

原著論文

移植アサリを用いた干潟環境中の化学物質モニタリング

堀田公明^{*1 §}・林 正裕^{*1}・喜田 潤^{*1,a}・磯野良介^{*1,b}・三浦正治^{*1,c}・
中村幸雄^{1,c}・飯塚誠一郎^{*2}・福沢栄太^{*2}・逸見泰久^{*3}

Use of Manila Clam *Ruditapes philippinarum*
to Monitor Chemical Contamination in Tidal Flats

Komei Hotta^{*1 §}, Masahiro Hayashi^{*1}, Jun Kita^{*1,a}, Ryosuke Isono^{*1,b}, Masaharu Miura^{*1,c},
Yukio Nakamura^{*1,c}, Seiichiro Iizuka^{*2}, Eita Fukuzawa^{*2} and Yasuhisa Henmi^{*3}

要約: 清浄な海水で飼育して化学物質の蓄積濃度を減少させたアサリを九州地方にある2か所の干潟 (A干潟, B干潟) に移植して, 干潟環境中の化学物質 (ポリ塩化ビフェニル (PCBs), 有機スズ化合物 (TBT, TPT)) 濃度とアサリの蓄積濃度との関係を検討した。アサリ軟体部中のPCBおよび有機スズ化合物濃度は海水中濃度ではなく底質中濃度の傾向と一致した。さらに, PCB同族体組成を用いてアサリ, 海水, 底質についてクラスター分析を行ったところ, アサリとアサリを移植した底質は同じグループに分類されたことから, アサリに蓄積した化学物質濃度は移植した底質中化学物質濃度を反映していることが示された。以上の結果より, 干潟に移植したアサリの化学物質を分析することにより, 干潟底質中化学物質のモニタリングが可能と考えられた。

キーワード: アサリ, 干潟, 化学物質, モニタリング, 移植実験, PCB, TBT, TPT

Abstract: Manila clam *Ruditapes philippinarum* which were reduced contaminant concentration of chemicals by rearing in clean sea water were transplanted to the two different tidal flats in Kyushu, tidal flat A and tidal flat B and investigated the relation between the chemical accumulation in clams and environmental chemicals contamination by analyzing concentration of chemicals (polychlorinated biphenyls (PCBs) and organotin compounds (TBT, TPT)) in clams. The detection pattern of PCB and TBT and TPT in clams reflected those of not in sea water but in sediment of tidal flat. Cluster analysis divided were carried out based on the congener computation of PCBs in clams, seawater and sediment of two tidal flats and they were divided into three parts which clams and sediment were in the same parts, which showed the detection of chemicals in clams reflected the chemical contamination in sediment. Therefore, it is thought that measuring of chemicals concentration in clams transplanted in tidal flats are effective procedure to monitor the chemical contamination in sediment of tidal flats.

Key words: Manila clam, *Ruditapes philippinarus*, tidal flat, chemical, monitoring, transplantation experiment, PCB, TBT, TPT

(2014年1月20日受付, 2014年8月18日受理)

*1 公益財団法人海洋生物環境研究所 実証試験場 (〒945-0017 新潟県柏崎市荒浜四丁目7-17)

§ E-mail: hotta@kaiseiken.or.jp

*1,a 現住所: 公益財団法人地球環境産業技術研究機構 (〒619-0292 京都府木津川市木津川台9-2)

*1,b 現住所: 公益財団法人海洋生物環境研究所 中央研究所 (〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地)

*1,c 現住所: 公益財団法人海洋生物環境研究所 事務局 (〒162-0801 東京都新宿区山吹町347番地 藤和江戸川ビル7階)

*2 一般財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所 (〒206-0025 東京都多摩市永山6-11-10)

*3 国立大学法人熊本大学 沿岸域環境科学教育研究センター (〒860-8555 熊本県熊本市黒髪2-39-1)

まえがき

イガイ属 (*Mytilus*) を用いた化学物質等の海域汚染調査 (Mussel Watch) は今から40年前にアメリカで始められ、現在でも毎年、NOAA's National Status and Trends Mussel Watch Program (NOAA, 1993) として実施されている。日本においても1978年以降、環境省がムラサキイガイ *M. galloprovincialis* やイガイ *M. coruscus* を指標種の1つに選定して港湾や河口域等のモニタリング調査を実施している (環境省, 2013)。

干潟域は陸域に接していることから、人間の活動に由来する化学物質が直接流入しやすい海域であり、モニタリングの必要性が高い海域であることから、干潟域に特化したモニタリング手法を開発することが望ましいと考えられる。ムラサキイガイは元来、干潟生息種ではないことから干潟のモニタリングには適していない。そこで、干潟に生息する代表的な二枚貝類としてアサリ *Ruditapes philippinarum* に着目し、アサリがムラサキイガイ同様に化学物質のモニタリングに適した種であるかを調べるために、干潟環境中化学物質濃度とアサリ体内中化学物質濃度の関係を検討することとした。

本来は干潟に自生するアサリを用いて検討することが望ましいが、日本の沿岸においては自生のアサリが安定した再生産を行っている干潟は少なく、また、放流されたアサリの場合にはそれらの育成履歴の把握が難しい。そのため、事前に清浄な濾過海水中で2週間飼育して体内の化学物質を減少させたアサリを干潟に移殖し、一定期間放置した後に回収して体内蓄積濃度を分析する移殖実験を行うことにより、干潟環境中化学物質のモニタリングが可能かどうかの検討を行った。また、移殖したアサリ (以下、移殖アサリ) が干潟に自生したアサリ (以下、自生アサリ) の蓄積濃度を反映するかどうかを確認するために、自生アサリが生息する干潟において移殖アサリと自生アサリの化学物質の蓄積濃度の比較も併せて行った。

方法

調査対象干潟 調査対象海域としてアサリの生息状況および周辺環境の異なる九州西側2箇所のA干潟およびB干潟を選定した。それらの干潟において、アサリ体内の化学物質濃度と環境中化学物

質濃度との関係を明らかにするとともに、各干潟の生物・環境特性の違いによるアサリの化学物質蓄積特性の差異について検討した。

2箇所の干潟は直線距離で約20 km離れていた。A干潟の対岸には漁船や小型のフェリーが発着する港があり、A干潟の沖合を頻繁に船が往来する環境にあった。A干潟では自生アサリが減少し、数年前からはほとんど生息が確認されなくなっていた。一方、B干潟は自生アサリが豊富に生息する干潟であったが、大河川の河口から比較的近い位置にあったことから、河川の影響を受けやすい環境でもあった。

調査対象化学物質と分析方法 アサリ軟体部中、海水中および底質中のPCB (ポリ塩化ビフェニル) とOTs (有機スズ化合物) を調査対象化学物質とした。PCBおよびOTsの分析フローシートを第1図に示した。PCBの分析には高分解能GC-MS法を用いて、1~10塩素置換体別に定量し、それらの総和の濃度 (Σ PCBs) および塩素置換体毎の濃度を求めた。OTsの分析にはGC-MS法を用いて、TBT (トリブチルスズ化合物)、DBT (ジブチルスズ化合物)、MBT (モノブチルスズ化合物)、TPT (トリフェニルスズ化合物)、DPT (ジフェニルスズ化合物)、MPT (モノフェニルスズ化合物) の6種類を分析対象とした。

