

## II-2. 環境生物への影響調査法

### 2.1 プランクトン

#### 1) 調査の目的

プランクトンは光合成により独自に栄養を賄う植物プランクトンとこの植物プランクトンを摂食する動物プランクトンから構成される。植物プランクトンの増殖の促進・抑制作用に対する重油の影響は実験的に明らかにされており(緒方他, 1983; 岡市, 1976), その結果, 動物プランクトンの分布や生態にもその間接的影響が現れるかも知れない。

プランクトンは異なる生態を示す多くの種によって成り立っているため, その時空間的分布特性を明らかにするためには, まず全体としての出現量(植物プランクトン:細胞数およびクロロフィル *a* 量, 動物プランクトン:個体数および湿重量或いは乾重量)の他に, 種組成を調べるのが基本的に重要である。プランクトンを群集として捉え, その質的变化を種多様度指数(Shannon and Weaver, 1963 など)によって把握することも試みられている。次に, 主要グループ中の優占種の季節変化や水平・鉛直分布などを調べ, 種特性についての詳細な情報を得ることが必要である。

これらのプランクトン調査結果と環境要因(水温・塩分・油分濃度など)との対応関係の解析, 更に当該調査水域或いは隣接水域における既往資料との比較・検討に基づき, プランクトン食物連鎖を通して生態系に及ぼす重油影響評価を行うための基礎的知見を得ることができる。

#### 2) 調査方法

##### (1) 調査水域

海洋の物理的条件(特に, 流向・流速), 風向・風速などの気象条件および地形的諸条件を勘案し, 重油流出源からその影響(例えば, 多量の油塊の漂流・漂着)がみられた水域までを対象とする。

##### (2) 調査定点

広域にわたる重油拡散域においては(広域調査), 沿岸から沖合にかけての調査ラインに複数の定点を設ける。定点の設定は河川水の影響など環境条件の変化が著しい沿岸ほど密にする。また, 重油流出発生源を中心とした比較的狭い水域においては(重油漏出水域調査), 油膜帯を基準にしてグリッド状或いは放射状の調査ラインにできる限り多くの定点を設ける。対照点は重油流出源より上流に位置し, かつ油塊の漂流・漂着が目視により確認されなかった非影響域に設ける。一例として, 1997年1月日本海で発生したロシア・タンカー“ナホトカ号”

沈没事故に伴う重油流出影響調査(平川他, 1999)における調査定点図(図 II.2.1)を示す。

##### (3) 調査時刻

植物プランクトンは昼夜を通して有光層(透明度の約3倍)以浅に豊富に分布するため, 採集は時刻に制約されず比較的容易である。他方, 動物プランクトンは表層だけでなく深層にまで分布する種を含み, しかも種によっては昼間は深層に下降・滞留し, 夜間には表層に浮上し活発に植物プランクトンを摂食することが知られている(服部, 1989参照)。そのため, 動物プランクトンに対する植物プランクトンを介しての重油の間接的影響だけでなく, 夜間表層における摂食活動に伴う油粒子の取り込み(図 II.2.2)による直接的影響を調査するには, 動物プランクトン採集は夜間, 特に日没直後から真夜中にかけて効果的である。

##### (4) 採集方法:

###### ① 植物プランクトン

###### a. 採集器具

表面採水はバケツ, 表面以深の採水はバンドン或いはニスキン採水器を使用する。

###### b. 採水深度

全定点で表面(0 m), 代表的定点(重油流出源および対照点)では表面以外に, 夏季の成層期における重油の滞留層を調べるため, 密度躍層(上・中・下部)付近とそれ以深で採水する。

###### c. 採水量

1~2 l を採取する。そのうち, 0.5~1 l を種査定用に, 200~500 ml をクロロフィル *a* 量測定用に供する。残りは容器洗浄用に使用する。

###### d. 種査定用固定液

試料はホルマリンに溶解しやすい無殻鞭毛藻類を含むため, 試水 500 ml に対して 20 ml のグルタルアルデヒド(最終濃度 2%)を直ちに船上で加え, 冷蔵所に保存する。

###### e. クロロフィル *a* 量測定用ろ過

蛍光法測定のための試料は, 試水(50~200 ml)を船上でワットマン(GF/F)ろ紙(直径:25 mm)により約1/5気圧でろ過し, そのろ紙を直ちに溶媒(90%アセトンあるいは N,N-ジメチルフォルムアミド)に浸け色素を抽出する。N,N-ジメチルフォルムアミドはアセトンと比較し抽出力が高く, 暗所常温静置で1時間, 冷蔵では半日でクロロフィル *a* は100%抽出される。ろ過後すぐ抽出できない場合は, 吸湿性紙ろ紙(トローロー紙)に挟み(トローロー紙には採水月日, 深度, ろ過水量を記入), 更にアルミホイルに包み, 約-20°Cで凍結保存

