の系統解析                      | 77  |
| 4-3-5. <i>M. tenuipes</i> の系統解析                        | 86  |
| 4-4. 考察  | 95  |
| 4-4-1. 種査定と隠蔽種   | 95  |
| 4-4-2. <i>M. orientalis</i> と <i>M. tenuipes</i> の集団構造 | 97  |
| 4-4-3. スンダランドと地理的隔離                                    | 99  |
| 4-4-4. 塩基相違度と分岐年代                                      | 101 |
| 4-4-5. <i>M. orientalis</i> と <i>M. tenuipes</i> の多様性  | 104 |
| Appendix 2   | 107 |
| 第 5 章 総合考察   | 109 |
| 5-1. 未記載種と採集   | 109 |
| 5-2. 東南アジア沿岸域におけるアミ類の多様性                               | 110 |
| 要約   | 113 |
| 謝辞   | 119 |
| 引用文献   | 122 |

## 第1章 緒論

東南アジアにはかつてスンダランド(Sundaland)と呼ばれる堆積平野がインドシナ半島からインドネシアのボルネオ島、スマトラ島、ジャワ島、バリ島にかけて存在していた。この平野は氷期に海水面が低くなる事により形成され (Voris, 2000)、最近ではヴェルム氷期に出現した。このような地史的経緯を持つ東南アジア諸島は、その地理的形質から海岸線が非常に長く、その沿岸域は珊瑚礁域、マングローブ林、藻場、河口や汽水域など多様な環境を持ち、陸上と同様に世界で最も種多様性の高い海域とされる (例えば Tittensor et al., 2010)。

これら海域を有する東南アジアは6億を超える人口を抱え、めざましい経済発展を続ける一方で、マングローブ林の開発、沿岸開発、汚染物質の流入や漁業などの人間活動による海洋環境の悪化が深刻な問題となっている。この、特に影響が大きい沿岸域や河口域の生態系において、魚類などの天然餌料として重要なアミ類と呼ばれるエビ様の小型甲殻類は種数、生物量共に多くの存在が知られる(例えば Mauchline, 1980; Hanamura et al, 2008; Mantiri et al, 2012; Sawamoto, 2014)。

アミ類はアミ目 Mysida に属し、世界の海洋から 1,139 種が知られている(Mees and Meland, 2015)。これらの中には魚類の天然餌料となるなど水産学上重要な種を含むことから(例えば *Neomysis* 属)、生態学的研究も着実に進められており、沿岸域、河口域の生態系の物質循環において重要な種であることが報告されている (例えば

Mauchline,1980)。さらに、漁業も各国で行われており、日本をはじめ、東南アジアやアジア諸国では食糧や肥料として漁獲されている（例えば Mantiri et al, 2012; 村野, 1963）。

東南アジアにおけるアミ類の学術的研究はヨーロッパ（例えば Sars, 1883, 1885; Hansen, 1910）、アジア（例えば Ii, 1964; Pillai, 1973; Murano, 2010）の研究者によって行われ、東南アジア海域からは 63 属 207 種が報告されている(Sawamoto, 2014)。しかし、東南アジアにおけるアミ類の研究は依然限定的であり、世界の水域から 2000 年以降においても年間 10 種程度の未記載種の報告がされていることや、日本の相模湾と駿河湾だけでも 108 種の出現が報告されていることから(村野, 1971)、さらなる調査の必要性和、未知種の出現が予想される。

甲殻亜門、軟甲綱、フクロエビ上目 (Peracarida) に属するアミ類は、雌の胸部腹面に育胞を持ち、卵はこの育胞内にて直接発生し、成体とほぼ同様の形態になるまでこの育胞内に保持されることから、浮遊幼生期を持たない。また、アミ類は近底層プランクトンとして知られており、海底等の基質と密接な関係を持つ種が多くみられる。アミ類は小型の種類が多く、移動力はそれほど大きくないと考えられており、またカイアシ類の様な海流による移動も顕著ではないと考えられている (村野, 1974) 。さらに水温などの環境要因が分布を規制することから、水温、底質の変化により分布が制限されることが考えられる。東南アジアの既知種においても、3 割近くは東南アジア

固有の種であるなど (Sawamoto, 2014) 水域ごとに特有の種が分化し、高い種多様性をもたらしめていると考えられている。これらのことから、アミ類の分布は地史的経緯による影響を強く受けている事が期待される。

アミ類はこの近底層プランクトンという特徴から通常のプランクトンネットによる曳網で採集されることは稀である。これは通常のプランクトン調査において海底近くを曳網することが技術的に難しく、機材の破損等の大きなリスクを伴うことに起因する。このことがアミ類の研究を難しくしている要因でもある。この問題については、そりネットと呼ばれるプランクトンネット下部にそり状の器具を装着した特殊なプランクトンネットが開発され、砂浜や外洋域のアミ類研究に大きく貢献した。しかし東南アジア沿岸で多くみられるサンゴ礁やマングローブ林では、突起物がおおく複雑で立体的な海底地形を持つことから、そりネットによる調査ができない場所が多くみられる。

次にアミ類の分類について、そもそも形態学的形質に基づく分類には専門的な知識と技術の習熟に長い時間を要することから、分類学者の不足はこの分野全体において慢性的な問題である。さらに、アミ類においては、例えば *Anisomysis* 属では4つの亜属を抱えることや、*Acanthomysis* 属 38 種では、Holmquist (1979, 1981) や Fukuoka and Murano (2000a, 2000b, 2001, 2002, 2004, 2005) によって 13 属に別けられたが、標準標本の紛失、再採集の難しさから再検討が行われていない種が残されているなど、様々な

レベルで多くの問題を抱えている。これらは先人たちのたゆまぬ努力により解決されつつあるが、近年では分子生物学的手法の発達により、隠蔽種の存在が明らかにされるなど、さらに多くの問題があることも指摘されている (Remerie et al., 2006)。

分子生物学的手法は急速に進歩しており、年々利用に対するハードルは低くなっている。この手法の利用は、従来の形態学的手法では評価できなかった種間の形態的変異の乏しい生物や、表現型可塑性に対してより正確な生物多様性を評価することができる (例えば Lee, 2000; Müller, 2000; Pfenninger et al., 2003; Witt et al, 2003)。さらに海産無脊椎動物の広域にわたる遺伝的変異の調査からは、3 種以上が 1 種とみなされている隠蔽種複合体の存在や、遺伝的隔離集団に至るまでの個別の進化時間 (Knowlton, 1993, 2000) など、多くの知見が報告されている。そのなかでも甲殻類は特に多くの隠蔽種の存在が遺伝学的研究によって示されている分類群といえる (例えば Bucklin et al., 1995; Knowlton and Weight 1998; Lee 2000)。

浮遊幼生期をもたないアミ類の地理的分布パターンは地史の影響を強く受けているため、幼生拡散する動物群と比べ、遺伝的に構造化された集団や隠蔽種の存在する可能性が大きい。Remerie et al. (2006) は *Mesopodopsis slabberi* においてアミ類では初めて分子生物学的手法に基づき隠蔽種の存在を報告した。形態的な差異は乏しいものの、遺伝的交流の無い隠蔽種は既記載種とは異なる独自の個体群動態を有しており、他の種や環境との相互作用も異なることから、その発見はアミ類の生態学的なパター

ンの理解に重要である (Knowlton, 1993, 2000)。しかし、アミ類において集団遺伝学的な研究が行われた例は非常に少なく、10 数例に留まっている (例えば Audzijonyte and Väinölä, 2006; Remerie et al., 2009)。

以上の現状と問題点を踏まえ、東南アジア海域におけるアミ類の多様性研究で解決すべき課題は (1) 精確な出現記録の収集、整備、および拡充、(2) 種内集団構造の把握と地史的経緯との関係、(3) 近似種間の遺伝的關係、および種間の系統關係の把握の 3 点と考える。この実現には DNA バーコーディングを進め、さらに集団、および種間の系統解析を行うことがその第一段階となる。

本研究では、東南アジア地域におけるアミ類の基礎的な知見を得ることを目的として、効率的な採集方法を検討しながら、形態学的、分子生物学的手法の両方を用いて調査研究を行った。このなかでも地域固有性の高い *Anisomysis* 属、沿岸域での生物量が非常に多い *Mesopodopsis* 属に注目し、これら 2 属の種間、種内の多様性についてその要因を明らかにすることを目的として研究を行った。

本章に続く第 2 章では、東南アジア海域に分布するアミ類の種と地理分布を調査し、効率的なアミ類の採集方法を検討した。また、従来報告も参照して当海域のアミ類相全般について考察した。第 3 章では採集された種のうち、*Anisomysis* 属の未記載種 3 種を記載し、*Anisomysis* 亜属の種への検索表を作成した。また、本属の種について 18SrRNA の塩基配列を求め、これから得られた系統關係と形態学的手法に基づく分類

方法との矛盾点について考察した。第 4 章では *Mesopodopsis* 属 2 種について種間、種内の遺伝的関係を解析し、分子系統地理学的な解析を行い、2 種の分布を基に地史的経緯と個体群との関係について考察した。第 5 章では各章で得られた知見をもとに、東南アジアにおけるアミ類の多様性について考察を行うと共に、直面した課題と、得られた結果より、今後アミ類の研究から期待される成果と課題を述べる。

## 第2章 出現種と地理分布

### 2-1. 諸言

序章でも述べた通り、東南アジア海域は高い生物多様性を持つ地域で、ホットスポットと呼ばれている (例えば Tittensor et al., 2010)。この海域から、アミ類は2科10亜科57属207種 (Sawamoto, 2014) の出現が報告されており、その知見は近年充実しつつある。しかし未だに多くの未知種が相次いで発見されており、さらなる調査・分類が必要とされる。また、アミ類は沿岸性や汽水性の種が多く知られ、生活の場を近底層とする種類が多いことから通常のプランクトンネット採集による調査では不十分 (村野, 1971) とされている。

本章では東南アジア海域の多数の沿岸域において、そりネットの使用や、スキンダイビングによる目視でハンドネットを用いた採集など、従来行われていない採集方法を試み、南アジア海域に分布するアミ類の種と地理分布のさらなる精確な出現記録の収集、整備、および拡充を目的とした。

### 2-2. 採集地点

採集はフィリピン4地域11地点、ベトナム2地域5地点、タイ8地域28地点、マレーシア4地域11地点、計4ヶ国18地域55地点にて60回の採集を行った (Fig. 2-1, Table 2-1)。緯度経度では1°19.58'N~20°43.41'N、98°17.24'E~124°42.50'Eの範囲とな

る。採集は現場の環境に応じて、プランクトンネット(網目幅 0.1mm, 口径 25.6cm)、ハンドネット(網目幅 0.33mm, 口径 30cm)、簡易そりネット(網目幅 0.33mm, 網口：幅 50cm、高さ約 20cm)、タモ網(網目幅 0.33mm、口径 50cm)、簡易トラップ(500mL のプラスチック円柱容器の内部にアサリのすり身を入れ、蓋に 18 か所 3mm 程度の穴を明けたものを 1 晩海底直上に設置) のいずれかを用いた (Table 2-1)。採集地点の緯度経度は GPS 装置 i-gotU GT-800pro (Mobile Action Technology, Inc.) により記録した。得られた試料は分割し、現場で直ちに形態学的手法用に 5%中性ホルマリン海水溶液で、分子生物学的手法用に 99%エタノールで固定した。エタノール固定試料は 4℃で保管した。得られた試料は、実体顕微鏡 (Nikon SMZ745T) 下で村野 (1997)、Mauchline (1980) を参考に属まで査定し、種査定は記載文献等 (例えば *Siriella* 属; Murano, 2008, *Anisomysis* 属; Murano and Fukuoka, 2003) に基づき行った。

### 2-3. 出現種

今回採集を試みた 4 ヶ国 18 地域 55 地点のうち、4 ヶ国 15 地域 31 地点からアミ類を採集した (Fig.2-1, Table 2-1)。4 ヶ国それぞれの出現種を以下に示す。

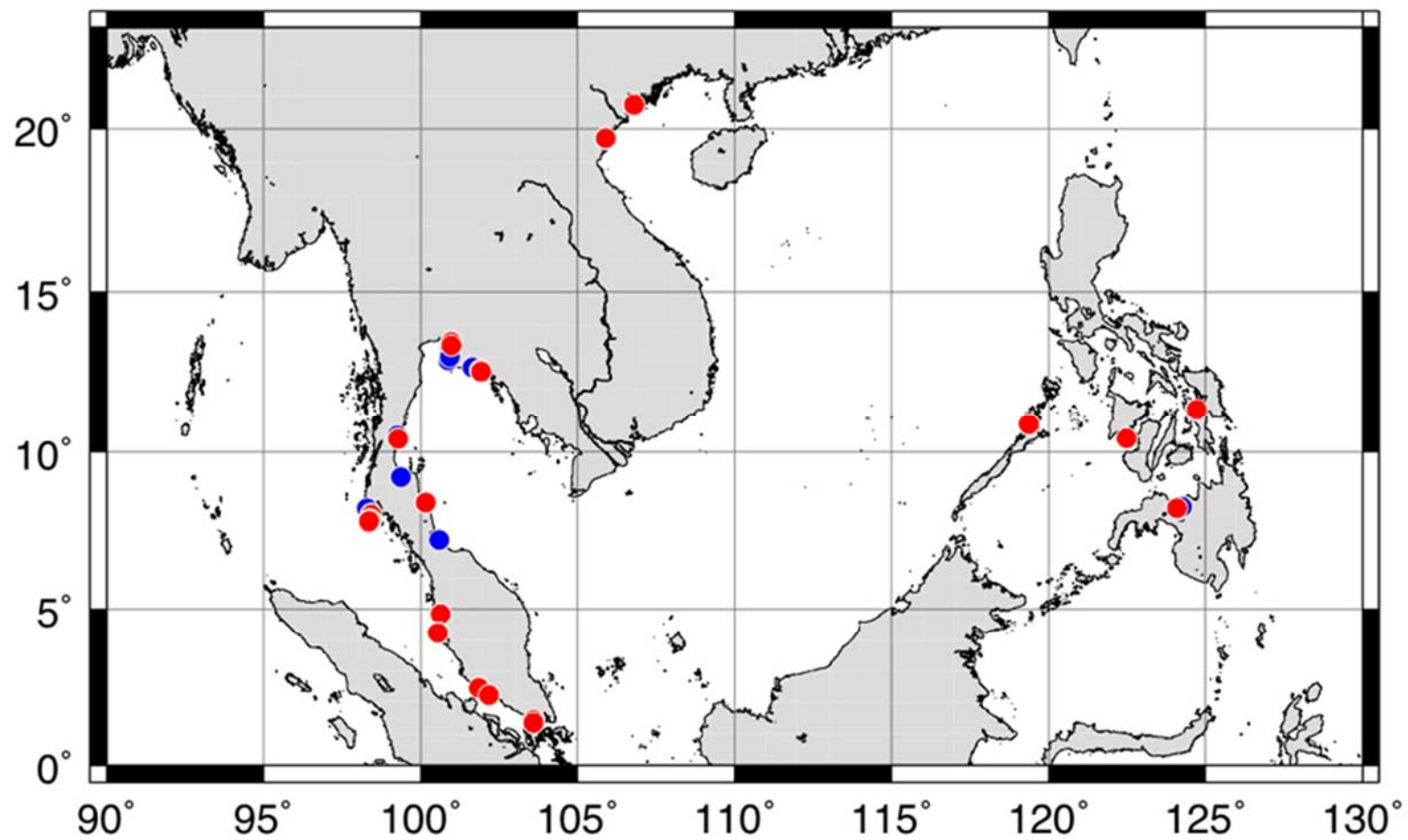


Fig 2-1. Map of sampling locations of mysids. (Blue circle: Negative sampling, Red circle: Positive sampling)

Table 2-1. Sampling information and species.

| Country     | Region/Province/States | District | Locality        | Lat. (° N) | Long. (° E) | Date      | Gear         | Species   |
|-------------|------------------------|----------|-----------------|------------|-------------|-----------|--------------|---|
| Philippines | Western Visayas        | Guimaras | Taklong Island  | 10.4167    | 122.5000    | 2010/7/9  | Hand net     | <i>Anichialina</i> sp., <i>Anisomysis</i> ( <i>Anisomysis</i> ) <i>pelewensis</i> , <i>A.</i> ( <i>A.</i> ) <i>hashizumei</i> , <i>Haplostylus flagelliforma</i> , <i>Nanomysis philippinensis</i> , <i>Pseudanchialina inermis</i> , <i>Siriella gracilis</i> , <i>S. hansenii</i> , <i>S. inornata</i> , <i>S. vincenti</i> |
|             | Visayas                | Leyte    | Carigara        | 11.3071    | 124.6901    | 2013/8/23 | Plankton net | N/A   |
|             |                        |          |                 | 11.3247    | 124.7139    | 2013/8/23 | Sledge net   | <i>Diopromysis</i> sp., <i>A. (A.)</i> sp.  |
|             |                        |          |                 | 10.8685    | 119.3676    | 2013/8/24 | Sledge net   | <i>Pseudanchialina inermis</i> , <i>Hypererythrops</i> sp., <i>Lycomysis</i> sp., <i>A. (A.)</i> spp., <i>Paraleptomysis</i> sp.  |
|             | Mimaropa               | Palawan  | Taytay          | 10.8729    | 119.3644    | 2013/8/24 | Sledge net   |   |
|             |                        |          |                 | 10.8580    | 119.3732    | 2013/8/24 | Plankton net | N/A   |
|             | Northern Mindanao      | Mindanao | Lanao del Norte | 8.2601     | 124.2339    | 2013/8/26 | Plankton net | N/A   |
|             |                        |          |                 | 8.2549     | 124.2445    | 2013/8/26 | Plankton net | N/A   |
|             |                        |          |                 | 8.1876     | 124.1394    | 2013/8/29 | Sledge net   | N/A   |
|             |                        |          |                 | 8.1877     | 124.1391    | 2013/8/29 | Plankton net | N/A   |
|             |                        |          |                 | 8.1929     | 124.1018    | 2013/8/29 | Sledge net   | <i>Doxomysis/Neodoxomysis</i> sp.   |
|             |                        |          |                 | 20.7281    | 106.7933    | 2011/4/10 | Hand net     | MYSINAE sp.   |
|             |                        |          |                 | 20.7139    | 106.8003    | 2011/4/13 | Hand net     | N/A   |
| Vietnam     | Haiphong               |          | Doson           | 20.7281    | 106.7933    | 2011/4/13 | Hand net     | N/A   |
|             | Thanh Hoa              |          | Quang Xuong     | 19.7164    | 105.8835    | 2011/4/11 | Hand net     | N/A   |
|             |                        |          | Sam son         | 19.7334    | 105.9021    | 2011/4/11 | Hand net     | GASTROSACCINAE sp.  |

Table 2-1. Continued

| Country  | Region/Province/States | District            | Locality                 | Lat. (° N) | Long. (° E) | Date                   | Gear                 | Species  |
|----------|------------------------|---------------------|--------------------------|------------|-------------|------------------------|----------------------|--|
| Thailand |                        |                     | Khlong Tamru             | 13.4693    | 100.9789    | 2013/6/30              | Plankton net         | <i>Mesopodopsis orientalis</i> , <i>M. tenuipes</i>                              |
|          |                        |                     | Bang Pla Soi (Muang Mai) | 13.3621    | 100.9748    | 2010/11/25<br>2013/7/4 | Scoop Net            | <i>M. orientalis</i>   |
|          |                        | Mueang Chonburi     | Bangsaea Beach           | 13.2818    | 100.9164    | 2010/11/25             | Sledge net, Hand net | N/A  |
|          |                        |                     |                          | 13.2688    | 100.9218    | 2013/7/1               | Sledge net           | N/A  |
|          |                        | Chonburi            | Lamtan                   | 13.3039    | 100.9020    | 2010/11/25             | Scoop Net            | N/A  |
|          |                        |                     |                          |            |             | 2010/11/25             | Plankton net         | N/A  |
|          |                        |                     |                          |            |             | 2010/11/28-29          | Trap                 | N/A  |
|          |                        |                     |                          |            |             | 2010/11/26             | Plankton net         | N/A  |
|          |                        |                     |                          |            |             | 2010/11/26             | Plankton net         | N/A  |
|          |                        | Bang Lamung         | Bauglamung Beach         | 12.9915    | 100.9220    | 2010/11/26             | Sledge net, Hand net | N/A  |
|          |                        |                     |                          |            |             | 2010/11/26             | Sledge net, Hand net | N/A  |
|          |                        | Rayong              | Pattaya                  | 12.8926    | 100.8726    | 2010/11/26             | Sledge net, Hand net | N/A  |
|          |                        |                     | Klaeng                   | 12.6657    | 101.6603    | 2010/11/27             | Hand net             | N/A  |
|          |                        | Chanthaburi         | Makhampom                | 12.5878    | 101.9025    | 2010/11/27             | Hand net             | <i>M. orientalis</i> , <i>M. tenuipes</i>  |
|          |                        |                     | Kung Kraben              | 12.5823    | 101.8906    | 2010/11/27             | Plankton net         | N/A  |
|          |                        | Chumphon            | Chaolao Beach            | 12.5328    | 101.9226    | 2010/11/27             | Hand net             | <i>A. (A.) spinaintus</i> , <i>Siriella</i> sp., GASTROSACCINAE sp.              |
|          |                        |                     | Na Thung                 | 10.4981    | 99.2587     | 2013/7/5               | Plankton net         | N/A  |
|          |                        | Surat Thani         | Hat Sai Ri               | 10.3961    | 99.2798     | 2013/7/5               | Sledge net           | <i>Orientomysis calida</i>   |
|          |                        |                     | Bang Kung                | 9.1840     | 99.3690     | 2013/7/7               | Plankton net         | N/A  |
|          |                        | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang              | 8.3710     | 100.1691    | 2013/7/7               | Hand net             | <i>M. orientalis</i> , <i>M. tenuipes</i>  |
|          |                        |                     | Mai Khao                 | 8.1997     | 98.2902     | 2010/12/2              | Sledge net, Hand net | N/A  |
|          |                        | Thalang             | Pa Klok                  | 8.0215     | 98.4153     | 2010/12/2              | Hand net             | N/A  |
|          |                        |                     |                          | 8.0033     | 98.4146     | 2010/12/2              | Hand net             | <i>Rhopalophthalmus orientalis</i>   |
|          |                        | Mueang Phuket       | Chalong                  | 7.8459     | 98.3713     | 2010/12/3              | Hand net             | <i>Anisomysis (Javanisomysis) similis</i>  |
|          |                        |                     |                          | 7.8407     | 98.3762     | 2010/12/3              | Hand net             | N/A  |
|          |                        | Phuket              | PMBC-Pier                | 7.8015     | 98.4064     | 2010/12/2              | Plankton net         | N/A  |
|          |                        |                     | PMBC-Beach               | 7.8005     | 98.4075     | 2010/12/3              | Hand net             | <i>A. (J.) similis</i> , <i>A. (Paranisomysis) ohtsukai</i> , <i>limysis</i> sp. |
|          |                        | Wichit              | Tungkhen Bay             | 7.8138     | 98.4050     | 2010/12/2              | Hand net             | N/A  |
|          |                        |                     |                          | 7.8133     | 98.4046     | 2010/12/2              | Hand net             | <i>A. (J.) similis</i>   |
|          |                        | Songkhla            | Ko Bon                   | 7.7566     | 98.3349     | 2010/12/3              | Hand net             | <i>A. (P.) ohtsukai</i>  |
|          |                        |                     | Ko Lon                   | 7.7838     | 98.3585     | 2010/12/3              | Hand net             | <i>A. (A.) phuketensis</i>   |
|          |                        | Mueang Songkhla     | Samila Beach             | 7.2154     | 100.5957    | 2013/7/6               | Sledge net/Hand net  | N/A  |

Table 2-1. Continued

| Country  | Region/Province/States | District        | Locality        | Lat. (° N) | Long. (° E) | Date       | Gear                | Species  |
|----------|------------------------|-----------------|-----------------|------------|-------------|------------|---------------------|--|
| Malaysia | Perak                  | Pangkor Island  | Kuala Sepatang  | 4.8437     | 100.6334    | 2010/12/12 | Scoop Net           | <i>M. orientalis</i> , ERYTHROPINAE sp.                        |
|          |                        | Giam Island     | Teluk Nipah     | 4.2362     | 100.5452    | 2010/12/11 | Slege net           | <i>A. (P.) ohtsukai</i> , <i>Siriella</i> sp., ERYTHROPINI sp. |
|          |                        | Mentagor Island | Pulau Giam      | 4.2356     | 100.5414    | 2010/12/12 | Hand net            | <i>A. (P.) ohtsukai</i>  |
|          | Negeri Sembilan        |                 | Pulau Mentagor  | 4.2288     | 100.5383    | 2010/12/11 | Hand net            | <i>M. tenuipes</i>   |
|          |                        |                 | Port Dickson    | 2.4647     | 101.8478    | 2010/12/9  | Hand net            | <i>Siriella</i> sp., <i>limysis</i> sp., MYSINAE sp.           |
|          | Melaka                 |                 | Tanjung Kling   | 2.2209     | 102.1717    | 2010/12/9  | Sladge net          | <i>M. orientalis</i> , MYSINAE sp.                             |
|          |                        |                 |                 | 1.3453     | 103.5969    | 2010/12/10 | Hand net            | <i>M. orientalis</i> , <i>Siriella</i> sp.                     |
|          | Johor                  |                 | Tanjung Kupang  | 1.3453     | 103.5969    | 2013/5/28  | Hand net            | <i>M. orientalis</i>   |
|          |                        |                 |                 | 1.3862     | 103.6155    | 2013/5/29  | Hand net            | <i>M. tenuipes</i>   |
|          |                        |                 |                 | 1.4384     | 103.5867    | 2013/5/29  | Hand net            | <i>M. tenuipes</i>   |
|          |                        |                 |                 | 1.3329     | 103.6005    | 2010/12/10 | Sledge net/Hand net | <i>Siriella</i> sp. LEPTOMYSINAE sp.                           |
|          |                        |                 | Tanjung Pelepas |            |             |            |                     |  |

フィリピン (3 亜科 5 属 9 種 (未同定種を含まない))

*Anisomysis (Anisomysis) pelewensis*

*A. (A.) hashizumei*

*A. (A.) spp.*

*Haplostylus flagelliforma*

*Nanomysis philippinensis*

*Pseudanchialina inermis*

*Siriella gracilis*

*S. hansenii*

*S. inornata*

*S. vincenti*

*Anchialina* sp.

*Diopromysis* sp.

*Doxomysis/Neodoxomysis* sp.

*Hypererythrops* sp.

*Lycomysis* sp.

*Paraleptomysis* sp.

ベトナム

Tribe MYSINNAE sp.

Tribe GASTROSACCINAE sp.

タイ (2 亜科 4 属 8 種 (未同定種を含まない))

*Anisomysis (Anisomysis) spinaintus*

*A. (A.) phuketensis*

*A. (Paranisomysis) ohtsukai*

*A. (Javanisomysis) similis*

*Mesopodopsis orientalis*

*M. tenuipes*

*Orientomysis calida*

*Rhopalophthalmus orientalis*

*Limysis* sp.

*Siriella* sp.

Subfamily ERYTHROPINAE sp.

Subfamily GASTROSACCINAE sp.

マレーシア西海岸 (1 亜科 2 属 3 種(未同定種を含まない))

*Anisomysis (Paranisomysis) ohtsukai*

*Mesopodopsis orientalis*

*M. tenuipes*

*Siriella* spp.

*Iimysis* sp.

Subfamily ERYTHROPINAE spp.

Subfamily LEPTOMYDINAE sp.

Subfamily MYSINAE spp.

以上のうち、種まで査定できたものは4 亜科 8 属 (3 亜属) 19 種であった (Table 2-2)。

未同定の個体については、破損した個体や、未成体を含む。このうち *Anisomysis* 属の *A.*

(*Anisomysis*) *spinaintus*、*A. (A.) phuketensis*、*A. (Javanisomysis) similis* の3 種は新種として

記載した (Sawamoto et al. 2015, Moriya et al. 2015) 。これら 3 種については第 3 章で詳

Table 2-2. The list of species collected in this study. (excluding unidentified species)

*Anisomysis (Anisomysis) pelewensis*

*A. (A.) hashizumei*

*A. (A.) laticauda*

*A. (A.) minuta*

*A. (A.) spinaintus*

*A. (A.) phuketensis*

*A. (Paranisomysis) ohtsukai*

*A. (Javanisomysis) similis*

*Haplostylus flagelliforma*

*Mesopodopsis orientalis*

*M. tenuipes*

*Nanomysis philippinensis*

*Orientomysis calida*

*Pseudanchialina inermis*

*Siriella gracilis*

*S. hansen*

*S. inornata*

*S. vincenti*

*Rhopalophthalmus orientalis*

しく報告する。次に東南アジア地域からの初採集は *A. (A.) pelewensis*, *A. (A.) hashizumei*, *A. (Paranisomysis) ohtsukai*, *Siriella vincenti*, *Haplostylus flagelliforma* の 5 種であった。今回の結果において複数の国や地域に跨り出現した種は非常に少なく、属レベルでは *Anisomysis* 属が複数の地域で、種レベルでは *Mesopodopsis* 属の、*M. orientalis* 及び *M. tenuipes* の 2 種のみであった、この *Mesopodopsis* 属の 2 種については第 4 章で詳しく報告する。

## 2-4. 考察

### 2-4-1. 器具による採集効率の差

今回出現した 19 種 (Table 2-2) について、このうち未記載種が 3 種、初採集記録が 5 種であることから、採集できた既知種はわずかに 11 種となり、東南アジアからの出現報告がある 207 種に対し、僅か 5.3%であった。今回行った 60 回の採集のうち、約半数にあたる 29 回 (48%) でアミ類を採集することができなかった。この採集成功率を、採集に使用した機材とその成功回数と共に Table 2-3 に示す。簡易トラップを除く各ネットにおける採集成功率は、プランクトンネットが他の採集方法と比べて非常に低く 7.69%となった。そりネットでは最高値の 75%を示し、従来言われている様に (例えば村野, 1971) 有効である事が示された。また、タモ網やスキンダイビングによる目視での採集 (ハンドネット) においても、50%以上の成功率を示していることから十分有用な方法と考えられる。

Table 2-3. Success rates of gears for misyd collection.

| Gear         | Usage count | Success | (%)   |
|--------------|-------------|---------|-------|
| Plankton net | 13          | 1       | 7.69  |
| Hand net     | 33          | 20      | 60.61 |
| Scoop Net    | 4           | 3       | 75.00 |
| Sledge net   | 16          | 8       | 50.00 |
| Trap         | 1           | 0       | 0.00  |

またトラップを用いた採集においては、Gan et al. (2010) により Emergence trap が有効である事が報告されている。しかし、渡航における機材の制限や、他の採集と比べ現地での長時間の滞在を求められることから、今回の調査では時間や環境の都合上、トラップを用いた調査を行うことはほとんどできなかった。次に採集時間について、フィリピンの Taklong 島で昼夜行った採集記録 (Table 2-4) をみると、昼夜で異なる種が採取されていることがわかる。またベトナムの Doson、タイ、プーケットの Pa Klok や Chalong (Table 2-1)では、僅かな場所の違いでも採集の有無が見られた。このことから同地点における複数回の採集、昼夜や潮汐を考慮した採集、底質等基質による採集場所の選定が重要である。以上のことから、今後のアミ類の分布調査においては、定点的観測では昼夜や潮汐を考慮した採集を行い、そりネットやダイビングによる目視での採集 (ハンドネット) を行うと効率的であり新たな知見が期待される。広域観測では夜間の採集はその沿岸の地形に精通していないと危険なため、日中にそりネットやダイビングによる目視での採集 (ハンドネット) が最も効率的と考えられる。いずれにせよ、東南アジア沿岸域におけるアミ類の精確な出現記録の収集、整備、および拡充にはこの両方の観測が依然必要と思われる。

Table 2-4. Mysida species collected on the day and night in the Taklong Is. (○: Indicates present)

| Species                                   | Day      |       |          | Night    |       |          |
|---|----------|-------|----------|----------|-------|----------|
|   | Seagrass | Coral | Mangrove | Seagrass | Coral | Mangrove |
| <i>Anchiallina</i> sp.                    |          |       |          |          | ○     | ○        |
| <i>Anisomysis (Anisomysis) pelewensis</i> | ○        | ○     | ○        |          |       |          |
| <i>A. (A.) hashizumei</i>                 |          |       | ○        |          |       |          |
| <i>Haplostylus flagelliforma</i>          |          |       |          | ○        | ○     |          |
| <i>Nanomysis philippinensis</i>           |          |       | ○        |          |       |          |
| <i>Pseudanchialina inermis</i>            |          | ○     |          | ○        | ○     | ○        |
| <i>Siriella gracilis</i>                  |          |       |          | ○        | ○     |          |
| <i>S. hansenii</i>                        |          | ○     |          |          |       |          |
| <i>S. inornata</i>                        |          |       |          | ○        |       |          |
| <i>S. vincenti</i>                        |          |       |          | ○        |       |          |

次に、今回採取した個体で種査定に至らない種について、アミ類は成熟した雄個体の形態に基づいて種査定を行う種が多く存在するため、未成熟個体や雌のみが出現した場合に種査定出来ないことが多くある。さらに、形態学的形質に基づいた種査定は経験と知識を必要とする。これに対し、分子生物学的手法は比較的容易且つ、個体の一部でも利用が可能なことから、今後のさらなる活用が期待されている。そのためには既知種の DNA バーコーディングを進めることが重要となるが、そのデータベースである GenBank への登録は未だ 1,900 件 (既知種の 1.6 倍の件数) に対し、とカイアシ類の 770,000 件 (既知種の 64 倍の件数) 等と比べると非常に少なく、さらなる DNA バーコーディングが今後のアミ類研究を進めるうえで重要になると考える。

