

湧水棲貝形虫の多様性研究

Biodiversity of spring ostracoda

北海道大学理学院 宗像 みずほ (Munakata, Mizuho)

貝形虫（かいけいちゅう）ってどんな生き物？

まずは貝形虫（Ostracoda, 介形虫, カイミジンコとも呼ばれる）という耳馴染みのない生物について紹介させてほしい。貝形虫は体長数 mm, 多くは 1 mm 以下の小型水生甲殻類, つまりエビやカニの仲間の一群である。二枚貝のような殻を左右に持ち, それにエビのような（だが体節を欠いた）軟体部が覆われる体制を示す（図 1）。最も有名なのは生物発光が知られる, また, 東京湾のパーキングエリアの名前として知られるウミホタルであろう。ほとんどの種は自由に動き回りながら水中の有機物を食べて生きているが, 一部のグループでは寄生性の生活様式が知られている。また, 浮遊幼生期を欠き, つまり卵からかえったときから成体に似た形態をしており, 系統ごとに定まった回数の脱皮を行い成長していく。貝形虫は海から汽水, 淡水, さらに陸上の湿った落ち葉の隙間まで, 水があればどこでも見られるありふれた生物である。これまでに深海から田んぼのような一時水域, 高山の河川まであらゆる水環境から報告されている。しかし, その小ささ, 形態観察と文献調査の困難さから生物学の基礎となる分類学的研究, つまりどんな種がいるのかについての研究すらその途上にある。

エビ・カニの仲間と大きく括ったが, もう少し具体的には鰓尾類（ウオジラミの仲間）, 舌形類（シタムシの仲間）, ヒゲエビ類というやはり耳馴染みがないであろう生物と近縁とされ, 貧甲殻上綱（Oligostraca）というグループを形成する（Bernot et al. 2023）。サイズや外見の類似性からカイ「ミジンコ」と呼ばれるが, おなじみのミジンコ（鰓脚類）とは分類学上遠縁にあたる。また, 貝形虫のうち, 炭酸カルシウム含量が多い殻を持つ種は化石化しやすいという特徴があることから, 甲殻類の中でも最も化石記録が豊富なグループの一つであり, 最古の化石記録はなんと古生代オルドビス紀（約 5 億年前）にさかのぼる（Williams et al. 2008）。

一度貝形虫が見てみたい！という方には各水族館や博物館が実施している「ウミホタル観察会」への参加がおすすめである。青色の美しい生物発光が楽しめる。もしくは最寄りの田んぼで水底を金魚網でさらい, 集めた泥をルーペで覗いてみる。すると何やら丸い, または細長い, 表面に光沢のある殻を持った生物を多数観察できるだろう。これが貝形虫である。

淡水, 特に湧水に棲む貝形虫

私が専門にしているのは, 淡水に棲息する貝形虫である。これまでに 2,300 種ほどが世界から報告され, 日本国内からは約 120 種が知られている。淡水にはキブリス上科（Cypridoidea）, シセレ上科（Cytheroidea）, ムカシカイミジンコ上科（Darwinuloidea）, Terrestrialcytheroidea の 4 上科に含まれる種が棲息している。それぞれの起源は海域にあり, 独立に淡水環境に適応したと考えられているが, 詳しい年代や適応機構などは未だ研究途上にある。淡水棲貝形虫は, オスとメスが交配し子孫を残す有性生殖かメスのみで子孫を残す単為生殖により増える。興味深いことに, 地域集団（あるいは系統）によって生殖様式が異なる, つまり有性生殖と単為生殖のどちらも知られる地理的単為生殖種も存在する。有性生殖から単為生殖が生じた仕組みについてはほとんどわかっていないが, *Cardinium* と呼ばれる共生細菌の作用であるというのが現在主流の仮説である（Schön et al. 2019）。また, 淡水棲貝形虫では, 複数の生物地理区に跨るような汎世界的な分布を持つ種が知られている。これらは乾燥耐性の高い卵を持ち, 卵が風で飛ばされたり, 水鳥にくっついたりして運ばれることで, 広い分布を達成しているのではないかとされている（Martens et al. 2008）。

