

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30年度実施）成果発表会

大阪湾広域臨海環境整備センター

事務局：特定非営利活動法人 瀬戸内海研究会議

平成31年4月26日（金） 13：30～16：30

ラッセホール 2階 ルージュローズ

目 次

1. 大阪湾沿岸を対象とした薬剤耐性細菌の分布と大阪市内河川からの影響に関する研究
松井 一彰 近畿大学理工学部社会環境工学科 1
2. 超高解像度衛星観測データを用いた河川出水時の大阪湾における
河口フロントの移動の可視化と変動機構の解明
小林 志保 京都大学大学院農学研究科 5
3. 大阪湾湾奥の運河での魚類の種多様性向上に向けた生息場創出に関する研究
大谷 壮介 大阪府立大学工業高等専門学校 9
4. 埋立てに伴う地形改変が大阪湾内部生産有機物の堆積過程に与える影響評価（その2）
秋山 諭 （地独）大阪府立環境農林水産総合研究所 13
5. 大阪湾におけるクルマエビ科小型エビ類の資源動態と環境要因の関係性の解明
～主要構成種交替のメカニズム解明を通じて～（その2）
山中 智之 （地独）大阪府立環境農林水産総合研究所 17
6. 大阪湾圏域における微量金属の分布と有毒有害プランクトン発生への寄与（その2）
内藤 佳奈子 公立大学法人県立広島大学生命環境学部 21
7. 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（その3）
石井 健一郎 京都大学大学院人間・環境学研究科 25

大阪湾沿岸を対象とした薬剤耐性細菌の分布と 大阪市内河川からの影響に関する研究

松井 一彰

近畿大学 理工学部 社会環境工学科 准教授

1. 研究の背景と目的

抗生物質を始めとする抗菌薬剤の使用量は年々増加している。日本国内にて2016年時点で使用されている抗菌薬剤の量は、ヒト（人間）用が591.0トン、畜産動物用が669.7トンであり、その他（水産生物用など）も含めると、一年間に1804.3トンが使用されている。抗菌薬剤は細菌感染症による死亡者の減少に多大な貢献をしてきたが、抗菌薬剤に対して耐性を獲得した薬剤耐性細菌の蔓延とそれに伴う感染症の拡大が、近年の世界的な問題となっている。そのような事態を懸念して、2015年5月の世界保健機関（WHO）の総会では、薬剤耐性に関する国際行動計画が採用された。それを受けて日本でも、2016年から2020年の5年間で「薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン」が推進されている。アクションプランでは、「薬剤耐性の動向調査や監視」の項目が掲げられ、薬剤耐性拡大予兆の的確な把握が目標に挙げられている（厚生労働省 2016）。しかし環境中における薬剤耐性細菌の分布や動態については、これまでほとんど明らかになっていない。

本申請研究では、大阪湾湾奥部を調査地として、薬剤耐性細菌と薬剤耐性遺伝子の分布と動態を解明することを目的とした。まず始めに、流通量の多い薬剤であるテトラサイクリンの耐性に関わる3種のテトラサイクリン耐性遺伝子（*tetA*, *tetB*, *tetM*）と、院内感染で問題視されるメチシリン耐性遺伝子（*mecA*）を特異的に定量するための手法を検討した。次に大阪湾湾奥部（24地点）、湾奥部から大阪市内河川にかけて（9地点）、大阪市内河川（6地点）を対象に、テトラサイクリンおよびメチシリン耐性遺伝子の定量とテトラサイクリン耐性細菌の計数をそれぞれ実施した。各地点における調査は4回から5回実施した。本発表では大阪湾湾奥部での調査結果を中心に報告したい。

2. 研究方法

大阪湾湾奥部の調査は、陸上からの採水が可能な24地点にて、2018年8月から11月にかけて数週間毎に計5回の調査を実施した。次に大阪市内を流れる河川から湾奥部への耐性細菌流入の可能性を探る目的で、大川から湾奥部までの陸上からの採水が可能な9地点にて計4回の調査を実施した。また大阪市内を流れる東横堀川と道頓堀川においても、陸上からの採水が可能な6地点を対象に2018年1月より毎月末に調査を実施した。岸よりロープをつけたバケツを用いて試料を採水し、保冷剤を入れたクーラーボックスにて実験室に持ち帰って分析に用いた。

抗生物質テトラサイクリンに耐性を示す生細菌数は、持ち帰った試料水10 mlに

含まれる細菌を孔径 0.2 μm のメンブランフィルター上に濾過捕捉し、フィルターを10 $\mu\text{g/ml}$ のテトラサイクリン（Wako）を含むマッコンキー寒天培地（ダイゴ）上に乗せて30 $^{\circ}\text{C}$ で培養を行い、48時間後に形成されたコロニーの数を求めた。薬剤耐性遺伝子の定量は、孔径 0.2 μm のメンブランフィルター上に濾過捕捉した試料水100 mlに含まれる細菌中のDNAを対象に実施した。濾過捕捉した細菌から、市販のDNA抽出キット（ISOIL for Beads Beating, ニッポンジーン）を用いてDNAを抽出し、DNA中の3種のテトラサイクリン耐性遺伝子（*tetA*, *tetB*, *tetM*）とメチシリン耐性遺伝子（*mecA*）を定量PCR法にて定量した。検出の対象とした各遺伝子のGenBankアクセッション番号と、定量PCRに使用したプライマーとプローブの塩基配列は以下の通りである。

表-1. 定量PCR法の対象とした薬剤耐性遺伝子のGenBankアクセッション番号

Target gene	Gene bank accession number	Definition	gene size	References
<i>tetA</i>	X00006	<i>E.coli</i> plasmid RP1 tetracycline resistance (<i>tet</i>) determinants: resistance gene <i>tetA</i> .	1200 bp	Waters et al. (1983)
<i>tetB</i>	NG_048172	<i>Escherichia coli tet(B)</i> gene for tetracycline efflux MFS transporter Tet(B), complete CDS.	1206 bp	Khachatryan et al. (1983)
<i>tetM</i>	AY466395	<i>Streptococcus pneumoniae</i> strain PN34 TetM (<i>tetM</i>) gene, complete cds.	1920 bp	Del Grosso et al. (2004)
<i>mecA</i>	E09771	The base sequence of <i>mecA</i> DNA (<i>Staphylococcus aureus</i>)	2455 bp	Kono et al. (1995)

表-2. 定量PCRに使用したプライマーとプローブの配列

Target gene	Oligonucleotide	Composition	Product size	References
<i>tetA</i>	tetA-F(Nolvak2013)	5'-TCAATTCCTGACGGGCTG-3'	91bp	Nolvak et al. (2013)
	tetA-R(Nolvak2013)	5'-GAAGCGAGCGGGTTGAGAG-3'		
	probe (tetA-2)	FAM-TCGCACAAAGGCGAAC-BHQ1		This study
<i>tetB</i>	tetB-F(Srinivasan2008)	5'-GAGACGCAATCGAATTCGG-3'	228bp	Srinivasan et al. (2008)
	tetB-R(Srinivasan2008)	5'-TTTAGTGGCTATTCTCTCTGCC-3'		
	probe (tetB-2)	Cy5-ACGGTGTGGGTGCTAT-BHQ2		This study
<i>tetM</i>	tetM-F(Knapp2010)	5'-GGTTTCTCTTGATACCTAAATCAATCR-3'	94bp	Knapp et al. (2010)
	tetM-R(Knapp2010)	5'-CCAACCATAYAATCCTTGTTTCRC-3'		
	probe (tetM-2)	FAM-ATGCAGTTATGGARGGGATACGCTATGGY-BHQ1		
<i>mecA</i>	mecA1-FP(Volk 2004)	5'-CGCAACGTTCATTTAATTTTGTTAA-3'	92bp	Volkman et al. (2004)
	mecA1-RP(Volk 2004)	5'-TGGTCTTTCTGCATTCTGGA-3'		
	probe (mecA1)	Cy5-AATGACGCTATGATCCCAATCTAACTTCCACA-BHQ2		
		R=A,G; Y=C,T		

3. 結果と考察

大阪湾湾奥部における薬剤耐性細菌と薬剤耐性遺伝子の分布状況： 検出される数や検出時期に違いはみられたものの、調査した 24 地点全てよりテトラサイクリン耐性細菌が検出された（図-1）。この結果より、大阪湾湾奥部の沿岸域には、培養可能なテトラサイクリン耐性細菌が遍在していることが示唆される。今回用いたマッコンキー寒天培地は、グラム陰性細菌でかつ大腸菌群が好む培地組成に調整されているため、テトラサイクリン耐性を持つ大腸菌群より複数種の細菌が検出された可能性が高い。

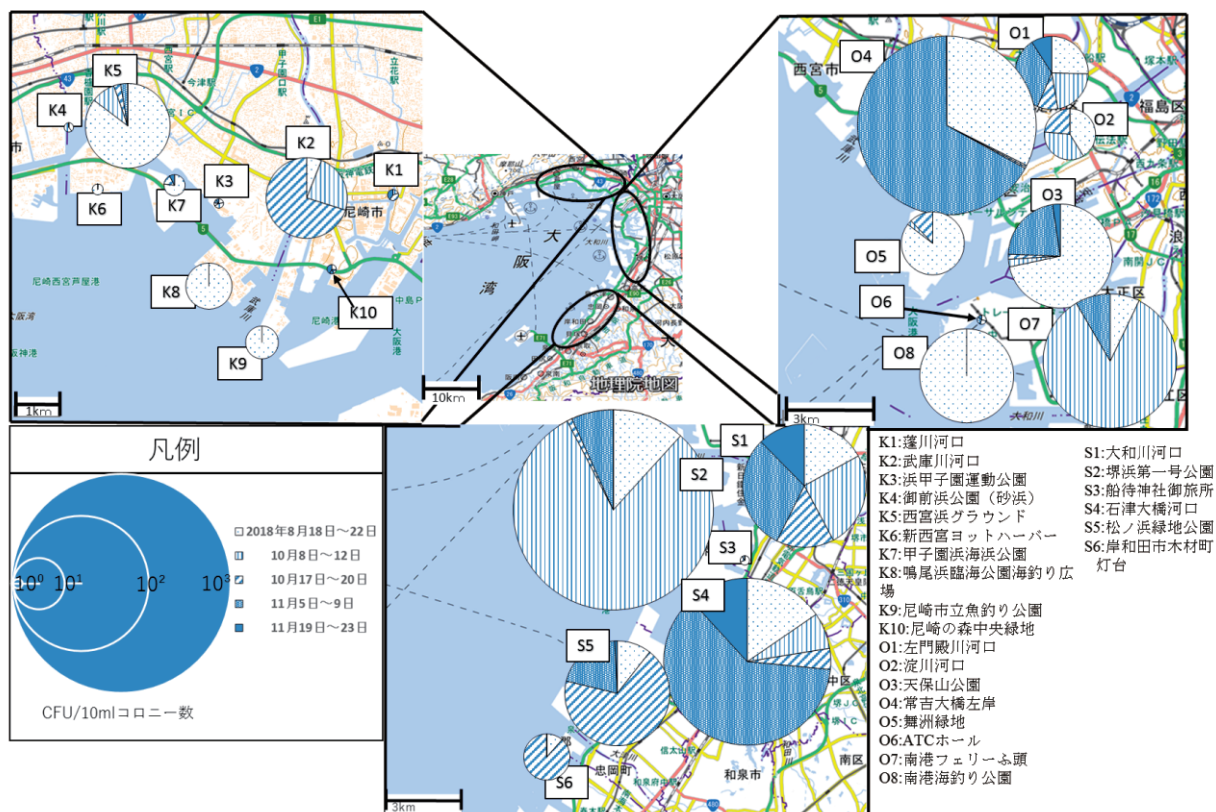


図-1. 大阪湾湾奥部の各調査地点より検出されたテトラサイクリン耐性細菌数と検出時期
 国土地理院の地理院地図 (<https://maps.gsi.go.jp/>) に採水地点を追記して掲載

テトラサイクリン耐性遺伝子 *tetA* および *tetB* 遺伝子は、今回調査した全ての地点より検出された。図-2(左)で示すように *tetA* 遺伝子を例にみると、大阪湾湾奥部に $10 \sim 1,000$ コピー / ml の量が遍在しており、図-1 で示したテトラサイクリン耐性細菌が広く湾奥部に分布している結果と整合性がみられた。蛍光顕微鏡を用いた直接観察によって計数した試料水中の細菌数が約 1×10^8 から 1×10^9 細胞/100ml だったことから、大阪湾湾奥部の沿岸域に生息する細菌群集中の 0.0001%程が、*tetA* や *tetB* 遺伝子を持つテトラサイクリン耐性細菌だと考えられる。一方、*tetM* 遺伝子は、辰巳橋、阪堺大橋、石津大橋のような河口域に設定した地点より多く検出され、海域からはほとんど検出されなかった(図-2(右))。

