

「曾根干潟における貴重種の特定と保護・保全活動」

令和元年度活動報告書

自然環境定量評価研究会

令和 2 年 3 月

目 次

「曾根干潟における貴重種の特定と保護・保全活動」	0
令和元年度活動報告書	0
1. 活動目的	3
2. 活動内容	3
2.1 現地調査計画	3
2.2 調査内容	3
(1) 目視による生物調査	3
(2) ヨシ原における目視による生物調査	4
(3) 底質・底生生物調査	4
(4) 地中温度変動調査	5
2.3 調査時の潮位	6
3. 調査結果	7
3.1 目視調査結果	7
(1) 大野川河口ヨシ原での目視調査	7
(2) カブトガニ幼生調査のルート上測点における巻貝類の分布	5
(3) カブトガニの幼生調査	6
3.2 底質・底生生物調査結果	24
(1) 底質調査	24
(2) 底生生物調査	25
(3) 底質・底生生物に関する経年の変化	35
3.3 地中温度変動調査結果	45
4. 環境 DNA 調査	57
4.1 はじめに	57
(1) 環境 DNA とは	57
(2) カブトガニ (学名 : <i>Tachypleus tridentatus</i>)	57
(3) 曽根干潟	57
(4) 調査の目的	57
4.2 材料と方法	58
(1) 干潟表層水と底質試料の採取	58
(2) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 分析 (種特異的解析)	59
(3) 底質からのカブトガニの環境 DNA 分析 (種特異的解析)	60
4.3 結果および考察	61

(1) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 分析（種特異的解析）	61
(2) 底質からのカブトガニの環境 DNA 分析（種特異的解析）	63
(3) 底質からのカブトガニ環境 DNA の可能性	63
(4) 今後の課題	63
5. まとめ	66

1. 活動目的

曾根干潟は、100万都市北九州市に位置する唯一の広大な干潟である。この干潟には、カブトガニやヤマトオサガニ、塩性植物のシバナなどの絶滅危惧種や貴重種が生存しているため、これらの貴重な生物を保護・保全することが重要である。本活動は、絶滅危惧種や貴重種に着目して、それらの生物を保護・保全するための方法を究明することを目的とする。今年度は、カブトガニ幼生を対象とした環境DNAの調査を新たに実施した。

2. 活動内容

- 1) カブトガニやヤマトオサガニ、塩性植物のシバナなどの絶滅危惧種や貴重種の生存の有無や生息場所、および生息量を把握する。
- 2) 曽根干潟で行われた既存の調査資料を収集し、過去の状況を把握し、今回の結果と比較する。
- 3) 環境モデル都市を標榜する北九州市にとって、生物多様性とくに生態系においても優しい町であるとの対外的な広報に資する。

2.1 現地調査計画

調査内容は、表-2.1に示すとおりである。

表-2.1 調査内容

項目	研究項目	細目	地点数	備考
準備	計画準備	打合せ	-	6月24日
調査項目	目視生物調査	絶滅危惧種・貴重種(カブトガニ幼生) (種名、個体数、大きさ、位置)	全干潟 ルート上	夏季(干潮時)
	底質調査	粒度組成、化学的酸素要求量(COD _{sed})、 硫化物、クロロフィルa、溶存態硫化水素	4(st.1 ～st.4)	夏季(干潮時)
	底生生物調査 分析・同定	底生生物(種別個体数、湿重量) 底生生物同定	4(st.1 ～st.4)	夏季(干潮時) 種数、個体数、 湿重量
	地中温度変動 調査	水温計による連続計測	6	夏季(1年間)
	環境DNA調査	底質採取、DNA分析	8	夏季
成果	報告書作成	提出用の報告書	-	
	ホームページ 更新	外部に発信するための抜粋版		

2.2 調査内容

(1) 目視による生物調査

- ①調査目的：曾根干潟の湿地生態系に生息する絶滅危惧種や貴重種の種数や個体数、生息場所等の基礎的なデータを得ることを目的とする。
- ②調査地点：図-2.1に赤線と緑線で示すルート上を目視調査した。特に、カブトガニ幼生の生息位置と大きさ(全長と前体幅)を測定した。また、図-2.1におけるP6～P20の測点でコドラー調査を行った。

- ③調査日時：令和元年9月14日（土）10時～17時
- ④調査方法：目視による生物調査：種名・個体数、大きさ、携帯型GPSによる生息位置を測定するとともに、15cm方形のコドラー法で巻貝類の生息個体数を測定した。
- ⑤必要機材：ハンディーGPS4台、カメラ4台

（2）ヨシ原における目視による生物調査

- ①調査目的：曾根干潟のヨシ原に生息する絶滅危惧種や貴重種の種数や個体数、生息場所等の基礎的なデータを得ることを目的とする。
- ②調査地点：大野川河口北側のヨシ原
- ③調査日時：令和元年9月15日（日）11時～13時
- ④調査方法：陸側から沖側へ測線を設定し、目視観察による底生動物調査を実施する。同時に、植生、底質等、底生動物の生息環境を確認、記録し、簡易測量にて高さを計測する。
- ⑤必要機材：メジャー、測距計、トランシットコンパス、測量スタッフ、ハンディーGPS、カメラ

（3）底質・底生生物調査

- ①調査目的：底質と底生生物は、曾根干潟の湿地生態系において貴重海生生物の生息環境を支える重要な環境要素である。特に、底生生物は、野鳥をはじめとする絶滅危惧種や貴重生物の餌になることが考えられるため、その種数や個体数を把握し底質との関係を解析・考察するとともに、既存資料と比較し干潟環境の変化について解析・考察することを目的とする。
- ②調査地点：北側の干潟に2点（St.1, St.2）、南側の干潟に2点（St.3, St.4）（図-2.1参照）
- ③調査日：平成30年9月14日（土）10時～17時
- ④調査方法：干潮時に上記4地点で以下の調査を行う。必要人数：2班（4～5人/班）
 - 1) 底質：1地点当たり4か所の混合試料、10cm層柱状採泥し、粒度組成、COD、硫化物、クロロフィルa、含水率を測定する。
 - 2) 溶存態硫化水素：山本式計測器によりP6～P9, P18～P20（図-1参照）の硫化水素を計る。
 - 3) 底生生物：15cm方形枠で1地点当たり4か所、1mmフリイ分け底生動物（種別個体数、湿重量）。
- ⑤必要機材：1mmフリイ2個、15cm方形枠2個、ホルマリン、採取ビン、各種試薬、山本式硫化水素計測器、ハンディーGPS2台、スコップ2個

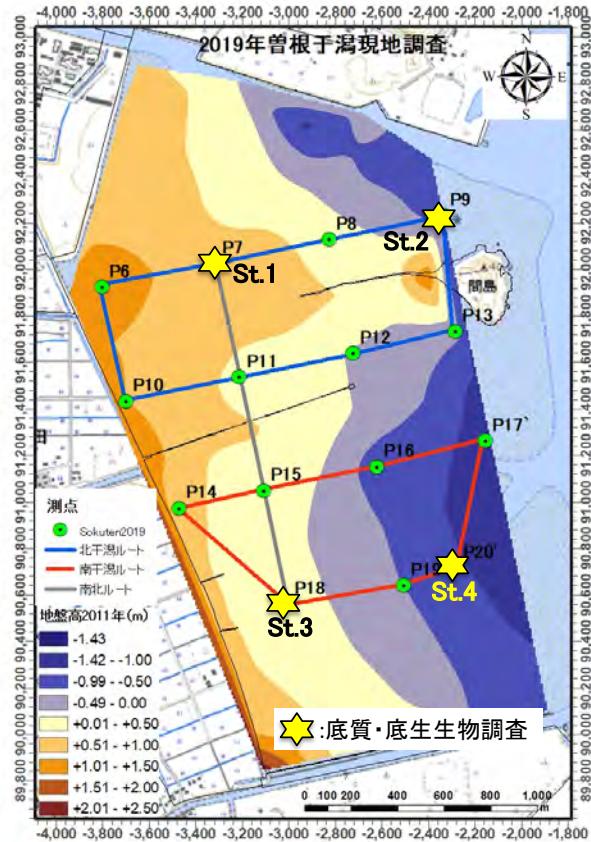


図-2.1 曽根干潟における調査地点とカブトガニ幼生調査ルートの位置図と地盤高

(4) 地中温度変動調査

- ①調査目的：干潟の地中温度がどのように変動するのかを把握するとともに、地中温度により干潟上に地下水の涌きだしがあるか否かを把握することとする。
- ②調査地点：測点は、昨年度、干潟上で陸に最も近い測点であるP6, P10, P14を行い、今年度も同じ測点P6, P10, P14および、それらより海側の3測点P7, P11, P15（図-2.2）とする。
- ③調査日時：平成30年9月22日（土）10時～17時
- ④調査方法：図-2.3, 2.4に示す計測装置で地中の温度を底面から0.1mと1.0mの2点で計測する。調査内容は表-2.2に示すとおりである。

表-2.2 地中温度変動調査の概要

項目		内容
調査時期		2018年9月22日～2019年9月14日 357日間
調査地点		6地点 P7, P10, P11, P14, P15, P18
測定 条件	インターバル	1時間間隔
	測定高さ	底面下0.1m, 底面下0.5m
使用機器		ONSET社製 HOBO Water Temperature Pro v2 又は HOBO Tidbit v2

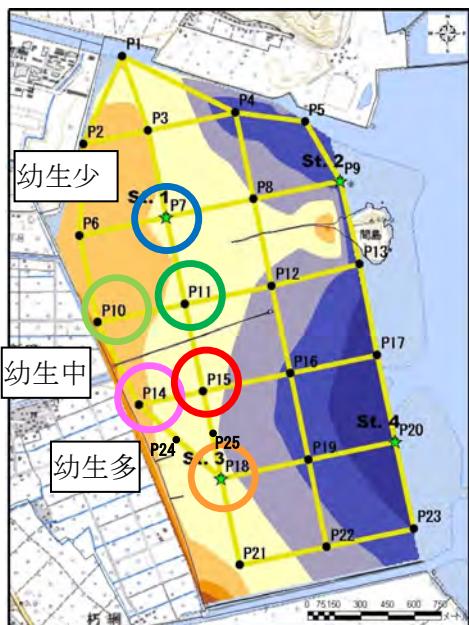


図-2.2 地中温度計測地点

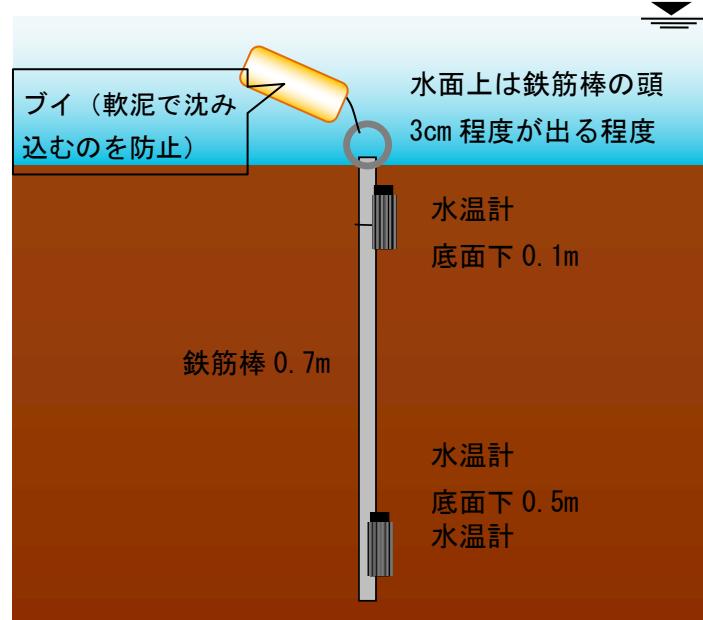


図-2.3 地中温度計測装置



図-2.4 地中温度計測装置と設置状況の写真

2.3 調査時の潮位

調査日時における苅田港における推算潮位の変化を図-2.5に示す。黄色で塗られた時間帯で調査を行った。

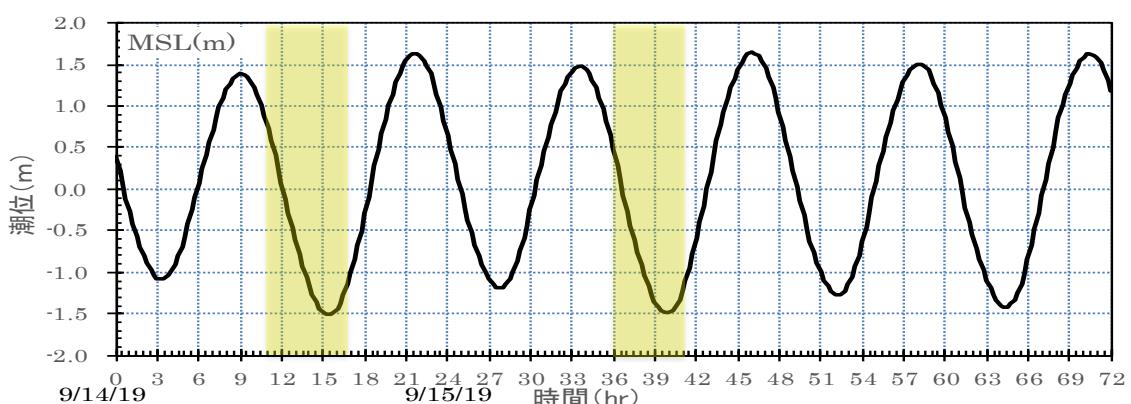


図-2.5 現地調査期間（9月14, 15日）の潮位変化（苅田港）

3. 調査結果

3.1 目視調査結果

(1) 大野川河口ヨシ原での目視調査

【調査方法】

大野川河口の北側に位置するヨシ原（図-3.1, 図-3.2 参照）において測線を設定し、目視観察による底生動物調査を実施した。同時に、植生、底質等、底生動物の生息環境を確認、記録し、簡易測量にて地盤高を計測した。

【調査日】

令和元年 9月 15 日 10:00~15:00

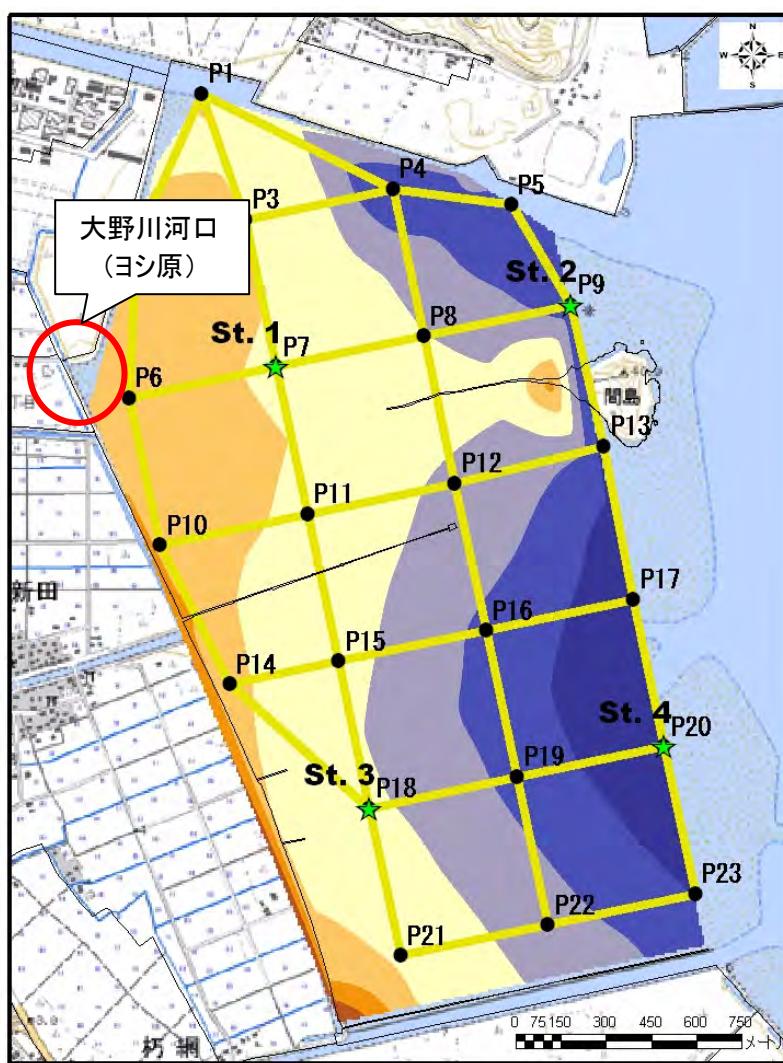


図-3.1 大野川河口ヨシ原の位置



図-3.2 大野川河口ヨシ原における目視調査の測線

(上 : R1 年 ; 中 : H30 年, H29 年, H28 年 ; 下 : H27 年)

【確認種】

大野川河口ヨシ原の測線上で目視観察にて確認された底生生物を表-3.1に整理した。確認種は全19種(3門3綱5目10科)であり、前年度の全19種(3門3綱5目10科)と同数であった。

主な確認種は、貝類のヒロクチカノコガイ、ヒラドカワザンショウガイ、クリイロカワザンショウガイ、ヘナタリ類、甲殻類のシオマネキ、クロベンケイガニ、魚類のトビハゼ等であり、いずれも曾根干潟では普通にみられる種であった。また、シマヘナタリガイ、クロヘナタリガイ、アシハラガニ等、ヨシ原を好む種が多い傾向がみられた。

このうち、環境省および福岡県のレッドリスト等に記載された重要な種(表-3.2, 3.3, 図-3.3, 3.4参照)は、12種(貝類8種、カニ類3種、魚類1種)であり、全確認種の63%以上を占めた。

新たに確認された種はカニ類のモズクガニ科のヒメアシハラガニであった。

【生息環境】

表-3.1と図-3.5が示すように、最も岸よりは(離岸距離:0~20m, 高さ:T.P.+2.0m以上)、ヨシ・流木等であり、アカテガニやクロベンケイガニといった観察会でもよくみられるカニ類の出現が目立った。また、高さ:T.P.+2.0m付近の密生するヨシ原と漂着物堆積場所では、オカミミガイ、キヌカツギハマシイノミガイといった陸側を好む種やクリイロカワザンショウガイ等の貝類が比較的多く確認された。

つづく、疎性のヨシ原(離岸距離:25~55m, 高さ:T.P.+1.0~2.0m)は、草丈が低い植生帯となっており、貝類のヒロクチカノゴガイやヒラドカワザンショウ、クロヘナタリガイ等の貝類の生息が目立っていた。

昨年度調査では、ヨシ原から沖側へ向かうとシオクグ植生に変わったが、今年度調査ではシオクグが枯死しており、ほとんどみられなかった。その旧シオクグ植生帯(離岸距離:55m以上、高さ:T.P.+0.6m以下)では、貝類のフトヘナタリガイ、ヘナタリガイ、甲殻類のシオマネキ、ヤマトオサガニ、魚類のトビハゼといった曾根干潟の代表的な種が多く確認された。

表-3.1 底生生物目視観察の調査結果（令和元年度）

調査場所		大野川河口のヨシ原						
離岸距離(m)		0	22	32	49	61	70	78
高さ(m; T.P.)								
確認環境		流木 ・ ヨ シ 等	シ草 原丈 中が 央高 い ヨ	所漂 上着 端物 堆積 場	所漂 着物 堆積 場	ヨ草 シ丈 へが 滞低 筋い ～	ヨ草 シ丈 へが 疎低 生い ～	ク水 グ～ 泥 (シ オ
種名								
1	軟体動物門 マキガイ綱 原始腹足目 アマオブネガイ科 ヒロクチカノコガイ				++	+		
2	中腹足目 タマキビガイ科 マルウズラタマキビガイ						+	
3	カワザンショウガイ科 ヒラドカワザンショウガイ			+	++			
4	クリイロカワザンショウガイ		+	++	+			
5	ウミナ科 フトヘナタリガイ				+	++	++	++
6	シマヘナタリガイ		++	+				
7	クロヘナタリガイ				+	+		
8	ヘナタリガイ					++		+
9	ホソウミニナ					+		
10	原始有肺目 オガミガイ科 オカミガイ			+	+			
11	キヌカツギハマシイノミガイ			++	+			
12	節足動物門 甲殻綱 ヒビ'目 オサガニ科 ヤマトオサガニ						+	+
13	スナガニ科 シオマネキ					++	+	
14	ベンケイガニ科 アカテガニ	+						
15	クロベンケイガニ	+	+	+				
16	クシテガニ				+			
17	モクス'ガニ科 アシハラガニ		++	+	+			
18	ヒメアシハラガニ					+		+
19	脊椎動物門 硬骨魚綱 スズキ目 ハゼ科 トビハゼ				+	+	+	+
計	確認種数		2	4	7	10	8	5

注) +: 1~10個体/m²、++: 10~100個体/m²、+++: 100~1,000個体/m²、++++: 1,000個体/m²以上

表-3.2 平成27年～令和元年度の大野川河口ヨシ原調査で確認された底生生物一覧

確 認 種	調査年度					重要種
	R1年度	H30年度	H29年度	H28年度	H27年度	
1 軟体動物門 マキガイ綱 原始腹足目 アマオブネガイ科 <i>Neritina violacea</i> ヒロクチカノコガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
2 ユキスズメガイ科 <i>Phenacolepas planata</i> ヒナユキスズメガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
3 中腹足目 タマキビガイ科 <i>Littoraria scabra strigata</i> マルウズラタマキビガイ ○ ○ ○ ○ ○						
4 カワサンショウガイ科 クリイロカワザンショウガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
5 Assiminea hiradoensis ヒラドカワザンショウガイ ○ ○ ○ ○ ○						
6 ウミナ科 Cerithidea rhizophorarum フトヘナタリガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
7 Cerithidea ornata シマヘナタリガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
8 Cerithidea largillierti クロヘナタリガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
9 Cerithideopsis cingulata ヘナタリガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
10 <i>B. attramentaria</i> ホゾウミニナ ○ ○ ○ ○ ○						
11 原始有肺目 オカミガイ科 <i>Ellobium chinense</i> オカミミガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
12 <i>Melampus sincaporensis</i> キヌカツギハマシイノミガイ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
13 節足動物門 甲殻綱 ヒビ科 <i>Alpheus sp.</i> テッポウエビ属 ○ ○ ○ ○ ○						
14 ホンヤドカリ科 <i>Pagurus dubius</i> ユビナガホンヤドカリ ○ ○ ○ ○ ○						
15 コメツキガニ科 <i>Ilyoplax pusilla</i> チゴガニ ○ ○ ○ ○ ○						
16 ムツハアリアケガニ科 アリアケガニ アリアケガニ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
17 オサガニ科 <i>Macrophthalmus japonicus</i> ヤマトオサガニ ○ ○ ○ ○ ○						
18 スナガニ科 <i>Uca arcuata</i> シオマネキ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
19 ベンケイガニ科 <i>Chiromantes haematocheir</i> アカテガニ ○ ○ ○ ○ ○						
20 <i>Chiromantes dehaani</i> クロベンケイガニ ○ ○ ○ ○ ○						
21 <i>Parasesarma erythrodactylum</i> ユビアカベンケイガニ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
22 <i>Parasesarma plicatum</i> クシテガニ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
23 モクスガニ科 <i>Chasmagnathus convexus</i> ハマガニ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
24 <i>Helice tridens</i> アシハラガニ ○ ○ ○ ○ ○						
25 <i>Helice japonica</i> ヒメアシハラガニ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
26 脊椎動物門 硬骨魚綱 スズキ目 ハゼ科 <i>Periophthalmus cantonensis</i> トビハゼ ○ ○ ○ ○ ○ ●						
計 種 数 19種 19種 17種 20種 18種 16種						

調査場所:大野川河口のヨシ原

表-3.3 大野川河口ヨシ原で確認された重要種一覧 (H27年度～R1年度)

No.	種名			重要種カテゴリー	
				環境省	福岡県
1	軟体動物門	マキガイ綱	ヒロクチカノコガイ	NT	VU
2			ヒナユキスズメガイ	NT	NT
3			クリイロカワザンショウガイ	NT	NT
4			フトヘナタリガイ	NT	NT
5			シマヘナタリガイ	CR+EN	EN
6			クロヘナタリガイ	CR+EN	VU
7			ヘナタリガイ	NT	NT
8			オカミミガイ	VU	VU
9			キヌカツギハマシイノミガイ	VU	VU
10	節足動物門	甲殻綱	シオマネキ	VU	EN
11			ユビアカベンケイガニ	NT	
12			ハマガニ	-	NT
13			アリアケガニ	-	EN
14			クシテガニ	-	NT
15			ヒメアシハラガニ	-	NT
16	脊椎動物門	硬骨魚綱	トビハゼ	NT	VU
計			種数	12	15

○ 重要種カテゴリー

EW：野生絶滅、CR+EN：絶滅危惧 I 類、CR：絶滅危惧 IA 類、EN：絶滅危惧 IB 類、VU：絶滅危惧 II 類、NT：準絶滅危惧、DD：情報不足、LP：絶滅のおそれのある地域個体群

※ 環境省：「環境省レッドリスト 2017」(平成 29 年 3 月 31 日)

：「海洋生物レッドリスト」(平成 29 年 3 月 21 日)

※ 福岡県：「福岡県の希少野生生物－福岡県レッドデータブック 2014－」(平成 26 年 8 月)



オサガニ（マテガイ捕食）（準絶滅危惧種）



クシテガニ（福岡県準絶滅危惧種）



ヒメアシハラガニ（福岡県準絶滅危惧種）



アシハラガニ



キヌカツギハマシイノミガイ



オカミミガイ



ヒロクチカノコガイ（絶滅危惧種Ⅱ類）



クリイロカワザンショウガイ（準絶滅危惧種）

図-3.3 確認された重要種等（その1）



シオマネキ（絶滅危惧Ⅱ類）



クロヘナタリ（絶滅危惧Ⅰ類）



ヘナタリ（準絶滅危惧種）



シマヘナタリガイ（絶滅危惧Ⅰ類）

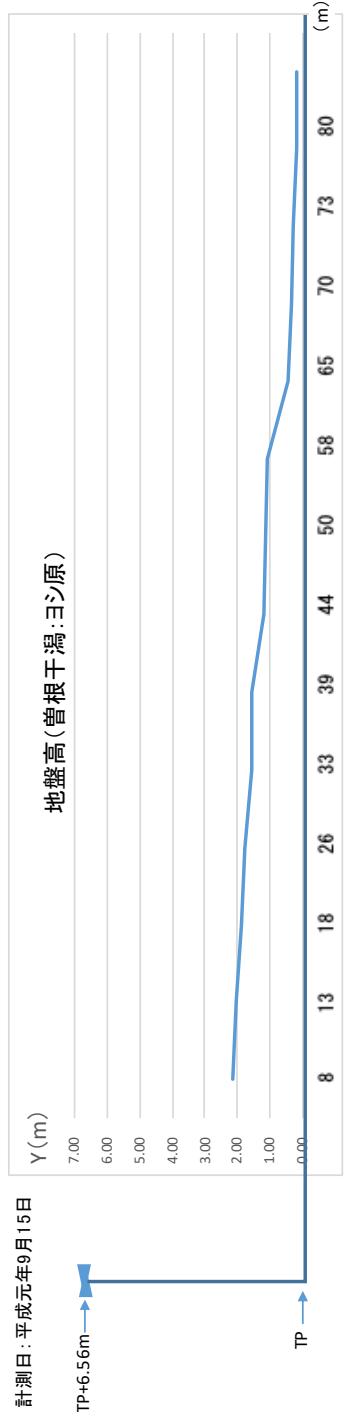


ウミニナ（準絶滅危惧種）



トビハゼ（準絶滅危惧種）

図-3.4 確認された重要種等（その2）



	7.1194	7.014	6.8742	6.7869	6.56	6.56	6.176	6.1237	6.0538	5.4254	5.3381	5.2858	5.1636
Y(m)	2.12	2.01	1.87	1.79	1.56	1.56	1.18	1.12	1.05	0.43	0.34	0.29	0.16
距離	8	13	18	26	33	39	44	50	58	65	70	73	80

