

# 東三河 生態系ネットワーク フォーラム2019



穂の国いきものがたり  
子どもたちへ水と緑でつなげよう

## 要旨集

日 時 / 2019年(令和元年)11月16日 土

10:30~16:00(受付10:00)

場 所 / 豊川市勤労福祉会館

豊川市新道町1丁目1番地の3

主催 / 東三河生態系ネットワーク協議会

共催 / 国立大学法人 豊橋技術科学大学

後援 / 愛知県・豊橋市・豊川市・蒲郡市・愛知大学・愛知工科大学

## はじめに

本日は、「東三河生態系ネットワークフォーラム2019 穂の国いきものがたり 子どもたちへ水と緑でつなげよう」にお集まりいただきまして、誠にありがとうございます。ご多忙のなか足を運んでいただき、関係者一同、心より感謝申し上げます。

このフォーラムも第6回目を迎えました。豊川市の「豊川市勤労福祉会館」での開催です。

この生態系ネットワーク協議会は「人と自然が共生するあいち」を目指す愛知県の独自の取組である「あいち方式」により、県民や事業者、NPO、大学、行政といった地域の多様な主体が共通の目標のもとに協働しながら、効果的な場所で生物の生息環境空間の保全・創出の取組を行なうことにより、生物多様性への意識を高め、人と人とのつながりを育みながら生態系ネットワークの形成を進め、「人と自然が共生するあいち」を実現する仕組として、県内を9地域に区分し、地域ごとに多様な主体が共通の目標を決め、参加・協働する場として設置されました。

私ども「東三河生態系ネットワーク協議会（平成26年2月設立）」は、隣接する「新城設楽生態系ネットワーク協議会（平成25年12月設立）」「渥美半島生態系ネットワーク協議会（平成27年1月設立）」や県内の生態系ネットワーク協議会と連携を図り、事業や計画に反映したいと考えています。東三河は、日本の地質学の父といわれるエドムント・ナウマンが見つけた中央構造線が地域内を通る地質的・地形的特性を背景に、愛知県内においても独特な風土、文化を育み、東三河の母なる川「豊川」の水の恩恵を受ける共同体です。この地域のもう1つの名前は「穂の国」といわれています。古代、この地に存在した豊かな実りを意味する「穂の国」に由来しています。

今回のフォーラムは「穂の国いきものがたり 子どもたちへ水と緑でつなげよう」というテーマで、東三河地域（豊橋市・豊川市・蒲郡市）でそれぞれ生物多様性保全に取り組んでいる団体からの事例報告、地元高校生のみなさんによる研究発表、愛知県環境局環境政策部自然環境課からの報告、そして基調講演として、平石 明（国立大学法人豊橋技術科学大学名誉教授）さんのお話をお聞きいただきたいと考えています。また、協議会加盟団体のパネル展示や高校生のポスター発表とフリーディスカッションも用意しています。

本日の「東三河生態系ネットワークフォーラム」が、東三河地域における生物多様性への意識を高め、人と人とのつながりを育みながら、生態系ネットワークの形成を進めることに貢献できることを願ってやみません。

今後とも、当協議会への皆さまのご支援、ご指導をいただきたく、よろしく願い申し上げます。

2019年（令和元年）11月16日  
東三河生態系ネットワーク協議会会長 梶野 保光

## PROGRAM プログラム

10:00 ● 開場

10:30 ● 開会 挨拶 会長 梶野保光(NPO法人 東三河自然観察会 理事)  
挨拶 愛知県 環境局 環境政策部 自然環境課

11:00 ● 基調講演 「樹木をめぐる生物多様性 ～エノキを例にして～」  
平石 明(国立大学法人 豊橋技術科学大学 名誉教授)

12:00 ● パネル展示・ポスター発表・ワークショップ

### 《パネル展示》

- B-1 (NPO)朝倉川育水フォーラム
- B-2 (NPO)東三河自然観察会
- B-3 ほの国自然ソムリエの会
- B-4 (NPO)穂の国森づくりの会
- B-5 530運動環境協議会
- B-6 とよかわ里山の会
- B-7 さがらの森もりクラブ
- B-8 国土交通省 中部地方整備局 豊橋河川事務所
- B-9 豊橋市 環境部 環境保全課
- B-10 豊川市 環境部 環境課
- B-11 三河湾環境チャレンジ実行委員会
- B-12 愛知県 環境部 自然環境課
- B-13 愛知県立豊橋南高等学校
- B-14 愛知県立三谷水産高等学校
- B-15 豊橋技術科学大学 環境・生命工学系 分子遺伝学研究室

### 《ポスター発表》

- PP-1 PCRを用いた近不活植物のDNA鑑定 ～PCRでゲンノウシヨウコとアメリカフウロソウが区別できるか～  
河合奈月・飯塚大稀・徳田大航・林祐太郎・堅田睦美・石川翔太郎  
(愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE)
- PP-2 汐川干潟をほってホって掘り下げた！！  
宮下明里 (愛知県立時習館高等学校 SSH地学部)
- PP-3 塩基配列解析による貝類の同定  
山谷拓巳・大森識照・塚田一輝・小川恭典・黒川悠馬・杉浦英輝・村田怜衣哉  
(愛知県立豊丘高等学校 自然科学同好会)

《ポスター発表》

PP-4 DNAメタバーコード解析による農地の土壌線虫群集構造解析

増間智郎・剣持遥太郎・高瀬彰紀・広瀬 侑・浴 俊彦

(豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 分子遺伝学研究室)

PP-5 廃水処理にとって重要なアンモニア酸化細菌の簡便・迅速な検出方法の開発

坪井重太郎・岡崎祐輝・山田剛史

(豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 水圏環境生物工学研究室)

PP-6 ポリ乳酸を原料とする高温嫌気性汚泥のメタン生成特性

Sugar Gantsetseg・山田剛史

(豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 水圏環境生物工学研究室)

《ワークショップ》

W-1 「ゲームをするならGEO」活動報告

木全 顕・安達陽太・近藤立也・高橋杏友・河合奈月・北野孟毅・前田尚輝・安藤匠人・

井上晶太・井上雄貴・坪内 和・夏目祐吏・林 一帆・橋田遥一郎・佐藤勇佑

(愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE)

14:00 ● 口頭発表

OP-1 愛知県東三河総局事業「東三河地域環境リーダー活動」の紹介

木村春雄・今泉佳代子・笠松由美・中西普佐子 (地域環境リーダー)

OP-2 小学校との連携で行う川の生き物調査

杉浦篤史 (豊川市赤塚山公園)

OP-3 いいじゃん奥三河

河合奈月・高橋杏友・近藤立也・安達陽太・木全 顕・北野孟毅・安藤匠人・前田尚輝・

橋田遥一郎・佐藤勇佑・夏目祐吏・井上雄貴・坪内 和・井上晶太・林 一帆

(愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE)

OP-4 汐川干潟をほってホッて掘り下げた！！

宮下明里 (愛知県立時習館高等学校 SSH地学部)

OP-5 塩基配列解析による貝類の同定

山谷拓巳・大森識照・塚田一輝・小川恭典・黒川悠馬・杉浦英輝・村田怜衣哉

(愛知県立豊丘高等学校 自然科学同好会)

OP-6 石巻山のカタツムリ調査

杉浦幸陽・岩瀬直央・小木曾温大・石原基嗣 (桜丘高等学校 生物部)

16:00 ● 閉会

## 樹木をめぐる生物多様性～エノキを例にして～

平石 明

豊橋技術科学大学名誉教授

### 1. はじめに

樹木とその総体である森林は生物多様性の基礎を成す。森林には生物遺伝資源や生物多様性の維持だけでなく、水源かん養機能や土壌保全・土砂災害防止機能の役割もあり、その保全は私たちの暮らしに多大な恵みをもたらす。日本ではとくに戦後特定種の植林や開発による伐採によって本来の原生林や自生種の分布が狭くなり、森林の役割が人為的に狭められてきた。生物多様性の維持機能については危機的状況にあり、自生種を中心とする森林生態系の意義について再考する必要がある。

今回は日本を含めた東アジアに広く自生・分布するエノキ（榎、*Celtis sinensis*）を生物多様性を産むモデルとして取り上げ、この樹木に関わる昆虫種およびエノキと雑木林との関係を紹介する。

### 2. エノキに関わる生物種

エノキはニレ科（APG 植物分類体系ではアサ科）、エノキ属の落葉高木である。本属にはこのほかにエゾエノキ *Celtis jessoensis*、クワノハエノキ *Celtis boninensis* などいくつかの種が含まれる。高木では樹高 20 m 以上、幹径は 1 m 以上になり、曲がりくねった枝が発達する（図 1A, B）。葉の根元に花を咲かせ、直径 5-6 mm の球形の果実をつける。実は熟すと橙褐色になり、食べると甘く、野鳥の好物になる。種子はアオゲラ、モズ、カラス、シジュウカラ、ヒヨドリ、メジロ、ムクドリ、シロハラ、アカハラ、ツグミなどの多種多様な野鳥によって運搬・拡散されるため、いろいろな場所に幼木の発生を見ることができる（図 1C）。

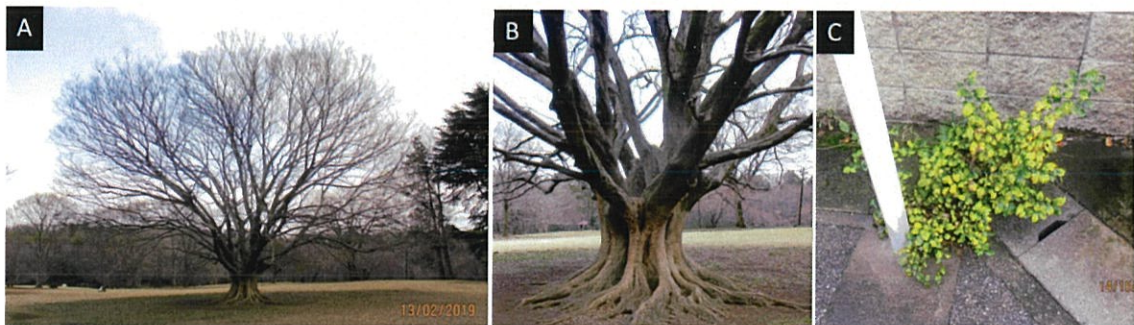


図 1. エノキの高木 (A, B) (東京都野川公園) および道端に生えた幼木 (C)

