

室戸半島における陸産貝類相・固有種群の進化史解明

Fauna of land snail and
evolutionary history of endemic *Euhadra* snails in Muroto peninsula

東北大学大学院生命科学研究科
生態システム生命科学専攻
山崎大志

Abstract

陸産貝類は、その移動分散能力が低いことから多様な形態の地域変異を示す例が多く知られている生物種群である。四国の東端に位置する室戸半島には複数の陸産貝類で他地域と形態的に区別できる固有の地域個体群が知られており、形態進化のプロセスを明らかにする上で有用なフィールドである。また本地域はその特徴的な地史・地質・地形によりユネスコ世界ジオパークに選定されるなど、理科教育・ツーリズムといった研究分野と生物多様性・進化研究の密なる融合が期待できる地域でもある。以上のことから本研究では室戸半島における陸産貝類相の調査を行うとともに、特に四国・瀬戸内海地域に広域分布するセトウチマイマイと形態的に区別できる固有亜種ムロトマイマイに着目し、本地域における陸産貝類の形態・遺伝的多様化のパターンを検証した。セトウチマイマイについての形態解析・分子系統解析の結果は、少なくとも2系統が室戸半島に進出したのち、それぞれ平行的に小型化して形態種ムロトマイマイが生じてきたことを示す。特にアワジマイマイ（淡路島固有亜種）と同じ系統を構成するムロトマイマイは、他地域と明瞭に区別できる顕著な形態分化を示した。本研究で明らかとなった種内にみられる形態の地理的分化と遺伝的背景の複雑な関係は、本邦陸産貝類の多様化機構の解明にも寄与するものである。室戸半島における理科教育・ツーリズムを行う上でも、私たちの身近な陸産貝類、すなわちかたつむりの「かたち」を通して本地域の生物多様性の一端を垣間見ることができる。このことから陸産貝類をモデルとした進化研究は市民が生物多様性に触れるきっかけとなりえ、理科教育・ツーリズムにも貢献しうる基礎科学的知見であるといえる。

KEYWORDS: 室戸半島・分子系統地理学・陸産貝類・マイマイ属・ムロトマイマイ

Introduction

南北に連なる日本列島は、複雑な地形と気候の勾配に伴って様々な生息地を生物に提供してきた。温暖で湿潤なこの列島弧は、自然環境と地史的イベントの相互作用を経て、実に多様な固有種を産み出すに至る。それは列島固有種を産出したばかりではなく、様々な分類群において地域固有の形態的分化を伴う種分化をもたらした（アザミ類・サンショウウオ類・地表性オサムシ類・陸産貝類など）。とりわけ陸産貝類のように、自力による移動性の低さが顕著な種群においては、種内でも地域ごとに様々な形態変異を示すことが知られている。

日本産の陸産貝類は 800 種近くが記録され（湊, 1988）、さらに近年でも新種記載がなされるなど（Hirano et al., 2015; Kameda and Fukuda, 2015）、潜在的な多様性はより高いと推定されている地域である。世界的にも陸産貝類の種数が多いホットスポットであることが知られる。こうした種多様化メカニズムの理解に力を発揮する分子系統解析により近年、本邦陸産貝類の進化史が解明されてきた[マイマイ属（Ueshima and Asami, 2003; Richard et al., 2017）・ニッポンマイマイ属（Kameda et al., 2007）・オオベソマイマイ属（Hirano et al., 2014）]。一方で、種内における形態の地理的分化や、そうした形態分化と遺伝的分化との関連性は不明瞭な種群も多いのが現状である。

四国の東端、太平洋に面した室戸半島は地震隆起・海水準変動に伴う劇的な地史的イベントを経験してきた地域であり、ユネスコ世界ジオパークに選定されている。本ジオサイトにおいては環境教育・ジオツアーなどの活動が積極的に行われていることから、サイト内の生物多様性の一端を把握することは上記の観光活動にフィードバックする知見になるといえる。室戸ジオパーク周辺に産する陸産貝類には、形態的に特徴的な地域個体群の存在が知られる。ムロトキセルガイモドキ（キセルモドキガイ属）と称される貝類は他地域にも分布するホソキセルガイモドキとは形態的に区別され（多田, 2017）、遺伝的にも単系統

性が示唆されている（川瀬ら, 2016）。またマイマイ属貝類の 1 種であるセトウチマイマイは、九州東岸の一部から西日本・四国といった瀬戸内海地域を中心に広域分布する陸産貝類である

