

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K06615

研究課題名(和文)汽水性二枚貝の環境ストレスに対する総抗酸化力の応答と成長余力の関係

研究課題名(英文) Oxidative responses and scope for growth of brackish water clam *Corbicula japonica* exposed to environmental stress

研究代表者

藤田 昌史 (Fujita, Masafumi)

茨城大学・理工学研究科(工学野)・准教授

研究者番号：60362084

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：殻長19～25mmのヤマトシジミはORACの個体間のばらつきが小さく、軟体部よりも鰓の方が抗酸化応答を捉えやすいことがわかった。ヤマトシジミを用いて摂餌実験、排泄実験、呼吸実験を行い、摂餌、排泄、呼吸による排出の各炭素量をTOC計で測定し、成長力を炭素収支に基づいて簡便に評価する手法を確立した。都市下水およびその分画成分をヤマトシジミに与え、酸化ストレスマーカーと成長力の応答を調べたところ、都市下水中の溶存態成分がヤマトシジミに最もストレスを与えていることがわかった。また、酸化ストレスマーカーの統合指標と成長力の間には、概ね負の相関があることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

汽水性二枚貝ヤマトシジミの酸化ストレスマーカーを評価するうえで、個体間のばらつきを抑えられる殻長の範囲を明らかにした。ヤマトシジミの成長力を、従来のエネルギーベースではなく、炭素ベースで簡便に評価できる手法を確立した。酸化ストレスマーカーと成長力との間に負の相関があることが見出されたことから、個体レベルの応答である成長力を用いることにより、生化学レベルの酸化ストレスマーカーの応答を解釈できる見通しが立ったと言える。

研究成果の概要(英文)：The variation in ORAC was relatively low in brackish water clam *Corbicula japonica* with shell lengths between 19～25mm. Gills were more appropriate organs for detecting antioxidant effects. A simple modified method for scope for growth (SFG) assay of *C. japonica* was developed using the carbon mass balance estimated from three experiments: a clearance experiment, an excretion experiment and a respiration experiment. Oxidative stress as biochemical-level response and SFG as individual-level response were examined in *C. japonica* exposed to 5× dilution municipal wastewater and its components. An integrated biomarker responses (IBR) index estimating from the responses of oxidative stress markers used revealed that the most significant stressor was dissolved matters in wastewater. Further, a negative correlation was found between IBR and SFG. We conclude that SFG can be a useful indicator to interpret the response of oxidative stress markers in *C. japonica*.

研究分野：水環境工学

キーワード：ヤマトシジミ 酸化ストレスマーカー 成長力 汽水

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国では、工場・事業場排水の水環境への影響や毒性の有無を総合的に把握・評価するために、水生生物の生物応答を利用した排水管理 (Whole Effluent Toxicity; WET) 手法の導入が検討されている<sup>1)</sup>。これは、希釈した排水のなかに藻類、ミジンコ類、魚類を入れ、これらの生存、成長、生殖に与える影響を実測し、工場・事業場からの排水全体が有毒かどうかを評価する手法である。一方、欧州では以前から ECOMAN (Ecosystem Management Bioindicators) プロジェクト等で、バイオマーカーを用いた毒性物質の早期検出や沿岸生態系への影響調査が行われている<sup>2)</sup>。

WET 試験は個体ベースの評価手法に位置づけられる。結果の解釈がしやすいが、試験に用いる水生生物を事前に所定の条件で飼育しておく必要があり、試験自体にも時間を要する。一方、バイオマーカーは生化学・生理学ベースの評価手法に位置づけられる。現場で水生生物の採取条件を工夫すれば、時間・空間分解能の高い評価が可能となる。ただし、バイオマーカーの応答が個体の生存や成長等の生物応答にどのように関係するかについては研究例に限られており、現段階ではほとんど明らかにされていない。両者の関係が体系的に整理されれば、バイオマーカーの汎用性が高まり水環境管理や環境影響評価等での活用が期待される。

