

第3章 生活史

3-1 緒言

第1章で述べたように、ムロミスナウミナナフシは東京湾における危機種である。本種はフクロエビ上目 (Peracarid) の等脚目に属しており、フクロエビ上目の種に共通する特徴は、親が子を保育嚢 (brood pouch) または育房 (marsupium) 内で保育することである (Johnson *et al.* 2001)。したがって、本種の初期発生様式は直達発生であると予想できる。しかしそれ以外の生活史、たとえば繁殖サイクル、繁殖期、繁殖期の行動などについては、本種は日本各地に分布する (布村 1995b) にもかかわらず、いずれの地域でも明らかにされていない。一般的に、種の保全にあたってはその種の生活史や繁殖期の行動を知っておく必要がある (プリマック・小堀 2008)。

本章では、野外採集調査および野外観察と室内飼育実験によってムロミスナウミナナフシの東京湾の個体群の生活史を明らかにした。野外採集調査では、個体数密度や個体群構造の月変化、繁殖サイクル、抱卵特性・繁殖力、性比を調べるために、本種の個体群が維持されている多摩川河口干潟と旧江戸川河口干潟で毎月の採集を行った。またこの調査で得られた体サイズ頻度分布データの cohorts 解析によって、個体群の年齢構造、各 cohort (同時出生群) の成長・生残、性転換、寿命の推定を行った。野外観察では、繁殖期の行動に関する知見や抱卵期間についての週単位の知見を得るため、多摩川河口干潟において生態観察を行った。室内飼育実験では、胚発生に要する期間や、生まれてから直接オスになる一次オスの存在の有無、また繁殖後の生活史、特にオスの死亡とメスのオスへの性転換の有無を調べるために、それぞれ、初期胚、幼体、繁殖後の個体の飼育を行った。加えて、受精のタイミングやオスの複数回交尾可能性の検証のための実験も行った。

3-2 方法

3-2-1 毎月の野外採集

個体数密度や個体群構造の月変化、繁殖サイクル、抱卵特性・繁殖力、性比を調べ、個体群の年齢構造、各 cohort の成長・生残、性転換、寿命の推定を行うために、東京湾の多摩川河口干潟と旧江戸川河口干潟 (Fig. 3-1) (以下それぞれ多摩川、旧江戸川と記す) でムロミスナウミナナフシの毎月の野外採集を行った。多摩川では2007年8月から2008

年10月までの14か月、旧江戸川では2007年11月から2008年10月までの11か月間、干潮時に採集を行った。採集は25 cm四方のコドラートを複数回設置（月により個体数密度が変化するため、解析に必要な個体数が得られるよう総採集面積を変化させた：多摩川では0.1875~1.125 m²；旧江戸川では0.5~0.9375 m²）して底質を深さ20 cmまで採取し、網目0.5 mmの篩にかけて残ったものをサンプルとして10%ホルマリンで固定した。5月と6月は加入直後の体サイズの小さい個体を採集するために、コドラートとは別に直径5 cmのコアサンプラーを用いて0.00589 m²の底質を採取し、10%ホルマリンで固定したのち、網目0.125 mmの篩にかけて残ったものをサンプルとした。

実験室でサンプルからムロミスナウミナナフシをソーティングし、個体ごとに性別と体サイズ測定を行った。性別は実体顕微鏡下で外部形態に基づいて行い、第2腹肢内肢にappendix masculinaを形成し、第1触角の先端に発達した剛毛束を有するものをオス

(male)、第3~第5胸節腹側の覆卵葉からなる育房を形成しているものをメスとし、それ以外は性別不明個体 (sex undetermined morphologically) とした。ただし、性別不明個体のうち、第2腹肢内肢のクチクラの内部に発達中の交尾針 (appendix masculina) が観察された個体は便宜的に準オス (pre-male) とした。メスでは育房内に胚または子を保持しているものを抱卵メス (gravid female)、保持していないものを育房が空のメス (female with empty marsupium) とした。体サイズ測定 (Fig. 3-2a) に際しては、固定後の標本は第1胸節と第2胸節の間で大きく屈曲することから、Bamber (1985) に従い、代表長として頭部額角先端から第1胸節後端までの長さ (proosomal length: PL) を測定した。PLから全体の長さを推定するために、野外で得られるサイズ範囲を網羅するように多摩川河口の2007年8月、12月、2008年1月、6月の標本 (オス: n=70; オス以外: n=222) を用い、体を横向きにして頭部先端から尾節末端まで各関節の側方をつないだ線の長さをTL (total length) として測定した。

毎月のサイズ頻度ヒストグラムは、オスとオス以外のそれぞれについて、表計算ソフトであるMS-Excel (株マイクロソフト社) のSolverを利用した χ^2 最小化法 (相澤・滝口 1999) により複数の正規分布に分解し、推定パラメータとして得られた各コホート (同時出生群) の個体数、PLの平均、標準偏差を用いてコホートごとに成長曲線と生残曲線を作成した。

メスでは個体ごとに育房内の胚の数を発生段階別に計数した。胚の発生段階はJohnson *et al.* (2001) を参考に、脱皮によって区切られる以下の4段階 (ステージA~D) を定義した (Fig. 3-2b)。(A) 早期胚 (early embryo) : 卵膜と胚膜に包まれており、ほぼ球形 ; (B)

ノープリウス胚 (nauplia stage) : 卵膜から孵化し、伸長する ; (C) プレマンカ胚 (pre-manca stage) : 付属肢形成が完了し、胚膜からも孵化する ; (D) マンカ (manca) : 第7胸脚を欠く以外は親とほぼ同形で、親の育房から孵出する段階。

また、多摩川、旧江戸川ともに、ステージ A~C のそれぞれの胚の長さを、無作為に選んだ6個体のメスから5つずつの胚を用いて測定した。ステージ D の胚は多摩川の1個体のメスから2つだけ得られたため、これらの長さを測定した。

3-2-2 繁殖期の野外観察

繁殖期の行動に関する知見や抱卵期間についての週単位の知見を得るため、多摩川河口干潟において、2009年11月27日に1回、および2010年1月20日から5月18日の期間に1~2週間間隔で計13回、干潮時に小型シャベルを用いて底質を掘り返し、縦方向に割れた巣穴の中の個体の性別(オス、抱卵メス、育房が空のメス、性別不明)と個体数を記録した。各観察日において11~38個の巣穴を観察した。繁殖期の個体群に与える影響を少なくするため、個体の性判別はできる限り現場で肉眼観察によって行い、観察後の個体は巣穴周辺の底質ごと元に戻した。本調査地ではほとんどのオスは背面の色素が濃くなる(第2章参照)ことから、色素の濃い個体をオス、薄い個体で育房が形成されていない個体を性別不明個体とし、判断が難しい個体は実験室に持ち帰り実体顕微鏡下で外部形態を観察した。

3-2-3 室内飼育実験

3-2-3-1 初期胚からマンカまでの発生

育房内での発生に要する期間を調べるため、実験室における胚発生の観察を、2008年3月26日と28日にそれぞれ多摩川河口干潟と旧江戸川河口干潟で採集した抱卵メスから得たステージ A の胚を用いて行った。メス1個体に由来する8~10個の胚を、塩分15 pptの海水5.5 mlを注いだポリスチレン製の6穴微生物培養用プレート(1穴径33.5 mm×高さ16.7 mm、アズワン)で維持し、毎日観察して各発生ステージ(Fig. 3-2b)への所要日数を記録した。胚の採取は実体顕微鏡下で行い、メスをピンセットではさんで固定しながら柄付き針で覆卵葉をめくるようにして育房内の胚を水中に落とさせ、この胚をパスツールピペットで扱った。実験の繰り返しとして多摩川産のメス3個体と旧江戸川産のメス2個体を用いた。実験水はDWで希釈したろ過天然海水をオートクレーブ滅菌して作成した。室

温は 22°C とした。

3-2-3-2 幼体からの飼育

生まれてから直接オスになる一次オスの存在の有無を調べるため、2008 年 3 月 18 日に 1 個体のメスの育房から出てきた子のうち 61 個体を、翌年の 2009 年 3 月 19 日まで集団飼育し、生き残った個体の外部形態を観察した。用いた親個体は 2008 年 2 月に育房未形成の状態が多摩川河口干潟から採集し、実験室で受精・抱卵させた個体である。飼育容器はポリスチレン製シャーレ（内径 90 mm×高さ 20 mm、IWAKI）とし、これに砂を敷き、塩分 15 ppt の海水をシャーレの約半分の高さまで注いだ。砂は多摩川河口から採取したものを水道水で洗って乾燥させ、さらに篩を用いて粒径 0.25~0.5 mm の砂を選んで使用した。海水は天然ろ過海水を DW で希釈して作成した。餌としては鑑賞魚用飼料を粉碎したものと、生きたイトゴカイ類を与えた。水換えと給餌は不定期に行い、外部形態の観察は実験終了時に個体を固定して実体顕微鏡下で行った。なお、本種の食性に関して詳しい知見はないが、本種と同じスナウミナナフシ属で形態・生息環境の似るヨーロッパ種 *Cyathura carinata* ではデトリタス食者 (Cruz *et al.* 2003b) あるいは捕食者 (Wägele *et al.* 1981) といわれていること、宮城県井土浦ではスナウミナナフシ属の一種の窒素安定同位体比が他の堆積物食者より少し高く (Kanaya *et al.* 2008)、少なくとも部分的には肉食をしていると推測されること、著者の室内飼育観察で成体も子も能動的にイトゴカイ類の捕食を行う行動 (Fig. 3-3) が見られたことから、実験の餌条件は妥当だと考えられる。

3-2-3-3 繁殖後の個体の飼育

繁殖後の生活史、とくにオスの死亡とメスのオスへの性転換の有無を調べるために、2008~2009 年と、2009~2010 年の 2 回、繁殖後の個体の飼育実験を行った。

2008~2009 年の実験では、2008 年 3 月 30 日から最大で 2009 年 3 月 19 日まで、オス 4 個体とメス 3 個体を個別に飼育した。オスは 2008 年 2 月 22 日と 3 月 12 日に多摩川河口干潟で採集し、実験開始まで実験室でメスと一緒に飼育したものである。メスは 2008 年 2 月 22 日に育房未形成の状態が多摩川河口干潟から採集し、このうち 1 個体は実験開始まで実験室でオスと一緒に飼育し受精させたもので、2 個体はオスと一緒にせず受精させなかったものである。いずれも育房内に排卵したが、別の実験で胚を育房から取り出して発生を観察したため、抱卵はほとんどさせなかった。飼育容器・基質・水・餌内容、また水換

え・給餌の時期は前述の幼体からの飼育実験と同様とした。外部形態の観察は不定期に行った。

2009～2010年の実験では、2009年3月18日から最大で2010年4月29日まで、オス6個体（個体番号1～6）とメス9個体（個体番号7～15）を個別に飼育した。オスは2009年3月6日（個体番号6）および18日（個体番号1～5）に多摩川河口干潟で採集した。メスは2009年3月18日に多摩川河口干潟で採集し、うち7個体（個体番号7～13）は抱卵メス、2個体は育房形成途中の未抱卵のメス（個体番号14～15）であった。飼育容器・基質・水・餌内容は2008～2009年の実験と同様としたが、水換え・給餌は月に2回行い、外部形態の観察と脱皮殻の確認を3～7月は毎週、8月から翌年4月までは月に2回行った。飼育中の外部形態の観察は個体を傷つけないように扱いながら実体顕微鏡下で育房または第1触角剛毛束の有無を調べることによって行い、第1触角剛毛束を発現した個体については固定したのち第2腹肢内肢の交尾針の有無を調べた。

3-2-3-4 受精に関する実験

受精のタイミング、オスの複数回交尾可能性の検証のための実験を行った。多摩川河口干潟から2008年2月22日に採集したオスと育房形成前のメスを用いて、(1)メス1個体だけで飼育、(2)メス1個体とオス1個体を一緒に飼育、(3)メス3個体とオス1個体を一緒に飼育、の3種類の飼育実験を行い、メスが育房内に排卵するか、その卵は正常に発生するかを観察した。(1)(2)については2回の実験を行った。飼育容器・基質・水・餌内容は前述の飼育実験と同様とした。

3-3 結果

3-3-1 毎月の野外採集

3-3-1-1 体の比率

ムロミスナウミナナフシのPLとTLの間には有意な相関があり(Fig. 3-4)、オスでは $TL = 5.498PL - 0.2729$ ($r^2 = 0.8551, p < 0.0001$)、オス以外では $TL = 6.224PL - 1.076$ ($r^2 = 0.9829, p < 0.0001$)の回帰式が得られた(Fig. 3-3)。オスの回帰式とオス以外の回帰式ではその傾きは有意に異なり、オスではTLに占めるPLの割合が大きかった($df = 288, t = 3.258, p < 0.01$)。

3-3-1-2 個体数密度と個体群構造の月変化

2007年8月（多摩川河口：以下、多摩川）または11月（旧江戸川河口：以下、旧江戸川）から2008年10月までの毎月の野外採集調査から得られた個体数密度の月変化を Fig. 3-5a（多摩川）と Fig. 3-6a（江戸川）に、また各性別の個体の個体群に占める割合の月変化を Fig. 3-5b（多摩川）と Fig. 3-6b（江戸川）に示す。

