

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780054

研究課題名(和文) 外来淡水巻貝 *Pomacea* 属の分布実態とその定着要因の解明研究課題名(英文) Clarification of current distribution and ecological factors for successful localization in the two invasive freshwater apple snails, the genus *Pomacea*

研究代表者

松倉 啓一郎 (Matsukura, Keiichiro)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター 生産環境研究領域・主任研究員

研究者番号：50414800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円、(間接経費) 960,000 円

研究成果の概要(和文)：国際自然保護連合による「世界の侵略的外来種ワースト100」に指定されているスクミリンゴガイとその近縁種ラブラリンゴガイについて、東アジア・東南アジアへの侵入実態と、各地域への侵入に成功した生態的要因を解明した。スクミリンゴガイは東南アジア一帯から関東平野までの広範囲に分布するのに対し、ラブラリンゴガイの分布北限は西表島であった。両種は交雑が可能であり、交雑個体の北限は韓国のプサンであった。両種ならびに交雑個体の分布地域が異なる原因は、冬期の低温に対する耐性能力の違いであった。

研究成果の概要(英文)：We clarified current distribution of two invasive apple snails, *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* in East and Southeast Asia, and ecological factors restricting their distribution area. *Pomacea canaliculata* were distributed widely from Southeast Asia to temperate Japan (Kanto Plain), whereas northern distribution limit of *P. maculata* was Iriomote Island. We demonstrated that *P. canaliculata* and *P. maculata* could hybridize and found the hybrid snails in field. The hybrid snails had an intermediated distribution range between the two snails with a northern distribution limit of Pusan, Korea. The most important factor causing the different distribution ranges among the species and hybrids were considered to be the different degrees of tolerance to low temperature during winter.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：応用昆虫学

キーワード：侵略的外来種 遺伝的変異 交雑 耐寒性 天敵

### 1. 研究開始当初の背景

農業生態系に侵入した外来種はしばしば、農業害虫あるいは侵略的外来種として問題となる。外来種の侵入や定着の経緯の解明は今後の外来種管理手法の向上のための重要な情報となるが、この点についての知見は乏しい。

本課題で扱った *Pomacea* 属は南米原産の淡水巻貝で、1980 年代に日本を含む東アジア・東南アジアに侵入したイネの重要害貝である。国内にはスクミリンゴガイ *P. canaliculata* (以下、スクミ) とラプラタリンゴガイ *P. maculata* (以下、ラプラタ) の 2 種が生息しているが、沖縄県の西表島と石垣島以外の地域では、すべてスクミが優占しており、石垣島においても近年徐々にスクミが優占化しつつあることが確認されている。さらに、予備調査の結果、スクミとラプラタは交雑可能であることが示唆されている。

### 2. 研究の目的

同時期に東アジアに侵入したにも関わらず、侵入地への定着状況が大きく異なるスクミとラプラタについて、分布実態や分布地域の変遷の解明、2 種の種間関係の解明、定着に関連する生態的要因の検証を通して、侵入種が侵入地への定着に成功するための生態的背景の解明を試みる。

### 3. 研究の方法

(1) 東アジア・東南アジアにおけるスクミ、ラプラタ、およびそれらの交雑個体の分布実態の解明

交雑個体の検出のためには、既存のミトコンドリア DNA の塩基配列情報による分類ではなく、核 DNA の塩基配列情報に基づく解析が必要であったため、核 DNA の Elongation factor  $\alpha$  (EF1 $\alpha$ ) 領域の塩基配列情報に基づいて種判別を実施した。調査地は日本の関東平野以南から 11 か所のほか、韓国から 1 か所、フィリピンとベトナムからそれぞれ 2 か所とした。

(2) 石垣島におけるスクミとラプラタの分布地域の変遷の追跡

両種が同所的に生息している石垣島において、互いに地理的に隔離されている 4 地域から毎年貝を採集し、種構成を調査した。種の判別はミトコンドリア DNA の塩基配列情報に準じた。