水生生物の環境ストレスを評価可能な TOSC 法 (Total Oxylradical Scavenging Capacity)<sup>3)</sup>は、上述の ECOMAN プロジェクト等で実績がある。水生生物は、ストレス環境下に曝されると生体内で活性酸素種が発生するが、これに対抗するために、グルタチオン (GSH)、スーパーオキシドディムスターゼ (SOD)、カタラーゼ (CAT) 等の抗酸化作用を持つ成分 (酵素、物質) を合成し作用させることで<sup>4)</sup>、細胞を守ることが知られている (図 1)。TOSC 法はこのような抗酸化成分の総含有量を総抗酸化力として評価する手法である。近年では、プレートリーダーによる簡便な蛍光分析により定量可能な ORAC 法 (Oxygen Radical Absorbance Capacity)<sup>5)</sup>も提案されている (図 2)。

2000 年以降、TOSC 法による生物影響評価の研究は精力的に行われている。特に、海生二枚貝に対する適用例が多い。近年では、TOSC 法に加えて複数のバイオマーカーを併用する研究も増えてきている。ただし、これらのほとんどが実環境での調査研究であり、環境条件に対する水生生物の総抗酸化力の応答機構に踏み込んだ研究例はほとんどない。

海岸環境であれば塩分濃度はほぼ一定であるため、水温等の季節変動に留意すれば、自然影響は過度に気にする必要はない。一方、汽水湖環境は潮位変動に応じて海水が湖内に浸入するため、塩分濃度も日内変動がある。研究代表者らの先行研究では、塩分濃度の変動は総抗酸化力に影響することを見出しており、汽水湖ではこの自然影響を無視できないことを示した<sup>6)</sup>。したがって、汽水性二枚貝の総抗酸化力を評価する場合には、バックグラウンドである自然影響が総抗酸化力の応答にどのように関係するかを踏まえたうえで、人為影響に対する応答を理解する必要がある。

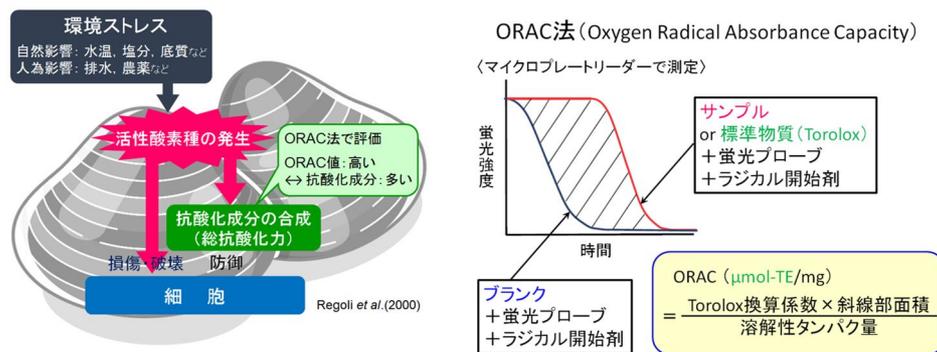


図 1 活性酸素種の発生と抗酸化成分の合成 図 2 ORAC 法の測定原理の概要

### 2. 研究の目的

汽水性二枚貝ヤマトシジミを対象として、室内実験において現地を模擬して自然影響、人為影響を与え、ストレスバイオマーカー (ORAC 法) および改良 SFG 手法等を適用し、環境ストレスに対する総抗酸化力の応答と成長余力の関係を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヤマトシジミの飼育

茨城県中部に位置する酒沼 (汽水湖) から採取したヤマトシジミ (*C. japonica*) を有効容積 83.2 L の室内水槽に入れ、塩分 5 psu に調整した人工海水で、水温 20 °C で飼育した。水槽内は曝気して、溶存酸素をほぼ飽和に保ち、1 日に 5 L ずつ水槽内の水を入れ替えた。餌源として、別途培養している珪藻類 (*Synedra*, *Navicula*) を毎日与えた。

#### (2) 都市下水を用いた応答実験

室内で飼育したヤマトシジミ (殻長  $20.5 \pm 1.5$  mm) を水温 20 °C、塩分 10 psu、pH8.0 に調整した実験水槽で 7 日間馴致した。本研究では酸化ストレスマーカー、成長力を評価するが、事前にこの期間で十分に馴致できることを確認している。その後、表 1 に示すように、対照系を含めた計 6 ケースの実験条件に 3 日間曝露した。酸化ストレスマーカーは、実験開始日、3 日目に測

