

愛媛県松山平野における湧水性水域へのマツカサガイの試験的導入

吉見 翔太郎・井上 幹生・畑 啓生*

愛媛大学大学院理工学研究科

Experimental introduction of the endangered freshwater unionid *Pronodularia japonensis* to spring-fed ponds
in Matsuyama, Ehime, Japan

Shotaro Yoshimi, Mikio Inoue and Hiroki Hata*

Graduate School of Science and Engineering, Ehime University

要旨：愛媛県松山平野では、1990年からの約25年間に、淡水二枚貝のイシガイとマツカサガイが減少し、2017年現在イシガイはほぼ地域絶滅し、マツカサガイも絶滅の危機にある。また、松山平野では、これらの二枚貝を産卵床とするヤリタナゴが生息するが、その分布域も急減し、かつ国内外来種のアブラボテと産卵床を巡って競合し、二種の間で交雑が生じている。そのため、ヤリタナゴ-マツカサガイ共生系の保全が急務である。本研究では、人為的な管理が容易な自然再生地の保全区としての有用性を検討するため、二つの自然再生地（広瀬霞と松原泉）の、それぞれ1地点と、上、中、下流の3地点に加え、農業灌漑用湧水地である柳原泉の1地点の、計5放流区にマツカサガイを放流し、マツカサガイの生残率を追跡した。同時に、餌となる珪藻量や溶存酸素量などの環境条件の計測を行った。

その結果、広瀬霞で一年間の生残率が37%、松原泉下流で半年間の生残率が75%であった。他の3放流区では一年の間に全ての放流個体が斃死した。これらの放流区が不適な要因として、珪藻類の密度の低さが挙げられた。生残が確認された広瀬霞や松原泉下流における珪藻類の密度は他の放流区と比べると高いが、国近川や神奇川のマツカサガイが自然分布する地点に比べると低い時期があった。また、広瀬霞と松原泉上流で、2015年10～11月に低酸素状態（3～5 mg/l）が発生した。追跡調査中、放流したマツカサガイ個体が底質から脱出することが確認された。この行動は、その後二週間以内に死亡する個体で頻繁に見られ、不適な環境からの逃避と考えられた。柳原泉では、アブラボテの侵入と放流したマツカサガイへの産卵が確認された。これらの結果から、マツカサガイとヤリタナゴの共生保全区を策定するには、珪藻類の密度が高く、一年を通して貧酸素条件が発生しない、アブラボテの侵入を管理できる場所とすべきであることが示唆された。放流後のモニタリングにおいては、冬季にマツカサガイの底質からの脱出がないこと、アブラボテの侵入がないことに留意する必要がある。本研究で用いた自然再生地では、珪酸の添加や、水を滞留させる構造を付加するなど、珪藻類を増加させる対策と、外来性の浮葉性植物を駆除し貧酸素状態を生じさせない対策をとり、保全地として再評価することが必要である。

キーワード：イシガイ類、珪藻、底質、貧酸素

Abstract: Populations of two unionid mussel species, *Pronodularia japonensis* and *Unio douglasiae nipponensis*, have drastically decreased over the past 25 years in Matsuyama Plain, Ehime Prefecture, Japan. A native bitterling, *Tanakia lanceolata*, depends on these mussels as its spawning beds; thus, the conservation of unionid mussels is necessary to prevent an extinction cascade. In Matsuyama, the bitterling *Tanakia limbata* has been introduced by humans and its distribution now extends across the entire *T. lanceolata* habitat, leading to hybridization with *T. lanceolata*. In this study, we introduced *P. japonensis* to four sites within two nature restoration ponds (Matsubara Pond and Hirose-gasumi) and one site in a spring-fed pond (Yanahara Pond) and monitored

* 〒790-8577 愛媛県松山市文京町2-5 愛媛大学大学院理工学研究
Graduate School of Science and Engineering, Ehime University, 2-5 Bunkyo, Matsuyama, Ehime 790-8577, Japan
e-mail: hata@sci.ehime-u.ac.jp 2017年9月13日受付、2018年2月4日受理

them for 1 year. Our objective was to conserve this unionid and construct a refuge for endangered unionids and bitterlings, from which invasive bitterling species would be removed. We measured the density of the diatoms on which unionids feed, water temperature and depth, dissolved oxygen content, and the size of substrate particles at our study sites.

We found that the survival rates of introduced *P. japonensis* were 37% over a period of 1 year at Hirose, and 75% over 6 months at the downstream Matsubara site. All individuals in the other three sites died within 1 year. These survival rates were affected by diatom density; the two sites with high survival rates were higher in diatom density than the three remaining sites. At Hirose and the downstream Matsubara site, dissolved oxygen content fell to 3-5 mg/L between October and November, 2015. During the monitoring period, we observed introduced mussels emerging from the substrate and exposing their entire shells to the bottom surface. This behaviour was significantly related to the probability of death within 2 weeks, and likely indicated an attempt at escape from an unsuitable environment. In Yanahara Pond, we observed that invading *T. limbata* spawned on introduced *P. japonensis*. These results suggest the following necessary conditions for constructing a refuge for *P. japonensis* and *T. lanceolata*: 1) a sufficient supply of diatoms, 2) dissolved oxygen content is maintained above 5 mg/L for years, and 3) prevention of invasion by non-native bitterlings. During monitoring, it is necessary to verify that introduced unionids are infaunal under the substrate during winter. In our study sites, the addition of silicate and/or the construction of a flow-retention structure to increase diatom density and remove invasive floating leaf plants (to maintain sufficient dissolved oxygen) will enhance the effectiveness of the downstream Matsubara site and Hirose as refuges.

Keywords: Diatom, poor oxygen, substrate, Unionidae

はじめに

イシガイ類（軟体動物門二枚貝綱イシガイ目イシガイ科）は世界中に生息する淡水性の二枚貝である。国内では18種が知られているが（近藤 2008）、近年、その多くで生息地の劣化や縮小、個体数の低下が指摘されており（近藤 1994, 2008；小川ほか 2000；根岸ほか 2008a）、11種が環境省のレッドリストに掲載されている（環境省 2012）。イシガイ類は、コイ科タナゴ亜科魚類に産卵床として利用される一方で（川那部・水野 2001；近藤 2008）、イシガイ類自身も幼生の宿主としてヨシノボリ等の魚類を利用しており（近藤 2008；根岸ほか 2008b）、共存する他の水生生物と一方向絶対共生で結ばれた種のネットワークを構築している。さらに、イシガイ類は、有機物濾過による水質浄化（中沢ほか 2012）、糞や擬糞の排出を介した藻類や水生無脊椎動物の成長促進（Spooner and Vaughn 2006）、および貝殻自体による生息場所形成（Vaughn and Hakenkamp 2001；Spooner and Vaughn 2006）といった様々な生態的機能を持つことも知られている。したがって、イシガイ類の絶滅は、共存する水生生物の連鎖的な絶滅要因となりうる。

愛媛県松山平野を流れる国近川は、1990年代初めまでは、その全域にイシガイ *Unio douglasiae nipponensis* とマツカサガイ *Pronodularia japonensis* が高密度で生息しており、県内での主要な生息域であった（松川ほか 1993）。しかしながら、2013～2014年に行われた調査

では（桑原ほか 2017）、イシガイが確認されたのは36調査地点中わずか1地点（1個体）のみであり、ほぼ絶滅状態にあることが示唆された。マツカサガイについては比較的まとまった範囲を持つ生息域が確認されたものの、1980～1990年代の記録に比べると生息域は縮小しており、かつ、生息密度も大きく減少していた。さらに、見つかった個体は全て大型個体であり、およそ10年にわたって新規加入が生じていないものと推測された。

国近川に隣接する重信川水系（松山平野の主要河川）においても、近年ではイシガイ類の生息の確認は極めて希であり、現在ではほとんど生息していないものと思われる（桑原ほか 2017）。重信川水系におけるイシガイ類に関する過去の記録は乏しいが（愛媛県立博物館 1995）、イシガイ類を産卵基質とするヤリタナゴ *Tanakia lanceolata* が普通に生息していたことから（Uchida and Inoue 2010；井上 2013）、以前はイシガイ類も生息していたものと考えられる。しかし2000年代以降、ヤリタナゴは急速に減少し、著者らの知る限り重信川水系では2008年を最後に生息が確認されていない（藤原ほか 2014）。このことから、重信川水系においてもイシガイ類は近年急速に減少したものと推察される。

以上のように松山平野ではイシガイ類とそれに依存するヤリタナゴは絶滅寸前にあると考えられ、再導入や有効な保護区の設定など保全対策が急務である。著者らは、重信川水系への再導入によるマツカサガイとヤリタナゴ保全の可能性を検討するために、3つの水域において試

験的にマツカサガイの放流を試みた。本稿では、それら放流個体の生息状況について報告し、今後の保全に向けた基礎資料としたい。

調査地と方法

松山平野におけるイシガイ類とヤリタナゴの現状

松山平野は主に重信川（流域面積 445 km²、幹川流路長 36 km）によって形成された扇状地からなる。重信川中流は、網状河道を呈する典型的な天井川で、伏流により表流水が頻繁に枯渇する。そのため、本川からの取水は難しく、湧水池の造成により灌漑用の水を確保してきた。そのような湧水池の開発は 18 世紀頃から始まり、現代においてもその数は数十ヶ所に及ぶ（愛媛県立博物館 1994, 1995）。また、表流水の乏しい重信川中流部では、湧水を利用した自然再生事業が国土交通省松山河川国道事務所によって進められている（藤原ほか 2014, 2015）。

前述のように、湧水池や用水路を含む重信川水系では、現在ではイシガイ類とヤリタナゴは絶滅と言ってよい状況にある。一方、重信川に隣接する湧水由来の小河川、国近川と長尾谷川には今のところマツカサガイとヤリタナゴは生息しており、松山平野における最後の生息地となっている。しかしながら、マツカサガイについては若齢個体の欠如（桑原ほか 2017）、ヤリタナゴについては国内移入種であるアブラボテ *Tanakia limbata* との浸透交雑（松葉ほか 2014）が明らかとなっており、両種ともに今後の絶滅が危惧される。

