

矢作第二ダム湛水池のミナミタガイ

Beringiana fukuharai Sano, Hattori and T. Kondo, 2020 in the
Yahagi 2nd Dam Reservoir along the Yahagi River

川瀬基弘¹⁾・横山悠理²⁾・山本大輔³⁾・熊澤慶伯²⁾

Motohiro KAWASE¹⁾, Yuri YOKOYAMA²⁾, Daisuke YAMAMOTO³⁾ and Yoshinori KUMAZAWA²⁾

要 約

2014年に矢作川上流域に位置する矢作第二ダム湛水池で発見され、殻の形態分類によってタガイとヌマガイに同定された個体の遺伝子分析を行ったところ、すべてミナミタガイ *Beringiana fukuharai* Sano, Hattori and T. Kondo, 2020 であった。遺伝子分析でミナミタガイに同定された個体の殻形態は種内多様性が大きく、ダム湖では大型化する(殻長が10 cmを超える)ことがわかった。

キーワード：ミナミタガイ, *Beringiana fukuharai*, 矢作第二ダム, タガイ

はじめに

愛知県豊田市閑羅瀬町, 同市時瀬町, 岐阜県恵那市串原の矢作第二ダム湛水池(図1)の水位が、発電設備工事に伴い2014年冬季に大幅に低下した。その際、干上がった巨礫の多い砂泥底に、膨大な数量のドブガイ類が出現した。ドブガイ類は1,800個体が確認され、これらの中から任意に抽出した26個体は、殻形態(主に、輪郭, 脹らみ, サイズ)により(近藤ほか(2011)の判別関数の結果が判別不可の値を示し、他の形質も2種の間中間的な特徴を示したため、判別不可能であった1個体を除き)

20個体がタガイ, 5個体がヌマガイに同定された(川瀬・山本, 2016)。しかし, 近藤ほか(2011)の判別関数だけを同定に用いると, 26個体中の8個体が判別不可能であった(川瀬・山本(2016)では, この判別関数で識別できない8個体のうち7個体までは輪郭や内面の色彩的な特徴から同定結果を示した)。いずれにしても, 26個体のタガイとヌマガイを近藤ほか(2011)の判別関数だけで完全に区別するのは困難であり, 両種の間中間的な形態を示す個体も含まれた。判別関数によってヌマガイに同定された個体においても, 多少殻長方向に長い長卵形であり, 典型的な卵円形のヌマガイ(外観が円い)に比べて輪郭がやや細長い印象を受ける個体も存在した。さらに, 広大なダム湖とはいえ, 半閉鎖性の水域にタガイとヌマガイの2種が混生していることに疑問をもった。これらの理由により, 殻形態によりヌマガイに同定した個体が, タガイである可能性を考慮してミトコンドリア COI 遺伝子分析を実施した。

なお, 従来の“タガイ”*Sinanodonta japonica* (Clessin, 1874) は, Lopes-Lima et al. (2020) によって, 遺伝子情報および形態的特徴から *Beringiana Starobogatov* in Zatravkin, 1983 タガイ属に変更され, *B. beringiana* (Middendorff, 1851) チシマドブガイ, *B. japonica* (Clessin, 1874) タガイ, *B. gosannensis* Sano, Hattori & Kondo, 2020 キタノタガイ, *B. fukuharai* Sano, Hattori & Kondo, 2020 ミナミタガイの4種に細分された。そこで, 矢作第二ダム湛水池の“タガイ”の

