

### (3) 水産生物被害防止基礎試験

#### 貝類大量へい死原因解明試験

荒川哲也・大橋昭彦・黒田伸郎

キーワード；アサリ，へい死，ヘテロカプサ

#### 目 的

*Heterocapsa circularisquama* (以下ヘテロカプサ) の赤潮は貝類を特異的にへい死させ、西日本を中心に甚大な漁業被害をもたらしている。三河湾においても平成 12 年(2000 年)8 月にヘテロカプサ赤潮が初めて出現し、アサリをはじめとする二枚貝類の大量へい死が発生した。

また、被害は無かったが平成 17 年にも高密度の発生がみられた。

本事業では、三河湾におけるヘテロカプサの発生状況の調査を行った。

#### 材料及び方法

調査点を図に示した。平成 18 年 7 月～9 月の間に月 2 回、三河湾の 4 定点 3 層において採水、検鏡し、発生状況の監視調査を行った。採水は、0m, 5m 及び B-1m の 3 層で行い、同時に水温、塩分及び溶存酸素の計測を行った。ヘテロカプサの計数は生海水 1ml を直接計数した。結果は関係機関へ Fax 送付した。

#### 結果及び考察

調査期間中、全調査点においてヘテロカプサは確認されなかった。

調査期間中の 7～9 月の知多湾及び渥美湾での赤潮発生件数は 11 件で、*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp. 等の珪藻によるものが多く発生した。

今年度は、ヘテロカプサの至適増殖月である 8 月に珪藻類による赤潮が発生していたことと、平年に比べ低水温、低塩分であったことがヘテロカプサの増殖には適さなかったと考えられた。

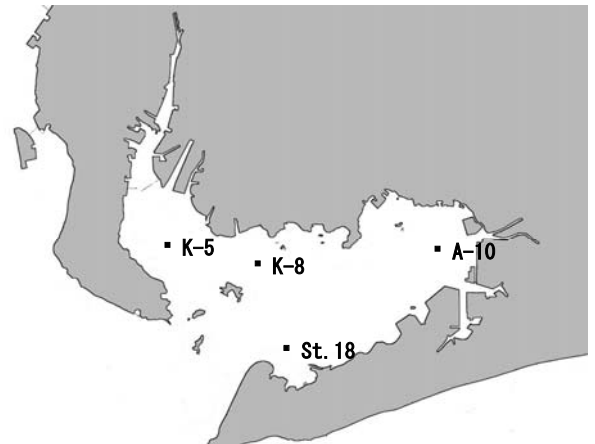


図 調査点位置図

# 有毒プランクトン増殖機構解明試験

大橋昭彦・荒川哲也・黒田紳郎

キーワード ; *Alexandrium tamarense*, 栄養細胞, 細胞毒性試験

## 目的

三河湾では、アサリをはじめとする貝類の毒化がしばしば発生するが、これは有毒渦鞭毛藻類の一種である *Alexandrium tamarense* が出現し、貝類がこれを摂食することで引き起こされるものである。近年、湾内における本種栄養細胞の出現時期が早まったり、低密度出現でもアサリが毒化したりする場合があります。麻痺性貝毒試験法は公定法であるマウスを用いる方法の他に、HPLC 等による機器分析による方法があるが、動物愛護の観点や分析時間などに問題があり、現在様々な貝毒簡易測定法の開発が行われている。この試験は、マウス神経芽細胞 Neuro2a を用いた細胞毒性試験により海域プランクトンの毒量を把握することを目的として実施した。

## 材料及び方法

細胞毒性試験には、マイクロプレートで培養したマウス由来神経芽細胞 (Neuro2a) を用いた。この神経細胞に Na<sup>+</sup>チャンネルを解放する作用を持つウアバインとベラトリジンを添加して培養すると細胞は死滅する。一方、貝毒成分は Na<sup>+</sup>チャンネルを阻害する作用を持ち、ウアバイン、ベラトリジンの作用を相殺する。貝毒の毒性と細胞の生存には正の相関 (貝毒が多いほど細胞は生き残る) が見られることから、この原理を利用して毒性を定量的に評価することが可能となる。