試験放流水域

イシガイ類およびヤリタナゴ個体群を存続させるためには、まずはイシガイ類の存続を確立する必要がある。国近川におけるマツカサガイ分布域の縮小要因の一つとして、堰堤による分散阻害の可能性が挙げられている（桑原ほか 2017）。マツカサガイの幼生が寄生した宿主魚の上流への移動が堰堤によって遮られ、その結果、マツカサガイの生息域も縮小するというものである。このような分散阻害が分布縮小要因だとすれば、絶滅生息地への再導入はマツカサガイ生息域の保持再生のための有効な手段となるかもしれない。このような考えの下、重信川近傍に位置し灌漑用に江戸時代に掘削された湧水池である柳原泉と、自然再生事業によって重信川の河道内および霞堤開口部にそれぞれ造成された池である松原泉、広瀬霞の 3 水域に試験的な放流を試みた。松原泉と広瀬霞には、マツカサガイのグロキディウム幼生の宿主となる

シマヨシノボリ *Rhinogobius nagoyae* やオオヨシノボリ *R. fluviatilis* が生息している（藤原ほか 2015）。また、重信川周辺に点在する湧水池および湧水池から流れる用水路には以前は広い範囲でヤリタナゴの生息が確認されているため（Uchida and Inoue 2010；藤原ほか 2014）、イシガイ類とヤリタナゴの再導入の場としては適切な場であると考えられた。今回の放流水域の 1 つである柳原泉では、2006 年にはイシガイ類の生息が確認されている（東温市田窪土地改良区 私信）。松原泉と広瀬霞はともに近年造成された自然再生地であるため（詳細については藤原ほか 2015 参照）、自然環境保全の場として活用するには合意を得やすく、実際に再導入によるヤリタナゴおよびマツカサガイ個体群の再生を行うことになれば、有力な候補地となる。なお、広瀬霞においては自然再生地として整備される以前にヤリタナゴが生息していた記録がある（藤原ほか 2015）。このようなことから、これら 3 つの湧水池を試験放流地として選定した。

マツカサガイの採集

放流に用いたマツカサガイのうち 65 個体は、2015 年 5 月に国近川の自然生息区で採集した（図 1）。2016 年 3 月にさらに 4 個体を同じ地点で採集した。採集地点は、水系内でマツカサガイが最も高密度に生息している地点（2.73 個体/m²）である。採集した個体は殻長が 54.3 ~ 80.8 mm（66.8 ± 5.4 mm、平均 ± 標準偏差）の成貝である。採集時がタナゴ類の繁殖期にあたるため、採集したマツカサガイは研究室で 2 ~ 3 週間飼育し、全てのタナゴ類の稚魚の孵出、あるいは卵や仔魚の排出を確認した。その後、各個体の殻長を測定し電動ドリルを用いて殻表面にマーキングした。

マツカサガイの放流および追跡調査

重信川の河道内および霞堤開口部にそれぞれ造成された松原泉と広瀬霞湿地（以下、広瀬霞）、そして、重信川近傍の湧水池である柳原泉で、マツカサガイの放流を行った（図 1）。松原泉では泉から流出する水路に 3 地点（松原泉上、中、下流）、広瀬霞と柳原泉ではそれぞれ 1 地点に、2 × 2 m² の放流区を設けた。松原泉上流には、2015 年 6 月に、マツカサガイの雌 6 個体、雄 8 個体の計 14 個体、松原泉中流には、雌 7 個体、雄 8 個体の計 15 個体を放流した。広瀬霞には、2015 年 8 月に、雌 10 個体、雄 9 個体の計 19 個体を放流した。柳原泉には、2015 年 8 月に雌 9 個体、雄 8 個体の計 17 個体を放流した。松原泉下流地点には、2016 年 3 月に雌 2 個体、雄 2 個

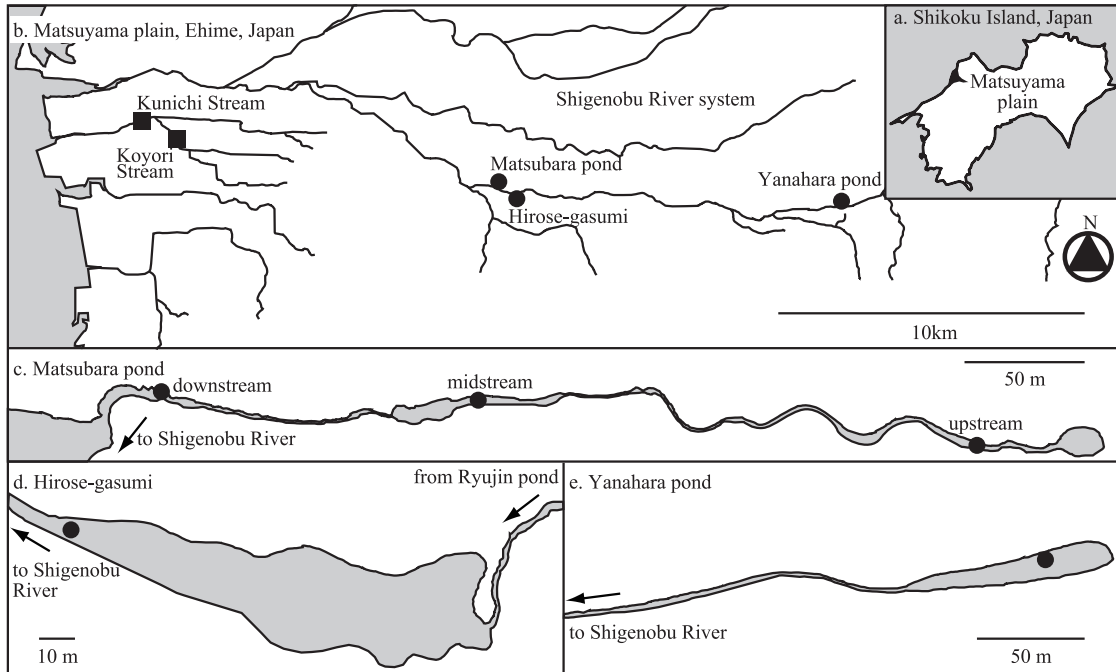


図1. 調査地の地図。(a) 四国の愛媛県松山平野、(b) 松山平野の調査地、■は河川、●は湧水地を示す。(c) 松原泉、(d) 広瀬霞、(e) 柳原泉。

Figure 1. Maps of the study area in Ehime, Japan. (a) Matsuyama Plain on Shikoku Island. (b) Our study sites in the Matsuyama Plain: squares indicate study sites in streams, circles indicate those in spring-fed ponds. (c) Matsubara Pond, a nature restoration site. (d) Hirose-gasumi, a nature restoration site. (e) Yanahara Pond, a spring-fed pond constructed for irrigation a few hundred years ago.

体の計4個体を放流した。放流後、2週間に一度の頻度で各放流区のマツカサガイの生死を確認した。また、マツカサガイが水底堆積物中に埋入しているか、堆積物表面へ脱出しているかを記録した。

放流区的环境

マツカサガイを放流後、2週間に一度、放流区中央の水深 (cm)、溶存酸素量 (DO) (mg/l)、水温 (°C) を測定した。堆積物の粒度組成を、5放流区に加え、国近川のマツカサガイが高密度で生息する1地点で調べた。各地点において、右岸、中央、左岸よりサーバーネット (目合い0.3 mm) を用い縦30 cm × 横30 cm × 深さ5 cmの底質を採集した。ただし松原泉下流地点では右岸と中央は16 mm以上の礫からなっていたため左岸でのみ採集した。持ち帰った底質サンプルをバットに広げ、乾燥機 (ADVANTEC FC-610) 内で、60°Cで12時間乾燥させた。乾燥させたサンプルを手動で篩い16 mm以上の礫を除いた後、4 mm、2 mm、710 μm、500 μm、250 μm、180 μm、150 μm、125 μm、90 μm、63 μmの網目の標準

篩を用いて、電動振とう器 (RETSCH, AS200 control) で、1.50 Gで30分間の振とうを行い、ふるいわけた。粒度組成は、水野・御勢 (1993) に従い、細礫 (16.0 ~ 2.0 mm)、中砂 (2.0 ~ 0.5 mm)、細砂 (500 ~ 90 μm)、シルト/粘土 (<90 μm) の4タイプに分けた。松山平野でマツカサガイの分布解析を行った桑原ほか (2017) によれば、本種の生息の有無には底質中の中砂の割合が関与することが示唆されている。また、細砂以下 (<500 μm) の細粒成分はマツカサガイの摂餌や定位を妨げるとされている (近藤 1998; Akiyama and Maruyama 2010)。よって、中砂および細砂の割合を調査地点間で比較した。

柳原泉における魚類調査

2015年8月~2016年9月の間毎月1回、柳原泉で魚類群集の調査を行った。長径約170 mの柳原泉で、長径と直交する幅1 mのベルト状のトランセクトを泉の上流端から15 m間隔で計10本設置した。潜水観察を行い、トランセクト上で観察された魚類の個体数を魚種毎に記

録した。そして、観察個体数を観察面積で除し、生息密度（個体数 m^{-2} ）とした。松原泉と広瀬霞では、藤原ほか（2015）により魚類群集が調査され、マツカサガイのグロキディウム幼生の宿主となるヨシノボリ類の生息が確認されている。

マツカサガイの繁殖

2016年3～9月に、放流区と国近川の自然生息区でマツカサガイの性成熟とグロキディウム幼生の保育状況を調べた。放流区では生残している全個体、国近川ではランダムに採集したマツカサガイ10個体について、真珠母貝用の開口器を用いて殻を少し開け、外鰓の膨らみを確認し、鰓内に幼生を保有しているかを記録した（東・林 1964）。また、幼生の保有が確認されなかった個体については注射器を用いて生殖腺内容物を取り出し、光学顕微鏡下で観察して卵または精子を保有しているかどうか調べ、性成熟の有無を判定した。

