

愛知県奥三河地域で発見された日本初記録の *Buldowskia shadini*

Buldowskia shadini, the first record in Japan

from Okumikawa, Aichi Prefecture

川瀬 基弘*・村松 正雄**・横山 悠理**・横井 敦史*・熊澤 慶伯**

*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

Motohiro KAWASE*, Masao MURAMATSU**, Yuri YOKOYAMA**,

Atsushi YOKOI* and Yoshinori KUMAZAWA**

*Faculty of Human Science, Aichi Mizuho College.

**Research Center for Biological Diversity, Graduate School of Science, Nagoya City University.

Abstract

Molecular phylogenetic analyses were conducted for *Anodonta* individuals from Okumikawa, Aichi Prefecture, Japan. Mitochondrial DNA sequences of these individuals were nearly identical to those of *Buldowskia shadini* that occurs from the Amur River basin in Russia, northeastern China, and Mongolia (Buir Lake) to South Korea. This is probably the first record of the species from Japan.

キーワード : *Buldowskia shadini*; タブネドブガイ属; イシガイ科; 奥三河; フネドブガイ属.

Keyword : *Buldowskia shadini*; *Buldowskia*; Unionidae; Okumikawa; *Anemina*.

1. はじめに

ドブガイ類を含むイシガイ科二枚貝は, Lopes-Lima et al. (2020) により, 日本, 韓国とロシアのサンプルを中心に, 国際塩基配列データベース (International Nucleotide Sequence Databases, INSD) のデータを加えた分子系統解析が行われ, 新しい分類体系が提唱された. これにより, ドブガイ属

からタガイ属が, フネドブガイ属からタブネドブガイ属が分かれ, 種レベルではタガイが4種に分かれるなどの大きな変更が生じた. 近藤 (2020) は, Lopes-Lima et al. (2020) の論文に示された日本産種に和名を提唱し, Kondo and Hattori (2019) により記載されたキュウシュウササノハガイを加えて, 日本産イシガイ科二枚貝 2 亜科 13 属 26 種のリストを示した.

2013年9月、著者の村松は、愛知県奥三河地域の溜め池においてドブガイ類の死殻を採集し、殻標本を保管していた。最近になってこの標本を検証したところ、ドブガイ類の一種であったが、幼貝標本であり状態が悪かったため種同定には至らず、2020年6月に同溜め池で調査を実施した。その結果、多数のドブガイ類の標本が得られた。現地で殻形態による同定を試みたが、殻の多様性が大きく複数種が棲息している可能性も考えられた。殻形態では、ドブガイ型ドブガイ類、フネドブガイ型ドブガイ類、タガイ型ドブガイ類の概ね3タイプに同定できたが、これらの3タイプの中間的な個体も存在していた。しかし、いずれの個体もこれまでに国内で記録のある種(近藤, 2008; 2020)に殻形態が完全に一致するものはなかった。

そこで本調査で得られた上述の3タイプ合計6個体の遺伝子分析を実施したところ、これまで国内から報告事例のない種に塩基配列が99パーセント一致した。本研究では、標本の計測による形態的特徴を示し、遺伝子分析の結果とあわせて若干の考察を加えた。

2. 調査・分析方法

野外調査は愛知県奥三河地域の溜め池において実施し、目視によりドブガイ類を確認し採取した。個体群保護の観点から詳細な採集地点は非公開にした。合計30個体程度の採取をし、このうち任意の17個体の殻長、殻高、殻幅を計測し、さらに相対的に殻形態の異なる3タイプ6個体の遺伝子分析を行った。煮沸して殻部から取り出した軟体部の斧足の一部(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SpeedSTAR HS 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°C1分の加熱後、98°C5秒/50°C15秒/72°C10秒を30サイクル、72°C30秒で行った。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。

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 Science, 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。分子系統樹については、Lopes-Lima et al. (2020)の結果の一部に本研究の個体を追加する形で作成した。また、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。外群にはドブガイ類と同じイシガイ科に属するイシガイ *Nodularia douglasiae* (Gray, 1833)を使用した。

表1. 分析標本の採集地と登録番号

No	和名(地域型)	学名	採集地	登録番号
①				MW259994
②				MW259992
③				MW259995
④	和名未定	<i>Buldowskia shadini</i>	愛知県奥三河地域	MW259991
⑤				MW259996
⑥				MW259990
7				韓国
8			ロシア	MK574197
9	ヒガシタブネドブガイ	<i>Buldowskia kamiyai</i>	日本	MT020525
10	カタドブガイ	<i>Buldowskia iwakawai</i>	日本	MT020523
11			韓国	MT020542
12			韓国	MT020541
13	フネドブガイ	<i>Anemina arcaeformis</i>	中国	MG462936
14			日本	MT020522
15	イシガイ(外群)	<i>Nodularia douglasiae</i>	岐阜県岐阜市	MW259993

