

令和3年度島根県委託研究
「宍道湖におけるヤマトシジミ稚貝に及ぼす水草類の影響を軽減する
管理方法の検討」
成果報告

国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所（廿日市拠点）
沿岸生態システム部 主幹研究員 浜口昌巳

【目的】

宍道湖はヤマトシジミの漁業が盛んであり、島根県の重要な地場産業となっている。しかし、近年、ヤマトシジミの資源量が減少しており、その回復が切望されていた。ところが、2013年にそれまで減少傾向にあったヤマトシジミ資源量は突如増加に転じ、約1年で資源量が回復し、現在までシジミ漁業は好調である。しかし、近年、宍道湖岸ではオオササエビモなどの水草類やシオグサ類などの糸状藻類がヤマトシジミ稚貝にとって重要な生息場所となる浅場の砂地に繁茂するようになってきており、水草類がヤマトシジミの初期生態に及ぼす影響が懸念されている。そこで、2016年から水草類がヤマトシジミ稚貝に及ぼす影響評価を開始した。2016年はオオササエビモとツツイトモがヤマトシジミ稚貝に及ぼす影響を評価した結果、砂地に水草類がパッチ状に分布している状況では、水草類はヤマトシジミ稚貝に何の影響も与えないが、被度が上昇するとヤマトシジミ稚貝の密度が低下し、被度80～100%で稚貝が全くいなくなることが明らかとなった。2017年には水草帯内に機器を設置して環境の連続観測を行ったところ、夏場のシオグサ類の枯死・腐敗により従来の機器観測で把握できない薄い貧酸素水塊が発生し、これにより湖底の環境悪化が起これ、ヤマトシジミがへい死することが明らかとなった。これらの結果から、水草類が繁茂し、被度が上昇するとヤマトシジミ稚貝の着底を阻害するとともに、夏場に湖底環境を悪化させて稚貝だけでなく成貝もへい死することから、その資源の保全再生の観点からは、水草類の適切な管理が必要であると考えられた。

本年度は、昨年度に引き続き島根県水産技術センター（以下、水技センターとする）が作成した漁業者向けの「水草対策マニュアル」で提案されている水草類の衰退期において除草や地下茎を除去するなど繁茂の予防策を講じることを実践し、繁茂の抑制に効果があるかを検討した。一方、昨年度から、宍道湖や水技センターの実情に応じて技術改良した次世代シーケンサー（以下、NGSとする）によるmetabarcoding解析も実施し、ヤマトシジミやシラウオの餌となる微小な植物プランクトンや動物プランクトンのモニタリング手法について、毎月湖心および東西岸で試料を採取して試行を行った。

なお、すべての野外調査は水技センター内水面浅海部内水面科の福井克也科長および中村初男船長とともにを行い、試料の分析等は福井科長とともに行った。

【方法】

1. 水草対策実践作業とその後の水草モニタリング調査

昨年度の大型マンガに続き、今年度は高い除草効果が期待できる噴流式装置を使った除草を行った。調査地は、宍道湖南東岸に位置する玉湯（松江市玉湯地区）の水深1.2-1.5m帯とし、除草範囲は2020年12月9日に人力で噴流式除草装置を移動させる区（人力区）では20m×40m、船曳きで噴流式除草装置を移動させる区（船曳区）では40m×40mとした（図1左）。図1に示すように両除草区の間部分を、除草作業を行わない対照区とした。実際の作業風景は図1のA～Bに示す。除草効果の判定には、水草類の生育状況とヤマトシジミの生息状況を調べるためにSCUBAによる潜水調査を実施した。除草の対象はオオササエビモとした。オオササエビモについては20×20cmのコドラートを各区に5箇所ずつ設置し、コドラート内の被度を観察・記録するとともに、コドラート内の水草類をすべて回収