定した ( $n=5$ )。成長力は 3 日目に分析した ( $n=30$ )。すべての実験では、ヤマトシジミ一頭、一日あたりの給餌条件が  $0.5 \text{ mgSS ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$  となるように、前述の培養珪藻を 1 時間毎に与えた。

表 1 実験条件

Run	餌源 ( $\text{mgSS ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ )	試験液	POC ( $\text{mgC L}^{-1}$ )	DOC ( $\text{mgC L}^{-1}$ )	$\text{NH}_4^+$ ( $\text{mgN L}^{-1}$ )
対照系 (Control)		人工海水	-	-	-
1	0.5	都市下水+人工海水 (5倍希釈)	4.8	5.3	5.6
2			4.8	-	-
3			-	5.3	5.6
4			-	5.3	0.3
5			$\text{NH}_4\text{Cl}$ +人工海水	-	-

### (3) 酸化ストレスマーカーの評価

ヤマトシジミの鰓を破碎・均質化する処理を行った。これを LPO の分析に供した。さらに遠心分離 ( $10,000 \times g, 10 \text{ min}, 4^\circ\text{C}$ ) して得られた上澄液を SOD、CAT、ORAC の分析に供した。得られた酸化ストレスマーカーの結果は、Suzuki *et al.* (2019)<sup>7)</sup> の手法にしたがって、IBR として統合化した。

### (4) 成長力 ( $SFG_C$ ) の評価

成長力は、増子ら (2018)<sup>8)</sup> が提案している炭素収支に基づく  $SFG_C$  法により評価した。摂餌実験、排泄実験、呼吸実験の 3 つの実験を行い、摂餌量・擬糞量、排泄量、呼吸量をそれぞれ POC として定量し、 $SFG_C$  を算出した。 $SFG_C > 0$  であれば摂取した炭素を成長に使用できる状況にあり、 $SFG_C < 0$  であれば炭素を成長に使用できない状況にあると判断できる。

## 4. 研究成果

### (1) 都市下水に対するヤマトシジミの酸化ストレスマーカーの応答

都市下水中の懸濁態成分のみが含まれた Run2 では、対照系より SOD 活性が低かった ( $p < 0.05$ ) (図 3A)。Yang *et al.* (2017)<sup>9)</sup> は、二枚貝 *Sinonovacula constricta* は、 $100 \text{ mgSS L}^{-1}$  を超える浮遊物質 (SS) に曝されると、鰓が損傷し、SOD 活性が抑制されたことを報告している。本実験では、餌源である珪藻類の  $SS 4.7 \text{ mgSS L}^{-1}$  に加えて、都市下水中の懸濁態成分の  $SS 48.0 \text{ mgSS L}^{-1}$  が添加されているため、Run2 の SS は  $52.7 \text{ mgSS L}^{-1}$  であった。ヤマトシジミは、既報<sup>9)</sup> のように、 $100 \text{ mgSS L}^{-1}$  を超えなくても、SOD 活性が阻害されていた。

ただし、懸濁態成分が同様に含まれている Run1 では、Run2 のような SOD 活性の阻害は見られなかった ( $p > 0.05$ )。実験期間中、Run1、Run3、Run4 ではヤマトシジミが閉殻していることを目視確認している。いずれも都市下水中の溶存態成分が含まれる Run である。二枚貝は、生息環境が悪化すると、閉殻して過水量を抑えることが知られている<sup>10, 11)</sup>。したがって、Run1 では、閉殻したことにより過水量が減少したため、代謝が減少し、活性酸素種の生成が相対的に低くなったものと考えられる。そのため、Run2 のような SOD 活性の減少は見られなかったと考えられる。