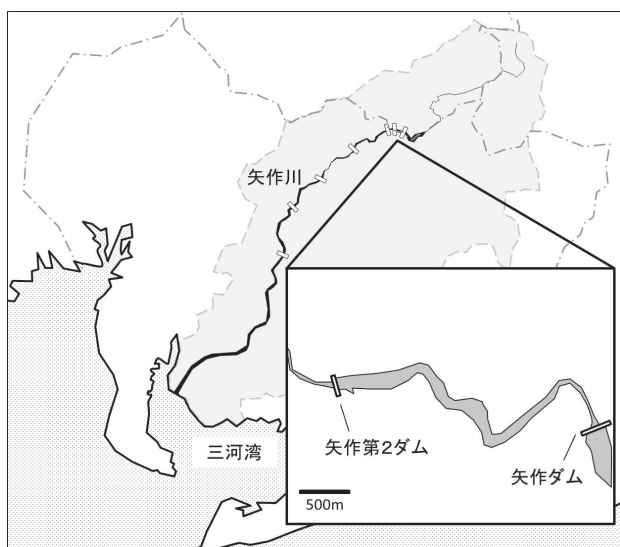


図1 調査地の位置

遺伝子分析による再同定を試みた。

分析方法

川瀬・山本 (2016) の調査時に保管しておいた無水エタノール液浸標本 (前述の殻形態で同定した 25 個体の斧足片のみ保存) および当時殻形態による判別ができなかった幼貝 7 個体の斧足の無水エタノール液浸標本 (殻は別途乾燥保管) を用いて、合計 32 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 ver.2.0 (Bioer Technology, Hangzhou) を用い、PCR

酵素には Tks Gflex™ 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°C 1 分の加熱後、98°C 10 秒 / 50°C 15 秒 / 68°C 60 秒を 30 サイクル、68°C 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、SDNCU (the Specimen Depository of the Graduate School of Sciences, Nagoya City University: 名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫) に収蔵されている。殻標本については、筆者の川瀬が所蔵している。

分子系統解析は、MEGA X (Kumar et al., 2018) 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。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シガイ科に属する静岡県産のヌマガイ *Sinanodonta lauta* (Martens, 1877) の COI 塩基配列を使用した。

また、殻の形態情報を表 2 に示した。目視評価は、輪郭、脹らみ、大きさ、内面の色などから、ノギスによる計測前に見た目だけで感覚的に評価した同定結果である。

結果

本研究では、矢作第二ダム湛水池で発見された 32 個体のドブガイ類の標本に基づき、新たに COI 遺伝子の塩基配列を解読した。これに、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 (表 1)。

その結果、新たに COI 遺伝子の塩基配列を解読した 32 個体の塩基配列は、わずかに塩基配列が異なる 2 グループに分かれるものの、Lopes-Lima et al. (2020) が報告したミナミタガイ *Beringiana fukuharai* Sano,

表 1 分析標本の登録番号

No.	INSD	SDNCU	名称
1	OP028855	A5577	ミナミタガイ <i>Beringiana fukuharai</i>
2	OP028878	A5578	
3	OP028854	A5579	
4	OP028876	A5580	
5	OP028873	A5581	
6	OP028858	A5583	
7	OP028861	A5584	
8	OP028880	A5585	
9	OP028856	A5586	
10	OP028872	A5587	
11	OP028871	A5588	
12	OP028860	A5589	
13	OP028867	A5590	
14	OP028869	A5591	
15	OP028865	A5592	
16	OP028883	A5593	
17	OP028874	A5594	
18	OP028875	A5595	
19	OP028866	A5596	
20	OP028859	A5597	
21	OP028879	A5598	
22	OP028870	A5599	
23	OP028868	A5600	
24	OP028862	A5601	
25	OP028884	A5602	
26	OP028882	A5603	
27	OP028881	A5604	
28	OP028877	A5605	
29	OP028863	A5606	
30	OP028864	A5607	
31	OP028853	A5608	
32	OP028857	A5609	
33	MT020616	—	ヌマガイ・外群

登録番号は、International Nucleotide Sequence Databases (INSD) のアクセッション番号、証拠標本は、名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫: (SDNCU) 番号を示す。