Neuro2a の継代培養及び細胞毒性試験は、奥村らの方法<sup>1)</sup>で行った。愛知県衛生研究所から譲渡された Neuro2a 細胞を RPMI1640 培地に全量の 1% ペニシリン・ストレプトマイシン、1% ピルビン酸及び 10% ウシ胎児血清を添加した培地 (以下 RPMI1640 培地) を用い、37°C 条件下の 5% 炭酸ガス培養器で継代培養を行った。

試験に用いた細胞は、試験前日に 96 穴マイクロプレート各々に 31,300 cells を播種し、RPMI1640 培地を加えて 1 晩培養した。翌日、培地を廃棄し、被験液 5  $\mu$ L, 1mM ウアバイン 10  $\mu$ L, 10mM ベラトリジン 10  $\mu$ L

及び RPMI1640 培地 75  $\mu$ L を加えて 100  $\mu$ L とした後、5 時間炭酸ガス培養を行った。その後、培地で洗浄した後、細胞活性測定試薬 10  $\mu$ L (WST-8, 同仁化学) と RPMI1640 培地 90  $\mu$ L を加えてさらに 1 時間培養し、発色停止薬 50  $\mu$ L (0.1M HCl) を加え、マイクロプレートリーダーで吸光度を計測した。

試験には、平成 17 年 4 月蒲郡市地先で採取した *A. tamarense* から抽出した麻痺性貝毒サンプル (表 1) を用いた。このサンプルの毒量を HPLC 法で分析した後、細胞毒性試験法の有効性を検討した。

表 1 サンプルの採取日、毒量及び毒組成

採取日	05/4/26	05/4/27
サンプル名	P426	P427-2
毒量 MU/ml	57.8	22.6
C群(mole%)	99.96	97.50
GTX群(%)	0.04	2.50
STX群(%)	0.00	0.00

## 結果及び考察

サンプルを 0.01N HCl で希釈し、表 2 に示した希釈系列を作成し毒量と吸光度の関係を調べた。

表 2 系列 A の試験結果を図 1 に示した。0.23~2.5MU/ml 間で、直線性が得られた。また、0.20MU/ml 以下と 2.5MU/ml 以上では、吸光度の変化があまり見られなかった。

次に、系列 A の試験で直線性が得られた 0.23~2.51MU/ml の間に 0.50, 1.50MU/ml を追加した系列 B と P426 で作成した系列 C の試験結果を図 2 に示した。系列 B では 0.50MU/ml までは、吸光度の変化が見られないが、0.50~7.52MU/ml で直線性が得られた。P426 から作成した系列 C では、0.42~11.56MU/ml で直線性が得られた。

今回の試験で常に直線性を得られたのは、0.50~2.51MU/ml であった。奥村らの報告によると、この試験法で良好な直線性を示すのは 0.2~5.8MU/ml とある<sup>1)</sup>が、今回の試験は、それより狭い範囲での直線性にとどまった。これは、細胞の活性や、マイクロプレ

ート上に播種されている細胞の数にばらつきがあるため起きていると考えられ, 今後の検討が必要である。

引用文献

- 1) 奥村正直・都築秀明・富田伴一(2005)培養細胞を用いた迅速で精度の高い麻痺性貝毒試験法の開発に関する研究. 浦上財団研究報告書, 13

表 2 細胞毒性試験に供した希釈系列

系列名	毒量 MU/ml							使用サンプル	
	0.02	0.23	0.84	2.26	2.51	7.52	22.56		
A	0.02	0.23	0.84	2.26	2.51	7.52	22.56	P427-2	
B	0.02	0.23	0.50	0.84	1.50	2.26	2.51	7.52	P427-2
C	0.12	0.42	1.28	3.85	5.00	11.56		P426	