また、近底層性、潜砂性の種が多く存在するため、採集時に破損してしまう個体も多く見られた。これはそりネット等による採集の為、網の中で泥や砂など多くのゴミと一緒に攪拌されてしまう事による影響が大きいと思われる。この解決策としてコックエンドを飼育ネットと呼ばれる様な大型の瓶を取り付ける改良も考えられるが、海底地形によりそりネットを曳網できる場所が制限されることからダイビングによる目視での採集 (ハンドネット) の方がそりネットによる採集より有用と考える。

#### 2-4-2. 地理分布

今回の調査で出現した種のうち、*Anisomysis* 属、*Mesopodopsis* 属を除く 6 属 9 種につ

いては、*Siriella* 属、*P. inermis*、*R. orientalis* など東南アジアにおいて広く分布することが知られる種がほとんどであった。*Siriella* 属は外洋性種など広域に分布する種が多く知られており、本海域で初採集となる *S. vincenti* もオーストラリア沿岸や南太平洋など周辺海域で採集されることが知られている。*H. flagelliforma* はオーストラリア沿岸で知られる種であり、本海域からは初採集記録となる。本種は記載時以外の採集記録が無いため、分布については不明である。しかし、*Haplostylus* 属の中には同様の範囲に分布する種も知られており、さらなる調査が必要と考える。*Orientomysis calida* はタイ湾東部での出現が知られている、今回タイ湾西部から出現したことから、タイ湾に広く分布していることが考えられる。*Nanomysis philippinensis* の採集記録はフィリピン Panay 島の Batan 湾のみである。今回この島の隣に位置する Guimaras 島の陸繋島である Taklong 島より採集された。このことから、本種は少なくとも西ビサヤ地方に分布していると考えられる。

東南アジア海域におけるアミ類の分布範囲には大洋を跨ぐタイプ、インド洋、オーストラリアなど周辺海域から東南アジア海域にかけて分布するタイプ、湾内、諸島など限られた範囲に分布するタイプと多様な地理分布傾向を持つことが今回の結果からも示された。この要因として、各種の生活史や生息環境、個体の運動能力、人為的影響等が考えられるが、解明には属や種レベルでのさらなる研究が必要となる。しかし、東南アジア海域に分布するアミ類全体でみると、本研究の結果と既往の知見から、本海域は既

知種の3割近くが地域固有種であるなど、アミ類の多様性と固有性が高い海域と考えられる。

### 第3章 *Anisomysis* 属における未記載種の報告と分類

#### 3-1. 諸言

*Anisomysis* 属は、その多くがインド洋から太平洋中東部にかけての熱帯および亜熱帯に分布することが知られおり、沿岸域ではその豊富な生物量から、生態系においても重要な役割を担っていると考えられている (Fukuoka et al., 2002)。また、広域に分布する種は僅かで、地域固有の種が多く存在する事が知られている (例えば Müller, 1993; Murano and Fukuoka, 2003)。東南アジア海域からはこれまでに 4 亜属 15 種が報告されているが (Sawamoto, 2014)、本属は沿岸域で群れを形成する種が多く、この群れは砂上だけでなく、波打ち際や、サンゴ礁域など通常のプランクトンネットでは採集が困難な場所に出現する事が知られており (Ohtsuka et al., 1995)、従来と異なる採集方法を用いることにより、さらなる未記載種の出現が期待される属である。

*Anisomysis* 属は Siboga Expedition においてインドネシア Obi Island, Laiwui で採集された *Anisomysis laticauda* を基に Hansen (1910) により記載され、現在 4 亜属から構成されているが、分類学的には以下に示すように複雑な経緯を経て今に至っている。

Băcescu (1973) は本属の種を、上顎触鬚内縁における小瘤状突起物を有する *Paranisomysis* 亜属と有しない *Anisomysis* 亜属の 2 亜属に分類し、その後、雄の第 4 腹肢内肢が欠如し、外肢が分節しない種について *Javanisomysis* 亜属を設立した (Băcescu, 1992)。しかしこの特異的な形態形質から Murano and Fukuoka (2003) は

*Javanisomysis* を属に昇格することを提案した。その後、*Javanisomysis* は属として扱われてきた (例えば Wittmann et al., 2014) が、最近になって本属は *Anisomysis* 属の亜属であることが *Javanisomysis gutzui* の従基準標本の調査から判明し、亜属として再定義された (Sawamoto, Sirunui and Moriya, 2015)。また、その際に *Anisomysis* (*Anisomysis*) *thurneysseni* も *Javanisomysis* 亜属に帰属された (Sawamoto et al., 2015)。

Tattersall (1943) によって記載された *Carnegieomysis* 属の種は Murano (1995) によって *Anisomysis* 属に帰属することが再定義された。その後 Murano and Fukuoka (2003) は *Anisomysis* 属の系統学的研究を行った際に *A. bipartoculata* を模式種とし、角膜が 2 部分に分かれるという特徴から第 4 の亜属である *Pseudanisomysis* 亜属を設立し 4 種を帰属させた。しかし、Mess (2015) により *Pseudanisomysis* 亜属は *Carnegieomysis* 属の新参異名であると定義され、*Carnegieomysis* 属は *Anisomysis* 属の亜属と再々定義された。

現在 *Anisomysis* 属では、*Anisomysis* 亜属 38 種、*Paranisomysis* 亜属 18 種、*Carnegieomysis* 亜属 4 種、*Javanisomysis* 亜属 3 種 (Mees, 2015) の計 63 種が報告されている。

本属では分子生物学的手法を用いた系統関係の研究は行われておらず、GenBank に登録された塩基配列も皆無である。また、地域ごとに微細ではあるが形態学的に異なる形状を示す種も報告されている (Fukuoka et al., 2002)。さらに、記載時以外の採集記

録が無い種も多く存在することから、既往種を含めたさらなる採集と、分布をはじめとする生態学的知見の充実が求められている。

本章では本調査で出現した個体のうち未記載種であった 2 亜属 3 種の新種記載論文 (Moriya et al., 2015, Sawamoto, Srinui and Moriya, 2015) の内容を再掲載する。また、得られた試料に対して分子生物学的手法を用いて 18SrRNA の塩基配列におけるバーコーディングを行い、形態学的手法に基づく分類方法との比較を行った。さらに、新たに作成した 4 亜属及び *Anisomysis* 亜属 38 種への検索表を記述する。なお、未記載種として記載された 2 亜属 3 種については既に論文として公表したため (Sawamoto et al. 2015, Moriya et al. 2015)、本論文では既報種として扱う。

### 3-2. 材料と方法

#### 3-2-1. 採集と形態学的測定

*Anisomysis* 属の試料は 3 ヶ国 6 地域 12 地点より採集された(第 2 章, Table 3-1)。試料は分割し、現場で直ちに形態学的分析用に 5%中性ホルマリン海水溶液で、分子生物学的分析用に 99%エタノールで固定した。エタノール固定試料は 4℃で保管した。採取された個体は Murano and Fukuoka (2003) に基づき査定を行った。形態学的用語は主に 村野 (1997) 及び Murano and Fukuoka (2003) に従った。体長 (BL) は額角先端から尾

節末端 (ただし末端の棘は含まない) までの長さとした。記載図の作成には描画装置を利用した。新種として記載された標本は国立科学博物館 (NSMT) に寄託した。

### 3-2-2. DNA 抽出、PCR 法及び塩基配列の決定

DNA 抽出においては、Qiagen© Gentra Puregene Tissue Kit のプロトコルに従って用い、試料個体の腹部を使用し抽出を行った。PCR (Polymerase Chain Reaction) では 18S rRNA 遺伝子(18SrRNA)の一部を対象とし、抽出された DNA をテンプレートとして、ユニバーサルプライマー18sv4f (5'- ATTCCAGCTCCAATAGCG -3') (Meland et al., 2004) 及び 3'R (5'- TGATCCATCTGCAGGTTCACCT-3') (Weekers et al., 1994) を用いて PCR 法を行い、本属の 18S rRNA 遺伝子断片を増幅した。PCR は 1  $\mu$ L の DNA テンプレートに 0.08  $\mu$ L の Z- Taq (TaKaRa Otsu, Japan)、1.5  $\mu$ L の 10 $\times$ PCR buffer、1.8  $\mu$ L の両プライマー (18sv4f, 3'R) (5  $\mu$ M)、1.2  $\mu$ L の 2.5  $\mu$ M dNTP mixture (2.5 mM 各オリゴヌクレオチドプライマー) となるように調製した溶液に加え、全量 15  $\mu$ L のスケールで行った。全ての増幅はサーマルサイクラー、Model 9700 (Applied Biosystems, Inc) を用いて行われた。反応条件は 94 $^{\circ}$ C 1 分間を 1 サイクルのち、94 $^{\circ}$ C 5 秒間 (熱変性), 48 $^{\circ}$ C 10 秒間(アニーリング), 72 $^{\circ}$ C 1 分間(伸長反応)の 3 段階について 35 サイクル繰り返した後 72 $^{\circ}$ C 2 分間を 1 サイクル行った。PCR 産物については、2% L O3 アガロースゲル

Table3-1. Geographic location, sampling data and present species of *Anisomysis*.

|                 | Country  | Province/States     | District                   | Lat. (°N) | Long. (°E) | Date       | Gear         | Number of specimens |
|-----------------|----------|---------------------|----------------------------|-----------|------------|------------|--------------|---------------------|
| Own<br>sampling | Thailand | Chonburi            | Bang Pla Soi               | 13.3621   | 100.9748   | 2010/11/25 | Scoop Net    | 54                  |
|                 |          |                     |                            |           |            | 2013/6/30  |              | 24                  |
|                 |          | Chanthaburi         | Khlung Tamru               | 13.4693   | 100.9789   | 2013/6/30  | Plankton net | 24                  |
|                 |          |                     | Kung Kraben                | 12.5878   | 101.9025   | 2010/11/27 | Hand net     | 31                  |
|                 |          | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang Fang Tawan Tok | 8.371     | 100.1691   | 2013/7/7   | Hand net     | 36                  |
|                 | Malaysia | Perak               | Kuala Sepatang             | 4.8437    | 100.6334   | 2010/12/12 | Scoop Net    | 18                  |
|                 |          |                     | Pulau Mentagor             | 4.2288    | 100.5383   | 2010/12/8  | Hand net     | 6                   |
|                 |          | Melaka              | Tanjung Kling              | 2.2209    | 102.1717   | 2010/12/9  | Slage net    | 24                  |
|                 |          |                     |                            | 1.3453    | 103.5969   | 2010/12/10 |              | 2                   |
|                 |          | Johor               | Tanjung Kupang             | 1.3453    | 103.5969   | 2013/5/28  | Hand net     | 32                  |
|                 |          |                     |                            | 1.3862    | 103.6155   | 2013/5/29  |              | 2                   |
|                 |          |                     |                            | 1.4384    | 103.5867   | 2013/5/29  |              | 2                   |
| Gifts           | Thailand | Phetchaburi         | Bang Tabun                 | 13.2719   | 99.9311    | 2013/12/18 | Hand net     | 32                  |
|                 | Malaysia | Johor               | Tanjung Kupang             | 1.4375    | 103.5751   | 2012/7/5   | Hand net     | 16                  |

(TaKaRa)を用いて電気泳動を行い、泳動後エチジウムブロマイドで染色、紫外線下で DNA の増幅の有無とサイズを観察した。

PCR 産物は ExoSap-IT (USB Corp.) を用いて精製を行った。ダイレクトサイクルシーケンス反応では PCR と同様のプライマーを使用し、ABI BigBye Terminator version 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems Inc.) を用いた。得られた反応産物から 3130 DNA シーケンサー (Applied Biosystems Inc.) を用い、塩基配列を決定した。

### 3-2-3. DNA 解析

得られた塩基配列は、Geneious version 6.1.8 (Biomatters Ltd.) を用いてアッセンブルを行い DNA データベース (DDBJ/EMBL/GenBank) に登録された塩基配列データと比較解析を行った。アッセンブルされた配列は MUSCLE (Edgar, 2004)によってアライメントを行った。最尤法 (以下 ML 法) 及び近隣結合法 (以下 NJ 法) に基づく系統樹の作成には MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013)を用いた。また GenBank において本属の配列は登録されていない。作成の際に *Anisomysis* 属の他種として *A. (A.) pelewensis*, *A. (P.) ohtsukai* 及び KH-08-01 航海で採集された *A. (C.) xenops* の 3 種を加えた。

### 3-3. 結果

前述の通り、今回調査を行った地域のうち 3 ヶ国 6 地域 12 地点から 3 亜属 8 種 (未同定種を除く) の *Anisomysis* 属が出現した (Table3-1)。これらのうち未記載種として記載を行った 3 種について報告する。

#### 3-3-1. 種の記載

**Order Mysida Boas, 1883**

**Family Mysidae Haworth, 1825**

**Subfamily Mysinae Haworth, 1825**

**Tribus Anisomysini Wittmann, Ariani and Lagardère, 2014**

**Genus *Anisomysis* Hansen, 1910**

Subgenus *Javanisomysis* Băcescu, 1992

*Anisomysis (Javanisomysis) similis* Sawamoto, Srinui and Moriya, 2015

(Figs. 3-1~4, Table 3-2)

(Sawamoto S., Srinui, K. and Moriya, M. (2015) Crustaceana, 88: 809–838.より和訳転載)

**模式標本** 正基準標本 (NSMT-Cr-24066), 成体雄 (BL 3.4 mm); 別模式標本 (NSMTCr-24067), 成体雌 (BL 3.4 mm); 従基準標本 (NSMT-Cr-24068) 雄 20 個体 (BL 2.3-3.4 mm; 解剖個体 雄, BL 2.9 mm), 雌 11 個体 (BL 2.6-3.6 mm; 解剖個体 雌, BL 3.6 mm), 未成熟雄 2 個体 (BL 2.0, 2.3 mm), 未成熟雌 7 個体 (BL 2.4-2.7 mm), 未成体 9 個

体 (BL 1.0-2.4 mm); 従基準標本 (IORD-In-14001), 雄 5 個体 (BL 2.6-3.2 mm), 雌 5 個体 (BL 2.6-3.6 mm); Tungkhen 湾, Phuket 島, 7°48.49'N, 98°24.18'E; ハンドネット (網目幅, 0.33 mm; 口径, 30 cm) を用い、スキンドIVINGにより藻場及び珊瑚礁域で採集、採取日 2010 年 12 月 2 日, 採集者: 守屋 光泰

**記載** 体表は滑らか。背甲前縁は広く丸みを帯び、眼球基部を覆う。額角は鈍角で眼柄基部を覆う (Fig. 3-1C-E)。背甲前縁は小棘を備え (Fig. 3-1A-E)、前縁側面の角は丸みを帯び、第一下顎及び第二下顎はほとんど覆われていない (Fig. 3-1A, B)。眼は大きく、角膜部は球状、眼柄基部を除き露出 (Fig. 3-1C-E)。第一触角柄は雌より雄の方が堅固 (Fig. 3-1C, D)、雌雄とも第二節が最も短い、第一、第二節は背面側に小さな突起と刺毛を備える (Fig. 3-1C, D)、第一、第三節前縁の隅に刺毛を備える (Fig. 3-1C-E)。第二触角鱗片は第一触角柄を越える長さ (Fig. 3-1C-E) で外側へ僅かに湾曲する、雄では第一種触角柄の約 2 倍の長さ (Fig. 3-1F)、雌では 2.2 倍の長さ (Fig. 3-1G)、幅は狭く槍状で、幅の 5.4-6.8 倍の長さ、全周に刺毛を備え、先端部に縫合線がみられる、先端は丸みを帯びる。

上唇は鈍角で、突起は無い、前側部は伸長する (Fig. 3-1H)。上顎は: 3 節、第二節が最も長く中央部で幅広くなる、両側に刺毛を備え、雄では内側が 3~5 本、外側が 5~9 本 (Fig. 3-1I)、雌では内側が 3、4 本、外側が 5~9 本 (Fig. 3-1H)。第一下顎 (Fig. 3-1J)、第二下顎 (Fig. 3-1K)、第一胸肢内肢 (Fig. 3-2A, J) は雌雄で良く似る。第一胸肢内肢は: 指節の爪は固有の形状を示す、長い棘の末端は湾曲し微小棘を備える (Fig. 3-

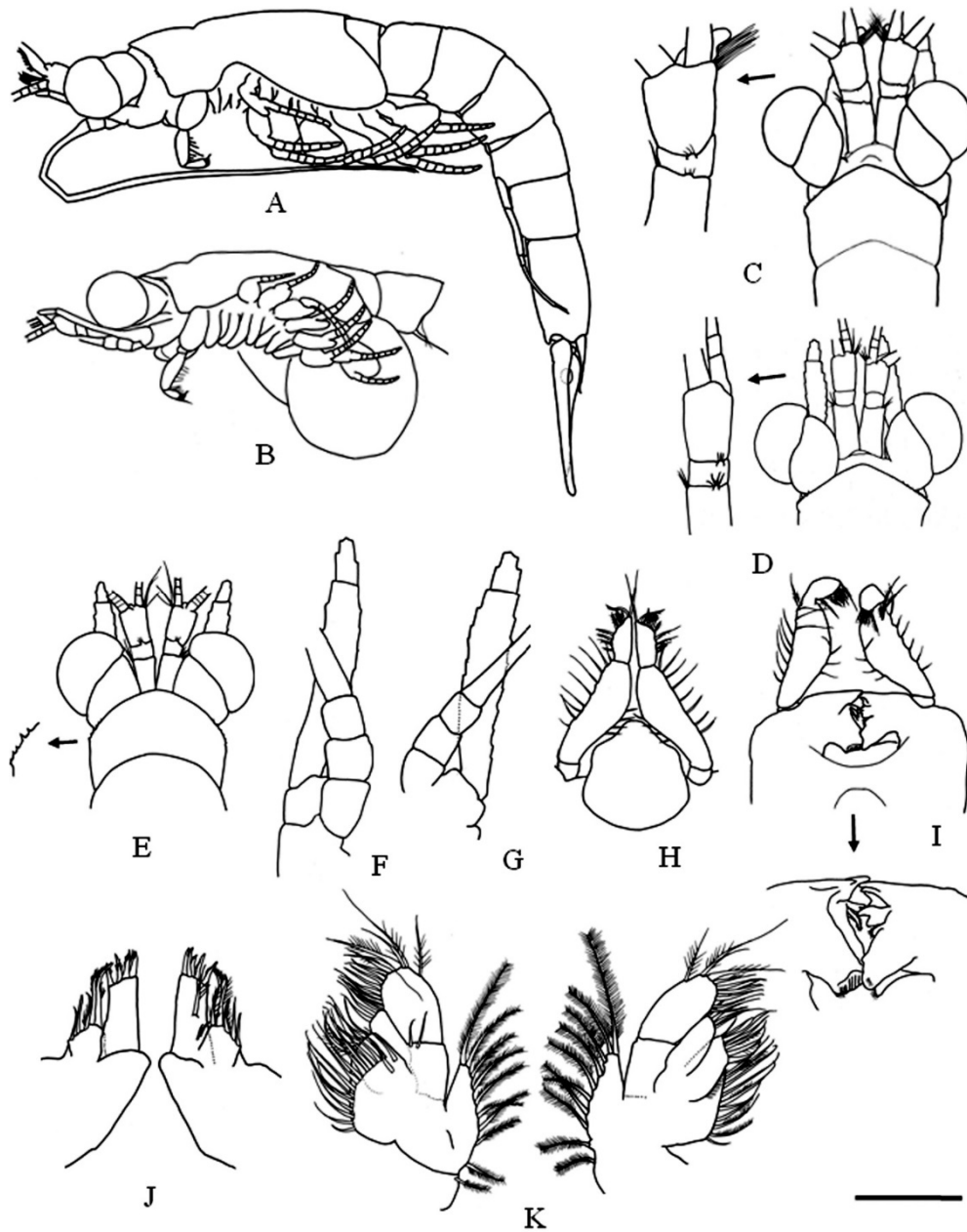


Fig. 3-1. *Anisomysis (Javanisomysis) similis* Holotype, male (BL 3.4 mm: A, C, F), allotype, female (BL 3.4 mm: D, G, H), paratype, male (BL 2.9 mm: I-K) and female (BL 3.6 mm: B, E) from Phuket, Thailand. A, lateral view of whole body; B, lateral view of anterior body; C, D, dorsal view of anterior body and enlarged antennule; E, dorsal view of anterior body and antero-lateral margin of carapace enlarged; F, G, ventral view of antenna; H, external view of mandibular palps and labrum; I, external view of mandibles with palps (upper), enlarged mandibles (lower); J, right maxillule, both sides; K, right maxilla, both sides. Scale bar; 0.5 mm for A, B; 0.4 mm for C-E; 0.2 mm for F-I; 0.1 mm for J, K.

2A)、同様の棘は第二胸肢内肢指節でも見られる (Fig. 3-2K)。雄の第三から第八胸肢内肢 (Fig. 3-2C-H) 及び雌の第三から第五 (Fig. 3-3A-C) の腕前節は2節に分節する、雌の第六から第八腕前節は分節しない (Fig. 3-3D-F)、雌雄の第三から第八胸肢内肢の2、3本の外縁棘には微小棘を備える (Figs. 3-2C-H, 3-3A-F)。雌雄共に第一及び第八胸肢外肢の鞭毛状部分は7節 (Figs. 3-2H, 3-3F)、第二から第七胸肢外肢は8節 (Figs. 3-2B-G, K, 3-3E)。第三から第五胸肢内肢は比較的長く、第八胸肢に向けて短くなる。第七胸肢 (Fig. 3-3E) 覆卵葉は第八胸肢の覆卵葉より小さい (Fig. 3-3F)。陰茎は円筒形で、丸みを帯びた先端には3本の棘の刺毛を備える (Fig. 3-2H, I)。

腹部はなめらか、第1から第5節の長さは概ね等しい、第六節が最も長く第五節の1.5倍 (Fig. 3-1A)。腹肢は単枝で雌の第一から第五腹肢は分節しない (Fig. 3-4A)、雄の第一から第三及び第五腹肢において、第一腹肢は二葉、末端につれて広くなる。第三腹肢は雌雄ともに狭い。雌においては第五腹肢が最も長い (Fig. 3-4A)、雄も似た形状を示す。雄の第四腹肢は二肢型でその長さは末端の刺毛を含まず第六腹肢の3/4まで達する (Fig. 3-1A)。原節は原始的な裂片 (Fig. 3-3G)。内肢は小さく7本の刺毛を備える (Fig. 3-3H)。外肢は長く3節、第一節は末端1/3に向けて徐々に幅が広がるが、その最大幅部分に突起は無い、以降は第二節に向け狭くなる (Fig. 3-3G, H)。第二節が最も短い。第三節の長さは第一節と概ね等しいか、より長い。末端の2本の棘毛は異なる形態を示す。内側の刺毛の基部は堅固で先細りになり、外側の細い刺毛より僅か

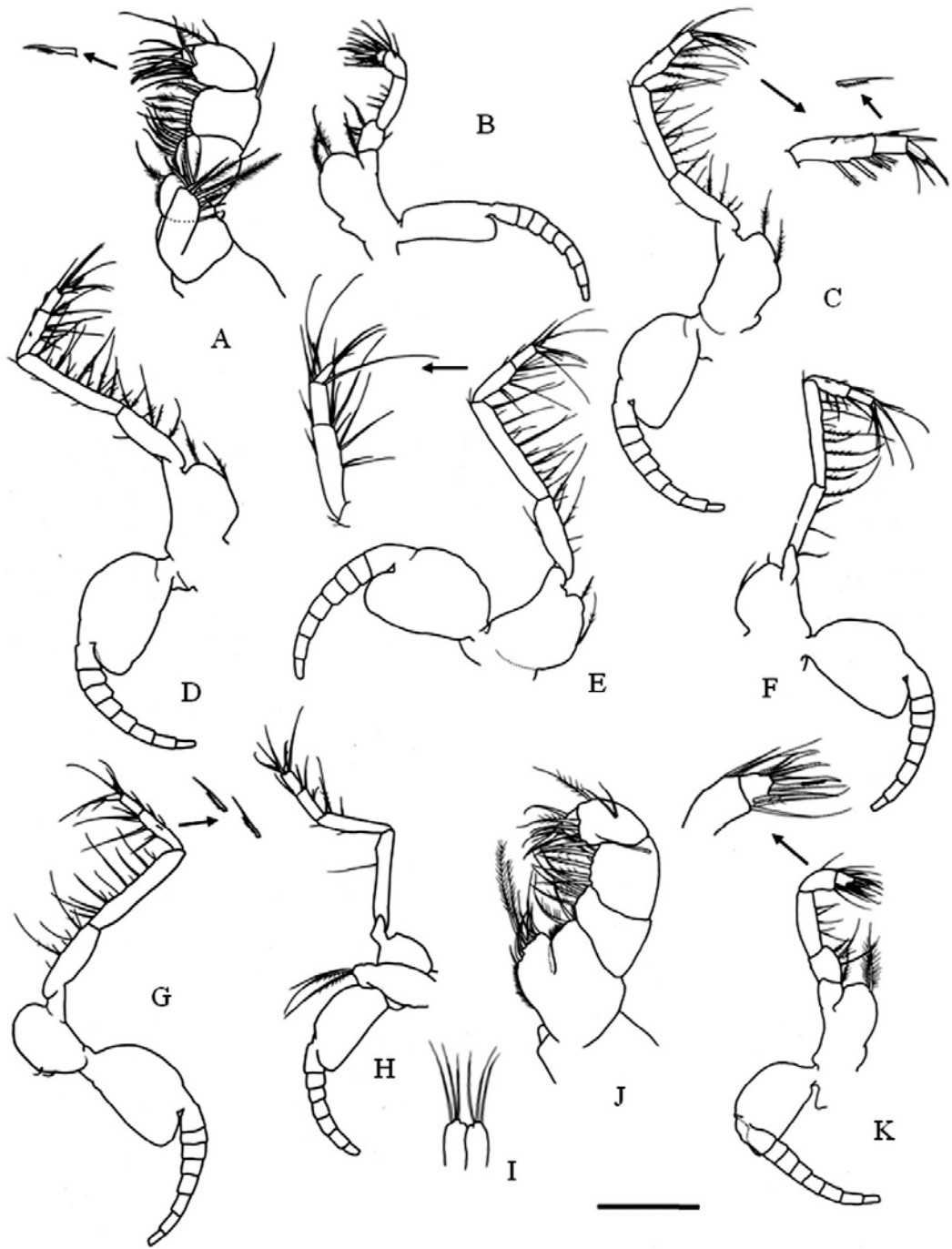


Fig. 3-2. *Anisomysis (Javanisomysis) similis* Sawamoto, Srinui and Moriya, 2015; Holotype, male (BL 3.4 mm: I), paratype, male (BL 2.9 mm, same specimen as for fig. 5: A-H) and female (BL 3.6 mm, same specimen as for fig. 5: J, K). A, J, right first thoracopodal endopod, terminal claw of A enlarged; B, K, right second thoracopod, distal segments of K enlarged; C, right third thoracopod, distal segments and barbed seta enlarged; D, right fourth thoracopod, E, right fifth thoracopod, F, right sixth thoracopod; G, right seventh thoracopod and barbed setae enlarged; H, right eighth thoracopod and penis; I, ventral view of penis. Scale bar: 0.2 mm for B-I, K; 0.1 mm for A, J.

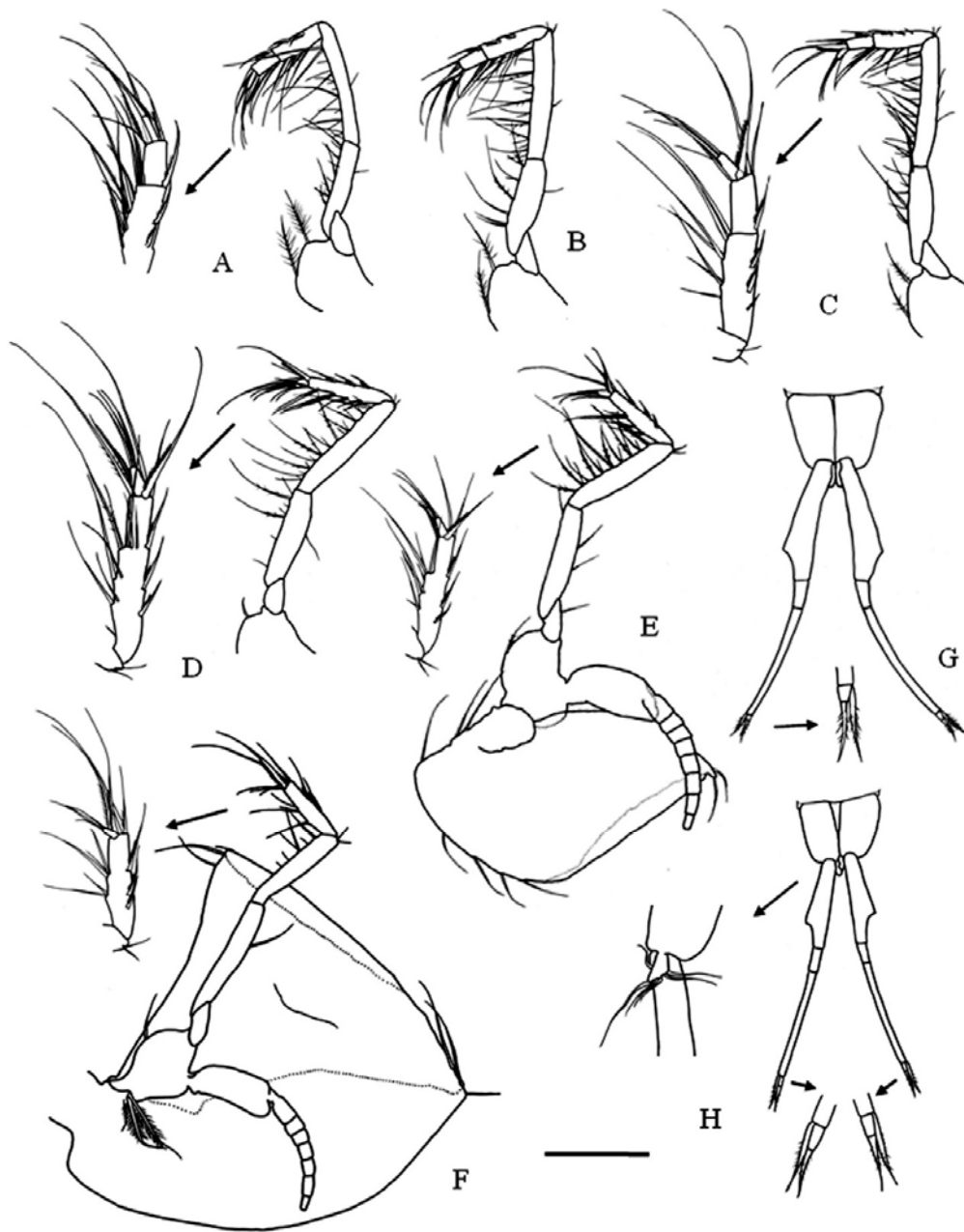


Fig. 3-3. *Anisomysis (Javanisomysis) similis* Sawamoto, Srinui and Moriya, 2015; Holotype, male (BL 3.4 mm: G), paratype, male (BL 2.9 mm, same specimen as for fig. 5: H) and female (BL 3.6 mm, same specimen as for fig. 5: A-F). A, right third thoracopodal endopod; B, right fourth thoracopodal endopod, C, right fifth thoracopodal endopod; D, right sixth thoracopodal endopod; E, right seventh thoracopod and oostegite; F, right eighth thoracopod and oostegite; (Distal segments of the third, the fifth to the seventh endopods are enlarged.); G, H, ventral view of fourth male pleopods (Endopod of H and apical barbed setae of G, H are enlarged.). Scale bar: 0.2 mm for A-H.

に長い、刺毛の中部に羽毛を備える (Fig. 3-3G, H)。

尾肢内肢はわずかに外肢より短い (Fig. 3-4D, E)。平衡胞付近の腹側に棘はない (Fig. 3-4E)。尾節は: 第六腹肢の半分の長さ、長さは最大幅の 1.2~1.3 倍 (末端の 2 つの棘を含む)、舌状で基部は狭くなる、末端部は三角形、側縁末端 2/5 に雄は 17~25 (主に 19~21) の基部が分節しない小歯状突起を備える (Fig. 3-4B)、雌は 16~26 (主に 20~22) の雄と同様の小歯状突起を備える (Fig. 3-4C)。

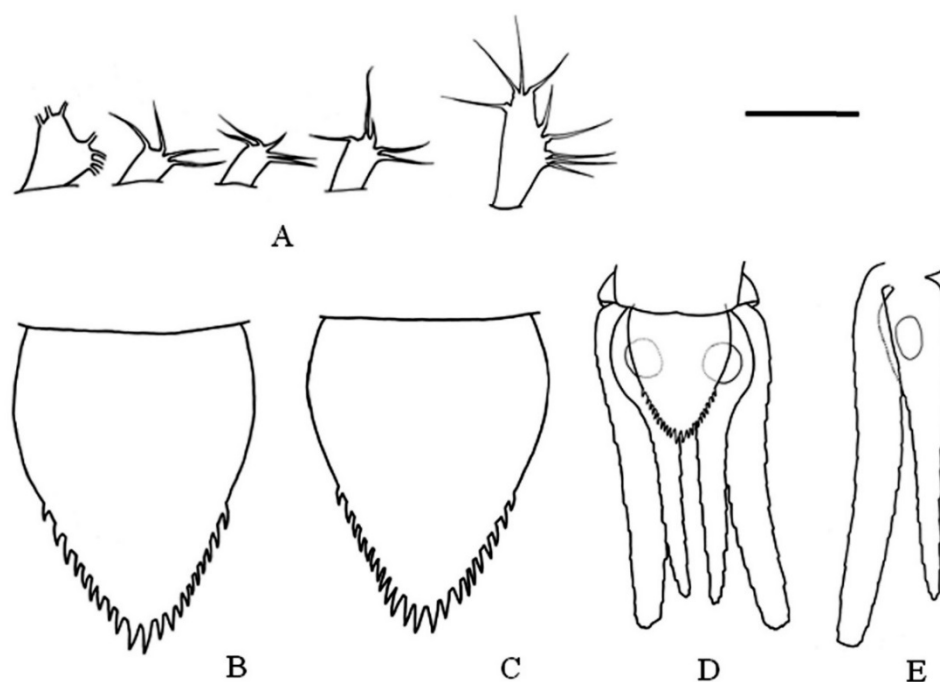


Fig. 3-4. *Anisomysis (Javanisomysis) similis* Sawamoto, Srinui and Moriya, 2015; Holotype, male (BL 3.4 mm: B, E), allotype, female (BL 3.4 mm: A, C), paratype male (BL 2.9 mm, same specimen as for fig. 5: D). A, ventral view of first to fifth female pleopods from left to right; B, C, dorsal view of telson; D, dorsal view of telson and uropods; E, ventral view of uropod. Scale bar: 0.1 mm for A-C; 0.2 mm for D, E.

