

日本、韓国、中国産シジミ類のmtDNA16S rDNA塩基配列分析による判別

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者名	古丸,明 堀,寿子 柳瀬,泰宏 尾之内,健次 加藤,武 石橋,亮 河村,功一 小林,正裕 西田,陸
発行元	日本水産學會
巻/号	76巻4号
掲載ページ	p. 621-629
発行年月	2010年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



日本, 韓国, 中国産シジミ類の mtDNA16S rDNA 塩基配列分析による判別

古丸 明,^{1*} 堀 寿子,¹ 柳瀬泰宏,¹ 尾之内健次,¹ 加藤 武,¹
石橋 亮,¹ 河村功一,¹ 小林正裕,² 西田 睦³

(2009年5月14日受付, 2010年3月11日受理)

¹三重大学生物資源学研究所, ²水産研究総合センター西海区水産研究所, ³東京大学大気海洋研究所

Mitochondrial 16S rDNA analysis used to distinguish *Corbicula japonica* from Japan
and imported species from Korea and China

AKIRA KOMARU,^{1*} HISAKO HORI,¹ YASUHIRO YANASE,¹ KENJI ONOUCHI,¹
TAKESHI KATO,¹ RYO ISHIBASHI,¹ KOUICHI KAWAMURA,¹
MASAHIRO KOBAYASHI² AND MUTSUMI NISHIDA³

¹Graduate School of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507, ²Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Taira, Nagasaki 851-2213, ³Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo, Kashiwa, Chiba 277-8564, Japan

In order to identify the *Corbicula* clam species and its origin, the partial nucleotide sequence (437bp) of mitochondrial 16S rDNA was determined in *Corbicula* specimens collected from Japan, Korea and China. A large nucleotide substitution number (5.26-6.41%) was observed between *C. japonica* and other species. Although nucleotide sequence differences between *C. japonica* samples from Japan and those from Korea were small (0-1.14%), very little haplotype was shared in common between the Japanese and Korean samples.

キーワード : 16S rDNA, *Corbicula*, 種判別, 産地判別, ヤマトシジミ

ヤマトシジミ *Corbicula japonica* は日本国内における重要な内水面漁業対象種である。近年, 日本では河口堰の建設や河口域の埋め立てなどにより, ヤマトシジミの生息に適した漁場が消失し, 漁獲量は激減した。かつて昭和40年代には日本全体で5万トン前後の漁獲量があったが, 平成15年には約1万7000トンにまで減少している。最も大きな産地であった八郎湖においては干拓により, 事実上シジミ漁業が消滅した。また利根川では河口堰が建設されたために産卵や幼生の発生に必要な塩水遡上が阻害され, シジミ資源に悪影響を与えたと考えられている。¹⁾

こうした国内におけるシジミ漁獲量の減少を補うため, 中国, 韓国, 北朝鮮などからのシジミの輸入量は年々増加している。平成13年には輸入量が1万8389トンに達し, 国内のシジミ漁獲量を上回った。¹⁾ 輸入されたシジミの中には貝殻の形態がヤマトシジミに酷似して

いるものもあり, 外見からだけでは種判別が困難な場合が多い。このため, 単価の安い輸入されたシジミを日本産ヤマトシジミと偽って販売する産地偽装が行われている。そのため, 日本産ヤマトシジミと外国産シジミを確実に判別する手法の確立が必要である。

Corbicula 属に属するシジミ類は貝殻の形態や色彩の種内変異が大きく, アジア諸国においては, これまで100種前後が種として記載されていた。Morton²⁾はこれらの文献を整理し, 記載された種の多くがシノニムであると指摘した。そして, *Corbicula* 属は淡水産雌雄同体種 *C. fluminea* と汽水産雌雄異体種 *C. fluminalis* の2種に整理できるとした。一方, 淡水域に生息する雌雄同体のマシジミ *C. leana*, 琵琶湖固有種のセタシジミ *C. sandai*, 汽水産ヤマトシジミ *C. japonica* 計3種が在来種として記載されている。³⁾ これら3種は繁殖方法や分布域,³⁻⁶⁾ 染色体数⁷⁾ が異なっていることから明らかに別

種である。日本産3種に加え、韓国の汽水域に生息するウスシジミ *C. papyracea*⁸⁾ 中国長江沿いの淡水湖に生息する雌雄異体種 *C. largillierti*⁹⁾ も独立した種と考えられる。

中国広東省珠江の広東市周辺に生息する雌雄異体種¹⁰⁾をMorton¹¹⁾は *C. fluminalis* とし、ヤマトシジミをシノニムとして扱っている。Park and Kim¹²⁾は、日本産、韓国産ヤマトシジミと中国産 *C. fluminalis* の系統類縁関係をミトコンドリアDNA (以下 mtDNA) cytochrome c oxidase subunit I (以下, COI) 領域の塩基配列から分析した。両種の塩基の置換率が2%程度であり、分岐して相当の時間が経過しているという結論を得ている。この結果からも、両者の分類学的扱いについてはさらなる検討が必要な状況である。

