

## 名古屋市に棲息するニッポンマイマイ *Satsuma japonica* の CO I 遺伝子からみた分子系統学的位置付け

川瀬 基弘<sup>(1)</sup> 横山 悠理<sup>(2)</sup> 西尾 和久<sup>(3)</sup>  
松原 美恵子<sup>(2)</sup> 横井 敦史<sup>(1)</sup> 熊澤 慶伯<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 愛知みずほ大学人間科学部 〒467-0867 愛知県名古屋市瑞穂区春敲町2-13

<sup>(2)</sup> 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 〒467-8501 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町山の畑 1

<sup>(3)</sup> IFF東海 〒496-0013 愛知県津島市神尾町東之割7-3

## Molecular phylogenetic characterization of *Satsuma japonica* individuals found in Nagoya City

Motohiro KAWASE<sup>(1)</sup> Yuri YOKOYAMA<sup>(2)</sup> Kazuhisa NISHIO<sup>(3)</sup>  
Mieko SUZUKI-MATSUBARA<sup>(2)</sup> Atsushi YOKOI<sup>(1)</sup> Yoshinori KUMAZAWA<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Department of Human Science, Aichi Mizuho College, 2-13 Shunko-cho, Mizuho-ku, Nagoya, Aichi 467-0867, Japan.

<sup>(2)</sup> Research Center for Biological Diversity, Graduate School of Science, Nagoya City University, 1 Yamanohata, Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya, Aichi 467-8501, Japan.

<sup>(3)</sup> IFF Tokai, 7-3 Higashinowari, Kanno-cho, Tsushima, Aichi 496-0013, Japan.

Correspondence:

Motohiro KAWASE E-mail: kawase@mizuho-c.ac.jp

### 要旨

岩手県、新潟県、静岡県から兵庫県にかけての各地で採取されたニッポンマイマイ *Satsuma japonica* (L. Pfeiffer, 1847) のミトコンドリアDNAを分析し、種内の系統関係を調べた。名古屋市守山区竜泉寺と名東区猪高町藤森香流で確認したニッポンマイマイは同じ系統のものと判断され、かつての名古屋市北東部～東部には本種が広範囲に分布していたことが示唆された。

### 序文

ニッポンマイマイ *Satsuma japonica* (L. Pfeiffer, 1847) (図1) は、ナンバンマイマイ科 Camaenidae ニッポンマイマイ属 *Satsuma* の円錐形の陸貝で、日本の陸産貝類の中で *japonica* と名付けられた種の中では最も科学名が古いとされている (波部・小菅, 1967)。基亜種 *Satsuma japonica japonica* (L. Pfeiffer, 1847) ニッポンマイマイは、本州 (東北、関東、東海、北陸、関西) に分布する (東, 1995)。それ以外に *S. j. kanamarui* (Hirase, 1909) カナマルマイマイなど複数の亜種が存在する (肥後・後藤, 1993)。

ニッポンマイマイ *S. japonica* は、林縁部や草地でよく見られ (武田・西, 2015)、岐阜県岐阜市の環境を、山地、山麓～平地、平地の3つに区分した調査では、本種が山麓～平地に優占することが示されている (川瀬ほか, 2012)。

古くから愛知県内各地で本種の記録があるが (柴田, 1955; 天野, 1966; 原田, 1972, ほか多数)、名古屋市に棲息していたという正式な記録は管見に入らなかった。また、名古屋市には上述したようなニッポンマイマイの棲息する環境は乏しく、2012年に名古屋市16区33地点で実施された「なごや生きものの一斉調査・2012 陸貝



図1. ニッポンマイマイ (名古屋市名東区猪高町藤森香流 [明德公園])

編」でも本種は発見されず、現在の名古屋市内には棲息していない可能性が高いと考えられた(川瀬, 2013a). しかし、その翌年2013年1月に名古屋市守山区上志段味東谷山(瀬戸市との境界付近の雑木林(川瀬, 2013b))と守山区竜泉寺の庄内川河畔林でニッポンマイマイが発見された(名古屋市環境局環境企画部環境活動推進課, 2015). 次いで2015年10月には、同市名東区猪高町藤森香流(明德公園)からも本種が発見された. その後も筆者らは、名古屋市レッドデータブックの基礎調査等のため市内各地を継続的に調査しており、調査地点は100地点以上にのぼるが、2020年現在、名古屋市内でニッポンマイマイを確実に確認できたのは、守山区竜泉寺(庄内川左岸河畔)と名東区猪高町藤森香流(明德公園)のみであった.

