



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

中部地方のカワナナ集団における遺伝的変異性

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 木村, 正雄, 酒井田, 誠, 佐野, 晶子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5815

中部地方のカワニナ集団における遺伝的変異性

木村正雄・酒井田誠・佐野晶子*

動物生産学講座

(1996年7月18日受理)

Genetic Variability in Populations of the Fresh-water Snail *Semisulcospira libertina* in Central Japan

Masao KIMURA, Makoto SAKAIDA and Akiko SANO

Department of Animal Science and Technology

(Received July 18, 1996)

SUMMARY

Semisulcospira libertina is a black snail living in clean rivers throughout Japan. It is known to be an indicator of environmental pollution as well as food for larvae of the firefly *Luciola cruciata*. This report presents some population genetical data in the interest of protecting this beneficial species.

Twelve enzymes encoded by 18 presumed loci were examined by starch gel electrophoresis, and genetic variability within and between populations was calculated.

Mean $\pm$ S.E. of the proportion of polymorphic loci, the average heterozygosity per individual, and the inbreeding coefficient calculated for 28 populations were 0.282 ± 0.019 , 0.090 ± 0.006 and 0.067 ± 0.014 , respectively. Mean F_{ST} , a measure of the relative magnitude of genetic differentiation among populations, was estimated to be 0.235. The present results suggest that the snail population is maintained by avoiding invasion by genes from neighboring populations and keeping its own population size large enough to prevent inbreeding.

Res.Bull.Fac.Agr.Gifu Univ. (61) : 1 - 7, 1996

要 約

カワニナは全国の清流に生息し、環境汚染の指標動物として、またホタルの幼虫の餌として知られている。今回はこの有益な巻貝の保護に資するために集団遺伝学的な調査を行なったのでその結果について報告する。デンプンゲル電気泳動法により、18座位により支配される12の酵素を分析した。集団内および集団間の遺伝的変異性を評価した。

28集団についての多型座位の割合、平均ヘテロ接合体率および集団の近交係数の平均と標準誤差はそれぞれ 0.282 ± 0.019 、 0.090 ± 0.006 および 0.067 ± 0.014 であった。集団間の遺伝的分化の程度を示す F_{ST} 値は0.235と評価された。カワニナ集団は、隣接する集団からの遺伝子の侵入を避けながら、また近親交配を抑えるに十分な集団の大きさを保ちながら、維持されているものと推測される。

緒 言

カワニナ (*Semisulcospira libertina*) は淡水産の巻貝の一種で、日本全国の河川に生息し、殻高30mm、殻径12mm位で、貝底の肋数は8から16、縦肋は全くないかもしくは上層のみにあり、胎生で母貝内の胎児数は200以上で、染色体数は $n=18$ である¹⁾。ウエステルマン肺吸虫や横川吸虫の第一中間宿主であることや、水質汚染の指標動物である²⁾ことから、医学的・生物学的の各種の研究対象とされてきた。また各地で自然環境や観光資源の確保に関連させたホタルの保護が盛んに試みられているが、カワニナはホタルの幼

* 聖徳学園女子短期大学

虫の餌として知られている。人工的な飼育や繁殖も容易であり、特に小中学生の課外教育の格好の対象とされているように、社会的教育的にも関心が持たれている。

われわれの研究室でもカワニナに関する集団遺伝学的調査を続けてきたが、これまでに中部地方の太平洋側の5水系の河川のカワニナとチリメンカワニナ (*S. reiniana*) の集団の遺伝的変異性について報告している³⁾。どのようにして集団を維持しているのかを遺伝学的に調査することはカワニナだけでなく、その他の野生生物の保護や確保のための参考資料を得るという意味から大切なことである。今回の研究では中部地方の日本海へ注ぐ河川に生息するカワニナを採取し、集団の遺伝的変異性と集団間の分化の程度について評価しようとした。

材料および方法

カワニナの採取場所は富山県 3, 岐阜県 2, 石川県 2, 福井県 12, 京都府 8 および兵庫県 1 の合計 28 箇所である (図 1)。

デンブングル電気泳動法により検出される蛋白質多型現象を利用した。今回は斧足筋に含まれる酵素を支配する遺伝子を標識とした。酵素の抽出や電気泳動法などは常法³⁾に従って行なった。調査した酵素(略号;それを支配する遺伝子座)および電気泳動に用いた緩衝液システムは次のとおりである。ホスホ