このようにシジミ類の分類は混乱した状況にある。その原因は、同じ種においても殻色や殻の形態が変異に富んでいることがあげられる。さらに貝殻以外には種を同定する上で有効な形質が乏しいことがあげられる。そのため、外国から輸入されたシジミと日本産のシジミを外

観から判断することが難しい場合が多い。著者らは、¹³⁾ 簡便に RFLP 法により、琵琶湖産セタシジミと中国太湖産のシジミを判別する方法を開発した。また、日本産ヤマトシジミと韓国産ヤマトシジミの mtDNA 16S rDNA 領域の塩基配列解析の結果、数塩基程度の相違がみられることも予報的に報告した。本研究の目的は、さらに産地や分析する個体数を増やし、日本産ヤマトシジミと外国産シジミの 16S rDNA 塩基配列を分析し、そのデータをもとに日本産ヤマトシジミと外国産のシジミを確実に識別する手法を確立する事である。

材料および方法

材料 本研究で使用したシジミ標本の採集地、採集年月日を Fig. 1 と Table 1 に示した。日本産ヤマトシジミ *Corbicula japonica* は、北海道天塩川、網走湖、青森県十三湖、小川原湖、宮城県北上川、東京都江戸川、神奈川県多摩川、三重県安濃川、愛知県揖斐川、島根県宍道湖、神西湖、福岡県筑後川、佐賀県松浦川の12地点において、貝類採取用ジョレンあるいは魚類採集用のタ

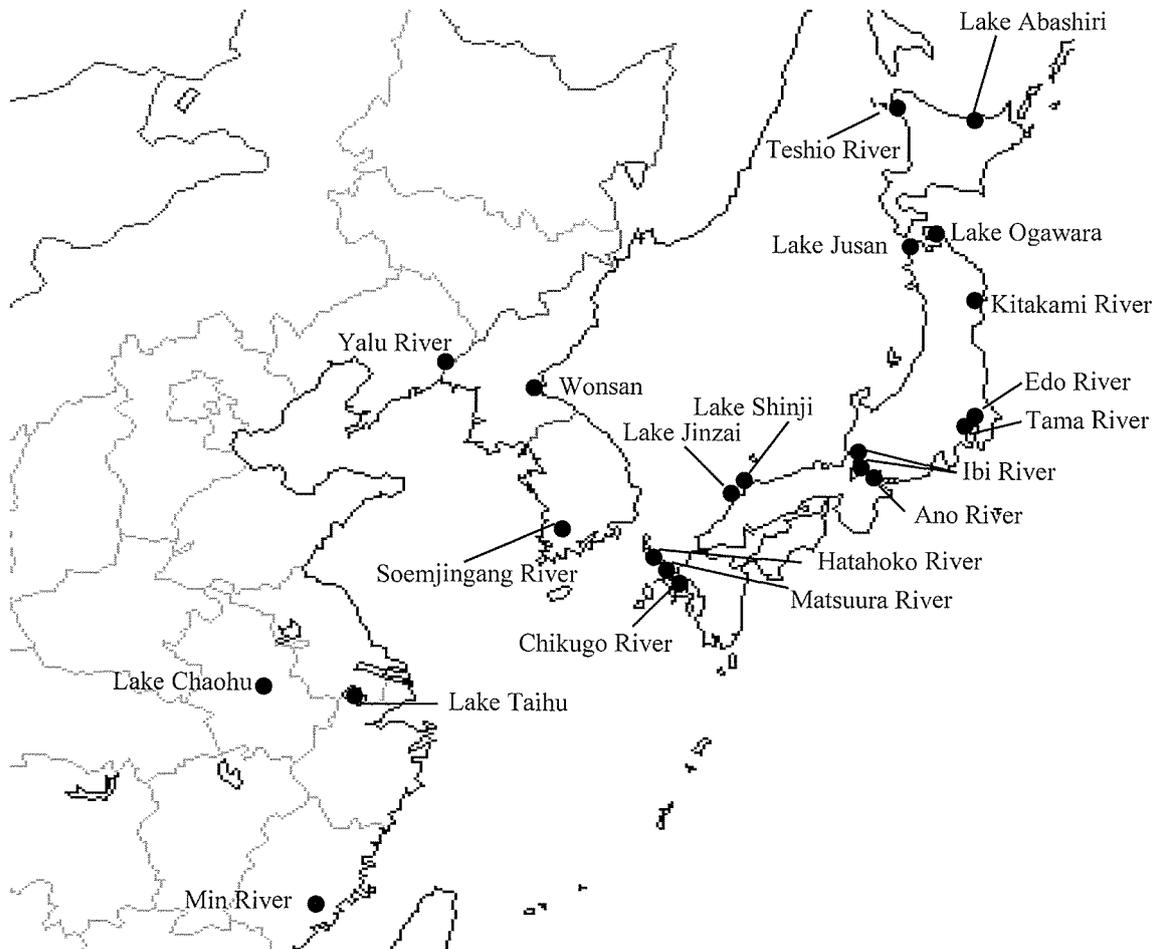


Fig. 1 Sampling sites of *Corbicula* species in Japan, Korea, and China.