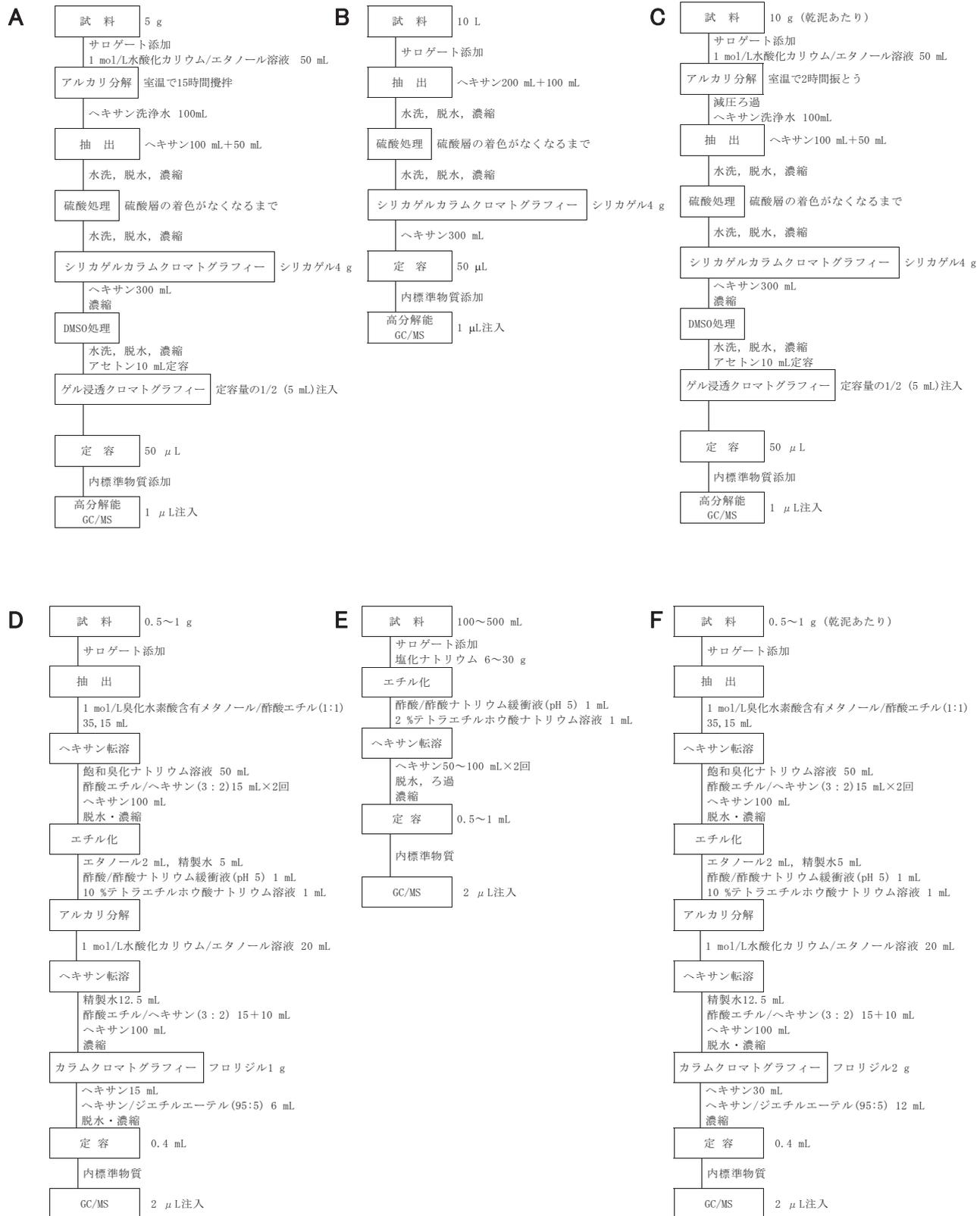
また、アサリ軟体部の脂質をソックスレー抽出法 (日本食品分析センター, 2007) により分析した。

アサリ移殖実験 移殖実験は平成24年の夏季 (6~7月) と秋季 (9~10月) の2回、以下の要領で実施した。

アサリの移殖手順

1. B干潟の自生アサリを採取した。採取したアサリは、直ちに氷冷で宅配便にて (公財) 海洋生物環境研究所実証試験場 (新潟県柏崎市) まで移送した。また、採取したアサリの一部は、浄化飼育前の試料として凍結保存した。
2. 到着したアサリは流水式水槽に收容し、活性炭濾過海水 (水温18~21°C) で14日間無給餌飼育を行った (以下、浄化飼育)。
3. 浄化飼育後、ステンレス製の飼育籠 (網目5.5 mm, 40×40×30 cm) にアサリを1.5 kgずつ分けて收容し、籠の下面が海底面下15 cmになる

堀田ら：移植アサリによる化学物質モニタリング



第1図 ΣPCBsおよびOTs分析フローシート。A-C：ΣPCBs，A：アサリ軟体部，B：海水，C：底質。D-F：OTs，D：アサリ軟体部，E：海水，F：底質。

ようにA干潟とB干潟にそれぞれ4籠を移植した。移植アサリとは別に浄化飼育直後のアサリ3kgを、移植開始時の試料として凍結保存した。

4. A干潟およびB干潟において移植後14日および28日に2籠ずつアサリを取り上げて、現場の海水でアサリに付着した底質等の汚れを落とした後、凍結保存した。

アサリ体内中の化学物質の分析 浄化飼育前、移植開始時、移植後14日および28日のアサリを解凍し、各採取時のアサリ30個体の体サイズ（殻長、殻高、殻幅、軟体部重量）を計測後、化学物質分析用に約200gの軟体部を合せてホモジネートし1検体とした。各採取時ごとに3検体を調製し、PCBs, OTs, 脂質の分析を行った。

アサリの生残率、肥満度および成熟度 飼育籠への収容時と干潟移植後の回収時にアサリの個体数を数え、生残率を算出した。また、測定したアサリの体サイズをもとに肥満度（軟体部重量（g）/（（殻長（mm）x 殻高（mm）x 殻幅（mm））x 10⁵）（鳥羽・深山, 1991）を算出した。成熟度は、浄化飼育前、移植開始時、移植後28日のそれぞれの時点で、取り上げたアサリから無作為に10個を選び、軟体部をホルマリンで固定した後、常法により組織切片を作製し顕微鏡観察を行い成熟度を判定した。成熟度の判定は高（1957）および五嶋ら（1996）の基準にしたがって、回復期、成長期、成熟期、放出期、放出終了期の5段階に分類した。

海水および底質の分析 A干潟、B干潟でそれぞれ3ヶ所の地点の海水と底質を飼育籠の回収時にあわせて採取し、海水中および底質中のPCBsとOTsを分析した。海水と底質の採取・分析は、夏季に1回行った。底質は採取したままの検体（結果のグラフ中に全粒子と表記）およびJIS規格に準拠して篩別することによりシルト（75 μm）以下の細かい粒子とした検体（粘土+シルトと表記）の2種類の検体を分析に供した。また、底質の性状を把握するために粒度組成、TOC（全有機炭素）、IL（強熱減量）を測定した。粒度組成の測定にはレーザー回折/散乱式粒度分布測定装置（堀場製作所 LA-920）を用いた。TOCは沿岸環境調査マニュアル（底質・生物編 5・5・1, 有機物分析 CHN分析法による方法）（小椋, 1986）に準拠して測定した。また、ILは底質調査方法 強熱減量

（環境省, 2012）に準拠して600 °Cで約2時間加熱後の減少量を求めた。

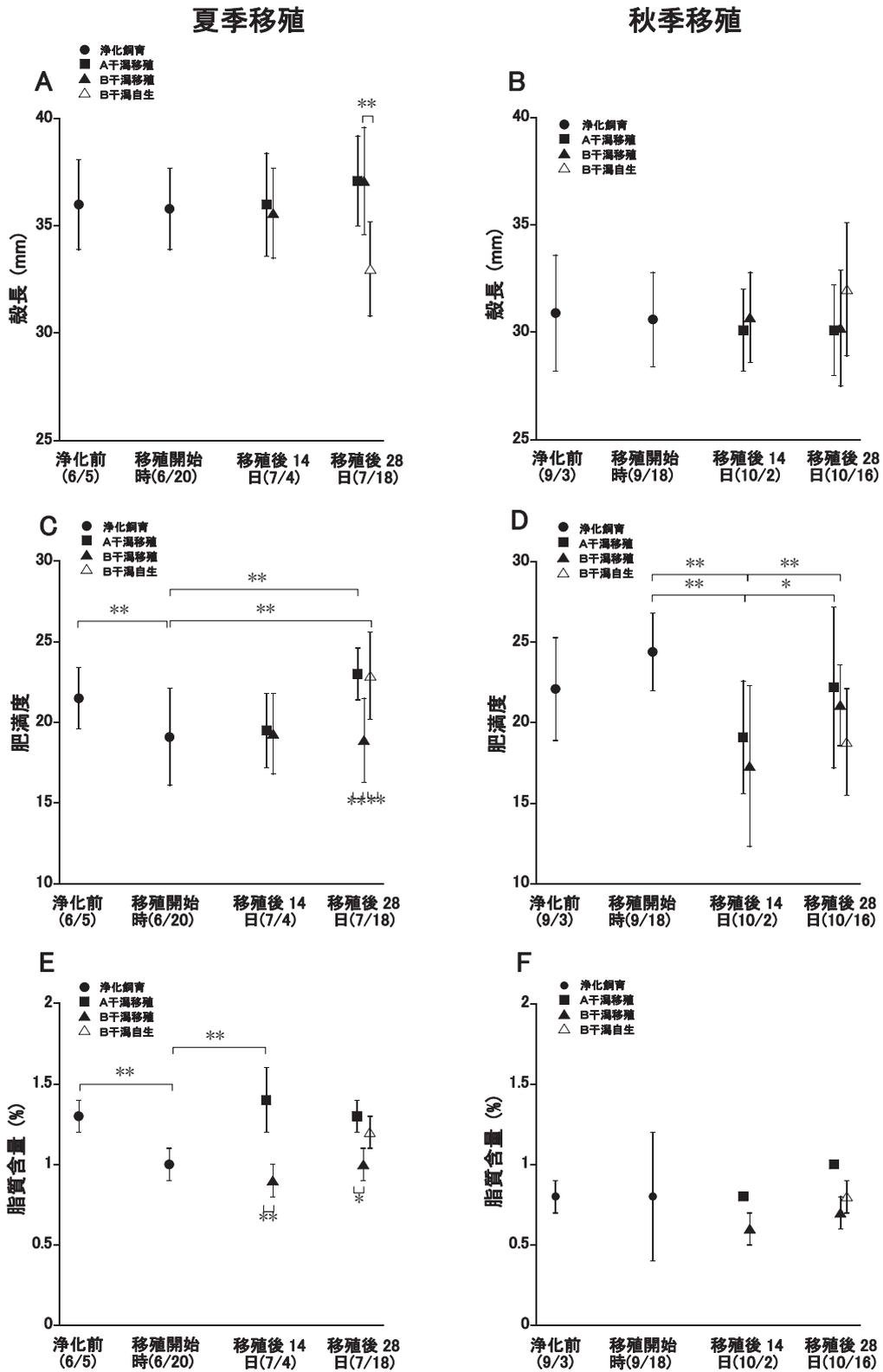
分析結果の統計処理 殻長、肥満度、脂質含量および各化学物質濃度は平均値±標準偏差で表した。平均値の有意差の判定はTukeyの多重比較を用いた。図中の*は1つが有意水準5%, 2つが有意水準1%で有意差が認められたことを示す。ただし、図が煩雑になる場合には有意差が明らかな値間について*の表記を省略した。また、表中の nd は検出下限値未満を表し、有意差の判定時には nd を各化学物質の検出下限値の 1/2 の値に設定した。また、アサリに蓄積したPCBsと環境中PCBsの関係を検討するために、ウォード法によるクラスター分析を行った。

