

# キセルガイモドキ属の特徴と CO I 遺伝子からみた 分子系統関係

川瀬基弘\*・西尾和久\*\*・松原美恵子<sup>+</sup>・森山昭彦<sup>+</sup>・市原 俊<sup>++</sup>

## Morphological variation and molecular phylogeny of genus *Mirus*

Motohiro Kawase\*・Kazuhisa Nishio\*\*・Mieko Suzuki-Matsubara<sup>+</sup>・

Akihiko Moriyama<sup>+</sup>・Takashi Ichihara<sup>++</sup>

\* 愛知みずほ大学人間科学部. Department of Human Science, Aichi Mizuho College.

\*\* I F F 東海. IFF Tokai.

<sup>+</sup> 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科生物多様性研究センター. Research Center for Biological Diversity,  
Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University.

<sup>++</sup> 名古屋文理大学短期大学部. College of Nagoya Bunri University.

キーワード：キセルガイモドキ属，キセルガイモドキ，ミトコンドリア COI 遺伝子，キセルガイモドキ科.

Key words : *Mirus*, *Mirus reinianus*, mitochondrial COI gene, Enidae.

### はじめに

キセルガイモドキ属 *Mirus* Albers, 1850 は、キセルガイモドキ科 Enidae に属する細長い蛹形右巻きの殻をもつ陸産貝類である（写真 1~6）。殻表は成長脈のみで平滑であり、殻内部に軸壁板や閉弁を持たないことから、種毎の殻の形態的特徴は乏しい。

現在、日本産のキセルガイモドキ属は 5 または 6 種に分類されているが、キセルガイモドキ属の種間の形態的差異が少ないこと、多くの種や亜種がつくられたこと、さらにこれらの一部は十分な根拠もなく亜種やシノニムにまとめられたこと、種間の中間的な形態を持つ個体が存在する（種間の形態的差異が不連続にならない）ことなどにより、従来の殻形態に基づく分類はやや混乱している。

そこで、本研究では、キセルガイモドキ属 6 種の標本を収集し、殻形態に加えてミトコンドリア COI 遺伝子の塩基配列の解析を行い、従来の分類の妥当性を検討した。

### 従来の分類

キセルガイモドキ属の従来の分類は次の通りである。東（1982）は本属を以下の 5 種にまとめている（先頭の番号は、東（1982）の番号をそのまま掲載）。

109-1. *Mirus andersonianus* (Moellendorff, 1885)

クリイロキセルガイモドキ

109-2. *Mirus andersonianus echigoensis*

(Pilsbry and Hirase, 1903)

エチゴキセルガイモドキ

110-1. *Mirus japonicus* (Moellendorff, 1885)

フトキセルガイモドキ

[Syn. *Buliminus exotorris ominesis* (Pilsbry, 1900)]

110-2. *Mirus japonicus ugoensis* (Pilsbry and Hirase, 1908)

ウゴキセルガイモドキ

110-3. *Mirus japonicus hokkaidonis* (Pilsbry, 1901)

エゾキセルガイモドキ

110-4. *Mirus japonicus daisianus* (Kuroda, 1945)

ダイシキセルガイモドキ



写真1. キセルガイモドキ  
愛知県豊田市



写真2. キセルガイモドキ  
愛知県新城市



写真3. クリイロキセルガイモドキ  
岩手県北上市和賀町 夏油温泉



写真4. フトキセルガイモドキ  
岐阜県大野町稲富 石山



写真5. ホソキセルガイモドキ  
高知県室戸市 室戸岬



写真6. キカイキセルガイモドキ  
沖縄県国頭村宜名真

110-5. *Mirus japonicus murotonis*  
(Kuroda and Habe, 1945)

ムロトキセルガイモドキ

\* *Mirus japonicus vastus*

(Pilsbry and Hirase, 1908)

オオキセルガイモドキ

111. *Mirus reinianus* (Kobelt, 1875)

キセルガイモドキ

112. *Mirus rugulosus* (Moellendorff, 1900)

