

室戸半島における陸産貝類の起原および進化史の統合的解明

Evolutionary origins and history of land snail in Muroto peninsula

東北大学

東北アジア研究センター

山崎大志

Abstract

日本列島はその複雑な地史・地形、そして気候の勾配を背景とした多様な自然環境により構成される。ジオパークの構成地域はその地史的な独自性・固有性を端的に示すだけでなく、地域独特の進化を遂げた生物が観察できることも多い。特に陸産貝類は、移動分散能力が低いことから様々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り、日本列島においても非常に高い多様性を示す。四国の東端に位置する室戸半島は、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ている。本地域は複数の陸産貝類で他地域と形態的に区別できる固有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。筆者は 2018 年度、室戸半島において陸産貝類相の調査およびマイマイ属（ムロトマイマイ・セトウチマイマイ）の進化史研究を実施した。その結果、本地域における陸産貝類の複雑な進化の一端を明らかにすることができた。本研究は 2018 年度に行われた研究を背景とし、ナメクジ属・ヤマタニシ属を加えた比較系統地理学的アプローチから室戸半島に生息する陸産貝類の起源および進化史の解明を目的に実施された。その結果、樹上性の陸産貝類（ムロトマイマイ・ヤマナメクジ）と地上性貝類（ヤマタニシ）では遺伝的固有性のレベル・系統分岐のパターンが異なっていた。ムロトマイマイは室戸半島において 2 系統が平行的に小型化するという形態的な特徴を示すことから、本地域において独特の形態進化を遂げて来た種群であるといえる。またヤマナメクジも同様に軟体部表面の色彩・模様パターンの多様性が示唆されるため、今後形態進化パターンの解析が必要であると。本研究から、室戸半島に産する特に樹上性の陸産貝類はその生息環境と生態的特徴の相互作用の影響を受け進化してきたことが示唆される。こうした複数種群における複雑な系統分岐のパターンに関する知見は、本邦における陸産貝類の多様化機構の解明にも寄与するものである。同時に今回得られた共通性・異質性の知見を踏まえた理科教育・ツーリズムにより身近な陸産貝類の観察を行うことで、市民の生物多様性理解に貢献するといえる。

KEYWORDS: 室戸ユネスコ世界ジオパーク・室戸半島・分子系統地理学・陸産貝類・ヤマナメクジ・ヤマタニシ・ムロトマイマイ・セトウチマイマイ

Introduction

私たちが暮らす日本列島は南北に長なり、複雑な海岸線に縁取られた島嶼群により構成されている。この列島弧の地史を背景とした様々な地形と、気候の勾配が作り出す環境とその生物多様性は、古来より私たちに影響を及ぼしてきた。自然環境の地域差を映し出す伝統と風俗は、日本列島が経験してきた大地の営みと生態系の恩恵を教えてくれる。こうした大地から生態系、そして人間生活に至る繋がり、ジオパークに不可欠な要素である。日本で認定されているジオパークの構成地域はそれぞれ独自の地史的イベントを経験してきたことから、固有性・独自性の高い生物が観察できることも多い。

陸産貝類は自力での移動能力が限定されることから、その形態・生態、そして遺伝子に地域間の変異を蓄積しやすい (Cameron, 2016)。日本における陸産貝類は 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ている (Hirano et al., 2015; Kameda and Fukuda, 2015; Yano et al., 2016)。このように本邦における陸産貝類の潜在的な種多様性は非常に高いと考えられ、世界的にみても多様性のホットスポットである。こうした種多様化メカニズムの理解に力を発揮する手法であ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 *Euhadra* (Ueshima and Asami, 2003; Richard et al., 2017)・ニッポンマイマイ属 *Satsuma* (Kameda et al., 2007)・オオベソマイマイ属 *Aegista* (Hirano et al., 2014)・オナジマイマイ属 *Bradybaena* (Hirano et al., 2019)]。しかしながら、陸産貝類における形態の地理的分化およびその系統的起源について、多様な分類群に共通する、あるいは異なるパターンには不明瞭な点も多く残っている。

そこで本研究では、ユネスコ世界ジオパークに選定されている室戸半島を舞台とし、陸産貝類の複数種群を用いた遺伝的解析から、その系統的起源と進化史のパターンを解明する。四国の東端に位置し、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る。室戸ユネスコ世界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。筆者は 2018 年度に助成いただいた研究において、室戸半島固有とされるマイマイ属貝類のムロトマイマイを対象とし、その形態的・系統的独立性の評価を行った (山崎, 2020)。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、形態的に差異があるこ



図 1. 室戸半島産セトウチマイマイ・ムロトマイマイ.

