

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松倉啓一郎

南米原産の淡水性巻貝 *Pomacea* 属（リンゴ貝類、通称ジャンボタニシ）は 1980 年代に東アジア・東南アジア諸国の水田生態系に侵入し、イネの重要害虫ならびに侵略的外来種となった。従来、日本に分布する *Pomacea* 属はスクミリンゴガイ *P. canaliculata* 一種とされており、本種の国内での分布域はその耐寒性によって制約を受けていると推測されてきた。本研究は、外部形態による分類が著しく困難であるため、これまで十分に検討されてこなかった日本国内の *Pomacea* 属について新たな手法による分類を試みるとともに、その耐寒性について詳細な検討を加えたものであり、6 章から構成されている。

### 1) 国内に分布する *Pomacea* 属の再分類

近年、北・南米の *Pomacea* 属のミトコンドリア DNA (COI) 塩基配列情報が解析され、属内の系統関係が明らかにされた。この塩基配列情報を利用し、国内 10 県 18 ヶ所から採集した *Pomacea* 属の種の同定を試みた。その結果、採集した貝の大部分はスクミリンゴガイと同定されたが、静岡県、広島県、沖縄県石垣島、沖縄県西表島の 4 ヶ所には別種のラプラタリンゴガイ *P. insularum* が生息していることが明らかとなった。つづいて、これら 2 種を簡便に識別するため、種特異的なプライマーを用いたマルチプレックス PCR による同定法を開発したが、この方法の欠点についても議論した。

### 2) 遺伝的構成の地理的変異と種間交雑

核 DNA の rDNA18s~28s 領域の解析から得られた系統樹は概ね 3 つのクレードから形成されており、そのうちの 2 つのクレードではスクミリンゴガイとラプラタリンゴガイの両種由来のクローンが混在していたことから、両種間での遺伝的交流の存在が明らかとなった。スクミリンゴガイ由来の核 DNA のみを有する個体、両種由来の核 DNA を有する個体は広範囲に分布していたが、ラプラタリンゴガイ由来の核 DNA のみを有する個体は西表島でしか確認されず、核 DNA のタイプによって分布地域が異なっていた。

スクミリンゴガイとラプラタリンゴガイを室内で交配させると、交配の正逆に関係なく産卵が確認されたことから、両種は交雑可能であることが明らかとなった。

### 3) スクミリンゴガイとラプラタリンゴガイの生物学的差異

卵サイズはスクミリンゴガイよりもラプラタリンゴガイのほうが小さく、交雑個体の卵サイズは両種の間値となった。孵化直後の体サイズはスクミリンゴガイのほうが大きかったが、孵化後 2 ヶ月程度で両種間に違いはなくなった。低温順化処理をしたスクミ

リンゴガイと両種の交雑個体は0°Cに5日間晒されても多くの個体が生存できたが、ラプラタリンゴガイは同処理により全ての個体が死亡したことから、ラプラタリンゴガイは低温に対する適応能力が低いと考えられた。

#### 4) スクミリンゴガイの耐寒性に関する環境要因

スクミリンゴガイの幼貝を水中で飼育した場合、耐寒性は25°Cでは上昇しなかったが、低温順化处理により著しく上昇した。水中から取り出した個体は、25°Cでも耐寒性が上昇した。日長条件は耐寒性上昇に影響しなかった。一方、個体の耐寒性は、気温20°C以上の水中で飼育すると数日で消失したが、気温15°Cあるいは湿潤条件下では64日経過後も維持されていた。以上の結果から、スクミリンゴガイの耐寒性は気温や水条件により変動することが明らかとなった。

#### 5) スクミリンゴガイの耐寒性変動に伴う体内成分の変化

低温順化处理により幼貝の耐寒性を上昇させると、耐寒性上昇に伴いグリセロール、グルタミン、カルノシン濃度が増加し、グリコーゲン、水分含有率は減少した。また、脱順化处理(25°Cで水中で飼育)による耐寒性減少時には、グリセロール濃度が減少する傾向が見られた。これらの成分が耐寒性変動の生理メカニズムに関与している可能性がある。

#### 6) 低温に対する組織別の反応

スクミリンゴガイを-7.0°Cまで冷却すると約半数が凍結し、凍結した個体はすべて死亡したが、凍結しなかった個体の一部は生存していたことから、本種は非耐凍性であることが示された。しかし、過冷却点は低温順化处理によっても変化せず、また、耐寒性のある個体でも0°Cに10日以上晒すと死亡することから、本種の低温下での死亡要因は凍結ではなく、間接的冷温障害(Indirect chilling injury)であると考えられた。0°C下での組織別の障害を観察すると、死亡した個体は全て外套膜が損傷していた。低温順化处理により、腎臓後葉ではグルコース濃度が、消化腺ではグリセロール濃度がそれぞれ著しく増加した。これらの組織は消化や代謝に関わる組織であることから、スクミリンゴガイの耐寒性上昇時には、体内の代謝状態が変化していると考えられた。

以上、本研究は日本国内に2種の *Pomacea* 属が生息していることを初めて明らかとし、この2種には低温に対する適応能力に明確な差異があり、これが両種の国内分布に大きく影響していることを示したものであり、学術上、応用上価値が高い。よって、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。