

淡水二枚貝を用いた水質浄化方法の検討 II（予報）

Preliminary report of water clarification by freshwater bivalves II

中 沢 公 士** 五 味 愛由伽** 井 上 沙緒里**
Masashi NAKAZAWA Ayuka GOMI Saori INOUE
三 森 勇 太** 中 村 梓 実** 吉 澤 一 家***
Yuta MITSUMORI Azumi NAKAMURA Kazuya YOSHIZAWA
宮 崎 淳 一*
Jun-Ichi MIYAZAKI

1. 概要

日本全国の淡水域の池や湖沼の水質の悪化，透明度の低下が問題となっている。本研究では，生物学的な方法として二枚貝類の濾過摂食活動を利用した水質浄化法を確立するため，小型水槽を用いた室内実験（第1段階），大型水槽を用いた室内実験（第2段階），自然水域での野外実験（第3段階）の3段階を設定して基礎的な研究を行った。小型水槽を用いた室内実験では，低水温（10℃）及び高水温（30℃）条件でイシガイ目の在来4種の濾過能力を比較した結果，タテボシガイとヨコハマシジラガイの濾過効率が高いことが明らかとなった。以前に報告した室温条件での結果と比べると，高温条件下では濾過効率に差はみられなかったが，低水温条件下では濾過効率は減少した。大型水槽を用いた室内実験では，小型水槽を用いた実験と同様に室温条件下でイシガイ目の在来3種のうちタテボシガイとヨコハマシジラガイの濾過効率が高いことを追証した。甲府市の玉諸公園の池にタテボシガイを設置した野外実験では，ほぼ1年間の間に殻長，殻高，殻幅，湿重量はともに増加し，自然水域でも二枚貝類が透明度の低下を引き起こす懸濁粒子を濾過し，その栄養分を成長にあてていることが明らかになった。期間を通して一定の成長がみられるのではなく，夏季に成長が鈍化したが，これは濾過摂食で得たエネルギーを繁殖のために消費したことによると推測された。野外実験で用いたタテボシガイの核の16SリボソームRNA（16SrRNA）遺伝子の塩基配列を決定し，タテボシガイであることを遺伝学的にも確かめた。また，入手したタテボシガイに混在していた別の種類と思われる二枚貝類の塩基配列も決定し，系統関係を示した。これらの実験結果と二枚貝類の希少性や入手のしやすさを考慮し，現時点ではタテボシガイが水質浄化に最も適していると判断した。

2. 序論

現在，日本全国の淡水域の池や湖沼などで主に富栄養化による水質悪化が報告されており（環境省，2010），特に観光資源である山梨県の山中湖のような自然公園内の湖や，地域住民の憩いの場である甲府市の玉諸公園や遊亀公園のような都市型公園内の池では，水質悪化や透明度の低下は大きな問題となっている。水質の浄化を行うためには，物理学的な方法，化学的な方法，生物学的な方法がある。物理学的な方法として浄化施設を設置することは非常に効果的であると思われるが，浄化施設の建設費や人件費及び維持費が必要であるだけでなく，公園の池や湖沼ではそのような施設が景観を損ねる可能性がある。化学的な方法として例えば硫酸銅などの薬品を用いて植物を死滅させ除去することも効果的であるが，生物相や生態系に短期間に少なからぬ影響を与える可能性がある。植物や二枚貝類を用いる生物学的な方法はこれらの方法に比べると速効性はないが，環境に大きな負荷を与えることなく水質を改善することが可能であるとともに，このような取り組み自体が，地域住民に認知されることによって，生

*山梨大学大学院教育学研究科 **山梨大学教育人間科学部 ***山梨県衛生環境研究所

活雑排水や農業排水などについての住民の意識の改革をもたらすことが期待される。

二枚貝類の多くは水中の懸濁粒子を鰓で濾し取って食べる濾過摂食を行うことが知られているが、この濾過摂食が自然水系において重要な役割を担っている。Nakamura and Kerciku (2000) は、宍道湖の栄養塩循環とヤマトシジミ (*Corbicula japonica*) の濾過摂食活動の関係を解明する研究の中で、ヤマトシジミは沿岸付近に多く生息し、沿岸部の植物プランクトンを濾過摂食するため、沿岸部では植物プランクトン量は少なく、クロロフィル a 濃度が低いことを報告した。二枚貝類は水中の植物プランクトンや懸濁粒子を濾過摂食によって取り込むことによって水域の透明度の向上に貢献していると思われる。自然環境における二枚貝類の濾過摂食活動に基づく懸濁粒子の除去は、池や湖沼の透明度上昇による日光の侵入及びそれに伴う水生植物の生育を促進し、それによって多様な水生動物の生存を支え、生物多様性を増加させて生態系に厚みを付与すると考えられる。複雑で厚みのある生態系は環境変動に対して大きな耐性をもつと考えられる。また、Yokoyama and Park (2002) はラン藻類のミクロキスティスが生成する毒素ミクロキスチンの二枚貝への蓄積メカニズムを解明するために、二枚貝内のミクロキスチン濃度を測定し、カラスガイ (*Cristaria plicata plicata*) は生殖時期にミクロキスティスを選択的に大量に摂食し、イシガイ (*Unio douglasiae nipponensis*) は非選択的に常時ミクロキスティスを摂食して、水域の有害毒素を取り除くことができることを報告した。また、Faust *et al.* (2009) はタイワンシジミ (*Corbicula fluminea*) の濾過摂食の鳥インフルエンザ (AI) ウィルスへの効果を解明するため、AI ウィルスの入った水をヤマトシジミによって 48 時間濾過させた後のウィルスの生存量を調べ、48 回中 40 回の実験でウィルスは検出不可能であることを報告した。さらに、モリガモ (*Aix sponsa*) を用いて AI の発症率を調査したところ、濾過後の水を与えたモリガモは AI を発症しないことを示した。このように二枚貝類は濾過摂食活動によって、水生生物や人間の生活水に影響する毒素やウィルスを取り除くことができる。

二枚貝類は池や湖沼の水質や透明度の改善に有用であるため、この二枚貝類を用いた水質浄化方法が注目されており、国内では道頓堀川などでイケチョウガイ (*Hyriopsis schlegeli*) を使用した水質改善運動が実施されている。二枚貝類は、濾過摂食する懸濁粒子の粒径 (桑谷, 1965; Kryger and Riisgård, 1988; Sprung and Rose, 1988) や摂食する藻類の種類 (梅津ら, 1967) に選択性があり、濾過摂食活動に適した水温 (Negishi and Kayaba, 2010) のあることが報告されている。しかし、主にイシガイ目とマルスダレガイ目に属する日本在来の二枚貝類については、水質浄化における有効性に関する科学的な基礎研究は乏しい。著者らは、二枚貝類を用いた水質浄化法の有効性を検討するために、小型水槽を用いた室内実験 (第 1 段階)、大型水槽を用いた室内実験 (第 2 段階)、自然水域での野外実験 (第 3 段階) を計画し、その結果を予報として報告した (中沢ら, 2013)。イシガイ目の在来 6 種、ヌマガイ (*Anodonta lauta*)、カラスガイ、イケチョウガイ、ヨコハマシジラガイ (*Inversunio jokohamensis*)、カワシンジュガイ (*Margaritifera laevis*)、タテボシガイ (*Unio douglasiae biwae*) を用いて室温条件で濾過効率を比較し、ヌマガイ、ヨコハマシジラガイ、タテボシガイの濾過能力が高く、水質浄化に適していることを示した。また、低水温 (10℃)、高水温 (30℃) 条件での室内実験、甲府市内の遊亀公園の池での野外実験の結果を予報として報告した。