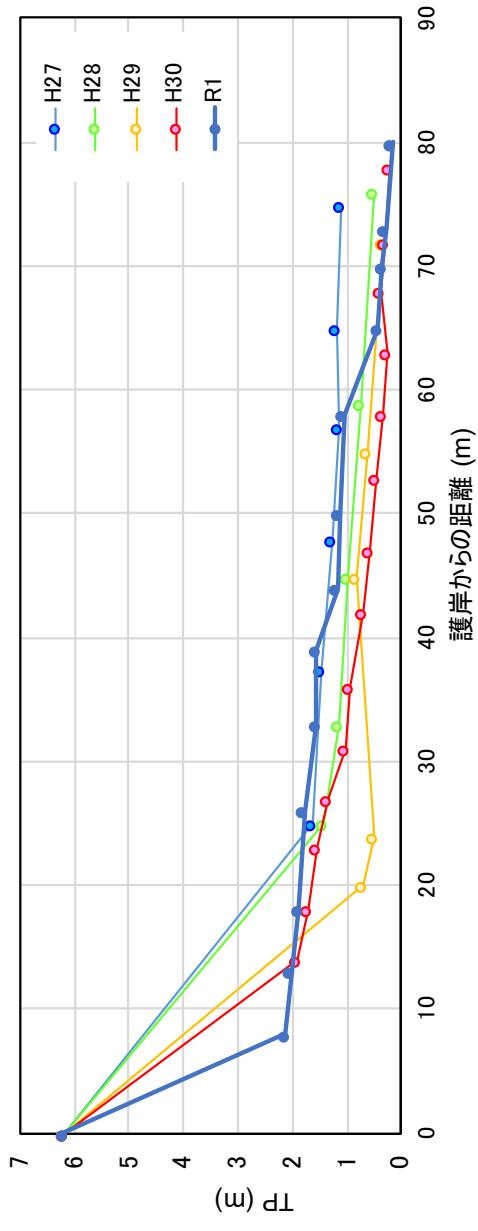


図-3.5 地盤高測量結果

(2) カブトガニ幼生調査のルート上測点における巻貝類の分布

コドラー調査で得られた巻貝類の分布を図-3.6に示す。図中の数字は各測点におけるコドラー枠に入った個体数を表している。曾根干潟における巻き貝の分布に関して特徴的なことは、北干潟と南干潟を比べると個体数が北干潟の方が多い（55個体）、特にヘナタリ（43個体）やウミニナ（3個体）が多いが、南干潟では8個体が確認され、アラムシロ（7個体）が数は少ないが優占している。ヘナタリは干潟に広く分布しているが、ウミニナは陸に近いところに分布する傾向が見られる。イボウミニナ（9個体）が、間島の右岸側の測点P13で昨年度以上に多く確認された。これら結果から曾根干潟に関して危惧することは、南干潟の中央部（P18～P20）付近で巻貝類の個体数が極端に少ないとある。この傾向が今後も続くのか注視する必要がある。

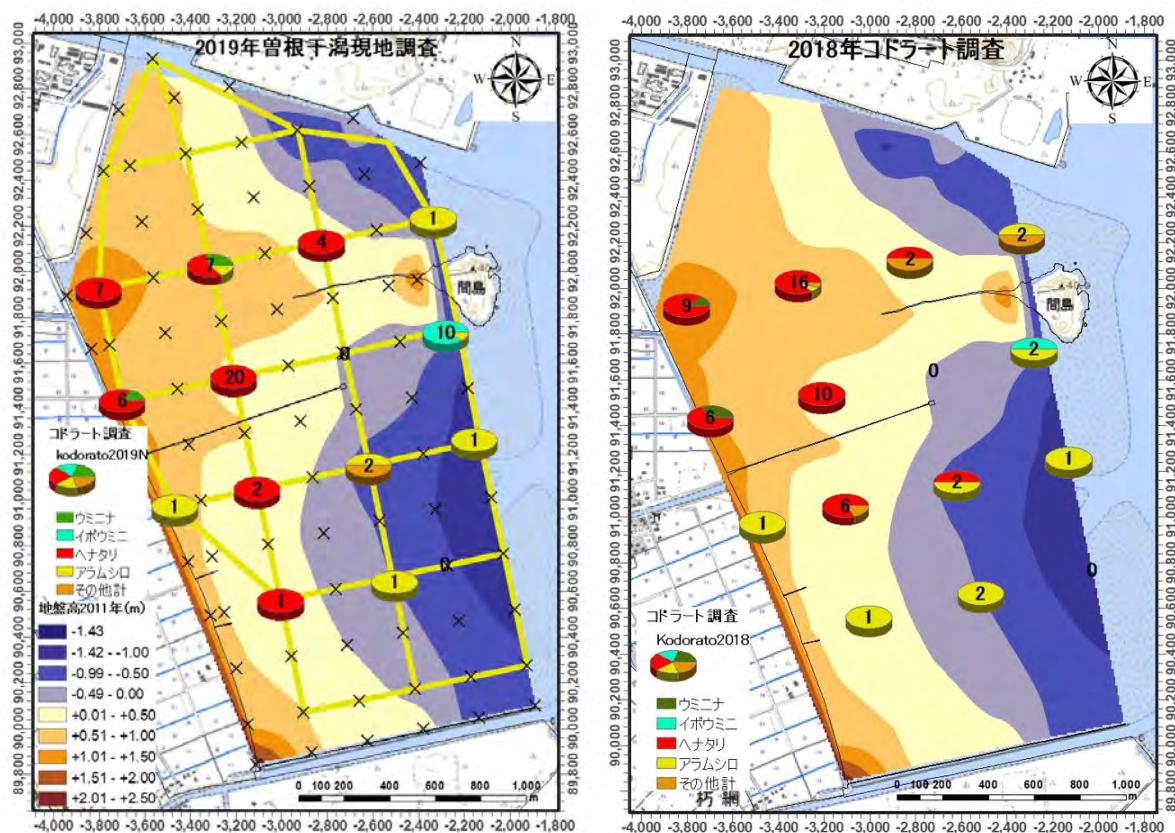


図-3.6 巾貝類のコドラー調査結果(左図：2019年、右図：2018年)

(3) カブトガニの幼生調査

目視調査の一環として干潟域の一部をカバーするルート上(図-2.1 参照)においてカブトガニ幼生調査を行った。その調査によって2018年と2019年に発見された幼生の位置を図-3.7に示す。また、2014年～2017年の結果を図-3.8に示す。発見された幼生の個体数を集計するために、図-3.9に示す地盤高の測量基点(図中×印)を基準として半径125mの円を切り、その円内にある幼生の個体数を集計した結果(円内に入らないものは最も近い円に集計した)を、各円の中心に棒グラフで図-3.10に表し、図-3.11に2019年と2018年の結果を示している。2019年には、北干潟では13個体、南干潟では179個体、合計192個体が確認された。今回の調査でも、多くの幼生が発見されたところは、貫川河口の南側で測点P14～P15、P15～P18、P14～P18のルート上であった。過去に同様な調査が2014年～2016年(図-3.12)の3回、および2006年～2009年(図-3.13)の4回で計7回行われている。これらの結果から、2006年、2007年までは、北干潟でも多くの幼生が見られたが、年を追うごとにその数は減少し、2014年と2015年では干潟全体を調査したが、北干潟でそれぞれ21個体と12個体と少数しか確認できなかった。さらに、2016年と2017年では、調査範囲は限られているが、北干潟でそれぞれ0個体と1個体の幼生しか確認されなかった。2018年は3個体、2019年は13個体と若干増える傾向であるが、依然として少ないと変わらない。このことは、仮設道路の設置との関係も考えられることから注視していく必要がある。

図-3.14は、日本カブトガニを守る会北九州支部により調べられている毎年6月から9月にかけて曾根干潟に産卵に来たつがい数^{1,2)}と測点P14からP18を経てP15までのルート上で9月に発見された幼生個体数(赤丸)および、月1回行われている調査のうち年最大の個体数(×)を示している。産卵つがい数は、2002年から急激に増加して2005年に1581個体とその当時の最大値を記録したが、翌年には511つがいと急激に減少し2007年には2005年の約1/6の265つがいまで減少した。2007年に最低となったあと、20012年頃までは緩やかに回復し、その後は急激に増大して2015年には2005年の値を抜いて過去最大の1956つがいとなり、翌年の2016年には最高値が更新され1995つがいとなった。しかし、その年の夏に、原因は定かではないが、500個体近くの成体が死亡する事態が起こり、その影響と思われる2017年(1328つがい)、2018年(763つがい)の急激な減少が見られた。

幼生個体数は、月1回の調査データからその年の最大個体数(×)と9月の値(赤丸)を図-3.14に示しているが、それにはかなりの違いがみられる。同じルート上を踏査しているが、調査ごとにこの程度の違いがでてくるものと思われる。9月の幼生個体数(赤丸)をみると、2006年以降、産卵つがい数の減少に伴い、2006年の417個体から年に約50個体ずつ減少する傾向で、2011年に29個体と最低となり、その後緩やかに回復傾向で2016年に393個体と2006年と近い個体数となった。その後、減少傾向となっている。年最大値に関しても、ばらつきは大きいが、ほぼ同様の傾向を示している。産卵つがい数が最低になってから幼生個体数が最低になるまでに4、5年程度のずれが生じる結果となった。2016年以降のつがい数の減少に関しても同様の結果になるか注視する必要がある。

幼生の各齢における個体数の動向を調べるために、前体幅から推定した齢ごとに各月の個体数を集計したものが図-3.15である。最大個体数となる月が年ごとに異なる場合が多いが、2008年から2019年までの12年間では6月か7月に最大となることが9回あった。発見された幼生の齢別個体数をみると、2012年までは5齢(赤)と6齢(青)の個体数が多くみられ、特に2008年と2009年にそれが顕著である。5、6齢は孵化から第3年目であることか

ら、2004年、2005年に産卵つがい数が多かったことが影響したと考えられる。2014年以降は、2011年頃からの急激な産卵つがい数の増加に伴い3齢（薄赤）と4齢（薄緑）の個体数が多くなる傾向である。

2018年においては、6月に2齢と5齢の幼生が多く発見され、7月には3齢と6齢、8月には4齢と7齢が多く発見されている。この間に1ヶ月毎に脱皮が起り1齢ずつ高くなつていったと考えられる。2019年では、4月に0個体、5月に21個体、6月に10個体と、例年になく少數しか確認されなかつた。

また、4月の幼生個体数が、2016年では300個体以上、2017年で200個体以上、2018年で400個体以上となり、それまでは気温、水温とも低い4月においてはほとんど幼生が発見されなかつたが、この3カ年の現象は特異的なものなのか注視していく必要がある。

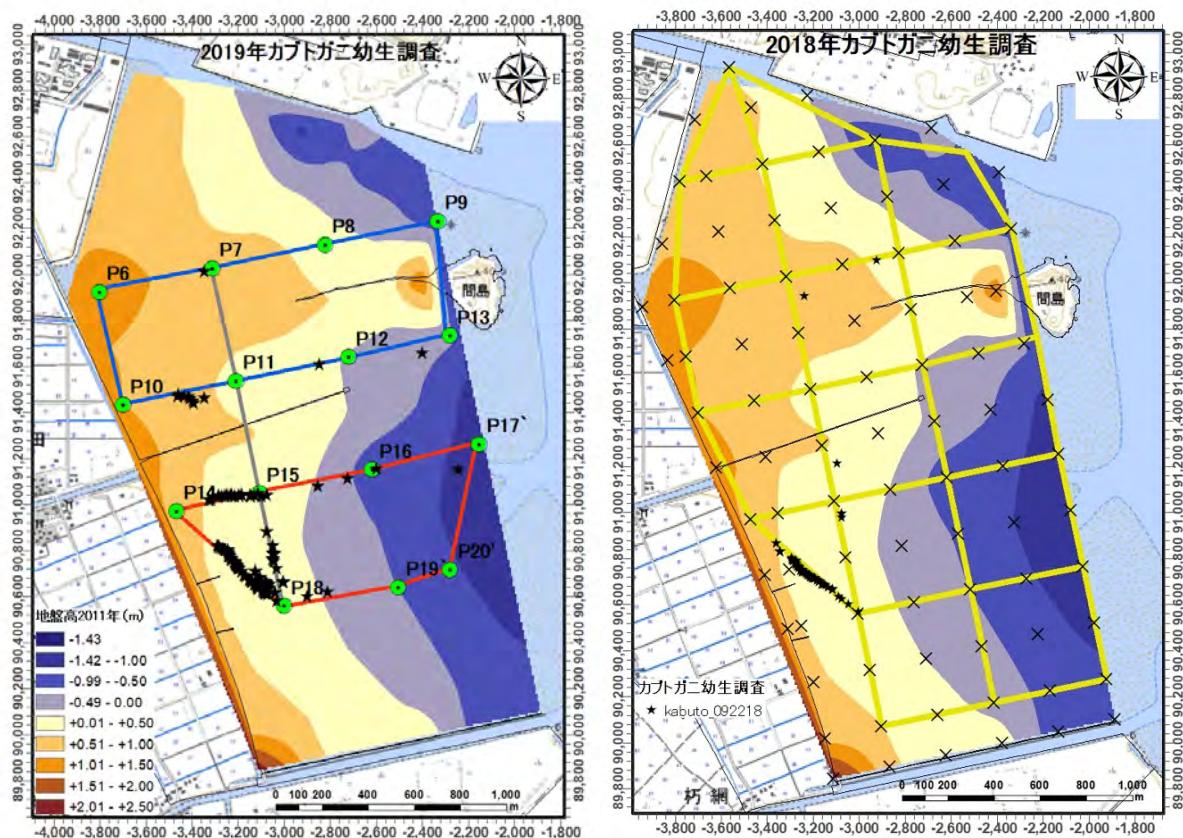


図-3.7 発見されたカブトガニ幼生の位置図（左図：2019年、右図：2018年）

- 1) 高橋俊吾・林修 (2013) : 2012年曾根干潟カブトガニ産卵調査, かぶとがに, No. 33, 日本カブトガニを守る会, pp. 20-23.
- 2) 日本カブトガニを守る会 : かぶとがに, No. 34~37, 2014~2019.

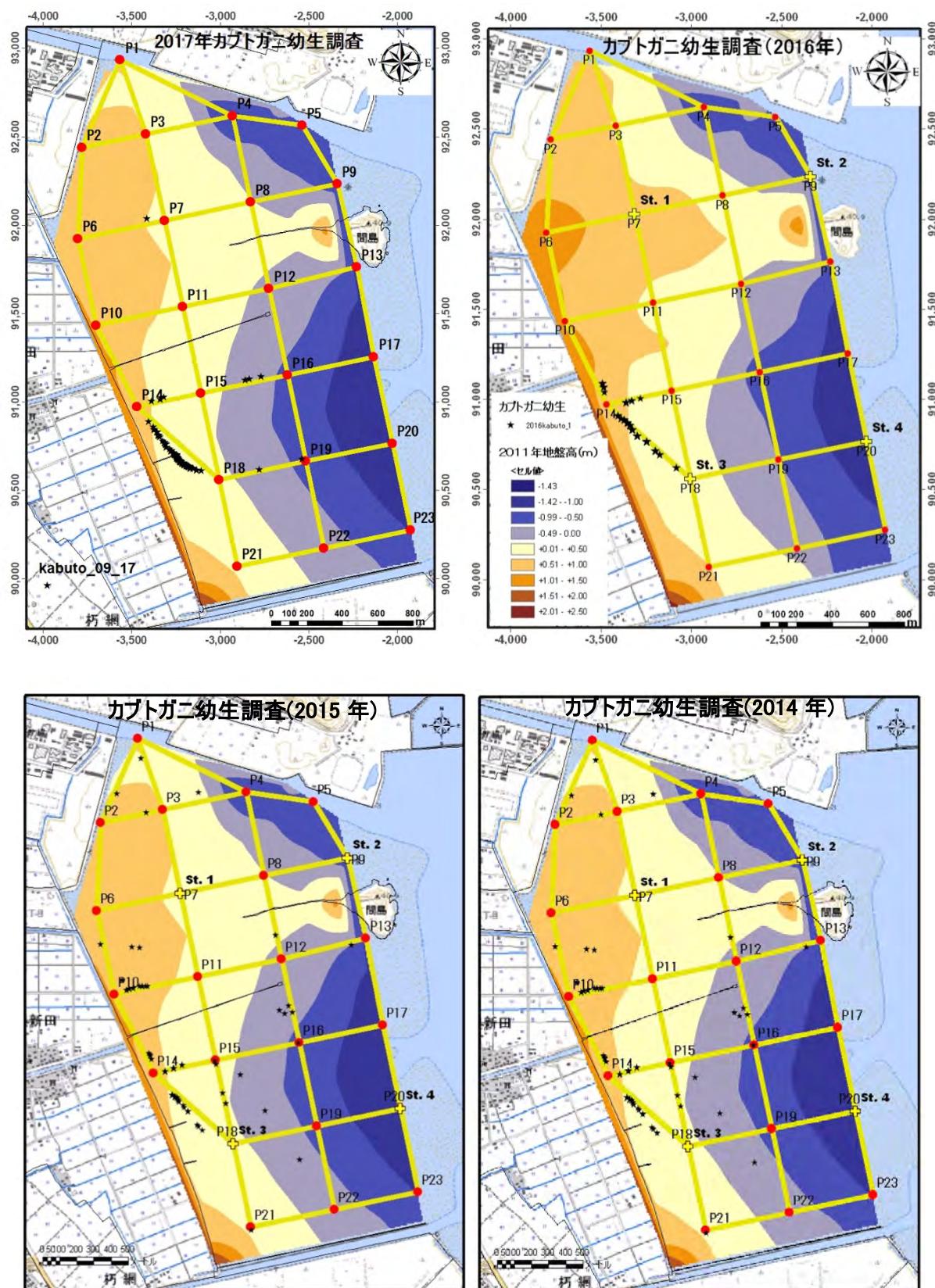


図-3.8 発見されたカブトガニ幼生の位置図（上左図：2017年、上右図：2016年、下左図：2015年、下右図：2014年）

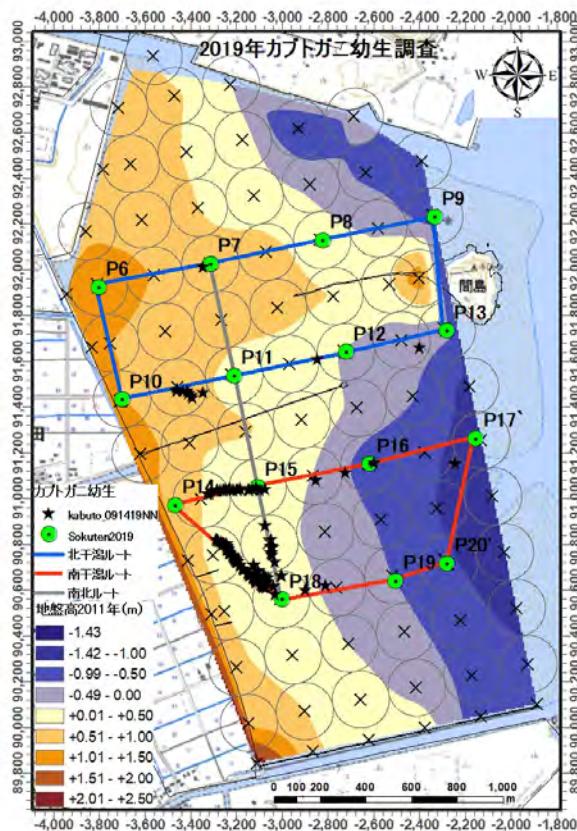


図 - 3.9 幼生の分布と集計円 (2019 年)

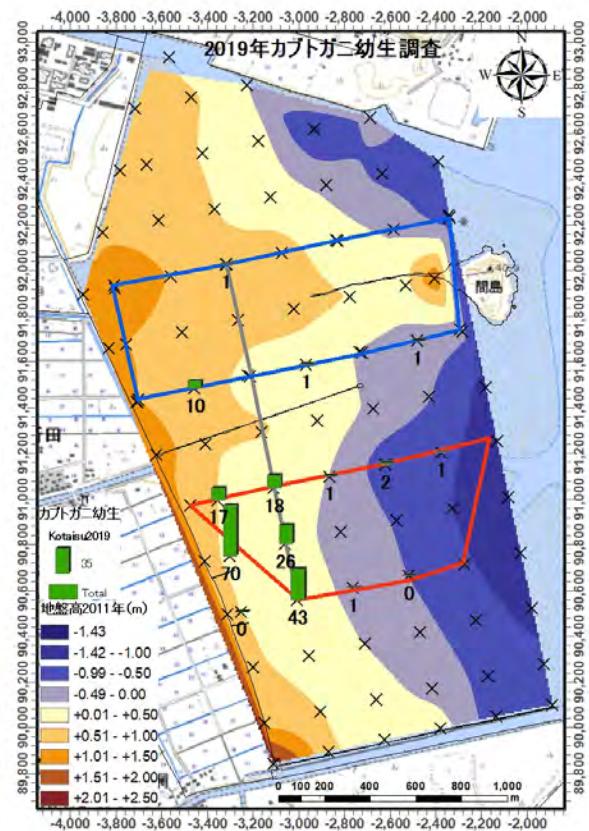


図 - 3.10 各基点の集計値 (2019 年)

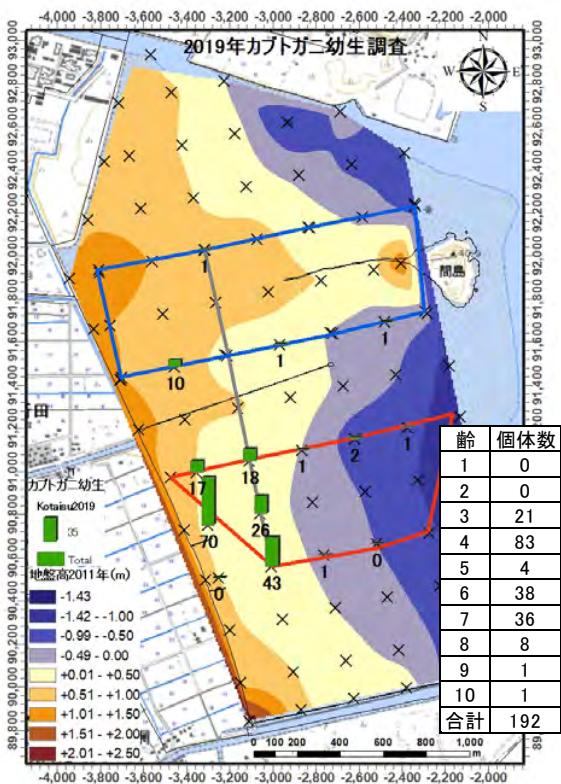
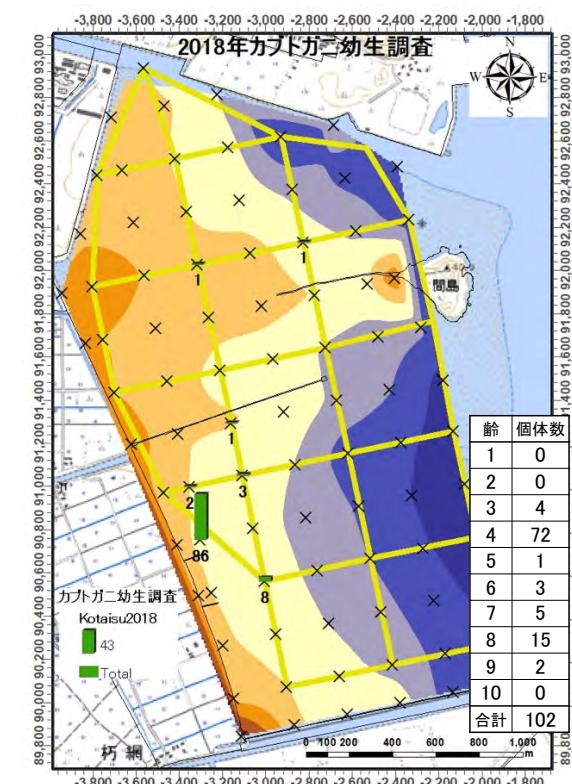


図 - 3.11 発見されたカブトガニ幼生個体数 (左図 2019 年, 右図 2018 年)



