

博士論文

雌雄異体の甲殻類 (*Upogebia major*) における
雌雄二形の発現異常

2014年2月22日

南里敬弘

目次

要旨	3
1 序論	7
2 材料と方法	11
2.1 アナジャコの採集	11
2.2 性別と形態異常の判定および形態異常個体の出現頻度	12
2.3 度数分布と相対成長	13
2.4 精巢の相対成長	15
2.5 腹節表皮の傷と寄生の有無	15
3 結果	17
3.1 形態異常のオス	17
3.2 形態異常のメス	18
3.3 度数分布と相対成長	19
3.4 精巢の相対成長	21
3.5 腹節表皮の傷と寄生の有無	22
4 議論	24
4.1 オスとメスにおける形態異常の解釈	25
4.2 オス間性とメスの形態異常を引き起こす因子	29
引用文献	49
謝辞	56

表 目 次

1	Table 1	35
2	Table 2	36
3	Table 3	37
4	Table 4	38
5	Table 5	39
6	Table 6	40

図 目 次

1	Figure 1	41
2	Figure 2	42
3	Figure 3	43
4	Figure 4	44
5	Figure 5	45
6	Figure 6	46
7	Figure 7	47
8	Figure 8	48

要旨

ほとんどの甲殻類は、雌雄異体の動物である。しかしながら、しばしばオスとメス両方の性徴を有する個体が見られ、これらは間性として知られている。十脚甲殻類に間性が見られる原因として、いくつかの説明がなされてきた。例えば、雄性先熟または雌性先熟における性転換の転移段階にある個体の場合や、外部寄生生物による生理的攪乱や物理的干渉による形態の部分的な脱オス化、あるいは環境汚染物質による影響などである。

雌雄二形を示す形態の個体発生上の変化を調べることは、間性の原因究明に寄与するだろう。間性が雄性先熟または雌性先熟における性転換によるものであれば、個体発生を通じた形態や生殖腺発達における一貫した性転換の進行過程が存在するだろう。また、間性個体の出現頻度は、異なる個体群においても同程度であると期待できる。一方、外部寄生生物や環境汚染物質などの外的な因子による影響であれば、間性個体の出現頻度は、個体群間で異なる可能性が高いだろう。

アナジャコ (*Upogebia major*) は、いくつかの外部形態に明確に区別可能な雌雄二形を有する。通常のオスは、第1腹節の第1腹肢を欠くのに対し、通常のメスは第1腹肢を持つ。また、オスの生殖孔開口位置は第5歩脚基節であるのに対し、メスでは第3歩脚である。雌雄二形は、鉗脚指節にも見られる。オスの鉗脚指節は、外側に十数個のこぶがあり、内側に明瞭な3本の稜線が見られる。それに対し、メスの鉗脚指節は内側と外側の両方とも比較的滑らかである。しかしながら、瀬戸内海に生息するアナジャコにおいて、第1腹肢を持つオス個体と第1腹肢を欠くメス個体が発見された。

本研究の目的は、第1腹節に形態異常を持つアナジャコが1) 間性であるかどうかを判断すること、および2) 異常を引き起こす潜在的な因子を調べることである。瀬戸内海沿岸の9つの個体群(兵庫県の千種川河口、岡山県の錦海湾、吉井川河口、児島湾、高梁川河口および笠岡湾2ヶ所(湾奥部と開口部)、広島県の佐方川河口、山口県の山口湾)から採集されたア

ナジャコを対象に次の調査を行った。すなわち、1) 形態異常の発現パターンを分類し、2) 第1腹肢の形態と他の雌雄二形形態および生殖腺重量の相対成長上の変化(体長との関係)、3) 各個体群の形態異常個体の出現頻度を調べた。また、間性を引き起こす外的な因子の1つとして、4) 外部寄生生物の有無と種類および寄生率を調べた。

オスに発現した第1腹肢の形態と配置に基づき、形態異常は4つの型(M-1~M-4型)に分類された。M-1型とM-2型の第1腹肢は、通常メスが持つ第1腹肢と似た形態の付属肢であった。左右どちらか一方に第1腹肢が発現した形態異常個体をM-1型、1対の第1腹肢が発現した形態異常個体をM-2型として分類した。M-3型の第1腹肢は、第5歩脚に似た形態の付属肢であった。M-4型の第1腹肢は、第2~第5腹肢に似た形態の付属肢であった。一方、メスの第1腹節に見られた形態異常は、5つの型(F-1~F-5型)に分類された。F-1型の第1腹肢は、通常メスに比べて、短く不完全な形態であった。第1腹肢の左右どちらか一方に欠如が見られる個体をF-2型、左右両方とも欠如した個体をF-3型として分類した。F-4型とF-5型の第1腹肢は、それぞれ第5歩脚に似た形態、第2~第5腹肢に似た形態であった。

オスの形態異常個体(M-1~M-3型)の体長範囲(頭胸部長さ)は、同じ個体群の通常オスに比べて、大きい方に偏っていた。すなわち、通常オスの体長範囲が5.9-37.7mmであったのに対し、オスの形態異常個体は19.5-38.1mmであった。第1腹節以外の雌雄二形形態(鉗脚指節と生殖孔開口位置)は、オスの形態異常個体の体長範囲全部において、一貫してオスの性徴を示した。鉗脚前節と生殖腺重量の体長に対する相対成長は、通常オス個体と有意な差は見られなかった。一方、メスの形態異常個体(F-1~F-3型)の体長範囲は、同じ個体群の通常メスに対して偏りはなかった。これら3つの型のそれぞれの体長範囲は、互いに重複しており、相対成長上にいかなる順序も見出すことはできなかった。また、第1腹節以外の雌雄二形形態は、メスの形態異常(F-1~F-5型)個体の全てにおいて、一貫してメスの性徴を示した。

M-1型とM-2型の出現頻度は、ほとんどの個体群で3.4%以下であったのに対し、笠岡湾の2つの個体群ではそれぞれ11.5%と6.5%であった。M-3型とM-4型は、それぞれ、笠岡湾開口部と山口湾(3個体と1個体)、山口湾(1個体)の個体群のみで見られ、それらの数は非常に少なかった(オス1723個体中5個体)。F-1型とF-2型およびF-3型の出現頻度は、ほとんどの個体群で4.2%以下であったのに対し、笠岡湾奥部では18.0%であった。笠岡湾奥部の形態異常を持つメス個体には、第1腹節の腹側表皮に傷を持つ個体が多く見つかった(9個体中5匹)。笠岡湾開口部の個体には、少なくとも2種類のエビヤドリムシ(Bopyridae)による寄生が見られた。エビヤドリムシ類による寄生率は、笠岡湾開口部で24.7%であり、他のほとんどの個体群では6.1%以下で、最大でも11.2%(高梁川河口)であった。

M-1型とM-2型の形態異常個体は、他の雌雄二形形態がオスの性徴を示していることから、オス間性(male intersex)であると言える。第1腹肢以外の性徴は、相対成長上一貫してオスの形態を保っていることから、雄性先熟における性転換を原因とした間性ではない。異なる個体群において、オス間性個体の出現頻度が異なることも、これを支持している。M-3型は、オス間性個体(M-1とM-2型)と同じ個体群で見つかったことから、第1腹肢に形態異常が発現したオス間性個体と言えるかもしれない。第1腹肢に形態異常をもたらす因子については分からないものの、第1腹節に異常を引き起こす因子は、M-1型とM-2型のオス間性個体と共通であるかもしれない。M-1~M-3型は、体長19.5mm以下の個体では全く発見されなかったことから、これらの型の異常を引き起こす因子は、若い個体に影響を与えないか、あるいはある程度の量が体内に蓄積された後、異常を引き起こすような性質を持っていると言える。M-4型は、第1腹節以外は全てオスの性徴を示すことから、他の型と同様に、オス間性だと言える。しかし、山口湾のみで発見されたことから、M-4型の異常を引き起こす因子は、他の型(M-1~M-3型)とは、異なるのかもしれない。F-1型とF-2型の形態異常個体は、いかなるオスの性徴の発現も見られないことから、間性ではない。一方、F-3型は、メス間性(female intersex)と言えるかもしれない。しかしながら、F-1型またはF-2型を経

てF-3型に至るといった一貫した個体発生上の変化ではなく、どの体長範囲においても発見される。このことから、雌性先熟における性転換を原因とした間性ではないと思われる。3つの型(F-1~F-3型)は、しばしば同時に第1腹節に傷を持つことから、偶発的な第1腹肢の欠損とその再形成が原因かもしれない。F-4型とF-5型も、F-1型とF-2型と同様に間性ではない。これら2つ型は、笠岡湾の個体群中には見られなかったことから、F-1~F-3型とは異なる原因によって引き起こされた形態異常であると思われる。

笠岡湾におけるオス間性とメスの形態異常の際立って高い出現頻度は、両者が外的な因子に起因していること、そして笠岡湾の地域的な因子に起因することを示している。オス間性を引き起こす原因として、2つの因子が考えられる。アナジャコ的一种(*U. pusilla*)において、オスの第1腹肢発現(オス間性)とエビヤドリムシ類の寄生との関連が報告されている。アナジャコのオス間性の出現頻度とエビヤドリムシ類による寄生率は、ともに笠岡湾の個体群において高かった。エビヤドリムシ類による寄生とオス間性とは強く関連しているように思われる。もう1つの可能性は、環境汚染化学物質である。笠岡湾の干潟底質中の汚染化学物質(有機スズ類や亜鉛)の濃度は、カニ類に形態異常や脱皮遅延などの異常を引き起こす最低濃度よりも、数百倍高いことが報告されている。2つの因子のどちらか、あるいは両方によって、アナジャコのオス間性が引き起こされている可能性がある。一方、メスの第1腹肢の欠損を引き起こす因子として、カニ(*Sestrostoma* sp.)の寄生が考えられる。アナジャコを宿主とし、第1腹節にしがみつくように寄生するこのカニは、しばしば第1腹肢を摂食し、第1腹節腹側に傷を与えることが報告されている。メスの第1腹肢の欠損は、このカニの寄生に起因する可能性がある。寄生性のカニは、笠岡湾個体群において、多く生息しているのかもしれない。

1 序論

ほとんどの甲殻類は、雌雄異体の動物であり、生殖孔の開口位置 (Farmer, 1974; Sagi et al., 1996) や鉗脚と腹部の発達 (e.g. Hartnoll, 1985; Bauer and VanHoy, 1996; Nates and Felder, 1999; Pardo et al., 2009) などに、雌雄二形が現れる。しかしながら、オスとメスの性徴 (1 次または 2 次性徴) の両方を同時に有する個体がしばしば見られ、これらは間性個体と見なされている (Sagi et al., 1996; Zou and Fingerman, 2000; LeBlanc, 2007)。間性の出現様態は、少なくとも 2 つの型に分類される。雌雄モザイクの場合、体半分だけにオスの性徴が現れ、その反対側だけにメスの性徴を有する (Farmer, 1972; Johnson and Otto, 1981; Chace and Moore, 1959; Taylor, 1986; Micheli, 1991)。これ以外の場合では、間性個体は体の大部分はオスまたはメスの性徴を有するが、反対の性別の性徴も同時に見られる。例えば、十脚甲殻類の生殖孔は通常の場合において、オスでは第 5 歩脚の付け根付近 (基節) に開口し、メスでは第 3 歩脚の基節に開口する。それに対し、間性個体は第 3 と第 5 歩脚の両方に生殖孔を有する。この型に分類される間性は、十脚甲殻類において多く報告されている：ザリガニ類 (Sagi et al., 1996, 2002; Rudolph et al., 2001; Vazquez and Greco, 2007), アナジャコ類 (Ngoc-Ho, 2001; Pinn et al., 2001), ヤドカリ類 (Turra, 2004; Fantucci et al., 2007), そして淡水産のカニ類 (Takahashi et al., 2000; Ayaki et al., 2005) において報告されている。ザリガニ (*Cherax quadricarinatus*) では、個体群中の 2-14% が、オスとメスの生殖孔を有する間性個体であることが示されている (Sagi et al., 1996)。これらの間性個体は、前卵黄形成期 (pre-vitellogenic stage) の卵巣を持つものの、全体的には常にオスとして機能する (Sagi et al., 2002)。同様に、これまで報告されている間性の十脚甲殻類のほとんどは、メスの性徴の痕跡を持っていないながらも、オスとして機能している。これとは反対に、メスとして機能する間性が、ザリガニの一種 *C. quadricarinatus* (Vazquez and Greco, 2007) とアナジャコの一種 *Upogebia snelli* (Sakai et al., 2004), およびスナモグリの一種 *Callinassa aquabaensis* (Dworschak, 2003), な

らびに他の属の甲殻類 (e.g. Ford et al., 2004) において報告されている。

間性個体が発見される原因として、いくつかの説明がなされてきた。例えば、間性個体が、雄性先熟または雌性先熟における性転換の転移段階にある個体である場合である。Rudolph (2002) は、チリ共和国に生息するザリガニ (*Samastacus spinifrons*) の間性個体は、生殖孔の位置に関係なく、ほとんどが両性の生殖輸管を有することから、オスからメスへの性転換における転移段階の個体であると推測している。間性個体が性転換過程にある場合、性転換過程の進行に伴い、雌雄二形の構造に元の性別にはない性徴が段階的に発現する。例えば、雄性先熟のモエビ (*Chorismus antarcticus*) では、生殖孔の開口程度は3つの段階に区別され、性転換の進行過程に応じた開口程度の生殖孔を持つ (e.g. 性転換過程であれば、開口したオスの生殖孔と中程度に開口したメスの生殖孔を持つ; Mascetti et al., 1997)。また、性転換過程の後半にある間性個体は、転換後の性としての繁殖上の機能が発現すると期待される (Boddeke et al., 1991; Bauer and Holt, 1998)。一方、間性は、環境中に存在する何らかの因子 (e.g. 汚染化学物質) によって引き起こされる場合もある。Jungman et al. (2004) は、ヨコエビ (*Gammarus fossarum*) を、間性個体が多数発見される生息場所に (現地の個体群とは隔離された状態) 移植した結果、間性の出現頻度が移植されてからの時間とともに増加することを報告している。ヨコエビを含む端脚類 (amphipoda) の間性は、メス親から子に垂直に伝播される微孢子虫 (microsporidia) によっても引き起こされることが知られている (e.g. Kelly et al., 2004; Rodgers-Gray et al., 2004)。そのため、間性を引き起こす原因の解釈には、汚染化学物質だけでなく、寄生生物の影響とそれら両者の関係を考慮することが必要である (LeBlanc, 2007; Ford et al., 2004)。

日本の干潟に生息するアナジャコ (*Upogebia major*, Decapoda, Thalassinidea) は、主として3つの外部形態に明確に区別可能な雌雄二形を有する (Oka, 1941)。通常のオスは、第1腹節の第1腹肢を欠くのに対し、通常のメスは第1腹肢を持つ。また、オスの生殖孔開口位置は第5歩脚であるのに対し、メスでは第3歩脚である。雌雄二形性は、鉗脚指節にも見られる。