結果

アサリの生残率、殻長、肥満度および脂質含量

移植後28日のアサリの生残率（飼育籠2籠の平均）はA干潟で93%（夏季）と85%（秋季）、B干潟で92%（夏季）と53%（秋季）であった。なお、B干潟で秋季に生残率が低かったのは大雨による河川からの浮泥が干潟を覆ってしまったことによるものと考えられた。浄化飼育中および移植期間中のアサリの殻長を第2図A, B（Aが夏季移植、Bが秋季移植）、肥満度を第2図C, D（Cが夏季移植、Dが秋季移植）および脂質含量を第2図E, F（Eが夏季移植、Fが秋季移植）に示した。夏季移植開始時アサリの殻長は35.8mm、秋季移植開始時アサリは30.6mmで、夏季の方が秋季よりも移植アサリの殻長が大きかった（ $P < 0.01$ ）。夏季、秋季ともに実験期間中に移植アサリの殻長に変化はみられなかったが、夏季B干潟自生アサリの殻長（33.0mm）はAおよびB干潟移植アサリの殻長よりも小さかった（ $P < 0.01$ ）。

夏季移植ではA干潟アサリの肥満度は、移植開始時（19.1）から移植後28日（23.0）にかけて増大した（ $P < 0.01$ ）。しかし、夏季B干潟移植アサリの肥満度は移植開始時と同じレベルに留まり（18.9）、B干潟自生アサリの肥満度（22.9）よりも低かった（ $P < 0.01$ ）。秋季移植ではA干潟とB干潟に移植されたいずれのアサリの肥満度も移植後14日に移植開始時（24.4）に比べ減少（ $P < 0.01$ ）したが、移植後28日にはいずれも増加（ $P < 0.01$ ）し、A干潟移植アサリの肥満度（22.2）は移植開



第2図 アサリの殻長、肥満度および脂質含量。A, Bが殻長, C, Dが肥満度, E, Fが脂質含量。A, C, Eは夏季移植, B, D, Fは秋季移植。縦線は標準偏差 (殻長は $n=30$)。肥満度=軟体部重量(g)/(殻長(mm)x殻高(mm)x殻幅(mm)) $\times 10^5$, 脂質含量(%)=(粗脂肪量/軟体部重量) $\times 100$ 。

始時と同じレベルに回復した。一方、B干潟移植アサリの肥満度（21.1）は移植開始時よりも低く（ $P < 0.05$ ）、秋季B干潟自生アサリの肥満度（18.8）もB干潟移植アサリと同じレベルであった。

夏季移植ではアサリの脂質含量は浄化前から浄化後に1.3%から1.0%に減少し（ $P < 0.05$ ）、その後、A干潟移植アサリでは移植後14日に1.4%に増加し（ $P < 0.01$ ）、移植後28日にも1.3%と同じレベルを保った。一方、B干潟移植アサリでは移植後14日に0.9%、28日に1%と移植開始時の低いレベルに留まった。B干潟自生アサリの脂質含量は1.2%でB干潟移植アサリと有意差はなかった。秋季移植では移植前のアサリの脂質含量は0.8%と夏季移植に用いたアサリの脂質含量よりも低い値であった。移植後にはA干潟アサリの脂質含量は0.8~1%、B干潟アサリの脂質含量は0.6~0.7%となり、B干潟移植アサリの脂質含量はA干潟移植アサリより少ない傾向を示した。B干潟自生アサリの脂質含量は0.8%でB干潟移植アサリと有意差はなかった。

以上の結果は、夏季においては、移植後28日にB干潟移植アサリはA干潟移植アサリより身（軟体部）が痩せて脂質含量が減少していたことを、秋季においては、28日間の移植期間中に、A干潟移植アサリは身痩せしなかったが、B干潟移植アサリは身痩せし脂質含量が減少していたことを示している。

成熟度 成熟度の観察結果を第3図A, Bに示した（Aが夏季実験、Bが秋季実験）。夏季移植では準備したアサリが完熟していたため浄化前には10個体中9個体のアサリの成熟度が放出期であったが、浄化飼育中にアサリが産卵したため成熟個体数が減少し、移植開始時には10個体中8個体が放出終了期であった。しかし、A干潟移植アサリは成熟が再び進み、10個体中9個体が成熟期となった。一方、B干潟移植アサリは成熟が完全に退行し観察した全個体が回復期であった。また、B干潟自生アサリの成熟度はB干潟移植アサリよりも進んでおり、10個体中9個体が成長期または成熟期であった。

秋季移植では、浄化前には10個体中7個体のアサリの成熟度が成熟期であったが、浄化飼育中に成熟が抑制され、移植開始時アサリの成熟度は回復期あるいは成長期であった。その後、A干潟移植アサリは成熟が進み10個体中9個体が成熟期と

なったが、B干潟移植アサリは夏季移植時と同様に成熟が退行し、10個体中9個体が回復期となった。B干潟自生アサリの成熟度はB干潟移植アサリよりも進んでおり、10個体中9個体が成熟期であった。

