学位論文の要旨	
氏 名	大窪 和理
学位論文題目	鹿児島県におけるヤマタニシ属数種の殻形態と DNA多型を用いた系統分類学的研究

本論文は、鹿児島県におけるヤマタニシ属陸産貝類の殻形態とDNA多型を用いた系統分類についてまとめたものである。陸産貝類は局所的に特殊化しやすい傾向があるため、生物地理学の研究において有益な情報をもたらす。本研究ではヤマタニシCyclophorus herklotsi Martens、1860の地理的変異を研究対象とし、サンプルの殻計測およびDNA分析を行うことで、ヤマタニシの分類とそれぞれの手法の有用性について考察した。

第1章は、鹿児島県大隅諸島におけるヤマタニシの個体群間変異について亀田式の計測法と浦 部式の計測法の2通りの計測法によって、異なった結果が出されるか否かについて検討した。

各地点において成貝30個体ずつを使用し、5地点計150個体の殻計測を行った。計測方法は亀田式の計測法と浦部式の計測法の2つの計測方法を用いて、個体群間の距離は各変数の平均値間のユークリッド距離で求めた。そしてこの数値に基づいてクラスター分析を行い、各個体群のグループ分けを行った。

2つの測定方法に基づいてクラスターを作成したところ、「城山と屋久島」、「口永良部島と口之島」、そして「種子島」のサンプルがそれぞれクラスターを形成した。2つの分析方法を比較したが、その結果に大きな差異は見られなかった。また、種子島の個体は他の産地の個体よりも設のサイズが比較的大型の傾向が、口永良部島と口之島の個体は他の産地の個体よりも設のサイズが比較的小型の傾向がそれぞれ見られた。しかしいずれの結果も個体群内変異の範囲内に収まるものであるため、変種や亜種とは考えにくい。このことから、本土の個体群と大隅諸島における島嶼の個体群を、亜種や変種といった分類学的なカテゴリーとして互いに区別することは出来ないと考えられる。

第2章は、鹿児島県および北部琉球列島におけるヤマタニシ属の生物地理について殻の計測を 用いて検討した。

こちらについても成貝30個体ずつを使用し、10地点計300個体の殻計測を行った。計測 方法は亀田式の計測法と浦部式の計測法、冨山式の計測法の3つの計測方法を用いて、個体群間 の距離は各変数の平均値間のユークリッド距離で求めた。そしてこの数値に基づいてクラスター 分析を行い、各個体群のグループ分けを行った。しかし、この検討においても各島嶼間で有意な 差があるとは言えない結果となったため、殻形態のみでの分類はヤマタニシ属の分類には適して いないと考えられる。 第3章は、鹿児島県内に生息するヤマタニシ属を用いて、mtDNAの塩基配列に基づく分子系統解析を行い、類縁関係を調べ、鹿児島県に生息するヤマタニシ属の現行の分類について検証した。DNA解析において、ミトコンドリアDNAのCOI領域(548bp)の塩基配列が調べられた。喜界島のヤマタニシ類は宝島、悪石島のヤマタニシ類と近縁な関係にあった。

喜界島のヤマタニシ類はキカイヤマタニシと分類されており、この種は喜界島のほかに宝島、悪石島でも確認されている。これまでのキカイヤマタニシの分類は、殻の形態などの外見的特徴によってのみ行われていたが、今回のDNA解析によって、分子系統学的な面からも、キカイヤマタニシの分類学的位置づけが明らかとなった。

口永良部島のヤマタニシ類は台湾のヤマタニシ類のグループとは別のグループに分かれ、鹿児島県本土・離島グループと近縁であることが明らかとなった。

奄美大島は北部と中・南部で別のグループに分かれた。北部は沖縄のヤマタニシ類との近縁を示し、中・南部は徳之島のヤマタニシ類との近縁を示した。北部のヤマタニシ類は沖縄諸島と陸続きになっていた時の集団が特殊化した可能性が考えられる。また、奄美諸島には北部と中部の間に標高の低いくびれた地形がみられるため、この地形の影響で北部と中・南部のヤマタニシ類の交流が妨げられたのではないかと考えられる。

