

図1 FABM の物理モデルと生物地球化学モデル(左), ERSEM の概要(右)



図2 千葉波浪観測塔における塩分(上)と水温(下)の表層(左),中層(中),底層 (右)における観測値と計算値の比較



図3 流入負荷の位置と規模(左),対象海区(右上),栄養塩供給源検討イメージ(右下)



図4 木更津(左)と富津(右)における供給源別の栄養塩濃度時系列計算値



図5 下水(左),海老川(中),外洋水(右)を起源とする栄養塩寄与割合の平面分布

課題番号:Ⅲ-1)

課題名:栄養塩等の水質環境の変化が閉鎖性内湾の動・植物プランクトン等の低次生 態系に及ぼす影響の解明

水産研究・教育機構 水産資源研究所 社会・生態系システム部 寒川清佳,青木一弘,渡辺剛,横内一樹,堀正和

水産研究·教育機構 水産資源研究所 海洋環境部

筧茂穂,田所和明

愛知県水産試験場 漁場保全グループ

柘植朝太郎,石田俊朗,二ノ方圭介,加藤毅士,大澤博 愛知県水産試験場 海洋資源グループ

中島廉太朗, 中野哲規, 曽根亮太

【背景・目的】

近年,伊勢・三河湾における水産資源量の減少や低迷が顕著になっている。その要因として,貧栄養化等の環境変化に伴う動・植物プランクトン等の低次栄養段階位置する生物生産の低下が指摘されている。しかし,それらがどのように変動し,水産資源に影響するかは未 解明な点が多い。本課題では,栄養塩等の水質環境が動物プランクトンおよび植物プランクトン等の低次生態系に与える影響を明らかにすることを目的とする。

伊勢・三河湾における栄養塩等の水質環境と動植物プランクトンの関係について,定期的 な現地調査や自動観測ブイによる連続観測により現況を把握するとともに,過去のデータと 比較して,植物プランクトンの密度や構成比が時空間的にどのように変化しているのかを把 握することで,水質環境との関連性を理解する。また,既存の海洋観測資料を収集・解析す ることで,湾内の循環構造や栄養塩動態を評価するためのモデルを検討する。さらに,既存 および新たに得られた生物試料と海洋観測データの収集,整理および分析を行い,動・植物 プランクトン等の群集構造とその季節・経年変動を調べ,物理・化学環境との関係を解析す る。

【方法】

(1)物理化学環境と動・植物プランクトンの動態に関する定点観測の実施

伊勢・三河湾の愛知県沿岸域(図1)において,概ね月1回以上の調査を実施し,水 温,塩分,溶存酸素などの観測を行うとともに,主な環境指標である窒素,リンやクロロ フィル a の分析を行う。試水を検鏡して,植物プランクトンの密度,およびその構成を把 握する。また適宜,プランクトンネット等により動物プランクトンを採集する。さらに自 動観測ブイ3基を用いて連続観測を行い,三河湾内の水質環境について時間的な変化を把 握する。またこれらの観測結果,分析結果は研究グループ内で共有され,水質環境と動植 物プランクトンの関連性の解析に資する。

(2)水質環境が動・植物プランクトンの組成や量に与える影響の検討

伊勢・三河湾における低次栄養段階に位置する生物の生産過程の特徴を把握するため, 当海域で季節ごとに実施された海洋観測で得られたデータと試料を解析する。既存のデー タと試料の収集と整理を行い、その一部を分析し、栄養塩等水質環境の季節・経年変化が 植物プランクトンと動物プランクトンの組成や量の変化に与える影響を検討する。

(2)-1 植物プランクトン群集と水質環境の変化

- 三河湾の植物プランクトンの季節・経年変化を明らかにするために、まず愛知県の公共 用水域水質監視調査・漁場環境改善推進事業等で得られた 1991 年から 2021 年の植物プ ランクトンデータを整理した。このうち、2006 年と 2020 年の三河湾の 2 地点(K5 と A14) および 2007 年と 2020 年の伊勢湾の 1 地点(N8) と三河湾の 3 地点(A5, A14, K5) について、植物プランクトンの組成・細胞数密度・多様度および海洋環境(水温と 塩分)の季節・経年変化を比較解析した。
- (2)-2 動物プランクトン群集と水質環境の変化
- 三河湾の動物プランクトンの季節・経年変化を明らかにするために、動物プランクトン 群集の長期的な観測試料の収集・整理を行い、その一部を分析し、環境データと共に解析 を行った。愛知県による浅海定線等の改良型ノルパックネット(335µm 目合、口径 45cm) 曳網で得られた 1978 年から 2021 年によるホルマリン固定試料の整理を行い、試料の状 態確認及び分析試料の抽出等を行った。三河湾内の植物プランクトン調査が実施された 測点に近い、三河湾の東西 2 地点(P27 と P29;図 2)を抽出し、海洋物理データがそろ う 2006-2007 年と 2020 年の月毎に得られた 58 試料の分析を実施した。計数された全分 類群の曳網当たりの個体数とノルパックネットに設置された濾水計の回転数より個体数 密度を算出した(inds.m⁻³)。個体数密度の高かった 3 分類群(渦鞭毛藻,枝角類,カイア シ類)については、種レベルでの分析を行った。全季節を通して優占したカイアシ類と枝 角類について、Bray-Curtis 類似度指数を使用した非計量多次元尺度構成法による群集構 造解析を行い、月と年グループ間の差の検定を行った。
- (3) 湾内の循環構造や栄養塩動態評価モデルの検討

