大阪湾圏域の海域環境再生・創造に関する 研究助成制度(平成28年度実施)成果発表会

> 平成29年5月10日(水) 13:00~16:30 ラッセホール リリー

## ごあいさつ

大阪湾広域臨海環境整備センターは、大阪湾圏域の広域処理対象区域から発生する廃棄物を適正に処理し、圏域の生活環境の保全を図るとともに、港湾の秩序ある整備により港湾機能の再編・拡充を図り、地域の発展に寄与することを目的として昭和57年に設立されました。以来、当センターでは、尼崎沖、泉大津沖、神戸沖及び大阪沖の4最終処分場を整備し、近畿2府4県168市町村、約200万人の圏域から発生する廃棄物の最終処分を行っています。

1期事業として尼崎沖・泉大津沖、2期事業として神戸沖・大阪沖埋立処分場を整備しましたが、現在の2期基本計画以降の新たな埋立処分場の確保が大きな課題となっています。そこで、昨年6月に上記圏域関係自治体及び4港湾管理者で構成する「大阪湾広域処理場整備促進協議会」が当センターと連携しながら協議し、3期事業を具体化して行くに当たっての事業概要が確認されました。これを受けて、本年2月28日にフェニックス3期神戸沖埋立処分場(仮称)設置事業に係る計画段階環境配慮書の公告を行い、3期事業の環境影響評価手続きを開始したところです。

瀬戸内海を巡る動きとしては、平成27年10月に「瀬戸内海環境保全特別措置法の一部を改正する法律」が公布、施行され、従来の水質規制中心の法律を抜本的に見直し、生物の多様性・生産性を確保した「豊かな海」にするために大きく転換しました。

当センターでは、3期事業においても、法の趣旨に沿った形で、海面埋立護岸について、 生態系に配慮した環境配慮型護岸を可能な限り取り入れる等、瀬戸内海環境保全特別措置 法の理念に基づいた自然との共生をめざした取り組みを進めてまいります。

昨今、廃棄物処理を取り巻く社会的要請として、3Rによる循環型社会形成の推進、人と自然との共生の確保、地域社会との連携・協力といった視点が求められており、当センターでは、これらを具体化するための基本施策を盛り込んだ「環境管理計画」を平成 20 年3月に策定しました。

この計画では、市民や研究者と積極的に関わり、情報交換と支援を行っていく必要性についても述べられています。「大阪湾圏域の海域環境再生・創造に関する研究助成事業」は、このような考え方をもとに、先進的な調査研究を行おうとする中堅・若手研究者に対して助成を行い、その成果を通じて、大阪湾圏域の海域(大阪湾フェニックスセンターの広域処理対象区域に面する大阪湾の全部、播磨灘及び紀伊水道の一部)環境再生・創造に寄与することを目的として、平成20年度に創設した制度です。

本日は、平成28年度に採択された研究課題について、その成果を披露いただく機会として成果発表会を企画いたしました。本日の成果発表会が、ご参加いただきました皆様にとって良い情報交換の場となり、関係者同士の繋がりを深め、有意義なものとなれば幸いです。

平成29年5月10日 大阪湾広域臨海環境整備センター 理事長 荒木 一聡

1.	. 大阪湾におけるマイクロプラスチック汚染の現況把握と魚介類への影響に 関する研究(その2)	
	田中 周平 京都大学大学院地球環境学堂 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	• 1
2.	. 海色衛星観測データを用いた埋立地周辺を含む大阪湾における赤潮動態の 解明(その2)	
	小林 志保 京都大学フィールド科学教育研究センター ・・・・・・・・・	• 5
3.	大阪湾底質の魚類胚に与える汚染影響リスク評価と今後の底質環境修復の	
	ための現状把握(その3)	
	宇野 誠一 鹿児島大学水産学部 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	• 9
4.	、大阪湾における残差流系の現況と埋立の影響に関する実証的研究	
	中谷 祐介 大阪大学大学院工学研究科 ・・・・・・・・・・・・・・	• 13
5.	大阪湾底泥における珪藻類休眠期細胞の分布・発生とそれに基づいた有益	
	・有害ブルーム識別評価	
	石井 健一郎 京都大学大学院地球環境学堂 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	• 1 7
6.	. 大阪湾圏域の干潟におけるマイクロプラスチックの存在実態とその化学・	
	生物学的影響	
	中尾 賢志 大阪市立環境科学研究センター・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	2 1
7.	大阪湾岸流域における下水道由来栄養塩負荷の影響評価(その3)	
	<ul><li>地下水流入および洪水時フラッシングを考慮した時空間変化の解析</li></ul>	
	小野寺 真一 広島大学大学院総合科学研究科 ・・・・・・・・・・・	• 25
8.	. 大阪湾湾奥の河口域におけるウミニナの復活とその要因解明	
	大谷 壮介 大阪府立大学工業高等専門学校 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	• 2 9
9.	. 海洋生物の発する音を指標とした関西国際空港周辺での海域再生モニタリング	
	中村 清美  神戸市立須磨海浜水族園 ・・・・・・・・・・・・・・・・	3 3

# 大阪湾におけるマイクロプラスチック汚染の現況把握と魚介類への影響 に関する研究(その2)

田中周平 京都大学大学院 地球環境学堂 准教授 高田秀重 東京農工大学 農学部 環境資源科学科 教授

#### 1. 研究の背景および目的

近年マイクロプラスチックによる環境汚染が注目されており、生態系への影響が懸念されている。研究2年目となる本年度は、大阪湾などで存在実態を引き続き調査するとともに、排出源のひとつと考えられるパーソナルケア製品中のマイクロプラスチックの測定方法の開発、水環境中に関してさらにサイズの小さい100 μm のマイクロプラスチックの採取- 前処理- 計測- 成分同定の方法の検討を行った。また、魚類の消化管中のマイクロプラスチックの前処理および分析方法の開発を行い、大阪湾等の内湾における魚類へのマイクロプラスチックの蓄積状況に関してデータを取得した。さらにPFCs 15種に加えてPAHs 16種、ハロゲン化PAHs 4種の溶出試験を行い、多種類の化学物質のマイクロプラスチックへの吸着特性を検討した。

#### 2. 分析方法の検討と改良

上記の課題に取り組むため、1) パーソナルケア製品中のマイクロビーズ分析のための前処理および測定方法の検討、2) 水環境中マイクロプラスチックの採取および前処理方法の改良 (315  $\mu$ m  $\rightarrow$  100  $\mu$ m)、3) 魚類の消化管中のマイクロプラスチックの前処理および分析方法の検討を行った。試料から消化管を摘出し、マイクロプラスチックの標準品(ポリエチレン、ポリスチレンを各 5 個)添加し、回収率、平均径および投影面積の形状変化率から、最適な前処理方法として、KOH 溶液(10%)により有機物分解を行った後 KOH 溶液を取り除き、さらに  $H_2O_2$ 溶液(30%)を添加して有機物分解を行う方法を選択した。

#### 3. 調査および実験の方法

パーソナルケア製品調査では、2016年1~4月に市場を調査し、洗顔剤などパーソナルケア製品を合計15点購入し、製品に「スクラブ剤の使用」と、成分表示に「ポリエチレン」、「ポリエチレン末」、「高融点ポリエチレン末」、「合成ワックス」または「ポリエステル」の記載のある製品を選択し分析試料とした。大阪湾調査では、2016年12月14日に表層水4サンプル、底泥8サンプルを採取した。琵琶湖調査では、2016年6月4日~12月4日までの計5日間、表層水27サンプル、底泥

表1 魚類調査の概要

地点	入手日	採取試料(試料数)
		カタクチイワシ(34)
東京湾	10月8日	アジ(16)
		サッパ(3)
女川湾	10月8日	マイワシ(29)
   大阪湾	10月18日	カタクチイワシ(30)
八灰馬	10月27日	スズキ(6)
敦賀湾	11月15日	イシダイ(30)
英虞・五ヶ所湾	12月9日	アジ(17)
琵琶湖	12月19日	ワカサギ(31)

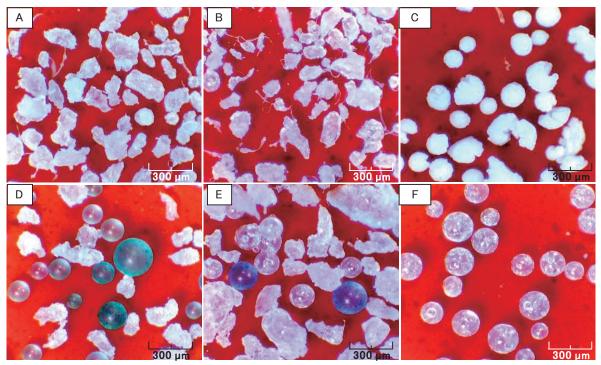
17 サンプルを採取した。魚類調査の調査概要を**表 1** に示す。東京湾および女川湾の調査は 10 月 8 日に、大阪湾の調査は 10 月 18 日および 27 日に、敦賀湾の調査は 11 月 15 日、五ヶ所湾・英虞湾の調査は 12 月 9 日に、琵琶湖の調査は 12 月 19 日に行った。さらに、マイクロプラスチックから

の 15 種の PFCs および 20 種の PAHs の溶出試験を行った。

#### 4. 研究の結果および考察

## 4.1. パーソナルケア製品中のマイクロプラスチックの存在実態

パーソナルケア製品中のマイクロプラスチックの形状を**図1**に示す。写真 C, D, E, F のように 一部に球状のマイクロビーズの存在を確認した。一部は、緑色や青色を帯びたマイクロビーズで あった(写真 D, E)。パーソナルケア製品 100 g 中のマイクロプラスチックの個数は 100 g 当た り最小で8,000個、最大で1,840,000個と推定され、平均値換算値の平均値、中央値はともに621,000 個/100 g であった。パーソナルケア製品中のマイクロプラスチックの製品別の平均粒径は、151 ~487 µm であった。80%の製品(12/15)中のマイクロプラスチックの平均粒径は300 µm 以下で あった。従来、海洋などでは目開き 315 μm のプランクトンネットによって、マイクロプラスチ ックの調査が行われることが多い。本結果より、さらに小さいマイクロプラスチックが水環境中



写真X、サンプルNo.、成分表示 A、2、ポリエチレン B、14、高融点ポリエチレン末・ポリエチレン末 C、3、ポリエチレン D、5、ポリエチレン末 E、6、高融点ポリエチレン末・ポリエチレン末 F、15、ポリエチレン

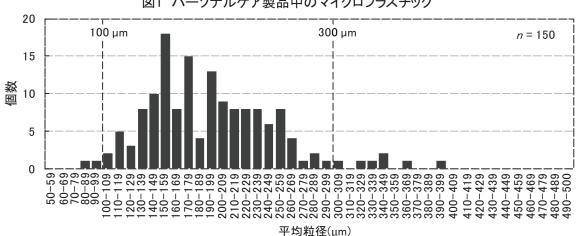


図1 パーソナルケア製品中のマイクロプラスチック

図2 パーソナルケア製品(サンプルNo.5)中のマイクロプラスチックの平均粒径分布

に存在する可能性が示された。

パーソナルケア製品中(サンプル No.5)のマイクロプラスチックの平均粒径  $50\sim500~\mu m$  の粒径別の個数分布を**図 2** に示す。150 個のマイクロプラスチック中 141 個の粒径は、 $100\sim300~\mu m$  の範囲内であった。最頻値は  $150\sim159~\mu m$  であり、 $100~\mu m$  未満のマイクロプラスチックも 2 個存在した。これらの水環境中での挙動を調査し、残留性や生物への取り込みの状況などをさらに詳しく調べる必要がある。

## 4.2. 大阪湾、琵琶湖表層水中のマイクロプラスチックへの PFCs および PAHs の吸着

琵琶湖・大阪湾におけるマイクロプラスチックの PAHs 含有量を**図 3** に示す。すべての地点で PAHs、Cl-PAHs が検出された(装置検出下限値: $0.1\sim0.5$  ng/mL)。PAHs の総含有量は 3,000~ 16,000 ng/g-dry であり、大阪湾の淀川・神崎川河口部で最大値を示した。2-ClAnt、9-ClAnt、9,10-Cl<sub>2</sub>Ant の 3 種類の総含有量は  $100\sim700$  ng/g-dry であった。PAHs の濃縮倍率は、2,3 環が  $10\sim30$  万、4 環が  $10\sim500$  万、5,6 環が  $100\sim300$  万であった。3 環の Ant の濃縮倍率は約 20 万であるのに対し、2-ClAnt は 150 万、9-ClAnt は 300 万、9,10-Cl<sub>2</sub> Ant は 600 万であり、いずれも親物質より高倍率を示した。

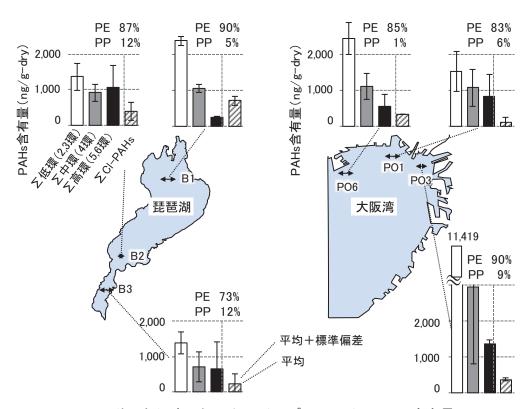


図3 琵琶湖・大阪湾におけるマイクロプラスチックのPAHs含有量

#### 4.3. 魚類消化管中の 100 um 以上のマイクロプラスチックの存在実態

日本内湾および琵琶湖における魚類消化管中から検出されたマイクロプラスチックの個数を**表 2** に示す。197 匹中 74 匹から 140 個のマイクロプラスチックが検出され、検出率は 37.6%であった。6 地点中すべてから検出され、7 魚種中サッパを除く 6 種類の魚種からマイクロプラスチックが検出された。最も多く検出されたのは東京湾のカタクチイワシで、検出率は 79.4%であった。