総括では第1章から第3章までの結果および考察からヤマタニシ属の分類および最適な分類検討法についてまとめた。ヤマタニシ属の分類については現在の分類群から大幅な見直しはないものの、別種扱いとされている種を統合する必要性を示した。ヤマタニシ属の分類法については、殻形態を用いるよりもDNA分析による分類を用いる方がより正確な分類が可能であると結論した。

## Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation: Phylogenetic study using shell morphology and DNA polymorphism of several species of *Cyclophorus* in Kagoshima

Name: Ookubo Kazumasa

Chapter 1 since land snail's local speciation often informs biogeography, we investigated the geographical variation of *Cyclophorus herklotsi* Martens, 1860 and the usefulness of classifying and measuring *Cyclophorus herklotsi* with the shell measurement of a sample of 150 shells of 30 plants at Kagoshima (Shiroyama Park), Yaku-shima, Kuchierabu-jima, Kuchino-shima and Tanega-shima, Japan. We determined the distance between populations according to the Euclidean distance between the average values of each variable using the measurement methods of Kameda et al. and Urabe.

We performed cluster analysis based on the numerical values generated and grouped of each population. With clusters based on the two measurement methods, we grouped samples of Shiroyama and Yaku-shima, Kuchierabu-jima and Kuchino-shima, and Tanega-shima respectively. Results from the two analytical methods showed no significant differences. Iindividuals of Tanega-shima tended to have larger shells than individuals of other production areas, while individuals of Kuchierabu-jima and Kuchino-shima tended to have smaller shells. Because these variations are categories of intra-population variation, these populations are not considered to be the a variant or subspecies. Accordingly, it is impossible to distinguish mainland populations from island populations only by analyzing shell form.

Chapter 3 the traditional classification of land snails has heavily relied to the comparative morphology of shell. However, shell characters are susceptible convergence due to similar ecological requirements or can be highly variable due to geographic isolation and random genetic drift. Therefore, the information based on only shell morphologies is not enough for definite identification.

Recent studies are conducted by integration of various approaches, including analyses of shell and anatomical characters and assessment of genetic variation. Those studies provided new imformations into existent classification.

Moreover, land snails invite regional differentiation because of their low mobility. Therefore, they provide informative information for biogeographical study.

The genus *Cyclophorus* has a wide-ranging distribution from Southeast Asia to East Asia and belongs to terrestrial prosobrances having a operculum. The intraspecific shell morphology of this genus is variable. Five *Cyclophorus* species inhabit Kagoshima prefecture; *Cyclophorus herklotsi* MARTENS, 1860, *Cyclophorus hirasei* PILSBRY, 1901, *Cyclophorus oshimanus* KURODA, 1928, *Cyclophorus kikaiensis* PILSBRY, 1902, *Cyclophorus turgidus* (PFEIFFER, 1851). These five species that previously had been described on the basis of shell characters only. The phylogenetic relationship of these species has never studied before.

The objective of this study was to revise the five *Cyclophorus* species which inhabit Kagoshima prefecture by using morphological and molecular phylogenetic approaches.

Shell morphology of these five species showed geographic variation. Patterns and sizes of shells of those showed individual differences.

I sequenced 548bp of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene in the genus *Cyclophorus* and constructed phylogenetic trees, using Neighbor-joining method and Maxumim-likelihood method.

Sequences of Amami-oshima devided *Cyclophorus* into two groups largely. One group was composed *Cyclophorus* from the north peninsula named 'Kasari-hanto' of Amami-oshima. The other group was composed of *Cyclophorus* from the middle part of Amami-oshima to Tokuno-shima. *Cyclophorus* of Tanega-shima & Yaku-shima were included in the group of species from the mainland of Kagoshima; *Cyclophorus herklotsi* MARTENS, 1860. This result was consistent with traditional taxonomy.

Thus, classification based on morphological data was very unsatisfactory in the genus *Cyclophorus*. This study suggested the necessity to revise the existent taxonomy of the five *Cyclophorus* species. This study found that shell morphology of *Cyclophorus* showed multiple phenotype. To identify species of this genus, it is the most effective tool to use molecular phylogeny analyses.