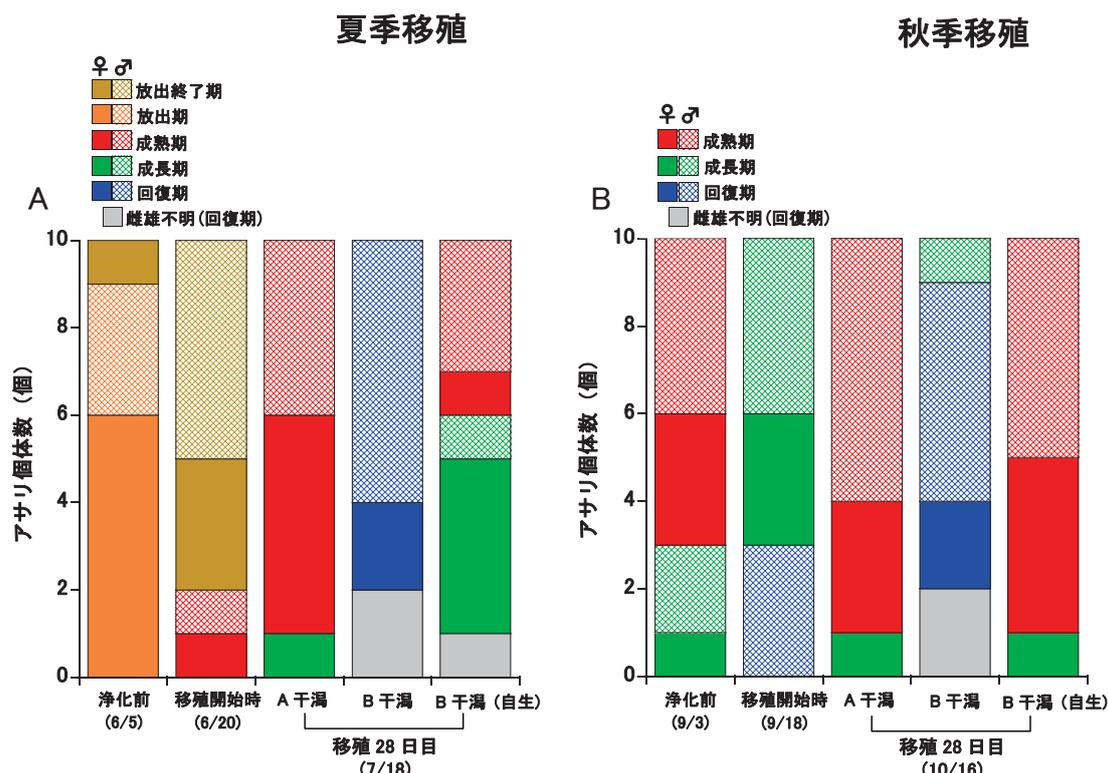
アサリ軟体部中化学物質濃度

ΣPCBs濃度 アサリ軟体部中ΣPCBs濃度を第4図A, B（夏季移植についてはAが湿重量あたり、Bが脂質重量あたりの濃度）と第4図C, D（秋季移植についてはCが湿重量あたり、Dは脂質重量あたりの濃度）に示した。夏季移植アサリのΣPCBs濃度（湿重量あたり濃度、以下同）は、浄化飼育前には0.51ng/g-wetであったが、14日間の浄化飼育の結果、移植開始時には0.25ng/g-wetまで減少し（ $P < 0.01$ ）、その後、A干潟移植アサリでは移植14日後に1.4ng/g-wet、移植28日後に1.8ng/g-wetと増加した（ $P < 0.01$ ）。一方、B干潟移植アサリのΣPCBs濃度は、移植14日後に0.28ng/g-wet、移植28日後にも0.33ng/g-wetと移植開始時の値と有意差はなかった。また、B干潟移植アサリのΣPCBs濃度は、B干潟自生アサリの値（0.36 ng/g-wet）と較べても有意差はなかった。

秋季移植アサリのΣPCBs濃度の変化も夏季移植アサリとほぼ同様な傾向を示した。すなわち、浄化飼育により0.52ng/g-wetから0.22ng/g-wetまで減少したアサリのΣPCBs濃度は、A干潟移植では、14日後に0.45ng/g-wet、移植28日後に0.69ng/g-wetと増加したが、B干潟移植では、移植14日後に0.32ng/g-wet、移植28日後にも0.33ng/g-wetと移植開始時の値に留まった。また、その値はB干潟自生アサリのΣPCBs濃度（0.3ng/g-wet）と有意差はなかった。

夏季移植と秋季移植でアサリΣPCBs濃度を比較すると、A干潟では夏季（移植14、28日後でそれぞれ1.4、1.8ng/g-wet）が秋季（同じく0.5、0.7ng/g-wet）よりも明らかに高値を示した（ $P < 0.01$ ）。しかし、B干潟に移植したアサリのΣPCBs濃度では夏季と秋季で有意差はなかった。

夏季、秋季ともに脂質量当たりのΣPCBs濃度の変化は湿重量当たりの濃度変化とほぼ同じ傾向を示した。秋季のB干潟移植アサリでは湿重量濃度でみると移植開始時と移植後14日の値に変化はみられないが、脂質重量あたり濃度では、移植後に増加した（ $P < 0.01$ ）。これはB干潟移植アサリが移植後に体重の減少があり脂質量が減少してし



第3図 アサリの成熟度。A：夏季移植，B：秋季移植，回復期：生殖細胞はみられず雌雄不明あるいは退縮した生殖細胞がわずかに残存する。成長期：配偶子形成は開始しているが，雌では成熟卵母細胞が現れず雄においてもまだ多量の精子はみられない。成熟期：生殖細管内腔が雌では大型の丸い成熟卵母細胞で，雄では精子で占められる。放出期：生殖細管内に生殖細胞の放出した空隙が認められる一方，配偶子形成も続いている。放出終了期：内腔には大きな空隙が広がり残存した卵や精子が残るのみとなる。新たな配偶子の成長はみられない。

まったため，計算上の脂質量当たり濃度が増加したためである。

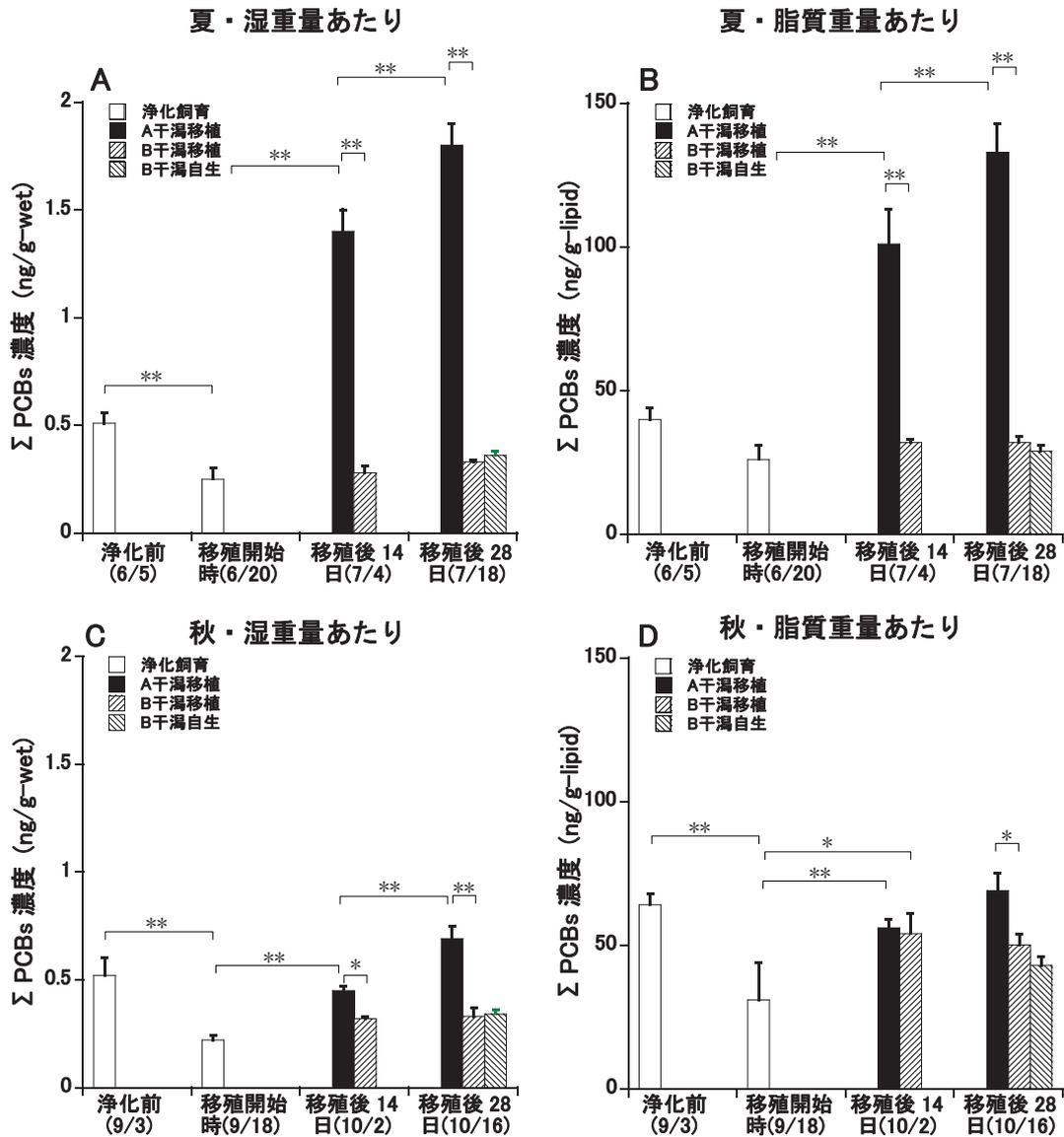
OTs濃度 アサリ軟体部中OTs濃度のうち，夏季移植，秋季移植のアサリのTBT濃度をそれぞれ第5図A，Bに示した。夏季移植においては，14日間の浄化飼育の結果，アサリのTBT濃度は1.1ng/g-wetから0.8ng/g-wetと減少したが，この差は統計的には有意ではなかった。その後，A干潟移植アサリのTBT濃度は移植14日後に3.4ng/g-wetと増加 ($P < 0.01$) し，移植28日後も3.4 ng/g-wetを示した。同様にB干潟移植アサリのTBT濃度も移植14日後に1.7ng/g-wetと増加し，28日後には1.9ng/g-wetを示した。また，B干潟自生アサリのTBT濃度は2.8ng/g-wetで，B干潟移植アサリの蓄積濃度に比べて高値 ($P < 0.01$) を示した。