湧水は田畑を潤し, 飲料水の源となることで我々の生活を支えている。この湧水の恩恵を受けているのはヒトだけではない。数多くの生物も安定した水温・流量によって特徴づけられる湧き出し口やその下流を棲息地として利用している。貝形虫が湧

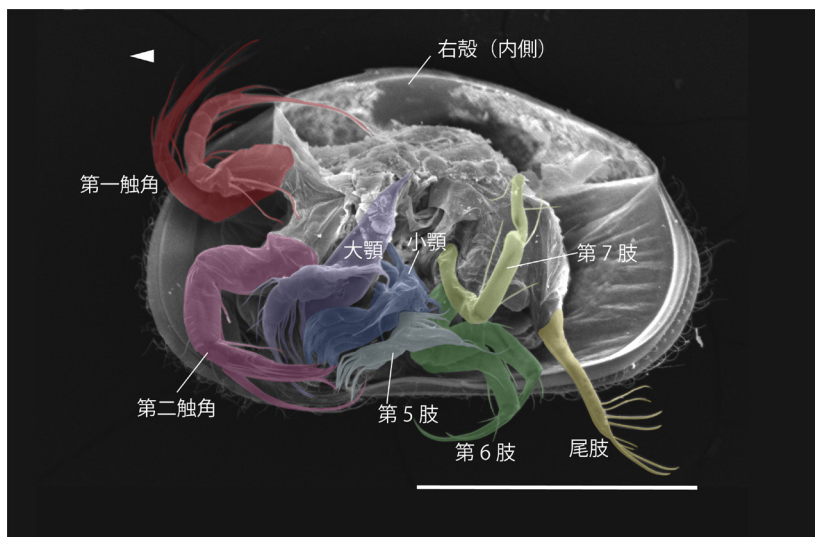


図1 左側から撮影した左殻を取除いた *Heterocypris spadix* (メス) の SEM 画像, キブリス上科貝形虫の一般的な体制を示している。矢頭は前方を示す。スケールは 0.5 mm。