既存の海洋観測資料を収集・解析することで,湾内の循環構造や栄養塩動態を評価する ためのモデルのフレームワークを決定する。評価モデルの候補として,ボックスモデルや 診断モデル等を検討する。

(3)-1 ボックスモデルによる流入量の推定

伊勢湾,三河湾の循環構造の経年変動を明らかにするために,ボックスモデルによる海 水流入量の推定を行った。伊勢湾を上,中,下層の3ボックス,三河湾を上,下層の2ボ ックスにわけてモデルを構築した。三重県,愛知県による浅海定線等の海洋観測データ を使用し,伊勢湾,三河湾,渥美外海のデータがそろう2006~2009年と2019~2021年 で解析を行った。観測点における鉛直分布のデータを3次元的に内外挿し,各ボックス の平均塩分を月ごとに求めた。ボックスモデルは非定常エスチュアリー循環および定常 エスチュアリー循環を仮定して解いた。非定常の計算では,同月の塩分で計算する場合 と翌月の塩分で計算する場合の2パターンで解いた。流入量>0 m³/sかつ流入量<10⁵ m³/s (既存研究より)を満たす解が得られたものを採用した。複数のパターンで解が得られ た場合はそれらの平均値を求めた。

(3)-2 診断モデルによる流入量の推定

伊勢・三河湾の循環構造の経年変動を明らかにするために、診断モデルによる海水流入

量の推定を行った。モデルの基盤には Princeton Ocean Model(Blumberg and Mellor, 1987)の Z座標系コードの診断モードを使用した。計算領域は伊勢・三河湾を含む領域(図3;東 経 136.2-137.5°,北緯 34-35.1°)で、水平解像度は 0.01°,鉛直解像度は 40m 以浅で 1m,深 化するほど徐々に大きくなり 2000m 深で 500m とした。対象期間は上記ボックスモデル 同様,2006-2009 年と 2019-2021 年とし、春季(3-5月)の平均的な水温・塩分場を、観測 点における鉛直分布のデータを 3 次元的に内外挿することで算出した。加えて、Japan Oceanographic Data Center の四日市港防波堤における海上風データを用いて算出した海面 風応力および、国交省水文水質データベースの計算領域内の 1 級河川流量を用いた淡水 フラックスによりモデルを駆動した。

【結果】

(1)物理化学環境と動・植物プランクトンの動態に関する定点観測の実施

(1)-1 渥美湾自動観測ブイの観測結果

水温(図4):自動観測ブイの表層水温は6月中旬から下旬(1号)と12月下旬から1 月上旬(1~3号)を除き,年間を通じて平年並から高めで推移した。塩分(図5):表層 塩分は4月が高めで,7月中旬から8月上旬は低く推移し(3号),9月と10月には降雨 の影響による顕著な低下がみられた(1~3号)。その後は平年並から高めで推移した。 底層溶存酸素(図6):底層溶存酸素は5~10月まで平年より低く推移した(1~3号)。 特に湾口に近い3号ブイでは7月中旬から9月中旬にかけて平年よりも顕著に低かった。 また,9月下旬に台風の影響により一時的な回復がみられた(1~3号)。

(1)-2 伊勢湾における全窒素 (TN), 全リン (TP), クロロフィル a (Chl. a) 濃度の推移 (図
7)

全窒素:比較年中最低の濃度水準で推移しており、ほとんどの期間が水産用水基準における水産1種(全窒素≦300µg/L)の濃度水準であった。全リン:10月までは比較年中最低の濃度水準で推移しており、水産1種(全リン≦30µg/L)の濃度水準であった。11月以降は貧酸素水塊の解消に伴う底層からの供給により濃度が上昇し、比較年並みで推移した。 Chl. a: 概ね比較年並みで推移したが、7月は低かった。また、10µg/Lを上回ったのは6月のみであった。

(1)-3 知多湾における全窒素 (TN), 全リン (TP), クロロフィル a (Chl. a) 濃度の推移 (図
 8)

全窒素:5,7月に大きな濃度上昇があり,5月は Heterosigma akashiwo の赤潮,7月は Karenia mikimotoi と Skeletonema spp.の複合赤潮の発生に伴うものであった。また,9月に も濃度上昇があり,降雨の影響によるものであった。その他は比較年中最低の濃度水準 で推移した。全リン:5,7月に大きな濃度上昇があり,5月は H. akashiwo の赤潮,7月 は K. mikimotoi と Skeletonema spp.の複合赤潮の発生に伴うものであった。その他は比較 年と同等か低めで推移した。Chl. a:5月は H. akashiwo の赤潮,7月は K. mikimotoi と Skeletonema spp.の複合赤潮の発生に伴う大きな濃度上昇があった。10月以降は比較年中 最低の濃度水準で推移した。また,10月以降はクロロフィル a が 10µg/L を下回ってい た。

(1)-4 渥美湾における全窒素 (TN), 全リン (TP), クロロフィル a (Chl. a) 濃度の推移 (図

9)

