

神戸市のマシジミは絶滅するのか

稲吉 詢大 坂東 丈志郎 前田 雅志 美田 啓太
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科2年

現在、タイワンシジミ (*Corbicula fluminea*) によってマシジミ (*Corbicula leana*) が淘汰されていることが問題となっている。しかし、タイワンシジミには、マシジミと同色の個体が存在し、見分けることが難しい。そのため、神戸版レッドデータでは、準絶滅危惧種(現段階では絶滅危惧種となる可能性は少ないが、将来的には絶滅の可能性のある種)となっているが、正確なマシジミの生息状況は分かっておらず、神戸市内において、現在どれだけマシジミがどこに生息しているかは明らかではない。そこで、我々は核DNA、ミトコンドリアDNAの二方面から塩基配列の違いを調べることで、採集を行ったシジミの種を判別した。それにより、マシジミの生息分布を解明し、その絶滅の危険性を推測した。

1. 序論

現在、日本では様々な在来種の外来種による絶滅が危惧されている。我々は今回その中から近年問題視され始めているタイワンシジミに着目した。タイワンシジミとは、元来中国、台湾を中心とした東アジアの淡水域に住む雌雄同体、二枚貝である。本種は、食用として輸出されたシジミ類に混入して、世界各地に運ばれ、何らかの原因で流出し定着したと考えられている。日本国内では、1985年頃に移入が確認され、徐々に分布の拡大が明らかになった。日本では、元々マシジミが日本中に存在していたが、現在はタイワンシジミにより生息数が激減している。タイワンシジミがマシジミとの生存競争で勝ち残っていることには大きな原因がある。それは、タイワンシジミの生命力や繁殖能力の高さと、シジミ特有の雄性発生である。タイワンシジミはマシジミと比べて、比較的汚れた水や護岸においても生息が可能であり、非常に強い生命力を有している。また、雄性発生とは交配の際に、子の形質を決定する雄側の核DNAのみが子に現れ、ミトコンドリアDNA(以下mtDNA)は雌側のみから遺伝するという発生方法である(図1にその一例を示す)。タイワンシジミは雌雄同体であり、マシジミに比べて大量の精子を放出するため、マシジミとの交雑の際に、より多くのタイワンシジミの子孫を残す可能性が非常に高くなる。これらによって、タイワンシジミによるマシジミの駆逐は進んでいる。そこで我々は、神戸市周辺における二種の生息状況を詳しく解明することとした。

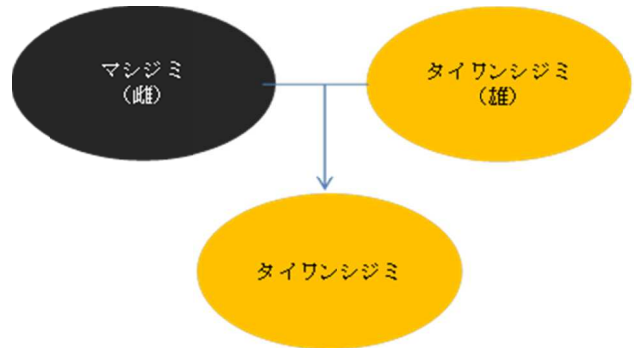


図1 雄性発生の一例

2. 実験方法

以下の5つの段階に分けて実験を行った。

i) 殻の色による同定

採集したシジミの中から、実験に使用した個体の殻の内側と外側の色を目視で大まかに分類した。一般に、マシジミは中心に近い付近は白っぽく、端にいくに従って紫色を帯びるとされ、タイワンシジミは殻の外側は黄色、内側は白色を帯びているといわれている。本実験では、この分類法に則った。



図2 マシジミ



図3 タイワンシジミ

ii) 実験個体の採集

9月から11月にかけて、明石川（明石川水系）、新堀川（武庫川水系）、櫛谷川（明石川水系）、志染川（加古川水系）の4つの河川で10~30個体ずつ採集した。

表1 採集した川の特長

名前	新堀川	山田川	櫛谷川(本流)	櫛谷川(支流)	明石川
流れの速さ	速い	ほとんどない	遅い	ほとんどない	標準
水系	武庫川	加古川	明石川	明石川	明石川
個体群密度	低い	高い	標準	高い	標準