オスの鉗脚指節は、外側に十数個のこぶがあり、内側には明瞭な3本の稜線が見られる。それに対し、メスの鉗脚指節は内側と外側の両方とも比較的滑らかである。一方、生殖腺の形態は、特にオスにおいて独特の特徴を有する。オスの生殖腺は雌雄両性の特徴を持ち、真の精巣 (testis proper) と卵巣様精巣部分 (ovarial part of testis) から成る (Oka, 1941; Kinoshita et al., 2003; Kang et al., 2008)。卵黄タンパク質の主要な前駆体であるピテロジェニン は、メスと同様にオスにおいても生産されることが知られている (Kang et al., 2008)。いくつかの種類のアナジャコ (Upogebiidae) においては、オスとメスの両方の生殖孔を有する間性個体が報告されているものの (Pinn et al., 2001; Sakai et al., 2004; Dworschak, 1992; Williams, 1993)、本種においてはそのような間性は報告されていない。また、本種が雄性先熟や雌性先熟の雌雄同体であるとする報告は今のところない。しかしながら、瀬戸内海における予備的な調査において、第1腹節に形態的な異常を持つ個体、すなわち第1腹肢を持つオス個体と第1腹肢を欠くメス個体が発見された (Nanri and Saigusa, personal observation)。

本研究の目的は、第1腹節に形態的な異常が見られるアナジャコが、1) 間性であるかどうかを判断すること、2) 異常を引き起こす潜在的な因子を究明することである。瀬戸内海沿岸の9つの個体群においてアナジャコの採集を行い、次のことを調べた。すなわち、雌雄二形の形態に基づいて性別の判定と形態異常の型の分類を行い、間性であるかどうか調べられた。本研究において、性別は3つの雌雄二形の形態（鉗脚指節形態と生殖孔開口位置、および第1腹節付属肢の有無）によって判定された。3つの雌雄二形形態のいずれもオスまたはメスの性徴 (Oka, 1941) を示す個体が、それぞれ正常なオス個体、正常なメス個体として判定された。一方、間性は、3つの雌雄二形形態のうち2つがオスまたはメスの性徴を示しているにも関わらず、1つにその性別にはない性徴の発現が見られる個体であると定義された。これらの判定に加え、各個体群中の形態異常個体の出現頻度が調べられた。形態的な異常が性転換に関連している場合、各個体群中の出現頻度は同程度であると期待される。一方、寄生生物や環境中の汚染化学物質のような因子に関連している場合、いずれかの個体群でのみ

高い出現頻度が見られる可能性が高いと期待される。さらに、2次的に雌雄二形が発現する (i.e. 2次性徴) 鉗脚と腹部, および生殖腺と体長の関係を調べた。アナジャコの形態異常が性転換と関連している場合, 大きな体長を持つ形態異常個体は, 元の性とは逆の性的特徴が発現すると期待されるからである。形態異常を引き起こす外的な因子として, アナジャコの体表に寄生する外部寄生生物の有無と寄生率を調べた。予備的な調査によって発見されたアナジャコの形態異常が間性であるかどうか, および形態的な異常を引き起こすと考えられる因子について議論した。

2 材料と方法

2.1 アナジャコの採集

アナジャコは、瀬戸内海の9つの個体群 (Site 1-9, Figure 1A) から採集された。すなわち、兵庫県の千種川河口 (Chigusa River, Site 1), 岡山県の錦海湾 (Kinkai Bay, Site 2) と児島湾 (Kojima Bay, Site 3), および吉井川河口 (Yoshi-i River, Site 4) と高梁川河口 (Takahashi River, Site 5), ならびに笠岡湾の湾奥部 (Kasaoka Inlet-1, Site 6) と湾開口部 (Kasaoka Inlet-2, Site 7), 広島県の佐方川河口 (Sakata River, Site 8) と山口県の山口湾 (Yamaguchi Bay, Site 9) の個体群から採集された。各々の地点において採集が行われた年月は、Table 1 に示された通りである。なお、笠岡湾においては、湾奥部と湾開口部の2ヶ所に加えて、4つの地点 (Site a-d, Figure 1B) においても採集が試みられた。しかしながら、Site a-d の干潟には、軟泥 (泥分 90%以上) が厚く体積しており、底質表面と底質中にアナジャコの巣穴の開口や痕跡などは全く見られなかった。また、アナジャコ個体は全く採集されなかった。9つの個体群 (Site 1-9) において、採集は、アナジャコの巣穴密度が比較的高い潮間帯の低部と中部で行われた。干潟底質を 50-70cm ほどの深さまでシャベルで掘り、掘削中に視認された個体は直ちに素手で採集された。底質断面から侵出した海水中にいる個体は、金属製のザル (直径約 40cm, 目開き 2mm) によって採集された。Site 1-8 において採集された個体は、現地の海水を満たしたフタ付き容器 (20L) に収容され、研究室に持ち帰られた。この際、個体を収容した容器には、移送中の個体同士の闘争を防ぐ目的で、現地で採取された少量の底質または海藻が入れられた。ほとんどの個体は、後述の実験に使用されるまで、メディカルフリーザ (-30℃) に保管された。ただし、Site 6 と Site 7 で採集されたオスの形態異常個体 (後述) のうち数個体は、脱皮後の形態的な変化を調べる目的で、一時的に飼育環境下に置かれた。飼育は、海水を満たした容器 (1.5L) に個別に個体を入れ、室温で 12 時間の明暗サイクル下で行われた。Site 9 で採集された個体は、採集直後に 70% アルコールで固定され、数個体～数十個体ごと

にフタ付きの容器 (500mL) にまとめられ、液浸標本として研究室に持ち帰られた。

2.2 性別と形態異常の判定および形態異常個体の出現頻度

予備的な調査によって発見された形態異常個体は、第1腹節に異常を持っていたことから、第1腹節以外の雌雄で明確に異なる形態によって個体の性別が判定された。通常のオスの鉗脚指節は、外側縁に十数個のコブが並び、内側には3本の稜線が走る。一方、通常のメスの鉗脚指節は、外側と内側の両方とも滑らかである。生殖孔は、通常のオスでは左右の第5歩脚基節 (coxa) にそれぞれ1つずつ開口するが、通常のメスでは左右の第3歩脚基節に1つずつ開口する。性別の判定は、鉗脚指節の形態と生殖孔開口位置の観察によってなされた。次に、第1腹節の観察に基づき、正常個体と形態異常個体とに分けられた。通常のオスは、第1腹節の付属肢を欠くのに対し (Figure 2A)、通常のメスは1対の付属肢 (第1腹肢) を有する (Figure 3A)。オスとして判定された個体のうち、第1腹肢を欠く個体を正常なオス個体、第1腹肢が発現した個体を形態異常のオス個体として判定した。オスの形態異常個体は、さらに、発現した第1腹肢の形態と配置に基づき、形態異常の型が分類された。第1腹肢の形態は、主として節の数や各々の節の形状あるいは担卵毛の有無などの特徴から、最も類似する付属肢 (e.g. メスの第1腹肢, Figure 3A) が調べられた。第1腹肢の配置は、第1腹肢の発現が左右のどちらか、または両方 (1対) であるかどうかに基づいて調べられた。メスとして判定された個体のうち、1対の第1腹肢を有し、且つその形態が正常なメスと同等 (Figure 3A) である個体を、正常なメス個体として判定した。不完全な形態の第1腹肢を有する場合、および第1腹肢をその基部から完全に欠く個体は、形態異常のメス個体として判定された。メスの形態異常個体は、さらに、第1腹肢の形態と配置に基づき、形態異常の型が分類された。メスとして判定された個体は、形態異常の判定とは別に、担卵毛と抱卵の有無および第1~第4腹肢の胚の付着 (第5腹肢には胚は付着しない) 状況が調べられた。

9つのアナジャコ個体群において、オスとメスそれぞれにおける形態異常個体の数が計数された。出現率は、各個体群で採集された同一性別の全個体数に占める形態異常個体の数として算出された。

2.3 度数分布と相対成長

頭胸部長 (carapace length) と腹部長 (abdomen length), および鉗脚前節幅 (propodus width) が計測された。頭胸部長は、額角先端から頭胸部後端までの距離として計測され、アナジャコの体サイズを表す代表値として使用された。腹部長は、体長(額角先端から尾節後端までの距離)から頭胸部長を差し引くことで算出された。鉗脚前節幅は、前節の最も幅広い部分の距離として計測された。全ての計測は、ノギス(最小目盛0.1mm)によって行われた。

形態異常が雄性先熟または雌性先熟の過程である場合は、形態異常個体の頭胸部長の範囲は、正常個体のそれに対して中央値付近に偏ることが期待される。オスとメスそれぞれにおいて、正常個体と形態異常個体の頭胸部長の度数分布が調べられた。アナジャコ類の腹部長と鉗脚前節幅の頭胸部長に対する相対成長は、しばしば雌雄二形の2次性徴として特徴付けられてる。すなわち、個体発生に伴い、オスの鉗脚前節はメスよりも顕著に幅広くなり、メスの腹部はオスよりも長くなる。この傾向は、いくつかの成長段階に分けられる腹部長と鉗脚前節幅の相対成長において、成長段階を経るごとに大きくなる (e.g. Felder and Lovett, 1989; Nates and Felder, 1999)。鉗脚と腹部に見られる雌雄二形は、繁殖における適応であると考えられている。すなわち、オスの大きい鉗脚はメスをめぐる闘争の結果であり、長い腹部はより多くの胚を産卵し抱卵するためであると考えられている (e.g. Labadie and Palmer, 1996; Pinn et al., 2001)。形態異常が雄性先熟または雌性先熟の過程である場合は、元の性別から他の性別への転換に合致する2次性徴の変化が期待される。正常個体の腹部長と鉗脚前節幅の頭胸部長に対する相対成長が調べられ、形態異常個体のそれぞれの計測値と比較され

た。相対成長における成長段階は、Eberhard et al. (2000)の方法を相対成長に応用することによって調べられた。すなわち、まず次式によって相対成長段階を分ける変移点が存在する可能性が調べられた。

$$\log_e Y = \alpha_0 + \alpha_1 \log_e X + \alpha_2 \log_e X^2 + \epsilon \quad (1)$$

ここで、Yは腹部長または鉗脚前節幅の計測値、Xは頭胸部長、 α_i は回帰係数、 ϵ は正常変動で平均がゼロの一般分散を仮定したランダム成分(誤差分布)である。もし、 α_2 がゼロと有意に異なる場合、その相対成長において変移点が存在すると判断された。次に、次式によって、相対成長上の変移点が調べられた。

$$Y = a_1 + b_1 X + M[a_2 + a_1(b_1 + b_2)X] \quad (2)$$

ここで、YとXは前述の式と同じであり、MはX(またはY)が変移点よりも小さい場合はゼロ、大きい場合は1とするダミー変数、 a_i と b_i は回帰係数である。変移点と変移点を持つ軸(XまたはY)は、 a_2 と b_2 がゼロと有意に異なること、および最大の R^2 値に基づいて決定された。変移点を境界とする各相対成長段階において、さらなる変移点が存在するかどうか調べられた。さらなる変移点が存在する場合は、同じ方法によって決定された。なお、変移点とさらなる変移点の差が1mm以下であった場合は、さらなる変移点の存在は無視された。相対成長段階が(X軸、Y軸のどちらの場合であっても)1mm以下で変移するとは考えにくいからである。形態異常個体の腹部長または鉗脚前節幅は、重回帰直線の95%予測区間(prediction interval)を用いて、正常個体の相対成長からの逸脱が調べられた。最後に、オスメスの鉗脚前節幅と腹部長の相対成長を比較することで、それぞれの性別の2次性徴が現れる成長段階が調べられた。なお、相対成長の解析には、外部寄生生物に寄生された個体(後述)は使用されなかった。また、この解析には笠岡湾開口部の個体群から採集された個体のみが使用された。

2.4 精巣の相対成長

精巣は、解剖によって慎重に摘出され、真の精巣 (testis proper) と卵巣様部分 (ovarial part of testis) が別々に電子上皿天秤 (最小目盛 0.1mg) によって計量された。オスの形態異常が雄性先熟の過程である場合は、真の精巣と卵巣様部分の発達は、両方ともに正常のオスとは異なることが期待される。精巣の頭胸部長に対する相対成長が調べられた。また、精巣の発達段階 (成長段階) が性成熟の指標として調べられた。相対成長における成長段階は、上述の方法によって調べられた。なお、精巣の重量 (mg) に対する相対成長であるので、X 軸には頭胸部長 (mm) を 3 乗した値が使用された。また、この解析には、外部寄生生物に寄生された個体 (後述) は使用されなかった。なお、この解析には笠岡湾開口部の個体群から採集された個体のうち、個体群中に抱卵したメス個体が見られる時季の直前 (10 月下旬~12 月上旬) に採集されたオス個体のみ使用された。個体数が解析には不十分であったので、これらに加えて、2008 年 12 月に同じ個体群から採集されたオス個体 (21 個体) が使用された。

2.5 腹節表皮の傷と寄生の有無

通常個体の第 1 腹節の腹側は、透明で滑らかな表皮に覆われている。しかしながら、この部分に傷を持つ個体はいくつか見つかった。この傷は、表面が荒く黒色で通常の表皮と明確に区別可能である。第 1 腹節の表皮に傷を持った個体の数と傷の形状や程度が調べられた。アナジャコは、いくつかの種類の外部寄生生物の宿主であることが知られている (e.g. Itani, 2004)。これらの外部寄生生物は主としてアナジャコの頭胸部腹側や鰓室、または腹部腹側の第 1 腹節付近に寄生することが知られている。これら 3 つ体部位の観察により、外部寄生生物の有無が調べられた。アナジャコの形態異常が、外部寄生生物によって引き起こされるとすれば、形態異常個体の出現頻度と寄生率との間に関連があると期待される。アナジャ

コが採集された9つの個体群それぞれにおいて、外部寄生生物の種類と寄生された個体数、および寄生率が調べられた。

3 結果

3.1 形態異常のオス

オスの形態異常は、発現した第1腹肢の形態と配置に基づき、4つの型(M-1～M-4型)に分類された(Figure 2B-E)。第1腹節の左右どちらか一方に付属肢が発現したオス個体は、M-1型として分類された(Figure 2B)。第1腹節に1対の付属肢が発現したオス個体は、M-2型として分類された(Figure 2C)。M-1型とM-2型に発現した付属肢は、基部と中央部および先端部の3つの節から成り、全体の形態は通常のメスの第1腹肢と類似していた。繁殖時季(冬季, 12月下旬～4月上旬)において採集されたM-1型とM-2型個体の付属肢に、担卵毛は見られなかった。M-1型の第1腹節に発現した付属肢は、脱皮後もそのままの形態を保った状態で残っていた(Figure 2F)。一方、M-3型に分類された個体は、第1腹節の左右どちらか一方に付属肢が発現していた。M-3型の付属肢は、M-1型とM-2型の付属肢(Figure 2B-C)とは明らかに異なる形態であった。すなわち、5つの節から成り、その形態は通常の個体の第5歩脚に類似していた。ただし、通常の歩脚の基部である座節に相当する部位は見られなかった(Figure 2D)。M-4型に分類された個体は、第1腹節に1対の付属肢が発現していた。M-4型の付属肢は、左側が通常個体の第2～第5腹肢に類似した形態であり、右側が通常のメスの第1腹肢に類似した形態であった。M-1～M-4型に分類された個体は、体サイズの大小にかかわらず一貫して、正常なオスと同じ鉗脚指節形態と生殖孔開口位置(第5歩脚基節)を示した。ただし、笠岡湾開口部で採集されたM-1型個体のうちの1個体は、左側の生殖孔が見られなかった(Table 2)。また、吉井川河口で採集された通常個体のうちの1個体は、通常のオスの生殖孔に加え、左側にのみメスの生殖孔(第3歩脚基節に開口する)が見られた(Table 2)。形態異常として判定された全てのオス(M-1～M-4型)において、および当然ながら正常オスにおいても、抱卵個体は見られなかった。

