

# 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト 成果報告集(第5巻)



佐賀大学 **有明海** 総合研究 プロジェクト

2009(平成21)年5月

有明海総合研究プロジェクト長 荒牧 軍治

諫早湾とその近傍における環境変化と漁業被害との因果関係を認め,諫早干拓水門を5年間 開放してその影響を調査するよう命じた昨年6月の佐賀地裁判決は,有明海の環境問題が今も 継続した社会問題であることを再認識させることとなりました。被告の国は,開門調査は干拓 地内の農業と地域防災に与える影響が大きいとして福岡高裁に控訴しましたが,同時に開門調 査に向けた環境アセスメントを実施することを表明しました。有明海特有の泥土が厚く堆積す る有明海湾奥部に位置し,貧酸素水塊及び有害赤潮の被害を受け続けている佐賀県では開門調 査に期待する声は大きく,佐賀大学の有明海研究に対しても,開門調査はどのような影響を与 えるかについての科学的評価を望む声が高まっています。また,単なる調査としての開門に留 まらず,水門の常時開放を有明海環境改善の切り札と捉えている当事者も数多くおられ,開門 が有明海環境,特に諫早湾と近傍の海域環境にどのような影響を与えるかのシミュレーション 解析が強く求められています。

佐賀大学のシミュレーションモデルは、有限体積法数値モデル FVCOM をベースとした公開 型のモデルで、3次元流動モデルを中核として懸濁物輸送モデル、低次生態系モデルを付加し た有明海モデルを構築しつつあります。佐賀大学モデルに対する研究者、行政担当者、漁民等 の期待は大きく、佐賀大学モデルを用いた有明海における底質悪化の原因究明と貧酸素及び赤 潮の発生メカニズムの解明を行うとともに、提案されている各種改善策、再生策の有効性を検 証することが求められています。シミュレーションモデルの構築を中核に据えた有明海総合研 究プロジェクトは4年間が経過し、有明海の環境変化の原因究明と再生策の検討に使用可能な シミュレーションモデルの姿が見えてきました。最後の1年間は、このモデルを用いた成果が 数多く公表されることでしょう。わくわくしながらその成果を待ちたいと思います。

また,コア2の微生物関連の研究も,コア3の地域文化・社会科学系の研究も,個別課題の 研究から総合化に向けた作業を開始しなければなりません。研究者の皆様が,苦しいけど愉し い作業だと考えて,大きな成果を挙げられることを期待して止みません

佐賀大学は,2008年から2015年の佐賀大学の方向性を示した佐賀大学中長期ビジョンにおいて,「有明海をめぐる環境問題」を大学が取り組む戦略的研究課題と位置づけ,有明海に関する研究を継続することを表明しています。少なくとも,2010年から始まる新たな中期目標計画期間中は,有明海研究は相当の規模で継続することが可能になったと思っています。現在,これまで振興調整費に支援を受けて佐賀大学におけるもう一つの有明海研究を実施してきた低平地研究センターとの統合を軸に,有明海総合研究プロジェクト終了後の新たな有明海研究体制づくりを急いでいます。当分の間,少なくとも6年間は,有明海に関する研究が佐賀大学の重点課題研究で有り続けます。多くの研究者がこの地に踏ん張り,研究が継続できるような体制づくりをすることが,有明海総合研究プロジェクトの最後の仕事だと認識しています。

### 目次

#### ■ ごあいさつ

#### ■ 環境物質動態研究部門

- 有明海・諫早湾における底泥の再懸濁・沈降に関するマッピング…………………1-6 山本浩一・速水祐一・笠置尚史・濱田孝治・吉野健児・山口創一・片野俊也・吉田誠・ 大串浩一郎・山田文彦・横山勝英
- 有明海底質細胞外ポリマーの底質安定化への効果に関するレオロジー解析 …………·7-12 原田浩幸・志岐昌彦・大石明広・河野泰訓・天野佳正・川喜田英孝・大渡啓介
- 有明海湾奥部干潟域のベントス群集 ……………………………………………………………………………13-22 吉野健児・山本浩一・速水祐一・濱田孝治・山口創一・大串浩一郎
- 有明海における海苔由来の細胞外ポリマーが水質・底質に与える影響…………23-26 天野佳正・原田浩幸・吉野健児
- 筑後川感潮河道における高濁度水塊の横断分布とSS 沈降に関する研究………27-32 横山勝英・山本浩一・金子 祐

#### ■ 干潟底質環境研究部門

- 佐賀県沿岸域における覆砂の効果と持続性について……………………………47-52 原口智和・加藤 治・靏丸雅之・瀬口昌洋・郡山益実

#### ■ 環境モデル研究部門

- 有明海奥部における物質輸送と低次生態系の動態について-4年目の成果- ……59-68 速水祐一・山本浩一・濱田孝治・吉野健児・吉田誠・片野俊也・山口創一・郡山益美・ 古賀あかね・瀬口昌洋・紫加田知幸
- 有明海を対象とした懸濁物モデルの構築とその成果………………………………………………………69-76 濱田孝治・山本浩一・速水祐一・山口創一・吉野健児・片野俊也・吉田誠

有明海の赤潮原因藻類 Chattonella の動態に関する研究: Chattonella の固定方法の開発お よびそれを利用した Chattonella 個体群の日周鉛直移動調査 ………………………85-94 片野俊也・吉田誠・山口創一・李周妍・韓明洙・速水祐一

- 有明海奥部における 2008 年夏期のシャトネラ赤潮とその競合種の動向 ………105-110 吉田 誠・片野俊也・山口創一・速水祐一
- 有明海湾奥部に流入する河川の感潮域における流れと土砂動態に関する現地調査 111-114 平川隆一・大串浩一郎・大本照憲

#### ■ 微生物相研究部門

*Vibrio vulnificus* に感染するバクテリオファージの検索 …………………………115-120 神田康三・松本浩一

分子生物学的手法による有明海底泥中の細菌相解析 ………………………………………………………………121-126

小林元太・田中重光・中園唯・田代幸寛・加藤富民雄・神田康三

- ポルフィランの栄養生理機能に関する研究 …………………………………………………………133-136 山野尚美・永尾晃治・濱洋一郎・柳田晃良
- 天然環状ペプチドによるヒト好中球のプライミング作用…………………………137-140 小内美佳・杉山大輔・長田聰史・藤田一郎・浜崎雄平・兒玉浩明

#### ■食水系感染症研究部門

- ビブリオバルニフィカス感染症対策 臨床医学的アプローチ 第四報………141-146 中島幹夫・大石浩隆・松本浩一・冨田由紀子・三溝慎次・荒木和邦
- ビブリオ・バルニフィカス感染症対策 基礎医学的アプローチ(第四報) …147-152 大石浩隆・松本浩一・中島幹夫・田中重光・小林元太・神田康三・草場耕二・中島由佳 理・永沢善三・大重賢治
- 佐賀大学医学部附属病院における壊死性筋膜炎 55 例の検討 ……………………159-162 三溝慎次・山田友子・松本浩一・荒木和邦・大石浩隆・中島幹夫

Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を利用したビブリオバルニフィカス検出法の検討(第一報)・163-166草場耕二・中島由佳理・於保恵・永沢善三・松本浩一・根本二郎・大石浩隆・中島幹夫

#### ■ 地域文化・経済研究部門

ノリ養殖の協業化の現状と課題 一佐賀県鹿島市を事例に一 ……………167-171 山下宗利 諫早湾干拓事業におけるアジェンダ・セッティングのズレ …………………………………………181-184 樫澤秀木

有明海・八代海沿岸域エコトーンにおける文化的景観の保全(4) −有明干拓地における
レンコン堀の冬季湛水機能− ……185-190
五十嵐 勉

### CONTENTS

Preface

Research Division of SEDIMENT AND MATERIAL TRANSPORT

TIDAL FLAT MACROFAUNA IN THE INNER PART OF ARIAKE BAY ………13-22 Kenji YOSHINO, Koichi YAMAMOTO, Yuichi HAYAMI, Takaharu HAMADA, Souichi YAMAGUCHI, Koichiro OHGUSHI

EFFECT OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES SECRETED BY LAVER ON WATER QUALITY AND SEDIMENT IN ARIAKE SEA ......23-26 Yoshimasa AMANO, Hiroyuki HARADA, Kenji YOSHINO

Research Division of ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY OF

TIDAL FLAT AND SEDIMENT EFFECT OF IRON CONCENTRATION ON THE

Research Division of ENVIRONMENTAL MODELING

Koichiro OHGUSHI and Yoshiaki TSURUTA

Research Division of MICROBIAL TECHNOLOGY

Shigemitsu TANAKA, Koichi MATSUMOTO, Hirotaka OISHI, Mikio NAKASHIMA, Kohzo KANDA and Genta KOBAYASHI

Research Division of MARINE & FOOD-BORNE INFECTION

Hirotaka OISHI, Kouichi MATSUMOTO, Mikio NAKASHIMA, Shigemitsu TANAKA, Genta KOBAYASHI, Kohzo KANDA, Kouji KUSABA, Yukari NAKASHIMA, Zenzo NAGASAWA and Kenji OHSHIGE

POLIMYXIN-B IMMOBILIZED FIBER-DIRECT HEMOPERFUSION (PMX-DHP) FOR PATIENTS WITH NECROTIZING FASCIITIS ·······153-158 Kouichi MATSUMOTO, Yukiko TOMITA, Yoshinori MAEDA, Shinji MITSUMIZO, Kazukuni ARAKI, Hirotaka OISHI, Mikio NAKASHIMA

STUDIES OF EARLY DIAGNOSIS METHOD FOR *VIBRIO VULNIFICUS* USING LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) -(THE FIRST REPORT)

Kouji KUSABA, Yukari NAKASHIMA, Megumi Oho, Zenzo NAGASAWA, Kouichi MATSUMOTO, Jiro NEMOTO, Hirotaka OISHI and Mikio NAKASHIMA"

### Research Division of LOCAL CULTURE AND ECONOMICAL ACTIVITIES

# 環境物質動態研究部門

Research Division of SEDIMENT and MATERIAL TRANSPORT

### 有明海・諫早湾における底泥の再懸濁・沈降に 関するマッピング

ESTIMATION OF THE PARAMETERS FOR RESUSPENTION AND SETTLING OF COHESIVE SEDIMENT IN THE INNER PART OF THE ARIAKE BAY AND ISAHAYA BAY

山本浩一<sup>1</sup>·速水祐一<sup>2</sup>·笠置尚史<sup>3</sup>·濱田孝治<sup>4</sup>·吉野健児<sup>5</sup>·山口創一<sup>6</sup> 片野俊也<sup>7</sup>·吉田誠<sup>8</sup>·大串浩一郎<sup>9</sup>·山田文彦<sup>10</sup>·横山勝英<sup>11</sup> Koichi YAMAMOTO, Yuichi HAYAMI, Takashi KASAGI, Takaharu HAMADA, Kenji YOSHINO, Soichi YAMAGUCHI, Toshiya KATANO, Makoto YOSHIDA, Koichiro OHGUSHI, Fumihiko YAMADA and Katsuhide YOKOYAMA

<sup>1</sup>博(工)山口大学准教授 社会建設工学科(〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1) <sup>2</sup>博(農)佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1同上) <sup>3</sup>工修 大分県豊肥振興局 豊後大野事務所(〒879-7131 大分県豊後大野市三重町市場1123) <sup>4</sup>博(工)佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1) <sup>5</sup>博(水)佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(同上) <sup>6</sup>博(理)佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(同上) <sup>7</sup>博(理)佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(同上) <sup>8</sup>博(水)佐賀大学特別研究員 有明海総合研究プロジェクト(同上) <sup>9</sup>工博 佐賀大学准教授 理工学部都市工学科(同上) <sup>10</sup>博(工)熊本大学教授 大学院自然科学研究科(〒860-8555 熊本市黒髪2丁目39番1号) <sup>11</sup>博(工)首都大学東京准教授 都市基盤環境コース(〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1)

For the numerical modeling of the suspended sediment transport, mapping of the resuspention coefficient and measuring of the settling velocity of the suspended sediment were performed. The resuspention coefficient in the Ariake Sea could estimated by the clay content, dry density and vane shear strength of the bottom sediment. Settling velocity of suspended sediment in the Isahaya Bay, Ariake Sea and Chikugo River Estuary were proportional to the 0.77 power of the concentration of suspended sediment.

Key Words : Fine sediment, Isahaya Bay, ADV, re-suspension flux and settling velocity

#### 1.はじめに

有明海異変に関する問題のうち,底質の細粒化は 懸濁物質の動態と密接に関連している.この原因を 解明するためには,懸濁物質輸送モデルを用いて懸 濁物質の輸送を再現する必要があり,佐賀大学が FVCOMベースの数値モデルを開発中である<sup>1)</sup>.粘 着性底質の輸送を再現するモジュールには,底質の 再懸濁現象や懸濁物質の凝集による底質の沈降速度 の変化を組み込む必要があり,これは実態に即した ものにすることが望ましい.

底質の再懸濁は,海底面に作用するせん断応力に より起こるが,再懸濁の速度すなわち底面から供給 される懸濁物質のフラックスは底面せん断応力とと もに,底質の特性に大きく左右される.このため, 対象海域全域で正確な再懸濁速度を求めようとする 場合,対象海域における再懸濁パラメータの分布が 必要となる.それは実際の海域の底質分布に即した ものとなる.

底質の沈降速度とは懸濁物質の沈降速度のことで ある.ここで扱う懸濁物質は75 μm以下のシルト・ 粘土である.ところが実際の海域において懸濁物質 は凝集しているためその粒径が大きく変化し,最大 500 μmに達することがある.また,凝集した懸濁物 質(フロック)には高い割合で水が含まれているた めに密度が水に近くなり,これら粒径・密度の関係 は,一般的にはフロック密度関数で記述される<sup>21</sup>が, 現場においてフロックごとの沈降速度を測定する必



図 - 1 底質調査地点 (2006年8月,2008年7月)

要があるためにその測定は困難である.また,一般 的に懸濁物質濃度が高い場では大きな粒径のフロッ クがみられることが多いため,懸濁物質濃度と沈降 速度には正の相関がみられる<sup>3)</sup>.沈降速度は懸濁物 質の内容によって大きく変化するために,これも現 場での測定値を使用することが望ましい.

そこで本報告では,底質細粒化解明のためのモデ ルのパラメータとして重要な底質の再懸濁条件・沈 降速度についての研究を報告するものである.

#### 2.研究方法

#### (1) 底質調査

有明海湾奥部の表層底質の分布を把握するために, 2006年8月9日~15日(大潮~中潮)において採泥を 行った.また,2008年7月8日には諌早湾で採泥を 行った.図-1に調査地点を示す.また,底質特性 の季節変動を把握するためにSx1とS3を通るライン で2006年7月~2007年7月の間,大潮の日に定線採泥 調査を行った.底泥採取にはエクマンバージ採泥器 を用い,採取後直ちに表層1cmの泥のせん断強度を, 回転粘度計(東機産業TVC-5,ロータNo.5)を用い て測定した.また,表層1cmの底泥については実験 室に持ち帰り湿潤密度・含水比・強熱減量・粒度分 布を測定した.乾燥密度は計算により算出した.ま た、山本らの方法<sup>4)</sup>により,粘度をベーンせん断強 度に変換した.

#### (2) 係留観測

SS濃度と濁度の関係を得るために各地点にて底面 直上20cm水と表層水を採水し濁度とSS濃度を測定 した.図-2に示した5点の再懸濁速度調査地点に



図-2 沈降再懸濁速度調査地点(),再懸濁 速度調査地点(),沈降速度調査地点()

おいてADV (Nortek Vector) と濁度計 (ATU5-8M) を設置して計測を行った.観測の諸元を表 - 1に示 す.ここでHamakawaは佐賀県浜川タワー, Chikugo-14Kは筑後川感潮河道14km地点,Kx2は佐 賀大学有明海総合研究プロジェクト有明海観測タ ワー,S3は神沖瀬地点,Sx1は白石沖地点である. 表-1 再懸濁速度調査の諸元

地点	時期	方法	周波数	底面から の高さ (cm)	
Hamakawa	2006.9.5			25	
Chikugo-14K	2007.8.31		64Hz	38	
Kx2	2007.11.8				
\$3	2007.1.28	ADV			
	2007.2.21		16Hz	20	
Sx1	2006.12.22			_•	

調査地点の海底面上20-38cmにサンプリング・ボ リュームが来るようにADV(Nortek社 Vector)を設 置した.サンプリング周波数は16Hzないし64Hzで 計測した.

ADVによって測定された流速からx, y, z方向 のそれぞれの流速u, v, wの乱流成分u', v', w'を算出した.これを用いてx, y方向のレイノル ズ応力 $\tau_{bx}$ ,  $\tau_{by}$ をそれぞれ(1)式, (2)式で算出した. 底面せん断応力 $\tau_b$ はそれらのベクトルの和の大きさ とし,底面での値とするため,水面で0として外挿 し(3)で求めた.ここでhは水深(m), hsはセンサー 高 (m)である.



図 - 3 現場型沈降管による沈降速度計測

$$\tau_{bx} = -\rho \overline{u'w'} \tag{1}$$

$$\tau_{bv} = -\rho \overline{v'w'} \tag{2}$$

$$\tau_b = \frac{h + hs}{h} \sqrt{\tau_{bx}^2 + \tau_{by}^2}$$
(3)

ADVによって得られた反射音響強度はSS濃度に 変換した.変換に用いた係数を表\*に示す.

$$SNR = a\log C + b \tag{4}$$

ここで, C は懸濁物質濃度(mg/L), SNR はADVの 反射音響強度(dB)を示す.筑後川感潮河道におい ては上げ潮と下げ潮で反射音響強度とSS濃度の関係 が変化した.フロックの平均粒径が大きく変化した が,この影響が考えられる.

表 - 2に各地点での反射音響強度とSS濃度の関係 の係数,表 - 3に再懸濁速度の計測地点の底質特性 を示す.また,各観測地点における底質の特性を表 - 3に示す.なお,機器の設定はSampling volume = 14.9 mm, Transmit length = 4.0 mm, Power level = Low + とした.

以上より, *SNR*の時系列からSS濃度*C*およびその変動成分*C*'(mg/L)を計算できる.*Jz*を乱流鉛直 SSフラックス(g/m<sup>2</sup>/s)とすると,渦相関法により (5)式のように乱流鉛直SSフラックスを計算できる.

$$Jz = C'w' \tag{5}$$

|--|

地点	а	b	備考
Kx2	15.197	11.758	
Sx1	13.631	-0.067	
S3	10.851	11.337	
浜川タワー	13.387	-0.097	
筑後川14K	12.494	10.000	上げ潮時
筑後川14K	28.276	-38.934	下げ潮時

#### 表-3 再懸濁速度観測地点の底質特性

地点	時期	ベーンせ ん断強度 (Pa)	粘土含有 率(%)	乾燥密度 (kg/m <sup>3</sup> )
Hamakawa	2006.9.5	131	52.1	305
Chikugo-14K	2007.8.31	29	23.9	191
Kx2	2007.11.8	650	1.4	1250
63	2007.1.28	200	39.4	320
55	2007.2.21	150	41.9	330
Sx1	2006.12.22	160	45.8	300

#### (3) 沈降速度観測

SSの沈降速度は既に報告した現場型沈降筒<sup>5)</sup>を用いたもの,改良型現場型沈降筒,フロックカメラを用いた方法<sup>6)</sup>の3通りで行った.沈降筒(図-3)を用いた場合は一定の時間,沈降筒内で沈降させた後,カラム上下のクロロフィルa濃度,SS濃度を測定した.沈降速度計測の諸元を表-4に示す.

表-4 沈降速度計測方法の諸元

地点	時期	方法	内径 (mm)	全長 (mm)	容量 (L)	沈降時間 (min)	n
Hamakawa	2006.9.5	フロックカ メラ					8
Chikugo-14K	2007.8.31	現場型沈	50	202	0.771	2~10	18
Kx2	2007.11.8	降筒	50	392	0.77		10
B3,B6	2008.9.2	改良型現	77	400	1 951	2~10	38
A1-A14	2008.9.15	海空沈晖	77	400	1.69L		43

SSの沈降速度を現場で求めるためにアクリル管 (内径50 mm,全長392 mmおよび内径83mm,全長 350mm)を用いて沈降筒を製作した.沈降筒は上半 分のカラムと下半分のカラムの水を採水できるよう になっている.ペリポンプと接続することで筒内に 現地の水を導入し,沈降試験を行うことができる. ペリポンプは毎分3Lで吸引した.沈降筒内の水の 上昇速度は9 mm/s程度になるので,粒径100µm以下 のシルト・粘土については静水中でのその沈降速度 を大幅に上回るので,問題なく測定できる.

沈降筒を水中に下ろし、ペリポンプで筒内に下端 バルブから現地水を導入後ポンプを停止し、水上に 引き上げ、ただちにバルブを全閉した.採水層の水 温に設定した容器にいれて沈降管を垂直に保ったま まSSを沈降させた.一定時間(60~600秒間)沈降 させたのち,中段の採水口から沈降管の上半分(上 部カラム)の懸濁水を採水した.その後下半分(下 部カラム)の懸濁水を採水した.次に沈降速度の計 算方法を示す.

沈降管内については静穏なためSSの鉛直乱流拡散 が無視できるから,カラム上端を原点とし,zを鉛直 下向きにとって,ポンプ停止時刻をt=0として(6) 式によってカラム内の鉛直SS濃度分布を計算した.

$$\frac{\partial C_i(t,z)}{\partial t} = w_{is} \frac{\partial C_i(t,z)}{\partial z}$$
(6)

ここで  $C_i(t,z)$  は時刻 t における z = z の位置にお ける粒径 i のSS濃度,  $w_{is}$  は粒径 i のSSの沈降速度で ある、上部カラム下端を  $z = z_1$ ,下部カラム下端を  $z = z_2$ , T を沈降終了時間とする、沈降管内の t = 0における粒径 i のSS濃度  $C_i(0)$  を初期条件として与 え,(6)の両辺を t = 0 から t = T まで積分すると, t = T におけるカラムの粒径 i のSS濃度の鉛直分布が 得られる、t = T における上部カラム,下部カラム の粒径 i のSS濃度をそれぞれ, $C_{iT}(T)$ , $C_{iB}(T)$  とお くと,それぞれ

$$C_{iT}(T) = \frac{1}{z_1} \int_0^{z_1} C_i(z, T) dz$$
(7)

$$C_{iB}(T) = \frac{1}{z_2 - z_1} \int_{z_1}^{z_2} C_i(z, T) dz$$
(8)

となり,沈降管の初期のSS濃度C<sub>i</sub>(0)は,

$$C_{i}(0) = \frac{z_{1}C_{iT}(T) + (z_{2} - z_{1})C_{iB}(T)}{z_{2}}$$
(9)

で得られる.既知であるT ,  $C_{iT}(T)$  ,  $C_{iB}(T)$ により ,  $w_{is}$ を繰り返し計算で収束させて求めることができ る.

#### 3.研究結果

(1) 有明海湾奥・諫早湾における底質分布

図 - 4に有明海および諌早湾の底質分布(Md))を示 す.湾奥西部や諌早湾奥はMdが7より大きく粘土質 であり,湾東部には粗粒質の底質が分布する.ベーン せん断強度Sv(Pa)は砂含有率 s(%)と関係があり, 砂含有率が18.8%で場合分けできて,

Sv = -138.99 s + 389.08 ( s < 18.8%) (10)

Sv = 3.1354 s + 87.781 (s > 18.8%) (11)

となった(図 - 5).有明海では粘度計によりベーンせん

断強度を推定したため,砂領域ではせん断強度を得る ことができなかった.このため,上記の推定式により砂質 域のベーンせん断強度を推定した.



図 - 4 有明海·諫早湾におけるMd の分布 (2006年8月·2008年7月)



図 - 5 諌早湾の底質における砂含有率とベーンせん断強度の関係(2008.7月)

(2) 底質の特性による再懸濁係数のモデル化

一般的に再懸濁フラックスは限界せん断応力があ る形で記述されることが多いが,本観測では限界せ ん断応力の時間的な変動が大きいことが明らかに なった.そこで,本研究では再懸濁速度をE(kgm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), τ<sub>b</sub>を底面せん断応力(Pa)として,ADVで 計測した底面せん断応力と再懸濁フラックスの関係 を限界せん断応力なしの再懸濁モデル

$$E = M_E \tau_{\rm b} \tag{12}$$

に回帰した.再懸濁係数 $M_E$  (kg m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>)は底 質の特性に依存性があり, Svを底質のベーンせん断 強度(Pa),  $\xi c \varepsilon$ 粘土含有率(-),  $\rho_{dry} \varepsilon$ 乾燥密度 (kg m<sup>-3</sup>)として

$$M_E = 6.54 \times 10^{-5} \exp(2.02\rho_{drv}\xi_c / Sv) \quad (13)$$



図 - 6 再懸濁係数*M<sub>E</sub>*(kgm<sup>-2</sup>Pa<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)の底質の特性に対 する依存性 (Sv:ベーンせん断強度, c:粘土含有率, dry:乾燥密度)



図 - 7 底質の特性を考慮した再懸濁係数  $M_{e}(kgm^{-2}Pa^{-1}s^{-1})の対数値$ 

で表すことができた(図-6).

(11)式は,底質の粘着性が高ければ再懸濁しに<<, 単位体積あたりの粘土含有量が高ければ再懸濁係数が 増加することを示している.かつ,その効果が指数関数 的に発現するというモデルである.(11)式と実際の底質 分布から,有明海・諫早湾における再懸濁係数*M<sub>E</sub>*の 分布が推定された(図-7).推定された再懸濁係 数は,諫早湾と有明海西部で高い値を示しており, 粘土が再懸濁しやすいことを示している.特に諫早 湾口の再懸濁係数は高く,再懸濁が容易に起こるこ とを示している.

#### (3)沈降速度

沈降速度はおおむねSS濃度の関数となった.沈降 速度がSS濃度の関数になるのは、SSが凝集している ためであり、フロックの粒径を $D_f$ 、一次粒子の粒 径を $D_p$ 、フロックの密度を $\rho_f$ 、水の密度を $\rho_w$ 、一 次粒子密度を $\rho_s$ 、フラクタル次元を $n_f$ とすると、 フロックの有効密度  $\Delta \rho_c$ は、

$$\Delta \rho_f = \rho_f - \rho_w = (\rho_s - \rho_w) \left( D_p / D_f \right)^{3 - n_f} \tag{14}$$

で表される<sup>6</sup>.ストークス則の沈降速度を適用した 場合,

$$w_s = (1/18)\Delta \rho_f g D_f^{2} = (1/18)(\rho_s - \rho_w) \mu^{-1} g D_p^{3-n_f} D_f^{n_f-1}$$
(15)

となる.

フロックカメラによる解析によると<sup>7)</sup> $n_f$ については1.5~ 1.8であったから, $w_s \approx D_f^{0.5 \sim 0.8}$ となる.すなわち,粒径の大きなフロックほど沈降速度が速いことを示す.

有明海・筑後川感潮域のフロックについてはSS濃度が 高くなるにつれてその粒径が大きくなるといえる.なお, SSの一次粒子の中央粒径は5 - 15 μmであったが, LISST-100によって観測された水中のフロックの中央粒 径は50 - 250 μmであり,確かに凝集していた.図 - 8に 海域ごとのプロットを示す.



図 - 8 沈降速度のSS濃度に対する依存性 ( :筑後川感潮河道, :有明海, :諫早湾)

筑後川感潮河道,有明海,諌早湾のデータをまとめると,沈降速度を w<sub>s</sub> (m/s), SS濃度を SS (g/m<sup>3</sup>)とした場合,

$$w_s = 4.27 \times 10^{-6} SS^{0.768}$$
 ( $R^2 = 0.628$ ) (16)

で表された.

なお,同じSS濃度の場合,図-8におけるプロットの傾向を比較すると,沈降速度は諌早湾>筑後 川・有明海となった.諌早湾における沈降速度が有 明海や筑後川よりも大きいが,その原因は今後明らかにする必要がある.

#### 4.まとめ

有明海において有明海総合研究プロジェクトが開 発中の懸濁物質輸送モデルのパラメータとして,底 質の再懸濁条件のマッピングと現地での懸濁物質の 沈降速度の取得を行った.再懸濁条件としての再懸 濁速度は粘土含有率,乾燥密度とベーン剪断強度を 用いることで推定でき,現地底質データとあわせて 諌早湾,有明海湾奥部についてマッピングを行うこ とができた.

沈降速度は濃度の0.77乗に比例して沈降速度が速 くなることが確認された.諫早湾の沈降速度の絶対 値は低いものの,同じ濃度条件下では有明海奥部に 比較して大きな沈降速度をとることが明らかになっ た.

#### 謝辞

本研究を遂行するにあたり,佐賀県水産課,佐賀 県有明海漁業共同組合,福岡県有明海漁業協同組合 連合会には底質調査の協力を得ました.ここに記し て感謝いたします.

#### 参考文献

1)濱田孝治、山本浩一、速水祐一、山口創一、吉野健

児・片野俊也・吉田誠,有明海を対象とした懸濁物モ デルの構築とその成果,佐賀大学有明海総合研究プ ロジェクト成果報告集,第5巻,2009.

- Behavior of the turbidity plume relating to the density current in the tidal river : Yamamoto, K., Yokoyama, K., Takashima, K. and Abe, S., Sediment and Ecohydraulics - Proc. in Marine Science 9, INTERCOH 2005, Elsevier, 69-82, 2007.
- Thorn, M. F. C., Physical Processes of Siltation in Tidal Channels, Proceedings Hydraulic Modelling Applied to Mritime Engineering Problems, ICE, London, 1981, 47-55.
- 4)山本浩一・速水祐一・笠置尚史・濱田孝治・吉野健児・山田文彦,有明海湾奥部における懸濁物 質濃度変動特性に関する研究,海洋開発論文集, 24,1081-1086,2008.
- 5) 山本浩一,横山勝英,2008.筑後川感潮河道に おける懸濁粒子の凝集・沈降フラックスに関する 調査,海岸工学論文集,55,pp.1431-1435.
- Kranenburg, C., 1994, On the fractal structure of cohesive sediment aggregates, Estuarine, Coastal and Shelf Science, 39, 451-460.
- 7) 安江洋介,大串浩一郎,山本浩一,速水祐一, 濱田孝治,有明海の懸濁物質の沈降速度に関する 基礎的研究,平成18年度土木学会西部支部講演会, 993-994,2007.

(2009.3.31受付)

## 有明海底質細胞外ポリマーの底質安定化への 効果に関するレオロジー解析

THE RHEOLOGY ANALYSIS ON SEDIMENT STABILIZATION EFFECTS OF EXTRACELLAR SUBSTANCES IN ARIAKE SEDIMENTS

原田浩幸<sup>1</sup>・志岐昌彦<sup>2</sup>・大石明広<sup>3</sup>・河野泰訓<sup>4</sup>・天野佳正<sup>5</sup> 川喜田英孝<sup>6</sup>・大渡啓介<sup>7</sup> Hiroyuki HARADA, Masahiko SHIKI, Akihiro OHISHI, Yasukuni KAWANO, Yoshimasa AMANO, Hidetaka KAWAKITA and Keisuke OHTO

<sup>1</sup>博(学) 佐賀大学准教授 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>2</sup>佐賀大学大学院生 工学系研究科循環物質専攻(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>3</sup>佐賀大学大学院生 工学系研究科循環物質専攻(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>4</sup>佐賀大学学部生 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>5</sup>博(工) 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>6</sup>博(工) 佐賀大学助教 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>7</sup>博(工) 佐賀大学教授 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Ariake Sea sediment- stabilizeing effect of extracellular polymeric substances was investigated in a laboratory setting. Extracellular polymeric substances (EPS) in the lyophilized sediment were isolated as colloidal carbohydrate fraction. Evaluate of rheological properties of EPS solution and sediment slurry with EPS, calcium ion were carried out using a shear rate chargeable rehometer. This aqueous solution of EPS behave as Bingham fluids, the shear stress increase with elapsed time. It would be most like due to hydration. The sea sediment slurry with EPS behave as non-Bingham fluids. The stress-strain hysteresis loop width predicts the interaction of sediment and EPS. EPS enhance of sediment stabilization, the effect is greatly improve by calcium ion.

*Key Words : rehology analysis, extracellar polymeric substances(EPS), Ariake Sea sediment stress-strain hysteresis* 

#### 1. はじめに

有明海異変は水産漁業者が漁獲量の減少に対して提案 した言葉であり、それが広く定着して現在では色々な環 境質変化の影響までを示すようになった. 佐賀大学の有 明海研究総合プロジェクトではその異変の定義の一つに 透明度の増加をあげて研究対象とした<sup>1)</sup>. 透明度上昇の原 因は潮流の変化が第一的に考えられるが、それ以外の要 因も当然にある. 著者らはそれに底質に付着藻類が生産 する細胞外ポリマー(EPS)をあげて性状と季節の変動 を調べた<sup>2)</sup>.

透明度に EPS が関係機構は次のように考えられる. 底

質の付着藻類から溶出した EPS が存在すると, EPS が 接着剤のような働きをすることによって海水中の浮遊粒 子の凝集・沈降が促進される.

また、海底に堆積した底質粒子は EPS によって安定化 され、潮流による巻き上がりが減少する. これらの事が、 有明海で観測される事象としての透明度の上昇と底質中 の COD の増加に繋がっていると考えた. EPS と底質粒 子の相互作用についてはレオロジーを中心に議論してい く. このような試みは生物膜の培養系でなされている<sup>3</sup>. しかしながら、海底底質中の EPS の抽出しその安定化へ の影響を調べ、ひいては有明海の底質の状況に言及した 例は見あたらない.

#### 2. 材料

#### (1) EPS 調製

EPS の抽出方法には次のような方法が提案されている. 凍結乾燥した底泥を 30℃で1時間蒸留水と接触し,その 後 3500g, 15 分間の遠心分離を行う方法<sup>4)</sup>,底質 500 mg に対して蒸留水 1cm<sup>3</sup>を加え,30℃で1時間接触させ, 2800g, 10 分間の遠心分離を行う方法<sup>5)</sup>. 凍結乾燥底質 5 ~55 mg に蒸留水 0.4 cm<sup>3</sup>を加えて 30℃で1時間接触さ せ,6000g, 5 分間の遠心分離を行う方法<sup>6)</sup>.

共通する点は30℃で1時間接触させること、そして蒸 留水を用いることの2点であり、底質に対する蒸留水の 固液比, 遠心分離の速度, 時間ともに異なっている. 本 研究では参考文献 6に基づき、凍結乾燥汚泥 0.1gを蒸留 水 0.8 cm<sup>3</sup>に懸濁させ、回転型攪拌器を用いて 30℃で1 時間攪拌した. その後 6000g, 5 分間の遠心分離を行い 底質から EPS を抽出した. 抽出した EPS には構成が不 明なポリマー状の炭水化物が含まれており、その評価に は単糖、シアル酸、ウロン酸および分子量布の分析が行 われる. 本研究ではポリマーを構成する単糖と糖鎖のマ トリックス構造に関与するウロン酸の分析をHPLCによ って行った.また炭水化物としての評価には、全糖およ びウロン酸の分析をそれぞれフェノール-硫酸法 "および カルバゾール-硫酸法®によって行った. 更に EPS を粉末 として回収するため、EPS 水溶液に対して4倍量の特級 アセトンを添加することで、EPS を沈殿させ、その後吸 引ろ過を行い,残渣を回収し,乾燥させる操作を行った. この操作によって得られた試料 1.24 mg に 2 mol/dm3の トリフルオロ酢酸 0.2 cm<sup>3</sup>を添加し、100℃で6時間加水 分解した後,減圧乾固を行った.残渣を蒸留水 0.2 cm<sup>3</sup> に溶解させ、0.22 µm のフィルターでろ過後、希釈し、 0.05 cm<sup>3</sup>をポストカラム HPLC システムによって分析し た. 移動相として 0.5mol/dm<sup>3</sup>ホウ酸カリウム緩衝液を用 い、中性糖の検出波長は Ex.320 nm Em. 430 nm とし、 ウロン酸は Ex. 360 nm Em. 430nm とした. カラム温度 は70℃で一定とした.また,GPCによってEPSの分子 量を推定した.

#### (2) カオリン・カルシウム

カオリンは Wako 純薬工業株式会社製および塩化カル シウム2水塩は関東化学株式会社製特級を用いた.

#### (3) 底質

表層 1cm の底質を採取し、凍結乾燥した. これを粉砕し、200 $\mu$ mのふるい目を通過したものを用いた.

#### 3. レオロジー特性

一般に流体のレオロジー特性はずり速度と応力の関係



図-1 ずり速度とずり応力による流動の分類

を図-1 に示す.大きくは液体,懸濁液がある応力以上になって初めてビンガム流動と非ビンガム流動のように流動 を開始する(この点を剪断応力という)塑性流動とる擬 塑性流動,ニュートン流動,ダイラタン流動のようにす ぐに流動を開始する非塑性流動に分けられる.

#### 4. 実験

#### (1) EPS 溶液レオロジー特性

#### a)溶液単独系のレオロジー

回収した EPS 水溶液を遠心濃縮機を用いて,体積が約 半分になるまで遠心濃縮を行った.得られた濃縮液は粘 度測定の前に 30℃中で 1 時間静置させ,その後,DV·II +Pro(BROOKFIELD)を用いて粘度測定を行った.回転 粘度計には共軸二重円筒型やコーン型があるが,再現性 に高い共軸二重円筒型を選択した.これを用いて 30℃に おいて 0.396~100[s<sup>-1</sup>]のずり速度とずり応力の関係を調 べた.以降の速度条件も同様である.また,濃縮液に含 まれる全糖量をフェノール硫酸法 つによって,グルコース 換算により測定した.同時に調製した濃縮液 3 本を 4℃ で5日間,7日間,10日間静置し,それぞれ同様の条件 で粘度測定および全糖量の測定を行った.

#### b) 懸濁系のレオロジー

抽出直後,および抽出後4℃で5日間,7日間,10日 間静置させたEPS水溶液10mlにカオリン3.3gを加え, 撹拌させ十分に懸濁させた.その後,DV-II+Pro (BROOKFIELD)を用いて粘度測定を行った.

表-1 カオリン懸濁系レオロジー実験条件

	カオリン量 <sup>(g)</sup>	<b>粉末EPS量</b> (mg)	カルシウム濃度 (mmol •dm <sup>-3</sup> )
EPS,Ca添加	3.3	4	99
EPS添加	3.3	4	0
Ca添加	3.3	0	99
添加なし	3.3	0	0

表・2 レオロジーに及ぼすカルシウムの効果

カオリン量 (g)	粉末EPS量 (mg)	カルシウム濃度 (mmol•dm <sup>-3</sup> )
3.3	4	99
3.3	4	66
3.3	4	33
3.3	4	0

#### (2) カオリン懸濁系に EPS による粉末を添加した系の レオロジー特性

#### a) EPS およびカルシウム共存系でのレオロジー

塩化カルシウム2水和物1.455 gを蒸留水 100 mlに溶 解させ、99 mmol dm<sup>3</sup>カルシウム水溶液を調製した.カ オリンに粉末 EPS を添加し、99 mmol dm<sup>3</sup>カルシウム 水溶液 10 ml を加え懸濁させた.その後、DV-II +Pro(BROOKFIELD)を用いて、任意のずり速度におけ るずり応力を測定した.また、比較としてカルシウムの みを添加する場合、粉末 EPS のみを添加する場合、カオ リンを蒸留水に懸濁させただけの場合も同様の操作で測 定を行った.懸濁液調製の条件を表-1 に示す.さらに、 ずり速度を 0.396 s<sup>1</sup>から 158 s<sup>1</sup>まで増加させてから、連 続して再度 0.396 s<sup>1</sup>まで段階的に下げることで、応力履 歴(ヒステリシス)を測定した.

#### b) EPS 量の効果

それぞれに粉末 EPS を 2, 4, 6 および 8 mg を量り 取り,それにカオリン 3.3 g に添加し,99 mmol dm<sup>-3</sup>カ ルシウム水溶液 10 ml を加え懸濁させた.その後,DV-II +Pro(BROOKFIELD)を用いてずり応力を測定した.

#### c) カルシウム量の効果

カオリンに粉末 EPS を添加し,カルシウム水溶液 10 ml に懸濁させた. その後, DV-I +Pro(BROOKFIELD) 用いて,ずり応力を測定した. 条件を表-2 に示す.

# (3) 有明海底質懸濁系に EPS による粉末を添加した系の レオロジー特性

凍結乾燥させた有明海底質 3.3 g に粉末 EPS 4 mg を 添加し, 99 mmol dm<sup>-3</sup> カルシウム水溶液 10 ml を加え 懸濁させた. その後,DV-II +Pro(BROOKFIELD)を用い てずり応力を測定した.

また,比較として懸濁液にカルシウムのみを添加する 場合,粉末 EPS のみを添加する場合,底質を蒸留水に 懸濁させただけの場合も同様の操作で測定を行った.測 定条件は表1に同じである.

#### 5. 結果と考察

#### (1) EPS の性状

糖分析の結果を図2に示す.7種の中性糖および2種の



図-2 EPS を構成する糖



図-4 カオリン懸濁液の流動特性

酸性糖の存在を確認した.また限外濾過膜で透析したと きの全糖量濃度は62mg/lであり,タンパクはそのほぼ1/3 であった.糖が多いことからこの EPS は藻類由来である と考えられる.また,凝集に関係するウロン酸濃度21mg/l と全糖量の中での割合が高い.このウロン酸は凝集に関 係するとされている.



図-5 カオリン-EPS 水溶液懸濁液のレオロジー履歴



図-6 カオリン懸濁液へのEPS, Ca添加効果

#### (2) 溶液単独系

実験の結果は、ずり速度と応力関係において切片をも つ直線関係となったので EPS 水溶液は塑性流体のビン ガム流動を示すことが分かった. 図-3 に示すように濃縮 直後の EPS 水溶液の剪断応力値(0.024 Pa)に比べて、時 間が経過した液ではその値が、0.033、0.088、0.100 Pa と高くなり、10 日が経過した液では濃縮直後の約4倍を 示した.また濃縮液の全糖量は1.4 mg であり、時間が経 過しても、ほとんど変化はなかった.

本研究では遠心分離した溶液なので、藻類の増殖によるものではなく水和によるものであると考えている.これは Perkins らおこなった安定性の実験では、EPS が存在すると含水率の減少がすくないことからも水分子を保



図-7 EPS 添加量の影響

持することがわかる. したがって EPS はウロン酸により 網状の凝集構造を形成して水和されていると思われる. これにより凝集構造が安定化される.

#### (3) カオリン懸濁系

#### a) EPS 水溶液カオリン懸濁系

次に擬似底質としてカオリンを用いて、カオリン懸濁 液に時間経過によって粘性が変化した EPS 水溶液を加 え、カオリンの凝集性に与える影響を調査した(図-4).

溶液単独系と異なって速度と応力の関係において直線 にならず曲線を描くようになり、非ビンガム流動を示す ようになる. 懸濁液が入っている場合においても放置時 間にともなってずり速度が高い領域での応力が増加して



図-10 底質懸濁系の応力履歴曲線

いる. このことは EPS とカオリンが相互作用で安定化し, さらに水和によってその安定化が増加したためと考えら れる. 一方で Brawer ら<sup>9</sup>はレオロジー評価において懸濁 系では EPS の影響を受けないとしている. これは底質の 違いかあるいは後で述べるように,レオロジーに寄与す る量があって,それ以上では影響が少ないものと考えて いる.

#### 次にヒステリシス測定の結果を図-5に示す.

履歴(ヒステリシス)とはずり速度をあげていき,各 点で測定後,速度を順次下げて測定することを意味する. 結果は,速度の高いところから下げていくと応力は上げ ていくときに比べて若干低い値を示しループ状態となった. 長坂ら<sup>10</sup>によるとこのループの幅は構造体のひずみを表す. そこで図・5においてループ幅の大きな応力 15Paで見ると EPS 添加,あるいは添加なしのほうの幅が広く,それが Ca の添加によって,幅が小さくなっている. これは吸着した EPS が Ca によってより凝集安定効果を生じ緻密になったためと考えている<sup>10</sup>. 実際の透析液ではMg のほうが Ca に比べて濃度が高かったが, Ca も検出されており相互作用の議論によく用いられている.

#### b) EPS に粉末を用いた場合の検討

図-6にカオリン懸濁系に EPS 粉末や Ca を添加したと

きの結果を示す.

濃縮水溶液と異なる点はより全糖量が高まっている点 である. そのため Ca と EPS の相互作用により,はじめ てずり速度の高い領域で,応力が高くなる傾向は同じで あるが,応力そのものの数値が高くなっている.

次に共存 EPS 量およびカルシウム濃度を変えた結果 を図-7,図-8 に示す.この結果を見ると応力が高いこと が安定性に関連しているとすると EPS および Ca とも, その効果が最大限に発揮される最適量があり,それ以外で はカルシウムや EPS が存在しても効果が低下すると考 えられる.そのためレオロジーに影響しないとの報告も ある<sup>111</sup>と考えている.

凝集安定化に最適量が存在する原因は検討途中である ので、別に報告する.

#### (4) 底質懸濁系

実際の凍結乾燥底質懸濁系の流動特性を図-10に示す. カオリン懸濁系と全く異なり,無添加ではずり速度の増加に伴う応力の増加は小さい.カルシウムだけの添加で はほぼ直線的に増加してビンガム挙動を示し,他の場合は カオリン懸濁系と同じく非ビンガム挙動を示した.ずり 速度が高い領域では EPS 添加系でカオリン懸濁系より 高い応力を示した.これは底質が EPS を吸着しやすいこ と<sup>11</sup>および凍結乾燥しているだけなので底質の粘着性に 起因すると考えている.EPS が存在するとなにも存在し ない場合の速度の速い領域では 2 倍程度になる.カルシ ウムと EPS がともに存在する場合はさらにその応力が 増加した.

図-10 は底質懸濁系の応力履歴曲線を示す. 添加なしの 場合はループの幅が大きく, それはカルシウム添加によ ってやや小さくなっているので, バラバラの構造体がカ ルシウムによってややまとめることがわかる. EPS 単独 添加では幅がさらに減少するとともに, 応力が増加して いるので,凝集がすすみ単一構造に近くなってきて, EPS, Ca 添加系では Ca の効果でさらに促進されることがわか った.

#### 4. まとめ

有明海底質から水溶性 Colloid の多糖類を抽出した. その構成は7つの中性糖および2つのウロン酸から構成されていた. タンパクに比べて糖が多いことから藻類が起源と考えられた.

流動の応力履歴曲線の形,ループ幅およびずり応力の値 から判断すると Ca だけでは底質で凝集安定化には至ら ないが EPS の存在があると相互作用により底質は安定 化することが明らかとなった. 本研究は文部省科学者(佐賀大学)特別教育研究費の 助成を受けて実施している有明海総合研究プロジェクト の分担研究である.記して感謝します.

#### 参考文献

- 速水祐一:佐賀大学有明海総合研究プロジェクト東京 シンポジウムー有明海における環境異変の要因と再 生の可能性についてー、シンポジウム要旨集、2008.
- 大石明広,原田浩幸,河野泰訓,志岐昌彦,山本浩一, 速水祐一,井上勝利:有明海底質細胞外ポリマーの性状 と底質安定化への効果,海岸工学論文集,第55 巻,2008.
- Wloka M., H.Rechage, H.-C.Flemming, J. Wingender: Rheological properties of viscoelastic substances and comparison to behavior of calcium alginate gels. Collidal Polym. Sci, No.282, 1067-1076, 2004.
- Brouwer J. F. C. de, K. Wolfstein, G. K. Ruddy, T. E. R. Jones and L. J. Stal (2005) : Biolgenic stabilization of intertidal sediments, Microbial Ecology, pp.501-512.
- Winder .de, N.Staales, L.J.Stal, D.M.Paterson: Carbohydrate serection by phototrophic communication in tidal sediment, Journal of sea research,131-146,1999.
- Brouwer J.F.C.de, L.J.Stal: Short-therm dynamics in microphytobenthos distribution and associates in sulfer sediments of intertidal sediment, MARINE ECOLOFY PROGRESS,218,33-44,2001.
- 7) Hodge, J. E. and Hofreiter, B. T., Method in Carbohydrate Chemistry, 1, 338,1962
- Quantitive analysis of biofilm EPS uronic acid content, Journal of Microbiological Methods,7 1,61-65,2007.
- Brower J.F.C. de,G.K.Ruddy, T.E.R.Jones and L.J.Stal: Sorption of EPS to sediment and the effect on rehology of sediment slurries.Biogechmeistry,61,57-71,2002.
- 10) 長坂進介, 新帯 亮, 青木孝司,加藤和生:エポキ シ樹脂の疲労寿命信頼性解析,デンソーテクニカルレ ビュー,Vol.12 No.2, 67-71,2008.
- 11) DADE W.B,R.L.Self,,R.L. Pellirn, A.Moffet, P.A.Jamars, A.R.M.Nowell : The effects of bacterial on the flow behavior of clay-seawater susupension, Journal of Sediment Research, Vol.66, No, 1, 39-42, 1996.

### 有明海湾奥部干潟域のベントス群集

Tidal flat macrofauna in the inner part of Ariake Bay

吉野健児<sup>1</sup>・山本浩一<sup>2</sup>・速水祐一<sup>3</sup>・濱田孝治<sup>4</sup>・山口創一<sup>5</sup>・大串浩一郎<sup>6</sup> Kenji Yoshino, Koichi Yamamoto, Yuichi Hayami, Takaharu Hamada, Souichi Yamaguchi, Koichiro Ohgushi

<sup>1</sup>水博 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト准教授(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>2</sup>工博 山口大学工学部・社会建設工学科准教授(〒755-8611 宇部市常盤台2-16-1番地)
<sup>3</sup>農博 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト准教授(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>4</sup>工博 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト准教授(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>5</sup>理博 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト研究機関研究員(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>6</sup>工博 佐賀大学理工学部准教授(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

The macrofauna of three estuarine tidal flat areas at the mouth of the Chikugo River, Rokkaku River, and Shiota River in the inner part of Ariake Bay is described. Sampling was done from a boat during high tide using a Smith-McCintyre grab sampler  $(22.5 \times 22.5 \text{ cm})$  at 11 stations in each area in December 2005, and May and August, 2006. Multivariate analyses showed that community structures differed significantly between the tidal flats. This was mainly due to differences in the abundance of the the arcid bivalve *Scapharca kagoshimensis*, the venerid bivalve *Ruditapes philippinarum*. The distribution of endangered species and invasive species also differed between tidal flats, and those species occurred mainly in the mudflats of the Rokakku River and/or Shiota River estuaries. Differences in sediment grain size would be a factor of the differences in the macrofauna and the distribution of endangered and invasive species among the tidal flats.

Key Words : endangered species, invasive species, macrobenthos, tidal flat,

#### 1. はじめに

有明海は広大な干潟と日本最大の干満差を有する内湾 であり、産業上重要な水産資源をはじめ、国内では有明 海だけに限られる特産種、準特産種を併せて約70種も生 息する日本でも極めて貴重な海域である.これらの特 産・準特産種の大部分はベントスであり、特産種では23 種中14種、準特産種は49種中40種がベントスである<sup>1)</sup>.

佐賀県から福岡県沿岸の湾奥部海域は特産種や準特産 種が多く分布するとされる重要な海域である<sup>1)</sup>.しかし 近年の湾奥部は貧酸素水塊の頻発<sup>2-4)</sup>や底質の細粒化<sup>5)</sup> など環境の悪化が著しく,水産資源の低迷をはじめ<sup>6)</sup>, 潮下帯域では約15年前に湾奥部広域で行われた調査<sup>7)</sup>で のベントス相に比べ個体数や現存量、分布域が減少して いることが示された<sup>8)</sup>.

これに対し同じ湾奥部でも干潟域におけるベントス相の現状ついては、断片的情報は増えつつあるが<sup>9-10)</sup>、

まとまった報告はほとんどない.この理由の一つは,佐 賀沿岸の干潟の大部分が通常歩行の困難な軟泥であり, 広域での生物相をとらえることに大変な労力を要するこ とにある.

本研究では湾奥部の主要な流入河川である筑後川,塩 田川,六角川の河口干潟域において,満潮時に船上から 採泥器を用いて調査を行い,湾奥部干潟広域のベントス 相の記載を行うことを主要な目的としている.湾奥部の 干潟域では絶滅が懸念される希少種の出現が期待される ほか<sup>1,9)</sup>,食用二枚貝の移入に伴う外来生物の侵入も問 題となっている<sup>1,11-13)</sup>.本研究ではこれらの点にも注 目した.なお、本報告の内容の大部分は日本ベントス学 会誌にて近日出版される<sup>14</sup>。

#### 2. 方法

各干潟域に11地点を設け(Fig.1), 2005年12月, 2006



Fig. 1. Location of the sampling stations.

年5月、8月の3回マクロベントスの調査を行った. 筑後 川河口域は主としてMdφが4~5の砂泥干潟であるが,塩 田川,六角川河口域は底質の中央粒径値Mdφが6以上の シルト,粘土を主成分とする軟泥干潟である<sup>15)</sup>.出現 種数は調査海域の面積に影響を受けるので,各干潟域に おける調査地点の散らばり具合が干潟域間で違いがない ようにした(F<sub>230</sub>=0.628, p=0.57).

ベントス採集はスミス・マッキンタイヤ型採泥器(採 集面積22.5 × 22.5 cm<sup>2</sup>,以下SM型採泥器)を用いて各地 点1回の採泥により行った. 採取された泥は1 mm目合い のメッシュでふるい、残渣を5%ホルマリンで固定した. 可能な限り種までの同定を行い、各種個体数を計測した. 湿重量についても0.001 gまで計測した(二枚貝や腹足類 は殻付きで測定). 各種の個体数のデータから底を2と するShannon-Wiener多様度指数を算出した.本研究では 和田ら16)により危険または絶滅寸前とされた種を稀少 種と定義し、その出現状況も記載した. 外来種はクチベ ニガイ科のヒラタヌマコダキガイPotamocorbula laevis, オリイレヨフバイ科のカラムシロNassarius sinarusについ て出現状況を記載した.ミズゴマツボ科のトライミズゴ マツボStenothyra sp.については在来のミズゴマツボ Stenothyra japonicaやウミゴマツボStenothyra edogawensis と区別しておらず、今回はミズゴマツボ類として出現状 況を記載した.

#### 3. データ解析

各季節・干潟域毎の全点での出現種数をlog変換の後, 繰り返しのないtwo-way ANOVAで解析した.交互作用 はTukey's additivity testで検討した.また,干潟域,季節 をクロスする固定要因,各調査地点を干潟域にネストす るランダム要因とするsplit-plot ANOVAを用い,1採泥 器あたりでの出現種数,多様度,個体数,バイオマスが 干潟間,季節間で違いがないか検討した.多様度以外は, 解析前にlog変換を行い、いずれの項目も等分散性に問題はなかった(Levene's test, all p > 0.17). 群集構造の干潟間,季節間の違いを検討するため、4乗根変換後のBray-Curtis非類似度指数による距離行列データをsplit-plot PERMANOVA<sup>17)</sup>で解析した. 群集構造の違いの視覚化にはnMDSとCAP解析<sup>18)</sup>両方による序列化を行った. 干潟間の群集構造の違いに大きく寄与した種を評価するためSIMPER解析<sup>19)</sup>も行った. また、PERMDISP解析<sup>20)</sup>により地点毎の群集構造のばらつきも評価した.

#### 4. 結果

#### (1) 各干潟域のベントス相

#### a)筑後川河口域

11地点合計での総種数は12月,8月,5月でそれぞれ39, 36,42種であり、3季節を総合すると74種に達した.こ のうち多毛類は26種,甲殻類17種,二枚貝16種,腹足類 9種であった. 個体数では(Table 1左上), 12月では出 現地点は少ないがマルスダレガイ科のアサリRuditapes philippinarumが地点C9で飛び抜けて多かった. カワグチ ツボ, ミズゴマツボ類も地点C6で大量に出現し, これ に続くイトゴカイ科多毛類、フネガイ科のサルボウ Scapharca kagoshimensis 5種で全体の85%以上を占めた. サルボウはC2で比較的多く出現し、5月で1個体だった ことを除き、1採泥あたり12月に11個体、8月に8個体採 取された. バカガイ科のシオフキMactra veneriformisやカ ラムシロは平均密度がどちらも約12個体・m<sup>2</sup>でこれに 続いた.5月もアサリが多く、以下アサジガイ科のシズ クガイTheora fragilisやウミイサゴムシ科のウミイサゴム シLagis bockiが相対的に多かった. イガイ科のヤマホト トギスガイMusculista japonicaやトゲイカリナマコ Protankyra bidentataは局所的に出現し、カワグチツボや ミズゴマツボ類は採取されなかった.8月もやはりアサ リは高い密度で維持され、シズクガイは5月よりも密度、 出現地点が増加した.また地点C2でヤマホトトギスガ イのマットにあたったため,優占種第一位となっており, ヒラタヌマコダキガイも地点C6で大量出現したため上 位優占種となった. ヤマホトトギスガイを除くシオフキ までの4種で全個体数の80%以上を占めた. バイオマス においてはいずれの季節でもアサリやサルボウ,あるい はシオフキが大部分を占めた(Table 1左下)

#### b)塩田川河口域

11地点を合計した季節別総種数は12月,8月,5月でそれぞれ29,33,28種であり,3季節総合では48種となった.このうち,多毛類は18種,甲殻類5種,二枚貝11種,腹足類9種であった.優占種は(Table 1中央上),どの季節でも密度が高いサルボウの他,12月はヒラタヌマコダキガイ,カワグチツボ,ミズゴマツボ類の密度が高く,この4種で全体の90%を占めた.特にサルボウは地点S5,S6で多く採取され、S5では1採泥器あたり12月,8月,5

Table 1. Abundance (upper) and biomass (lower) dominance in each Ariake Bay estuarine tidal flat. Mean abundance and biomass per square meter and their standard errors (SE) are shown. N is the number of stations at which a species appeared. D = December, M = May, A = August, gww = g wet weight.

_	Chikugo I	River estuary			Shiota Ri	ver estuary			Rokkaku River estuary			
	Species	$indiv m^{-2} \pm SE$	%	Ν	Species	$indiv m^{-2} \pm SE$	%	Ν	Species	$indiv m^{-2} \pm SE$	%	Ν
Al	oundance											
D	Ruditapes philippinarum	$636.0\ \pm\ 600.2$	63.5	2	Scapharca kagoshimensis	$400.4\ \pm\ 278.1$	40.8	3	Capitellidae spp.	$30.5 \pm 12.9$	28.3	6
D	Iravadia elegantula	$71.1 \pm 67.8$	7.1	1	Stenothyra spp.	$210.1\ \pm\ 105.5$	21.4	6	Stenothyra spp.	$19.8 \ \pm 10.3$	18.3	3
D	Stenothyra spp.	$61.2 \pm 56.3$	6.1	2	Iravadia elegantula	$183.2\ \pm\ 109.8$	18.7	6	Paraprionospio cordifolia	$14.4 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 10.7$	13.3	3
D	Capitellidae spp.	$49.4 \ \pm 26.8$	4.9	5	Potamocorbula cf. laevis	$100.6 \pm 87.0$	10.3	4	Tellina iridescens	$10.8 \ \pm 7.7$	10.0	2
D	Scapharca kagoshimensis	$43.5 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 26.2 \hspace{0.2cm}$	4.3	3	Corophium sp.	$10.8 \pm 7.2$	1.1	3	Iravadia elegantula	5.4 ± 5.4	5.0	1
М	Ruditapes philippinarum	201.1 ± 189.3	52.1	5	Theora fragilis	524.4 ± 208.1	46.0	9	Theora fragilis	256.8 ± 137.8	48.0	10
М	Theora fragilis	$21.5 \pm 13.7$	5.6	3	Corophium sp.	$271.2 \ \pm \ 148.7$	23.8	7	Corophium sp.	$132.9 \pm 127.1$	24.8	2
М	Musculista japonica	$14.4\ \pm\ 14.4$	3.7	1	Scapharca kagoshimensis	$143.7 \pm 98.4$	12.6	4	Tellina iridescens	$25.1 \pm 14.4$	4.7	4
М	Protankyra bidentata	$14.4\ \pm\ 14.4$	3.7	1	Sternaspis scutata	$32.3 \pm 17.7$	2.8	5	Sternaspis scutata	$19.8 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 19.8$	3.7	1
М	Lagis bocki	$14.4\ \pm\ 6.0$	3.7	5	Hediste sp.	$30.5 \hspace{0.1 in}\pm\hspace{0.1 in} 30.5$	2.7	1	Capitellidae spp.	$16.2 \ \pm 7.4$	3.0	5
A	Musculista japonica	2979.1 ± 2979.1	66.5	1	Scapharca kagoshimensis	387.9 ± 296.8	36.2	3	Potamocorbula cf. laevis	181.4 ± 144.8	51.3	2
А	Theora fragilis	$545.9 \pm 364.3$	12.2	5	Theora fragilis	$267.6\ \pm\ 104.6$	25.0	8	Theora fragilis	$68.2 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 24.5 \hspace{0.2cm}$	19.3	6
А	Potamocorbula cf. laevis	$350.2\ \pm\ 348.2$	7.8	2	Stenothyra spp.	$120.3 \pm 52.8$	11.2	6	Capitellidae spp.	$32.3 \pm 14.9$	9.1	6
А	Ruditapes philippinarum	$258.6\ \pm\ 225.3$	5.8	2	Potamocorbula cf. laevis	$89.8 \pm 51.3$	8.4	5	Nassarius sinarus	$10.8\ \pm 5.6$	3.0	4
А	Mactra quadrangularis	$79.0 \pm 75.1$	1.8	2	Iravadia elegantula	$41.3 \pm 19.8$	3.9	5	Tellina iridescens	$9.0\ \pm 4.1$	2.5	4
Bi	omass	gww·m <sup>-2</sup> ± SE	%	Ν		gww·m <sup>-2</sup> ± SE	%	Ν		$gww m^{-2} \pm SE$	%	Ν
D	Ruditapes philippinarum	$318.7\ \pm\ 306.8$	55.4	2	Scapharca kagoshimensis	$544.7\ \pm\ 402.0$	83.7	3	Tegillarca granosa	$45.3 \pm 44.1$	54.4	3
D	Scapharca kagoshimensis	$169.0 \pm 132.4$	29.4	3	Potamocorbula cf. laevis	$90.1 \pm 78.1$	13.8	4	Nassarius sinarus	$12.7 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 9.6$	15.2	2
D	Mactra quadrangularis	43.1 ± 43.1	7.5	1	Modiolus metcalfei	3.4 ± 3.4	0.5	1	Protankyra bidentata	$10.7 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 10.7$	12.8	1
М	Ruditapes philippinarum	149.2 ± 141.9	68.7	5	Scapharca kagoshimensis	513.9 ± 298.7	85.9	4	Tegillarca granosa	26.1 ± 25.7	55.7	2
Μ	Scapharca kagoshimensis	$28.4 \pm 16.0$	13.1	3	Potamocorbula cf. laevis	$34.7 \pm 23.3$	5.8	3	Tellina iridescens	6.3 ± 4.7	13.4	4
Μ	Protankyra bidentata	$17.0\ \pm\ 17.0$	7.8	1	Theora fragilis	$20.2 \ \pm \ 10.6$	3.4	9	Theora fragilis	$4.5 \hspace{0.2cm} \pm \hspace{0.2cm} 2.7$	9.6	10
A	Ruditapes philippinarum	42.4 ± 41.0	32.5	2	Scapharca kagoshimensis	646.3 ± 406.9	82.2	4	Tegillarca granosa	45.3 ± 35.6	44.0	3
А	Mactra quadrangularis	$23.5 \pm 22.7$	18.0	2	Potamocorbula cf. laevis	$88.9 \pm 63.5$	11.3	5	Potamocorbula cf. laevis	31.3 ± 24.1	30.4	2
А	Potamocorbula cf. laevis	$15.4 \pm 12.4$	11.8	2	Theora fragilis	$25.1 \pm 12.5$	2.7	8	Protankyra bidentata	8.6 ± 8.1	8.4	2

月それぞれで140,54,50個体,S6では5月に1個体で あったことを除いて12月に82個体,8月にも163個体とい う高密度で出現した。またカワグチツボとミズゴマツボ 類の出現数との間には有意な正の相関があった(Kendall 順位相関, τ = 0.624, p < 0.001). 5月はドロクダムシ科 のCorophium sp.の密度が高くなり、シズクガイも12月か ら大幅に増加して優占種第一位となった. ダルマゴカイ 科のダルマゴカイSternaspis scutata, サルボウも含めこ れら上位4種で全体の85%を占めた.カワグチツボ、ミ ズゴマツボ類、ヒラタヌマコダキガイの平均密度はどれ も20個体・m<sup>-2</sup>足らずであった. 8月はシズクガイが5月 同様高い密度を維持し、ミズゴマツボ類とヒラタヌマコ ダキガイが再び多く採取され上位5種で約85%を占めた. この他カラムシロも平均密度が32.3 ± 18.7個体・m<sup>-2</sup>で比 較的多かった.一方、5月に優占したCorophium sp.は全 く出現しなかった. バイオマスではいずれの季節でもサ ルボウとヒラタヌマコダキガイ2種だけで全体の90%以 上を占めた(Table 1中央下).

#### c)六角川河口域

11地点合計の総種数は12月,8月,5月でそれぞれ19, 21,21種であり、3季節の総種数は36種であった。うち 多毛類は15種,甲殻類7種,二枚貝6種,腹足類6種だっ た.優占種では(Table 1右上),12月は全体の個体数が 少ないが、イトゴカイ科多毛類やスピオ科のフクロハネ エラスピオParaprioonospio cordifolia<sup>21,22</sup>,テリザクラ、 ミズゴマツボ類やカワグチツボが多く、これら5種で全体の75%を占めた.5月ではテリザクラが12月に比べ密度が高かったほか、12月に出現しなかったシズクガイがほぼ全地点から多く出現し、同じく12月に採取されなかった*Corophium* sp.が2地点中1地点で71個体出現したため、これらだけで75%以上の寄与を占めた.その他、カラムシロも平均14.4±7.6個体・m<sup>-2</sup>で比較的多く出現していた.8月は再び*Corophium* sp.が全く出現しなくなり、12月に1個体採取されていただけのヒラタヌマコダキガイが2地点から多く出現した以外5月と大差なかった.また全季節を通じてサルボウは全く採取されなかった.バイオマスでは全季節を通じて平均密度が約5個体・m<sup>-2</sup>のハイガイが全体の約40~50%の寄与を示し、その他、カラムシロ、トゲイカリナマコ、テリザクラなどが比較的高い寄与を示した(Table 1右下).

#### (2) 希少種と外来種の分布状況

優占種には外来種や希少種も含まれたので、以下に分 布状況をまとめた(Table 2)。

#### a) **希少種**

筑後川河口域で比較的多く出現したのはミドリシャミ センガイLingula anatinaで地点C2, 3, 6, 7から出現した. その他にはニッコウガイ科のテリザクラTellina iridescens とワカウラツボ科のカワグチツボIravadia elegantulaがC6 から、サンカクサルボウ科のササゲミミエガイEstellacar

		Station number	
	Chikugo River	Rokkaku River	Shiota River
endangered species			
Lingula anatina	2, 3, 6, 7	-	-
Tellina iridescens	6	4, 5, 6, 10, 11	3, 8, 9
Salinator takii	5	6	3, 9, 10
Estellacar olivacea	4	6, 11	8
Tegillarca granosa	4	1, 4, 7, 8, 10	3, 7
Iravadia elegantula	6	9	3, 4, 6, 8, 9, 10, 11
Camptandrium sexdentatum	-	1, 4, 6, 11	3, 8
Modiolus metcalfei	2, 3, 8	_	2, 5, 6
invasive species			
Potamocorbula laevis	5, 6	1, 7, 10	1, 3, 8, 9, 10
Nassarius sinarus	1, 3, 4, 8	1, 7, 8, 9, 10, 11	1, 3, 4, 6, 7, 11
Stenothyra spp.	6, 7	1, 4, 6, 10, 11	3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11

Table 2. The occurrence of endangered species and invasive species in each tidal flat (season was pooled).

olivaceaとフネガイ科のハイガイTegillarca granosa がC4 地点から得られた.フタマイマイ科のウミマイマイ Salinator takiiもC5地点より出現した.イガイ科のコケガ ラスModiolus metcalfeiは5月には採取されなかったがC2, 3,8から出現し,特に8月のC2で多かった.

塩田川河口域ではカワグチツボが特に広く分布してお り、地点S3,4,6,8,9,10,11で採取された.他にはウミマ イマイがS3,9,10,テリザクラはS3,8,9の3地点から,ハ イガイはS3,7から,ササゲミミエガイはS8,コケガラス もS2,5,6から得られた.またムツハアリアケガニ科のム ツハアリアケガニ*Camptandrium sexdentatum*がS3,S8の2 地点で採取された.

六角川河口は他の干潟域に比ベテリザクラの出現が多 く、地点S4, 5, 6, 10, 11から得られた。その他ササゲミミ エガイが地点R6, 11, ムツハアリアケガニがR1, 4, 6, 11, ハイガイはR1, 4, 7, 8, 10から出現した. ウミマイマイは 地点R6より,カワグチツボは地点R9より出現したがコ ケガラスは全く採取されなかった.

b)外来種

筑後川河口域ではカラムシロが地点C1,3,4,8から出現し, ヒラタヌマコダキガイがC5,6から出現した. ミズゴマツ ボ類はC6,7で得られた.

塩田川河口域でのカラムシロは地点S1, 3, 4, 6, 7, 11か ら, ヒラタヌマコダキガイはS1, 3, 8, 9, 10から得られた. ミズゴマツボ類は地点S1, 2, 6を除く8地点から出現し, 地点S8,9で相対的に多かった.

六角川河口はカラムシロが地点R1,7,8,9,10,11から採 取され、12月のR1で特に多く出現した. ヒラタヌマコ ダキガイはR1,7,10から出現したが5月はどの地点でも採 取されなかった. ミズゴマツボ類はR1,4,6,10,11から出 現し、5月のR1で特に多かった.

#### (3) 各干潟間での群集構造の比較

各干潟または季節別でみた総種数は干潟間でのみ有意に 異なり( $F_{2,4}$ =44.4, p=0.0019),季節と干潟域の交互作 用もなかった(Tukey's additivity test,  $F_{1,3}$ =0.26, p=0.65). 筑後川河ロ干潟で平均39種,塩田川河口域30種,六角川 河口域約20種でどの干潟間でも有意な差があった (Tukey-Kramer, all p<0.05).1採泥器あたりの出現種 数(S),多様度(H),総個体数(N),バイオマス (B)の平均について季節間,干潟域間での違いをみて みると、どの項目も季節×干潟域の交互作用はなく

(split-plot ANOVA, all  $F_{4,60} < 1.57$ , all p > 0.20) ,季節変 化のパターンは干潟間で有意に違わなかった.主効果で は種数と多様度が季節間で有意に異なり ( $F_{2,60} > 3.92$ , all p < 0.025) ,種数は12月に少なく、多様度は5月に高 かった (Fig. 2a, b) .総個体数のみ干潟域間 ( $F_{2,30} = 3.69$ , p = 0.037) で有意差があり、塩田川河口域は他の干潟域 に比べ安定して多かった (Fig. 2c) .バイオマスは干潟 間、季節間ともに有意差はなかった (both  $F_{4,60} > 1.17$ , p> 0.11; Fig. 2d) . log変換前のデータをTable 3に示した.



Fig. 2. Community parameters in each tidalflat.

Table 3. Community parameters in each Ariake Bay estuarine tidal flat (mean  $\pm$  SE). While species richness (*S*) and Shannon's diversity (*H*) are shown in terms of a grab units (22.5  $\times$  22.5 cm), abundance (*N*) and biomass (*B* : g wet weight) are presented in terms of the 1 square meter scale units.

Site		S	Н	Ν	В
Chilango Divor	Dec	$5.5 \pm 1.26$	$1.42 \pm 0.36$	$926.6 \pm 564.9$	$575.2 \pm 330.4$
estuary	May	$5.5 \pm 1.31$	$1.77 \pm 0.35$	$386.1 \pm 179.7$	$217.2 \pm 148.8$
Cstuary	Aug	$5.2 \pm 1.43$	$0.88 \pm 0.27$	$4482.2 \pm 3348.6$	$130.4 \pm 46.6$
Dalalas Diasa	Dec	$2.8 \pm 0.70$	$1.09 \pm 0.25$	140.1 ± 46.9	83.4 ± 43.0
Rokkaku River	May	$5.1 \ \pm \ 0.58$	$1.59 \pm 0.17$	$641.1 \pm 236.2$	$46.8 \pm 24.5$
estuary	Aug	$4.4 \pm 0.53$	$1.50 \pm 0.22$	359.2 ± 137.2	$102.8 \pm 41.1$
C1. ( D.	Dec	4.7 ± 0.81	$1.28 \pm 0.16$	984.1 ± 334.7	$650.6 \pm 400.0$
Shiota River	May	$6.7 \ \pm \ 0.80$	$1.82 \pm 0.20$	$1142.1 \pm 319.8$	$598.0 \pm 308.6$
estuary	Aug	$6.4 \ \pm \ 0.83$	$1.58 \pm 0.19$	$1077.4 \pm 294.6$	$790.2 \pm 398.7$



Fig. 3. Ordination plots by the nMDS (left) and CAP (right) analyses. Note that the same ordinations were presented by the different factors: between tidal flat areas (upper) or between seasons (lower).

群集構造においても季節と干潟域の有意な交互作用は なかったので季節変動パターンは干潟間で違わなかった (split-plot PERMANOVA, pseudo  $F_{4.60} = 1.08, p = 0.316$ ). 主効果では干潟間 (pseudo  $F_{2.30} = 3.08, p = 0.0002$ ),季 節間 (pseudo  $F_{2.60} = 4.17, p = 0.0002$ )ともに有意に異 なった.そこでどちらかの要因をプールし,干潟別,あ るいは季節別にその違いを視覚化した.nMDS解析では クリアではないがCAP解析により干潟間では筑後川,六 角川河口域と塩田川河口域間での群集構造の違いが大き く (Fig. 3a, c),季節間では12月と5月,8月間で群集構 造の違いが大きいことが見いだされた (Fig. 3b, d). SIMPER解析も同様に干潟別,季節別に行った(Table 4).シズクガイは季節間での違いに対する寄与が相対 的に高く,ミズゴマツボ類,サルボウでは季節間よりも 干潟間での違いに対する寄与率が相対的に大きかった. アサリ,イトゴカイ類,テリザクラやカワグチツボも干 潟間での違いに対する寄与率がやや高く,*Corophium* sp., カラムシロやヒラタヌマコダキガイは干潟間,季節間と もに同程度の寄与率を示した.干潟間での違いを特徴付 ける代表的な種について、特に5月の水平分布をFig. 4に 提示した。

地点毎の群集構造のばらつきを季節別にみてみると、 12月は筑後川河口域(多変量平均偏差 ± 標準誤差: 59.5 ± 2.84), 六角川河口域:(54.8 ± 3.96), 塩田川河口 域(56.6 ± 3.59)間で有意な違いはなかったが (PERMDISP, p = 0.687), 筑後川河口域のそれは5月 (59.4 ± 2.27)と8月(63.7 ± 1.71)どちらも六角川(5 月:48.9 ± 2.95;8月:53.5 ± 3.31),塩田川河口域(5月:

Table 4. The results of SIMPER analyses. 10 species are listed with their mean abundance per grab in order of their percent contribution to the differences in community structure between seasons or tidal flats.

Seasonal comparison											
Dec vs May (mean d	issimila	rity = 87.	60)	Dec vs Aug (mean d	Dec vs Aug (mean dissimilarity = 86.74)				lissimila	rity = 81.4	49)
Species	Dec	May	%	Species	pecies Dec Aug %			Species	May	Aug	%
Theora fragilis	0.13	1.13	11.08	Theora fragilis	0.13	1.07	11.18	Theora fragilis	1.13	1.07	10.63
Capitellidae spp.	0.53	0.45	6.62	Capitellidae spp.	0.53	0.39	6.81	Capitellidae spp.	0.45	0.39	5.1
Stenothyra spp.	0.58	0.23	5.43	Potamocorbula cf. laevis	0.26	0.54	6.36	Potamocorbula cf. laevis	0.12	0.54	5.09
Corophium sp.	0.1	0.61	5.02	Stenothyra spp.	0.58	0.37	5.71	Corophium sp.	0.61	0	4.92
Lagis bocki	0	0.38	4.14	Nassarius sinarus	0.17	0.36	4.7	Nassarius sinarus	0.27	0.36	4.57
Nassarius sinarus	0.17	0.27	3.97	Scapharca kagoshimensis	0.37	0.28	3.77	Lagis bocki	0.38	0.14	4.45
Scapharca kagoshimensis	0.37	0.31	3.87	Iravadia elegantula	0.42	0.27	3.68	Stenothyra spp.	0.23	0.37	3.38
Prionospio sp.	0.19	0.21	3.54	Tellina iridescens	0.18	0.17	3.43	Scapharca kagoshimensis	0.31	0.28	3.3
Tellina iridescens	0.18	0.19	3.38	Prionospio sp.	0.19	0.14	3.17	Ruditapes philippinarum	0.23	0.16	3.22
Ruditapes philippinarum	0.17	0.23	3.11	Nemertinea	0.17	0.16	2.57	Sternaspis scutata	0.25	0.16	3.06

#### Tidal flat comparison

\_

Chikugo vs Rokkaku (mean dissimilarity = 88.66)				Chikugo vs Shiota (mean dissimilarity = 89.14) Rokkaku vs Shiota (mean dis						ilarity = 8	3.05)
Species	Chikugo	Rokkaku	%	Species	Chikugo	Shiota	%	Species	Rokkaku	Shiota	%
Theora fragilis	0.49	0.75	8.72	Theora fragilis	0.49	1.09	8.56	Stenothyra spp.	0.28	0.8	8.79
Capitellidae spp.	0.45	0.62	8.19	Stenothyra spp.	0.1	0.8	6.91	Theora fragilis	0.75	1.09	7.7
Ruditapes philippinarum	0.56	0	4.69	Scapharca kagoshimensis	0.28	0.68	6.06	Capitellidae spp.	0.62	0.31	6.71
Tellina iridescens	0.09	0.36	4.59	Iravadia elegantula	0.13	0.63	5.66	Iravadia elegantula	0.04	0.63	6.46
Nassarius sinarus	0.21	0.33	4.51	Potamocorbula cf. laevis	0.18	0.56	5.37	Scapharca kagoshimensis	0	0.68	6.18
Prionospio sp.	0.1	0.21	3.56	Capitellidae spp.	0.45	0.31	4.52	Potamocorbula cf. laevis	0.19	0.56	6.15
Stenothyra spp.	0.1	0.28	3.46	Corophium sp.	0.1	0.49	4.22	Corophium sp.	0.13	0.49	4.94
Tegillarca granosa	0.03	0.25	3.27	Ruditapes philippinarum	0.56	0	3.8	Nassarius sinarus	0.33	0.25	4.17
Potamocorbula cf. laevis	0.18	0.19	3.22	Nassarius sinarus	0.21	0.25	3.35	Tellina iridescens	0.36	0.09	4.06
Hemipodus yenourensis	0.13	0.23	2.79	Nemertinea	0.13	0.2	2.68	Prionospio sp.	0.21	0.22	3.51





49.7 ± 2.05; 8月: 51.1 ± 3.84) に比べ有意に大きかった (all p < 0.05; Holmの方法による補正). しかし六角川 と塩田川間ではいずれの季節も有意な違いはなかった (all p > 0.6). また,同一干潟内の季節間のばらつきの 比較ではいずれの干潟でも季節による有意な違いは得ら れなかった(all p > 0.19).

筑後川河ロ干潟ではアサリやシオフキ,塩田川河ロ干 潟ではサルボウやヒラタヌマコダキガイなどの二枚貝が 多く生息しており,個体数、バイオマスで優占していた. アサリやシオフキは砂質干潟を代表する二枚貝であり<sup>24</sup> <sup>26)</sup>,本調査においても塩田川、六角川河口域の干潟から は出現していない。一方、サルボウは砂質域にも分布す るが,泥底に多く分布する二枚貝である<sup>27)</sup>.多くのベン トス研究で底質との関連が得られているように<sup>28,29)</sup>、本 研究での干潟間の優占種の違いにも底質粒度が影響して

#### 5. 考察

いることは疑いがないといえる.しかしながら,塩田川 河口域と似た粒度組成をもつ六角川河口域ではサルボウ が全く採取されなかったため,干潟間での生物相の違い には底質粒度以外の要因も大きいと思われる.有明海の サルボウは水深10m程度の浅海域まで分布するが<sup>7,8</sup>, 干潟縁辺部付近にあたる水深が4~5m前後の地点で密度 が高い傾向がある(吉野未発表データ).六角川河口で サルボウが採取されなかったのは調査地点の水深がサル ボウに好適な水深と合っていなかったためではないかと 考えられる.

優占種以外にも干潟間では外来種と絶滅危惧種の分布 状況に違いがみられた. 近年定着したとされる外来種ヒ ラタヌマコダキガイ<sup>1)</sup> や漁業被害を与えるカラムシロ<sup>13,</sup> 11) は筑後川河口域よりも塩田川,六角川河口域で優占 した. 同じく塩田川, 六角川河口域で多く出現したミズ ゴマツボ類も外来種トライミズゴマツボが大部分を占め ている可能性が高い<sup>13,30)</sup>.一方で絶滅が危険視されるテ リザクラ,ハイガイ,ムツハアリアケガニ,ウミマイマ イ、カワグチツボ等も筑後川河口干潟よりも六角川、あ るいは塩田川河口から多く出現した. カワグチツボは塩 田川河口域で多産したが、本研究でもミズゴマツボ類と 同所的に出現する傾向が強かったため、福田ら31)が指摘 するように中国大陸からの移入個体群が増殖したもので ある可能性もある.外来種の動態には今後も注意する必 要があるが、いずれにせよ諫早湾の堤防締め切りで大き な個体群が失われた上述の絶滅危惧種にとって1,湾奥 部の干潟域は諌早湾口に近い佐賀県田古里川河口域9,31), 八代海の干潟30,32)と並んで現在でも極めて貴重な海域で あろう.

干潟間で群集パラメータを比較したところ、1回の採 泥で得られる地点あたりの種数の平均に干潟間で有意な 違いはなかったが、各干潟域で全地点あわせた場合の出 現種数はいずれの季節でも筑後川河口域で最も多く、六 角川河口干潟で最も少なかった. このことは筑後川河口 域は塩田川や六角川河口域に比べ、採泥地点毎に出現種 が大きく異なることを示唆する. 実際に採泥地点間の群 集構造のばらつきは12月を除き筑後川河口域で有意に大 きかった. こうした地点間での群集構造のばらつきの大 きさは環境ストレスを反映しているという報告がある 33). 九州最大の河川である筑後川の河口域では六角川 や塩田川河口域よりも物理的攪乱が大きく、環境の異質 性が高くなって様々な種が維持されるのかもしれない. 対して底質の似た塩田川と六角川干潟間では地点毎の群 集構造のばらつき具合に違いはないが全地点での出現種 数において有意に違うほか、群集構造にも違いがみられ た. 塩田川と六角川河口域間での群集構造の違いにはサ ルボウで推測されたように、標高または水深、浸水時の 塩分濃度の違いなどが反映されているのかもしれない.

干潟間あるいは季節間の優占種の違いはSIMPER解析の結果ともよく一致した.シズクガイは5月と8月にどの

干潟域でも優占種の上位にあり,群集構造の季節変異に 対して高い寄与を示していた.アサリやサルボウは干潟 間の群集構造の違いに高い寄与を示したが,これについ てはアサリは筑後川河口,サルボウは塩田川河口で季節 を問わず多いが,両種は六角川河口域では出現しないこ とを反映していると思われる.ミズゴマツボ類やカワグ チツボは12月と8月両方で塩田川河口域に多かったので 干潟間の違いに対する寄与がより大きくなり,5月にの み高い密度を示したCorophium sp.では,個体数の季節変 動が顕著なために季節間の違いに対する寄与が大きいが, 筑後川河口域での密度が他の河口域よりも低かったため, 干潟間の違いに対する寄与も同程度になったと考えるこ とができる.

干潟域で生物相調査を行う大きな目的のひとつに干潟 生態系の機能評価がある. 漁獲や捕食により系外へ除か れるアサリ等の二枚貝, ゴカイ, カニ類等の干潟ベント スは水質浄化や栄養塩循環などの生態系機能に極めて重 要な役割を果たす<sup>34)</sup>. 有明海湾奥部の干潟・浅海域は採 貝漁業が盛んで35,かつ重要な渡り鳥の飛来地でもある ため1),高い水質浄化能力が期待される.こうした干潟 機能の評価にはベントス現存量の正確な推定が要求され るが、本研究で用いたSM型採泥器の場合、定量採集が できるものの採集深度が浅く、現存量が過小評価される 問題がある36,37).表層数センチの泥中に定位するシズク ガイ<sup>38)</sup> や埋在深度が5cm程度とされるサルボウ<sup>27)</sup> 等は SM型採泥器によるサンプルで十分代表させることが可 能かもしれないが、干潟域では20 cm以上潜る生物も多 い<sup>23)</sup>. 例えばアナジャコ科のアナジャコUpogebia major では,深いもので2 mを超える巣穴をもち,またサイズ の大きい個体ほど深度が深い39). 二枚貝でもサイズの 大きい個体ほど生息深度が深い40).シギ類やズグロカ モメに好んで捕食されるスナガニ科のヤマトオサガニ Macrophthalmus japonicus<sup>41)</sup> も湾奥部の泥質干潟に多く分 布し(吉野個人的観察),採集エリアにも生息している はずだが、本調査では全く採集されなかった. 今後, 目 的によってはヤマトオサガニ等、採泥器で採取できない 生物の情報を別途付け足す必要があるだろう.

要約として、本研究では調査の困難な軟泥干潟を含む 有明海湾奥部の3つの干潟域におけるマクロベントス相 の記載を行った.干潟域では生息深度の深い生物も多く、 本研究で得られた結果は採泥器で採取される生物のみに ついての情報であることは注意しておく必要がある.ま た、サンプリングも1地点1回の採泥としたため、今回観 測された季節変動が季節毎の地点の誤差に伴う微少な空 間スケールによるものなのか、本来の季節変動を示して いるのかは厳密には分離できない.ただし群集構成種の 生活史が個々に違っている以上、群集構造にも季節変動 がみられるのはむしろ当然であり、本報告では季節変化 自体の考察については深く立ち入っていない。一方、干 潟間でみられた群集構造の違いに関して考察された事柄 については実際の物理環境データによる裏付けをとる必要がある.本調査が行われた時の物理環境データは目下分析中であり、今後の解析によって明らかにされるはずである。以上のような課題はあるものの、本研究は有明海湾奥部の特に軟泥干潟広域でベントスの定量調査を行った数少ないケースであり、希少種や外来種の分布状況を含む湾奥部干潟域のベントス相の現状を示す有益な情報となるはずである.

謝辞:本研究を遂行するにあたり調査に参加された笠置 尚史氏,安江洋介氏,ベントスの同定に際してご教示く ださった熊本県立大学の堤裕昭教授に感謝の意を表しま す.また佐賀県有明海漁業組合連合会および福岡県有明 海漁業連合組合連合会にも謝意を表します.