**種名の語源** 本種は *A. (J.) gutzui* との形態学的類似性にちなみ命名した。

**分布** 本種が確認されたのは Phuket 島のみ。

**所見** *Anisomysis (Javanisomysis)* 亜属 2 種の形態学的相違を Table 3-2 に示す。 *A. (J.) similis* は *A. (J.) gutzui* に非常に良く似るが、これら 2 種は以下の形質により識別できる。(1) 雄の第四腹肢外肢第一節 : *A. (J.) similis* は拡大部の角に突起を持たないが、*A. (J.) gutzui* は突起を持つ。(2) 第六胸肢内肢指節 : *A. (J.) similis* では分節しないが、*A. (J.) gutzui* では 2 節に分節する。(3) 尾節末端 : *A. (J.) gutzui* では丸みを帯びるが、*A. (J.) similis* では三角形。(4) 尾節の長さとの幅の比 : *A. (J.) similis* の尾節の 1.2~1.3 に対し、*A. (J.) gutzui* では 1.0~1.1。

Table 3-2. Comparison of morphological characters between the original description of Băcescu (1992) and the present observation of paratypes for *Anisomysis (Javanisomysis) gutzui* and *A. (J.) similis*

| Morphological Characters | <i>Anisomysis (Javanisomysis) gutzui</i>     |   | <i>A. (J.) similis</i>   |
|--------------------------|--|---|--|
|                          | Băcescu (1992)                               | Present observation   |  |
| Carapace                 | denticles on antero-lateral part             | produced anteriorly into broadly produced anteriorly into broadly plate, armed with spinules on antero-lateral margin | produced anteriorly into broadly rounded plate, covering basal part of eyestalk, armed with spinules on antero-lateral margin                                      |
|                          | antennular flagellum longer than body length | peduncle more robust in male than in female; 2 <sup>nd</sup> segment shortest in both sexes (Flagella were broken.)   | peduncle more robust in male than in female; 2 <sup>nd</sup> segment shortest in both sexes (length of shorter flagellum ca. 30% of BL in male, ca. 20% in female) |
| Antennule                |  |   |  |

Table 3-2. (Continued)

| Morphological Characters     | <i>Anisomysis (Javanisomysis) gutzui</i>   |  | <i>A. (J.) similis</i>   |
|------------------------------|--|--|--|
|                              | Băcescu (1992)   | Present observation  |  |
| Antennal scale               | setose all around, slightly curved outward, 3 times longer than antennal peduncle, beyond antennular peduncle in female and reaching anterior end of male lobe in male | narrowly lanceolate, setose all around, slightly curved outward, nearly 6.3 times longer than wide, nearly 2.3 times (male) and nearly 2.7 times (female) longer than antennal peduncle (Flagellum was broken.)    | narrowly lanceolate, setose all around, slightly curved outward, 5.4-6.8 times longer than wide, nearly 2.0 times (male) and nearly 2.2 times (female) longer than antennal peduncle; (length of flagellum ca. 80% of BL in male, ca. 65% in female) |
| Eye                          | globular   | large, cornea globular, uncovered by anterior part of carapace   | large, cornea globular, uncovered by anterior part of carapace   |
| Mandibular palp              | 2 <sup>nd</sup> segment with 4 setae on inner margin and 9 or 10 on outer margin   | 2 <sup>nd</sup> segment widened near middle part, with barbed setae on both margins, 3-5 setae along inner margin and 8-10 along outer margin in male, 3-5 on inner margin and 7 or 8 along outer margin in female | 2 <sup>nd</sup> segment widened near middle part, with barbed setae on both margins, 3-5 setae along inner margin and 5-9 along outer margin in male, 3 or 4 on inner margin and 5-9 along outer margin in female                                    |
| Thoracic endopods            | size decreases posteriorly; carpopropodus of posterior endopods divided into 2 segments, while anterior ones undivided   | 3 <sup>rd</sup> to 8 <sup>th</sup> thoracopod carpopropodi in male and 3 <sup>rd</sup> to 6 <sup>th</sup> in female indistinctly divided distally into 2 segments  | 3 <sup>rd</sup> to 8 <sup>th</sup> thoracopod carpopropodi in male and 3 <sup>rd</sup> to 5 <sup>th</sup> in female divided distally into 2 segments   |
| Pleopods                     | tiny five pairs; I bilobed, I-III and V of male as II-V of female (1 <sup>st</sup> pleopod is bilobate in male, but is unclear in female.)                             | 1 <sup>st</sup> pleopod bilobate, widened distally, unsegmented in 1 <sup>st</sup> to 5 <sup>th</sup> of female and 1 <sup>st</sup> to 3 <sup>rd</sup> and 5 <sup>th</sup> of male                                 | 1 <sup>st</sup> pleopod bilobate, widened distally, unsegmented in 1 <sup>st</sup> to 5 <sup>th</sup> of female and 1 <sup>st</sup> to 3 <sup>rd</sup> and 5 <sup>th</sup> of male   |
| 4 <sup>th</sup> male Pleopod | barely reaching base of telson   | reaching posterior 3/4 of 6th abdominal somite excluding apical barbed setae, biramous   | reaching posterior 3/4 of 6th abdominal somite excluding apical barbed setae, biramous   |

Table 3-2. (Continued)

| Morphological Characters | <i>Anisomysis (Javanisomysis) gutzui</i>   |   | <i>A. (J.) similis</i>  |
|--------------------------|--|---|---|
|                          | Băcescu (1992)   | Present observation   |   |
| endopod                  | endopod absent   | endopod minute, with 6 setae  | endopod minute, with 7 setae  |
| exopod                   | exopod rigid without articulation, with protrusion beyond proximal one third, with 2 terminal barbed setae | exopod long and 3-segmented, with 2 terminal barbed setae, 1 <sup>st</sup> segment becoming gradually broadened towards distal 1/3 and then narrowing distally, with small, blunt projection at widest corner, 1 <sup>st</sup> and 3 <sup>rd</sup> segments sub-equal in length | exopod long and 3-segmented, with 2 terminal barbed setae, 1 <sup>st</sup> segment becoming gradually broadened towards distal 1/3 and then narrowing distally, without projection at widest corner, 1 <sup>st</sup> and 3 <sup>rd</sup> segments sub-equal in length   |
| Telson                   | short, linguiform, with average of 25 denticles  | nearly half length of 6 <sup>th</sup> abdominal somite, linguiform, as long as wide, fringed with 21 to 26 denticles in distal third to half, apical 2 denticles slightly longer than others  | nearly half length of 6 <sup>th</sup> abdominal somite, linguiform, narrow at base, widened towards proximal third, as long as wide or slightly longer than width, fringed with 16 to 26 denticles in distal two-fifths, apical 2 denticles slightly longer than others |
| Body length (mm)         | 3.5-4.5  | male 3.0-3.2; female 2.5-3.0  | male 2.3-3.4; female 2.6-3.6  |

For the body length, the definition of Băcescu (1940) is different from that of the present study, so the length measurements of Băcescu (1992) cannot be compared with those of the present paratypes. For *A. (J.) similis*, length of antennular flagellum was measured on a paratype male (BL 2.7mm) and a paratype female (BL 3.6 mm). Length of antennal flagellum was measured on the holotype (male, BL 3.4 mm) and the same paratype female used for the measurement of the antennular flagellum.

Subgenus *Anisomysis* Băcescu, 1973

*Anisomysis (Anisomysis) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015

(Figs. 3-5~9, Table 3-3)

(Moriya, M., Srinui, K. and Sawamoto, S. (2015) ZooKeys, 525: 129-145 より翻訳転載)

**模式標本** 正基準標本 (NSMT-Cr 24246), 成熟雄 (BL, 4.1 mm); 別模式標本 (NSMT-Cr 24247), 成熟雌(胚有り) (BL, 4.5 mm); 従基準標本 (NSMT-Cr 24248), 成熟雄 3 個体 (BL, 5.0, 4.8, 4.2 mm) 成熟雌 2 個体(胚有り) (BL, 4.2 and 4.7 mm); Chaolao Beach, Chantaburi 県, タイ, 12°31.58'N, 101°55.21'E; ハンドネット (網目幅, 0.33 mm; 口径, 30 cm) を用いスキンドайビングにより珊瑚礁域より採集, 水深 3~5 m, 採取日 2010 年 11 月 28 日, 採集者: 守屋 光泰

**記載** 細長い体型 (Fig. 3-5 A)。背甲先端は中程度に鋭い額角を持ち、眼柄はほとんど覆われていない (Fig. 1B)。眼は大きく球状を示し、背甲側面を越える (Figs. 3-5B, C)。第一触角柄は雄の方がより堅固 (Fig. 3-5B, C)、第一節は第三節とほぼ同じ長さで、一対の刺毛を前縁外側に備える、第二節が最も短い、雌も (Fig. 3-5C) 同様に一対の刺毛を前外側に備える、第三節は第一節と第二節の長さの和とほぼ等しい。第二触角鱗片は雄では第一触角柄よりわずかに長く (Fig. 3-5B)、最大幅の 5.9 倍の長さ、外側に向けてわずかな湾曲がみられる (Fig. 3-5D)。雌では第一触角柄より長い (Fig. 3-5C)、最大幅の 6.7 倍の長さ。第二触角柄 (Figs. 3-5B, C)は短く、雌雄とも第二触角鱗片中部に届かない。

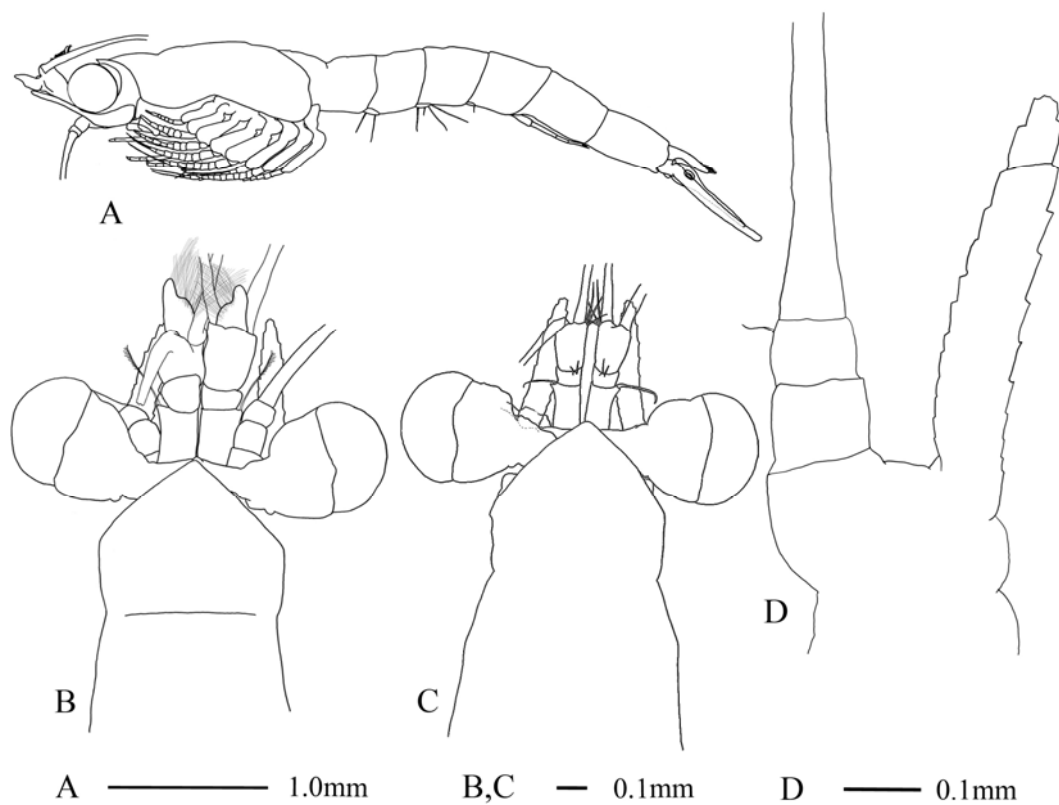


Fig. 3-5. *Anisomysis (Anisomysis) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A, B, D: holotype; C: allotype. A, lateral view; B, anterior part of body; C, anterior part of body; D, antenna.

上顎触鬚 (Fig. 3-6A) は3節で、第二節が中央近心部で最も幅広くなり、両側に刺毛を備えるが内縁に突起はない、第三節は長方形で第二節の 0.6 倍の長さ、先端側につれて長くなる5つの棘毛を備える、末端には4本の刺毛と1本の湾曲した刺毛、1本の長い刺毛を備える。第一下顎と第二下顎を Figs. 3-6B と C にそれぞれ示す。

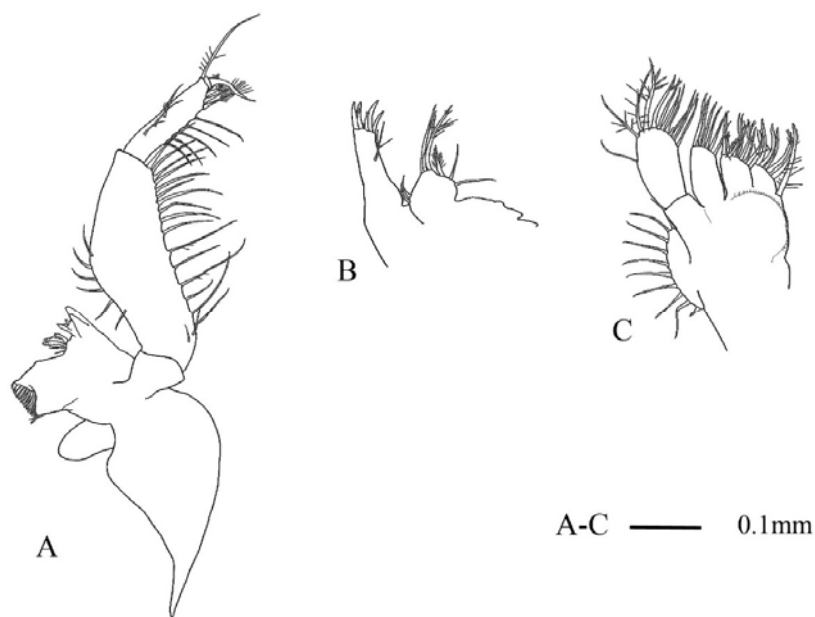


Fig. 3-6. *Anisomysis (Anisomysis) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A-C: holotype; A, mandible and mandibular palp (right side); B, maxillule; C, maxilla.

第一胸肢内枝 (Fig. 3-7A) は短く堅固で、末端に真っ直ぐで強力な爪を備える。第二胸肢内枝は短く、長節の長さは腕前節と等しい、指節は幅よりわずかに長い。雌雄において第三から第六胸肢内枝 (Figs. 3-8C-F) の腕前節は2節に分節し、第七及び第八胸肢内枝 (Figs. 3-8G, H) の腕前節は分節しない。胸肢外枝の鞭毛状の部分は第一及び第八胸肢外枝では7節 (Figs. 3-8A, H)、第二から第七胸肢は8節 (Figs. 3-8B-G)。胸肢外枝基節の外部側は丸みを帯びる。

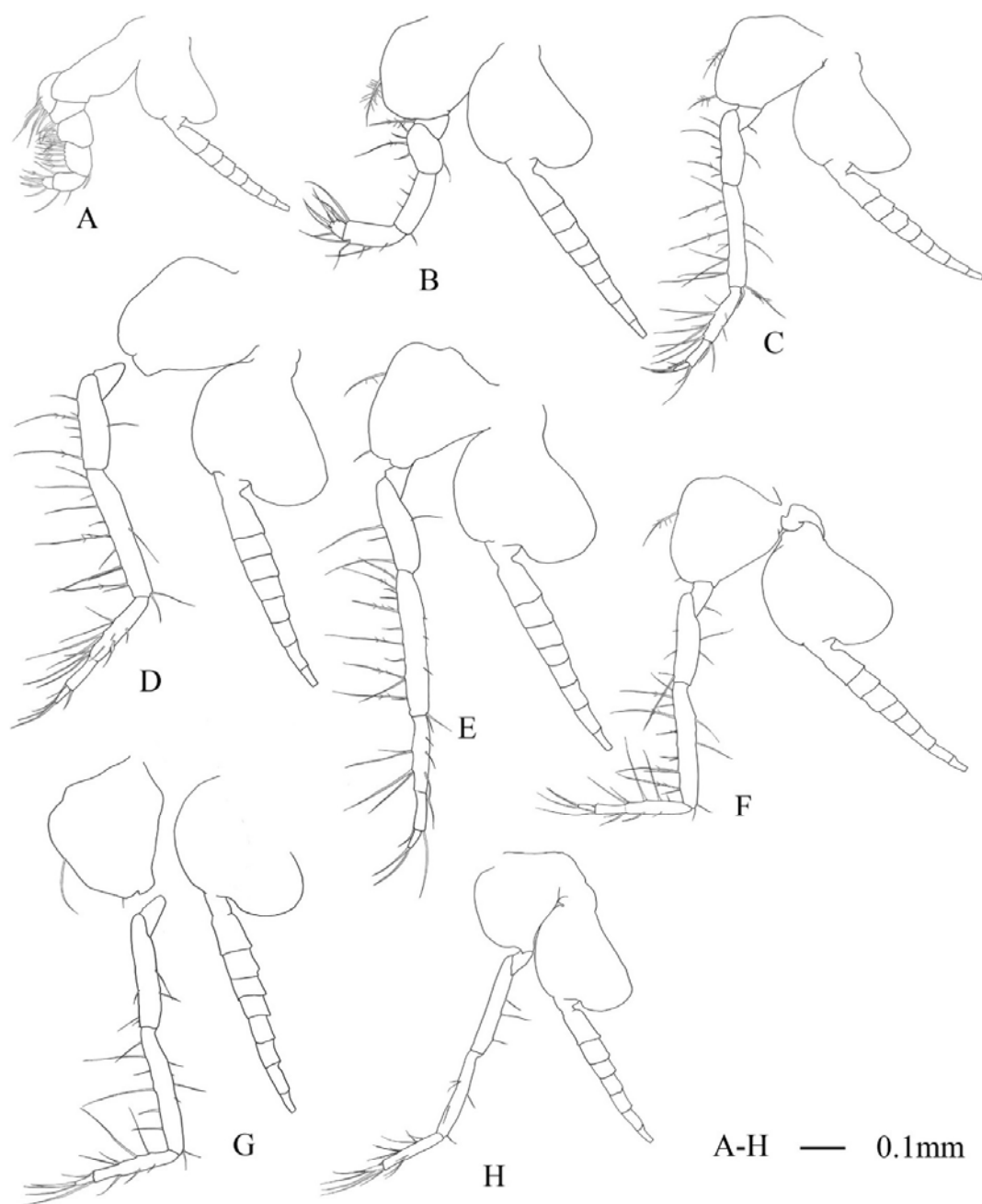


Fig. 3-7. *Anisomysis (Anisomysis) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A-H: holotype. A, 1<sup>st</sup> thoracopod; B, 2<sup>nd</sup> thoracopod; C, 3<sup>rd</sup> thoracopod; D, 4<sup>th</sup> thoracopod; E, 5<sup>th</sup> thoracopod; F, 6<sup>th</sup> thoracopod; G, 7<sup>th</sup> thoracopod; H, 8<sup>th</sup> thoracopod.

腹部 (Fig. 3-5A) は細長く、第六節と第五節はほぼ同じ長さ。雄の第一から第三、第五腹肢、雌の全腹肢は未発達、雄の第四腹肢 (Fig. 3-9A) は二肢型。内肢は薄い鱗片で1つの刺毛を備える。外肢は3節で長く、末端の刺毛を含めると第6腹節の前部に届く (Fig. 3-5A)。第一節の長さは第二、第三節の和と等しく、第二節が最も短い。各節の比は2.6:1:1.6。第三節は末端に2つの刺毛を備える。内側の刺毛は外側より短く太い。基部は膨らみ、末端部は小棘を備える。外側の刺毛は小棘を備えていない。

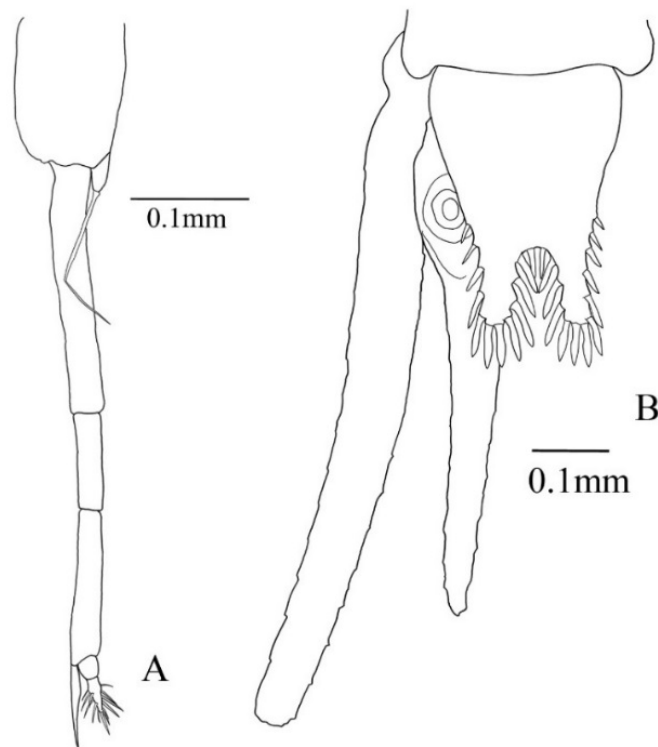


Fig. 3-8. *Anisomysis (Anisomysis) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A, B: holotype. A, 4<sup>th</sup> pleopod; B, uropods and telson.

尾肢 (Fig. 3-9B) は細長く、周囲は刺毛で覆われる。尾肢内肢は真っ直ぐ、尾節の末端の棘を除く長さの1.8倍、平衡胞の周囲に棘は無い、尾肢外肢は外側に向かって僅か

に湾曲、内肢の 1.2 倍の長さ。

尾節 (Fig. 3-9B) は第六腹節の 3/4 程度の長さ、基部の 1.7 倍の長さ、末端に向けて狭くなる、尾節後半部側縁には末端に向けて大きくなる 4~7 の棘を備える、末端後縁には 2~4 の概ね等しい棘を有する、尾節後縁は陥入、陥入部の長さは尾節全体の 2/5、陥入部の最深部付近の幅は基部の約半分、U 字形の陥入部には 6~9 の棘を備える。

**種名の語源** 本種名はラテン語の *spina intus* に由来する。これは棘が間に有するという意味で、尾節後縁の陥入部に棘を備えている事にちなむ。

**所見** 最も特筆すべき *A. (A.) spinaintus* の特徴は尾節陥入部に 6~9 本の棘を備えることである。本種は *A. (A.) incisa* Tattersall, 1936、*A. (A.) hawaiiensis* Murano, 1995、*A. (A.) aikawai* Ii, 1964、特に Murano and Fukuoka (2003)において長崎 (野母) より採集、再記載された *A. (A.) aikawai* と尾節後縁に陥入部を持つという共通点を持つ。本種は *A. (A.) incisa* 及び *A. (A.) hawaiiensis* とは陥入部の棘の有無で、*A. (A.) aikawai* とは陥入部の深さと尾節の棘の数がより多い事から区別される。これら 4 種の違いについてまとめた表を Table 3-3 に示す。

**分布** 本種が確認されたのは模式標本採集地点のみ。

Table 3-3.

Morphological differences among *A. (A.) spinaintus* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; *A. (A.) incisa* Tattersall, 1936; *A. (A.) hawaiiensis* Murano, 1995, *A. (A.) aikawai* Ii, 1964; and *A. (A.) aikawai* Ii, 1964, re-described by Murano and Fukuoka (2003).

|  | <i>A. (A.) spinaintus</i>   | <i>A. (A.) incisa</i>                                | <i>A. (A.) hawaiiensis</i> | <i>A. (A.) aikawai</i>   |
|--|---|--|----------------------------|--|
| Carpopropodus of 3 <sup>rd</sup> to 8 <sup>th</sup> thoracopodal endopod | 3 <sup>rd</sup> to 6 <sup>th</sup> divided distally into 2 segments | Unsegmented  | Unsegmented                | 8 <sup>th</sup> divided distally into 2 segments (at least)            |
| Exopod of 4 <sup>th</sup> male pleopod: length                           | Anterior margin of 6 <sup>th</sup> abdominal somite                 | Backwards to level of the apical lobes of the telson | Middle of telson           | Backwards to the posterior end of the 5 <sup>th</sup> abdominal somite |
| Telson: apical cleft   | Deep  | Deep   | Deep                       | Deep   |
| Spines on each lateral margin of telson                                  | 12 or 13  | 9 or 10  | 10                         | 11 or 12 (9 or 10) #   |
| Spines on each lateral margin of telson cleft                            | 8   | 0 (un-armed)   | 0 (un-armed)               | 6 (4) #  |

# Re-described by Murano and Fukuoka (2003).

*Anisomysis (Anisomysis) phuketensis* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015 (Figs. 3-9~12)

(Moriya, M., Srinui, K. and Sawamoto, S. (2015) ZooKeys, 525: 129-145 より翻訳転載)

**模式標本** 正基準標本 (NSMT-Cr 24249), 成熟雄 (BL, 3.6 mm); 別模式標本 (NSMT-Cr 24250), 成熟雌(胚有り) (BL, 3.9 mm); 従基準標本 (NSMT-Cr 24251), 成熟雄 2 個体 (BL, 3.8, 4.0 mm) 成熟雌 3 個体(胚有り) (BL, 3.2, 3.6, 3.4 mm); Lon 島, Phuket 島, タイ, 7°47.01'N, 98°21.30'E; ハンドネット (網目幅, 0.33 mm; 口径, 30 cm) を用いてスキングにより珊瑚礁域で採集, 水深 2~3m, 採取日 2010 年 12 月 3 日, 採集者: 守屋 光泰

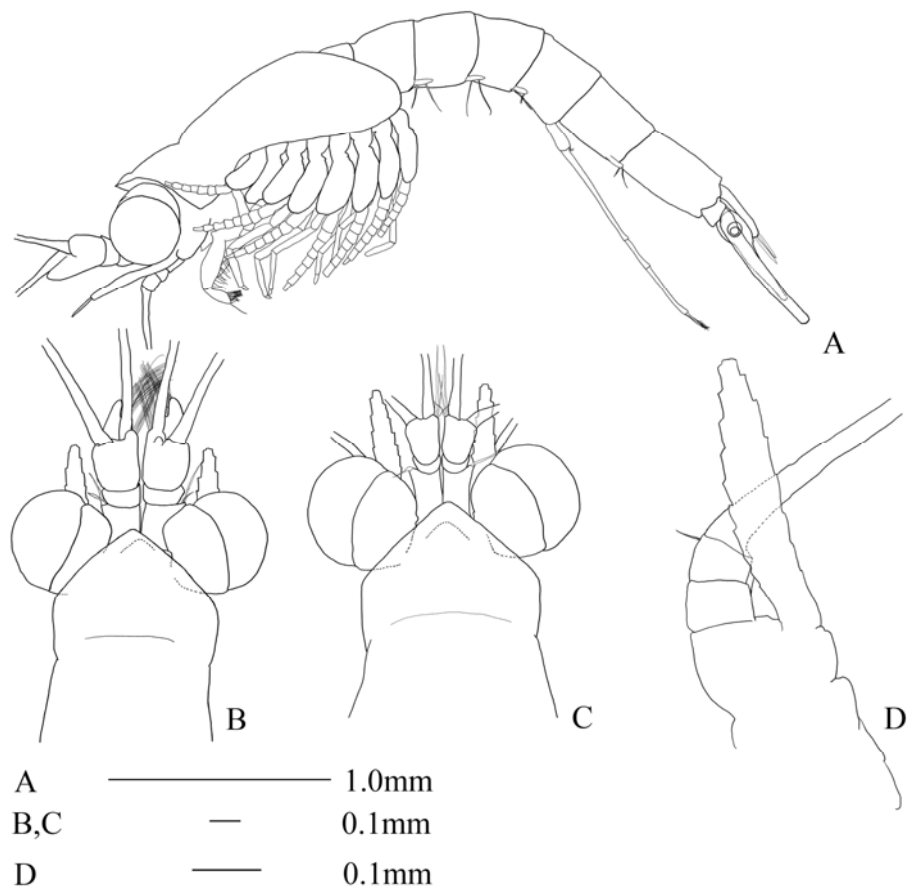


Fig. 3-9. *Anisomysis (Anisomysis) phuketensis* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A, B, D: holotype; C: allotype. A, lateral view; B, anterior part of body; C, anterior part of body; D, antenna.

**記載** 細長い体型 (Fig. 3-9 A)。背甲前部額角の先端部は明瞭な鈍角三角形を示し、第一触角柄基部を覆うほど前部に伸長する (Figs. 3-9B, C)。先端は中程度に鋭い額角、眼柄はほとんど覆われない (Fig. 3-9B)。眼は大きく、背面から見るとその半分を角膜部が占める (Figs. 3-9A-C)。眼柄は非常に短く、背面に乳頭状突起はみられない。

第一触角柄は雄 (Fig. 3-9B) の方が雌 (Fig. 3-9C) より堅固、第一節は第三節より短い、前外側に 2 本の刺毛を備える、第二節が最も短い、雌は (Fig. 3-9C) 第一節前外側に 1 本の刺毛を備える。

第二触角鱗片 (Fig. 3-9D) は雄では第一触角柄前面とほぼ同じ長さ (Fig. 3-9B)、長さは幅の 5.5 倍、雌では第一触角柄より長く (Fig. 3-9C)、長さは幅の 6.1 倍。第二触角柄は雌雄共に短く、第二触角鱗片の中央部より短い (Fig. 3-9D)。

上顎触鬚は (Fig. 3-10A) 3 節、第二節が中央近心部で最も幅広く、第二節の両側に刺毛を備えるが内縁に突起はない、第三節は長方形で第二節の 0.5 倍の長さ、遠心につれ長くなる 5 つの棘毛を備える。末端には 5 本の刺毛と 1 本の湾曲した刺毛、1 本の長い刺毛を備える。第一下顎と第二下顎を Figs. 3-10B と C にそれぞれ示す。

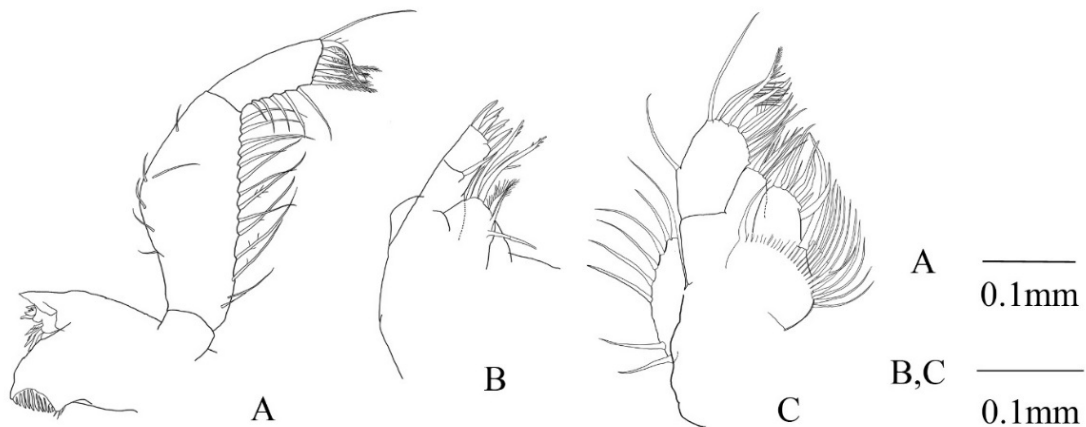


Fig. 3-10. *Anisomysis (Anisomysis) phuketensis* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A-C holotype; A, mandible and mandibular palp (right side); B, maxillule C, maxilla.

