

琉球大学学術リポジトリ

日本におけるアワモチ科貝類の遺伝的多様性

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学資料館 (風樹館) 公開日: 2020-10-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高木, 基裕, 高尾, 勇斗, 水野, 晃秀, 家山, 博史, Takagi, Motohiro, Takao, Yuto, Mizuno, Kouki, Ieyama, Hiroshi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/46834



日本におけるアワモチ科貝類の遺伝的多様性

高木基裕^{1,5}・高尾勇斗²・水野晃秀³・家山博史⁴¹ 〒798-4292 愛媛県南宇和郡愛南町船越 1289-1 愛媛大学南予水産研究センター² 〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7 愛媛大学大学院農学研究科³ 〒798-0068 愛媛県宇和島市明倫町 1-2-20 愛媛県立宇和島水産高等学校⁴ 〒791-3141 愛媛県伊予郡松前町恵久美⁵ e-mail: takagi.motohiro.mc@ehime-u.ac.jp

要旨．ミトコンドリア DNA COI 領域における遺伝的多型解析を行い，ドロアワモチ貝類の遺伝的多様性と分化を検出することを目的とした．得られたハプロタイプよりデンドログラムを構築したところ，明瞭に8つのクラスターが形成された．愛媛県のドロアワモチ，ジャコテンアワモチ，長崎県のドロアワモチ，熊本県のヤベガワモチ集団が同一のクラスターに含まれ，これらが同種である可能性が示唆された．沖縄県のキボシアワモチ属集団は，異なる3つのクラスターを形成した．ヒメアワモチおよびセンベアワモチは，それぞれ1つのクラスターを形成した．イソアワモチ類は2つの異なるクラスターに分かれ，一方は鹿児島県および沖縄県集団を，他方は沖縄県の安部海岸からの2個体のみからなる集団を，それぞれ形成した．

はじめに

収柄眼目 (Systellomatophora) アワモチ科 (Onchidiidae) の貝類は，分類学的研究が不十分で (Britton 1984), 未記載種が多い (福田 2003 ; Dayrat, 2009, 2010). わが国のアワモチ科貝類においても同様な状況にあり，5属6-9種が認識されているが (表1), 正確な種数は確定していない．

ドロアワモチ (*Onchidium* sp. A) は，太平洋側の三重県英虞湾，日本海側の長崎県対馬から琉球列島，香港，シンガポールに分布し，大規模な内湾奥部の平坦な砂泥質干潟やマングローブに生息する (福田 2012; 2014). 干潮時には干潟表面を匍匐し，満潮時には深さ数 10 cm まで砂泥中に潜り込む生態をとる (福田 2012; 2014). なお，愛媛県の御荘湾では，ドロアワモチと同所的に生息し形態に差がみられる個体が須賀ら (2007) によりジャコテンアワモチとして識別されており，今後の DNA 解析や内部形態の検討が求められている．また，ドロアワモチより大型で有明海，八代海，および朝鮮半島南岸・西岸に分布するヤベガワモチ (*Onchidium* sp. B) は，大規模な内湾奥部河口の軟泥干潟に特異的に生

息する (福田 2012; 2014).

沖縄島の干潟に生息するキボシアワモチ (*Paraonchidium fungiforme*) およびヒメキボシアワモチ (*Paraonchidium keinense*) は同所的に生息し，これらは外見が酷似するが，キボシアワモチでは輸卵管が細いのに対してヒメキボシアワモチでは輸卵管が著しく膨らむことにより識別される (上島 2014).

センベアワモチ (*Platevindex* sp. A) は，瀬戸内海周防灘 (山口県・大分県)，有明海，九州西岸 (佐賀県，長崎県，熊本県) に分布し，江華島，シンガポール等からも記録があるが，同種かどうかの検討の必要性が指摘されている (福田 2012; 2014). センベアワモチは河口汽水域高潮帯の，砂泥底に生じたヨシ原や周囲の岩礫地を好み，転石や漂着木等の表面を匍匐し，藻類を摂食する (福田 2012; 2014). センベアワモチよりも小型で南西諸島に分布するゴマセンベアワモチ (*Platevindex* sp. B) は，汽水域やマングローブ内泥底に生息する (福田 2012; 2014).

ヒメアワモチ (*Onchidiella kurodai*) は，瀬戸内海および有明海に分布し，潮間帯中部岩上に生息する (山西 2011).

イソアワモチ (*Peronia* cf. *verruculata*) は，石狩湾以南に分布し，潮間帯岩上に生息する (山西 2011). また，イソアワモチと同所的に生息し，発生過程が異なる小型の隠蔽種 (*Peronia* sp.) の存在が示唆されている (片桐・片桐 2007; 上島 2007). この *Peronia* sp. の分布については沖縄にいないのか不明とされており (上島 2007), 他の地域での分布も分かっていない．

これら，日本に生息するアワモチ科貝類の多くは環境省または各自治体のレッドデータブック等に絶滅危惧種として記載されている (表1). 絶滅危惧種の保全において，保全対象種の確定および保全単位の決定についての基礎的情報となる種および個体群の遺伝的多様性と分化程度の把握が重要であるが，アワモチ科の貝類については分類学的研究が不十分であり，個体群の遺伝的多様性解析は行われていない．一方，国外では近年研究が進み始め，アワモチ科貝類の

表 1. 日本におけるアワモチ科貝類の分布と絶滅危惧カテゴリー.
Table 1. Distribution and endangered category of Onchidiidae in Japan.

Scientific name (Common name) (標準和名)	Habitat 生息環境	Distribution area 分布域	Endangered category 絶滅危惧カテゴリー	
			Ministry of the Environment 環境省	Local government 地方自治体
<i>Onchidium</i> sp. A (Doro-awamochi) (ドロアワモチ)	Mud flat, Mangrove area 干潟, マングローブ域	Mie Pref., Nagasaki Pref., - Ryukyu Islands. Hong Kong. Shingapore 三重県, 長崎県, 琉球列島, 香港, シンガポール	VU 絶滅危惧II類	CR+EN (Ehime Pref., Nagasaki Pref.) 絶滅危惧I類 (愛媛県, 長崎県)
<i>Onchidium</i> sp. B (Yabegawa-mochi) (ヤベガワモチ)	Mud flat 干潟	Ariake Sea, Yatsushiro Sea, South-West Korean peninsula 有明海, 八代海, 朝鮮半島南岸・西岸	CR+EN 絶滅危惧I類	CR (Kumamoto Pref., Nagasaki Pref.) 絶滅危惧I A類 (熊本県, 長崎県)
<i>Onchidium</i> sp. C (Jyakoten-awamochi) (ジャコテンアワモチ)	Mud flat 干潟	Ehime Pref. (Misho Bay) 愛媛県 (御荘湾)	—	—
<i>Paraonchidium fungiforme</i> (Kiboshi-awamochi) (キボシアワモチ)	Mud flat 干潟	Okinawa Island 沖縄島	NT 準絶滅危惧	—
<i>Paraonchidium keinense</i> (Himekiboshi-awamochi) (ヒメキボシアワモチ)	Mud flat 干潟	Okinawa Island 沖縄島	NT 準絶滅危惧	—
<i>Peronia</i> cf. <i>verruculata</i> (Iso-awamochi) (イソアワモチ)	Intertidal zone 潮干帯	South from Ishikari Bay 石狩湾以南	—	—
<i>Platevindex</i> sp. A (Senbei-awamochi) (センベИАワモチ)	Brackish waters 汽水域	Suonada, West Kyusyu, Ariake Sea, Goto Islands 周防灘, 九州西岸, 有明海, 五島列島	CR+EN 絶滅危惧I類	CR (Nagasaki Pref.), CR+EN (Saga Pref.), EN (Oita Pref.), VU (Kumamoto Pref.) 絶滅危惧I A類 (長崎県), 絶滅危惧I類 (佐賀県) 絶滅危惧I B類 (大分県), 絶滅危惧II類 (熊本県)
<i>Platevindex</i> sp. B (Gomasenbei-awamochi) (ゴマセンベИАワモチ)	Mangrove area マングローブ域	Ryukyu Islands 琉球列島	NT 準絶滅危惧	—
<i>Onchidella kurodai</i> (Hime-awamochi) (ヒメアワモチ)	Intertidal zone 潮干帯	Seto Inland Sea, Ariake Sea 瀬戸内海, 有明海	—	CR+EN (Matsuyama city) 絶滅危惧I類 (松山市)

遺伝的多様性解析について研究が行われている (Dayrat et al. 2011; 2016; 2017; Dayrat & Goulding 2017; Sun et al. 2014).

