

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21310021

研究課題名（和文） 二枚貝個体群形成機構をモデルとした大規模開発中止後の汽水域生態系の復活過程の検証

研究課題名（英文） Regenerating process of brackish ecosystem after withdrawal of large-scale development modeling after restoration of bivalve population

研究代表者

山口 啓子 (YAMAGUCHI KEIKO)

島根大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：80322220

研究成果の概要（和文）：

中海本庄水域のモデル生物としたアサリの浮遊幼生は風と潮流の影響を受けながら湖内に広く分散し、森山堤防開削後は境水道側から本庄水域内へ幼生が流入していた。本庄水域と中海本湖のアサリ個体群のマイクロサテライト分析により、堤防建設後の遺伝的浮動によって生じた両個体群の遺伝的隔離は、開削後加入したアサリでは速やかに消失し、開削による海水および浮遊幼生の流入により均質化が速やかに進行したことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Larvae of *Ruditapes philippinarum* was revealed to widely spread in Lake Nakaumi and Honjo Area, affected by wind and tidal flow. They supposed to be spread into Honjo Area from Sakai Channel through the opening of Moriyama Dike. Micro-satellite analysis of this species revealed genetic isolation between the populations of Lake Nakaumi and Honjo Area before the opening of Moriyama Dike, while they have been made homogeneous within a year after the opening.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2010年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2011年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
総計	12,500,000	3,750,000	16,250,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境影響評価・環境政策

キーワード：二枚貝，中海，本庄，アサリ，幼生，Dual-labeled probe，遺伝子交流，堤防開削

1. 研究開始当初の背景

中海の本庄工区は、1963年に農地造成を目的に開始された「国営宍道湖・中海干拓淡水化事業」によって計画された最大の干拓予定地として、1970年代に干拓堤防で周辺を囲ま

れ、その後は西部承水路の開口部の極一部で中海奥部と水交換の行われる極めて閉鎖性の高い水域となっていた。上記事業の中止が2005年までに正式に決定し、2009年5月には境水道と本庄工区を隔てる森山堤防の一部（幅60m、深さ6m）が開削され、20余年

ぶりに、新鮮な海水が本庄工区に流入することになった。このような大規模な公共事業の中止とそれに伴う堤防開削による潮通しによって、汽水域生態系が復活してゆく経過は、これまで知見がなく、重要な資料を提供することが期待される。特に、浮遊幼生期をもつ二枚貝がどのような過程とメカニズムで水域の変化に呼応するのか、広大なハビタットの維持・拡大機構を明らかにする絶好の機会となることから、本研究課題を設定した。

2. 研究の目的

本研究では汽水域における主要な底生二枚貝について、新たな幼生の同定手法を確立する、この手法を用いて干拓堤防建設により水域が大きく改変された中海・本庄水域をモデルフィールドとして、大規模工事で閉鎖的となって環境悪化した汽水域生態系が、水域を分断していた干拓堤防の潮通し工事等により、どの様に回復するのかについて、その過程やメカニズムを、アサリ *Ruditapes philippinarum* をモデルとする二枚貝幼生の分散と個体群維持機構の調査をもとに検証する。それによって水域の環境を大きく変える工事が汽水域生態系に与える影響評価に関する新たな知見を提供することを目的とする。

3. 研究の方法

1) 中海・本庄水域における水質底質環境と母貝分布および個体群動態

水域内に5定点（うち2定点は水深別のライン定点として水深0.5m, 1m, 2m, 3m, 4m, 5m）を設定し、月に1度の頻度で水質・底質の環境測定をおこなうとともに、スキューバ潜水により20cmx20cmの枠取りおよび直径4cmの柱状試料を各5回採取し、それぞれ目合い1mmおよび125 μ mのフルイでふるった残渣から二枚貝を選別・同定し、個体数・殻長・重量を測定した。

2) 幼生の出現時期および分布調査

水域内2-6地点の定点において、週1回の頻度で50および100 μ m meshのプランクトンネットを鉛直引きし、モノクローナル抗体法（特許第2913026号）によりアサリ等の浮遊幼生の出現時期をモニタリングした。また、幼生が増加する時期に、中海の広域（23地点）または全域（34地点）にて水平分布調査（うち4地点では水深別分布調査）を行った。また水域内での流れの傾向を把握するため、漂流ブイ調査を行い、気象庁の風・雨量・潮汐データと合わせて、幼生の移動メカニズムの分析に用いた。