し、本数を計数するとともに現存量 (g-dry/m^2) を求めた。また、コドラート採集場所の周囲の水草繁茂状況を評価するために景観被度も記録した。景観被度は被度 100%から 0%までを 5~1 の 5 段階評価とした。コドラート内のオオササエビモ以外の水草類は現存量だけを調べた。ヤマトシジミの調査では、 $20 \times 20 \times 10\text{cm}$ のステンレス製コドラートを用いて殻長 1mm 以上のヤマトシジミを採取して計数した。また、底質状況を把握するために両調査区において底質の酸化還元電位 (以下、ORP とする) を計測した。調査は、除草作業直後の 12 月中に実施する予定であったが、強風の日が続いたため 2021 年 1 月 26 日となった、とその後定期的に調査を行う予定であったが、新型コロナウイルス感染症のため、島根県への出張が出来なかったため除草作業約 6 か月後 (2021 年 7 月 21 日) と 10 か月後 (2021 年 10 月 14 日) の合計 3 回行った。

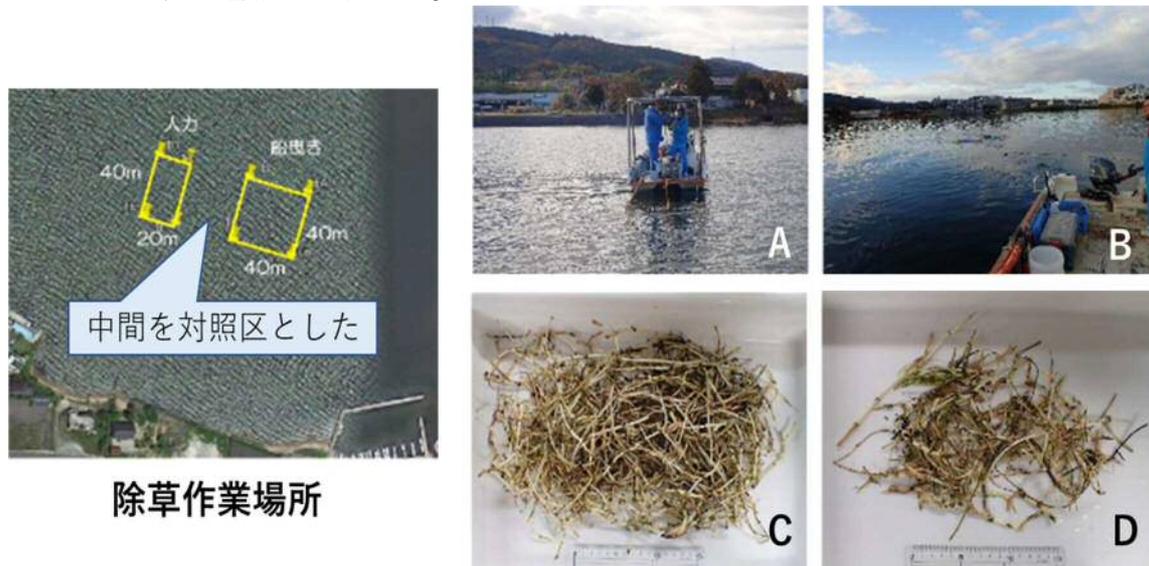


図 1. 除草作業場所と各実験区の配置 (左)、除草作業 (A と B) と除草作業後採取されたオオササエビモの地下茎 (人力区 C、船曳き区 D)

2. NGS による宍道湖湖心部のプランクトン構成種の metabarcoding 解析

4 月から 11 月まで毎月、宍道湖湖心部でバケツで表層水を採取し、オスバン原液を 1000 倍希釈となるように加えて水技センター内水面科に持ち帰り、 $1.0 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルター (アドバンテック) で $0.25-10$ をろ過した。ろ過後、フィルターは直ちに凍結保存した。DNA の抽出は DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて環境 DNA 学会のマニュアル通りの方法で DNA を抽出した。Bradley et al. (2016) の方法で 18SrRNA の V8-V9 領域について NGS で解析し、得られた配列についてアセンブルの後にキメラ配列等を除去して、BLAST で検索した。

3. 統計的検定

各調査項目については、可能な限り 5 つの繰り返しサンプリングを行い、ORP はデータのぶれが大きい場合は測定回数を増やし、最低 8 回以上の測定を行った。統計検定は R (R Development Core Team, 2008) と SPSS (IBM) を組み合わせた方法で行った。

