

日本産イシガイ科貝類の保全に向けた分類および遺伝的多様性に関する研究

# 博士学位論文

日本産イシガイ科貝類の保全に向けた  
分類および遺伝的多様性に関する研究

近畿大学大学院農学研究科

環境管理学専攻

瀬尾友樹

瀬  
尾  
友  
樹

# 博士學位論文

日本産イシガイ科貝類の保全に向けた  
分類および遺伝的多様性に関する研究

平成 31 年 1 月 9 日

近畿大学大学院農学研究科

環境管理学専攻

瀬 尾 友 樹

## 目次

序論	1
第1章	4
第2章	25
第3章	32
総合考察	47
謝辞	51
引用文献	53
表	65
図	86



## 序論

イシガイ科貝類 (*Bivalvia; Unionidae*) は、日本全域の純淡水域の水路や河川、池沼などの底質に埋在して生息している二枚貝類の仲間であり、日本では 16 種が生息している (近藤, 2015)。すべての種で、幼生期に淡水魚類のヒレなどの体表や鰓に寄生して成長するという特異な性質を持ち、比較的大型でろ過食性であることなどから、栄養循環、水質の改善、底質のかく乱、他の生物への生息場所の提供など、淡水生態系において重要な位置を占めている (Haag, 2012)。それにも関わらず、イシガイ科貝類は世界的に見ても淡水生態系に生息する生物の中で特に絶滅の恐れが高い種群であると認識されている (Lydeard *et al.*, 2004)。日本においても、イシガイ科貝類は著しく減少しており、環境省レッドリスト 2018 ではイシガイ科貝類 16 種のうち 11 種が掲載されている (環境省, 2018)。イシガイ科貝類の減少要因は主に物理的環境の改変、水質汚濁、外来魚による宿主の捕食、愛好家による採集などであり (根岸ほか, 2008; 環境省, 2014)、特に河川改修などによる生息地の喪失は、流水に生息する種に与える影響が大きく、止水に生息する種と比較して絶滅の恐れが高いとされている (根岸ほか, 2008)。また、淡水魚類の一種であるタナゴ類は、イシガイ科の殻の内部に産卵する寄生者であるが、宿主であるイシガイ科貝類の減少に伴い、急速に個体数を減少させている (北村, 2008; Kitamura *et al.*, 2012)。そのため、イシガイ科貝類の保全は、淡水生態系全体の保全にもつながる喫緊の課題である。イシガイ科貝類の保全・管理を行う上で、少なくとも対象となる種の分類学的位置の確定、その種の分布および遺伝的多様性の情報が必要であるが (Froufe *et al.*, 2017)、いまだにイシガイ科貝類ではこのような基礎的情報の知見が乏しいのが現状である。

近年、盛んに行われている分子系統解析は、日本のイシガイ科貝類の分類学的知見を大きく改善した。Sano *et al.* (2017) は、日本に分布するイシガイ目貝類 18 種の 16SrDNA の部分塩基配列を解析し、日本産イシガイ科貝類が幼生形態によってイシガイ亜科 *Unioninae* と

ニシウネヌマガイ亜科 *Gonideinae* に区別されるとする近藤 (2015) の見解を支持した。また、イシガイ *Nodularia douglasiae* では分子系統・系統地理学的研究が行われ、従来の分類・分布域が大きく再編されることとなった (Klishko *et al.*, 2017)。イシガイは比較的個体数が多い普通種であるが、このような大きな知見が得られたことは、日本産イシガイ科貝類の分布および遺伝的多様性の全容についてはいまだ明らかでないことを示している。また、地域的に大きな遺伝的変異が見られたことは、日本が地史的に特殊であることも影響していると考えられる。

日本列島における淡水生物相は、アジア大陸との接続と分離、盛んな造山活動による地理的障壁、氷期と間氷期が繰り返される気候変動に大きな影響を受け、固有性・地域性のある生物相が成立してきた (Watanabe *et al.*, 2017)。淡水生物は分散が陸水域に限られるため、地理的に隔離されやすく地域間での遺伝的分化が進んでいる (Avice, 2000)。そのため、保全単位のひとつである進化的に重要な単位 (Evolutionary Significant Unit: ESU) は、種より下の地域系統である場合が多い。イシガイ科貝類においても ESU は種では無く、その下の地域系統であることが示唆されている (Froufe *et al.*, 2014; Froufe *et al.*, 2017)。先行研究で示された日本に異所的に分布する種の存在は、イシガイ科貝類に潜在的に多くの地域固有の遺伝的特徴を持った地域系統 (ESU) が存在していることを示唆している。ゆえに、イシガイ科貝類の効果的な保全計画は、進化的に重要な単位 (ESU) および地域在来の個体群を特定し、種ごとの遺伝的多様性の特性に応じて、保全・管理を促進するよう努力すべきである (Lopes-Lima *et al.*, 2017b)。

イシガイ科貝類の分類において大きな問題となるのが、重要な分類形質である殻形態の高い変異性と類似性である。イシガイ科貝類の殻形態は非常に可塑性が高く、環境要因によって容易に貝殻形態を変化させる (Watters, 1994; Haag, 2007)。実際に、殻形態に基づいて同定を行った研究では、多くの誤同定が生じている可能性が示唆されている (Froufe *et al.*, 2017)。日本におけるイシガイ科貝類の保全に関する研究は主に生態学的観点から行われて

きたが (稲留・山本, 2012; 三浦ほか, 2014; 中野ほか, 2017), これらの研究において誤同定が生じている可能性は否定できない. すなわち殻形態のみによる同定は, 種多様性を過小評価し, 保全生態学的観点からも重大な問題である. さらに, 非常に可変的な殻形態により同定を行うことは, 外来種を絶滅危惧種として誤認してしまう恐れもはらんでいる (Saito *et al.*, 2018). 殻形態による分類が困難な種には DNA マーカーを用いた分子同定が有効であるものの (Froufe *et al.*, 2014), 保全生態学的研究や市民調査などで分子同定を行うことはいまだ一般的ではない. そのため, 殻形態だけでなく, 異なる識別形質を用いた正確な同定法が必要である.

以上のことから, 本研究ではイシガイ科貝類の保全を目的とした以下の研究を行った. 第 1 章では, 日本産イシガイ科貝類の中で特に減少傾向が強い流水生種の網羅的なサンプリングを行い, ミトコンドリア DNA (mtDNA) の塩基配列変異を調べることにより, 種ごとの詳細な遺伝的多様性を明らかにした. 第 2 章では, 軟体部の形質について再検討を行い, 出水管形態が有効な識別形質であることを明らかにし, 非侵襲的かつ正確な同定が可能であることを示した. 第 3 章では, 第 1 章において顕著な遺伝的変異が確認された絶滅危惧種オトコタテボシガイ種群について, 殻形態および遺伝的変異から再検討を行い, その分類学的位置について議論を行った.

## 第1章 流水生イシガイ類における地域系統の特定

アジア地域は 228 種のイシガイ目貝類が生息し、世界的に見ても種多様性が高いことが知られている (Zieritz *et al.*, 2018). 日本にはイシガイ亜科 Unioninae とニシウネヌマガイ亜科 Gonideinae の 2 亜科 16 種が分布し、イシガイ亜科は 7 属 12 種、ニシウネヌマガイ亜科は 4 属 4 種で構成される (Kondo, 2008; 近藤, 2015) (表 1-1). 両亜科はグロキディウム幼生の形態が異なることによって区別され、イシガイ亜科の幼生は亜三角形で刺状突起と幼生糸があり、ニシウネヌマガイ亜科の幼生は楕円形または円形で、刺状突起を持たない (近藤, 2015; Sano *et al.*, 2017). 日本産イシガイ科貝類 16 種のうち、少なくとも 11 種が日本固有種であることから (Kondo, 2008; 近藤, 2015), 日本はイシガイ科貝類の固有性が高く保全上重要な地域であるといえる.

根岸ほか (2008) は日本に生息するイシガイ科貝類を、その生息環境によって流水生と止水生の種に大きく分けた (表 1-1). すなわち、流水生種をオトコタテボシガイ *Inversiunio reinianus*, ヨコハマシジラガイ *Inversiunio jokohamensis*, ニセマツカサガイ *Inversiunio yanagawensis*, トンガリササノハガイ *Lanceolaria grayii*, オバエボシガイ *Inversidens brandti*, カタハガイ *Obovalis omiensis*, マツカサガイ *Pronodularia japonensis* の 7 種と定義した. ただし、流水生とした種には琵琶湖など止水域にも生息する種 (オトコタテボシガイ, トンガリササノハガイ, オバエボシガイ) が含まれており、用語の定義に曖昧な部分があった. そのため、今後は「止水域にも生息するが主に流水域に生息する種」を流水生種, 「流水域にも生息するが主に止水域にも生息する種」を止水生種として定義し、議論を進める.

流水生種のうち、トンガリササノハガイは東海地方から琵琶湖、九州北部までに分布し、最近では、本来の分布域外である埼玉県から人為的に移入された個体群が報告されている (金沢・松本, 2008; 三浦・藤岡, 2015). オトコタテボシガイ・ヨコハマシジラガイ・ニセマツカサガイの 3 種はオトコタテボシガイ属 *Inversiunio* に属し、ヨコハマシジラガイは日本

海側では青森県から島根県、佐渡島、太平洋側では北海道南西部から三重県までに分布し、ニセマツカサガイは滋賀県から瀬戸内海周辺地域、および山口県日本海側、九州、種子島に分布している。一方、オトコタテボシガイは琵琶湖のみに分布する琵琶湖固有種である。マツカサガイは日本産イシガイ科貝類のうち、最も広範囲に分布する種のひとつであり、青森県を北限とする本州・四国・九州に分布する。カタハガイは新潟県北部から福井までの日本海側、東海地方から九州北部まで分布し、埼玉県からは人為的な移入による個体が採集されている（三浦, 2015）。オバエボシガイは愛知・富山県以西の本州、および九州に分布する。

このように、流水生イシガイ類は種ごとに異なった分布パターンを示し、地理的障壁を越えて分布している例もある（図 1-1）。例えば、津軽海峡はマツカサガイの分布北限となっているが、ヨコハマシジラガイは北海道にも分布している。本州中部を南北に横切るフォッサマグナは、トンガリササノハガイ、オバエボシガイの分布の東限となっているが、ヨコハマシジラガイ、マツカサガイ、カタハガイはそれらが分布の境界とはなっていない。種特異な地理的分布パターンは、種ごとに異なる分布域形成史を表していると考えられる。また、異なる生物地理的障壁を横断して分布していることは、潜在的に遺伝的固有性の高い集団が異所的に存在する可能性を示唆する。さらに、同じ地理的領域においてもイシガイ科貝類は種特異な分布パターンを持つ場合があるため、保全計画は種間の遺伝的構造や多様性の共通性を明らかにする必要がある（Lopes-Lima *et al.*, 2017; Froufe *et al.*, 2017）。

イシガイ科貝類の減少要因として、生息場所の破壊、水質汚濁、侵略的外来種の侵入などがあげられる（根岸, 2008; 環境省, 2014）。イシガイ科貝類では止水生の種よりも流水生種の方が水質汚濁、河川改修などの環境劣化に敏感であり（根岸, 2008）、流水生種の減少傾向には流水生種特有の生態学的特性によるものが大きいと考えられている。このことは流水生種の中でも特に流水に生息する傾向の強いニセマツカサガイ、カタハガイが絶滅危惧II類と評価され（環境省, 2018）、他の流水生種に比べ減少傾向が強いことから支持される。こう

した環境改変による個体数の減少は、種の直接的な絶滅要因になるだけでなく、地域固有の遺伝的多様性を低下させていると考えられる。イシガイ類の多様性が非常に高い北米では、系統地理学的・遺伝的多様性に関する研究が多く行われ (Inoue *et al.*, 2010; Lane *et al.* 2016; Hewitt *et al.*, 2018; Pieri *et al.*, 2018), 最近ではヨーロッパにおいても盛んである (Froufe *et al.*, 2016; Froufe *et al.*, 2017). 他方、日本では, Sano *et al.* (2017) によって日本に分布するイシガイ目貝類の 16SrDNA の部分塩基配列が解析され, 独立種として扱われてきたオトコタテボシガイとニセマツカサガイが遺伝的に区別できないことが明らかとなり, 異なる DNA マーカーによる解析の必要性が強調された。また, イシガイ属 *Nodularia* では, 国内と国外産個体の分類学的検討が行われ, 琵琶湖にタテボシガイ *N. douglasiae biwae* が, 日本全国にイシガイ *N. douglasiae nipponensis* が生息しているとした従来の見解 (紀平ほか, 2009) を否定し, 西日本および大陸には *N. douglasiae* が分布し, 東日本には *N. nipponensis* が分布していることを明らかにした (Klishko *et al.*, 2017). イシガイは日本産イシガイ科貝類の中でも, 日本全国に分布する比較的生息数が多い普通種であることから, 他のイシガイ科貝類でも分類・分布域が大きく変更される可能性が示唆される。しかし, 日本におけるイシガイ科貝類の系統地理・遺伝的多様性は一部の種を除き, いまだ未解明のままである。また, イシガイ科貝類の殻形態は可塑性が大きく, 形態的に近似した種間では多くの誤同定が生じている (第 2 章). 分布域の決定はこれまで主に殻形態によって行われてきたため, 分布域の誤認が起こっている可能性が高い。保全計画は各種の現在の分布と個体群の大きさに関する情報が保全の優先順位を定める必要があるため (Lopes-Lima *et al.*, 2017; Froufe *et al.*, 2017), 誤同定による分布域の誤認は保全計画に悪影響を与えると考えられる。

また, 人為的な移入による遺伝的攪乱はいまだ評価が不十分である。Shirai *et al.* (2010) は琵琶湖固有種であるイケチョウガイ *Sinohyriopsis schlegelii* が, 大陸から移入されたヒレイケチョウガイ *S. cumingii* と交雑していることを示した。ヒレイケチョウガイのように国外から移入された種に関しては, 早期に発見が可能でモニタリングも行いやすい。他方, 分

布域内における外来系統の移入, 「Cryptic invasions」いわゆる「見えない外来種」は, 交雑を通してその地域集団が持っている遺伝的固有性を消失させることにより, 遺伝的多様性の保全上重大な問題である (Morales & Reichard, 2018). 現在までに移入が報告されている事例以外にも, 熱帯魚店における販売, 宿主となる魚種の広範囲にわたる人為的移入の実態 (Kitanisi *et al.*, 2016) などを踏まえると, 分布域内における人為的な移入が起こっている可能性は十分に考えられ, 早急な実態把握が望まれる.

以上のことから, 本章では, 絶滅が危惧される流水生イシガイ類を対象として, mtDNA の COI 領域を DNA マーカーとして用いた系統地理学的解析を行い, 詳細な地域系統を把握することにより, 遺伝的多様性を明らかにし保全への基礎的な情報を提供することを目的とする.

## 材料と方法

### サンプリングおよび DNA 抽出

日本列島全域の 67 地点から流水生イシガイ類 7 種 (オトコタテボシガイ: 15 個体, ヨコハマシジラガイ: 84 個体, ニセマツカサガイ: 56 個体, トンガリササノハガイ: 69 個体, マツカサガイ: 184 個体, オバエボシガイ: 21 個体, カタハガイ: 73 個体) 合計 502 個体を採集した (図 1-2). なお, イシガイ科貝類には絶滅危惧種が多く含まれ, 愛好家による乱獲も減少要因のひとつとされているため, 本研究では詳細な産地情報を公開しない. なお, オトコタテボシガイは先行研究においてニセマツカサガイと遺伝的に区別できないことが示唆されていることから, ニセマツカサガイのデータセットに含めて解析を行った.

採集した個体は, 煮沸した湯で軽く茹でた後に, 斧足あるいは閉殻筋から組織片を切り取り, 99%エタノールに入れて固定した. 残りの軟体部は 8%ホルマリンにて固定し, 液浸標本として保存した. 殻は乾燥標本とし, Kondo (2008) を参考に殻形態により同定を行った.

組織片より標準的なフェノールクロロホルム法を用いて、全 DNA を抽出した。

#### 塩基配列の決定

抽出した全 DNA を基に、ミトコンドリア (mt) DNA の COI 領域の部分配列を解析した。PCR 反応には TaKaRa Ex Taq (TaKaRa) キットと PCR サーマルサイクラー TP650 (TaKaRa) を用いて行った。プライマーと PCR 条件は Froufe *et al.* (2014) に従い、LCO22me (5'-GGTCAACAAAYCATAARGATATTGG-3') と HCO700dy (5'-TCAGGGTGACCAAAAAAYCA-3') のプライマーセット (Walker *et al.*, 2016) を使用して、F 型 COI 遺伝子を ~620bp まで増幅した。PCR 条件は、94°C で 2 分間行った後、94°C で 1 分間、アニーリング温度 50°C で 1 分間、72°C で 1 分間のサイクルを 35 回行い、最後に 72°C で 7 分間伸長させた。PCR 産物は 1% アガロースゲル上で電気泳動して増幅を確認し、PCR 産物の精製は、PEG (ポリエチレングリコール) 溶液 (20% PEG 6000, 2.5M NaCl) を用いて行った。シーケンス反応は PCR と同じフォワードプライマーを使用し、マクロジェン・ジャパン社に委託することによって行い、Applied Biosystems 3730xl を用いてダイレクトシーケンス法により配列を決定した。

#### データ解析

得られた波形データは MEGA7.0 (Kumar *et al.*, 2016) にて確認を行い、同じく MEGA7.0 パッケージ中の ClustalW (Thompson *et al.*, 2002) を用いてアライメントを行った。同じく Mega7.0 を用いて配列をアミノ酸に翻訳し、塩基の挿入・欠失および終始コドンがないことをすべての種において確認した。それぞれの種または種群ごとにデータセットを作成し、外群としてヌマガイ *Sinanodonta lauta*, ドブガイモドキ *Pletholophus tenuis*, トンガリササノハガイ九州集団 *Lanceolaria sp.* の各 1 個体の塩基配列を新たに決定し、GenBank から利用可能な COI 領域の配列をダウンロードし、データセットに加え、解析を行った。系統樹は最尤 (ML) 法およびベイズ (BI) 法により作成した。最尤 (ML) 法では赤池情報量基準の下で

MEGA7.0 を用い最適なモデルを選択した。選択されたモデルを基に, MEGA7.0 を用いて系統樹の作成を行い, 1000 回反復のブートストラップ解析によって, 系統樹の信頼性の評価を行った。ベイズ法による推定は, ベイズ情報量基準の下で jModeltest 2.1.8 (Darriba *et al.* 2012) により最適なモデルを選択した。選択されたモデルを基に, MrBayes v3.2.6 (Darriba *et al.* 2012) を用いて行った。マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) 法で系統樹を推定し, 100 世代ごとに系統樹のサンプリングを行い, 5,000,000 世代を繰り返し解析した。Tracer v.1.6 (Rambaut *et al.* 2014) を用いて, パラメーターの収束と推定値がすべて 200 以上であることを確認した後, 初めの 10%の系統樹を burn-in として切り捨て, 残りを系統樹の推定, 事後確率の算出に用いた。

MEGA7.0 を用いて Kimura's 2-parameter (K2P) モデルにより遺伝的距離を評価し, DnaSP v5 (Librado & Rozas, 2009) を用いてハプロタイプを推定した後, ハプロタイプ数, およびハプロタイプ多様度を算出した。PopART v.1.7 (Leigh & Bryant, 2015) パッケージ内の TCS アルゴリズムにより, 95%信頼限界でハプロタイプネットワーク図を作成した。

## 結果

### 系統解析および遺伝的多様性

#### ヨコハマシジラガイ

15 地点 84 個体のヨコハマシジラガイから 12 個のハプロタイプが検出され, ハプロタイプ多様度は 0.814 であり, 最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 614bp であった(表 1-3)。最尤法, ベイズ法解析には, モデル選択において最適なモデルとされた HKY+I モデルを選択した。最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ, よく支持された (ML/BI, 88/0.96) 2 つの主要なクレード (A, B) が認識された (図 1-3)。クレード B ではサブクレードが認識されなかったが, クレード A では 2 つのサブクレード (Aa, Ab) が見られた (図 1-3)。クレード A,B 間の遺伝的距離 (p-distance) は 1.5%であっ

た (表 1-2). サブクレード Aa,Ab を構成するハプロタイプは, 前者では新潟以北の本州日本海側と北海道南東部から福島までの太平洋側, 後者では新潟以南から鳥取県までの本州日本海側にかけて分布し, それぞれ北海道-東北系統, 北陸-中国系統と地理的に区別可能であった (表 1-3; 図 1-4). 一方, クレード B を構成するハプロタイプは, 青森県太平洋側, 関東地方, 東海地方にかけて分布しており (東北-東海系統), 関東地方と三重では単一の固有のハプロタイプのみが分布していた (表 1-3, 図 1-4). 太平洋側に位置する姉沼, 宮城では, 北海道-東北系統と東北-東海系統を構成するハプロタイプが同所的に分布し, 新潟 (上越) では北海道-東北系統と北陸-中国系統のハプロタイプが確認された (表 1-3, 図 1-4). また, 姉沼では固有のハプロタイプが多く確認され, 本種で検出されたハプロタイプ 12 個のうち, 5 個 (41.6%) が姉沼から確認された (表 1-3). クレード A, B を構成する主要なハプロタイプは 7-8 個のステップで結びついていた (図 1-4). 三重固有のハプロタイプである II10 は, B クレードのハプロタイプとステップが 3-4 個離れていた.

#### ニセマツカサガイ

14 地点 64 個体のニセマツカサガイから 19 個のハプロタイプが検出され, ハプロタイプ多様度は 0.8813 であり, 最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 614bp であった (表 1-4). なお, 殻形態によりオトコタテボシガイと同定した 16 個体のうち 2 個体は, 得られた配列について BLAST による相同性検索を行った結果, 遠縁の系統である *Lamprotula leaii* と 99% の相同性を有していたため, 系統解析には用いなかった. この 2 個体を含めたオトコタテボシガイの分類学的位置については第 3 章にて議論を行う. 最尤法, ベイズ法解析には, モデル選択において最適なモデルとされた HKY+G モデルを選択した. 最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ, いずれのクレードの支持率は低かったものの, 4 つの単系統となる地域固有な系統 (クレード A, B, C, D) が認められた (図 1-5). クレード B, C, D はそれぞれ近畿・中国・四国 (西日本系統), 三重 (東海系統),

九州西岸（九州系統）に分布するハプロタイプで構成されていた（図 1-6）. クレード A は琵琶湖内にもみ分布するハプロタイプで構成されたが、琵琶湖・淀川水系の一部である京都府桂川水系では西日本系統が確認された. それぞれの地域系統を構成するハプロタイプが同所的に分布することはなかった. また、過去に本種の記録がある山口県・大分県・宮崎県・鳥取県（大分県, 2012; 近藤, 2015）で採集された個体は、いずれもマツカサガイでありニセマツカサガイは確認されなかった. 日本海側流入河川では広島県江の川水系のみで本種の分布が確認された. 一方、近畿地方以東にニセマツカサガイは分布していないとされていたが（増田・内山, 2004; Kondo, 2008）、三重の一地点において大きく分化した固有の地域系統が確認され、東海地方にも本種が分布することが明らかとなった. 本種の各クレードはそれぞれ深く分岐し、遺伝的距離は 2.1~3.1%であった（表 1-2）. ハプロタイプネットワークは、主要なクレードに対応する 4 つのハプログループが認識され、地理的分布と遺伝構造がよく一致した（図 1-6）. それぞれのクレードに対応するハプロタイプは、互いに 10 ステップ程度で連結した「ダンベル」型の樹形を示した.

#### トンガリササノハガイ

15 地点 69 個体のトンガリササノハガイから 12 個のハプロタイプが検出され、ハプロタイプ多様度は 0.7242 であり、最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 619bp であった（表 1-5）. モデル選択では、最尤法では TN93+I モデルが、ベイズ法では HKY+I モデルがそれぞれ選択された. 最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ、よく支持された（ML/BI, 100/1.0）1 つのクレードのみが認識された（図 1-7）. ハプロタイプネットワークでは主要なハプロタイプ LG1 から 1 ステップでつながった低頻度のハプロタイプが複数見られる星型の樹形をしていた（図 1-8）. LG1 は東海地方・琵琶湖・近畿地方に広く分布しており、明確な地域ごとの遺伝的構造が見られることはなかった. また、国内移入が報告されている埼玉の集団からは、2 つのハプロタイプ LG5, LG7 が検出さ

れ, LG5 は岐阜 (養老) , 三重 (伊賀) および岡山, LG7 は岡山にのみ分布していたハプロタイプであった.

#### マツカサガイ

40 地点 184 個体のマツカサガイから 48 個のハプロタイプが検出され, ハプロタイプ多様度は 0.9575 であり, 最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 615bp であった (表 1-6). モデル選択では, 最尤法では TN93+I モデルが, ベイズ法では HKY+I モデルがそれぞれ選択された. 最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ, よく支持された 4 つの主要な単系統となる地域系統 (クレード A, B, C, D) が認識された (図 1-9). また, クレード C およびクレード D はよく支持された 2 つのサブクレード (Ca・Cd; Da・Dd) が見られた (図 1-9). クレード A は主に大分県~和歌山県までの瀬戸内海周辺地域, 近畿地方および鳥取県から青森県までの日本海側に分布するハプロタイプで構成され, 本種の中で最大のクレードであった. クレード B は大分県を除いた九州地方北部, および山口県西部日本海側の 5 地点にハプロタイプが分布した. クレード C は関東地方から青森県までの太平洋側に分布する 3 個のハプロタイプで構成され, サブクレード Ca は岩手以北, サブクレード Cb は宮城以南に分布するハプロタイプで構成されていた. クレード D は最も初期に分岐し, 東海地方に分布するハプロタイプで構成された. クレード D も 2 つのサブクレードに分かれたが, ハプロタイプの分布に明瞭な地理的構造は認められなかった. クレード C およびクレード D は大きく分化しており, クレード A との遺伝的距離はそれぞれ 4.1% と 5.3% であったが, クレード B の遺伝的距離は小さく, 1.9% であった (表 1-2). このように, 4 つのクレード A, B, C, D のハプロタイプの分布は地理的にまとまっており (図 1-10), それぞれ瀬戸内-日本海側系統, 九州系統, 東日本太平洋側系統, 東海系統の 4 つの地域系統が認識された.

ハプロタイプネットワークは, 系統解析からの結果を強く支持し, 4 つの地域系統に対応

するハプロタイプの樹形が認められた (図 1-10). クレード A,D に対応する主要なハプロタイプ PJ10・11, 23 からは 1~3 ステップにより連結された, 低頻度のハプロタイプが複数確認され「星型」の樹形を示した. 一方, クレード B,C では星型の形状は示さず, 「ダンベル」型の樹形をしていた. クレード A の中心付近のハプロタイプ PJ23 は琵琶湖周辺地域に分布するものであり (表 1-6), 類似のハプロタイプは瀬戸内海周辺に広く分布していた. 日本海側と青森のハプロタイプの一部 (それぞれ PJ6・28, PJ1-3) は福井集団を除き, 1~4 ステップでクレード A の他のハプロタイプから分離されたが, 香川・大分など瀬戸内海地域の集団も同じか類似したハプロタイプを共有しており, 明確な地理的構造は確認できなかった. 一方, 福井に分布するハプロタイプ (PJ32, 37) はそれぞれ固有のハプロタイプであった. 青森 (東通) の一地点でのみクレード A を構成するハプロタイプとクレード C を構成するハプロタイプが同所的に分布していた. このうち, クレード A のハプロタイプは, 日本海側集団のハプロタイプと類似したハプロタイプであった.

#### カタハガイ

12 地点 73 個体のカタハガイから 12 個のハプロタイプが検出され, ハプロタイプ多様度は 0.9026 であり, 最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 614bp であった (表 1-7). 最尤法, ベイズ法解析には, モデル選択において最適なモデルとされた HKY+I モデルを共に選択した. 最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ, よく支持された 3 つの主要な単系統となる地域系統 (クレード A, B, C) が認識された (図 1-11). クレード A, B, C はそれぞれ瀬戸内海周辺地域 (瀬戸内系統), 東海地方 (東海系統), 北陸~新潟 (東北-北陸系統) に分布するハプロタイプで構成されていた. しかしながら, 瀬戸内系統が在来系統である滋賀 (木之本・米原) では, 東海系統のハプロタイプが, 15 個体中 7 個体 (46.6%) から認められた. また, 東海系統が分布する岐阜 (岐阜市) では, 3 個体中 1 個体 (33.3%) から日本海系統のハプロタイプが認められた. クレード C は最初に分岐

したクレードであり、クレード A との遺伝的距離は 4.5%であった (表 1-2). ハプロタイプネットワークは、地域系統をよく反映した 3 つの顕著な遺伝的地理構造が見られ、A と B, A と C はそれぞれ 12 個と 21 個のステップで分離された (図 1-12). 低頻度のハプロタイプが多く見られることは無く「ダンベル」型の樹形を示した.

#### オバエボシガイ

10 地点 21 個体のオバエボシガイから 9 個のハプロタイプが検出され、ハプロタイプ多様度は 0.8048 であり、最終的な mtDNA COI 領域のアライメント長は 634bp であった (表 1-8). 最尤法ベイズ法解析には、モデル選択において最適なモデルとされた HKY+I モデルを選択した. 最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られ、よく支持された (ML/BI, 100/1.0) 1 つのクレードのみが認識された (図 1-13). ハプロタイプネットワークは、主要なハプロタイプから低頻度のハプロタイプが複数見られる典型的な星型の樹形をしていた (図 1-14). 主要なハプロタイプである IB2 は近畿・琵琶湖・東海に分布し、地域ごとに遺伝的構造が見られることはなかったが、岡山では固有のハプロタイプが分布していた.