3) マイクロサテライトマーカーをもちいた個体群のGene Flow解析

中海本湖5カ所および本庄水域内5カ所において、堤防開削前後に定着した当歳のアサリ個体（殻長10mm-15mm）を採取した。これらの閉殻筋から抽出したDNAについて、高精度遺伝子マーカー（マイクロサテライトマーカー、以下MSマーカー）を用いて、個体群間のGene flowを調査し、堤防開削による潮通し前後の遺伝的個体群構造への影響を検討した。

4) リアルタイムPCR法を用いた幼生多種同時判定技術の開発

中海に出現する主要な二枚貝・巻貝類を上記1)で明らかにした後、遺伝子解析により同定するためのDNA抽出方法の検討と、アサリやその阻害要因となるホトトギスガイ等についてミトコンドリアDNAのCOI他複数領域を解析し、DNA-Barcodingにより同定可能な部位を特定した。さらに、それぞれの種について特異的なPCRの系を構築し、多色蛍光を活用したDual label probe（以下、DLP）を設計し、リアルタイムPCRによる多種同時判定量的解析方法を開発した。これを2)で採取した幼生試料に応用し、野外調査試料における本技術の有効性を検討した。

4. 研究成果

1) 中海・本庄水域における水質底質環境と母貝分布および個体群動態

森山堤防開削前後の本庄水域において、底質・水質・底生生物の調査を行った。開削前、本庄水域東側水域は著しい貧酸素状態で、底質の硫化水素濃度も高かったが、堤防開削後は、境水道側からの海水が直接流入した開削部に近い東側水域では、貧酸素の程度が改善した。しかし、開削部から奥（西）に進むに従いDOが低下した。開削により酸素が十分に供給され、底質の有機物分解・硫化水素濃度低下により環境が改善されたのは、開削部から1km未満であった。改善された開削部付近地点で最初に出現した二枚貝は、*Macoma* sp.で、その後チヨノハナガイ *Raetellops pulchellus* が多くみられるようになったが、塩分成層強化により湖盆部の水深4m以深は夏季に貧酸素化し、二枚貝類は斃死した。

二枚貝個体群については、本庄水域内の浅場が比較的広い5地点において、月に1度の水深別定量調査を行った。優占したのはアサリ・ホトトギスガイであった。二枚貝は貧酸素化する水深4m以深では夏季に斃死した。水深3m以浅で比較的安定した個体群を形成するが、場所によって変動が大きく、また、水深1mでも斃死がおこった。浅い場所での斃死は、海藻の枯死やホトトギスガイによる被覆が主な原因として考えられる。

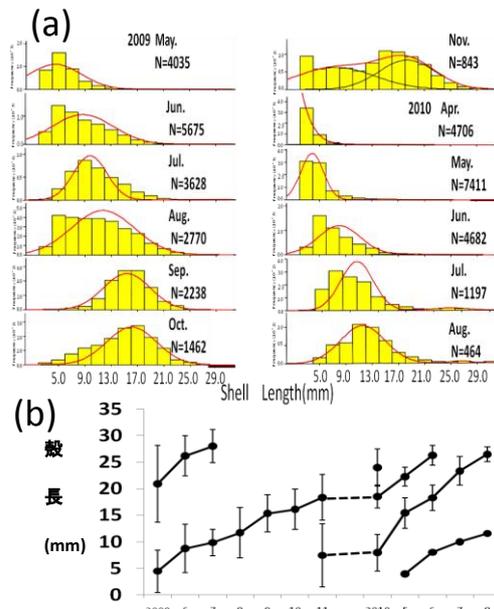


図1 本庄全地点を総合したアサリの個体群動態

(a)アサリ殻長組成図 (b)コホート成長図

アサリについては殻長組成の経月変化を分析し、個体群動態を明らかにした(図1)。殻長組成図は、各地点の水深毎についても作成したが、個体数の変動が大きく、年級組成の経月変化を追跡することが不可能であった。一方、図1aに示すように1地点で各水深の個体を総合した結果、明瞭な年級群の存在と成長が確認できた。これは、本水域に於いて、複数の斃死要因が働き、各水深でパッチ分布を示すが、水域全体でみると年級群が維持されていることを示すと推察される。また、アサリをはじめとした二枚貝は上述のように、貧酸素化する夏に斃死が起こるほかに、冬季の間に大型個体がほぼ消滅することがわかった。この冬の斃死は、スキューバ潜水による観察と合わせて、中海に秋に飛来する潜水カモ類による捕食が大きく影響していると推察される。