多摩川における個体数密度は6月にピークをもっており、夏から春には漸減した。なお、2007年9月7日には台風9号が上陸しているが、個体数密度に対するその影響は顕著ではなく、攪乱の影響を受けにくいことが示唆される。旧江戸川における個体数密度は5月にピークをもっていたが、その後急減し、晩夏～秋（2008年）、秋～春（2007年）はほぼ一定の個体数密度を保った。春の個体数密度は両個体群とも1 m²あたり100個体強であった。

抱卵メスは両個体群とも3月と4月にのみ出現し、このとき個体群中のオス以外のほぼすべての個体は抱卵メスであった。育房が空のメスは2月と5月（多摩川）または3～5月（旧江戸川）にみられた。オスについては、多摩川では2007年10月に初めて出現した。全体の1.4%にすぎず、11月に41.4%にまで増加すると、些少の増減をしながらも翌年2月（43.7%）までほぼ一定の割合で個体群中に存在した。旧江戸川では調査開始が2007年11月からであったためこの年の10月のオス出現状況は不明であるが、同年11月（42.2%）から翌年2月（45.4%）は多摩川と同様に些少の増減をしながらもほぼ一定の割合で個体群中に存在した。その後は両個体群とも3～4月を通じて割合を減じ、5月に個体群から消失すると、10月に再び個体群中に出現した。準オス（第2腹肢内肢のクチクラの内側に発達中の交尾針をもつ個体）は、多摩川では2007年9月に少数出現し、10月に個体群の34.5%を占めたが、11月には1.0%まで減少し、12月から翌年9月までは出現せず、10月に再び20.6%の割合で出現した。旧江戸川では2008年の7月・8月にごく少数（いずれも3.8%）の準オスが出現し、9月（24.4%）、10月（6.5%）と存在した。

3-3-1-3 メスの育房内の胚の状態

抱卵メスが出現した3月と4月におけるメスの育房内の胚の発生段階を Fig. 3-5c（多摩川）と Fig. 3-6c（江戸川）に示す。グラフは各発生段階の胚をもつメス個体の割合を示している（メスの個体数は多摩川で3月がn=62、4月がn=59、旧江戸川で3月がn=53、4月がn=76である）。各メス育房内における胚の発生は同調性が高かったが、発生ステージの異なる胚が混在していた場合には発生段階の進んだステージを採用した。3月は両個体

群ともすべてのメスで育房内の胚はステージ A であった。4 月は、多摩川では約 6 割のメスがステージ B、3 割強のメスがステージ C の胚をもち、1.7% (1 個体) のメスはマンカ (ステージ D) を有していた。旧江戸川では 4 月は約 9 割のメスがステージ B、残りのメスがステージ C の胚を有していた。

3-3-1-4 抱卵数と胚のサイズ

Fig. 3-7 には多摩川と旧江戸川のメスの抱卵数と体サイズの関係を示す。4 月の標本は採集時の胚の一部損失が疑われたため、この解析は 3 月のデータを用いて行った。

多摩川、旧江戸川ともにメスの抱卵数 (NE) と体サイズ (PL) の間には有意な相関があり、多摩川では $NE = 48.15PL - 39.60$ (39 females, $r^2 = 0.1668$, $p < 0.01$)、旧江戸川では $NE = 45.42 PL - 43.01$ (37 females, $r^2 = 0.1192$, $p < 0.05$) の回帰式が得られた。多摩川の平均抱卵数は 75 (± 13 S.D.)、最小 - 最大数は 49-105 であった。旧江戸川の平均抱卵数は 70 (± 16 S.D.)、最小 - 最大数は 31-96 であった。

胚のサイズについては、多摩川では、ステージ A の胚の直径は 0.57 ± 0.03 mm (平均 \pm S.D.)、ステージ B の胚の長さは 1.15 ± 0.06 mm、ステージ C の胚の長さは 1.84 ± 0.08 mm、ステージ D (マンカ) の全長は 2.45 mm であった。旧江戸川では、ステージ A の胚の直径は 0.58 ± 0.04 mm (平均 \pm S.D.)、ステージ B の胚の長さは 1.17 ± 0.03 mm、ステージ C の胚の長さは 1.84 ± 0.13 mm で、これらの結果は多摩川河口とほぼ同じであった。旧江戸川ではステージ D は得られなかったことからそのサイズも不明である。

3-3-1-5 コホート解析

Fig. 3-8 と Fig. 3-9 にはそれぞれ多摩川と旧江戸川における体サイズ頻度分布の月変化をオス (下向きのカラム) とオス以外 (上向きのカラム) にわけて示す。両個体群とも、体サイズ頻度分布は複数の正規分布に分解され (グラフの曲線はその正規分布曲線を示す)、それぞれはコホート (同時出生群) とみなされる。

多摩川では最初のサンプリングである 2007 年 8 月には体サイズの大きいコホートと小さいコホートの 2 つ (それぞれ C1、C2) が認識され、どちらも性別不明個体から構成されていた。集団中にオスが十分出現した 11 月において、オスは少数からなり体サイズの大きいコホートと多数からなり体サイズの小さいコホートの 2 つからなり、C1、C2 のそれまでの体サイズ推移を考慮すると、オスのうち体サイズの大きいコホート (C1♂) は性別不

明個体の C1 すべてが変化したもの、体サイズの小さいコホート (C2♂) は性別不明個体の C2 の半数弱から発生したものと推定された。この C1♂と C2♂は翌年 3 月から 4 月にほぼ消失した。一方、C2 は 3 月には抱卵メスとなった。5 月以降は C2 に加え、新規加入した明瞭に体サイズの小さなコホート (C3) が調査期間の終わりである 10 月まで存続した。このうち C2 は 5 月の時点では育房が空のメスを含んでいたが、6 月にはすべて性別不明個体で構成された。10 月に再び出現したオス (C3♂) は複数のコホートには分解されず、C2、C3 のそれまでの体サイズ推移を考慮すると、C3 の半数弱から発生したものと推定された。

旧江戸川では最初のサンプリングが 2007 年 11 月であり、このときには性別不明個体からなる C1、C2 があったが、このうち C1 は 12 月には消失した。オスは、11 月には不明瞭であったが 12 月には多摩川と同様 2 つのコホートに分離され、このうち少数からなり体サイズの大きいコホート (C1♂) は C1 すべてが変化したもの、多数からなり体サイズの小さいコホート (C2♂) は C2 の半数弱から発生したものと推定された。この C1♂と C2♂は翌年 3 月から 4 月にほぼ消失した。一方、C2 は 3 月には抱卵メスとなった。5 月以降は C2 に加え、新規加入した明瞭に体サイズの小さなコホート (C3) が調査期間の終わりである 10 月まで存続した。このうち C2 は 5 月の時点では育房が空のメスを含んでいたが、6 月にはすべて性別不明個体で構成された。再びオスが出現した 10 月にも 2007 年と同様オスには 2 つの体サイズグループがあり、少数からなり体サイズの大きいほうのコホート (C2♂) は C2 すべてが変化したもの、多数からなり体サイズが小さいほうのコホート (C3♂) は C3 の半数弱から発生したものと推定された。

Fig. 3-10 には多摩川 (a)、旧江戸川 (b) のコホート解析の結果から推定された調査期間中の各コホートの平均 PL の変化を示す。両個体群において、調査期間中に加入から消失までを完了したコホートはなかったが、多摩川においては C3 の 2008 年 8 月～10 月の成長パターンと C2 の 2007 年 8 月～10 月の成長パターン、また C2 の 2008 年 8 月～10 月の成長パターンと C1 の 2007 年 8 月～10 月の成長パターンがほぼ一致したことから、これらをつなげて解釈するとコホートの加入から消失までの成長が推定される。旧江戸川については調査期間が短いため重なりがないが、多摩川と同様と仮定してつなげて解釈する。両個体群とも、5 月に加入したコホートの平均 PL は多摩川で 0.69 mm (TL 換算 3.2 mm)、旧江戸川で 0.64 mm (TL 換算 2.9 mm) であったが、夏～秋まで比較的早い速度で成長し、11 月にオスが出現したときは、多摩川ではオスの平均 PL は 2.3 mm (TL 換算 12.5 mm)、

オス以外の平均 PL は 2.1 mm (TL 換算 12.1 mm)、旧江戸川ではオスの平均 PL は 2.6 mm (TL 換算 14.0 mm)、オス以外の平均 PL は 2.3 mm (TL 換算 13.0 mm) となっていた。晩秋～冬の間はオスもオス以外も成長を停止した。オスではその後成長しないまま生涯を終えるが、残りは育房を形成する 3 月と性別不明個体になる 5～6 月に体サイズが増加し、3 月の平均 PL は多摩川で 2.3 mm (TL 換算 13.5 mm)、旧江戸川で 2.5 mm (TL 換算 14.3 mm) であった。続く夏はわずかに成長するが 1 年目のような早い速度ではなく、秋にオスになるときに体サイズは再び増加し、その後は成長しないまま冬を越して生涯を終えることが示唆された。最終到達サイズの最大値は多摩川で PL 3.2 mm (TL 換算 17.2 mm)、旧江戸川で PL 3.3 mm (TL 換算 17.6 mm) であった。なお、PL だけ見ると同一コホートに属する個体間では 11～2 月にオスが未成熟メスより体サイズが大きいように見えるが、TL に換算すると多摩川では 11～2 月はオスと未成熟メスはほぼ同じ大きさで、3 月にメスが生殖脱皮をするとオスよりも大きくなっていった。旧江戸川では TL 換算しても 2 月まではオスのほうがやや大きく、3 月にメスが生殖脱皮をすることでオスと同じサイズとなった。

Fig. 3-11 には多摩川 (a)、旧江戸川 (b) のコホート解析の結果から推定された調査期間中の各コホートの個体数密度の変化を示す。こちらも平均 PL の変化と同様に各コホートの線をつなげて解釈するとコホートの加入から消失までの生残が推定される。死亡率は生涯を通じてほぼ一定であったが、旧江戸川では 6 月から 7 月にかけて死亡率の増加が見られた。寿命は、生まれた翌年をオスとして過ごすものでは 1 年、メスとして過ごすものでは 2 年であることが推定された。

3-3-2 繁殖期の野外観察

野外観察の結果 (Fig. 3-12、3-13)、2010 年 2 月 5 日まではオスと性別不明個体はそれぞれ単独で巣穴に入っていたが、2 月 19 日にはオス 1 個体と性別不明 1 個体による同居巣が出現した。前述のコホート解析によって晩秋から晩冬の性別不明個体はすべて未成熟メスと推定される。同居巣の割合は 3 月 15 日に最大になり、このときオスの単独巣は見られなくなった一方、性別不明個体の単独巣はわずかに確認された。3 月 22 日には抱卵メス単独巣が出現するとともに、性別不明個体の単独巣は完全に消失した。5 月 10 日には抱卵メス単独巣の割合が減少すると同時に、育房が空のメスの単独巣が出現した。5 月 18 日には抱卵メス単独巣は完全に消失し、調査地の巣穴はすべて育房が空のメスの単独巣となった。

すべての同居巣でオスが浅いところ、性別不明個体が深いところに位置し、どちらも頭

を上にしていた。オスの尾部がメスの頭部と接する距離であった場合もあれば、オスとメスが体1つ分ほど離れていることもあった。

抱卵メス出現期間中の育房内の胚の状態は、3月29日まではステージAであったが、4月19日～27日はステージBかC（肉眼観察のためどちらであるかの判別は困難）、5月3日はほとんどのメスでステージBかCであったが、1個体でのみステージDと思われる状態を呈していた。5月10日にまだ抱卵していたものは約半数がステージDの状態、残りはステージBかC（おそらくCであろう）であった。

抱卵メスが初めて出現したのが3月22日（3月8日の1個体は無視する）、そのあとに育房が空のメスが初めて出現したのが5月10日であったことから、メス1個体あたりの抱卵期間は 7 ± 1 週間と推定される。また、3月29日にはまだ抱卵に至っていない個体があったこと、すべてのメスが抱卵したのが4月19日であったことから、メスの抱卵開始の個体差は最長で5週間（ただし3月29日のあとの観察間隔が3週間あいてしまったため、実際はもっと短い可能性がある）、少なくとも1週間と推定される。

メスの抱卵個体率が100%であることは、2008年の月毎の野外調査の結果（Fig. 3-5b）と一致した。一方、オス：性別不明個体（未成熟メス）の性比は0.5～1.75まで変動し、2008年の調査結果よりやや高かったが、これは観察個体数の少なさに起因すると思われる。実際、抱卵メスが出現する直前の3月15日には、オスの単独巣は消失していたのに対し、性別不明個体（未成熟メス）の単独巣はわずかに観察された。これはオスよりメスがわずかに多いことを意味し、2008年の調査結果と一致する。

また、一例だけの観察であるが、2009年3月18日に、底質表面を這っているオスが観察された（Fig. 3-13e）。

3-3-3 室内飼育実験

3-3-3-1 初期胚からマンカまでの発生

各ステージ間の所要日数（Table 3-1）は、胚が由来するメス個体あるいはその産地による大きな違いはなかった。実験開始からステージD（マンカ）になるまでは17-22日かかり、そのうち33～51%（平均42%）の時間をステージAからB、28～40%（平均34%）の時間をステージBからC、21～28%（平均24%）の時間をステージCからDへの発生に要していた。ステージAからBまでの所要時間が実験間で比較的ばらついたのは、実験開始時の胚の発生段階が、ステージAの中でもごく初期のもの（旧江戸川 brood 1）からやや