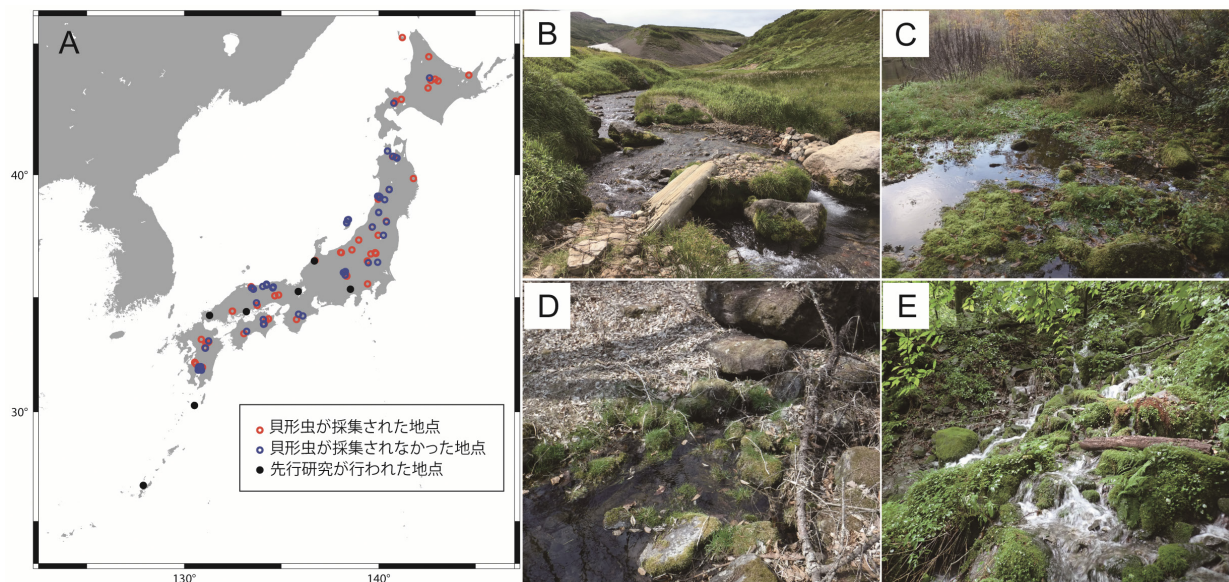


図2 採集地点と調査を行った湧水の一部。A, 採集地点；B, 北海沢（北海道）；C, グダリ沼（青森県）；D, 女取湧水（山梨県）；E, 御前岳湧水（大分県）。

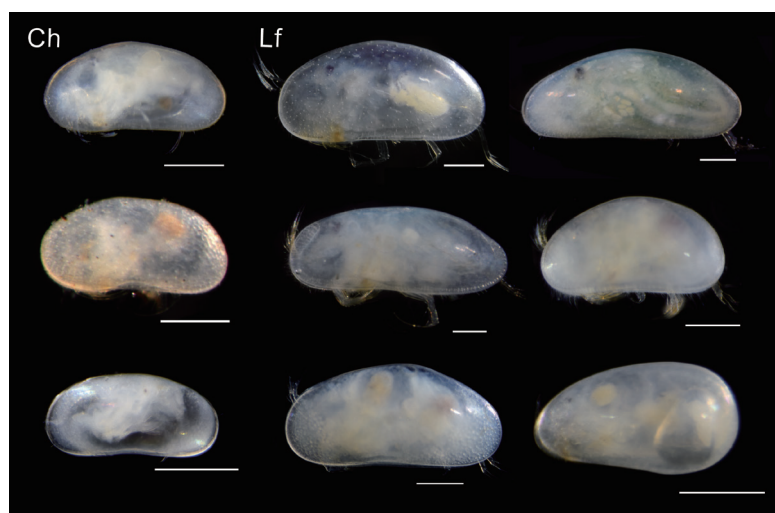


図3 湧水から得られた貝形虫の種多様性（一部抜粋）。エタノール固定後左側から撮影。Ch, シバレドウクツカイミジンコ (*Cavernocypris hokkaiensis*)；Lf, シミズヒラマルワカイミジンコ (*Lissostrandesia fonticola*)。スケールは0.2 mm。

水に産するらしい、と聞いたのは学部4年生の研究室配属直後、貝形虫研究が盛んである静岡大学に伺った帰りの車内だったと記憶している。のちの文献調査で明らかになったことだが、この「らしい」というのはその言葉通りだった。つまり、それまでの日本国内での淡水棲貝形虫研究は田やため池に産する種を扱ったものが主であり、湧水環境での調査は非常に限られていた。誰も知らない湧水の貝形虫か、面白そう。ここから私の湧水に棲む貝形虫の多様性研究が始まった。

驚くべき種多様性

学部4年生から博士3年までの6年間、コロナ禍による予期せぬ中断・延期もはさみつつ、日本国内約130か所の湧水の湧き出し口やその下流、湧水が溜まった池において採集調査を行った（図2）。そのうち約半数にあたる67か所から3科11属29種もの多様な貝形虫を採集することが出来た（図3）。

湧水から小さな貝形虫をどうやって採るのか。その流れは次のとおりである。（1）水底の砂をバケツに集める、（2）水を注ぎ混ぜる、（3）上澄みを目の細かい網で漉しとる。（1）～（3）を何度も繰り返す（洗い出し法）。まるで古の砂金採りである。これを研究室に持ち帰り、顕微鏡下で残渣の中から貝形

虫をピペットで拾い出し、エタノール固定して標本とする。この標本を解剖して殻と軟体部の形態の観察をしたり、DNAを抽出したりする。解剖、というのは顕微鏡下で柄付き針を使って貝形虫の脚一本一本を外す、気が遠くなりそうな作業である。こんなことができるはずがないと研究開始当初は思っていたが、6年間の修練の結果、全く抵抗が無くなってしまった。その後は形態を近縁種と比較したり、DNAサンプルから特定の遺伝子の部分配列を決定したりして研究を進めていく。