ホソキセルガイモドキ

113. *Mirus gracilispira* Kajiyama and Habe, 1961

ヤセキセルガイモドキ

これに対し、湊 (1988) と肥後・後藤 (1993) は、東 (1982) がフトキセルガイモドキの亜種としたムロトキセルガイモドキを別種として、キセルガイモドキ属を 6 種に分類した。本研究は東 (1982) の見解に従い、和名・学名はこれに準拠した。

#### 分析方法

煮沸して肉抜きをした軟体部から腹足の一部 (数 mg) を切り取り、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden), または、Asahida et al. (1996) の方法で genomic DNA を抽出・精製し、PCR により COI 遺伝子 (658bp) を増幅した。PCR には、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (タカラバイオ株式会社, 滋賀) を用い、PCR 酵素には Speed STAR HS DNA Polymerase (タカラバイオ株式会社, 滋賀) を使用した。プライマーには、LCO1490 と HCO2198 (Folmer et al., 1994) を用いた。反応条件は、94°C 1 分の加熱後、98°C 5 秒/50°C 15 秒/72°C 10 秒を 30 サイクル、72°C 5 分、または、94°C 40 秒/46°C 40 秒/72°C 1 分を 5 サイクル、94°C 40 秒/51°C 40 秒/72°C 1 分を 35 サイクル、72°C 5 分で行った。PCR 産物は ExoSAP-IT (Affymetrix, CA) で精製した後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA) を用いて蛍光ラベルし、Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA) により塩基配列を決定した。

証拠標本は、SDNCU (the Specimen Depository of the Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University: 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科標本庫) に収蔵されている。塩基配列は、BOLD (Barcode of Life Data Systems) に登録した (表 1)。

分子系統樹は解析ソフト MEGA6 (Tamura et al., 2013) を用いて、近隣結合法 (Neighbor-Joining 法) により作成した。また、遺伝子距離の算出は Kimura

2-parameter 法で行い、各ノードにおける信頼性を評価するため 1,000 回のブートストラップ値を求めた。

#### 結果および考察

形態的に大きな差異のあるキカイキセルガイモドキ *Luchuena reticulate* (Reeve, 1849) [図版 1-1] をアウトグループとして、キセルガイモドキ属各種のミトコンドリア COI 遺伝子における分子系統樹を作成した (図 1)。

ブートストラップ確率が 70% に満たない分岐は信頼性が低いため、各種間の分岐位置と近縁関係を推定することは出来なかった。

種毎の殻形態に顕著な差異が見られるオオギセル属各種に比べて、キセルガイモドキ属各種は、殻表が成長脈のみで平滑であり、殻内部に軸壁板や閉弁を持たず、種毎の殻の形態的特徴は極めて乏しいことが知られている。しかし、COI 遺伝子の分子系統樹と比較すると、オオギセル属各種 (川瀬ほか, 2016) と同様に、属内あるいは種内の遺伝的多様性が高かった。

ヤセキセルガイモドキは、本属の中で極めて細型で矮小であることから殻形態だけで他の個体とは容易に識別が可能であり、岡山県高梁市成羽町羽山の個体 [図版 2-50, 51] は、東 (1982) の図示した標本と極めて類似していた。しかし、COI 遺伝子の結果は岡山県真庭市神庭 (神庭の滝) [図版 1-8] および岡山県高梁市成羽町羽山 [図版 1-9] で得られたキセルガイモドキと大きな違いは見られなかった。ヤセキセルガイモドキの分布特異性 (岡山県) を考えると、本種は、キセルガイモドキ属のこの地方での地域個体群から種分化してきた可能性が考えられる。なお、東 (1982) は、模式産地の岡山県高梁市成羽町以外にも、ヤセキセルガイモドキが新潟県糸魚川市の標高 400m 内外の石灰岩地帯 (明星山) に棲息することを記しているが、肥後・後藤 (1993) が本種の分布域は岡山県のみとしている点を考慮すると、新潟県のヤセキセルガイモドキについては遺伝子分析を含めた再検討が必要であろう。

