

# 形態計測手法によるアカテガニ甲羅形態の雌雄差と地域差の検出

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2024-05-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: TOYOTA Kenji, TAKAHASHI Tomoki, KONDO Yusuke, MATSUBARA Hajime, SUZUKI Nobuo メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/0002000537">https://doi.org/10.24517/0002000537</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.



## 形態計測手法によるアカテガニ甲羅形態の雌雄差と地域差の検出

豊田賢治<sup>1\*</sup>・高橋知生<sup>1</sup>・近藤裕介<sup>2</sup>・松原 創<sup>3</sup>・鈴木信雄<sup>1</sup>

2023年9月20日受付, Received 20 September 2023

2023年11月1日受理, Accepted 1 November 2023

### Morphometric Approaches and How They Enable the Detection of Sexual and Regional Differences in the Shape of the Carapace of Red-Clawed Crabs (*Chiromantes haematocheir*)

Kenji TOYOTA<sup>1\*</sup>, Tomoki TAKAHASHI<sup>1</sup>, Yusuke KONDO<sup>2</sup>,  
Hajime MATSUBARA<sup>3</sup> and Nobuo SUZUKI<sup>1</sup>

#### Abstract

The red-clawed crab, *Chiromantes haematocheir*, is a terrestrial crustacean of the Decapoda order that is found throughout mainland Japan. This species inhabits a wide range of environments from terrestrial areas to brackish water zones. Since the red-clawed crab uses terrestrial areas, rivers, brackish water zones, and the ocean during its life history, conservation of the habitat in which this species can live is expected to lead to conservation of the habitat not only for this species but also for a variety of other organisms in the surrounding area. Thus far, numerous studies have been conducted on the ecology and life history of the red-clawed crab. However, its morphological sex and/or regional differences have not been comprehensively investigated. In this study, we attempted to identify the morphological features of the carapace using geometric morphometrics based on landmark features and distance-based measurement methods in relation to carapace morphology. Geometric morphometrics revealed significant differences in carapace morphology between females and males in the Noto and Hiroshima populations and between the two populations of each sex. The accuracy of discrimination was 93.5% to 93.9% for both males and females in the Noto population, and 65.6% to 71.4% for both males and females in the Hiroshima population. It was 91.1% to 95.2% for females overall in the Noto and Hiroshima populations, and 86.7% to 87.8% for males overall in the Noto and Hiroshima populations, respectively. Additionally, the distance-based measurement method using seven carapace length characteristics successfully found the morphological traits that differed between males and females in each regional population, and traits that were characteristic of each sex between both regions. These analyses enable the detection of differences in sexes and regional populations regarding the carapace morphology of red-clawed crabs. Further comparative analyses from various regions based on this method are expected to reveal morphological commonalities among the regions as well as morphological traits that are highly plastic depending on the environment.

<sup>1</sup> 金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設, 〒927-0553 石川県鳳珠郡能登町小木ム4-1 (Noto Marine Laboratory, Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, 4-1 Mu, Ogi, Noto-cho, Ishikawa, 927-0553 Japan)

<sup>2</sup> 広島大学瀬戸内CN国際共同研究センター ブルーイノベーション部門水産実験所, 〒725-0024 広島県竹原市港町5-8-1 (Fisheries Laboratory, Blue Innovation Division, Seto Inland Sea Carbon-neutral Research Center, Hiroshima University, 5-8-1 Minato-machi, Takehara, 725-0024 Japan)

<sup>3</sup> 金沢大学理工学域能登海洋水産センター, 〒927-0552 石川県鳳珠郡能登町越坂11-4-1 (Noto Center for Fisheries Science and Technology, College of Science and Engineering, Kanazawa University, 11-4-1 Osaka, Noto-cho, 927-0552 Japan)

\* 連絡著者 (Author for correspondence)

**Key Words:** geometric morphometry, sexual difference, regional difference, carapace, Sesarimidae

キーワード：幾何学的形態計測，性差，地域差，甲羅，ベンケイガニ科

## I. はじめに

形態計測学は、生物の形態学的特徴の変化を定量的に記述し、解釈することを可能にする基本的な生物学的解析手法であり (Rohlf, 1990), 形質の特徴量に基づく形態計測手法と幾何学的手法の2つに大別できる。形態計測手法は、測定可能な形質 (例えば、形質の大きさ、節数、特定の形質の数など) の絶対的な測定値と、それらの互いの関係に基づいている。対照的に、幾何学的手法は生物学的形状の多変量空間とサイズに基づいており、生物学的に定義可能な輪郭や形態的特徴 (ランドマーク) の2次元または3次元座標の収集で広く用いられている (Adams *et al.*, 2004)。さらに、幾何学的手法により、形状の対称性や非対称性を調べることができるようになった。生物学的な非対称性は、集団内または集団間の個体の左右差の度数分布によって記述することができる (Palmer and Strobeck, 1986)。一般的に、両側の非対称性には3つのタイプがある：ゆらぎのある非対称性 (fluctuating asymmetry), 方向性のある非対称性 (directional asymmetry), そして反対称性 (antisymmetry) である。ゆらぎのある非対称性とは、完全な両側性対称性からの軽微でランダムな逸脱を指す。方向性のある非対称性とは、片側の面により大きな特徴が発現することである。反対称性とは、片側が他方より通常大きいことを特徴とするが、大きい側の位置は集団内でランダムに変化し、右側と左側の頻度の二峰性分布をもたらす。方向性のある対称性と反対称性は、発生的に制御されているため適応的な意味を持つと考えられるが、ゆらぎのある非対称性は適応的ではないと考えられる。これらのアプローチは、カニを含む多くの分類群において、種内および個体群間の形状の変動を識別するためにこれまでに用いられてきた (Grinang *et al.*, 2019; Kalate *et al.*, 2018; Long *et al.*, 2013; Marchiori *et al.*, 2014)。

アカテガニ *Chiromantes haematocheir* は、国内では岩手県と秋田県以南の本州、四国、九州に分布している十脚目ベンケイガニ科の陸生甲殻類である (中