このようにエノキは野鳥の食性に関わる重要な樹木であるが、葉はさまざまな昆虫の幼虫のエサになる。表 1 にエノキを食樹とする昆虫を示す。オオムラサキ、ゴマダラチョウ、アカボシゴマダラなどはエノキに関わる典型的なチョウとして知られているが、それらの幼虫はまた野鳥の格好のエサになる。またカマキリなどの肉食昆虫の捕食対象にもなる。つまり、エノキは生物生産の中心になる樹木である。

表 1. エノキに関わる昆虫（幼虫が植樹とするもの）

種	目	科	備考
オオムラサキ <i>Sasakia charonda</i>	チョウ目	タテハチョウ科	国蝶
ゴマダラチョウ <i>Hestina persimilis japonica</i>	チョウ目	タテハチョウ科	
アカボシゴマダラ <i>Hestina assimilis shirakii</i>	チョウ目	タテハチョウ科	奄美諸島生息亜種
アカボシゴマダラ <i>Hestina assimilis assimilis</i>	チョウ目	タテハチョウ科	特定外来生物
ヒオドシチョウ <i>Nymphalis xanthomelas</i>	チョウ目	タテハチョウ科	
テングチョウ <i>Libythea celtis</i>	チョウ目	タテハチョウ科	
ヒメエノキアカオビマダラメイガ <i>Acrobasis subceltifoliella</i>	チョウ目	メイガ科	
ホシアシブトハバチ <i>Agenocimbex maculatus</i>	ハチ目	コンボウハバチ科	
エノキトガリハマバエ <i>Celticicis japonica</i>	ハエ目	タマバエ科	葉等に虫こぶ形成
ヤマトタムシ <i>Chrysochroa fulgidissima</i>	甲虫目	タムシ科	材を食べる
エノキハムシ <i>Pyrrhalta tibialis</i>	甲虫目	ハムシ科	成虫も葉を食べる
エノキワタアブラムシ <i>Acherontia lachesis</i>	カメムシ目	アブラムシ科	

### 3. エノキをめぐるチョウの生活環

前記したようにオオムラサキやゴマダラチョウはエノキを食樹とする典型的な昆虫であるが、その生活の成立には多種の生物の関わりを要する（図2）。まず、成虫のエサとしては樹液や腐熟果物の液汁が必要であり、エノキの周囲にはこれらを供給できる樹木（例：クヌギ）が豊富に存在しなければならない。樹液の供給には、予め主幹に野鳥が穴を開け、さらに樹液を好むスズメバチやカブトムシなどによってある程度傷口が広げられることが必要である。さらに幼虫はエノキの根元の落葉下で越冬し、適度な湿度を必要とする。食樹の周辺に雑木林が形成されていれば湿度が保たれ、樹液も供給できる理想的な環境となる。すなわち、昆虫1種と言えども単に食樹（食草）があればいいという話ではなく、食樹と周辺の森林を含めた一定の規模の生態系が維持されていることが重要である。

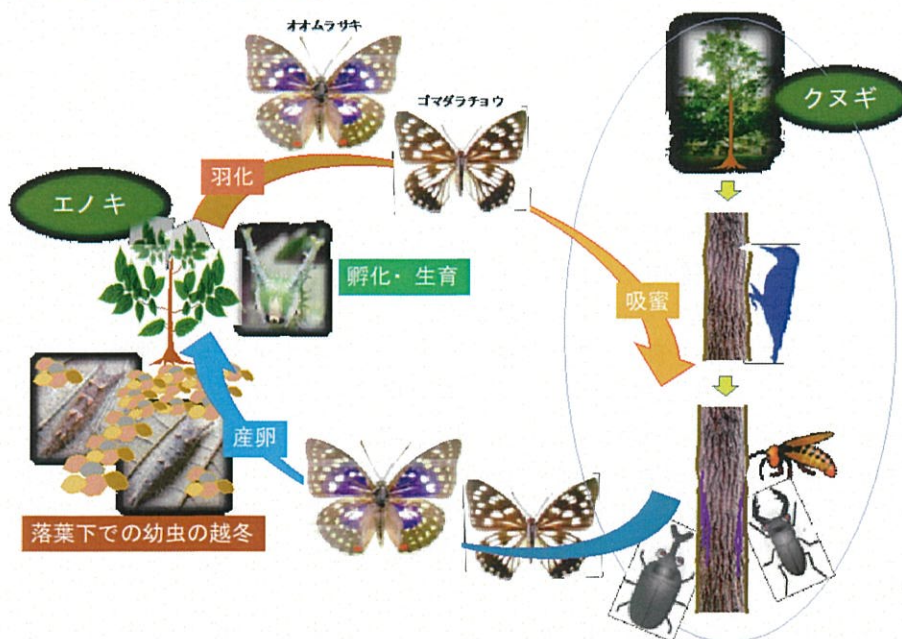


図 2. オオムラサキおよびゴマダラチョウのエノキとクヌギをめぐる生活環

## PCR を用いた近不治植物の DNA 鑑定 ～PCR でゲンノショウコとアメリカフウロソウが区別できるか～

河合奈月・飯塚大稀・徳田大航・林祐太郎・堅田睦美・石川翔太郎  
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE

### 1. はじめに

本校の校章であるゲンノショウコという植物について研究していくうちに、ゲンノショウコの類似植物が何種類かあることが分かった。

2年前には、ゲンノショウコ (*Geranium thunbergii*) の葉と根、ヒメフウロソウ (エロディウム) (*Erodium × variable*; *E. reichardii* と *E. corsicum* の交雑種) の葉と根、ニリンソウ (*Anemone flaccida*) の根を材料に、18S ribosome RNA (rRNA) 遺伝子を標的にした PCR 実験を行った。その結果から、ゲンノショウコにより近い植物はヒメフウロソウであることが示唆された。

今回は、*Geranium* 属同士のゲンノショウコとアメリカフウロソウの判別を目的に、18S rRNA 遺伝子に対する PCR 解析を行った。



図1：ゲンノショウコ (上)  
アメリカフウロソウ (下)

### 2. 試料および方法

(試料)

- ・ゲンノショウコ (*Geranium thunbergii*) の葉
- ・アメリカフウロソウ (*Geranium arolinianum*) の葉

(実験方法)

〈DNA 試料の調製〉

- ① 各植物の葉をそれぞれ5～7ミリ角にメスで切り取った。
- ② ①の試料片を、0.2mL PCR チューブ に入れ、綿栓付きイエローチップを付けたマイクロピペット P200 を使って 100 $\mu$ L の試薬 A(カネカ簡易 DNA 抽出キット version2) を加え、ピペッティングでよく攪拌した。
- ③ PCR チューブのふたを閉め、PCR 装置にセット、98 $^{\circ}$ Cで8分間加熱後、20 $^{\circ}$ Cへ戻した。
- ④ 綿栓付きイエローチップを付けたマイクロピペット P20 を使って 14 $\mu$ L 試薬 B(カネカ簡易 DNA 抽出キット version2) を加え、ピペッティングでよく攪拌した。
- ⑤ 綿栓付きチップを付けたマイクロピペット P200 で 60 $\mu$ L の抽出液を新しいエッペンドルフチューブに入れ、120 $\mu$ L の TE バッファーを加えてよく混ぜる (3倍希釈)。
- ⑥ 新しいエッペンドルフチューブ 2本に 60 $\mu$ L ずつ分注した。

〈PCR 実験〉

プライマーセット Gen rRNA1-F1/R1 を「G1」、Gen rRNA2-F1/R1 を「G2」、Am rRNA1-F1/R1 を「A1」、Am rRNA2-F1/R1 を「A2」と略す (Gen と Am はそれぞれゲンノショウコ、アメ

リカフウロソウに特異的であることを示す)。

使用する DNA ポリメラーゼ (Go Taq、HiDi、KOD FX Neo) ごとに 2 名 1 班で 3 班に分かれた。

- ① 3 連結 0.2mL PCR チューブを区別するために番号を油性マジックで記載した。
- ② チップを付けたマイクロピペット P2 を使って、各人が担当する 6 本の PCR チューブに、指定されたプライマーセット (G1、G2、A1、A2 のうちからひとつ) 溶液を加えた。  
(Go Taq 班 2 $\mu$ L、HiDi、KOD FX Neo 班 1 $\mu$ L)
- ③ チップを付けたマイクロピペット P2 を使って、各人が担当する 6 本の PCR チューブに、指定された試料溶液 (TE バッファー、ゲンノショウコ、アメリカフウロソウのうちひとつ) を 1 $\mu$ L 加えた。
- ④ チップを付けたマイクロピペット P200 を使って各人が担当する 6 本の PCR チューブに PCR マスターミックス溶液 (Go Taq 班 22 $\mu$ L、HiDi、KOD FX Neo 班 23 $\mu$ L) を入れ、2、3 回ピペッティングしてプライマーと試料を混合した。
- ⑤ 0.2mL PCR チューブのキャップがしっかり締まっていることを確認し、3 通りのサイクル条件 (初め 95 $^{\circ}$ C 2 分に続いて、Go Taq 班 : 95 $^{\circ}$ C 30 秒、60 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 25 秒を 35 回、HiDi 班 : 95 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、72 $^{\circ}$ C を 35 回、KOD FX Neo 班 : 98 $^{\circ}$ C 10 秒、60 $^{\circ}$ C 30 秒、68 $^{\circ}$ C 25 秒を 35 回) で PCR 反応を行った。
- ⑥ PCR 反応終了後、そのまま 4 $^{\circ}$ C で翌日まで保管した。