秋季移植においてもアサリ軟体部中TBT濃度は浄化飼育前 (1.1ng/g-wet) と浄化飼育後の移植開始時 (1.0ng/g-wet) では有意差がなかった。その後，A干潟移植アサリでは移植後14日に4.0

ng/g-wetと増加 ($P < 0.01$) し，移植後28日には4.9ng/g-wetとさらに増加 ($P < 0.01$) した。一方，B干潟移植アサリでは移植後14日には2.6ng/g-wetと増加 ($P < 0.01$) したが，移植後28日にも2.3 ng/g-wetと同じレベルを示した。また，B干潟自生アサリのTBT濃度は検出下限値未満 (< 0.6 ng/g-wet) であった。

A干潟に移植したアサリでは秋季移植後28日のTBT濃度 (4.9 ng/g-wet) は，夏季の値 (3.4ng/g-wet) に比べ高値 ($P < 0.01$) であったが，B干潟に移植したアサリでは夏季 (1.9ng/g-wet) と秋季 (2.3ng/g-wet) で有意差はなかった。

アサリ軟体部中OTs濃度のうち，夏季移植，秋季移植のアサリのTPT濃度をそれぞれ第5図C，Dに示した。夏季移植においては，アサリ軟体部中TPT濃度は浄化飼育の前後でいずれも0.8ng/g-wetを示し変化はみられなかった。その後，A干潟移植アサリでは，移植後14日に1.9 ng/g-wetと増加 ($P < 0.01$) し，移植後28日も同じレベル (1.7ng/g-wet) を示した。一方，B干潟移植アサリでは，



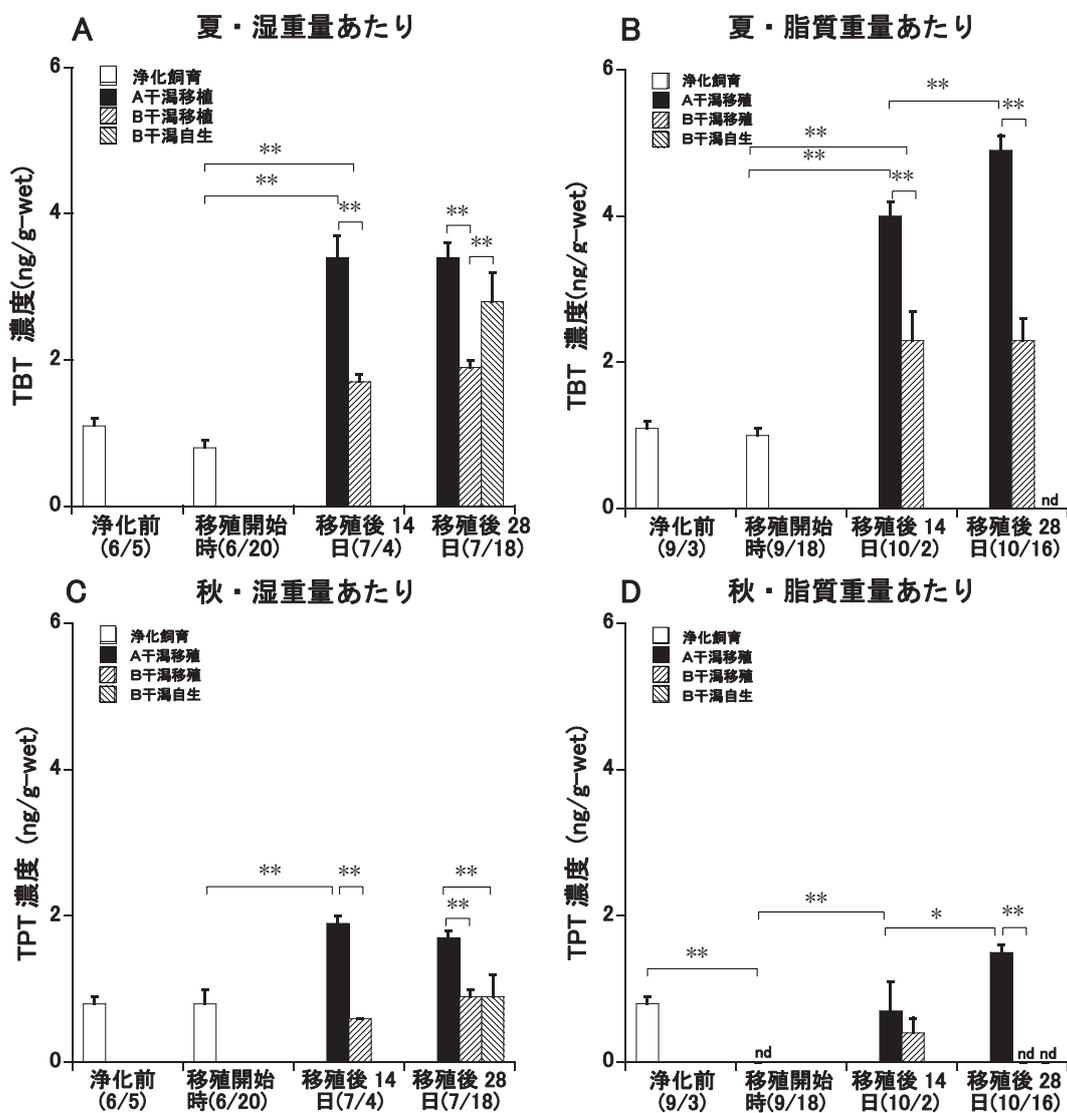
第4図 浄化飼育中および干潟移植後のアサリの軟体部中 Σ PCBs濃度の変化。A, B:夏季移植, C, D:秋季移植。A, Cは湿重量あたり濃度, B, Dは脂質重量あたり濃度。縦線は標準偏差 ($n=3$)。*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 。

移植後14日に0.6ng/g-wet, 移植後28日に0.9ng/g-wetと移植開始時の値から変化しなかった。また, B干潟自生アサリのTPT濃度も0.9ng/g-wetでB干潟移植アサリと有意差はなかった。

秋季移植においては, 浄化飼育の結果, アサリのTPT濃度は0.8 ng/g-wetから検出下限値未満 (<0.4ng/g-wet) に減少した。その後, A干潟移植アサリでは移植後14日に0.8ng/g-wetと増加し ($P < 0.01$), 移植後28日には1.5ng/g-wetとさらに増加 ($P < 0.01$) した。一方, B干潟移植アサリでは,

移植後14日に0.4ng/g-wetと増加 ($P < 0.01$) したが, 28日後には検出下限値未満となった。また, B干潟自生アサリのTPT濃度も検出下限値未満であった。

その他のOTsをみるとMBT, MPT, DPTはすべての検体で検出下限値未満 (MBT <3ng/g-wet, MPT <0.4ng/g-wet, DPT <0.8ng/g-wet), DBTは浄化飼育から移植後28日まで1~3ng/g-wetで推移し変化はみられなかった。

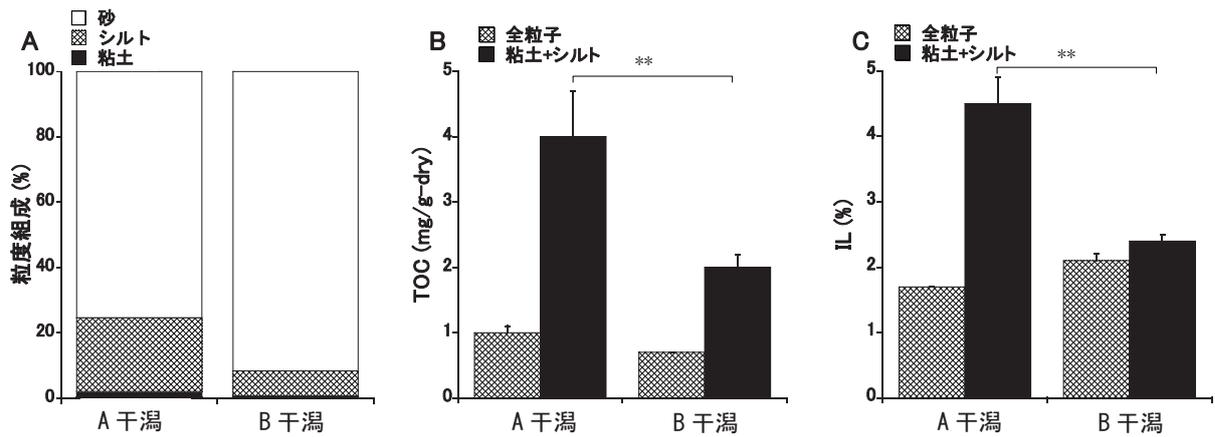


第5図 浄化飼育中および干潟移植後のアサリの軟体部中TBTおよびTPT濃度の変化。A, B : TBT, C, D : TPT。A, Cは夏季移植, B, Dは秋季移植。縦線は標準偏差 ($n=3$), **: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$ 。