#### 考察

本研究において、日本における流水生イシガイ類の系統、遺伝的多様性、および生物地理が初めてあきらかとなった.

#### 各種ごとの集団構造

##### ヨコハマシジラガイ

本種からは遺伝的分化が小さい Aa, Ab, B の 3 つの単系統となる地域系統が認められた. それぞれの地域系統はおおむね異所的に分布しており、地域固有の系統であることが示唆

された。一方、上越、姉沼、宮城では、別の地域系統のハプロタイプが確認された。日本海-太平洋側北部系統の日本海側における分布南限が新潟（上越）であり、日本海側南部系統の分布北限も同様に上越であることから、この 2 系統はこの地域周辺において二次的な接触を起こしていると考えられた。青森県東部（姉沼）、宮城でも日本海-太平洋側北部系統と太平洋側南部系統が同所的に分布しており、東北地方太平洋側において二次的な接触を起こしていると考えられる。興味深いことに、青森県東部における地域系統の二次的な接触はマツカサガイでも見られ（後述）、おそらく同様な地史的イベントを背景とした集団の縮小と拡大があったことが示唆される。多数の地域集団が存在するメダカ種群 *Oryzias* spp.においても、青森県東部における集団同士の接触は確認されていないため（Takehana *et al.*, 2003）、これらのイシガイ類に特異的な分布域形成史が存在したことが推測される。また、太平洋側南部系統では、三重・関東地方（栃木・埼玉）において固有のハプロタイプを持った集団が認められた。栃木と埼玉の集団は距離的に離れており、それぞれ別の水系であるにも関わらず、単一のハプロタイプしか確認されなかったことは、関東地方において本種の遺伝的多様性が減少している可能性が考えられる。加えて、三重集団はハプロタイプネットワークにおいて他のハプロタイプとやや離れており、遺伝的に分化しつつあることが示された。これらのことから、本種の中でも太平洋側南部系統の集団が、保全上重要であることが考えられた。

北海道と本州の間には津軽海峡が、中部地方にはフォッサマグナが存在し、それぞれ重要な生物地理学上の境界として知られている。しかし、北海道、青森および上越集団の一部は、これらの地理的障壁を越え、同一のハプロタイプを共有していた。また、太平洋側南部系統も青森・関東・東海に分布しており、地理的な遺伝的構造を持たなかった。このことは集団間において頻繁に遺伝的交流があることを示唆している。イシガイ科貝類は、幼生期に魚類に寄生している状態であれば高塩分でも生存することが可能であり、海域や汽水域を介した他水系への分散の可能性が示唆されている（伊藤ほか, 2016a）。また、本研究におい

て本種の供試個体を採集した地点は、15 地点中 12 地点において海岸から 3km 以内の水路や湖沼であった。さらに、3km 以上内陸で生息を確認した三重および埼玉・栃木集団は、すべてその地域固有のハプロタイプを持っており、遺伝的に隔離されている可能性が高いと考えられた。このため、本種は他種と比べて例外的に幼生期の塩分耐性が高く、高い分散能力を持つため、集団間での遺伝的分化が小さいのかもしれない。ただし、異なる地域系統のハプロタイプが確認された姉沼では、琵琶湖固有種であるイケチヨウガイの移植が行われており（白井, 2008）、曖昧な地理構造は、本種の個体の多くが人為的に移入されていることを反映している可能性がある。

従来、ヨコハマシジラガイの日本海側における分布南限は兵庫県東部であるとされてきた（増田・内山, 2004; Kondo, 2008）。しかし、本研究の結果、ニセマツカサガイの記録がある鳥取県東部 2 地点の個体は、いずれもヨコハマシジラガイであったため、本種の日本海側における分布南限は鳥取県であることが示唆された。また、島根県からニセマツカサガイの記録があるが（島根県, 2014）、本研究では広島県江の川水系を除いてニセマツカサガイが日本海側流入河川から確認されることはなかったため、島根県から記録されたニセマツカサガイは本種の誤同定の可能性がある。鳥取・島根県レッドデータブック（鳥取県生物学会編, 2012; 島根県, 2014）では既往研究に基づき、ニセマツカサガイとして本種が掲載されており、保全上の観点から改善されるべきである。

#### ニセマツカサガイ

ニセマツカサガイでは、互いに遺伝的分化が大きい 4 つの地域系統が確認された。近縁種であるヨコハマシジラガイと対照的に、それぞれの地域系統は地理的分布と遺伝構造がよく一致していた。クレード A は琵琶湖のみから確認され、ニセマツカサガイと近縁であったことから、Sano *et al.* (2017) においてオトコタテボシガイとされた系統であると推測された。先行研究では mtDNA の 16sRNA 領域の部分配列を用いて解析を行い、オトコタテボシ

ガイとニセマツカサガイは遺伝的に区別できなかったことが示されたが、COI 領域の解析ではオトコタテボシガイは単系統群であることが強く支持された (ML/BI, 100/1.0). 西日本系統は主に瀬戸内海東部地域で確認され、東海系統は三重からのみ確認された。東海系統はその遺伝的分化の大きさから、A, B グループよりもかなり初期に分岐した系統であることが推定された。多くの淡水魚類では、瀬戸内海東部、東海地方がひとつの生物地理領域区分であり、その境界にあたる鈴鹿山脈は顕著な地理的障壁であることが知られている (Takehana *et al.*, 2003; Kitanishi *et al.*, 2016; Tominaga *et al.*; 2016). このため、西日本系統と東海系統の遺伝的分岐においても、鈴鹿山脈が地理的障壁として非常に重要であったと考えられる。

本研究において分布域を網羅したサンプリングを行った結果、本種における生息記録には多くの誤同定が含まれていることが明らかになった。よって、本種の分布域は大きく縮小する可能性が高く、保全優先度はより高くなると考えられる。また、意外なことに三重県からは新たに本種の分布が確認された。これまで発見されなかった要因として、殻形態が近似するヨコハマシジラガイが東海地方に分布していることに関連していると思われる。実際に、オトコタテボシガイ属の分類学的検討を行った Kondo (1998) において、ヨコハマシジラガイとされた員弁川水系の個体は、同地点の個体 (U-761-762.2) を解析した結果、本種ではなくヨコハマシジラガイであった。東海地方のオトコタテボシガイ属の生息状況を詳述した木村・中西 (1997) では、90 年代の時点でオトコタテボシガイ属が確認された地点は 7 地点しかなかったとしている。この 7 地点のうち 1 地点は、前述の員弁川水系であるため、東海地方における本種の生息地はさらに限られることになる。東海系統は三重 1 地点でのみしか確認できず、また供試した 17 個体はすべて同じハプロタイプを共有していた。したがって、東海系統は生息地がきわめて限定され、遺伝的多様性も低いことが予想される。本種が確認された三重県および東海地方の自治体では、本種の生息を前提とした保全対策は取られておらず、早急な分布・生態学的調査が望まれる。また、三重県櫛田川水系では、タナゴ類とイシガイ類の種間関係を調査した研究が知られているが (Kitamura, 2007)、本種

が三重県でも確認されたことにより、正確な種同定による再解析が必要であるかもしれない。

#### トンガリササノハガイ

人為的に移入された埼玉県の個体群からは 2 つのハプロタイプ (LG5, LG7) が確認された。一般的に移入個体群はボトルネック効果を受けることにより遺伝的多様性が低下する (Sakai *et al.*, 2001)。7 個体という少数の解析にも関わらず、複数のハプロタイプが存在したことは、この地点における移入が複数回かつ多数個体によって行われたことを示唆する。さらに、この 2 つのハプロタイプがそれぞれ岡山県の個体群と共有されていたことは、埼玉県の個体群が岡山県から移入された可能性が高いことを示すと考えられる。ただし、LG5 は養老・伊賀の個体群と共有されており、明確な移入先を特定することはできなかった。あるいは、養老・伊賀の個体群も移入であるのかもしれない。

本種のハプロタイプネットワークは典型的な星型の形状を示し、解析を行った流水性イシガイ類のうち、本種のハプロタイプ多様度が最も低かったことから、最近のボトルネックを受けた後に急速に分布を拡大したことが示唆された。この要因として、更新世中期以降の氷期における寒冷化と乾燥化による集団サイズの変動が考えられる。主要なハプロタイプ LG1 は近畿・琵琶湖・東海地方で共有され、これらの地域がレフュジアとしての機能を果たしていたことを示唆している。特に琵琶湖は更新世中期以降の西日本における淡水魚の重要なレフュジアとして機能したことが明らかとなっており (Tabata *et al.*, 2016)、琵琶湖周辺地域が本種のレフュジアとして機能した可能性が高い。このことは現在でも本種が琵琶湖内において優占していることから支持される。おそらく本種は、更新世中期以降の氷期における寒冷化と乾燥化により、琵琶湖周辺地域に分布域が制限されることにより集団サイズを縮小させ、遺伝的多様度も低下した。その後、最終氷期以降の温暖化に伴い分布を拡大したものと考えられる。本種は更新世中期に現在は分布していない岩手県まで分

布していたことが明らかとなっており（木下・都鳥, 1993）, 更新世中期以降に本種の分布域縮小と拡大が生じたことが支持される.

#### マツカサガイ

マツカサガイは流水性イシガイ類のうち最も広域に分布する種であり, その分布域の広さを反映して, よく支持された地理的にまとまった 4 つの単系統群となる地域系統が確認された. これらの 4 系統のうち B クレードは A クレードとの遺伝的距離が小さいものの, C,D クレードについては, 特に A クレードとの遺伝的距離が大きかった ( $p\text{-distance}>3.8\%$ ). これはイシガイ科において種間の閾値に相当する (Prié & Puillandre, 2014). このため, 本種に見られる大きな遺伝的分化はそれぞれが独立種となる可能性を示唆する. マツカサガイに現在用いられている学名 *Pronodularia japonensis* は, 「Japan」を模式産地として記載されたものであり (Lea, 1859), 詳細な産地は明らかではない. そのため, *P. japonensis* がどの地域集団に当たるのかは不明である. 今後は, 殻形態が近似している *I. jokohamensis* およびそのシノニムである *I. haconensis* を含めて慎重な分類学的検討が行われるべきだろう. なお, 予備的に行った解析では各集団間において殻形態による差異は見出せなかった (瀬尾, 未発表).

日本海-瀬戸内系統のうち, 瀬戸内海周辺地域におけるハプロタイプの分布には地域性は見られなかった. 瀬戸内海周辺地域でも琵琶湖周辺地域に分布するハプロタイプとの共有が見られたことから, 人為的な移入が起こっている可能性は否定できない. ただしこれはトンガリササノハガイで見られたような, 琵琶湖周辺地域をレフュジアとした最近の集団の分布縮小と拡大が生じたことを示している可能性もある. 主に日本海側に分布するハプロタイプは遺伝的多様性が乏しく, 少数のハプロタイプが広範囲に分布していた. このような本州日本海側における遺伝的多様性の乏しい種の広域な分布は, メダカ種群でも報告されており, 日本海の淡水化に伴う急速な分布の拡大を示している可能性が示唆されてい

る (Takehana *et al.*, 2003). 他方, 鳥取では主に瀬戸内海西部地域に分布するハプロタイプ PJ28 が分布しており, 日本海側に分布する他のハプロタイプも, 瀬戸内海西部地域に分布するハプロタイプと類似したハプロタイプを共有していた. これはごく最近まで日本海側の集団が瀬戸内海西部地域の集団と遺伝的交流があったことを示している. 最終氷期 (約 3~2 万年前) における関門海峡付近の陸化と日本海の淡水化は, 瀬戸内海西部集団の日本海側への侵入と拡大を容易にしたかもしれない. ただし, 同じ日本海側の集団でも, 福井県の集団がもつハプロタイプ (PJ32, 38) は固有のものであり, 滋賀県から野坂山地を介した福井県への独立した侵入があった可能性が示された.

山口県北西部から九州北部では, 後期更新世以降の中国・英彦山地による隔離と古瀬戸内水系の存在が, 淡水魚類の分布域形成に大きな影響を及ぼしたとされている (Watanabe *et al.*, 2017). 本種においても九州系統の山口県北西部における分布, 地理的に近接した大分県における日本海-瀬戸内系統の存在は, これらの淡水魚類の生物地理分布パターン (北川ほか, 2004; Kitanishi *et al.*, 2016) とよく一致する. 興味深いことに, 本種の宿主である (Kondo, 1989; 伊藤ほか, 2016b) オイカワ *Opsariichthys platypus* と, イシガイ科貝類に産卵 (寄生) するニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* は, 同様の生物地理分布パターンを持つことが知られている (Tominaga *et al.*, 2016; Miyake *et al.*, 2011). このため, マツカサガイの遺伝的地理構造は, 宿主となる淡水魚類だけでなく, イシガイ科貝類に寄生するタナゴ類の遺伝的地理構造に影響を及ぼしていると考えられた.

東北太平洋側系統は検出されたハプロタイプが少なかった. 岩手県の更新世中期の地層からは, トンガリササノハガイと共に本種の化石が報告されており (木下・都鳥, 1993), 確認されたハプロタイプの少なさは, 最終氷期における集団サイズの縮小に伴うものかもしれない. 2 つのサブクレードは地理的に対応しており, それぞれ保全上重要な地域系統の存在を示唆している. また, 青森県東部における A グループとの同所的な分布は, ヨコハマシジラガイと同様な地理的分布パターンであり, 本種においてもこの地域における集団の二

次的な接触が生じて居る可能性が示唆された。

東海系統は最も初期に分岐した系統であったが、同じく東海地方に生息するトウカイヨシノボリ *Rhinogobius* sp.TO も比較的初期に分化したことが示唆されている (Yamazaki *et al.*, 2015)。ヨシノボリ類もマツカサガイの宿主となる種群であり (Kondo, 2008)、両者とも池沼や細流など似た環境に生息する。トウカイヨシノボリでは鮮新統から更新世中期まで存在した東海湖が分化に影響を及ぼしたことが示唆されており (Yamazaki *et al.*, 2015)、マツカサガイ東海集団でも東海湖の存在が分化を生じさせたのかもれない。また、2つのサブクレードのハプロタイプは明確な地理的構造を持たなかった。この2系統間における分岐の深さは、おそらく長期間の集団の隔離を示しており、前期更新世以降の養老山地の形成、三河高地の隆起、間氷期の海面上昇による平野部の減少が、この2系統の遺伝的分化の要因になった可能性がある。一方で、氷期における海退期には、東海地方における水系は多くが接続されていたと考えられており (森山, 2004)、淡水魚類では接続された古水系を介した遺伝的交流があったことが示唆されている (Watanabe & Mori, 2008)。東海系統でも海水面上昇による生息地の減少に伴う集団の隔離と、古水系の接続による遺伝的交流が、サブクレードに対応した地理的分布を喪失させる要因になったと考えられる。

#### カタハガイ

北陸・東海・瀬戸内海地域に対応するよく支持された3つのクレードが確認された。クレード間は遺伝的に大きく異なっており、特にCクレードの分岐は深かった (A:C=4.5%)。マツカサガイの項で述べた通り、この値は種間に相当する値であるため、Cクレードは別種に相当するかもしれない。*Obovalis omiensis* の模式産地は「Omi =近江 (滋賀県)」であり (Heimburg, 1884)、瀬戸内系統に相当すると考えられる。北陸・東海地域では、本種に該当すると考えられる種は記載されていないため、遺伝的分化が大きかったCクレードの分類学的検討が必要である。

各系統は地理的によく対応していたが、3 地点において異なるクレードに属するハプロタイプが確認された。このうち滋賀県東部の 2 地点では東海系統のハプロタイプが確認された。標本が得られた場所は水田地帯であり、人為的なかく乱が大きいと推測される場所であった。このことは、この地点における東海系統のハプロタイプの分布は人為的移入による可能性が高いことを示している。ただし、滋賀県と東海地方の間には重要な生物地理的障壁である鈴鹿山脈が存在するものの、比較的距離が近いこと、異なる系統のハプロタイプの分布は、二次的接触によるものなのか人為的な移入によるものなのかについて議論がある (Kakioka *et al.*, 2013)。今度、詳細な遺伝解析が求められる。一方、岐阜市で確認されたハプロタイプは、日本海系統のハプロタイプであり、東海地方における分布は地理的分布パターンを反映していない。そのため、東海系統が分布する岐阜市では東北-北陸系統の人為的な移入による遺伝的かく乱が生じている可能性が高いことが示唆された。

九州有明海周辺地域に本種が分布していることはよく知られているが (福岡県, 2012; 近藤, 2015)、今回検討を行うことが出来なかった。これらの地域は淡水魚の固有種/固有系統が多く (Takehana *et al.*, 2003; Miyake *et al.*, 2011; Watanabe *et al.*, 2014)、本研究においてもニセマツカサガイ・マツカサガイは、九州地方に固有の系統が分布することが明らかとなった。そのため、本種でも九州地方において固有の系統が生息している可能性がある。生息が確認されなかったことは九州地方における本種の強い減少傾向を反映している可能性があり、早急な分布および遺伝的多様性の調査が必要である。

#### オバエボシガイ

オバエボシガイのハプロタイプネットワークはトンガリササノハガイと同様に星型の形状を示した。おそらく本種でも氷期に分布域が縮小し遺伝的多様性が低下した後、分布域の拡大が起こったものと推測される。オバエボシガイは本研究において最も確認された地点数および個体数が少なかったものの、比較的ハプロタイプ多様度は高かった。一方で、本

種もカタハガイと同様に九州有明海周辺地域にも生息することが知られているが、検討を行うことはできなかった。本種は各地域における顕著な遺伝的分化は確認されなかったものの、距離的に離れた岡山県には固有のハプロタイプが分布していることから、九州地方の個体群が固有の遺伝的特徴を持つことを示唆しているかもしれない。九州地方と同様に分布の辺縁に位置する北陸地方および広島県 (Kondo, 2008) の生息状況を踏まえた、保全状態の再評価がすみやかに行われるべきだと考えられる。

#### 結論と今後の方向性

本章では、網羅的なサンプリングと mtDNA の COI 領域の部分配列の解析により、流水生イシガイ類の包括的なデータセットを作成し、系統地理学的検討および遺伝的多様性の評価を行った。その結果、流水生イシガイ類はそれぞれの種ごとに地域固有性が高い系統が見いだされた。すなわち、ヨコハマシジラガイ:2 系統、ニセマツカサガイ:4 系統、マツカサガイ:4 系統、カタハガイ:3 系統である。種内系統の異なる地理的分布パターンは、おそらく種ごとの日本への侵入時期、生態学的特徴および地史的背景を要因として形成されていると考えられる。また、イシガイ科の宿主となる魚類-イシガイ科貝類の地域集団-タナゴ亜科魚類のそれぞれの分布はよく一致した。このような宿主と寄生者の分布の一致は、それぞれの寄生者の高い宿主特異性を示唆している。マツカサガイではそれぞれの地域ごとに選択する宿主が異なることが知られており (Kondo, 1989; 近藤ほか, 2011; 伊藤ほか, 2016b)、宿主魚類との地域特有の共進化の存在が明らかとなるかもしれない。

地域集団の絶滅は、遺伝的多様性の減少だけでなく、古環境や地質情報などの歴史情報、進化史の喪失にもつながるため、保全上の価値が強調される (Koizumi *et al.*, 2012)。そのため、少なくとも 1 つの地域系統ごとに、進化的に重要な単位、あるいは管理単位として保全が行われるべきだと考える。マツカサガイ・カタハガイでは大きく遺伝的に異なった系統が確認され、隠蔽種が存在する可能性が示唆された。本研究では、COI 領域の部分配列のみを

行ったが、今後は、核DNAマーカー、形態形質、生殖的隔離などを含めた慎重な分類学的検討が行われるべきである。さらに、マイクロサテライト解析は、各集団における詳細な集団構造および遺伝的多様性を評価する上で有用だろう。カタハガイでは、人為的な移入による遺伝的攪乱が起こっている可能性が高いことが明らかとなったが、このような遺伝的攪乱の詳細な検討にも、マイクロサテライト解析は役立つと考えられる。いずれにしても、本章において新たに示された分類・分布域・遺伝的多様性は、日本における流水生イシガイ類の総合的な保全に向けた第一歩であり、今後の更なる解析により、より効果的な保全を行うことが可能になるだろう。

## 第2章 軟体部の検討による新たな分類形質の探索

種の保全を行なう上でまず必要なことは、保全対象である種を正しく同定し、認識することである。貝類における種の同定は主に殻形態により行われるが、イシガイ科貝類では同定はしばしば困難である。なぜならイシガイ科貝類は流速や底質などの環境要因によって、容易に貝殻形態を変化させるためである (Watters, 1994; Haag, 2007)。実際に、イシガイ科貝類の殻形態による種同定にはかなりの誤りが含まれており、誤同定を無くす努力を行うことが保全や管理計画の向上につながるとされている (Shea *et al.*, 2011)。また、イシガイ科に対する同定能力は経験によって変化しうるため、市民調査などでは多くの誤同定を生じている可能性がある (Shea *et al.*, 2011)。したがって、簡易かつ正確な種同定を行えるようにすることが、市民参加型の保全活動にとって有益であると考えられる。このように、イシガイ科貝類の同定は、不確実である可能性が示唆されているにも関わらず、殻形態が重視されがちであり、これまで軟体部の形質が分類形質として重視されることは少なかった。最近では、Klishko *et al.* (2017) のように詳細な解析を行い、水管形態の差異などを有効な分類形質とした研究も行われているが、日本においてイシガイ科の軟体部の形態的特徴を、分類形質として検討した研究はない。Harada & Nishino (1995) は水管の形態によってシジミ類の種同定が可能であることを報告しているが、日本産イシガイ科において水管形態による同定が可能であるかはこれまで検討されていない。また、グロキディウム幼生形態によっても亜科間の分類は可能であるが (Kondo, 1982)、抱卵したメス個体でない限り同定を行うことはできない。一方で、殻形態による同定が困難な種に対しては、分子マーカーを用いた分子同定が近年では行われており、この手法はイシガイ科においても有効であることが示唆されている (Zieritz *et al.*, 2016)。

オトコタテボシガイ属 *Inversiunio* はイシガイ科 Unioninae に属し、オトコタテボシガイ *I. reinianus*、ニセマツカサガイ *I. yanagawensis*、ヨコハマシジラガイ *I. jokohamensis*、*I.*

*verrucosus* の 4 種が知られている (Kondo *et al.*, 2007; Kondo, 2008). 日本では北海道以南から三重, 鳥取までの東日本に分布するヨコハマシジラガイ, 近畿以西から種子島までの西日本に分布するニセマツカサガイ, 琵琶湖・淀川水系固有種であるオトコタテボシガイの 3 種が知られている (Kondo, 2008). 一方, マツカサガイ *Pronodularia japonensis* はニシウネヌマガイ亜科 *Gonideinae* に属し, 青森以南の日本全国に広く分布する (Kondo, 2008). オトコタテボシガイ属のうち, オトコタテボシガイを除いたヨコハマシジラガイ, ニセマツカサガイとマツカサガイは主に流水環境に生息し, 生息地によっては同所的に生息する (根岸ほか, 2008). オトコタテボシガイ属の全種とマツカサガイは, いずれも絶滅の恐れがある種とされているが, 琵琶湖固有種であるオトコタテボシガイおよび流水環境に生息する傾向の強いニセマツカサガイは, マツカサガイよりも保全の優先度が高い (環境省, 2014). オトコタテボシガイ属とマツカサガイは, 同所的に生息することもあることに加え, 殻形態が近似していることから, 同定はしばしば困難である.

以上のことから, 本研究では殻形態が近似しているオトコタテボシガイ属とマツカサガイに対し, 分子同定による種同定を行うと共に, 軟体部の形態の検討を行うことにより, 軟体部における分類形質を明確にし, 簡易かつ正確な種同定を行えるようにすることによって, 保全に資することを目的として研究を行った.

## 材料と方法

2016–17 年に北海道南部以南の日本全国 33 地点からサンプリングを行った. 各調査地からオトコタテボシガイ属もしくはマツカサガイと同定される種を採集し, 計 47 個体を解析に用いた (表 2-1). なお, 分類学的位置に問題があるオトコタテボシガイについては (第 1, 3 章参照), 先行研究である Sano *et al.*, (2017) の見解に基づき, 便宜的にニセマツカサガイ

に近縁な系統をオトコタテボシガイと同定し解析を行った。採集した個体は持ち帰った後、熱湯で軽く茹でた後、斧足の一部もしくは閉殻筋の一部を切り取り、99%エタノールに保存した。残りの軟体部は 8%ホルマリンによって固定した。軟体部は実体顕微鏡を用いて観察し分析した。

エタノールに保存した斧足もしくは閉殻筋の一部から、一般的なフェノールクロロホルム法によって全ゲノム DNA を抽出した。PCR 条件は Froufe *et al.* (2016) の方法に従い、F 型ミトコンドリア DNA の cytochrome c oxidase subunit I (COI) 領域を対象に、LCO22me2 + HCO700dy2 (Walker *et al.*, 2006) のプライマーを用い、アニーリング温度を 50°C として増幅した。PCR 産物は精製し、同じプライマーを用いてマクロジェン・ジャパンに委託することにより、塩基配列を決定した。

新たに決定した配列に加え、DNA データベースである GenBank より、マツカサガイの F 型 mtDNA 配列 (AB055625), およびアウトグループとして *Margaritifera laevis* (KU763221) の配列を比較解析に用いた。その後、得られた配列を MEGA 7.0 (Kumar *et al.*, 2016) 中の Clustal W (Thompson *et al.*, 2002) を用いてアライメントを行い、整列したデータセットはトリミングを行い、最終的に 614 bp を解析に用いた。系統樹は MEGA 7.0 によって K2P 距離を用いた NJ 法により作成した。1000 回のリサンプリングによるブートストラップ解析により、ブートストラップ確率を求めた。同じく Mega7.0 を用いて配列分散 (uncorrected p-distance) を評価した。

## 結果

殻形態による同定、解剖、分子同定の結果を表 2-1 に示す。採集した個体は殻形態から Kondo (2008), 増田・内山 (2004) を参考に、オトコタテボシガイ属とマツカサガイを同定し、オトコタテボシガイ属はオトコタテボシガイ 6 個体、ヨコハマシジラガイ 11 個体、ニセマツカサガイ 15 個体の計 31 個体、マツカサガイ 15 個体と同定した (表 2-1, 2-2)。

イシガイ科の軟体部の後部には入水管、出水管および肛門が存在する。このうち出水管の形態を検討した結果、オトコタテボシガイ属とマツカサガイでは 2 つの形態的特徴が観察された。TypeA では出水管の水管口はおおむね黒色であり、水管口に対して平行に内部に行くにつれ、黄褐色に変化していた。水管内部は数個以上のこぶ状の突起が見られた (図 2-1A)。生体では開口部の乳頭状突起は白色でごく短く、こぶ状であった (図 2-1B)。TypeB では、出水管は水管口に対して垂直に黄色と黒色の縞状の色彩を有していた (図 2-1C)。水管内部は平滑であり、生体では開口部の乳頭状突起は黄色で細長く、紡錘形であった (図 2-1D)。TypeA の形態的特徴が観察されたのは、殻形態によりマツカサガイと同定した 15 個体に加え、ヨコハマシジラガイと同定した 2 個体およびニセマツカサガイと同定した 7 個体であった (表 2-2)。TypeB の形態的特徴を有した個体は、殻形態によりオトコタテボシガイ属に同定した 31 個体のうち 23 個体のみであり、残りの 9 個体は TypeA の特徴を有していた (表 2-2)。TypeA と TypeB のそれぞれの形質は安定しており、中間的な形態を有した個体はなく、地理的な変異は観察されなかった。

解析の結果、クレードは大きく Clade A と Clade B の 2 つにわかれ、それぞれ単系統であったが、Clade B ではさらに Clade Ba, Bb の 2 つのサブクレードを構成した (図 2-2)。Clade A に含まれた個体は 24 個体、Clade B に含まれた個体は 23 個体であった (表 2-2)。それぞれのクレード間のブートストラップ値はいずれも 100 と、高い信頼度で支持された。Clade A にはマツカサガイの F 型 mtDNA の配列が含まれた。Clade A と Clade B 間の p-distance の値は最大で 18.6%であった。これはマツカサガイの F 型 mtDNA と M 型 mtDNA 間の p-distance の値よりも明らかに低いことから (Doucet-Beaupré *et al.*, 2010)、Clade B はマツカサガイの m 型 mtDNA の配列ではなかった。また、Clade A には形態的特徴によって、マツカサガイと同定した全ての個体に加え、ヨコハマシジラガイと同定した 2 個体、ニセマツカサガイと同定した 7 個体の計 9 個体が含まれた (表 2-2)。Clade B は殻形態によりオトコタテボシガイ属に同定した 32 個体のうち、Clade A に含まれた 9 個体を除く 23 個体から構成された (表

2-2). Ba は殻形態でヨコハマシジラガイと同定した 9 個体であり, Bb はオトコタテボシガイとニセマツカサガイと同定した 14 個体で構成された (表 2-2). ヨコハマシジラガイと同定した個体が Bb に, オトコタテボシガイとニセマツカサガイと同定した個体が Ba に属することはなかった.