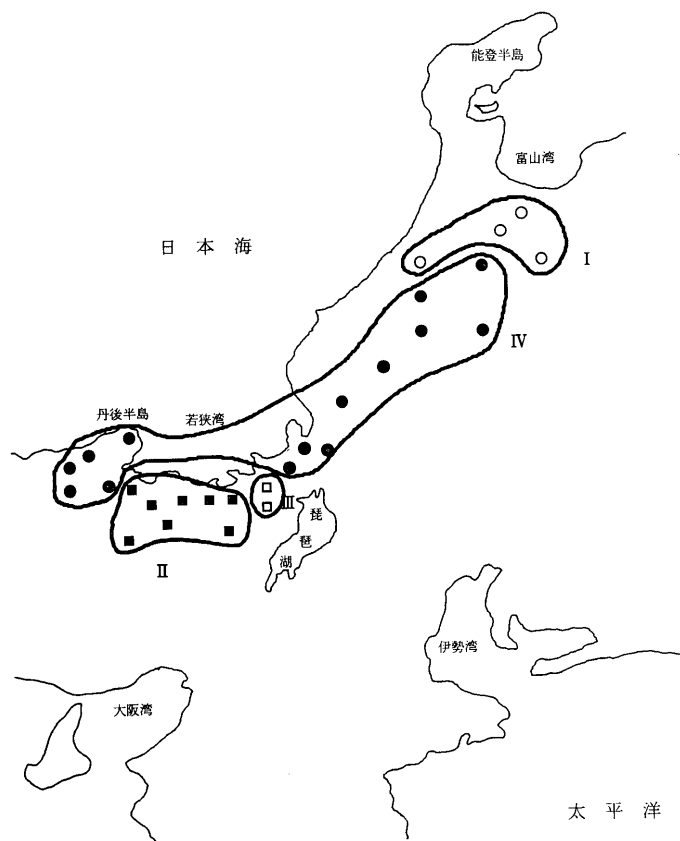


図 1. 調査したカワニナ 28 集団の採取場所と枝分かれ図によるグループ分け

ローマ数字 (I ~ IV) および実線の囲みは、今回調査した中部地方の日本海側 28 集団間の遺伝的類縁関係が Nei⁸⁾ に基づいて作成した枝分かれ図において 4 つのクラスターに大きく分けられたことを意味する。白抜き丸は I、黒四角は II、白抜き四角は III、そして黒丸は IV クラスターに組み込まれていた集団である。

ヘキソース・イソメラーゼ (PHI; PHI), マンノースホスヘート・イソメラーゼ (MPI; MPI), リンゴ酸脱水素酵素 (MDH; MDH-1, MDH-2), イソクエン酸脱水素酵素 (ICDH; ICDH-1, ICDH-2) および酸性ホスファターゼ (Acp; Acp) の電気泳動には Shaw & Prasad⁴⁾ のトリス・クエン酸, pH 7.0 を用いた。アデニレート・キナーゼ (AK; AK), エステラーゼ D (Es-D; Es-D₁, Es-D₂), 6 ホスホグルコン酸脱水素酵素 (6PGD; 6PGD), ホスホグルコミターゼ (PGM; PGM-1, PGM-2) およびエステラーゼ (Es; Est, Es-1, Es-2) には Clayton & Tretiak⁵⁾ のモルホリン・クエン酸, pH 6.1 を用いた。NADP 依存性リンゴ酸脱水素酵素 (ME; ME) とアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AAT; AAT) には Blanco *et al.*⁶⁾ のトリス・クエン酸・水酸化ナトリウム・ホウ酸, pH 8.3 を用いた。

集団内の遺伝的変異性は多型座位の割合 (Ppoly), 平均ヘテロ接合体率 ($\bar{H}$) および Wright⁷⁾ の F 統計量の 1 つの F_{is} を求めて評価した。集団間の遺伝的分化の程度は Wright⁷⁾ の F 統計量の F_{st} と Nei⁸⁾ の遺伝距離 (D) などによって定量化した。また Sokal & Sneath⁹⁾ の方法で枝分かれ図 (系統樹) を作り、28 集団のクラスタリングを行なった。