アサリの成長については、1年で殻長17mm程度(図1b)と、他水域と比較して成長が遅いことも明らかになった。この原因としては中海上層水の塩分が10-20psuと低いことが影響していると考えられる。

2) 幼生調査

二枚貝の浮遊幼生モニタリングの結果、アサリについては、初夏産卵の6-7月と秋産卵の9-11月に幼生の出現ピークがあること、6-7月の幼生出現数の規模は、9-11月と比較して非常に規模が小さいこと、継続的なモニタリング調査により、二枚貝幼生の出現時期と量は年次変動が大きいこと、が明らかとなった。幼生出現の変動は夏冬の気候に依存し、中海におけるアサリの産卵盛期は水温が18℃付近であることも明らかとなった。

幼生の広域・全域分布調査では、調査時や層毎に幼生の分布には偏りが見られ(例:図2)、漂流ブイ調査の結果と合わせ、表層水では主に風の、塩分躍層より下では主に潮汐の影響を受けることがわかった。干拓堤防開削との関係では、アサリは森山堤防開削部から境水道側の幼生が本庄水域に流れ込みがあったと考えられた。一方、アサリの対照として調べたサルボウガイ等の幼生は森山堤防開削部からではなく、母貝生息域から潮汐で中海本湖奥部へ運ばれた幼生が、南西側の大海崎堤防開口部より本庄水域へ流入したことが推察された。

また、H22年とH23年のアサリ幼生試料について、50μm-100μmと100μm以上でサイズ分画して個体数をカウントし、分布傾向を検討した結果、サイズによる分布傾向に差異が認められ、幼生が中海北部の水深4m以深に供給源をもつ可能性が示唆された。

3) マイクロサテライトマーカーをもちいた個体群の Gene Flow 解析

中海本湖及び本庄水域で、干拓堤防開削後に採取したアサリ当歳貝について、MSマーカーによる Gene flow 解析を行った。堤防開削前の本庄水域個体群は、中海本湖のものと明らかに異なる集団であった。これは、本庄水域が干拓堤防建設により、数十年にわたり極めて閉鎖的環境となり、中海本湖と分断され遺伝的交流がほとんど無い状態であったことを反映するものと考えられる。それに対して、堤防開削1年後、同じ地点で採集したアサリ当歳貝(堤防開削後の産卵による個体群)について同じ解析を行ったところ、両水域の遺伝的差異はほとんど無く均質化していた。すなわち、開削により堤防内外のアサリ個体群の遺伝子交流が速やかに進行したものと推測された。更に開削2年目となる翌年産卵個体群についても、開発した7つのMSマーカーで解析したところ、個体群の遺伝的均質化が進んでいることが明らかとなった。

以上のことから、中海の本庄工区の堤防開削は、二枚貝個体群に関して、海水流動の増加による幼生分散の拡大と均質化をもたらしたことが明らかとなった。上述の個体群動態、幼生調査の結果と合わせて、中海のアサリ個体群は主に秋産卵で生まれ、風と潮流により湖内に広く分散し、夏の貧酸素や他の生物による被覆などによる斃死を免れた個体が成熟し、翌年の秋に産卵する。しかし、冬の間に親個体群はほぼ壊滅する、という1年の生活史パターンで個体群が維持されていることが明らかとなった。この基本パターンは、堤防開削によって変化することはないと考えられる。さらに、アサリのMSマーカー解析により、堤防開削後は速やかに遺伝的交

流がなされたことが示され、堤防による水域の分断によって生じた遺伝的隔離も、アサリ幼生の高い分散性により速やかに均質化することが明らかとなった。これらのことは、今回モデル生物としたアサリが、比較的 r-選択的な戦略を採ることを反映しているものとみられる。

