

カイアシ類の血球の形態学的特徴

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Morphological Characterization of Hemocytes in Copepods

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological characteristics of hemocytes in four copepods (Copepoda, Maxillopoda, Crustacea) were histologically examined by light microscopy. Only a single type of hemocyte, basophilic granulocyte, was observed in the hemal space of two parasitic copepods, *Pseudocaligus fugu* (Siphonostomatoida) and anchor worm *Lernaea cyprinacea* (Cyclopoida). On the other hands, *Tigriopus japonicus* (Harpacticoida) and *Cyclops vicinus* (Cyclopoida), which have free life style, lacked circulating hemocytes, however, hemocyte-like granular cell was occasionally observed in/on the tissues. The granular cells also contained basophilic granules as hemocytes of parasitic copepods. For comparison, other crustaceans, water flea *Daphnia pulex* (Cladocera, Diplostraca, Phyllopoda, Branchiopoda) and *Sacculina confragosa* (Kentrogonida, Rhizocephala, Thecostraca), were also examined. The water flea has chromophobic granulocyte, but no hemocyte and granular cell was observed in *S. confragosa*. These observations indicate that *P. fugu*, anchor worm and water flea belong in monohemocytic group, but *T. japonicus*, *C. vicinus* and *S. confragosa* in hemocyteless group. Furthermore, hemocyteless crustaceans were classified into two subgroups, euhemocyteless group (*S. confragosa*) and pseudohemocyteless group (*T. japonicus* and *C. vicinus*), according to lack/occurrence of the hemocyte-like granular cell.

Key words : Cladocera, Kentrogonida, Copepoda, Crustacea, hemocyte, morphology, diversity

緒 言

甲殻類^{*1}は鰓脚綱Branchiopoda (2亜綱: サルスストラカ亜綱Sarsostraca, 葉脚亜綱Phyllopoda), ムカデエビ綱Remipedia, カシラエビ綱Cephalocarida, 顎脚綱Maxillopoda (7亜綱: 舌形亜綱Pentastoma, 鰓尾亜綱Branchiura, カイアシ亜綱Copepoda, ヒゲエビ亜綱Mystacocarida, 貝虫亜綱Ostracoda, 鞘甲亜綱Thecostraca, ヒメヤドリエビ亜綱Tantulocarida), 軟甲綱Malacostraca (3亜綱: コノハエビ亜綱Phyllocarida, トゲエビ亜綱Hoplocarida, 真軟甲亜綱Eumalacostraca) に分類されている (Table 1)^{1, 2, *2}。著者らは, 甲殻類の系統と血球形態の関係について報告してきた³⁻⁶。その結果, 複数種の血球は原始的軟甲類であるコノハエビ亜綱を除く軟甲類で認められ (トゲエビ亜綱口脚

目Stomatopoda, 真軟甲亜綱フクロエビ上目Peracaridaの等脚目Isopodaと端脚目Amphipoda, 同亜綱ホンエビ上目Eucarida十脚目Decapoda)³, 他の綱の甲殻類では血球が1種類であることから, 甲殻類の祖先種は1種類の血球のみを有していたと推察した³。しかし, 1種類の血球が観察された甲殻類は, 鰓脚綱4種 (2亜綱3目 (サルソストラカ亜綱無甲目Anostraca, 葉脚亜綱の背甲目Notostracaと双殻目Diplostraca)), 顎脚綱5種 (3亜綱4目 (鰓尾亜綱チョウ目Arguloida, 貝虫亜綱ミオドコバ上目Myodocopaミオドコピダ目Myodocopida, 鞘甲亜綱蔓脚下綱Cirripedia完胸上目Thoracidaの有柄目Pendunculataと無柄目Sessilia)) および軟甲綱2種 (2亜綱2目 (コノハエビ亜綱薄甲目, 真軟甲亜綱十脚目)) に過ぎず³⁻⁶, 今後, さらなる知見によっては, この仮説は改変を要するものと思われる。本研究では, 甲