本研究では, アワモチ科に属する貝類のうち, 日本より報告されており, かつ生息個体数が比較的多い地点が知られているドロアワモチ, ジャコテンアワモチ, ヤベガワモチ, キボシアワモチ類, イソアワモチ類, センベИАワモチ, ヒメアワモチを, 日本国内の 18 地点より採集し, ミトコンドリア DNA COI 領域における遺伝的多型解析を行い, 国外のデータとも比較し, わが国のアワモチ科貝類の保全対象種の確定および保全単位の決定にむけ, 遺伝的多様性を調査した.

材料と方法

アワモチ科貝類の生息情報をもとに採集調査を実施した地点, および採集個体情報を図 1 と

表 2 に示す. また, 本種で用いたアワモチ科貝類の生態写真を図 2 に示す. なお, 本研究では用いたアワモチ科貝類の分類の表記は環境省のレッドデータブック (環境省 2017) に従い, ドロアワモチを *Onchidium* sp. A, ヤベガワモチを *Onchidium* sp. B, センベИАワモチを *Platevindex* sp. A, と表記し, キボシアワモチ類を *Paraonchidium* spp., イソアワモチ類を *Peronia* spp., ジャコテンアワモチは便宜的に *Onchidium* sp. C とした.

ドロアワモチは, 須賀ら (2007) と同じく, 愛媛県愛南町の御荘湾の湾央の平山干潟 (DEAH = ドロアワモチ, 愛媛, 愛南, 平山の頭文字) と湾奥の片の浜干潟 (DEAK-1 = 片の浜干潟の 1 地点目) の 2 地点から採集した. また, 福田 (2012) と同じく長崎県五島列島福江島奥浦湾の干潟 (DNG) から採集した. ジャコテンアワモチは, ドロアワモチよりも真上から見た形が幅広く丸みを帯びていて体高が高く, 背面の突

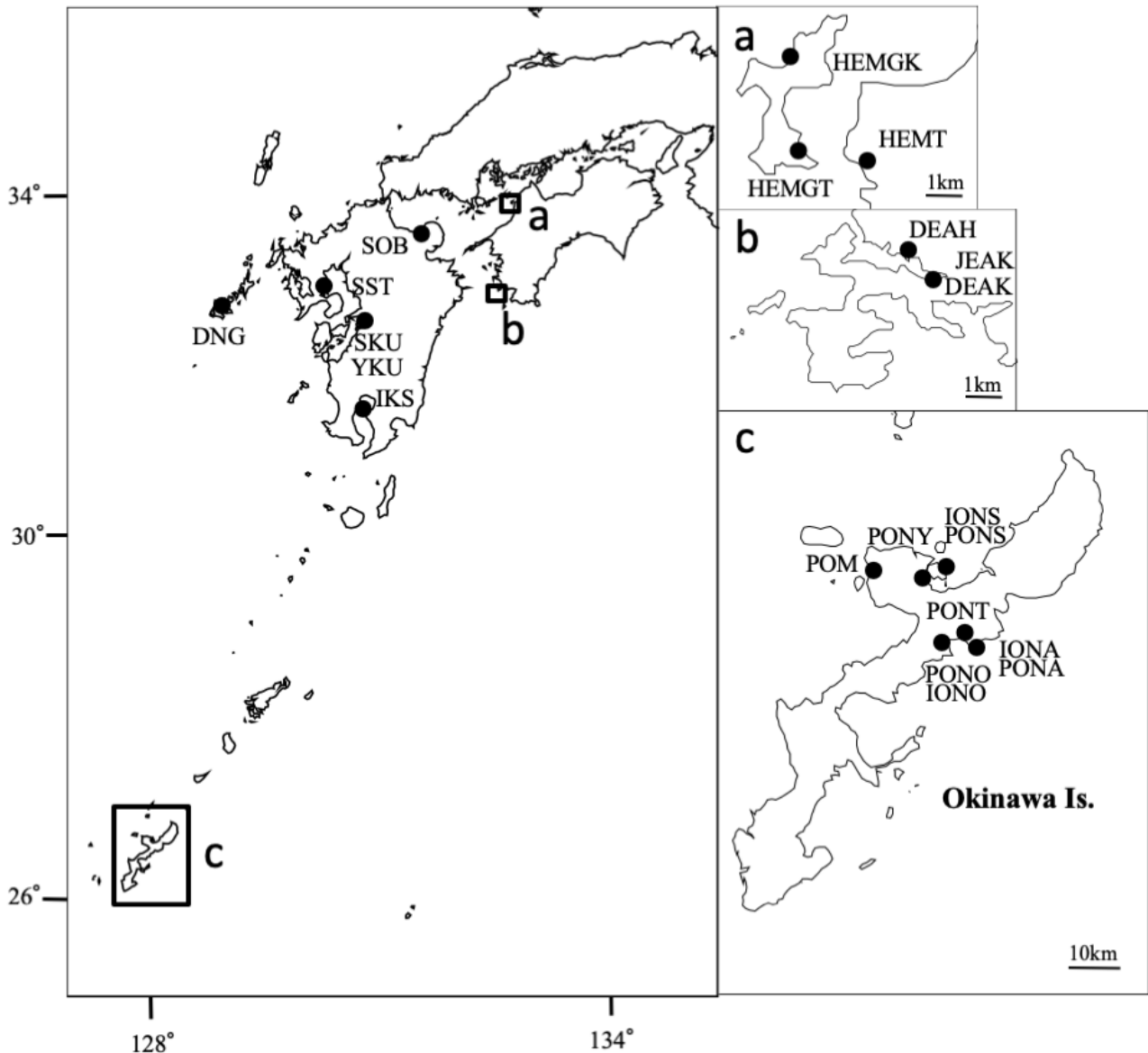


図1. アワモチ科貝類の採集地点。略号は表2と同様。a, ヒメアワモチの採集地；b, 愛媛におけるドロアワモチ類の採集地；c, 沖縄県におけるアワモチ科貝類の採集地。

Fig. 1. Sampling localities of Onchidiidae (closed circle). Locality abbreviations correspond to those in Table 2. a, Sampling localities of *Onchidiella kurodai*; b, Sampling localities of *Onchidium* in Ehime Prefecture; c, Sampling localities in Okinawa Prefecture.

起が小さく比較的平滑な特徴を持つ(須賀ら2007)が,本研究では,須賀ら(2007)がドロアワモチとジャコテンアワモチを採集した同一地点(JEAK-1=ジャコテンアワモチ,愛媛,愛南,片の浜の1地点目,=DEAK-1)とその採集地から100 m程度離れた地点(JEAK-2)から採集した。ヤベガワモチは,福田(2012)と同じく熊本県宇城市大野川下流から採集した(YKU)。

沖縄島においてキボシアワモチとヒメキボシアワモチは同所的に生息し,両者の外見は酷似するが,輸卵管の形状により識別できるとしている(上島2014)。本研究では採集した個体のエタノールでの保存状態において両種の同定が難しかったことから,キボシアワモチ類とし

て扱った。キボシアワモチ類は沖縄県の本部町満名川(POM),名護市の安部海岸(PONA),汀間川河口(PONT),大浦川河口(PONO),屋我地島の済井出川河口(PONS-1),その河口から沿岸に100 m程度進んだ消波ブロック帯(PONS-2)および同島の饒平名干潟(PONY)から採集した。

イソアワモチ類は,西(2012)と同じ鹿児島県桜島より採集した(IKS)。沖縄島からは名護市の安部海岸より採集した(IONA)。安部海岸では通常の個体に比べ大型のイソアワモチ類を2個体(74 mm, 77 mm)採集した。また,キボシアワモチ類と同所的に生息していたイソアワモチ類を名護市大浦川河口(IONO)および屋我地島済井出の消波ブロック帯より採集した(IONS-2)。

表 2. 各地で採集したアワモチ科貝類の標本.

Table 2. Specimens of Onchidiidae collected for mitochondrial DNA analysis.