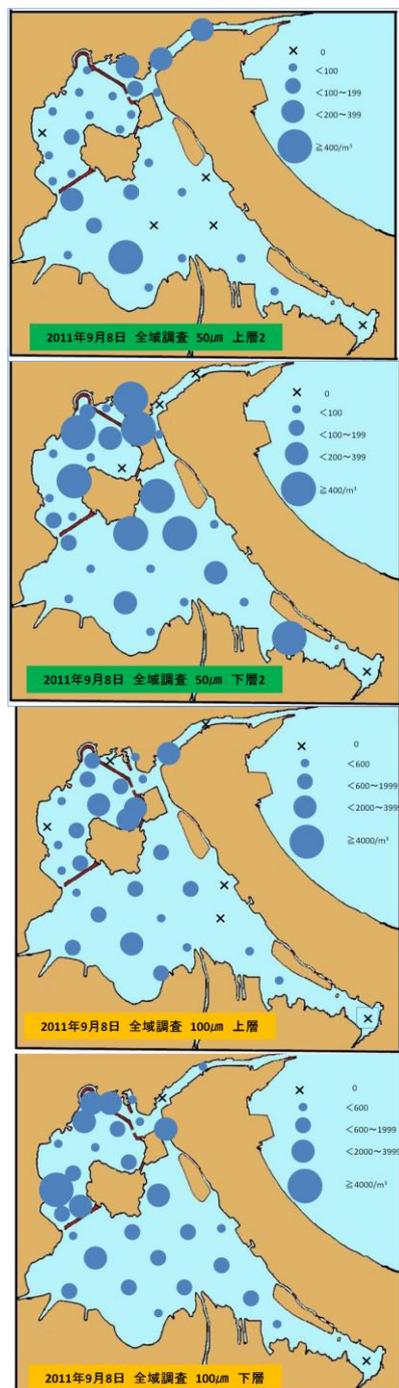


図2 中海におけるアサリ幼生分布(2011.9)

4) リアルタイムPCR法を用いた幼生多種

同時判定技術の開発

汽水域性二枚貝のうち水産上重要で中海に出現するアサリ等の幼生を同定するためのDLPを作成した。さらに、アサリ等の障害となるホトトギス幼生同定のためのリアルタイムPCRの系を作成し、中海で採集した試料を用いて特異性を検証した。また、本技術を(2)の幼生分布調査試料、特に鉛直分布に着目して試験的に分析した結果、複数種の二枚貝幼生の水塊中の分布を明瞭に表現することができた。本技術が今後、沿岸汽水域における幼生分散を通じた二枚貝の個体群維持機構の解明に極めて有効であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① 鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二, 中海におけるサルボウガイの生残と成長におよぼす低酸素および低塩分の影響, 水産増殖, 60: 印刷中, 2012
- ② 鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二, 閉鎖性の高い中海で垂下養殖されたサルボウガイの成長と生残, 水産増殖, 59: 89-99 (2011)
- ③ 山口啓子, 巨大公共事業は海洋生物へどのような影響を与えたのかー実験的検証フィールド: 中海本庄工区の過去・現在・未来ー, 日本ベントス学会誌, 65: 101-104 (2011)
- ④ 浜口昌巳, 中海本庄工区のベントス類調査結果の概要, 日本ベントス学会誌, 65: 107-108 (2011)

[学会発表] (計41件)

- 1) Yasushi MIYAMOTO, Katsumasa YAMADA, Keiko YAMAGUCHI, Masami HAMAGUCHI, Direct and indirect effects of Asian mussel on Manila clam in estuarine lagoon, 日本生態学会第59回大会 (ESJ59)・第5回東アジア生態学会連合大会 (East Asian Federation of Ecological Societies 5th Meeting) 合同大会, 2012年3月20日, 龍谷大学 (大津市)
- 2) 佐川美緒・藤井千里・袴田一彬・山口啓子・開内洋・佐々木正・浜口昌巳 アサリ浮遊幼生の分布・出現時期に影響を与える要因, 汽水域研究会2012年大会, 2012年1月8日, 松江 島根県民会館
- 3) 山崎立樹・鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二, 中海におけるサルボウガイ生息適地判定手法と底質指標値の年変動および季節変化の検討, 汽水域研究会2012年大会, 2012年1月8日, 松江 島根県民会館