#### 〈アガロースゲル電気泳動〉

予測される PCR 産物のサイズが小さいので、3.5% NuSieve GTG アガロースゲルを用いる。

- ① パラフィルム上で、PCR 反応液 8 $\mu$ L と泳動・検出用色素を 2 $\mu$ L 混ぜ合わせ、ゲルのウェルに注入した。Go Taq 班は色素入り反応液を 7 $\mu$ L 注入した。各班のゲルにつき 2 か所は、DNA サイズマーカー溶液を注入した (DNA サイズマーカー 6 $\mu$ L + 検出用色素 1 $\mu$ L)。
- ② 100 ボルトで約 30 分、TAE バッファー中で電気泳動を行った。
- ③ ゲルをエチジウムブロミドで染色した。
- ④ ゲル撮影装置でゲル中の DNA バンドを確認、写真を撮影した。

### 3. 結果および考察

ゲンノショウコとアメリカフウロソウでは、18S rRNA 遺伝子の塩基配列が酷似しているが、プライマーセットは G1、G2 はゲンノショウコ、A1、A2 はアメリカフウロソウの配列とマッチするように設計されているため、G1 と G2 ではゲンノショウコ、A1、A2 ではアメリカフウロソウのみ増幅がみられると予想した。

各班の結果を見ると、DNA ポリメラーゼとして Go Taq を用いた場合、ゲンノショウコ、アメリカフウロソウともに増幅はみられなかった。HiDi ポリメラーゼを用いると、レーン 18 (A1 とアメリカフウロソウ) とレーン 24 (A2 とアメリカフウロソウ) で増幅が見られた。KOD FX Neo ポリメラーゼを用いた場合、DNA 試料としてゲンノショウコ、アメリカフウロソウを用いた全ての反応で増幅が見られた。

以上の結果から、DNA ポリメラーゼとして Go Taq と KOD FX Neo を用いてもゲンノショウコとアメリカフウロソウの判別はできなかった。KOD FX Neo には校正活性があるため、鋳型 DNA とプライマーの数塩基のミスマッチがあっても増幅が起こり、塩基配列のわずかな違いを判別するのは困難であると分かった。ミスマッチを判別できる変異型 DNA ポリメラーゼである HiDi ポリメラーゼでは、アメリカフウロソウにおいてアメリカフウロソウに特異的な A1、A2 プライマーセットを用いた際に増幅が見られ、一方、ゲン



ノショウコ特異的な G1, G2 プライマーセットでは増幅が見られなかった。ゲンノショウコはどのプライマーセットでも増幅が見られなかった。もし、ゲンノショウコにおいて G1, G2 を用いた際に増幅が見られ、A1, A2 を用いた際に増幅が見られなかったら、ゲンノショウコとアメリカフウロソウの判別が PCR によってできたと結論できる。ゲンノショウコで増幅が見られなかった原因として、ゲンノショウコの DNA 抽出液の粘度が高く、多糖などの PCR 阻害物質の混入が考えられたこと、ゲンノショウコとアメリカフウロソウで採取した時期、保存方法が異なることなどが挙げられる。

なお、図中のレーン番号の反応で使用したプライマーセットと試料は以下に示す通りである。

- 1, 13, 25 : G1、DNA なし (負対照)
- 2, 14, 26 : G1、ゲンノショウコ
- 3, 15, 27 : G1、アメリカフウロソウ
- 4, 16, 28 : A1、DNA なし (負対照)
- 5, 17, 29 : A1 ゲンノショウコ
- 6, 18, 30 : A1 アメリカフウロソウ
- 7, 19, 31 : G2、DNA なし (負対照)
- 8, 20, 32 : G2、ゲンノショウコ
- 9, 21, 33 : G2、アメリカフウロソウ
- 10, 22, 34 : A2、DNA なし (負対照)
- 11, 23, 35 : A2、ゲンノショウコ
- 12, 24, 36 : A2、アメリカフウロソウ

使用した DNA ポリメラーゼについては、図 2 の脚注に示した。

#### 4. おわりに-今後の展望

今回の実験を通して、アメリカフウロソウとゲンノショウコの判別をすることは惜しくもできなかった。DNA プライマーの Go Taq、KOD FX Neo でゲンノショウコの増幅が見られなかった原因がはっきりしないので、次回はゲンノショウコとアメリカフウロソウの採取時期、保存方法を統一し、PCR 阻害物質への対策として試料の希釈率も変えて実験したい。2 年前行った実験で使用した DNA ポリメラーゼ KOD FX Neo は校正活性を持ち、前回と同様比較的精製の低い DNA 試料で増幅が見られたが、プライマーの配列には非特異的であったため、塩基配列のわずかな違いによる植物の判別には使用すべきではないと分かった。今回のような目的には、校正活性のない DNA ポリメラーゼを使用すべきだと思った。

最後に実験指導をいただいた豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 浴俊彦教授、技術支援推進室 坂井悦子氏、ならびに分子遺伝学研究室 増井健人氏に感謝いたします。

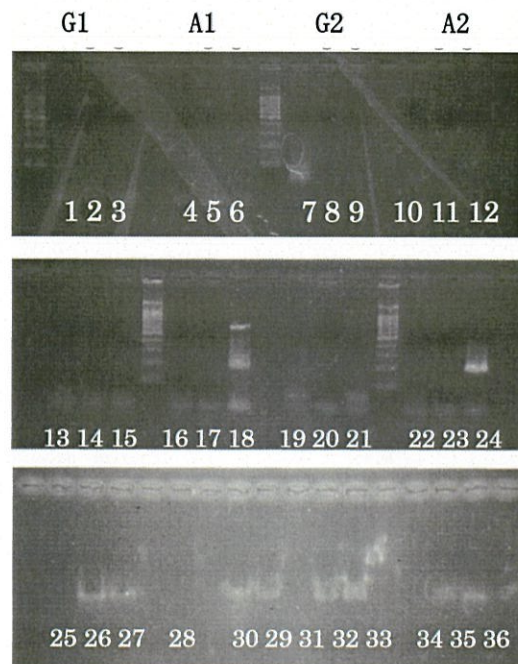


図 2 : 電気泳動の結果

使用した DNA ポリメラーゼ : Go Taq (レーン 1~12)、HiDi (レーン 13~24)、KOD FX Neo (レーン 25~36)

## 汐川干潟をほってホッて掘り下げた！！

宮下明里

愛知県立時習館高等学校 SSH地学部

### 1. はじめに

干潟に息づく豊かな生態系は水の“浄化フィルター”の役割を担っている。しかし、人為的な操作のためか干潟の表情は変化してきた。その一つが汐川干潟である。国内でも最大級の広さを誇る汐川干潟だが、そこに生物たちは多くはいない。これは“生き物”に忘れ去られようとしている自然の姿ではないだろうか。これほど立派な干潟があるのに、なぜ“生き物たち”が少ないのか。三河湾では赤潮が頻発している。原因の一つに干潟の水質浄化機能の低下が挙げられる。汐川干潟の現状とその原因を調査し、汐川干潟を広く知ってもらおうとともに地元の自然環境を見つめたい。



↑写真1 汐川干潟の一部  
流木やプラスチック製品  
が画面奥に目立つ

### 2. 方法

汐川干潟に5か所のポイントを設置した。(画像2)  
赤土等の細かい土の流入が干潟の土壌変化(砂質から泥質への変化)の原因だ、という記事<sup>1)</sup>を読み、干潟の土壌に興味を持ったので、今回は汐川干潟の土壌の現状と変化に着目する。



↑画像2  
ポイントの設置  
Google map より

- (1) 赤土等の底質中懸濁物質含有量(S P S S)の測定  
自作の透視度計(写真2)を用いて干潟にどれほど細かい粒子の土があるのかを調べる。
- (2) 土壌中の硫化物量の測定 底生生物の生息のしやすさの指標の一つ。
- (3) 文献調査

### 3. 結果および考察

図1 SPSS測定

	試料量(ml)	底泥量	透視度(cm)	SPSS (kg/m <sup>3</sup> )	平均 (kg/m <sup>3</sup> )	ランク
ポイント1	5	×2.0	15.5	462	481	8
ポイント2	5	×1.0	13	229	198	6
ポイント3	5	×1.0	7.3	435	429	8
ポイント4	5	×1.0	16.3	174	175	6
ポイント5	5	×1.0	8.2	383	448	8

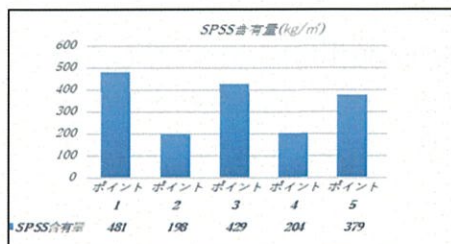
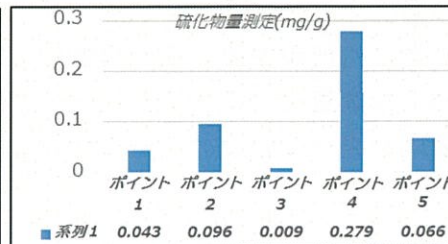


図2 硫化物量測定(乾泥)

乾泥	質量(g)	硫化水素量(ml)	硫化物(mg/g)
ポイント1	0.422	0.028	0.043
ポイント2	0.429	0.041	0.066
ポイント3	0.449	0.004	0.009
ポイント4	0.441	0.123	0.279
ポイント5	0.411	0.022	0.066