タナゴ類の mtDNA 型判定

重信川水系においては、前述のようにヤリタナゴはほぼ絶滅状態にあると考えられるが生息の可能性もある。また一方で、移入由来のアブラボテは時折捕獲されている（松葉ほか 2014）。よって、放流したマツカサガイがこれらタナゴ類に産卵床として利用される可能性もあると考え、放流後2週間毎に行ったマツカサガイの生死確認時にはマツカサガイ鰓内にタナゴ類の卵が無いかどうかについても確認した。

放流したマツカサガイ鰓内にタナゴ卵がみられた場合、タナゴ類親魚の種判別を行うためにそのマツカサガイを回収し、室内飼育を行いタナゴ類の稚魚と卵、仔魚を採集した。採集した魚体の一部から、Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) を用いて DNA を抽出した。mt DNA の cytochrome *b* (*cytb*) 領域について、フォワードプライマーに NEW-FOR (Gilles et al. 2001)、リバースプライマーに *cytb*-Rev (Hashiguchi et al. 2006) を用いて PCR を行った。1 サンプルあたりの反応液組成は、滅菌蒸留水 6.05 μ l、10 \times ImmoBuffer (BIOLINE) 1.00 μ l、dTNP Mix (10 mM) 1.00 μ l、MgCl₂ (50 mM) 0.30 μ l、プライマー (10 μ M) 各 0.30 μ l、BIOTAQ HS DNA Polymerase (5 U/ μ l、BIOLINE) 0.05 μ l、鋳型 DNA 溶液 0.10 μ l で、最終液量を 10.00 μ l とした。反応は 95°C で 10 分間加熱した後、熱変性 95°C で 1 分、アニーリング 58°C で 1 分、伸長反応 72°C で 1 分 30 秒の過程を 30 回繰り返す、最終伸長反応を 72°C で 7 分間行った。

得られた PCR 産物について PCR-RFLP 法により mt DNA 型判定を行った。2 種の *cytb* 領域を異なるパターンで切断する制限酵素 *Hha*I (10 U/ μ l、TaKaRa) 0.2 μ l を用い、滅菌蒸留水 3.80 μ l、10 \times M Buffer 1.00 μ l、PCR 産物 5.00 μ l を加え、最終液量を 10.00 μ l とし、サーマルサイクラーを用いて 37°C で一晩インキュベートして、その後、反応液を 2% アガロースゲルを用いて 100 V、40 分電気泳動した。コントロールを用いた事前の実験により、ヤリタナゴ型配列では約 120 bp、220 bp、240 bp、250 bp、370 bp の 5 本のバンドが得られ、アブラボテ型配列では、約 120 bp、240 bp、840 bp、の 3 本のバンドが得られ、2 種の識別が可能であった。

マツカサガイの餌となる珪藻類の密度

2015年9月から2016年9月にかけて、2ヶ月に一度の頻度で各放流区に加え、国近川と神寄川の自然生息区の計7地点で、植物プランクトンの密度を調べた。各地点で、水面から水深の約1/3の深さで水をポリエチレン容器(2000 ml)に1 l 採水し、直ちに10%ホルマリン100 ml を加え固定した。この採水を一地点で5回繰り返した。固定したサンプルは24時間以上の静止沈殿後、上澄みを廃棄し、これを最終液量が5 ml となるまで繰り返した。濃縮したサンプルを攪拌し、100 μ l を0.5 mm の界線入プレパラートに取り、顕微鏡下で珪藻、シアノバクテリア、緑藻に分け、その個体/群体数を計数し、1 ml あたりの密度を算出した。

統計解析

マツカサガイの生残率が、放流区によって異なるか明らかにするため、一般化線形混合モデル (GLMM) を用いて解析を行った。応答変数としてマツカサガイの生/死 (2 週間後の次の調査で死亡が確認された個体を死亡個体とした)、説明変数として放流区、そしてランダム効果として貝の個体と調査日を用いた。なお、リンク関数には identity を、誤差構造には二項分布を用いた。また、マツカサガイの生残と、貝の水底堆積物からの脱出との関係を調べるため、応答変数としてマツカサガイの生/死、説明変数として貝の堆積物表面への脱出の有/無、ランダム効果として貝の個体と調査日を用いて GLMM を行った。なお、リンク関数には identity を、誤差構造には二項分布を用いた。また、珪藻の密度の地点間、季節間での違いを調べるため、応答変数に珪藻類の密度の自然対数、説明変数に地点と採集時を用いて、一般化線形モデル (GLM) により解析した。なお、リン

ク関数には identity を、誤差構造には正規分布を用いた。これらの解析には R version 3.2.5 (R core team 2015)、およびパッケージ lme4 version 3.2.5 を用いた。

結果

放流区および国近川でのマツカサガイの生残と繁殖

マツカサガイの生残率は放流地点間で異なり、広瀬霞、松原泉下流では比較的高かったものの、松原泉上、中流、柳原泉では低かった (図2、表1)。また斃死は、堆積物からの脱出がみられた場合により生じやすいことが示さ

れた (図3、表2)。広瀬霞では、2015年8月に放流したマツカサガイ19個体のうち、調査終了時の2016年9月までに12個体が斃死し、生残率は37%であった。放流後の5ヶ月間は死亡がみられず、翌1月より斃死する個体がみられ、生残個体は漸減した (図2a)。堆積物から脱出した個体は、放流後から翌1月の間はほぼみられなかったが、2~9月に高い割合でみられた (図4a)。3月中旬から精子と卵の保有が確認され、繁殖活動は6月にピークを迎えた。ただし、グロキディウム幼生の保有は確認されず、8月以降は精子卵ともに確認されなかった (図5a)。

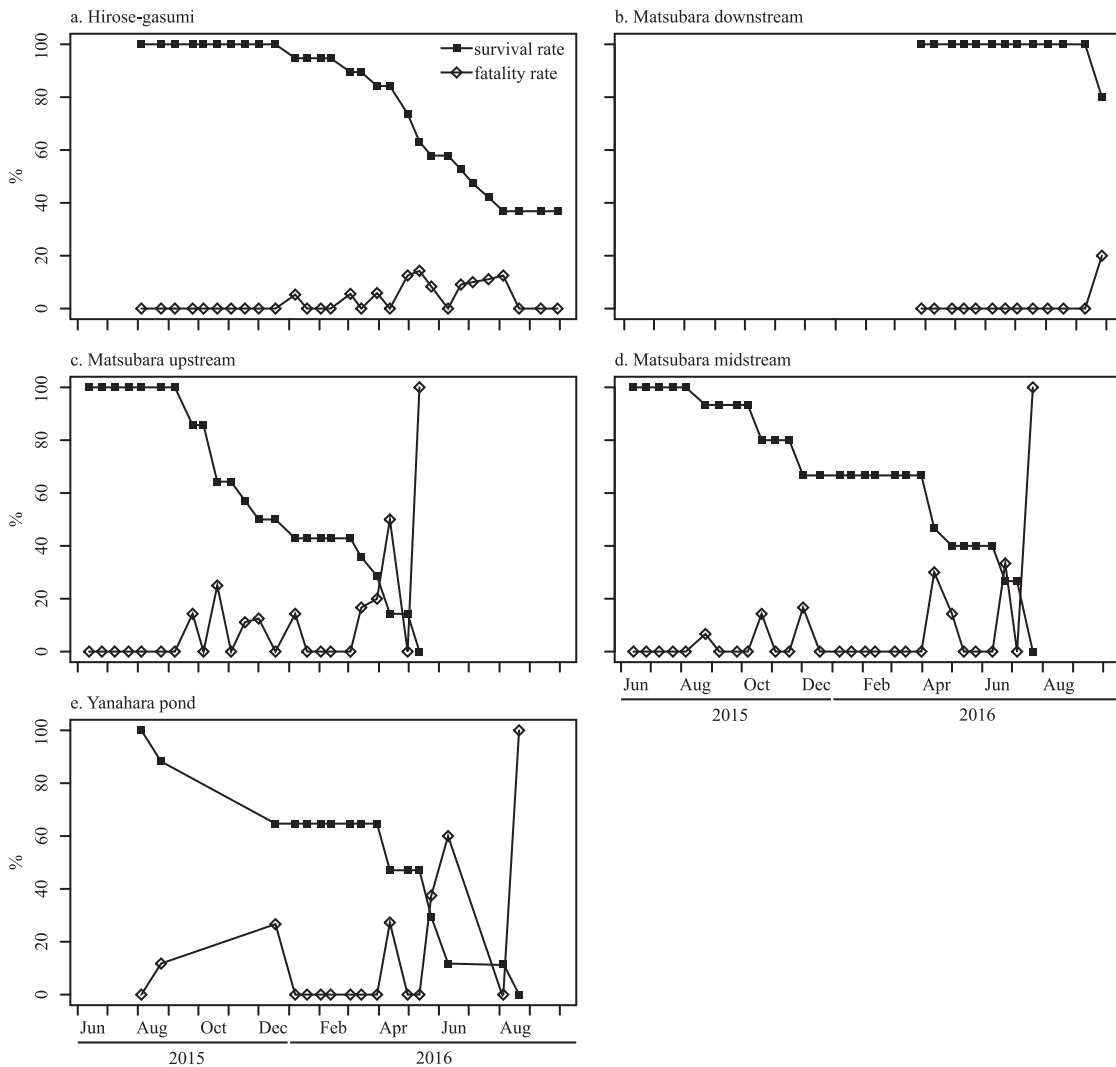


図2. 各放流区に移殖したマツカサガイの累積生残率と死亡率。(a) 広瀬霞、(b) 松原泉下流地点、(c) 松原泉上流地点、(d) 松原泉中流地点、(e) 柳原泉。

Figure 2. Survival and fatality rates of introduced *Pronodularia japonensis*. (a) Hirose-gasumi, (b) Matsubara downstream site, (c) Matsubara upstream site, (d) Matsubara midstream site, (e) Yanahara Pond.