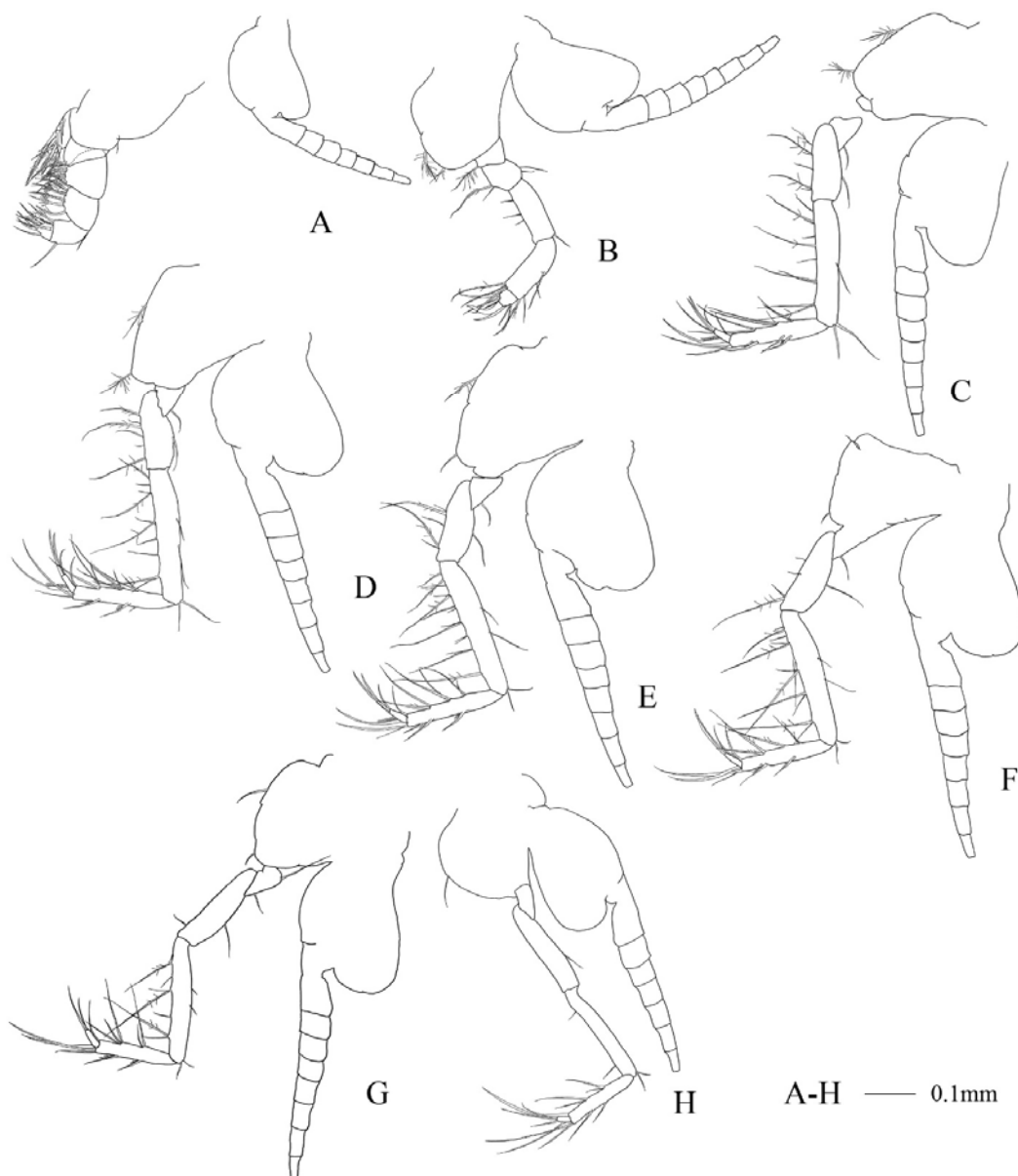


Fig. 3-11. *Anisomysis (Anisomysis) phuketensis* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A-H: holotype. A, 1<sup>st</sup> thoracopod; B, 2<sup>nd</sup> thoracopod; C, 3<sup>rd</sup> thoracopod; D, 4<sup>th</sup> thoracopod; E, 5<sup>th</sup> thoracopod; F, 6<sup>th</sup> thoracopod; G, 7<sup>th</sup> thoracopod; H, 8<sup>th</sup> thoracopod.

第一胸肢内枝 (Fig. 3-11A) は短く堅固で末端に真っ直ぐで強固な爪を備える。第二胸肢内枝は短く、長節の長さは腕前節と等しく、指節末端には強固で湾曲した爪がある。雌雄において第三から第八胸肢内枝 (Fig. 3-11 C-H) の腕前節は2節に分節す

る。胸肢外肢の鞭毛状の部分は第一及び第八胸肢外肢では7節 (Figs. 3-11A, H)、第二から第七胸肢は8節 (Figs. 3-11B-G)。胸肢外肢基節の外縁側は丸みを帯びる。

腹部 (Fig. 3-9A) は細長く、第六節は第五節の1.3倍の長さ。雄の第一から第三、第五腹肢、雌の全腹肢は未発達、雄の第四腹肢 (Fig. 3-12A) は二肢型。内肢は極めて小さく薄い鱗片で4つの刺毛を備える。外肢は3節で長く、その長さは尾節末端を超える (Fig. 3-9A)。第一節が第二、第三節の和より長く、第二節が最も短い、各節の比は3:1:1.5。第三節は末端にほぼ同じ長さの2つの刺毛を備える。内側の刺毛の基部は膨らみ末端部は小棘を備える。外側の刺毛は細く小棘は備えていない

尾肢 (Fig. 3-12B) は細長く刺毛で覆われる。尾肢内肢は真っ直ぐ、尾節の末端の棘を除く長さの1.5倍、平衡胞の周囲に棘は無い、尾肢外肢は外側に向かって僅かに湾曲、内肢の1.1倍の長さ。尾節 (Fig. 3-12B) は第六腹節の3/5程度の長さで、基部の

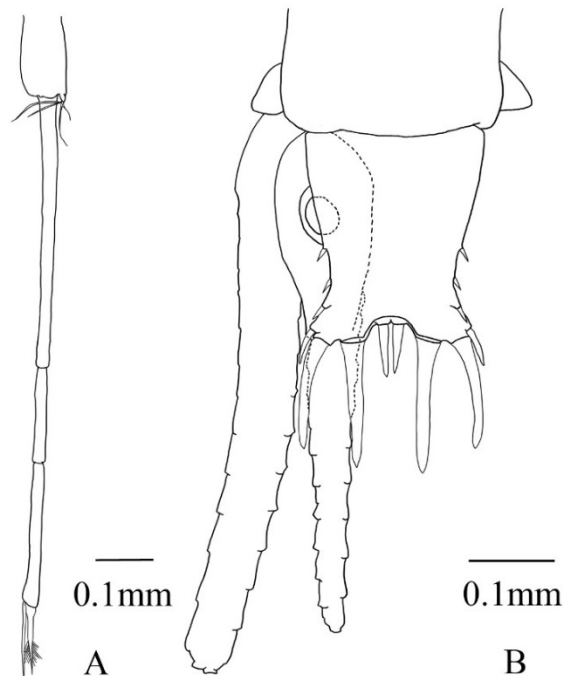


Fig. 3-12. *Anisomysis (Anisomysis) phuketensis* Moriya, Srinui and Sawamoto, 2015; A, B: holotype. A, 4<sup>th</sup> pleopod; B, uropods and telson.

1.2 倍の長さとなる。末端から 1/4 の部分が最も狭くなり、末端に向けてまた幅広くなる。尾節後縁は基部よりわずかに短い。尾節側縁の後半部分に 4~5 本の棘を備える。尾節後縁は切形で 2 対の長く太い棘を備える、外側の棘は内側に湾曲し、中央側のまっすぐな棘よりわずかに短い。後縁中央部に凹みに 1 対のほぼ等しい長さの棘を備える。

**種名の語源** 本種名は模式標本採集地名に由来する。

**所見** 最も特筆すべき *A. (A.) phuketensis* の特徴は尾節の形状である。本種は *A. (A.) robustispina* Panampunnayil, 1984 及び *A. (A.) truncata* Panampunnayil, 1993 と尾節後縁に特有の太く長い棘を持つという共通点を持つ。しかし、*A. (A.) robustispina* はこの特徴的な棘が 3 本であること（本種は 2 本）、尾節の長さと基幅の比率が 1.6 であること（本種は 1.2）、尾節内肢と尾節の長さの比が 2.3 であること（本種では 1.5）の 3 点により本種と識別できる。また、*A. (A.) truncata* は尾節の特徴的な棘が 2 本である点は本種と同じであるが、その外側棘の長さが内側の 2 倍近いこと（本種ではほぼ等しい）、尾節後縁中央部の凹みと 1 対の棘がないことにより本種と識別できる。

**分布** 本種が確認されたのは模式標本採集地点及び、Chueak 島, Hat Chao Mai 国立公園, Trang 県, タイ。

### 3-3-2. 東南アジア海域からの出現種

先に述べた通り、東南アジア海域からはこれまでに 4 亜属 15 種が報告されている (Sawamoto, 2014)。このうち *A. (J.) thurneyseni* を除き (Sawamoto et al., 2015)、第 2 章で報告した 3 亜属 8 種のうち、新たに記載された 3 種と、本海域からの初採集となる *A. (A.) pelewensis*、*A. (A.) hashizumei*、*A. (Paranisomysis) ohtsukai* の 3 種を加えた計 4 亜属 20 種が現時点での *Anisomysis* 属における東南アジア海域からの出現種となる (Table 3-4, Figs.3-14, 3-15)。

Table 3-4. Genus *Anisomysis* reported from Southeast Asian waters.  
(20 species in the 4 subgenera)

|   |
|---|
| Subgenus <i>A. (Anisomysis)</i> : 11 species    |
| <i>A. (A.) bifurcata</i>                        |
| <i>A. (A.) brevicauda</i>                       |
| <i>A. (A.) hashizumei</i>                       |
| <i>A. (A.) laticauda</i>                        |
| <i>A. (A.) megalops</i>                         |
| <i>A. (A.) minuta</i>                           |
| <i>A. (A.) phuketensis</i>                      |
| <i>A. (A.) pelewensis</i>                       |
| <i>A. (A.) quadrispinosa</i>                    |
| <i>A. (A.) spinaintus</i>                       |
| <i>A. (A.) spinata</i>                          |
| Subgenus <i>A. (Paranisomysis)</i> : 3 species  |
| <i>A. (P.) ijimai</i>                           |
| <i>A. (P.) takedai</i>                          |
| <i>A. (P.) ohtsukai</i>                         |
| Subgenus <i>A. (Carnegieomysis)</i> : 4 species |
| <i>A. (C.) bipartoculata</i>                    |
| <i>A. (C.) hispida</i>                          |
| <i>A. (C.) tattersallae</i>                     |
| <i>A. (C.) xenops</i>                           |
| Subgenus <i>A. (Javanisomysis)</i> : 2 species  |
| <i>A. (J.) gutzuii</i>                          |
| <i>A. (J.) similis</i>                          |

### 3-3-3. 種間の遺伝学的関係

シーケンスの結果から *Anisomysis* 属 6 種について、18SrRNA 領域 1017bp の塩基配列が決定された (Appendix 1)。この結果によって得られた無根系統樹を Fig. 3-13 に示す。*A. (A.) phuketensis* においては、Phuket 島と Chueak 島から採取された両個体の塩基配列は完全に一致した。*Anisomysis* 亜属 3 種について、*A. (A.) pelewensis*、*A. (A.) spinaintus* の 2 種は共通の枝に属したが、*A. (A.) phuketensis* は異なる枝を示した。

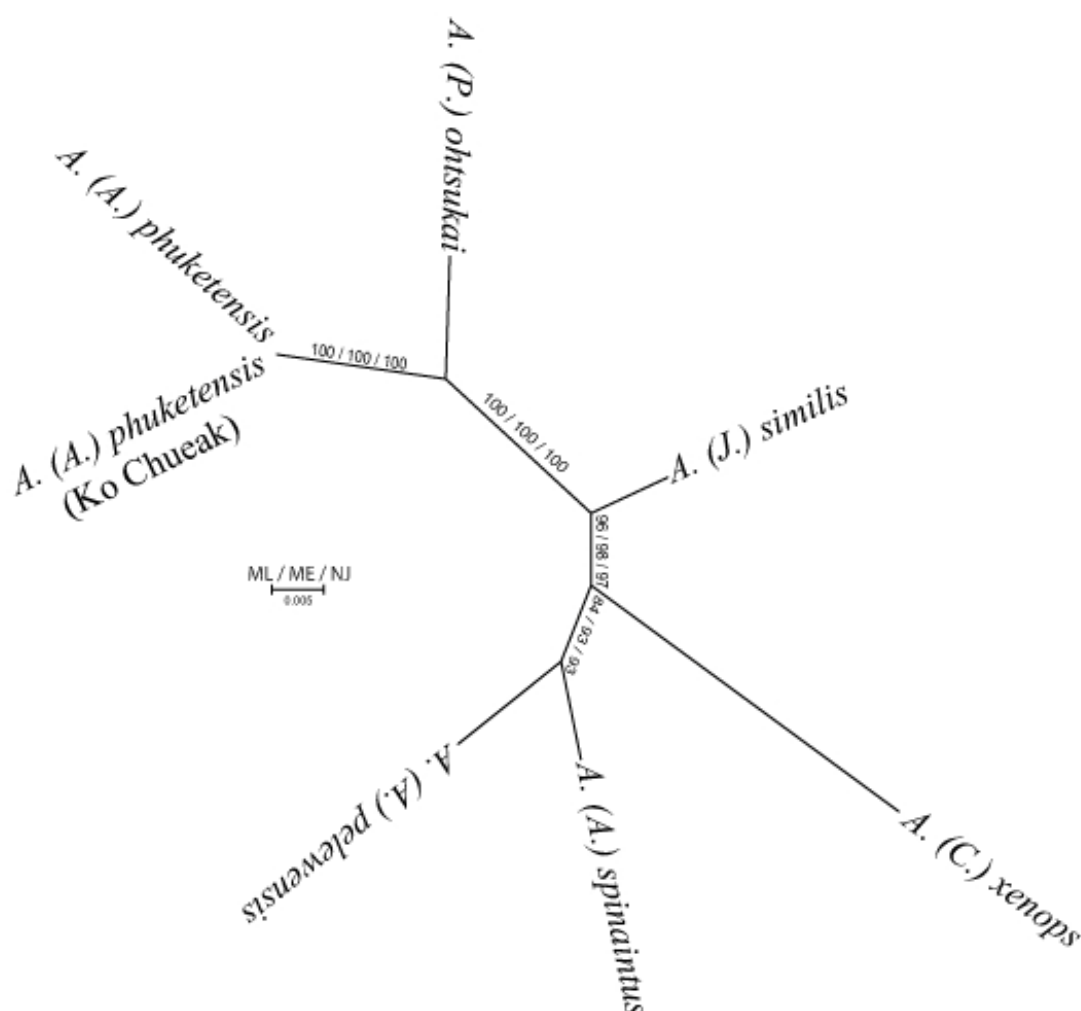


Fig. 3-13. Unrooted Maximum Likelihood tree of 4 subgenus (6 species) based on 18SrRNA sequence. Numbers beside major internal branches indicate bootstrap values after 1000 replications from ML, ME, and NJ methods.

### 3-4. 考察

#### 3-4-1. 地理分布

結果で述べた通り、東南アジア海域からは、4 亜属 20 種が報告された。これらの採集地点を (Figs. 3-14, 15) に示す。*Anisomysis* 属の分布については未だに不明な点が多いが、日本沿岸から出現する種においては、沖縄諸島にのみ分布する地域固有種が多く見られ、今回の結果とも共通することから、*Anisomysis* 属の分布において、地域固有種が多い事が伺える。亜属ごとにみていくと、*Anisomysis* 亜属、*Paranisomysis* 亜属については、特に地域固有種が多いことが伺える (Fig. 3-14)。*Carnegieomysis* 亜属はインド洋から太平洋にかけての外洋域で採集されることが多く、分布域も広い様に思われる (Fig. 3-15)。*Javanisomysis* 亜属は採集記録が模式標本採集地点のみのため、分布は依然不明である (Fig. 3-15)。また、2 種の出現地点も離れている。

*Anisomysis* 亜属 38 種において、分布を日本、東南アジア、オーストラリア、太平洋、インド洋の 5 地域に区切り、その出現が地域を跨がないものを地域種とみると、29 種を地域種と数えることが出来る。しかし逆に、3 地域以上から出現するものが 3 種 (*A. (A.) bifurcata*, *A. (A.) laticauda*, *A. (A.) pelewensis*) 存在する。しかし、一部については地域ごとに形態学的に微細な差異が報告されるなど (Fukuoka et al., 2002)、隠蔽種の存在が示唆される。

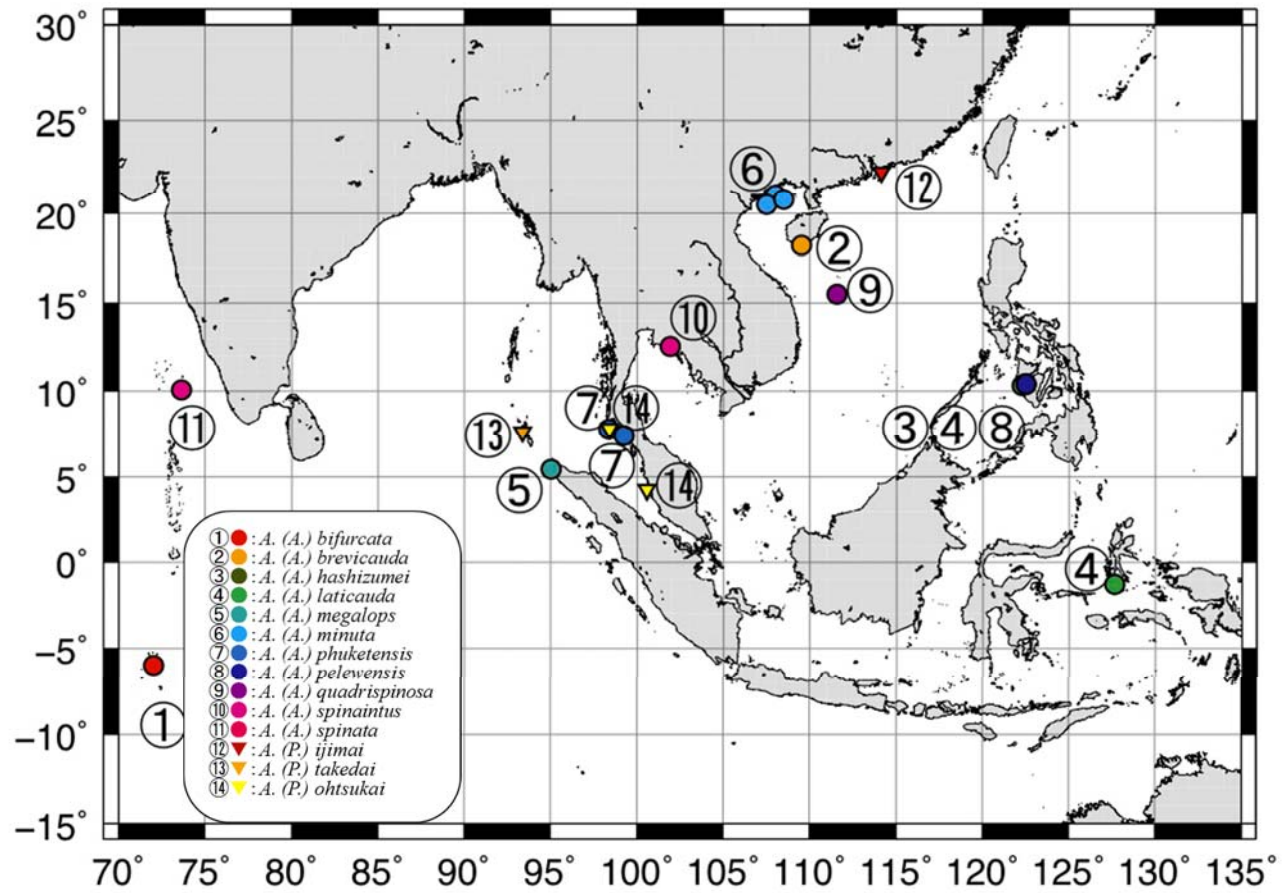


Fig. 3-14. Map of collection record locations of Subgenera *Anisomysis* (○) and *Paranyssomysis* (▽) in Southeast Asia.

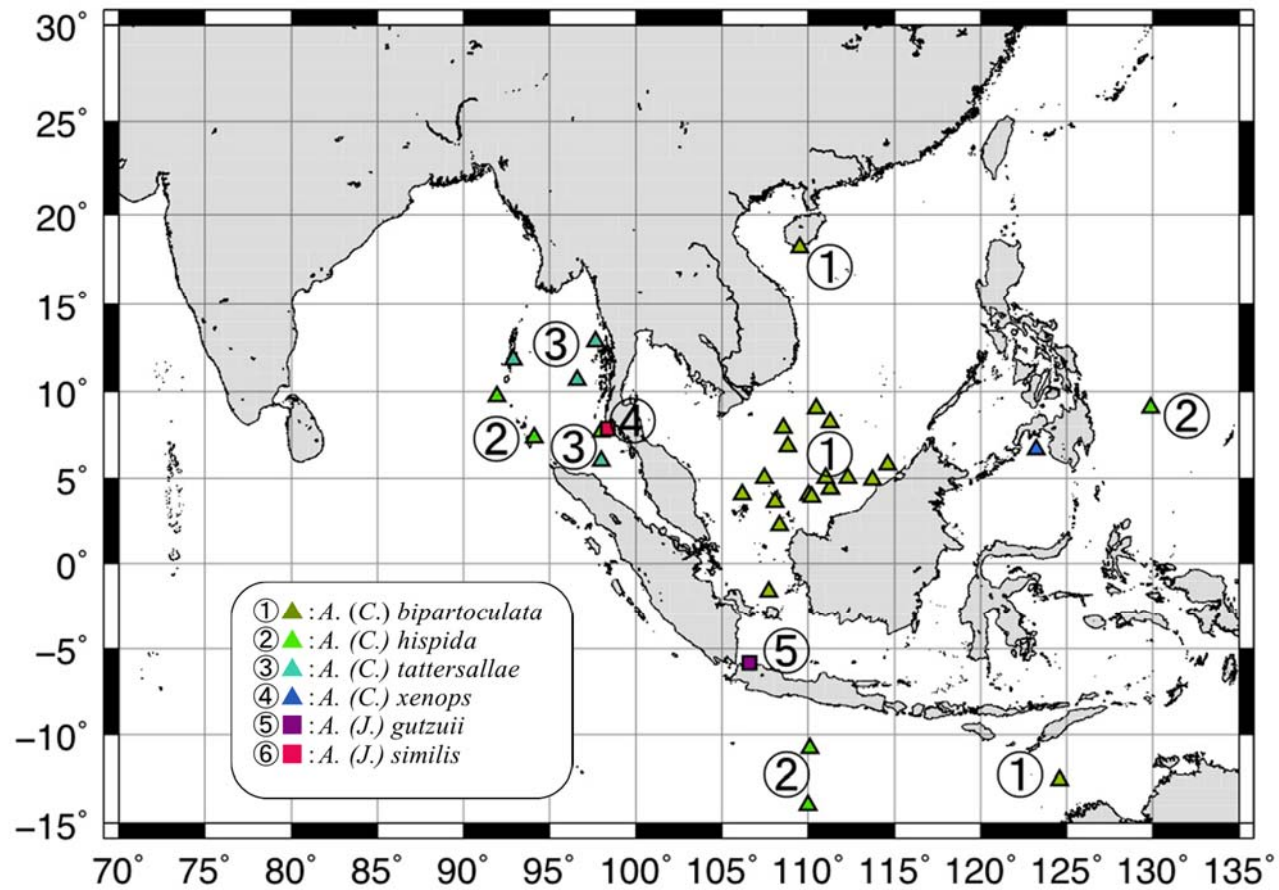


Fig. 3-15. Map of collection record locations of Subgenera *Javanisomys* (□) and *Carnegieomys* (△) in Southeast Asia.

また、本属は沿岸域で群れを形成する種が多く報告されており(Ohtsuka et al., 1995)、岩礁域やサンゴ礁でも群れが見られることから、潜水によるハンドネットやそりネットによる採集が不可欠となる。今回の調査においても全ての個体が潜水によるハンドネットかそりネットによる採集で得られていることから、これらの採集方法が非常に有効であることが伺える。

### 3-4-2. 亜属・種間の関係

Fig. 3-14 で Phuket 島と Chueak 島から採取された *A. (A.) phuketensis* の塩基配列は完全に一致したことから、本研究で適用した 18SrRNA 領域は本属を種査定するのに適した解像度を有する領域である可能性が示された。これは Fukuoka et al. (2002) で示された *A. (A.) pelewensis* の様に地域ごとに微細ではあるが形態学的に異なる形状を示す種の同定に今後の活用が期待される。また、*Anisomysis* 属は多数の亜属を有するが、GenBank への塩基配列の登録は皆無である。今回の結果において、非常に種数が少ないため不明瞭ではあるが、*A. (A.) phuketensis* を除くと概ね亜属の関係性を示している様にみられる。単系統を示さなかった *Anisomysis* 亜属 3 種については *Anisomysis* 属内にさらなる亜属が存在することを示唆しているものと考えられる。これについては、*A. (A.) phuketensis* の尾節後縁に特有の太く長い棘を持つという形態学的特徴が鍵となる可能性があり、本属のバーコーディング化が進捗することにより亜属間の系統関係

解明が期待される。さらに、Remerie et al. (2004) らが指摘した、Leptomysinae 亜科と Mysinae 亜科の 18SrRNA の系統関係における形態学的系統関係との不一致について、*Anisomysis* 属は遺伝的に分けられた両グループの形態学的特徴を備えることから、亜科の系統関係の解明にも貢献できる可能性が高いと考える。

以上のことから東南アジア海域には、まだまだ多くの *Anisomysis* 属未記載種が生息しているものと考えられる。これらの研究は属内、亜属間の系統関係の解明が期待できるとともに、亜属レベルの隠蔽種が出現する可能性が示唆される。さらに分子生物学的手法を用いる事で、亜科レベルなど上位分類群の系統関係の解明に貢献出来る可能性が示唆された。

### 3-5. *Anisomysis* 亜属及び *Anisomysis* 亜属の種への検索表

#### *Anisomysis* 属の亜属への検索表 (Murano and Fukuoka, 2003を一部引用)

- 1a. 全体的にやや堅調でしっかりしている、体は側面から見ると軽いS字状、眼は大きく、角膜部が2つの部分に分かれる ----- *Pseudanisomysis* Murano and Fukuoka, 2003
- 1b. 体は細長くまっすぐ、角膜部は球形 ----- 2
- 2a. 上顎触鬚第二節の近心部に突起を持つ ----- *Paranisomysis* Bănescu, 1973
- 2b. 上顎触鬚第二節の近心部に突起を持たない ----- 3
- 3a. 背甲前側部に小棘を備える。尾節側縁の小棘は分節しない -----  
----- *Javanisomysis* Bănescu, 1992
- 3b. 背甲前側部に小棘はない。尾節側縁の小棘は分節する -----  
----- *Anisomysis* Bănescu, 1973

#### *Anisomysis* 亜属の種への検索表

((Moriya, M., Srinui, K. and Sawamoto, S. (2015) ZooKeys, 525: 129-145より翻訳転写 )

#### Subgenus *Anisomysis* Bănescu, 1973

模式種 *Anisomysis laticauda* Hansen, 1910.

**記載** 体は真っ直ぐで細長く、刺毛は無い。眼の角膜部は大きく球状で2つに分けられない。第二触角柄の鱗片及び第二節に指状突起は無い。上顎触鬚の第二節は葉形で、内縁に突起を持たない。尾節の形状は多様で、側縁の棘は基部で分節する。

- 1a. 尾節は第六腹節より長い ----- *A. (A.) sirielloides* Bănescu, 1975
- 1b. 尾節は第六腹節より短い ----- 2
- 2a. 尾節後縁は陥入しない ----- 3
- 2b. 尾節後縁は陥入する ----- 11

|   |   |
|---|---|
| 3a. 尾節は三角形で先端は狭い  | 4   |
| 3b. 尾節末端縁は丸みを帯びているか、切形  | 5   |
| 4a. 額角は三角形で丸みを帯びた頂点を持つ、第四腹肢外枝の第二節は第三節の1/3の長さ、尾節側縁の棘は末端に向けて長くなる、末端部の棘は尾節基部の3倍の長さ             | <i>A. (A.) mixta</i> Nakazawa, 1910         |
| 4b. 額角は緩やかなカーブ、もしくは、三角形でゆるやかな頂点を持つ、第四腹肢外枝の第二節は第三節の4/5の長さ、尾節側縁の棘の無さは概ね等しい、末端部の棘は尾節基部の1.5倍の長さ | <i>A. (A.) australis</i> Zimmer, 1918       |
| 5a. 尾節後縁はまるい  | 6   |
| 5b. 尾節後縁は切形か、やや切形   | 7   |
| 6a. 尾節の長さは基部の幅の1.5倍、尾節側縁後半部に片側10-12本の棘  | <i>A. (A.) chessi</i> Murano, 1983          |
| 6b. 尾節の長さは基部の幅の約2倍、尾節側縁末端側2/3に片側7-8本の棘  | <i>A. (A.) quadrispinosa</i> Wang, 1989     |
| 7a. 尾節にくびれ、側縁に片側10本以上の棘   | <i>A. (A.) enewetakensis</i> Murano, 1983   |
| 7b. 尾節にくびれはない   | 8   |
| 8a. 尾節側縁に片側4-5本の棘   | 9   |
| 8b. 尾節側縁に片側9-13本の棘  | 10  |
| 9a. 尾節は角のまるい三角形で、末端はわずかに切形、末端部の棘はほぼ等しい  | <i>A. (A.) levi</i> Bănescu, 1973           |
| 9b. 尾節は台形で、末端縁は切形、末端の棘は側縁の棘と比べて長く太い   | <i>A. (A.) truncata</i> Panampunnayil, 1993 |
| 10a. 尾節側縁の片側に9本の棘、雄の第四腹肢は尾節末端に達する   | <i>A. (A.) bacescui</i> Pillai, 1976        |

|   |   |
|---|---|
| 10b. 尾節側縁の片側には10-13本の棘、雄の第四腹肢は尾節基部を越える -----              |   |
| ----- A. (A.) <i>comorensis</i> Wooldridge and Mees, 2004 |   |
| 11a. 尾節陥入部に棘は無い -----                                     | 12  |
| 11b. 尾節陥入部に棘を備える -----                                    | 22  |
| 12a. 尾肢内肢の平衡胞付近内側に突起を備える -----                            | 13  |
| 12b. 尾肢内肢の平衡胞付近内側に突起はない -----                             | 14  |
| 13a. 尾肢内肢の平衡胞付近内側の突起はとがらない、基部に節はない -----                  |   |
| ----- A. (A.) <i>bifurcata</i> Tattersall, 1912           |   |
| 13b. 尾肢内肢の平衡胞付近内側の突起は鋭くとがる、基部が節になる -----                  |   |
| ----- A. (A.) <i>spinata</i> Panampunnayil, 1993          |   |
| 14a. 尾節の左右の突出部にそれぞれ1本の棘を備える -----                         | 15  |
| 14b. 尾節の左右の突出部にそれぞれ2、3本の棘を備える -----                       | 19  |
| 15a. 尾節陥入部の長さは尾節の長さの半分程度 -----                            | 16  |
| 15b. 尾節陥入部の長さは尾節の長さの1/3以下 -----                           | 17  |
| 16a. 額角はとがる、眼柄に乳頭状の突起、尾節陥入による突出部側縁には片側2、3本の棘を備える -----    | A. (A.) <i>megalops</i> (Illig, 1913)               |
| 16b. 額角は鈍角、眼柄には乳頭状の突起はない、尾節陥入による突出部側縁には片側5、6本の棘を備える ----- | A. (A.) <i>nana</i> Murano, 1995                    |
| 17a. 尾節側縁には片側11-20本の棘を備える -----                           | A. (A.) <i>minuta</i> Liu and Wang, 1983            |
| 17b. 尾節側縁には片側10本以下の棘を備える -----                            | 18  |
| 18a. 尾節側縁にそれぞれ5-9本の細く短い棘を備える。尾節後縁の陥入部は尾節の1/3の長さ -----     | A. (A.) <i>pelewensis</i> Li, 1964                  |
| 18b. 尾節側縁にそれぞれ3本の小さな棘を備える。尾節後縁の陥入部は尾節の1/5の長さ -----        | A. (A.) <i>unispinosa</i> Wooldridge and Mees, 2004 |