摂食方法別のマイクロプラスチック検出個数を**図4**に示す。ろ過摂食魚類 97 匹中 53 匹から 112 個のマイクロプラスチックが検出され、平均値は 1.15 個/匹であった。それ以外の魚類 100 匹中

21 匹から 28 個のマイクロプラスチックが検出され、平均値は 0.28 個/匹であった。t 検定の結果、 有意な差がみられた(p < 0.001)。摂食方法の違いが魚の消化管内におけるマイクロプラスチッ クの存在に影響していると推察された。

主っ	<b>魚類の消化管から検出されたマイクロプラスチックの個数</b>	ЬT
衣又乙	思短の月16日から快山さんにメインロノノヘナツンの個姿	X

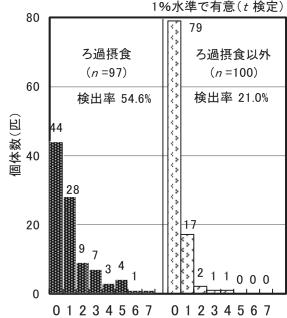
地点	魚種	個体数 (匹)	マイクロ プラスチック 検出個体数 (匹)	検出率 (%)	マイクロ プラスチック 検出個数 (個)	1匹あたりの 検出個数 (個/匹)
	Total	197	74	37.6	140	1.9
女川湾	マイワシ	30	12	40.0	16	1.3
	カタクチイワシ	34	27	79.4	73	2.7
東京湾	アジ	16	4	25.0	4	1.0
	サッパ	3	0	0.0	0	0.0
敦賀湾	シマダイ	30	4	13.3	6	1.5
琵琶湖	ワカサギ	31	9	29.0	10	1.1
大阪湾	カタクチイワシ	30	14	46.7	23	1.6
八阦湾	スズキ	6	1	16.7	1	1.0
英虞・ 五ヶ所湾	アジ	17	3	17.6	7	2.3

### 5. 結論と今後の課題

研究2年目となる本年度は、同一機関による 同一方法で国内 6 か所、7 魚種の消化管の中の 100 µm以上のマイクロプラスチックを調査し比 較することができた。研究3年目は、さらに微 小なマイクロプラスチック (10 µm を目標値と する)の計測、成分同定方法を確立し、大阪湾 等における表層水、底泥の汚染現況の把握と魚 介類への蓄積量調査を進める。また、パーソナ ルケア製品から排出されたマイクロプラスチッ クの挙動を追跡するため、下水処理工程におけ る挙動調査を実施する。さらに環境中での分解 特性を把握するため、紫外線照射試験を行い、 分解過程を観察する予定である。

## 参考文献

- 1) 大阪湾におけるプランクトン食性魚類へのマ イクロプラスチック汚染の現況調査, 牛島大
- 志, 田中周平ら, 日本水環境学会年会講演集, vol.51, p610 (2017)
- 2) パーソナルケア製品中のスクラブ剤として使用されているマイクロプラスチックの含有量の調査, 雪岡聖, 田中周平ら, 環境衛生工学研究, Vol.30, No.3, p86-89 (2016)
- 3) 琵琶湖・大阪湾におけるマイクロプラスチックに吸着した多環芳香族炭化水素類およびそのハロゲ ン化体に関する調査、鍋谷佳希、田中周平ら、日本水環境学会年会講演集、vol.51、p384 (2017)



検出されたマイクロプラスチックの個数(個) 図4 摂食方法別のマイクロプラスチック 検出個数における分布

# 海色衛星観測データを用いた埋立地周辺を含む大阪湾における赤潮動態 の解明(その2)

小林志保(京都大学フィールド科学教育研究センター)

中田聡史(神戸大学大学院海事科学研究科)

中嶋昌紀(大阪府立環境農林水産総合研究所)

山本圭吾 (大阪府立環境農林水産総合研究所)

秋山諭 (大阪府立環境農林水産総合研究所)

石坂丞二 (名古屋大学宇宙地球環境研究所)

#### 1. 研究目的

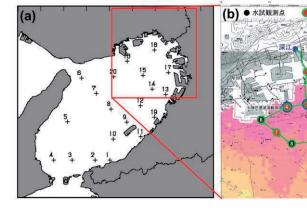
本研究は、昨年度に助成をいただいた継続研究である。昨年度から引き続き、大阪湾において発生する広範囲かつ時間変化の激しい赤潮の動態を、近年新しく公表された時間・空間分解能の高い静止衛星海色データを用いて解析する手法の開発を行なった。

昨年度の研究では、陸水由来の有色溶存有機物質 (CDOM)や 懸濁物質等が衛星から推定されるクロロフィル濃度 (以下、衛星 Chl-a) に及ぼす影響を調べ、現場観測によって得られたクロロフィル濃度 (以下、現場 Chl-a) と比較して CDOM 光吸収係数を用いた補正式を作成した。整備した衛星 Chl-a 濃度データセットを用いて、高濃度 Chl-a によって特徴づけられる赤潮(赤潮水塊)を時間単位で面的に可視化し、台風直後における赤潮水塊の発生とそれがどのように移流・拡散され、消えていくのかという赤潮の動態(発生・消長)を示した。

一方で、現場 Chl-a 濃度が 10 µg/L を超える領域については衛星データの推定誤差がやや大きく、解析手法に検討すべき点が残されていた。これらのことから、本年度の研究では、Chl-a 濃度が高い領域における推定誤差拡大の原因の解明、衛星観測波長毎のスペクトルデータを用いた補正方法の確立を行ない、広域性・継続性という利点をもつ衛星観測と現場観測データを有機的に組み合わせることによって大阪湾における赤潮動態を解析した。

## 2. 研究方法

2016年5,8,11月に埋立地周 辺海域を含む大阪湾(図1)にお いて現場観測を実施した.採水 して現場 Chl-a 濃度および CDOM光吸収係数を測定すると ともに,海面分光放射計(図2) によって各波長におけるリモー



トセンシング反射率  $(R_{rs})$  を得た. これらの現場データを用いて,近年利用が開始された静止衛星「千里眼」

図 1 海域観測点. (a) 大阪府浅海定線調査 (十字) (b) 湾奥調査採水地点(○) 二重丸 は水質定点自動観測サイト.

の毎時観測によるデータ (GOCI プロダクト) を検証・補正し, 衛星 Chl-a データを作成した.整備した衛星 Chl-a データセット, 関係各機関による赤潮情報, 大阪湾における水質定点自動観測による Chl-a 推定濃度データおよび気象データ等を合わせて, 大阪湾における赤潮動態の解析に用いた.

図 2 海面分光放射計

## 3. 結果と考察

大阪湾においては、Chl-a 濃度が 10 µg/L 以上である場合は赤潮が発生

している可能性がある(山本・中嶋, 2001). 本研究では、Chl-a 濃度が  $10~\mu g/L$  以上の場合を赤潮と見なして解析を行なった. はじめに昨年度の課題であった、現場 Chl-a が  $10~\mu g/L$  を超える場合に生じる衛星 Chl-a 推定誤差拡大の原因について調べた. 図 3 に、海面分光放射計の測定結果( $R_{rs}$ )と衛星 Chl-a の推定に用いられている水中アルゴリズムを用いて推定した Chl-a と現場 Chl-a の関係を示した. 現場 Chl-a が  $10~\mu g/L$  を超える地点においては、両者の間に二次関数的な関係(現場 Chl-a = 0.0753×推定 Chl-a $^2 + 0.473$ ×推定 Chl-a $^1$  が見られ、決定係数( $R^2$ )は 0.987 と高い値を示した. 一方、比較的濁度の高

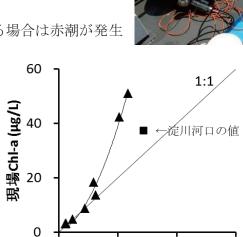


図3 現場 Chl-a 濃度と現場 R<sub>rs</sub>から計算した Chl-a の関係(8 月). 直線は両者が一致する 線,曲線は近似曲線.

現場R<sub>rs</sub>から計算したChl-a

20

40

60

い淀川河口の値は、現場 Chl-a と推定 Chl-a が 1:1 で対応するラインの近くにプロットされていた。 懸濁物濃度の比較的高い海域で作成された従来の水中アルゴリズムは、河口以外の大阪湾奥には適しておらず、それが衛星 Chl-a 推定誤差拡大につながっていることが示唆された。 2016 年 8 月の現場 Chl-a と、補正前の衛星 Chl-a、および上記の関係式を用いた補正

後の衛星 Chl-a との関係を、図 4 に示した。補正前の衛星 Chl-a は現場 Chl-a に対して大幅に過小評価となっており、現場 Chl-a では赤潮と判断される地点のすべてが、衛星

Chl-a では赤潮と判断されていなかった

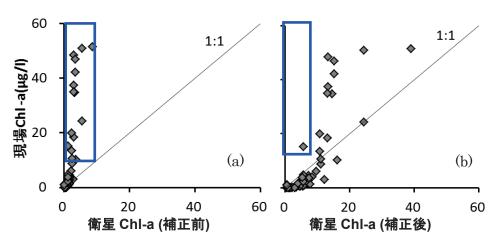


図 4 2016 年 8 月の現場 Chl-a 濃度と, (a)補正前の衛星 Chl-a, (b) 現場  $R_{rs}$  を用いて補正した衛星 Chl-a との関係. 青枠は, 現場 Chl-a > 10  $\mu$ g/L, 衛星 Chl-a < 10  $\mu$ g/L の部分を示す.

(図 4 (a)). そのような地点は、海面分光放射計の測定結果( $R_{rs}$ )を用いた補正によってほぼなくなった(図 4 (b)). この補正式を用いて作成した衛星 Chl-a (図 5 (b)) は、補正前の衛星 Chl-a (図 5(a)) に比べ、現場 Chl-a (図 5 (c)) に近い値を示していた。一方、今年度用いた補正式は数少ないプロット (図 3) に基づくものであり、本海域に適した水中アルゴリズムの確立が今後必要になると考えられた。

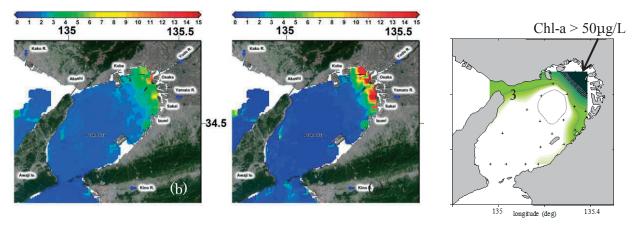


図 4 2016 年 8 月の(a)補正前の衛星 Chl-a, (b)補正後の衛星 Chl-a, (c)現場 Chl-a 濃度(μg/L) の水平分布図. 現場 Chl-a については Kriging 法により補間した. 等値線の間隔は 3 μg/L.

次に、年に1度、瀬戸内海漁業調整事務所より公表されている現場観測データから推定された各月の赤潮最大面積と、同期間内の衛星データの各グリッドの Chl-a 濃度最大値を抽出しマップ化し(衛星 Chl-a 最大値マップ)、マップから計算した Chl-a 濃度  $10 \, \mu g/L$  以上の面積( $1 \, \text{グリッド} \, 0.25 \, \text{km}^2 \times \text{グリッド数}$ )とを比較した。図  $6 \, \text{に}$ 、2011年8月の事例を示した。このときの衛星データ取得率は $90.6 \, \text{%}$ であり、ほぼ大阪湾全域をカバーしていた。現場観測データでは、和田岬と岸和田市を結ぶ線以東の海域で発生していたことが示され、赤潮面積は $390 \, \text{km}^2$ となっている。一方、衛星データで見ると、Chl-a 濃度が $10 \, \mu g/L$  を超える水塊はパッチ状に分布していたため赤潮面積は $81 \, \text{km}^2$ となっていた。その結果、現場/衛星面積比が $4.77 \, \text{倍と大きな差異が生じたと考えられる。前述のように、衛星 <math>Chl$ -a データの示す数

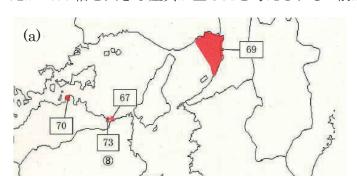
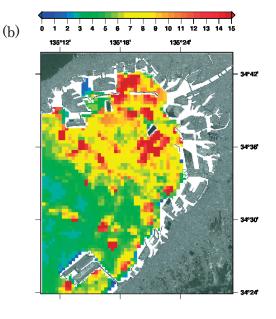


図 6 (a) 2011 年 8 月における赤潮発生状況図. (瀬戸内海漁 業調整事務所発表), (b) 2011 年 8 月 1 日から 29 日における衛 星 Chl-a 最大値マップ.



値には補正を加える必要があるが、日々変化する赤潮水塊の動態を面的に捉えることが可能 であることから、現場観測の結果を時間・空間的に補間する際に重要な情報を提供できるこ とが示唆された.

### [結論]

埋立地周辺の水域に注目して赤潮水塊がどのように移流・拡散され、消えていくのかという赤潮の動態(発生から消長)を明らかにするため、近年利用が開始された静止衛星「千里眼」の毎時観測による高解像度 GOCI プロダクトの Chl-a 濃度データを解析した.