進んだもの（多摩川の brood 3）までメス個体によってわずかに違っていたためである。

3-3-3-2 幼体からの飼育

2008年3月から集団飼育した61個体の幼体は、しばらくは頻繁に脱皮をしていたが、6月25日には生存が確認できるのは1個体だけとなり、この個体を2009年3月19日に固定し実体顕微鏡で観察したところ、背側の色素は薄いものの、オスの特徴である第1触角先端の剛毛束と第2腹肢内肢の交尾針を有していた。なお、観察が不定期だったため、オスの形態を発現した時期や脱皮回数は不明である。

3-3-3-3 繁殖後の個体の飼育

2008年3月から個別飼育した繁殖後の個体（オス4個体、メス3個体）のうち、オスではすべての個体で5月16日から6月25日の間に体表の白濁が始まり、5月29日から9月19日の間に死亡した。白濁が早く始まった個体ほど死亡が早い傾向にあった。また比較的早くに死亡した2個体ではそれぞれ3月30日、3月30日と5月16日に餌として与えたイトゴカイを捕食する行動が観察された。メスではすべての個体が3月30日には体後半または後半・前半の脱皮をし、4月28日には育房のない個体となった。このうち1個体は2009年1月19日の観察で死亡が確認され、このとき第1触角剛毛束は形成していなかったが、第2腹肢内肢のクチクラ内部に発達中の交尾針が観察された。残り2個体は2009年3月19日に固定したところ、いずれも第1触角剛毛束と第2腹肢内肢の交尾針を有しており、うち1個体では背側の色素が濃くなっていた。なお、観察が不定期だったため、オスの形態を発現した時期や、死亡もしくは固定までの総脱皮回数は不明である。

2009年3月から個別飼育した繁殖後の個体（オス6個体、メス9個体）の変化はFig. 3-14に示す。オスでは5個体が4月～6月上旬までに死亡し、残る1個体も11月に死亡した。死亡までの間に脱皮は見られず、また体表の白濁は観察されなかった。メスではすべての個体が4月中に脱皮をし、育房が消失した性別不明個体になった。その後は、5個体が1回（個体番号10-12, 15）もしくは2回（個体番号8）の脱皮を経て9月～12月の間にオスの形態（第1触角剛毛束と第2腹肢内肢の交尾針）を発現した。これらの背側の色素は薄褐色～濃褐色であったが、野外で採集されるような黒色の強い個体は見られなかった。1個体（個体番号13）は3回の脱皮を経て翌年3月末に再度育房を形成した。3個体（個体番号7, 9, 14）は一度も脱皮をしないまま5月～翌年4月の間に死亡した。

3-3-3-4 受精に関する実験

結果を Table 3-2 に示す。2008 年 2 月 22 日の実験開始当初育房を形成していなかったメスは飼育中に脱皮をして育房を形成し、3 月上旬にはすべての実験条件でメスの育房内への排卵が確認された。しかし、オスなしで飼育したメスはその卵数は 10-12 個と少なく、発生もしなかった。一方、オスと 1 対で飼育したメスでは 48-71 のマンカが孵った。1 個体のオスと 3 個体のメスを一緒に飼育した場合には、すべてのメスからマンカが孵ったが、その数は多いものから順に 67、22、5 と個体差が大きかった。

また、室内飼育下で観察された行動を Fig. 3-15 に示す。メスの育房形成のための脱皮は体後半、体前半の順に分けて行われ、育房への排卵はこれらの脱皮が完了したあとにおこった。飼育個体はほとんど基質の中に埋在していたため交尾行動の観察はできなかったが、オスが体後半のみ脱皮したメスを追う行動が 1 例だけ観察された。

3-4 考察

3-4-1 繁殖サイクル・繁殖期・メスの抱卵期間と抱卵回数

毎月の野外採集の結果、多摩川河口、旧江戸川河口ともに、ムロミスナウミナナフシの個体数密度のピークは 5 月または 6 月であり (Fig. 3-5a, 3-6a)、抱卵メスは 3 月と 4 月にのみ出現した (Fig. 3-5b, 3-6b)。このことから、本種の両個体群における抱卵・孵化の繁殖期は年 1 回、春と推定される。

メスの育房内の胚の発生段階は、3 月にはすべてのメスでステージ A であったのに対し、4 月にはステージ B~D (多摩川) またはステージ B~C (旧江戸川) となっていた (Fig. 3-5c, 3-6c)。このことから、繁殖期におけるメスの抱卵回数は 1 回と推定される。これは、多摩川における週単位の観察 (Fig. 3-12) で、抱卵メスが確認された 3 月下旬~5 月中旬の間、メスの育房内の胚の発生段階が週を追うごとに進行し、逆行することはなかったことから支持される。

メスの抱卵期間は毎月の野外採集結果からは両個体群とも 2 ± 1 か月と推定されたが、多摩川では週単位の観察によって 7 ± 1 週間とより高い精度で推定された。旧江戸川もおそらくこれと大きくは変わらないと思われる。室内ではステージ A から D まで 17-22 日で発生し (Table 3-1)、これは野外での推定日数の半分以下であるが、実験時の室温 22°C は野

外気温よりも高かったことから、野外よりも短い日数で発生したと考えられる。

3-4-2 メスの繁殖力 (fecundity)

メス 1 個体あたりの抱卵数は、PL と有意な相関があった (Fig. 3-7)。等脚目では一般的に体サイズと抱卵数は相関するといわれており (Johnson *et al.* 2001)、本種と同属の *Cyathura carinata* のヨーロッパのいくつかの個体群 (Bamber 1985 ; Ólafsson & Persson 1986 ; Marques *et al.* 1994) や *Cyathura polita* のフロリダの個体群 (Kruczynski & Subrahmanyam 1978) でも相関が得られている。本研究で得られた抱卵数 (多摩川と旧江戸川でそれぞれ平均 75、70 個) は、本個体群と同じくらいの体サイズの *C. carinata* 個体群 (平均 30 個) (Bamber 1985)、*C. polita* 個体群 (平均 14 個) (Kruczynski & Subrahmanyam 1978) と比べても多いほうであった。したがって、本個体群は、体サイズすなわち育房の容積に対し十分な数の胚をもつといえる。

また、どちらの個体群もメスのほぼ 100% が抱卵していた (Fig. 3-5b, 3-6b)。結果には示さなかったが、室内実験において初期胚からマンカの孵化率もよかった。これらのことは、抱卵数の十分さとあわせて、両個体群で、受精・排卵・胚発生は良好に行われていることを示すと考えられる。

3-4-3 オス・メスの外部形態 (二次性徴) 発現の時期と、'性別不明個体' の性別

どちらの個体群も、オス (交尾針と第 1 触角の剛毛束を有する個体) は、10 月に少数出現し、11~2 月はほぼ一定の割合で個体群中に存在した (Fig. 3-5b, 3-6b)。これらオスの出現に先行し、クチクラ内に発達中の交尾針をもつ個体 (準オス) が 9~10 月 (多摩川) または 7~10 月 (旧江戸川) に出現した。準オスは 11 月以降に出現しなかったこと、また準オスの割合が最大になった 10 月における準オスとオスの割合を合わせると 11~2 月のオスの割合とほぼ一致したことから、オス化は 10 月 (多摩川) または 7 月 (旧江戸川) に始まり 11 月下旬に完了することが推定される。一方、メス (育房を有する個体) は、主に 3~4 月に出現した (Fig. 3-5b, 3-6b)。一般的に、フクロエビ上目における性決定は、その制御が遺伝あるいは環境的要因によって行われるとしても、機能的なオスあるいはメスになることを媒介する重要な物質は雄性腺ホルモンである (Johnson *et al.* 2001)。オスは雄性腺ホルモンにより精巣発達と外部形態の変化 (二次性徴の発現) がおき、またオスとしての行動もひきおこされる。メスでは雄性腺ホルモンがないことにより精巣は発達せずに卵巣が

発達する。本研究からは性決定要因は不明であるが、東京都の平成 19 年度および 20 年度公共用水域水質環境測定結果のデータから、調査地の近くの水温の月変化と比較すると、本両個体群では、抱卵メスが出現する 3 月は水温が上昇し 14~16°C になるときであり、一方、オスが出現する秋は水温が下降し 22~23°C になるときであった。

性別不明個体は 5~2 月に存在した (Fig. 3-5b, 3-6b)。前述の通り、11~2 月にはオスの外部形態の発現は完了していると推定されること、および、3~4 月に個体群はオスと抱卵メスでのみ構成されることから、11~2 月の性別不明個体は育房未形成 (未成熟) メスであると推定される。これは、野外から 2 月に採集した性別不明個体を室内飼育すると、体後半の脱皮と体前半の脱皮をして育房を形成する (Fig. 3-15) ことから支持される。また、5~10 月の性別不明個体のうち、体サイズの大きいものはメスからオスへの性転換途中の個体であると考えられる。

3-4-4 一次オスと二次オス

両個体群とも、オスには体サイズの小さいグループと大きいグループがあり (Fig. 3-8, 3-9)、コホート解析の結果、このうち体サイズの小さなグループの個体はその前の繁殖期に生まれた子が直接オスになった一次オスであると推定され、体サイズの大きいグループの個体はその前の繁殖期にメスとして繁殖した個体が性別不明個体を経てオスに性転換した二次オスであることが示唆された。幼体からの室内飼育実験の結果、飼育条件が悪かったため 1 個体しか生き残らなかったものの、この個体はオスの外部形態を発現しており、一次オスの存在が実証された。繁殖後の個体の室内実験の結果では、メスは繁殖後に脱皮をして性別不明個体になったあと、1~2 回の脱皮を経てオスの外部形態を発現し (Fig. 3-14)、二次オスの存在が実証された。

このメスからオスへの性転換 (雌性先熟雌雄同体) は本種と同属の *C. carinata* (Legrand & Juchault 1963) と *C. polita* (Burbanck & Burbanck 1974) でも知られており、これが進化的に保存された性質であるかどうか、本属他種や近縁属の種の知見の蓄積が待たれる。

3-4-5 繁殖期の行動

野外観察の結果 (Fig. 3-12) から、オスと育房未形成メスは早いもので 2 月下旬から同居をし、この同居はメスが抱卵するとただちに解消されることが示唆された。甲殻類ではしばしばオスの交尾はメスの脱皮直後に限られることから、その時期に確実にメスを確保

するための行動が見られる。フクロエビ上目でもそのような繁殖行動が知られており、そのひとつにオスのクルージングがある。これは巣を形成する種にみられ、オスが徘徊してメスの巣を訪ねて回り、メスが受け入れたら交尾ができるまでメスの巣にすみつく行動である (Johnson *et al.* 2001)。ムロミスナウミナナフシも底質中の巣に生息する (Fig. 3-13a-d) ことから、クルージングの結果の同居であったと考えられる。端脚類の *Monocorophium insidiosum* では室内実験でメスのクルージングが観察されており (Nair & Anger 1979)、ムロミスナウミナナフシでクルージングするのがメスではなくオスだとは断定できない。しかし、観察されたすべての同居巣でオスがメスより上に位置していた (Fig. 3-13c) こと、オスの二次性徴である第1触角先端の剛毛束は化学センサーの可能性があり、また1例だけであるが繁殖期に底質表面を這っているオスが観察された (Fig. 3-13e) ことから、オスがメスの巣穴を訪ねる可能性が高いと考えられる。

3-4-6 交尾・受精

等脚目は前半のクチクラの前に後半のクチクラを脱ぐ特徴があり、オスは通常、育房の前半部分が完全に形成される前の、半分脱皮した状態のメスと交尾する (reviewed in Johnson *et al.* 2001)。等脚目ミズムシ亜目の *Jaera marina* でメスが貯精器官をもつこと (McMurrich 1895)、*Jaera albifrons* ではメスが貯精器官をもち最初の交尾と貯精は性成熟より前に行われること (Forsman 1944) が知られている。このような貯精は陸上の等脚類で普通であるが、海産等脚類では上述した種以外ではまだ報告されていない (Johnson *et al.* 2001)。

ムロミスナウミナナフシおよび同属の種、またウミナナフシ亜目でも貯精の有無は不明である。本研究の受精に関する実験 (1) において、野外における繁殖脱皮の約1か月前にあたる2月下旬に採集した育房未形成のメスを単独飼育したところ、脱皮 (繁殖脱皮) をし形成した育房内に少しの卵を排卵したものの、これは発生しなかった (Table 3-2)。これは、ムロミスナウミナナフシでは貯精をしないことを示唆する。ただし、実験に用いた個体を採集した時期はオスとメスの同居がちょうど開始されるかどうかの時期であり、実験に用いた個体がオスと同居していたかも不明であることから、今後オスと同居している育房未形成メスの単独飼育による検証が必要であると考えられる。また、1例だけであるが室内飼育中に後半脱皮後のメスをオスが追いかける行動が観察されたこと (Fig. 3-15b)、野外から後半脱皮後のメスを採集して単独飼育したところ前半脱皮と排卵をし、その卵は

子まで発生したことから、一般的に言われているように、後半脱皮と前半脱皮の間に交尾が行われていると考えられる。

本種と同属の *C. carinata* の Kingthnorth (イギリス) 個体群では、性比がメスに偏ることからオスが複数のメスと交尾できることが示唆されている (Bamber 1985)。本研究でも、受精に関する実験 (3) において、オス 1 個体と一緒に飼育した 3 個体の育房未形成メスはすべて抱卵し、その卵は子まで正常に発生した (Table 3-2)。同時期に採集した育房未形成メスで貯精していないことが示唆されていることから、このオスは 3 個体すべてのメスと交尾し受精させたと考えられ、オスで複数回交尾が可能であることが示された。ただし、生まれた子の数はメスによって大きな差があり、多いものから 67、22、5 個体であった。後 2 者の数は、多摩川のメスの平均抱卵数 (Fig. 3-7) を大きく下回る。このことは、オスの精子総量が複数のメスを受精させるには不足している、あるいは一度交尾すると短期間 (この実験でメスは最長でも 7 日以内に抱卵した) では精子量が回復しないことを示唆する。