- 19a. 尾節は末端から1/3の所から急に狭くなる。この部分に左右それぞれ2本の棘を備える。尾節陥入による突出部にはそれぞれ2本の棘を備える -----  
----- A. (A.) *kunduchiana* Bănescu, 1975
- 19b. 尾節は徐々に狭くなる。尾節側縁にはそれぞれ4本以上の棘を備える、尾節陥入による突出部にはそれぞれ2、3本の棘を備える ----- 20
- 20a. 尾節陥入部はV字型を示す。側縁にはそれぞれ7-11本の棘を備える、突出部先端にはそれぞれ2本の棘を備える ----- A. (A.) *hawaiiensis* Murano, 1995
- 20b. 尾節陥入部はU字型を示す。側縁にはそれぞれ4-7本の棘を備える ----- 21
- 21a. 尾節陥入による突出部はそれぞれ3本の棘を備える、尾節側縁はそれぞれ6、7本の棘を備える ----- A. (A.) *incisa* Tattersall, 1936
- 21b. 尾節陥入による突出部はそれぞれ2本の棘を備える、尾節側縁はそれぞれ4-6本の棘を備える ----- A. (A.) *pescaprae* Connell, 2009
- 22a. 尾節後縁は狭い、突出部先端にはそれぞれ1本の棘を備える -----  
----- A. (A.) *extranea* Murano, 1995
- 22b. 尾節後縁は広い、突出部先端にはそれぞれ3本以上の棘を備える ----- 23
- 23a. 尾節後縁中央部は凹み、4本以上の棘を備える ----- 24
- 23b. 尾節後縁中央部は僅かに凹み、2本の棘を備える ----- 30
- 24a. 尾節陥入部の底部は凸型 ----- 25
- 24b. 尾節陥入部の底部は丸みを帯びる ----- 26
- 25a. 尾節の長さは基部の1.3倍。雄の第四腹肢は尾節基部に届かない -----  
----- A. (A.) *hanseni* Nouvel, 1967
- 25b. 尾節の長さは基部の1.5倍。雄の第四腹肢は尾節末端を越える -----  
----- A. (A.) *mullini* Murano, 1987
- 26a. 尾節陥入部において、底部にのみ棘を備える ----- A. (A.) *neptuni* Connell, 2009

|   |    |
|---|----|
| 26b. 尾節陥入部において、全体的に棘を備える  | 27 |
| 27a. 雄の第四腹肢は第六腹節まで伸長する  | 28 |
| 27b. 雄の第四腹肢は第六腹節末端もしくは腹部を越えて伸長する  | 29 |
| 28a. 尾節末端の陥入部は尾節の1/9の長さ、尾節側縁にはそれぞれ3、4本の棘を備える<br>----- A. (A.) <i>aikawai</i> Ii, 1964               |    |
| 28b. 尾節末端の陥入部は尾節の2/5の長さ、尾節側縁にはそれぞれ5、6本の棘を備える<br>----- A. (A.) <i>spinaintus</i> Moriya et al., 2015 |    |
| 29a. 雄の第四腹肢は尾節中央部まで伸長する、第二節は第三節の1.6倍の長さ<br>----- A. (A.) <i>hashizumei</i> Fukuoka and Murano, 1997 |    |
| 29b. 雄の第四腹肢は尾節基部を僅かに超える、第二節は第三節より僅かに長い<br>----- A. (A.) <i>laticauda</i> Hansen, 1910               |    |
| 30a. 尾節後縁に2、3対の長く太い棘を備える  | 31 |
| 30b. 尾節後縁に長く太い棘はない  | 32 |
| 31a. 尾節後縁の幅が基部よりも広い、3対の尾節の1/3の長さの太い棘を備える<br>----- A. (A.) <i>robustispina</i> Panampunnayil, 1984   |    |
| 31b. 尾節後縁の幅は基部と同じか狭い、2対の尾節の2/5の長さの太い棘を備える<br>----- A. (A.) <i>phuketensis</i> Moriya et al., 2015   |    |
| 32a. 尾節が基部の1.3-1.4倍の長さ  | 33 |
| 32b. 尾節が基部の1.5-1.8倍の長さ  | 35 |
| 33a. 尾節の後部2/3から末端にかけて徐々に狭くなる、尾節側縁の棘は極端に小さくな<br>っていく ----- A. (A.) <i>vasseuri</i> Ledoyer, 1974     |    |
| 33b. 尾節側縁は後部1/4 から 1/3あたりからほぼ平行となる。尾節側縁の棘は標準的に<br>大きくなっていく ----- 34                                 |    |

- 34a. 額角は鈍角で丸みを帯びる、尾肢内肢と外肢はほぼ長さが等しい、雄第四腹肢の長さの比は3.1 : 1 : 1.5 ----- *A. (A.) rotunda* Murano and Fukuoka, 2003
- 34b. 額角は三角形で丸みを帯びる、尾節内肢は外肢に比べて明らかに短い、雄第四腹肢の長さの比は5.5 : 1 : 2.6 ----- *A. (A.) maldivensis* Murano and Fukuoka, 2003
- 35a. 尾節側縁の棘は徐々に小さくなっていく ----- 36
- 35b. 尾節側縁の棘は標準的に大きくなっていく ----- 37
- 36a. 雄において第二触角鱗片は第一触角柄を越えない、雌においては僅かに越える、幅に対して6倍の長さ。尾節は基部に対して1.5倍の長さで、側縁にそれぞれ7本の棘を備える ----- *A. (A.) boraboraensis* Murano, 1995
- 36b. 雌雄どちらも第二触角鱗片は第一触角柄を越える、幅の7倍の長さ。尾節は基部に対して1.7倍の長さで、側縁にそれぞれ8、9本の棘を備える -----  
----- *A. (A.) parvispina* Murano and Fukuoka, 2003
- 37a. 尾節側縁の末端1/4は明瞭なくびれを持つ。尾節後縁は広く、4、5対の長い棘を備える ----- *A. (A.) brevicauda* Wang, 1989
- 37b. 尾節側縁のくびれは現れたとしてもほんのわずか、尾節後縁は狭く、3ついの長い棘を備える ----- *A. (A.) akajimaensis* Murano, 1990

[illegible][illegible][illegible][illegible][illegible][illegible][illegible]

## Appendix 1. Continued

[illegible]

## 第4章 *Mesopodopsis* 属の分布と種内、種間の遺伝的關係

### 4-1. 諸言

*Mesopodopsis* 属 Czerniavsky, 1882 (Crustacea: Mysida) はこれまでに 8 種が記載されており (Mees, 2015)、多くは大西洋、地中海に分布し、水深 0~50 m の、主に汽水・沿岸域に生息する事が知られている (Müller, 1993; Wittmann, 1992)。インド洋及び東南アジア海域からは *M. orientalis* (W. Tattersall, 1908), *M. tenuipes* Hanamura et al., 2008, *M. zeylanica* Nouvel, 1954 の 3 種が報告されている。これらはいずれも *M. orientalis* から隠蔽種として分離独立した種であり、*M. zeylanica* は形態的差異から Nouvel (1954) によって、*M. tenuipes* は形態と遺伝的差異から Hanamura et al. (2008) によりそれぞれ別種として記載された。しかし、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種は形態的に非常に良く似ており、両種を識別するには専門的な知識の習熟を要する。このことから、2 種の分布については未だに不明瞭な地域が多い。

本属は東南アジア沿岸において高い生物量を示し、濃密な群れを形成する事が知られており (Hanamura et al., 2008)、一部の国では飼料、食糧としても利用されている (Mauchline, 1980; Mantiri et al., 2012)。また、本属はアミ類における分子生物学的手法を用いた研究の中で最も進んでいる属の 1 つであり、複数の種において系統地理学的研究がなされている (例えば Remerie et al., 2006; Hanamura et al., 2008)。ヨーロッパ西部に分布する *M. slabberi* については形態学的には同一種とされていたが、Remerie et al. (2006) によって系統地理学的解析が行われた結果、遺伝的分布地理的パターンにお

いては多様性を強く示すことが明らかにされ、隠蔽種が存在する事が示唆された。東南アジア海域においては、インドネシア沿岸の *M. orientalis* 対象として Mantiri (2013) により系統地理学的研究が行われており、隠蔽種存在の可能性、スンダランド等の地史的経緯との相関性が報告されている。また、タイ・マレーシア沿岸では Hanamura et al. (2008) によって、*M. orientalis* 及び *M. tenuipes* の系統地理学的研究がなされている。しかし、Hanamura et al. (2008) において、*M. orientalis* は2つのクレードを有すること、*M. tenuipes* では単系統である事が示されたが、これはマレー半島を境とした2地点間での結果となる。インドネシア(Mantiri, 2013) では複数の諸島間で共通するハプロタイプが得られたが、タイ・マレーシア沿岸においては (Hanamura et al., 2008) 2地点間で共通するハプロタイプは得られておらず、タイ湾及び、マラッカ海峡内部における2種の種内集団構造は依然不明のままであり、興味深い。

本章ではタイ湾及びマレー半島より出現する *Mesopodopsis* 属の出現種と分布及び遺伝的多様性を明らかにし、近縁種との関係、出現種の種内・種間関係、及び地史的変遷について明らかにすることを目的とした。

## 4-2. 材料と方法

### 4-2-1. 採集

試料は東南アジア沿岸域を対象とし、タイの8地域28地点、マレーシア4地域10地点で採集を行った(Fig. 4-1)ところ、タイ湾の3地域4地点 (Chonburi, Chanthaburi,

Nakhon Si Thammarat)、マレー半島マラッカ海峡の 3 地域 4 地点 (Peark, Melaka, Johor) から *Mesopodopsis* 属が採集された (Fig. 4-1, Table 4-1) (ここでの地域とは行政区画である県、州を示す)。採集には現場の地形に応じて、プランクトンネット (網目幅 0.1mm, 口径 25.6cm)、ハンドネット (網目幅 0.33mm, 口径 30cm)、簡易そりネット (網目幅 0.33mm, 網口 : 幅 50cm、高さ約 20cm) のいずれかを用いた (Table 4-1)。採集地点の緯度経度は GPS 装置 i-gotU GT-800pro (Mobile Action Technology, Inc.) により記録し、採集地点間の地理的距離は Google Earth 7.1.5 (Google Inc.) を用い、地図上で採集地点間の海岸線をなぞることにより算出した。

得られた個体は現場で直ちに分子生物学的分析用に 99%エタノールにより固定し、4℃で保管した。また、他の研究者より譲渡されたタイ王国 Phetchaburi (採集者: Khwanruan Srinui 氏)、マレーシア Johor (採集者: 澤本彰三博士) で採集された個体についても、同様の固定方法が用いられた (Table 4-1)。

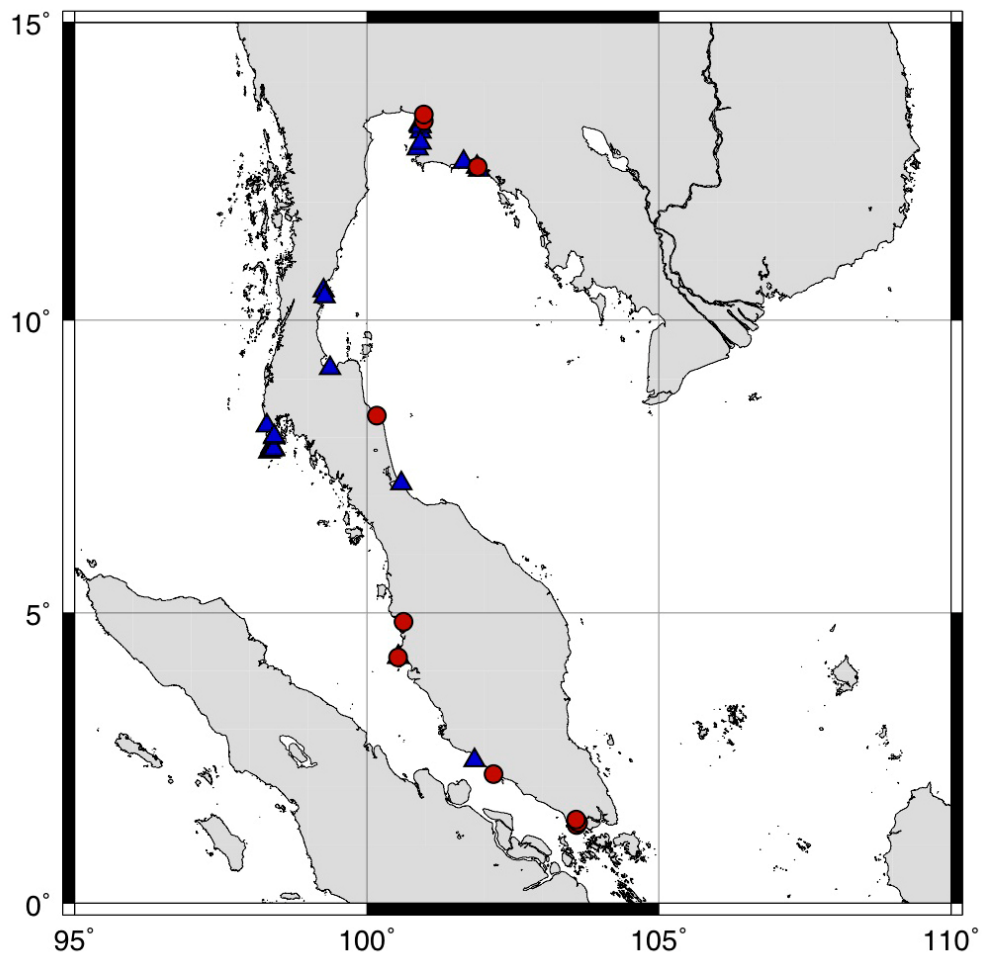


Fig. 4-1. Map of sampling locations of *Mesopodopsis*.

(Blue triangle, negative sampling; Red circle, positive sampling)

Table 4-1. Geographic location and sampling data of *Mesopodopsis*.

|                 | Country  | Province/States     | District                   | Lat. (°N) | Long. (°E) | Date       | Gear         | Number of specimens |
|-----------------|----------|---------------------|----------------------------|-----------|------------|------------|--------------|---------------------|
| Own<br>sampling | Thailand | Chonburi            | Bang Pla Soi               | 13.3621   | 100.9748   | 2010/11/25 | Scoop Net    | 54                  |
|                 |          |                     |                            |           |            | 2013/6/30  |              | 24                  |
|                 |          | Chanthaburi         | Khlung Tamru               | 13.4693   | 100.9789   | 2013/6/30  | Plankton net | 24                  |
|                 |          |                     | Kung Kraben                | 12.5878   | 101.9025   | 2010/11/27 | Hand net     | 31                  |
|                 |          | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang Fang Tawan Tok | 8.371     | 100.1691   | 2013/7/7   | Hand net     | 36                  |
|                 | Malaysia | Perak               | Kuala Sepatang             | 4.8437    | 100.6334   | 2010/12/12 | Scoop Net    | 18                  |
|                 |          |                     | Pulau Mentagor             | 4.2288    | 100.5383   | 2010/12/8  | Hand net     | 6                   |
|                 |          | Melaka              | Tanjung Kling              | 2.2209    | 102.1717   | 2010/12/9  | Slage net    | 24                  |
|                 |          |                     |                            | 1.3453    | 103.5969   | 2010/12/10 |              | 2                   |
|                 |          | Johor               | Tanjung Kupang             | 1.3453    | 103.5969   | 2013/5/28  | Hand net     | 32                  |
|                 |          |                     |                            | 1.3862    | 103.6155   | 2013/5/29  |              | 2                   |
|                 |          |                     |                            | 1.4384    | 103.5867   | 2013/5/29  |              | 2                   |
| Gifts           | Thailand | Phetchaburi         | Bang Tabun                 | 13.2719   | 99.9311    | 2013/12/18 | Hand net     | 32                  |
|                 | Malaysia | Johor               | Tanjung Kupang             | 1.4375    | 103.5751   | 2012/7/5   | Hand net     | 16                  |

#### 4-2-2. 種査定

得られた *Mesopodopsis* 属について形態学的観察を行ったところ、*M. zeylanica* は出現しなかった。このことから本調査における海域に分布している種として *M. orientalis* 及び *M. tenuipes* の出現が予想された。これら 2 種における形態学的差異は Hanamura et al. (2008) において詳細な記載がなされているが、差異は非常に小さく、その指標となる数値の範囲も重なりがある。さらに本研究では遺伝子抽出のためにエタノールによる固定方法を用いたことから、脱水作用による個体の収縮及び硬化のため形態学的手法による種査定は不可能であった。そのため本属においては遺伝子の配列による種査定を試みた。

#### 4-2-3. DNA 抽出、PCR 法及び塩基配列の決定

DNA 抽出においては、Qiagen© Gentra Puregene Tissue Kit をキットのプロトコルに従って用い、マニュアルに従って個体全身を使用し抽出を行った。

PCR (Polymerase Chain Reaction) ではシトクロームオキシダーゼサブユニット I (COI) の一部を対象とし、抽出された DNA をテンプレートとして、ユニバーサルプライマー LCO1490 と HCO2198 (Folmer et al., 1994) を用いて PCR 法を行い、本属の COI 遺伝子断片を増幅した。PCR は 1  $\mu$ L の DNA テンプレートに 0.08  $\mu$ L の Z- Taq (TaKaRa, Otsu,

Japan)、1.5  $\mu\text{L}$  の 10 $\times$ PCR buffer、1.8  $\mu\text{L}$  の両プライマー (LCO1490, HCO2198) (5  $\mu\text{M}$ )、1.2 $\mu\text{l}$  の 2.5  $\mu\text{M}$  dNTP mixture (2.5 mM 各オリゴヌクレオチドプライマー)となるように調製した溶液に加え、全量 15  $\mu\text{L}$  のスケールで行った。増幅にはサーマルサイクラー、Model 9700 (Applied Biosystems, Inc) を用いた。反応条件は 94 $^{\circ}\text{C}$  1 分間を 1 サイクルのち、94 $^{\circ}\text{C}$  30 秒間 (熱変性), 50 $^{\circ}\text{C}$  5 秒間(アニーリング), 72 $^{\circ}\text{C}$  10 秒間(伸長反応)の 3 段階について 35 サイクル繰り返した後 72 $^{\circ}\text{C}$  2 分間を 1 サイクル行なった。PCR 産物については、2% L 03 アガロースゲル (TaKaRa) を用いて電気泳動を行い、泳動後エチジウムブロマイドで染色、紫外線下で DNA の増幅の有無とサイズを観察した。

PCR 産物は ExoSap-IT (USB Corp.) を用いて精製を行なった。ダイレクトサイクルシーケンス反応では PCR と同様のプライマーを使用し、ABI BigDye Terminator version 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems Inc.) を用いた。得られた反応産物から 3130 DNA シーケンサー (Applied Biosystems Inc.)を用い、塩基配列を決定した。

#### 4-2-4. DNA 解析

得られた塩基配列は、Geneious version 6.1.8 (Biomatters Ltd.) を用いてアセンブルを行い DNA データベース (DDBJ/EMBL/GeneBank) に登録された塩基配列データとの比較解析を行なった。アセンブルされた配列は MUSCLE (Edgar et al., 2004) 及び Clustal X (Thompson et al., 1997) によってアライメントを行なった。得られた配列は DNaSP

ver.5.10 (Librado and Rozas, 2009) によってハプロタイプを特定した。得られたハプロタイプの他にデータセットとして Hanamura et al. (2008) により Genbank に登録された塩基配列 *M. orientalis* AB451022～AB451043, *M. tenuipes* AB451044～AB451079 及び、Mantiri (2013) で報告されている 37 ハプロタイプを加えた。

以上より合計 15 地域 26 地点 (タイ湾 5 地域 6 地点、マレー半島マラッカ海峡側 6 地域 10 地点、インドネシア 4 島 10 地点) より得られた *Mesopodopsis* 属の塩基配列を対

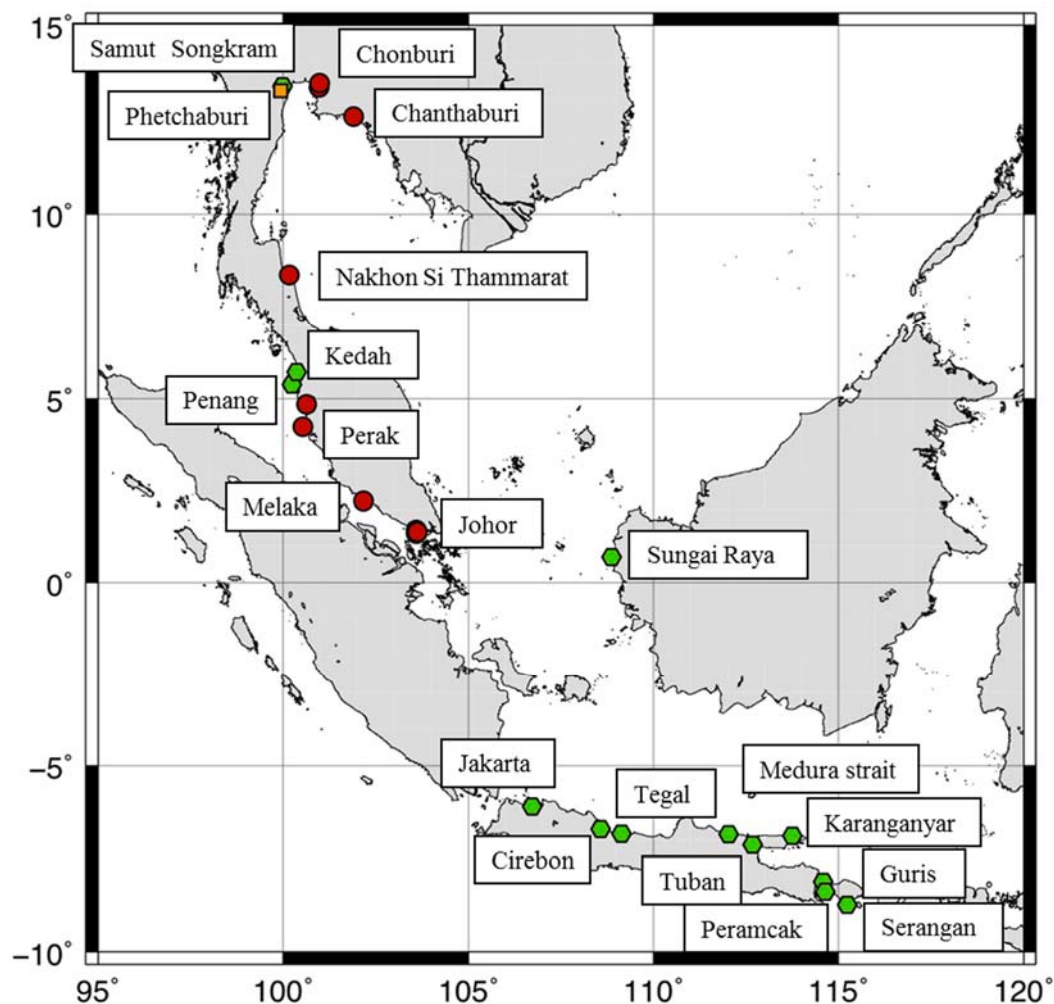


Fig. 4-2. Map of sampling locations of *Mesopodopsis*.

(Red, this study; Orange, donation; Green, citation (Mantiri 2013, Hanamura et al., 2008))

象として解析を行った (Fig. 4-2)。ML 法に基づく系統樹の作成には MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013) を用いた。また作成の際に *Mesopodopsis* 属の他種として *M. wooldridgei* AJ966900, AM158327, *M. slabberi* AJ966901, *M. zeylanica* JF904863 を、外群として *Tenagomysis australis* AF052394, *Neomysis integer*, AJ852592, *Mysis relicta* AY529027 の 3 種を加えた。

ハプロタイプネットワーク図作成には TCS ver1.21 (Clement et al., 2000) を用いた。ハプロタイプ多様度 ( $h$ ; Nei and Tajima, 1981) 及びヌクレオチド多様度 ( $\pi$ ; Nei, 1987)、集団内及び集団間の塩基多様度及び塩基多様度のネット値 ( $d_x, d_{xy}, d_A$ ; Nei, 1987)、集団内における自然選択の有無を検定するための Tajima's D (Tajima, 1989) 及び Fu's FS (Fu XY, 1997) 検定、各集団間の遺伝的分化指数となる  $F$  値 (Weir and Cockerham, 1984) は ARLEQUIN ver 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010) を用いて計算を行った。 $F$  値の NJ 法による系統樹の作成には MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013) を用いた。

分岐年代は甲殻類の COI における 1.4~2.6% 毎 100 万年 (Knowlton and Weight, 1998; Schubart et al., 1998) から推定した。なお、系統解析において *Mesopodopsis* 属の先行研究 (Remerie et al., 2006; Hanamula et al., 2008) では 16SrRNA 領域と COI 領域で行われているが、両領域を用いた解析で同様の結果を示していることから、本研究では COI 領域のみで解析を行った。

### 4-3. 結果

#### 4-3-1.出現種

全試料 303 個体のうち、252 個体において CO1 領域の一部 458bp の塩基配列決定に成功した (Table 4-2, Appendix 2)。全体における成功率は 83%で、各地点の成功率は 56 ~100% ( $85 \pm 17.15$  (mean  $\pm$  SD)) の範囲であった。

試料の CO1 領域の配列から 197 のハプロタイプが得られた。このハプロタイプに既知のハプロタイプを加えて得られた系統樹を Fig. 4-3 に示す。系統樹は 3 つのクレードに明瞭に分かれた。外群を除く 2 つのクレードはそれぞれ *M. orientalis* 及び *M. tenuipes* の既知のハプロタイプ及び本研究で得られたハプロタイプのすべてを包括した。このことから本研究で得られた試料が *M. orientalis* 及び *M. tenuipes* の 2 種を含むことが明らかとなった。

#### 4-3-2. *Mesopodopsis* 属の系統解析

描かれた系統樹の結果 (Figs. 4-3, 4-12) から *M. orientalis* と *M. tenuipes* は姉妹群を示した。さらに *Mesopodopsis* 属の他種として加えた 3 種については、*M. wooldridgei* と *M. slabberi* が 2 種の姉妹群に、その外側に *M. zeylanica* が入った。さらにこの外側に他属の外群として加えた 3 種が連なる結果となり、*Mesopodopsis* 属は単系統を示した。

*Mesopodopsis* 4 種間の塩基多様度のネット値は 14.33 ~21.05%となり (Table 4-3)、

Table 4-2. Number of sequence in *Mesopodopsis*.

| Country  | Province/States     | District                   | Lat. (°N) | Long. (°E) | Date       | Gear         | Number of sequence | <i>M. orientalis</i> | <i>M. tenuipes</i> |
|----------|---------------------|----------------------------|-----------|------------|------------|--------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Thailand | Chonburi            | Bang Pla Soi               | 13.3621   | 100.9748   | 2010/11/25 | Scoop Net    | 38                 | 38                   | 0                  |
|          |                     |                            |           |            | 2013/6/30  |              | 24                 | 24                   | 0                  |
|          |                     | Khleng Tamru               | 13.4693   | 100.9789   | 2013/6/30  | Plankton net | 24                 | 23                   | 1                  |
|          | Chanthaburi         | Kung Kraben                | 12.5878   | 101.9025   | 2010/11/27 | Hand net     | 27                 | 26                   | 1                  |
|          | Phetchaburi         | Bang Tabun                 | 13.2719   | 99.9311    | 2013/12/18 | Hand net     | 19                 | 3                    | 16                 |
|          | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang Fang Tawan Tok | 8.371     | 100.1691   | 2013/7/7   | Hand net     | 28                 | 6                    | 22                 |
| Malaysia | Perak               | Kuala Sepatang             | 4.8437    | 100.6334   | 2010/12/12 | Scoop Net    | 10                 | 0                    | 10                 |
|          |                     | Pulau Mentagor             | 4.2288    | 100.5383   | 2010/12/8  | Hand net     | 6                  | 0                    | 6                  |
|          | Melaka              | Tanjung Kling              | 2.2209    | 102.1717   | 2010/12/9  | Slage net    | 24                 | 24                   | 0                  |
|          |                     | Tanjung Kupang             | 1.3453    | 103.5969   | 2010/12/10 | Hand net     | 2                  | 2                    | 0                  |
|          |                     | Tanjung Kupang             | 1.4375    | 103.5751   | 2012/7/5   | Hand net     | 16                 | 0                    | 16                 |
|          | Johor               | Tanjung Kupang             | 1.3453    | 103.5969   | 2013/5/28  | Hand net     | 30                 | 30                   | 0                  |
|          |                     | Tanjung Kupang             | 1.3862    | 103.6155   | 2013/5/29  | Hand net     | 2                  | 0                    | 2                  |
|          |                     | Tanjung Kupang             | 1.4384    | 103.5867   | 2013/5/29  | Hand net     | 2                  | 0                    | 2                  |

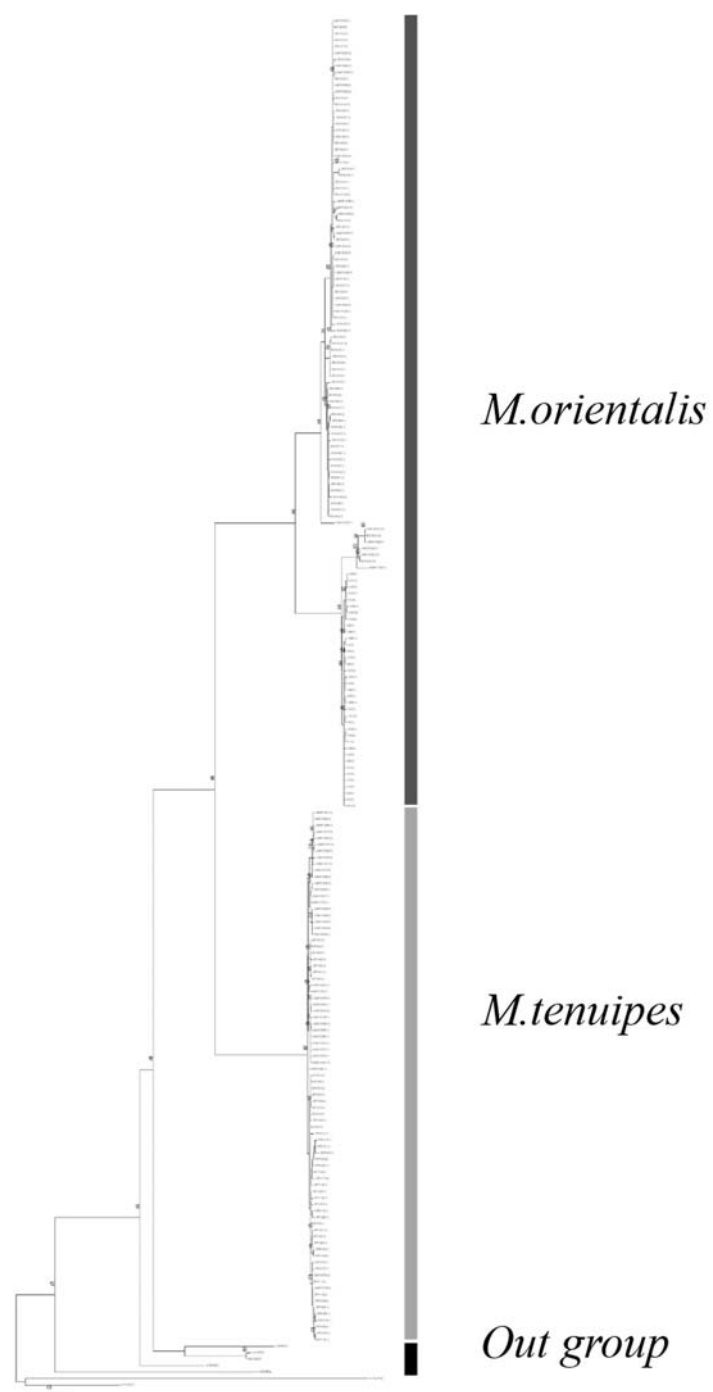


Fig. 4-3. ML tree of haplotypes of COI gene in genus *Mesopodopsis*.