Site 採集地	Abbreviation 略語	Data 採集年月 (yyyy/mm)	Number of analysis 解析個体数	Body Weight (g) Average \pm SD 体重 (g) 平均 \pm 標準偏差
<i>Onchidium</i> sp. A (Doro-awamochi) ドロアワモチ				
Ehime, Ainan, Hirayama 愛媛県愛南町御荘湾平山干潟	DEAH	2011/4	20	2.43 \pm 0.85
Ehime, Ainan, Katanohama St. 1 愛媛県愛南町御荘湾片の浜干潟 1 地点目	DEAK-1	2011/4	20	2.39 \pm 0.76
Nagasaki, Goto 長崎県五島列島福江島奥浦湾干潟	DNG	2016/5	21	0.52 \pm 0.33
<i>Onchidium</i> sp. B (Yabegawa-mochi) ヤベガワモチ				
Kumamoto Uki 熊本県宇城市大野川下流	YKU	2014/8	2	5.25 \pm 0.353
<i>Onchidium</i> sp. C (Jyakoten-awamochi) ジャコテンアワモチ				
Ehime, Ainan, Katanohama St. 1 愛媛県愛南町御荘湾片の浜干潟 1 地点目	JEAK-1	2011/4	19	1.65 \pm 0.57
"Ehime, Ainan, Katanohama St. 2 愛媛県愛南町御荘湾片の浜干潟 2 地点目	JEAK-2	2011/4	20	1.28 \pm 0.23
<i>Paraonchidium</i> spp. キボシアワモチ類				
Okinawa, Motobu 沖縄県本部町満名川	POM	2014/7	18	3.26 \pm 1.65
Okinawa, Nago, Abu 沖縄県名護市安部海岸	PONA	2014/7	3	2.30 \pm 2.78
Okinawa, Nago, Teima 沖縄県名護市汀間川河口	PONT	2014/7	20	1.01 \pm 0.40
Okinawa, Nago, Oura 沖縄県名護市大浦川河口	PONO	2014/7	22	0.58 \pm 0.39
Okinawa, Nago, Sumuide St. 1 沖縄県名護市屋我地島濟井出川河口 1 地点目	PONS-1	2014/7	17	1.32 \pm 0.45
Okinawa, Nago, Sumuide St. 2 沖縄県名護市屋我地島濟井出川河口 2 地点目	PONS-2	2014/7	5	2.02 \pm 0.41
Okinawa, Nago, Yohena 沖縄県名護市屋我地島饒平名干潟	PONY	2014/7	20	1.98 \pm 0.49
<i>Peronia</i> spp. (Iso-awamochi) イソアワモチ類				
Kagoshima, Sakurajima 鹿児島県桜島	IKS	2013/10	18	3.31 \pm 2.61
Okinawa, Nago, Abu 沖縄県名護市安部海岸	IONA	2014/7	21	9.46 \pm 15.1
Okinawa, Nago, Oura 沖縄県名護市大浦川河口	IONO	2014/7	5	3.74 \pm 2.37
Okinawa, Nago, Sumuide St. 2 沖縄県名護市屋我地島濟井出川河口 2 地点目	IONS-2	2014/7	4	3.06 \pm 1.13
<i>Platevindex</i> sp. A (Senbei-awamochi) センベリアワモチ				
Oita, Bunngotakada 大分県豊後高田市寄藻川河口	SOB	2014/8	20	1.14 \pm 0.46
Saga, Tara 佐賀県太良町田古里川河口	SST	2014/8	24	1.13 \pm 0.46
Kumamoto Uki 熊本県宇城市大野川下流	SKU	2014/8	20	1.67 \pm 0.63
<i>Onchidella kurodai</i> (Hime-awamochi) ヒメアワモチ				
Ehime, Matsuyama, Takahama 愛媛県松山市高浜海岸	HEMT	2013/6	21	0.023 \pm 0.004
Ehime, Matsuyama, Gogoshima, Tomari 愛媛県松山市興居島泊海岸	HEMGT	2013/6	20	0.021 \pm 0.011
Ehime, Matsuyama, Gogoshima, Kitaura 愛媛県松山市興居島北浦海岸	HEMGK	2013/6	21	0.025 \pm 0.008

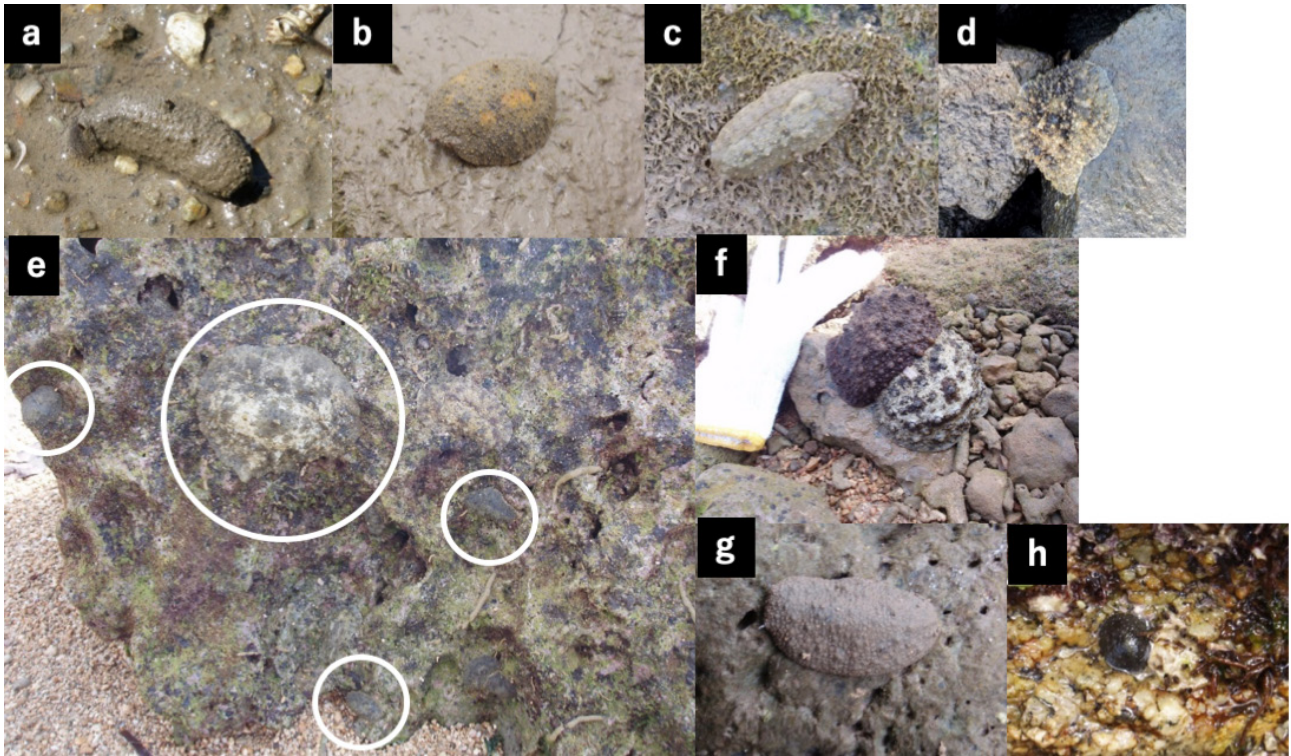


図2. 本研究に用いたアワモチ科貝類の生態写真. a, ドロアワモチ; b, ジャコテンアワモチ; c, キボシアワモチ類; d, イソアワモチ類 (鹿児島); e, イソアワモチ類 (沖縄安部海岸); f, イソアワモチ類 (沖縄安部海岸大型個体, 交尾中とみられる. 左側に手袋を示す.); g, センベイアワモチ; h, ヒメアワモチ.

Fig. 2. In situ photographs of Onchidiidae examined in this study. a, *Onchidium* sp. A (Doro-awamochi); b, *Onchidium* sp. C (Jyakoten-awamochi); c, *Paraonchidium* spp.; d, *Peronia* sp. (Kagoshima Pref.); e, *Peronia* sp. (Okinawa Pref. Abu Coast); f, *Peronia* sp. (Okinawa Pref. Abu Coast, possibly mating, relatively large-sized individuals); g, *Platevindex* sp. A (Senbei-awamochi); h, *Onchidella kurodai* (Himeawamochi).

センベイアワモチは、佐藤 (2007) と同じ佐賀県太良町田古里川河口より採集した (SST) 他、大分県豊後高田市寄藻川下流 (SOB), ヤベガワモチと同地点の熊本県宇城市大野川下流 (SKU) からも採集した。

ヒメアワモチは、松山市 (2012) と同じ愛媛県松山市の高浜海岸 (HEMT) および興居島の泊海岸 (HEMGT) と北浦海岸 (HEMGK) から採集した。

上記のアワモチ科貝類は、それぞれの生息している地域において、環境や人為の大きさなどを勘案し、保全に考慮した個体数の採集を行った (表2)。採集した個体は99% エタノールで固定し、体重を測定した (表2)。測定後、腹足筋から一部の筋肉を切り取り、QuickGene Tissue kit (Kurabo 社製) を用いてDNAの抽出を行い、ミトコンドリアDNA多型解析を行うまで4°Cで保存した。なお、ヒメアワモチについては個体が小型のため、DNAの抽出は個体全てを用いた。

抽出したDNAは日本バーコードオブライフ・イニシアチブ (<http://www.jboli.org/>) のプロトコルに従い、プライマー (LCO1490: GGTC AACAAATCATAAAGATATTGG, HCO2198: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT

CA) を用い、ミトコンドリアDNAのCO I 領域5' 端の608塩基長の増幅を行った。増幅したPCR産物はExoSAP-IT (GEヘルスケアバイオサイエンスCo.) により精製を行った。シーケンス反応は、BigDye®Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.) を用いてダイターミネー反応 (94°C 1分の熱変性後、96°C 10秒、50°C 5秒、60°C 4分を25サイクル) を行った。シーケンス反応物はBigDye®Xterminator 精製キット (Thermo Fisher Scientific Inc.) により残留蛍光色素の除去を行った。シーケンスはABI 310 ジェネティックアナライザー (Thermo Fisher Scientific Inc.) により塩基配列データを取得した。

シーケンスにより得られた塩基配列データは、Clustal W ソフトウェア (Thompson et al. 1994) により多型整列を行い、ハプロタイプを検出した。各集団の遺伝的多様性解析はArlequin ver3.0ソフトウェア (Excoffier et al. 2005) により、ハプロタイプ多様度、ヌクレオチド多様度を求めた。各ハプロタイプ間の系統図はMEGA6ソフトウェア (Tamura et al. 2013) により近隣結合法で構築し、ABGDソフトウェア (Puillandre et al. 2012) によりJukes-CantorモデルとKimura

表 3. ドロアワモチ類の遺伝的多様性. *, 愛媛大学沿岸環境科学研究センター生物環境試料バンク.
 Table 3. Genetic diversity of *Onchidium* spp. *, Environmental Specimen Bank, Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Matsuyama, Japan.

Haplotype ハプロタイプ	Sampling site 採集地						Haplotype frequency ハプロタイプ 頻度	*Voucher No. 標本番号	DDBJ accession No. アクセシ ョン番号
	DEAH	DEAK-1	DNG	YKU	JEAK-1	JEAK-2			
1	2	1			1		0.039	EF15724	LC390343
2	1					2	0.029	EF15725	LC390344
3	2	2			1	4	0.088	EF15726	LC390345
4	3	1		2			0.059	EF15727	LC390346
5	1	3	5			3	0.118	EF15728	LC390347
6	3	2			8	7	0.196	EF15729	LC390348
7	8	5			7	1	0.206	EF15730	LC390349
8		5			2	2	0.088	EF15731	LC390350
9		1				1	0.020	EF15732	LC390351
10			2				0.020	EF15733	LC390352
11			1				0.010	—	LC390353
12			2				0.020	EF15734	LC390354
13			1				0.010	EF15735	LC390355
14			1				0.010	EF15736	LC390356
15			1				0.010	EF15737	LC390357
16			2				0.020	EF15738	LC390358
17			1				0.010	EF15739	LC390359
18			1				0.010	EF15740	LC390360
19			2				0.020	EF15741	LC390361
20			1				0.010	EF15742	LC390362
21			1				0.010	EF15743	LC390363
n 解析個体数	20	20	21	2	19	20			
No. haplotype ハプロタイプ数	7	8	13	1	5	7			
Haplotype diversity ハプロタイプ多様度	0.811	0.868	0.933	0.000	0.700	0.832			
Nucleotide diversity ヌクレオチド多様度	0.0026	0.0034	0.0023	0.0000	0.0020	0.0033			

2-parameter モデルによりグループ分けを行った。また、TCS 1.21 ソフトウェア (Templeton et al. 1992) を用いて最節約法に基づくハプロタイプネットワークを構築した。

検出されたハプロタイプの塩基配列については国際塩基配列データベースに登録し (LC390343-LC390429), ヒメアワモチを除く標本は愛媛大学沿岸環境科学研究センターの生物環境試料バンクに登録・保存した (EF15724-EF15796)。また、国外のアワモチ科貝類の塩基配列については、アクセシオン番号が付与され、採集地が明らかな個体 (Dayrat et al. 2011, 2016, 2017; Dayrat & Goulding 2017; Sun et al. 2014) について国際塩基配列データベースより COI 領域の塩基配列を取得し、本研究で検出されたハプロタイプと比較した。なお、外群にはアシヒダナメクジの塩基データを用いた (KY774830)。

結果

ミトコンドリア DNA の CO I 領域 5' 端の 594 塩基長の塩基配列を決定し、配列の違いから 87 種類のハプロタイプが検出された (表 3-7)。ドロアワモチ、ジャコテンアワモチ、ヤベガワモチにおいて検出されたハプロタイプと配分された個体数を表 3 に示す。愛媛のドロアワモチにおいて 9 つのハプロタイプが確認され、同所的に採集されたジャコテンアワモチのハプロタイプは愛媛のドロアワモチが持つハプロタイプに含まれた。また、ヤベガワモチ 2 個体のハプロタイプは愛媛のドロアワモチが持つハプロタイプ 4 と共通であった。長崎五島のドロアワモチはハプロタイプ数が 13 と多く、ハプロタイプ 5 以外で愛媛のドロアワモチとジャコテンアワモチに対して共有のハプロタイプがみられなかった。ドロアワモチ類各集団の遺伝的多様度を示すハプロタイプ多様度およびヌクレオチド多様度を表 3 に示す。解析数が 2 個体と少ないヤベガワモチを除き、ハプロタイプ多様度は 0.700-0.933 と高く、ヌクレオチド多様度は

表 4. キボシアワモチ類の遺伝的多様性. *, 愛媛大学沿岸環境科学研究センター生物環境試料バンク.

Table 4. Genetic diversity of *Paraonchidium* spp. *, Environmental Specimen Bank, Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Matsuyama, Japan.

Haplotype ハプロタイプ	Sampling site 採集地							Haplotype frequency ハプロタイ プ頻度	*Voucher No. 標本番号	DDBJ accession No. アクセッ ション番号
	POM	PONA	PONT	PONO	PONS-1	PONS-2	PONY			
22	1		2					0.028	EF15744	LC390364
23	2		2	5	9	3	5	0.255	EF15745	LC390365
24	4		2	4	1		8	0.179	EF15746	LC390366
25	7		8	8	5	1	2	0.292	EF15747	LC390367
26	3		1	1				0.047	EF15748	LC390368
27	1			1				0.019	EF15749	LC390369
28		1						0.009	EF15750	LC390370
29		1						0.009	EF15751	LC390371
30		1						0.009	EF15752	LC390372
31			1					0.009	EF15753	LC390373
32			1					0.009	EF15754	LC390374
33			1					0.009	EF15755	LC390375
34			1					0.009	EF15756	LC390376
35			1					0.009	EF15757	LC390377
36				1				0.009	EF15758	LC390378
37				1				0.009	—	LC390379
38				1				0.009	EF15759	LC390380
39					1			0.009	EF15760	LC390381
40					1			0.009	EF15761	LC390382
41						1		0.009	EF15762	LC390383
42							1	0.009	EF15763	LC390384
43							1	0.009	EF15764	LC390385
44							1	0.009	EF15765	LC390386
45							1	0.009	EF15766	LC390387
46							1	0.009	EF15767	LC390388
n										
解析個体数	18	3	20	22	17	5	20			
No. haplotype ハプロタイプ数	6	3	10	8	5	3	8			
Haplotype diversity ハプロタイプ多様度	0.804	1.000	0.837	0.840	0.662	0.733	0.795			
Nucleotide diversity ヌクレオチド多様度	0.1014	0.0357	0.0775	0.0942	0.0425	0.0645	0.0985			

0.0020–0.0034 の値を示した。

キボシアワモチ類において検出されたハプロタイプと配分された個体数を表 4 に示す。ハプロタイプ 23, 24 および 25 はほとんどの集団に共通して検出された。ハプロタイプ 28–46 はいずれかの集団で特有であった。キボシアワモチ類各集団のハプロタイプ多様度およびヌクレオチド多様度を表 4 に示す。ハプロタイプ多様度は 0.662–1.000 と高く、ヌクレオチド多様度も 0.0357–0.1014 と高い値を示した。

イソアワモチ類において検出されたハプロタイプと配分された個体数を表 5 に示す。ハプロタイプ 47–50 は鹿児島桜島のイソアワモチ類に特有であった。ハプロタイプ 51, 53 および 56–61 は沖縄安部海岸、ハプロタイプ 62 およ

び 63 は沖縄大浦特有であった。イソアワモチ類各集団のハプロタイプ多様度およびヌクレオチド多様度を表 5 に示す。ハプロタイプ多様度は 0.628–0.833 と高く、ヌクレオチド多様度は 0.0012–0.0357 の値を示した。

センベリアワモチにおいて検出されたハプロタイプと配分された個体数を表 6 に示す。ハプロタイプ 65 および 66 はいずれの集団にも共通して検出された。ハプロタイプ 64 および 67 は熊本宇城のセンベリアワモチに特有であった。ハプロタイプ 68 は大分豊後高田、ハプロタイプ 69–77 は佐賀平良に特有であった。センベリアワモチ各集団のハプロタイプ多様度およびヌクレオチド多様度を表 6 に示す。ハプロタイプ多様度は熊本宇城で 0.432 とやや低く、ヌク

表 5. イソアワモチ類の遺伝的多様性. *, 愛媛大学沿岸環境科学研究センター生物環境試料バンク.