$\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液を与えた Run5 では、対照系より CAT 活性が高かった ( $p < 0.05$ ) (図 3B)。既報<sup>12)</sup> は、 $\text{NH}_3$  に曝された淡水二枚貝 *Lamellidens marginalis* の体内では、CAT 活性が増加したことが報告されている。本実験では pH を 8.0 に調整しているため、アンモニア性窒素に占める  $\text{NH}_3$  の存在割合は 10% 程度になる<sup>13)</sup>。ヤマトシジミも同様に  $\text{NH}_3$  に曝されたことにより、CAT 活性が増加したものと考えられる。一方、Run5 では SOD 活性には有意差が見られなかった ( $p > 0.05$ )。Babior (2004)<sup>14)</sup> は、NADPH オキシダーゼの反応により  $\text{H}_2\text{O}_2$  が生成することを報告している。したがって、CAT の作用対象である  $\text{H}_2\text{O}_2$  は、SOD だけでなく、NADPH オキシダーゼの作用からも生成される。そのため、SOD 活性には変化がなく、CAT 活性だけが増加したものと考えられる。

一方、アンモニア性窒素が同様に含まれる Run1 と Run3 では、CAT 活性に有意差は見られなかった ( $p > 0.05$ )。前述したように、これらの Run ではヤマトシジミが閉殻していたためであると考えられる。

Run5 では、対照系と比較して ORAC も高くなっていた ( $p < 0.05$ ) (図 3C)。前述した CAT 活性と連動して、抗酸化物質が合成された結果であると考えられる。

一方、Run3、Run4 では、対照系よりも ORAC が低下した ( $p < 0.05$ )。これらの Run ではヤマトシジミが閉殻していたため、摂餌活動が制限され、抗酸化物質の合成が抑制されたものと考えられる。しかしながら、同様に閉殻が確認されている Run1 では ORAC に有意差は見られなかった ( $p > 0.05$ )。Run1 では前述したように摂餌活動が制限されていたものの、都市下水中の懸濁態成分が添加されていたため、Run3、Run4 よりは代謝量は多かったものと考えられる。そのため、抗酸化物質が合成されていたため、Run3、Run4 のように ORAC は減少せずに、変化が見られなかったものと考えられる。

Run4 ではアンモニア性窒素がほとんど含まれていないにも係らず、ORAC の低下が見られたのは、都市下水中のアンモニア性窒素以外の溶存態成分が影響したのと考えられる。

上述したように、酸化ストレスマーカーである SOD、CAT、ORAC には応答が見られたが、

LPO には変化が見られなかった ( $p>0.05$ ) (図 3D)。つまり、5 倍希釈された都市下水やその成分は、ヤマトシジミに生化学的な影響を及ぼすが、酸化ダメージには至らないことがわかった。

各 Run の酸化ストレスマーカーの応答の結果を統合した IBR 値を図 4 に示す。IBR はストレスが大きいほど、高い値となる<sup>15)</sup>。いずれの Run も IBR は対照系よりも高くなった。IBR 値は、Run3>Run4>Run5>Run2>Run1 の順序であった。都市下水中の懸濁態成分が含まれずに溶存態成分が含まれる Run では IBA 値が相対的に高くなり、懸濁態成分が含まれる Run では相対的に低くなる結果となった。

(2) 都市下水に対するヤマトシジミの成長力の応答

ヤマトシジミの成長力の結果を図 5 に示す。対照系での  $SFG_C$  は  $17.7 \text{ mgC ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であった。本研究では給餌量を  $0.5 \text{ mgSS ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$  としたが、既報<sup>16)</sup>では  $5 \text{ mgSS ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$  としている。このときの  $SFG_C$  は  $102.0 \text{ mgC ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であった。本研究における  $SFG_C$  が低かったのは給餌量が低かったためと考えられる。

Run4 では、対照系より  $SFG_C$  が低く、 $-51.1 \text{ mgC ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であった。ヤマトシジミは都市下水中の溶存態成分(アンモニア性窒素以外)に曝されると成長力が低下することがわかった。Run4 の試験水にアンモニア性窒素などが付加されている Run3 では、 $SFG_C$  は  $-221.0 \text{ mgC ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$  となり、さらに低くなった。NH<sub>4</sub>Cl 溶液を与えた Run5 でも、対照系よりも  $SFG_C$  が低く、 $-95.8 \text{ mgC ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であった。Mummert *et al.* (2003)<sup>17)</sup>は、淡水性二枚貝 *Lampsilis fasciola* は NH<sub>3</sub> 濃度の増加とともに死亡率が高くなることを報告している。本研究においても、NH<sub>3</sub> の影響を受けてヤマトシジミの  $SFG_C$  は抑制されたものと考えられる。一方、対照系と Run4、対照系と Run5 のそれぞれの  $SFG_C$  の差よりも、対照系と Run3 の  $SFG_C$  の差の方が大きかった。Run3 では、都市下水中の溶存態成分(アンモニア性窒素以外)と NH<sub>3</sub> の交互作用が生じた可能性がある。