↑写真2  
透視度計

- (1) 透視度測定はその土壌の状態から 1～5a, 5b～8 のランクがつけられており、数  
が大きいほど細かい粒子の土が多いことを示す。全てのポイントで干潟は泥質  
であり、アサリのような泥質に適さない生物は棲みにくい状態であるとわかる。
- (2) 硫化物測定では硫化物量は 0.2mg/g(乾泥)以下が生物の生息限度である。河口  
から離れた地点ほど硫化物が多いことから、土壌中の酸素量が少ない可能性  
がある。ポイント 4 では 0.2mg/g を超えており、生物が生息出来ない状態に  
あるとわかる。
- (3) 文献調査・聞き取り調査

① 汐川干潟の変化

汐川干潟は 1970 年代に行われた埋め立てにより約 180 h a の  
面積を失った。

② 汐川干潟周辺の地質

汐川干潟付近にある吉胡貝塚からは、ハマグリ、アサリが多く  
出土する。かつては渥美半島では渥美窯が広く分布してい  
た。陶器づくりには、細かい粒子の土が必要である。渥美  
窯の繁栄は渥美半島の陶器づくりに長けた地形と地質が大  
きく関係している。以上のことから干潟周辺には古代から豊かな生態系が存  
在していたと推察される。文献からも、元々この地域では細かい土が多いこ  
とがわかる。しかし、8 月に干潟の土壌を採取した際に出会った地元住民のシ  
ライさん(男性)の証言によると「昔(約 60 年前)は生き物が多く今ほど泥っぽ  
くなかった。」とのことである。



↑画像 3 古窯の分布  
出典:資料 5)

#### 4. まとめ

文献調査からわかるように、汐川干潟周辺には細かい土が広く分布しており、現  
在は生物が棲みにくくなっている。それは干潟の土壌が砂質から泥質に変化したこ  
とが大きく関係している可能性がある。そこで現時点での汐川干潟の変容過程の仮  
説を記す。

汐川干潟では本来、流入した細かい土は干潟が内湾に広く繋がっており水流が適  
度にあつたため堆積せずに内湾に流出した。だから埋め立て前や農業用水路などの  
整備前(約 60 年前)は土壌が砂質であった。しかしそれらの整備の影響により土壌の  
運搬作用が弱くなり細かい粒子の土が堆積した。よって土壌が泥質化したのではな  
いだろうか。

干潟の再生方法の模索としては、まだ研究データが少ないので仮説という形でし  
か結論が出せないが、①干潟内に水流をできやすくする、②硫化物・硫化水素を少  
なくするために金属イオンに着目することを現時点では考えている。

#### 5. おわりに-今後の展望

仮説を検証するためには河川の流入量の調査や土壌の運搬作用について詳しく調  
べる必要がある。様々な調査を行い多くのデータを得ることで、他に生物を生息さ  
せにくくしている要因を調べていきたい。これからも様々な場で発表することによ

って汐川干潟について多くの人に知ってもらい、自然の保全活動の意識を高めてもらいたい。

#### 6. 謝辞

本研究にあたり、愛知県水産試験場 蒲原聡先生 湯口真実先生、豊橋市自然史博物館 一田昌宏先生、本校の先生方にご協力いただきました。ありがとうございました。

#### 7. 主な参考文献

1)大見謝辰男 SPSS 簡易測定とその方法 2)水産用水基準 第8版(2018年度版)公益社団法人日本水産資源保護協会 3)地質の分類豊橋及び田原地域の地質 京都(11)第58、70号 4)豊橋市美術館(2000)海道をゆく一渥美半島の考古学― 5)愛知県史編さん委員会(2005)愛知県史 民俗 3 三河 6)菅谷義之(1984)東三河大地のなりたち

## 塩基配列解析による貝類の同定

山谷拓巳・大森識照・塚田一輝・小川恭典・黒川悠馬・杉浦英輝・村田怜衣哉

愛知県立豊丘高等学校 自然科学同好会

### 1. はじめに

干潟は多くの生物の生息場所になっている。我々はそれらの生物の働きに着目し、干潟環境を調査し干潟環境保全に貢献するため、2013年から愛知県豊橋市にある2箇所の干潟の定性調査と定量調査を実施してきた。その際、当部員がウミニナ-*Batillaria uliformis*-(以下 Bm)とホソウミニナ-*Batillaria cumingii*-(以下 Bc)の混同する事案が多数見受けられた。その結果正確な干潟の生物種や環境のデータが採取できないという問題が浮上した。正確なデータは干潟環境保全にもつながる重要なものである。我々がこの問題の解決の糸口と考えているのが塩基配列解析による貝類の判別である。この方法にはコストなど様々な問題点が存在するが同時にヒューマンエラーを根絶できるなどの大きな利点も存在する。問題点を解決し、正確なデータを得て干潟環境保全の足掛かりとするため、今回の研究を行った次第である。

### 2. 方法

分析対象試料から PCR 法によって増幅した特定の遺伝子をアガロースゲル電気泳動法で分離する。また、分離したアガロースゲル中の PCR 産物を精製し、COI, 16SrRNA それぞれの遺伝子についてシーケンシングを行う。この結果を用いて、生物種の判別、地点間や個体間での遺伝子配列の多型の有無の調査、及び系統樹の作成を試みた。

試料として愛知県豊橋市汐川干潟及び同市六条潟で採取された Bc と Bm を用意した。

1. まずアルコール固定した各試料の筋肉部分を 1mm 以下に切る。切断片に PCR 反応液 (COI プライマーセット : LCO-MB と HCO-MB 及び 16rRNA プライマーセット : 16S-M1F と 16S-MB1R<sup>i</sup>) を 50 $\mu$ L ずつ加え、それぞれのサイクル条件で PCR を行い、COI, 16SrRNA を増幅させた。
2. PCR 産物にゲル染色液を加えアガロースゲル電気泳動装置(サブマリン型泳動槽)を用いて実験に用いる塩基配列領域とその他に分離する。
3. DNA を検出するため電気泳動後のゲルをエチジウムブロマイドに浸す。
4. 暗室で励起光(紫外線)を当て DNA に付着したエチジウムブロマイドを発光させる。比較のため同時に電気泳動していた DNA マーカー(東洋紡製 100bp DNA Ladder)を基に、使用する塩基配列領域を目視で切り出した。
5. NTI 溶液とシリカの特質を利用して、PCR 産物をゲルと完全に分離する。今回は DNA 生成キット(Nucleospin® Gel and PCR Clean-up キット)を用いた。
6. 精製した DNA のシーケンシングを外部業者(マクロジェン社)に委嘱する。シーケンシングはジデオキシ法で行われた。
7. NJ 法を用いて、塩基配列データより COI 配列と ITS1 配列の系統樹を作成した。

### 3. 結果および考察

図1では今回の実験で採取できた塩基配列を図示している。六条のBcは試料の保存状態が悪く急遽昨年のもので使用したため配列データを採取することができなかった

このアクシデントを加味しても、今回の研究では昨年と比較して配列データが正確に採取できている。

結果より得られたことは主に4つである。以下は簡潔にまとめたものである。

番号	場所	貝種類	個体	16S rRNA	COI
①	汐川	ホソウミニナ	A	①-S	①-I
②			B	②-S	②-I
③		ウミニナ	A	③-S	③-I
④			B	④-S	④-I
⑤	六条	ホソウミニナ (昨年度試料)	a	⑤-S	⑤-I
⑥			b	⑥-S	⑥-I
⑦		ウミニナ	A	⑦-S	⑦-I
⑧			B	⑧-S	⑧-I

図1 赤字：配列データ回収できず

- 16SrRNA と COI のいずれでも塩基配列解析による Bm と Bc の同定に成功した点
- 2 地点間で塩基配列に多型部分が表れた点(留意事項として検体数の少なさがあげられる)
- 個体間で塩基配列に多型部分が表れた点(上に同じく検体数が少ない)
- 配列の多様性の観点では COI が 16SrRNA より優れている。

まず本来の趣旨である塩基配列解析による貝類の同定の成功は今まで続けてきたこの研究に大きな意味を持つものであった。この成功をふまえて Bm, Bc のように類似した形態である Pn, Cm に関して、塩基配列解析による同定ができるか研究していきたい。

地点間で 塩基配列に多型が表れたことに関しては非常に大きな発見だと思われる。我々は実地調査中に伺った地元住民の体験談や六条潟や汐川干潟の環境に関する資料を読み一つの仮説を打ち立てた。それは環境汚染によって同種であっても配列多型が表れるのではないかというものである。汐川干潟の中にはヘドロが多く独特の臭気を発している地点がある。原因は高度経済成長期より続く埋め立てである。かつては 2000ha を誇る国内有数の干潟であったが現在は 200ha 以下にまで縮小している<sup>ii</sup>。

このような環境変化が六条潟と汐川干潟の同種の貝の塩基配列多型を引き起こしたのではないだろうか。このような可能性を視野に入れ今後は環境が与える塩基配列への影響なども存在するのか否か研究していきたい。

### 4. おわりに—今後の展望

今まで仮説を述べてきたが、現在のサンプル数では再現性が低く信頼性や根拠に欠ける。

今後実験のサンプル数を増やし安定した実験結果を得て、先ほどあげた様々な可能性を検証していきたい。そして、その研究結果が干潟の環境保全につながることを我々は切に祈っている。最後にここまで読み進めていただいた皆様にご拝読感謝する。

<sup>i</sup> このプライマーは浴教授が本実験の為独自に作成されたものである。そのため、詳細な配列データは不明である。

<sup>ii</sup> 汐川干潟を守る会『ひがたーシギ・チドリ群れる汐川干潟』87頁より(1993年 総合出版 ISBN 4829931795)

## DNA メタバーコード解析による農地の土壌線虫群集構造解析

増間智郎・剣持遥太郎・高瀬彰紀・広瀬侑・浴俊彦  
豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 分子遺伝学研究室