3-4-7 オスの繁殖後の死亡

毎月の野外調査 (Fig. 3-5b, 3-6b)、繁殖期の毎週の野外観察 (Fig. 3-12) のどちらも、オスはメスが抱卵すると個体群中から消失することを示した。この消失の理由には、死亡、別の生息地への移動、性別不明個体への移行、が考えられる。しかし、繁殖後の室内飼育実験において、2008-2009 年の実験でも、2009-2010 年の実験 (Fig. 3-14) でも、すべてのオスは死亡した。このことは、繁殖期後のオスの個体群からの消失は、死亡によるものであることを強く支持する。またオスは飼育中に摂餌行動をとり、口器形態も退行していない (第 2 章 Fig. 2-32 参照) ことから、この死は少なくとも摂餌行動の停止によるものではないと考えられる。

3-4-8 性比

前述のように、メスが育房を形成し抱卵するとオスは個体群から消失すること、11~2 月の性別不明個体はすべて育房未形成のメスと考えられることから、性比としては 2 月のオス/性別不明個体 (=育房未形成メス) の比をとるのが最も適切と考えられ、この値は多摩川で 0.78、旧江戸川で 0.83 であった。

本種と同属の *C. carinata* では性比がかなりメスに偏る個体群が多い (たとえば 0.17~

0.33 : Ferreira *et al.* 2004 ; 0.22 : Marques *et al.* 1994) が、そのような個体群では繁殖期も長い傾向があり (Ferreira *et al.* 2004)、オスが複数のメスを訪ねて交尾していくと考えられている。しかし、本個体群ではメスの抱卵開始 (≡交尾) の同調性は高く、その個体差は多く見積もっても 1 か月 (Fig. 3-5b, 3-6b)、多摩川河口の観察結果 (Fig. 3-12) からは最小で 1 週間と推定された。したがって、本両個体群では性比が 1 に近いことで抱卵同調性の高いメスのすべてを受精させることができると考えられる。なお、性比が 1 に近いとはいえ 1 未満であり、野外観察ではすべてのオスがメスと同居しているときにオスと同居できていない単独メスが観察された (Fig. 3-12)。しかしその後このような単独メスはいなくなり、これは、繁殖期の特に早い時期にメスと交尾したオスがまだ単独でいたメスのところにクルージングして交尾しているのだと考えられる。

3-4-9 成長

平均 PL の変化 (Fig. 3-10) は多摩川と旧江戸川で基本的な部分は変わらないが、初期の成長が旧江戸川のほうが早い傾向があった。その結果、繁殖期の成体の体サイズもわずかに旧江戸川で大きかった。フクロエビ類の成長率には食物資源、温度、塩分、個体数密度などが影響することが知られている (Cruz *et al.* 2003b)。したがって多摩川と旧江戸川における成長パターンの違いはこのような何らかの環境の違いを反映したものであると考えられる。

3-4-10 生残

海洋底生生物の多くは浮遊幼生期をもち出生直後の死亡率が著しく高いのが一般的である (仲岡 2003)。本両個体群では、そのような種に比べて死亡率が生涯を通じて一定であることが示された (Fig. 3-11)。ただし旧江戸川では 6 月から 7 月にかけて死亡率の増加が見られた。ポルトガルの Mondego River 河口の *C. carinata* 個体群では、海域の富栄養化にともなう大型藻類の繁茂によって一時的に成長率が高くなるが、その後藻類の分解過程で生じる底質の貧酸素化で個体数密度が減少する (Bordalo *et al.* 2011)。前項でも述べたように、旧江戸川では多摩川に比べ成長率が高かった。したがって、旧江戸川でみられた相対的に高い成長率と高い死亡率が、富栄養化の程度が相対的に高いことに起因している可能性がある。また、台風などによる出水の影響が旧江戸川のほうが強い可能性もあるが、本研究からは特定できなかった。

3-4-11 生活史のまとめ

以上の野外採集・観察、室内飼育を組み合わせた本研究から推定される生活史の模式図を Fig. 3-16 に示す。5 月中旬に母親の育房から放出された子は、夏から秋に成長し、その半数弱が秋にオスの外部形態（第 1 触角の剛毛束、第 2 腹肢内肢の交尾針）を発現する。残りはのちにメスの外部形態を示す個体であるが外部形態上は性別不明のまま（育房未形成メス）、どちらも成長を停止し冬を過ごす。2 月下旬からはオスが育房未形成メスの巣穴を訪ね同居するようになる。メスは 3 月下旬に脱皮をし育房を形成すると同時にオスと交尾・排卵・受精をし、育房内に平均 70 個の卵を約 7 週間抱卵し、子を放出する。オスは繁殖後すぐに死亡するが、メスは子を放出したあと脱皮により外部形態上の性別不明個体となり、1~2 回の脱皮を経て秋にオスの外部形態を発現し（性転換）、2 度目の繁殖期をオスとして繁殖し、死亡する。寿命は、出生後オスになるものでは 1 年、メスになるものでは 2 年である。

3-4-12 代表長として PL を用いたことの妥当性

PL と TL の関係からは有意な回帰式が得られ、全長で議論している近縁種の知見（Jazdzewski 1969 ; Ólafsson & Persson 1986 など）との比較が可能となった。しかし、オスとオス以外で回帰式の傾きに有意な違いがあったことから、PL による結果の解釈、特にオスとオス以外の体サイズの比較の際には注意が必要である。本研究では、得られた回帰式に基づいて TL を考慮しながら議論することでデータの妥当な解釈をしたと考えられるが、今後ムロミスナウミナナフシの研究を広めるにあたっては、代表長による比較と全長による比較で同じ結果を示すような代表長の検討が必要だと思われる。海外の研究では頭部長（cephalic length: CL）を代表長として用いている場合もある（Marques *et al.* 1994 ; Cruz *et al.* 2003b）が、頭部後縁は第 1 胸節前縁との重なるの程度が標本によって大きく異なることから、解剖しない限り測定誤差が大きくなると考えられる。本研究では距離が短いために測定誤差が大きくなると考え測定しなかった部位に頭部幅があるが、これは他の節と重なることもないことから代表サイズとして適していた可能性があり、今後の検討を要する。

Table 3-1 Embryological development of *C. muromiensis* in the laboratory at 22°C. In each experiment, 8-10 embryos from single brood were used.

| Population site | Experiment | Time required for development (days) | | | |
|-----------------|------------|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | Stage A→B | Stage B→C | Stage C→D | Stage A→D |
| Tama River | Brood 1 | 8-9 | 6-7 | 5 | 20 |
| | Brood 2 | 6 | 7 | 4-5 | 17-18 |
| | Brood 3 | 5-7 | 6-8 | 5 | 18 |
| Old Edo River | Brood 4 | 8-10 | 6-8 | 5 | 21 |
| | Brood 5 | 10-12 | 5-7 | 4-5 | 21-22 |

Table 3-2 Laboratory experiments about fertilization of *C. muromiensis* . The isopods were collected on February 22th, 2008, before females formed the marsupium, and were used for three defferent rearing experiments (A-C) (A and B with two replicates).

| Experiment | Rearing condition | Ovulation into the marsupium | Number of ovulated eggs* | Success of egg development** | |
|------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|-------------|
| A-1 | A female without any male | Yes | 10 | No | |
| A-2 | | Yes | 12 | No | |
| B-1 | A female with a male | Yes | 71 | Yes (manca) | |
| B-2 | | Yes | 48 | Yes (manca) | |
| C | Three females with a male | Female 1 | Yes | 67 | Yes (manca) |
| | | Female 2 | Yes | 22 | Yes (manca) |
| | | Female 3 | Yes | 5 | Yes (manca) |

*) in experiments B-2 and C, number of mancas appeared from the marsupium was counted; **) in experiments A-1, A-2, and B-1, ovulated eggs were removed from the marsupium for the observation of its development.

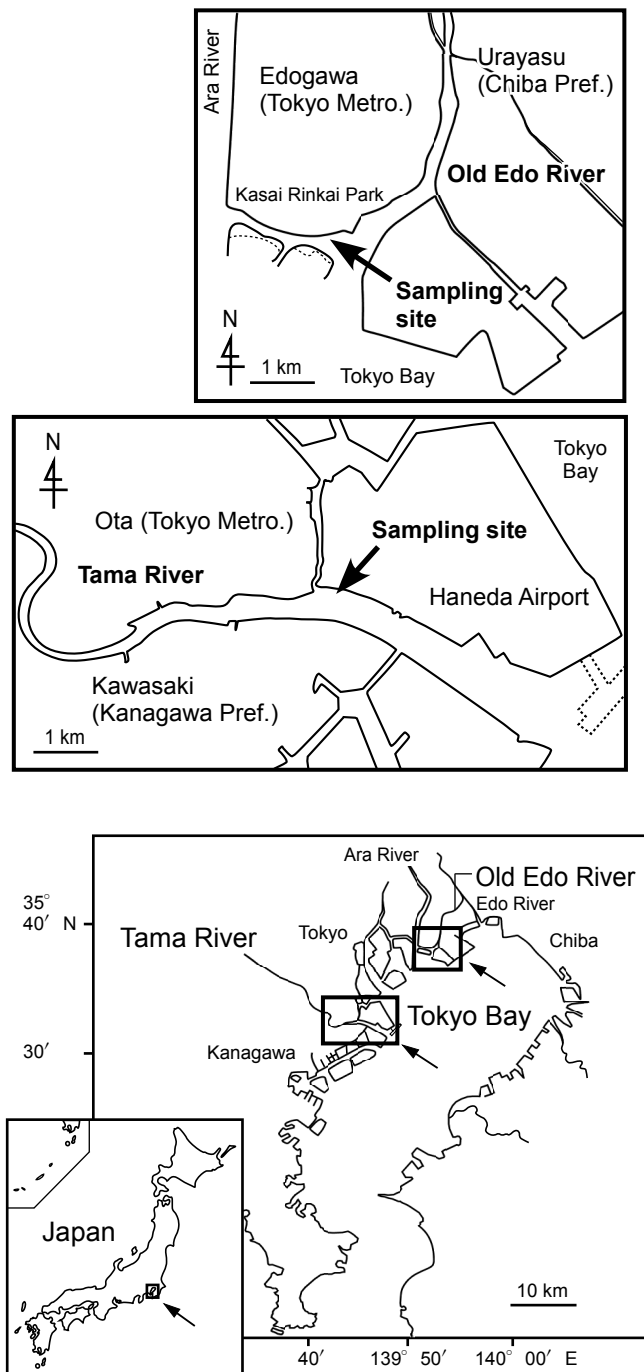


Fig. 3-1 Map of the study area.