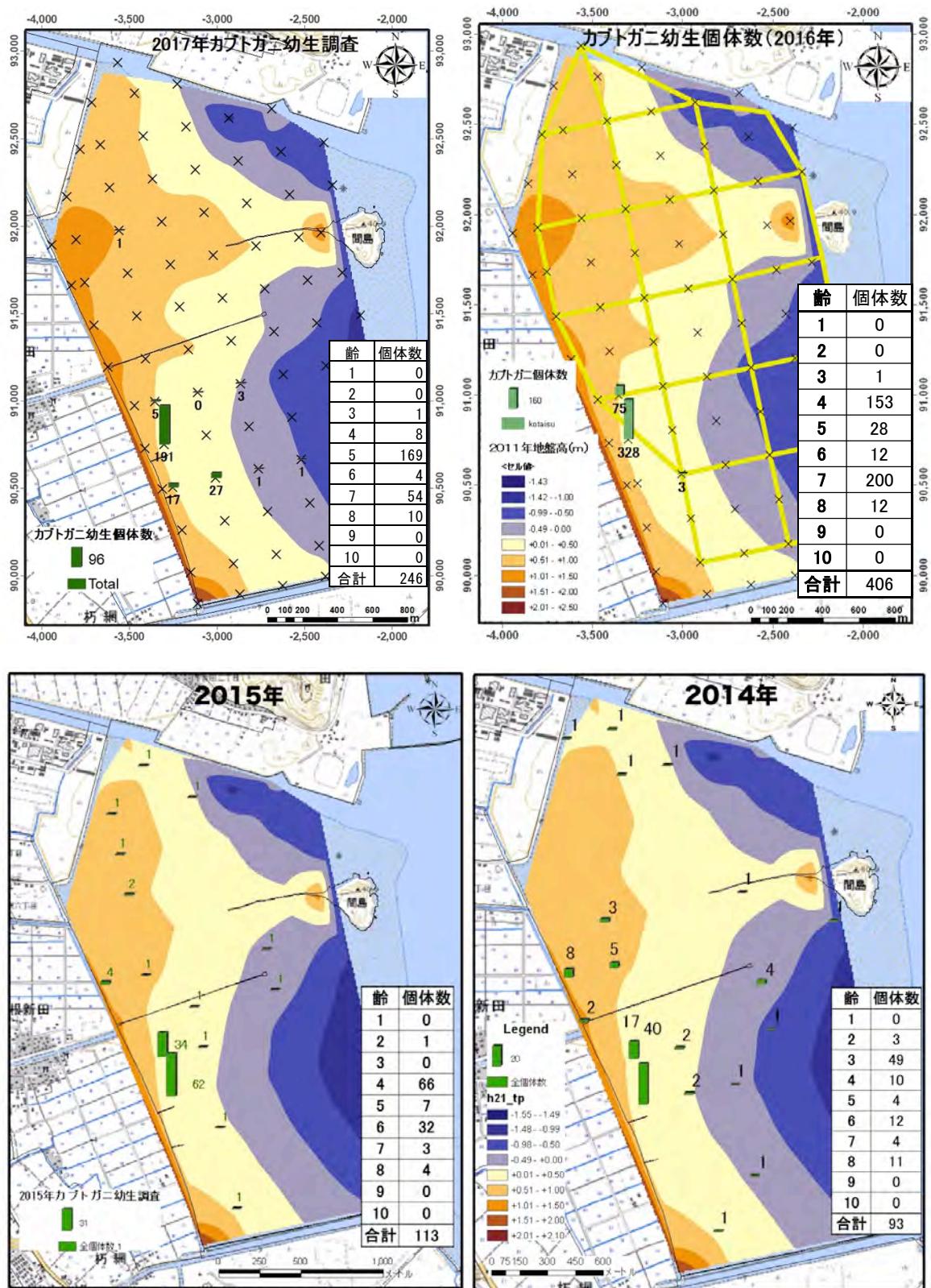


図-3.12 発見されたカブトガニ幼生の個体数（2014年，2015年，2016年，2017年）

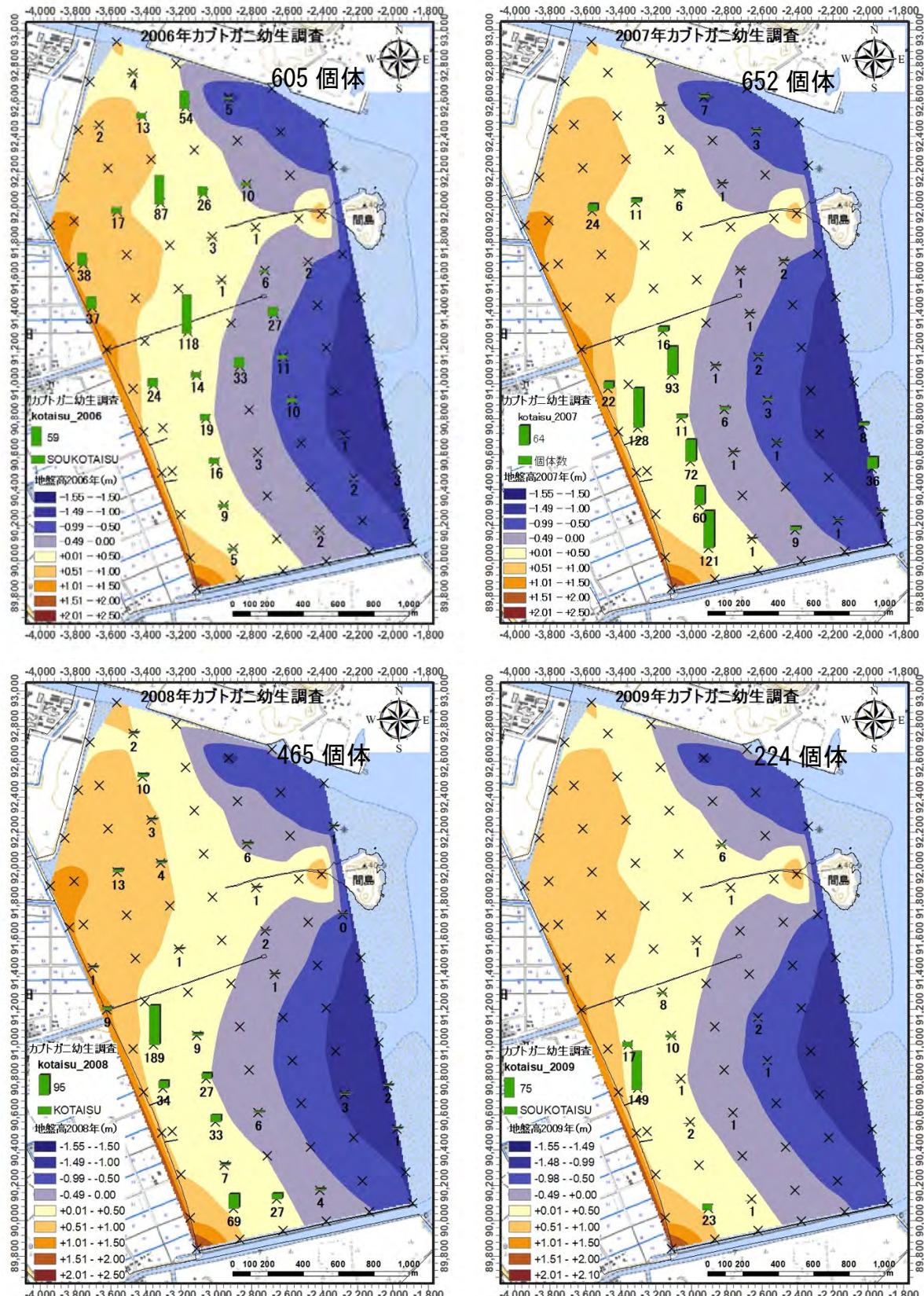


図-3.13 発見されたカブトガニ幼生の個体数（2006年から2009年）

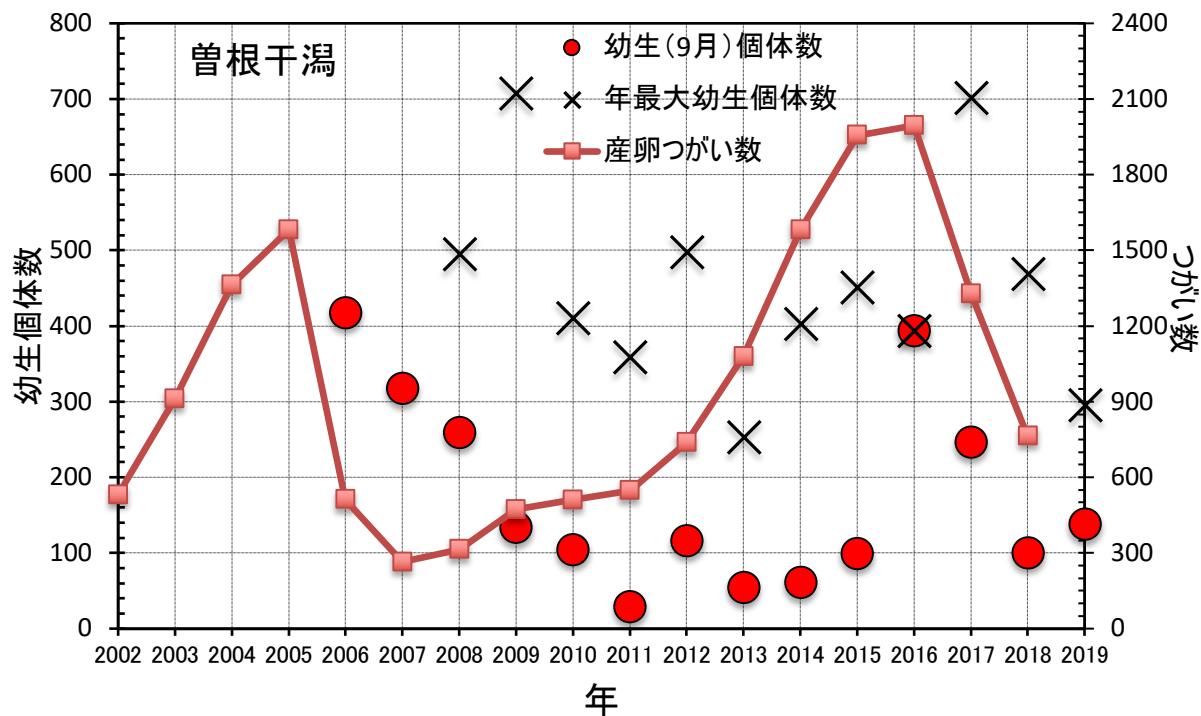


図-3.14 曽根干潟の調査範囲におけるカブトガニ幼生個体数と産卵つがい数の経年変化

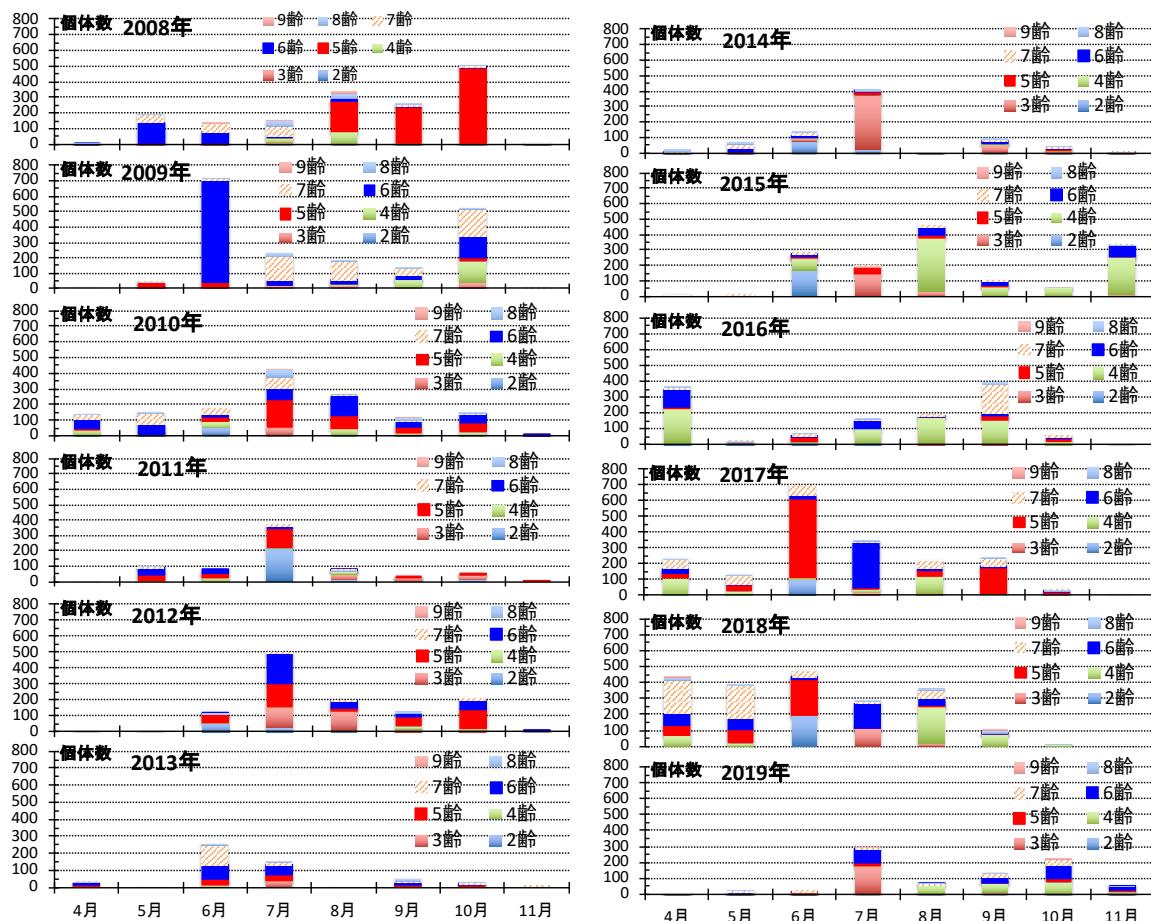


図-3.15 発見されたカブトガニ幼生の月別・齢別の個体数

3.2 底質・底生生物調査結果

(1) 底質調査

表-3.4は、St.1～St.4の4測点で採取された底質の粒度分析と化学分析の結果を示す。これらの結果から、各測点において底質に関しては含泥率（底質における粘土とシルトの割合）と中央粒径を求めた。

表-3.4 測点における底質分析結果

分析項目		地點	St.1	St.2	St.3	St.4	試料採取日: 2019.9.14	
硫化物	mg/g·Dry	0.04	0.04	0.06	0.09	底質調査方法Ⅱ4.6		
CODsed	mg/g·Dry	1.5	2.9	2.1	1.6	底質調査方法Ⅱ4.7		
クロロフィルa	μg/g·Dry	2.6	3.2	2.0	1.7	水質汚濁調査指針第5章17		
粒度分布 (%)	粗礫分	0.0	0.0	0.0	0.0	粗礫～細砂分 → ふるい分析	単位: %	
	中礫分	0.0	0.3	0.0	0.0			
	細礫分	0.4	3.5	0.0	0.0			
	粗砂分	9.4	11.4	0.1	0.2			
	中砂分	19.1	22.4	3.4	4.6	シルト分以下 → 沈降分析		
	細砂分	34.2	30.1	34.5	49.2			
	シルト分	29.5	19.9	53.0	34.9			
	粘土分	7.4	12.4	9.0	11.1			
	計	100.0	100.0	100.0	100.0			
粒度特性	含泥率	36.9	32.3	62.0	46.0	単位: mm	単位: mm	
	中央粒径	0.112	0.17	0.067	0.081			

分析機関: 環境テクノス株式会社

底質の溶存態硫化水素の計測結果を表-3.5に示している。調査した範囲では、P11の3点平均で0.57mg/Lと高い値を示した。特に、1点目で1.5mg/Lと異常に高い値を示したが、他の点と比べても特段変わったところはなく、このように高い値が観測された原因は不明である。また、P9(St.2)で0.2mg/Lと若干高い値となつたが、他の測点では計測できる最低値の0.1mg/Lかそれ以下の検出できない値となつた。

表-3.5 溶存態硫化水素の計測結果

R1年9月14日計測						単位: mg/L
測点	1点	2点	3点	4点	5点	平均
P6	<0.1	<0.1	<0.1			ND
P7(St.1)	0.15	0.1	0.1			0.1
P8	<0.1	<0.1				ND
P9(St.2)	0.2	0.2				0.2
P10	0.1	<0.1				0.1
P11	1.5	0.1	0.1			0.57
P12	<0.1	<0.1				ND
P13	0.1	0.1				0.1
P14	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		ND
P15	<0.1	<0.1	0.1			ND
P16	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		ND
P17	0.1	0.1	<0.1	<0.1		0.1
P18(St.3)	<0.1	<0.1	0.1	0.1		0.1
P19	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		ND
P20(St.4)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		ND

ND=not detected

(2) 底生生物調査

底生生物調査の結果から、出現状況を表-3.6、図-3.16に整理した。底生生物の調査結果は表-3.7、重要種、水産種の一覧は表-3.8に示すとおりである。

確認された底生生物は、4門6綱17目25科34種であり、昨年度と同様、南干潟より北干潟の方が全体的に多い傾向にあった。

分類群組成をみると、例年と同様、主に軟体動物門、環形動物門、節足動物門の3門から成る底生生物相であった。

種数についてみると、今年度の確認種数は5~14種であった。最も多い地点はSt.2(14種)、次いで、St.4(13種)であり、最も少ない地点はSt.3(5種)であった。

今年度確認された個体数は14~126個体であった。最も多い地点はSt.1(126個体)、次いでSt.2地点(90個体)であり、昨年度、一昨年度と同様、北干潟の方が多い結果となつた。

湿重量についてみると、今年度の湿重量は0.20~33.63gであった。最大の地点は、個体数と同じくSt.1であり、多数確認されたヘナタリをはじめ、ホソウミニナ、ウミニナといった、比較的湿重量の大きい貝類の出現種が多い地点であった。

表-3.6 底生生物の出現状況

分類群		St.1			St.2			St.3			St.4		
		種数	個体数	湿重量	種数	個体数	湿重量	種数	個体数	湿重量	種数	個体数	湿重量
紐形動物門	-	-(-)	-	1	2(2.2)	+	-	-(-)	-	-	-(-)	-	
軟体動物門	6	101(80.2)	31.91	4	32(35.6)	10.03	-	-(-)	-	2	2(10.0)	0.03	
環形動物門	3	23(18.3)	0.05	8	55(61.1)	0.38	4	13(92.9)	0.25	9	16(80.0)	0.12	
節足動物門	2	2(1.6)	1.67	1	1(1.1)	0.00	1	1(7.1)	0.02	2	2(10.0)	0.05	
脊椎動物門	-	-(-)	-	-	-(-)	-	-	-(-)	-	-	-(-)	-	
計	11	126	33.63	14	90	10.41	5	14	0.27	13	20	0.20	
優占種 (個体数)	順位	種名	個体数	種名	個体数	種名	個体数	種名	個体数	種名	個体数		
	1	ヘナタリ	92	ホソイトゴカイ	27	ホソイトゴカイ	8	ホソイトゴカイ	4				
	2	ホソイトゴカイ	16	アサリ	26	ミナミシロガネゴカイ	2	ナガホコムシ	3				
	3	ミナミシロガネゴカイ	6	ケンサキスピオ	11	マキントシチロリ	2	カタマガリギボシイソメ	2				
	4							Lysilla属の一種	2				
	5												

(注) 1.()内の数値は組成比率(%)を示す。

2.+表示は0.01g未満を示す。

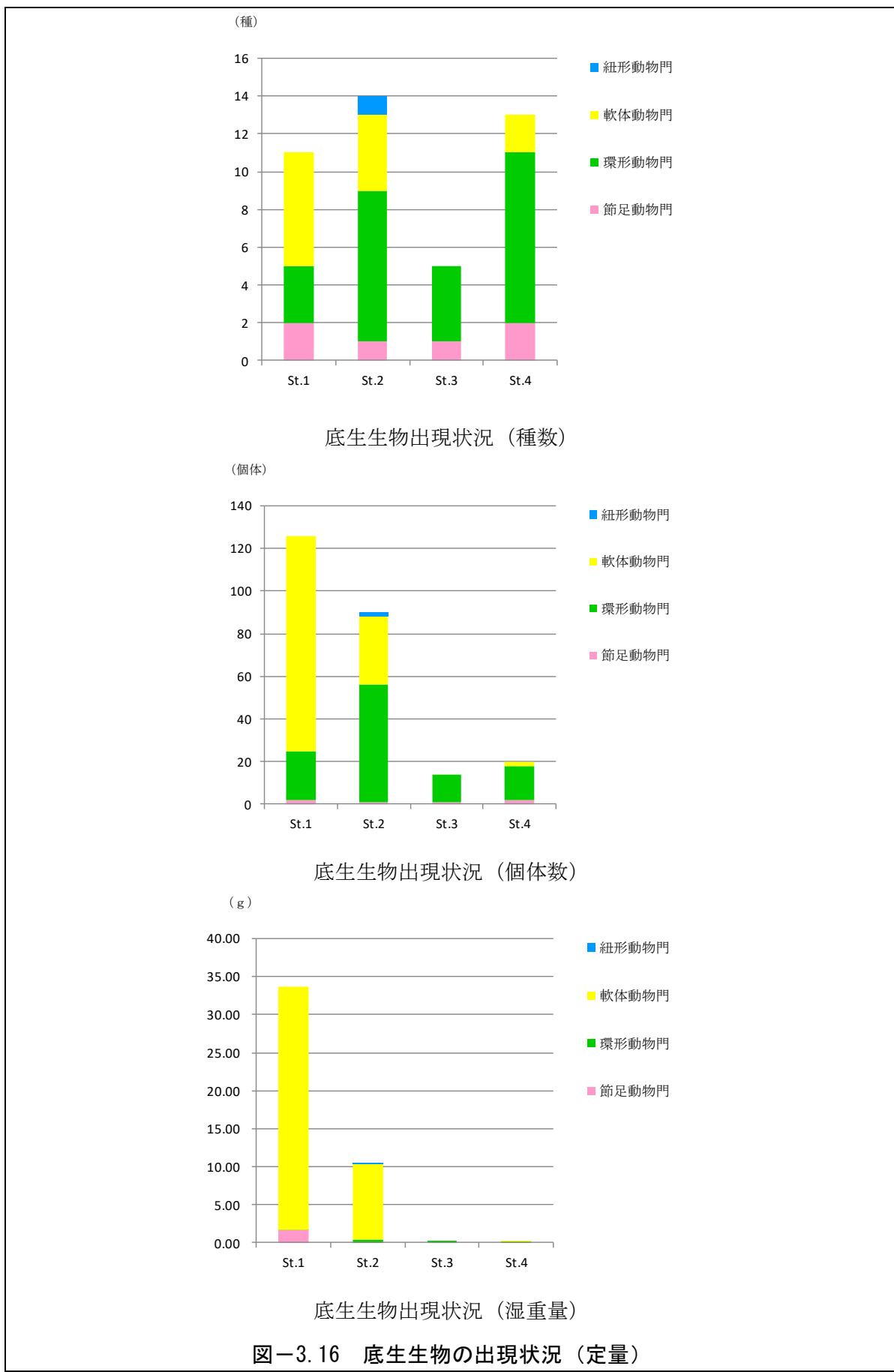


表-3.7 底生生物調査（定量）分析結果

番号	門	綱	目	科	学名	和名	測点	St.1		St.2		St.3		St.4				
								個体数	湿重量	個体数	湿重量	個体数	湿重量	個体数	湿重量			
1	紐形動物 軟体動物	無針 腹足 新腹足 二枚貝	異紺虫 盤足 異旋	リネウス	Lineidae	リネウス科			2	+								
2				ウミナ	Batillaria multiformis	ウミナ		2	4.34									
3				Batillaria cumingii		ホタミナ		4	2.12									
4				トヘナタリ	Cerithidea(Cerithideopsis) cingulata	ヘナタリ		92	22.10									
5				Reticunassa festiva		アラシロ		1	0.90	3	0.52							
6				Orinella pulchella		クチキレガイ							1	0.01				
7				Iphiana tenuisculpta		スノホツクチキレ							1	0.02				
8				Pyrgulina shigeyasur		シゲヤスイカケギリ		1	0.02									
9				Musculista senhousia		ホトキスガイ				2	0.60							
10				Crassostrea gigas		マガキ		1	2.43									
11				Ruditapes philippinarum		アサリ				26	8.89							
12				Macoma(Macoma) incongrua		ヒメラトリ			1	0.02								
13	環形動物 多毛		サシハゴカイ シロガネゴカイ チロリ ニカイチロリ イソメ ホコサキゴカイ スピオ コスマ イトゴカイ フサゴカイ	ゴカイ	Ceratonereis erythraeensis	コケゴカイ		1	+	4	0.01							
14				Nephtys polybranchia		ミナミシロガネゴカイ		6	0.01	8	0.01	2	+	1	+			
15				Nephrys caeca		ハヤブロガネゴカイ				1	0.03							
16				Glycera macintoshi		マキントシチロリ						2	0.21					
17				Glycinde wreni		チャヂヨリ							1	0.01				
18				Scoletooma longifolia		カタマガリギボシイソメ							2	0.01				
19				Lumbrinerides sp.		Lumbrinerides属							1	0.01				
20				Haploscoloplos elongatus		ナガホコムシ							3	0.01				
21				Pseudopolydora kempfi		ドロオニスピオ					1	+						
22				Aonides oxycephala		ケンサキスピオ			11	0.03								
23				Scolelepis(Parascolelepis) texana		チギレマクスピオ			1	0.02								
24				Cossura sp.		Cossura属							1	+				
25				Capitella sp.		Capitella属			2	+								
26				Mediomastus sp.		Mediomastus属							1	+				
27				Heteromastus cf. similis		ホソイコカイ		16	0.04	27	0.27	8	0.04	4	0.02			
28	節足動物	頸脚 軟甲	ウミサゴムシ フサゴカイ	Pectinaria okudai		オクダウミサゴムシ			1	0.01								
29				Lysilla sp.		Lysilla属							2	0.06				
30				Fistulobalanus albicostatus		シロスジフシツボ		1	0.08									
31				Cyathura muroniensis		ムロミナガミナフシ				1	+							
32				Alpheus brevicristatus		テッポウエビ							1	0.05				
33				Ogyrides striaticauda		モヨウツノメ							1	+				
34				Macroththalmus(Mareotis) japonicus		ヤマトオサガニ		1	1.59			1	0.02					
合計								126	33.63	90	10.41	14	0.27	20	0.20			
種類数								11		14		5		13				

注)湿重量欄の“+”表示は、湿重量が0.01g未満であることを示す。

表-3.8 底生生物調査 重要種・水産種一覧

番号	学名	和名	調査地点				重要種		水産種
			St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	環境省RL	福岡県RDB	
1	<i>Lineidae</i>	リネウス科		○					
2	<i>Batillaria multiformis</i>	ウミニナ	○				NT	NT	
3	<i>Batillaria cumingii</i>	ホソウミニナ	○						
4	<i>Cerithidea (Cerithideopsis) cingulata</i>	ヘナタリ	○				NT	NT	
5	<i>Reticunassa festiva</i>	アラムシロ	○	○					
6	<i>Orinella pulchella</i>	クチキレガイ				○			
7	<i>Iphiana tenuisculpta</i>	ヌノメホソクチキレ				○	VU	NT	
8	<i>Pyrgulina shigeyasui</i>	シゲヤスイトカケギリ	○				NT	DD	
9	<i>Musculista senhousia</i>	ホトトギスガイ		○					
10	<i>Crassostrea gigas</i>	マガキ	○						○
11	<i>Ruditapes philippinarum</i>	アサリ		○					○
12	<i>Macoma (Macoma) incongrua</i>	ヒメシラトリ		○					
13	<i>Ceratonereis erythraeensis</i>	コケゴカイ	○	○					
14	<i>Nephtys polybranchia</i>	ミナミシロガネゴカイ	○	○	○	○			
15	<i>Nephtys caeca</i>	ハヤテシロガネゴカイ		○					
16	<i>Glycera macintoshi</i>	マキントシクロリ			○				
17	<i>Glycinde wireni</i>	チャメチヨリ				○			
18	<i>Scoletoma longifolia</i>	カタマガリギボシイソメ				○			
19	<i>Lumbrinerides</i> sp.	Lumbrinerides属				○			
20	<i>Haploscoloplos elongatus</i>	ナガホコムシ				○			
21	<i>Pseudopolydora kempfi</i>	ドロオニスピオ			○				
22	<i>Aonides oxycephala</i>	ケンサキスピオ		○					
23	<i>Scolelepis (Parascolelepis) texana</i>	チギレマクスピオ		○					
24	<i>Cossura</i> sp.	Cossura属				○			
25	<i>Capitella</i> sp.	Capitella属		○					
26	<i>Mediomastus</i> sp.	Mediomastus属				○			
27	<i>Heteromastus cf. similis</i>	ホソイトゴカイ	○	○	○	○			
28	<i>Pectinaria okudai</i>	オクダウミイサゴムシ		○					
29	<i>Lysilla</i> sp.	Lysilla属				○			
30	<i>Fistulobalanus albicostatus</i>	シロスジフジツボ	○						
31	<i>Cyathura miromiensis</i>	ムロミスナウミナナフシ		○					
32	<i>Alpheus brevicristatus</i>	テッポウエビ				○			
33	<i>Ogyrides striaticauda</i>	モヨウツノメ				○			
34	<i>Macrophthalmus (Mareotis) japonicus</i>	ヤマトオサガニ	○		○				
種類数			11種	14種	5種	13種	4種	4種	2種

優占種について

底生生物調査の結果から、個体数における優占種について表-3.9に整理した。

主な優占種は、貝類のヘナタリ、アサリ、ゴカイ類のナガホコムシ、ホソイトゴカイ等であり、主に貝類、ゴカイ類の種であった。これらは、主に内湾、干潟の砂泥底に生息する種が多く、曾根干潟の底質および周辺環境が反映された結果といえる。

このうち、ヘナタリ、アサリ、ナガホコムシ、ホソイトゴカイの4種は、昨年度、一昨年度調査でも優占種としてあげられており、いずれも、過年度調査と同じ地点であった。

表-3.9 主な優占種（個体数）について

優占種	確認地点	分布・生息環境
ヘナタリ※*	St. 1	主に淡水の影響する内湾干潟の砂泥底に生息。重要種
アサリ※*	St. 2	内湾の干潟から潮下帯に広く生息。全国的に流通している水産種。代表的な潮干狩り対象種。
ミナミシロガネゴカイ	St. 1 St. 3	内湾潮間帯の砂底に生息
マキントシチロリ*	St. 3	潮間帯～水深80m付近の泥底に生息。
カタマガリギボシイソメ	St. 4	日本各地沿岸に普通。
ナガホコムシ※*	St. 4	内湾の砂泥底に生息。
ケンサキスピオ*	St. 2	干潟・潮間帯～水深10m付近に生息。
ホソイトゴカイ※*	全4地点	日本各地の干潟・浅海域に分布。主に砂泥から泥底に生息。淡水が混ざる所に多い。
Lysilla 属の一種	St. 4	-

※平成29年度優占種 *平成30年度優占種

重要種について

底生生物調査の結果から、重要種について以下に整理した。なお、重要種の選定基準は表-3. 10 のとおりである。

確認された重要種は、貝類のウミニナ、ヘナタリ、ヌノメホソクチキレ、シゲヤスイトカケギリの4種であった。このうち、St. 1で確認されたヘナタリは、毎年多数確認され、曾根干潟でも比較的多くみられる種である。また、4種のうち3種がSt. 1で確認された。

これらの重要種は、主に内湾の砂泥～泥底に生息しており、開発や埋め立て、水質汚濁等、いずれも人間活動の影響を受けやすい環境に生息する種であった。

1) ウミニナ

重要種基準	環境省 RL : VU 福岡県 RDB : NT
確認状況	St. 1 : 2 個体
分布・生息環境	北海道南部～九州に分布。内湾の砂泥質干潟に生息。