#### 参考文献

- 佐藤正典・田北徹:有明海とはどんなところか,佐藤正典(編),有明海の生きものたち,海游社,2000.
- Tsutsumi, H.: Critical events in the Ariake Bay ecosystem: Clam population collapse, red tides, and hypoxic bottom water, Plankton Benthos Res., 1: 3-25, 2006.
- 3) 速水祐一: 有明海奥部の貧酸素水塊. 海洋と生物, 173: 577-584, 2007.
- 4) 濱田孝治・速水祐一・山本浩一・吉野健児・大串浩 一郎・平川隆一・山田裕樹: 有明海奥部における貧酸 素水塊の形成・解消過程の観測, 海工論集, 54: 1121-1125, 2007.
- 5) 大隈斉・江口泰蔵・川原逸郎・伊藤史郎: 有明海湾 奥部の底質およびマクロベントス, 佐有水研報, 20: 55-62, 2001.
- 伊藤史郎:有明海における水産資源の現状と再生. 佐有水研報,22:69-80,2004.
- 古賀秀昭: 有明海北西海域の底質及び底生生物. 佐 有水研報, 13: 57-79, 1991.
- Yoshino, K., Yamamoto, K., Hayami, Y., Hamada, T., Kasagi, T., Ueno, D., and K. Ohgushi: Benthic fauna of the inner part of Ariake Bay: long-term changes in several ecological parameters. Plankton Benthos Res., 2: 198-212, 2007.
- 9) 古賀庸憲・佐竹潔・矢部徹:マクロベントス相における種の豊富さ、現存量、多様度指数、絶滅危惧種を用いた干潟の評価.保全生態学研究,10:35-45,2005.
- 10) 環境省自然環境局:第7回自然環境保全基礎調査, 浅海域生態系調査(干潟調査)報告書.本文235+図 表99 pp, 2007.
- Tamaki, A., Mahori, N., Ishibashi, T. and Fukuda, H.: Invasion of two marine alien gastropods *Stenothyra* sp. and *Nassarius* (Zeuxis) *sinarus* (Caenogastropoda) into the Ariake Inland Sea, Kyushu, Japan. The Yuriagai: J.

Malacozool. Ass. Yamaguchi 8: 63-81, 2002.

- 12) 佐藤正典: 有明海の豊かさとその危機. 佐賀自然史 研究, 10: 129-149, 2004.
- 13) 福田宏:外来種と同定の問題.日本ベントス学会誌, 59:68-73,2004.
- 14) 有明海湾奥部干潟域のマクロベントス相. 日本ベントス学会誌(印刷中)
- 15) 笠置尚史・山本浩一・吉野健児・速水祐一・濱田孝 治・大串浩一郎: 有明海奥部における底泥の物性の変 動特性に関する研究. 海洋開発論文集, 23: 531-536, 2007.
- 16) 和田恵次・西平守孝・風呂田利夫・野島哲・山西良 平・西川輝昭・五嶋聖治・鈴木孝男・加藤真・島村賢 正・福田宏:日本における干潟海岸とそこに生息する 底生生物の現状. WWF Japan Science Report vol. 3. 182 pp, 1996.
- Anderson, M.J.: A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Aust. Ecol., 26: 32-46, 2001.
- Anderson, M.J. and Willis, T.J.: Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of constrained ordination for ecology. Ecology, 84: 511-525, 2003.
- 19) Clarke, K.R. and Gorley, R.N.: *PRIMER v6*: User Manual/Tutorial. PRIMER-E Ltd, Plymouth, 2006.
- Anderson, M.J.: Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. Biometrics, 62: 245-253, 2006.
- Yokoyama H.: A revision of the genus *Paraprinospio* Caullery (Polychaeta: Spionidae). Zool. J. Linn. Soc., 151: 253-284, 2007.
- (横山寿: Paraprionospio属多毛類の分類と系統. 海洋 と生物, 172: 487-494, 2007.
- 風呂田利夫: 干潟底生動物の分布と摂食様式. 月刊 海洋, 28: 166-177, 1996
- 24) Hiwatari, T., Kohata, T. and Iijima, A.: Nitrogen budget of the bivalve *Mactra veneriformis*, and its significance in benthic-pelagic systems in the Sanbanse area of Tokyo Bay. Estur. Coast. Shelf Sci., 55: 299-308, 2002.
- 25) 堤 裕昭: 干潟の底質環境の変化とベントス群集への影響—有明海の砂質干潟を例として—. 月刊海洋, 37:107-115,2005.
- 26) 玉置昭夫・中岡歩・前川英樹・山田文彦: 有明海の 砂質干潟における植物プランクトン食ギルドのなかの 二枚貝資源-環境収容力制限仮説の提示. 日本ベント ス学会誌, 62: 73-81, 2007.
- 27) 真崎邦彦・小野原隆幸: 有明海湾奥部におけるサルボウの 漁業実態と分布状況. 佐有水研報, 21: 29-36, 2003.
- 28) Ysebaert, T., Meire, P., Herman, P.M.J, Verbeek, H.: Macrobenthic species response surfaces along estuarine gradients: prediction by logistic regression. Mar. Ecol. Prog. Ser., 225: 79-95, 2002.

- 29) Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Norko, A., Nicholls, P.E., Funnell, G.A., Ellis, J.I.: Habitat change in estuaries: predicting broad-scale responses of intertidal macrofauna to sediment mud content. Mar. Ecol. Prog. Ser., 263: 101-112, 2003.
- 30) 環境省自然環境局: 第7回自然環境保全基礎調查, 浅海域 生態系調查(干潟調查)報告書. 本文235+図表99 pp, 2007.
- 31) 福田宏・溝口幸一郎・鈴木田亘平・馬堀望美: 佐賀県太良 町田古川河口の貝類相-2. 追加種. 佐賀自然史研究, 8: 47-55, 2002.
- 32) 逸見泰久: 八代海の干潟と生物. 月刊海洋, 37: 53-58, 2005.
- 33) Warwick, R.M. and Clarke, K.R.: Increased variability as a symptom of stress in marine communities. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 172: 215-226, 1993.
- 34) 佐々木克之: 内湾および干潟における物質循環と生物生産 26. 干潟・浅場の浄化機能の経済的評価. 海洋と生物, 115: 132-137, 1998.
- 35) 佐々木克之:内湾および干潟における物質循環と生物生産34.有明海漁業1.漁業の特徴.海洋と生物,152:262-265,2004.
- 36) 菊池泰二: 有明海, 特に諫早湾干潟の生物相及び生態学的

特徴.風呂田利夫・関ロ秀夫・菊池泰二・田北徹・東幹夫・ 佐藤正典(編),九州の干潟を中心とした浅海域開発と環境 アセスメントの問題点,1997年秋季大会シンポジウム報告. 海の研究,8:47-68,1999.

- 37) 佐藤正典:環境アセスメントにおける干潟の価値の過小評価.風呂田利夫・関ロ秀夫・菊池泰二・田北徹・東幹夫・佐藤正典(編),九州の干潟を中心とした浅海域開発と環境アセスメントの問題点,1997年秋季大会シンポジウム報告.海の研究,8:47-68,1999.
- 38) 菊池泰二: シンポジウム:沿岸海底周辺における物理・化 学・生物学的諸問題.沿岸海洋研究ノート,18:67-77,1981.
- 39) Kinoshita, K.: Burrow structure of the mud shrimp Upogebia major (Decapoda: Thalassinidea: Upogebiidae). J. Crust. Biol., 22: 474–480, 2002.
- Zwarts, L. and Wanink, J.: Siphon size and burying depth in deposit- and suspension-feeding benthic bivalves. Mar. Biol., 100: 227–240, 1989.
- 41) 逸見泰久: 和白干潟の生き物たち. 海鳥社, 福岡, pp. 195, 1994.

(2009.3.31受付)

## 有明海における海苔由来の細胞外ポリマーが 水質・底質に与える影響

#### EFFECT OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES SECRETED BY LAVER ON WATER QUALITY AND SEDIMENT IN ARIAKE SEA

天野佳正<sup>1</sup>・原田浩幸<sup>2</sup>・吉野健児<sup>3</sup> Yoshimasa AMANO, Hiroyuki HARADA, Kenji YOSHINO

<sup>1</sup>博(工)佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>2</sup>博(学)佐賀大学准教授 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>3</sup>博(農)佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Influence of extracellular polymeric substances (EPS) secreted by laver on water quality and sediment in Ariake Sea was examined through laver culture experiment. The EPS was evaluated by concentrations of total sugar and dissolved organic carbon (DOC), molecular weight and viscosity. Also, powdered EPS was recovered from the medium, and the effect of EPS on stabilization of sediment was evaluated from the rheological measurement of the sediment under absence/existence of the EPS. The results showed that total sugar and DOC concentrations clearly increased through the cultivation. The molecular weight analysis also represented existence of high polymer substances, assuming that the laver would secret the EPS. The stabilization of sediment with the EPS increased in the shear stress value than that without the EPS, implying that the EPS acts an agent in restraining resuspention of the sediment. Therefore, the EPS would contribute to the increase in transparency and COD observed in Ariake Sea in recent years.

Key Words : Extracellular Polymeric Substances, stabilization, laver, water quality, sediment

#### 1. はじめに

1997年に諫早湾潮受け堤防が建設されて以降,有明海の水環境は著しく変化し、これは有明海異変 いとして知られている.有明海異変によって大きく変化した環境要因として、海水の透明度の上昇・赤潮の発生<sup>2</sup>,化学的酸素要求量(COD)の増加<sup>3</sup>,底層における貧酸素化<sup>4</sup>などが挙げられる.このことから,有明海における多くの環境変化を引き起こした要因を明らかにすることは有明海の水環境質を健全な状態にもどすために重要な研究課題といえる.

本研究では有明海異変によって引き起こされた問題の 中で、透明度の上昇に関与する要因について明らかにす ることを目的とする.透明度は主に海水中のプランクト ンの光受容量に関わる因子であり、赤潮発生の引き金と なる.また、赤潮が発生することで海水中の COD を増 加させるとともに、底層における貧酸素化を招くことと なる.

有明海における透明度上昇については、潮汐・潮流の

影響 <sup>5</sup>,有明海への流入河川水の輸送経路の変化の影響 <sup>6</sup>などの要因が関与しているとの報告がある.他方,大石 ら <sup>7</sup>は底質付着藻類由来の粘性有機物が底質を安定化さ せ,潮汐などにより底質が巻き上がりにくくなっている 可能性を指摘した上で有明海における透明度の上昇を説 明している.しかしながら,有明海の透明度上昇を説明 するための生物学的知見に基づく試みは,底質付着藻類 に着目した報告例しか見当たらず,海産生物の宝庫とい われている有明海においては他の生物由来の粘性有機物 の影響も大きく関与しているものと考えられる.

本研究では、全国のおよそ 4 割の生産量を誇る有明海 において大規模に養殖されている海苔に着目し、底質粒 子の凝集と底質の安定化に影響を与えるとされる粘性有 機物(炭水化物)、特に炭水化物中の高分子物質である細胞 外ポリマー(Extracellular Polymeric Substances, EPS) を海苔が分泌するか否かについて、海苔の培養実験を通 じて調べた.また、海苔由来の EPS が海水中の懸濁物質 の凝集と底質の安定化に与える影響について検討した.

#### 2. 実験および方法

#### (1) 海苔の培養

海苔の分泌する炭水化物の濃度を明らかにするため, また粉末として炭水化物中の EPS を回収するため海苔 の培養実験を行った.

オートクレーブを施した1 L の ASP<sub>6</sub>培地  $\vartheta$ を二口丸 底フラスコに充填し,海苔網に着生した状態の海苔(乾燥 重量として 0.25 g)を培地に投入して培養を行った. 培養 には-20 ℃で冷凍保存した海苔を4 ℃,24 時間の条件 で解凍したものを用いた. 培養照度および培養温度はそ れぞれ 5000 lux (12 L:12 D)および18 ℃に設定し,培 養槽内を 0.2  $\mu$ m のエアーフィルターを通した空気によ り攪拌した. 予備実験として,海苔の葉長と葉幅に基づ く増殖量を調べたところ,増殖は5 日から6 日で最大値 を示したことから,海苔の培養期間は6 日間とした.

培養実験後,培養後の培地を0.45 µmのメンブレンフ ィルターにて濾過し,濾液を対象に海苔の分泌した炭水 化物濃度を,全糖濃度 ®および溶存態有機物濃度 (Dissolved Organic Carbon, DOC)の分析によって,また ゲル浸透クロマトグラフィーによる分子量およびレオロ ジーによって評価した.

培養実験は合計2回行い,各水質分析は1回の培養実 験に対して3回行った.特に明記しない限り結果を平均 値(n=6)で示した.

#### (2) 粉末 EPS の回収方法

炭水化物中の EPS が粒子の凝集と底質の安定化に及 ぼす影響を明らかにするため、海苔が分泌した EPS を粉 末として回収することを試みた.

-20 ℃で冷凍保存後、4 ℃、24 時間解凍した海苔を 80 ℃、1 時間の条件で熱水処理し、海苔の表面に付着し ている炭水化物を外した. その後、処理水にエタノール を加え、高分子状の炭水化物、すなわち EPS を-20 ℃ の条件下で1 昼夜沈殿させた. 6000 g、5 分間の遠心分 離を施した後、上澄み液を除去し、残渣を 30 ℃にて乾 燥させた. 乾燥させた EPS を乳鉢で 均一にすり潰し、 粉末 EPS として回収した.

#### (3) 底質粒子の凝集および底質の安定化に及ぼす EPS の 影響

#### a) 粉末 EPS による粒子の凝集実験

有明海湾奥部において採取した表層 2 mm 層の底質を 凍結乾燥させ、その後底質をふるいにて 45 µm 以下の粒 径に調製した. 過酸化水素処理を施して底質中の有機物 分を除去し、底質粒子 100 mg を純水 1 L に懸濁させ、 100 mg/L の底質懸濁液を作製した. この懸濁液に粉末 EPS を底質 1g に対して 0~10 mg の割合で添加した. EPS を添加した後、懸濁液を 100 rpm、5 分間の条件に て急速攪拌を、そして 30 rpm、15 分間の条件にて緩速 攪拌を行った.60 分間静置した後、上澄み液の吸光度(660 nm)を測定した.この結果は、カオリンを用いた濁度-吸光度の検量線に基づいて、濁度にて示すこととした.

#### b) 粉末 EPS による底質の安定性の評価

凝集実験と同様の処理を施した底質粒子 2.7gを純水8 mgに懸濁させ、レオロジーの測定のための懸濁液を作製 した.なお、この懸濁液の濃度は有明海湾奥における干 潟部の含水比を反映している<sup>¬</sup>.この懸濁液に粉末 EPS を底質粒子 1gに対して0および 3 mgの割合で加え、任 意のずり速度に対するずり応力の値を、粘度計(LVDV-II+Pro, BROOKFIELD)にて計測した.

#### 3. 結果および考察

#### (1) 海苔が分泌する炭水化物および DOC 濃度

6 日間の培養により海苔のバイオマスは乾燥重量とし て 0.15 g, 培養液中の全糖および DOC 濃度はそれぞれ 2.81 mg/L および 20.5 mg/L 増加し,海苔が炭水化物を 分泌していることが確認された.培養実験後の培養液を 対象に分子量分析を行った結果を図-1 に示す.図より, 培養液中に 10<sup>2</sup>から 10<sup>6</sup> Da までの幅広い分子量をもつ物 質の存在が認められたことから,全糖中に高分子状の物 質(EPS)が存在している可能性があることが示唆された. Brouwer et al.<sup>10</sup>および大石らっは,底質の粘性に対して 珪藻などの微細藻類由来の EPS が大きく寄与している と報告している.したがって,培養液中に EPS が存在し ているとすれば,培養液の粘性は海苔の培養前後で変化 していると予想される.このため,培養液における粘度 測定を行い,その結果を図-2 に示した.ここで,図の縦 軸は任意のずり速度に対するずり応力である.ずり応力



図-1 海苔によって分泌された溶存態有機物の分子 量.


図-2 海苔の培養が培養液の粘性に与える影響

は、海苔の培養前および後ともに切片を有するビンガム 流体を示しており、その値は全体的に培養後のほうが培 養前と比較して大きくなっていることがわかる. 図の切 片は降伏応力と定義され、安定性を示す指標として用い ることができる. 降伏応力の値は、培養前および培養後 で、それぞれ0.004 Pa および0.260 Pa であり、培養後 の培養液のほうがより安定性が高いことを示している.

以上の結果より,海苔は増殖過程において炭水化物を 分泌し,その割合は DOC のうちおよそ 11 %あることが 示された.また,海苔培養後の培養液中に高分子状物質 の存在が確認されたこと,海苔培養前より培養後の培養 液の粘性が高い値を示したことから,海苔によって EPS が分泌されていることが明らかとなった.

#### (2) EPS が底質粒子の凝集に与える影響

海苔の増殖に伴って EPS が分泌されたことが認めら れたため、EPS が水中の懸濁物質を凝集・沈降させ、水 中の透明度を増加させることが予想される.このため、 EPS が底質粒子の凝集に与える影響について明らかにす るため凝集試験を行った.その結果を図-3に示す.

懸濁液の濁度は EPS の添加量の増加とともに減少し, 底質1gに対する EPS 添加量が 0.5 mg のときに最も低 い値を示した.一方, EPS の添加量を 0.5 mg より多く すると懸濁液における濁度の低下はみられず, EPS 無添 加の場合とほぼ同じ濁度の値を示した.

EPS の主な構成物質と考えられる多糖類の表面は、底 質の粒子と同様負に帯電している部分が多いと予想され る. 底質粒子と EPS は底質に含有するカルシウムやマグ ネシウムなど正の電荷をもつ金属イオンによって凝集性 を示すものと考えられる. 懸濁液中に EPS が高濃度に存 在することによって、凝集効果を大きく低下させる結果 を示したが、これは負の電荷を帯びた EPS が粒子と金属



図-3 海苔由来の EPS が底質粒子の凝集作用に 及ぼす影響

イオンとの間の凝集を妨害し、粒子と金属イオンとの間 に反発作用を与えたためと推察される.

これらのことより, EPS は水中の懸濁物質の凝集作用 に影響を与えていることが明らかとなった.また,水中 における過度の EPS は粒子の凝集作用を低下させるこ とが認められた.

#### (3) EPS が底質の安定化に及ぼす影響

海苔の分泌した EPS が水中の懸濁物質を凝集させて いることが示されたことから, EPS が底質の安定化にも 寄与することが予想される.このため,底質に対する EPS の添加の有無によるレオロジー変化について調べた.そ の結果を図-4 に示す.

任意のずり速度における底質のずり応力は EPS の存 在(底質粒子1gに対して3mgの割合)により増加した. また、同図に示されているずり応力とずり速度のヒステ リシスループは EPS の添加が無いときにはヒステリシ スの面積が小さいことを、また添加が有るときには面積 が大きくなっていることがわかる. ここで, 図には示さ れていないが, EPS 添加量を1 mg および2 mg 添加し た実験も行っており、ヒステリシスの面積はEPS 添加量 とともに増加することを確認している. このヒステリシ スの面積の違いは、底質の粘度、すなわち安定度の違い によるものと考えられる. 菅侯ら 11は粘性を低下させる 減水剤添加の有無によるセメントペーストのずり応力と ずり速度の関係について調べ、減水剤を添加したサンプ ルにおいてヒステリシスの面積が大きくなる傾向を示し ており、本研究で得られた結果と一致する. また、この ようなヒステリシスは粒子間の凝集力により結合構造を 形成する<sup>12)</sup>ことが知られている.このことからも、EPS



図-4 海苔由来の EPS が底質の安定化に与える影響

の添加によって底質粒子の凝集が生じ、添加量の増加に よって粒子の凝集性も増大したものと推察される.

以上の結果より, EPS は底質の安定化に寄与している ことがわかった.また,底質における EPS の量あるいは 濃度が増加するにつれて,底質の安定性が促進すること が明らかとなった.

#### 4. まとめ

本研究は、有明海において大規模に養殖されている海 苔に着目し、海苔が EPS を分泌するか否かについて調べ るとともに、EPS が海水中の懸濁物質の凝集と底質の安 定化に与える影響について海苔の培養実験を通じて検証 した.得られた知見は、以下の通りである.

- 海苔は増殖過程において炭水化物を分泌し、その割合 はDOCのうちおよそ11%あることが示された.また、 海苔培養後の培養液中に高分子状物質の存在が確認 されたこと、海苔培養前より培養後の培養液の粘性が 高い値を示したことから、海苔によって EPS が分泌 されていることが明らかとなった.
- 2) EPS は水中の懸濁物質の凝集作用に影響を与えてい ることが明らかとなった.また、水中における過度の EPS は粒子の凝集作用を低下させることが認められ た.
- 3) 海苔由来の EPS は底質の安定化に寄与していること がわかった.また、底質における EPS の量あるいは 濃度が増加するにつれて、底質の安定性が促進するこ とが明らかとなった.

#### 謝辞

本研究は文科省科学者(佐賀大学)特別研究教育費・有明

海総合研究プロジェクトの分担研究として行った.また, 海苔は佐賀県有明水産振興センターの三根崇幸氏から提 供頂いた.ここに,感謝の意を表します.

#### 参考文献

- 1) 古川清久,米本慎一:有明海異変:海と川と山の再生 に向けて,不知火書房,2003.
- 2)清本容子、山田一来、中田英昭、石坂丞二、田中勝久、 岡村和麿、熊谷香、梅田智樹、木野世紀:有明海にお ける透明度の長期的上昇傾向及び赤潮発生との関連、 海の研究、17巻、pp.337-356、2008.
- 有明海, 八代海総合調査評価委員会:委員会報告書, 環境省, 2006.
- 濱田孝治,速水祐一,山本浩一,大串浩一郎,吉野健 児,平川隆一,山田裕樹:2006 年夏季の有明海湾奥 における大規模貧酸素化,海の研究,17 巻, pp.371-377,2008.
- 5) 宇野木早苗:有明海の潮汐減少の原因に関する観測データの再解析結果,海の研究,12巻,pp.19-30,2003.
- 6)程木義邦:有明海浅海定点調査データでみられる表層 低塩分水輸送パターンの変化,有明海の生態系再生を めざして、日本海洋学会編,恒星社厚生閣,2005.
- 7) 大石明広,原田浩幸,河野泰訓,志岐昌彦,山本浩一, 速水祐一,井上勝利,川喜田英孝,大渡啓介:有明海 底質細胞外ポリマーの性状と底質安定化への効果,海 岸工学論文集,55巻,pp.1301-1305,2008.
- 8) 須藤俊造: アサクサノリの大量培養について, 農産加 工技術研究会誌, 8巻, pp.52-59, 1961.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F.: Colorimetric methods for determination of sugars and related substances, Anal Chem, Vol.28, pp.350-356, 1956.
- 10) de Brouwer, J. F. C., Wolfstein, K., Ruddy, G. K., Jones, T. E. R. and Stal, L. J.: Biogenic stabilization of intertidal sediments: The importance of extracellular polymeric substances produced by benthic diatoms, Microb. Ecol., Vol.49, pp.501-512, 2005.
- 11) 菅俣匠,杉山知巳,梅沢健一,岡沢智:超高強度コン クリート用高性能原水剤のフレッシュ性状改善効果, 24 巻, pp.927-932, 2002.
- 12)種谷真一:やさしいレオロジー工学-物質の変形と流動-,工業調査会,1990.

(2009.3.31 受付)

## 筑後川感潮河道における高濁度水塊の 横断分布とSS 沈降に関する研究

CROSS-SECTIONAL DISTRIBUTION OF TURBIDITY MAXIMUM IN THE MEANDER OF THE CHIKUGOGAWA RIVER ESTUARY

横山勝英<sup>1</sup>•山本浩一<sup>2</sup>•金子 祐<sup>3</sup> Katsuhide YOKOYAMA, Koichi YAMAMOTO and Yu KANEKO

<sup>1</sup>博(工) 首都大学東京准教授 都市基盤環境コース(〒192-0397東京都八王子市南大沢1-1)
 <sup>2</sup>博(工) 山口大学准教授 社会建設工学科(〒755-8611山口県宇部市常盤台2-16-1)
 <sup>3</sup>修(工) 首都大学東京大学院 都市基盤環境工学専攻(〒192-0397東京都八王子市南大沢1-1)

The distribution of turbidity maximum and suspended sediment (SS) flux were analyzed in a cross section of the Chikugogawa river estuary. During flood tide, it was observed that the along-river current was relatively week and the suspended sediment concentration was high at the inside of the curve, the river water of near-bottom layer flowed to the inside of the curve, furthermore, the thickness of high SS concentration layer increased. The SS flux in each ADCP measurement cell was calculated using the water velocity and SS concentration that was estimated from echo intensity of ADCP, the flux was integrated in each segment of the cross section by one tidal period. The total sediment budget showed that considerably more SS passed over the inside of the meander than over the outside. These facts suggest that the secondary current occur in the meander of tidal channel and the suspended sediment transported by the turbidity maximum is moved into the inside of the bend.

Key Words: turbidity maximum, meander, secondery current, settling, sediment budget

#### 1. はじめに

河川感潮域では蛇行湾曲部の内岸側に泥質の緩斜面が 形成されることがあり,生態系にとって重要な環境と なっている.河川中流部では湾曲部において洪水時に二 次流が発生し,浮遊砂が横断方向に輸送されることで内 岸側に砂の堆積域が形成されると言われているが,理論 的研究や室内実験が多い(例えば池田ら<sup>1)</sup>).実河川では 低水路から高水敷へのSS 輸送現象を調査した佐藤ら<sup>2)</sup>, 渡辺ら<sup>3)</sup>の研究があるが,湾曲部の二次流や土砂の横断 輸送に関する調査例は少ない.また河川感潮域では高濁 度水塊によるSS 輸送が底泥堆積に影響を及ぼす可能性 が指摘されているが(川西ら<sup>4)</sup>),これらは縦断二次元的 な検討が多く,感潮河道の蛇行とSS 輸送の平面・横断分 布に関する研究はほとんど行われていない.

そこで本研究では、筑後川の感潮河道を対象として、 湾曲部の横断面において流速とSSの時間・空間変化を調 査した.そして、湾曲部における二次流の発生状況と高 濁度水塊の横断分布の関係,SSの鉛直分布と粒子沈降の 関係,SSフラックスの横断分布について検討し,感潮河 道におけるSS輸送が傾斜面の形成におよぼす影響につ いて考察した.

#### 2. 研究方法

#### (1)研究対象地

観測対象地は筑後川の感潮河道である(図-1). 感潮 河道は河口から23kmまでとなっており、曲率半径が1.5 ~3kmの蛇行が連続している.高濁度水塊は5~16km の範囲で発生し、14km付近で最大濃度を示す<sup>30</sup>.また、河 床材料は8~16kmの区間でシルト・粘土となっている. そこで本研究では高濁度水塊の運動と河床材料に関係が 見られる14km地点に観測断面を設定した.14km地点は 湾曲部と直線部の接合場所となっており、河川の平面形 状がSS輸送に及ぼす影響を調べやすいと考えられる.

図-2は観測地点の横断図である.横山らのは14km地



点の特徴として, 洪水の直後には左右対称の比較的平坦 な砂河床となるが, その後数ヶ月以内に澪筋を含めて全 域でシルト・粘土の堆積がはじまり, 約半年後には図中 の破線で示すような右岸にかたよった傾斜面が形成され ることを示している.

#### (2) 観測日の潮汐・流量

観測実施日は2007 年 8 月 31 日であり,沖合(三池港) の潮汐は早朝の潮高が 61 cm,昼の満潮が 557 cm,夕方の 干潮が 57 cm であった.そのため潮汐の日潮不等は小さ いと言える.

当日の河川流量(河口から25 km 地点)は75 m³/s であり,筑後川の豊水流量(82.8 m³/s)と平水流量(54.1 m³/s)の間であった.

#### (3) 高濁度水塊の観測方法

多項目水質計(アレック電子AAQ-1183)と曳航式超音 波流速計(RDI製ADCP,周波数1.2 MHz)を作業船に搭 載して,濁度・塩分と流速の鉛直分布を横断的に計測し た.横断観測の往路は時速5kmで移動しながら流速を計 測し,復路は図-2のA,B,C,D,Eの5地点で停止し て水質を計測した.一回の横断観測に要する時間は10分 から15分であり,20分ごとに7時から19時まで観測を行 い,合計で36回分の横断データを取得した.

曳航式超音波流速計は相対的な水中流速から船速を差 し引いて絶対流速を出力するが,船速は2つの方法で求 められている.1つは超音波の河床からの反射を利用す る方法であり,この船速から求まる流速を河床参照流速 と称する.もう1つはGPS測位を利用する方法であり,こ れをGPS参照流速と称する.本来は河床参照流速の方が 精度がよいとされているが,今回の観測ではC~E地点 で河床参照流速の欠測が多かったため主にGPS参照流速 を用いた.

また、底泥の堆積が進行する右岸側(180m)では固定



式の超音波流速計(Nortek製Aquadopp,周波数1MHz)を FRP製の双胴ボートに取り付けて係留し、水面から下向 きに流速分布を計測した.

濁度をSSに変換するために、濁水を採取してSSの分析を行った.分析結果から濁度-SS検定線を作成し、濁度時系列データをSSに換算した.その結果、本研究で使用した多項目水質計の計測限界は約4,000 mg/l であった.

#### 3. 高濁度水塊の横断分布

#### (1) 観測結果

図-3はSSと塩分の鉛直分布を横断的に並べたもので ある.図-4は主流方向流速の横断分布図である.それぞ れ上段は上げ潮での代表例,下段は下げ潮の例である. まず塩分を見ると,場所・時間によらず塩分濃度は概ね 0.2 psuを示しており,鉛直方向にも一様である.満潮の 前後1時間は多少上昇して0.5 psuになったが鉛直分布は 一様であった.したがって強混合型の塩水遡上の先端付 近で観測を実施していたことになる.

次にSS に着目すると、上げ潮では左岸でSS 濃度が低 く表層で約300 mg/l、下層で約500 mg/l と比較的一様な鉛 直分布を示しているが、右岸に行くほど下層で濃度が上 昇し、表層は約200 mg/l、下層では濁度計のレンジ(4,000 mg/l)をオーバーしている.流速は中央よりも左岸側で 強くなっており表層で最大1.2 m/sを示しているが、右岸 方向に向かうにつれて減少傾向にある.一方下げ潮で は、河床付近を除いてSS 濃度は鉛直方向にも横断方向に も比較的一様であり、河床付近の濃度上昇は上げ潮より も急激である.流速は中央部からやや右岸側で高い値を 示している.

以上のように14 km 地点では横断内のSS分布,主流方 向流速の分布が上げ潮と下げ潮で異なり,横断方向成分 の流速も上げ潮と下げ潮では異なった.

#### (2) 湾曲部の潮汐往復流がSS 横断分布に及ぼす影響

左岸と右岸のSS分布と流速分布の特徴が異なるため、 B地点とD地点におけるSSと流速の鉛直平均値の時間変





化を求めた(図-5). SS を鉛直平均する際には濁度計の 計測限界領域は除いた.この図から、上げ潮ではSS 濃度 が D 地点の方が B 地点よりも約2 倍高く、下げ潮では両 地点ともほぼ同程度の濃度を示している.また B 地点で は上げ潮と下げ潮のピーク SS 濃度が同程度であるが、D 地点では上げ潮の方が高い.このことから上げ潮で SS が 右岸側に集積していると考えられる.

次に、上げ潮と下げ潮の横断方向流速成分を図-6 に示 す. 横断方向流速は主流速に比べてかなり小さく計測誤 差の影響を受けやすいので、河床参照流速を用いて35 m 幅で平均した.ただし、右岸側では浮泥の影響により広 い範囲で計測不能であったため、左岸側だけを示してい る.また右岸に向かう流速を+としている.上げ潮では 表層で左岸に、底層で右岸に向かう0.1 m/s 程度の流れが 生じており、下げ潮では鉛直一様な分布を示している. 横断成分の流速も上げ潮と下げ潮では異なった.この原 因を平面的な蛇行形状から考える.図-1を見ると14 km 地点には上流から見れば直線河道であり、湾曲部の入口





にあたる.一方,下流から見ると湾曲部の出口になっている.そのため通常の河川流や下げ潮では直線開水路の流れとなり,上げ潮では蛇行によって外岸と内岸に流速差が生じ,さらに二次流が発生すると考えられる.

#### 4. SS 粒子の沈降特性

#### (1) 音と光の反射特性からみたフロック形成状況

SS 粒子の浮遊状態を多項目水質計の濁度センサーと 超音波流速計のそれぞれの観測値から推測する. 超音波 流速計は水中の浮遊粒子からの音波反射を解析して流速 を算出しているため,反射強度が粒子の濃度を表すと考 えられる.

SSからの音波の反射強度EL(dB)は次式で表される".

$$EL = 10a\log C + A \tag{1}$$

ここでα とA は定数, C は SS 濃度 (g/m<sup>3</sup>)である.

多項目水質計の濁度値から換算されたSS 濃度とADCP の反射強度の関係を水深別に調べ、水深2.57 mの例を図 -7に示す.反射強度とSSの相関が2つの傾きに分かれ ており、憩流時の反応が上げ潮・下げ潮と異なっている. この傾向は他の水深でも同様に見られた.

さらに詳細に検討するために、憩流時をピックアップ して同じ地点・水深のデータをプロットすると図-8が 得られた. 図中の実線は式(1)で表した上げ潮・下げ潮に 対する反射強度-SS相関式である. 高濁度水塊の運動状 況(図-5)と対比しながら見ると、逆流が弱くなる11 時頃から上げ潮・下げ潮の相関式から離れてゆき、SS 濃 度が一番落ち込む11時40分に最も離れる. その後、順流 が発達してSS 濃度が上昇すると、上げ潮・下げ潮の相関 式に近づいて行く. このような往復特性はどの地点・水 深でも見られた.

憩流時と上げ潮・下げ潮の分布が異なる理由として,



図-8 憩流時の反射強度・SS濃度の相関(水深2.57m)

高濁度水塊のフロック形成状況が濁度計やADCPの計測 に影響をおよぼしている可能性がある. ADCPは1.2 MHz の超音波で測定しているため、水中音速を1,500 m/sとす ると10<sup>o</sup> mm 程度の粒径に対して反応が強くなる.一方、 濁度計は波長880 nmの赤外光の後方散乱強度を測定して いるため、10<sup>3</sup> mm 程度の粒径に対する応答がよい.

このように各センサーが捉えている懸濁物質は大きさが1,000倍異なるため、懸濁物質の粒度分布が変化しない 状況であれば光の散乱強度と超音波の反射強度の相関は 一価の関係になるが、流況によって粒度分布が変化する 場合は、相関関係も変化する可能性がある.

ここで、図-7および図-8の縦軸を光散乱強度(濁 度)と読み替えると、憩流時には光散乱強度はそれほど 低下しないが、超音波反射強度は著しく低下するという ことになる.つまり、水中の粘土成分の沈降量に比べて フロックの沈降量の方が多く、憩流時に懸濁土砂の分級 が進んでいると考えれば、図を合理的に解釈できる.ま た、憩流時の後半では沈降したフロックが再懸濁してい る可能性が考えられる.さらに、図示していないが、左 岸(A・B)と右岸(C・D・E)で分類すると、右岸の方が 左岸よりも同じ光散乱強度に対して超音波反射強度が若 干強くなる傾向にあった.相関関係の傾きはほぼ同じで あったため、光に反応する微粒分の濃度が等しくても右 岸側の方がフロックが多いことを表している.



#### (2) SS 沈殿層の流動状況

曳航式ADCPの河床参照流速,GPS参照流速と定点計 測した流速を比較すると、ADCPの河床参照流速が他の 2つの流速よりも一律に低い場合が見られた.定点計測 値を真値と見なせば、GPS参照流速には問題がなく、河 床参照流速が誤差を含んでいると考えられる.

そこで、GPS 参照流速と河床参照流速の鉛直平均値を 計算して横断分布図に表すと一例として図-9 が得られ た.中央から右岸にかけて河床参照流速が不自然に低下 していることが分かる.図-3 に示したように右岸側では 河床に超高濃度のSS 沈殿層が形成されているが、流動し ているSS 沈殿層を河床と誤認した可能性が高い.GPS 参 照流速から河床参照流速を差し引いてSS 沈殿層の移動 速度を求めたところ、最大で0.4 m/s に達していた.

#### (3) SS 沈殿層の解析と考察

次にSS 沈殿層の厚さと水中SS 濃度に関してラウス分 布を用いて解析する.

$$\frac{C(y)}{C_a} = \left[\frac{a}{h-a} \cdot \frac{h-y}{y}\right]^2 \tag{2}$$

$$Z = \frac{w_0}{\beta \kappa U_*} \tag{3}$$

ここで, a: 基準面高さ (=0.05 h, h は水深), C(y): 底面 $から高さ(y)のSS 値, <math>C_a: 基準面高さのSS 値, w_0: 粒子$ の沈降速度,  $\beta: 定数(=1.2), \kappa: カルマン定数, U_*: 摩$ 擦速度である.

ラウス分布で表現できる領域は粒子の浮上・沈降が生じている場所であり、分布に乗らない領域はFluid Mud 状の粘着性流体になっていると考える.はじめにSS 鉛直分布(図-3)から沈殿層の厚さを概略設定し、そこを河床とみなして上部の水深hを求める.これより基準面高さaと基準面濃度 $C_a$ が決まる.

次に, 沈殿層の表面から見たときの相対水中流速(河 床参照流速)を用いて, 対数流速分布則によりU<sub>\*</sub>を推定 する. そして, 水中部分のSS濃度分布を再現しうる粒子 沈降速度w<sub>o</sub>を計算する.以上を最適なSS濃度分布が得



られるまで沈殿層の厚さを変えながら繰り返した.

図-10は上記の方法で推定されたSS 沈殿層の厚さと基準面濃度の時系列である.基準面濃度は上げ潮のピーク時に3,200 mg/l,下げ潮のピーク時に1,500 mg/l であり,上 げ潮の方が2倍高い.またSS 沈殿層は時間とともに増大 し、満潮となる11:30に最大値(1.2 m)を示している.下 げ潮では再び沈殿層が薄くなってゆく.初期の沈殿層は 約0.25 m,最終値は約0.45 m であり,正味0.2 m 程度が一 潮汐で堆積したと考えられる.

摩擦速度は満朝の約1時間を除いて、0.02~0.04 m/s で あった.これは移動限界のシールズ数を0.05 としたとき に0.5~2 mm の砂粒が移動する値である.SSの中央粒径 は0.01~0.02 mm であるから,沈殿したSS はそのままで は河床に残留し得ず,潮汐流によってすぐに再懸濁して しまうはずである.そのためSS 沈殿層の中では数時間の 間に粘着性が発揮され,粒子間結合の効果で堆積するこ とが可能になると推察される.

#### 5. SS フラックスの横断分布特性

ADCP の各計測セルに対して(1)式を用いて反射強度からSSを計算し、流速を乗じてSS フラックスを求めた. その結果、上げ潮では右岸側の中下層において上流方向へのフラックスが卓越しており、また二次流の影響で下層において右岸方向に向かっていた.下げ潮では横断的な分布は見られなかった.

次に、各地点での単位幅SSフラックスを時間累積した (図-11).+は順流、一は逆流を表している.いずれの 地点も満潮までは逆流が卓越するが、左岸側のB地点で は下げ潮の途中から順流でSSが河口方向に輸送されて



おり、右岸側のD地点では逆流遡上量が多いために、下 げ潮でもSSが上流側に残る結果となっている.

また、一潮汐の正味SS 輸送量を横断的にプロットしたところ、図-12 が得られた. 主流方向成分は左岸側で順流、右岸側で逆流が卓越しており、河道内のSS 通過状況が均一でないことが示された. また、全断面通過量は約-1.9 × 10<sup>6</sup> kg となり上流にSS が輸送されていた.

14 km 地点は上流から見れば直線河道に相当するため, 洪水などによる順流 SS 輸送が卓越していれば左右岸に 等しく堆積すると考えられる.一方,河口から見れば湾 曲部の出口に相当するため,高濁度水塊の逆流輸送が卓 越していれば二次流の影響で内岸側に堆積斜面が形成さ れると考えられる.断面 SS フラックスの計算結果から, 筑後川感潮河道では後者のメカニズムが支配的であるこ とが示された.

#### 6. 結論

本研究では、筑後川感潮河道の湾曲部において高濁度 水塊の横断分布特性とSS輸送フラックスについて検討 した.

湾曲部の上流側で流速とSSの横断分布を計測したところ、上げ潮では湾曲外側において流速が速く、SS濃度は低かった.湾曲内側では流速が外側よりも遅く、高濃度のSSが観測された.また横断方向流速は表層で湾曲外側、底層で湾曲内側という二次流の特徴が捉えられた.

超音波流速計と濁度計のデータから音響反射強度とSS 濃度の対応を調べたところ、満潮付近では上げ潮・下げ 潮と比べてSS濃度に対する反射強度の減衰率が極めて 大きく、超音波を反射しやすいフロックが沈降している と推察された.河床付近では満潮に向かってSS沈殿層が 成長しており、一潮汐後には約0.2mが残留した.この現 象は湾曲の内岸側で顕著に見られた.

音響反射強度からSS濃度の横断分布を推定し、同時 に得られた流速分布を乗じて断面SS通過量を計算した. これを横断区間ごとに1潮汐で積分すると、主流方向の SSは湾曲の内岸側で逆流に、外岸側で順流になってい



た.また横断方向のSS は湾曲の内岸側に向かっていた. 以上を総合すると、高濁度水塊が遡上する際に湾曲の 二次流の影響で内岸側をSS がより多く通過することが 明らかになり、内岸側でシルト・粘土が堆積しやすい環 境になっていることが示された.

謝辞:本研究の実施にあたり平成19年度科学研究費補助 金(若手B,横山勝英),及び河川環境管理財団河川整備 基金の援助を受けた.現地観測では下筑後川漁協の塚本 辰己氏にご助力頂いた.ここに記して謝意を表する.

#### 参考文献

- 池田駿介,日野幹雄,吉川秀夫:河川の自由蛇行に関する理論 的研究,土木学会論文集,第255号,pp.63-73,1976.
- 2) 佐藤慶太、二瓶泰雄、木水啓、飯田裕介:洪水流観測への高解 像度超音波ドップラー流速分布計の適用~江戸川を例にして ~、水工学論文集,第48巻,pp.763-768,2004.
- 渡邊康玄,長谷川和義,橋本識秀:洪水時における浮遊物質の 横断面内輸送と河岸堆積微細砂の堆積状況,水工学論文集,第 44巻, pp.413-418,2000.
- 川西澄,筒井孝典,中村智史,西牧均:太田川放水路における 河川流量と潮差変動に伴う浮遊砂泥の輸送特性,水工学論文 集,第49巻,pp.649-654,2005.
- 5) 横山勝英, 宮崎晃一, 河野史郎: 筑後川感潮河道と有明海奥部 における高濁度水塊の広域移動に関する現地調査,水工学論文 集, 第52巻, pp.1339-1344, 2008.
- 6) 横山勝英,山本浩一,一寸木朋也,金子祐:筑後川感潮道にお ける底泥の堆積過程に関する調査,海岸工学論文集,第54巻, pp.451-455,2007.
- 7)山本浩一,横山勝英,森下和志,高島創太郎,河野史郎,末次 忠司:白川河口域における土砂・栄養塩収支,河川技術論文集, 第11巻, pp.53-58, 2005.

(2009.3.31受付)

# 干潟底質環境研究部門

Research Division of ENVIRONMENTAL SCIENCE and TECHNOLOGY of TIDAL FLAT and SEDIMENT

### 2008年夏季の有明海水中の鉄の濃度変化と プランクトン発生

EFFECT OF IRON CONCENTRATION ON THE GROWTH OF PLANKTON IN ARIAKE BAY, SUMMER 2008

田端正明<sup>1</sup>・Abdul Ghaffar<sup>2</sup>・保見真悟<sup>3</sup>・吉田 誠<sup>4</sup>・片野 俊也<sup>5</sup>・ 山口創一<sup>6</sup>・速水祐一<sup>7</sup>

Masaaki TABATA, Abdul GHAFFAR, Shingo HOMI, Makoto YOSHIDA, Toshiya KATANO, Soichi YAMAGUCHI, Yuichi HAYAMI,

<sup>1</sup>理博 佐賀大学教授 理工学部機能物質化学科 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>博(理) 佐賀大学大学院工学系研究科エネルギー物質科学専攻 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>修 (理) 佐賀大学理工学部機能物質化学科 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>博(農) 佐賀大学特別研究員 有明海総合研究プロジェクト (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>5</sup>博(理) 佐賀大学研究期間研究員 有明海総合研究プロジェクト (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

6博(理)佐賀大学研究期間研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) 7博(農)佐賀大学准教授 農学部生物環境学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Iron concentration in the Ariake sea water was determined for the samples collected at four different sites in depths of 0, 2 and 5 m from the top, and of 1m from the bottom from July 6 to August 26, 2008. One of sample was filtrated with a 0.45 µm filter and other was not filtrated. All samples were immediately treated in a boat after the sample collection and were acidified by addition of ultra-pure hydrochloric acid (1 mol dm<sup>-3</sup>). The concentration of iron was determined by a graphite farness method using a Hitachi Zeeman Polarized Atomic Absorption Spectrophotometer. High concentration of sodium chloride interfered with the determination of iron at ppb level. But the interference was removed by addition of ultra-pure nitric acid to the samples before the ion determination, because NaCl easily vaporizes as HCl from acidic solution at a preheating process (750 °C). Iron concentration of total iron due to stirring sediment under a big change in tidal ebb and flow. The concentration (39–1 ppb) of iron filtered, however depended on sampling day and weather. Plankton (Diatom and Chattonella) appeared after a big rainy season and hot summer days. The water-soluble ion was correlated to the cell number of Diatom and Chattonetla. Effects of iron concentration on the growth of plankton are discussed.

Key Words : Iron, Diatom, Chattonella

#### 1. はじめに

赤潮は、一般に富栄養化した沿岸水域において発生 し、著しく高い密度まで増殖した結果生じる海の着色 現象である.その発生機構の一つとして、河川からの 流入や、雨水、堆積物の溶解などによって栄養塩のほ か一時的な鉄の大量供給が起こり、赤潮藻類の大量発 生に影響及ぼす可能性がある<sup>1,27)</sup>.有明海では1989年以 降、夏季に有害プランクトンであるシャトネラの赤潮 が発生し、魚介類の斃死など、漁業に大きな被害を与 えている.有明海の貧酸素水塊は、湾西部の沿岸干潟 域に発生する<sup>3.4</sup> .速水は有明海西部の塩田川沖水道上 のラインで貧酸素水塊が発生することを示している<sup>5</sup> . このような貧酸素水塊の形成によって,底泥から鉄が 溶出し,特に底層では高濃度になり,それがシャトネ ラ増殖を促進している可能性がある,というものであ る<sup>3</sup> .2006年度夏季の測定ではシャットネラの発生は観 測されなかったが,降雨後の晴天時に,沿岸近くで, 高濃度の鉄とスケレトネマの発生と,溶存酸素の増大 を観測した<sup>6</sup> .また,沖合いの深いところで起こる貧酸 素塊域で底泥からの鉄の溶出を確認することができた. 本研究では、2008年夏季に有明海湾奥部で赤潮 が発生したので、この時期における鉄(全鉄及び可溶 性鉄)の濃度の変動とプランクトン発生との関係につ いて研究した.



#### 2. 実験

#### (1) 試料および採取地点

本研究では赤潮の発生が見られた有明海奥部西側か ら諫早湾にかけて定線上の4地点(T2, P6, P1, B3) で,船上から表層から0 m, 2 m, 5 m 及び海底直上1m と深度を変えてサンプリングを行った(図1).

採水は7月6日,7月8日,7月13日,7月17日,7 月21日,7月24日,7月28日,7月30日,8月3日,8 月7日,8月10日,8月19日,8月26日の計13日行い, その間に赤潮の発生と消滅が起きた.測定は満潮 を挟んで3時間以内に完了するようにした.

#### (2)実験操作

採水した試料は現場で一部は  $0.45 \mu mメンブラ$ ンフィルタでろ過し, もう一つはろ過しない試料 とした. いずれも, 直ちに実験室で  $3 \text{ mol/dm}^3$ 塩 酸 1ml を添加した. その各々のサンプルを偏光ゼーマン原子吸光光度計Hitachi High-Technologies社 Z-2000 を用いてグラファイトファーネス法で測定を行った. 測定容器は,鉄の混入を防ぐためにフッ素容器を用いた. 採水試料容器は1昼夜1 mol dm<sup>3</sup>の硝酸容器に浸した. 蒸 留水は精密再蒸留水を用いた.海水の塩化物はグラ ファイトファイトファーネス法で超微量の鉄(ppbレ ベル)の定量を妨害するので,次のようにしてその妨 害を除いた.試料に超精密濃硝酸溶液を加え海水中の 塩化物イオンをHC1として余熱過程(700 ℃)で揮発 させた.更に全試料について塩化物イオンの濃度を定 量し,同じ塩化物イオン濃度ごとに検量線を作成し, 試料中の鉄の濃度を求めた.用いた試薬は,有害金属 分析用塩酸(和光純薬工業製)と超微量分析用硝酸 (和光純薬工業製)である.



図2. 調査期間中の降雨量

#### 3. 結果と考察

#### (1) 降雨量の変化

海水中の鉄の濃度は河川からの流入,特に降雨による影響が大きいので,調査期間中の測定地域(白石)の降水量を図2に示す.2008年の梅雨明けは7月6日であった.梅雨明け前1ヶ月間の降水量は約630 mmであったが,梅雨明け後45日間はほとんど雨が降らなかった.一方,2006年の調査時期には7月末まで大雨があり梅雨明けは7月末であった.更に8月20日頃



図3. 全鉄の濃度変

に大雨があった.従って,鉄の濃度分布は20 06年の夏季と2008年の夏季との間には大 きな違いがみられた.即ち,2006年の海水 中の鉄は殆ど降雨による出水起源であったが<sup>9)</sup>, 2008年の夏季の鉄の濃度の増大は降雨以外 の要因でも起きた.表1と表2に全鉄および可 溶性鉄の濃度を,表層と海底直上1mについて 示す.

#### (2)鉄の濃度変化

全鉄の濃度は360~130ppbの濃度範囲 であるが,2006年夏季に比べて変動幅が小さ かった.8月中旬のP6,P1及びB3地域の 表層では低い濃度であった.(表1).一方, 可溶性鉄の濃度は数ppbのオーダーで変化が小



図4. 可溶性鉄の濃度変化

	T2-0 cm	T2-B	P6-0 cm	P6- B	P1-0 cm	P1- B	B3-0 cm	B3- B
Jul. 6	343	346	299	351	332	343	356	341
Jul. 8					242	350	253	333
Jul. 13	342	351	216	351	261	351	226	346
Jul. 17	290	329	223	303	180	314	252	295
Jul. 21	364	359	308	362	164	363	225	313
Jul. 24	325	353		211	205	363	224	303
Jul. 28	368	365	296	289	209	314	228	350
Jul. 30	353	353	184	279				
Aug. 3	346	348	218	290	235	346	336	351
Aug. 7	320	340	140	144	130	250	170	270
Aug. 10	290	348	176	350	129	207	160	205
Aug. 19	297	350	130	205	99	169	200	145
Aug. 26	263	308	290	266	140	350	159	130

表1. 表層と底1mにおける全鉄濃度度(PPb)

#### 表2. 表層と底1mにおける溶解性鉄濃度度(PPb)

	T2-0 cm	T2-B	P6-0 cm	P6- B	P1-0 cm	P1- B	B3-0 cm	B3-B
Jul. 6	10	10	12	7	7	6	39	12
Jul. 8					33	11	39	37
Jul.13	6	15	13	8	33	7	22	2
Jul. 17	16	4	3	13	5	3	7	3
Jul. 21	4	4	3	1	1	2	8	1
Jul. 24	2	2	2	4	1	3	2	4
Jul. 28	2	2	2	5	1	1	2	1
Ju. 30	2	2	4	4				
Aug. 3	9	10	6	10	11	13	32	14
Aug. 7	11	11	6	9	18	15	7	14
Aug. 10	13	14	12	9	12	7	6	3
Aug. 19	10	10	11	3	5	13	8	12
Aug. 26	8	8	9	14	10	9	23	10

さいが、7月上旬にB地域で高い濃度を示した(表2). 梅雨明け前の鉄の降雨による河川からの供給と考えられる.

図3,4には、全鉄の及び可溶性鉄の濃度を観 測日と地域別に示す.海水中の鉄の濃度は降雨に よる河川からと底泥からの巻き上げに依存する. 全鉄濃度ではT2地域では、深さによらず高濃度 である.沿岸部では浅いため底から底泥の巻き上 がりにより全鉄濃度が高くなっている.同じよう に他の地点でも、底の方では全鉄濃度は高くなっ ている.

可溶性鉄の濃度は梅雨明けの7月上旬に地点P 1とB3で比較的高い濃度を示している.全鉄の 濃度と可溶性鉄の濃度との間には明確な相関関係 はない.即ち全鉄は主に泥の成分であり、沿岸域 と海底に高濃度を示す.一方、可溶性鉄は全鉄の 濃度の1%-10%に相当している.

観測日に着目すると、全鉄濃度は梅雨明けにT 2とP6地点及び8月はじめにP1、B3で低い 値を示した.それ以外の日では、T2地点は深さ によらず、他の地点では海底で高い全鉄濃度を示 した.全鉄の濃度は底泥の巻き上げの寄与が大き い.沿岸部のT2および沿岸から離れたところで は海底で殆ど高い鉄の濃度である.

可溶性鉄の観測日による違いは、全鉄に比べて 一層明確に表われた.7月下旬から8月初めにかけ ては全地点で低い値であった(図4).T2とP 6では7月初めから8月初めの長期間にわたって低 い濃度であった.即ち、降雨量が少ない時期であ る.7月中旬には地点P1、B3で高い溶解性鉄 の濃度であった.

#### (3) プランクトン濃度変化

本測定期間中シャットネラ赤潮が発生したこと が、2008年夏の特徴である.梅雨明け後45日間大 雨もなく晴天が続いた.シャットネラと珪藻プラ ンクトンの海水表面と海底1mにおけるにおける 個体数の分布を図5、図6に示す.

シャットネラの個体数は全珪藻類の約3%程度 ある.シャットネラが発生するときには他の珪藻 類の個体数は減少した.シャットネラが8月初め および8月20日前後に海水表面で発生したが,そ の発生時期は地点によっていくらか異なる.最大 値はそれぞれ,T2地点で8月1日,8月10日,P 6地点で8月3日,8月19日,P1地点で,8月3日 と8月19日,B3地点で8月7日と8月19日である. 海底では8月後半時期の発生数は減少した.T2 地点では、8月1日,8月14日,P6地点では8月10 日のみ,P1地点では8月10日と8月19日,B3地 点では8月7日のみである.

(4) 植物性プランクトン発生個体数と鉄の濃度





図6. 海底におけるプランクトン個体数

海水中の鉄はプランクトンの発生を促進することが 室内実験で確かめられている.本調査時おけるプラン クトンの固体総数が多い期日は、海面では7月6日,13 日,8月26日である.即ち、梅雨明けと8月末の多量の 雨の後である.海底では地点で異なるが、上記の期日



図7.海面と海底における可溶性鉄の濃度変化

以外に7月28日(T2,P6)に個体数が増えた.P1 とB3地点では7月28日前後にはプランクトンは発生し なかった.この期日における海水中の可溶性鉄の濃度 は先に述べたように、7月6日-21日(地点P1,B 3)と8月5-15日(B3)である.即ち,可溶性鉄 の濃度が高いときにプランクトンは発生しやすい傾向 にある.しかし、シャットネラは7月末と8月初めにか けて海面で最大に達している.7月末の可溶性鉄の濃度 は低い.海底では8月10日前後にシャットネラが発生し ており、可溶性鉄の濃度も多くなっている.図7には 地点Bにおける海面と海底における鉄の濃度を示す. 図7を、図5、6と比べるとその類似性はきわめて高 いこと分かる.

これらの結果を総合的に見ると次のようなことが言 える.①可溶性鉄の濃度はプランクトンの総個体数と 関係が深い、②可溶性鉄の濃度とシャットネラの個体 数との因果関係は地点による.海水表面では地点T2 とP6では一部依存関係がないが、地点P1とB1で は可溶性鉄の濃度と関係が深い.即ち可溶性鉄の濃度 が少ないときにシャトネラの個体数が多いときがあっ た(T2(8月1日).③可溶性鉄はプランクトンの 種類によらずその発生を促進すると考えられる.プラ ンクトン間の競争があるので可溶性鉄がシャットネラ の発生を促進するとは断言できない.しかし、全珪藻 類の3%過ぎないシャットネラの発生は他の珪藻類の 発生が抑制されると可溶性鉄によって促進されると考 えられる.

2006年の夏季の測定では、シャットネラの発生は観

測されなかったが鉄の濃度とスケレトネマとの関係づけられた<sup>6</sup>).即ち鉄はプランクトンの種類を選ばないので、シャトネラ以外のプランクトンが発生し、シャトネラの発生は抑制されたと考えられる.

#### 4. まとめ

鉄が赤潮(シャットネラ)の発生を促進するという ことが多くの研究者の室内実験で予想されていた. 2008年の夏季には赤潮の発生を観測し,その時の海洋 条件,特に濃度との因果関係を調査することができた. 不溶性鉄の濃度は有明海ではかなりの高濃度である. 300ppbである.全鉄は沿岸近くで海底にはかな り高濃度で存在する.その濃度は、天候にそれほど影 響を受けない.地点の差が大きい.即ち,底泥の巻上 げが激しいところほど,全鉄の濃度は高くなっていた. 一方,可溶性鉄は全鉄の濃度の数%から多くて1

0%である.可溶性鉄の濃度は沿岸がかならずしも高 濃度でない.地点による違いよりも天候に影響を受け やすい.梅雨明けに沿岸から遠い地点(P1,B3) で高濃度の可溶性鉄の濃度が観測された.この時期と 地点では計藻類の固体総数は増えた.しかし,シャッ トネラは発生しなかった.可溶性鉄の濃度が低いとき に,沿岸地点(T2)の海面でシャットネラの発生が 起きた.しかし,8月5日頃のシャトネラの発生は可溶 性鉄の濃度と関係があった.特に海底でのシャットネ ラの発生は鉄の濃度と相関があると考えられた.シャ トネラの移動も考えられる.

可溶性鉄はプランクトンの発生を促進するが、プラ ンクトン間の競争によりシャットネラの発生は影響さ れる.鉄の濃度以外にも栄養塩や温度、透明度、潮の 干満と風による底泥攪拌などを考慮しなければならな いと考える<sup>8</sup>).

謝辞:本研究は有明海総合研究プロジェクトからの研 究費で実施された.厚くお礼申し上げます.更に,共 著者としてあげた以外の有明海総合研究プロジェクト の教員に多大な協力を頂いた.また研究室の学生諸君 に試料の処理に協力してもらった.感謝いたします.

#### 参考文献

- 1) 内藤佳奈子・藻類, Vol. 54, 177-180 (2006).
- 2) Knako Naito, Ichiro Imai and Hiroyuki Nakahara: Complexation of Iron by microbial siedophores and effects on the growth of marine microalgae causing red tides, Phycological Research, Vol.56, pp. 58-87 (2008).
- 環境省:有明海・八代海総合調査評価中間取りまと め,<u>http://www.env.go.jp/info/iken/h180328a/index.html</u>,環境 省,pp. 139,2006. 瀬口昌洋・郡山益美・石垣哲寛・加藤治:有明海湾奥部西

岸域における貧酸素水塊の発生機構の解明とその防止法に 関する研究, 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報 告集, Vol. 1, pp. 7-14., 2005.

- 4) 木元克則・田中勝久・中山哲巌・興石祐一・渡辺康憲・西 村耕・藤井明彦・山本憲一:連続広域観測で捉えた有明海 の貧酸素水塊の動態,2004年度日本海洋学会春季大会講演 要旨集, pp. 191,2004.
- 5) 速水祐一・有明海奥部の貧酸素水塊―形成機構と長期変動 一,海洋, Vol. 39. pp.22-28, 2006.
- 6)田端正明・Abdul Ghaffar・保見真悟・速水祐一・濱田孝治・山本浩一・郡山益美:有明海沿岸の海水中の鉄濃度変化と環境変化,佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集,Vol.4,pp. 53-58 (2008).
- 7)田端正明・大久保壮志・速水祐一・濱田孝治:2006 年度夏季における有明海湾奥部海水中の貧酸素水塊 と鉄の濃度変化,佐賀大学有明海総合研究プロジェ クト成果報告集,Vol.3,pp. 55-60 (2007).
- 8) 吉田誠・片野俊也・山口創一・速水祐一:有明海奥 部における2008年夏季のシャットネラ赤潮とその競 合種の動向,佐賀大学有明海総合研究プロジェクト 成果報告集, Vol. 4, (2008) 印刷中.

(2009.3.31受付)

### LANDSAT-5 TM による有明海の海面濁度分布の観測

#### MEASURMENTS OF THE DISTRIBUTION OF SEA-SURFACE TURBIDITY IN THE ARIAKE SEA USING LANDSAT-5 TM

#### 瀬口昌洋<sup>1</sup>・郡山益実<sup>2</sup>・申龍熙<sup>3</sup>・加藤 治<sup>4</sup>・原口智和<sup>5</sup> Masahiro SEGUCHI, Masumi KORIYAMA, Yonghee Shin Osamu KATO and Tomokazu HARAGUCHI

1農博 佐賀大学教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
2農博 佐賀大学助教 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
3農修 鹿児島大学大学院 連合農学研究科(〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-24)
4農博 佐賀大学名誉教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
5農博 佐賀大学准教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

The purpose of the present study is to clarify the distribution properties of sea-surface turbidity, which has great effects on the environment, ecosystem and marine products, in the Ariake Sea observed using LANDSAT-5 TM data at high tide in summer. High turbidity was observed in the tidal flat and shallow sea near the coastal areas in the interior parts of this sea. This high turbidity was seemed to be caused by the suspension of the sea-bottom mud by fast current and wind wave. Some difference between the sea-surface turbidity distributions before and after the construction of the dike for ISAHAYA sea-reclamation were observed from this time data. In order to discuss the influences of the dike on the distribution of sea-surface turbidity, more similar measurements under the various sea conditions should be carried out.

*Key words* : Ariake Sea, turbidity, LANDSAT-5 TM, spectral radiance, spectral reflectance, path radiance, atmospheric correction

#### 1. まえがき

近年,有明海では環境や生物に関わる種々の異変 が顕在化し,深刻な問題となっている.その中でも,特 に有明海の最も典型的特徴の1つであるニゴリが大きく 減少し,湾奥部海域を中心に海水の透明度が上昇して いる<sup>1)</sup>.有明海においてニゴリの減少は,有光層の拡大 による赤潮の発生を促したり,またニゴリの持つ物質吸 着・沈降作用による海水浄化能力<sup>2)</sup>や海洋生物の餌料 量の低下<sup>3)</sup>をもたらす.したがって,有明海でのニゴリの 減少は,海域環境,生態系さらには漁業生産にも悪影 響を及ぼす重大な問題である.

本研究では、このような有明海の海面付近のニゴリす なわち海面濁度をデータの広域性、同時性及び周期性

の点で優れている地球観測衛星 LANDSAT-5 TM デー タを用いて観測し, その広域的分布性について検討, 考察した.特に今回は諫早湾潮受け堤防の完成前後 のデータを用いて海面濁度分布を観測した.

#### 2. 現地測定及びデータの概要

LANDSAT-5 TM データによる海面濁度の観測方法 を検討するために,有明海奥部の浅海域で以前に行っ た現地測定の対象海域及び測定地点を図-1に示す. 現地測定は LANDSAT-5 の対象海域上空通過時刻 (10:20 前後)に合わせ,現地で濁度,SS,海面温度及 び海面の分光反射スペクトルを測定した<sup>4</sup>.現地測定時 の潮位及びラジオスペクトロメーター(LI-1800)による海





図-3 現地測定の方法

表-1 データの取得状況

Л	oto	Data					
D	ale	TM	TB	SP			
December	25,	1987	0	0	×		
December	27,	1988	0	$\bigcirc$	×		
August	27,	1990	×	$\bigcirc$	$\bigcirc$		
September	17,	1992	0	$\bigcirc$	$\bigcirc$		
TM . Londoo	+ 5 TM	TD .	Turbidita				

TM : Landsat-5 TM, TB : Turbidity

SP : Spectrum

 $\bigcirc$  : Collected,  $~\times~:$  Not–collected

面直上分光反射スペクトルの測定方法の概要を,それ ぞれ図-2,3に示す.また,現地測定の際に収得され たデータの概要を表-1 に一覧する. さらに, 今回の観 測に使用された Landsat-5 TM データ収得日の潮汐 (大浦)の状況を表-2 に示す.

表-2 Landsat-5 TM データ収得日の潮汐状況

Date	Time of H.W.	Tide level of H.W.				
Spring 5,1996	10:04	4.97m(Spring tide)				
Spring 27,1998	9:49	5.15m(Spring tide)				

注) Landsat-5の上空通過時刻:10時20分前後

#### 3. 海面反射スペクトルとパスラジアンス

#### (1) 濁度と海面反射スペクトルの関係

LANDSAT-5 TM によって感知される分光放射輝度  $I_s(\lambda)$ は、(1)式で示されるように太陽光が地表面で反 射や大気中で散乱する光の和である.

$$I_{s}(\lambda) = \tau(\lambda)I_{u}(\lambda) + P(\lambda)$$
<sup>(1)</sup>

ここで、 $\tau(\lambda)$ は大気透過率、 $I_u(\lambda)$ は地表面直上で の上向き分光放射輝度、 $P(\lambda)$ は大気中のヘイズや エアロゾルにより散乱した分光放射輝度で、一般にパス ラジアンスと呼ばれる.特に海域では、 $I_u(\lambda)$ は、(2)式 で示されるように入射光の海水分子や海水中の懸濁粒 子より散乱した海面直上の上向き分光放射輝度  $I_w(\lambda)$ と太陽からの直達光の海面反射した分光放射 輝度 $I_d(\lambda)$ の和で表される.

$$I_u(\lambda) = I_w(\lambda) + I_d(\lambda)$$
<sup>(2)</sup>

さらに、 $I_{\mu}(\lambda)$ は(3)式で表される.

$$I_{u}(\lambda) = R(\lambda)H(\lambda) \tag{3}$$

ここで,  $R(\lambda)$  は海面の分光反射率,  $H(\lambda)$  は海面上 での下向き分光照度である. (1)~(3)式で示されるように, 海域の水質情報は $I_w(\lambda)$  に取り込まれる.



図-4 種々の濁度に対する海面直上の分光放射輝度

図-4 は、種々の濁度TBの下での $\lambda$ に伴う海面直

上の分光放射輝度 $I'_{w}(\lambda)$ の変化を示した.なお,  $I'_{w}(\lambda)$ は,測定時刻の $I_{w}(\lambda)$ への影響を避けるため に現地で測定された $I_{w}(\lambda)$ を(4)式により補正した値で ある.

$$I'_{w}(\lambda) = I_{w}(\lambda) \frac{w'(\lambda)}{w(\lambda)}$$
(4)

ここで、 $w(\lambda)$  及び $w'(\lambda)$ は、それぞれ現地測定時刻 及び補正の基準時刻における標準反射板の分光放射 輝度である. 図示されるように、 $I'_w(\lambda)$ は可視波長から 近赤外波長 0.4~0.85 $\mu$ m において*TB*の増加に伴っ て増大しているが、それ以外の波長域では $I'_w(\lambda)$ はす べての*TB*レベルに対してほぼ0である.



図-5 種々の濁度に対する海面直上の分光反射率の変化

図-5 は、直達光の海面反射の無い場合に(5)式より 算出された種々のTBの下での $\lambda$ に伴う $R(\lambda)$ の変化 を示した.

$$R(\lambda) = \frac{\rho(\lambda) I'_{w}(\lambda)}{\pi w'(\lambda)}$$
(5)

ここで, $\rho(\lambda)$ は標準反射板の分光反射率で,  $\rho(\lambda) \cong 1.0$ である.図示されるように, $R(\lambda)$ は全般的 に対象海域において小さい.しかし,0.32~0.85µmの 波長域の $R(\lambda)$ は 1~2%/srの範囲にあり,他の波長 域の $R(\lambda)$ に比べて相対的に大きく,TBの増加に伴 って増大している.さらに, $\lambda \ge 0.95\mu$ mの近赤外波 長域の $R(\lambda)$ は,TBレベルの大小にかかわらずほぼ0 である.したがって,0.32~0.85µmの波長域では太陽 光の数%/srがTBに応じて反射される.一方, $\lambda \ge 0.95$ µmの近赤外波長域の太陽光は水体によってほとんど 吸収される.

図-6は、 $\lambda$ に伴う $I'_{w}(\lambda)$ とTBの相関係数 $\gamma(\lambda)$ の

変動を示した. 図示されるように,  $\gamma(\lambda)$ は 0.4~0.9 $\mu$  m の波長域において 0.9 前後の高い値であるが, 0.9 $\mu$  m を越えると急減する. すなわち, 対象海域における TB に関する情報は, 可視及び近赤外波長域 0.4~0.9 $\mu$  m の $I'_w(\lambda)$ に含まれる.



#### (2) 濁度とバンド輝度の関係

Landsat-5 TM によって得られる輝度データは, 各 Band の波長域にわたって積分された値すなわちバンド 輝度である. *TB* 情報を多く含む可視及び近赤外波長 域の Landsat-5 TM Band1~4 に対応する現地測定値  $I'_w(\lambda)$ のバンド輝度 $B_i$  (i=1~4)は, (6)式から算出 される.

$$B_{i} = \int_{\lambda_{ii}}^{\lambda_{ui}} I_{w}'(\lambda) d\lambda$$
(6)

ここで, $\lambda_{li}$ , $\lambda_{ui}$ は,それぞれ Bandiの波長域の下限 値及び上限値であり, $\mathbf{a-3}$ に一覧される.

表-3 Landsat-5 TM の特性値

$\lambda l_i$ ( $\mu$ m)	λu <sub>i</sub> (μm)	$\frac{S_{\min}}{(mW/cm^2 \cdot sr)}$	$\frac{S_{max}}{(mW/cm^2 \cdot sr)}$
0.45	0.52	-0.0099	1.004
0.52	0.60	-0.0227	2.404
0.63	0.69	-0.0083	1.410
0.76	0.90	-0.0194	2.660
	$\lambda l_i \ (\mu m)$ 0.45 0.63 0.76	$\begin{array}{c c} \lambda l_i & \lambda u_i \\ (\mu m) & (\mu m) \end{array} \\ 0.45 & 0.52 \\ 0.52 & 0.60 \\ 0.63 & 0.69 \\ 0.76 & 0.90 \end{array}$	$\begin{array}{c ccc} \lambda l_i & \lambda u_i & S_{\min} \\ (\mu m) & (\mu m) & (m W/cm^2 \cdot sr) \end{array} \\ \hline 0.45 & 0.52 & -0.0099 \\ 0.52 & 0.60 & -0.0227 \\ 0.63 & 0.69 & -0.0083 \\ 0.76 & 0.90 & -0.0194 \end{array}$

表-4は、 $TB \ge B_i$  ( $i = 1 \sim 4$ )、 $TB \ge 2$  Band の比  $B_i / B_j$  ( $i, j = 1 \sim 4, i \neq j$ )、 $TB \ge 2$  Band の差と和 の比 ( $B_i - B_j$ )/( $B_i + B_j$ ) ( $i, j = 1 \sim 4, i \neq j$ )及び それぞれの対数の相関係数を示した.

表から明らかなように、 $TB \ge B_2/B_1$ および $TB \ge (B_2 - B_1)/(B_2 + B_1)$ の相関係数を除いて全般的に

表-4 ,  $TB \ge B_i$  ( $i = 1 \sim 4$ ),  $TB \ge 2$  Band の比  $B_i / B_j$  ( $i, j = 1 \sim 4, i \neq j$ ),  $TB \ge 2$  Band の差と和の比 ( $B_i - B_j$ )/( $B_i + B_j$ ) ( $i, j = 1 \sim 4, i \neq j$ )及びそれぞれの対数の相関係数

					-	-						
	$B_1$	$B_2$	<i>B</i> <sub>3</sub>	$B_4$	$\frac{B_2}{B_1}$	$\frac{B_3}{B_1}$	$\frac{B_4}{B_1}$		$\frac{B_3}{B_2}$		$\frac{B_4}{B_2}$	$\frac{B_4}{B_3}$
TB	0.871	0.887	0.938	0.932	0.602	0.933	0.89	7	0.947	0	.913	0.799
ln TB	0.860	0.869	0.913	0.878	0.569	0.936	0.85	8	0.960	0	.877	0.725
	$\ln B_1$	ln $B_2$	$\ln B_3$	ln B4	$\ln \frac{B_2}{B_1}$	$\ln \frac{B_3}{B_1}$	$\ln \frac{B}{B}$	4 1	$\ln \frac{B_3}{B_2}$	Ŀ	$n  \frac{B_4}{B_2}$	$\ln \frac{B_4}{B_3}$
TB	0.858	0.875	0.922	Ò.936	0.605	0.935	0.92	2	0.940	0	.930	0.798
$\ln TB$	0.865	0.877	0.936	0.930	0.571	0.956	0.90	7	0.970	0	.917	0.727
	$\frac{B_2-1}{B_2+1}$	$\frac{B_1}{B_1}$	$\frac{B_3 - B_1}{B_3 + B_1}$		$\frac{B_4-B_1}{B_4+B_1}$	$\frac{B_3-1}{B_3+1}$	$\frac{B_2}{B_2}$		$\frac{B_4 - B_2}{B_4 + B_2}$		$\frac{B}{B}$	$\frac{A-B_3}{A+B_3}$
TB	0.6	05	0.936		0.912	0.9	0.943		0.921		0.799	
ln TB	0.5	72	0.953		0.883	0.967		0.893			0.727	
	$\ln \left  \frac{B_2}{B_2} \right $	$\left \frac{-B_1}{-B_1}\right $	$\ln\left \frac{B_3-B_1}{B_3+B_1}\right $	ln	$\left \frac{B_4 - B_1}{B_4 + B_1}\right $	$\ln \left  \frac{B_3}{B_3} \right $	$\left  \frac{B_2}{B_2} \right $	ln	$\left \frac{B_4-B_4}{B_4+B_2}\right $		$\ln \left  \frac{1}{2} \right $	$\frac{B_4-B_3}{B_4+B_3}\Big $
TB	0.6	11	-0.867		-0.887	-0.947		-0.910			-0.727	
ln TB	0.5	78	-0.836		-0.844	44 -0.949		-0.872		-0.722		

Note: Correlation coefficients between TB and the reciprocal of  $B_i/B_i$ , whose absolute values are almost the same with correlation coefficients between TB and  $B_i/B_i$ , are omitted from this table.

高い. 特に  $\ln TB \ge \ln B_3 / B_2$ の相関係数が最も高く, 0.97 である. 図-7 は、 $\ln TB \ge \ln B_3 / B_2$ の関係を示 したものであり、両者の関係は次式で表される.

$$TB = 346.9(B_3 / B_2)^{4.43} \tag{7}$$

したがって、もし Landsat-5 TM のバンド輝度からパスラ ジアンスが除去されたならば、 $\ln TB$ と Landsat-5 TM Band 3 と Band 2 のバンド輝度の比の対数との相関性が 最も高くなると推察される.



図-7  $\ln TB \ge \ln B_3 / B_2$ の関係

#### (3) パスラジアンスと大気透過率の特性

(1) 式に示されるように、大気の影響は $\tau(\lambda)$ と  $P(\lambda)$ を介して Landsat-5 TM データに反映される. し かし、これらのパラメータの値を直接測定することは難し い. ここでは、Landsat-5の対象海域上空通過時刻に合 わせ,海面直上で測定された上向き分光放射輝度と Landsat-5 TM Band1~4のバンド輝度を用いて $\tau(\lambda)$ と  $P(\lambda)$ の値を間接的に求めた. Landsat-5 TM Band1~ 4の輝度データ(相対輝度) $C_i(i=1~4)$ は, (8)式に よりバンド輝度(絶対輝度) $BN_i(i=1~4)$ に変換さ れる.

$$BN_{i} = (S_{\max i} - S_{\min i})C_{i} / 255 + S_{\min i}$$
(8)

ここで、 $S_{\max i}$ 及び $S_{\min i}$ は、それぞれ Landsat-5 TM Band1~4 の最大及び最小輝度であり、**表**-3 に一覧さ れる. もし、TM データへの太陽からの直達光の海面反 射の影響が無いならば、 $BN_i \ge B_i$ は、それぞれ(1)式 の $I_s(\lambda) \ge I_u(\lambda)$ に対応する. したがって、(1)式は(9)式 に書き改められる.

$$BN_i = \tau_i B_i + P_i \tag{9}$$

ここで、 $\tau_i \ge P_i$ は、それぞれTM Band*i*に対する大気 透過率とパスラジアンスである、したがって、 $\tau_i \ge P_i$ の 値は、(9)式に対する $BN_i \ge B_i$ の間の回帰分析によっ て算出される2つの回帰係数で与えられる.

図-8は、対象海域7測点でのB<sub>i</sub>とそれらの測点に 対応する Landsat-5 TM の BN<sub>i</sub>(i=1~4)との(9)式 に対する回帰分析結果を示した.さらに、図−9 は、TM Band 1~4 の波長域と図-8 の回帰直線(9)式の傾き  $\tau_i$  (*i*=1~4)及び切片  $P_i$  (*i*=1~4)との関係を示した. なお, 図中には, 安岡ら<sup>5</sup>により Landsat-2,3 MSS Band 3~5 のデータから求められた霞ヶ浦の  $\tau_i$  (*i*=3~5)と $P_i$  (*i*=3~5)も併示された.



図-8  $B_i \ge BN_i$  ( $i = 1 \sim 4$ )の(9)式に対する回帰分析



図示されるように、 $\tau_i \ge P_i$ は、それぞれ両対数紙上で 波長域の増加に伴って直線的に増大及び減少してい る. また、これらの傾向は、安岡らの結果 <sup>5)</sup>とも一致して いる. したがって、TM Band 1~4 の中心波長  $\lambda_i$ (*i*=1~4)と $\tau_i$ (*i*=1~4)及び $P_i$ (*i*=1~4)との 関係は、次式で表される.

 $P_i = 0.04\lambda_i^{-2.80}$ (10)

$$\tau_i = 1.85\lambda_i^{1.89} \tag{11}$$

(11)式に示されるように、 $P_i$ はほぼ $\lambda_i$ の-3乗に依存し

ており、大気中のヘイズやエアロゾルによる散乱<sup>6)</sup>の $P_i$ への大きな影響が推察される.また、表-5 は、  $P_i(i=1\sim4)$ と $BN_i(i=1\sim4)$ の平均値 $\overline{BN}_i$  $(i=1\sim4)$ との比率を示した.この表から明らかなよう に、 $P_i(i=1\sim4)$ は $\overline{BN}_i(i=1\sim4)$ の約 70~90% を占めている.すなわち、対象海域の Landsat-5 TM Band 1~4 の輝度の約 70~90%はパスラジアンスによ って占められる.

表-5  $\overline{BN}_i$ に含まれる  $P_i(i=1 \sim 4)$ の割合

Band	$P_i \; (\mathrm{mW/cm^2 \cdot sr})$	$\overline{BN_i} \; (\mathrm{mW/cm^2 \cdot sr})$	$P_i/\overline{BN_i}$
1	0.282	0.318	0.89
2	0.235	0.309	0.76
3	0.118	0.179	0.66
4	0.096	0.143	0.67

#### 4. 有明海の海面濁度分布

#### (1) 大気補正

Landsat-5 TM データを用いて海面濁度分布を測定 するためには、TM データの大気補正すなわちこのデー タに含まれるパスラジアンスを除去する必要がある.ここ では、上述のパスラジアンスの特性を活用した簡易的な 大気補正を行った.まず(10)式は可視波長域の Band  $i(i=1 \sim 4)$ のみならず、近赤外波長域 Band j(j=5)においても成り立つと仮定する.この場合、 TM Band  $i(i=1 \sim 4)$ 及び Band j(j=5)に含まれ るパスラジアンス $P_i(i=1 \sim 4)$ 及び $P_j(j=5)$ の間に は、(12)式の関係が成り立つ.

$$P_i = P_j \left(\lambda_i / \lambda_j\right)^{-2.80} \tag{12}$$



一方, 図-5 に示されるように, 電磁波の海面反射率 は波長 0.95  $\mu$  m を超える近赤外波長域ではほぼ 0 であ る. すなわち近赤外波長域を超える太陽光は, その大部 分を水体によって吸収される. したがって, TM Band 5 のデータに含まれる絶対輝度は海面からの反射輝度で はなく, 大気散乱によるパスラジアンスすなわち  $P_5 \cong BN_5$ と考えられる. この関係を活用するとき, TM Band  $i(i=1 \sim 4)$ のバンド輝度  $BN_i(i=1 \sim 4)$ は, (13)式により大気補正される.

 $CBN_i = BN_i - BN_5 (\lambda_i / \lambda_5)^{-2.80}$ <sup>(13)</sup>

ここで,  $CBN_i$ は大気補正後のバンド輝度である.  $BN_i(i=1\sim 4)$ に含まれる $P_i(i=1\sim 4)$ を(13)式右 辺第二項から推算すると, 図-10となる.

#### (2) 海面濁度分布の観測

表-4 に示したように、 $\ln TB \ge \ln B_3 / B_2$ の間には 高い相関性が見られた. したがって、もし Landsat-5 TM Band 2、3 のデータからパスラジアンスが除去されるなら ば、当然 TB とこれらのデータの間においても同様な高 い相関性が成り立つと想定される. 図-11 は、 $\ln TB$  と  $\ln CBN_3 / CBN_2$ の関連性及び回帰曲線を示した.



図-11  $\ln TB$ と $\ln CBN_3 / CBN_2$ の関係

図示されるように、両者の間には高い相関性が見られ、この関係は(14)式で表される.

$$TB = 663.5(CBN_3 / CBN_2)^{4.75}$$
(14)

(14)式は、図中に破線で示される(7)式の回帰曲線と比較的類似している.このことから、ここで提示した大気補



図-12 1996 年 4 月 5 日と 1998 年の 4 月 27 日(大潮 満潮時付近)における有明海の海面濁度分布

正法は, Landsat-5 TM Band 2, 3 のデータからパスラジ アンスを除去する方法として合理的と考えられる. した がって,本報では,(13),(14)式を用いた有明海の海面 濁度分布の観測法を提示した.まず Landsat-5 TM Band 2, 3 のデータから高周波ノイズを除去するために, これらのデータに次式の空間フィルタリングを施した.

$$FC_{i}(k,l) = \sum_{n=-1}^{1} \sum_{m=-1}^{1} F(n,m)C_{i}(k-n,l-m)$$
(15)

$$F(n,m) = \frac{1}{13} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 5 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$
(16)

ここで,  $C_i(k,l)$  及び  $FC_i(k,l)$  は, それぞれTM Bandi(i = 2,3)のkライン, lピクセルの相対輝度及 びフィルタ処理後の相対輝度, F(n,m)はローパスフィ ルタである. 次いで,  $FC_i(k,l)$  (i = 2,3)を(8)式によ り $BN_i$  (i = 2,3)に、さらに(13)式により $BN_i$  (i = 2,3) を $CBN_i$  (i = 2,3)に変換した、そして、最後に(14)式を 適用して $CBN_i$  (i = 2,3)から海面濁度を算出した.

図-12は、上記の方法に従って求められた諫早湾締 切り前年の1996年4月5日と締切り1年後の1998年4 月 27日における有明海の海面濁度分布を示した. 図 示されるように、潮汐の状況(大潮満潮時付近)が比較 的類似しているにもかかわらず,両年において海面濁 度分布に大きな差異が見られる. すなわち, 1996 年 4 月5日の海面濁度分布においては,60~100mg/1の 高濁度海域が筑後川,六角川,塩田川の河口域に見ら れるが、1998年4月27日の海面濁度分布においては、 この高濁度海域は大きく縮小している.また,1996 年 4 月5日の海面濁度分布において奥部西岸域に広く分 布していた16~20mg/1の濁度海域が,1998年4月27 日のそれにおいては減少している.しかし、それに反し て,1996年4月5日の海面濁度分布においては大牟 田以南の東岸沿岸域ではほとんど見られなかった 16~ 20mg/1の濁度海域が, 1998年4月27日のそれにおい て広く分布している. さらに, 1998年4月27日の海面濁 度分布においては、12~16mg/lの濁度海域が奥部や 島原半島沖合いに雲状に分布している.また,1996年 4月5日の海面濁度分布においては,12mg/1以上の濁 度の比較的高い海域と 8mg/l 以下の濁度の比較的低 い海域とはかなり明瞭に分別化されている.しかし, 1998 年 4 月 27 日の海面濁度分布においては、これら 両者の分別化は1996年4月5日のそれに比して、それ ほど明瞭ではなく、60~100mg/1の高濁度海域が縮小 した分,8~12mg/1の低濁度海域が有明海の広い範 囲にわたって分布しているように見受けられる. すなわ ち,有明海の海面濁度分布を大きく左右する粘土,シ ルトなどの微細な浮遊性懸濁物は,1996年4月5日で は奥部の河口域や沿岸干潟域に比較的高濃度で集中 的に分布していると考えられる。しかし、1998年4月27 日ではこれらの海域を中心とした浮遊性懸濁物の高濃 度分布域は奥部で縮小し, 東岸沿岸域で拡大すると同 時に,その低濃度分布域が有明海全域に広く分布して いるように推察される.このような両年の河口域や沿岸 干潟域さらには有明海全域における海面濁度分布の 差異は,単に両日の潮流の違いによる底質巻上げの差 異を反映したものか,あるいは諫早湾締切り前後の底 質や水質環境の変化を反映したものか, 現時点では定 かではない. 今後, さらに種々の潮汐の状況や潮流に よる底質の巻上げが海面濁度分布に大きく反映される 平均潮位~干潮位 7),8)のデータについても海面濁度分 布の観測が必要である.

#### 5. まとめ

本研究では、有明海の海域環境、生態系さらには 漁業生産などに重大な影響を及ぼしている海面濁度 の広域的分布性を定量的に評価するために、まず地 球観測衛星Landsat-5 TMデータを用いた海面濁度の 観測方法について検討した.次いで諫早湾締切り前 後年のLandsat-5 TMデータを用いた海面濁度分布の 観測を行い、その分布性について検討、考察した.

本研究によって得られた主な知見は、下記のよう に要約される.