このように、等しくテトラサイクリンに耐性を示す細菌でも、細菌の生息域によって保持する遺伝子が異なる事が示唆された。*tetM* 遺伝子は、河川の細菌あるいは陸域に生息する細菌が持つ遺伝子であると推測される。また同時に調べたメチシリン耐性遺伝子 *mecA* についても、 $5 \sim 100$ コピー / 100ml の少数ではあるが、複数の調査地点にてその存在が確認された。ヒトの常在菌である黄色ブドウ球菌等における *mecA* 遺伝子の検出例は多いが、野外環境中での分布や動態についてはあまり分かっていない。検出された *mecA* を保持する細菌種や遺伝子の由来について明らかにすることが、今後必要になると思われる。

超高解像度衛星観測データを用いた河川出水時の大阪湾における 河口フロントの移動の可視化と変動機構の解明

○小林志保（京都大学大学院農学研究科）

中田聡史（国立環境研究所）

石坂丞二（名古屋大学宇宙地球環境研究所）

1. 研究目的

河川系水と海水が接する場所に生じる河口フロントが、台風や集中豪雨に伴う河川出水時に大きく移動し、潮汐フロント域への海洋ごみ・赤潮プランクトン等の輸送や集積に強く影響することが知られている。河川出水時における河口フロントの移動を把握することは、出水後に大量に沿岸域を漂流する海洋ごみ等の回収効率の向上に寄与する。

近年、人工衛星の海色センサから得られる有色溶存有機物（CDOM）の光吸収係数（ a_{CDOM} ）が海域の塩分と強い相関を持つことが知られるようになってきている。また 2010 年に運用の開始された静止衛星により、空間解像度 500 m の海色データを 1 時間に 1 回得られるようになっており、大阪湾においても衛星 a_{CDOM} と塩分との間に強い相関関係があることが示されれば、大阪湾における河口フロントの動態を解析するために有用な指標となり得る。

本研究では、台風や集中豪雨に伴う河川出水が大阪湾の環境に及ぼす影響の定量化に寄与することを目指して、静止衛星から得られる高頻度・高解像度の a_{CDOM} データと塩分の関係を現地観測によって調べ、大阪湾において河川出水時における河口フロントの移動を可視化するとともに、その変動機構を調べた。

2. 研究方法

2018 年 8, 9, 10 月に大阪湾全体に設定された 20 定点において(図 1a)、また同年 7/27, 7/31, 9/26, 11/15 に大阪湾奥の観測ライン上に設定した 500 ~ 1000 m 間隔の定点 (図 1b) において、現場観測を実施した。採水とともに、Infinity-CT

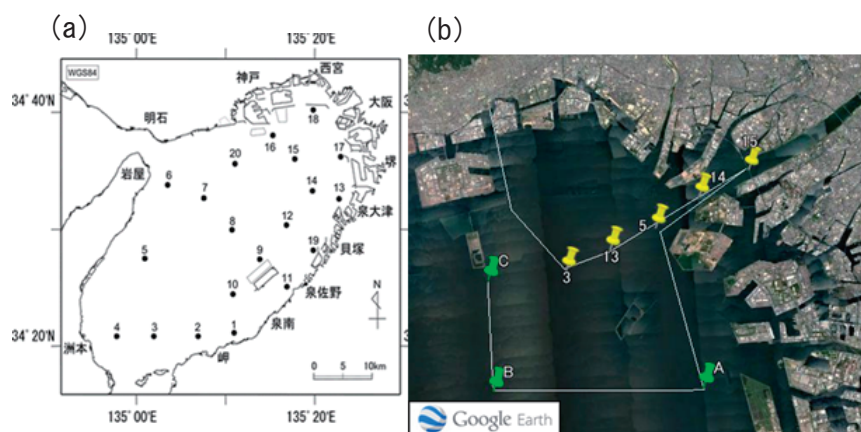


図 1(a) 大阪府立環境農林水産総合研究所の観測定点。(b) 神戸大学実習船「白鷗」による大阪湾奥における現場観測および採水地点。

(JEF Advantech 社)を用いた塩分測定を行なった。採水後すぐに濾過したサンプルを用いて有色溶存有機物による光吸収スペクトルを測定し、 $a_y(443)$ を得た。また、静止衛星 COMS/GOCI の毎時観測によるデータのうち、波長 555, 490, 443, 412 (nm) に

おける R_{rs} をダウンロードし、衛星 a_{CDOM} データを作成した。さらに、2015 年から 3 年間、毎年 5, 8, 11, 2 月に大阪湾全域における現地観測によって得た塩分と $a_y(443)$ のデータセット、および公表された気象、海象データを解析に用いた。

3. 結果と考察

大阪湾への主な流入河川である淀川、大和川および安治川における $a_y(443)$ の季節変化を現地観測により調べた。各河川の $a_y(443)$ は流量や潮時によって多少変化するが、その変化量は河川ごとの違いを上回るほど大きくはなく、淀川ではおおむね 0.4, 大和川では 1.0 程度の値を示すことが明らかになった。また河川水中の $a_y(443)$ と溶存有機炭素濃度との間の決定係数は 0.72 と高く、 $a_y(443)$ は陸域由来の溶存有機炭素濃度に強く依存していることが示唆された。

2018 年に大阪湾奥の南北・東西ライン上に 500 ~ 1000 m 間隔の定点を設定して現地観測を行なったところ、7 月と 9 月には、塩分が急変する地点において $a_y(443)$ も急変し、 $a_y(443)$ が塩分と強い負の相関を示すという結果が得られた。このことから塩分が急変する河口フロントを、CDOM 光吸収係数を用いて高い精度で捉えることができることが示された。また、大阪湾の東岸には、水平スケール 5 km 間隔の定点の測定値の補間または海岸までの外挿では捉えることができない塩分勾配があったことから、水平解像度 500 m の衛星リモートセンシングが有用であることが示唆された。

2015 年から 2018 年の現地観測により得られたデータセット ($N = 467$) を用いて塩分と $a_y(443)$ の関係を調べたところ、塩分が 16 以上の定点については $a_y(443)$ と塩分の間の決定係数 (R^2) は 0.76 と比較的高かった (図 2)。また塩分が 0 のときの $a_y(443)$ の値は 0.97 となり、これは大和川の $a_y(443)$ と近い値であった。一方、塩分 16 以下の定点のプロットは、塩分が 0 のとき $a_y(443)$ が 0.4 ~ 0.6 になるような領域に向かって分布していた。これらの値はすべて淀川河口からその沖に設定した大阪湾奥の定点におけるものであった。上記で求めた河川水の $a_y(443)$ のうち、淀川の値が 0.4 程度、安治川の値が 0.6 程度であったことから、大阪湾奥における $a_y(443)$ は、淀川およびその支川の影響を主に受けていると考えられた。

次に、現場観測で測定した R_{rs} から算出した a_{CDOM} と $a_y(443)$ との関係を解析したと

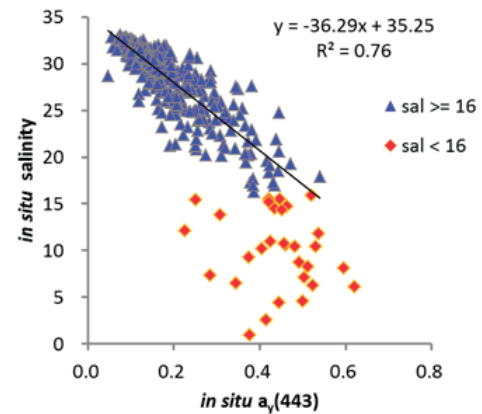


図 2 2015 年から 2018 年に得られた $a_y(443)$ と塩分

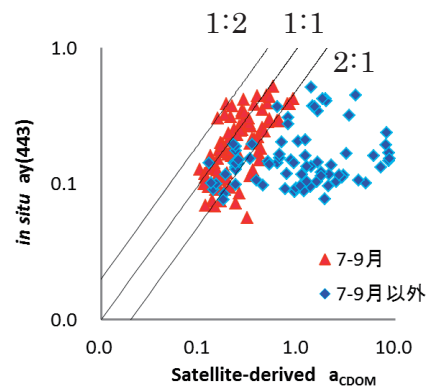


図 3 2015 年から 2018 年の間に得られた実測 $a_y(443)$ と衛星 a_{CDOM} の関係の関係

ころ，下記のアルゴリズム（Moon et al.,2012）を用いた場合に，推定精度が最も高かった．

$$R = \frac{Rrs(412)}{Rrs(555)} \quad \text{estimated } aCDOM(400) \text{ (m}^{-1}\text{)} = 0.2047 * R^{-1.3351}$$

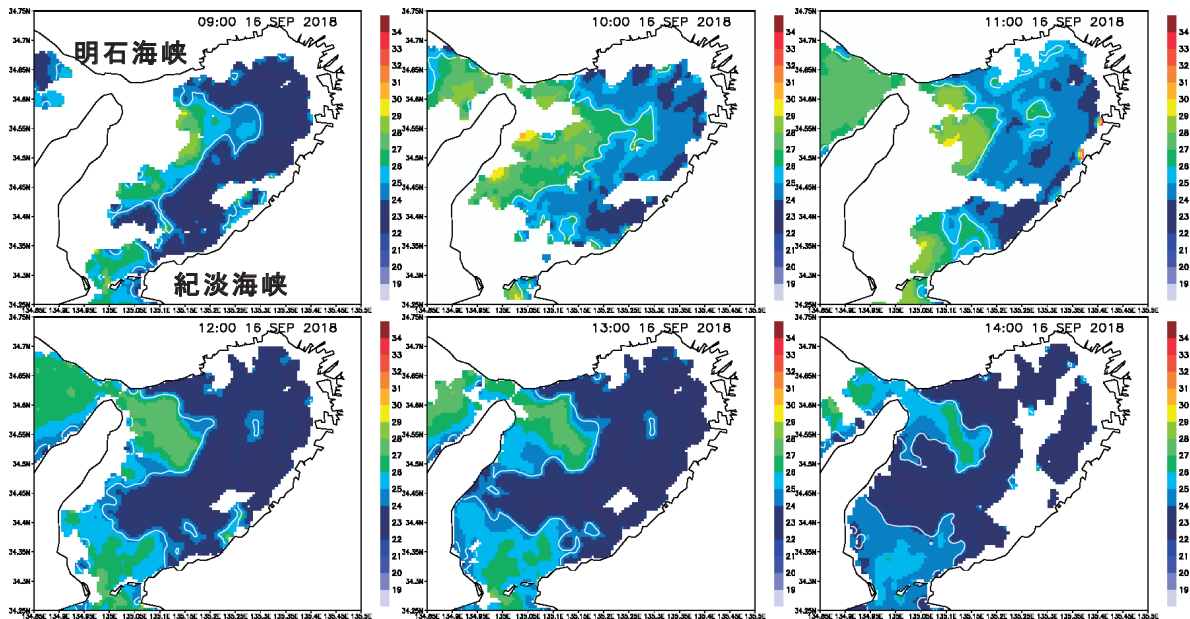


図4 大阪湾における2018年9月16日午前9時から午後14時までの1時間ごとの衛星推定塩分分布．白い太線は塩分フロントを表す．

そこで衛星 Rrs から算出した $aCDOM$ と，2015 年から 2018 年までに大阪湾全域で得られた実測 $a_y(443)$ を比較したところ図 3 のようになり（ $N = 103$ ），7～9 月以外の季節には衛星 $aCDOM$ と実測 $a_y(443)$ の間に相関は見られない一方，7～9 月には，ほとんどのプロットが両者の比率が 1:2，1:1 または 2:1 になる直線上に分布し，正の相関を示した（ $r = 0.71$ ）．

以上のことから，衛星海色センサから得られる $aCDOM$ を用いて大阪湾における塩分分布を推定し，塩分が 16 以上の範囲において河川出水時における河口フロントを可視化できることが示された．そこで衛星 $aCDOM$ を用いて大阪湾における塩分分布を推定し，2018 年の出水時における河口フロントの挙動について調べた．

図 4 に，2018 年 9 月 16 日における 1 時間ごとの衛星推定塩分分布を示した．この約 1 週間前には，淀川の流量は $1000 \text{ m}^3/\text{s}$ 前後で推移していた．9 月 16 日には流量は $300 \text{ m}^3/\text{s}$ 程度に減少していたが，海域には前週に供給された淡水の影響が残っていたと考えられる．また 9 月 16 日は中潮にあたり，午前 9 時から午後 13 時までの間は，上げ潮であった．図中に白い線で示した塩分フロントは午前 9 時には大阪湾中央部にあったが，徐々に西に移動し，午後 14 時には明石海峡付近に見られた．また，大阪湾南部にもやや高塩分の水塊があり，時間とともに徐々に北上する様子が伺われた．前者は上げ潮に伴う明石海峡の潮流渦の退縮，後者は上げ潮に伴う紀淡海峡からの外海側の高塩分水の流入に対応することが示唆された．