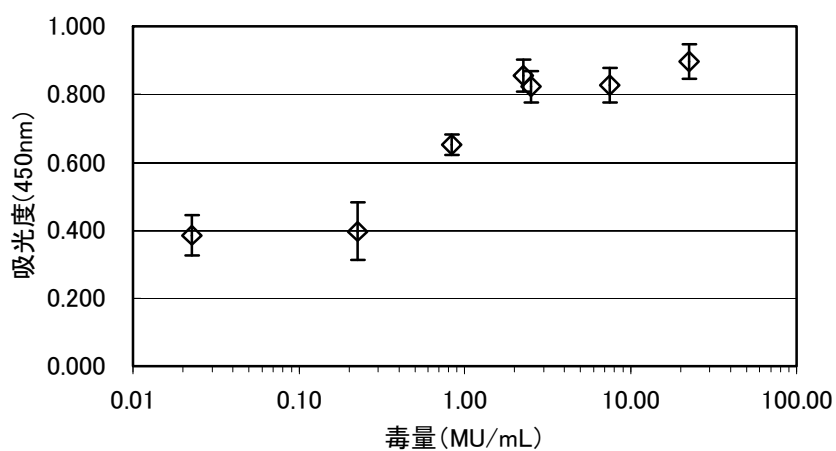


図 1 系列 A の吸光度と毒量の関係 (各プロットは平均値±標準偏差)

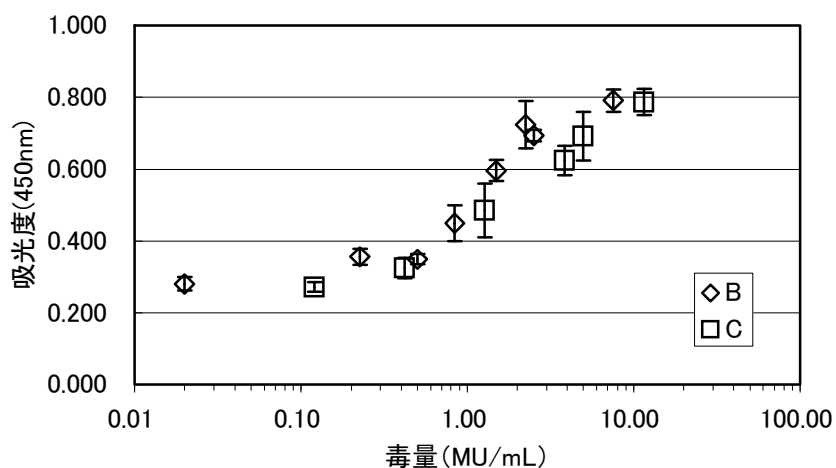


図 2 系列 B と C の吸光度と毒量の関係 (各プロットは平均値±標準偏差)

# 貧酸素水塊状況調査

黒田伸郎・荒川哲也・岩瀬重元  
大澤 博・波多野秀之・伊藤英之進

キーワード；貧酸素水塊，水温・塩分，密度躍層

## 目 的

夏季に伊勢湾，三河湾の底生生物の生息に大きな影響を与える貧酸素水塊の形成状況をモニタリングし，関係機関への情報提供を行った。

## 方 法

貧酸素水塊の発生時期である6月から10月にかけて伊勢湾の17点と三河湾の25点において，水質調査船「しらなみ」により，各層の溶存酸素飽和度(DO)と水温・塩分の測定を行った。また，伊勢湾については，愛知県水産試験場海洋資源グループから底魚資源調査，三重県科学技術振興センター水産研究部から浅海定線観測の水温・塩分・溶存酸素濃度のデータの提供を受けた。これらのデータから伊勢・三河湾底層のDO分布の等値線図を作成し，貧酸素情報としてまとめ，関係機関に通知するとともに，水試ウェブサイトで一般に公開した。等値線図から底層のDOが10%以下，10~30%の水域の面積を算出し，貧酸素水塊の消長を明らかにした。

## 結果及び考察

図1に今年度夏季の伊勢湾，三河湾底層に占める貧酸素水塊の面積比の推移を示した。

伊勢湾では昨年と同様に5月中旬には貧酸素水塊が形成され(三重県科学技術振興センター水産研究部調べ)，6月上旬には湾の底層の約30%が貧酸素水塊(DO $\leq$ 30%)に覆われた。その後面積は徐々に拡大し，8月上旬には湾の底層のほぼ全域が貧酸素に覆われた。その後も9月後半まで湾の半分以上が貧酸素水塊に覆われる状態が継続し，11月中旬になって消滅した。DO $\leq$ 10%の強い貧酸素水塊は，6月上旬にはみられなかったが，6月中旬から急速に発達し，8月上旬には湾の底層面積の60%に達した。三重県の過去30年の浅海定線観測結果と比較すると，今年度の伊勢湾の貧酸素水塊の面積は，最大値，夏季平均値とも過去最大級であった。このため，伊勢湾では例年になく8月まで漁獲がみられたトリガイが，9月以降全く漁獲されなくなる等の影響がみられた。

