

海産メイオベントス（小型底生動物）の採集および 抽出方法

山崎, 博史
Museum für Naturkunde, Leibniz Institute for Evolution and Biodiversity

藤本, 心太
東北大学大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学教育研究センター

田中, 隼人
葛西臨海水族園

<https://hdl.handle.net/2324/4795205>

出版情報 : Taxa, Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology. 46, pp.40-53, 2019-02-28. 日本動物分類学会
バージョン :
権利関係 : 2019 The Japanese Society of Systematic Zoology



総説

海産メイオベントス（小型底生動物）の採集および抽出方法

Sampling and extraction methods for marine meiobenthos

山崎博史¹⁾・藤本心太²⁾・田中隼人³⁾Hiroshi Yamasaki¹⁾*, Shinta Fujimoto²⁾ and Hayato Tanaka³⁾

ABSTRACT

Meiobenthos is a term usually referring to microscopic benthic organisms which pass through a 1 mm mesh sieve and are retained on a 32–63 μm one. Meiobenthos occurs in any aquatic environment, shows high species diversity as well as high biomass, and often plays an important role in ecological and evolutionary studies. However, the species diversity of these animals in Japanese waters has been insufficiently investigated. Here we review several methodologies for collecting extant meiobenthos from the marine environment, including the method for sampling sediments in various environments, extracting meiobenthos from the sediment samples, and some tips for sorting, fixation, and observation of them.

Key Words: meiobenthos, meiofauna, microscopic animals, sampling, extraction, method

メイオベントスとは

メイオベントス (meiobenthos) は一般的に 1 mm の篩 (ふるい) をすり抜け、32–63 μm の篩に留まる小型底生動物を指す (図1)。後生動物だけでなく、有孔虫などの原生動物もメイオベントスとして

扱われることが多い (e.g. Mare, 1942; Higgins and Thiel, 1988; Giere, 2009)。メイオベントスは、海洋、湖沼、河川の底にたまった砂泥などのほか、藻類やフジツボ類等の付着生物の間隙などからも見つかる。また高次分類群レベルでの多様性が高く、現生 35 動物門のうち約3分の2にあたる 23 動物門でメイオベントスが見つかっている (白山, 1996)。なかでも微顎動物、動物動物、胴甲動物は、メイオベントスのみで構成される。また、メイオベントスには、門レベルで系統学的位置がはっきりしていないグループも多く (e.g. Yamasaki *et al.*, 2015)、後生動物全体の進化史を理解する上での鍵となる分類群が含まれている (Han *et al.*, 2017; Harvey and Butterfield, 2017)。メイオベントスは種多様性も非常に高く、近年でも多くの未記載種が見つかっているほか、分子系統学的手法によって数多くの隠蔽種の存在が示されつつある (e.g. Leasi *et al.*, 2016)。さらに、体サイズの小型化に伴う形態と行動の進化や間隙環境への進出と適応といった進化生物学的テーマについても注目を集めている (e.g. Tanaka, 2013; Laumer *et al.*, 2015; Tanaka and Ohtsuka, 2016)。

日本における海産メイオベントスに関する研究

我が国において海産メイオベントスを対象とした研究は、生態学の分野で比較的盛んに行われてきた (e.g., 酒井, 1985; 白山, 1989; 菊池・小菅, 1999; Shimanaga and Shirayama, 2001; Kitahashi *et al.*, 2014a, b)。特に、メイオベントスはマクロベントス (大型底生生物) と比べて、同等あるいはそれ以上の生物量を有すること (e.g. Baguley *et al.*, 2008; Wei *et al.*,

¹⁾ Museum für Naturkunde, Leibniz Institute for Evolution and Biodiversity
D-10115, Berlin, Germany
E-mail: h.yamasaki@meiobenthos.com

²⁾ 東北大学大学院生命科学研究所附属浅海海洋生物学教育研究センター
〒039-3501 青森県青森市浅虫坂本9
Research Center for Marine Biology, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, 9 Sakamoto, Asamushi, Aomori 039-3501, Japan

³⁾ 葛西臨海水族園
〒134-8587 東京都江戸川区臨海町6-2-3
Tokyo Sea Life Park, 6-2-3 Rinkai-cho, Edogawa-ku, Tokyo 134-8587, Japan

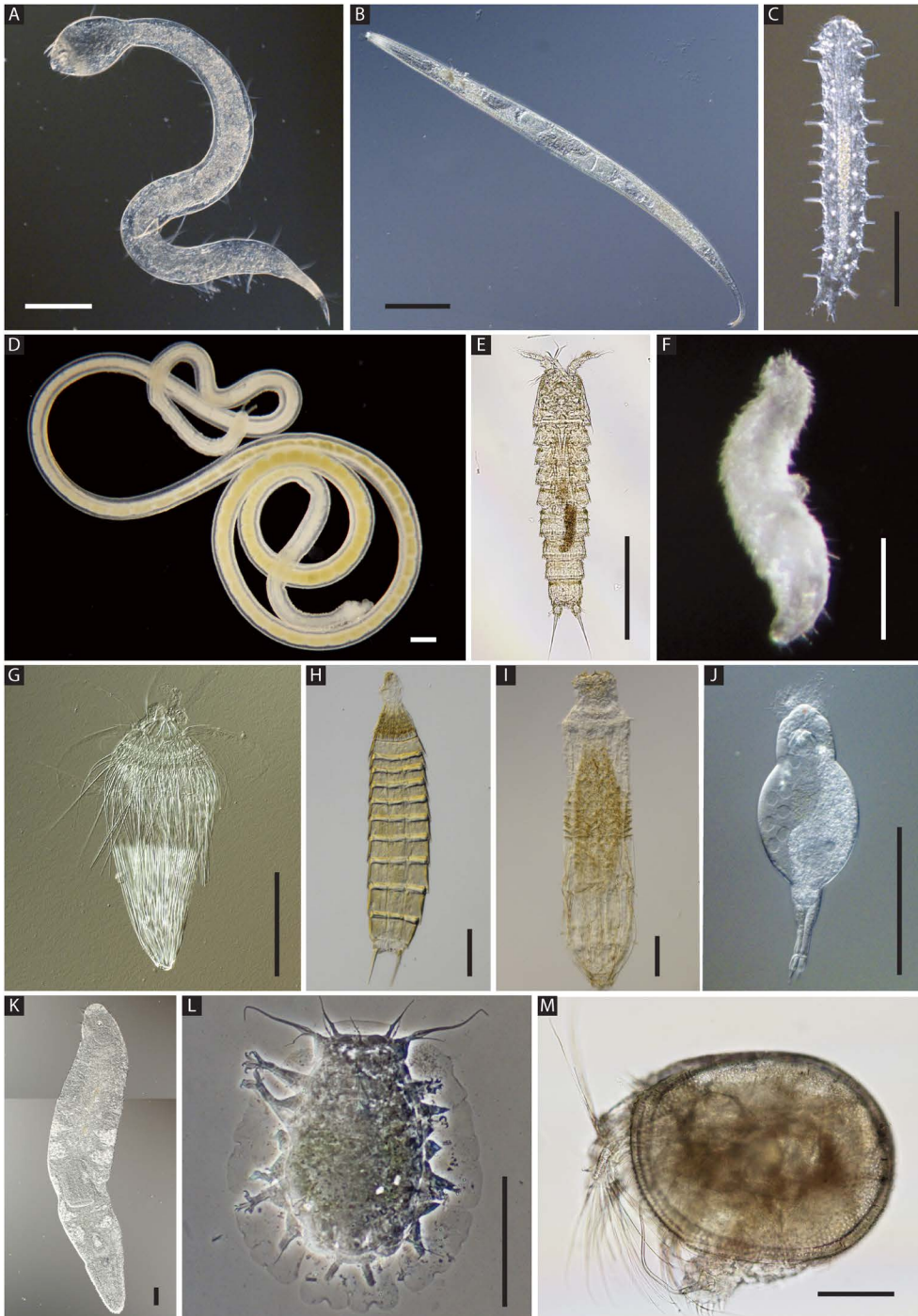


図1. さまざまなメイオベントス。A, *Draconema* sp. (線形動物)。B, 線形動物の一種。C, *Turbanella* sp. (腹毛動物: オビムシ類)。D, 環形動物の一種。E, ソコミジンコ類の一種 (節足動物: カイアシ類)。F, *Solenogastres* sp. (軟体動物: 無板類)。G, *Rugiloricus* sp. (胴甲動物)。H, *Echinoderes regina* Yamasaki, 2016b (動吻動物)。I, 鰓曳動物の一種のロリケイト幼生。J, 輪形動物の一種。K, 扁形動物の一種。L, *Florarctus* sp. (緩歩動物)。M, *Parapolycope japonica* (Hiruta, 1983) Tanaka *et al.*, 2010 (節足動物: 貝形虫類)。スケールはいずれも100 μ m。