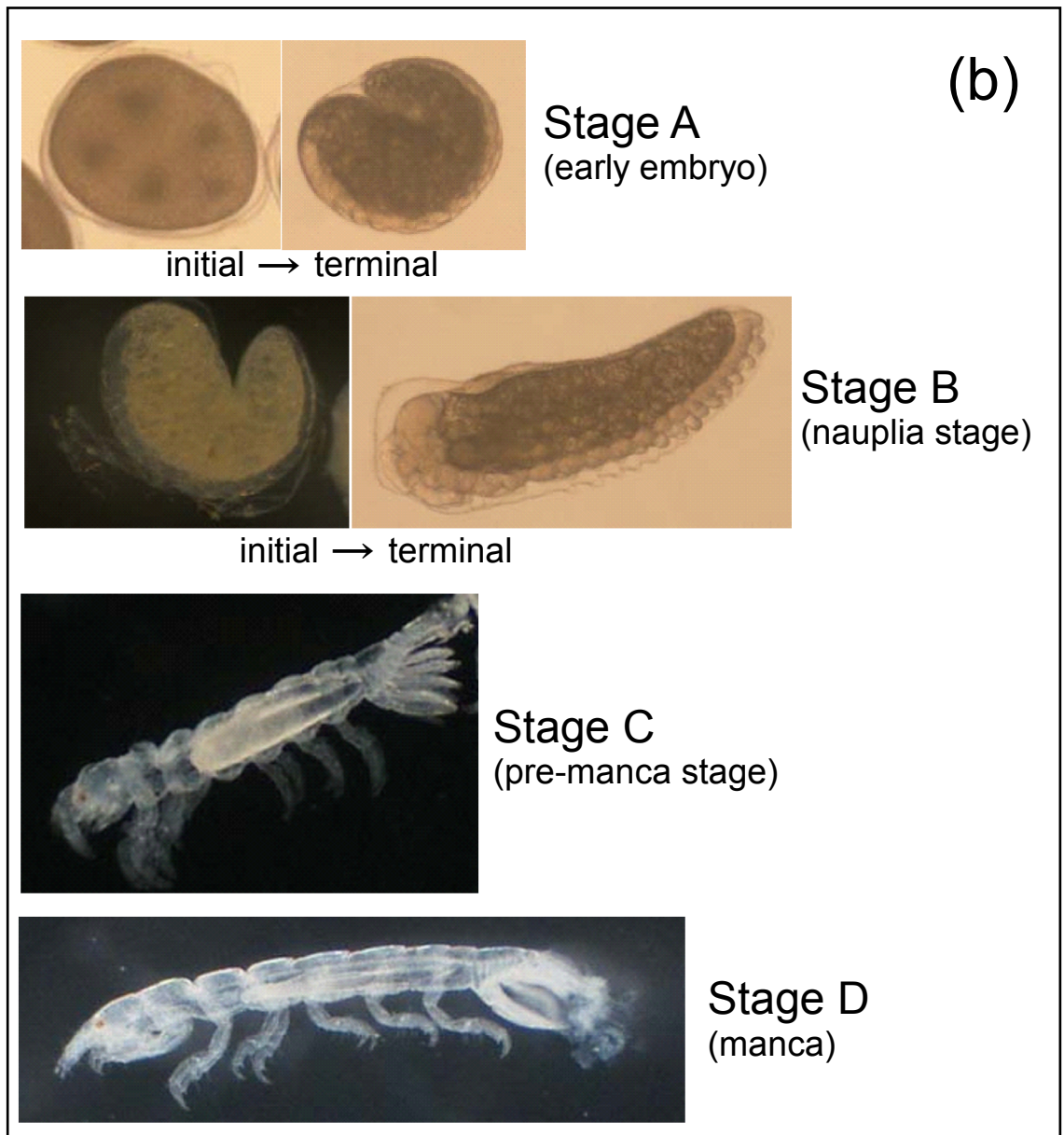
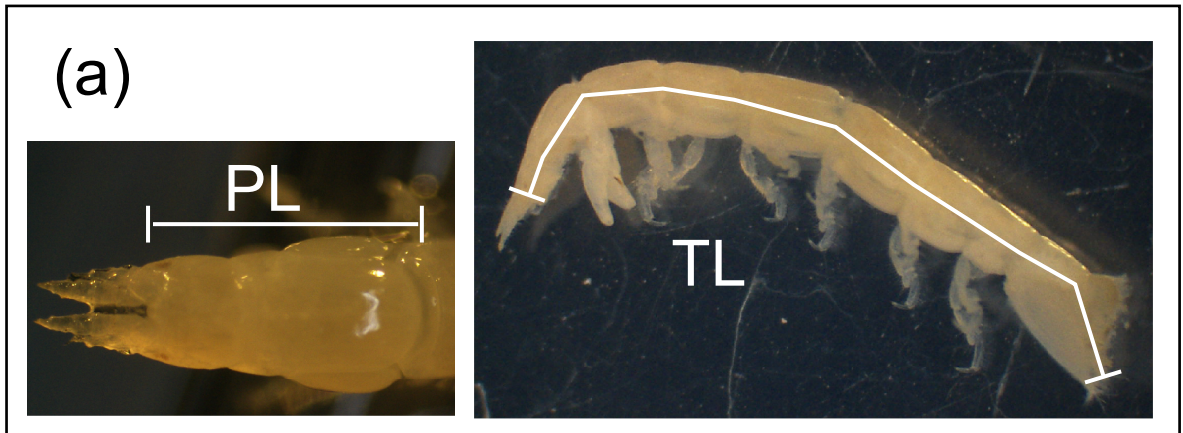


Fig. 3-2 Measuring method of specimen's size (a) and category of developmental stage of embryo in the marsupium (b). PL: prosomal length; TL: total length.

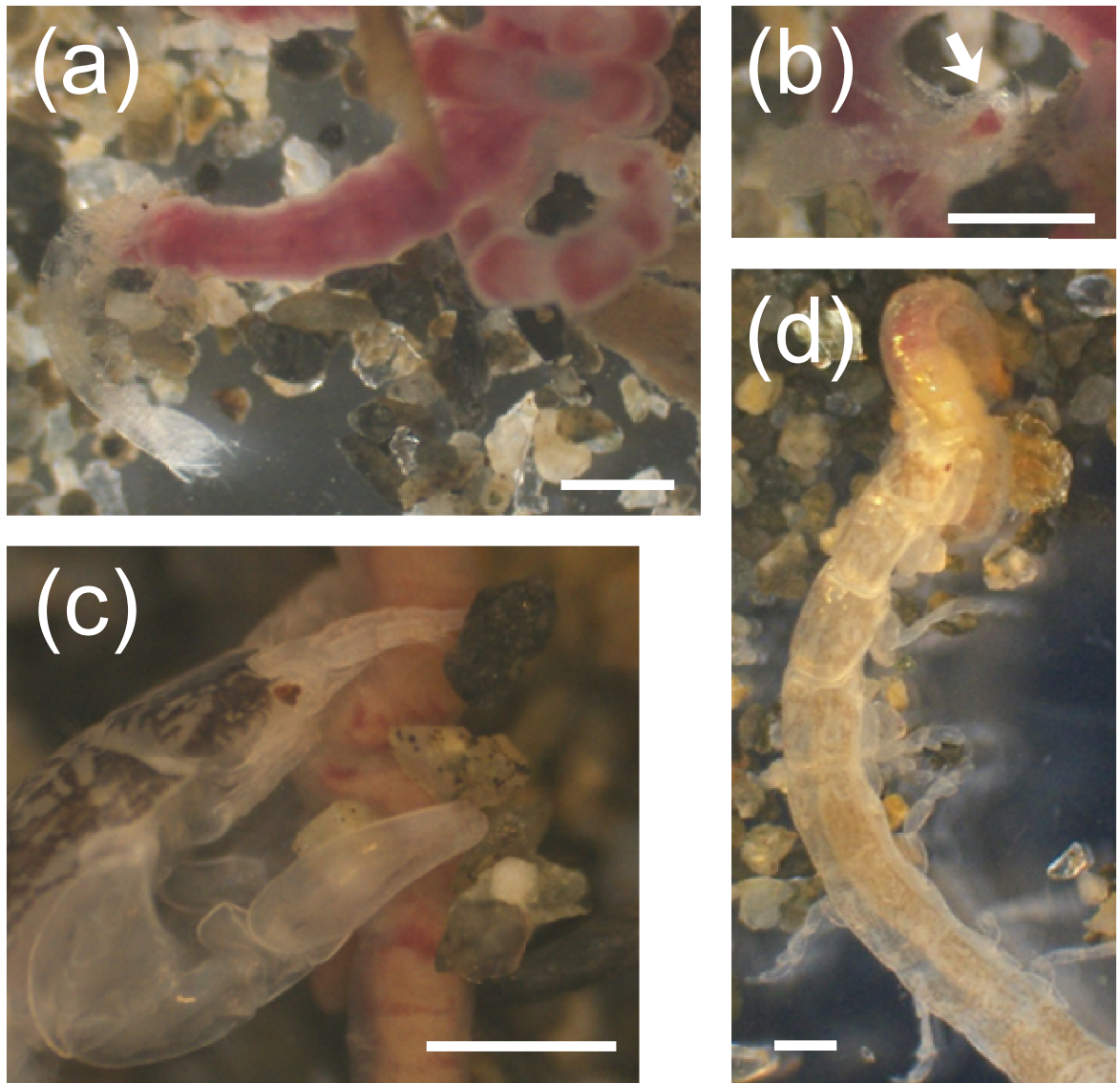


Fig. 3-3 Photographs about feeding of *C. muromiensis* in the laboratory. (a): newly hatched juvenile eating a capitellid polychaete; (b): same juvenile showing the capitellid's blood (indicated by an arrow) in the digestive system; (c): mature male eating a capitellid; (d): immature female eating an opheliid polychaete, *Armandia amakusaensis*. Scale bar: 1 mm.

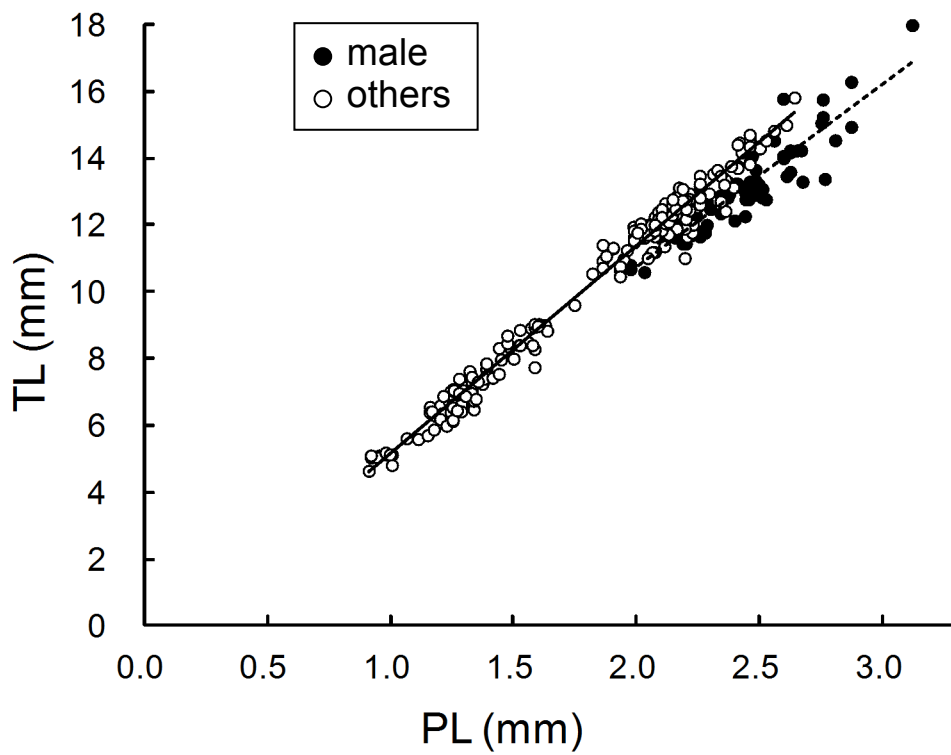


Fig. 3-4 Correlation between prosomal length (PL) and total length (TL) of *Cyathura muromiensis*. Broken line and solid line indicate regression line of males and others, respectively.

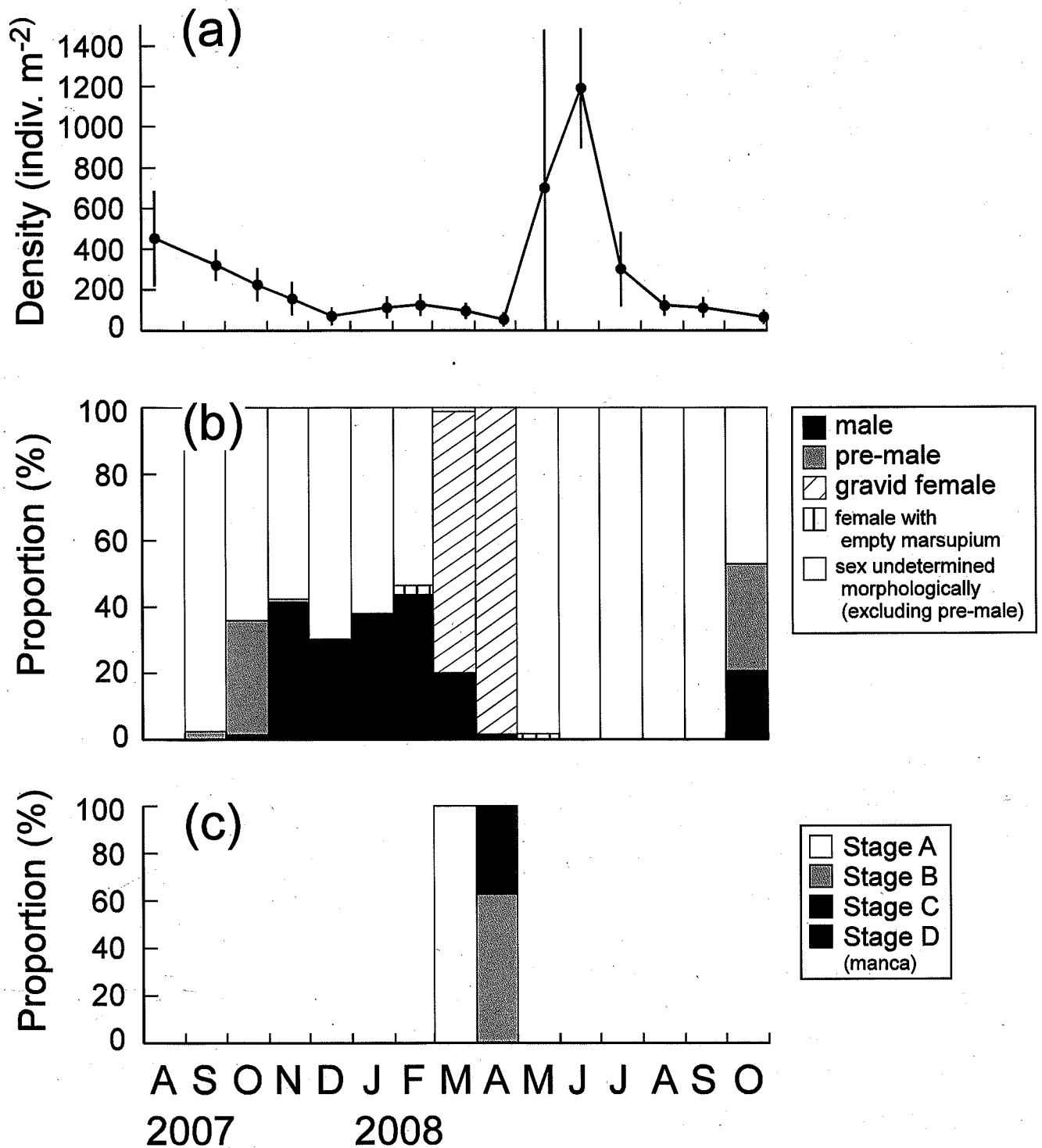


Fig. 3-5 Monthly changes in density (a), population structure (b), and developmental stage of broods (c) of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary from August 2007 to October 2008. Error bars indicate standard deviation.