Table 1 Locality of *Corbicula* clams collected and examined in the present study N represents the number of specimens analyzed

Species	Locality (origin)	Date	N	
<i>Corbicula japonica</i>	Hokkaido, Japan	Teshio River	2003.5	4
		Lake Abashiri	2003.5	5
	Aomori, Japan	Lake Jusan	2002.4	8
		Lake Ogawara	2002.4	50
	Miyagi, Japan	Kitakami River	2004.6	10
	Chiba, Japan	Edo River	2004.6	20
	Kanagawa, Japan	Tama River	2003.6	5
	Mie, Japan	Ano River	2004.6	9
	Aichi, Japan	Ibi River (Estuary)	2004.6	10
	Shimane, Japan	Lake Shinji	2002.6	45
	Shimane, Japan	Lake Jinzai	2002.6	20
	Fukuoka, Japan	Chikugo River	2003.5	5
	Saga, Japan	Matsuura River	2003.8	5
	<i>Corbicula leana</i>	Fukuoka (Iki Island), Japan	Hatahoko River	2005.1
<i>Corbicula fluminea</i>	Gifu, Japan	Ibi River	2005.6	10
<i>Corbicula japonica</i>	South Korea	Seomijingang River (imported)	2003.6	5
	North Korea	Wonsan (imported)	2003.12	13
	Liaoning Province, China	Yalu River	2002.7	1
<i>Corbicula largillierti</i>	Jiangsu Province, China	Lake Taihu (imported)	2004.1	20
	Anhui Province, China	Lake Chaohu (imported)	2004.1	5
<i>Corbicula</i> sp.	Fujian Province, China	Min River (imported)	2004.1	20
	North Korea	Wonsan (imported)	2003.12	5
	Liaoning Province, China	Yalu River	2002.7	9

モ網で採取された個体を用いた。マシジミ *C. leana* は福岡県壱岐島幡鉾川、台湾シジミ *C. fluminea* は愛知県揖斐川にて採集した。中国遼寧省鴨緑江 (Yalu River) 産シジミは現地で潜水により採集した。鴨緑江標本は不明種 (*C. sp.*) として扱った。漁業者の間で「バチシジミ」と呼ばれている中国江蘇省太湖 (Lake Taihu), 中国安徽省巢湖 (Lake Chaohu) から輸入された *C. largillierti* を材料とした。韓国蟾津江 (Soemjingang River), 北朝鮮元山 (Wonsan) という産地表示のあった輸入標本の一部の個体を貝殻外観からヤマトシジミとして扱い、それ以外は不明種 *C. sp.* として扱った。中国福建省閩 (ミン) 江 (Min River) という表示のある輸入標本は不明種 *C. sp.* として扱った。これらの輸入標本は青森県小川原湖漁協の協力により県内の問屋を通じて入手した。

生殖巣観察 雌雄異体か雌雄同体かを確認するために軟体部を10%ホルマリンで固定し、常法によりパラフィン切片を作成した。ヘマトキシリン・エオシン染色した後検鏡した。一部の成熟した標本については、生殖巣を切開して滲み出た配偶子をスライドガラスに塗抹し、雌雄同体か雌雄異体かを光学顕微鏡で確認した。

DNA 抽出 シジミ足筋肉を眼科用ハサミで切り出し、4M TNES - Urea 緩衝液に入れ、Proteinase K

(TaKaRa 社) を加えてタンパクを分解した。その後、フェノール・クロロホルム法により、DNA を抽出した。

PCR による DNA の増幅と精製 mtDNA の16S リボソーム RNA 領域 (以下 16S rDNA) を増幅するため、抽出した DNA 約 200 ng を鋳型として、ユニバーサルプライマー 16S rDNA-F (5'-CGCCTGTTTATCAAA-AACAT-3') と 16SrDNA-R (5'-CCCGGTCTGAACT-CAGATCACGT-3')¹⁴⁾ を使い、TaKaRa 製の PCR Thermal cycler Dice TP650 により PCR 増幅を行った。まず変性を 94°C で 2 分間行った。続いて 94°C 45 秒間、55°C 45 秒間、72°C 1 分 30 秒を 1 サイクルとし、35 回繰り返した。サイクル後の伸長は 72°C で 5 分間行った。DNA ポリメラーゼは TaKaRa EX Taq (RR001A) を用いた。PCR 増幅産物を 1% アガロースゲル中で 50 V, 30 分間電気泳動し、さらに QIAquickTM Gel Extraction Kit (Qiagen 社) を用いて PCR 産物を精製した。

塩基配列解析 DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences 社) を用いてシーケンス反応を行った。シーケンスプライマーは PCR に用いたものと同じ物を用い、シーケンス反応ならびに反応物の精製は添付のプロトコールに従った。塩基配列の解読は ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied

Biosystems社)で行い, アライメントをDNASIS(日立ソフトウェア)で行った。決定した塩基配列をもとにソフトウェアTCS2.1¹⁵⁾によりハプロタイプネットワークを作成した。

結 果

生殖巣の観察 日本産タイワンシジミとマシジミはすべて雌雄同体であった。それ以外の日本産ヤマトシジミ, 韓国産ヤマトシジミ, 中国産シジミのすべてが雌雄異体であった。