表 1. 松山平野における放流マツカサガイの生残率の地点間の差異。生死を応答変数、放流区を説明変数、マツカサガイ個体と調査時期をランダム効果として一般化線形混合モデルで解析した結果。NS: 有意差なし、*: $p < 0.05$ 、***: $p < 0.001$

Table 1. Differences in survival rates of introduced *Pronodularia japonensis* among study sites in the Matsuyama Plain. Results from a generalized linear mixed model (GLMM) with survive/die as response. Each site was a fixed factor; unionid individual and monitoring time were random factors.

	Estimate	Standard error	z value	p
Hirose gasumi (intercept)	3.97	0.48	8.26	***
Matsubara upstream	-1.93	0.50	-3.83	***
Matsubara midstream	-1.11	0.44	-2.55	*
Matsubara downstream	0.73	0.70	1.06	NS
Yanahara pond	-0.77	0.59	-1.32	NS

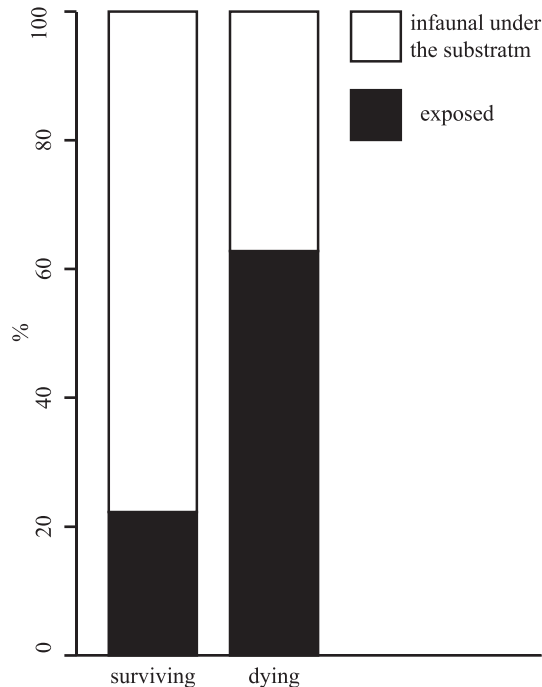


図 3. 放流したマツカサガイにおいて、2週間後の次期調査における生/死と、底質への埋入/底質からの脱出の関係。

Figure 3. Survival and mortality in introduced *Pronodularia japonensis* individuals at the next monitoring time (after a 2-week interval). *P. japonensis* individuals were infaunal under the substrate or exposed to the surface from the substrate.

松原泉下流地点では、2016年3月に放流した4個体のうち、2016年9月に1個体が斃死し、調査終了時点での生残率は75%であった(図2b)。放流後から7月にかけて、毎回の調査で1~3個体の堆積物からの脱出が

表 2. 松山平野における放流マツカサガイの生残と底質からの脱出の関係。生死を応答変数、提出からの脱出の有無を説明変数、マツカサガイ個体と調査時期をランダム効果として一般化線形混合モデルで解析した結果。***: $p < 0.001$

Table 2. Relationship between survival or death of introduced *Pronodularia japonensis* and escape behaviour in the substrate. Result of GLMM with survive/die as a response, inside/outside sediment as a fixed factor, and unionid individual and monitoring timing as random factors.

	Estimate	Standard error	z value	p
(intercept)	2.45	0.51	4.84	***
inside the sediment	2.49	0.67	3.71	***

確認された(図4b)。放流した4個体はいずれも放流前から卵または精子を保有していたが、5月にはうち3個体で卵も精子もみられなくなった(図5b)。グロキディウム幼生の保育は一度も確認されなかった。

松原泉上流地点では、2015年6月に放流した14個体の全てが2016年5月までに斃死した。放流から3ヶ月後の2016年9月に最初の死亡個体が確認され、以降生残個体が漸減した(図2c)。堆積物から脱出した個体は、毎回の調査で1~5個体確認され、その割合は増加していった(図4c)。調査期間中、精子と卵の保有は一度も確認されなかった(図5c)。

松原泉中流地点では、2015年6月に放流した15個体の全てが2016年7月までに斃死した。松原泉上流と同様に、放流から3ヶ月後の9月に最初の死亡個体が確認され、以降生残個体が漸減した(図2d)。毎回の調査で1~4個体が堆積物から脱出していた(図4d)。調査期間中、精子と卵の保有は一度も確認されなかった(図5d)。

柳原泉では、2015年8月に放流したマツカサガイ17個体の全てが2016年8月までに斃死した。放流から2週間後に最初の死亡個体が確認され、12月までに4割の個体が斃死した。その後、翌年3月までは個体の斃死はみられなかったが、4月以降に斃死する個体がみられ、生残個体は漸減した(図2e)。2016年5月24日にアブラボテと思われる個体の泉内への侵入と放流マツカサガイへの産卵を確認したため、マツカサガイを回収し、6月~7月の1ヶ月間室内飼育を行い、タナゴの卵、仔魚、稚魚を採集した。調査期間を通して、堆積物から脱出している個体が多くみられた(図4e)。また、8個体中2個体で性成熟が確認されたが、グロキディウム幼生の保育は確認されなかった(図5e)。

国近川自然分布区では、マツカサガイの精子と卵の保有率について2016年4月と7月に高い値を示した。6

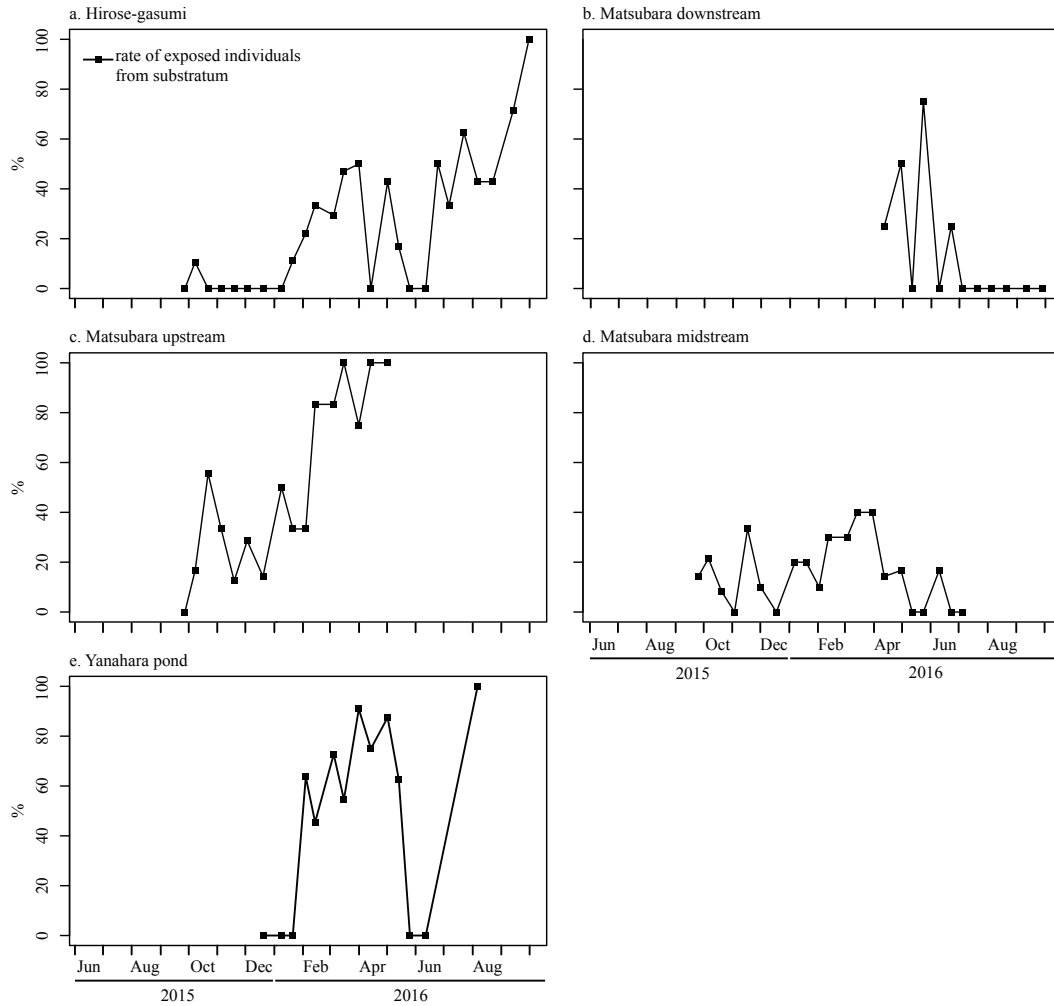


図4. 各放流区に移殖したマツカサガイのうち、底質から脱出していた個体の割合。(a) 広瀬霞、(b) 松原泉下流地点、(c) 松原泉上流地点、(d) 松原泉中流地点、(e) 柳原泉。
 Figure 4. The rate of exposure to the surface from the substrate in introduced *Pronodularia japonensis* individuals. (a) Hirose-gasumi, (b) Matsubara downstream site, (c) Matsubara upstream site, (d) Matsubara midstream site, (e) Yanahara Pond.

