# 形態的特徴と DNA バーコーディングにより同定された 多摩川における外来淡水エビ, チュウゴクスジエビ Palaemon sinensis (Sollaud, 1911)

平岡 礼鳥・奥 俊輔・亭島 博彦

Retori Hiraoka, Shunsuke Oku, Hirohiko Teishima: Invasive freshwater shrimp, *Palaemon sinensis* (Sollaud, 1911) found in Tama River, Kanagawa, and identified by morphological characteristics and DNA barcoding

### はじめに

チュウゴクスジエビ Palaemon sinensis (Sollaud, 1911) はテナガエビ科 (Palaemonidae) に属する淡水性エビ類で、中国、韓国、ミャンマー、シベリア、サハリンなどに分布する (Imai & Oonuki, 2014)。本種は、1969年頃から釣り餌として中国や韓国から輸入されていたが (丹羽, 2010; 斉藤ほか, 2011), Liu et al. (1990) は、日本国内における定着を確認していない。その後、2005年に静岡県の溜池で発見されて以来、日本各地で報告されており、本種の分布拡大、定着が確認されている (大貫ほか、2010; Imai & Oonuki, 2014; Saito et al., 2016; 長谷川ほか、2016: 今井・大貫、2017)。神奈川県では鶴見川水系および舞岡公園からの報告に留まり (七里ほか、2017)、その他の河川などからの報告はない。

チュウゴクスジエビはスジエビ Palaemon paucidens De Haan, 1844 に形態が酷似しているため,日本におけるチュウゴクスジエビの分布記録は,各地の調査での誤同定により過小評価されてきた可能性が高い(長谷川ほか, 2016)。特に,若齢個体や保存された標本などは模様の消失や形態形質の破損が起きやすく,より判別が困難である。形態形質による種同定が困難である場合,DNA の塩基配列情報を用いて同定を行う DNA バーコーディングが有効である(Liu  $et\ al.$ ,2007;Murphy & Austin,2005 など)。しかし,チュウゴクスジエビにおいて DNA バーコーディングを用いた研究は行われておらず,遺伝子情報はほとんど得られていない。本研究では多摩川におけるチュウゴクスジエビの侵入を調査する目的で,同川において淡水エビ類を採集し,得られた標本を用

いた DNA バーコーディングによる解析を行った。多摩川中流域においてスジエビに酷似したエビを採集したため、詳細な形態学的検討を行なったところチュウゴクスジエビと同定された。加えて、チュウゴクスジエビにおけるミトコンドリア DNA、16SrRNA 領域の部分配列を決定し、種判別への有用性を検証した。なお、わが国で採集されたチュウゴクスジエビのミトコンドリア DNA、16SrRNA 領域の部分配列決定は本稿が初となる。

# 材料と方法

2016年12月29日、神奈川県多摩川水系多摩川の二 子橋下流右岸(川崎市高津区)にあるワンドにて調査を 実施した(図1)。タモ網(口径50cm)を用いて、ワ ンド内に生えている葦などの下からスジエビと酷似した エビ8個体を採集した。得られた生個体の色彩を確認 後, 直ちに 70 %エタノールにて液浸標本とし, Imai & Oonuki (2014) に従って形態的学的検討を行った。標本 8個体のうち2個体(雄1個体、雌1個体)は神奈川県 立生命の星・地球博物館で保管されており(KPM-NH 2826, KPM-NH 2827), 筆者が保管する残りの 6 個体 (雄5個体, 雌1個体) のうち4個体(雄3個体, 雌1 個体)を遺伝子解析に供した。形態および塩基配列の比 較には、千葉県印旛沼で採集したスジエビ4個体を対照 とし、標本は筆者が保管している。各個体から筋肉組織 を摘出し、Fast DNA SPIN Kit (MP社)により DNA を抽出した。ミトコンドリア DNA の 16SrRNA 部分配 列は PCR により増幅した。PCR では、プライマーとし て 1471 (5' -CCTGTTTANCAAAAACAT-3') および 1472 (5' -AGATAGAAACCAACCTGG-3') (Crandall & Fitzpatrick, 1996)を用い、初期熱変性(94  $\mathbb{C}$ ; 5分),熱変性(94  $\mathbb{C}$ ; 30 秒),アニーリング(44 $\mathbb{C}$ ; 30秒) および伸長反応(72  $\mathbb{C}$ ; 60 秒)を 30 サイクル行い,最後に伸長反応(72  $\mathbb{C}$ ; 10分)を行なった。アガロースゲル電気泳動により DNA の増幅を確認し,3730XL DNA Analyzer によって塩基配列を決定した。MEGA7(Kumar et al., 2016)により塩基配列アライメントを行ない,Kimura-2-parameter method(Kimura, 1980)により個体間および種間遺伝的距離を算出した。なお,神奈川県立生命の星・地球博物館におけるエビ類の標本番号は、電子台帳上はゼロが付加された 7 桁の数字が使われているが、ここでは標本番号として本質的な有効数字で表した。