- (1)対象海域における海面濁度及び海面直上分光放 射輝度の測定データにおいて,海面濁度と可視~ 近赤外波長域(0.4~0.9µm)の海面直上分光放 射輝度あるいは分光反射率の相関性が非常に高 かった.
- (2) 海面直上分光放射輝度とLandsat-5 TM データの回 帰分析により算出された大気中のパスラジアンスは、 Landsat-5 TM Band *i*(*i*=1~4)の輝度の 70~ 90%を占めた.また、パスラジアンスと TM Band *i*(*i*=1~4)の中心波長の間に、約-3 乗則が見ら れた.
- (3)パスラジアンスの波長依存性とTM Band 5 の輝度を
   利用したTM Band *i*(*i* = 1~4)のデータに対する
   簡易的大気補正法が提示された.
- (4)対象海域において海面濁度の対数値と,ここで提示された方法により大気補正された TM Band 3の 輝度とTM Band 2の輝度の比の対数値の間に高い 相関性が確認された.これら両者間の関連性を利 用したLandsat-5 TMデータよる有明海の海面濁度 分布の観測法が提示された.
- (5) 諫早湾締切り前年の 1996 年 4 月 5 日と1 年後の 1998 年 4 月 27 日の Landsat-5 TM データから有明 海の海面濁度分布が観測された. 両者の間には, 河口域や奥部西岸域を中心に, いくつかの差異が 見られた。これらの差異の実態や原因を明らかに するためには, 今後, 更に種々の潮位の下で収録 された Landsat-5 TM や他の地球観測衛星のデー タを用いた詳細な海面濁度分布の観測と検討, 考 察が必要である.

謝辞:本研究を実施するに際し,平成20年度科学研 究費補助金(基盤研究(B),代表:瀬口昌洋)及び佐賀 大学有明海総合研究プロジェクトより,多大なる支援を 受けた.このことを,ここに付記し,深謝申し上げます.

#### 参考文献

- 農林水産省有明海ノリ不作等対策関係調査検討 委員会:最終報告書-有明海の漁業と環境の再生を 願って-, pp.1-15, 2003.
- 2)代田昭彦:有明海の栄養塩類とニゴリの特性, 海洋科学,12(2), pp. 127-137, 1980
- 水産総合研究センター:有明海の海洋環境の変 化が生物生産に及ぼす影響の解明,平成15年度 研究報告,pp.49-53,2004
- 4) Seguchi M., O. Kato and J. H. Park : Measurment of Turbidity distribution in the interior part of the Ariake Sea, *Trans. of JSIDRE*, **179**, 39–48, 1995.

- 5) 安岡義文, 宮崎忠国: リモートセンシングによる湖 水域の水質分布計測-回帰分析を用いた大気補 正と水質分布計測-, 日本リモートセンシング学会 誌, 2(3), pp.51-62, 1982.
- 近藤純正(編著):水環境の気象学-地表面の水 収支・熱収支-,朝倉書店,pp.58-62,1994
- 瀬口昌洋,渡辺 潔,加藤 治:有明海奥部浅海 域における底層の流れと濁りについて,海岸工学論 文集,36,pp.819-823,1989
- 瀬口昌洋,渡辺 潔,加藤 治,朴 鐘和:有明海 奥部浅海域におけるぐ底泥の巻上げ,農業土木学 会論文集,157, pp.65-74, 1992.

(2009.3.31 受付)

### 佐賀県沿岸域における覆砂の効果と持続性について

DURABILITY OF SAND BANKING EFFECT IN THE INNER AREA OF THE ARIAKE SEA

#### 原口智和<sup>1</sup>・加藤 治<sup>2</sup>・靏丸雅之<sup>3</sup>・瀬口昌洋<sup>4</sup>・郡山益実<sup>5</sup> Tomokazu HARAGUCHI, Osamu KATO, Masayuki TSURUMARU, Masahiro SEGUCHI, Masumi KOORIYAMA

<sup>1</sup>農博 佐賀大学准教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>農博 佐賀大学名誉教授(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>佐賀大学大学院農学研究科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>農博 佐賀大学教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>5</sup>農博 佐賀大学助教 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

The sand banking method appears to be useful for improving the environment of bottom sediment in the inner area of the Ariake Sea. It is usually thought that its effect becomes dull in only a few years. The present study investigates the secular change of the bottom sediment environment in sand capped sections, which were constructed by Saga Prefecture from 2001 to 2003. The relation among the habitation of benthos, the grain size distribution and the ignition loss was investigated. Sedimentation had progressed in northeastern and southeastern spots of the inner area. Much benthos was caught in northeastern spot than and southeastern. The vertical distribution of ignition loss in sediment suggested that bivalve had inhabited from right after construction in northeastern spot.

Key Words : Sand banking method, benthos, grain size distribution, ignition loss

#### 1. はじめに

有明海は、近年さまざまな環境問題が深刻化しており、 二枚貝類の漁獲高は減少し続いている.この原因として、 (1) 湾奥部を中心とした底質の泥化(底質環境の変化) が進行していること、(2) 稚貝の着底域が限られ、浮遊 幼生の移動・集積に関与する流況が変化していること、 (3) 貧酸素により環境がストレスを受けていること、(4) ナルトビエイによる食害を受けていること、などが考え られる.このため、有明海沿岸域では、底質環境の改善 や貝類漁場の整備を目的として、覆砂、耕耘、作澪、堆 積物除去等が施工されてきた.福岡県ではアサリの推定 資源量が平成17年10月から平成19年2月にかけて、約4倍 に増加している<sup>1</sup>.

覆砂については、(1)底泥から栄養塩などの溶出を抑 える、(2)汚染底質の巻き上げを防ぐ、(3)溶存酸素消費 量を削減する、(4)生物相を回復する、などの効果が見 込まれているが、それらの効果をいかに長く維持させる かが大きな課題である. 福岡県柳川地先と大牟田地先に 施工された覆砂地区における底質調査,底生生物調査よ り、事業から10年経過後も底質改善効果が維持されてい るが、生物的性状から見た効果は場所によって差が生じ ることが確認されている<sup>20</sup>.このように、覆砂効果の持 続年数は場所によって異なり、浮泥や堆積泥の輸送を左 右する潮流の影響を受けるものと思われる.

本研究では、佐賀県が平成13年から平成15年にアサリ の養殖場の改良を目的として実施した覆砂地点において、 粒度組成の変化や底生生物の生息状況を実測調査で明ら かにしてきた<sup>3,4),5)</sup>.本年度は、覆砂施工区において底 質調査、底生生物調査を行い、その生息状況と粒度組成 から覆砂の効果とその持続性を検証した.

#### 2. 実験方法

平成13年から15年までに行われた佐賀県沖の覆砂施工 区を図1に示す.この図において、工区名に付けている H〇〇は施工年度を表す.工区①,②,③は住之江港 沖・六角川澪筋沿い、工区④,⑤,⑥,⑨は筑後川澪筋



図-1 平成13年から平成15年に施工された覆砂工区(有明水 産振興センターの図より作成)

沿い,工区⑦は肥前七浦沖,工区⑧は太良町沖である. 一区画の規模は,100m×400m(40,000m<sup>2</sup>)で,覆砂厚は おおよそ0.3mである.

平成17年および同18年に、各施工区において、覆砂工 区内(以下,覆砂区と呼ぶ)、およびその近傍の覆砂が なされていない地点(以下,対照区と呼ぶ)から柱状採 土を行い、粒度組成の鉛直方向の変化を調べた.また, 平成19年は、工区①(H14東北工区)、工区②(H15東北 工区)および工区⑤(H14東南工区)において、底生生 物の調査を行った.

本年度は、平成20年9月に工区①、⑤において、平成 21年3月に工区①、⑤、⑦、⑧において底泥採取調査を 実施した.柱状試料は、内径0.1m×長さ1mのアクリルパ イプを用いて、海底表面から深さ0.3m~0.5mの底泥を、 覆砂区2地点と対照区1地点で採取した.底生生物調査用 の面状試料は、面積0.0188m<sup>2</sup>×深さ0.1mのプラスチック 容器を用いて、覆砂区4地点、対照区2地点で海底表面の 底泥を採取した.なお、底泥試料は柱状、面状ともに潜 水採取である.また、3月の調査ではノリ養殖施設の設 置された地点は除外した.

柱状試料は、表面から厚さ5cmで切り分けた後、各層 の含水比、粒度組成、強熱減量を測定した.強熱減量は、 550℃で1時間加熱処理後の減量と、さらに850℃で1時間 加熱処理後の減量を合計したものである.なお、有機物 は500℃1時間の加熱で完全に燃焼し、炭酸カルシウムか らの二酸化炭素の放出は800℃付近より始まる<sup>6</sup>.面状試 料は、1mmふるいに残ったものから底生生物を採集し、 種毎の個体数、質重量、大きさを計測した.



#### 3. 結果および考察

#### (1) 粒度組成

覆砂材は全て熊本県天草沖から運ばれたもので,各工 区での粒度組成は図-2に示すとおりである.いずれの地 点においても中砂分(粒径0.25~0.85mm)の割合が45~ 55%と大きくなっている.

図-3、-4はそれぞれ、H14東北工区およびH14東南工区 におけるa) 覆砂区とb) 対照区の表面から0-5cm、5-10cm、 10-15cmの層の粒度組成を示したものである。H14東北工 区において、覆砂区では5-10cm層と10-15cm層で中砂分 の割合が40%程度と高く覆砂材の影響が残っているもの と思われるが、0-5cm層では中砂分より細砂分が多く、 シルト+粘土分も比較的高い、対照区では深さによる変 化がほとんどなく、中砂分の割合が高い。

H14東南工区においては,覆砂区では0-5cm層と5-10cm 層で細砂分が中砂分より大きく,10-15cm層の中砂分, 粗砂分の割合が上部の層より高い.対照区では深さによ る変化がほとんどなく,細砂分の割合が60%程度と高い.

図-5,-6はそれぞれ,H14東北工区およびH14東南工区 における深度別の粒度組成の経年変化を示したものであ る.H14東北工区では全ての層において中砂分が減少, シルト+粘土分が増加し,H14東南工区では全ての層に おいて中砂分が減少,細砂分が増加する傾向がみられる. どちらの工区においても0-5cm層の変化が大きい.

粒度組成の鉛直分布および計時変化より,覆砂区に関 しては,H14東北工区では細砂分以下の小さな粒子が5cm 程度堆積し,H14東南工区では細砂分が10cm以上堆積し ていることがうかがえる.

#### (2) 強熱減量

図-7は、a)H14東北工区およびb)H14東南工区における 強熱減量(550℃,1時間)の鉛直分布(0-20cm)を示し たものである.H14東北工区において、覆砂区では表層 付近で地点間の差が1%ほどあるものの、2地点の平均 は、0-5cm層の4.0%から、深くなるにつれて2.5%まで 低下している.全層平均は3.1%であった.対照区では 深さ方向の変化がほとんどなく(最大2.9%,最小



2.7%), 全層平均は2.8%であった. 覆砂区の対照区に 対する比率は、0-5cm層の3.1倍から15-20cm層の0.9倍へ と深度とともに減少した.

H14東南工区の覆砂区においては,深さ方向の変化は H14東北工区に比べ小さく(最大3.4%,最小2.1%), 全層平均も2.6%と小さかった.対照区では,0-5cmそう で2.7%であったが,それ以下の層では1.8~2.0%と小 さく,全層平均は2.1%であった.覆砂区の対照区に対 する比率は,全層平均で1.3倍であった.

図-8はa)H14東北工区およびb)H14東南工区における強

熱減量(850℃,1時間)の鉛直分布(0-20cm)を示した ものである.H14東北工区において,対照区では深さ方 向の変化は小さく(最大5.1%,最小4.4%),全層平均 は4.8%であった.覆砂区では深度に伴い増大する傾向 があり,対照区に対する比率は,0-5cmの3.1倍から15-20cmの4.3倍まで変化した.全層平均は16.4%であった.

H14東南工区においては,対照区では深さ方向の変化 は小さく(最大3.7%,最小2.8%),全層平均は3.3% であった. 覆砂区では深くなるにつれて大きくなる傾向 はみられるものの,H14東北工区の1/3程度と比較的小さ く(最大7.1%,最小4.5%),全層平均は5.8%であっ た.

550℃および850℃での強熱減量が、それぞれ含有され る有機物および炭酸カルシウムの量に左右されることか ら、H14東北工区の覆砂区では貝類を主とする底生生物 の生息量が多くものと推察される.また、同覆砂区では 比較的深い層においても50℃での強熱減量が他地点より 大きいことから、覆砂施工直後より多くの貝類が生息し ているものと考えられる.

#### (3) 底生生物の生息状況

図-9にH14東北工区およびH14東南工区における底生生物の門別種数を示す.両工区ともに,覆砂区と対照区との差はほとんどないことが分かる.総種数は,覆砂区,対照区ともに,H14東北工区のほうがH14東南工区より3,4種多かった.二枚貝類については,全ての地点でサルボウ,アサリ,コケガラスガイが共通種であり,H14東北工区では覆砂区,対照区ともに4種,H14東南工区では覆砂区,対照区ともに3種であった.

図-10にH14東北工区およびH14東南工区における底生 生物の門別湿重量を示す(縦軸は対数表示している). 各地点の1m<sup>2</sup>あたりの総湿重量は,H14東北工区では覆砂 区12.7kg,対照区10.3kg,H14東南工区では覆砂区1.4kg, 対照区4.4kgであり,H14東北工区のほうが10倍程度大き い.また,軟体動物門の占める割合は,二枚貝類の少な かったH14東南工区の覆砂区で91.4%であり,他の地点 では97.7~99.0%であった.

表-1にH14東北工区およびH14東南工区におけるサルボ ウおよびコケガラスガイの大きさ(殻長)別の個体数を, 平成19年の調査結果と併せて示す.H14東北工区におい て, 殻長0.03m以上のサルボウは覆砂区,対照区ともに 平成19年調査を上回っているが,とくに対照区の増加が 顕著である.対照区では稚貝の増加も著しい.コケガラ スガイについては,覆砂区,対照区ともに平成19年調査 より大きく減少している.H14東南工区については,H14 東南工区に比ベサルボウの個体数が非常に少ないが,コ ケガラスガイは多い.覆砂区においては,殻長0.03m以 上の個体数がH14東北工区の約1/20である.平成19年調 査と比べると,サルボウ,コケガラスガイともに変化は ほとんどなかった.





図-9 底生生物の門別種数



図-10 底生生物の門別湿重量

					サルボウ		コケガラスガイ				
地点		調査年	-	0.010-	0.020-	0.030-	0.040m-	-	0.020-	0.030-	0.040m-
			0.010m	0.020m	0.030m	0.040m		0.020m	0.030m	0.040m	
H14 東北工区	覆砂区	平成20	146	0	80	825	93	13	0	0	0
	対照区		1463	27	80	691	27	53	0	0	27
	覆砂区	平成19	22	0	422	733	0	1178	0	66	89
	対照区		44	0	89	0	0	1110	44	44	0
H14 東南工区	覆砂区	平成20	13	0	13	40	0	13	26	0	66
	対照区		0	0	0	160	0	107	80	187	159
	覆砂区	亚虎10	0	0	89	44	0	88	0	0	0
	対照区	十页19	222	0	0	222	0	1067	44	133	44

表-1 二枚貝類の大きさ(殻長)別の個体数(個 m<sup>-2</sup>)

#### 4. おわりに

平成14年度、15年度に施された佐賀県沿岸域の覆砂工

区における底質調査,底生生物調査より,以下のことが 示された.

1. H14東北工区では細砂分以下の小さな粒子の堆積が 進み, H14東南工区では細砂分の堆積が進んでいる.

- 2. サルボウについては、H14東北工区では覆砂により 生息に適した底質環境にあるが、H14東南工区では 覆砂の効果がみられない.
- 3. H14東北工区では覆砂施工直後より多くの貝類が生息し、施工後6年経過しても効果が持続している.

#### 参考文献

- 福岡県水産海洋技術センター有明海研究所:福岡県有明海地 先における覆砂事業の効果,有明海・八代海総合調査評価委員 会(第27回)議事次第・資料 資料4-3,2007.
- 2) 内藤 剛,筑紫康博:有明海浅海域における覆砂効果,福岡県水産海洋技術センター研究報告,第14号, pp.125-130,2004.
- 3) 加藤 治, 原口智和, 瀬口昌洋, 郡山益実: 佐賀県沖有明海

の覆砂による底質の経時変化について、佐賀大学有明海総合 研究プロジェクト成果報告集、第2巻、pp.79-84、2006.

- 4)加藤治、原口智和、瀬口昌洋、郡山益実:佐賀県沿岸域における覆砂効果について、佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集、第3巻、pp.39-46,2007.
- 5) 原口智和,加藤治,瀬口昌洋,郡山益実:佐賀県沿岸域に おける覆砂の効果とその持続性,佐賀大学有明海総合研究プ ロジェクト成果報告集,第4巻, pp.49-52, 2008.
- 6)鎌田泰彦,西岡幸一,木寺久美子,長崎県諫早湾の干潟堆積物の強熱減量(海底堆積物の強熱減量—その1),長崎大学教育学部自然科学研究報告,29, pp.81-90, 1978.

(2009.3.31受付)

## 有明海奥部泥質干潟~浅海域底泥における 窒素・リンの季節変動

#### SEASONAL VARIATONS OF NITROGEN AND PHOSPHORUS IN BOTTOM SEDIMENTS BETWEEN MUDDY TIDAL FLAT AND SHALLOW WATER AREAS IN THE INTERIOR PARTS OF THE ARIAKE SEA

郡山益実<sup>1</sup>・瀬口昌洋<sup>2</sup>・古賀あかね<sup>3</sup>・アリム イスナンセテョ<sup>4</sup>・速水祐一<sup>5</sup>・ 山本浩一<sup>6</sup>

Masumi KORIYAMA , Masahiro SEGUCHI Akane KOGA, Alim ISNANSETYO, Yuichi HAYAMI and Koichi YAMAMOTO

<sup>1</sup>農博 佐賀大学助教 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>農博 佐賀大学教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>農修 鹿児島大学大学院 連合農学研究科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>農博 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>5</sup>農博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>6</sup>博(工) 山口大学准教授 工学部社会建設工学科(〒755-8611 山口県宇部市常磐台2-16-1)

The seasonal variations of nitrogen and phosphorus in bottom sediments between muddy tidal flat and shallow water areas in the interior parts of the Ariake Sea were investigated during August, 2007 – July, 2008. The supply amount of organic matter to sea bottom and sediment temperature had important effects on the seasonal variations of NH<sub>4</sub>-N in porewater, because the variations of total organic carbon (TOC) in bottom sediment corresponded to those of NH<sub>4</sub>-N. NO<sub>3</sub>-N in porewater decreased drastically in July-October and in January. It was considered that one of the former causes was denitrification and one of the latter causes was rapid decrease in NH<sub>4</sub>-N in porewater, which is substrate of nitrification. The seasonal variations of PO<sub>4</sub>-P in porewater were strongly dependent on those of redox environments in bottom sediment. The release rates of NH<sub>4</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P were calculated using the diffusion equation. As a result, it was found that bottom sediment was an important supply source of NH<sub>4</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P during summer-autumn.

Key words : Ariake Sea, nitrogen, phosphorus, bottom sediment, release rate, redox environment

#### 1. まえがき

内湾沿岸域に供給される栄養塩の中で,海底から 海水中に供給される窒素とリンの量は,基礎生産要 求量の11~40%になると報告されており<sup>1)~4)</sup>,海底 堆積物中の栄養塩の動態は,海域の基礎生産を支え る重要な因子である.特に,閉鎖性の強い有明海奥 部浅海域では,海底から溶出した栄養塩の水質環境 に及ぼす影響は大きいものと考えられる.したがっ て,奥部浅海域の底泥における栄養塩の動態を明ら かにすることは,沿岸域の水質環境,さらには生態 系を考慮する上で不可欠である.

ところで,有明海奥部西岸域に形成された広大な 泥質干潟は重要な物質循環の場であり,沈降,堆積 した有機物は,多種多様な微生物の働きにより分 解・無機化される.したがって,泥質干潟~浅海域 における底泥は,栄養塩の生成と海域への栄養塩の 供給を担う重要な系であると言える.しかし,有機 物の沈降,堆積から栄養塩の溶出に至るまでの一連 の過程は今だ十分明らかにされておらず,年間を通 した奥部泥質干潟~浅海域底泥の栄養塩動態に関す る報告例も少ない. 本研究では,有明海奥部泥質干潟域からその沖合 いの浅海域を対象に1年間現地調査を行い,底泥中 の窒素及びリンの時空間的な季節変動を把握する. 次いで,対象域における底泥からの窒素及びリンの 溶出速度を定量的に評価することを目的とした.

#### 2. 現地調査及び分析の概要

2007 年 8 月~2008 年 7 月に毎月 1 回, 佐賀県白石 町沖に設定した側線上の 7 地点(図-1) で調査を行 った.



**図-1** 調査区域の測点位置

調査は基本的に朔の大潮の満潮を挟んで実施した. 複数の底泥コア(内径 56mm,長さ 50cm)をダイバー によって採取後,直ちにサイフォンによりコア内か ら底泥直上の海水を採取した.そして,船上で底泥 コアを層別(表層~2cmまでは 1cm 間隔, 2~10cm までは 2cm 間隔, 15~16cm 及び 20~21cm の計 8 層) に切り分け,各層の酸化還元電位(Eh)及び泥温を 測定した.残りの底泥コアについては,密栓して持ち帰り,速やかに実験室において層別(表層~2cm までは 1cm 間隔, 2~10cm までは 2cm 間隔の計6層) の底泥サンプルを採取し,水質及び底質分析に供した.

底泥間隙水は、各層の底泥サンプルを遠心分離

(4000 rpm で 5 分間) にかけ上澄み液を抽出した. 抽出した上澄み液は 0.45 $\mu$ m のメンブランフィルターで濾過し冷凍保存した.底泥直上水に関しても同様に 0.45 $\mu$ m のメンブランフィルターで濾過し冷凍保存した.後日,これらを解凍しオートアナライザー (SWAAT, BLTEC)を用いて NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P, SiO<sub>5</sub>-Si, TN 及び TP の定量分析を行った.

底質は、有機態炭素(TOC)、全窒素(TN)及び全 リン(TP)の分析を行った.ここで、底質中のTOC 及びTNの前処理として、採取した底質試料を乾燥後 メノウ乳鉢で磨砕し、1NのHC1を添加して試料中 の炭酸カルシウムを処理した.前処理した底質の TOC及びTNの測定は、CHNコーダ(JM-10, J-Science LAB)を用いて分析を行った.一方、底質のTPに関 しては、底質調査方法<sup>5</sup>にならい、硫酸-硝酸分解 法による前処理後、抽出した溶液のTPをオートアナ ライザーにより定量分析した.

#### 結果及び考察

#### (1) 底質環境の季節変動

図-2 及び3は、2007年8月、10月、2008年1月 及び4月におけるEhと泥温の鉛直分布を示したもの である.8月における底泥のEhは-121~+63mV(表 層~20cmの平均値)で、全体的に還元的状態の層が 卓越した。



図-2 底泥 Eh の鉛直分布(2007 年 8 月, 10 月, 2008 年 1 月, 4 月)



図-3 泥温の鉛直分布(2007年8月,10月,2008年1月,4月)

しかし、10月以降,底泥表層部において酸化的状態の層が徐々に発達し、1月では表層~10cmの底泥 はほぼ酸化的状態の層となった(平均Eh+84~+ 212mV).この酸化的状態の層は7月までほぼ継続し て見られた.

一方,8月における泥温は,干潟域で高く,沖側 ほど泥温は低くなった.しかし,10~3月の期間, 泥温は沖側で高く,干潟域で低くなり,4月以降, 再び干潟域で泥温が高くなる季節変動が見られた.

#### (2)底泥間隙水中の窒素及びリンの季節変動

**図-4~6**は,各地点における底泥間隙水中のNH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N及びPO<sub>4</sub>-Pの季節変動を表したものである.な お,これらの値は,表層~10cmの平均値である.NH<sub>4</sub>-N は,9月前後をピークに減少し,11~12月で枯渇し た.その後,再び増加し,初夏に減少する変動パタ ーンを示した.NO<sub>3</sub>-Nは,夏季で枯渇するが,11~ 12月に大きく増加し,その後急減して再び3~5月 で増加する変動を示した.PO<sub>4</sub>-Pは,全体的に夏~ 秋季に増加し,冬季に減少する季節変動を示した. ここで,NH<sub>4</sub>-Nの季節変動は,底質のTOCのそれと 密接に関連した(**図-7**).





すなわち,TOCが増加する7月と1月を中心に NH<sub>4</sub>-Nは増加した.これは、河川流入量の増加とノ リ養殖により、海底への有機物供給量が増加し、有 機物からNH<sub>4</sub>-Nが生成・蓄積されたためと考えられ た.なお、干潟域(地点A,B,C)と沖側の地点G におけるNH<sub>4</sub>-Nは深さと共に濃度は増加し、冬季の 枯渇時を除いて下層ほど高かったが、それ以外の地 点では比較的一様な分布であった(**図-8**).





夏季における NO<sub>3</sub>−N の枯渇は、図−2 及び3から明 らかなように、泥温が高く底泥が還元的状態で脱窒 活性が活発化したためと考えられた<sup>6)</sup>.また,底泥 表層が酸化的状態である1月のNO<sub>3</sub>-Nの枯渇は、11 ~12月に底泥からNO<sub>3</sub>-Nが溶出し、さらに硝化の基 質であるNH\_-Nが12月付近で枯渇するためと考えら れた. なお、11~12月と3~5月におけるNO<sub>3</sub>-Nの 増加は,底泥表層部が酸化的状態であるため硝化に より生成されたものと考えられた.特に,11~12月 の NO<sub>3</sub>-N は地点 A~D で高いが, 3~5 月におけるそ れには顕著な地域差は見られなかった.11~12月に 地点 A~D で NO<sub>3</sub>-N が増加する要因の1つに, 8~10 月の期間,硝化の基質となる NH<sub>4</sub>-N が豊富であった ことに加え、地点 A~D は干潟域であるため、海底が 周期的に干出し底泥がより酸化的状態になったため と考えられた.一方,3~5月において NO<sub>3</sub>-Nの顕著 な地域差が見られない要因の1つに、 夏~秋季と比 較して 1~2 月の NH,-N は低く, さらに干潟域地点 A ~Dの泥温は7~10℃と低いため,底泥内の硝化活 性が低下したためと考えられた.

PO<sub>4</sub>-Pの季節変化は,底泥のEhのそれと密接に関 連した(**図-2**).すなわち,夏~秋季の底泥は全体的 に還元的層であるため、水酸化第二鉄に吸着してい たリンがイオン化し間隙水中のPO<sub>4</sub>-Pが増加する. しかし、冬~春季の底泥表層部は酸化的状態である ため、間隙水中の第一鉄イオンが酸化されることで 生じる水酸化第二鉄にリンがほとんど吸着され、そ の結果、間隙水中のPO<sub>4</sub>-Pが減少するものと考えら れた<sup>7)</sup>. なお、PO<sub>4</sub>-Pの鉛直構造はNH<sub>4</sub>-Nと同様で、 地点 A~D,G は下層ほど高く、それ以外の地点は一様 な分布であった(**図-9**).



**図-9** 夏季と冬季における底泥間隙水中の P0<sub>4</sub>-Pの鉛直分布

#### 4. 窒素及びリンの溶出速度

#### (1) 溶出速度の推定法

底泥からの栄養塩の溶出は、底泥直上水と間隙水 の間の物質拡散過程において起こる物理化学的反応 であるとみなすことができる.底泥では沈降,堆積 した有機物が分解・無機化されるので、間隙水中の 栄養塩濃度は直上水と比較して非常に高い.そのた め、直上水-底泥間に濃度勾配が生じ、それにより 底泥から直上水へ物質が拡散される.本研究では、 底泥から直上水へ溶出する窒素及びリンの溶出速度 を次式で表されるような拡散方程式より算出した<sup>8</sup>.

$$J = \phi D' \left( \frac{\Delta C}{\Delta Z} \right) \tag{1}$$

ここに, J は溶出速度 (μg-N あるいは P cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), φ は空隙率, D' は堆積物全体に対する拡散係数

 $(cm^{-2} s^{-1}), \frac{\Delta C}{\Delta Z}$ は間隙水-直上水 (Zcm) 間の栄

養塩の濃度(C)勾配である. 空隙率は,次式より求めた.

$$\phi = \frac{\rho}{\rho + (1 - w)w} \tag{2}$$

ここに、 $\rho$ は底泥の乾燥密度、wは底泥の含水比である.

ここで、全ての地点における $\rho$ の実測データを得ていないため、数地点のサンプルで実測した $\rho$ とwの関係式より $\rho$ を求めた(**図-10**).



$$\rho = -1.1801 \ w + 666 \ .97 \tag{3}$$

堆積物全体に対する分子拡散係数は,次式から求 められる<sup>9</sup>.

$$D' = D_0^t \cdot \left(\frac{1}{F \cdot \phi}\right) \tag{4}$$

ここに, F は Formation factor,  $D_0^t$  は t  $\mathbb{C}$ におけ る分子拡散係数であり, F は近似的に次式で表され る.

$$F = \phi^{-n} \tag{5}$$

海洋堆積物では n=2~4 であり, その中で泥質堆積 物では n=2.5~3.5 であるので<sup>10)</sup>,ここでは山本ら (1998)<sup>8)</sup>にならい n=3 とした.

また, D<sup>t</sup> は近似的に次式で表れる<sup>11)</sup>.

$$D_0^t = D_0^0 (1 + \alpha t) \tag{6}$$

ここに、 $D_0^0$ は 0°Cにおける分子拡散係数、 $\alpha$ は 定数であり、0°Cにおける分子拡散係数は、Li and Gregory (1974)<sup>12)</sup>及び中島・西村 (1986)<sup>9)</sup>にならい、 NH<sub>4</sub>-N は 0. 98×10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, PO<sub>4</sub>-P は 6. 1×10<sup>-6</sup> cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> とした. さらに、定数  $\alpha$  については、陽イオンで 0. 048, 陰イオンで 0. 040 と報告されているので<sup>12)</sup>, NH<sub>4</sub>-N に関しては前者の値を、PO<sub>4</sub>-P は関しては後者 の値を適用した.

ここで,(5)及び(6)式を(4)式に代入すると,(7) 式となる.

$$D' = D_0^0 (1 + \alpha t) \cdot \phi^2$$
 (7)

したがって、(1)、(2)及び(7)式より  $NH_4$ -N と  $PO_4$ -P の溶出速度を推定することがきる.

#### (2)溶出速度の季節変動

**図-11**は、(1)式より算出された NH<sub>4</sub>-N 及び PO<sub>4</sub>-P の溶出速度(*J*<sub>NH4</sub>, *J*<sub>PO4</sub>)の季節変動を表したもので ある.ここで, *J*<sub>NH4</sub> 及び *J*<sub>PO4</sub> が正の場合,底泥から直 上水への溶出を,負の場合,直上水から底泥への取 り込みを示している.

図示されるように、 $J_{P04}$ は NH<sub>4</sub>-N の枯渇期を除き年間を通して底泥から溶出し、夏季 (8月)に 1.2~9.8 mg-N m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>と高く、冬季~初夏 (12~6月)に 0.1 ~2.2 mg-N m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>と低かった.また、 $J_{NH4}$ は年間を通して沖側の地点 F 及び G で比較的高かったが、その他の地点においては顕著な差異は見られなかった.

一方,  $J_{P04}$ は夏~秋季 (8~10月) に 0.1~1.6 mg-P m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>と高く, 冬季 (1~2月) では-0.2~0.1 mg-P m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>と低く, 地点 C, E, F において P0<sub>4</sub>-P の底 泥への取り込みが見られた.また,  $J_{P04}$ は  $J_{NH4}$ と同様 に年間を通して沖側の地点 F 及び G で比較的高かったが, 他の地点では明確な地域差が見られなかった.



吉村ら (2004)<sup>13)</sup> は, 宇土市から大牟田市三池港 沖の海域を調査し, 熊本市沖における NH<sub>4</sub>-N 及び PO<sub>4</sub>-P の溶出速度を拡散方程式より求めた.その結 果, 同海域の両溶出速度は季節的な変動はなく, そ れぞれ 0.25~0.35 mg-N m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>, 0.04~0.07 mg-P m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>の範囲で推移すると報告している.本研究 で得られた  $J_{\text{NH4}}$  及び  $J_{\text{PO4}}$  は, 熊本市沖のそれよりそ れぞれ 1 オーダー高く, さらに, 夏~秋季に高くな り、冬~春季に低くなるという季節変動が見られた. これは、対象海域と熊本市沖における底質間隙水中 のNH<sub>4</sub>-N及びPO<sub>4</sub>-Pの動態の差異が起因するものと 考えられた.すなわち、熊本市沖におけるNH<sub>4</sub>-N及 びPO<sub>4</sub>-Pは、それぞれ年間を通して100~250 $\mu$ g-N/L, 15~45 $\mu$ g-P/L程度で推移し、季節変化は見られな い.しかし、対象海域におけるNH<sub>4</sub>-N及びPO<sub>4</sub>-Pは、 夏~秋季に高く、また、それらの年平均値は熊本市 沖のそれより1オーダー高かった(底泥表層~1cm におけるNH<sub>4</sub>-N及びPO<sub>4</sub>-Pの年平均値は、それぞれ 1467.8 $\mu$ g-N/L及び248.1 $\mu$ g-P/Lであった).

以上の結果より、有明海奥部泥質干潟~浅海域底 泥における間隙水中の $NO_3$ -N,  $NH_4$ -N 及び $PO_4$ -P の時空 間的な季節変動が明らかにされ、特に、夏~秋季に おいて、底泥は $NH_4$ -N と  $PO_4$ -P の重要な供給源であ ることが分かった.

#### 5. まとめ

本研究で得られた知見は,次のように要約される.

- (1) 対象海域における底泥間隙水中の NH<sub>4</sub>-N の季節 変動は,底質 TOC の増減と対応することから, 海底への有機物供給量と泥温が大きく影響する ものと考えられた.
- (2) 底泥間隙水中の NO<sub>3</sub>-N は、夏~秋季(7~10月) と冬季(1月)に枯渇した.これは、前者は脱窒 が、後者は硝化の基質である NH<sub>4</sub>-N の枯渇が主 な原因の1つと考えられた.
- (3) P0<sub>4</sub>-Pの季節変動は,底泥の酸化還元環境の変動 と密接に関連した.
- (4) 拡散方程式より NH<sub>4</sub>-N と PO<sub>4</sub>-P の溶出速度を推定した.その結果, J<sub>NH</sub> 及び J<sub>PO4</sub> は共に夏~秋季に高く、冬~春季に低くなる季節変動が明らかにされた.このことから、対象海域では、特に夏~秋季において底泥は NH<sub>4</sub>-N と PO<sub>4</sub>-P の重要な供給源であることが明らかにされた.

#### 参考文献

- 1) Aller, R.C. and L.K.Benninger : Spatial and temporal patterns of dissolved ammonium manganese, and silica fluxes from bottom sediment of Long Island Sound, U.S.A. *J.Mar.Sci.*, 39, 295-314, 1981.
- 2) Fisher, T.R., P.R.Carlson and R. T. Barber : Sediment nutrient regeneration in three North Carolina estuaries. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 14, 101-116, 1982.
- Boynton, W. R. and W. M. Kemp : Nutrient regeneration and oxygen consumption by sediments along an estuarine salinity gradient. *Mar. Ecol .Prog. Ser.*, 23, 45-55, 1985.

- Hopkinson, C.S. : Nutrient regeneration in shallow water sediments of the estuarine plume region of the nearshore Georgia Bight, USA. *Mar. Biol.*, 94, 127-142, 1987.
- 5)環境庁水質保全局水質管理課編:底質調査方法 (S63.環水管第127号),1988.
- 6) 古賀あかね,瀬口昌洋,郡山益実:有明海奥部 浅海域における脱窒菌群の生息分布と脱窒活性, 農業農村工学会論文集,(受理).
- 7)神山孝史,玉井恭一,辻野 睦:海底堆積物か らの栄養塩再生過程に及ぼす底質・溶存酸素条件, 南西水研研報,30, pp.209-218, 1997.
- 4)山本民治,松田治,橋本俊也,妹背秀和,北村 智顕:瀬戸内海底泥からの溶存無機態窒素および リン溶出量の見積もり,海の研究,3,pp.151-158, 1998.
- 9)中島光敏,西村 肇 (日本海洋学会編):沿岸 環境調査マニュアル【底質・生物編】,恒星社厚 生閣,東京,pp.79-91,1986.
- 10) 増沢敏行: 堆積物の初期続成過程と物質の回帰, 海洋の動態, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 79-91, 1986.
- 11) Lerman, A. : Geochemical processes : Water and sediment environments. *John Wiley & Sons*. 1979.
- 12) Li, Y. H. and S. Gregory : Diffusion of ions in sea water and in deep-sea sediments. *Geochim. Cosmocnim. Acta.*,38, 703-714, 1974.
- 13) 吉村直晃,黒木善之,吉田雄一,小山長久:有 明海における溶存酸素の季節変化と底泥からの 栄養塩溶出.熊本県水産研究センター研究報告, 6,51-57,2004.

(2009.3.30 受付)

# 環境モデル研究部門

Research Division of ENVIRONMENTAL MODELING
# 有明海奥部における物質輸送と 低次生態系の動態について -4年目の成果-

#### MASS TRANSPORT AND ECOSYSTEM DYNAMICS IN THE INNER AREA OF THE ARIAKE SEA –RESULTS OF THE 4<sup>th</sup> YEAR-

速水祐一<sup>1</sup>・山本浩一<sup>2</sup>・濱田孝治<sup>3</sup>・吉野健児<sup>4</sup>・吉田誠<sup>5</sup>・片野俊也<sup>6</sup> ・山口創一<sup>7</sup>・郡山益美<sup>8</sup>・古賀あかね<sup>9</sup>・瀬口昌洋<sup>10</sup>・紫加田知幸<sup>11</sup> Yuichi HAYAMI, Koichi YAMAMOTO, Takaharu HAMADA, Kenji YOSHINO, Makoto YOSHIDA, Toshiya KATANO, Soichi YAMAGUCHI, Masumi KOORIYAMA, Akane KOGA, Masahiro SEGUCHI, and Tomoyuki SHIKATA

1農博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>2</sup>工博 山口大学准教授 理工学研究科(〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)
<sup>3</sup>工博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>4</sup>水博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>5</sup>農博 佐賀大学特別研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>6</sup>理博 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>7</sup>理博 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>8</sup>農博 佐賀大学助教 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>9</sup>農修 鹿児島大学大学院 連合農学研究科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>10</sup>農博 佐賀大学教授 農学部生物環境科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
<sup>11</sup>農博 熊本県立大学助手 環境共生学部(〒862-8502 熊本市月出3丁目1番100号)

In order to investigate the seasonal variation in the ecosystem of the mudflat-shallow water system, we made field surveys once a month from August, 2007 to July, 2008 in the bay head of the Ariake Sea. Measurements of water temperature, salinity, chlorophyll fluorescence, turbidity and DO profiles, water samplings for nutrient analysis and phytoplankton count and samplings of bottom sediments were carried out at 7 stations from the coast to offshore. The NH<sub>4</sub>-N concentration increased from September and topped in November. The NO<sub>3</sub>-N also increased from September and topped in January. The phytoplankton density was low from October to February. The NH<sub>4</sub>-N concentration was especially high at the stations close to the coast which are dried up in the ebb tide. Since the river discharge was small in this season, such an increase of nitrogen concentration would be caused by the regeneration mainly occurred in the mudflat area. The variation in the PO<sub>4</sub>-P concentration was smaller than the NH<sub>4</sub> and NO<sub>3</sub> concentrations. The PO<sub>4</sub>-P concentration decreased from January to March and increased in the autumn. Such a variation was also different from the seasonal variation in river discharge. The decline of the PO<sub>4</sub>-P concentration in winter would be caused by the decrease of the flux from sediments. The relative content of microphytobenthos in the micro-algae cells in the surface sediment was smaller than the phytoplankton especially in summer. It suggests relatively small contribution of microphytobenthos for organic matter supply in the shallow water.

Key Words : Ariake Sea, nutrients, mudflat, phytoplankton, microphytobenthos, seasonal variation

#### 1. はじめに

本プロジェクトは、2005~2009年度の5年間で、有明

海異変の原因を解明し、対策を立案することを目的とし ている.この目的に対して、我々の研究グループでは以 下のような戦略で研究を進めている.1)データ解析と 現地観測・実験によって、「異変」発生機構の大枠をつか む.2) 有明海奥部の流動, 懸濁物輸送, 低次生態系変 動を再現できる数値モデルを構築する.3) 1から導き 出された「異変」発生機構に関する仮説を,2のモデルを 使って検証する.4) 具体的な再生策を提示し,その実 効性をモデルで検討する.ただし,全てのプロセスを数 値モデルで適切に表現できるわけではなく,モデル化が 難しい高次生物の変化などは,データ解析や観測・実験 によって得られた知見を組み合わせて, 無理がない論理 展開によって原因を推察する.集中的に研究を進めるた め,研究対象水域は主に有明海奥部に絞り,時期的には 1990年代以降の環境悪化に重点を置く.

2008年度はプロジェクト開始から4年目であり,残り2 年で目標を達成できるように、中心的な研究課題を、昨 年度までのデータ解析・調査実験による異変発生機構の 把握、数値モデルの構築から、モデルの完成と構築した モデルによる仮説検証へと移した.そのため、データ解 析・調査実験については、モデル構築に必要であるにも かかわらず、これまで情報が欠けていた分野について、 集中的に実施した.

具体的には、①懸濁物輸送モデルを高精度化するため の底質の再懸濁パラメータのマッピング、懸濁物沈降速 度に関する定式の改良、さらに、懸濁物輸送モデルの精 度を検証するための現地調査を実施した. これらについ ては、山本ら(本報告集)、濱田ら(本報告集)が報告 する. ②生態系モデルに適切な境界条件を与えるために, 形態別の窒素・リンを含めた陸域からの物質負荷量につ いて、有明海に流入する全河川について、河川流量との 関係を定式化した(山本1);大串ら,本報告集).③昨 年度までは研究することができなかったシャットネラ赤 潮について、生理・生態特性や発生機構、貧酸素化への 影響等を明らかにするための調査・実験を実施した(吉 田ら、本報告集;片野ら、本報告集). さらに、④干 潟・浅海域における底泥内の物質循環および底泥・水柱 間の相互作用について、季節変動を明らかにするために、 1年間の連続調査を行った(郡山ら、本報告集).この 調査では、同時に水柱内の生物生産・物質輸送に係る調 査も実施しており、底泥系の調査と合わせて有明海奥部 における生態系の季節変動について包括的に検討すると ともに数値モデルの検証にも有効な貴重なデータセット が得られた. なお、数値モデルについては、流動モデル に関しては、昨年度までの研究でほぼ完成しており、今 年度は懸濁物輸送モデルと低次生態系モデルについて、 重点的に作業を進めた. 懸濁物輸送モデルに関しては濱 田ら(本報告集)が、生態系モデルについては山口ら

(本報告集)が報告する.本稿では、上記④の水柱内の 調査結果について報告する.

#### 2. 有明海奥部干潟・浅海域の水質季節変化

干出・冠水を繰り返す干潟域では、干出することがな い浅海域とは異なった、複雑な水質変動が生じる.東京 湾・伊勢湾など、古くから生態系モデルによる研究が進 められてきた国内の他の内湾と異なり、有明海奥部には、 現在も広大な干潟が広がっている.干潟を含めた生態系 シミュレーションは、国内では三河湾などで先行的な研 究が進められている<sup>2)、3)など</sup>.しかし、砂質干潟中心の他 の湾と異なり、有明海奥部は極めて軟弱な泥質干潟が主 体である.こうした有明海奥部の泥質干潟と潮下帯域を 合わせた水質の季節変化についての情報は少なく、干潟 モデルを高精度化するにあたって問題となっている.そ こで本研究では、有明海奥部において冠水した干潟から 潮下帯域にかけての海域において、栄養塩動態の季節変 動を明らかにすることを目的とした.

#### (1) 方法

2007年8月から2008年7月にかけて、有明海奥部で毎月 1回朔の大潮に合わせて船舶観測を行った。観測は図1 に示した測点A~Gの7点で行い、最も標高が高い測点Aの 調査が満潮時にできるように、上げ潮から満潮にかけて 3時間以内に実施した. 測点Dよりも岸側は干潮時には干 出する. 各測点で透明度測定, 多項目水質計による鉛直 観測,およびニスキン採水器による採水を実施した. 試 水については、栄養塩、POC・PON・PP・TP・DP・DOC・ SS・VSS・クロロフィルaの分析および植物プランクトン の計数を行った.基本的に同じ観測日に同じ測点で底泥 調査も実施した. 底泥調査は、水質調査を行った後、測 点AからGに向けて実施した.ただし、沖合の測点G、Fに ついては、上げ潮時に水質調査実施前に行った場合もあ る. 底質調査では、海底直上水中の栄養塩・DOC、底質 間隙水中栄養塩・TN・TP、底質の炭素・窒素・リン、硫 化物、底泥クロロフィルa・フェオ色素の分析、および 底泥中微細藻類計数,マクロベントスの計数を行った. ただし、7月の栄養塩についてはミスにより欠測となっ ている. また, 測点B, D, Fには係留系を設置して連続 観測を行った. 測点Bは泥温計, 測点D, Fには, 超音波 流速プロファイラー, 泥温計を設置した. 底質調査につ いては郡山ら(本報告集)が詳しく報告する.なお、本 研究の一部は、NPO法人有明海再生機構委託研究、文部 科学省科学研究費補助金によるものである.

#### (2) 結果

図2に観測期間前から観測期間終了までの筑後川瀬ノ 下における河川流量の変化を示す.2007年7月7日には 3400m (m<sup>3</sup>/s)を越える出水があり、8月3日にも1000 (m<sup>3</sup>/s)を越える出水があるなど、7、8月中は比較的流 量が多い時期が続いたが、8月下旬から翌年の5月までは ほとんどの日は流量が100m (m<sup>3</sup>/s)以下の日が続いた. 2008年6月以降、再び流量は増加し、6月下旬には1000 (m<sup>3</sup>/s)を越える出水が発生した.



図-1 調査水域の海底地形および測点位置.



図-2 筑後川の日平均流量変化(速報値)

図3,4に測点B,Gにおける水温,塩分,σt,濁度, クロロフィル蛍光,溶存酸素濃度,硝酸態窒素,アンモ ニア態窒素,リン酸態リン,シリカ,粒状態炭素・窒 素・リン,全リン,全溶存リン,溶存有機リン,溶存有 機炭素,透明度,0.5m深における植物プランクトン細胞 数,表層底泥中の藻類細胞数の季節変化を示す.

測点Bにおける特徴は、年間を通して成層が弱く、水 柱が鉛直混合されていることである.水温は8月に最も 高くなり30℃を越え、2月に最も低下して8℃以下となっ た.塩分は7、8月には20程度にまで低下したが、それ らの月を除くと変動は小さく、29~30.5の間で推移した. 濁度は8月に高く、秋~冬に低かったが、3月に急上昇し た.この時、塩分の変化はほとんどなく、底層ほど高濁 度になっていることから、底質の活発な再懸濁によって 濁度が上昇したものと考えられる.クロロフィル蛍光は 7、8月と3月に極大となり、11月から1月までの間は極め

て低い値であった. 溶存酸素濃度は、良く鉛直混合され た状態にあることを反映して年間を通して全層ほぼ一様 で貧酸素化することはなかったが、9月には全層で5mg/L 以下にまで低下した. 栄養塩については、リン、シリカ が枯渇することがなかったのに対し、窒素は9月および3 月にはほとんど枯渇した. これは堤ら4が指摘している ように、有明海が藻類の生産にとって窒素制限となる海 域であることを示している.特徴的なことは、アンモニ ア態窒素濃度がしばしば極めて高濃度になることである. 10-11月には、硝酸態よりもアンモニア態の方が高濃度 になっていた.季節的には、9月から12月にかけてアン モニア態窒素濃度が急激に増加し、1ヶ月遅れて10月か ら1月にかけて硝酸態窒素濃度の急上昇が見られた. そ の結果、DIN濃度は9月にほとんど枯渇した後、秋から冬 にかけて増加して1月に最も高くなった. その後は急激 に濃度が低下して3-5月は低濃度の状態が続き、6月に なって回復した、リン酸熊リンは夏から冬にかけて比較 的高濃度で推移したが、1月以降、急激に濃度が低下し、 3月に最低値となった. その後は夏に向けて徐々に濃度 は上昇した.シリカについては、夏と冬にピークがある 2峰型の季節変動となっていた. 粒状態炭素・窒素・リ ンは互いによく似た季節変動をしており、夏から秋にか けて低下し、冬季は低濃度で終始、3月に急に高濃度と なり、その後は一度濃度が低下して7月に再び高くなっ た. 全リンは7,8月に高く、その他の季節は変化が小さ かった.一方で、溶存リンだけをみると、1月から3月に かけて急激に濃度が低下し、初夏まで低濃度の時期が続 いていた. 溶存有機リンの濃度変化には春季の低濃度は 見られず、これはリン酸態リン濃度の変化を反映してい る. 溶存有機炭素・リンはどちらも夏に高く、冬に低い という季節変動をしていたが、炭素は2月には増加傾向 に転じたのに対し、リンは5月まで低濃度が続いた.透 明度は秋から冬に高く、1月から3月にかけて急激に低下 したことが特徴である.透明度の逆数と水柱の平均濁度 には良い相関がある(r<sup>2</sup>=0.93). 植物プランクトンに ついては、ケイ藻が卓越しており、9月と4月に細胞数の ピークが見られた. 底泥中の藻類については、浮遊性種 がほとんど見られなかった1,2,6月を除くと、細胞 数に占める底棲種の割合は20%以下であった.底泥中の 藻類総細胞数は9月と4月にピークとなっており、植物プ ランクトンの変動と一致した. ピーク時の卓越種は水柱 の0.5m層における卓越種と一致しており、水柱内で卓越 する種が底泥中にも多くいたことがわかる. 底棲種に限 ると、冬から春に多く、夏~秋は少なかった.

測点Gでは、測点Bと異なり、7、8月には強く成層して いた.これは主に塩分成層による.ただし成層が強かっ たのは夏季だけで、9月~5月は成層は弱く、比較的よく 鉛直混合された状態にあった.水温、塩分の季節変化は 測点Bと同様であり、塩分は5月に最も高かった. 濁度の 季節変化は測点Bと異なり、冬に高かった.クロロフィ











図-5 2007年8月15日における測線に沿った水質断面分布.



図-6 2007年11月13日における測線に沿った水質断面分 布.



**図-7** 2008年1月10日における測線に沿った水質断面分布.

ル蛍光は、7、8月に表層で極大が見られたが、全体に測 点Bよりも低い値であった. 溶存酸素は測点Bと異なり, 成層した7,8月には躍層を夾んで濃度が急変しており下 層で低濃度になっていた. 栄養塩濃度の季節変動は基本 的には測点Bと共通である.ただし、アンモニア窒素濃 度が測点Bに比べてかなり低くなっている.また、リン 酸態リン濃度が秋~冬に高いという傾向がより顕著に表 れている. 測点Gでは鉛直3層で採水したが、栄養塩につ いては鉛直的な濃度変化はあまり大きなものではなかっ た. 粒状態炭素・窒素・リンも測点Bと同様の季節変化 を示したが、鉛直的に濃度変化があり、底層で高濃度に なっていた. 溶存有機炭素・リンも測点Bと同様の季節 変動をしていたが、これらは鉛直的な濃度変化は粒状態 に比べて小さかった. 全リンについては、測点Bとは異 なり、秋から冬にかけて高濃度となり、春に低下すると いうリン酸態リン、溶存態リンと同様の季節変化が現れ た、全リンも粒状態と同様に底層ほど高濃度になること が多かった. 透明度については、10月に突発的に3.5m という高い値が観測された他に、冬季に下がり夏季にか けて上昇するという測点Bと逆の季節変化が認められた. 植物プランクトンは測点Bと同様に9月にSkeletonema spp. のブルームが発生したが、岸側に比べると密度は低 かった. 測点Bでは春にAsteroplanus karianusと Skeletonema spp. の増殖が明瞭に認められたが、測点G でははっきりしなかった.全体に測点Bの方が植物プラ ンクトン量は多い. 底泥中の藻類については、測点Bに 比べて底棲種の割合が高かった. 測点Bでは底棲種がご く少なかった8~10月にも、測点Gにはかなりの底棲種が 分布した. 測点Bと同様に底棲種は春に増加した.

図5~7に8,11,1月の水温,塩分,クロロフィル蛍光, 溶存酸素と栄養塩濃度の断面分布を示す.8月の塩分断 面を見ると,塩分躍層が4m付近にあり,測点CとDの間で 海底に接していることがわかる.その結果,躍層よりも 水深が浅い測点A,Bでは成層は弱くなっている.塩分躍 層より上層では、クロロフィル蛍光が高く,植物プラン クトンが高密度に分布している.一方,躍層を境にして 下層では、溶存酸素濃度が低く,硝酸態窒素濃度が高い. 表層の低塩分水の広がりは、シリカの濃度分布と良く対 応している.しかし、アンモニア態窒素,リン酸態リン 濃度の分布には、水塊構造との対応は見られない.

11月,1月については、測線全域で成層は弱く、水柱 は鉛直混合されている.クロロフィル蛍光は低く、植物 プランクトンが少ないことを示している.アンモニア態 窒素濃度は、図5~7のいずれにおいても測点A~Cで高く、 それより沖合で急激に濃度が低下している.硝酸態窒素 濃度は、夏季と異なり、アンモニアと同様に岸側ほど高 濃度になるよう分布している.リン酸態リン・シリカ についても、岸側の測点で高濃度、沖に行くほど低濃度 になっている.

#### (2) 考察

秋季~冬季のアンモニア態窒素・硝酸態窒素濃度の急 激な上昇は、河川流量が少ない時期に起きたことから、 陸域由来ではなく、海域における栄養塩再生由来である と考えられる.同時期にシリカの濃度が急激な上昇を示 さないこともそれを支持している.もしこれらの窒素が 河川起源であれば、窒素と同時に、河川水中に豊富に含 まれるシリカ濃度も上昇しているはずである.この結果 は、シリカに比べて窒素の方が早く回帰することを示し ている.アンモニア態窒素濃度が先にピークに達してか ら硝酸態窒素が増加していることは、活発な有機物分解 によってアンモニアが生産され、少し遅れて硝化が進ん だことを示すものであろう.こうした栄養塩の回帰は夏 季にも生じているが、夏季は藻類の生産が活発で速やか に消費されるため、水柱内の栄養塩濃度は上昇しないも のと考えられる.

アンモニア態窒素濃度は測点A~Cで特に高くなってい た. 郡山ら(本報告集)は、水中のアンモニア態窒素濃 度が増加する9~11月に、底泥間隙水中のアンモニア態 窒素濃度は沖側に比べて測点A,Bで高いことを示してい る.また、12月にはそれまで高かった測点A,Bの間隙水 中アンモニア態窒素濃度が大きく低下したことを示して いる.これらのことから、秋季の急激な窒素濃度の増加 については、干潟上における活発な有機物分解の寄与が 大きいと考えられる.

リン酸態リンについては、1月から3月にかけて急激に 濃度が低下し、初夏まで低濃度の状態が続いたことが特 徴であった.河川流量は秋から初夏までの間で大きな変 化がないことから、こうした濃度低下が陸域からの供給 量減少によるとは考えにくい.郡山ら(本報告集)は、 底泥間隙水中のリン酸態リン濃度が12月から1月にかけ て減少し、6月まで低濃度の状態が続いたこと、特にそ れは干潟域で顕著なことを示している.したがって、上 記の水柱内のリン酸態リン濃度変化は底泥からの供給が 減少したことによると考えられる.

笠置ら<sup>5</sup>は、2006年6月から11月にかけて、測点Dにおいて係留観測によって懸濁物フラックスを見積もり、台風時以外は、ほぼ期間を通して岸向きの輸送が続いたことを示している.こうした懸濁物輸送がデトライタスについても同様であるとすると、海域で生産された有機物は平穏時には干潟上に輸送集積されると考えられる.すなわち、出水期以外の有明海奥部では、干潟域で有機物の分解によって栄養塩が再生され、その栄養塩を利用して植物プランクトンなど海域における基礎生産が支えられ、海域で生産された懸濁態有機物は物理的な輸送によって再び干潟域に輸送されるという循環があると考えられる.河川流量が減少する秋~初夏の有明海奥部では、海域における生物生産のかなりの部分がこの機構によって支えられている可能性がある.

表層底泥中の微細藻類については、意外なことに、底

棲種に比べて浮遊性種の割合が高かった.それは特に夏
季に顕著であった.これについては、サンプリングを満
潮の憩流時に行ったため、水柱内の植物プランクトンが
海底に沈降堆積した影響がある.加ら<sup>6</sup>は、有明海奥部
の干潟域では、憩流時に速やかに珪藻類の沈降が生じる
ことを示している.基礎生産者としての干潟上の底棲微
細藻類の重要性はこれまでしばしば指摘されており<sup>つなど</sup>、
干潟縁辺に近い浅海域に貧酸素水塊が形成される有明海
奥部では、底層の酸素消費について底棲微細藻類由来の
有機物の寄与が大きい可能性も指摘されてきた.しかし、
今回の結果からは、少なくとも夏季の有明海においては、
底棲微細藻類の寄与はそれほど大きなものではないと考
えられた.

なお、本研究は岸沖方向の1本の測線に沿った2次元的 な観測にもとづくものなので、干潟-沖合域という方向 軸だけにそった解釈をした.しかし、実際の有明海では、 海底水道に沿った方向の輸送が卓越するものの、それに 直交する方向の輸送も無視できない.今後は、今回の調 査で得られたデータを有効に利用して、シミュレーショ ンモデルを用いて3次元的な物質輸送と栄養塩循環の関 係についてさらに検討してゆきたい.

#### 参考文献

- 山本浩一:陸域流出負荷における有機炭素およびリンの組 成に関する研究,有明海再生機構陸域分科会委託研究報告, 2009.
- 中田喜三郎・畑 恭子:沿岸干潟における浄化機能の評価. 水環境学会誌, 17(3), pp158-166, 1994.
- Hata K., K. Nakata and T. Suzuki : The nitrogen cycle in tidal flats and eelgrass beds of Ise Bay. Journal of Marine Systems, 45, pp237-253, 2004.
- 4) 堤 裕昭他:陸域からの栄養塩負荷量の増加に起因しない有 明海奥部における大規模赤潮の発生メカニズム、海の研究、 15, pp.165-190, 2006.
- 5) 笠置尚史・山本浩一・吉野健児・速水祐一・濱田孝治・大串 浩一郎:有明海湾奥部における底泥の物性の変動特性に関す る研究,海洋開発論文集,第23巻,pp531-536,2007.
- 6)加 玲美・山本浩一・速水祐一・谷 幸則・吉野健児・濱田孝治:有明海ノリ養殖場における一潮汐間の珪藻・渦鞭毛藻類の時空間変動,佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集,3,pp101-110,2007.
- 7) 門谷茂:干潟域の生物生産-低次から高次へ-,日本水産 学会誌,70(5), pp796-797,2004.

(2009.3.31受付)

## 有明海を対象とした 懸濁物モデルの構築とその成果 DEVELOPMENT AND THE ACHIEVEMENT OF SEDIMENT TRANSPORT MODEL FOR ARIAKE SEA

濱田孝治<sup>1</sup>・山本浩一<sup>2</sup>・速水祐一<sup>3</sup>・山口創一<sup>4</sup>・ 吉野健児<sup>5</sup>・片野俊也<sup>6</sup>・吉田誠<sup>7</sup> Takaharu HAMADA, Koichi YAMAMOTO, Yuichi HAYAMI, Soichi YAMAGUCHI, Kenji YOSHINO, Toshiya KATANO, Makoto YOSHIDA,

<sup>1</sup>博(工) 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>博(工) 山口大学准教授 工学部社会建設工学科(〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)
 <sup>3</sup>博(農) 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>博(理) 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>5</sup>博(水) 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>6</sup>博(理) 研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>7</sup>博(農) 特別研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Increasing water clarity in the Ariake Sea and change in bottom sediment property in the head of the bay are considered as serious problems. To treat these problems, we have developed sediment transport model based on FVCOM sediment module. Applying site-specific settling velocity function and distribution of critical shear stress and erosion rate, the model reproduce temporal and spatial variation of clarity in 1 tidal cycle.

According to analysis of monthly secchi-depth data taken by Saga and Kumamoto prefecture, clarity increases significantly in southern part of the Ariake Sea after 1996. The model suggest that sediment transport from Isahaya bay significantly decreased after constructing dyke of Isahaya bay reclamation work and it induces the clarity increase.

Key Words : Sediment transport, Numerical model, FVCOM, Water clarity

#### 1. はじめに

有明海奥部の海洋環境の大きな特徴のひとつは、非常 に濁った透明度の低い海であることである. 竹崎-三池 港以北の有明海奥部では、平均透明度が2m以下の海域 が広い範囲を占めている<sup>1)</sup>. 有明海の場合、こうした濁 りの主体は藻類ではなく、水中に懸濁した粘土鉱物によ るものである. こうした高濃度の濁りは、物質の吸脱着 を通して有明海の海洋環境に大きな影響を与えている<sup>2)</sup>. また、こうした鉱物質の濁りによって透明度の低いエス チャリーでは、植物プランクトンの生産が光によって制 限され、窒素・リン濃度よりも基礎生産を強くコント ロールする場合がある<sup>3)</sup>.

近年、こうした有明海の特徴である濁りが減少し、透

明度が上昇したことが指摘されており、有明海における 「環境異変」のひとつに挙げられている. 有明海奥部に おける透明度上昇を最初に指摘したのは、川村<sup>4)</sup>である. 川村は、有明海奥部海域について「きれいに濁った海」 から「汚く澄んだ海」へと変化したと表現している. こ の言葉は、濁っていることが悪い環境なのではなく、有 明海奥部が元来持っている自然な特質であるという事実 を端的に示している.

また,近年の有明海奥部では,底質の細粒化も問題に なっている<sup>5)</sup>.有明海湾奥西部海域では,泥低域の経年 的な拡大に伴ってタイラギ漁場が消失しており,本海域 におけるタイラギ資源の減少の大きな要因のひとつに なっていると考えられている<sup>6)</sup>.こうした底質粒径分布 の変化には,海域内の懸濁物質輸送の変化が直接的に関 わっている.



図-1 透明度の上昇率 (佐賀県, 熊本県浅海定線調査)

上記のような背景を踏まえ,我々は,有明海奥部における「環境異変」を解明するにあたって,懸濁物輸送機構の解明を重点的な課題の1つとして研究を進めてきた.本研究では,有明海奥部における透明度分布および懸濁物輸送について,1)既存のデータ解析をもとにして変動機構の仮説を構築,2)次に3次元流動モデルをベースにして再現性の高い懸濁物輸送モデルを構築し,3)このモデルを用いて仮説を検証する.

#### 2. データ解析

速水ら<sup>7)</sup>は、有明海における透明度の経年変動につい て検討するために、佐賀県・熊本県による有明海浅海定 線調査データを解析した. 図-1右は、図-1左の測点で 測定された透明度の年間平均値の経年変化である. 測点 間で比較できるように測点毎に全期間の平均値で規格化 してある. この図から、諫早湾以北の有明海奥部では、 透明度は1970年代から90年代はじめにかけて上昇し、 90年代は比較的高い状態が続き、最近は回復傾向にあ ることがわかる.一方で、諫早湾以南では、平均すると 1995年以前には有意なトレンドは見られず, 1996年を 境に透明度が急上昇し、その後も高い状態が続いている ことがわかる. 図-2は、1997-05年と1987-95年の各 9年間について、それぞれの平均規格化透明度の差をプ ロットしたものである.これを見ると、諫早湾以北では いずれの測点においても最近の方が透明度は高くなって いるのに対し、諫早湾以南ではほとんど差がないかある いは低下している.これは、1996年を境にして、諫早 湾以南の有明海西部では表層の懸濁物濃度が低下したこ と,同じ時期に有明海奥部では懸濁物濃度低下は生じて いないことを示している. 1996年は、諫早湾干拓工事 において、潮受堤の建設が進められた年である.

山口・経塚<sup>8)</sup>は、筑後川から河川水がどのように拡散 するかを仮想粒子シミュレーションによって求めた.そ の結果によると、筑後川からの河川水は、湾奥部を佐賀 県よりに岸を右に見るように流れて諫早湾に流入し、さ らに島原半島に沿うように南へと流出する.表層を浮遊 する粒径の小さな懸濁粒子は第1近似としては河川水と



図-2 1997-05年と1987-95年の平均規格化透明度の差

同じように水平輸送されると考えられる.そこで、この 結果と上記の透明度の解析結果を合わせて考えると、諫 早湾潮受堤の建設にともなって諫早湾内における潮流が 弱まり、湾内での底泥再懸濁によって表層に供給される 懸濁物量が減ったと考えると、上記の1996年を境にし た島原半島沿いの海域の透明度上昇を説明することがで きる.

#### 3. 懸濁物モデルの構築

前節であげた仮説を検証するために,我々は3次元流 動モデルをベースにした懸濁物輸送モデルを構築した. 精度の高い懸濁物輸送モデルのためには,ベースとなる 流動モデルにも高い精度が必要である.すなわち,再懸 濁にかかわる底面せん断応力を正確に評価するため,潮 流を高精度に再現することが必要である.また,移流を 正しく表現するためには潮汐残差流,密度流,吹送流を 含めたトータルの流れを再現することが必要である. 懸 濁物モデルは巻き上げ,沈降の各特性の定式化が適切に なされ,また底質の空間的なばらつきを適切に表現でき なければならない.さらに,懸濁物の動態を再現するた めには,沖合いから感潮河道までの広い範囲を対象とし, かつ細かい地形まで表現可能でなければならない.

こうしたモデルへの要求を考慮し、我々は、非構造格 子上の有限体積法モデルであり、懸濁物モジュールを備 えたFVCOM<sup>9)</sup>をベースとしてモデル開発を行っている. 以下、懸濁物モデルについて述べる.FVCOMの懸濁物モ ジュールは ROMS<sup>10)</sup>上に構築された NCSTM (National Community Sediment Transport Model)<sup>11)</sup>を移植したもので、複数の粒子区分のサ ポート、底泥への多層モデルの適用など、優れた特徴を 持っているが、凝集性のある泥、粘土には対応していな いことをはじめとして有明海に適用するには問題があっ



図−3 Md φ データ点の位置とスプライン補間によって得られたMd φ



図-4 計算に使用した r<sub>ce</sub> (左), M (右)の分布

たため、一部改変して使用している.

有明海においては、凝集性、非凝集性粒子の混在する 条件下での巻き上げ、沈降特性について十分な情報が得 られていないことから、粒子区分はあえて単一の凝集性 粒子のみとした(このとき、懸濁物の集積をもって細粒 化とみなすことになる). 凝集性を表現するため、沈降 速度  $w_s$  (m s<sup>-1</sup>)は懸濁物濃度 C(g L<sup>-1</sup>)の関数とし、 Metha<sup>12)</sup> に準拠した以下の式を用いることとした.

$$w_s = \max(k_1 C^n, w_{s0}(1 - k_2 C)^{\beta})$$
 (1)

係数  $k_l$ , n には,有明海の複数点での観測結果<sup>13)</sup>を用い  $k_l=2.5\times10^{-4}$ , n=0.5058とした.また,干渉沈降をあらわす  $w_{s0}$ ,  $k_2$ ,  $\beta$  にはMetha<sup>12)</sup>の値を使用し,

 $w_{s0}$ =2.6×10<sup>-3</sup>,  $k_2$ =0.008,  $\beta$ =4.65とした. 底泥の 巻き上げ量 E (kg m<sup>-2</sup>)は

$$E = M \left( \frac{\tau - \tau_{ce}}{\tau_{ce}} \right) \tag{2}$$

に従うものとした.  $\tau_{\alpha}$ , *M* は地点ごとに異なる値を読み込むようにしたが、底質の浸食、堆積に応じて時間的に更新されるようにはしていない.

底質の巻き上げ特性は *Md* ø に従うものとし,有明 海奥部の複数点における調査の結果から

$$\tau_{ce} = -0.0327 M d\phi + 0.3042 \quad \text{(Pa)} \tag{3}$$

$$M = \begin{cases} 3.1199 \times 10^{-5} \\ 0 \end{cases} (\text{kg m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \qquad (4)$$

とした<sup>14)</sup>. 式(3),(4)と有明海全域における底質の *Md*  $\phi$ 分布から,有明海全域の底質巻き上げ特性のマッ ピングを行い,モデルに用いた. *Md*  $\phi$  の分布について は,有明海奥部については2006年8月の底質調査で得ら れた結果<sup>15)</sup>を,諫早湾内については2008年5月の底質 調査で得られた結果<sup>16)</sup>を用いた.それ以外の海域は,熊 本沖以外はほとんどが砂質の海底であるが,近藤ら<sup>17)</sup>に よる1997年6月の底質調査結果を用いた.これらのデー タをスプライン補間<sup>18)</sup>して各格子点上の *Md*  $\phi$  を求め た(**図-3**).これに式(3)(4)を適用して  $\tau_{\alpha}$ , *M* の分布 を求め,(**図-4**),モデルの入力データとした.

オリジナルのFVCOM懸濁物モジュールでは、巻き上げ の計算に使用される底面せん断応力  $\tau_{0k}$  は流れの計算 に使用されるせん断応力  $\tau_{0}$  と同じものが使用される.  $\tau_{0}$ は、全領域で一定の粗度  $\tau_{0}$  を用いて計算されてい る.しかし  $\tau_{0}$  には形状抵抗  $\tau_{0f}$  が含まれるため、両 者は一致しない<sup>19)</sup>.実際、山本が(3)式の算出の際に使 用した  $\tau_{0k}$  (山本は滑面を仮定した)はFVCOMによって 計算された  $\tau_{0}$  に比べてかなり小さかった.そこで、両 者が一致するよう、巻き上げに関しては粗度  $\tau_{0k}=0.02$ (mm)を用いて 懸濁物モジュール内で別途計算するこ ととした.この $\tau_{0k}$ は巻き上げ試験を行った現地の一次粒 子の粒径と近い値になっている.

#### 4. 懸濁物モデルの検証

懸濁物輸送モデルの妥当性確認のため、2008年5月6 日に有明海奥部を対象として行った透明度の1潮汐観測



**図-5**. 1潮汐間透明度調査地点

結果との比較を行った.この観測では、図-5に示す20点 を2隻の漁船でまわり、1潮汐間に各6回CTDによる濁度 鉛直プロファイルと透明度を観測した.また、モデルの 出力データである懸濁物濃度を透明度に換算するため、 同時に採水を行ってSSと透明度(の逆数)の関係式を得 た(図-6).当日の気象条件等を図7 に示す.当日は大潮 であり、風は弱かった.観測前一週間程度の河川流量は 安定していた.

数値モデルで用いた計算格子は前報<sup>20</sup>と同じで,水平 格子幅は湾奥で約500m,湾口付近で1200mである.ま た,鉛直方向は10分割で,表層と底層で解像度が高く なるように格子幅を調節している.潮汐は,大浦沖の係 留によって得られた実測の調和定数が再現されるよう調 整した6分潮を湾口で与えた.筑後川感潮河道の泥は満 潮・感潮に伴って河口沖の干潟域との間を行き来する<sup>21)</sup> ことが知られているので,筑後川・早津江川のSS実測



図-6 SSと透明度の逆数の関係



図-7. 観測当日の気象条件, 潮位, および筑後川流量



図-8 満潮時(左),干潮時(右)の透明度比較. 上は実測,下は計算.



図-9 A05(左),B06(右)におけるSS(mg/L)鉛直分布の1 潮汐間変動.上は実測,下は計算.横軸は時刻(時), 縦軸は水深(m)

値<sup>22)</sup>と潮位の相関を求め、潮位に従って変動するSSを 強制的に与えた.

まず, 図-8 に、5月7日の満潮時, 干潮時の透明度を 示す.透明度の時間変動は実測に比べて小さく,また, 湾西側の透明度が全体的に低くなっているなど,改良の 余地はあるが,満潮時に,福富干拓沖から南に向かって, 住之江川沖海底水道と塩田川沖海底水道に挟まれた領域 に透明度の低い領域が存在すること、干潮時には湾東側 から北側にかけて透明度が低下することなどが表現され ている.次に、**図-9**に、塩田川沖海底水道沿いの岸側 と沖側の2点(A05,B06)におけるSS鉛直分布の時系 列の比較を示す.鉛直方向に全体に鈍っており、鉛直拡 散について改善の余地があることをうかがわせるが、干 潮時に底層側でSS濃度が上昇するというパターンは再 現されている.また、昨年度の段階では $\tau_{ce}$ ,Mを一定 としていたが、その場合沖側の流速の大きい領域から大 量の懸濁物が流入してきてしまい、計算が破綻してし まっていた.しかし、実測に基づいて底質巻き上げ特性 をマッピングすることにより、本報告ではSS濃度分布 の再現に大幅な改善が見られた.

#### 5. 諫早湾干拓の影響評価

潮受け堤防建設に伴い諫早湾付近の懸濁物動態がどの ように変化したのかを考察するため,前節と同じく2008 年5月の気象条件で,潮受け受け堤防有・無しの計算を 行い,両者を比較した.図-10 に,潮受け堤防あり,な



図-10 大潮満潮時(2008年5月6日)の日平均SS水平フラックス





しそれぞれの条件下での大潮時の懸濁物フラックスを示 す.また, 図-11 に潮受け堤防無しのケースに対する 潮受け堤防ありのケースの透明度の差を示す.また, 諫 早湾最奥部では潮受け堤防の存在によって透明度が 0.5m以上増大し,流速の減少が原因であると見られる. また, 潮受け堤防の存在によって,諫早湾口南側で諫早 湾外に向かう懸濁物フラックスが減少しており, それに 対応して諫早湾以南の透明度が全体的に上昇しているこ とがわかる. その一方で, 有明海奥部では透明度の目 立った変化は見られず, SSフラックスにも大きな変化 は見られなかった. こうした結果は2節で示した過去の 透明度調査データの解析結果と定性的によく一致した.

ただし、今回の計算に使用した底質分布は1997年4月 の潮受け堤防締め切り以後のものであり、かつ、潮受け 堤防より内側の領域の底質分布については外挿した結果 である. 今後は、潮受け堤防より内側を含めて、締め切 り前の底質分布を入手してさらに精度の高い計算を実施したいと考えている.

#### 5. 課題

現在,技術的に解決すべき課題として以下のような ものがある.

#### 巻き上げ、沈降の高精度化

山本ら<sup>16</sup>は既に, さらなる観測データの吟味を行い, *Md φ*とベーンせん断強度(ベーンせん断強度データが ない場合は砂含有率から推定)より信頼性の高い巻上 げ・沈降式を提案している.新しい巻上げ・沈降式を モデルに反映し, また, 底質データセットをさらに充 実させ,精度の向上を行なう予定である.

#### 感潮河道の解像

今回の計算では感潮河道で強制的にSSの値を与えた が、感潮河道とその沖では潮汐によって懸濁物が常に やり取りされており<sup>21)</sup>、また、出水時には感潮河道内に 蓄積された懸濁物が一気に海域に放出される<sup>23)</sup>など、感 潮河道内の懸濁物の挙動は海域に大きな影響を与えるの で、モデルの中で明示的に表現する必要があり、現在そ の作業を行っている.

#### 海上風の推定

風波による懸濁物の巻き上げ,および吹送流による輸送もまたモデルの中で正確に再現すべき項目である. 灘岡ら<sup>24)</sup>は内湾の海上風の空間的なばらつきが残差流に与える影響について考察した. 収束・発散型,振動型,フロント型などの風のパターンの違いによりそれぞれ特徴的な残差流が形成されることを示した. 海上風の推定法には,沿岸風実測値の補間<sup>25)</sup>,MASCONモデル<sup>26)</sup>,境界層モデル<sup>27)</sup>などがある.最近ではメソスケール気象モデルの出力を使用する方法が取られることもある.計算負

荷などの制限から,我々は実測値の補間,または MASCONモデルの使用を考えているが,いずれの場合も 沿岸の観測所の選定が品質に大きな影響を持ってくる. そこで,沿岸のアメダスデータに対してクラスター解析 を適用し観測所間の類似度について考察した.その結果, 必ずしも地理的に近い点同士がクラスターをつくるとは 限らず,幾つかの観測所のデータがローカルな地形の影 響を受けている可能性があると考えられた<sup>28)</sup>.今後,海 上風のデータも交えた解析を行い,海上風推定の代表点 としての適不適を判断する予定である.

#### 底質細粒化の表現

現在懸濁物は凝集性のある単一粒子区分のみで表現し, SSの集積をもって細粒化と見なしている.しかし厳密 には,細粒化を表現するためには複数の粒子区分をモデ ル内で表現する必要がある.現在沈降速度は濃度のみの 関数とし、本プロジェクトにおける調査もその前提で 行っているため,現時点で粒子区分ごとに沈降速度を与 えることは難しい.また,懸濁粒子の分級は巻き上げ時 <sup>29)</sup>にも沈降・堆積時<sup>30)</sup>にも起こりうるが,そのプロセ スにはいまだ不明な部分が多い.モデル全体のバランス も考慮しつつ,最も効果的な定式化を採用して底質細粒 化を表現できるモデルを構築していきたい.

#### 参考文献

- 1) 井上尚文: 21有明海 Ⅱ 物理, 日本全国沿岸海洋誌, , pp.831-845, 1985.
- (2) 代田昭彦, 近藤正人: 21 有明海 Ⅲ 化学, 日本全国沿岸海洋 誌, pp.846-862, 1985.
- Cloern, J. : Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem, *Marine Ecology Progress Series*, 210, pp.223-253, 2001.
- 4)川村嘉応:佐賀県有明海域におけるノリの生産状況と環境変化,海苔と海藻,64, pp.4-9,2002.
- 5) 環境省: 有明海・八代海総合調査評価委員会委員会報告, 167 pages, 2006.
- 6)伊藤史郎:「有明海異変」特にタイラギ資源の減少と今後, 海洋と生物,28,pp.625-635,2006.
- 7)速水祐一,前田和範,大串浩一郎:有明海における透明度の 経年変動について、2007年度日本海洋学会春季大会講演要旨 集、117、2007.
- 8) 山口創一,経塚雄策: 生態系モデルによる有明海貧酸素水塊の再現性について, MEC Modelワークショップ,第4回,,2003.
- Chen, C., Beardsley, R.C. and Cowles, G.: FVCOM User Manual (Second Ed.), 315 pages, 2006.
- Haidvogel, D.B., Arango, H.G., Hedstrom, K., Beckmann A., Malanotte-Rizzoli P. and Shchepetkin, A.F.: Model evaluation experiments in the North Atlantic Basin: simulations in nonlinear terrain-following corrdinates, *Dynamics of atmospheres and oceans*, 32, pp.239-281, 2000.
- 11) Sherwood C., Butman B., Signell, R. and Warner, J.:

Community Model for Coastal Sediment Transport, http://woodshole.er.usgs.gov/project-pages/sediment-transport/

- A.J. Metha: Characterization of cohesive sediment properties and transport processes in estuaries, *Cohesive Sediment Dynamics*. Springer, Berlin, 14, pp.290-325, 1986.
- 山本浩一,横山勝英,山田文彦,安江洋介,速水祐一:有明海・筑後川感潮域での懸濁物質の沈降特性,2008年度日本海洋学会春季大会講演要旨集,,p.101,2008.
- 14) 山本浩一: 私信.
- 15) 山本浩一,速水祐一,笠置尚史,宮坂仁,吉野健児, 大串浩一郎,平川隆一,西本潤,大森浩二:有明海湾奥における底質環境の形成要因に関する研究,佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集,第2巻,pp.1-6,2006.
- 16) 山本浩一・速水祐一・濱田孝治・吉野健児・片野俊 也・吉田誠・横山勝英: 有明海・諌早湾における底泥の再懸 濁・沈降に関するマッピング, 佐賀大学有明海総合研究プロ ジェクト成果報告集, 第5巻, 2009.
- 17) 近藤 寛, 東 幹夫, 西之首 英之: 有明海における海 底堆積物の粒度分布とCN組成(川尻 伸也教授退官記念), 長崎大学教育学部紀要,自然科学, 68, 1-14, 2003.
- 18) 大西 行雄: スプライン法を用いた2次元補間につい て, Journal of the Oceanographical Society of Japan, 31, pp.259-264, 1975.
- Soulsby, R.: Dynamics of marine sands, Thomas Telford, , 249 pages, 1997.
- 20) 濱田孝治、三浦孝之、山本浩一、速水祐一、山口創 一,経塚雄策:数値シミュレーションによる有明海異変の原 因解明に向けて、佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果 報告集、第4巻、pp.69-74, 2008.
- 田中勝久,児玉真史,熊谷香,藤本尚伸:有明海筑後 川河口域における冬季のクロロフィル蛍光と濁度変動,海の 研究,13(2), pp.163-172, 2004.
- 22) 平川隆一,速水祐一,山本浩一,横山勝英,大串浩一郎,濱田孝治:筑後川感潮域における水理特性と物質輸送, 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集,第3巻, pp.111-114,2007.
- 23) 横山勝英,山本浩一,金子祐:筑後川感潮河道における洪水時の底質浸食過程と有明海への土砂輸送現象,土木 学会論文集B,64(1),pp.71-82,2008.
- 24) 
  灘岡和夫, 八木宏, 塚原隆夫: 風系の時空間的非一 様性が閉鎖性水域内流動に及ぼす影響について, 海岸工学論 文集, 40, pp.231-235, 1993.
- 25) 山口正隆,畑田佳男,大福学:瀬戸内海西部海域 における海上風の平面分布特性,愛媛大学工学部紀要,11(1), pp.291-300,1986.
- 26) Dickerson, M.: MASCON-A Mass Consistent Atmospheric Flux Model for Regions with Complex Terrain, Journal of Applied Meteorology, 17(3), 1978, 1978.
- 27) Cardone, V.J.: Specification of the wind distribution in the marine boundary layer for wave forecasting, New York University

School of Engineering Science, Report GSL-TR69-1, 131 pages, 1969.

- 28) 茅野良太,濱田孝治,経塚雄策:有明海沿岸におけ る長期の風データの分類と特徴の把握,2009年度日本海洋学 学会春季大会講演要旨集,2009.
- 29) B. A. Law, P.S. Hill, T.G. Milligan, K.J. Curran, P.L. Wiberg and R.A. Wheatcroft: Size sorting of fine-grained sediments during erosion: results from the western Gulf of Lions, *Continental Shelf Research*, 28, 1935-1946, 2008.
- 30) L.A. Amy, P.J.Talling, V.O. Edmonds, E.J. Sumner and A. Lesueur: An experimental investigation of sand-mud suspension settling behaviour: implications for bimodal mud contents of submarine flow deposits, *Sedimentology*, 53, 1411-1434, 2006.Robinson, S. K.: Coherent motions in the turbulent boundary layer, *Ann. Rev. Fluid Mech.*, Vol.23, pp.601-639, 1991.

(2009.3.31受付)

## 有明海流入陸域モデルの構築に関する検討 A STUDY ON BUILDING A RUNOFF AND POLLUTANT LOAD MODEL OF THE ARIAKE SEA CATCHMENT AREA

#### 大串浩一郎<sup>1</sup>・鶴田芳昭<sup>2</sup> Koichiro OHGUSHI and Yoshiaki TSURUTA

 <sup>1</sup>博士(工学) 佐賀大学准教授 理工学部都市工学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>工修 株式会社東京建設コンサルタント九州支店部長代理 建設環境部 (〒810-0801 福岡市博多区中州5-6-20)

This study is aimed to build a runoff and pollutant load model of the Ariake Sea catchment area using GIS, tank model and field investigation. The model simulates hydrological phenomena in good agreement with observed one by introducing GIS based data of upstream river basins where tidal effects do not exist. In order to estimate water quantity and water quality of the downstream river basins where the tidal effects exist, a typical test field has been chosen and investigated continuously in the east Saga Plain for 7 months. Non-point pollutant load from paddy fields are estimated by observing water quality and quantity of efflux water discharge. As a result, a balance of water and substances of the paddy fields is estimated for irrigation period and non-irrigation one. By considering observed data and the existing pollutant load per unit activity, the pollutant loads from the downstream river basins are estimated.