各個体群における正常なオスの個体数と形態異常個体の個体数および出現頻度、ならびに

M-1～M-4 型それぞれの個体数が Table 2 にまとめられた。最も個体数の多い形態異常の型は、M-2 型 (オス 1723 個体中 30 個体) であり、ついで M-1 型 (同 23 個体) であった。M-3 型と M-4 型は、それぞれ笠岡湾開口部と山口湾 (3 個体と 1 個体)、山口湾 (1 個体) の個体群のみで見られ、それらの個体数は非常に少なかった (同 5 個体, Table 2)。オスの形態異常個体の出現頻度は、笠岡湾奥部と開口部 (Sites 6 and 7) の個体群において、それぞれ 11.5% と 6.6% であり、他の個体群 (0.0-3.4%) に比べて有意に高かった (*G*-test of subsets, $P < 0.05$; Sokal and Rohlf, 1995)。

3.2 形態異常のメス

メスの形態異常は、5 つの型 (F-1～F-5 型) に分類された。F-1 型に分類された個体の第 1 腹肢は、通常のメスに比べて、短く不完全な形態であった (Figure 3B)。F-2 型の第 1 腹肢は、左右どちらか一方が欠如していた (Figure 3C)。F-3 型の第 1 腹肢は、左右両方とも欠如していた (Figure 3D)。F-2 型と F-3 型の第 1 腹節には、付属肢が何らかの原因で欠損した場合に見られるような傷跡 (または付属肢の基部) が見られなかった。F-4 型の第 1 腹肢は、一方が通常個体の第 5 歩脚に類似した形態であり、他方は欠如していた (Figure 3E)。ただし、通常の歩脚の座節に相当する明瞭な節は見られなかった。F-5 型の第 1 腹肢は、左右ともに通常個体の第 2～第 5 腹肢と類似した形態であった (Figure 3F)。F-1～F-4 型に分類された個体は、体サイズの大小にかかわらず一貫して、通常のメスと同じ鉗脚指節形態と生殖孔開口位置 (第 3 歩脚基節) を示した。F-5 型に分類された個体は、通常のメスの生殖孔に加え、通常のオスとメスのどちらの開口位置でもない、第 4 歩脚の基節に 1 対の生殖孔が開口していた。また、千種川河口 (Site 1) で採集された通常個体のうち 2 個体は、通常のメスの生殖孔に加え、左側にのみオスの生殖孔 (第 5 歩脚基節に開口する) が見られた。F-1 型と F-3 型のうち、それぞれ 1 個体と 3 個体は抱卵メスであった。これらの抱卵メスは、卵 (胚) を付着さ

せるのに十分な第1腹肢がないため、第1腹節に卵は見られなかった。F-4型の個体は、抱卵メスであった。この抱卵メスは、第2～第4腹肢には多数の卵が付着していたものの、第5歩脚に類似した形態の第1腹肢には担卵毛はなく、1つの卵も付着していなかった。笠岡湾開口部 (Site 7) で採集された個体のうち、腹肢に担卵毛を有する正常なメス個体は、頭胸部長 28.0mm 以上であり、かつ 11 月末から繁殖時季 (12 月下旬～4 月上旬) の終わりまでの期間しか発見されなかった。

各個体群における正常なメスの個体数と形態異常個体の個体数および出現頻度、ならびに F-1～F-5 型それぞれの個体数が Table 3 にまとめられた。最も個体数の多い形態異常の型は、F-3 型 (メス 1349 個体中 15 個体) であり、ついで F-2 型 (同 9 個体) と F-1 型 (同 6 個体) であった。F-4 型は錦海湾 (Site 2) でのみ、F-5 型は吉井川河口 (Site 4) でのみ見られ、それらの個体数は非常に少なかった (同 2 個体, Table 3)。メスの形態異常個体の出現頻度は、笠岡湾奥部と開口部 (Sites 6 and 7) の個体群において、それぞれ 18.0% と 6.2% であり、他の個体群 (0.0-4.2%) に比べて有意に高かった (*G*-test of subsets, $P < 0.05$; Sokal and Rohlf, 1995)。

3.3 度数分布と相対成長

オスの形態異常個体 (M-1～M-3 型) の頭胸部長範囲は、通常のオスに比べて大きい方に偏っていた (Figure 4; Kolmogorv-Smirnov two-sample test, $D=0.37$, $P < 0.05$)。すなわち、通常のオスの頭胸部長範囲は 5.9-37.7mm であったのに対し、形態異常個体は 19.5-38.1mm であった。M-1 型と M-2 型の頭胸部長範囲は、重複していた (それぞれ 21.2-38.1mm と 19.5-36.9mm)。また、M-3 型の頭胸部長範囲は M-1 型と M-2 型に比べて、大きい方に偏っていた (32.3-32.9mm)。一方、メスの形態異常個体 (F-1 型～F-3 型) の頭胸部長範囲は、通常のメスに対して偏りはなかった (Figure 4; Kolmogorv-Smirnov two-sample test, $D=0.20$, $P=0.46$)。すなわち、通常のメスの頭胸部長範囲は 8.0-34.8mm であったのに対し、形態異常個体は 8.5-

32.9mmであった。F-1型とF-2型およびF-3型の頭胸部長範囲は、それぞれ重複しており (Figure 4), 相対成長上に形態異常の型のいかなる順序も見出すことができなかった。

オスの鉗脚前節幅 (propodus width) の頭胸部長に対する相対成長は、3つの成長段階に区別された (Figure 5)。変移点は鉗脚前節幅 6.8mm (P for $\alpha_2 < 0.05$) と 3.6mm (P for $\alpha_2 < 0.05$) にあり、それぞれの回帰係数 (a_1 と b_1 , および a_2 と b_2) は、-1.31 と 0.27 および -2.49 と 0.12, -0.57 と 0.21 および -0.87 と 0.06 であった。形態異常個体 (M-1~M-3型) の鉗脚前節幅は、すべて 95% 予測区間の範囲にあり、正常なオスの相対成長と有意な差異は見られなかった。しかしながら、形態異常個体 (M-1~M-3型) は、第2と第3の成長段階にのみ見られ、第1の成長段階には見られなかった (Figure 5)。一方、メスの鉗脚前節幅の相対成長は、2つの成長段階に区別された (Figure 5)。変移点は鉗脚前節幅 6.2mm (P for $\alpha_2 < 0.05$) にあり、回帰係数 (a_1 と b_1 , および a_2 と b_2) は、-0.52 と 0.21 および 4.84 と -0.14 であった。形態異常個体 (F-1~F-3型) の鉗脚前節幅は、すべて 95% 予測区間の範囲にあり、正常なメスの相対成長と有意な差異は見られなかった。しかし、形態異常個体 (F-1~F-3型) は、第1の成長段階にのみ見られ、第2の成長段階には見られなかった (Figure 5)。

オスの腹部長 (abdomen length) の頭胸部長に対する相対成長は、2つの成長段階に区別された (Figure 6)。変移点は、腹部長 72.0mm (P for $\alpha_2 < 0.05$) にあり、回帰係数 (a_1 と b_1 , および a_2 と b_2) は、-1.80 と 2.05 および 46.58 と -1.21 であった。形態異常個体 (M-1~M-3型) の腹部長は、すべて 95% 予測区間の範囲にあり、正常なオスの相対成長と有意な差異は見られなかった。また、形態異常の個体は、2つの成長段階の両方に見られた。一方、メスの腹部長の相対成長は、2つの成長段階に区別された (Figure 6)。変移点は、腹部長 50.8mm (P for $\alpha_2 < 0.05$) にあり、回帰係数 (a_1 と b_1 , および a_2 と b_2) は、-1.23 と 2.07 および -7.26 と 0.44 であった。形態異常個体 (F-1~F-3型) の腹部長は、すべて 95% 予測区間の範囲にあり、正常なメスの相対成長と有意な差異は見られなかった。また、形態異常個体は、2つの成長段階の両方に見られた (Figure 6)。

オスメスの鉗脚前節幅と腹部長の相対成長の比較を、Figure 7に示した。オスの鉗脚前節幅の相対成長は、第1の成長段階ではメスと差異は見られなかった。第2の成長段階では、オスの鉗脚前節幅は、移行の直後からメスとの差異が見られ、その程度は徐々に大きくなった。第3の成長段階では、鉗脚前節幅はオスとメスとで顕著な差異が見られた。これは、オス鉗脚の2次性徴が、第2の成長段階へ移行した後に現れることを示している。一方、メスの腹部長の相対成長は、第1の成長段階ではオスとの差異は見られなかった。第2の成長段階では、メスの腹部長は、移行の直後からオスとの差異が見られた。これは、メス腹部の2次性徴が、第2の成長段階へ移行した後に現れることを示している。

3.4 精巣の相対成長

卵巣様精巣部分 (ovarial part of testis) の頭胸部長に対する相対成長は、成長段階として区別されなかった (P for $\alpha_2=0.61$, Figure 8)。頭胸部長の増加に伴い、卵巣様精巣部分の重量も増加する傾向が見られたものの、頭胸部長 32.0mm より大きい範囲では、重量の範囲が非常に広がった (30.0-423.0mg)。形態異常個体の卵巣様精巣部分の重量は、正常なオスと明確な差異は見られなかった。これは、形態異常個体の卵巣様精巣部分の発達に、正常なオスの場合と同様であることを示している。一方、真の精巣 (testis proper) の相対成長は、2つの成長段階に区別された (Figure 8)。変移点は真の精巣 18.0mg (P for $\alpha_2 < 0.05$) にあり、回帰係数 (a_1 と b_1 , および a_2 と b_2) は、0.38 と 4.14×10^{-4} および -23.9 と 8.24×10^{-4} であった。形態異常個体 (M-1 型と M-2 型) の真の精巣重量は、すべて 95% 予測区間の範囲にあり、正常なオスの相対成長と有意な差異は見られなかった。また、形態異常個体は、2つの成長段階の両方に見られた。これは、形態異常個体の真の精巣部分の発達に、正常なオスの場合と同様であることを示している。以上の結果は、精巣の発達が、形態異常個体 (M-1 型と M-2 型) と正常なオスとで同様であることを示している。

3.5 腹節表皮の傷と寄生の有無

第1腹節の腹側表皮に見られた傷の形状は、傷の程度が小さい場合には、小さな1つの黒い点状または、それが複数集まり合ったように見えた。また、表皮のごく表面のみが傷ついているように見えた (e.g. Figures 2Ga and 3Gb-Gd)。一方、傷の程度が大きい場合には、傷の形状は、大きな黒い円状または第1腹節全体を覆うように広がっていた。この場合、表皮のより深い部分まで傷ついているように見えた (e.g. Figures 2Gb-Gc, 3Gb and 3Ge-Gf)。第1腹肢表皮に傷を持つ抱卵メスのうち、形態異常 (F-1~F-5 型) でない個体 (1 個体) の第1腹節には、基部のわずかな部分を除き、ほとんど卵が付着していなかった (Figure 3Ga)。これは、通常の抱卵メスの第1腹肢に付着する卵の数と比べると、顕著に少ないように見えた。第1腹節に黒色の傷を持った個体は、児島湾 (Site 3; 309 個体中 2 個体) と高梁川河口 (Site 5; 430 個体中 1 個体)、および笠岡湾の湾奥部と開口部 (Sites 6 and 7; それぞれ 146 個体中 8 個体と 900 個体中 15 個体)、ならびに山口湾 (Site 9, 271 個体中 3 個体) の個体群から採集された (Tables 2 and 3)。メスの形態異常個体のうち、笠岡湾の湾奥部と開口部 (Sites 6 and 7) から採集された個体の多くは、第1腹節の表皮に傷が見られた (それぞれ、8 個体中 5 個体と 20 個体中 3 個体, Table 3)。

アナジャコの体表から、9 種類の寄生生物が見つかった (Table 4)。すなわち、頭胸部腹側に寄生性の二枚貝 (*Peregrinamor oshimai*)、第1腹節にフクロムシ類 (*Rhizocephalan barnacle*) と寄生性のカニ類 (*Sestrostoma* sp.)、鰓室にエビヤドリムシ類 (少なくとも 2 種類; *Gyge ovalis* と *Procepon insolitum*) の寄生が見られた。最も多く発見された寄生生物は、エビヤドリムシ類 (3130 個体中 340 個体) であり、次いで寄生性の二枚貝 (同 116 個体)。これら 2 つの寄生生物は 1 個体の宿主に同時に寄生していた場合もあった (同 3 個体)。フクロムシ類と寄生性のカニ類は、非常に少なかった (同 3 個体ずつ)。エビヤドリムシ類の寄生率は、笠岡湾開口部で極めて高く (Site 7, 24.7%)、他の 8 つの個体群 (3.3-11.2%) よりも有意に高かった (G-test

of subsets, $P < 0.05$; Sokal and Rohlf, 1995).

4 議論

正常なアナジャコの第1腹節には、明確な雌雄二形が見られる。正常なオス個体は、第1腹節の付属肢を欠くのに対し、正常なメス個体は第1腹肢を有する (Oka, 1941)。しかしながら、瀬戸内海の個体群において、第1腹節の雌雄二形に発現異常が見られるオス個体とメス個体が発見された。すなわち、第1腹節に付属肢を持つオス個体と、第1腹肢を欠くメス個体である。これらの形態異常個体は、第1腹節の付属肢(第1腹肢)の発現または欠如の状態、および付属肢の形態に基づき、オスでは4つの型(M-1~M-4型)に、メスでは5つの型(F-1~F-5型)に分類された (Figures 2 and 3)。また、各個体群中の形態異常個体の出現頻度は有意に異なり、笠岡湾の2つの個体群では非常に高かった (Tables 2 and 3)。

形態異常個体の高い出現頻度は、性転換が形態異常を引き起こす潜在的な原因である可能性を暗示している (Rudolph et al., 2001; de Almeida and Buckup, 2000)。この場合、アナジャコに見られた形態異常個体は、通常の性転換過程のいずれかの段階にある間性個体であると解釈される。また、性転換の進行程度の違いが、いくつかの型の形態異常として分類されたと説明されるだろう。例えば、Rudolph (2002) は、チリ共和国に生息するザリガニ (*Samastacus spinifrons*) の間性個体の出現頻度は、いくつかの個体群において非常に高いことを報告している (最大で12.5%)。これらの間性個体は、オスとメスの生殖孔を有し、その発現パターンから6つの型に分類される。しかし、全ての間性個体が両性の生殖輸管 (i.e. 輸精管と輸卵管) を有することから、性転換過程にある個体であると推測されている。間性は、体の大部分がオスの性徴を示すオス間性 (male intersex) とその逆のメス間性 (female intersex) とに区別される。性転換過程にある間性個体であれば、前者はオスからメスへと性転換する雄性先熟であり、後者はその逆である雌性先熟であると期待される。これらの場合、性転換過程の進行に伴い、雌雄二形の構造に元の性別にはない性徴が段階的に発現することが期待される。例えば、雄性先熟のモエビ (*Chorismus antarcticus*) では、生殖孔の開口程度は3つ