Run2 では、都市下水中の懸濁態成分が含まれていたため、対照系より摂餌量が著しく高かった。そのため、 $SFG_C$  も高かった。千葉ら(1957)<sup>18)</sup>は、有効な餌濃度の上限までは餌濃度の増加とともに海生二枚貝の摂餌量が増加することを報告している。したがって、都市下水中の懸濁態成分はヤマトシジミの餌源として機能したと判断される。Nobles and Zhang (2015)<sup>19)</sup>は、淡水性二枚貝 *Amblema plicata*、*C. fluminea* を都市下水に曝露すると、成長と生存率が低下することを報告している。本研究でも、Run1 の  $SFG_C$  は対照系よりも低かった。つまり、5 倍希釈の都市下水に曝されたヤマトシジミでも成長力の低下が認められた。Run1 の摂餌量および  $SFG_C$  は Run2 よりも低かったことから、都市下水中の溶存態成分が成長力に影響したのと考えられる。

(3) 酸化ストレスマーカーと成長力の関係

IBR と  $SFG_C$  の関係を図 6 に示す。都市下水中の溶存態成分が含まれる Run3、Run4、Run5 の IBR 値は相対的に高く、 $SFG_C$  は相対的に低かった。一方、懸濁態成分が含まれる Run1、Run2 は IBR 値が相対的に低く、 $SFG_C$  は相対的に高かった。つまり、IBR と  $SFG_C$  には概ね負の相関が見られた。Pokhrel *et al.* (2019)<sup>20)</sup>は、ヤマトシジミの ORAC が上昇すると ATP (アデノシン三リン酸) が上昇することを報告している。つまり、ストレス環境に曝されて抗酸化物質を合成するために、エネルギーを貯蔵したと解釈される。本研究における相対的に高い IBR 値はよりストレスを受けていたことを意味することから、抗酸化機能を発現するためにエネルギー(炭素)を利用していただと予想される。このように考えると、IBR が高いほど  $SFG_C$  が低下したことが説明できる。

