

関東・北陸・中部地方に分布するオクガタギセル *Megalophaedusa dorcas* の COI 遺伝子からみた分子系統学的位置付け

Molecular phylogenetic relationships of *Megalophaedusa dorcas* individuals from Kanto, Hokuriku and Chubu regions

川瀬 基弘*・横山 悠理**・市原 俊***・西尾 和久****

横井 敦史*****・熊澤 慶伯**

* 愛知みずほ大学

** 名古屋市立大学大学院理学研究科生物多様性研究センター

*** 名古屋文理大学短期大学部

**** 動植物調査研究グループ I F F 東海

***** 名古屋市立大学大学院理学研究科

KAWASE Motohiro*, YOKOYAMA Yuri**, ICHIHARA Takashi***

NISHIO Kazuhisa****, YOKOI Atsushi***** and KUMAZAWA Yoshinori**

* Aichi Mizuho College

** Research Center for Biological Diversity, Graduate School of Science, Nagoya City University

*** College of Nagoya Bunri University

**** Flora and Fauna Research Group IFF Tokai

***** Graduate School of Science, Nagoya City University

要旨

愛知県、岐阜県、福井県、静岡県、東京都から得られたオクガタギセル *Megalophaedusa dorcas* のミトコンドリア DNA を解析し、種内の系統関係を推定した。愛知、岐阜、福井の個体と東京、静岡の個体の間には DNA 塩基配列に大きな差異がみられた。愛知と東京間では 34.2%、愛知と静岡間では 42.2% の差異が認められたため、これらが別種または別亜種である可能性が考慮され、分類学上の再検討が期待される。

Abstract

Mitochondrial DNA sequences of *Megalophaedusa dorcas* individuals collected from Aichi, Gifu, Fukui, Shizuoka, and Tokyo were analyzed to infer phylogenetic relationships among them. Major divergences were found between individuals from Aichi, Gifu and Fukui and those from Tokyo and Shizuoka. Large molecular divergences were seen between Aichi and Tokyo (34.2%) and between Aichi and Shizuoka (42.2%), as well. Thus, taxonomic reevaluations may be expected in future to examine the possibility that they represent distinct species or subspecies.

キーワード: オクガタギセル; オオギセル属; キセルガイ科; 伊佐布; ミトコンドリア COI 遺伝子

Key Word: *Megalophaedusa dorcasi*; *Megalophaedusa*; Clausiliidae; Isabu; mitochondrial COI gene

I. はじめに

オクガタギセル *Megalophaedusa dorcasi* (図 1~6) は、石川県以東、中部地方、関東地方(房総半島まで)の山地に棲息するオオギセル属のキセルガイ類である¹⁻³⁾。ドルカギセルとも呼ばれる⁴⁾。なお、黒住は、Abbott にオクガタギセルとして示された *Mundiphaedusa ducalis* forma *dorcasi* のホロタイプの写真が、別種のトノサマガセルの写真であることを指摘して、オクガタギセルを未記載種 *Mundiphaedusa* sp.として扱っている⁵⁻⁶⁾。当初はトノサマガセルの変種として記載された⁷⁾ことやオクガタギセルの殻形態が多様性に富むことから、タイプ標本が別種のトノサマガセルである可能性もあるが、本研究ではタイプ標本の実物を確認していないので、学名は従来どおりの *Megalophaedusa dorcasi* を用いた。

愛知県内のオクガタギセルの分布は国内分布の南限にあたり、主に奥三河地方に分布する⁸⁾。例えば、木村では、豊根村、設楽町鷹ノ巣山(段戸山)、鳳来町名号(現 新城市鳳来地区名号)⁹⁾、木村・中根では、稲武町面ノ木(現 豊田市稲武地区面ノ木)・押山・川手¹⁰⁾、中根・木村では、設楽町澄川・和市・裏谷に記録があり¹¹⁾、1990年代までは愛知県北東部の山地を中心に記録が散見される。ところが2000年代後半から2010年代にかけては、豊田市(旧稲武町を含む)、新城市(旧鳳来町を含む)、設楽町における筆者らの現地調査ではオクガタギセルを発見することができず、愛知県下での棲息地点数、棲息個体数ともに激減したと判断された¹²⁻¹⁴⁾。