2010) から、海洋の物質循環や環境変動などに着目した生態学的研究に広く用いられている (e.g., Shirayama, 1984; Shimanaga *et al.*, 2000; Yasuhara *et al.*, 2003; 寒川ほか, 2008; Kitahashi *et al.*, 2016). 一方で、これらの研究では、線形動物、カイアシ類 (節足動物)、貝形虫類 (節足動物)、有孔虫など、メイオベントスの中で特に優占する“一部の”分類群のみを対象とすることが多かった。そのため、分類学的な観点から見ると、日本およびその周辺海域に生息するメイオベントス相の研究は、線形動物や節足動物など一部の分類群に偏っていたと言わざるをえない (e.g., Itô and Takashio, 1980; Itô, 1981; Aryuthak, 1989; Abé, 1997; 吉川, 1999; 鬼頭, 2000; Nakao and Tsukagoshi, 2002).

近年ではマイナーな分類群も注目されるようになり、線形動物や貝形虫類、緩歩動物や動吻動物といった分類群についても、分類学的成果が発表されている (Fujimoto, 2014; Shimada and Kajihara, 2014; Tanaka and Tsukagoshi, 2014; Tanaka *et al.*, 2014; Yamasaki and Fujimoto, 2014; Fujimoto, 2015a, b; Yamasaki, 2015; Le, *et al.*, 2016; Sánchez and Yamasaki, 2016; Tanaka and Yasuhara, 2016; Yamasaki, 2016a; Fujimoto and Yamasaki, 2017). また、顎口動物や鰓曳動物、環形動物の新種記載や本邦2例目となる胴甲動物の報告が行われた (Achatz and Sterrer, 2015; Kajihara *et al.*, 2015; Yamasaki *et al.*, 2015; Schmidt-Rhaesa *et al.*, 2017) ほか、系統学的研究 (Tanaka *et al.*, 2014; Sørensen *et al.*, 2015; Yamasaki *et al.*, 2015; Karanovic *et al.*, 2016; Fujimoto *et al.*, 2017) も行われつつある。しかし依然として分類学的研究は十分とは言えず、また多くの分類群は未だ手付かずの状態にある。例えば我が国の動物分類学の専門誌である *Species Diversity* 誌に掲載された468論文 (1号から22号2巻まで) のうち、日本産メイオベントスを扱った論文は23本しかない。また分類群別に見ると、節足動物18本 (ダニ類4本、カイアシ類5、貝形虫類9本)、線形動物3本、動吻動物2本と非常に偏っていることがわかる。論文数が少ない原因のひとつとして、メイオベントスの効率的な採集・抽出方法がほとんど知られていないことが挙げられる。体サイズの小ささと普段は砂や泥に紛れて暮らしている性質上、メイオベントスの採集・抽出にはいくつか

の工夫が必要である。これを知らずに、実体顕微鏡などを駆使してメイオベントスを見つけようとしても、砂や泥しか見えずに終わるのがオチである。また見つけれないことには、研究材料として扱うことは不可能である。

本論文では「如何にメイオベントスを見つけるか」に焦点を絞って、当該研究分野で用いられている方法と著者らの実践的工夫を紹介していく。メイオベントス採集方法は、英文にていくつかまとめられているものの (Uhlir *et al.*, 1973; Higgins and Thiel, 1988; Giere, 2009; Somerfield and Warwick, 2013)、和文で要約された文献は数少ない。日本のメイオベントス研究の先駆者ともいえる故伊藤立則博士は、著書「砂のすきまの生きものたち」(伊藤, 1985) の中で、「付録間隙動物の簡単な採集法・観察法」として、洗い出し法と腐敗法を紹介しているが、昨今では、さらに効率的なメイオベントス採集方法・抽出方法も考案されている。本稿には、上記の伝統的な手法に併せて、近年考案された手法も網羅した。各手法の紹介では、初出文献および参考となる文献を可能な限り引用した。しかし、中には初出文献が見つからなかった方法や、筆者らが独自に改良を加えた方法もあることに留意されたい。また調査地の環境や目的の分類群によって、最適な方法が異なってくるため、文献情報や著者らの経験に基づき、どのような環境、あるいはどの分類群に適した方法であるかも併記した。なお本稿では、現生のメイオベントスの分類学的研究に用いることを考慮し、主に定性的な採集方法および抽出方法を紹介する。定量的採集方法については、上記の英文文献も併せて参照していただきたい。また本稿では、海産メイオベントスの採集・抽出方法に特化して執筆しているが、洗い出し法や密度分離法は淡水産メイオベントスにも応用できる。本論文を通じて、「メイオベントスを探ってみよう」と思っていただけの方が増えれば幸いである。

■ 基質の採集方法

フィールドでメイオベントスを“見つけ採り”することは不可能である。メイオベントスを見つけるためには、「メイオベントスが暮らす砂や泥などの

基質（＝堆積物サンプル）の採集」と、「堆積物サンプルからのメイオベントスの抽出」が必要である。まずは前者について、筆者らがこれまで行ってきた方法をいくつか紹介したい。

なお、メイオベントスを得るに当たって、細かい目合のプランクトンネット（口径15–30 cm、側長20–40 cm程度）や篩を多用する。以下、特に断りがない限り、本論文中的「プランクトンネット」および「篩」は目合32–63 μm を意味する。

砂浜・磯での採集

砂浜や磯は、メイオベントスが暮らす基質を最も簡単に採集できる場所である。アクセスの容易さも相まって、これまでも日本の複数の砂浜で、メイオベントスに焦点を絞った生物相調査が行われている（e.g. Itô, 1978; 蛭田・堀, 1998, 2000）。砂浜での基質採集は、スコップで基質を掘り、バケツ等の容器に入れて持ち帰るだけである。ほかにも、スコップで穴を掘ったときに滲出してくる水や、ピストンポンプでくみ上げた地下水をプランクトンネット等で濾し、基質及びメイオベントスを採集する方法（前者はKaraman-Chappuis法、後者はBou-Rouch法と呼ばれる）も用いられている（e.g., Wetzer, 2015; Karanovic *et al.*, 2016）。

一見同じように見える砂浜でも、堆積物の粒度や汀線からの距離（潮下帯、汀線上、潮上帯）、砂浜表面からの深さなどによって、動物相や個体数が大きく異なる場合があることを留意する必要がある。なお筆者らは、採集の行い易さから、干潮時に調査を実施することが多い。

磯ではタイドプールに溜まった基質のほか、付着生物（藻類、フジツボ類、コケムシ類など）の表層や付着生物と岩肌表面の間にメイオベントスが暮らしている。タイドプールの基質は砂浜での採集と同様、スコップ等を用いて容易に採集可能である。岩肌に付着した生物および付着生物に堆積した砂泥は、ヘラやナイフを使って付着生物ごと持ち帰るか、ブラシなどで付着生物をこすり、表面の付着物をプランクトンネットなどで回収するのが良い（図2A）。