三河湾では例年より早く6月上旬には貧酸素水塊が形

成され，その後急激に発達して7月上旬には底層面積の80%以上が貧酸素水塊に覆われた。貧酸素水塊はこの規模で9月上旬まで推移し，その後急速に衰退して10月中旬に消滅した。DO $\leq$ 1%の強い貧酸素水塊は，例年より早く6月上旬には出現し，その後急激に発達して9月中旬まで広い面積を維持した。最大面積は9月上旬に確認され，湾の面積の60%をも占めた。三河湾においても，今年度の貧酸素水塊の面積は，年最大値，年平均値ともに過去30年間で最大規模であった。

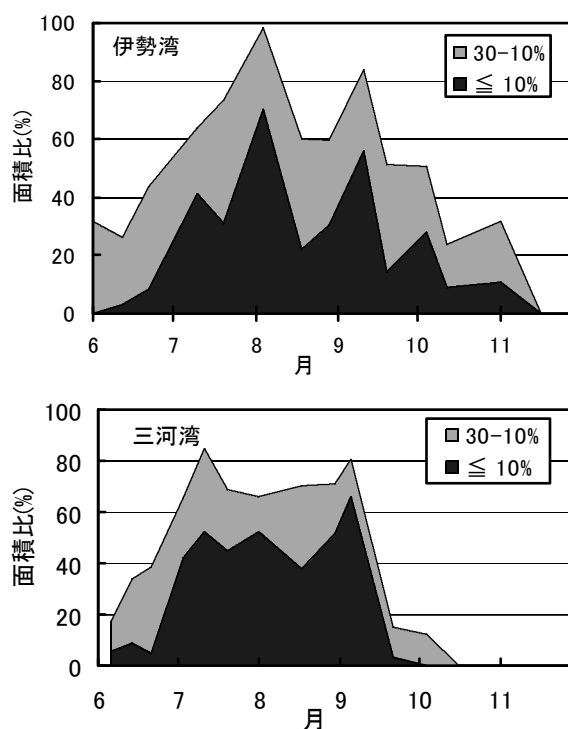


図1 平成18年夏季の伊勢湾・三河湾における貧酸素水塊面積の推移

図2に，1号ブイ(蒲郡地先)で測定した平成18年5~9月の表底層水温，塩分及び底層DOの日平均値の推移を示した。

1号ブイでは，例年より約1ヵ月早い5月24日に底層のDOが30%以下となり，6月中は増減を繰り返しながら低下し，7月から8月中旬まではほぼ無酸素状態が継続した。このように長期間無酸素状態が続いたのは，過去16

年間でもはじめてのことである。これは、次の2つの要因が関与していると考えられる。1つは、底層の水温が8月中旬まで例年になく低かったことと、5月及び6月後半から7月中が多雨傾向で表層の低塩分傾向が持続したことにより、夏季期間中安定して密度躍層が保たれたことであり、もう1つは、例年のない梅雨前の5月の多雨により負荷物質の供給量が多く、5月後半から大規模な赤潮が発生して、底層に有機物が多量に供給されたことである。今年度の夏は台風の接近がなく、密度躍層の擾乱がほとんどなかったことも、貧酸素水塊の長期化に影響したと考えられる。さらに底層の低水温傾向は黒潮流路の影響で渥美外海に暖水の流入がなかったことに起因しており、このことは、湾内底層へのDOの豊富な外海水の侵入も弱かったことを推測させる。今年度のこれらの気象概況や外海水の影響は、伊勢湾においても同様であったと考えられるので、両湾ともに貧酸素水塊が大規模化、長期化したのであろう。

なお、今年度は底層が低水温傾向で、夏季期間を通じて底生生物の貧酸素への被害を促進させると考えられている25℃を超えなかったこと、<sup>1)</sup>密度躍層が安定していたため、苦潮が発生しなかったことから、平成6年の夏季に発生したようなアサリを始めとした底生生物の大量へい死被害<sup>2)</sup>は発生しなかったものと考えられる。