大阪湾奥における海面分光放射計を用いた観測により得た波長毎のスペクトルデータを用いて衛星 Chl-a 値の補正方法を検討した結果,懸濁物濃度の比較的高い海域で作成された従来の水中アルゴリズムを適用した場合には, Chl-a 濃度が  $10~\mu g/L$  を超える地点において,衛星 Chl-a 推定誤差が大きくなることが示された.海面分光放射計を用いた観測データを収集し,大阪湾奥に適した水中アルゴリズムを新たに作成することにより,Chl-a 濃度  $10~\mu g/L$  以上とされる赤潮発生海域の特定が可能になると考えられる.

衛星 Chl-a 濃度データを用いて Chl-a 濃度最大値マップを日ごとに作成して統合し、瀬戸内海漁業調整事務所が発表している現場観測に基づく月ごとの赤潮最大面積と比較した結果、Chl-a 濃度が  $10~\mu g/L$  を超える赤潮水塊がパッチ状に分布している場合には、週ごとの各地点における現場データを補間した赤潮面積が、衛星データから算出される赤潮面積に比べて大きく評価されることがあることが示された。衛星 Chl-a データは、現場観測の結果を時間的・空間的に補間する際に重要な情報を提供できると考えられる。

大阪湾東部海域で発生する大規模な珪藻赤潮は、直接的な漁業被害は少ないものの、貧酸素水塊の形成やノリの色落ちの要因になると考えられる。広域かつ高頻度のクロロフィル分布を得られる衛星データの推定精度を上げていくことは、赤潮動態を監視する目的においても重要であると考えられた。

#### 引用文献

山本圭吾・中嶋昌紀 (2001) 大阪湾における水中型蛍光光度計を用いたクロロフィルの測定と赤潮の判断、大阪府立水産試験場研究報告, 13, 1-9.

#### 謝辞

大阪湾における観測にあたり、神戸大学大学院海事科学研究科 渕真輝准教授、林美鶴准教授、中村一平氏に大きなご助力をいただきました。心からの感謝を申し上げます。

# 大阪湾底質の魚類胚に与える汚染影響リスク評価と今後の底質環境 修復のための現状把握(その3)

宇野 誠一 (鹿児島大学水産学部准教授) 國師 恵美子 (鹿児島大学水産学部助教)

#### 1. はじめに

大阪湾は紀伊半島から神戸市、淡路島に囲まれ、明石海峡と友ヶ島水道に2つの狭い湾口を持つ以外に水の出口がない。そのため、日本でも水交換率が特に悪い水域の1つとなっている。本湾は有数の大都市である大阪市や神戸市に接し、また神戸市から泉大津市までの海岸域一帯は大規模な工業地帯が連なっている。海岸域には阪神高速など交通量の多い幹線道があるため、自動車や工場排ガス、排水を通じて人間活動由来の化学物質が常時流入する状態にある。湾内には淀川を初めとする幾つかの河川水が流れ込んでいるが、この多くが人口密集域を流れ、陸上域における人間活動由来の化学物質も同時に大量に運んでいると考えられる。このような様々な要因により、大阪湾は化学物質汚染がかなり進んでいる。これまで我々は大阪湾において、底質や水生生物などの化学物質分布や動態を調査してきた。その結果、特に底質中からは数多くの化学物質をこれまで検出し、物質によってはかなり高い濃度で残留していることを明らかにしてきたが、これらの調査から特に人間の生活域に近い海岸線沿いの水環境汚染がかなり進んでいることが分かっている。

モニタリング調査から得られる化学物質濃度分布や動態パターンから、湾内底質に 生息している生物に対する影響を予測するのは、実際はかなり困難である。現在、化 学物質審査法などによる化学物質管理においても、1)生物影響評価は単一の物質に 対してのみ行われており、複合暴露影響までは考慮されていない、2)湾内には通常 の分析技術では検出不可能な物質や未知の化学物質も多数あり、これらの生物影響は 未知であるケースがほとんどである、などが要因となっている。さらに様々な化学物 質が高濃度で残留している底質に着目した生物影響試験法は、確固たるものが確立さ れていない。しかし、大阪湾のような汚染の進んだ海域の環境修復・再生を効率良く 行うためには、まず化学物質汚染と生物影響リスク両方の現状を知り、そのデータを もとに計画的に進めていくことが必要である。中でも、水域の中でも恐らく最も化学 物質残留濃度が高い海底質のリスクを明らかにすることが早急に求められる。

魚の卵(胚)は未成熟であり、魚類の成長段階の中で最も化学物質暴露影響を受けやすい期間の 1 つである。これまで魚卵を用いた毒性試験は数多く行われてきた。日本ではヒメダカ (Olyzias latipes)が、様々な化学物質を対象としてその影響試験が行われており、数多くの知見が蓄積されている。また飼育が容易なため、常時卵から成魚まで入手可能で試験が行える。最近、我々は飼育水を注がず、間隙水の役割をする僅かな量の水を添加した底質上にヒメダカ胚を置き、孵化直前まで発生させる手法を確立した。本法は野外で採取した底質でも適用可能である。また、この試験法の最大のメリットはこれまで底質影響の直接評価を難解にして

いた直上水を加える必要がなく、底質に含まれる化学物質の胚へのダイレクトな影響を評価することが可能となった。この底質試験法を用いて、日本の幾つかの現場から底質を採取して、 胚に対する影響を調べたところ、実環境影響評価法として十分に適用可能であることを確認した。本法の基本的なエンドポイントは、致死、孵化率、そして孵化後の奇形発生率などを指標として、それを総合して底質の影響を判断する。

メタボロミクスは糖類やアミノ酸、有機酸など生体内代謝物の変動情報(メタボローム)を網羅的に収集し、生体内で今何が起こっているかを調べる手法である。近年、環境汚染物質影響評価法としても注目されているが、実環境の汚染影響評価に適用した例は極めて少ない。我々は上記のヒメダカ胚を用いた底質試験法とメタボロミクスの数値化法を組み合わせ、軽度な健康影響から致死まで幾つかの段階での影響評価を 1 回の試験で可能とするようなさらに現場の実態を明確に反映するような新しい指標が確立出来ると考えた。本研究は、実際に大阪湾で底質を採取して実験室に持ち帰り、ヒメダカ胚による底質影響試験を行った。加えて、メタボロミクスによりこの影響試験中の胚の健康状態をとらえ、死亡から微細な健康上影響まで全影響を総合して、底質のヒメダカ胚に対する影響の大きさを数値として表すことにより、大阪湾底質の生物に対するリスクの現状を明らかにすることを目的とした。リスクを示す数値を地点間で比較して、大阪湾底質の生物リスクの地点間差等を調べ、淡路島から和歌山側までの大阪湾底質汚染の現状を明らかにすることを最終目標とする。平成 28 年度は堺市~和歌山までの海岸域底質の影響評価を行った。

## 2. 方法

平成 27 年度までに 15ヶ所の底質を採取したが、平成 28 年度は図 1 に示す St. 16~26 の 11 地点から底質を採取し、その影響を調べた。採取した底質から遠心分離により余分な間隙 水を取り除いた。その後、僅かな水分を含んだ状態でガラスシャーレに敷き詰めた。底質上にヒメダカ胚を設置し、23℃で 7 日間飼育し、発生させた。8 日目からは滅菌水を入れたマイクロプレートに胚を移し、胚の生存確認、孵化までの日数の計測、発生の遅延などを顕微鏡観察し、さらに孵化仔魚の奇形の有無なども調べた。また、別途、メタボロミクス解析を行うために底質入りシャーレを各地点で 5 つずつ用意した。そこに 1 つのシャーレに胚を 25 個ずつ設置した。6 日目までインキュベータ内で飼育を行った後、胚をサンプリングしてメタボロミクス分析に供した。影響の数値は死亡が観察された際の影響比率が最も大きくなるように設定してあり、次に孵化率、孵化日数のファクターの順にその比率を小さく設定した。メタボロミクスから得られる数値は主成分分析の結果から算出した。

#### 3. 結果と考察

表 1 に底質毒性試験から得られた死亡率、孵化率、平均孵化日数(± 標準偏差)とこれらから得られたリスクファクターを示した。St. 16、19、24 ではが死亡率 10%以上観察された。本影響調査において、死亡が観察された地域は少なかったが、今回調査した地点はその傾向が異なった。一方、孵化率の低下は今回の調査地点ではほぼ観察されなかった。孵化日数もSt. 16 が 3 日ほど遅くなり、また、その他の場所でも 2 日ほど遅れる傾向が見られた。これまで

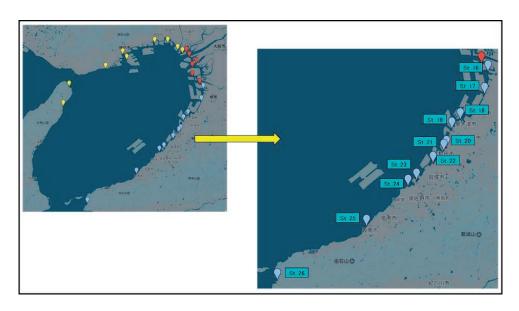


図1. サンプリング地点

表1. 魚類胚の底質毒性試験における各地点の死亡率、孵化率、孵化日数

地点	死亡率(%) <sup>a</sup>	孵化率(%) <sup>a</sup>	孵化日数(日)
コントロール	0	100	10.3 ± 0.6
St. 16	10 ± 10	90 ± 10	13.1 ± 1.4
St. 17	0	100	11.5 ± 1.2
St. 18	0	100	12.3± 2.6
St. 19	13 ± 10	87 ± 6	12.5 ± 1.6
St. 20	3 ± 6	93 ± 6	12.5 ± 1.5
St. 21	0	100	12.0 ± 1.5
St. 22	3 ± 6	97 ± 6	12.2 ± 1.5
St. 23	0	93 ± 6	11.1 ± 1.2
St. 24	$10 \pm 10$	$90 \pm 10$	$12.2 \pm 1.4$
St. 25	0	100	$10.9 \pm 1.4$
St. 26	0	100	$11.3 \pm 1.8$

a: 3 つのシャーレの中で観察された各率の平均値 ±標準偏差 (n=3)

表2 メタボロミクスから得られた健康 リスクファクター

	7.2.—
地点	メタボロミクスから
	得られたファクター
St. 16	228
St. 17	38
St. 18	15
St. 19	213
St. 20	92
St. 21	49
St. 22	124
St. 23	168
St. 24	225
St. 25	116
St. 26	1

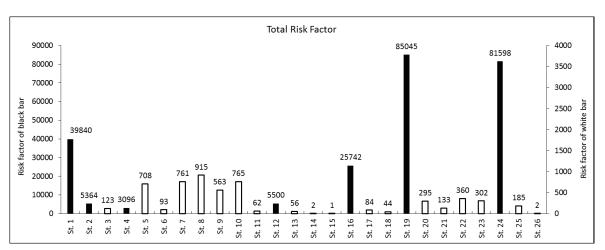
の調査でも述べたように、自由に動き回れない卵の 状態が長くなると、他の生物からの補食リスクは高ま る。孵化までの時間が通常よりも遅れると、そのリスク は大きくなるため、無視はできないと考える。死亡、 未孵化、孵化日数において、今回の毒性影響試験 結果は、初年度に行った大阪市近郊での調査と比 べると総体的にその傾向は異なっていた。孵化を遅 らせる要因と死亡を引き起こす要因物質は異なると 考えられ、今後、どのような物質が強く寄与している かを具体的に示していくことが課題の1つとなる。表 1に毒性試験の結果と合わせて、リスクファクターを示したが、死亡率が 10%以上であった St. 16、19、24 でその値が高い結果となった。また、メタボロミクスから得られた健康リスクファクター (表2)は死亡が確認された St. 16、19、24 で高く、死に至るような影響は胚の代謝にも影響を及ぼしていたと考えて良い。

上記結果から各リスクファクターを総合し、総リスクファクターとして示したものが図 2 のグラフである。ここでは 3 年間で行った全ての結果を掲げる。総リスクファクターが最も大きかった地点は今年度調査を行った St. 19 であり、さらにそれに類した値が St. 24 で得られた。この地点では 10%程度の死亡が観察された他、孵化日数の遅れや、代謝への撹乱など、複合的に影響が誘発されていたためにリスクファクターが高くなった。3 年間の調査を通して、この両地点の底質環境の修復が大阪湾沿岸環境の中でも最も必要としているといえる。また、St. 16 も高いリスクを示した。今年度、生物影響リスクが高い地点は堺市、泉大津市、泉佐野市周辺に分布していたが、その要因はこの 3 市周辺の工場地域に由来する可能性がある。また、初年度の調査で高いリスクファクターを記録した St. 1 は淀川からの化学物質負荷が大きいために生物影響リスクが高いと考えられたが、今年度の調査で影響が見られた地点とこの St. 1 では影響を誘発した化学物質種や要因が異なる可能性がある。

#### 4. 本研究の総括

本研究ではヒメダカ胚を用いて、大阪湾一縁の底質影響評価を行った。その結果、淀川河口域、神戸市、堺市、泉佐野市、泉大津市周辺にリスクの大きな地点があることが分かった。全調査を通して大阪湾底質は局所的にリスクが高い地域があるものの、一時よりもその環境はかなり改善していると思われた。今後は今回調査できなかった場所での調査を試みると共に、さらに発展的に海産魚胚による影響評価を行うこと、影響要因となる化学物質種を探求する、などを予定している。特に今回は淡水魚胚を用いたが海産魚胚を用いればその感受性が異なるため、さらに新たな影響リスクが見出せるかもしれない。この3年間に得られた結果を、今後の大阪湾底質で生物リスクが高い地域の底質改善に役立てられれば幸いである。

図8 各調査地点における総リスクファクター(黒い棒グラフのリスクファクターは左縦軸、白いグラフは右縦軸が数値を示す。グラフ上の数字はリスクファクター)



## 大阪湾における残差流系の現況と埋立の影響に関する実証的研究

中谷祐介 1), 西田修三 2)

- 1) 大阪大学大学院工学研究科 助教
- 2) 大阪大学大学院工学研究科 教授

#### 1. はじめに

大阪湾では沖ノ瀬環流,西宮沖環流,東岸恒流帯などの残差流系が存在し,湾スケールの物質輸送や生態系に重要な役割を果たしていることが知られている。大阪湾の残差流系については 1980~2000 年代に現地観測と数値実験を両輪とした研究が進められ,例えば藤原ら <sup>1)</sup>や中辻 <sup>2)</sup>に多くの知見が整理されている。しかし,当時から数十年が経過し,今日に至るまでに神戸空港島,関空二期空港島,神戸沖・大阪沖埋立処分場などの人工島が新たに出現したことで,残差流系は大きく変貌した可能性が考えられる。しかし,残差流系の現況と埋め立てによる流動・水質構造の変化については明らかにされていない。

筆者らはこれまで、大阪湾沿岸の地形改変が港域スケール・湾灘スケールの流動、水質、物質循環に及ぼす影響について数値モデルを用いた解析を行ってきた<sup>3)</sup>. その結果、地形改変がエスチュアリー循環に起因する循環流(西宮沖環流)を弱化させ、貧酸素域の拡大や物質循環の変化を招くことを明らかにした. しかしながら、特定の外力条件下における数値シミュレーションの結果を得るにとどまり、実測データに基づく検証には至っていない.