#### 結 果

## 1. 形態的特徴

採集した8個体は頭胸甲長7.2-9.5 mm,額角長5.5-7.7 mm,雄6個体,雌2個体であった。外形,色彩を千葉県印旛沼にて採集したスジエビと比較したところ,酷似しており,各腹節には横縞がある(図2a)。頭胸甲側面にはスジエビ同様逆ハの字型の縞模様があるが,後方の縞の上端は頭部側に鉤状に曲がっていた(図2b)。

三浦半島 三浦半島 7km

図 1. チュウゴクスジエビの採集場所 (N35°36′29, E139°37′34). ×:採集地点,採集地点のワンド.

額角はスジエビ同様水平に伸び、柄部第3節末端に届く。歯は額角上縁に4-5本、下縁に1-2本あるが、額角上縁の先端にはない(図2b)。一方、スジエビでは額角上縁に6-7本、下縁に1-2本あり、額角上縁の先端に1本の歯があった。眼柄長/眼径比は1.62-1.95でスジエビの当該比1.18-1.55(Imai & Oonuki,2014)に比べて大きい。大顎にスジエビにみられる触髭はなく、臼状歯は円柱状につき出ており、先端部の周縁に著しい欠刻はない(図3)。以上の形態的特徴から、採集個体はすべてチュウゴクスジエビと同定された。

#### 2. 塩基配列分析

採集したチュウゴクスジエビ 4個体とスジエビ 4個体からミトコンドリア DNA, 16SrRNA 領域(526bp)の塩基配列を決定した。得られた部分配列の相同性をBLAST により検索したところ, 4個体は全て Liu et al. (2007) が登録した中国の江西省で採集されたチュウゴクスジエビの 16SrRNA 塩基配列(DQ194970)と相同性 99%を示した。個体間の遺伝的距離はスジエビともに 1%以下であり,遺伝的距離に差はみられなかった(表1)。採集したチュウゴクスジエビとスジエビにおける種間の遺伝的距離は平均 11.65%(11.5%—11.8%)であり、遺伝的距離に明確な差が確認できた(表1)。

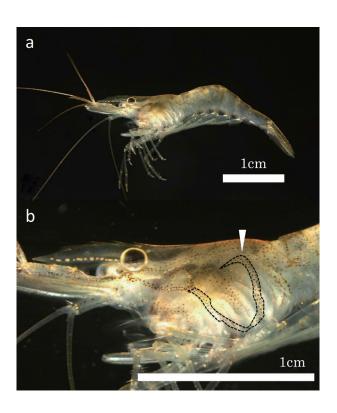


図 2. チュウゴクスジエビ (雄) KPM-NH 2826. a:全体像,b: 頭胸甲側面.黒色破線は頭胸甲側面に見られる逆ハの字型 縞模様を,矢頭は縞模様の鉤状弯曲を示す.

表 1. P. paucidens スジエビとチュウゴクスジエビの個体間および種間の遺伝的距離

	P. sinensis 1	P. sinensis 2	P. sinensis 3	P. sinensis 4	P. paucidens 1	P. paucidens 2	P. paucidens 3	P. paucidens 4
P. sinensis 1	_							
P. sinensis 2		0 -						
P. sinensis 3		0	0 -					
P. sinensis 4		0	0	0 -				
P. paucidens 1	11.	8 11	8 11	.8 1	8 –			
P. paucidens 2	11.	5 11	5 11	.5 13	.5 0	.2 –		
P. paucidens 3	11.	8 11	8 11	.8 1	.8	0	0.2	
P. paucidens 4	11.	5 11	5 11	.5 13	.5 0	.2	0 0	).2 —

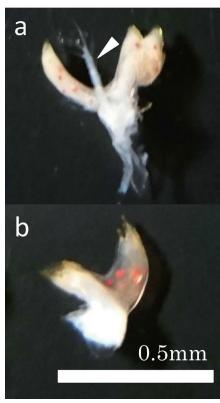


図 3. 大顎. a: *P. paucidens* スジエビ, b: チュウゴク スジエビ KPM-NH 2826. チュウゴクスジエビは *P. paucidens* スジエビに見られる触髭 (矢頭) を欠く.