とが知られていた（黒田・波部, 1949；川名, 2007）（図 1）。形態的・遺伝的解析の結果、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（広域分布系統）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（局所分布系

統）が出現した（図 2）。
 また室戸半島に産す
 るムロトマイマイは
 2 系統で平行的に小
 型化しており、室戸
 半島で独自の形態進
 化を駆動するメカニ
 ズムが存在すること
 が示唆された。この
 研究は複数の起源を

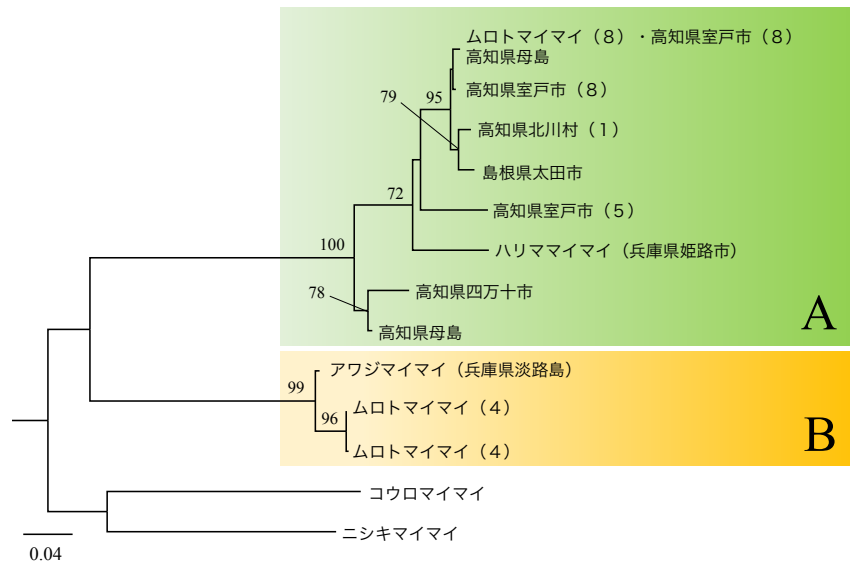


図 2. セトウチマイマイ種群の分子系統樹。括弧内の数字は調査地番号（図 4）に対応し、樹上には 70%以上で支持されたブートストラップ値を図示した。

もつ室戸半島産の陸産貝類が、共通の形態進化パターンを伴って固有性を獲得してきたことを示唆する。しかしながら、他種群についての知見は限定的である。したがって、室戸半島における陸産貝類の進化史を統合的に理解するためには、マイマイ属とは異なる系統・生態的特徴をもつ種群との比較研究が必要である。以上のことから本研究では、セトウチマイマイ種群のみならず複数系統の陸産貝類を用いた比較系統学的研究を実施し、室戸ユネスコ世界ジオパークにおける生物進化の共通性および独自性を明らかにする。そのために、筆者が 2018 年度に

実施した野外調査において得た室戸半島産の陸産貝類（ヤマナメクジ・ヤマタニシ）の遺伝的解析用資料と、これまで蓄積されていた他地域産サンプル（セト



図3.室戸半島産ヤマナメクジ.