Table 5. Genetic diversity of *Peronia* spp. *, Environmental Specimen Bank, Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Matsuyama, Japan.

Haplotype ハプロタイプ	Sampling site 採集地				Haplotype frequency ハプロタイプ頻度	Voucher No. 標本番号	DDBJ accession No. アクセッション番号
	IKS	IONA	IONO	IONS-2			
47	7				0.146	EF15768	LC390389
48	1				0.021	EF15769	LC390390
49	9				0.188	EF15770	LC390391
50	1				0.021	EF15771	LC390392
51		1			0.021	EF15772	LC390393
52		1	1	1	0.063	EF15773	LC390394
53		1			0.021	EF15774	LC390395
54		11	2	2	0.313	EF15775	LC390396
55		1		1	0.042	EF15776	LC390397
56		1			0.021	EF15777	LC390398
57		1			0.021	EF15778	LC390399
58		1			0.021	EF15779	LC390400
59		1			0.021	EF15780	LC390401
60		1			0.021	EF15781	LC390402
61		1			0.021	EF15782	LC390403
62				1	0.021	—	LC390404
63				1	0.021	—	LC390405
n 解析個体数	18	21	5	4			
No. haplotype ハプロタイプ数	4	11	4	3			
Haplotype diversity ハプロタイプ多様度	0.628	0.738	0.833	0.833			
Nucleotide diversity ヌクレオチド多様度	0.0012	0.0357	0.0052	0.0041			

ヌクレオチド多様度は 0.0014–0.0026 の値を示した。

ヒメアワモチにおいて検出されたハプロタイプと配分された個体数を表 7 に示す。3 集団に共通したハプロタイプは見られず、ハプロタイプ 78 は松山市高浜海岸と興居島北浦、ハプロタイプ 85 は興居島の泊と北浦に共通して検出された。ハプロタイプ 79–84 は松山市高浜海岸、ハプロタイプ 86 および 87 は興居島泊に特有であった。ヒメアワモチ各集団のハプロタイプ多様度およびヌクレオチド多様度を表 7 に示す。ハプロタイプ多様度は興居島の泊と北浦で 0.195, 0.181 と低く、ヌクレオチド多様度も 0.0008, 0.0003 と低い値を示した。

得られた 87 種のハプロタイプについて近隣結合法によりデンドログラムを構築したところ、明瞭な 8 つのクラスターが得られ、ブートストラップ値も高い値を示した (図 3)。また、Jukes-Cantor モデルと Kimura 2-parameter モデルによりグループ分けを行ったところ、8 つのグループにわかれ、それぞれデンドログラムの 8 つのクラスターと一致し、これらをグループ I–VIII とした (図 3)。グループ I は、愛媛御荘湾と長崎五島のドロアワモチ、ヤベガワモチおよび愛媛御荘湾のジャコテンアワモチにより形成

された。イソアワモチ類は 2 つのグループに分かれ、グループ II は沖縄島名護の安部海岸で採集された特に大型であったイソアワモチ類 2 個体 (74 mm, 77 mm) であった。グループ V に全ての採集地点のイソアワモチ類が含まれ、鹿児島桜島の集団はグループ V の中で小さなクラスターを形成した (ハプロタイプ 47–50)。グループ III はヒメアワモチにより形成されたが、ハプロタイプ 81 は他のハプロタイプと遺伝的距離が大きかった。グループ IV はセンベアワモチによって形成された。キボンアワモチ類はグループ VI, VII と VIII の 3 つのグループに分かれ、グループ VII と VIII ではそれぞれ全ての採集地点で検出されたハプロタイプがみられた。一方、グループ VI では安部海岸で採集された 3 個体でのみ形成された。また、グループ内の遺伝的距離はいずれにおいてもきわめて小さかった。

多くのハプロタイプがみられた 6 つのグループについてそれぞれ構築したハプロタイプネットワークを図 4 に示す。グループ I のドロアワモチ、ヤベガワモチおよびジャコテンアワモチのネットワークは、ハプロタイプ 5 と 6 を中心に形成され、長崎五島のドロアワモチに固有のハプロタイプでも 1 または 2 塩基の違いであっ

表 6. センベリアワモチの遺伝的多様性. *, 愛媛大学沿岸環境科学研究センター生物環境試料バンク.

Table 6. Genetic diversity of *Platevindex* sp. A. *, Environmental Specimen Bank, Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Matsuyama, Japan.

Haplotype ハプロタイプ数	Sampling site 採集地			Haplotype frequency ハプロタイプ頻度	Voucher No 標本番号	DDBJ accession No. アクセッション番号
	SOB	SST	SKU			
64			1	0.016	EF15783	LC390406
65	11	13	15	0.609	EF15784	LC390407
66	8	1	3	0.188	EF15785	LC390408
67			1	0.016	EF15786	LC390409
68	1			0.016	EF15787	LC390410
69		1		0.016	EF15788	LC390411
70		1		0.016	EF15789	LC390412
71		1		0.016	EF15790	LC390413
72		2		0.031	EF15791	LC390414
73		1		0.016	EF15792	LC390415
74		1		0.016	EF15793	LC390416
75		1		0.016	EF15794	LC390417
76		1		0.016	EF15795	LC390418
77		1		0.016	EF15796	LC390419
n						
解析個体数	20	24	20			
No. haplotype ハプロタイプ数	3	11	4			
Haplotype diversity ハプロタイプ多様度	0.647	0.707	0.432			
Nucleotide diversity ヌクレオチド多様度	0.0020	0.0026	0.0014			

表 7. ヒメアワモチの遺伝的多様性.

Table 7. Genetic diversity of *Onchidella kurodai*.

Haplotype ハプロタイプ	Sampling site サンプル数			Haplotype frequency ハプロタイプ頻度	DDBJ accession No. アクセッション番号
	HEMT	HEMGT	HEMGK		
78	12		19	0.500	LC390420
79	1			0.016	LC390421
80	3			0.048	LC390422
81	1			0.016	LC390423
82	1			0.016	LC390424
83	1			0.016	LC390425
84	2			0.032	LC390426
85		18	2	0.323	LC390427
86		1		0.000	LC390428
87		1		0.000	LC390429
n					
解析個体数	21	20	21		
No. haplotype ハプロタイプ数	7	3	2		
Haplotype diversity ハプロタイプ多様度	0.667	0.195	0.181		
Nucleotide diversity ヌクレオチド多様度	0.0029	0.0008	0.0003		

た (図 4A). キボシアワモチ類のグループ VII のネットワークでは, ハプロタイプ 23 を中心に 1 または 2 塩基の小さな違いであった (図 4B). もう一つのキボシアワモチ類のグループ VIII のネ

ットワークでは, ハプロタイプ 24 を中心に 1-5 塩基の違いであった (図 4C). イソアワモチ類のグループ V では鹿児島桜島 (ハプロタイプ 47-50) と沖縄島の間で消失したハプロタイプがみ