## 考察

出水管形態の検討により TypeA と TypeB の 2 通りの形態が観察された. TypeA はマツカサガイと同定した 15 個体と, オトコタテボシガイ属に同定した 9 個体の計 24 個体で確認された. 分子同定では, Clade A にマツカサガイの F 型 mtDNA の配列が含まれたことにより, Clade A はマツカサガイに対応したクレードであることが推測された. Clade A を構成した 24 個体はすべて TypeA であり, TypeB の形態を有した個体はなく, オトコタテボシガイ属と同定したが TypeA の形態を有している 9 個体もすべて Clade A に含まれた. このため, これら 9 個体の結果の相違はマツカサガイをオトコタテボシガイ属と誤同定したことにより生じたと考えるのが妥当であった. ゆえに, TypeA はマツカサガイに固有の形質であることが示唆された. また, 誤同定であると示唆された 9 個体を除いたオトコタテボシガイ属と同定した 23 個体はすべて TypeB であった. Clade B は p-distance の値よりマツカサガイの m 型 mtDNA のクレードでないことが明らかであることから, オトコタテボシガイ属に対応したクレードであると推測された. ゆえに TypeB はオトコタテボシガイ属に固有の形質であると示唆された. また, オトコタテボシガイ属 では, 殻形態による同定と分子同定結果が一致したことから, Ba はヨコハマシジラガイであり, Bb はオトコタテボシガイおよびニセマツカサガイと考えられた. なお, 今回の検討では出水管形態以外に軟体部において有効な分類形質を見出すことはできなかった.

以上のことにより, オトコタテボシガイ属とマツカサガイ間において出水管形態は有効

な分類形質であると考えられ、改めてイシガイ科貝類において誤同定が起りやすいことが示唆された。したがって、過去に行われた研究は誤同定に基づいた結果を含んでいる可能性があり、今後は正しい同定に基づいた再検証が必要である。例えば、ニセマツカサガイは保全優先度が高いものの、いくつかの個体はより保全優先度の低いマツカサガイと誤同定されていた。これは種の分布や個体群の状態を正確に反映していない可能性を示しており、種多様性の正確な把握が急がれるだろう。

オトコタテボシガイ属とマツカサガイの出水管形態には明瞭な差異が見られ、有効な識別形質であることが明らかとなった。しかしながら、水管形態が亜科間や種間においても、系統関係を反映する分類形質となりうるものではないことに注意する必要がある。例えば、本研究ではマツカサガイにおいて水管内部にこぶ状の突起が見られたが、Klishko *et al.* (2018) ではイシガイ亜科の種にこぶ状の突起が見られたことを報告している。また、オトコタテボシガイ属では、出水管形態に明確な種間差は確認できなかった。このように水管形態に種間差がみられない例は複数報告されている (Araujo *et al.*, 2005; Klishko *et al.*, 2017)。このため、出水管形態は少なくとも亜科間や種間における有効な分類形質となるものではなく、一部の種に対してのみ有効であると考えられる。

以上の点を踏まえても、出水管形態が種を正しく識別し、認識するものとして有効な形質であることに変わりはない。特に、殻形態は変異が大きく誤同定が起こったのに対し、出水管形態は変異が小さく容易に種を同定できた点は、今後の日本産イシガイ科貝類の種多様性を把握する上で意義が大きいと思われる。また、生体時にも出水管形態の差異が明瞭に観察された点も注目すべきである。今回は水管形態の詳細な解剖を行うために標本の作成を行ったが、将来的には絶滅危惧種であるオトコタテボシガイ属とマツカサガイでは非侵襲的な同定法が求められる。イシガイ科貝類は、水を入れた小型プラスチックケースなどに個体を入れた場合、比較的短時間で出水管形態を観察することが可能である。そのため、生体に対する水管形態による同定は、環境アセスメントや市民調査などにおいて、簡易

かつ非侵襲的で確実な同定方法として用いられることが期待される。一方で、これら水管形態による同定は生体でのみしか行うことができない。加えて、フィールドや博物館標本では、殻のみしか検討できない場合が多い。そのため、詳細な解析による殻形態による新たな識別形質の探索も必要だろう。Sayenko *et al.* (2017) では、遺伝子解析と詳細な殻形態の解析を行い、新たな分類形質を殻形態から発見している。本研究では、殻形態の詳細な解析は行わなかったため、これらは今後の課題である。

日本産イシガイ科貝類のうち、ドブガイ属 *Sinanodonta* は、本研究において対象とした種よりも殻形態がより近似しており、さらに種同定が困難である。これらの種に対しても軟体部・殻形態の検討と分子同定による識別形質の探索、すなわち分類学上の問題を解決することが、危機的状況にある日本産イシガイ科貝類の保全につながると考えられる。

### 第3章 オトコタテボシガイ *Inversiunio reinianus* の分類学的再検討

イシガイ亜科オトコタテボシガイ属 *Inversiunio* は、韓国から日本に分布し、オトコタテボシガイ *Inversiunio reinianus*, ニセマツカサガイ *I. yanagawensis*, ヨコハマシジラガイ *I. jokohamensis*, *I. verrucosus* の4種が知られる (Kondo *et al.*, 2007; Kondo, 2008). オトコタテボシガイ *I. reinianus* は、琵琶湖・淀川水系固有種であり、主に琵琶湖の湖周の礫～砂底に生息している (Kondo, 2008; 紀平, 2009). 近年、湖沼・河川開発により生息場所が破壊されたことなどにより減少傾向にあり、絶滅危惧II類に指定されている (環境省編, 2014).

オトコタテボシガイに用いられている学名の *I. reinianus* は Kobelt (1879) によって、「Lake Biwa (=琵琶湖)」から採集された標本に基づき *Unio reinianus* として記載された。主に殻高が低く細長いこと、右殻の擬主歯が後側歯と平行になることによって特徴づけられる(図3-1F, 3-5F)。一方、Haas は琵琶湖の下流にあたる地域「Yamashiro (=京都市山城区)」から、1911年にセタイシガイ *I. hirasei* を *Nodularia hirasei* として記載した (Haas, 1911a)。記載後すぐに Haas は両者の殻形態の類似性について言及し、*Unio reinianus* を *Nodularia* へ移す一方、*I. reinianus* は *I. hirasei* の「極端な湖沼型」であるとして、独立種であることを主張した (Haas, 1911b)。その後、1970年代頃までセタイシガイは擬主歯が後側歯と平行にならないとして、別種とする見解が多かったが (平瀬, 1934; 黒田, 1947; 黒田, 1962), Haas 自身が *I. hirasei* を *I. reinianus* のシノニムとして以降 (Haas, 1969), *I. hirasei* は独立種として認めないことで見解は一致している (波部, 1977; Kondo, 2008; 紀平ほか, 2009)。Haas (1969) では *I. reinianus* の属名の変更が行われ、*I. reinianus* は *Inversidens* に移された。しかし、*Inversidens* の模式種であるオバエボシ *Inversidens brandti* と *I. reinianus* では、グロキディウム幼生の形態が異なることが明らかとなったため (Kondo, 1982), 幼生形態が三角形で腹縁に棘状突起があること、すなわちイシガイ亜科の形態であることを特徴とし、*I. reinianus* を模式種としてオトコタテボシガイ属 *Inversiunio* が創設された (波部, 1991a,b)。また、韓国には最近記載された

*Pronodularia seomjinensis* が分布し、グロキディウム幼生がニシウネヌマガイ亜科の形態的特徴を持つ一方で、*I. reinianus* との殻形態の類似性が指摘されているが (Kondo *et al.*, 2007), 原記載以降, 再検討されたことはない。

mtDNA の COI 領域に基づく解析を行った第 1 章では, オトコタテボシガイが単系統群であることが示された。オトコタテボシガイはニセマツカサガイと形態的に明確に区別できることから, 原記載以降, 一貫して独立種として扱われており, 第 1 章の結果もこの見解を支持する。しかし, 16SrDNA の部分配列を解析した先行研究では, ニセマツカサガイとオトコタテボシガイは遺伝的に区別できないとされ (Sano *et al.*, 2017), COI 領域の系統樹でも, ニセマツカサガイ近畿系統とオトコタテボシガイは姉妹群となり, 遺伝的に近縁あることが示唆された。このため, オトコタテボシガイを独立種とすることに疑問が生じている。また, 第 1 章では, 形態的にオトコタテボシガイと同定した 16 個体のうち 2 個体の塩基配列型が, *Lamprotula leaii* の配列型にほぼ一致することが確認された。*L. leaii* は中国からベトナムに分布し (He & Zhuang, 2013; Do *et al.*, 2018), イシガイ亜科ではなくニシウネヌマガイ亜科 Gonideinae ガマノセガイ属 *Lamprotula* に属する (Lopes-Lima *et al.*, 2017a)。さらに, 殻表に顕著なこぶ状突起を有し (He & Zhuang, 2013), 殻表が平滑なオトコタテボシガイとはまったく形態が異なる。このような形態分類と分子系統の不一致は, 種間交雑に伴う mtDNA の遺伝子浸透による結果かもしれない。琵琶湖固有種のイケチョウガイ *Sinohyriopsis schlegelii* と大陸産のヒレイケチョウガイ *S. cumingii* は容易に交雑し, 交雑種はヒレイケチョウガイ の形態形質を強く発現することが報告されている (Sirai *et al.*, 2010)。

琵琶湖は古代湖のひとつであり, 約 400 万年前に現在の琵琶湖の南に古琵琶湖が形成され, 大きさや水深を大きく変化させながら, 約 40 万年前に現在のような規模になったと推定されている (Satoguchi & Nagahashi, 2012)。このような地史的背景から琵琶湖の淡水貝類は高い生物多様性と固有種を有することが知られている (紀平ほか, 2009)。近年までイシガイ科の琵琶湖・淀川水系固有種は, オトコタテボシガイを含む 7 種とされていたが, 最近に

なって分類および分布の再検討が行われた結果、少なくとも 2 種は琵琶湖固有種ではないことが明らかとなっている (Sano *et al.*, 2017)。

以上のことから、オトコタテボシガイの分類学的位置には問題が生じている。オトコタテボシガイは絶滅危惧種であり、保全管理を行う上で正確な種の同定と分類が不可欠である。信頼性の高い種の分類には形態形質と遺伝解析の双方が必要であるが、Sano *et al.* (2017) および第 1 章では、形態形質による検討は行えていない。遺伝子浸透の検討には核 DNA マーカーによる検討が必要であるが、これまで核 DNA マーカーによる検討は行われていない。

したがって、本章では、新たなタクソンサンプリングと mtDNA/核 DNA マーカーを用いて新たに配列を決定し、形態学的・解剖学的に形質を検討することによって、オトコタテボシガイ種群の分類学的位置の検討を行う。

## 材料と方法

### サンプリング

第 1 章にて解析に供したヨコハマシジラガイ・ニセマツカサガイ・オトコタテボシガイ種群に加え、新たにベトナム産 *L. leaii*、マツカサガイ 21 個体、*P. seomjinensis* 計 93 個体を解析に用いた (表 3-1, 図 3-1)。殻の計測には、ヨコハマシジラガイ 20 個体、ニセマツカサガイ 20 個体、オトコタテボシガイ種群 17 個体、*L. leaii* 9 個体、マツカサガイ 21 個体、*P. seomjinensis* 2 個体を用いた。これらのうち、軟体部の検討に 30 個体を用い、18 個体について遺伝的検討を行った。なお、*P. seomjinensis* は殻標本のみ、*L. leaii* では殻と閉殻筋の液浸標本しか入手できなかったため、それぞれ軟体部と遺伝解析による検討は行わなかった。

### 形態学的検討

殻は 0.1mm の精度でデジタルノギスを用いて計測した。計測を行った部位は殻長と殻高である。軟体部の検討は生時と固定後に行った。観察部位は第 2 章で識別形質として有用で

あることが示された出水管形態である。生時の観察はろ過した水道水を満たした約 20×10×15cm のプラスチックケース内にて行った。その後、軟体部を 5%ホルマリンによって固定し、実体顕微鏡下で詳細に観察した。また、Senckenberg Museum に収蔵されている *I. reinianus*, *I. hirasei* のホロタイプ標本は、MUSSELp ウェブサイト <http://www.mussel-project.net/> で公開されている画像にて殻形態を検討した。

#### DNA の抽出, PCR, シークエンス, 系統樹作成

99%エタノールにて固定した組織片より標準的なフェノールクロロホルム法を用いて、全 DNA を抽出した。第 1 章にて mtDNA の COI 領域の部分配列を決定した、ニセマツカサガイのうち 3 個体、ヨコハマシジラガイ 2 個体、オトコタテボシガイ種群 6 個体に加え、ベトナム産 *L. leaii* 7 個体の COI 領域配列を新たに決定した。核 28S 領域配列では、新たにヨコハマシジラガイ 2 個体、ニセマツカサガイ 2 個体、TypeII 1 個体、マツカサガイ 2 個体、オバエボシ 1 個体、カタハガイ 2 個体の部分配列を決定した。

PCR 反応には TaKaRa Ex Taq (TaKaRa) キットと PCR サーマルサイクラー TP650 (TaKaRa) を用いて行った。プライマーと PCR 条件は Froufe *et al.* (2014) に従い、LCO22me (5'-GGTCAACAAAYCATAARGATATTGG-3') と HCO700dy (5'-TCAGGGTGACCAAAAAAYCA-3') のプライマーセット (Walker *et al.*, 2006) を使用して、F 型 COI 遺伝子を ~620bp まで増幅した。PCR 条件は、94°C で 2 分間行った後、94°C で 1 分間、アニーリング温度 50°C で 1 分間、72°C で 1 分間のサイクルを 35 回行い、最後に 72°C で 7 分間伸長させた。また、28S-rD1.3f (5'-GGATTCCCTYAGTAAGKGC -3 ') および 28S-rD4b (5'-CCTTGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') のプライマーセット (Whiting, 2002) を用いて、各種 1 個体から核 28S 領域の部分塩基配列を増幅させた。PCR 条件はアニーリング温度を 48°C とし、それ以外の条件は COI 領域の増幅と同様に行った。PCR 産物の精製および塩基配列の決定は第 1 章の方法に準じて行った。

得られた波形データは MEGA7.0 (Kumar *et al.*, 2016) にて確認を行い, MEGA7.0 パッケージ中の ClustalW (Thompson *et al.*, 2002) を用いてアライメントを行った. 得られた配列は塩基の挿入・欠失および終始コドンがないことを確認した. 解析には, Genbank に登録されている中国・韓国・ベトナム産 *L. leaii* の COI 領域の配列, および外群として *L. caveata*, カワシンジュガイ *Margaritifera laevis* の配列をデータセットに含めた (表 3-1). 28S 領域配列には, 中国産 *L. leaii* の配列に加え, 外群としてオバエボシ, カタハガイの配列を用い, データセットを作成した (表 3-1).

系統樹は COI 領域のデータセットでは最尤 (ML) 法およびベイズ (BI) 法により作成し, 核 28S 領域配列では最尤法のみで作成した. 最尤法では赤池情報量基準の下で MEGA7.0 を用い最適なモデルを選択した. 選択されたモデルを基に, MEGA7.0 を用いて系統樹の作成を行い, 1000 回反復のブートストラップ解析によって, 系統樹の信頼性の評価を行った. ベイズ法による推定は, ベイズ情報量基準の下で jModeltest 2.1.8 (Darriba *et al.* 2012)により最適なモデルを選択した. 選択されたモデルを基に, MrBayes v3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012)を用いて行った. マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) 法で系統樹を推定し, 100 世代ごとに系統樹のサンプリングを行い, 5,000,000 世代を繰り返し解析した. Tracer v.1.6 (Rambaut *et al.* 2014) を用いて, パラメーターの収束と推定値がすべて 200 以上であることを確認した後, 最初の 10%の系統樹を burn-in として切り捨て, 残りを系統樹の推定, 事後確率の算出に用いた. MEGA7.0 を用いて Kimura's 2- parameter (K2P) モデルにより遺伝的距離を評価した. DnaSP v5 (Librado & Rozas, 2009) を用いてハプロタイプを推定した後, PopART v.1.7 (Leigh & Bryant, 2015) パッケージ内の TCS アルゴリズムにより, 95%信頼限界でハプロタイプネットワーク図を作成した.

## 結果

### 分子および系統解析

アライメントを行った COI 領域の部分配列は 524bp であった。最尤法にはモデル選択において最適なモデルとされた HKY+I モデルを選択し、ベイズ法解析では HKY+G のモデルを選択した。最尤法およびベイズ法により作成した系統樹は互いにほぼ同じ樹形が得られた。最尤法による系統樹を図 3-2 に示す。COI 領域の部分配列による系統樹では、オトコタテボシガイが互いに遠縁なクレード A, B の 2 群に属し、多系統群であることを改めて示した。主要な 2 つのクレードはイシガイ亜科とニシウネヌマガイ亜科に対応し、系統樹の信頼性は高かった。前者が従来オトコタテボシガイとして報告されていた系統 (TypeI)、後者が未報告の系統 (TypeII) であった。TypeI とニセマツカサガイの遺伝的距離は 2.1% であった。一方、TypeII は 3 つの異なる地域 (中国・韓国・ベトナム) の *L. leaii* と共にクレードを構成し、単系統群となった。解析した TypeII の 2 個体は、互いに固有のハプロタイプを有していたものの、遺伝的距離は *L. leaii* にきわめて近かった (p-distance=0.57-1.34%)。ハプロタイプネットワークも顕著な遺伝的地理構造は持たなかった (図 3-3)。

アライメントを行った核 28S 領域の部分配列は 697bp であった。この領域では種間の遺伝的変異が小さく、系統樹の解像度は全体的に低かった (図 3-4)。ヨコハマシジラガイとニセマツカサガイは塩基配列型が同一であった。同様に TypeII とベトナム産 *L. leaii* は塩基配列型が完全に一致し、単系統群となった。一方で、マツカサガイと *L. leaii* クレードは明確に異なるクレードを形成し、COI 領域の系統樹と樹形が明確に異なることはなかった。

## 形態学的検討

### 殻形態

TypeI とニセマツカサガイは、殻が前方に寄り、殻頂から前縁までの長さが殻長の 5 分の 1 以下であることによって区別され、Kondo (2008) の見解を支持した。TypeII とは、より小型であること (最大殻長:66.4mm; TypeII: 72.8mm)、卵形であること、後背縁は肩が張り丸みを帯びること、後側歯がやや湾曲することで区別される (図 3-1, 5-6)。

*I. reinianus* では右殻の擬主歯が後側歯と平行になる点が重要な識別形質とされているが (Haas, 1911a,b), *L. leaii* では擬主歯が後側歯と平行になる/ならない個体が同一集団内で見られた (図 3-7). このことから右殻の擬主歯形態は, 種内変異が大きいと推測され, 種レベルにおける有効な分類形質でないことが明らかとなった. 一方, 左殻の擬主歯形態は, 種間における識別形質として有用であることが近年示唆されている (Klishko *et al.*, 2017). 今回, 検討を行った種群でも左殻の擬主歯形態は安定しており, 擬主歯外側が後側歯に向けて長く伸びる/伸びないタイプの2つのグループが識別された (図 3-8). 前者のグループは, TypeII, *L. leaii*, *P. seomjinensis* (TypeIIグループ) であり (図 3-8e-h), 後者のグループは TypeI, ヨコハマシジラガイ, ニセマツカサガイ, マツカサガイであった (TypeIグループ) (図 3-8a-d). 加えて, 前者のグループは, 殻頂窩から後端へ伸びる内肋が後端付近で明瞭に隆起する (図 3-9e-h), 前閉殻筋痕の右側が畝状に顕著に隆起する点が共通した (図 3-5). 一方, 後者のグループはこれらの形質を有していなかった (図 3-5a-d). また, *I. reinianus*, *I. hirasei* も, Kobelt (1879), Haas (1911b) において図示されたホロタイプ標本, および MUSSELP ウェブサイト上のホロタイプ標本画像から, 左殻の擬主歯や殻内面の特徴が TypeIIグループとよく一致する. 加えて, 標本の状態は悪いものの, *I. reinianus* と形態的特徴が一致する個体も, TypeIIグループの形態的特徴を有していた (図 3-8f, 図 3-9f). よって, 今回検討を行った分類群は, 左殻の擬主歯形態, 殻内面の彫刻の有無により, TypeIグループ (TypeI, ヨコハマシジラガイ, ニセマツカサガイ, マツカサガイ) と TypeIIグループ (TypeII, *I. reinianus*, *I. hirasei*, *L. leaii*, *P. seomjinensis*) に明確に識別された (表 3-3).

#### 出水管形態

TypeIは一般的なオトコタテボシガイ属の出水管形態を持つ (第 2 章参照). すなわち, 出水管は水管口に対して垂直に黄色と黒色の縞状の色彩を有し (図 3-10A), 水管内部は平滑で, 生体では開口部の乳頭状突起は黄色で細長く, 紡錘形であった (図 3-10B). TypeIIでは,

水管口は黄色味が強い橙色であり、水管口に対して平行に、内部に向かって黄褐色に変化する。水管内部はいくつかの橙色のこぶ状の突起が見られる (図 3-10C)。生体では、開口部の乳頭状突起は黄白色で、長さの不揃いな鋸歯状であった (図 3-10D)。これら TypeII の特徴は、遺伝的に近縁なマツカサガイの形態に近似していた (第 2 章)。このように TypeI と TypeII では出水管形態が明確に異なった。

## 考察

### 分類学的位置

分子系統解析はオトコタテボシガイが、それぞれイシガイ亜科とニシウネヌマガイ亜科という異なる系統に属する多系統群であることを示した。TypeI はイシガイ亜科のクレードに属することから、これまで亜三角形の幼生形態をもつとされてきた「オトコタテボシガイ」および「*I. reinianus*」は (Inaba, 1941; 東・林, 1964; Kondo, 1982), すべて TypeI 系統を指しているものと考えられる。TypeII はニシウネヌマガイ亜科のクレードに属し、幼生は楕円形の形態を持つと予想されるが、これまでオトコタテボシガイ *I. reinianus* の幼生が楕円形の形態を持つと報告されたことはない。ただし、琵琶湖内から「マツカサガイ *P. japonensis*」としてニシウネヌマガイ亜科の特徴を持つ幼生が報告されており (Inaba, 1941; 東・林, 1964), このマツカサガイが TypeII である可能性がある。今後、分子同定と幼生形態の慎重な検討が求められる。

イシガイ科貝類は殻形態の相同性が高く、亜科間という遺伝的に遠縁な系統でもしばしば形態が近似する。特に本研究で対象としたガマノセガイ属は、先行研究によって多系統群であることが繰り返し指摘されている (Zhou *et al.*, 2007; Pfeiffer & Graf, 2013)。しかしながら、TypeI と TypeII は殻・水管形態で区別が可能であり、特に水管形態は両者で大きく異なったことから、本分類群においても識別形質として有用であることが明らかとなった。

TypeI は、COI 領域の系統樹においてニセマツカサガイとは異なる単系統群を形成し (第 1

章), 形態的にも区別された. 両者は同一水系に生息し (第 1 章参照), 繁殖期も同時期であることから (Kondo, 2008), TypeI とニセマツカサガイは何らかの生殖的な隔離があるものと推測される. 加えて, TypeI が琵琶湖の止水環境でのみ確認されているのに対し, ニセマツカサガイは流水環境を好んで生息している. さらに, 両者間の遺伝的距離はイシガイ科の他種において推定されている種間の閾値である 2% (Prié & Puillandre, 2014) とおおむね一致した. 以上のことから, TypeI は, ニセマツカサガイから分化した独立種であり, 琵琶湖固有種とするのが妥当であると思われる. ニセマツカサガイとの遺伝的距離の近さは, 琵琶湖の形成・拡大に伴い, TypeI が琵琶湖において急速に進化したことを示しているのかもしれない.

TypeII は *L. leaii* との遺伝的距離 (COI) が 0.8% と遺伝的変異がほぼ見られず, 殻形態の解析でも, 擬主歯と殻内面の形態に共通する形質がみられた. そのため, これら 2 種が同種である可能性が高いことが明らかとなった. また, この形態形質は, *I. reinianus*, *I. hirasei*, *P. seomjinensis* も共に有しており, 検討を行った 4 種が同種である可能性が示唆された. この場合, *L. leaii* (Griffith & Pidgeon, 1833) が最も早く記載された種であるため, *I. reinianus*, *I. hirasei* は *L. leaii* のシノニムとなる. *Inversiumio* のタイプ種は *I. reinianus* であるため, *I. reinianus* が *L. leaii* の同物異名となった場合, オトコタテボシガイ属はタイプ種を失い, また利用可能な属名も存在しない. そのため, *I. reinianus* を除くオトコタテボシガイ属の 3 種には, 新属を提唱する分類学的改訂が必要である. ただし, 今回は分子データに基づいた分子同定によって, *L. leaii* を同定し検討を行ったため, 配列登録標本の誤同定の可能性もありうる. 実際に, *L. leaii* と登録されている配列のひとつ (MG463001) は, 異なるクレードを形成した. 今後は *L. leaii* のタイプ標本の調査も含めたさらなる検討が必要である. 特に *P. seomjinensis* が分布し, 塩基配列型も *L. leaii* と一致した韓国における慎重な分類学的検討が望まれる.

核 28S 領域の系統樹は解像度が低かったものの, COI 領域の系統樹とおおむね一致したこ

とにより, *L. leaii* による遺伝子浸透の可能性は低いと考えられた. しかしながら, 今回はサンプル数が限られているため, 今後は複数の核 DNA マーカーを用いた遺伝子浸透の検討が求められる.

#### TypeIIの在来性

TypeIIと *L. leaii* は同一種であることが示されたが, *L. leaii* の分布域は中国からベトナムであり, 琵琶湖における分布は本来の分布域から大きく逸脱し, 一般的な淡水生物の地理的分布パターンを反映していない. また, 琵琶湖固有種であるイケチヨウガイと, 中国に分布するヒレイケチヨウガイの遺伝的距離 (COI: p-distance) は 3.1%であり (瀬尾, 未発表), TypeIIと *L. leaii* 間の遺伝的距離がごく小さいことが強調される. このことから, TypeIIは本来の分布域である中国大陸から, 琵琶湖に移入された外来種である可能性が示唆される. しかしながら, *I. reinianus* は 1879 年に記載されており, 仮に人為的移入であったならば近世期における国外移入により定着したことになる. 長時間の移動が必要であった近世期には, 淡水生物の移入は起こりにくいことが予想されるが, 遺伝解析の普及に伴い, 淡水魚類では近世期における人為的移入が強く示唆される例が知られるようになってきた (Kano *et al.*, 2011 Kano *et al.*, 2018). 特にコイ *Cyprinus carpio* の大陸からの導入は 200 年以上前である可能性が高いことが示唆されており (馬淵, 2014), 宿主となり得るコイの導入に伴い, TypeIIの祖先集団が移入された可能性は否定できない. イシガイ科貝類のうち, 侵略的外来種とみなされている *Sinanodonta woodiana* の侵入が, 主にコイ科魚類の導入によって起こっていることも (Watters, 1997; Bernal *et al.*, 2016), この見解を支持する. また, イシガイ科貝類は淡水真珠養殖や貝ボタンの生産に用いられることから産業上重要であり, 明治時代以降, 多くのイシガイ科貝類が輸入された. 詳細な年代は不明ながらも奈良県の近現代遺跡からは, 貝ボタン製作に用いられた大量のガマノセガイ属の一種 *Lamprotula* sp.の貝殻が発掘されている (山崎, 2010). さらに, 1917 年には現在の中国河北省から, 琵琶湖周辺地域に

「*Quadrula bagini*」なる種を約 2800 個体移植した記録がある（古川・栗野, 1969）。この「*Quadrula bagini*」はおそらく *Lamprotula bazini* を指しているものと思われ、形態的な類似性から *L. leaii* の誤同定であったとしてもおかしくはない。このように宿主の移入以外にも直接的な個体の移入の可能性は十分に考えられ、複合的な要因による導入圧の高さが、TypeII 集団の定着につながった可能性がある。これは TypeII 個体がそれぞれ固有のハプロタイプを持つことから支持される。

TypeII が人為的移入を起源とする *L. leaii* の一集団である可能性が強く示唆される一方で、自然分散による在来種であることを明確に否定することはできない。人為的移入による遺伝的変異は、ボトルネックを伴う最近の自然分散から区別することは一般的に困難である（Kano *et al.*, 2018）。*L. leaii* は地理的に離れた中国とベトナムの集団間においても遺伝的距離はごく小さく（表 3-2）、高い分散能力により頻繁な遺伝子流動が起こっている可能性を示している。最終氷期には、海水面が低下したことにより九州西岸付近に古黄河水系の河口が存在し、汽水環境に生息する多くの種が日本へと分布を拡大させた（佐藤 編, 2000）。*L. leaii* に汽水環境に対する耐性があるならば、ハゼ科などの両側性魚類の分布拡大に伴い、日本へと分散を行うことは可能であったかもしれない。また、TypeII と同種であることが示唆された *P. seomjinensis* が韓国に生息すること、西日本に分布するイシガイ *Nodularia douglasiae* が、中国からロシアに分布する種と同種であること（Klishko *et al.*, 2017）もこの仮説を支持する。加えて、約 50 万年前の古琵琶湖層群からは「オトコタテボシガイ *I. reinianus*」として化石記録が存在する（Matsuoka, 1987）。以上のことより、*L. leaii* が日本に分布していても矛盾はないと思われる。ゆえに、本研究では TypeII を明確に外来種であると結論づけることは困難であった。*L. leaii* の在来分布域におけるサンプリングと、詳細な遺伝解析による TypeII との塩基配列型の比較、化石記録の精査が今後必要である。

学名と和名について

TypeIは擬主歯が後側歯と平行にならないことから、和名セタイシガイと呼ばれていた種に形態的特徴が近似する。セタイシガイの和名は滋賀県水産試験場 編 (1914) によって新称され、標本も図示されている。図示標本をみると卵形で肩が張り丸みを帯びることで、TypeIの形態に近似するが、擬主歯が後側歯と平行であること、腹縁が丸みがかかる点はTypeIIに近似する。さらに、形態の記載文には「普通体形 殻長一寸9分 (= 約 57mm)」とあり、TypeIとしては大型である。このため、「セタイシガイ」の和名が指す種を断定することはできなかった。また、近年では明らかに TypeIに同定される個体に対してオトコタテボシガイの和名が用いられ (木村・中西, 1997; Kondo, 2008), セタイシガイが使用されることはないため、現時点で TypeIに対してセタイシガイの和名を使用すべきでないと思われる。一方、TypeIIは、*I. reinianus*, *L. leaii* と同種であることが示唆されたことから、和名オトコタテボシガイを用いるのは不適切であると考えられる。

上記のことから、オトコタテボシガイ種群の和名および学名を、TypeIはニセマツカサガイ琵琶湖型 *Inversiunio* sp., TypeIIではガマンセガイ属の一種 *Lamprotula* sp. と便宜的に提唱する。

#### 保全に向けて

本章では、従来「オトコタテボシガイ」とされてきた TypeIグループが琵琶湖固有種であることを改めて支持した。供試個体のサンプリングで採集された TypeIは 14 個体であったが、1960年代には TypeIと形態的に近似する「セタイシガイ」が、100 m<sup>2</sup>あたり 40 個体以上生息していたことが報告されている (林, 1972)。誤同定が多く含まれている可能性を踏まえても、TypeIの生息数が長期的に減少している可能性は十分に考えられる。本種の正確な生息状況の把握のために、DNA マーカー、水管形態を用いた種同定、生息個体数のモニタリングが早急に求められる。一方、TypeIIは本研究において在来種/外来種かを明らかにすることはできなかった。速やかな在来・外来の判別が必要である。

少なくとも、オトコタテボシガイは 2 系統であり、1 系統は在来種であるのが確実であることから、現在の保全状態の評価（環境省, 2018）には問題がある。将来的には、ニセマツカサガイ琵琶湖型とガマノセガイ属の一種として互いに独立して評価される必要があるだろう。

## 分類

イシガイ科 Unionidae Rafinesque, 1820

イシガイ亜科 Unioninae Rafinesque, 1820

オトコタテボシガイ属 *Inversiunio* Habe, 1991

*Inversiunio* sp. (図 3-1A, 3-5A, 3-6A)

### Synonyms (in the study area)

*Nodularia japonensis* Haas, 1911b, p.85-87. Taf. 8. fig. 6-8.