山・柳井, 2019)。本種は他のベンケイガニ科 (例：クロベンケイガニ *Chiromantes dehaani* やベンケイガニ *Orisarma intermedium*) と同じく里山 (陸域) から汽水域に至る広い環境に生息している (Nakayama and Yanai, 2019)。本種の抱卵雌は繁殖期 (7~9月) の日没後に海岸へ移動し、浮遊幼生を放仔する (Saigusa, 1980; Saigusa and Hidaka, 1978)。孵化幼生は5つのゾエア期と1つのメガロパ期を経て稚ガニへと成長する (Toyota *et al.*, 2023)。このように、アカテガニは生活史のなかで里山から河川、汽水域、そして海洋を利用することから、本種が生息できる環境の保全が本種だけでなく周辺の多様な生物の生息環境の保全に繋がることが期待できる。また、本種は稚ガニとして上陸後は活動期 (5~11月頃) と冬眠期を繰り返し、5~10年ほど生存すると考えられている。その間の成体の移動分散能は限定的であると考えられることから、遺伝的バックグラウンドに加え生息環境の違い (生息地の地形や利用できる餌資源など) が可塑的な個体形態に影響を与えるがある。すなわち、地域個体群ごとによって外部形態に特徴的な形質が顕れている可能性が高いと推測した。本研究では、アカテガニの甲羅形態の特徴点 (ランドマーク) に基づく幾何学的形態計測と距離測定法により、本種の性差及び地域差を診断するのに最適な甲羅上の形態的特徴を同定することを試みた。

## II. 方法と材料

### 1) カニ標本の採集

2023年6月、アカテガニの雄41個体、雌30個体をホテルのときんぷら (石川県鳳珠郡能登町越坂) 下の遊歩道にて徒手採集し、本研究の能登集団とした (図1)。広島集団の標本は、2021年7~8月に広島大学瀬戸内CN国際共同研究センター・ブルーイノベーション部門水産実験所 (旧称：竹原ステーション、広島県竹原市) と的場海水浴場を結ぶ遊歩道で採集した雄45個体、雌28個体を供試した。本種の雌雄は腹部形態によって判別した。



図1 能登集団のアカテガニ *Chiromantes haematocheir* の成体雌雄の背側写真.

Fig. 1 Dorsal views of adult male and female red claws crabs *Chiromantes haematocheir* in the Noto population.

## 2) ランドマーク法による甲羅形態の幾何学的形態計測手法

能登集団の71個体と広島集団の73個体全てについて、高さを固定した一眼レフカメラ (EOS Kiss X, Canon, 日本) を用いて甲羅の真上から撮影した。1個体につき、頭部を上向きと下向きの2枚ずつ撮影を行なった。ランドマーク法による解析はToyota *et al.* (2020)と同様に実施した。以下に、その概要を説明する。甲羅外縁の特徴や中心部にある模様を含め

9つの形質をランドマークとして定義した (図2A)。それぞれのランドマークの座標情報は、tpsDig2ソフトウェア (version 2.16) を用いて取得した (Rohlf, 2010)。ランドマーク取得時の人為的ミスの発生を軽減するために、全ての個体について頭部を上向きと下向きで2枚ずつ撮影した写真それぞれについてランドマークを取得した (1個体につきランドマーク情報は2回ずつ取得)。取得したランドマークから生成した形態変数 (shape variables) と人為

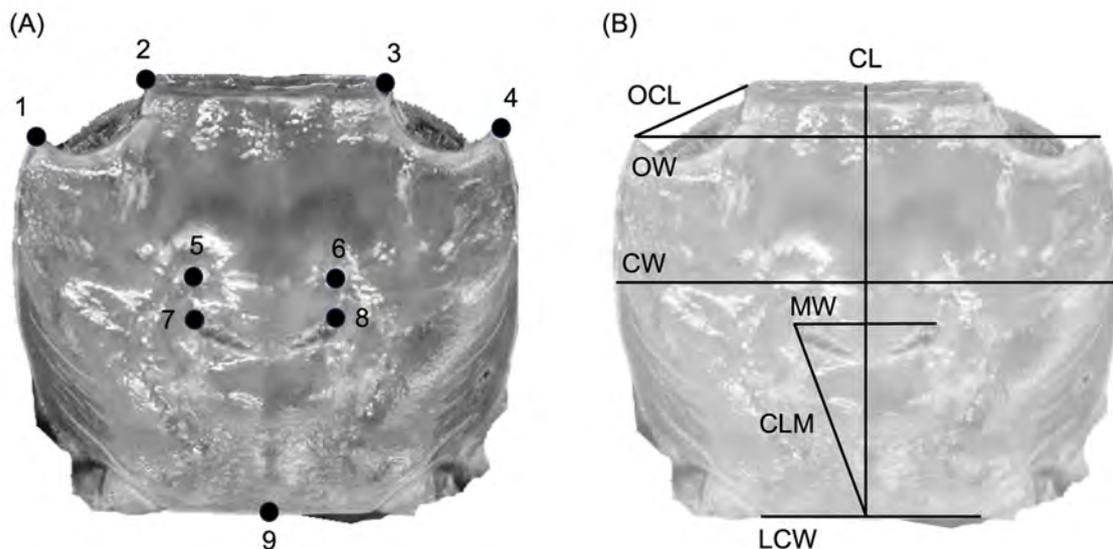


図2 アカテガニ甲羅のランドマーク位置 (A), 距離測定法に使用した7形質 : carapace width (CW), carapace length (CL), orbital spine width (OW), orbital cavity length (OCL), middle width (MW), carapace length to middle part (CLM), lower carapace width (LCM).

Fig. 2 Landmarks on the carapace (A), and measurable carapace traits including carapace width (CW), carapace length (CL), orbital spine width (OW), orbital cavity length (OCL), middle width (MW), carapace length to middle part (CLM), and lower carapace width (LCM).