すべてのデータを掲載することはできないが，衛星データを用いることにより各年の

7 月から 9 月について 1 時間ごとの塩分分布が可視化され、潮時による塩分フロントの移動が確認された。また、淀川流量が $1500 \text{ m}^3/\text{s}$ を超える期間中には、潮時によらず塩分フロントが南下していく様子が伺われた。河川流量が変化した場合における塩分フロントの移動経路の分類、また風による混合や移流の影響の解析については、今後の課題である。

4. 結論

本研究では、台風や集中豪雨に伴う河川出水が大阪湾の環境に及ぼす影響の定量化に寄与することを目指して、静止衛星から得られる高頻度・高解像度の海色データを現地観測によって検証し、大阪湾において河川出水時における河口フロントの移動を可視化するとともに、その位置の変動と河川流量との関係を調べた。

大阪湾奥に東西、南北に設定した観測ライン上における現地観測の結果から、塩分が急変する河口フロントを、 $a_y(443)$ を用いても高い精度で捉えることができることが示された。また大阪湾の東岸には、水平スケール 5 km 間隔の定点の測定値の補間または海岸までの外挿では捉えることができない塩分勾配があり、500 m ~ 1 km の水平解像度を持つ衛星リモートセンシングが有用であることが示唆された。

2015 年度から 2018 年度にかけて大阪湾表層において得られたすべての塩分と $a_y(443)$ の値($N = 467$)の関係を解析したところ、塩分が 16 以上の場合に $a_y(443)$ と塩分の間の決定係数 (R^2) は 0.76 と比較的高く、また人工衛星海色センサ COMS/GOCI から $acDOM$ を得て実測の $a_y(443)$ と比較し、推定精度を検討したところ、7, 8, 9 月には両者が正の相関を示し、衛星 $acDOM$ は実測 $a_y(443)$ とよく対応することが示された。

以上の結果により、衛星海色センサから得られる $acDOM$ を用いて大阪湾における塩分分布を推定し、7 ~ 9 月に塩分が 16 以上の範囲において河川出水時における河口フロントを可視化できることが示された。そこで衛星 $acDOM$ を用いて大阪湾における塩分分布を推定し、2018 年の出水時におけるフロントの挙動について調べたところ、淀川流量の違いに対応するフロントの位置および形状の違い、潮時によるフロントの位置の違いなどが可視化された。

本研究の成果により、静止衛星の海色データから得られる $acDOM$ を用いて 1 時間ごとの河口フロントの移動を捉えることが可能であることが示された。また大和川、淀川の $a_y(443)$ が互いに常に異なる値を示すことが示され、これを用いることによりそれぞれの河川に由来する物質が大阪湾の各領域の水質にどの程度寄与しているかを推定することが可能になる可能性も示唆された。

今後、衛星 $acDOM$ と実測 $a_y(443)$ の対応関係をすべての月について調べ、どのような季節に、またどのような条件下において衛星 $acDOM$ を用いることができるのかを精査していくことが必要である。また河口フロントの移動には海上風の風向、風速の変化も関与していると考えられるが、衛星データを用いた両者の関係の解析については今後の課題である。

大阪湾湾奥の運河での魚類の種多様性向上に向けた 生息場創出に関する研究

○大谷 壮介¹⁾ 上村 了美²⁾ 上月 康則³⁾

¹⁾大阪府立大学工業高等専門学校准教授

²⁾大阪市立大学大学院工学研究科研究員

³⁾徳島大学環境防災研究センター教授

1. 研究目的

大阪湾湾奥に位置する尼崎港は廃棄物処分場、工場用地のための埋立や防潮堤の建設によって、浅場はほぼ消滅しており、閉鎖的な水域である。さらに最も湾奥に位置する尼崎運河は、陸閘・水門と直立護岸に囲まれているため、流速もほとんどなく、底質はヘドロ化し、壁面は単調なコンクリートや矢板鋼材で囲まれている。そこには二枚貝が優占するなど単調な生物相であり、生物多様性は劣化している状況にある。

一方で、運河域は静穏な汽水域環境であり、過栄養化域であるため、一次生産力の高い運河は魚類の餌資源が豊富である。したがって、運河は魚類にとって重要な稚魚の成育場や再生産の場として、また海水魚や河口魚の生息場として機能していると考えられる。そこで、本研究では現地調査より尼崎運河における水質を計測して、さらにボサ籠、定置網、環境 DNA を用いた魚類相の把握、食物網の解析を行うことで、尼崎運河における魚類の多様性を評価し、魚類と水質の関係を明らかにすることを目的に行った。

2. 研究方法

現地調査は大阪湾湾奥の兵庫県尼崎市臨海部に位置する尼崎運河において実施した。この尼崎運河において、北堀運河、南堀運河、東堀運河において 1 地点ずつ調査地点を選定して、対象区として港湾に 1 地点を追加して合計 4 地点を調査地点とした(図-1)。北堀運河の調査地点は北堀キャナルベース前の水質浄化施設の前面であり、南堀運河は水深 2 m 以浅の浅場が形成されている。また、東堀運河の調査地点は尼崎運河の中でも最も奥まった地点である特徴がある。調査は 2018 年 5 月 12 日、8 月 28 日、11 月 22 日、2019 年 1 月 17 日に実施した。現地において多項目水質計 (HydroLab 社, MS5) を用いて、水深、溶存酸素 (DO)、pH、塩分、酸化還元電位 (ORP) を計測した。水深を把握した後に、各調査地点の上層、下層において 1000 ml の採水ボトルを用いて 3 回の採水を行った。上層は水面より 0.5 m 下の箇所、下層は海底より 1 m 上の箇所で採水用ボトルを用いて採水した。ただし、南堀運河と港湾は水深が浅いため、下層は 0.5 m 上での採水に変更した。採水に使用した採水ボトルは洗浄済の 3L ボトルを用いて各地点の採水層別の水試料を混ぜた後に DNA 分解を抑えるために、すぐに塩化ベンルコニウム溶液 (オスバン消毒液) を水の容量に対して 1% となるように添加した。尼崎運河は過栄養域で懸濁物質が多いため、ガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/F)

を用いて、ろ過量を以下のように変更して実施した．5 月と 11 月のすべての試料は 1000 mL，8 月と 1 月のすべての試料は 500 mL のろ過を実施して，ろ紙を環境 DNA 用分析試料として得た．環境 DNA の分析に関して，DNA 抽出から PCR までの方法は Miya et al. (2015)を参照して，環境 DNA メタバーコーディング法による工程で実施した．次世代シーケンサー解析 (Miseq) を行って，作成した OTU (類似性の高い塩基配列) は，Blast 検索を用いて魚類ミトコンドリアゲノムデータベースと MiFish 用リファレンスの配列と比較し，97%以上の相同性の OTU についてデータベースを照合し，種名を決定した．

運河における魚類相を把握するために，ボサ籠による調査を 2016 年 5 月～2019 年 1 月まで行った．ボサ籠は籠の中に竹，網，木といった素材を入れた垂下式のカゴ (0.5 × 0.4 × 0.4 m) であり，北堀運河の水深 1 m と水深 3 m に設置した．運河における魚類の現存量を把握するために北堀運河および南堀運河において採捕調査を 2018 年 8 月 28 日，29 日に行った．調査は 1 日目に漁具の設置，2 日目に漁具にかかった魚類を回収した．北堀運河では，刺網 (約 25 m × 3 m) を表層と底層，小型定置網，カゴ網を底層に設置した．一方で，南堀運河では刺網 (約 15 m × 3 m) を 1 層，小型定置網，カゴ網を底層に設置して魚類を採捕した．また，両地点において，3 回ずつの投網を実施した．採捕した魚類は現地にて同定した後，種ごとの個体数および湿重量を測定した．さらに，比較的個体の大きな魚類について採捕した魚類の体長を測定後，胃内容物を採取し，ホルマリン固定した．後日，固定した試料は実体顕微鏡下において分析した．また，採捕した魚類を中心に炭素・窒素安定同位体比の分析を行った．

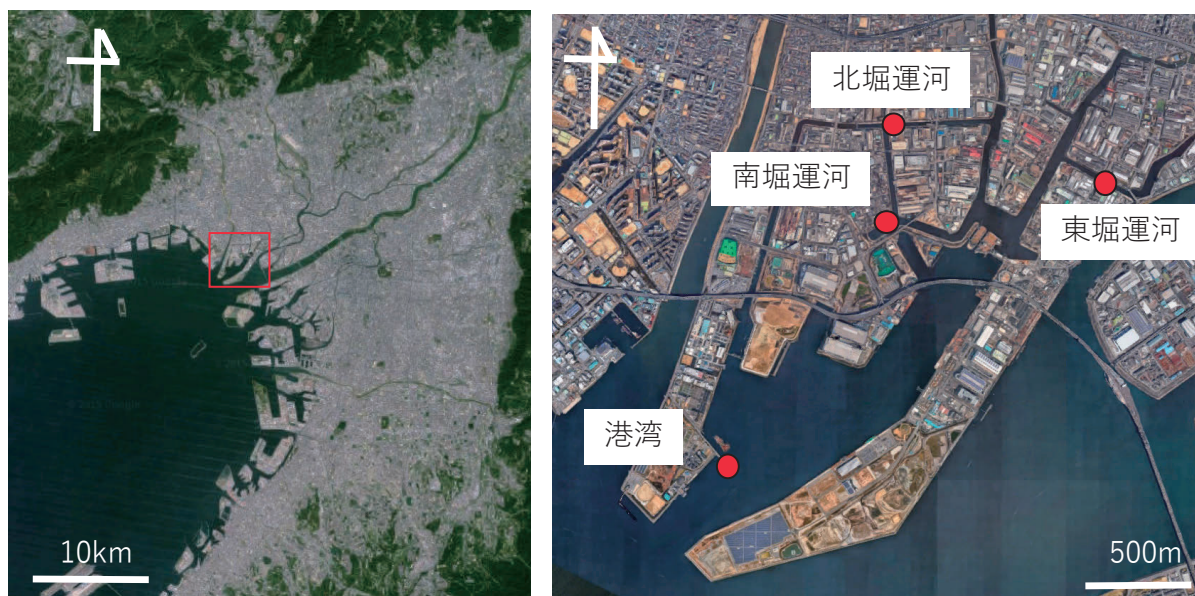


図-1 調査地点

3. 結果と考察

水質の鉛直分布を図-2 に示す．ここでは 8 月と 1 月の ORP と DO を例として示した．図-2 より，尼崎運河における ORP と DO の水質指標について，北堀運河と東堀運河の

両地点の下層では季節を通じて ORP はマイナスの値を示しており，還元的かつ貧酸素状態であり，生物は生息しにくい環境になっていることが示唆される．一方で，南堀運河は 8 月においても酸化的かつ DO は底層でも十分にあることがわかった．

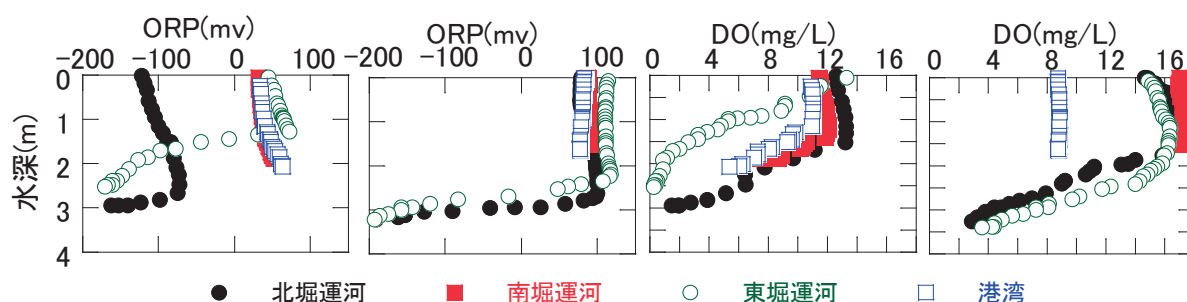


図-2 水質の鉛直分布

定置網調査によって採捕された魚種を表-1 に示す．表-1 より，北堀運河では刺網と投網のみで魚類を採捕することができ，定置網とカゴでは魚類を採捕することができなかった．北堀運河ではコノシロが優占しており，全体で 4 種の魚種しか採捕されなかった．また，その魚類の大部分は上層で採捕される特徴があった．南堀運河では，各網類で魚類は採捕されており，北堀運河で確認できなかったマハゼ，ウロハゼおよびチチブといった底生魚が採捕された．