# 考 察

形態的特徴および DNA バーコーディングによる解析から、採集個体はチュウゴクスジエビと同定され、これは多摩川におけるチュウゴクスジエビの初報告である。他府県の情勢からみると神奈川県においてもチュウゴクスジエビの移入が進んでいる可能性がある。しかし、本調査は1地点でのみの知見となるため、チュウゴクスジエビの分布域や移入状況を把握するには調査を継続して行う必要がある。

本研究により得られた 16SrRNA 領域を用いた DNA バーコーディングの結果は、形態による同定を確証することになった。16SrRNA 領域は、採集したチュウゴクスジエビとスジエビにおける種間の遺伝的距離に差があることに加え、個体間変異が非常に少ないことから、チュ

ウゴクスジエビの種判別に有効な領域である。本調査地ではスジエビを確認することはなかったが、閉鎖水域においてはチュウゴクスジエビとの交雑により遺伝子撹乱が生じ、在来種の遺伝的特徴が失われる可能性が危惧されている(大貫ほか、2010、長谷川ほか、2016)。在来遺伝子系統を保全するためには、本研究を皮切りにチュウゴクスジエビにおける遺伝的研究をさらに進めるとともに、分布拡大に対する監視および駆除が肝要である。

今回の調査では抱卵個体や若齢個体は採集されなかったことから、多摩川におけるチュウゴクスジエビの定着を確認するには至らなかった。チュウゴクスジエビは $5\sim9$ 月の4ヶ月間に複数回産卵することが示唆されている(大貫ほか、2010)。多摩川での定着を把握するためには時期を変えて調査する必要がある。

#### 謝辞

生息情報に関して貴重な助言をいただいた千葉県立中央博物館の駒井智幸博士に厚く御礼申し上げる。本稿をまとめるに当たり多くの助言を頂いた平岡篤信博士,ならびに現地調査にご協力いただいた吉田琴絵氏、吉田理仁氏,第一著者の妻である清絵に深く感謝申し上げる。

#### 引用文献

- Crandall, K. A. & J. F. J, Fitzpatrick, 1996. Crayfish systematics: using a combination of procedures to estimate phylogeny. *Systematic Biology*, **45**: 1–26.
- 長谷川政智・森 晃・藤本泰文, 2016. 淡水エビのスジエビ Palaemon paucidens に 酷 似 した 外 来 淡 水 エビ Palaemonetes sinensis の宮城県における初確認. 伊豆沼・内沼研究報告, 10:59-66.
- 今井 正・大貫貴清, 2017. 愛媛県宇和島市岩松川水系で 採集された淡水エビの移入種チュウゴクスジエビ(改称) Palaemon sinensis (Sollaud,1911). 南紀生物, 59(1):82– 86
- Imai, T. & T. Oonuki, 2014. Records of Chinese grass shrimp, Palaemonetes sinensis (Sollaud, 1911) from western Japan and simple differentiation method with native freshwater shrimp, Palaemon paucidens De Haan, 1844 using eye size and carapace color pattern. BioInvasions Records, 3(3): 163–168.
- Kimura, M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through

- comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular evolution*, **16**: 111–120.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K, 2016. MEGA74: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger database. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870–1874.
- Liu, M. Y., Cai, Y. X. & Tzeng, C. S, 2007. Molecular systematics of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) inferred from mtDNA sequences, with emphasis on East Asian species. *Zoological Studies*, 46(3): 272–289.
- Liu, R. Y., Liang, X. Q. & Yan, S. L, 1990. A study of the Palaemonidae (Crustacea: Decapoda) from China II. *Palaemon, Exopalaemon, Palaemonetes* and *Leptocarpus*. *Studia Marina Sinica*, 31: 229–265.
- Murphy, N. P. & C. M. Austin, 2005. Phylogenetic relationships of the globally distributed freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae): biogeography, taxonomy and the convergent evolution of abbreviated larval development. *Zoologica Scripta*, 34: 187–197.

- 丹羽信彰, 2010. 外来輸入エビ, カワリヌマエビ属エビ (*Neocaridina* spp.) および Palaemonidae spp. の輸入実態と国内の流通ルート. *Cancer*, 19: 75–80.
- 大貫貴清・鈴木伸洋・秋山信彦, 2010. 静岡県浜松市の溜池で新たに発見された移入種 *Palaemonetes sinensis* の雌の生殖周期. 水産増殖, 58 (4):509-516.
- 斉藤英俊・丹羽信彰・河合幸一郎・今林博道,2011. 西日本における釣り餌として流通される水生動物の現状. 広島大学総合博物館研究報告,3:45-57.
- Saito, H., A. Yamasaki, J. Watanabe. & K. Kawai, 2016. Distribution of the invasive freshwater shrimp *Palaemon sinensis* (Sollaud, 1911) in rivers of Hiroshima Prefecture, Western Japan. *BioInvasions* Records, 5(2): 93–100.
- 七里浩志・渾川直子・市川竜也・樋口文夫,2017. 横浜市内における外来性スジエビ近似種 Palaemonetes sinensis の確認 状況について. 横浜市環境科学研究所報,41:45-49.
- 平岡 礼鳥・奥 俊輔・亭島 博彦:株式会社日本海洋 生物研究所