浅海での採集：SCUBAダイビング

SCUBAダイビングは水深数十mで浅の基質を採集する際に有効である。自分の目で底質や周りの環境を確かめながら採集できるだけでなく、オーバーハング下や海底洞窟内など他の方法ではアクセスが困難な場所で採集できるという利点がある。筆者らがSCUBAダイビングで採集する際は、丈夫な網袋に空のプラスチック製広口瓶数本を入れて潜水する（図2B）。水圧による容器の変形を防ぐため、潜水前にあらかじめ容器に海水を満たしておくか、容器の蓋を閉めずに潜水する。目当ての基質を見つけたら、嫌気的環境を好む分類群を狙わない限り、メイオベントスの個体数の密度がもっとも高い基質表層を容器で掬い取るようにしている。この際、できるだけ基質を攪拌しないように気をつけた方がよい。攪拌してしまうと、メイオベントスが基質から逃れてしまうだけでなく、巻き上がった砂泥で視界が悪くなり、不慮の事故につながりかねない。

浅海–深海での採集：ドレッジ、採泥器

さらに深い水深では、ドレッジや採泥器（図2C）を用いて基質を採集できる。一般的な生物ドレッジは網目の大きいものが多いが、網内に詰まった堆積物や他の生物表面からメイオベントスを見つけることができる。また、より網目が小さくメイオベントス専用に設計された、ヒギンズ式メイオフアウナドレッジやアンカードレッジも存在する（図2D）（Higgins and Thiel, 1988; Sørensen and Pardos, 2008）。

深海性小型甲殻類を採集するために考案された「内ネット」（秋山ら, 2008）はメイオベントスを得る目的にも利用することができる（e.g., 木村ら, 2018）（図2E）。強度との兼ね合いから、筆者らは目合300 μm の内ネット（口径25 cm、側長100 cm）を使用している。内ネット曳航中は、網目に泥が詰まることが多く（図2F）、目合より小さな生物も得ることができている。さらに小さな目合のネット地を用いれば、より確実にメイオベントスを得ることができるが、曳航中に破れる可能性も高くなってしまう。

ドレッジ等の底引き網は、一度に広範囲のサンプルを得ることができるため、定性的な調査に適している（e.g., 田中・大塚, 2015）。一方、スミスマッ

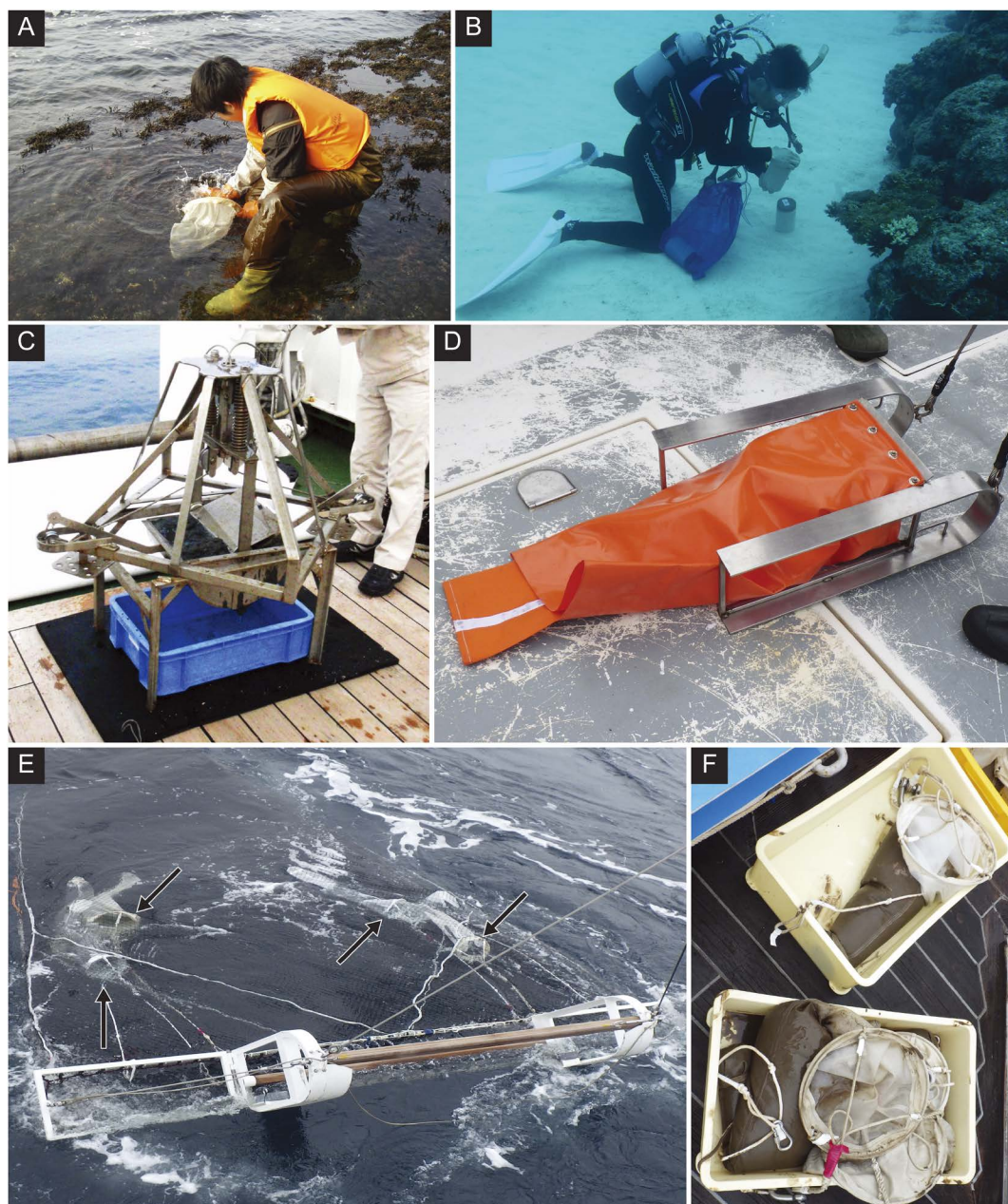


図2. 基質のサンプリング方法. A, 磯にある岩等の間隙に堆積した基質をこすりとり、プランクトンネットで受けている様子. B, SCUBA ダイビングにて基質を採集している様子. C, スミスマッキンタイヤ採泥器. D, ヒギンズ式メイオファウナドレッジ. E, 内ネットを装着したベントスネット. 矢印が内ネットを指している. F, 内ネットに詰まった泥.

キンタイヤ採泥器, エクマンバージ採泥器, Van Veen Grab Sampler, コアサンプラーといった採泥器は一定面積の基質を採集することができるため, 定量的な調査に向いている (Higgins and Thiel, 1988).

