

報告 (Report)

愛知県西三河地域から採集されたヒラマキガイ属3種：  
形態と遺伝子情報による解析

川瀬基弘<sup>1)</sup>・松原美恵子<sup>2)</sup>・森山昭彦<sup>2)</sup>

Three species of the genus *Gyraulus* from West Mikawa Area, Aichi Prefecture, Japan:  
Analysis of shell morphology and mitochondrial COI gene sequences

Motohiro KAWASE<sup>1)</sup>, Mieko SUZUKI-MATSUBARA<sup>2)</sup> and Akihiko MORIYAMA<sup>2)</sup>

摘 要

愛知県西三河地域39地点から採集されたヒラマキガイ属は、殻の形態およびミトコンドリア COI 遺伝子の解析から、ヒラマキミズマイマイ、ヒメヒラマキミズマイマイ、ミズコハクガイの3種に分類された。ミトコンドリア COI 遺伝子の情報を伴う愛知県内からのヒメヒラマキミズマイマイとミズコハクガイの正式な記録は初めてである。

キーワード：ヒラマキミズマイマイ、ヒメヒラマキミズマイマイ、ミズコハクガイ、ヒラマキガイ属、ミトコンドリア COI 遺伝子、愛知県西三河

Key words: *Gyraulus chinensis*, *Gyraulus pulcher*, *Gyraulus soritai*, *Gyraulus*, mitochondrial COI gene, West Mikawa Area, Aichi Prefecture

(2016年5月5日受付；2016年8月19日受理)

はじめに

日本産ヒラマキガイ属 *Gyraulus* は、肥後・後藤 (1993) によれば10種が報告されている。本属各種は殻径が5 mm 前後の微小種が多く、東海地方では殻の形態からヒラマキミズマイマイ *Gyraulus chinensis* Dunker, 1854, ヒメヒラマキミズマイマイ *Gyraulus pulcher* (Mori, 1938) およびミズコハクガイ *Gyraulus soritai* Habe, 1976の採集記録が報告されている(河辺, 2002；川瀬ほか, 2011, 2012；守谷・河辺, 2013；高柳, 2014；川瀬, 2016；など)。ただし、ヒラマキミズマイマイとヒメヒラマキミズマイマイについては、同サイズの個体を識別するのが困難であることも指摘されている(増田・内山, 2004)。

川瀬ほか (2016) では殻の大きさから同定されたヒラマキミズマイマイとヒメヒラマキミズマイマイが、ミトコンドリア COI 領域の解析でも同一の結果になることが示されてい

るが、使用されたヒメヒラマキミズマイマイの試料は岐阜県瑞浪市の1点を除いて岐阜市産に偏っており、愛知県産の試料が分析されていないことから愛知県内にヒメヒラマキミズマイマイが分布するか否かについては疑問が残る。つまり、これまでに愛知県内から記録されたヒメヒラマキミズマイマイはヒラマキミズマイマイの幼貝などの誤同定の可能性があることも完全に否定できない。

そこで本研究では西三河地域のヒラマキガイ属各種の生息状況を把握するために、同地域においてヒラマキガイ属をサンプリングし、殻形態により同定するとともに、誤同定を防ぐために分子系統解析をあわせて行った。

村瀬幸雄氏には PCR ならびに DNA 塩基配列を決定するにあたりお世話になった。ここに記して厚く御礼申し上げる。

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

<sup>2)</sup> 〒467-8501 名古屋市瑞穂区瑞穂町山の畑1 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科生物多様性研究センター

## 試料採取と方法

試料採取は、主に西三河地域および周辺地域の水田で行い、メッシュサイズ0.5mmの篩と目合いの細かなフィッシュネットを用いて水草に付着するヒラマキガイ属を採集した(表1)。形態分類にはMori (1938), Habe (1976) および増田・内山 (2004) を用いて同定した。

煮沸して肉抜きをした軟体部から腹足の一部(数mg)を切り取り、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden), または、Asahida *et al.* (1996) の方法で genomic DNA を抽出・精製し、PCRによりCOI遺伝子(658bp)を増幅した。PCRには、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (タカラバイオ株式会社, 滋