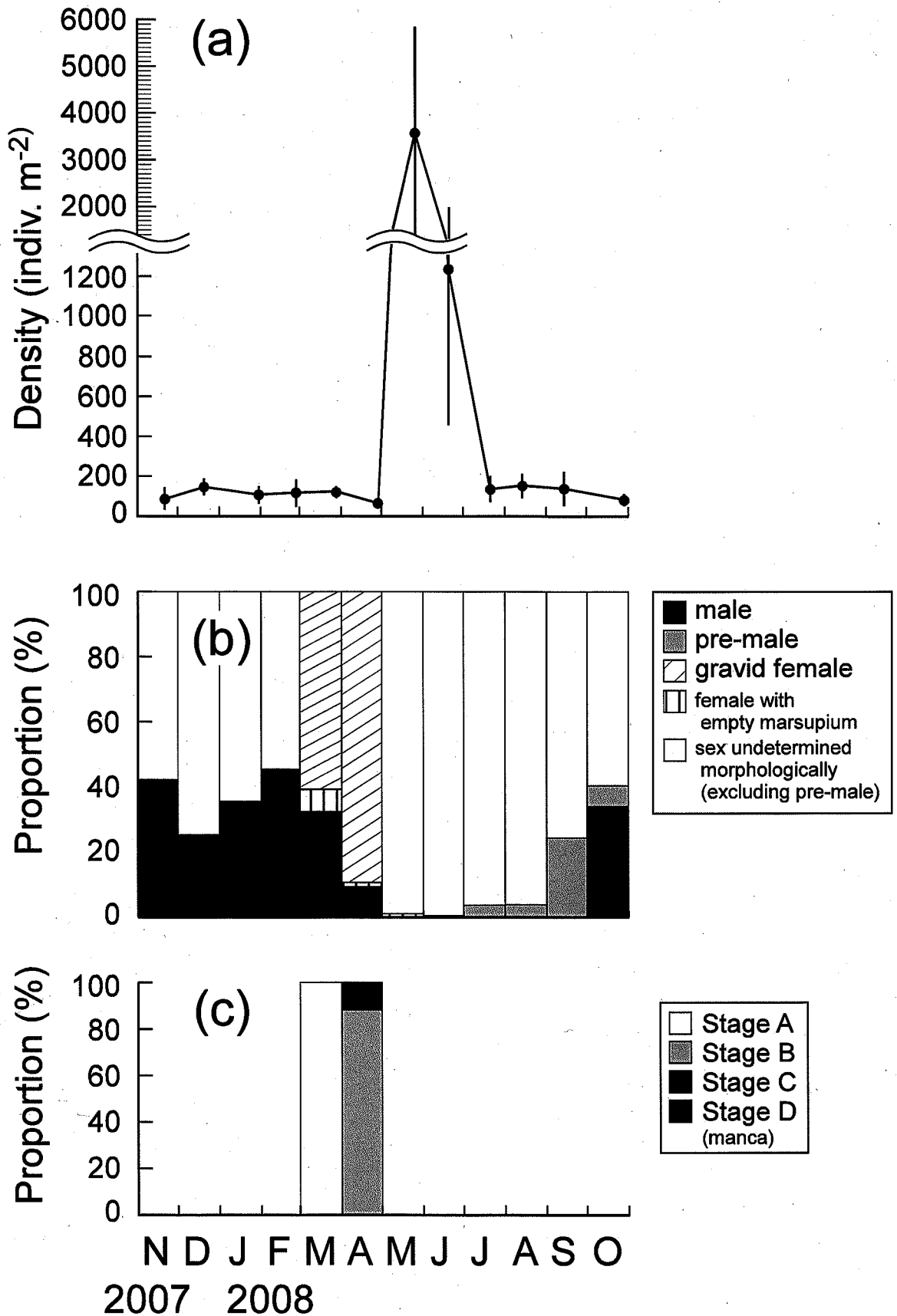


Fig. 3-6 Monthly changes in density (a), population structure (b), and developmental stage of broods (c) of *C. muromiensis* in the Old Edo River Estuary from November 2007 to October 2008. Error bars indicate standard deviation.

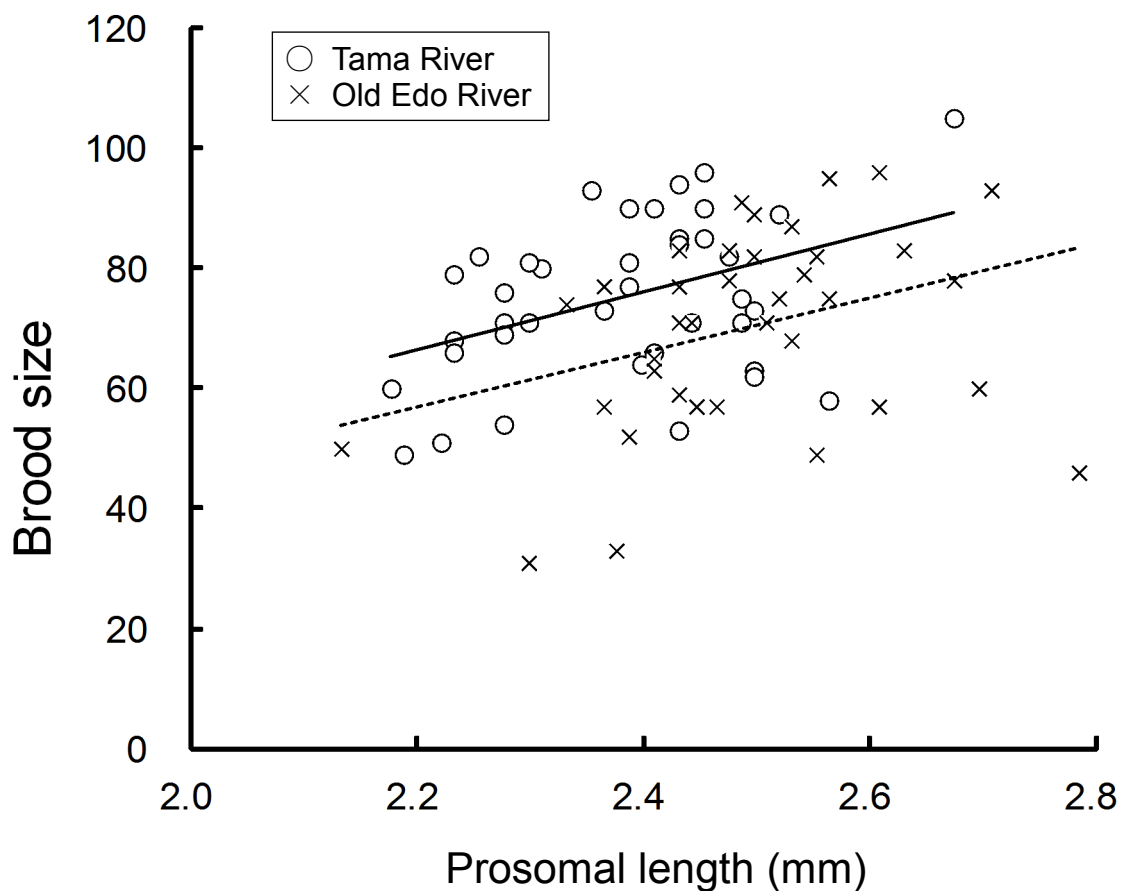


Fig. 3-7 Relationship between female length and brood size of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary on March 26, 2008 and in the Old Edo River Estuary on March 28, 2008. Solid line and broken line indicate regression line of the Tama River population and Old Edo River population, respectively. Broods that were assessed to have lost embryos during capture or fixation were discounted.

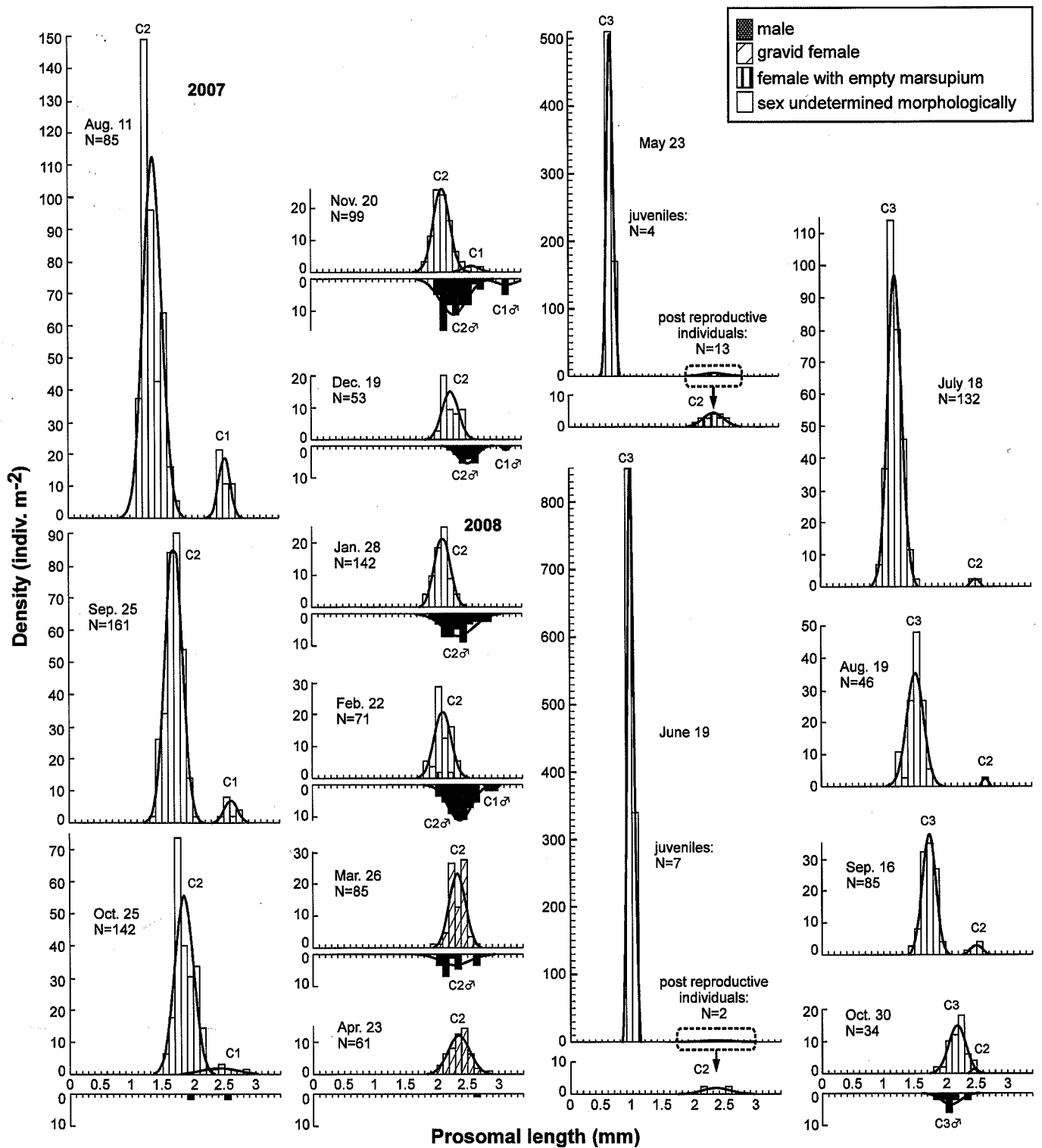


Fig. 3-8 Size frequency histogram of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary, from August 2007 to October 2008. C1, C2, and C3 indicates different cohort (cohort 1, cohort 2, cohort 3, respectively).