*Inversidens hirasei* Inaba, 1941, p. 20. pl. 2, fig. 12.

*Inversidens hirasei* 黒田, 1963, p. 299. fig. 39.

*Inversidens reiniana* 東・林, 1964, p. 233. pl. 1, fig. 4-5.

*Inversidens reiniana* Kondo, 1982, p. 197-198. pl. 1, fig. 13-16., pl. 2, fig. 7-8

*Inversidens reinianus* 松岡, 1982, p. 107, fig. 7.

*Inversidens hirasei* 石井, 1990, p. 24.

*Inversiunio reiniana* 木村・中西, p. 47, pl. 1-3.

*Inversiunio reinianus* Kondo, 1998, p. 86, pl. 1, fig. 1-2.

*Inversiunio reinianus* Kondo, 2008, p. 22-23, pl. 2, fig. 1.

*Inversiunio reinianus* 紀平ほか, 2009, p. 96-97.

**形態:** 最大殻長 66.4mm(n=14). 殻は卵形あるいは長卵形, 殻後端は短くやや尖る。殻はやや膨らみ, 腹縁にかけて膨らみが強くなる。殻前端は丸まる個体が多いが, 個体によっては直線的になる。殻頂は前端に寄りわずかに突出する。腹縁は丸みを帯びた直線状, 後背縁は肩が張り, 丸みを帯びる。後背縁の後端付近は湾曲しないか, わずかに湾曲する。幼体時には殻頂から後背縁付近に, 点状から逆 V 字形の彫刻があるが, 成体になるにつれて目立た

なくなる。殻内面は赤から青味がかかった橙色で、光沢があり平滑である。殻頂窩からごく弱い放射肋が後端に向かって伸び、後閉殻筋痕上ではほとんど目立たなくなる。まれに前閉殻筋痕の右側に畝状の隆起がある。擬主歯は三角形で大きく二分される個体が多い。右殻では二分された擬主歯の溝は、後側歯と平行にはならず腹縁方向へと向かう。後側歯はわずかに湾曲し、中央付近は基部が厚くなる。左殻の擬主歯では後背縁側の隆起部分の溝が後端へと向かう。前閉殻筋痕は楕円から耳形、後閉殻筋痕は丸みがかかった三角形から円形である。一般的な *Inversiumio* の出水管形態を持つ。ただし、出水管口の色彩は、白色が強いものから黒色が強いものまで変異が大きい。

**分布:** 琵琶湖。おそらく淀川にも生息していたが、絶滅した。

**他種との比較:** ニセマツカサガイとは、殻が前方に寄り、殻頂から前縁までの長さは殻長の5分の1以下であることによって区別できる。TypeIIとは、より小型であること、肩が張り丸みを帯びること、後側歯がわずかに湾曲し基部が厚くなること、殻内面の放射肋が後背縁付近ではほとんど目立たない点が異なる。また、出水管形態はニセマツカサガイ属 *Inversiumio* に特徴的なものであり、マツカサガイとも出水管形態によって明確に区別できる(第2章)。

ニシウネヌマガイ亜科 *Gonideinae* Ortmann, 1911

ガマノセガイ属 *Lamprotula* Simpson, 1900

*Lamprotula* sp. (図 3-1E, 3-5E, 3-6E)

Synonyms (in the study area)

*Nodularia hirasei* Haas, 1911b, p. 96-97. Taf. 12a. fig. 1-2.

*Nodularia reiniana* Haas, 1911b, p. 97-98. Taf. 10. fig. 1.

*Inversidens reinianus* 平瀬, 1934, p. 6, pl. 9, fig. 7.

*Inversidens hirasei* 平瀬, 1934, p. 7, pl. 9, fig. 8.

*Inversidens hirasei* 松岡, 1982, p. 107, fig. 6.

*Inversidens reiniana* 石井, 1990, p. 24.

**形態:** 最大殻長 72.8mm 以上(n=2). 殻は長卵形, 殻は後方へ長く伸び, やや尖る. 殻の膨らみは弱く, 殻頂にかけて膨らみが強くなることに伴い, 殻頂付近が突出する. 殻前端は直線的で, 殻頂は前端に寄るが, 殻前端付近まで寄ることはない. 腹縁は丸みを帯び, 後背縁は後端が伸長することにより直線状となる. 後背縁の後端付近は湾曲しないか, わずかに湾曲する. 殻頂から後背縁付近に弱い点状の彫刻があるが, 幼体時の彫刻は検討できておらず不明. 殻内面は白色から赤味がかかった橙色で光沢がある. 殻頂窩には微細なハニカム状の彫刻が見られ, 老成すると目立たなくなる. 殻内面の殻頂窩から強い放射肋が後端に向かって伸び, 後閉殻筋痕上では弱まるが, 後端付近で再び隆起する. 個体によっては, 後側歯終端付近からもう 1 本の放射肋が伸び, 後背縁に達しても明瞭である. 前閉殻筋痕の右側には畝状の明瞭な隆起がある. 擬主歯は三角形, 中央付近で二分されることは無く, 数本の溝に分かれる. 右殻では擬主歯の溝は, 後側歯と平行にはならず腹縁方向へと向かう. 後側歯は直線的かわずかに湾曲し, 中央付近の基部は厚くならない. 左殻では擬主歯の後背縁側の隆起が長く伸び, 後側歯と平行になる. 前閉殻筋痕は円形, 後閉殻筋痕は丸みがかつた円形～耳形である. 出水管の水管口はおおむね黄色味が強い橙色であり, 水管口に対して平行に内部に行くにつれ, 黄褐色に変化する. 水管内部はいくつかの橙色のこぶ状の突起が見られる. 生体では, 開口部の乳頭状突起は黄白色で, 長さの不揃いな鋸歯状であった.

**分布:** 琵琶湖. おそらく巨椋池.

**他種との比較:** *L. leaii* とは, 内肋が後背縁付近で顕著に隆起すること, 前閉殻筋痕の右側には畝状の明瞭な隆起があること, 左殻の殻頂側の擬主歯隆起部分が後側歯に向かって長く伸びる点が共通する. また, *L. leaii* では殻頂窩に微細なハニカム状の彫刻が見られる個体が多いことも識別形質のひとつとなりうる可能性がある.

## 総合考察

本研究では、淡水環境の劣化によって絶滅が危惧される日本産イシガイ科貝類について、遺伝的多様性、生物地理、分類を検討し、議論を行った。本章では、本研究において得られた知見を総合的に議論し、保全に向けての提言を行う。

第1章では、減少傾向が強い流水性イシガイ類を対象に mtDNA マーカーを用いた包括的な系統地理学的検討を行い、保全単位となりうる地域系統の特定を行った。その結果、地域系統の地理的分布、遺伝的分化は種によって異なった。本研究では分岐年代推定を行っていないため遺伝的分化の時期の推定には注意が必要であるが、おそらく更新世前期以降の地史的背景、気候の寒冷化・乾燥化が地域集団の成立と動態、集団間の二次的接触に大きな影響を与えたものと推測される。一方、ヨコハマシジラガイ、トンガリササノハガイ、オバエボシガイなどでは、主要な地理的障壁である津軽海峡、フォッサマグナや鈴鹿山脈 (Watanabe *et al.*, 2017) が遺伝的構造に影響を与えていなかった。人為的な影響は排除できないが、イシガイ科貝類のそれぞれの種が形成する種特異な分布域は、日本の淡水生物相の成立過程の解明に新しい知見を提供するものと思われる。

ヨコハマシジラガイ、ニセマツカサガイ、マツカサガイ、カタハガイからは地域固有の系統を確認した。地域系統の絶滅は、遺伝的多様性の減少だけでなく、古環境や地質情報などの歴史情報の喪失にもつながるため、保全上の価値が強調される (Koizumi *et al.*, 2012)。それぞれの種において確認された地域系統を、少なくともひとつの保全単位として個別に管理を行うことが、遺伝的多様性の保全上重要であり、ひいては種全体の保全につながるものと考えられる。さらに、複数の地域系統内で固有のハプロタイプが確認されたため、系統内においても遺伝的分化が起きている可能性が高い。今後はより詳細な遺伝解析により、厳密な保全単位の設定を行うことが必要である。また、マツカサガイ、カタハガイでは遺伝的に顕著に異なる系統が見いだされ、隠蔽種が存在する可能性が示唆された。種の記載に

よる保全対象の明確化は、社会的認知のために効果的であると思われ、今後の分類学的検討が望まれる。

カタハガイでは異なる地域系統のハプロタイプが確認され、国内移入により遺伝的かく乱が起こっている可能性が高いことが明らかとなった。ヨコハマシジラガイでも他系統のハプロタイプが確認される地点が存在し、今後の検討次第ではカタハガイ以外の種においても移入が強く示唆される可能性は十分に考えられる。核 DNA マーカー、マイクロサテライトを用いた解析など、より解像度が高い解析を行うことにより、遺伝子浸透の影響を評価することが必要である。加えて、イシガイ科貝類の移入の一因となっている愛好家による移入に対して、遺伝的かく乱を引き起こすという周知を行い、これ以上の拡散を予防することが必要だろう。また、保全を目的としてイシガイ科貝類の導入が行われる事例があるが（吉見ほか,2018）、異なる地域集団の個体を用いず、その地域固有の集団を保全に用いることが徹底されるべきである。

生物の保全・管理において、限られた人的、時間的、そして経済的資源を有効に活用するためには、優先的に保全していく地域を評価することが必要である（Wilson *et al.* 2009；山ノ内ほか 2016）。まだ、議論の余地はあるが、流水性イシガイ類の地域系統をおおむね把握できたことにより、優先的に保全上していくべき地域・系統が特定できた。特に、①ニセマツカサガイ東海系統；②ヨコハマシジラガイ・マツカサガイ関東系統；③有明海沿岸地域のカタハガイ・オバエボシガイ集団は、遺伝的固有性が高く、遺伝的多様性も低いことが予想されることから、保全優先度は高いと考えられる。また、ニセマツカサガイは従来知られていた分布域よりも分布域が大幅に縮小したため、種レベルでの保全優先度が高まることが明らかとなった。今後の詳細な分布調査、長期的な個体群のモニタリングが、これらの種/集団に対して必要だろう。さらに、将来的には絶滅が強く危惧される種/集団には生息域外保存の検討も行われるべきである。日本産イシガイ科貝類の増殖に関する研究はいくつか存在するが（宮部ほか,2007；幡野・石崎,2016）、いまだ少ないのが現状であり、より効果的

な増殖技術の開発が求められる。

第 2 章では、殻形態の高い可塑性と相同性により同定が困難であったオトコタテボシガイ属とマツカサガイに対して、分子同定と軟体部の検討により識別形質の探索を試みた。その結果、両者は殻形態では誤同定が生じた一方で、出水管形態では明瞭に区別され、出水管形態が識別形質として有用であることが明らかとなった。オトコタテボシガイ種群でも、出水管形態によって 2 種を明確に区別することが可能であったため、出水管形態はイシガイ科貝類に共通して有効な識別形質であることが示唆された。出水管形態は生時でも観察可能であり、市民調査などによる非侵襲的かつ正確なモニタリングを行う上で有効であると考えられる。

タナゴ亜科魚類は、産卵するイシガイ科貝類に選好性があることが知られ（北村, 2008）、イシガイ科貝類の正確な種同定はタナゴ亜科魚類の繁殖行動の解明につながり、保全にも資するものと思われる。正確な種同定手法の開発は妊卵期などの繁殖特性をはじめとした生態学、生理学の研究を行う上で有益であると思われる。また、分子同定では殻形態による同定と異なり正確な種同定が可能であった。将来的には、殻形態による同定だけでなく、分子同定も同時に行われるべきだろう。また、アメリカではグロキディウム幼生の分子同定が行われており（Boyer *et al.*, 2011）、宿主の正確な同定など繁殖特性の解明にも用いられるべきである。

第 3 章では、絶滅危惧種である琵琶湖固有種オトコタテボシガイ *Inversiunio reinianus* に対して分類学的再検討を行い、オトコタテボシガイが TypeI と TypeII の 2 種から構成される多系統群であることを明らかにした。形態・分子同定は、前者がニセマツカサガイに近縁な琵琶湖固有種であり、後者が中国からベトナムに分布する *Lamprotula leaii* であることを示唆した。また、TypeII は、従来オトコタテボシガイとされてきた *I. reinianus*、そのシノニムである *I. hirasei*、そして韓国に分布する *P. seomjinensis* と内肋の隆起、左殻の擬主歯などの形態形質が一致し、これらの種が将来的に *L. leaii* のシノニムとなる可能性を示した。しかし、

TypeIIが外来種であるかについて明確な結論を得ることはできなかった。少なくとも、オトコタテボシガイが多系統群であることは明確なことから、オトコタテボシガイに対する保全評価は今後、再検討が行われるべきである。

以上の、本研究により得られた分類学、解剖学、遺伝学的知見が、今後の日本産イシガイ科貝類の保全・管理に貢献する基礎的な知見となることを期待したい。

## 謝辞

本論文を作成することを含め博士課程の研究では指導教官である近畿大学大学院農学研究科 ジン・タナンゴナン講師に多くのご支援とご指導を賜りました。また、近畿大学 細谷和海名誉教授、近畿大学大学院農学研究科 北川忠生准教授にもご指導いただきました。両先生に深く感謝申し上げます。

大阪教育大学 近藤高貴名誉教授には、貴重なご助言および標本のご提供をいただいた。心より感謝申し上げます。

近畿大学 八嶋勇氣氏には、研究、標本の採集やフィールド調査などすべての面でご協力いただきました。深く感謝申し上げます。

標本の収集を行うにあたり、東北大学大学院 平野尚浩博士、齊藤 匠氏、山崎大志氏、近畿大学農学部 山口達成氏、梅本健琉氏、大北祥太郎氏、三井洸太郎氏、京都大学農学部 澤田直人氏、信州大学大学院 宮井卓人氏、福岡県保健環境研究所 中島 淳博士、高知県 三本健二氏、目黒寄生虫館 高野剛史博士、Vietnam Academy of Science and Technology Dr. Van Tu Do にご協力いただきました。心より感謝申し上げます。

DNA 実験においては、北川忠生准教授のご指導の下、近畿大学大学院農学研究科 入口友香氏にご指導、ご協力いただいた。同時に近畿大学農学部保全生態学研究室の皆様にもご協力いただきました。心より感謝申し上げます。

博士課程に在学中、所属していた環境生態学研究室、水圏生態学研究室に在籍していた先輩、同期、後輩の皆様には幾多の場面でご支援いただき、有意義な博士課程を送ることが出来ました。さらに、ご支援、ご協力を頂きながら、ここにお名前を記すことが出来なかつ

た多くの方々にも心より感謝申し上げます。

最後に、博士課程での研究生活を支援してくれた父，母，弟，祖父に心から感謝します。

## 引用文献

- Araujo, R., Gómez, I. & Machordom, A., 2005. The identity and biology of *Unio mancus* Lamarck, 1819 (= *U. elongatulus*) (Bivalvia: Unionidae) on the Iberian Peninsula. *J. Molluscan Studies*, 71: 25–31.
- Avise, J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*, 464pp. Harvard University Press. Cambridge.
- Bespalaya, Y.V., Bolotov, I.N., Aksenova, O.V., Gofarov, M.Y., Alexander V.Kondakov, A.V. Vikhrev, I.V. & Vinarskic, M.V., 2018. DNA barcoding reveals invasion of two cryptic *Sinanodonta* mussel species (Bivalvia: Unionidae) into the largest Siberian river. *Limnologica*. 69: 94–102.
- Boyer, S. L., Howe, A. A., Juergens, N. W., Hove, M. C. 2012. A DNA-barcoding approach to identifying juvenile freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) recovered from naturally infested fishes. *Journal of the North American Benthological Society*, 30: 182–194.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9: 772.
- Do, V. T., Tuan, L. Q., Bogam, A. E. 2018. Freshwater mussels (Bivalvia: Unionida) of Vietnam: diversity, distribution, and conservation status. *Freshwater Mollusk Biology and Conservation*, 21: 1–18.
- Doucet–Beaupré, H., Breton, S., Chapman, E. G., Blier, P. U., Bogan, A.E., Stewart, D. T. & Hoeh, W.R., 2010. Mitochondrial phylogenomics of the Bivalvia (Mollusca): Searching for the origin and mitogenomic correlates of doubly uniparental inheritance of mtDNA. *BMC Evol. Biol.* 10:50.
- Froufe, E., Prié, V., Faria, J., Ghamizid, M., Gonçalves, D. V., Gürlek, M. E., Karaouzas, I., Kebapçı, Ü., Şereflişan, H., Sobrala, C., Sousa, R., Teixeira, A., Varandas, S., Zogaris, S., Lopes-Lima, M. 2016. Phylogeny, phylogeography, and evolution in the Mediterranean region: News from a

- freshwater mussel (*Potomida*, Unionida). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 100: 322–332.
- Froufe, E., Lopes-Lima, M., Riccardi, N., Zaccara, S., Vanetti, I., Lajtner, J., Teixeira, A., Varandas, S., Prié, V., Zieritz, A., Sousa, R. & Bogan, AE. 2017. Lifting the curtain on the freshwater mussel diversity of the Italian Peninsula and Croatian Adriatic coast. *Biodiversity and Conservation*, 26: 3255–3274.
- Froufe, E., Gonçalves, D. V., Teixeira, A., Sousa, R., Varandas, S., Ghamizi, M., Zieritz, A. & Lopes-Lima, M., 2016. Who lives where ? Molecular and morphometric analyses clarify which *Unio* species (Unionida, Mollusca) inhabit the southwestern. Palearctic region. *Organisms Diversity & Evolution*, 16: 597–611.
- 福岡県, 2014. 福岡県の希少野生生物 福岡県レッドデータブック 2014. 276pp. 福岡県環境部自然環境課. 福岡.
- 古川 優・栗野圭一. 1969. 水棲生物の移植記録 (資料). 滋賀県水産試験場研究報告. 22: 245–250.
- Haag, W.R., 2012. North American freshwater mussels: natural history, ecology, and conservation. Cambridge Univ. Press, New York.
- Haas, F. 1911a. Neur ostasiatische Najaden. *Nachr. Bl. Dtsch. Malak. Ges.*, 43: 43–47.
- Haas, F. 1911b. *Die Unioniden*. *Conch.-Cab.*, 9 : 89–112, pls., 24–29.
- Haas, F. 1969. Superfamilia Unionacea. *Das Tierreich.*, 88: 1–663.
- 波部忠重. 1977. 日本産軟体動物分類学 二枚貝綱/掘足綱. 372pp. 図鑑の北隆館. 東京.
- 波部忠重. 1991a. 野村洋太郎氏寄贈貝類標本目録中に見られる新学名の記載. pp. 169–173. *In*: 神奈川県立博物館自然部門資料目録(5) 野村洋太郎氏寄贈貝類標本目録. 神奈川県立博物館. 神奈川.
- 波部忠重. 1991b. 日本産非海産水棲貝類目録 (その3). *ひたちおび*, 56: 3–7.
- 幡野真隆・石崎大介. 2016. イケチヨウガイ稚貝の給餌飼育. *Venus*, 74: 99–104.

- 林 一正. 1972. 琵琶湖産有用貝類の生態について〔後編〕. *Venus*, 31: 71–101.
- He, J. and Zhuang, Z. 2013. *The Freshwater Bivalves of China*. 198pp. ConchBooks. Germany.
- Heimburg, H. 1884. Diagnosen neuer Arten. *Nach. Deuts. Mal. Ges.*, 16: 92–95.
- Hewitt, T. L., Bergner, J. L., Woolnough, D. A., Zanatta, D. T. 2018. Phylogeography of the freshwater mussel species *Lasmigona costata*: testing post-glacial colonization hypotheses. *Hydrobiologia*, 810: 191–206.
- 東 怜・林 一正. 1964. 琵琶湖産二枚貝の幼生について. *日本水産学会誌*, 30: 227–233.
- 平瀬信太郎. 1934. 天然色写真 日本貝類図譜. 217pp. 松邑三松堂. 東京.
- Inaba, S. 1941. Preliminary note on the glochidia of Japanese freshwater mussels. *Annot. Zool. Japan*, 20: 14–23.
- 稲留陽尉・山本智子. 2012. 北薩地域におけるタナゴ類とイシガイ類の分布と産卵床としての利用. *保全生態学研究*, 17: 63–71.
- Inoue, K., Monroe, E. M., Elderkin, C. L., Berg, D.J. 2014. Phylogeographic and population genetic analyses reveal Pleistocene isolation followed by high gene flow in a wide ranging, but endangered, freshwater mussel. *Heredity*, 112: 282–290.
- 石井久夫. 1990. 大阪市立自然史博物館 ミニガイド No. 5 びわ湖・淀川の貝. 大阪市立自然史博物館. 大阪.
- 伊藤寿茂・柿野 亘・北野 忠・河野裕美. 2016a. イシガイ科淡水二枚貝の成貝 6 種と幼生 2 種の塩分耐性. *陸水学雑誌*, 78: 87–96.
- 伊藤寿茂・斉藤裕也・佐藤喜治・伊藤一雄. 2016b. 関東地方の 3 水域に生息する魚類へのマツカサガイ幼生の寄生状況と、ジュズカケハゼ類からの変態稚貝の出現. *陸水学雑誌*, 77: 281–291.
- Kakioka, R., Kokita, T., Tabata, R., Mori, S., Watanabe, K. 2013. The origins of limnetic forms and cryptic divergence in *Gnathopogon* fishes (Cyprinidae) in Japan. *Environmental Biology of Fishes*,

96: 631–644.

金沢 光・松本 充夫. 2008. 埼玉県初記録のトンガリササノハガイ. 埼玉県立自然の博物館  
研究報告. 2: 41–43.

環境省 (編). 2014. レッドデータブック 2014 –日本の絶滅のおそれのある野生生物– 6 貝  
類 455pp. ぎょうせい. 東京.

環境省. 2018. 環境省レッドリスト 2018. <https://www.env.go.jp/press/files/jp/109278.pdf>

Kano, Y., Tabata, R., Nakajima, J., Takada-Endo, M., Zhang, C., Zhao, Y., Yamashita, T., Watanabe,  
K. 2018. Genetic characteristics and possible introduced origin of the paradise fish *Macropodus*  
*opercularis* in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Ichthyological Research*. 65: 134–141.

Kano, Y., Watanabe, K., Nishida, S., Kakioka, R., Wood, C., Shimatani, Y., Kawaguchi, Y. 2011.  
Population genetic structure, diversity and stocking effect of the oriental weatherloach (*Misgurnus*  
*anguillicaudatus*) in an isolated island. *Environmental Biology of Fishes*. 90: 211–222.

紀平 肇・松田征也・内山りゅう. 2009. 日本産淡水貝類図鑑 ①琵琶湖・淀川産の淡水貝類  
改訂版. 159pp. ピーシーズ. 神奈川.

木村昭一・中西尚文. 1997. 東海地方に分布するオトコタテボシガイ属の一種. ちりぼたん,  
27: 41–48.

木下 尚・都鳥康之. 1993. 本畑層の化石. 北上市立博物館研究報告. 9: 123–136.

北川えみ・星野和夫・岡崎登志夫・北川忠生. 2004. 大分県大分川水系から得られたシマド  
ジョウとその生物地理学的起源. *魚類学雑誌*, 51: 117–122.

Haag, W.R., 2012. North American freshwater mussels: natural history, ecology, and conservation.  
Cambridge Univ. Press, New York.

Kitamura, J. 2007. Reproductive Ecology and Host Utilization of Four Sympatric Bitterling  
(Acheilognathinae, Cyprinidae) in a Lowland Reach of the Harai River in Mie, Japan.  
*Environmental Biology of Fishes*, 78: 37–55.