賀)を用い、PCR酵素には、Speed STAR HS DNA Polymerase (タカラバイオ株式会社, 滋賀)を使用した。また、LCO1490とHCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) をプライマーとして用いた。反応条件は、94°C1分の加熱後、98°C5秒/50°C15秒/72°C10秒を30サイクル、72°C5分、または、94°C40秒/46°C40秒/72°C1分を5サイクル、94°C40秒/51°C40秒/72°C1分を35サイクル、72°C5分で行った。PCR産物はExoSAP-IT (Affymetrix, CA) で精製した後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA) を用いて蛍光ラベルし、Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA) により塩基配列を決定した。

分子系統樹は解析ソフトMEGA6 (Tamura *et al.*, 2013) を用

表1. ヒラマキガイ属3種とそれに関連する貝類標本の採集情報

Table 1. Collecting localities and date of 3 species in *Gyraulus* and the related species.

和名	採集地点	緯度	経度	採集日	採集個体数
ヒラマキミズマイマイ	愛知県豊田市四ツ松町十明山	35.0793	137.3106	2010年9月2日	+
	愛知県豊田市中当町スズ原	35.1843	137.5159	2011年7月16日	+++
	愛知県豊田市久木町東洞	35.1586	137.3412	2011年7月16日	++
	愛知県豊田市御作町	35.1943	137.2395	2011年8月14日	+++
	岐阜県岐阜市古市場東町田	35.4594	136.7399	2011年9月1日	+
	岐阜県岐阜市島栄町	35.4274	136.7287	2012年5月18日	+
	岐阜県岐阜市福光西	35.4534	136.7668	2012年6月8日	++
	愛知県新城市四谷	35.0492	137.5666	2012年8月8日	+++
	愛知県名古屋市市中川区東かの里町	35.1347	136.8174	2012年8月16日	++
	愛知県名古屋市港区新茶屋	35.1037	136.8008	2012年8月16日	++
	愛知県名古屋市守山区城屋敷町	35.1715	136.8409	2012年8月16日	+
	愛知県名古屋市守山区太田井	35.1992	136.9896	2012年9月3日	+
	愛知県名古屋市北区楠町大字喜惣治新田	35.2365	136.9027	2013年7月28日	++
	愛知県豊田市東萩平町	35.2001	137.3311	2013年8月31日	++
	愛知県豊田市下山田代町上弓沢	35.0180	137.2998	2015年8月18日	+
	愛知県西尾市室町茅野	34.8565	137.0924	2015年7月26日	+++
	愛知県西尾市小島町二ヶ崎	34.8854	137.0953	2015年5月1日	++
	愛知県西尾市花蔵寺町五貫目	34.8509	137.0860	2015年7月26日	++
	愛知県西尾市志籠谷町	34.8811	137.0852	2015年4月11日	+++
	ミズコハクガイ	愛知県豊田市上高町 [上高湿地]	35.1212	137.2418	2012年10月26日
愛知県豊田市矢並町 [矢並湿地]		35.0838	137.2164	2015年8月10日	+
愛知県豊田市山中町 [恩真寺湿地]		35.1177	137.2460	2015年8月10日	+
愛知県豊田市下山田代町上弓沢		35.0180	137.2998	2015年8月18日	+
ヒメヒラマキミズマイマイ	愛知県岡崎市保久町猪戻	35.0164	137.2945	2015年8月18日	+
	岐阜県岐阜市岩崎	35.4770	136.7810	2010年9月1日	+
	岐阜県瑞浪市釜戸町2673	35.4118	137.3079	2011年6月4日	++
	岐阜県瑞浪市釜戸町町屋	35.4057	137.2977	2011年7月16日	++
	岐阜県岐阜市雛倉2丁目	35.5205	136.6995	2011年8月12日	+
	岐阜県岐阜市雛倉3丁目	35.5259	136.7023	2011年8月12日	++
	岐阜県岐阜市彦坂	35.4963	136.7336	2011年8月12日	++
	岐阜県岐阜市岩利6丁目	35.5031	136.7409	2011年8月12日	+
	岐阜県岐阜市佐野	35.5168	136.7244	2011年8月12日	+
	岐阜県岐阜市安食3丁目	35.4938	136.7260	2011年9月9日	+++
	岐阜県岐阜市粟野西8丁目	35.4923	136.7691	2011年9月9日	++
	岐阜県岐阜市雛倉3丁目	35.5259	136.7023	2011年8月12日	++
	愛知県西尾市花蔵寺町五貫目	34.8509	137.0860	2015年7月26日	+
愛知県岡崎市保久町猪戻	35.0164	137.2945	2015年8月18日	+	
ヒロマキミズマイマイ	愛知県西尾市小島町山内	34.8825	137.0905	2015年5月31日	+++
カワコザラガイ (外群)	愛知県豊田市大池町 [牛尾池]	35.1122	137.1220	2011年3月9日	+++