結 果

1. 遺伝子頻度

今回調査した遺伝子座18の内12において対立遺伝子が存在した。一部の限られた集団において存在し、またその出現頻度のごく低い場合は本文中で説明し、表には含めなかった。

AAT座位はほとんどの集団がAAT^aで固定されていた。Oniwa & Kimura³⁾が太平洋側の集団でごく低い頻度であるが発見しているAAT^bは今回調査した集団では検出されなかった。しかし2つの新しい遺伝子AAT^c（上宝, 0.017）とAAT^d（敦賀, 0.014；敦賀Ⅱ, 0.042；美浜, 0.189）が一部の集団で検出された。なお括弧内は集団名と遺伝子頻度である。

AK座位については太平洋側集団^{3),10)}では対立遺伝子はみつかっていない。しかし今回4つの複対立遺伝子の存在が明らかにされた。AK^aが野生型と考えられるが、一部の集団ではAK^cの頻度の方が高い場合もあり、極端な場合としてAK^cで固定された集団もあった（表1）。

Est座位にはEst^aとEst^cが存在し、概して後者の頻度が高い。もちろん例外もあり、例えば上宝集団ではEst^aで固定されていた（表1）。Oniwa & Kimura^{3),10)}も例外的にEst^aの頻度の方が高い集団の存在を認めている。

Es-D₁座位において今回の調査で初めて突然変異型の遺伝子Es-D₁^aが6つの集団で発見された（辰口, 0.222；大沢野, 0.017；鳥越, 0.014；大野, 0.029；名田庄, 0.014；福知山, 0.014）。

Es-D₂座位は今回初めて分析したが個体変異はみつからなかった。

ICDH-1に関しては、Oniwa & Kimura¹⁰⁾によりヤマトカワニナ（*S.niponica*）では個体変異が見られ、4種類のオートダイマー・バンドの存在することが報告されている。カワニナのこの酵素のバンドもそれに

表1. カワニナ集団の遺伝子頻度（No.1）

集団名	個体数	AK				Est		ICDH-1				
		A	B	C	D	B	C	A	B	C	D	E
大 沢 野	30	—	0.150	0.850	—	0.717	0.283	1.000	—	—	—	—
上 宝	30	—	—	1.000	—	1.000	—	1.000	—	—	—	—
庄 川	36	—	0.583	0.417	—	0.750	0.250	1.000	—	—	—	—
上 平	36	—	0.264	0.736	—	0.167	0.833	1.000	—	—	—	—
蛭ヶ野	36	—	1.000	—	—	—	1.000	1.000	—	—	—	—
辰 口	36	—	0.472	0.500	0.028	0.431	0.569	1.000	—	—	—	—
鳥 越	36	—	0.750	0.250	—	0.264	0.736	0.958	—	0.042	—	—
大 野	35	—	0.900	0.100	—	0.191	0.809	1.000	—	—	—	—
大 池	36	—	1.000	—	—	0.292	0.708	1.000	—	—	—	—
南 条	35	—	0.843	0.157	—	0.300	0.700	1.000	—	—	—	—
敦 賀	36	—	0.931	0.014	0.055	0.417	0.583	1.000	—	—	—	—
敦 賀Ⅱ	36	—	0.722	0.014	0.264	0.806	0.194	1.000	—	—	—	—
美 浜	36	0.042	0.750	0.042	0.166	0.264	0.736	0.861	0.139	—	—	—
上 中	36	—	0.986	0.014	—	0.736	0.264	0.278	0.556	—	0.166	—
上 中Ⅱ	36	—	1.000	—	—	0.931	0.069	0.556	0.347	—	0.097	—
小 浜	36	—	1.000	—	—	0.500	0.500	0.681	0.111	—	0.208	—
名 田 庄	36	—	1.000	—	—	0.357	0.643	0.778	0.194	0.014	0.014	—
大 飯	36	—	1.000	—	—	0.208	0.792	0.861	—	0.014	0.125	—
大 飯Ⅱ	36	—	1.000	—	—	0.750	0.250	0.903	—	0.028	0.069	—
綾 部	36	—	0.972	0.028	—	—	1.000	1.000	—	—	—	—
福 知 山	36	—	1.000	—	—	0.153	0.847	1.000	—	—	—	—
舞 鶴	36	—	1.000	—	—	0.236	0.764	1.000	—	—	—	—
舞 鶴Ⅱ	36	—	1.000	—	—	0.139	0.861	1.000	—	—	—	—
野 田 川	36	—	1.000	—	—	0.431	0.569	1.000	—	—	—	—
網 野	36	0.069	0.917	0.014	—	0.653	0.347	1.000	—	—	—	—
伊 根	36	—	1.000	—	—	0.375	0.625	0.958	—	—	—	0.042
久 美 浜	36	0.111	0.861	0.028	—	0.806	0.194	1.000	—	—	—	—
丹 東	36	0.014	0.986	—	—	0.583	0.417	1.000	—	—	—	—