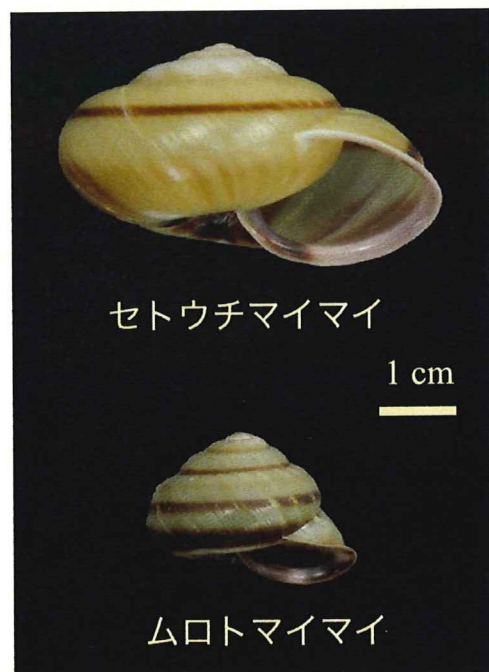


図 1. セトウチマイマイ種群の殻形態。

が、室戸半島ではその固有亜種としてムロトマイマイが認知されている (図 1; 黒田・波部, 1949; 川名, 2007)。セトウチマイマイの殻形態はマイマイ属貝類の中でも中型・扁平であるのに対して、亜種ムロトマイマイはより殻形態がより小型化している。このように室戸半島の陸産貝類は独特の形態的特徴を備えていることが示唆されているが、こうした形態の地理的分化のプロセスや、他地域の近縁種との系統関係は不明瞭な点が多い。また本地域における陸産貝類相の知見、すなわち室戸半島のどこに・どのような貝類が生息しているのかといった基礎的な情報を把握することは、ムロトマイマイのような地域固有種の地理的な分化メカニズムを解明するためにも重要である。

以上のことから本研究では上記の問題の解決を目指し、(1) 室戸半島における野外調査から陸産貝類相を把握した上で、(2) マイマイ属貝類 (セトウチマイマイ・固有亜種ムロトマイマイ) をモデルとして陸産貝類の形態的・遺伝的分化のプロセス解明にアプローチした。得られた結果から室戸半島における本種群の進化史を議論し、今後の発展性について述べる。加えてこうした基礎科学研究が理科教育やジオツーリズムに寄与しうる可能性について言及する。

Material and Method

室戸半島における陸産貝類相の調査は 2018 年 10 月 24 日から 27 日にかけて実施された (図 2)。調査は 2 名により行われ、陸産貝類のハビタット (地上・半樹上・樹上) を定

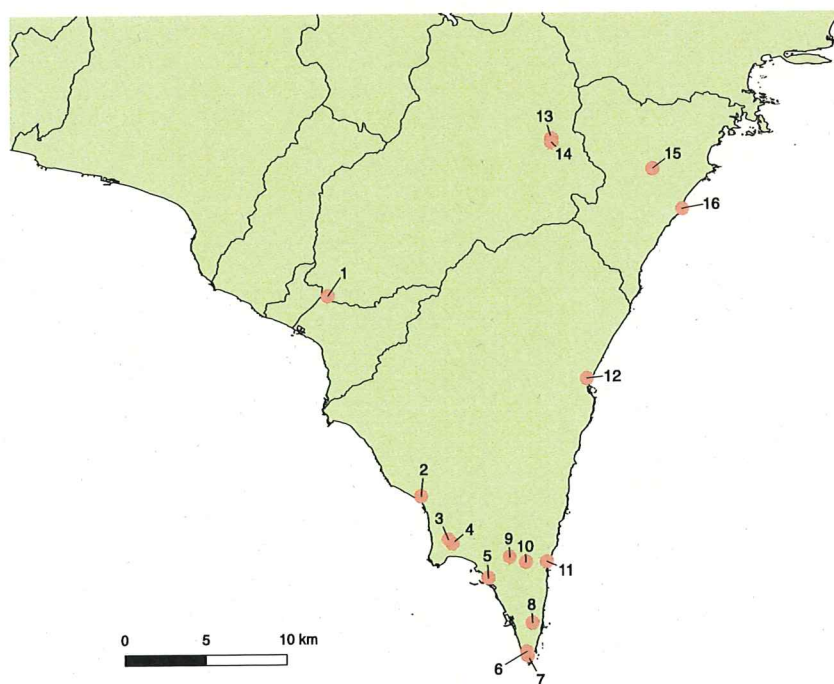


図 2. 本研究の調査地点.