水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

[†]別刷り請求先 (corresponding author) : kondom@fish-u.ac.jp

*1 本論文における甲殻類の分類体系および用語は大塚・駒井^{1, 2} に依った。

*2 読者の理解を妨げないよう, 大塚・駒井² の分類表を改変してTable 1示した。

Table 1. Classification of subphylum Crustacea

Class Branchiopoda	Subclass Mystacocarida (one order)
Subclass Sarsostraca	Subclass Ostracoda (two superorders)
Order Anostraca and one extinct order	Superorder Myodocopa (two orders)
Subclass Phyllopoda	Order Myodocopida
(four orders include two extinct orders)	Subclass Thecostraca (three infraclasses)
Order Notostraca	Infraclass Cirripedia (three superorders)
Order Diplostraca (four suborders)	Superorder Rhizocephala (two orders)
Suborder Laevicaudata	Order Kentrogonida
Suborder Cladocera	Superorder Thoracida
Class Remipedia (one order)	Order Pedunculata (one suborder)
Class Cephalocarida (one order)	Order Sessilia (three suborders)
Class Maxillopoda	Subclass Tantulocarida (one order)
Subclass Pentastoma (two orders)	Class Malacostraca
Subclass Branchiura	Subclass Phyllocarida
Order Arguloida	Order Leptostraca
Subclass Copepoda	Subclass Hoplocarida
Infraclass Progyrnoplea (one order)	Order Stomatopoda and two extinct orders
Infraclass Neocopepoda	Subclass Eumalacostraca (three superorders)
Superorder Gymnoplea	Superorder Peracarida (nine orders)
Order Calanoida	Order Isopoda
Superorder Podoplea (nine orders)	Order Amphipoda
Order Cyclopoida	Superorder Eucarida (three orders)
Order Harpacticoida	Order Decapoda
Order Siphonostomatoida	

殻類における血球形態ならびに血球種数の多様性を明らかにするために、顎脚綱カイアシ亜綱に属するシオダマリミジンコ *Tigriopus japonicus* (新カイアシ下綱Neocopepoda 後脚上目Podopleaハルパクチクス目Harpacticoida), オナガケンミジンコ *Cyclops vicinus* とイカリムシ *Lernaea cyprinacea* (ともに同上目キクロプス目Cyclopoida), および, *Pseudocaligus fugu* (同上目シフォノストム目Siphonostomatoida) の血球について調べた。また, 比較のために鰓脚綱双脚目枝角亜目Cladoceraのミジンコ *Daphnia pulex* と顎脚綱蔓脚下綱根頭上目Rhizocephalaケントロゴン目Kentrogonidaのウンモンフクロムシ *Sacculina confragosa* についても調べたのでここに報告する。

材料および方法

実験動物

マダイ *Pagrus major* を飼育していた屋内海水水槽 (水温約20℃) に自然繁殖していたシオダマリミジンコ⁷⁾, 屋外の淡水水槽 (採集時水温約18℃) に自然繁殖していたオナガケンミジンコ^{8, 9)}, 水産大学校小野臨湖実験実習場の養魚池から水産大学校の飼育施設に搬入したゲンゴロウブナ *Carassius cuvieri* の体表に寄生していたイカリムシ雌成体¹⁰⁾, 下関市沿岸にて釣獲されたコモンフグ *Takifugu poecilonotus* の体表に寄生していた *P. fugu* 成体^{10, 11)}, 淡水魚の初期餌料として屋外水槽で累年継代しているミジンコお

よび下関市沿岸で2012年7月（採集時水温約26℃）に採集したヒライソガニ*Gaetica depressus*に寄生していたウンモンフクロムシ¹²⁾を実験に供した。

観察方法

窪みを海水（シオダマリミジンコ, *P. fugu*）または淡水（オナガケンミジンコ, イカリムシ, ミジンコ）で満たしたホールスライドグラスに生体を置き、透過光下で顕微鏡観察した。生体（ウンモンフクロムシでは宿主体外に現れるエキステルナ）をDavidson液¹³⁾で固定したのち、定法にしたがってパラフィン包埋切片（厚さ4μm）を作成した。脱パラフィン後、親水化したのち風乾し、May-Grünwald (MG) 染色⁵⁾を施した。風乾後、合成樹脂で封入して光学顕微鏡で観察した。ウンモンフクロムシ外套壁のplasma space内のplasmaを、注射器を用いて採取し、plasma中における細胞の有無を調べるとともに、plasma spaceに顔料インク（Fount India, Pelikan）を注入して1日後の個体の組織切片を観察した。