エゾキセルガイモドキは、キセルガイモドキよりやや小型であることで区別される。岩手県宮古市崎鉾ヶ崎のエゾキセルガイモドキ? [図版 2-52, 53] も同様の殻形態を示したが、COI 遺伝子は、岡山県高梁市成羽町羽山のヤセキセルガイモドキ [図版 2-50, 51] に最も近い結果となった。このように、離れた地域間で類似した遺伝子塩基配列を持つ理由については、偶然の可能性も考えられるため、分析個体数を増やした再検討の必要性がある。

ホソキセルガイモドキは、細長い蛹形のキセルガ

表1. キセルガイモドキ属各種検討個体の情報

和名	採集地	採集年月日	標本番号	BOLD登録番号	SDNCU標本番号	
キカイキセルガイモドキ	沖縄県国頭郡国頭村宜名真(茅打パンタ園地)	2011/3/3	1	ADB9000	A2311	
	愛知県豊橋市石巻町南山(石巻山)	2003/7/3	2	ADB7900	A2259	
	滋賀県東近江市九居瀬町(永源寺ダム)	2003/8/31	3	ADB7899	A2260	
	岐阜県揖斐郡池田町片山	2004/5/31	4	ADB8208	A2262	
	徳島県那賀郡那賀町高野	2004/6/15	5	ADB9085	A2264	
	徳島県阿南市加茂町(太龍寺山)	2004/6/16	6	ADB9085	A2265	
	徳島県阿南市加茂町(太龍寺山)	2004/6/16	7	ADB9085	A2266	
	岡山県真庭市神庭(神庭の滝)	2004/10/4	8	ADB8207	A2267	
	岡山県高梁市成羽町羽山	2004/10/5	9	ADB8207	A2268	
	広島県神石郡神石高原町相渡(帝釈峡)	2004/10/6	10	ADB9089	A2269	
	高知県高知市春野町弘岡中(荒倉神社)	2004/11/8	11	ADB9084	A2270	
	高知県高知市春野町弘岡中(荒倉神社)	2004/11/8	12	ADB9084	A2271	
	高知県香南市野市町兎田	2004/11/8	13	ADB9086	A2272	
	高知県香美市土佐山田町逆川(龍河洞)	2004/11/10	14	ADB9086	A2273	
	高知県香美市土佐山田町逆川(龍河洞)	2004/11/10	15	ADB9086	A2274	
	徳島県阿南市加茂町(太龍寺山)	2004/11/11	16	ADB9085	A2275	
	徳島県阿南市加茂町(太龍寺山)	2004/11/11	17	ADB9085	A2276	
	キセルガイモドキ	静岡県浜松市北区引佐町栢窪	2005/3/15	18	ADB9088	A2278
		福井県大野市箱ヶ瀬(白馬洞)	2006/8/7	19	ADB7899	A2279
		愛知県豊橋市石巻町南山(石巻山)	2007/6/8	20	ADB7900	A2280
静岡県静岡市清水区伊佐布(伊佐布北滝)		2007/10/17	21	ADB7989	A2281	
静岡県賀茂郡河津町梨本(河津七滝)		2007/10/18	22	ADB7990	A2282	
静岡県賀茂郡河津町梨本(河津七滝)		2007/10/18	23	ADB7990	A2283	
三重県いなべ市藤原町大貝戸(藤原岳)		2009/5/21	24	ADB7899	A2285	