### 1. はじめに

土壌には細菌、放線菌、糸状菌、原生生物、線虫など多数の生物が生息している。なかでも線虫 (Nematode) は、海洋生物のプランクトンに相当する位置を占め、土壌物質循環に重要な役割を果たしていることから、土壌線虫の群集構造を解明することで、土壌環境を評価できると考えられる。従来、土壌線虫群集構造解析には、個別の線虫を形態によって分類する手法が用いられていたが、これには豊富な知識や経験が必要で、解析に膨大な時間を要するという大きな課題がある。

当研究室では、この課題を克服するため、飛躍的な塩基配列解読能力を持つ次世代シーケンサーを用いた DNA バーコーディングの研究を行ってきた。DNA バーコーディングとは、解析対象生物 DNA の特定遺伝子の部分塩基配列とデータベースの配列を比較して生物種を同定する手法であり、大量の種の同定作業を正確かつ高速に行うことができる。

本研究では、真核生物に広く保存された 18S リボソーム RNA (18S rRNA) 遺伝子領域の一部を標的配列とし、農地 (畑) の土壌における、線虫を含めた土壌生物群集構造の解析を試みた。

### 2. 方法

#### 2-1 土壌採取と DNA 抽出

##### 【大学試験農場の土壌】

2018 年 7 月、サツマイモを植えた大学試験農場の畑 2 地点において、植物からの距離と土壌深さを変えて、半管状サンプラーを用いて採取した土壌 10 g を、DNeasy PowerMax Soil Kit を用いて全土壌 DNA を調製した。これをエタノール沈殿によって濃縮を行い、サンプル DNA として実験に用いた。

##### 【東三河地域 (田原市) の畑土壌】

田原市の農業者のご協力の下、昨年 1 年間輪作を行なった畑、および輪作を行っていない畑において、トウモロコシ栽培過程に沿って、3~4 回、栽培地点と対照地点 (各 3 箇所) とで土壌を採取、同様にサンプル DNA の調製を行った。

#### 2-2 塩基配列解読

調製したサンプル DNA を鋳型とし、それぞれ PCR 増幅を行った。PCR には、真核生物全体を対象とした 18S リボソーム RNA 遺伝子領域 (約 450 塩基対) を増幅するプライマーセットと KOD FX Neo を用いた。PCR 産物は AMPure Beads XP を用いて精製し、次世代シーケンシング用 index 配列付加のための PCR を行い、再度 AMPure Beads XP にて精製を行った後、次世代シーケンサー MiSeq により塩基配列を決定した。

#### 2-3 塩基配列データ解析

塩基配列解析パッケージ QIIME2 を用いて、一塩基レベルの違いで区別した配列である Ribosomal Sequence Variant (RSV) の抽出を行い、生物系統分類に使用した。生物種の同定と分類には、rRNA データベース SILVA を用いた。

### 3. 結果および考察

試験的に実施した本学試験農場のサツマイモ畑土壌の解析では以下の結果が得られた。

- (1) 真核生物における門(phylum)レベルでの組成分析を行なった結果、主な門としてオクロ植物門、ケルコゾア門、線形動物門（線虫）、卵菌門等が同定された（図1）。
- (2) 線虫目の組成分析を行なった結果、採取地点によって、線虫目の種類に大きな違いはなかったが、存在割合に違いが見られた。
- (3) 線形動物門と真核生物全体で生物多様性を分析した結果、線形動物門においては、土壌深さで多様性が変化することが判明し、浅い土壌サンプルの方が多様性は高かった。しかし、真核生物全体では土壌深さよりも、植物からの距離によって多様性が大きく変化しており、植物に近い方が多様性は高かった。

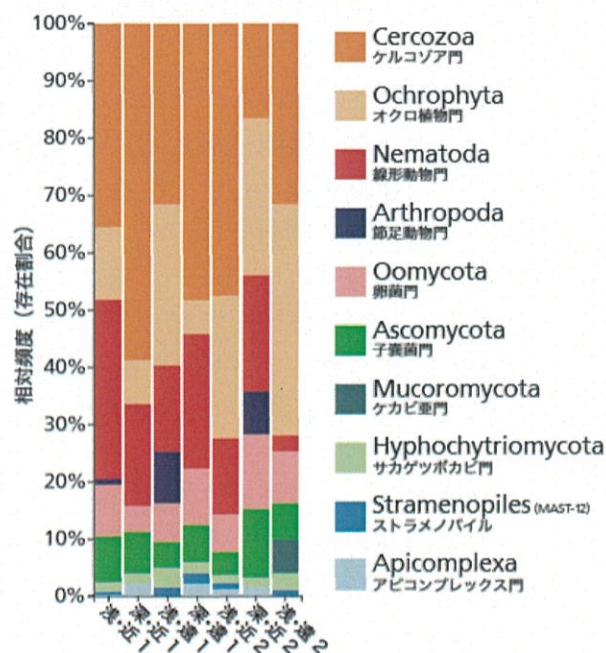


図1 各土壌サンプルにおける真核生物門の組成

以上の結果により、本手法を実際の農地における生物群集構造解析に適用できることが示された。田原市の畑土壌の生物群集構造解析については現在、塩基配列解析中のため、その結果はポスターで報告する。

### 4. おわりに—今後の展望

本研究から、DNA バーコーディングによる、農地での高精度な土壌生物群集構造解析が可能であることが示された。より多くの土壌サンプルを解析し、それらの土壌環境パラメータ（水分量、pH、栄養組成など）や原核生物群集構造解析データと比較することで、線虫を含めた土壌真核生物群集の研究が進むものと期待される。

DNA バーコーディングは、生物分類の豊富な知識や経験を持たない者でも土壌生物相の高速かつ高精度な解析が可能である。将来の農業の発展のため、この手法を用いて様々な農地での土壌生物の群集構造解析を継続していく予定である。



廃水処理にとって重要なアンモニア酸化細菌の簡便・迅速な検出方法の開発

坪井重太郎・岡崎祐輝・山田剛史

豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 水圏環境生物工学研究室

1. はじめに

微生物を用いた廃水処理プロセスの運転管理は、pH、温度や有機物（または窒素）負荷といった物理化学的指標に基づき行われているのが現状である。しかしながら、ひとたび処理水質が悪化した場合、その原因が分からずに現状復帰に多大な労力やコストがかかることがある。そのため、従来の管理指標に加えて、廃水処理で重要な役割を担う微生物（機能性微生物）を指標（機能性微生物指標）とすることによって、より厳密な運転管理が可能になると考えられる。微生物を指標として用いるためには、廃水処理の現場で実施できるオンサイト測定技術が必要であるが、このような技術は現時点では開発されていない。そこで本研究では、DNA アプタマーを用いた簡便・迅速な微生物検出技術を考案した。特に、本研究では、廃水処理プロセス内でアンモニア酸化に寄与するアンモニア酸化細菌（AOB）に焦点を当て、その細胞表層タンパクに結合する DNA アプタマーの選別を目的とした。

2. 実験方法

本研究では、ランダム一本鎖 DNA ライブラリから、AOB に特異的な DNA アプタマー候補の選別を行った。標的となる 6 種類の AOB に対して Cell-systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) 法を 30 回適用し、選別される DNA アプタマー候補の特異性向上のために、非標的微生物を用いたカウンターセレクション (Counter-Selection) を 3 回行った (図)。

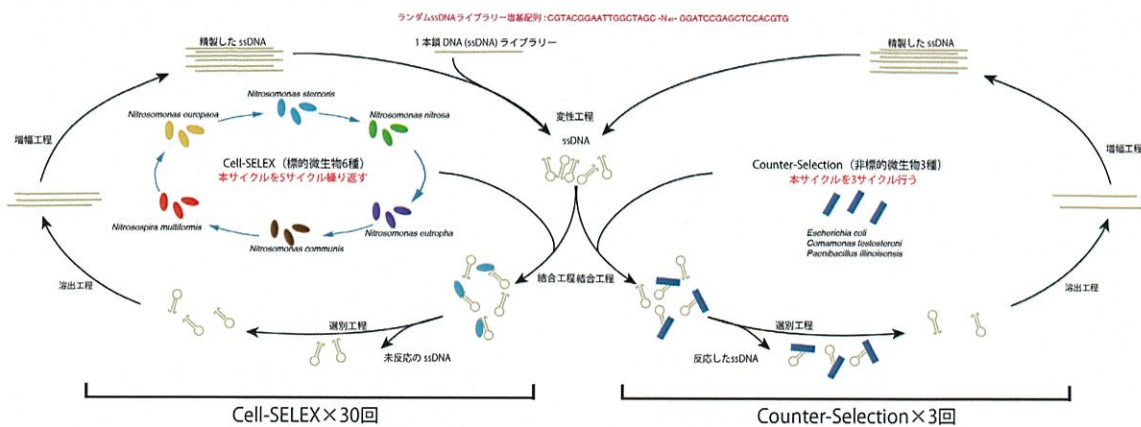


図 AOB を標的微生物とした Cell-SELEX 法 の概念図

3. 結果および考察

Cell-SELEX 法を 30 回実施した後、次世代シーケンサーを用いて約 10~12 万リードからなる塩基配列を決定した。DNA アプタマーの候補を選別するため、100%塩基配列相同性を持つリードのみをグルーピングした。それらの内、1.5~31.2%の占有率を有する 10 種類の塩基配列が、AOB を特異的に検出できる DNA アプタマー候補とした。今後、蛍光付加した DNA アプタマー候補を用いた蛍光強度測定によって、候補とした DNA アプタマーの特異性を評価することを計画している。