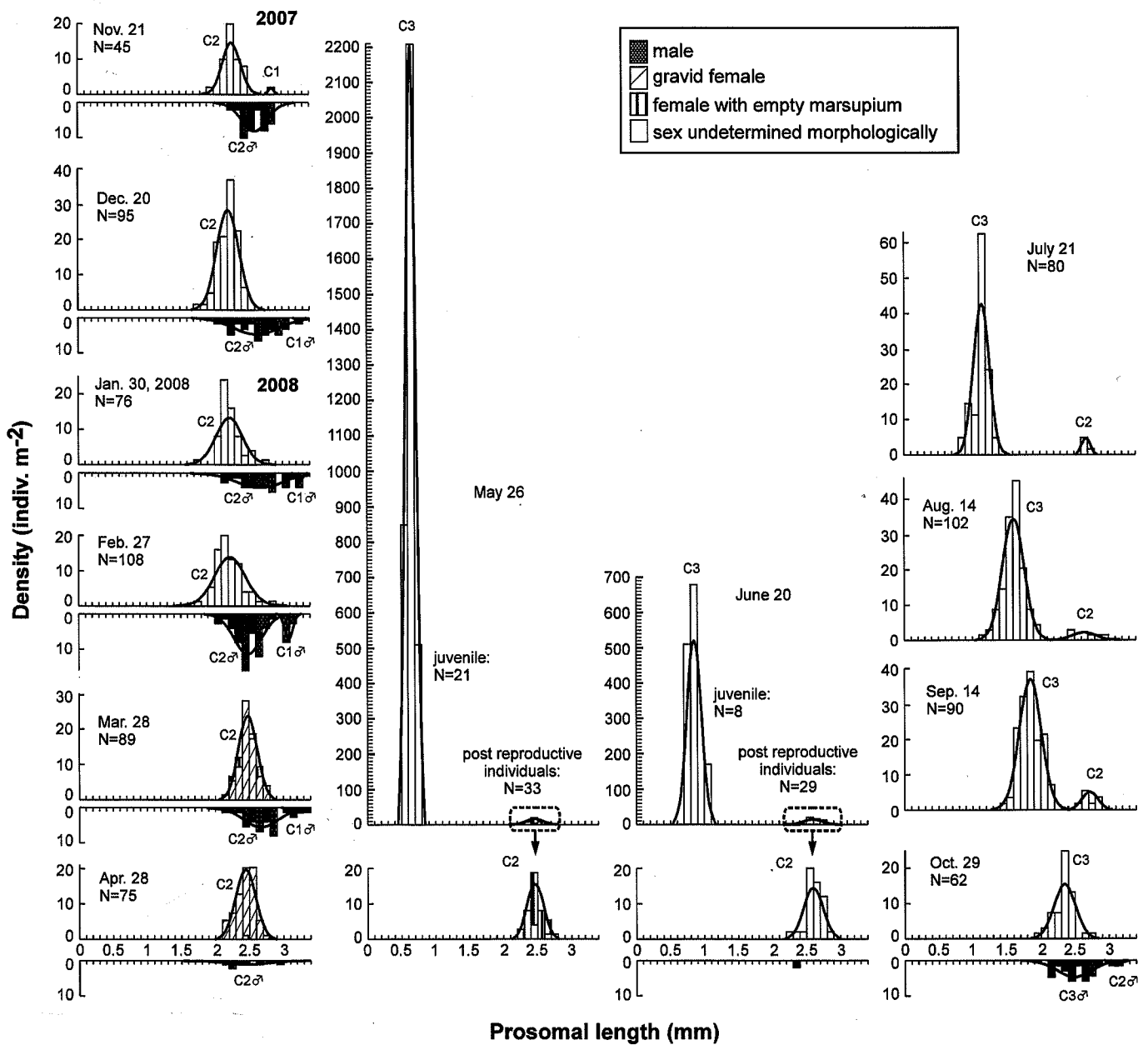


Fig. 3-9 Size frequency histogram of *C. muromiensis* in the Old Edo River Estuary, from November 2007 to October 2008. C1, C2, and C3 indicates different cohort (cohort 1, cohort 2, cohort 3, respectively).

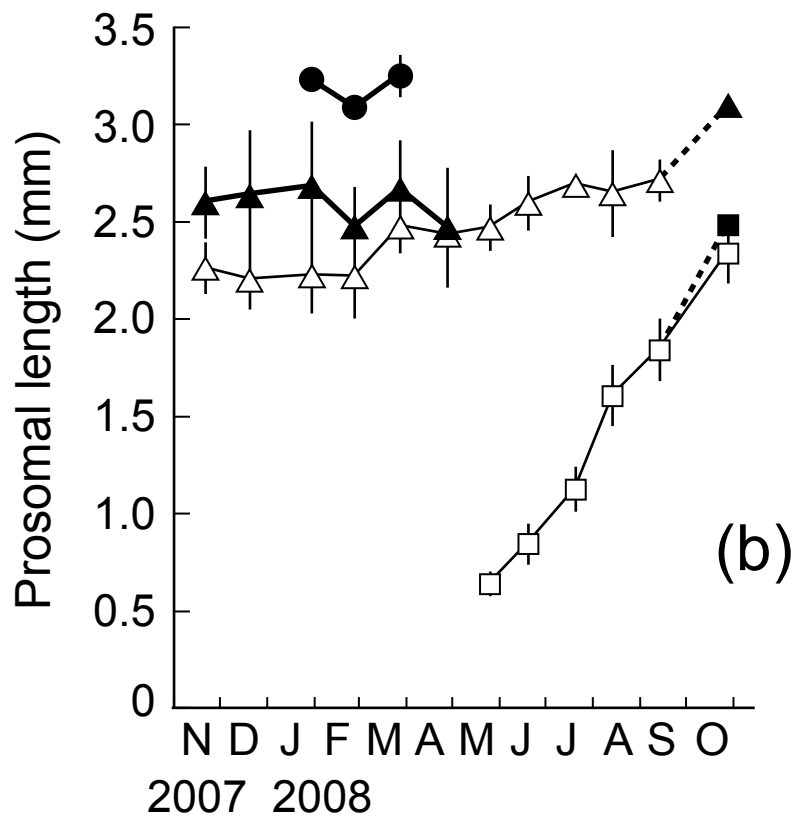
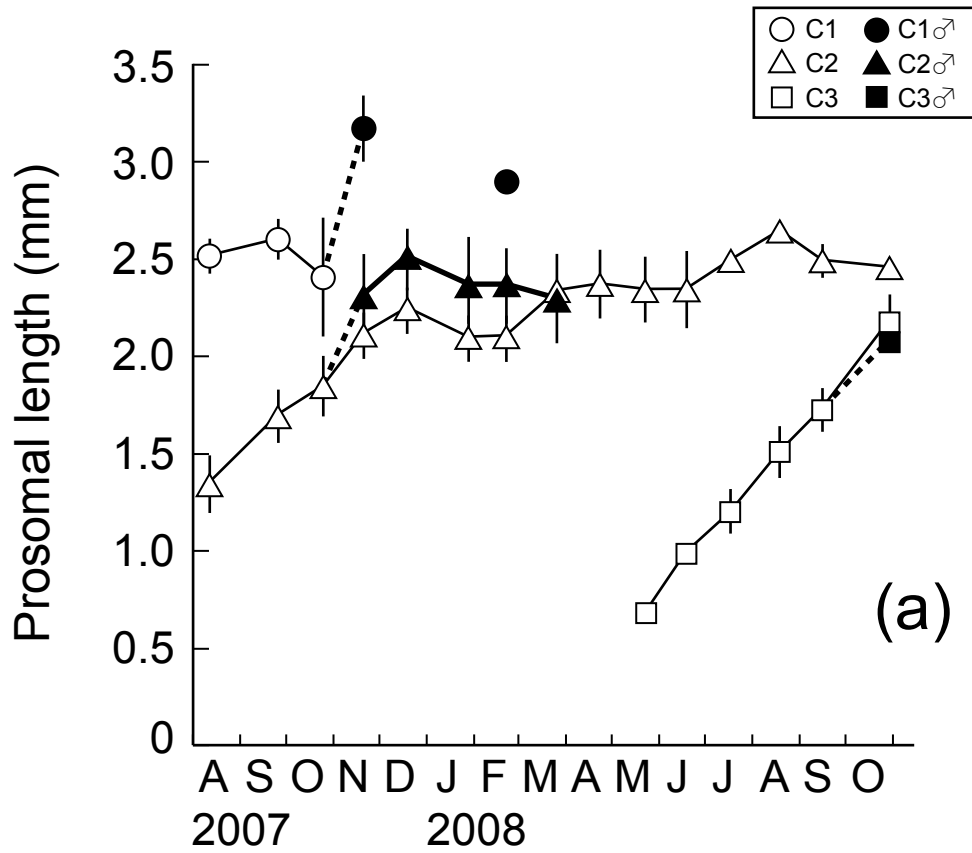


Fig. 3-10 Estimated growth of cohorts (C1-C3) (average prosomal length \pm standard deviation) of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary from August 2007 to October 2008 (a) and the Old Edo River Estuary from November 2007 to October 2008 (b). Broken lines indicate probable development of male characteristics.

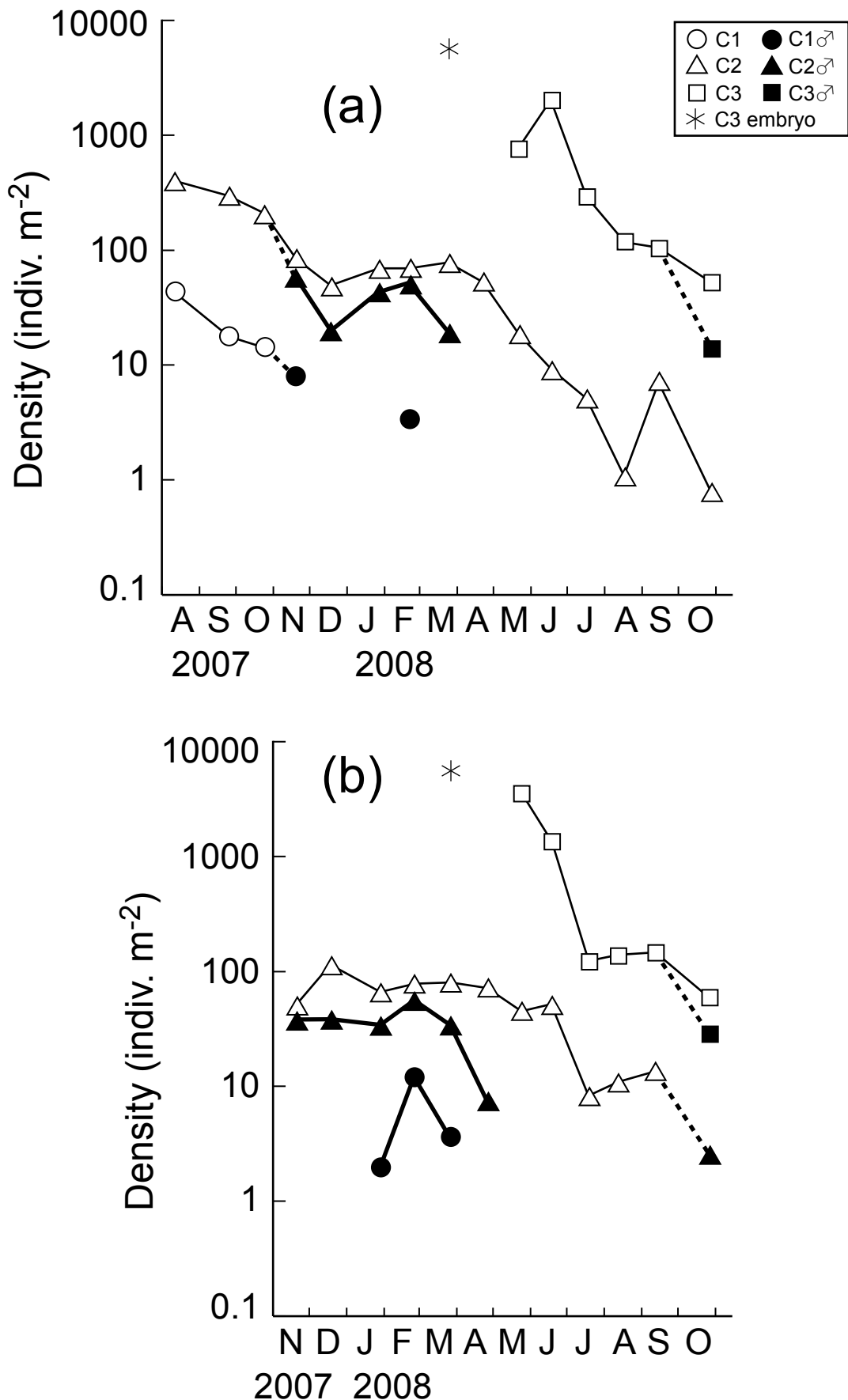


Fig. 3-11 Estimated survival of cohorts (C1-C3) of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary from August 2007 to October 2008 (a) and the Old Edo River Estuary from November 2007 to October 2008 (b). Broken lines indicate probable development of male characteristics. * indicates the number of embryos per m² calculated from average brood size and density of females at March.