高度経済成長期以前の自然がよく残っていた時期には、おそらくニッポンマイマイが名古屋市北東部～東部を中心に市内の広範囲に分布していたと推定される. しかし、開発が進み多くの生息地が消滅した結果、守山区竜泉寺および名東区猪高町藤森香流に飛び地的に生き残ったと思われる. もしそうであれば、これらの個体群は互いに遺伝的に極めて近いと推定される. これを検証するために全国の分布域の個体におけるシトクロムオキシダーゼサブユニットI (COI) 遺伝子の塩基配列をあわせて分析し、名古屋市個体群の系統的位置付けを推定した.

## 材料および方法

岩手県、新潟県、静岡県から兵庫県にかけてのニッポンマイマイ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った. 各地点最大で4個体程度の採取をし、このうち1～4個体の遺伝子分析を行った. 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(Folmer et al., 1994)を用いた. 反応条件は、94℃ 1分加熱後、98℃ 5秒/50℃ 15秒/72℃ 10秒を30サイクル、72℃ 30秒で行った. 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 Sciences, 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 X (Kumar et al., 2018) を用いて、最尤法により行なった. 本研究用にサンプリングした36個体のニッポンマイマイの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. 外群には滋賀県米原市醒井で採集したクチベニマイマイ *Euhadra amaliae* (Kobelt, 1875) を使用した.

表 1. 遺伝子分析に用いた標本の採集地と登録番号

No.	和名	採集地	登録番号
外群	クチベニマイマイ	滋賀県米原市醒井	MW379396
1	ニッポンマイマイ	愛知県名古屋市守山区竜泉寺 (庄内川左岸河畔)	MW379385
2	ニッポンマイマイ	愛知県名古屋市守山区竜泉寺 (庄内川左岸河畔)	MW379387
3	ニッポンマイマイ	愛知県名古屋市名東区猪高町藤森香流 (明德公園)	MW379412
4	ニッポンマイマイ	愛知県名古屋市名東区猪高町藤森香流 (明德公園)	MW379395
5	ニッポンマイマイ	愛知県豊田市矢並町百伏	MW379390
6	ニッポンマイマイ	愛知県豊田市平戸橋町波岩	MW379414
7	ニッポンマイマイ	岐阜県本巣市上高屋	MW379388
8	ニッポンマイマイ	福井県大野市下山	MW379397
9	ニッポンマイマイ	岐阜県不破郡垂井町岩手	MW379408
10	ニッポンマイマイ	滋賀県米原市藤川	MW379401
11	ニッポンマイマイ	滋賀県米原市藤川	MW379383
12	カナマルマイマイ	三重県いなべ市北勢町別名 (藤原岳)	MW379384
13	ニッポンマイマイ	三重県津市安濃町草生	MW379382
14	ニッポンマイマイ	三重県津市安濃町草生	MW379379
15	ニッポンマイマイ	岩手県北上市和賀町岩崎新田	MW379404
16	ニッポンマイマイ	兵庫県佐用郡佐用町櫛田(飛龍の滝)	MW379405
17	ニッポンマイマイ	新潟県糸魚川市小滝 (明星山)	MW379415
18	ニッポンマイマイ	新潟県糸魚川市青海	MW379389
19	ニッポンマイマイ	新潟県糸魚川市青海	MW379407
20	ニッポンマイマイ	静岡県賀茂郡河津町梨本	MW379410
21	ニッポンマイマイ	静岡県賀茂郡河津町梨本	MW379394
22	ニッポンマイマイ	静岡県賀茂郡河津町梨本	MW379411
23	ニッポンマイマイ	静岡県賀茂郡河津町梨本	MW379413
24	ニッポンマイマイ	静岡県伊豆市湯ヶ島	MW379400
25	ニッポンマイマイ	静岡県静岡市清水区村松	MW379391
26	ニッポンマイマイ	静岡県静岡市清水区村松	MW379403
27	ニッポンマイマイ	静岡県静岡市清水区伊佐布	MW379402
28	ニッポンマイマイ	静岡県静岡市清水区伊佐布	MW379392
29	ニッポンマイマイ	岐阜県揖斐郡池田町片山	MW379393
30	ニッポンマイマイ	京都府木津川市鹿背山	MW379409
31	ニッポンマイマイ	京都府木津川市鹿背山	MW379381
32	ニッポンマイマイ	京都府木津川市鹿背山	MW379380
33	ニッポンマイマイ	京都府木津川市鹿背山	MW379406
34	ニッポンマイマイ	兵庫県神戸市北区淡河町勝雄	MW379399
35	ニッポンマイマイ	兵庫県神戸市北区淡河町勝雄	MW379386
36	ニッポンマイマイ	兵庫県加西市殿原町	MW379398