月には、メス個体の5割でグロキディウム幼生の保育が確認された。9月に入ると精子と卵の保有とグロキディウム幼生の保育は確認されなくなった(図5f)。

各放流区の環境

各放流区の水温、水深は、季節変動は見られたがマツカサガイの死亡要因となるような極端な値を示すことはなかった(図6a, b)。DOは、2015年10~11月にかけて松原泉上流区と広瀬霞において、3~5 mg/lと比較的低い値が観測された(図6c)。いずれの放流区においても、堆積物中に占める中砂の割合は、国近川(20%)と比べ同等以上であったが(図7)、細砂以下はいずれの

地点でも極めて少なかった。植物プランクトン量は、広瀬霞では、他の放流区と比べると一年を通して珪藻の密度が高かった(図8)。自然分布区と比較すると、2015年11月、2016年7月、9月には、同等かより高い値を示したが、その他の時期には低かった。松原泉中、下流地点では、広瀬霞や、国近川と神寄川の自然分布区と比べ珪藻密度は低かった(付表1)。松原泉上流と柳原泉では、珪藻の密度は一年を通して極めて低かった。一方、シアノバクテリア、緑藻の密度はいずれの調査地点でも一年を通して低かった。柳原泉では、グロキディウム幼生の宿主魚となるカワヨシノボリ *Rhinogobius flumineus* が年間を通して生息していたが(図9)、タナゴ類の捕

湧水池へのマツカサガイの導入

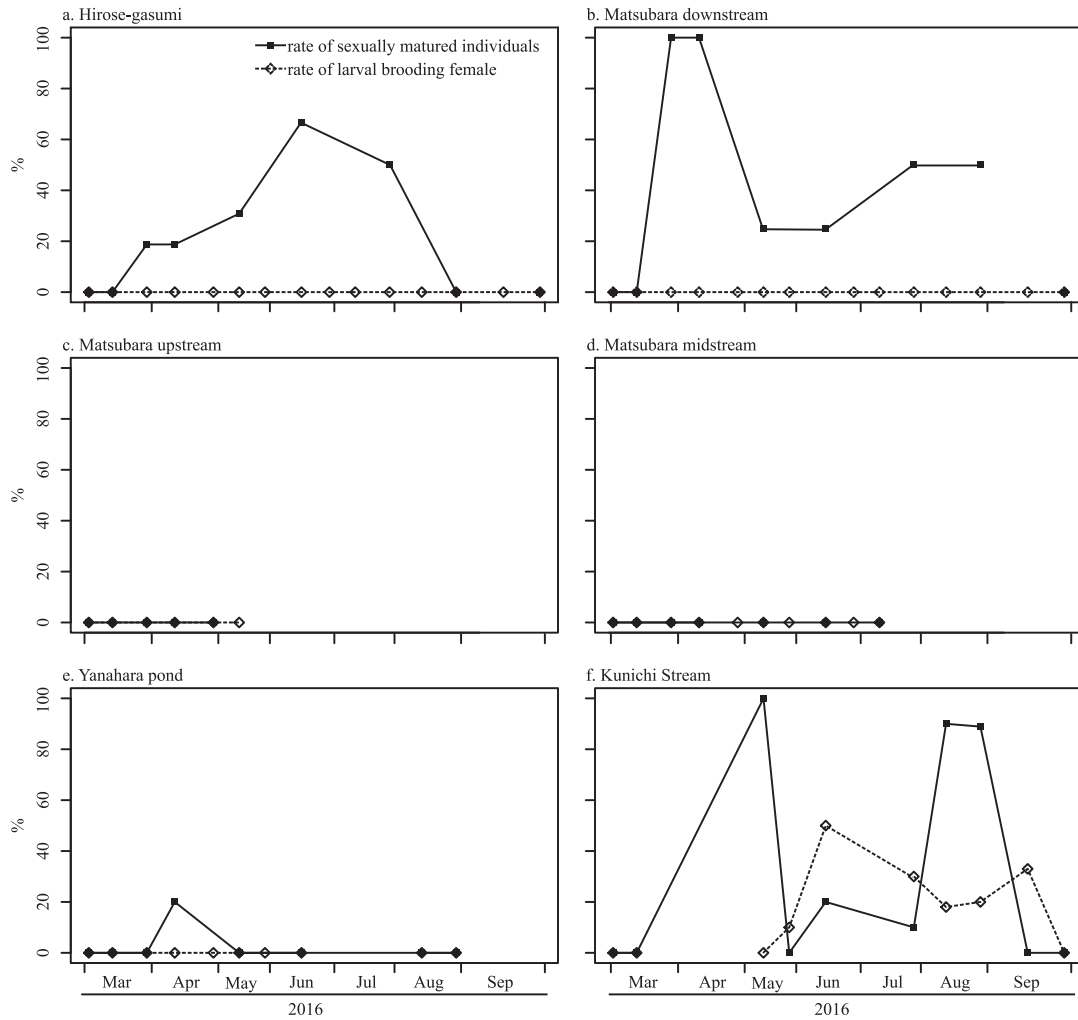


図5. 各放流区に移殖したマツカサガイの性成熟と、メス成員によるグロキディウム幼生の保育率。(a) 広瀬霞、(b) 松原泉下流地点、(c) 松原泉上流地点、(d) 松原泉中流地点、(e) 柳原泉、(f) 国近川のマツカサガイ自然分布区。
 Figure 5. Sexually matured introduced *Pronodularia japonensis* individuals and larval brooding females. (a) Hirose-gasumi, (b) Matsubara downstream site, (c) Matsubara upstream site, (d) Matsubara midstream site, (e) Yanahara Pond, (f) natural habitat of *Pronodularia japonensis* in Kunichi Stream.

食者となる魚食魚は観察されなかった。

考 察

放流したマツカサガイへのタナゴ類の産卵

柳原泉において、タナゴ類の繁殖期である2015年9月、2016年5、8月に、放流区内で外部形態よりアブラボテと思われるタナゴ類が、1～3個体見られた(図9)。また、タナゴによるマツカサガイへの産卵が確認された。2016年6月に、生残していた2個体の貝を回収し、水槽で飼育して、17個体のタナゴ卵、稚魚を得た。それらのmt DNA型はすべてアブラボテ型であった。

マツカサガイの自然再生地への試験的放流

マツカサガイの放流を行った結果、調査終了時点でマツカサガイの生残が確認された放流区は、広瀬霞と松原泉下流の2区のみであった。二枚貝の移殖の例として、イシガイ科のイケチヨウガイ *Hyriopsis schlegeli* とイシガイ、ドブガイ *Anodonta woodiana* を河川と湖沼に放流し、その生残率と成長量について5カ月間追跡調査した研究が挙げられる(柳田・外岡 1991)。この研究で、二枚貝類の生息に不適とされた地点では、放流から3カ月後の生残率が0～20%であった。一方で、放流地とし

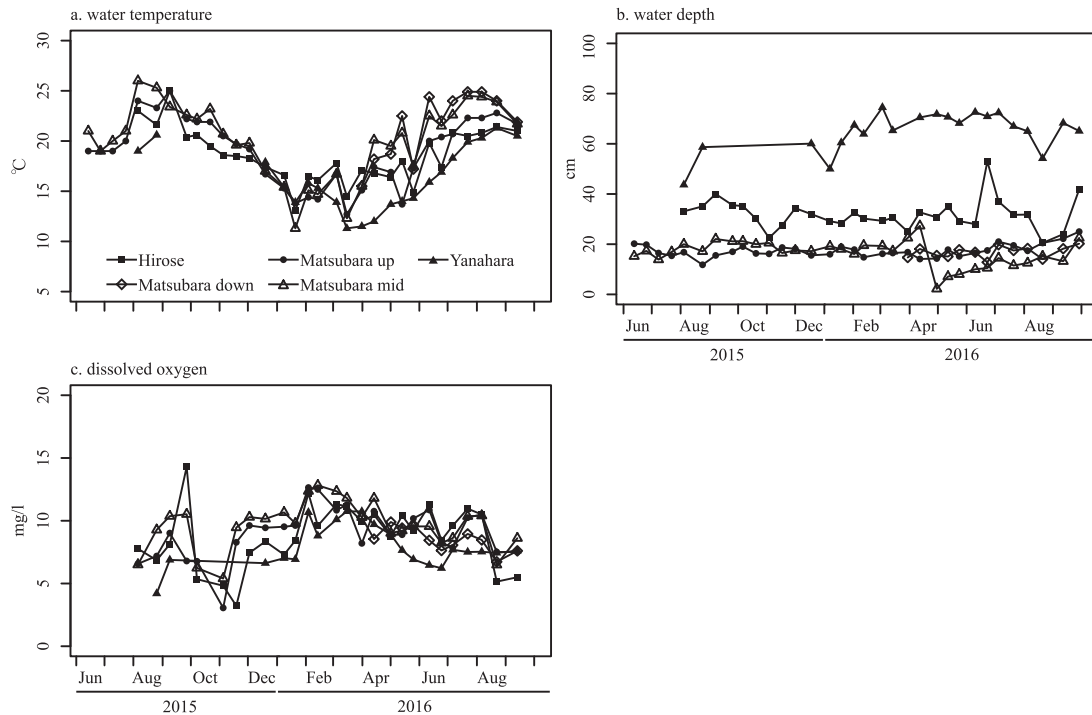


図6. 松山平野のマツカサガイ放流区的环境要因。(a) 水温、(b) 水深、(c) 溶存酸素量。

Figure 6. Environmental factors in our study sites. (a) Water temperature, (b) water depth, and (c) dissolved oxygen content.