- 4) 秋満 睦・入月俊明・山口啓子・倉田健悟・瀬戸浩二, 森山堤防部分開削前後における中海本庄水域の底質の変化, 汽水域研究会 2012 年大会, 2012 年 1 月 8 日, 松江 島根県民会館
- 5) 山口啓子, 本庄水域の底質環境における森山堤防開削前後の変化と現状, 汽水域研究会 2012 年大会 汽水域シンポジウム 2012 「堤防開削事業によって本庄水域はどのように変わったのか?」, 2012 年 1 月 7 日, 松江 島根県民会館
- 6) 山口啓子・鈴木秀幸・宮本康・瀬戸浩二, 底質を利用した中海におけるサルボウガイの生息適地判定, 日本陸水学会第 76 回大会 2011 松江大会, 2011 年 9 月 23 日, 島根大学
- 7) 山口啓子・今川和也・袴田一彬・佐川美緒・浜口昌巳・開内洋・佐々木正・勢村均, 中海・本庄水域における二枚貝幼生の時空間分布と水塊構造, 2011 年度日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 2011 年 9 月 17 日, 高知大学
- 8) K. Kurata, K. Yamaguchi, K. Seto and T. Sonoda. Changes of benthic community caused by anthropogenic changes in the Honjo area of Lake Nakaumi, western Japan. Open Science Conference (OSC) on “Coastal Systems, Global Change and Sustainability”, LOICZ (Land-Ocean Interactions in the Coastal Zone), 12-15(13) September 2011, Yantai, China
- 9) 今川和也・山口啓子・佐々木 正・開内洋・勢村 均・浜口昌巳, 本庄水域におけるサルボウガイ幼生の供給と分布, 汽水域研究会 2011 年大会, 2011 年 1 月 9 日, 松江テルサ
- 10) 袴田一彬・藤井千里・山口啓子・佐々木正・勢村 均・浜口昌巳, 中海本庄水域におけるアサリ浮遊幼生の動態, 汽水域研究会 2011 年大会, 2011 年 1 月 9 日, 松江テルサ
- 11) 藤田志織・藤井千里・山口啓子・山田勝雅・宮本 康・浜口昌巳, 中海・本庄水域におけるアサリ個体群動態の解析, 汽水域研究会 2011 年大会, 2011 年 1 月 9 日, 松江テルサ
- 12) 鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二・宮本康, 中海におけるサルボウガイの生息適地選定方法の検討, 汽水域研究会 2011 年大会, 2011 年 1 月 9 日, 松江テルサ
- 13) 倉田健悟・山口啓子・瀬戸浩二・園田 武, 中海本庄水域における底生生物の変化に対する人為改変の影響, 汽水域研究会 2011 年大会, 2011 年 1 月 8 日, 松江テルサ
- 14) 山口啓子, 中海の二枚貝と生息環境, 地球生物化学研究会島根, 基調講演「宍道湖・中海の環境について」, 2010 年 11 月 6 日, 島根大学 (松江)
- 15) 山口啓子, 本庄水域の堤防開削にともなう二枚貝漁業復活の展望と課題, 熊本大学沿岸域環境科学教育研究センター・島根大学汽水域研究センター合同シンポジウム, 2010 年 10 月 24 日, 熊本大学
- 16) 浜口昌巳・川根昌子・佐々木正・山口啓子, 個体群動態研究における幼生プランクトン研究—技術開発と応用—, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会公開シンポジウム「プランクトンとして見るベントスの研究」, 2010 年 10 月 11 日, 東京大学柏キャンパス
- 17) 倉田健悟・山口啓子・瀬戸浩二・園田武, 中海本庄水域における底生生物調査について, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 11 日, 東京大学柏キャンパス
- 18) 山田勝雅・藤田志織・宮本康・山口啓子・浜口昌巳, 中海本庄域におけるアサリの時空間・水深間変動パターンの解明, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 10 日, 東京大学柏キャンパス
- 19) 今川和也・山口啓子・佐々木正・開内洋・勢村均・浜口昌巳, 中海・本庄水域におけるサルボウガイ幼生の分布, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 10 日, 東京大学柏キャンパス
- 20) 鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二・宮本康, 中海の底質環境指標とサルボウガイとの関係について, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 10 日, 東京大学柏キャンパス
- 21) 袴田一彬・藤井千里・山口啓子・佐々木正・勢村均・浜口昌巳, 中海本庄水域におけるアサリプランクトン幼生の分布特性, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 10 日, 東京大学柏キャンパス
- 22) 藤田志織・山田勝雅・宮本康・山口啓子・浜口昌巳, 中海・本庄水域におけるアサリの個体群動態, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010 年 10 月 10 日, 東京大学柏キャンパス
- 23) 山口啓子, 干拓堤防建設と開放で何が変わるのか?～中海・本庄の事例から～, 自由集会「巨大公共事業は海洋生物へどのような影響を与えたのか—実験的検証フィールド:中海本庄工区の過去・現在・未来—」, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会