的なランドマーク取得時の誤差の影響を調べるために、MorphoJソフトウェア (version 1.07a) を用いて、能登集団と広島集団それぞれにおける雌雄差の検定、そして能登集団と広島集団の雄あるいは雌同士を比較する地域差の検定をプロクラステス分散分析 (Procrustes analysis of variance: ANOVA) によって実施した (Klingenberg, 2011)。甲羅で定義した9つのランドマークをもとにした形態情報の雌雄差や地域差を俯瞰するために主成分分析 (principal component analysis: PCA) を行なった。さらに、Procrustes distance値とHotelling's T-square値を用いて集団内の性差や雌雄ごとの地域差の有無を正準変量分析 (canonical variate analysis: CVA) と判別分析 (discriminant function analysis: DFA) によって解析した。

### 3) 距離測定法による甲羅形態計測手法

7つの甲羅形質を以下の通り定義した: carapace width (CW), carapace length (CL), orbital spine width (OW), orbital cavity length (OCL), middle width (MW), carapace length to middle part (CLM), lower carapace width (LCM) (図2B)。次いで、Fijiソフトウェア (version 1.54f) の測定ツールを用いて0.001 mmの精度で全ての個体について各形質を測定した。各形質の雌雄差や地域差の有無を推定するためにCWを共変数とした共分散分析 (analysis of covariance: ANCOVA) を統計解析ソフトウェアR (version 4.2.2)

で実施した (R Core Team, 2022)。共分散分析では、群間 (雌雄あるいは地域間) の回帰直線から推定される傾きの並行性を検定した。

## III. 結果

### 1) 幾何学的形態計測法 (ランドマーク法) に基づく甲羅形態の雌雄・地域比較

9つのランドマークを用いたプロクラステスANOVAの結果、能登集団と広島集団の雌雄間と、各雌雄の2集団間において甲羅形態に有意な差が認められた ("Sex"あるいは"Location",  $p < 0.001$ , 表1, 2)。本解析では、"Measurement error"のsums of squares (SS) 値が方向性のある非対称性を示す"Side"とゆらぎのある非対称性を示す"Individual \* Side"を超過しているが (表1, 2), 4群全ての雌雄間あるいは地域間比較において甲羅形態に統計的有意な方向性のある非対称性が認められた ( $p < 0.005$ , 表1, 2)。主成分分析 (PCA) の結果、第一・第二主成分の総和は能登集団の雌雄では64.5% (PC1 = 44.1%, PC2 = 20.4%; 図3A), 広島集団の雌雄では67.9% (PC1 = 46.7%, PC2 = 21.2%; 図3B) であった。PCAの80%信頼区間を比較すると広島集団の雌雄間はその大部分が重複しているが (図3B), 能登集団は第一・第二主成分によって雌雄間で分離できている (図3A)。この結果は、正準変量分析 (CVA) と判別分析 (DFA) の結果からも支持されている。CVAの結

表1 “個体”をランダム効果として、“雌雄”を追加効果としたProcrustes ANOVAの比較。

Table 1 Comparison of Procrustes ANOVA with “Individual” as the random effect, and “Sex” as an additional main effect.

Noto	Effect	SS	MS	df	F	p-value
	Sex	0.048	0.006	7	38.29	<.0001
	Individual	0.089	<.0001	490	8.84	<.0001
	Side	0.001	<.0001	7	9.1	<.0001
	Individual * Side	0.01	<.0001	497	0.74	0.999
	Measurement error	0.027	<.0001	1008	-	-
Hiroshima	Effect	SS	MS	df	F	p-value
	Sex	0.014	0.002	7	9.62	<.0001
	Individual	0.103	<.0001	497	8.32	<.0001
	Side	<.0001	<.0001	7	5.18	<.0001
	Individual * Side	0.012	<.0001	504	0.81	0.996
	Measurement error	0.031	<.0001	1022	-	-

SS: sums of squares, MS: mean squares, df: degrees of freedom.

表2 “個体”をランダム効果として, “地域”を追加効果としたProcrustes ANOVAの比較.

Table 2 Comparison of Procrustes ANOVA with “Individual” as the random effect, and “Location” as an additional main effect.

Female	Effect	SS	MS	df	F	p-value
	Location	0.022	0.003	7	16.57	<.0001
	Individual	0.077	<.0001	399	7.18	<.0001
	Side	<.0001	<.0001	7	3.44	0.001
	Individual * Side	0.011	<.0001	406	0.72	0.999
	Measurement error	0.031	<.0001	826	-	-
Male	Effect	SS	MS	df	F	p-value
	Location	0.027	0.003	7	18.81	<.0001
	Individual	0.12	<.0001	588	6.11	<.0001
	Side	0.001	<.0001	7	8.41	<.0001
	Individual * Side	0.019	<.0001	595	0.97	0.657
	Measurement error	0.041	<.0001	1204	-	-

SS: sums of squares, MS: mean squares, df: degrees of freedom.

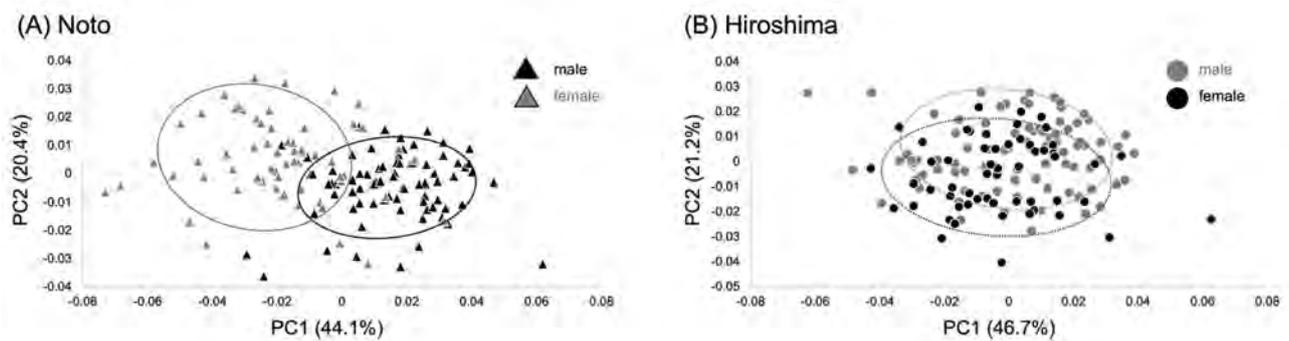


図3 甲羅形態の個体群ごとの雌雄差 (A, B) を示すPCA プロット. 楕円は80%信頼区間を示す.

Fig. 3 Biplots of PCA of each landmark model indicate variations in the carapace shape between females and males. Confidence ellipses show an 80% probability.

表3 甲羅の性差と地域差を示した正準変量分析結果.

