

新城市富岡で発見されたミナミタガイ

川瀬 基弘^{*}・横山 悠理^{***}・熊澤 慶伯^{***}

はじめに

『新城市の自然誌-昆虫・動物編-』において、新城市の淡水産貝類は 22 種が報告されている（川瀬, 2014）。この中でイシガイ科二枚貝は、マツカサガイ *Inversidens (Pronodularia) japonensis*, スマガイ *Anodonta lauta*, タガイ *Anodonta japonica* として 3 種が記録された。また、2022 年には新城市から新たにササノハガイの棲息が確認された（川瀬ほか, 2024）。その後、ミトコンドリア DNA 分析を用いた Lopes-Lima et al. (2020) によるイシガイ科二枚貝の分類学的研究が行われ、従来の“*Anodonta japonica* Clessin, 1874 タガイ”とされた種は *Beringiana* Starobogatov in Zatravkin, 1983 チシマドブガイ属に変更され、*B. beringiana* (Middendorff, 1851) チシマドブガイ, *B. japonica* (Clessin, 1847) タガイ, *B. gosannensis* Sano, Hattori and Kondo, 2020 キタノタガイ, *B. fukuharai* Sano, Hattori and Kondo, 2020 ミナミタガイの 4 種が含まれていることが明らかになった。ここで Lopes-Lima et al. (2020) による *Beringiana* チシマドブガイ属 4 種の分布域を考慮すると、新城市の“タガイ”とされた個体はミナミタガイの可能性が高く、これを検証するためにミトコンドリア COI 遺伝子分析を実施した。

分析方法

2012 年 8 月に新城市富岡南方の水田横の水路（図 1）で発見され、殻形態により“タガイ”に同定し（図 2）、保管しておいた無水エタノール液浸標本（斧足の一部）10 個体の COI 遺伝子分析を実施した（表 1）。斧足の一部（数 mg）を切り取り、Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit（FAVORGEN, PingTung）で全ゲノム DNA を抽出し、そこからポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により COI 遺伝子の一部（655bp）を増幅した。PCR には、LifeECO ver2.0（Bioer Technology, Hangzhou）を用い、PCR 酵素には Tks GflexTM DNA Polymerase（タカラバイオ株式会社, 滋賀）を使用した。遺伝子領域の増幅には、ユニバーサルプライマーである LCO1490 と HCO2198（Folmer et al., 1994）を用いた。反応条件は、94℃ 1 分の加熱後、98℃10 秒/50℃15 秒/68℃60 秒を 30 サイクル、68℃ 120 秒であった。PCR 産物を ExoSAP-IT（Affymetrix, CA）で処理した後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Thermo Fisher Scientific, MA）を用いて蛍光ラベルし、Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer（Thermo Fisher Scientific, MA）により塩基配列の解読を行った。

組織の証拠標本（エタノール漬けの軟体部と抽出 DNA）は、名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫



図 1. 新城市富岡の農業用水路

^{*} 愛知みずほ大学 ^{***} 名古屋市立大学大学院理学研究科生物多様性研究センター



図 2. 殻形態でタガイに同定した標本

(the Specimen Depository of the Graduate School of Science, Nagoya City University : SDNCU) に収蔵されている。殻標本については、表 1 に記した登録番号で、鳳来寺山自然科学博物館に保管されている。

分子系統解析は、MEGA 11 (Tamura et al., 2021) を用いて、最尤法により行なった。分子系統樹は、

Lopes-Lima et al. (2020) で報告された日本産の同属 4 種（ミナミタガイ *Beringiana fukuharai*, チシマドブガイ *B. beringiana*, タガイ *B. japonica*, キタノタガイ *B. gosannensis*）の塩基配列も含めて作成した。さらに、最近愛知県豊田市（川瀬ほか, 2023a）と愛知県名古屋市の（川瀬ほか, 2023b）から報告されたミナミタガイの塩基配列も加えた。距離モデルには Kimura 2-parameter model を使用し、各ノードにおける系統関係の信頼性を評価するため、1,000 回の試行によるブートストラップ確率を求めた。外群には Lopes-Lima et al. (2020) に使用されたドブガイ類と同じイシガイ科に属するフネドブガイ *Anemina arcaeformis* (Heude, 1877) の COI 塩基配列を使用した。