その後も調査を継続した結果、2019年10月16日に豊田市稲武町井山(面ノ木峠)において、老成して殻皮が完全に脱落した殻の状態の悪い生貝を発見した。その翌年の2020年以降は、北設楽郡設楽町神田(仏坂峠付近)、豊田市牛地町駒山(小馬寺)、稲武町井山(面ノ木峠)など東三河の山間部においてオクガタギセル(生貝)の発見が相次いだ。中でも北設楽郡設楽町神田(仏坂峠付近)と稲武町井山(面ノ木峠)のガレ場では個体数が豊富であった。

オクガタギセルの殻は大形、細長い紡錘形で、殻長は成貝で27~35 mmとされるが²⁻³⁾、筆者らが静岡県静岡市清水区伊佐布で得た個体の大半は殻長が25 mm以下の矮小型であり、個体変異の大きい種あるいは別種の可能性があると判断した。

そこで、近年愛知県から得られたオクガタギセルに加えて、本種の分布域の代表的な地点から得られた標

本もあわせてミトコンドリア COI (ミトコンドリアチトクロム c オキシダーゼサブユニット I: mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I) 遺伝子分析を実施し、分子系統解析を行なった。¹⁵⁾

II. 材料および方法

愛知県、岐阜県、福井県、静岡県、東京都におけるオクガタギセルの各地でのサンプリングは、目視による個体採取を中心に行なった(表 1)。標本の採取許可が必要な場合は各自治体の許可を得て調査および採取を行なった。各地点最大で20個体程度の採取をし、このうち1~9個体の遺伝子分析を行なった。煮沸して殻部から取り出した軟体部の腹足の一部(数 mg)を切り取り、Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, PingTung) で全ゲノム DNA を抽出し、そこからポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により COI 遺伝子の一部(655bp)を増幅した。PCR には、LifeECO ver2.0 (Bioer Technology, Hangzhou) を用い、PCR 酵素には SpeedSTAR HS DNA Polymerase (タカラバイオ株式会社、滋賀)を使用した。遺伝子領域の増幅には、ユニバーサルプライマーである LCO1490 と HCO2198 を用いた¹⁶⁾。反応条件は、94℃ 1 分の加熱後、98℃ 5 秒/50℃ 15 秒/72℃ 10 秒を30 サイクル、72℃ 30 秒で行なった。PCR 産物を ExoSAP-IT (Affymetrix, CA) で処理した後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, MA) を用いて蛍光ラベルし、Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, MA) により塩基配列の解読を行なった。

証拠標本(エタノール漬けの軟体部と抽出 DNA)は、SDNCU (the Specimen Depository of the Graduate School of Science, Nagoya City University: 名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫)に収蔵されている。殻標本については、筆者の西尾と川瀬が所蔵している。

分子系統解析は、MEGA 11 (Tamura et al., 2021) を用いて、最尤法により行なった¹⁷⁾。本研究用にサンプリングした20個体のオクガタギセルおよび他の9種(ミカワギセル、ナミギセル、ヒクギセル、ウスベニギセル、シリオレギセル、ハウライジギセル、ツムガタギセル、ツムガタモドキギセル、ナミコギセル)を用いて COI 遺伝子データにより分子系統樹を作成した。また、距離モデルには Kimura 2-parameter model を使用し、各ノードにおける系統関係の信頼性

を評価するため、1,000回の試行によるブートストラップ確率を求めた。外群には愛知県豊田市稲武町井山川で採集したキセルガイモドキ *Mirus reinianus* (Kobelt, 1875)を使用した。