堆積物サンプルからメイオベントスを抽出する方法

これまでにいくつかの抽出方法が提唱されてい

る。しかし万能な抽出方法は無く、得られた堆積物や抽出したい分類群によって、抽出方法を使い分けることが望ましい。特に体が脆く、また同定のために生きた状態での観察が必要な動物群（腹毛動物や顎口動物など）に対しては、生物に与えるダメージが最も少ない方法（塩化マグネシウム水溶液か海水を用いた洗い出し法、または氷冷法）を用いることが好ましい。また複数の方法を組み合わせることで、抽出効率が上がる場合もある。固定前（生物が生きた状態）であれば、下記のいずれの方法も用いることができる。抽出前に堆積物サンプルごと固定した場合は、洗い出し法および密度分離法を用いると良い。抽出後のサンプル中には、目的のメイオベントス以外にも、目的外の分類群や除去し切れなかった堆積物が含まれることが多いため、実体顕微鏡等を用いてソーティングを行うことが望ましい。

また抽出の前段階として、目合1 mmおよび32–63 μm の篩やプランクトンネットを用いて、大型生物や岩石、あるいは極細粒の泥やシルトを除去することもある。目合1 mmの網目を通り抜け、32–63 μm の篩に残ったサンプルを抽出に用いることで、メイオベントスのみを扱うことができる（ただし、粘液等を利用して基質にしがみつき、なかなか1 mmの篩をすり抜けられないメイオベントスもいるこ

とを留意しなくてはならない。このような生物の抽出には、後述する浸透圧ショックや麻酔液を組み合わせると効果的である）。比重が大きい動物〔たとえば貝類（軟体動物）や貝形虫類など〕の抽出には、以下に述べる方法では効率良く抽出できないことがあるため、32–63 μm の篩に残ったサンプルから直接ソーティングを行う場合もある。

洗い出し法（かきまぜ法）（図3）

洗い出し法（decanting and sieving method）あるいは、かきまぜ法（decantation method）は、最も一般的なメイオベントス抽出方法であり、かつ最も多くの分類群を抽出できる方法である。

必要なものは、バケツ1つ、海水または淡水（水道水で良い）、洗瓶、プランクトンネットまたは篩である。（1）バケツに堆積物サンプルと海水または淡水を入れる。淡水を用いた場合、浸透圧ショックによって生物が堆積物から遊離しやすくなり、抽出効率が上がる。淡水の使用は、甲殻類や線形動物などのほか、緩歩動物や胴甲動物の抽出に効果的である（伊藤，1980; Kristensen, 1983）。一方で、体の“柔らかい”生物（扁形動物、腹毛動物、顎口動物、環形動物など）は形態が損なわれることがあるため、淡水の使用は避けたほうが良い。海水と淡水の



図3. 洗い出し法。A, 堆積物サンプルと海水（あるいは淡水や塩化マグネシウム水溶液）をバケツに入れ、よく攪拌する。B, 上澄み液をプランクトンネット、あるいは篩で濾す。

どちらを用いるかは、抽出したいメイオベントスによって決めることが望ましい。また、一度に処理する堆積物サンプルの量は多すぎないほうが抽出効率が高い（例：10 L バケツに 500 cm³ 以下の堆積物サンプルと、3, 4 L 以上の水を用いる）。（2）バケツ内の堆積物と水をよく攪拌する（図3A）。手でかき混ぜても良いが、粗い砂や、人工のガラス片、硬骨海綿類の骨片などが含まれる場合は、指先から肘まで保護できる手袋（耐油性のものなど）を着用することをおすすめる。（3）堆積物が大体沈むのを待ち、上澄みをネットまたは篩で濾す（図3B）。貝類（軟体動物）、有孔虫、貝形虫類など比重の大きい動物を対象とする場合は、上澄みを勢いよく注ぐと抽出効率が良い。（4）（1）–（3）を3から5回程度繰り返す。多くの場合、4回ほど反復することで、試料中のメイオベントス 80 ~ 95% 程度を抽出できる（山西, 1979）（5）ネットまたは篩に溜まった、メイオベントスを含む抽出物を洗瓶でサンプル瓶等に流し入れる。淡水で洗い出しを行った場合でも、サンプル瓶に移す際に海水を使えば、多くの分類群で生きた状態の個体を得ることができる。

また、淡水中では浸透圧差によって体が破裂してしまうこともある体の“柔らかい”生物（扁形動物、腹毛動物、顎口動物など）を洗い出す際は、塩化マグネシウム水溶液を用いることもある。この場合、浸透圧による損傷なしに麻酔することができる。海水と等張の麻酔液（7.5 g の MgCl₂·6H₂O を

100 ml の淡水に溶かしたもの）を等量の堆積物と攪拌し、10 分静置したのち、洗い出しを行う（Higgins and Thiel, 1988）。二度目の洗い出しからは海水との攪拌でよい。筆者らは塩化マグネシウム水溶液の調整を塩分計、なければ、市販の観賞魚用のハイドローメータで行っている。

ドレッジや採泥器を用いた採集で大量の堆積物が得られた場合は、秋山ら（2008）にあるように、容積約 35 L 程の平たいバット・ばんじゅう等を利用すると効率が良い。

シルトや泥などから成る細粒～極細粒の堆積物サンプルではプランクトンネットの目詰まりが起きやすく、洗い出し法は抽出効率が非常に悪いというデメリットがある。このデメリットは、後述の密度分離法や腐敗法と組み合わせることによって、ある程度解消することもできる。

泡立て法（図4）

泡立て法（bubbling and blot method）（Higgins and Thiel, 1988; Sørensen and Pardos, 2008）は疎水性の体表面を持つメイオベントスの抽出に適した方法である。体表に気泡を付着させ、気泡の浮力によって、堆積物サンプルからメイオベントスを遊離させる。特に動吻動物を抽出する際に用いられるが（Sørensen and Pardos, 2008）、貝形虫類、カイアシ類、タナイス類等の節足動物や線形動物なども、同時に得られることが多い（ただし筆者らの経験上、等脚



図4. 泡立て法。A. バケツ内で攪拌した堆積物サンプルを、もう一方のバケツに勢いよく注ぎ込む。B. 上質紙を水面に浮かべ、すぐに回収する。C. 上質紙に付着したメイオベントスを洗い流し、プランクトンネットに受ける。山崎（2015）より改変。

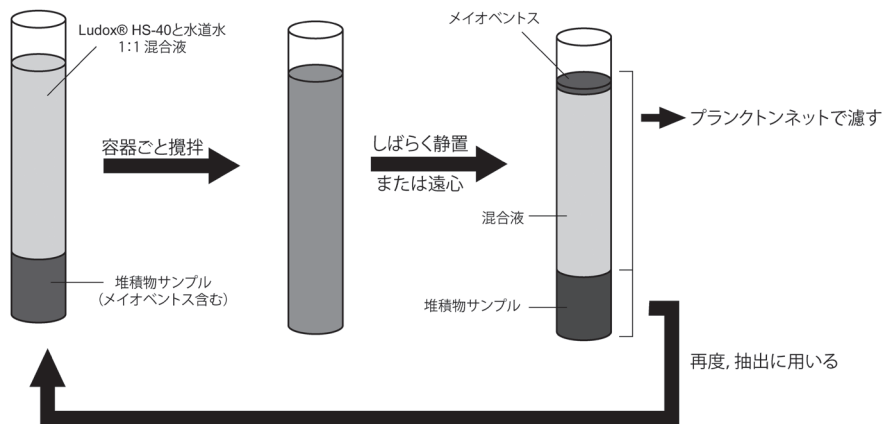


図5. 密度分離法。

類や *Draconematidae* 科線形動物など、泡立て法で抽出できない種もいる）。抽出できる分類群が限られるというデメリットがあるが、適切な分類群に対しては、礫や粗粒砂から泥や粘土まで、どのような堆積物サンプルからも効率的に抽出することができる。

必要なものは、バケツ2つ、海水、上質紙（コピー用紙の裏紙でもよい）、洗瓶、プランクトンネットである。（1）まず一方のバケツに、堆積物サンプルと海水を入れる。このとき堆積物を入れすぎると、気泡が堆積物内に行き渡りにくくなり、著しく効率が低下する。おおよそ堆積物サンプル：海水＝1：4を目安にするとよい。（2）堆積物と海水をよく攪拌した後、1 m程度の高さからもう一方のバケツに勢よく注ぎ込む（図4A）。この際に生じた気泡が、メイオベントス体表に付着する。（3）より多くの気泡を生じさせるため、（2）の作業を3–10回程度繰り返す。（4）数分間、バケツを静置する。静置している間に、堆積物は沈降し、気泡が付着したメイオベントスは水面に浮上する。なお一度水面に浮上したメイオベントスは、自力では容易に水中に戻ることができず、水面にトラップされる。（5）堆積物が沈降した後、バケツ水面に上質紙を浮かべ、すぐに回収する（図4B）。この際、水面にトラップされた生物が上質紙に付着する。（6）洗瓶を用いて、回収した上質紙の表面を海水で洗い流す（図4C）。洗い流した液体中にメイオベントスが含まれるので、上質紙の下にプランクトンネットを置