て良好であると評価された地点では、5ヶ月の調査期間の二枚貝類の生残率が80%以上を示した。本研究において、広瀬霞と松原泉下流で、マツカサガイの生残率がそれぞれ1年間で37%、6ヶ月間で75%であり、同様の値を示した。

一方で、いずれの放流区も自然分布区と比較すると、餌資源となる珪藻類の密度が低かった。マツカサガイの主要な餌は、炭素・窒素安定同位体比を用いた食性解析より、珪藻類であることが知られている(森ほか2009)。一方、珪藻類が潤沢に存在する場合でも、シアノバクテリアや緑藻類が多いと成長阻害や生残率の低下がみられることが知られている(柳田・外岡1991)。本研究では、いずれの放流区、自然分布区においても珪藻類が優占しており、シアノバクテリアや緑藻類はほとんど存在していなかった。マツカサガイの生残率が高かった広瀬霞と松原泉下流は、他の放流区と比べ、珪藻類の密度は高かったが、自然分布区と比較すると低かった。重信川流域に存在している湧水池は、換水速度が速く水の滞留時間が短いため、植物プランクトンの増殖に適さないとされている(上田・木村2001)。そのため、柳原泉や松原泉上、中流では珪藻類の密度が極端に低かったと考えられる。一方で、広瀬霞内にはヨシ帯があり止

水環境も多い。また、用水路を通して農地からの栄養塩の流入があり、そのため、放流区の中でも、高い珪藻密度を示したと考えられる。松原泉下流地点では、上流に湧水池から続く300m程度の水路があり、そこから珪藻類が供給されていると考えられる。

ニッポンバラタナゴ *Rhodeus ocellatus kurumeus* の保全池では、定期的に池干しを行うことで、池底の珪酸濃度を維持し、珪藻類の増殖を促している(松葉ほか2009)。また、真珠貝であるイケチョウガイの養殖場を設ける場合、養殖池内に珪酸などの栄養塩類を添加し、珪藻類の繁殖を促す対策が検討されており(柳田・外岡1992)、養殖池内に珪酸ナトリウムを添加することで珪藻類の増殖とイケチョウガイの成長が確認されている(柳田1992)。このことから、広瀬霞や松原泉下流地点においても、珪酸ナトリウムの添加や、水を滞留させるような構造物を作るなど珪藻類の増殖を促す対策を講じれば、マツカサガイの生育に適した保全区となると考えられる。ただし、これらの地点はため池や養殖池のような閉鎖水域でないため、珪素の添加については実験による効果の検証が必要である。

マツカサガイの放流後のモニタリングにおいて、水底堆積物から脱出している個体が確認された。通常、イシ

湧水池へのマツカサガイの導入

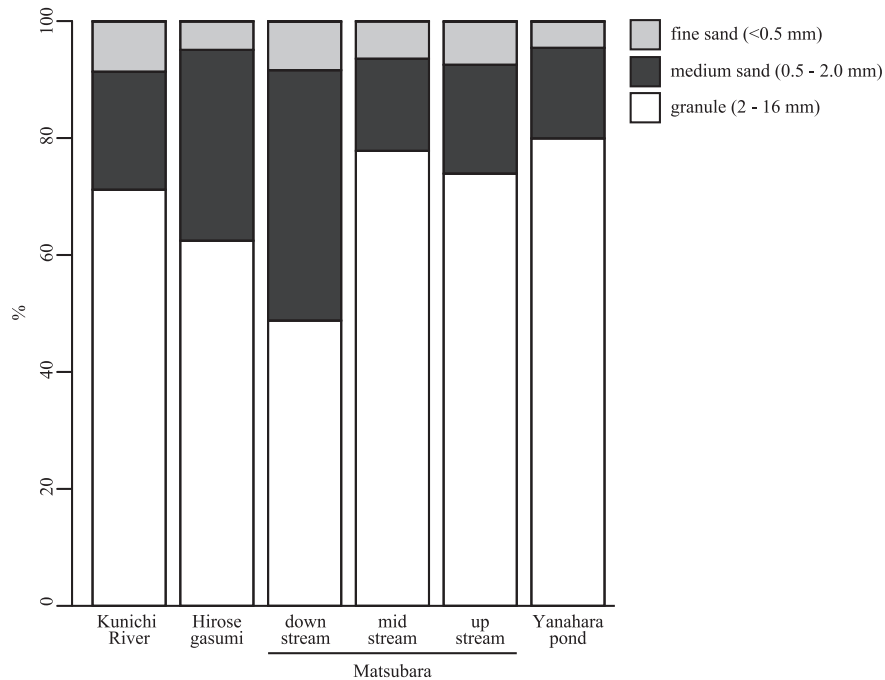


図7. 松山平野のマツカサガイ放流区と自然分布区における底質の粒度組成。乾重量に基づく。
Figure 7. Sizes of sediment particles at the study sites, based on dry weight.

ガイ類を含む淡水二枚貝は、堆積物中に埋在して生活しているが（根岸 2008a）、多くの淡水二枚貝種においては夏期における堆積物からの脱出が報告されている（Balfour and Smock 1995；Amyot and Downing 1997；Watters et al. 2001；Perles et al. 2003；Schwalb and Pusch 2007；Negishi et al. 2011；Block et al. 2013）。淡水二枚貝は夏期に堆積物から脱出して、受精、呼吸、採餌効率を上昇させ、冬季に堆積物中深く潜行し、乾燥や凍結、捕食者から身を守ると考えられている（Amyot and Downing 1997）。マツカサガイにおいても堆積物中で同様の鉛直移動が確認されており、平均生息密度が 300 個体 /m² の地域では、夏季に 90% 以上の個体が堆積物から脱出し、冬季になると、その 70% が堆積物に潜行することが報告されている（Negishi et al. 2011）。本研究では、堆積物からの脱出は全放流区で生じ、広瀬霞や松原泉上、中流、柳原泉では季節を問わず確認され、冬季においても確認された。今回見られた冬季における脱出は、これまでの一般的な傾向とは異なり、堆積物から脱出した個体はその後斃死しやすかったことから、生育に不適な環境からの逃避行動であったか、または衰弱個体が表面に出てしまうという現象であったと考えられる。

イシガイ類にとって、底質の粒度組成は重要な生息条件である。例えば、フィンランドに生息するカワシンジ

ユガイの一種である *Margaritifera margaritifera* では、保全のため移殖された成貝は、砂～小礫の底質を好み、この底質材が少ない放流区では、移殖の成功率が低下することが報告されている（Young and Williams 1983）。マツカサガイは砂～小礫が優占する河床を好み（根岸ほか 2006）、松山平野の国近川水系では、底質表層における中砂の割合が高い区間に生息する傾向が示されている（桑原ほか 2017）。本調査地において、堆積物中における中砂の割合は、松原泉上、中流や柳原泉では広瀬霞や松原泉下流と比べ少なかったが、マツカサガイが自然分布する国近川と同程度であった。よって、底質の条件はいずれの放流区でもマツカサガイの生育に適した範囲内にあったものと考えられるが、今後も放流区の選定には底質条件を考慮する必要がある。他の環境要因のうち、溶存酸素量において、松原泉上流と、広瀬霞で、2015 年 10～11 月にかけて 3～5 mg/l の低酸素状態が発生し、マツカサガイに対して負の影響があったと考えられる。マツカサガイが自然分布する国近川と神寄川では、2013 年の 8～10 月にかけて溶存酸素量は 3.6～20.0 mg/l であった（桑原ほか 2017）。流水中や泥土中の溶存酸素量の低下がイシガイ類の生残に対して負の影響を与えることがよく知られている（Horne and McIntosh 1979；Sparks and Strayer 1998）。特に、低流速（0.01 m/s）かつ

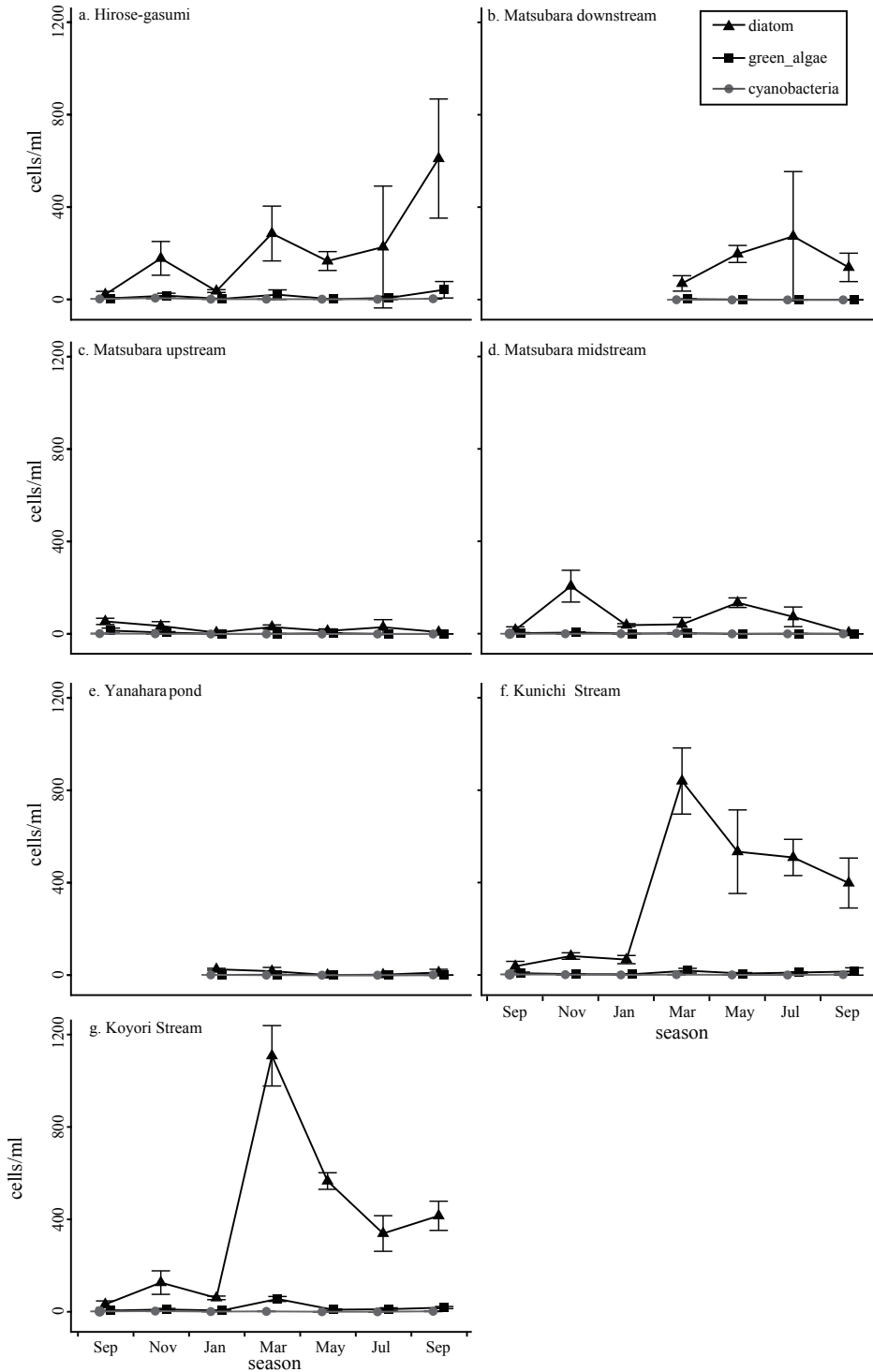


図 8. 松山平野のマツカサガイ放流区と自然分布区における植物プランクトン量。(a) 広瀬霞、(b) 松原泉下流地点、(c) 松原泉上流地点、(d) 松原泉中流地点、(e) 柳原泉、(f) 国近川のマツカサガイ自然分布区、(g) 神寄川のマツカサガイ自然分布区。

Figure 8. Density of phytoplankton in study sites. (a) Hirose-gasumi, (b) Matsubara downstream site, (c) Matsubara upstream site, (d) Matsubara midstream site, (e) Yanahara Pond, (f) natural habitat of *Pronodularia japonensis* in Kunichi Stream, (g) natural habitat in Koyori Stream.