+ : 1~9, ++ : 10~20, +++ : >20

愛知県西三河地域から採集されたヒラマキガイ属

いて、近隣結合法(Neighbor-Joining 法)により作成した。また、  
 遺伝子距離の算出は Kimura 2-parameter 法で行い、各ノード  
 における信頼性を評価するため1,000回のブートストラップ  
 解析を行った。数字は結合の信頼度を表すブートストラップ

確率 (%) を示す。本研究では、70%以上のブートストラッ  
 プ値が得られた系統樹形を概ね正しいと考えた。

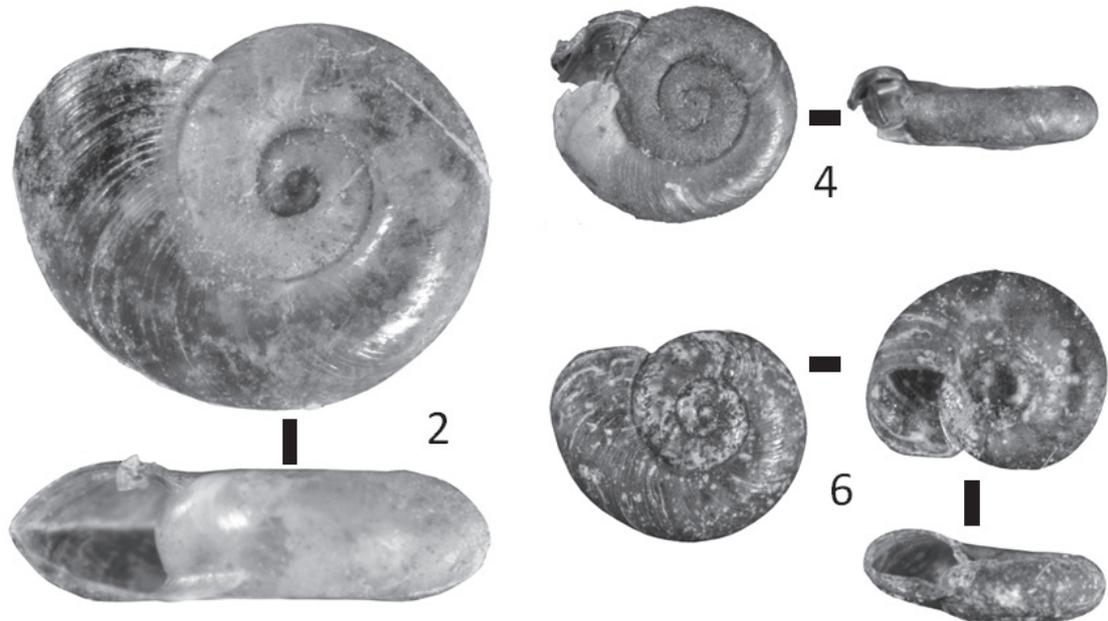
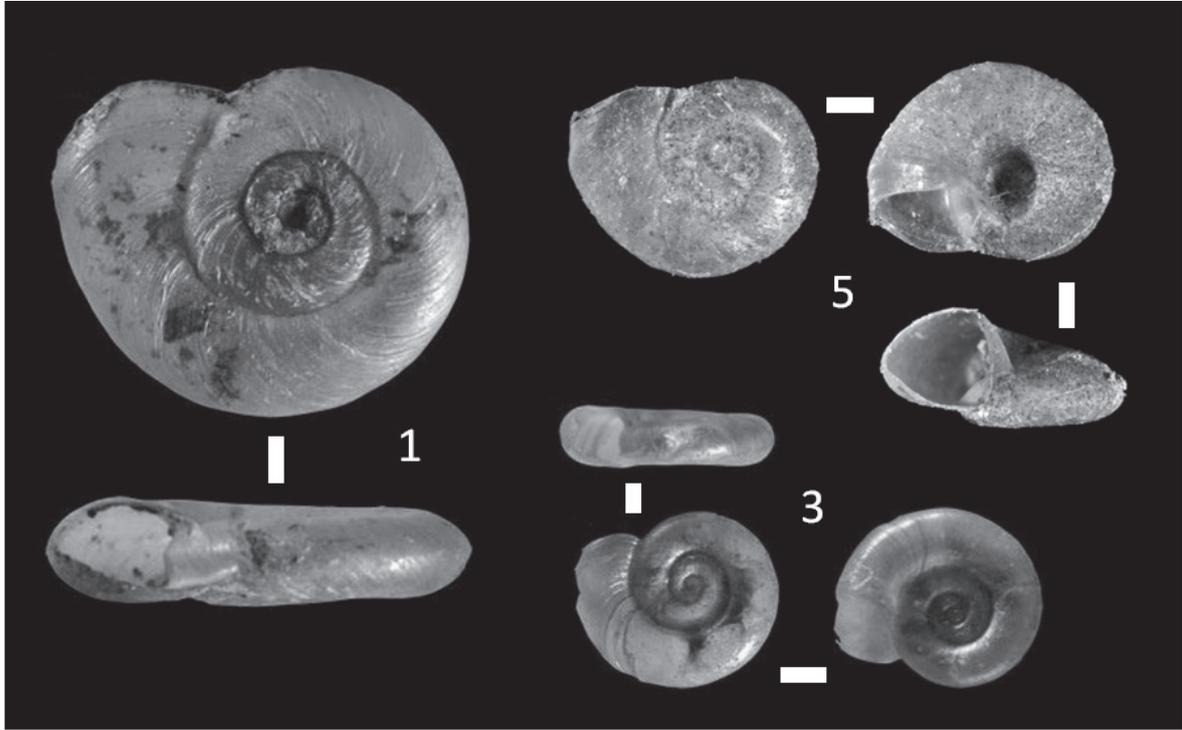