(3) スクミとラプラタの種間関係の解明

茨城県から採集したスクミリンゴガイと西表島から採集したラプラタリンゴガイを核 DNA EF1 $\alpha$  領域の塩基配列情報に基づいて選抜し、両種の純系系統をそれぞれ作成した。これら両系統を実験条件下で交配し、得られた F1 の孵化率および妊性を調査した。

さらに、両種を識別するための形態的特徴のひとつである卵のサイズ(重量)について、

両純系系統ならびに F1 系統間で比較した。

(4) スクミ、ラプラタおよび交雑個体の定着に関連する生態的要因の解明

#### 耐寒性の比較

(3) で作成した両種の純系系統、および F1 系統の耐寒性を比較した。各系統の耐寒性は過去の知見に準じ、低温順化処理後、0 に 5 日間晒した後の幼貝の生存率で評価した。さらに、F1 をスクミと交配させた BC1 系統についても同様の方法で耐寒性を評価した。

ラプラタが九州以北の温帯地域で越冬できないことを確認するために、九州沖縄農業研究センター(熊本県合志市)にある外部とは隔離されたコンクリートポット(縦×横: 1m×2m) に水田条件を再現し、ポット内でのスクミとラプラタの越冬生存率を調査した。

さらに、スクミの耐寒性上昇関連化学物質として知られているグルコースとグリセロールについて、スクミとラプラタ間での濃度の違いを比較するとともに、間接冷温障害に対する耐性物質として重要なリン脂質の体内組成の変動をスクミとラプラタ間で比較した。

熊本県と石垣島の水田における天敵相の比較

スクミが優占する熊本県と両種が混在する石垣島において、両地域の水田内に生息する *Pomacea* 属に対する天敵捕食圧を調査した。コルクボード(縦×横: 20cm×40cm) 上にスクミの孵化貝(殻高: 2~3 mm) 25 個体と幼貝(殻高: 5~10 mm) 10 個体を接着剤で張り付け、湛水された水田内に 1 日間設置し、捕食された個体数を調査した。調査は移植期と出穂後の 2 回実施した。

また、補助データとして、両種の殻高成長速度を比較した。孵化~幼貝期の成長速度は室内の水槽で飼育した個体で調査した。幼貝~成貝期の成長速度は上述のコンクリートポット内に貝殻にマーキングした両種の幼貝を放飼し、定期的にそれらの殻高を計測した。

### 4. 研究成果

(1) 東アジア・東南アジアにおける *Pomacea* 属の分布実態

各地域から採集した個体を、核 DNA EF1 $\alpha$  領域に基づいて判別した結果、スクミは東アジアから関東平野までの広範囲に分布しているのに対し、ラプラタは西表島を北限とする南部のみに生息しており、分布範囲が種間で大きく異なることが確認された(図 1)。

両種の交雑個体も複数の地域から採集され、交雑個体は野外にも存在していることが確認された。交雑個体の分布北限はラプラタよりは北方であったが、スクミの分布北限である関東平野では確認されなかった。

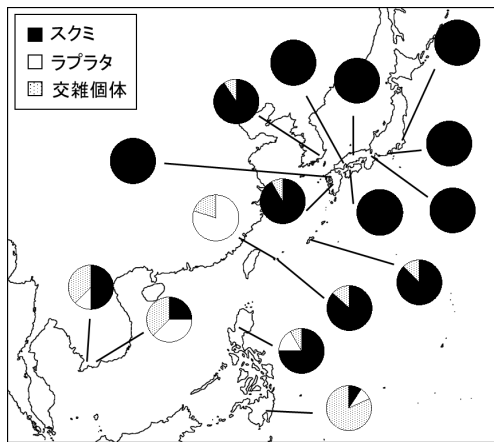


図 1. 東アジア・東南アジアにおける *Pomacea* 属の分布状況(調査個体数は地域ごとに5~15個体)