Ⅲ. 結果

本研究では、殻形態からオクガタギセルに同定できる20個体の標本について、COI遺伝子の塩基配列を解読した。これらの新規に取得した塩基配列を含めて分子系統解析を行った(図7)。愛知県、岐阜県、福井県、静岡県、東京都から得られたオクガタギセルは、大きくAとBの2つの系統(群)に分かれた。便宜的にA系統群をA1とA2に、B系統群をB1とB2に区分し、A1における愛知県と岐阜県の7個体については①～⑦の番号を付した。またA2の福井県の個体に⑧、⑨、B1の東京都の個体に⑩、⑪、B2の静岡県の個体に⑫～⑳の番号を付した。

A1系統群には、愛知県北設楽郡設楽町、愛知県豊田市稲武町、愛知県豊田市牛地町、岐阜県恵那市上矢作町の個体が含まれ、A2系統群には福井県大野市の個体が含まれた。⑤愛知県豊田市牛地町駒山(小馬寺)と⑥愛知県豊田市稲武町井山(面ノ木原生林)の塩基配列、⑧と⑨福井県大野市東市布の塩基配列はそれぞれ一致した。また、B1系統群には東京都西多摩郡奥多摩町の個体が含まれ、B2系統群には静岡県静岡市清水区の個体が含まれ、⑬⑭⑯および⑰⑱の塩基配列がそれぞれ一致した。A1系統群とA2系統群の間では、最も塩基配列に近い②愛知県北設楽郡設楽町神田と⑧福井県大野市東市布の個体間で13.0%の差異がみられた。これに対し、A1系統群とB1系統群の隔たりは大きく、最も塩基配列に近い②愛知県北設楽郡設楽町神田と⑩東京都西多摩郡奥多摩町日原の個体間で34.2%の差異がみられた。A1系統群とB2系統群に至ってはさらに大きな隔たりがあり、最も塩基配列に近い②愛知県北設楽郡設楽町神田と⑫静岡県静岡市清水区伊佐布の個体間でも42.2%の差異がみられた。また、B1系統群とB2系統群の間では、最も塩基配列に近い⑩東京都西多摩郡奥多摩町日原と⑫静岡県静岡市清水区伊佐布の個体間では23.0%の差異がみられた。

Ⅳ. 考察

今回分析した20個体のサンプルは、細長い紡錘形の輪郭、浅い縫合、殻表の様子、殻口の形状などから、殻の大小に多少の変異はあるものの、形態的に全てオクガタギセルに同定できた。しかし、分子系統樹(図7)の塩基配列の多様性は大きく、特にA1系統群に対するB1系統群とB2系統群の隔たりは大きく、オクガタギセルの亜種やオクガタギセルとは異なる別種の

可能性が示唆された。

このことは比較として系統樹に示したミカワギセル(愛知県豊田市大見町)とナミギセル(愛知県名古屋市中区矢田町寺畑)の塩基配列の差異21.4%やナミギセル(愛知県名古屋市中区矢田町寺畑)とヒクギセル(愛知県名古屋市中区旗屋)の塩基配列の差異35.5%と比較すれば妥当な推論である。

一方、A1系統群とA2系統群が別種に相当するかどうかは明確な判断が難しいが、同種内の2系統である可能性も残る。A1系統群とA2系統群の間で、最も塩基配列の相違度が低いのは②愛知県北設楽郡設楽町神田と⑧福井県大野市東市布の個体間の13.0%の差異であり、一方、最も相違度が高いのは⑦岐阜県恵那市上矢作町(福寿の清水)と⑧福井県大野市東市布の個体間の14.4%である。陸産貝類の種内多様性の高い事例については、ナミギセル *Stereophaedusa japonica* (Crosse, 1871)の約12%(川瀬ほかの分子系統樹から算出¹⁴⁾)やキセルガイモドキ *Mirus reinianus* (Kobelt, 1875)の約15%(川瀬ほかの分子系統樹から算出¹³⁾)が報告されている。A1系統群とA2系統群の間の13.0・14.4%の相違度は、ほぼこれらの先行事例の相違度に匹敵する。