【結果および考察】

1. 水草対策実践作業とその後の水草モニタリング調査

1) 噴流式除草装置の効果判定

本調査では、水草類の衰退期に噴流式除草装置による除草を実施することでオオササエビモの地下茎を除去し、繁茂期における繁茂量の抑制効果があるかを検討した。この作業は 2020 年 12 月 9 日に実施し、除草作業に採取されたオオササエビモの地下茎のうち人力区を

図 1C、船曳区を図 1D に示す。人力区の方が採取された地下茎の数が多く、人力区の方が地下茎の除去効果は高かった。事後調査として 2020 年 12 月に調査を計画していたが、風が強く、相次ぐ延期の結果、除草直後の調査は 2021 年 1 月 26 日からとなった。調査期間中の水草類の景観被度を図 2 に示す。除草作業実施約 6 ヶ月後まで人力区では水草類の被度は低かったが、除草作業実施約 10 か月後には差が無くなった。

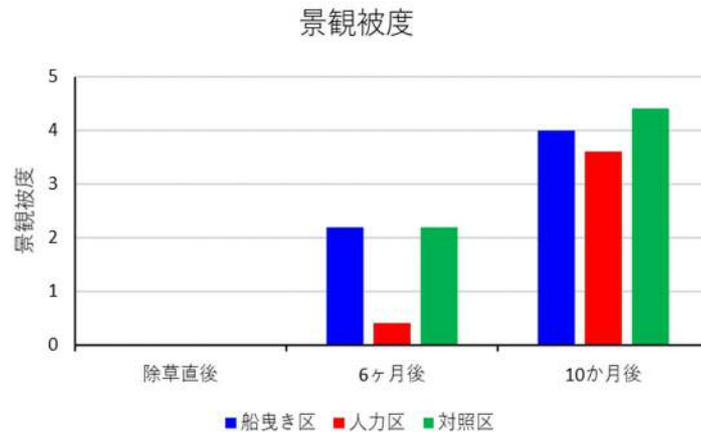


図 2. 各区の水草類の景観被度

オオササエビモは船曳区と人力区では、除草作業実施 6 ヶ月後まで 1m²あたりの本数および乾燥重量ともに対照区と比較すると少なかった (P<0.01) が、10 か月後には 3 区ともに差が無くなった。

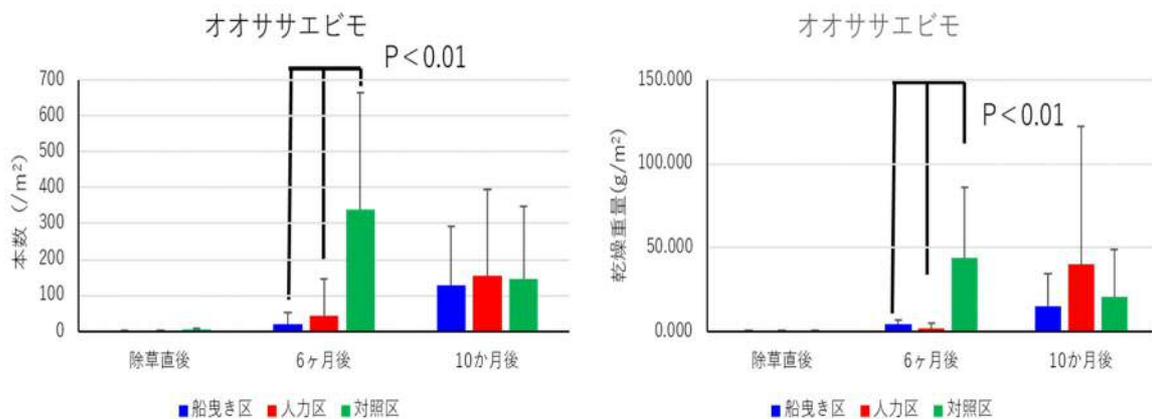


図 3. オオササエビモの 1m² 辺りの本数 (左) 重量 (右)