三重県いなべ市藤原町大貝戸(藤原岳)		2009/7/16	25	ADB7899	A2287	
静岡県静岡市清水区伊佐布(伊佐布北滝)		2009/10/2	26	ADB7989	A2288	
福岡県北九州市小倉南区市丸(平尾台)		2010/6/29	27	ADB9087	A2289	
福岡県北九州市小倉南区市丸(平尾台)		2010/6/29	28	ADB9087	A2290	
大分県佐伯市本匠因尾(前高明神社)		2010/10/14	29	ADB7902	A2291	
クリイロキセルガイモドキ	静岡県賀茂郡河津町梨本(河津七滝)	2010/11/15	30	ADB7990	A2292	
	和歌山県東牟婁郡古座川町川口(明神社)	2011/2/7	31	ADB7901	A2293	
	和歌山県東牟婁郡古座川町川口(明神社)	2011/2/7	32	ADB7901	A2294	
	新潟県五泉市小山田(菅名岳)	2005/7/2	33	ADB7471	A2304	
	新潟県五泉市小山田(菅名岳)	2005/7/2	34	ADB7472	A2305	
	岩手県北上市和賀町岩崎新田(夏油温泉)	2008/9/8	35	ADB7470	A2306	
	岩手県北上市和賀町岩崎新田(夏油温泉)	2008/9/8	36	ADB7470	A2307	
	岩手県八幡平市松尾寄木(八幡平)	2008/9/11	37	ADB8858	A2308	
フトキセルガイモドキ	岐阜県揖斐郡池田町片山	2002/11/1	38	ADB7330	A2258	
	岐阜県揖斐郡池田町片山	2004/5/31	39	ADB7330	A2263	
	岐阜県揖斐郡池田町片山	2005/2/24	40	ADB7330	A2277	
	三重県いなべ市北勢町別名(藤原岳)	2009/5/20	41	ADB7331	A2284	
	三重県いなべ市北勢町別名(藤原岳)	2009/7/15	42	ADB7331	A2286	
	岐阜県揖斐郡大野町稲富(石山)	2011/11/9	43	ADB7332	A2295	
	岐阜県揖斐郡大野町稲富(石山)	2011/11/9	44	ADB7332	A2296	
	岐阜県揖斐郡揖斐川町谷汲長瀬(石山)	2011/11/10	45	ADB7332	A2297	
岐阜県揖斐郡揖斐川町谷汲長瀬(石山)	2011/11/10	46	ADB7332	A2298		
ホソキセルガイモドキ	高知県室戸市室戸岬町(室戸岬)	2004/11/10	47	ADB7679	A2301	
	高知県室戸市室戸岬町(室戸岬)	2004/11/10	48	ADB7679	A2302	
	高知県室戸市室戸岬町(室戸岬)	2004/11/10	49	ADB7679	A2303	
ヤセキセルガイモドキ	岡山県高梁市成羽町羽山	2004/10/5	50	ADB7101	A2299	
	岡山県高梁市成羽町羽山	2004/10/5	51	ADB7101	A2300	
エゾキセルガイモドキ?	岩手県宮古市崎鉾ヶ崎	2008/9/14	52	ADB8859	A2309	
	岩手県宮古市崎鉾ヶ崎	2008/9/14	53	ADB8859	A2310	