Table 3 Canonical variate analysis indicating morphological differences in the shape of the carapace between sexes and locations.

Case	Procrustes distance	p-value
Noto (female vs male)	0.028	<.001
Hiroshima (female vs male)	0.017	<.001
Female (Noto vs Hiroshima)	0.028	<.001
Male (Noto vs Hiroshima)	0.009	<.001

果は, 能登集団と広島集団の雌雄間, あるいは両集団の雌雄ごとのいずれの組み合わせにおいても統計的有意 ( $p < 0.001$ ) に性差と地域差が支持されている (表3)。DFAの結果は, 能登集団の雌は93.5%,

雄は93.9%, 広島集団の雌は71.4%, 雄は65.6%, 両集団の雌では能登集団は91.1%, 広島集団は95.2%, 両集団の雄では能登集団は86.7%, 広島集団は87.8%の精度で判別を可能にした (表4)。

表4 交互評価した判別分析結果.

Table 4 Discriminant Function Analysis with cross-validation.

Noto	Female	Male	Total	Correct clasification (%)
Female	58	4	62	93.5
Male	5	77	82	93.9
Hiroshima	Female	Male	Total	Correct clasification (%)
Female	40	16	56	71.4
Male	21	59	90	65.6
Female	Hiroshima	Noto	Total	Correct clasification (%)
Hiroshima	51	5	56	91.1
Noto	3	59	62	95.2
Male	Hiroshima	Noto	Total	Correct clasification (%)
Hiroshima	78	12	90	86.7
Noto	10	72	82	87.8

2) 距離測定法に基づく甲羅形態の雌雄・地域比較  
甲羅形態の性差や地域差を明らかにするために、7つの甲羅長形質を定義し、測定した。能登集団の雌雄では、各形質長のCWに対する回帰直線の傾

きの均等性が認められたのは5形質 (CL, OCL, OW, MW, CLM) で、その中で顕著な性差は3形質 (OCL, MW, CLM)で見られた(図4)。広島集団の雌雄では、各形質長のCWに対する回帰直線の傾きの均等性が

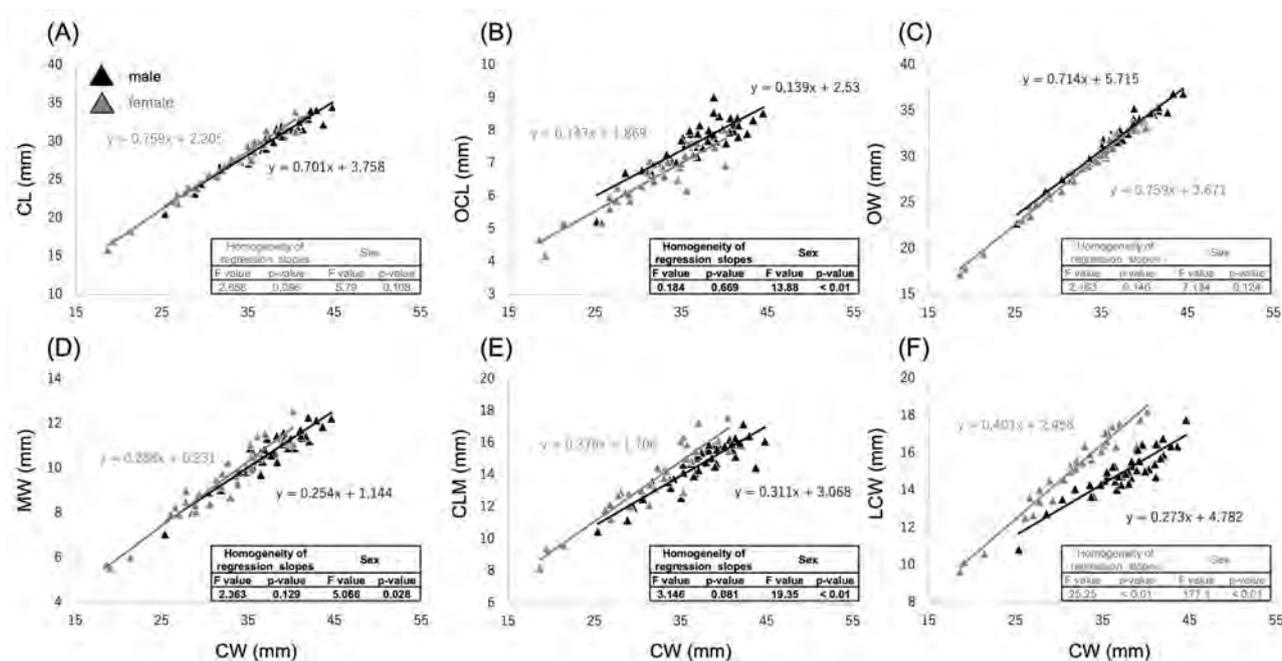


図4 甲幅 (CW) に対するその他6形質について能登集団の雌雄の関係を調べた。(A) carapace length (CL), (B) orbital cavity length (OCL), (C) orbital spine width (OW), (D) middle width (MW), (E) carapace length to middle part (CLM), (F) lower carapace width (LCM)。直線はそれぞれ雌と雄の回帰直線を示す。各グラフの右下に示しているのは ANCOVA の結果になり、黒字は統計的に有意に雌雄差が見られる形質 (B, D, E), グレーは雌雄差が認められない形質を示す (A, C, E)。

Fig. 4 Relationships between carapace width (CW) and each distinct trait between female and male crabs in the Noto population. (A) carapace length (CL), (B) orbital cavity length (OCL), (C) orbital spine width (OW), (D) middle width (MW), (E) carapace length to middle part (CLM), and (F) lower carapace width (LCM). Both lines indicate the regression curves of males and females, respectively. The lower right-hand corner of each graph shows the ANCOVA results. The traits in black are those for which there is a statistically significant sex difference (B, D, E), and grey are those for which there is no difference between the sexes (A, C, F).