表-1 定置網調査によって採捕された魚種

採捕網	北堀運河			南堀運河		
	魚種	湿重量 (g)	個体数	魚種	湿重量 (g)	個体数
刺網	コノシロ(上層)	891.5	62	ウロハゼ	26.5	1
	コノシロ(下層)	12.6	1	コノシロ	127.3	7
	スズキ(下層)	46.1	1	マハゼ	55	2
定置網				ウロハゼ	22.9	1
				ギマ	2.9	1
				シマイサキ	1.2	3
				スジエビ	14.1	55
				チチブ	13.6	9
				トウゴロウイワシ	2.6	1
				ヒイラギ	0.2	1
				マハゼ	150.2	17
				ヨシエビ	1.6	1
カゴ				スジエビ	2.2	9
				マハゼ	7.1	1
投網	コノシロ	4.2	2	チチブ	39.2	23
	サッパ	1.7	1	トウゴロウイワシ	51.8	24
	トウゴロウイワシ	5.4	2	マハゼ	30.6	5
合計		961.5	69		549	161

魚類の炭素・窒素安定同位体比を図-3 に示す．食う-食われるの関係を炭素・窒素安定同位体比の関係性に当てはめるならば，マハゼ，ウロハゼおよびチチブのような底生魚はスジエビを餌資源としており，スズキはヨシエビやサッパを餌資源としてい

ることが示唆される．また，スズキを食物網の頂点とした底生系と浮遊系の食物連鎖の存在が示唆される．同時に実施した胃内容物分析の結果より，スズキの胃内容物から 2 匹のエビ類，1 匹の魚類，ウロハゼの消化管からスジエビが 1 匹，チチブの胃内容物から 1 匹のエビが確認されている．このように，炭素・窒素安定同位体比と胃内容物分析の結果から主な魚類の餌資源は一致していると考えられる．

4 回の北堀運河における環境 DNA とボサ籠調査(2016 年 5 月-2019 年 1 月)による魚種の比較を図-4 に示す．図-4 より，環境 DNA 調査で検出された魚種は 13 種，ボサ籠における魚種は 16 種が確認されており，共通種は 5 種であった．したがって，環境 DNA とボサ籠の調査から得られた北堀運河の魚種は 24 種であるため，環境 DNA で検出された確認率は 54%と計算できる．図-4 より，環境 DNA とボサ籠調査の魚類の比較において，底生魚について環境 DNA ではマハゼ，チチブの 2 種であるのに対して，ボサ籠調査では，それらの 2 種に加えてアカオビシマハゼ，ウロハゼ，ヒナハゼ，カサゴおよびシロメバルの合計 7 種が確認されている点に特徴があった．

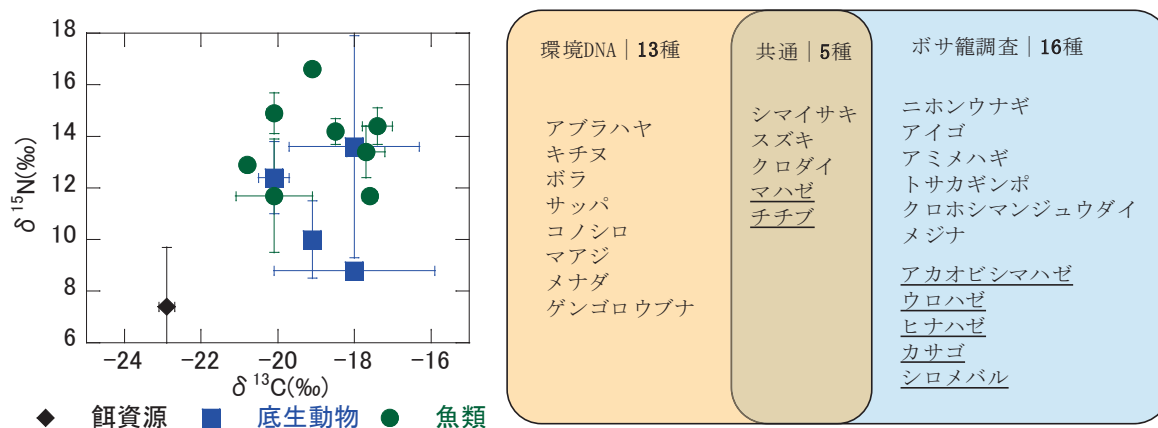


図-3 魚類を中心とした炭素・窒素安定同位体比

図-4 環境 DNA とボサ籠の魚類相の比較

4. 結論

過栄養化した尼崎運河の水質環境からみた魚類の生息場について，北堀運河のような水深の深い地点の底層は還元的かつ DO はほとんどない状態であり，底生魚の生息が難しい環境であることが明らかになった．定置網を用いた現地調査の結果より，北堀運河では底生魚を採捕することができなかったことから水質環境を反映した結果であると考えられる．一方で，南堀運河のように水深が浅ければ，底層でも十分に DO があり，そのような地点では夏季の定置網調査において底生魚を採捕することができた．さらに炭素・窒素安定同位体比を用いて魚類の食物網の解析を行ったところ，浮遊系と底生系の食物連鎖の存在が示唆され，胃内容物調査との結果と比較するとエビ等のベントスが餌資源となっていることが考えられた．したがって，過栄養化した運河における魚類の生息場として，南堀運河のように水深が浅く，底層においても DO があるような底生魚の生息できる環境が望まれる．

埋立てに伴う地形改変が 大阪湾内部生産有機物の堆積過程に与える影響評価（その2）

代表研究者：秋山 諭

（地独）大阪府立環境農林水産総合研究所 水産研究部・研究員

共同研究者：上田真由美¹⁾，田中咲絵¹⁾，横松宏幸¹⁾，常本修¹⁾

中谷祐介²⁾，西田修三²⁾

1)（地独）大阪府立環境農林水産総合研究所，2) 大阪大学大学院 工学研究科

1. 研究目的

大阪湾の水質管理や持続的な水産資源利用のためには，湾内の有機物動態の把握が重要である．大阪湾では，陸域からの栄養塩により生産された有機物が湾内に堆積するとともに，海水流動で沖合，湾外へ輸送される．一方，海面埋立てによる地形改変は，海水流動を変化させることが数値シミュレーションで示されており，湾内で生産された有機物や河川由来懸濁物の挙動や堆積分布の変化が予想される．しかし，これまで湾内堆積物を調べて粒度組成の変化を示した事例はあるものの，有機物の懸濁・堆積の挙動変化は明らかにされていない．

本研究では，層状採取した底質の有機物および重金属の組成・分布を調べ，内部生産有機物の堆積分布を明らかにするとともに，既存データと比較してその変遷を推定する．

2. 研究方法

2. 1. 埋立地周辺海域における表層堆積物の鉛直分布

大阪南港～大和川河口沖に位置する5地点で船上から採泥器により採集した海底表層堆積物について，粒度組成項目（含水率，泥分率，中央粒径値 $Md\phi$ ，淘汰度 σ_I ，歪度 Sk_I ），有機物項目（TOC，TN，C/N 比， $\delta^{13}C$ ， $\delta^{15}N$ ），金属元素項目（Cd，Cu，Zn，Pb，Ni，Mn，Cr，Li）を測定した．また，南港に位置する1地点について，堆積物表面から32 cm 深までの試料について放射性鉛（ ^{210}Pb ， ^{214}Pb ）による年代測定を行った．

2. 2. 既存データを用いた有機物・重金属の時空間分布変遷

過去に大阪湾広域で実施された，有機物もしくは重金属を分析項目に含む堆積物調査結果を学術雑誌や報告書から探索した．また，大阪府が実施する公共用水域の水質等調査結果のうち，底質データを用いて時系列解析を実施した．

3. 結果と考察

3. 1. 埋立地周辺海域における表層堆積物の鉛直分布

湾奥部の比較的閉鎖性の強い海域に調査点を設けたため，昨年度本研究助成により実施した広域調査結果と比べると，有機物，金属ともに各濃度は概ね高め傾向となっ

た．鉛直データの傾向は地点によって異なり，南港では有機物は下層ほど漸減，金属は微増していた（図 1）．また，堺第 7-3 区沖では有機物は顕著な減少傾向，重金属が中層でピークをもつという特徴が見られた．年代測定の結果，平均重量堆積速度は $1.11 \text{ g/cm}^2/\text{yr}$ ，平均堆積速度は 3.11 cm/yr となり，2000 年代以降に推定された大阪湾における堆積速度の中では，かなり高い数値となっており，埋立地によって形成された閉鎖的な環境により流動が制限され，陸域から流入する土砂が堆積しやすい状況となっていることが示唆された．

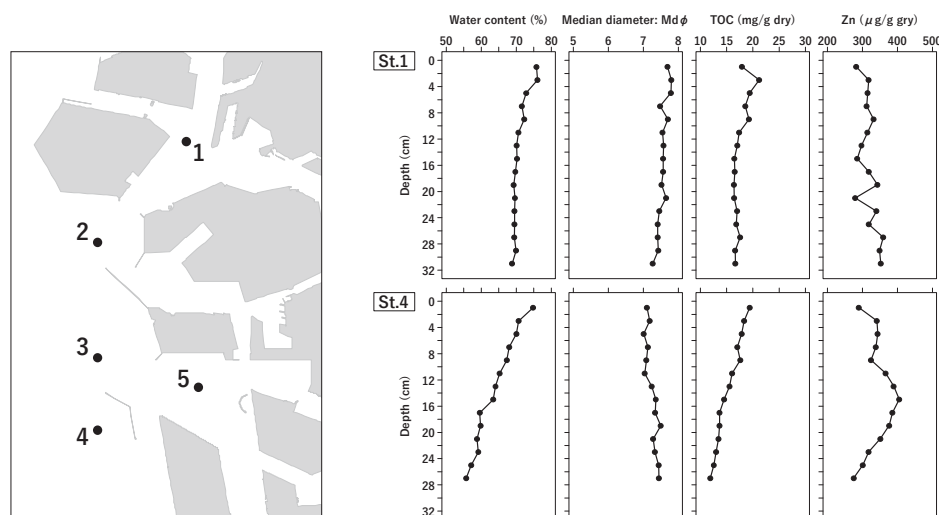


図 1 堆積物採集地点と含水率，中央粒径，TOC，Zn の鉛直分布

3. 2. 既存データを用いた有機物・重金属の時空間分布変遷

1970 年代以降に大阪湾で比較的広域で実施された堆積物調査のうち，結果に有機物もしくは重金属を含む事例をそれぞれ 4 件と昨年度の調査結果から分布変遷を推定した．TOC については，1970 年代から淀川河口沖～神戸沖から関西国際空港周辺にかけて南方に舌状に伸びる海域で高濃度域が，明石海峡や紀淡海峡に近い海域で低濃度域が形成されており，その傾向は現在まで変わらなかった（図 2）．ただし，濃度の絶対値は低下してきており， 15 mg/g dry 以上の高濃度域が縮小を続けており，負荷量規制の影響が水質だけではなく底質にも表れていることが見てとれた．重金属濃度については，1972 年の調査では他の調査と比較して沿岸に近い海域に測点が多く設けられていたこともあり，各金属について非常に高濃度の海域が分布していたが，いずれの金属も湾奥部で再び分析した 2017 年には減少していた．堆積物調査では，使用する採集具や採取する堆積物厚によって結果に相違が生じるが，今回取りまとめた過去の知見では，調査によって採集具や堆積物厚が異なるため，結果を一概に比較することはできない．しかし，有機物に関しては，1970～80 年代に実施された調査ではグラブ採泥器が，近年実施した調査ではより攪乱の少ないコア採泥器が使用されており，近年の結果の方が相対的には高く評価される可能性が高い．そのため，TOC の減少・高濃度域の縮小については，見かけの数値以上に進行している可能性が考えられる．なお，