表 1. カワニナ集団の遺伝子頻度 (No.2)

集団名	個体数	<i>PGM-1</i>				<i>6PGD</i>				<i>PHI</i>		
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C
大 沢 野	30	—	0.567	—	0.433	—	0.283	0.717	—	1.000	—	—
上 宝	30	—	1.000	—	—	—	—	1.000	—	1.000	—	—
庄 川	36	—	0.597	0.333	0.070	—	0.028	0.972	—	1.000	—	—
上 平	36	—	1.000	—	—	—	0.333	0.667	—	1.000	—	—
蛭ヶ野	36	—	1.000	—	—	—	—	1.000	—	1.000	—	—
辰 口	36	—	0.569	0.097	0.334	—	0.264	0.736	—	1.000	—	—
鳥 越	36	—	0.914	0.071	0.015	—	0.403	0.597	—	1.000	—	—
大 野	35	—	0.857	—	0.143	—	0.386	0.614	—	1.000	—	—
池 田	36	—	0.694	0.167	0.139	—	0.667	0.278	0.055	1.000	—	—
南 条	35	—	0.500	0.214	0.286	—	0.571	0.414	0.015	0.771	0.029	—
敦 賀	36	—	0.528	0.153	0.319	0.264	0.583	0.042	0.111	0.917	0.083	—
敦 賀 II	36	0.056	0.625	—	0.319	0.208	0.736	0.056	—	0.958	0.042	—
美 浜	36	0.028	0.889	0.069	0.014	—	0.333	0.667	—	1.000	—	—
上 中	36	0.264	0.472	0.125	0.139	—	0.375	0.458	0.167	0.986	0.014	—
上 中 II	36	0.347	0.486	0.097	0.070	—	0.597	0.375	0.028	1.000	—	—
小 浜	36	0.375	0.361	0.194	0.070	—	0.153	0.819	0.028	0.917	—	0.083
名 田 庄	36	0.278	0.306	0.416	—	—	0.250	0.750	—	0.472	—	0.528
大 飯	36	0.139	0.056	0.805	—	—	0.139	0.861	—	0.347	—	0.653
大 飯 II	36	0.014	0.083	0.903	—	—	0.028	0.972	—	0.569	—	0.431
綾 部	36	0.028	0.167	0.805	—	—	0.014	0.792	0.194	0.958	—	0.042
福 知 山	36	0.181	0.181	0.625	0.013	—	0.111	0.833	0.056	1.000	—	—
舞 鶴	36	0.278	0.097	0.625	—	—	0.042	0.958	—	0.972	—	0.028
舞 鶴 II	36	0.333	0.056	0.611	—	—	—	1.000	—	0.986	—	0.014
野 田 川	36	—	0.583	0.417	—	—	0.444	0.542	0.014	0.653	0.278	0.069
網 野	36	0.014	0.736	0.194	0.056	—	0.486	0.514	—	0.889	0.083	0.028
伊 根	36	—	0.736	0.264	—	—	0.778	0.222	—	0.750	0.014	0.236
久 美 浜	36	—	0.542	0.083	0.375	—	0.403	0.597	—	0.931	0.042	0.027
丹 東	36	—	0.786	0.214	—	—	0.597	0.403	—	0.681	0.208	0.111