図1. ヒラマキガイ属3種とヒロマキミズマイマイ。 1, 2. ヒラマキミズマイマイ (1, 殻径5.1 mm, 2, 殻径3.5 mm), 3, 4. ヒメヒラマキミズマイマイ (3, 殻径2.1 mm, 4, 殻径2.2 mm), 5. ヒロマキミズマイマイ ( 殻径3.2 mm), 6. ミズコハクガイ ( 殻径2.4 mm).

Fig.1. Three species of *Gyraulus* and *Menetus dilatatus*. 1, 2. *Gyraulus chinensis* (1, shell diameter: 5.1 mm, 2, shell diameter: 3.5 mm), 3, 4. *Gyraulus pulcher* (3, shell diameter: 2.1 mm, 4, shell diameter: 2.2 mm), 5. *Menetus dilatatus* (shell diameter: 3.2 mm), 6. *Gyraulus soritai* (shell diameter: 2.4 mm).

## 結果および考察

カワコザラガイ *Laevapex nipponica* (Kuroda, 1947) を外群として、ヒラマキミズマイマイ (図1-1, 2), ミズコハクガイ (図1-6), ヒメヒラマキミズマイマイ (図1-3, 4) およびヒロマキミズマイマイ (図1-5) におけるミトコンドリア COI 遺伝子の分子系統樹を作成した (図2)。ヒラマキガイ属の COI 遺伝子の系統樹には、近年発見された (吉成ほか, 2010; 川瀬ほか, 2016) 近縁属外来種のヒロマキミズマイマイ *Menetus dilatatus* (Gould, 1841) や周辺地域のヒラマキガイ属のサンプルも併せて表示した。ヒラマキミズマイマイ, ヒメヒラマキミズマイマイ, ミズコハクガイの3種は、ブート