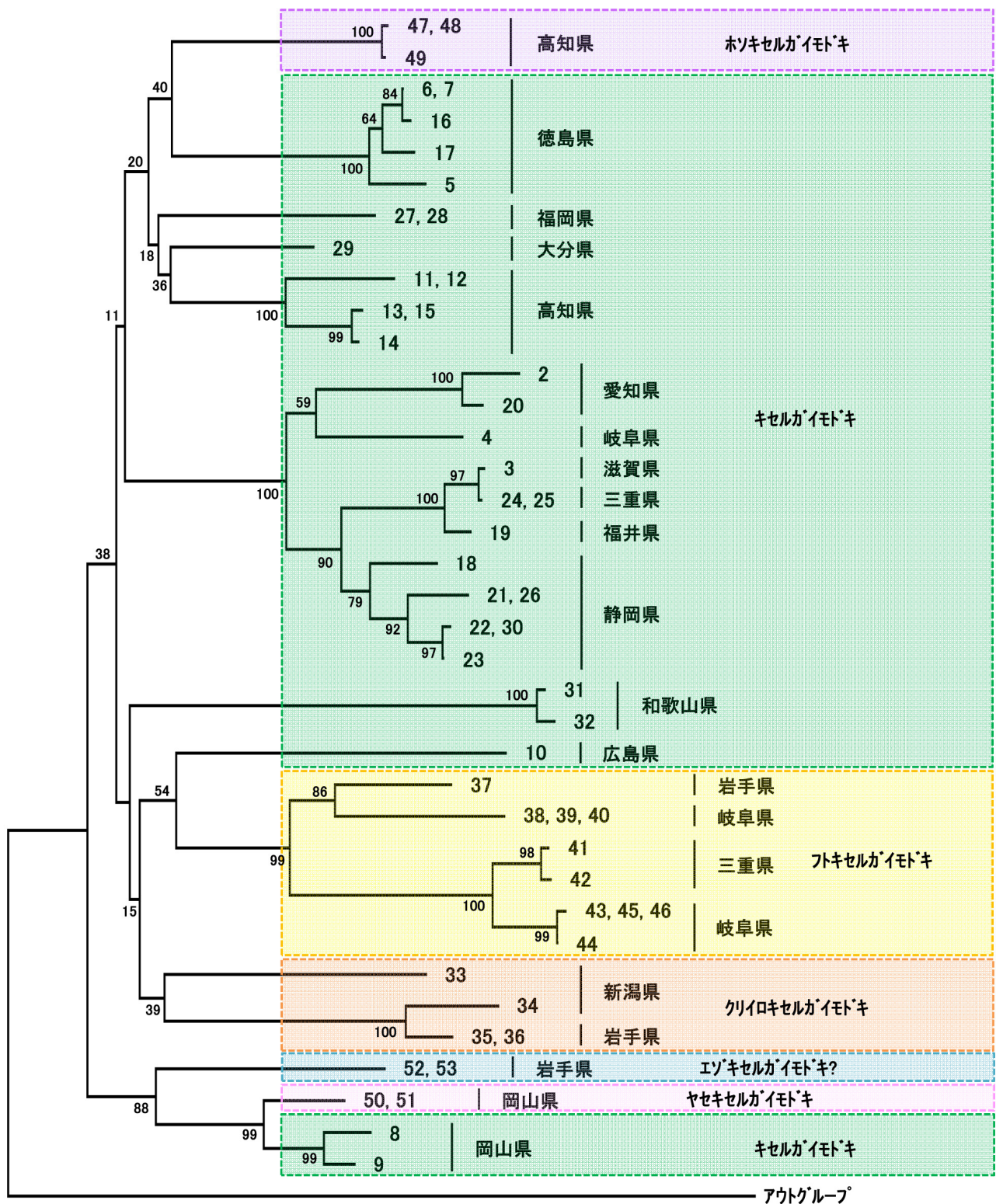


図 1. キセルガイモドキ属各種のミトコンドリア COI 遺伝子における分子系統樹  
分岐点の数字は結合の信頼度を表すブートストラップ確率 (%) を示す。

イモドキに比べてやや円錐形に近い蛹形、矮小、濃色であることから殻形態により区別でき、高知県室戸市室戸岬町(室戸岬)のホソキセルガイモドキ〔図版2-47, 48, 49〕も同様の殻形態を示した。なお、大分県佐伯市本匠にもホソキセルガイモドキの確認記録があり(浜田, 2014)、本研究に用いた大分県佐伯市本匠因尾(前高明神社)のキセルガイモドキ〔図版2-29〕もホソキセルガイモドキと中間的な特徴を示す部分が認められた。しかし、標準的なホソキセルガイモドキ(殻長20mm 殻径6mm)より大型のため、キセルガイモドキとして扱った。

キセルガイモドキは、キセルガイモドキ属の他種に較べると、広域に分布しているが、本研究により、遺伝的な種内多様性が大きいことが示された。図1に見られるように、COI 遺伝子塩基配列による分子系統樹では、キセルガイモドキは、福井県、滋賀県、三重県が一つのクレードにまとまるが、概ね県別に異なるクレードを形成しており、各クレードの枝が比較的長かった。これは陸貝の移動能力の乏しさに由来すると考えられる。