登録番号はINSD (International Nucleotide Sequence Database) のアクセッション番号を示す。

## 結果

本研究では、殻形態からニッポンマイマイに同定できる36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の分子系統解析を行った (図2)。

岩手県、新潟県、静岡県から兵庫県にかけてのニッポンマイマイは、大きくAとBの2つの系統 (群) に分かれた。A系統群を便宜的にA1~A3に区分し、A1における名古屋市の4個体については①~④の番号を付した。B

系統群はB1とB2の2つの系統 (群) に分かれた。B1系統 (群) は塩基配列の隔たりが大きい3つの系統 (群)、B1a, B1b, B1cに細分化された。

A1系統群には、愛知県名古屋市と愛知県豊田市の個体が含まれ、A2系統群には、愛知県豊田市、岐阜県、福井県、滋賀県、三重県の個体が含まれ、6愛知県豊田市平戸橋町と7岐阜県本巣市上高屋の塩基配列は一致した。A3系統群には、三重県、岩手県、兵庫県、新潟県の個体が含まれ、地域毎 (県毎) に塩基配列に大きな隔



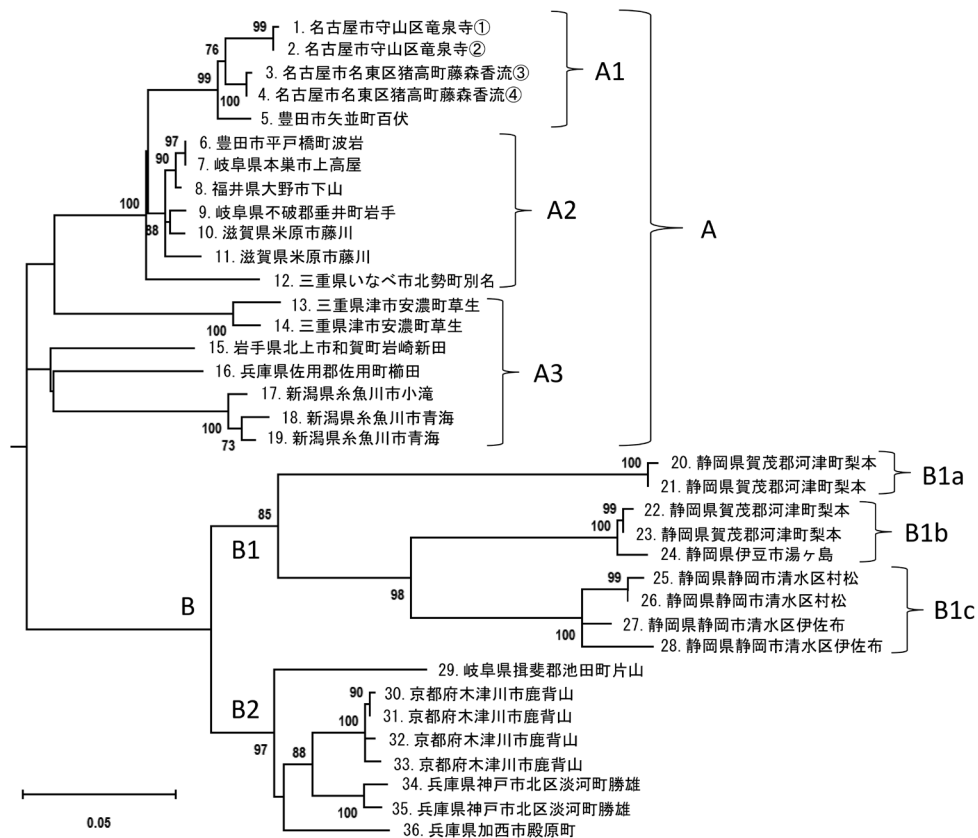


図2. COI遺伝子塩基配列を用いて作成したニッポンマイマイの最尤系統樹  
各結節点に示した数字は、ブートストラップ確率を示す。外群にはクチベニマイマイを用いた。

たりが見られた。

B1系統群には、静岡県賀茂郡、同県伊豆市、同県静岡市清水区村松、同市清水区伊佐布の個体が含まれ、静岡県賀茂郡の個体については、遺伝的に大きく異なる2つの系統(群)、B1aとB1bに分かれた。B1系統群のそれぞれの枝長は極めて長く、他の系統群の全ての個体の塩基配列との間で大きな差異がみられた。B2系統群には、岐阜県、京都府、兵庫県 of 個体が含まれた。

研究対象である名古屋市の2地点の4個体(①~④)は、すべてA1系統群に含まれた。なお、名古屋市の個体間における塩基配列の差異は、①名古屋市守山区竜泉寺と③名古屋市名東区猪高町藤森香流の個体間で2.6%、②名古屋市守山区竜泉寺と④名古屋市名東区猪高町藤森香流の個体間で2.2%、①名古屋市守山区竜泉寺と④名古屋市名東区猪高町藤森香流の個体間で2.4%、②名古屋市守山区竜泉寺と③名古屋市名東区猪高町藤森香流の個体間で2.4%であった。