今回参照した過去の調査、また昨年度実施した調査の測点では、地形改変の影響を見るには間隔が大きすぎるため、微細な分布の変化を捉えることはできなかった。

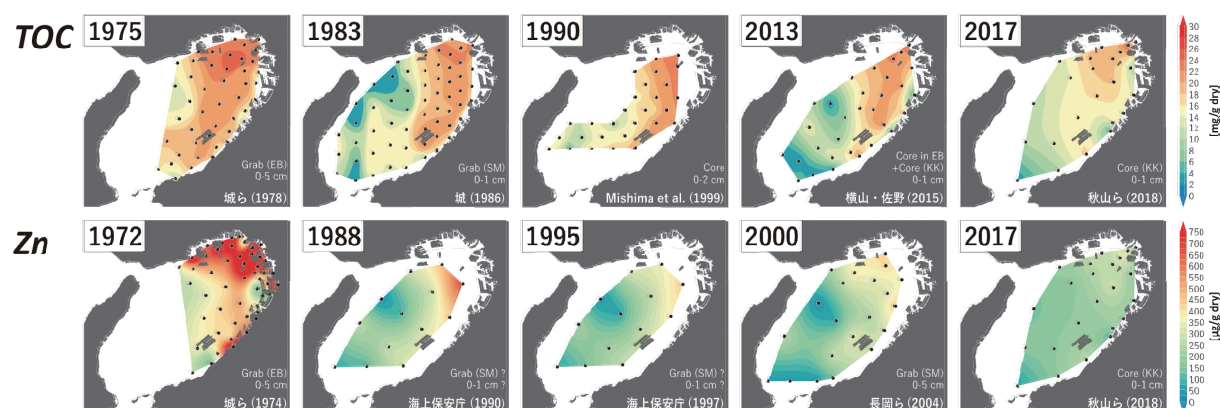


図2 TOCおよびZnの水平分布変遷

公共用水域の水質等調査結果を時系列解析したところ、COD については岸和田以南の沿岸域では 1980～90 年にピークを迎えた後減少傾向、それ以外の地点については観測開始から現在まで減少傾向にあることがわかった（図3）。しかし、その減少傾向は近年落ち着いてきており、また水産用水基準に記載される 20 mg/g dry を多くの地点が超過したままである。重金属については、いずれの金属も 2000 年頃まではパルス状に高濃度の海域が出現していたが、2000 年以降は極端に大きな値となることがほとんどなくなった。Cd と Pb は一部の地点を除いて概ね観測開始から減少傾向にあり、豊富な種類の底生生物がみられる限界濃度とされる ERL を多くの地点で下回っている。しかし、Cr については、特に近年増加傾向にある地点が多くなっていたが、測定は総クロムを対象としており、増加しているクロムの有害性はわからなかった。

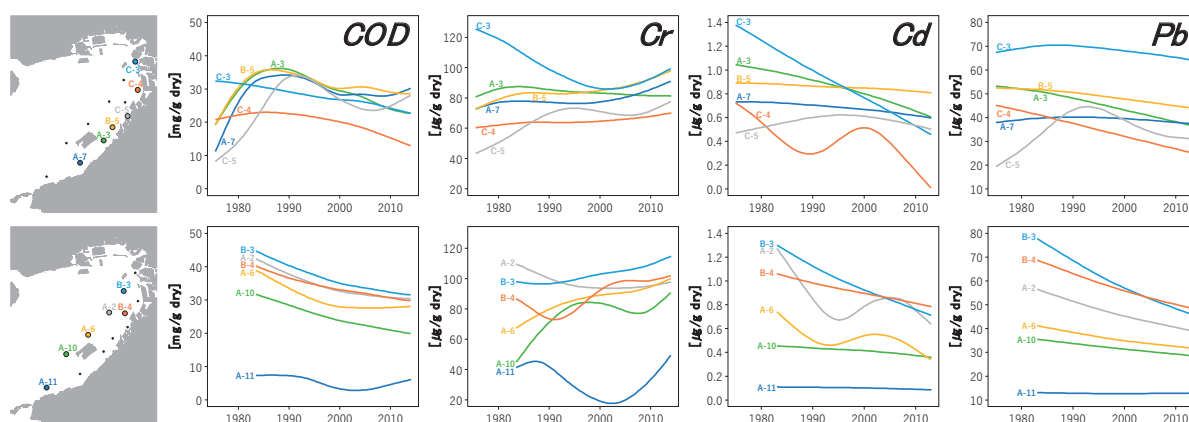


図3 公共用水域の水質等調査結果によるトレンド推定結果

4. 結論

昨年度実施した大阪湾広域の堆積物の分布に加える形で、湾奥部のより沿岸域に近い海域で堆積物調査を行った。その結果、埋立地で囲まれた海域では堆積速度が極めて速く、埋立てによる強閉鎖性水域の創出により、有機物や河川由来の土砂を堆積しやすい環境が形成されていることが示唆された。また、同海域では夏季に無酸素水塊が形成されており、高汚濁かつ生物が生息しにくい環境となっていると考えられる。過去の調査結果に基づいて有機物と重金属の堆積状況の変遷を取りまとめた結果、1970年代以降、有機物、重金属ともに減少傾向にあり、広域で見ると堆積物の有機・重金属汚濁は改善している様子が確認された。これらの調査はいずれも、汚濁が問題視され、改善策が施され始めてから実施されたもので、汚濁が進捗する様子や汚濁ピーク時の状況を把握するには至らなかった。また、地点間隔が広いこと、近年ごく沿岸域は港湾域となって調査実施に適さず、知見がほとんどないことから埋立地が拡張される過程での堆積状況の変化を捉えることができなかった。しかし、現在の状況で判断する限り、埋立地が密集する湾奥部の港湾域は、埋立ての影響を受けて流動が制限され、陸域由来・内部生産由来の物質が堆積しやすい状況となっていることから、少なくとも地形改変によって、物質の輸送・拡散過程、生物生産場が変化していると推察された。今後、地形改変による堆積過程・分布海域の変化をより詳細に把握するために、より長尺コアによる観測により、堆積速度の長期変化を調べ、埋立てなどの地形改変イベント前後での堆積速度変化を捉える必要がある。今回調査した St. 1 は堆積速度が大きすぎて、一般的なコア採泥器での調査には向かないが、夢洲等の埋立て以前は比較的開放的であったことから、埋立て前後の影響把握には適しており、1960～70年代以前にまで遡れる長尺コアでの調査が望まれる。また、地形改変による有機物や土砂の堆積過程や空間分布への影響を把握するためには、港湾域の複雑な地形にも対応する高解像度シミュレーションによって懸濁物動態を捉えていく必要があると考えられる。

大阪湾におけるクルマエビ科小型エビ類の資源動態と環境要因の関係性の解明 ～主要構成種交替のメカニズム解明を通じて～(その2)

代表研究者 山中智之 (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所 研究員
共同研究者 木村祐貴 (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所 研究員
安岡法子 (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所 研究員

1. 研究目的

大阪湾における基幹漁業の一つである底曳網漁業の一種である石桁網漁業において主にアカエビ *Metapenaeopsis barbata*、トラエビ *Metapenaeopsis acclivis* およびサルエビ *Trachypenaeus curvirostris* により構成されるクルマエビ科小型エビ類(以下、小えび類と称する)は主要な漁獲対象種である。これまでの調査で2000年代後半に小えび類の内サルエビが大きく減少した一方でアカエビが増加し、主要構成種の交替現象が生じたことが文献調査や継続的に実施されている石桁網による試験操業の結果から明らかにされた。また、過去と比較するとアカエビが湾奥部に出現するようになったことも特徴的であることが示された。

本研究ではサルエビからアカエビへの主要種交替現象の実態とそれを導いたメカニズムについて、文献調査、試験操業および飼育実験をもとに検証し、大阪湾の環境変動が底生生物の資源動態にどのように影響を与えるのか、その一端を解明することを目的として実施した。

2. 研究方法

2. 1. 大阪湾内で生じた海域環境変化の探索

大阪湾に1990年代から2000年代および現在までに大阪湾内、特に湾奥部で生じた海洋環境の変化について文献情報をもとにレビューし、小えび類資源に影響を及ぼす可能性について検討した。

2. 2. 石桁網の試験操業による小えび類の現在の分布と生態的特性の把握

昨年度と同様に2018年3・6月に堺市沿岸の大阪湾奥部に10定点(湾奥調査)、2018年5・8・11月に大阪湾全域に20定点(全域調査)を設定し、石桁網(桁幅1.8m)による試験操業を実施した。単位面積当たりの小えび類の個体数と重量を算出し、同時に水質と底質に関する情報を元に小えび類の生息環境特性を検証した。特に、2017年と2018年の特に主要構成種のアカエビの分布の差を明らかにし、その差を導いた環境要因について検討した。

2. 3. 小えび類の貧酸素水塊への応答を検証する室内実験

昨年度の石桁網による試験操業では夏季には酸素飽和度58%を境に分布が大きく異なり、回避移動している可能性が示され、その根拠を室内実験により検証した。島ほか(2014)で検討された平行流型低酸素反応行動実験水槽を基本コンセプトとして簡易な室内実験装置を作成し、アカエビの貧酸素水の感知とそれに伴う移動を検証する室内実験を実施した。

3. 結果と考察

3. 1. 大阪湾内で生じた海域環境変化の探索

大阪湾では2000年代に、特に湾奥部においてサルエビからアカエビへの主要構成種交替現象が生じている。アカエビが増加の兆候を示し始めた2000年代は六甲アイランドや大阪新島

工事など大規模な埋め立てが集中的に開始された時期に相当し、中谷・西田（2017）により湾奥部―沖合間の水交換能が低下し、湾内の一次生産量や分布に影響を与えたことが示された。辻野他（2016）は淀川に近い海域での多毛類が 2000 年代に減少していることを示している。一方で、横山・佐野（2015）は 2013 年の時点では湾奥部の底質の粒度組成や AVS に大きな変化は生じていないと述べている。また、秋山・中嶋（2018）は、1993 年以降大阪湾内は高水温状態にあることを示しており、他の環境要因に複合的に作用している可能性も予期される。荒木ほか（2017）は伊勢三河湾でも大阪湾と同様に 2011 年以降小えび類の内アカエビの割合が増加していることを示しており、両海域の水質底質環境特性の変動を相互に比較することにより、小えび類の資源変動を解釈する新たな切り口が見出せる可能性がある。

3. 2. 石桁網の試験操業による小えび類の現在の分布と生態的特性の把握

・2000 年以降の小えび類の種組成の変遷；湾奥調査

2000 年から毎年 3・6 月に実施している堺市沿岸における石桁網試験操業により求めた小えび類個体数の推移を図 1 に示す。2018 年も 3・6 月ともに、アカエビが小えび類個体数の内 60%以上を占める主要構成種である状況が継続した。3 月・6 月ともに分布密度の高い上位 3 地点は水深 15 m 以深の沖合の調査点であった。

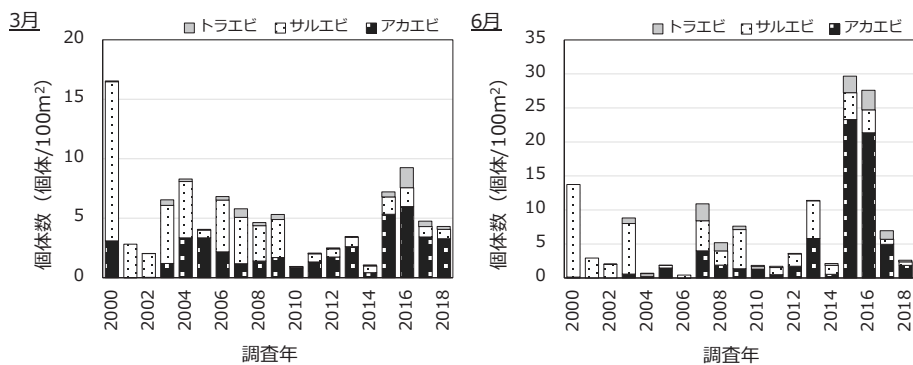


図 1. 大阪湾奥部における 3・6 月の小えび類の個体数

・2018 年の小えび類の分布と差の検証；全域調査

2018 年も 2017 年同様に全域において小えび類の内のアカエビが主要構成種であり、サルエビは 11 月の新規加入時期を含め、概ね全地点に分布するが分布密度としては低い状況が継続した。

アカエビについては、2017 年 5 月と 2018 年 5 月で相対的に多く分布する調査地点はおおむね一致する傾向を示すものの、2018 年 5 月の分布量は 2017 年 5 月と比べ密に分布する範囲が狭まった（図 2）。また、8 月は両年とも貧酸素水塊が発生した湾奥部の調査地点で分布が皆無であり、その貧酸素水塊の縁辺の調査地点で多い傾向が確認できた。また、2018 年の 11 月は 2017 年 11 月と比べて分布密度は低く、まとまって新規加入した調査地点が確認されず、今後資源動向に注視していく必要がある。

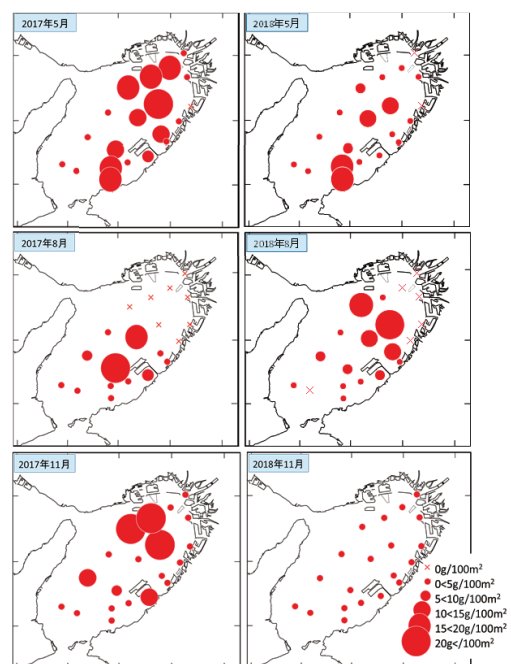


図 2. アカエビの分布模式図
(左列 2017 年；右列 2018 年)