2) ヘナタリ

重要種基準	環境省 RL : NT 福岡県 RDB : NT
確認状況	St. 1 : 92 個体
分布・生息環境	本州中部以南～南西諸島に分布。主に淡水の影響する内湾干潟の砂泥底に生息。

3) ヌノメホソクチキレ

重要種基準	環境省 RL : VU 福岡県 RDB : VU
確認状況	St. 4 : 1 個体
分布・生息環境	内湾の低潮帯、砂～砂泥底に生息。

4) シゲヤスイトカケギリ

重要種基準	環境省 RL : VU 福岡県 RDB : VU
確認状況	St. 1 : 1 個体
分布・生息環境	主に淡水の影響の強い干潟およびその周辺の砂泥～泥底に生息。

表-3. 10 重要種選定基準

環境省 RL	環境省レッドリスト 2017(環境省, 2017年3月) 海洋生物レッドリスト 2017(環境省, 2017年3月) EX:絶滅 CR:絶滅危惧 I A 類 EN:絶滅危惧 I B 類 CR+EN:絶滅危惧 I 類 VU: 絶滅危惧 II 類 NT:準絶滅危惧 DD:情報不足 LP:絶滅のおそれのある地域個体群
福岡県 RDB	福岡県の希少野生生物－福岡県レッドデータブック 2014 (福岡県:平成26年8月) EX:絶滅 CR:絶滅危惧 I A 類 EN:絶滅危惧 I B 類 CR+EN:絶滅危惧 I 類 VU: 絶滅危惧 II 類 NT:準絶滅危惧 DD:情報不足 LP:絶滅のおそれのある地域個体群

水産種について

底生生物調査の結果から、水産種について以下に整理した。

確認された水産種は、マガキ、アサリの2種であった。採取地点は、例年確認されているSt.2のみであった。

豊前海では、近年、アサリの減少が顕著であり、漁獲量は低水準の状態が続いている。一方、マガキは「豊前海一粒かき」のブランド名で豊前海を代表する水産物であり、冬の味覚として地域に定着している。

1) マガキ

主な漁法	養殖
漁期（旬）	11月～3月
確認状況	St.1：1個体
分布・生息環境	北海道から九州沿岸に広く分布。潮間帯～水深数mに生息する。砂礫底や泥干潟でカキ礁を形成することがある。最も普通な食用二枚貝。

2) アサリ

主な漁法	じよれん、手掘り
漁期（旬）	周年（春、秋）
確認状況	St.2：26個体
分布・生息環境	北海道から九州沿岸に広く分布。内湾の干潟から潮下帯に生息する。潮干狩りの代表種。

平成 29、30 年度調査との比較

(種数)

平成 29～令和元年度の底生生物調査の結果から種数を比較し、表-3.11、図-3.17 に整理した。

過去 3 年間でみると、岸側の地点と沖側の地点で異なる変動がみられた。岸側の St. 1, St. 3 ではやや増加した後に減少、沖側の St. 2, St. 4 地点では減少後に回復する傾向がみられた。

分類群組成は、主に軟体動物門、環形動物門、節足動物門の 3 門で構成されており、大きな変化は見られなかった。

表-3.11 平成 28～30 年度の底生生物出現状況（種数）

種 数	St.1			St.2			St.3			St.4		
	H29	H30	R1									
刺胞動物門												
紐形動物門		1		2			1			1		
軟体動物門	2	7	6	3	2	4	2	3		4	2	2
環形動物門	2	4	3	7	9	8	2	4	4	5	4	9
節足動物門	3	4	2	4		1	3	3	1	3		2
脊椎動物門							2					
計	7	16	11	16	11	14	9	10	5	13	6	13

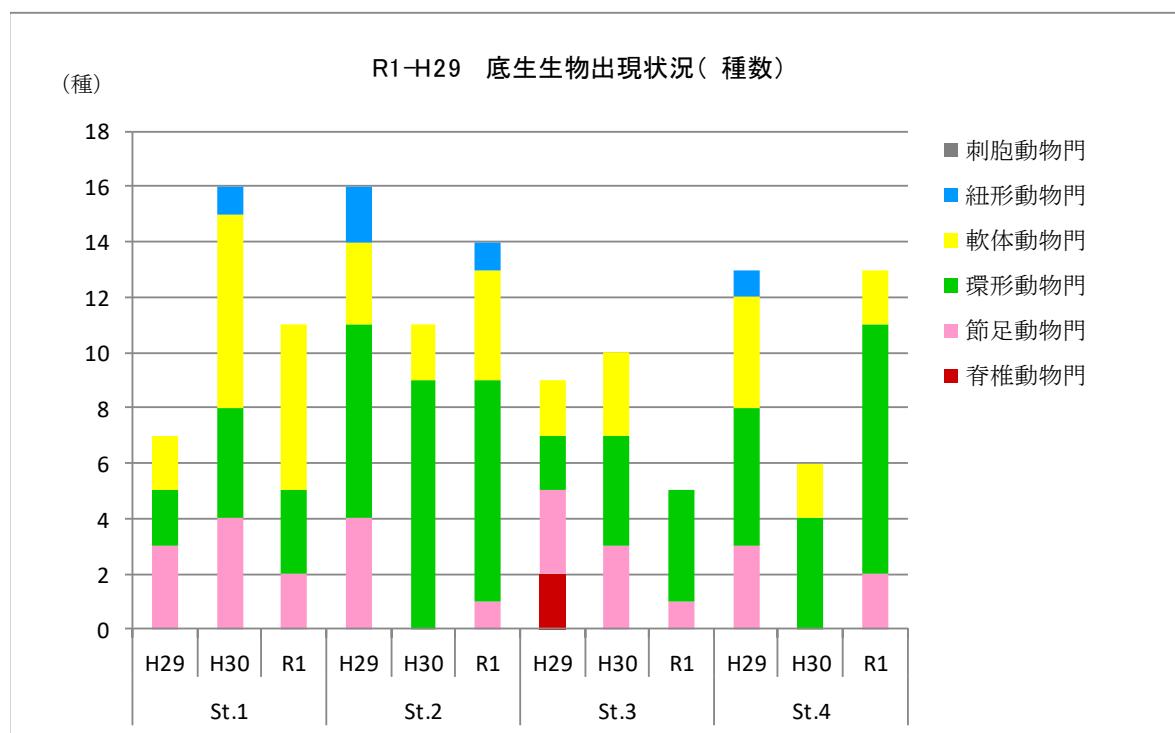


図-3.17 R1～H29 年度の底生生物出現状況（種数）

(個体数)

平成 29～令和元年度の底生生物調査の結果から個体数を比較し、表-3.12、図-3.18 に整理した。

平成 30 年度、及び、令和元年度の結果をみると、全 4 地点において、やや増加傾向がみられた。特に、St. 1 では過去 3 年間でいずれも増加する結果となった。一方、他の 3 地点では、平成 29 年度から平成 30 年度にかけて減少しており、なかでも St. 2 は顕著であった。

表-3.12 R1～H29 年度の底生生物出現状況(個体数/0.09m²)

個体数	St.1			St.2			St.3			St.4		
	H29	H30	R1	H29	H30	R1	H29	H30	R1	H29	H30	R1
刺胞動物門												
紐形動物門		1		2		2				1		
軟体動物門	65	74	101	312	6	32	4	3		10	2	2
環形動物門	11	19	23	147	58	55	11	8	13	12	13	16
節足動物門	10	5	2	7		1	6	3	1	3		2
脊椎動物門							2					
計	86	99	126	468	64	90	23	14	14	26	15	20

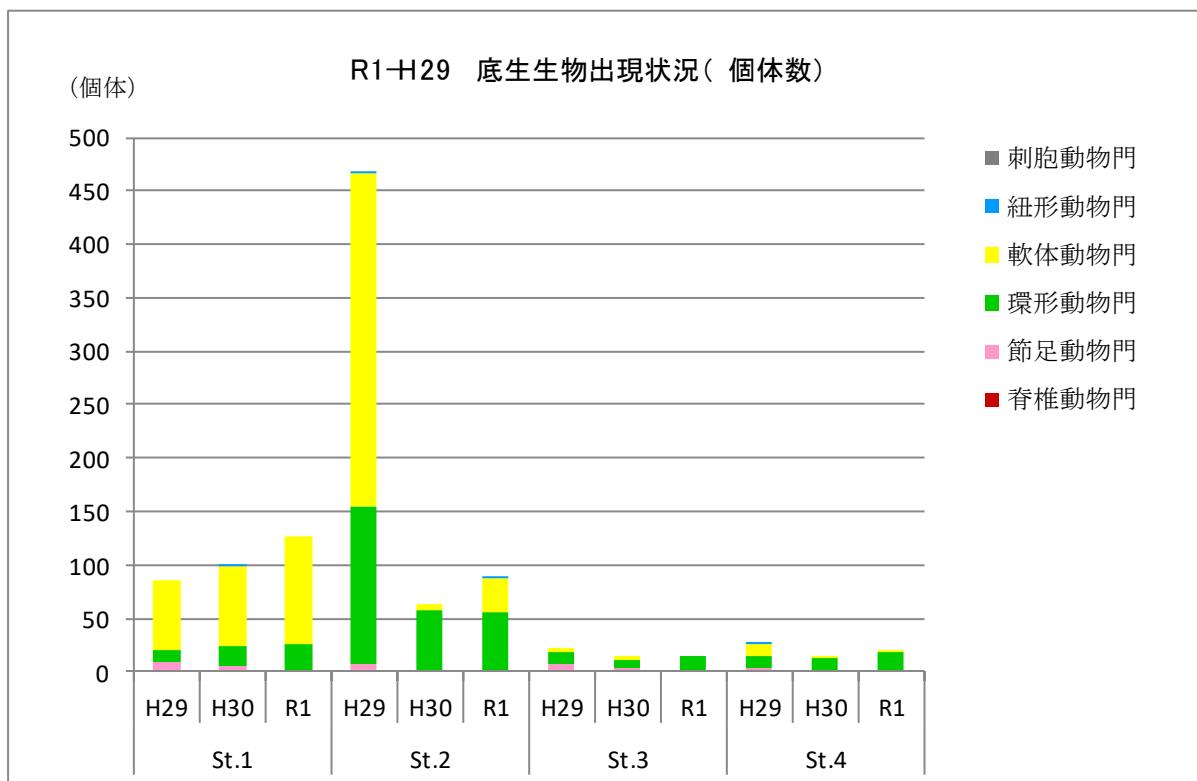


図-3.18 R1～H29 年度の底生生物出現状況(個体数/0.09m²)

(湿重量)

平成 29～令和元年度の底生生物調査の結果から湿重量を比較し、表-3.13、図-3.19に整理した。

過去3年間でみると、St.1、St.2、St.4の3地点では、平成30年度に減少後、今年度増加する変動がみられた。一方、St.3では、年々減少する傾向がみられた。

変動幅をみると、北干潟の方が大きく(St.1: 22.62～33.63g, St.2: 6.09～108.29g), 南干潟の方は小さい(St.3: 0.27～10.50g, St.4: 0.13～2.03g)状況にあった。これは、北干潟に比べると南干潟の方が全体的に個体数が少ないと、南干潟では貝類やカニ類といった比較的湿重量の大きい種が少ないことによるものと考えられる。

表-3.13 R1～H29 年度の底生生物出現状況(湿重量 g/0.09m²)

湿重量	St.1			St.2			St.3			St.4		
	H29	H30	R1	H29	H30	R1	H29	H30	R1	H29	H30	R1
刺胞動物門												
紐形動物門		+		+		+				+		
軟体動物門	27.44	22.46	31.91	107.04	5.62	10.03	2.26	0.30		1.62	0.02	0.03
環形動物門	0.04	0.06	0.05	0.75	0.47	0.38	0.04	0.13	0.25	0.25	0.11	0.12
節足動物門	1.14	0.14	1.67	0.50		0.00	7.35	0.20	0.02	0.16		0.05
脊椎動物門							0.85					
計	28.62	22.66	33.63	108.29	6.09	10.41	10.50	0.63	0.27	2.03	0.13	0.20

注).+表示は0.01g未満を示す。

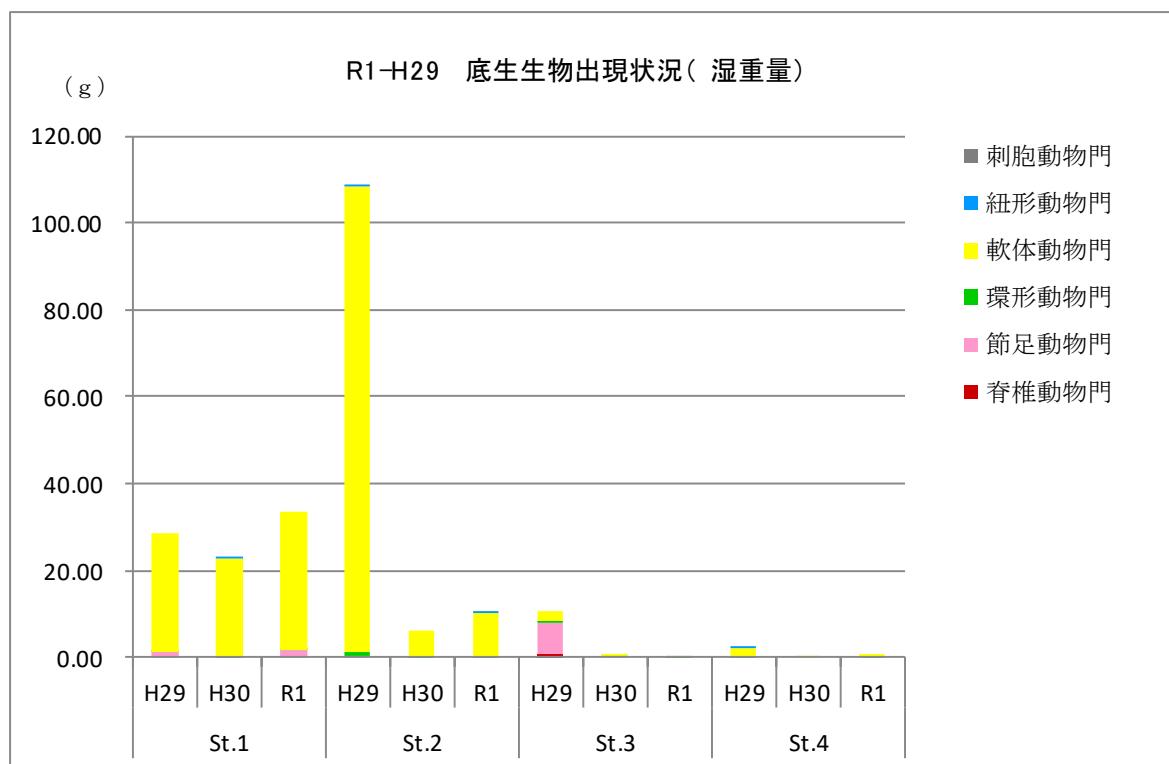


図-3.19 R1～H29 年度の底生生物出現状況(湿重量/0.09m²)

(3) 底質・底生生物に関する経年変化

図-3.20は、底質・底生生物調査における4測点の地盤高の経年変化を表している。すべての測点1で共通していることは、2006年で急激に地盤高が低下していることである。これは、2006年の調査日の直前に台風13号が通過したことにより発生した高波浪が原因と考えられ³⁾。その後、徐々に回復して、低下前の地盤高にほぼ戻っている。海床路を挟んで北側と南側の干潟地盤高を比べると、北側の地盤高の方が高い結果となっている。岸側のSt.1とSt.3では約30cm、沖側のSt.2とSt.4では約50cmの違いが見られる。

図-3.21～3.28は、今回の調査において測点St.1～St.4で得られた結果を既存のデータ(1995年～2018年)と比較し、環境要素の経年変化を表したグラフである。図中には、各環境要素の傾向を見るために近似直線も図示している。なお、環境要素は、含泥率、中央粒径、COD、硫化物、クロロフィルa、底生動物の種類数、個体数、湿重量である。

St.1(図-3.21と3.22)では、2019(R1)年の含泥率は36.9%、中央粒径は0.112mm、CODは1.50mg/g、硫化物は0.04mg/gとなった。含泥率は25年間の平均である40.2%より低い値となり、中央粒径は25年間の平均である0.096mmより若干高い値になった。CODと硫化物では同じような変化が見られ、1995年と比べるとやや増加傾向が見られる。2019年のクロロフィルaは2.6μg/gと2013年以外の過去6回の測定値とほぼ同程度の値を示し、他の測点と同様に安定した傾向にある。種類数は11種/地点、個体数は1,400個体/m²、湿重量は373.7g/m²となった。個体数、湿重量は過去最大の値となり、長期的には個体数、湿重量ともに増加傾向である。特に、2012年以降は顕著な増加傾向が続いている。

St.2(図-3.23と3.24)は、底質に関して他の測点と比べ変動の激しい地点である。含泥率は、1996(H8)年に最低値2.4%、2017(H29)年に最大値64.0%であったが、2019年は32.3%と前年とほぼ同じであった。中央粒径は、2009(H21)年に最大値0.610mm、2017(H29)年に最低値0.033mmであったが、2019年は0.170mmとなった。25年間のデータにおける平均値と標準偏差は、それぞれ含泥率で22.7%と14.9%、中央粒径で0.314mmと0.167mmである。2019年のCODは2.9mg/gで、昨年の半分以下であった。一方、硫化物は、2014年から0.10mg/g減少して0.04mg/gとなり、減少傾向が続いている。2019年の調査でクロロフィルaは3.2μg/g、種類数は14種/地点、個体数は1000個体/m²、湿重量は115.7g/m²となった。クロロフィルaは2013年を除くとほぼ同じような値である。種類数と個体数、湿重量は、2016年にホトトギスガイの大発生により一気に増大したが、2017年、2018年と大幅な減少がみられ、2019年は2018年と比べ若干の増加が見られた。

St.3(図-3.25と3.26)では、含泥率は、2019年において62.0%となり、25年間の平均値の55.3%より大きい値であった。平均値でみると、4測点のうちで最も高い含泥率である。中央粒径は、25年間でほとんど変動がなく、2019年でも0.067mmと平均値の0.070mmとほぼ同じ値であった。2019年のCODは2.1mg/g、硫化物は0.06mg/gとなり、長期的にCODは減少傾向、硫化物は若干ではあるが増加傾向が見られた。クロロフィルaは2.0μg/g、種類数は5種/地点、個体数は156個体/m²、湿重量は3.0g/m²となった。種類数、個体数、湿重量とも長期的には減少傾向である。

St.4(図-3.27と3.28)は、2019年の含泥率は、46.0%となり、平均値の30.2%よりも大きな値となった。中央粒径に関しても大きな変化は見られないが、2019年の値は

0.081mmと平均0.105mmよりやや小さな値となった。2019年においてCODは1.6mg/g、硫化物は0.09 mg/gであり、St.3と同様に、長期的にはCODは減少傾向、硫化物は増加傾向がみられる。クロロフィルaは $1.7 \mu\text{g/g}$ 、種類数は13種/地点、個体数は222個体/ m^2 、湿重量は 2.22g/m^2 であった。種類数は2007年からの13年間では減少傾向である。個体数は長期的に約250個体/ m^2 を前後してほぼ一定であり、湿重量は2007年以降低い値のままである。

4測点で共通していることは、底生生物の個体数と湿重量が減少傾向にあることである。底質のCODや硫化物が極端に悪化しているわけではないので、この減少傾向の原因は今のところ不明である。

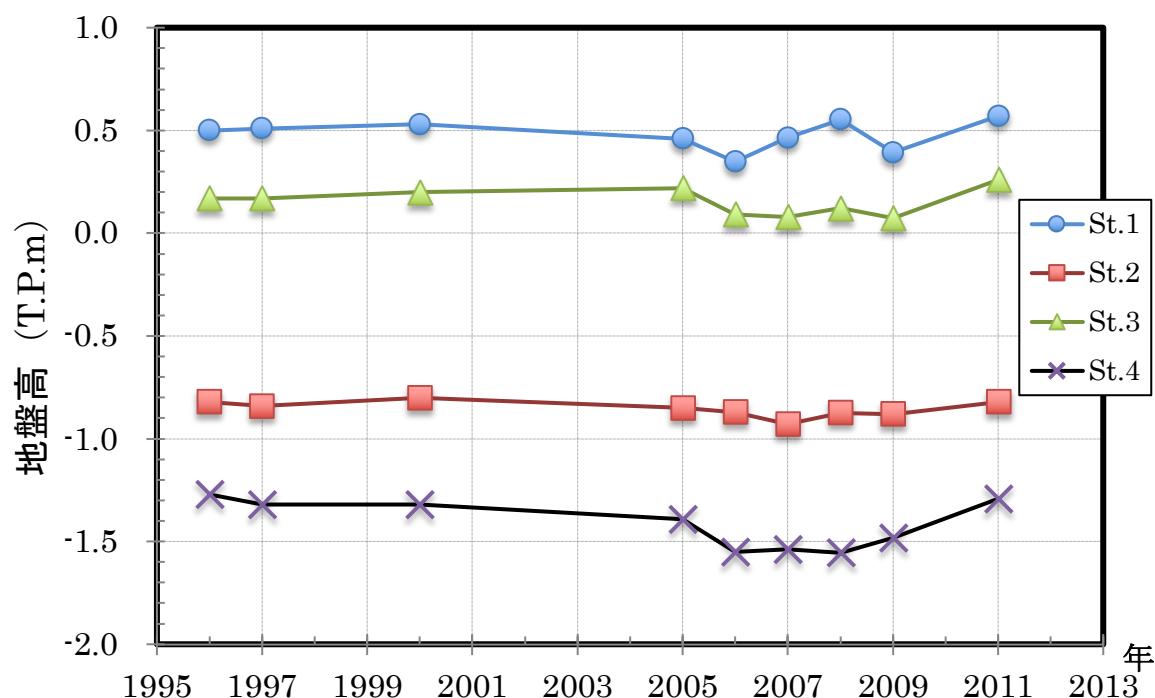


図-3.20 底質・底生生物調査の測点における地盤高の経年変化

3) 熊谷和也ら (2011) : 曽根干潟における地形と底質・底生動物の特性について、九州共立大学工学部研究報告、No. 35, pp. 17-22.