- 北村淳一. 2008. タナゴ亜科魚類：現状と保全. 魚類学雑誌, 55: 139–144.
- Kitamura, J., Nagata, N., Nakajima, J., Sota, T. 2012. Divergence of ovipositor length and egg shape in a brood parasitic bitterling fish through the use of different mussel hosts. *Journal of Evolutionary Biology*, 25: 566–573.
- Kitanishi, S., Hayakawa, A., Takamura, K., Nakajima, J., Kawaguchi, Y., Onikura, N., Mukai, T. 2016. Phylogeography of *Opsariichthys platypus* in Japan based on mitochondrial DNA sequences. *Ichthyological Research*, 63: 506–518.
- Klishko, O., Lopes-Lima, M., Froufe, E., Bogan, A., Vasiliev, L., & Yanovich, L., 2017. Taxonomic re-assessment of the freshwater mussel genus *Unio* (Bivalvia: Unionidae) in Russia and Ukraine based on morphological and molecular data. *Zootaxa*, 4286: 93–112.
- Klishko, O., Lopes-Lima, M., Froufe, E., Bogan, A. & Abakumova, V. Y., 2018. Unravelling the systematics of *Nodularia* (Bivalvia, Unionidae) species from eastern Russia. *Systematic and Biodiversity*, 16: 287–301.
- Kobelt, W. 1879. Founa japonica extramarina. *Abh. Senckenb. Naturf. Ges.*, 11: 284–445, 23 pis.
- 近藤美麻・伊藤健吾・千家正照. 2011. イシガイ類 4 種の寄生主およびその移動に伴う幼生の分散. *農業農村工学会論文集*, 79: 117–123.
- Kondo, T. 1982. Taxonomic Revision of *Inversidens* (Bivalvia : Unionidae). *Venus*, 41: 181–198.
- Kondo, T., 1989. Differences in Clutch Size and Host Recognition by Glochidia between Summer and Winter Breeders of Japanese Unionid Mussels. *Venus*, 48: 40–45.
- 近藤高貴. 2015. 近藤高貴コレクション 日本産イシガイ目標本目録. 58pp. 大阪教育大学. 大阪.
- Kondo, T., Yang, H. and Choi, S. 2007. Two New Species of Unionid Mussels (Bivalvia: Unionidae) from Korea. *Venus*, 66: 69–73.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version

- 7.0. For bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870–1874.
- 黒田徳米. 1947. 琵琶湖の淡水産貝類 (3). 夢蛤, 22: 2–5.
- 黒田徳米. 1962. 琵琶湖の貝類. *Venus*, 22: 86–91.
- 黒田徳米. 1963. 巨椋池の貝類. *Venus*, 23: 295–297.
- Lane, T. W., Hallerman, E. M., Jones, J. W. 2016. Phylogenetic and taxonomic assessment of the endangered Cumberland bean, *Villosa trabalis* and purple bean, *Villosa perpurpurea* (Bivalvia: Unionidae). *Conservation Genetics*, 17: 1109–1124.
- Lea, I. 1859. Descriptions of exotic Unionidae. *Proc. Acad. Nat. Sci.*, 4: 151–154.
- Leigh, J. W. and Bryant, D. 2015. popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6: 1110–1116.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5/ A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451–1452
- Lopes-Lima, M., Froufê, E., Do, V. T., Ghamizi, M., Mock, K. E., Kebapçı, Ü., Klishko., Kovitvadhi, S., Kovitvadhi, U., Paulo, O., Pfeiffer III, J. M., Raley, M., Riccardi, N., Şereflişan, H., Sousa, R., Teixeira, A., Varandas, S., Wu, X., Zanatta, D. T., Zieritz, A and Bogan, A. E. 2017a. Phylogeny of the most species-rich freshwater bivalve family (Bivalvia: Unionida: Unionidae): Defining modern subfamilies and tribes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106: 174–191.
- Lopes-Lima, M., Sousa, R., Geist, J., Aldridge, D. C., Araujo, R., Bergengren, J., Bespalaya, Y., Bódis, E., Burlakova, L., Damme, D. V., Douda, K., Froufê, E., Georgiev, D., Gumpinger, C., Karatayev, A., Kebapçı, U., Killeen, I., Lajtner, J., Larsen, B. M., Lauceri, R., Legakis, A., Lois, S., Lundberg, S., Moorkens, E., Motte, G., Nagel, K., Ondina, P., Outeiro, A., Paunovic, M., Prié, V., von Proschwitz, T., Riccardi, N., Rudzīte, M., Rudzītis, M., Scheder, C., Seddon, M., Şereflişan, H., Simić, V., Sokolova, S., Stoeckl, K., Taskinen, J., Teixeira, A., Thielen, F., Trichkova, T., Varandas, S., Vicentini, H., Zajac, K., Zajac, T., Zogaris, S. 2017b. Conservation status of freshwater mussels

- in Europe: state of the art and future challenges. *Biological Reviews*. 92: 572–607.
- Lydeard, C., Cowie, R. H., Ponder, W. F., Bogan, A. E., Bouchet, P., Clark, S. A., Cummings, K. S., Frest, T. J., Gargominy, O., Herbert, D. G., Hershler, R., Perez, K. E., Roth, B., Seddon, M. Strong, E. E. & Thompson, F. G., 2004. The global decline of nonmarine mollusks. *Bioscience*, 54: 321–330.
- 馬淵浩司, 2014. 御代ヶ池のコイ : DNA 解析からの知見. *Mikurensis –みくらじまの科学–* 3: 17–26.
- 増田 修・内山りゅう. 2004. 日本産淡水貝類図鑑 ②汽水域を含む全国の淡水貝類. 240pp. ピーシーズ. 東京.
- 松岡敬二. 1982. 濃尾平野地下の海部累層から産出した淡水生貝化石. 瑞浪市化石博物館研究報告. 9: 103–119.
- Matsuoka, K. 1987. Malacofaunal Succession in Pliocene to Pleistocene Non–Marine Sediments in the Omi and Ueno Basins, Central Japan. *The Journal of earth sciences, Nagoya University*. 35: 23–115.
- 三浦一輝. 2015. 埼玉県川島町の農業水路において採集された国内外来二枚貝 *カタハガイ Obovalis omiensis*. 埼玉県立川の博物館研究報告, 15: 21–24
- 三浦一輝・斉藤裕也・伊藤一雄・大森秋郎. 2014. 地元住人と行ったイシガイ科二枚貝類の農業水路からの救出と一時保管. *応用生態工学*, 17: 41–46.
- 三浦一輝・藤岡正博. 2015. 埼玉県の農業水路における外来種トンガリササノハガイの分布と生息環境. *Venus*, 73: 137–150.
- Miyake, T., Nakajima, J., Onikura, N., Ikemoto, S., Iguchi, K., Komaru, A., Kawamura, K. 2011. The genetic status of two subspecies of *Rhodeus atremius*, an endangered bitterling in Japan. *Conservation Genetics* 12:282–400.
- 宮部多寿・高橋克夫・井上雅之. 2007. マツカサガイ *Inversidens japanesis* 人工増殖に関する

- 基礎研究. 千葉県水産総合研究センター研究報告, 2: 53-60.
- Morais, P. and Reichard, M. 2018. Cryptic invasions: A review. *Science of the Total Environment*, 613–614: 1438–1448.
- 森山昭雄. 2004. 東海・三河湾の海底地形, とくに湾口部の海釜と砂堆地形. 愛知県教育大学研究報告, 39–56.
- 中野光議・木村哲平・門脇喜彦・浦部美佐子. 2017. 滋賀県長浜市木之本町の農業水路におけるイシガイ科二枚貝類の生息状況および密度と水路環境との関係. *保全生態学研究*, 22: 351–360.
- 根岸淳二郎・萱場祐一・塚原幸治・三輪芳明. 2008. 指標・危急生物としてのイシガイ目二枚貝 : 生息環境の劣化プロセスと再生へのアプローチ. *応用生態工学*, 11: 195-211,
- Pfeiffer, J. M. and Graf, D. L. 2013. Re-analysis confirms the polyphyly of *Lamprotula* Simpson, 1900 (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Molluscan Studies*, 79: 249–256.
- Pieri, A. M., Inoue, K., Johnson, N. A., Smith, C. H., Harris, J. L., Robertson, C., Randklev, R. R. 2018. Molecular and morphometric analyses reveal cryptic diversity within freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) of the western Gulf coastal drainages of the USA. *Biological Journal of the Linnean Society*, 124: 261–277.
- Prié V. and Puillandre, N. 2014. Molecular phylogeny, taxonomy, and distribution of French *Unio* species (Bivalvia, Unionidae). *Hydrobiologia*, 735: 95–110.
- Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D., Drummond, A. J. 2014. Tracer v1. 6 Computer Program and Documentation Distributed by the Author. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61: 539–542.
- Saito, T., Do, V. T., Prozorova, L., Hirano, T., Fukuda, H., Chiba, S. 2018. Endangered freshwater

- limpets in Japan are actually alien invasive species. *Conservation Genetics*, 19: 947–958.
- Sakai, AK., Allendorf, FW, Holt, JS., Lodge, DM., Molofsky, J., With, KA., Baughman S., Cabin, RJ., Cohen, JE., Ellstrand, NC., McCauley, DE., O’Neil, P., Parker, IM., Thompson, JN., & Weller, SG., 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32: 305–332.
- Sano, I., Shirai, A., Kondo, T. and Miyazaki, J., 2017. Phylogenetic Relationships of Japanese Unionoida (Mollusca: Bivalvia) Based on Mitochondrial 16SrDNA Sequences. *Journal of Water Resource and Protection*, 9: 493–509.
- Satoguchi, Y., and Y. Nagahashi. 2012. Tephrostratigraphy of the Pliocene to Middle Pleistocene series in Honshu and Kyushu islands, Japan. *Island Arc*, 21: 149–169.
- 佐藤正典 (編). 2000. 有明海の生きものたち 干潟・河口域の生物多様性. 397pp. 海游舎. 東京.
- Sayenko, E. M., Soroka, M. & Kholin, S. K., 2017. Comparison of the species *Sinanodonta amurensis* Moskvicheva, 1973 and *Sinanodonta primorjensis* Bogatov et Zatravkin, 1988 (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae) in view of variability of the mitochondrial DNA *cox1* gene and conchological features. *Biology Bulletin*, 44: 266–276.
- Shea, C.P., Peterson, J.T., Wisniewski, J.M. and Johnson, N.A., 2011. Misidentification of freshwater mussel species (Bivalvia:Unionidae): contributing factors, management implications, and potential solutions. *Journal of the North American Benthological Society*, 30: 446–458.
- 滋賀県水産試験場 編. 1914. 琵琶湖水産調査報告 第貳卷 (琵琶湖産貝類). 36pp. 滋賀県水産試験場. 滋賀.
- 島根県. 2014. 改訂 しまねレッドデータブック 2014 動物編 ～島根県の絶滅のおそれのある野生動物～. 318pp. 島根県環境生活部自然環境課.
- 白井亮久. 2008. イケチョウガイの新産地報告—青森で見つかった琵琶湖固有種. ちりぼた

ん, 39: 25–29.

Shirai, A., Kondo, T., Kajita, T. 2010. Molecular Markers Reveal Genetic Contamination of Endangered Freshwater Pearl Mussels in Pearl Culture Farms in Japan. *Venus*, 68: 151-163.

Tabata, R., Kakioka, R., Tominaga, K., Komiya, T., Watanabe, K. 2016. Phylogeny and historical demography of endemic fishes in Lake Biwa: the ancient lake as a promoter of evolution and diversification of freshwater fishes in western Japan. *Ecology and Evolution*, 6: 2601–2623.

Takehana, Y., Nagai, N., Matsuda, M., Tsuchiya, K., Sakaizumi, M. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in Japanese wild populations of Medaka, *Oryzias latipes*. *Zoological Science*, 20: 1279–1291.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G., Thompson, J. D., Gibson, T. J. & Higgins, D. G., 2002. Multiple Sequence Alignment Using ClustalW and ClustalX. In: *Current Protocols in Bioinformatics*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, pp. 1–22.

Tominaga, K., Nakajima, J., Watanabe, K. 2016. Cryptic divergence and phylogeography of the pike gudgeon *Pseudogobio esocinus* (Teleostei: Cyprinidae): a comprehensive case of freshwater phylogeography in Japan. *Ichthyological Research*, 63: 79–93.

鳥取県生物学会 編. 2012. レッドデータブックとっとり 改訂版. –鳥取県の絶滅のおそれのある野生動植物–. 339 pp. 鳥取県生活環境部公園自然課. 鳥取県.

Walker, J.M., Curole, J.P., Wade, D.E., Chapman, E.G., Bogan, A.E., Watters, G.T., Hoeh, W.R. & Al, W.E.T., 2006. Taxonomic distribution and phylogenetic utility of gender– Associated mitochondrial genomes in the Unionoida (Bivalvia). *Malacología*, 48: 265–282.

Watanabe, K. and Mori, S. 2008. Comparison of genetic population structure between two cyprinids, *Hemigrammocypripis rasborella* and *Pseudorasbora pumila* subsp., in the Ise Bay basin, central Honshu, Japan. *Ichthyological Research*, 55, 309–320.

Watanabe, K., Mori, S., Tanaka, T., Kanagawa, N., Itai, T., Kitamura, J., Suzuki, N., Tominaga, K.,

- Kakioka, R., Tabata, R., Abe, T., Tashiro, Y., Hashimoto, Y., Nakajima, J., Onikura, N. 2014. Genetic population structure of *Hemigrammocyppris rasborella* (Cyprinidae) inferred from mtDNA sequences. *Ichthyological Research* 61: 352–360.
- Watanabe, K., Tominaga, K., Nakajima, J., Kakioka, R., Tabata, R. 2017. Japanese Freshwater Fishes: Biogeography and Cryptic Diversity. Motokokawa, M and Kajihara, H. (ed) pp. 183–227 *In*: Species Diversity of Animals in Japan, 721pp. Springer. Japan.
- Watters, G. T., 1994. Form and function of unionoidean shell sculpture and shape (Bivalvia). *American Malacological Bulletin*, 11: 1–20.
- Watters, G. T., 1997. A synthesis and review of the expanding range of the Asian freshwater mussel *Anodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia:Unionidae). *Veliger*, 40: 152–156.
- Whiting, M. F. 2002. Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of *Mecoptera* and *Siphonaptera*. *Zoological Scripta*, 31: 93–104.
- 山崎 健. 2010. 近現代の奈良における貝鉦製作残滓. 奈良文化財研究所紀要. 72–73.
- Yamasaki, Y., Nishida, M., Suzuki, T., Mukai, T., Watanabe, K. 2015. Phylogeny, hybridization, and life history evolution of *Rhinogobius* gobies in Japan, inferred from multiple nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 90: 20–33.
- 吉見翔太郎・井上幹生・畑 啓生. 2018. 愛媛県松山平野における湧水性水域へのマツカサガイの試験的導入. 保全生態学研究, 23: 99–114.
- Zhou, C.H., Ouyang, S., Wu, X. P., Li, M. 2007. Phylogeny of the genus *Lamprotula* (Unionidae) in China based on mitochondrial DNA sequences of 16S rRNA and ND1 genes. *Acta Zoologica Sinica*, 53: 1024–1030.
- Zieritz, A., Bogan, A. E., Froufe, E., Klishko, O., Kondo, T., Kovitvadhi, U., Kovitvadhi, S., Lee, J. H., Lopes-Lima, M., Pfeiffer, J. M., Sousa, R., Do, V. T., Vikhrev, I., Zanatta, D. T. 2018. Diversity, biogeography and conservation of freshwater mussels (Bivalvia: Unionida) in East and Southeast

Asia. *Hydrobiologia*, 810: 29–44.

表 1-1 日本産イシガイ科貝類とその生息環境, および環境省レッドリスト 2018 カテゴリ

分類群	種名	主要な生息環境	環境省レッドリスト(2018)
イシガイ科 Unionidae			
イシガイ亜科 Unioninae	イシガイ <i>Nodularia douglasiae</i>	止水生	指定なし
	オトコタテボシガイ <i>Inversiunio reinianus</i>	止水生	絶滅危惧Ⅱ類
	ヨコハマシジラガイ <i>Inversiunio jokohamensis</i>	流水生	準絶滅危惧
	ニセマツカサガイ <i>Inversiunio yanagawensis</i>	流水生	絶滅危惧Ⅱ類
	トンガリササノハガイ <i>Lanceolaria grayii</i>	流水生	準絶滅危惧
	タガイ <i>Sinanodonta japonica</i>	止水生	指定なし
	ヌマガイ <i>Sinanodonta lauta</i>	止水生	指定なし
	マルドブガイ <i>Sinanodonta calipygos</i>	止水生	絶滅危惧Ⅱ類
	オグラヌマガイ <i>Sinanodonta ogurae</i>	止水生	絶滅危惧Ⅰ類
	フネドブガイ <i>Anemina arcaeformis</i>	止水生	指定なし
	カラスガイ <i>Cristaria plicata</i>	止水生	準絶滅危惧
	ドブガイモドキ <i>Pletholophus tenuis</i>	止水生	指定なし
ニシウネヌマガイ亜科 Gonideinae	イケチョウガイ <i>Sinohyriopsis schlegeli</i>	止水生	絶滅危惧Ⅰ類
	オバエボシ <i>Inversidens brandti</i>	流水生	絶滅危惧Ⅱ類
	カタハガイ <i>Obovalis omiensis</i>	流水生	絶滅危惧Ⅱ類
	マツカサガイ <i>Pronodularia japonensis</i>	流水生	準絶滅危惧

根岸 (2008) を基に作成. 分類体系は近藤 (2015) に基づく.

表 1-2 mtDNA COI 領域の解析結果を基に算出した流水生イシガイ類の遺伝的距離 (p-distance 値).

種	%	Clade	<i>I. jokohamensis</i>		<i>I. yanagawensis</i>				<i>Lanceolaria grayii</i>	<i>Pronodularia japonensis</i>				<i>Inversidens brandti</i>	<i>Obovalis omiensis</i>		
			A	B	A	B	C	D		A	B	C	D		A	B	C
<i>I. jokohamensis</i>		A	-	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>I. yanagawensis</i>		A	-	-	-	2.1	2.6	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		B	-	-	-	-	3.1	3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	-	-	-	-	-	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lanceolaria grayii</i>			-	-	-	-	-	-	0.3>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pronodularia japonensis</i>		A	-	-	-	-	-	-	-	1.9	4.1	5.3	-	-	-	-	-
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	3.6	5.8	-	-	-	-	-
		C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.3	-	-	-	-	-
		D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Inversidens brandti</i>			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4>	-	-	-	-
<i>Obovalis omiensis</i>		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	4.5	-
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.6	-
		C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 1-3 ヨコハマシジラガイの標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ, および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	GenBank
ヨコハマシジラガイ	<i>Inversiumio jokohamensis</i>	1	北海道白老町	U-541	IJ1	
				U-542	IJ1	
				U-543	IJ1	
				U-544	IJ1	
				U-545	IJ1	
				U-546	IJ1	
				U-547	IJ1	
				U-548	IJ1	
				U-549	IJ1	
				U-550	IJ1	
		4	青森県東北町姉沼	U-2	IJ1	
				U-3	IJ10	
				U-277	IJ1	
				U-278	IJ1	
				U-279	IJ7	
				U-280	IJ8	
				U-281	IJ8	
				U-282	IJ7	
				U-283	IJ7	
				U-284	IJ1	
		U-284.1	IJ9			
		2	青森県東通村	U-1068	IJ3	
		3	青森県五所川原市	U-1058	IJ1	
				U-1060	IJ1	
				U-1061	IJ1	
		6	秋田県横手市	U-1062	IJ1	
				U-824	IJ1	
				U-825	IJ1	
				U-826	IJ1	
				U-827	IJ1	
				U-828	IJ1	
		9	秋田県由利本荘市	U-829	IJ4	
				U-830	IJ1	
				U-1055	IJ1	
				U-1056	IJ2	
7	宮城県名取市	U-1057	IJ1			
		U-241	IJ4			
		U-242	IJ4			
		U-243	IJ4			
8	福島県南相馬市	U-250	IJ9			
		U-251	IJ4			
		U-254	IJ4			
12	栃木県大田原市	U-255	IJ4			
		U-1077	IJ1			
13	栃木県市貝町	U-345	IJ1			
		U-346	IJ1			
		U-347	IJ1			
		U-348	IJ1			
		U-349	IJ1			
		U-350	IJ1			
		U-351	IJ1			
		U-352	IJ1			
		U-353	IJ1			
U-354	IJ1					

表 1-3 (続き)

14	埼玉県川島町	U-689.1	IJ11	
		U-689.2	IJ11	
15	新潟県上越市	U-427	IJ6	
		U-850	IJ1	
		U-851	IJ6	
		U-852	IJ6	
		U-853	IJ4	
		U-854	IJ4	
16	石川県羽咋市	U-442	IJ5	
		U-443	IJ5	
		U-444	IJ5	
		U-445	IJ5	
		U-446	IJ5	
		U-447	IJ5	
		U-448	IJ5	
		U-761	IJ12	
20	三重県北勢町	U-762	IJ12	
		U-762.2	IJ12	
		U-913	IJ5	
54	鳥取県岩美町	U-914	IJ5	
		U-915	IJ5	
		U-916	IJ5	
		U-917	IJ5	
		U-918	IJ5	
		U-919	IJ5	
		U-920	IJ5	
		U-921	IJ5	
55	鳥取県気高町	U-1041	IJ5	
		U-1042	IJ5	
		U-1043	IJ5	
計: 個体数/ハプロタイプ		84	12	
外群				
ニセマツカサガイ	<i>Inversiunio yanagawensis</i>	U-403		
		U-743		
		U-875		
	<i>Nodularia douglasiae</i>	China		MG210548
		China		MG210503

表 1-4 ニセマツカサガイ, 「オトコタテボシガイ」の標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ, および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	GenBank
ニセマツカサガイ	<i>Inversiunio yanagawensis</i>	22	三重県津市	U-18	IY1	
				U-19	IY1	
				U-20	IY1	
				U-403	IY1	
				U-404	IY1	
				U-405	IY1	
				U-406	IY1	
				U-407	IY1	
				U-408	IY1	
				U-409	IY1	
				U-410	IY1	
				U-411	IY1	
				U-412	IY1	
				U-413	IY1	
				U-414	IY1	
		U-1070	IY1			
		U-1072	IY1			
		U-1075	IY1			
		37	京都府南丹市八木町	U-901	IY10	
				U-902	IY12	
				U-903	IY10	
		41	兵庫県三田市	U-41	IY12	
				U-42	IY10	
				U-43	IY10	
				U-44	IY11	
				U-45	IY12	
				U-46	IY12	
				U-47	IY10	
				U-48	IY13	
				U-49	IY12	
		49	岡山県岡山市, 祇園用水	U-226	IY14	
				U-227	IY14	
				U-228	IY14	
				U-229	IY14	
				U-229.1	IY14	
				U-229.2	IY14	
				U-229.3	IY14	
				U-229.4	IY14	
		U-229.5	IY14			
		51	広島県庄原市	U-1080	IY14	
				U-1081	IY14	
		53	高知県佐川町	U-1048	IY15	
		63	福岡県柳川市, ニツ川	U-332	IY16	
64	熊本県玉名市	U-933	IY16			
		U-934	IY16			
		U-935	IY17			
		U-936	IY16			
		U-937	IY16			

表 1-4 (続き)

「オトコタテボシガイ」 <i>Inversiunio reinianus</i>	65	熊本県熊本市南区	U-124	IY16
			U-125	IY16
			U-126	IY18
			U-127	IY16
			U-875	IY19
	66	鹿児島県さつま町	U-876	IY16
			U-33	IY16
	67	鹿児島県いちき串木野市	U-746	IY16
	30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-30	IY2
			U-298	IY3
			U-299	IY4
			U-300	IY4
			U-301	IY5
			U-366	IY4
			U-367	IY7
			U-368	IY8
			U-369	IY9
			29	滋賀県長浜市尾上(琵琶湖)
	U-493	IY4		
	U-494	IY7		
31	琵琶湖南湖, 貝曳き	U-682.1	IY3	
		U-713	IY7	
		U-743	IY3	
計: 個体数/ハプロタイプ			71	19
<b>外群</b>				
ヨコハマシジラガイ <i>Inversiunio jokohamensis</i>		U-919		
トンガリササノハガイ <i>Lanceolaria grayii</i>		U-906		
ヌマガイ <i>Sinanodonta lauta</i>		U-995		

表 1-5 トンガリササノハガイの標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ, および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	GenBank
トンガリササノハガイ	<i>Lanceolaria grayii</i>	14	埼玉県川島町	U-683	LG5	
				U-684	LG5	
				U-685	LG7	
				U-686	LG7	
				U-687	LG7	
				U-688	LG7	
				U-688	LG7	
		17	岐阜県関市	U-426	LG3	
				U-426	LG3	
		18	岐阜県岐阜市	U-794	LG1	
				U-795	LG1	
				U-796	LG1	
				U-797	LG8	
				U-798	LG1	
				U-799	LG1	
				U-800	LG9	
				U-801	LG1	
				U-802	LG1	
				U-802	LG1	
		19	岐阜県養老町	U-813	LG1	
				U-814	LG5	
		21	三重県伊賀市	U-932	LG5	
				U-1026	LG5	
				U-1027	LG5	
		28	滋賀県米原市	U-506	LG1	
				U-507	LG4	
				U-508	LG4	
		27	滋賀県長浜市	U-523	LG1	
				U-524	LG1	
				U-525	LG1	
		33	滋賀県、琵琶湖(南湖), 貝曳き	U-614	LG4	
				U-615	LG1	
				U-616	LG4	
				U-617	LG1	
				U-618	LG4	
				U-710	LG4	
				U-711	LG1	
				U-718	LG1	
				U-719	LG1	
				U-720	LG4	
		U-721	LG1			
		38	京都府綾部市	U-55	LG1	
U-928	LG1					
U-929	LG1					
U-930	LG1					
39	京都府福知山市	U-104	LG1			
		U-105	LG2			
		U-106	LG1			
		U-107	LG1			
36	京都府八木町	U-64	LG1			
		U-906	LG1			
		U-907	LG1			
		U-908	LG1			

表 1-5 (続き)

		40	兵庫県篠山市	U-1022	LG1		
				U-1023	LG1		
				U-1024	LG1		
				U-1025	LG4		
		42	大阪府大阪市旭区, 城北ワンド	U-750	LG6		
		47	岡山県岡山市中区1	U-931	LG10		
		48	岡山県岡山市中区2	U-974	LG7		
				U-975	LG5		
				U-976	LG5		
				U-1000	LG5		
				U-1001	LG5		
				U-1003	LG5		
				U-1004	LG5		
				U-1005	LG5		
				U-1006	LG5		
				U-1007	LG5		
				U-1008	LG5		
				U-1009	LG5		
計: 個体数/ハプロタイプ						69	11
<b>外群</b>							
「トンガリササノハガイ」	<i>Lanceolaria</i> sp.		福岡県鞍手町	U-15			
九州集団							
ドブガイモドキ	<i>Pletholophus tenuis</i>		福岡県宗像市	U-128			
	<i>Lanceolaria grayana</i>		China				KJ434525
	<i>Lanceolaria triformis</i>		China				KJ434523

表 1-6 マツカサガイの標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ、および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	
マツカサガイ	<i>Pronodularia japonensis</i>	2	青森県東通村	U-1063	PJ1	
				U-1065	PJ2	
				U-1066	PJ3	
				U-1067	PJ2	
		5	岩手県花巻市	U-256	PJ2	
				U-257	PJ2	
				U-258	PJ2	
				U-259	PJ2	
				U-260	PJ2	
				U-261	PJ2	
				U-262	PJ2	
				U-263	PJ2	
				U-264	PJ2	
				U-265	PJ2	
		7	宮城県名取市	U-266	PJ2	
				U-267	PJ2	
				U-244	PJ4	
				U-245	PJ4	
				U-246	PJ4	
				U-247	PJ4	
				U-248	PJ5	
				U-249	PJ5	
				U-252	PJ4	
				U-253	PJ4	
		10	秋田県由利本荘市	U-1053	PJ6	
				U-1054	PJ6	
				山形県	U-161	PJ6
					U-162	PJ6
		U-164	PJ6			
		U-165	PJ6			
		12	栃木県大田原市	U-168	PJ6	
				U-1078	PJ4	
		14	埼玉県川島町	U-689	PJ5	
		15	新潟県上越市	U-428	PJ6	
U-429	PJ6					
U-430	PJ6					
U-431	PJ6					
U-432	PJ6					
U-433	PJ6					
17	岐阜県関市	U-422	PJ7			
		U-423	PJ8			
		U-424	PJ9			
		U-425	PJ10			
18	岐阜県岐阜市	U-783	PJ11			
		U-784	PJ11			
		U-785	PJ11			
		U-787	PJ12			
		U-788	PJ11			

表 1-6 (続き)

		U-789	PJ13
		U-790	PJ12
		U-791	PJ10
		U-792	PJ14
		U-793	PJ11
		U-793.2	PJ14
		U-793.3	PJ10
		U-793.4	PJ14
20	三重県北勢町	U-753	PJ15
		U-754	PJ16
		U-755	PJ16
		U-756	PJ16
		U-757	PJ16
		U-762.1	PJ16
22	三重県津市	U-777	PJ17
		U-778	PJ10
		U-779	PJ10
23	三重県松坂市	U-763	PJ18
		U-764	PJ18
		U-766	PJ18
		U-772	PJ10
		U-773	PJ18
		U-774	PJ18
		U-775	PJ18
		U-776	PJ14
25	福井県敦賀市, 中池見湿地	U-302	PJ32
		U-303	PJ32
		U-304	PJ32
25	福井県高浜町	U-80	PJ37
		U-81	PJ37
		U-82	PJ37
		U-83	PJ37
		U-84	PJ37
		U-85	PJ37
		U-86	PJ37
26	滋賀県長浜市木之本町	U-174	PJ23
		U-185	PJ23
		U-186	PJ23
		U-187	PJ23
		U-188	PJ24
		U-189	PJ23
		U-190	PJ23
		U-191	PJ23
		U-192	PJ25
		U-193	PJ23
		U-194	PJ24
		U-195	PJ23
		U-196	PJ23
		U-197	PJ23
		U-198	PJ26
		U-199	PJ26

表 1-6 (続き)

28	滋賀県米原市	U-513	PJ33
		U-514	PJ34
		U-516	PJ33
		U-517	PJ33
		U-518	PJ33
		U-519	PJ33
		U-520	PJ27
		U-521	PJ26
		U-522	PJ33
		43	奈良県桜井市
U-536	PJ23		
U-537	PJ27		
U-538	PJ27		
U-539	PJ23		
36	京都府南丹市八木町	U-68	PJ30
		U-69	PJ30
		U-70	PJ35
		U-73	PJ30
35	京都府京都市, 琵琶湖疏水 京都府綾部市	U-74	PJ30
		U-138	PJ22
		U-56	PJ35
39	京都府福知山市	U-57	PJ36
		U-87	PJ38
		U-89	PJ39
		U-90	PJ39
		U-91	PJ39
		U-92	PJ23
		U-93	PJ23
		U-94	PJ23
		U-95	PJ39
		U-96	PJ40
U-97	PJ23		
44	和歌山県和歌山市	U-1044	PJ21
54	鳥取県岩美町	U-909	PJ28
		U-910	PJ28
		U-911	PJ28
45	徳島県吉野川市	U-293	PJ30
46	香川県丸亀市	U-200	PJ27
		U-201	PJ28
		U-202	PJ28
		U-203	PJ23
49	岡山県岡山市, 祇園用水	U-206	PJ29
		U-207	PJ27
		U-208	PJ29
		U-209	PJ29
50	岡山県岡山市中区4	U-214	PJ30
		U-215	PJ31
		U-216	PJ31
		U-217	PJ31
		U-218	PJ27
		U-221	PJ29

表 1-6 (続き)

52	愛媛県	U-169	PJ19
		U-170	PJ20
56	山口県山口市	U-344	PJ28
57	山口県長門市	U-340	PJ42
62	福岡県鞍手町	U-17	PJ41
		U-1034	PJ41
		U-1035	PJ43
		U-1036	PJ41
63	福岡県柳川市, ニツ川	U-317	PJ43
		U-318	PJ44
		U-319	PJ45
		U-320	PJ43
		U-321	PJ43
		U-322	PJ43
		U-323	PJ43
		U-324	PJ43
		U-326	PJ43
59	大分県中津市	U-118	PJ28
		U-119	PJ46
		U-120	PJ23
58	大分県宇佐市	U-121	PJ47
		U-122	PJ48
		U-123	PJ48
61	宮崎県延岡市	U-140	PJ43
		U-141	PJ43
		U-142	PJ43
		U-143	PJ43
		U-144	PJ43
		U-145	PJ43
		U-146	PJ43
		U-147	PJ43
		U-148	PJ43
		U-150	PJ43
65	熊本県熊本市南区	U-1046	PJ43
計: 個体数/ハプロタイプ		184	48
<b>外群</b>			
	<i>Lamprotula leaii</i>	China	KY561637
	<i>Lamprotula caveata</i>	China	KJ434508
	<i>Potomida littoralis</i>	Tunisia	KP217900

表 1-7 カタハガイの標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ, および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	GenBank
カタハガイ	<i>Obovalis omiensis</i>	11	新潟県村上市	U-831	001	
				U-832	001	
				U-833	001	
				U-834	001	
				U-835	001	
		15	新潟県上越市	U-864	001	
				U-865	001	
				U-866	001	
		16	石川県羽咋市	U-232	003	
				U-233	003	
				U-457	002	
				U-458	003	
				U-459	003	
				U-460	003	
				U-461	003	
				U-462	003	
				U-463	003	
				U-464	003	
		17	岐阜県関市	U-418	004	
				U-419	004	
				U-421	004	
		18	岐阜県岐阜市	U-897	004	
				U-898	004	
				U-899	003	
		22	三重県津市	U-21	005	
				U-22	005	
				U-389	007	
				U-390	007	
				U-391	007	
				U-392	005	
				U-393	005	
				U-394	005	
				U-395	007	
				U-396	007	
		U-397	007			
		26	滋賀県長浜市木之本町	U-398	007	
				U-399	005	
				U-27	004	
U-28	008					
U-177	008					
U-178	004					
U-179	004					
U-180	008					
U-181	004					
U-182	004					
U-183	008					
U-184	004					

表 1-7 (続き)

28	滋賀県米原市	U-495	008
		U-496	006
		U-497	0011
		U-498	008
		U-499	008
39	京都府福知山市	U-100	009
		U-101	009
		U-102	009
		U-103	009
38	京都府綾部市	U-52	009
		U-53	009
		U-54	009
		U-59	009
		U-60	009
37	京都府南丹市	U-61	0010
		U-62	0010
		U-63	0010
41	兵庫県三田市	U-50	0010
40	兵庫県篠山市	U-1031	0010
		U-1032	0010
		U-1033	0010
49	岡山県岡山市, 祇園用水	U-222	0011
		U-223	0012
		U-224	0012
60	福岡県	U-1040	0011
計: 個体数/ハプロタイプ		73	12
<b>外群</b>			
<b>オバエボシガイ</b>	<i>Inversidens brandti</i>	U-739	
<b>マツカサガイ</b>	<i>Pronodularia japonensis</i>	U-791	
	<i>Lamprotula leaii</i>	China	KY561637
	<i>Potomida littoralis</i>	Tunisia	KP217900

表 1-8 オバエボシガイの標本の採集地点情報と検出されたハプロタイプ, および系統解析に用いた外群.