表2 矢作第二ダム湛水池ミナミタガイの殻の形態情報およびCOI分析結果

No.	目視評価	真珠層	SL:殻長	SH:殻高	SW:殻幅	計算値	判別結果	COI
1	?	銀白色	122.4	72.2	47.2	3.0	判定不可	A
2	タガイ	帯青銀白色	111.7	60.4	42.1	-5.7	タガイ	A
3	タガイ	帯青銀白色	115.3	61.4	40	-11.3	タガイ	A
4	タガイ	帯青銀白色	90.3	54.2	35.3	0.5	判定不可	A
5	タガイ	帯青銀白色	85.3	53.2	32.5	0.7	判定不可	A
6	?	帯青銀白色	73.5	47.8	31.7	6.1	ヌマガイ	A
7	ヌマガイ	銀白色	79.5	53.8	38.5	15.8	ヌマガイ	A
8	タガイ	帯青銀白色	104.8	62.1	39.6	-0.1	タガイ	A
9	?	帯青銀白色	96.9	59.9	39.5	5.6	ヌマガイ	B
10	ヌマガイ	銀白色	84.8	55.2	37.1	9.8	ヌマガイ	A
11	ヌマガイ	銀白色	68.8	48.6	30.8	10.6	ヌマガイ	A
12	ヌマガイ	銀白色	65.6	45.5	25.6	3.4	判定不可	B
13	タガイ	帯青銀白色	103.6	62.7	36.6	-2.3	タガイ	B
14	タガイ	帯青銀白色	110.3	58.5	43	-5.1	タガイ	A
15	タガイ	帯青銀白色	101.7	60.7	36.8	-2.3	タガイ	B
16	タガイ	帯青銀白色	97.2	57	36.8	-1.6	タガイ	A
17	タガイ?	帯青銀白色	95.1	56.8	38.8	3.1	判定不可	A
18	タガイ?	帯青銀白色	83.7	51.9	32	0.3	判定不可	B
19	タガイ	帯青銀白色	87.7	57.2	30.8	0.2	判定不可	B
20	タガイ?	帯青銀白色	83.5	52.7	35	5.5	ヌマガイ	B
21	タガイ	帯青銀白色	75.6	51.9	29.5	5.3	ヌマガイ	A
22	タガイ?	帯青銀白色	83.5	51.6	35.2	4.6	判定不可	A
23	ヌマガイ	銀白色	85.4	55.6	37.2	9.8	ヌマガイ	B
24	タガイ	帯青銀白色	88.7	52.9	34.1	-0.9	タガイ	A
25	タガイ	帯青銀白色	99.5	63.7	38.8	6.1	ヌマガイ	B
26	—	—	—	—	—	—	—	B
27	—	—	—	—	—	—	—	B
28	—	—	—	—	—	—	—	B
29	—	—	—	—	—	—	—	A
30	—	—	—	—	—	—	—	A
31	—	—	—	—	—	—	—	B
32	—	—	—	—	—	—	—	A

計算値と判別結果は、近藤ほか（2011）の判別結果を示し、COIは図2の①ミナミタガイ Type A または②ミナミタガイ Type Bを示す。No. 26-32は幼貝のため未記載（殻形態による判別不可）。