性的に記録した。本研究においてセトウチマイマイとムロトマイマイの区別は体サイズと得られた地点を基準に行なった。すなわち、以下の本文中でムロトマイマイとされた個体は、室戸半島で得られた小型のものである。調査終了後、得られた貝類の標本作成を行った。殻は乾燥標本として、軟体部は液浸標本として保存した。特に軟体部について、DNA用肉片を99.5%エタノール・その他軟体部を70%エタノールで保存した。

セトウチマイマイとムロトマイマイの系統関係を推定するために遺伝的解析を行った。この解析においては、室戸半島で得られたサンプルに加えてこれまで筆者らの調査により得られている高知県西部・島根県産のセトウチマイマイ標本を用いた。さらに、Ueshima and Asami (2003)によりセトウチマイマイとの類縁性が指摘されているハリママイマイと、セトウチマイマイの淡路島固有亜種とされているアワジマイマイも解析に加えた。外群にはコウロマイマイ・ニシキマイマイを用いた。標本の筋肉組織より total DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子を増幅した (使用したプライマーは Folmer et al., 1994 による)。PCR 条件は Hirano et al (2014) に従った。得られた塩基配列について、MEGA ver 6.06 を用いて最尤法による分子系統解析を行った。加えてセトウチマイマイ種群について殻形態の比較を行うため、殻高・殻径の計測を行った (図3)。



図3. 殻の測定部位。

Results

表1に本調査で得られた陸産貝類を示す。確認できたグループを比較すると、特にナンバンマイマイ科の貝類貝類種群の多様性が高い。また多くの種が複数地点で確認された一方、ミジンヤマタニシ、オオツヤマイマイなどの種は限られた地点での確認にとどまった。セトウチマイマイは6地点で確認し、主に樹上性であったが人工物等の環境もまた利用していた。地点8ではセトウチマイマイの体サイズに明瞭な2型があり、大型個体をセトウチマ

表1. 本調査によって確認した陸産貝類

種名	地点番号	環境
ナンバンマイマイ科		
ニッポンマイマイ	5, 12	地上
シメクチマイマイ	6, 8, 9	半樹上
コベソマイマイ	4, 6, 9, 12	地上
オオツヤマイマイ	13*	-
セトウチマイマイ	1, 2, 5, 8, 9, 10	半樹上
ムロトマイマイ	3, 4, 8	樹上
シコクオトメマイマイ	8	樹上
ジタロウマイマイ	15	地上
オナジマイマイ	4, 7	地上
キセルガイ科		
ニクイロギセル	12, 15	地上
トサギセル	4*	-
ベッコウマイマイ科		
マルシタラガイ	14	樹上
シコクベッコウマイマイ	5	地上
オカクチキレガイ科		
オカチョウジガイ	12*	-
ナメクジ科		
ヤマナメクジ	6, 13	樹上
コウラナメクジ科		
コウラナメクジ科の1種	14	樹上
ヤマタニシ科		
ヤマタニシ	4, 5, 8*	地上
ヤマクルマガイ	4, 6, 12, 15	地上
ミジンヤマタニシ	4	地上

*: 死殻のみ確認

イマイに、小型個体をムロトマイマイとそれぞれ判断した。ムロトマイマイは3地点でみられたが、そのうち地点3・4はそれぞれ近接した調査地であった。このような体サイズの変異は上記マイマイ属貝類のほか、コベソマイマイ（ニッポンマイマイ属）にもみられた。またシメクチマイマイ（ニッポンマイマイ属）については暗色・明色の個体がみられ、色彩に多型が存在する可能性が示唆された。

分子実験に供したセトウチマイマイ種群の標本のうち、解析を行なう際の精度が十分だと判断できたサンプル数は24であり、配列長505bpのハプロタイプが11個得られた。得られた分子系統樹を図3に示す。セトウチマイマイ・ハリママイマイ・アワジマイマイ・ムロトマイマイが単系統群にまとまり、さらによく支持された2つのクレード(A・B)に分岐した。クレードAはセトウチマイマイ（高知県西部・室戸半島・島根県）・ムロトマイマイ（地点番号8）・ハリママイマイにより構成された。それに対してクレードBはアワジマイマイ（淡路島産）とムロトマイマイ（地点番号4）によって形成された。