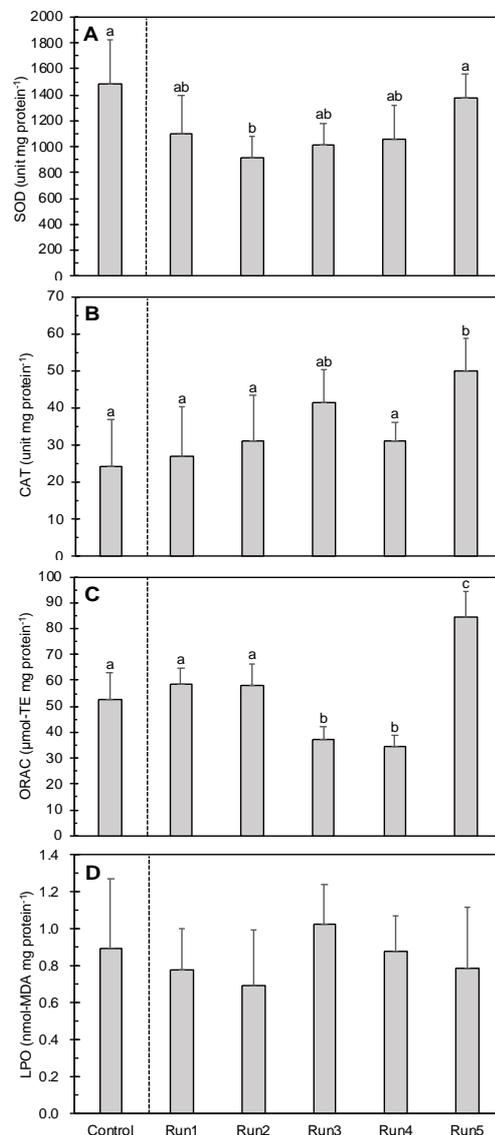


図 3 都市下水に対する酸化ストレスマーカーの応答

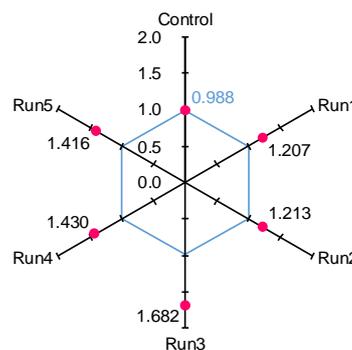


図 4 都市下水に対する酸化ストレスマーカーの IBR 値

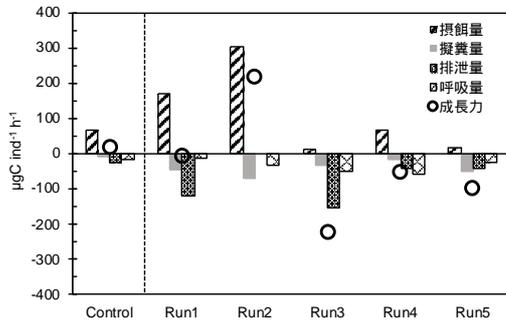


図5 都市下水に対する成長力の応答

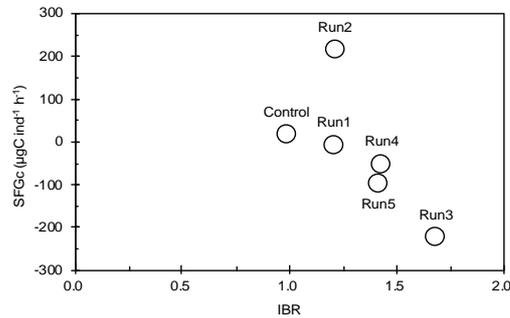


図6 IBR と成長力の関係

Run1 と Run2、Run4 と Run5 では、IBR の指示値がほぼ同じであったにも係らず、 $SFG_C$ には違いが見られた。これは、IBR よりも $SFG_C$ の方が環境ストレスの検出能が高いことを示している。しかしながら、 $SFG_C$ の評価には時間と労力を要することから、実務利用において、 $SFG_C$ をモニタリングするのは現実的ではない。一方、酸化ストレスマーカーは複数の指標があることから、個々の指示値、それらを統合した IBR 値を併用して、今後さらに実験データを増やして成長力との関係を調べていくことで、酸化ストレスマーカーの指示値の解釈にアプローチできると考えられる。

#### (4) まとめ

5 倍希釈した都市下水は、ヤマトシジミの LPO の上昇 (酸化ダメージ) には至らなかったが、SOD、CAT、ORAC および $SFG_C$ に影響を及ぼした。都市下水中の懸濁態成分は SOD を低下させた。本実験条件である pH8.0 を踏まえると  $\text{NH}_3$  が CAT、ORAC を上昇させたものと考えられた。ただし、都市下水中の他の溶存態成分が共存すると ORAC は低下した。4 種類の酸化ストレスマーカーの応答の結果を IBR により統合化したところ、都市下水の溶存態成分がヤマトシジミに最もストレスを与えていたと判断された。成長力についても、都市下水中の溶存態成分を与えた場合が最も $SFG_C$ が低く、逆に懸濁態成分は餌源として機能することが示された。また、IBR と $SFG_C$ の間には概ね負の相関が見られた。以上のことから、ヤマトシジミの酸化ストレスマーカーによる生化学レベルの応答を解釈するうえで、個体レベルの応答の指標となる成長力は有効となることが明らかとなった。