結 果

いずれのカイアシ類においても心臓は認められなかったが、イカリムシと*P. fugu*の血体腔内には、心臓を有するミジンコと同様に血球が観察された（Figs. 1A, 1C）。イカリムシでは消化管の蠕動運動にともなって少数の血球が体腔中で攪拌されており、*P. fugu*では消化管の蠕動運動や生殖節内の紐状の生殖巣の動きにともなって多数の血球が体を循環していた。シオダマリミジンコとオナガケンミジンコには血球は認められなかったが、シオダマリミジンコにおいて触角の上皮^{*3}に付着した細胞が稀に観察された（Fig. 1E）。MG染色標本上で、ミジンコの血球には長径0.5μm以下の円形の難染色性顆粒が多数観察されたが⁸⁾（Fig. 1H）、イカリムシと*P. fugu*の血球には、円形または卵円形で濃青色を呈する好塩基性顆粒が観察された（Figs. 1B, 1D）。顆粒の大きさはイカリムシで長径1.0μm以下であり、*P. fugu*で長径0.5μm以下であった。シオダマリミジンコとオナガケンミジンコでは細胞質に濃青色を示す好塩基性顆粒を有す

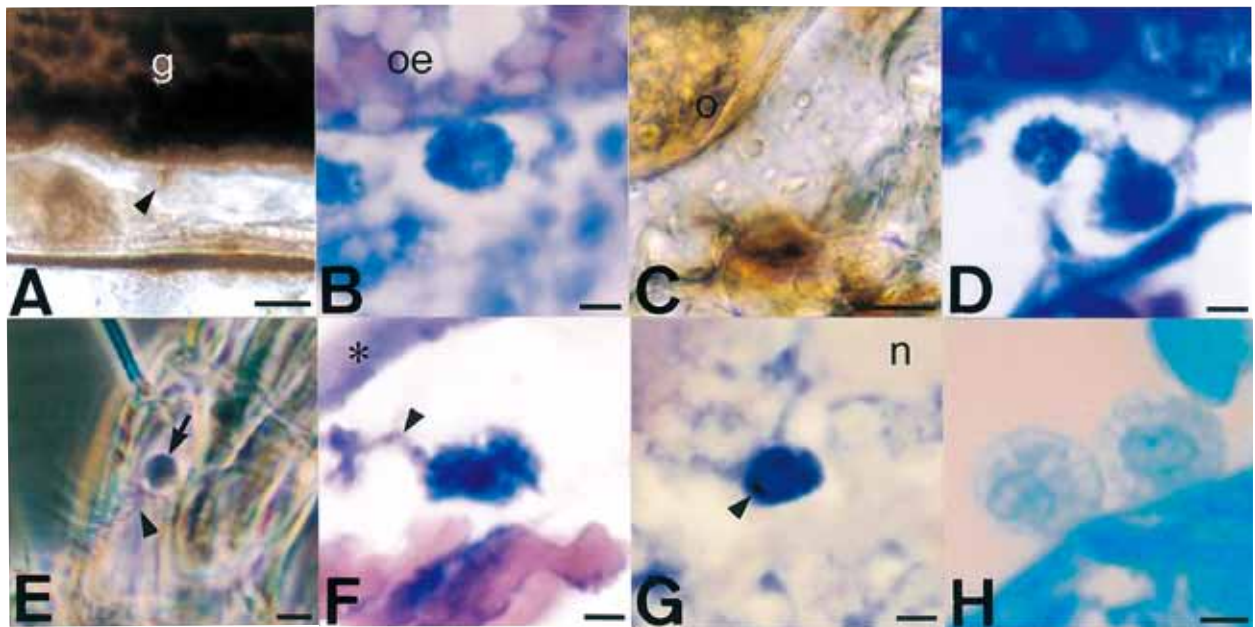


Fig. 1. Hemocytes and hemocyte-like granular cells (HGC) in copepods and water flea. A & B, anchor warm (A, hemocyte (arrowhead) in hemal space of alive anchor warm (g, gut; bar=50μm); B, May-Grünwald stain (MG; oe, oval egg; bar=2.5μm)); C & D, *Pseudocaligus fugu* (C, hemocytes in hemal space of alive *P. fugu* (o, ovary; bar=25μm); D, MG (bar=2.5μm)); E & F, *Tigriopus japonicus* (E, HGC (arrow) adhere to epithelium of alive *T. japonicus* antenna (phase contrast; arrowhead, pseudopod; bar=5μm); F, MG (HGC adhere to exfoliated epithelium (arrowhead). The exfoliation of epithelium from carapace (*) may be due to fixation of tissue. Bar=2.5μm); G, *Cyclops vicinus* (MG; HGC is observed in the cell layer surrounding nerve (n). Arrowhead indicates lipofusutin-like particle. Bar=2.5μm); H, water flea (MG; bar=2.5μm). Note basophilic granules in the hemocytes or HGC of copepods (B, D, F & G) and chromophobic granules in the hemocytes of water flea (H).

*³外骨格を有し、脱皮によって成長する甲殻類では、殻に接する殻直下の細胞層を上皮と呼ぶ。