いて回収すると良い。（7）水面の浮遊物がなくなるまで（5）、（6）を繰り返す。（8）（2）–（7）の作業を数回繰り返す。（9）プランクトンネット内に溜まったサンプルを、洗瓶でサンプル瓶等に流し入れる。

密度分離法（図5）

密度分離法（floatation methodあるいはdensity separation method）（de Jonge and Bouwman, 1977; Burgess, 2001; Giere, 2009; Somerfield and Werwick, 2013）は生物と砂泥の粒子の比重の違いを利用した方法である。この方法はシルトや泥のサンプルを処理することに優れている。また固定後のサンプルからの抽出や、他の抽出方法と組み合わせて、さらに堆積物を除くためにも用いることができる。メイオベントスにはLadell（1936）によって初めてこの方法が用いられた。

必要なものは、分離剤、水道水、遠沈管やシリンダーといった底面に対して高さのある容器、洗瓶、プランクトンネットあるいは篩である。初期には硫酸マグネシウム水溶液あるいは糖類水溶液が分離剤として用いられ、研究者自身の手によって水溶液密度を調整する必要があった（Ladell, 1936; Caveness and Jensen, 1955）。近年ではこれらに取って代わり、特定密度に調整済みのガラスコロイド溶液、Ludox®やLevasil®が用いられることが多い（de Jonge and Bouwman, 1977; Burgess, 2001; Giere, 2009）。本稿では筆者らが多用しているコロイド状シリカLudox® HS-40（Sigma-Aldrich Co., St. Louis）（1.3 g ml⁻¹）

を用いる方法を紹介する。なおこの溶液は海水、エタノール、ホルマリンと反応し、ゼリー状に固まってしまうため、注意が必要である。サンプル処理中にコロイド状シリカがゼリー状になってしまった場合は、それをプランクトンネットに入れて流水で洗うことで、元に戻すことができる。(1) 堆積物サンプルから海水、エタノール、ホルマリンを除去する。サンプルをプランクトンネットあるいは篩に入れて、水道水で洗うとよい。(2) 分離剤と水道水の混合溶液の比重が、生物の比重 [e.g. 海産線虫類の比重 1.13 (Wieser, 1960)] 以上となるように、堆積物サンプル、分離剤、水道水を容器の中で調整する。一度に処理する堆積物サンプルの量が少ないうほど抽出効率は良く、溶液の3分の1以下の体積にすることが望ましい。筆者らは容器の4分の1まで水分を含んだ堆積物を入れ、残りの4分の3に分離剤と水道水3:2の混合液を入れることが多い。(3) 容器ごと攪拌する。(4) 遠心分離機を用いるか静置する。容器内が溶液層と堆積物の沈殿した層に分離したことを確認する。生物は溶液層中、特に溶液層上層に集まっている。(5) 溶液をプランクトンネットで濾す。この際、容器底に沈殿した堆積物層をプランクトンネットに注がないように注意する。濾過後の溶液は再利用可能であるが、溶液の比重が小さくなっていることを留意する必要がある。定量的な調査を行う場合は、処理ごとに新しい溶液を用いるほうが好ましい。(6) プランクトンネット内の抽出

物を水道水で洗い、分離剤を除去したのち、洗瓶を用いてサンプル瓶に流し入れる。(7) (3)–(6)の作業を4回程度繰り返す。

Burgess (2001) によると、堆積物中に含まれるメイオベントスのうち、概ね95%以上の個体を密度分離法によって抽出できる。一方で、分類群によって抽出効率が異なり、有孔虫の抽出効率は88%まで下がることを指摘している。筆者らの経験上も、貝形虫類、貝類、有孔虫といった石灰質の殻を持った比重の大きい生物や、比重の大きい粒子とからまった状態の他の生物は、この方法では抽出できないことがあることを述べておきたい。また藻類やその他の有機物の多く含まれるサンプルでは、多量の有機物がメイオベントスとともに抽出されてしまい、その後のソーティングが困難になる。

氷冷法 (図6)

氷冷法 (seawater ice method) (Uhlig, 1964, 1968) は堆積物サンプルの上に海水を凍らせた氷 (以下、氷) を置き、この氷が溶けるにしたがって起きる塩濃度の変化と下方への海水の流れによって生物がサンプルの下に設置したシャーレに落ちるというものである。この手法で、繊毛虫、扁形動物、顎口動物といった間隙水中を泳ぐような生物を抽出することができる。本方法の最大のメリットは、体が柔らかいメイオベントスを傷つけず、生きた状態で抽出することができることである。ただし、この方法で処

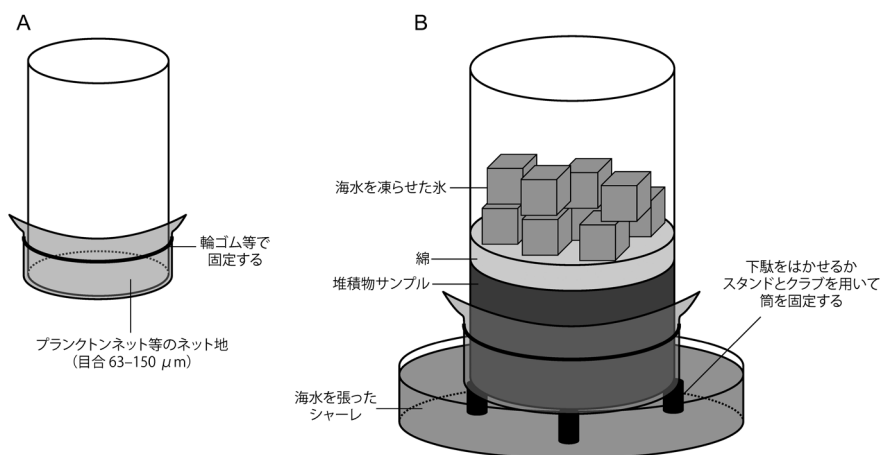


図6. 氷冷法。A. 氷冷法で用いる容器。B. 氷冷法用にサンプルをセットした図。この状態で、メイオベントスがシャーレ内に移動するのを待つ。

理したあとも多くの生物はサンプルに残ったままである。また固定前のサンプルにのみ用いることができる。

必要なものは、氷、片側の口が目合63–150 μm の網で覆われた筒〔網の目合は、堆積物の粒度や目的の生物の体サイズに応じて変化させるとよい (Uhlig *et al.*, 1973)〕、綿、筒の直径よりも大きいシャーレ、雑巾である。(1) 濾過海水を張ったシャーレを用意する。なお、海水があふれたときのため、シャーレの下には雑巾を敷いておくか、海水をうける容器をおく。(2) 筒の網面を下に向けた状態で堆積物サンプルを入れ、その上に綿を敷く。(3) この筒の網面を海水の張ったシャーレに浸し、網面がシャーレの底につかないように固定する。ここで堆積物サンプル、網面、シャーレの間に空気が挟まらないように注意する。筒の固定にはスタンドとクランプを用いるか、プラスチックのブロックなどで筒に下駄をはかせるとよい。(4) 砕いた氷を筒の綿の上に載せる。(5) 氷が溶けるのを待つ。定期的に新しいシャーレを交換し、抽出物を観察する。

腐敗法

腐敗法 (deterioration technique) (Higgins and Thiel, 1988) はサンプルを腐敗 (酸化欠乏) させ、表層に逃げてきたメイオベントスを掬う簡便な方法である。ただし伊藤 (1985) にもあるように、サンプルを放棄していないことを周囲に伝えておく必要がある。