したがって記号が付けられている。彼女ら³⁾は太平洋側のほとんどの集団では*ICDH-1^a*で固定され、44集団中わずか2集団においてごく低い頻度で*ICDH-1^b*の存在が認められることを報告した。今回の調査により、新しくEバンドが発見された。またカワニナで初めてBとCバンドの存在することが明らかにされた(表1)。

*ME*座位に2つの新しい突然変異型の遺伝子の存在が発見された。1つは*ME^a*で但東集団(0.069)で、他の1つは*ME^c*で4集団で検出された(辰口, 0.014; 大沢野, 0.017; 鳥越, 0.143; 大野, 0.357)。他の集団は野生型の*ME^b*で固定されていた。

*MDH-1*座位は Oniwa & Kimura^{3),10)}の調査結果ではほとんどの集団が*MDH-1^b*で固定され、ごく一部の集団において低い頻度で*MDH-1^c*が存在した。今回の調査でも同様の結果が得られ、4集団においてのみ*MDH-1^c*の存在が認められた(鳥越, 0.056; 大野, 0.029; 上井, 0.181; 上井II, 0.028)。また*MDH-1^a*がカワニナで初めて、認められた(野田川, 0.028)。

*MPI*座位はほとんどの集団が*MPI^a*で固定されている。例外として*MPI^b*が上宝(0.383)と鳥越集団(0.069)に存在した。今回の調査で新しい遺伝子*MPI^c*が3つの集団で検出された(鳥越, 0.014; 南条, 0.014; 舞鶴II, 0.014)。

*PGM-1*座位には4つの対立遺伝子の存在が認められた。Oniwa & Kimura^{3),10)}が限られた集団で検出した*PGM-1^e*は今回の調査ではみつからなかった(表1)。

6-*PGD*座位には4複対立遺伝子の存在が認められた。6-*PGD^a*の頻度はごく低く、2集団においてのみ発見された(表1)。Oniwa & Kimura³⁾も太平洋側集団でこの遺伝子がごく低い頻度でしか検出されなかったと述べている。

*PHI*座位に関しては*PHI^A*が野生型の遺伝子である。今回の調査ではこれまで報告のなかった*PHI^C*が発見された(表1)。

*Acp*は今回初めて分析された。*Acp^B*がごく低い頻度であるが4集団(庄川, 0.014; 辰口, 0.097; 鳥越, 0.056)において発見された。他の集団は*Acp^A*で固定されていた。

2. 集団内および集団間の遺伝的変異性

表2. カワニナ集団内および集団間の遺伝的変異性

		日本海側集団	太平洋側集団
集 団 数		28	16
座 位 数		18	18
Ppoly		0.282±0.019	0.198±0.008
H		0.090±0.006	0.071±0.005
F _{IS}		0.067±0.014	0.170±0.003
F _{ST}		0.235	0.261
D		0.057±0.003	0.045±0.004

平均値±標準誤差

*: Oniwa&Kimura³⁾

表2に示されているように多型座位の割合と平均ヘテロ接合体率の値は, Oniwa & Kimura¹⁰⁾が太平洋側集団について報告した値(0.198±0.008と0.071±0.005)よりもかなり大きかったが, Nevo¹¹⁾の総説で腹足類の11種類の貝類について求められたこれらの値, それぞれ0.259±0.085と0.072±0.016, とほとんど異ならなかった。集団の近交係数(F_{IS})について求めたところ6集団において負の値, 理論的にはゼロの値, が求められ, 最大値は0.227で平均は0.067となった。野生動物集団のF_{IS}値についてはあまり報告はなされていない。あまり適切ではないが我々が野鳥について求めた値(ドバト, 0.093¹²⁾; スズメ,