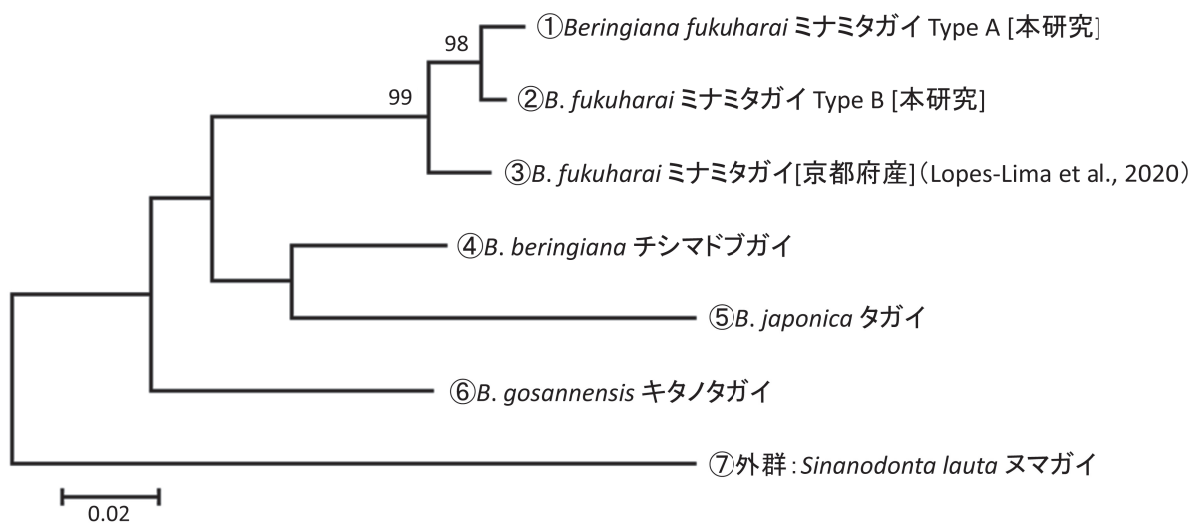


図2 COI 遺伝子を用いて作成したチシマドブガイ属各種の分子系統樹

Hattori and T. Kondo, 2020 に極めて近い配列であった (図 2)。図 2 の①ミナミタガイ Type A と②ミナミタガイ Type B の塩基配列では、8 塩基 (1.3%) の違いが見られた。同様に①と③京都府産のミナミタガイでは、18 塩基 (3.0%)、②と③では、16 塩基 (2.6%) の違いが見られた。

考 察

川瀬・山本 (2016) により、矢作第二ダム湛水池で発見され (表 2 の目視評価に示したとおり) 目視評価でタガイに同定した (タガイ? を含む) 17 個体、ヌマガイに同定した 5 個体、これらのいずれかに同定できなかった中間的な特徴を示す 3 個体、幼貝のため殻形態による同定をしなかった 7 個体は、COI 遺伝子分析によって全てミナミタガイ *Beringiana fukuharai* Sano, Hattori and T. Kondo, 2020 に同定された。これらの COI 遺伝子分析を実施した個体は、実際に現地で発見された 1,800 個体から無作為に選ばれているが、概観の異なる殻形態をもつ個体、サイズの異なる個体、殻形態のみで同定が困難な幼貝個体などが含まれており、矢作第二ダム湛水池に棲息するドブガイ類は全てミナミタガイと推定できる。

なお, 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。

これらの COI 遺伝子分析の結果を得て、あらためて COI 遺伝子分析した殻標本をみると、原記載に示された本種の特徴である卵形の輪郭で (Lopes-Lima et al., 2020)、脹らみの小さい個体については、多くの場合、殻形態のみでミナミタガイに同定できる。ただし、輪郭が台形に近い個体、脹らみが大きい個体および幼貝については殻のみによる同定が困難なことも明らかになった。つまり、成貝の場合でも、輪郭が卵形を示さなかったり、脹らみが大きかったりする場合に誤同定が起こると考えられる。

近藤 (2008) は、“タガイ” *Sinanodonta japonica* (Clessin, 1874) の形態記載において、「中型で、通常は殻長 10 cm を超えない」としているが、矢作第二ダム湛水池で発見された個体中には 10 cm を超える個体も多く見られた。これは、一般的な河川や溜池に比べて、

矢作第二ダム湛水池の面積と貯水量が安定して多いことが影響していると考えられる。また、流水性の河川に比べて、水が比較的停滞していることも影響した可能性がある。一方、殻長が 10 cm を超えるミナミタガイの大型個体が棲息していたことが、ヌマガイに誤同定した原因の一つと考えられる。ミナミタガイの原記載においても、本種が通常 10 cm を超えないことが記されており (Lopes-Lima et al., 2020)、本調査地の個体群はかなり大型の個体を含んでいるものと判断できる。