本研究課題では、大阪湾における残差流系の現況を把握するために、湾奥部において一潮汐間にわたる流動と水質の現地調査を実施した。さらに、三次元数値モデルを用いた解析により、大阪湾において行われてきた埋立事業の変遷を辿り、長年にわたる埋め立てが流動・水質構造に及ぼした影響について検討を行った。

#### 2. 方法

#### 1) 現地調査

図1に示す湾奥部の6地点において,2016年10月1日に流動と水質の現地調査を 実施した.当日は日潮不等の小さい大潮期にあたり,満潮直前の5:30から次の満潮 直後の20:30まで,2 集体制で各地点を約1時間半に1回の頻度で巡航した.各地点

では超音波ドップラー式流速計 ADCP (Workhorse 600kHz, Teledyne RD Instruments) と多項目水質計 ASTD (JFE アドバンテック)を用いて流速と水質 (水温,塩分,DO 濃度,濁度,Chl.-a濃度)の鉛直プロファイルを計測した.また,表層 1mと 5m の海水を採取し,オートアナライザーAACS-V (ビーエルテック)を用いて窒素,リン,ケイ素の水質分析を行った.

#### 2) 数値シミュレーション

三次元数値モデル (ECOMSED+RCA) を用いて流

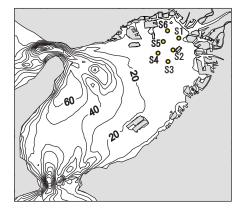


図-1 調査地点

動と水質の再現シミュレーションを行い、現地観測結果と比較することでモデルの再現性について検討を行った. 気象条件は沿岸8地点における地上気象観測データを基に設定し、風場についてのみ Kriging 補間により求めた空間分布を与えた. 陸域からの流入条件は河川、下水処理場、事業場、浄化槽からの流量・負荷量を45河川に集約して与えた. 開境界では実測潮位変動を与えるとともに、境界付近における水質の観測データを基に設定した. 水-底泥間の栄養塩溶出フラックスおよび酸素消費フラックスは、水温の他に強熱減量、硫化物濃度、大型底生生物量といった底質性状に依存したパラメトリックな速度式を基に算出し空間分布を考慮した. ECOMSED では鉛直渦動粘性係数の評価にMellor-Yamada 2.5 モデルを用いているが、現地観測によって得られた塩分と流速の鉛直プロファイルの変動について、計算結果が観測結果とよく一致するように鉛直渦動粘性係数のバックグラウンド値の調整を行った.

次に、無風・平水流量条件下において、実際の埋め立ての変遷を辿って地形条件のみを変更した場合の計算を行い現況地形条件の結果と比較することで、長年にわたる埋め立ての影響を評価した。大規模な埋立事業が行われた時期を考慮して、現況地形(2016年)の他に4ケースの過去地形(1946年、1967年、1984年、2000年)を対象に計算を行った。

## 3. 結果と考察

## 1) 現地調査

図-1 に塩分および東方・北方流速の鉛直分布の時系列を示す。湾奥部の表層には降雨出水による低塩分水が拡がっており、強固な塩分躍層が形成されるとともに、いずれの地点においても成層界面以深では潮汐変動が卓越していた。

図-2 に各水深における残差流の水平分布を示す. S1, S2, S6 では表層を沖合へ流出

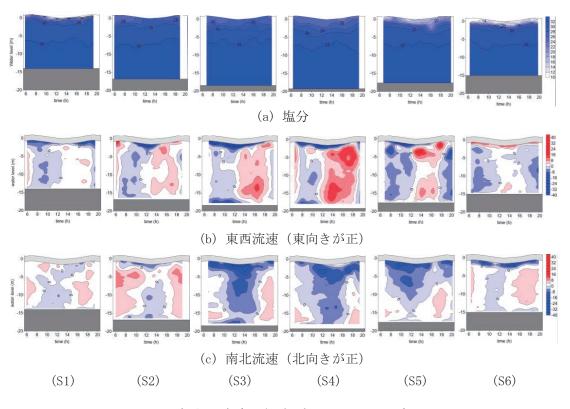


図-2 塩分・流速の鉛直プロファイルの時系列

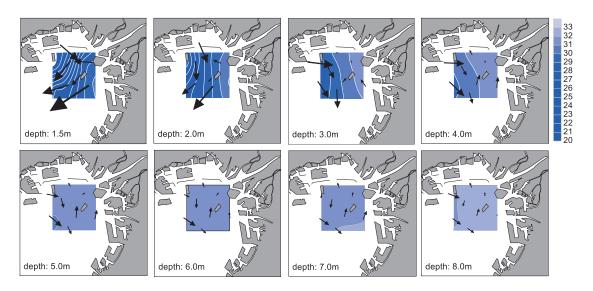


図-3 各水深における残差流と塩分の水平分布

する河川水の補償流が水深 3m 以深においてみられ,エスチュアリー循環が形成されていることが確認された.一方,沖合に位置する S3 と S4 では水深 2m 以浅において河川水の流出に伴う強い南西流が発生しているが,水深 3m 以深では南東方向の流れとなり,下層に向かうにつれて流速が小さくなっている.また,いずれの地点においても残差流の鉛直分布に時計回りの変向が生じていることから,潮汐や密度差に加えて地球自転の効果が湾奥部の流動場に強く作用しているものと考えられる.

既往研究により報告された淀川河口付近を横切るような残差流(西宮沖環流)は、今回の現地調査では確認されなかった。かつて西宮沖環流がみられた海域に現在は複数の人工島が建設されていることを踏まると、環流が移動・変形した可能性が考えられる。一方、淀川河口付近に近年造成された人工島の沖合側では、これまでにはみられなかった強い南東向きの残差流が観測され、湾スケールの物質輸送に大きな影響を及ぼしているものと考えられた。本研究では一潮汐間の現地調査を実施したが、今後より長期間の流動水質観測を行い、残差流の実態とその物質輸送能についてより精度の高い詳細な解析を行うことが重要である。

#### 2) 数値シミュレーション

既往研究で報告されたとおり、降雨出水時に淀川河口から流出した河川水が北部港湾沖を西流する様子が、再現シミュレーション結果において確認された. しかしながら、近年建設された人工島によってその流れは押し留められ、湾奥部に低塩分水塊が滞留しやすくなっていることが明らかになった.

無風・平水流量条件下における残差流と塩分の水平分布について、地形条件の違いによる比較を図-4に示す。淀川河川水は過去地形では河口から北岸に沿って流れているが、北部港湾域の整備に伴い淀川河川水の大半は防波堤の沖側を拡がるようになるなど、埋め立てによって低塩分水の挙動が大きく変化している様子が窺える。また、過去地形では湾奥部の中層に高気圧性循環と考えられる岸に沿った大きな時計回り循環流が形成されているが、埋め立てが進行するにつれて循環流は中心位置を徐々に沖合に移動させるとともに弱化している様子が確認できる。

このように、埋め立てが進行するにつれて、成層界面付近にみられる時計回り循環流の位置が沖合に移動するとともに環流の規模が縮小することが数値計算によって示された.このことは現地観測で得られた結果とも矛盾がなく、埋め立てによって湾ス

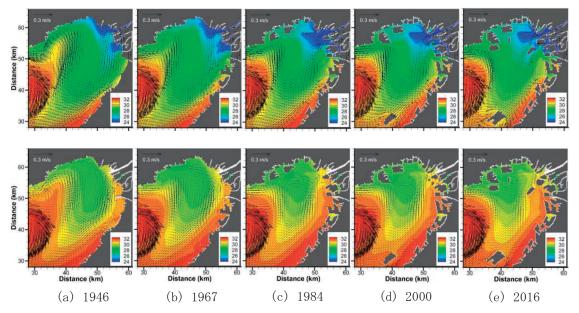


図-4 埋め立てによる残差流と塩分の変化(上段:水面下 1m, 下段:水面下 3m)

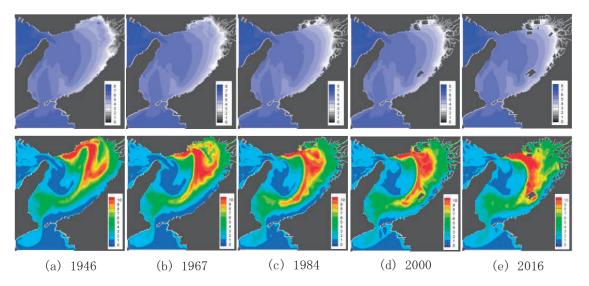


図-5 埋め立てによるChl.-a (上段, 水面下 lm, μg/L) とDO (下段, 最深層, mg/L) の変化

ケールの重力循環が変化し残差流系が弱化した可能性は高いと考えられた.

表層 Ch1. -a と底層 DO の濃度分布について、地形条件の違いによる計算結果の比較を図-5 に示す. 埋め立て地の周辺では閉鎖性が強くなり、貧酸素化が進行する傾向がみられる一方で、湾奥部では過去地形においても貧酸素水塊が形成されており、埋め立てが進行する以前から成層化により貧酸素化しやすい海域であったと考えられた. また、数十年にわたる埋め立てによって潮汐フロントの位置や形状は徐々に変化しており、その結果、湾内における一次生産の量や分布も大きく変化したことが計算結果より示唆された.

#### 参考文献

- 1) 藤原ら:大阪湾東部上層水の交換時間と流動特性,沿岸海洋研究ノート,1994.
- 2) 中辻:大阪湾における残差流系と物質輸送,水工学に関する夏季研修会,1995.
- 3) 中谷ら: 大阪湾沿岸の地形改変が水・物質循環に及ぼす影響, 土木学会論文集 B2, 2016.

# 大阪湾底泥における珪藻類休眠期細胞の分布・発生とそれに基づい た有益・有害ブルーム識別評価

〇石井健一郎(京都大学地球環境学堂研究員) 山口晴生(高知大学農林海洋科学部准教授) 松岡數充(長崎大学名誉教授・(株)Seed Bank 顧問)

#### 1. 研究目的

大阪湾では珪藻類や渦鞭毛藻類がしばしば大規模なブルームを形成しているが、そのシードをはじめとしてブルーム形成要因は未だ不明である。今年度はそれらの初期発生場を明らかにするために精密調査法をフィールドに援用して海底堆積物中の珪藻休眠期細胞の種組成と密度を明らかにすることを目的とした。合わせてこれまで貝毒原因プランクトンとして注目されてきた Alexandrium tamarense や A. catenella などの渦鞭毛藻シストの分布状況も明らかにする.