## 考察

今回分析した36個体のサンプルは、周縁角の有無、殻表の微小な顆粒の有無、殻の大小に多少の変異はあるものの、形態的に全てニッポンマイマイに同定できた。分子系統樹(図2)から、ニッポンマイマイの種内における塩基配列の多様性の高さが明らかになった。陸産貝類の種内多様性の高さについては、ナミギセル *Stereophaedusa japonica* (Crosse, 1871) の約12% (川瀬ほか (2018) の分子系統樹から算出) やキセルガイモドキ *Mirus reinianus* (Kobelt, 1875) の約15% (川瀬ほか (2016) の分子系統樹から算出) も報告されており、図2のA系統群の中で見られる塩基配列の多様性の程度(CO I 塩基配列の相違度で16%以内)であれば種内多様性との解釈も可能である。ただし、B1系統群のそれぞれの枝長は極めて長く、B2系統群とあわせてA系統群とは近縁な(新種になる可能性も含めた)別種である可能性も否定できない。ただし、これについては分析した

サンプル数や地点数が少ないため、これらを増強した上での詳細な検討が必要であると考え。

A系統群には、岩手県から兵庫県までの個体が含まれ、塩基配列には多少の差異があるものの、東(1995)が示すニッポンマイマイの分布域の各地の個体が広く含まれていた。名古屋市は、守山区竜泉寺の2個体、名東区猪高町藤森香流の2個体ともにA1系統群に含まれた。守山区竜泉寺と名東区猪高町藤森香流の2地点間の個体間の塩基配列の差異が2.2~2.6%であることから、これらの個体群は互いに遺伝的に極めて近く同一系統のものと判断した。つまり、高度経済成長期以前の名古屋市にはニッポンマイマイの棲息できる好環境が広範囲に拡がっており、少なくとも市の北東部~東部には本種が広く分布していた。その後の開発によって生息環境が破壊された地域では本種が激減し、生息地は分断され、現在では名古屋市守山区竜泉寺と名東区猪高町藤森香流に飛び地的に生き残ったと考える。この結果については、名古屋市内に飛び地的に分布するナミギセル(川瀬ほか, 2018)やオオケマイマイ(川瀬ほか, 2020)が、それぞれの分布域の地点間で異なる系統のものと判断され、移入個体群の可能性が指摘されたのとは対照的である。このように、現在の名古屋市で飛び地的な分布(隔離分布)を示す複数種の陸産貝類の隔離要因については、遺伝子分析の結果が極めて重要であることが改めて示された。