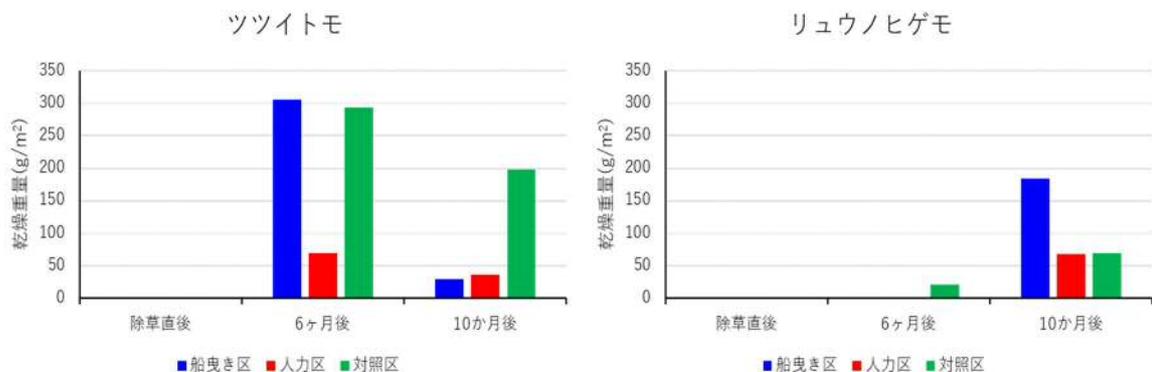


図 4. ツツイトモとリュウノヒゲモの 1m² あたりの乾燥重量

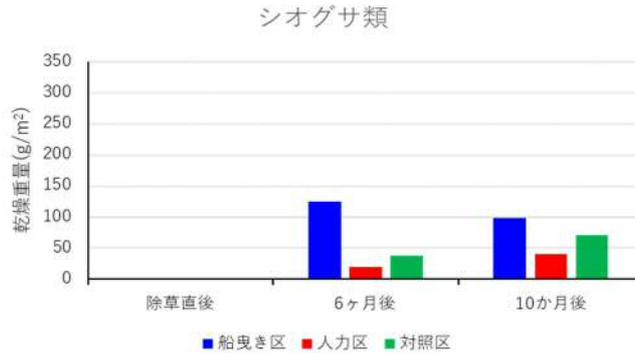


図5.シオグサ類の1m²あたりの乾燥重量

オオササエビモ以外の水草類はいずれも人力区で少ない傾向を示した。これらの結果から噴流式除草装置の人力区ではオオササエビモ以外の水草類も除去効果が高いと考えられた。

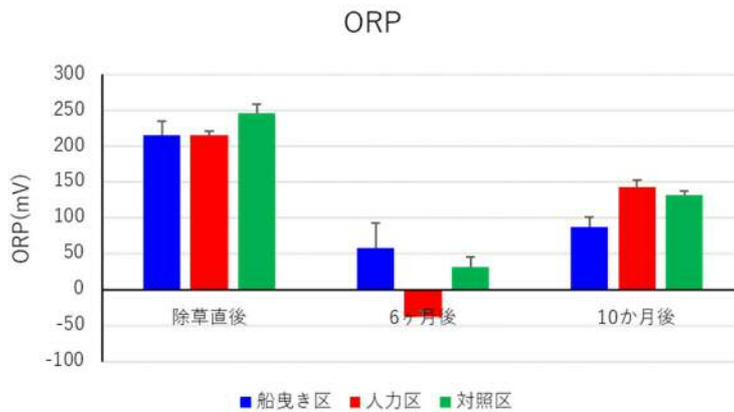


図6. 底質の酸化還元電位差 (ORP)

底質の ORP は図 6 に示すが、除草作業実施 6 ヶ月後には人力区だけが有意に低かった。この調査時期は 7 月であり、同区には調査時には図 5 に示すようにシオグサ類は少なかったが、底質表面が還元状態であったことを示す灰色っぽく、調査前にシオグサ類が堆積・腐敗していたのではないかと考えられる。