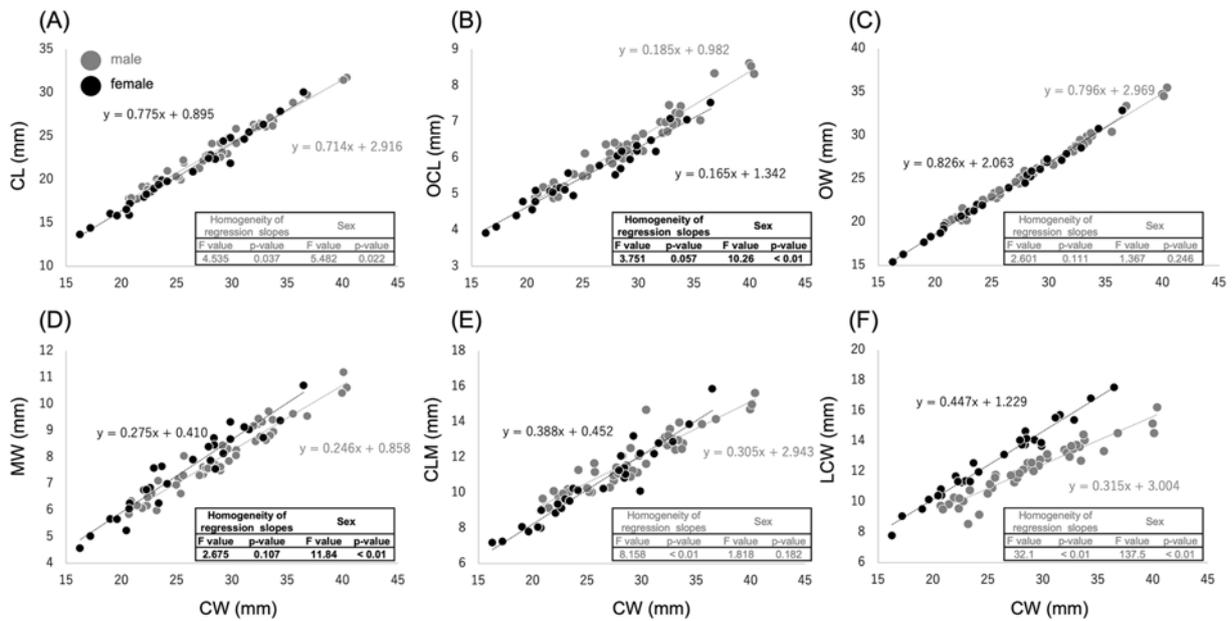


図5 CWに対するその他6形質について広島集団の雌雄の関連を調べた。(A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, (F) LCM。直線はそれぞれ雌と雄の回帰直線を示す。各グラフの右下に示しているのはANCOVAの結果になり、黒字は統計的に有意に雌雄差が見られる形質 (B, D), グレーは雌雄差が認められない形質を示す (A, C, E, F)。

Fig. 5 Relationships between CW and each distinct trait between female and male crabs in the Hiroshima population. (A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, and (F) LCM. Both lines indicate the regression curves of males and females, respectively. The lower right-hand corner of each graph shows the ANCOVA results. The traits in black are those for which there is a statistically significant sex difference (B, D), and gray are those for which there is no difference between the sexes (A, C, E, F).

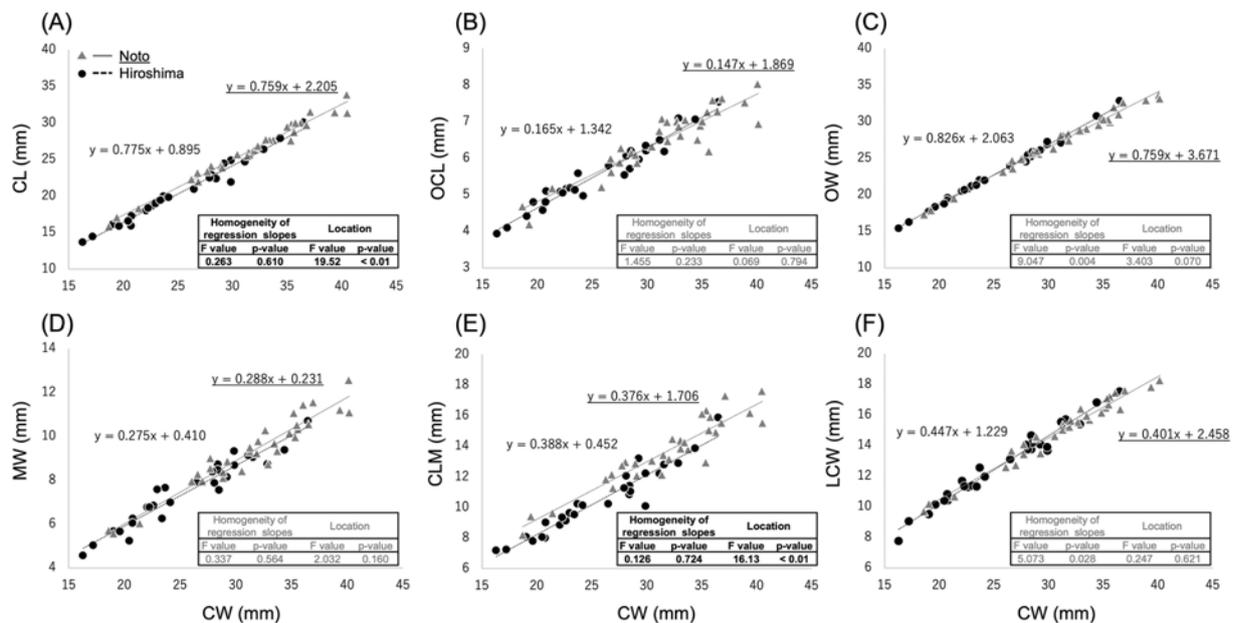


図6 CWに対するその他6形質について能登集団と広島集団の雌を比較した。(A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, (F) LCM。三角形と丸シンボルはそれぞれ能登集団と広島集団を示す。各グラフの右下に示しているのはANCOVAの結果になり、黒字は統計的に有意に地域差が見られる形質 (A, E), グレーは雌雄差が認められない形質を示す (B, C, D, F)。

Fig. 6 Relationships between CW and each distinct trait of females between the Noto and Hiroshima populations. (A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, and (F) LCM. Both triangles and circles indicate the Noto and Hiroshima populations, respectively. The lower right-hand corner of each graph shows the ANCOVA results. The traits in black are those for which there is a statistically significant regional difference (A, E), and gray are those for which there is no difference between the regions (B, C, D, F).