Negishi and Kayaba (2010) はマツカサガイ (*Pronodularia japonensis*) の年間の成長率及び水温と成長パターンの関係を調べ、小さな個体ほど成長率が大きく、成長し始める温度は低いこと (殻長 25mm 未満の個体で 10℃, 25 ~ 35mm の個体で 15℃, 35mm より大きな個体で 18℃) を明らかにしたが、このことは水温が摂食活動や成長に影響していることを示している。山中湖のような自然公園内の湖では冬季に水温が非常に低下する。一方、玉諸公園の池のような水深の浅い都市型公園の池では夏季に水温が非常に上昇する。それゆえ、本研究ではできる限り多くのイシガイ目の種を用いて温度条件を変えて濾過能力を比較した。その結果と第 2 段階として行った室温条件での大型水槽を用いた実験の結果を報

告する。また、以前に報告した遊亀公園の池での野外実験では、設置した二枚貝の多くが捕食されたため十分な成果が得られなかった。この経験を踏まえ、甲府市内の玉諸公園の池において第3段階の野外実験を行ったので、その結果を報告する。これらの結果を総合的に考慮し、二枚貝類の希少性などに配慮して、水質浄化に適した二枚貝類を検討する。

3. 材料と方法

(1) 二枚貝類の濾過能力の比較

本研究では、まず小型水槽を用いて、次に大型水槽を用いて、実験室で二枚貝類の水質浄化能力を調べ、最終的には実際に池や湖沼に導入して二枚貝類が水質浄化に有効であるかを検討することを計画した。実験条件、使用した二枚貝類の和名（種名）、産地、実験個体数、平均殻長、平均湿重量を表1に示す。小型水槽を用いた実験では、小型二枚貝のヨコハマシジラガイ（*Inversium jokohamensis*）とタテボシガイ（*Unio douglasiae biwae*）を10個体で1グループ、中型二枚貝のヌマガイ（*Anodonta lauta*）を5個体で1グループとし、大型二枚貝のカラスガイ（*Cristaria plicata plicata*）を2個体で1グループとした。大型水槽を用いた実験では、小型二枚貝のヨコハマシジラガイ、タテボシガイを20個体で1グループ、中型二枚貝のヌマガイを10個体で1グループとした。

自然環境に生物を移植する際、その環境に適した生物種を選ぶことが重要である。そこで、水質浄化の基準として濁度に注目し、人工的に濁度を上げた水槽に二枚貝を入れた場合と、対照実験として二枚貝を入れない場合で濁度の変化を以下のように条件を変えて、36時間比較した。

① 低水温条件における濾過能力の比較

冬季に低水温となる水域（例えば山梨県の山中湖）の水質浄化に適した二枚貝を調べるため、低水温条件において二枚貝の種間で濾過能力を比較した。10℃に設定したマイラボクロマトグラフ AC-2070（ATTO 株式会社）に、35L 水槽（縦 295mm、横 450mm、高さ 300mm）を24時間汲み置きした水道水 24L を入れて設置した。粒径 4μm、2μm、0.2μm の珪酸塩鉱物カオリン（ $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ）を使用して人工的に濁度をホルマジン濁度単位で 30～40FTU まで上げた。実験は二枚貝類を低水温条件に24時間馴化させてから粒径毎に行った。

② 高水温条件における濾過能力の比較

夏季に高水温となる水深の浅い池や沼（例えば山梨県の玉諸公園内の池）の水質浄化に適した二枚貝を調べるため、高水温条件において二枚貝の種間で濾過能力を比較した。IC サーモスタット DX-003（ジェックス株式会社）及びセフティキープ FJ デミオートブラックヒーター 100（ジェックス株式会社）を用いて水温を 30℃ に設定し、二枚貝類を高水温条件に24時間馴化させてから、水温以外を上記①と同様に設定して実験を行った。

③ 大型水槽における濾過能力の比較

小型水槽の結果をそのまま池や湖沼などの広大な水系に適用するのは困難であると思われるので、大型水槽を用いて二枚貝の種間で濾過能力を比較した。大型水槽（縦 725mm、横 1025mm、高さ 510mm）に24時間汲み置きした水道水を 200L 入れ、粒径 4μm、2μm、0.2μm のカオリンを使用して人工的に濁度を約 10FTU まで上げ、粒径毎に室温条件で実験を行った。

実験①～③では、カオリンが沈殿することを防ぐために空気量が調節できるエアポンプ ADD-X 101（有限会社アデックス）を用いて水を常時攪拌した。実験開始から1時間毎に36時間後まで濁度チェッカー TC-100（OPTEX 社）を使用して自動的に濁度を測定した。再現性を得るためにそれぞれの実験を3回行った。

二枚貝を入れた場合と入れない場合（対照実験）との濁度低下の差をグラフ化した。また、二枚貝による濾過効率 FR（%/g）を次のような式を用いて比較した。

$$FR = \{ (T_{\text{init}} - T_{\text{fin}}) / T_{\text{init}} - (t_{\text{init}} - t_{\text{fin}}) / t_{\text{init}} \} / G \times 100$$

(T_{init} , 実験開始時の濁度 (FTU) ; T_{fin} , 実験終了後の濁度 (FTU) ; t_{init} , 対照実験開始時の濁度 (FTU) ; t_{fin} , 対照実験終了時の濁度 (FTU) ; G , 実験に使用した二枚貝の総湿重量 (g))

(2) 二枚貝の公園の池への設置及び成長量の測定

自然環境において二枚貝が水質浄化に有効かどうか調べるため、二枚貝を山梨県玉諸公園の池に設置した。二枚貝は多くの個体を比較的容易に得ることができる滋賀県琵琶湖産のタテボシガイを使用した。移植前にタテボシガイの殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定し、個体識別できるように二枚貝の殻をよく拭いた後に、油性ペンを用いて通し番号を付け、乾燥後に透明なマニキュアを塗ってマーキングを施した。ステンレス製の柵 (90cm × 45cm) に3つのポケットができるようにポリエチレン製のネットを張り、ポケット1つ当たり約25～30個体ずつ計164個体のタテボシガイを入れた。公園の池にビニール製のシートを巻きつけたテント用の骨組み (縦3m, 横3m, 高さ1m) を用いて人工的な閉鎖水域 (面積9m², 容積7.2m³) を作り、ステンレス製の柵2つを2011年11月4日に設置した。その後、2012年2月3日, 2012年5月7日, 2012年8月2日, 2012年11月12日 (約3カ月毎) に殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定した。