必要なものはサンプルを入れておく容器と海水と周囲の理解である。(1) 採集したサンプルに浅く海水を張った状態で1日から数日漬けておく。(2) サンプルの腐敗が進み酸欠となり、堆積物表面に生物が集まってくる。(3) これをスポイトで吸うか、あるいはスコップで堆積物の表層のみを掬う。(4) そのまま観察を行うか、他の抽出方法で処理してさらに堆積物を除去する。

また腐敗法を他の抽出法と組み合わせて、抽出効率をあげることもできる (Boaden, 1963; Sterrer, 1968, 1998; Armonies and Hellwig, 1986)。たとえば Armonies and Hellwig (1986) では、腐敗法と洗い出し法を組み合わせ、泥状堆積物サンプルの抽出効率を向上させている。採集した泥状堆積物サンプルの上に、洗浄済みの粗砂を敷き詰めて約2 cmの層を

作り、このまま1~4日放置した後 (この間に、生物は表面=粗砂の層に集まる)、粗砂のみを取り分けて、洗い出し法に用いるのである。Armonies and Hellwig (1986) によると、この方法によって扁形動物、環形動物、カイアシ類、貝形虫類を定量的に抽出することができる。さらに顎口動物の採集には、下記の複合的方法が用いられることがある。(1) 腐敗法で数日間放置した堆積物の表層を塩化マグネシウムで洗い出す。(2) 抽出物を目合63 μm の篩の上におき、濾過海水の張ったシャーレに浸す。(3) 負の走光性により網を通り抜けシャーレに動物が落ちるのを待つ。Sterrer (1998) はこの方法で顎口動物の他にも様々なメイオベントスが抽出できることを報告している。

ソーティング、固定、観察時の注意点

駒込ピペット等を使い、各抽出方法で得られたサンプルを適量シャーレに取る。環形動物や軟体動物などの比較的大きい動物や、カイアシ類や貝形虫類のように素早く動く動物を観察するときは直径10 cmくらいのシャーレを用いると良い。一方、緩歩動物、動物動物、胴甲動物のように非常に小さい動物を観察する際は、直径3–4 cmくらいの小さなシャーレのほうが、対象生物を見失うことが少なく、使い勝手が良い。メイオベントスの体は無色透明なことが多く、明視野での実体顕微鏡ソーティングは困難である。黒色のステージプレートをシャーレの下に敷いたり、反射鏡で透過照明の照射角度を調整するなどして暗視野で観察すると、格段に生物を見つけやすくなる。

また、抽出したサンプルにローズベンガル溶液を加え動物体を染色しておくとしソーティングが容易になる。しかし同時に、動物の体表の微細構造が観察しにくくなることから、光学顕微鏡による詳細な形態観察が必要な場合は染色しないほうが良い。

メイオベントスのハンドリングには、先端を細くしたパスツールピペット (Somerfield and Warwick, 2013)、微生物ピンセットやアーウィンループ (Schram and Davison, 2012) を用いると良い。特に粘液を分泌するメイオベントスは、パスツールピペットの内壁に付着してしまうことが多く、アーウィン

ループの使用が好ましい。また有柄針として、細い昆虫針やタングステンニードルを木の棒（割り箸など）の先端に固定したものを用意しておく、付着したゴミの除去などに役立つ。針の変わりに睫を用いると、程よい弾力のために生物を傷つけにくい。

固定液には、一般の無脊椎動物に用いられるものと同様に3–5%の中性緩衝ホルマリン溶液や70–80%エタノールが使われることが多い。しかし分類群や研究目的によっては特殊な固定液や固定方法が必要となる。Higgins and Thiel (1988) には様々なメイオベントス分類群の固定方法・観察方法が記されている。ただし分類群によっては、近年の観察技術発達に伴って、固定方法が上述論文出版時から変化している可能性がある。該当分類群の近年出版された論文も併せて検索することをお勧めしたい。

まとめ

本稿ではメイオベントス、特に海産種の採集・抽出方法について紹介してきた。メイオベントスはあるとあらゆる水域から見つかるものの、その体サイズの小ささによって見過ごされがちなグループである。一方で、冒頭で述べたように、後生生物の種多様性、系統進化、生態を理解する上で、メイオベントスは“無視できない”グループでもある。本論文は、メイオベントス学の入り口として採集、抽出や観察の方法に焦点を当てた。これを読んだ方が、メイオベントスの採集・抽出・観察に挑戦し、今まであまり目を向けることがなかった微小な動物たちの奇妙な形態や生態に驚いていただければ幸いである。近年、日本のメイオベントス学は徐々に活発化してきているように感じるが、まだまだ十分な研究が行われているとは言い難い。本論文によってメイオベントスに興味を持つ研究者や一般の方々、または実際にメイオベントスの研究を始める方が増えることを期待してやまない。

わが国におけるメイオベントス学のさらなる活性化を願って、筆者らは最近、日本メイオファウナ研究会 (Japanese Association of Meiobenthologists) を設立した。当会ではメイオベントス研究や研究材料の情報交換、日本産メイオベントスの種および文献リストの作成を行っている。まだまだ小さなコミュ

ニティではあるが、新たにメイオベントス研究を始めやすい環境整備やメイオベントス研究者同士の交流など、日本のメイオベントス研究の発展に貢献していきたいと考えている。興味をお持ちの読者がいらっしゃれば、ぜひ本会のウェブサイト (<https://sites.google.com/site/meiofaunajapan/>) を訪問していただければ幸いである。

謝辞

北海道大学の角井敬知講師には、メイオベントス採集法・抽出法の改良について多くのご助言をいただいた。また広島大学の大塚政教授と豊潮丸の皆様、中央水産研究所の藤本賢博士、森田貴己博士、帰山秀樹博士ならびに蒼鷹丸の皆様には、数々の調査航海にて、メイオベントス採集法・抽出法を試行錯誤する機会をいただいた。また2名の匿名査読者より、本稿の内容に関して貴重なご助言をいただいた。この場を借りて、深く感謝いたします。

文献

- Achatz, J. G. and Sterrer, W. 2015. New Austrognathiidae (Gnathostomulida: Conophoralia) from Hong Kong and Japan: microscopic anatomy, ultrastructure and evolutionary implications. *Zootaxa*, 3955: 267–282.
- 秋山 貞・下村通啓・中村光一郎 2008. 深海性小型節足動物の採集—機器、用具および船上でのサンプル処理—. タクサ日本動物分類学会誌, 24: 27–32.
- Abé, H. 1997. Halacarid mites of the genus *Actacarus* (Acar: Halacaridae) from Hokkaido, northern Japan. *Species Diversity*, 2: 31–42.
- Armonies, W. and Hellwig, M. 1986. Quantitative extraction of living meiofauna from marine and brackish muddy sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 29: 37–43.
- Aryuthaka, C. 1989. Two new species of the genus *Rhynchonema* (Nematoda, Xyalidae) from Amakusa, South Japan. *Hydrobiologia*, 171: 3–10.
- Baguley, J. G., Montagna, P. A. and Rowe, G. T. 2008. Metazoan meiofauna biomass, grazing, and weight-dependent respiration in the Northern Gulf of Mexico deep sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 55: 24–26.
- Burgess, R. 2001. An improved protocol for separating meiofauna from sediments using colloidal silica sols. *Marine Ecology Progress Series*, 214: 161–165.
- Boaden, P. J. S. 1963. The interstitial fauna of some North