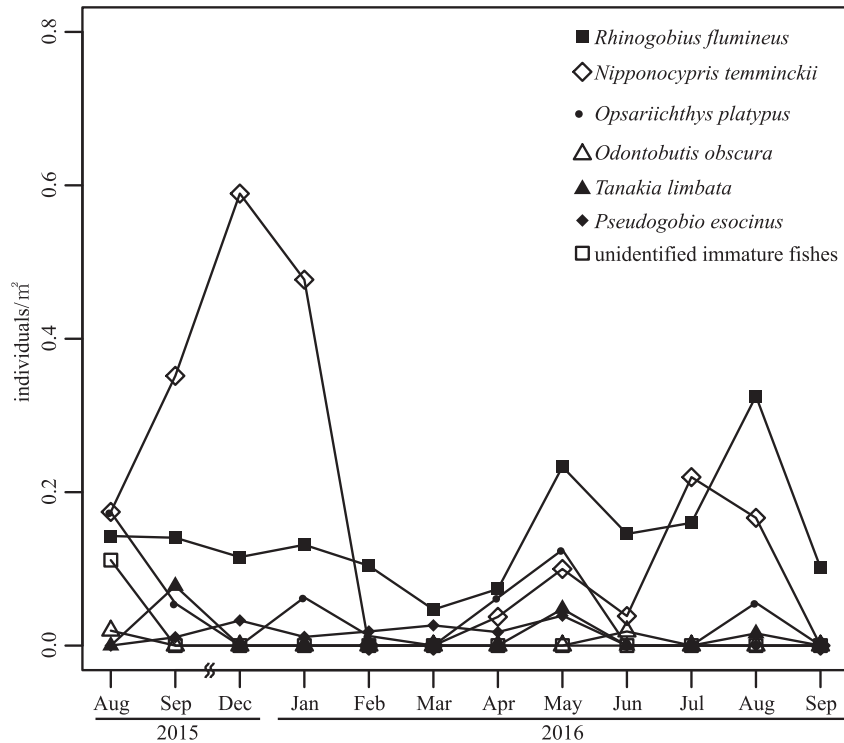


図9. 2015年8月から2016年9月の間に柳原泉で観察された魚種とそれらの密度。
Figure 9. Fish species found in Yanahara Pond and their densities during August 2015 to September 2016.

低酸素状態 (DO <5 mg/l) の発生は、イシガイ類にとって致死である (Gagnon et al. 2004)。日本国内でも、貧酸素状態 (DO <2 mg/l) が頻発する氾濫原水域の一部で、イシガイ類の生残率が著しく低下するという報告もある (永山・根岸 2010)。

本調査地において貧酸素状態が発生した原因として、浮葉性植物の影響が挙げられる。森下 (1975) によると、水面が浮葉性植物に覆われると溶存酸素量は低下し、11月頃に浮葉性植物の枯死が始まると、溶存酸素量は最も低くなる。自然再生地である広瀬霞と松原泉には、外来種のアマゾンチカガミ *Limnobium laevigatum* や、アメリカアカウキクサ *Azolla cristata* など浮葉性植物が頻繁に確認された。これらの繁茂や枯死が原因となり、10～11月にかけて放流区において、貧酸素状態が発生したと考えられる。このことは、保全区における外来種浮葉性植物の駆除の必要性を示唆するものといえる。

柳原泉では、春先から晩夏にかけて、アブラボテの生息とマツカサガイへの産卵が確認された。柳原泉周辺では過去におけるアブラボテの採集記録があるものの、今回のマツカサガイの放流試験においてタナゴ類は事前調査では全く確認されていない (松葉ほか 2014)。また、

今回の調査期間中においてもアブラボテが確認されたのは繁殖期のみで、これらのことから、アブラボテは、泉に接続した重信川本流か周辺用水路から繁殖のために侵入したと考えられる。本調査地域においてはアブラボテは移入種であり、在来種であるヤリタナゴとの交雑も報告されている (Hashiguchi et al. 2006; 松葉ほか 2014)。よって、マツカサガイとヤリタナゴ共生系の保全区策定にあたっては、アブラボテから隔離すること、また放流後のモニタリングにおいてアブラボテの侵入がないか監視する必要があることが示された。

放流区でのマツカサガイの繁殖

松原泉下流と広瀬霞、柳原泉に放流したマツカサガイは、繁殖期である春から夏にかけて、精子もしくは卵を保有していた。しかし、グロキディウム幼生の保育はいずれの放流区でも確認されなかった。一方で、国近川の自然分布区では、精子、卵の保有に加え、グロキディウム幼生の保育も確認された。マツカサガイを含むイシガイ類では、まず、雌は卵を自らの外鰓 (保育囊) に送る。一方、雄は水中に大量の精子球を放出し、雌の入水管より取りこまれた精子が雌の外鰓の中で卵を受精させる。

そのため、生息密度が低下している国近川でも、雌個体は精子を取り込み受精できると考えられる。しかし、広瀬霞や松原泉下流、柳原泉では、放流区内で限られた個体数しか生息しておらず、精子や卵を持つ個体の割合も低かった。そのため、各放流区の雌個体は卵の受精に至らなかったのではないかと考えられる。このことから、保全区でマツカサガイの再生産を促すために、より多くの個体数を高い密度を保って移殖することが必要と考えられる。松原泉と広瀬霞、柳原泉では、いずれも、グロキディウム幼生が放出された際、宿主となるヨシノボリ類が生息していた。

今後の指針

マツカサガイと、希少種ヤリタナゴとの共生保全区を指定するにあたっては、餌資源である珪藻類の密度が高く、一年を通して貧酸素条件が発生せず、アブラボテの侵入を防止できる場所を選定すべきであることが示唆された。放流の際には、再生産を促すために、餌密度が許容する範囲で、できるだけ多くの個体を、高密度で移殖し、放流後のモニタリングにおいては、特に冬期にマツカサガイの底質からの脱出がみられないこと、初春～晩夏にアブラボテの侵入がないことに注意する必要がある。本研究で用いた、自然再生地である広瀬霞と松原泉では、珪藻類の密度が低いいため、珪酸ナトリウムの添加や水を滞留させる工夫など珪藻類の増殖を促す対策を講じ、外来種の浮葉性植物を駆除して溶存酸素量の低下を防ぎ、保全区として環境整備を再検討する必要がある。

謝 辞

研究全般に指導頂いた大阪教育大学近藤高貴先生、遺伝子実験を指導頂いた大阪医科大学橋口康之先生、野外調査や論文執筆を指導頂いた愛媛大学大森浩二先生、自然再生地での調査に協力下さった国土交通省松山河川国道事務所中塚光課長はじめ皆様、野外調査に助力下さった愛媛大学生態学研究室の皆様、心より感謝申し上げます。

引用文献

Akiyama Y, Maruyama T (2010) Habitat characteristics influencing distribution of the freshwater mussel *Pronodularia japonensis* and potential impact on the Tokyo bitterling, *Tanakia tanago*. *Zoological Science*, 27:912-916

Amyot JP, Dowing J (1997) Seasonal variation in vertical and horizontal movement of the freshwater bivalve *Elliptio complanata* (Mollusca: Unionidae). *Freshwater Biology*, 37:345-354

Balfour DL, Smock LA (1995) Distribution, age structure, and movements of the freshwater mussel *Elliptio complanata* (Mollusca: Unionidae) in a headwater stream. *Journal of Freshwater Ecology*, 10:255-268

Block JE, Gerald GW, Levine TD (2013) Temperature effects on burrowing behaviors and performance in a freshwater mussel. *Journal of Freshwater Ecology*, 28:375-384

愛媛県立博物館 (1994) 重信川の泉とその生物I. 愛媛県立博物館自然科学普及シリーズ14. 愛媛自然科学教室, 松山

愛媛県立博物館 (1995) 重信川の泉とその生物II. 愛媛県立博物館自然科学普及シリーズ15. 愛媛県立博物館, 松山

藤原 結花, 内田 有紀, 川西 亮太, 井上 幹生 (2014) 灌漑用湧水池における魚類群集の変化: 護岸改修と外来魚に着目した10年前との比較. *応用生態工学*, 16:91-105

藤原 結花, 内田 有紀, 川西 亮太, 井上 幹生 (2015) 愛媛県重信川に造成された氾濫原生息場所における魚類群集. *応用生態工学*, 18:127-137

Gagnon PM, Golladay SW, Michener WK, Freeman MC (2004) Drought responses of freshwater mussels (Unionidae) in coastal plain tributaries of the Flint River basin, Georgia. *Journal of Freshwater Ecology*, 19:667-679

Gilles A, Lecointre G, Miquelis A, Loerstcher M, Chappaz R, Brun G (2001) Partial combination applied to phylogeny of European cyprinids using the mitochondrial control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19:22-23

Hashiguchi Y, Kado T, Kimura S, Tachida H (2006) Comparative phylogeography of two bitterlings, *Tanakia lanceolata* and *T. limbata* (Teleostei, Cyprinidae), in Kyushu and adjacent districts of western Japan, based on mitochondrial DNA analysis. *Zoological Science*, 23:309-322