#### 2. 研究方法

サンプリングは 2016 年 10 月 13, 14 日に大阪湾 12 地点で行った (図 1)。 各点でエクマンバージ採泥器もしくは 改良型 TFO コアラーを用いて採泥し、 表層約 2cm を分取し、黒色プラスチッ ク容器へ移し、研究室まで冷暗状態で 運搬し、分析開始まで 15°C で保存し た。

## <底泥含水率の測定>

休眠期細胞やシスト産出量を堆積物乾燥重量で表現するために堆積物の含水率を以下の方法で求めた.空のペトリ皿の重量を測定後、よく撹拌した底泥試料(冷凍の場合は溶解後)をスプーン

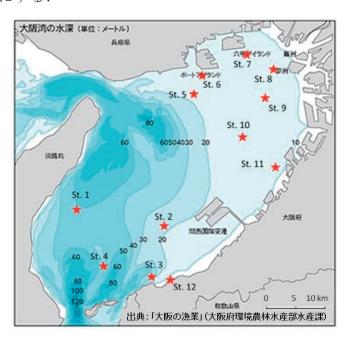


図1;試料採取地点

で 1g を添加、ペトリ皿を含めた全重量を求めた。次に、定温恒温乾燥機 (EYELA 製 NDO-400) にペトリ皿ごと移し、 70°C、 12 時間で乾燥させ、 冷却後再び全重量を 測定した。 試料の含水率は乾燥前後の底泥重量の差から以下の式を用いて求めた。

 $V = \{ (Wm - Wd) / Wm \} \times 100$ 

V : 含水率(%)、 Wm : 湿状態の重量(g)、 Wd : 乾燥状態の重量(g)

<珪藻休眠期細胞の抽出と観察>

試料採取後直ちに冷暗所 (15°C) に移し、2ヶ月以上保存することで栄養細胞の生残する可能性を排除した。試料をそのまま観察すると鉱物粒子等の影響で観察が困難であるため、試料1 g (湿重) を目合い100 μm及び20 μmと10 μmの篩を用いてサイズ分画を行なった後、目合い20 μm及び10μmの篩上の残渣物を10 mL の濾過滅菌海水に懸濁し、

その中の珪藻類休眠期細胞を対象に種同定と計数を行った。観察の過程で、種同定が不可能と判断された休眠期細胞については発芽・復活実験に供し、得られた栄養細胞の形態に基づいて種を確定した。発芽・復活実験は、キャピラリー操作によって単離した当該細胞を、培養液(ダイゴIMK;日本製薬KK)で充たしたチャンバースライド(Matsunami Glass, Osaka)に収容して培養した(培養温度20°C、光条件50 $\mu$  molphotons m<sup>-2</sup>sec<sup>-1</sup>、24 時間明期)。その後、培養状況が良好な種については、培養株として確立し維持した。

<渦鞭毛藻シストを含むパリノモルフの抽出と観察>

Matsuoka et al. (1989) に従って試料を処理し、検鏡用試料を調製した。100 ml 容量のテフロン製ビーカーに底泥試料を分取し、湿重量を測定した。次いで蒸留水を90 ml 程度入れ、塩抜きのため 1 晩放置した後、上清みを捨てた。新たに蒸留水を70 ml 程度入れ、約 10%塩酸を 10 ml 加え、炭酸カルシウムを除去した。1 日静置した後、上清を除去、蒸留水を加える作業を繰り返して中和した。その後、ビーカーに蒸留水を70 ml 程度入れ、約 20%のフッ化水素酸を 10 ml 加え、珪酸質粒子を除去した。 1 日静置した後、前述の方法で中和した。次に、超音波処理でシストの付着物を取り除き、目合い 125 μm のステンレス製の篩と目合い 10 μm の篩で分画した。目合い 10 μm の篩上の残渣を蒸留水で 10 ml にメスアップした後、プラスチックバイアル瓶へ移し、濃縮精製試料とした。濃縮試料を十分に攪拌した後、適量ピペットでスライドグラスに取り、観察した試料の重量を測定した後、カバーグラスをかけ、正立顕微鏡 (DN-107T, AsOne) を用いて 400 倍でシストの同定・計数をおこなった。

## 3. 研究結果

#### <珪藻休眠期細胞>

12 属 21 種以上の珪藻休眠期細胞が産出した。中でも Chaetoceros 属が 11 種と最も多かった。産出休眠期細胞密度は 641cel1s/g (St. 5)から 18157 cel1s/g (St. 8)で、全地点平均では 6621cel1s/g であった。珪藻休眠期細胞産出密度は湾南部の St. 1-4, 12 では 3281 cel1s/g であったのに対して湾北部の St. 5-11 では 9008 cel1s/g であった(図 2)。今回の調査では、当初大量に出現すると予想していた Skeletonema 属休眠期細胞はほとんど確認されず、12 地点中わずかに 3 地点 (St. 2, 7, 11) で極めて低密度で産出した。これに対し、

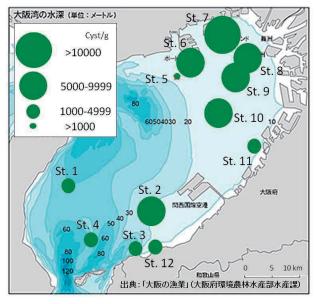


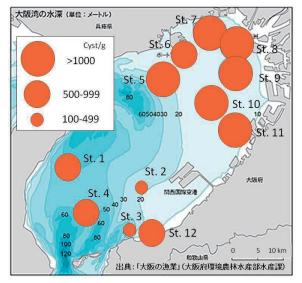
図 2; 珪藻休眠期細胞分布

Chaetoceros 属の休眠期細胞は全地点で存在が確認でき、特に湾北部において種数、細胞数ともに多かったが、これらも低密度であった。今回得られた最も高密度の種は Chaetoceros didymus で、1600 cells/g であった。また、湾北部においては発芽能の無い、いわゆる死んだ休眠期細胞が大量に存在している地点があった。特に、St.9 で

は Chaetoceros 属休眠期細胞の 90%以上が死んだ状態の細胞であった。

## <渦鞭毛藻シスト>

18 属 43 種以上の渦鞭毛藻シストが産出した。 Gonyaulacales の 3 属 10 種、Gymnodiniales の 2 属 4 種、Peridiniales の 16 属 39 種であった。これらの中には対応するプランクトンが未確認のPeridinialesの種も多数含まれていた。産出シスト密度は 1836cyst/g (St. 3) から20657cysts/g (St. 8) で、全地点平均では7974cyst/gであった。渦鞭毛藻シスト産出密度は湾南部の St. 1-4, 12 では 2625 cyst/gあったのに対して湾北部のSt 5-11



cyst/g あったのに対して湾北部のSt. 5-11 図 3; *Alexandrium tamarense/catenella* では 11796 cyst/g であった。 シスト分布

貝毒原因種である Alexandrium tamarense/catenellaシスト (無色で長楕円形のシストは Alexandrium tamarense, A. catenellaが形成するが、形態のみでは両種を識別することが出来ないので、本論では合わせて Alexandrium tamarense/catenellaシストと表現した)のシストは全地点で136 cyst/g (St. 3)から3610 cyst/g (St. 7)の範囲で産出した(図 3)。光合成種から構成されていた Alexandrium tamarense/catenellaシストを除くGonyaulacales は湾南部で平均526 cyst/g、湾北部で1076 cyst/g、従属栄養性種を主とするPeridinialesとGymnodiniales は湾南部で平均1289cyst/g、湾北部で1076 cyst/gであった。有毒種 Lingulodinium polyedrumシストは少量(48-190 cyst/g)湾北部で産出した。光合成種と従属栄養性種シストの比率は湾全体で従属栄養性種シストが54.7%を占め、湾南部では55.4%、湾北部では66.9%であった。

#### 4. 考察

大阪湾では平成 21 年度に『大阪湾圏域の海域環境再生・創造に関する研究助成事業』において、香川大学の多田邦尚氏らのグループを中心に、大阪湾に出現する珪藻類の季節・経年変動に関する研究が行われた。その結果、近年の栄養塩類の減少と水柱内の光透過量の増加により、これまで大阪湾で優占してきた Skeletonema 属が淘汰され、代わって Chaetoceros 属が優占していく可能性が室内実験に基づいて示唆された。しかしながら、近年の大阪湾での珪藻赤潮発生状況は、例えば平成 28 年度では依然として Skeletonema 属を優占種としており、 Chaetoceros 属を優占種として発生する赤潮は稀である (大阪府立環境農林水産総合研究所大阪湾赤潮発生情報 http://www.kannousuiken-osaka.or.jp/suisan/gijutsu/akashio /index.html)。このような状況に鑑みると、現在でも水柱で形成された Skeletonema 属の休眠期細胞が大量に大阪湾の海底に溜まっており、それらが次回の赤潮形成のシードポピュレーションとして機能していることが予測される。ところが今回の調査では Skeletonema 属の休眠期細胞は極めて低密度でしか検出されなかった。この原因として、今回我々が

調査を行った 10 月 17 日前後には大阪湾北部で Skeletonema 属珪藻赤潮が発生していたことから、海底堆積物中の Skeletonema 属体眠期細胞が栄養細胞の出現に寄与した結果であると考えられる。しかし、海底堆積物中の Skeletonema 属体眠期細胞が全て水柱へと放出される可能性は低く、大阪湾で赤潮を形成している Skeletonema 属は他海域からの移入による可能性もある。これに対して、Chaetoceros 属体眠期細胞は大阪湾全域で検出され、特に湾北部水深 20 m 以浅の試料から多種の Chaetoceros 属体眠期細胞も产していることも明らかになった。死細胞が検出される湾北部の堆積物には硫化水素臭が確認でき、現場海底は還元的環境であったことが予測される。このような還元環境においては珪藻類の休眠期細胞の生残率が下がる可能性がある。後述する渦鞭毛藻類などが形成するシストの多くが還元的環境でも生残可能であることが知られている。このような還元的環境における休眠期細胞やシストの生残率の違いが、大阪湾での赤潮発生機構に大きく影響している可能性がある。

大阪湾では以前より麻痺性貝毒原因種である渦鞭毛藻 Gymnodinium catenatum や Alexadrium tamarense、A. catenella、A. tamiyavanichii の存在が知られているが、 2002 年春季に A. tamarense が増殖してアサリやアカガイ、ヤマトシジミなどが毒化した(濱野ほか 2002、山本 2004)。その後、底泥中のシストが次期増殖のシードとなり得るとの観点から、加えて 2007 年には A. tamarense が湾北部から湾東部にかけて赤潮状態にまで増殖したことを受け、当該プランクトンのみならず、底質中のシスト分布についても大阪湾全域で調査が進められてきた(Yamaguchi et al. 1996、山本ほか 2009)。その結果、2006 年には湾東部沿岸域を中心に湾全域で Alexandrium tamarense/catenella のシストが確認(最大密度 112cysts・cm<sup>-3</sup>; 380cyst/g dry weight)され、ブルーム後の 2007 年にはさらに高密度(5683cysts・cm<sup>-3</sup>; 19596 cyst/g dry weight)で底泥に保存されていることが明らかになった。今回の調査でも Alexandrium tamarense/catenella シストは全地点で出現が確認され、特に湾北部で多産した.これは山本ほか(2009)が指摘した湾北部から湾東部にかけてより多く分布しているという傾向と一致している。以上のことは大阪湾では 2007 年以降も Alexandrium tamarense/catenella が定着していることを示している。

#### 5. 結論

今回の調査では大阪湾の海底堆積物中に存在する珪藻類及び渦鞭毛藻類等の休眠期細胞及びシストの種組成と分布密度が明らかになった。珪藻類の休眠期細胞に関わる調査は、これまで全て最確数法(MPN法)と呼ばれる方法で行われており、得られた細胞密度は推測値に過ぎなかった。本研究で得られた珪藻類の休眠期細胞の種組成と密度は、世界で初めて直接的に得られたデータである。本研究結果では大阪湾北部海域には Chaetoceros 属を中心とした休眠期細胞が多種存在することが明らかになった。同時に、北部海域では多くの有毒藻類 Alexandrium tamarense/catenellaシストも検出された。これらの分布が本海域の赤潮発生にどのように寄与するのか、今後は季節変動を通したさらなるデータの蓄積が必要である。また同時に、珪藻類及び渦鞭毛藻類の長期的な変動を解明することが重要な課題と考える。

# 大阪湾圏域の干潟におけるマイクロプラスチックの存在実態と その化学・生物学的影響

中尾 賢志 1), 尾﨑 麻子 2), 山﨑 一夫 2), 桝元 慶子 3)

- 1) 大阪市立環境科学研究センター 研究員(前大阪市立環境科学研究所 研究員)
- 2) 大阪健康安全基盤研究所 主任研究員(前大阪市立環境科学研究所 研究主任)
  - 3) 大阪市立環境科学研究センター 環境調査担当課長 (前大阪市立環境科学研究所 環境調査担当課長)

#### 1. 調査研究の目的

2016年1月,水産庁は「藻場・干潟ビジョン」を策定し、藻場・干潟の再生と保全を促進する施策を大きく進めた。藻場・干潟は生物生産や生物多様性に大きく寄与しており、窒素・リンといった富栄養化原因物質である栄養塩類の同化作用による浄化機能が注目されている。

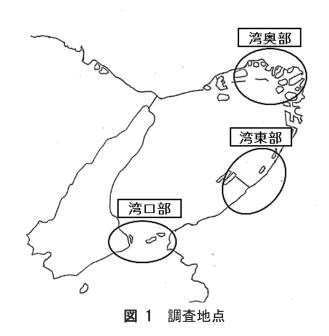
大阪湾圏内には自然・人工の干潟が存在し、大阪湾の水質保全や種多様性への寄与など水質や生態学的に重要な役割を果たしている。しかし、干潟を含む沿岸域は近年世界的に問題となっている「マイクロプラスチック」の供給源となっているという指摘がある。マイクロプラスチックは POPs (残留性有機汚染物質)を吸着・吸収することが知られており、干潟生態系に与える影響が懸念されるが、魚介類や鳥類といった生物に与える影響は未知の部分が多い。

本研究は干潟に多く存在するであろう「マイクロプラスチック」の調査を行い、干潟における汚染実態を定量的に算出することを第一目的とする。初年度は干潟におけるマイクロプラスチックの存在実態を把握することに重点を置き、調査をおこなった。

### 2. 実験材料および方法

#### 2.1 調査フィールドの選定

本研究では大阪湾口,湾東,湾奥の干潟の3ヶ所を選定し,調査をおこなった(図1)。湾口干潟は兵庫県淡路島南東部に位置する成ヶ島の前浜干潟,湾東干潟は近木川河口干潟,湾奥干潟は神崎川河口干潟を選定し,それぞれ2016年8月21日,9月16日,10月14日の干潮時に採泥した。また,各干潟3か所(St.1~3)を任意に選び,干潟表層約10cmの泥を採取した。