表 1 実験に使用した二枚貝と実験条件

条件	和名(種名)	産地	実験 個体数	平均殻長 (範囲) (mm)	平均湿重量 (範囲) (g)
小型水槽 10℃ カオリン	ヌマガイ (<i>Anodonta lauta</i>)	福島県 南相馬市の小河川	5	73.62 (72.08～75.68)	44.82 (39.87～48.69)
	カラスガイ (<i>Cristaria plicata plicata</i>)	山梨県 山中湖	2	180.05 (172.80, 187.30)	726.82 (708.30, 745.33)
	ヨコハマシジラガイ (<i>Inversium jokohamensis</i>)	福島県 南相馬市の小河川	10	48.34 (44.79～53.53)	15.82 (13.23～18.75)
	タテボシガイ (<i>Unio douglasiae biwae</i>)	山梨県 山中湖	10	57.41 (50.20～62.40)	24.80 (18.29～29.22)
	ヌマガイ (<i>Anodonta lauta</i>)	福島県 南相馬市の小河川	5	73.28 (70.29～75.68)	44.68 (39.87～48.88)
小型水槽 30℃ カオリン	カラスガイ (<i>Cristaria plicata plicata</i>)	山梨県 山中湖	2	180.05 (172.80, 187.30)	726.82 (708.30, 745.33)
	ヨコハマシジラガイ (<i>Inversium jokohamensis</i>)	茨城県 那珂市	10	45.38 (36.10～55.20)	14.94 (6.62～29.38)
	タテボシガイ (<i>Unio douglasiae biwae</i>)	山梨県 山中湖	10	59.04 (47.33～74.20)	27.96 (16.71～43.32)
	ヌマガイ (<i>Anodonta lauta</i>)	福島県 南相馬市の小河川	10	73.49 (70.29～75.68)	45.13 (39.87～49.68)
	ヨコハマシジラガイ (<i>Inversium jokohamensis</i>)	福島県 南相馬市の小河川	20	46.00 (40.61～54.84)	13.70 (9.19～23.81)
大型水槽 室温 カオリン	タテボシガイ (<i>Unio douglasiae biwae</i>)	山梨県 山中湖	20	55.00 (47.33～61.97)	22.04 (16.26～26.63)

実験条件, 使用した二枚貝の和名 (種名), 産地, 実験に用いた個体数, 平均殻長 (範囲, mm), 平均湿重量 (範囲, g) を示す。

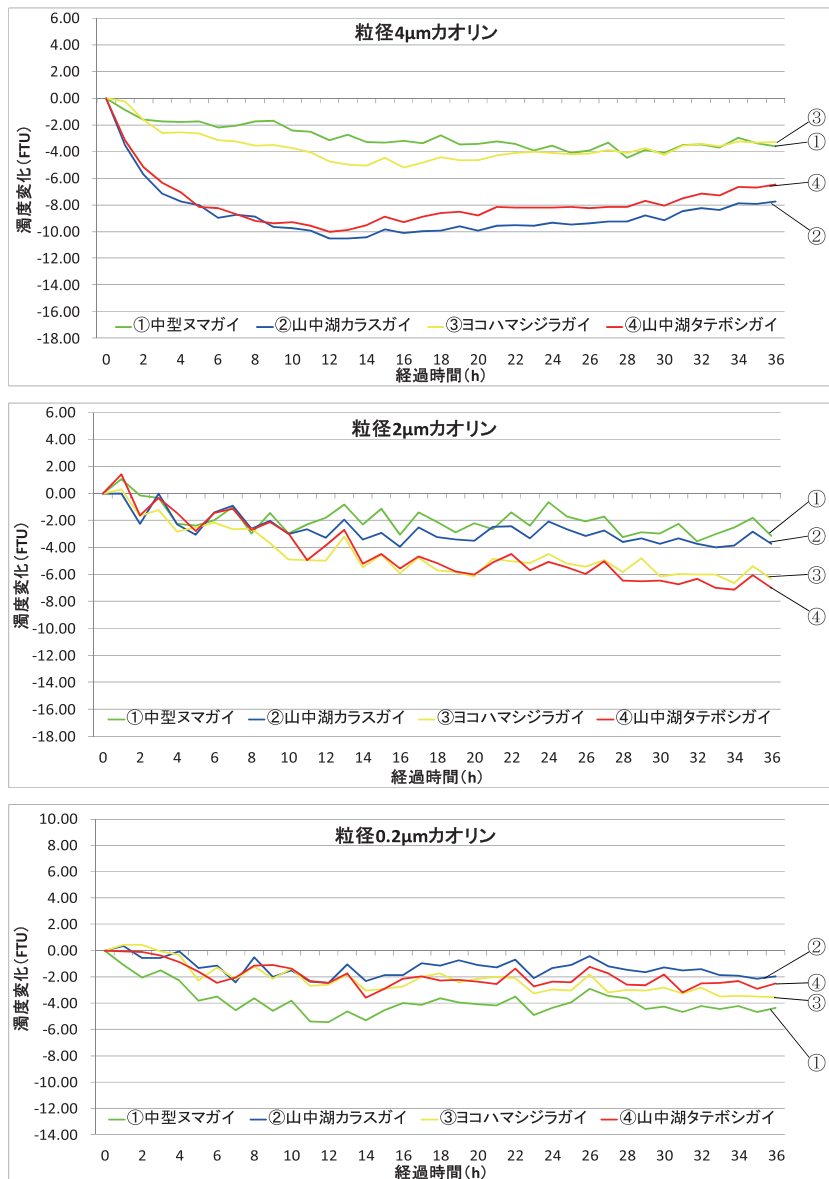
(3) DNA 塩基配列決定による二枚貝の同定

生物を移植する際に、種もしくは種内に明瞭に分けられる集団が存在する場合にはその集団を明確に記録しておく必要がある。そこで、移植したタテボシガイの中からランダムに選んだ4個体の核の16SリボソームRNA (16SrRNA) 遺伝子の塩基配列を決定した。

二枚貝の足から DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて DNA を調製した。センスプライマー 16S3L (5'-TGAGCGTGCTAAGGTAGC-3') とアンチセンスプライマー 16S4H (5'-AGCCAACATCGAGGTCGC-3') を使用し、DNA 合成酵素 KOD-Dash を用いて、予備熱変性 (94℃, 2分間), 熱変性 (94℃, 1分間)・アニーリング (57℃, 30秒間)・伸長 (72℃, 1分間) で35サイクル, 最終伸長 (72℃, 8分間) の条件で PCR を行った。増幅した DNA 断片をエタノール沈殿で精製し、シーケンスリアクションを行っ

た後、377DNasequencer (Applied Biosystems) を使用して塩基配列を決定した。MEGA4.0.2 (Kumar *et al.*, 2004) を用いて、得られた塩基配列のアライメントを行い、近隣結合法 (NJ 法) により樹形図を構築した。樹形の信頼性を調べるために 1000 回の反復によりブートストラップ検定を行った。遺伝的距離は木村の 2 パラメーター法 (Kimura, 1980) により算出した。系統樹を作成する際、タイワンシジミ (*Corbicula fluminea*) をアウトグループとして用いた。