全窒素:9月に降雨の影響により濃度上昇がみられたが,全体としては水産1種水準に 近く,比較年中最低の水準で推移した。全リン:9月に降雨の影響により濃度上昇がみら れたが,全体としては比較年よりも低めか同等の水準で推移した。Chl. a:比較年と同等 か低めで推移した。また,10µg/Lを下回る月も多かった。

(1)-5 各湾代表点における主要なプランクトンの消長

今年度の各湾代表点における主要なプランクトンの消長を図 10 に示す。主要な優占種 (Skeletonema spp., Chaetoceros sp(p)., Leptocylindrus danicus) に加え,今年度特異的に増 殖した種 (Akashiwo sanguinea, K.mikimotoi, H.akashiwo, ハプト藻類) について細胞密度 の変動を解析した。全ての測点で多くの期間, Skeletonema spp.や Chaetoceros sp(p).といっ たケイ藻類が優占しており, L. danicus も恒常的にみられた。渦鞭毛藻類については, K.mikimotoi は伊勢湾,三河湾共に 6 月以降出現し,9 月にはみられなくなったが,出現 時や高密度化時においても Skeletonema spp.が優占しており,ケイ藻と共存していた。特 に知多湾 (K5) では Skeletonema spp.と複合赤潮を形成した。一方, A. sanguinea は,渥美 湾 (A5, A14) においてケイ藻類の衰退後に優占種となった。ラフィド藻類である H.akashiwo は,5月に渥美湾西部で高密度になったが,A. sanguinea と同様にケイ藻類の 衰退後に優占種となった。ハプト藻類は 2008 年以来となる赤潮を形成したが,こちらも 同様にケイ藻類の衰退後に優占種となった。

今年度の伊勢・三河湾の全窒素,全リン濃度は,赤潮発生時や降雨による大規模な出水時を除けば,比較年中最低の濃度水準で推移していた。また,クロロフィル a についてもアサリの生育に必要であると考えられる 10µg/L (青山・蒲原 2022)を下回る期間があった。蒲原ら(2021)は,三河湾のアサリの軟体部乾重量が 2007 年度以降大きく減少しており,アサリ資源の維持には全リン濃度を 1998~2006 年度の水準とする必要があるとしている。今年度の全リン濃度は 2007~2011 年平均を超えることは少なく,アサリ資源の回復のためには栄養物質が不足していると考えられた。

伊勢・三河湾ともに多くの期間においてケイ藻類が優占していた。一方,近年は伊勢・ 三河湾においても K. mikimotoi の赤潮が発生し,本年も7月に Skeletonema spp.との複合 赤潮を形成した。他の渦鞭毛藻類等が優占する際にはケイ藻類の衰退が伴っており,K. mikimotoi とは出現傾向が異なっていた。この要因として K. mikimotoi は日周鉛直運動を 行い(Koizumi et al. 1996,他)底層の栄養塩を利用できることや,有機体の窒素・リンを 利用できる(Yamaguchi & Itakura 1999,他)ため栄養塩の競合上有利であることに加え, 弱光下でも増殖できる(山口・本城 1989)ことから,ケイ藻類が高密度で存在していて も増殖できたのではないかと考えられた。

(2)水質環境が動・植物プランクトンの組成や量に与える影響の検討

(2)-1 植物プランクトン群集と水質環境の変化

三河湾の東西と中央(K5, A5, A14)では,優占種の組成について類似した傾向を示したので,2006年と2020年の季節・経年変化を報告する。海洋環境のうち,水温は2006年より2020年の方がやや高い傾向が示され,特に冬から春は水温差が大きかった。塩分の季節変動は2006年と2020年でほとんど相違がなかった。植物プランクトンの細胞密

度は 2020 年より 2006 年で高かったが,多様度は両年で同程度だった。優占する藻類は 2006 年と 2020 年ともに珪藻であったが,組成は変化した(図 11)。*Skeletonema* は両年で 最も優占したものの,2006 年に見られた夏~秋のピークが 2020 年は著しく低下し, *Thalassiosira* も同様の傾向を示した。これに対して,*Nitzschia や Leptocylindrus* は 2020 年 に増加し,初夏にピークを形成した。

(2)-2 動物プランクトン群集と水質環境の変化

動物プランクトンの変動は三河湾の東西(P27 と P29)で類似した傾向を示し,動物プ ランクトンの個体数密度の平均値は 2006 年よりも 2020 年のほうが 2~3 倍程高かった が,月毎に大きく変動した(図 12)。優占した分類群も両地点で類似し,2006 年 2020 年 ともにカイアシ類が優占したが,季節的に変動した(図 13)。2006 年は両地点で 1-6 月 と 11-12 月にカイアシ類が最も優占したが,8 月は枝角類が最も優占した。一方で,観測 点 P27 では 9-10 月も枝角類が優占したのに対し,観測点 P29 では9 月にヤムシ類が,10 月にはカイアシ類が最も優占した。2020 年の分類群毎の組成も両測点で似た傾向がみら れ,1-6 月はカイアシ類が最も優占し,7 月は渦鞭毛藻の Noctiluca scintillans が優占し, 8-9 月は枝角類が優占した。一方で,10-12 月は観測点 P29 でカイアシ類が優占したのに 対し,観測点 P27 では 11 月のみヤムシ類が最も優占した。いずれの観測点・年でも,夏 ~秋期に分類群の組成が大きく変わる傾向があった。