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	ハプロタイプ	GenBank
オバエボシガイ	<i>Inversidens brandii</i>	17	岐阜県関市	U-415	IB8	
				U-416	IB8	
				U-417	IB2	
		22	三重県津市	U-384	IB7	
				U-385	IB7	
				U-386	IB2	
				U-387	IB2	
				U-388	IB2	
		26	滋賀県長浜市木之本町	U-172	IB3	
				U-173	IB3	
				U-175	IB3	
		31	琵琶湖南湖, 貝曳き	U-35	IB1	
				U-682.2	IB2	
				U-739	IB2	
				U-740	IB9	
		34	滋賀県, 瀬田川, 貝曳き	U-342	IB2	
		36	京都府南丹市	U-65	IB2	
U-205	IB4					
41	兵庫県三田市	U-51.1	IB2			
49	岡山県岡山市, 祇園用水	U-230	IB5			
		U-231	IB6			
計: 個体数/ハプロタイプ					21	9
<b>外群</b>						
カタハガイ	<i>Obovalis omiensis</i>			U-831		
	<i>Gonidea angulata</i>		USA			DQ272372

表 2-1 マツカサガイとオトコタテボシガイ属の検討標本と、それぞれの同定結果および系統解析に用いた外群。

和名	学名	採集地番号	産地	標本番号	COI/GenBank	殻形態による同定	水管形態による同定	Clade		
ヨコハマシジラガイ	<i>Inversiunio jokohamensis</i>	1	北海道白老町	U-541	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		1	北海道白老町	U-542	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		4	青森県東北町姉沼	U-277	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		7	宮城県名取市	U-250	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		8	福島県南相馬市	U-254	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		13	栃木県市貝町	U-353	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		13	栃木県市貝町	U-354	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		16	石川県羽咋市	U-447	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		16	石川県羽咋市	U-448	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Bb		
		ニセマツカサガイ	<i>Inversiunio yanagawensis</i>	22	三重県津市	U-413	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				22	三重県津市	U-414	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				41	兵庫県三田市	U-49	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				49	岡山県岡山市中区3	U-228	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				63	福岡県柳川市, ニツ川	U-332	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				65	熊本県熊本市南区	U-124	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
				65	熊本県熊本市南区	U-127	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
66	鹿児島県さつま町			U-33	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
「オトコタテボシガイ」	<i>"Inversiunio reinianus"</i>			30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-30	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba
		30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-300	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
		30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-301	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
		30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-368	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
		30	滋賀県近江八幡市, 沖島	U-369	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
		29	滋賀県長浜市尾上(琵琶湖)	U-494	y	<i>"I. reinianus"</i>	<i>Inversiunio</i>	Ba		
マツカサガイ	<i>Pronodularia japonensis</i>	5	岩手県花巻市	U-256	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		5	岩手県花巻市	U-265	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		7	宮城県名取市	U-248	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		14	埼玉県川島町	U-689	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		15	新潟県上越市	U-433	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		24	福井県敦賀市, 中池見湿地	U-303	y	<i>I. jokohamensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		25	福井県高浜町	U-86	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		23	三重県松坂市	U-763	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		36	京都府南丹市八木町	U-73	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		35	京都府京都市, 琵琶湖疏水	U-138	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		26	滋賀県長浜市木之本町	U-190	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		26	滋賀県長浜市木之本町	U-196	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		28	滋賀県米原市	U-513	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		28	滋賀県米原市	U-514	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		43	奈良県桜井市	U-535	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		43	奈良県桜井市	U-536	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		50	岡山県岡山市中区4	U-221	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		63	福岡県柳川市, ニツ川	U-317	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		59	大分県中津市	U-118	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		59	大分県中津市	U-119	y	<i>P. japonensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
		59	大分県中津市	U-120	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A		
58	大分県宇佐市	U-121	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A				
61	宮崎県延岡市	U-140	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A				
61	宮崎県延岡市	U-142	y	<i>I. yanagawensis</i>	<i>P. japonensis</i>	A				
		Japan			AB055625		<i>P. japonensis</i>	A		
<b>外群</b>										
カワシンジユガイ	<i>Margaritifera laevis</i>		Russia			KJ161497				

表 2-2 マツカサガイとオトコタテボシガイ属の殻形態, 軟体部, 分子同定結果. 数字は個体数を表す.

Genetic Analysis Clade	Form of excurrent aperture		Species identified by shell morphology			
	Type A	Type B	Pj	Ij	Ir	Iy
A	24	0	15	2	0	7
Ba	0	9	0	9	0	0
Bb	0	14	0	0	6	8
Total	24	23	15	11	6	15

殻形態による同定: Pj, *Pronodularia japonensis*; Ij, *Inversiunio jokohamensis*; Ir, *Inversiunio reinianus*; Iy, *Inversiunio yanagawensis*.





表 3-2 mtDNA COI 領域の解析結果を基に算出した Type II と *L. leaii* の遺伝的距離 (p-distance 値).

%	U-563	U-564	U-565	U-566	U-567	U-569	U-570	U-744	U-34	KY561637	JF700192	KX822657	KU946951	GQ451866
U-563														
U-564	0.00													
U-565	0.19	0.19												
U-566	0.00	0.00	0.19											
U-567	0.19	0.19	0.38	0.19										
U-569	0.19	0.19	0.00	0.19	0.38									
U-570	0.00	0.00	0.19	0.00	0.19	0.19								
U-744	0.76	0.76	0.57	0.76	0.95	0.57	0.76							
U-34	1.15	1.15	0.95	1.15	1.34	0.95	1.15	0.38						
<i>Lamprotula leaii</i> KY561637	0.95	0.95	0.76	0.95	0.76	0.76	0.95	0.95	1.34					
<i>Lamprotula leaii</i> JF700192	0.57	0.57	0.38	0.57	0.76	0.38	0.57	0.57	0.95	0.76				
<i>Lamprotula leaii</i> KX822657	0.76	0.76	0.57	0.76	0.95	0.57	0.76	0.76	1.15	0.95	0.19			
<i>Lamprotula leaii</i> KU946951	0.95	0.95	0.76	0.95	1.15	0.76	0.95	0.95	1.34	1.15	0.38	0.19		
<i>Lamprotula leaii</i> GQ451866	0.95	0.95	0.76	0.95	1.15	0.76	0.95	0.95	1.34	0.76	0.38	0.57	0.8	

表 3-3 検討標本の殻の計測値.

	分布	殻形	殻長(mm)	殻高(mm)	前縁から殻頂までの長さ/殻長	擬主歯形態(後側歯との比較)		後側歯形態	内肋の隆起		出水管形態		
						右殻			左殻			殻後端	前閉殻筋痕:右側
						平行にならない	平行にならない		やや湾曲	明瞭ではない		明瞭ではない	黒と黄色の縞模様
"Inversium reinianus"	Type I (n=14)	琵琶湖のみ	卵形	66.4以下	38.7以下	1/5以下	平行にならない	平行にならない	やや湾曲	明瞭ではない	明瞭ではない	黒と黄色の縞模様	
	Type II (n=2)	琵琶湖のみ	長卵形	72.8以下	44.7以下	1/5以下	平行にならない	平行	直線状	顕著	顕著	こぶ状突起	
<i>L. reinianus</i> 【ホロタイプ】	"Lake Biwa"	長卵形	73	42	1/5以下	平行	平行	直線状	顕著	顕著	-		
<i>L. hirasei</i> 【ホロタイプ】	"Yamashiro"	長卵形	79	46	1/5以下	平行にならない	平行	直線状	顕著	顕著	-		
<i>L. jokohamensis</i> (n=20)	北海道~東海	長卵形	65.7以下	38.8以下	1/5以上	平行にならない	平行にならない	やや湾曲	明瞭ではない	明瞭ではない	黒と黄色の縞模様		
<i>L. yanagawensis</i> (n=20)	東海~九州	卵円形	65.3以下	39.5以下	1/5以上	平行にならない	平行にならない	やや湾曲	明瞭ではない	明瞭ではない	黒と黄色の縞模様		
<i>Lamprotula leaii</i> (n=9)	中国~ベトナム	長卵形	67.9以下	39.9以下	1/5以下	両型が存在	平行	直線状	顕著	顕著	-		
<i>Pronodularia seonjinensis</i> (n=2)	韓国南部	長卵形	74.6*	44.0*	1/5以下	両型が存在	平行	直線状	顕著	顕著	-		
<i>P. japonensis</i> (n=20)	青森~九州	卵円形	69.4以下	40.5以下	1/5以上	平行にならない	平行にならない	やや湾曲	明瞭ではない	明瞭ではない	こぶ状突起		

\*Kondo *et al.* (2007) によるホロタイプ標本の計測値を示す.



図 1-1 日本における主要な地理的障壁.

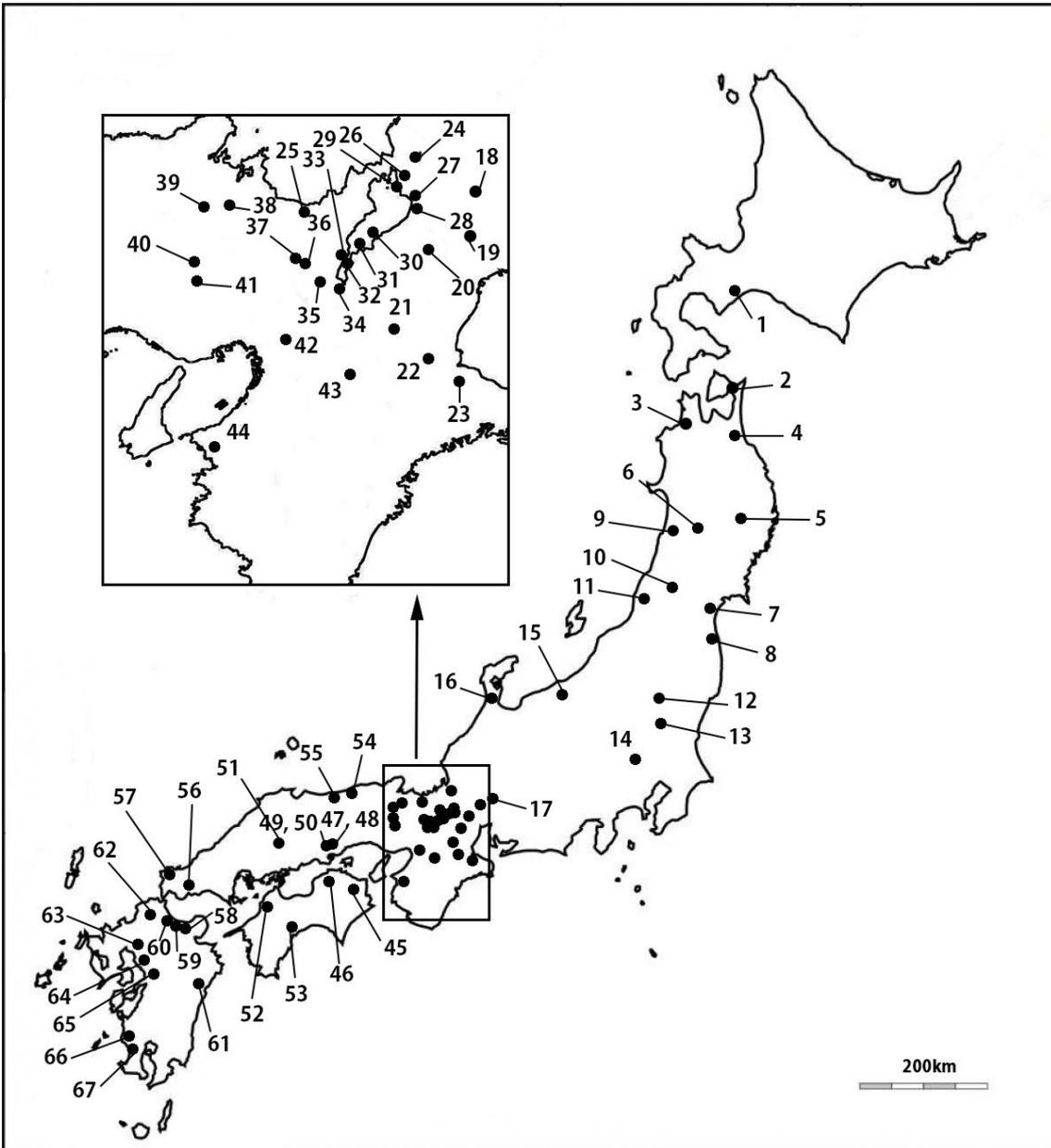


図 1-2 検討標本の国内採集地点. 番号は各検討標本の表に準ずる.

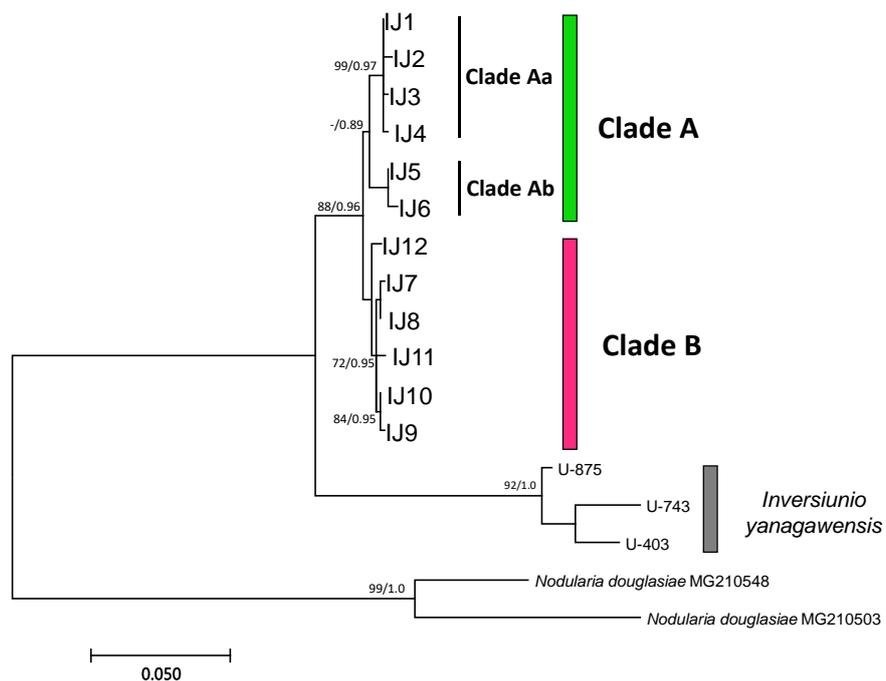


図 1-3 ヨコハマシジラガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹.

各ノードの数値は, ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す. 検出されたハプロタイプのみを示した. 検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-3 を参照.

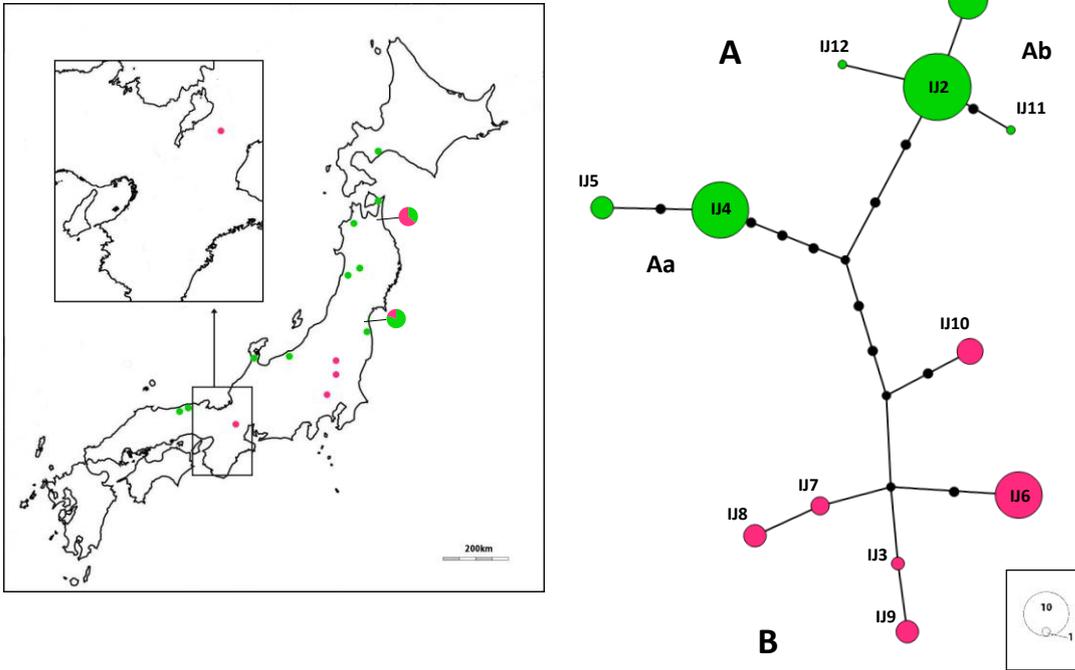


図 1-4 ヨコハマシジラガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. 左図中の円グラフは各ハプロタイプの割合を示す. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-3 を参照.

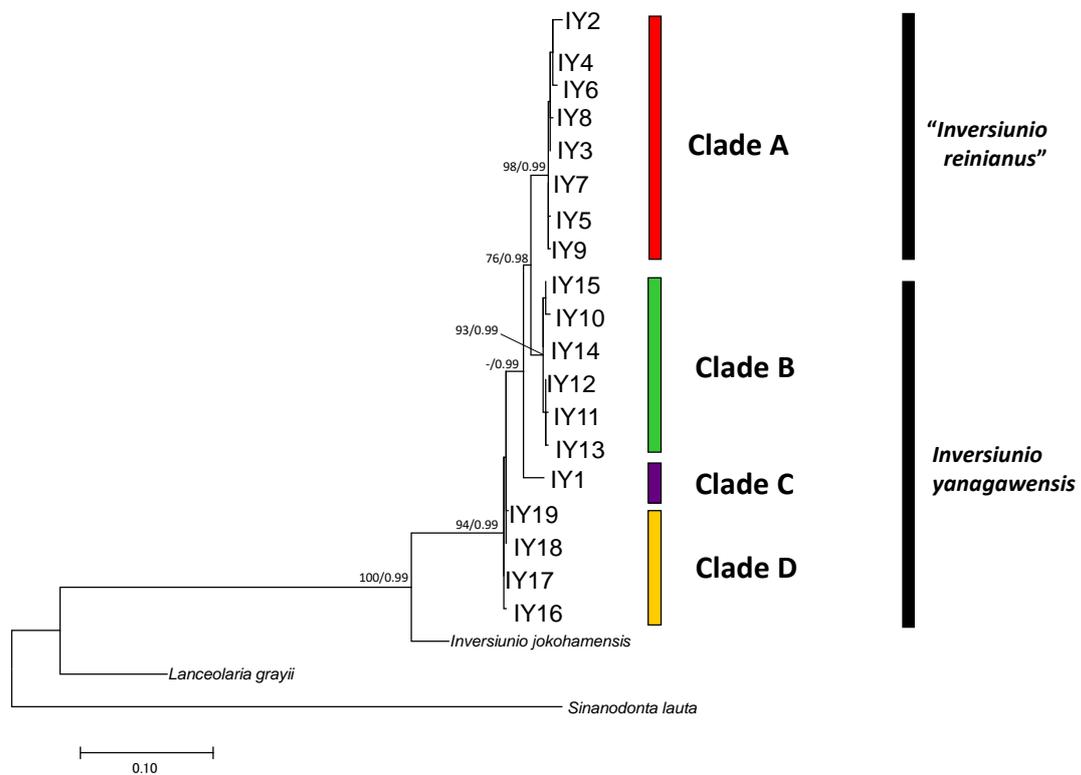


図 1-5 ニセマツカサガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹。

各ノードの数値は、ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す。検出されたハプロタイプのみを示した。検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-4 を参照。

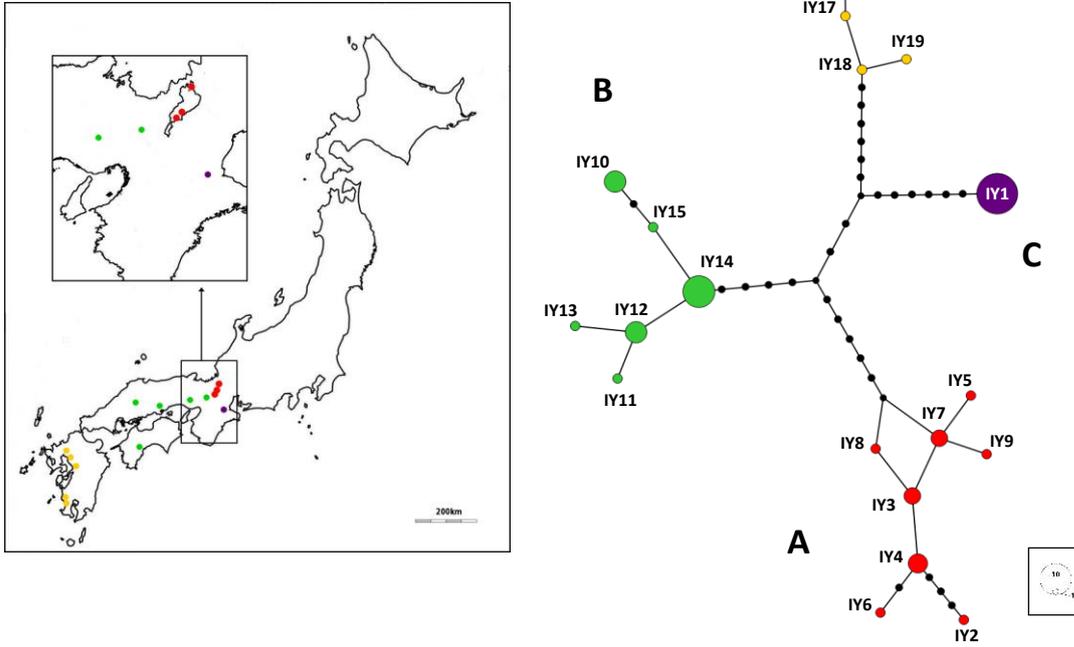


図 1-6 ニセマツカサガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-4 を参照.

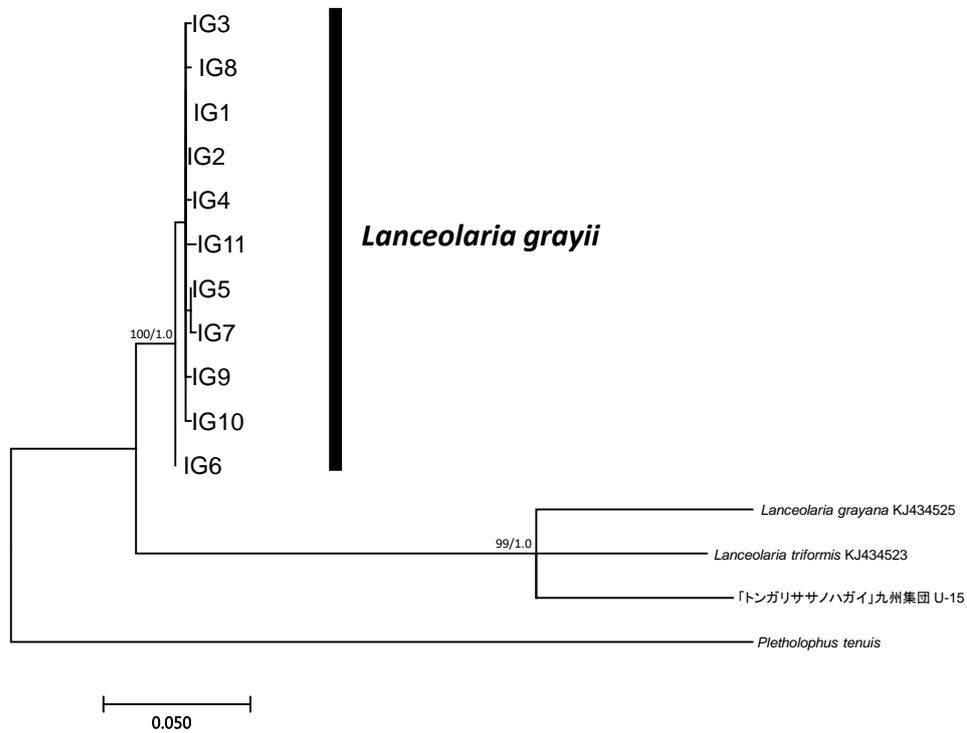


図 1-7 トンガリササノハガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹.

各ノードの数値は、ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す. 検出されたハプロタイプ番号のみを示した. 検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-5 を参照.

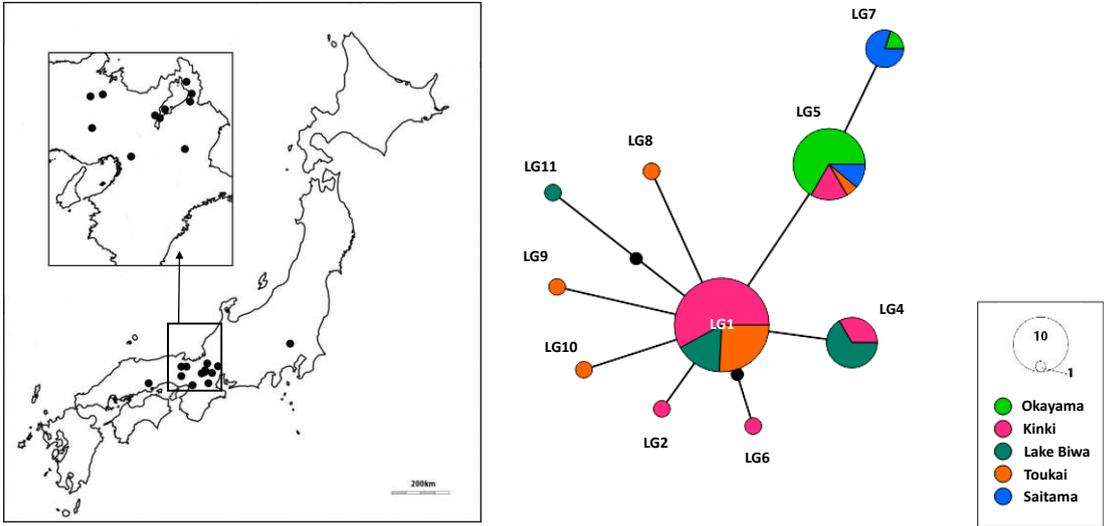


図 1-8 トンガリササノハガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-5 を参照.