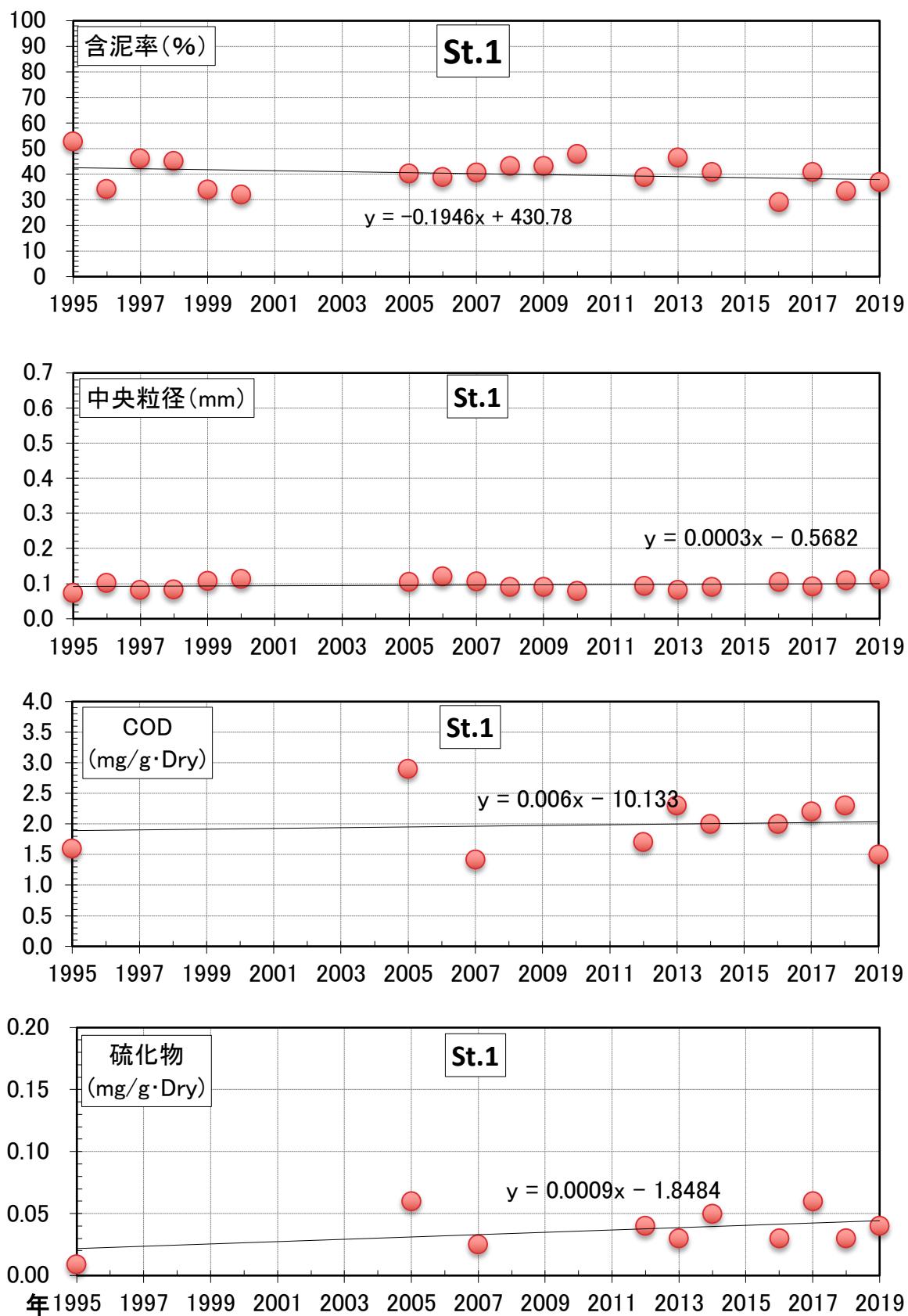


図-3.21 St. 1 における底質（含泥率、中央粒径、COD、硫化物）の経年変化

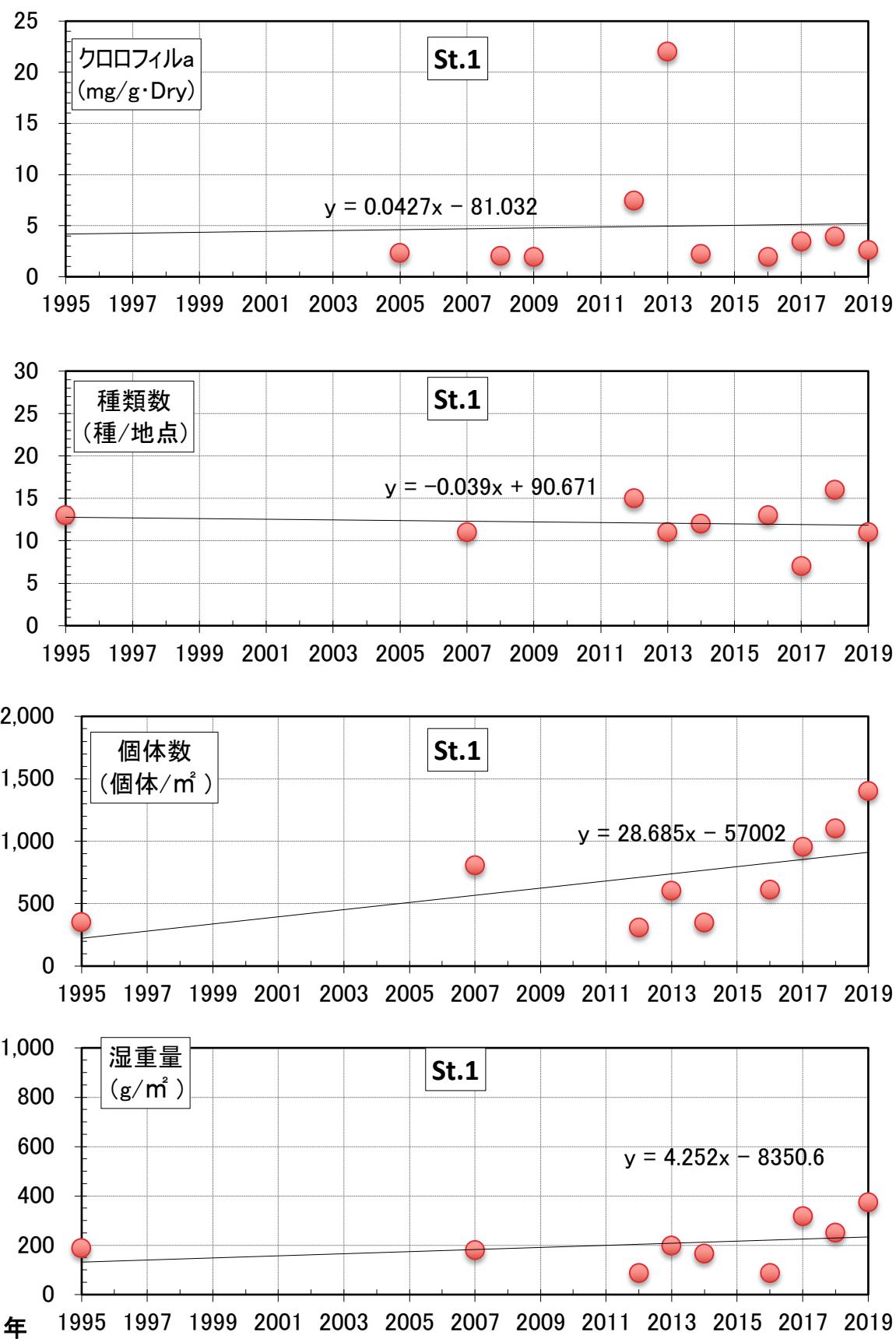


図-3.22 St. 1 におけるクロロフィル a と底生動物の経年変化

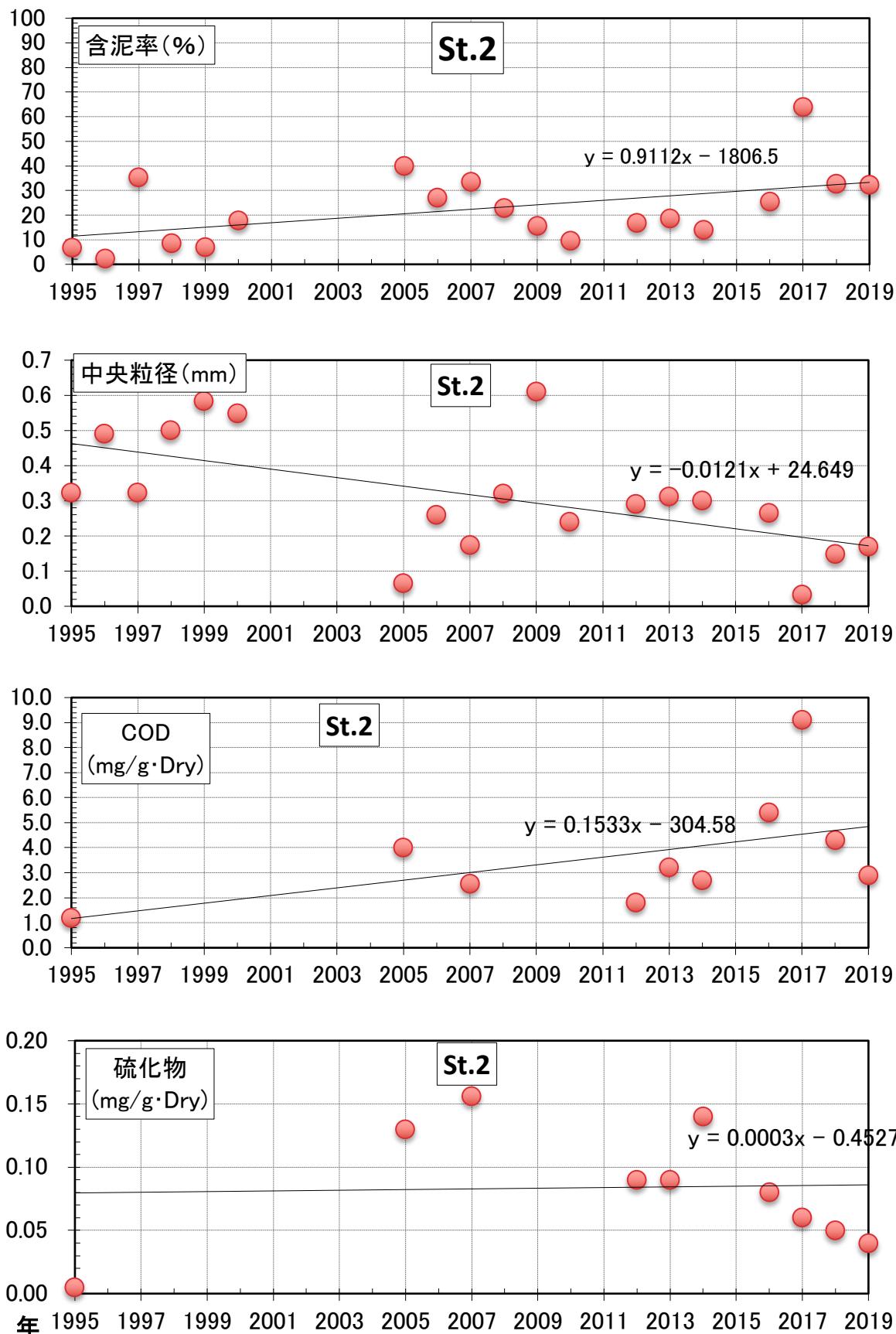


図-3.23 St. 2 における底質の経年変化

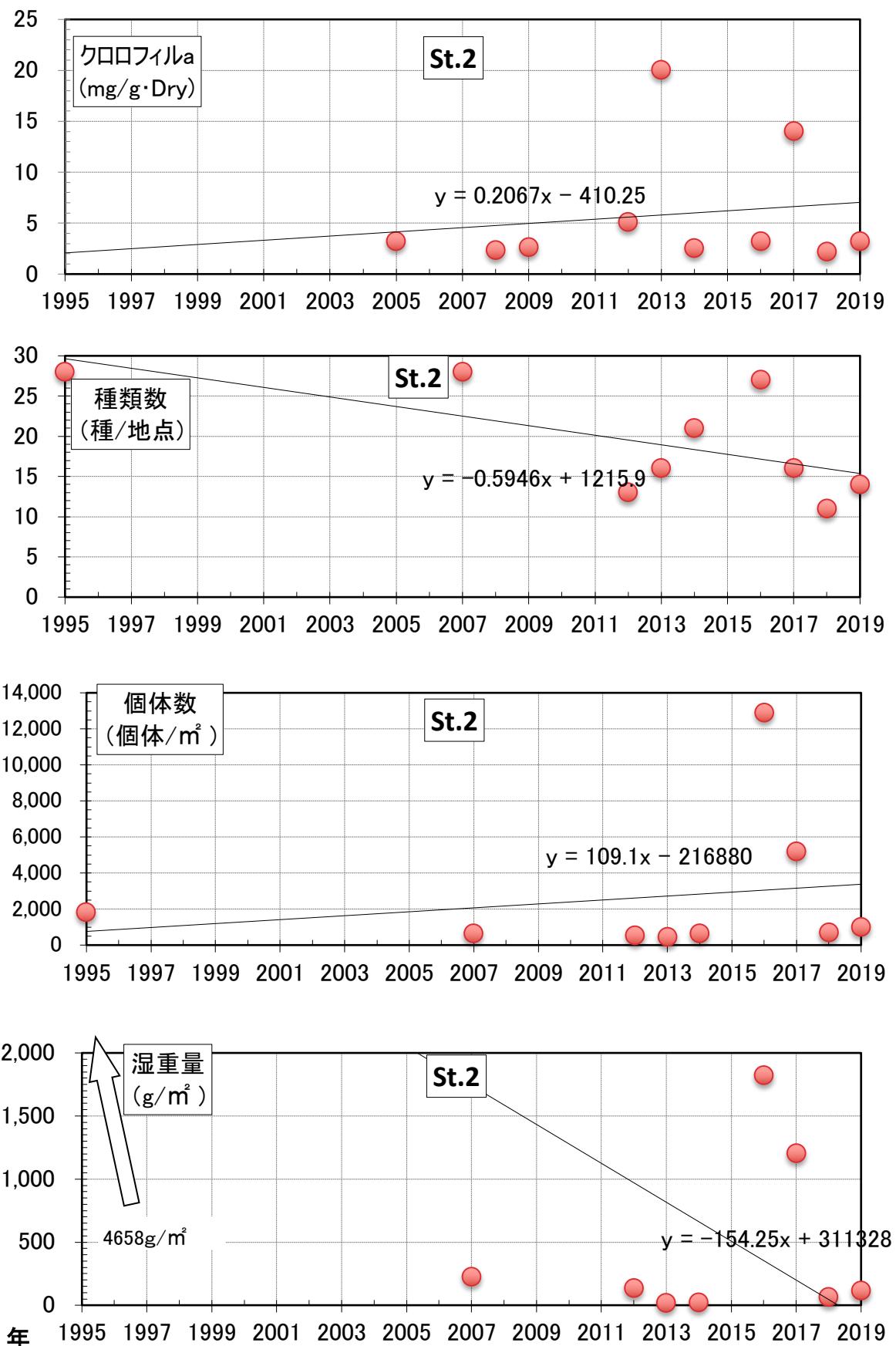


図-3.24 St. 2 におけるクロロフィル a と底生動物の経年変化

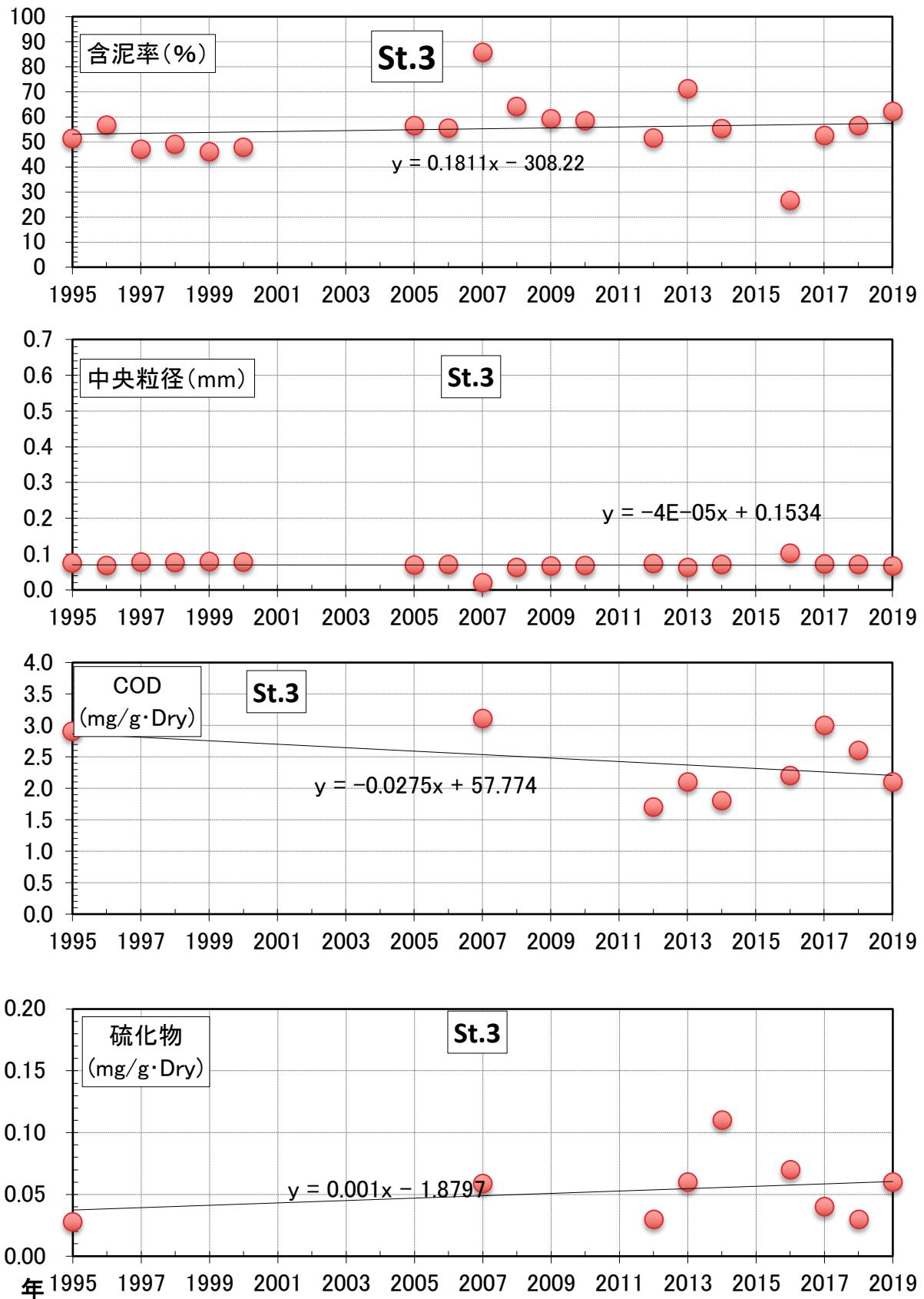


図-3.25 St. 3 における底質の経年変化

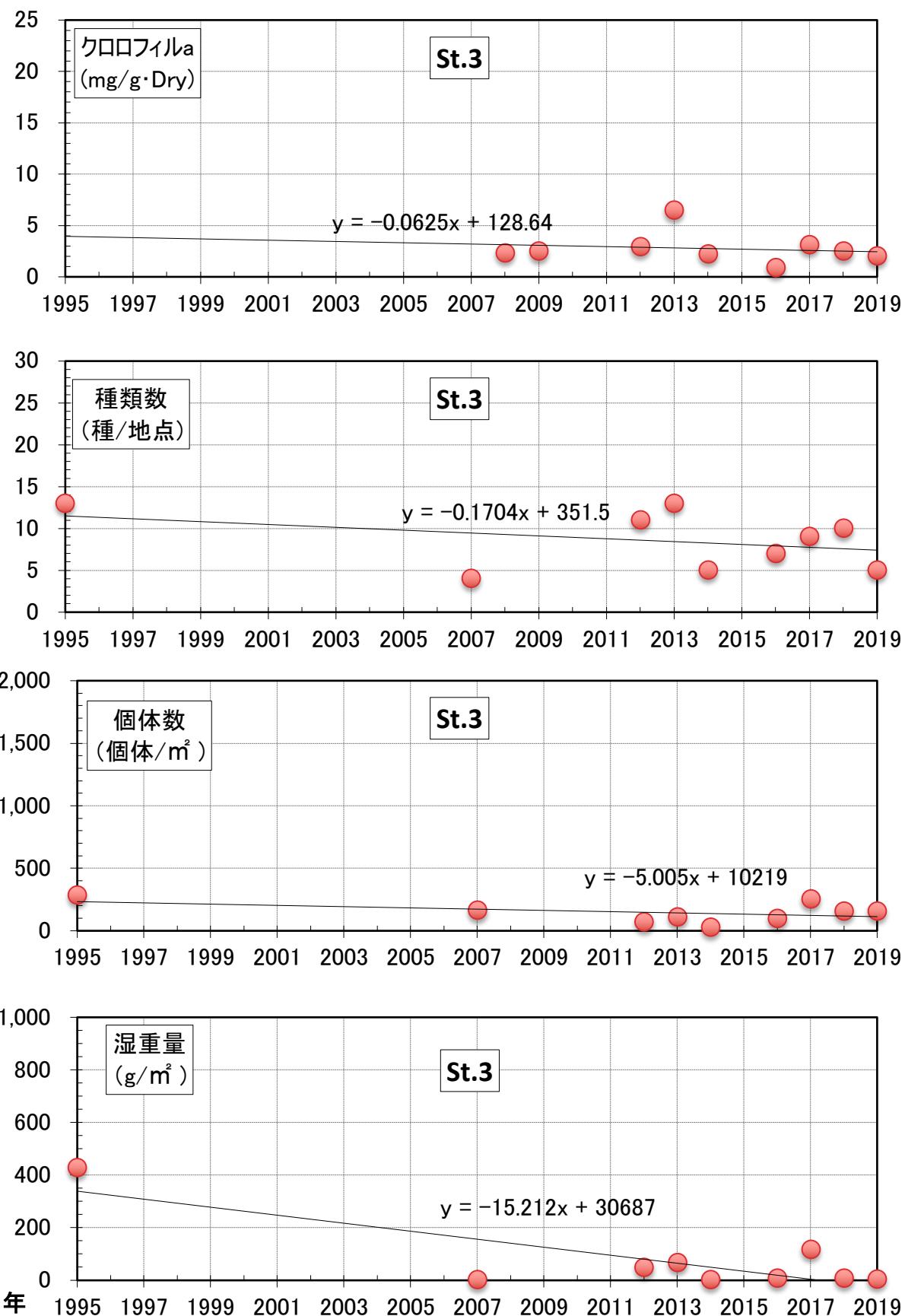


図-3.26 St. 3におけるクロロフィルaと底生動物の経年変化

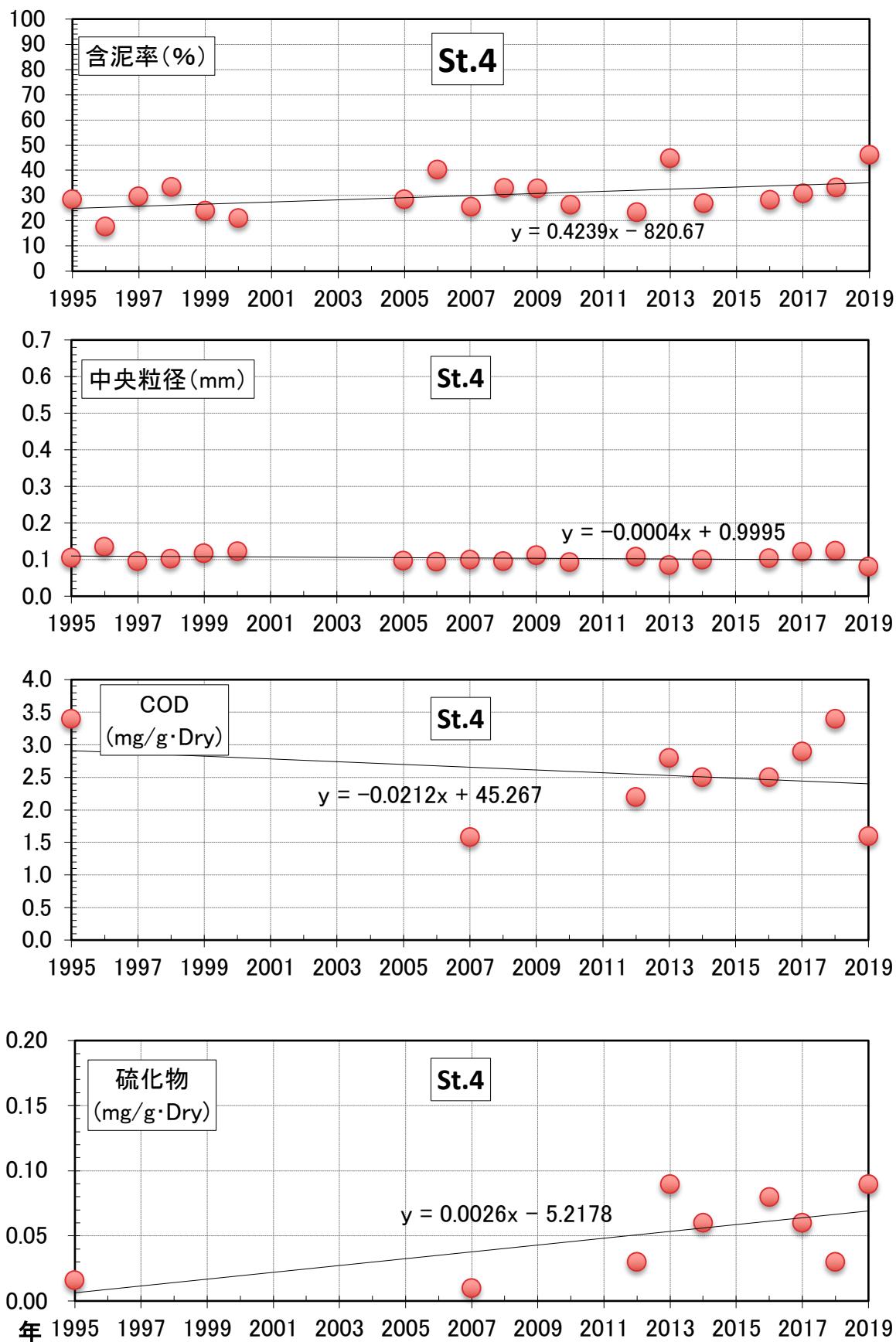


図-3.27 St. 4 における底質の経年変化

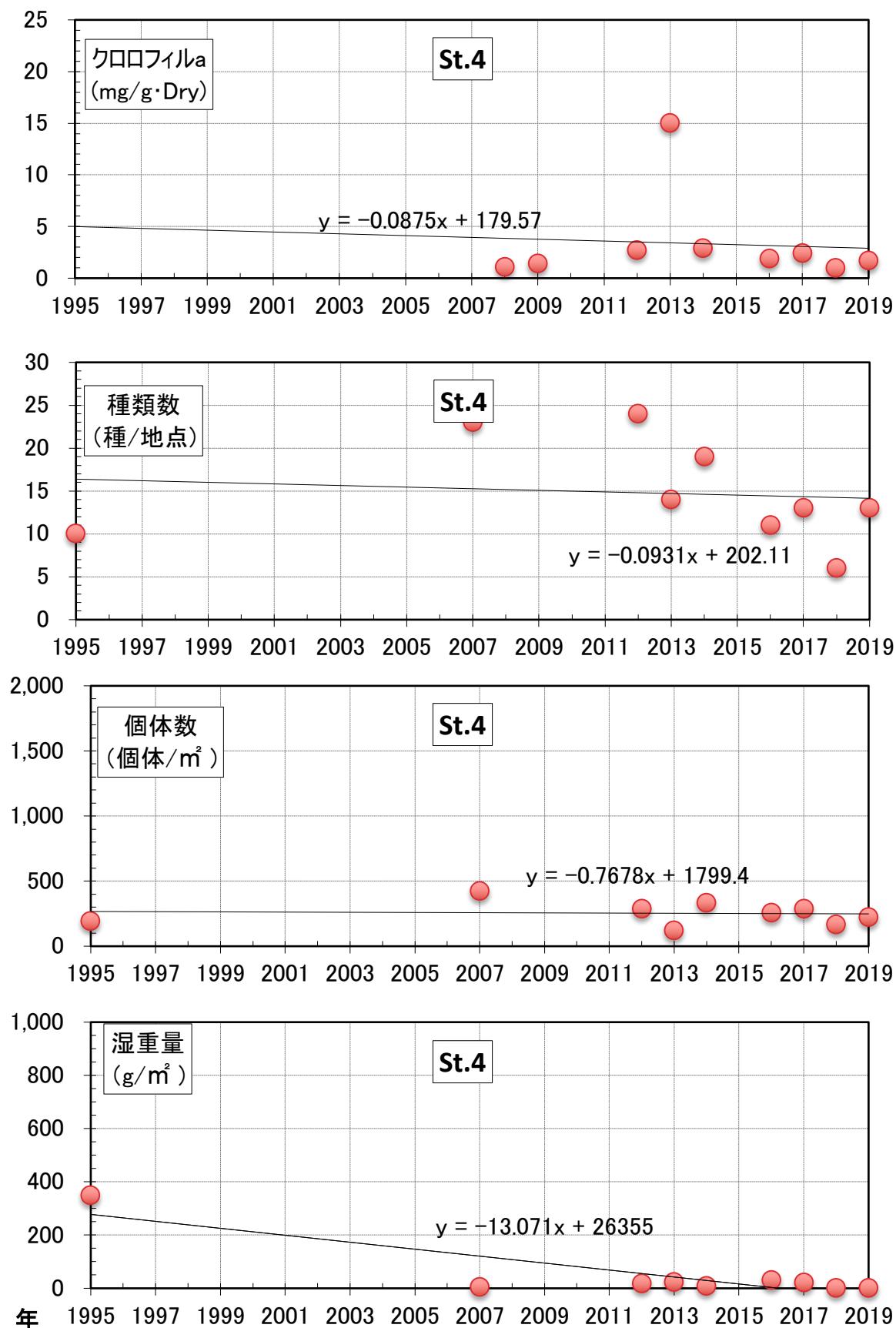


図-3.28 St. 4におけるクロロフィルaと底生動物の経年変化

3.3 地中温度変動調査結果

現地調査における地中温、苅田の潮位、アメダス空港北町の気温、降水量の経時変化図を図-3.29に、地中温の統計整理結果を図-3.30に示した。両図に示すように、地点に関わらず地中下層(-0.5m)の地中温の変動が小さい。また、岸側より沖側の方が最高温が高く、最低温が低い。一方、干潟の北側と南側での温度差は不明確である。本関係性は、概ね昨年度と同様であるが、通年の観測となったため、冬季に表層の最低温が低いことが新たに確認された。これらの結果をさらに詳しく見るために、冬季と夏季の大潮時と小潮時における3日分の地中温、潮位、気温の経時変化を図-3.31～3.34に示す。なお、図中の一点鎖線は地盤高を表す。

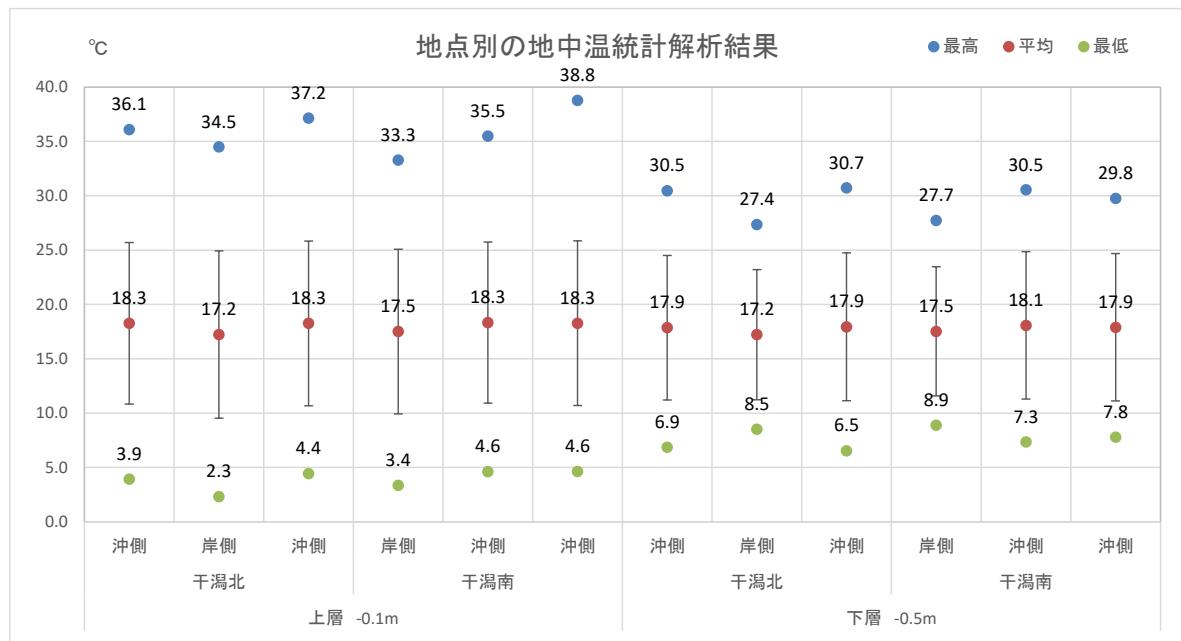
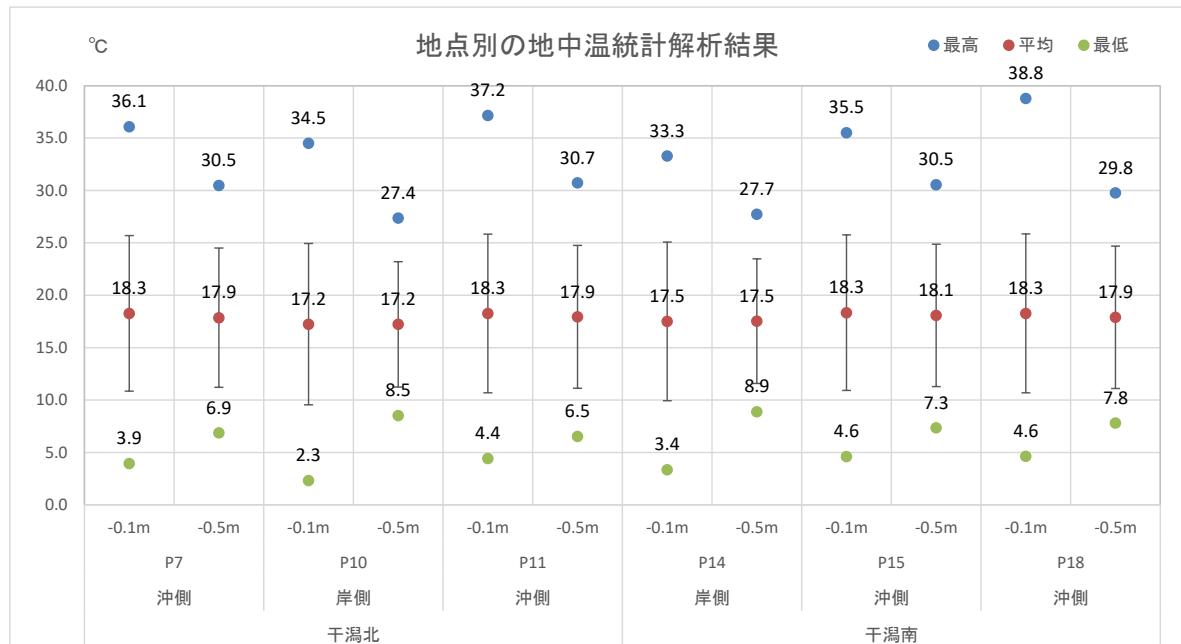