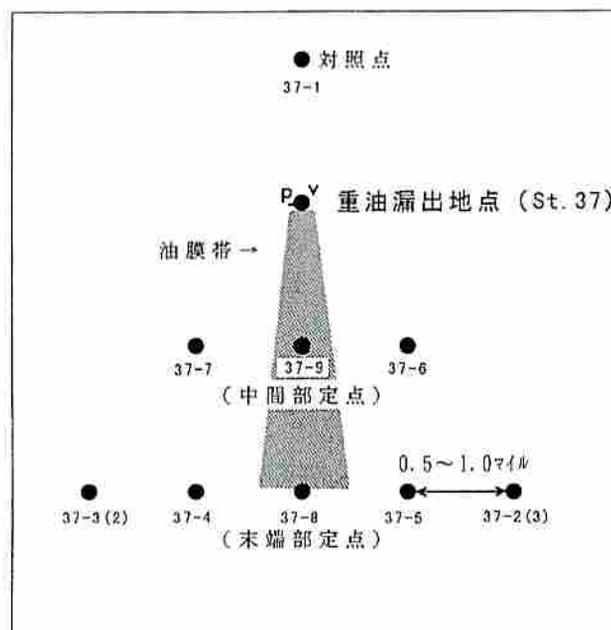
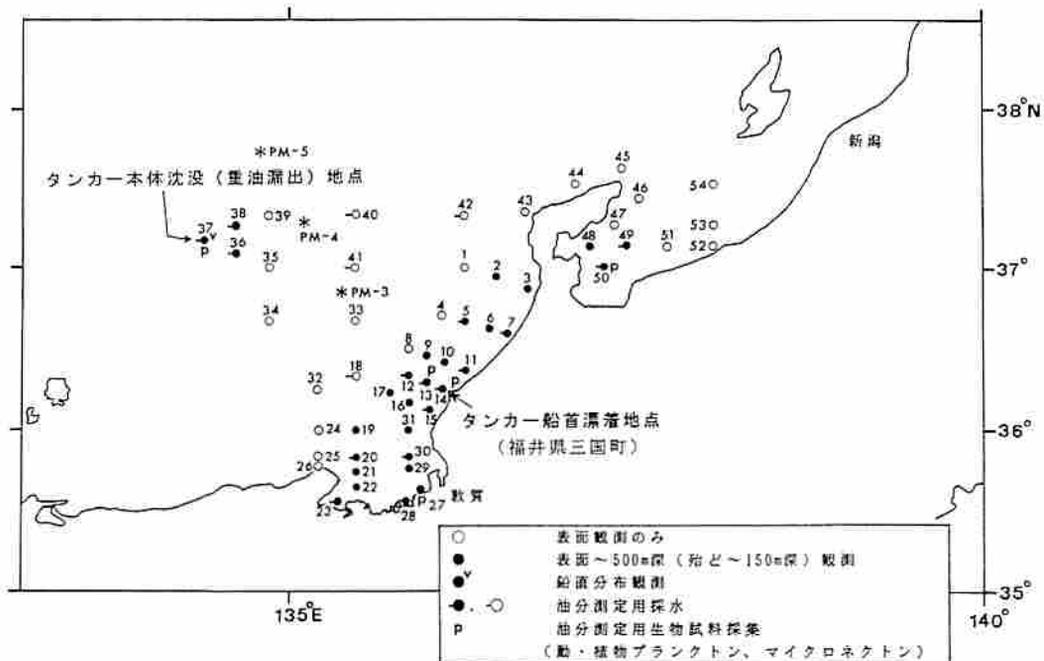


図 II.2.1 1997年5～8月までの“第38級喜丸”による調査定点図（上：広域調査，下：重油漏出水域調査）。PM-3～5：舞鶴海洋気象台定期海洋観測定点。油膜帯の幅（約100m）に比べて、その長さは数100m～約20kmの範囲で著しく変動するようである。

（低温であるほど望ましいが、適切な設備がない場合は冷蔵庫の冷凍庫でも可）する。

② 動物プランクトン

平成2年度の水産業関係試験研究推進会議において「調査器具及び調査方法の標準化作業委員会」が設置され、その活動の一環として平成3年度の同推進会議において「プランクトン採集法標準化作業部会」及び「浮魚類卵稚仔採集器具標準化作業部会」の設置が了承された。