図 1 低水温条件における濁度変化



二枚貝を入れた場合と入れない場合との濁度低下の差を 3 回の実験の平均で示す。縦軸は濁度変化 (FTU), 横軸は経過時間 (h) を示す。

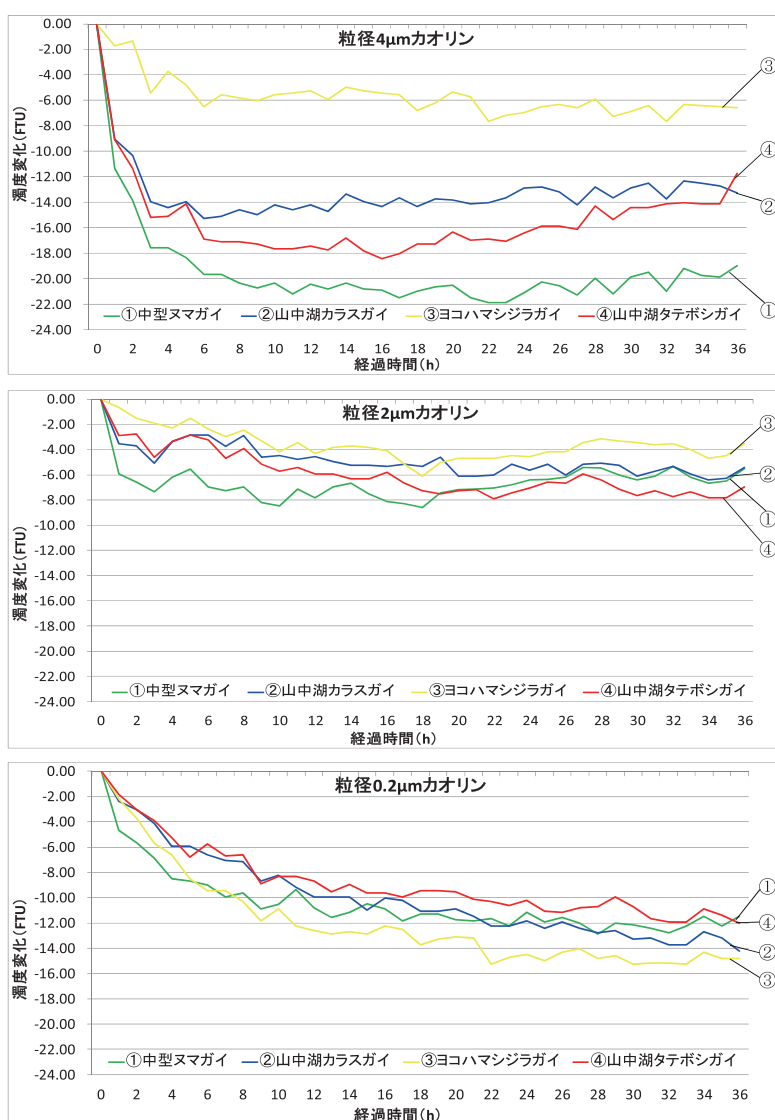
4. 結果

(1) 二枚貝類の濾過能力の比較

① 低水温条件における濾過能力の比較

実験開始から2時間後までに一時的な濁度の上昇がみられた場合があったが、それ以降はカオリンの粒径に関係なく二枚貝のどの種を用いても対照実験よりも濁度の低下がみられた（図1）。3回の実験の平均で、粒径4 μm のカオリンを用いた場合に濁度低下が大きかったものは、山中湖カラスガイ、山中湖タテボシガイであった。粒径2、0.2 μm のカオリンを用いた場合には、濁度低下に二枚貝の種による大きな相違はみられなかった。なお、山中湖カラスガイと山中湖タテボシガイの結果は中沢ら（2013）で報告した。

図2 高水温条件における濁度変化

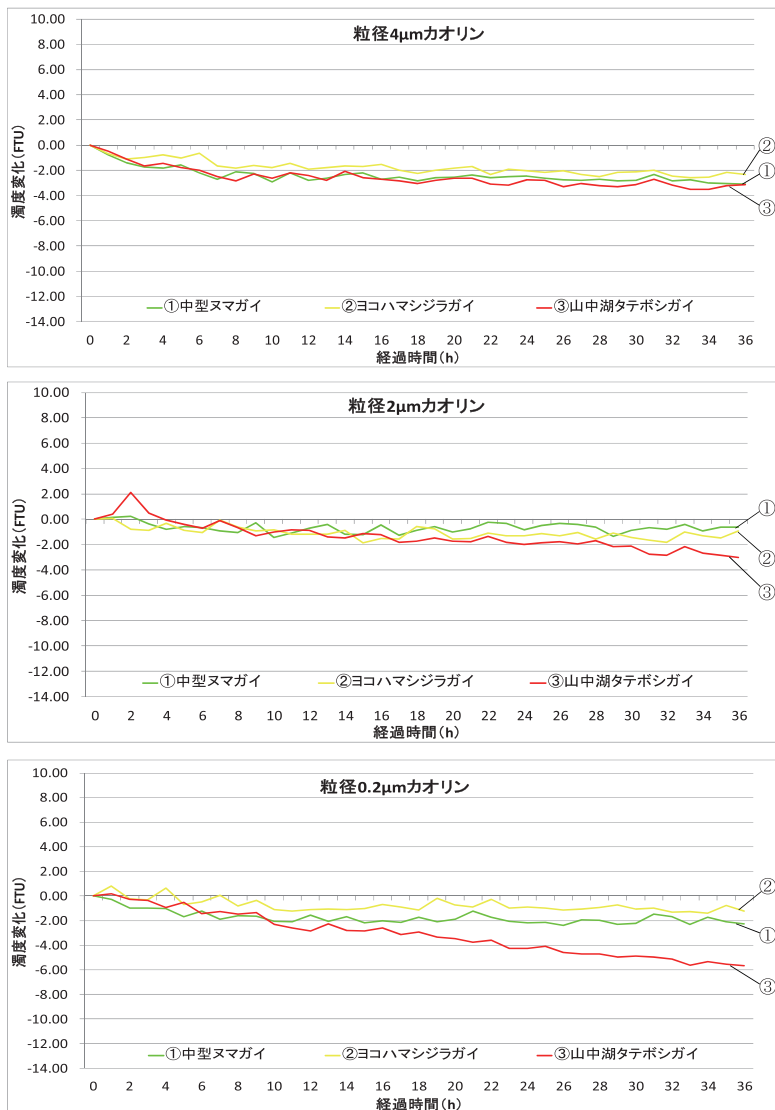


二枚貝を入れた場合と入れない場合との濁度低下の差を3回の実験の平均で示す。縦軸は濁度変化（FTU）、横軸は経過時間（h）を示す。

② 高水温条件における濾過能力の比較

カオリンの粒径に関係なく二枚貝のどの種を用いても対照実験よりも濁度の低下がみられた（図2）。粒径4 μm のカオリンを用いた場合には、中型ヌマガイ、山中湖カラスガイ、山中湖タテボシガイでヨコハマシジラガイよりも大きな濁度低下がみられ、特に中型ヌマガイにおいて濁度低下が顕著だった。粒径2 μm 、0.2 μm のカオリンを用いた場合には、濁度低下に二枚貝の種による大きな相違はみられなかった。なお、山中湖カラスガイ、ヨコハマシジラガイ、山中湖タテボシガイの結果は中沢ら（2013）で報告した。

図3 大型水槽を使用した室温条件における濁度変化



二枚貝を入れた場合と入れない場合との濁度低下の差を3回の実験の平均で示す。縦軸は濁度変化 (FTU)、横軸は経過時間 (h) を示す。

③ 大型水槽における濾過能力の比較

大型水槽においては、実験開始時の濁度（カオリンの濃度）などの条件は異なるものの、小型水槽と

同様に二枚貝による濁度の低下がみられた（図3）。実験開始から3時間後までに一時的な濁度の上昇がみられた場合があったが、それ以降はカオリンの粒径に関係なく二枚貝のどの種を用いても対照実験よりも濁度の低下がみられた。粒径4, 2 μm のカオリンを用いた場合には濁度低下に二枚貝の種による大きな相違はみられず、粒径0.2 μm のカオリンを用いた場合には山中湖タテボシガイにおいて濁度低下が顕著だった。