Key Words : runoff, pollutant load, GIS, Ariake Sea, paddy field, non-irrigation period

#### 1. はじめに

有明海を取り囲む集水域は面積8,400km<sup>2</sup>と、有明海そ のものの面積の約5倍の大きさであり、有明海における 生態系を規定する大きな境界条件を与える要素である。 環境省有明海・八代海総合調査評価委員会の報告書<sup>11</sup>な らびに有明海水域に係る下水道整備総合計画に関する基 本方針策定調査報告書(有明流総)<sup>21</sup>は、有明海陸域モ デルを構築するための基礎となる資料である。昨年度の プロジェクト成果報告で、有明海に流入する主要4河川 に関する流出・負荷解析ならびに既存の原単位より佐賀 東部クリーク地帯の汚濁負荷量の見積もりを行った。

本研究では、上記の有明流総報告書のデータをデータ ベース化することと平行して、残りの主要4河川の流 出・負荷解析を実施するとともに、水田地帯の灌漑期な らびに非灌漑期における汚濁負荷の現地調査と水・物質 収支についての考察を行い、有明海流入陸域モデル構築 のための検討を行った。

#### 2. 有明海流入集水域の概要と有明流総について

有明海流入集水域は、流域面積約8,400km<sup>2</sup>、域内市町 村は、27市95町16村の計138市町村(平成17年1月現在) で、福岡、佐賀、長崎、熊本、大分の5県にまたがる広 大な流域である。流域内人口は347万人(平成17年現 在)で、その大部分が福岡、佐賀、熊本3県の大河川沿 川下流域に分布している。流域内には、筑後川、緑川、 菊池川などの国管理の主要8河川や他の中小河川が流れ 込んでいるが、平野部を中心として米、麦などの二毛作 が盛んである。近年は、筑後川や他の河川群の治水・利 水に関する広域連携が始まったことと、筑後川では福岡 市とその近郊の都市圏への域外導水も行われている。

そのような中で、平成16年度に有明海水域に係る下水 道整備総合計画に関する基本方針策定調査報告書(有明 流総)が出され、この流域の将来的な下水道整備の指針 が策定されている所である。この有明流総は、水域・海 域などが2つ以上の都府県にまたがる場合の国による調 整の一環で行われたもので、第1回は、昭和53年に有明 海と筑後川について実施された。その後、20年以上経過 し、社会情勢も変化したことと、水質環境基準にCOD以 外に窒素やリンも追加されたことなどから、当初計画で は平成9~12年度に実施し、県間配分を決定する予定で あった。しかしながら、平成12年度に起きた有明海のノ リ不作等に端を発した有明海問題で、関係機関による国 土総合開発事業調査費(国調費)を用いた詳細な環境調 査と対策検討が実施されたことにより、その成果を取り 込む形で平成16年度にまとめられたのが、上記の第2回 有明流総の報告書である。したがって、有明海流入集水 域のモデルを構築する際には、この有明流総の報告書な らびに集められたデータを吟味し、それをベースに次の ステップに進む必要がある。

#### 3. 有明流総のデータベース化

以上のように、有明流総の情報は重要かつ膨大な情報 であるので、本研究で活用するためにも地理情報との関 連付けが有効であるとの認識から、GISを用いてこの報 告書の情報を整理することとした。有明流総では、主要 8河川流域と塩田川流域を順流域と感潮域に分け、それ ぞれ、河川流域界、県界で区分し、水質基点がある所も 境界として設定している。また、その他の流域は、湾直 接流入域で同様に河川流域界、県界に区分するブロック 区分の方針をとっている。このブロック区分の方針は、 いろいろな情報を総合的に扱うのに合理的だと思われる ので、本研究でも同様の区分でGISのポリゴン作成を 行った。

また、有明流総では、ブロック毎のフレーム値(し尿 処理形態別人口、生産品出荷額、家畜頭数、土地利用面 積など)ならびに原単位(排水量、発生負荷量、排出負 荷量など)が整理されているので、GISの属性データと してそれらを取り込んで、最終的に湾流入負荷量の算定 ならびに各ブロックの寄与度を可視化することを試みた。



図-1 有明流総のフレーム(人口)のGIS化(H.17)



図-2 ブロック別湾流入COD生活系点源合計(H.17)



図-3 ブロック別湾流入COD点源面源合計(H.17)

図-1は、有明流総で用いられている平成17年の生活 系し尿処理形態別人口(下水道、コミュニティプラント、 農業集落排水、合併浄化槽、など)の合計値をブロック 毎に人口の大小で色分けしたものである。筑後川下流域 や熊本県沿岸部で大きい値を示しているのが分かる。図 -2は、図-1のし尿処理形態別人口に発生負荷原単位 を掛けて算出した湾流入CODの負荷量(kg/日)のブロッ ク毎の表示である。この図では、点源汚濁負荷の生活系 のみ鹿表示していないが、これに他の産業系、畜産系な どの点源負荷と、土地利用に伴う面源汚濁負荷も加えた 合計の湾流入COD負荷量をブロック毎に示したのが図-3である。図-2と比較すると、凡例のオーダーも1桁 異なるが、それと同時に筑後川下流域や熊本県沿岸部だ けでなく、内陸部にまで負荷発生の大きい所が広がって いることが分かる。



図-4 ブロック別湾流入T-N点源面源合計(H.17)



図-5 ブロック別湾流入T-P点源面源合計(H.17)

さらに、図-4,5は、それぞれ、T-N、T-Pについて、 湾流入の点源と面源を合計した負荷量をブロック毎に示 した図である。CODに比べて局所性が高まったような分 布となっている。いずれにせよ、GISを用いて有明流総 のデータを地理情報と関連づけることで、陸域と有明海 の密接な関連性がイメージとして掴めることが分かる。 今後、このデータベースについては、さらに情報を増や し、また、公開することも視野に入れて、より有用なも のにしていく予定である。

#### 4. 佐賀平野東部の水田・クリーク地帯における 水・物質循環に関する現地調査

平成19年度は、佐賀東部クリーク地帯と千代田線分水 界から排出される各項目の汚濁負荷量と排水量を既存の 原単位法により求めた。しかしながら、非灌漑期におい て汚濁濃度が実測値と異なることが示されており、20年 度は、水田からの汚濁負荷に焦点を絞り、現地調査など を実施し、より詳しい検討を行った。

#### (1) 研究方法

研究の対象としたフィールドは、神埼市千代田町嘉納 の農家が所有する面積19aの水田である。図-6に千代 田線分水界における位置、図-7に対象地の概略を示す。







図-7における青丸は採水地点である。灌漑期には、隣 接するクリークからポンプで取水し、排水口より再びク リークに排水している。クリークからの取水は、複数の 農家が共同で所有するポンプを用いて、蛇口の開け閉め によって行っている。排水は、排水口に設置してある堰 き止め板を取り外して排水している。なお、取水と排水 のどちらについても、ろ過装置等の水質浄化装置は通し ていない。この水田では、灌漑期にはもち米の水稲作 (品種:ヒョクモチ)、非灌漑期には麦作(品種:シロガ ネコムギ)を行っている<sup>3,4</sup>。稲作は6月~11月、麦作は 11月~6月である。

水質調査のため、対象地区にて採水を行った。採水は、 2008年7月から隔週で行い、採水地点は、水田の①排水 ロ付近・②取水ポンプ付近、③クリークの3箇所とした。 また、非灌漑期にはクリークからの取水がなく、降雨に より水田に溜まった水を採水するしかなかったため、水 田で採水できたのは12月と1月それぞれ1回ずつのみで あった。採水回数は合計で15回、そのうち灌漑期に7回、 非灌漑期に8回(うち水田の採水は2回のみ)であった。

採水した水の水質分析を多項目水質計と分光吸光度計 により行った。水質項目はSS、pH、電気伝導度、水温、 窒素(T-N、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N)、リン(T-P、PO<sub>4</sub>-P)、 CODなど14項目とした。

水田からの表面流出量をパーシャルフリュームと水位 計により測定した。2008年11月5日に水田(排水口)に 機器を設置し、設置終了時より測定を開始した。測定幅 は10分毎で、水位計に溜まった測定データは採水時に データロガーに抽出し持ち帰った。パーシャルフリュー ムの設置状況を**写真-1**に示す。

灌漑期の取水・表面流出の流量は実測できなかったた め、文献からの引用により水田への取水流量、消費水量 などの諸定数を用いて算出した。非灌漑期は取水がなく、 表面流出はパーシャルフリュームと水位計による実測値 を用いた。灌漑期、非灌漑期の月別の取水流量・表面流 出流量を表-1に示す。



写真-1 パーシャルフリュームの設置状況

#### 表-1 月別の取水流量・表面流出流量

	ᄆᄴ	取水流量	流出流量	雨水流出	総流出量
	口奴	(m³)	(m³)	(m³)	(mů)
灌漑期					
7月	31	883.5	341.6	25.4	367.0
8月	31	883.5	341.6	168.2	509.8
9月	30	855.0	330.6	65.8	396.4
合計	92	2622.0	1013.8	259.4	1273.2
非灌漑期					
11月	25	-	-	-	0.9
12月	31	-	-	-	131.3
1月	31	-	-	-	13.7
合計	87	-	-	-	145.8

汚濁負荷算出に用いる汚濁濃度は、水質分析による実 測値(月に2、3回)を用い、取水については、クリークの 汚濁濃度の月ごとの平均値を用いた。表面流出について は、水田の取水口・排水口付近の2点の濃度の平均値を 月ごとに平均し、降雨流出については、雨水の水質分析 結果がなかったため、文献<sup>50</sup>よりCOD=1.15mg/L, T-N濃度 =0.55mg/L, T-P濃度=0.01mg/Lを用いて算出した。

雨水については、対象地区から最も近い佐賀気象台の 日雨量データを用いて、水田の面積から水田内に降った 降水量を算出した。灌漑期には約30%が流出するので、 全降水量の70%を降雨による流入量とした。非灌漑期に ついては、流出流量の実測データがあったので全降水量 を流入量とした。

灌漑期の蒸発散量については、文献<sup>6),9</sup>より地方別の 実測値を用いて求めた。非灌漑期の蒸発散量は求められ なかったので、全流入量から表面流出量を差し引いた流 量を"蒸発散量と地下浸透量の合計"とした。

地下浸透量は、総流入量から表面流出量と蒸発散量と 差し引いた値とした。地下浸透負荷についても同様に総 流入負荷から表面流出と収穫の負荷量を差し引いた値と した。

施肥による窒素とリンの流入量については、「米づく りごよみ」に記載されている施肥基準により算出した。 なお、穂肥については稲の生育状況により施肥量が調整 されることが多いが、対象水田に何kgの施肥があったか は確認できなかったため施肥基準を参考にした。

収穫した稲の窒素とリンの吸収量は、実測値がなかっ たため文献<sup>70</sup>を参考に算出した。対象水田の収穫量は農 協職員の方へ聞き取り調査した。

#### (2) 現地調査などの調査結果と考察

灌漑期の10a当りの水収支を表-2、図-8に、非灌 漑期の10a当りの水収支を表-3、図-9に示す。灌漑 期の流入量をみると、降水による流入量よりもクリーク からの取水による流入量のほうが大幅に大きいことが分 かる。しかし、降水量の多かった8月については降水に よる流入量が全流入量の3割近くを占めており、降水量 の大小によって全流入量に占める割合は大きく変わるこ

		流入量(m)		流出量(㎡)				
	取水	降雨	合計	表面流出	蒸発散	地下浸透	合計	
7月	465	31	496	193	162	141	496	
8月	465	207	672	268	194	209	672	
9月	450	81	531	209	156	166	531	
合計	1380	319	1699	670	513	516	1699	
割合	81%	19%	100%	39%	30%	30%	100%	

表-2 対象水田における灌漑期の水収支(10aあたり)

表-3 対象水田における非灌漑期の水収支(10aあたり)

	流入量(m <sup>3</sup> )	流出量(㎡)					
	降雨	表面流出	蒸発散·地下浸透	合計			
11月	41.5	0.4	41.1	41.5			
12月	83.5	69.1	14.4	83.5			
1月	35.5	7.2	28.3	35.5			
合計	160.5	76.7	83.8	160.5			
割合	100%	48%	52%	100%			



表-4 灌漑期の流入負荷(10aあたり)

	流入負荷量(kg)											
	取水			降雨		肥料			合計			
	COD	T-N	T-P	COD	T-N	T-P	COD	T-N	T-P	COD	T-N	T-P
7月	4.05	0.51	0.14	0.05	0.02	0.0004	-	2.1	2.4	4.10	2.64	2.540
8月	3.60	0.28	0.26	0.34	0.16	0.0030	-	16.2	5.0	3.94	16.64	5.263
9月	3.17	-	-	0.13	0.06	0.0012	-	_	-	3.31	0.06	0.001
合計	10.81	0.79	0.40	0.52	0.25	0.0046	-	18.3	7.4	11.337	19.341	7.804
割合	95%	4%	5%	5%	1%	0%		95%	95%	100%	100%	100%

表-5 灌漑期の流出負荷(10aあたり)

I			流出負荷量(kg)									
		表面流出			植物	植物吸収·地下浸透			合計			
		COD	T-N	T-P	COD	T-N	T-P	COD	T-N	T-P		
	7月	1.52	0.15	0.037	2.6	2.49	2.50	4.10	2.64	2.540		
	8月	2.03	0.10	0.009	1.9	16.54	5.25	3.94	16.64	5.263		
	9月	1.96	0.10	0.010	1.3	-0.04	-0.01	3.31	0.06	0.001		
	合計	5.51	0.35	0.056	5.8	18.99	7.75	11.34	24.07	8.773		
	割合	49%	1%	1%	51%	79%	88%	100%	100%	100%		

とが分かる。灌漑期の流出量を見ると、全流出量の6割 を蒸発散と地下浸透で占めており、流入流量うち、半分 しか表面流出としてクリークに流出していない。しかし、 文献によれば地下浸透量のうち70~90%は隣接するク リークに流出することが実験で確認されており、それに 従えば全流入量の60~70%近くがクリークに流出してい ることになる。

非灌漑期については、麦作を行っているため取水がな く、流入流量は降雨による流入のみとなるため、灌漑期 に比べて水収支が極めて小さい。非灌漑期の流出量は パーシャルフリュームによる実測値である。11月は降水 量のうちほとんどが地下浸透か蒸発散しているが、12月 については降水量のほとんどが表面流出していることが 分かる。非灌漑期においては、田面は降水がない限り地 表面が露出しており、降水があっても小規模なものなら 表面流出せずすぐに地下浸透してしまう。このため、あ る程度まとまった降水がないと、降水量は表面流出量に 反映されにくいと考えられる。

灌漑期の10aあたりの物質収支を表-4、5に示す。 稲の窒素とリンの吸収量は、月ごとの吸収量の推定が困 難だったので、全流入負荷量から表面流出負荷量を差し 引いた値を、地下浸透とあわせて「植物吸収・地下浸 透」として表した。また、植物吸収・地下浸透負荷の9 月のT-NとT-Pがマイナスになっているのは、取水負荷量 の9月のT-NとT-Pの値が汚濁濃度の実測値がなく算出で きなかったためである。

流入負荷量を項目別に見てみると、CODは主に取水に より流入し、T-N・T-Pは主に肥料によって流入している ことが分かる。また、9月は施肥がなかったためT-N・T-Pの流入が極めて小さくなっている。T-N、T-Pが取水と 表面流出によって流入・流出する割合はほとんどなかっ た。 降雨による流入負荷の割合はどの項目についても 非常に小さい。8月には平年の1.5倍の降水量があったが、 それでも8月の全流入負荷に対して降水による流入負荷 はCODで8.6%、T-Nで1%、T-Pで0.05%しかなかった。

T-N、T-Pの流出負荷量についてみると、そのほとんど が表面流出以外の植物吸収や地下浸透などで流出してい る。

クリークからの取水により流入した汚濁負荷のうち、 CODとT-Nについては約半分、T-Pについては約1割が表面 流出としてクリークに流出している。つまり、クリーク から水田に取水した水よりも、水田からクリークに表面 流出する水の方の汚濁負荷が小さくなっており、水田が クリークの水を浄化しているように考えられる。しかし、 前述したように地下浸透した水はその多くがクリークに 流出している。このため、地下浸透による負荷流出量が クリークへ流出している可能性が高いと考えられる。

#### 5. 有明海流入主要河川の流出・負荷解析

本研究では、平成19年度に行った4河川の流出・負荷 解析の続きとして、GISを用いて矢部川・嘉瀬川・六角 川・本明川ならびに諫早湾調整池のタンクモデルによる 流出解析ならびに汚濁負荷解析を行った。

#### GISを用いた流域の特定と流域平均日雨量・蒸発散 量の推定

対象流域は順流末端地点にある水位流量観測所より上 流の順流域とする。流域の特定にはESRI社のArc GISを 利用した。まず、Arc GIS Spatial Analystツールを用 い、国土地理院の数値地図50mメッシュ(標高)データよ り標高グリッドを作成した。それを元にHydrology Modelingを利用すると、指定したある任意の1点の辿る 流路、また指定した1点より上流の流域界を求めること ができる。このようにして矢部川・嘉瀬川・六角川・本 明川の順流域を特定した。順流末端地点の水位流量観測 所はそれぞれ、船小屋観測所・川上観測所「官人橋]・ 妙見橋観測所[羽佐間堰](牛津川)・裏山観測所[天満公 園前]である。また、矢部川の日向神ダム・嘉瀬川の北 山ダムの集水域についても同様にダム流量観測所地点よ り上流域を集水域とみなした。流域平均日雨量の算定に はティーセン法(ボロノイ分割)を用い、それぞれの雨 量観測値を荷重平均して求めた。蒸発散量については、 ソーンスウェイト法®を用いて推定した。

#### (2) 流出解析

矢部川・嘉瀬川・六角川・本明川の流出解析によって 得られたタンクモデルの流出孔の高さ、乗数、浸透孔の 乗数、および初期貯留残高を表-6に示す。また、平成 15年の矢部川(船小屋)における流出解析結果と実測値 の比較を図-10に示す。得られたモデルは良好な結果を 示している。

#### (3) 汚濁負荷解析

有明海へ流入する各河川流域ならびに諌早湾調整池からの汚濁負荷量を見積もるために、主要河川順流域については、有明流総で用いられたL-Q式(各種汚濁負荷量と流量との関係式)を用いて、COD、T-P、T-Nの3つについて負荷量を算出した。流量データには平成15年の実績流量を用いた。また、有明流総で区分されている主要河川の感潮域ならびにその他の直接流入域については、有明流総の平成17年のフレームに基づき、各種原単位を乗じることで同様の水質指標について汚濁負荷量を算出した。得られた結果を図-11~14に示す。参考のために諫早湾調整池からの排水負荷量についても図示している。なお、調整池からの負荷量算出については、農林水産省九州農政局ホームページで公表されている環境モニタリングデータならびに同事務所から提供された排水量データを用いている。

		矢部川		嘉瀬川		六角川		本明川	
タンクモデル乗数		乗数	高さ	乗数	高さ	乗数	高さ	乗数	高さ
	流出孔(上)	0.8	50	0.25	60	0.7	50	0.25	50
<b>筜</b> 1 印	流出孔(下)	0.4	20	0.05	25	0.3	30	0.08	30
<b>第1</b> 段	浸透孔	0.05		0.25	_	0.08	_	0.2	_
	初期貯留残高	0		0		0		0	
	流出孔	0.2	10	0.01	15	0.4	10	0.02	20
第2段	浸透孔	0.025		0.07		0.03	_	0.05	_
	初期貯留残高	0		0		0		0	
第3段	流出孔	0.03	10	0.005	5	0.01	5	0.001	15
	浸透孔	0.03		0.01		0.01	_	0.01	_
	初期貯留残高	30		20		50	)	5	
第4段	流出孔	0.0045	0	0.0025	0	0.005	0	0.0001	0
	初期貯留残高	500	)	50		20	0	20	

表-6 4つの主要河川のタンクモデル定数



図-10 矢部川(船小屋)の流出解析結果と実測値との比較(平成15年)









図-13 有明海流入T-N負荷量の割合(H.15)

図-11~14に示した感潮域には、筑後川や六角川、矢部川など複数の河川の感潮域が含まれており、この割合がかなり大きい。また、その他の河川流域(塩田川含む)については直接流入域という範疇で区別している。 直接流入域についても、その面積は筑後川順流域よりやや小さいが、栄養塩類の供給では非常に大きな割合を占めることが分かる。なお、諫早湾調整池からの負荷量については、本明川順流域・感潮域を除いた流域について 算出しているが、特にCODとT-Pで全体の約3%の供給源となっている。

#### 6. 結論

本研究では、まず、有明流総報告書のデータをデータ ベース化することによって、有明海流入陸域モデルの全 体像を見通し良くすることができた。また、昨年度の残 していた残りの主要4河川ならびに諫早湾調整池の流 出・負荷解析を実施するとともに、佐賀東部クリーク・ 水田地帯の灌漑期ならびに非灌漑期における汚濁負荷の 現地調査と水・物質収支について検討した。有明海への 負荷量の約3分の1を占める感潮域からの流入負荷量の 正確な算定は非常に重要であり、今回、現地調査を行っ た水田地帯からの負荷量を年間を通して正確に把握する ことは非常に重要だと思われる。今後、さらに長期的な 観測を継続して実施することで、特に原単位の評価の見 直しを検討する必要があると思われる。次年度への課題 としたい。

図-14 有明海流入T-P負荷量の割合(H.15)

謝辞:本研究の遂行にあたり、佐賀大学有明海総合研究 プロジェクトならびに特定非営利活動法人有明海再生機 構より多大なる支援をいただいた。また、国土交通省九 州地方整備局、農林水産省九州農政局、福岡県県土整備 部、佐賀県県土づくり本部、佐賀土地改良区からは、貴 重なデータ・資料をご提供いただいた。さらに、佐賀大 学理工学部都市工学科野口剛志技術職員ならびに同学科 平成20年度卒業研究生の富永大樹君、橋本裕佑君、松井 浩君にはいろいろな面でサポートしていただいた。関係 各位に深く感謝いたします。

#### 参考文献

- 環境省有明海・八代海総合調査評価委員会: 委員会報告、 2006.12.
- 2)九州地方整備局:有明海水域に係る下水道整備総合計画に関する基本方針策定調査報告書、2005.
- 3) JAさが神崎郡統括支所:平成20年度産うまい安全・安心米 ごよみ、2008.
- 4) 佐賀県農業協同組合:平成21年度産売れる麦作こよみ、2009.
- 5) 柚山義人・木下陽児郎・中村精文: 筑後川下流域クリーク地 帯の水質診断、農業土木学会誌、62(11), 1071-1078, 1994.
- 6) 中川昭一郎:水田用水量調査計画法(その2)、農業土木学 会誌、34(2), 85-90, 1966.
- 7) 笹田康子:水田からの汚濁負荷の流出特性、香川県環境保健 研究センター所報、第3号、2004.
- 8) 榧根勇:水文学、大明堂、1992.
- 9) 丸山利輔ほか:新編 潅漑排水 上巻、養賢堂、1995.

(2009.3.31受付)

# Studies on dynamics of *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) in the Ariake Sea: Development of fixative and investigation of diel vertical migration pattern in the sea

# 有明海の赤潮原因藻類*Chattonella*の動態に関する研究: *Chattonella*の固定方法の開発およびそれを利用した*Chattonella* 個体群の日周 鉛直移動調査

### Toshiya KATANO<sup>1</sup>, Makoto YOSHIDA<sup>2</sup>, Soichi YAMAGUCHI<sup>3</sup>, Juyun LEE<sup>4</sup>, Myung-Soo HAN<sup>5</sup> and Yuichi HAYAMI<sup>6</sup>

片野俊也<sup>1</sup>·吉田誠<sup>2</sup>·山口創一<sup>3</sup>·李周妍<sup>4</sup>·韓明洙<sup>5</sup>·速水祐一<sup>6</sup>

<sup>1</sup>理博 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>農博 佐賀大学特別研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>理博 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>MS 漢陽大学校 生命科学科水環境生態復元研究室(〒133-792 韓国ソウル市城東区杏堂洞17)
 <sup>5</sup>農博 漢陽大学校教授 生命科学科水環境生態復元研究室(〒133-792 韓国ソウル市城東区杏堂洞17)
 <sup>6</sup>農博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

赤潮原因藻類であるChattonella 属は、固定による保存が困難である。Chattonellaは日周鉛直移動を行なうが、固定の困難さのために、その野外での情報は限られている。そこで、 Chattonellaの固定方法を開発し、この方法により有明海におけるChattonellaの日周鉛直移動を 調査した。固定液緩衝材にPBSを用いると白色沈殿を生じた一方、カコジル酸ナトリウム、 Hepesを利用すると沈殿は生じず良く固定された。カコジル酸ナトリウムはヒ素を含むので、 Hepesが良いと考えられた。また固定剤はパラフォルムアルデヒドとグルタルアルデヒドとの併 用により、細胞の溶解なくよく固定できた。有明海におけるChattonella個体群の日周鉛直移動 の調査結果、Chattonellaは午前中表層付近に、最大細胞密度6100 cells ml<sup>-1</sup>の濃密なpatchを形成 した。このpatchは日の入り頃に解消し水柱全体に均一に分布した。その後、夜8時から翌午前4 時までは、水深3-4mの底泥直上に再び濃密なpatch(最大1500cells ml<sup>-1</sup>)が見られた。Hepesを用 いた固定液は有用であり、これによるChattonella野外個体群の研究の今後の展開が期待される。

Key Words : Chattonella, red tides, harmful algal blooms, fixative, vertical migration

#### 1. Introduction

Red tides caused by *Chattonella* have frequently occurred during summer season in the Ariake Sea, Japan. We currently study the population dynamics of this phytoplankter to clarify their bloom developing process in the sea. As a part of the study, we firstly developed the fixation protocol for *Chattonella*. Secondarily, diel vertical migration behavior was investigated using this fixation protocol. In the present paper we repot the development of fixation protocol and the diel vertical migration behavior during the bloom in the Ariake Sea.

#### PART A: Cell fixation

Cell fixation is a basic and important technique for microalgal studies, and several fixatives, such as formalin, glutaraldehyde, and Lugol's solution, have been widely used. These fixatives should be used properly depending on the aim of the study and target algal cells. The raphidophycean, genus *Chattonella*, which consists of *C. antiqua*, *C. marina*, *C. subsulsa*, and *C. ovata*, are known to be harmful, causing bloom during the warm seasons in temperate coastal environments <sup>1), 2), 3</sup>. The cell membrane of this genus, which possesses glycocalyx on the surface <sup>4)</sup>, is generally not preserved well by the fixation with a general fixative, such as formalin and glutaraldehyde due to the occurrence of osmotic changes during the slow fixation. Hence, enumeration of algal cells in light microscopy has primarily been carried out on living cells without fixation.

Flow cytometry has been widely used in phytoplankton ecological studies since the 1980's <sup>5), 6)</sup>. One useful application of flow cytometry is cell cycle analysis <sup>7), 8)</sup>. This technique enables the estimation of *in situ* growth rate without incubation <sup>9)</sup>; thus, it is useful for the estimation of the growth rate of *Chattonella* in natural environments. Moreover, it is also useful for the study of the life cycle, as demonstrated by Parrow and Burkholder (2002, and 2004) in their analysis of the dinoflagellate *Pfiesteria* <sup>10), 11)</sup>. For flow cytometric analysis, a simple and safe fixative should be developed, although the fixative itself should not be toxic to humans.

Several fixatives have been used for the fixation of raphidophyceae, such as *Heterosigma akashiwo*<sup>12), 13), 14)</sup>, *Fibrocapsa Japonica*<sup>15)</sup>, and *Chattonella antiqua*<sup>16)</sup>. In the fixation, rapid penetration of fixative into the cell is required especially for raphidophycean. Paraformaldehyde and glutaraldehyde are frequently used as a fixative. Paraformaldehyde penetrates into the cell more rapidly than glutaraldehyde, while cell morphology is well preserved by glutaraldehyde. Thus, combination of paraformaldehyde and glutaraldehyde may be ideal. Indeed, the combination of these chemicals is used for the planktonic organism in flow cytometry <sup>17), 18), 19), 20), 21)</sup> and electron microscopy <sup>22), 23)</sup>.

The buffer for the fixative is an important factor that affects the preservation of cell morphology <sup>24)</sup>. Sodium cacodylate has been frequently used as a buffer in electron microscopy <sup>25)</sup>, as reported above. In addition to sodium cacodylate, Hepes (N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]) has been used as a buffer for the fixation of bacteria <sup>24)</sup> and algae <sup>26)</sup>. In addition to them, osmotic change is the other important factor affecting the cell morphology by

the fixation. Sorbitol and sucrose have been used to preserve cell morphology due to the osmotic change during the fixation. In most cases, these chemicals have been combined with osmic acid for electron microscopy and, hence, have not been applied to the fixation of algal cells for light microscopy and flow cytometry.

In the present study, to develop a simple and easy fixation procedure of *Chattonella* cells for flow cytometry, we evaluated Hepes combined with paraformaldehyde (PFA) and glutaraldehyde (GA). We also tested sodium cacodylate, and the result was compared with Hepes in light microscopy. We found that, when fixed with Hepes-buffered PFA and GA, the morphology of the *Chattonella* cell was well preserved after freezing. In addition, cell loss due to bursting resulting from the fixation was negligible. Finally, the fixed cells could be successfully used for flow cytometric analysis. These results indicate that Hepes-buffered PFA and GA are superior to other fixatives for *Chattonella* cells.

#### Part B: Diel vertical migration

*Chattonella* undergoes diel vertical migration behavior <sup>27)</sup>. This behavior probably plays crucial role in the development of the population when water column stratifies. Generally, high numbers of samples should be counted within a day to study diel vertical migration in natural environment. However, due to the difficulty of fixation of *Chattonella* as mentioned above, sample preservation has been almost impossible. Hence, information on the diel vertical migration behavior of natural *Chattonella* population is strictly limited. In part B, we aimed to investigate diel vertical migration of natural *Chattonella* population in the Ariake Sea using the newly developed fixation protocol.

#### 2 . Materials and methods

#### Part A: Cell fixation

Two strains of *Chattonella antiqua*, 0803A3 and KYCA01 were used in the present study. Strain 0803A1 was isolated from the Ariake Sea, Japan, by Dr. T. Yamatogi, and strain KYCA01 was isolated from the Yatsushiro Sea, Japan. These strains were cultured in IMK Media (Wako, Japan) at 25°C with a 14:10=L:D cycle. Seawater collected from The Ariake Sea (30 PSU) and filtered with a GF/F filter was used for the media. A natural population of *Chattonella* was also collected from the Ariake Sea, Japan, during a dense bloom of *Chattonella* spp. For light microscopic evaluation of the fixation procedure, surface water samples were collected at the Shin-Ariake fishing port (33°7'45''N 130°10'10''E). To evaluate with flow cytometry, we also collected a surface water sample at the Oura port (32°58'54''N 130°12'36''E) to apply flow cytometry.

The paraformaldehyde stock solution (10%) was prepared as follows. Paraformaldehyde powder (Wako) was added to pre-warmed DW (ca. 65°C). The mixture was stirred with a magnetic bar, and several drops or a few millilitres of NaOH solution (1N) was added to this. The entire procedure was carried out in a fumehood. After dissolution, the solution was divided into 50 ml tubes and stored at -30°C in a freezer. Glutaraldehyde used in the present study was purchased from Wako (20% solution, electronic microscopy grade).

We evaluated the effect of buffers on cell morphology (Experiment A). Three buffers were tested: PBS, sodium cacodylate (Wako, final concentration of 0.1M, pH 7.4), and Hepes (Wako, final concentration of 30mM, pH 7.4). PBSbuffered paraformaldehyde (4%, Wako) was purchased. No buffer was tested as the control. The composition of the fixatives tested is shown in Table 1. The fixatives were prepared just before use. After 1 hr. of fixation, cells were observed under a light microscope.

|--|

	Control	PBS	Cacodylate	Hepes				
Buffer								
PBS	-	1x	-	-				
Cacodyla	-	-	0.1M	-				
Hepes	-	-	-	30mM				
Fixative								
PFA	1%	1%	1%	1%				
GA	1%	1%	1%	1%				
Osmotic regulator								
Sucrose	0.5M	0.5M	0.5M	0.5M				

To evaluate the lysis of cells due to the fixation, we counted the cell number before and after fixation (Experiment B). Glutaraldehyde (GA), paraformaldehyde (PFA), and a combination of them (PFA&GA) were tested. *C. antiqua* strain KYCA01 was used. Cultured cells in the log phase were divided into 12 tubes. Three test tubes (total nine tubes) were used for each fixative, and the three remaining test tubes were enumerated under a light microscope (x200 magnification). At least 300 cells were counted for each sample. One-way ANOVA was carried out to test the difference in cell densities among the treatments with a discrimination level of p<0.05. To evaluate the effects of the fixation on cell morphology, cells retained flagella were counted under a light microscope with

phase-contrast illumination (x400 magnification). For this at least 100 cells were evaluated. In addition, to confirm the usefulness of PFA&GA, the surface water sample collected from the Shin-Ariake fishing port ( $33^{\circ}7'45''N 130^{\circ}10'10'E$ ) on 14 August was also used. The sample was divided into nine test tubes. Three tubes were immediately fixed with PFA in the laboratory, and the other three were fixed with PFA and GA. These samples were stored at 4°C. The remaining three were used for counting the cell number before the fixation. At least 200 cells were counted for each sample with a light microscope. The experiment was carried out for 51 days. Oneway ANOVA was also carried out for the PFA&GA treatment to test the difference in cell densities among the days after fixation with a discrimination level of p<0.05.

Table 2 Composition of fixatives tested in Experiment B.

	PFA&GA	GA	PFA
Buffer			
PBS	-	-	-
Cacodylate	-	-	-
Hepes	30mM	30mM	30mM
Fixative			
PFA	1%	-	1%
GA	1%	1%	-
Osmotic regulator			
Sucrose	0.5M	0.5M	0.5M

For flow cytometry, fixed cells were centrifuged (2000g, 3 min.) and resuspended with PBS (pH 7.4). Cells were treated with RNAse (final 10 mg ml<sup>-1</sup>) for at least 30 min. at 37°C, and stained DNA with SYTOX green (Molecular Probe) at final concentration of 5  $\mu$ M. Cells were analysed with a FACS calibur flow cytometer (Becton Dickinson) equipped with air-cooled Argon ion laser (excitation 488 nm, 150 mW). The cellular DNA content was recorded as the peak height (FL1-H), peak length (FL1-W), and peak area (FL1-A) of the FL1 fluorescence (515-545 nm) in a linear scale. The chlorophyll fluorescence (FL3-H, >670 nm) was also recorded in a logarithmic scale. Fluorescence beads (10  $\mu$ m in diameter, Polyscience) were used as an internal standard. The threshold was set at FL3.

#### Part B: Diel vertical migration

From 6:00 8 August to8:00 9 August, diel vertical migration of *Chattonella* population has been investigated. Sampling was carried out at the Oura port. Temperature and chlorophyll fluorescence were recorded every hour using a CTD sensor. Water samples were vertically collected every

two hours with a Van-Dorn water sampler. Water samples were fixed immediately as mentioned above and stored at a freezer. *Chattonella* cells were enumerated with a light microscope.

#### 3. Results

#### Part A; Cell fixation

When cells were fixed without buffer, morphology of cell was not preserved (Figs. 1-5). Of the three buffers tested, PBS caused white precipitation, while the other two buffers (PBS and Hepes) did not cause this problem. The cell morphology was well preserved when the cells were fixed with PFA and GA in cacodylate or Hepes. In our preliminary experiment, we found that sucrose efficiently prevented cell lysis when cells were fixed with PFA (data not shown). Thus, we used sucrose in the fixative.

Fixation with paraformaldehyde (PFA) resulted in cell loss (Fig. 6). The decrease in cell number reached 37.1% by the fixation, and Tukey's test revealed that the difference between PFA and other treatments was significant (p < 0.05,

Fig. 6). The microscopic observation revealed that fixation with paraformaldehyde (PFA) caused cell lysis, while fixation with glutaraldehyde (GA) or paraformaldehyde and glutaraldehyde (PFA&GA) prevented it (Figs. 7-9). These results clearly indicate that glutaraldehyde is essential for the fixation of *Chattonella*. The surface of cells fixed with GA was rougher than that of cells fixed with PFA&GA. In addition, more cells retained flagella in PFA&GA treatment than in GA. In the PFA&GA treatment, 78.8±3.5% (mean±SD) of cells retained flagella, while, in the GA treatment, 51.8±7.0% of the cells did. Thus, cell morphology was better preserved in the cells in the PFA&GA treatment than in those in the GA treatment.

We confirmed that this technique can be used for the natural *Chattonella* population (Figs. 10, and 11). Morphology of *Chattonella* cells was well preserved (Fig. 10). Also, fixed *Chattonella* cells were well preserved until 51 days after fixation and did not experience cell lyses (Fig. 11). Higher cell densities (9300 - 9750 cells ml<sup>-1</sup>) were observed from 1 to 8 days after the fixation as compared to that before the fixation (8983 cells ml<sup>-1</sup>). At 20 days, cell density slightly decreased to same level as before the fixation (9033 cells ml<sup>-1</sup>), and tended to decrease to the end of the experiment. ANOVA showed that



Figs. 1-5 Micrographs of *Chattonella antiqua* strains KYCA01 (Experiment A). Bars indicate 20 μm. Figure 1 shows a cell fixed without buffer (no buffer control). Figure 2 shows a cell fixed with PBS-buffered PFA and GA. Figure. 3 shows a cell fixed with sodium cacodylatebuffered PFA and GA. Figure 4 shows a cell fixed with Hepes-buffered PFA and GA. Figure 5 shows a live cell.



Fig. 6 Cell density of *Chattonella antiqua* strain KYCA01 before and after fixation (Experiment B). Data shows mean ± standard deviation. Different character indicates significant difference evaluated by multiple comparisons after ANOVA by the discrimination level of 5%.



 Figs. 7-9 Phase-contrast micrographs of *Chattonella antiqua* strain KYCA01 (Experiment B). The bar indicates 20 μm.
 Figures 6, 7, and 8, respectively, show cells fixed GA, PFA, and PFA&GA. Composition of fixatives are shown in Table 2.



Fig. 10 Fixed cells of natural *Chattonella* population. The bar indicates 20 µm.



Fig. 11 Changes in the cell density of *Chattonella* spp. after fixation. The arrow indicates the cell density before fixation. The error bars show the standard deviation for triplicate replication.

there was no significant difference in cell density among days after fixation, although cell density seemed to decrease after 20 days. When the cells were fixed with PFA, similar result was obtained with Experiment B: The cell density decreased by 60% as a result of the fixation. Fixed cells of the cultured strain of *C. antiqua* 0803A3 and a natural population were successfully used for flow cytometric analysis (Figs. 12 and 13). The DNA amount of each cell could also be analysed.

#### Part B; Diel vertical migration

Water temperature at surface increased from 29.1 at 6:00 to 31.5 at 15:00. As a result, water column thermally stratified during day time (Fig. 14). Sunset and sunrise were 19:12 8 Aug. and 5:37 9 Aug., respectively. High chlorophyll fluorescence was detected at 0.5 m depth at 11:00. The high-fluorescence patch dispersed from 16:00 and the value became equal from surface to bottom at 18:00. However, during night



Fig. 12 Flow cytometric signatures of fixed cells of *Chattonella* antiqua strain 0803A3. The gated dots marked as R2 in panel
(a) and R4 in panel (b) indicate signals from *Chattonella* cells. The gated dots marked as R5 show 10 μm fluorescent beads. Panel (c) shows a histogram of DNA fluorescence from *Chattonella* cells. FL3-H and FL1-H show the peak heights for the red (>670 nm) and green (515-545 nm) fluorescence, respectively. FL1-W shows the peak width of the green fluorescence, and FSC-H shows the peak height of the forward scatter.



Fig. 13 Flow cytometric signatures of fixed cells of a natural population of *Chattonella* spp. The gated dots marked as R1 in panel (a) and in panel (b) indicate signals from *Chattonella* cells. The gated dots marked as R3 show 10µm fluorescent beads. Panel (c) shows a histogram of the DNA fluorescence from *Chattonella* cells.



Fig. 14 Changes in vertical distribution of temperature (upper panel), chlorophyll fluorescence (middle panel), and cell density of *Chattonella* (lower panel).

time, high-fluorescence patch appeared near the bottom. Overall, the vertical migration pattern of *Chattonella* was well consisted with changes in chlorophyll fluorescence. *Chattonella* population formed dense patch at 0.5m depth at 11:00. The cell density reached 6100 cells ml<sup>-1</sup>. The patch disappeared at 18:00 before the sunset. At 18:00, the cells were evenly distributed in whole water column. At 20:00, dense patch again appeared near the bottom. This patch continued until next morning of 4:00, before sunrise. At 6:00, *Chattonella* cells distributed evenly in the water column.

#### 4. Discussion

#### Part A; Cell fixation

The present study clearly demonstrated that fixation with Hepes-buffered PFA and GA was successful in terms of the preservation of the cell density and cell morphology. Up to now, fixation of *Chattonella* cells has been carried out with cacodylate-buffered PFA and osmic acid <sup>14), 15), 16), 25). Such a fixation requires careful handling of both the fixative and the fixed sample because the fixative contains chemicals that are highly toxic to humans. In the present study, we showed the use of two harmless chemicals, Hepes and sucrose, for the fixative. This practical fixation procedure has at least two advantages, as mentioned below.</sup>

In general, PFA in PBS has been used as a fixative for prefixation for electron microscopic studies. However, when cells suspended in seawater are fixed with PFA with PBS, precipitation frequently occurs, probably due to phosphate salt with divalent cations <sup>28)</sup>. In particular, a higher concentration of PBS caused severe precipitation that prevented the efficient filtration of the cells onto the filter <sup>29)</sup>. Thus, it is obvious that PFA with PBS is unsuitable for the fixation of marine plankton suspended in seawater. The use of Hepes instead of PBS has circumvented such precipitation <sup>30)</sup>. This is a clear advantage of the use of Hepes in the fixation.

Cacodylate or Hepes prevented such precipitation in the fixation (Figs. 1-5). Cacodylate contains arsenic (As) and is harmful to humans and aquatic organisms. A dose of 0.5 - 5 g kg<sup>-1</sup> is claimed to be lethal to humans (http://cameochemicals.noaa.gov/chemical/4468). Thus, this chemical must be handled carefully in experiments, and appropriate waste disposal procedures would be required. In contrast, Hepes is not harmful. Indeed, this chemical has been used for culturing bacteria or algae. Hence, we recommend Hepes as a buffer for the fixative.

A fixed sample was well preserved until 51 days after fixation. ANOVA revealed that there was no significant difference in cell density at various days after fixation. However, cell count number was higher from 1 to 8 days as compared to those on 0 day and then decreased after 8 days. One possibility for the high cell density until 8 days after fixation is that the number of cells had been underestimated before the fixation. In a live sample, the mortality of cells made accurate counting difficult. In addition, when cover glasses were used for the live sample, cells were lysed during counting at the edge of cover glass. This probably caused an underestimation of the cell number. Hence, we did not use cover glasses for live samples in Experiment B. From 8 days, the cell count number gradually decreased. Although we do not have enough information to explain for this, we conclude that cell counts should be conducted no later than 8 days after fixation.

Flow cytometry facilitates the rapid and quantitative analysis of multiple optical properties on single cells and represents an advantage over microscopy <sup>31)</sup>. The analysis at the single-cell level using a flow cytometer is powerful for the study the variation in size and other endogenous optical properties of cells within a single population. In phycological studies, flow cytometry has been used for the enumeration of picophytoplankton<sup>32), 33)</sup>, discrimination of pigment type<sup>6), 34),</sup> <sup>35)</sup>, and cell cycle analysis <sup>36), 37), 38)</sup>. In particular, cell cycle analysis has played a significant role in physiological studies of dinoflagellates, such as cyclic AMP-regulated cell cycle progression<sup>38), 39)</sup> and the relationship between toxin production and the diel cell cycle <sup>37)</sup>. This technique enabled us to estimate the growth rate of the target alga without incubation <sup>40), 41), 42)</sup>. Such analysis should be applied to *Chattonella* in the future.

We also tested this fixation procedure on the raphidophyte, *Heterosigma akashiwo*, and the naked dinoflagellate, *Akashiwo sanguinea*. Both algal cells were well preserved by the fixation with Hepes-buffered PFA and GA. We have already confirmed that fixed cells of *H. akashiwo* can also be used for flow cytometry (data not shown). It is likely that Hepes is also helpful in the fixation of other fragile species. In addition, McFadden & Melkonian (1986) demonstrated the usefulness of a Hepes buffer for electron microscopy <sup>26)</sup>, although the procedure differed from that in the present study. Thus, it is possible that the fixative shown in the present study could also be used for the first fixation for electronic microscopy.

#### Part B; Diel vertical migration

Diel vertical migration is an important behavior for phytoplankton species to develop their population in natural environments. Up to present, we have little information on the diel vertical migration behavior of *Chattonella* in natural environments due to lack of appropriate fixation protocol. Thus, our study provides an important technique for the study of *Chattonella* population dynamics.

One advantage for the vertical migration is the nutrient uptake in bottom layer. Nutrients frequently depleted in the surface layer during the thermal stratification development, when many dinoflagellates or raphidophytes form bloom <sup>43</sup>. Under such a situation, vertical migration behavior facilitates nutrient uptake at the deeper layer, retrieving from the nutrient limitation, while non-motile phytoplankton species such as diatoms are still under nutrient limitation <sup>27), 44</sup>. Therefore, the depth of the water column and the ability of *Chattonella*, at which depth cells can migrate, may be important. In the present study *Chattonella* migrated downward at 4 m depth. In the Ariake Sea, thermocline developed below 4 m depth. Thus it is probably possible that cells migrated at the depth where plenty of nutrients are available when nutrients depleted in surface waters.

Our results clearly showed that downward migration started before sunset (19:12). Similar pattern has been also reported for dinoflagellates such as *Karenia brevis*<sup>45</sup>, *Ceratium furca*<sup>46)</sup>, *Prorocentrum triestinum*<sup>47)</sup>, *A. sanguinea* <sup>44)</sup>. Internal cellular condition is likely more important as descent cue than light-dark transition <sup>45)</sup>. In contrast, upward migration of Chattonella cells seemed to occur simultaneously with sunrise (5:37). This behavior may be under the control of the circadian rhythm which probably entrained by dark-light transition (sunrise). However it is not consistent with previous studies 9), 44), 45), 46). C. furca started to concentrate their cells at the surface just before the light was turn on, and at the bottom these cells started to accumulate before the light was turn off <sup>46</sup>. Similarly, K. brevis began their vertical ascent prior to a light cue at dawn<sup>9</sup>. Overall, vertical migration is more complex than a simple photoactic response. Therefore, it should be carefully examined in future that dark-light transition can be a cue for upward migration of Chattonella.

#### 4. Conclusion

We developed new fixative for *Chattonella* cells. Fixative consists of Hepes (30 mM at a final concentration), sucrose (0.5M), glutaraldehyde (1%), and paraformaldehyde (1%). As shown in part B, the fixative enabled us intensive field sampling. The fixed sample was also applicable for flow cytometry. Thus, this fixative is a powerful tool for the ecological study of this harmful algal species.

#### Acknowledgements: We thank Dr. T. Yamatogi for

providing Chattonella strains.

#### References

- Imai, I. and Itoh, K.: Annual life cycle of *Chattonella* spp., causative flagellates of noxious red tides in the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.* Vol.94, pp.287-292, 1987.
- 2) Vrieling, E.G, Koeman, R.P.T, Nagasaki, K, Ishida, Y, Pererzak, L, Gieskes, W.W.C. and Veenhuis, M.: *Chattonella* and *Fibrocapsa* (Raphidophyceae): First observation of, potentially harmful, red tide organisms in Dutch coastal waters. *Neth. J. Sea Res.* Vol.33, pp.183-191, 1995.

- 3) Handy, S.M, Coyne, K.J, Portune, K.J, Demir, E, Doblin, M.A, Hare, C.E, Cary, S.C. and Hutchins, D.A.: Evaluating vertical migration behavior of harmful raphidophytes in the Delaware Inland Bays utilizing quantitative real-time PCR. *Aquat. Microb. Ecol.* Vol.40, pp.121-132, 2005.
- Yokote, M. and Honjo, T.: Morphological and histochemical demonstration of a glycocalyx on the cell surface of *Chattonella antiqua*, a 'naked flagellate.' *Experientia* Vol.41, pp.1143-1145, 1985.
- Olson, R.J, Vaulot, D, and Chisholm, S.W.: Marine phytoplankton distribution measured using shipboard flow cytometry. *Deep Sea Res.* Vol.32, pp.1273-1280, 1985.
- Olson, R.J, Chisholm, S.W, Zettler, E.R. and Armbrust, E.V.: Analysis of *Synechococcus* pigment types in the sea using single and dual beam flow cytometry. *Deep Sea Res.* Vol.35, pp.425-440, 1988.
- Marie, D, Partensky, F, Jacquest, S. and Vaulot, D.: Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.63, pp.45-52, 1997.
- Van Dolah, F.M. and Leighfield, T.A.: Diel phasing of the cellcycle in the Florida red tide dinoflagellate, *Gymnodinium breve. J. Phycol.* Vol.35, pp.1404-1411, 1999.
- Van Dolah, F.M, Leighfield, T.A, Kamykowski, D. and Kirkpatrick, G. J.: Cell cycle behavior of laboratory and field populations of the Florida red tide dinoflagellate, *Karenia brevis*. *Cont. Shelf Res.* Vol.28, pp.11-23, 2008.
- Parrow, M.W. and Burkholder, J.M.: Flow cytometric determination of zoospore DNA content and population DNA distribution in cultured *Pfiesteria* spp. (Pyrrhophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol.267, pp.35-51, 2002.
- Parrow, M.W. and Burkholder, J.M.: Reproduction and sexuality in *Pfiesteria shumwayae* (Dinophyceae). *J. Phycol.* Vol.39, pp.697-711, 2004.
- 12) Chen, G.F, Wang, G.C, Zhang, C.Y, Zhang, B.Y, Wang, X.K. and Zhou B.C.: Development of rRNA and rDNA-targeted probes for fluorescence *in situ* hybridization to detect *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol.355, pp.66-75, 2008.
- 13) Ishida, K, Cavalier-Smith, T. and Green, B.R.: Endomembrane structure and the chloroplast protein targeting pathway in *Heterosigma akashiwo* (raphidophyceae, chromista). *J. Phycol.* Vol.36, pp.1135-1144, 2000.
- Vesk, M. and Moestrup, O.: The flagellar root system in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Protoplasma* Vol.137, pp.15-28, 1987.
- Vesk, M. and Dwarte, D.M.: Ultrastructure of an unusual marine unicellular alga. *Micron* Vol.11, pp.507-508. 1980.
- 16) Hara, Y, Doi, K. and Chihara, M.: Four new species of *Chattonella* (Raphidophyceae, Chromophyta) from Japan. *Jpn. J. Phycol.*

Vol.42, pp.407-420, 1994.

- 17) Agawin, N.S.R, Duarte, C.M. and Agusti, S.: Responce of Mediterranean *Synechococcus* growth and loss rates to experimental nutrient inputs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol.206, pp.97-106, 2000.
- 18) Biegala, I.C, Not, F, Vaulot, D. and Simon, N.: Quantitative assessment of picoeukaryotes in the natural environment by using taxon-specific oligonucleotide probes in association with tyramide signal amplification-fluorescence in situ hybridization and flow cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.69, pp.5519-5529, 2003.
- 19) Cox, E.F, Ribes, M. and Kinzie III, R.A.: Temporal and spatial scaling of planktonic responses to nutrient inputs into a subtropical embayment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 324, pp.19-35, 2006.
- 20) Fuller, N, Marie, D, Partensky, F, Vaulot, D, Post, A.F, Scanlan, D.: Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine *Synechococcus* clade throughout a stratified water column in the Red Sea. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.69, pp.2430-2443.2003.
- 21) Not, F, Latasa, M, Marie, D, Cariou, T, Vaulot, D. and Simon, N.: Single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the western English Channel. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.70, pp.4064-4072, 2004.
- 22) Litaker, R.W, Vandersea, M.W, Kibler, S.R, Maddesn, V.J, Noga, E.J. and Tester, P.A.: Life cycle of the heterotrophic dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* (Dinophyceae). *J. Phycol.* Vol.38, pp.442-463, 2002.
- 23) Lopez-Ruiz, A, Roldan, J.M, Verbelen, J.P. and Diez, J.: Nitrate reductase from *Monoraphodium braunii* immunocytochemical localization and immunological characterization. *Plant Physiol.* Vol.78, pp.614-618, 1985.
- 24) Lindsay, M.R, Webb, R.I, Hosmer, H.M. and Fuerst, J.A.: Effects of fixative and buffer on morphology and ultrastructure of a freshwater planctomycete, *Gemmata obscuriglobus*. J. Microbiol. Methods Vol.21, pp.45-54, 1995.
- 25) Tiffany, M, Barlow, S, Matey, V. and Hurlbert, S.: *Chattonella marina* (Raphidophyceae), a potentially toxic alga in the Salton Sea, California. *Hydrobiol.* Vol.466, pp.187-194, 2001.
- 26) McFadden, G.I. and Melkonian, M: Use of Hepes buffer for microalgal culture media and fixation for electron microscopy. *Phycologia* Vol.25, pp.551-557, 1986.
- 27) Watanabe, M, Kohata, K. and Kimura, T.: Diel vertical migration and nocturnal uptake of nutrients by *Chattonella antiqua* under stable stratification. *Limnol. Oceanogr.* Vol.36, pp.593-602, 1991.
- 28) Przysieznisk, J. and Spencer, A.N.: Primary culture of identified neurones from a cnidarian. J. Exp. Biol. Vol. 142, pp.97-113, 1989.
- 29) Takao, Y, Tomaru, Y, Nagasaki, K, Sasakura, Y, Yokoyama, R. and Honda, D.: Fluorescence *in situ* hybridization using 18S rRNA-targeted probe for specific detection of thraustochytrids (Labyrinthulomycetes). *Plankton Benthos Res.* Vol.2, pp.91-97,

2007.

- 30) McLean, R.J.C, Cheng, K.-J, Gould, W.D. and Costerton, J.W.: Cytochemical localization of urease in a rumen *Staphylococcus* sp. by electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.49, pp.253-255, 1985.
- Collier, J.L.: Flow cytometry and the single cell in phycology. J. Phycol. Vol.36, pp. 628-644, 2000.
- 32) Li, W.K.W.: Composition of ultraphytoplankton in the central North Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol.122, pp.1-8, 1995.
- 33) Li, W.K.W.: Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature* Vol.419, pp.154-157, 2002.
- 34) Katano, T, Kaneda, A, Kanzaki, N, Obayashi, Y, Morimoto, A, Onitsuka, G, Yasuda, H, Mizutani, S, Kon, Y, Hata, K, Takeoka, H. and Nakano, S.: Distribution of prokaryotic picophytoplankton from Seto Inland Sea to Kuroshio region with special reference to Kyucho enumerated with a dual laser flow cytometer and a spectrofluorometer. *Aquat. Microb. Ecol.* Vol.46, pp.191-201, 2007.
- 35) Katano, T. amd Nakano, S.: Growth rates of *Synechococcus* types with different phycoerythrin composition estimated by dual-laser flow cytometry in relationship to the light environment in the Uwa Sea. J. Sea Res. Vol.55, pp.182-190, 2006.
- 36) Pan, Y. and Cembella, A.D.: Flow cytometric determination of cell cycles and growth rates of *Prorocentrum* spp. *VIII International conference on Harmful Algae* B. Reguera, J. Blanco, M. Fernandez & T. Wyatt eds, Xanta de Galicia and Intergovermental Oceanographic Commission of UNESCO, Vigo, pp. 173-176, 1997.
- 37) Pan, Y, Cembella, A., and Quilliam, M.A.: Cell cycle and toxin production in the benthic dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Mar. Biol.* Vol.134, pp.541-549, 1999.
- 38) Leighfield, T.A. and Van Dolah, F. M.: Cell cycle regulation in a dinoflagellate, *Amphidinium operculatum*: identification of the diel entraining cue and a possible role for cyclic AMP. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol.262, pp.177-197, 2001.
- 39) Lam, C.M.C, New, D.C. and Wong, J.T.Y.: cAMP in the cell cycle of the dinoflagellate *Crypthecodinium cohnii* (Dinophyta). J. *Phycol.* Vol.37, pp.79-85, 2001.
- 40) Chang, J. and Carpenter, E.J.: Species-specific phytoplankton growth rates via diel DNA synthesis cycles. II. DNA quantification and model verification in the dinoflagellate *Heterocapsa triquetra. Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol.44, pp.287-296, 1988.
- 41) Chang, J. and Carpenter, E.J.: Species-specific phytoplankton growth rates via diel DNA synthesis cycles. V. Application to natural populations in Long Island Sound. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol.78, pp.115-122, 1991.
- 42) Liu, H, Landry, M.R, Vaulot, D. and Campbell, L.: Prochlorococcus growth rates in the central equatorial Pacific: an

application of the fmax approach. J. Geophys. l Res. Vol. 104, pp.3391-3399, 1999.

- 43) Villarino, M.L, Figueiras, F.G, Jones, K.J, Alvarez-Salgado, X.A, Richard, J. and Edwards, A.: Evidence of in situ diel vertical migration of a red-tide microplankton species in Ria de Vigo (NW Spain). *Mar. Biol.* Vol.123, pp. 607-617, 1995.
- 44) Cullen, J.J. and Horrigan, S.G. Effects of nitrate on the diurnal vertical migration, carbon to nitrogen ratio, and the photosynthetic capacity of the dinoflagellate *Gymnodinium splendens. Mar. Biol.* Vol.62, pp.81-89, 1981.
- 45) Van Dolah, F.M, Lidie, K.B, Monroe, E.A, Bhattacharya, D, Campbell, L, Doucette, G.J. and Kamykowski, D.: The Florida red

tide dinoflagellate *Karenia brevis*: New insights into celluar and molecular processes underlying bloom dynamics, *Harmful Algae* Vol.8, pp.562-572, 2009.

- 46) Weiler, C.S. and Karl, D.M.: Diel changes in phased-dividing cultures of *Ceratium furca* (Dinophyceae): nucleotide triphosphates, adenylate energy charge, cell carbon, and patterns of vertical migration. *J. Phycol.* Vol.15, pp.384-391, 1979.
- 47) Ault, T.R.: Vertical migration by the marine dinoflagellate Prorocentrum triestinum maximizes photosynthetic yield, *Oecologia* Vol.125, pp.466-475, 2000.

(2009.3.31受付)
## 数値生態系モデルによる有明海貧酸素水塊の 再現性について

ON REPRODUCTION OF HYPOXIA FORMATION IN ARIAKE SEA BY ECOHYDRODYANAMIC MODEL

山口創一<sup>1</sup>・速水祐一<sup>2</sup>・濱田孝治<sup>3</sup>・山本浩一<sup>4</sup>・大串浩一郎<sup>5</sup> Soichi YAMAGUCHI, Yuichi HAYAMI, Takaharu HAMADA, Koichi YAMAMOTO, Koichiro OHGUSHI

<sup>1</sup>博士(理) 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>農博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>工博 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>博士(工) 山口大学准教授 工学部社会建設工学科(〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)
 <sup>5</sup>工博 佐賀大学准教授 理工学部都市工学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Serious hypoxia is formed every summer at the head of Ariake Sea and in Isahaya Bay, which leads to the damages to fisheries. Therefore, it is an urgent task to solve its generation mechanism. This study tried to reproduce the generation of hypoxia using eco-hydrodyanamic model based on FVCOM. The physical environments such as tidal current and temperature-salinity field were well reproduced by the physical model. As a result of the application of ecosystem model based on the reproduced physical environments, calculated DO concentration at the head of Ariake Sea and in Isahaya Bay decreased at neap tides due to the intensification of density stratification by the intrusion of high density water from the offshore area into the bottom layer and increased at spring tides due to the vertical mixing of water column, which is the feature of DO variability observed in the field. Hypoxic waters with DO concentration less than 3.0 mg  $\Gamma^1$  were generated at the head of Ariake Sea and in Isahaya Bay, which is consistent with the observed results.

Key Words : FVCOM, ecosystem model, hypoxia, inner area of the Ariase Sea, Isahaya Bay

#### 1. はじめに

現在,有明海奥部および諫早湾では,毎年のように貧酸 素水塊が発生しており,その漁業生産への影響が懸念さ れている(環境省<sup>11</sup>など).その発生には物理・化学・生物 過程が複雑に影響しており,発生のメカニズム解明には 数値生態系モデルが有効な手法と考えられる.

有明海奥部および諫早湾における貧酸素水塊について は現在までに二つの形成機構が報告されている<sup>2,3,4</sup>.す なわち,一つは小潮時の底層への高密度水塊の貫入によ る成層強化により形成されるものであり,小潮時に発生 して大潮時に解消する.もう一つは河川流量の増加によ る成層の強化によるものである.

本報告では、FVCOM<sup>®</sup>をベースとした、現在構築中の生態 系モデルを有明海に適用し、有明海奥部および諫早湾に おける貧酸素水塊の再現性、特に大潮小潮周期の溶存酸 素(D0)濃度変動について報告する.

#### 2. 数値モデルについて

(1) 物理モデル

物質の移流・拡散を支配する物理モデルは濱田ら<sup>6</sup>に より構築されたものを使用している.このモデルは FVCOM(Finite Volume Coastal Ocean Model ver2.6)を 用いた,水平方向に三角形の非構造格子,鉛直方向に $\sigma$ 座 標を適用した有限堆積法海洋モデルである.モデルの計 算領域および有明海奥部・諫早湾付近の水平格子を図1 に示す.計算格子間隔は奥部で500m,開境界付近で1200 mとなっている.鉛直の $\sigma$ 層の数は10である.

本計算では、水温の再現性を高めるため、海面熱フラックスの評価について変更を加えている。濱田ら<sup>6</sup>は、佐賀地上気象観測所における気象データと諫早湾中央部



で観測された海面(0.5m)の水温を用いて、COARE3.0aアル ゴリズム<sup>7</sup>によりあらかじめ熱フラックスを算出し,計算 ではこのフラックスを境界条件として水平一様に与えて いる.そのため、モデルによって計算される表層水温とは 無関係に熱フラックスが評価されている.水温は生態系 の各変数の挙動に強く影響するため、精度よく再現する 必要がある.そこで本数値実験ではCOARE3.0aアルゴリズ ムをFVCOMのプログラムソースの中に組み込み、各格子に おいて計算された海面水温を用いて熱フラックスを動的 に求めるように変更した.その結果、後に示すように、水 温場を精度よく再現することが出来た.

#### a)境界条件

気象(風向・風速・気温・降雨・水蒸気圧・大気圧・ 日射・雲量)については計算領域内で一様とし,佐賀地上 気象観測所(図1のSaga)において1997年から2005年の7 月と8月に得られた値の平均値を使用した.

開境界では、6分潮(M2, S2, N2, K1, 01, P1)を考慮し、大浦 (図1の0ura)において各分潮の振幅が一致するように開 境界の振幅に対してチューニングを行った.開境界の水 温・塩分については、長崎県総合水産試験場により実施 されている沿岸定線調査による水温・塩分データを用い て設定した.計算で使用したデータの観測点位置は図2の Sta. Eである.この調査は毎月行われていないため、デー タのない月については観測が行なわれた前後の月の結果 を用いて線形補間した.計算には1997年から2005年の7月 と8月の平均値を与えた.

一級河川については本明川を除く7つの河川(筑後川, 矢部川,嘉瀬川,六角川,菊池川,白川,緑川;図1)を考慮 し,日本河川協会発行の流量年表を用いて1997年から 2005年の7月と8月の平均値を入力している.それぞれの 河川の流量観測所は河口ではなく、少し上流側で観測さ れている場合が多いため、河口と流量観測点での流域面



図-2 浅海定線調査および沿岸定線調査観測定点



図-3 海上保安庁水路部の潮流調査地点 およびADCP設置地点

積の比を用いて流量を補正している.また最も流量の大きい筑後川については、河口付近において早津江川と本流に分岐する.筑後川河川事務所によると,計画高水流量10300 m<sup>3</sup> sec<sup>-1</sup>の内,早津江川に3100 m<sup>3</sup> sec<sup>-1</sup>,残りの7200 m<sup>3</sup> sec<sup>-1</sup>が本流に流下するということから、河川流量が概ねこの比率に従っていると仮定して流量を分配した.2級河川については、流量および水質の調査がない河川が多く、あってもその頻度は少ない.したがって、本研究では考慮しなかった.また、潮受け堤防からの排水も考慮していない.

#### b)初期値

水温・塩分の初期値は佐賀県有明水産振興センター, 福岡県海洋科学技術センター有明海研究所および熊本県 水産研究センターによって1997年から2005年の7月と8月 に得られた浅海定線調査(図2に観測点位置)の平均値を 用いて,スプライン補間により各格子・各層の水温・塩 分の初期値を求めた.なお,平均値を求める際,山口<sup>4</sup>の定 義にしたがい,出水時(観測前1週間の平均筑後川流量が



<b>巡-4</b> 生態光七アル(a)とDU涙度ノロー図(	-区()		Ľ	)	J
--------------------------------	------	--	---	---	---

Table.1 生態系変数定

Variables	Definition	Unit
РНҮС	植物プランクトン体炭素	mgC/m <sup>3</sup>
PHYN	植物プランクトン体内の窒素	mgN/m <sup>3</sup>
РНҮР	植物プランクトン体内のリン	mgP/m <sup>3</sup>
ZOO	動物プランクトン	mgC/m <sup>3</sup>
POC	懸濁態有機炭素	mgC/m <sup>3</sup>
PON	懸濁態有機窒素	mgN/m <sup>3</sup>
POP	懸濁態有機リン	mgP/m <sup>3</sup>
DOC	溶存態有機炭素	mgC/m <sup>3</sup>
DON	溶存態有機窒素	mgN/m <sup>3</sup>
DOP	溶存態有機リン	mgP/m <sup>3</sup>
NO <sub>3</sub> -N	硝酸態窒素	mmol/m <sup>3</sup>
NO <sub>2</sub> -N	亜硝酸態窒素	mmol/m <sup>3</sup>
NH4-N	アンモニア態窒素	mmol/m <sup>3</sup>
PO <sub>4</sub> -N	リン酸態リン	mmol/m <sup>3</sup>
DO	溶存酸素	mg/L

#### Table.2 生態系パス定

No.	Definition Y.
1	植物プランクトンによる硝酸態窒素取り込み
2	植物プランクトンによるアンモニア態窒素取り込み
3	植物プランクトンによるリン酸態リン取り込み
(4)	植物プランクトンの枯死
5	植物プランクトンの溶存有機物分泌
6	植物プランクトンの沈降
$\bigcirc$	動物プランクトンによる植物プランクトンの捕食
8	動物プランクトンの死亡・排糞
9	動物プランクトンの排泄
10	動物プランクトンによる懸濁態有機物の捕食
(1)	懸濁態有機物の分解によるアンモニア態窒素・リン酸態リンの回帰
(12)	懸濁態有機物の分解による溶存有機物生成
(13)	懸濁態有機物の沈降
14	溶存態有機物の分解によるアンモニア態窒素・リン酸態リンの回帰
15	底泥からの栄養塩回帰
16	動物プランクトンによる植物プランクトンの捕食に伴うセルクオタの溶出
(17)	アンモニア態窒素の硝化
(18)	亜硝酸態窒素の硝化
(19)	脱索

200m<sup>3</sup> sec<sup>-1</sup>以上)の観測結果は平均操作から除外した.

#### c) 再現性の検証

上記の境界条件および初期値のもと,夏季の平均的な 流動場・密度場を求める定常計算を行った.その再現性 を検証するため,海上保安庁水路部<sup>®</sup>が2001年5月に図3に 示す湾内12点で行った海面下3mにおける潮流調査結果 を用いた.この資料から潮流楕円を求め,計算結果との比 較を行なった.また図3の×印で示したSta.A1,Sta.A2に おいて,海底設置型ADCPにより流速の鉛直分布が得られ ている.それぞれの観測期間はA1が2005年7月3日から 2005年9月25日,A2が2006年8月1日から9月19日である. これらの観測より得られた潮流の鉛直分布と計算結果の 比較を行った.密度場に関しては図2に示した各県水産試 験場が行った浅海定線調査により得られた水温・塩分お よび密度差(海面0mと海底上1mの密度の差)との比較を 行った.

#### (2) 生態系モデル

適用した生態系モデルを図4aに,DO濃度変動に関する フロー図を図4b示す.各変数の定義をTable.1に,生態系 モデルの各フローの定義をTable.2に示している.モデル で扱う変数の挙動に関する定式化は基本的に中田<sup>9</sup>に準 じている.モデルに使用した各種パラメータは Table.3(本報告末尾に記載)に示しており,中田<sup>9</sup>および 堀口<sup>10</sup>を参考に設定した.

以下に有明海への適用に向けて、モデルに新たに組み 込んだ項目について記述する.

#### a) 海底のDO消費速度について

大浦沖の海底泥を用いた室内実験結果<sup>11)</sup>によると,水 温28℃のもと,強熱減量(IL[%])とDO消費速度[SOD:mg0<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>]の間には次の関係が成立する.

#### $SOD = 142.7 \times e^{(0.1794 \times IL)}$ (1)

モデルでは低酸素時の酸素消費速度の低下<sup>12)</sup>を考慮して, 底泥の酸素消費速度D0\_cons[mg0<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>]を直上の酸 素濃度の関数として,次のように与えた.

 $DO\_cons = 142.7 \times e^{(0.1794 \times IL)} \times e^{\{\beta_{DO} \cdot (T - 28.0)\}} \times \frac{DO}{DO + DO00}$ (2)

T, D0は最下層メッシュの水温およびD0濃度, D000は酸素 消費速度に関する半飽和定数である. 底泥のILは環境省 <sup>13),14)</sup>および山本<sup>15)</sup>の観測結果を元にスプライン補間によ り各格子点における値を求めた(図5). この分布と式(2) より底泥による酸素消費速度を評価し, 空間分布を与え ている.

#### b) 海底からのNH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>フラックスについて

有明海奥部において海底面での窒素フラックスのうち, アンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>)フラックスは硝酸態窒素(NO<sub>3</sub>)や 亜硝酸態窒素(NO<sub>2</sub>)と比べて1オーダーから2オーダー大 きい<sup>13),16)</sup>.したがって,現在のところ,モデルではNH<sub>4</sub>フ ラックスのみを考慮している.小野澤ら<sup>17)</sup>は有明海奥部



において海底からのNH』フラックスを評価し、溶出量が底 泥の有機物濃度および間隙水中のNL濃度と高い相関関 係にあることを見出した.ただし、有機物が陸域起源の難 分解な有機物である場合,濃度が高くても溶出速度は大 きくならないと報告している.したがって,海底の海起源 有機物(易分解有機物)濃度の分布を求める必要がある. 環境省による有明海底質調査結果<sup>13),14)</sup>によると,植物プ ランクトン色素(クロロフィルa+フェオ色素)とILは高い 相関関係にあった.よって,図5に示したILの分布と山本 ら<sup>18),19)</sup>の実験結果を元に、次の様にNH」の溶出速度を評価 した.



山本ら<sup>18),19)</sup>は瀬戸内海の底泥を用いて,NLおよびPO<sub>4</sub>の溶 出速度とILの関係を求めている.彼らは1993年10月(平均 水温: 21.6℃)と, 1994年6月(18.8℃)に実験を実施して いる、今回は10月のデータを元に、次式のようにNH4およ びP04溶出速度(NH\_bflux, P0\_bflux;mgN or P m<sup>-2</sup> day<sup>-</sup> りを設定した.

$$NH_{4}bflux = \alpha_{NH_{4}} \cdot IL^{\beta_{NH_{4}}} \cdot e^{\{\gamma_{NH_{4}} \cdot (T-Tave)\}}$$
(3)  
$$PO_{4}bflux = \alpha_{PO_{4}} \cdot IL^{\beta_{PO_{4}}} \cdot e^{\{\gamma_{PO_{4}} \cdot (T-Tave)\}}$$
(4)

Tはモデルで計算される海底直上水温, Tave(=21.6℃)は 山本ら<sup>18),19)</sup> による実験時の平均水温, α, βはILと溶出 速度の関係を表す近似式の係数,γはQ<sub>10</sub>=2となるように 設定した係数である.

#### c) 光束消散係数: κ

有明海における植物プランクトンの動態は光環境に強 く依存しており<sup>20)</sup>、その再現は重要となる、そのため、モ デルで使用する光束消散係数(κ)を高い精度で見積もる 必要がある.本研究ではκを透明度(Tr),塩分(Sal)およ びクロロフィルa濃度(chla)との関係から以下に示す方 法で設定した.

有明海において光束消散係数は透明度と次式の関係に ある.

$$\kappa = \frac{1.20}{\text{Tr}} + 0.10$$
 (5)

浅海定線調査(図2)により計測された透明度と(5)式よ り光束消散係数を求め、その対数値と、透明度と同時に計 測された塩分との関係をプロットすると、図6のような負 の相関関係が存在する.これよりκと塩分の関係式は次 式のように求められる.

$$\kappa = e^{5.63 - 0.22 \cdot Sal} \quad (6)$$

さらに植物プランクトンによる自己遮蔽効果を考慮する. 実測値を元にクロロフィルa濃度(chla)と κをプロット すると図7のようになる.これからκはクロロフィルa濃 度の関数として次式で表わされる.

 $\kappa = 0.5 + 0.35 \times 10^{-2} \cdot \text{chla}$  (7)

右辺第二項が植物プランクトンによる自己遮蔽効果を表 している. (6) 式と(7) 式より最終的にモデルではκを次 式で評価した.

$$\kappa = e^{5.63 - 0.22 \cdot Sal} + 0.35 \times 10^{-2} \cdot chla \quad (8)$$

なお、モデルに(8)式を適用した際の塩分およびクロロ フィルa濃度は海面から水深4mまでの平均値としている. d) 開境界·河川負荷·初期値

開境界における各変数の濃度については、文献21と同 様に次のように設定した.外洋では大潮小潮に伴う水質 変動幅は小さいと考え、同一の値を水深によらず一定で 与えた.また一般的に外洋では溶存態として存在する有 機物に比べて, 懸濁態の有機物濃度は非常に低いことが知られている. そこで, 境界条件として懸濁態有機物濃度は0とし, 溶存態有機物濃度は0gawa<sup>22)</sup>を参考に与えた. 各変数の開境界値をTable. 4に示した.

一級河川からの負荷(L:g/day)は流量(Q)を用いて,次 式のL-Q式で評価した(山本浩一,私信).

#### $\mathbf{L} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{Q}^{n} \qquad (9)$

C,nは係数である.Table.5(本報告末尾に記載)に各河川 の各変数に関するC,n値の一覧を示す.嘉瀬川については L-Q式を求めることができなかったため,最寄りの河川で ある六角川の係数を使用した.

初期値は環境省<sup>13)</sup>の調査を使用した.これは2001年8月 初旬および2002年8月初旬に行なわれた有明海全域をカ バーする調査であり,表層(0.5m)と底層(海底上0.5mもし くは1m)の各種水質項目が計測されている.夏季に行なわ れた現地観測結果<sup>23),24),25)</sup>によると,海面下5mから10mの 層に形成された密度躍層において、クロロフィルa濃度 や栄養塩,D0濃度などの水質項目は大きく変化し,この層 よりも浅いもしくは深い層においては変化が小さいとい う鉛直分布を示している.また,2(1)で述べた境界条件の もと物理モデルによって夏季の平均的な密度場を計算し た結果においても,ほぼ同様の水深に躍層の形成が確認 された.これらのことから,図8に示すように,各観測点

Table.4	開境界におけ	る各変数値
---------	--------	-------

Variable	Value	Unit
PHYC	0.004	g-C/m <sup>3</sup>
POC	0	g-C/m <sup>3</sup>
PON	0	g-N/m <sup>3</sup>
POP	0	g-P/m <sup>3</sup>
DOC	0.84	g-C/m <sup>3</sup>
DON	0.13	g-N/m <sup>3</sup>
DOP	0.02	g-P/m <sup>3</sup>
$\mathrm{NH}_4$	0.02	g-N/m <sup>3</sup>
$NO_2$	0	g-N/m <sup>3</sup>
NO <sub>3</sub>	0.01	g-N/m <sup>3</sup>
$PO_4$	0.004	g-P/m <sup>3</sup>
DO	7.1	mg/l



図-8 生態系変数の初期値の鉛直分布概念図

において5m以浅を環境省データ<sup>9</sup>の表層の観測値,10m 以深を底層の観測値で一定とし,5mから10mの間を正弦 関数で補間して鉛直分布を求めた.そして,スプライン補 間によって計算領域の各格子点・各層における値を求め た.このデータセットを生態系モデルの初期値として,準 定常状態になるまで計算を実行した.

#### 3. 結果·考察

#### (1) 物理場の再現性と大潮小潮変動

図9に水路部データによるM。潮流楕円との比較結果を 示す.ここでは有明海奥部に位置するSta.1からSta.4の 比較結果を示す.潮流の振幅や流向,楕円形状はほぼ一致 しており,再現性は良好である.図10には海底設置型ADCP により計測した潮流楕円長軸長および短軸長の鉛直分布 との比較を示す.2地点共に潮流の鉛直分布は概ね再現で きており,誤差は数cm sec<sup>-1</sup>程度と小さいものであった. 次に表層と底層の水温,塩分および密度差の比較結果を それぞれ図11a, b, cに示す.図中の点線は傾きが45度の直 線であり,このラインに乗る場合は観測値と計算値が一 致していることを示す.観測値は1997年から2005年まで





図-10 Ma潮流楕円長軸長および短軸長鉛直分布比較

7

の7月と8月の平均値であり,2で述べたように,出水時の データは除外している.計算値は,現地観測が大潮・満潮 時に行なわれていることから,同じように大潮・満潮時 の結果を出力したものである.水温は多くの観測点にお いて1:1の直線付近に分布しており再現性は良好といえ る.塩分については計算値が低い傾向にある.これは計算 で入力した河川流量が梅雨期を含む7月と8月の平均値で あったことが原因と考えられるが,観測値とは良い相関 関係にあり,淡水の挙動は再現出来ていると思われる.密 度差は概ね1:1の直線に沿って分布しており、成層の強 度も再現出来ている.これらの結果から本物理モデルに よって夏季有明海の潮流および密度場が再現されている と言える.

有明海奥部および諫早湾における貧酸素水塊の形成に は小潮時の底層への高密度水塊の貫入<sup>2),3)</sup>が強く関係し ている.真鍋<sup>35)</sup>はMEC (Marine Environmental Committee) Ocean Model<sup>26)</sup>を有明海に適用し,底層貫入現象の再現に 成功している.以下では本モデルによる大潮・小潮周期 に伴う密度場の変動を見ていく.図12は図1に示した地点



図-11 表層・底層水温(SST, BT), 塩分(SSS, BS), 密度 差(∠D)の観測値と計算値の比較







AおよびBにおける海底直上の水温,塩分,そして第1層と 最下層メッシュの密度差の大潮・小潮に伴う変動を示す. 灰色の実線は生の計算値であり,黒色の実線は25時間の 移動平均値である.本モデルによる計算結果においても 両地点において大潮・小潮に伴う変動がはっきりと確認 できる.奥部においては小潮時に塩分が急激に上昇し,大 潮時には大きく変動しながら徐々に低下している.水温 は大潮時に表層の暖かい水塊と混合して高くなり、小潮 時には水温が低下している. 密度差は小潮時に大きくな り,成層が強化されている様子が分かる.諫早湾において も塩分および水温の大潮・小潮変動が顕著である.密度 差は奥部に比べて大きく、小潮時に強化されている、図13 は有明海の海底谷(図1のLine1)に沿った大潮および小潮 における密度の鉛直断面分布を示している.潮汐流程の 影響を取り除くため、大浦における計算潮位が0mの時の 結果を出力したものである. 大潮時には奥部においてコ ンターラインが鉛直に立っており,水柱が鉛直に混合さ れている様子が分かる.小潮時には底層の高密度水塊が 有明海奥部に進入している様子が分かる. 図中の矢印で 示した海底付近で密度コンターが密になっており,フロ ントの存在が確認できる. 有明海奥部のSta. Aでみられた 小潮時の急激な上昇(図12)は、この海底の密度フロント が通過したためと考えられる2),25).

#### (2) D0濃度の大潮・小潮変動と貧酸素水塊の再現性

図12にSta. AおよびSta. Bにおける海底直上のD0濃度の 変動を示している. 灰色の実線は生の計算値であり, 黒色 の実線は25時間移動平均した値である. Sta. Aにおいて 海底直上のDO濃度は大潮時には大きな潮汐流程により大 きく変動しながら平均的には増加しており,鉛直混合に よってDOの豊富な表層からDOが供給されていた.底層へ の高密度水塊の貫入と共に一旦は濃度が上昇し、その後 急激に低下している様子が分かる.これは沖合から相対 的に豊富な酸素を含んだ水塊が侵入した後,成層の強化 により鉛直方向の酸素供給量が低下したため、速やかに DOが消費されたことを示している.こうした貫入にとも なった底層DO濃度の一時的な上昇,そしてその後の急激 な低下は有明海奥部において観測されており<sup>2)</sup>,本モデル の結果はこの過程を再現したものと考えられる. 諫早湾 におけるDO濃度は大潮時には、奥部と同様に、変動しなが ら平均的には濃度が上昇している.その後の底層への高 密度水塊の貫入に伴って,濃度が低下している様子が分 かる.Sta.AにおいてDO濃度が最も下がったタイミング (図12の矢印)における海底直上のDO濃度の水平分布を図 14に示す.底層のDO濃度は有明海奥部の北西部および諫 早湾を中心に低くなっており,その濃度は3.0 mg 1<sup>-1</sup>を下 回っていることが分かる.現地観測結果<sup>1),28)</sup>によって,有 明海の貧酸素水塊が,湾奥西部の干潟縁辺域と諫早湾内 を中心に別々に発生することが確認されており、本モデ ルによる形成海域はこれらの報告と一致する.

有明海奥部の貧酸素水塊形成には2つの異なった機構 が存在する<sup>2</sup>.一つは小潮時に沖合から高塩分水が海底に 沿って密度流として貫入し,湾奥の密度成層を強化する とともに速やかに貧酸素化するという機構で,この機構 による貧酸素化は大潮・小潮周期で形成・解消を繰り返 す.もう一つは出水にともなって河川プリュームが長期 にわたって発達することによって生じる<sup>20</sup>.この場合は 潮汐混合が強い大潮時でも貧酸素化は解消しにくい.本 計算では出水は考慮していないため,後者の機構による D0濃度変動は再現できない.前者によるD0濃度変動につ いては,大潮時のD0濃度の回復や底層貫入に伴う低下な ど,貧酸素化に関する基本的な形成機構は再現すること が出来たと考えられる.



#### 4. 今後の課題

有明海における酸素消費について徳永ら<sup>111</sup>は懸濁物質 による酸素消費速度が底泥の7倍にもなると報告してい る.有明海奥部は有機懸濁物質が輸送集積される場所で あり,そうした懸濁物質が活発に沈降・再懸濁を繰り返 している<sup>301</sup>.懸濁物質の挙動は透明度にも強く影響する. 今後濱田ら(本報告集)が開発している懸濁物質輸送モデ ルを組み込むことで,上記の酸素消費速度や透明度をよ り正確に評価することが重要であると考えている.

#### 参考文献

- 環境省:有明海・八代海総合調査評価委員会-中間取りまと め-.139pp.2006.
- 速水祐一:有明海奥部の貧酸素水塊一形成機構と長期変動一. 月刊海洋, 39, 22-28, 2007.
- 山口創一,経塚雄策:諫早湾における貧酸素水塊形成機構,海の研究,15,37-51,2006.1
- 4)山口創一,速水祐一:有明海湾奥における出水後の低塩分水塊の挙動およびその水質への影響,沿岸海洋研究,46,161-173,2009.2
- 5) Chen C., R.C.Beardsley, G. Cowles: An Unstructured Grid, Finite-Volume Coastal Ocean Model FVCOM User Manual, pp. 315, 2006.
- 6) 濱田孝治,三浦孝之,山本浩一,速水祐一,山口創一,経塚雄策: 数値シミュレーションによる有明海異変の原因解明に向けて, 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集, 69-74, 2008.5.
- 7) Fairall, C.W., E.F.Bradley, J.E.Hare, A.A.Grachev, J.B.Edson:Bulk parameterization of air-sea fluxes: Updates and verification for the COARE algorithm. Journal of Climate, 16, 571-591, 2003
- 8) 海上保安庁水路部:有明海海域環境調查解析報告書, pp79, 2001.8
- 9)中田喜三郎:生態系モデルー定式化と未知のパラメーターの 推定法一,J Adv. Mar. Tech. Conf. Vol. 8, 99–138, 1993.
- 10) 堀口文男、中田喜三郎:沿岸生態系モデルの福岡湾への適用、資源と環境、3、31-45、1994
- 11)徳永貴久・松永信博・阿部淳・児玉真史・安田秀一:有明 海西部海域における高濁度層の観測と懸濁物質による酸素 消費の実験.土木学会論文集,783,117-129,2005
- 12) 相馬明郎, 関ロ泰之, 桑江朝比呂, 中村由行: 東京湾の底生系 における酸素消費メカニズムー内湾複合生態系モデルの解 析ー,海岸工学論文集,55,1206-1210,2008
- 13) 環境省: 平成13年度有明海水質等状況補足調査報告書, pp292, 2002.3
- 14) 環境省: 平成15年度有明海・八代海水質保全調査
- 15) 山本浩一, 速水祐一, 笠置尚史, 宮坂仁, 大串浩一郎, 吉野健

児,平川隆一:有明海奥部における表層底質の分布特性と底 質環境の形成要因,海岸工学論文集,53,961-965,2006

- 16) 安岡澄人,石川知樹,中野拓治,白谷栄作,中田喜三郎:有明 海泥質干潟・浅海域における底泥窒素循環の特製-塩田 川・鹿島川河口域における現地調査および室内実験結果-, Journal of Advanced Marine Science and Technology Society, 11, 59-66, 2005
- 17)小野澤恵一, 鯉渕幸生, 阿部哲也, 寺田一美, 磯部雅彦: 有明 海奥部における栄養塩溶出フラックスの時空間変動, 海岸 工学論文集, 54, 1116-1120, 2007
- 18)山本民次,妹背秀和,橋本俊也,松田治,郷秋雄,中口和光:瀬 戸内海全域の季節別底質調査結果,広島大学生物生産学部 紀要,36,43-49,1997
- 19)山本民次,松田治,橋本俊也,妹背秀和,北村智顕:瀬戸内海 底泥からの溶存無機態窒素およびリン溶出量の見積もり, 海の研究,7,151-158,1998
- 20)田中勝久,児玉真史,熊谷香,藤本尚伸:有明海筑後川河 口域における冬季のクロロフィル蛍光と濁度変動,海の研 究,13,163-172,2004
- 21) 独立行政法人水産総合研究センター:平成18年度環境省請 負業務調査報告書有明海貧酸素水塊発生機構解明調査, pp196, 2007.2
- 22) Ogawa H., T. Usui, I. Koike: Distribution of dissolved organic carbon in the East China Sea, Deep-Sea Research II, 50, 353, 2003
- 23) 熊本港湾・空港整備事務所:平成17年度環境整備船「海 輝」年次報告書―有明海・八代海の海域環境調査結果―, pp151, 2006.10
- 24) 堤裕昭,木村千寿子,永田紗矢香,佃政則,山口一岩,高橋徹, 木村成延,立花正生,小松利光,門谷茂:陸域からの栄養塩 負荷量の増加に起因しない有明海奥部における大規模赤潮 の発生メカニズム,海の研究,15,165-189,2006
- 25) 水産総合研究センター西海区水産研究所:有明海貧酸素水
   塊 広 域 連 続 観 測 (http://www.ariakedo.jp/ariake/top.html)
- 26) 真鍋智昭: 夏季の有明海における大潮・小潮周期の底層貫 入現象に関する研究,九州大学大学院総合理工学府修士論 文, pp90, 2009.3
- 27) 濱田 孝治:MEC Ocean Modelについて. 海と空, 80, 27-36, 2004
- 28) 木元克則・西内耕:二枚貝生産に影響を及ぼす貧酸素水塊の分布特性の把握.有明海の海洋環境の変化が生物生産に及ぼす影響の解明,農林水産省農林水産技術会議事務局, 27-32,2005
- 29) 濱田孝治・速水祐一・山本浩一・大串浩一郎・吉野健児・ 平川隆一・山田裕樹:2006年夏季の有明海湾奥における大 規模貧酸素化.海の研究, 17, 371-377, 2008
- 30) 速水祐一,山本浩一,大串浩一郎,濱田孝治,平川隆一,宮坂 仁,大森浩二:夏季の有明海奥部における懸濁物質輸送とそ の水質への影響,海岸工学論文集,53,956-960,2006

Table.3 生態系モデルに使用したパラメータ

a)植物プランクトンに関するパラメータ

Definitions	Unit	Value
植物プランクトン体中のクロロフィルa対炭素重量比		0.0105
植物プランクトン体中のリン対炭素重量比		0.0002
植物プランクトン体中の窒素対炭素重量比		0.0045
最大可能成長速度	day <sup>-1</sup>	0.893
成長に関する温度係数		0.0633
呼吸速度	day <sup>-1</sup>	0.01
呼吸に関する温度係数		0.0524
光合成の最適光強度	W m <sup>-2</sup>	96.898
最大細胞内リン保持量	µg-at l <sup>-1</sup>	16
最大細胞内窒素保持量	µg-at l <sup>-1</sup>	8
沈降速度	day <sup>-1</sup>	0.173
枯死速度	day <sup>-1</sup>	0.00005
枯死に関する温度係数		0.0693
リンの最大取り込み速度	day <sup>-1</sup>	36
窒素の最大取り込み速度	day <sup>-1</sup>	12
植物プランクトン体のD0対炭素重量比		0.00341
リンに対する半飽和定数	µg-at l <sup>-1</sup>	0.1
アンモニア態窒素に対する半飽和定数	µg-at l <sup>-1</sup>	2
硝酸態窒素に対する半飽和定数	µg-at l <sup>-1</sup>	1

b)動物プランクトンに関するパラメータ

efinitions	Unit	Value
化効率		0.7
物プランクトン体中のリン対炭素重量比		0.02857
物プランクトン体中の窒素対炭素重量比		0.22222
:大成長速度	day <sup>-1</sup>	0.18
長に関する温度定数	-	0.0693
lev定数		0.01
濃度に関する閾値	mgC m <sup>-3</sup>	50
吸速度	dav <sup>-1</sup>	0.0214
吸に関する温度定数	2	0.0637
餌活動に伴うエネルギーの消費割合		0.4
亡速度	dav <sup>-1</sup>	0.00054
亡に関する温度定数	-	0.0693
周鉛直移動速度(上昇)	m day <sup>-1</sup>	0
周鉛直移動速度(下降)	m day <sup>-1</sup>	0
物プランクトンのDO対炭素重量比	, in the second s	0.00351

#### c) その他のパラメータ

Definitions	Unit	Value
POMの0℃における分解速度	day	0.02
POM分解に関する温度係数		0.07
分解余剰物(DOM)の割合		0.25
POMの分解に関するDO濃度の半飽和値	mg l <sup>-1</sup>	1
沈降速度	day <sup>-1</sup>	0.432
DOMのO℃における分解速度	day <sup>-1</sup>	0.00434
DOM分解に関する温度係数		0.0693
DOMの分解に関するDO濃度の半飽和値	mg l <sup>-1</sup>	1
Tave[℃]における海底からのリン溶出速度	mgP·m <sup>-2</sup> ·day <sup>-1</sup>	0.0453
リン溶出に関する強熱減量のベキ乗数		1.8434
リン溶出に関する温度係数		0.1353
Tave[℃]における海底からのNH₄溶出速度	mgN·m <sup>-2</sup> ·day <sup>-1</sup>	0.2157
NH4溶出に関する強熱減量のベキ乗数		2.1346
NH <sub>4</sub> 溶出に関する温度係数		0.0392
0℃におけるアンモニア態窒素硝化速度	day <sup>-1</sup>	0.003
アンモニア態窒素硝化に関する温度係数		0.0693
0℃における亜硝酸態窒素の硝化速度	day <sup>-1</sup>	0.0035
亜硝酸態窒素の硝化に関する温度係数		0.0693
0℃における脱膣速度	day <sup>-1</sup>	0.00155
脱膣に関する温度係数		0.0932
脱窒素がおき始める酸素濃度	mg l <sup>-1</sup>	2.5
アンモニア態窒素の硝化に関するDO濃度の半飽和値	mg l <sup>-1</sup>	0.5
亜硝酸態窒素の硝化に関するDO濃度の半飽和値	mg l <sup>-1</sup>	0.5
POM中のDO対炭素重量比	-	0.0033
DOM中のDO対炭素重量比		0.00312
底泥による酸素消費に関する温度係数		0.0377
再曝気係数	dav <sup>-1</sup>	0.7

Table.5 各一級河川のL-Q式に使った係数(C,n)

	六角川・	妙見橋	嘉瀬川	・川上	筑後川·	瀬の下	矢部川・	船小屋	菊池川	・山鹿	白川・	代継橋	緑川・	城南
	С	n	С	n	С	n	С	n	С	n	С	n	С	n
$NH_4$	8.33E-02	7.75E-01	8.33E-02	7.75E-01	3.67E-02	7.15E-01	2.41E-02	1.09E+00	4.71E-02	1.12E+00	5.59E-04	1.05E+00	4.71E-02	1.12E+00
$NO_2$	2.19E-02	8.13E-01	2.19E-02	8.13E-01	9.02E-03	9.91E-01	1.17E-02	9.64E-01	6.40E-02	6.87E-01	1.17E-03	1.11E+00	6.40E-02	6.87E-01
NO <sub>3</sub>	8.01E-01	1.31E+00	8.01E-01	1.31E+00	1.47E+00	9.02E-01	1.19E+00	1.07E+00	1.80E+00	9.25E-01	1.30E+00	9.94E-01	1.81E+00	9.22E-01
$PO_4$	2.88E-02	1.35E+00	2.88E-02	1.35E+00	9.97E-02	6.52E-01	1.86E-01	5.75E-01	1.52E-01	7.95E-01	1.58E-01	6.14E-01	2.03E-02	1.03E+00
POC	4.00E-02	1.85E+00	4.00E-02	1.85E+00	1.53E-03	2.14E+00	5.14E-04	2.47E+00	1.21E-03	2.41E+00	2.49E-02	2.15E+00	6.74E-03	2.08E+00
PON	3.97E-03	1.85E+00	3.97E-03	1.85E+00	6.47E-04	1.91E+00	1.62E-04	2.22E+00	7.69E-05	2.42E+00	8.32E-03	1.93E+00	5.00E-04	2.08E+00
POP	1.62E-03	1.85E+00	1.62E-03	1.85E+00	1.22E-03	1.73E+00	3.98E-05	2.30E+00	3.11E-05	2.42E+00	5.15E-03	1.88E+00	3.80E-04	2.05E+00
DOC	0.00E+00													
DON	2.01E-01	1.07E+00	2.01E-01	1.07E+00	2.24E-01	9.79E-01	1.89E+00	4.30E-01	1.37E-03	1.86E+00	2.83E-01	8.82E-01	2.64E-01	1.05E+00
DOP	2.88E-02	1.35E+00	2.88E-02	1.35E+00	9.37E-02	8.33E-01	2.59E-01	5.92E-01	6.32E-03	1.46E+00	8.74E-02	8.35E-01	5.34E-02	9.55E-01

(2009.3.31受付)

### 有明海奥部における2008年夏期のシャトネラ赤 潮とその競合種の動向

THE OCCURRENCE OF *CHATTONELLA* BLOOM AND FLUCTUATION OF PHYTOPLANKTON DURING SUMMER SEASON IN INNERPART OF THE ARIAKE SEA IN 2008

吉田 誠<sup>1</sup>・片野俊也<sup>2</sup>・山口創一<sup>3</sup>・速水祐一<sup>4</sup> Makoto YOSHIDA, Toshiya Katano, Soichi YAMAGUCHI and Yuichi Hayami

<sup>1</sup>博(農) 佐賀大学特別研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>博(理) 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>3</sup>博(理) 佐賀大学研究機関研究員 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>4</sup>博(農) 佐賀大学准教授 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Temporal fluctuations of Phytoplankton and environmental factors were monitored at several sites positioned at inner part of the Ariake Sea during summer season in 2008. The diatoms, *Skeletonema*, *Chaetoceros* and *Thalassiosira* intensively bloomed above the halocline formed by the river discharge due to the rainfall. Their cell number reached 21,000 cells/ml at the early July and 43,000 cells/ml at the late August. The raphidophyceae *Chattonella antiqua* and *C. marina* were appeared at the late of July and caused discoloration of coastal water in the middle August. The maximum cell number was 2,400 cells/ml at the innermost station and 14,000 cells/ml at the Shin-Ariake Fishing port. This genus occurred at the period of highest temperature in Ariake Sea. Two dinoflagellates *Ceratium furca* and *C. fusus* were also observed but their redtides were not observed. The former species was appeared in advance of *Chattonella* spp., where the latter species was often occurred with *Chattonella* spp.