日本産ヤマトシジミ, マシジミ, タイワンシジミのハプロタイプ PCR増幅した16S rDNA領域の部分配列(450塩基)のうち5'端の配列はプライマー領域と判断されたので削除し, 残りの437塩基を解析に用いた。その結果, ヤマトシジミにおいては15のハプロタイプ(J1-J15)が確認された(Table 2)。またハプロタイプの出現頻度をTable 3に示した。J1は北海道, 青森県の標本(67個体中66個体)において最も高い頻度で出現した。天塩川4個体, 小川原湖50個体, 十三湖産8個体において, 全個体ともJ1であった。網走湖では5個体中4個体がJ1で, 1個体がJ2であった。

一方, 宮城県北上川以南のヤマトシジミではJ3が最も高い頻度で出現し, 129個体中116個体がJ3であった。北上川では10個体中9個体がJ3であり, 1個体はJ14であった。江戸川では20個体中19個体がJ3で, 1個体はJ14であった。多摩川10個体, 揖斐川5個体すべてJ3であった。安濃川では9個体中7個体がJ3で, J14, J15が1個体ずつ出現した。宍道湖では45個体分析して6つのハプロタイプが出現し, 39個体がJ3で, J4-J9は各1個体ずつ出現した。神西湖では20個体中16個体がJ3で, J10-J13が1個体ずつ出現した。筑後川, 松浦川標本とも分析した10個体すべてJ3であった。

宍岐幡鉾川産マシジミは分析した8個体ともすべて単一のハプロタイプ(CL)であった。揖斐川産タイワンシジミは10個体すべて単一のハプロタイプ(CF)であった。

外国産シジミのハプロタイプ 中国太湖産, 巢湖産*C. largillierti*においては, 日本産マシジミと同じハプロタイプ(CL)を持つ個体が多く, 太湖産20個体中17個体がCLであり, F1-F3が1個体ずつ出現した。巢湖産は5個体中4個体がCLで, 1個体はF1であった。福建省閩江産不明種*C. sp*では, 20個体中18個体がF3であり, F4, F5は1個体ずつ出現した。北朝鮮元山産の不明種*C. sp*において, F9が3個体, CL, CFは1個体ずつ出現した。鴨緑江不明種10個体において, F6が4個体, F9が3個体, F7, F8, F10が1個体ずつ出現した。北朝鮮元山産ヤマトシジミ13個体中9個体

において見られたハプロタイプF15の配列は江戸川, 北上川, 安濃川で少数出現したJ14と同じであった。F11-F14は1個体ずつ出現した。韓国蟾津江ヤマトシジミでは5個体ともF16であった。

ハプロタイプネットワーク Fig. 2に16S rDNA(437bp)の塩基配列から作成したハプロタイプネットワークを示した。また各ハプロタイプ間の塩基置換率をTable 4に示した。本研究で分析したシジミのハプロタイプはヤマトシジミクレードと淡水産シジミクレードの大きく2つにわかれた。ヤマトシジミクレードは1種のみで構成され, 日本産ヤマトシジミ(J1-J15), 北朝鮮元山産(F10-F15, J14), 韓国蟾津江産(F16)ヤマトシジミで出現したハプロタイプが含まれた。

各ハプロタイプ間の塩基置換率をTable 3に示した。日本産ヤマトシジミにおいて最も塩基置換率の大きかったのはJ2とJ6, J7間の0.92%であった。中国, 韓国産ヤマトシジミの中で最も塩基置換率が大きかったのは元山産F11と韓国蟾津江産F16間の1.14%であった。日本産ヤマトシジミと中国, 韓国産ヤマトシジミとの遺伝的な差異はわずかで平均0.75%, 日本産J2, J6, J7と韓国蟾津江産F16との間の塩基置換率が最も大きく, 1.14%であった。北朝鮮元山産ヤマトシジミ13個体中9個体で見られたハプロタイプF15は日本産の北上川, 江戸川産と同じハプロタイプJ14であった。

淡水産シジミクレードには, 日本産雌雄同体種マシジミとタイワンシジミのハプロタイプCL, CFが含まれていた。また, 雌雄異体種である中国太湖, 巢湖産*C. largillierti*においても日本産マシジミのハプロタイプCLが頻度高く出現した。CL以外には, F1, F2, F3が含まれていた。CLとCF間の差は小さく, 塩基置換率は0.23%であった。これらのハプロタイプ以外に中国閩江(F4, F5), 鴨緑江(F6-F9), 北朝鮮元山産の雌雄異体不明種*C. sp*(CL, CF, F9)のハプロタイプが含まれていた。*C. largillierti*でCL以外に出現したF1, F3とCLの間の置換率はそれぞれ0.46, 0.23%であった。閩江産の雌雄異体不明種20個体のうち18個体は太湖産*C. largillierti*と同じF3であった。北朝鮮元山産雌雄異体不明種において, CL, CFとF9が出現した。鴨緑江不明種F6-F9とCL間の置換率は0.23-0.69%であった。淡水産シジミクレードの中で最も置換率が大きかったのは, 中国閩江産F4と鴨緑江産F7間の1.6%であった。