ただし、和歌山県東牟婁郡古座川町川口(明神社)〔図版2-31, 32〕のキセルガイモドキは、枝が特に長く、これらの個体と他県のキセルガイモドキとの遺伝子塩基配列の違いは、キセルガイモドキ属内の種間変異よりも大きかった。さらには塩基配列を詳細に比較したところ、キセルガイモドキ属内では188箇所塩基の多様性がみられ、和歌山県東牟婁郡古座川町川口(明神社)の個体〔図版2-31, 32〕のCOI 遺伝子のみに固有な箇所が20箇所存在することが明らかとなった。COI 遺伝子の塩基配列の分析結果は、この和歌山県のキセルガイモドキが隠蔽種である可能性を示唆している。

フトキセルガイモドキは、地域毎に殻の太さ(殻径)に顕著な違いが見られた。岐阜県揖斐郡池田町片山のフトキセルガイモドキ〔図版2-38, 39, 40〕は膨らみが極めて強く、東(1982)が図示したウゴキセルガイモドキ、ダイシキセルガイモドキや別属のキカイキセルガイモドキに近い輪郭を呈する。一方、岐阜県揖斐郡池田町片山以外のフトキセルガイモドキの輪郭は、キセルガイモドキと岐阜県揖斐郡池田町片山〔図版2-38, 39, 40〕のフトキセルガイモドキとの中間的な形態であり、キセルガイモドキよりは太くなるがやや連続的な形質である。殻形態によりフトキセルガイモドキに同定されたこれらの個体はCOI分子系統樹においても一つのクレードを形成していたことから、殻の膨らみは、フトキセルガイモドキの殻形態の特徴の一つであるが、個体変異が多いと言える。

クリイロキセルガイモドキは、太いタイプ〔図版2-33〕と細いタイプ〔図版2-34, 35, 36〕の2タイプがあり、新潟県五泉市小山田(菅名岳)〔図版2-34〕と岩手県北上市和賀町岩崎新田(夏油温泉)〔図版2-35, 36〕の細いタイプについては、別産地でもCOI 塩基配列が類似していた。一方、同産地でも、新潟県五泉市小山田(菅名岳)の太いタイプ〔図版2-33〕と細いタイプ〔図版2-34〕では塩基配列がかなり相違していた。

なお、本研究に用いたクリイロキセルガイモドキ(殻形態により同定されたクリイロキセルガイモドキ)については、いずれも立ち木の樹上に匍匐する個体をサンプリングしており、他の種類が主に倒木下や礫下でサンプリングされたことを考慮すると、生態的な違いが種の違いをある程度反映していると思われる。

## まとめ

キセルガイモドキ属各種は、岡山県真庭市神庭(神庭の滝)〔図版1-8〕および岡山県高梁市成羽町羽山〔図版1-9〕のような例外を除いて、わずかな殻形態の違いにより概ね分類・同定でき、ミトコンドリアCOI領域の解析でもよく似た結果が示され、さらに遺伝子の種内多様性(地域毎の多様性)が大きいたことが示された。

COI 遺伝子の塩基配列分析により、キセルガイモドキ属各種は、ある時期に一斉に日本各地に分布を拡げ、その後、各地にとどまって種分化した可能性が示唆された。

殻形態の変化の大きなものは現在別種として扱われており、殻形態に顕著な違いが認められない地域個体群はキセルガイモドキ、またはフトキセルガイモドキとして一括りにされているが、COI 遺伝子塩基配列分析により、和歌山県東牟婁郡古座川町川口(明神社)〔図版2-31, 32〕のキセルガイモドキが隠蔽種の可能性を示した。

## 引用文献

- Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K. and Nakayama, I. (1996) Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fisheries science*, 62(5): 727-730.
- 東 正雄 (1982) 原色日本陸産貝類図鑑. 保育社, 大阪.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.

濱田 保 (2014) おおいたの貝 大分県産貝類目録・図譜〈改訂版 第4版〉. BookWay 書店, 姫路.

肥後俊一・後藤芳央 (1993) 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.

川瀬基弘・西尾和久・松原美恵子・森山昭彦 (2016) 新城市のホウライジギセルとその近縁種. 鳳来寺山自然科学博物館館報, (45), 21-26.

湊 宏 (1988) 日本陸産貝類総目録. 日本陸産貝類総目録刊行会, 白浜.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.

图版 1