今回は一連の湧水での調査で得られた多数の貝形虫のうち、私たちのグループが新種として記載報告した2種（シバレドウクツカイミジンコ *Cavernocypris hokkaiensis* Munakata et al., 2022；シミズヒラマルワカイミジンコ *Lissostrandesia fonticola* Munakata et al., 2024）について紹介しよう。

（1）シバレドウクツカイミジンコ（Munakata et al. 2022）

元々山歩きが好きである。貝形虫の多様性研究を始めてからは登山の際に山中の沢や水溜まりで採集を試みるようになっていた。その中で北海道大雪山系北海岳周辺の標高1,800 m付近を流れる、湧水と雪解け水に由来する沢で採集したのが本種である（図2 B, 3Ch）。

ドウツツカイミジンコ属 (*Cavernocypris*) は世界から8種が知られるグループで、いずれも洞窟や湧水環境などから報告されていた。本種は(1)殻が細長い、(2)殻表面が平滑、(3)第一触角が7節からなる、(4)第5肢の剛毛b, d、振動版を欠く、といった形態の特徴から他種と区別されたため、新種として報告した。本種は日本国内の高山帯から報告された初めての貝形虫である。また、水温2~4度と採集を行った沢の水があまりに冷たかったが故に、北海道弁で「痺れるほど冷たい」を意味する「しばれる」を和名に付けた。メスのみが採集されたこと、共生細菌 *Cardinium* に感染していたことから、本種は単為生殖種であると考えられる。

北海岳周辺にしか棲息しないかと思われた本種であったが、のちの調査によって北海道利尻島から本州中部まで広範囲に分布していることが明らかになった。採集されたのはいずれも低温の湧水で、水温が本種の分布を規定していると予想している。

(2) シミズヒラマルワカイミジンコ (Munakata et al. 2024)

私の故郷山梨は湧水が豊富だ。某飲料メーカーの「白州の天然水」の採水地にほど近い、「女取湧水」(山梨県北杜市)で本種は最初に採集された(図2D, 3Lf)。

マルワカイミジンコ亜科 (Cypricerinae) は尾肢骨末端に Triebel's loop と呼ばれる三角形の輪状の構造を持つことで特徴づけられる。本種は Triebel's loop の形状と殻内縁に溝や張り出しがないことから既存の種とは大きく形態が異なっていたため、新族・新属・新種として報告することとなった。本種の棲息はどうやら湧き出し口周辺に限定されていて、少し下流で採集を試みると全く採れなくなってしまう。湧水固有の種であろうと結論付け、「泉の住人」を意味する *fonticola* の種小名を付けた。本種もメスのみが採集されたこと、共生細菌 *Cardinium* の感染が確認されたことから、単為生殖種である可能性が高い。

また、調査を続けていくと山梨以北の複数の湧水(北海道利尻島、北海道本島、青森県)からも形態的に同種と判断される個体が採集された。「形態が同一だとしても、それぞれが孤立した環境である湧水ごとに遺伝的に分化しているのでは？」と疑問を持ったため、COI 遺伝子の部分配列に基づくハプロタイプネットワーク解析を行った。その結果、2つのメインハプロタイプを利尻島、北海道本島、青森県、山梨県の4つの集団に由来する個体が共有することが明らかになった(図4)。つまり、本種は遺伝的交流を保ったまま東日本一帯に分布している湧水固有種である可能性が高い、という予想外の結果が得られた。

そして研究はつづく

シミズヒラマルワカイミジンコの例を考えると、どのように遺伝的交流を保っているのか、具体的にはある湧水から隣の湧水へどのように移動しているのか(短距離の移動)、どうやって海を越えて移動しているのか(長距離の移動)、疑問は尽きない。最も検討すべき要素は本種の乾燥耐性卵の有無であろう。先述の通り、乾燥耐性卵を産する種であれば風や鳥の助けを借りた長距離の移動が容易に可能となる。今後、本種の飼育実験を通じて乾燥耐性卵の有無を明らかにしたいと考えている。また、短距離の移動に関しては地下水系を介した移動の可能性も考えられる。地下水の結びつきを観測し、さらにそこでの生物の移動を推定するのは非常に難しい。しかし、例えばある程度水の移動経路が明らかになっている洞窟で採集調査を行ったり、飼育環境下で成体がどの程度砂利を掘って移動可能か測定したりすることで少しずつ答えに近づけるだろう。