本調査指針の策定においては、平成4年1月に開催された当該作業部会の討議をもとに作成された「プランクトン採集法標準化作業部会報告書」（中央水産研究所水産研究官 1994）及び「動物プランクトン生態研究法」（大森・池田、1976）を主として参考にした。

a. ネットの種類

現在、或いは最近まで水研・水試関係で一般に使われてきた動物プランクトン採集用ネットのうち、代表的4

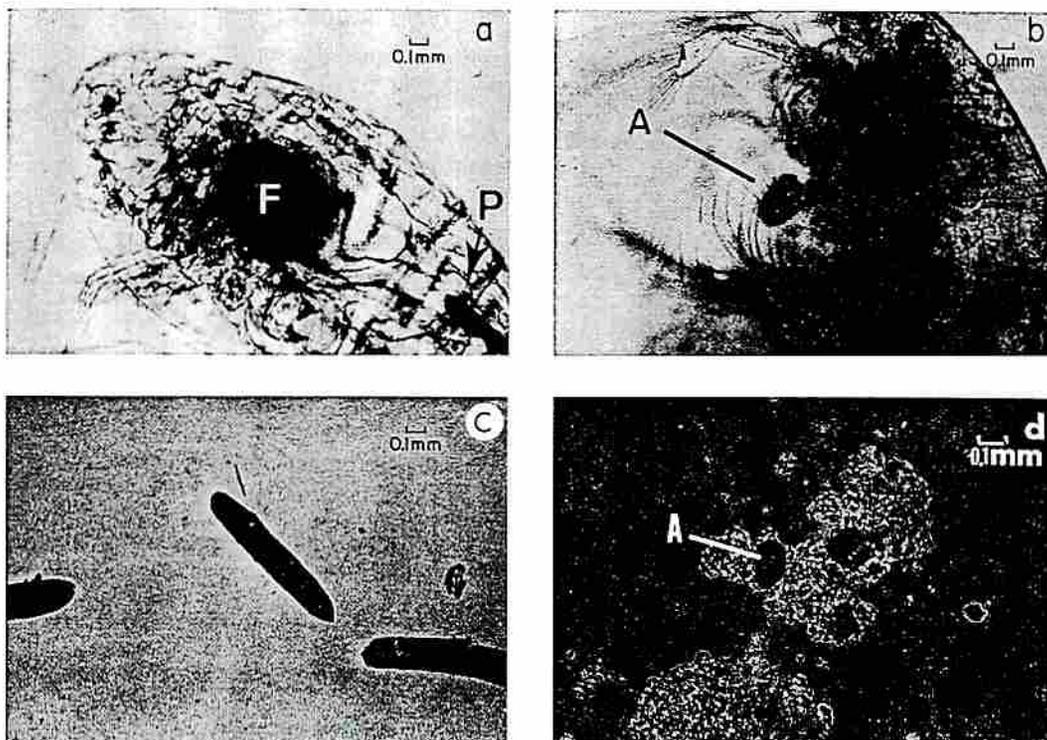


図 II.2.2 カイアシ類 *Temora longicornis* の摂餌と糞粒 (Conover, 1971). a. 消化管内の食物塊 (F) と糞粒 (P), b. 口部付属肢 (第一下顎) によって捕捉された油粒子 (A), c. 代表的な糞粒, d. 糞粒中の油粒子 (A)

表 II.2.1 鉛直曳網に使用されているプランクトンネット4種の比較 (森 1992)

ネット呼称	マル特 B 型	マル中 B' 型	ノルバック (NORPAC)	改良型ノルバック (LNP)
網口内径 (cm)	45	60	45	45
網口面積 (m <sup>2</sup> )	0.159	0.28	0.159	0.159
濾水部網地	NGG 54	NGG 54	NIP 60	NYTAL 52GG
網目幅 (mm)	0.33	0.33	0.33×0.36	0.335
開孔率 (porosity)	0.46	0.45	0.46	0.46
円筒部側長 (cm)	0	0	0	65
円錐部側長 (cm)	80	150	180	130
開口比 (OAR)	1.7	2.4	3.7	5.12
出典	Nakai 1962	Nakai 1962	元田 1957	元田 1974 森 1989

種 (マル特 B 型ネット, マル中 B' 型ネット, ノルバックネット及び改良型ノルバックネット) の仕様を表 II.2.1 に示した。当該作業部会において動物プランクトン採集法の標準化についてネットのろ過効率から検討した結果, 開口比 (網口面積に対する濾水部総面積) が最大であり (表 II.2.1), 標準ネットとしては現在かなり普及しつつある改良型ノルバックネット (図 II.2.3) が適当であると判断された。