## 謝辞

本報をまとめるにあたり、中部大学応用生物学部環境生物科学科の森山昭彦教授と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の村瀬幸雄氏(2015年退職)には、PCRならびにDNA塩基配列を決定するにあたり名古屋市立大学在職中に大変お世話になった。岐阜市自然環境基礎調査調査員の村瀬文好氏には名古屋市守山区竜泉寺でのニッポンマイマイの発見情報を、名東自然倶楽部の森川晴つみ氏には同様に名東区猪高町藤森香流(明德公園)での発見情報を頂いた。日本自然科学写真協会会員の吉鶴靖則氏には愛知県豊田市矢並町百伏のサンプルをご提供いただいた。また、本研究は、名古屋市立大学共用機器センターのDNAシーケンサー(3500 Genetic Analyzer)を用いて行った。以上の方々および

機関にこの場を借りてお礼申し上げます。

## 引用文献

- 天野景従. 1966. 愛知県の陸貝相. 東海高等学校研究紀要 第4集, 東海高等学校教育文化研究所, 69-82+2 pls.
- 東正雄. 1995. 原色日本陸産貝類図鑑 増補改訂版. 保育社, 大阪. 343 pp.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek. 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.
- 波部忠重・小菅貞男. 1967. 標準原色図鑑全集 第3巻 貝. 保育者, 大阪. 223 pp.
- 原田一夫. 1972. 貝類. 足助町誌資料5 足助の自然, pp.77-84. 愛知県東加茂郡足助町誌編集委員会, 足助.
- 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. 693 pp.
- 川瀬基弘. 2013a. なごやで探そう!カタツムリ, なごや生きもの一斉調査・2012陸貝編 報告書. 名古屋生物多様性保全活動協議会, 名古屋. 29 pp.
- 川瀬基弘. 2013b. 名古屋市内でニッポンマイマイを発見. 生きものシンフォニー7号, 名古屋市環境局 なごや生物多様性センター, 名古屋.
- 川瀬基弘・村瀬文好・早瀬善正・市原俊・吉村卓也・山内貴司・横山貴則. 2012. 岐阜市に生息する陸産貝類. 瀬木学園紀要, 6: 19-36.
- 川瀬基弘・西尾和久・松原美恵子・市原俊・森山昭彦・熊澤慶伯. 2018. 遺伝子解析に基づく中部・西日本産ナミギセル *Stereophaedusa japonica* 個体群の種内多様性と名古屋市の個体群の系統的位置づけ. *なごやの生物多様性*, 5: 11-22.
- 川瀬基弘・西尾和久・松原美恵子・市原俊・森山昭彦・熊澤慶伯. 2020. 名古屋市に棲息するオオケマイマイ *Aegista vulgivaga* のCO I 遺伝子からみた分子系統学的位置付け. *なごやの生物多様性*, 7: 31-37.
- 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CO I 遺伝子からみた分子系統関係. 瀬木学園紀要, 10: 24-32.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura.

川瀬ほか (2021) 名古屋市に棲息するニッポンマイマイ *Satsuma japonica* のCO I 遺伝子からみた分子系統学的位置付け

2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35: 1547-1549.
- 名古屋市環境局環境企画部環境活動推進課. 2015. 名古屋市の絶滅のおそれのある野生生物 レッドデータブックなごや2015—動物編一. 名古屋市環境局環境企画部環境活動推進課, 名古屋. 504pp.
- 柴田吉夫. 1955. 北設山岳県立公園及びその附近の陸産貝類. 北設山岳及鳳来寺山県立公園一帯の自然科学 (調査報告書), pp.71-83. 愛知県商工部通商観光課・北設山岳県立公園地区協議会・鳳来寺山県立公園地区協議会, 愛知.
- 武田晋一・西 浩孝. 2015. カタツムリ ハンドブック. 文一総合出版, 東京. 128 pp.