2006年と2020年のカイアシ類と枝角類の種毎の組成について、類似性分析を用いて グループ間の類似度の差を検定した結果、月間に有意な差があり、季節毎の変動が大き い傾向にあった。冬後期(1~2月)は年・月・観測点ともプロット間の距離が短く類似 性が高くなる傾向がみられた。2006年、2007年、2020年の春期について類似性分析を実 施したところ、2006年と2020年および2007年と2020年の間に有意な差があり、春期の 甲殻類(カイアシ類と枝角類)群集は2000年代後半と2020年で異なった。いずれの年 でも Acartia (Acartiura) omorii が最も優占した。本種以外では、2000年代後半の春期は Centropages abdominalis が優占し、2020年の春期は Calanus sinicus が優占した。C. abdominalis は寒帯から温帯に分布域があり、瀬戸内海では内湾性の冷水種として報告さ れている(千原・村野1997)ため、水温変化の影響を受けて減少した可能性がある。ま た C. sinicus は渥美湾外海の沿岸域(大陸棚上)に多いという報告があるため(船越・柳 橋 1983)、近年は湾外からの流入が増えている可能性が考えられる。

個体群の現存量の季節的変化は,3種とも2006年は冬期が最も多い一方で,2020年に おいて A. omorii は春季が最も多く, C. abdominalis と C. sinicus は冬~春期が最も多く, 近年の方が出現ピークの季節が遅くなる傾向がみられた。

- (3) 湾内の循環構造や栄養塩動態評価モデルの検討
- (3)-1 ボックスモデルによる流入量の推定
- 5~7月の伊勢湾下層への流入量は1.4×10³~4.5×10⁴ m³/s であった(図14)。年ごと,月ご との変動が大きく,明瞭な傾向は見られなかった。伊勢湾中層への流入量や三河湾への 流入量についても同様で,明瞭な傾向は見られなかった。
- (3)-2 診断モデルによる流入量の推定
 - 伊勢湾ロ外の流動は渦成分が強く、伊勢湾ロにおいて湾外水の流入量評価を妥当に行え

るのか不明(図15)ため、図3に示す湾中央部(図中点線)における湾奥への海水流入 量を解析した。湾中央断面では上層流出・下層流入の典型的な河口循環流構造が確認で き、下層からの流入量は2006-2009年で2.2×10³ m³/s, 2019-2021年で2.4×10³ m³/s であ り、大きな差は無かった。

【参考文献】

- 蒲原聡・芝修一・鶴島大樹・鈴木輝明(2021)三河湾のアサリ Ruditapes philippinarum の成 育と全窒素・全リン濃度の経年変化との関連.水産海洋研究,85,69-78.
- 青山裕晃・蒲原 聡 (2022) 伊勢・三河湾の年代別栄養物質濃度の水平分布について. 愛知水 試研報, 27, 37-40.

平成27年~令和3年伊勢湾・三河湾の赤潮発生状況.愛知水試験研究業績.

- Koizumi Y, Uchida T, Honjo T (1996) Diurnal vertical migration of *Gymnodinium mikimotoi* during a red tide in Hoketsu Bay, Japan. *J. Plankton Res.*18, 289–294.
- Yamaguchi M, Itakura S (1999) Nutrition and Growth Kinetics in Nitrogen- or Phosphorus-limited Cultures of the Noxious Red Tide Dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi*. Fisheries science, 65, 367–373.
- 山口峰生・本城凡夫(1989) 有害赤潮鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* の増殖におよぼす水 温,塩分,および光強度の影響.日本水産学会誌,55,2029–2036.
- 千原光雄・村野正昭(編)(1997)日本産海洋プランクトン検索図説.東海大学出版, 1547pp.
- 船越茂雄・柳橋茂昭(1983) 遠州灘沿岸の渥美外海域におけるマイワシ産卵場および産. 卵 期の環境特性. 誌名. 水産海洋研究会報, 44, 29-43.
- Blumberg AF, Mellor GL. (1987) A description of a three-dimensional coastal ocean circulation model. Heaps NS (eds). Three-Dimensional Coastal Ocean Models, Coastal Estuarine Studies Vol. 4. American Geophysical Union, Washington, DC. 1987; 1–16.



図1 水質調査と植物プランクトン観測を実施した測点図



図2 植物プランクトン観測点に近い動物プランクトン観測点の東西2定点





図4 自動観測ブイにおける表層水温の推移

図5 自動観測ブイにおける表層塩分の推移



図6自動観測ブイにおける底層溶存酸素(%)の推移



図7 伊勢湾における全窒素,全リン,クロロフィルa濃度の推移



図8知多湾における全窒素,全リン,クロロフィルa濃度の推移



図9 渥美湾における全窒素,全リン,クロロフィルa濃度の推移



図 10 今年度の各湾代表点における主要な植物プランクトンの消長



図 11 三河湾の東西 2 定点(東: A14 と西: K5)における,2006 年と2020 年の植物プランクトンの組成



図 12 三河湾の東西 2 定点 (P27 と P29) における,2006 年と 2020 年の月毎の動物プラン クトンの個体数密度



図 13 三河湾の東西 2 定点 (P27 と P29) における,2006 年と 2020 年の月毎の動物プラン クトンの組成



図 14 ボックスモデルで推定した伊勢湾下層への流入量の経年変化(5~7月)