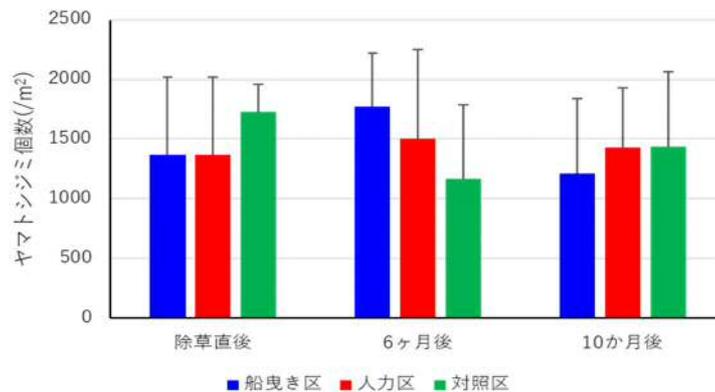


図7. ヤマトシジミの1m²あたりの生息個数

図7には1m²あたりのヤマトシジミの個数を示す。全調査期間中、それぞれの区間には有意差が認められず、ほぼ同じ密度であった。今回の調査地点は、2年ほど前まではオオササエビモやツツイトモが高密度繁茂しており、夏場には底質が還元状態となりヤマトシジミ

がへい死していたが、本年度は水草類の密度が低く、また、生息しているヤマトシジミの殻長が例年より大きく、中にはLサイズも混じっていた。

今回の結果をまとめるとオオササエビモの除去には船曳きと人力区では除草作業実施後6ヶ月後までいずれも有効であった。また、人力区ではオオササエビモ以外の水草類も6ヶ月後まで他区と比較すると少ない傾向を示し、除草効果が高いことが証明された。しかしながら、噴流式除草装置を人力で移動する場合は、除草効果が高いが、多大な労力が必要となる。今回の結果からは、オオササエビモだけを対象として除草する際には、半年に一度程度船曳きでも人力と同様な効果が得られることが明らかとなった。そのため、今後は噴流式除草装置を使い、船曳きで半年に一度程度除草作業を行えばよいのではないかと考えられる。

2. NGSによる宍道湖湖心部のプランクトン構成種のmetabarcoding解析

宍道湖でのmetabarcoding解析による動物・植物プランクトンのモニタリング手法を開発するために、前年度までに採水方法、DNA抽出方法、データの解析方法を検討してきた。その結果、湖心部で一定量の採水をした後、フィルターでろ過し、そこからDNAを抽出して次世代シーケンサーによるmetabarcoding解析を行うことによって、ワカサギやシラウオなどの餌となるカイアシ類等やヤマトシジミの餌となる植物プランクトンの出現状況を煩雑な顕微鏡観察を行わなくてもできるようになった。本年度はこの方法を使用してモニタリング調査を行った。