- 合同大会, 2010年10月9日, 東京大学柏キャンパス
- 24) 宮本康・岩永千歳・山田勝雅・山口啓子・浜口昌巳, 時計回りに拡大した中海の貧酸素水塊: 背景と帰結, 自由集会「巨大公共事業は海洋生物へどの様な影響を与えたのかー実験的検証フィールド: 中海本庄工区の過去・現在・未来ー」, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2010年10月9日, 東京大学柏キャンパス
- 25) 瀬戸浩二・入月俊明・山口啓子・倉田健悟・高田裕行, 「汽水域環境改変観測」研究プロジェクトの紹介ー中海本庄水域の生態系モニタリングー, 公開国際シンポジウム「流域環境を探る ~過去から未来へ~」, 2010年2月20日, 広島市東区区民文化センター
- 26) 尾崎志帆・山口啓子・若林英人・山根恭道, 宍道湖におけるヤマトシジミの健康評価手法の検討, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 27) 鈴木秀幸・山口啓子・瀬戸浩二, サルボウガイの野外飼育実験からみた中海・本庄の環境, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 28) 藤井千里・山口啓子・浜口昌巳・山田雅勝・佐々木正・勢村均, 本庄水域における環境とアサリの動態, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 29) 倉田健悟・山口啓子・瀬戸浩二・園田武, 中海本庄水域における底生生物調査について (予報), 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 30) 園田武・時枝悟志・瀬戸浩二・倉田健悟・山口啓子・香月興太・川尻敏文, 北海道東部能取湖における湖口開削後のマクロベントス群集構造の変遷過程, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 31) 瀬戸浩二・入月俊明・山口啓子・倉田健悟・高田裕行, 人為的に改変された中海本庄水域における環境変遷と今後の課題, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 32) 武石 祐一郎・瀬戸浩二・山口啓子・倉田健悟, 中海本庄水域における森山堤部分開削後の水質環境の変化, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 33) 竹内一馬・瀬戸浩二・山口啓子・倉田健悟・高田裕行, 中海本庄水域における森山堤部分開削前後の水質・底質環境の変化, 汽水域研究会, 2010年1月11日, 松江テルサ
- 34) 山口啓子・鈴木秀幸・山田瑞希・重康智洋・瀬戸浩二, 本庄水域の湖底凹凸地形と開削の効果, 汽水域研究会, 2010年1月10

- 日, 松江テルサ
- 35) Seto K., Dettman D.L., Kurata K., Yamaguchi K., Irizuki T. and Takata H., Anthropogenic changes due to partial dike removal in the Honjo Area of Nakaumi Lagoon, Southwest Japan. the AGU Fall Meeting, 2009年12月18日, San Francisco, USA
- 36) 山口啓子・野原香織・瀬戸浩二・園田 武, 環境モニタリングツールとしてのヤマトシジミ殻体と成長線, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 2009年10月18日, 北海道大学 (函館)
- 37) 倉田健悟・山口啓子・瀬戸浩二・園田武, 宍道湖の軟体動物の分布状況について, 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会 (函館) 2009年10月17日, 北海道大学 (函館)
- 38) 山口啓子・重康智洋・山田瑞希・瀬戸浩二・倉田健悟, 干拓事業により改変された中海本庄水域の環境特性, 日本陸水学会第74回大会, 2009年9月15日, 大分大学
- 39) 瀬戸浩二・武石 祐一郎・山口啓子・倉田健悟, 中海本庄水域における堤防開削による水質環境の変化, 日本陸水学会第74回大会 2009年9月15日, 大分大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 啓子 (YAMAGUCHI KEIKO)
島根大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号: 80322220

(2) 研究分担者

浜口 昌巳 (HAMAGUCHI MASAMI)
独立行政法人水産総合研究センター
・瀬戸内海区水産研究所・室長
研究者番号: 60371960