## ポリ乳酸を原料とする高温嫌気性汚泥のメタン生成特性

Sugar Gantsetseg・山田剛史

豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系 水圏環境生物工学研究室

## 1. はじめに

石油由来プラスチックがもたらす海洋環境のマイクロプラスチック汚染が表面化しており、生分解性プラスチックの利用が促進される予兆が感じられてきている。ポリ(L-乳酸)(PLLA)は、他の生分解性プラスチック素材よりも機械的特性、化学的特性や物理的特性が優れており、石油由来のプラスチックの代替材として注目されている。「きれいな」PLLA 廃棄物はケミカルリサイクルが可能であるが、食品や飲料が付着した PLLA 廃棄物の処理は、埋め立て、焼却や堆肥化などの方法が検討されているのみである。そのような PLLA 廃棄物の効果的な利用の1つは、嫌気性消化リアクターにおいて、生ゴミとともにメタンガス生産の原料として利用することである。しかしながら、PLLA 自体難分解性であり、嫌気性消化リアクターでは PLLA の生物学的加水分解は期待できないため、PLLA の乳酸への加水分解が課題となる。PLLA を原料としたメタン発酵を達成するためには、PLLA の化学加水分解を促進する新たな方法を確立する必要がある。PLLA の化学的加水分解は、重量平均分子量 ( $M_w$ ) と結晶化度 ( $X_c$ ) に影響を受けることが知られている。そのため本研究では、良好なメタン発酵に適した PLLA の  $M_w$  および  $X_c$  を特定し、PLLA を唯一の基質とした高温嫌気性消化リアクターにおける連続メタン生成特性を調査することを目的とした。

## 2. 実験方法

メタン生成活性試験は、バイアル瓶内の無機塩培地 (pH 7.0) に対して、嫌気性消化汚泥とともに  $M_w$  や  $X_c$  を調整した PLLA を添加した。バイアル瓶は、55°C で振盪培養を行った。PLLA を原料とした連続的なメタン生成特性は、実験室スケールの高温 (55°C) 嫌気性消化リアクター (7L) を用いて評価した。バイアル瓶と嫌気性消化リアクターのバイオガス量は湿式ガスメーターを用いて測定した。バイオガス中のメタン濃度は、熱伝導度検出器を搭載したガスクロマトグラフを用いて測定した。

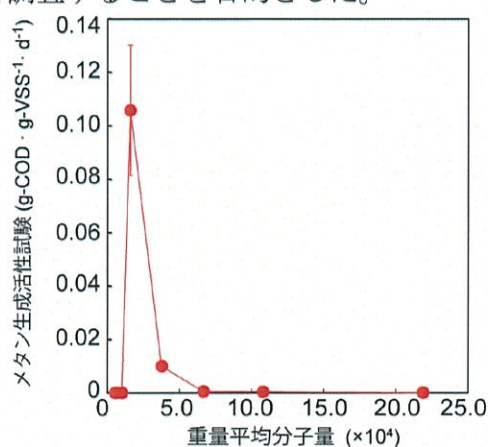


図 重量平均分子量を調整した PLLA を原料とした高温嫌気性汚泥のメタン生成活性

## 3. 結果および考察

$M_w$  の異なる PLLA を用いたメタン生成活性を評価したところ、 $M_w = 16,000 \sim 38,000$  の範囲でメタン生成が観察された。それらの範囲の内、最大メタン生成活性値を示した PLLA の  $M_w$  は約 16,000 であった。メタン生成活性に与える PLLA の  $X_c$  の影響について評価した結果、PLLA の  $X_c$  が高まるにつれてメタン生成活性が増大した。PLLA ( $M_w$  = 約 16,000,  $X_c$  = 約 40%) を原料とした高温嫌気性消化リアクターにおける連続的なメタン生成特性を評価した結果、良好なメタン生成が確認された。

## 「ゲームをするなら<sup>ジオ</sup>GEO」活動報告

木全顕・安達陽太・近藤立也・高橋杏友・河合奈月・北野孟毅・前田尚輝・安藤匠人  
井上晶太・井上雄貴・坪内和・夏目祐吏・林一帆・橘田遥一郎・佐藤勇佑  
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE

### 1. はじめに

2019年7月12日現在、日本ジオパークは全国に44地域も存在しているが、愛知県には一つも存在していない。豊橋東高等学校 GLOBE は、2015年度より東三河のジオサイトを調査し、その素晴らしさを伝えることによって、「東三河ジオパーク（仮）」の日本ジオパーク認定を応援する活動を行ってきた。これまでの私たちの活動は主に高校生を対象とするものであったので、もっと多くの人々に東三河ジオパーク構想を知ってもらうために、子どもにも親しみやすいゲームを作成し、蒲郡市生命の海科学館や豊橋市自然史博物館でワークショップを実施した。

### 2. 活動及び考察

作成したゲームは、2つである。1つは、「東三河 GEO 取り合戦」（写真1）で、もう1つは、「GEO カード」（写真2）である。どちらも、ゲームを楽しみながら、東三河のジオサイトや植物を覚えてもらうことができるゲームである。自分たちが撮影した写真を使用し、それぞれの説明文も自分たちで考えた。

平成31年3月17日と令和元年8月9日に蒲郡市生命の海科学館で、令和元年7月20日と27日、8月10日、9月7日に豊橋市自然史博物館でワークショップを行った。どちらのワークショップも参加年齢層が幅広く、「多くの人に東三河ジオパーク構想を知ってもらう」という当初の目的を果たすことはできたと考えている。ゲームというツールを用いることにより、楽しく学ぶことができ、子どもたちも興味をもってくれ、この方法がジオパーク構想の普及に有効であることもわかった。

また、私たち自身もこの活動中にジオサイトについての様々な質問に答えることで、より一層理解を深めることができた。ゲームを終えた後に参加してくれた人たちが「楽しかった」や「面白かった」などと言ってくれたことがとても嬉しかったので、これからも積極的にワークショップを開催し、もっとたくさんの人に知ってもらいたいと思う。



写真1 東三河 GEO 取り合戦のボード



写真2 GEO カード

## ワークショップ W-1

### 3. おわりにー今後の展望

課題は、ゲームのルール説明をより分かりやすく行い、円滑に進行することである。また、ゲームの所要時間が少し長いなどの問題があるので、それらを改善しつつ、カードの種類を増やしたいと考えている。

最後に、蒲郡市生命の海科学館館長の山中敦子先生と教育担当の永田理雄先生、豊

橋市自然史博物館主任学芸員の加藤千茶子先生、新城市鳳来寺山自然科学博物館学芸員の西村拓真先生はじめ、ご指導してくださったすべての方々に深く感謝いたします。



写真3 ワークショップの様子  
(左：自然史博物館、右：生命の海科学館)

## 愛知県東三河総局事業「東三河地域環境リーダー活動」の紹介

木村春雄・今泉佳代子・笠松由美・中西普佐子  
地域環境リーダー

### 1. はじめに

愛知県東三河総局の「東三河自然再生推進業務」事業は、今年度が5年目。平成27年度から自然環境講座に参加した修了生の活躍の場として平成30年度から「地域環境リーダー」という肩書を付与し、次世代育成にかかわる事業展開を進めている。

### 2. 方法

地域環境リーダー活動2年目の令和元年度事業では、地域環境リーダーとして男性3名、女性5名の計8名を任命し、①小中学生対象の環境学習出前講座②高校生（または大学生等）対象の地域の魅力発見エコツアーガイド体験一の2事業を実施した。

小中学生対象の環境学習出前講座は、豊川市千両小学校5年生が、参加を希望し、10月23日と10月29日の2日間に分けて午前中2時限（計100分）ずつ実施した。

### 3. 結果および考察

校内でメリケントキンソウを採取したり、5年生21名は生き物たちの生存競争をゲームで実感した。メリケントキンソウは、硬い実に鋭いトゲがあり、手や足に刺されると終日痛みを苦しむ非常に危険な植物。そのほか、アライグマやイノシシ等も含めた「生活に困った影響を与える生き物」等について「駆除」や「排除」だけでなく、「共存」できる可能性はないのか一等について5年生たちは、校内での植物、昆虫などの観察実践とゲームを通じて体験的に学んだ。



## 小学校との連携で行う川の生き物調査

杉浦篤史

豊川市赤塚山公園

### 1. はじめに

当園は、愛知県東三河地方を流れる 1 級河川「豊川（とよがわ）」とその流域にすむ生き物を展示する淡水魚水族館「ぎょぎょランド」と家畜を中心としたふれあい小動物園「アニアニまある」などを有する豊川市の総合公園である。

当園は、2014 年以前より行っていた小中学校等の学習を支援する活動を世間に広く周知し、利用を促すために体系的にまとめ「学習プログラム」として立ち上げた。

「学習プログラム」には「出前授業」、「レクチャー」、「ふれあい」、「ガイドツアー」「職場体験・職場インタビュー」等がある。今回は、この中から「出前授業」として行っている小学校との川の生き物調査についての事例を紹介する。2014 年度から 2018 年度に行った小学校との川の生き物調査をまとめた。

### 2. 経緯と実績

2013 年に当園の開園 20 周年を記念して、こちらから豊川市立平尾小学校への持ち込みの企画「平尾小学校ミニ水族館」を実施した。平尾小 3 年生と一緒に、校区を流れる川で採集をした後、とれた生き物をぎょぎょランド館内に設置した水槽でしばらくの期間展示した。この小学校では、次年度以降も毎年 2 年生の生活科、3 年生の総合的な学習の授業に当園との協働による川での生き物調査を組み込んでくれている。

この取り組みをきっかけにそれ以降、市内の他の小学校とも同様の活動を行う機会を得た。2014 年度は、2 校 4 回、2015 年度 2 校 3 回、2016 年度 4 校 8 回、2017 年度 3 校 6 回、2018 年度 3 校 5 回を実施した。利用した学年は、2 から 4 年生であった。