B1系統群とB2系統群は、未記載種である可能性が大きい。今回の分析サンプルは形態分類による従来のオクガタギセルの分布域に対して、サンプルの採集地に偏りがあり、空白域が多い。そのため、これらの空白域に分布するオクガタギセルのCOI遺伝子分析、さらには核遺伝子の分析や軟体部の解剖学的な検討をすることが今後の課題である。

Ⅴ. 謝辞

本研究は、名古屋市立大学の共用機器である3500 Genetic Analyzer(理学研究科設置)を用いて行われた。本研究をまとめるにあたり、元千葉県立中央博物館学芸員の黒住耐二博士には、オクガタギセルの学名について御教示いただいた。豊田市と岐阜県での標本採取は、新修豊田市史編さん事業および岐阜県レッドデータブック改訂事業として野外調査を実施し、それぞれ豊田市役所教育委員会教育行政部文化財課市史編さん室と岐阜県環境生活部環境生活政策課生物多様性係には調査許可等でお世話になった。ここに記して御礼申し上げる。

引用文献

- 1) 肥後俊一、後藤芳央. 日本及び周辺地域産軟体動物総目録. エル貝類出版局, 八尾(1993).
- 2) 湊 宏. 日本産キセルガイ科貝類の分類と分布に関する研究. Venus (Supplement 2), 1-212, 6 tabs., 74

- pls.(1994).
- 3) 東 正雄.原色日本陸産貝類図鑑 増補改訂版.保育社, 大阪(1995).
 - 4) 野々部良一,高桑 弘,原田一夫.陸産貝類. 愛知の動物.佐藤正孝,安藤 尚(編).23-40.愛知県郷土資料刊行会,名古屋(1984).
 - 5) 黒住耐二.5 丹沢山地の陸産貝類. 丹沢大山自然環境総合調査報告書 丹沢山地動植物目録.神奈川県公園協会丹沢大山自然環境総合調査団企画委員会(編).326-328.神奈川県環境部,横浜市(1997).
 - 6) Abbott, R. T. Compendium of Landshells. American malacologists, Inc, Melbourne, Florida(1989).
 - 7) Pilsbry, H. A. New land mollusca of the Japanese Empire. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 53, 614-616.(1902).
 - 8) 愛知県環境調査センター.愛知県の絶滅のおそれのある野生生物 レッドデータブックあいち 2020—動物編—.愛知県環境局環境政策部自然環境課,名古屋(2020).
 - 9) 木村昭一.鳳来町のオクガタギセルガイ.三河の野生生物(2),28-29(1993).
 - 10) 木村昭一,中根吉夫:第 5 章 軟体動物. 稲武町史—自然—資料編.稲武町教育委員会(編).119-126.稲武町, 北設楽(1996).
 - 11) 中根吉夫,木村昭一:第 2 節 軟体動物. 設楽町誌 自然編 資料編. 設楽自然調査会(編).225-234.北設楽郡設楽町,北設楽郡(1996).
 - 12) 川瀬基弘:新城市の軟体動物.新城市の自然誌・昆虫・動物編-.加藤貞亨,大平仁夫,水谷英夫他(編).1-24.新城市立鳳来寺山自然科学博物館,新城(2014).
 - 13) 川瀬基弘:VII 軟体動物. 豊田市生物調査報告書〈分冊その 1〉.豊田市生物調査報告書作成委員会(著).309-341, 口絵 13-15.豊田市(2016).
 - 14) 川瀬基弘:第 3 節 身近で不思議な貝類.新修豊田市史 23 別編自然.新修豊田市史編さん専門委員会(編).404-423.豊田市(2018).
 - 15) 熊澤慶伯,松原美恵子,横山悠理 他.名古屋市産淡水貝類の DNA バーコーディング.なごやの生物多様性,6,1-14(2019).
 - 16) Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5), 294-299(1994).
 - 17) Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA 11: Molecular evolutionary genetics analysis Version 11. Molecular biology and evolution, 38(7), 3022-3027(2021).