Key Words : Phytoplankton, Red tide, Chattonella, Raphidophyceae, Diatom, Dinoflagellate

#### 1. はじめに

有明海をはじめとする,河川からの流入が豊富な閉鎖 性の内湾では,一般に栄養塩が豊富であり,高い一次生 産が維持されている.有明海においては,この一次生産 の産物を,直接的には冬のノリ養殖によって,間接的に は微細な藻類を餌にする,魚や貝を収穫することによっ て利用している.ただ栄養が豊富でも,海で生産される 海藻や微細藻類が,いつも人間の都合のいいように増え てくるとは限らず,有害な赤潮が発生したり,さらにそ れが死滅すると貧酸素現象の原因にもなり得る.海藻の 場合は,条件に適した海洋環境であれば,有明のノリや 北海道のコンブのように,養殖によって特定の海藻を得 ることができる.しかしながら,植物プランクトンや底 棲珪藻のような微細藻類をコントロールするのは非常に 難しい. このため,有明海に発生する微細藻類が,いったいどのような環境の時に増殖する,あるいは赤潮となるのか,ということを理解しなくてはならない.

著者らは有明海の赤潮発生機構を明らかにするために、 植物プランクトンとその発生環境について調査を行なっ た.本年度は、ラフィド藻の*Chattone11a*属の赤潮の発 生が確認され、本種の発生前から赤潮の終息までの動向 を追うことができた.この詳細は別に発表準備中である.

どの種が赤潮を形成するにせよ、赤潮前には様々な種 が存在しており、それぞれが増殖の機会を窺っていたは ずである. 有明海において、どのような海況が、どの種 の増殖に有利に働くかは不明な点が多い. この点を明ら かにするためには、様々な植物プランクトンの挙動とそ の時の環境についての知見を蓄積し、解析していくこと が重要である. そこで本報では、2008年度の主要な植物 プランクトンの発生状況と、環境要因について記載した.



#### 2. 方法

調査は傭船により、2008年7月6日から8月26日まで、 有明海奥部西側から諫早湾にかけての定線上の4地点で、 概ね毎週2回調査を行った(図-1).各地点において、採 水および多項目水質計(JFEアレック製AAQ1183)による 測定を行った.多項目水質計による測定結果について、 本研究では深度別の水温・塩分を用いた.採水は0m,2m, 5mおよび海底直上1mで行った.調査期間中の降水量・潮 汐を気象庁のウェブサイトから引用した.降水量は佐賀 市、潮位は大浦のものを用いて観測時の潮位等を確認し た.また船舶による調査中や岸からの目視によって、海 水に着色が認められた場合には位置を確認の上、適宜採 水を行ない、他のサンプルに準じて分析を行なった.

採水した試料のうち,一部は栄養塩測定用試料とし, 0.4µmのシリンジフィルターで濾過後,-20℃で冷凍保 存した.この試料をオートアナライザーを用いて<sup>1)</sup>,硝 酸態窒素,亜硝酸態窒素,アンモニウム態窒素,リン酸 態リン,ケイ酸態ケイ素を測定した.

植物プランクトン観察用試料は、固定・濃縮すること なく、25 $\mu$ 1~1mlをスライドグラス、または界線入り計 数板を用いて、出現した植物プランクトンを同定・計数 した. 観察の結果、調査期間中に、*Chattonella antiquaとC. marina*の2種の*Chattonella*属が観察された. しかし両種の形態は、しばしば重複することが知られて いるため<sup>20</sup>、本研究ではこの2種を*Chattonella* spp. と して扱った. 実際には大半がantiqua型で、小型の marina型は少なかった.

#### 3. 結果および考察

#### (1) 気象・潮汐

2008年7月・8月の佐賀市の降水量と大浦港の潮位を図 2に示す.本年の梅雨明けは7月6日であった.梅雨明け 前1ヶ月間の降水量は約630mmで,調査期間の多くが含ま れている,梅雨明け後1ヶ月の降水量の30mmの20倍以上 に相当した.調査の後期の8月15日頃からは降水があっ た.期間中には大潮は四回あり,調査開始日が大潮の終 わりであったほか,潮位差のピークは7月21日,8月2日 および18日頃であった.



図-2 佐賀市の降水量と大浦港の潮位.

#### (2) 水温・塩分

奥部測点T2では、水温は26.3~31.7℃の間で変動し、 塩分は22.4~28.6の間で変動した。梅雨明けおよび8月 中旬の降雨後には、河川からの淡水流入の影響が強く、 表層の塩分は低下した。また表層の水温は高温で推移し たため、河川からの淡水流入が多い時期には、強い成層 が形成された。逆に降雨の少なかった時期には鉛直的な 水温・塩分差が小さくなり、大潮時には混合し、小潮時 には弱い成層を形成する傾向が認められた。

沖合いの測点P6では、水温は21.9~31.0℃の間で変動 し、塩分は23.0~31.0の間で変動した.また測点P1では、 水温は21.7~29.9℃の間で変動し、塩分は23.9~31.5の 間で変動した.この両測点では、観測期間中を通じて成 層が形成されていた.

諫早湾に位置する測点B3では、水温は22.14~29.33℃ の間で変動し、塩分は25.9~31.4の間で変動した.この 海域では7月中は成層が形成されていたが、表層の塩分 が上昇し、また底層の水温も上昇したために、しばしば 鉛直混合していた.

#### (3) 栄養塩の分布

#### a)ケイ酸態ケイ素

4測点におけるケイ酸態ケイ素は41.4~194 μMの間で 変動した.ケイ酸態ケイ素は珪藻の増殖には不可欠であ るために、梅雨明け後の珪藻が卓越が続いた時期には、 表層で低い傾向が認められた. 珪藻が利用するケイ酸態 ケイ素の量は、窒素の2倍程度であるとされている<sup>3</sup>が、 本調査では著しく窒素量が少なかったことから、他の栄 養塩に比べて高い割合で存在し、ケイ酸態ケイ素の枯渇 が珪藻の増殖を制限することはなかったとみられる.

#### b) 溶存態無機リン酸態リン (DIP)

DIPは0.07~2.82 µMの間で変動した.測点T2の表層 では、3回の濃度のピークが認められ、増減を繰り返し ながらも比較的高濃度で推移した.このピークは降水量 の少ない時には大潮と一致しており、潮間帯や潮下帯の 海底からの溶出による供給が考えられる.珪藻が卓越し た時期は濃度が低下したものの、7月17日から *Chattonella* spp.の終息までは、多くの場合1µM以上存 在した.他の3地点における、表層のDIP濃度の変動傾向 は類似しており、奥部と同様に珪藻が卓越した時期には 低下したものの、徐々に増加した.*Chattonella* spp.の 発生期間中は比較的高濃度で推移し、*Chattonella* spp. が出現していた時期には0.5~1µMを超えていた.各地 点とも底層はさらに高濃度で推移した.



#### c) 溶存態無機窒素 (DIN)

DINは検出限界から19.28 μ Mの間で変動した. 変動の 様態は測点ごとに異なった. また窒素源の形態によって も変動は異なった.奥部測点T2では、アンモニウム態窒 素はDIPと同様に、大潮時にピークが認められた. 硝酸 態窒素は、梅雨明け直後と8月半ばの降雨時に高くなっ ており、供給源として河川からの流入が大きいとみられ る. 沖合いや諫早湾の測点の表層付近では、DINは低く、 0.1µMに満たなかったことも多かった. 特に沖合い2点 では*Chattonella* spp. 発生期間中は5m以浅ではほぼ枯渇 した. またこの2点の底層では, Chattonella spp. 発生 当初はDINは高濃度であったが、8月3日頃から急激に減 少した. この底層の急激なDINの減少は珪藻が卓越して いた時期にはみられず, Chattonella spp. が顕著に認め られるようになってからの現象である. この現象につい てはChattonella spp.の生態と密接な関係があるとみら れており、詳細は(5)で述べる.



#### d) DIN/DIP比

DINが0.1µM以上の時のDIN/DIP比は、0.09~15.96の 間で変動した.DIN/DIP比が1未満,すなわちDIN<DIPで あることも多く、特に沖合いの測点P6とP1の5m以浅では 高頻度であった.植物プランクトン細胞内の窒素とリン の比は、環境によって変化することが実験により知られ ているが<sup>4</sup>、主要な珪藻である*Skeletonema*の例ではN欠 乏条件下でも4:1程度であり、DINが植物プランクトン増 殖の制限因子となっていたケースが多かったとみられる.

#### (4) 総細胞数および珪藻類

各測点の表層の植物プランクトンの総細胞数を図5に、 細胞数の割合を図6に示す.奥部の測点T2における総細 胞数は、表層で159~43,000 cells/mlの間で変動した. 梅雨明け直後である調査開始時には、珪藻で占められて おり、Skeletonema、Chaetoceros、Thalassiosiraの3属 の珪藻が総細胞数の95%を占めた.これら3属の珪藻は、 7月30日にChattonella spp.が100 cells/mlを超えるま で、細胞数の増減を繰り返しながらも、総細胞数の89~ 99%を占めた. Chattonella spp.の最初のピークとなっ た8月1日には、珪藻3属の割合が40%まで低下したが、そ れ以外の調査日は、これら3属が常に85%を越えていた.

測点P6における表層の総細胞数は26~21,500 cells/mlの間で変動した.調査開始時には、奥部の測点 T2と同様に、Skeletonema、Chaetoceros、Thalassiosiraの3属が総細胞数の98.7%を占めた.これら3属は Chattonella spp.が100 cells/mlを超える8月1日まで93 ~99%を占めた.その後急激に減少し、1,000 cells/ml に満たない状態が続いたが、8月中旬の降水後急激に回 復し、8月26日には15,000 cells/mlを超えた.

測点P1の表層では、総細胞数は186~17,800 cells/ml の間で変動した.調査開始時には前述の測点と同様に、 珪藻3属が大半を占め、*Chattonella* spp. が100 cells/mlを超える8月3日まで86.5~99.7%を占めた.測 点P6と同様に、8月上旬~中旬に減少し、後に急増した.

諫早湾の測点B3においては、総細胞数は表層で53~
9,113 cells/mlの間で変動した.調査開始時には珪藻で
占められていたが、Skeletonema、Chaetoceros、
Thalassiosiraの3属の占める割合は、7月13日までは総
細胞数の83.5~99.8%を占めていたものの、7月17日には
51%まで急激に低下し、8月19日まで300 cells/mlに満た
ない状態が続いたのち、8月26日に再び急増した.なお
この海域では、Thalassiosira属の寄与は低く、表層で
は7月6日と8月26日にしか観察されなかった。

浮遊性珪藻は、海洋において多くの種が知られている が<sup>5)</sup>,沿岸、特に夏期の有明海や八代海では*Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Thalassiosira*が卓越し<sup>6),7</sup>,河川からの 出水が多かった場合、大量の栄養塩が供給されるために、 珪藻が大増殖することが知られている.2006年は7月の 降水量が、有明海や八代海沿岸で非常に多かったが<sup>6),8</sup>, 河川の出水後に、これら珪藻3属が高密度で出現してお り、本年もこの点で一致していた.有明海においては、 夏期の河川の出水後には、高い確率でこれらの珪藻が卓 越するものと考えられる.なお、これら3属は常に一定 の割合ではなく、図6のように、3種の組成には測点間に も、時系列的にも変化が認められている.これら珪藻間 の増殖特性については、今後の課題である.



#### (5) Chattonella属

各地点の*Chattonella* spp.の変動を図7に示す.図7では鉛直分布を考慮して,各調査日の最大細胞数を記録した層の細胞数をプロットしている.

奥部測点T2で最初に*Chattonella* spp. が確認されたの は、7月13日の表層であったが、0.25 cells/mlに過ぎず、 以後24日までは観察されなかった.24日になると全層で 3~4cells/ml確認され、その後8月1日には全層で増加し、 表層で1,550 cells/mlとなった.その後一旦減少した後 に、14日に再びピークとなり、表層で2,400 cells/mlを 記録した.



図-6 測点表層における植物プランクトンの組成比

測点P6において最初に*Chattonella* spp. が確認された のは7月21日で、その後0~5mでは8月3日に一旦ピークに 達し、やや減少後8月19日に再びピークに達し、8月21日 には全くみられなくなった.底層では8月10日まで増加 した後減少し、8月21日には全くみられなくなった.

測点P1において最初に*Chattone11a* spp. が確認された のは7月17日で、0~5mでは8月3日に一旦ピークに達し、 やや減少した後、8月19日に再びピークに達した. 底層 では8月3日に初めて観察されたが,8月10日の38 cells/mlが最大であった.



図-7 各測点における*Chattonella* spp. (▲) および*Ceratium* furca (■), *C. fusus* (◆) の細胞数の変動. 細胞数は各調査 日の最大値を記録した層の値を用いている.

測点B3で最初に*Chattonella* spp. が確認されたのは, 7月21日の表層で,1 cell/ml確認されたが,その後しば らく出現はなかった.ところが8月3日に表層~5m層にお いて急に16~86 cells/ml出現した.これらの層では8月 7日にピークとなり,一旦減少した後,8月19日に若干増 加し終息した.底層では8月7日に247 cells/mlが急に出 現し,その後減少した.

7月28日には、南寄りに位置する大浦港の岸近くで着 色が確認されたため調査を行なったところ、9,100 cells/mlの*Chattonella* spp. が確認され、翌29日には 13,600 cells/mlとなった.大浦港では7月31日には390 cells/mlに減少したが、8月3日以降は同港内では900~ 8,000 cells/mlと高密度で推移していた.また8月10日 には、奥部西寄りに位置する、新有明漁港で14,000 cells/mlとなり、14日にも9,900 cells/mlとなった.

水深の深い測点P6やP1では, Chattonella spp.は, 旦出現すると絶えることはなかったが、これらの海域の 表層の栄養塩は、DINを中心に枯渇しており、一見増殖 に適さない環境にみえる.しかし底層のDIN濃度に着目 すると、7月下旬まで豊富であったものが、8月上旬に急 減していた(図4). これはChattonella spp. が最初の ピークを迎えた時期と一致している. Chattonella属を はじめ多くの鞭毛藻では,鉛直移動が知られており<sup>9</sup>, Chattonella属も水深10m程度までは移動が可能であると 考えられている<sup>10)</sup>. 我々も*Chattonella* spp. が鉛直移動 していることを別の調査で確認している11). 沖合い域の Chattonella spp.は、鉛直移動を行うことにより、遊泳 力を持たない珪藻が利用できなかったDINを利用し、増 殖したものと考えられる.一方,水深の浅いT2やB3では, 一度は少数観察されたものの,しばらく姿を消した後, 突然急増するという傾向が認められた. このため最初の ピークの直前に、沖合いなど他所から細胞が運ばれ、増 殖したものと考えられる.

本種の出現は、水温が最も高い時期と一致していた. 奥部の測点T2で、2回の細胞数のピークがみられた際の 水温は、30.4℃と30.6℃であった.山砥ら<sup>12)</sup>の培養実験 によると、諫早湾の2種の*Chattonel1a*の培養株は、30℃ で増殖速度が最大となり、32.5℃でも増殖が可能であっ た.このことから、この時期の水温は有明海の同種の増 殖に最も適した水温であったといえる.*Chattonel1a* spp.は、8月下旬に全海域で急に姿を消した.この時期 には降水があり、塩分が25程度まで低下したことが、大 きな環境の変化であった.山砥ら<sup>12)</sup>の実験結果から判断 すると、この塩分は増殖を阻害するほどの低塩分にはあ たらないが、急激な塩分の低下が植物プランクトンの増 殖を抑制するという実験例<sup>13)</sup>もあり、*Chattonel1a* spp. の終息と塩分低下の関連も否定はできない.

#### (6) **渦鞭毛藻類**

有明海では、渦鞭毛藻による赤潮の発生例も多い<sup>12,14)</sup>. 本調査では*Ceratium furca*, *C. fusus*が100 cells/ml以 上出現した. 図7に両種の合計の細胞数の変動を示す.

Ceratium furcaは、7月中下旬によく出現した.特に 珪藻のブルームが小規模であった諫早湾では、本種とC. fususが高い割合を占めていた.また7月28日・29日の大 浦港では、赤潮状態のChattonella spp.に混ざって、67 ~190 cells/mlが認められた.しかしこの大浦港の2例 を除くと、Ceratium furca とChattonella spp.が同時 に大量に出現することはなかった(図8).一方 Ceratium fususは、前種よりやや遅く、Chattonella spp.よりやや早く出現し、そしてより長期間観察された. また測点P1に比較的多くみられた.P1およびP6では、 Chattonella spp.が最初にピークとなった日に本種も ピークとなっているなど、Chattonella spp.と同時に出 現することも多かった(図7). 諫早湾の過去の赤潮の 記録によると<sup>14)</sup>, Ceratium furcaは1990年代に2回赤潮 を引き起こしているが, C. fususの赤潮の記録はない. これは, C. fusus の至適増殖環境がChattonella spp. のそれと似ているが, その環境がChattonella spp.の増 殖により有利であるために, C. fususの大増殖が抑えら れているのかもしれない.



図-8 *Chattonella* spp. と*Ceratium furca*の細胞数の関係. ただし7月28日・29日の大浦港の試料を除く(本文参照).

#### 4.結論

2008年夏期の有明海においては、珪藻のブルームが、 梅雨明け後と、8月中旬の降雨後に発生し、その間に Chattonella spp. が増殖した.また、沖合においては、 珪藻が利用できなかった底層の栄養塩を, Chattonella spp. が鉛直移動によって利用し増殖したことが示唆され た、しかし奥部や陸近くでの増殖については不明な点が 残されている. 珪藻と鞭毛藻の競合については、一般化 された形での説明がなされているが15,16),詳細な現象の 把握には、それぞれの海域の特性の理解が必要である. 特に日本の他の内湾と異なった特徴の多い有明海では、 他海域とは異なる機構で植物プランクトンの増殖や赤潮 発生が制御されている可能性があり、興味が持たれる. その解明のためには短期間の調査では不十分であり、継 続的に研究を行っていく必要がある. また有明海の植物 プランクトン生態を研究することは、この海域の特徴を 理解する上でも重要な意味を持つと考えられる.

謝辞:本研究の現場調査にあたって,(独)水産総合研究 センター西海区水産研究所,有明海・八代海漁場環境研 究センター,小谷祐一センター長には多大なる支援を 賜った.また佐賀県有明水産振興センターの方々には試 料および環境データを恵与していただいた.ここに感謝 の意を表する.

#### 参考文献

 Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R.: A practical handbook of seawater analysis, Fisheries Research Board of Canada, 1972.

- 福代康夫,高野秀昭,千原光雄,松岡数充:日本の赤潮生物, 恒星社厚生閣,1990.
- Brzezinski, M.A.: THE Si: C: N ratio of marine diatoms: Interspecific variability and the effect of some environmental variables 1, *J. Phycol.*, Vol.21, pp.347-357, 1985.
- 4) Harrison, P.J., Conway, H.L., Holmes, R.W. and Davis, C.O.: Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis, Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira* gravida, Mar. Biol, Vol.43, pp.19-31, 1977.
- Tomas, C.R. and Hasle, G.R.: *Identifying marine phytoplankton*, Academic Press, 1997.
- 6)長副聡,島崎洋平,松原賢,紫加田知幸,山崎康裕,吉田幸史, 久野勝利,大嶋雄治,本城凡夫:有明海奥部,塩田川河口海 域における物理・化学的要因と植物プランクトンの増殖との 関係,沿岸海洋研究, Vol.46, pp.141-151, 2009
- 吉田 誠、芝田久士、西田泰輔、大和田紘一: 八代海の海況と 植物プランクトンの動態、月刊海洋、Vol.37, pp.19-23, 2005.
- 8) 吉田誠, 永田大生, 岩竹悠里, 川野義樹, 生地暢, 櫻田清成, 大和田紘一: 八代海における夏期の植物プランクトンの短期 的変動, 熊本県水研センター研報, Vol.8, p. 27-33, 2009.
- Cullen, J.J. and Horrigan, S.G.: Effects of nitrate on the diurnal vertical migration, carbon to nitrogen ratio, and the photosynthetic capacity of the dinoflagellate *Gymnodinium splendens*, *Mar. Biol.*, Vol.62, pp.81-89, 1981.
- Nakamura, Y., Umemori, T. and Watanabe, M.: Chemical environment for red tides due to *Chattonella antiqua*, Journal of Oceanography, Vol.45, pp.116-128, 1989.
- 11) Katano, T., Yoshida, M., Yamaguchi, S., Lee, J., Han, M.S. and Hayami, Y.: Studies on dynamics of *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) in the Ariake Sea: Development of fixative and investigation of diel vertical migration pattern in the sea, 本成果 報告集.
- 12) 山砥稔文, 坂口昌生, 岩滝光儀, 松岡敷充: 諌早湾に出現す る有害赤潮鞭毛藻 4 種の増殖に及ぼす水温, 塩分の影響, 日本水産学会誌, Vol.72, pp.160-168, 2006.
- 13) Shikata, T., Nagasoe, S., Oh, S.J., Matsubara, T., Yamasaki, Y., Shimasaki, Y., Oshima, Y. and Honjo, T.: Effects of Down-and Up-shocks from Rapid Changes of Salinity on Survival and Growth of Estuarine Phytoplankters, J. Fac. Agr., Kyushu Univ., Vol.53, pp.81-87, 2008.
- 14) 松岡數充: 諫早湾における赤潮原因プランクトンの最近の 変化,月刊海洋, Vol.35, pp.246-251, 2003.
- 15) Margalef, R., Estrada, M. and Blanco, D.: Functional morphology of organisms involved in red tides, as adapted to decaying turbulence, *Toxic dinoflagellate blooms*, Elsevier, pp.89-94, 1979.
- 16) Smayda, T.J.: Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea, Limnol. Oceanogr., Vol.42, 1137-1153, 1997.

(2009.3.31受付)

## 有明海湾奥部に流入する河川の感潮域における 流れと土砂動態に関する現地調査

RESEARCH ON FLOW AND SEDIMENT TRANSPORT IN MOUTH OF A RIVER THAT FLOWS INTO THE ARIAKE SEA

#### 平川隆一1・大串浩一郎<sup>2</sup>・大本照憲<sup>3</sup> Ryuichi HIRAKAWA, Kouichiro OHGUSHI and Terunori OHMOTO

<sup>1</sup>博(工) 佐賀大学助教 理工学部都市工学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>2</sup>工博 佐賀大学准教授 理工学部都市工学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>3</sup>工博 熊本大学大学院教授 自然科学研究科(〒860-8555 熊本市黒髪2丁目39番1号)

The loading measure of the material that flows into the sea from the river requests from the flow rate and the material density measured from the estuarine basin in the upstream or is often estimated by the basic unit law. However, there are possibilities that the outflow is greatly different in the estuarine basin upper pole of kidney and the mouth of a river if the chemistry and the living thing change are received in the tide river channel. The effect of the filtration of seawater in the tide river channel in Chikugo River was attempted in 18 fiscal year and the recognition was attempted quantitatively by the site investigation and the data analysis.

This time, the examination was done to Kikuchi River which were other class A riversat the spring tide.

Key Words : Ariake Sea, Estuary, Suspended Sediment, Tidal Flow

#### 1. はじめに

有明海に流入する河川感潮域を対象にし、河川から海 に流入する物質フラックスの調査を進めている. 既報で は筑後川を対象とし<sup>1)</sup>,筑後川では有明海から流入,早 津江川では有明海へと流出する傾向であることが明らか となった.また前報<sup>20</sup>では、緑川と菊池川について調査 を行い、緑川河口域の土砂輸送量は上げ潮では下げ潮に 比べかなり大きいこと確認された.菊池川では河口近く にある石刎背後の流動を調べた.このような河口近くに 設置された石刎は、有明海への土砂輸送、あるいは有明 海から河川への土砂輸送に大きな影響を与えると考えら れるが、前報では石刎背後のみの調査に止まっていた.

そこで本研究では,前報での計測範囲を拡大し,澪筋 部まで含めた横断面内の平均土砂輸送量の調査を行った ので報告する.

#### 2. 研究対象地および観測方法の概要

調査日は平成20年9月2日(中潮)とし,研究対象地は菊





池川河口域から2.4km付近左岸と設定した.図-1および 図-2には、それぞれ対象地における水位波形と測線の位 置を示す.

測線は図横断面内の流況に対して、10mの等間隔で12 測線を設定した.境界条件として、左岸上流に石積水制 があり、測線L3および測線L7 付近に、流速を抑えるた めに水制杭が設置されている.また河道内には平成18~ 19年度に覆土が施されている.

観測では米国RD Instruments社製 船舶搭載型 Workhorse ADCP(1200 kHz)を用いて観測を行った. 設定 層厚, 層数はそれぞれ0.15m, 50層である. 昨年度使用 した<sup>2)</sup>Stream Pro ADCPは最大測定水深が2mであり、最 大水深が5m以上の平成20年における観測対象地には適し ていないためラジコンボートに搭載したWorkhorse ADCPを用いた. なお、ラジコンボートを用いたADCP移動 観測は操作性、機能性に優れているため、既に多くの研 究によって計測性能の評価<sup>3),4)</sup>, 観測<sup>5)</sup>が行われている. 土砂濃度についてはADCPから流速と同時に得られる水中 散乱体からの反射強度を利用して水中散乱体である懸濁 粒子の分布が推定できるため<sup>6),7)</sup>,本研究では,水質 チェッカー(WQC-20A)とADCPを定点で同時観測し、濁度 とADCPの超音波反射強度との変換式を算出した.また、 ガタ土の堆積厚および粒度分布についての計測にはハン ディ・ジオスライサーを用い、各側線上における河岸か ら横断方向に35mの長さを設定し、2.5m間隔で計測した.

#### 3. 計測結果と考察

#### (1) 主流速UとSS-fluxの横断面分布

測線L1で観測された主流速U(cm/s)の横断面分布を等 値線で示したものを図-3,4に示す.また,SS-fluxの横 断面分布図については,ADCPの反射強度データと濁度計 のSS濃度をもとに算出し,作成したものを図-5,6に示 す.単位はSS-flux(kg/m<sup>2</sup>/s)とし,図中の値は上流方向 を正とした.

この結果、主流速の全体的な傾向として、上げ潮では





底面付近で主流速が30~50cm/sという値を示している. また,鉛直方向では,主流速の変化が小さく,水際から 離れるにあたって大きくなる傾向にある.一方,下げ潮 時には鉛直方向の速度変化が大きく,覆土上では上流方 向の流れが生じており,ガタ土堆積の要因となっている ことが認められる.また,上げ潮においては水面付近に 比べ覆土上でSS-fluxの値が大きくなっている.この原 因としては,上げ潮の主流速が底面付近でも大きいため, 堆積したガタ土が巻き上げられ再懸濁が起こっていると いうことが考えられる.

一方、下げ潮においては覆土上に比べ水面付近で高い SS-fluxの値を示した.この原因として、下げ潮は主流 速が鉛直方向に変化していることが関係すると考えられ る.

#### (2) 養浜場におけるガタ土の堆積

図-7は、石積水制直下流の養浜上のガタ土堆積分布を示したものである。河口から1.8km~2.4km区間の左岸水際部において養浜事業が実施されたが、砂質性の養浜上には、約6ヶ月経過後にほぼ全域に亘ってガタ土が堆積し、ガタ土の堆積厚は水際で大きく、流心方向に漸減する傾向を示した。また、x=70mおよび100mにおいては、養浜上に透過型の木杭上向き水制が設置されており、x=60mにおける木杭水制根付部上流側ではガタ土の堆積厚さは極大値を示し、約40cm程度だった。

#### (3) 養浜場における平面流況

ADCPによる横断面流況の計測結果をもとに、最強流の 上げ潮時と下げ潮時の水深で平均化した流速ベクトルを 図-8および図-9に示す.図-7および図-8から、上げ潮時 の流速ベクトルが小さい流域でガタ土の堆積厚が大きい 値を示しているという関係性が見られる.また、上げ潮、 下げ潮とも全ての計測線において水際部での流速が流心 部に比べ小さい値を示している.

#### (4) 養浜場におけるガタ土の堆積

水面から0.5mとADCPで測定される水深hとの距離と先 に述べた横断面のSS濃度により、各側線の単位時間にお ける横断面平均土砂輸送量(kg/s)を次式から求めた.

$$Qs = \int U \cdot Q \, dA \tag{1}$$

ここで、ŪおよびCは、それぞれ水深zでの縦断方向流 速と懸濁物質濃度を平均化したものである. 各側線にお ける横断面平均輸送量の推移を表した折れ線グラフを図 -10に示す. この結果より、河口から2.34kmより上流で は、上げ潮時の土砂輸送量が下げ潮時のものを上回って おり、ガタ土の堆積傾向が認められる.また、上げ潮時 は河口から2.36km付近と2.38km付近で土砂輸送量の減少 が見られる. これ原因として、水際部に設置された杭水 制により流速が低減され、堆積が起こっていることが考 えられる.

#### 4. おわりに

本研究により得られた知見は以下の通りである.

- SS-fluxは、上げ潮時には堆積したガタ土が再懸濁 するため、覆土上で大きい値を示す。逆に下げ潮 時は、水面付近の主流速が大きいため水面付近で 大きい値を示すというように、SS-fluxには主流速 の影響が顕著に表れる。
- 2) 石積水制の直下流域に当たる覆土上では、下げ潮時に上流向きの流れが生じていることから、上げ潮時に遡上したガタ土が覆土上から流出されず、 堆積傾向にある.
- 3) 水際付近や杭水制付近では、流速が小さくなっている部分で、ガタ土の沈降・堆積が進み堆積厚も大きくなっているという関連性が見られた。
- 4) 横断面平均土砂輸送量の図から、石積水制直下の 水際部では上げ潮による土砂輸送量が下げ潮によ る流失量を上回っていることが確認された.また 杭水制は輸送量を低減させ、付近での堆積を促進 する効果があると考えられる.

今後の課題として、ADCPにより観測された流速の鉛直 方向成分と土砂の巻き上げについての考察を行っていく





ことが挙げられる.

1000

謝辞:現地調査において、山崎祥吾君と多久義宣君の協力を得た.ここに記して感謝の意を表す.

#### 参考文献

- 平川隆一,速水祐一,山本浩一,横山勝英,大串浩一郎,濱 田孝治:筑後川感潮域における水理特性と物質輸送,平成18 年度 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集, 2007.
- 2) 平川隆一,速水祐一,山本浩一,横山勝英,大串浩一郎,濱 田孝治,大本照憲:感潮域河口の流動と土砂動態に関する現 地観測,平成19年度 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト 成果報告集,2008.
- 3) 橘田隆史, 岡田将治, 新井励, 下田力, 出口恭: ラジコン

ボートを用いたADCP移動観測の計測精度評価法に関する一 考察,河川技術論文集,第14巻,pp295-330,2008.

- 4) 島田友典,渡邊康玄: ADCPを搭載したラジコンボートによ る流水中の流速測定精度,土木学会第62回年次学術講演会概 要集,pp.211-212,2007.
- 5) 岡田将治,橘田隆史,森本精郎,増田稔: ADCP搭載無人 ボートを用いた四万十川具同地点における洪水流観測,水工 学論文集,第52巻,2008.
- 川西 澄,小谷英史,余越正一郎,:超音波ドップラー流速計 を用いた感潮域の流動と懸濁物質濃度の現地観測,1996,海 岸工学論文集.第44,巻,pp1081-1090,1996.
- 7)国土交通省 国土技術政策総合研究所:国土技術政策総合研究所資料 沖積河川の河口域における土砂動態と地形・底質変化に関する研究,2002.

(2009.3.31受付)

## 微生物相研究部門

Research Division of MICROBIAL TECHNOLOGY

## Vibrio vulnificus に感染するバクテリオファージの検索

#### DETECTION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGE INFECTIOUS TO VIBRIO VULNIFICUS

#### 神田康三<sup>1</sup>·松本浩一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>農博 佐賀大学教授 農学部生命機能科学科 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup>医学 佐賀大学助教 有明海総合研究プロジェクト (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

*Vibrio vulnificus* is a halophilic, gram-negative bacterium that thrives in tropical and temperate estuarine environments throughout the world, and is known to commonly contaminate fish and/or filter-feeding shellfish such as oysters. After ingestion contaminated sea food, predisposed people may experience highly lethal septicemia. The extremely rapid progression of the disease can render antibiotic treatment ineffective, and death is a frequent outcome. In 1980s, relatively many cases of the incidence of the disease caused by *V. vulnificus* infection were begun to be reported in the western area of Japan, especially coastal area of the Ariake Sea. Though this bacterium infectious disease leads the drastic result for patients, its incidence is really restricted. It is revealed that the pathogenicity is sometimes transmitted among related bacteria by bacteriophage infection. This phenomenon known as the phage conversion is well investigated in the acquisition process of pathogenicity in *V. cholerae*. On the other hand, the application of bacteriophage as bactericidal substance instead of antibiotics is developing now in the world. In this study, we attempted to isolate bacteriophage to examine its potential use for therapeutic agents against the bacterial infection and also investigated the possibility of phage conversion as the acquisition process of pathogenicity in this bacterium.

Key Words : Vibrio vulnificus, bacteriophage, phage therapy, phage conversion

#### 1. はじめに

Vibrio vulnificus は耐塩性を示す通性嫌気性グラム陰性 細菌で温帯から熱帯にかけての海水中(特に汽水域)に広 く分布しているが、その発見は1976年 New England沿岸海 域における創傷部感染による下肢壊死とエンドトキシン ショョックの一例が報告されたことに始まる<sup>1)</sup>。発見当初、本 菌はV. parahaemolyticus に分類されていたが、1979年 V. vulnificus として新たに分類され<sup>2)</sup>、現在に至っている。本菌 による感染症の発症は創傷部感染がその発見の始まりであ るにも関わらず、わが国では1978年に激烈な経過を経て死 亡に至った症例の報告<sup>3)</sup>以来、主に肝疾患患者の生鮮魚介 類摂取において顕著であり、1980年以降に西日本(特に有 明海沿岸領域)を中心に比較的多数の症例報告がなされる ようになった<sup>4)</sup>。また、米国ではフロリダ州を中心としたメキシ コ湾沿岸域で多数の報告例があり、この原因のほとんどが 本菌に汚染された生カキの経口摂取とされている。 本菌による感染症では体内での急速な細菌増殖の結果 である敗血症性ショックとして致死するケースが多いことから、 その治療としては抗生剤投与のもと、壊死組織の除去や患 肢の切断がなされるものの、必ずしも有効とは言えないのが 現状である。このため、感染症防止のための消毒法を含め た予防法の確立が急務となっている。しかしながら、生鮮魚 介類の消毒法では人体への影響を考えると、一般に考えら れる殺菌剤の使用には多くの問題がある。

ところで、ウイルスは絶対寄生性の微生物であり、生細胞 に感染したときのみ被感染細胞の代謝系を利用して増殖が 可能となり、これまでに動物、植物および細菌やカビなどに 対して感染可能なものが知られている。特に、細菌に感染 可能なウイルスは「細菌を喰らうもの」という意味からバクテリ オファージ(もしくは省略してファージ)と呼称されている。

ウイルスが増殖するためにはその宿主細胞に絶対的に 依存することから、その細胞形態から考えても動物細胞に植 物ウイルスは感染不能であり、植物細胞に動物ウイルスが 感染不能であることは容易に理解できる。また、細菌と動植 物細胞はそれぞれ原核細胞と真核細胞に明確に区別でき る細胞形態をとることから、細菌に感染するウイルス(バクテ リオファージ)が動植物に感染する可能性は皆無と言ってよ い。

バクテリオファージはその発見が黄色ブドウ球菌<sup>50</sup>や赤痢 菌<sup>60</sup>などの病原細菌であったことから、発見当初はこれらを 治療薬剤として利用する試みがなされたものの、抗生剤の 出現とともにそれ以後の研究の進展は停止してしまった。し かしながら近年、多重薬剤耐性細菌の出現を機会として、 欧米諸国では抗生剤の代わりに細菌ウイルスであるバクテリ オファージを利用した生物学的手法を用いて人畜には安全 な殺菌を行う、いわゆるファージ療法の研究開発が再び盛 んになってきている。

これまでの研究からバクテリオファージは二つの種類に 分別されている。ひとつはヴィルレントファージと呼ばれ、細 菌に感染後直ちに増殖を開始して溶菌させるもので、他方 は細菌感染後いったん細菌を溶菌させるものの、時間を経 てそのすべての遺伝情報である全ゲノムを宿主細菌に組込 ませ、ファージの形態を取らずに遺伝情報として感染細菌 中に存在するもので、テンペレートファージと呼称されてい る。また、感染細菌中のテンペレートファージゲノムは感染 細胞が紫外線照射や生育環境の変化(温度や塩濃度の変 化等)で生理的障害を被ると、全ゲノムの遺伝子を発現させ てファージ粒子の構成を行い、構成されたファージ粒子は 菌体を溶菌させて菌体外に放出され(誘発)、新たな宿主細 菌に感染するようになる。一般に、ファージ療法の開発では、 前者のヴィルレントファージが研究対象となっているが、テ ンペレートファージは細菌の進化(新たな性状の獲得)の観 点からみて、重要な研究課題となっている。

V. vulnificus は海水中に広く分布し、数多くの菌株がこ れまでに分離されている。しかしながら、その感染症の発症 例と発症時期は極めて限定されている<sup>4</sup>。これは発症原因と なる罹患者の健康状態もさることながら、細菌の病原性獲得 の結果としての性状転換も十分考慮されるものと考察される。 事実、同じVibrio属のコレラ菌V. cholerae においてその病 原性はテンペレートファージによって伝播されることが知ら れている<sup>7</sup>。

今回、我々はV. vulnificus 感染症の発症予防と発症原因 を検討するため、本菌に感染可能なバクテリオファージの 検索と分離を試み、分離したファージの性状について検討 した。

#### 2. 材料および方法

#### 1. 使用菌株

佐賀大学医学部保存 V. vulnificus 菌株中、感染予防を 目的としたヴィルレントファージの検索にはV. vulnificus 罹患 患者から分離した菌株として、P-2、P-6、P-7、P-8、P-9、P- 10、P-11、P-12株の8菌株を使用し、ファージ転換の検討を 目的としたテンペレートファージの検索には環境型菌株とし て唐津湾で分離したK-6株および有明海からの分離したA-2、A-5、A-7株の4菌株を使用した。

#### 2. 培養条件

培地はZoBell 2216E 培地(Table 1)を用いた。培養 温度は30℃で、液体培養では振とう培養を行い、固体培 養ではZoBell 2216E培地に終濃度が1.5%となるように 寒天を加えた培地を使用した。

<u>Table 1. Zobell 2216E 培地組成</u>	
Polypepton 0.5%	
Yeast Extract 0.1%	
海水(NaCl: 0.25%	
рН 8.0	

#### 3. バクテリオファージの検索

筑後川下流の汽水域の岩礁に生育するカキを採集した 後、殻から身を取り出して磨砕し(Fig. 1)、低速遠心して上 清をファージ試料とした。



Fig.1 カキの生息状況と試料調製

各V. vulnificus 菌株はZoBell 2216E 培地で一夜振とう 培養(1次培養)したのち、新鮮ZoBell 2216E 培地に 1/100量接種し、約1.5時間培養(2次培養)し0D660nm: 0.2に達した時点で指示菌液とした。ファージ試料液お よび指示菌液をそれぞれ300µ1づつ5m1の0.5%寒天を 含むZoBell 2216E 培地に加え、軽く撹拌した後1.5%寒 天を含むZoBell 2216E 培地に重層させた。重層寒天培 地は30℃で一夜培養して出現する

プラーク (Fig. 2) を検索し、その形態によってテンペ レートファージ (濁ったプラーク) とヴィルレントファ



Fig. 2 V. vulnificus 菌叢に形成されたファージによるプ ラーク

ージ(透明なプラーク)を推定した。最終的な確認は ファージを分離後、溶菌曲線を作成して行った。

#### 4. ヴィルレントファージの一段階増殖実験

分離したバクテリオファージを2次培養し0D660nm: 0.2に達したV.vulnificus P-9株培養液300µ1にファージ液700µ1加えて、30℃で5分間ファージを吸着させた後、ファージ感染細菌を低速遠心して回収し、ZoBell 2216E 培地に再懸濁させた。ファージ感染細菌懸濁液を 30℃で加温しながら経時的(10分毎)に一定量を採取し、 除菌した試料中の放出ファージ数(PFU:プラーク形成数 / 1ml)を計測して感染中心の変移を求めた。

#### 5. テンペレートファージ感染による溶原菌の調製

2次培養し0D660nm:0.2に達したV.vulnificus K-6株 培養液を0.5%寒天を含むZoBell 2216E 培地に加え、軽 く撹拌した後1.5%寒天を含むZoBell 2216E 培地に重層 させた。その上に十分量のファージ液を滴下し、30℃ で一夜培養した後、形成されたプラーク中に生育した ファージ耐性菌のコロニーを分離して溶原菌を調製した。 溶原菌の確認は分離したファージの検体と宿主菌株に対 する感染性をストリークテスト法によって検討すること で行った。

#### 6. 溶原菌のファージ誘発

調製した溶原菌をZoBell 2216E 培地で0D660nm:0.1 に達するまで2次培養した後、低速遠心して菌体を回収 し、リン酸生理食塩水に再懸濁して15秒間紫外線照射し た。紫外線処理した菌体は遠心回収してZoBell 2216E 培地に再懸濁した後、経時的に培養液の濁度を計測して、 ファージ放出による溶菌現象を検討した。

#### 7. ファージ転換

溶原菌のファージ転換実験は溶血現象を指標とし、 溶血実験はShinoda等の方法<sup>80</sup>を一部改変して行った。一 夜培養した菌体を1/100量ZoBell 2216E 培地に接種した 後、1時間間隔で分取して遠心除菌した。除菌液はさら にポアサイズ0.22 $\mu$ mのミリポアフィルターでろ過して 試料を調製した。ヒツジ赤血球懸濁液に調製した試料を 加え、37℃で2時間加温した後、低速遠心してその上清 の0D540nm値を計測した。

#### 3.実験結果および考察

#### 1. ヴィルレントファージの分離と性状

V. vulnificus罹患患者由来の菌株を宿主細菌として、 カキ磨砕液からヴィルレントファージの検索を行った結 果、P-9株を宿主とした実験区て透明なプラークの出現 を認めた。この形成されたプラークからファージを分離 し、溶菌曲線を作成することでヴィルレントファージの 確認を行った(Fig. 3)。その結果、ファージ液添加後の



#### Fig. 3 分離ファージによる溶菌曲線

110分後に培養菌液の急速な濁度の低下が認められ、その後の培養においても濁度の再上昇がみとめられないことから、溶菌現象がヴィルレントファージによるものと確認した。さらに溶菌液を電子顕微鏡で観察した結果、ファージの存在を確認した(Fig. 4)。ファージの形態からこのファージは20面体の頭部(径80nm)、尾部

(60nm)を持つ*Podoviridae* 科に属するものと判定し、 VAR18と命名した。



Fig. 4 V. vulnificus に感染するヴィルレント ファージ

次に、分離したバクテリオファージVAR18の感染細菌 当たりのバクテリオファージ放出量(burst size)およ び感染からバクテリオファージ放出が開始されるまでの 時間(暗黒期)をそれぞれのバクテリオファージの一段 増殖実験を行って検討した(Fig. 5)。その結果、 VAR18は暗黒期が25分間であり、感染後、約40分で ファージ粒子の放出が完了し、感染細菌当たりのバクテ リオファージ放出量は約100であることが判明した。こ の事はバクテリオファージVAR18は宿主細菌に感染後、 約40分で感染細菌あたり100の子ファージ粒子を放出す ることを意味することから、今回分離されたバクテリオ ファージVAR18は細菌毒性が極めて高いことが明らかと なった。

さらに、分離されたバクテリオファージVAR18の宿主 域をV. vulnificus 罹患患者から分離した菌株である、P-2、



#### Fig. 5 分離したヴィルレントファージの 一段階増殖実験

P-6、P-7、P-8、P-9、P-10、P-11、P-12株の8菌株を使用し、 それらに対する感染性試験によって検討した。

その結果、VAR18はV. vulnificus P-9株にのみに感染 性を示し、細菌毒性は高いものの、その宿主域は極めて狭 いことが判った。

#### 2. テンペレートファージの分離と性状

筑後川下流域で採集して調製したカキ磨砕液からのテ ンペレートファージの検索をV. vulnificus環境型菌株として 唐津湾で分離したK-6株および有明海からの分離したA-2、 A-5、A-7株の4菌株を使用して行った。その結果、筑後川 が流れ込む有明海から分離したA-2、A-5、A-7株に対して はテンペレートファージに特有な濁ったプラークの出現は 認められず、全く環境の異なる唐津湾から分離したK-6株に おいてのみ、濁ったプラークの出現が認められた。そこで、 このプラークを穿刺してファージをK-6株に感染させて分離 ファージ液を調製した。

分離ファージ液によるK-6株の溶菌を検討した結果、 ファージ液添加後60分後に溶菌現象が確認され、その後、 菌体の増殖が認められた(Fig.6)。この溶菌曲線はヴィル レントファージのそれとは異なり、テンペレートファー ジに独特のものであることから、分離したファージがテ ンペレートであることを確認した。



Fig. 6 分離ファージによる溶菌曲線





一方、今回分離したテンペレートは電子顕微鏡 による形態観察の結果、20面体の頭部(径60nm)と比較 的細長い尾部(100nm)をもつことから、*Siphoviridae* 科に属するものであることが明らかとなりT09と命名した。

さらに、テンペレートファージT09を宿主菌株K-6株 に感染させ、溶原菌を調整した。溶原菌の確認は紫外線照



射によるファージの放出・溶菌で行った。その結果、紫外 線照射後、菌体の溶菌現象が認められ、溶原菌の調製を 確認した。

#### 3. ファージ転換

一般にファージ感染による宿主細菌の溶原化では、宿 主細菌の性状の変化が伴うことが知られている。そこで、 今回調製したT09溶原化したK-6株(L-K6株)の性状変化 を溶血作用の指標として検討した。



#### Fig. 9 溶原菌L-K6の溶血現象

その結果、宿主細菌K-6株にも若干の溶血現象が見られたものの、溶原菌L-K6では明らかな溶血活性の増加が認められ(Fig. 9)、V. vulnificusにおいて溶血活性のファージ転換が明らかになった。



Fig. 10 溶原菌 L-K6株の溶血活性

さらに、溶原菌L-K6における経時的な溶血活性を検討した結果、溶血活性は細菌の対数増殖期初期から中期かけてその活性が最大となり、定常期ではその活性が減少することが判明した(Fig. 10)。

Vibrio属細菌ではコレラ菌V. choleradに代表されるよう に、その病原性にテンペレートファージが関与している ことが知られている。V. vulnificus においてその病原性 の原因となる因子は現在のところ不明な点が多いが、メタル プロテアーゼや溶血素が最も有力な候補として挙げられて いる。また、V. vulnificus が海水中に多数分布するにもか かわらず、その罹患者が限定されることは局所的かつ偶発 的に病原性をもつ菌株が出現することが考えられる。今回、 見出された溶血活性テのファージ転換現象はこのことを強く 示唆するものと考察された(Fig. 11)。なお、今回筑後川下 流の汽水域に生息するカキから分離されたテンペレート ファージが有明海とは地理的に異なる唐津湾で分離された 菌株にのみ感染性を示したことは、有明海に存在するV. vulnificus菌株がすでに溶原化されている可能性も考えられ た。





#### 参考文献

- Roland, F. P. Leg gangrene and endotoxin shock due to Vibrio parahaemolyticus—an infection acquired in New England coastal waters.
   N. Engl. J. Med. 282: 1306, 1970
- 2) Farmer, J. J. 3rd. Vibrio ("Beneckea") vulnificus, the bacterium associated with sepsis, septicaemia, and the sea. Lancet Oct27;2(8148): 903, 1979
- 3) 河野茂 等.激烈な経過を取って死亡した好塩基 ビブリオ敗血症の1部検例-乳酸分解性ビブリオ敗血 症本邦代例- 最新医学33: 1243-1248, 1978
- 中島幹夫 等. わが国における Vibrio vulnificus
   感染症の発生動向と有明海沿岸地域の状況. 佐賀大
   学有明海総合研究プロジェクト成果報告集 1:55-60, 2005
- Twort, F. W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. Lancet 2: 1241-1243, 1915
- 6) d'Herelle, F. Sur un microbe invisible antagonistic des bacilles dysenterique.
   C. R. Acad. Sci. Paris 165: 373-375, 1917
- Waldor, M.K. & Mekalanos, J.J. Lysogenic conversion by filamentous phage encoding cholera toxin. Science 272: 1910-1914, 1996
- Shinoda, S. *et al.* Some properties of Vibrio vulnificus hemolysin. Microbiol. Immunol. 29: 583-590, 1985

(2009.3.31受付)

# 分子生物学的手法による有明海底泥中の細菌相解析

MOLECULAR MONITORING OF BACTERIAL COMMUNITIES IN ARIAKE SEA TIDELAND

### 小林元太<sup>1</sup>•田中重光<sup>2</sup>•中園唯<sup>3</sup>•田代幸寛<sup>4</sup>•加藤富民雄<sup>5</sup>•神田康三<sup>6</sup> Genta KOBAYASHI, Shigemitsu TANAKA, Yui NAKAZONO, Yukihiro TASHIRO, Fumio KATO and Kohzo KANDA

1農博 佐賀大学准教授 農学部生命機能科学科 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
2農博 佐賀大学講師(研究機関研究員)有明海総合研究プロジェクト (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
3農学部応用生物科学科4年 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
4農博 西南女学院大学講師 短期大学部 (〒803-0835 北九州市小倉北区井堀1丁目3番5号)
5農博 別府大学教授 食物栄養科学部 (〒874-8501 別府市北石垣82)
6農博 佐賀大学教授 農学部生命機能科学科 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

The structures of indigenous microbial consortia in four sites of Ariake Sea in four seasons were examined by double gradient-denaturing gradient gel electrophoresis (DG-DGGE) analysis. The diversity and similarity of the bacterial community structures were evaluated by Shannon-Weaver diversity indices (H') and Horn's similarity indices (Ro) calculated from DGGE profile respectively. These indices indicated the similar and stabilized structures in all sites and seasons, as represented by similar H' values and high Ro values. From the sequence analysis of dominant DGGE bands, sulfate-reducing relatives or sulfur-oxidizing relatives were detected frequently. Furthermore, quantitative real-time PCR showed that all samples had high bacterial amount corresponding to approximately 10<sup>10</sup> copies per gram. These results suggested that Ariake Sea tideland had a stable bacterial community rich in sulfate-reducing bacteria and sulfur-oxidizing bacteria.

#### Key Words : Ariake sea, bacterial community, DGGE analysis, Quantitative real-time PCR

#### 1. 序論

有明海は九州最大の半閉鎖系の湾である。その沿岸部 には、最大6mに及ぶ干満の差と河川の流入により、日本 最大の干潟が発達している<sup>1)</sup>。干潟では、潮汐や淡水の 流入により多様な環境が形成されるため、様々な生物種 が生息し、ワラスボやムツゴロウ、ミドリシャミセンガ イ、アゲマキなどの希少な生物種も生息する多様な生態 系が形成されている。この多様な生態系の食物連鎖によ る物質循環は、陸地から流入した有機物の吸収・分解に よる水質浄化作用に寄与している。特に、干潟底泥中に 生息する微生物は、有機物の分解による無機化や硝化細 菌・脱窒細菌による窒素塩の窒素ガスへの還元作用<sup>3)</sup>な ど、干潟の水質浄化作用に深く関与している。 有明海沿岸域では、古くからクチゾコ、アサリ、サル ボウ、タイラギなどの漁業やノリ養殖が盛んに行われ、 好漁場であることから、有明海は「宝の海」であると評さ れてきた。しかしながら近年では、赤潮の発生増加<sup>3)</sup>、 漁獲量の減少<sup>4)</sup>、スミノリ病の発生に伴うノリ生産量の 低下<sup>5)</sup>など、深刻な被害が報告され、いわゆる「有明海異 変」がしばしば観察されている。これら異変の抜本的な 原因は未だ解明されていないが、干潟の水質浄化能力の 低下が大きな要因と考えられる。干潟底泥中に生息する 微生物は、酸素の有無、栄養塩濃度など、様々な環境変 化に影響を受けながら群集構造を変動させると共に、干 潟の機能や性質を特徴づけていると考えられる。つまり、 微生物が形成する群集構造(微生物相)の経時的変化およ び分布を解明することで、干潟における環境条件の指標 を得ることが出来ると期待される。そこで本研究では、 近年異変が見られる有明海における細菌分布を把握する ため、有明海干潟底泥中の細菌相の年間変動を分子生物 学的解析手法によりモニタリングした。

#### 2. 実験方法

#### 2-1 Double Gradient-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DG-DGGE) 解析

本項では、田代らの方法<sup>6</sup>に従い、有明海底泥より抽 出した細菌ゲノムDNAを鋳型としてPCR法により16S rDNAのV2-V3領域(約0.2k bp)を増幅して、DG-DGGEに 供し、網羅的な細菌相の解析を行った。DG-DGGEは、 培養を要さず複雑な細菌群集構造を直接可視化すること が出来る。DGGEは元来染色体DNA中の点変異検出に用 いられた技術であるが、現在ではその分離能の高さから 環境サンプル中の細菌群集構造解析に応用されている<sup>7</sup>。

#### 2-1-1 有明海底泥サンプル

有明海の4地点[芦刈(以下アシカリ: 33°11.766'N, 130°12.494'E)、早津江川自動観測塔(以下タカツ: 33°06.837'N, 130°17.421'E)、 428 鋼管(以下428: 33°04.715'N, 130°10.885'E)、六角川自動観測塔(以下ロッ カク: 33°08.149'N, 130°13.303'E)]から平成19年4月(春)、 平成19年7月(夏)、平成19年10月(秋)、平成20年1月(冬)に 採取した底泥を試料として用いた。アシカリは、干潮時 に干潟が出現し、他の3地点(タカツ、428、ロッカク) は、常時海面下にある地理的特徴がある。各底泥サンプ ルは、遠心分離にて海水を除去した後、解析まで-80℃ にて保存した。

#### 2-1-2 底泥サンプルからのDNA抽出

底泥(約0.5 g)からのDNA抽出には、土壤DNA抽出キットISOIL for Beads Beating (ニッポンジーン、日本)を用いた。底泥中の菌体破砕は、500 mgの直径0.5 mmのジル コニアビーズ(TOMY、日本)とビーズ式細胞破砕装置 MicroSmash MS-100R (トミー精工、日本)を用いて行った。破砕条件は4200 rpm、45 secとした。得られたDNA は微量分光光度計NanoDrop ND-100RP (NanoDrop Technologies、USA) にてDNA収量を測定した。

#### 2-1-3 PCR 增幅

2-1-2で抽出した細菌ゲノムDNAを鋳型に、細菌16S rDNAのV2-V3領域をターゲットとしたプライマーセッ ト<sup>8</sup>(表2-1)と、Premix Ex Taq Hot Start Version (タカラバ イオ)を用いてPCR増幅を行った。PCR反応は、鋳型 DNAを1 µl、0.8 pmolの各プライマーを含む50 µl反応液 中で行った。PCRは、以下に示すような条件でHot starttouch down PCRを行った。

表2-1 プ	ライマー配列							
GC-	5'-CGCCCGGGGG	CGCGCC	CCG	GGCGGGG				
HDA1	CGGGGGCACGGGGGGACTCCTACGG							
	GAGGCAGCAGTAGAGTTTGATCCTGG							
	CTCAG-3'							
HDA2	5'-GTATTACCGC	GGCTG	CTGG	CAC-3'				
反応条件								
94°C		5 min						
65°C		1 min						
72°C		1 min						
94°C		1 min						
64.5°C(	"touch down" PCR,	1 min		20 1				
-0.5°C e	every new cycle)			20 cycles				
72°C	5 5 7	1 min						
94°C		1 min						
55°C		1 min		9 cycles				
72°C		1 min						

PCR反応後、1.5%アガロースゲル電気泳動によりDNA 増幅断片を分離し、エチジウムブロマイド染色により増 幅を確認した。PCR産物は、PCR精製キットQIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN)を用いて精製した。得ら れたDNAは、微量分光光度計NanoDrop ND-100RP (NanoDrop Technologies、USA) にてDNA収量を測定し た。

5 min

#### 2-1-4 電気泳動

 $72^{\circ}C$ 

電気泳動にはDGGEミニ電気泳動システム (NB-1490; 日本エイドー、日本)を用いた。PCR増幅産物および DGGE Marker II (ニッポンジーン)は、30-70%の変性剤濃 度勾配(40% (v/v)ホルムアミド・7M尿素を100%変性剤と した)、6-8%ポリアクリルアミド濃度勾配を有する Double Gradient (DG)-DGGEゲルに供し、1×TAEバッ ファー中で泳動を行った。600 ngの各PCR増幅産物を、 泳動バッファー温度60℃、電流50 Vで2時間電気泳動後、 66 Vで3時間の条件で電気泳動に供した。電気泳動後、 ゲルをSYBR Gold (Molecular Probes、USA)で1時間染色 し、UV照射下でゲルを撮影した。

#### 2-1-5 DGGEプロファイルからの群集構造解析

2-1-4で得られたDGGE泳動写真より、画像解析ソフト TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics、UK)を用いて、各 バンドの移動度と強度を求めた。さらに、各バンドの強 度を用いて、サンプル毎にそれぞれのバンドが全体に対 して占める割合を算出した。値として1%未満のバンド は除外した。得られた各バンドの相対比を用いて、各 DGGEプロファイルの多様度指数H<sup>-</sup>および群集類似度 (Homの重複度指数)を求めた<sup>9</sup>。さらに、群集類似度 (Homの重複度指数)を基に単純連結法によりデンドログ ラムを作成した。

#### 2-1-6 DGGEバンドからのPCRによる再増幅

フナゲルチップ (フナコシ、日本) を用いて、主要な DGGEバンドを得た。得られたDGGEバンドを滅菌した 超純水で洗浄したのち、DNAを滅菌した超純水30 µlに 4℃で一晩溶出した。溶出したDNAを鋳型として、2-1-3 と同様にHot start-touch down PCRにより、部分16S rDNA (約0.2k bp)を増幅した。PCR産物は、PCR精製キット QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN)を用いて精製し た。

#### 2-1-7 クローニング

2-1-6で得られたPCR産物は、ライゲーションキット TA-Blunt Ligation Kit (ニッポンジーン、日本)を用いて、 pGEM-T Easy Vector (Promega、USA)に16℃で1晩反応さ せ、連結した(表2-2)。得られたライゲーション産物を用 いて、*Escherichia coli* JM109をヒートショック法にて形 質転換した。

表2-2 ライゲーション反応液組成

Reagent	Volume (µl)
pGEM-T Easy Vector (Promega)	1.0
10×Enhancer Solution	1.0
5×Ligation Mix	2.0
Purified PCR product	3.0
H <sub>2</sub> O	3.0
Total	10.0

形質転換後、アンピシリンナトリウム (100 μg/ml)、イ ソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド (120 μg/ml)、 5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシ ド (80 μg/ml)を含むLB寒天培地(日本ベクトン・ディッ キンソン、日本)に塗布した。37℃で一晩培養した後、 青白セレクションを行った。

#### 2-1-8 ⊐ □ **二** — PCR

2-1-7で得られた白コロニーを直接鋳型として、表2-3 に示すM13プライマーを用いて、コロニーPCRにより、 16SrDNA 0.2k bp断片のインサートの有無を確認した。

表23	プライ・	マー配列
-----	------	------

M13F	5'-CGC CAG GGT TTT CCC AGT CAC
	GAC-3'
M13R	5' –TCA CAC AGG AAA CAG CTA TGA
	C–3'

PCR反応は、0.2  $\mu$ lのGo Taq DNA polymerase (Promega、 USA)、2  $\mu$ lの10×Go Taq buffer、2  $\mu$ lの2.5 mM dNTPs、 0.2  $\mu$ lの2 mM MgCl<sub>2</sub>、0.1  $\mu$ lの20 pmolの各プライマーを 含む20  $\mu$ lの反応液中で行った。PCRは以下の反応条件で Tグラジエントサーモサイクラー96(バイオメトラ、ドイ ツ)を用いて行った。



反応終了後、2%アガロースゲル電気泳動によりDNA増 幅断片を分離し、エチジウムブロマイド染色により増幅 を確認した。目的とするインサートを保有するコロニー を選抜した。

#### 2-1-9 プラスミド抽出

2-1-8で得られたクローンを100 mg/Iアンピシリンナト リウム含有LB培地に接種して温度37℃、振とう速度200 rpmで16時間培養した。培養液3 mlから遠心分離操作 (13,000×g, 5 min) により菌体を回収した。回収した菌体 よりプラスミド抽出キットHigh Pure Plasmid Isolation Kit (ロシュ、スイス)を用いてプラスミドを抽出した。得ら れたプラスミドは微量分光光度計NanoDrop ND-100RPに てDNA収量を測定した。得られたプラスミドを確認した。

#### 2-1-10 シーケンス解析および相同性探索

得られたポジティブクローンは、ジーンネット㈱(日本)に依頼し、シーケンス解析を行った。得られた塩基 配列は、National Center for Biotechnology Information (NCBI)のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)を用 いて相同性検索を行った。

#### 2-2 定量Real-time PCR

PCR-DGGE解析は、多数のサンプルの同時解析に適し た強力なツールであるが、end-pointでのPCR解析手法で あり定量性に欠ける。そこで本項では、DGGE解析と同 一標的部位のプライマーセットを用いたReal-time PCRに より、各有明海低泥サンプルにおける全細菌数の変動を 定量的に追跡した。

#### 2-2-1 有明海の底泥

2-1-1と同様に、有明海の4地点(アシカリ、タカツ、 428、ロッカク)から平成19年4月(春)、平成19年7月(夏)、 平成19年10月(秋)、平成20年1月(冬)に採取した底泥を試 料として用いた。

#### 2-2-2 底泥からのDNA抽出

2-1-2と同様に、底泥からDNA抽出を行った。

#### 2-2-3 プライマーとDNAスタンダード

Real-time PCR用のプライマーには、DG-DGGEに用い

たプライマーセットと同様に16SrDNAのV2-V3領域を標 的としたプライマーセットを用いた(表2-4)。

#### 表2-4 プライマー配列

HDA1	5'- ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT -3'
HDA2	5'- GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC -3'

16S rDNAスタンダードには、塩基配列既知のスミノリ 病原菌H14株の16S rDNA断片の全長を持つプラスミドを 用いた。プラスミドの濃度は、微量分光光度計 NanoDrop ND-100RPを用いて測定した。測定して得られ たプラスミドの濃度および塩基配列より、プラスミドの コピー数を算出し、10倍毎に段階希釈することで、Realtime PCRのDNAスタンダードとした。Real-time PCR反 応で増幅効率は90%以上、スタンダードカーブは、少な くともDNAコピー数の5対数値の範囲で相関係数(r<sup>2</sup>)は 0.99以上のものを用いた。

#### 2-2-4 PCR反応条件

Real-time PCR 反応は、Mx3000P<sup>®</sup>QPCR System (Stratagene, CA, USA)を用いて行った。反応組成を表2-5 に示す。

#### 表2-5 PCR反応液組成

Reagent	Volume (µl)
FullVelocity <sup>TM</sup> SYBR <sup>®</sup> Green	
QPCR Mster Mix	10
(Stratagene, CA, USA)	
Primer Forward (HDA1; 20 µM)	0.15
Primer Reverse (HDA2; 20 µM)	0.15
Template DNA	2.0
Reference dye	0.04
H <sub>2</sub> O	7.66
Total	20

全てのReal-time PCR反応は2連測定を行い、ネガティブ コントロールには、鋳型DNAの代わりに2.0 µlの超純水 を用いた。Real-time PCRの反応条件は以下に示す通りに 行った。

#### 反応条件

95°C	2 min	
95°С	20 sec	<u> </u>
61°C	30 sec	40 cvcles
72°C	30 sec	

Real-time PCRのサイクル終了後、解離曲線をモニタリン グし、PCR増幅の特異性を確認した。解離曲線はPCR産 物を55℃から95℃に徐々に加熱すると共に、SYBR Green Iの蛍光強度を測定することでモニタリングした。 鋳型DNA中の標的遺伝子のコピー数は、サンプル測定 と同時に2-2-3での要領で作製したスタンダードカーブを 用いて算出した。

#### 3. 結果

#### 3-1 DG-DGGE解析

平成19年4月(春)、平成19年7月(夏)、平成19年10月 (秋)、平成20年1月(冬)の有明海の4地点の底泥(アシカ リ、タカツ、428、ロッカク)からDNA抽出、PCRを行 い、DG-DGGE解析に供した。各地点の各季節における DG-DGGE泳動図を図3-1と図3-2に示す。



図 3-1 DG-DGGE解析 (平成19年4月、平成19年7月) 1レーン; マーカー,2レーン アシカリ(平成19年4月),3レーン; タカツ(平成19年4月),4レーン; ロッカク(平成19年4月),5レーン; 428(平成19年4月),6レーン; アシカリ(平成19年7月),7レーン; タ カツ(平成19年7月),8レーン; ロッカク(平成19年7月),9レーン; 428(平成19年7月),10レーン; マーカー

図 3-2 DG-DGGE解析 (平成19年10月、平成20年1月) 1レーン;マーカー,2レーン アシカリ(平成19年10月),3レーン; タカツ(平成19年10月),4レーン;ロッカク(平成19年10月),5レー ン;428(平成19年10月),6レーン;アシカリ(平成20年1月),7レー ン;タカツ(平成20年1月),8レーン;ロッカク(平成20年1月),9 レーン;428(平成20年1月),10レーン;マーカー

DG-DGGE解析の結果、移動度の異なる計38本のバンド が検出され、有明海底泥中には多様な細菌が存在するこ とが示された。これら各DGGEバンドの各底泥サンプル における相対輝度を用いて、多様度指数H<sup>-</sup>を算出した 結果を図 3-3に示した。その結果、アシカリでは春に、 タカツと428では夏に、六角では冬に、それぞれ多様度 が最も高くなり、地点によって多様度が高くなる季節が 異なることが明らかとなった。しかしながら、いずれの 地点においても、季節による細菌多様度の劇的な変動は 見られなかった。



さらに、各底泥サンプルにおける各DGGEバンドの相対 輝度を用いて、群集類似度指数(Homの重複度指数)を求 め、デンドログラムを作成した(図3-4)。各地点間の群 集構成の類似性を、Ro=0.8以上を同一群集とした場合、 地点428の10月以外の全ての底泥サンプルが同一群集に 区分された。また、各地点間の群集構成の類似性を、 Ro=0.7以上を同一群集とした場合には、全ての底泥サン プルが同一群集に区分されることから、測定した4地点 における有明海底泥中の細菌相は、年間通じて非常に類 似していることが示唆された。



図3-4 各地点間の細菌群集類似度に基づく系統樹

本研究ではさらに、DG-DGGE解析で検出された主要な バンド(No.1-25)から得られた1-5クローンについてシー

ケンス解析を行った。得られた各バンドの塩基配列の相 同性検索を行い、最も高い相同性を示した結果について 表 2-6 に示した。その結果、Proteobacteria 門、 *Cyanobacteria* 門、 *Chloroflexi* 門、 *Firmicutes* 門、 Bacteroidetes門に属す細菌が検出され、有明海底泥中に は多岐にわたる細菌種が存在することが明らかとなった。 また、各地点において普遍的かつ、比較的優勢に検出さ れるバンド(No.2、No.4-9、No.12、No.15、No.17、No.18、 No.20-25)は、Proteobacteria 門とCyanobacteria 門に属す細 菌であった。このことから、有明海底泥中には、 Proteobacteria門およびCyanobacteria門に属す細菌が優勢 に存在し、安定な細菌相が形成されていることが示唆さ れた。さらに、検出された細菌には、硫酸還元細菌であ るDeslfovibrio属細菌や硫黄酸化細菌であるThiobacillus属 細菌やThiohodospira属細菌など、硫黄循環に関与する細菌が 多数見られた。

表3-1	DG-DGGE解析におけ	オるバン	ドの塩基配列	の相同性検索
				12/10/21/17/25/25

Band	Phylum	Closest phylotype/species	Sim
No.			<b>(%)</b>
1	Proteobacteria	Gamma proteobacterium	92
2	Cyanobacteria	Marine sponge bacterium	98
3	Proteobacteria	Roseicyclus sp.	100
4	Proteobacteria	Thiobacillus prosperus	96
5	Proteobacteria	Delta proteobacterium	91
6	Proteobacteria	Delta proteobacterium	93
7	Proteobacteria	Olavius crassitunicatus delta-proteobacterial endosymbiont	94
8	Proteobacteria	Pseudomonas sp.	96
9	Cyanobacteria	Marine sponge bacterium	98
10	Proteobacteria	Sulfur-oxidizing bacterium	98
11	Chloroflexi	Dehalococcoides sp.	91
12	Proteobacteria	Pseudomonas sp.	97
13	Fimicutes	Bacterium Aso1-CS308	89
14	Proteobacteria	Uncultured Thiorhodospira sp.	97
15	Proteobacteria	Delta proteobacterium	93
16	Proteobacteria	Algidimarinum butyricum	98
17	Proteobacteria	<i>Pseudomonas</i> sp. Uncultured <i>Thiorhodospira</i> sp.	97 97
18	Proteobacteria	Pseudomonas sp.	97
19	Bacteroidetes	Flavobacterium sp.	89
20	Proteobacteria	<i>Thiobacillus prosperus</i> Uncultured <i>Thiorhodospira</i> sp.	97 97
21	Proteobacteria	Desulfovibrio alaskensis	94
22	Cyanobacteria	Marine sponge bacterium	96
23	Proteobacteria	Pseudomonas sp. Thiobacillus prosperus	97 97
24	Cyanobacteria	Marine sponge bacterium	96
25	Proteobacteria	Uncultured Thiorhodospira sp.	98

#### 3-2 定量Real-time PCR

DG-DGGE解析と同様に、平成19年4月(春)、平成19 年7月(夏)、平成19年10月(秋)、平成20年1月(冬)の有 明海の4地点の底泥(アシカリ、タカツ、428、ロッカク) をサンプルとした。各底泥サンプルよりDNA抽出を行 い、Real-time PCRの鋳型として用いた。各地点における 全細菌の16S rDNAのコピー数の季節的変動を図3-5に示 す。



図3-5 全細菌の16SrDNAコピー数の季節的変動

その結果、測定4地点における全細菌の16S rDNAは、いずれの地点においても、年間通じて約10<sup>10</sup> copies/g程度存在することが明らかとなった。このことから、有明海底 泥中の全細菌数の季節および地点による変動が少ないことが示唆された。

#### 4. 結論

DG-DGGE解析により有明海の4地点の底泥の細菌相解析 を行った。各DGGEプロファイルのShannon-Weaner index(H')を比較したところ、細菌群集の多様度は、地 点によって最も高くなる季節は異なるものの、年間で劇 的な増減を示さなかった。また、Hornの重複度指数(Ro) を用いたクラスター解析により、各地点・季節の細菌群 集構造は、非常に類似していることが明らかとなった。 さらに、DGGEプロファイル中の主要なバンドからのシー ケンス解析により、Proteobacteria門およびCyanobacteria 門に属す細菌が、普遍的に存在することが示唆された。 また、定量Real-time PCRにより、有明海底泥中の全細 菌数は、年間通じて約10<sup>10</sup> copies/g程度存在することが明 らかとなった。以上のことから、有明海底泥中には、 Proteobacteria門およびCyanobacteria門が優勢で非常に安 定な細菌相が形成されていることが明らかとなった。特 に、主要なDGGEバンドのシーケンス解析では、硫黄循 環に関与する細菌が多数検出されたことから、これらの 存在が有明海の環境状態の一つの指標となると期待され る。今後は、これらを標的としたReal-time PCRによる 定量解析および、硫黄循環に関与する細菌の有明海底泥 における占有率に影響を与える環境因子の特定が重要に なると思われる。

謝辞:有明海底泥サンプルをご供与頂いた有明水産振興セン ター・三根崇幸氏に深謝申し上げる。

#### 参考文献

- 堤裕昭、岡村絵美子、小川満代、高橋徹、山口一岩、門谷茂、小橋 乃子、安達貴浩、小松利光:有明海奥部海域における近年の貧 酸素水塊および赤潮発生と海洋構造の関係、海の研究, No.12, pp. 291-305, 2003.
- Kariminiaae-Hamedaani H.-R., Kanda, K. and Kato, F.: Denitrification activity of the bacterium *Pseudomonas* sp. ASM-2-3 isolated from the Ariake sea tideland, J. Biosci. Bioeng., 97, pp.39– 44, 2004.
- 3) 堤裕昭,木村千寿子,永田沙矢香,佃政則,山口一岩,高橋徹,木 村成延,立花正生,小松利光,門谷茂:陸域からの栄養塩負荷 量の増加に起因しない有明海奥部における大規模赤潮の発生 メカニズム,海の研究, No.15, pp. 165-189, 2005.
- 4) 堤裕昭, 堤彩, 高松篤志, 木村千寿子, 永田紗矢香, 佃政則, 小森田智大, 高橋徹, 門谷茂: 有明海奥部における夏季 の貧酸素水発生域の拡大とそのメカニズム, 海の研究, No.16, pp.183-202, 2007.
- 5) Zhang, J. Nagahama, T. Ohwaki, H. Ishibashi, Y. Fujita and Y. Yamazaki, S.: Analytical approach to the discoloration of edible laver "nori" in the Ariake Sea., Anal Sci., 20, 37-43, 2004.
- 6)田代幸寛,光武奈緒子,小林元太,加藤富民雄,神田康三:有 明海における細菌相解析,佐賀大学有明海総合研究プロジェ クト成果報告集,第4巻,pp.113-120,2008.
- 7) Muyzer, G., Waal, E. C. D. and Uitterlinden, A. G.: Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA, Appl. Environ. Microbiol., Vol.59, pp.695–700, 1993.
- 8) Nakayama, J., Hoshiko, H., Fukuda, M., Tanaka, H., Naoshige, S., Tanaka, S., Ohue, K., Sakai, K. and Sonomoto, K.: Molecular monitoring of bacterial community structure in long-aged nukadoko: pickling bed of fermented rice bran dominated by slow-growing lactobacilli, J. Biosci. Bioeng., Vol.104, pp.481–489, 2007.
- Hirata, T.: Succession of Sessile organisms on experimental plates immersed in Nabeta bay, Izu peninsula, Japan- III. Temporal changes in community structure, Ecol. Res., 6, pp. 101-111, 1991

(2009.3.31受付)

### 有明海由来*Vibrio vulnificus*の 分子生物学的性状解析

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF Vibrio vulnificus FROM ARIAKE SEA

田中重光<sup>1</sup>・松本浩一<sup>2</sup>・大石浩隆<sup>3</sup>・中島幹夫<sup>4</sup>・神田康三<sup>5</sup>・小林元太<sup>6</sup> Shigemitsu TANAKA, Koichi MATSUMOTO, Hirotaka OISHI, Mikio NAKASHIMA, Kohzo KANDA and Genta KOBAYASHI

1農博 佐賀大学講師(研究機関研究員) 有明海総合研究プロジェクト(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
2佐賀大学助教 有明海総合研究プロジェクト(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
3医博 佐賀大学准教授 医学部社会医学(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
4医博 佐賀大学教授 医学部麻酔・蘇生学(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
5農博 佐賀大学教授 農学部生命機能科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
6農博 佐賀大学准教授 農学部生命機能科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

In Japan, many *Vibrio vulnificus* infections occurred in Kyushu, mainly in the coastal areas of the Ariake Sea. We examined the distribution of the genotypes of 16S rRNA gene and the virulence-correlated gene (vcg) of *V*. *vulnificus* recovered from patients and environmental samples such as oysters, fishes and Seawater in Japan. The environmental samples were collected from three coastal areas, Ariake Sea, Ise/Mikawa Bay and Karatsu Bay. Analysis of 46 isolates showed a disparity in the ratio of the genotypes depending on the sampling location. The ratios of type B 16S rRNA gene were 93.3%, 100%, 63.6% and 40.0% of the population in patients, Ariake Sea, Ise/MIkawa Bay and Karatsu Bay respectively. Similarly, the ratios of *vcg*C were 93.3%, 100%, 72.7% and 30.0% of the population respectively. This suggested that the percentages of the type B and C genotype strains, which were associated with clinical isolation, may correlate with the incidence of *V. vulnificus* infection around the sampling sites. Furthermore, all strains except for two from Karatsu Bay possessed a siderophore-encording gene, *viuB*. Additionally, the growth inhibition by bile salts was relatively weaker in the clinical strains than in the environmental strains. These data suggested that the clinical strains had higher survival in the human body than other strains.