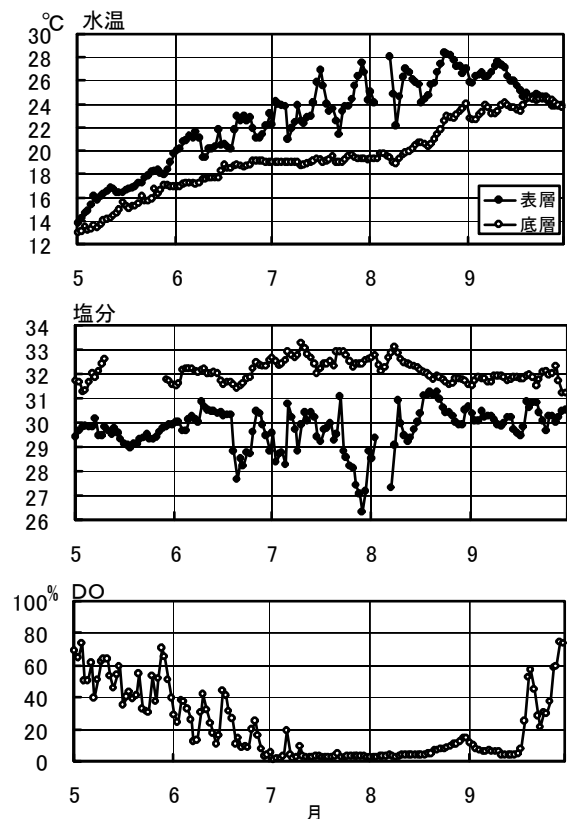


図2 1号ブイの表底層水温、塩分及び底層DOの日平均値の推移

#### 引用文献

- 1) 鈴木ら (1998) 三河湾における貧酸素化によるアサリの死亡率の定式化, 海洋理工学会誌, 4(1), 35-40.
- 2) 愛知県水産試験場 (1995) 平成6年夏季に発生したアサリの大量へい死について.

# 有害物質動態調査

黒田伸郎・大橋昭彦

キーワード；有機スズ，体内濃縮，アサリ

## 目的

漁網・船底の防汚剤として用いられてきた有機スズ化合物は、依然として環境中に残留しており、水産生物への影響が懸念されている。そこで、残留量が大きい底泥に生息する二枚貝の有機スズ化合物の蓄積を明らかにするために、天然のアサリ及び海水・底泥について実態調査を行った。

## 材料及び方法

### (1) 調査地点と試料採取日時

昨年度に依然として残留が確認された、矢作古川河口で平成19年2月20日に試料を採取した(図1)。

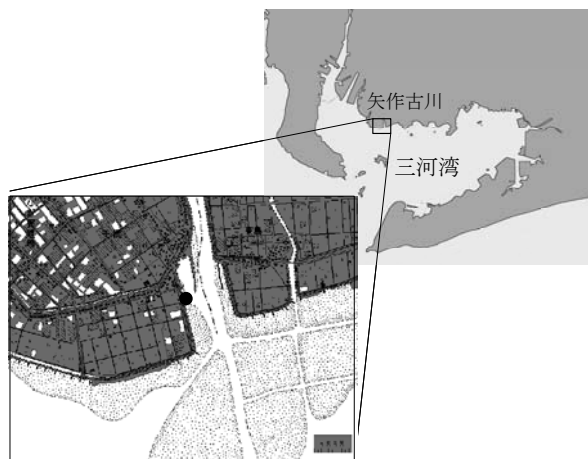


図1 試料採取地点

### (2) 分析試料

採取したアサリ、海水、底泥のトリブチルスズ(TBT)・トリフェニルスズ(TPT)の濃度を、海水はGC-MS法、アサリ、底泥はGC-FPD法で分析した。

分析に供したアサリの殻長(平均±標準偏差)は30.4±2.1mm、殻付重(同)は5.4±1.0gであった。

## 結果及び考察

分析結果を表に示した。

今年度もアサリではTBTが検出されたが、底泥では検出されなかった。また、海水では微量ではあるが検出された。また、近年ほとんど検出されなかったTPTが海水、底泥でわずかに検出された。