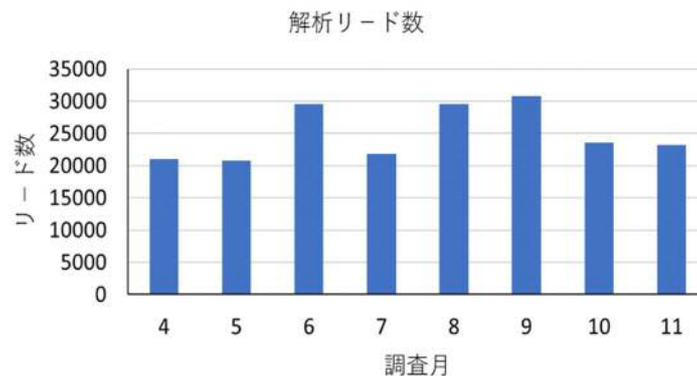


図 8. 宍道湖湖心部で採水した試料のmetabarcoding解析結果

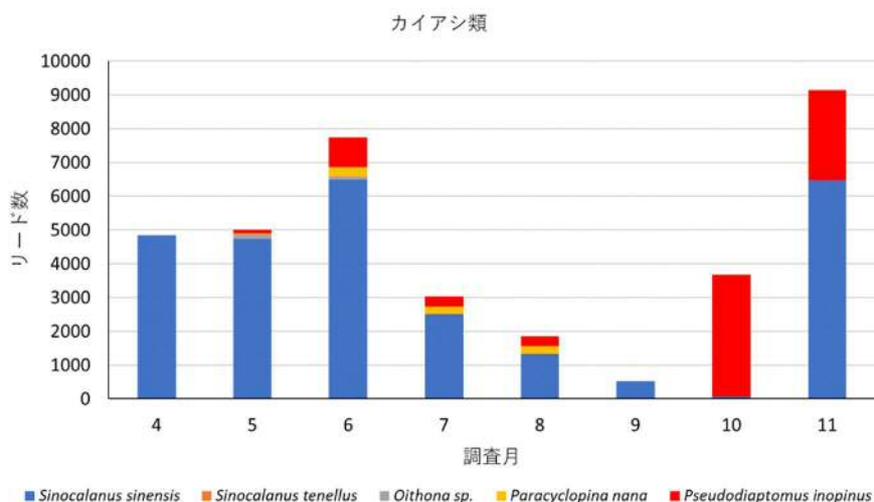


図 9. 湖心部のカイアシ類の種組成の変化

図 8 に湖心部で採水した試料のmetabarcoding解析の結果のリード数を示す。各月のリード数は2~3万程度であった。このうち、カイアシ類の種組成を図 9 に示す。概ね、通年

にわたって *Sinocalanus sinensis* が優占していたが、10月には *Pseudodiaptomus inopinus* が優占していた。しかし、この *Pseudodiaptomus inopinus* については Sekigishi and Ueda (2018) によって複数種で構成されることが判り、現在では、日本国内には *P. japonicus*, *P. nansei*, *P. yamato* が生息されているとされている (Ueda and Sekigushi, 2019)。宍道湖では今後詳細に調べる必要があるが、主に *P. japonicus* が生息すると推測される。今年度の宍道湖のカイアシ類の出現状況は春と秋に多く、夏場に減少する傾向を示した。カイアシ類以外のワムシ類の出現は少なかった。

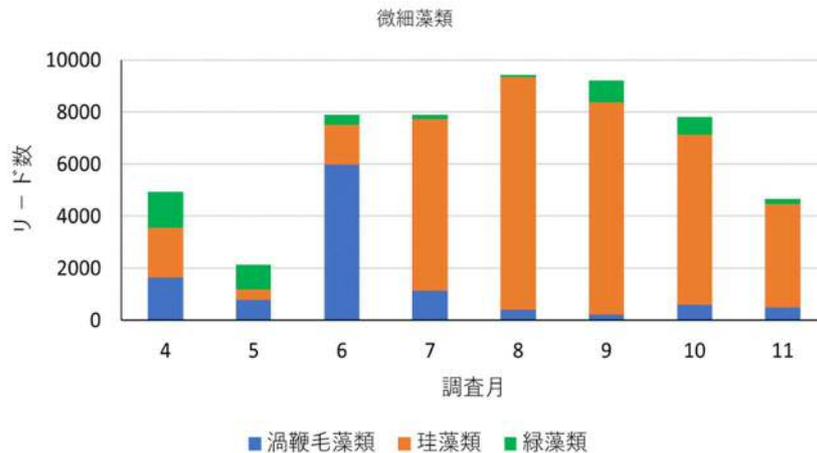


図 10. 湖心部の微細藻類の出現状況

今年度の湖心部の微細藻類の出現状況を図 10 に示す。4-5 月までは緑藻が多く、6 月は渦鞭毛藻類が多かったが、7 月以降は珪藻類が優占した。ヤマトシジミの餌には珪藻類が良いと考えられるため、7 月以降はヤマトシジミの餌条件は良くなったのではないかと考えられる。