ウチマイマイ・ヤマナメクジ・ヤマタニシ）を用いた系統学的解析を実施した。ヤマナメクジはナメクジ科ナメクジ属 *Meghimatium* に属す、主に樹上性の陸産貝類で、日本列島に広く分布する（図3）。殻を失うという興味深い進化を遂げて来た種群である。またヤマタニシはヤマタニシ科ヤマタニシ属 *Cyclophorus* に属す陸産貝類で主に地上性であり、関東以南の日本列島に分布する。セトウチマイマイ・ヤマナメクジとは大きく系統が異なる、蓋をもつ貝類の種群である。こうした多様な陸生貝類の系統推定から得られる知見は室戸ジオパークにおける生物進化の理解にとって重要な情報であり、その生物相の独自性を踏まえたジオストーリーを考えるモデル系となりうると考えられる。

Material and Method

本年度の助成研究では新型コロナウイルス感染症の拡大防止のため、室戸市における調査は認められていない。そのため、筆者を含む2名による2018年10月24日から27日にかけて実施した陸産貝類相の調査により得られた資料を使用した（図4）。この際得られた陸産貝類は以下

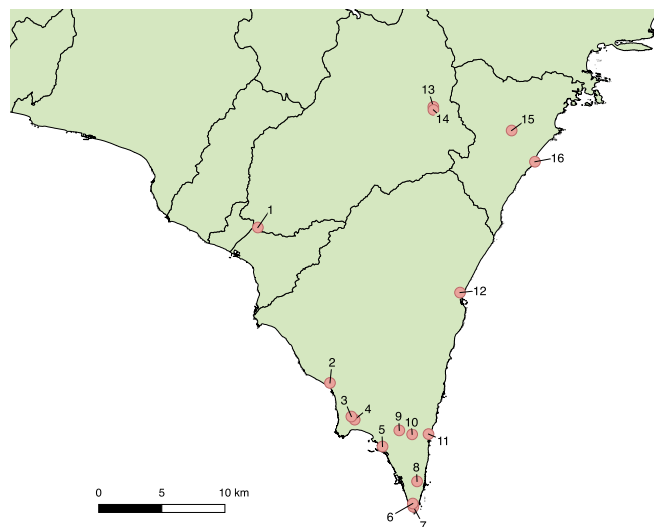


図4.2018年に実施した野外調査地点.

のように標本とし保管していた：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。

ヤマナメクジ・ヤマタニシ・ムロトマイマイ（セトウチマイマイを含む）の系統関係を推定するために遺伝的解析を行った。各種の遺伝解析用の肉片から、カミソリを用いて必要量の腹足もしくは殻軸筋より筋肉組織を切り出し、NucleoSpin® Tissue kit (TaKaRa, Shiga Pref., Japan)もしくは、DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) の標準プロトコルに従って total DNA を抽出した。得られた DNA サンプルを用いて、ミトコンドリア DNA の COI 遺伝子（ヤマナメクジ・ヤマタニシ・ムロトマイマイ・セトウチマイマイ）・16S rRNA 領域（ヤマナメクジ）・核 DNA の 28S rRNA 領域（ヤマナメクジ）を増幅した。PCR 条件は Hirano et al (2014)に従った。PCR 産物は Exo-SAP-IT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)により精製された。サイクルシーケンシング反応は BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)を用いて行った。この反応液を精製したのち東北大学生命科学研究科に設置されている ABI 3130xl automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)を用いたダイレクトシーケンスによる配列決定を行った。得られた塩基配列を用いて分子系統解析を行った。また本研究は、世界規模で発生している新型コロナウイルスに関連する社会情勢を考慮し、東北大学が定める「新型コロナウイルス感染拡大防止のための東北大学の行動指針」に従い実施された。

Results and Discussion

室戸半島における陸産貝類の系統的起源および進化史

ヤマナメクジ属については、日本列島においてヤマナメクジを含む 3 既知種だけでなく複数の未記載種（ハナタテヤマナメクジ・ツシマナメクジ・ヨナグニナメクジなど）の存在が示唆されていた（Fukuda et al., 2017; Hirano et al., 2020; Kameda 2019; Kubo and Kurozumi, 1995; Minato, 2014; Ueshima, 2017）。しかしながら、これまでその系統関係には不明瞭な点が多くあり、種内の地域的な遺伝的構造はもちろん種多様性の実態すらわからない状況であった。そこで日本列島および琉球列島を含む東アジア広域における本属の系統解析を行ったところ、単系統性がよく支持された 21 の系統が得られ、本地域で非常に複雑な系統分岐および種分化のパターンを示すことが示唆された（Ito et al., 投稿中）。図 5 に室戸半島産のヤマナメクジを