iii) 足筋肉からのDNA抽出

シジミの足筋肉約1mgから、DNA抽出溶液(UniverseAll Extraction Buffer II)を用いてDNAを抽出、単離した。

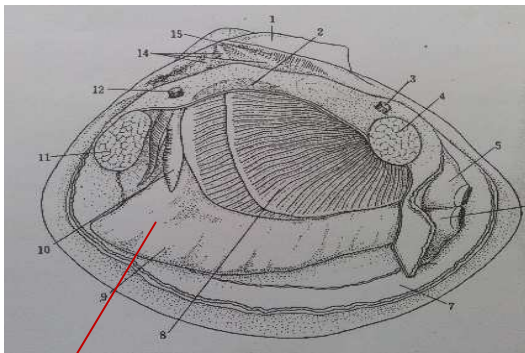


図4 シジミの模式図

我々がDNAを抽出した足筋肉の部分である。

iv) PCR (Polymerase Chain Reaction) 法による16s、28sの増幅

PCR法により、DNA断片の増幅を行った。使用した16sのプライマーの塩基配列は、TW16sA 5' -CGCCTGTTTAAACAAAACAT-3' および TW16sB 5' -CCGGTCTGAACTCAGATCATGT-3' (Tsudzumi Mito et al. 2010)、

と 16sar 5' -CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' および 16sbr 5' -CCCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3' である。28sのプライマーの塩基配列は、28FW 5' -GATTACCCGCTGAACTTAAGCATAT-3' および 28RV 5' -GCTGCATTCACAAACA CCCC GACTC-3' である。16リボソームRNA領域(以下16s)の塩基配列によって雌側から受け継いだ遺伝子を、28リボソームRNA領域(以下28s)の塩基配列によって雄側から受け継いだ遺伝子を明らかにする。これらを用いて、DNA断片の増幅に成功した。PCR反応は全量25μLの反応系で行い、各プライマー(ar, br または FW, RW) 0.75μL、dNTPs 5μL、緩衝液 12.5μL、DNAポリメラーゼ (KOD FX Neo: 東洋紡) 0.5μL、滅菌水 (ddH₂O) 4.5μL、DNA溶液 1μLを混合する。94°C2分間の熱変性を行った後、98°C10秒、53°C30秒、68°C45秒の反応を40サイクル行い、最後に68°Cで5分間熱を加え、全工程が終了後4°Cで保温する。

v) 塩基配列の同定

PCR法により増幅したDNA溶液をスピンカラム High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) を用いて精製し、濃度を調節した後、北海道システムサイエンス社にシーケンスを依頼した。シーケンスプライマーは上記のプライマーである。

3. 実験結果

i) マシジミとタイワンシジミの区別

まず採集したシジミを安全に保管するために、それぞれの個体に4桁の数字で名前を付けた。明石川で採集したシジミは1001~1004、1011~1014、櫛谷川で採集したシジミは2001~2004、2011~2014、E~H、山田川で採取したシジミは3001~3004、3011~3014、新堀川で採集したシジミはA~Dとする。殻の色の分析から大きく3つのタイプに分類できた。それは、一般的なタイワンシジミの色の特徴を持つ個体(①)、マシジミかタイワンシジミか判断できない色を持つ個体(②)、マシジミの色の特徴を持つ個体(③)である。①を黄色、②をピンク色、③を緑色で色分けし、表2にその分類の結果を示す。

表2 シジミの殻の色による区別

資料名	殻の外の色	殻の中の色	資料名	殻の外の色	殻の中の色
1001	黄	白	3002	茶	薄紫
1002	黄	白	2013	茶	紫
1003	黄	白	3003	茶	紫
1004	黄	白	1013	黒	紫
1011	黄	白	1014	黒	紫
2004	黄	白	2011	黒	紫
E	黄	白	2012	黒	紫
F	黄	白	3011	黒	紫
A	黄	薄紫	3012	黒	紫
1012	黄緑	紫	3013	黒	紫
2001	黄緑	紫	3014	黒	紫
2002	黄緑	紫	B	茶	白(端が紫)
2014	黄緑	紫	C	黒	白(端が紫)
3004	黄緑	紫	G	黒	白(端が紫)
2003	茶	白	H	黒	白(端が紫)
3001	茶	白			
D	茶	白			