の段階に区別され、性転換の進行過程に応じた開口程度の生殖孔を持つ (e.g. . 性転換過程であれば、開口したオスの生殖孔と中程度に開口したメスの生殖孔を持つ; Mascetti et al., 1997)。他の種類の雄性先熟のモエビ (*Lysmata wurdemanni*) においては、生殖腺の発達程度とオスの外部生殖器 (i.e. appendix masculina) に性転換の進行過程に応じた盛衰が見られる (i.e. 精巣の萎縮と卵巣の発達, およびオスの外部生殖器の萎縮; Bauer and Holt, 1998)。一方、性転換過程の後半にある間性個体 (i.e. 大きな体長の個体) は、転換後の性としての機能が発現すると期待される (Boddeke et al., 1991; Bauer and Holt, 1998)。この場合、それぞれの性機能に有利な雌雄二形の外的な構造の発現と発達が見られるかもしれない。例えば、十脚甲殻類 (Decapoda) において、大きな鉗脚や幅広い腹部は、オスとメスそれぞれの繁殖における適応的な形質であると考えられている。すなわち、オスの大きな鉗脚はオス同士の闘争において有利であり、メスの幅広い腹部はより多くの胚を抱卵する上で有利であると考えられている (Hartnoll, 1978, 1982; Mariappan et al., 2000)。2次性徴としての鉗脚や腹部の雌雄二形性は、アナジャコ類 (Thalassinidea) においても知られており、これらの形態が適応的な形質を持っていると考えられている (Felder and Lovett, 1989; Nickell et al., 1998; Pinn et al., 2001)。

最初の議論の論点は、アナジャコのオスとメスに見られた形態異常が、それぞれオス間性とメス間性であるかについてである。オスとメスの形態異常個体が、それぞれ逆の性別としての機能を発現しているかどうかについても議論する。

4.1 オスとメスにおける形態異常の解釈

オスの4つの型 (M-1~M-4型) の形態異常個体のうち、M-1型とM-2型 (Figure 2B-C) は、正常なメスの性徴である第1腹肢が発現していた。これら2つの型の全ての個体は、鉗脚の形態と発達 (相対成長, Figure 5) および生殖開口位置が、正常なオスの性徴を示していた。

M-1型とM-2型の個体は、第1腹節だけにメスの性徴を有し、体の大部分がオスの性徴を示すオス間性 (male intersex) であると言える。鉗脚と精巢の発達 (Figures 4 and 7) の点から見て、第1腹節にメスの性徴を持つこと以外は、正常なオス個体として成長し、正常なオスとしての繁殖上の機能を有するようになると思われる。繁殖時季に採集されたM-1型とM-2型に、担卵毛と抱卵個体が見られなかったこと、および腹部にメスの2次性徴が発現しなかったことも (Figure 5)、正常なオスとして機能することを支持している。第1腹節以外の雌雄二形の形態が全てオスの性徴を示していること、またオスとしての繁殖上の機能を有すると思われることから、M-1型とM-2型のオス間性は、性転換 (雄性先熟) に起因するものではないと考えられる。M-3型の個体 (Figure 2D) は、第1腹節に付属肢が発現していた。付属肢の形態 (Figure 2D) は、正常なメスの第1腹肢 (Figure 3A) とは大きく異なるものの、第1腹節における付属肢の発現は、明らかにメス特異的な特徴 (i.e. 性徴) である。鉗脚指節の形態と生殖孔開口位置が正常なオスの性徴を示すことから、M-1型とM-2型と同じように、オス間性であると言える。また、M-3型の個体の鉗脚には、正常なオスと同様の2次性徴が発現していることから、正常なオスとして成長しているように思われる。このことから、M-3型も性転換 (雄性先熟) を原因に起因する間性ではないと言える。M-3型の個体は、M-1型とM-2型と同じ個体群から発見されていることから (Table 2)、オス間性個体 (e.g. M-1型) の付属肢にさらに形態異常が発現した個体と言えるかもしれない。また、第1腹節に付属肢を発現させる因子は、M-1~M-3型で共通するのかもしれない。興味深いことに、M-1~M-3型は、正常なオスの鉗脚に2次性徴の発現する頭胸部長19.5mmよりも大きい個体でのみ発見された (Figures 4 and 7)。M-1~M-3型の異常を引き起こす因子は、若い個体には影響を与えずに個体発生の特定の段階にのみ作用するか、ある程度の量が体内に蓄積された後、異常を引き起こすといった引き金のような性質を持っていると推測される。一方、M-4型 (Figure 2E) の個体においても、メスの性徴である第1腹節付属肢の発現が見られた。鉗脚指節の形態と生殖孔開口位置が正常なオスの性徴を示すことから、オス間性であると言える。M-3型と同

じように、オス間性個体 (e.g. M-2 型) に発現した付属肢にさらに形態異常が発現したオス間性個体と言えるかもしれない。しかしながら、1 個体のみしか発見されなかったことから、この個体の成長や繁殖上の機能については分からない。ただし、他のオス間性個体 (M-1～M-3 型) が、性転換に起因するとは考えられなかったことから、この M-4 型個体も性転換に起因する間性ではないと推測される。M-4 型は山口湾のみで発見されたことから (Table 2)、この型の異常を引き起こす因子は、M-1～M-3 型とは異なるのかもしれない。M-3 型と M-4 型において、第 1 腹節の付属肢に形態異常を引き起こす因子については後述する。

メスの 5 つの型 (F-1～F-5 型) の形態異常個体のうち、F-1 型と F-2 型 (Figure 3B-C) は、鉗脚の形態と生殖孔開口位置が、正常なメスの性徴を示していた。また、鉗脚にオスの 2 次性徴の発現はみられなかった (Figure 5)。すなわち、オスの性徴は何一つ発現していない。これらのことから、F-1 型と F-2 型は、間性ではないと言える。F-1 型に抱卵した個体が発見されたこと、および腹部の発達 (Figure 6) の点から見て、F-1 型と F-2 型は、正常なメスとして機能していると考えられる。ただし、F-1 型の抱卵個体の第 1 腹肢に胚が付着していなかったこと、また F-2 型の個体もその第 1 腹肢の状態から抱卵には適していないと予想されることから、繁殖能力は正常なメスに比べて著しく低いと考えられる。一方、F-3 型 (Figure 3D) は、左右両方の第 1 腹肢を欠き、その第 1 腹節は正常なオスと同じように見える (Figure 2A)。第 1 腹節以外の雌雄二形の構造 (i.e. 鉗脚の形態と生殖孔開口位置) は、正常なメスの性徴を示すことから、F-3 型は体の大部分がメスの性徴を持つ間性、すなわちメス間性 (female intersex) と言えるかもしれない。しかしながら、F-3 型の頭胸部長範囲は、正常なメスおよび F-1 型と F-2 型の個体と重複しており (Figure 4)、正常なメスが F-1 型または F-2 型を経て F-3 型に至るといった段階的な個体発生上の変化は見られなかった。また、鉗脚にオスの 2 次性徴の発現は見られなかった (Figure 5)。このことから、F-3 型が間性個体であるとしても、性転換 (雌性先熟) に起因したものではないと思われる。F-3 型に抱卵した個体が発見されたこと、および腹部に正常なメスの性徴が発現している (Figure 6) という点から見て、F-3

型は正常なメスとして機能していると考えられる。ただし、F-3型の繁殖力も、F-1型やF-2型と同じように、正常なメス比べて著しく低いと考えられる。F-1～F-3型の個体には、しばしば同時に第1腹節表皮に傷が見られた (Table 3)。このことから、F-1～F-3型の異常は、第1腹肢の偶発的な欠損とその再形成が原因かもしれない。一方、F-4型は、正常なメスと著しく異なる第1腹肢を持っていた (Figure 3E) もの、鉗脚形態と生殖孔開口位置は正常なメスと同じであった。オス性徴の発現が全く見られないことから、間性ではないと考えられる。さらに、F-4型個体は抱卵していたことから、繁殖力は低いものの、正常なメスとして機能していると考えられる。F-5型の鉗脚形態は、正常なメスと同じであったものの、その第1腹肢の形態と生殖孔開口位置は明らかな異常を示した。生殖孔は、正常なメスの生殖孔に加え、どちらの性徴にも当てはまらない第4歩脚基節に1対の生殖孔が発現していた。F-5型の個体は、オスとメスの両方の性徴を有する普通の間性とは明らかに異なると考えられる。F-4型とF-5型は、笠岡湾 (Sites 6 and 7; Figure 1B) の個体群中には見られなかったことから (Table 3), F-1～F-3型とは異なる原因によって引き起こされた形態異常であると思われる。

M-3型とM-4型 (Figure 2D-E) およびF-4型とF-5型 (Figure 3E-F) の第1腹節付属肢は、それぞれ前後の体節の付属肢に類似した形態を持っていた。これらの形態異常は、体節識別の改変を反映しているのかもしれない。すなわち、M-3型とF-4型では第1腹節から頭胸部後端の体節への改変、M-4型とF-5型では第1腹節からより後方の体節への改変である。節足動物における頭胸部後方と腹部前方の体節識別は、Hox遺伝子産物の機能によって決定される (Hughes and Kaufman, 2002)。M-3型とM-4型およびF-4型とF-5型の異常は、Hox遺伝子における突然変異か遺伝子産物の機能の部分的な攪乱に起因するのかもしれない。

4.2 オス間性とメスの形態異常を引き起こす因子

オス間性やメスの形態異常を引き起こすと考えられるもう1つの原因は、高濃度の汚染化学物質や寄生生物の高い寄生率のような特定の生息場所環境中や個体群中に存在する因子である (Fingerman et al., 1998; Ford et al., 2006; LeBlanc, 2007)。端脚類 (Amphipoda) において、環境中に存在する何らかの因子 (e.g. 汚染化学物質) が、間性を引き起こす原因であると報告されている (Gross et al., 2001; Ford et al., 2004; Jungman et al., 2004)。例えば、Jungman et al. (2004) は、高い出現頻度で間性のヨコエビ (*Gammarus fossarum*) が見られる生息場所に、間性個体の出現頻度が低い個体群から採集された個体を (現地の個体群とは隔離された状態で) 移植した。移植された個体の間性出現頻度は、移植されてからの時間とともに増加した。原因となる化学物質の種類は特定されなかったものの、間性を引き起こす原因は、個体を移植した生息場所の環境中に存在する因子であると結論されている。一方、端脚類 (Amphipoda) の間性は、メス親から子に垂直に伝播される微胞子虫 (microsporidia) の寄生によって引き起こされることが知られている (e.g. Kelly et al., 2004; Rodgers-Gray et al., 2004)。そのため、間性を引き起こす原因の解釈には、汚染化学物質だけでなく、寄生生物の影響とそれら両者の関係を考慮することが必要である (Ford et al., 2004; LeBlanc, 2007)。Ford et al. (2006) は、ヨコエビ (*Echinogammarus marinus*) の個体群における間性の出現頻度と微胞子虫による寄生率を調べた。工業排水由来の化学物質や重金属で汚染された生息場所において、寄生された間性個体が多く見つかった。しかし、汚染されていない場所では寄生された正常個体と間性個体はごく少数であった。寄生だけが間性を引き起こす原因ではなく、生息環境中の汚染化学物質のような別の因子が存在する可能性があると推測されている。

笠岡湾 (Sites 6 and 7; Figure 1B) のアナジャコ個体群におけるオス間性 (M-1~M-3 型, Figure 2B-D) とメスの形態異常 (F-1~F-3 型, Figure 3B-D) の高い出現頻度 (Tables 2 and 3) は、これらの異常が、笠岡湾の生息環境中に存在する何らかの因子によって引き起こされた

可能性を示している。ここでは、まず笠岡湾で発見された寄生生物とその寄生率に基づき、寄生がアナジャコにオス間性や形態異常を引き起こす可能性について議論する。次に、笠岡湾 (Sites 6 and 7) の生息環境中に存在する汚染化学物質に関する利用可能な情報 (Fukue et al., 2001, 2003) に基づき、汚染化学物質がアナジャコに異常を引き起こす可能性について議論する。

アナジャコ類 (Upogebiidae) において、第1腹肢を有するオス個体は、これまでに2種類について報告があるのみである (*U. Pusilla* = *U. littoralis*, Tucker, 1930; *U. stellata*, Tunberg, 1986)。しかしながら、エビヤドリムシ類 (Bopyridae) の寄生と、オスの宿主における第1腹肢の発現との関連が指摘されている。Tucker (1930) は、第1腹肢を有するのオス間性個体が普通に見られる *U. pusilla* の個体群において、エビヤドリムシ (*Gyge branchialis*) の寄生の有無と宿主の体長との関係を調べた。*U. pusilla* の正常なメスの個体発生において、第1腹肢は個体がある程度成長した後に発現する。間性オスの第1腹肢の発現は、メスにおいて第1腹肢が発現する体長よりも小さい体長のオス個体に、エビヤドリムシが寄生することによって引き起こされたものであると結論されている。笠岡湾の特に Site 7 (Figure 1B) のアナジャコ個体群は、他の生息場所よりも高い割合でエビヤドリムシ (Bopyridae の2種類) に寄生されていた (Table 4)。この個体群においては、頭胸部長約 5mm 以下の正常なメス個体には、第1腹肢は見られない (Nanri and Saigusa, unpublished data)。正常なメスの第1腹肢の発現は、個体が頭部長約 5mm よりも大きく成長した後に発現するものと思われる。若いアナジャコ個体に対する寄生率はオスとメス共に比較的大きいことから (Figure 4)、正常なメスにおいて第1腹肢が発現するよりも小さいオス個体 (i.e. 若いオス個体) へのエビヤドリムシの寄生率も比較的高いことが予想される。これらのことから、アナジャコのオス間性 (M-1 ~ M-3 型) は、*U. pusilla* の研究において結論されたように (Tucker, 1930)、若いオス個体へのエビヤドリムシの寄生によって引き起こされているのかもしれない。しかしながら、正常なメスに第1腹肢が発現する体長 (頭胸部長約 5mm) と、オス間性個体の第1腹節付属肢の

発現する体長(同 19.5mm)には大きな差がある。Kinoshita et al. (2003) による東京湾のアナジャコ個体群へのコホート解析結果が、笠岡湾の個体群にそのまま適用可能だとすれば、オス間性個体に第1腹節付属肢が発現するまでに、正常なメスに第1腹肢が発現する体長から起算して、最短でも約1年もの時間を要することになると予想される。さらに、オス間性個体(M-1~M-3型)の鉗脚の発達に、正常なオスとの違いは見られなかった(Figure 5)。これは、もしエビヤドリムシの寄生がオス間性を引き起こす引き金であったとしても、宿主は個体発生の早い段階で寄生から開放されていることを意味している。なぜなら、エビヤドリムシの寄生はオスの宿主の鉗脚に寄生性の去勢(parasitic castration, i.e. メスのように細く小さな鉗脚になる)を引き起こすからである(Tucker, 1930)。アナジャコにオス間性(M-1~M-3型)を引き起こす原因は、特定の個体発生段階(i.e. 若い個体)におけるエビヤドリムシの寄生開始だけではなく、例えば寄生からの開放に伴う刺激や、笠岡湾(Site 6, Figure 1B)の生息環境中に存在する別の因子が、別々にあるいは同時に関与している可能性がある。エビヤドリムシが宿主にオス間性を引き起こすメカニズムだけでなく、その生活史についても、さらなる研究が必要であろう。