ヤマトシジミクレードと淡水産シジミクレードの遺伝的差異は大きく, 平均で5.98%で, 最も遺伝的に近かったF10とCL, F2間の塩基置換率は5.26%であった。両クレード間で塩基置換率が最も大きかったのは, J2, J6, J7とF4, F6間等における6.41%であった。また, 日本産ヤマトシジミで頻度が高かったJ1, J3と中

Table 3 Percentage substitution between 32 haplotypes of *Corbicula* clams from Japan, Korea and China

	Haplotypes of <i>C. japonica</i> in Japan															Haplotypes of <i>C. leana</i> and <i>C. fluminea</i> in Japan and <i>C. largillierti</i> and <i>C. japonica</i> in China and Korea																				
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	CL	CF	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F16				
J1																																				
J2	0.23																																			
J3	0.23	0.46																																		
J4	0.46	0.69	0.23																																	
J5	0.46	0.69	0.23	0.46																																
J6	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69																															
J7	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69	0.46																														
J8	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69																													
J9	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.23																												
J10	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46																											
J11	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46	0.46																										
J12	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46	0.46	0.46																									
J13	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46																								
J14	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46																							
J15	0.46	0.69	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46																						
CL	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18																					
CF	6.18	6.41	5.94	6.18	6.18	6.41	6.41	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	5.94	6.41	0.23																				
F1	6.18	6.41	5.94	6.18	6.18	6.41	6.41	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	5.94	6.41	0.46	0.69																			
F2	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.23	0.46	0.69																		
F3	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.23	0.46	0.23	0.46																	
F4	6.18	6.41	5.94	6.18	6.18	6.41	6.41	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	5.94	6.41	0.92	1.14	0.92	0.92	0.69																
F5	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.46	0.46	0.45	0.23	0.23	0.92															
F6	5.94	6.41	5.94	6.18	6.18	6.41	6.41	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	6.18	5.94	6.41	0.46	0.69	0.46	0.69	0.23	0.92	0.46														
F7	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.69	0.92	0.92	0.69	0.92	1.6	1.14	0.69													
F8	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.46	0.69	0.92	0.69	0.69	1.37	0.92	0.92	0.69												
F9	5.94	6.18	5.72	5.94	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.72	6.18	0.23	0.46	0.69	0.46	0.46	1.14	0.69	0.69	0.46	0.23												
F10	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69	0.92	0.92	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.23	0.69	5.26	5.49	5.49	5.26	5.26	5.49	5.26	5.26	5.26	5.49	5.26										
F11	0.23	0.46	0.46	0.69	0.69	0.92	0.92	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	6.18	5.94	5.94	5.94	5.72	5.49	0.92									
F12	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69	0.92	0.92	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.23	0.69	5.72	6.41	5.94	5.72	5.72	5.94	5.72	6.18	5.72	5.72	5.72	0.46	0.92								
F13	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69	0.92	0.92	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.23	0.69	5.26	5.49	5.49	5.26	5.03	5.72	5.26	5.49	5.72	5.26	5.26	0.46	0.92	0.46							
F14	0.69	0.92	0.46	0.69	0.69	0.92	0.92	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.23	0.69	5.72	6.18	5.94	5.26	5.72	6.18	5.72	5.94	5.72	5.26	5.72	0.46	0.92	0.46	0.46						
F16	0.92	1.14	0.69	0.92	0.92	1.14	1.14	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.46	0.92	5.94	6.18	6.41	5.94	5.94	6.18	5.94	6.18	6.18	5.94	5.94	0.69	1.14	0.69	0.69	0.23					