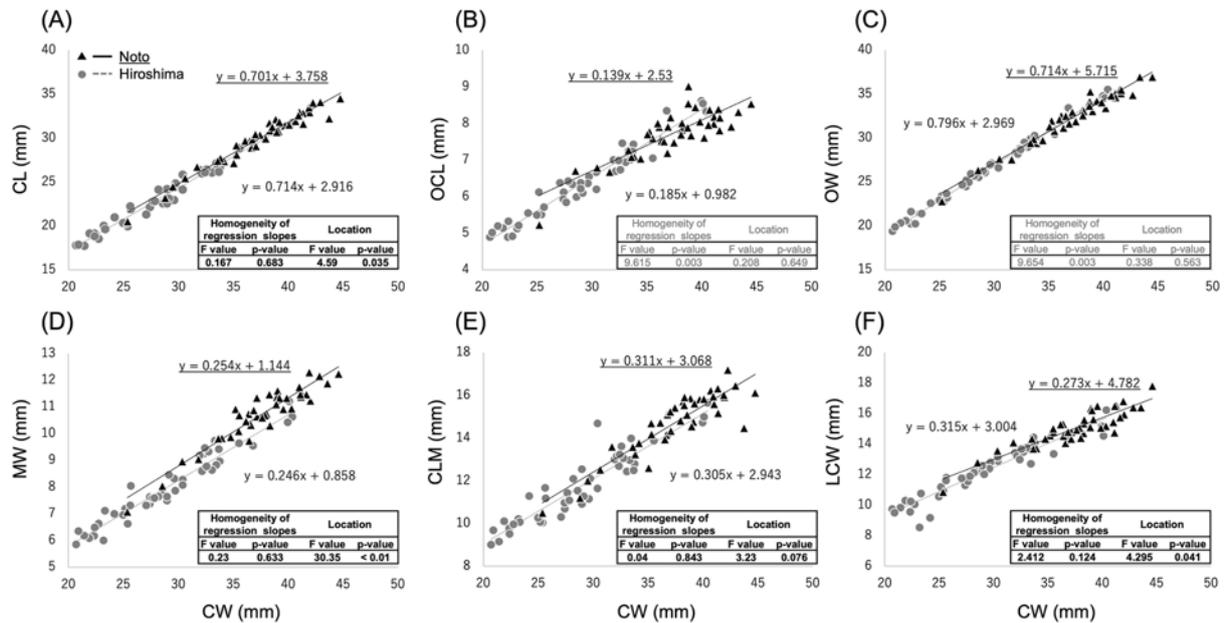


図7 CWIに対するその他6形質について能登集団と広島集団の雄を比較した。(A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, (F) LCM. 三角形と丸シンボルはそれぞれ能登集団と広島集団を示す。各グラフの右下に示しているのはANCOVAの結果になり、黒字は統計的に有意に地域差が見られる形質 (A, D, E, F), グレーは雌雄差が認められない形質を示す (B, C)。

Fig. 7 Relationships between CW and each distinct trait of females between the Noto and Hiroshima populations. (A) CL, (B) OCL, (C) OW, (D) MW, (E) CLM, and (F) LCM. Both triangles and circles indicate the Noto and Hiroshima populations, respectively. The lower right-hand corner of each graph shows the ANCOVA results. The traits in black are those for which there is a statistically significant regional difference (A, D, E, F), and gray are those for which there is no difference between the regions (B, C).

認められたのは3形質 (OCL, OW, MW) で、その中で顕著な性差は2形質 (OCL, MW) で見られた (図5)。回帰直線の傾きが等しくないが、能登集団と広島集団の雌雄間におけるLCWは雌で顕著に長くなることが判明した (図4F, 5F)。両集団の雌では、各形質長のCWに対する回帰直線の傾きの均等性が認められたのは4形質 (CL, OCL, MW, CLM) で、その中で顕著な地域差は2形質 (CL, CLM) で見られた (図6)。両集団の雄では、各形質長のCWに対する回帰直線の傾きの均等性が認められたのは4形質 (CL, MW, CLM, LCW) で、それら4形質全てで顕著な地域差が見られた (図7)。

#### IV. 考察

形態計測法は様々な動植物を対象に種内および個体群間の形状の変動を識別するためにこれまでに用いられてきた。カニ類を含む甲殻類においても例外ではなく、個体群間の形態的特徴が議論されている研究は多い (Grinang *et al.*, 2019; Kalate *et al.*, 2018;

Long *et al.*, 2013; Marchiori *et al.*, 2014; Toyota *et al.*, 2020)。例えば、淡水性カニ類であるタンスイコシオリエビ科 *Aegla longirostri* の研究では、遺伝的分岐推定から隠蔽種の存在が示唆されているブラジル南部の個体群間を用いた甲羅形態の幾何学的形態測定分析から本種の系統性をより明確にした (Marchiori *et al.*, 2014)。さらに、同科の *A. plana* の形態は生息地の水辺植生の有無や基質の粒度に影響されることや (Hepp *et al.*, 2012)、湖沼や河川に生息する *A. neuquensis* は、生息環境の流速などの違いによって甲羅形状に違いが見られることが報告されている (Giri and Loy, 2008)。このように、形態計測手法は甲殻類の隠蔽種の発見や、生息地の違いが形態に与える影響を評価する際に強力なツールであることが証明されている。アカテガニは日本では秋田県以南に広く生息している半陸生種であり、上陸後の成体の移動分散能は高くないと考えられている。本種個体群の遺伝的多様性に関する研究は進んでいないが、形態計測アプローチからその有無を示唆することは可能かもしれない。

一般的に、様々なカニ類において鉗脚（ハサミ脚）、胸部、甲羅のようないくつかの形態学的特徴は、顕著な性的二型を示すことが知られている。ハサミ脚の大きさは、多くの十脚目甲殻類において有名な性的二型形質であり（Mariappan *et al.*, 2000）、アカテガニも雄の方が雌より大きなハサミ脚を有する。同様に、腹部の形状はアカテガニを含むカニ類の雌雄を区別するための最も一般的な特徴である。一方で、甲羅の性的二型に関しては、淡水種のカニ類や深海性種のケガニ *Erimacrus isenbeckii* を用いて形態計測的アプローチを用いた研究がいくつか行われており、甲羅で性的二型が検出される精度はハサミ脚や腹部形態に比べて低いことが示唆されている（Grinang *et al.*, 2019; Kalate *et al.*, 2018; Toyota *et al.*, 2020）。本研究では、甲羅上に定義した形態学的特徴に基づく幾何学的形態計測手法と距離測定法から得られた形質データを多変量解析（PCA, CVA, DFA）やANCOVAに供することでアカテガニの甲羅形態から雌雄差と地域差を検出可能であることを明らかにした。