一方、アナジャコにおいてメス個体の第1腹肢欠損が、寄生性のカニ類(Brachyura)によって引き起こされることが報告されている。Itani (2002) は、*Sestrostoma* sp.(=*Acmaeopleura* sp.)の行動を観察するため、アナジャコとともにその巣穴を模した水槽に入れ飼育を行った。水槽の中で、*Sestrostoma* sp. は、アナジャコの第1腹節腹側にしがみ付いた。このカニに寄生された宿主の第1腹肢は欠損し、第1腹節には傷跡が見られた。傷跡は、寄生されている時間とともに大きくなったことから、第1腹肢の欠損と第1腹節の傷跡は、寄生性のカニによる摂食が原因であると結論付けられている。さらに、*Sestrostoma* sp. と宿主であるアナジャコが採集された個体群(山口県の秋穂二島の干潟)からは、腹部に傷跡を持つ個体が12.9%(333個体中43個体)の割合で発見されている。野外から採集された個体の腹部傷跡は、飼育環境下において宿主に観察された傷跡と類似していた(Itani, 2002)。本研究におい

て、*Sestrostoma* sp. に寄生されたアナジャコが高梁川河口 (Site 5, Figure 1A) および、笠岡湾奥部と開口部 (Sites 6 and 7; Figure 1B) の個体群から発見されている (Table 4)。本種カニに寄生されたアナジャコ個体には、腹部に黒色の傷跡は見られなかったものの、アナジャコのメスの形態異常 (F-1~F-3 型, Figure 3B-D) は、寄生性のカニ (*Sestrostoma* sp.) によって引き起こされている可能性が高いと考えられる。ただし、寄生性のカニは高梁川河口 (Site 5) と笠岡湾奥部の個体群 (Site 6) で同程度の割合で見つまっていることから、笠岡湾の個体群において高い割合でメス個体に形態異常を引き起こす別の何らかの因子が存在する可能性についても考慮する必要があるだろう。

一方、笠岡湾 (Figure 1B) の干潟底質中からは重金属類や有機スズ化合物といった汚染化学物質が見つまっている (Fukue et al., 2001, 2003)。笠岡湾の 2 つのアナジャコ個体群 (Sites 6 and 7) 付近の干潟底質からは、分析が行われた 3 種類の重金属 (鉛と銅、および亜鉛; Table 5) と 2 種類の有機スズ化合物 (Tributyltin; TBT と Triphenyltin, TPT) の全てが検出されている。亜鉛と有機スズ化合物 (TBT と TPT) の濃度は非常に高く、笠岡湾奥部 (Site 6) と笠岡湾開口部 (Site 7) において、亜鉛が 100-149mg/Kg であり、有機スズ化合物が TBT で 5-28 μ g/Kg と TPT で 0.7-28 μ g/Kg の範囲にあると報告されている (Fukue et al., 2001, 2003; Tables 5 and 6)。十脚甲殻類 (Decapoda) において、亜鉛と有機スズ化合物 (TBT) は、脱皮の遅延や再生脚に形態異常を引き起こすことが知られている (e.g. Weis et al., 1992)。例えば、Weis (1980) は、いくつかの歩脚を切除したシオマネキ (*Uca pugilator*) を亜鉛 ($ZnCl_2$) を加えた海水中で飼育し、歩脚の再生速度を調べた。亜鉛の暴露は、脱皮の遅延を引き起こし、結果として歩脚の再生速度に遅延が見られた。亜鉛濃度が高いほど、遅延の程度は大きくなる傾向を示したものの、シオマネキの歩脚の再生遅延は、0.5ppm (0.5mg/L) においても観察されている。一方、TBT は脱皮の遅延だけでなく、再生脚に形態異常を引き起こすことが知られている (Weis et al., 1987; Weis and Kim, 1988)。Weis et al. (1987) は、TBT を加えた海水中でシオマネキ (*Uca pugilator*) を飼育し、脱皮の遅延程度と再生脚の形態を調べた。脱皮の遅延

程度と再生脚の形態異常は、TBT濃度0.5ppb (0.5 μ g/L) という非常に低い暴露濃度で引き起こされることを報告している。笠岡湾の2つの個体群 (Sites 6-7, Figure 1B) 付近の干潟底質には、亜鉛や有機スズ化合物が、シオマネキ (*Uca pugilator*) に脱皮遅延や再生脚の形態異常を引き起こす濃度よりも、極めて高い濃度で存在している (Fukue et al., 2001, 2003; Tables 5 and 6)。笠岡湾の2つの個体群 (Sites 6 and 7 ; Figure 1B) において高い出現頻度で見られたアナジャコのおス間性 (M-1~M-3型) とメスの形態異常 (F-1~F-3型) は (Tables 2 and 3), 亜鉛や有機スズ化合物と関連している可能性があるかもしれない。ただし、シオマネキ (*Uca pugilator*; Weis, 1980; Weis et al., 1987) の場合と笠岡湾で検出された重金属と有機スズ化合物の場合は、前者は水中濃度であるのに対し、後者は干潟底質中濃度である。重金属や有機スズ化合物による影響が現れる最低濃度の直接的な比較には、曝露経路や生物学的利用可能性 (bioavailability) を考慮する必要がある。

底質粒子に結合した重金属の利用可能性については、甲殻類 (Schlekat et al., 2000) や二枚貝類 (Griscom and Fisher, 2004) を含む多くの動物種において調べられている (Amiard, 1992)。これらの研究は、底質に結合した亜鉛が、底質粒子の摂食と消化を介して同化吸収されることを示している。一方、有機スズ化合物の利用可能性については、甲殻類における研究はほとんどないものの、二枚貝類において調べられている (Bhosle et al., 2004; Grag et al., 2009)。Grag et al. (2009) は、濾過物食者である二枚貝 (*Ruditapes philippinarum*) の水槽に、汚染された底質を入れ、28日間後に二枚貝の体組織中の有機スズ化合物濃度を調べた。汚染された底質を与えられた二枚貝の体組織中からは、対照区と比べ高い濃度の有機スズ化合物が検出された。曝露経路は不明であるものの、底質中の有機スズ化合物が同化吸収されることを示している。底質粒子の摂食を介した化学物質の同化吸収では、摂食される粒子の粒径範囲が、動物に同化吸収される化学物質の種類を決定する。Harkey et al. (1994) は、端脚類 (*Diporeia* spp.) の粒子摂食を介した疎水性の高い有機化学物質 (多環芳香族類やポリ塩化ビフェニル化合物) の同化吸収を調べた。より多く同化吸収される有機化学物質は、端脚

類が摂食する粒子の粒径特異的に結合する化学種であることが報告されている。有機スズ化合物は疎水性が高く、海水中では相対的に有機物量が豊富な細かい粒径 ($20\mu\text{m}$ 以下) の底質粒子 (有機と無機粒子) に速やかに結合する (Smedes and Nummerdor, 2003)。笠岡湾の2つの個体群 (Sites 6 and 7; Figure 1B) のアナジャコは、水中に懸濁する (おそらく再懸濁された粒子も含まれる) 平均粒径約 $8\text{--}15\ \mu\text{m}$ の底質粒子を摂食することが分かっている (Nanri and Saigusa, unpublished data)。笠岡湾 (Sites 6-7) のアナジャコが、底質中に高濃度で存在する亜鉛や有機スズ化合物 (Fukue et al., 2001, 2003; Tables 5 and 6) を同化吸収し、その影響を受ける可能性は非常に高いものと考えられる。

アナジャコに見られたオス間性 (M-1~M-3 型, Figure 2B-D) は、若いオス個体へのエビヤドリムシ (Bopyridae) の寄生によって引き起こされている可能性がある。しかしながら、先に議論されたように、特定の個体発生段階におけるエビヤドリムシの寄生開始だけが、オス間性を引き起こす原因ではないように思われる。笠岡湾底質中に高濃度で存在する亜鉛や有機スズ化合物が、オス間性を引き起こす因子の1つである可能性は少なくない。重金属や有機スズ化合物のような化学物質が、アナジャコの性分化に関する内分泌系に与える影響についてさらなる研究が必要だろう。この場合、エビヤドリムシの寄生と汚染化学物質の複合的な影響という視点が必要かもしれない。一方、メスの形態異常 (F-1~F-3 型) は、寄生性のカニ (*Sestrostoma* sp.) によって引き起こされている可能性が高い。しかし、笠岡湾の2つ個体群 (Sites 6 and 7; Figure 1B) における高い出現頻度は、別の因子が関連している可能性を示している。底質中に高濃度で存在する亜鉛や有機スズ化合物による傷の再生遅延が、アナジャコにおいても起きているのかもしれない。重金属類や有機スズ化合物がアナジャコに与える影響について、さらなる研究が必要であろう。

Table 1. Collection sites of *Upogebia major* from 2004 to 2009 in Seto-Inland Sea, Japan.

Site	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Site 1: Chigusa River	–	–	Oct.	Jan.	Apr.	–
Site 2: Kinkai Bay	Oct., Dec.	Jan.	–	–	–	–
Site 3: Kojima Bay	–	–	–	–	Mar., Apr.	Jan., Oct.
Site 4: Yoshi-i River	–	–	Feb.	–	–	–
Site 5: Takahashi River	–	Feb.	–	–	Oct., Dec.	Jan.
Site 6: Kasaoka Inlet-1	Jul., Oct.	Jan.	*	*	*	–
Site 7: Kasaoka Inlet-2	Oct., Nov.	Feb.	Apr., Jun., Sep. to Nov.†	Jun. to Dec.†	–	–
Site 8: Sakata River	–	–	Dec.	–	–	–
Site 9: Yamaguchi Bay	–	–	Nov.	–	–	–

–, no collection; *, population became locally extinct; †, collections were made every month within these periods.

Table 2. Number of males and males with morphological disorders for *Upogebia major* collected from nine sites in the Seto-Inland Sea.

Site	Male		Male with morphological disorder			
	N	% [‡]	M-1	M-2	M-3	M-4
Site 1: Chigusa River	428	— ^b	—	—	—	—
Site 2: Kinkai Bay	70	— ^b	—	—	—	—
Site 3: Kojima Bay	142 (2)	— ^b	—	—	—	—
Site 4: Yoshi-i River	41	— ^b	—	—	—	—
Site 5: Takahashi River	249 (1)	1.6 ^b	4	0	0	0
Site 6: Kasaoka Inlet-1	85 (3)	11.5 ^a	4	7	0	0
Site 7: Kasaoka Inlet-2	537 (9)	6.6 ^a	14 ^{G2, P1}	21 ^{P1}	3 ^{P1, P1+2}	0
Site 8: Sakata River	30	— ^b	—	—	—	—
Site 9: Yamaguchi Bay	141	3.4 ^b	1 ^{P1+2}	2 (1)	1 ^{P1+2}	1 ^{P2}

N, number of specimens; ^{G1}, one specimen had an additional gonopore on coxa of left 3rd pereopod; ^{G2}, one specimen lacked a gonopore on coxa of left 5th pereopod; ^{P1}, ^{P2} and ^{P1+2}, indicating that one specimen had been parasitized by bopyrid isopod, bivalve, and both of them, respectively; Parentheses, number of males possessing cuticular lesions; [‡]Group with different alphabets (a and b) are significantly different ($P < 0.05$) by G-test of subsets (Sokal and Rohlf, 1995).

Table 3. Number of females and females with morphological disorders for *Upogebia major* collected from nine sites in the Seto-Inland Sea.

Site	Female		Female with morphological disorder				
	N	% [‡]	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
Site 1: Chigusa River	419	— ^c	—	—	—	—	—
Site 2: Kinkai Bay	49	2.0 ^c	0	0	0	1	0
Site 3: Kojima Bay	167	— ^c	—	—	—	—	—
Site 4: Yoshi-i River	23	4.2 ^c	0	0	0	0	1 ^{G3}
Site 5: Takahashi River	177	— ^c	—	—	—	—	—
Site 6: Kasaoka Inlet-1	41	18.0 ^a	3 (2)	2 (1)	4 (2)	0	0
Site 7: Kasaoka Inlet-2	305 (3)	6.2 ^b	3 ^{P2}	7 ^{P2} (2 ^{P1} , P ²)	10 ^{P1} (1)	0	0
Site 8: Sakata River	12	— ^c	—	—	—	—	—
Site 9: Yamaguchi Bay	124 (1)	0.8 ^c	0	0	1 (1 ^{P2})	0	0

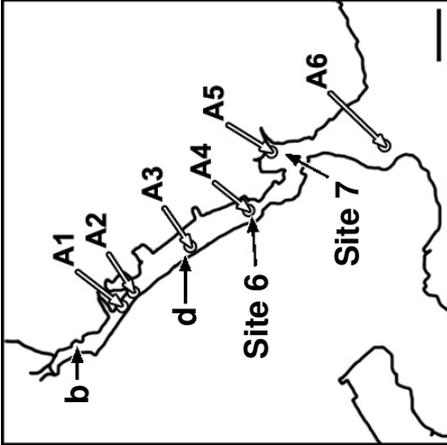
N, number of specimens; ^{G1}, two specimens had an additional gonopore on coxa of left 5th pereopod; ^{G3}, one specimen had an additional pair of gonopores on coxae of 4th pereopods; ^{P1} and ^{P2}, indicating that one specimen had been parasitized by bopyrid isopod and bivalve, respectively; Parentheses, number of females possessing cuticular lesions; [‡]Group with different alphabets (a, b and c) are significantly different ($P < 0.05$) by G-test of subsets (Sokal and Rohlf, 1995).

Table 4. Total number of specimens collected and specimens parasitized by bivalve, rhizocephalan barnacle, brachyuran decapod, or bopyrid isopod for *Upogebia major* from nine sites in Seto-Inland Sea. Incidences (%) for parasite of bopyrid isopods also shown.

Site	Total N of specimens collected	Parasitic animal				Bopyrid isopod* ³	N of host	% [‡]
		Bivalve* ¹	Rhizocephalan barnacle	Brachyuran decapod* ²				
		N of host	N of host	N of host	N of host			
Site 1: Chigusa River	847	9	0	0	28	3.3 ^c		
Site 2: Kinkai Bay	120	29	0	0	6	5.0 ^c		
Site 3: Kojima Bay	309	0	0	0	19	6.1 ^b		
Site 4: Yoshi-i River	65	0	0	0	0	— ^c		
Site 5: Takahashi River	430	4	0	1	48	11.2 ^b		
Site 6: Kasaoka Inlet-1	146	1	0	1	8	5.5 ^{bc}		
Site 7: Kasaoka Inlet-2	900	9 (1)	0	2	222 (1)	24.7 ^a		
Site 8: Sakata River	42	0	3	0	0	— ^c		
Site 9: Yamaguchi Bay	271	64 (2)	0	0	9 (2)	3.3 ^c		

N, number of specimens; *¹, *Peregrinamor oshimai*; *², *Sestrostoma* sp.; *³, including at least 2 species (*Gyge ovalis*, *Procepon insolitum*); Parentheses, indicating number of specimens which had been parasitized by both bopyrid isopod and bivalve; [‡]Group with different alphabets (a, b and c) are significantly different ($P < 0.05$) by G-test of subsets (Sokal and Rohlf, 1995).