*M.orientalis* と *M. tenuipes* の種間の塩基多様度のネット値は 14.33% となった。種内の塩基多様度は *M. orientalis* で 6.60%、*M. tenuipes* では 1.90% と *M. orientalis* の方が高い値となった。

Table 4-3. Average sequence divergence (%) between 4 genera of *Mesopodopsis* of mitochondrial COI

|                       | <i>M. orientalis</i> | <i>M. tenuipes</i> | <i>M. slabberi</i> | <i>M. wooldridgei</i> |
|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| <i>M. orientalis</i>  | <b>6.60</b>          | 18.58              | 19.04              | 19.60                 |
| <i>M. tenuipes</i>    | 14.33                | <b>1.90</b>        | 22.01              | 19.44                 |
| <i>M. slabberi</i>    | 15.74                | 21.05              | N/A                | 17.14                 |
| <i>M. wooldridgei</i> | 15.86                | 18.05              | 16.70              | <b>0.87</b>           |

Above diagonal: average pairwise divergence between species ( $d_{XY}$ ); diagonal elements: average uncorrected sequence divergence within species ( $d_X$ ); below diagonal: average net pairwise divergence ( $d_A$ )

#### 4-3-3. *M. orientalis* 及び *M. tenuipes* 分布

*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種はタイ湾及びマレー半島に広く分布していた。2 種が同所的に出現したのはタイ湾側の 4 地点 Chonburi (Khlong Tamru)、Chanthaburi (Kung Kraben)、Nakhon Si Thammarat (Pak Phanang Fang Tawan Tok)、Phetchaburi (Bang Tabun) (Table 4-2) で、1 回の曳網により採集された同一試料より出現した。*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種の分布は、基本的に *M. tenuipes* が *M. orientalis* と比較して淡水寄りに分布するが、少数の *M. tenuipes* 個体はマングローブ林近くの沿岸域から出現することが知られている (Hanamura et al., 2008)。今回両種が同所的に出現した 4 地点 (Table 4-2) はいずれもマングローブ林内の河川の河口付近であり、それ以外の採集地点では *M. orientalis* が沿岸域、*M. tenuipes* が汽水側から出現し、従来と同様の傾向を示した。

#### 4-3-4. *M. orientalis* の系統解析

*M. orientalis* は、タイ 3 地域 4 地点、マレーシア 2 地域 2 地点、合計 5 地域 6 地点から出現した (Fig. 4-4, Table 4-4)。このうち、タイの Phetchaburi、Nakhon Si Thammarat、マレーシアの Johor は初採集記録である (Hanamura et al., 2008; Tan HS et al., 2014)。

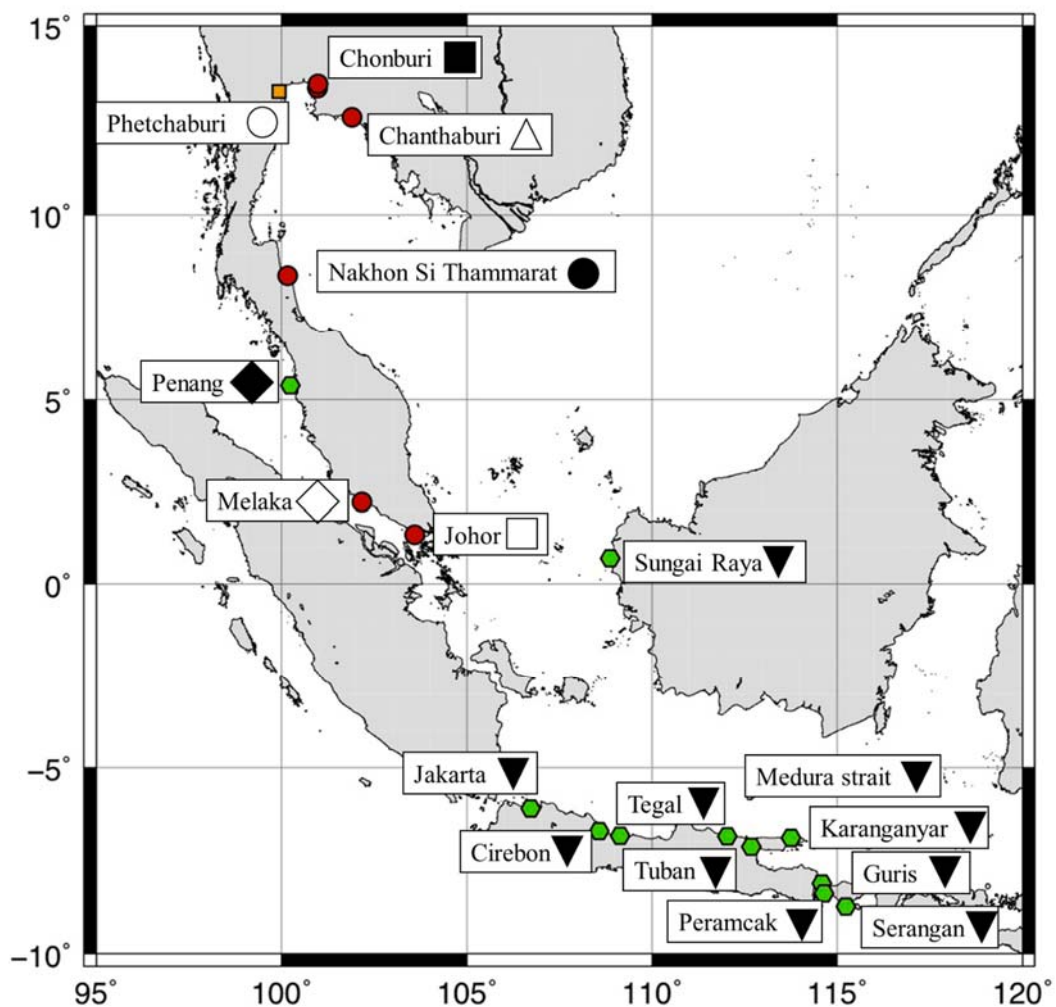


Fig. 4-4. Map of distribution of *M. orientalis*.

(Red, this study; Orange, donation; Green, citation (Mantiri 2013, Hanamura et al., 2008))

○:Phetchaburi, ●:Nakhon Si Thammarat, □:Johor, ■: Chonburi, △: Chanthaburi, ▼:Indonesia, ◇:Melaka, ◆:Penang

COI において、解析を行った 176 個体 458bp から 64 のハプロタイプが出現した。さらに、先行研究による本種の既存ハプロタイプ (Mantiri, 2013: H1-37, Hanamura et al. 2008: AB451022- AB451043)を加えると Fig. 4-4 に示した緯度経度の範囲より 116 のハプロタイプの出現が確認された。これらの Variable sites は 114 (25%)、Singleton variable sites は 24、Parsimony informative sites は 90、transion は 112、transversion は 32、transion/ transversion 比は 3.5 となった。ハプロタイプ多様度(h) は  $0.9424 \pm 0.0053$  と非常に高い値を示した。採集地点ごとの値 (Table 4-4) も全体的に高く、特にタイ湾側で高い値となる傾向がみられた。

ML 法により示された *M. orientalis* の COI における系統樹 (Fig. 4-5) は、2 つの大きなクレードに分かれた。この 2 つの大きなクレードはそれぞれ地理的構造を維持しており、図の上部のクレードにはタイ湾及び Johor の個体群が含まれた。下部のクレードはさらに 2 つのクレードに分かれ、それぞれがマラッカ海峡とインドネシアの個体群を示した。これら *M. orientalis* のクレード間、クレード内の塩基多様度、クレード間の塩基多様度のネット値を Table 4-5 に示す。クレード間の塩基多様度のネット値は 3.36~11.88%の範囲を示した。最大値はタイ湾とマラッカ海峡のクレード間で 11.88%、最少はインドネシアとマラッカ海峡のクレード間で 3.36%となり、マレー半島を境とする地理的隔離の強い影響が示された。

Table 4-4. *M. orientalis*, standard diversity values and haplotype composition per sampling location within each clade based on COI sequence data.

|                         | Country  | Province/States     | District   | Number of sequence | Number of Haprotypes | h                   | $\pi(\times 10^{-3})$ | Haplotype composition  |
|-------------------------|----------|---------------------|--|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|--|
| Own sampling & Citation | Thailand | Chonburi            | Bang Pla Soi, Khlong Tamru, <i>Hanamura et al 2008</i> | 105 (62, 23, 20)   | 35 (20, 5, 17)       | 0.8071 $\pm$ 0.0341 | 6.044 $\pm$ 3.572     | MOTC01(2), MOTC02(2), MOTC03(1), MOTC04(1), MOTC05(1)=MOH09(1), MOTC06(2)=MOH12(17), MOTC07(1)=MOH29(5), MOTC08(1)=MOH11(1), MOTC09(1), MOTC10(1), MOTC11(1), MOTC12(1), MOTC13(1)=MOH10(1), MOTC14(1), MOTC15(1), MOTC16(1), MOTC17(1), MOH13(1), MOH14(1), MOH15(1), MOH16(1), MOH17(1), MOH18(2), MOH19(1), MOH20(1), MOH21(1), MOH22(1), MOH23(1), MOH24(1), MOH25(1), MOH26(1), MOH27(1), MOH28(1), MOH30(1), MOH31(42) |
|                         |          | Chanthaburi         | Kung Kraben  | 26                 | 8                    | 0.7415 $\pm$ 0.0712 | 5.542 $\pm$ 3.429     | MOH01(1), MOH02(12), MOH03(3), MOH04(6), MOH05(1), MOH06(1), MOH07(1), MOH08(1)  |
|                         |          | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang Fang Tawan Tok                             | 6                  | 6                    | 1.0000 $\pm$ 0.0962 | 6.550 $\pm$ 4.580     | MOH34(1), MOH35(1), MOH36(1), MOH37(1), MOH38(1), MOH39(1)   |
| Own sampling & Gifts    | Malaysia | Melaka              | Tanjung Kling  | 24                 | 2                    | 0.5072 $\pm$ 0.0445 | 7.753 $\pm$ 4.552     | MOH63(10), MOH(14)   |
|                         |          | Johor               | Tanjung Kupang   | 32                 | 23                   | 0.9597 $\pm$ 0.0237 | 7.902 $\pm$ 4.575     | MOH40(1), MOH41(1), MOH42(3), MOH43(1), MOH44(2), MOH45(2), MOH46(1), MOH47(1), MOH48(1), MOH49(1), MOH50(6), MOH51(1), MOH52(1), MOH53(1), MOH54(1), MOH55(1), MOH56(1), MOH57(1), MOH58(1), MOH59(1), MOH60(1), MOH61(1), MOH62(1)   |
| Gifts                   | Thailand | Phetchaburi         | Bang Tabun   | 3                  | 3                    | 1.0000 $\pm$ 0.2722 | 10.189 $\pm$ 8.515    | MOH31(1), MOH32(1), MOH33(1)   |

Table 4-4. Continued.

|          | Country   | Province/States | District  | Number of sequence | Number of Haplotypes | h                   | $\pi(\times 10^{-3})$ | Haplotype composition   |
|----------|-----------|-----------------|---|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|---|
| Citation | Malaysia  | Penang          | <i>Hanamura et al 2008</i>  | 46                 | 5                    | $0.5720 \pm 0.0369$ | $8.913 \pm 5.024$     | MOMC01(23),<br>MOMC02(20), MOMC03(1),<br>MOMC04(1), MOMC05(1)   |
|          | Indonesia |                 | <i>Mantiri 2013</i> : Jakarta, Cirebon, Tegal, Tuban, Karanganyar,<br>Madura strait, Guris, Perancak, Serangan, Sungai Raya | 136                | 37                   | $0.8036 \pm 0.0273$ | $8.863 \pm 4.926$     | H01(51), H02(1), H03(1),<br>H04(1), H05(1), H06(1),<br>H07(1), H08(1), H09(1),<br>H10(2), H11(2), H13(1),<br>H14(4), H15(1), H16(2),<br>H17(2), H18(3), H19(1),<br>H20(1), H22(1), H23(1),<br>H24(1), H25(2), H26(1),<br>H27(2), H28(1), H29(1),<br>H30(2), H31(6), H32(32),<br>H33(1), H34(1), H35(1),<br>H36(1), H37(1) |



Table 4-5. Average sequence divergence (%) between major mitochondrial COI clades of *M. orientalis*

|                   | Straits of Melaka | Gulf of Thailand | Indonesia   |
|-------------------|-------------------|------------------|-------------|
| Straits of Melaka | <b>0.84</b>       | 13.11            | 4.23        |
| Gulf of Thailand  | 11.88             | <b>0.89</b>      | 11.68       |
| Indonesia         | 3.36              | 10.43            | <b>1.61</b> |

Above diagonal: average pairwise divergence between clades ( $d_{XY}$ ); diagonal elements: average uncorrected sequence divergence within clades ( $d_X$ ); below diagonal: average net pairwise divergence ( $d_A$ )

複数の地点から出現したハプロタイプは僅かに 2 ハプロタイプ (MOH12: Bang Pla Soi (n=13), Khlong Tamru (4); MOH31: Bang Pla Soi (27), Khlong Tamru (15), Phetchaburi (1)) であった (Table 4-3)。先行研究で既知となっているハプロタイプと比較すると、Mantiri (2013) によりインドネシアから報告されたハプロタイプと共通のものは出現しなかった。Hanamura et al. (2008) と共通のハプロタイプはタイ湾側において、Chonburi のものと 5 ハプロタイプ (MOTC05 (AB451031) と MOH9 (Khlong Tamru)、MOTC08 (AB451034) と MOH11 (Bang Pla Soi)、MOTC06 (AB451032) と MOH12 (Bang Pla Soi) 及び Khlong Tamru)、MOTC07 (AB451033) と MOH29 (Bang Pla Soi)、MOTC13 (AB451039) と MOH10 (Khlong Tamru))、マラッカ海峡側においては Penang のものと 2 ハプロタイプ (MOMC01 (AB451022) と MOH64 (Melaka) 、MOMC02 (AB451023) と MOH63 (Melaka)) の計 7 ハプロタイプが出現した。地域レベルでみると MOH31、MOH63 及び MOH64 を除く 113 個のハプロタイプは地域固有のハプロタイプとなった。

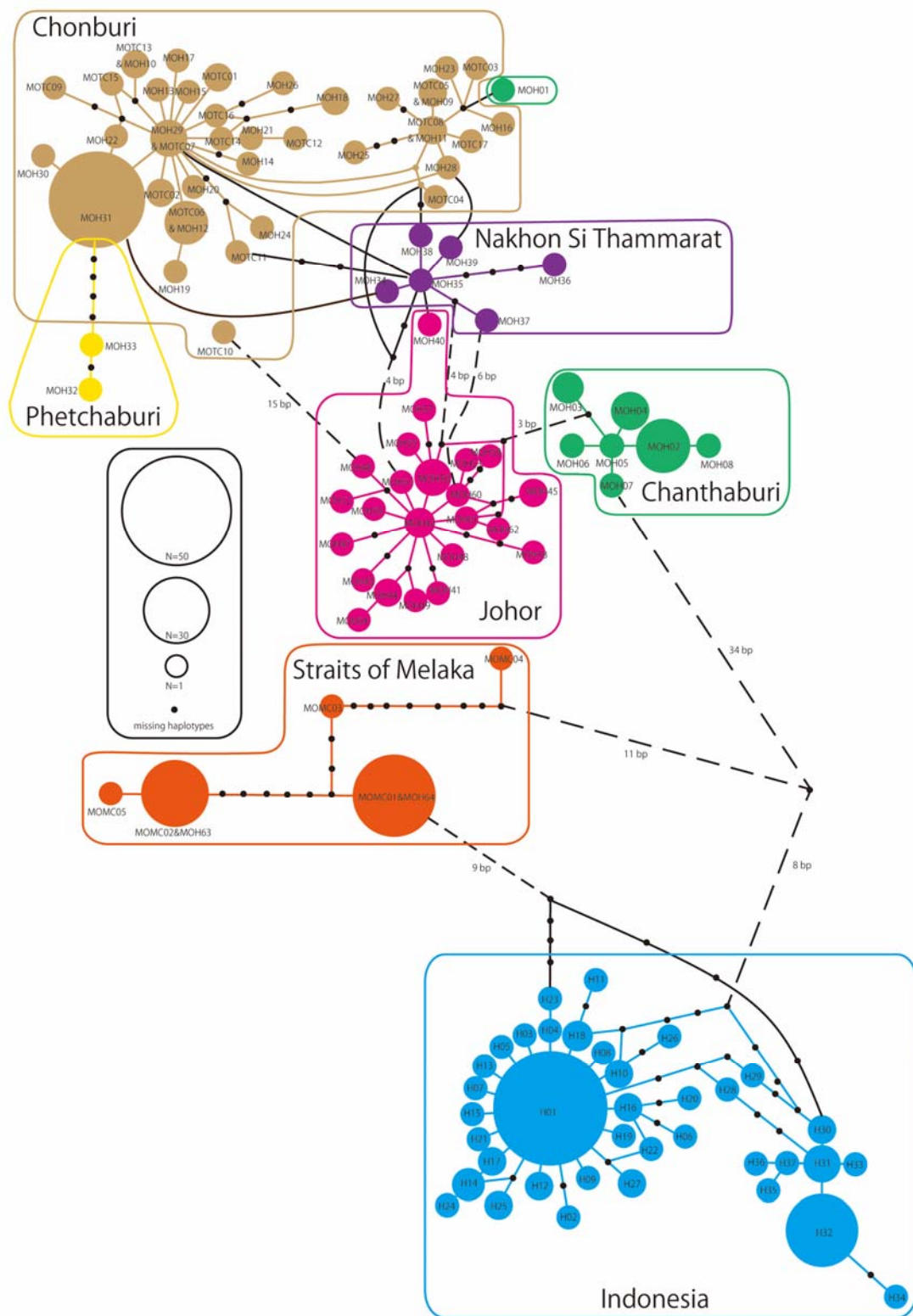


Fig. 4-6. The most parsimonious network of haplotypes of COI gene in *M. orientalis*. Each line in the network represents a single mutational change.

これら 116 ハプロタイプより作成されたハプロタイプネットワーク図を Fig. 4-6 に示す。地域ごとに見ていくと、Chonburi では MOH29 と MOH11 をそれぞれ中心とした 2 つの星状系統、Phetchaburi では MOH29 の派生型の系統、Nakhon Si Thammarat では MOH35 を中心とした星状系統、Chanthaburi では MOH05 を中心とした星状系統、Johor では MOH42 を中心とした星状系統となり、タイ湾側および Johor では概ね地域ごとに星状系統を示した。それに対しマラッカ海峡からは 5 ハプロタイプのみ出現し、星状系統は示されなかった。また、Chonburi、Phetchaburi、Nakhon Si Thammarat の 3 地域は密な関係性を持ち、Johor、Chanthaburi はこの 3 地域と比較的近い関係性、マラッカ海峡及びインドネシアの個体群は高度に分岐している事が示された。

採集地域ごとに行った自然選択検定 Tajima's D (Tajima, 1989) 及び Fu's FS (Fu XY, 1997) の結果を Table 4-6 に示す。統計的に有意な値が得られた全ての地域で検定の値は負 ( $D < 0$ ) となった。このことから、この地域の個体群すべてにおいて、過去に多回移入があったこと、あるいは、ミトコンドリア遺伝子全体に自然選択が働いたか、もしくは過去に集団が急激に拡大したことが示唆された (Tajima, 1989)。

Table 4-6. Results of the Tajima's D statistic and Fu's FS statistic of *M. orientalis*.

|                 |                    | Indonesia | Johor     | Nakhon Si Thammarat | Chanthaburi | Chonburi  |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|---------------------|-------------|-----------|
| Tajima's D test | Tajima's D         | -1.2466   | -2.05971  | -1.42284            | -1.74822    | -2.28783  |
|                 | Tajima's D p-value | 0.092     | 0.001     | 0.032               | 0.018       | 0.001     |
| Fu's FS test    | FS                 | -19.51166 | -18.39561 | -3.28295            | -0.77674    | -26.51559 |
|                 | FS p-value         | 0         | 0         | 0                   | 0.369       | 0         |

採集地域間の  $F_{ST}$  値を Table 4-7 に示す。得られた値は 0.12043 (Nakhon Si Thammarat と Chonburi 間) から 0.37354 (Melaka と Chanthaburi 間) の範囲となった。この結果に基づき NJ 法で示した系統関係を Fig. 4-7 に示す。この結果からもマレー半島を境にタイ湾の集団とマラッカ海洋側の集団は分断されていること、Johor の個体群はタイ湾の集団とより近縁であることが示唆された。

Table 4-7.  $F_{ST}$  among population of *M. orientalis*.

|                     | Penang  | Melaka  | Phetchaburi | Johor   | Nakhon Si Thammarat | Chanthaburi | Chonburi |
|---------------------|---------|---------|-------------|---------|---------------------|-------------|----------|
| Penang              |         |         |             |         |                     |             |          |
| Melaka              | 0.02438 |         |             |         |                     |             |          |
| Phetchaburi         | 0.32341 | 0.37004 |             |         |                     |             |          |
| Johor               | 0.24431 | 0.25617 | 0.02674     |         |                     |             |          |
| Nakhon Si Thammarat | 0.28549 | 0.31857 | 0.00000     | 0.01807 |                     |             |          |
| Chanthaburi         | 0.35271 | 0.37354 | 0.18156     | 0.14699 | 0.15720             |             |          |
| Chonburi            | 0.29565 | 0.30982 | 0.00669     | 0.12313 | 0.12043             | 0.22048     |          |

P<0.05 P<0.01

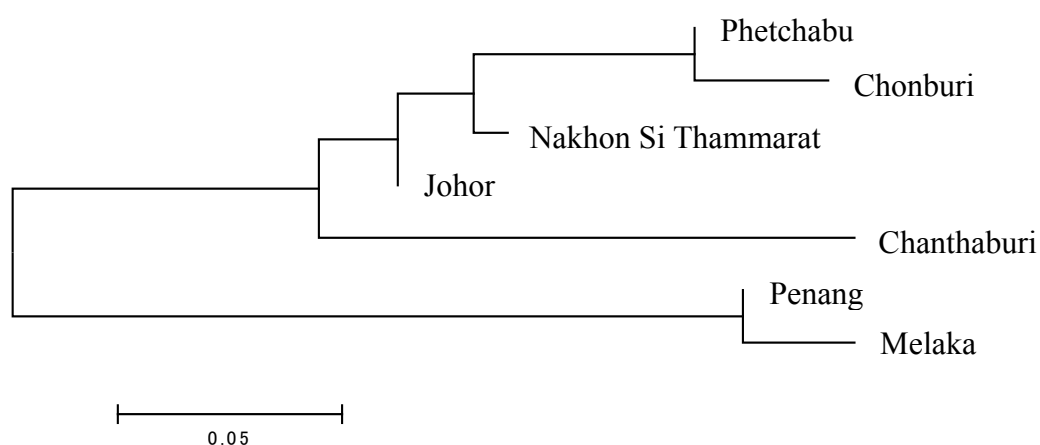


Fig. 4-7. NJ tree of populations using  $F_{ST}$  in Table 4-6.

#### 4-3-5. *M. tenuipes* の系統解析

*M. tenuipes* は、タイ 3 地域 3 地点、マレーシア 2 地域 3 地点、合計 5 地域 6 地点から出現した (Table 4-8, Fig. 4-8)。このうちタイの Chonburi、Chanthaburi、Nakhon Si Thammarat、マレーシアの Johor の 4 地域は初採集記録となる (Hanamura et al 2008, Tan HS et al., 2014)。

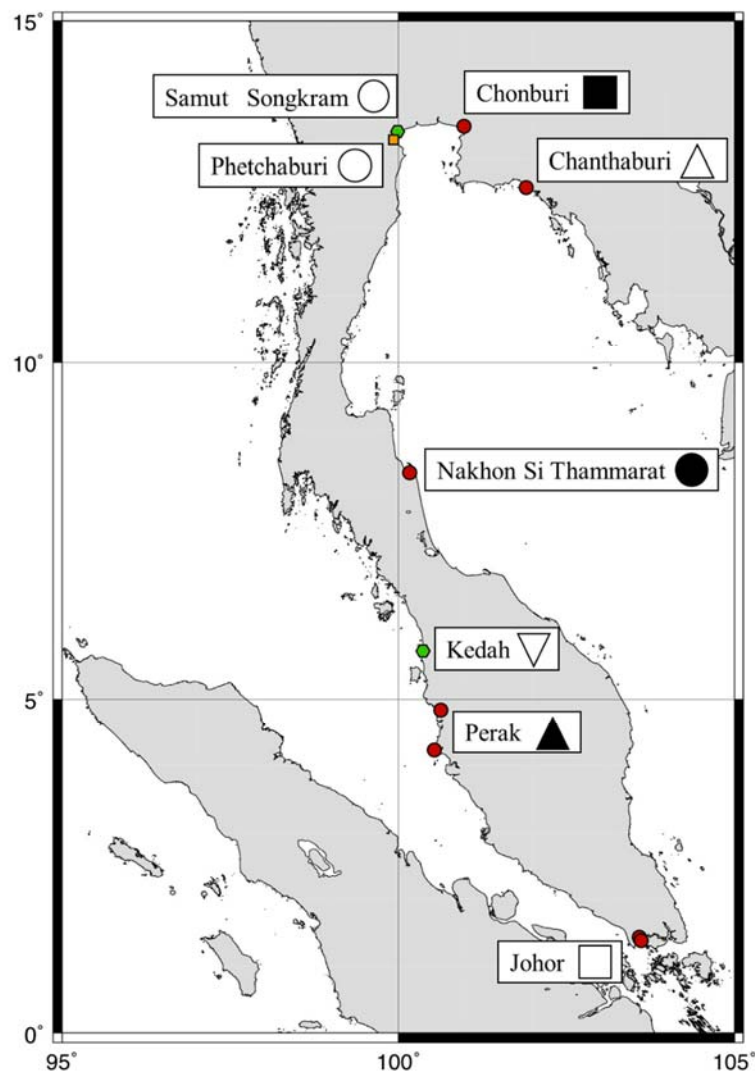


Fig. 4-8. Map of distribution of *M. tenuipes*.

(Red: own sampling, Orange: Gifts, Green: citation (Mantiri 2013, Hanamura et al., 2008))

△: Chanthaburi, ■: Chonburi, ○: Phetchaburi and Samut Songkram, ●: Nakhon Si Thammarat, □: Johor, ▲: Perak, ▽: Kedah

Table 4-8. *M. tenuipes*, standard diversity values and haplotype composition per sampling location within each clade based on COI sequence data.

|                      | Country  | Province/States     | District                       | Number of sequence | Number of Haprotypes | h                   | $\pi(\times 10^{-3})$ | Haplotype composition  |
|----------------------|----------|---------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|--|
| Own sampling         | Thailand | Chanthaburi         | Kung Kraben                    | 1                  | 1                    | 0                   | 0                     | MTH01(1)   |
|                      |          | Chonburi            | Khleng Tamru                   | 1                  | 1                    | 0                   | 0                     | MTH12(1)=MTTC02(2)   |
|                      |          | Nakhon Si Thammarat | Pak Phanang Fang Tawan Tok     | 22                 | 19                   | $0.9870 \pm 0.0175$ | $13.611 \pm 7.497$    | MTH13(1), MYH14(1), MYH15(1), MTH16(1), MTH17(2), MTH18(1), MTH19(1), MTH20(1), MTH21(1), MTH22(1), MTH23(2), MTH24(1), MTH25(1), MTH26(1), MTH27(1), MTH28(1), MTH29(2), MTH30(1), MTH31(1) |
|                      | Malaysia | Perak               | Kuala Sepatang, Pulau Mentagor | 16 (10, 6)         | 7 (6, 2)             | $0.7417 \pm 0.1053$ | $3.293 \pm 2.341$     | MTH41(1), MTH42(1), MTH43(3), MTH44(1), MTH45(2), MTH46(7), MTH47(1)   |
| Own sampling & Gifts |          | Johor               | Tanjung Kupang                 | 20                 | 9                    | $0.8263 \pm 0.0734$ | $3.287 \pm 2.306$     | MTH32(1), MTH33(1), MTH34(3), MTH35(8), MTH36(1), MTH37(2), MTH38(1), MTH39(2), MTH40(1)   |
| Gifts                | Thailand | Phetchaburi         | Bang Tabun                     | 16                 | 11                   | $0.9500 \pm 0.0364$ | $5.568 \pm 3.534$     | MTH02(1), MTH03(2), MTH04(2), MTH05(1), MTH06(1), MTH07(1), MTH08(1), MTH09(1), MTH10(1), MTH11(2)=MTTC01(2), MTH13(3)   |

Table 4-8. Continued.

|          | Country  | Province/States | District | Number of sequence | Number of Haprotypes | h                   | $\pi(\times 10^{-3})$ | Haplotype composition   |
|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|---|
| Citation | Thailand | Samut Songkram  |          | 4                  | 2                    | $0.6667 \pm 0.2041$ | $1.456 \pm 1.633$     | MTTC01(2)=MTH11(2),<br>MTTC02(2)=MTH12(1)   |
|          | Malaysia | Kedah           | Merbok   | 50                 | 34                   | $0.8890 \pm 0.0435$ | $11.382 \pm 6.215$    | MTMC01(17), MTMC02(1),<br>MTMC03(1), MTMC04(1),<br>MTMC05(1), MTMC06(1),<br>MTMC07(1), MTMC08(1),<br>MTMC09(1), MTMC10(1),<br>MTMC11(1), MTMC12(1),<br>MTMC13(1), MTMC14(1),<br>MTMC15(1), MTMC16(1),<br>MTMC17(1), MTMC18(1),<br>MTMC19(1), MTMC20(1),<br>MTMC21(1), MTMC22(1),<br>MTMC23(1), MTMC24(1),<br>MTMC25(1), MTMC26(1),<br>MTMC27(1), MTMC28(1),<br>MTMC29(1), MTMC30(1),<br>MTMC31(1), MTMC32(1),<br>MTMC33(1), MTMC34(1) |



COI において解析を行った 76 個体 458bp から 47 のハプロタイプが出現した。さらに先行研究による既存のハプロタイプ (Hanamura et al., 2008: AB451044~AB451079) を加えると Fig. 4-8 で示した緯度経度の範囲より 81 のハプロタイプが出現した。

これらの Variable sites は 74 (16%)、Singleton variable sites は 25、Parsimony informative sites は 49、transion は 63、transversion は 17、transion/ transversion 比は 3.7 となった。ハプロタイプ多様度 ( $h$ ) は  $0.973 \pm 0.00006$  と非常に高い値を示した。採集地点ごとの値 (Table 4-8) も全体的に高く、特にタイ湾側で高い値となる傾向がみられた。

ML 法により示された *M. tenuipes* の COI における系統樹 (Fig. 4-9) は、2 つのクレードに分かれた。この 2 つの大きなクレードはそれぞれ地理的構造を維持しており、図の上部のクレードがタイ湾及び Johor から出現した個体群からなり、下部のクレードはマラッカ海峡から出現した集団を示した。

これら *M. tenuipes* のクレード間、クレード内の塩基多様度、クレード間の塩基多様度のネット値を Table 4-9 に示す。クレード間の塩基多様度のネット値は 0.94% とな

Table 4-9. Average sequence divergence (%) between major mitochondrial COI clades of *M.tenuipes*.

|                   | Straits of Melaka | Gulf of Thailand |
|-------------------|-------------------|------------------|
| Straits of Melaka | <b>1.18</b>       | 2.16             |
| Gulf of Thailand  | 0.94              | <b>1.26</b>      |

Above diagonal: average pairwise divergence between clades ( $d_{XY}$ ); diagonal elements: average uncorrected sequence divergence within clades ( $d_X$ ); below diagonal: average net pairwise divergence ( $d_A$ )

り、*M. orientalis* の様なマレー半島を境とする強力な地理的隔離の影響はみられなかった。

複数の採集地点から出現したハプロタイプは2 ハプロタイプ (MTH12: Chonburi (n=1), Phetchaburi (3); MTH46: Perak の Kuala Sepatang (2)と Pulau Mentagor (5)) となった (Table 4-8)。先行研究で既知となっているハプロタイプと比較すると、Hanamura et al. (2008) で Samut Songkram より出現した 2 ハプロタイプ (MTTC01 (AB451078) と MTH11 (Phetchaburi)、MTTC02 (AB451079) と MTH12 (Chonburi と Phetchaburi)) が共通した。地域レベルでみると、MTH11、MTH12 を除く 79 個が地域固有のハプロタイプとなった。

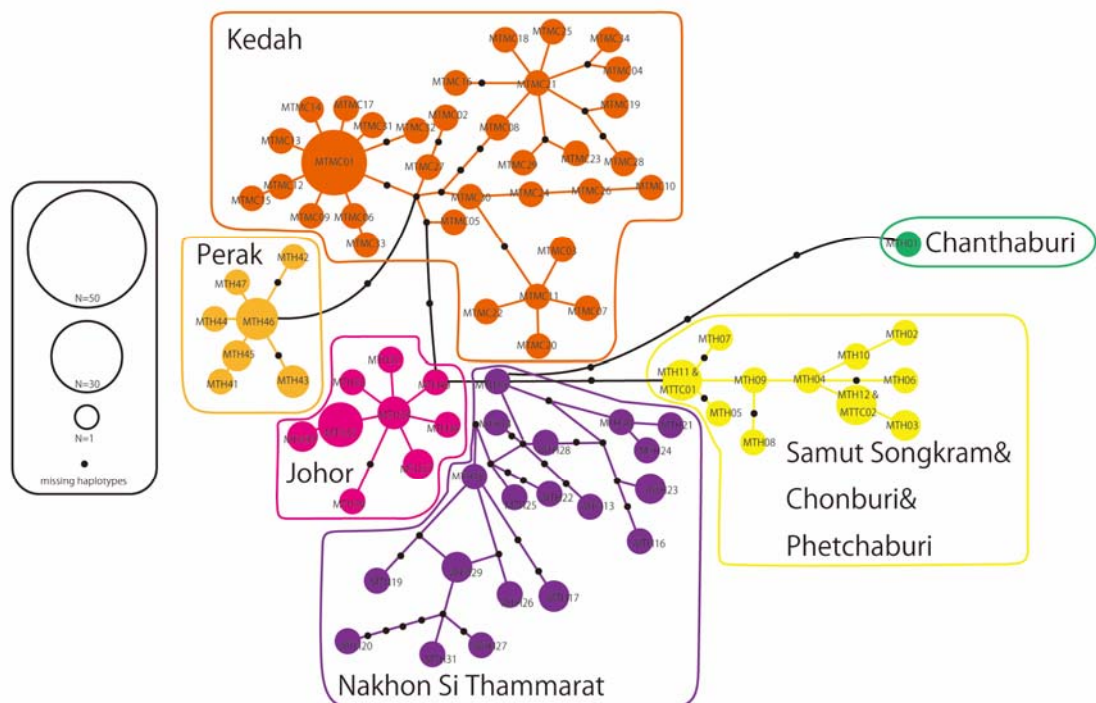


Fig. 4-10. The most parsimonious network of haplotypes of COI gene in *M. tenuipes*. Each line in the network represents a single mutational change.

