

大阪湾湾奥の河口域におけるウミニナの復活とその要因解明

大谷壮介¹⁾ 上村了美²⁾ 上月康則³⁾

¹⁾大阪府立大学工業高等専門学校准教授

²⁾大阪市立大学大学院工学研究科研究員

³⁾徳島大学大学院理工学部教授

【研究目的】

ウミニナは全国的に準絶滅危惧種に指定されている。そのような中、兵庫県御前浜において 2000 年代前半には確認されていなかったウミニナが、近年になって生息が確認されるようになった。このように希少種の生息が確認されることは環境の改善効果があったことが考えられるが、ウミニナが確認されるようになった要因は解明されていない。

そこで、本研究では大阪湾湾奥の河口域において準絶滅危惧種であるウミニナの生態把握および復活した原因の解明を目的とした。ウミニナは東京湾では絶滅寸前であるが、近年、大阪湾湾奥で個体数の増加が確認されており、ウミニナの復活は湾奥での環境改善の兆候の一つとも言え、全国的にも稀有な事例である。そこで、本研究ではウミニナの生息が増加した点を生態的特徴と遺伝子ネットワークの両面から把握する。

特に御前浜におけるウミニナ復活の原因を解明するにあたり、御前浜を含む瀬戸内海を中心とした 11 ヶ所の干潟において、ウミニナの生息環境調査を行うことで生息環境の一般性について定量的な検討を行った。また、同時に、大阪湾および瀬戸内海等におけるウミニナの DNA のミトコンドリアとマイクロサテライトマーカー (SSR) に基づく遺伝子ネットワーク解析を行った。

【研究方法】

2015 年 8 月に御前浜において 19 地点においてウミニナの現存量調査を実施した。また、2016 年 3 月から 5 月にかけて、広島県佐方川、岡山県錦海湾、香川県志度湾、兵庫県甲子園浜、御前浜、成ヶ島、大阪府深日漁港、和歌山県和歌川、三重県田中川において、さらに 2016 年 9 月に徳島県那佐湾、大阪府阪南 2 区人工干潟の計 11 干潟において広域調査を行った (図-1)。各調査は現地において 30 cm×30 cm の方形枠を用いて現存量調査を行った。御前浜調査ではウミニナとホソウミニナが混生しており、小型個体については識別することが難しかったため、両種を併せてウミニナ類とした。広域調査においては他種が混生している地点はなるべく避け、混生している場合は目視によってウミニナであると判断できた個体のみすべてウミニナとした。各干潟において採集したウミニナの殻長を測定し、個体数を記録した。特に広域調査では、ウミニナの生息の有無に着目して、それぞれ 3 地点ずつ調査を行った。また、御前浜では ORP、

Chlorophyll a 量，含水率，粒度組成(シルト・クレイ，細砂，中砂，粗砂，細レキ，中レキ)，強熱減量の 5 項目，広域調査では ORP を除く 4 項目の測定を行った．本研究では決定木を用いて，御前浜調査の結果からウミニナ類の個体数の推定，広域調査の結果から生息の有無の推定を行った．



図-1 広域調査の調査地点

DNA 解析用のウミニナは，広域調査と同じ計 11 か所から採集したものと大阪府尾崎町から 2013 年 5 月に採集したもの，計 12 か所の個体を用いた．DNA 抽出キット DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN Inc., Germany) のプロトコールに従って DNA を抽出した．遺伝子解析は，ミトコンドリア DNA の COI によって種と遺伝的特徴を明らかにした上で，SSR による集団遺伝子解析を行うことにより正確性の高い解析を行うこととした．COI のデータからハプロタイプを検出し，近縁種を加えた系統樹からの種判別，塩基多様度およびハプロタイプ多様度を計算し，遺伝子特性を明らかにした．SSR 解析では既発表の複数の SSR について予備実験を行い，大阪湾および近海のウミニナについて PCR 効率のよい 12 マーカーをスクリーニングし，最終的に 8 マーカーを解析に用いた．複数のマーカーを一度に効率的に PCR するため，マルチプレックス PCR, touch-downPCR および汎用蛍光プライマー法 (Blacket, 2012) を採用した．SSR では，個体内遺伝的多様度，集団内の遺伝的多様度，近交係数および集団間の遺伝的多様度指数 Shannon's Information Index を計算した．さらに個体ごとの帰属集団を推測するため，ベイズ法によるクラスタリングを行った．計算条件は，帰属集団数 K については 1 から 20 までを想定し，シミュレーション回数 100000 の計算を 10 回行った．これより算出した K および ΔK の値から Evanno 仮説 (2005) をもとに最適な K を決定した．集団間の遺伝的距離 (D_{my}) を計算し，デンドログラムを作成した．