2014 年度	豊川市立平尾小学校	3 回
	豊川市立萩小学校	1 回
2015 年度	豊川市立平尾小学校	2 回
	豊川市立御津北部小学校	1 回
2016 年度	豊川市立平尾小学校	3 回
	豊川市立八南小学校	3 回
	豊川市立萩小学校	1 回
	豊川市立長沢小学校	1 回
2017 年度	豊川市立平尾小学校	2 回
	豊川市立八南小学校	3 回
	豊川市立萩小学校	1 回
2018 年度	豊川市立平尾小学校	2 回
	豊川市立八南小学校	2 回
	豊川市立萩小学校	1 回

### 3. おわりに—今後の展望

小学校との川の生き物調査は、今年で6年目になった。多くの子どもたちが、身近な川で生き物調査をして、自然の楽しみや地元の生き物を知ることができたのであれば、喜ばしいことである。また、川の生き物調査の内容は、川で生き物を捕まえ、その解説をすることが中心となるが、さらに「まとめの授業」として、後日時間を与えてもらう機会もあった。その時には、捕れた生き物の振り返りだけではなく、川を中心に環境について考えてもらう機会もできた。

当園のこの活動が、子どもたちにとって自然環境に関心を持つ始めの一歩となれば幸いである。これからも、当園の使命として小学校との活動を続けていきたい。

## いいじゃん奥三河

河合奈月・高橋杏友・近藤立也・安達陽太・木全颯・北野孟毅・安藤匠人・前田尚輝  
橋田遥一郎・佐藤勇佑・夏目祐吏・井上雄貴・坪内和・井上晶太・林一帆  
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE

### 1. はじめに

豊橋東高校 GLOBE は、平成 27 年度より東三河ジオパーク(仮)を紹介する活動を続けてきた。平成 27 年度から平成 30 年度は、主に田原市、豊橋市、豊川市、蒲郡市のジオサイトを調査した。平成 30 年度と令和元年度は、フィールドを豊川上流域に移した。初めての奥三河は、未知なることであふれていた。

### 2. 活動報告

平成 30 年 8 月 27 日

- ① 乳岩峡
- ② 中央構造線露頭

令和元年 8 月 5 日

- ③ 煮え淵
- ④ 東栄町役場付近
- ⑤ とうえい温泉
- ⑥ 大千瀬川
- ⑦ 馬背岩

③ではポットホールを観察し、④では川岸にて二枚貝や植物の化石を採掘した。⑤では奥三河のおいしい料理を堪能した。⑥では蕁の淵(奥三河のナイアガラ)の侵食によってできた大きな滝つぼを観察した。⑦では巨大な安山岩の岩脈を観察し、火山活動によって形成されたことがわかった。

### 3. おわりにー今後の展望ー

同じ三河でもまだ知らない場所や景色がたくさんあった。他にもまだ知らない場所があると思うので、他のジオサイトも調査に行きたいと思う。そして、東三河ジオパークの良さを多くの人に知ってもらうために活動を続けていきたいと考えている。



図1 奥三河観光情報マップ(奥三河観光協)



写真1 蕁の淵(奥三河のナイアガラ)



口頭発表 OP-3

今回の活動には、鳳来寺山自然科学博物館の西村拓学芸員に大変お世話になりました。  
深く感謝いたします。

## 汐川干潟をほってホットて掘り下げた！！

宮下明里

愛知県立時習館高等学校 SSH地学部

### 1. はじめに

干潟に息づく豊かな生態系は水の“浄化フィルター”の役割を担っている。しかし、人為的な操作のためか干潟の表情は変化してきた。その一つが汐川干潟である。国内でも最大級の広さを誇る汐川干潟だが、そこに生物たちは多くはいない。これは“生き物”に忘れ去られようとしている自然の姿ではないだろうか。これほど立派な干潟があるのに、なぜ“生き物たち”が少ないのか。三河湾では赤潮が頻発している。原因の一つに干潟の水質浄化機能の低下が挙げられる。汐川干潟の現状とその原因を調査し、汐川干潟を広く知ってもらおうとともに地元の自然環境を見つめたい。



↑写真1 汐川干潟の一部  
流木やプラスチック製品  
が画面奥に目立つ

### 2. 方法

汐川干潟に5か所のポイントを設置した。(画像2)  
赤土等の細かい土の流入が干潟の土壌変化(砂質から泥質への変化)の原因だ、という記事<sup>1)</sup>を読み、干潟の土壌に興味を持ったので、今回は汐川干潟の土壌の現状と変化に着目する。



↑画像2  
ポイントの設置  
Google map より

- (1) 赤土等の底質中懸濁物質含有量(S P S S)の測定  
自作の透視度計(写真2)を用いて干潟にどれほど細かい粒子の土があるのかを調べる。
- (2) 土壌中の硫化物量の測定 底生生物の生息のしやすさの指標の一つ。
- (3) 文献調査

### 3. 結果および考察

図1 SPSS測定

	試料量(ml)	希釈数	透視度(cm)	SPSS (mg/ml)	平均 (mg/ml)	ランク
ポイント1	5	×20	15.5	462	481	8
ポイント2	5	×10	13	229	198	6
ポイント3	5	×10	7.3	435	429	8
ポイント4	5	×10	16.3	174	175	6
ポイント5	5	×10	8.2	383	448	8

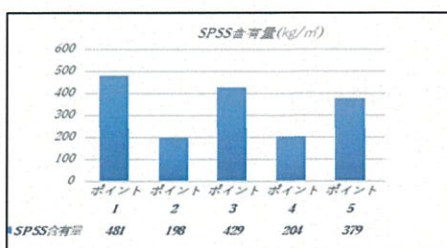
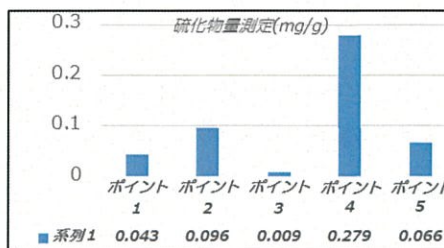


図2 硫化物量測定(乾泥)

試料	質量(g)	硫化水素量(ml)	硫化物(mg/g)
ポイント1	0.422	0.028	0.043
ポイント2	0.429	0.041	0.096
ポイント3	0.449	0.004	0.009
ポイント4	0.441	0.123	0.279
ポイント5	0.411	0.022	0.066



↑写真2  
透視度計

- (1) 透視度測定はその土壌の状態から 1～5a, 5b～8 のランクがつけられており、数が大きいほど細かい粒子の土が多いことを示す。全てのポイントで干潟は泥質であり、アサリのような泥質に適さない生物は棲みにくい状態であるとわかる。
- (2) 硫化物測定では硫化物量は 0.2mg/g(乾泥)以下が生物の生息限度である。河口から離れた地点ほど硫化物が多いことから、土壌中の酸素量が少ない可能性がある。ポイント 4 では 0.2mg/g を超えており、生物が生息出来ない状態にあるとわかる。
- (3) 文献調査・聞き取り調査

① 汐川干潟の変化

汐川干潟は 1970 年代に行われた埋め立てにより約 180 h a の面積を失った。

② 汐川干潟周辺の地質

汐川干潟付近にある吉胡貝塚からは、ハマグリ、アサリが多く出土する。かつては渥美半島では渥美窯が広く分布していた。陶器づくりには、細かい粒子の土が必要である。渥美窯の繁栄は渥美半島の陶器づくりに長けた地形と地質が大きく関係している。以上のことから干潟周辺には古代から豊かな生態系が存在していたと推察される。文献からも、元々この地域では細かい土が多いことがわかる。しかし、8 月に干潟の土壌を採取した際に出会った地元住民のシライさん(男性)の証言によると「昔(約 60 年前)は生き物が多く今ほど泥っぽくなかった。」とのことである。



↑ 画像 3 古窯の分布  
出典:資料 5)

#### 4. まとめ

文献調査からわかるように、汐川干潟周辺には細かい土が広く分布しており、現在は生物が棲みにくくなっている。それは干潟の土壌が砂質から泥質に変化したことが大きく関係している可能性がある。そこで現時点での汐川干潟の変容過程の仮説を記す。

汐川干潟では本来、流入した細かい土は干潟が内湾に広く繋がっており水流が適度にあつたため堆積せずに内湾に流出した。だから埋め立て前や農業用水路などの整備前(約 60 年前)は土壌が砂質であった。しかしそれらの整備の影響により土壌の運搬作用が弱くなり細かい粒子の土が堆積した。よって土壌が泥質化したのではないだろうか。

干潟の再生方法の模索としては、まだ研究データが少ないので仮説という形でしか結論が出せないが、①干潟内に水流をできやすくする、②硫化物・硫化水素を少なくするために金属イオンに着目することを現時点では考えている。

#### 5. おわりに-今後の展望

仮説を検証するためには河川の流入量の調査や土壌の運搬作用について詳しく調べる必要がある。様々な調査を行い多くのデータを得ることで、他に生物を生息せにくくしている要因を調べていきたい。これからも様々な場で発表することによ

って汐川干潟について多くの人に知ってもらい、自然の保全活動の意識を高めてもらいたい。

#### 6. 謝辞

本研究にあたり、愛知県水産試験場 蒲原聡先生 湯口真実先生、豊橋市自然史博物館 一田昌宏先生、本校の先生方にご協力いただきました。ありがとうございました。

#### 7. 主な参考文献

1)大見謝辰男 SPSS 簡易測定とその方法 2)水産用水基準 第8版(2018年度版) 公益社団法人日本水産資源保護協会 3)地質の分類豊橋及び田原地域の地質 京都(11)第58、70号 4)豊橋市美術館(2000)海道をゆく—渥美半島の考古学— 5)愛知県史編さん委員会(2005)愛知県史 民俗 3 三河 6)菅谷義之(1984)東三河大地のなりたち