(2)石垣島の水田地帯における両種の生息割合の変動

国内の大半の水田ではスクミが優勢していることから、水田生態系においてはスクミのほうが生存に有利であるという仮説のもと、石垣島の水田においてもラプラタは徐々に駆逐されていくと予想していた。しかし、石垣島の4水系での調査の結果、2007年から2010年の4年間では複数の地域でスクミの比率増加が確認されたものの、2011年以降はそのような傾向は確認されず、いずれの地域からも両種が採集された(図2)。したがって、石垣島の水田生態系においては必ずしもスクミが優勢するわけではなく、ラプラタも定着可能であると考えられた。

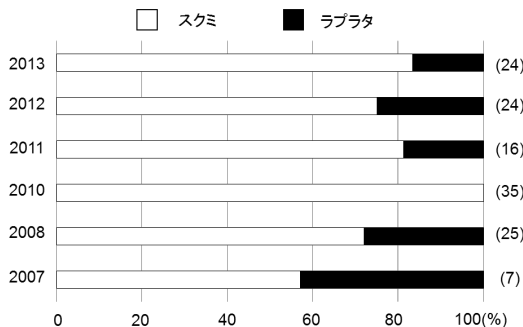


図 2. 石垣島の水田におけるスクミとラプラタの生息比率の推移

調査は互いに独立した4地域で実施したが、ここでは典型的な1地域のデータのみを示す。括弧内の数字は調査個体数。

(3)スクミとラプラタの種間関係

作成したスクミとラプラタの純系系統を用いた交配試験の結果、同系統間(スクミ × スクミ、ラプラタ × ラプラタ)、異系統間(スクミ × ラプラタ、ラプラタ × スクミ)いずれの交配においても産卵が確認された。交雑により産卵された卵の孵化率は20%程度であり、同系統間の交配時(80%以上)よりは低いものの、F1が得られた。さらにF1を飼育した結果、正逆どちらのF1系

統においてもF2の出現が確認された。以上の結果から、両種は交雑可能であり、交雑後も繁殖可能であることが明らかとなった。この結果は(1)において野外から交雑個体が採集されたことを裏付けるものである。

各交配によって得られた卵塊について、卵塊の総重量と卵数から一卵あたりの重量を調査した結果、スクミ系統の卵(約20mg/卵)はラプラタ系統の卵やF1系統の卵(いずれも約10mg/卵)よりも有意に重かった。純系系統間での卵サイズの違いは既知の知見を支持するものであるが、2種を識別するための重要な形態的特徴である卵サイズは交雑により変動することが明らかとなった。

(4)分布地域を決定する生態的要因

低温への適応

低温順化处理をした各系統の幼貝を0に5日間晒した結果、スクミはほぼ100%の個体が生存したのに対し、ラプラタ、F1はすべて死亡した。このことから、スクミはラプラタや交雑個体よりもより低温に適応していると考えられた。F1をスクミ側に戻し交配させたBC1各系統においては、05日間処理後も生存する個体が確認されたことから(図3)、交雑個体もスクミとの交配を重ねることでより低温に対する適正が高まると推察された。

低温順化处理に伴う腎臓のグルコース濃度と消化腺のグリセロール濃度の変動をスクミとラプラタで比較した結果、いずれもスクミでは低温順化处理に伴って体内濃度が上昇するのに対し、ラプラタではグリセロールは増加したものの、グルコースの増加は見られなかった。グルコースはスクミの低温耐性上昇には直接的には関与していないと考えられているが、腎臓でのグルコースの増加は体内のエネルギー代謝と深く関連することから、スクミとラプラタ間には低温順化处理中の代謝経路に違いがあることが示唆された。リン脂質の組成比については、従来の手法では貝類特有の不純物を分離することが困難であったことから、両種間での明瞭な違いを確認することはできなかった。