含む単系統群の系統関係を示す。四国においては、中国四国中央部系統と室戸半島・四国西部・中部地方系統という2系統が出現することがわかった。後者の単系統群内において、室戸半島産のサンプルはさらに単系統にまとまったことから、その地域固有性は高いと考えられる。このように四国中央部・室戸半島で系統を異にするパターンはムロトマイマイ・ムロトキセルモドキガイと共通するパターンである（後述）。一方でヤマタニシについて本州南部～九州のサンプルに加え室戸半島産サンプルを用いた系統解析を行った

結果、室戸半島の個体は分布域広域のサンプルから構成される系統に属することがわかり、地域的な固有性は示唆されないパターンを示した。

ムロトマイマイ・セトウチマイマイについて、2018年度の助成研究で用いた遺伝資料に加え、九州東岸（大分県大分市・佐伯市）・山陽地方（岡山県）・四国（土佐清水市）産のサンプルを用い、同様の方法を用いて系統解析を実施した。得られた結果を図6に示す。これまでの結果と同様に、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つのクレードに分岐した（広域分布系統・局所分布系統）。広域分布系統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）・ハリママイマイおよび追加したサンプル（九州東岸・山陽地方・四国）により構成された。局所分布系統もまたアワジマイマイ（淡路島産）とムロトマイマイ（地点番号4）により構成されていることから、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するという、これまで明らかとなっている結果と矛盾しない。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が、九州の個体群を含め現状セトウチマイマイ・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

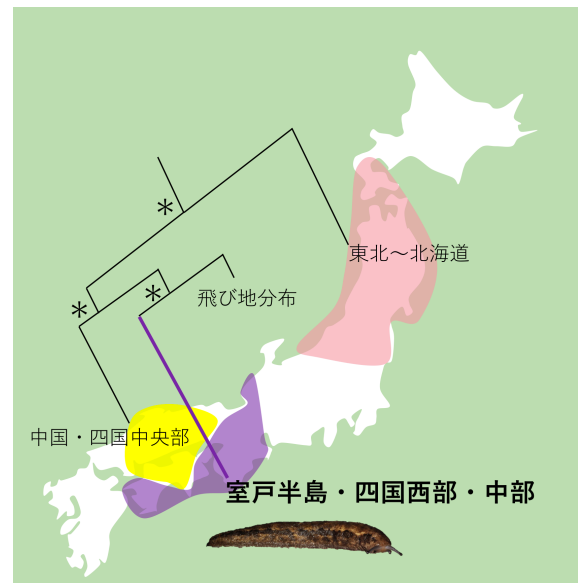


図 5. 室戸半島産ヤマナメクジを含む単系統群の系統関係. ヤマナメクジを含むヤマナメクジ属を用いた分子系統樹より抜粋.

出せなかった。陸産貝類の殻形態には生息地環境や重力の影響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いる（Okajima and Chiba 2011）。加えて、室戸半島における形態進化には半島進出時の浮動による創始者効果などのデモグラフィックな要因も影響している可能性がある。