図 15 診断モデルで湾中央断面流速分布(3-5月;左:2006-2009,右:2019-2021)

課題番号:Ⅲ-2)

課題名:閉鎖性内湾の栄養塩類環境が二枚貝類や海藻の生産に及ぼす影響のモニタリング等の評価手法の開発

水産研究・教育機構水産技術研究所:井上誠章,多賀悠子,西本篤史 三重大学 生物資源学部:伯耆匠二 愛知県水産試験場:日比野学,平井玲,鈴木貴志,成田正裕,阿知波英明, 中島広人,進藤蒼,荒川純平,市原聡人 三重県水産研究所:羽生和弘,岩出将英,小林智彦,舘洋,髙﨑有美子, 北川強司

【背景・目的】

アサリ資源は全国的に極めて低い水準にあり、その要因の一つとして沿岸域の栄養塩不足 に伴う微細藻類の減少や種組成の変化との関連が示唆されている。餌料に適した植物プラン クトン不足はアサリ全生活史における減耗要因となるが、特に飢餓耐性の低い着底初期や稚 貝にとっては致命的となり得る。それゆえアサリを含めた二枚貝資源の変動機構の解明には、 アサリが曝露された餌料環境とさらにそれに伴う生理状況変化の正確な把握は重要な課題で ある。近年、アサリ等の二枚貝類は各生活段階において、好適餌料となる植物プランクトン のサイズや種の変化が起こることが明らかになってきた。しかし、現状の海洋研究において は摂餌環境の指標として、植物プランクトン量を反映するクロロフィル値を間接的に用いる しかない。これではアサリが摂餌できる植物プランクトンのサイズや種組成を無視している ことになり、クロロフィル値は正確な摂餌環境の指標となっていない可能性がある。本研究 では、メタバーコーディングによる微細藻類の網羅的解析と、飢餓への遺伝子応答の網羅的 解析による生理的指標の開発により、本種にとっての正確な餌料環境評価手法の開発を目指 す。

加えて,三河湾におけるアサリ漁場及びその周辺等においてアサリ現存量や餌料等の環境 調査を実施するとともに,海域の栄養塩動態や餌料環境とアサリの資源状況等との関連を検 討する。さらに上記で開発された餌料環境評価手法を試験的に実際の漁場におけるアサリに 適用し,アサリの資源動態に及ぼす性状変化と餌料・栄養塩環境等との関連を検討する。

また,アサリ同様にノリの色落ちについても,深刻な漁業被害をもたらしている。下水緩 和処理運転等の管理施策が検討されているが,そもそも海域における栄養塩供給源の特性が 十分には理解されていない。特に,水質総量規制の結果,陸域からの栄養塩供給が減少して いる中で,栄養塩を含んだ沖合の深層水からの栄養塩供給も無視できないことから,栄養塩 の供給源についてのモニタリング手法を確立し,湾内の栄養塩供給源の特性を明らかにする とともに,中・長期的な栄養塩供給源の変動について情報を蓄積していくことを目指す。

【方法】

(1) メタバーコーディングを用いた餌料環境評価法の手法開発

三河湾内のアサリ漁場の2定点(14号地,実録沖)において,2022年5月から2023年2 月にかけて月に1回の頻度で以下の野外調査を実施した。採泥器でアサリ稚貝・成貝(殻長約10~30mm)を採集し,即座に99%エタノール中で固定した。海底表層1cmの砂泥(環境 砂泥)を約10g,海底直上の海水(環境水)を1L採取し,保冷しながら実験室に持ち帰った。環境砂泥を濾過海水中で攪拌して得られた懸濁物,環境水中に含まれる懸濁物をGF/Fフィルター上に捕集してDNA抽出まで冷凍保存した。7月~11月のアサリ消化管内容物,環境水,環境砂泥試料からDNAを抽出し,葉緑体rbcL領域上に設計された珪藻特異的なユニバーサルプライマー(Maitland et al. 2020)を用いて1st PCRを実施した。その後,電気泳動で増幅が確認された試料について2nd PCR・シーケンシング・ライブラリの作成を行った。決定された各配列についてBLASTによる相同性検索を行い,配列一致度95%を基準に微細藻類(珪藻)を属レベルで同定した。各試料の珪藻の属組成を算出するとともに,試料間の属組成の相対的な距離を検討するためにMorisita指数を算出し,多次元尺度構成法(MDS)を用いて2次元座標上にマッピングした。

(2) 摂餌環境等のアサリ生理状態の指標開発に向けた遺伝子解析

ダウンウェリング水槽(直径 15 cm×深さ 15 cm,底面:500 µm メッシュ)に1 mm ガラスビ ーズを厚さ1 cm で敷き詰め,ろ過海水を 0.5 L/min でかけ流した 6 水槽に,それぞれ稚貝(平 均殻長 8.5 mm)を 20 個体ずつ収容した。3 水槽ずつを給餌区(一日あたり *Chaetoceros gracilis* を 5*10⁸ 細胞給餌,以下 F 群)と無給餌区(以下 N 群)に設定し,飼育開始 3,5,20 日 にそれぞれの水槽から 3 個体ずつ採集した。採集された 18 個体からカラム式キットにより RNA を抽出し,次世代シーケンサーBGISEQ-500 を用いた RNA-seq によりトランスクリプト ーム解析を行い,各区の遺伝子発現を網羅的に比較した。。