大阪湾全域調査で得られた5月のアカエビの100m²当たりの分布重量を目的変数、水深、底層水温、底層の溶存酸素飽和度、底層塩分、泥温、底泥の乾物割合、酸揮発性有機物(AVS)、強熱減量を説明関数とする回帰木を構築し、分布量の多寡を規定する要因について検証した(図3; 図4)。2017年にはアカエビは水深15–32 mの範囲で分布量が多く、それより浅い・深い海域では分布量が大きく減少した。一方で、2018年には2017年と比較し、やや酸素飽和度が低い地点があり、酸素飽和度87%を境に分布量の多寡に差が生じることが示され、加えて水深16 mより浅い地点ではさらに分布量が少ないことが示された。同様に、8月のアカエビの分布量について、夏季に特に影響が顕著になる溶存酸素飽和度と水深を説明変数として回帰木を構築した。2017年は酸素飽和度が58 %以上かつ水深31 mより浅い地点で分布量が多いことが示された。一方で、2018年は水深が18–21 mの地点で分布量が多く、それより深いところもしくは、酸素飽和度が68%を下回る地点では少ないことが示された。

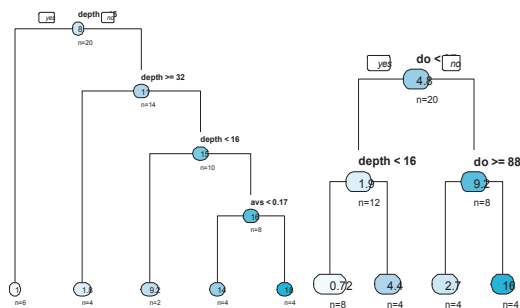


図3. 5月の水質・底質条件により構築された回帰木(左: 2017; 右: 2018)

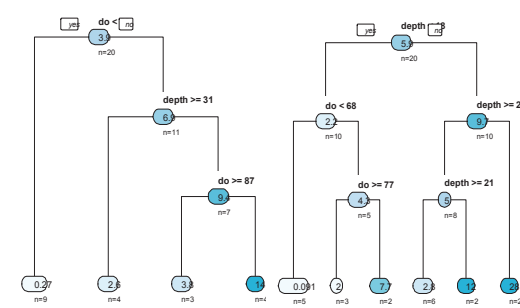


図4. 8月の酸素飽和度・水深により構築された回帰木(左: 2017; 右: 2018)

3. 3. 小えび類の貧酸素水塊への応答を検証する室内実験

島ほか(2014)の平行流型低酸素反応行動実験水槽を基本コンセプトとする簡易な実験装置を製作した(図5)。実験槽内を流す海水の酸素飽和度に勾配を与えて定期的に変化させ、アカエビの移動と酸素飽和度の対応を検証した。実験は5 Trial 行い、各実験 Trial には5 個体を使用し、3 分の調整時間を挟んで10 分ごとに実験水槽内の貧酸素区画を移動させた。個体ごとの一分毎の滞在区画と各区画の酸素飽和度(DO)を記録し(図6)、昨年度の課題で推定された忌避行動を促す境界値 DO58%の根拠について検証した。

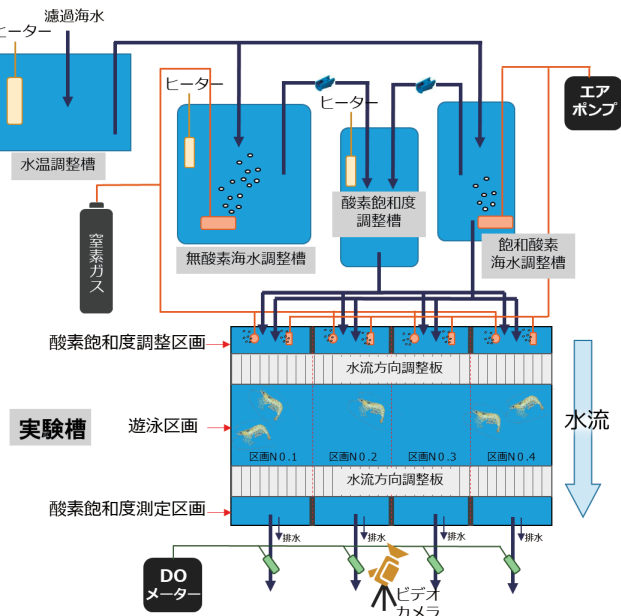


図5. 平行流型低酸素反応行動実験水槽模式図

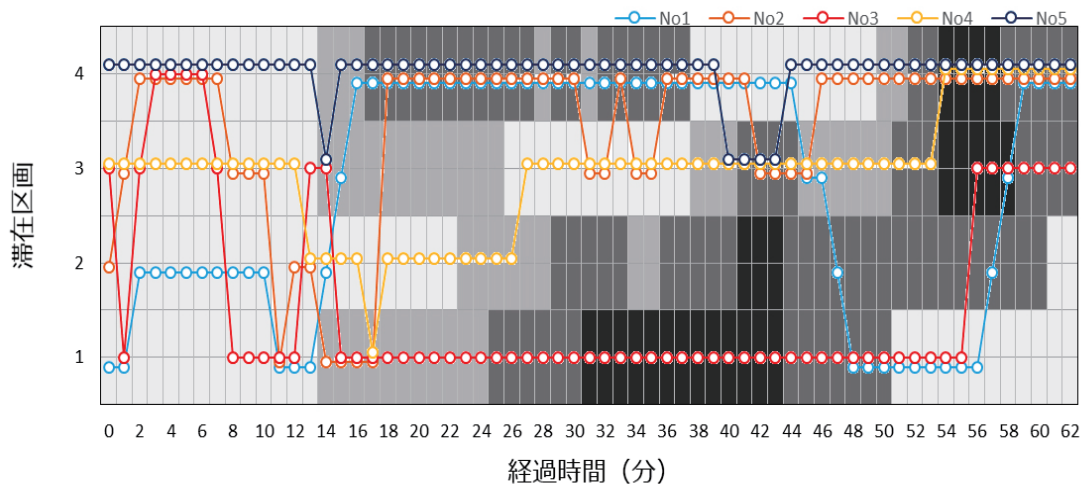


図 6. 区画ごとの酸素飽和度と個体別の滞在区画の推移の 1 例
(背景の色が酸素飽和度区分、■DO70%以上、■DO70>55%、■DO55>40%、■DO40%以下を表す)

高酸素飽和度状態から想定される忌諱行動の境界値に相当する DO55%以下の区分に低下した際にも典型化されるような反応行動は確認されず、また DO40%以下の強い貧酸素水でも滞在し続けて移動しない個体が存在するなど、アカエビの貧酸素水への応答は基本的には鈍かった(図 6)。また、DO55>40%の区分の時に移動を開始した回数が 32 回観察された。この移動が観察されたときには必ず酸素飽和度が高い区画が存在していたが、より高酸素飽和度の DO70%以上・DO70>55%区画に移動した回数と、同程度かそれより低い DO55>40%・DO40%以下の区画に移動した回数は同数で(図 7)、移動先は酸素飽和度の高低によらなかった。したがって忌諱行動を促す酸素飽和度の境界値 58%を裏付ける根拠は得られなかった。

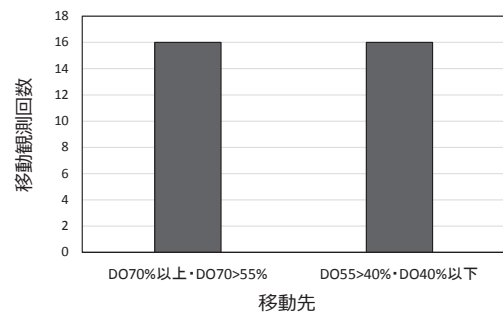


図 7. DO55>40%の酸素飽和度条件下から移動した際の移動先の酸素飽和度

4. 結論

2000 年代以降にサルエビからアカエビへ主要構成種の交替が生じ、現在に至っている。

現在の大阪湾ではアカエビは水深約 15–32 m が適生息域で、水深が高密度な分布の範囲を規定している要因であると考えられるが、水深の変化によりサルエビからアカエビへの主要構成種交替が生じたとは考えにくい。また、アカエビは実環境下では酸素飽和度でも分布が規定される可能性が高いが、実験下では瞬間的な貧酸素に対する応答性は鈍いことが確認された。貧酸素水塊の挙動に応じた 1 週間程度の長期スパンでの移動可能距離と貧酸素ストレスの影響の検証が必要である。

大阪湾圏域における微量金属の分布と 有害有毒プランクトン発生への寄与（その2）

内藤佳奈子 公立大学法人県立広島大学生命環境学部准教授

1. 研究目的

瀬戸内海東部海域において、養殖ノリと栄養塩類を競合する珪藻類の赤潮は、播磨灘を中心にほぼ毎年発生している。近年では、麻痺性貝毒を引き起す *Alexandrium tamarense* の大量発生が、大阪湾において広域で確認されている。これらの大阪湾圏域で起こっている有害有毒プランクトンによる赤潮の発生メカニズムの解明は、喫緊の課題である。赤潮の原因となる植物プランクトンの増殖や生存には、鉄をはじめとする微量金属が必須である。しかしながら、その利用特性および海域における分布は、ほとんど明らかにされていない。本研究では、化学的要因として窒素などの栄養塩類のみでは説明できなくなってきた現在の海域環境に対して、鉄などの生物活性な微量金属に着目し、有害有毒プランクトン種の生理・生態学的特性の解明を目的として、近年の大阪湾圏域における微量金属の分布動態について検討した。

2. 研究方法

大阪湾圏域における有害有毒プランクトンの出現状況、微量金属および栄養塩の濃度など生物、化学的環境について調査した。神戸大学内海域環境教育研究センター・マリンサイト「調査船おのころ HG2-8521」を利用し、大阪湾北西部 1 定点（定点 MS）、播磨灘の北部沿岸 5 定点（定点 HN-1～-5）と中央部 1 定点（定点 HN-6）における表層（0 m）と底層（B-1 m）の水質調査および海水サンプリングを行った（Fig. 1）。各層の採水は、金属コンタミネーションを防ぐため塩酸洗浄したテフロンコート仕様のニスキン-X 採水器（GO-1010X 型）を用いて行い、採取した海水は塩酸洗浄済みのポリカーボネート製容器に保存した。水温、塩分、溶存酸素量（DO）は、多成分水質計（AAQ1186-PT, JFE アドバンテック）を用いて測定した。採水翌日に研究室内でサンプル処理を行った。

微量金属測定用の海水は、クリーンブース（AI 型, ASONE）内で、酸炊き洗い済 0.2 μm フィルターろ過および酸処理をした。溶存鉄（DFe）濃度については、ろ過海水試料にフェロジンを比色試薬として加え、長光路フローセル（光路長 1 m）を搭載した分光光度計（Ocean Optics）にて測定した。他の微量金属（Ni, Cu, Mo, Mn, Zn, Al）の

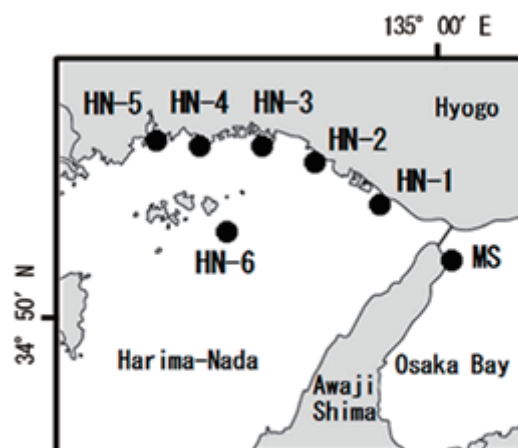


Fig. 1 調査定点図（大阪湾圏域）.