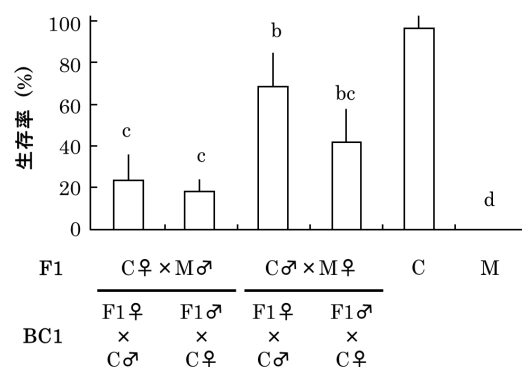


図 3. スクミ(C)とラプラタ(M)およびそれらから得られたBC1系統における耐寒性の違い

a-d : arcsin 変換後 Tukey HSD 検定で有意差あり ( $\alpha = 0.05$ , n は 20 個体 × 3 反復)

#### 天敵の影響

コルクボードに設置した孵化貝と幼貝を熊本県と石垣島の水田にそれぞれ 1 日間設置した結果、熊本県の水田では出穂後の水田で 20% 程度の個体が天敵により捕食されていたが、幼貝の捕食は確認されなかった(表 1)。一方、石垣島では孵化貝の捕食は熊本と同様の傾向であったが、出穂後の水田では幼貝も捕食されていた。

九州の水田ではヤゴやゲンゴロウの幼虫等の水生昆虫が *Pomacea* 属の天敵として作用していることが知られており、これらは孵化貝程度の大きさの個体しか捕食できないことも知られている。一方、石垣島での観察の結果、淡水生のカニ(モクズガニの一種)とカメ(種は不明)による幼貝の捕食が確認され、これら天敵の存在により、石垣島では殻高 10mm 程度の幼貝に対する捕食も存在すると考えられた。

表 1. コルクボードに設置したスクミの孵化貝・幼貝を水田に 1 日間設置した場合の天敵による捕食率 (% ± S D)

	反復	熊本		石垣	
		孵化貝	幼貝	孵化貝	幼貝
移植期	1	0	0	0	0
	2	0	0	0.8 ± 1.8	0
	3	0	0	0	0
出穂後	1	20.0 ± 11.0	0	8.8 ± 5.9	12.0 ± 16.4
	2	19.2 ± 12.8	0	15.2 ± 12.5	6.0 ± 8.9
	3	22.4 ± 15.1	0	16.8 ± 14.8	12.0 ± 21.7

孵化貝の成長速度を比較した結果、25 条件下では孵化後 1 ヶ月間はスクミのほうが大きかった(図 4)。これはスクミのほうが卵サイズが大きいことを反映していると考えられる。しかし、その後ラブラタの成長速度が高まり、約 2 ヶ月後には種間に殻高の違いは見られなかった。7 月 1 日にコンクリートポットに幼貝を放飼して成長速度を調査した結果、放飼後 1 ヶ月間は両種間で大きな違いは見られなかった。しかし放飼 2 ヶ月後にはラブラタのほうがスクミよりも大型となった(図 5)。

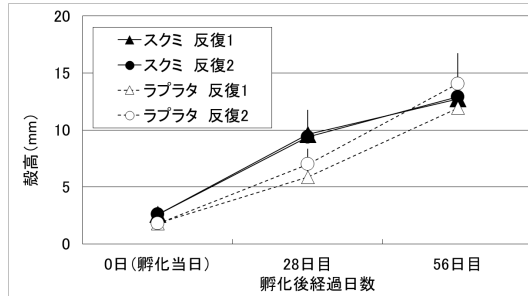


図 4. 孵化～幼貝期までのスクミとラブラタの殻高成長速度の推移  
各反復とも 20 個体の平均値。

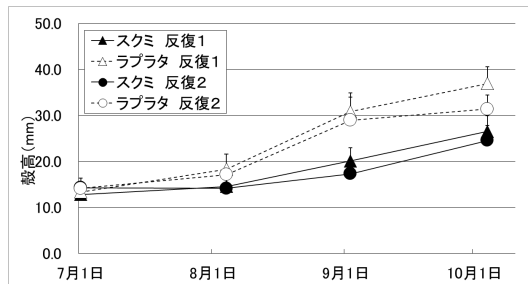


図 5. 野外のコンクリートポット内でのスクミとラブラタの殻高成長速度の推移  
各反復とも 10 個体の平均値。

#### (5)まとめと今後の展望

本研究により、日本を中心とした東アジア・東南アジアにおける *Pomacea* 属の分布実態と、それに対する生態的要因が明らかとなった。

スクミが広範囲に分布しているのに対してラブラタの分布域が南方に限定されているのは、ラブラタの低温耐性が低く、九州以北では越冬できないためと考えられた。貝類の低温耐性メカニズムについては不明な点が多いが、今後リン脂質の解析の継続や分子生物学的アプローチにより解明を試みる。