スタラップ値100%で、それぞれ独立したクレードを形成しており、形態的分類が、COI の塩基配列によっても裏付けられた。ヒラマキミズマイマイでは COI 遺伝子に対して12種のハプロタイプが検出されたので、*G. chinensis* A ~ L と名付けた (表2)。同様にミズコハクガイのハプロタイプ2種を *G. soritai* A と B, ヒメヒラマキミズマイマイのハプロタイプ9種を *G. pulcher* A ~ I, ヒロマキミズマイマイのハプロタイプ1種を *M. dilatatus* A とした。

ヒラマキミズマイマイとヒメヒラマキミズマイマイは異なるクレードに分かれた (図2)。殻形態によりヒラマキミズマイマイに同定された個体はいずれも1つのクレードにまとめられた。ヒラマキミズマイマイはハプロタイプ *G. chinensis*

表2. COI ハプロタイプ分析をした標本の採集情報  
Table 2. List of COI haplotypes of 3 species in *Gyraulus* analyzed.

和名	COI ハプロタイプ	採集地	分析数
ヒラマキミズマイマイ	<i>G. chinensis</i> A	愛知県名古屋市中川区東かの里町	1
		愛知県西尾市室町茅野	1
		愛知県西尾市小島町二ヶ崎	1
	<i>G. chinensis</i> B	岐阜県岐阜市古市場東町田	1
		愛知県西尾市室町茅野	1
	<i>G. chinensis</i> C	愛知県西尾市花蔵寺町五貫目	1
		愛知県豊田市中当町スズ原	1
	<i>G. chinensis</i> D	愛知県豊田市御作町	1
		愛知県豊田市久木町東洞	1
	<i>G. chinensis</i> E	愛知県豊田市港区新茶屋	1
	<i>G. chinensis</i> F	愛知県名古屋市中村区城屋敷町	1
	<i>G. chinensis</i> G	愛知県岐阜市島栄町	1
	<i>G. chinensis</i> H	岐阜県岐阜市福光西	1
	<i>G. chinensis</i> J	愛知県名古屋市北区楠町大字喜惣治新田	1
		愛知県名古屋市守山区太田井	1
愛知県豊田市東萩平町		1	
<i>G. chinensis</i> K	愛知県西尾市志籠谷町	5	
	愛知県豊田市四ツ松町十明山	1	
<i>G. chinensis</i> L	愛知県豊田市下山代町上弓沢	1	
	愛知県新城市四谷	1	
ミズコハクガイ	<i>G. soritai</i> A	愛知県豊田市上高町 [上高湿地]	1
		愛知県豊田市矢並町 [矢並湿地]	1
		愛知県豊田市山中町 [恩真寺湿地]	1
	<i>G. soritai</i> B	愛知県豊田市下山代町上弓沢	3
<i>G. pulcher</i> A	愛知県岡崎市保久町猪戻	3	
	岐阜県岐阜市安食3丁目	1	
<i>G. pulcher</i> B	岐阜県瑞浪市釜戸町町屋	1	
	岐阜県岐阜市雛倉3丁目	1	
<i>G. pulcher</i> C	岐阜県岐阜市粟野西8丁目	1	
<i>G. pulcher</i> D	愛知県岡崎市保久町猪戻	1	
ヒメヒラマキミズマイマイ	<i>G. pulcher</i> E	岐阜県岐阜市岩崎	1
		岐阜県瑞浪市釜戸町2673	1
	<i>G. pulcher</i> F	岐阜県岐阜市彦坂	1
	<i>G. pulcher</i> G	岐阜県岐阜市雛倉2丁目	1
	<i>G. pulcher</i> H	岐阜県岐阜市岩利6丁目	1
<i>G. pulcher</i> I	岐阜県岐阜市佐野	1	
	愛知県西尾市花蔵寺町五貫目	1	
ヒロマキミズマイマイ	<i>M. dilatatus</i> A	愛知県西尾市小島町山内	5
カワコザラガイ (外群)		愛知県豊田市大池町 [牛尾池]	1