表 平成18年度分析結果

調査地点	分析試料	T B T	T P T
矢作古川	アサリ(μg/kg)	28	ND
河口	海水 (ng/L)	2	3
	底泥 (μg/kg)	ND	5

過去10年間の同地点でのTBTの検出状況を比較すると(図2)、海水では過去2年間検出されなかったが、今年度はわずかに検出された。これは、感度の高い分析方法に変更したことによると考えられる。アサリでは濃度の減少傾向は見られるものの、昨年度と同レベルが検出された。底泥については、経年的な変動が大きく、試料の採取誤差があるものと考えられる。

今年度は分析方法の変更によってTBTが海水からも検出されたこと、アサリでは10年間を通して検出されていること、また、今年度は海水、底泥からTPTも検出されたことから、有機スズ化合物は人の健康に影響を与えるレベルではないものの、沿岸環境中に依然として残留していることが示された。

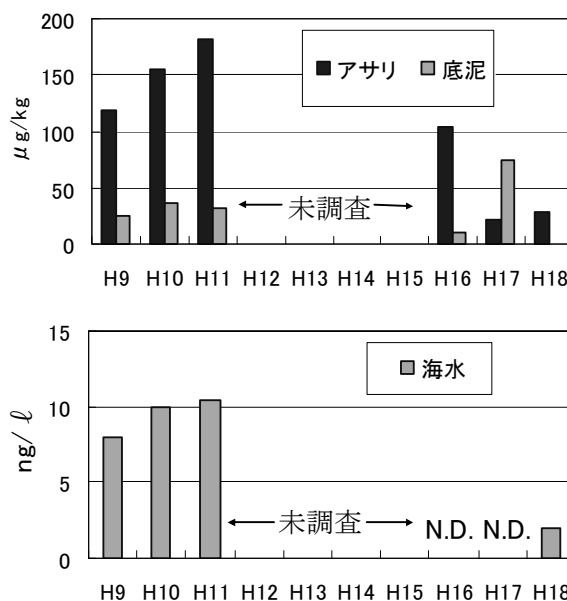


図2 矢作古川河口のアサリ・海水・底泥のTBT濃度の経年変化(N.D.は非検出)

## (4) 人工干潟機能維持管理手法開発試験

和久光靖・青山裕晃・石田基雄

キーワード；人工干潟，アサリ，食害，耕耘

### 目 的

本試験では，人工干潟域における地盤の性状と二枚貝等の生物生産機能との関係に着目し，人工干潟域を生物生産の場，水質浄化の場として長期的に利用していくための維持管理手法を検討する。特に，アサリ稚貝の着底促進のための干潟管理技術の開発を目指す。

### 材料及び方法

#### (1) 干潟実験水槽における耕耘効果調査

水産試験場が保有する干潟実験水槽（以下，平面水槽）を用い，干潟表面の耕耘が，アサリ稚貝の着底量とその後の生息量に及ぼす影響について調査した。平面水槽に，耕耘の有無及び粒度の異なる 4 つの試験区を設定した（図 1）。砂層厚はいずれも約 35cm である。試験区 1 及び試験区 2 には中央粒径 0.95mm の砂を使用した。試験区 3 及び試験区 4 には，中央粒径 0.30mm の砂を使用した。平面水槽は天井がガラス張りであり，日射，水温は制御しなかった。潮汐は，潮位の振幅を 38% に圧縮して，蒲郡市三谷町地先の潮汐（海上保安庁水路部の予測潮位）を，実時間で再現した。また，波浪，水平移流を試験区が保持できる程度に設定した。

着底間近になるまで別水槽で飼育したアサリ幼生を平成 18 年 5 月 29 日，6 月 5 日に合計 1,588 万個体（以下，平成 18 年春季採卵群とする）をジョウロにより水槽全体に均一に散布した。同様に平成 18 年 12 月 8 日には 200 万個体（以下，平成 18 年秋季採卵群とする）のアサリ幼生を水槽に散布した。