実験条件毎の湿重量当たりの二枚貝類の濾過効率FRを表2に示す。小型水槽を使用した室温条件及びカオリンの代わりにクロレラを用いた条件での実験結果は中沢ら（2013）で報告した。室温条件で濾過効率の高いものはヌマガイ（大型、小型）、ヨコハマシジラガイ、タテボシガイ（河口湖、山中湖）であった。低水温条件ではヨコハマシジラガイ、山中湖タテボシガイ、高水温条件ではヌマガイ（中型）、ヨコハマシジラガイ、山中湖タテボシガイ、クロレラを用いた場合にはヨコハマシジラガイ、山中湖タテボシガイの濾過効率が高かった。大型水槽を用いた場合には山中湖タテボシガイで濾過効率が高かった。

表2 湿重量当たりの二枚貝の濾過効率FR

		大型 ヌマガイ	中型 ヌマガイ	小型 ヌマガイ	河口湖 カラスガイ	山中湖 カラスガイ	イケチヨウ ガイ	ヨコハマ シジラガイ	カワ シンジュガイ	河口湖 タテボシガイ	山中湖 タテボシガイ
室温	4 μm	0.09±0.03		0.08±0.00	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.08±0.02	0.05±0.02	0.04±0.03	0.05±0.02
	2 μm	0.12±0.03		0.10±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.10±0.01	0.07±0.04	0.17±0.04	0.12±0.02
	0.2 μm	0.14±0.09		0.13±0.04	0.02±0.01	0.03±0.01	0.03±0.02	0.10±0.08	0.02±0.05	0.09±0.05	0.12±0.05
低水温(10℃)	4 μm		0.00±0.00			0.01±0.00		0.10±0.02			0.08±0.00
	2 μm		0.00±0.00			0.01±0.00		0.06±0.03			0.02±0.00
	0.2 μm		0.01±0.00			0.01±0.00		0.07±0.03			0.03±0.02
高水温(30℃)	4 μm		0.20±0.00			0.03±0.00		0.11±0.01			0.12±0.03
	2 μm		0.08±0.01			0.01±0.00		0.14±0.02			0.10±0.00
	0.2 μm		0.12±0.01			0.03±0.00		0.24±0.01			0.14±0.02
クロレラ	遮光あり							0.35±0.04			0.29±0.00
	遮光なし							0.54±0.00			0.26±0.00
大型水槽	4 μm		0.04±0.01					0.06±0.01			0.04±0.01
	2 μm		0.02±0.01					0.04±0.00			0.08±0.02
	0.2 μm		0.03±0.00					0.03±0.03			0.13±0.01

濾過効率FRの3回の実験の平均（%/g）と標準誤差を示す。橙色は0.10～0.19%/g、赤は0.20%/g以上を示す。

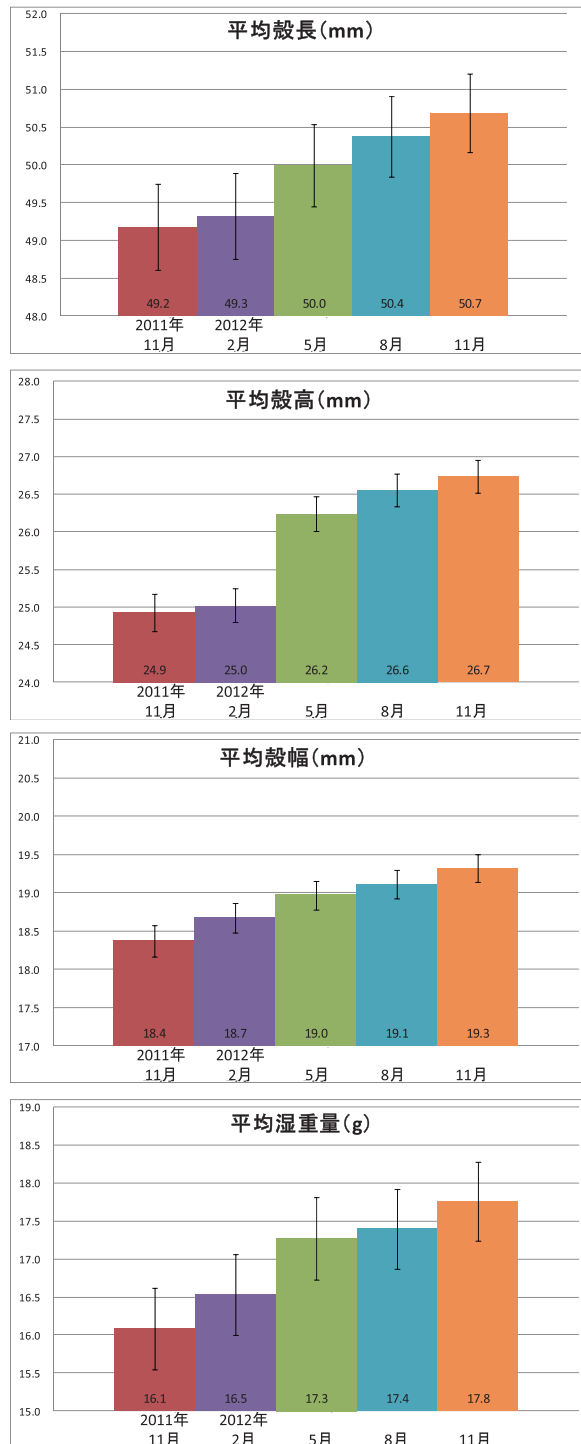
(2) 玉諸公園の池に設置した二枚貝の成長量の測定

玉諸公園の池に2011年11月に設置したタテボシガイ164個体のうち2012年11月までに生存していた90個体の殻長、殻高、殻幅、湿重量を示す（図4）。平均殻長は2011年11月、2012年2月、5月、8月、11月でそれぞれ49.2、49.3、50.0、50.4、50.7mmであり、特に2012年2月から5月にかけて増加した。平均殻高はそれぞれ24.9、25.0、26.2、26.6、26.7mmであり、特に2012年2月から5月にかけて増加した。平均殻幅はそれぞれ18.4、18.7、19.0、19.1、19.3mmであり、ほぼ同じ割合で増加した。平均湿重量はそれぞれ16.1、16.5、17.3、17.4、17.8gであり、特に2011年11月から2012年5月にかけて及び8月から11月にかけて増加した。