Key Words: Vibrio vulnificus, genotype, Ariake Sea, distribution

#### 1. 序論

Vibrio vulnificusは沿岸海水域に広く生息する病原菌で あり、経口および創傷より感染することが知られている。 本菌による感染症(V. vulnificus感染症)は、主に肝障害な どの基礎疾患保有者に起こる日和見感染であり、頻度は 低いものの発症すると1-3日で急激な四肢の筋組織の壊 死とともに敗血症を引き起こす。その致死率は極めて高 く、50%程度が数時間で死の転帰をとることが報告され ている<sup>1)</sup>。本感染症は、韓国・台湾・マレーシアなどの 東南アジア、地中海沿岸域、北米メキシコ湾岸域など世 界各国で報告されている<sup>2)</sup>。日本においては1975年から 2005年に185例の患者が報告されており、その大部分は 有明海を中心に見られている<sup>3),4</sup>。 本菌は生物学的性状および遺伝学的に不均一な細菌種 であり、全てのV. vulnificusがヒトに対して病原性を示す わけではない。V. vulnificusの示す病原性は、ヒト (biotype 1)や魚 (biotype 2) に対して特異的に示すなど、 株による差異が大きい<sup>5)</sup>。すなわち、V. vulnificus感染症 の発症リスクは、海水および魚介類における本菌の株レ ベルでの分布の違いによっても大きく異なるものと思わ れる。しかしながら、日本近海における本菌の分布につ いて株レベルでの分布に関する知見はほとんどない。

V. vulnificusの株レベルでの分類に関しては、各種遺伝 子の多型性により臨床分離株タイプ (Type BあるいはC genotype) と環境株タイプ (Type AあるいはE genotype) に大凡の分類がなされている<sup>0,7</sup>。そこで本研究では、 日本近海のV. vulnificusの分離株について、臨床分離株タ イプと環境株タイプの分布調査を行った。また、分離株 について生体内における生残性に係わる性状解析を行った。

#### 2. 実験方法

#### 2-1 V. vulnificus分離株の遺伝学的分類

表2-1	Vibrio	vulnifici	us披験株-	一覧

	株名	分離源
患者株	P-1	ヒト(58 歳・男性)
	P-2	ヒト(66 歳・男性)
	P-3	ヒト(60 歳・男性)
	P-4	ヒト(62 歳・男性)
	P-5	ヒト(46 歳・男性)
	P-6	ヒト(30歳・男性)
	P-7	ヒト(72歳・男性)
	P-8	ヒト(50歳・男性)
	P-9	ヒト(69歳・男性)
	P-10	ヒト(35歳・女性)
	P-11	ヒト(61 歳・男性)
	P-12	ヒト(66 歳・男性)
	P-13	ヒト(54 歳・男性)
	P-14	ヒト(65 歳・男性)
	P-15	ヒト(66 歳・男性)
有明海由来	A-1	クチゾコ(内臓)
	A-2	海水
	A-3	カキ
	A-4	海水
	A-5	海水
	A6	カキ
	A-7	海水
	A-8	海水
	A-9	海水
	A-10	海水
唐津湾由来	K-1	カキ
	K-2	イサキ(身)
	K-3	カキ
	K-4	カキ
	K5	海水
	K-6	海水
	K-7	海水
	K-8	海水
	K-9	海水
	K-10	海水
伊勢湾·三河湾由来	L-1	 海水
	L-2	海水
	L-3	海水
	L-4	海水
	L-5	海水
	L6	海水
	L-7	海水
	L-8	海水
	L-9	海水
	L-10	海水
	L-11	海水

本項では表2-1に示すV. vulnificus分離株46株(患者株15株、 有明海由来株10株、唐津湾由来株10株、伊勢湾・三河湾 由来株11株)について、Nilssonら<sup>60</sup>の報告およびRoscheら <sup>7)</sup>の報告に従い遺伝学的分類を行った。また、各分離株 のヒト血清中における生残性を評価するために、鉄キ レート剤であるShiderophoreをコードする遺伝子viuBの 有無をPCRにより調査した<sup>8</sup>。

#### 2-1-1 ゲノムDNA抽出

佐賀大学医学部検査部保存の各分離株をZobell 2216E 改良培地を用いて、37℃好気条件で増殖させ、液体培養 液から遠心分離操作により菌体を回収した。得られた菌 体よりゲノム抽出キットであるQIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN, USA)を用いて、ゲノムDNAを抽出した。

#### 2-1-2 16S rDNAのType A, B分類

2-1-1で抽出したゲノムDNAを鋳型として表2-2に示す プライマーとTaq DNA polymerase (Promega, USA)を用い てPCR反応を行った。

#### 表2-2 プライマー配列

8-519-S	5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'
8-519-A	5'-ATT ACC GCS GCT GCT G-3'

反応液組成を表2-2に示す。

#### 表2-3 PCR反応液組成

Reagent	Volume (µl)
Taq DNA Polymerase	0.5
Primer Forward (8-519-S, 20 µM)	2.5
Primer Reverse (8-519-A, 20 µM)	2.5
dNTPs	1.0
MgCl <sub>2</sub>	5.0
Buffer B	5.0
Template DNA	2.0
H <sub>2</sub> O	31.5
Total	50.0

PCRは以下の条件で行った。

反応条件		
94°C	3 min	
94°C	30 sec	
53°C	30 sec	30 cycles
72°C	1 min	5
72°C	10 min	

反応終了後に反応液を1.2%アガロースゲル電気泳動に供 して目的とするバンドを確認後、PCR精製キット QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, USA)を用いて PCR産物を精製した。PCR産物は、ジーンネット㈱(日 本)に依頼し、シーケンス解析を行った。得られた塩基 配列は、National Center for Biotechnology Information (NCBI)のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)を用 いて相同性検索を行った。GeneBank Accession number X76333 の V. vulnificus ATCC27562<sup>T</sup> と 、X76334 の V. vulnificus C7184に相同性を示す株を、それぞれType A, Type Bと判定した。

#### 2-1-3 vcgのジェノタイピング

2-1-1で抽出したゲノムDNAを鋳型として表2-4に示す プライマーとPremix Ex Taq (Takara, Japan)を用いてPCR 反応を行った。C genotypeの検出にはP1とP3のプライ マーセット、E genootypeの検出にはP2とP3のプライマー セットを用いた。

表2-4 プライマー配列

P1	5'-AGCTGCCGATAGCGATCT-3'
P2	5'-CTCAATTGACAATGATCT-3'
P3	5'-CGCTTAGGATGATCGGTG-3'

反応液組成を表2-5に示す。

表2-5 PCR反応液組成

Reagent	Volume (µl)	
Premix Ex Taq	12.5	
(タカラバイオ、日本)		
Primer Forward (10 µM)	0.25	
Primer Reverse (10 µM)	0.25	
Template DNA	1.0	
H <sub>2</sub> O	11.0	
Total	25.0	

PCRは以下の条件で行った。

反応条件

94°C	3 min	
94°C	20 sec	
50°C	20 sec	30 cvcles
72°C	20 sec	 
72°C	1 min	

反応終了後に、PCR増幅断片(277 bp)を2.0%アガロース ゲル電気泳動にて確認した。

#### 2-1-4 viuBのPCRによる検出

2-1-1で抽出したゲノムDNAを鋳型として表2-6に示す プライマーとPremix Ex Taq (Takara, Japan)を用いてPCR 反応を行った。

表2-6 プライマー配列

<i>viu</i> B-F	5'- GGTTGGGCACTAAAGGCAGAT -3'
viuB-R	5'- TCGCTTTCTCCGGGGGCGG -3'

反応液組成を表2-7に示す。

表2-7 PCR反応液組成

Reagent	Volume (µl)	
Premix Ex Taq	12.5	
(タカラバイオ、日本)		
Primer Forward (10 µM)	0.25	
Primer Reverse (10 µM)	0.25	
Template DNA	1.0	
H <sub>2</sub> O	11.0	
Total	25.0	

PCRは以下の条件で行った。

反応条件 94℃ 5 min 94℃ 30 sec 50℃ 30 sec 72℃ 1 min 72℃ 7 min 50℃ 7 min

反応終了後に、PCR増幅断片を2.0%アガロースゲル電気 泳動にて確認した。

#### 2-2 胆汁酸による生育阻害

分離株6株(P-11, P-15, A-2, K-1, K-5, K-8)を試験菌とした。それぞれBrain Heart Infusion (BHI)培地(BBL, USA)に接種し、37℃好気条件下でO.D. $_{660}$  = 0.4となるまで培養した。これらシードを、それぞれBHI培地5 mlと0.3% Bile salts (SIGMA, Japan)添加BHI培地5 mlに1%接種し、37℃ 好気条件下で12時間培養を行った。この間、バイオフォトレコーダー<sup>®</sup>TVS062CA (ADVANTEC, Japan)を用いて、1時間毎に吸光度(O.D. $_{660}$ )をモニタリングし、胆汁酸添加による阻害率を下式より算出した。

阻害率 = $(1-A_{BS}/A_{CT}) \times 100$  (%) BS: Bile Salt, CT: Control

#### 2-3 低温・低塩ストレスに対するwhAの発現応答

分離株2株(P-15, K-6)を試験菌として用い、低温・低塩 ストレスに対するヘモリシン遺伝子(whA)の発現応答を RT-Real-time PCRを用いて調査した。

#### 2-3-1 使用菌株と培養条件

それぞれ3%NaCl BHI液体培地に接種し、37℃好気条 件下でO.D.660=0.4となるまで培養した。これらをシード とし、それぞれ3%NaCl BHI培地10 mlに1%接種し、37℃ 好気条件下で6.5時間培養を行った。株毎に、3本の チューブに500 μlずつ培養液を採取し、遠心操作により 菌体を回収した。

#### 2-3-2 ストレス条件

2-3-1で回収した菌体は、それぞれ3%NaCl BHI液体培 地・37℃ (Contorol)、3%NaCl BHI液体培地・26℃、
0.5% NaCl BHI液体培地・37℃の条件下に1時間曝露した。 これら低温・低塩ストレスはそれぞれ人体末梢部位およ びV. vulnificus感染症の発症が増加する夏季の海水中で受 けるストレスに相当すると思われる。1時間静置した後、 RNAprotect<sup>TM</sup> Bacteria Reagent (QIAGEN, USA)を用いて各 菌体のRNAを安定化した。

#### 2-3-3 RNA抽出

2-3-2の菌体より、RNeasy Mini Kit (QIAGEN, USA)を 用いてRNAを抽出した。

#### 2-3-4 プライマーとスタンダード

RT-Real-time PCR用のプライマーには、whA特異的プ ライマーセット(F-vvh785, R-vvh990)<sup>8)</sup>とユニバーサルプ ライマーセット(HDA1, HDA2)<sup>9)</sup>を用いた(表2-8)。

#### 表2-8 プライマー配列

F-vvh785	5'-TTCCAACTTCAAACCGAACTATGAC-3'
R-vvh990	5'-ATTCCAGTCGATGCGAATACGTTG-3'
HDA1	5'- ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT -3'
HDA2	5'- GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC -3'

スタンダードには、塩基配列既知の16S rDNA断片およ び表2-8のwhA特異的プライマーを用いて増幅したV. vulnificus 27562<sup>T</sup>由来のPCR増幅断片を持つプラスミドを 用いた。プラスミドの濃度は、微量分光光度計 NanoDrop ND-100RPを用いて測定した。測定して得られ たプラスミドの濃度および塩基配列より、プラスミドの コピー数を算出し、10倍毎に段階希釈することで、RT-Real-time PCRのスタンダードとした。RT-Real-time PCR 反応で増幅効率は74%以上、スタンダードカーブは、少 なくともDNAコピー数の5対数値の範囲で相関係数(r<sup>2</sup>)は 0.96以上のものを用いた。

#### 2-3-5 RT-Real-time PCR反応条件

PCR反応は、One Step SYBR<sup>®</sup> PrimeScript<sup>®</sup> RT-PCR Kit II (Takara, Japan)と、Mx3000P<sup>®</sup>QPCR System (Stratagene, CA, USA)を用いて行った。反応組成を表2-9に示す。

表2-9 PCR反応液組成

Reagent	Volume (µl)
$2 \times \text{One Step SYBR}^{\mathbb{R}}$ RT-PCR	10
Buffer 4	10
PrimeScript <sup>®</sup> 1step Enzyme Mix 2	0.8
Primer Forward (10 µM)	0.8
Primer Reverse (10 µM)	0.8
Template RNA	2.0
ROX Reference Dye II (50 $\times$ )	0.4
RNase Free dH <sub>2</sub> O	5.2
Total	20

全てのRT-Real-time PCR反応は3連測定を行い、ネガ ティブコントロールには、鋳型RNAの代わりに2.0 µlの RNase Free dH<sub>2</sub>Oを用いた。RT-Real-time PCRのサイクル 終了後、解離曲線をモニタリングし、PCR増幅の特異性 を確認した。解離曲線はPCR産物を55℃から95℃に徐々 に加熱すると共に、SYBR Green Iの蛍光強度を測定する ことでモニタリングした。鋳型RNA中の標的遺伝子のコ ピー数は、サンプル測定と同時に2-3-4での要領で作製し たスタンダードカーブを用いて算出し、細菌16S rRNA 遺伝子に対するwhA発現量の相対定量を行った。



#### 3. 結果

#### 3-1 V. vulnificus分離株の遺伝学的分類

V. vulnificus分離株46株 (患者株15株、有明海由来株10 株、唐津湾由来株10株、伊勢湾・三河湾由来株11株) に ついて、16S rDNAと病原性関連遺伝子vcgの遺伝型およ びviuB遺伝子の保有状況の調査結果を表3-1に示した。 その結果、16S rDNAの遺伝型に関して、Type Bはそれ ぞれ患者株で93.3% (14/15)、有明海由来株で100% (10/10)、唐津湾由来株で40.0% (4/10)、伊勢湾・三河湾由 来株で63.6% (7/11)の割合で検出され、有明海>伊勢 湾・三河湾>唐津湾の順で多いことが明らかとなった。 このことは、日本近海におけるV. vulnificusの臨床分離株 タイプと環境株タイプの存在割合が異なることを示して いる。また、同様に病原性関連遺伝子vcgについて調査 したところ、C genotypeは患者株で93.3% (14/15)、有明 海由来株で100% (10/10)、唐津湾株で30.0% (3/10)、伊勢 湾・三河湾由来株で72.7% (8/11)の割合で検出され、16S rDNAの遺伝型の分布と類似する傾向が見られた。さら に、生体内における生残性に関わる遺伝子viuBの保有状 況について調査したところ、唐津湾由来2株を除く全て の株が保有することが明らかとなった。これらの分布の 傾向は、各湾近郊におけるV. vulnificus感染症の発症状況 と非常に相関するものである。特に、日本において、そ の近郊で最も発症件数の多い有明海に関しては、調査し た全ての株が、臨床分離株タイプであるType B, C genotypeであり、全ての株がviuBを保有していた。この ことから、これら臨床分離タイプの株(Type B, C genotype, viuB+)の分布状況がV. vulnificus感染症のリスク ファクターの一つであることが示唆された。しかしなが ら、検出率は非常に低い(6.7%, 1/15)ものの、患者株の中 には環境株タイプ(Type A, E genotype)の株も存在する。

このことから、遺伝学的分類以外にも感染リスクに影響 を及ぼすファクターが存在するものと思われる。

表3-1 被験株の各遺伝子の遺伝型および保有状況

株名	16S rDNA	VCg	viuB
P-1	В	С	+
P-2	В	С	+
P-3	В	С	+
P-4	В	С	+
P-5	В	С	+
P-6	В	С	+
P-7	В	С	+
P-8	В	С	+
P-9	В	С	+
P-10	В	С	+
P-11	А	Е	+
P-12	В	С	+
P-13	В	С	+
P-14	В	С	+
P-15	В	С	+
A-1	В	С	+
A-2	В	С	+
A-3	В	С	+
A-4	В	С	+
A-5	В	С	+
A6	В	С	+
A-7	В	С	+
A-8	В	С	+
A-9	В	С	+
A-10	В	С	+
K-1	В	E	+
K-2	А	Е	+
K-3	В	С	+
K-4	В	С	+
K5	А	Е	_
K-6	А	Е	+
K-7	В	С	+
K-8	А	Е	+
K-9	А	Е	+
K-10	А	Е	-
L-1	A	E	+
L-2	В	С	+
L-3	В	С	+
L-4	А	Е	+
L-5	А	С	+
L-6	В	С	+
L-7	В	С	+
L-8	В	С	+
L-9	А	Е	+
L-10	В	С	+
L-11	В	С	+

#### 3-2 胆汁酸による生育阻害

3-1の結果より、それぞれ分離源および遺伝型のこと なる分離株6株(P-11, P-15, A-2, K-1, K-5, K-8)について、 腸管内における生残性を評価するために、胆汁酸が各株 の生育に及ぼす影響を調査した。胆汁酸添加・無添加の BHI培地における生育挙動を図3-1に示す。その結果、胆 汁酸による生育阻害は、株によって大きく異なることが 明らかとなった。



(A)胆汁酸無添加BHI培地における生育 (B)0.3%胆汁酸添加BHI培地における生育

培養5時間における各株の生育阻害率を、表3-2に示す。

表3-2 培養5時間までの生育阻害率

	生育阻害率(%)					
株名	1時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間	
P-15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
K-5	82.1	76.4	38.9	3.1	8.3	
P-11	100.0	97.7	91.5	54.6	15.1	
K-1	91.8	98.6	98.5	90.8	48.9	
K-8	92.5	99.5	99.6	97.7	79.4	
A-2	95.1	99.3	99.5	99.4	97.7	

値が0以下のものは全て0.0と表記した

その結果、患者株(P-15, P-11)は胆汁酸による生育阻害を 比較的受けにくい傾向が見られた。特に、P-15株には、 0.3%胆汁酸による生育阻害は全く見られなかった。つまり、患者株はヒト腸管内における生残性が高いものと思われる。このことから、各株の胆汁酸に対する耐性は、 遺伝型による分類に加えて考慮すべきV. vulnificus感染症 発症のファクターであることが示唆された。

#### 3-3 低温・低塩ストレスに対するwhAの発現応答

分離株2株(P-15, K-6)について、低温・低塩ストレスに 対するヘモリシン遺伝子(whA)の発現応答を調査した。 各株におけるコントロールを1とした相対発現量を図3-2 に示す。



図3-2 低温・低塩条件下におけるwhA相対発現量

その結果、環境由来K-6株においては低温26℃、低塩 0.5% NaCl条件下に曝露した場合、顕著な変化が見られ なかったのに対し、患者株P-15株では顕著な減少が見ら れ、株により発現応答が異なることが明らかとなった。 これら発現応答の差が、病原性に与える影響に関しては 不明であるが、病原因子の発現応答は患者株においては 環境変化に対して厳密に制御されているものと推察され た。

#### 4. 結論

V. vulnificus分離株46株 (患者株15株、有明海由来株10 株、唐津湾由来株10株、伊勢湾・三河湾由来株11株) に ついて16S rDNAとvcgの遺伝型を調査したところ、臨床 分離株タイプと環境株タイプの株の分布が、各海域に よって異なることが明らかとなった。特に、近県でV. vulnificus感染症が多く見られる有明海では、全ての分離 株が臨床分離株タイプであった。このことから、臨床分離株タイプの分布がV. vulnificus感染症リスクに相関する ことが示唆された。一方、viuB遺伝子の保有状況に関し ては、全ての患者株が保有していた。さらに、患者株2 株と環境株4株について、胆汁酸の生育阻害を調査した ところ、患者株における胆汁酸の生育阻害率は比較的低 い傾向にあった。これらのことから、ヒトに対して病原 性を示す株は、同一種内でも他の株に比べて生体内での 生残性がより高いことが示唆された。

#### 参考文献

- 山本茂貴: ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な感染症について、食品衛生研究,56,pp.25-28,2006.
- Strom, M.S. and Paranjpye, R.N.: Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus.*, *Microbes Infect.*, Vol. 2, pp. 177-88. 2000.
- Oishi, H., Ura, Y., Mitsumizo, S., and Nakashima, M.: A collective review of *Vibrio vulnificus* infection in Japan, *Kansenshogaku Zasshi*, Vol. 80, pp. 680-689, 2006.
- Inoue, Y., Ono, T., Matsui, T., Miyasaka, J., Kinoshita, Y., and Ihn, H.: Epidemiological survey of *Vibrio vulnificus* infection in Japan between 1999 and 2003., *J. Dermatol.*, Vol. 35, pp. 129-139, 2008
- Bisharat, N.: *Vibrio vulnificus* infections can be avoided, *IMAJ*, Vol. 4, pp. 631-633, 2002
- 6) Nilsson, W.B., Paraniype, R.N., DePaola, A., and Storm, M.S.: Sequence Polymorphism of the 16S rRNA Gene of *Vibrio vulnificus* Is a Possible Indicator of Strain Virulence., *J. Clin. Microbiol.*, Vol. 41, pp.442-446, 2003.
- 7) Rosche, T.M., Yano, Y., and Oliver, J.D.: A Rapid and Simple PCR Analysis Indicates There Are Two Subgroup of *Vibrio vulnificus* Which Correlate with Clinical or Environmental Isolation., *Microbiol. Immunol.*, Vol. 49, pp. 381-389, 2005
- Panicker, G., M. Vickery, and A. K. Bej.: Multiplex PCR detection of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus* in shellfish. *Can. J. Microbiol.* Vol. 50, pp. 911–922, 2004.
- 9) Nakayama, J., Hoshiko, H., Fukuda, M., Tanaka, H., Naoshige, S., Tanaka, S., Ohue, K., Sakai, K. and Sonomoto, K.: Molecular monitoring of bacterial community structure in long-aged nukadoko: pickling bed of fermented rice bran dominated by slow-growing lactobacilli, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol.104, pp. 481–489, 2007.

(2009.3.31受付)

## ポルフィランの栄養生理機能に関する研究

PHYSIOLOGICAL FUNCTION OF PORPHYRAN ON LIPID METABOLISM IN OBESE RATS

山野尚美<sup>1</sup>・永尾晃治<sup>2</sup>・濱洋一郎<sup>3</sup>・柳田晃良<sup>4</sup> Naomi YAMANO, Koji NAGAO, Yoichiro HAMA and Teruyoshi YANAGITA <sup>1</sup>農修 佐賀大学大学院農学研究科応用生物科学専攻(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>2</sup>農博 佐賀大学准教授 農学部生命機能科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

3農博 佐賀大学准教授 農学部生命機能科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

4農博 佐賀大学教授 農学部生命機能科学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

It is known that high levels of apolipoprotein B100 (apoB100) and cholesterol in the serum are risk factors for atherogenesis. Previously, we reported that porphyran, a sulfur-containing polysaccharide in a marine alga (*Porphyra yezoensis*), suppress apolipoprotein B100 in human liver model HepG2 cells. In the present study, we evaluated the effects of porphyran on lipid metabolism in obese model OLETF rats. Porphyran, decreased the levels of non-HDL (VLDL+LDL) cholesterol in serum may through the suppression of newly synthesis of free cholesterol and cholesteryl ester in the liver. Thus, porphyran may be beneficial to reduce risk factors for atherosclerosis.

Key Words : Porphyran, lipid metabolism, OLETF rats

#### 1. 序論

近年、ライフスタイルや食生活の大きな変化に伴い、 肥満、高血圧、高脂血症などの生活習慣病が増加してい る。そのなかでも高脂血症は、日本人の主要な死亡原因 の一つである動脈硬化性疾患発症の重大な危険因子とし て知られている。そこで現在、脂質代謝異常を改善し高 脂血症を予防・改善する作用を有する機能性成分の検索 が盛んに行われている。

周囲を海に囲まれた我が国に於いては、古来から海藻 を食する習慣があり、近年、海藻中の多糖類に栄養薬理 作用があることが報告されている。海藻を用いた代表的 な食材としては海苔が挙げられ、養殖海苔にはアマノリ Porphyra属が広く用いられている。佐賀県でも多く育 成されているスサビ海苔Porphyra yezoensisは、水 溶性粘質多糖で分子中に硫酸基を有する「ポルフィラ ン」を乾ノリ中に約30%も含んでいる。ポルフィラン は、D-ガラクトースとL-ガラクトースが反復結合した 直鎖の酸性ガラクタンである。L-ガラクトースは6位が 硫酸化したものと、3位と6位でアンヒドロ化したもの のいずれかであり、D-ガラクトースは一部、6位の水酸 基がメチル化している。(図1)。これまでに、ポル フィラン及びその低分子化合物に幾つかの生理活性(免 疫賦活作用、抗腫瘍作用など)が報告されているものの (1-4)、肥満やそれに伴う脂質代謝異常に及ぼす影響 についての詳細な作用機序は明らかでない。

Agarose

 $(1\rightarrow 4)$ -3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranosyl- $(1\rightarrow 3)$ - $\beta$ -D-galactopyranan

Porphyran (上記構造および一部は下記構造を持つ)

4-linked 6-O-sulfo-α-L-galactopyranose residue

3-linked 6-O-methyl-B-D-galactopyranose residue

図1 アガロースとポルフィランの構造

また我々の研究室ではこれまでに、タマネギに含まれ るS-プロピル-L-システイン、シクロアリインや海産物 中に含まれるタウリンなどの含硫化合物が、脂質代謝改 善作用を有することを報告してきた(5-9)。さらにヒ ト肝臓モデルHepG2細胞を用いた実験に於いて、ポル フィランを培地に添加することにより、動脈硬化の危険 因子であるアポリポタンパク質B100の細胞外への分泌 を抑制できることも既に報告している(10)。

そこで本研究では、ポルフィランが肥満モデルOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty(OLETF)ラットの脂質代謝 に及ぼす影響について検討することで、生理作用機序の 解明を行った。なおOLETFラットは、大塚製薬により分 離・系統化されたモデル動物であり、食欲制御ホルモン であるコレシストキニンの受容体欠損により過食を生じ 肥満・脂質代謝異常を発症するため、肥満に及ぼす食品 成分の影響の評価に用いられている。

#### 2. 実験方法

実験にはスサビノリ由来ポルフィランを用いた。

4週齢の雄性0LETFラットおよび0LETFラットの野生型 であるLong-Evans-Tokushima-Otsuka(LETO)ラットは 大塚製薬工場株式会社(徳島)より供与された。ラット は金網製ケージに1匹ずつ入れ、12時間の明暗サイクル (19~7時消灯、7~19時点灯)で室温23±2℃のもと、

(19 1時(前)、7 19時(京)が) (全価23-2-2-00-8-2、 飼育した。ラット用Chow食により1週間予備飼育後、4群 (n=5/group) に分けた。AIN-76組成に準じた食餌を対

照食として、実験食にはアガロースを0.75%添加した Agarose食、ポルフィランを0.75%添加したPorphyran食 を設けた。食餌組成は表1に示した。これらの食餌で3週 間、paired feedingにより飼育を行った。飼育最終日に 9時間絶食させた後、ジエチルエーテル麻酔下で腹部大 動脈採血により屠殺を行い、血液、肝臓および白色脂肪 組織を摘出した。

#### 表1 実験食の組成

Ingredients	Normal	Control	Agarose	Porphyran
		%	6	
Casein	20.00	20.00	20.00	20.00
Corn starch	15.00	15.00	15.00	15.00
Cellulose	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture*	3.50	3.50	3.50	3.50
Vitamin mixture*	1.00	1.00	1.00	1.00
DL-Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20
Com oil	7.00	7.00	7.00	7.00
Agarose	-	-	0.75	-
Porphyran	-	-	-	0.75
Sucrose	48.00	48.00	47.25	47.25
	1.0	A LOT TH		. 1

Normal, LETO rat control; Control, OLETF rat control

血清総コレステロール濃度は、コレステロールE-テス

トワコー(和光純薬)を用いてコレステロールオキシ ダーゼ DAOS法により測定した。血清高密度リポタンパ ク質(HDL) コレステロール濃度は、HDLレステロールE-テストワコー(和光純薬)を用いてリンタングステン 酸・マグネシウム塩沈殿法により測定した。血清トリア シルグリセロール濃度はトリグリセライドE-テストワ コー(和光純薬)を用いて、GPO DAOS法により測定し た。血清グルコース濃度はグルコースCII-テストワコー (和光純薬)を用いてムロターゼ GOD法により測定し た。血清遊離脂肪酸濃度は、NEFA C-テストワコー(和 光純薬)を用いてACS・ACOD法により測定した。

肝臓脂質はFolchらの方法(11)により抽出・濃縮し、 トリアシルグリセロール濃度はFletcherらの方法(12) により、コレステロール濃度はコレステロールE-テスト ワコー(和光純薬)を用いてコレステロールオキシダー ゼ DAOS法により、リン脂質濃度はBartlettらの方法 (13)により定量した。

糞中の総胆汁酸濃度は、和光純薬工業株式会社(大阪)の総胆汁酸-テストワコー酵素キットを用いて、酵素比色法により分析した。すなわち、屠殺前日・前々日の2日間分の糞を回収し、凍結乾燥機にて3日間凍結乾燥した。その後、ミル&ミキサー(TML-15, Tescom Denki, Co., Ltd., 東京)により粉砕し、糞重量を測定した。 粉砕した糞0.05gに精製エタノールを10mL加え混合後、75℃で1時間加温し、3000rpm、4℃で10分間遠心分離した後、上清を回収した。沈殿物に再び精製エタノールを5mL加え、同様の操作をさらに2度繰り返し、糞中のステロイドを抽出した。

糞中総脂質量の測定は池田らの方法(14)で測定した。 粉砕した糞0.25gにヘプタン:ジエチルエーテル:精製 エタノール(1:1:1)溶液(濃塩酸を数滴加え酸性 にしたもの)を4mL加え混合後、3000rpm、10℃で10分間 遠心分離し、上清を回収した。沈殿物に、ヘプタン:ジ エチルエーテル:精製エタノール:水(1:1:1:1) 溶液の上清液を4mL加え、同様の操作をさらに2度繰 り返し、糞中の総脂質を抽出した。回収した上清をdry up後、糞中の総脂質量を測定した。

得られたデータの統計解析は、Duncan's multiple range test (15) を用いて多重比較検定を行った。

#### 3. 実験結果

ノリ由来含硫多糖であるポルフィランが肥満モデル OLETFラットの脂質代謝に及ぼす影響を検討した。アガ ロースは、D-ガラクトースおよび3位と6位がアンヒドロ 化したL-ガラクトースが反復結合した直鎖のガラクタン である(図1)。ポルフィランは、アガロースの構造に 加え、6位が硫酸化したL-ガラクトースおよび6位の水酸 基がメチル化したD-ガラクトースを有する点でアガロー スと異なる。よってアガロースを比較対象に加えること で、ポルフィランに含まれる硫酸基の意義を検討した。

実験試料を3週間摂食させたLETOおよびOLETFラットの 終体重、体重増加量、摂食量、摂食効率、肝臓重量およ び白色脂肪組織重量を表2に示した。非肥満LETOラット と比べOLETFラットの対照群は、終体重、体重増加量お よび摂食量において高値を示した。また、摂食効率に有 意な差はなかった。体重100g当たりの肝臓重量において は増加傾向を示した。精巣、腎臓、腸管膜周辺の脂肪組 織重量および総脂肪組織重量においては増加させた。こ れらはOLETFラット群間で有意な差は認められなかった。

表2 ポルフィランがラットの成長に及ぼす影響

157±2" 274±3" 117±3" 370±8"	193±6 <sup>b</sup> 351±10 <sup>b</sup> 158±9 <sup>b</sup>	193±6 <sup>b</sup> 342±11 <sup>b</sup> 150±9 <sup>b</sup>	193±6 <sup>b</sup> 346±2 <sup>b</sup>
274±3* L17±3* 370±8*	351±10 <sup>b</sup> 158±9 <sup>b</sup>	342 ± 11 <sup>b</sup> 150 ± 9 <sup>b</sup>	346±2 <sup>b</sup>
L17±3* 370±8*	158±9 <sup>6</sup>	150±9°	1
370±8"	coo - coh		153 ± 3°
1 / 1 - 1 - 1 - 1	5ZZ±Z3"	520 ± 18 <sup>b</sup>	$523 \pm 10^{b}$
anyë marke)			
0_316±0.008*	0.303±0.005**	$0.287\pm0.008$	$^{b}$ 0.292 ± 0.006 $^{b}$
g B.W.)			
3.47±0.10	3.78±0.13	3.62±0.18	$\textbf{3.76} \pm \textbf{0.04}$
(g/100g B.W.)			
3.58±0.17*	6.65±0.29 <sup>b</sup>	6.79±0.31 <sup>b</sup>	6.35 ± 0.21 <sup>b</sup>
1.11±0.04*	1.73±0.07 <sup>b</sup>	1.90 ± 0.12 <sup>b</sup>	$1.72 \pm 0.10^{10}$
1.76±0.11*	3.31±0.14*	3.32 ± 0.12 <sup>6</sup>	$3.09 \pm 0.08$
0.716±0.04*	1.61±0.11 <sup>b</sup>	1.58 ± 0.11 <sup>b</sup>	$1.54 \pm 0.06^{5}$
	3.47±0.10 (g/100g B.W.) 3.58±0.17 <sup>±</sup> 1.11±0.04 <sup>±</sup> 1.76±0.11 <sup>±</sup> 0.716±0.04 <sup>±</sup>	3.47±0.10 3.78±0.13 (g/100g B.W.) 3.58±0.17 <sup>k</sup> 6.65±0.29 <sup>k</sup> 1.11±0.04 <sup>k</sup> 1.73±0.07 <sup>k</sup> 1.76±0.11 <sup>k</sup> 3.31±0.14 <sup>k</sup> 0.716±0.04 <sup>k</sup> 1.61±0.11 <sup>k</sup>	3.47±0.10 3.78±0.13 3.62±0.18 (g/100g B.W.) 3.58±0.17 <sup>k</sup> 6.65±0.29 <sup>b</sup> 6.79±0.31 <sup>k</sup> 1.11±0.04 <sup>k</sup> 1.73±0.07 <sup>k</sup> 1.90±0.12 <sup>k</sup> 1.76±0.11 <sup>k</sup> 3.31±0.14 <sup>k</sup> 3.32±0.12 <sup>b</sup> 0.716±0.04 <sup>k</sup> 1.61±0.11 <sup>k</sup> 1.58±0.11 <sup>k</sup>

saux of fire cais. <sup>20</sup>Different separatelyt latters show significant difference at P <4.05 in LEIO and OLEIF rate (4 groups)

血液生化学データを表3に示した。非肥満LETOラット に比べOLETFラットの対照群で、血清生化学パラメー ターは増加した。OLETFラット群間では、血清トリグリ セリド、リン脂質、グルコースおよびHDL-コレステロー ル濃度においてはポルフィランおよびアガロース摂取の 影響は認められなかったが、ポルフィラン群が対照群と 比べ、血清VLDL-コレステロールおよびLDL-コレステ ロール濃度を30%低下させ、血清総コレステロール濃度 も有意に低下させた。またポルフィラン摂取は、遊離脂 肪酸濃度も顕著に低下させた。また、ポルフィランと構 造が類似のアガロースには、顕著な作用が認められな かったことから、ポルフィラン構造中の硫酸基が生理作 用を示す上で重要であると考えられた。

表3 ポルフィランが血清パラメーターに及ぼす影響

	Normal	Control	Ageost	Porphyrun.
		(mg	/dL)	
Tatal Cholesterol	117±1*	174±4 <sup>b</sup>	173±3*	156±8°
HDL-Choiesterol	\$3.5 ±2*	$121 \pm 4^{10}$	$124 \pm 3^{b}$	119±9*
VLDL-C+LDL-C	33.1±1.8"	52.7±2.7 <sup>b</sup>	49.3±1.8*	36.6±4.1
Triglycerids (mg/dL)	45.5 ±2.5"	152 ± 15 <sup>6</sup>	146±16 <sup>b</sup>	152 ± 22 <sup>b</sup>
Phospholipid (mg/dL)	139 ±4"	235 ± 5 <sup>b</sup>	235 ±8 <sup>b</sup>	215 ± 12 <sup>b</sup>
NEFA (mEq/L)	$0.532 \pm 0.024$ "	0.794±0.042 <sup>b</sup>	$0.826 \pm 0.964$	0.664±0.025°
Gincose (mgAIL)	$126 \pm 17^{\circ}$	184±6 <sup>h</sup>	166±11 <sup>b</sup>	191 ± 8 <sup>k</sup>
Normal, LETO not so	antrol; Centrol, I	OLETF net combro	l. Values are expr	essed as mean ±
standard error of five :	nts. <sup>al</sup> Different s	uperscript letters si	ow significant diff	intence ut P <0.05
in LETO and OLETF	rais (4 groups).		_	

肝臓脂質濃度を表4に示した。非肥満LETOラットと比べのLETFラットの対照群は、肝臓1g当たりのトリグリセリド濃度において増加傾向を示し、コレステロール濃度

は低下し、リン脂質濃度においては有意な差はなかった。 またOLETFラットはLETOラットに比べで全肝臓重量当た りのトリグリセリド、コレステロールおよびリン脂質濃 度が増加した。OLETFラット群間では、ポルフィラン群 は肝臓1g当たりのトリグリセリド濃度で11%、全肝臓重 量当たりのトリグリセリド濃度で16%の低下傾向を示し た。しかしながら、肝臓1gおよび全肝臓重量当たりのコ レステロールおよびリン脂質濃度においては、ポルフィ ランおよびアガロース摂取の影響は認められなかった。

表4 ポルフィランが肝臓脂質濃度に及ぼす影響

	Normal	Control	Agarose	Porphyran
		(mg/g	liver)	
Triglyceride	$16.6 \pm 1.1$	25.7±4.3	25.8±3.5	22.8±2.5
Cholesterol	3.77±0.09"	3.21±0.06 <sup>b</sup>	3.35±0.14 <sup>b</sup>	3.19±0.08 <sup>i</sup>
Phospholipid	36.8±0.9	36.1±9.8	37.5±1.5	36.5±0.8
		(mg/who	ic liver)	
Triglyceride	158±13*	354±77 <sup>b</sup>	331±66 <sup>h</sup>	295±30 <sup>nh</sup>
Cholesterol	35.8±1.1*	42.6±2.2	41.4±2.4*	41.5±0.6 <sup>6</sup>
Phoenholinid	349±5*	477±19 <sup>b</sup>	461±20 <sup>b</sup>	475±9*

 $\pm$  standard error of five rate, "Different superscript letters show significant different P < 0.05 in LETO and OLETF rate (4 groups).

コレステロールは生体膜の構成成分であり、胆汁酸や ステロイドホルモンの前駆体として重要であり、体内コ レステロール量の恒常性を保つための機構が存在する。 図2に示すように、脂質代謝制御に重要な働きをする肝 臓を中心として、食事由来の外因性コレステロールおよ び肝臓で新規合成される内因性コレステロールによるイ ンプット、腸管および肝臓による中性ステロールおよび 酸性ステロールの糞中への排泄機構によるアウトプット およびリポタンパク質の構成成分としての肝臓から末梢 組織への輸送によりバランスが保たれている。



図2 体内コレステロール恒常性維持機構

表5に示すように、0LETFラットにおいて対照群と比べ、 糞中への胆汁酸排泄および総脂質排泄率にポルフィラン 群で差は認められなかった。このことから、ポルフィラ ン摂取は、コレステロール恒常性のアウトプット経路に 影響を及ぼさないことが示唆された。

#### 表5 ポルフィランが糞中脂質排泄に及ぼす影響

	Normal	Control	Agarose	Porphyran		
Fecal total bile acid levels (µmol/2days)						
	21.2±1.7*	44.3±3.4°	46.8±4.L <sup>6</sup>	35.5±4.8 <sup>6</sup>		
Lipid excretion rate	Lipid exerction rate (%)					
	7.64±9.39*	10.7±0.4 <sup>∞</sup>	11.9±1.3 <sup>6</sup>	11.8±1.5 <sup>b</sup>		
Normal, LETO net control; Control, OLETF net control. Values are expressed as mean						

 $\pm$  standard error of five rats. <sup>a</sup>Different superscript letters show significant different at P <0.05 in LETO and OLHIF rats (4 groups).

図2に示すように、VLDLは脂質代謝の中心臓器である 肝臓において、合成される脂質とアポリポタンパク質 apoB100の会合によって形成され、血液中に分泌される。 apoB100は常に分泌量を上回って合成されており、分泌 量の制御は翻訳後になされる。迅速な分泌制御には脂質 の供給が最も重要であり、脂質と会合できないapoB100 は細胞内で分解される。先の報告において、ポルフィラ ンは、肝臓細胞内におけるコレステロールエステルおよ び遊離コレステロール合成を顕著に抑制した(10)。し たがってOLETFラットの肝臓においても、ポルフィラン がコレステロール合成およびコレステロールのエステル 化を抑制していることが考えられる。即ち、ポルフィラ ンがapoB100と会合する脂質量を減少させ、apoB100含有 VLDLの合成および分泌を抑制することによって、血清 VLDL-コレステロール・LDL-コレステロール濃度および 総コレステロール濃度を顕著に低下させたことが示唆さ れた。

今後は、コレステロール代謝に対するポルフィランの 影響に関するより詳細な分析、ポルフィランの含硫率と 生理活性との関係の検討、生体が摂取した際のポルフィ ランの消化・吸収・代謝的運命に関する検討などを行っ ていく必要がある。

#### 4. 結論

以上の結果から、ポルフィランは、脂質代謝改善作用 を示し、生活習慣病の予防に利用し得る可能性が示唆さ れた。

謝辞:動物飼育および各種分析に協力頂いた食品栄養化 学分野の城内文吾氏、井上真美氏、薄井綾子氏に感謝申 し上げる。

#### 参考文献

 Yoshizawa, Y., Ametani, A., Tsunehiro, J., Nomura, K., Itoh, M., Fukui, F. and Kaminogawa, S.: Activation of murine macrophages by polysaccharide fractions from marine algae (*porphyra yezoensis*)., *Bioci Bioyech Biochem.*, Vol.57, pp.1862-1866, 1993.

- Ren, D., Noda, H., Amano, H., Nishino, T. and Nishizawa, K.: Study on antihypertensive and antihyperlipidemic effects of marine algae., *Fisheries Sci.*, Vol.60, pp.83-88, 1994.
- Yoshizawa, Y., Ametani, A., Tsunehiro, J., Nomura, K., Itoh, M., Fukui, F. and Kaminogawa, S.: Macrophage stimulation activity of the polysaccharide fraction from a marine alga (*porphyra yezoensis*): Structure-function relationships and improved solubility., *Bioci Bioyech Biochem.*, Vol.59, pp.1933-1937, 1995.
- Tsuge, K., Okabe, M., Yoshimura, T., Sumi, T., Tachibana, H. and Yamada, K.: Dietary effect of porphyran from *porphyra yezoensis* on growth and lipid metabolism of Sprague-Dawley rats., *Food Sci. Technol. Res.*, Vol.10, pp.147-151, 2004.
- 5) 柳田晃良、韓瑞瑛、阿武尚彦: タマネギ成分のニュトラ スーティカルな作用,バイオサイエンスとインダストリー, 58,855-858,2000.
- Han, S.Y., Anno, T., and Yanagita, T.: S-Propyl cysteine reduces apolipoprotein B100 and triacylglycerol secretion in HepG2 cells., *Nutrition*, Vol.18, pp.505-509, 2002.
- Han, S.Y., Anno, T., Fukuda, N., Nagao, K. and Yanagita, T.: S-Propyl-cystein sulfoxide and DL-methionine sulfoxide inhibit the secretion of apolipoprotein B100 secretion and lipids in HepG2 cells., *J. Oleo Sci.*, Vol.51, pp.243-250, 2002.
- Yanagita, T., Han, S.Y., Wang, Y.M., Tsuruta, Y. and Anno, T.: Cycloalliin, A cyclic sulfur imino acid, reduces serum triacylglycerol in rats., *Nutrition*, Vol.19, pp.140-143, 2003.
- Yanagita T., Han, S.Y., Hu, Y., Nagao, K., Kitajima, H., Murakami, S.: Taurine reduces the secretion of apolipoprotein B100 and lipids in HepG2 cells., *Lipids Health Dis.*, Vol.7, 38, 2008.
- Inoue N., Yamano, N., Sakata, K., Nagao, K., Hama, Y., Yanagita, T.: The sulfated polysaccharide, porphyran, reduces apolipoprotein B100 secretion and lipid synthesis in HepG2 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol.73, 447-449, 2009.
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H.:A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues., *J. Biol. Chem.*, Vol.226, pp.497-506, 1957.
- 12) Fletcher, M.J.: A colorimetric method for estimation of serum triglycerides, *Clin. Chem. Acta.*, Vol.22, pp.393-397, 1968.
- Bartlett, G.R.: Cororimetic assey methods for free and phosphorylated glyceric acid, *J. Biol. Chem.*, Vol.234, pp.466-469, 1958.
- 14) 池田郁男: 脂質の機能, 食品機能研究法, 光琳, 2000.
- 15) Duncan, D.B.: Multiple range and multiple F tests., *Biometrics*, Vol.11, pp.1-42, 1955.

(2009.3.31受付)

### 天然環状ペプチドによるヒト好中球の プライミング作用 PRIMING EFFECTS OF HUMAN NEUTROPHILS BY NATURAL CYCLIC PEPTIDES

小内美佳<sup>1</sup>・杉山大輔<sup>2</sup>・長田聰史<sup>3</sup>・藤田一郎<sup>4</sup>・浜崎雄平<sup>5</sup>・兒玉浩明<sup>6</sup> Mika ONAI, Daisuke SUGIYAMA, Satoshi OSADA, Ichiro FUJITA, Yuhei HAMASAKI and Hiroaki KODAMA

<sup>1</sup>佐賀大学大学院工学系研究科博士前期課程(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>2</sup>理修 佐賀大学大学院工学系研究科博士後期課程(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>3</sup>理博 佐賀大学助教 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地) <sup>4</sup>医博 佐賀大学准教授 医学部小児科学講座(〒849-8501 佐賀市鍋島町5丁目1-1) <sup>5</sup>医博 佐賀大学教授 医学部小児科学講座(〒849-8501 佐賀市鍋島町5丁目1-1) <sup>6</sup>理博 佐賀大学教授 理工学部機能物質化学科(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

Cyclic peptides, isolated from Okinawan marine sponge *Hymeniacidon*, have been designated as hymenamides. Although, hymenamides are composed of simple and small number of amino acid residues, they exhibited various biological activities (*e.g.* antifungal, cytotoxic and enzymatic inhibition activities). Herein we described that synthesis and biological activities of hymenamide B, hymenamide F and hymenamide J.

Key Words : human neutrophil, marine sponge, priming, superoxide generation

#### 1. 序論

ヒト好中球は細菌由来のHCO-Met-Leu-Phe (fMLP)を始 めとする刺激剤によって、遊走や貪食、活性酸素放出と いった生体防御機能を示す。通常、好中球はfMLPなど の刺激によって活性酸素を放出するが、ある化合物に よって前処理されるとその後の活性化剤によって放出さ れる活性酸素の量が増強する。この現象をプライミング と呼ぶ。一方、海洋生物からは細胞毒性、抗菌性など有 用な生理活性を持つペプチド性の化合物が多く単離され ている。海洋海綿由来天然環状ペプチドHymenamide類 は抗腫瘍作用等の生物活性の他に、ヒト好中球への作用 も報告されている。当研究室では、これまでに Hymenamide類が好中球のプライミング作用を引き起こ すことを見出してきた。そこで、代表的なHymenamide 類(図-1)の新規合成および好中球プライミングについ て研究を行った。また、合成Hymenamide 類と天然物の 構造の比較も併せて検討したので報告する。

cyclo (Asn <sup>1</sup> -Phe <sup>2</sup> -Val <sup>3</sup> -Glu <sup>4</sup> -Phe <sup>5</sup> -Pro <sup>6</sup> -Pro <sup>7</sup> )	Hymenamide B
cyclo (Ala <sup>1</sup> -Val <sup>2</sup> -Met <sup>3</sup> -Leu <sup>4</sup> -Arg <sup>5</sup> -Pro <sup>6</sup> -Pro <sup>7</sup> )	Hymenamide F
cyclo (Tyr <sup>1</sup> -Asp <sup>2</sup> -Phe <sup>3</sup> -Trp <sup>4</sup> -Lys <sup>5</sup> -Val <sup>6</sup> -Tyr <sup>7</sup> -Pro <sup>8</sup> )	Hymenamide J

図-1 HymenamideB, FおよびJの構造

#### 2. 実験

保護アミノ酸、固相樹脂、試薬は、Nova Biochem.社、 Applied Biosystems社、及びペプチド研究所より購入した。 反応溶剤、液体高速クロマトグラフ用溶媒は和光純薬株 式会社から購入した。チトクロームCその他、生物活性 評価に用いた試薬は、Sigma社より購入した。

#### (1) 天然環状ペプチドのデザインと合成

今回合成した環状ペプチドの直鎖前駆体配列は、Ye らの報告を参考に決めた。Yeらは、C末端がProでN末端 がGlyのような側鎖の小さなアミノ酸のとき環化収率が 良好であることを報告した<sup>1)</sup>。この配列は、ラセミ化を 防ぐという点からも好ましい配列である。また、 Hymenamide類にはPro残基を多く含むという共通の特徴 があるので、ProをC末端とした直鎖ペプチドを固相合成 し、液相環化する方法は特別な工夫なく、多くの種類の 天然環状ペプチドを合成することに応用できる。C末端 をProとして合成すると、ジケトピペラジンが生成しや すいという問題点がある。そこでジケトピペラジンの生 成を防ぎ、ProのCOOH基近傍の立体的込み合いを避け るため、2-Cl-Trt resin (2-chlorotrityl resin) を用いて直鎖前 駆体の合成を行った。2-Cl-Trt resinを用いて合成したペ プチドはAcOHで脱樹脂することができるので、TFAの ような強酸で除去されるが弱酸には安定な保護基を用い ることで、側鎖が保護された直鎖ペプチドが合成でき、 液相環化に用いることができる。Hymenamide類の合成 は環状ペプチド前駆体である直鎖前駆体まで固相合成法 で行い、脱樹脂後、液相法にて環化反応を行うことにし  $t_{\sim}$  N-[ (1H-benzotriazol-1-yl) (dimetylamino) methylene ]-Nmethylmethanaminium hexafluorophosphates *N*-oxide (HBTU) とN-hydroxybenzotriazole (HOBt) で行った。固 相合成では目的の配列を伸長後、樹脂から切り出すため、 液相合成のように順次精製を行うことができない。その

ため、固相合成法では、各ステップ高収率で得ることが 必須である。そこで、5倍量のアミノ酸を各反応に用い た。Fmoc基の除去はピペリジンにより行った。脱樹脂 は室温でAcOH/ TFE/ DCM (2:2:6, v/v) で一時間半反応さ せた。得られた粗ペプチドを0.4mMの濃度でDMFに溶 解させ、HBTU-HOBtを用いて環化反応を行った。最後 にTFA/水 (90:10, v/v) で側鎖の脱保護を行った。最後 にTFA/水 (90:10, v/v) で側鎖の脱保護を行った。漆 離液には水/アセトニトリル/TFA (5:55:0.05, v/v; solution A) と水/アセトニトリル/TFA (5:95:0.04, v/v; solution B)を 用いた<sup>2,3)</sup>。試料を分取するカラムはWacosil5C<sub>4</sub>-200 (10.0 x 250 mm i. d. ) により行った。構造の確認はMALDI-TOF MSにより行った。MALDI-TOF MS測定のマトリッ クスには、α-cyano-4-hydroxycinnamic acidを用いた。

#### (2) 構造の確認

合成ペプチドと天然物の立体構造を比較する目的で、 コンフォメーションを反映するアミドプロトンのケミカ ルシフトの比較とその温度依存性を温度可変<sup>1</sup>H-NMRで 分子内水素結合を調べた。溶媒はDMSO-*d*<sub>6</sub>を用い、機種 はJEOL-AL300 spectrometer、温度は30℃から10℃毎に 70℃まで測定を行った。

#### (3) ヒト好中球の単離

非喫煙者よりへパリン採血したヒト静脈末梢血をデキ ストランにより沈降分離し、赤血球を除去した。残存赤 血球は低張溶解させ、除去した。等張に戻した後、 Ficoll-Paque法で密度勾配遠心分離して、好中球分画を単 離した。単離操作は全て4℃下で行った。単離した好中 球は血球算定板を用いて細胞数を計測後、必要濃度に希 釈して以下の実験に用いた。非特異的吸着を防ぐため、 ペプチドの希釈に用いたプラスチック器具は全てシリコ ナイズ処理したものを使用した。生物活性測定のため、 環状ペプチド溶液はDMSOで10<sup>2</sup>Mに調製された。その 後、活性測定時に必要濃度にPBSで希釈された。



図-2 HymenamideB, FおよびJのHPLC分析結果

$\mathbf{X}$ = Diviso-ao + (Cabi) Sityinenaniae D <sup>(0)</sup> < + $\mathcal{I}$ = + $\mathcal{I}$ / $\mathcal{I}$ / $\mathcal{I}$					
	synthetic product		natural product*		
amino acids	δ / ppm (25°C)	$\Delta\delta/\Delta T (ppb/K)$	δ / ppm (25°C)	$\Delta\delta/\Delta T (ppb/K)$	
 Asn <sup>1</sup>	7.70 (d)	-2.3	7.70 (d)	-3.0	
Phe <sup>2</sup>	7.34 (d)	0.6	7.46 (d)	0.9	
Val <sup>3</sup>	8.55 (s)	-4.3	8.66 (s)	-5.3	
$Glu^4$	7.91 (d)	-3.8	8.00 (d)	-4.3	
Phe <sup>5</sup>	7.34 (d)	0.6	7.46 (d)	1.4	

表-1 DMSO-d6中におけるHymenamide Bのアミドプロトンケミカルシフト

<sup>\*</sup>Natural product data was cited from reference; Tetrahedron 49, 2391-2402 (1993).

#### (4) 活性酸素放出評価

活性酸素の放出はferricytochrom cの還元量として評価 した。二波長分光光度計を用い、540nm-550nmの吸光度 差を測定することにより評価した<sup>4</sup>。測定用のセル内に は細胞懸濁液(1×10<sup>6</sup>cells/ml)、1mM CaCl<sub>2</sub>、5mM *D*-グ ルコース、20mM ferricytochrom cを用いた。環状ペプチ ド10<sup>5</sup>M、もしくはリン酸緩衝液を添加しインキュベー トし、その後fMLP 10<sup>-7</sup>Mで刺激した。その後、1分間の 活性酸素放出量最大値について検討した。実験は少なく とも異なる細胞で3回行い、評価した。

#### 3. 結果と考察

Hymenamide類の合成は環状ペプチド前駆体である直 鎖前駆体まで固相合成法で行い、脱樹脂後、液相法にて 環化反応を行うことにした。固相合成法においてHBTU-HOBtによりFmocアミノ酸を活性化させ縮合し、ピペリ ジンによりFmoc基を除去、この操作を繰り返すことで 目的のペプチド鎖まで伸長させた。その後、20%酢酸で 脱樹脂を行った。次に0.4mMのペプチド中にてHBTU-HOBtで環化反応を行った。直鎖前駆体は環化後、減圧 濃縮してDMF等を除去し、分液によって活性化剤を取 り除いた。90%TFA処理により側鎖保護基を除去し、減 圧濃縮後、エーテルでデカンテーションした。スカベン ジャーとして、反応の最後に濃度が10%となるよう水を 加えた。十分な純度で目的物が得られた。得られた化合



図-3 Hymenamide Bの<sup>1</sup>H-NMRスペクトル

物はHPLCおよびMALDI-TOF MSで確認した(図-2)。

合成ペプチドと天然物の構造を比較する目的で、25℃ における合成ペプチドHymenamide B, FおよびJの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、天然物との文献値との比較を行った (図-3)。さらに、コンフォメーションを反映するアミ ドプロトンのケミカルシフトの比較とその温度依存性を 温度可変<sup>1</sup>H-NMRで調べた。表-1にHymenamide Bの結果 を示した。小林らは天然物を用い、環状ペプチドの分子 内水素結合を予想している<sup>5-8)</sup>。今回、温度可変<sup>1</sup>H-NMR を測定することで水素結合性のアミドプロトンを予測し、 天然物の文献値と比較した。比較の為、温度変化測定に におけるケミカルシフト値の変化を温度係数Δδ/ΔΤ (ppb/T)として、それぞれの構成アミノ酸残基のアミ ドプロトンについて求めた。水素結合性のアミドプロト ンは溶媒から遮蔽されてており、温度を上昇させても、 そのケミカルシフト値の変化は小さい。しかし、非水素 結合性のものは温度上昇によって、ケミカルシフト値が 比較的大きく変化することが知られている。 Hymenamide Bに関しては、温度係数Δδ/ΔTは、Asn<sup>1</sup>は-2.3. Phe<sup>5</sup>は0.6という低い値であった。小林らの報 告したHymenamide Bの構造(図-4)より、Phe<sup>2</sup>のカルボ ニル基とPhe<sup>5</sup>のアミド基、さらにAsn<sup>1</sup>のアミド基とPhe<sup>5</sup> のカルボニル基、Phe<sup>2</sup>のアミド基とPhe<sup>5</sup>のカルボニル基 が水素結合を形成すると予想される。今回の結果から、 天然物と合成物のΔδ/ΔT値はほぼ一致し、化学合成した Hymenamide Bは天然物と同等のコンフォメーションを 持つことが示唆された。



図-4 Hymenamide Bの構造





生物活性は好中球の活性酸素放出量により行った。その 結果、Hymenamide Fで前処理した好中球はその後の fMLPの刺激により、前処理のない好中球の約180%の活 性酸素を放出した。このプライミング作用は配列に依存 し、Hymenamide Bで150%, Hymenamide Jでは120%の作 用がみられた(図-5)。渡辺らはProを含むジペプチド が好中球をプライミングさせることを報告した<sup>9</sup>。今回 のペプチドも配列中にPro残基を多く含み、好中球のプ ライミング作用発現に必須な構造が特定された。以上の ことから、今回Hymenamide類が新規プライミング物質 として機能することを見出した。

謝辞: 合成ペプチドの分子量測定にご協力いただきまし た九州大学大学院理学研究院の下東康幸教授、野瀬健准 教授、産業総合技術研究所九州センターの大庭英樹博士 に感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) Tang, Y.C., Xie, H.B., Tian, G.L., and Ye, Y.H. J. Pept. Res., 60, 95-103 (2002).
- Bollhage, R., Schmiedberger, M., and Grell, E., J. Chromatogr., 711, 181-186 (1995)
- Otaka, A., Ueda, S., Tomita, K., Yano, Y., Tamamura, H., Matsuzaki, K., and Fujii, N., *Chem. Commun.* 7, 1722-1723 (2004)
- Miyazaki, M., Kodama, H., Fujita, I., Hamasaki, Y., Miyazaki, S., and Kondo, M., *J. Biochem.* **117**, 489-494 (1995)
- Kobayashi, J., Tsuda, M., Nakamura, T., Mikami Y., and Shigemori, H., *Tetrahedron*, 49, 2391-2402 (1993).
- Tsuda, M., Shigemori, H., Mikami, Y., and Kobayashi, J.,*Tetrahedron*, 49, 6785-6796 (1993).
- Kobayashi, J., Nakamura T., and Tsuda, M., *Tetrahedron*, **52**, 6355-6360 (1996).
- Tsuda, M., Sasaki T., and Kobayashi, J., *Tetrahedron*, **50**, 4667-4680 (1994).
- Watanabe, Y., Sagara, Y., Sugahara, K., and Kodama, H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205, 758-764 (1994).

(2009.3.27受付)

## 食水系感染症研究部門

**Research Division of MARINE & FOOD-BORNE INFECTION** 

# ビブリオバルニフィカス感染症対策 臨床医学的アプローチ 第四報

A VIBRIO VULNIFICUS MEASURES APPROACH OF CLINICAL MEDICINE -THE FORTH REPORT-

#### 中島幹夫<sup>1</sup>・大石浩隆<sup>2</sup>・松本浩一<sup>3</sup>・冨田由紀子<sup>4</sup>・三溝慎次<sup>5</sup>・荒木和邦<sup>6</sup> Mikio NAKASHIMA, Hirotaka OISHI, Kouichi MATSUMOTO, Yukiko TOMITA, Shinji MITSUMISO、Kazukuni ARAKI

1	医博	佐賀大学教授	医学部麻酔・蘇生学	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)
2	医博	佐賀大学准教授	医学部社会医学講座環境医学分野	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)
3		佐賀大学助教	有明海総合研究プロジェクト	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)
4		佐賀大学助教	医学部付属病院麻酔科蘇生科	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)
5	医博	佐賀大学准教授	医学部付属病院集中治療部	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)
6	医博	佐賀大学助教	医学部付属病院手術部	(〒849-8501	佐賀市鍋島5-1-1)

*Vibrio vulnificus* is an opportunistic, highly invasive human pathogen with worldwide distribution. *V. vulnificus* is an uncommon cause of soft tissue infection and primary septicemia, especially in patients with hepatic disease or who patients who are immunocompromised. The mortality of infection in these patients is extremely high despite timely antibiotic therapy. Public education regarding the risk of raw seafood consumption is essential to preventing infection with this virulent pathogen.

We experienced two cases of fulminant sepsis syndrome due to *V. vulnificus* out of five suspected cases with severe liver dysfunction. *V. vulnificus* strains are commonly divided into three biochemical groups (biotypes), most members of which are pathogenic. In this review, we provide an overview of the environmental distribution of *V. vulnificus* worldwide and the important virulence traits that enable them to cause disease.

*Key Words : Vibrio vulnificus*, primary septicemia, immunocompromised, Public education, biotypes, seafood consumption

#### 1. はじめに

Vibrio vulnificusは世界中の沿岸海水域中に広く 存在する通性嫌気性グラム陰性桿菌である。一般的に、 V. vulnificus感染者は重篤な肝障害や免疫能の低下を 基礎に持ち、生鮮海産物の摂取後、数時間から2日程度 で四肢に壊死性筋膜炎を生じ、急激に敗血症性ショック へと移行する。重篤化すれば集中治療を行っても6割以 上の患者は死亡する。

しかも、我々の調査<sup>11</sup>でも明らかなように、有明海沿岸の北部九州4県からの*V. vulnificus*感染症報告例が全体の4割を占めている。佐賀県が本感染症の多発地帯に位置し、しかも患者発生の要因の1つにC型肝炎ウイルスに

よる肝障害患者数が全国でも最悪の状況にあるため、本 感染症対策は地域保健・地域医療の大きな課題の1つで ある。

"V. vulnificusの撲滅"をめざしてスタートした有明海 総合研究プロジェクト食水系感染症部門の研究も4年を 経過し、最終年度を残すのみとなった。平成20年度も 「発症予防」「基礎科学研究」「患者実態調査・治療」 の3つの主要分野で研究項目(表1)を設定し、研究を おこなってきた。本稿では臨床医学的研究の成果につい て記述し、基礎医学的研究の具体的成果については本成 果報告集「ビブリオバルニフィカス感染症対策 基礎医 学的アプローチ 第四報(大石浩隆ほか)」で後述する。

No	活動名称	研究名称	Pro名	テーマ名称
			A	患者通報ネットワークの構築
I I II				発生患者調査とサンブリング
		積極的疫学調査	R	聞き取り調査
T	発症予防		_	対象物調査
-			C	検証(パルスフィールド電気泳動法)
		啓発活動	D	啓発用パンフレット作成
			_	
		有明海海域填克把握	E	有明海からのヒノリオ・ハルニノィカス国サンノリンクと周囲環境解析
		菌挙動に関する研究	F	リモートセンシンク(RS)技術を応用したヒフリオ・バルニフィカス症予見に関する研究
			G	伊勢湾、三河湾における調査研究
		病原体特徴に関する研	Н	分類に関する研究
		ビブリオ・バルニフィカス 毒素の研究	1	WB解析
			,	動物を用いた感染実験
	其礎科学	毎糸の切え	5	動物を用いた病態生理実験
II	正売	菌迅速検出・同定法に	K	新規培地開発に関する研究
	ᄢᄎ	関する研究	L	LAMP法を用いた菌迅速検出法の開発
				患者血液分析
		免疫に関する研究	М	肝硬変患者血液分析
				肝機能正常者血液分析
		新規予防法·治療法開発	N	バクテリオファージを用いた新規治療法に関する研究
		に関する研究	0	ワクチン開発に関する研究
	串去宝能	串考宝能調杏	Þ	佐賀県に関する実態調査
III	一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一一	心口大心则且	r	全国実態調査
	詞宜と戸療	治療法の確立	Q	治療に関する検討

#### 2. 発症予防

表1

本感染症に対し集中治療を行っても死亡率は6割程 度で、生存しても四肢の機能障害を残すことが多く、予 防を目的とした啓蒙活動は極めて重要である。しかし、 重度の肝機能障害患者などを除き健康人には重篤な症状 をきたさない*V. vulnificus*は"人食いバクテリア"と いう衝撃的な俗称も持つため、一般市民を対象とした情 報提供活動はかえって有明海産の水産資源全体に対する 深刻な風評被害を招きかねない。そのため我々は、重症 肝機能障害を有するハイリスク群のみを啓蒙活動の対象 とし、佐賀、福岡両県の18の医療施設や行政機関と連携 して夏季の生海産物接取や海水への直接接触を控えるな どの生活指導を行ってきた。同時に患者情報の収集と共 有化、検査支援、診断・治療に関する情報提供、高次医 療機関への紹介等の業務も行ってきた。

プロジェクトを開始した平成17年4月から3年間、佐 賀県内での*V. vulnificus*感染症発生の報告はなかった。 しかし、残念ながら、平成20年7月、佐賀市内の病院で1 例の患者発生を見た。

#### 3. 患者実態調査

表2に平成20年度に当プロジェクトに情報提供のあったV. vulnificus感染症疑い5症例を示す。

患者発生は全例海水温が上昇する4月~8月の間であり、 比較的軽症で軽快退院した*V. parahaemolyticus*症例を 除けばすべて重篤な肝機能障害を有していた。本プロ ジェクトに患者発生の情報提供を受けた時点で四肢の壊 死性菌膜炎と敗血症性ショック状態を呈していた。

劇症型感染症を呈した4症例の原因菌は、V. vulnificus 2例, Streptococcus pyogenes 1例、 Aeromonas hydrophila 1例であった。

我々は患者家族から同意を得て、提供を受けた創部の 滲出液や血液検体について、本プロジェクトの成果の1 つである2種類の培地による簡易迅速培養検査<sup>2)</sup>や現在 開発中の遺伝子増幅検査を行い、結果を迅速に医療機関 へ報告した。

本稿では、5症例のうち*V. vulnificus*感染症2症例について、その経過の概略を記す。

A 4	1011	lo vum				
発生	年齢	性	起因菌	生鮮魚介類喫食	収容施設	転帰
4月	64	女	Vibrio parahaemolyticus	なし	佐賀大学医学部 附属病院	生存
6月	92	女	Streptococcus pyogenes	不明	佐賀大学医学部 附属病院	死亡
7月	65	男	Vibrio vulnificus	刺身下敷タマネギ (来院2日前)	佐賀市内	死亡
7月	66	男	Vibrio vulnificus	刺身 (発症2日前)	久留米市内	死亡
8月	58	男	Aeromonas hydrophilia	不明	久留米市内	死亡

表2 Vibrio vulnificus 感染症疑い症例

#### 症例1

65歳、男性。30歳代から慢性C型肝炎を指摘され、10年 前から肝硬変にて近医に通院中であり、6~7年前から糖 尿病にてインスリンを使用していた。

本年4月から右下腿難治性潰瘍を認め、切開術を受けた がその後も排膿を繰り返していた。

7月初旬より右下肢(特に下腿)の腫脹・疼痛出現、2日後 に疼痛が増強し、別の病院を受診したところ、右下肢の 疼痛・腫脹、低血圧、腎機能低下を認めたため、抗生物 質(スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウ ム1g)の点滴静注射をうけるとともに佐賀市内の有明海 総合研究プロジェクト協力病院に紹介となった。



図1 V. vulnificus (ヒツジ血液寒天培地)



図2 V. vulnificus (CVA-1 培地)

救急外来に来院時にはショック状態で急性腎不全、呼吸不全、DICを併発していた。右下腿は腫脹し黒色に変色し、5~6箇所に紫斑を伴う皮膚病変を認め、熱感と疼痛を訴えた。入院時血圧は昇圧薬の投与下でも収縮期血圧が70mmHgであり極めて重症な敗血性ショックの状態であった。壊死性筋膜炎と診断し抗生物質(セフトリアキソンナトリウム 1g)を投与するとともに、壊死組織除

去と幻聴切開を目的として緊急手術となった。術後は全身管理目的でICUへ入室した。創部浸出液から*V. vulnificus*がヒツジ寒天培地(図1)およびCVA-1培地 (図2)でともに検出された。人工呼吸管理、血液浄化 療法などの全身管理が施されたが、入院後12日目に死亡 した。

本症例は、4年前に開始された有明海総合研究プロジェ クト開始後初の佐賀県内の発生例となった。本症例にお いて生鮮海産物接取の接種はあきらかではないが、患者 は元来、生の魚介類はあまり好まず、夏季に生魚介類を 摂取することの危険性についても周知していたと思われ る。しかし、家族からの聞取り調査では発症1~3日前に 刺身あるいは刺身のツマ(玉ねぎ)を食した可能性は あった。

#### 症例2

66歳、男性。基礎疾患に肝硬変と糖尿病があった。平成 20年7月、刺身を食し、2日後、悪寒があり近医外来を診 し点滴治療を受けた。同日夜、高熱とふるえが出現した ため救急車を要請し、久留米市内の協力病院へ救急搬送 された。

来院時、意識レベルは低下し、体温:41.6℃、血圧: 106/64 mmHg、HR:130/分、呼吸数:29/分、SpO<sub>2</sub>は 測定不能で、下肢に点状出血を認めた。

ICUに入室となり、抗生剤投与とショック・DICに対する 治療が開始された。しかし、その後も全身状態は増悪し、 気管挿管による人工呼吸管理が開始された。入院翌日、 下肢の絵師組織除去手術中に心停止となり、心肺蘇生に も反応せず死亡した。

#### 4. 文献による海外での実態調査予防活動

わが国では有明海沿岸や伊勢湾・三河湾沿岸地域など からの報告が多い<sup>1)</sup>。両地域は閉鎖的な内海に面してい ることが共通しており、梅雨や台風などで閉鎖海域に大 量の雨水が流入することで汽水域が拡大し、比較的塩分 濃度の低い環境を好む*V. vulnificus*が大量に増殖し、 汚染された生鮮魚介類を介して多数の患者が発生してい るものと考えられる。

*V, vulnificus*感染症の発生は、きわめて気候的・地理的要因が強く、同様な地理的、気候的条件を有する世界のさまざまな沿岸地域で好発している。

今回の症例をもとに今後のV. vulnificus感染症に対す る予防・啓蒙活動を考慮するため今回、我々は、世界的 な規模での本細菌による健康被害の実態について文献調 査を行った。

2009年3月1日時点において、対象となる文献を PUBMEDにより"Vibrio vulnificus"のキーワードで検 索し、1056件を抽出した。各文献について、著者の所属 する国別に分類するとともに、発表内容を精査すること



図3 国別 V. vulnificus 関連論文発表数

で、各国における*V. vulnificus*に関する臨床医学的、 臨床疫学的研究の状況を調査した。

文献数を国別に見ると米国が432件と最多で、次いで 日本の146件、韓国 119件、台湾 66件、スペイン 58件、 中国 30件(うち香港 13件)、オーストラリア 24件、 イスラエル 19件、インド19件、デンマーク 16件の順で 多かった。また、数は少ないながら北欧においても本疾 患の発生を認めた(図3)。

ここでは、このうち米国およびイスラエルにおける感 染症の実態と予防活動の現状について述べる。

(1) 米国における現状と課題

米国では、ビブリオ属種により毎年約8000件の食水系 感染症が発生し、なかでも*V. vulnificus*感染症は最大 の死亡原因となっている。我が国と同様、免疫機能が低 下した宿主が罹患し原発性敗血症となり、その50%以上 が死亡している。発症はほとんどが夏季に生カキの経口 であり、一部は創傷部と海水の接触による。

近年、生ガキなどの海産物の冷凍輸送技術の発達により、米国の沿岸部だけでなく内陸部でも患者が発生してきた<sup>3)</sup>。米国のスーパーマーケットで販売されている生カキの産地別の最近検査では、メキシコ湾沿岸産が最も V. vulnificusの濃度が高かった<sup>4)</sup>。

フロリダ州やルイジアナ州などメキシコ湾岸地域は、 世界的にも最も*V. vulnificus*感染症発症患者数が多い 地域であり、2005年には2つの大型ハリケーンの襲来に より、ニューオリンズを中心に大洪水となり甚大な被害 を被ったが、このときも*V, vulnificus*感染により死者 が発生した<sup>5)</sup>。

米国疾病予防管理センター(CDC)は、*V, vulnificus* 感染症予防にむけた様々な施策を行っているが、人種や 言語、医療保険制度など米国様々社会が抱える様々な問 題により、今のところその効果は限定的である。カリ フォルニア州では、1991年から*V. vulnificus*感染症の 予防指針を出すと同時に、生カキを供給する店舗には危 険情報を掲示するよう義務付けた。しかし、ハイリスク 患者(ほとんどがウイルス性ないしアルコール性肝障害 を基礎疾患に持ちながら健康保険に未加入のメキシコ系 米国人男性)は、ほとんど予防講習を受けていなかった。 レストランの半数以上も*V. vulnificus*感染症に関する 危険情報を店内に正しく掲示しておらず、その3分の1の 施設では英語のみで書かれていた。メニューやテーブル に危険情報を記載していたレストランはほとんどなかっ た<sup>6)</sup>。

さらに、本疾患に関する医師側の認識は米国内でも国際的にも低いことも挙げられる。Banatvalaらの調査<sup>7)</sup>では、米国では*V. vulnificus*感染による死亡場合、正しい診断書作成の手続きがなされておらず、国際疾病分類ICD-9にも死亡原因としての項目は挙げられてはいない。

米国における最近の憂慮すべき現象は、 V. vulnificusが抗菌剤に対し耐性を獲得してきたことであ る。米国で検出された病原株10株と151の環境株を調査 したところ、多数の分離株で、V. vulnificus感染症に 通常投与されているドキシサイクリンや、テトラサイク リン、アミノグリコシド、セファロスポリンに対し耐性 を示し、約17%の菌株では8つ以上の抗菌薬に対して耐 性を示した。さらに抗生物質に対する抵抗性は病原株、 および環境株ともに認められた8)。半閉鎖海域を好み、 河川に含まれる多くのヒトの活動によって生じる化学物 質に外海よりも高濃度で長期間、暴露されることにより 自然界で菌自身が獲得していったものと思われる。同様 のことがV. vulnificus biotype2でも報告されている<sup>9)</sup>。 一方、本邦では、我々が行った佐賀大学医学部附属病院 で平成7~16年に9例から検出されたV. vulnificus病原 株の抗菌剤感受性試験では、アミノグリコシド、第三世 代セフェム、カルバペネムなどへの感受性は良好であり、 その後も耐性菌出現の報告はないが、今後、病原株およ び環境株ともに長期的に注意深く調査を行う必要がある。

(2) イスラエル V. vulnificus biotype3発生

イスラエルでは、地中海における様々な人間活動は あったものの1995年までは、*V. vulnificus*感染症の発 生報告はなかった。しかし、1996年~1997年に*V. vulnificus*の新種である biotype3による62名の感染症 患者が発生<sup>10)</sup>し、このアウトブレイク以降も毎年平均 16名前後の患者発生がある。

新興感染症の原因となったbiotype3は、イスラエル北 部で開始された水アフリカ由来の淡水魚ティラピアの養 殖と深い関係がある。魚市場ではティラピアが活きたま ま取引され、感染経路は魚の棘が手指に刺さることによ る創傷感染がほとんどである。

Biotype3は生化学的にも遺伝子学的にもbiotype1や biotype2とは異なり<sup>11)</sup>、その分布もイスラエル地域に 限局している。しかし、biotype3はコイなど他の淡水魚 からの感染例もあり、biotype3が世界中に拡散していけ ば、水産産業に甚大な影響を及ぼしかねない。この biotype3がどのようにしてイスラエル国内に侵入してき たかを調査することは、世界的拡散を防ぐうえできわめ て重要である。

1996年—1997年に発症した62症例のうち、41症例 (66%)は壊死組織の除去が必要で、1例は上肢切断、7 例で手指切断を行ったが、死亡例はなかった。しかし、 1998年~2005年までに134症例が報告され<sup>12)</sup>、抗生物 質の投与とともに9例では手指切断も行われたが10例が 死亡した。特に敗血性ショック合併例では予後不良で あった。患者の平均年齢は58.9歳、男女比では若干女性 が多い結果となり、女性が魚介類と接する機会が多いた めと考えられている。

イスラエル政府は、1997年にティラピアの活魚販売を

禁止し洗浄を義務付け、同魚の養殖、販売に携わる業者 に対しても防御手袋を使用すること、鮮魚を氷冷保存し 活魚と客との直接接触が行われないよう指導してきた。 しかし、患者発生が続いている以上、水産業者への指導 と共に一般市民への啓蒙活動を強化していく必要がある と思われる。

#### 5. おわりに

今年度、残念ながら佐賀県内において患者発生をみた。 諸外国に比べれば、国民皆保険制度による慢性肝障害患 者への医療支援や自治体による生活指導が整備したわが 国では、予防・啓発活動は行いやすいと考えられる。佐 賀県においては、本疾患に対する医療機関の認識は極め て高いと考えられるが、さらに患者への周知を徹底させ るとともに、沿岸の他県にも啓蒙活動を広げていく必要 性がある。我々の開発した*V. vulnificus*簡易迅速診断 法について今回の症例で実施し、早期診断に貢献できた ことはプロジェクトの成果の一つである。

今回の調査では*V. vulnificus*感染症の今後の臨床上の課題も明らかになった。

先ず今回の海外文献調査で注目すべきは、メキシコ湾 岸地域での*V. vulnificus*の薬剤耐性の自然獲得である。 しかも、臨床で一般的に使用される抗菌薬への耐性であ ることから、我が国でも薬剤耐性菌が出現すれば初期治 療でのempiricな抗菌薬の選択が問題となる。

今後、地球温暖化が進行すれば、海水面の上昇により 有明海沿岸一帯は台風や梅雨時の洪水の際の創傷感染の リスクが高まるとも考えらえるため、地域防災計画の中 に対策を組み込む必要があろう。また、海水温の上昇に よりバルト海沿岸のデンマーク<sup>13)</sup> やスウェーデン<sup>14)</sup> のような高緯度地域でも患者が発生してきた。温暖化の 進行により、高緯度地域でも患者が増加してくる可能性 がある。

さらに、ヨーロッパにおいてウナギに対する病原菌と 考えられていた*V. vulnificus* biotype2がヒトにも病原 性を示すことがわかり、さらにイスラエルでは淡水魚を 介したbiotype3による創傷感染も問題となっている。こ れら*V. vulnificus*の変異株が世界中に拡散すれば感染 者はさらに増えることが懸念される。

本疾患の撲滅のためには、*V. vulnificus*の病原性の 解明とともに、宿主免疫を高める新たな治療法の確立が 望まれる。

謝辞: V. vulnificusネットワーク病院、特に聖マリ ア病院、および下げ県立病院好生館には情報提供に数々 のご協力いただきました。また、V. vulnificus菌培養 にご協力頂いた、麻酔蘇生学教室森田よう子氏に感謝し ます。

- 大石浩隆 ほか:わが国における*Vibrio Vulnificus*感染 症患者誌上調査. 感染症学雑誌. 80(6):680-689, 2006
- Nakashima Y, Oho M, Kusaba K, Nagasawa Z, Komatsu O, Manome I, et al. A chromogenic substrate culture plate for early identification of *Vibrio vulnificus* and isolation of other marine *Vibrios*. Ann Clin Lab Sci. 2007 Autumn;37(4):330-4.
- Bross MH, Soch K, Morales R, Mitchell RB. Vibrio vulnificus infection: diagnosis and treatment. Am Fam Physician. 2007 Aug 15;76(4):539-44.
- 4. Cook DW, Oleary P, Hunsucker JC, Sloan EM, Bowers JC, Blodgett RJ, et al. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: a national survey from June 1998 to July 1999. J Food Prot. 2002 Jan;65(1):79-87.
- 5. ハリケーン
- Vibrio vulnificus infections associated with eating raw oysters—Los Angeles, 1996. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1996 Jul 26;45(29):621-4.
- 7. Banatvala N, Hlady WG, Ray BJ, McFarland LM, Thompson S, Tauxe RV. Vibrio vulnificus infection reporting on death certificates: the invisible impact of an often fatal infection. Epidemiol Infect. 1997 Jun;118(3):221-5.
- Baker-Austin C, McArthur JV, Lindell AH, Wright MS, Tuckfield RC, Gooch J, et al. Multi-site analysis reveals widespread antibiotic resistance in the marine pathogen *Vibrio vulnificus*. Microb Ecol. 2009 Jan;57(1):151-9.

- 9. Roig FJ, Llorens A, Fouz B, Amaro C. Spontaneous resistance to quinolones in the zoonotic serovar of *Vibrio vulnificus*. Appl Environ Microbiol. 2009 Feb 13.
- 10. Bisharat N, Agmon V, Finkelstein R, Raz R, Ben-Dror G, Lerner L, et al. Clinical, epidemiological, and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. Israel *Vibrio* Study Group. Lancet. 1999 Oct 23;354(9188):1421-4.
- Bisharat N, Cohen DI, Maiden MC, Crook DW, Peto T, Harding RM. The evolution of genetic structure in the marine pathogen, *Vibrio vulnificus*. Infect Genet Evol. 2007 Dec;7(6):685-93.
- Zaidenstein R, Sadik C, Lerner L, Valinsky L, Kopelowitz J, Yishai R, et al. Clinical characteristics and molecular subtyping of *Vibrio vulnificus* illnesses, Israel. Emerg Infect Dis. 2008 Dec;14(12):1875-82.
- Dalsgaard A, Frimodt-Moller N, Bruun B, Hoi L, Larsen JL. Clinical manifestations and molecular epidemiology of *Vibrio vulnificus* infections in Denmark. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996 Mar;15(3):227-32.
- 14. Melhus A, Holmdahl T, Tjernberg I. First documented case of bacteremia with Vibrio vulnificus in Sweden. Scand J Infect Dis. 1995;27(1):81-2.

(2009.3.31 受付)

## ビブリオ・バルニフィカス感染症対策 — 基礎医学的アプローチ(第四報)—

A *VIBRIO VULNIFICUS* MEASURES APPROACH OF BASIC MEDICINE -THE FORTH REPORT-

大石浩隆<sup>1</sup>・松本浩一<sup>2</sup>・中島幹夫<sup>3</sup>・田中重光<sup>4</sup>・小林元太<sup>5</sup> 神田康三<sup>6</sup>・草場耕二<sup>7</sup>・中島由佳理<sup>8</sup>・永沢善三<sup>9</sup>・大重賢治<sup>10</sup> Hirotaka OISHI, Kouichi MATSUMOTO, Mikio NAKASHIMA, Shigemitsu TANAKA, Genta KOBAYASHI, Kohzo KANDA, Kouji KUSABA, Yukari NAKASHIMA, Zenzo NAGASAWA and Kenji OHSHIGE

<sup>1</sup> 医博	佐賀大学准教授	社会医学	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
2	佐賀大学助教	有明海総合研究プロジェクト	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
3 <sub>医博</sub>	佐賀大学教授	麻酔・蘇生学	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
<sup>4</sup> 農博	佐賀大学講師(研究機関研	究員)有明海総合研究プロジェク	ト(〒840-8502 佐賀市本庄町1)
5農博	佐賀大学准教授	農学部生命機能科学科	(〒840-8502 佐賀市本庄町1)
6農博	佐賀大学教授	農学部生命機能科学科	(〒840-8502 佐賀市本庄町1)
<sup>7</sup> 医修	佐賀大学主任臨床検査技師	検査部微生物検査室	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
8	佐賀大学臨床検査技師	検査部微生物検査室	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
9 <sub>医博</sub>	佐賀大学副臨床検査技師長	検査部微生物検査室	(〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1)
10 <sub>医博</sub>	横浜市立大学准教授	予防医学講座	(〒236-0004 横浜市金沢区福浦3-9)

*Vibrio vulnificus* causes necrotizing fasciitis and sepsis mainly in patients with liver dysfunction through ingestion of raw fish or shellfish, which has high mortality and short latent period. We are carrying out the prevention promotion, basic and clinical studies as measures of this fatal disease. Promotion of basic medical studies may lead to more appropriate treatment, diagnosis and preventive measures.

Our results of this year are as follows,

- 1) *Vibrio vulnificus* was detected from May to September in Ariake Sea. We performed reporting of a these results for *Vibrio vunificus* network hospitals.
- 2) Pulsed-field gel electrophoresis pattern of *V. vulnificus* which were obtained from Ariake Sea, Karatsu Bay, Mikawa Bay and clinical isolates, although most of the same patterns were not found.
- 3) We started to make an oral infection animal model for Vibrio vulnificus.
- 4) Serum indicators of liver function in *V. vulnificus* patients were not associated with prognosis. On the other hand, advanced age, lower platelet counts and the presence of extensive skin lesions at onset influenced outcomes with statistical significance.

Key Words : Vibrio vulnificus, Basic Medicine, animal experiment, clinical features,

#### 1. はじめに

ビブリオ・バルニフィカスは世界中の海水中に広く存 在し、健常者には病原性はないとされてきたが、肝疾患 患者が生の魚介類摂取により感染すると数日以内に敗血 症性ショックや壊死性筋膜炎を起こし、予後は極めて不 良<sup>1</sup>である。 我々は現在国内発生患者に対する紙上調 査を行い、過去30年間で185例が報告され、かつその4割 近くが九州北部地方に多くの発生例が見られることを見 出した<sup>2</sup>。佐賀大学では平成17年4月より有明海異変に取 り組むために全学部横断的な有明海総合研究プロジェク トが組織され、食水系感染症研究部門ではビブリオ・バ ルニフィカス症に関する対する臨床医学的、基礎医学的 研究を継続中である。

本稿では昨年一年間の本疾患対策で、主に基礎医学的 研究成果について報告する {中島幹夫ら;ビブリオ・バ ルニフィカス感染症対策一臨床医学的アプローチ(第四 報)・表1(Working Breakdown Structure)参照}。

#### 2. 平成20年度の有明海における*V. vulnificus* 菌検出状況

- (1) 解析時期; 平成20年4月~11月までの各月一回
- (2) 海水採水ポイント





図1-2. 海水採水ポイント その2

月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月
菌検出	-	+	+	+	+	+	+	-

図2. 菌検出状況(平成20年度)

図1-1. 海水採水ポイント その1

図-1-1に示す7点(A~G点) ;4月~7月まで 図-1-2に示す4点(ア~エ点) ;8月~11月まで

#### (3) 菌分離培養同定方法

採取した海水を3000回転で15分遠心し、沈渣をアルカ リペプトン水中で振とう培養後、培養液をCVA1培地<sup>3</sup>に て分離培養した。発育が認められた菌種に関して VITEK2<sup>®</sup>(日本ビオメリュー)及びLAMP法<sup>4,5</sup>を使用し 確定した。

(4) 結果と考察

本年度は5月から10月にかけ菌が確認された(図2)。 特に10月では、水温が15~18℃と低かったが、海水サン プル取得以前に10mm程度の降雨があり、塩分濃度が低 下(25~30‰、比重1.018~1.022)したことが原因と考 えられた。本結果については、有明海総合研究プロジェ クト食水系感染症研究部門が中心となっているビブリ オ・バルニフィカスネットワーク病院へ情報提供を行っ た。

#### 3. PFGEを用いた菌相同性の検討(その2)

パルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis: PFGE) 法<sup>6</sup>は、感染原因菌を型別し、ア ウトブレイクの有無、感染ルートや感染源の特定など幅 広い領域で貢献している。我々は平成18年度の成果報告 にて、この手法の改良点及び患者由来菌株と環境由来菌 株(佐賀)の解析について報告したが、今回は、①患者 由来株、②有明由来株、③唐津由来株、④愛知由来株に ついて、更に検討を加えた。

#### (1)方法

PFGE用のビブリオ・バルニフィカス菌DNAの抽出は Gene Path Kit Gruop2<sup>®</sup> (Bio-Rad) を使用し、泳動はGene Path Strain Typing System (Bio-Rad) のProgram "No22" で行った(1%アガロースゲル、6.0V・19.7時間、パルス タイムレンジ5.3~49.9秒、チオレア200 µM添加)。尚、 制限酵素はNot I (Biorad)を用いた。

#### (2)結果と考察

各サンプリング点及び患者株からのPFGE像を、同一 のシート上で処理したものを図3に示す。同一の遺伝子 パターンを示す菌はほとんど認められなかったが、患者 株において高い相同性のパターン(図中白矢印)を示す 菌が存在した。これらは、北九州発症例と福岡発症症例 であり、また発症年も違っていた。このことは、ヒトへ 感染し発症させる菌についてその特徴を確認する必要が あり、今後16sDNA、vcg/viuB遺伝子<sup>7</sup>を用いた詳細な遺 伝子型への解析が必要と考えられた。現在微生物総研究 部門と共同で解析を実施中である。

#### 4. 経口感染による実験動物モデルの作製

ビブリオ・バルニフィカスの感染経路は、経口感染と 創傷部からの感染に大別される。生鮮魚介類の食事を好 む我が国では、経口的なビブリオ・バルニフィカスへの 感染が多いというのが特徴である。

現在まで、ビブリオ・バルニフィカス感染症の感染モ



図3. 患者株 (P) ・有明株 (A) ・唐津株 (K) ・愛知株 (L) のPFGEダンドログラム

デルの作製は、菌の腹腔内投与又は足底部への接種しか なく、経口的な感染モデル作製の報告はない。今回我々 は経口感染による実験動物モデルの作製に着手したので 現在までの結果を報告する。

(1) 使用動物

・C57BL/6J 雄性8週令マウス10匹。菌投与から48時間ま でを観察期間とした。

(2) 使用菌種

・ATCC27562を用い、羊血液寒天培地で培養後、 2.5%NaCl溶液にてマクファーランド1に調整した。菌数 はスパイラルプレート方式により確認した。

(3) 投与法

セボフルレン投与下に、マウス・ラット用ゾンデを用い、 菌液(マクファーランド1、2.5%NaClにて溶解)0.2mlを 経口投与した。

(4) 解析

臓器は①肝臓、②胃、③小腸を摘出した。上記臓器は 10%中性緩衝ホルマリンに浸漬し、パラフィン包埋後、 約3μmに薄切し、HE染色及びグラム染色を行った。

(5) 結果と考察

3匹中1匹が投与後24時間以内に死亡した。他の2匹は 48時間後まで観察し高濃度セボフルレン投与による安楽 死後に解剖を行った。四肢に腫脹等の目立った変化は見 られなかった。

1) 肝臓

炎症性細胞浸潤を伴う肝細胞の小壊死巣が認められた が(図4-1)、これは正常マウスでも認められる範囲の ものであった。また、肝細胞内のグリコーゲン貯留も認 められたが、これは満腹時の肝臓に認められる変化で あった。

2) 胃

粘膜固有層及び粘膜下に炎症性細胞浸潤が経度認められ、また浮腫も中等度認められた(図4-2)。これは今回の病変として考えられた。

3)小腸

炎症性細胞浸潤等の所見は認められなかった。

また、今回菌の確認のためにグラム染色も実施していた が、陰性桿菌の染色と組織のバックグラウンドが同じな ため確認が困難であった。従って次回より、免疫染色や ギムザ染色等の選択という課題が残った。

さらに今回は肝機能が正常なマウスを用いて感染実験 を実施したが、今後の臨床的研究推進のためには肝障害 マウスの作製が必要となる。従って現在下記手順に則り 肝障害マウスの作製と感染実験を計画中である。



図4-1(左); 肝臓。写真中央に炎症性細胞浸潤を伴う肝細胞の小壊死巣。 図4-2(右); 胃。粘膜下に炎症性細胞の浸潤

#### 4. V. vulnificus患者特性の研究(その2)

平成19年度に報告した、ビブリオ・バルニフィカス患 者特性について、更に症例を2例追加し37症例とし、ま た肝機能の評価として、AST/血小板比(Asparate aminotransferase to platelet ratio index; APRI)<sup>8-10</sup>も加え再検 討を行った。尚、患者像等については大きな変更はない ため、今回はデータの解析結果を呈示する。

(1) 対象患者

37症例(男性35名、女性2名)。

(2) 用いたデータ項目

入院時の患者基礎データ(年齢、基礎疾患、入院時検 査所見、治療方法等)

(3) データ解析方法

軽快患者と死亡患者の患者特性の差については、 $\chi^2$ test あるいは Mann-Whitney *U* test. を用い解析を行った。 また、予後に関する評価方法として、ロジスティック回 帰分析を行った。肝機能の指標はChild-Pugh分類項目で あるアルブミン、ビリルビン、プロトロンビン時間

(%)の血液データを用いた(他項目である腹水及び昏睡に関する項目についてはカルテへの未記載が多く、除外した)<sup>11</sup>。上記3項目については以下のようにスコア化 しダミー変数とした。①アルブミン 1:>4 mg/dl; 2: 3.5-4.0 mg/dl; 3: 2.8-3.5 mg/dl; or 4: <2.8 mg/dl。②ビリルビン 1: <2 mg/dl; 2: 2-3 mg/dl; 3: 3-5 mg/dl; or 4: >5mg/dl。 プロトロンビン時間(%)1:>80%; 2: 60-80%; 3: 40-60%; or 4: <40%。①~③の合計点数をmodified Child-Pugh ス コア (mCP スコア)とし投入した。また、APRIの計算は 図5を用いた。

死亡と各種変量のロジスティクス解析には年齢(ダ ミー変数: 0;60歳以下、1;60歳以上)、血小板数 (ダミー変数: 0;50x10<sup>9</sup>/1以上、1; 50x10<sup>9</sup>/1以下)、  $APRI = \frac{\frac{AST \text{ level}}{ULN^*}}{P \text{ latelet counts (10° /l)}} \times 100$ \*ULN, AST upper level of normal (35IU/l)

図5 APRI計算式

mCPスコア(連続変数)、患肢数(ダミー変数: 0;所 見なし又は一肢のみ、1; 二肢以上) として用いた。 外科的手術(デブリードメン、患肢離断術)及び血液浄 化療法は患者状態により選択されるため変量からは除外 した。

統計処理ソフトはDr. SPSS (SPSS Inc., Tokyo, Japan)を 使用し、p値が0.05以下を統計学的有意とした。

(4) 結果と考察 一予後関連因子等 (表1,2) -

軽快した群と死亡した群を比較したデータを表1に示 す。患者の9割以上は肝疾患が認められ、死亡した群に は約7割に肝硬変が認められていた。また、死亡した群 では軽快した群より患者年齢が高く (p=0.037)、入院時 の血小板数低下が有意に認められた(p=0.028)。また、来 院時の患肢数が二肢以上の患者が多かった(p=0.006)。更 に予後に関連する因子を解析したところ(表2)、mCP スコアと予後の間には関連は見られなかったが、60歳以 上の患者ではそれ以下の患者の約20倍、血小板数に関し ても来院時50x10<sup>9</sup>/I以下の患者では18倍、来院時二肢以 上の患肢を持つものでは、一肢以下の患者の約10倍と、 死亡に関するオッズ比が大きかった。

今回の研究では、肝機能評価の指標として用いたmCP スコア、APRIともに死亡/軽快群では有意差が認められ なかった。しかしながら、入院時の血小板数には差が認 められており、これは播種性血管内凝固(DIC)

		D l a			
_	Cured $n = 13$		Deceased $n = 24$	P value	
Age <years></years>	55.2 ± 9.6		$62.4 \pm 12.7$		0.037 <sup>b</sup>
Hemoglobin <g dl=""></g>	$12.1 \pm 1.8$		$12.1 \pm 2.4$		0.937 <sup>b</sup>
Platelets <x10<sup>9/l&gt;</x10<sup>	$78.2 \pm 46.3$		$53.5 \pm 34.9$		0.028 <sup>b</sup>
Asparate aminotransferase <iu l=""></iu>	$147.1 \pm 110.6$		$193.8 \pm 215.4$		$0.787^{b}$
Alanine aminotransferase <iu l=""></iu>	$65.9 \pm 31.9$		$53.9 \pm 26.0$		0.340 <sup>b</sup>
$\gamma \text{ GTP} < \text{IU/l} >$	$289.0 \pm 193.9$	[12]	$290.5 \pm 612.2$	[23]	0.053 <sup>b</sup>
C-reactive protein <mg dl=""></mg>	$13.6 \pm 10.1$	[12]	$10.2 \pm 7.6$		0.401 <sup>b</sup>
Creatine kinase <iu l=""></iu>	$1365.3 \pm 1864.2$		$5253.6 \pm 9755.0$	[23]	0.934 <sup>b</sup>
mCP score	$8.2 \pm 1.6$		9.1 ± 1.7	[22]	0.109 <sup>b</sup>
APRI	$7.3 \pm 6.6$		$15.4 \pm 20.2$		0.189 <sup>b</sup>
Fever <°C>	$38.5 \pm 1.1$		$38.7 \pm 1.4$		0.483 <sup>b</sup>
Liver cirrhosis <%>	30.8		65.2	[23]	0.082 <sup>a</sup>
Extensive skin lesion* <%>	30.8		79.2		0.006 <sup>a</sup>
Diarrhea <%>	66.7	[9]	46.7	[15]	0.423 <sup>a</sup>
Surgery** <number achieved="" of=""></number>	11		18		
PMX-DHP <number achieved="" of=""></number>	2		14		
CHDF <number achieved="" of=""></number>	6		16		

表 1 死亡例と救命例の各パラメータの比較

Values expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

[#] denotes n where fewer cases than the full group were tested.