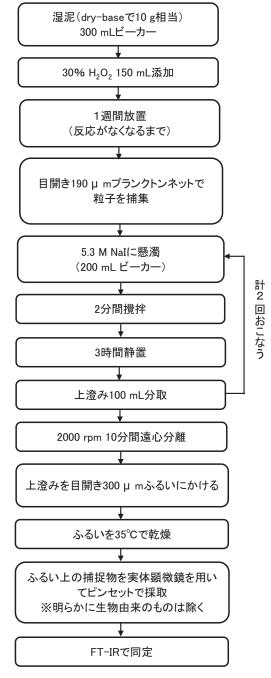


### 2.2 干潟泥の性状分析

採取した干潟泥は底質調査方法[1]によりpHと酸化還元電位 (ORP),含水率,強熱減量を測定した。底質調査方法では前処理として試料を2mmのふるいに通し,3000 rpmで20分間遠心分離した試料の沈殿物を底質として分析する。そのため,5mm以下と定義されるマイクロプラスチックのいくらかは前処理の段階で除去される可能性があるので,前処理を行わない泥試料の含水率も「全含水率」として測定した。後に示す各干潟の各地点でのマイクロプラスチックの個数は乾燥泥10gあたりの個数として示すが,この乾燥泥は底質調査方法の前処理を行っていない試料の含水率を用いて算出した。

## 2.3 マイクロプラスチックの検出

マイクロプラスチックの検出は高田ら[2]の方法を参考、改変しておこなった(図 2)。泥(乾燥重量 10~g に相当)に 30%過酸化水素を添加し、反応がみられなくなるまで有機物を分解した。目開き  $190~\mu$  m のプランクトンネットを用いて粒子を捕集し、5.3~M ヨウ化ナトリウム溶液に再懸濁させた。2~分間攪拌の後3~時間静置し、上澄みを100~mL 採取した。<math>5.3~M ヨウ化ナトリウム溶液 100~mL 採取した。5.3~M ヨウ化ナトリウム溶液 100~mL を追加し、攪拌から上澄み採取の操作をもう一度繰り返して得られた上澄みを2000~pmで $10~分間遠心分離した。上澄みを目開き <math>300~\mu$  m のふるいにとおし、35℃で乾燥させた。ふるい上の5~mm以下の粒子を実体顕微鏡でピンセットを用いて採取し



**図2** マイクロプラスチックの 検出方法

た。採取した粒子はダイアモンド全反射測定(ATR)法によるフーリエ変換型赤外分光分析 (FT-IR)により、データベースのスペクトルとの一致率が 60%以上のものを同定した。なお、2 つ以上の成分が含まれていると考えられる粒子については適宜多成分サーチにてプラスチックを同定した。これらの操作を同一試料につき 2 回おこなった。

### 3. 結果および考察

## 3.1 干潟泥の性状

各干潟, 地点の泥の性状を**表 1**に示した。

# 3.2 干潟におけるマイク ロプラスチックの存在実 態

同定したマイクロプラスチックをポリエチレン(PE),ポリスチレン(PS),ポリプロピレン(PP),ポリ塩化ビニル(PVC),ポリビニルアルコール(PVA),ポリエチレンテレフタレート(PET),その他,に分類し干潟ごとに比較した(図3)。測定値は乾燥泥10gあたりのマイクロプラスチックの個数で表記した。検出したマイクロプラスチックの例を顕微鏡写真で示す(写1)。

比較的人口が少ない湾口部に位置する干潟の泥中のマイクロプラスチックは少なく、干潟周辺や流域の人口が多い湾奥に近づくにつれ干潟泥中のマイクロプラスチックは多くなる傾向にあった。最も多く検出されたのはPEであったが、成ヶ島前浜干潟では検出さ

表 1 各干潟・地点の泥の性状

干潟名	地点	рН	ORP (mV)	含水率 (%)	強熱減量 (%)	全含水率 <sup>※</sup> (%)
	St. 1	7. 48	59.9	18. 10	1. 42	24. 84
成ヶ島 前浜干潟 (湾口)	St. 2	7. 73	140. 3	22. 17	1. 42	23. 44
	St. 3	7. 71	258. 7	16. 96	1. 87	17. 74
	St. 1	7. 68	-142. 3	22. 46	1. 63	26. 50
近木川 河口干潟 (湾東)	St. 2	7. 60	-150. 1	19. 37	1. 20	19. 02
	St. 3	7. 17	-143. 7	37. 64	5. 54	47. 79
44.14	St. 1	7. 47	-12. 0	25. 98	2. 61	25. 63
神崎川 河口干潟 (湾奥)	St. 2	7. 45	-189. 5	30. 46	4. 42	34. 06
222/	St. 3	7. 61	-217. 6	29. 95	3. 87	31. 70

※「全含水率」とは底質調査方法による前処理をおこなわずに測定した含水率のことである。

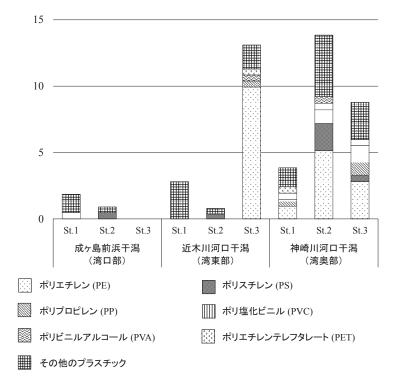


図3 大阪湾口、湾東、湾奥部の干潟泥中のマイクロプラスチック数

れず,人口が多い湾東・湾奥部では検出された。

近木川河口干潟では採取地点により大きくマイクロプラスチック数が異なった。この理由として近木川河口干潟 St.3 は他の地点と比較して河口よりも河川上流部で採取したもので、泥質はヘドロ状であり有機分も他の 2 地点よりも高かったことが原因と考えられる。**図 4** に各干潟・地点の強熱減量(有機分)を示した。有機分が高い地点ほどマイクロプラスチック

数が多い傾向にあったので、強熱減量とマイクロプラスチック数の相関をとったところ高い相関が得られた(**図 5**)。この原因として、有機分が高い泥はマイクロプラスチックを保持しやすく、有機分が低く砂分などが高い泥にはマイクロプラスチックが保持されにくいのではないかと推測された。

## 4. まとめ

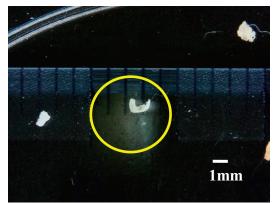
- 1. 比較的人口が少ない湾口部に位置する干潟の泥中のマイクロプラスチックは少なく、干潟周辺や流域の人口が多い湾奥に近づくにつれ干潟泥中のマイクロプラスチックは多くなる傾向にあった。
- 2. 強熱減量(有機分)が高い地点ほど マイクロプラスチック数が多い傾 向にあり、強熱減量とマイクロプラ スチック数の相関をとったところ 高い相関が得られた。
- 3. 有機分が高い泥はマイクロプラスチックを保持しやすく,有機分が低く砂分などが多い泥にはマイクロプラスチックが保持されにくいのではないかと推測された。

#### 謝辞

近木川河口干潟における泥のサンプリングにあたっては貝塚市立自然遊学館の山田浩二研究員にご協力いただいた。ここに記して感謝の意を表す。

## 参考文献

- [1] 環境省 水・大気環境局: 底質調査方法 (2012)
- [2] 高田秀重ほか、柱状堆積物の分析による マイクロプラスチック汚染のトレンド解析、 第 25 回環境化学討論会要旨集, 25, 2B-06 (2016)



**写真 1** マイクロプラスチック (PE) 近木川河口干潟 St. 3

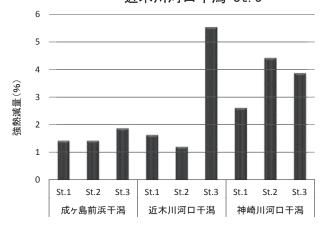


図 4 大阪湾口,湾東,湾奥部の干潟泥の 強熱減量

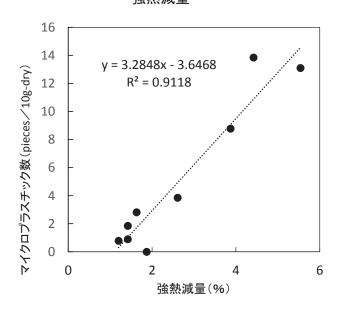


図 5 干潟泥の強熱減量と マイクロプラスチック数の関係

# 大阪湾岸流域における下水道由来栄養塩負荷の影響評価(その3)

## -地下水流入および洪水時フラッシングを考慮した時空間変化の解析-

代表者:小野寺真一(広島大学大学院総合科学研科・教授)

共同研究者:齋藤光代(岡山大学)・清水裕太(農業・食品産

業技術総合研究機構 西日本農業研究センター)・谷口正伸(和歌山大学)

#### [研究目的]

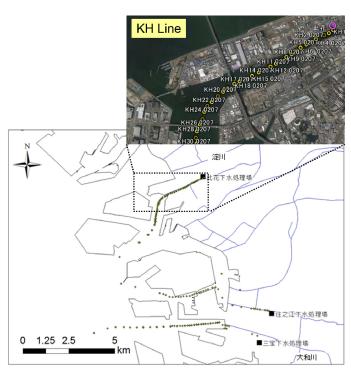


図1 現地調査対象地域

水時を含む現地観測を実施し、水中および堆積物中の栄養塩、安定同位体比の空間分布から下水道由来の負荷の影響を評価し、(2)拡散に加えて潮位変化にともなう移流現象(タイダル・ポンピング、海底地下水湧出)を考慮した堆積物からの栄養塩負荷の推定を行い、(3)以上の結果をもとに栄養塩収支解析を行い、二種類の負荷(①・②)の定量的な評価を試みた。また、(4)下水道管の老朽化にともなう周辺地下水とのインタラクション<sup>2),3)</sup>について、水文流出モデルによる評価を実施した。

#### [研究方法]

### 1. 現地調査および試料分析

大阪湾沿岸に位置する三か所の処理場のうち、特に此花下水処理場を対象により詳細な観測を実施した(図 1)。処理場の処理排水放流口を起点として、沖側に向かう約2.5kmの側線(此花処理場ライン: KH Line)を設定し、2016年7月9日、8月30日および9月17~19日の期間で現地観測を行った。このうち、7月および8月は観測日とその前日に大規模の降雨(それぞれ合計 30mm、148mm)があり、9月は観測期間中(18日~19日)に25mmの降雨があった。その中でも、8月の観測直前の降雨(日雨量145mm)は、2016年の日雨量では最大であった。また、7月および8月の観測日は中潮で、観測は下げ潮時に実施した。9月は大潮から中潮への移行期であり、観測

は下げ潮と上げ潮(午前および午後)時にそれぞれ実施した。現地では、処理場の処理排水放流口を起点とし、数百 m 間隔で CTD センサーによる海水の水温および電気 伝導度の鉛直分布を測定するとともに、海水試料の採取を行った。なお、9 月の観測時は、表層に加えて底層の海水および海底堆積物も数地点で採取した。

海水試料はメンブレンフィルターおよびガラスフィルターで濾過後に栄養塩(窒素、リン、珪素)濃度、酸素・水素安定同位体比( $\delta^{18}$ O・ $\delta$ D)、懸濁態有機炭素(POC)および窒素(PON)量および窒素・炭素安定同位体比( $\delta^{15}$ N・ $\delta^{13}$ C)の定量分析を行った。堆積物試料については、まず遠心分離機を用いて間隙水を採取し、栄養塩濃度の定量分析を行い、堆積物の窒素・炭素量および $\delta^{15}$ N・ $\delta^{13}$ Cの測定も実施した。

#### 2. 堆積物由来の栄養塩負荷量評価

堆積物からの栄養塩負荷について、一次元のタイダル・ポンピングの影響がある場合 (TP) と無い場合 (拡散のみ: N-TP) とを再現し、その変化を確認した。まず、海底堆積物試料を用いたカラム実験を実施し、タイダル・ポンピング (TP) の再現については、堆積物試料の上部に対象地域の潮位変化 (約 200cm) を想定した水圧変化を与え、潮汐にともなう堆積物への海水の出入りを再現した。N-TP と TP の双方について、堆積物直上水の栄養塩濃度変化を 30 日間モニターし、それらの結果から拡散およびタイダル・ポンピングによる栄養塩負荷量を推定した。

また、上記の実験結果を検証するため、一次元の水分、熱、溶質移動を数値計算する Hydrus-1D によるシミュレーションを実施した。TP の再現にあたっては、カラム実験と同様に水圧変化を与えた。それらのシミュレーションを 20 日間継続し、その間の海水栄養塩濃度の変化からフラックスを推定した。

### 3. 栄養塩収支解析

下水処理場放流水および堆積物からの栄養塩負荷の影響について、KH Line (図 1) を対象に現地観測結果に基づく収支計算を行った。晴天時は河川からの流入がほぼ無く、処理区の下水の全てが此花下水処理場へ流入していることから、処理場から排出される処理水を陸側からの入力条件とした。また、大阪湾と接する海側との境界を正蓮寺川水門から直線距離で約 2km 西側に設定し、最干潮時と最満潮時の水深をそれぞれ 5.5m、7m とし、解析領域の幅(南北方向)を 200m と仮定し、潮位変化を考慮した水収支、塩分収支および栄養塩収支を推定した。