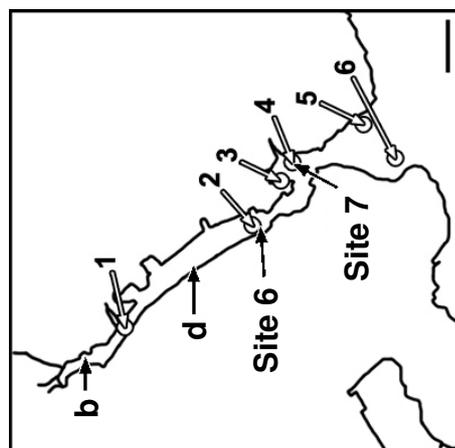
Table 5. Concentration of heavy metals contained in the surface layer of the sediment. (Data from Fukue et al., 2003)



Site	Heavy metals (mg/kg)		
	Pb	Cu	Zn
A2	95	34	208
A3	72	19	149
A4	44	32	100
A5	52	42	149
A6	60	46	192
Outside of the Kasaoka Inlet (Number of site)	48 ± 11 (8 sites)	46 ± 28 (20 sites)	241 ± 44 (10 sites)

A1-A6, sampling sites of Fukue et al. (2003); b, d, Site 6, and Site 7, study sites of this study.

Table 6. Concentration of organotin compounds contained in the surface layer of the sediment.
 (Data from Fukue et al., 2001)



Site	Organotin compounds ($\mu\text{g/Kg}$)	
	TBT	TPT
1	90	150
2	28	25
3	24	200
4	5	0.7
5	4	0.4
6	16	0.8
Outside of the Kasaoka Inlet (Number of site)	17 ± 5 (6 sites)	4 ± 3 (5 sites)

1-6, sampling sites of Fukue et al. (2001); b, d, Site 6, and Site 7, study sites of this study; TBT and TPT, Tributyltin and Triphenyltin respectively.

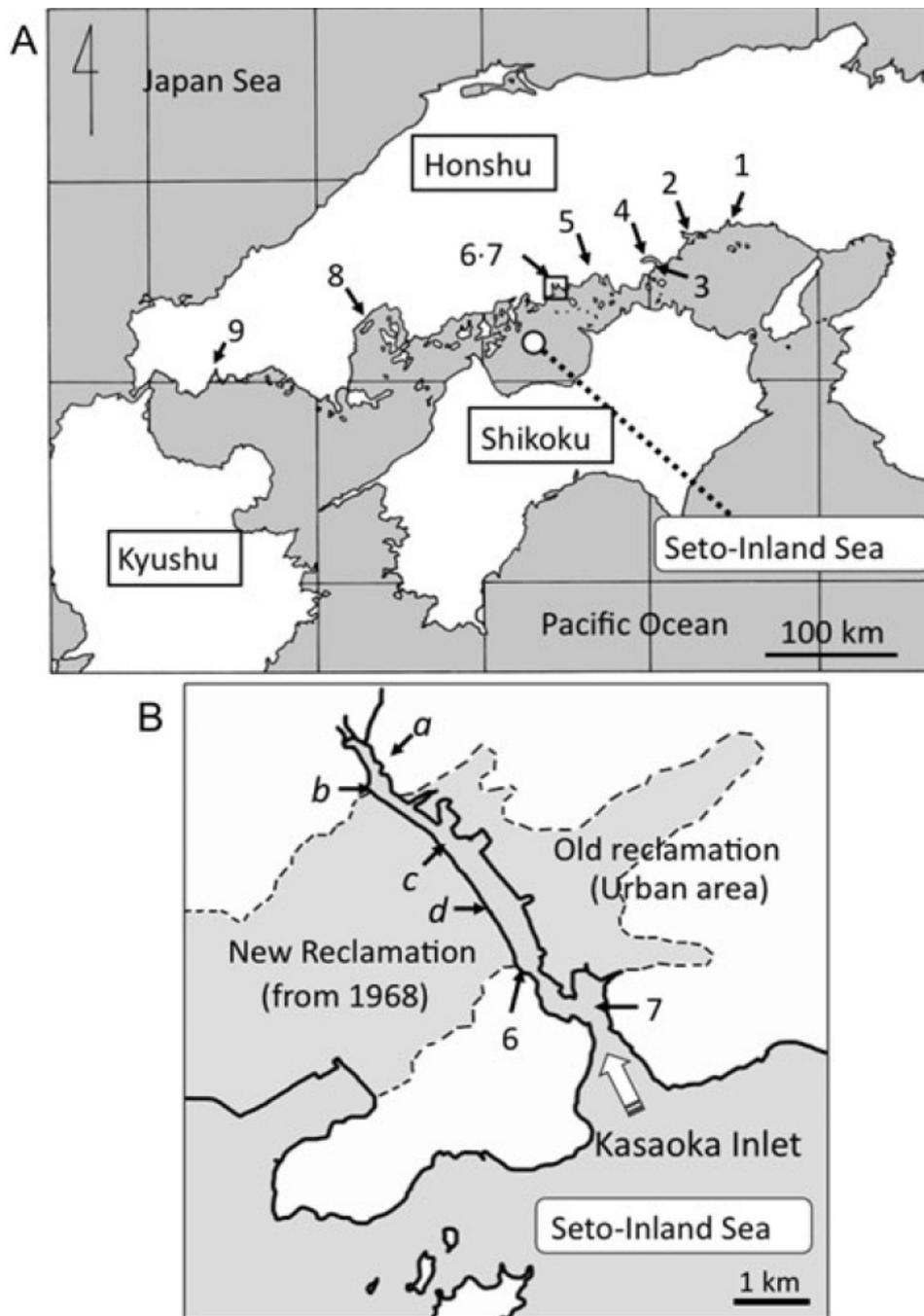


Figure 1: (A) Location of the nine sampling sites of *Upogebia major* in the Seto-Inland Sea, Japan (Sites 1-9); (B) sampling points in Kasaoka Inlet in detail (sites a-d, and 6-7). Most of the original mud tidal flat of Kasaoka Bay was lost by land reclamation started in 1968 (shown in grey color). Soft sediment thickly accumulated at Sites a-d, where no individuals were found.

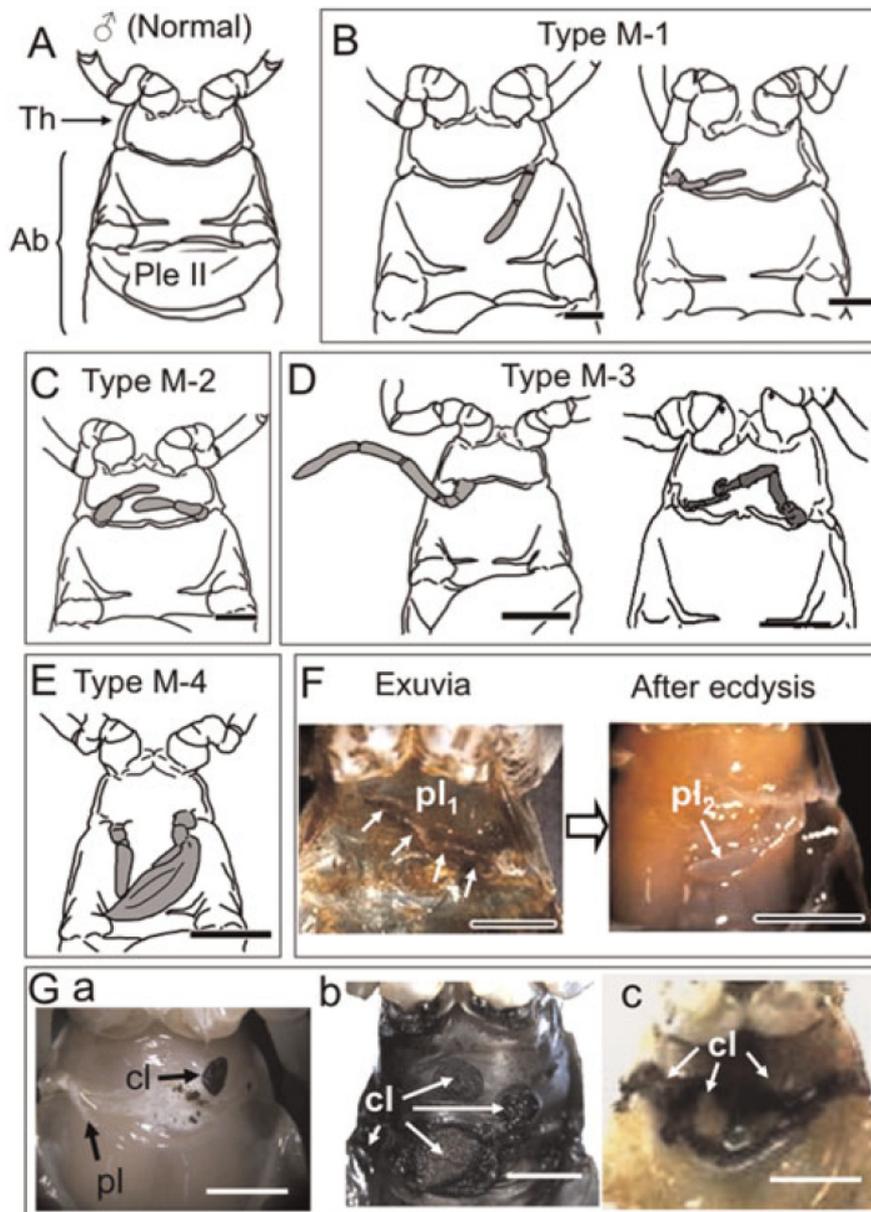


Figure 2: Type classification of morphological disorders in male of *Upogebia major*. (A) Normal male: Th, thorax; Ab, abdomen; Ple II, second pleopod; (B) Type M-1 males (two instances); (C) Type M-2 male. Appendages occurring on the first abdominal segment are drawn in grey color. Note that their morphology is similar to those normal females. (D) Type M-3 males (two instances); (E) Type M-4 males; (F) a pleopod remained after ecdysis. Left: exuvia of the right pleopod (Pl₁). Right: the pleopod (Pl₂) remained. (G) cuticular lesions (a-c) of the first abdominal segment (three incidences). Arrows (cl) show injuries on the exoskeleton. Scal bar: 5mm.

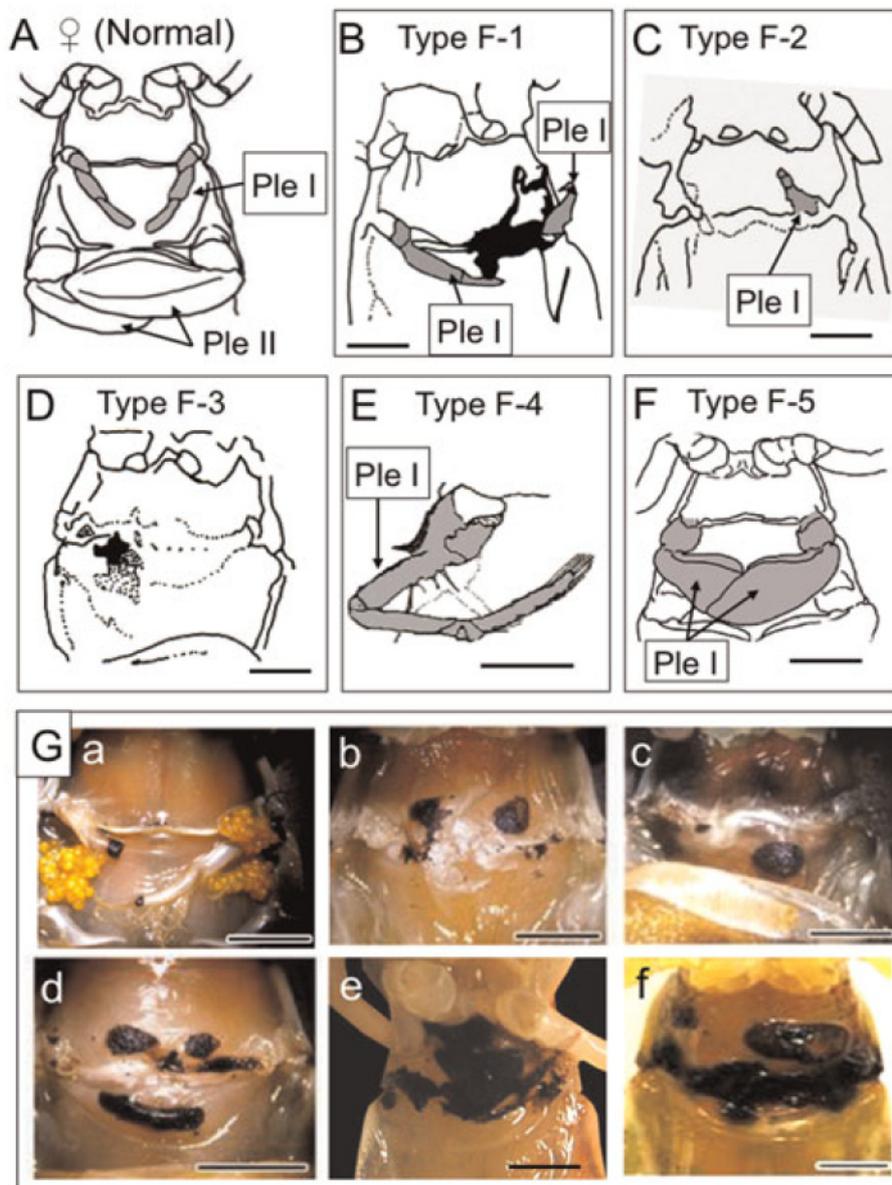


Figure 3: Type classification of morphological disorders in females of *Upogebia major*. (A) Normal female. Ple I and Ple II indicate the first and second pleopods, respectively; (B) Type F-1 female. Black area in the first abdominal segment indicates the cuticular lesions; (C) Type F-2 female. The right pleopod is lost, and a part of the left pleopod remains; (D) Type F-3 female. Black and dotted areas indicate cuticular lesion. Both pleopods are lost; (E) Type F-4 females possessing a pereiopod-like appendage; (F) Type F-5 female possessing the third-fifth pleopod-like appendage; (G) cuticular lesions (a-f) of the first abdominal segment (six incidences). Scale bars: 5mm.