る顆粒細胞が、組織上 (Fig. 1F: シオダマリミジンコの外骨格上皮*³に付着) や組織中 (Fig. 1G: オナガケンミジンコの神経周囲の細胞層中) に稀に観察された。好塩基性顆粒は円形または卵円形であり、大きさはシオダマリミジンコで長径1.0 μ m以下、オナガケンミジンコでは長径0.5 μ m以下であった。この細胞には、細胞が貪食作用によって取り込んだ異物などの残渣小体に相当するリポフスチン様粒子も観察された (Fig. 1G)。ウンモンフクロムシのplasmaは注射器内で凝固した。この凝固物の押し潰し標本に血球は認められなかった。また、近藤ら³⁾の方法に準じて、固定液を入れた注射器で採取したplasma中にも細胞は観察されなかった。ウンモンフクロムシの外殻のplasma space中および周囲には顆粒細胞は観察されず、インクを注入した個体ではインクの顔料粒子を取り込んだ細胞は認められなかった。

考 察

イカリムシと*P. fugu*には血球が観察された。これらカイアシ類の血球は好塩基性顆粒を有する顆粒球 (好塩基性顆粒球) であり、血球は1種類であると考えられた。したがって、イカリムシと*P. fugu*は単血球型甲殻類 (Monohemocytic crustacean)³⁾ に分類された。一方、シオダマリミジンコとオナガケンミジンコには血球は認められなかった。また、ウンモンフクロムシにも血球が観察されなかったことから、シオダマリミジンコ、オナガケンミジンコおよびウンモンフクロムシは血球を持たない甲殻類、すなわち「無血球型甲殻類 (Hemocyteless crustacean) = 無血球類, = 無血球群 (Hemocyteless group)」に分類される。シオダマリミジンコとオナガケンミジンコには、組織に付着した状態または組織中に、*P. fugu*やイカリムシの血球と同様な好塩基性顆粒を有する顆粒細胞 (血球様顆粒細胞) が観察された。しかし、ウンモンフクロムシには顆粒細胞は認められなかった。このことから、ウンモンフクロムシを「真無血球型甲殻類 (Euhemocyteless crustacean) = 真無血球類, = 真無血球群 (Euhemocyteless group)」, シオダマリミジンコとオナガケンミジンコを「偽無血球型甲殻類 (Pseudohemocyteless crustacean) = 偽無血球類, = 偽無血球群 (Pseudohemocyteless group)」として無血球型甲殻類を細分することとする。

イカリムシと*P. fugu*に血球が観察されたのに対して、シオダマリミジンコとオナガケンミジンコには血球が認めら

れなかった理由として、血液の循環 (= 血液の攪拌) の程度の違いが推察される。カイアシ類は原始前脚綱 Progymnopleaと新カイアシ下綱に大別され、後者に属する前脚上目 Gymnopleaカラヌス目 Calanoidaと、同下綱後脚上目 ミソフリア目 Misophrioidaの一部を除いて心臓を欠く¹⁴⁾。本研究に用いたカイアシ類はハルバクテクス目 (シオダマリミジンコ), キクロプス目 (オナガケンミジンコ, イカリムシ) および、シフォノストム目 (*P. fugu*) に属し、いずれにも心臓は認められなかった。しかし、イカリムシでは消化管の激しい蠕動運動にともない血球の攪拌 (= 血液の攪拌) が、*P. fugu*では消化管の運動のみならず生殖節内の生殖巣の動きにともなって血球の循環 (= 血液の循環) が生じており、これらの動きが心臓の代わりになっていると考えられる。一方、シオダマリミジンコとオナガケンミジンコでは消化管の運動は弱く、他の組織の運動も乏しいことから、血球を浮遊させた状態での血液を循環することができないと推察される。そのため、シオダマリミジンコやオナガケンミジンコでは、血球を血液中に浮遊させる代わりに、組織上や組織中に定着させていると思われる。すなわち、シオダマリミジンコやオナガケンミジンコに観察された血球様顆粒細胞は、細胞の系譜としては血球に相当するのではないかと考えられる。