登録番号は、International Nucleotide Sequence Databases (INSD) のアクセッション番号を示す。

3. 結果

本研究では、奥三河地域の溜め池で採集されたドブガイ類 6 個体の標本につき、新たに COI 遺伝子の塩基配列を解読した。これに、日本を含む極東地域のイシガイ科二枚貝類の遺伝子分析による最新分類が示されている Lopes-Lima et al. (2020) により報告された、タブネドブガイ属の 3 種とタブネドブガイ属に近縁なフネドブガイ属のフネドブガイの塩基配列をあわせて、分子系統解析を行った (表 1)。その結果、奥三河地域の溜め池で採集されたドブガイ類 6 個体の塩基配列は全て一致し、これらの塩基配列は韓国産とロシア産の *Buldowskia shadini* (Moskvicheva, 1973) とほぼ同一であった (図 1)。これらの個体は、日本産ヒガシタブネドブガイ *Buldowskia kamiyai* Sano, Hattori and Kondo, 2020 や日本およびロシア産カタドブガイ *Buldowskia iwakawai* (Suzuki, 1939) とは塩基配列に顕著な差異が認められ、韓国、中国、および日本産フネドブガイ *Anemina arcaeformis* (Heude, 1877) とはさらに離れたクレードに位置づけられた (図 1)。

また、採取した約 30 個体のドブガイ類のうち任意の 17 個体の殻形態の特徴は次のとおりであった。殻形態では、ドブガイ型ドブガイ類[タイプ 1]、フネドブガイ型ドブガイ類[タイプ 2]、タガイ型ドブガイ類[タイプ 3]の概ね 3 型に同定できた (図 2)。タイプ 1 は、卵形で後縁が円く、殻長 79~88 mm、殻高 49~58 mm

程度でよく膨らむ。殻頂部は背縁より高く盛り上がる。17 個体のタイプ 2 は、輪郭がフネドブガイ *Anemina arcaeformis* によく似ており、タイプ 1 より殻長方向に長く、よく膨らむ。殻長 83~107 mm、殻高 51~63 mm 程度。タイプ 3 は、タイプ 2 より膨らみが弱く、より長卵形である。ただし、これらの 3 型に区別できない中間的な個体も存在していた。17 個体の殻長、殻高、殻幅の計測値を表 2 に示した。

4. 考察

COI 遺伝子の系統解析結果より、奥三河地域の溜め池で採集されたドブガイ類は、ロシア、中国東北部、モンゴル (ブイル湖) のアムール川流域から韓国に分布するタブネドブガイ属の *Buldowskia shadini* であることが強く示唆された。そうだとしたら、これは日本初記録となる。我々は、愛知県奥三河地域の溜め池で得られた個体の形態学的特徴を、Lopes-Lima et al. (2020) で使われた *Buldowskia shadini* 標本の特徴と直接比較する分析をまだ行っていない。しかし、Bolotov et al. (2020) に示された *Buldowskia shadini* 標本 (ホロタイプ標本を含む) の写真と比較したところ、それらは今回の標本の 1 型であるドブガイ型ドブガイ類[タイプ 1]によく一致していた。また、Bolotov et al. (2020) は、本種の一部の湖沼個体群では、殻頂部はそれほど顕著に盛り上がらず、*Buldowskia* 属と

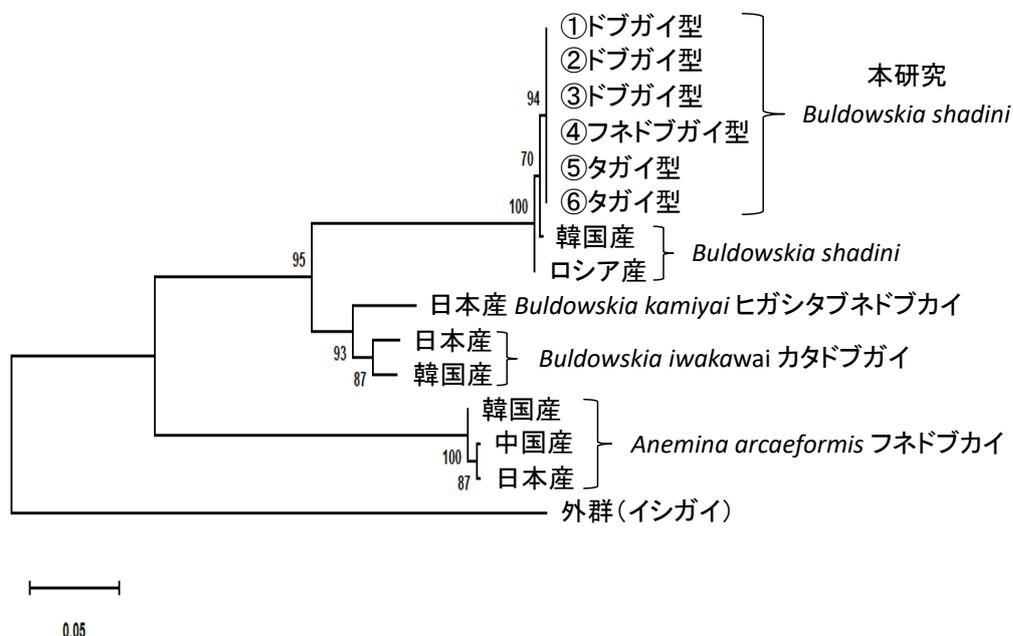


図 1. 分子系統樹

COI 遺伝子部分塩基配列を用いて作成した最尤系統樹。外群にはイシガイを使用し、各結節点にはブートストラップ確率を示した。



Buldowskia shadini
[タイプ1]
ドブガイ型



Buldowskia shadini
[タイプ2]
フネドブガイ型



Buldowskia shadini
[タイプ3]
タガイ型

図2. 3タイプの *Buldowskia shadini*

Anemina 属とは殻形態ではほとんど区別がつかないと述べている。つまりこのような湖沼個体群は、本調査で得られたフネドブガイ型ドブガイ類[タイプ 2]やタガイ型ドブガイ類[タイプ 3]に相当するとも考えら