明瞭な地域的な遺伝的分化を示さなかったヤマタニシに対し、ヤマナメクジ・ムロトマイマイは室戸半

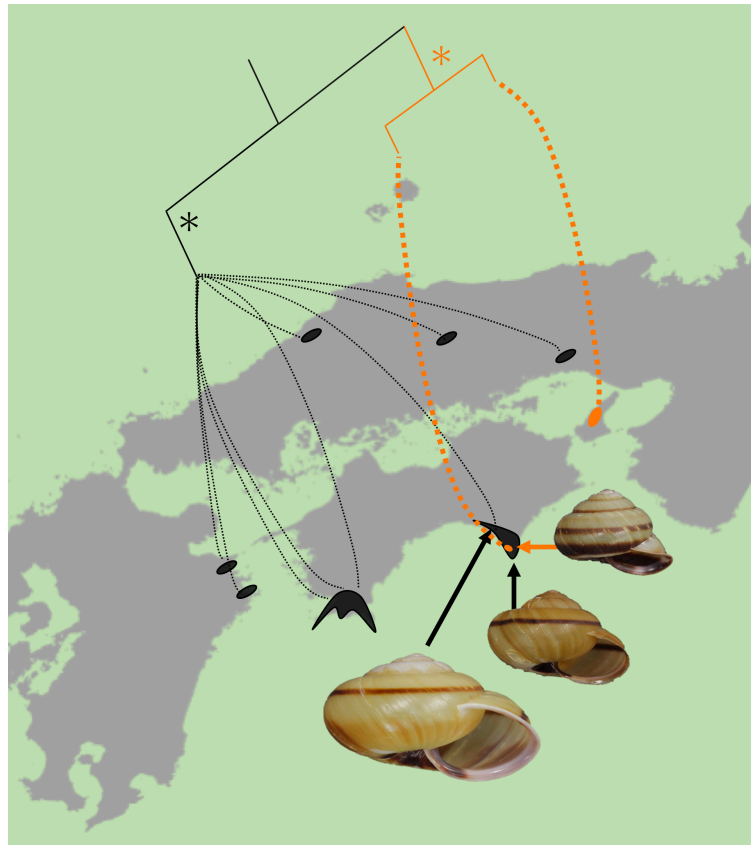


図 6. セトウチマイマイの系統関係。黒色で示す広域分布系統と橙色で示す局所分布系統両方に室戸半島産のムロトマイマイが含まれる。

島における遺伝的な固有性が高いことがわかった。後者2種で系統分岐のパターンを比較すると、四国の中でも中央部と半島部で系統が異なるという点で近い結果となっている。そのため、ヤマタニシとヤマナメクジ・ムロトマイマイで観察された系統分岐パターンの違いには、それぞれの生態的特徴（地上性・樹上性）が関連しているかもしれない。また室戸半島においては、樹上性であるムロトマイマイで顕著な形態変異が観察されている。室戸半島においては、キセルモドキガイ属 *Mirus* の陸産貝類においても、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るムロトキセルガイモドキが生息している（多田, 2017）。本種も樹上性であり、四国中央部と室戸半島で系統を異にするだけでなく、その地域固有性も示唆されている（川瀬ら, 2016）。加えてヤマナメクジについても、その軟体部表面の色彩・模様のパターンに地域的な差異が観察されている。樹上という環境はパッチ状になりやすく、また重力に対する応答も複雑化することから、こうした遺伝的・形態的パターンが形成するのかもしれない。

詳細な形態的解析と、各種について高解像度の遺伝的解析による半島進出時の集団サイズや分岐年代推定を組み合わせることで、生息環境の影響と地史との関係に迫ることができる。

本研究では、系統的・生態的に差異をもつ3種をモデル系として解析することで、室戸半島に生息する陸産貝類の起源・独自の進化史の一端を明らかにした。一方で今回着目する分類群は陸産貝類であったが、室戸半島に産する他の生物も、同様にそれぞれの歴史情報をその形態・遺伝子に反映している（竹中, 2019）。このように他の生物種群についても進行している研究と、今回得られた陸産貝類の結果を統合することで、室戸ユネスコ世界ジオパークにおける生物相の独自性はより鮮明になるだろう。

今後の展望

2018年度の助成研究および本研究により、室戸半島に産する多様な陸産貝類は、それぞれ独自の進化パターンを示すことが示唆された。ムロトマイマイを含むセトウチマイマイ種群、そして今回着目しているヤマタニシ・ヤマナメクジは四国、室戸半島においても比較的身近な貝類である。一方でその多様性理解は遅れており、ヤマナメクジについては属内の関係性にも不明瞭な点が多かった。本研究では種内の系統分岐の検証から室戸半島の独自性を示しただけでなく、東アジアにおける多様性理解に貢献した点で、陸産貝類の多様化機構の解明にも寄与するものである。一方でサンガー法による遺伝的解析の精度は限定的であることから、今後はマイクロサテライトマーカーの開発および解析や、次世代シーケンサーを用いた網羅的SNP検出といった手法により、より詳細な系統分岐・集団動態の推定が望まれる。