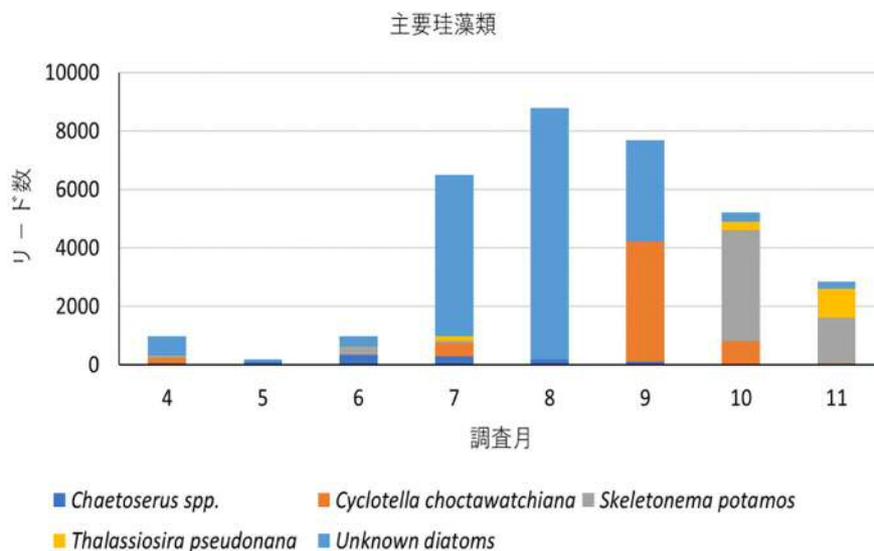


図 11. 湖心部の主要珪藻類の出現状況

次に、湖心部に出現した主要な珪藻類については図 11 に示す。夏場は今回用いた 18SrRNA の V8-9 領域では同定できない珪藻類が優占したが、9 月には小型の *Cyclotella choctawatchiana* が優占し、10-11 月には *Skeletonema potamos* が優占していた。ヤマトシジミの成貝は比較的大型の珪藻類も捕食できるが、幼生期から着底初期は小型の種の方が餌になりやすいと考えられる。*Cyclotella choctawatchiana* や *Skeletonema potamos* は小型種であるので発生初期のヤマトシジミには良い餌となると推測される。

これまで3年間にわたって metabarcoding 解析により宍道湖湖心部のカイアシ類や珪藻類の出現動態を調べてきたが、同じ結果となった年は無く、汽水湖では毎年、カイアシ類や珪藻類の出現状況は変化することが明らかとなった。そのため、今後ともワカサギやシラウオなどの魚類やヤマトシジミの資源量の変化を調べるためには、これらの餌となる動植物種の簡便なモニタリング手法が必要となるが、その目的には metabarcoding 解析は有効と考えられる。

しかしながら、本方法にも問題が残されており、ヤマトシジミの資源状況が良くないときに出現する藍藻類は昨年度および本年度に使用した核 DNA の 18SrRNA 領域を用いた metabarcoding 解析では解析できない。そのため、藍藻類を標的とする際には藍藻類に応じた metabarcoding 解析のための遺伝子領域を選択する必要がある。昨年度と今年度で原核生物用の 16SrRNA を用いた metabarcoding 解析手法について検討した結果、これらも使用できることが判った。今後は、18SrRNA と 16SrRNA の両領域を使用した metabarcoding 解析により藍藻類もモニタリングできると考えられる。

参考文献

- R Development Core Team 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>
- Bradley, I. M., Pinto, A. J., Guest, J. S. 2016. Design and evaluation of illumine Miseq-compatible, 18S rRNA gene-specific primers for improved characterization of mixed phototrophic communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(19):5878-5891.
- Sakaguchi S O, Ueda H (2018) Genetic analysis on *Pseudodiaptomus inopinus* (Copepoda, Calanoida) species complex in Japan: revival of the species name of *P. japonicus* Kikuchi, 1928. *Plankton Benthos Res* 13: 173–179.
- Ueda H, Sakaguchi S O (2019) *Pseudodiaptomus yamato* n. sp. (Copepoda, Calanoida) endemic to Japan, with redescription of the two closely related species *P. inopinus* Burckhardt and *P. japonicus* Kikuchi. *Plankton Benthos Res.* 14 (1): 29-38.

別添資料：

宍道湖湖心 metabarcoding 解析結果 (エクセルファイル)
石見海岸 metabarcoding 解析結果 (エクセルファイル)