石垣島の水田内には、より大型の *Pomacea* 属を捕食できる天敵が生息していることが明らかとなった。このような条件下では、多産型で成長速度の速いラブラタのほうが生存に有利であると考えられるが、直接的な因果関係の証明には今後の追加調査が必要である。

両種の交雑個体の存在、ならびにその分布地域は侵入種の定着、分布地域拡大を考慮する上で興味深い知見である。上述のようにラブラタは西表島以北に定着することはできないが、スクミと交雑することにより、より北方への分布拡大に成功している。侵入種が在来種との交雑により分布地域の拡大に成功した例はいくつか知られているが、侵入種同士の交雑による例は本知見が初である。これら 2 種がどのような経緯で交配し、現在の分布状況に至ったかを解明することは、侵入生物における定着後の分布拡大経緯を解明する上で貴重な知見となる。今後原産地である南米の個体群解析やマイクロサテライト

マーカーをもちいた詳細な解析を進める予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Yoshida, K., K. Matsukura, N. J. Cazzaniga and T. Wada (2013) Tolerance to low temperature and desiccation in two invasive apple snails, *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae) collected in their original distribution area (Northern and central Argentina). *Journal of Molluscan Studies*, 80: 62-66. DOI: 10.1093/mollus/eyt042 【査読あり】  
Matsukura, K., M. Okuda, N. J. Cazzaniga and T. Wada (2013) Genetic exchange between two freshwater apple snails, *Pomacea canaliculata* and *Pomacea maculata* invading East and Southeast Asia. *Biological Invasions* 15: 2039-2048. DOI: 10.1007/s10530-013-0431-1 【査読あり】

〔学会発表〕(計5件)

松倉啓一郎・和田節、スクミリンゴガイとラプラタリンゴガイの耐寒性に対する交雑の影響、2014年3月26~28日、第58回日本応用動物昆虫学会大会、高知大学農学部(高知県高知市)

松倉啓一郎ら、スクミリンゴガイとラプラタリンゴガイの耐寒性、第57回日本応用動物昆虫学会大会、2013年3月27~29日、日本大学生物資源科学部(神奈川県藤沢市)

Wada, T. and K. Matsukura、Possible invasion areas of the alien apple snail, *Pomacea canaliculata*, estimated from accumulated climate data by automated meteorological data acquisition system, XXIV International Congress on Entomology, 2012年8月19~25日、Taegu Exhibition & Convention Center(韓国大邱市)

和田節ら、スクミリンゴガイの越冬化の地域のマッピング、第56回日本応用動物昆虫学会大会、2012年3月27~29日、近畿大学農学部(奈良県奈良市)

松倉啓一郎ら、スクミリンゴガイとラプラタリンゴガイの交雑可能性、第56回日本応用動物昆虫学会大会、2012年3月27~29日、近畿大学農学部(奈良県奈良市)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

松倉 啓一郎 (MATSUKURA, Keiichiro)  
農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター 生産環境研究領域・主任研究員  
研究者番号：50414800

(2)連携研究者

和田 節 (WADA, Takashi)  
農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・非常勤職員  
研究者番号：なし

泉 洋平 (IZUMI, Yohei)  
岡山大学・資源生物科学研究所・技術専門職員  
(2012年度より島根大学・資源生物科学部・助教)  
研究者番号：10457210

吉田 和弘 (YOSHIDA, Kazuhiro)  
農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・特別研究員  
研究者番号：なし