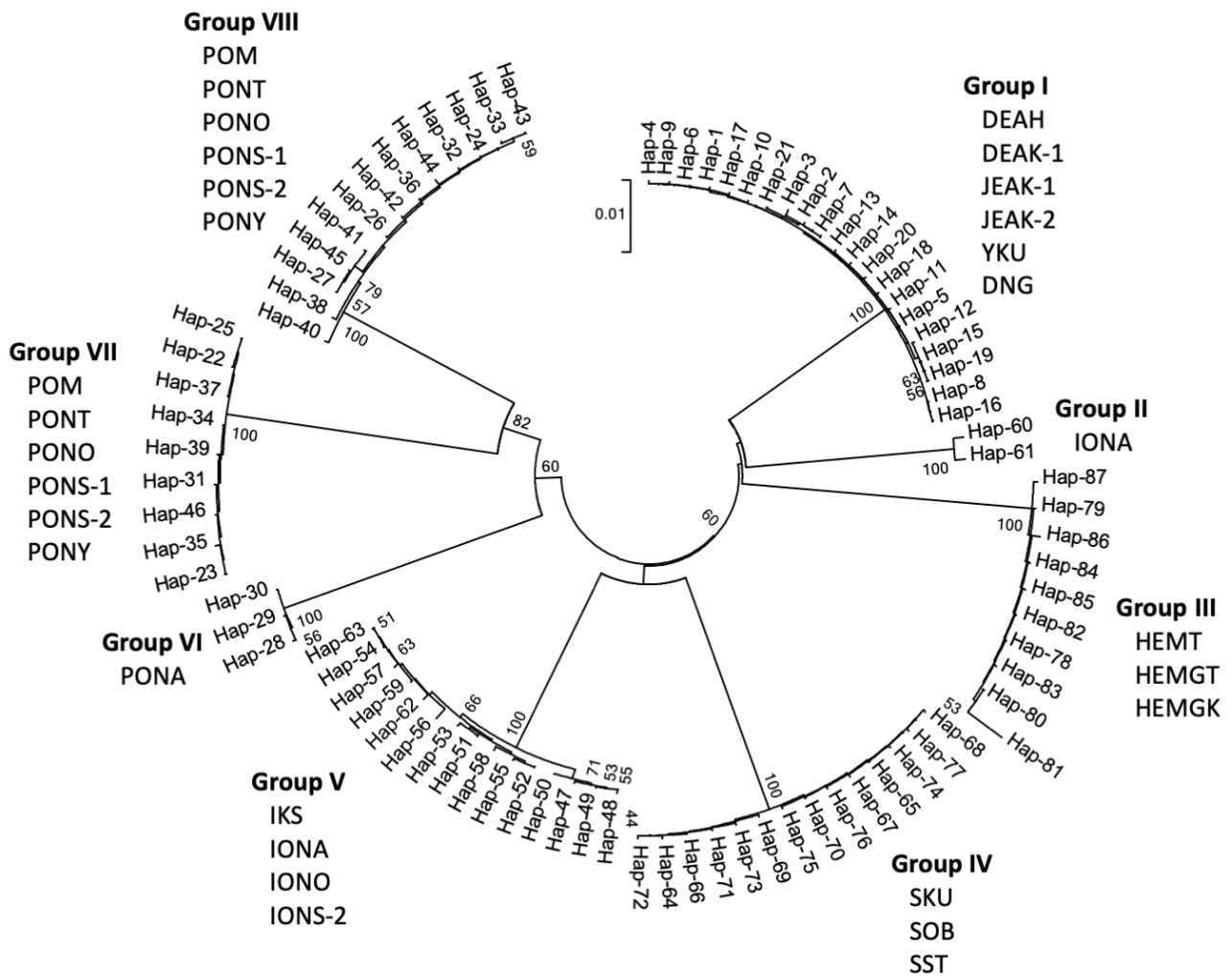


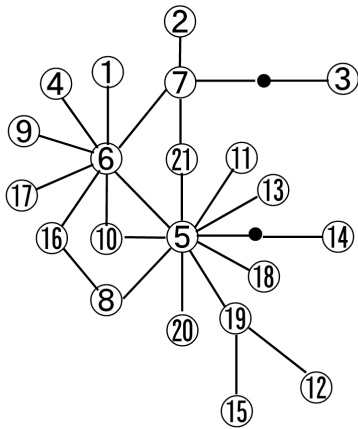
図3. 本研究に用いたアワモチ科貝類のミトコンドリア CO I 領域を用いた近隣結合系統樹.
 Fig. 3. Neighbor-Joining (NJ) phylogram of mtDNA CO I region of Onchidiidae.

られるボトルネック型の不連続な形を示した (図4D). センベイアワモチのグループIVはハプロタイプ66, 77を中心としたネットワークおよびハプロタイプ68が縁辺部にみられるボトルネック型のネットワークを示した (図4E). ヒメアワモチ類のグループIIIのネットワークでは、ハプロタイプ78を中心に1-3塩基の違いであった (図4F) が、ヒメアワモチのハプロタイプ81は中心となるハプロタイプ78と12塩基の違いがあり、ネットワーク上に位置されなかった。

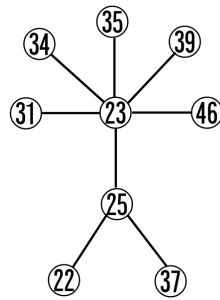
国外のアワモチ科貝類と本研究で得られた各グループの最初のハプロタイプ番号の塩基配列を代表として用い近隣結合法によりデンドログラムを構築したところ、3つのクラスターが得られた (図5). イソアワモチ類グループVのハプロタイプ47と沖縄島安部海岸の大型のイソアワモチ類グループIIのハプロタイプ60は、国外のイソアワモチ類と同一のクラスターに含まれたが、それぞれ遺伝的距離は大きく、ハプロタイプ47はモザンビークからオマーン、オー

ストラリア、インドネシア、フィリピン、中国のイソアワモチ類と遺伝的距離の近いクラスターを形成し、ハプロタイプ60はグアムや沖縄の塩基配列データと同一のクラスターを形成した。ドロアワモチ類グループIのハプロタイプ1、キボシアワモチグループVI, VII, VIIIのハプロタイプ28, 22, 24およびヒメアワモチグループのハプロタイプ78は同一のクラスターに含まれたが、それぞれ遺伝的距離は大きく、ブートストラップ値は小さかった。ドロアワモチ類グループのハプロタイプ1はオーストラリアのドロアワモチ属および中国のキボシアワモチ属と同一のクラスターを形成し、ヒメアワモチグループのハプロタイプ78はトリニタードトバゴのヒメアワモチ属と同一のクラスターを形成した。また、本研究のキボシアワモチグループVI, VII, VIIIのハプロタイプ28, 22, 24は同一のクラスターを形成した。センベイアワモチグループIVのハプロタイプ64はマレーシア、ベトナム、中国のドロアワモチ属や *Melayonchis* 属と同一のクラスターに含まれた。

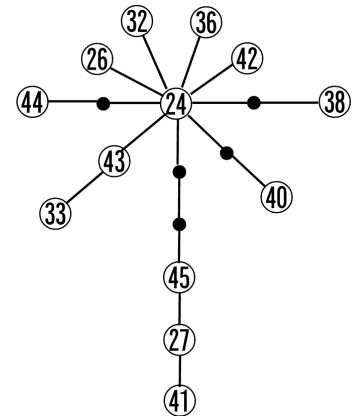
A, Group I



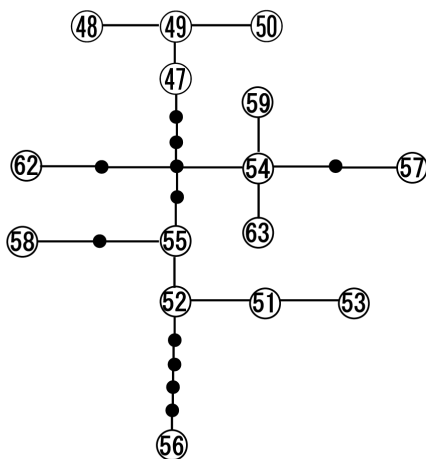
B, Group VII



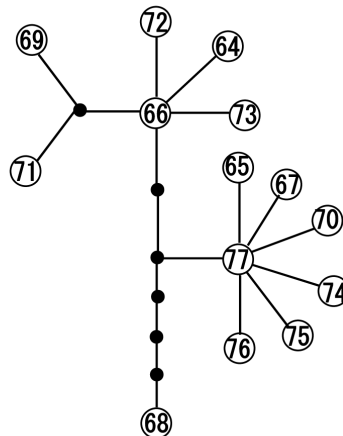
C, Group VIII



D, Group V



E, Group IV



F, Group III

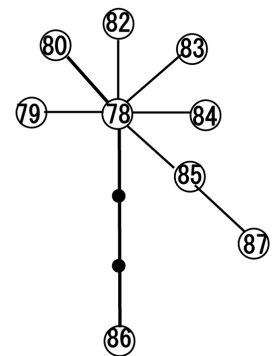


図4. 最節約法に基づく本研究に用いたアワモチ科貝類のハプロタイプネットワーク。数字は表3-7のハプロタイプ番号と同様、黒丸は消失したハプロタイプを示す。A. ドロアワモチ, ジャコテンアワモチ, ヤベガモチ (グループ I); B. キボシアワモチ類 (グループ VII); C. キボシアワモチ類 (グループ VIII); D. イソアワモチ類 (クラスター V); E. センバイアワモチ (グループ IV); F. ヒメアワモチ (グループ III)。

Fig. 4. Maximum parsimony network for haplotypes of Onchidiidae examined in this study. Numerals indicate haplotype number in Table 3–7 and black dots indicate missing haplotypes. A, *Onchidium* spp. (Group I); B, *Paraonchidium* sp. (Group VII); C, *Paraonchidium* sp. (Group VIII); D, *Peronia* sp. (Group V); E, *Platevindex* A (Group IV); F, *Onchidiella kurodai* (Group III).