本研究の幾何学的形態計測では、プロクラステスANOVAの“Measurement error”のSS値が方向性のある非対称性を示す“Side”とゆらぎのある非対称性を示す“Individual \* Side”を超過した。著者らの同様のアプローチを用いたケガニの先行研究では、“Measurement error”のSS値は“Side”と“Individual \* Side”より十分に小さな値を示したことから（Toyota *et al.*, 2020）、今回の結果は作業者の実験習熟度が原因であると推測される。本研究では“Measurement error”値の算出のために同一個体から2枚の形態写真を撮影したが、その際に頭部を上向きと下向きの180度回転したアングルから撮影を行なったことが“Measurement error”値を大きくしたことに繋がったと推測している。次回以降は、撮影システムを2台並列に設置し、カニ標本は同じアングルから連続して撮影することでアカテガニ甲羅形態の性差と地域差の解析時に方向性のある非対称性とゆらぎのある非対称性をより詳細に考察できると考えられる。

一般的に、ゆらぎのある非対称性の有無は個体が発生段階で感受するさまざまな環境ストレスに対応して緩衝する能力を反映しており、発生の不安定性を示す指標と考えられている。このことは、ゆらぎのある非対称性は地理的分布と密接な関係があり、

種の分布に沿った環境の変化を表している可能性を示唆している（Kark, 2001）。一方、ゆらぎのある非対称性と異なり、方向性のある非対称性は個体発生の不安定性の信頼できる指標とはみなされてこなかった。なぜなら、方向性のある非対称性は、環境要因または遺伝的要因のいずれかによって引き起こされる部分があり、個体発生の不安定性と直接関連づけることが困難であったためである（Palmer and Strobeck, 2003）。これまでのところ、地理的な違いとは異なり、方向性のある非対称性における性差や地域差についてはほとんど注目されていない。

距離測定法に基づく能登集団と広島集団それぞれの雌雄間比較の結果、CWを共変量としたときに、OCLとMWの2形質が性差を示すことを明らかにした。両集団に共通してOCLは雄の方が長く、MWは雌の方が長くなる。さらに、LCMは両集団において雌で顕著に大きくなることが示されたので、本形質は特に雌雄を判別する上で有用な甲羅形質であると考えられる。同様に、両集団における雌雄ごとの比較から、CWを共変量としたときCLとCLMの2形質が共通して地域差を示すことが明らかになった。どちらの形質も能登集団の方が広島集団より長い傾向を示すが、CLMの方がより顕著に地域差を現している。雌雄それぞれで変化量の多い形質に着目すると、雌ではCLM、雄ではMWとなった。今後、さらに他の地域集団を用いた比較解析が必要ではあるが、CLMやMWといったアカテガニ甲羅の特徴的な“スマイル”マークに関連した形質が生息環境などの地域特性を現す指標となるかもしれない。

近年、イメージング技術や解析ソフトウェアの機能向上に伴い、形態計測手法も従来の2次元的手法に加えて3次元解析を実施する例が増えてきた。ケガニ研究を例にすると、甲羅形態を3次元スキャナーで撮影し、甲幅断面の曲率半径に明瞭な雌雄差が発見された（Toyota *et al.*, 2021）。さらに、機械学習を用いた甲殻類の形態解析も盛り上がりを見せている。例えば、腹部写真からガザミ類とノコギリガザミ類を判別するアルゴリズムが開発されたり（Wu *et al.*, 2023）、甲羅形態からチュウゴクモクズガニ（*Eriocheir sinensis*）の個体識別を可能にしたり（Zhang *et al.*, 2023）、チュウゴクモクズガニの雌雄を判別する独自のアルゴリズムで98.9%の判別精度を出すのに成功したりと（Cui *et al.*, 2020）、甲殻

類の個体識別や種判別、雌雄判別に機械学習の有用性が示されている。

本研究で確立した甲羅形態によるアカテガニの雌雄や地域集団の推定方法は、今後さらに多くの地域集団で同様の解析をすることで環境（地域性）に影響を受けやすい形質の抽出が進むと期待される。本手法は現生種の比較にとどまらず、化石記録との比較解析も可能である。実際、アカテガニの属するベンケイガニ科（*Sesarmidae*）は化石記録も報告されていることから（Luque *et al.*, 2023; Sparacio *et al.*, 2020）、本研究手法を近縁種にも応用することで化石記録の理解増進に寄与すると考えられる。また、近年、能登半島の松波川河口の調査にて、アカテガニの残骸分布が明らかになった（荒川, 2022）。これは沿岸域の歩道にて本種の捕食された痕跡として胸脚や甲羅などの残骸が多数発見されることを報告したものであるが、残骸からその個体の雌雄を判別するのが困難なことが多い。そこで、本手法を残骸の雌雄判別に適用することにより、捕食されている個体の雌雄比が判明するだけでなく、捕食圧が個体群の再生産性に与える影響をより詳細に評価できると期待できる。

## V. おわりに

アカテガニは生活史の中で多様な環境を必要とすることから、森里海川の連関を考える上で重要な生物と位置付けられている。実際、本種は全国各地の海岸にて抱卵行動の観察が実施されており、豊かな自然環境を保全する取り組みにおけるシンボル種として認知されている。一方で、本種の形態的な性差や地域差についてはこれまで十分に調べられていない。同様に、本種の各地における遺伝的な多様性についても十分な調査研究が行われていない。本研究成果はアカテガニの写真データを元にその性差や地域差の検出を可能にするものであり、実施に当たり高価な機材や専門的な知識を必要とない。本手法をもとに各地のアカテガニ標本を用いた比較解析が進むことにより、本種の形態的な共通性や環境による可塑性の大きい形態特徴が明らかになることが期待される。今後、これらの活動を組み込んだアカテガニの保全活動が各地で進み、地域個体群の標本の蓄積が求められる。