- Wales beaches. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 43: 79–96.
- Bou, C. 1974. Les méthodes de récolte dans les eaux souterraines interstitielles. *Annales de Spéléologie*, 29: 611–619.
- Caviness, F. E. and Jensen, H. J. 1955. Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 22: 87–89.
- de Jonge, V. N. and Bouwman, L. A. 1977. A simple density separation technique for quantitative isolation of meio-benthos using the colloidal silica Ludox-TM. *Marine Biology*, 42: 143–148.
- Fujimoto, S. 2014. A new *Stygartus* (Arthrotardigrada: Stygartidae) from Japan, with entangled seminal receptacle ducts. *Zootaxa*, 3784: 187–195.
- Fujimoto, S. 2015a. Halechiniscidae (Heterotardigrada, Arthrotardigrada) of Oura Bay, Okinawajima, Ryukyu Islands, with descriptions of three new species. *ZooKeys*, 483: 149–166.
- Fujimoto, S. 2015b. *Quisartus yasumurai* gen. et sp. nov. (Arthrotardigrada: Halechiniscidae) from a submarine cave, off Iejima, Ryukyu Islands, Japan. *Zootaxa*, 3948: 145–150.
- Fujimoto, S., Jørgensen, A. and Hansen, J. G. 2017. A molecular approach to arthrotardigrade phylogeny (Heterotardigrada, Tardigrada). *Zoologica Scripta*, 46: 496–505.
- Fujimoto, S. and Yamasaki, H. 2017. A new genus and species of Renaudarctidae (Heterotardigrada: Arthrotardigrada) from Ryukyu Archipelago, Japan. *Marine Biology Research*, 13: 288–299.
- Giere, O. 2009. *Meiobenthology. The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments*. 527 pp. Springer Verlag, Berlin.
- Han, J., Conway Morris, S., Ou, Q., Shu, D. and Huang, H. 2017. Meiofaunal deuterostomes from the basal Cambrian of Shaanxi (China). *Nature*, 542(7640): 228–231.
- Harvey, T. H. P. and Butterfield, N. J. 2017. Exceptionally preserved Cambrian loriciferans and the early animal invasion of the meiobenthos. *Nature Ecology and Evolution*, 1, 0022.
- Higgins, R. P., Thiel, H. 1988. *Introduction to the Study of Meiofauna*. 488 pp. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Hiruta, S. 1983. A new species of the genus *Polycope* Sars from the Inland Sea of Japan (Ostracoda: Cladocopina). *Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology*, 26: 1–10.
- 蛭田眞一・堀 一道 1998. オホーツク海岸の海産間隙動物について. 釧路論集, 30: 51–62.
- 蛭田眞一・堀 一道 2000. 砂浜に棲む微小な動物たち—間隙動物—. 環境教育研究, 3: 141–151.
- Itô, T. 1978. Meiobenthos of a shallow-water sandy bottom in Ishikari Bay, Hokkaido: a general account. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University. Series 6, Zoology*, 21: 287–294.
- 伊藤立則 1980. 同一定量サンプルによる間隙動物の抽出と砂の要因分析 (孔隙量・含水量・粒度組成) の試み. ベントス研連誌, 19/20: 88–94.
- Itô, T. 1981. Descriptions and records of marine harpacticoid copepods from Hokkaido, VIII. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University. Series 6, Zoology*, 22: 422–450.
- Itô, T. and Takashio, T. 1980. *Canthocamptus mirabilis* Št. rba (Copepoda, Harpacticoida) from Hokkaido, northern Japan. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 53: 210–219.
- 伊藤立則 1985. 砂のすきまの生き物たち. 間隙生物学入門. 241 pp. 海鳴社, 東京.
- Kajihara, H., Ikoma, M., Yamasaki, H. and Hiruta, S. F. 2015. *Trilobodrilus itoi* sp. nov., with a re-description of *T. nipponicus* (Annelida: Dinophilidae) and a molecular phylogeny of the genus. *Zoological Science*, 32: 405–417.
- Karanovic, I., Tanaka, H. and Tsukagoshi, A. 2016. Congruence between male upper lip morphology and molecular phylogeny in *Parapolycope* (Crustacea) with two new species from Korea. *Invertebrate Systematics*, 30: 231–254.
- 菊池知彦・小菅英明 1999. 相模湾真鶴半島尻掛海岸におけるメイオベントスの分布生態. *Actinia*, 12: 135–146.
- 木村妙子・木村昭一・自見直人・角井敬一・富岡森理・大矢佑基・松本 裕・田邊優航・長谷川尚弘・波々伯部夏美・本間理子・細田悠史・藤本心太・倉持利明・藤田敏彦・小川晟人・小林 格・石田吉明・田中 颯・大西はるか・締次美穂・吉川晟弘・田中正敦・櫛田優花・前川陽一・中村亨・奥村順哉・田中香月. 2018. 三重県熊野灘の深海底生生物相. 三重大学フィールド研究・技術年報, 16: 1–32.
- Kitahashi, T., Jenkins, R. G., Nomaki, H., Shimanaga, M., Fujikura, K. and Kojima, S. 2014a. Effect of the 2011 Tohoku Earthquake on deep-sea meiofaunal assemblages inhabiting the landward slope of the Japan Trench. *Marine Geology*, 358: 128–137.
- Kitahashi, T., Kawamura, K., Kojima, S. and Shimanaga, M. 2014b. Bathymetric patterns of α and β diversity of harpacticoid copepods at the genus level around the Ryukyu Trench, and turnover diversity between trenches around Japan. *Progress in Oceanography*, 123: 54–63.
- Kitahashi, T., Watanabe, H., Ikehara, K., Jenkins, R. G., Kojima, S. and Shimanaga, M. 2016. Deep-sea meiofauna off the Pacific coast of Tohoku and other trench slopes around Japan: A comparative study before and after the 2011 off the Pacific coast of Tohoku Earthquake. *Journal of Oceanography*, 72: 129–139.
- 鬼頭研二 2000. 線虫類 Nematoda—海産. 山田真弓 (編), 動物系統分類学 追補版, pp. 142–147, 中