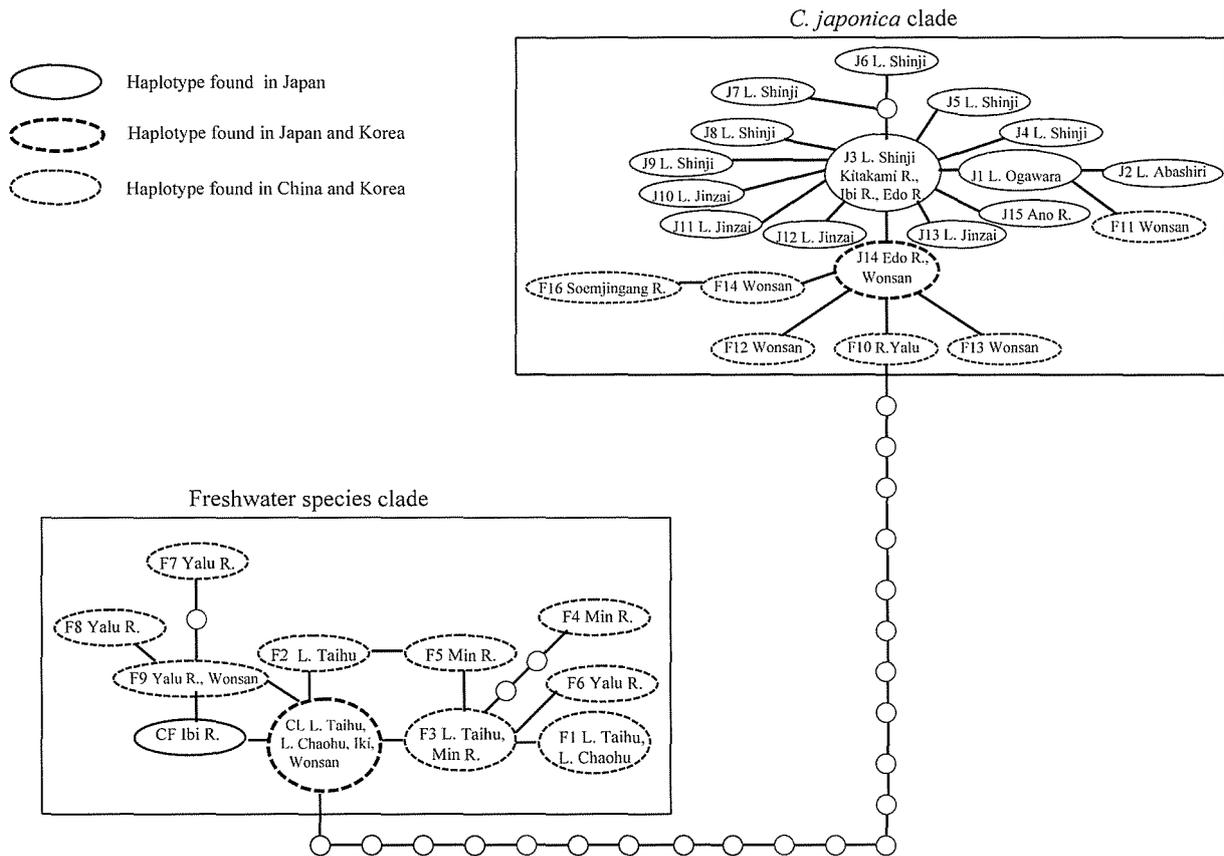


Fig. 2 Haplotype network of *Corbicula japonica*, *C. leana*, *C. fluminea* collected in Japan and imported *C. japonica*, *C. largillierti* and unidentified species (*C. sp.*) from China and Korea based on mtDNA 16S rDNA partial sequence.

国太湖，巢湖産 *C. largillierti* で頻度高く出現した CL 間の塩基置換率はそれぞれ 5.94%，5.72% であった。

種判別に有効な塩基置換 日本産ヤマトシジミ J1-J15 と淡水産シジミクレードの CL, CF, F1-F9 を比較すると、437 塩基のうち 20 か所以上で塩基が置換していた。これらのサイトにおいてヤマトシジミでは変異がほとんどみられなかった。

北海道，青森県の標本ではほとんどの個体が J1 であった。また，J2 は頻度が低く北海道，青森県の標本 67 個体中に 1 個体見いだされたのみであった。J1, J2 は北海道，青森県の標本においてのみ見られた。北上川以南で採集された標本では J3 が最も頻度が高かった。また，J4-J9 は宍道湖，J10-J13 は神西湖のみで出現したハプロタイプであった。

日本産ヤマトシジミの塩基配列を比較すると，北海道と青森標本のハプロタイプ J1-J2 では 39 番目の塩基が A であった。一方，北上川以南の標本のハプロタイプ J3-J15 ではすべての個体が G であった。

朝鮮半島産ヤマトシジミ (F10-F16) と日本産ヤマトシジミ (J1-J15) はハプロタイプネットワーク (Fig. 2) からも，塩基置換率 (Table 3) からも遺伝的に極めて

近縁である事が明らかになった。ただし，1-2 塩基の置換が認められ，北朝鮮元山産で出現したハプロタイプ J14 以外は日本産のハプロタイプとは配列が異なっていた。

考 察

シジミ類の系統類縁関係 本研究で分析したシジミはミトコンドリア解析の結果 2 つの大きなクレードにわかれた。汽水産で雌雄異体のヤマトシジミクレードと淡水産シジミクレードである。朝鮮半島の河口域に生息するシジミは，ヤマトシジミであるという見解が大山¹⁶⁾により示されている。ハプロタイプネットワークからも，朝鮮半島から中国鴨緑江にかけて河口域に分布する雌雄異体シジミはヤマトシジミとするのが妥当であろう。

一方，淡水産シジミクレードには複数の種が含まれていると考えられる。このクレードには雌雄同体で雌性発生種であるマシジミ *C. leana*，⁶⁾ タイワンシジミ *C. fluminea*⁸⁾ と雌雄異体種である太湖，巢湖産 *C. largillierti*，さらに鴨緑江，閩江産の雌雄異体不明種が含まれていた。最低でも 3 種が含まれていたことになる。また，宍岐幡鉾川産のマシジミ全個体 (8 個体) と中国

域では2%程度の塩基配列の差があることが報告されているので、¹²⁾判別はCO1あるいは16S rDNAにおいて可能であろう。長江以南の汽水種についても今後入手して解析を行う必要がある。