イカリムシと*P. fugu*は単血球型甲殻類に分類されたが、これまでに単血球型甲殻類として、鰓脚綱サルソストラカ亜綱無甲目のブラインシュリンプ *Artemia salina*とホウネンエビ *Branchinellites kugenumaensis*, 同綱葉脚亜綱背甲目のアジアカブトエビ *Triops numidicus*, 同綱無甲目タマカイエビ亜目 *Laevicaudata*のトゲカイエビ *Leptestheria kawachieusis*, 鰓脚綱鰓尾亜綱のチョウ *Argulus japonicus*とホソウミチョウ *Argulus caecus*, 同綱貝虫亜綱ミオドコバ上目ミオドコバ目のウミボタル *Vargula hilgendorffii*, 同綱鞘甲亜綱蔓脚綱完胸上目有柄目のエボシガイ *Lepas anatifera*および同上目無柄目のアカフジツボ *Megabalanus rosa*, 軟甲綱コノハエビ亜綱薄甲目のコノハエビ *Nebalia japonensis*と軟甲綱真軟甲亜綱十脚目のカクレエビ *Conchodytes nipponensis*が報告されており、いずれの動物種においても血球の細胞質中には顆粒が観察されている (Table 2)^{3, 5, 6)}。しかし、顆粒の形状や染色性には種による違いが認められており、ブラインシュリンプ、ウミボタル、コノハエビおよびカクレエビの血球には2種類の顆粒が観察され、ブラインシュリンプでは大型の好酸性顆粒と小型の難染色性顆粒が、ウミボタルでは大型の難染色性顆粒と

小型の好塩基性顆粒が、コノハエビには好酸性顆粒と好塩基性顆粒（いずれも小型）が、カクレエビでは小型の強好酸性顆粒と大型の弱好酸性顆粒が認められている^{3,6)}。また、トゲカイエビでは大型の両染色性顆粒のみが³⁾、他の動物種では小型の難染色性顆粒のみが血球に観察されている^{3,5)}。ミジンコ*Daphnia pulex*にも難染色性顆粒が観察された。一方、イカリムシと*P. fugu*には好塩基性顆粒のみが認められた。また、シオダマリミジンコとオナガケンミジンコの血球様顆粒細胞にも好塩基性顆粒のみが認められた。

ウンモンフクロムシには血球も血球様顆粒細胞も観察されず、注入されたインクを取り込む細胞も存在しなかった。近縁種である*S. carcini*においてもplasma space内のplasmaに凝固能があることは知られているが、plasma中に細胞は観察されていない¹⁵⁾。

分子系統学的解析から甲殻類と六脚亜門 Hexapoda (= 広義の昆虫類) が単系統群 (汎甲殻類, Pancrustacea) を形成することが示されている (Fig. 2)¹⁶⁾。また、鰓脚綱、ムカデエビ綱、カシラエビ綱および軟甲綱の単系統性は支持されるが、顎脚綱の単系統性は支持されず、ムカデエビ綱とカシラエビ綱は六脚類と単系統群を形成する (Fig. 2)。複数種の血球が認められる多血球型甲殻類 (Polyhemocytic crustacean) に含まれるトゲエビ亜綱と真軟甲亜綱³⁾、ならびに1種類の血球のみを有するコノハエビ亜綱を含む軟甲綱が単系統であり、本研究で調べた顎脚綱カイヤン亜綱を含む他の綱および亜綱の甲殻類では、血球が存在する場合、1種類の血球しか認められていないことから (Fig. 2)^{3,5)}、本稿冒頭で述べた「甲殻類の祖先種は1種類の血球のみを有していた」との推察は否定されない。また、六脚類は甲殻類と単系統群を形成することから、この推察は、「六脚類と甲殻類を含む汎甲殻類の祖先種は1種類の血球のみを有していた」と拡張できると考えられる。