- 山書店, 東京.
- Kristensen, R. M. 1983. Loricifera, a new phylum with Aschelminthes characters from the meiobenthos. *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung*, 21: 163–180.
- Ladell, W. R. S. 1936. A new apparatus for separating insects and other arthropods from the soil. *Annals of Applied Biology* 23: 862–879.
- Laumer, C. E., Bekkouche, N., Kerbl, A., Goetz, F., Neves, R. C., Sørensen, M. V., Kristensen, R. M., Hejnol, A., Dunn, C. W., Giribet, G. and Worsaae, K. 2015. Spiralian phylogeny informs the evolution of microscopic lineages. *Current Biology* 25: 2000–2006.
- Le, D. D., Tsukagoshi, A. and Tanaka, H. 2016. Ontogenetic changes of the maxillula in *Loxoconcha* (Crustacea, Ostracoda, Podocopida), with a description of a new species from the Okinawa Islands (Japan). *Zoologischer Anzeiger*, 262: 43–56.
- Leasi, F., Andrade, S. C. S. and Norenburg, J. 2016. At least some meiofaunal species are not everywhere. Indication of geographic, ecological and geological barriers affecting the dispersion of species of Ototyphlonemertes (Nemertea, Hoplonemertea). *Molecular Ecology*, 25: 1381–1397.
- Mare, M. F. 1942. A study of a marine benthic community with special reference to the micro-organisms. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 25: 517–554.
- Nakao, Y. and Tsukagoshi, A. 2002. Brackish-water Ostracoda (Crustacea) from the Obitsu River estuary, central Japan. *Species Diversity*, 7: 67–115.
- 酒井保次 1985. 周防灘におけるメイオベントスの生態学的研究. 南西水研報, 19: 53–85.
- Sánchez, N. and Yamasaki, H. 2016. Two new Pycnophyidae species (Kinorhyncha: Allomalorhagida) from Japan lacking ventral tubes in males. *Zoologischer Anzeiger*, 265: 80–89.
- Schmidt-Rhaesa, A., Panpeng, S. and Yamasaki, H. 2017. Two new species of *Tubiluchus* (Priapulida) from Japan. *Zoologischer Anzeiger*, 267: 155–167.
- Schram, M. D. and Davison, P. G. 2012. Irwin Loops • A History and Method of Constructing Homemade Loops. *Transactions of the Kansas Academy of Science*, 115: 35–40.
- Shimada, D. and Kajihara, H. 2014. Two new species of free-living marine nematodes of *Adoncholaimus* Filipjev, 1918 (Oncholaimida: Oncholaimidae: Adoncholaiminae) from Hokkaido, northern Japan, with a key to species and discussion of the genus. *Nematology*, 16: 437–451.
- Shimanaga, M., Kitazato, H. and Shirayama, Y. 2000. Seasonal patterns of vertical distribution between meiofaunal groups in relation to phytodetritus deposition in the bathyal Sagami Bay, Central Japan. *Journal of Oceanography*, 56: 379–387.
- Shimanaga, M. and Shirayama, Y. 2001. Reproductive ecology of three species of interstitial harpacticoid copepod in Otsuchi Bay, Northeastern Japan. *Benthos Research*, 56: 21–31.
- Shirayama, Y. 1984. The abundance of deep sea meiobenthos in the Western Pacific in relation to environmental factors. *Oceanologica Acta*, 7: 113–121.
- 白山義久 1989. 西部太平洋における深海産メイオベントスの生態. *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 45: 83–93.
- 白山義久 1996. 未知の動物の宝庫: メイオファウナ. タクサ日本動物分類学会誌, 1: 3–9.
- Somerfield, P. J. and Warwick, R. M. 2013. Chapter 6 Meiofauna Techniques. In Eleftheriou, A. (ed.), *Methods for the Study of Marine Benthos, Fourth Edition*, pp. 253–284, John Wiley & Sons, Chichester.
- Sørensen, M. V. and Pardos, F. 2008. Kinorhynch systematics and biology • an introduction to the study of kinorhynchs, inclusive identification keys to the genera. *Meiofauna Marina*, 16: 21–73.
- Sørensen, M. V., Dal Zotto, M., Rho, H. S., Herranz, M., Sánchez, N., Pardos, F. and Yamasaki, H. 2015. Phylogeny of Kinorhyncha based on morphology and two molecular loci. *PLoS ONE*, 10: e0133440.
- 寒川浩・下出信次・橋本隆司・菊池知彦 2008. 相模湾真鶴港内におけるメイオベントスおよび自由生活性線虫類を用いた底質環境の評価法の有効性. 日本ベントス学会誌, 63: 11–22.
- Sterrerr, W. 1968. Beiträge zur Kenntnis der Gnathostomulida I. Anatomie und Morphologie des Genus Pterognathia Sterrer. *Arkiv för Zoologi*, Ser. 2, 22: 1–125.
- Sterrerr, W. 1998. Gnathostomulida from the (sub)tropical northwestern Atlantic. *Studies on the Natural History of the Caribbean Region*, 74: 1–178.
- Tanaka, H. 2013. The mating behaviour of the seed shrimp *Parapolycope spiralis* (Ostracoda: Cladocopina), with insight into the evolution of mating systems in cryptic interstitial habitats. *Biological Journal of the Linnean Society*, 109: 791–801.
- 田中隼人・大塚 攻 2015. 豊潮丸航海で得られた西日本沿岸のウミホタル目貝形虫類(甲殻類)の出現報告と属検索図. 広島大学総合博物館研究報告, 7: 75–87.
- Tanaka, H. and Tsukagoshi, A. 2014. Intraspecific variation in male upper lip morphology of *Parapolycope watana-bei* n. sp. (Crustacea: Ostracoda) and its implication on speciation. *Zoological Science*, 31: 758–765.
- Tanaka, H., Tsukagoshi, A. and Hiruta, S. 2010. A new combination in the genus *Parapolycope* (Crustacea: Ostracoda: Myodocopa: Cladocopina), with the description of a new species from Japan. *Species Diversity*, 15: 93–108.
- Tanaka, H., Tsukagoshi, A. and Karanovic, I. 2014. Molecular phylogeny of interstitial Polycopidae ostracods (Crustacea) and descriptions of a new genus and four new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172: 282–317.

- Tanaka, H. and Ohtsuka, S. 2016. Historical biogeography of the genus *Polycopissa* (Ostracoda: Myodocopa: Cladocopina), with the description and DNA barcode of the second Indo-Pacific species from the Seto Inland Sea. *Marine Biodiversity*, 46: 625–640.
- Tanaka, H. and Yasuhara, M. 2016. A new deep-sea hydrothermal vent species of Ostracoda (Crustacea) from the western Pacific: Implications for adaptation, endemism, and dispersal of ostracodes in chemosynthetic systems. *Zoological Science*, 33: 555–565.
- Uhlig, G. 1964. Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, 11: 178–185.
- Uhlig, G. 1968. Quantitative methods in the study of interstitial fauna. *Transactions of the American Microscopical Society*, 86: 226–232.
- Uhlig, G., Thiel, H. and Gray, J. S. 1973. The quantitative separation of meiofauna. A comparison of methods. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, 25: 173–195.
- Wei, C. -L., Rowe, G. T., Escobar-Briones, E., Boetius, A., Soltwedel, T., Caley, M. J., Soliman, Y., Huettmann, F., Qu, F., Yu, Z., Pitcher, C. R., Haedrich, R. L., Wicksten, M. K., Rex, M. A., Baguley, J. W., Sharma, J., Danovaro, R., MacDonald, I. R., Nunnally, C. C., Deming, J. W., Montagna, P., Lévesque, M., Weslawski, J. M., Wlodarska-Kowalczyk, M., Ingole, B. S., Bett, B. J., Billett, D. S. M., Yool, A., Bluhm, B. A., Iken, K. and Narayanaswamy, B. E. 2010. Global patterns and predictions of seafloor biomass using random forests. *PLoS ONE* 5: e15323.
- Wetzer, R. 2015. Collecting and preserving marine and freshwater Isopoda (Crustacea: Peracarida). *Biodiversity Data Journal*, 3: e4912.
- 山西良平 1979. かきまぜ法によるメイオベントス抽出の効率. ベントス研連誌, 17/18: 52–58
- Yamasaki, H. 2015. Two new species of *Dracoderes* (Kinorhyncha: Dracoderidae) from the Ryukyu Islands, Japan, with a molecular phylogeny of the genus. *Zootaxa*, 3980: 359–378.
- 山崎博史 2015. 日本の動吻動物. うみうし通信, 89: 1–2.
- Yamasaki, H. 2016a. *Ryugoderes iejimaensis*, a new genus and species of Campyloderidae (Xenosomata: Cyclorhagida: Kinorhyncha) from a submarine cave in the Ryukyu Islands, Japan. *Zoologischer Anzeiger*, 265: 69–79.
- Yamasaki, H. 2016b. Two new *Echinoderes* species (Echinoderidae, Cyclorhagida, Kinorhyncha) from Nha Trang, Vietnam. *Zoological Studies*, 55: 32.
- Yamasaki, H. and Fujimoto, S. 2014. Two new species in the *Echinoderes coulli* group (Echinoderidae, Cyclorhagida, Kinorhyncha) from the Ryukyu Islands, Japan. *Zookeys*, 382: 27–52.
- Yamasaki, H., Fujimoto, S. and Miyazaki, K. 2015. Phylogenetic position of Loricifera inferred from nearly complete 18S and 28S rRNA gene sequences. *Zoological Letters*, 1: 18.
- Yasuhara, M., Yamasaki, H., Irizuki, T. and Yoshikawa, S. 2003. Temporal changes of ostracode assemblages and anthropogenic pollution during the last 100 years, in sediment cores from Hiroshima Bay, Japan. *The Holocene*, 13: 527–536.
- 吉川信博 1992. 日本産自由生活性海産線虫の研究概観. 中國和年 (編), 線虫研究の歩み: 日本線虫研究会20周年記念誌, pp. 64–68, 日本線虫研究会, つくば.

(受理: 2018年10月20日)