図 1. 愛知県北設楽郡設楽町神田（仏坂峠付近）のオクガタギセル 2020 年 5 月 27 日 撮影



図 2. 愛知県豊田市稲武町井山（面ノ木峠）のオクガタギセル 2020 年 9 月 22 日 撮影



図 3. 岐阜県恵那市上矢作町福寿の清水のオクガタギセル 2020 年 6 月 10 日 撮影



図 4. 静岡県静岡市清水区のオクガタギセル類 2019 年 11 月 13 日 撮影



図 5. 愛知県豊田市稲武町井山（面ノ木峠）のオクガタギセル 2020 年 5 月 27 日 撮影



図 6. 愛知県豊田市稲武町井山（面ノ木峠）のオクガタギセル 2020 年 5 月 27 日 撮影

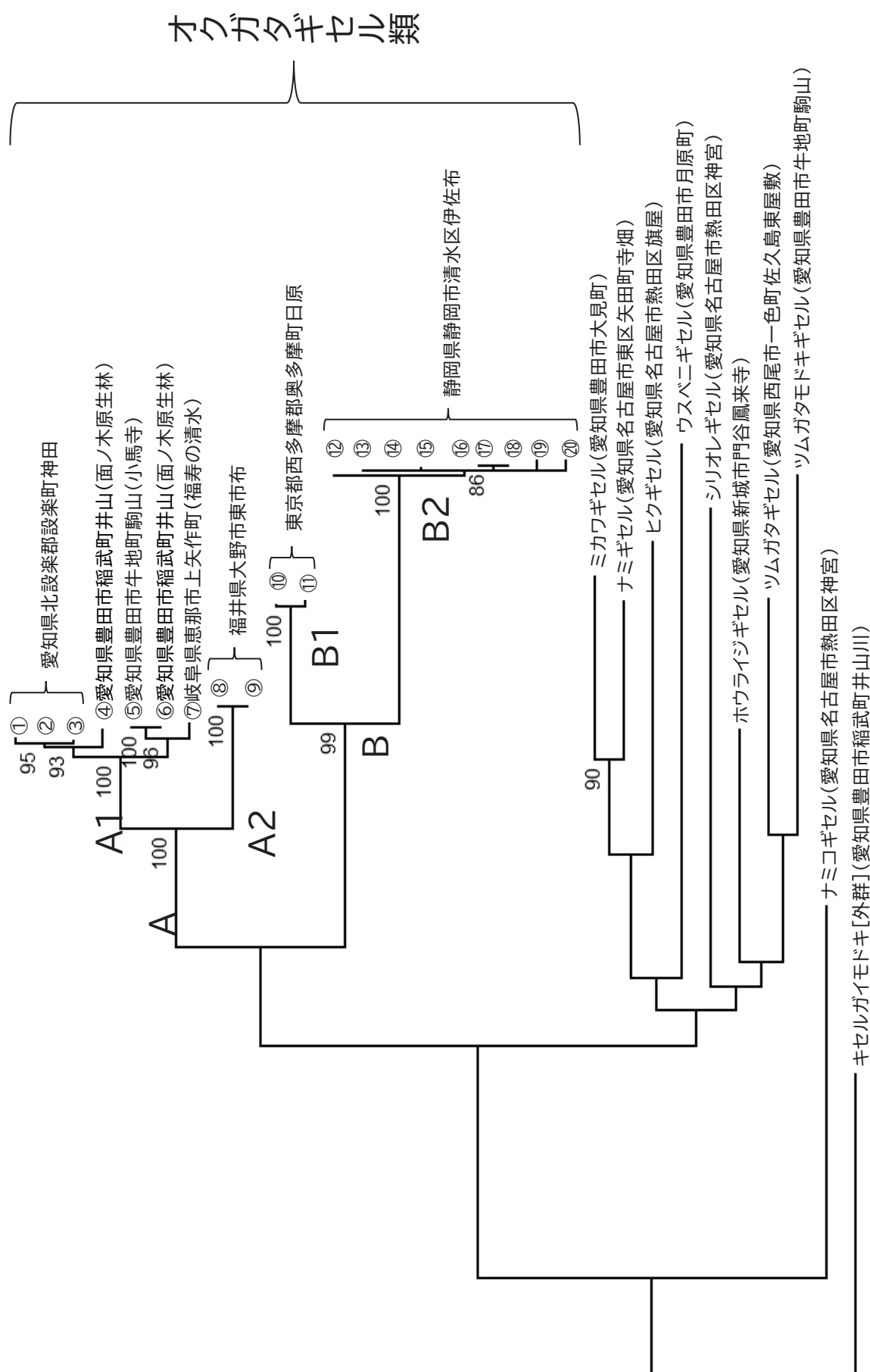


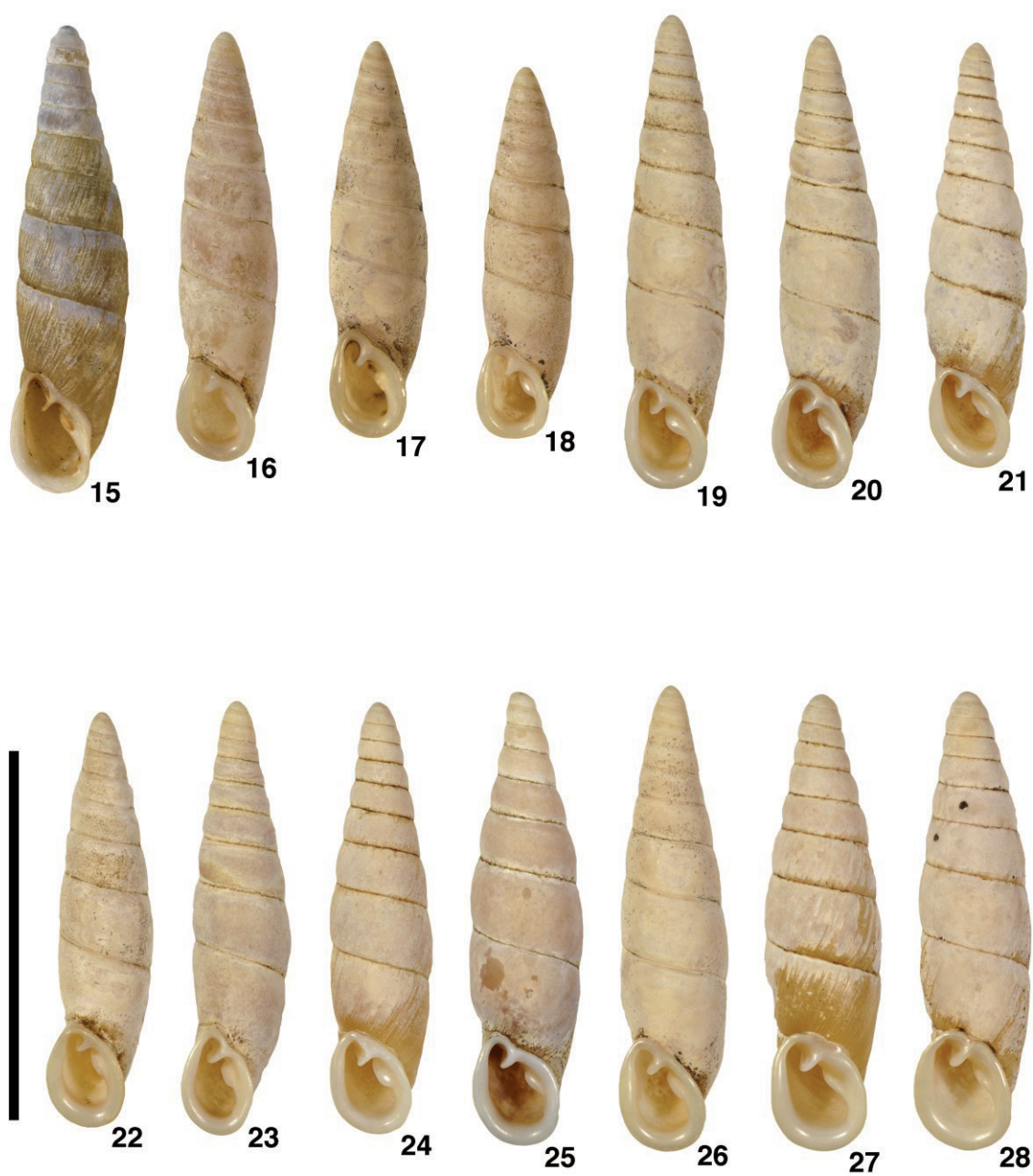
図7. COI 遺伝子塩基配列を用いて作成したオクガタギセル類の最尤系統樹

COI 遺伝子部分塩基配列を用いて作成した最尤系統樹。外群にはギセルガイモドキを使用し、各結節点にはブートストラップ確率を示した。



図版 A. 各地のオクガタギセル類標本

1-4. 愛知県北設楽郡設楽町神田のオクガタギセル. 5-7. 愛知県豊田市稲武町井山のオクガタギセル.
8. 岐阜県恵那市上矢作町のオクガタギセル. 9, 10. 岐阜県白山平瀬登山口のオクガタギセル. 11, 12.