東 怜, 林 一正 (1964) 琵琶湖産二枚貝の幼生について. *日本水産学会誌*, 30:227-233

Horne FR, McIntosh S (1979) Factors influencing distribution of mussels in the Blanco River of central Texas. *The Nautilus*, 93:119-133

井上 幹生 (2013) 魚類. (中村 太士 編) *河川生態学*, 123-144. 講談社, 東京

環境省 (2012) 「貝類 環境省第4次レッドリスト(2012)」. <http://www.env.go.jp/press/files/jp/20555>, 2016年12月26日確認

川那部 浩哉, 水野 信彦 (2001) 日本の淡水魚, 改訂版. 山と溪谷社, 東京

近藤 高貴 (1994) 絶滅の危機にある淡水貝類. *Venus*, 53:156-158

近藤 高貴 (1998) 用水路の淡水二枚貝群集. (江崎 保男, 田中 哲夫 編著) *水辺環境の保全*, 80-92. 朝倉書店, 東京

- 近藤 高貴 (2008) 日本産イシガイ目貝類図譜. 日本貝類学会, 東京
- 桑原 明大, 松葉 成生, 井上 幹生, 畑 啓生 (2017) 愛媛県松山平野におけるイシガイ科貝類個体群の衰退. 保全生態学研究, 22:91-103
- 松葉 成生, 木村 諭史, 辻井 悠希, 高野 良昭, 加納 義彦 (2009) 池干しの謎: ため池のドビ流しと池干し—ため池の水管理における先人の知恵に関する新しい知見—. 大阪経済法科大学地域総合研究所紀要, 1:17-34
- 松葉 成生, 吉見 翔太郎, 井上 幹生, 畑 啓生 (2014) 分子系統地理が示す愛媛県松山平野におけるアブラボテの人為移入起源. 魚類学雑誌, 61:89-96
- 松川 正樹, 樋口 素子, 山本 哲也, 井戸 和彦 (1993) 河川域の貝類遺骸集団の情報ロス—松山市郊外国近川水系の淡水貝群集と遺骸貝殻集団の比較を基にして—. 地質学雑誌, 99:643-657
- 水野 信彦, 御勢 久右衛門 (1993) 補訂・新装版 河川の生態学. 築地書館, 東京
- 森 淳, 渡部 恵司, 吉田 豊 (2009) 安定同位体を用いたマツカサガイの食性の解析. 平成21年度農業農村工学会大会講演会概要集, 117
- 森下 郁子 (1975) ホテイアオイの繁茂する湖をめぐって大淀第1ダム湖の陸水生物学の研究. 日本水処理生物学会誌, 11:6-11
- 永山 滋也, 根岸 淳二郎 (2010) ワンド・たまりと水路における二枚貝の生息条件をあきらかにしました. 独立行政法人 土木研究所 自然共生研究センター, 各務原
- 中沢 公士, 三森 勇太, 森本 絢加 (2012) 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
- Negishi JN, Katano I, Kayaba Y (2011) Seasonally tracking vertical and horizontal distribution of unionid mussels (*Pronodularia japonensis*): Implications for agricultural drainage management. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21:49-56
- 根岸 淳二郎, 萱場 祐一, 皆川 朋子, 片野 泉, 田代 喬 (2006) イシガイ類の生息場所環境解析. 日本陸水学会講演要旨集, 71:31-31
- 根岸 淳二郎, 萱場 祐一, 塚原 幸治, 三輪 芳明 (2008a) 指標・危急生物としてのイシガイ目二枚貝: 生息環境の劣化プロセスと再生へのアプローチ. 応用生態工学, 11:195-211
- 根岸 淳二郎, 萱場 裕一, 塚原 幸治, 三輪 芳明 (2008b) イシガイ目二枚貝の生態学的研究: 現状と今後の課題. 日本生態学会誌, 58:37-50
- 小川 力也, 長田 芳和, 紀平 肇 (2000) 淀川におけるイタセンパラの生息環境 (総説). 大阪教育大学紀要 第III部門, 49:33-55
- Perles SJ, Christian AD, Berg DJ (2003) Vertical migration, orientation, aggregation, and fecundity of the freshwater mussel *Lampsilis siliquoidea*. *The Ohio Journal of Science*, 103:73-78
- R Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <https://www.R-project.org/>
- Schwalb AN, Pusch MT (2007) Horizontal and vertical movements of unionid mussels in a lowland river. *Journal of the North American Benthological Society*, 26:261-272
- Sparks BL, Strayer DL (1998) Effects of low dissolved oxygen on juvenile *Elliptio complanata* (Bivalvia:Unionidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 17:129-134
- Spooner DE, Vaughn CC (2006) Context-dependent effects of freshwater mussels on stream benthic communities. *Freshwater Biology*, 51:1016-1024
- Uchida Y, Inoue M (2010) Fish species richness in spring-fed ponds: Effects of habitat size versus isolation in temporally variable environments. *Freshwater Biology*, 55:983-994
- 上田 拓史, 木村 英俊 (2001) 重信川流域における泉のプランクトン相. 陸水学雑誌, 62:219-227
- Vaughn, CC, Hakenkamp, CC (2001) The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 46:1431-1446
- Watters GT, O'Dee SH, Chordas S (2001) Patterns of vertical migration in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida). *Journal of Freshwater Ecology*, 16:541-549
- 柳田 洋一 (1992) 淡水産二枚貝類の成育環境条件について-3-珪藻類のイケチョウガイに対する餌料としての有効性. 茨城県内水面水産試験場調査研究報告, 28:43-47
- 柳田 洋一, 外岡 健夫 (1991) 淡水二枚貝類の成長環境条件について. 茨城県内水面水試調査研究報告, 27:98-123
- 柳田 洋一, 外岡 健夫 (1992) 淡水産二枚貝類の成育環境条件について-2-飼料環境と成長との関係. 茨城県内水面水産試験場調査研究報告, 28:35-42
- Young MR, Williams JC (1983) Redistribution and local recolonisation by the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.). *Journal of Conchology*, 31:225-234

付表 1. 松山平野の自然再生地（松原泉上流、中流、下流、広瀬霞）と、国近川、神寄川における、2015年9月～2016年9月の間の珪藻密度の差異。珪藻の密度を応答変数、調査区と調査時期を説明変数として一般化線形モデルで解析した結果。NA: 欠損値、NS: 有意差なし、*: $p < 0.05$ 、**: $p < 0.01$ 、***: $p < 0.001$

Supplementary Table 1. Difference in diatom density among study sites in Matsuyama plain. A result of generalized linear model with diatom density as response, study site and survey timing as fixed factors. NA: not available, NS: not significant, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

	Estimate	Standard error	t value	p
(Intercept)	2.88	0.27	10.84	***
Kunichi Stream	0.65	0.38	1.73	NS
Koyori Stream	0.51	0.38	1.35	NS
Matsubara upstream	1.12	0.38	2.98	**
Matsubara midstream	-0.28	0.38	-0.75	NS
Matsubara downstream	-1.48	0.38	-3.95	***
Yanahara pond	-4.26	0.38	-11.35	***
Nov. 2015	2.24	0.38	5.98	***
Jan. 2016	0.71	0.38	1.88	NS
Mar. 2016	2.70	0.38	7.20	***
May 2016	2.21	0.38	5.89	***
Jul. 2016	1.72	0.38	4.57	***
Sep. 2016	3.47	0.38	9.24	***
Kunichi Stream: Nov. 2015	-1.36	0.53	-2.56	*
Koyori Stream: Nov. 2015	-0.86	0.53	-1.62	NS
Matsubara upstream: Nov. 2015	-2.80	0.53	-5.27	***
Matsubara midstream: Nov. 2015	0.45	0.53	0.84	NS
Matsubara downstream: Nov. 2015	NA	NA	NA	NA
Yanahara pond: Nov. 2015	NA	NA	NA	NA
Kunichi Stream: Jan. 2016	-0.05	0.53	-0.09	NS
Koyori Stream: Jan. 2016	0.02	0.53	0.03	NS
Matsubara upstream: Jan. 2016	-2.73	0.53	-5.15	***
Matsubara midstream: Jan. 2016	0.34	0.53	0.64	NS
Matsubara downstream: Jan. 2016	NA	NA	NA	NA
Yanahara pond: Jan. 2016	3.95	0.53	7.43	***
Kunichi Stream: Mar. 2016	0.49	0.53	0.93	NS
Koyori Stream: Mar. 2016	0.92	0.53	1.73	NS
Matsubara upstream: Mar. 2016	-3.29	0.53	-6.19	***
Matsubara midstream: Mar. 2016	-1.97	0.53	-3.71	***
Matsubara downstream: Mar. 2016	0.09	0.53	0.17	NS
Yanahara pond: Mar. 2016	1.21	0.53	2.29	*
Kunichi Stream: May 2016	0.49	0.53	0.93	NS
Koyori Stream: May 2016	0.74	0.53	1.40	NS
Matsubara upstream: May 2016	-3.77	0.53	-7.10	***
Matsubara midstream: May 2016	0.10	0.53	0.18	NS
Matsubara downstream: May 2016	1.68	0.53	3.16	***
Yanahara pond: May 2016	-0.26	0.53	-0.49	NS
Kunichi Stream: Jul. 2016	0.98	0.53	1.85	NS
Koyori Stream: Jul. 2016	0.71	0.53	1.33	NS
Matsubara upstream: Jul. 2016	-2.92	0.53	-5.50	***
Matsubara midstream: Jul. 2016	-0.15	0.53	-0.29	NS
Matsubara downstream: Jul. 2016	2.15	0.53	4.06	***
Yanahara pond: Jul. 2016	0.72	0.53	1.36	NS
Kunichi Stream: Sep. 2016	-1.04	0.53	-1.96	NS
Koyori Stream: Sep. 2016	-0.83	0.53	-1.57	NS
Matsubara upstream: Sep. 2016	-5.40	0.53	-10.16	***
Matsubara midstream: Sep. 2016	-4.35	0.53	-8.20	***
Matsubara downstream: Sep. 2016	NA	NA	NA	NA
Yanahara pond: Sep. 2016	NA	NA	NA	NA