結果

本研究では、愛知県新城市富岡で発見された 10 個体のタガイ類の標本（表 1）に基づき、新たに COI 遺伝子の塩基配列を解読した。これに、愛知県豊田市と同名名古屋市から報告されたミナミタガイの塩基配列および Lopes-Lima et al. (2020) の近縁種の塩基配列をあわせて、COI 遺伝子部分塩基配列(アライメント後 609 塩基)による分子系統解析を行った。

その結果、新たに COI 遺伝子の塩基配列を解読した 10 個体の塩基配列は、すべて塩基配列が一致し、Lopes-Lima et al. (2020) が報告した京都府南丹市八木町西田のミナミタガイ *Beringiana fukuharai* Sano, Hattori and T. Kondo, 2020 に極めて近い配列であった（図 3）。図 3 の丸括弧内の数値は分析個体数を示す。①愛知県新城市富岡の塩基配列は、今回図に示した地点の中では②愛知県名古屋市守山区の塩基配列に最も近く、次に直線距離で最も離れた③京都府南丹市の塩基配列に近く、愛知県豊田市の個体とは塩基配列が最も離れていた。

考察

『新城市の自然誌・昆虫・動物編』に記録され、殻形態により“*Anodonta japonica* Clessin, 1874 タガイ”とされた種（川瀬, 2014）は、ミトコンドリア COI 遺伝子分析の結果、*Beringiana fukuharai* Sano, Hattori and Kondo, 2020 ミナミタガイであることが示された。この結果は、Lopes-Lima et al. (2020) の分布範囲とも調和的である。ところで、Sano et al. (2020) は、ミトコンドリア DNA に基づくイシガイ科二枚貝類の種同定が困難であることを指摘しているが、*Beringiana* 属の核 DNA に基づく系統関係は、COI 遺伝子の系統関係とほぼ一致していることが Sano et al. (2022) により示された。これにより、本研究の分析結果による種同定も信頼性が高いと判断できる。

新城市富岡のミナミタガイの塩基配列は、直線距離の近い愛知県名古屋市守山区の塩基配列に近い結果を示したが（図 3）、同様に直線距離に近い愛知県豊田市の塩基配列よりも直線距離の離れたタイプ産地の京都府南丹市の塩基配列に近かった。これについては、本種の移動分布経路が異なる可

表 1. 分析標本の登録番号

No.	INSID	SDNCU	殻標本	産地・和名
1	OP028891	A3866	AS0001	新城市富岡 (農業用水路) ミナミタガイ
2	OP028888	A3875	AS0002	
3	OP028892	A3876	AS0003	
4	OP028885	A3877	AS0004	
5	OP028886	A3878	AS0005	
6	OP028890	A3879	AS0006	
7	OP028887	A3880	AS0007	
8	OP028889	A3881	AS0008	
9	OP028893	A3882	AS0009	
10	OP028894	A3884	AS0010	
11	MT020522	—	外群・フネドブガイ	

登録番号は、International Nucleotide Sequence Databases (INSID) のアクセッション番号、組織標本は、名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫 (SDNCU) 番号、殻標本は鳳来寺山自然科学博物館の番号を示す。