北海道と青森県産ヤマトシジミにおいて出現したハプロタイプはJ1とJ2のみであった。北上川以南の標本ではJ1とJ2は1個体も出現しなかった。北海道、青森県産の標本で販売されているシジミにおいて、J1とJ2以外のハプロタイプが検出された場合は、産地偽装の可能性が極めて大きいと判断できる。

一方、北上川以南のヤマトシジミにおいては129個体のうち116個体がJ3であった。その他のハプロタイプJ4-J15の出現頻度は低かった。従って産地偽装が疑われる標本については、主要なハプロタイプ出現頻度を国産の標本と比較すること、さらに国内ではみられないハプロタイプを検出する事によって、偽装を明らかにすることが可能であろう。

朝鮮半島産ヤマトシジミ(F11-F14, F16)の塩基配列には日本産ヤマトシジミとは1-2塩基の相違があり、多くの個体において判別は可能であった。しかし、北朝鮮元山産ヤマトシジミにおいて江戸川で出現したJ14と同じハプロタイプF15が13個体中9個体で見られた。J14は日本国内では3個体出現したのみであり、しかも宍道湖、小川原湖等のヤマトシジミの生産量の多い産地では出現していないため、産地偽装で問題になる可能性は低いと考えられる。

本研究の主な目的である輸入されたシジミと日本産ヤマトシジミの判別は16S rDNA領域解析によって可能であることが明らかになった。今後は検体数を増やし新たな産地の標本を加えることによって、産地判別の信頼性をさらに高める必要がある。

謝 辞

本研究は、青森県水産研究総合センター内水面研究所、青森県小川原湖漁業共同組合、茨城県内水面試験場、滋賀県水産試験場、島根県水産技術センター内水面浅海部の職員の皆さんの御協力を得て実施する事ができた。この場で深く感謝する。また、本研究の一部は小川

原湖漁業協同組合からの奨学寄付金によって行われた。濱田正隆組合長はじめ組合員各位に深く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 中村幹生. シジミ漁業の特性. 「日本のシジミ漁業」(中村幹生編) たちばな書房, 米子. 2000; 18-30.
- 2) Morton B. *Corbicula* in Asia—an updated synthesis. *Amer. Malacol. Bull.* 1986; Special Edition No. 2: 113-124.
- 3) 波部忠重. 「日本産軟体動物分類学 二枚貝綱/掘足綱」北隆館, 東京. 1977.
- 4) 宮崎一老. シジミの発生に就いて. 日水誌 5; 1936: 249-245.
- 5) 池末 弥, 山根伸一. マシジミの生態に関する研究-III. 日水誌 1977; 43: 1139-1146.
- 6) Komaru A, Kawagishi T, Konishi K. Cytological evidence of spontaneous androgenesis in the freshwater clam *Corbicula leana*. *Dev. Genes Evol.* 1998; 208: 46-50.
- 7) Okamoto A, Arimoto B. Chromosomes of *Corbicula japonica*, *C. sandai*, *C. leana* (Bivalvia: Corbiculidae) in Japan. *Venus* 1986; 45: 194-202.
- 8) 石橋 亮, 熊本敦子, 加藤 武, 根本隆夫, 古丸 明. 利根川河口域に分布するウスシジミ・タイワンシジミの減数分裂過程. 水産増殖 2006; 54: 125-134.
- 9) 劉 月英, 張 文珍, 王 躍先, 王 恩又. 「中国経済動物誌 淡水軟体動物」科学出版社, 北京. 1979.
- 10) Miller RC, McClure FA. The freshwater clam industry of the Pearl River. *Lignan Sci. J.* 1931; 10: 307-322.
- 11) Morton B. Some aspects of the population structure and sexual strategy of *Corbicula* cf. *fluminalis* (Bivalvia: Corbiculacea) from the Pearl River, People's Republic of China. *J. Moll. Stud.* 1982; 48: 1-23.
- 12) Park JK, Kim W. Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment. *Mol. Phyl. Evol.* 2003; 29: 529-539.
- 13) 古丸 明. ミトコンドリアDNAによるシジミの種判別. 「水産物の原料・産地判別」(福田裕, 渡部終五, 中村弘二編). 恒星社厚生閣, 東京. 2006; 78-86.
- 14) Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Pääbo S, Villablanca FX, Wilson AC. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1989; 86: 6196-6200.
- 15) Clement M, Posada D, Crandall KA. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 2000; 9: 1657-1659.
- 16) 大山 桂. 朝鮮産シジミに就て. *Venus* 1943; 12: 150-160.