Table 2. Comparison of morphological characteristics of granules in hemocytes from monohemocytic crustaceans and in hemocyte-like granular cells from pseudohemocyteless crustaceans (May-Grünwald staining preparation)

Staining and shape (size, μm) ³	Species ¹															
	As	Bk	Tn	Lk	Dp	Aj	Ac	Tf ²	Cv ²	Lc	Pf	Vh	La	Mr	Nj	Cn
Two types	One	One	One	One	One	One	One	One	One	One	Two	One	One	One	Two	Two
E, r (2)	C, r	C, r	A, r to o	C, r	C, r	C, r	B, r or o	B, r or o	B, r or o	B, r or o	B, r	C, r	C, r	C, r	B, r	E, r
or o (2-3)	(≤ 0.3)	(≤ 0.5)	(1.4 in length)	(≤ 0.5)	(≤ 0.5)	(≤ 0.5)	(≤ 1.0)	(≤ 0.5)	(≤ 1.0)	(≤ 0.5)	(< 0.5)	(< 0.5)	(< 0.5)	(0.5)	(≤ 0.3)	(≤ 0.5)
x 1-2;											C, r				E, r	E, r to o
C, r											(1.0)				(≤ 0.3)	(≤ 1.0)
(< 0.5)																
Sample ⁴	BS	BS	BS	BS	TS	BS	BS	TS	TS	TS	TS	BS	BS	BS	BS	BS

Modified after Kondo and Takahashi³⁾.
¹ As, *Artemia salina* (brine shrimp); Bk, *Branchinella kugenumaensis* (fairy shrimp); Tn, *Triops numidicus* (tadpole shrimp); Lk, *Leptostheria kawachiensis* (clam shrimp); Dp, *Daphnia pulex* (water flea, present report); Aj, *Argulus japonicus* (fish louse); Ac, *Argulus caecus* (fish louse, Kondo et al.⁵⁾); Tf, *Trigloporus japonicus* (marine copepod, present report); Cv, *Cyclops vicinus* (freshwater copepod, present report); Lc, *Lernaea cyprinacea* (anchor worm, present report); Pf, *Pseudocaligus fugu* (parasitic copepod, present report); Vh, *Vargula hilgendorfi* (seed shrimp); La, *Lepas anatifera* (ship barnacle); Mr, *Megabalanus rosa* (balanomorph barnacle); Nj, *Nebalia japonensis* (leaf shrimp); Cn, *Conchodytes nipponensis* (pontoniine shrimp, Kondo et al.⁶⁾).
² Pseudohemocyteless crustacean.
³ A, amphiphilic; B, basophilic; C, chromophobic; E, eosinophilic; o, oval; r, round.
⁴ BS, blood smear; TS, tissue section (paraffin embedded section).