#### 5. 参考文献

- 1) 環境省：生物応答を利用した排水管理手法の活用について、<https://www.env.go.jp/press/files/jp/28556.pdf> (2020年6月5日)。
- 2) Galloway, T.S., Brown, R.J., Browne, M.A., Dissanayake, A., Lowe, D., Depledge, M.H., Jones, M.B.: The ECOMAN project: a novel approach to defining sustainable ecosystem function, *Marine Pollution Bulletin* 53(1-4), 186-194, 2006.
- 3) Regoli, F.: Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress, *Aquatic Toxicology* 50(4), 351-361, 2000.
- 4) Regoli, F., Giuliani, M.E.: Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms, *Marine Environmental Research* 93, 106-117, 2014.
- 5) Ungvari, Z., Ridgway, I., Philipp, E.E., Campbell, C.M., McQuary, P., Chow, T., Coelho, M., Didier, E.S., Gelino, S., Holmbeck, M.A., Kim, I., Levy, E., Sosnowska, D., Sonntag, W.E., Austad, S. N., Csiszar, A.: Extreme longevity is associated with increased resistance to oxidative stress in *Arctica islandica*, the longest-living non-colonial animal, *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences* 66(7), 741-750, 2011.
- 6) 池田雄, 明石詢子, 町田裕貴, 鈴木準平, 藤田昌史: 汽水湖の環境要因に対するヤマトシジミの抗酸化力応答, *土木学会論文集 B2 (海岸工学)*, 72(2), I\_1351-I\_1356, 2016.
- 7) Suzuki, J., Nakano, D., Imamura, M., Yamamoto, R., Fujita, M.: Assessing a polluted river environment by oxidative stress biomarker responses in caddisfly larvae, *Science of the Total Environment* 696, 134005, 2019.
- 8) 増子沙也香, 鈴木準平, 藤田昌史: 汽水性二枚貝ヤマトシジミの炭素収支に基づく成長力評価手法の確立, *水環境学会誌* 41(5), 123-128, 2018.
- 9) Yang, G., Song, L., Lu, X., Wang, N., Li, Y.: Effect of the exposure to suspended solids on the enzymatic activity in the bivalve *Sinonovacula constricta*, *Aquaculture and Fisheries* 2(1), 10-17, 2017.
- 10) Akberali, H.B., Trueman, E.R.: Effects of environmental stress on marine bivalve molluscs, *Advances in Marine Biology* 22, 101-198, 1985.
- 11) 石田修, 石井俊雄: ヤマトシジミの塩分に対する抵抗性, ならびに, 地域による形態の相違, *水産増殖*, Vol.19, No.4, pp.167-182, 1971.
- 12) Chetty, A.N.: Free radical toxicity in a fresh water bivalve, *Lamellidens marginalis*, under ambient ammonia stress, *J Environ Biol* 16, 137-142, 1995.
- 13) Reddy, N.A., Menon, N.R.: Effects of ammonia and ammonium on tolerance and byssogenesis in *Perna viridis*, *Mar. Ecol. Prog. Ser* 1, 315-321, 1979.
- 14) Babior, B.M.: NADPH oxidase, *Current Opinion in Immunology* 16(1), 42-47, 2004.
- 15) Iturburu, F.G., Bertrand, L., Mendieta, J.R., Amé, M.V., Menone, M.L.: An integrated biomarker response study explains more than the sum of the parts: oxidative stress in the fish *Australoheros facetus* exposed to imidacloprid, *Ecological Indicators* 93, 351-357, 2018.
- 16) 呉青翔, 土山美樹, 鈴木準平, 藤田昌史: 都市下水の成分が汽水性ヤマトシジミの成長力に及ぼす影響, *土木学会論文集 B2 (海岸工学)* 75(2), I\_1135-I\_1139, 2019.
- 17) Mummert, A.K., Neves, R.J., Newcomb, T.J., Cherry, D.S.: Sensitivity of juvenile freshwater mussels (*Lampsilis fasciola*, *Villosa iris*) to total and unionized ammonia, *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(11), 2545-2553, 2003.
- 18) 千葉健治, 大島泰雄: アサリを主とする海産二枚貝の濾水・摂餌に及ぼす濁りの影響, *日本水産学会誌* 23(7-8), 348-353, 1957.
- 19) Nobles, T., Zhang, Y.: Survival, growth and condition of freshwater mussels: Effects of municipal wastewater effluent, *PLoS one* 10(6), 2015.
- 20) Pokhrel, P., Akashi, J., Suzuki, J., Fujita, M.: Oxidative stress responses to feeding activity and salinity level in brackish water clam *Corbicula japonica*, *Science of The Total Environment* 665, 191-195, 2019.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 増子沙也香, 鈴木準平, 藤田昌史	4. 巻 41 (5)