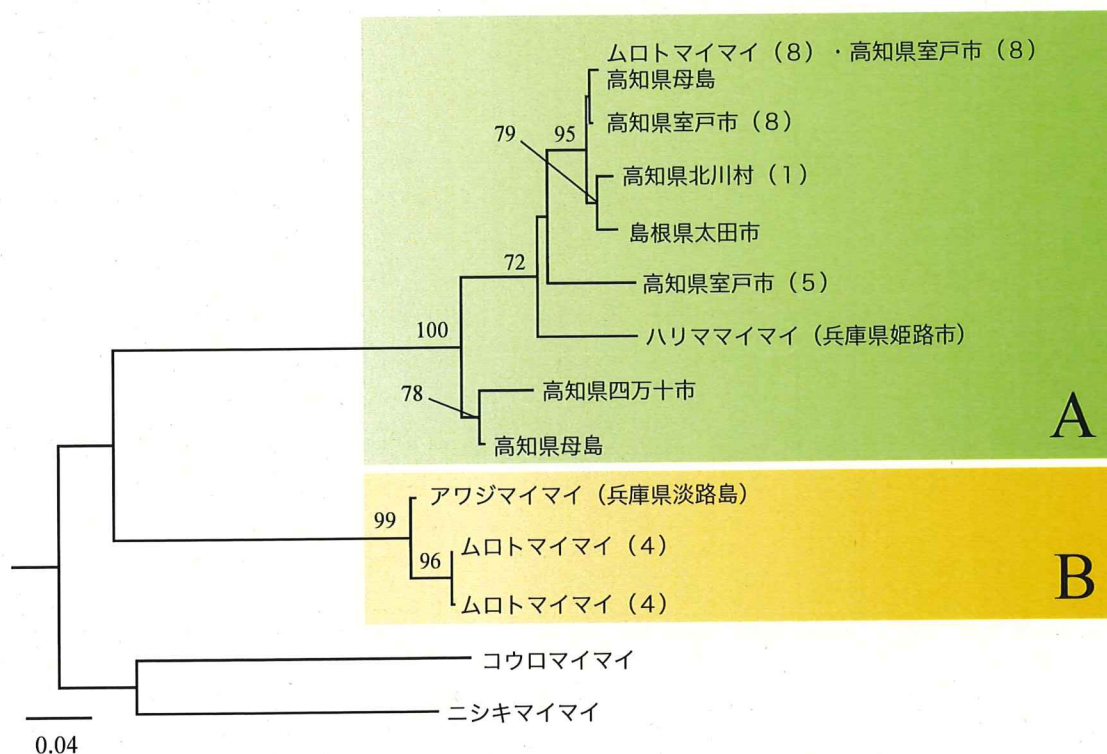


図4. ML法によるセトウチマイマイ種群の分子系統樹。括弧内の数字は調査地番号に対応し、樹上には70%以上で支持されたブートストラップ値を図示した。

図4に殻形態の解析結果を示す。図中のアイコンの色彩が黒で表された室戸半島産のサンプルは殻形態に多様な変異を示すことがわかる。またクレードBの室戸産個体（ムロト

マイマイ(図中に▲の記号で表示)は、クレード A に含まれたセトウチマイマイ種群だけでなく、ともにクレード B を構成するアワジマイマイとも明瞭に区別できた。

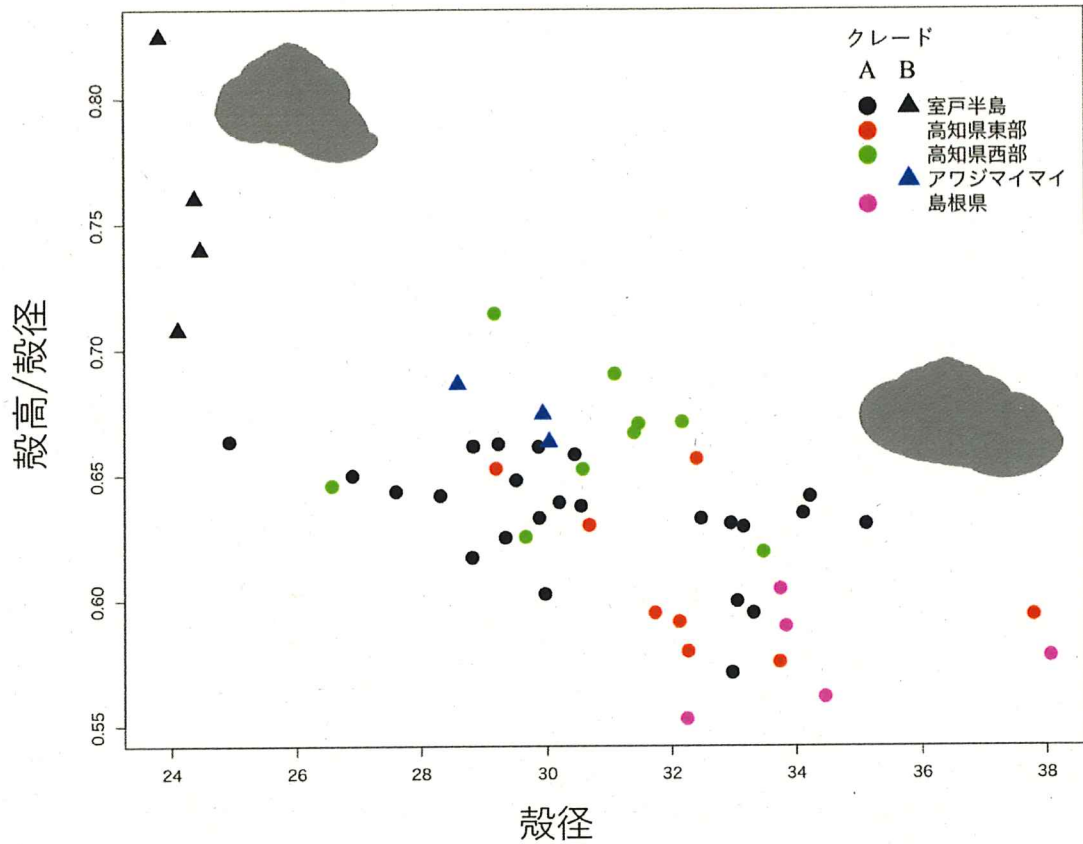


図5. セトウチマイマイ種群の殻形態の解析結果. 室戸半島には多様な殻形態が分布していることがわかる。

Discussion

本研究では室戸半島における陸産貝類の地理的分化について、以下の重要な知見が得られた。(1) 高知県東部から室戸半島における陸産貝類の種構成とその分布・生息状況：特に半島部におけるセトウチマイマイ・ムロトマイマイの分布状況が詳細に明らかとなった。これは本種群の形態分化がどのように生じたのかを検討する上で必須の知見である。(2) 四国周辺に分布するセトウチマイマイ種群の系統関係：セトウチマイマイ種群は主に2系統に分岐しており、セトウチマイマイ・ムロトマイマイの両方で構成されるクレード A と、アワジマイマイとムロトマイマイで構成されるクレード B が出現した。貝類相の調査から、室戸半島では系統を異にしたムロトマイマイが異所的に分布することが分かった。これはムロトマイマイの2系統が室戸半島において、殻サイズに平行的な小型化が生じてきたことを示す。さらにクレード B のムロトマイマイは単にセトウチマイマイ型の殻形態が小型になっただけではなく、他