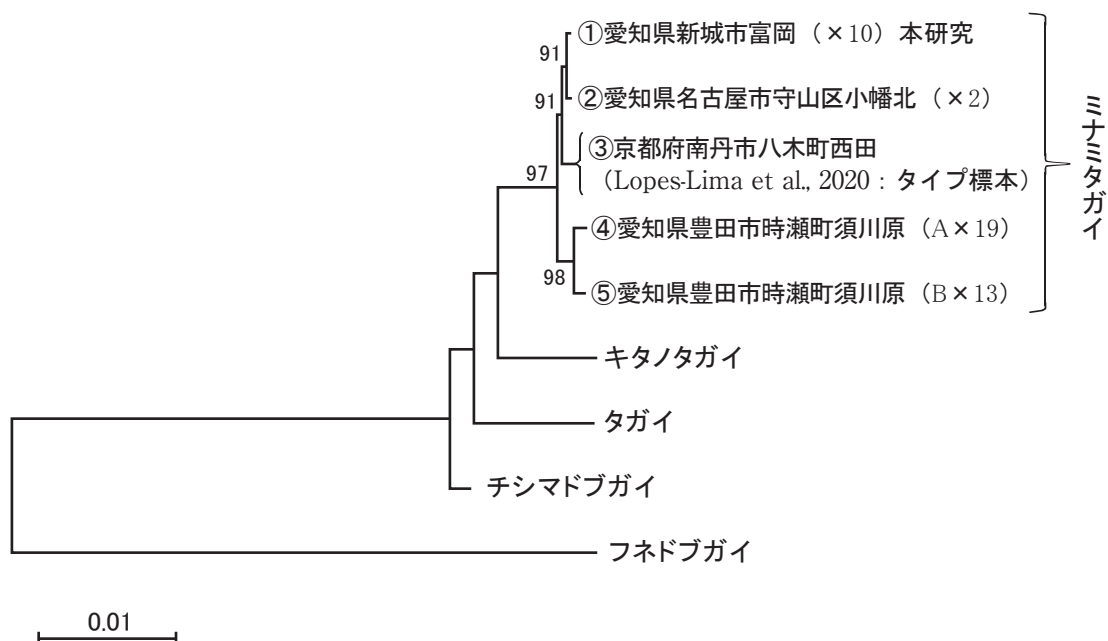


図 3. COI 遺伝子を用いて作成したチシマドブガイ属各種の分子系統樹

能性を示していると考えられるが、現時点ではサンプル数が少ないため、分布域全域におけるサンプル数を増やし、塩基配列を比較する必要がある。また、人為的な移入の可能性も考慮して慎重に判断する必要があり、今後の課題である。

新城市のタガイ類は、分布域が極めて狭く、水田の乾田化、水路の冬季通水停止、外来魚による稚貝の直接的な捕食および宿主魚類であるヨシノボリ類、オイカワ、カマツカの外来魚による捕食により、棲息域が激減している。今回分析した個体を採集した新城市富岡南方の水田横の水路は、2012 年 8 月にはミナミタガイを局所的ではあるが比較的容易に発見することができ、ある程度の個体群を維持していると推定できた。しかし、10 年後の 2022 年 8 月の同一地点の調査時には、水路の水位が極端に低下し、底質が露出するところがあり、ミナミタガイの生貝は極めて稀にしか確認できなかった。また、棲息確認地点周辺の調査においては最近 10 年間でミナミタガイが確認できないことから、少なくとも富岡地域においてミナミタガイは絶滅寸前の状況にあると考えられる。2022 年に得られたサンプルの塩基配列が、分析した 10 個体とも全て同一であったことは、過去にボトルネック効果が働いた可能性を含め、本調査地のミナミタガイの遺伝的多様性が小さく、絶滅の危機に瀕していることと調和的な観察結果と考える。

なお、今回、遺伝子分析によって殻形態でタガイに同定された個体がミナミタガイであるとの結論が得られたが、今後、殻形態のみでミナミタガイに同定するのは、以下の理由により困難であると考ええる。Lopes-Lima et al. (2020) の原記載の Diagnosis には、「同属の種である *Beringiana beringiana* チシマドブガイ、*Beringiana japonica* タガイ、および *Beringiana gosannensis* キタノタガイとは、これらの細長い卵形の殻とは異なり、ミナミタガイは卵形の殻を持つ点で異なる。」としているが、「ミナミタガイは殻の形状の形態学的変異が非常に大きく、標本によっては形態のみで種を正確に同定することが難しい場合がある。」ことを附記している。実際にミナミタガイの原記載では、Diagnosis において、COI 遺伝子分析の結果が同属の他種とは