海水および底質

底質の粒度組成, TOCおよびIL A干潟とB干潟の底質の粒度組成を第6図Aに, TOCを第6図Bに, ILを第6図Cにそれぞれ示した。底質のうち粘土とシルトを合せた底質(粘土+シルト)の割合は, A干潟が24%, B干潟が8%でA干潟はB干潟に比べ底質(粘土+シルト)の粒子の割合が多かった。

また, 底質(粘土+シルト)の粒子のTOCはA干潟が4 mg/g-dry, B干潟が2mg/g-dry, 底質(粘土+シルト)の粒子のILはA干潟が4.5%, B干潟が2.4%と, いずれの値もA干潟がB干潟より高く ($P < 0.01$), A干潟にはB干潟より底質の有機物が多いことを示していた。



第6図 干潟底質の粒度組成, TOCおよびIL。A: 粒度組成, B: TOC, C: IL。

海水中および底質中PCBs濃度 海水中PCBs濃度を第7図Aに, 干潟底質中PCBs濃度を第7図B, C (B: 全粒子, C: 粘土+シルト) に示した。A干潟の海水中 Σ PCBs濃度は0.019ng/L, B干潟のそれは0.016ng/Lを示し, 干潟間の海水中 Σ PCBs濃度には有意差はなかった。一方, 底質中 Σ PCBsは全粒子を検体とした場合にはA干潟が0.20ng/g-dry, B干潟が0.016ng/g-dry, 粘土+シルトを検体とした場合にはA干潟が1.4ng/g-dry, B干潟が0.23ng/g-dryと, 全粒子, 粘土+シルトのいずれでも底質中 Σ PCBs濃度はA干潟がB干潟よりも高値 ($P < 0.01$) を示した。

海水中および底質中OTs濃度 海水中OTs濃度を第8図Aに, 干潟底質中OTs濃度のうち底質 (粘土+シルト) の分析結果を第8図Bに示した (底質全粒子検体のOTs濃度は検出下限値未満のため図示しなかった)。海水中MBT濃度はA干潟が27ng/L, B干潟が3ng/Lと他のOTsに比べA干潟で顕著に高かった。海水中TBT濃度はA干潟で0.4ng/L, B干潟で0.7ng/L, 海水中TPT濃度はA干潟で0.2ng/L, B干潟で0.8ng/LといずれもB干潟の方が高値を示した。

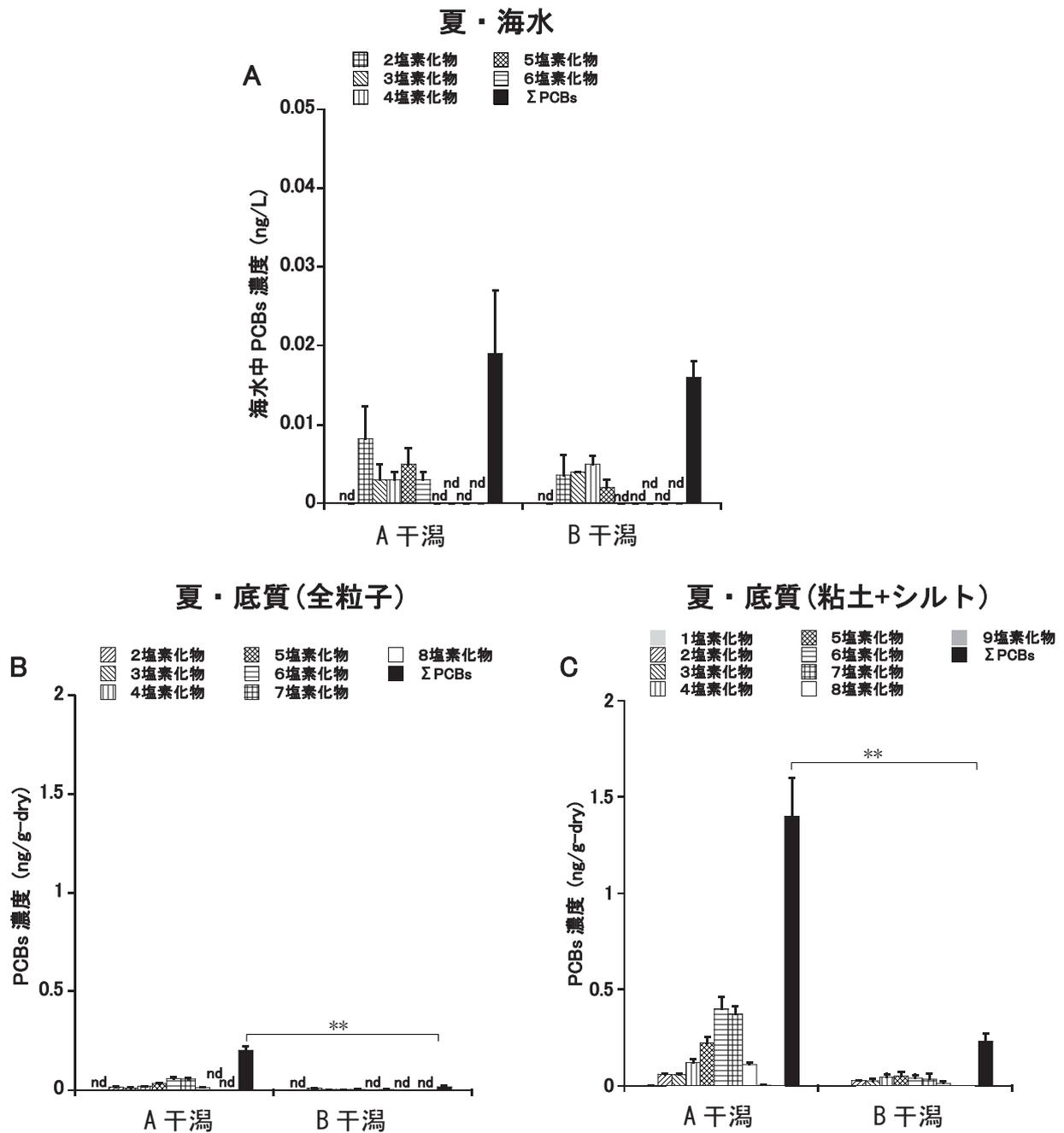
底質 (粘土+シルト) のOTs濃度は, A干潟ではMBTが6ng/g-dry, DBTが4ng/g-dry, TBTが8ng/g-dry, MPTが3ng/g-dry, TPTが6ng/g-dry, DPTが検出下限値未満 (1ng/g-dry) であった。一方, B干潟ではブチルスズ化合物, フェニルスズ化合物をとおして検出された物質はDBT (5ng/g-dry) のみであり, 総じてA干潟の底質中OTs濃度がB

干潟より高値であった。

アサリに蓄積したPCBsと環境中PCBsの関係 クラスタ分析の結果, アサリ軟体部, 海水, 底質は以下の3グループに分けられた (第9図A, B)。すなわち, それらは夏季移植A干潟アサリ, A干潟底質 (粘土+シルト), 秋季移植A干潟アサリのグループ, B干潟底質 (粘土+シルト), 秋季移植B干潟アサリ, 秋季B干潟自生アサリ, 夏季移植B干潟アサリ, 夏季B干潟自生アサリのグループ, A干潟海水とB干潟海水のグループであった。

考察

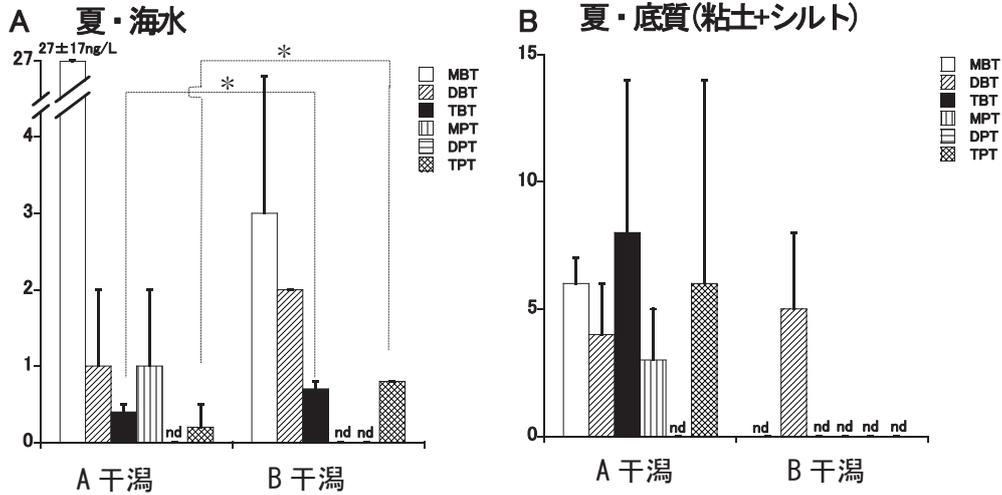
浄化飼育 本実験により14日間活性炭ろ過海水で飼育することにより, アサリ体内のPCBの蓄積濃度を減少させることができることが実証された。しかし, 浄化飼育後の有機スズ化合物 (TBT, TPT) 濃度に有意な減少がみられなかった。Gomez-Ariza *et al.* (1999) はアサリの一種 *Venerupis decussata* を用いた飼育実験を行い1-コンパートメントモデルで解析した結果, TBTの半減期は11日から36日で蓄積濃度が低いほど半減期が長くなると報告している。浄化飼育前のアサリ体内の有機スズ化合物濃度がすでに検出下限値 (TBT: 0.6ng/g-wet, TPT: 0.4ng/g-wet) に近いほどの低濃度だったことから, 14日間の浄化飼育では明確な体内濃度の減少を観察できなかったと考えられる。