図-3.30 地中温調査結果の最大値・平均値・最小値・標準偏差

【結 果】

- ① 全体的な傾向としては、地中温の長期的変動は大気温の変化と応答性が高く、大気温と同程度の値で推移している。
- ② 上層（泥面下-0.1m）と下層（泥面下-0.5m）では、両水深ともに長期的変動は大気温の上下に呼応しているが、上層のみ、潮汐や昼夜の変化に影響を受けている。下層は緩やかな変動を示し、気温が上がったときは、表層より低く、気温が下がったときは、表層より高い。なお、昨年度も同様の傾向となっている。（図）



地中温 (°C)

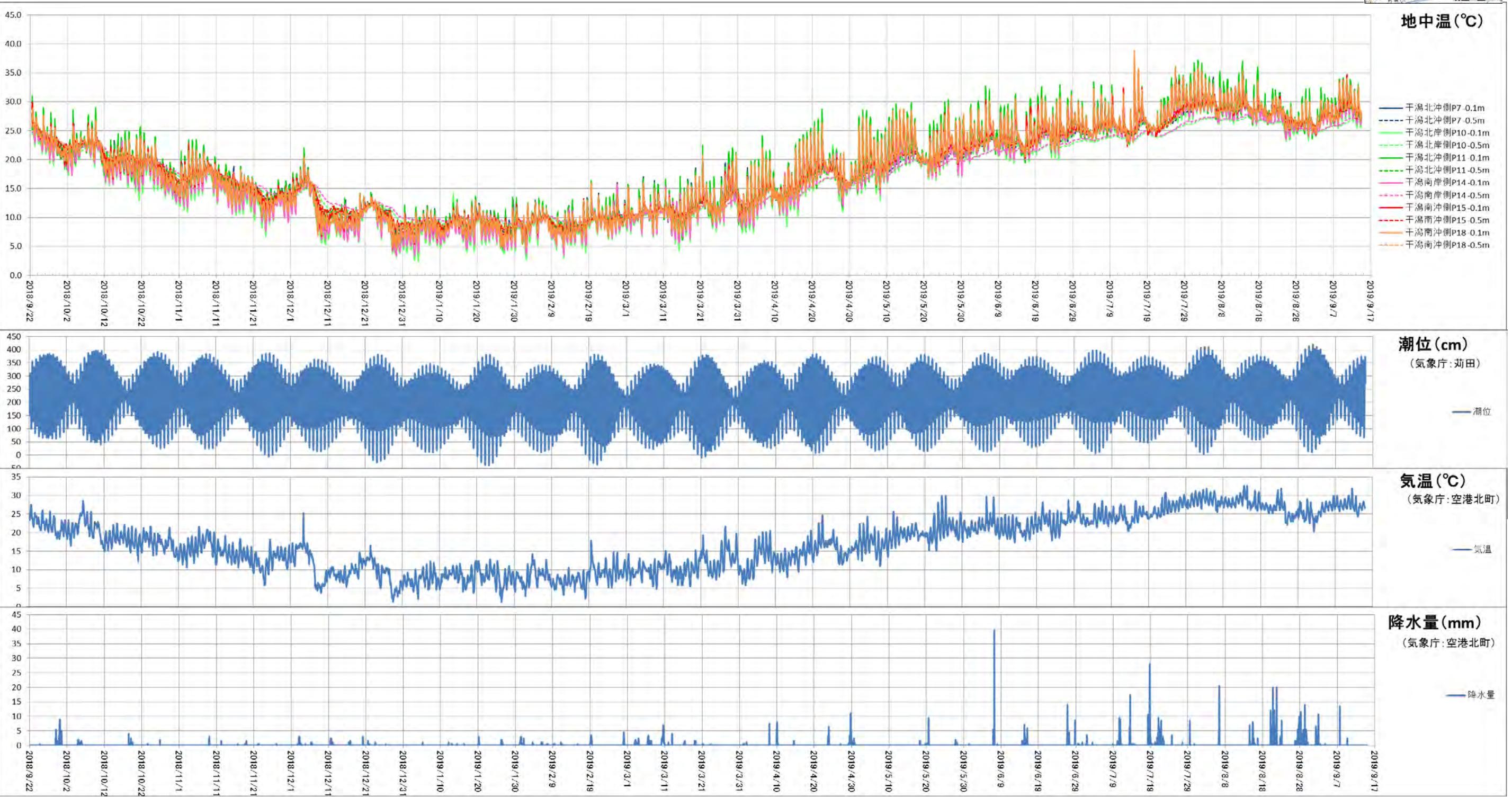


図-3.29 地中温及びその他気象・海象条件の経時変化

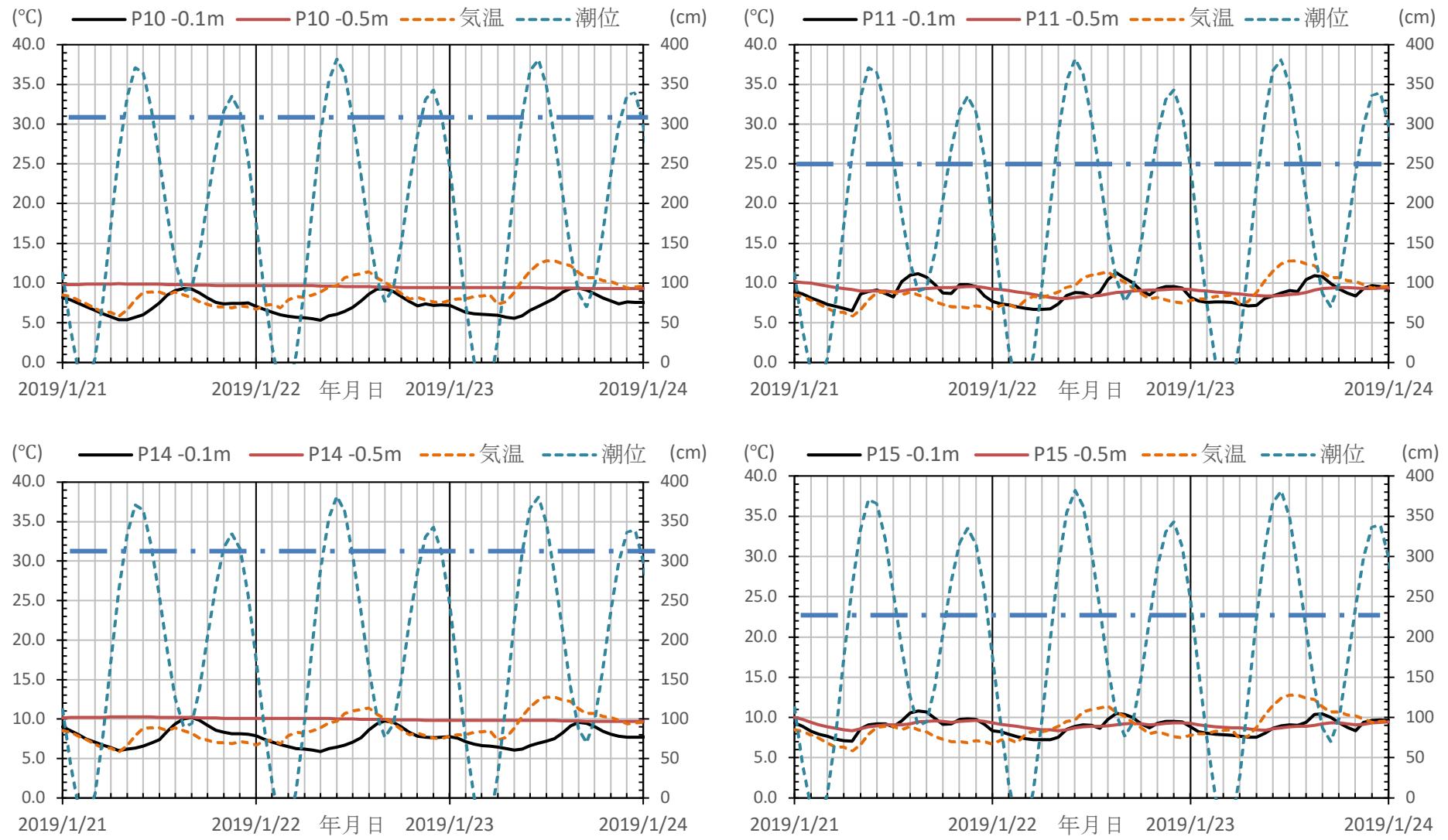


図-3.31 冬季の大潮時における地中温と気温、潮位の経時変化 (P10, P14 : 岸側, P11, P15 : 沖側), 一点鎖線: 地盤高

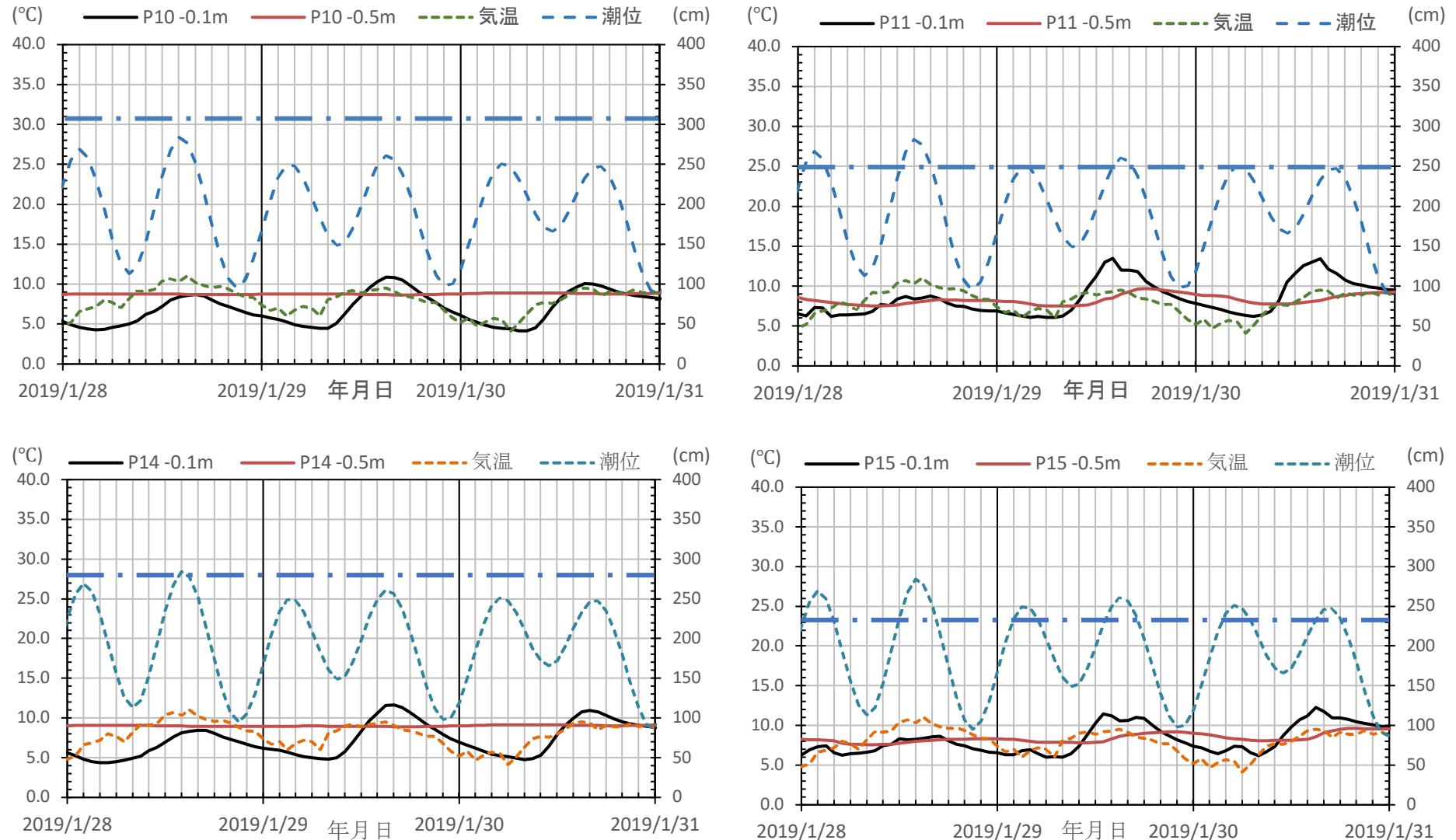


図-3.32 冬季の小潮時における地中温と気温、潮位の経時変化 (P10, P14 : 岸側, P11, P15 : 沖側) 一点鎖線 : 地盤高

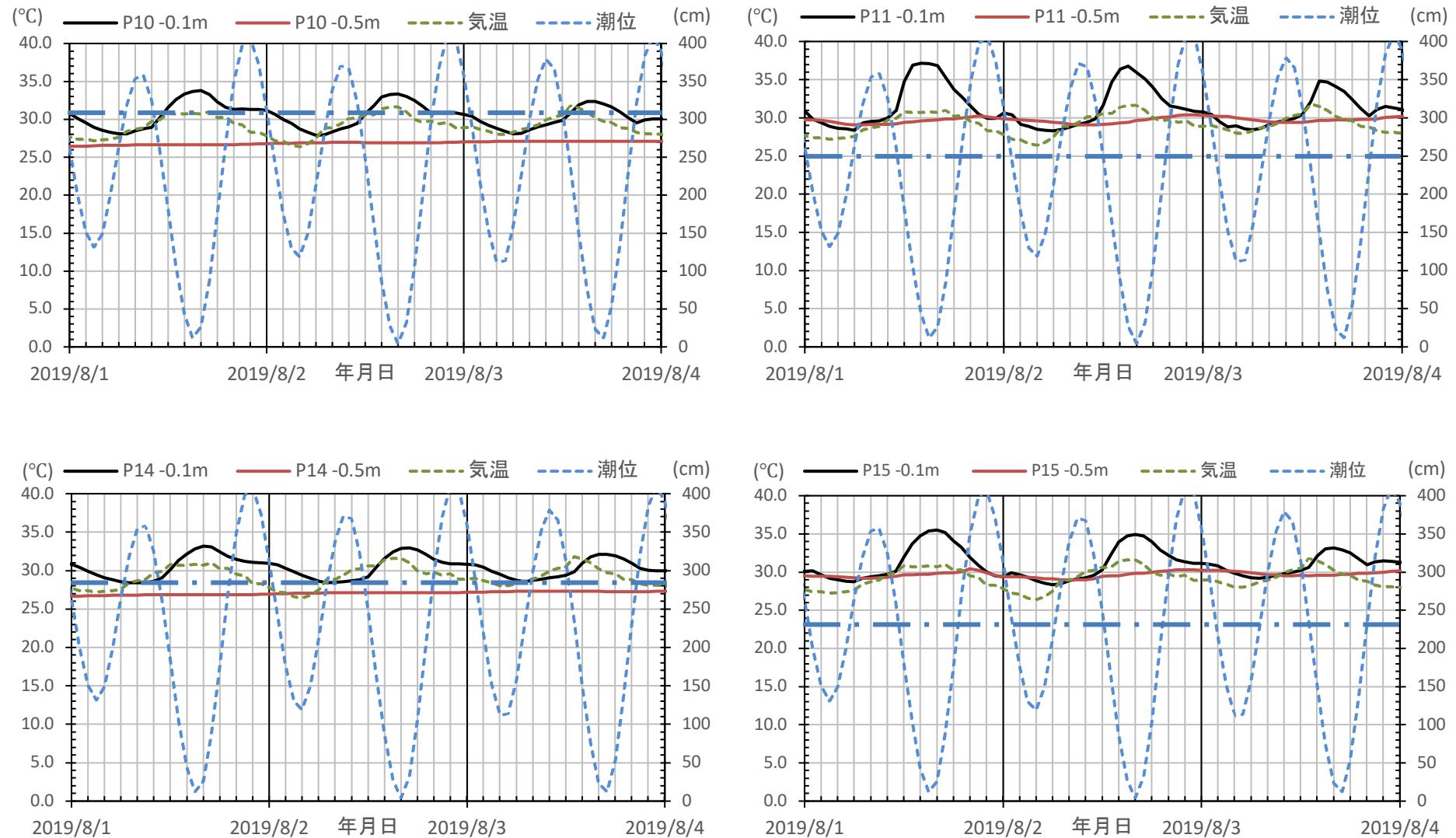


図-3.33 夏季の大潮時における地中温と気温、潮位の経時変化 (P10, P14 : 岸側, P11, P15 : 沖側) 一点鎖線 : 地盤高

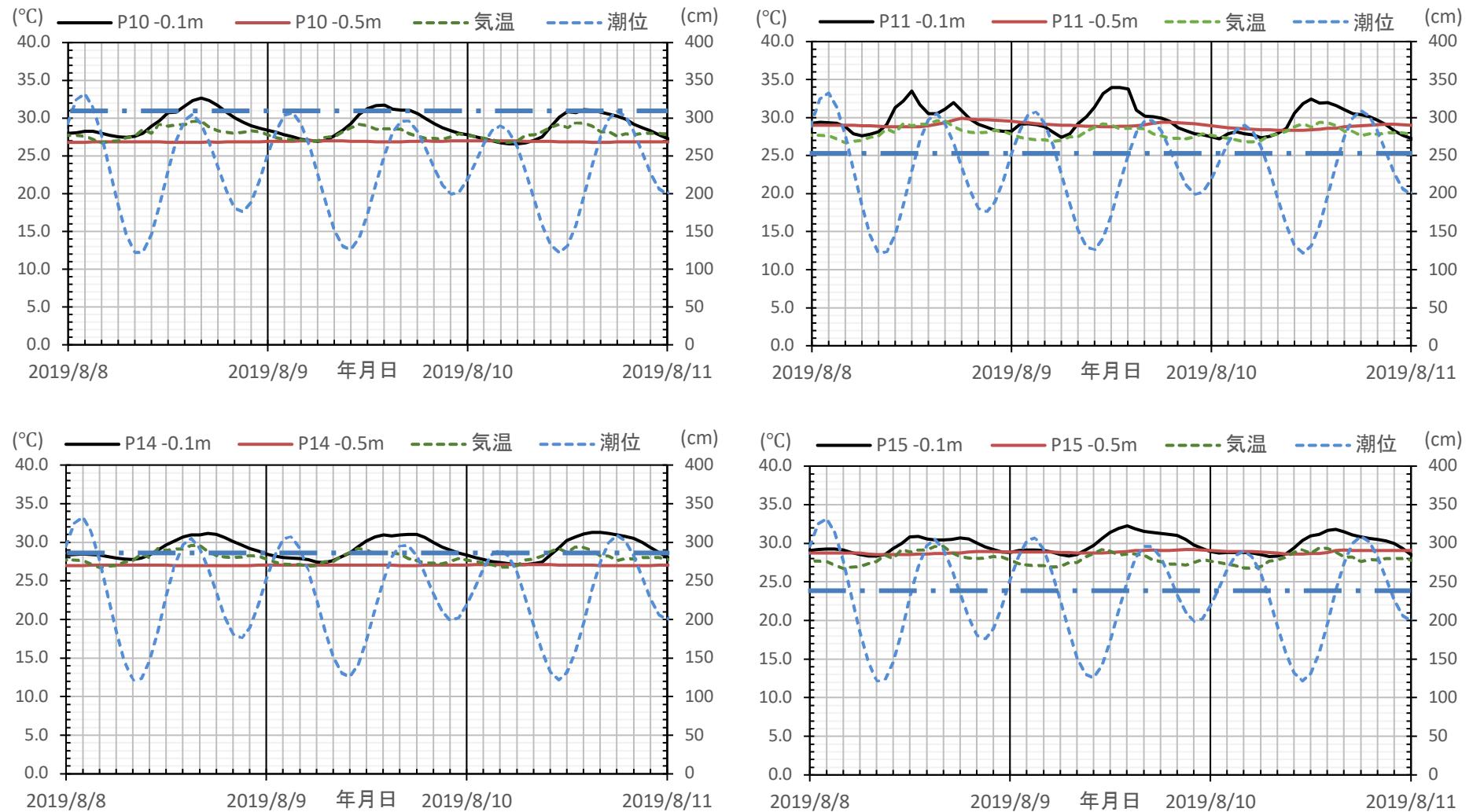


図-3.34 夏季の小潮時における地中温と気温、潮位の経時変化 (P10, P15 : 岸側, P11, P15 : 沖側) 一点鎖線 : 地盤高

図-3.31～3.34 より得られる特徴的な変化は、岸側の測点 P10 と P14 における泥面下-0.5m の地中温が、冬季、夏季ともにまた大潮、小潮ともに、ほぼ一定であるのに対し、沖側の測点 P11 と P15 における泥面下-0.5m の地中温は、気温や干出、浸水などの影響を受けて若干の変動を示している。地中温の値としては、冬季で大潮、小潮ともに、岸側の-0.5m の方が沖側より若干高い値を示しており、夏季は逆に低い値を示している。泥面下-0.1m に関しては、冬季においては沖側の地中温は気温の上昇とほぼ同時に上昇していくが、岸側のそれはそれが生じている。夏季においては、このような違いはみられず、岸側、沖側とともに気温上昇とともに地中温も上昇していく。また、沖側の-0.1m 地中温は、浸水による影響ともわれる複雑な変動を示したが、岸側ではそのような変動は顕著ではなかった。

図 - 3.35 は、地中温と気温の月平均の経時的变化を示しており、上図に泥面下-0.1m の地中温に関しては、下図に泥面下-0.5m の結果を示している。前述したように、地中温は気温と同様の変化をしている。-0.1m では、沖側の地中温が気温よりも常に 1 度から 3 度高い値を示したが、岸側地点の P10 と P14 (破線) では 10 月から 2 月の秋季から冬季にかけて気温より若干低い値となった。また、-0.1m の岸側では、地盤が高いので干出時間が長くなり大気と太陽光の影響を受ける時間が必然的に長くなり、地中温は沖側より岸側の方が高くなることが考えられるが、逆の結果が得られた。

一方、-0.5m では、沖側のすべての地点で-0.1m と同様に気温より高い値になっているが、岸側 2 測点で夏季に気温より低い値になっている。また、冬期では逆に岸側 2 測点で若干ではあるが地中温の方が高い値になった。岸側の測点におけるこれらの現象には、気温や太陽光の熱以外の要因が影響したと考える。

地中温に影響すると思われる気象（気温）と海象（潮位）との相関を示したのが図 - 3.36 である。図より気温に対しては非常に良い相関があるが、潮位に関しては相関がない。図 - 3.37 は、泥面下-0.1m の地中温と気温の相関を取ったもので、上図が岸側の P10, P14 の結果を、下図に沖側の P7, P11, P15, P18 の結果を示している。同様に、図 - 3.38 は泥面下-0.5m の結果である。表-3.14 は、それぞれの測点における近似直線の勾配と相関係数をまとめたものである。泥面下-0.1m では、相関係数が岸側、沖側ともに平均で 0.940 と良い相関を示している。近似直線の勾配に関しては、沖側の平均で 1.011 と地中温と気温とがほぼ 1 : 1 の関係を示し、岸側で 1.063 と若干高い値を示した。

泥面下-0.5m においては、岸側で相関係数が平均で 0.883 と悪く、また近似直線の勾配は 0.780 と他の測点や深度と比べてかなり低い値となっている。さらに、図 - 3.38 の上図を見ると分かるが、岸側 2 点の-0.5m の地中温は冬季に最低でも 9 ℃程度までしか下がらず、また夏季では最高でも 27 ℃程度までしか上がりがない。これらのこととは、図 - 3.30 や図 - 3.35 の下図にも示されている。これらの結果は、大気温や太陽光の熱以外の要因、例えば地下水が影響している可能性がある。

なお、図-3.39 に地中温の観測時期と測点の位置図を示している。

表 - 3. 14 地中温と気温との近似直線の勾配と相関係数

測点	泥面下-0.1m		泥面下-0.5m	
	近似直線の勾配	相関係数	近似直線の勾配	相関係数
岸側	P10	1.041	0.946	0.783
	P14	1.085	0.935	0.776
	平均	1.063	0.940	0.780
沖側	P7	1.002	0.942	0.881
	P11	1.022	0.942	0.905
	P15	1.000	0.940	0.902
	P18	1.020	0.937	0.896
	平均	1.011	0.940	0.896