考察

愛媛県御荘湾の干潟, 長崎県福江島奥浦湾の干潟から採集したドロアワモチ (*Onchidium* sp. A), 愛媛県御荘湾の干潟から採集したジャコテンアワモチおよびヤベガワモチ (*Onchidium* sp. B) は共通のハプロタイプを保有し, 同一のグループを形成した (グループ I)。アワモチ科貝類は伸長時, 収縮時および固定時に外観の印象が異なり, 背面イボ状突起の伸び具合によっては別種のように見え, 体色や模様 of 個体変異が著しく識別が難しいとしている (上島 2007)。ジャコテンアワモチはドロアワモチよりも真上から見

た形が幅広く丸みを帯びていて体高が高く, 背面の突起が小さく比較的平滑な特徴を持つ (須賀ら 2007) としているが, ジャコテンアワモチでみられたハプロタイプは全てドロアワモチにみられたハプロタイプに含まれており, 別種の可能性は低いと考えられる。ドロアワモチは捕食などの移動時には縦長になり, 静止時には丸みを帯びていることから, 体型の違いは活動状態や個体差である可能性が高いと考えられる。ヤベガワモチもドロアワモチでみられたハプロタイプと共有していたが, ドロアワモチよりもサイズが大きく (福田 2012), 内部形態や生殖隔離について検討する必要がある。本研究で用い

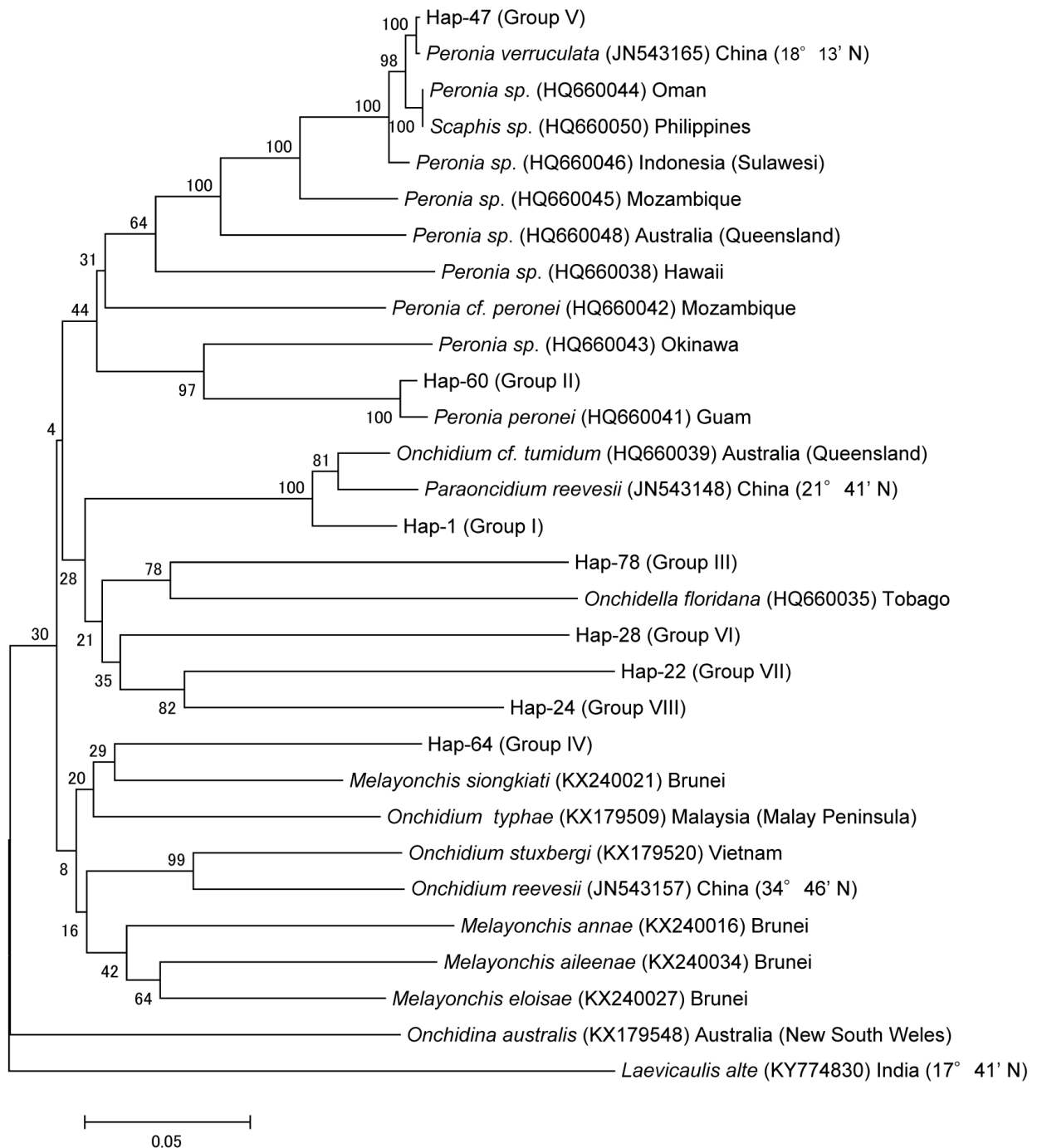


図5. アワモチ科貝類のミトコンドリア CO I 領域を用いた近隣結合系統樹. DNA Data Bank of Japan に登録されたアワモチ科貝類の塩基配列と比較した.

Fig. 5. Neighbor-Joining (NJ) phylogram of mtDNA CO I region compared with sequences of the Onchidiidae registered in the DNA Data Bank of Japan (with Accession Numbers).

た愛媛県御荘湾と長崎県奥浦湾のドロアワモチの遺伝的多様度は比較的高い値を示した. このことは, 両生息地が例外的に多産な生息地 (福田 2012) であることを反映している可能性が考えられる. 本研究のドロアワモチ類のハプロタイプがオーストラリアのドロアワモチ属および中国のキボシアワモチ属と同一のクラスターを形成する一方, 中国, ベトナムおよびマレー

シアのドロアワモチ属の塩基配列は異なるクラスターに含まれた. これらクラスターの異なるドロアワモチ属の配列は Dayrat et al. (2016) によって解析されたものであるが, 個体腹面の生体写真 (Dayrat et al. 2016) をみると足は狭く腹面の半分以下であることから, これらはセンベイアワモチの形態的特徴を有したものと考えられる. 実際, これらの配列は本研究のセンベイ

アワモチのハプロタイプ64と同一のクラスターを形成した。今後、琉球列島や海外を含む他の生息地のドロアワモチ類やセンベアワモチ類についても形態および遺伝的多様性について検討する必要がある。

本研究で採集したキボシアワモチ類は、異なる3つのグループを形成した(グループVI, VII, VIII)。このことは、沖縄島には外見が酷似したキボシアワモチとヒメキボシアワモチがそれぞれ独立した種として同所的に生息していることを裏付けるとともに、安部海岸においてはさらに異なる別のキボシアワモチ類である可能性が示唆される。今後、キボシアワモチとヒメキボシアワモチがそれぞれどのグループであり、安部海岸の個体が何であるかを解剖が容易な生鮮時に輸卵管の形状で判断する必要がある。また、グループVII, VIIIとも花火型のネットワークを示し、沖縄島においては比較的近年に一斉放散した個体群であると考えられる。本研究のキボシアワモチ類のハプロタイプは中国のキボシアワモチ属と異なるクラスターを形成したが、中国のキボシアワモチ類の塩基配列は引用文献がなく、ドロアワモチ類の誤同定の可能性が示唆される。今後、琉球列島や海外を含む他の生息地のキボシアワモチ類についても形態および遺伝的多様性について検討する必要がある。

イソアワモチ類は、沖縄島の安部海岸より採集した大型のイソアワモチ類2個体(グループII)および鹿児島桜島を含む沖縄島の全ての採集地点でみられた(グループV)の2つのグループに分かれた。イソアワモチ類は同所的に生息する小型の隠蔽種の存在が示されており(片桐・片桐 2007; 上島 2007)、大型のものは房総半島以南の広い範囲に生息するが、小型の隠蔽種の分布については沖縄にいないのか不明(上島 2007)とされている。本研究の結果から、グループIIの大型の個体がイソアワモチ、桜島を含む沖縄島の全ての採集地点でみられたグループVの個体が隠蔽種であると考えられる。グループVの隠蔽種については少なくとも鹿児島から沖縄島にかけて生息することが明らかとなるとともに、鹿児島桜島と沖縄島のハプロタイプが共有しなかったことから、地理的距離と遺伝的距離がよく相関していると考えられる。本研究のイソアワモチ類のグループVはモザンビークからオマーン、オーストラリア、インドネシア、フィリピン、中国のイソアワモチ類と遺伝的距離の近いクラスターを形成し、沖縄島安部海岸の大型のイソアワモチ類グループIIは、グアムや沖縄の塩基配列データと同一のクラスターを形成し、グループVとIIの遺伝的距離は大きかった。今後、イソアワモチ類の種