[結果と考察]

御前浜におけるウミニナ類の個体数を推定する決定木を図-2 に示す．図-2 より最初に選択されたのはシルト・クレイ率であり，最も個体数が多いと推定さ

れた条件は、シルト・クレイ率が 1.118%より大きく、含水率が 19.43%未満の条件であり、1 m²あたりの個体数は 314 個と推定された。

ウミニナの生息の有無を推定する決定木を図-3 に示す。図-3 より、図-2 と同様に最初に選択されたのはシルト・クレイ率であった。ウミニナが生息していた条件は、シルト・クレイ率は 0.32 %より大きく、粗砂率は 34.4 %未満、そして含水率は 17.9 %未満の条件であった。これまでも、底質の選好性に関して、ウミニナは砂質土を好むことが示唆されている。本研究においても選択された環境項目はシルト・クレイ率および粗砂率であったことから、粒度組成がウミニナの生息環境に影響を及ぼしていると考えられる。

本研究では決定木の結果より、シルト・クレイ率は 0.32 %と小さいが、決定木の説明変数で最初に選択されていることから、シルト・クレイ率はわずかでもウミニナの生息に寄与していることが示唆される。

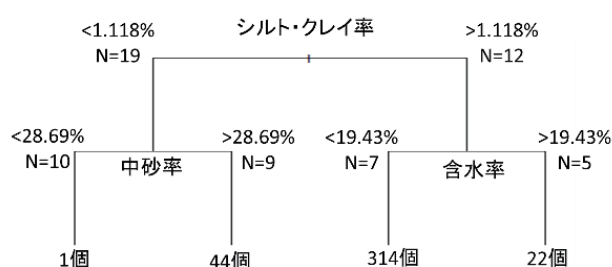


図-2 ウミニナの個体数の決定木

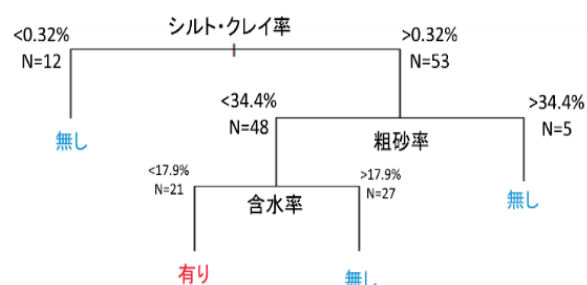


図-3 ウミニナ生息の有無の決定木

ミトコンドリア DNA の COI について解析した 399 個体から 73 のハプロタイプを検出し、すべての調査地点で共通して見られた 2 つのハプロタイプは全体の約 40%を占めていた。甲子園浜では固有のハプロタイプが 2 つだけであり、ハプロタイプの多くを他の集団と共有していた。SSR の近交係数が低いことから他の集団との遺伝的交流が多いと推測された。大阪湾内と周辺のウミニナ集団のハプロタイプ多様度 (Hd) と塩基配列多様度 (Pi) は正の相関関係にあった (図-4)。しかしながら成ヶ島と阪南二区は信頼区間 95%から外れ、Hd に対する Pi は低い値であり、ボトルネック (集団サイズの縮小により、集団内の遺伝的変異が小さくなる現象) を経験した集団であると推測された。造成された阪南二区は、集団の確立からの歴史が浅いことから、新しく集団が確立したときにボトルネックを経験したと考えられる。一方で、自然干潟に近い状態である成ヶ島は集団が長く維持されてきたことから、ボトルネックによる縮小を何度か経験しながら、拡大した集団であると考えられる。