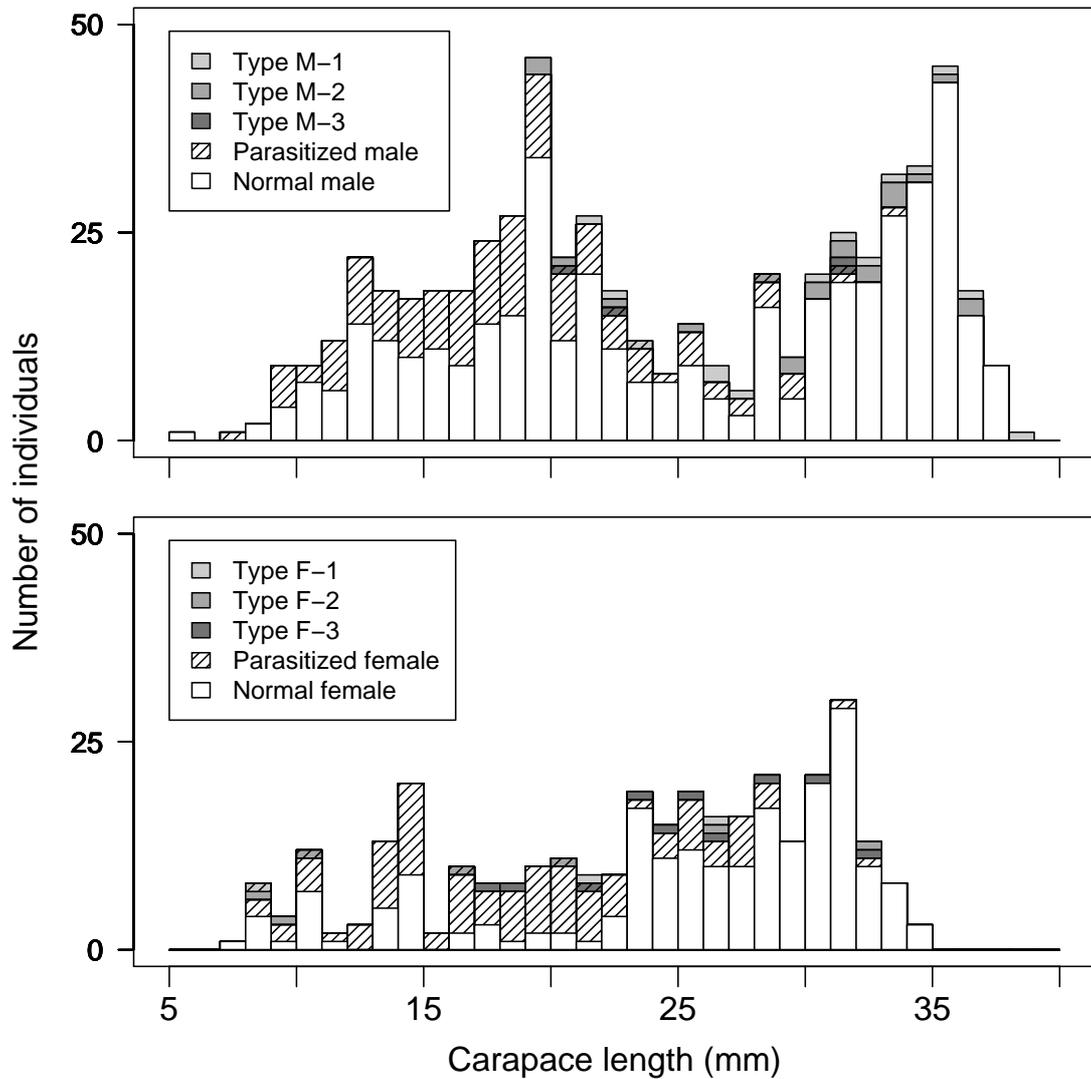


Figure 4: Carapace length frequency-distribution of *Upogebia major* collected from Site 7. *Upper panel*, males; *lower panel*, females. Specimens having morphological disorders (M-1 to M-3 and F-1 to F-3) are shown for both sexes. Specimens parasitized by several kind of ectoparasitic animals are also shown.

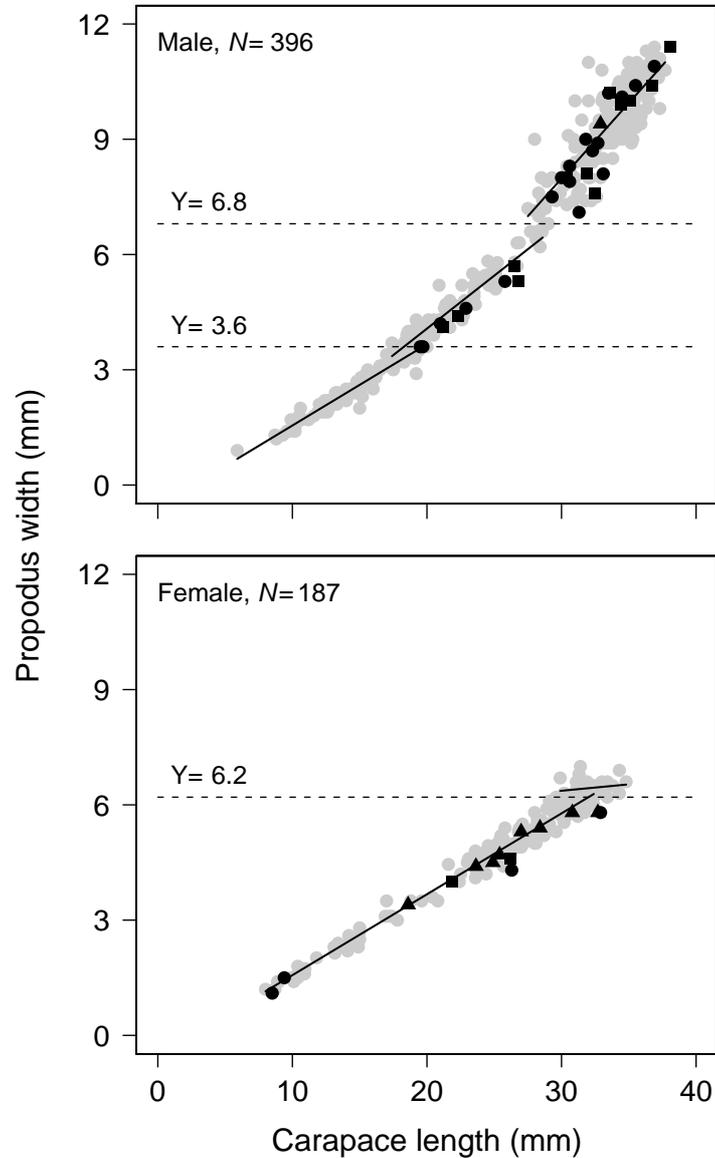


Figure 5: Relationship between propodus width and carapace length of *Upogebia major*. Grey circle, normal specimens for both sexes; black square, black circle, and black triangle represent M-1, M-2, and M-3 for males respectively, and represent F-1, F-2, and F-3 for females respectively. Regression lines calculated by Eberhard et al.'s model (2000) are also shown for both sexes. Y values indicate the switch points. All values for specimens having morphological disorder are within 95% prediction interval of the regression lines.

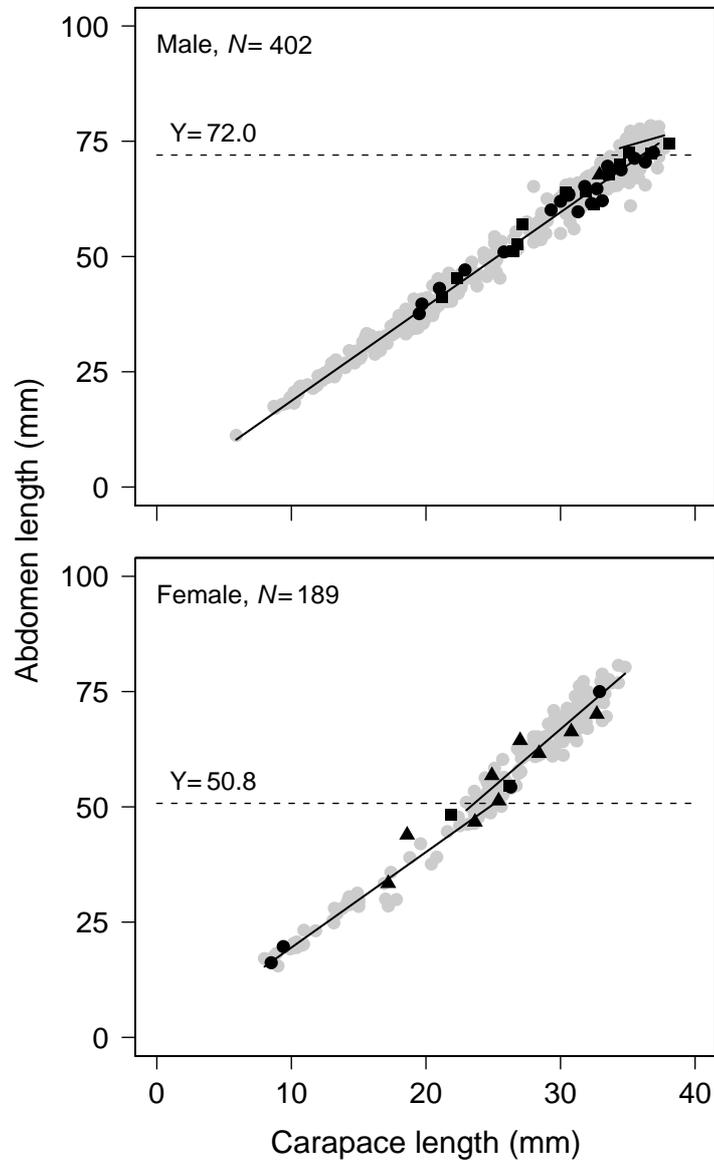


Figure 6: Relationship between abdomen length and carapace length of *Upogebia major*. Grey circle, normal specimens for both sexes; black square, black circle, and black triangle represent M-1, M-2, and M-3 for males respectively, and represent F-1, F-2, and F-3 for females respectively. Regression lines calculated by Eberhard et al.'s model (2000) are also shown for both sexes. Y values indicate the switch points. All values for specimens having morphological disorder are within 95% prediction interval of the regression lines.

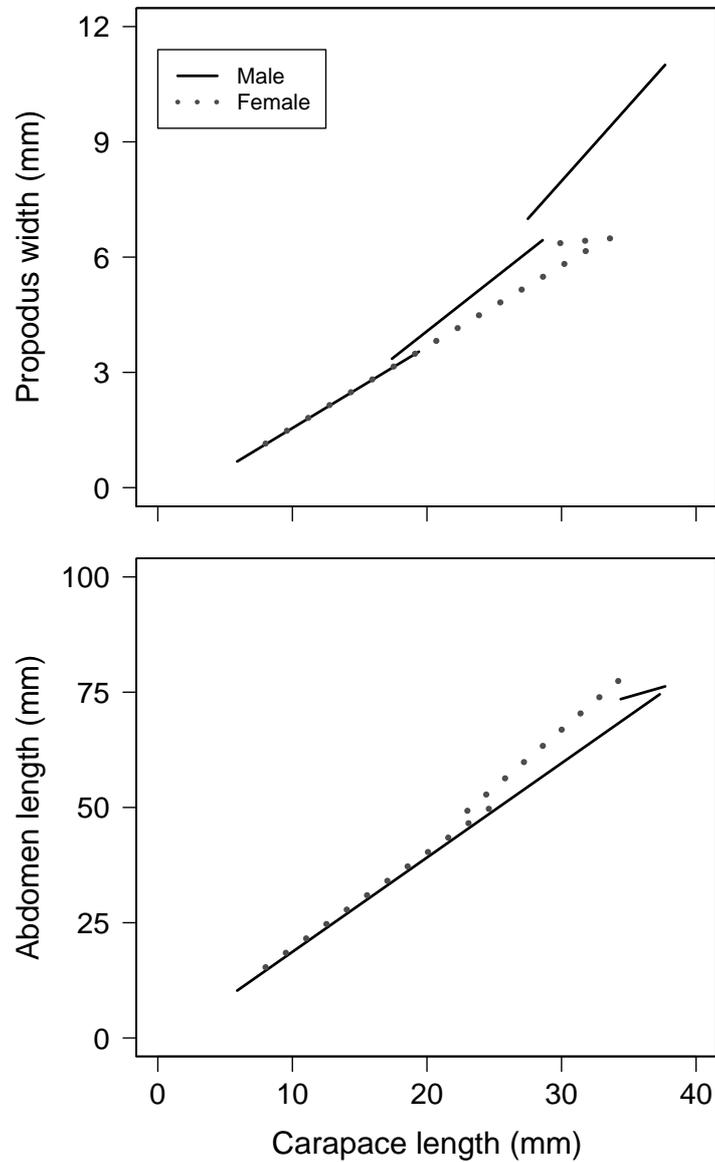


Figure 7: Intersexual comparisons on regression lines calculated by Eberhard et al.'s model (2000) for allometries of propodus width and abdominal length in *Upogebia major*. Solid line and dotted line indicate regression lines for male and for female respectively.

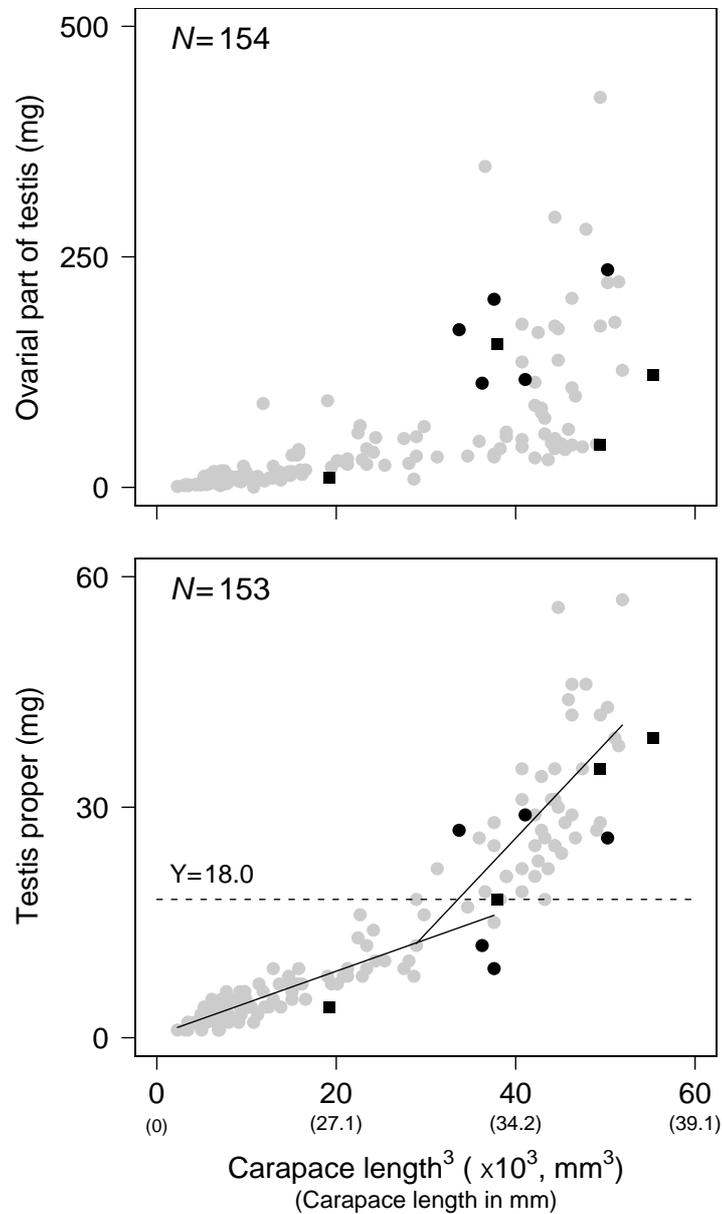


Figure 8: Relationship between gonadal weight and carapace length³ of *Upogebia major*. Upper panel, allometry of ovarian part of testis; lower panel, allometry of testis proper. Grey circle represents normal male. Black square and black circle represent M-1 and M-2 respectively. Regression lines calculated by Eberhard et al.'s model (2000) are also shown for allometry of testis proper. Y value indicates the switch point. All values for specimens having morphological disorder are within 95% prediction interval of the regression lines.