の確定や分布状況を把握するには琉球列島や海外を含む他の生息地についても遺伝的多様性解析を行う必要がある。大浦湾周辺は河口から磯へと地形が変化に富み、キボシアワモチ類およびイソアワモチ類が隣接して生息する沖縄島における主要な環境の一つであると考えられ、他の地点とともに保全する必要がある。

センベアワモチはハプロタイプの消失によりネットワークが不連続になったボトルネック型のモデルを示し、センベアワモチにおいて過去に個体群の減少が生じたことを示唆している。センベアワモチの生息にはヨシ原、砂泥底、岩礫地、流木等遮蔽物が同所に揃うことが必要で、分布域もわが国においては瀬戸内海周防灘(山口・大分両県)、有明海、九州西岸(佐賀・長崎・熊本)に限られ生息範囲も狭い(福田 2012)。ボトルネック型のネットワークモデルを示したのもこのようなセンベアワモチの生態特性によるものと考えられ、生息地の保全の重要性が極めて高いと考えられる。今後、センベアワモチ類の種の確定や分布状況を把握するにはゴマセンベアワモチ、琉球列島および海外を含む他の生息地についても形態解析と遺伝的多様性解析を行う必要がある。

ヒメアワモチの遺伝的多様度は興居島の2集団で低い値を示した。これは島嶼であり、生息範囲も限られていることから個体数の減少による遺伝的多様性の減退の可能性もある。また、ヒメアワモチは花火型のネットワークを示し、比較的近年に一斉放散したと考えられる一方、ヒメアワモチのハプロタイプ81は中心となるハプロタイプ78と12塩基の違いがあり、同一のネットワークが構築されず、近隣結合図でもグループ3の中で遺伝的距離が大きかった。これらのことを明らかにするには、ヒメアワモチが分布しているとされる瀬戸内海、有明海(山西 2011)および海外を含む他の生息地についても遺伝的多様性解析を行う必要がある。

日本に生息するアワモチ科貝類の多くは環境省のレッドリストに掲載され、ほとんどが自治体レベルでのレッドリストに指定されている。絶滅危惧種の保全における絶滅リスク評価において、保全対象種の確定および保全単位の決定が第一に重要であるが、アワモチ科貝類の識別の難しさからこれまでに種の確定がされていない。本研究で行ったアワモチ科貝類の遺伝的多様性解析により、種および個体群の遺伝的多様性と分化程度の把握についての新たな知見となったと考えられるが、今後、アワモチ科の貝類保全対象種の確定および保全単位の決定にむけ、解剖学的特徴と分子解析をあわせて行うことが必要である。

謝辞

標本の採集にご協力いただいた後藤卓哉氏およびDNA多型解析にご協力いただいた西原佑亮氏に深くお礼申し上げます。

引用文献

- Britton, K.M., 1984. The Onchidiacea (Gastropoda, Pulmonata) of Hong Kong with a worldwide review of the genera. *Journal of Molluscan Studies*, 50: 179–191.
- Dayrat, B., 2009. Review of the current knowledge of the systematics of Onchidiidae (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata) with a checklist of normal species. *Zootaxa*, 2068: 1–26.
- Dayrat, B., 2010. Comparative anatomy and taxonomy of *Onchidium vaigiense* (Gastropoda: Pulmonata: Onchidiidae). *Molluscan Research*, 30: 87–101.
- Dayrat, B., M. Conrad, S. Balayan, T.R. White, C. Albrecht, R. Golding, S.R. Gomes, M.G. Harasewych & A.M. Frias Martins, 2011. Phylogenetic relationships and evolution of pulmonate gastropods (Mollusca): New insights from increased taxon sampling. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59: 425–437.
- Dayrat, B., T.C. Goulding, D. Apte, V. Bhave, J. Comendador, N.X. Quang, S.K. Tan & S.H. Tan, 2016. Integrative taxonomy of the genus *Onchidium* Buchannan, 1800 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Onchidiidae). *ZooKeys*, 636: 1–40.
- Dayrat, B., T.C. Goulding, D. Apte, V. Bhave & Q.N. Xuan, 2017. A new genus and four new species of onchidiid slug from South-East Asia (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Onchidiidae). *Journal of Natural History*, 51: 1851–1897.
- Dayrat, B. & T.C. Goulding, 2017. Systematics of onchidiid slug *Onchidina australis* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). *Journal of Natural History*, 51: 1851–1897.
- Excoffier, L., G. Laval & S. Schneider, 2005. Arlequin version 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 47–50.
- 福田宏, 2003. ドロアワモチ科. 日本分類学会連合 (編), 第1回日本産生物種数調査. <http://ujssb.org/biospnum/search.php>
- 福田宏, 2012. ドロアワモチ, ヤベガワモチ, センベシアワモチ, ゴマセンベシアワモチ. 日本ベントス学会 (編), 干潟の絶滅危惧動物図鑑. Pp. 90–91, 東海大学出版会, 秦野.
- 福田宏, 2014. ドロアワモチ. 環境省 (編), レッドデータブック 2014 6 貝類. P. 316, ぎょうせい, 東京.
- 片桐展子・片桐康雄, 2007. イソアワモチは2種類いる?. *ちりぼたん* 38: 37–42.
- 環境省, 2017. レッドリスト 2017 貝類, 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室. <https://ikilog.biodic.go.jp/Rdb/booklist>
- 日本バーコードオブライフ・イニシアチブ (<http://www.jboli.org/>)
- 西孝子, 2012. イソアワモチ. 日本比較生理生化学会 (編), 研究者が教える動物飼育 第1巻. Pp. 106–110, 共立出版, 東京.
- Puillandre, N., A. Lambert, S. Brouillet & G. Achaz, 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21: 1864–1877.
- 佐藤正典, 2007. 環境省自然環境局 生物多様性センター (編), 第7回自然環境保全基礎調査 浅海域生態系調査 (干潟調査) 報告書 Pp. 105–108.
- 須賀秀夫・大森浩二・水野晃秀, 2007. 四国西南部御荘湾で採集されたドロアワモチ科貝類の二型. *南紀生物*, 9: 48–52.
- Sun, B., C. Chen, H. Shen, K. Zhang, N. Zhou & J. Qian, 2014. Species diversity of Onchidiidae (Eupulmonata: Heterobranchia) on the mainland of China based on molecular data. *Molluscan Research*, 34: 62–70.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski & S. Kumar, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725–2729.
- Templeton, A.R., K.A. Crandall & C.F. Sing, 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. cladogram estimation. *Genetics*, 132: 619–633.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673–4680.
- 上島励, 2007. イソアワモチとその「近似種」について. *ちりぼたん*, 38: 43–47.
- 上島励, 2014. キボシアワモチ, ヒメキボシアワモチ. 環境省 (編), レッドデータブック 2014 6 貝類. P. 317, ぎょうせい, 東京.
- 山西良平, 2011. イソアワモチ, ヒメアワモチ. 今原幸光 (編著), 磯の生き物図鑑. P. 87. ト

ンボ出版, 大阪.

Genetic diversity of Onchidiidae in Japan

Motohiro Takagi^{1, 5}, Yuto Takao², Kouki Mizuno³ & Hiroshi Ieyama⁴

¹South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, 1289-1 Funakoshi, Ainan, Ehime 798-4292, Japan

²Graduate School of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan

³Uwajima Fisheries High School, 1-2-20 Meirin, Uwajima, Ehime 798-0068, Japan

⁴Masaki, Ehime 791-3141, Japan

⁵e-mail: takagi.motohiro.mc@ehime-u.ac.jp

Abstract. We conducted genetic polymorphism analysis of the mitochondrial DNA COI region aiming to detect the genetic diversity and divergence of Onchidiidae in Japan. A dendrogram constructed from obtained haplotypes formed eight clear clusters. *Onchidium* sp. A and *Onchidium* sp. C in Ehime Prefecture, *Onchidium* sp. A in Nagasaki Prefecture, and *Onchidium* sp. B in Kumamoto Prefecture were included in the same cluster, suggesting that they are conspecific. The population of *Paraonchidium* spp. in Okinawa Prefecture formed three different clusters. *Platevindex* A. and *Onchidella kurodai* formed respective clusters. The *Peronia* spp. were divided into two clusters; one cluster was from Kagoshima Prefecture and Okinawa Prefecture, whereas another one was of two individuals from Abu coast, Okinawa Prefecture.

投稿日 : 2018 年 7 月 17 日

受理日 : 2019 年 6 月 3 日

発行日 : 2019 年 7 月 19 日