(3) 三河湾におけるアサリ漁場及びその周辺等における現地調査

三河湾内におけるアサリ漁場の計 11 地点(福江湾,六条潟,蒲郡水神,東幡豆,吉田,丙, 味沢実録境,実録(沖),味沢,14 号地,古布)において(図1),枠取り(25cm×25cm)に より各地点3回底泥を採取し,目開き2mmまたは4mmのふるいによりアサリを選別し,個 体密度,殻付き湿重量による現存量を求めた。ただし,吉田,丙,味沢実録境の3地点では, 稚貝採捕用のジョレンを用い定面積分採捕した。採捕したアサリの殻長を計測し,うち各地 点30~60個体について肥満度及び群成熟度を求めた。環境調査として,採水によるクロロフ ィルa濃度,底泥中のクロロフィルa量(DMF抽出+蛍光光度計による測定),栄養物質濃 度(全窒素,全リン,硝酸・亜硝酸態窒素,アンモニア態窒素,リン酸態リン)の測定を行 った。なお,栄養物質濃度試料の前処理を行った後,測定は三洋テクノマリン株式会社に委 託した。試水は,各地点において1回ずつ海底上30 cm程度(干出している場合には干潟前 面の膝丈程度の水深)で採水した。現地調査は,各地点とも春(5月),夏(8月),秋(10-11 月)及び冬(1月)に実施した。また,前年度に実施した先行調査の結果も利活用し,デー タを取り纏めた。

(4) 海藻(ノリなど)の窒素安定同位体比を用いた窒素供給源モニタリング

乾燥板ノリ試料は、11月から3月にかけての漁期中、およそ2週間に1度の頻度で開かれ る共販毎に、伊勢湾および三河湾の各地先から入手した。また、ノリ漁期外の試料として、 伊勢湾では、2022年9月に、湾奥から湾口にかけての複数地点で生海藻(アオサ類または褐 藻類)を採取した。採取した生海藻は、表面を軽く洗浄して切り取り、真空凍結乾燥機を用 いて乾燥させた。これらの海藻試料は、脱脂等の更なる前処理は行わず、細かく破砕し、乾 ノリは 1.5 mg、アオサ類および褐藻類は 3 mg を目安に錫箔に詰めた。錫箔に詰めた試料は、 元素分析計(vario Micro cube)および安定同位体質量分析計(Iso Prime 100)の連結システム を用いて、CN比(重量)および炭素・窒素安定同位体比(以下、 $\delta^{13}C \cdot \delta^{15}N$)分析に供した。 なお、乾ノリ分析については、ノリ漁期の開始が 11 月と遅いことから、令和4年度は、水産 技術研究所の所内プロジェクト研究にて入手した令和 3 年度漁期試料について分析を行い、 その結果を報告する。また、本事業の検討委員でもある藤原先生から、2010年1月の1汐分 の同位体データを御提供頂き、10年前と現在との比較に使用したので、併せて報告する。

また,2022年9月の海藻類サンプリングに併せて水試料も採取した。採取した水は,現場 でGF/Fフィルターを使って500 ml×2 枚濾過し,水中の粒子状有機物(以下,POM)を採取 した。持ち帰った POM 試料は,60°Cのオーブンで3日乾燥させ,塩酸蒸気を用いて脱炭酸し た。再び60°Cのオーブンで乾燥させた後,表面を掻き取り,上述の同位体分析に供した。ま た,科研費課題にて,同時に採取・分析したイガイ類の δ^{13} C・ δ^{15} N についても一部報告する。

【結果】

(1) メタバーコーディングを用いた餌料環境評価法の手法開発

本年度の栄養塩管理運転が開始された9月を含む前後2か月(7月~11月)の試料を解析 対象とした。DNAメタバーコーディングに基づいて算出された各調査月の環境水,環境砂泥, アサリ消化管中の珪藻属組成および MDS マップを図2に示す。海産・汽水産の浮遊珪藻34 属,底生珪藻46属が検出された。環境水中およびアサリ消化管には、Cyclotella, Minutocellus, Chaetoceros, Skeletonema などの浮遊珪藻が優占していたが、8月に採集されたアサリ消化管 中においては例外的に底生珪藻である Melosira が優占していた。ただし、8月においては, アオサ類の腐敗・堆積に伴うアサリの大量斃死が発生したことから,解析対象とした個体に おいても正常な摂食ができておらず,ほとんど空胃の状態だった可能性も考えられる。環境 砂泥上においても概して浮遊珪藻が優占していたがNaviculaやHalamphoraなどの底生珪藻が 優占する月もあった。環境水,アサリ消化管中ともに地点間における珪藻属組成の差異は明 瞭ではなかった。また、アサリ消化管と環境水中の相対的な距離が大きく異なる月もあった。 特に10月においては、環境水中とアサリ消化管中の類似度が全調査月で最も低くなったが、 これは、環境水中の優占種(Dactyliosolen)がアサリ消化管中からはほとんど検出されなかっ たことに起因する。Dactyliosolen は、細胞サイズが比較的大きく、直鎖状あるいは螺旋状の 大型の群体を形成することから、アサリに摂食されにくかった可能性が考えられた。