(3) DNA 塩基配列決定による二枚貝の同定

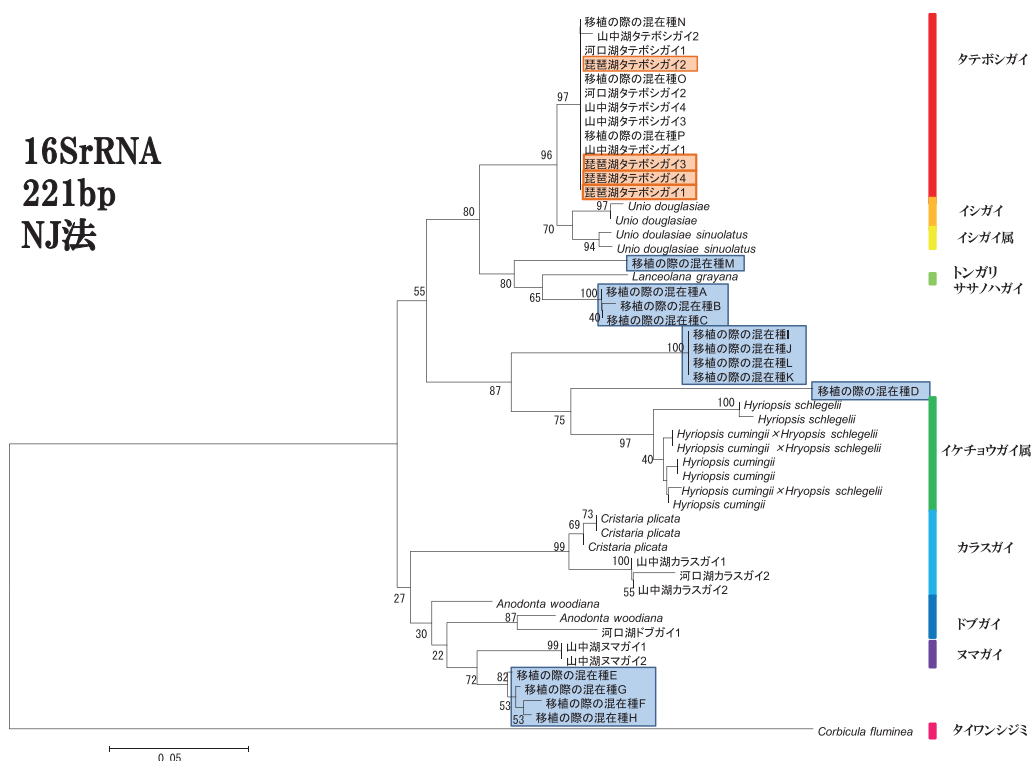
16SrRNA 遺伝子の塩基配列に基づいた樹形図を図5に示す。玉諸公園の池に設置した琵琶湖産タテボシガイ1～4は、異なる産地のタテボシガイと単系統群を形成した。入手した琵琶湖産タテボシガイには、明らかに形態の異なる二枚貝が混在しており、それら（混在種A～P）の塩基配列も決定した。これらの内、混在種N～Pはサイズが小さかったために形が異なるようにみえたタテボシガイであった。他の混在種の同定は今後行う予定である。

図4 玉諸公園の池に設置したタテボシガイの殻長、殻高、殻幅、湿重量の推移



縦軸はそれぞれ殻長 (mm)、殻高 (mm)、殻幅 (mm)、湿重量 (g) を、横軸は測定月を、バーは標準誤差を示す。

図 5 16SrRNA 遺伝子の塩基配列に基づき構築した樹形図



本研究で塩基配列を決定した二枚貝を四角の枠で示す。

5. 考察

(1) 水質浄化に適した二枚貝の検討

室温実験で使用した二枚貝のうち、ヌマガイ (*Anodonta lauta*)、ヨコハマシジラガイ (*Inversium jokohamensis*)、タテボシガイ (*Unio douglasiae biwae*) は濾過効率がが高く、水質浄化に有効であると考えられる(表2)。室温条件においてヌマガイの大型個体と小型個体の濾過効率に有意な差がなかった(粒径 4, 2, 0.2 μ m のカオリンを用いた場合でそれぞれ t 検定を行ったところ、p は 0.68, 0.62, 0.79 であった)。また、河口湖産及び山中湖産のタテボシガイの濾過効率には粒径 0.2 μ m のカオリンを使用した場合を除いて有意な差がなかった(粒径 4, 2, 0.2 μ m のカオリンを用いた場合でそれぞれ p は 0.62, 0.20, 0.09 であった)。それゆえ、同じ種であれば濾過効率はサイズや産地に関係なく比較的安定していると言える。ただし、河口湖と山中湖のタテボシガイは在来のもではなく、おそらく琵琶湖より移植され、各々の湖で繁殖してきたと思われ、各々の湖の環境条件(例えば平成 21 年度山梨県公共用水域水質測定結果によると、湖心の年平均水温は河口湖と山中湖の間で約 2℃異なる)に適応したため、濾過効率の若干の相違がみられた可能性がある。室温条件以外の条件の実験は、中型個体のヌマガイと山中湖産のタテボシガイのみを用いて行った。

小型水槽における室温条件の実験では 6 種の二枚貝を用いたが、実際に自然水系に移植する二枚貝を選定する際には同定の信頼性や二枚貝の希少性(入手のしやすさ)を考慮しなければならない。イケチョウガイ (*Hyriopsis schlegelii*) については、近縁なヒレイケチョウガイ (*Hyriopsis cumingii*) が中国から日本の茨城県霞ヶ浦と滋賀県琵琶湖に移植されており (Shirai *et al.*, 2010)、両者を形態学的に区別することは困難である。移植によって外来種であるヒレイケチョウガイの分布を拡大させてしまうことが危

惧されるので、水質浄化にイケチョウガイを用いることは難しいと思われる。また、カラスガイ (*Cristaria plicata plicata*)、イケチョウガイ、カワシンジュガイ (*Margaritifera laevis*) は、それぞれ準絶滅危惧、絶滅危惧 I 類、絶滅危惧 II 類に指定されており (自然環境研究センター, 2007)、保護すべき対象であるので、二枚貝を用いた大規模な水質浄化を行う際には適していない。実際に本研究では、小型水槽における室温、低水温、高水温条件の実験でカラスガイを使用することができたが、その後採集できなかつたため、他の実験では用いなかった。ヨコハマシジラガイは準絶滅危惧に指定されており (それにもかかわらず比較的入手しやすい)、大規模な水質浄化を行う際には野生個体数を減少させないよう配慮する必要がある。

カラスガイ、イケチョウガイ、カワシンジュガイなどの大型の二枚貝のほうが、ヨコハマシジラガイやタテボシガイなどの小型の二枚貝よりも水質浄化に有効であると当初は考えていたが、表 2 より比較的小型な二枚貝のほうが濾過効率は高いことが明らかとなった。それゆえ、二枚貝類による自然水系の大規模な水質浄化を行う際には、湿重量当たりの濾過効率の高い小型の二枚貝を移植するほうが運搬費用、水質浄化の面から考えて適切であると考えられる。今回実験で使用したタテボシガイ、ヨコハマシジラガイは比較的容易に入手できる小型の二枚貝である。この 2 種は有機物 (クロレラ) を用いた場合でも高い濾過効率を示しており、自然水系においても有機物を濾過摂食し、水質浄化に貢献すると思われる。また、タテボシガイ、ヨコハマシジラガイは低水温条件下では効率が落ちるものの懸濁粒子を濾過しており、高水温条件下でも濾過効率が高かった。そのため、冬季に低温となる山中湖や夏季に高温となる都市型公園の池などでも水質浄化を行うのに用いることができると考えられる。山元ら (2002) は海産のアコヤガイ (*Pinctada fucata martensii*) の捕食機構を明らかにするため、鰓上での粒子運搬の様子を異なる水温条件で観察し、繊毛運動は水温 12℃ の時よりも 28℃ の時のほうが盛んとなり、粒子運搬速度は 3 ~ 4 倍速くなることを報告した。本研究においても濾過効率は低水温条件よりも高水温条件で高く、高水温条件では粒子運搬速度が速いことによって濾過作用が効果的に行われたと推測される。タテボシガイは大型水槽を使用して実験を行った場合でも濾過効率高く、広い水系においても水質浄化に用いることができると考えられる。玉諸公園の池に設置した人工的な閉鎖水域 (約 7200L) の濁度を 1 ヶ月で 1 FTU 下げるのに必要な二枚貝の湿重量を、粒径 4, 2, 0.2 μm のカオリンを用いた大型水槽実験の結果から算出したところ、中型ヌマガイではそれぞれ、26.7, 129.4, 35.2kg であり、ヨコハマシジラガイでは、22.9, 53.1, 41.1kg、山中湖タテボシガイでは、26.3, 26.2, 14.0kg であった。すなわち、玉諸公園内の閉鎖水系の濁度を 1 ヶ月で 1 FTU 下げるのに必要な二枚貝の量は、粒径 4 μm 程度の懸濁粒子が存在する場合はヨコハマシジラガイが最も少なく、粒径 2 あるいは 0.2 μm 程度の懸濁粒子が存在する場合はタテボシガイが最も少ないと推定される。ヨコハマシジラガイは準絶滅危惧に指定されていることを配慮して、現段階としては自然水系の水質浄化を行う上でタテボシガイが最も有効であると考えられる。