福井県大野市東市布のオクガタギセル. 13. 石川県白山市のオクガタギセル. 14. 山梨県身延山のオク
ガタギセル類.



図版 B. 各地のオクガタギセル類標本（続き）

15-26. 静岡県静岡市清水区伊佐布のオクガタギセル類. 27, 28. 東京都西多摩郡奥多摩町日原のオクガタギセル類.

表 1. 分析標本の採集地と登録番号

No.	INSD	SDNCU	採集地	図版
1	MW259998	5113	愛知県北設楽郡設楽町神田	A-2
2	OP028839	5114	愛知県北設楽郡設楽町神田	A-3
3	OP028849	5115	愛知県北設楽郡設楽町神田	A-4
4	OP028852	5502	愛知県豊田市稲武町井山	—
5	OP028843	5094	愛知県豊田市牛地町駒山	—
6	MW259999	—	愛知県豊田市稲武町井山	—
7	OP028841	5140	岐阜県恵那市上矢作町	A-8
8	OP028848	2460	福井県大野市東市布	A-11
9	OP028840	2478	福井県大野市東市布	A-12
10	OP028836	2487	東京都西多摩郡奥多摩町日原	B-27
11	OP028846	2488	東京都西多摩郡奥多摩町日原	B-28
12	OP028838	2447	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-15
13	OP028847	2448	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-20
14	OP028851	2449	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-21
15	OP028845	2450	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-22
16	OP028835	2486	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-23
17	OP028844	2485	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-24
18	OP028837	2502	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-25
19	OP028842	2503	静岡県静岡市清水区伊佐布	B-26
20	OP028850	5488	静岡県静岡市清水区伊佐布	—
—	MW260006	2849	外群・キセルガイモドキ	—

塩基配列の登録番号は、International Nucleotide Sequence Databases (INSD) のアクセッション番号を示す。軟体部と DNA サンプルの証拠標本は、名古屋市立大学大学院理学研究科標本庫 (SDNCU) の登録番号を示す。