以上の通り、本年度においては、既存の葉緑体プライマーを用いた DNA メタバーコーディ ングに基づくアサリの食性解析手法を確立することができ、微細藻類の優占分類群である珪 藻類については、環境中、アサリ消化管中からの網羅的検出が可能となった。さらに、試料 間の属組成の類似度からアサリの摂餌の選択性を推定できる可能性も示された。一方で、DNA メタバーコーディングで得られた属組成が各分類群の生物量を反映しているかは不明である ため、検鏡に基づく組成との照合が必要と考えられる。また、本年度においてはアサリの成 長が地点間で明瞭に異ならず、微細藻類の組成がアサリの成長に及ぼす影響を評価できなか ったため、R5 年度以降も同様の調査・解析を継続する必要がある。

(2) 摂餌環境等のアサリ生理状態の指標開発に向けた遺伝子解析

飼育3日目のN群とF群の遺伝子発現比較(N/F)では,N群の発現量が2倍以上上昇(1/2 以下に下降)し、さらに統計的に有意と判断された遺伝子群(DEG)は上昇860(下降978) 遺伝子であった。同様に、飼育5日目では上昇1049(下降880)遺伝子がDEGと判定され、 飼育15日目では上昇113(下降1503)遺伝子がDEGと判断された。これらDEGのうち、す でにアサリで同定されており、機能等の報告があるものは292遺伝子であった。この292遺 伝子の中には、免疫関連遺伝子であるdefinisin、macinおよびHSP22等が含まれており、餌 料環境の変化により、生体内で免疫系も大きく変化することが考えられた。次年度はこの292 遺伝子を対象に、アサリ生理状態、特に摂餌環境の指標候補を抽出する予定である。

(3) 三河湾におけるアサリ漁場及びその周辺等における現地調査

各地点における調査時期ごとのアサリ個体密度,現存量及び肥満度について図3に示した。 全体的な傾向として、個体密度と現存量は冬から夏にかけて増加し、秋から冬に減少した。 肥満度は冬から春に上昇し、夏から秋に低下する傾向がみられた。秋冬季の現存量の変化に は地点間で差(-2,933 g/m²~1,384g/m²)があり、特に 2021 年に対して 2022 年秋以降の現存 量の減少が顕著であった六条潟(-1,558 g/m²)では夏から秋の肥満度が低かった(肥満度: 9.2-9.3)。夏の低い肥満度が秋産卵によるエネルギー消費に伴う減耗に影響した可能性が考え られた(曽根ほか, 2019; 服部ほか, 2021)。地点別の各季節の肥満度について図4に示した。 平均肥満度は地点間で有意な差がみられ、一色干潟に位置する吉田~味沢実録境では低い傾 向(3地点の年間平均:11.3)であった一方,福江湾の肥満度は年間通じて高かった(年間平 均:17.6)。また, 殻長が大きいほど肥満度が低くなる傾向が一部の地点でみられた。クロロ フィル a 濃度は, 1990 年代に比べ 2010 年代には三河湾湾口島しょ部付近から一色干潟沖にか けて顕著に低下しており(青山・蒲原, 2022),餌料不足によって肥満度が慢性的に低水準と なった可能性が考えられる。海水クロロフィル a 濃度, 底泥クロロフィル a 量及び全窒素・ 全リンの季節変化を図5に示した。海水クロロフィルa濃度は、夏と冬に高くなる傾向がみ られ、秋には顕著に低下した。底泥クロロフィルa量は、比較的安定していたが2022年の夏 に低下した。全窒素・全リンでは冬を中心に水産用水基準1種水準(TN<300µg/L,TP<30µg/L) まで低下する地点が多かった。夏には全リンについては3種水準(TP>50µg/L)が、全窒素は 2 種水準(600≧TN≧300µg/L)であった。2021 年と 2022 年の秋から冬の間の現存量の変化 量と同年の全窒素,全リン及び海水クロロフィル a 濃度の各平均値の関係を図 6 に示した。 スピアマンの順位相関係数を検討したところ、秋冬季の現存量変化と水質3項目はいずれも 正の値を示し(TN:r_s=0.36, TP: r_s=0.17, Chl-a: r_s=0.69), うち海水クロロフィル a 濃度との関 係は統計的に有意(p=0.00053)であった。海水クロロフィルa濃度の相関を季節別に検討す ると,夏のクロロフィル a 濃度と秋冬季の現存量変化に有意な正の相関(r_s=0.62, p=0.0033) がみられた。以上から、三河湾においてアサリの漁獲資源形成に大きな影響を及ぼす秋冬季 減耗を含めた秋冬季の現存量変化は、漁場の栄養物質濃度及び餌料濃度と関連しており、特 に季節的に基礎生産速度の高い夏季の餌料条件が重要であることが示唆された。