日本列島は陸産貝類多様性のホットスポットであり、特にジオパークのような地域特有の地史的イベントや気候などに影響を受けてきた種群の独自性は高いと考えられる（山崎, 2020）。こうした陸産貝類の進化的知見を活用することで、大地と生態系の時空間的な関係を考えることができる。室戸ユネスコ世界ジオパーク周辺での自然観察においては、ムロトマイマイ・セトウチマイマイの形態的差異に気づくことができるだろう。その際、今回得られた進化的知見によりその要因の説明が可能である。また樹上という環境に着目することで、ムロトマイマイ・ヤマナメクジという一見全く異なる形態を示す2種に

についても、それらが辿って来た歴史的背景を理解することで共通性を理解できる。このように、私たちの身近な自然環境に息づく生き物に関する進化的知見は、理科教育やツーリズムの分野において教科書的に活用することができる。今後ジオパーク内で実施される生物多様性調査・進化研究の知見を蓄積し、適切に利用していくことで、ジオパークの理念の普及・今後の活動に貢献しうると考えられる。

Acknowledgement

本研究を実施するにあたり、平野尚浩博士および伊藤舜氏（両名とも東北大学生命科学研究科）には研究デザインの検討、および遺伝的解析を進める上で不可欠な助力をいただいた。深く感謝申し上げる。また 2018 年度の室戸半島における野外調査においては篠部将太郎氏（調査当時東北大学生命科学研究科に在籍）にご協力いただいた。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・協力をいただいた。さらに、2019 年度の成果報告会にいらして頂いた市民の皆様、この場を借り改めて御礼申し上げます。それとともに今後新型コロナウイルスの社会的影響が緩和され、本研究成果の報告会の開催、さらなる室戸半島における研究活動が遂行できることを祈念する次第である。

Reference

- Cameron R. 2016. Slugs and Snails. Harper Collins, London.
- Fukuda, H., Kameda, Y., Kawachino, Y., 2017. Danjo-Namekuji (New name). In: Nature Environmental Division, Nagasaki Prefectural Government (Ed.) Interim Review of the Nagasaki Red List, 10, Nagasaki
- Kameda, Y., 2019. Danjo-Namekuji. In: Ministry of the Environment, Government of Japan. (Ed.) Addendum: Red List 2018 on Ministry of the Environment, Government of Japan, 42, Tokyo.
- 黒田徳米・波部忠重, 1949. 貝類研究叢書 I かたつむり. 129p. 三栄社. 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

- Pseudobuliminus* (Pulmonata: Bradybaenidae) occurring in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **70**, 171-181.
- Hirano, T., Kameda, Y., Saito, T., Yamazaki, D., Uchida, S. 2020. First records of *Meghimatium* sp. collected from Gunma and Yamagata Prefectures. *Chiribotan: newsletter of the Malacological Society of Japan*, **50**, 142–145.
- 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.
- Hirano T., Kameda Y., Saito T., & Chiba S. 2019. Divergence before and after the isolation of islands: Phylogeography of the *Bradybaena* land snails on the Ryukyu Islands of Japan. *Journal of Biogeography* 46:1197-1213
- 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.
- Minato, H. 2014. Note on the genitalia of *Meghimatium* sp. (Stylommatophora, Philomycidae) from the Tsushima Islands, Kyusyu, Japan. *Chiribotan: newsletter of the Malacological Society of Japan*, **44**, 5–9.
- 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.
- 竹中將起. 2019. 室戸半島における水生生物の系統学的位置づけと地史の関係究明. 室戸ユネスコ世界ジオパーク 2018 年度採択研究報告書.
- 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. 2017. Yonaguni-Namekuji (New name). In: Nature Conservation Division, Department of Environmental Affairs, Okinawa Prefectural Government (Ed.) *Threatened Wildlife in Okinawa, Third Edition (Animals) –Red Data Okinawa–*, 527, Naha.
- Ueshima, R. & Asami, T., 2003. Single-gene speciation by left-right reversal. *Nature*, **425**, 679–679.
- 山崎大志. ジオパークと陸産貝類から迫る日本列島の生物固有性. 東北アジア研究センターニューズレターCNEAS 84, 7, 2020.
- Yano, S., Matsuda, H., Nishi, K., Kawase, M. & Hayase, Y. 2016. Two New Species of *Awalycaeus* (Caenogastropoda: Cyclophoridae: Alycaeinae) from Kochi and Kumamoto Prefectures, Japan. *Venus*, **74**, 51-59.