濃度分析は、平沼自動固相抽出装置 SPE-100（日立ハイテック）を用いてポリアミノポリカルボン酸型キレート樹脂固相抽出カラム（NOBIAS, CHELATE-PA1）により、海水の脱塩濃縮後、ICP-OES（Optima8300, Perkin Elmer）により溶存態の濃度を測定した。また、栄養塩（DIN; $\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ ）濃度は、0.2 μm フィルターろ過海水をオートアナライザー（TRACCS2000, BRAN+LUEBBE）により測定した。鉄に関しては、海水中の存在形態を調査するため、全鉄（TFe）濃度測定サンプルとして 50 mL メタルフリー遠沈管（labcon）に試料海水を 50 mL 入れ、硝酸（超高純度分析用試薬 TAMAPURE-AA-100）1 mL を添加後、冷凍保存した。後日、冷凍試料を解凍後、酸で炊き洗った石英管に入れ、UV 分解装置にて 2 時間かけて有機物を分解後、長光路フローセル搭載の分光光度計にて TFe 濃度を測定した。海水の pH は、pH 計（C-73, AS ONE）を用いて測定した。

クロロフィル *a*（CHL*a*）濃度は、海水試料 100 mL をガラス繊維濾紙（GF/F）でろ過し、ろ過試料を 10 mL の *N,N*-ジメチルホルムアミドで浸漬抽出した後、蛍光光度計（Au-10, Turner Design）で測定し、Holm-Hansen 法により算出した。有害有毒プランクトン種組成については、倒立顕微鏡（TMD300, NIKON）を用いて計数観察をした。珪藻類についてはグルタルアルデヒド固定試料（終濃度 1%）を必要に応じて 2–7 倍に濃縮し、試料 100 μl ずつ 2 回顕微鏡観察を行い、平均値から細胞密度を算出した。鞭毛藻類については、採水日の翌日に生海水 1 mL 試料を 1 回観察した。

3. 結果と考察

2017 年 5 月～2018 年 12 月の各調査定点において、水温は 6.0～28.8 $^{\circ}\text{C}$ 、塩分は 27.4～32.9、DO は 4.3～11.8 mg l^{-1} 、pH は 7.68～8.15、クロロフィル *a* 量は 0.39～34.3 $\mu\text{g l}^{-1}$ の範囲で推移した。調査期間を通して、小型珪藻の *Skeletonema* spp. と *Chaetoceros* spp. が多く発生しており、*Skeletonema* spp. は 2018 年 9 月（8,970 cells ml^{-1} ）、*Chaetoceros* spp. は 2018 年 5 月（6,795 cells ml^{-1} ）に最も高い細胞密度を示した。大型珪藻の *Eucampia zodiacus* は、2017 年 11 月から発生し、12 月に高い細胞密度を示したが、2018 年 1 月に減少した。2、3 月に再び増加し、定点 HN-4 の底層において、調査期間における最高細胞密度（470 cells ml^{-1} ）が確認された。2018 年 11 月、12 月では、2017 年とは対照的に *E. zodiacus* の発生をほとんど確認できなかった。*Coscinodiscus* spp. は、2017 年 11 月と 2018 年 12 月に比較的高い細胞密度を示した（4.29、5.71 cells ml^{-1} ）。珪藻類の総細胞密度について、2017 年 5 月および 2018 年 11 月、12 月において低密度であり、2018 年 9 月に最も高い総細胞密度（28,271 cells ml^{-1} ）を示した。また、2018 年 11 月の定点 HN-5 において、渦鞭毛藻の *Karenia mikimotoi* が多く発生していた（880 cells ml^{-1} ）。

2017 年 5 月～2018 年 12 月の栄養塩濃度変化を Fig. 2 に示す。DIN 濃度は 0.14～9.57 μM 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は < 0.01～2.11 μM 、 $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ 濃度は < 0.01～27.9 μM の範囲で推移した。ほとんどの調査月および定点において、DIN 濃度はノリの色落ちが起こるとされる 3 μM を下回っていた。また、各栄養塩の元素比を算出し、レッドフィールド比と

比較した場合、2017 年 5 月の定点 HN-3, -4 の表層、2018 年 2 月の定点 HN-2 の表層、3 月の定点 HN-3, -4, -5 の表層と定点 HN-4, -5 の底層、5 月の定点 HN-4, -5, -6 の表層以外すべての調査月採水層で DIN 不足 ($\text{DIN} : \text{DIP} < 16$) であったことが分かった。

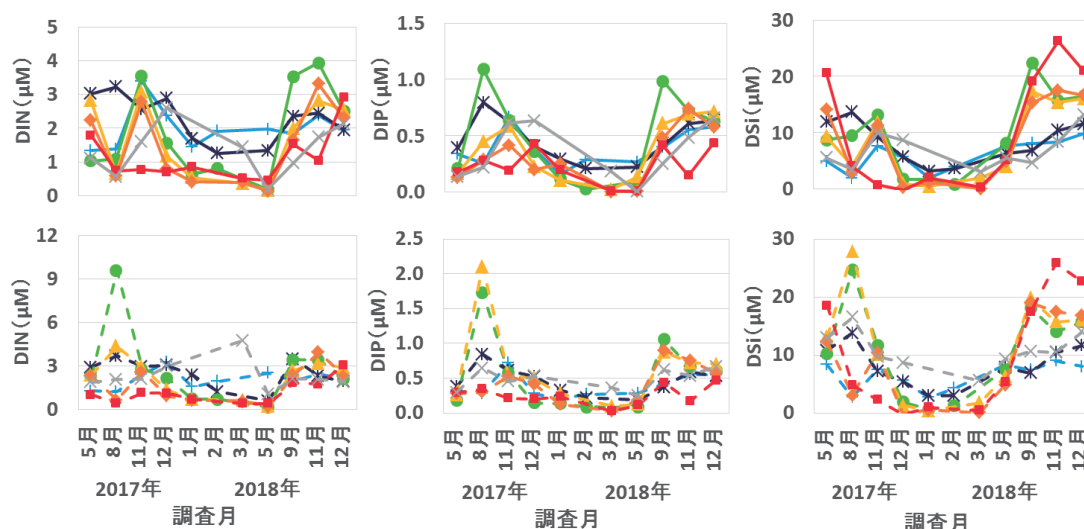


Fig. 2 大阪湾圏域における栄養塩濃度の変化(2017年5月~2018年12月). 上段:表層、下段:底層. 定点MS(+), HN-1(*), HN-2(●), HN-3(▲), HN-4(◆), HN-5(■), HN-6(×).

2017 年 5 月~2018 年 12 月の DFe 濃度は、表層において $< 0.3 \sim 31.8$ nM、底層において $< 0.1 \sim 56.2$ nM の範囲で推移した (Fig. 3)。拡張レッドフィールド比と比較した場合、2017 年度では定点 HN-6 の 5 月表層底層、11 月底層、12 月表層底層、定点 HN-3 の 8 月底層、定点 MS と HN-1 の 11 月表層底層、および 12 月のほとんど全ての定点の表層底層において DFe 不足を示したが、2018 年度においては定点 HN-6 の 5 月表層底層以外 DFe 不足の傾向を示さなかった。TFe は、表層で $22 \sim 7,089$ nM、底層で $119 \sim 7,355$ nM の濃度範囲で存在していた。粒子態鉄 (PFe; $\text{TFe} - \text{DFe}$) 濃度を見積ると、2017 年 5 月の定点 HN-2、8 月の定点 HN-4、11 月の定点 HN-1、2018 年 1 月の定点 HN-5 および 11 月の定点 HN-4 以外は全て表層に比べて底層において高い濃度傾向を示した。よって、増殖に鉄源として粒子態鉄を利用できる植物プランクトン種に対して、本海域における鉄の存在状態は制限要因とはなりにくいと考えられる。

2017 年 5 月~2018 年 12 月において、DNi は $< 0.4 \sim 102$ nM、DCu は $< 0.1 \sim 56.0$ nM (Fig. 3)、DMo は $0.6 \sim 157$ nM (Fig. 3)、DMn は $0.51 \sim 2675$ nM、DZn は $4.7 \sim 656$ nM、DAI は $3.8 \sim 480$ nM の濃度範囲で推移した。拡張レッドフィールド比が報告されている Ni, Cu, Mn, Zn の 4 元素 ($\text{C} : \text{N} : \text{P} : \text{Fe} : \text{Zn} : (\text{Ni}, \text{Cu}, \text{Mn}) = 106 : 16 : 1 : 0.005 : 0.002 : 0.0004$) について、元素比を算出し比較した場合、2018 年度では、9 月の定点 HN-1 底層で Mn が、11 月の定点 MS 表層と 12 月の定点 HN-6 表層で Ni が、それぞれ植物プランクトン増殖に対して不足していたことがわかった。

ノリ漁期 (2017 年 11 月~2018 年 5 月) における主要な有害珪藻類の細胞密度と微量金属 7 種類の溶存濃度との関係について、ピアソンの積率相関分析を用いて検討した。その結果、*Eucampia zodiacus* は Fe, Cu, Zn との間に高い負の相関 ($0.7 < |r| < 1.0$) が認められた。Fe は定点 HN-1, -2, -3 の表層 ($r = -0.71, -0.77, -0.79$) で、Cu は定点

HN-2, HN-3, HN-4, HN-5, HN-6 の底層 ($r = -0.94, -0.94, -0.81, -0.86, -0.91$) および定点 HN-4 の表層 ($r = -0.84$) で、Zn は定点 HN-3 の表層 ($r = -0.76$) で、溶存濃度の変化が *E. zodiacus* の出現と大きく関連していたものといえる。とくに、播磨灘北部域の姫路より東側沿岸の表層においては Fe の挙動が、また播磨灘沿岸域（相生～高砂）から中央域にかけての底層では Cu の挙動が、*E. zodiacus* の発生に重要や役割を果たしているのではないかと考えられる。*Coscinodiscus* spp. は Fe, Ni, Mo, Mn, Zn, Al との間に高い負の相関を認めることができた。Fe は定点 HN-5 の表層 ($r = -0.70$) で、Ni は定点 MS の底層 ($r = -0.66$) で、Mo は定点 MS, HN-6 の底層 ($r = -0.93, -0.77$) および定点 HN-3 の表層 ($r = -0.70$) で、Mn は定点 HN-1, HN-4 の底層 ($r = -0.71, -0.77$) および定点 HN-3 の表層 ($r = -0.67$) で、Zn は定点 HN-6 の底層 ($r = -0.81$) で、Al は定点 MS, HN-6 の底層 ($r = -0.84, -0.92$) で、溶存濃度の変化が *Coscinodiscus* spp. の出現と大きく関連していたものといえる。とくに大阪湾北西部域の底層における Mo と Al の挙動が、*Coscinodiscus* spp. の発生に大きく関与しているのではないかと考えられる。以上より、調査期間における大阪湾圏域のノリ漁期での大型珪藻類の赤潮発生には、とくに Fe, Cu, Mo の挙動の重要性が示唆された。

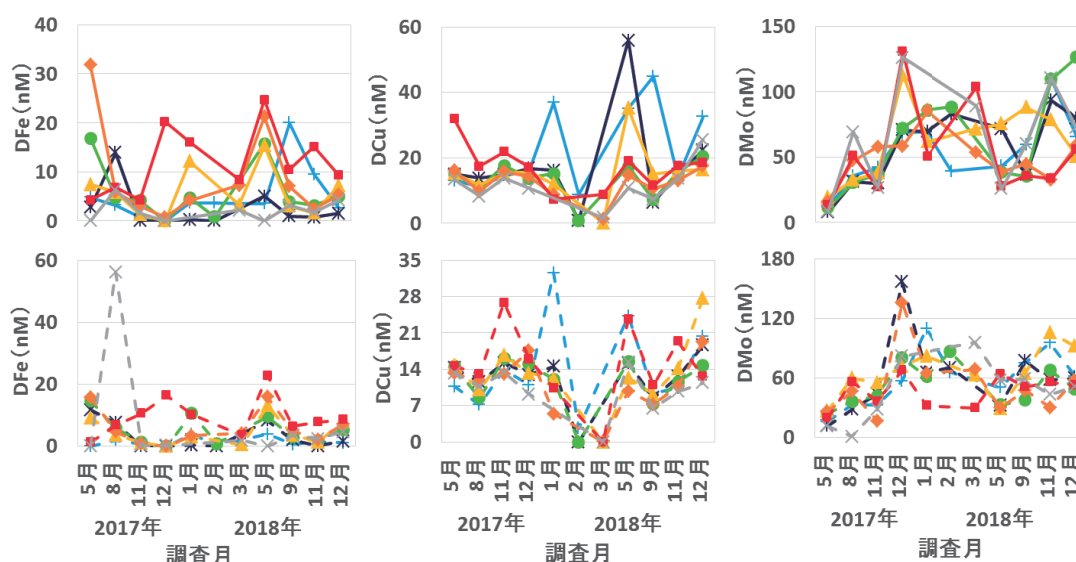


Fig. 3 大阪湾圏域における微量金属(DFe, DCu, DMo)濃度の変化(2017年5月～2018年12月). 上段: 表層、下段: 底層. 定点MS(+), HN-1(*), HN-2(●), HN-3(▲), HN-4(◆), HN-5(■), HN-6(x).