0.156¹³⁾; ウズラ, 0.064¹⁴⁾)と比べると, 移動性の低いカワニナについて得られたこの値は以外に低いものであった。

F_{ST}値は比較的に大きく, 0.235となった。Kimura & Maruyama¹⁵⁾によると集団の有効な大きさ(N)と近接集団の個体変換率(m)を乗じたものが1よりも小さい場合には遺伝子頻度に顕著な地域的分化がみられるということになる。Wright⁷⁾のF_{ST}=1/(4Nm+1)からNmを求めると0.813になった。Oniwa & Kimura¹⁰⁾のデータから計算すると0.707という値が得られる。なお参考のため彼女ら³⁾の同一水系内の集団間で求めているF_{ST}値からNmを求めると平均で1.186になる。しかしD値(表2)からみると, 地域的分化がみられるといってもさほど大きなものではない。一般にDの値が地方品種間ではほぼ0.01, 亜種間で0.1, 種間で1と, 分類単位に並行して増大していることが認められている¹⁶⁾。D値に基づいて, 各集団間の類縁関係についてSokal & Sneath⁹⁾の方法より枝分かれ図を作り検討した。図1に示したように, 今回分析したカワニナ28集団は遺伝距離0.073で2群(Iとその他の群)に大別された。ついで遺伝距離約0.058の点で, その他の群からIIが分岐した。さらに0.052の点でIVからIIIが分岐し, 結局4つのクラスターに分類することができた。

考 察

今回の調査で新しく発見された突然変異型の遺伝子としてはAAT^C, AAT^D, AK^A, AK^C, AK^D, Es-D^B, ICDH-I^E, ME^A, ME^C, MDH-I^A, MPI^C, PHI^Cおよび*Acp^B*などがあつた。*Acp*についてはOniwa & Kimura^{3), 10)}は調べていないので, 正確にはこの座位を除いた12の新しい遺伝子が発見されたことになる。一方彼女らの報告した突然変異型の遺伝子AAT^BとPGM-I^Eは今回調べたどの集団にも存在しなかった。これらの酵素の分析方法(電気泳動方法)は変えていないので, これらの結果は試料採取場所の違いによるものと考えられる。対立遺伝子の存在した12座位の38遺伝子について各集団における頻度の分散共分散行列を用いた主成分分析も行なっている。その結果得られた2次元の面における集団の散布図では4つのクラスターの存在が認められ, 遺伝距離に基づいて作成された枝分かれ図の場合とよく似た結果が得られた。したがって今回はその分析結果についての報告は省略したが, 各主成分についての寄与の大きさとこの38遺伝子に順位をつけてみると, 今回の調査で新しく発見された遺伝子のうち, 6遺伝子(MPI^C, MDH-I^A, ICDH-I^E, AK^A, ME^AおよびME^C)を除いた残りの7遺伝子は比較的に寄与の大きな遺伝子としてランクされた。集団分化の程度を評価するのに有効な標識であると考えられる。

集団間の遺伝的分化の程度を表わす固定指数については0.235という値が得られた。木村・藤井¹⁴⁾は野鳥

28種についてそれぞれの種内の各集団の F_{ST} についてとりまとめ、平均と標準偏差が 0.029 ± 0.025 であったと概算している。貝類についてはこの種の報告がほとんどない。わずかに Selander & Kaufman¹⁷⁾ の陸貝のニワマイマイ (*Helix aspersa*) についての報告がみられるくらいである。彼らはこのカタツムリ集団間の分化の程度 (F_{ST}) は、都市の一区画内のコロニー間では0.034、都市内の採取場所間で0.116、そしてカリフォルニア州内の都市間で0.162であると評価した。これらに比べて、カワニナの場合にはいくぶん大きな値が得られた。しかし集団間の地理的な距離もこの値に影響する可能性がある。例えばKimura¹⁸⁾ も本州各地のドジョウ集団の遺伝的変異性について報告したが、そのデータから F_{ST} 値を概算すると0.623となる。カワニナについても調査範囲を拡げて分析する必要がある。

クラスタリングの結果は集団間における遺伝的な関係と地理的（距離的）な関係が、1つの点を除いて、よく一致することを示した。この例外とは、丹後半島の付近で採取した5つの集団のカワニナが、福井や石川県で採取したカワニナと同じクラスターに属し、隣接した舞鶴や綾部などのカワニナとは異なるクラスターに入ったことである。観光資源として、各地の教育委員会、小中学生あるいは愛好家によりホテル