1 カ月に 1 回程度アサリ稚貝のサンプリングを行い，着底量とその後の生息量の推移を調査した。同時に，山中式土壌硬度計（藤原製作所製）により，表面硬度を測定した。試験区 2 及び試験区 4 については，不定期に耕耘した。

#### (2) 干潟域における構造物によるアサリ生息環境向上試験

試験は平成 13 年～15 年にかけて蒲郡市形原地区に造成された人工干潟域（32ha 図 2）において行った。平成 18 年 7 月 20 日に長さ約 3m の竹を海岸線と平行な列をなすように海底に打ち立てた。3 本の竹を海岸線と平

行になるように 10 cm 間隔で打ち立て，これを 1 組とした。これを 30 cm 間隔で海岸線と平行に長さ約 50m で配列した。竹の列の周辺に測点を計 8 点設けた。平成 18 年 10 月 3 日に平均殻長 15.1mm のアサリ 1 トンを各測点の周辺に均等となるよう配分し，放流した。平成 18 年 10 月 3 日から平成 19 年 3 月 8 日の間に計 5 回，各測点において，貝類のサンプリングを行った。

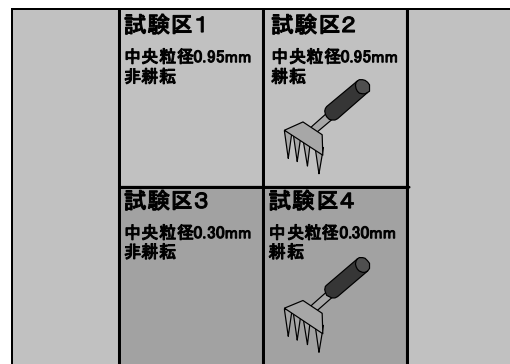


図 1 平面水槽における試験区の設定

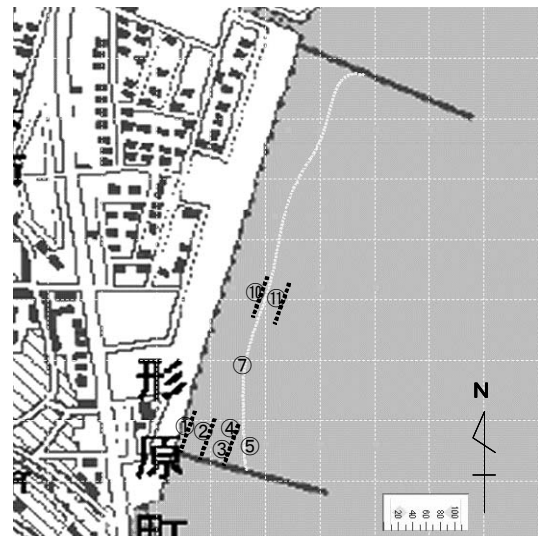


図 2 人工干潟に設けた測点

### 結果及び考察

#### (1) 干潟実験水槽における耕耘効果調査

粒度が大きい試験区 1，試験区 2 についてみると，不定期に耕耘を行った試験区 2 の表面硬度は，ほとんどの計測時において，非耕耘の試験区 1 より低かった（図 3）。

粒度が小さい試験区についても同様に、耕耘の試験区4における表面硬度は非耕耘の試験区3よりも総じて低かった。

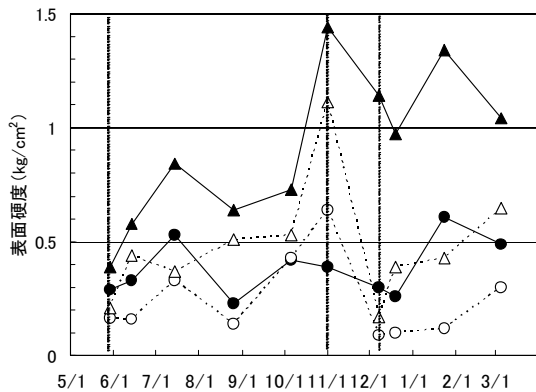


図3 試験区1 (—●—), 試験区2 (…○…), 試験区3 (—▲—), 試験区4 (…△…) における表面硬度。縦線は試験区2, 4の耕耘時期を示す。

図4に平成18年春季採卵群の個体密度の経時変化を示す。砂の粒度が大きい試験区1, 試験区2を比較すると、幼生投入後直近の6月13日の個体密度は、耕耘した試験区2で56,581個体/m<sup>2</sup>であり、非耕耘の試験区1の39,658個体/m<sup>2</sup>よりもやや高かった。砂の粒度が小さい試験区3, 試験区4を比較すると、幼生投入直後の5月29日の個体密度は、耕耘した試験区4で79,487個体/m<sup>2</sup>と、非耕耘の試験区3の30,940個体/m<sup>2</sup>の2.5倍程度であり、粒度の大きい試験区と同様に耕耘区で高かった。