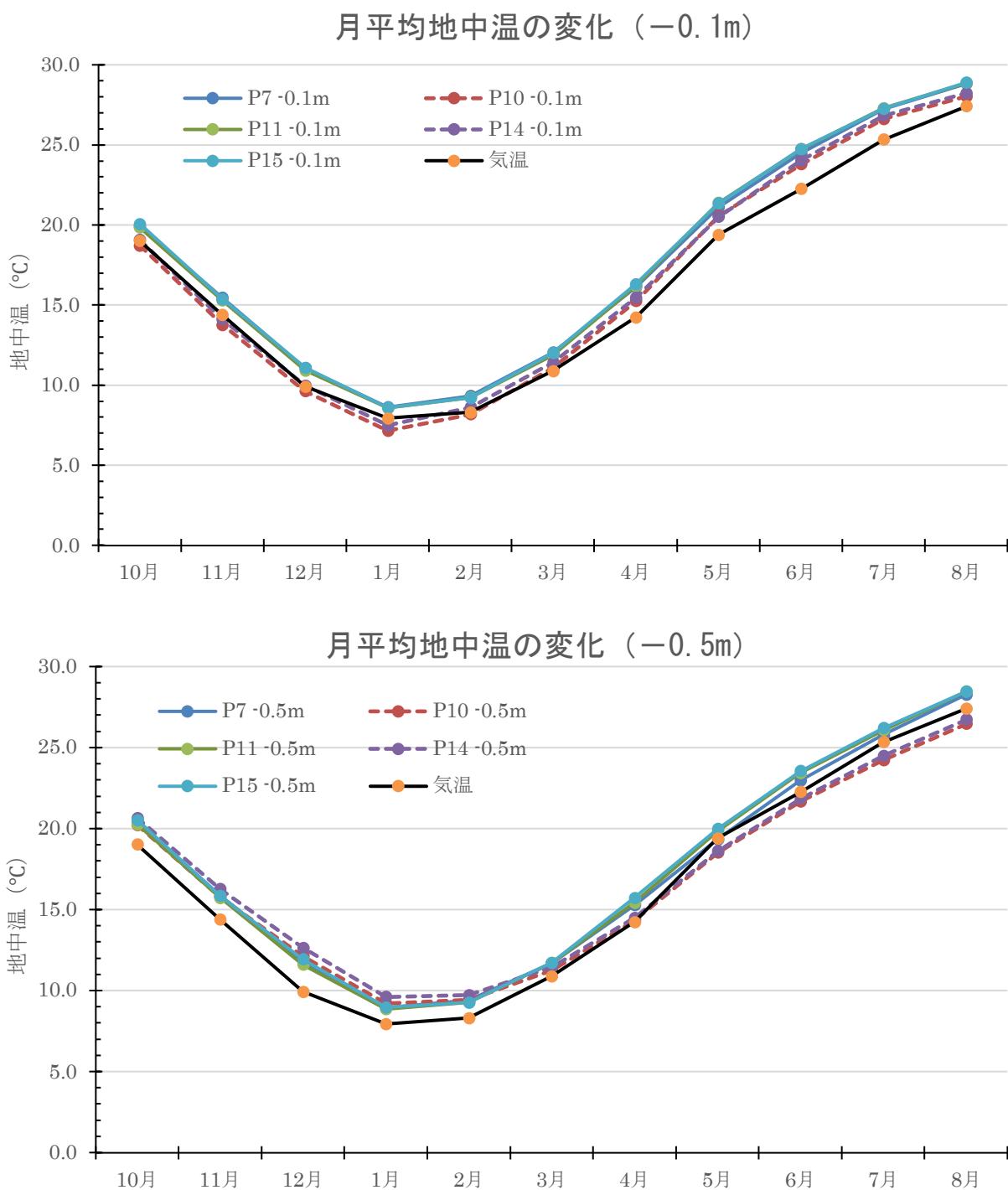


図-3.35 月平均地中温の変化（上図：泥面下-0.1m, 下図：泥面下-0.5m）

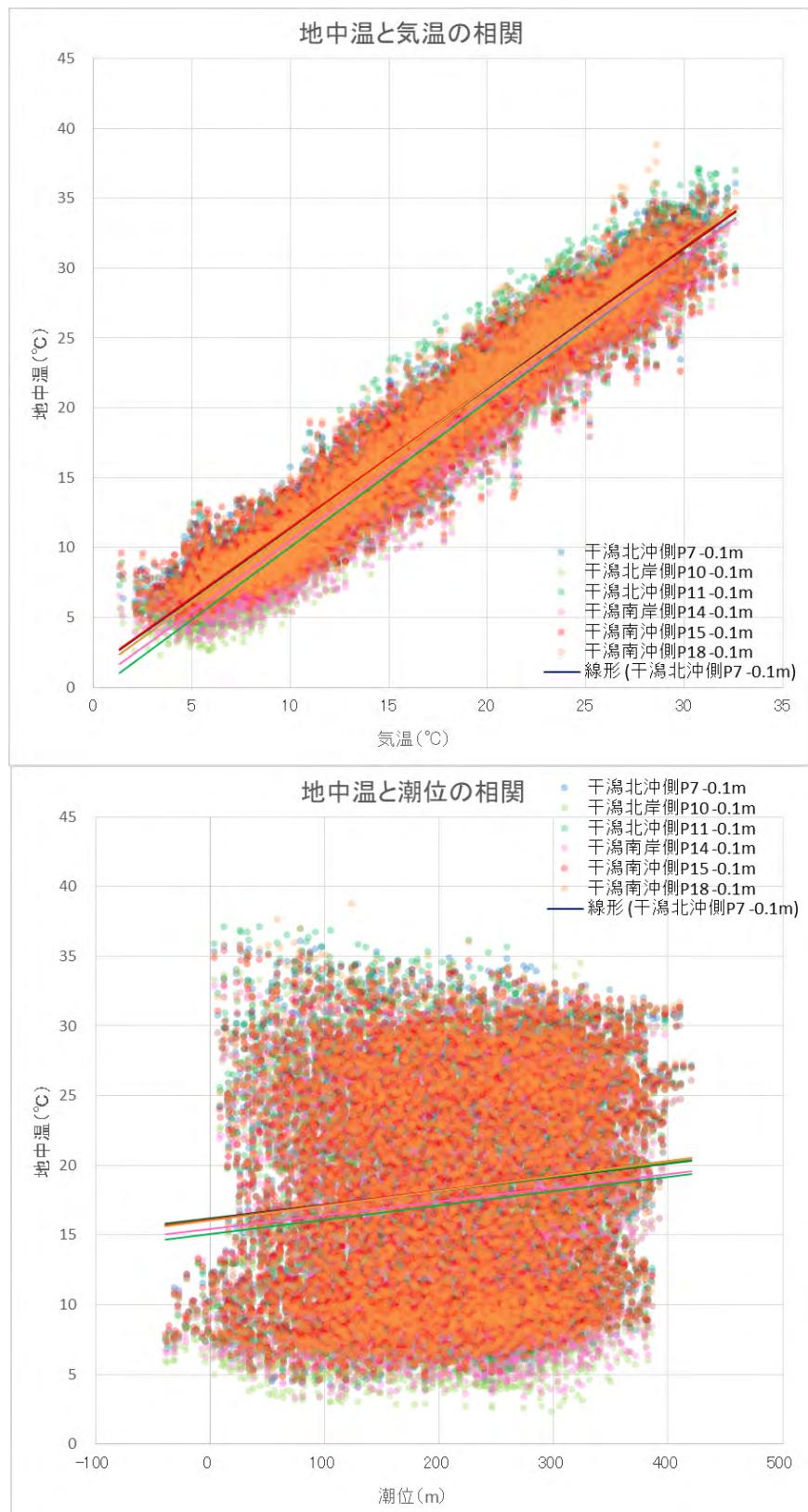


図-3.36 地中温と気象（気温）・海象（潮位）条件の相関

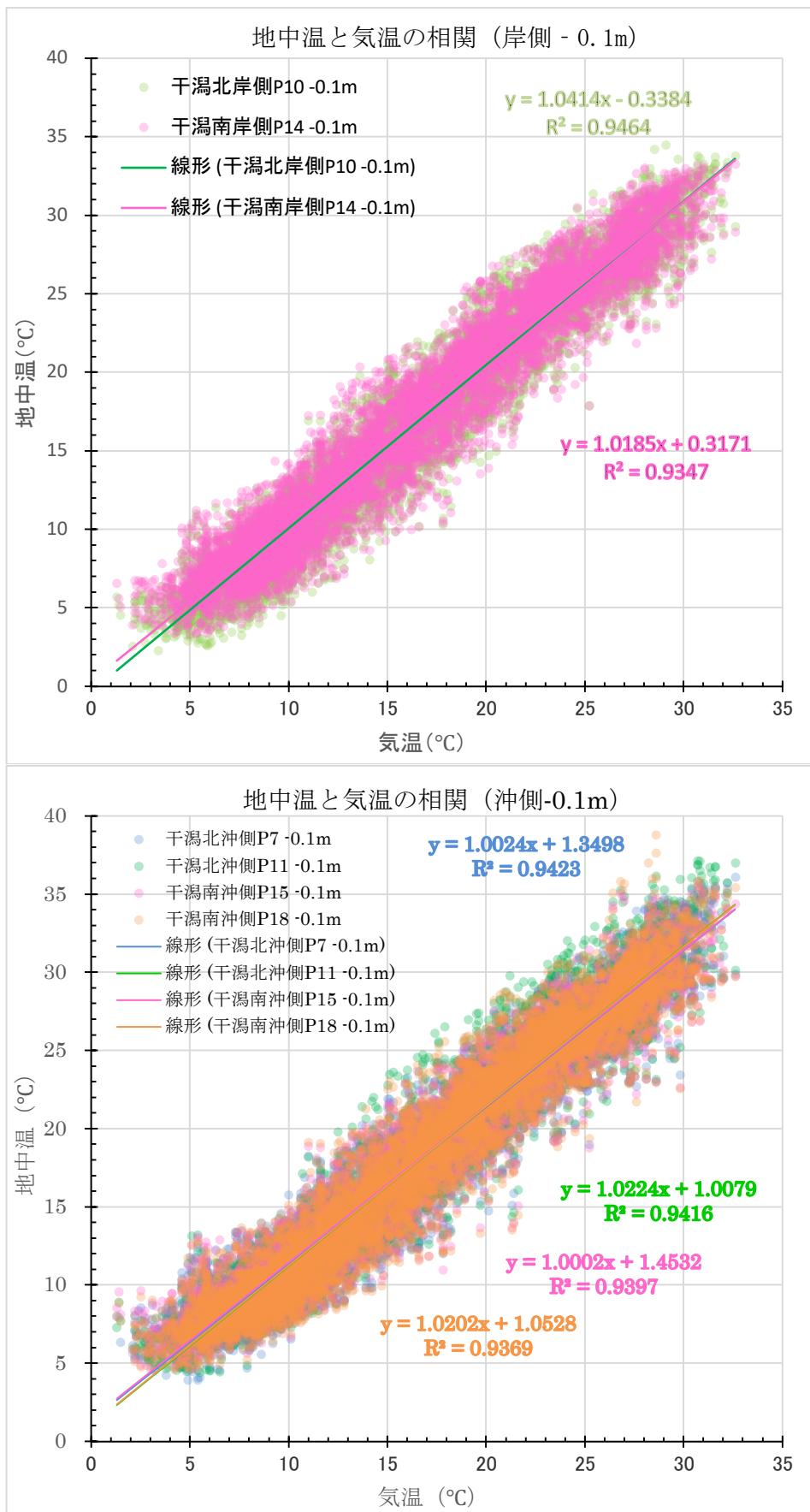


図-3.37 地中温と気温との相関 (-0.1m) (上図 : 岸側, 下図 : 沖側)

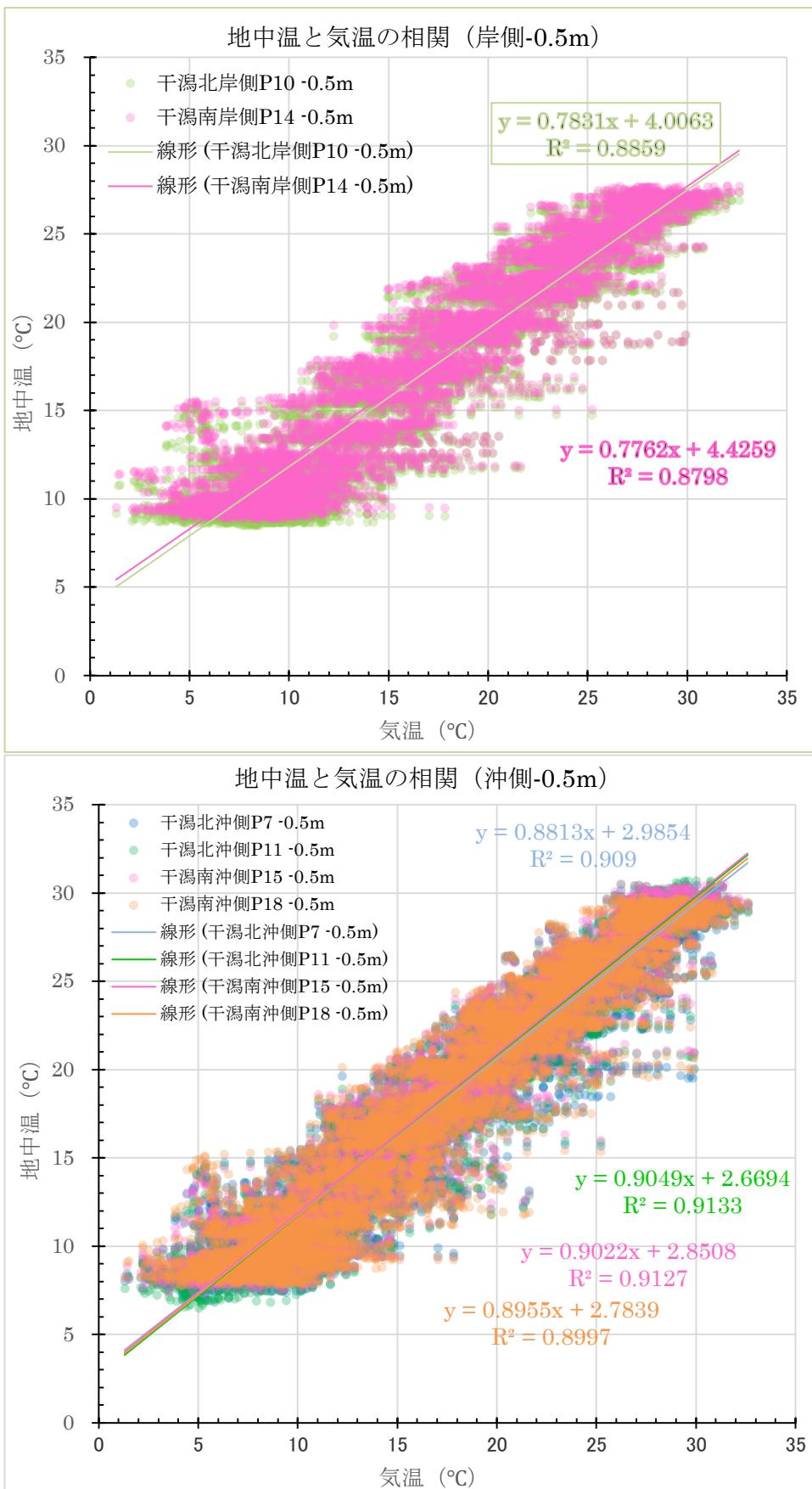


図-3.38 地中温と気温との相関 (-0.5m) (上図：岸側，下図：沖側)

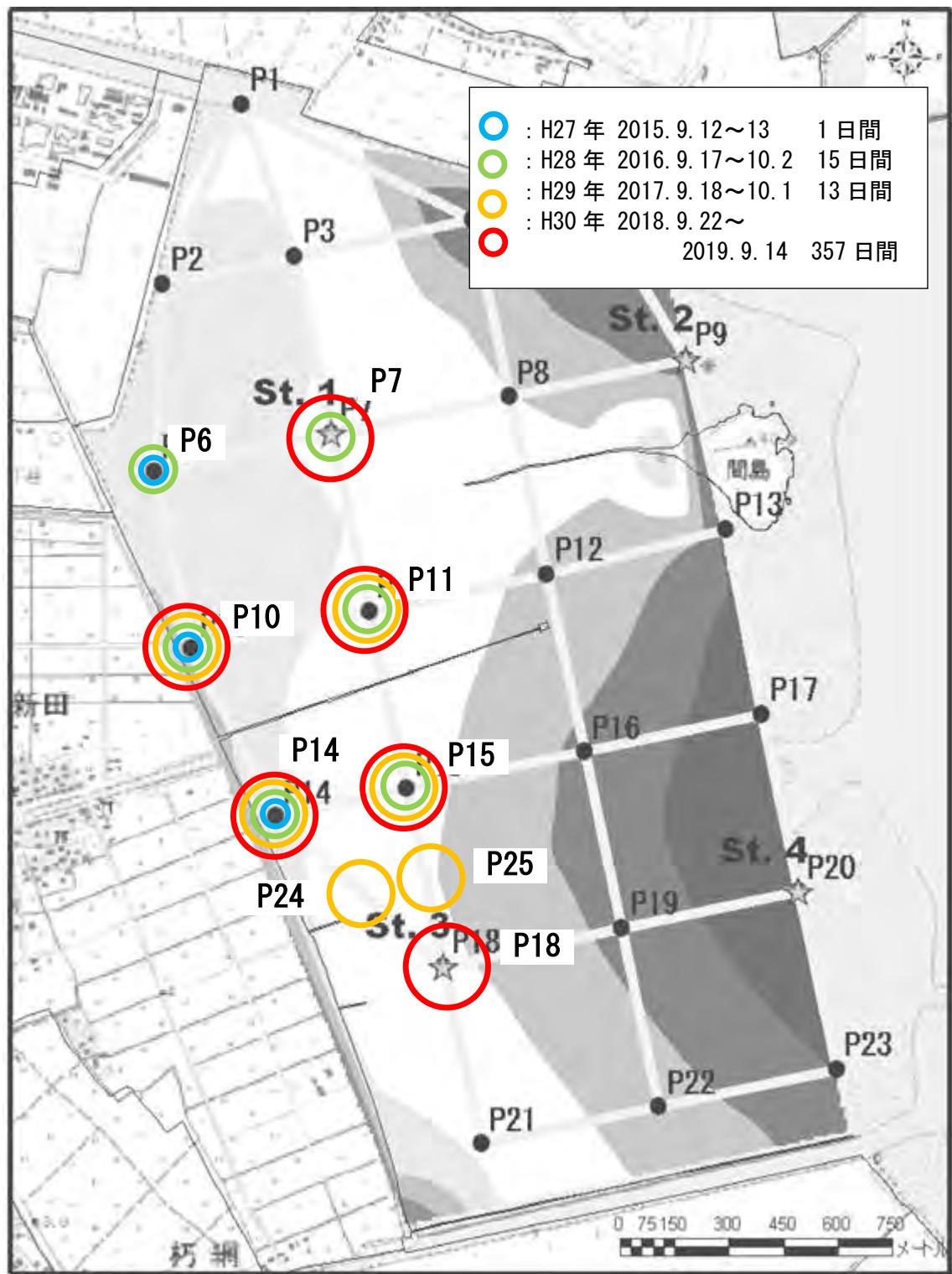


図-3.39 地中温の観測時期と位置図

4. 環境 DNA 調査

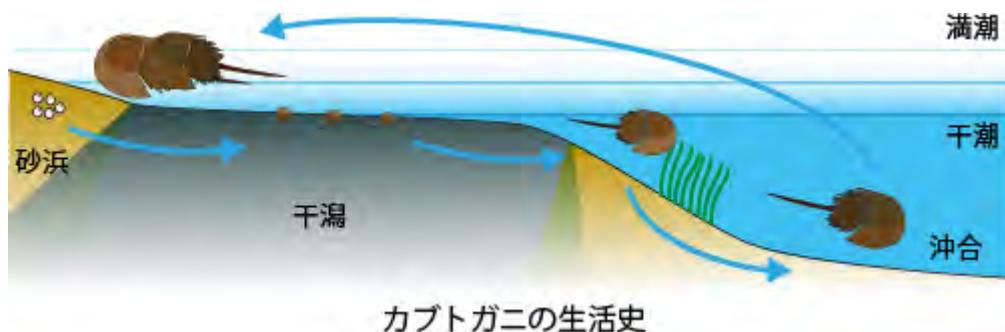
4.1 はじめに

(1) 環境 DNA とは

- ・もともとは湖沼や河川の水から直接抽出した DNA を指す.
- ・環境中の水には、大きな生物の老廃物や微生物の細胞が含まれる.
- ・得られた DNA はさまざまな生物由来の DNA の混合物.
- ・近年、淡水域の魚類等の大型生物の生息情報収集に適用されるようになってきた.
- ・土壤や底質からも DNA が取れて大型生物の DNA が検出できる.

(2) カブトガニ（学名：*Tachypleus tridentatus*）

- ・瀬戸内海から九州北部に生息する.
- ・成体は6~8月頃に干潟にあらわれ、番（つがい）となって大潮の満潮時に干潟に接する砂質の海浜で繁殖・産卵する.
- ・孵化した幼生は数年間干潟で成長し、徐々に干潟の外のアマモ場や沖合に生息空間を移動していく.
- ・15年ほどして成体となり、繁殖のため干潟に戻ってくる.



(3) 曽根干潟

- ・南北3km 沖合1.7km 干出する.
- ・定量研で毎月大潮干潮時に干潟を踏査してカブトガニ幼生の確認調査を実施している.
- ・カブトガニ幼生は比較的局在している.
- ・泥表面の幼生の目視確認は容易ではない.

(4) 調査の目的

- ・表層水 500 mL からカブトガニの DNA が検出できるか.
- ・底質からの DNA の収率や PCR の成功率が高いといわれている DNeasy PowerSoil Kit¹ を用いて DNA を抽出し、カブトガニの DNA が検出できるか.
- ・DNA 抽出試料である底質土壤の分析量を増やし、カブトガニの DNA が検出できるか.
- ・環境 DNA を利用することでカブトガニ幼生分布調査の効率化・精緻化を図れないか.

¹ QIAGEN 社製

4.2 材料と方法

(1) 干潟表層水と底質試料の採取

曾根干潟の図-4.1、表-4.1に示す地点において、2019年9月15日に干潟域の表層水と底質の試料を採取した。

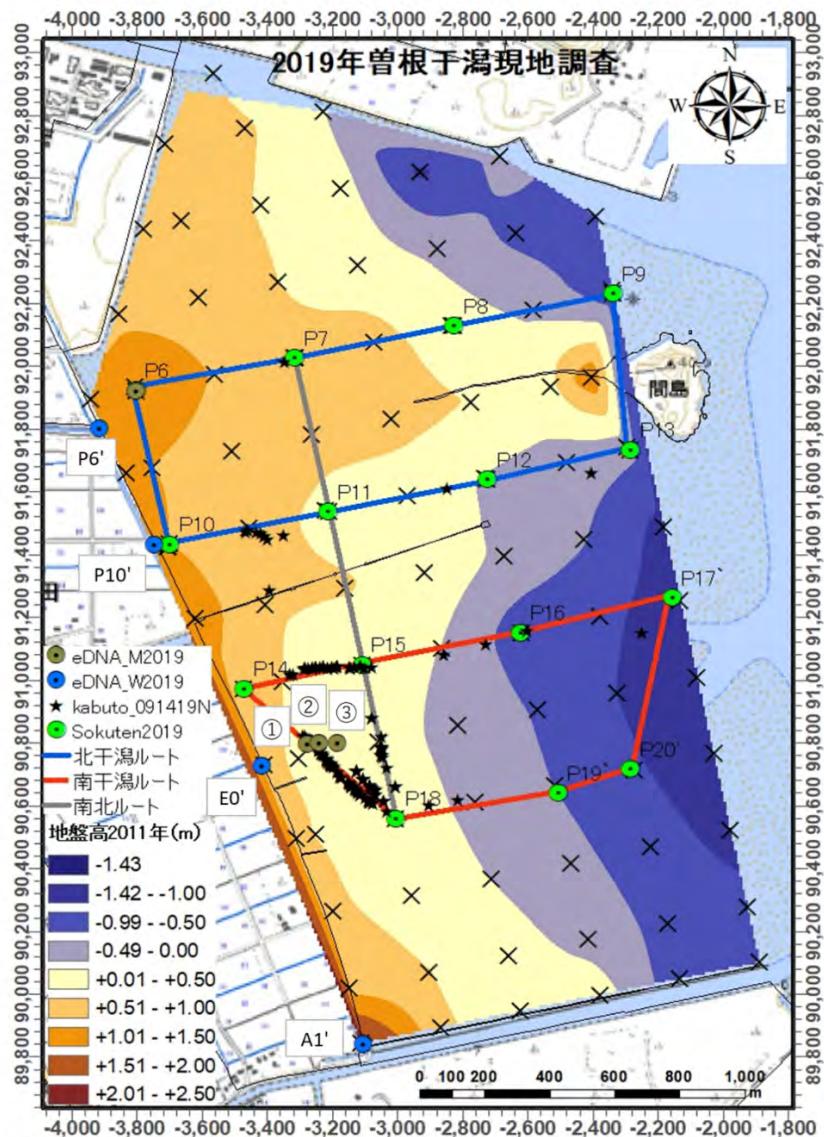


図-4.1 試料採取位置図

表-4.1 試料採取位置

地点		緯度	経度	平面直角座標系		備 考
		度	度	x(m)	y(m)	
採水 地点	A1'	33.81008	130.96647	-3104.022	89839.235	採水時刻 8:00
	E0'	33.81808	130.96311	-3414.878	90726.605	採水時刻 8:10
	P10'	33.82444	130.95953	-3746.317	91432.229	採水時刻 8:32
	P6'	33.82778	130.95772	-3913.297	91801.990	採水時刻 8:45
採泥 地点	P6	33.82888	130.95891	-3803.338	91923.636	カブトガニ無し
	①	33.81872	130.96461	-3275.996	90797.414	4齢 1 個体
	②	33.81875	130.96500	-3239.995	90800.483	4 齢 3 個体、5 齢 1 個体
	③	33.81875	130.96561	-3183.424	90800.464	8 齢 1 個体

- ・干潟表層水：満潮時に各地点の水際で 500 mL の滅菌ポリ瓶を直接海水中に沈め、500 mL の表層水を採取した。DNA の分解を防止するため、採取した表層水に 10% 塩化ベンザルコニウムを終濃度 0.01% になるように 0.5 mL 添加し、転倒混和して攪拌した。持ち帰りから過まで保冷した。
- ・干潟底質（泥）：干潮時に各地点周辺のカブトガニの這い跡の残る泥表面をプラスティックローンでくって 50 mL チューブに概ね満杯となるように採取した。また予備として、500 mL 広口ポリ瓶に同地点の泥をプラスティック製移植ごとで概ね満杯となるように採取した。これらの底質試料は、保冷して持ち帰り -20°C で冷凍保存した。

(2) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 分析（種特異的解析）

1) 表層水からの DNA 抽出

試料の入ったポリ瓶を 4~8°C で静置し土粒子が沈殿した状態で上澄み液をガラス纖維ろ紙 (GF/F : 粒子保持能 0.7 μm) でろ過し、DNA 抽出作業を行うまで -20°C で冷凍保存した。DNA 抽出はろ紙から市販の DNA 抽出キットである DNeasy Blood & Tissue kit² を使用してプロトコルに従って行った。

2) 定量 PCR

抽出した 4 地点の DNA 溶液を用いて定量 PCR を行った。定量 PCR では分析の最後に融解曲線分析を追加した。

定量 PCR は、インターラーカー法（参照 1）により、リアルタイム PCR 装置³ を用いて、定量 PCR 試薬である TB green premix Ex Taq⁴ を使用してプロトコルに従って行った。予備試験は各地点 4 反復、本試験は各地点 8 反復であった。

標準試料には、今津干潟のカブトガニ幼体の脚から採取したゲノム DNA を用いた。プライマーは昨年度と同様にミトコンドリアの cytb 遺伝子領域から Primer3plus⁵ を使用してカブトガニに特異的な塩基配列を設計したもの（表-4.2）を検出用プライマーとした。

蛍光色素を加えて PCR を行い 1 サイクルごとの蛍光強度を測定して DNA の增幅曲線を描き、反応液中の対象 DNA 濃度を評価した。分析の最後には融解曲線分析を追加した。

表-4.2 カブトガニ検出用プライマーの塩基配列

Ttr_cytb_1F	ACCCCAATTCACATTCAACC
Ttr_cytb_1R	CGTGCACCGATTCATGTAAG

² QIAGEN 社製

³ タカラバイオ社製、機種：Thermal Cycler Dice Real Time System Life TP700

⁴ タカラバイオ社製

⁵ フリーの PCR プライマー設計ツール。Web ブラウザ状で、実験条件にあった様々なパラメーターを考慮しながらプライマー設計を行うことができる。

(3) 底質からのカブトガニの環境DNA分析（種特異的解析）

(A) DNeasy PowerSoil Kit を用いた底質試料からのDNA抽出

本キットは、土壤とビーズを混合して激しく攪拌することによって細胞を物理的に破壊し、その後に土壤に含まれる腐植物質であるフミン酸などを除去するキットである。

昨年度の分析で使用した ISOIL⁶より抽出効率が高いといわれており、DNAの収率向上およびPCRの増幅成功を目的として使用した。DNAの抽出、分析方法は次のとおりである。

