

研究成果報告書（第29回学術研究助成）

令和5 年 1月 15日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団

理 事 長 野 村 茂 樹 殿

所属機関名 旭川医科大学

職 名 助教

氏 名 佐々木 瑞希

1. 研究課題

北半球におけるドブシジミ科二枚貝の移動拡散—DNAバーコード法による分類学的検討と実験生態学を用いた検証—

2. 共同研究者

中尾 稔（2021年度のみ、旭川医科大学准教授、サンプル採集および遺伝子解析）

3. 研究報告

I. 研究の目的

淡水に生息する二枚貝であるドブシジミ科の貝類は形態的な特徴に乏しく、種同定が困難である。特に日本ではDNA解析を使った分類学的研究が進んでおらず、日本列島に何種存在するのかも明らかになっていない。我々はミトコンドリアDNAに基づくDNAバーコーディングによるドブシジミ科の予備調査から、旭川市で見られる種について、北米やヨーロッパに生息する種と同一もしくは極めて近縁であることを見出した。

ドブシジミ科の貝類それ自身は移動能力が低く、水産資源として無価値であるため人為的な移動の可能性も低い。このような動物が北半球で広く分布する理由について、水鳥による移動が考えられるが、それを裏付ける証拠はない。

本研究では、日本産ドブシジミ科貝類の分類学的再評価のため、データベース上の外国産のものとあわせて核およびミトコンドリアDNA配列を用いた分子系統解析を行う。これとともに、ドブシジミ科貝類がカモ類などの渡り鳥に運ばれる可能性について、動物実験により検討する。すなわち、二枚貝をアヒルに摂食させ、生きた貝が排泄される観察する。

II. 研究の方法

1. 分子系統解析による分類学的再評価

これまで日本におけるドブシジミ科貝類の記載論文では、北海道産ならびに千島列島産のものが多い。そのため、北海道を中心に、日本の湿地における微小二枚貝の採集を行った。道内は我々が実際に採集し、本州のサンプルについては、協力者に池などの泥を送付してもらい、その中から二枚貝を探索した。採集した貝類は形態観察ののち核28S rDNAとミトコンドリアCOIを増幅して、それらの塩基配列を決定した。それぞれの遺伝子で最尤法系統樹を作成した。解像度の高いミトコンドリア遺伝子を用いた場合に独立したクレードになる群を1種としてカウントした（DNAバーコード法）。解析にはデータベース上に存在する国内外の配列を加えた。これにより、日本に何種のドブシジミ科貝類が存在するのか、また、国外のものとの種の異同について検討した。

2. アヒルを用いた摂食実験と野生カモ類消化管からの二枚貝の探索

旭川市近郊で多数採集可能なハイイロマメシジミを用いてアヒルへの摂食実験を行った。1回の試行において、アヒル1羽にエサとともに400個体のマメシジミを与え、その後8時間の間、水のみを与えて排泄物を採集した。この中からマメシジミ個体を探索し、排泄された時間を記録した。排泄されたマメシジミは淡水に入れ、室温にて脚を出して移動が認められるか観察し、生死判定を行った。動物実験は旭川市旭山動物園の協力を得て行った。

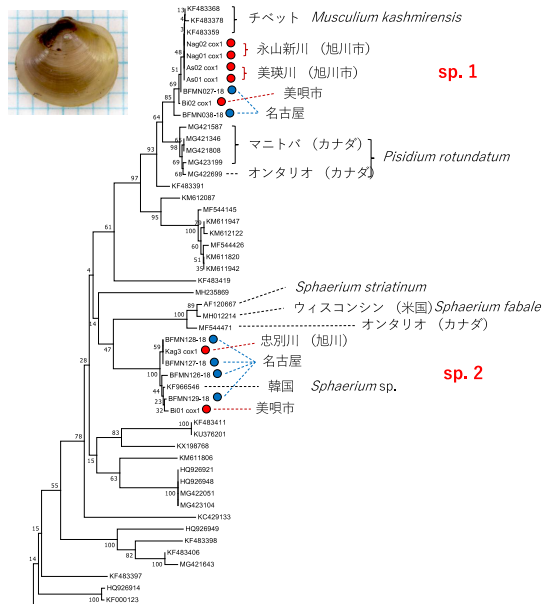
また、道内で野生カモ類の交通事故死した個体あるいは狩猟鳥として捕獲された個体について、消化管内容物を調べ、微小二枚貝を探索した。カルガモ（1羽）、コガモ（2羽）、キンクロハジロ（1羽）について検査を行った。

III. 研究結果

1. 分子系統解析による分類学的再評価

北海道および本州における調査の結果、北海道旭川市、美瑛市、上川郡、河東郡、釧路市において微小二枚貝を発見した。これらは形態学的に大きく2つに分類可能であった。*Sphaerium*属や*Musculium*属にみられるような楕円あるいは四角形に近い殻をもつドブシジミ型（グループ1）と、*Pisidium*属に代表される三角形の殻をもつマメシジミ型（グループ2）である（図1写真）。グループ内での形態的差異は小さく、鑑別は困難であったが、遺伝子解析により、グループ1に2種、グループ2に4種の存在を確認した。データベース上の海外産ならびに本州産サンプル由来配列を含めて作成した系統樹を図1に示した。グループ1では、旭川市および美瑛市で採集した種がチベット産*Musculium kashmirensis*と同一種であると考えられた。これはデータベース上の名古屋のサンプルとも同一クレードを形成しており、分布が極めて広範囲であることが明らかとなった。グループ1の別の1種（旭川市、美瑛市）は、韓国および名古屋産のものと同種と考えられた。一方、グループ2には4種が含まれており、いずれも広くユーラシア大陸、北米大陸に共通している種であることが明らかとなった。