4. 結論

2017年度から継続した2年間の調査分析によって、大阪湾圏域7定点における微量金属7種 Fe, Ni, Cu, Mo, Mn, Zn, Al の濃度分布および季節変化を明らかとし、ノリ漁期である秋季から春季における主要な有害珪藻類の発生状況との関連性を示すことができた。今後、これらの微量金属にも注視しながら調査を進めていく必要がある。

発表時には、2018年11月の播磨灘（定点 HN-4）沿岸海水および広島湾（大野瀬戸）沿岸海水を用いた *Coscinodiscus wailesii* の増殖ポテンシャル（AGP）試験の結果についても併せて報告する予定である。

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（その3）

○石井 健一郎（京都大学大学院人間・環境学研究科 研究員）

松岡 数充（長崎大学名誉教授）

1. 研究目的

今年度の研究では大阪湾北部の湾奥，神戸空港東沖で堆積物コアを採取してその堆積年代を求め，そこに保存されている珪藻類や渦鞭毛藻類群集の時系列変化から大阪湾北部海域の環境変化の把握を目的とした。

2. 研究方法

大阪湾北部海域で表層部の攪拌がない海域においてダイバーを雇用し，プラスチックチューブを用いて約 1m の柱状試料を採取した。柱状試料は肉眼による堆積状況を観察し，記載する。その後 1cm ごとに切り分け，粒度組成や珪藻類，渦鞭毛藻類の休眠期細胞やシストの分析に用いた。切り分けた試料は分析開始まで冷暗所に保存する。また，堆積物の沈積年代を明らかにするために ^{210}Pb と ^{214}Pb ， ^{137}Cs の測定を行った。また，海底堆積物試料 1 g (wet sediment) を 100 μm 及び 20 μm 目と 10 μm 目の篩を用いてサイズ分画の後，20 μm 及び 10 μm 目の篩上の残渣物中の珪藻類(石井担当)及び渦鞭毛藻類，ラフィド藻類休眠期細胞については塩酸，フッ酸の処理を行った後に種を同定(松岡担当)し，細胞の計数を倒立顕微鏡下で行った。堆積物中に保存されている休眠期細胞やシストの発芽能を把握するために発芽実験を試みた。

3. 結果と考察

3. 1. 堆積物の沈積年代モデル

放射性元素 (^{210}Pb ， ^{137}Cs) の濃度変化から OSKB1A コアは 25cm 層準を境界として堆積速度が異なると判断した。その根拠は堆積物の層相が 25cm 以浅では軟弱で斑文構造を示と共に腐卵臭があるが，25cm 以深ではほぼ均一な暗緑灰色のシルトでいくつかの層準に貝殻片を含むとともに腐卵臭がしないことである。また，計算上 25cm 以浅での堆積速度は 3.4cm/year となるが，この値はこれまで大阪湾をはじめとする日本の内湾域では見られないほど速い堆積速度である。従って，計算上堆積速度は 3.4cm/year になるが， $^{210}\text{Pb}(\text{ex})$ の値は一定の割合で減少するのでは層準ごと増減を繰り返していることも合わせて考えると表層から 25cm 以浅は攪乱相の可能性がある。それに引き替え，25cm 以深での $^{210}\text{Pb}(\text{ex})$ の値は深さを追って減少していること，また下位の 2 層準はほぼ同じ値を示すことから判断して一定の割合でその濃度を減じていると考えられ，計算の結果に基づく 0.4cm/year になる。Yasuhara et al. (2007) の OBY コア (34° 39' 00" N, 135° 19' 50" E) では平均堆積速度が変化しており，1-10.9cm では 0.926cm/year，10.9-22.6cm では 2.029cm/year，22.6-41.6cm では 0.89cm/year，41.6cm 以深では 0.498cm/year と算出されている。また，松本・横田(1978)が求めた大阪湾北部海域の 42C 地点では 0.58cm/year や 40C 地点では 0.26cm/year となっており，OSKB1A25cm 以深で

の 0.4cm/year の値と大きく矛盾するものではない。OSKB1A コアでは上部 25cm ほどが攪拌されていると推察されるが、松本・横田(1978)の 42C コアでも上部約 30cm が攪拌されているとの状況が示されており、大阪湾奥部ではかなりの深度まで攪拌が生じていると考えることができる。平均堆積速度を 0.4cm/year として各層準の沈積年を求めると深度 50cm 付近は約 1975 年であると計算できる。この層準では ^{137}Cs が検出されている。大気中核実験により人為的に形成された ^{137}Cs は 1960 年代に出現していることから深度 50cm 付近を約 1975 年と推定することは ^{137}Cs の産出状況からして矛盾することはない。上部 25cm を平均堆積速度 3.4cm/year で計算すると深度 25cm でその沈積年代は 2005 年頃、25cm 以深を平均堆積速度 0.4cm/year に基づくと、50cm で 1975 年頃、60cm で 1940 年頃、80cm で 1890 年頃、最下部の 99cm では 1840 年頃となる。

3. 2. 珪藻類の休眠期細胞と栄養細胞

珪藻休眠期細胞として検出された細胞のほとんどは *Chaetoceros* 属であり、それらに注目すると 30cm 以浅で *Chaetoceros debilis* が急激に増加していることが確認された。深度ごとの *Chaetoceros* 属休眠期細胞を含めた全ての珪藻密度をみると、大きく 3 つに区分することができる。30cm 以浅では *Chaetoceros* 属及び *Skeletonema* 属、*Thalassiosira* 属の三者が高密度で存在しており、40-70cm 間では *Chaetoceros* 属及び *Skeletonema* 属が急激に密度が低下し、さらに 80-90cm でそれらはさらに低下した (図 1)。これは、1800 年代においては水柱での栄養細胞の大量増殖は無く、その後 1900 年だにかけて栄養細胞の増加に伴い堆積物中の休眠期細胞も増加したと考えられる。これは、大阪湾湾奥に流入する栄養塩の増加に伴う影響であると考えられる。同海域に流入する栄養塩は 1973 年の瀬戸内海環境保全特別措置法以降は減少したが 1985 年にその低下傾向が停止し、以降も富栄養状態が続いている (林&柳 2000)。現在においてもなお高密度に珪藻類が存在しているという事実は、大阪湾湾奥における栄養塩は今なお高いレベルであり、その影響は近年の珪藻密度にも顕著に影響していると考えられる。

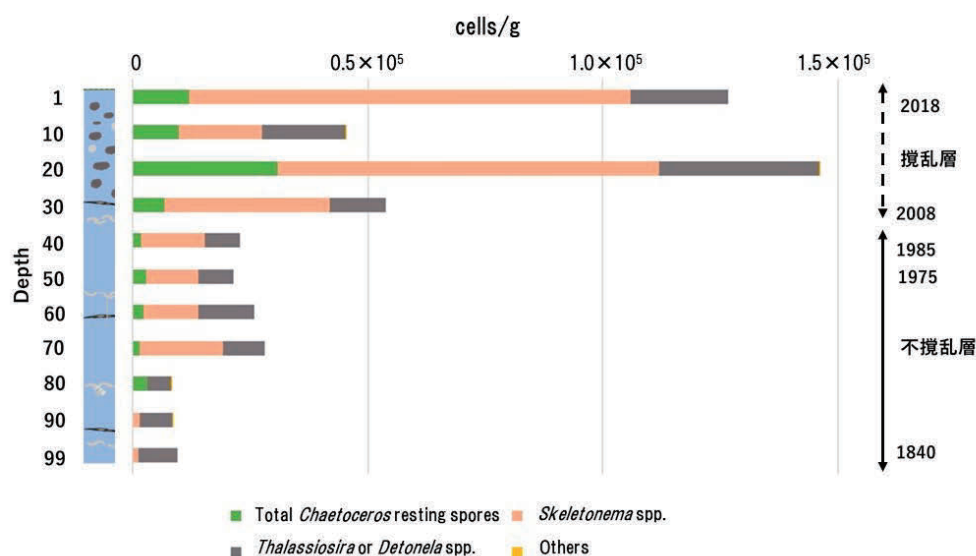


図 1. OSKB1A コア試料中の *Chaetoceros* 属休眠期細胞及び全ての細胞密度変化

MPN 法の結果, 20cm 以浅で *Chaetoceros* 属及び *Thalassiosira* 属の発芽が確認された. それらは 20cm 以深で急激に密度が低下したが, 少なくとも 60cm までは発芽能力を有する細胞が存在することが確認された. つまり, 概ね 50 年前に堆積した両属の休眠期細胞に発芽能力があったことを示している.

3. 3. 渦鞭毛藻類のシスト

光合成種シストとして *Spiniferites* や *Lingulodinium*, *Operculodinium* など 10 属 31 種以上が確認された. 渦鞭毛藻シストは平均 2290 cyst/g で, 光合成種シストは平均 410 cyst/g, 従属栄養性シストは平均 1880cyst/g であった.

OSKB1A コアの渦鞭毛藻シスト群集は 3 つに区分ができる. 99cm から 60cm (Dino-I), 50cm から 40cm (Dino-II), 30cm から 1cm (Dino-III). Dino I ではシスト密度が 1000 cyst/g でほぼ一定, 光合成種も少ない. Dino-II ではシスト密度が 2000~3500 cysts/g と高くなり, 特に従属栄養性種の割合が増加する. Dino-III ではシスト密度が約 2000cysts/g で Dino-II に比べるとやや小さくなり, 光合成種がやや増加する. 30cm, 20cm, 1cm 層準での光合成種シストの増加は *Alexandrium* cyst の産出が反映されている (図 2).

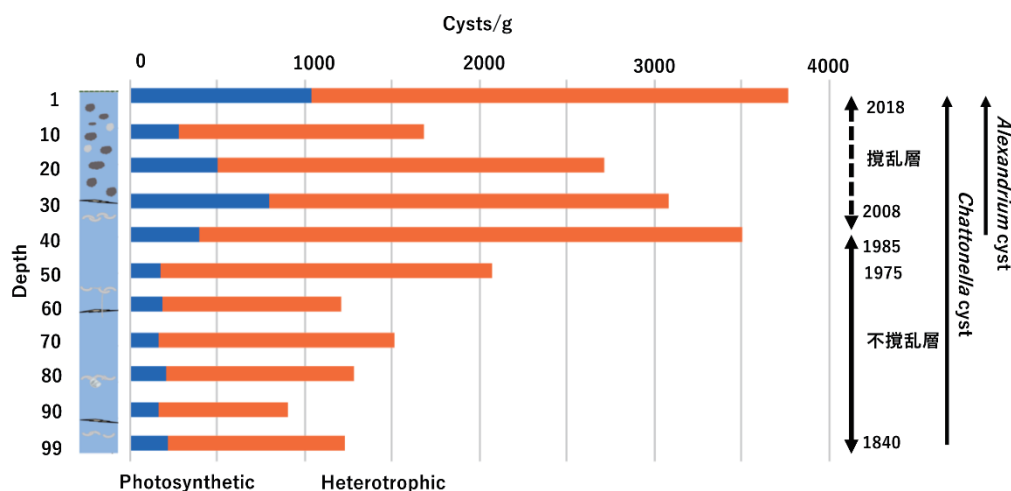


図 2 OSKB1A コア試料中の光合成種シストと従属栄養性種シストの密度変化

Dino-I から Dino-II の変化は総渦鞭毛藻シストの増加である. この現象はノルウェー・オスロフィヨルド (Dale et al. 1999), 東京湾 (Matsuoka 2001), 大村湾 (松岡 2011) などで確認されており, Dale (2009) によって Oslofjord Signal (オスロフィヨルド シグナル) と呼ばれ, Matsuoka (1999) は珪藻や渦鞭毛藻などの植物プランクトンの増殖に必要な栄養塩 (窒素やリン) の増加—富栄養化に起因すると考えた. 50cm 層準以降は従属栄養性種シスト密度が増加している. この現象は従属栄養性渦鞭毛藻の餌の増加を反映していると考えられ, Heterotroph Signal (従属栄養性シグナル) と呼ばれた (Dale, 2009, 松岡 2011). 従属栄養性渦鞭毛藻は珪藻や他の光合成鞭毛藻を餌としていることから, この現象も一次生産者で

ある植物プランクトンの増殖，すなわちそれを支える栄養塩の増加—富栄養化を示していると考えられた（松岡 2011）．この考え方に従うと，大阪湾北部沿岸域では 50cm 層準（約 1970 年代）以降，富栄養化が進行し，富栄養環境が現在に至るまで継続していると考えられる．

4. まとめ

本研究では，大阪湾湾奥のロングコア中の微細藻類休眠期細胞を分析することで，過去から現在に至るまでの大阪湾の植物プランクトン群集の変遷を明らかにした．すなわち，大阪湾湾奥においては，1970 年代以降も富栄養化が進行し，それに伴い植物プランクトンの大量増殖に適した環境が継続していると考えられる．