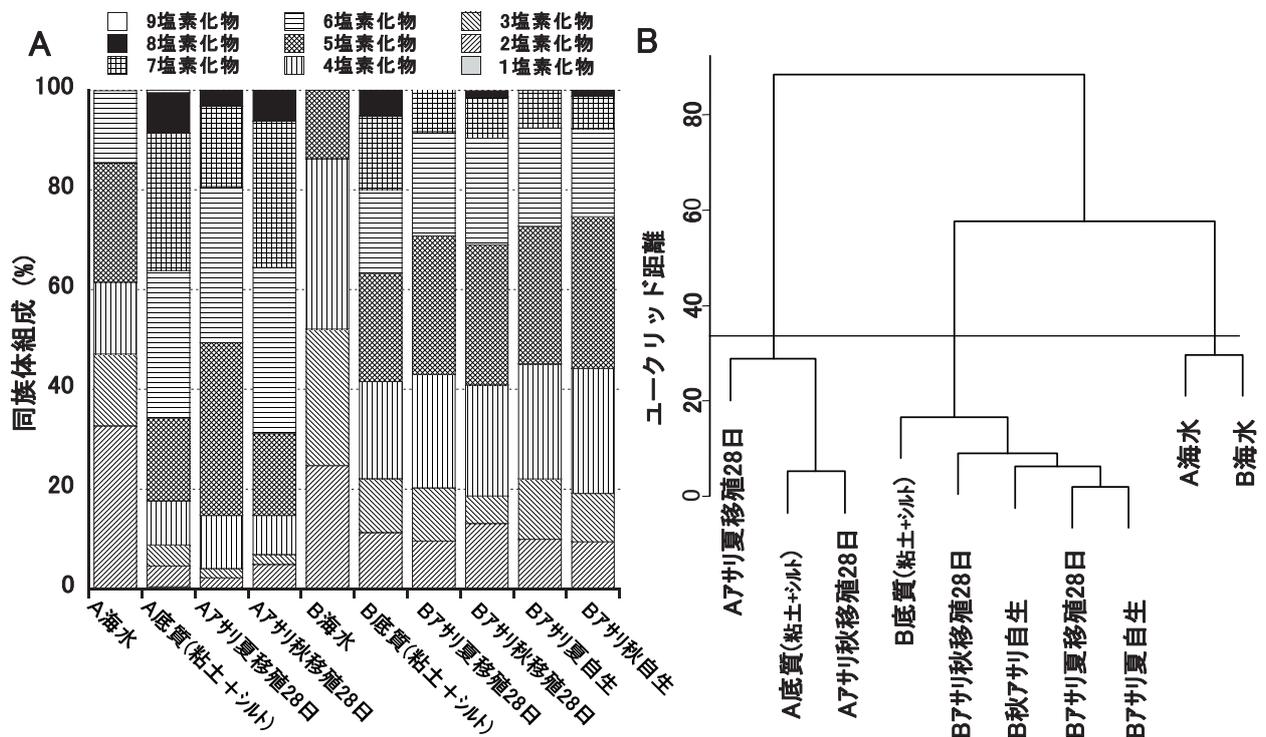
第7図 干潟海水中および底質中PCBs濃度。A：海水，B：底質（全粒子），C：底質（粘土+シルト）。縦線は標準偏差 ($n=3$)，**： $P<0.01$ 。

移植期間 移植実験を行う前に実施した予備的な移植実験で当該干潟においてはPCBとTBTの体内蓄積濃度が、ほぼ3週間で平衡に達することを把握していたことから、移植期間を28日間に定めた。しかし、TPTについては予備実験の移植期間中（42日間）に蓄積濃度が平衡に達することはなかった。したがって、本実験では秋季移植アサリ

のTPT濃度が14日以降平衡に達したようにみられるが、実験を継続すれば28日以降に増加した可能性が高い。Morcillo and Porte (2000) もアサリの一種*Ruditapes decussata*を用いて5週間の移植実験を行っているが、TBTは3週間で蓄積平衡に達したがTPTは5週間でも平衡には達せず、TPTはTBTより蓄積速度が遅いと結論を述べている。



第8図 干潟海中および底質（粘土+シルト）中OTs濃度。縦線は標準偏差 (n=3), *:P<0.05。



第9図 移植後28日のアサリ体内中ΣPCBと干潟海中および干潟底質中ΣPCBの同族体組成。A:PCB同族体組成, B:同族体組成を用いたクラスター分析。移植後28日のアサリ, 海水, 干潟の底質（粘土+シルト）の各同族体組成をサンプルとしてウォード法によるクラスター分析を行った。図中のAはA干潟を, BはB干潟を表す。

移植した干潟の環境 PCBsやOTsのような疎水性の化学物質は、海水中には留まらずに海水中の懸濁物に吸着して最終的には底質に蓄積される。化学物質の濃度は有機炭素量と底質の粒子サイズに関係し、PCB等化学物質は底質のより細かい画分に吸着することが知られている (Thompson *et al.*, 1999)。A干潟はB干潟に比べTOCとILが高く、また、シルト以下の細かい粒子の割合も高く、A干潟の底質中 Σ PCBsやOTsがB干潟より高い1つの要因となっていると考えられる。

Σ PCBとTBTの季節変動 A干潟においてはアサリの Σ PCB蓄積濃度は夏季の方が秋季より2倍以上の高い濃度を示した。本実験で用いたアサリの脂質含量が夏季は1.3%、秋季は0.8%で夏季アサリの脂質含量が秋季アサリよりも高かった。PCBは脂溶性物質であることから夏季にアサリ体内の脂質含量が増加することによってPCBの蓄積量も増加したと考えられる。

一方、A干潟移植アサリのTBT蓄積濃度に関しては、秋季アサリが夏季アサリよりもTBT蓄積濃度が高く、 Σ PCBsの蓄積とは逆の現象がみられた。TBTは脂溶性は高いもののPCB等有機塩素化合物などの蓄積パターンとは異なることが海産ほ乳類や鳥類の研究から知られており、皮下脂肪よりも肝臓や腎臓に高濃度に蓄積する傾向を示すことから、TBTの蓄積には蛋白合成が関与していると考えられている (Stab *et al.*, 1996)。アサリ的一种 *Venerupis decussata* において明確なTBTの季節変動を観察した Gomez-Ariza *et al.* (2000) は、アサリ生殖腺中TBT濃度は体細胞組織中濃度に比べて非常に低いので生殖腺が発達する時期には体全体としてのTBT濃度は減少すると説明しており、この考察に基づけば今回の実験においては夏季にアサリの生殖腺が発達していたことから、軟体部TBT濃度が低下したと考えられる。

環境中 Σ PCBs濃度とアサリ体内濃度の関係 アサリの Σ PCBs濃度は海水中 Σ PCBs濃度ではなく底質中 Σ PCBs濃度の傾向を反映していた。さらに、移植後28日に採取したアサリ軟体部と夏季に採取した海水、底質のPCB同族体組成を用いてクラスター分析を行ったところ、アサリとアサリを移植した底質は同じグループを形成した。この結果は、移植後28日のアサリに蓄積したPCBsの同族体組成と移植した干潟の底質(粘土+シルト)のPCBs