#### 4. 下水道-地下水インタラクションの解析

流域内の土地利用 や土壌、勾配などの不均一性を考慮できる Soil and Water Assessment Tool (SWAT) モデルを用い、大阪湾沿岸における下水道と地下水とのインタラクションについて解析を実施した  $^4$ )。まず、大阪市域における地下水涵養量を求めるため、淀川および大和川の下流域を対象に SWAT を構築し、1996 年~2016 年を計算期間とし、そのうち  $1996\sim1998$  年をウォームアップ期間、 $1999\sim2001$  年をキャリブレーション期間、そして  $2002\sim2003$  年をバリデーション期間とした。

## [結果と考察]

(1) 洪水時を含む下水道 由来の栄養塩負荷の影響: 2016 年 8 月における洪水直後の観測結果から、水深約 4m 付近に明瞭な塩分躍層が形成され(図 2)、海水の顕著な酸素安定同位体比(δ<sup>18</sup>O)の低下に加え、表層海水の栄養塩

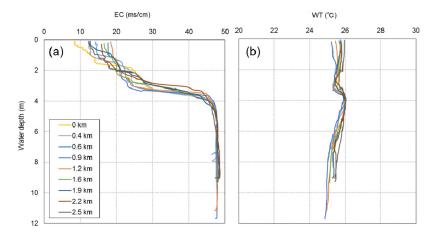


図 2 洪水直後の海水の EC (a) と水温 (b) の鉛直分布

濃度が排水流入点から沖側約 2.5km まで上昇していることが確認された。平水時における処理排水の影響範囲は約 1km であり、洪水時にはその範囲が 2 倍以上に拡大したことになる。また、上げ潮時と下げ潮時の観測結果から、全体的に表層の栄養塩濃度は下げ潮時よりも上げ潮時において高く(図 3a, c)、対照的に底層は下げ潮時に高くなる(図 3b, d)傾向を示した。上げ潮時の観測は最干潮の直後であったため、処理排水の影響が強く表層で栄養塩濃度が高かったと考えられる。一方で、底層の栄養塩濃度が下げ潮時に上昇した原因として、それ以前の上げ潮時に一旦堆積物へ侵入した海水が潮位の低下にともない流出すること(移流過程)による栄養塩負荷が生じていると考えられる。

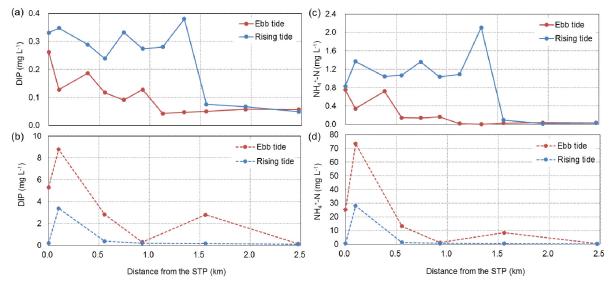


図 3 表層(a, c)と底層(b, d)海水の下げ潮および上げ潮時の DIP と NH<sub>4</sub>+-N 濃度の変化

(2) <u>移流現象を考慮した堆積物からの栄養塩負荷の推定</u>:堆積物からの栄養塩負荷について、拡散のみでなく一次元の移流過程(タイダル・ポンピング)による影響を評価するため、現地の堆積物試料を用いた室内カラム実験および一次元の溶質輸送モデルによるシミュレーションを行った結果、全ての種類の栄養塩について、拡散のみの場合と比較して、水圧変化によるタイダル・ポンピングの影響を仮定した実験のほうが時間とともに濃度が明瞭に上昇する傾向を確認できた(図 4)。その結果

をもとに日単位の栄養塩負荷量を推定した結果、DIP についてはタイダル・ポンピングの影響により負荷量が拡散のみの場合の約6倍に、NH4<sup>+</sup>-Nは約3倍に増加した。

(3) <u>栄養塩収支の検討</u>: 現地での観測結果にもとづき対象領域の栄養塩収支を検討した結果、処理排水の流入量および移流によって海底堆積物を出入りする水の量は、対象領域と沖合との水の交換量の1割未満であるのに対し、堆積物から供給される溶存態の栄養塩量は、少なくとも処理排水由来の供給量の数倍以上に及ぶと推定された。また、

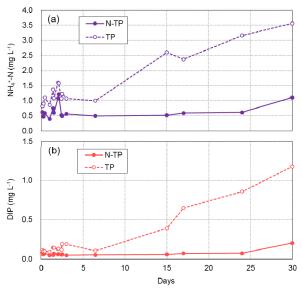


図 4 拡散のみ (N-TP) とタイダル・ポンピング (TP) の影響を再現した場合の NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (a) および DIP (b) の濃度変化

この収支計算にもとづく供給量は、室内カラム実験および一次元のシミュレーション計算(一次元のタイダル・ポンピング)による推定よりも大きな値であった。この結果から、現地で生じている移流過程にともなう栄養塩負荷は、室内実験およびシミュレーションで仮定した一次元の現象だけではなく、観測結果から想定されるような陸域隣接部での海底湧水(海水の再循環)によっても生じていることが示唆される。

(4) 下水道と周辺地下水とのインタラクション: 平均地下水面標高をもとに SWAT モデルによる下水一地下水交流可能域の推定を行った結果 4)、淀川沿いおよび大阪湾臨海部では下水道管への地下水の侵入が、対照的に上町台地周辺部およびそれ以東では地下水への下水の漏水が生じている可能性が示された(図 5)。

## 引用文献および成果論文

- Onodera, S. et al., Nutrient transport and surface water-groundwater interactions in the tidal zone of the Yamato River, Japan. IAHS Publication, 361, 204-211, 2013.
- 2) 齋藤光代・小野寺真一・他 5 名, 大阪湾沿岸地下水と下水道の相互作用について 栄養塩類からみて . Kansai Geo-Symposium 2015 論文集, 2015.
- Ono Institute

  Britishina

  Taunori

  Natahama

  Hirano

  O 1 2 km

図5 推定された下水ー地下水交流可 能域(青:地下水侵入、緑:下水漏水)

- 3) 小野寺真一・齋藤光代・清水裕太,沿岸巨大都市における地下水水質汚染の傾向について. Kansai Geo-Symposium 2016 論文集, 2016.
- 4) 清水裕太・小野寺真一・齋藤光代・谷口正伸・友澤裕介, 大阪平野の浅層地下水環境に及ぼす地下水涵養と下水道の影響. Kansai Geo-Symposium 2016 論文集, 2016.
- 5) 小野寺真一・清水裕太・齋藤光代・他1名, 大阪平野における浅層地下水ー下水道交流量の推定. Kansai Geo-Symposium 2017 論文集 2017
- Kansai Geo-Symposium 2017 論文集, 2017. 6) 友澤裕介・小野寺真一・齋藤光代・他1名, 大阪沿岸地下水における水素・酸素安定同位体比と塩化物イオン濃度の分布特性. Kansai Geo-Symposium 2017 論文集, 2017.
- 7) Saito, M., Onodera, S., Jin, G., Shimizu, Y., 他 1名, Nitrogen dynamics in a highly urbanized coastal area of western Japan: impact of sewage-derived loads. Progress in Earth and Planetary Science, 5:17, https://doi.org/10.1186/s40645-018-0177-6, 2018.

## 大阪湾湾奥の河口域におけるウミニナの復活とその要因解明

大谷壮介<sup>1)</sup> 上村了美<sup>2)</sup> 上月康則<sup>3)</sup>
<sup>1)</sup>大阪府立大学工業高等専門学校准教授
<sup>2)</sup>大阪市立大学大学院工学研究科研究員
<sup>3)</sup>徳島大学大学院理工学部教授

#### [研究目的]

ウミニナは全国的に準絶滅危惧種に指定されている。そのような中、兵庫県御前浜において 2000 年代前半には確認されていなかったウミニナが、近年になって生息が確認されるようになった。このように希少種の生息が確認されることは環境の改善効果があったことが考えられるが、ウミニナが確認されるようになった要因は解明されていない。

そこで、本研究では大阪湾湾奥の河口域において準絶滅危惧種であるウミニナの生態把握および復活した原因の解明を目的とした。ウミニナは東京湾では絶滅寸前であるが、近年、大阪湾湾奥で個体数の増加が確認されており、ウミニナの復活は湾奥での環境改善の兆候の一つとも言え、全国的にも稀有な事例である。そこで、本研究ではウミニナの生息が増加した点を生態的特徴と遺伝子ネットワークの両面から把握する。

特に御前浜におけるウミニナ復活の原因を解明するにあたり、御前浜を含む瀬戸内海を中心とした 11 ヵ所の干潟において、ウミニナの生息環境調査を行うことで生息環境の一般性について定量的な検討を行った。また、同時に、大阪湾および瀬戸内海等におけるウミニナの DNA のミトコンドリアとマイクロサテライトマーカー(SSR)に基づく遺伝子ネットワーク解析を行った。

#### [研究方法]

2015 年 8 月に御前浜において 19 地点においてウミニナの現存量調査を実施した. また,2016 年 3 月から 5 月にかけて,広島県佐方川,岡山県錦海湾,香川県志度湾,兵庫県甲子園浜,御前浜,成ヶ島,大阪府深日漁港,和歌山県和歌川,三重県田中川において,さらに 2016 年 9 月に徳島県那佐湾,大阪府阪南2 区人工干潟の計 11 干潟において広域調査を行った(図-1). 各調査は現地において30 cm×30 cmの方形枠を用いて現存量調査を行った.御前浜調査ではウミニナとホソウミニナが混生しており,小型個体については識別することが難しかったため,両種を併せてウミニナ類とした.広域調査においては他種が混生している地点はなるべく避け,混生している場合は目視によってウミニナであると判断できた個体のみすべてウミニナとした. 各干潟において採集したウミニナの殻長を測定し,個体数を記録した. 特に広域調査では,ウミニナの生息の有無に着目して,それぞれ3地点ずつ調査を行った. また,御前浜では 0RP,

Chlorophyll a 量,含水率,粒度組成(シルト・クレイ,細砂,中砂,粗砂,細レキ,中レキ),強熱減量の5項目,広域調査では0RPを除く4項目の測定を行った.本研究では決定木を用いて,御前浜調査の結果からウミニナ類の個体数の推定,広域調査の結果から生息の有無の推定を行った.



図-1 広域調査の調査地点

DNA 解析用のウミニナは、広域調査と同じ計 11 か所から採集したものと大阪 府尾崎町から 2013 年 5 月に採集したもの、計 12 か所の個体を用いた. DNA 抽 出キット DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN Inc., Germany)のプロトコールに 従って DNA を抽出した. 遺伝子解析は、ミトコンドリア DNA の COI によって種 と遺伝的特徴を明らかにした上で、SSR による集団遺伝子解析を行うことによ り正確性の高い解析を行うこととした. COI のデータからハプロタイプを検出 し,近縁種を加えた系統樹からの種判別,塩基多様度およびハプロタイプ多様 度を計算し、遺伝子特性を明らかにした. SSR 解析では既発表の複数の SSR に ついて予備実験を行い、大阪湾および近海のウミニナについて PCR 効率のよい 12マーカーをスクリーニングし、最終的に8マーカーを解析に用いた.複数の マーカーを一度に効率的に PCR するため,マルチプレックス PCR, touch-down PCR および汎用蛍光プライマー法 (Blacket, 2012) を採用した. SSR では, 個体内 遺伝的多様度、集団内の遺伝的多様度、近交係数および集団間の遺伝的多様度 指数 Shannon's Information Index を計算した. さらに個体ごとの帰属集団を 推測するため、ベイズ法によるクラスタリングを行った.計算条件は、帰属集 団数 K については 1 から 20 までを想定し、シミュレーション回数 100000 の計 算を 10 回行った. これより算出した K および DeltaK の値から Evanno 仮説 (2005)をもとに最適な K を決定した. 集団間の遺伝的距離 (Dmyu)を計算し, デンドログラムを作成した.

#### [結果と考察]

御前浜におけるウミニナ類の個体数を推定する決定木を図-2に示す.図-2より最初に選択されたのはシルト・クレイ率であり、最も個体数が多いと推定さ

れた条件は、シルト・クレイ率が 1.118% より大きく、含水率が 19.43% 未満の条件であり、1  $m^2$  あたりの個体数は 314 個と推定された.

ウミニナの生息の有無を推定する決定木を図-3 に示す. 図-3 より, 図-2 と同様に最初に選択されたのはシルト・クレイ率であった. ウミニナが生息していた条件は,シルト・クレイ率は 0.32 %より大きく,粗砂率は 34.4 %未満,そして含水率は 17.9 %未満の条件であった. これまでにも,底質の選好性に関して,ウミニナは砂質土を好むことが示唆されている.本研究においても選択された環境項目はシルト・クレイ率および粗砂率であったことから,粒度組成がウミニナの生息環境に影響を及ぼしていると考えられる.

本研究では決定木の結果より、シルト・クレイ率は 0.32 %と小さいが、決定木の説明変数で始めに選択されていることから、シルト・クレイ率はわずかでもウミニナの生息に寄与していることが示唆される.