謝辞：本研究に用いた能登集団の採集には、ホテルのとकिनぶら（石川県鳳珠郡能登町越坂）、角田啓斗氏（東京理科大学）、豊田葉明氏（能登町立小木小学校）、その他に能登町立小木小学校の児童3名にもご協力いただいた。また、広島集団の採集には、神崎健太郎氏（広島大学）と岩佐健太氏（広島大学）の両名にご協力いただいた。この場を借りてお礼申し上げます。

## 文献

- Adams, D. C., Rohlf, F. J. and Slice, D. E., 2004: Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, **71**, 5–16.
- 荒川裕亮, 2022: 石川県松波川河口におけるアカテガニ *Chiromantes haematocheir* 残骸の分布。のと海洋ふれあいセンター研究報告, **28**, 6-12.
- Cui, Y. H., Pan, T. H., Chen, S. and Zou, X. B., 2020: A gender classification method for Chinese mitten crab using deep convolutional neural network. *Multimedia Tools and Applications*, **79**, 7669-7684.
- Giri, F. and Loy, A., 2008: Size and shape variation of two freshwater crabs in *Argentinean patagonia*: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. *Journal of Crustacean Biology*, **28**, 37-45.
- Grinang, J., Das, I. and Ng, P. K. L., 2019: Geometric morphometric analysis in female freshwater crabs of Sarawak (Borneo) permits addressing taxonomy-related problems. *PeerJ*, **7**, e6205.
- Hepp, L. U., Fornel, R., Restello, R. M., Trevisan, A. and Santos, S., 2012: Intraspecific morphological variation in a freshwater crustacean *Aegla planta* in Southern Brazil: effects of geographical isolation on carapace shape. *Journal of Crustacean Biology*, **32**, 511-518.
- Kalate, A., Keikhosravi, A., Naderloo, R., Hajjar, T. and Schubart, C. D., 2018: Morphometric characterization of the freshwater crab *Potamon elbursi* Pretzmann, 1962 in the Caspian Sea and Namak Lake hydrographic systems. *Journal of Crustacean Biology*, **38**, 91-100.
- Kark, S., 2001: Shifts in bilateral asymmetry within a distribution range: the case of the chukar partridge. *Evolution*, **55**, 2088-2096.
- Klingenberg, C. P., 2011: MORPHOJ: an integrated software

- package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, **11**, 353–357.
- Long, W. C., Swiney, K. M., Harris, C., Page, H. N. and Foy, R. J., 2013: Effects of ocean acidification on juvenile red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) and tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) growth, condition, calcification, and survival. *PLoS ONE*, **8**, e60959.
- Luque, J., Bracken-Grissom, H. D., Ortega-Hernández, J. and Wolfe, J. M., 2023: Fossil calibrations for molecular analyses and divergence time estimation for true crabs (Decapoda: Brachyura). *BioRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/2023.04.27.537967>
- Marchiori, A. B., Bartholomei-Santos, M. L. and Santos, S., 2014: Intraspecific variation in *Aegla longirostri* (Crustacea: Decapoda: Anomura) revealed by geometric morphometrics: evidence for ongoing speciation? *Biological Journal of the Linnean Society*, **112**, 31–39.
- Mariappan, R., Balasundaram, C. and Schmitz, B., 2000: Decapod crustacean chelipeds: an overview. *Journal of Biosciences*, **25**, 301–313.
- 中山貴将・柳井清治, 2019 : 九十九湾におけるアカテガニ類幼生とそれを捕食する魚類. のと海洋ふれあいセンター研究報告, **25**, 29-42.
- Palmer, A. R. and Strobeck, C., 1986: Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **17**, 391–421.
- Palmer, A. R. and Strobeck, C., 2003: Fluctuating asymmetry analysis revisited. In: Polak, M. ed. *Developmental Instability (DI): Cause and Consequences*. Oxford University Press, Oxford, 279–319.
- R Core Team., 2022: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rohlf, F. J., 1990: Morphometrics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **21**, 299–316.
- Rohlf, F. J., 2010: TPSDig2, version 2.16. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York. Available at: <https://life.bio.sunysb.edu/morph/> (last accessed 15 June 2023).
- Saigusa, M., 1980: Entrainment of a semilunar rhythm by a simulated moonlight cycle in the terrestrial crab, *Sesarma haematocheir*; *Oecologia*, **46**, 38–44.
- Saigusa, M. and Hidaka, T., 1978: Semilunar rhythm in the zoea-release activity of the land crabs *Sesarma*. *Oecologia*, **37**, 163–176.
- Sparacio, C. A., Buynevich, I. V., Curran, H. A. and Kopczyński, K., 2020: Morphometry of blue land crab (*Cardisoma guanhumi*) burrows: Ichnological context and paleoenvironmental implications. *Palaeos*, **35**, 461-469.
- Toyota, K., Arai Y., Miyagawa, S., Kogo, Y. and Takeuchi, K., 2020: Novel validating indices to indicate sexual differences in the horsehair crab *Erimacrus isenbeckii* (Brandt, 1848). *Aquatic Animals*, AA2021-6.
- Toyota, K., Ichikawa, T., Suzuki, N. and Ohira, T., 2023: Dietary effects on larval survival and development of three sesarmid crabs. *Plankton and Benthos Research*, **18**, 84-92.
- Toyota, K., Izumi, K., Ichikawa, T., Ohira, T. and Takeuchi, K., 2020: Morphometric approaches reveal sexual differences in the carapace shape of the horsehair crab, *Erimacrus isenbeckii* (Brandt, 1848). *Aquatic Animals*, AA2020-1.
- Wu, C., Xie, Z., Chen, K., Shi, C., Ye, Y., Xin, Y., Zarei, R. and Huang, G., 2023: A part-based deep learning network for identifying individual crabs using abdomen images. *Frontiers in Marine Science*, **10**, 1093542.
- Zhang, J. Z., Wang, S. X., Zhang, S. M., Li, J. K. and Sun, Y. Y., 2023: Research on target detection and recognition algorithm of *Eriocheir sinensis* carapace. *Multimedia Tools and Applications*, in press.