これら 81 ハプロタイプより作成されたハプロタイプネットワーク図を Fig. 4-10 に示す。地域ごとにみていくと、Kedah では MTMC01、MTMC11、MTMC21 それぞれを中心とした 3 つの星状系統、Perak では MTH46 を中心とした星状系統、Johor では MTH34 を中心とした星状系統となり、マラッカ海峡側および Johor では概ね地域ごとに星状系統を示した。それに対しタイ湾側の Nakhon Si Thammarat では明瞭な星状形状は見られず、Samut Songkram、Chonburi、Phetchaburi の 3 地点に共通のハプロタイプが出現し、1 つの集団を形成した。Chantaburi から出現した個体については、他のハプロタイプと分岐していることが示唆された。

採集地域ごとに行った自然選択検定 Tajima's D (Tajima, 1989) 及び Fu's FS (Fu XY, 1997) の結果を Table 4-10 に示す。統計的に有意な値を示した全ての地域で検定の値は負 ( $D < 0$ ) となった。このことから、この地域の個体群すべてにおいて、過去に多回移入があったこと、あるいは、ミトコンドリア遺伝子全体に自然選択が働いたか、もしくは過去に集団が急激に拡大したことが示唆された (Tajima, 1989)。

Table 4-10. Results of the Tajima's D statistic and Fu's FS statistic of *M. tenuipes*.

|                 |                    | Johor    | Perak    | Kedah     |
|-----------------|--------------------|----------|----------|-----------|
| Tajima's D test | Tajima's D         | -1.39839 | -1.34969 | -1.3073   |
|                 | Tajima's D p-value | 0.073    | 0.092    | 0.075     |
| Fu's FS test    | FS                 | -4.5956  | -2.62107 | -24.99751 |
|                 | FS p-value         | 0.002    | 0.002    | 0         |

Table 4-11.  $F_{ST}$  among population of *M. tenuipes*.

|                     | Chonburi | Chanthaburi | Nakhon Si Thammarat | Johor   | Perak   | Phetchaburi | Samut Songkram | Kedah  |
|---------------------|----------|-------------|---------------------|---------|---------|-------------|----------------|--------|
| Chonburi            |          |             |                     |         |         |             |                |        |
| Chanthaburi         | 1        |             |                     |         |         |             |                |        |
| Nakhon Si Thammarat | 0.07958  | 0.20727     |                     |         |         |             |                |        |
| Johor               | 0.74047  | 0.74487     | 0.41223             |         |         |             |                |        |
| Perak               | 0.84628  | 0.8605      | 0.59667             | 0.80305 |         |             |                |        |
| Phetchaburi         | -0.56923 | 0.67097     | 0.40304             | 0.70018 | 0.81014 |             |                |        |
| Samut Songkram      | -0.33333 | 0.89744     | 0.28703             | 0.7479  | 0.85614 | -0.0204     |                |        |
| Kedah               | 0.49681  | 0.51189     | 0.48237             | 0.52531 | 0.39774 | 0.61381     | 0.56488        |        |
|                     |          |             |                     |         |         |             | P<0.05         | P<0.01 |

採集地域間の  $F_{ST}$  値を Table 4-11 に示す。得られた値は 0.287 (Nakhon Si Thammarat と Samut Songkram 間) から 0.856 (Perak と Samut Songkram 間) の範囲となった。この結果についての系統関係を Fig. 4-10 に示す。この結果からハプロタイプネットワーク図 (Fig. 4-10) において 1 つのクラスターを作った Samut Songkram、Chonburi、Phetchaburi の 3 地域に Nakhon Si Thammarat が加わり 1 つのクレードを作った。マラッカ海峡側も 1 つのクレードを作り、その間に Johor と Chantaburi の枝が入る結果となった。

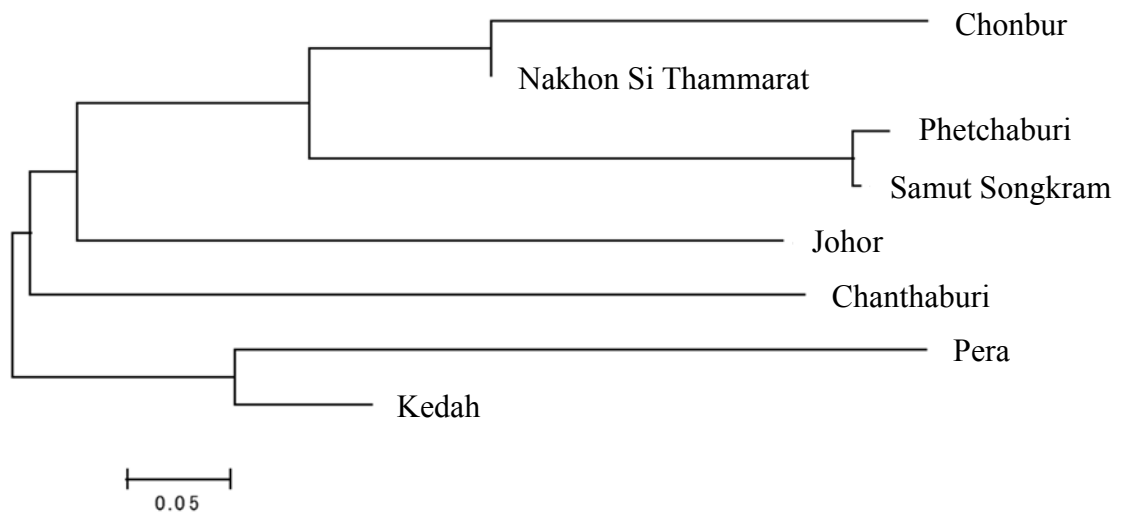


Fig. 4-11. NJ tree of populations using  $F_{ST}$  in Table 4-10.

#### 4-4. 考察

##### 4-4-1. 種査定と隠蔽種

COI 遺伝子を用いた今回の結果において、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種は明瞭に分かれたことから、2 種の形態的差異は乏しいものの、別種であることを支持した。

さらに COI 遺伝子領域を使う事により本海域においてこの 2 種を明瞭かつ形態学的な専門知識を必要とせず種判別する事が可能と判明した。これは 2 種の形態的判別が難しく同所的に出現すること、漁業的採集が行われていること (Mantiri et al, 2012) を踏まえると資源管理などに利用できる有益な情報と思われる。

2 種は一部のマングローブ林内の河川という特定の条件下においては同所的に出現したものの、遺伝的には明確に分化していた。このことについて、塩水くさびによる棲み分けや、群れが近接していた可能性も考えられたが、これらの地点の水深は 50cm 程度と非常に浅いため、水質による棲み分けの可能性は低い。また、群れがたまたま接近していた可能性について、アミ類においては群れの中に異なる種が少数混ざるゲスト種 (Wittmann, 1977) の存在が多く種で報告されていることから (Ohtsuka et al., 1995)、2 種が混在して群れを形成していることも否定できず、両種の間にはなんらかの生殖隔離が生じているものと推察された。

また、2 種は Fig. 4-3 の系統樹において単系統性が支持されたことから、本海域における隠蔽種の存在は考えにくい。しかし、Fig. 4-12 に示す様に Genbank に登録されて

いるインドから出現した *M. orientalis*: EU717686 を加えて ML 法により系統樹を作成すると、EU717686 は今回の調査で出現した *M. orientalis* とは姉妹群にならず、*M. wooldridgei* と姉妹群となった。さらに、*M. orientalis* (Tattersall, 1908) はインド Calcutta 近郊の Dhappa で採集された個体に基づき種記載がなされていることから、東南アジア周辺海域より出現している *M. orientalis* 自体が大きな隠蔽種の集団である可能性が示された。しかし、Hanamura et al. (2008) において、インドの *M. orientalis* 含めた個体の形態学的な観察がなされている事から誤同定の可能性も考えられる。このことから、インド洋に分布する *Mesopodopsis* 属の個体群に対する分子生物学的調査が必要とされ、今後の最重要課題となる。さらにスエズ運河に分布する *M. aegyptia* を調査することにより、*Mesopodopsis* 種間の流動、特にヨーロッパ種との関係が明らかとなることが期待される。

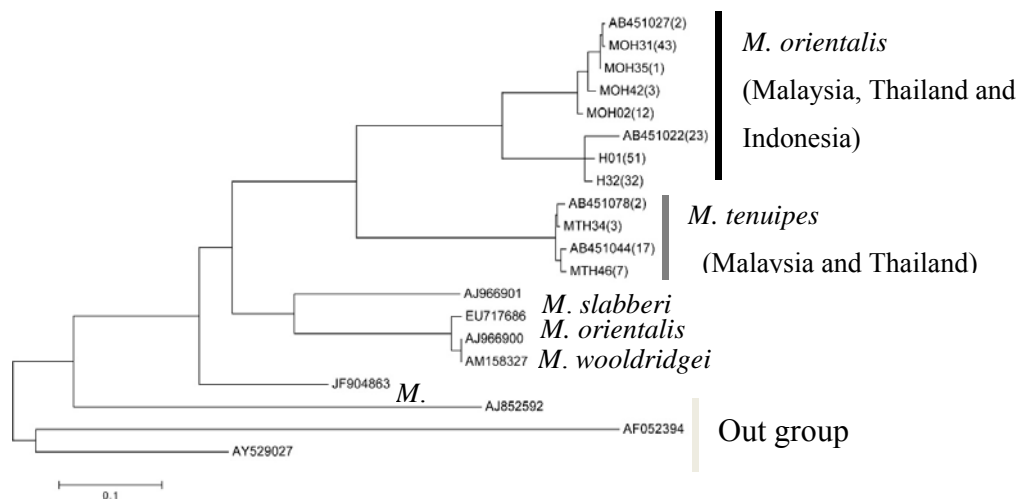


Fig. 4-12. ML tree of haplotypes of COI gene in *Mesopodopsis*.

#### 4-4-2. *M. orientalis* と *M. tenuipes* の集団構造

ヨーロッパに分布する近縁種の *M. slabberi* において、地中海と大西洋の間で個体群に大きな遺伝的隔たりがある事が報告されている (Remerie et al., 2006)。これはその他の海洋生物でもみられる現象で(例えば、Roma and Palumbi, 2004; Perdices et al., 2001)、メッシニアン塩分危機などの (5.5–6 Mya) 大規模な気候変動における海水面低下が大きな要因と考えられている。この、*M. slabberi* の COI 遺伝子は非常に可変的で、その系統樹は4つの大きなクレードを示し、それぞれが地理的構造を維持すると共に、隠蔽種の存在を示唆した (Remerie et al., 2006)。各クレードの大部分において、非常に高いハプロタイプ多様度がみられ、集団固有のハプロタイプも多数出現した。また、共有ハプロタイプは狭い範囲 (>500 km) でのみ観察された (Remerie et al., 2006)。このような現象はインドネシアの *M. orientalis* においても2つのクレードが出現し、Wallace 線により区別されることが示されている (Mantiri, 2013)。

今回の調査で出現したマレー半島およびタイ湾の *M. orientalis* と *M. tenuipes* においては、マレー半島を境にクレードを形成し (Figs. 4-5, 4-9)、Johor の個体群がタイ湾側に属するという共通の傾向がみられた。しかし、両種におけるクレードの分岐年代は大きく異なり、半島を境とした分断の強さにも差が見られた。これは *M. tenuipes* の方が *M. orientalis* に比べてより低塩分を好みより内水面側に分布している (Hanamura et al., 2008) ことが要因の1つと考えられる。

また、2種は共通して非常に高いハプロタイプ多様度を持ち、ほとんどのハプロタイプが地域特有で、ハプロタイプネットワーク図は地域ごとに星状系統を示した (Fig. 4-6, 4-10)。このことから、両種はこの海域において形態学的に区別できない集団間で非常に高い遺伝的多様性と独立性を持つことが示唆された。共通したハプロタイプについても、*M. orientalis* では 445 km、*M. tenuipes* では 116 km といずれも狭い範囲 (<500 km) のみとなった。以上より、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の集団構造は、ヨーロッパの *M. slabberi* と非常に良く似た傾向を示した。この傾向は、アミ類が浮遊幼生期を持たない事から分散能力が非常に低い事による影響と考えられる。

また、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の地域ごとの自然選択検定の結果が全て負であったことから (Tables 4-6, 4-10) すべての地域においてごく少数の個体群が過去に移入した可能性またはボトルネックの経験が示唆され、両種の集団構造の形成に共通して作用した遺伝的障壁の存在が考えられた。さらに今回の調査地域においては、地域間で共有するハプロタイプが極端に少ないことから、より強い制限を受けていることが考えられる。

本海域における他の生物で遺伝的集団構造が明らかにされた生物は非常に少ない。褐藻類ホンダワラ亜属の一種である *Sargassum polycystum* C. Agardh では、タイ湾とマラッカ海峡で共通のハプロタイプが出現すること、ハプロタイプ多様度がタイ湾内では低く、プーケット島では高いことが報告されているが (Kantachumpoo et al., 2014)、両側で共通のハプロタイプが主要ハプロタイプであることなどマレー半島を境とした

隔離は見られない。これに対し、淡水魚であるライギョの一種 *Channa striata* において、マレー半島、スマトラ島、ボルネオ島の河川より出現した本種の系統樹は 1) マレー半島北西部、2) マレー半島南東部及びスマトラ島、3) マレー半島西部及びボルネオ島でクレードを形成することが明らかにされ、その要因としてスンダランドと当時の河川流路が挙げられた (Tan MP et al., 2012)。

#### 4-4-3. スンダランドと地理的隔離

本海域にはスンダランド (Sundaland, Fig. 4-13) と呼ばれる沖積平野が過去に存在していた。また、この周辺はウォレス線、ウェーバー線などの分布境界線が知られ、多くの地史的影響が多数の生物で報告されている。*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種において、マレー半島を境にクレードを形成し、Johor の個体群がタイ湾側に属するという共通の結果について、Fig. 4-14 に示す通りスンダランドによる海洋の断絶とその際に形成されていた河川の流路 (Voris 2000, Sathiamurthy and Voris, 2006) による地理的隔離が強い影響を与えたと考える。

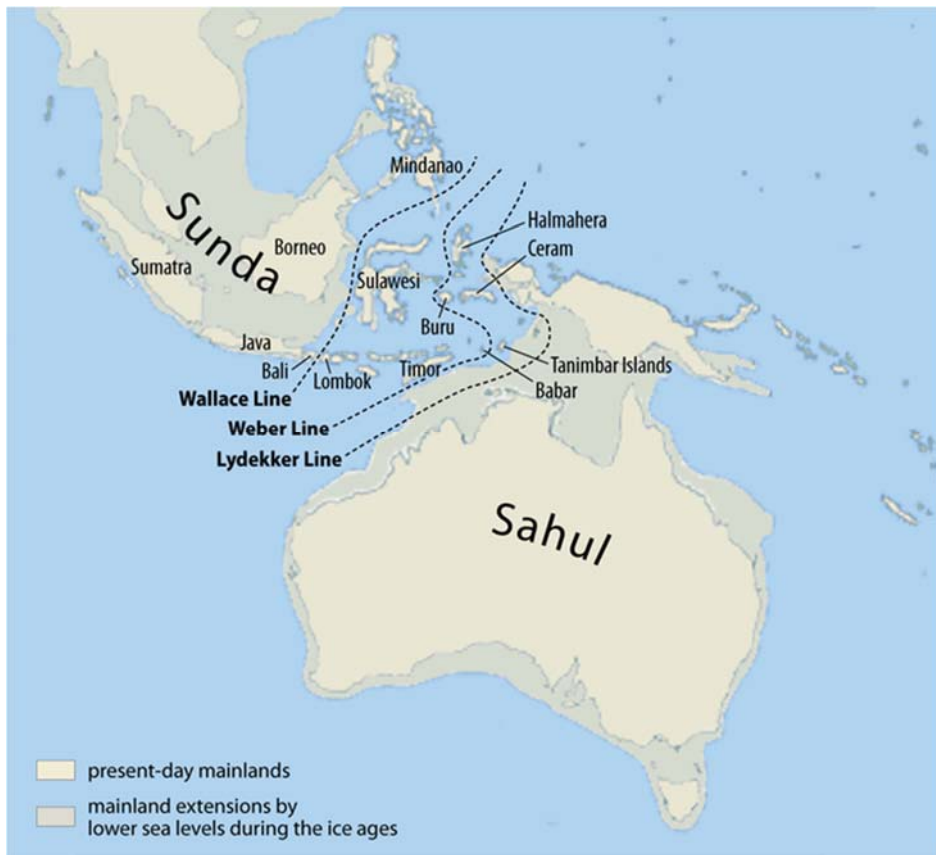


Fig. 4-13. Map of Sundaland.

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Map\\_of\\_Sunda\\_and\\_Sahul.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Map_of_Sunda_and_Sahul.png)

(CC BY-SA 3.0: Maximilian Dörrbecker (Chumwa) 2007 Oct. Map of Sunda and Sahul and the Wallace Line, the Lydekker Line and the Weber Line)

これについて、タイ湾のクレードは③の Siam River、マラッカ海峡のクレードは④の Malaka River、インドネシアのクレードは①の South Sunda River と②の North Sunda River に由来しており、Johor は③の Siam River 流域となるため、タイ湾のクレードに含まれたものと推察する。さらに *M. orientalis* の系統樹の結果において、マラッカ海峡の個体群がインドネシアの個体群と姉妹群を示したことについても、先に比較したライギョの一種 *C. striata* と同様の傾向を示していることから、当時の河川による地理的隔離の強い影響は支持される。

#### 4-4-4. 塩基相違度と分岐年代

Table 4-3 で示した様に *M. orientalis* と *M. tenuipes* の種間の塩基多様度のネット値は 14.33% となった。*Mesopodopsis* 4 種間の塩基多様度のネット値は 14.33~21.05% の範囲であったが、*Neomysis integer* と *N. americana* の種間の塩基多様度のネット値は 10%、*N. integer* の種内の塩基多様度は 0.22~2.68% (Remerie et al., 2006) である事を踏まえると、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の隔たりは高い値といえる。また、マレー半島を境としたクレード間の塩基多様度のネット値は *M. orientalis* で 11.88%、*M. tenuipes* で 0.94% となり、*M. orientalis* において数値的には別種ともとれる値となった。

次に分岐年代について、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の分岐は 28.32~7.28 Mya の中新世と推定された。これは 2 種の生態的特性から、生活環境における適応塩分が要因となり種分化に至ったことが考えられる。この期間にはヒマラヤ造山運動により現在のヒマラヤ山脈が形成されつつある時期が含まれている。これに伴う大規模な変化である褶曲、隆起、侵食により生じた複雑な地形と河川により形成される汽水域が種分化に影響したと考える。しかし、マレー半島を境界とするクレードの分岐は *M. orientalis* では 12.7~3.3 Myr の鮮新世、*M. tenuipes* では 0.7~0.23 Myr の更新世 (中期) と推定され、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種は共通祖先からの種分化が生じた後、本海域に異なる時期に移入してきたことが示唆された。これは、2 種が同所的に出現しても単系統を示していることとも合致する。しかし、*M. tenuipes* の方が内水面に適応した種であるため、そ

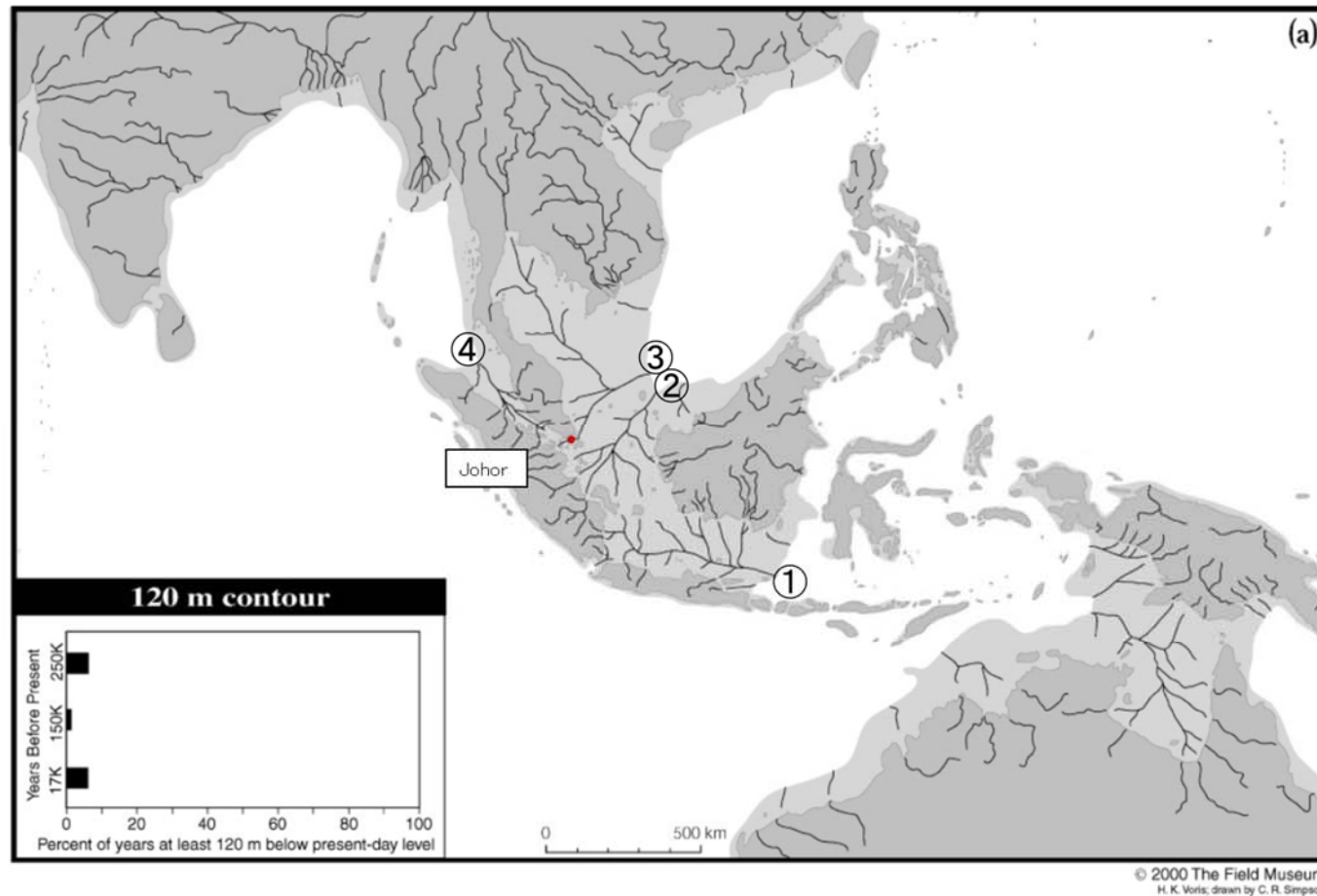


Fig. 4-14. Map of Sundaland rivers. ① South Sunda River ② North Sunda River ③ Siam River ④ Malaka River.

This figure cited from Harold K. Voris 2000, Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography*, 27, 1153–1167.

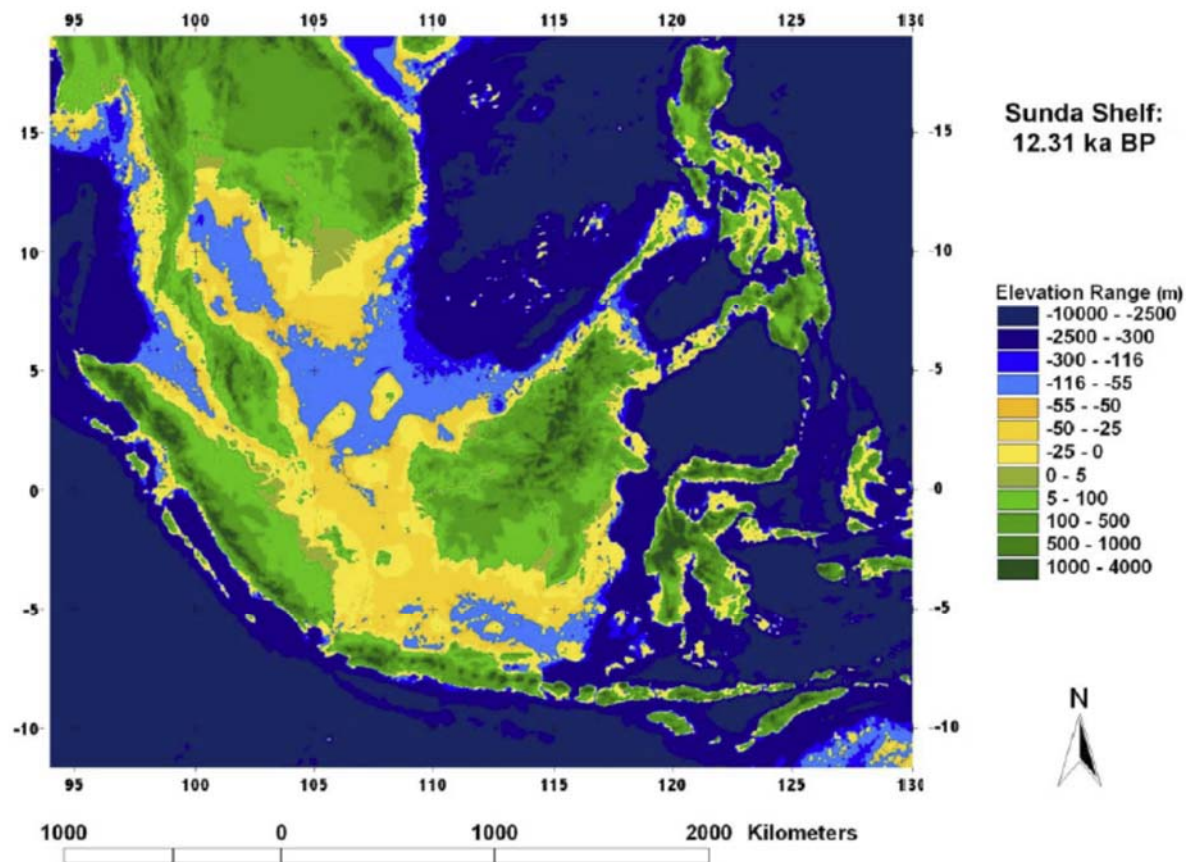


FIGURE 14. Sunda Shelf: 12.31 ka BP, -55 m below present-day sea level.

Fig. 4-15. Map of Sundaland

This figure cited from Edlic Sathiamurthy and Harold K. Voris 2006, Maps of Holocene Sea Level Transgression and Submerged Lakes on the Sunda Shelf. The Natural History Journal of Chulalongkorn University, Supplement 2: 1-43.

その移入経路が不可解となる。さらに種内において、移入から現在に至るまでの間に海水面の上下は何度もあったことから、通常であれば海水面が上下するたびに、共通の河川に分布する個体群間で交雑が生じる可能性が高く、特に共通のハプロタイプがほとんど出現しなかったタイ湾側で地域ごとの構造を維持し続けた要因が不明である。これについて、Fig. 4-15 に示す様に、Siam River 流域は海水面の高さによっては大きな汽水湖や複雑な地形が形成されている可能性が高く (Sathiamurty and Voris, 2006)、この複雑な地形が地域ごとの隔離に強い影響を与えていたことが示唆される。このことから、2 種はこのような環境下で種分化し、より内水面側に分布する *M.tenuipes* では比較的最近まで個体群間で交雑が生じ続けたと考える。

#### 4-4-5. *M. orientalis* と *M. tenuipes* の多様性

*M. orientalis* と *M. tenuipes* は分断の強さには差があるものの共通すると考えられる地史的影響が多く見られ、これらは過去の氷河期にスンダランドが陸地化することによりタイ湾とマラッカ海峡側とが完全に寸断され、そこに流れる河川の流路による影響が現在の遺伝的多様性にも影響を与えていることが伺えた。次に複数の地点間で共有されたハプロタイプと採集地点間の距離についてみると、*M. orientalis* で共有された 4 ハプロタイプは、MOH12 は Bang Pla Soi と Khlong Tamru の 12km、MOH31 は Bang Pla Soi と Khlong Tamru と Phetchaburi で 128km、MOH63 及び MOH64 は Penang と Melaka

の 445km となり、タイ湾側とマラッカ海峡側とで距離に大きな差が生じた。*M.*

*tenuipes* で共有された 3 ハプロタイプは、MTH11 は Samut Songkram と Phetchaburi の

20km 、MTH12 は Chonburi と Samut Songkram と Phetchaburi の 116km、MTH46 は

Perak の Kuala Sepatang と Pulau Mentagor の 60km となったことから、2 種において採

集地域間の地理的距離と遺伝的距離 ( $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ ) の関係を調べたが有意な相関関係は

得られなかった。

また、地理的距離が離れていても、遺伝的距離の近い個体群があった。これについては、距離が近いだけで共通するハプロタイプが見られなかったことから、集団が最近進化したのではなく、各個体群が高い遺伝子流動を持つ事を示唆していると思われる。

以上より *M. orientalis* では現在、タイ湾側で高い遺伝的多様性を維持しているが、個体群間の遺伝的交流はほとんど無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられた。マラッカ海峡側では、個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有ると考えられた。一方 *M. tenuipes* では、タイ湾側では個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有り、マラッカ海峡側では個体群の遺伝的交流は無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられ、2 種はマレー半島を境に逆の様相を呈した。

この要因については、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の対塩性の強さとタイ湾における大雨等による低塩分化とマラッカ海峡側における、高塩分の強い海流による拡散、全地域における複雑な河口の形成とマングローブ林等の植生がこれらの集団構造の形成に寄

与しているものと予想するが、環境データの収集などさらなる調査が不可欠となる。

最後に今回出現した 2 種のうち少なくとも *M. orientalis* のタイ湾側のクレードに含まれる地点の集団、*M. tenuipes* のマラッカ海峡側のクレードに含まれる集団及び Johor の個体群については、形態学的には区別できないものの分子生物学的にはそれぞれが独立、分化した地域集団であった。これら個体群は Evolutionary Significant Unit (EUS) (Ryder, 1986) と呼ばれる優先的な保全が求められる集団 (Motiz, 1994) に該当すると考えられる。

Appendix 2. Valiable nucleotide positions of the mitochondrial COI gene of the *M. orientalis* and *M. tenuipes* haplotypes.