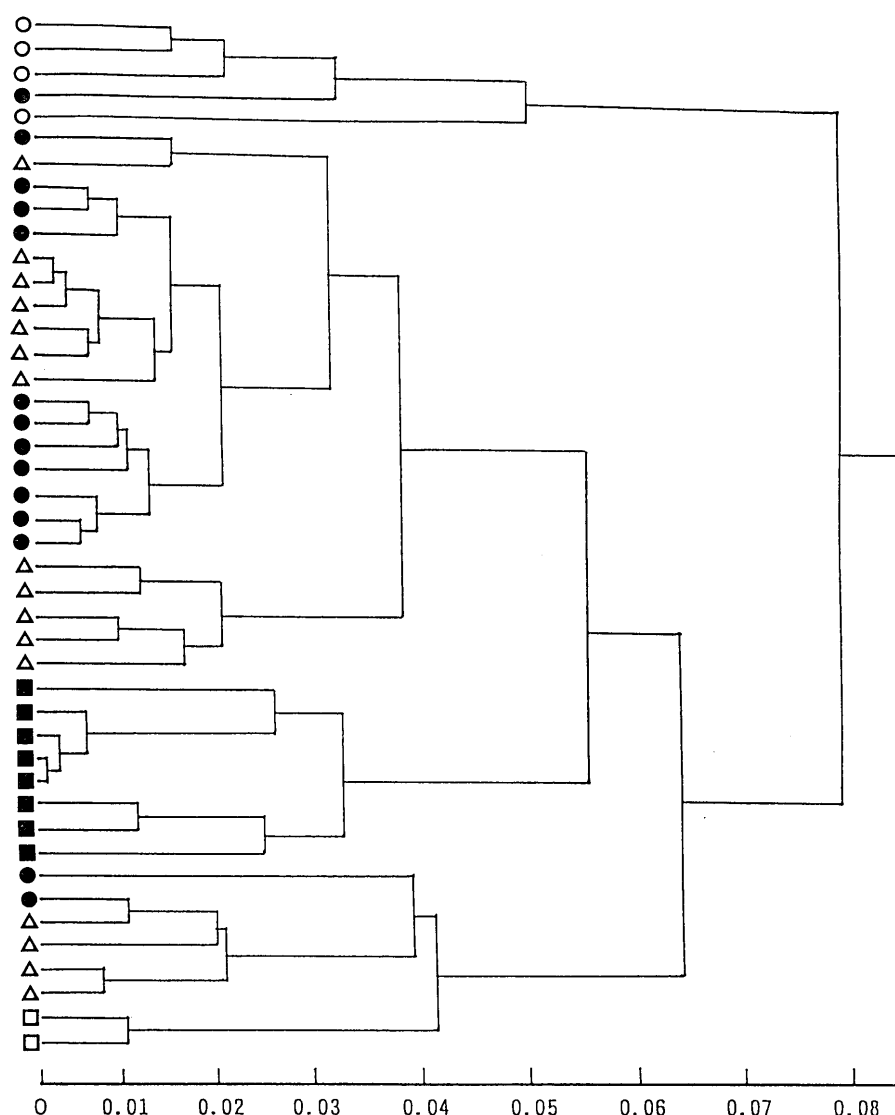


図2. カワニナ44集団間の遺伝的類縁関係
(Nei の遺伝距離に基づき作成した枝分かれ図)

今回調査した中部地方の日本海側28集団間の遺伝的類縁関係はNei⁸⁾の遺伝距離に基づいて作成した枝分かれ図において大きく分けて4つのクラスター（Ⅰ～Ⅳ）に分類された。すなわち、白抜丸はⅠ、黒四角はⅡ、白抜四角はⅢ、そして黒丸はⅣクラスターに組み込まれていた集団を意味する。また白抜き三角はOniwa & Kimura¹⁰⁾により調査された中部地方の太平洋側の16集団である。

の保護や養殖が行なわれている。このホタルの幼虫の餌としてカワニナの人為的な移動がしばしば行なわれている。この点については特に留意してカワニナを採取した。今回も採取時に付近の住民から過去にカワニナの放流が行なわれていないことを聞き出して確認している。このクラスタリング結果の例外についての説明は難しい。