## 塩基配列解析による貝類の同定

山谷拓巳・大森識照・塚田一輝・小川恭典・黒川悠馬・杉浦英輝・村田怜衣哉  
愛知県立豊丘高等学校 自然科学同好会

### 1. はじめに

干潟は多くの生物の生息場所になっている。我々はそれらの生物の働きに着目し、干潟環境を調査し干潟環境保全に貢献するため、2013年から愛知県豊橋市にある2箇所の干潟の定性調査と定量調査を実施してきた。その際、当部員がウミニナ-*Batillaria uliformis*- (以下 Bm)とホソウミニナ-*Batillaria cumingii*- (以下 Bc)の混同する事案が多数見受けられた。その結果正確な干潟の生物種や環境のデータが採取できないという問題が浮上した。正確なデータは干潟環境保全にもつながる重要なものである。我々がこの問題の解決の糸口と考えているのが塩基配列解析による貝類の判別である。この方法にはコストなど様々な問題点が存在するが同時にヒューマンエラーを根絶できるなどの大きな利点も存在する。問題点を解決し、正確なデータを得て干潟環境保全の足掛かりとするため、今回の研究を行った次第である。

### 2. 方法

分析対象試料から PCR 法によって増幅した特定の遺伝子をアガロースゲル電気泳動法で分離する。また、分離したアガロースゲル中の PCR 産物を精製し、COI, 16SrRNA それぞれの遺伝子についてシーケンシングを行う。この結果を用いて、生物種の判別、地点間や個体間での遺伝子配列の多型の有無の調査、及び系統樹の作成を試みた。

試料として愛知県豊橋市汐川干潟及び同市六条潟で採取された Bc と Bm を用意した。

1. まずアルコール固定した各試料の筋肉部分を 1mm 以下に切る。切断片に PCR 反応液 (COI プライマーセット : LCO-MB と HCO-MB 及び 16rRNA プライマーセット : 16S-M1F と 16S-MB1R<sup>i</sup>) を 50 $\mu$ L ずつ加え、それぞれのサイクル条件で PCR を行い、COI, 16SrRNA を増幅させた。
2. PCR 産物にゲル染色液を加えアガロースゲル電気泳動装置(サブマリン型泳動槽)を用いて実験に用いる塩基配列領域とその他に分離する。
3. DNA を検出するため電気泳動後のゲルをエチジウムブロマイドに浸す。
4. 暗室で励起光(紫外線)を当て DNA に付着したエチジウムブロマイドを発光させる。比較のため同時に電気泳動していた DNA マーカー(東洋紡製 100bp DNA Ladder)を基に、使用する塩基配列領域を目視で切り出した。
5. NTI 溶液とシリカの特質を利用して、PCR 産物をゲルと完全に分離する。今回は DNA 生成キット(Nucleospin® Gel and PCR Clean-up キット)を用いた。
6. 精製した DNA のシーケンシングを外部業者(マクロジェン社)に委嘱する。シーケンシングはジデオキシ法で行われた。
7. NJ 法を用いて、塩基配列データより COI 配列と ITS1 配列の系統樹を作成した。

### 3. 結果および考察

図1では今回の実験で採取できた塩基配列を図示している。六条のBcは試料の保存状態が悪く急遽昨年のものでしたため配列データを採取することができなかった

このアクシデントを加味しても、今回の研究では昨年と比較して配列データが正確に採取できている。

結果より得られたことは主に4つである。以下は簡潔にまとめたものである。

番号	場所	貝種類	個体	16S rRNA	COI
①	汐川	ホソウミニナ	A	①-S	①-I
②			B	②-S	②-I
③		ウミニナ	A	③-S	③-I
④			B	④-S	④-I
⑤	六条	ホソウミニナ (昨年度試料)	a	⑤-S	⑤-I
⑥			b	⑥-S	⑥-I
⑦		ウミニナ	A	⑦-S	⑦-I
⑧			B	⑧-S	⑧-I

図1 赤字：配列データ回収できず

- 16SrRNA と COI のいずれでも塩基配列解析による Bm と Bc の同定に成功した点
- 2地点間で塩基配列に多型部分が表れた点(留意事項として検体数の少なさがあげられる)
- 個体間で塩基配列に多型部分が表れた点(上に同じく検体数が少ない)
- 配列の多様性の観点では COI が 16SrRNA より優れている。

まず本来の趣旨である塩基配列解析による貝類の同定の成功は今まで続けてきたこの研究に大きな意味を持つものであった。この成功をふまえて Bm, Bc のように類似した形態である Pn, Cm に関して、塩基配列解析による同定ができるか研究していきたい。

地点間で 塩基配列に多型が表れたことに関しては非常に大きな発見だと思われる。我々は実地調査中に伺った地元住民の体験談や六条潟や汐川干潟の環境に関する資料を読み一つの仮説を打ち立てた。それは環境汚染によって同種であっても配列多型が表れるのではないかというものである。汐川干潟の中にはヘドロが多く独特の臭気を発している地点がある。原因は高度経済成長期より続く埋め立てである。かつては 2000ha を誇る国内有数の干潟であったが現在は 200ha 以下にまで縮小している<sup>ii</sup>。

このような環境変化が六条潟と汐川干潟の同種の貝の塩基配列多型を引き起こしたのではないだろうか。このような可能性を視野に入れ今後は環境が与える塩基配列への影響なども存在するのか否か研究していきたい。

### 4. おわりに—今後の展望

今まで仮説を述べてきたが、現在のサンプル数では再現性が低く信頼性や根拠に欠ける。

今後実験のサンプル数を増やし安定した実験結果を得て、先ほどあげた様々な可能性を検証していきたい。そして、その研究結果が干潟の環境保全につながることを我々は切に祈っている。最後にここまで読み進めていただいた皆様にご拝読感謝する。

<sup>i</sup> このプライマーは浴教授が本実験の為独自に作成されたものである。そのため、詳細な配列データは不明である。

<sup>ii</sup> 汐川干潟を守る会『ひがたーシギ・チドリ群れる汐川干潟』87頁より(1993年 総合出版 ISBN 4829931795)

## 石巻山のカタツムリ調査

杉浦幸陽・岩瀬直央・小木曾温大・石原基嗣  
桜丘高等学校 生物部

### 1. はじめに

毎月、石巻山の清掃ボランティアを実施している。この活動は、カタツムリの聖地である石巻山の貴重な自然を守ろうと、先輩たちから引き継いだもので、今年で8年目になる。2012年のカタツムリ調査をまとめたリーフレットを2013年に発行して6年が経過した今、再び調査を、という機運が高まった。5月の連休には石巻山中腹の旅館に宿泊し「カタツムリ合宿」を実施、その後も梅雨にかけて数回の調査を行った。

### 2. 方法

降雨時や、降雨直後の石巻山に登り、カタツムリを探す。発見した際には、カメラで撮影。日付、時間や場所を記録する。種の同定は、2013年に発行した「石巻山カタツムリ百科」により行った。

### 3. 結果および考察

石巻山は太古の海底が隆起してできた石灰岩の山であり、カタツムリは成長にカルシウム分を必要とするため、カルシウムに恵まれたこの山は多様多種のカタツムリの生息に好都合であるといえる。

オモイガケナマイマイは、石巻山山頂の石灰岩の岩肌だけに生息し、逆にこの種の生息場所には他の種のマイマイは見つからない。オオケマイマイは専門家に聞いても何のための毛かは解明できていないとのこと。この種は石巻山中腹から山頂付近まで生息し、最もよく見かける種である。他にも多様なカタツムリやその他生物を確認した。改訂版のリーフレット「石巻山のカタツムリ図鑑」を参照いただきたい。



絶滅が心配されるオモイガケナマイマイ

オオケマイマイはその形態が興味深い

### 4. おわりに - 今後の展望

石巻山は桜丘高校から近く、カタツムリの調査には恵まれた環境にある。しかしゴミは拾っても拾っても一向に減少しないし、近年の気温の上昇は、森林を乾燥させ、デリケートなカタツムリには大打撃であろう。これからも、活動を継続させ、きめの細かいモニタリングや清掃活動を通じて粘り強く環境保護を訴えていきたい。





## 『東三河生態系ネットワーク協議会』

2010年(平成22年)に愛知県で開催された、生物多様性条約第10回締約国会議(COP10)では、生物多様性保全に関する2020年に向けた世界目標として「愛知目標」が採択されました。

愛知県では、愛知目標の達成に向け、2013年(平成25年)3月、「あいち生物多様性戦略2020」を策定し、「人と自然が共生するあいち」を目指して、様々な取組みを行っています。その中心となるのが、地域の多様な主体が共通の目標を持ち、連携・協働することで、生きものの生息・生育空間のつながりを保全・再生する「生態系ネットワークの形成」です。

その実現のため、県では県内9つの地域ごとに、大学やNPO、企業、行政等からなる「生態系ネットワーク協議会」の設立を進めてきました。

9つある協議会の一つである『東三河生態系ネットワーク協議会』は、東三河地域(豊橋市、豊川市、蒲郡市)における生態系ネットワークの形成を推進するため、参画する団体が相互の活動内容を理解し、連携・協働の取組みの推進に向け、情報共有、情報発信の場となるべく、愛知県の指導の下に平成26年2月に設立されました。

地域住民を対象とした公開フォーラムや自然観察バスツアーの開催の他、協議会ホームページの開設により、生物多様性保全や生態系ネットワーク形成の必要性を啓発すると共に、協議会や参画団体の取組みを発信し、地域住民と一体となった取組みを推進しています。



## 東三河生態系ネットワーク協議会

---

◆事務局◆ 〒440-0888

愛知県豊橋市駅前大通3丁目53番地 太陽生命豊橋ビル2階（東三河懇話会事務局内）

TEL.0532-55-5141 FAX.0532-56-0981

seitaikei@konwakai.jp <http://higashimikawa-seitaikei.jimdo.com>

※ 本事業は「あいち森と緑づくり環境活動・学習推進事業」の助成を受けています。