- 1) 冷凍保存した4地点の底質試料各0.25gから本キットを用いてDNAを抽出した。
- 2) 定量PCRは、表層水と同様にインターラーカー法で行った。抽出した4地点のDNA溶液の希釈無しおよび10倍希釈について、それぞれ4反復で同時に定量PCRを行った。

(B) 試料の增量の試み

- 1) 底質試料5gとPBS(-)⁷80mLの混合上澄み液からのDNA抽出

50mLチューブに底質試料2.5gを入れ、これを2本作製した。それぞれにPBS(-)40mLを入れて、チューブを横にして水平に保った状態でボルテックスミキサー⁸で3分間混合した後に氷水中で1分静置した。この混合と静置を5回行った。その後、1000×gで15分間の遠心分離をして得られた2本分の上澄み液を滅菌したシリンドリッジに入れて、1つのカートリッジフィルター⁹に通し、そのカートリッジフィルターからDNAをDNeasy PowerSoil Kitを用いて抽出し、濃度を測定した。

- 2) 底質試料0.25gからのDNA抽出×10回(2.5g)

(A) の方法で底質試料の增量を試みた。DNeasy PowerSoil Kitのプロトコルに準拠すると、DNA抽出1回あたりに用いる底質試料は0.25gであるため、0.25gを秤量して抽出することを、同時に10回行うこととした。抽出は地点毎に行い、1地点につきマイクロチューブ10個のDNA溶液ができた。1地点につき供試した試料を合計すると2.5gとなる。

定量PCRは表層水と同様にインターラーカー法で行った。底質試料から抽出した4地点のDNA溶液それぞれ10個を用いて希釈無しで、定量PCRをそれぞれ1反復行った。

- 3) 2)のDNA溶液を再精製、濃縮

2)で抽出したサンプルを濃縮することで定量PCRに用いるDNA溶液中のカブトガニDNAの採取確率を上げることを試みた。2)の10個のDNA溶液を用い、精製および濃縮キットであるGenomic DNA Clean & Concentrator-10¹⁰を用いて再精製および濃縮を行い、各地点1個のDNA溶液にした。

定量PCRは表層水と同様にインターラーカー法で行った。濃縮した4地点のDNA溶液を用い、希釈無しでそれぞれ10反復行った。

⁶ ニッポンジーン社製

⁷ カルシウムとマグネシウムを含まないPhosphate-buffered saline(リン酸緩衝生理食塩水)

⁸ IKA社製

⁹ Merck社製、ステリベクス(Sterivex)-HVフィルター、0.45μm、PVDF

¹⁰ ZYMO RESEARCH社製

4.3 結果および考察

(1) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 分析（種特異的解析）

(A) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 濃度

抽出した DNA 溶液の濃度を蛍光光度計¹¹で測定した結果、1.5-6.0 ng/μL の範囲であった。

(B) 表層水 500 mL からのカブトガニの環境 DNA 分析

定量 PCR は標本から採取したゲノム DNA を濃度標準とした。

融解曲線分析を追加し、定量 PCR において増幅が認められ（図 - 4.2）、かつカブトガニゲノム DNA の融解温度と近似するサンプル（図 - 4.3）はアガロースゲル電気泳動を行い（図 - 4.4）、250 塩基対程度に増幅が認められたサンプルを検出とした。図 - 4.2、図 - 4.3において F7、D8 は分析時の配置名を示す。本試験 P10' 地点の F7 と D8 は近似するが、図 - 4.4 で P10' 地点の F7 は増幅が認められないため不検出、D8 は増幅が認められたため検出とした。その結果、採水地点 P10'において、予備試験で 1 サンプル（4 反復中）、本試験で 1 サンプル（8 反復中）、合計 2 サンプル（合計すると 12 反復中）の検出が認められた。

濃度標準であるカブトガニゲノム DNA 溶液を 1 としたとき、採水地点 P10'において予備試験では 6.54×10^{-9} (C7、図 - 4.4)、本試験では 5.55×10^{-7} (D8、図 - 4.4) の濃度が検出された（表 3-1）。操作上、コンタミネーションの可能性は低いため、非常に微量な DNA が検出されたと考えられる。

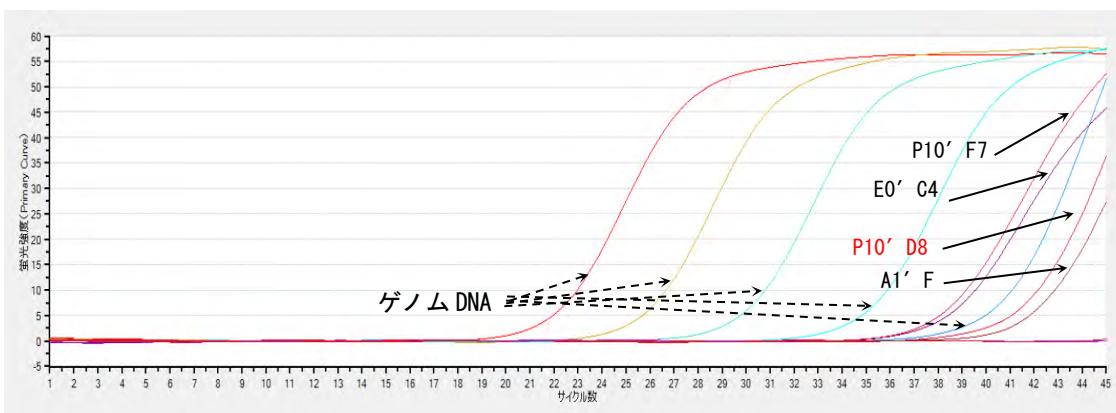


図 - 4.2 定量 PCR における増幅曲線（本試験）

¹¹ Thermo Fisher 社製、Qubit

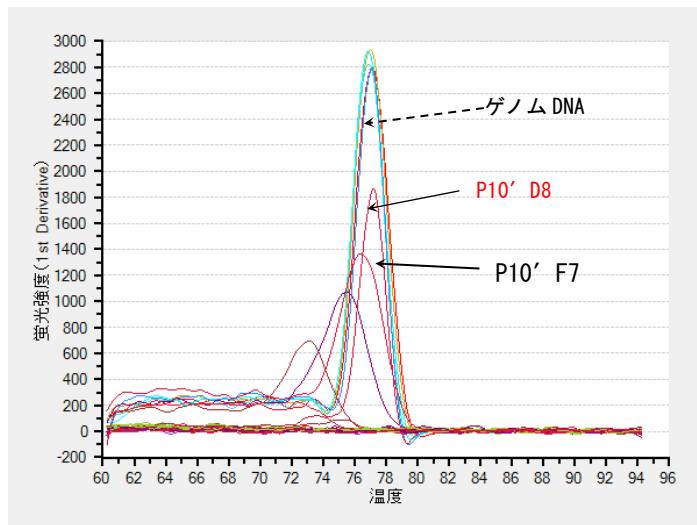


図 - 4.3 定量 PCR における融解曲線（本試験）

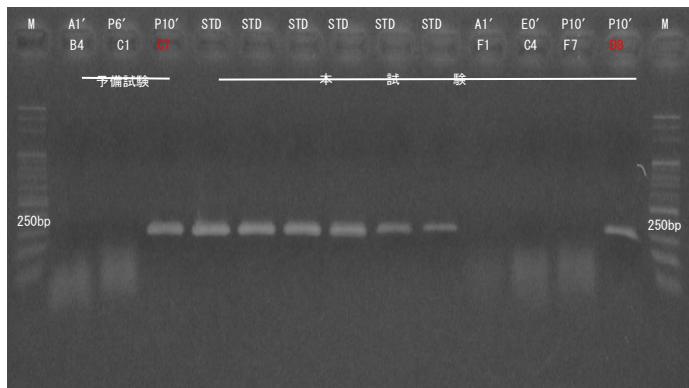


図 - 4.4 アガロース電気泳動像

M : DNA ラーダーマーカー

上段 : 地点名, 上段 STD : ゲノム DNA

下段 : ウェル (分析時配置名)

表-4.3 測定結果

試料名	採取日	採水時刻	分析回数 (検出数)	DNA 濃度
A1'	R1.9.15	8:00	12 (0)	不検出
E0'	R1.9.15	8:10	12 (0)	不検出
P10'	R1.9.15	8:32	12 (2)	不検出 検出 : 6.54×10^{-9} , 5.55×10^{-7}
P6'	R1.9.15	8:45	12 (0)	不検出

* DNA 濃度は標本から採取したゲノム DNA 溶液 (濃度 38.7 ng/μL) を 1 とした相対値である。

(2) 底質からのカブトガニの環境 DNA 分析（種特異的解析）

(A) DNeasy PowerSoil Kit を用いた底質試料からの DNA 抽出

抽出した DNA 溶液の濃度を蛍光光度計で測定した結果、 $5.3\text{-}9.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の範囲であった。

底質試料 P6, ①, ②, ③の 4 地点の DNA 溶液を 1 倍および 10 倍に希釀し、それぞれ 4 反復で定量 PCR を行い、增幅が認められたサンプルを電気泳動で確認した結果、すべて不検出であった。

(B) 試料の增量の試み

1) 底質試料 5 g と PBS(-)80 mL の混合後上澄み液からの DNA 抽出

底質試料 5 g を PBS(-) に懸濁した上澄み溶液から DNA を抽出し、濃度を測定したが、測定限界値以下の濃度となり DNA を測定することができなかった。

2) 底質試料 0.25 g からの DNA 抽出 × 10 回 (2.5 g)

抽出した DNA 溶液の濃度を蛍光光度計で測定した結果、 $5.8\text{-}18.5 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の範囲であった。

1 地点に付きマイクロチューブ 10 個の DNA 溶液を 1 反復で定量 PCR を行い、定量 PCR で增幅が認められたサンプルを、定性のためアガロースゲル電気泳動でサイズを確認したところ、カブトガニゲノム DNA と同じサイズの DNA の増幅を確認することができなかつたため、すべて不検出とした。

3) 2) の DNA 溶液を再精製、濃縮

2) で抽出した 10 回分の溶液を、Genomic DNA Clean & Concentrator - 10 を用いて再精製および濃縮を行って、濃縮した DNA 溶液の濃度を蛍光光度計で測定した結果、 $51.0\text{-}74.9 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の範囲であった。

DNA 溶液を希釀せずに定量 PCR した。反復数は各地点 10 反復であった。增幅が認められたサンプルを、定性のためアガロースゲル電気泳動でサイズを確認したところ、カブトガニゲノム DNA と同じサイズの DNA の増幅を確認することができなかつたため、すべて不検出とした。

(3) 底質からのカブトガニ環境 DNA の可能性

昨年は表面から採取した底質試料から、DNA 抽出キット ISOIL を用いて DNA を抽出した。1 地点につき底質試料 0.5 g を用いて DNA 抽出、マイクロチューブ 4 個の DNA 溶液であった。この DNA 溶液を用いて、本年度同様に定量 PCR をインターラーカー法で行った結果、同時に分析したカブトガニゲノム DNA 溶液濃度を 1 としたとき、 2.19×10^{-7} , 1.42×10^{-6} の濃度の検出が認められた。

本年度は DNA 抽出に DNeasy PowerSoil Kit を用いた。これは DNA の収率の向上および土壤に含まれる PCR 阻害物質を除去する目的で使用した。底質供試量でいえば 0.25 g, 2.5 g (0.25 g を 10 回抽出), 2.5 g (0.25 g を 10 回抽出後に再精製、濃縮) を試みたところ、どのサンプルからも検出は認められなかった。

今回の結果では土壤からの DNA 抽出キットの比較はできなかつた。また、底質中にカブトガニ DNA が残存していたとしても、底質の採取は干潟で行うことから潮汐によって DNA 量が左右されたり、干満による微生物の活性変化が起こり、DNA の分解が促進されたりすることも考えられる。そのため、今回の底質試料に分解したカブトガニ DNA 断片が含まれる可能性を否定することはできないが、いずれにしても底質中のカブトガニ DNA は非常に僅かと思われる。

(4) 今後の課題

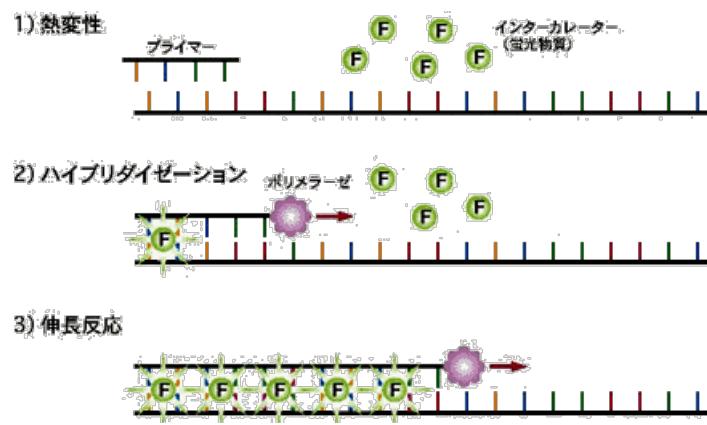
- ・表層水の採取量を増やす。
- ・カブトガニ幼生調査に底質が適しているかどうか検討をする。
- ・底質中の阻害物質を検討するなら DNeasy PowerSoil Kit の改良 kit である DNeasy PowerSoil Pro Kit を使用する。
- ・10 g から DNA 抽出をするなら DNeasy PowerMax Soil Kit を使用する。ただし抽出工程

の最後まで 50 mL で行える遠心機が必要である。

- ・底質に含まれるカブトガニ DNA は微量と思われるが、阻害物質だけでなく、微生物 DNA の含有量が多い。分析に用いる DNA 量には上限があるため限界がある。
- ・昨年、プローブ法（参照 2）による定量 PCR の検討を行っていたが、明確な結果を得られなかつたためインターラーカレーター法になった経緯がある。プローブ法はインターラーカレーター法よりも特異的な方法であるため、プローブ法を用いた定量 PCR の技術的検討も必要と考える。

参考 1. インターカレーター法

定量 PCR のインターラーカレーター法は、蛍光物質が PCR によって合成されていく二本鎖 DNA に結合し、励起光の照射により発する蛍光を測定する分析方法である。さらに、最後に行う融解曲線分析は、PCR 反応後、反応液の温度を 60°C から 95°C まで徐々に上昇させ蛍光値をモニタリングする。PCR 産物が二本鎖を形成している状態では強い蛍光が検出されるが、ある一定の温度 (T_m 値) に達すると一本鎖に解離し蛍光値が急激に低下する。 T_m 値は PCR 産物の長さや GC 含量により異なるので、目的の増幅産物と他の短い増幅産物を区別することができる。



融解曲線と T_m 値

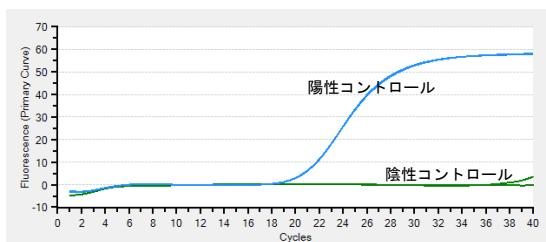
PCR 増幅産物の特異性は、融解曲線で確認する。

陽性コントロールの T_m 値と測定対象サンプルの T_m 値が一致していれば、目的の PCR 産物が得られていると推測され、陽性と判定される。 T_m 値が異なる場合は、非特異的増幅と推測され、陰性と判定される。

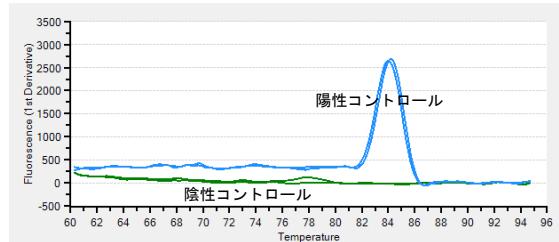
(解析例)

コントロール反応の例

陽性コントロールは増幅し、陰性コントロールは増幅しないのが正しい結果である。TB Green 検出の場合、反応系によっては、陰性コントロールでわずかに増幅が認められることがあるが、陽性コントロールと同じ T_m 値の産物でなければ、非特異的増幅産物と推測される。



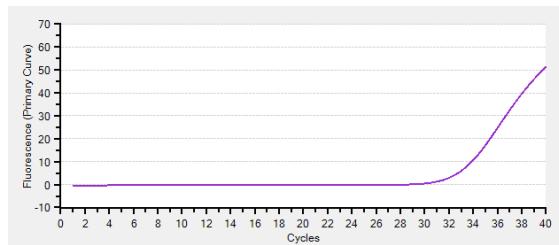
増幅曲線



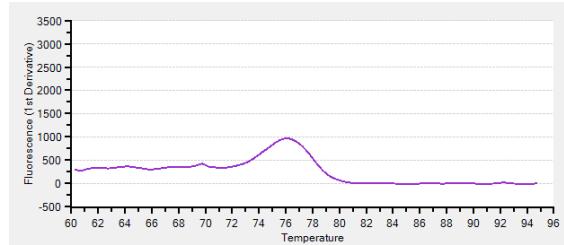
融解曲線

陰性判定の例

増幅曲線で増幅が認められても、融解曲線の T_m 値が陽性コントロールと一致しない場合は、陰性と判定される。このような結果になる原因としては、プライマー由来の非特異的増幅が生じたこと等が考えられる。



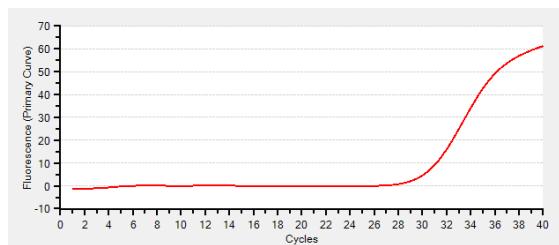
增幅曲線



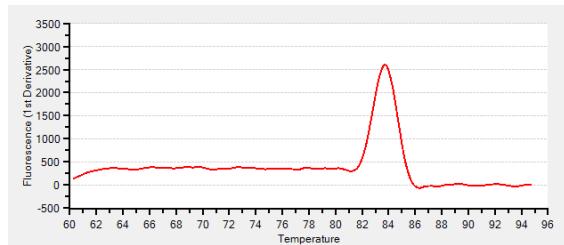
融解曲線

陽性判定の例

増幅曲線で増幅が認められ、融解曲線の T_m 値が陽性コントロールと一致した場合は、陽性と判定される。



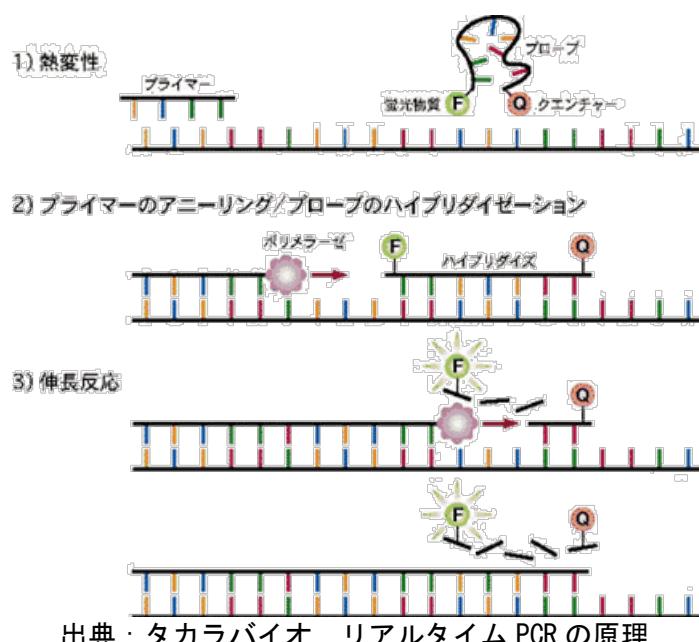
增幅曲線



融解曲線

参考2. プローブ法

特異的な配列をもつ蛍光プローブを用いるため、インターラーカレーター法のような非特異的な検出がない点で特異度にすぐれる。プローブは、PCR の過程で錆型 DNA に特異的に結合するが、プローブ上に蛍光を抑制するクエンチャーが存在するため、励起光を照射しても蛍光の発生は抑制されている。その後の伸長反応ステップで錆型に結合したプローブが分解されると、蛍光色素がプローブから遊離し、クエンチャーによる抑制が解除されて蛍光を発するようになる。蛍光プローブを検出する配列ごとに設計、合成しなければならないため、インターラーカレーター法よりも費用と手間がかかる。



5. まとめ

- (1) 目視調査により確認された種は全 19 種（3 門 3 綱 5 目 10 科）であった。このうち、環境省および福岡県のレッドリスト等に記載された重要な種は 12 種（貝類 8 種、カニ類 3 種、魚類 1 種）であり、全確認種の 63% 以上を占めた。新たに確認された種はカニ類のモズクガニ科のヒメアシハラガニであった。
- (2) 底生生物調査の 4 測点で確認された底生生物は、4 門 6 綱 17 目 25 科 34 種であり、主に軟体動物門、環形動物門、節足動物門の 3 門から構成されていた。全体的に、南干潟の方が北干潟よりも多い傾向にあった。種数についてみると、今年度の確認種数は 5 ~ 14 種であった。最も多い地点は St. 2 (14 種)、次いで、St. 4 (13 種) であり、最も少ない地点は St. 3 (5 種) であった。
今年度確認された個体数は 14 ~ 126 個体であった。最も多い地点は St. 1 (126 個体)、次いで St. 2 地点 (90 個体) であり、昨年度と同様、北干潟の方が多い結果となった。
湿重量は、0.20 ~ 33.63 g であった。最大の地点は、個体数と同じく St. 1 であり、多数確認されたヘナタリをはじめ、ホソウミニナ、ウミニナといった、比較的湿重量の大きい種の出現が多い地点であった。
- (3) 4 測点で確認された重要種は、貝類のウミニナ、ヘナタリ、ヌノメホソクチキレ、シゲヤスイトカケギリの 4 種であった。このうち、St. 1 で確認されたヘナタリは、毎年多数確認され、曾根干潟でも比較的多くみられる種である。また、4 種のうち 3 種が St. 1 で確認された。これらの重要種は、主に内湾の砂泥～泥底に生息する種が多く、開発や埋め立て、水質汚濁等の影響を受けやすい環境に生息する種である。
- (4) 主な優占種は、貝類のヘナタリ、アサリ、ゴカイ類のナガホコムシ、ホソイトゴカイ等であり、主に貝類、ゴカイ類の種であった。このうち、ヘナタリ、アサリ、ナガホコムシ、ホソイトゴカイは昨年度、一昨年度調査でも確認された優占種であった。これらは、主に内湾、干潟の砂泥底に生息する種が多く、曾根干潟の底質および周辺環境が反映された結果であった。
- (5) 底生生物の種類数、個体数、湿重量の経年的な変化傾向に関しては、1995 年（平成 7 年）と 2007 年（H19 年）、2012 年、2013 年、2014 年、2016 年、2017 年、2018 年、2019 年と 9 回のデータしかないので、確かな傾向をみると難しいが、次のような傾向があると言える。
- ・ 種類数は、測点により増減が見られたが、経的には、過去の増減の範囲内であり、4 測点とも減少傾向である。
 - ・ 個体数は、2016 年、2017 年に St. 2 でホトトギスガイの出現によると思われる顕著な増加が見られたが、本年は例年の値に戻っている。また、St. 1 の 2012 年以降の顕著な増加傾向以外は、その他の測点では経的な変化がなくほぼ一定である。
 - ・ 湿重量も、個体数と同様に、2016 年、2017 年と St. 2 で顕著な増加が見られたが、例年の値に戻っている。St. 1 以外の測点では経的に若干減少傾向である。
- (6) カブトガニ幼生の個体数は、北干潟では 13 個体、南干潟では 179 個体、計 192 個体が確認された。今回の調査でも、ほとんどの幼生が発見されたところは、例年と同様に貫川河口の南側で測点 14 ~ P15, P15 ~ P18, P14 ~ P18 のルート上であった。2007 年 ~ 2009 年での 2 年間では約 210 個体/年の減少率であったが、2009 年 ~ 2014 年の 5 年間では約 27 個体/年と減少率が低下した。しかし、2015 年以降、増加傾向であったが、一昨年、昨年と減少傾向になり、今年は微増となった。2006 年から 2007 年までは、北干潟でも多くの幼生が見られたが、年を追うごとにその数は減少し、今回、調査範囲は限られているが北干潟で 13 個体の幼生しか確認できなかった。このことは、仮設道路の設置と

の関係も考えられることから注視していく必要がある。

- (7) 底質の溶存態硫化水素に関して、調査した範囲では、P11の3点平均で0.57mg/Lと高い値を示した。特に、1点目で1.5mg/Lと異常に高い値を示したが、他の点と比べても特段変わったところがなく、このように高い値が観測された原因は不明である。過去(2017年)にホトトギスガイの大量発生に起因すると思われる1.65mg/Lと高い値を示したP9(St. 2)の測点では、0.20mg/Lと若干高い値を示した。他の測点では計測できる最低値の0.1mg/Lかそれ以下の値となった。
- (8) 1年間の地中温観測から次の結果を得た。
- ・ 地点に関わらず地中下層(-0.5m)の地中温の変動が小さい。また、岸側より沖側の方が最高温が高く、最低温が低い。
 - ・ 全体的な傾向としては、地中温の長期的変動は大気温の変化と応答性が高く、大気温と同程度の値で推移している。
 - ・ 泥面下-0.1mの地中温は、気温に対しては近似直線の勾配が1に近い値となり非常に良い相関があるが、潮位に対しては相関がない。
 - ・ 岸側における泥面下-0.5mの地中温は、他の測点や測定深度と比べて、近似直線の勾配が0.780とかなり低い値となっていること、温度変化が最低でも9℃程度までしか下がらず、最高でも27℃程度までしか上がらないことから、大気温や太陽光の熱以外の要因、例えば地下水が影響している可能性がある。
- (9) 干潟に生息するカブトガニの幼生を対象として、干潟の底質や表層水からの環境DNAの分析を行い、検出感度と検出の可能性に関して以下の結果を得た。
- ・ 表層水500mLから抽出したDNA溶液の濃度を蛍光光度計で測定した結果、1.5-6.0ng/μLの範囲であった。
 - ・ 濃度標準であるカブトガニゲノムDNA溶液を1としたとき、採水地点P10'において予備試験では 6.54×10^{-9} 、本試験では 5.55×10^{-7} の濃度が検出された。操作上、コンタミネーションの可能性は低いため、非常に微量なDNAが検出されたと考えられる。
 - ・ 採取した底質から抽出したDNA溶液の濃度を蛍光光度計で測定した結果、5.3-9.2ng/μLの範囲であった。
 - ・ DNAの収率の向上および土壤に含まれるPCR阻害物質を除去する目的で、DNA抽出にDNeasy PowerSoil Kitを用いた。底質供試量でいえば0.25g、2.5g(0.25gを10回抽出)、2.5g(0.25gを10回抽出後に再精製、濃縮)を試みたところ、どのサンプルからも検出は認められなかった。今回の底質試料に分解したカブトガニDNA断片が含まれる可能性を否定することはできないが、底質中のカブトガニDNAは非常に僅かと思われる。
 - ・ 今後の課題として次のことと考えられる。
 - ① 表層水の採取量を増やす。
 - ② カブトガニ幼生調査に底質が適しているかどうか検討をする。
 - ③ 底質中の阻害物質を検討するなら DNeasy PowerSoil Kit の改良 kit である DNeasy PowerSoil Pro Kit を使用する。
 - ④ 10gからDNA抽出をするなら DNeasy PowerMax Soil Kit を使用する。ただし抽出工程の最後まで50mLで行える遠心機が必要である。
 - ⑤ 底質に含まれるカブトガニDNAは微量と思われるが、阻害物質だけでなく、微生物DNAの含有量が多い。分析に用いるDNA量には上限があるため限界がある。
 - ⑥ 昨年、プローブ法(参照2)による定量PCRの検討を行っていたが、明確な結果を得られなかつたためインターラーカー法になった経緯がある。プローブ法はインターラーカー法よりも特異的な方法であるため、プローブ法を用いた定量PCRの技術的検討も必要と考える。