異なる点も記述されている。また、愛知県豊田市のダム湖で発見され、COI 遺伝子分析によってミナミタガイに同定された複数の標本（川瀬ほか，2023a）は、殻の形態情報だけではタガイとヌマガイに同定されていた事例（川瀬・山本，2016）がある。さらに、ミナミタガイのみならず、近縁なドブガイ類全般において殻形態の種内多様性が大いことも各種の殻形態のみによる種同定を困難にしていると考えられる。愛知県下では *Beringiana* チシマドブガイ属においては、ミナミタガイしか分布しないため（Lopes-Lima et al., 2020）、殻形態に加えて分布域を考慮して同定すれば、ミナミタガイの可能性が高いことを示せるであろう。一方で、最近愛知県内で新たにヤハズヌマガイが発見されており（川瀬ほか，2021）、新規移入個体群として愛知県から記録のないドブガイ類が今後さらに発見されれば、ミナミタガイをはじめとするドブガイ類の殻形態による同定はますますは困難を極めるであろう。分布域を考慮しても確実に同定することは不可能であり、遺伝子を用いた種同定が不可欠になると推測される。

引用文献

- 川瀬基弘（2014）新城市の軟体動物。鳳来寺山自然科学博物館（編）。新城市の自然誌－昆虫・動物編－，p. 1-24. 鳳来寺山自然科学博物館，新城。
- 川瀬基弘・柴田哲兵・浅香智也（2024）新城市初記録のササノハガイ（速報）。鳳来寺山自然科学博物館館報，53：135-136.
- 川瀬基弘・山本大輔（2016）矢作第二ダム湛水池のタガイとヌマガイ。矢作川研究，20：17-21.
- 川瀬基弘・横山悠理・横井敦史・熊澤慶伯（2021）愛知県名古屋市，豊橋市，山梨県北杜市で発見された *Buldotskia shadini* ヤハズヌマガイ（新称）。瀬木学園紀要，18：3-9.
- 川瀬基弘・横山悠理・山本大輔・熊澤慶伯（2023a）矢作第二ダム湛水池のミナミタガイ。矢作川研究，27：43-48.
- 川瀬基弘・横山悠理・横井敦史・熊澤慶伯（2023b）名古屋市に棲息する *Cristariini* カラスガイ族（ドブガイ類）の種多様性。なごやの生物多様性，10：125-133.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek（1994）DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5)：294-299.
- Lopes-Lima, M., A. Hattori, T. Kondo, J. H. Lee, S. K. Kim, A. Shirai, H. Hayashi, T. Usui, K. Sakuma, T. Toriya, Y. Sunamura, H. Ishikawa, N. Hoshino, Y. Kusano, H. Kumaki, Y. Utsugi, S. Yabe, Y. Yoshinari, H. Hiruma, A. Tanaka, K. Sao, T. Ueda, I. Sano, J. Miyazaki, D. V. Gonçalves, O. K. Klishko, E. S. Konopleva, I. V. Vikhrev, A. V. Kondakov, M. Y. Gofarov, I. N. Bolotov, E. M. Sayenko, M. Soroka, A. Zieritz, A. E. Bogan and E. Froufe（2020）Freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) from the rising sun (Far East Asia): Phylogeny, systematics, and distribution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 146, 106755. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106755>
- Sano, I., T. Saito, S. Ito, B. Ye, T. Uechi, T. Seo, V. T. Do, K. Kimura, T. Hirano, D. Yamazaki, A. Shirai, T. Kondo, O. Miura, J. Miyazaki and S. Chiba（2022）Resolving species-level diversity of *Beringiana* and *Sinanodonta* mussels (Bivalvia: Unionidae) in the Japanese archipelago using genome-wide data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 175：107563. Article En|MEDLINE | ID: mdl－35809852
- Sano, I., T. Saito, J. Miyazaki, A. Shirai, T. Uechi, T. Kondo and S. Chiba（2020）Evolutionary history and diversity of unionoid mussels (Mollusca: Bivalvia) in the Japanese Archipelago. *Plankton and Benthos*

Research, 15 : 97-111.

Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021) MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology and Evolution, 38(7) : 3022-3027.