グループ1（ドブシジミ型）



グループ2（マメシジミ型）

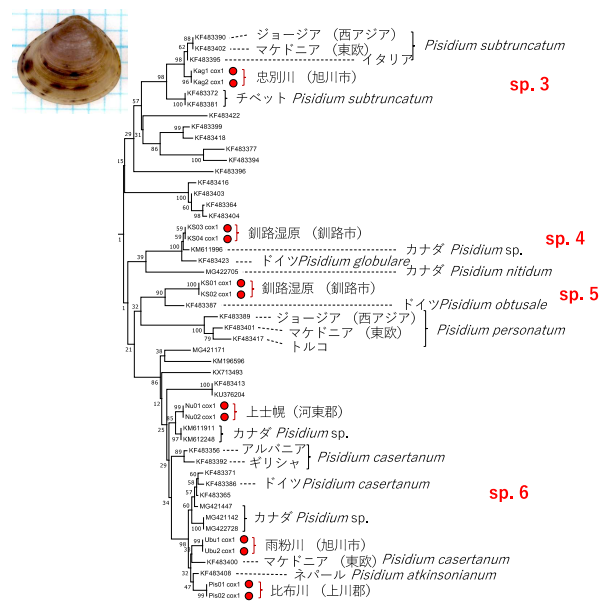


図1. ミトコンドリアCOI配列を用いて作成した分子系統樹

2. アヒルを用いた摂食実験と野生カモ類消化管からの二枚貝の探索

アヒル1羽にエサとともに400個体のマメシジミを与えたところ、アヒルは固形飼料を全て食べ終えた後も好んでマメシジミを摂食した（図2）。その後20–30分間隔で排泄が見られ、約4時間後より貝殻が細かく粉碎されたものが排泄物に混入した。5時間後と6時間後に1個体ずつ、破損していない貝が得られた。5時間後に排泄されたものについては、その後水中に敷いた砂の上で

運動性を確認した。

野生カモ類（カルガモ、コガモ、キンクロハジロ）を解剖し、消化管内を探索したところ、キンクロハジロの食道よりマメシジミ科二枚貝が複数検出された（図3）。カモ個体が冷凍された検体であったため、カモ体内での貝の生死は不明であった。



図2. ハイイロマメシジミを摂食するアヒル。水中に沈む黒い粒が二枚貝である。

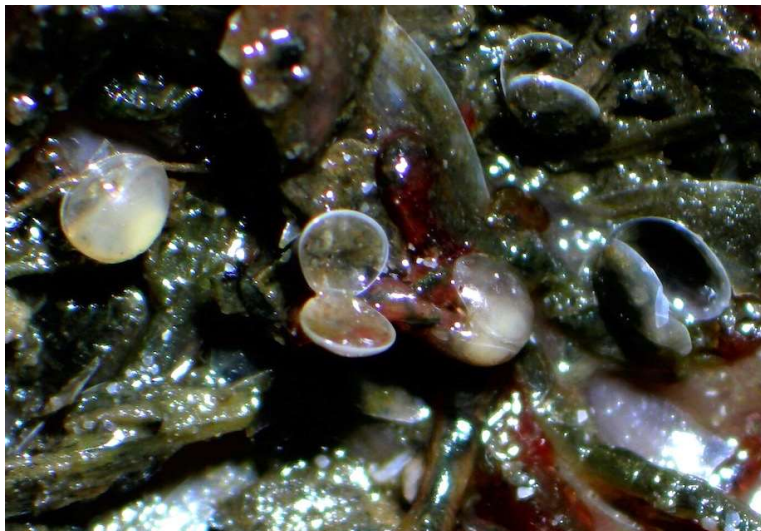


図3. キンクロハジロの食道内。マメシジミ科二枚貝が複数認められる。冷凍サンプルのため全て死亡しており、摂食後の生死は不明である。

IV. 考察

分子学的解析により、北海道にはハイイロマメシジミを含む少なくとも2属6種のドブシジミ科二枚貝が存在することが明らかとなった。これらの多くは本州や韓国、あるいは北米、ヨーロッパとの共通種が含まれ、北半球の広い地域に分布する汎存種と思われた。

これら二枚貝が広域に分布する理由について、我々は渡り鳥による拡散という仮説を立て、アヒルを用いた実験を行った。その結果、ハイイロマメシジミ摂食から5－6時間後に破損の見られないマメシジミが2個体排泄された。これらのうち1個体は生存していたことから、ハイイロマメシジミは鳥類消化管内の消化液や体温に耐え得ることが分かった。ただし、それ以降はかけらを含む貝の排泄が減少し、8時間後には全く見られなくなったことから、ハイイロマメシジミの鳥類体内における滞在時間は8時間未満と考えられた。したがって、数日をかけて運搬されるというよりは、数時間の短い距離を水場から水場へ移動し、それを繰り返して長距離を移動する可能性がある。実際に野生のキンクロハジロの消化管より微小二枚貝が検出されたことから、これらの鳥類が二枚貝の拡散に貢献している可能性がある。

V. 成果発表

なし

VI. 今後の課題

本研究により、カモ類などの渡り鳥が微小二枚貝の拡散に関与する可能性が示唆された。今後はこの仮説をさらに確実なものとするため、動物実験の試行回数を増やし、二枚貝の排泄される確率や生存率を詳しく調べる必要がある。また、ミトコンドリアDNA配列を用いたDNAバーコードにより、水場ごとの二枚貝の集団遺伝子解析を行い、近隣あるいは遠方の水場と比較することで、水場から水場への貝の移入を証明したい。

本研究ではドブシジミ科二枚貝の多様性の一部を証明したに過ぎず、実際にはさらに種数は多いはずである。本科貝類についてさらに各地で採集、解析を行うことは分類学的、生態学的に重要な意味を有する。