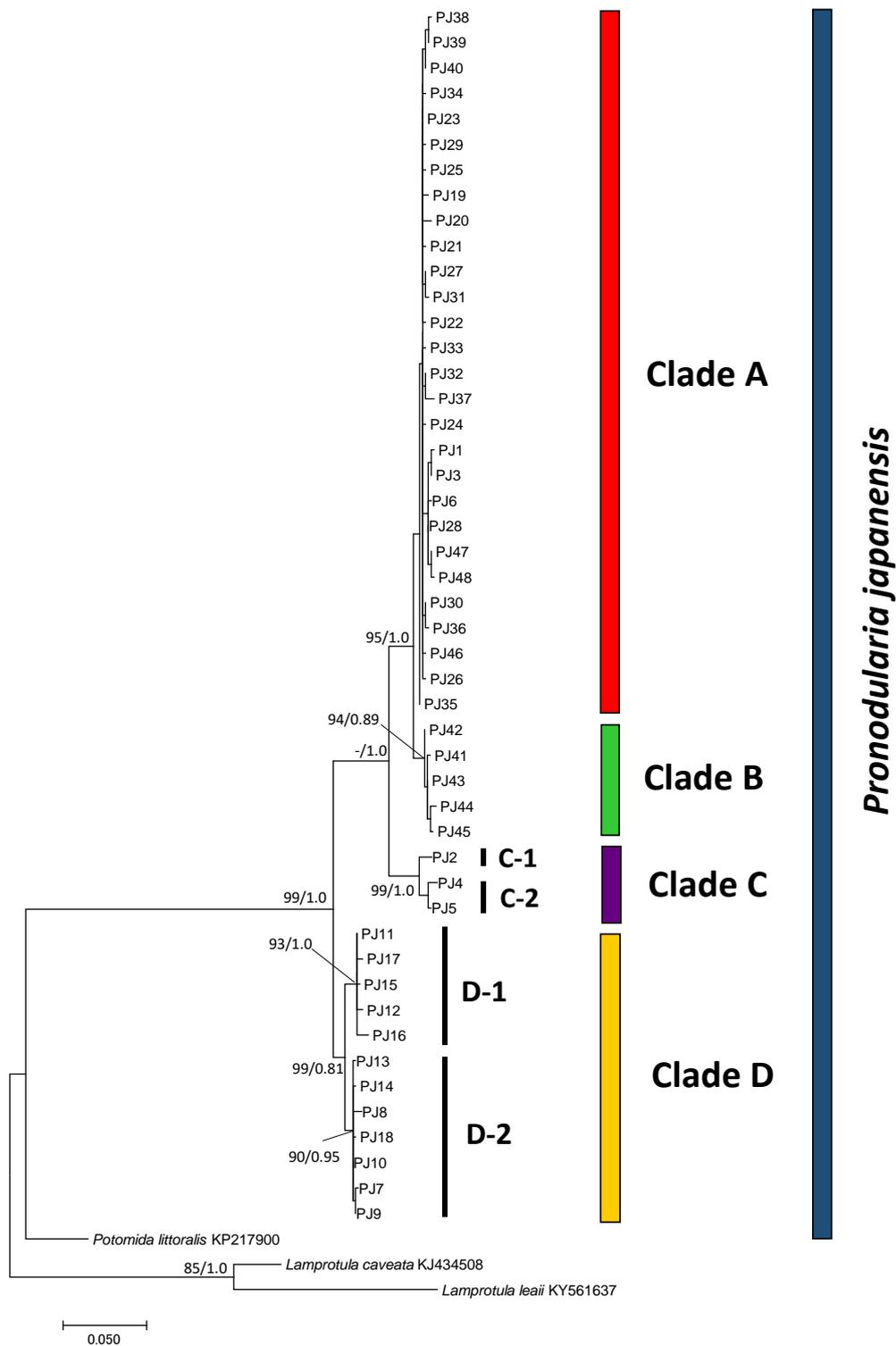


図 1-9 マツカサガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹. 各ノードの数値は, ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す. 検出されたハプロタイプ番号のみを示した. 検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-6 を参照.

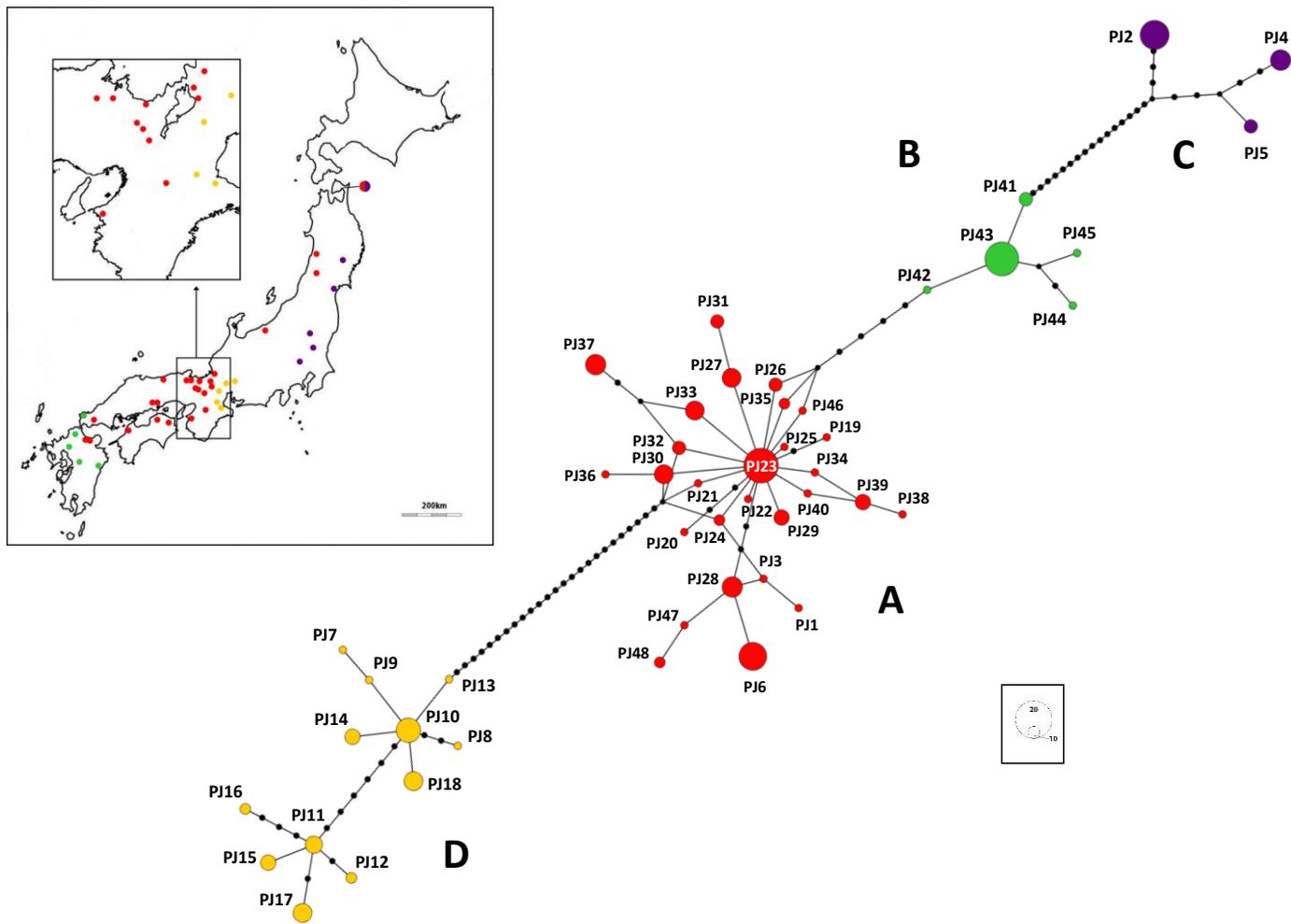


図 1-10 マツカサガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. 左図中の円グラフは各ハプロタイプの割合を示す. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-6 を参照.

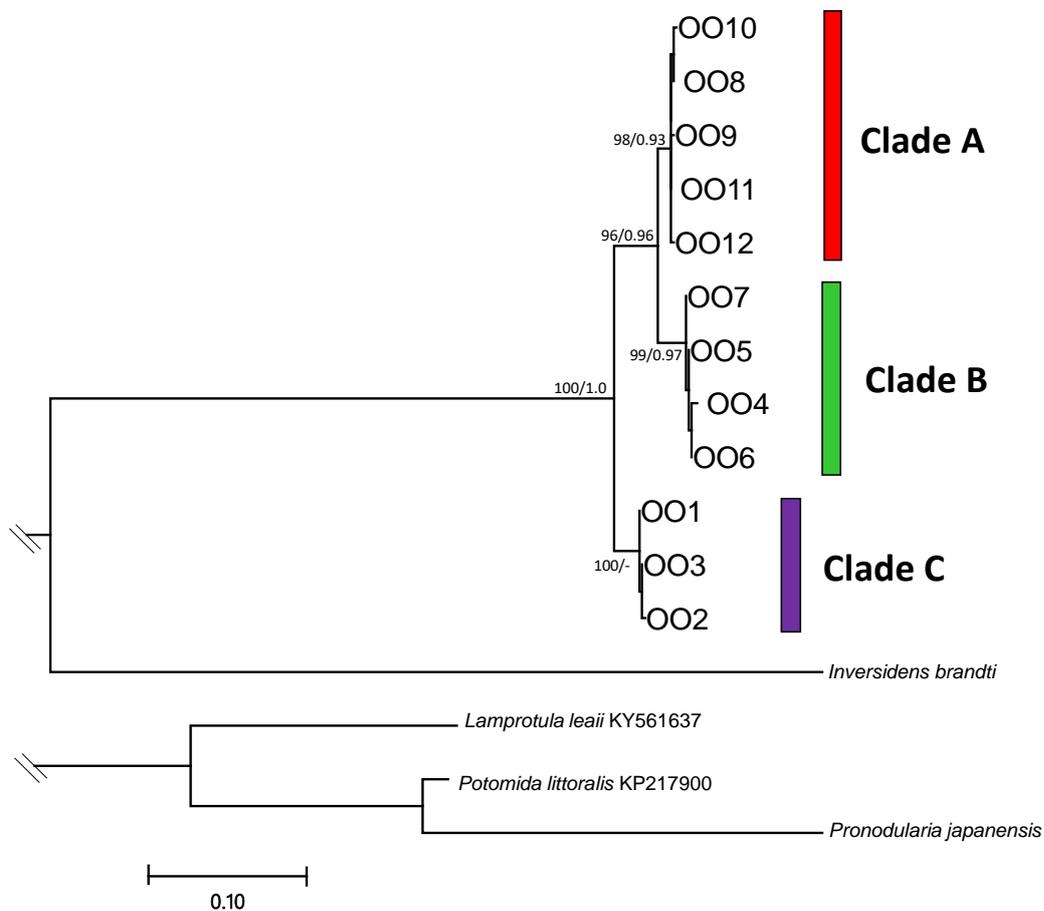


図 1-11 カタハガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹。

各ノードの数値は、ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す。検出されたハプロタイプ番号のみを示した。検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-7 を参照。

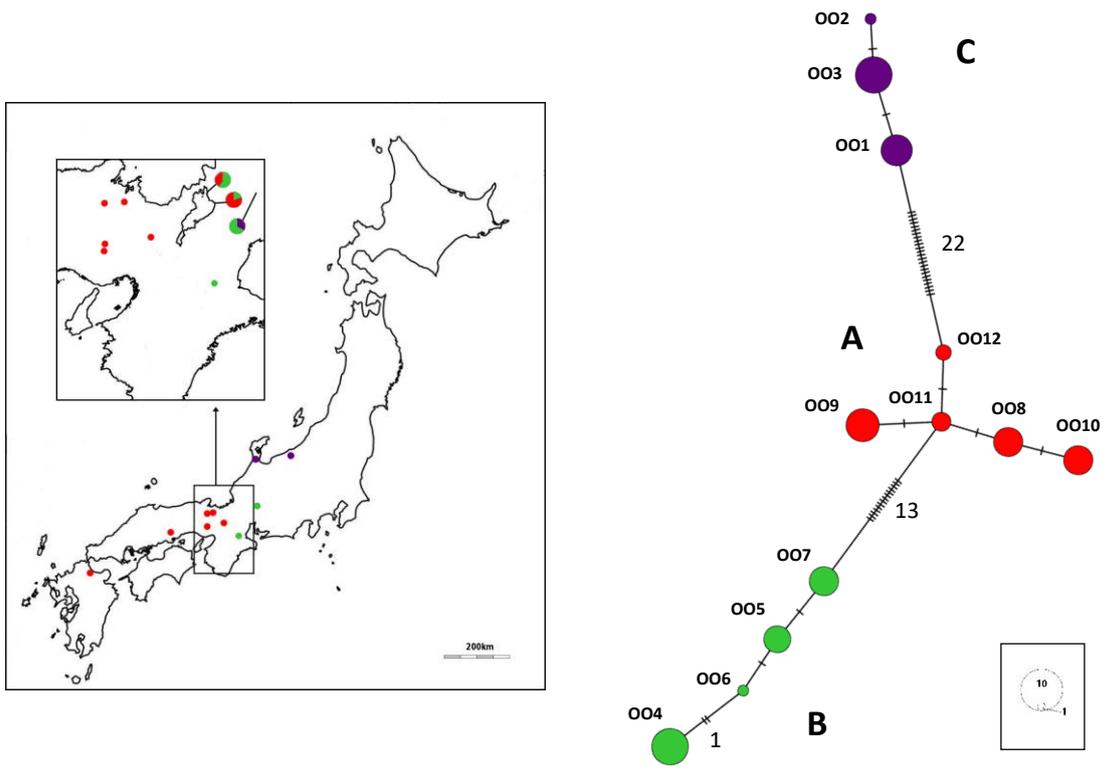


図 1-12 カタハガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. 左図中の円グラフは各ハプロタイプの割合を示す. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-7 を参照.

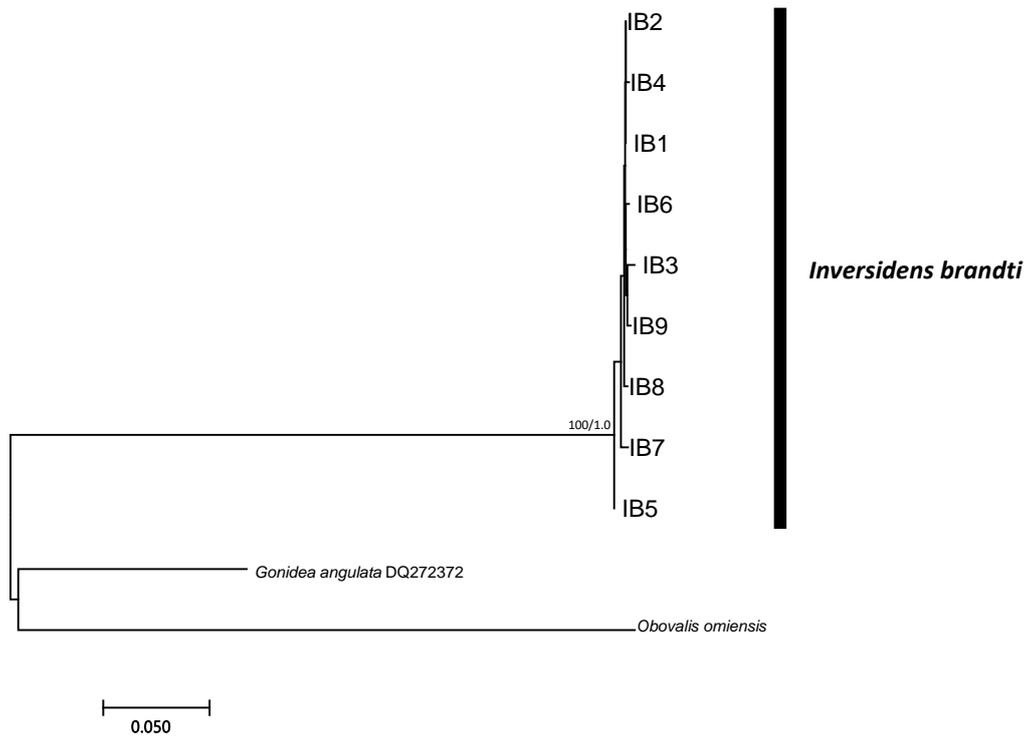


図 1-13 オバエボシガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹.

各ノードの数値は、ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す. 検出されたハプロタイプ番号のみを示した. 検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 1-8 を参照.

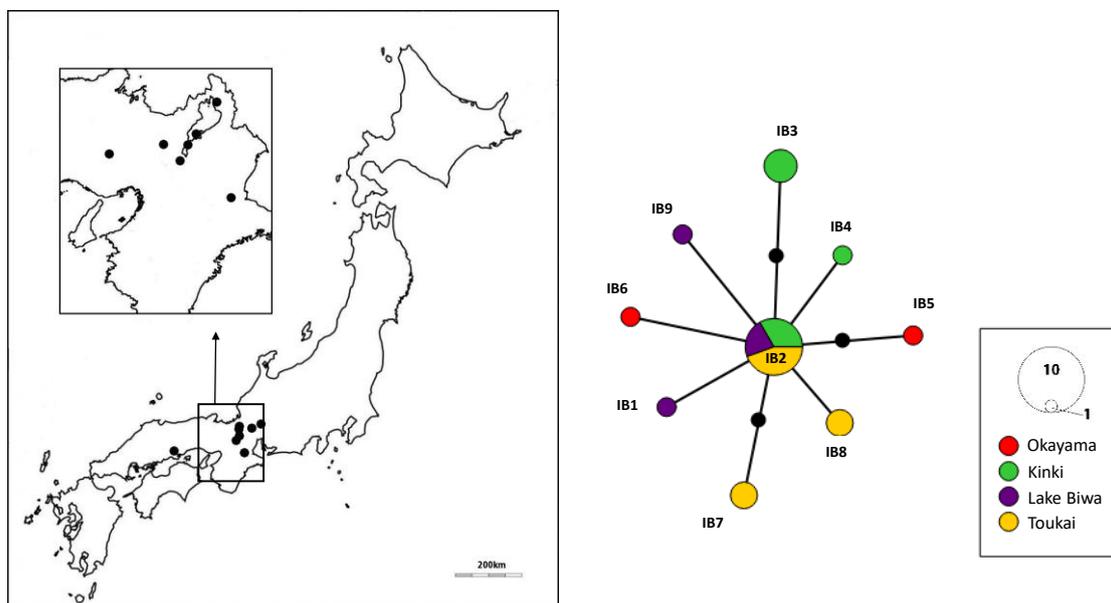


図 1-14 オバエボシガイの mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプの地理的分布とハプロタイプネットワーク. ハプロタイプ番号と産地情報に関しては表 1-8 を参照.

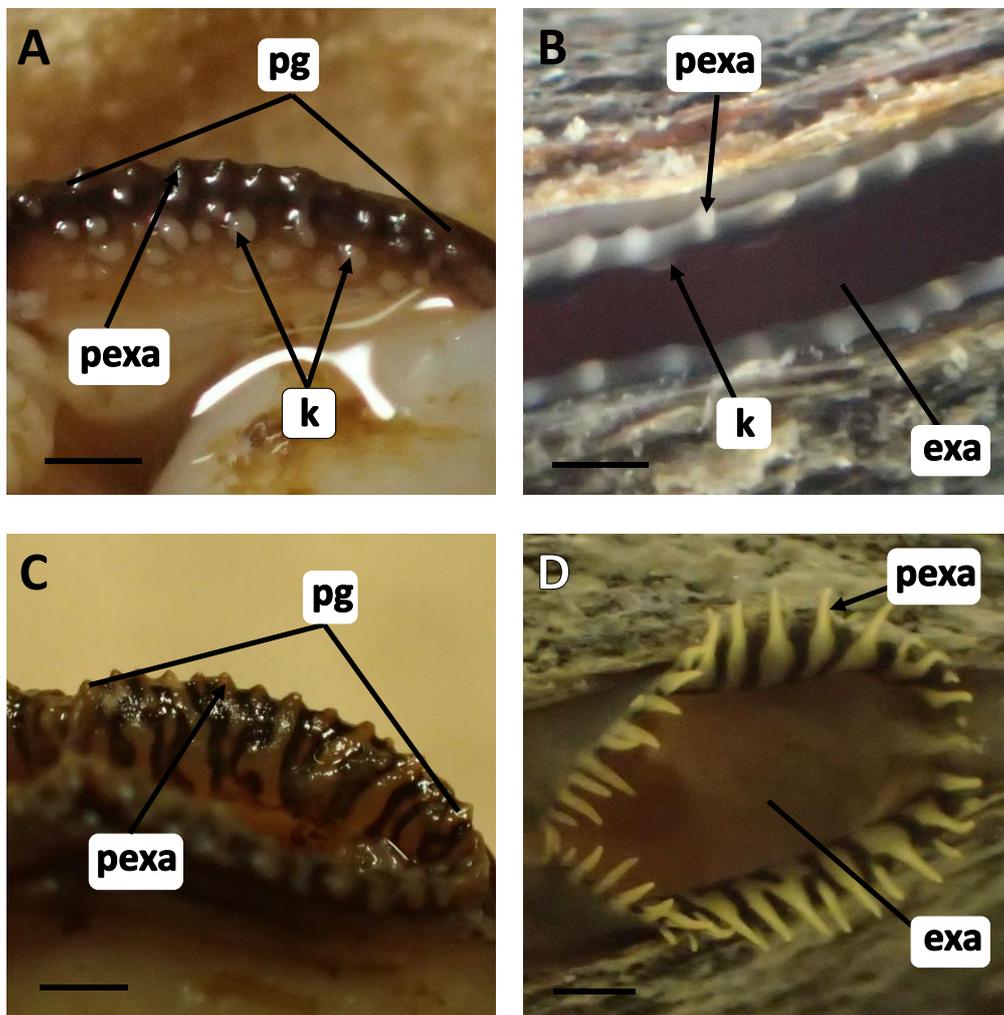


図 2-1 マツカサガイとオトコタテボシガイ属の出水管形態. A, TypeA (固定標本). B, TypeA (生体). C, TypeB (固定標本). D, TypeB (生体).

exa, 出水管口 excurrent aperture; pg, 開口部の色彩 pigment coating without papillae in the excurrent aperture; pexa, 開口部の乳頭状突起 pigmentation of excurrent aperture; k, 水管内部のこぶ状突起 knobs or bumps on the inner mantle surface in excurrent aperture. Scale bar: A-C, 1 mm; B-D, 2 mm.

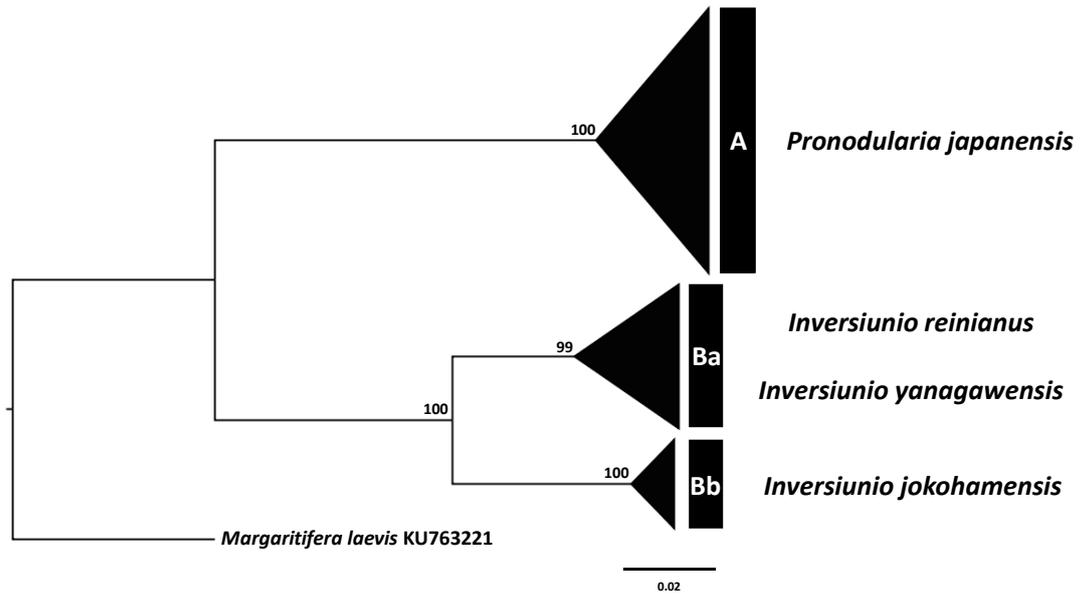


図 2-2 マツカサガイとオトコタテボシガイ属の K2P に基づく近隣接合樹. 主要なノード上の数字はブートストラップ値を示す(1,000 replicates).

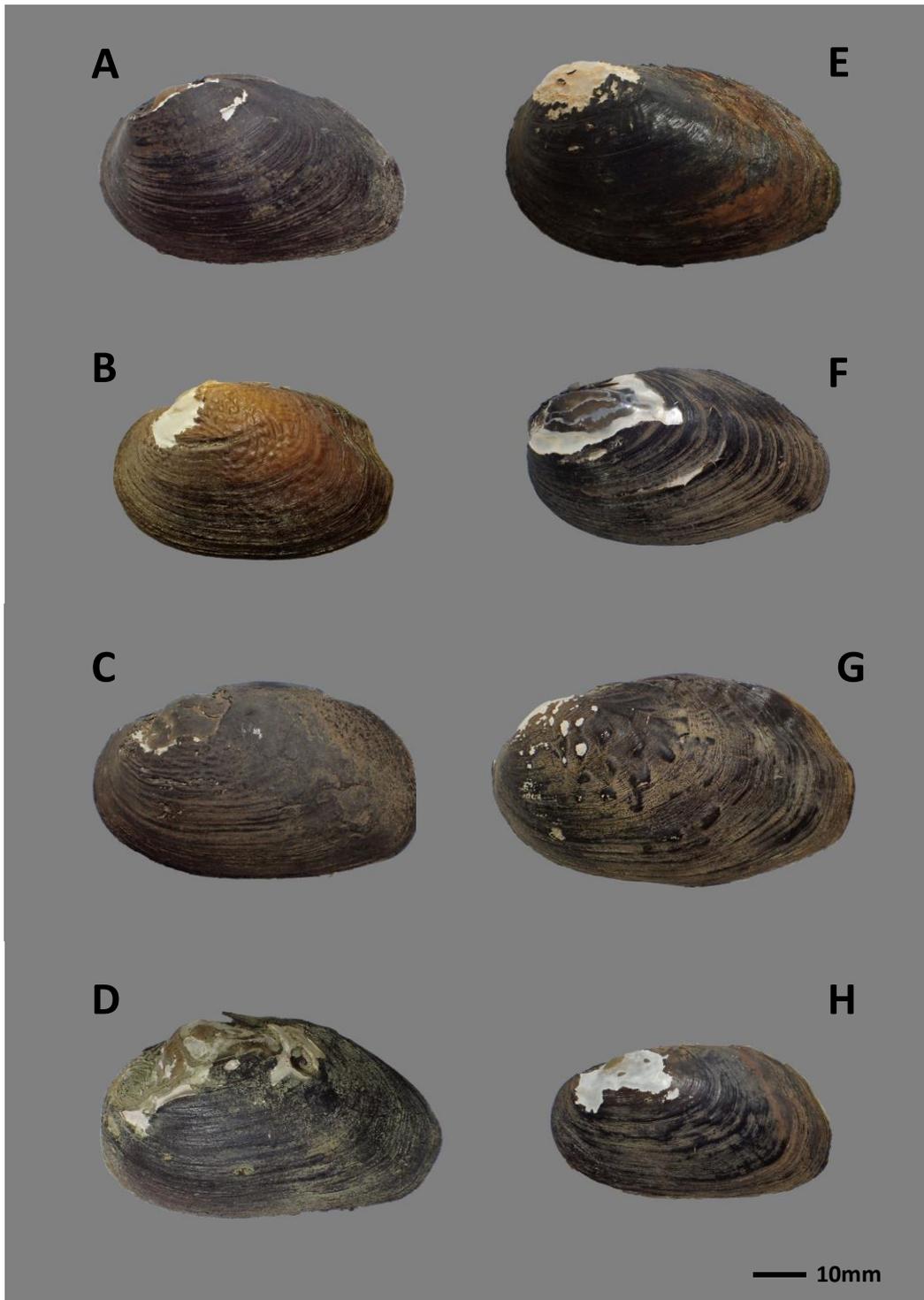


図 3-1 検討標本の左殻表面.

A: TypeI (U-493), 滋賀県長浜市尾上. B: ニセマツカサガイ *Inversium yanagawensis* (U-229.1), 岡山県岡山市, 祇園用水. C: ヨコハマシジラガイ *I. jokohamensis* (U-917), 鳥取県岩美町. D: マツカサガイ *Pronodularia japonensis* (U-138), 京都府京都市, 琵琶湖疏水. E: TypeII (U-34) 琵琶湖南湖, 貝曳き. F: “オトコタテボシガイ” (U-744.1), 東近江市, 琵琶湖. G: *Lamprolla leaii* (U-563), Vietnam. H: *Pronodularia seomjinensis* (U-1087), South Korea.