愛知県西三河地域から採集されたヒラマキガイ属

A～Lの違いにかかわらず、殻径は3.5～6.0 mm程度の個体が多く、より小型で殻径が1.5～2.0 mm程度のヒメヒラマキミズマイマイ (ハプロタイプ *G. pulcher* A～I) とは、殻のサイズにより識別できた。Mori (1938) の記載では、ヒメヒラマキミズマイマイはヒラマキミズマイマイより小さく、周縁部が角張らない (キール状にならない) ことで容易に区別できるとされている。同サイズの個体を識別するのが困難であるこ

とが増田・内山 (2004) により指摘されているが、今回の調査結果で得られた両種はサイズの違いにより識別が可能であり、分子系統解析の結果も形態分類による結果と一致していた。従って、両種が十分に成長した季節に調査を行えば、ヒメヒラマキミズマイマイをヒラマキミズマイマイの幼貝に誤同定する可能性は低く、形態分類のみでも同定できると言える。なお、ヒラマキミズマイマイと比較して、ヒメヒラマキ

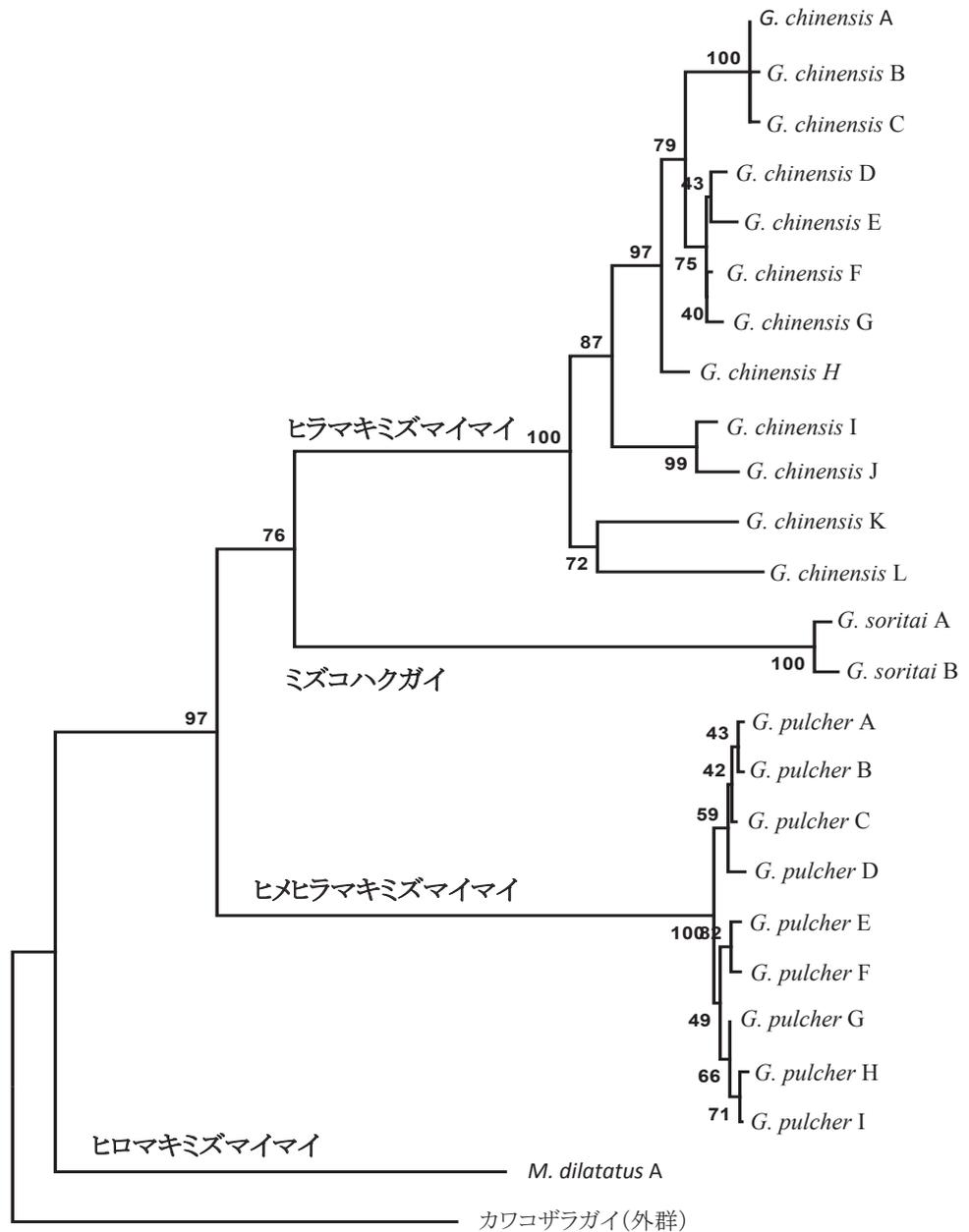


図2. ヒラマキガイ属の COI 遺伝子の近隣結合法による分子系統樹。各ノードの信頼性は、各ノードに1000回試行した時のブートストラップ値 (%) で示した。  
 Fig.2. The Neighbor-joining tree of COI sequences of 3 species in *Gyraulus*. Values at nodes are bootstrap values (%) after 1000 repetitions.

ミズマイマイはCOI領域の変異が少なかった。

湿地性希少種のみズコハクガイは、川瀬(2016)で得られた東海丘陵湧水湿地群(矢並湿地, 上高湿地, 恩真寺湿地)のサンプルと豊田市下山田代町および岡崎市保久町で得られた個体を分析したところ、2つの異なる塩基配列が得られた(*G. soritai* A と B)。ただし、同一地点で得られた複数個体(豊田市下山田代町上弓沢, 岡崎市保久町猪俣)の塩基配列は完全に同じであった。

近縁属のヒロマキミズマイマイについては1地点で5サンプルを分析したのみであるが、塩基配列は5個体とも一致した。

本研究により愛知県西三河地域には、ヒラマキガイ属 *Gyraulus* としてヒラマキミズマイ、ヒメヒラマキミズマイマイ、みズコハクガイの3種が分布することが明らかになり、ミトコンドリア COI 遺伝子の解析によっても裏付けられた。

## 引用文献

- Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K. and Nakayama, I. (1996): Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fisheries science*, **62**(5): 727-730.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994): DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**(5): 294-299.