日本水産学会誌掲載報文要旨

日本、韓国、中国産シジミ類の mtDNA16S rDNA 塩基配列分析による判別

古丸 明, 堀 寿子, 柳瀬泰宏, 尾之内健次,
加藤 武, 石橋 亮, 河村功一 (三重大院生資),
小林正裕 (水研七西海区水研), 西田 睦 (東大海洋研)
シジミ属 (*Corbicula*) の種判別を目的とし, 日本, 中国, 朝鮮半島産 4 種 (*C. japonica*, *C. fluminea*, *C. largillierti*, *C. leana*) と不明種 (*C. sp.*) mtDNA16S rDNA の配列 (437 bp) を比較した。ヤマトシジミ *C. japonica* と淡水産シジミ類間の塩基置換率は平均 5.98% (5.26–6.41%) で判別は容易であった。日本産と朝鮮半島産ヤマトシジミ間の置換率は低かった (0–1.14%) が, ハプロタイプ頻度の相違から産地判別は可能であった。
日水誌, 76(4), 621–629 (2010)

エチゼンクラゲ *Nemopilema nomurai* の硬さの部位別および時期別変化について

岩谷芳自, 家接直人, 前田英章 (福井水試),
井口直樹, 広瀬美由紀 (水研七日本水研),
松下吉樹 (長大水)
エチゼンクラゲ *Nemopilema nomurai* (以後, 大型クラゲと記す) の裁断駆除に必要な力を明らかにするために, 2007 年 11 月から翌年 1 月に福井県美浜町に入網した大型クラゲ計 40 個体を船の甲板に引き揚げ, 傘径および果実硬度計を用いて, 傘頂, 傘縁および傘頂と傘縁の中間 (以後, 傘中と記す) の硬さを測定した。傘径と硬さには相関がなく, 上傘および下傘の傘縁で差が認められなかった。時期にかかわらず傘中の硬さが, 他の部位より有意に低かった。また, 12 月以降の傘縁の硬さは, 約 50 N/cm² から約 80 N/cm² に有意に高くなるのが分かった。
日水誌, 76(4), 630–636 (2010)

アリザリン・コンプレクソンを用いたニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis* の耳石への多重標識装着条件と放流サイズの推定方法

藤原公一 (滋賀水試, 海洋大), 臼杵崇広 (滋賀水試),
根本守仁 (滋賀水試), 北田修一 (海洋大)
ニゴロブナの種苗放流技術開発に必要な耳石への ALC 標識を検討した。発眼期の卵とふ化 5 日目以降の魚に 4 日以上の間隔で標識すると, その回数に応じて明確に識別できる多重標識が付き, その組合せで多種類の標識が可能であった。5 重標識は放流魚の成長と生残に影響を与えなかった。放流時に最終標識し, 再捕魚のその標識サイズを測定すれば, 放流群毎の標準体長 SL mm と耳石長 OL mm の一次回帰式または $SL = 33.9 OL + 521 OL/D + 21.2/D - 2.69$ (D : 放流時の日齢) から, 精度良く放流時の体長が推定できた。
日水誌, 76(4), 637–645 (2010)

北海道標津町地域 HACCP の取組みによる地域経済への波及効果の評価

石井 馨 (水産庁防災漁村課),
横山 純 (北海道開発局函館開発建設部),
熊谷純郎 (北海道標津町),
古屋温美, 吉水 守 (北大院水)
本研究の目的は, 標津町の地域 HACCP による地域への経済波及効果を定量的に評価するものである。研究手法として, 関係者へのヒアリングによる地域 HACCP 導入の効果の把握, 定量的効果を把握する対象としては標津産サケの価格差, およびエコツーリズムの売上変化額の推定とし, 経済波及効果の算定と評価を行う。地域への HACCP 導入の経済波及効果 130 百万円, GDP 増加 55 百万円となったが, その増加率は, 標津産サケの価格差よりもエコツーリズム振興によるものが大きかった。
日水誌, 76(4), 646–651 (2010)

北海道千歳川に遡上するサクラマス産卵親魚の由来と移動様式

今井 智, 大本謙一, 高橋昌也, 宮本幸太,
小野郁夫, 大熊一正 (水研セさけますセ)
人工ふ化放流が実施されている北海道千歳川において産卵するサクラマス親魚の由来と移動様式を調査した。耳石温度標識および鱗切除標識の確認の結果, 上流部において自然産卵をおこなった親魚はすべて野生魚であった。一方, 捕獲施設において採捕された親魚は野生魚と放流魚の双方が確認された。潜水目視観察の結果, 野生魚は, 7 月から 8 月中旬に遡上限界であるダム直下の淵に集まり, 産卵期が近づくとダム下流域の産卵場へ移動するものと推定された。また, 産卵期は 10 月上旬から 11 月上旬にかけての期間であると推定された。
日水誌, 76(4), 652–657 (2010)

サイドスキャンソナーを用いた中層トロールのサンマに対する採集効率の推定

納谷美也子, 上野康弘 (水研セ東北水研),
毛利隆志 (函館市), 大島和浩 (水研セ遠洋水研),
渡部俊広, 藤田 薫 (水研セ水工研),
伊藤喜代志, 岩崎和治, 松尾康也
(環境シミュレーション研),
伊藤 寛, 清水勇一 (岩手水技セ)
サンマ資源量の推定精度の向上のためには, 調査漁具である中層トロールの採集効率の推定精度を高めることが重要である。2005 および 2006 年 10 月に岩手県沖のサンマ漁場において, サイドスキャンソナーを用いた音響調査と中層トロール網 (ニチモウ NST-99 型) による漁獲試験を同時に実施した。サイドスキャンソナーの画像解析から推定した単位面積当たりのサンマの分布尾数とトロール網による掃海面積当たりのサンマ採集尾数の比較結果から, 採集効率を 0.179 (現行は 0.144) と推