[illegible]

## Appendix 2. continued

[illegible]

## 第5章 総合考察

### 5-1. 未記載種と採集

東南アジアからは 207 種のアミ類の出現が報告されているが (Sawamoto 2014)、この数は日本沿岸で知られる種数と同等である (村野 1997)。しかし、アミ類は未だに年間 10 種程度の未記載種が報告されており、このうち東南アジアからの報告は 2~3 割を占める (Sawamoto 2014)。このことから、本地域ではさらなる未記載種の出現が予想される。これは今回の調査で 19 種 (Table 2-2) が出現し、このうち未記載種が 3 種、地域での初採集記録は 5 種となったことから示された。また、アミ類の分類学者の不足という問題解決には、分子生物学的手法の活用が期待されているが、形態学的研究に比べ多額の費用が必要とされる。調査地域の拡充には現地研究者との協力が不可欠となることから、より簡便かつ安価で利用できる技術の開発が求められる。

一般的なプランクトンネットによる採集においては、海底などとネットが接触することを避ける場合が多く、近底層などの基質付近の調査は十分には行われておらず、空白域となっている。しかし、アミ類はこの空白域に多く生息しており、今回の採集ではそりネット、タモ網、スキンドайビングによる目視での採集 (ハンドネット)を用いることにより効率的な採集を行うことが出来たと考える。特にスキンドайビングによる目視での採集 (ハンドネット) では 3 種の未記載種を採集することができた。この採集方法は、そりネットにおいても採集の困難だった岩礁域、サンゴ礁域において、目視あるいは小型ネットによる採集が可能となるため、これらの地形が多くを占める東南アジア沿岸域

においては最も適した採集方法であると考ええる。

次に、今回の採集においてその底質等基質、昼夜、潮汐等が大きな影響を与えていることが示され、東南アジア沿岸域におけるアミ類の精確な出現記録の収集、整備、および拡充には定点観測、広域観測の両方が依然必要と考えられた。このことに加えて、今回の採集では遊泳客のいるビーチや、河川上流に集落が存在する地域においてアミ類が採集されない傾向が見られた。アミ類は化学物質に対し種類や混合比までを感知することが知られている (Metillo and Ritz 2003)。また化学物質に敏感に反応することから指標生物として多くの研究が行われており、特にノニルフェノールなどの有機化合物に非常に脆弱であることが知られている (例えば Ward and Bori 1990)。今回の調査対象としなかった海水や底質中に含まれる化学物質や採集地点の海流などの物理データを収集し、より詳細な環境情報を得ることにより、環境変動や人為的汚染等の影響をより正確に解析することが出来ると考える。

## 5-2. 東南アジア沿岸域におけるアミ類の多様性

本研究における形態学的解析と既往の知見から、本海域は既知種の3割近くが固有種であるなど、アミ類の多様性と固有性が高い海域であることが示された。さらに分子生物学的手法により、形態種内の多様な遺伝的個体群構造にともなう地理分布パターンの存在も示された。

今回注目した2属について、今回の調査から *Anisomysis* 属では3種の未記載種が出現し、東南アジア海域からは、4亜属20種が報告された。また、分子生物学的手法によってさらなる亜属の存在が示唆された。*Anisomysis* 亜属38種において29種は海域固有種と考えられるが、いっぽうで、広域に分布する種も知られる。これらの種は隠蔽種を内包する可能性も考えられ、種内の遺伝的構造において非常に高い地域固有性がみられた。

*Mesopodopsis* 属ではマレー半島を境にクレードを形成し、地理的隔離の強い影響が示された。これは本属の種が形態学的に区別できない集団間で非常に高い遺伝的多様性と独立性を持つことを示す。*M. orientalis* では現在、タイ湾側で高い遺伝的多様性を維持しているが、個体群間の遺伝的交流はほとんど無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられた。マラッカ海峡側では、個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有ると考えられた。一方 *M. tenuipes* では、タイ湾側では個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有り、マラッカ海峡側では個体群の遺伝的交流は無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられ、2種はマレー半島を境に逆の様相を呈した。

このような、*Anisomysis* 属及び *Mesopodopsis* 属の高い地域固有性の要因として、アミ類が浮遊幼生期を持たず、個体の移動能力も低いことから、分散能力が非常に低いことがあげられる。また、本海域の複雑な地形と地史的経緯、特に過去の海面変動により出現したスンドラランドによる海洋の断絶とその際に形成されていた河川の流路の影響が重要と考えられる。これらの河川流域では海水面の高さによって大きな汽水湖や複雑な

河口地形が形成されていた可能性が高く、これに伴う海岸線の移動、複雑な地形の形成が地域ごとの隔離の維持に強い影響を与えていたことが示唆された。さらにこの物理的環境が、先進国と比べ比較的人為的影響が少ないまま残されていたことも1つの要因と考える。これらの要因により、東南アジア沿岸域は全球的に見てもアミ類の多様性が高い海域 (既知の沿岸種のうち 57%が地域固有種 (Sawamoto 2014))となっているものと考ええる。また、今回の調査は汽水域～沿岸域にかけて行ったため、このような集団構造がみられたが、外洋性種などでは異なる結果を示す可能性もある。今後、未調査海域を含む効率的な採集、DNA バーコーディングの拡充、さらに未調査群の種内・種間の系統解析を進めることにより、より明瞭な東南アジアのアミ類の分布・集団構造が得られるものと考ええる。

## 要約

複雑な地史的経緯を持つ東南アジア海域は、サンゴ礁、マングローブ、アマモ場などに代表される多様な沿岸環境を持ち、世界で最も種多様性の高い海域である。その一方で、人間活動や地球規模の環境変動による海洋環境の悪化が深刻な問題となっており、沿岸域や河口域の生態系への影響が懸念されている地域でもある。アミ類はアミ目に属するエビ様の小型甲殻類で、種数、生物量共に多く、沿岸生態系の重要な構成群である。世界の海洋から 1,139 種が、また東南アジア海域からは 63 属 207 種が報告されている。フクロエビ上目に属するアミ類は直達発生することから、浮遊幼生期を持たない。また小型の種類が多く、移動能力は小さく、海流による移動も少ないと考えられている。近年では分子生物学的手法の発達により、隠蔽種の存在が明らかにされている。また、近底層プランクトンとして知られ、通常のプランクトンネットによる曳網で採集されることは稀である。東南アジア海域のアミ類については未調査地域が多く残されており、未だ多くの未知種が相次いで発見されている。また、形態分類における問題点も多く指摘されている。これらの現状と問題点を踏まえ、東南アジア海域におけるアミ類の多様性研究で解決すべき課題は (1) 精確な出現記録の収集、整備、および拡充、(2) 種内集団構造の把握と地史的経緯との関係の解明、(3) 近似種間の遺伝的關係、および種間の系統關係の把握の 3 点と考える。

本研究では、東南アジア地域におけるアミ類の基礎的な知見を得ることを目的として、

効率的な採集方法を検討しながら、形態学的、分子生物学的手法の両方を用いて上記(1)～(3)に関する調査研究を行った。このなかでも地域固有性の高い *Anisomysis* 属、沿岸域での生物量が非常に多い *Mesopodopsis* 属に注目し、これら 2 属の多様性についてその要因を明らかにすることを目的とした。1. 出現種と地理分布

フィリピン、ベトナム、タイ、マレーシア 4 ヶ国 15 地域 31 地点からアミ類を採集した。採集には現場の環境に応じて、プランクトンネット、ハンドネット、簡易そりネット、タモ網、簡易トラップのいずれかを用いた。このなかではそりネット、タモ網、スキンドIVINGによる目視での採集 (ハンドネット) が効率的であった。採集においては、同地点における複数回の採集、昼夜や潮汐を考慮した採集、底質等基質による採集場所の選定が重要であることが示された。また、東南アジア沿岸域におけるアミ類の精確な出現記録の収集、整備、および拡充には定点観測、広域観測の両方が依然必要と考えられた。得られた試料のうち種まで査定できたものは 4 亜科 8 属 (3 亜属) 19 種となった。このうち 3 種は未記載種、5 種は東南アジア地域からの初採集であった。本研究の結果と既往の知見から、本海域は既知種の 3 割近くが地域固有種であるなど、アミ類の多様性と固有性が高い海域であることが示された。

## 2. *Anisomysis* 属における未記載種の報告と分類

潜水及びそりネットによる採集で 3 ヶ国 6 地域 12 地点より 3 亜属 8 種を採集した。

このうち *A. (Anisomysis) spinaintus*、*A. (A.) phuketensis*、*A. (Javanisomysis) similis* の 3 種を未記載種として記載した。

*A. (A.) spinaintus* は尾節陥入部に 6～9 本の棘を備える特徴を有する。*A. (A.) incisa*、*A. (A.) hawaiiensis*、*A. (A.) aikawai* と尾節後縁に陥入部を持つという共通点を持つが、*A. (A.) incisa* 及び *A. (A.) hawaiiensis* とは陥入部の棘の有無で、*A. (A.) aikawai* とは陥入部の深さと尾節の棘の数がより多い事から区別される。

*A. (A.) phuketensis* は尾節の棘に特徴を有する。*A. (A.) robustispina* 及び *A. (A.) truncata* と尾節後縁に特有の太く長い棘を持つという共通点を持つ。しかし、*A. (A.) robustispina* はこの特徴的な棘が 3 本であること (本種は 2 本)、尾節の長さとの比率が 1.6 であること (本種は 1.2)、尾節内肢と尾節の長さの比が 2.3 であること (本種では 1.5) の 3 点により本種と識別できる。また、*A. (A.) truncata* は尾節の特徴的な棘が 2 本である点では本種と同じであるが、その外側棘の長さが内側の 2 倍近いこと (本種ではほぼ等しい)、尾節後縁中央部の凹みと 1 対の棘がないことにより本種と識別できる。

*A. (J.) similis* は *A. (J.) gutzui* に非常に良く似るが、これら 2 種は以下の形質により識別できる。(1) 雄の第四腹肢外肢第一節 : *A. (J.) similis* は拡大部の角に突起を持たないが、*A. (J.) gutzui* は突起を持つ。(2) 第六胸肢内肢指節 : *A. (J.) similis* では分節しないが、*A. (J.) gutzui* では 2 節に分節する。(3) 尾節末端 : *A. (J.) gutzui* では丸みを帯びるが、*A. (J.) similis* では三角形。(4) 尾節の長さとの比 : *A. (J.) similis* の尾節の 1.2～1.3 に対

し、*A. (J.) gutzui* では 1.0～1.1。

今回の結果と過去の報告から東南アジア海域における *Anisomysis* 属の出現種は 4 亜属 20 種となった。また、4 亜属及び *Anisomysis* 亜属 38 種への検索表を新たに作成した。

次に *Anisomysis* 属 4 亜属 6 種において、18SrRNA 領域 1017bp の塩基配列を決定した結果、この 18SrRNA 領域は本属を種査定するのに適した解像度を有することが示された。種数が少ないため不明瞭ではあるが、概ね亜属の関係性を支持したものの、属内にさらなる亜属が存在することが示唆された。今後 DNA バーコーディングの進捗により亜属間の系統関係の解明が期待される。

### 3. *Mesopodopsis* 属の分布と種内、種間の遺伝的關係

タイ湾の 3 地域 4 地点、マレー半島マラッカ海峡の 3 地域 4 地点より *Mesopodopsis* 属が採集され、*M. orientalis* と *M. tenuipes* の 2 種が出現した。CO1 領域において、*Mesopodopsis* 属内の他種を加えたところ、*M. tenuipes* と東南アジアから採集された *M. orientalis* はそれぞれ単系統を示し 2 種は姉妹群となったが、インドから出現した *M. orientalis*: EU717686 はこれらのクレードに含まれず *M. wooldridgei* と姉妹群を示したことから、*M. orientalis* で隠蔽種の存在が示唆された。東南アジアから出現した 2 種の分岐は 28.32～7.28 Myr の中新世と推定された。種内の塩基多様度は *M. orientalis* (6.6%)

が *M. tenuipes* (1.9%) より高かった。*M. orientalis* では 5 地域 6 地点からの出現が確認され、CO1 領域において 116 のハプロタイプがみられた。*M. tenuipes* では 5 地域 6 地点からの出現が確認され、CO1 領域において 81 のハプロタイプがみられた。系統樹において強弱はあるものの、マレー半島を境にクレードを形成し、地理的隔離の強い影響が示された。両種は非常に高いハプロタイプ多様度を持ち、ほとんどのハプロタイプが地域固有であった。このことから両種はこの海域において、形態学的に区別できない集団間で非常に高い遺伝的多様性と独立性を持つことが示唆された。これはスンドラランドによる海洋の断絶とその際に形成されていた河川の流路によるものと考えられた。これらの河川流域では海水面の高さによって大きな汽水湖や複雑な河口地形が形成されていた可能性が高く、この複雑な地形が地域ごとの隔離の維持に強い影響を与えていたことが示唆された。*M. orientalis* では現在、タイ湾側で高い遺伝的多様性を維持しているが、個体群間の遺伝的交流はほとんど無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられた。マラッカ海峡側では、個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有ると考えられた。一方 *M. tenuipes* では、タイ湾側では個体群における遺伝的交流もしくは拡散が有り、マラッカ海峡側では個体群の遺伝的交流は無く、比較的弱い自然選択が働いていると考えられ、2 種はマレー半島を境に逆の様相を呈した。この要因について、対塩性、大雨等によるタイ湾の低塩分化、マラッカ海峡側における高塩分の強い海流による拡散、全地域における複雑な河口の形成とマングローブ林等の植生がこれらの集団構造の形成に寄

与しているものと考えられた。

以上本研究により、東南アジア海域におけるアミ類の分類と分布に関する基礎的な知見が拡充されると共に、*Anisomysis* 属では 3 種の未記載種が記載された。*Mesopodopsis* 属では各個体群が遺伝的に高度に独立、分化した地域集団であることが判明した。さらに両属において、隠蔽種を含む分類学的問題を多数抱えていることが明らかとなった。これらの集団構造の要因はアミ類の近底層性や、浮遊幼生期を持たない等の生態学的特徴と、過去の海水面変動による河川の流域の変化、複雑な河口域の地形等の地史的経緯に強い影響を受けていることが示唆された。今後、さらなる採集を行い、DNA バーコーディングを進め、集団、および種間の系統解析を行うことにより、さらに明瞭な東南アジアのアミ類の分布・集団構造と個々の要因を得られるものとする。

## 謝辞

本研究の機会を与えて頂き、終始懇切なご指導とご鞭撻を賜った東京大学大気海洋研究所国際協力分野教授 西田周平博士に深く感謝の意を表するとともに御礼申し上げます。

私をこの世界に導いて頂き、有益なご教示や励ましを賜った東海大学海洋研究所元教授 澤本彰三博士に深く感謝の意を表し、御礼申し上げます。

東京大学大気海洋研究所行動生態計測分野准教授 小松輝久博士、東京大学大学院農学生命科学研究科准教授 高橋一生博士には本論文をご校閲頂き、有益なご教示を頂きました。ここに篤くお礼申し上げます。広島大学大学院生物圏科学研究科付属瀬戸内圏フィールド科学教育研究センター教授 大塚攻博士、北里大学海洋生命科学部環境生物学講座水圏生態学研究室准教授 林崎健一博士には本論文をご校閲頂き、また試料採集において、有益なご教示やご協力を頂きました。ここに心から感謝の意を表します。

東京大学大気海洋研究所浮遊生物分野教授 津田敦博士、同研究所同分野准教授 齊藤宏明博士には研究全般にわたり有益なご教示や励ましを頂きました。東海大学海洋学部海洋生物学科教授 西川淳博士には研究全般におけるご助言、また試料採集における多大なご指導、ご協力を頂きました。ここに心から感謝の意を表します。

また、以下の方々には東南アジア各国での試料採取に多大なご指導、ご協力、また貴重なご助言をいただきました。ここに心から感謝の意を表します。Nguyen Thi Thu 氏

(Institute of Marine Environment and Resources, Vietnamese Academy of Science and Technology、ベトナム)、Khwanruan Srinui 氏 (Institute of Marine Science, Burapha University、タイ)、Chutiwan Dechsakulwatana 博士 (Institute of Marine Science, Burapha University、タイ)、Suree Satapoomin 博士 (Phuket Marine Biological Center、タイ)、Fatimah Md. Yusoff 博士 (Marine Science and Aquaculture Laboratory Institute of Bioscience Universiti Putra Malaysia、マレーシア)、Perumal Kuppan 氏 (Marine Science and Aquaculture Laboratory Institute of Bioscience Universiti Putra Malaysia、マレーシア)、B. H. R. Othman 博士 (Marine Ecosystem Research Centre Universiti Kebangsaan Malaysia、マレーシア)、Wilfredo L. Campos 博士 (Division of Biological Sciences, College of Arts and Sciences, University of the Philippines Visayas、フィリピン)、Ephrime B. Metillo 博士 (Department of Biological Sciences Mindanao State University-Illigan Institute of Technology、フィリピン)、そしてここに書ききれない多くの現地の研究員の皆様に心から感謝の意を表します。

本研究を進めるにあたり、終始暖かいご支援、ご協力を頂いた大気海洋研究所の技官、研究員、大学院生の皆様に心よりお礼申し上げます。

博士論文の公開にあたり、”Sawamoto S, Srinui K, Moriya M (2015) Re-definition of the genus *Javanisomysis* Băcescu, 1992 as a subgenus in the genus *Anisomysis* Hansen, 1910 (Mysida, Mysidae) and a new species of the subgenus from a coastal water in Phuket, Thailand. *Crustaceana*”の著作権使用許可を快諾くださった Brill に感謝の意を表します。

最後に大学院生活を通じ柏での研究生生活を支え、公私に渡り大きなご協力をいただいた、お魚倶楽部はま 濱弘泰氏、応用地質株式会社 三澤文慶博士の友情に心より感謝します。

## 引用文献

- Audzijonyte, A., and Väinölä, R. (2006) Phylogeographic analyses of a circumarctic coastal and a boreal lacustrine mysid crustacean, and evidence of fast postglacial mtDNA rates. *Molecular Ecology*, 15: 3287–3301. doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.02998.x
- Băcescu, M. (1973) *Anisomysis levi* n. sp. from the Red Sea and the dichotomic key of the species belonging to the genus, with description of a new taxon, *Paranisomysis* n. sg. *Revue Roumaine de Biologie: Série de Zoologie*, 18: 173-180.
- Băcescu, M. (1975) Contributions to the knowledge of the mysid (Crustacea) from the Tanzanian waters. *University Science Journal (University of Dar es Salaam)* 1: 39-61.
- Băcescu, M. (1992) *Javanisomysis gutzuii*, n. sg., n. sp., mysidacé grégaire des eaux Indonésiennes. *Revue Roumaine de Biologie: Série de Biologie Animale*, 37: 79-86.
- Băcescu, M., (1940) Les Mysidacés des eaux Roumaines (étude taxonomique, morphologique, biogéographique et biologique). *Annales Scientifiques de l'Université de Jassy*, 26: 453-804, pls. I-IV.
- Bucklin, A., Frost, B. W., and Kocher, T. D. (1995) Molecular systematics of six *Calanus* and three *Metridia* species (Calanoida: Copepoda). *Marine Biology*, 121: 655-664.
- Clement, M., Posada, D., and Crandall, K. A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1657-1659.
- Connell, A.D. (2009) The genus *Anisomysis* (Crustacea: Mysidae) from the east coast of South

- Africa – descriptions of three new species, and range extensions of two known species.
- African Natural History, 5: 17-30.
- Czerniavsky, V. (1882). Monographia Mysidarum inprimis Imperii Rossici. Fasc. 1,2. Trudy StPetersburgsko Obschestwo Estestwoitpytalelei, 12: 1-170 ; 13: 1-85.
- Edgar, R. C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research 32: 1792-1797.
- Excoffier, L., and Lischer, H. E. L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10: 564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3: 294-297.
- Fu, Y.X. (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147: 915-925.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2000a) Taxonomic position of *Acanthomysis quadrispinosa*, and establishment of a new genus, *Motacanthomysis*, for *A. hodgarti* and *A. laticauda* (Crustacea: Mysidacea: Mysidae). Species Diversity, 5: 23-37.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2000b) *Hyperacanthomysis*, a new genus for *Acanthomysis*

- longirostris* Ii, 1936, and *A. brevirostris* Wang & Liu, 1997 (Crustacea: Mysidacea: Mysidae). Plankton Biology and Ecology, 47: 122-128.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2001) *Telacanthomysis*, a new genus, for *Acanthomysis columbiae*, and redescription of *Columbiaemysis ignota* (Crustacea: Mysidacea: Mysidae). Proceedings of the Biological Society of Washington, 114: 197-206.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2002) A new genus, *Hemiacanthomysis*, for *Acanthomysis dimorpha* (Crustacea: Mysidacea: Mysidae). Species Diversity, 7: 209-215.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2004) A new genus for *Acanthomysis schrencki* (Czerniavsky, 1882) (Crustacea: Mysida: Mysidae) with the first description of the male. Journal of Natural History, 38: 2135-2143.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (2005) A revision of East Asian *Acanthomysis* (Crustacea: Mysida: Mysidae) and redefinition of *Orientomysis*, with description of a new species. Journal of Natural History, 39: 657-708.
- Fukuoka, K., Hanamura, Y., and Murano, M. (2002) Supplementary information on the taxonomy and distribution of six species of *Anisomysis* (Crustacea: Mysidacea: Mysidae). Plankton biology and ecology, 49(1): 38-43.
- Fukuoka, K., and Murano, M. (1997) Mysidacea from coastal waters of Iriomote Island, Ryoukyu Islands, southwestern Japan, with descriptions of three new species. Journal of

Crustacean Biology, 17: 520-537.

Gan, S.Y., Azman, B.A.R., Yoshida, T., Majid, A.M., Toda, T., Takahashi, K., and Othman.

B.H.R. (2010) Comparison of day and night mysid assemblages in a seagrass bed by using emergence traps, with key to species occurring at Pulau Tinggi Malaysia. Coastal Marine Science, 34(1): 74–81.

Hanamura, Y., Koizumi, N., Sawamoto, S., Siow, R., and Chee, P-E. (2008) Reassessment of the taxonomy of *Mesopodopsis orientalis* (Tattersall, 1908) (Crustacea, Mysida) and proposal of a new species for the genus with an appendix on *M. zeylanica* Nouvel, 1954. Journal of Natural History, 42: 2461–2500.

Hansen, H. J. (1910) The Schizopoda of the Siboga Expedition. Siboga Expedition, 37: 1-123; 16 pls.

Hansen, H. J. (1912) 27. The Schizopoda. Report on the scientific results of the expedition to the tropical Pacific by the U.S. Fish Commission Steamer Albatross, the Schizopoda, Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College 35: 173-296, 12 pls.

Holmquist, C. (1979). *Mysis costata* Holmes, 1900, and its relations (Crustacea, Mysidacea). Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere, 106(4): 471-499.

Holmquist, C. (1981). *Exacanthomysis* gen. nov., another detachment from the genus

- Acanthomysis Czerniavsky (Crustacea, Mysidacea). Zool Jahrb Syst. 108: 247-263.
- Ii, N. (1964) Fauna Japonica, Mysidae (Crustacea). Biogeographical Society of Japan Tokyo, 610 pp.
- Illig, G. (1913) Ein weiterer Bericht über die Schizopoden der Deutschen Tiefsee-Expedition 1898-1899. Zoologischer Anzeiger, 43: 271-273.
- Kantachumpoo, A., Uwai, S., Noiraksar, T., and Komatsu, T. (2014) Levels and distribution patterns of mitochondrial cox3 gene variation in brown seaweed, *Sargassum polycystum* C. Agardh (Fucales, Phaeophyceae) from Southeast Asia. Journal of Applied Phycology, 26:1301–1308 DOI 10.1007/s10811-013-0175-4
- Knowlton, N. (1993) Sibling species in the sea. Annual Review of Ecology and Systematics, 24: 189-216.
- Knowlton, N. (2000) Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. Hydrobiologia, 420: 73-90.
- Knowlton, N., and Weigt, L.A. (1998) New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. Proceedings of the Royal Society (London) B., 265: 2257-2263.
- Knowlton, N., and Weigt, L. A. (1998) New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. Proceedings of the Royal Society (London) B. 265: 2257-2263.
- Ledoyer, M. (1974) *Anisomysis vasseuri* n. sp. Mysidacé nouveau vivant a l'entrée des grottes

- sous-marines récifales. *Tethys*, 5: 361-366.
- Lee, C. E. (2000) Global phylogeography of a cryptic copepod species complex and reproductive isolation between genetically proximate ‘populations’. *Evolution*, 54, 2014–2027.
- Librado, P., and Rozas, J. (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Liu, R., and Wang, S. (1983) On three new species of Mysidacea (Crustacea) from the coastal waters of Guangdong, China. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 14: 522-530.
- Liu, R., and Wang, S. (2000) *Fauna Sinica. Arthropoda Crustacea Malacostraca Order Mysidacea*. Science Press. Beijing. 318pp.
- Mantiri, R. O. S. E. (2013) Molecular genetic variation and fisheries of *Mesopodopsis orientalis* (Crustacea: Mysida) in Indonesian waters, with remarks on fisheries of *Acetes* (Crustacea: Decapoda) 広島大学博士論文
- Mantiri, R. O. S. E., Ohtsuka, S. and Sawamoto, S. (2012): Fisheries on *Mesopodopsis* (Mysida: Mysidae) and *Acetes* (Decapoda: Sergestidae) in Indonesia. *Kuroshio Science*, 5-2: 137-146.
- Mauchline, J. (1980): The biology of mysids and euphausiids. In: Blaxter JHS, Russel FS, Yonge M (eds) *Advances in marine biology* (18). Academic press. London. 681 pp.
- Mees, J. (2015) Mysida. Accessed through: World Register of Marine Species at

- <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=149668> on 2015-08-20.
- Mees, J. and K. Meland (Eds) (2012 onwards) World List of Lophogastrida, Stygiomysida and Mysida. Accessed at <http://www.marinespecies.org/mysidacea> on 2015-11-09.
- Meland, K., and Willassen, E., (2004) Molecular phylogeny and biogeography of the genus *Pseudomma* (Peracarida: Mysida). *Journal of Crustacean Biology*, 24 (4): 541–557.
- Metillo, E. B., and Ritz D.A. (2003) Differential chemosensory feeding behaviour by three co-occurring mysids (Crustacea, Mysidacea) from southeastern Tasmania. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 134: 399-408.
- Moritz, C. (1994). "Defining "evolutionary significant units" for conservation". *Trends in Ecology and Evolution*, 9 (10): 373–375. doi:10.1016/0169-5347(94)90057-4.
- Moriya, M., Srinui, K., Sawamoto, S. (2015) Two new species of the genus *Anisomysis* (*Anisomysis*) (Crustacea, Mysida, Mysidae) from coral reef waters in Thailand. *ZooKeys*, 525: 129–145. doi: 10.3897/zookeys.525.5958
- Müller, H. G. (1993) World catalogue and bibliography of the recent Mysidacea. Wissenschaftler Verlag, Tropical Products Trading Center, Germany: 1-421.
- 村野 正昭 (1963) イサザアミ *Neomysis intermedia* CZERNIAWSKY の漁業生物学的研究 水産増殖 11: 149-158.
- 村野 正昭 (1971) 駿河湾, 相模湾産のアミ類種名リスト 動物分類学会誌 7: 45-48.

- 村野 正昭 (1974) 6 章 あみ類と近底層プランクトン. 111-128. 丸茂隆三 編 1974 海洋学講座 10 海洋プランクトン 東京大学出版会 東京, 232pp.
- Murano, M. (1983) Mysidacea fauna from Enewetak Lagoon, Micronesia. Bulletin of Plankton Society of Japan, 30: 81-90.
- Murano, M. (1987) A new species of the genus *Anisomysis* from the Great Barrier Reef (Mysidacea). Crustaceana, 52: 47-52.
- Murano, M. (1990) Mysidacea from coastal water of Akajima Island, Ryukyu Islands. Journal of Tokyo University of Fisheries, 77: 189-212.
- Murano, M. (1995) New and already known species of the genus *Anisomysis* (Mysidacea) from Hawaii and the Society Islands. Journal of Crustacean Biology, 15: 355-364.
- 村野 正昭 (1997) Order Mysidacea. アミ目. 1010-1084. 千原光雄・村野正昭(編著) (1997) 日本産海洋プランクトン検索図説 東海大学出版会 東京, 1547pp.
- Murano, M. (2010) A new species of the genus *Hypererythrops* (Crustacea: Mysida: Mysidae) from the Sulu Sea. Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series A, 36(2): 33-38.
- Murano, M., and Fukuoka, K. (2003) A systematic study of the genus *Anisomysis* (Crustacea: Mysida: Mysidae), with description of six new species. Bulletin of the National Science Museum, Tokyo, Ser. A 29: 65-102.

- Murano, M., and Fukuoka, K. (2008) A systematic study of the genus *Siriella* (Crustacea: Mysida) from the Pacific and Indian Oceans, with descriptions of fifteen new species. National Museum of Nature and Science Monographs, No. 36, 173pp.
- Nakazawa, K. (1910) Notes on Japanese Schizopoda. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 7: 247-261, pl. VIII.
- Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, NY, USA. 512 p.
- Nei, M., and Tajima, F. (1981) DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97: 145-163.
- Nouvel, H. (1954) Description d'un Mysidacé nouveau de Ceylan *Mesopodopsis zeylanica* n.sp. *Zoologische Mededelingen*, 33(5): 33-39, figs. 1-16.
- Nouvel, H. (1967) Mysidacés récoltés par S. Frontier a Nosy-Bé. IV. *Mesacanthomysis pygmaea* n. gen., n. sp. et *Anisomysis hanseni* n. sp. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 106: 105-121.
- Nouvel, H. (1973) Un Mysidacé nouveau de la Nouvelle-Calédonie: *Anisomysis thurneyseni* n. sp. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle 3e série, Zoologie*, 124: 1453-1459.
- Ohtsuka, S., Inagaki, H., Onbe, T., Gushima, K., and Yoon, Y.H. (1995) Direct observations of groups of mysids in shallow coastal waters of western Japan and southern Korea. *Marine*

Ecology Progress Series, 123: 33-44.

Panampunnayil, S. U. (1984) Two new species belonging to the genus *Anisomysis* (Crustacea, Mysidacea) and a new record of *Anisomysis bipartoculata* from the Indian Ocean. *Journal of Plankton Research*, 6: 943-952.

Panampunnayil, S. U. (1993) Two new species of *Anisomysis* (Crustacea, Mysidacea) from the Lakshadweep Archipelago. *Journal of Plankton Research*, 15: 1141-1148.

Panampunnayil, S. U. (2002) The Mysidacea of the Andaman Sea. *Journal of Plankton Research*, 24: 371-390.

Perdices, A., Carmona, J.A., Fernández-Delgado, C., and Doadrio I. (2001) Nuclear and mitochondrial data reveal high genetic divergence among Atlantic and Mediterranean populations of the Iberian killifish *Aphanius iberus* (Teleostei: Cyprinodontidae). *Heredity*, 87: 314-324.

Pfenninger, M., Staubach, S., Albrecht, C., Streit, B., and Schwenk, K. (2003) Ecological and morphological differentiation among cryptic evolutionary lineages in freshwater limpets of the nominal form-group *Ancylus fluviatilis* (O.F. Müller, 1774). *Molecular Ecology*, 12: 2731–2745.

Pillai, N. K. (1976) Observations on two Indo-West Pacific mysids. *Aquatic Biology*, 1: 65-76.

Remerie, T., Bourgois, T., Peelaers, D., Vierstraete, A., Vanfleteren, J., Vanreusel, A. (2006).

- Phylogeographic patterns of the mysid *Mesopodopsis slabberi* (Crustacea, Mysida) in Western Europe: evidence for high molecular diversity and cryptic speciation. *Marine Biology*, 149(3): 465-481. [dx.doi.org/10.1007/s00227-005-0235-7](https://doi.org/10.1007/s00227-005-0235-7)
- Remerie, T., Bulckaen, B., Calderon, J., Deprez, T., Mees, J., VanXeteren, J., Vanreusel, A., Vierstraete, A., Vincx, M., Wittmann, K.J., Wooldridge, T. (2004) Phylogenetic relationships within the Mysidae (Crustacea, Peracarida, Mysida) based on nuclear 18S ribosomal RNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32 (3): 770–777.
- Remerie, T., Vierstraete, A., Weekers, P. H. H., Vanfleteren J. R., and Vanreusel, A. (2009) Phylogeography of an estuarine mysid, *Neomysis integer* (Crustacea, Mysida), along the north-east Atlantic coasts. *Journal of Biogeography* 36: 39–54
- Roman, J., Palumbi, S.R. (2004) A global invader at home: population structure of the green crab, *Carcinus maenas*, in Europe. *Molecular Ecology*, 13: 2891-2898.
- Ryder, O.A. (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, 1:9-10.
- Sars, G. O. (1883). Preliminary notices on the Schizopoda of H.M.S. Challenger Expedition. Forh. Videnskabselsk. Kristiania, 7: 1-43.
- Sars, G. O. (1885). Report on the Schizopoda collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-76. Report on the scientific results of the voyage of H.M.S. Challenger during the

- years 1873-76 under the command of Captain Georges S. Nares and the late Captain Frank Tourle Thomson, XXXVII. H.M. Government: London. xiii, 228, XXXVIII plates pp.
- Sathiamurthy, E., and Voris, H. K. (2006) Maps of Holocene Sea Level Transgression and Submerged Lakes on the Sunda Shelf. The Natural History Journal of Chulalongkorn University. Supplement, 2:1-43.
- Sawamoto, S. (2014) Current status of mysid taxonomy in Southeast Asia. Marine Research in Indonesia (Proceedings of LIPI-JSPS Joint Seminar on Coastal Ecosystems in Southeast Asia, 2012). Marine Research in Indonesia, 39: 1-14.
- Sawamoto, S., Srinui, K., and Moriya, M. (2015) Re-definition of the genus *Javanisomysis* Băcescu, 1992 as a subgenus in the genus *Anisomysis* Hansen, 1910 (Mysida, Mysidae) and a new species of the subgenus from a coastal water in Phuket, Thailand. Crustaceana, 88: 809–838. doi:10.1163/15685403-00003455
- Schubart, C.D., Diesel, R., and Hedges B. S. (1998) Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. Nature, 393: 363-365.
- Tajima, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics, 123: 585–589.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-

2729.

Tan, H.S., Azman, B.A.R., and Othman, B.H.R (2014) Taxonomic status of mysid shrimps (Crustacea) from Peninsular Malaysia waters. *Malayan Nature Journal*, 66: 103-116.

Tan, M. P., Jamsari, A. F. J., and Siti Azizah, M. N. (2012) Phylogeographic Pattern of the Striped Snakehead, *Channa striata* in Sundaland: Ancient River Connectivity, Geographical and Anthropogenic Signatures. *PLoS ONE* 7(12): e52089.

doi:10.1371/journal.pone.0052089

Tattersall, W. M. (1908) Two new Mysidae from Brackish water in the Ganges delta. XXV. The fauna of brackish ponds at Port Canning, lower Bengal. *Records of the Indian Museum*, 2: 233-239, pls. 21 and 22.

Tattersall, W. M. (1912) On the Mysidacea and Euphausiacea collected in the Indian Ocean during 1905. *Transactions of the Linnean Society of London. Zoology*, ser. 2 15:119-136, 2 pls.

Tattersall, W. M. (1936) Mysidacea and Euphausiacea. *British Museum (Natural History), Great Barrier Reef Expedition 1928-29, Scientific Reports*, 5: 143-176.

Tattersall, W. M. (1943) Biological results of last cruise of Carnegie IV. The mysids. In: Ault, J.P. (commander), *Scientific results of cruise VII of the Carnegie during 1928-1929, Biology IV*. -Publ. Carnegie Inst. Washington, No. 555: 61-72.

- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. G. (1997) The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24: 4876-4882.
- Voris, H. K. (2000): Maps of Pleistocene Sea Levels in South East Asia: Shorelines, River Systems, Time Durations. *Journal of Biogeography*, 27: 1153-1167.
- Wang, S. (1989) On two new species of genus *Anisomysis* (Crustacea Mysidacea) from the South China Sea. *Studia Marina Sinica*, 30: 229-237.
- Ward, T. J., and Boeri, R. L. (1990) Acute flow through toxicity of nonylphenol to the mysid (*Mysidopsis bahia*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No.8974-CMA.
- Weekers, P. H. H., Gast, R. J., Fuerst, P. A., Byers, T. J., (1994) Sequence variations in small-subunit ribosomal RNAs of *Hartmannella vermiformis* and their phylogenetic implications. *Molecular Biology and Evolution*, 11: 684–690.
- Weir, B. S., and Cockerham, C. C. (1984) Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38 (6): 1358-1370.
- Witt, J. D. S., Blinn, D. W., and Hebert, P. D. N. (2003) The recent evolutionary origin of the phenotypically novel amphipod *Hyaella Montezuma* offers an ecological explanation for morphological stasis in a closely allied species complex. *Molecular Ecology*, 12: 405–413.

- Wittmann, K. J. (1977) Modification of association and swarming in North Adriatic Mysidacea in relation to habitat and interacting species, in: Keegan, B.F. et al. (Ed.) Biology of Benthic Organisms: 11th European Symposium on Marine Biology, pp.605-612.
- Wittmann, K. J. (1992) Morphogeographic variations in the genus *Mesopodopsis* Czerniavsky with description of three new species (Crustacea, Mysidacea). *Hydrobiologia*, 241: 71-89.
- Wittmann, K. J., Ariani, A.P., and Lagardère, J.P. (2014) Orders Lophogastrida Boas, 1883, Stygiomysida Tchindonova, 1981, and Mysida Boas, 1883 (also known collectively as Mysidacea) In: von Vaupel Klein JC, Charmantier-Daures M, Schram FR, editors. Treatise on Zoology—Anatomy, Taxonomy, Biology. The Crustacea. Revised and updated, as well as extended from the *Traité de Zoologie*, Vol. 4 Part B (54). Koninklijke Brill NV, Leiden, 189–396, 404–406. doi: 10.1163/9789004264939\_006
- Wooldridge, T., and Mees, J. (2004) Mysidacea from the Comoros Archipelago with descriptions of two new species. *Annals of the South African Museum*, 112: 98-102.
- Zimmer, C. (1918) Neue und wenig bekannte Mysidaceen des Berliner Zoologischen Museums. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin*, 9: 13-26.