2. 論文標題 二枚貝ヤマトシジミの炭素収支に基づく成長力評価手法の確立	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 123 - 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2965/jswe.41.123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 土山美樹, 鈴木準平, 藤田昌史	4. 巻 74 (2)
2. 論文標題 汽水湖における貧酸素水塊の形成時の水質がヤマトシジミの抗酸化力に及ぼす影響	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 土木学会論文集B2 (海岸工学)	6. 最初と最後の頁 I_1255 - I_1260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/kaigan.74.I_1255	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Pokhrel P, Akashi J, Suzuki J, Fujita M	4. 巻 665
2. 論文標題 Oxidative stress responses to feeding activity and salinity level in brackish water clam <i>Corbicula japonica</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science of the Total Environment	6. 最初と最後の頁 191 - 195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2019.02.087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 池田雄, 鈴木準平, 藤田昌史	4. 巻 73
2. 論文標題 汽水湖の水質汚濁がヤマトシジミの総抗酸化力に及ぼす影響	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 土木学会論文集B2 (海岸工学)	6. 最初と最後の頁 I_1219 - I_1224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2208/kaigan.73.I_1219	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池田雄, 町田裕貴, 鈴木準平, 藤田昌史	4. 巻 40
2. 論文標題 都市下水に対する汽水性二枚貝ヤマトシジミの軟体部と鰓の総抗酸化力の応答	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 255 - 260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.2965/jswe.40.255	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 呉青棚, 土山美樹, 鈴木準平, 藤田昌史	4. 巻 75 (2)
2. 論文標題 都市下水の成分が汽水性ヤマトシジミの成長力に及ぼす影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 土木学会論文集B2 (海岸工学)	6. 最初と最後の頁 I_1135 - I_1139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.2208/kaigan.75.I_1135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Mashiko S, Wu Q, Pokhrel P, Fujita M
2. 発表標題 The effects of natural and anthropogenic water quality factors on scope for growth of brackish water bivalve <i>Corbicula japonica</i>
3. 学会等名 17th World Lake Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pokhrel P, Machida H, Fujita M
2. 発表標題 Effects of sediment and water quality on antioxidant response of brackish bivalve <i>Corbicula japonica</i>
3. 学会等名 17th World Lake Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土山美樹, 呉青棚, 鈴木準平, 藤田昌史
2. 発表標題 都市下水に対するヤマトシジミの酸化ストレスマーカーの応答
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 呉青棚, 土山美樹, 鈴木準平, 藤田昌史
2. 発表標題 都市下水がヤマトシジミの成長余力に及ぼす影響
3. 学会等名 第53回日本水環境学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土山美樹, 藤田昌史
2. 発表標題 貧酸素と硫化水素の発生が汽水性二枚貝ヤマトシジミの総抗酸化力に及ぼす影響
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増子沙也香, 藤田昌史
2. 発表標題 汽水域の水質に対するヤマトシジミの成長余力の応答
3. 学会等名 第52回日本水環境学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsuchiyama M, Wu Q, Pokhrel P, Suzuki J, Fujita M
2. 発表標題 Effects of municipal wastewater on oxidative stress biomarkers and scope for growth of brackish water bivalve <i>Corbicula japonica</i>
3. 学会等名 Water and Environment Technology Conference 2019 (WET2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 呉青棚, 王峰宇, 鈴木準平, 藤田昌史
2. 発表標題 都市下水の成分がヤマトシジミの成長力に及ぼす影響
3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土山美樹, 藤田昌史
2. 発表標題 環境ストレスに曝された汽水性二枚貝ヤマトシジミの開閉運動の評価
3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

茨城大学大学院理工学研究科都市システム工学領域藤田研究室HP  
<http://wenv.civil.ibaraki.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----