図5 神戸市における水系の地図

この表から分かる通り、実験に使用した個体の中にマシジミの殻の色の特徴と一致する外見を持つ個体(③)が数匹存在する。一方、塩基配列の同定によって得られた結果からは、16s(核)、28s(mt)の塩基配列はともに、タイワンシジミとの一致率は100%であり、すべての個体がタイワンシジミだと分かった。

4. 考察

i) マシジミが生息する可能性について

マシジミの外見を持つ個体が存在したが、塩基配列の結果からこれらの個体は全てタイワンシジミであった。核DNAが、その種の形質を決定するため、調査を行った地域(神戸市全域)においてマシジミが存在しないといえる。ここで、神戸市の川は、図5のように5つの水系に分けられる。中でも、瀬戸川水系(図5白色部分)には、神戸市を流れる河川が存在しないため、今回はシジミの採集の対象から除外した。また、表六甲水系(図5黄色部分)では、水質などの関係により、マシジミの目撃情報は無いため、マシジミの生息する可能性は極めて低いと推測できる。ある河川にタイワンシジミが侵入すると、その河川及びその水系に生息するマシジミはタイワンシジミによって駆逐されたため、採集を行った明石川(明石川水系:図5緑部分)、新堀川(武庫川水系:図5紫部分)、櫛谷川(明石川水系:図5緑部分)、志染川(加古川水系:図5橙部分)では、核DNAがマシジミである種類はほとんど存在しないと考えてよい。

つまり、神戸市周辺においてマシジミは絶滅に近い状況であると考えられる。

ここで、神戸版レッドデータに注目した。これは、絶滅のおそれのある野生生物に関する保全状況や分布、生態、影響を与えている要因等の情報を記載した図書である。ここでは、マシジミの絶滅の可能性の度合いは、Cランク(これは、A~Cの三段階評価の中で最も絶滅が危惧されていない個体群に付けられる)とされている。しかし、本実験を踏まえると、神戸市におけるマシジミの絶滅はより深刻な問題であると考えられる。今回、マシジミの外見を持ったタイワンシジミの存在が確認されたが、これらをマシジミとして捉えていると、マシジミは一定数存在することになる。以上のことから、レッドデータには、正確な種の区別などを行うなどの改善が必要ではないかと考えた。

ii) マシジミの絶滅防止について

タイワンシジミは、幼生期に長距離の移動が可能となるので、河川のみならず下水道などを通して、きわめて広い範囲に生息地を拡大できる。そのため、タイワンシジミの繁殖を抑えることは、現段階では非常に困難である。つまり、我々がマシジミの絶滅を防ぐ唯一の手段は、現在存在しているごくわずかのマシジミの生息地を人間が管理して、シジミの放流などを禁止することである。

5. 今後の展望

今回、採集を行った明石川、新堀川、櫛谷川、志染川の4つの河川におけるシジミのDNA解析の結果のみから考察した。タイワンシジミは下水道などを通して繁殖することができるため、採集を行っていない河川でマシジミの生息している可能性は極めて低いと推測できる。しかし、マシジミの生息可能な水質や川の流速である淡河川や伊川での採集を行っ

ていないため、より正確なデータを得るためには、それらの川における DNA 解析も必要である。また、現在日本に定着しているタイワンシジミがどの国から流入したのかという産地判別も行ってみたい。

謝辞

研究に際し助言をいただいた本校教諭森和代先生、サイエンスアドバイザーの皆様に御礼申し上げます。そして、熱心にご指導いただいた本校教諭繫戸克彦先生に心からの感謝の意を表します。

参考文献

- ・ Inoue et al, 神戸周辺に生息するマイマイ属のミトコンドリア系統解析—いまだ知られざるカタツムリの近縁関係を解明する, 2013
- ・ Takashi Ishii et al, 松山市重信川水系における淡水産シジミ類の生態遺伝学的研究, 2017
- ・ Tsudzumi Mito et al, 高梁川水系における Corbicula シジミの分子分類解析, 2010
- ・ Shinichiro Yasuki, ロシア産シジミの輸入状況, 2006～2012, 2014
- ・ Tetsuya et al, 朝鮮半島およびその周辺から輸入されるシジミの原産地推定, 関税中央分析所報, 第 51 号, 85-86
- ・ 大阪府立環境農林水産総合研究所, 2011
- ・ 神戸市 建設局 防災部 河川課
- ・ 神戸版レッドデータ 2015
- ・ 国立環境研究所 侵入生物データベース