同族体組成が類似していることを示すものであり、アサリ軟体部中PCBsの由来が底質中PCBsである可能性が高いと推察される。

環境中OTs濃度とアサリ体内濃度の関係 A干潟においてもB干潟においてもMBTやDBTが海水中に高い値で検出されたが、アサリ体内ではMBTは検出されなかった。これはMBTやDBTの脂溶性が低いためにTBTに比べると体内には蓄積されにくかったためと考えられる (Morcillo and Porte, 2000)。また、B干潟の海水中TBT濃度やTPT濃度はA干潟の海水中濃度よりも高かった ($P < 0.05$) が、アサリの蓄積濃度ではA干潟移植アサリがB干潟移植アサリよりも高く ($P < 0.01$)、海水中濃度の傾向とは逆であった。底質(粘土+シルト)中においてはOTs濃度は総じてA干潟がB干潟よりも高値を示し、移植アサリの蓄積濃度と同じ傾向であった。竹内 (1991) は東京湾で採取したアサリの軟体部、海水および底質の7年間 (1984~1990年) のTBT濃度の測定データを用いて相関関係を検討した結果、アサリ軟体部と底質の間の相関性をもっとも高かったと報告しており、アサリ中のTBT濃度は底質中濃度と共に推移していくだろうと推定している。

指標生物としてのアサリの適正 Σ PCBs, TBT, TPTの各濃度について夏季移植後28日のアサリ軟体部中濃度を底質(粘土+シルト)濃度で除した値(軟体部中濃度/底質中濃度)を底質からアサリへの濃縮度として計算を行った。軟体部中濃度は湿重量当り濃度なので、山地 (2011) の報告を参考にアサリ軟体部の水分含量を80%としてアサリ軟体部濃度を乾重量当りに換算した。その結果、A干潟においてもB干潟においても底質(粘土+シルト)からのアサリへの Σ PCBsの濃縮度は6.5倍であった(底質濃度を全粒子検体で計算するとアサリへの濃縮度はA干潟が45倍、B干潟が94倍となった)。また、A干潟底質(粘土+シルト)からA干潟移植28日後アサリへのTBTとTPTの濃縮度は、TBTで2.2倍、TPTで17.5倍となった。いずれの化学物質も濃縮度は1を上回りアサリに濃縮されて蓄積されることが明らかとなった。

以上より、アサリが干潟底質の微量化学物質のモニタリングに適した指標生物であり、移植アサリを用いたモニタリング手法が底質汚染をモニタリングするための有効な手段であることが示された。

アサリを用いた干潟環境中化学物質のモニタリング手法 本実験結果をもとに考案したアサリを用いた干潟環境中化学物質のモニタリング手法について第1表にまとめた。本実験で扱った化学物質はPCBsと有機スズ化合物であったが、本実験に先立って行われた予備的な移植実験においては多環芳香族炭化水素（PAHs）やポリ臭化ジフェニルエーテル（PBDEs）もアサリに取り込まれることが確認されているため、第1表にはそれらの物質も対象化学物質として記載した。また移植実験を行う上での留意点として、移植アサリが実験中に死亡する危険性があることを挙げた。本実験において秋季B干潟移植アサリは移植後28日に河川からの浮泥の堆積により約半数が死亡したが、この現象は飼育籠に収容した移植実験においては、干潟環境が悪化した場合にアサリがほとんど逃避行動を取れずに死亡する危険性があることを示唆しており、干潟内の離れた複数の地点に飼育籠を設置する等の対策が必要と考えられた。

謝 辞

本論文執筆に当たり、ご校閲頂いた東京大学名誉教授 日野明德博士、当研究所前理事 清野通康博士、同元理事 城戸勝利博士に深くお礼申し上げます。また、この論文は、水産庁から委託された漁場環境化学物質影響総合評価事業の報告のうち一部を公表するものであり、関係各位に謝意を表する。

引用文献

- Gomez-Ariza, J.L., Morales, E. and Giraldez, I. (1999). Uptake and elimination of tributyltin in clams, *Venerupis decussata*. *Mar. Environ. Res.*, **47**, 399-413.
- Gomez-Ariza, J.L., Giraldez, I. and Morales, E. (2000). Temporal fluctuations of tributyltin in the bivalve *Venerupis decussata* at five stations in southwest Spain. *Environ. Pollut.*, **108**, 279-290.

第1表 移植アサリを用いた干潟環境中化学物質のモニタリング手法

移植時期	アサリの産卵期に当たらない6月から9月の間
対象となる干潟	アサリが現存する干潟あるいは過去にアサリが生息した干潟
対象となる化学物質 (例)	有機塩素化合物(PCBs および有機塩素系農薬), 有機スズ化合物, 多環芳香族炭化水素(PAHs), ポリ臭化ジフェニルエーテル(PBDEs)
移植方法	①移植に用いるアサリを入手する ②活性炭濾過した海水で14~28日間無給餌飼育を行う。 ③アサリを3個のステンレス籠(40×40×30cm)に入れて、調査する干潟の3箇所の底質に約15cm埋没させて設置する。1つのステンレス籠に収容するアサリは150~200個(大きさによって変わる)、重量は1.5kgを上限とする。 ④移植後、28日目にアサリを取り上げて、軟体部を調査対象化学物質の分析検体とする。
分析検体の調製	①ステンレス籠からアサリを取り出し、現場の海水でアサリに付着した底質等の汚れを落とし、ステンレス製の容器に収容する。輸送が必要な場合は、アサリをアルミホイルで包んでジップロック等密封袋に収容し凍結して発送する。 ②1つのステンレス籠から20個体について大きさ(殻長, 殻高, 殻幅, 全重量, むき身重量)を測定する。分析検体用のアサリはむき身(軟体部)を摘出して、砂泥等が混入しないように注意しながら集めて1つの混合試料を作る。3つのステンレス籠のアサリで3つの混合試料を作り、それぞれホモジナイズしてガラス容器に収容し分析に供するまで(あるいは分析機関に発送するまで) -20℃以下で凍結保存する。 ③分析に必要なアサリの検体量は分析する物質の種類や数で異なるが、1検体当りむき身で200g程度(貝を含めた重量で1kg程度)が目安となる。
移植に関する留意点	移植したアサリは環境の異変には十分に対応できないため、移植期間中に身痩せするなどして蓄積濃度が影響を受ける可能性がある。そのため、移植期間中のアサリの生理状態(生存率, 肥満度, 成熟度等)を経時的に調べ、結果解析時の参考とする。

- 五嶋聖治・井手名誉・藤芳義裕・野田隆史・中尾繁 (1996). サロマ湖における移殖アサリの生殖周期と殻成長. 日水誌, **62**, 195-200.
- 環境省 環境保健部環境安全課 (2013). モニタリング調査としての継続性に関する考察. 「平成24年度版 化学物質と環境」, 176-203. http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/2012/shosai/3_4.pdf (2014年1月29日アクセス)
- 環境省 水・大気環境局 (2012). 強熱減量. 「底質調査方法」, 37. http://www.env.go.jp/water/teishitsu-chousa/00_full.pdf (2014年1月29日アクセス)
- 高 良夫 (1957). アサリ生殖巣についての二・三の組織学的観察. 日水誌, **23**, 394-399.
- Morcillo, Y. and Porte, C. (2000). Evidence of endocrine disruption in clams – *Ruditapes decussata* – transplanted to a tributyltin-polluted environment. *Environ. Pollut.*, **107**, 47-52.
- 日本食品分析センター (2007). 分析法簡易フローチャート 脂質 (ソックスレー抽出法) <http://www.jftrl.or.jp/bunsekiflow/files/002.pdf> (2014年1月29日アクセス)
- NOAA (1993). Sampling and analytical methods of the national status and trends program national benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992. Volume I. Overview and summary of methods, NOAA Tech. Memo. NOS ORCA 71, Maryland.
- 小椋和子 (1986). 有機物分析, 有機炭素および窒素. 「沿岸環境調査マニュアル (底質・生物篇)」, (日本海洋学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 57-59.
- Stab, J.A, Traas, T.P., Stromberg, G., van Kesteren, J., Leonards, P., van Hattum, B., Brinkmann, U.A.T. and Cofino, W.P. (1996). Determination of organotin compounds in the foodweb of a shallow freshwater lake in the Netherlands. *Arch. Environ. Con. Tox.*, **31**, 319-328.
- 竹内正博 (1991). ガスクロマトグラフィーによる環境中の有機スズ化合物の分析 (II) – 東京湾の有機スズ汚染調査. 環境と測定技術, **18**, 57-67.
- Thompson, S., Budzinski, H., Garrigues, P. and Narbonne, J.F. (1999). Comparison of PCB and DDT distribution between water-column and sediment-dwelling bivalves in Arcachon bay, France. *Mar. Pollut. Bull.*, **38**, 655-662.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1991). 飼育アサリの性成熟過程と産卵誘発. 日水誌, **57**, 1269-1275.
- 山地幹成 (2011). 広島県尾道市浦崎地先と広島県江田島湾のアサリグリコーゲン含量の季節変化. 広総研水技セ研報, **No.4**, 21-24.