- Habe, T. (1976): New land and freshwater snails (mollusca) from Japan. *Bulletin of the National Science Museum, series A(Zoology)*, **2**(4): 225-228.
- 肥後俊一・後藤芳央(1993): 日本及び周辺地域産軟体動物総目録. エル貝類出版局, 八尾市.
- 河辺訓受(2002): 石巻山周辺淡水貝観察調査会報告—愛知県でみズコハクガイを初記録—. *かきつばた*, (28): 31-32.
- 川瀬基弘(2016): 東海丘陵湧水湿地群に生息する貝類. *矢作川研究*, **20**: 13-16.
- 川瀬基弘・早瀬善正・市原 俊(2011): 豊田市に生息する淡水産貝類. *陸の水*, **48**: 9-16.
- 川瀬基弘・村瀬文好・早瀬善正・市原 俊・森山昭彦・家山博史(2012): 岐阜市に生息する淡水産貝類. *陸の水*, **54**: 33-42.
- 川瀬基弘・鳥居亮一・松原美恵子・森山昭彦(2016): 西尾市で発見されたヒロマキミズマイマイと近縁種について. *新編西尾市史研究*, **2**: 60-63.
- 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. *ピーシーズ*, 東京.
- Mori, S. (1938): Classification of the Japanese Planorbidae. *Memoirs of the College of Science, Kyoto Imperial University*, *Series Biology*, **14**: 279-300, pls., 12-18.
- 守谷茂樹・河辺訓受(2013): 三重県, 愛知県で確認されたみズコハクガイ. *かきつばた*, **38**: 50-51.
- 高柳茉友子(2014): 矢作川上中流域に生息する淡水産貝類. *矢作川研究*, **18**: 5-11.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, **30**(12): 2725-2729.
- 吉成 暁・野村卓之・増田 修(2010): 近年日本で確認された外来ヒラマキガイ科貝類. *兵庫陸水生物*, **61/62**: 155-164.  
(担当編集委員: 野崎健太郎, 椋山女学園大学教育学部)