このように、幼生投入後2ヵ月までは、砂の粒度に関わらず、耕耘区における個体密度は非耕耘区よりも高く、耕耘による稚貝着底効果が示唆される。

平成18年秋季採卵群については、幼生投入後直近の1月23日において4試験区の個体密度は342-684個体/m<sup>2</sup>の間にあり、平成18年春季採卵群に比べ、極めて低い水準であった。当該採卵群は幼生飼育の段階で、個体数が急減する等、不調であった。幼生投入後の個体密度が低いのは、投入された幼生の健苗性に問題があったためと考えられる。

## (2)干潟域における構造物によるアサリ生息環境向上試験

図5に各測点におけるアサリの個体密度の推移を示す。なお、調査海域の南よりに設置された竹の列付近の測点①, ②, ③, ④, ⑤におけるアサリ個体密度の変化はほぼ同様の傾向が認められたため、5測点の平均値を示す。調査海域の北よりに設置された竹の列付近の測点⑩, ⑪についても同様の理由により、2測点の平均値を示す。まず、測点①~⑤におけるアサリ個体密度の推移についてみていくと、10月3日に平均621個体/m<sup>2</sup>であり、測

点⑦の6個体/m<sup>2</sup>、測点⑩, ⑪の平均19個体/m<sup>2</sup>に比べ極めて多かった。このときの殻長組成を見ると、16.5mmにモードがあり、測点①~⑤は、他の測点に比べ、天然稚貝が多いことで特徴づけられる。アサリ稚貝放流8日後の10月11日には、放流稚貝の加入により、個体密度は平均で1,010個体/m<sup>2</sup>と増加した。その後、個体密度は11月22日までは1,000個体/m<sup>2</sup>程度を維持したが、3月にかけて305個体/m<sup>2</sup>にまで減少した。

測点⑩, ⑪については、10月3日から10月11日にかけて個体密度が19個体/m<sup>2</sup>から88個体/m<sup>2</sup>に増加したが、測点①~⑤における増加ほど顕著ではなかった。10月11日以降は、顕著な増減はなく、3月8日には75個体/m<sup>2</sup>であった。

これに対し、近傍に竹の構造物がない測点⑦においては、10月11日には、アサリは採捕されず、放流稚貝の加入は認められなかった。3月8日に個体密度は75個体/m<sup>2</sup>に増加したが、殻長4~7mmの小型の個体が主体であり、天然発生稚貝の加入によると考えられる。

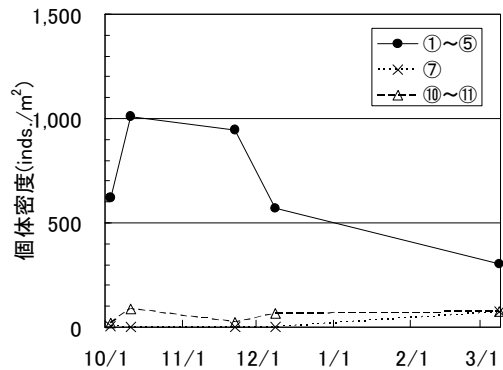


図5 各測点におけるアサリの個体密度の推移

以上のように、竹の列付近の測点においては、放流稚貝の生息密度を一定期間維持する効果が示唆された。また、調査海域の南よりに設置された竹の列付近の測点においては、天然稚貝の生息密度が高く、この要因の1つとして、南の海域ほど波あたりが弱いことが考えられる。今後、北よりの海域に設けられた竹の構造物による沖からの入射波の緩衝に伴う、付近の天然稚貝の着底促進効果について検討していく。