原記載中のミナミタガイの分布域は、移入個体群の北海道や関東甲信越の一部を除き、本調査地の愛知県を含む西日本である。また、ミナミタガイと同属の *B. beringiana* (Middendorff, 1851) チシマドブガイ、*B. japonica* (Clessin, 1874) タガイ、*B. gosannensis* Sano, Hattori & Kondo, 2020 キタノタガイは、愛知県での記録がなく、本調査地におけるミナミタガイの発見は Lopes-Lima et al. (2020) に示された分布域に調和的である。

また、今回発見されたミナミタガイは形態の個体差 (個体変異) が極めて大きい。Lopes-Lima et al. (2020) の記相には、同属の 3 種 (*B. beringiana* (Middendorff, 1851) チシマドブガイ、*B. japonica* (Clessin, 1874) タガイ、*B. gosannensis* Sano, Hattori & Kondo, 2020 キタノタガイ) が細長い卵形をするのに対して、ミナミタガイは卵形の殻をもつことでそれらと区別できるとされている。しかし、殻の形態的变化が非常に大きく、一部の標本では殻形態のみによる正確な種の識別が難しい場合があることも付記されている。

そこで、あらためて矢作第二ダム湛水池のミナミタガイに同定された標本の殻形態をみると、種内多様性が大きいことが分かる (図 3)。Lopes-Lima et al. (2020) の原記載に示された図は、殻の輪郭が No. 4 に最も近く、これに比べて No. 2, 3, 14 はより細長い輪郭を呈する。No. 7, 11 は、やや殻が薄く、殻表面が溶食されておらず、老成していない亜成貝であるが、輪郭は円みを帯びて脹らみが強いので、殻形態ではヌマガイに同定された個体である。このような個体を殻形態のみでミナミタガイに同定するのは不可能である。また、No. 7, 11 が亜成貝であることから、ミナミタガイは、成長のある段階から殻高方向の成長が小さくなり、殻長方向の成長が強まる可能性がある。一方で、No. 1 の個体はミナミタガイとヌマガイの中間的な輪郭をもち、他の老成したミナミタガイよりも脹らみも大きい。このように、矢作第二ダム湛水池のミナミタガイは殻の形態が変異に

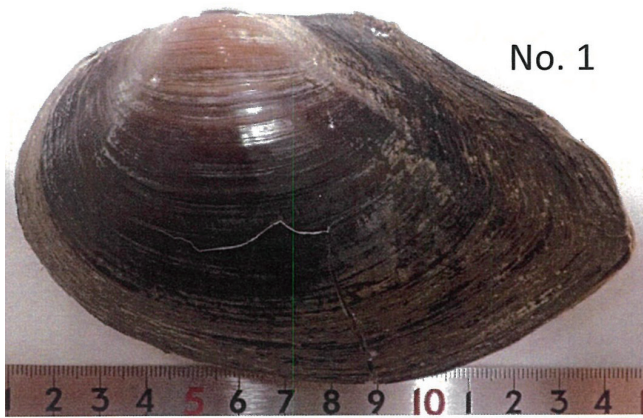


図3 ミナミタガイの殻形態の多様性

富む(殻形態の多様性が大きい)ことが明らかになった。

謝 辞

本研究は、名古屋市立大学の共用機器である 3500 Genetic Analyzer(理学研究科設置)を用いて行われた。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

- 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.
- 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.
- 近藤高貴 (2008) 日本産インガイ目貝類図譜. 日本貝類学会特別出版物第3号. 日本貝類学会, 東京.
- 近藤高貴・田部雅昭・福原修一 (2011) ヌマガイとタガイの殻形態による判別. *ちりぼたん*, 41 : 84-88.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35 : 1547-1549.
- 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.

- (1) 愛知みずほ大学
〒 467-0867 愛知県名古屋市瑞穂区春敲町 2-13
2) 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
〒 467-8501 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町山の畑 1
3) 豊田市環境政策課
〒 471-0025 豊田市西町 3-60