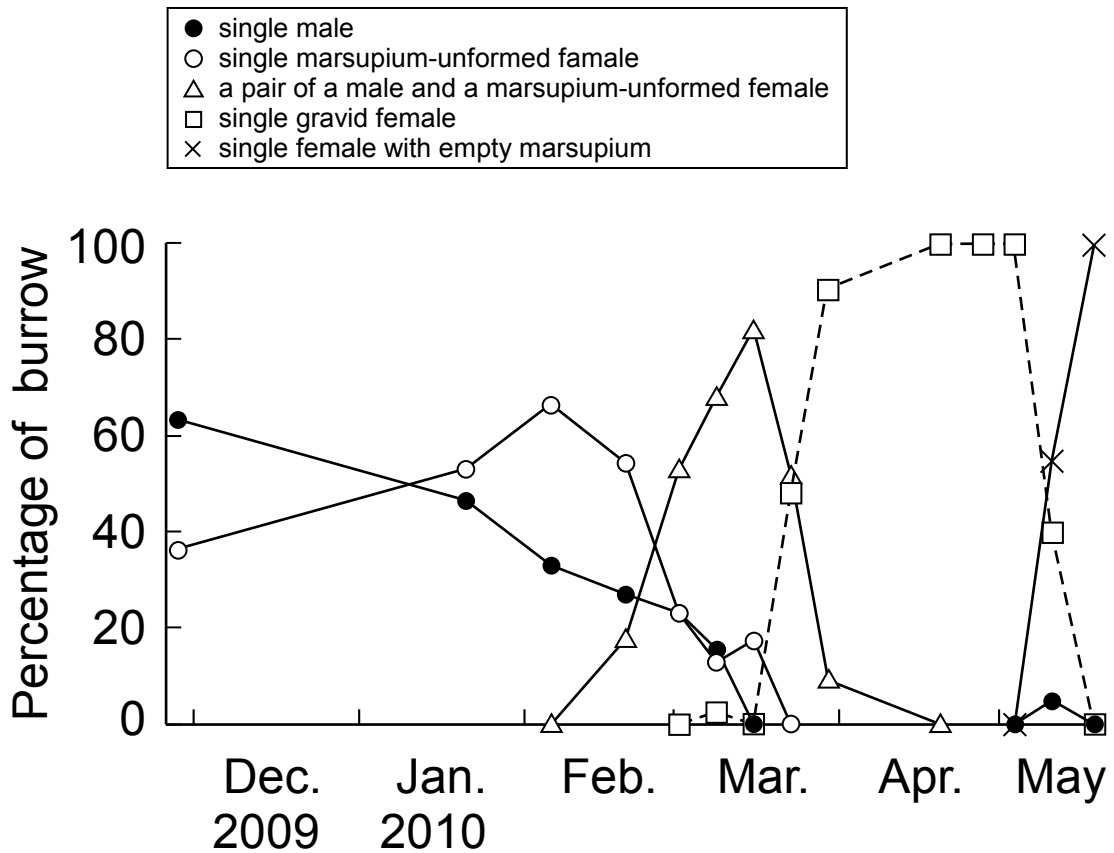


Fig. 3-12 Weekly changes in reproductive state and living style of *C. muromiensis* within a burrow. Number of samples are: 11 (Nov. 27th), 15 (Jan. 20th), 12, 11 (Feb. 5th and 19th, respectively), 30, 38, 34, 27, 21 (Mar. 1st, 8th, 15th, 22nd, 29th, respectively), 16 (Apr. 19th and 27th) 14, 20, 14 (May 3rd, 10th, 18th, respectively).

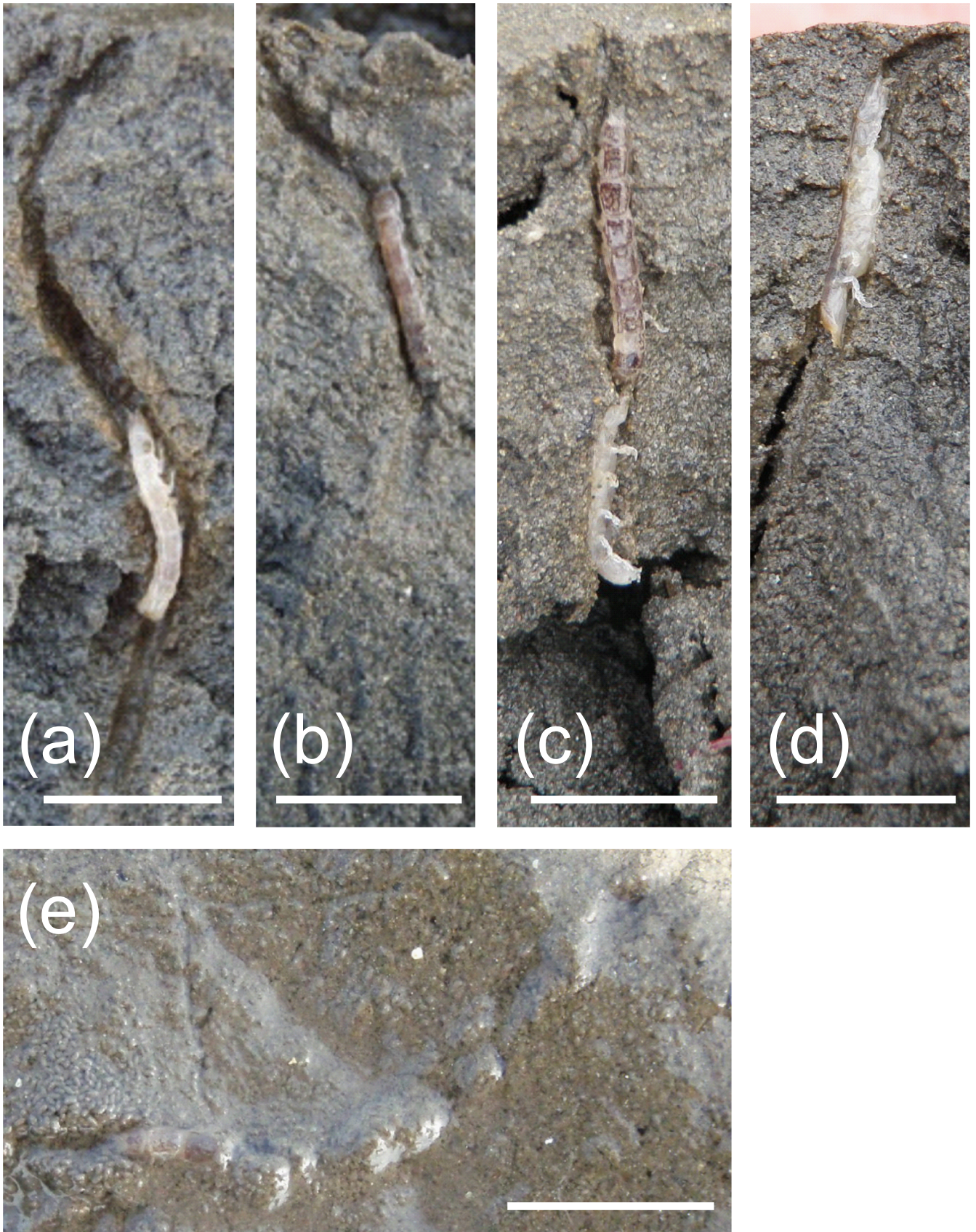


Fig. 3-13 Photographs about lifestyle of *C. muromiensis* around reproductive season. (a): marsupium-unformed female living alone; (b): male living alone; (c): male and marsupium-unformed female living together; (d): gravid female living alone; (e): male crawling the sediment surface. Each photograph was taken on January 20th, 2010 (a, b), March 15th, 2010 (c), April 27th, 2010 (d), and March 18th, 2009 (e), at the Tama River Estuary. The crawling male of photograph (e) was only one case observed. Scale bar: 10 mm.

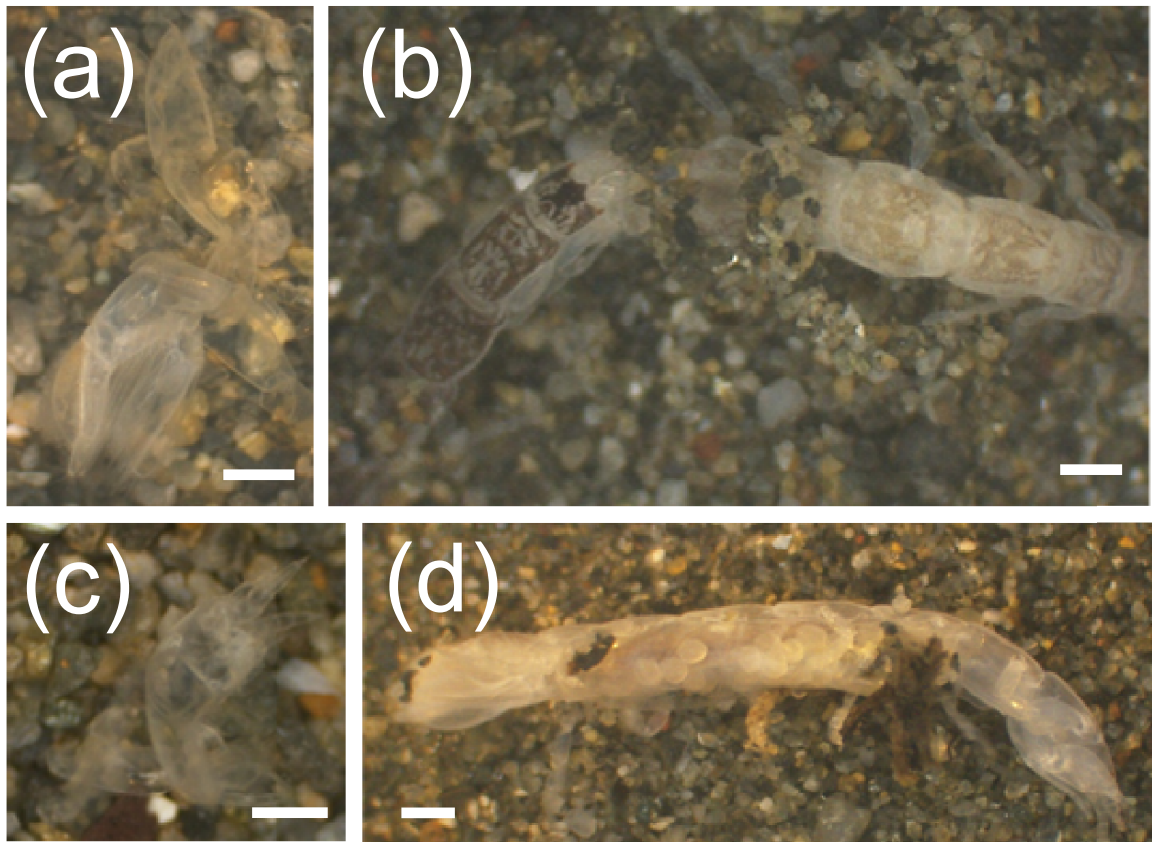


Fig. 3-15 Photographs about reproductive behavior of *C. muromiensis* in the laboratory. (a): posterior half cuticle shed at the ovigerous molt; (b): male (left) following half-molted female (right); (c): anterior half cuticle shed at the ovigerous molt; (d): female ovulating eggs into the fully-formed marsupium (lateral view). Scale bar: 1 mm.

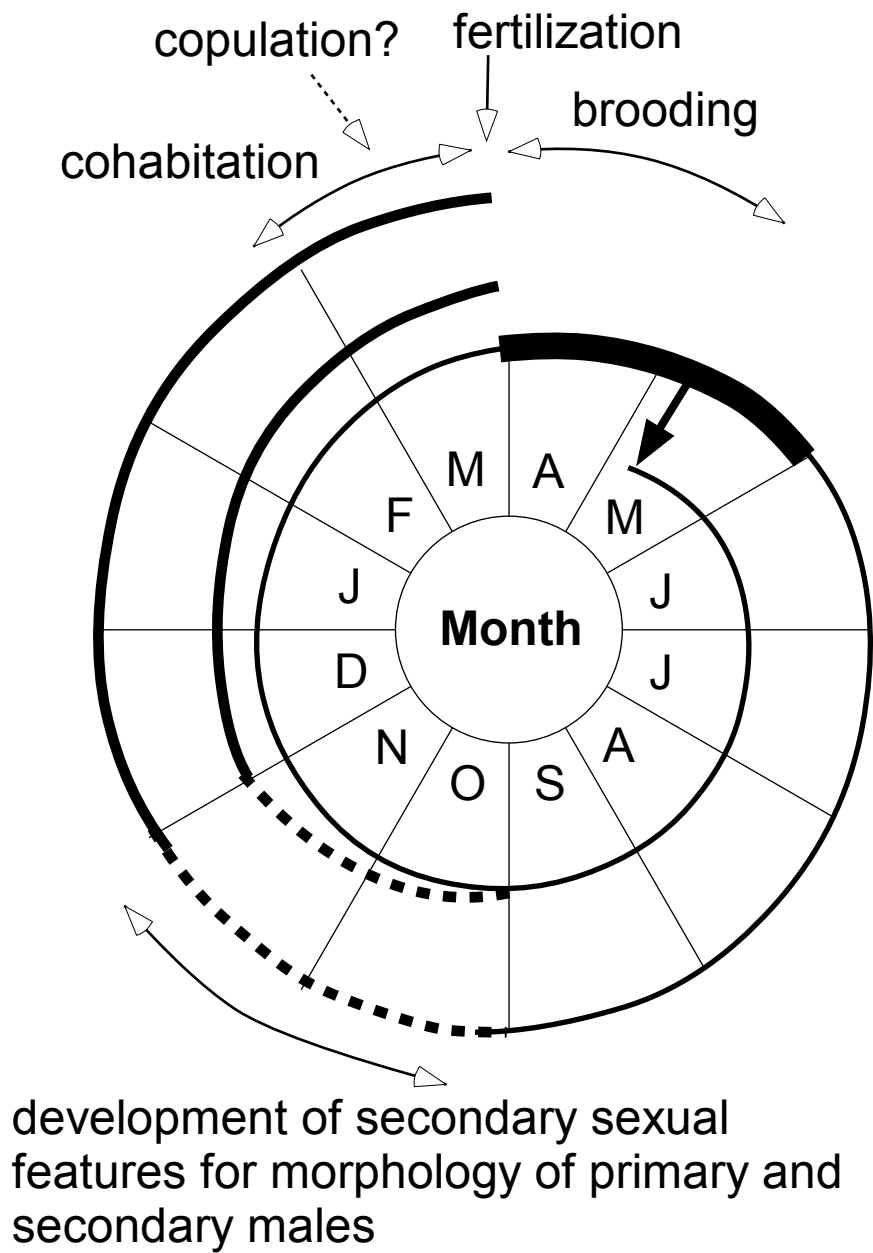


Fig. 3-16 Schematic representation of life cycle of *C. muromiensis* in the Tama River Estuary and the Old Edo River Estuary. A little thick line indicates male having appendix masculina. Very thick line indicates female having marsupium. Black arrow directed inward indicates release of a brood.