(4) 海藻(ノリなど)の窒素安定同位体比を用いた窒素供給源モニタリング

海藻類のδ¹⁵Nは、海域における人為負荷の程度を表す指標として利用され、人為負荷が強

い海域程,高い $\delta^{15}N$ を取ることが知られている (小林・藤原 2015)。伊勢湾における 2010 年の結果を見ると,鳥羽地区以北では 13~16‰の陸起源窒素の代表的な値となっており,湾 口部付近まで陸起源の窒素が広く波及していたことが示唆された。一方,鳥羽以南では外洋 起源の窒素 ($\delta^{15}N \sim 6$ ‰) に近く,陸起源の窒素よりも外海起源の窒素の方が利用されている ことが示唆された。本事業に先駆けて実施した令和4年2月の1汐分のノリ $\delta^{15}N$ 分析結果を 見ると,湾奥の桑名地区から湾口の鳥羽地区にかけて,ノリの $\delta^{15}N$ が連続的に低下する傾向 が確認され,陸起源の窒素の波及範囲が10年前に比べて縮小している可能性が示唆されてい た。但し,これらの結果は、それぞれ1汐分の分析結果であり、まずは、漁期を通したノリ $\delta^{15}N$ を確認する必要があった。そこで、令和3年度漁期試料を用いて、漁期を通じた分析を 実施した。その結果、先述した傾向が漁期を通じて確認された(図7)。このことから、伊勢 湾では、この10年の間に、ノリ $\delta^{15}N$ の大きな低下を伴う何かしらの変化があったことが強 く示唆される。今後、ノリ $\delta^{15}N$ のモニタリングを継続するとともに、栄養塩データ等と照合 することで、この変化をもたらした要因について検討していく必要がある。

三河湾では矢作川浄化センター及び豊川浄化センターにおいて、貧栄養対策の一環として、 9月からリン(但し、2022年度については11月から窒素も追加)の緩和処理運転が実施され ている。そこで、緩和運転による効果、および波及範囲を調べるツールとして、ノリ $\delta^{15}N$ の 有効性を検証した。その結果、下水放流口からの距離が離れるにつれて、ノリ $\delta^{15}N$ が低下す ることを確認した(図 8)。また、ノリ漁期後半になるにつれ、ノリ $\delta^{15}N$ が上昇する傾向も 確認された。これは、ノリ漁期後半になるにつれて河川流量が低下することで、下水処理水 のノリ栄養塩としての寄与の程度が高まることによるものと示唆される。以上のように、ノ リ $\delta^{15}N$ が下水緩和処理運転の波及効果を検証するためのツールとして有効であることを確認 した。これらの結果は、愛知県水産試験場研究報告に論文公表の予定である(中島ほか、印 刷中)。

また,降水量の変化などを通じて,湾内における栄養塩環境は季節的に変化する可能性が ある。ノリ漁期は11月から3月に限られるため,他のモニタリング指標も併せて検討するこ とが望ましい。そこで,アオサ類や褐藻類といった海藻類,POM,そしてイガイ類のδ¹⁵Nに ついて,検討を行なった。その結果,ノリδ¹⁵Nの急変も見られた伊勢湾の伊勢地区-鳥羽地 区(今一色漁港と小浜漁港の間)において,イガイ類のδ¹⁵Nが急変することを確認した(図 9)。このエリアで大きく低下したノリδ¹⁵Nとは逆に,イガイ類δ¹⁵Nは上昇する傾向が見られ, 陸由来有機物の寄与の低下を示唆するものであった。これは,季節にかかわらず,この付近 に塩分フロント等,水塊構造の境界があることを示唆するものである。今後,他の季節も含 めた更なるデータサンプリングが必要である。

【参考文献】

青山裕晃・蒲原 聡(2022)伊勢・三河湾の年代別栄養物質濃度の水平分布について. 愛知水試研報, 27, 37-40.

服部宏勇・松村貴晴・長谷川拓也・鈴木智博・黒田拓男・和久光靖・田中健太郎・岩田靖宏 日比野学(2021)愛知県内アサリ漁場における秋冬季のアサリ肥満度の変動と減耗. 愛知水試研報, 26, 1-16.

小林志保・藤原建紀 (2015) 安定同位体比を用いたノリ漁場への窒素供給源の推定.

海洋と生物 37(3)269-273.

- Maitland, VC, Robinson, CV, Porter, TM, Hajibabaei, M. Freshwater diatom biomonitoring through benthic kick-net metabarcoding. Plos one, 15, e0242143, 2020.
- 中島広人・西本篤史・谷川万寿夫・日比野学(印刷中)三河湾西部で生産された乾海苔の窒素 安定同位体比の特徴-栄養塩供給源の推定に関する予察的検討-. 愛知県水産試験場研究報告
- 曽根亮太・和久光靖・石田俊朗・宮脇大・山田智(2019) 六条潟におけるアサリ Ruditapes philippinarum の秋季減耗要因について.水産海洋研究, 83, 252-259.





図2 各調査月における DNA メタバーコーディングに基づく環境水,環境砂泥, アサリ消化管中の珪藻属組成と MDS マップ



図3アサリ個体密度(個体/m²),現存量(g/m²)及び肥満度



図4 各地点におけるアサリ平均肥満度(縦棒は標準偏差) 異なるアルファベットは地点間の有意差を示す(TukeyHSD,P<0.05)



図5 海水中クロロフィルa濃度,底泥表層クロロフィルa量,全窒素(TN),全リン(TP)の季節変化



図6各地点の秋冬季のアサリ現存量の変化と全窒素(TN),全リン(TP),海水クロロフィル a濃度(Chl-a)の年平均値,及び夏の海水クロロフィルa濃度(Chl-a(夏))の関係