日本海側と太平洋側の集団間に分化がみられるかについて関心がもたれたので、Oniwa & Kimura¹⁰⁾の報告にある太平洋側のカワニナ16集団についてのデータを加えて合計48集団間の遺伝距離を計算し、系統樹(枝分かれ図)を作成した(図2)。なお計算に使用した座位は、*Acp*と*Es-D₂*を除いた、共通に分析された16座位である。計算に用いた座位と集団数が変わっているので、2, 3の集団の入れ代わりがみられたが、クラスタリング結果にはほとんど変化は得られなかった。太平洋側の16集団は3つのクラスターに分けられているが¹⁰⁾、これらの内の2つは日本海側に広く分布する第IVクラスターにそのまま吸収された。残りの1つはそのままとまって日本海側の第IIIクラスターに吸収された。日本海側あるいは太平洋側でそれぞれ異なるクラスターを作ることはなかった。

採取場所が中部地方の狭い地域に限られているので、遺伝子頻度に地理的勾配はみられなかった。気候風土の異なる太平洋側と日本海側の集団間に遺伝子頻度の点で顕著な差を認めることはできなかった。カワニナは移動性が低いので集団間での遺伝子の交換はあまりないと考えられる。また各集団内の個体数は比較的に大きいのではないかと推測されるが、このことにより近交係数を低いレベルで保ち、集団を維持していると考えられる。

参 考 文 献

- 1) Davis, G.M. : A taxonomic study of some species of *Semisulcospira* in Japan (MESOGASTROPODA : PLEUROCERIDAE) *Malacologia* **7** :211-294, 1969.
- 2) 松中昭一：指標動物。講談社, 1975.
- 3) Oniwa, K. & Kimura M. : Genetic variability in two snail species *Semisulcospira libertina* and *Semisulcospira reiniana*. *Jpn.J.Genet.* **61**:137-146, 1986b.
- 4) Shaw, C.R. & Prasad, R. : Starch gel electrophoresis of enzymes - A Compilation of recipes. *Biochem.Genet.* **4** :297-320, 1970.
- 5) Clayton, J.W. & Tretiak, D.N. : Amine-citrate buffers for pH control in the starch gel electrophoresis. *J.Fish.Res.Bd.Can.* **29**:1169-1172, 1972.
- 6) Blanco, A., Zinkham, W.H. & Kupchuk, L. : Genetic control and ontogeny of lactate dehydrogenase in pigeon testes. *J.Exp.Zool.* **156**:137-152, 1964.
- 7) Wright, S. : The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* **19**:395-420, 1965.
- 8) Nei, M. : Molecular population genetics and evolution. North-Holland Publishing Company, Amsterdam-Oxford, 1975.
- 9) Sokal, R.R. & Sneath, P.H. : Principles of numerical taxonomy. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 1963.
- 10) Oniwa, K. & Kimura M. : Genetic variability and relationships in six snail species of the genus *Semisulcospira*. *Jpn.J.Genet.* **61**:503-514, 1986a.
- 11) Nevo, E. : Genetic variation in natural populations : Patterns and theory. *Theoret.Popul. Biol.* **13**:121-177, 1978.
- 12) 佐野晶子・木村正雄・祖父江尚子：食用バトとドバトの胸筋の酵素蛋白質多型に基づく遺伝的変異性の比較。家畜会誌 **29**:266-270, 1992.
- 13) 佐野晶子・木村正雄：スズメの上海集団における遺伝的変異性。岐大農研報(58):27-31, 1993.
- 14) 木村正雄・藤井貞雄：野生ウズラと家畜ウズラにおける遺伝的変異性。家畜会誌 **26**:245-256, 1989.
- 15) Kimura, M. & Maruyama, Y. : Pattern of neutral polymorphism in geographically structured population. *Genet.Res.* **18**:125-131, 1971.
- 16) 大羽滋：集団の遺伝。東京大学出版会, 東京, 1982.
- 17) Selander, R.K. & Kaufman, D.W. : Genetic structure of populations of the brown snail (*Helix aspersa*). 1. Microgeographic variation. *Evolution* **29**:385-401, 1975.
- 18) Kimura, M. : Protein polymorphism and geographic variation in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Anim.Blood Grps biochem.Genet.* **9** :13-20, 1978.