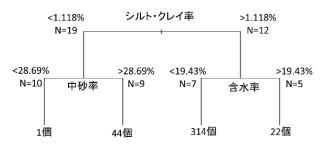


図-2 ウミニナの個体数の決定木

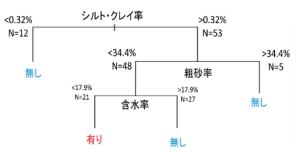


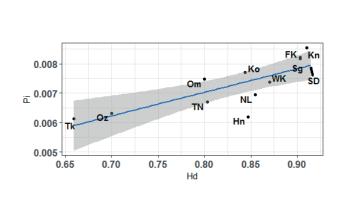
図-3 ウミニナ生息の有無の決定木

ミトコンドリア DNA の COI について解析した 399 個体から 73 のハプロタイプを検出し、すべての調査地点で共通して見られた 2 つのハプロタイプは全体の約 40%を占めていた。甲子園浜では固有のハプロタイプが 2 つだけであり、ハプロタイプの多くを他の集団と共有していた。SSR の近交係数が低いことからも他の集団との遺伝的交流が多いと推測された。大阪湾内と周辺のウミニナ集団のハプロタイプ多様度 (Hd) と塩基配列多様度 (Pi) は正の相関関係にあった (図-4). しかしながら成ヶ島と阪南二区は信頼区間 95%から外れ、Hd に対する Pi は低い値であり、ボトルネック(集団サイズの縮小により、集団内の遺伝的変異が小さくなる現象)を経験した集団であると推測された。造成された阪南二区は、集団の確立からの歴史が浅いことから、新しく集団が確立したときにボトルネックを経験したと考えられる。一方で、自然干潟に近い状態である成ヶ島は集団が長く維持されてきたことから、ボトルネックによる縮小を何度か経験しながら、拡大した集団であると考えられる。

SSR のデータから集団間の遺伝的距離 (Dmyu) を計算し、デンドログラムを作成したところ、大きく3つの枝に分岐した(図-5). ひとつは大阪湾の主な集団が含まれるグループ、2つめは成ヶ島と大阪湾外の集団が含まれるグループ、3つめは志度湾のみであった. この結果から、大阪湾内には、大阪湾奥から大

阪湾東側にかけての集団が連結する「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」が存在すると考えられる. 御前浜および阪南二区にみられたウミニナの新たな局所集団の確立, あるいは消失からの"回復"は, このネットワークが機能したゆえであると推測した.

「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」の特徴は、瀬戸内海の生息地である錦海湾、志度湾、佐方川との連結は強くなく、大阪湾のすぐ外の和歌川とも遺伝的距離が認められ、湾内での連結が比較的強いことである。また、大阪湾西側に位置する成ヶ島は、大阪湾奥・東海岸ネットワークから外れており、この理由として、紀伊水道から流入する友ヶ島反流の影響とウミニナがネットワークを形成するために必要な"飛び石"が少ないことが考えられる。大阪湾東側には、今回の解析を行った集団の他にも、男里川河口や東川河口など、"飛び石"が多くあることから、ネットワークを形成しやすい環境にある。



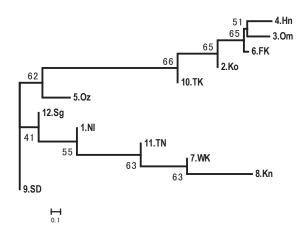


図-4 COI のハプロタイプ多様度 (Hd)と 塩基配列多様度 (Pi)

図-5 集団間の遺伝的距離の デンドログラム

(NL 成ヶ島, ko甲子園浜, Om 御前浜, Hn 阪南二区, Oz 尾崎, Fk 深日漁港, Wk和歌川, Kn 錦海湾, SD 志度湾, Tk 那佐湾, TN 田中川, Sg 佐方川.)

### [結論]

ウミニナの個体数推定および生息の有無の推定のための決定木より, ウミニナの生息環境には粒度組成が影響しており, 特に砂質土を好むことが考えられた. またシルト・クレイ率が決定木において, 個体数および生息の有無の変数として選択されていることから, シルト・クレイの含有がウミニナの生息環境において重要であることが考えられた.

DNA の COI とマイクロサテライトマーカーに基づく遺伝子ネットワーク解析から、ウミニナの集団が集団サイズの縮小により、集団内の遺伝的変異が小さくなる現象であるボトルネックが起こっていることが示唆された. また、ウミニナは3つのグループに分類され、「大阪湾奥・東海岸ネットワーク」によって、御前浜にみられた近年のウミニナの出現または増加は、このネットワークが機能した結果であると推測できた.

# 海洋生物の発する音を指標とした関西国際空港周辺での海域再生 モニタリング

(氏 名) 中村清美

(所属・役職) 神戸市立須磨海浜水族園 学芸員

#### 【はじめに】

低次の生態系を構成する種が減ると高次捕食者もその影響を受け減少するだろう。このことから、イルカやクジラ、大型魚類のような高次捕食者の存在は、その海域の生態系が健全に維持されていることの指標となると考えられる。大阪湾において、スナメリは最高次捕食者であり、遊泳能力も高い。そのため海域の環境変化に対し敏感に反応し、餌生物が減少すれば生息域を変えるなど、その海域から姿を消していくと予想される。一方、魚類やベントスは、汚濁や貧酸素といった環境変化の影響を受けやすい。とくに、移動能力の低い無脊椎動物は環境変化の影響をより受けやすいと考えられる。そこで本研究では、次の2点を目的とする。

- 1. 生物が発する音を利用し、その海域に生息する魚類とベントスを昼夜連続 的に観察し、その動態を明らかにする。
- 2. 得られた生物動態の情報と精密な海洋環境データを比較することで、環境 変動が各生物に及ぼす影響と再生力を検証する。

#### 【方法】

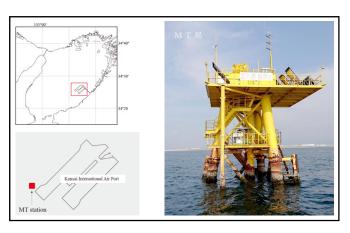


図1. 定点調査実施場所

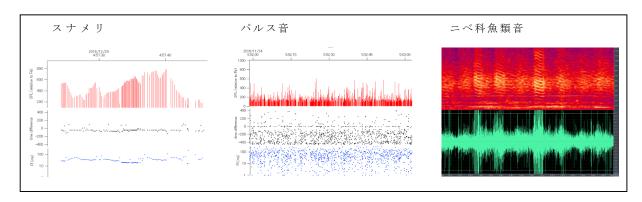
発することが知られている。そこで、本研究では音響データロガーを用いて、生物が発する音を利用したモニタリング調査を実施した。調査は、定点おける長期的なモニタリングと、定点との比較のための短期的なモニタリングとして曳航式音響調査及び底生生物相調査を実施した。

定点調査は関西国際空港島の南西に位置するMT局にロガー設置し(図1)、 2015年12月より開始し、現在も継続中である。曳航式音響調査では2本のマイク ロホンを曳航し音声収録を 4 回実施した。調査日程は、日中の調査として 2016 年 9 月に 1 回、夜間調査として 11 月、12 月、翌年 1 月に各月 1 回で、調査定線は関西空港周辺海域に設定した底生生物相調査は、関西空港周辺に調査定点を 3 地点設定し、石桁網で採集される生物相を調べた。調査は 2016 年 9 月と 12 月に実施した。

#### 【結果及び考察】

#### ■MT局における定点調査

関西空港南西側に位置するMT局において、音響モニタリングを実施した結果、 主にスナメリ、パルス音、ニベ科魚類の音声が確認された(図2)。



#### 図2. 本調査において記録された音声

左から、スナメリ音、パルス音、ニベ科魚類音。スナメリ音とパルス音は上段から受信音圧(Paに比例)、音源方位、パルス間隔(ms)を示す。パルス音の方位(黒点)は下方に偏っている。これは音源が海底方向にあることを示している。魚類音は上段がスペクトログラム、下段が波形である。

#### 1. スナメリ音

2015年12月から2016年6月までは、音数は次第に減少するがほぼ毎日のようにスナメリ音を確認することができた。また、時間帯別の音状況を見てみると、2015年12月から2016年6月までの日中に観察されたスナメリ音は夜間に比べ非常に少なく日周変動がみられた。しかし、7月以降のスナメリ音は激減し、日周変動も見られなくなった。その後、12月に入ると、スナメリ音は次第に増加し、再び日周変動がみられるようになった。さらに、音による探索距離は冬季に短く、夏期に長かった。また、音源方位は、冬季は底方向で、夏期は水平方向で確認された。スナメリ音の出現頻度が高い冬季から初夏にかけては、音で近くを見ながら遊泳しており、夏期は遠くを見ながら遊泳していたと考えられる。このことから、冬季から初夏にかけては、MT局周辺で夜間に餌を探していた可能性が、また、夏期は単に遊泳(通過)していた可能性が示唆された。

#### 2. パルス音

定点調査 (MT局)では調査期間中、底方向から発せられる 160dB re 1uPa p-p を超えるパルス音が多数観察され、季節変動がみられた。2015 年 12 月から 2016 年 5 月にかけては、夜間に多くのパルス音が観察され、6 月から 7 月は終日、多数のパルス音が観察された。その後、9 月から 11 月までは日中に多数のパルス音が観察され、12 月になると再び夜間に多くのパルス音が観察されるようになった。

また、曳航式音響調査では、関西国際空港島の南西側と連絡橋の紀伊半島側で受信頻度が高く、空港島周辺の狭い範囲においてもパルス音の受信頻度に差が生じることがわかった。このことから、大阪湾全体においても、場所によりパルス音の受信頻度に差が生じる可能性が示唆された。

### 3. 二ベ科魚類

調査期間中、二ベ科魚類の音が観察されたのは 8 月のみであった。観察された時間帯は、18 時から 21 時の間が多かった。二ベ科魚類は繁殖のために限られた期間の夜になくことが知られており、本調査において 8 月にのみに音が検出されたのもこのためと思われる。

#### 4. スナメリ音とパルス音

MT局におけるスナメリ音とパルス音の出現状況を比較したところ、スナメリ音が夜間に頻繁に観測される12月から6月までは、パルス音は日中よりも夜間の方が多く、スナメリ音がほとんど観察されなくなる夏期は、終日パルス音が観察された。これらのことから、海中の騒がしさがあるレベルを超えると、スナメリ音の出現が減少していくことが示唆された。

#### 5. 海洋環境との比較

定点観察を実施しているMT局は、国土交通省が実施している大阪湾水質定点 自動観測データ配信システムの 1 つの観測地点となっており、様々な海洋データ が定期的にサンプリングされている。そこで、スナメリ音及びパルス音の出現状 況とMT局における海洋データと比較した。海洋データは、パルス音が底方向か ら発せられていることより、水深 18m のデータを用いた。

スナメリ音の出現が少なく、パルス音が終日観察された2016年7月、8月の水温は、スナメリ音が頻繁に観察された2016年12月から6月までの水温よりも高く、D O飽和度は低く、クロロフィルa濃度も比較的低い値であった。スナメリは哺乳類なので、水温やD O飽和度やクロロフィルaの濃度の影響を直接受けるとは考えにくく、これらの影響を直接受けるものとして、スナメリの餌生物が考えられる。当園のこれまでの調査から、死亡して発見されたスナメリの胃より、魚類の耳石や肉質部、骨格、頭足類のビーク、甲殻類がみつかっている。また、平成28年漁況通報年報(大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター)によると、大

阪湾では夏期にマイワシやカタクチイワシ、ヨシエビや小エビ類等の漁獲が多く、 冬季になると、マイワシやカタクチイワシ等の漁獲は減少し、底魚の漁獲が高い。 これらのことから、スナメリ音の出現には、餌生物が要因の1つとなっている可能 性が考えられるがはっきりしたことはわからなかった。

## ■曳航式音響調査

4回の調査で、スナメリ音は8回観察された。それぞれの内訳は、9月1回(1群1頭)、11月4回(4群4頭)、12月発見なし、1月3回(3群3頭)であった。これらの発見位置を元にカーネル密度推定を行ったところ、関西空港の南西側に多く分布することが示唆された。同様に、調査ライン上でのパルス音の受信数からカーネル密度により面的な受信数を推定した。関西空港の南西側と連絡橋の紀伊半島側で頻繁に認められることが示唆された。

#### ■底生生物相調査

9月の調査では45種類の生物が、また、12月の調査では、54種類の生物が確認された。採集した生物のうち、甲殼類に関して音声収録を試みたが、音の収録はできなかった。

### 【結論】

本研究では、生物を採集することなく、水中音を継続して観察することで、スナメリやパルス音を発する底生生物の季節変動や日周変動を把握することができた。パルス音はその海域における食物連鎖を支えている生態系の下位種の生物が発する音と推測されることから、底生生物の密度や活動度の指標となり、一方、スナメリは生態系の上位種であることから、その生態系の健全性を示す指標となると考えられる。海洋生物の発する音を指標として、関西国際空港周辺での生物動態を部分的にではあるが時系列的に明らかにすることができた。

目視調査やサンプリング調査は、天候の影響を受けやすくさらには調査者の熟練度によって結果に大きな違いが生じるため、結果に様々なバイアスがかかってくる可能性がある。しかし、音響調査では、基本的には24時間365日、天候の影響を受けることなく、生物の動態を調査することが可能であり、加えて、調査時の生物への影響は低いと考えられる。

このような生物の発する「音」を用いた長期モニタリングは、大阪湾では前例が乏しいが、本調査により、従来にない連続的なデータが得られることが証明された。大阪湾は大阪湾水質定点自動観測データ配信システムが整備されていることで海洋環境のデータがそろっていることから、経年的に多点調査を実施することができれば、海洋環境が大阪湾における生物相の季節変動に及ぼす影響を遠隔的に観測できると考えられる。今後、音源の種を特定する作業をすすめることで、音による遠隔観察の対象生物は増えるだろう。