引用文献

- Amiard, J.C. (1992) 'Bioavailability of sediment-bound metals for benthic aquatic organisms.' In *Impact of heavy metals on the environment*, ed. J.P. Vernel (Amsterdam, Netherlands: Elsevier) pp. 183–202
- Ayaki, T., Y. Kawauchino, C. Nishimura, H. Ishibashi, and K. Arizono (2005) 'Sexual disruption in the freshwater crab (*Geothelphusa dehaani*).' *Integrative and Comparative Biology* 45, 39–42
- Bauer, R.T., and G.J. Holt (1998) 'Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod crustacea.' *Marine Biology* 132, 223–235
- Bauer, R.T., and R. VanHoy (1996) 'Variation in sexual systems (protandry, gonochorism) and reproductive biology among three species of shrimp genus *Thor* (decapoda: Caridea).' *Bulletin of Marine Science* 59, 53–73
- Bhosle, N.B., A. Garg, S. Jadhav, R. Harjee, S.S. Sawant, K. Venkat, and A.C. Anil (2004) 'Butyltins in water, biofilm, animals and sediments of the west coast of india.' *Chemosphere* 57, 897–907
- Boddeke, R., J.R. Bosschieter, and P.C. Goudswaard (1991) 'Sex change, mating, and sperm transfer in *Crangon crangon* (L.).' In *Crustacean sexual biology*, ed. R.T. Bauer and J.W. Martin (New York, USA: Columbia University Press) pp. 164–182
- Chace, F.A., and G.M. Moore (1959) 'A bicolored gynandromorph of the lobster, *Homarus americanus*.' *Biological Bulletin* 116, 226–231
- de Almeida, A.O., and L. Buckup (2000) 'Occurrence of protandric hermaphroditism in a population of the neotropical freshwater crayfish *Parastacus brasiliensis* (parastacidae).' *Journal of Crustacean Biology* 20, 224–230
- Dworschak, P.C. (1992) 'The thalassinidean in the museum of national history, vienna: with some remarks on the biology of the species.' *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 93(B), 189–238

- (2003) ‘A new species of ghost shrimp from the gulf of aqaba (crustacea: Decapoda: Callianassidae).’ *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 104(B), 415–428
- Eberhard, W.G., J.M. Garcia-C, and J. Lobo (2000) ‘Size-specific defensive structures in a horned weevil confirm a classic battle plan: avoid fights with larger opponents.’ *Proceedings of the Royal Society B* 267, 1129–1134
- Fantucci, M.Z., R. Biagi, and F.L. Mantelatto (2007) ‘Intersexuality in the western atlantic hermit crab *Isocheles sawayai* (anomura: Diogenidae).’ *Marine Biodiversity Records* 1, 1–3
- Farmer, A.S. (1972) ‘A bilateral gynandromorph of *Nephrops norvegicus* (l.) (decapoda: Nephropidae).’ *Marine Biology* 15, 344–349
- (1974) ‘The development of the external sexual characters of *Nephrops norvegicus* (l.) (decapoda: Nephropidae).’ *Journal of Natural History* 8, 241–255
- Felder, D.L., and D.L. Lovett (1989) ‘Relative growth and sexual maturation in the estuarine ghost shrimp *Callinassa louisianensis* schmitt, 1935.’ *Journal of Crustacean Biology* 9, 540–553
- Fingerman, M., N.C. Jackson, and R. Nagabhushanam (1998) ‘Hormonally-regulated functions in crustaceans as biomarkers of environmental pollution.’ *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 120, 343–350
- Ford, A.T., T.F. Fernandes, C.D. Robinson, I.M. Davies, and P.A. Read (2006) ‘Can industrial pollution cause intersexuality in the amphipod, *Echinogammarus marinus*?’ *Marine Pollution Bulletin* 53, 100–106
- Ford, A.T., T.F. Fernandes, S.A. Rider, P.A. Read, C.D. Robinson, and I.M. Davis (2004) ‘Endocrine disruption in a marine amphipod? field observations of intersexuality and de-masculinisation.’ *Marine Environmental Research* 58, 169–173
- Fukue, M., Y. Sato, M. Yanai, and S. Yamasaki (2003) ‘Contamination of sediments in central part of seto inland sea, japan.’ In ‘Proceedings of the 2nd International symposium on contaminated sediments’ Quebec, Canada, 26-28 May 2003 pp. 303–308
- Fukue, M., Y. Sato, M. Yanai, M. Nakamura, and S. Yamasaki (2001) ‘Rehabilitation of contaminated marine sediments in relation to living things.’ In *Geoenvironmental engineering*, ed. N. Yong and H.R. Thomas (London, UK: Thomas Telford) pp. 198–203

- Grag, A., R. Antón-Martin, E. García-Luque, and T.A. DelValls I. Riba (2009) 'Distribution of butyltins (tbt, dbt, mbt) in the sediments of gulf of cadiz (spain) and its bioaccumulation in the clam *Ruditapes philippinarum*.' *Ecotoxicology* 18, 1029–1035
- Griscom, S.B., and N. Fisher (2004) 'Bioavailability of sediment-bound metals to marine bivalve molluscs: An overview.' *Estuaries* 27, 826–838
- Gross, M.Y., D.S. Maycock, M.C. Thorndyke, D. Morritt, and M. Crane (2001) 'Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (l.) found below sewage treatment works.' *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 1792–1797
- Harkey, G.A., M.J. Lydy, J. Kukkonen, and P.F. Landrum (1994) 'Feeding selectivity and assimilation of pah and pcb in *Diporeia* spp.' *Environmental Toxicology and Chemistry* 13, 1445–1455
- Hartnoll, R.G. (1978) 'The determination of relative growth in crustacea.' *Crustaceana* 34, 281–293
- (1982) 'Growth.' In *Embryology, morphology, and genetics*, ed. L.G. Abele, vol. 2 of *The Biology of Crustacea* (New York, USA: Academic Press) pp. 111–196
- (1985) 'Growth, sexual maturity and reproductive output.' In *Factors in adult growth*, ed. A.M. Wenner (Rotterdam, Netherlands: A. A. Balkema) pp. 101–128
- Hughes, C.L., and T.C. Kaufman (2002) 'Hox genes and the evolution of the arthropod body plan.' *Evolution and Development* 4, 459–499
- Itani, G. (2002) 'Two types of symbioses between grapsid crabs and a host thalassinidean shrimp.' *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory, Kyoto University* 39, 129–137
- (2004) 'Host specialization in symbiotic animals associated with thalassinidean shrimps in japan.' In *Proceedings of the Symposium on "Ecology of large bioturbators in tidal flats and shallow sublittoral sediments from individual behavior to their role as ecosystem engineers"*, ed. A. Tamaki Nagasaki University Nagasaki, Japan pp. 33–43
- Johnson, T.P., and S.V. Otto (1981) 'Histology of a bilateral gynandromorph of the blue crab *Callinectes sapidus* rathbun (decapoda: Portunidae).' *Biological Bulletin* 161, 236–245
- Jungman, D., V. Ladewig, K.U. Ludwichowski, P. Petzsch, and R. Nagel (2004) 'Intersexuality in *Gammarus fossarum* koch – a common inducible phenomenon?' *Archiv für Hydrobiologie – Hauptbände* 159, 511–529

- Kang, B.J., T. Nanri, J.M. Lee, H. Saito, C.H. Han, M. Hatakeyama, and M. Saigusa (2008) 'Vitellogenesis in both sexes of gonochoristic mud shrimp, *Upogebia major* (crustacea): analysis of vitellogenin gene expression and vitellogenin processing.' *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 149, 589–598
- Kelly, A., M.J. Hatche, and A.M. Dun (2004) 'Intersexuality in the amphipod *Gammarus duebeni* results from incomplete feminisation by the vertically transmitted parasitic sex ratio distorter *Nosema granulosis*.' *Evolutionary Ecology* 18, 121–132
- Kinoshita, K., S. Nakayama, and F. Furota (2003) 'Life cycle characteristics of the deep-burrowing mud shrimp *Upogebia major* (thalassinidea: Upogebiidae) on a tidal flat along the northern coast of Tokyo Bay.' *Journal of Crustacean Biology* 23, 318–327
- Labadie, L.V., and A.R. Palmer (1996) 'Pronounced heterochely in the ghost shrimp *Neotrypaea californiensis* (Decapoda: Thalassinidea: Callinassidae): allometry, inferred function and development.' *Journal of Zoology* 240, 659–675
- LeBlanc, G.A. (2007) 'Crustacean endocrine toxicology: a review.' *Ecotoxicology* 16, 61–81
- Mariappan, P., C. Balasundaram, and B. Schmitz (2000) 'Decapod crustacean chelipeds: an overview.' *Journal of Biosciences* 25, 301–313
- Mascetti, P., R.F. de la Reguera, L. Albornoz, S. Oyarzún, M. Gorny, and I. Wehrtmann (1997) 'Gonopore development and sex change in the antarctic shrimp *Chorismus antarcticus* (Caridea: Hippolytidae).' *Polar Biology* 17, 384–388
- Micheli, F. (1991) 'Bilateral gynandromorph of the fresh-water crab *Potamon fluviatile* Herbst (Decapoda: Brachyura).' *Journal of Crustacean Biology* 11, 561–568
- Nates, S.F., and D.L. Felder (1999) 'Growth and maturation of the ghost shrimp *Lepidophthalmus sinuensis* Lemaitre and Rodrigues, 1991. (Crustacea, Decapoda, Callinassidae), a burrowing pest in Penaeid shrimp culture ponds.' *Fishery Bulletin* 97, 526–541
- Ngoc-Ho, N. (2001) '*Austinogebia*, a new genus in the Upogebiidae and rediagnosis of its close relative, *Gebiacantha ngoc-ho*, 1989 (Crustacea: Decapoda: Thalassinidea).' *Hydrobiologia* 449, 47–58
- Nickell, L.A., R.J.A. Atkinson, and E.H. Pinn (1998) 'Morphology of thalassinidean (Crustacea: Decapoda) mouthpart and pereopods in relation to feeding ecology and grooming.' *Journal of Natural History* 32, 733–761

- Oka, T.B. (1941) 'Oocyte-like cells in the ovarian part of the testis of *Gebia major*.' *Journal of the Faculty of Science, imperial University of Tokyo, Section IV* 5, 265–289
- Pardo, L.M., J.P. Fuentes, A. Olguin, and J.M. Orensanz (2009) 'Reproductive maturity in the edible chilean crab *Cancer edwardsii*: methodological and management considerations.' *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 89, 1627–1634
- Pinn, E.H., R.J.A. Atkinson, and A. Rogerson (2001) 'Sexual dimorphism and intersexuality in *Upogebia stellata* (crustacea: Decapoda: Thalassinidea).' *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 81, 1061–1062
- Rodgers-Gray, T.P., J.E. Smith, A.E. Ashcroft, R.E. Isaac, and A.M. Dunn (2004) 'Mechanisms of parasite-induced sex reversal in *Gammarus duebeni*.' *International Journal for Parasitology* 34, 747–753
- Rudolph, E., A. Verdi, and J. Tapia (2001) 'Intersexuality in the burrowing crayfish *Parastacus varicosus* faxon, 1989 (decapoda, parastacidae).' *Crustaceana* 74, 27–37
- Rudolph, E.H. (2002) 'New records of intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (decapoda, parastacidae).' *Journal of Crustacean Biology* 22, 377–389
- Sagi, A., I. Khilaila, A. Barki, G. Hulata, and I. Karplus (1996) 'Intersex red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von martens): functional males with pre-vitellogenic ovaries.' *Biological Bulletin* 190, 16–23
- Sagi, A., R. Manor, C. Segall, C. Davis, and I. Khilaila (2002) 'On the intersexuality in the crayfish *Cherax quadricarinatus*: an inducible sexual plasticity model.' *Invertebrate Reproduction and Development* 41, 27–33
- Sakai, K., Y. Hirano, and M. Saigusa (2004) 'A new record of *Upogebia snelli* ngoc-ho, 1989 (thalassinidea, upogebiidae) from iriomote island, ryukyus, japan.' *Crustaceana* 77, 741–749
- Schlekat, C.E., A.W. Decho, and G.T. Chandler (2000) 'Bioavailability of particle-associated silver, cadmium, and zinc to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* through dietary ingestion.' *Limnology and Oceanography* 45, 11–21
- Smedes, F., and G.A.N. Nummerdor (2003) 'Grain-size correction for the contents of butyltin compounds in sediment.' *Report RIKZ/2003.035, National Institute for Coastal and Marine Management, Netherlands* p. 39

- Sokal, R.R., and F.J. Rohlf (1995) In *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, ed. J.P. Vernel, 3rd ed. (New York, USA: W.H. Freeman and Company) p. 887
- Takahashi, T., A. Araki, Y. Nomura, M. Koga, and K. Arizono (2000) 'The occurrence of dual-gender imposex in japanese freshwater crab.' *Journal of Health Science* 46, 376–379
- Taylor, D.M. (1986) 'A bilateral gynandromorph of the snow crab, *Chionoecetes opilio*, from newfoundland, canada.' *Crustaceana* 51, 309–312
- Tucker, B.W. (1930) 'On the effects of an epicaridean parasite, *Gyge branchialis*, on *Upogebia littoralis*.' *Quarterly Journal of Microscopical Science* 74, 1–118
- Tunberg, B. (1986) 'Studies on the population ecology of *Upogebia deltaura* (leach) (crustacea, thalassinidea).' *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 22, 753–765
- Turra, A. (2004) 'Intersexuality in hermit crabs: reproductive role and fate of gonopores in intersex individuals.' *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 84, 757–759
- Vazquez, F.J., and L.S. López Greco (2007) 'Intersex females in the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (decapoda: Parastacidae).' *Revista de Biología Tropical* 55, 25–32
- Weis, J.S. (1980) 'Effect of zinc on regeneration in the fiddler crab *Uca pugilator* and its interactions with methylmercury and cadmium.' *Marine Environmental Research* 3, 249–255
- Weis, J.S., A. Cristini, and K.R. Rao (1992) 'Effects of pollutants on molting and regeneration in crustacea.' *American Zoologist* 32, 495–500
- Weis, J.S., and K. Kim (1988) 'Tributyltin is a teratogen in producing deformities in limbs of the fiddler crab, *Uca pugilator*.' *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 17, 583–587
- Weis, J.S., J. Gottlieb, and J. Kwiatkowski (1987) 'Tributyltin retards regeneration and produces deformities of limbs in the fiddler crab, *Uca pugilator*.' *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 16, 321–326
- Williams, A.B. (1993) 'Mud shrimps, upogebiidae from the western atlantic (crustacea: Decapoda: Thalassinidea).' In 'Smithsonian Contributions to Zoology,' vol. 544 (Washington D.C., USA: Smithsonian Institution Press) p. 77

Zou, E., and M. Fingerman (2000) 'External features of an intersex fiddler crab, *Uca pugilator* (bosc, 1802) (decapoda, brachyura).' *Crustaceana* 73, 417–423

謝辞

この博士論文は，2004年4月から2013年3月の期間に岡山大学大学院自然科学研究科の生物多様性利用科学研究室(旧名称：進化・環境研究室)において行われた研究の成果をまとめたものである。

本研究の遂行にあたり，いつまでも論文を仕上げることのできない私を，最後まで諦めずに丁寧に指導していただいた三枝誠行准教授に，心より感謝申し上げます。本研究室の仕事に携わることができて，本当に幸せでした。ありがとうございました。

また，伊吹正史氏と森千恵女史，およびUBALDO Jonathan Pino氏には，本研究の野外調査や実験作業などに全面的に協力いただきました。この場を借りてお礼申し上げます。いつかまた一緒に仕事をする機会があれば，最上の喜びです。

最後に，私のことを誰よりも心にかけて，いつも優しく支えてくださった両親と家族，そして友人に感謝の意を表します。ありがとうございました。

2014年3月吉日

南里敬弘