本研究では、クロレラを用いた場合を除いて二枚貝類が餌として利用できないカオリンを使用して水槽実験を行ったが、すべての実験で二枚貝を入れた場合に対照実験よりも濁度が減少し、透明度が向上していた。そのため、餌として利用できない懸濁物質の多い水系であっても、二枚貝は水系の透明度を高めることができ、水質浄化に貢献すると考えられる。藤田と宮崎 (2009) は、マツカサガイ (*Pronodularia japonensis*)、カラスガイ、ヒメタニシ (*Sinotaia quadrata histrica*) の水中の懸濁物質への影響を検討するため、藻類 (珪藻と藍藻) を懸濁物質として与え、これらの貝が粒径の小さな懸濁物質を取り込み、それらをまとめて糞や偽糞として排出することで懸濁物質の粒径が大きくなり、沈降速度を速めることを報告した。イシガイ目二枚貝類の他に水域の透明度を高める可能性のある生物として、淡水域には上述の研究で用いられたヒメタニシのような巻貝類やマルスダレガイ目に属する二枚貝類などがある。そのため、今後はこれらの生物を用いて水槽実験を行い、水質浄化に適した生物種を検討していく必要がある。

(2) 二枚貝の移植について

玉諸公園の池に二枚貝を設置する際に柵に取り付けたネットに二枚貝を収納したのは、二枚貝をある程度成長させてから回収する必要があるからである。移植して成長させた後に回収することで、自然水系から有機物を除去し、水質浄化を適切に行うことができる。定期的に回収しなければ、単に水質悪化の原因となる有機物を投入したことになるってしまう。玉諸公園の池に設置した当初二枚貝の死亡率が高かった。本来二枚貝類は砂泥に潜って底生生活を行うので、ネットを使った場合死亡率が高くなる可能性があり、今後さらに設置法を工夫する必要がある。青木ら(2011)は真珠養殖に用いられるアコヤガイの状態を把握する方法を確立するため、閉殻力とタンパク質量、グリコーゲン量、及び閉殻筋重量の関係を調査し、それらの間に有意な正の相関があることを報告した。それゆえ、閉殻力を調べることで、二枚貝の生理・栄養状態を把握することができると考えられる。この方法によって二枚貝を選定し、より健康なものを移植することによって死亡率を下げるができると思われる。以前山梨県遊亀公園の池にタテボシガイを設置した際に、池に生息するおそらくカメによって多くの個体が捕食された。移植に先立って二枚貝類を捕食する生物が生息しているか否か調査し、生息する場合には防御用の柵で二枚貝類が捕食されないよう対処しなければならない。実際に遊亀公園の池では、防御用の柵を設置することによって二枚貝の捕食を防ぐことができた。また、梅津ら(1967)はムラサキガイ(*Mytilus edulis*)に餌となる藻類を区別する選択能力があるか否かを解明するため、3種の藻類(緑藻と珪藻)を与え、濾過率を調べた。藻類の種類によって濾過率が異なり、二枚貝が選択能力をもつことが明らかとなった。したがって、どのような藻類が生息しているか事前に調査することも、水質浄化の効果を予測するために必要であると思われる。

Kamermans(1994)は堆積物摂食及び懸濁物摂食を行う海産二枚貝の食物競争について明らかにするため、胃内藻類と環境要因との関係を調査した。二枚貝の摂食と潮汐周期との間には有意な相関があり、潮汐によって引き起こされる速い水流は二枚貝の摂餌に負の影響を及ぼすと報告した。Stuart *et al.*(2001)は淡水魚を養殖する際に発生する緑藻及び藍藻の除去法を確立するため、*Elliptio complanata*の濾過率を流量を変えて測定した。この二枚貝の濾過率は流量2.5ℓ/minまでは増加したものの、3.0ℓ/minでは減少した。そのため、自然環境において流量が大きく濾過摂食の障害となる場合には、濾過率を高い状態に保つため流量を抑制する処置を施した後に二枚貝を移植する必要がある。また、山崎ら(2008)はヤマトシジミの生息数と底質との関係を解明するため、茨城県涸沼におけるヤマトシジミの生息数と底質のシルト含有量及び強熱減量(堆積物中の有機物量)を調べた。ヤマトシジミはシルト含有率5%以下、強熱減量3%以下の水深2m以浅に多く生息していた。淡水二枚貝類は比較的水深の浅い水域に生息していると思われる。濱田と北川(2010)は山中湖の溶存酸素飽和度を調べ、夏期に水深8m以深は湖面からの酸素供給が十分でなく、分解者が有機物の分解に大量に酸素を消費するため、貧酸素状態となると述べている。他の池や湖沼においても同様のことが起こり得る可能性があり、水質浄化のために二枚貝を移植する際は、二枚貝が貧酸素状態により死亡するのを防ぐため、比較的水深の浅い地点に二枚貝を移植する必要がある。

二枚貝を移植する際には移植する時期にも配慮する必要がある。自然水系内の懸濁物質を取り除くには、成長率の高い時期に二枚貝を移植するのが効果的であると思われる。本研究で玉諸公園の池に設置したタテボシガイの平均殻長は特に2月から5月に増加した(図8)。近藤(1992)は京都市内の水路において、タテボシガイ(*Unio douglasiae biwae*)の亜種のイシガイ(*Unio douglasiae nipponensis*)の殻長の季節的変化を明らかにした。イシガイの殻長は、1987年7月から10月まで平均して0.94mm、10月から11月まで0.58mm、11月から1988年2月まで0.13mm、2月から3月まで0.05mm、3月から5月まで0.06mm、5月から7月まで0.13mm、7月から9月まで0.13mm増加した。1987年と1988年のほぼ同じ時期で成長量が異なるように見え、また、本研究で用いたタテボシガイとも成長時期が異な