Abbreviations:  $\gamma$  GTP,  $\gamma$  glutamyl transpeptidase; mCP score, modified Child-Pugh score;

APRI, asparate aminotransferase to platelet ratio index; PMX-DHP, polymyxin B immobilized-direct

hemoperfusion; CHDF, continuous hemodiafiltration.

\*% of more than two extremities. \*\*debridment or amputation.

<sup>a</sup> Fisher's exact test for  $\chi 2$ ; <sup>b</sup> Mann-Whitney U test

#### 表 2 ロジスティック解析結果

	Adjusted OR	95% CI	P value
Age	19. 7	1.6 - 245.9	0.021
Platelets	18.3	1.2 - 289.0	0.039
mCP score	1.3	0.6 - 2.7	0.467
Extensive skin lesion	10.5	1.3 - 85.5	0.028

mCP score, modified Child-Pugh score; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

の程度を反映している可能性が示唆された。当然DIC関 連指標の今後の検索が必要となるが、患者予後改善の為 には、早期からのDICへの注意と治療が必要であること が示唆された。

#### 5. まとめ

平成20年度の研究成果について報告した。次年度は本 プロジェクトの最終年度となり、現在進行中であるV. vulnificusの毒素に関する研究(二次元電気泳動やアミノ 酸解析を用いた研究)及び感染モデルを用いた微生物学 的防除法、また生体試料からのLAMPを用いた迅速検査 法等について報告する。

謝辞:各研究の実施にあたり、宇宙航空研究開発機構東端晃先生、佐賀大学医学部付属病院検査部に深謝申し上 げる。

#### 参考文献

- Farmer JJ, 3rd.: Vibrio ("Beneckea") vulnificus, the bacterium associated with sepsis, septicaemia, and the sea. *Lancet* 1979;2(8148):903.
- Oishi H, Ura Y, Mitsumizo S, Nakashima M: [A collective review of *Vibrio vulnificus* infection in Japan]. Kansenshogaku Zasshi 2006;80(6):680-9.
- Nakashima Y, Oho M, Kusaba K, Nagasawa Z, Komatsu O, Manome I, Araki K, Oishi H, Nakashima M: A Chromogenic Substrate Culture Plate for Early Identification of Vibrio vulnificus and Isolation of Other Marine Vibrios. Anna.l Clini. Lab. Sci. 2007, 37(4): 330-334.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. : Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acid Res* 2000, 28: e63.
- Mori Y, Nagamine K, Tornita N, Notomi T: Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001, 289: 150-154.
- 6) 高柳恵, 永沢善三, 草場耕二, 福富由美子: チオウレ ア処理の有用性が確認されたパルスフィールド電気

泳動(PFGE)法. 医学検查(0915-8669), 2005:1207-1211.

- Bogard RW, Oliver JD.: Role of iron in human serum resistance of the clinical and environmental *Vibrio vulnificus* genotypes. *Appl Environ Microbiol.* 2007. 73(23):7501-5.
- Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review. Hepatology. 2002;36(5 Suppl 1):S161-72.
- Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Hepatology. 2003;38(2):518-26.
- 5. Loaeza-del-Castillo A, Paz-Pineda F, Oviedo-Cardenas E, Sanchez-Avila F, Vargas-Vorackova F. AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis. Ann Hepatol. 2008;7(4):350-7.
- Suzuki K, Kato A, Takikawa Y, Moriai S, Sato S. Clinical and statistical validity of modified Pugh classification in predicting short-term survival among cirrhotics. Gastroenterology. 1992;102(4):A894.

(2009.3.31受付)

#### 壊死性筋膜炎症例に対する PMX-DHP 療法について POLIMYXIN-B IMMOBILIZED FIBER-DIRECT HEMOPERFUSION (PMX-DHP) FOR PATIENTS WITH NECROTIZING FASCIITIS

#### 松本浩一<sup>1</sup>・冨田由紀子<sup>2</sup>・前田祥範<sup>3</sup>・三溝慎次<sup>4</sup> 荒木和邦<sup>5</sup>・大石浩隆<sup>6</sup>・中島幹夫<sup>7</sup> Kouichi MATSUMOTO, Yukiko TOMITA, Yoshinori MAEDA, Shinji MITSUMIZO Kazukuni ARAKI, Hirotaka OISHI, Mikio NAKASHIMA

1		佐賀大学助教	有明海総合研究プロジェクト	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
2		佐賀大学助教	医学部附属病院麻酔科蘇生科	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
3	医博	佐賀大学教育指導講師	医学部附属病院麻酔科蘇生科	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
4	医博	佐賀大学講師	医学部附属病院集中治療部	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
5	医博	佐賀大学准教授	医学部附属病院手術部	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
6	医博	佐賀大学准教授	医学部社会医学講座環境医学分野	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
7	医博	佐賀大学教授	医学部麻酔・蘇生学講座	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)

Polymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion (PMX-DHP) is one of the blood purification therapies in clinical site. PMX-DHP was developed for adsorption of endotoxin, and\_has been applied to endotoxemia or gram-negative bacteremia (including case) from 1994 in Japan. In Saga Medical School Hospital, 17 cases of necrotizing fasciitis\_(NF) due to bacterial infection were treated with PMX-DHP. Seven cases were cured and 10 cases were deceased, regardless of PMX-DHP. Two cases of NF due to gram-positive bacteremia were included in cured cases. Recently, application of PMX-DHP is expanded to gram-positive bacteremia, acute respiratory distress syndrome (ARDS), interstitial pneumonia, and so on. Some studies suggest that PMX-DHP is effective against suppression of active monocytes in the peripheral blood and removal of inflammatory cytokines. Examinations and evaluations of effectiveness of PMX-DHP for several infections should be considered.

*Key Words* : Polymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion (PMX-DHP), Necrotizing fasciitis, *Vibrio vulnificus* 

#### 1. はじめに

エンドトキシン吸着療法(Polymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion;以下 PMX-DHP)とは血液浄化療法の一つで、その名の通 りグラム陰性菌の細胞壁成分である内毒素(エ ンドトキシン)を血液中から吸着・除去する為 の治療法として開発された。本邦でも、1994年 よりエンドトキシン血症またはグラム陰性菌感 染症を疑う症例に対する治療法として臨床的使 用が開始された<sup>1)</sup>。近年、グラム陽性菌感染症 (非エンドトキシン血症)にも効果があるとの 報告がなされており、敗血症および敗血症性 ショックの治療法として広く使用されている。

食水系感染症研究部門の研究対象である Vibrio vulnificus (以下 V. vulnificus) 感染症はグラム陰 性桿菌感染症であり、高率にエンドトキシン血 症に伴う敗血症性ショックを呈する {本邦の症 例の約 7 割は原発性敗血症型(経口感染による もの)であり、創傷感染型(本邦症例の約 1 割) も時に二次的に敗血症を呈する}<sup>2,3)</sup>。その ため本感染症による壊死性筋膜炎症例の治療に 際しては、PMX-DHP が施行されることが多い。

本稿では、PMX-DHP について紹介すると共に、 1984 年 8 月~2008 年 4 月の期間に佐賀大学医学 部附属病院(以下当院)で治療された壊死性筋 膜炎症例のうち、PMX-DHP が施行された症例の 検討について報告する。

#### 2. PMX-DHP の適応

血液浄化療法の適応疾患を表 1 に示す。PMX-DHP の適応は、この中のエンドトキシン血症で ある。保険適応は、「エンドトキシン血症に伴 う重症病態あるいはグラム陰性桿菌によると思 われる重症病態。重症病態とは、全身性炎症反 応症候群 (Systemic Inflammatory Response Syndrome : SIRS)の判定基準(表 2)に合致す る場合を指す。」となっている。

A	表 1.	. 血液浄化療法	(保険)	適応疾患
---	------	----------	------	------

腎疾患
巣状糸球体硬化症
ABO 血液型不適合若しくは
抗リンパ球抗体陽性の同種腎移植
消化器系疾患
重症急性膵炎
劇症肝炎
術後肝不全
急性肝不全
慢性 C 型ウイルス肝炎
肝性昏睡
潰瘍性大腸炎
血液系疾患
多発性骨髄腫
マクログロブリン血症
血栓性血小板減少性紫斑病
重度血液型不適合妊娠
溶血性尿毒症症候群
インヒビターを有する血友病
神経系·自己免疫疾患
重症筋無力症
多発性硬化症
慢性炎症性脱髄性多発神経炎
ギラン・バレー症候群
悪性関節リュウマチ
全身性エリテマトーデス
皮膚疾患
天疱瘡
類天疱瘡
中毒性表皮壊死症
スティーブンス・ジョンソン症候群
その他
エンドトキシン血症
薬物中毒
家族性高コレステロール血症
閉塞性動脈硬化症

(平成 20 年 4 月 1 日現在)

表 2. SIRS の診断基準

1.体温 >38℃または<36℃				
2.脈拍>90 回/分				
3.呼吸数>20 回/分または PaCO2<32mmHg				
4.末梢血白血球数>12000/mm <sup>3</sup> または<4000/mm <sup>3</sup>				
以上 4 項目のうち 2 項目以上を満たす場合を				

SIRS とは American College of Chest Physicians と Society of Critical Care Medicine の合同カン ファレンスにおいて 1992 年に提唱された概念で ある(図 1)。感染に起因する SIRS が敗血症 (sepsis)、敗血症に臓器障害、臓器還流異常を 伴った場合が重症敗血症 (severe sepsis)、さらに 輸液療法に反応しない、あるいは循環作動薬の 投与を必要とするような低血圧を合併した場合 を敗血症性ショック (septic shock) と定義してい る。



図 1. SIRS の概念

#### 3. PMX-DHP の実際

1) 必要物品、機械および薬剤

PMX-DHP の施行にあたっては、下記の物品、 機械および薬剤が必要である。

- エンドトキシン除去用吸着型血液浄化器 通称:血液吸着フィルター(図2)
- ② 血液浄化用装置(図3)
- ③ 血液浄化用回路
- ④ ブラッドアクセスカテーテル (図 4)
- ⑤ 抗凝固剤



図 2. 血液吸着フィルター (東レ・メディカ ル株式会社ホームページ http://www.toraymedical.com/medical/kyusei/kyu\_a001.html より 画像転載)



図 3. 血液浄化用装置(東レ・メディカル株式会社製品カタログ〔血液浄化用装置 55X〕 より画像転載)



図 4. ブラッドアクセスカテーテル (ガンブ ロ株式会社 製品カタログ [緊急時ブラッドア クセス留置用カテーテル GamCath<sup>®</sup>] より画像 転載)

#### 2) 施行方法

PMX-DHP は血液吸着フィルターに全血を通し、 選択的に病因物質を除去する血液吸着療法 (direct hemoperfusion; DHP)のひとつである。 実際の手順としては、まず前述のブラッドアク セスカテーテルを中心静脈(通常は大腿静脈ま たは内頚静脈)に挿入する。これに血液浄化用 回路を接続し、血液浄化装置の血液ポンプで患 者の血液を脱血する。回路内での血液の凝固を 防ぐために、一定量の抗凝固剤を添加する。脱 血した患者血液を血液吸着フィルターに通して 病因物質を除去(吸着)させる。こうして浄化 された血液を送血回路からブラッドアクセスカ テーテルを介して返血する。回路の模式図を図5 に示す。



図 5. PMX-DHP 回路模式図

#### 3) 効果発現の機序

血液吸着フィルターの構造は、ポリミキシンB が固定化されたポリスチレン誘導体繊維のシー トを巻き込んだ状態で充填したものである。グ ラム陰性菌の細胞壁を構成するリポ多糖(LPS) のリピドA部分が、ポリミキシンBのアミノ基 とイオン結合するか、もしくはLPSの疎水性部 分がポリミキシンBの疎水性鎖と疎水結合する ことで、血中のエンドトキシンを吸着除去する (図 6)。



図 6. ポリミキシン B によるエンドトキシン 吸着除去(東レ・メディカル株式会社 製品カ タログ [トレミキシン<sup>®</sup>PMX-20R/PMX-05R] より画像転載)

#### 4. PMX-DHP が施行された壊死性筋膜炎症例 (佐賀大学医学部附属病院)

1984 年 8 月~2008 年 4 月の期間に当院で治療 された壊死性筋膜炎症例のうち、PMX-DHP が施 行された症例について検討を行った。

上記期間中に当院にて治療が行われた壊死性 筋膜炎は全部で 63 例であった。その内、PMX-DHP が施行された症例は 17 例(平均年齢:  $60.6\pm11.9$ 歳)であった。本邦における PMX-DHP の臨床的使用の開始は 1994 年であるが、当 院での最も早い使用例は 1996 年の症例であった。 17 例全例が敗血症性ショックを合併しており、 外科的治療としてはデブリードマンが行われて いた(1例は患部切断を同時施行)。起炎菌は グラム陰性菌が 10 例(*V. vulnificus* が 7 例で最 多)、グラム陽性菌が 3 例、起炎菌不明が 4 例 であった(表 3)。

		Vibrio vulnificus
ドニノ哈姓英	10 /10	Escherichia coli
	10191	

Haemophilus influenzae

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Streptococcus pyogenes

Bacillus cereus

表 3. PMX-DHP 施行症例の起炎菌

3例

⊿仮则

グラム陽性菌

記公南不明

					12.1								
	転帰る	は生	存退	院	宦例;	が 7	例	(V.	vul	nific	us	感	染
垣	憲者	: 1	例)	, 7	死亡	退院	症	列が	10	例	(V	<i>'ibr</i>	io
vı	ılnificı	us 感	<b>这</b> 染近	Ē患	者:	6例	) と	:いう	う結	果て	あ	0	た
起	診菌	別の	)救行	市率	はグ	ラム	、陰	性菌	が	30.0	)%	(	10
伢	〕中 3	例)	、ク	ブラ	ム陽	性菌	「が	66.´	7%	(3	例	中	2
伢	1) で	あっ	た。										

#### 5. 考察

壊死性筋膜炎症例に PMX-DHP が奏功し、救命しえたという報告はこれまでにもなされている<sup>4,5,6)</sup>。救命症例の起炎菌はグラム陰性菌ばかりではなく、グラム陽性菌も含まれている。

今回検討した当院の症例においても、グラム 陰性/陽性どちらの起炎菌症例にも生存退院し た症例が存在した。

PMX-DHP の有効性を示す報告には、重症敗血症および敗血症性ショックに対するもの<sup>7,8,9,10,11</sup> ばかりではなく、急性呼吸窮迫症候群 { acute respiratory distress syndrome : 以下 ARDS (診断基 準は表 4、表 5 を参照}や間質性肺炎の急性増悪 といった肺の病態に対するもの<sup>12,13,14)</sup>も含まれて いる。

表 4. ARDS の診断基準 (Petty et al, 1982)

1.臨床所見
1)急性発症
2)頻呼吸·努力性呼吸
3)チアノーゼ
4)低血圧(収縮期血圧 < 90mmHg
5)体温の異常(>39℃ 36℃<)
6)Coarse Crackle
7)心不全徴候なし
2.背景疾患の存在
3.胸部 X 腺写真(両側肺野に存在)
すりガラス様陰影、Air bronchogram を伴う肺胞充実影
4.機能検査
1)PaO <sub>2</sub> $\leq$ 50 Torr (FiO <sub>2</sub> $\geq$ 60%)
2)肺コンプライアンス低下(<50ml/cmH <sub>2</sub> O)
3)シャント率、死腔換気量の上昇
5.病理所見
1)肺重量の増大(>1000g)
2)肺胞および間質水腫
3)うっ血
4)肺胞内の硝子膜形成
5)胞隔の線維化

表 5. ARDS の診断基準  $(AECC)^{15}$ 

1) 急性発症
2) 低酸素血症 PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <200
3) 胸部レントゲン写真 両側浸潤影
4) 左心不全の否定
5) 肺動脈楔入圧 18mmHg 以下. 臨床的に左房圧正常

※ARDS と同一の疾患概念で低酸素血症の程度 が軽いものを急性肺障害(acute lung injury: ALI)としている(ARDS: PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub><200, ALI: PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub><300)。</p>

PMX-DHP がエンドトシン血症を来さないグラ ム陽性菌感染症(に伴う敗血症性ショック)や、 重篤な呼吸器疾患の呼吸機能改善に奏功するか については様々な研究が行われており、前述し たポリミキシン B によるエンドトキシン吸着の 機序以外にも、血中の活性化された単球の抑制、 各種の炎症性サイトカイン除去といった機序が あるということが分かってきている。

壊死性筋膜炎症例は敗血性ショックを合併す ることが多い(当院治療例では 63 例中 40 例)。 治療開始後に全身状態が増悪することもあり、 多くの症例で気管挿管による人工呼吸管理が必 要となる。ARDS の病態を合併することも多い。

7例 1例

1例 1例

1例

1例

1例

敗血症性ショックや ARDS からの早期離脱は、 患者の生命予後に大きく関わっており、PMX-DHP は有用な治療法であると考えられる。

しかし一方で、救命出来ない症例も多く存在 するため、さらなる検討が必要である。今回検 討した当院での治療症例においては、特にV. vulnificus感染症例の救命率が低かった。今年度、 V. vulnificus感染症患者通報ネットワーク<sup>16)</sup>より通 報のあったV. vulnificus感染症患者(壊死性筋膜 炎症例)2例も、PMX-DHPが施行されたにも関 わらず救命には至らなかった。{詳細は本報告 集の他項に譲る(中島、大石、松本ら.『ビブリ オ・バルニフィカス感染症対策 臨床医学的アプ ローチ 第四報』参照)。}

最近では、複数回の施行<sup>6,8)</sup>や長時間施行<sup>17,18,19)</sup> により良好な成績が期待できるという報告や、 他の血液浄化療法 (持続的血液濾過透析

(continuous hemodiafiltration:以下CHDF)な ど}との併用や同時施行が奏功したという報告 <sup>17,20)</sup>、さらには敗血性ショックに対しては

polymethyl methacrylate (PMMA) 膜によるCHDF (PMMA-CHDF) 等の他の血液浄化療法の方が

より有効であるとの報告<sup>21)</sup>も出て来ている。 効果発現の機序のさらなる解明、および効果 判定を目的として、様々な炎症性メディエー

ター (anandamide : ANA, 2-arachidonylglycerol : 2-AG, high mobility group box chromosomal protein-1 : HMGB-1, interleukin-6 : IL-6 など)の測定が 盛んに行われている<sup>22,23,24,25)</sup>が、現在のところ 統一された見解は出されていない。

今後、適応疾患や導入基準なども含めたガイ ドラインの策定が行われる予定である。

#### 6. 結語

PMX-DHP は壊死性筋膜炎の治療に置いて有用 であると思われる。しかしながら、その効果発 現の機序に関してはまだ解明され尽くしておら ず、施行方法や導入時期などについて更なる検 討が必要と思われる。

また、他の血液浄化療法についても単独使用、 PMX-DHP との併用の両方について、有用性の検 討が継続されることと思われる。

当部門の研究の研究対象である V. vulnificus 感 染症は、一旦発症するとその生命予後は決して 良くない。本プロジェクト発足時より、当部門 では啓蒙活動や患者通報ネットワーク構築を行 うなどして患者発生の予防に努めており、昨年 度までの3年間は県内の患者発生を認めなかっ たが、今年度発生した2症例(県内1例、県外1 例)はいずれも救命には至らなかった。今後の 救命率の上昇には、PMX-DHP を含めた現行の治 療法のさらなる検討・改善と、新たな治療法の 開発が望まれる。

#### 参考文献

- Aoki H, Kodama M, Tani T, et al. 1994. Treatment of sepsis by extracorporeal elimination of endotoxin using polymyxin B immobilized fiber. American journal of surgery. 167: 412-417.
- 大石浩隆、浦由紀子、三溝慎次ら.2006. わ が国における Vibrio vulnificus 感染症患者誌 上調査. 感染症学雑誌. 80: 680-689
- 松本浩一、大石浩隆、中島幹夫. 2008. バル ニフィカス感染症の臨床と日本における疫学. 化学療法の領域. 24: 911-918.
- 5) 榎本聖子、中原祥文、中村隆志.2007. 症例 劇症型 A 群溶連菌感染症の1 救命例. 内科. 100:382-384.
- 6) 三溝慎次、山田友子、村社加奈子ら. 2009. A
  群β溶血連鎖球菌毒素性ショック症候群の1
  症例. 臨床麻酔. 33: 181-184.
- Ueno T, Sugino M, Nemoto H, et al. 2005. Effect over time of endotoxin adsorption therapy in sepsis. Therapeutic apheresis and dialysis. 9: 128-136.
- Perego AF, Morabito S, Graziani G, et al. 2006. Polymyxin-B direct hemoperfusion (PMX-DHP) in gram negative sepsis. Giornale italiano di nefrologia. 23 Suppl 36: S94-102.
- 9) Kanesaka S, Sasaki J, Kuzume M, et al. 2008. Effect of direct hemoperfusion using polymyxin B immobilized fiber on inflammatory mediators in patients with severe sepsis and septic shock. The International journal of artificial organs. 31: 891-897.
- 10) Suyama H, Kawasaki Y, Morikawa S, et al. 2008. Early induction of PMX-DHP improves oxygenation in severe sepsis patients with acute lung injury. Hiroshima journal of medical sciences. 57: 79-84.
- Murakami M, Miyauchi Y, Nishida M, et al. 2009. Direct Hemoperfusion Using Polymyxin-B Immobilized Fiber for Septic Shock After Cardiac Surgery. Circulation journal. Epub ahead of print (Advance Publication by J-STAGE)
- 12) Tsushima K, Kubo K, Yoshikawa S, et al. 2009. Effects of PMX-DHP treatment for patients with directly induced acute respiratory distress syndrome. Therapeutic apheresis and dialysis. 11: 138-145.

- 13) 大眉寿々子,門倉光隆,澁谷泰弘ら. 2008. ポ リミキシンカラム療法を施行し救命し得た急 性呼吸促迫症候群の1例.日本呼吸器学会雑 誌. 46: 404-410.
- 14) Enomoto N, Suda T, Uto T, et al. 2008. Possible therapeutic effect of direct haemoperfusion with a polymyxin B immobilized fibre column (PMX-DHP) on pulmonary oxygenation in acute exacerbations of interstitial pneumonia. Respirology. 13: 452-460.
- 15) Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, et al. 1994. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. American journal of respiratory and critical care medicine. 149: 818-824.
- 16) 中島幹夫、大石浩隆. 2006. ビブリオ・バル ニフィカス感染症対策-臨床医学的アプロー チ(第一報). 佐賀大学有明海総合研究プロ ジェクト成果報告集. 2: 119-126.
- 17) 山内浩揮、三浦政直、中村不二雄. 2006. 長時間施行 長時間 PMX-DHP と CHDF の直列 併用療法が有効であった下部消化管穿孔による敗血症性ショックの2症例. エンドトキシ ン血症救命治療研究会誌. 10: 259-260.
- 18) 小野淳一、佐々木慎理、堀家英之ら. 2006. High Flow CHD+PMX-DHP 長時間併用法の施 行経験. エンドトキシン血症救命治療研究会 誌. 10: 261-265.
- 19) 小野誠吾、前川武男、佐藤浩一ら. 2008. 腹

部救急領域における血液浄化療法の役割 長時間 PMX-DHP が有効と考えられた消化管穿 孔、汎発性腹膜炎の症例.日本腹部救急医学 会雑誌.28:296.

- 20) 立野里織、世良昭彦、木下博之. 2007. PMX-DHP と CHDF の直列施行の有用性に関する 検討. 日本救急医学会雑誌. 18: 375.
- 21) 松田兼一、平澤博之、織田成人ら. 2002.
  Endotoxin 除去療法. 日本外科学会雑誌. 103: 880-886.
- 22) 遠藤重厚、佐藤信博、鈴木泰ら. PMX-DHP が有効と思われた敗血症性多臓器不全症候群 における IL-18、IL-12の検討. エンドトキシ ン血症救命治療研究会誌. 10: 162-169.
- 23) 小鹿雅博、佐藤信博、鈴木泰ら. PMX-DHP 施行時の HMGB1 値の検討. エンドトキシン 血症救命治療研究会誌. 10: 199-204.
- 24) Kohro S, Imaizumi H, Yamakage M, et al. 2008. Anandamide absorption by direct hemoperfusion with polymixin B-immobilized fiber improves the prognosis and organ failure assessment score in patients with sepsis. Journal of anesthesia. 20: 11-16.
- 25) Kase Y, Obata T, Okamoto Y, et al. 2008. Removal of 2-arachidonylglycerol by direct hemoperfusion therapy with polymyxin B immobilized fibers benefits patients with septic shock. Therapeutic apheresis and dialysis. 12: 374-380.

(2009.3.31 受付)

## 佐賀大学医学部附属病院における壊死性筋膜炎 55 例の検討

55 CASES OF NECROTIZING FACIITIS IN SAGA MEDICAL SCHOOL HOSPITAL

#### 三溝慎次<sup>1</sup>・山田友子<sup>2</sup>・松本浩一<sup>3</sup>・荒木和邦<sup>4</sup>・大石浩隆<sup>5</sup>・中島幹夫<sup>6</sup> Shinji MITSUMIZO, Tomoko YAMADA, Kouichi MATSUMOTO, Kazukuni ARAKI, Hirotaka OISHI and Mikio NAKASHIMA

I	医博	佐賀大学講師	医学部附属病院集中治療部	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
2	佐賀大	学医員	医学部附属病院集中治療部	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
3	佐賀大	;学助教	有明海総合研究プロジェクト	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
4	医博	佐賀大学准教授	医学部附属病院手術部	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
5	医博	佐賀大学准教授	医学部社会医学	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
6	医博	佐賀大学教授	医学部麻酔・蘇生学	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)

The necrosis occurs in the skin, subcutaneous tissue and fascia, and the patients frequently die with septic shock or the worsening of the underlying disease. We researched the 55cases of necrotizing fasciitis from medical chart of Saga medical School Hospital in the year  $1995 \sim 2008$ . Nine cases were the necrotizing fasciitis with *Vibrio. vulnificus* and 8 cases were with methicillin-resistant *Staphylococcusaureus*. The common site of infection was on the extremities, abdomen associated with surgical wound site, surgical drain site and perineal area. Twenty cases had diabetes mellitus as the underlying disease. Many patients were associated with disseminated intravascular coagulation and septic shock.

Key Words: necrotizing fasciitis, Vibrio vulnificus, Septic shock

#### 【はじめに】

壊死性筋膜炎は、皮膚から皮下組織、筋膜に かけて急速に広範な壊死をきたす重篤な感染症 であり、敗血症性ショックを引き起こし、死亡 する症例も少なくない。敗血症性ショックを伴 う壊死性筋膜炎の治療としては、抗生剤の適切 な投与と、デブリドマン、呼吸・循環管理、播 種性血管内凝固症候群 (Disseminated Intravascular Coagulation: DIC)の治療などの全身管理が重要 である。しかし、この病態を引き起こす細菌は 様々で、抗生剤の選択にも難渋することが多く、 また、A 郡  $\beta$  溶連菌 1)、*Vibrio. Vulnificus (V. Vulnificus)* 2)、劇症型肺炎球菌 3)などによるもの は急激に悪化することがあり、死亡率も高い。 今回、我々は佐賀大学医学部附属病院にて経験 した壊死性筋膜炎を調査した。

【対象】1995~2008 年に当院にて壊死性筋膜炎 と診断され、入院治療を行った 55 例についてカ ルテで後向き調査を行った。

【結果】年齢は 57 歳±14 歳、男性 38 例、女性 17 例であった。壊死性筋膜炎を引き起こした原 因菌は 55 例中 9 例が *V. Vulnificus* (16.4%) で、 8 例 は メ チ シ リ ン 耐 性 黄 色 ブ ド ウ 球 菌 (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: MRSA) (14.5%) であった。それ以外の原因菌 は多岐にわたりで、混合感染も認めた。(Fig.1) 発症部位は四肢に多く(75%)、特に下肢に好発 (64%)し、その他、消化器外科術後の創部やド レーン留置部からの感染が 8 例 (14.5%) に、会 陰部感染が 4 例 (7.3%) 認められ、会陰部感染 症の原因菌としては 2 種類以上の混合感染がほ とんどであった。月別では 7 月に最も発症が多 かったが (16.4%)、1 月や 3 月にも多く、季節 性は認めなかった(Fig.2)。しかし、原因菌の中で 最も多い V. Vulnificus は気温、海水温が高い 6 月 から 10 月に発症していた。

予後は不良で 55 例中 21 例 (38.2%) は死亡し、 壊死性筋膜炎が原因で死亡したと考えられた症 例は 16 例 (29.1%) で、5 例 (9.1%) は基礎疾 患やその他の原因にて死亡した。発症範囲が連 続しない複数部位に及ぶものは 11 例(20%)で、 そのうち7例は死亡した。V. Vulnificus は9例中 7 例 (77%)、死亡し、また腸内細菌群を除くグ ラム陰性桿菌(gram-negative rod:GNR)は7例中 5 例 (57%) 死亡した。基礎疾患としては 20 例 (36.4%) に糖尿病を認めたが、そのうち死亡し たのは1例のみで、ステイロイドを内服してい た症例は6例(10.9%)であった。16例(29.1%) で肝疾患を認め、11 例(20%)が死亡したが、 うち7例が V. Vulnificus によるものであった。合 併症としては敗血症性ショックが 30 例で (54.5%)、DIC は 29 例(52.7%)で合併した(Fig.3)。 そのうちそれぞれ 17 例、16 例が死亡した。

	症例数	死亡数	死亡率(%)
腸内細菌群	8	1	14
MRSA	7	1	14
腸内細菌群以外のGNR	7	4	57
V. Vulnificus	9(7例に肝疾患)	7	77
腸球菌	2	0	0
肺炎球菌	1	0	0
溶連菌	8	0	0
MSSA	4	1	25
Candida	1	0	0
不明	11	2	18
5種類以上の多種類菌	2	0	0

#### Fig.1壊死性筋膜炎を引き起こした原因菌

#### 【考察】

壊死性筋膜炎の主要な病的所見は,近接筋膜を 含む皮下組織の浮腫と壊死、広範にわたる周辺 組織の侵害などである。顕微鏡下で発見される 異常としては,白血球の激しい浸潤,微小膿



Fig.2月別の発症数

	症例数	死亡数	死亡率%
Septic shock	30	17	56
Sentic shock, DIC	29	16	55

Fig.3 Septic shock, DIC の症例数

瘍形成,皮下組織および近接筋膜の壊死がある。 皮下の小動脈と小静脈は,しばしば完全に閉塞 する。血液検査では炎症所見が上昇し、病変領 域の X 線は,しばしば軟部組織ガスの存在を示 す。我々は壊死性筋膜炎を疑った症例では X 線 撮影だけではなく積極的かつ早期に MRI を撮影 し、診断に役立てている。MRI の所見は緊急の デブリドマンをおこなうかの指標となるため有 効である。

基礎疾患としては糖尿病の患者は、感染の素 因をもつ可能性が高い。小血管疾患が、組織の 低酸素を引き起こし、その結果、嫌気性菌代謝、 白血球機能不全などを引き起こすことが考えら れる。我々の症例においては 20 例に糖尿病を認 め、壊死性筋膜炎を引き起こしやすい可能性が あったが、そのうち死亡したのは1例のみで あった。重症となる前にインシュリンによる厳 重な血糖コントロールを含めた全身管理が開始 でき、救命できたと思われる。その他の基礎疾 患としては 16 例で肝疾患を認め、11 例が死亡し たが、うち7例が V. Vulnificus によるもので特徴 的であった。重篤な壊死性の蜂巣炎または筋膜 炎を生じさせる原因となる細菌の多くは、接触 感染あるいは外傷から皮下組織に広がる。外傷 は、軽傷である場合が多い。今回の我々の調査 では壊死性筋膜炎の原因菌は 16.4%が V. Vulnificus であったが、V. Vulnificus は 17℃以上で 増殖が活発となり 4)、皮膚、粘膜の傷から、菌 が直接進入するだけではなく、生鮮海産物を介 した経口感染によってもおこり 5)、本邦では暖

かい季節の経口感染によるものが多く報告され ている 6)。我々は V. Vulnificu が本邦においては 症例報告の約半数が北部九州の有明海沿岸地域 で発生し、宿主側の肝機能障害や免疫能低下が 加われば敗血症性ショックから急激な経過をた どり、その 6 割以上が不幸な転帰をたどってい ることを報告した。また、V. Vulnificus に似た症 状で発症しり急激に症状が悪化し、死亡した Klebsiella oxytoca 感染による症例もあり 7)、注意 が必要である。

壊死性筋膜炎が最も一般的に罹患する部位は 四肢だが、その場合、感染性皮膚潰瘍または既 往損傷の感染性合併症から発生する。我々の症 例においても発症部位は四肢に多く、特に下肢 に好発していた。2番目に罹患しやすい部位は会 陰部で,その場合は通常、手術、直腸周囲膿瘍、 尿道周囲腺感染、または腹部内臓穿孔による後 腹膜感染の合併症である。男性性器が罹患する 場合、この感染はフルニエ病と呼ばれる。我々 の症例では急性前立腺炎、肛門周囲膿瘍などが 原因をなり4例が会陰部で発症していた。また、 原因菌は4例とも混合感染で6種類以上の混合 感染を2例認め、広域の抗生剤が必要となる可 能性が示唆された。

治療としては抗菌薬の早期投与が重要で重症 敗血症性ショックでは抗菌剤投与の遅れが救命 率を低下させる 8)。また、抗生物質の選択も重 要である。グラム染色によって、どの抗生物質 を選択するかが重要であるが、原因菌がわから ないことも多く、その場合は広域のスペクトラ ムを持つ抗生剤が必要となる。我々の施設では V. Vulnificus とともに MRSA が多く、今後はそのこ とを留意しながら抗生物質を選択しなければな らない。また、抗生物質の次の治療としては、 切開と広範にわたるデブリドマンが必要となる。 我々は積極的にデブリドマンを行っており、51 例においてデブリトマンを行った。またその内、 17 例は複数回(2~4回)行っていた。診断と治 療が遅れ、デブリトマンまでの時間が遅くなっ た場合、また、不適切に広範囲に及ぶ外科手術 は予後を悪くすると考えられる。切開は、機器 または指が、深部の筋膜から皮膚と皮下組織を これ以上切り離せないというところまで、拡大 して行われるべきであろう。1~2 日たってから 手術を繰り返すことにより、通常は患部領域全 てにわたる十分な切開とデブリドマンが確実に なり、我々も皮膚所見などから2回目3回目の デブリドマンを積極的に行う方針としている。 また、特に V. Vulnificus、A 群β溶連菌などは進 行が急激であり、敗血症性ショックを高率に引 き起こすため、我々は、Surviving Sepsis Campaign が 2008 年に改定した敗血症の治療ガイ

ドライン 9)に沿って全身管理を行い治療を行っているが成績は良くなく、更なる早期診断、積極的な治療を行っていくつもりである。

#### 参考文献

- Infections due to group A streptococcus: new concepts and potential treatment strategies. Norrby SR, Norrby-Teglund A. Ann Acad Med Singapore. 1997 Sep;26(5):691-3.
- Leg gangrene and endotoxin shock due to vibrio parahaemolyticus--an infection acquired in New England coastal waters. Roland FP. N Engl J Med. 1970 Jun 4;282(23):1306.
- Toxic shock syndrome: experience in a pediatric intensive care unit. Costa Orvay JA, Caritg Bosch J, Morillo Palomo A, Noguera Julián T, Esteban Torne E, Palomeque Rico A. An Pediatr (Barc). 2007 Jun;66(6):566-72.
- Effect of temperature and salinity on Vibrio (Beneckea) vulnificus occurrence in a Gulf Coast environment. Kelly MT. Appl Environ Microbiol. 1982 Oct;44(4):820-4.
- 5) The role of Gulf Coast oysters harvested in warmer months in Vibrio vulnificus infections in the United States, 1988-1996. Vibrio Working Group. Shapiro RL, Altekruse S, Hutwagner L, Bishop R, Hammond R, Wilson S, Ray B, Thompson S, Tauxe RV, Griffin PM. J Infect Dis. 1998 Sep;178(3):752-9.
- A collective review of Vibrio vulnificus infection in Japan. Oishi H, Ura Y, Mitsumizo S, Nakashima M. Kansenshogaku Zasshi. 2006 Nov;80(6):680-9.
- 7) A fatal case of necrotizing fasciitis due to bacterial translocation of Klebsiella oxytoca. Oishi H, Kagawa Y, Mitsumizo S, Tashiro Y, Kobayashi G, Udo K, Aoki S, Takayanagi M, Nagasawa Z, Araki K, Ohza N, Eguchi Y, Nakashima M. J Infect Chemother. 2008 Feb;14(1):62-5. Epub 2008 Feb 24.
- 8) Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Kumar A, Cheang M. Crit Care Med. 2006 Jun;34(6):1589-96.
- 9) Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL; International

Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee; American Association of Critical-Care Nurses; American College of Chest Physicians; American College of Emergency Physicians; Canadian Critical Care Society; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; European Society of Intensive Care Medicine; European Respiratory Society; International Sepsis Forum; Japanese Association for Acute Medicine; Japanese Society of Intensive Care Medicine; Society of Critical Care Medicine; Society of Hospital Medicine;

Surgical Infection Society; World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Medicine. Crit Care Med. 2008 Jan;36(1):296-327. Erratum in: Crit Care Med. 2008 Apr;36(4):1394-6.

(2009.3.31 受付)

## Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法を 利用したビブリオバルニフィカス検出法の検討(第一報)

STUDIES OF EARLY DIAGNOSIS METHOD FOR *VIBRIO VULNIFICUS* USING LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) -(THE FIRST REPORT)

草場耕二<sup>1</sup>・中島由佳理<sup>2</sup>・於保恵<sup>3</sup>・ 永沢善三<sup>4</sup>・松本浩一<sup>5</sup>・根本二郎<sup>6</sup>・大石浩隆<sup>7</sup>・中島幹夫<sup>8</sup> Kouji KUSABA, Yukari NAKASHIMA, Megumi Oho, Zenzo NAGASAWA, Kouichi MATSUMOTO, Jiro NEMOTO, Hirotaka OISHI and Mikio NAKASHIMA

1	医修	佐賀大学医学部主任臨床検査技師	検査部微生物検査室	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
2		佐賀大学医学部臨床検査技師	検査部微生物検査室	
3	医修	佐賀大学医学部臨床検査技師	検査部生化学検査室	
4	医博	佐賀大学医学部副臨床検査技師長	検査部微生物検査室	
5		佐賀大学有明海総合研究プロジェクト助教	<b>汝</b>	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
6		栄研化学株式会社生物化学研究所	(〒329-01	14 栃木県下都賀郡野木町 143)
7	医博	佐賀大学准教授	社会医学	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)
8	医博	佐賀大学教授	麻酔蘇生学	(〒849-8501 佐賀市鍋島 5-1-1)

Infection with *Vibrio vulnificus (V. vulnificus)* can cause necrotizing fasciitis and sepsis. Due to high mortality and short latent periods, improvement of this infection control depends on early identification of bacteria species and initiation of intensive care. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) attracts attention as novel polymerase chain reaction to detect a specific gene for rapidity and high sensitivity. In this study, we tested LAMP for *V. vulnificus* detection. In order to identify *V. vulnificus* assuming the clinical application, we established the LAMP assay for detection of *V. vulnificus* from blood since the sample is able to obtained at first in emergency room. Over 2x10<sup>2</sup> colony forming unit per mililitter of organisms in a culture bottle turned to be positive in LAMP. Furthermore, the contents of culture bottle did not inhibit LAMP reaction.

#### Key Words: Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP), Vibrio vulnificus

#### 1. はじめに

グラム陰性桿菌であるビブリオ・バルニフィ カスは沿岸海水中の常在菌である。主に基礎疾 患として肝障害を持つ者が、本菌が付着した生 鮮魚介類を喫食することにより重篤な壊死性筋 膜炎や敗血症を起こすことが知られている<sup>1</sup>。

その病態は激烈で、短期間でショック状態と なり、高い死亡率を呈することから、早期診 断・早期治療が必須であり本菌の迅速検出法の 開発が求められている。

我々はこれまでに、発色合成基質寒天培地 (Chromocheker VA1; CVA1 寒天培地)を利用した Vibrio vulnificus の培養培地同定法を栄研化学株式 会社と共同で開発した<sup>2</sup>。CVA1 の取り扱いは通 常の培養操作と変わらず簡便であり、コレラ、 腸炎ビブリオ等の鑑別も一目で可能である。ま た遺伝子検査機器が充足していない発展途上国 等の研究室や病院においても利用価値が高いと 考える。本プロジェクトの主題である、ビブリ オ・バルニフィカスの迅速同定に関して、CVA1 寒天培地は紺色のコロニー着色性で選択的に検 出でき、羊血液寒天培地での発育能を併せて判 断すれば迅速に同定できるという利点がある。 我々の臨床経験例では、今までの通常の培養検 査方法が2日程度、同定に時間を要していたの に対し、CVA1では約半日で同定が可能となった。 しかしながら実際の臨床の場では、下肢切断の 決定のための因子として、更に早い段階での確 定が望まれている。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法は、2000年に納富ら<sup>3</sup>が報告した迅 速遺伝子増幅法で、65℃付近の一定温度で反応 が進行する。反応に必要な Primer は、鋳型とな

Forward inner primer	5'-CGGCTAACAAGAATAGCCCTTTCAGCATAATGTTGGCACGTCAA-3'
Backward inner primer	5'-GCGTTGTCTTGCTCACCAATCCTGGAGTAAGCACTTCCACAC-3'
Forward outer primer	5'-CCTCGTCAGAAATTGGTAGA-3'
Backward outer primer	5'-AGCTTGTAATGGCGGATGATTCAG-3'
Loop primer-F	5'-TTTGTGACGCGGCCAT-3'
Loop primer-B	5'-GTCGGAGTCTAAGTTCCGT-3'

図 1. ビブリオバルニフィカス用 LAMP プライマー

る遺伝子を6領域認識しているため、鋳型に対 する特異性が極めて高い。更に、遺伝子増幅に 伴うピロリン酸マグネシウムの大量合成により、 反応液を自濁させる特徴があることから<sup>4</sup>、反応 液を一定温度に保温しつつ濁度の測定を可能に したリアルタイム濁度測定装置を併用すること で、反応の進行と増幅の判定が簡便かつ迅速に なった。

今回我々は LAMP 法を応用して、ビブリオ・ バルニフィカスの検出に関する方法、特に実際 の臨床現場を想定し、各種血液培養ボトルから の検出感度に関する研究を行った。

#### 2. 材料および方法

 ビブリオ・バルニフィカス供試菌 American Type Culture Collection (ATCC)-27562 を使用した。菌は好気環境下、ミューラーヒン トン培地(栄研化学)で35℃、18時間培養し、 2000g・2分間遠心後、沈査を2.5%生食でマク ファーランド1(およそ3x10<sup>8</sup> colony forming unit; cfu)に調整した。この菌液を各種培養ボト ル液で10倍段階希釈していき実験に供した。

2) 核酸抽出法

LAMP に供するビブリオ・バルニフィカスの 核酸抽出は煮沸法に行った。手順を以下に示す。 ①1.5ml マイクロチューブに検体 500µl 入れ、 12000rpm,5分間遠心。

②上清を取り除き、100µlの TE Buffer を加えて よく混和。

③ヒーティングブロックにて 100℃, 10 分間加温。 ④氷中で急冷し、12000rpm, 2 分間遠心。

⑤上清を LAMP 用検体(Template)とした。

また、LAMP 試薬に検体(Template)4 $\mu$ l と陽性 コントロールを 1 $\mu$ l 加えたものを内部コントロー ル (Internal control : IC) とした。

3) LAMP プライマー

LAMP 用プライマーの使用は、根本らの論文 に従った<sup>5</sup>。本研究に用いたプライマー配列を図 1 に示す。

4) LAMP 増幅と判定

反応液は、Loopamp DNA 増幅試薬キット(栄研化学)に、設計した Primer セットを添加し、 以下のように調製した。2xReaction Mix:12.5  $\mu$ L, 100 $\mu$ M Forward inner primer : 0.4 $\mu$ L, 100 $\mu$ M Backward inner primer : 0.4 $\mu$ L, 100 $\mu$ M Forward outer primer : 0.1 $\mu$ L, 100 $\mu$ M Backward outer primer : 0.1 $\mu$ L, 100 $\mu$ M Loop primer-F : 0.4 $\mu$ L, 100 $\mu$ M Loop primer-B : 0.4 $\mu$ L, Distilled Water : 4.7 $\mu$ L, *Bst* DNA Polymerase : 1 $\mu$ L, template DNA : 5 $\mu$ L、合計 25 $\mu$ L。

反応温度は 65℃に設定し、Loopamp リアルタイ ム濁度測定装置 LA-320C(栄研化学)で 60 分間 測定した。判定の基準は、LA-320C で測定した 濁度が 60 分以内に 0.1 を超えた場合を陽性、60 分経過後も濁度が 0.1 に満たない場合を陰性と判 定した(図 2A, B)

5)実験プロトコール

臨床現場を想定し、今回使用した血液培養ボ トルは以下の通りであった。

- ① 嫌気培養ボトル (BacT/Arart 3D、シスメック スビオメリュー)
- ③ 4ml 血液混和好気培養ボトル
- ④ 10ml 血液混和好期培養ボトル
- ⑤ 2.5%塩化ナトリウム溶液 (コントロール)

上記①、②については、培養ボトル中の培養液 自体の阻害作用を検討し、③、④は本症患者の 臨床検査時に提出される検査試料体を想定した。 また③、④の血液量については、メーカーが血 液培養検査で推奨する血液の最少量(③)、及び 標準量(④)である。


図 2A (左); LAMP 結果画面。縦軸は濁度、横軸はサンプル ID。各サンプル 0 付近の緑は陰性、赤は陽性を示す。図 2B (右); LAMP 判定画面。縦軸は濁度、横軸は時間。各サンプルの濁度の変化を示す。濁度が 60 分以内に 0.1 を超えた場合を陽性とした。



①~⑤のそれぞれ 2.7ml について、1)でマクファーランド1に調整した菌 0.3 ml 添加し、さらに 10<sup>2</sup>~10<sup>6</sup> 倍まで 10 倍希釈系列を作成したのち、1ml ずつを LAMP 反応試験に供した(図 3)。なお、各培養ボトルは4重検定で試験し、4本中3本以上で陽性となったものを「陽性=+」、1本以下を「陰性=-」、それ以外を「判定保留=±」とした。

6) コロニーカウント

各テストサンプルから 50 µl をミューラーヒン トン培地にスパイラル法で塗布し 35℃・24 時間 培養後にコロニーカウントを行った。

#### 3. 結果と考察

結果を図 4 に示す。マクファーランド 1 に調 整した菌数をコロニーカウントしたところ、正 確には 2x 10<sup>8</sup> cfu/ml であった。従って、10 倍段 階希釈していった菌数は、2x 10<sup>2</sup> ~2x 10<sup>6</sup> cfu/ml となった。 2x 10<sup>2</sup> cfu/ml の添加では、全ボトルにおいて、 LAMP 陰性となった。一方 2x 10<sup>4</sup> cfu/ml 以上で あれば、嫌気培養ボトルを除いて陽性となり、 これが検出限界と言える。この事より、実際の 臨床現場で提出された血液培養ボトル中で 2x 10<sup>4</sup> cfu/ml 以上に培養出来れば、LAMP 法で陽性と判 定でき、報告が可能である。また、好気培養ボ トルでは、血液添加の有無にかかわらず、2x 10<sup>4</sup> cfu/ml 以上あれば陽性となったことから、バクテ アラートボトル内の培養液は LAMP 反応に影響 を及ぼさないことが判明した。更に、血液量の 大小でも同じ検出感度を示したことで、臨床現 場で例え採血量が十分でなくとも、十分に判定 が出来る可能性が示唆された。

今後の課題としては、①;血液培養ボトルで、 菌が最初にどの程度存在すれば 2x 10<sup>4</sup> cfu/ml 以 上に増加できるか、②;①の時間的推移と従来 法(BacT/Arart 3D、シスメックスビオメリュー による検出法)との比較、③ヘパリンやヘモグ ロビン自体の阻害作用、④各種抗生剤存在下で のLAMP 反応の検証、が必要となってくる。最 終年度である H21 年度に、上記課題を検証し、 ビブリオバルニフィカス患者のための菌迅速検 査法を確立させる予定である。

#### 4. 結語

 血液培養ボトルからの LAMP 試験陽性となる 検出限界は 2x 10<sup>4</sup> cfu/ml 以上であった。
 培養ボトル中の培養液は、好気ボトルに関 しては LAMP 反応を阻害しなかった。

菌投与量(cfu/ml)	2.5% NaCl	嫌気培養ボトル	好気培養ボトル	好気培養ボトル +4ml血液	好気培養ボトル + 10 ml 血液
2 x 10 <sup>6</sup>	+	+	+	+	+
2 x 10 <sup>5</sup>	+	±	+	+	+
2 x 10 <sup>4</sup>	+	-	+	+	+
2 x 10 <sup>3</sup>	±	-	-	-	±
2 x 10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-

血液量の大小で、LAMP 検出には差が見られなかった。

#### 参考文献

- 大石浩隆、浦由紀子、三溝慎次、中島幹夫: わが国における Vibrio Vulnificus 感染症患者 誌上調査. 感染症学雑誌 80(6): 680-689, 2006
- 2) Nakashima Y.,Oho M, Kusaba K, Nagasawa Z, Komatsu O, Manome I, Araki K, Oishi H, Nakashima M. : A Chromogenic Substrate Culture Plate for Early Identification of *Vibrio vulnificus* and Isolation of Other Marine *Vibrios*. Annals

of Clinical & Laboratory Science. 37(4);330-334, 2007

- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. : Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acid Res 2000 ; 28: e63.
- Mori Y, Nagamine K, Tomita N, Notomi T : Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001; 289 : 150-4.
- Nemoto J, Kojima T, Kusaba K, Nagasawa Z, Oishi H, Nakashima M : Rapid detection of *Vibrio vulnificus* using a loop-mediated isothermal amplification method. Kansenshogaku Zasshi. 2008 ;82(5):407-13.

(2009.3.31 受付)

# 地域文化・経済研究部門

Research Division of REGIONAL CULTURE and ECONOMY

### ノリ養殖の協業化の現状と課題 -佐賀県鹿島市を事例に-

#### SEAWEED COOPERATION ISSUES AND IMPROVEMENT IN SAGA : AN COMPARISON OF GROWERS

#### 山下宗利

#### Munetoshi YAMASHITA

#### 理博 佐賀大学教授 佐賀大学文化教育学部地域・生活文化講座 (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

This paper focuses on the issue of improvement for the better seaweed production in the Ariake Sea area. The Ariake Sea of Saga has been the most important production area of seaweed in Japan. The business environment of seaweed production, however, will not have clear perspective because of aging, lack of successors, downward price trend, and severe price competition among seaweed areas in Japan and East Asia. Since 1995 seaweed areas in Saga, cooperation between seaweed growers have started to improve the productivity. Using Kashima area as a case study, this paper examines the condition of seaweed cooperation, a particular description of the differences between seaweed cooperators and individual seaweed growers.

Keywords: Ariake Sea, Saga, seaweed production, cooperation

#### 1. はじめに

佐賀県有明海におけるノリ養殖業の生産額は、 当該地域の海面漁業・養殖業生産額全体の95.5% にのぼる(205億3千億円、2004年)。これは、ノ リ養殖に極度に特化した漁業・養殖業が有明海に おいて進行中であり、モノカルチャーの状況にあ るといえる。また2000年度に生じた色落ち被害後 のノリ養殖を取り巻く状況をみると、ここ近年に おける佐賀県有明海での海苔生産は全国一を誇 り、2007年度には共販枚数は約21.5億枚、共販金 額は約230億円に達し、4年連続して200億円を超 える実績をあげている。

その一方で、ノリ養殖漁家の生産構造をみる と、全国的な第1次産業の趨勢に呼応して、ノリ養 殖漁業従事者の高齢化とともに経営体数の長期的 な減少傾向が生じている。2006年の経営体数は 847にまで減少し、これは最高を示した1969年当 時の約3割に過ぎない。さらに海苔価格の低迷が ノリ養殖を取り巻く環境に深刻な影響を及ぼしつ つある。板海苔1枚当たりの平均価格は1979年度 の25.8円が最高で、その後は年変動を繰り返しな がらも明確な低下傾向を示している。2007年度の 板海苔の平均価格は10.72円で、他産地との優位性 もしだいに縮小し、損益分岐点をわずかに上回る 状態である。このような海苔価格の低迷は、主と してコンビニエンスストアで販売されているおにぎ り用海苔等への比重が高まっていることがその背 景にある(山下、2009)。

佐賀県ではノリ養殖を取り巻く厳しい環境に対 処するため、ノリ養殖の安定的経営を目指して、ノ リ養殖協業化への助成制度(モデル事業、モデル 高度化事業、沿構事業)が整えられ、1995年以降 順次設置されてきた。協業化は芦刈漁協と福富町 漁協の中部地区で開始され、2007年にはノリ養殖 の協業体総数は110に達し、個人経営から協業体へ と移行したノリ養殖漁家総数は498を数え、協業体 移行率は45.8%に達している。

協業体への移行が全体の約半分に達した現在、 ノリ養殖の協業化がもたらした成果と課題を点検 し、よりよいノリ養殖に向けた取り組みを行う時 期に来ていると思われる。本研究はこのような観 点から、佐賀県鹿島市を事例にノリ養殖の協業化 がどのような状況に置かれているかを再点検するこ とを目的とする。



第1図 佐賀県におけるノリ養殖協業体の増加 資料:佐賀県有明海漁業協同組合「のり養殖協業体・委 託加工一覧表」

# 佐賀県におけるノリ養殖協業化の進展

第1図は佐賀県におけるノリ養殖協業体の推移 を示したものである。上述のように佐賀県におけ るノリ養殖協業体への移行率は2007年11月現在で 45.8%である。498の漁家が協業体を構成し、110 ラインが稼働している。佐賀県においては2000年 度に26の協業体が設立されたが、近年は10弱で横 ばいもしくは減少傾向にある。。その結果、1990 年代後半に協業体の顕著な増加が生じたが、2005 年以降の伸びは緩やかである。

110ラインの協業体のうち、計23ラインは陸上 での海苔加工のみを請け負う委託加工事業であ る。委託加工事業は2001年度に新有明支所におい て最初に設立された。が、2003年以降の協業体は これらの委託加工事業が主流である。これらは主 に1~3ラインで稼働している。たら支所では委 託加工事業のみの協業体で、他地区にみられるよ うな一般の協業体は存在しない。たら支所では21 のノリ養殖漁家が集まって委託加工事業を2004年 度に設立し、3ラインを稼働させている。このよ うに近年では委託加工事業への協業体移行が進み つつあるが、これは高齢化により海上での養殖作 業がとりわけ比較的小規模な個人経営体において 次第に困難になりつつあることがこの背景にあ る。また労働環境の悪化とともに、協業体への移 行に伴う設備投資が高齢者に重くのしかかってい ることも見逃せない。したがって小規模なノリ養 殖がなされたきた地区において委託加工事業を主 体とした協業化が今後とも進むと思われる。



第2図 佐賀県におけるノリ養殖協業体率 の分布(2007年) 資料:佐賀県有明海漁業協同組合「のり養殖協業体・ 委託加工一覧表」

第2図は佐賀県における市町別のノリ養殖協業 体移行率の分布を示したものである。協業体への 移行には地域差が看取できる。最も移行が進展し ているのは福富町の88.4%で、白石町北明支所 (84.4%)が次いで高く、佐賀市支所(75.0%)、 たら支所(72.4%)と続いている。海況の優れた筑 後川河口域の東部地区では移行率は低く、一方、 白石町のように大きな流入河川のない西部地区で は早くから協業化に取り組んできており、協業体 率は比較的高いことがわかる。

これら協業化の進展している支所では、高齢化 と後継者問題が深刻化し、さらには小規模なノリ 養殖漁家の存在が一因となっている。これに対し て、大詫間支所(3.5%)や鹿島市支所(浜町事業 所)(32.6%)や南川副支所(38.2%)では協業体 移行率は低く、個人経営のノリ養殖漁家が存続し ていることや協業施設用地の確保問題などがその 背景にある。今後は大詫間においても協業化計画 があり、また佐賀県のみならず福岡県でも大規模 な協業施設の整備が進んでいる。高齢化と後継者 不足、海苔加工施設周辺の環境問題、海苔加工設 備の費用負担、これらが相まってノリ養殖の協業 化が伸長してきた。

#### 3. 鹿島におけるノリ養殖協業体の現状

本章では佐賀県有明海漁業協同組合鹿島市支所 を事例に、ノリ養殖協業体の現状について検討し たい。

支所	共販枚数(千枚)	構成比(%)	支所	共販金額(千円)	構成比(%)
南川副	385,137	19.2	南川副	4,167,786	19.6
鹿島市	229,980	11.5	鹿島市	2,449,289	11.5
大詫間	200,457	10.0	大詫間	2,134,897	10.0
東与賀町	182,083	9.1	東与賀町	1,966,242	9.2
芦刈	153,543	7.7	芦刈	1,684,974	7.9
広江・犬井道	150,274	7.5	広江・犬井道	1,565,947	7.4
諸富	147,537	7.4	諸富	1,527,429	7.2
早津江	111,173	5.6	早津江	1,242,160	5.8
佐賀市	90,719	4.5	佐賀市	990,292	4.7
新有明	73,754	3.7	新有明	764,700	3.6
福富町	72,668	3.6	福富町	757,477	3.6
久保田町	57,121	2.9	久保田町	586,427	2.8
白石北明	42,826	2.1	千代田	389,631	1.8
千代田	37,798	1.9	白石北明	389,017	1.8
竜王	31,039	1.6	竜王	321,721	1.5
たら	28,341	1.4	たら	292,402	1.4
大浦	6,450	0.3	大浦	59,827	0.3
合計	2 000 900	100.0	合計	21 290 217	100.0

第1表 佐賀県有明海漁業協同組合支所別の板海苔生産

注:数値は2003年度~2007年度の平均値

資料:佐賀県有明海漁業協同組合「支所別共販実績」

第2表 佐賀県有明海漁業協同組合鹿島市支所におけるノリ養殖(2008年度)

事業所	ノリ養殖漁家数	個人経営体数	協業体数	協業体移行率(%)	共販金額(千円)
鹿島	28	28	0		403,177
鹿島町	20	20	0		297,706
浜町	46	30	4	34.8	699,147
七浦	68	28	9	58.8	982,620
合計	162	106	13	34.6	2,382,651

注:共販枚数と共販金額は2007年度の数値 資料:鹿島市支所での聞き取り

鹿島市のノリ養殖漁場は西部地区に位置するに もかかわらず、大規模なノリ生産が行われてきた。 2003年度から2007年度までの5か年分の板海苔の 生産高をみると(第1表)、鹿島市支所における 生産枚数および金額は、好漁場の南川副支所に次 いで高いことがわかる。鹿島市支所の共販枚数は 229,980千枚、共販金額は2,449,289千円で、とも に県全体の11.5%を占める。生産量の大きなノリ 養殖漁場の多くは、南川副や大詫間、東与賀町、 広江・犬井道のように筑後川河口の近辺(東部地 区)に位置している中で、西部地区の鹿島市におけ る大きな生産は注目に値するものである。

鹿島市支所は四つの事業所(鹿島、鹿島町、浜町、七浦)から構成される(第2表)。支所全体ではノリ養殖漁家数は162を数え、その内訳は個人 経営体が106、協業体が13である。2009年3月時 点ではこれら協業体は浜町と七浦にのみ設立さ れ、鹿島市南部の七浦での協業化が比較的進んで いる(協業体移行率:58.8%)。なお今後の鹿島 市では鹿島事業所においても協業化が計画されて いる。ところで2007年度の生産高をみると、協業 化が進展しかつノリ養殖漁家数の大きな七浦地区 において大きな生産高がある。しかし1漁家当た りの平均値では浜町が最大(15,199千円)を示 し、他地区をわずかながら上回っている。ここ鹿 島市は上述のように県内有数のノリ生産地であ り、以下ではノリ養殖漁家の協業体および個人経 営体がいかなる生産構造を示しているかを検討し たい。

第3図は、鹿島市支所浜町事業所の計34経営体 (30個人経営体と4協業体)の海苔の生産枚数に 関するデータ(2007年12月上旬の秋芽海苔第1回 等級検査結果)を基に、個々の経営体の順位と生 産枚数をプロットした順位一生産規模グラフであ る。また第4図は、第3図と同一のデータを用い て求めたローレンツ曲線である。これら両者は漁 家ごとの海苔生産量の格差を比較検討するために 分析したものであり、海苔の生産量のみに着目し たもので、海苔の質には言及していないことに留意 する必要がある。







第4図 鹿島市支所浜町事業所板海苔生産 量のローレンツ曲線(2007年)

資料:鹿島市支所での聞き取り

第3表 鹿島市支所浜町事業所における板海苔の等級組成(2007年)

	Ι	II	III	IV	V	VI	計
小規模個人	0.0	9.1	73.9	53.3	263.8	264.9	665.0
経営体	0.0%	1.4%	11.1%	8.0%	39.7%	39.8%	100.0%
中規模個人	3.3	22.1	186.5	102.5	515.6	410.5	1,240.6
経営体	0.3%	1.8%	15.0%	8.3%	41.6%	33.1%	100.0%
大規模個人	18.0	543.0	482.0	12.5	2,228.5	210.0	3,494.0
経営体	0.5%	15.5%	13.8%	0.4%	63.8%	6.0%	100.0%
17 - 14 / 1-	0.0	68.3	394.5	325.8	2,301.8	1,540.5	4,630.8
励未14	0.0%	1.5%	8.5%	7.0%	49.7%	33.3%	100.0%

注:上段は平均枚数(百枚),下段は構成比

等級組成は以下の6段階(I~Vi)である。

I:佐賀海苔®有明海一番、II:推特〜推一、III:推上二〜推二、IV:推上三〜推三、V:上一〜二等、 VI:上三〜上四

2007年12月上旬に実施された秋芽海苔の等級検査結果に基づく。

資料:鹿島市支所での聞き取り

まず最初に浜町における当期の海苔生産量をみ ると、最大は6,566百枚、最小は268百枚で、両者 には24.5倍もの大きな開きが存在した。なお前者 は協業体の生産によるものである。全34経営体の 生産量の中央値は990.5百枚(平均値は1,484百 枚)で、標準偏差は1,447となった。この分析結果 は、浜町におけるノリ生産量にはノリ養殖経営体 によってきわめて大きな格差が存在していることを 示している。この格差の存在は、第4図のローレ ンツ曲線にも裏付けされており、完全平等線(2 点(0,0)と(1,1)を結ぶ直線)からのずれが大き い。ジニ係数は0.437を示し、これは一般的な値 (0.3~0.4)を超えており、ノリ養殖経営体に よってノリ生産量に格差が存在することを示す。 第3図によれば、四つの協業体はいずれも生産 規模が大きく、それぞれの生産量は1位~3位と 6位を占め、4~6漁家によって構成される規模 の効果が現れている。これに対して個人経営体の生 産量は9位以下においてほぼ横並びの状態であ り、小規模なノリ養殖漁家を対象とした経営の安 定化策が必要であろう。ところでまた注目すべき 個人経営体も存在する。それは4位と5位のノリ 養殖漁家である。かれらは大規模な協業体に引け を取らない生産量をあげているのである。これら の意欲的な個人経営体には若手の後継者も根付い ており、かれらの存在がきわめて重要であること を物語っている。 次に浜町において生産された板海苔の質的側面 に言及したい。ここでは個人経営体をその板海苔 生産枚数によって小規模(小さい順に並べた時の 中央値未満の17経営体)、中規模(同様に18位~ 28位の経営体)、そして大規模(29位と30位の経 営体)の三つに区分し、これらと協業体(4経営 体)の合計四つのグループ間で、経営規模と板海苔 の品質との間にいかなる関係が認められるかを分 析した。その結果が第3表の「経営規模別海苔の 等級組成」である。

第3表から以下の特徴を明確に読み取ることが できる。それは、大規模な個人経営体ほど海苔の 品質も高い、という事実である。最高品質の第I等 級「佐賀海苔®有明海一番」と第II等級「推特~推 一」に代表される板海苔の生産量は、とりわけ大 規模個人経営体に集中している。この上位2等級 の板海苔生産枚数とその構成比は、小規模個人経 営体(9.1百枚、1.4%)、中規模個人経営体 (25.4百枚、2.1%)、大規模個人経営体(561.0 百枚、16.0%)、そして協業体(68.3百枚、 1.5%)、であり、個人経営体では大規模ノリ養殖 漁家ほど高品質の板海苔を生産していることがわ かる。一方で第Vi等級に眼を移すと、小規模個人 経営体や協業体での比率が大きくなり、逆に大規 模個人経営体では当該構成比は最も小さい。すな わち、大規模個人経営体と高品質の板海苔生産と の強い関係が明確に表れている。

#### 4. ノリ養殖協業化の課題

既往研究によれば、協業体への移行によって次 のような利点が生まれたとされる。経費面では水 道光熱費や減価償却費の低下にともなう生産コス トの縮減と生産性の向上がある。労働面では各構 成漁家から均等の労働力を供出することによる労 働力の軽減や新規設備の導入にともなう女性労働 力の軽減がある。また等品質の板海苔を大量に生 産することによる価格維持機能も重要視されてい る。一方でこのようなプラス面に対して、協業化で は複数のノリ養殖漁家が共同で海上・陸上作業を 行うため、人間関係の不調和が生じやすく、また 技術・作業能率の違いが不調和を生み出し、協業 体からの脱退や漁家の入れ替えの発生があげられて きた。

本研究では鹿島市の浜町を事例に協業体と個人 経営体とを比較検討し、もう一つの協業化の課題 を浮かび上がらせることができた。それは板海苔 生産の品質面に顕著に現れたが、協業体の特性を 十分に活かしきれていない点である。協業体は 個々のノリ養殖漁家が集まって協働で事業を行う 形態であるが、協業化する以前に個々人が有して いた能力や技術力が集まることで生産が上昇する のではなく、逆に優れた能力が押さえつけられ、 協業化以前よりも質的側面において低化しているの ではないかと危惧される。浜町でみられたよう に、意欲的にノリ養殖に取り組んでいる個人経営 体が存在し、かれらは質と量の両面において成果 を生み出している。かれらの能力や技術力をあわ せることによりさらに生産を伸ばして行くことが 協業化の本来の姿であると思われる。ここに課題 が存している。

第二に今後の協業化の有り様である。近年の協 業化は板海苔生産を専ら行う委託加工事業へと軸 足を移しつつある。従来の海上作業と陸上作業の 両者をともなった協業体では、プラス面のみなら ずマイナス面も表出するように思われる。とりわ け高齢化と後継者の二つの障壁が大きく横たわっ ている。これらを解決する手段として、若手のノリ 養殖漁家の育成とともに委託加工事業の取り組み 拡大を避けて通れないであろう。

#### 参考文献

- 片岡千賀之:ノリ養殖の協業化と漁協委託加工 -佐賀有明海の事例-,農業経済研究48-1,59-75,2003.
- のり養殖協業化推進検討委員会・佐賀県有明海漁 業協同組合連合会編:『協業化アンケート集計 結果 No.2』, 1996.
- のり養殖協業化推進検討委員会・佐賀県有明海漁 業協同組合連合会:ノリ養殖の協業化にむけて, 34p. 2000.
- 福富町漁業協同組合水産振興研究部:未来のノリ 養殖経営へ向けて ~協業体の取り組みと成 果、そして今後~, 漁村11, 36-44, 2005.
- 山下宗利:有明海におけるのり養殖協業化の進展, 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告 集1,41-48,2005.

(2009.3.26)

### 戦前における「あんこう網」と朝鮮海域への出漁

### ~佐賀県からの事例を中心に~(予報)

STOWNET ON ANCHOR FISHERY AND FISHING TRIP TO COLONIAL KOREAN COAST AREA BEFORE WORLD WAR II WITH SPECIAL REFERENCE TO SAGA PREFECTURE (PRELIMINARY REPORT)

> 武田 淳<sup>1</sup>・李 應喆<sup>2</sup> Jun TAKEDA and Eung-Cheol LEE

<sup>1</sup> 理博 佐賀大学教授 生物環境科学科地域資源学研究室(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)
 <sup>2</sup> 農博 ソウル長神大学講師 生態人類学研究室(〒464-742 京畿道廣州市京安洞 219-1)

Colonial Korean coast area has been rich in fishes such as croakers and so on, which had attracted Japanese local fishermen from various Prefectures from Yamaguchi, Hiroshima, Tokushima and Fukuoka, Kumamoto, Nagasaki, Saga and so on, especially in western part of Japan since the Meiji era. They had had seasonal fishing trips to Korean coast area and got good catch before World War II. In this paper we examine and discuss the history of stownet on anchor fishery and how fishermen from Saga Prefecture had attended such seasonal fishing trips while utilizing stownet on anchor fishery by our own field research done in 2008 and 2009 in Japan and Korea through questionnaires, interviews and previous researches concerned so far.