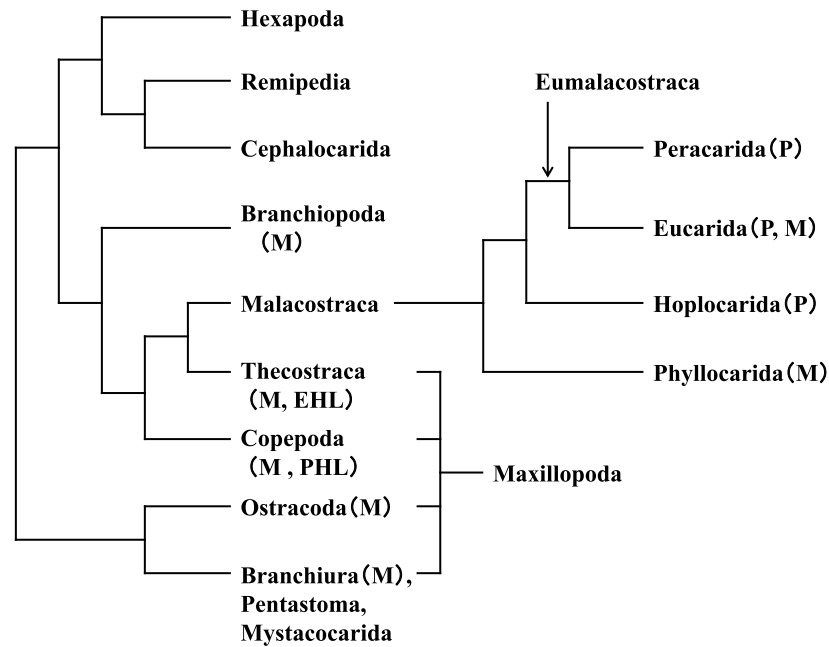


Fig. 2. Molecular phylogenetic trees of Pancrustacea (modified after Regier et al.¹⁶⁾) and hemocyte types of crustaceans. Hemocyte types: M, monohemocytic crustacean^{3, 5, 6, a}; P, polyhemocytic crustacean^{3, 4}; EHL, euhemocyteless crustacean (without hemocyte and hemocyte-like granular cell)^a; PHL, pseudohemocyteless crustacean (with hemocyte-like granular cell)^a. a, present report.

謝 辞

オナガケンミジンコ同定のための資料を提供していただいた水産大学校生物生産学科助教 山崎康裕博士ならびにミジンコを同定していただいた株式会社ネイチャーの三小田 徹氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 大塚 攻, 駒井智幸: 甲殻亜門. 石川良輔 (編), 節足動物の多様性と系統. 裳華房, 東京, 172-275 (2008)
- 2) 大塚 攻, 駒井智幸: 甲殻亜門分類表. 石川良輔 (編), 節足動物の多様性と系統. 裳華房, 東京, 421-422 (2008)
- 3) 近藤昌和, 高橋幸則: コノハエビとオオシロピンノの血球の形態学的特徴. 水大校研報, 60, 137-143 (2012)
- 4) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: ミズムシ (甲殻亜門等脚目ミズムシ亜目) の血球の形態学的特徴. 水大校研報, 61, 79-80 (2013)
- 5) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: ホソウミチョウ *Argulus caecus* (甲殻亜門顎脚綱鰓尾亜綱チョウ目) の血球の形態学的特徴. 水大校研報, 61, 157-159 (2013)
- 6) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カクレエビ *Conchodytes nipponensis* の血球の形態学的特徴. 水大校研報, 62, 85-86 (2014)
- 7) 西村三郎: カイアシ亜綱. 西村三郎 (編著), 原色検索日本海岸動物図鑑[II]. 保育社, 大阪, 56-112 (1995)
- 8) 水野寿彦: オナガケンミジンコ. 日本淡水プランクトン図鑑. 保育社, 大阪, 98 (1964)
- 9) 富川 光, 鳥越兼治: 日本産ケンミジンコ科 (甲殻亜門: カイアシ亜綱: ケンミジンコ目) の属の同定法. 広島大学大学院教育学研究科紀要第二部, 58, 19-26 (2009)
- 10) 小川和夫: 大型寄生虫病. 若林久嗣, 室賀清邦 (編), 魚介類の感染症・寄生虫病. 恒星社厚生閣, 東京, 381-405 (2004)
- 11) 小川和夫: シュードカリグス症. 畑井喜司雄, 小川和夫 (監), 新魚病図鑑 (第2版). 恒星社厚生閣, 東京, 230 (2004)
- 12) 小川数也: 根頭下綱. 西村三郎 (編著), 原色検索日本海岸動物図鑑[II]. 保育社, 大阪, 133-136 (1995)
- 13) Bell TA, Lightner DV: Techniques. In: A Handbook of Normal Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Louisiana, 2-5 (1988)

- 14) Boxshall GA : Copepoda. *In*: Harrison FW, Humes AG (ed) *Microscopic Anatomy of Invertebrates* Volume 9 Crustacea. Wiley-Liss, New York, 347-384 (1992)
- 15) Barker WH, Bang FB : The effect of infection by Gram-negative bacteria, and their endotoxins, on the blood-clotting mechanism of the crustacean *Sacculina carcini*, a parasite of the crab *Carcinus maenas*. *J Invertebr Pathol*, **8**, 88-97 (1966)
- 16) Regier JC, Shultz JW, Zwick A, Hussey A, Ball B, Wetzer R, Martin JW, Cunningham CW : Arthropod relationships revealed by phylogenomic analysis of nuclear protein-coding sequences. *Nature*, **463**, 1079-1083 (2010)