地点とも明瞭に区別できるほど殻高・殻径比が大きくなるという独特の形態進化を示す。加えてクレードAに属する室戸半島産種の殻形態について、1系統ながら様々な形態変異が生じていることが確認できた。マイマイ属貝類は、日本で比較的身近な種を含む代表的なグループであるにも関わらず、これまで種内の系統関係に着目した研究は限られていた。本研究で明らかとなったマイマイ属の種内にみられる形態の地理的分化と遺伝的分化の複雑な関係は、本邦陸産貝類の多様化機構の解明にも寄与するものである。

今回得られた知見を踏まえ、本研究を発展させたセトウチマイマイ種群の網羅的な系統地理的研究を行う予定である。室戸半島には複数の系統が進出し、それぞれ平行的に小型化していた。セトウチマイマイ種群は九州から近畿地方と、マイマイ属貝類のなかでも特に広域分布する種群であることから、このような形態分化が、他の分布地域でも適用できる事象なのかを検証できる。また本研究においてはセトウチマイマイ・ムロトマイマイのハビタット利用について、明瞭な差異は見出せなかった。しかしながら陸産貝類の殻形態には生息地環境・重力などといった要因が変異をもたらしている可能性が示唆されており (Okajima and Chiba 2011)、今後詳細に検討していく必要がある。また今回行なった遺伝的手法はミトコンドリアの1遺伝子を用いた限定的な解析であった。発展研究ではマイクロサテライトによる集団レベルの多型解析や、次世代シーケンサーを用いた網羅的 SNP 検出といった手法を検討し、遺伝的分化のパターンを詳細に理解したい。