*Key words*: Ariake Sea, ankou-ami (stownet on anchor fishery), seasonal fishing trip to colonial Korean coast area from Saga Prefecture before World War II

#### 1.はじめに

あんこう網は、まるで海の底に生息するアンコウが大きな口を開けて、餌になる魚が流れ込むのを待っているかのように海中か海底に設置される袋網を持つ底建網である(図1)。とくに干満差が大きく、干潮や満潮時に



早い潮流に流されてくる魚を採捕するため、有明海や黄 海のような干潟を擁する海域に適した漁法として、有明 海に面する佐賀、福岡、長崎と熊本の4県に普及し、広 く使われてきたし、現在も操業されている<sup>1)</sup>。

長崎や佐賀では、一般的に「バッシャ網」(バッシャの 語源については定かでない)とか「道楽(どうらく)網」 ないしは単に「どうらく」とも呼ばれている。もともと 江戸期の安政元(1854)年ごろ、有明海沿岸の荒尾(現・ 熊本県荒尾市)の漁民が効率の悪い「手押し網」に代わ って、効率のよい「もじ(綟子)あんこう網」を考案し たことから始まる。その後、改良が加えられ、文久年間 (1861-63)にやはり有明海沿岸の熊本県玉名郡長洲(な がす)の漁民が網目の小さな「エビあんこう網」を考案 した。しかし、小さな網目では稚魚を乱獲する恐れが多 分にあったために明治6(1873)年になって長洲町の漁民 がこれまでの網目より大きな「荒目あんこう網(籠絡あ んこう網とも言う)」に改良し、それがタイなどの魚種も 漁獲できる「あんこう網」につながっていく。

西南日本の漁業者たちが朝鮮海域へ出漁するようにな るのは、明治9(1876)年、当時、朝鮮側には不利な不平 等条約である日朝修好条規(別名、江華条約)を批准す ることから始まった(**付表1**)。この条規自体には漁業条 約に関わるものはなかったものの、日本漁民たちはそれ におかまいなしに玄海灘や朝鮮海峡を越え、出漁してい た。

しかし明治33(1900)年以降、日本の朝鮮植民地化に 沿い、朝鮮半島西岸海域への出漁(「通漁」ともいう)が 盛んになっていく。朝鮮海出漁あるいは朝鮮近海出漁と も呼ばれる海外への出漁である。佐賀県から本格的に朝 鮮海域に出漁するようになったのは、日露講和条約(ポ ーツマス条約)が調印された明治38(1905)年に佐賀県 朝鮮近海通海漁組合が結成されたことから始まった。

朝鮮海域への出漁は明治末から大正半ばまでの1910年 代に最盛期を迎えることになり、魚影が濃い朝鮮海域へ の出漁(当時、「朝鮮船」とも呼ばれていた)が主となり、 有明海での操業は副次的なものになっていく(図2)。そ の後、あんこう網漁業は朝鮮海域において日本人から朝 鮮人へと技術移転することになるが、それと併行して、 朝鮮海域でのあんこう網漁業も下火の一途をたどってい くことになる。有明海でのあんこう網による操業も、朝 鮮海出漁の場合と同様に1930(昭和5)年代になると一 段と縮小し、有明海における主要漁業の地位からも脱落 していく<sup>2</sup>。

戦後、有明海でのあんこう網漁業は復興したものの、 1960年代後半以降、漁獲資源の減少に加え、収益性の高 いノリ養殖への転換と協業化が進み、また操業者自身の 高齢化などによって衰退の一途をたどり、現在、佐賀で は六角川河ロや早津江河ロで細々と副業的に営まれてい るにすぎない。また島原半島の布津、深江や島原でも県 から許可を得て、あんこう網を操業している漁民もいる (中尾勘悟、私信:2009/3/21)。

先行研究と2008年3月〜2009年3月における現地調査 の結果を踏まえ、第二次大戦前に、佐賀県から朝鮮海域 へ出漁した歴史をあんこう網漁に焦点を当てながら、そ の歴史と背景などを鳥瞰し、出漁の足跡を概観し、今後 の韓国サイドから行う本報告につなげたい。

#### 2. 朝鮮海域への出漁の歴史

江戸期の文化・文政年間(1819-29年)、有明海で盛んだ った大網は、2隻の網船を使い、11-3月期のボラやコノ シロと 4-10月期のタイやマナガツオを捕獲したが、多 人数での操業であるため、効率が悪かった。これに対し て、漁具が簡便であるばかりか、少人数での操業が可能 であり、さらに漁獲効率が高いあんこう網の出現が非効 率な大網にとって代わることになる。



図2 あんこう網の朝鮮海出漁地(片岡,2006)

日本列島の漁民が朝鮮半島近海への進出は古くから行 われていた歴史は、13世紀以降の倭寇の記録にさかのぼ る。しかし、西南日本の漁民が朝鮮海域に大っぴらに出 漁するようになったのは、明治政府が明治8年当時の朝 鮮とのあいだで起こした江華島事件に端を発し、明治9 (1876)年に日本と朝鮮のあいだで批准された日朝修好 条規、以降である。この条規自体には漁業条約に関わる 条項はなかったが、日本の漁民はおかまいなしに玄海灘、 朝鮮海峡を越え、出漁していた。

とくに、江戸期の享保年間(1801~4)から朝鮮海域で の密漁をしていた山口県豊浦郡(現在、下関市と合併し、 下関市豊浦町)の漁民は、日本海に面し、朝鮮半島にも 近い地の利を得ていたこともあり、朝鮮海域での漁利の 莫大さに気づいていた。1878(明治11)年以来、この地 域からだけでも明治中期までに1隻5人乗りの漁船が年 間20隻以上、全羅南道・巨文(コムン)島周辺の海に出 漁していた<sup>3)</sup>。実際に漁業条約が結ばれた明治16(1883) 年の日鮮貿易条約の締結は、事実上の漁業条約であるた め、その後の朝鮮海域への出漁を促す契機になった。

さらに明治23(1890)年の日本朝鮮両国通漁規則の公 布以降、両国の漁船が漁業税を朝鮮政府に納め、朝鮮近 海での漁業鑑札を受けることを義務づけたことで、日本 の漁船が公然と、しかも本格的に朝鮮海域に出漁できる ようになった。この年718 隻だった漁船数が10年後には 1,893 隻、20 年後には3,960 隻と激増していく。

山口をはじめ、広島、岡山、兵庫、島根、鳥取、福岡、 佐賀、長崎、熊本、大分、宮崎、鹿児島、愛媛、香川や 徳島を含む多くの県から朝鮮海域を目指し、操業・展開 していたことは国策に乗じた要因も見逃せないが、当時 の朝鮮海域の水産資源がいかに豊穣だったかを物語る (**表**1)。

表1 1890~1892 年の府県別朝鮮通漁状況(隻)(金,2000)

県	1890 年	1891 年	1892 年	랆
広島	118	269	270	657
Щ П	209	125	155	489
長崎	131	45	58	234
大分	76	31	45	152
香川	55	45	40	140
岡山	57	34	38	129
熊本	42	15	10	67
爱媛	14	15	31	60
鹿児島	2	27	14	43
福岡	2	1	11	14
兵 庫	7		5	12
島根	4	4	3	11
千葉			1	1
徳島			1	1
佐賀			1	1
宮崎	1			1
計	718	611	683	2012

山口県では明治32(1899)年、朝鮮海通漁奨励費下与 規定は、朝鮮海域への出漁が奨励され、2年後の明治34 (1901)年には、全国的な漁業法発布にともない、もっ とも意欲的だった山口県豊浦郡では23の漁業組合が結成 され、株式組織豊浦郡韓海出漁団が設立された。山口県 豊浦郡韓海出漁団によって捕獲されたタイ、サワラ、イ ワシ、サバの大半は、日露戦争での兵士たちに鮮魚を供 給したと言われるほど、朝鮮海域での出漁は大盛況を極 めた。

長崎県、佐賀県や福岡県や熊本県の有明海沿岸からも 多くの漁船が船団を組んで、三月に出発し、朝鮮海域で 七月まで操業した。佐賀では、2~3トンの小型の木造の 漁船に2、3人乗り込んで、帆と櫓で玄界灘を渡り、操業 する時には現地で人を雇って操業した。昭和初(1926) 年までは、いわば無動力船だったが、昭和10(1935)年 には出漁船全てが動力化された。

明治23(1890) 〜明治25(1892) 年の府県別朝鮮通漁 状況によれば、1892 年に佐賀県の1 隻の記録があるだけ だったので、佐賀県からの朝鮮海域への出漁は後発組に 属する。

明治 30 (1897) 年に遠洋漁業奨励法が制定され、同時 に長崎県、熊本県、福岡県、佐賀県でも通漁組合が創設 された。

明治34(1901)年度以降、佐賀県は移住漁村の保護・

奨励費として 1,000~6,100 円を、1911 年度には 7,600 円 を支出していることからも朝鮮海域での漁業と移住漁村 に行政サイドがいかに熱心に奨励していたかが分かる

(表2、図3)。明治36(1903)年に100隻だったものが、 日露戦争(1904年2月~1905年9月)では、戦火を受け ることもなく、鮮魚需要が高まり、輸送能力の向上が出 漁を刺激する一方、さらに勝利を得たことから増加の一 途をたどり、1907年には有明海から出漁した船は400隻 を超えた<sup>2)</sup>。

毎9 冬府県に上ろ胡鮮海出海の保護・授励費 (全 2000)

府旧	府県費支出額(円)		伊莱姆马士计
加索	1910年度以前(年額:最低~最高)	1911 年度	1 保護奨励力法
香川県	1895 年度以降 35~ 5,600	2,212	A B
大阪府	1895 年度以降 550~ 1,300	150	A
熊本県	1896 年度以降 305~ 7,353	3,200	A B
愛媛県	1896 年度以降 1,000~ 6,800	6,800	В
福 岡 県	1897 年度以降 2,000~27,800	7,600	A B
大分県	1898 年度以降 480~ 6,000	6,000	BC
山口県	1899 年度以降 300~10,000	8,796	A B
徳島県	1899 年度以降 1,800~ 2,000	2,000	A
和歌山県	1900 年度以降 70~ 750	データ無	A
愛知県	1900 年度以降 200~ 1,000	1,000	A B
佐賀県	1901 年度以降 1,000~ 6,100	7,600	В
鹿児島県	1901 年度以降 1,125~ 8,800	10,010	A B
京 都 府	1902 年度以降 1,500~ 4,000	1,650	С
鳥取県	1903 年度以降 1,500~ 5,000	2,000	АВ
長崎県	1904 年度以降 1,440~31,129	2,950	в
岡山県	1905 年度以降 900~ 4,800	4,800	A C
宮崎県	1905 年度以降 940~ 1,200	560	в
福井県	1906 年度以降 774~ 2,580	2,550	AB
島根県	1906 年度以降 1,000~ 4,800	6,750	в
高知県	1906 年度以降 2,000~ 9,360	9,360	в
千葉県	1906 年度以降 5,000~ 7,000	9,900	AB
兵庫県	1907 年度以降 650~ 3,951	976	АВ
石川県	1909 年度以降 550~ 5,500	データ無	定置漁業
富山県	1909 年度以降 1,000~ 2,000	2,000	出漁者保護費
広島県	1909 年度以降 1,200	2,000	
合計		100,954	

A:朝鮮近海出漁,B:移住漁村,C:漁船・漁具改良



西与賀港から約18隻、西川副港から12隻で合計30隻が出漁したり、鹿島市周辺で、浜の船津港から出港する

船には、太良町などから乗り子(使用人)として乗り組 んだ。いずれにせよ有明海沖合で合流し、船団を組み、 平戸・壱岐・対馬を経由して麗水(ヨース)沖の島へ辿 り着き、そこから漁をしながら木浦(モッポ)沖や群山 (クンサン)沖へと移動しながら、最後は現在の北朝鮮 と中国の国境になる龍岩浦が終点になる漁を行っていた。 大正末期から昭和初年にかけては、西川副村など佐賀郡 の朝鮮海域への出漁は黄金時代であった(表3、表4)。

水揚げは100万円(今の金で約10億円)の漁獲を上げ た。魚種はグチ(注\*1)、サワラやヒラザメ(?ヒラシュ モクザメ)(注\*2)等が主で、販売は一部、現地で水揚げ する場合もあるが、大部分は林兼(後の大洋漁業)や山 神組(後の日本水産)などの大手の水産会社の出買船と 呼ばれる買い付けや集荷の船に売った。

	1905 年	1906年	1907年	
福 長 橋 峰 県 県 く の 他	62 隻 125 人 71 隻 136 人 84 隻 163 人 17 隻 45 人 22 隻 47 人	64 隻 131 人 79 隻 160 人 108 隻 206 人 30 隻 81 人 30 隻 72 人	79 隻 159 人         98 隻 196 人         96 隻 192 人         25 隻 51 人         28 隻 66 人	
計	257 隻 516 人	311 隻 650 人	326 隻 664 人	

表3 府県別のあんこう網出漁(片岡,2006)

表4 佐賀県あんこう網の朝鮮海出漁(片岡 2006)

年			佐賀郡	小城郡	藤津郡	備考
1909	出漁船	隻	41	6	32	藤津郡はサワラ流し網を含む
	漁業者	人	110	18	96	
	1 隻平均漁獲高	円	354	633	421	
1912	出漁船	隻	50	41	43	
	渔業者	X	151	123	129	
	1 隻平均漁獲高	円	389	408	405	
1014	111346.611	111	100	69	50	
1914	田偲烱	~	100	00	100	
	<b>漁菜</b> 者	~	301	204	150	
	1 隻平均漁獲高	円	471	323	457	
1921	出漁船	隻	64	39	53	3郡ともまき網漁業となっている。
	渔業者	Y	192	117	159	藤津郡のその他漁業として各種流し網
	1 隻平均漁獲高	Ш	1,014	1,585	1,021	がある。
	111.202.605		20( ()		25 (28)	け加那け本1細したっている (ガチ
1935	出源船	受	28(6)	-	33(28)	住員和は加し棚となりている(ノノ、
	漁業者	人	180	-	215	サリフか土」、藤津郡はその他漁業と
	1 隻平均漁獲高	円	2,543	-	3,734	なっている(サワラ、次いでグチ)

資料:各年次「佐賀県統計書」 注:1935年の藤津郡のその他漁業とは流し網,まき網以外の漁業。 1935年の出漁船の())内は動力漁船の内数

#### 3. あんこう網、魚種、漁期と朝鮮海域での歴史

あんこう網には袋網の固定の仕方で、「かわ(川)バッ シャ」と呼ぶものと「おき(沖) バッシャ」と呼ぶ二つ のタイプがある。

前者は袋網の網口を広げるように海底に立てた一本か 二本の杭か竹に結びつけるもので、川筋や干潮時の水深 が浅いところで行う。併行して複数の袋網を張ることが 多い。一人か夫婦などでの操業ができ、漁業規模は小さ い。有明海で広範に見られる伝統漁法で、また黄海沿岸 <sup>1)</sup>でも見られる。

後者は袋網をロープで堅いカシの木の碇につなぎ止め、 網口は上端に竹の浮子棒、下端に木か鉄の沈子棒を取り 付けて、潮流に向かって上下に大きく開ける格好になる。 沈子棒がついているため、網口の下端部は海底に接して いる。

朝鮮海域に出漁したあんこう網はこのタイプで、水深 の深いところでも操業でき、5トンの漁船に3~5人が乗り込 んで操業し、漁業規模が大きい。現在、有明海ではウイン チを装備した船であるため、一人での操業も可能である。

あんこう網漁業の場合、網目、網の規模、漁場や漁期 などで捕獲される魚種は異なり、有明海ではワラスボ、 ムツゴロウ、ウナギ、シラタエビ、小魚やアミ(注\*3) が地先の沿岸域で漁獲される。漁期も限られるが、比較 的長い。これら以外の魚類の場合、魚種に合わせて漁場 を移動する。

あんこう網漁業は潮流の速い大潮時に操業されるので、 基本的には月の約半分のあいだ、操業される。干潮時と 満潮時にそれぞれ袋網の口の向きを変えることで一日四 回の操業が可能である。

朝鮮海域出漁では、グチを主対象として、漁期は4~6 月の三ヶ月とする場合が多い。しかも魚群の回遊によっ て漁場や漁業根拠地を移動する。朝鮮南部や南西部では エビやタイを漁獲することもある。グチの漁期は旧2月 初旬~6月下旬で、最盛期は3月下旬~4月下旬で、大潮 時は昼夜を問わず操業し、小潮時は根拠地に戻り、網の 修理や柿渋染めなどに従事することになる。

水深 10~20 尋のあたりで大潮時(月2回、各10日づ つ) に乗組員は3人で、干潮時と満潮時の2回操業する。 網や碇の上げ下げには滑車を利用する。漁船は漁場に滞 在し、運搬船が漁獲物を運ぶことで、この漁業が発達し t= 2)

グチが低価格魚であったから、あんこう網の朝鮮海出 漁は1900年と他の漁業より遅い。1898年、佐賀県有明海 から出漁していた漁業者がバッシャ網を七山灘で試みた が、漁場に不案内で、漁具も適していなくて失敗に終わ ったが、1900年、長崎県の技術者・正林英雄が改良を加 えた結果、成功したと言われる<sup>4)</sup>。 最初のあんこう網を行 ったのは、長崎県の松本吉三郎と言われる。

1902年には1 隻あたり3 人乗りだったあんこう網漁船 は、明治37(1904)2月~38(1905)年9月までの日露 戦争時には戦火を受けることもなく、鮮魚需要が高まり、 輸送能力も向上したことで出漁を刺激することになった。 1903年に100隻、そして1907年には400隻を超え、その 後も増加の一途をたどった。

1905 年~07 年のあんこう網の出漁県は有明海4 県であ

るが、なかでも長崎県がもっと多く、福岡県がそれに次 ぐ。佐賀県は比較的少ない。有明海4県以外では、山口 県、香川県、岡山県、鹿児島県などである。この表では1 隻あたり2人乗りが平均である。

同じあんこう網でも、県によって漁業根拠地が異なり、 あんこう網の根拠地の一つである木浦(全羅南道)の1908 年の別の資料では、出漁船は合計で274 隻、839 人(1 隻 3 人乗り)で、佐賀県から78 隻、250 人でもっとも多く、 次いで福岡、熊本、長崎となっている。

1914年のあんこう網を営む日本人移住漁村の合計 986 戸、3,900人ということは、あんこう網での移住は多くな い<sup>2)</sup>。西南岸の4箇所には、佐賀県からの移住漁村はない。 あんこう網は季節漁業でタイ延べ縄や打瀬網を兼ねてい ることが多く、あんこう網を営む移住漁村は、この頃か ら次第に縮小していくことになる。

あんこう網の出漁状況を見てみると、明治後期一大正 初期は、あんこう網による出漁が始まり、急速に増大す るが、大正後期一昭和戦前期には衰退の時期を迎える。 1903 (明治36)年、木浦以南では、4~6月の3カ月、有 明海4県から出漁していて、七山島、竹島、煙島、蝟島、 隔音島での操業、とくに北鹿島、狐島周辺では、有明4 県に広島、岡山県などからグチとタイなどを狙って、あ んこう網船が約150 隻、他の漁業や運搬船を併せて380 ~390 隻が出漁した<sup>2</sup>。

漁場別では、全羅道の七山島、蝟島と、延平列島の魚 泳島の朝鮮の三大グチ漁場になっていて、4月初旬から日 本と朝鮮から700~800 隻が出漁していた。盛期は30日 で、それを過ぎれば、日本人は他に移動していく。全羅 道の竹島や隔音島での日本漁船は、あんこう網、タイ延 べ縄、サワラ流し網などで300 隻以上が出漁し、日本か らの出漁は5月上旬~6月中旬で、その後は他へ移動する。

しかし 1921 (大正 10) 年を境に出漁者は年々減少し、 大正末期には 3360 隻、1939 (昭和 14) 年には 600 余隻に 激減した。1935 (昭和 10) 年、日本からのあんこう網出 漁は、魚群の移動とともに本道沖に及ぶ。龍岩浦を根拠 とするものが多く、漁獲物は龍岩浦に水揚げする場合と 中国人経営の出買船に売る場合がある<sup>20</sup>。本道の許可を得 た通漁船は 1931~36 年は 35~74 隻で、もっとも多いの は佐賀県、次いで長崎、熊本、福岡県と続く。日本から の通漁船は大幅に減少していく。

1941(昭和16)年が最後の朝鮮海域出漁となり、太平 洋戦争へと突入とともに朝鮮海域への出漁は終結をみる ことになる。

# 終わりに:有明海漁民の残した足跡と日本水産業を取り巻く厳しい現実

有明海の調査を進めていくうちに戦前、有明海から朝 鮮海域に季節的に出漁したという話を何度か耳にしてい た。また佐賀県藤津郡太良(たら)の漁民たちが現在も フーカーというヘルメット潜水具を用いて二枚貝のタイ ラギを捕獲しているが、もともとこの方法は徳島県阿南 市の伊島漁民が開発し、朝鮮で応用していた技術を大正 12(1923)年に佐賀漁民が現地で習得し持ち帰った。こ のように海外に漁を求めるものに、沖縄の糸満系漁民の 流れをくむ漁師たち(イチュマナー)が戦前、シンガポ ールなどの南洋に出向いてタカセガイを捕ったり、アギ ャー<sup>5,6,7,8</sup>と呼ぶ追い込み漁(廻し高網)でグルクン(和 名:タカサゴ)を捕っていた小規模な例はあった。

魚影が濃い東シナ海や黄海を含む環黄海圏の水域に、 西南日本の零細な漁民たちが戦前、明治・大正・昭和期 の政府の国策に乗じるように出稼ぎ的に、あるいは移住 という形で魚を追い求めていった歴史があった。有明海 で開発されたあんこう網が朝鮮海域でも応用できるとい うことで、閉鎖性の強い内海である有明海に生息する限 られた漁獲量よりさらに豊かな海域での漁に活路を見い だしたことになる。また、陸は他の陸地と離れ、あるい は島として孤立していても海はどこまで行っても一つの 水圏につながっているという厳然たる事実がある。海を 根城とする魚類には生息環境の違いこそあれ、国境の壁 はなく、おなじ一つの海水で結ばれている。漁をなりわ いとする漁民たちが、自ずと魚群を追い求めていくのは、 ごく普通の姿勢であったのだろう。もっとも当時の漁民 たちには獲れるだけ獲るという意欲が優先し、今様の水 産資源の有限性をわきまえ、資源の枯渇につながらない ように努力する保全のスタンスがあったかどうかという と、疑問のかぎりである。

海外進出にさいして、言語が互いにあい異なるため、 色んな確執や刃傷沙汰が起こるのも自明の理である。最 初は現地の住民たちの反発があって苦労したという話も 多々聞くところであり、朝鮮海域出漁では出漁先での現 地住民による排斥運動が起こったりした。そのため、出 漁漁民らは護衛用に銃を携帯したり、後には地元との融 和を図るため、物々交換や医療の提供などによる融和策 を講じた<sup>9</sup>こともあった。

アギャーと呼ばれる糸満漁撈民の追い込み漁はモンパ ノキの幹を利用した水中眼鏡が出来てから画期的な漁獲 を得ることができたように徳島・伊島からの潜水器を用 いた潜水漁が朝鮮半島の南端部海域や済州島などでイガ イ、アワビ、サザエ等の貝類の大量採捕に寄与し、その 後、現地の人たちに技術が移転していった。また魚影を 求めて移動する船団に雇用人として乗り組みたい多くの 現地の人々が岩壁に待ち受けていたし、日本人の漁撈技 術を習得し自ら漁を始めたり、商いをしたりする人たち も出てきた。また移住村を形成したり、日本人が持ち込 んだあんこう網、潜水漁や他の漁撈形態が朝鮮半島の沿 岸で定着する一方、その後、現地において改良の手も次 第に加わっていった。 朝鮮海域への出漁に関しては、当時の日本が大陸へと 侵略していく姿とダブり、暗いイメージが付きまとうが、 日本漁民が持ち込んだ底曳き漁とか潜水器漁業<sup>10</sup>、また あんこう網などの近代的な漁法が現地の漁民たちに漁撈 技術が移転していくというプラスの側面もあった。さら に2009年3月の調査では、戦時中に日本の漁師が慶尚南 道・統営の蛇梁島で捕獲したイリコ用のカタクチイワシ の加工工場を作り、大量に獲れた魚と地元で取れたサツ マイモなどと物々交換したりで、現地の貧しい人々に喜 ばれ、また雇い上げたりしてあげたことで経済的にも貢 献したという話も聞いた。終戦と同時に形勢は逆転し、 逃げるように夜中に出港することになり、彼のもとで働 いていた現地の人がこの日本人を日本まで無事に送り届 けてあげたと思い出深く語る人もいたし、住民たちにと ても畏敬されていた存在だった事も語ってくれた。

朝鮮海域への季節的な出漁で儲けた金子を博打や遊興 で遣い果たして、船を売って裸一貫で帰る人もあれば、 運よく大漁で大いに儲かって千円旗や二千円旗を立てて 意気揚々と有明海の母港に戻る船もあったと言う(**付表** 2)。

太平洋戦争の突入とともに青壮年層が兵役として徴集 されたことで漁民が不足し、1941(昭和16)年に長崎県 の多比良村からの3隻と佐賀の西与賀から出漁した船団

(付表2)を最後に朝鮮海域出漁は姿を消した。1945(昭和20)年第二次世界大戦の終結で、日本の植民地だった朝鮮半島は独立し、日本からの朝鮮海域への出漁にも幕を下ろすことになった。

春先の出漁だけに、対馬近海の対州(対馬)で"春一番" か台湾坊主(東シナ海低気圧)に不運にも遭遇し、遭難 した船の絵が国見町多比良の住吉神社に奉納されている。 また鹿島の漁業組合には出漁した船籍数と魚種を示す絵 図では当時の朝鮮海域に出漁した国力の強さと魚影の濃 さを感じさせ、有明海から出漁した姿を今に伝える。

戦前、戦後にアマダイなどを漁獲するため、東シナ海 で展開していた日本の以西底曳き漁<sup>11)</sup>の場合も、昭和か ら平成に入る頃まではまだ長崎には喜久丸水産や山田水 産をはじめ十社近くが操業していて、朝日町の岸壁には 入れ替わり立ちかわり網船や運搬船が接岸し、賑わって いた。林兼をはじめ以西底引き漁から撤退した会社が、 中古船を漁撈長付きで中国などに売ったために、日本の 以西底引き漁が蓄積してきた情報はほとんどが中国に流 れてしまい、東シナ海の漁場は中国の底引き船に席巻さ れてしまった。長崎新漁港が西彼杵半島の外側に出来て からは入港する底引きの船は年々減り、また中国の漁船 の進出で東シナ海の漁場は狭まり撤退する会社も続出し、 現在、長崎の山田水産の一社を除いてすべて撤退してし まった。

いずれにせよ、有明海を始め、日本海を取り巻く漁業経営はいずこも厳しい現実に直面している。

最後に戦前、朝鮮海域に出向いていった方々に直接お 会いしたり、韓国側からの情報についても十分な聞き取 り調査を進めたかったが、残念ながら両国における関係 者は84歳以上の高齢者になっているために、インフォー マントが少なくなりつつある状況にある。調査の過程で、 鹿島に住んでいて朝鮮海域に出漁した親父さんが残して いたミカン箱八箱分もの航海日誌を家族が改築の折に全 て燃やしてしまったという残念な話も聞いた。

謝辞:韓国での現地調査に際し、慶尚南道統營市蛇梁面 敦池里の鄭 守錫氏 (85歳) と李仁周氏 (81歳)、蛇梁島 下島の林 柄洙氏 (77歳) にご協力をいただいた。また本 報告書の作成に多大な尽力をいただいた鹿児島大学連合 大学院の橋本芳君にも感謝の意を表します。

#### 注

\*1:グチ(石首魚)は、ニベ科の魚で有明海にも生息す るが、朝鮮西岸一帯に濃密に分布し、春から夏にかけて 南方から北方に向けて産卵回遊するため、漁期や漁場が 移動する。グチは朝鮮の人々が「チョギ」と呼び、もっ とも好む魚種である。明太子漁業に次ぐ漁業で、主漁場 は、西岸でも南部の七山灘<全羅南道の七山島から蝟島 にいたる海域>と中部の延平島(黄海道)付近で、3月(七 山灘の大黒列島や蝟島近海)、5~6月(中部の延平島付近 が最高潮)、6月下旬(北部の龍岩浦(平安北道)沖で産 卵して終了。その後、沖合を通って南下する。1904 年ご ろまでは七山灘が主漁場だったが、その後、延平島付近 に移り、1910 年頃、北部の漁場を開発した<sup>2</sup>。

漁期になると七山灘には朝鮮全土から漁船が集結し、 それに魚を買い付ける出買船(沖買船)で海上を埋め尽 くすほどであったという。出買船に前借りしている各漁 船は、夜、焚き火を点し、漁獲があったことを出買船に 知らせる。出買船はグチを鮮魚あるいは塩蔵して出荷し た。

\*2:他のサメと同様、ヒラシュモクザメの鰭は商業価値 が高く\*1、フカヒレの材料として取引される。ただ、漁 でヒラシュモクザメのみを対象にすることはなく、延縄 などでの混獲が主である。フカヒレは、大型のサメのひ れ(主に尾びれや背びれ部分)を乾燥させた食材。潮州 料理など、中華料理の高級食材として利用される。ほぐ したものをスープの具として使うことが多いが、ふかひ れの形のままじっくりと煮込むものもある。ジンベエザ メ、ウバザメのものが最も高級とされ、アオザメ、イタ チザメなどのものも高級である。一般的には、ヨシキリ ザメのものが使用されることが多い。日本は世界有数の ふかひれ生産国であり、江戸時代にはナマコ・アワビと 共に中国(明、清)へ輸出されていたが、近年ではシン ガポールやインドネシアの生産量の方が高い。日本の中 では気仙沼の水揚げが最も多いが、この多くはマグロ延 縄漁業の際に釣れたサメからとられたものである。日本の気仙沼産が有名で且つ高級品として扱われるのは、加工技術(乾燥など)が優れているためと言われる。中国でフカヒレが食べられたのは明の時代と言われている。 \*3:アミのうち、大半は「マアミ」(標準和名はアキアミ)で、その他「ゴアミ」は肥料用に捕られる<sup>2)</sup>。

#### 参考・引用文献

- 武田 淳、五十嵐 勉、趙 慶萬、李 應詰(1998)
   干潟の水族資源(第一報):有明海における伝統的採捕 技術と多様性、佐賀大学農学部彙報 83:79-97.
- 2) 片岡千賀之(2006)「あんこう網漁業の発達—有明海 での生成と朝鮮海出漁」、長崎大学水産学部研究報告 87:29-50.
- 中村 均(1994)「韓国巨文島にっぽん村:海に浮か ぶ共生の風景」、中公新書1181、中央公論社.
- 4) 羽原又吉(1957)日本近代漁業経済史 下巻、岩波書 店、東京、305.
- 5) 武田 淳(1988) 沖縄サンゴ礁海域における漁撈の変 化:本島南部の一漁村を事例とした生態人類学的検討、 人類科学 40:81-113.
- 6) 武田 淳(1990)伊計島の漁撈:変容と生態学的背景、 沖縄民俗研究 10:17-36.
- Takeda, J. (1992) Seasonality and change in traditional fishing patterns in Minatogawa, Japan. *South Pacific Study* 13(1): 107-129.
- Takeda, J. (1993) Ikei Islanders: Fishing practices in an Okinawan coral ecosystem. *South Pacific Study* 13(2): 211-234.
- 9) 田所市太(1940) 椿村史、門田丈夫·宮崎郁太、徳島.
- 10) 磯本宏紀(2008)「潜水器漁業の導入と朝鮮海出漁― 伊島漁民の植民地漁業経営と技術伝播をめぐって―」、 徳島県立博物館研究報告 No.18:35-55.
- 浜崎正幸(1990)「こちら東シナ海 以西底曳き網漁 に生きる カモメのハーさん航海日誌」、葦書房.
- 12)金 柄徹(2000)「帝国主義と漁民の移動—広島県豊 島漁民の「朝鮮海」出漁に関する歴史人類学的考察(1)
   —」、国際関係紀要 第9卷第1、2合併号 329-351.
- 13) 岡本信男(1986)「嵐に向かって錨を巻けー大洋漁業の源流を辿るー」、いさな書房.

#### 付表1 朝鮮海域出漁に関わる年表

1876 (明治 9) 年 日朝修好条規(別名、江華条約)の批准による朝鮮の開港。

<u>1883 (明治 16) 年</u>日鮮貿易条約の締結 (事実上の漁業条約)。

1889(明治 22)年 日朝通漁規則の締結で日本人の朝鮮海出漁が盛んになっていく。出漁には免許・鑑礼が必要だが、 密漁船が多かった。

1890(明治23)年 日本朝鮮両国通漁規則の公布。日本漁船の朝鮮近海に出漁が本格化。漁船数が718隻。

1894~95 (明治 27~28) 年 日清戦争 (1894 年 7 月~95 年 4 月)。国名が大韓帝国と改める。明治 27 年、朝鮮海出稼漁 業奨励保護と補助金の交付に関する国会請願。あんこう網の出漁基地となる西岸の木浦、鎮南浦、群山などの開港。およ そ6,000人の出漁者。

1896 (明治 29) 年 伊島(徳島県阿南市)出身の潜水器船集団によるイガイ生息地の発見と採取(イガイと付着する真珠玉)で大きな収益をあげた。

1897(明治30)年 遠洋漁業奨励法の制定で、各県単位で奨励金の交付が始まる。「朝鮮漁業協会」<1900(明治33)年 に「韓海通漁組合連合会」と改組>の設立。出漁の奨励、出漁者の保護、取締。本部は釜山に、支部は馬山、木浦、元山、 仁川に置いた。同時期に長崎県、熊本県、福岡県、佐賀県にも通漁組合が創設。

1899(明治 32)年 山口県で朝鮮海通漁奨励費下与規定の施行後、出漁が奨励。

1900(明治33) 年 漁業法発布。出漁範囲が、これまでの慶尚道、全羅道、江原道、江原道成鏡道に京畿道が加わった。 1901(明治34) 年 漁業法発布にともない、朝鮮近海への出漁漁船数は1893 隻と急増し、また出漁範囲も、これまでの 慶尚道、全羅道、江原道、江原道或鏡道に京畿道が加わった。

もっとも意欲的だった山口県豊浦郡では23の漁業組合の結成と株式組織豊浦郡韓海出漁団の設立。1901 年度以降、佐賀 県は移住漁村の保護・奨励費として1,000~6,100 円を、1911 年度には7,600 円を支出。

<u>1904~05(明治 37~38)年</u>日露戦争(明治 37 年 2 月 6 日~明治 38 年 9 月 5 日)。朝鮮の植民地化の強行。

1904(明治37)年 日韓漁業条約の改定⇒出漁範囲の朝鮮全域に拡大。全羅南道・統営(トンヨン)に日本人会の設立。 1905(明治38)年 遠洋漁業奨励法の全文改正。11月17日、日韓保護条約の締結。統営の海岸埋め立て完了後は、南鮮 屈指の商業・水産都市と発展。資本金5,000円という小規模ながら「統営魚市場」が発足。南鮮での、カタクチイワシの イリコの大集散地。

1907(明治 40) 年 第三次日韓協約で統監府による内政の掌握。林兼(マルハ漁業の前身)が発動機船を駆使し、朝鮮 近海の買魚事業に進出。中部幾次郎と長男の兼市による「親子船」が慶南「固城(統営北西)」沖の布山根拠に香川県人 のハモやサワラなどの買い付け・集商に乗り出し、成功。

1908(明治41)年 日韓漁業協定の締結、漁業法の公布と国策会社の(株)東洋拓殖の設立。日本人にも朝鮮人同様、 漁業権が認められ、出漁から移住漁業への移行。全羅南道・羅老(ナロ)島は、常時数十隻の生け簀運搬船が出入りし、 南鮮におけるハモとエビ漁業の一大供拠地。また蛇梁(サリャン)島の辺里洞や臥島(場所を特定できず不明)等もその 主要根拠地。

1909 (明治 42) 年 山神組(後の日本水産)が機船による鮮魚運搬を開始。伊藤博文の暗殺。

1910(明治43)年 8月22日、日韓条約による日韓併合。大韓帝国を朝鮮と呼び、朝鮮総統府が設置\*され、手続きや 制限がなくなり、朝鮮海出漁を刺激し、朝鮮近海への出漁漁船数は3960隻。朝鮮漁業令の公布で朝鮮沿岸海域は日本国 内と一体制に組み込まれた。50トン未満の小型船に対する特別漁船奨励金の新設。

1912 (大正元) 年 佐賀県漁業者が全羅南道・羅老島のうち、朝鮮本土に近い内羅老島の新錦里に移住し、邦人戸数 200 戸のうち漁業者が過半数を占めた。

1918 (大正 7) 年 韓海通漁組合連合会は、朝鮮水産組合に。

1923 (大正 12) 年 朝鮮水産会に。「漁業法」は「漁業令」に改正。

<u>1930 (昭和 5) 年</u> 「朝鮮漁業令」に改正。免許漁業(定置や養殖等)、許可漁業(補鯨、トロール、機船底曳網等)と 届け出漁業(あんこう網)に分類。

\* 日本の植民地になって、8道の行政区域は、13道になった。<u>平安北道、平安南道</u>、咸鏡北道、咸鏡南道、<u>黄梅道、京</u> <u>叢道</u>、江原道、<u>忠清北道</u>、忠清南道、<u>全羅北道、</u>全羅南道、慶尚北道、慶尚南道。下線の7道<殆どが西岸で、一部南岸 にも>が、あんこう綱漁業に関わる。

#### 付表2 貴重な体験事例

佐賀市西与賀の相応下に昭和1年1月1日生まれの石 丸幸夫さんが住む。彼は昭和16年、16才のときに当時 「朝鮮船」と呼ばれる朝鮮近海出漁に出かけた。相応津 の港から北朝鮮の鴨緑江までの出漁である。台風の時期 をずらし4月から6月の約3ヶ月間を漁期と決めていた 先輩たちの教えに従い、朝鮮西海岸の魚の宝庫を目指し た漁である。

彼は朝鮮海域に出漁する「幸福丸」の長男だったが、 父は大正十何年かの台風で、朝鮮沖で船を大破して以来、 休業していた。

相応の港から本庄江を通り、船長を含め、三人乗りで、 若吉丸、龍福丸、龍王丸、龍金丸、秀吉丸等の十数隻が 出漁し、相応下の「八大龍王神社」の前から船団を組ん だ。佐賀県の水産課の方々や地元の見送りの人たちの万 歳の声に送られて朝早く5時頃に出発した。川副町の広 江からも数隻、全部で二十隻余りが島原沖で合流し、島 原に一泊し、漁具などを調達した。翌日7ノット位の潮 流があり流れの速い「早崎の瀬戸」を通過して有明海を あとにした。長崎・野母半島の最南端・野母崎にある樺 島まで出て、島の主である「井戸の大ウナギ」を見学し てから平戸に向かうが、途中、軍港近くを通るため、軍 艦の上から望遠鏡で確認する兵隊さんに、予め船主たち が許可をもらっていた佐世保鎮守府からの通行許可書を 見せたあと、旗の合図で、通過が許可される。平戸で一 泊し、旅の安全を願って神社参拝。その後、朝鮮海域に 向かった。天気のいい日を見計らい、天気のときは天竺 木綿の帆を張って、途中、壱岐も対馬も寄らずに済州島 に向かい、何時間か休憩してから木浦(モッポ)まで直航。 木浦で一泊するが、木浦の岸壁には、船の乗組員に応募 するものが数多く待っていて、その中から5人から6人 の人を雇った。

道中では生野菜は船に積め込めないため、乾燥した千 切りダイコンを持参し、船の中で料理する時に、水に戻 して使った。

15 トン級で 15~16 馬力の焼玉エンジンを搭載した新 造した木造船には、「バッシャ」と呼ぶ大きな樫の木製の 錨のついた網と天竺木綿の帆を備えている。主な獲物は、 日本のタイに匹敵する朝鮮の人々が好むグチである。木 浦で採用した乗組員と一週間ぐらい沖でグチの漁を行う が、シラミ攻めには閉口した。船のエンジンを止めて、 船底に耳を当てれば、海中にいるグチの鳴き声の「グー、 グー、グー」という声がするほど魚が濃かった。網を降 ろして漁をし、港に戻る。港には、大きな竹かごを背負 った荷揚人夫が大勢待っている。製氷が無い時代のため に船の下の魚は腐ってしまうことが多かった。だいたい の荷揚げが終わったころに、朝鮮飴売りの小父さんが来 て、船底の残り魚と飴を交換することもあった。海が荒 れる時化の日は、漁は休みになり、天気のいい日は、岩 壁に腰を下ろして乗組員全員が熱湯消毒しても死ないシ ラミ取りなどで暇をつぶす。木浦で二週間ぐらい漁をし、 群山 (クンサン)、そして、エンペン港へ。さらに仁川か ら鴨緑江へと北上し、終点の龍岩浦に着くころは、季節 は6月であった。ここで初めて日本人に会う。途中で徴 兵検査に当たる人は、汽車で日本に帰る。石丸さんは汽 車を乗り継いで釜山まで南下し、釜山と下関を結んでい た連絡船「昆布丸」で下関へ。そこから佐賀に戻った。 一緒の朝鮮船を龍岩浦で売却する人もおれば、売れない 船はそのまま有明海まで戻ることになる。当時、朝鮮に は船が足りなかったために日本で建造した時の値段より も高く売れることもあったようだ。船主は大金を抱えて 日本に帰ることになる。当時の金額で、六千円から八千 円かそれ以上だった。石丸さんは三ヶ月で五十円(紙幣 の裏側にイノシシの絵があるイノシシ時代の十円札で5 枚)もらい、当時としては良い給料だった。

東シナ海は戦雲急を告げ、朝鮮への出漁は、昭和16年 で終わり、彼にとっては、最初で最後の出漁となった。

(2009.3.31 受付)

### 諫早湾干拓事業における アジェンダ・セッティングのズレ GAPS BETWEEN AGENDA AND NECESSITY OB DELIBERATION ON

ISAHAYA RECLAMATION

#### 樫澤秀木 Hideki KASHIZAWA

法修 佐賀大学教授 経済学部法政策講座(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

I argue that there were and are gaps between real agenda and necessity of deliberation on the Isahaya reclamation. Although it was a national project, the Diet scarcely had discussed on it till 1997, the coffering of Isahaya Bay. Although it was a great destruction of Isahaya tidal mud flat in the second half of 1980's, almost all newspapers had little article on it till 1997. Although it can't prevent urban flood of Isahaya city, the national government staff had spoken it could. I put stress that these gaps have caused many conflict around Isahaya reclametion.

Key Words : Isahaya reclamation, gaps in agenda setting, deliberation

#### 1. 今年度の作業

今年度の作業は、以下の通りである。①これまで に収集した資料を基に、諫早湾干拓事業をめぐる現 実の議論と本来議論すべきであった事柄とのズレ、 すなわちアジェンダ・セッティングのズレを定量 的・定性的に分析する、②その事業の「防災」効果 についての議論を整理する。

以上の作業の結果について、若干敷衍して説明す る。

#### 2. アジェンダ・セッティングのズレ

諫早湾干拓事業については、以下のような(表面的)理解があるように思われる。すなわち、①諫早 湾干拓は、国営の大型事業である。国会で大いに議 論されてきたのではないか? ②諫早湾干拓は、環 境意識の高まった80年代後半から90年代にかけて計 画された事業である。環境保全の側面から慎重な検 討がなされたのではないか? ③諫早湾干拓は、干 拓と防災を目的とする。それぞれ慎重な検討がなさ れたのではないか? ④諫早湾干拓は、「最後の大 型公共事業」と言われた。大いに社会的議論がなさ れたのではないか?という理解である。しかしなが ら、私のこれまでの調査では、これらはいずれも事 実ではないようである。まず、国会での審議回数を 見てみよう。

#### 3.国会での審議

図1は、諫早湾干拓事業に関する国会での審議回 数を表したものである。具体的には、1952年から 2001年までの国会議事録を、「諫早」&「干拓」で 検索したものである。



図1 国会における審議回数

この図1から、①諫早湾干拓事業は、国営事業で ありながら、'97年の潮受け堤防閉切りまでは、ほ とんど国会で審議されていない、②とりわけ、事業 の大きな転換期('82南総中止、'83防災へ変更、 '85閉切面積政治決着)に、ほとんど議論されてい ないことがわかる('82-2回、'83-3回、'85-0回)。 しかも、その内容に立ち入って検討すると、まず第 1に、'97以前に、「防災目的への変更」を批判する 質疑はない。むしろそれは支持されている。

① • **下田京子議員**(日本共産党)'83年05月17日

「私も昨年の長崎の大変な水害もありまして、かつ ての諫早の水害等の被害の状況なども現地で聞いて まいりましたが、そういう点から防災事業自体それ を否定するものではございません」(第98議会参議 院農林水産委員会)。

②初村謙一郎議員(新進党) '96年05月30日 「(自然破壊という声があるが)これは諌早全体の 防災であるという認識を持っておればこそ我慢できる ものなんですね。人命の方が重要であるという認識に 立てば、私は、これは我慢できると思うのであります」 (第136議会衆議院決算委員会第三分科会)。

次に、'97以前に「自然への悪影響」を直接危惧 する質疑は少ない。'97以前に環境委員会で審議さ れたことはない。自然への悪影響については、漁民 への自然への悪影響については、漁民への悪影響 を通じて間接的に質されている。ただし、諫早湾が 「有明海の子宮」であるという認識は政府にある

③金子農水相 '83年3月19日「これはもう日本で有 名な湾内のいわゆる産卵場、繁殖場、定評のある漁 場を締め切るわけでございますから、佐賀県はもちろ んのこと福岡、熊本県、有明海沿岸は全部反対です」 (第98議会参議院予算委員会)。

#### 4. 新聞各紙の記事数

次に、新聞各紙の記事数の変化を見てみる。



図2は、日系テレコンで各紙の「諌早湾」と「干 拓」という言葉を含む記事数を調べたものである。 各紙のデータ収録開始時期が異なることには留意し なければならないが、それでも各紙とも'97年以前 には記事数が極端に少ないことが分かる。とりわけ、 全国紙は、'85年の締切面積政治決着や'89年の工事 着工についてさえ、ほとんど取り上げていないこと が分かる。

ところで、図2では分からないが、地方新聞であ る佐賀新聞については、実は、実際の新聞記事を検 索しており、それによれば、佐賀新聞は'97年以前 にも関連記事を定常的に掲載していることが分かっ ている。しかし、その記事の多くは、漁民への漁業 補償の問題を取り上げたものであり、直接に有明海 の自然への影響を取り上げたものではない。

ところで、1980年代後半から1990年代前半にかけて は、環境意識が急速な高まりを見せた時期であること を考えると、日本有数の干潟である諫早湾が消滅す る本事業計画について、自然環境保全の観点から大 いに議論されていて良さそうである。しかしながら、現 実には、ほとんどそのような議論はなされていない。そ の例として、朝日新聞と西日本新聞の記事数を調べ てみよう。



国3 朝日新闻に売る保境、の国心と麻牛得 1 加事 業への無関心



図4 西日本新聞に見る環境への関心と諫早湾干拓 事業への無関心

これら図3および4からは、奇妙なことに、全国紙も 地方紙も、1980年代後半から1990年代前半にかけて 環境に関する記事を急速に増やしたにもかかわらず、 しかも干潟に関する記事も増やしていったにもかかわ らず、諫早干潟の消滅については終始、関心が低 かったことが分かる。その理由についてはなお不明で あるが、干潟に関する記事を詳細に分析すれば、あ るいはその理由が分かるかも知れない。

#### 5. 「諫早湾防災総合干拓事業」

最後に、本事業が、いかに誤解されたまま行われ たのかを示す、格好の証左として「諫早湾防災総合 干拓事業」という呼称について述べておきたい。まず、 以下の裁判文書を見ていただきたい。

- 有明海訴訟仮処分事件債権者側第3準備書面 (\*03年3月28日)「干拓計画は……「長崎大干拓構 想」(1952年)、「長崎南部地域総合開発計画」(19 70年)、「諫早湾防災総合干拓事業」(1983年)と 計画が変転し、1989年に「国営諫早湾土地改良事 業」として起工されるという経過をたどっている」。
- ② 同債務者側第4準備書面('03年10月16日)「『諫 早湾防災総合干拓事業』という名称の国営土地改 良事業は存在しない。」

ここに示されているのは、本干拓事業について最も 熟知しているはずの原告漁民や弁護団も誤解してい たという事実である。しかしながら、この誤解は必然的 とも言えるものであった。以下、詳論する。

1982年末、地元長崎県選出の金子岩三議員が農水大臣となるが、彼は、南総事業に否定的な発言を 繰り返す。そして防災重視の事業に切り替えることを 示唆する。次の資料は、翌年の国会での金子農水相 の答弁である。

③ 金子農水相('83年05月17日)「私はただこの事業 (南総事業のこと―引用者)は投資効果もない、国 益にもならない、そういう観点でそうこうしておるとこ ろに、諫早市には本明川という多良岳山麓に大きな 河川があります。したがって、昭和二年と昭和三十 こ年と大洪水が発生しまして、三十二年には九百 二十名の死者を出しております。最近、この河口に 大変な干潟ができまして、いつまたどういう洪水が起 こるかわからないという心配でならないので、私は二、 三年前からこの湾内の方々に防災事業をやるべき ではないかということを盛んに進言しておりました。 私は今度大臣に就任しましてから、やはり防災事業 を主体にして――その干拓というのは副産物なんで すよ、いわゆる洪水、防災を主体としてこの事業を 継続していく、したがって海面の使用も三分の一程 度でおさまるだろうという考え方に立って発想の転 換をやったのが今日の現状でございます。」

ここからは、諫早湾干拓事業が防災中心となったこと、しかもその防災の中身として都市部での洪水対策 も考えられていたことが分かる。

そして、農水省は'83年5月30日に「諫早湾防災対 策検討委員会」を設置し、防災目的を達成するため に必要な締切面積の検討に入る。また長崎県は、 同'83年4月1日に「南部総合開発室」を「諫早湾防災 総合干拓室」へと改組する。資料で確認できる範囲で は、これが「諫早湾防災総合干拓」なる用語を用いた 最初である。確かに、資料で見る限り、国が「国営諫 早湾防災総合干拓」という用語を用いたことはない。 しかしながら、この用語は広く知れ渡るところとな り、国会での質疑でも用いられ、またマスコミでも 流布されるようになる。

④ 初村謙一郎議員(新進党) '96年05月30日「この 諌早湾の干拓については、昭和三十二年の諌早湾 の水害の防止、要するに、干満差が非常にひどくて、 満ち潮のときに大雨が降ると、一級河川である本明 川から水が流出しない、市内全体が水没してしまう という状況の中で、昭和三十年代から南部総合開 発、それから諌早湾防災総合干拓事業というふうに、 防災を主眼に置いた干拓事業であるという認識を私 はいたしておりますけれども、いつしかこの防災干 拓事業の名称すら諌早干拓事業というふうになって おります。」

地元長崎県選出の初村議員は、農水省が防災中 心と言いながら、あまりそれを宣伝しないのはおかし いと質問しているのであるが、これに対する回答で、 農水省は「諫早湾防災総合干拓事業」という呼称は 間違っているとは述べていない。むしろ、次に見るよう に、その呼称を是認するかのごとき答弁をしている。

- に、ての呼称を定認するかのことさ合井をしている。
- ⑤ 野中和雄 農林水産省構造改善局長('96年05 月30日)「諌早湾地域は昔から干拓で発達をいたしました低平地が多いわけでございます。洪水や高潮、 排水不良などの災害に悩まされ続けてきたわけでございまして、今回、潮受け堤防と調整池によりまして、 これら災害に対する本地域の総合的な防災機能を強化をしようということでございます。

具体的に申し上げますと、一つは、高潮対策とい たしまして、潮受け堤防によりまして、大潮時にも過 去の最大の規模の台風が通過をしても耐えられるよ うにするというようなこと。それからまた、洪水対策と いたしましては、昭和三十二年に同地域の本明川 の洪水で未曾有の五百三十九人という亡くなった方 が出てしまった災害、諌早大水害があるわけでござ いますが、こういったものにも対応できるだけの調整 池の容量を確保しようというようなことでございまして、 まさに防災の効果を非常にねらったものということで ございます。」

マスコミにおいても、この「諫早湾防災総合干拓」という呼称を用いた記事は、83年から最近まで散見される。その一例として、2008年佐賀地裁判決について報じた毎日新聞記事の年表を示す。

- ⑥ 每日新聞 2008/06/28,大阪朝刊
  - ■諫早湾干拓事業の変遷■
  - 1952年 国が長崎大干拓構想を立案 閉め切り面積約1万ヘクタール。米作地 6718ヘクタールを造るとした
    - 70年 長崎南部地域総合開発事業に変更 規模は変えず、陸地は畑と工業用地と し淡水湖の水は上水道にも利用

- 77年 着工予算がつく
- 82年 着工できないまま農水相(当時)が打ち 切りを宣言
- 83年 諫早湾防災総合干拓事業に変更
- 86年 事業着手
- 89年 諫早湾干拓事業として着工
- 97年 潮受け堤防閉め切り
- 2001年 干拓規模を見直し、農地を縮小
  - 07年 完工。総事業費は当初予定の約2倍の 2533億円

以上の資料③ないし⑥からすれば、人々が諌早湾 干拓事業が「諌早湾防災総合干拓事業」であると誤 解しても何ら不思議ではない。たしかに国の文書には 「国営諌早湾防災総合干拓事業」という文言は見あた らないが、しかし、長崎県がこの呼称を正式に採用し、 また国会議員がこの呼称で質疑を行い、マスコミがこ の呼称を用いた際、農水省がその是正を求めた跡も 見受けられない。すなわち、農水省は、諌早湾干拓 事業が防災総合干拓事業であるという一般社会の誤 解を「利用」し、それに便乗したと言って良いのである。 しかも、その防災の中身として、諌早大水害のような 市街地での河川氾濫を防止できるかのごとき言説を 振りまいたのである。ところが、その後、この事業では 市街地洪水を防止できないことが分かってくる。

#### 6. 本干拓事業は市街地洪水を防止し得ない。 まずは以下の資料を参照いただきたい。

⑦ 2001年3月9日 長崎県議会農林水産委員会

◆中田晋介委員「今後、五百三十九名の諫早大 水害で死者を出した、それを防止するための防災 効果だと、諫早湾干拓、堤防でやるんだというような ことは、私は言わないでもらいたいと思っているんで す。

私どもは国会議員の調査団と一緒に、本明川工 事事務所に調査に行ったことがありますけれども、 本明川の河川改修は私どもの方でここに書いてある とおり、河道改修でちゃんとやっておりますと言って おるわけですから、潮が差してくるここには、河口か らニキロメートル以上はもう収れんして水位は関係 ないと言いますから、それまでは確かに潮がきたり するかもしれませんけれども、中心部のあの諫早水 害のような氾濫というのには、堤防と調整池は関係 ないということをひとつ確認してもらいたいと思いま す。」

◎ 國弘参事監「まず一つは、それを効果として見ているのかどうかということだろうと思うんですけれども、あくまでも人命とか、その中心部に対する被害というのは、効果としては見ておりません。それは事実です。いわゆる都市部の中心街の、上の方が被害を、今回の潮受堤防といいますか、洪水としての効果を見ているということはない、効果としては見ておりません。」

⑧ 2001/09/02, 朝日新聞 朝刊

諌早市内で約500人の死者を出した洪水の記憶 が残る多くの住民は、「水害が防げる」と理解し、事 業に期待した。

だが、専門家の検証では、諌早湾からの潮汐 (ちょうせき)は大雨時は河口から2、3キロ上流まで しか届かず、4、5キロ上流の市街地での洪水に、 潮汐はそもそも無関係だと分かった。

97年11月。長崎地裁での「諌早湾自然の権利 訴訟」で、当時の田村亮・干拓事務所長はその点 を追及され、答えた。

弁護士「農水省の説明では諌早水害は二度と起 きない、防止できると聞いたが、違うのか」

所長「(川の)途中のはんらんを許すかどうかは (旧建設省の)河川管理上の仕事で、そこまでうち はできない。二度と起こさないというのは言い過ぎ だと思う」

その後、農水省の説明で洪水防止はトーンダウン。ほとんど洪水機能の説明はしなくなった。

以上、資料⑦⑧によれば、国・長崎県ともに、本事 業計画時に強調していた洪水防止を97年頃からは言 わなくなったようである。しかしながら、本事業がそも そも土地改良法に基づく農水省の事業であることから すれば、計画当初から、市街地の洪水防止を目的と した事業を農水省ができるはずがないのは明らかで あったはずである。

土地改良法は第一条で、その目的を以下のように 述べる。

⑨ 土地改良法第一条 「この法律は、農用地の改良、開発、保全及び集団化に関する事業を適正かつ円滑に実施するために必要な事項を定めて、農業生産の基盤の整備及び開発を図り、もつて農業の生産性の向上、農業総生産の増大、農業生産の選択的拡大及び農業構造の改善に資することを目的とする。」

このような観点からすれば、本干拓事業計画時にこ の点がなぜ問題視されなかったのかが、むしろ不思 議な観がする。また、本事業は農水省の建設省(当時)に対する権限踰越行為であった疑いも生じてくる。 当時の建設省がどのような反応を示したのか、調査す る必要があろう。

#### 7. まとめ

以上の検討から、本干拓事業は、その計画時に、 すなわち適切な議論がなされるべき時期に、その防 災効果や自然への影響がほとんど議論されず、また マスコミにも取り上げられずにきたことがわかる。その 意味で、本干拓事業は、アジェンダ・セッティング(議 題設定)がずれていたと言える。そして、そのアジェン ダ・セッティングのズレこそが、その後に続く紛争や論 争を引き起こし続けているのである。

(2009.3.31受付)

## 有明海・八代海沿岸域エコトーンにおける 文化的景観の保全(4)

—有明干拓地におけるレンコン堀の冬季湛水機能—

#### CONSERVATION OF MULTIPLE CULTURAL LANDSCAPE IN THE INSHORE ECOTONE, ARIAKE AND YATSUSHIRO SEA(4): THE ROLE OF WINTER FLOODED LOTUS ROOT FIELD IN THE ARIAKE RECLAIMED LAND

#### 五十嵐 勉

#### Tsutomu IGARASHI

#### 文修 佐賀大学准教授 農学部生物環境科学科・地域資源学研究室(人文地理学) (〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

It is important to consider the ecotone in seashore, especially in the argument of conservation of wetlands. The secondary ecotone as a transitional zone from reclaimed land to tidal flats is very important spaces. Because there is a bio-diversity and multiple subsistence by inhabitants. In addition, these sustainable production and life style formed multiple cultural landscapes. A great deal of effort has been made on the reclamation or land improvement in tidal land. What seem to be lacking, however, is a consideration on sustainability of the reclaimed land and a sustainable subsistence system.

In this paper, so far, we have seen that the the role, transformation, and preservation of the detention ponds in reclaimed lands. In the case of the Ariake reclaimed land, it is obvious that winter flodded lotus loots fierds plays an important role of wetlamd for migratory birds.

Key Words: Seashore ecotone, Cultural landscapes, Winter flooded field, Lotus root cultivation, Migratory birds

#### 1 はじめに

本稿は、複式干拓の社会構造的な問題、及び干拓地 と浅海域における高投入型農漁業への特化、すなわち 土地利用景観のモノカルチャー化について検討してき た一連の研究に引き続いて、干拓地と干潟・浅海域の 漸移帯(エコトーン)の内陸水面・湿地・水辺としての 調整池(広義の潮遊池・遊水池・溝渠を含む)に焦点 を当て、それらの歴史的な形成過程を踏まえた機能と 変容、及びそれらが急速に失われつつあるもつ現状を 踏まえた保全と活用の意味について考察するものであ る。

なぜならば、この漸移帯における水辺は、ヨシを始 めとする湿地植物、汽水域・淡水域に生息する多くの 魚貝類、ガン・カモ等の野鳥(渡り鳥)の休息・餌場と いう生物多様性の場であり、そしてそれらを古くから 利用してきた沿岸住民によってつくられてきた文化的 景観の重要な要素とみなされるからである。同時に、 この空間は、上流からの汚染物質を一時的に貯留し (「悪水溜」)、ヨシや魚介類によって浄化され、有機質 の泥土を揚げて農地に利用し、余水を海へ排水して反 復的に(循環的に)利用する機能を有していたからであ る。干拓地と浅海域での大規模かつ高投入型の農漁業 は、それぞれの生産の場を最大限に利用するために、 平地林やヨシ原に代表される湿地は徹底的に除去され てきた歴史がある。特に海苔養殖が産業の基盤となっ ている有明海沿岸域では、ヨシの浅海への流入は、海 苔養殖網に支障をきたすとして、ヨシの持つ陸域や漸 移帯での水質浄化能力や生物多様性の側面は肯定的に 評価されるものではなかった。

しかしながら、湿地の保全や人間の生業・生活と結 びついた水辺の文化的景観の保全は、いまや社会的常 識である。各地で調整池の人工的水辺・湿地のビオト ープ整備が進められている。本研究では、残された伝 統的な潮遊池・遊水池を含む調整池の現状とその問題 点を、日本と韓国における事例を比較することで、有 明海再生のための、オルタナティブ(もう一つの)選 択について考察するものである。

本研究では、有明干拓地(白石平野)において栽培 が盛んなレンコン堀の景観に焦点をあて、水田が持つ 「古くて新しい機能」である冬季湛水機能-「冬水田 んぼ」の視点から、<干潟―調整池-溝渠(クリーク) ーレンコン堀>の湿地エコトーンにおける農業と野鳥 の共生関係について考察する。

# 2 第10回ラムサール条約会議決議と冬季湛水田(冬水田んぼ)

「ラムサール条約(特に水鳥の生息地として国際的 に重要な湿地に関する条約)」の第10回締約国会議 (COP10)が、2008年11月に韓国の全羅南道、昌原市 とその周辺で開催された。COP10は、1993年の釧路市 での第5回締約国会議が開かれて以来、アジアで2回 目の開催であったが、日韓の共同提案「湿地システム としての水田の生物多様性の向上」が可決されたこと は、画期的なことであった。この決議は、全部で18の 条項から構成されるが、本稿との関わりから重要な事 項を以下に抜粋する。

> 「・・・(前略)・・・、世界のかなりの割合の米作において典 型的な農地である水田(灌漑され冠水した、米が栽培されてい る土地)が、米作を行っている様々な文化圏において何世紀に もわたり広大な開放水面を提供し、米の生産のほか、他の動植 物性の食料や薬草を生産し、湿地システムとして機能しその地 域の生活及び人間の健康を支えていることを認識し、世界の多 くの場所で水田が、爬虫類、両生類、魚類、甲殻類、昆虫類、 軟体動物等、重要な湿地生態系を支え、水鳥のフライウェイ(渡 り) 及び水鳥の個体群の保全上重要な役割を果たすことを同じ く認識し、水田に関わる水生生物の多様性が農村の人々の栄 養、健康及び幸福に重要な貢献をしうることをさらに認識し、 いくつかの特定の地域では、灌漑された水田が生物多様性のた めに周辺の自然/半自然の生息地、特に湿地につながっている ことが重要であることも認識し、「水田」はラムサール条約湿 地分類法に人工湿地として含まれるため(「3 灌漑地。灌漑用 水路、水田を含む」)、適切な場合には、ラムサール条約湿地に 指定又は含めることができること、また、少なくとも世界中で 100 か所のラムサール条約湿地が、重要な生態的役割を持ち、 国際的に重要な留鳥や渡り性水鳥の繁殖・非繁殖個体群を含め た生物多様性を支える水田を含んでいることを想起し、ラムサ 一ル条約湿地のうち、幾つかの湿地は、先来の手法、文化的価 値及び生物多様性上の価値にとって重要な土地を活動的に保 全するプログラムである、国連食糧農業機関 (FAO) の「地 球的重要農業遺産システム (GIAHS) プログラム」に含めら れ、または含められる可能性があることに留意し、そのような 条約湿地は、水田のような湿地システムの賢明な利用の例もな ることを認識し、不適切な水管理、自然な水の流れの変化、

侵略的外来生物を含む新たな動植物種の導入及び有害な農業 化学物質の多用に関連する不適切な農法、並びに水田を他の土 地利用に変えること等の要因により、水田の持続可能な湿地シ ステムとしての役割に対して、現に存在する、または起こりう る危機、そして周辺の環境に対して、現に存在する、または起 こりうる影響を懸念し、使用していない時期の水田を湛水す ることにより、渡り性水鳥等の動物に生息地を提供し、雑草や 害虫の管理を行うための取組が行われていることに留意し、湿 地から水田への不適切な転換が地域の生物多様性とそれに関 連する生態系サービスに負の影響を及ぼす可能性を懸念し、本 決議が、既存の天然の湿地を人工湿地に造成すること、又は土 地を不適切に人工湿地に造成することを正当化するものでは ないことを確認し、 本決議の焦点は、本条約、国際的に合意 された開発目標及び他の関連する国際的な義務と一致しかつ 調和する形で行われる、湿地システムとしての適当な水田の生 態学的及び文化的な役割と価値の維持及び増進に特にあてら れたものであることを確認し、締約国に対して、湿地保全の目 的を助長し、地下水かん養、気候緩和、洪水・侵食防止、地す べり防止及び生態系保全等の生態系サービスを提供するよう な、持続可能な水田農法を特定するため、水田の動植物相、及 び米作を行う地域社会において発展し、水田の生態学的価値を 保ってきた文化に関する更なる調査を促進させることを奨励 する。 締約国に対し、ラムサール条約湿地への登録や、FAO の「地球的重要農業遺産システム (GIAHS) プログラム」の ような機構を通じ、このようなサイトに対する認識及び/又は 保護を提供することを検討するよう呼びかけ、更に、締約国に 対し、持続可能な米作農法と水管理の向上を支援するため、こ れらの農法とサイトの情報を、政府間、農業者、保全機関に広 め、情報交換をすることを呼びかける。 締約国に対し、湿地 システムとしての水田を、湿地の賢明な利用の文脈に照らして 管理することに対する課題と機会を特定し、持続可能な農法の 促進のみならず、水田、天然湿地及び河川流域の結合性につい ての概念にも留意し、さらに、湿地保全部局が農業部局、米作 や疾病予防を管轄する省庁とも連携し、自然の生物多様性、生 態系サービス及び水田の持続可能性を高め、農家及び他の集落 構成員の栄養状態、健康及び福利の改善、並びに水鳥個体群の 保全にも貢献するような、計画、農法及び水管理を特定し、積 極的に推進することを奨励すること ・・・(後略)・・・」(下 線部・筆者注)

以上の決議文は、ラムサール条約登録湿地において、 すでに実施されている冬季湛水田の実績がベースとな っており、スペインのエブロ・デルタ(カタルーニャ 地方)やアルブフェラ(バレンシア地方)、そして宮城 県の蕪栗沼がその象徴的存在である。ラムサール条約 登録地以外でも、野鳥保護のために冬季に湛水する「冬 水田んぼ運動」が国内で広がりつつある。冬水田んぼ は、同時に野鳥の餌となる昆虫・小動物の生息環境を 保全するために、不耕起や有機栽培を伴うことも多く、 結果として生産される米の付加価値の増加にも繋がっ





(調査には佐賀大学農学部4年の斉藤嘉宏・木下亜季の協力を得た)

ている。しかしながら、冬季に裏作が重要な二毛作地 帯である西南暖地では、東日本に比べて冬季湛水田は 極めて少ないのが現状である。九州地方では出水平野 で、ツルの越冬地保護のために実施されているが「天 然記念物」保護のレベルであり、その広がりは難しい。

ところで、有明干拓地を含む白石平野では、水田の 転作に伴うレンコン栽培が多く、周年栽培の普及によ って、冬季でも湛水状態が継続されている。レンコン 栽培の増加は、その収入の安定と省力化によるところ が大きいが、米・タマネギ・レンコン・干潟漁撈の複 合的生業の伝統がその存立を支えてきた。レンコン堀 は、カモ類をはじめとする多くの野鳥が、生息場とし て利用する空間でもある。レンコンの食害問題が課題 となっているが、このレンコン堀の持つ冬季湛水機能 が冬水田んぼと同様な機能を有するものと仮定し、レ ンコン栽培の実態、野鳥の生態と食害の実態について 検討し、有明海北岸域における干潟・湿地エコトーン の価値について再考する。

#### 3 有明干拓地におけるレンコン栽培

干拓地の広がる白石平野では、重粘土質の土壌を活 かしたレンコン栽培が盛んで、生産規模の拡大や後継 者の存在など現況の農業情勢の中では特筆すべき状況 を呈している。米麦・タマネギを中心とした佐賀県の 平坦地農業が厳しい状況にある中で、レンコン栽培は



図2 複合経営の農業カレンダー (開き取り調査により作成)

着実に生産実績をあげている。

現在(H18)のレンコンの主産地五県を作付面積順に みると、茨城 (1,590ha)、徳島 (559ha)、愛知 (374h a)、佐賀 (259h a)、山口 (253ha) となっている。 これらの主産地は河川の沖積低地や湖周囲などの水利 に恵まれた低湿地、ないしは干拓地に多い。東京、名 古屋、大阪、及び九州の市場との関係が深く、産地間 競争が少ないことに特色がある。旧福富町では大正11 年に栽培が開始され、減反政策が始まると転作作物と して人気を集めた。当時栽培の盛んであった三町(旧 白石町・福富町・有明町)の栽培面積は最盛期で400 h a を超えた。白石町福富は昭和22年に福富町出荷組 合を結成して以来、将来を見据えた特産地形成の先駆 として、現在の白石町を「しろいしレンコン」の一大 産地へと導いてきた。現在白石町では 227ha が作付け され、収穫量も2,780tとなり佐賀産レンコンの約9割 を生産している。旧福富町では、国営有明干拓地での 栽培が多く、減反政策の中でレンコンによる効果的な 農地利用が進んでいる。本研究では、レンコン堀の詳 しい分布を調べるため、この地区のレンコン掘分布地 図を現地調によって作成した(図2)。

レンコンは、ハウス、トンネル、露地の三つの栽培 形式がとられており、長期間土の中で保存することが できるため、三つの栽培方法を組み合わせることで周 年栽培が可能となる。レンコン価格の変動が小さいこ とに加えて、生産者による栽培、出荷計画等の営農管 理がやりやすいことが特色である。

白石町のレンコン農家は、その規模と作物の組み合 わせ等から、複合経営農家とレンコン単作農家に分け られるが、新たに有機による栽培もみられる。本研究 ではこれら三つのタイプごとの事例分析を行った(表)。 事例農家Aは、三代にわたる農家で、現在は息子(26

#### 表1 事例農家の栽培状況

(聞き取り調査による)

	事例農家A (複合経営農家)	事例農家B	事例農家C
		(レンコン単作農家)	(有機栽培農家)
レンコンの作	約2.3ha (1.2ha)	約 5. 3ha (約 1ha)	約2.5ha (0)
付面積()内			
は借地面積			
雇用労働	家族のみ (5名)	雇用1名·家族 (4名)	家族のみ (3名)
	(繁忙期にアルバイト)		
レンコン以外	タマネギ (約5.5ha)、水稲	なし	なし (1999 年までは水
の栽培	(約 6ha)		稲、タマネギも栽培)

歳) が後を継いでいる。家族経営ではあるがレンコン やタマネギの繁忙期にはアルバイトを雇うこともある。 栽培作物の作付面積ではレンコンが最も小規模である が、収入の半分はレンコンによるもので、経費も少な くタマネギに比べ単価が高いなどの理由からレンコン の作付けを増やしていく予定である。事例農家 B は親 子二代で農業をしており、A 同様息子(28歳)が後を 継いでいる。家族経営で、作付面積は個人経営の中で は大規模である。2007年まではタマネギも生産してい たが、レンコンの方が単価が高く、管理が楽であると いった理由から2008年からレンコンのみを栽培してお り、今後も規模を拡大させる予定である。この農家は 2002年から食品加工会社と契約しており、小さなレン コンや形が悪いもの、小さな傷が入ったものまで無駄 なく出荷できるようになり収入も増加した。B以外のレ ンコンの大規模な栽培を行っている農家も加工会社と 契約しているものが多い。事例農家Cは県内では唯一、 レンコンの JAS 有機認証を受けている農家である。現 在は母と娘二人の女性だけで経営し、作付けは多くは ないが、最近の食品問題の影響で安全性を求める消費 者が増えていることもあり、生産が追いついていない のが現状である。レンコン栽培は低湿地という条件で 生産されるが、周年栽培が可能なため、他の作物より も収入の面で安定している。タマネギ単価の低迷も影 響し、白石町福富では3軒の農家がレンコンの大規模 な単作を行っており、従業員を雇うほどの農家もみら れる。しかし機械化によって掘り取り作業の労力は軽 減されたが、水圧機の普及によって土がゆるくなりレ ンコンが深い位置に出来てしまうことや、カモなどに よる食害の防除などの課題もみられる。しかしながら、 規模拡大や専業化の意識は強い。また、有機栽培や外 食産業と繋がりの深い加工会社との提携、若手就農者 によるレンコン掘り体験を利用した福岡の消費者との 都市―農村交流、県内の学生に対する食農教育といっ た新しい動きも出てきており、白石町の農業を支える 作物として今後の発展が期待される。





図3 白石町におけるカモの鳥害(上)と捕獲数(下) (県資料により作成)





#### 4 レンコン堀の冬季湛水機能と野鳥の食害

白石平野の干拓地には、農業用の大きな水路や調整 池が存在し、レンコン栽培が盛んに行われている。海 ー干潟ー淡水貯水池ー農地のような空間が連続的に変 化する移行帯はエコトーン(eco-tone)と呼ばれ、渡 り鳥にとって最適な生息地として保全・活用すること が求められている。しかしながら、レンコンの野鳥に よる食害の深刻化も問題となっている。

本研究では、野鳥の中でも食害を引き起こしている カモ類の生態観察や、狩猟で捕獲したカモの胃袋内の 残余物、及び農家の聞き取り調査から、一般的に考え られていたレンコンの新芽を食べる被害だけでなく、 レンコンそのものを食べること、したがって食害の期



図5 レンコン堀における防鳥施設の分布-2008年10月-

間は11月下旬から渡りを始める5月頃までであること を確認した。

食害対策としては、においや磁石によるもの、爆音 機などが使われていたが、これらには慣れやすいため、 現在では防鳥網やテグスを張る農家が増えている。し かし、テグスでは絶対的な対策にはならず、防鳥網に よる防除が効果的である。2008年10月現在までの白石 平野におけるレンコン堀の分布図作成調査において、 圃場に支柱を立てテグスや防鳥網を張る可能性がある と思われる圃場が全体の40%、その中で既にテグスや 防鳥網を張っていた圃場が27%であった。

#### 5 白石平野における野鳥の種類と生態

白石平野での野鳥の生態については詳細が不明であ るため、本研究では昼と夜、潮汐を考慮し、13回の定 点観察(2007年11月~2009年1月)を行った。その 結果を干満別、時間帯別にまとめた)。

この結果から、レンコン堀、調整池、水路がそれぞ れ野鳥にとっての生息域になっていることが分かる。 カモ類については、夜行性であるため日中に観察され たものは休憩地として利用していると考えられ、逆に 夜間見られたものは餌場として利用し、レンコンの食 害に関与している可能性が高い。しかし、レンコンの

和名	学名	英名	飛来期間
カルガモ	Anas poecilorhyncha	Spot-billed Duck	留鳥
コガモ	Anas crecca	Green-winged Teal	10月~5月
ヨシガモ	Anas falcata	Falcated Teal	10月~3月
ヒドリガモ	Anas penelope	Eurasian Wigeon	10月~5月
ハシビロガモ	Anas clpeata	Northern shoveler	10月~5月
オナガガモ	Anas acuta	Northern pintail	10月~5月
マガモ	Anas platyrhynchos	Mallard	10月~5月
キンクロハジロ	Aythya fuligula	Tufted Duck	10月~3月
キンクロハジロ スズガモ	Aythya fuligula Aythya marila	Tufted Duck Greater Scaup	10月~3月 10月~3月
キンクロハジロ スズガモ ホシハジロ	Aythya fuligula Aythya marila Aythya ferina	Tufted Duck Greater Scaup Common pochard	10月~3月 10月~3月 10月~4·5月
キンクロハジロ スズガモ ホシハジロ ツクシガモ	Aythya fuligula Aythya marila Aythya ferina Tadoma tadorna	Tufted Duck Greater Scaup Common pochard Common Shelduck	10月~3月         10月~3月         10月~4・5月         10月~4・5月

図7 調査地におけるカモ類の生息状況

(木下亜季との定点観察により作成)



図6 防鳥網の仕組み

食害を起こしているのは、食性から淡水ガモであると 考えられ、海水ガモはレンコンを食べている可能性は 非常に低い。また満潮時に観察された鳥類は干潟で餌 をとることができないため、レンコン堀で採食してい る可能性が高いが、干潮時にもレンコン堀で見られた 鳥類に関しては常時餌場としている可能性がある。

以上の分析より、白石平野において調整池やレンコ ン堀が野鳥の生息にとって重要な役割を果たしており、 湿地としての価値が非常に高いと言える。しかし、淡 水ガモがレンコン栽培に大きな被害をもたらしている という実態も明らかになった。この地域には、野鳥保 護のための制度もなく、自治体等による鳥害対策の補 助制度もほとんどない中、レンコン栽培を生業として いる農家にとっては、自衛のための防鳥対策が不可欠 となっている。しかし、食害を引き起こす淡水ガモ以 外の様々な野鳥がレンコン堀を生息域とし、湿地とし ての機能が高いことを考慮した上で、必要以上の防鳥 や野鳥を傷付けないような防鳥方法・対策が、これか らの農業と野鳥の共存にとって重要なのではないかと 思われる。

和名	学名	英名	飛来期間
カイツブリ	Tachybaptus ruficollis	Little Grebe	留鳥
カンムリカイツブリ	Podiceps cristatus	Great Crested Grebe	11月~3月
タゲリ	Vanellus vanellus	Northern Lapwing	11月~3月
タシギ	Gallinago gallinago	Common Snipe	11月~3月
インシギ	Actitis hypoleucos	Common Sandpiper	留鳥
セイタカシギ	Himantopus himantopus	Black-winged Stilt	11月~3月
タマシギ	Rostratula benghalensis	Greater Painted Snipe	留鳥
ゴイサギ	Nycticorax nycticorax	Black-crowned Night Heron	留鳥
アマサギ	Bubulcus ibis	Cattle Egret	4月~10月
コサギ	Egretta garzetta	Little Egret	留鳥
チュウサギ	Egretta intermedia	Intermediate Egret	4月~10月
ダイサギ	Egretta alba	Great Egret	留鳥
アオサギ	Ardea cinerea	Grey Heron	留鳥
パン	Gallinula chloropus	Common Moorhen	留鳥
ヒクイナ	Porzana fusca	Ruddy-breasted Crake	留鳥
オオバン	Fulica atra	Eurasian Coot	10月~3月
ハクセキレイ	Motacilla alba	White Wagtail	留鳥
カワセミ	Alcedo atthis	Common Kingfisher	留鳥

図8 調査地におけるカモ類以外の野鳥の生息 (木下亜季との定点観察により作成)

観察日	時間	場所	結果	干満
2007. 11.4	11:00~13:00	調整池	コガモ、オナガガモ、マガモ、カルガモ、アオサギ、 ダイサギ、チョウゲンボウ、バン	満潮
2007. 11.21	5:00~7:00	レンコン堀	カモ類、サギ類、シギ類	満潮
2007. 11.28	18:00~20:00	レンコン堀	多数のカモ、ハシビロガモ	干潮
2008. 5.28	15:00~16:00	レンコン堀	バン、カモメ類	満潮
2008. 10.8	13:00~14:00	調整池·水路	マガモ、オナガガモ、その他多数のカモの群れ	上げ潮
2008. 10.17	12:00~13:00	水路	カルガモ、オナガガモ、ヒドリガモ、ハシビロガモ、マ ガモ、セイタカシギ	満潮
2008. 11.14	21:00~23:00	レンコン堀	多数の力モの群れ	満潮
2008. 12.12	20:00~22:00	レンコン堀	カモ類、タシギ、イソシギ	満潮
2009. 1.7	21:00~22:00	レンコン堀	カモ類、シギ類	満潮
2009. 1.11	17:00~18:00	レンコン堀	ックシガモ、コガモ、タシギ	干潮
2009. 1.12	3:00~4:00	レンコン堀	マガモ、タシギ、ツクシガモ	干潮
2009. 1.13	11:30~12:00	レンコン堀	ックシガモ、タゲリ	満潮
		調整池·水路	トモエガモ、オナガガモ、ホシハジロ、タゲリ、 カンムリカイツブリ	
2009. 2. 8	15:00~16:00	調整池·水路	カンムリカイツブリ、ホシハジロ、キンクロハジロ	干潮



#### 図9 場所別・時間別・潮汐別にみた野鳥の生態 (木下亜季との定点観察により作成)

#### 6 おわりに

佐賀平坦地における米麦二毛作農業の進展は、「乾田 化」農業の象徴であり、同時に環境負荷の大きな農業 の象徴でもある。米麦の不振から、干潟漁撈を伴う複 合的生業は、海苔養殖業への特化へと展開してきた。

かかる生業の単純化と景観のモノカルチャーは、減 反に伴うレンコン栽培の拡大によって、その多様性を 回復しつつあるともみなされる。環境保全型農業や野 鳥の生息環境を保全することを意図した「冬季湛水田 (冬水たんぼ)」は、ここ有明干拓地においては、結果 的にレンコン栽培の拡大によるレンコン堀がその機能 を担っている。

冬季湛水田を目的とせずに、結果としてその機能を 担っている事実は、複合的な文化的景観や湿地の保全 を考える場合に、大いに再評価されて良いであろう。 ラムサール条約登録地のような「自然保護」の観点か らではなく、生業そのものが自然を保護している事実 が注目される。レンコン栽培の持続可能性はその経営 基盤にのみあるのではなく、防鳥対策への支援体制に よっては、野鳥との共存も可能な持続的農業であると 考えられる。

単式干拓地における干潟・湿地エコトーンに、また 一つのワイズ・ユースが見出されたのである。



#### 図10 干潟―調整池-溝渠―レンコン堀の干潟・湿地エコト ーンと野鳥との関係

#### 参考文献

1) 有明干拓史編集委員会編:『有明干拓史』、九州農政局有明 干拓事務所、1969

2) 五十嵐勉:「村受干拓新田-肥前国佐賀郡川副郷における 籠と搦を事例に-」桑原公徳編『歴史景観の復元-地籍図利 用の歴史地理』、古今書院所収、184-199、1992

3) 五十嵐勉「「海面干拓における単式干拓から複式干拓への展 開過程と干潟の環境」、吉越昭久編、『人間活動と環境変化』、 古今書院所収、83-104、2001

4) 五十嵐勉:「白石平野の開発過程と複合的生業-地先干拓 の持続的性格-」、日下雅義編、『地形環境と歴史景観-自然 と人間の地理学』、古今書院所収、180-191、2004、

5)五十嵐勉:「海面干拓の展開過程と複合的生業の持続可能 性」、佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集、1、 169-172、2005

6)五十嵐勉:「蕨野の集落と棚田・文化的景観の保存と活用」、 文化庁委託事業『文化的景観「蕨野の棚田」保存活用事業報 告書』、佐賀県唐津市所収、2005

7) 五十嵐勉:「有明海・八代海沿岸域エコトーンにおける複 合的文化景観の保全(1) 一出水平野のツル越冬地における 冬季湛水田と湿地のワイズ・ユース一,」、佐賀大学有明海総 合研究プロジェクト成果報告集、2,2006

8) 五十嵐勉:「有明海・八代海沿岸域エコトーンにおける複 合的文化景観の保全(2) 一有明海北西部における海苔養殖 漁家の複合的生業—」、佐賀大学有明海総合研究プロジェクト 成果報告集、3,2007

9) 五十嵐勉:「有明海」、平岡昭利編『日本の地域変貌』、海 青社所収、2008

10) 五十嵐勉:有明海・八代海沿岸域エコトーンにおける文 化的景観の保全(3) ―調整池の機能と変容、及びその保全 をめぐって―、佐賀大学有明海総合研究プロジェクト 成果報告集、4、2008

11) 木下亜季: 佐賀県白石町の干拓地における調整池とレン コン堀の機能―干潟・湿地エコトーンにおける野鳥と農業の 関係をめぐって―、平成20年度佐賀大学農学部生物生産学科 卒業論文

12) 斎藤嘉宏:レンコン栽培の持続可能性―佐賀県白石町福 富を事例に― 、平成20年度佐賀大学農学部生物生産学科卒 業論文

(2009.3.31 受付)

#### 有明海沿岸漁民の環境利用とその認識 FISHERMEN'S ENVIRONMENTAL USE AND RECOGNITION ON THE ARIAKE SEA

#### 藤永 豪 Go FUJINAGA

#### 博士(理学) 佐賀大学准教授 文化教育学部 地域・生活文化講座(〒840-8502 佐賀市本庄町1番地)

The Ariake Sea has a huge tidal land and wide shallow sea. These area products diversified bio-resources and enables people to use for fishery. In addition, people who live in Ariake Sea coast have constructed an original and unique fishing culture such as *Mutsukake*, *Anajakoturi*, *Warasubokaki*, *Gatahaze*, *Suki*, *Oshiami*, *Machiami*, *Tanajibu*, *Takehaze* and *Genshikiami* (Drift-net) fishery. However, such a traditional fishing culture is being lost as the seaweed cultivation expands.

The purpose of this report is to clarify the characteristics of "natural environment of Ariake Sea as culture" through an analysis of fishermen's environmental use and recognition.

Key Words: Environmental Use, Environment Recognition, Place Names, Environment of Ariake Sea as Culture

#### 1. はじめに

有明海は、最大6mにもおよぶ干満差や干潮時に出現す る10,000haもの広大な干潟など、独特の自然環境を有す る。こうした特長的な自然環境は、ムツゴロウやワラス ボ、エツ、ウミタケ、メカジャ(ミドリシャミセンガ イ)、モガイ(サルボウ)、タイラギなどの有明海特有 の生物(水族資源)を育んできた。その中で、有明海沿 岸の漁民たちは、これらを基盤として、干潟・浅海域に おけるムツかけ、穴ジャコ釣り、ワラスボ掻き、ガタハ ゼ、スキ(スクイ)、押し網漁、待ち網漁、棚ジブ(四 つ手網)、沖合いでのゲンシキ網等による流し網漁、ア ンコウ網等による敷網漁など、対象魚種にあわせた多様 な漁法や技術、これに関する民俗的知識を生み出し、独 自の漁撈文化を築いてきた。

しかしながら、現在では、のり養殖への著しい特化と 有明海の環境変化による漁業資源の減少、後継者不足等 の問題から、伝統的な漁撈活動は衰退しつつある。また、 これまで漁民たちが創り上げてきた漁撈活動に関わる生 活・民俗文化も失われつつある。

そこで、本報告では、こうした有明海の漁業を取り巻 く状況を鑑み、有明海を舞台に、漁民たちが、これまで どのように生業活動を展開し、そこにどのような認識や 知恵が隠されているのか、を考察していく。言い換えれ ば、漁民たちが有明海という環境をどのように利用し、 その背後で作用する彼らの有明海に対する主体的環境認 識を分析することで、「文化としての有明海の自然環 境」の一端を解明しようとするものである。

#### 2. 漁民が使用する民俗地名

第1図には、有明海に付された民俗地名を示した。これらは、昭和40年頃に、当時の佐賀県有明水産試験場

(現・佐賀県有明水産振興センター)の職員たちが、複 数の漁民から採集した地名である。これによると、地名 は干潟域を中心に分布し、沖合いの水深の浅い部分にも 付されている。湾東部と沖に、アミアライスやタカツ、 ガンドウス、デンノツ、ニシノス、ミネノス、ノザキノ スといった、語尾に「ス」あるいは「ツ」が付く地名が 多くみられる。漁師たちは「トゥ」と発音するようだが、 この「ス」・「ツ」は、干潮の際、干潟が出現する場所 で、なかでも砂地を指している。漁民たちは引き潮で 「ス」・「ツ」が出現することを「トゥのでた」、 「トゥのでく」と表現する。また、湾奥から西部にかけ て、フクドミガタ、ナナウラガタといった末尾に「ガ タ」という語が付く場所がみられる。「ガタ」も引き潮 の際に出現する干潟だが、砂地ではなく、粒子の細かい 泥土が広がる箇所を指しているようである。さらに、湾 東部の河口域にはシオタカワジリ、ハマカワジリ、タラ カワジリ、イトキカワジリといった「カワジリ」という 語尾をもつ地名がみられる。この「カワジリ」は河口か ら延びる干潟の境界付近を指すようである。



第1図 有明海における民俗地名(昭和40年頃) (佐賀県有明水産振興センター資料をもとに作成)

このように、大まかではあるが、漁民が用いる民俗地 名から、彼らが有明海の環境を主体的に分類し、認識し ていることが理解できよう。

#### 3. 漁撈活動の中にみえる環境利用と認識

ここでは、聞き取り調査を行って得たいくつかの事例 をもとに漁民たちの環境利用とその主体的認識を探って いく。調査内容は、潮流や海底地形などの有明海の自然 環境と漁場、漁法、活動時間帯と時期、対象魚種などの 実際の漁撈活動についてである。

#### (1) 半農半漁家の事例(旧白石町)

もともと有明海沿岸では、半農半漁の複合的生業を営 む漁家が多かった。インフォーマントの78歳の男性も、 国営の干拓事業が始まる昭和25年頃まで、稲作とレンコ ン栽培を組み合わせた農業と干拓地の地先魚場でのワラ スボアやアゲマキ、ウミタケ、アサリの採捕を中心とし た干潟漁撈を生業としていた(第2図)。

第3図に、事例漁家が所属していた北明漁業協同組合 における干潟の漁業権の範囲と漁場を示した。アゲマキ は7~8月にかけて海岸から沖合い100mほどまでの干潟で、 ワラスボは、3~4月に、すでに建設されていた干拓堤防 から沖合い200m付近までの干潟で採捕された。アゲマ キ漁とワラスボ漁の際には、「ガタスキー(押板)」を



第2図 旧白石町における事例半農半漁家の生業暦 (昭和20年代初め頃)

(聞き取り調査をもとに作成)



第3図 旧白石町における事例半農半漁家の漁場 (昭和20年代初め頃)

(聞き取り調査をもとに、国土地理院昭和22年発 行、2万5千分の1地形図「鹿島」明治33年測量・昭和 16年修正を引用・加筆)



写真1 スボカキ(中尾勘悟氏撮影)

使用していた。アゲマキは、生息孔に手を突きこみ、捕 らえていたが、ワラスボは「スキカキ」と呼ばれる独特 の道具を用いていた(写真1)。スキカキは長さ70cmほ どの竹製の柄に、60cmほどの鉄製の刃がつけられた漁具 である。刃は全体的に少し反り返っており、先端は細く 尖った鉤状になっている。これを泥土中に突っ込み、鉤 の部分にワラスボを引っ掛けて捕獲した。

また、アサリは4~8月にかけて、沿岸から沖合いおよ そ1,000m付近の海域で(現在の調整池周辺)、ウミタ



**写真2** ネジボウ (佐賀県教育庁社会教育課(1962)より引用)

ケは6~8月にかけて、干拓堤防の水の出入りが頻繁な水 門付近を中心に採捕された。いずれも船で出漁していた。

ウミタケを採る際には、「ネジボウ」と呼ばれる長さ 3m50cmほどの道具が使用された(写真2)。ネジボウの 片側には、把手となる棒を、もう片側には、両端を少し 折り曲げた40cmほどの鉄製の棒が据え付けられている。 これを水深2~3メートル付近の海底に突き刺し、ウミタ ケの水管を絡ませ捕獲した。

このほか、干拓堤防から沖合い2km付近までモガイが 生息し、地先魚場では様々な魚介類が採捕されていた。

現在では、稲作とタマネギ栽培を軸とした農業ととも に、のり養殖が家計の柱となり、地先漁場での漁業は衰 退したが、15年ほど前まで、おかず捕り程度の漁撈活動 は継続して行われ、前述の魚介類のほか、ムツゴロウや ウナギ、シャッパ(シャコ)などを捕っていた。

このように、有明海沿岸では、干潟・浅海域という特 徴的な自然環境とそこに生息する水族資源を活用した伝 統的な漁撈活動やこれに関する民俗文化が存立していた。

#### (2) 定置網漁師の事例(旧東与賀町)

インフォーマントは、旧東与賀町に居住する76歳の男 性である。尋常高等小学校卒業後、漁師となった。主と して竹ハジと呼ばれる定置網漁を行い、冬季にはシバエ ビを捕っていた(第4図)。また、そのかたわら土木・ 建築業にも従事していた。

竹ハジは、干満の差が大きな有明海の特徴を利用した 漁である。干潮の際、完全な干潟にならない沖合いの水 深5~8mの海域において漏斗状に、潮流の方向に向かっ て竹を立てる(第5図・第6図)。一片は200mを超え、ハ



#### 第4図 旧東与賀町における事例竹ハジ漁家の生業暦 (昭和30年頃)

(聞き取り調査をもとに作成)



**第5図 竹ハジ** (佐賀県水産局水産振興課(1992)より引用)



第6図 有明海における竹ハジの分布(昭和40年頃) (佐賀県有明水産振興センター資料および聞き取り 調査をもとに作成)

ジの先端は400mほどひらく。反対側に網が設置され、そこに潮の干満に乗って移動する魚が入る仕組みとなって

いる。事例漁家では、1,100~1,200本の竹を使用してい たという。竹は有明海の激しい潮流に流されないよう海 底に2~3mほど差し込んでいく。ただし、底質が砂だと、 いくら深く差し込んでも、抜けてしまうため、泥土が広 がる箇所(ガタ)を選定しなければならない。そこで、 ロープの先に錘をつけた「スッタン」と呼ばれる道具を 使用した。これを海底に沈め、その感触で、海底の状況 を把握した。インフォーマントは、スッテンが「ブ ルーっとヌカッたら、ガタ」というような表現を用いて いる。同時に、沿岸域に干潟が広がり、遠浅の海域が卓 越する有明海において、漁師は移動の際、船が座礁しな いよう細心の注意を払う必要があった。事例漁家では、 干潮時に干潟ができる浅瀬を「ツノウエ」、「セッカ

(カキ)」殻が堆積している箇所を「ガンツー」と呼び、 注意していた。これもスッテンを用いて把握した。この ほか、海底が平坦なのか、傾斜地なのか、その地形も判 断することができ、沈めたロープの長さで水深も測った。

漁は、「シオドキ」と呼ばれる大潮時を狙って、およ そ10日間行われた。そのため、出漁は月に2回となる。 ちなみに小潮は「カラマ」という。実際の漁では、竹ハ ジを設置した漁場に留まり、主に昼と夜の1日2回、「タ チャーモト」と呼ばれる「満潮」から「ワイモト」と呼 ばれる「干潮」まで、潮が動く時間帯に何度も網を上げ る。このように、漁は月周性、日周性をもって行われる。 竹ハジ漁では、季節によって様々な魚が獲れる。例え

ば、4~5月にかけてはタイ、3~12月半ばまではイカゴ (3月から「ナガセ(シ)」と呼ばれる梅雨まで春イカ ゴ、ナガセ(シ)から9月まで夏イカゴ、9~10月半ばま で秋イカゴ、10月半ば~12月半ばまで冬イカゴ)、「ナ ガセ(シ)があがった(梅雨明け)」後、8月までマナ ガツオ、8月一杯がアジとサバ、8~9月はススキ(スズ キ)、9~10月はシバエビ、9~11月(12月)はタチ(タ チウオ)、9~12月はグチ(キダイのことか)が獲れた。 このほか、ハダラやヒラメなども1年を通して網にか かったという。

竹ハジを設置した漁場の比定には、陸上のランドマー クを用いた「ヤマアテ」を行っていた。事例漁家は、こ のヤマアテに、昼は多良岳や雲仙岳、天山などの山、夜 は大町の杵島炭鉱や大牟田の三池炭鉱の灯りに加え、北 極星などの星を利用していた。

#### (3) 流し網漁師の事例(旧諸富町)

この事例については、すでに別稿にて発表済みである ため(藤永 2008)、本報告書では省略するが、その内 容は、シンポジウムにおいて紹介する。

#### 4. おわりに

本報告では、有明海沿岸の漁民の環境利用とその認識

について、いくつかの事例をとおして考察した。漁民た ちは生活の舞台としての有明海の自然環境を、主体的に 認識し、利用してきた。彼らは干満の差や干潟、潮流、 生息する生物とその習性等について、豊かな経験と知識 を蓄積し、それらを実際の生業活動に組み込んできた。 しかしながら、ノリ養殖が漁業の主体となり、モノカル チャー化が進行した現在では、こうした伝統的な環境利 用は衰退し、漁民の民俗知の継承も断絶しつつある。い わば、漁民の感覚の中に埋め込まれた「有明海という文 化」そのものが消滅の危機にあるといってもよいであろ う。もちろん、今日の有明海沿岸の地域社会が抱える複 雑多様な問題を考えた時、即効性のある処方箋を提示す ることはできないが、こうした地域の記憶を一つ一つ拾 い集めながら記録・保存し、漁民の生活に基づく持続的 な有明海の環境利用と発展の方向性を探っていく必要が ある。

#### 参考文献

- 浅野久枝(1984):東京都三宅島における地形を主とした民俗分類体系. 地理学評論, 57, 519 536.
- 有明干拓史編集委員会編(1969):『有明干拓史』九州 農政局有明干拓建設事務所.
- 五十嵐勉(2007): 有明海・八代海沿岸域エコトーンに おける文化的景観の保存(2) — 有明海北西部におけ る海苔養殖魚家の複合的生業—. 佐賀大学有明海総合 研究プロジェクト成果報告集, 3, 185 - 190.
- 斉藤 毅・関 信夫 (1980) : 「山たて」にみられる環 境と知覚空間. 地理, 25 (11), 47 - 54.
- 佐賀県教育庁社会教育課(1962):『佐賀県文化財調査 報告書第十一集 有明海の漁撈習俗』佐賀県教育委員 会.
- 佐賀県水産局水産振興課(1992): 『沿岸漁場総合整備 開発基礎調査報告書 沿岸海域環境マップ 基本図』 佐賀県水産局水産振興課.

白石町史編纂委員会編(1974):『白石町史』白石町.

- 武田 淳・五十嵐勉・趙 慶萬・李 應詰(1998):干 潟の水族資源(第1報)有明海における伝統的採捕技 術と多様性. 佐賀大学農学部彙報,83,79-98.
- 中尾勘悟(1989):『有明海の漁』葦書房.
- 藤永 豪(2008): 有明海における漁民の環境認識一地 名と流し網漁師の事例から一. 佐賀大学文化教育学部 研究論文集,13(1),475-485.
- 堀 信行(1980): 奄美諸島における現成サンゴ礁の微 地形構成と民族分類.人類科学, 32, 187-224.
- 増渕友美(2004):一本釣り漁師の空間認識と漁場利用一北茨城市大津港を事例に一.茨城地理,5,1-19.
- 山下宗利(2005): 有明海におけるのり養殖協業化の進 展. 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト成果報告集, 1,41-48.

(2009.3.31受付)

【連絡先】 佐賀大学有明海総合研究プロジェクト Ariake Sea Research Project, Saga University 〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1番地 Phone/Fax:0952-28-8846 URL:http://www.ariake.civil.saga-u.ac.jp/index.html



http://www.ariake.civil.saga-u.ac.jp/index.html