る。これは、得たエネルギーを生殖に用いる時期と成長に用いる時期が、地域で、また年によって異なる可能性を示している。一方、二枚貝類の成長を判断する上では湿重量に注目する方が妥当であると思われる。本研究で玉諸公園の池に設置したタテボシガイの平均湿重量は特に 2011 年 11 月から 2012 年 5 月及び 2012 年 8 月から 11 月（すなわち 5 月から 8 月を除いて）に顕著に増加した。近藤（1987）は岡山県祇園用水において、淡水二枚貝の幼生であるグロキディウムが付着する魚類を採集し、イシガイ類 7 種のグロキディウムの放出時期を明らかにした。これによるとイシガイのグロキディウム放出時期は 4～8 月であった。繁殖期はそれより少し前から始まると思われるが、タテボシガイの繁殖期もイシガイと同様であるとするれば、本研究でタテボシガイの湿重量の増加が少なかった春季から夏季は繁殖期であり、この時期には濾過摂食により得たエネルギーが生殖に使われたと考えられる。それゆえ、その時期を避けてタテボシガイを移植するのが効果的である。また、生殖を行わない若い個体を用いることで、時期に関係なく二枚貝を移植することができる。Negishi and Kayaba (2010) はイシガイ科のマツカサガイの成熟と成長率の関係について言及しており、成熟していない個体の成長率が成熟した個体に比べ非常に大きいことを示した。タテボシガイにおいても、成熟していない個体を用いることで効果的に自然水系内の有機物を取り除くことができると思われる。近藤（1987）の調査では、イシガイの抱卵している雌の最小殻長は 29.5mm であった。本研究において使用したタテボシガイの多くは殻長が 29.5mm を超えており、それよりも小さな個体を入手することは困難であった。Nakamura (2004) はアサリ (*Ruditapes philippinarum*) の濾過摂食と成長の関係を調べるために、珪藻を与え濾過率と成長量を測定した。成熟した個体では濾過活動が滞ることがあるものの、成熟していない稚貝では濾過活動は休止せず、実験期間中濾過活動を継続した。成熟個体は入水管が大きく濾過活動時には稚貝よりも多くの懸濁粒子を取り込むことができるが、濾過活動の持続性に関しては、稚貝を利用するほうが水質浄化に有効であると考えられる。以上のことから、成熟に達していない若い個体を用いること、若い個体が得られない場合はタテボシガイを 9～10 月に設置して 3～4 月に回収することが水質浄化を行う上で効果的であると考えられる。吉澤ら（2011）は山中湖において沈水植物を用いた水質浄化法を検討しており、900m² に生育するホザキノフサモ (*Myriophyllum spicatum*) 及びセキショウモ (*Vallisneria asiatica*) の半分を刈り取ると、窒素 0.9kg 及びリン 0.3kg を水域外に取り出すことができると報告した。タテボシガイを用いて透明度を高め、水生植物を植栽して窒素やリンを固定させ、二枚貝と植物を水域外に取り出すことで水質浄化を効果的に行うことができると考えられる。

6. 謝辞

研究用二枚貝類を提供してくださった稲葉修氏（福島県南相馬博物館）、カオリンを提供してくださった株式会社イメリスミネラルズジャパン、クロレラを提供してくださった高橋一孝氏（山梨県水産技術センター）、道頓堀川へのイケチョウガイの移植などの二枚貝の水質浄化法の情報を提供してくださった須知裕曠氏（日本水陸両用車協会）、二枚貝類の同定にご協力いただいた福原修一氏（梅花学園）に心より感謝致します。

7. 参考文献

- 1) 青木秀夫, 藤原孝之, 石川卓, 渥美貴史, 阿部久代, 神谷直明. 古丸明抑制飼育期間におけるアコヤガイの閉殻力および軟体部諸形質の変動. 三重県水研報, 20, 1-7, 2011.
- 2) Faust C., Atallknecht D., Swayne D., Brown J. Filter-feeding bivalves can remove avian influenza viruses from water and reduce infectivity. Proceedings of the Royal Society B, 276, 3727-3735, 2009.
- 3) 藤田和男, 宮崎清. 貝類による水中の懸濁物質への影響に関する考察. 岡山県環境保健センター年報, 33, 37-42, 2009.

- 4) 濱田浩美, 北川義人. 山中湖における水温・水質の季節変化と水収支に関する研究. 千葉大学教育学部研究紀要, 58, 371-380, 2010.
- 5) Kamermans P. Similarity in food source and timing of feeding in deposit- and suspension-feeding bivalves. Marine Ecology Progress Series, 104, 63-75, 1994.
- 6) 環境省. 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物(環境省野生生物課編). 自然環境研究センター, 2007.
- 7) 環境省. 平成22年度公共用水域水質測定結果 (<http://www.env.go.jp/water/suiiki/h22/full.pdf>), 2010.
- 8) Kimura M. A simple methods for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution, 16:111-120, 1980.
- 9) 近藤高貴. イシガイ類7種の繁殖期. Venus, 46 (4), 227-236, 1987.
- 10) 近藤高貴. イシガイとトンガリササノハガイの個体群密度と成長. Venus, 51 (3), 219-224, 1992.
- 11) Kryger J., Riisgård H. U. Filtration rate capacities in 6 species of European freshwater bivalves. Oecologia, 77, 34-38, 1988.
- 12) Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Brief Bioinform, 5, 150-163, 2004.
- 13) 桑谷幸正. 炭素粒子投与によるアコヤガイの摂餌機構の解明. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 31(10), 789-798, 1965.
- 14) Nakamura Y. Suspension feeding and growth of juvenile Manila clam *Ruditapes philippinarum* reared in the laboratory. Fisheries Science, 70, 215-222, 2004.
- 15) Nakamura Y., Kerciku F. Effects of filter-feeding bivalves on the distribution of water quality and nutrient cycling in a eutrophic coastal lagoon. Journal of Marine Systems, 26, 209-221, 2000.
- 16) 中沢公士, 三森勇太, 森本絢加, 中村梓実, 井上沙緒里, 吉澤一家, 宮崎淳一. 淡水二枚貝を用いた水質浄化方法の検討(予報). 山梨大学教育人間科学部紀要, 14, 7-18, 2013.
- 17) Negishi J. N., Kayaba Y. Size-specific growth patterns and estimated longevity of the unionid mussel (*Pronodularia japonensis*). Ecological Research, 25, 403-411, 2010.
- 18) Shirai A., Kondo T., Kajita T. Molecular markers reveal genetic contamination of endangered freshwater pearl mussels in pearl culture farms in Japan. Venus, 68(3-4), 151-163, 2010.
- 19) Sprung M., Rose U. Influence of food size and food quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha*. Oecologia, 77, 526-532, 1988.
- 20) Stuart K. R., Eversole A. G., Brune D. E. Filtration of Green Algae and Cyanobacteria by Freshwater Mussels in the Partitioned Aquaculture System. Journal of the World Aquaculture Society, 32(1), 105-111, 2001.
- 21) 梅津武司, 上田和夫, 古川厚. ムラサキイガイによる餌粒子の選択についての一検討方法(予報). 瀬戸内海区水産研究所研究報告, 24, 11-20, 1967.
- 22) 山崎幸夫, 須能紀之, 根本隆夫. 沼沼におけるヤマトシジミ稚貝の分布と底質環境. 茨城内水試研報, 41, 25-31, 2008.
- 23) 山元憲一, 半田岳志, 山下勲. アコヤガイの鰓での粒子運搬. Suisanzoshoku, 50(3), 309-314, 2002.
- 24) 山梨県. 平成21年度公共用水域水質測定結果 (<https://www.pref.yamanashi.jp/taiki-sui/documents/h21fujigoko.pdf>), 2009.
- 25) Yokoyama A., Park H. Mechanism and Prediction for Contamination of Freshwater Bivalves (Unionidae) with the Cyanobacterial Toxin Microcystin in Hypereutrophic Lake Suwa, Japan. Environmental Toxicology, 17 (5), 423-433, 2002.
- 26) 吉澤一家, 高橋一孝, 池口仁, 芹澤(松山)和世, 御園生拓, 平田徹, 森一博, 宮崎淳一, 芹澤如比古, 永坂正夫. 自然公園における湖の水質の向上に関する研究. 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, 6, 1-19, 2011.