上述したように、本研究は室戸半島に様々な陸産貝類が生息していることを示した。またマイマイ属貝類、とくにセトウチマイマイ種群は四国、室戸半島においても身近な貝類であるにも関わらず、その進化史は単純ではない。理科教育、そしてツーリズムの視点に立つとき、私たちの身近な自然環境に息づく生き物こそ教科書だといえる。本地域での自然観察において陸産貝類に着目すれば、参加者はかたつむりの「かたち」が観察した場所ごとに違うことに気づくことができる。本研究で主な対象としたかたつむりはセトウチマイマイ・ムロトマイマイの系であったが、他の貝類種群でも、狭い範囲での形態の分化が生じている可能性は十分考えられる。特にニッポンマイマイ属貝類は筆者が本研究中に形態変異を確認しているばかりでなく、瀬戸内海地域で複雑な進化史を辿ってきたことが示唆されている (Kameda and Fukuda, 2015)。また今回着目した分類群は陸産貝類のみであったが、室戸半島に産する他の生物、特に分散能力の低い種群の昆虫や植物なども、それぞれの歴史情報をその形態に反映している可能性もある。以上よりジオパークにおける生物多様性調査・進化研究は、市民が生物多様性に触れるきっかけとなり得ることから、理科教育・ツーリズムに貢献しうる基礎科学的知見であ

るといえる。

Acknowledgement. 本研究を行うにあたり、篠部将太郎氏には室戸半島における野外調査に協力頂いた。深く感謝申し上げます。平野尚浩博士には研究のデザインから陸産貝類の種同定など、本研究を進める上で不可欠な助力をいただいた。内田翔太氏にはデータ解析の手法について重要なアドバイスを頂いた。高橋唯博士をはじめ、室戸世界ジオパークセンターの方々には様々な助言・協力を頂いた。また成果報告会にいらして頂いた市民の皆様に、この場を借りて御礼申し上げます。

Reference

- 黒田徳米・波部忠重, 1949. 貝類研究叢書 I かたつむり. 129p. 三明社. 東京.
- Hirano, T., Kameda, Y., Kimura, K. & Chiba, S., 2014. Substantial incongruence among the morphology, taxonomy, and molecular phylogeny of the land snails *Aegista*, *Landouria*, *Trishoplita*, and *Pseudobulimimus* (Pulmonata: Bradybaenidae) occurring in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **70**, 171-181.
- Hirano, T., Kameda, Y. & Chiba, S., 2015. A new species in the genus *Aegista* from Chugoku district, Japan (Gastropoda: Heterobranchia: Stylommatophora: Camaenidae). *Molluscan Research*, **35**, 128-138.
- Kameda, Y. & Fukuda, H., 2015. Redefinition of *Satsuma ferruginea* (Pilsbry, 1900) (Camaenidae), with description of a new cryptic species endemic to the coasts and islands of the central Seto Inland Sea, western Japan. *Venus*, **73**, 15-40.
- Kameda, Y., Kawakita A., & Kato M., 2007. Cryptic genetic divergence and associated morphological differentiation in the arboreal land snail *Satsuma (Luchuhadra) largillierti* (Camaenidae) endemic to the Ryukyu Archipelago, Japan. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **45**, 519-533.
- 川瀬基弘・西尾和久・松原美恵子・森山昭彦・市原 俊, 2016. キセルガイモドキ属の特徴と COI 遺伝子からみた分子系統関係. 瀬木学園紀要, 10, 24-32.
- 川名美佐男, 2007. かたつむりの世界. 近未来社. 名古屋.
- 湊宏, 1988. 日本陸産貝類総目録. 日本陸産貝類総目録出版会. 和歌山.
- Richards, P. M., Morii, Y., Kimura, K., Hirano, T., Chiba, S. & Davison, A., 2017. Single-gene

speciation: mating and gene flow between mirror-image snails. *Evolution Letters*, **1**, 282-291.

多田昭, 2017. ムロトキセルガイモドキがホソキセルガイモドキと決ったわけではない. 四国貝類談議会会誌まいご, **24**, 3-10.

Okajima, R. & Chiba, S., 2011. How does life adapt to a gravitational environment?: the outline of the terrestrial gastropod shell. *American Naturalist*, **178**, 801-809.

Ueshima, R. & Asami, T., 2003. Single-gene speciation by left-right reversal. *Nature*, **425**, 679-679.