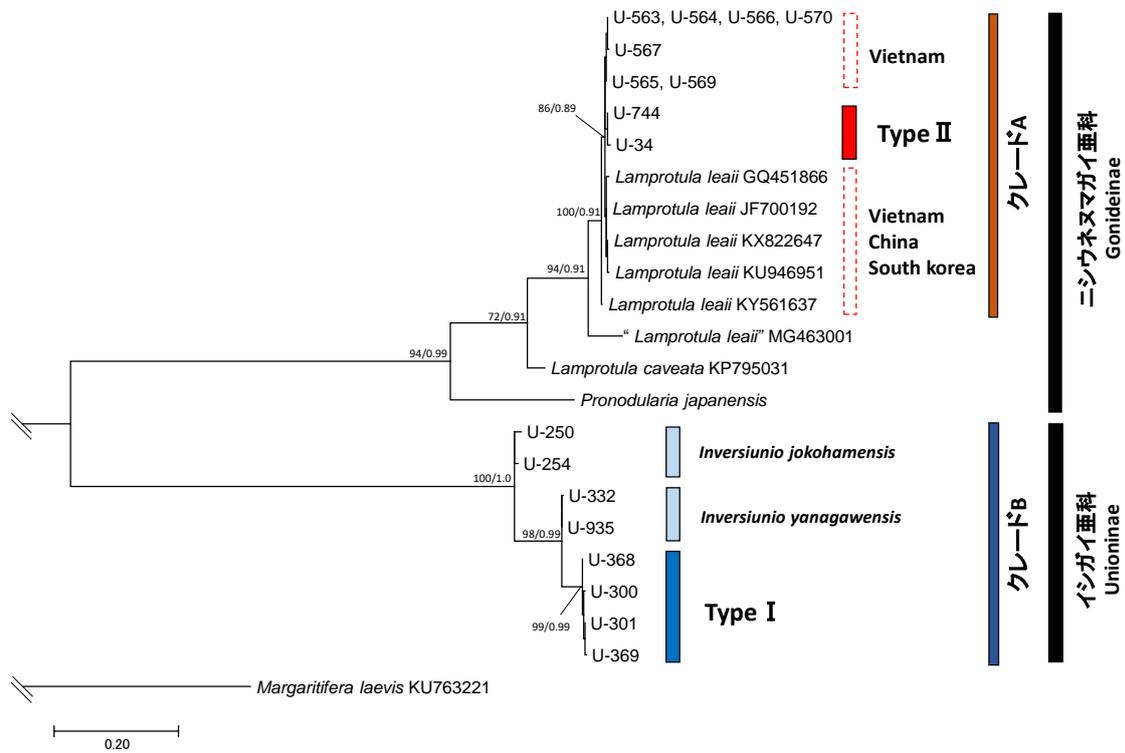


図 3-2 オトコタボシガイ種群とガマノセガイ属の mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹。

各ノードの数値は、ML 法におけるブートストラップ値 (70>) とベイズの事後確率 (80>) を示す。検出されたハプロタイプ番号のみを示した。検出されたハプロタイプと産地情報に関しては表 3-1 を参照。

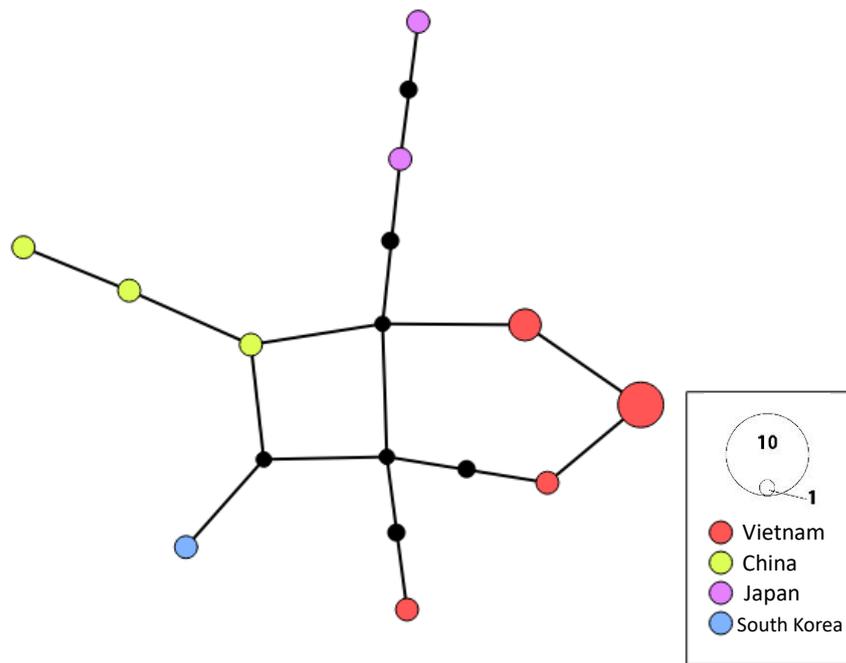


図 3-3 ガマノセガイ属の mtDNA COI 領域において検出された各ハプロタイプのハプロタイプネットワーク図.

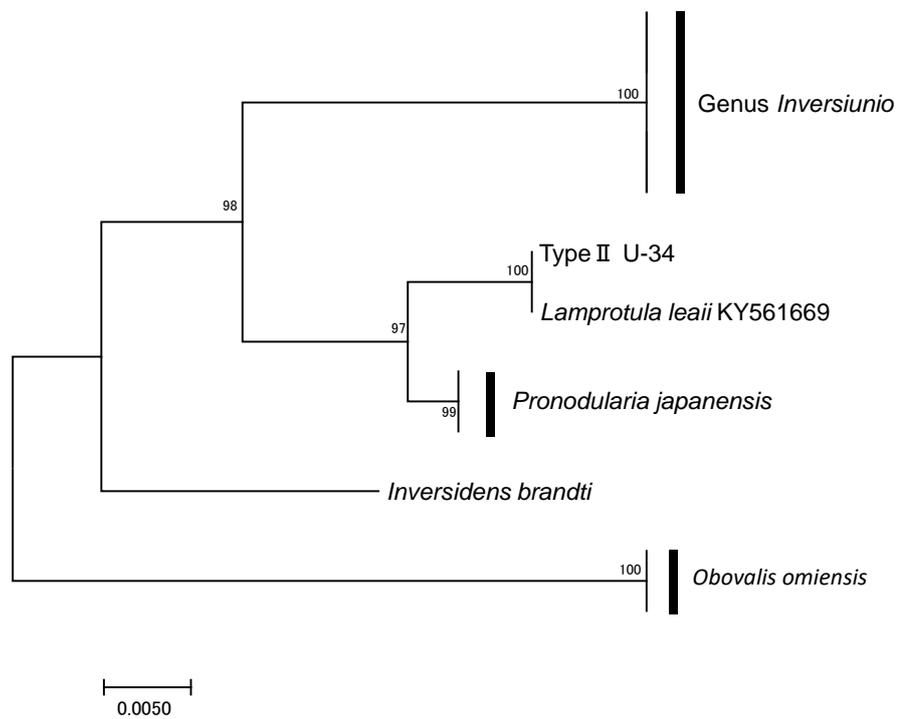


図 3-4 オトコタボシガイ種群とガンノセガイ属の核 DNA 28S 領域において検出された各ハプロタイプ間の類縁関係を示す最尤法系統樹.

各ノードの数値は, ML 法におけるブートストラップ値 (70) とベイズの事後確率 (80) を示す. 種のための名称を示した.

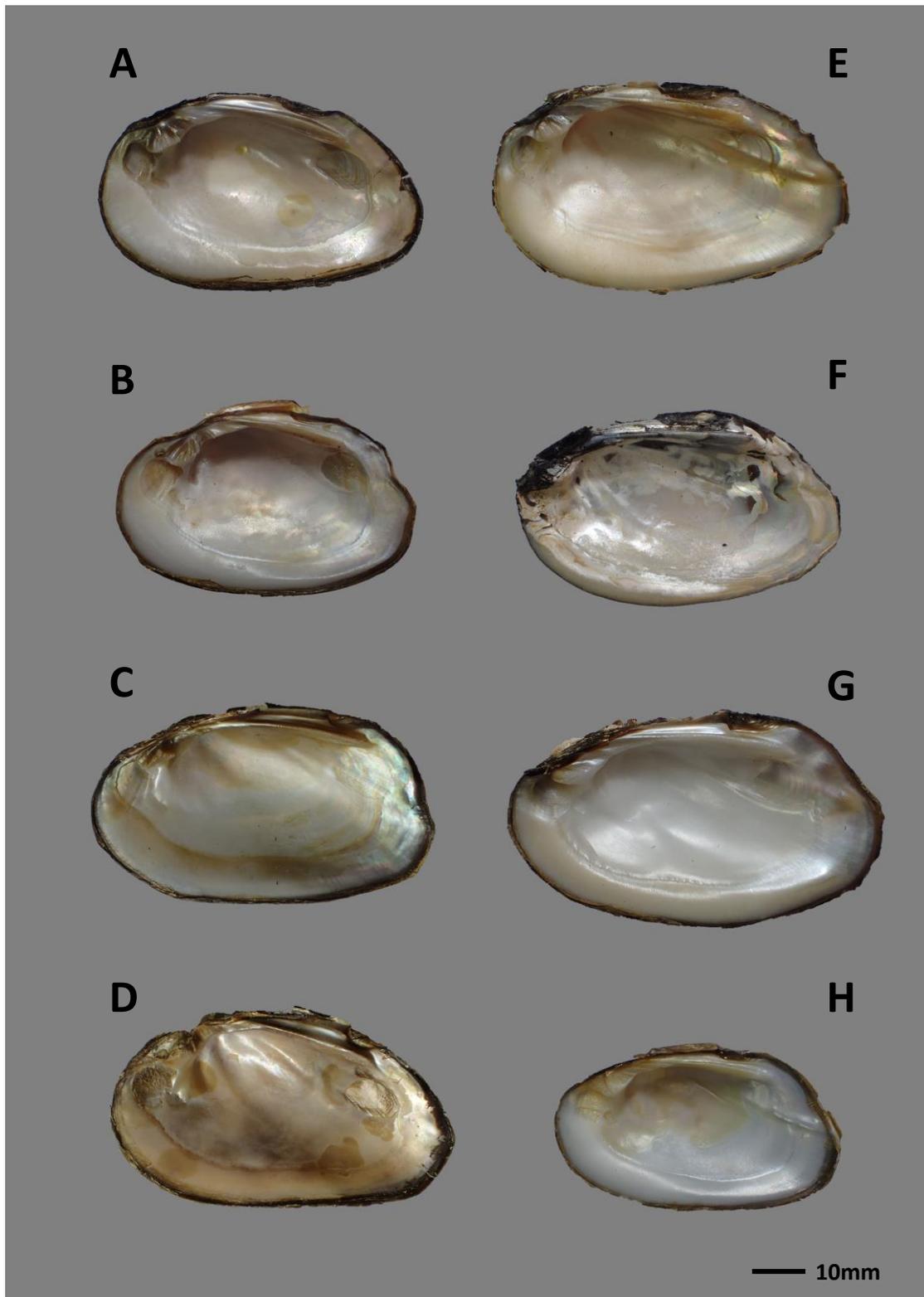


図 3-5 検討標本の右殻内面. 図示標本, 図示番号共に図 3-1 と同じ.

A: TypeI. B: ニセマツカサガイ. C: ヨコハマシジラガイ. D: マツカサガイ. E: TypeII. F: “オトコタテボシガイ”. G: *Lamprotla leaii*. H: *Pronodularia seomjinensis*.

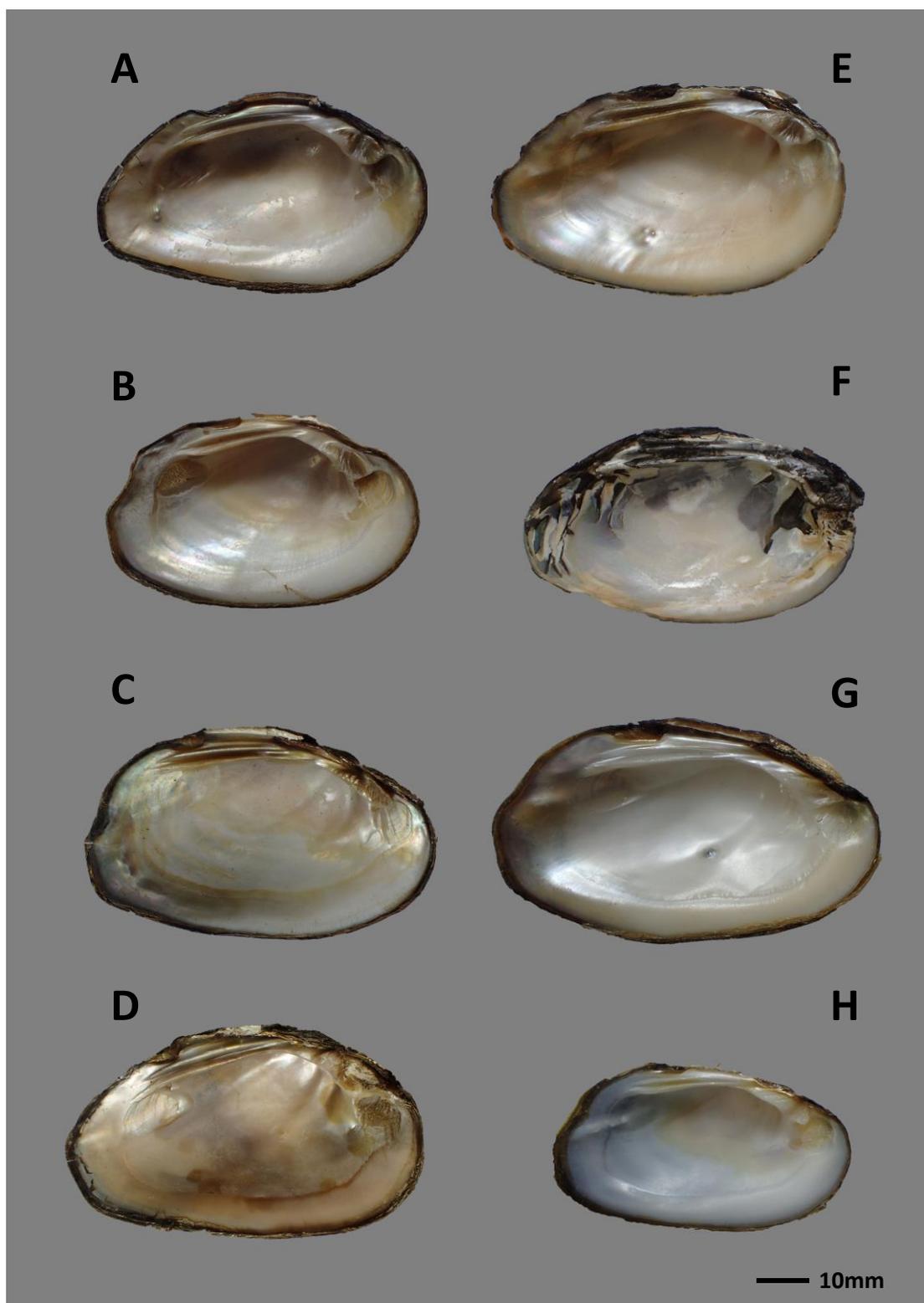


図 3-6 検討標本の左殻内面. 図示標本, 図示番号共に図 3-1 と同じ.

A: Type I. B: ニセマツカサガイ. C: ヨコハマシジラガイ. D: マツカサガイ. E: Type II. F: “オトコタテボシガイ”. G: *Lamprotla leaii*. H: *Pronodularia seomjinensis*

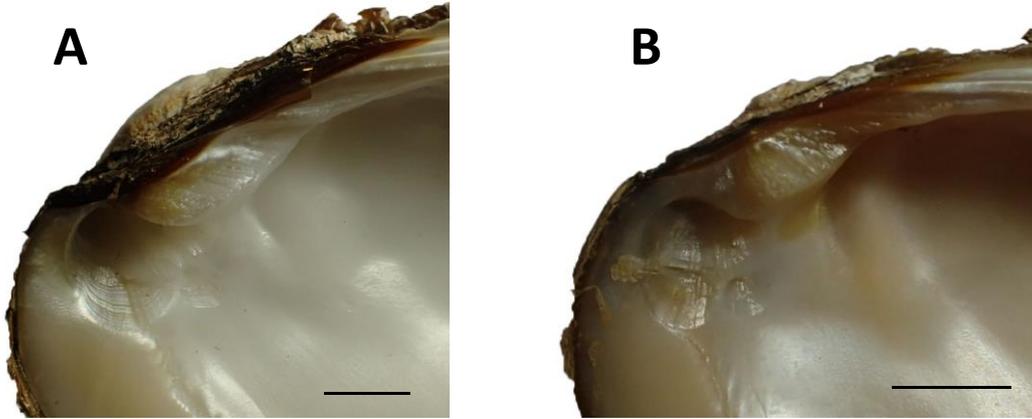


図 3-7 *Lamprotula leaii* における擬主歯形態の変異. 左 (U-573), 右 (U-568)

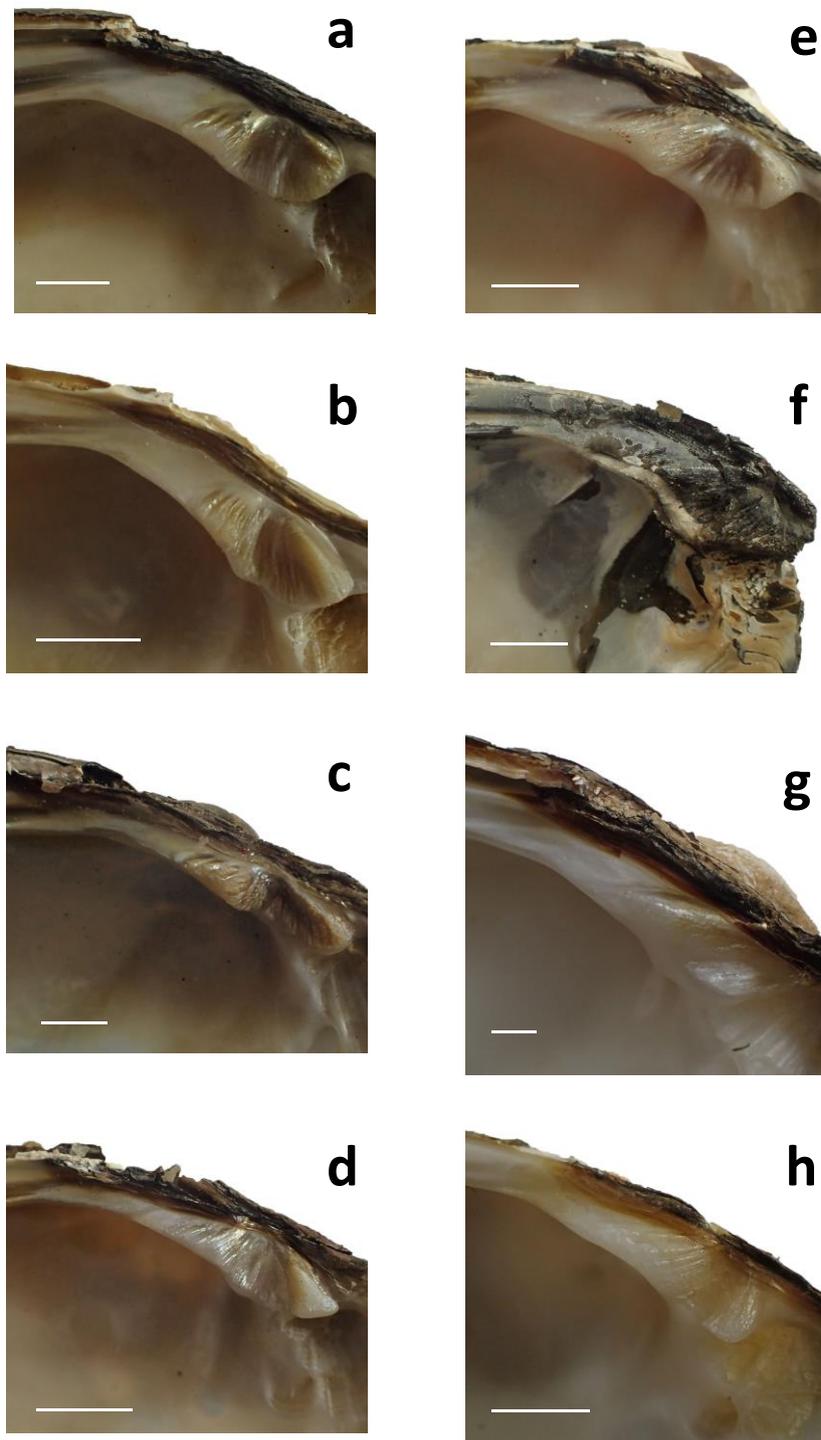


図 3-8 検討標本の左殻擬主歯形態. a: TypeI (U-493), 滋賀県長浜市尾上. b: ニセマツカサガイ *Inversiunio yanagawensis* (U-229.1), 岡山県岡山市, 祇園用水. c: ヨコハマシジラガイ *I. jokohamensis* (U-917), 鳥取県岩美町. d: マツカサガイ *Pronodularia japonensis* (U-787), 岐阜県岐阜市. e: TypeII (U-34) 東近江市, 琵琶湖. f: “オトコタテボシガイ” (U-744.1), 琵琶湖南湖, 貝曳き. g: *Lamprotla leaii* (U-563), Vietnam. h: *Pronodularia seomjinensis* (U-1087), South Korea.

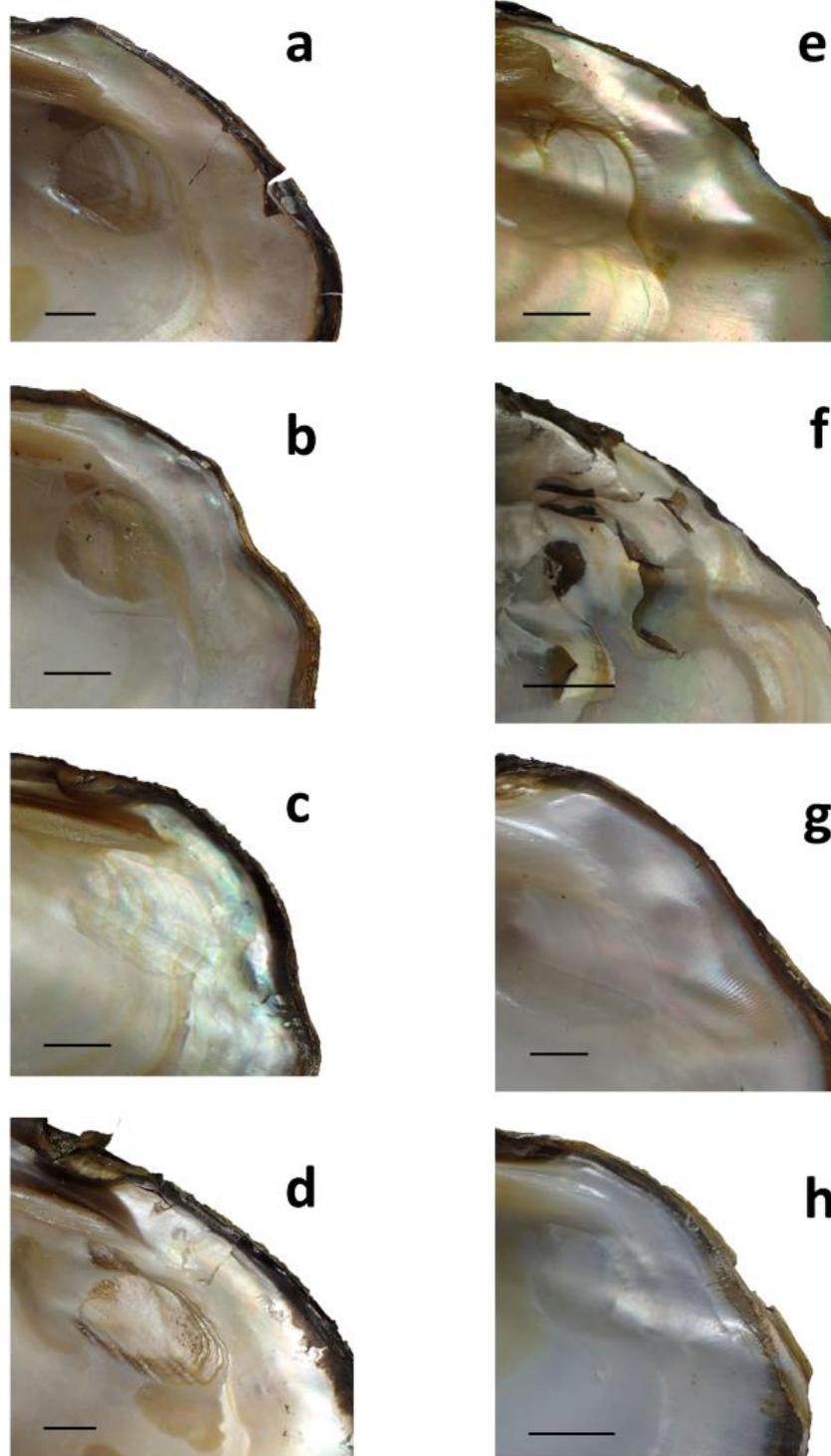


図 3-9 検討標本の右殻内面の後端形態. 図示標本, 図示番号共に図 3-5 と同じ. a: TypeI. b: ニセマツカサガイ. c: ヨコハマシジラガイ. d: マツカサガイ. e: TypeII. f: “オトコタテボシガイ”. g: *Lamprotla leaii*. h: *Pronodularia seomjinensis*.

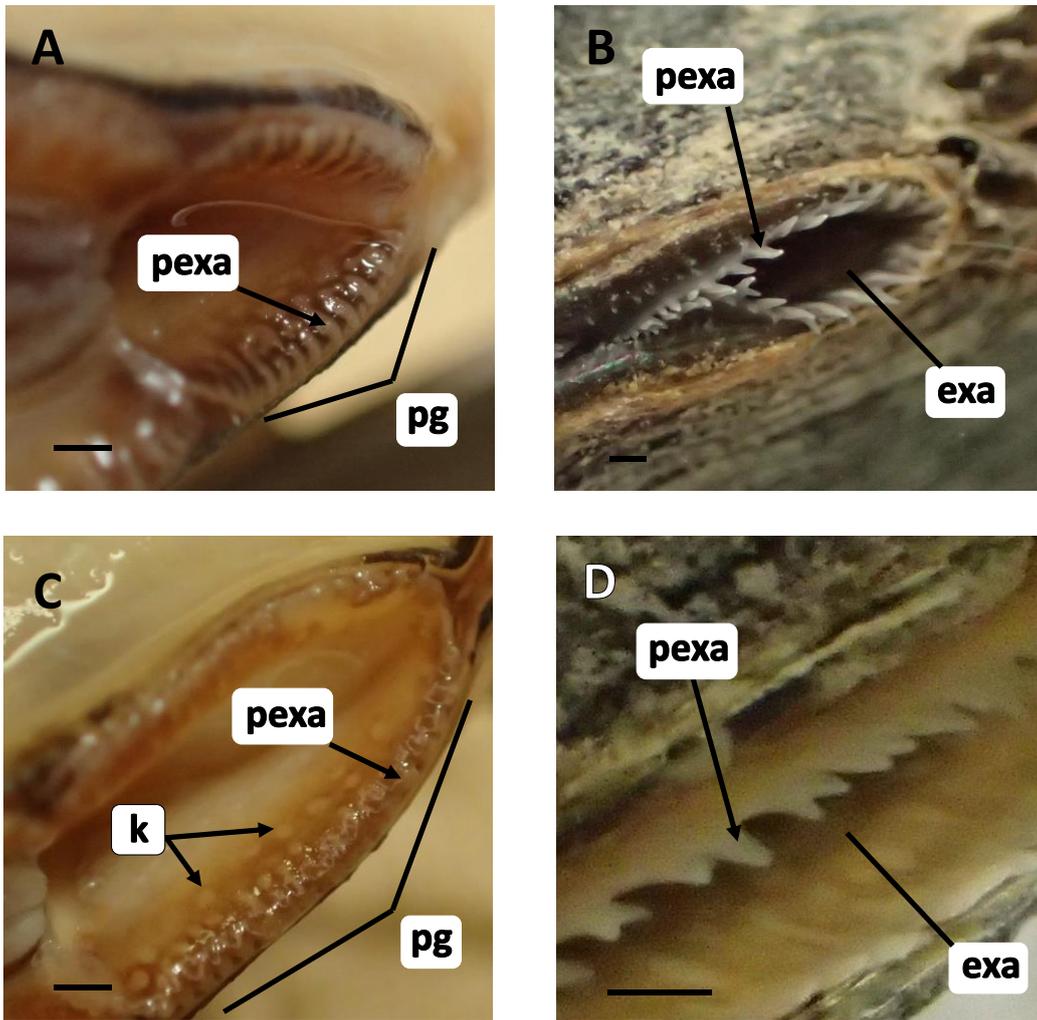


図 3-10. TypeI と TypeII の出水管形態. A, TypeI (固定標本). B, TypeI (生体). C, TypeII (固定標本). D, TypeII (生体).

exa, 出水管口 excurrent aperture; pg, 開口部の色彩 pigment coating without papillae in the excurrent aperture; pexa, 開口部の乳頭状突起 pigmentation of excurrent aperture; k, 水管内部のこぶ状突起 knobs or bumps on the inner mantle surface in excurrent aperture. Scale bar: A-D, 1 mm