SSR のデータから集団間の遺伝的距離 (Dmyu) を計算し、デンドログラムを作成したところ、大きく 3 つの枝に分岐した (図-5)。ひとつは大阪湾の主な集団が含まれるグループ、2 つめは成ヶ島と大阪湾外の集団が含まれるグループ、3 つめは志度湾のみであった。この結果から、大阪湾内には、大阪湾奥から大

阪湾東側にかけての集団が連結する「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」が存在すると考えられる。御前浜および阪南二区にみられたウミニナの新たな局所集団の確立，あるいは消失からの“回復”は，このネットワークが機能したゆえであると推測した。

「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」の特徴は，瀬戸内海の生息地である錦海湾，志度湾，佐方川との連結は強くなく，大阪湾のすぐ外の和歌川とも遺伝的距離が認められ，湾内での連結が比較的強いことである。また，大阪湾西側に位置する成ヶ島は，大阪湾奥・東海岸ネットワークから外れており，この理由として，紀伊水道から流入する友ヶ島反流の影響とウミニナがネットワークを形成するために必要な“飛び石”が少ないことが考えられる。大阪湾東側には，今回の解析を行った集団の他にも，男里川河口や東川河口など，“飛び石”が多くあることから，ネットワークを形成しやすい環境にある。

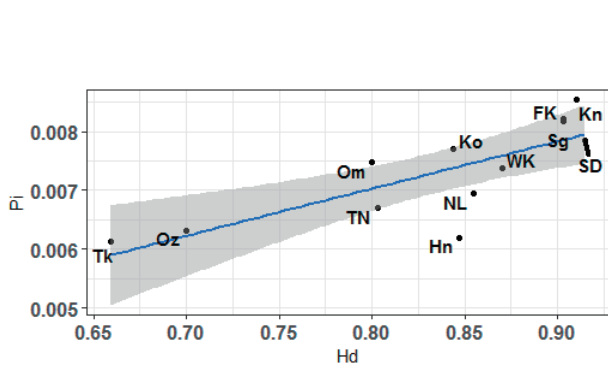


図-4 COI のハプロタイプ多様度 (Hd) と塩基配列多様度 (Pi)

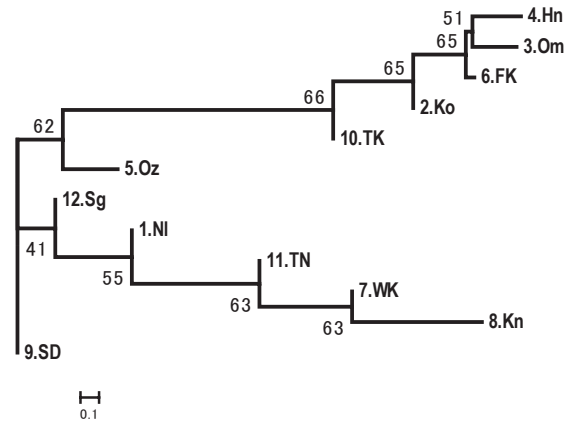


図-5 集団間の遺伝的距離のデンドログラム

(NL 成ヶ島，ko 甲子園浜，Om 御前浜，Hn 阪南二区，Oz 尾崎，Fk 深日漁港，Wk 和歌川，Kn 錦海湾，SD 志度湾，Tk 那佐湾，TN 田中川，Sg 佐方川。)

【結論】

ウミニナの個体数推定および生息の有無の推定のための決定木より，ウミニナの生息環境には粒度組成が影響しており，特に砂質土を好むことが考えられた。またシルト・クレイ率が決定木において，個体数および生息の有無の変数として選択されていることから，シルト・クレイの含有がウミニナの生息環境において重要であることが考えられた。

DNA の COI とマイクロサテライトマーカーに基づく遺伝子ネットワーク解析から，ウミニナの集団が集団サイズの縮小により，集団内の遺伝的変異が小さくなる現象であるボトルネックが起こっていることが示唆された。また，ウミニナは 3 つのグループに分類され，「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」によって，御前浜にみられた近年のウミニナの出現または増加は，このネットワークが機能した結果であると推測できた。