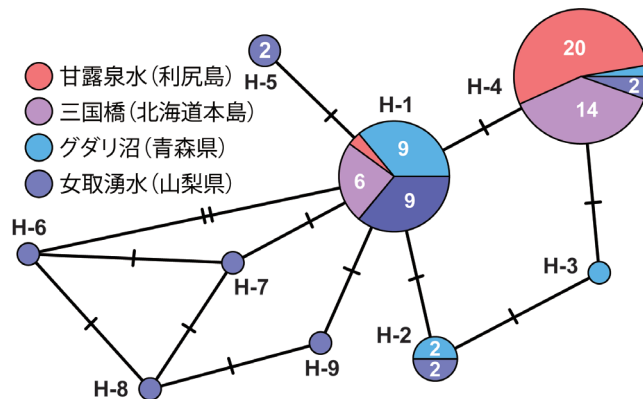


図4 COI 遺伝子の部分配列 (608 bp) に基づくシミズヒラマルワカイミジンコ (*Lissostrande fonticola*) のハプロタイプネットワーク図 (Munakata et al. 2022)。

詳細な形態観察の結果、一連の湧水調査で得られた貝形虫標本の中には、既存のいずれの種にも属さない未記載種がさらに複数含まれていることが判明した。残念ながら現時点では標本数が足りないケースが多いが、これらについても再度採集調査を行い、将来的には種名を確定させたいと考えている。日本国内の湧水だけでも貝形虫の真の多様性理解にはまだまだ時間がかかりそうだ。日々標本と、文献と、向き合いながら研究はつづいていく。

謝辞

本研究の一部は水産無脊椎動物研究所2020年度個別研究助成により実施されました。また、多くの方に野外調査にご同行いただいたり、標本を送っていただいたりしました。大雪山系での採集調査は申請(第1910241号、第2104201号)によって野生生物の採集許可を得て実施しました。このような執筆の機会を与えてくださった公益財団法人水産無脊椎動物研究所の片山英里氏に感謝いたします。本原稿は北海道大学角井敬知博士に目を通していただきました。最後にこれまでの研究にご助力いただいた皆様に、この場を借りて深く御礼申し上げます。

引用文献

- Bernot, J. P., Owen, C. L., Wolfe, J. M., Meland, K., Olesen, J., & Crandall, K. A. (2023). Major revisions in pancrustacean phylogeny and evidence of sensitivity to taxon sampling. *Molecular biology and evolution*, 40(8), msad175.B
- Martens, K., Schön, I., Meisch, C., & Horne, D. J. (2008). Global diversity of ostracods (Ostracoda, Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 185–193.
- Munakata, M., Tanaka, H., & Kakui, K. (2022). Taxonomy and natural history of *Cavernocypris hokkaiensis* sp. nov., the first ostracod reported from alpine streams in Japan. *Zoosystematics and Evolution*, 98(1), 117–127.
- Munakata, M., Tanaka, H., & Kakui, K. (2024) A new genus and species of the spring-endemic Ostracoda (Cypricerinae, Cyprididae) and its genetic population structure among rheocrenic springs in Japan. *Zoological Studies* 63, 51.
- Schön, I., Kamiya, T., Van den Berghe, T., Van den Broecke, L., & Martens, K. (2019). Novel *Cardinium* strains in non-marine ostracod (Crustacea) hosts from natural populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 130, 406–415.
- Williams, M., Siveter, D. J., Salas, M. J., Vannier, J., Popov, L. E., & Ghobadi Pour, M. (2008). The earliest ostracods: the geological evidence. *Senckenbergiana lethaea*, 88, 11–21.