れる。以上の考察から、奥三河地域の個体が *Buldowskia shadini* であるとする結論には、形態的観点からも矛盾がない。

上述の通り、奥三河地域の個体の殻形態は、タガイ

表 2. *Buldowskia shadini* の計測値

No.	殻長	殻高	殻幅	型
①	87.7	57.8	45.1	ドブガイ型
②	79.9	52.4	38.9	ドブガイ型
③	79.2	49.3	41	ドブガイ型
④	106.9	62.5	48.2	フネドブガイ型
⑤	115.2	63.3	46.1	タガイ型
⑥	107.4	60.1	43.1	タガイ型
7	78.7	52.3	40.5	ドブガイ型
8	82.8	51.3	40.4	フネドブガイ型
9	83.4	51.9	38.6	フネドブガイ型
10	79.1	51.1	39.6	タガイーフネドブ型
11	102.5	57.8	42.1	タガイ型
12	97.5	62.2	46.5	ドブガイ型?
13	87.4	52.4	38.2	フネドブガイ型
14	109.8	58	41.5	タガイ型
15	105.6	58	46.6	フネドブガイ型
16	99.7	58.3	44.9	フネドブガイ型
17	102.9	58.1	41.8	タガイ型
平均	94.5	56.3	42.5	
最大	115.2	63.3	48.2	
最小	78.7	49.3	38.2	

(単位 : mm)

型ドブガイ類 (フネドブガイ型よりも殻長が大きく殻幅がやや小さい型), フネドブガイ型ドブガイ類 (タガイ型よりも殻長が小さく殻幅がやや大きい型), ドブガイ型ドブガイ類 (殻長が最も小さく僅かに重厚でよく膨らむ型) の概ね 3 タイプに分類できた (図 2)。ただし, これらの 3 タイプの中間的な個体も存在しており, 殻形態の種内多様性は高い。殻形態のみによる同定では, ヒガシタブネドブガイ, カタドブガイ, フネドブガイ, タガイ *Beringiana japonica* (Clessin, 1847) やドブガイ *Sinanodonta cf. woodiana* (Lea, 1834) などに誤同定される可能性が少なからずあることが示唆された。

遺伝子分析の結果によれば, 今回発見された溜め池の個体群は全て *Buldowskia shadini* と考えられる。しかし, 殻の種内変異が大きく殻形態のみによる種同定は困難であることが示唆された。このことから日本各地で発見されているドブガイ類について, 殻形態のみで同定された個体の中に, *Buldowskia shadini* が含まれている可能性を考慮して, 遺伝子分析による再同定が今後必要かもしれないと考えている。

今回発見された日本産 *Buldowskia shadini* 個体の進化的起源については, それを議論できる十分なデータがまだ得られていない。しかし, 本種の生息地が今

回の発見場所に限定されず, 奥三河地域あるいは日本各地に広く分布している可能性も残されており, 今後の発見情報が増加することが期待される。本種の分布情報と生息地の環境情報などが今後蓄積されることで, 本種日本産個体群の進化的起源についての議論が進むことを期待する。

引用文献

- Bolotov, I. N., A. V. Kondakov, E. S. Konopleva, I. V. Vikhrev, O. V. Aksenova, A. S. Aksenov, Y. V. Bespalaya, A. V. Borovskoy, P. P. Danilov, G. A. Dvoryankin, M. Y. Gofarov, M. B. Kabakov, O. K. Klishko, Y. S. Kolosova, A. A. Lyubas, A. P. Novoselov, D. M. Palatov, G. N. Savvinov, N. M. Solomonov, V. M. Spitsyn, S. E. Sokolova, A. A. Tomilova, E. Froufe, A. E. Bogan, M. Lopes-Lima, A. A. Makhrov and M. V. Vinarski (2020) : Integrative taxonomy, biogeography and conservation of freshwater mussels (Unionidae) in Russia. *Scientific Reports*, 10(3072), 1-20.
- 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.
- 近藤高貴 (2008) : 日本産イシガイ目貝類図譜. 日本貝類学会特別出版物第 3 号. 日本貝類学会, 東京. 69 pp.
- 近藤高貴 (2020) : イシガイ科貝類の新たな分類体系. *ちりぼたん*, 50(2), 294-296.
- Kondo, T. and Hattori, A. (2019) : A new species of the genus *Lanceolaria* (Bivalvia: Unionidae) from Japan. *Venus*, 78(1-2), 27-31.
- 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>