#### b. ネットの網目と網地

従来の動物プランクトン採集用標準ネットには網目幅 0.33 mm のネット地 (ナイロン製で網地の均一性を保持するため熱養生を施したものが最適) が広く使われて

きた。この背景には, 例えばノルバックネットが標準とされた北部北太平洋海域では, 0.33 mm の網目幅のネットで, 水柱の動物プランクトン量の大部分が採集されることが知られていたからである。しかし, 亜熱帯・熱帯域や沿岸域ではこの 0.33 mm の網目を通過する小型プランクトン (大きさ: 20~200 μm) が多量に出現するため, これらを採集することのできるより網目の小さなネット地 (例えば, 0.10 mm) を使用することが望ましい。

#### c. コッド・エンド (底管)

底管は, ネットに入った試料を損傷せずに迅速に集めることが必要である。そのため, 試料を標本瓶に入れる手間を省き, ネット末端部に直接 500 ml ボリ瓶 (通常

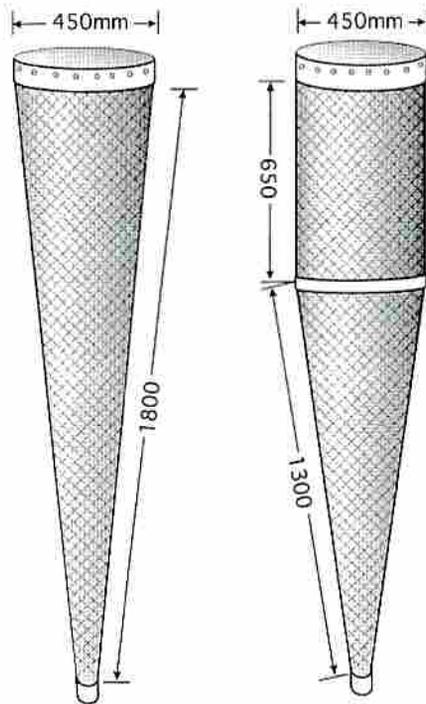


図 11.2.3 ノルバックネット (左) 及び改良型ノルバックネット (右) の形態の比較

この容量の標本瓶を使用)を装着できるように工夫(ネジ込み式など)する。

#### d. 曳網方法

重油の分布特性からみれば、海表面水平曳きが妥当であるみなされるが、油粒子や油塊を多量に採取する場合があります。ネットが油まみれになったり、試料の処理などに著しい支障が生じる。また、従来から、標準採集深度として0(海面)~150m(150m以浅の場合は海底近く)が広く採用されており、既往の知見(バックグランド・データ)との量的比較を可能にする上でも鉛直曳きを勧める。この鉛直曳きの深度は、北部北太平洋では0~150m層の動物プランクトン量が、ほぼ全水柱当たりの量に近い値であるという経験的な知見に基づく。しかし、この深度は亜熱帯域にあたる黒潮域ではもっと深くする必要がある。したがって、統一的な採集深度を設定すれば、寒帯・亜寒帯域では0~150m、亜熱帯・熱帯域では0~200mとすることが望ましい。鉛直曳きは停船しネットを所定の深度におろし、時間を置かず直ちに一定の速度(通常1m/秒)で上方に曳く。ネット吊索に取り付ける錘の重量は10~15kgが適当である。

ネットの到達深度(D)は傾角板を用いて測ったワイヤーの鉛直線に対する角度とワイヤーの繰り出し長との関係係(補正表:通常の観測野帳に掲載)から決定する。

#### e. ろ水計

ネットが実際にろ過した水量を知るためにはろ水計(フロー・メーター)を用いる。ろ水計は水流によって

回転する翼がついていて、その回転数を指針により読みとる小型の器械である。

調査航海の初めと終わりに各一回、風や潮流で船が流されない条件の良い場所(水深50m以上、傾角0度が理想的)を選んで停船し、ネットを取り除いた口輪あるいは特別に作られた枠にろ水計を取り付け(ネットの口部直径の1/3の位置で上方に口索やシャックルなどの障害物のない場所)、50m深(慣行としてワイヤー長)から実際の採集と同じ条件で鉛直曳きし、回転数を記録する。この作業を5~6回繰り返して信頼できる平均値(T)を得る。これを無網試験(calibration)という。また、実際のプランクトン採集で得た指針の読みをtとすると、ろ水率Fは近似的に次式で表示される。

$$F = t/T$$

ろ水率Fと使用したネットの口輪半径r、無網試験で伸ばしたワイヤーの長さdから、ネットがろ過した全水量V(m<sup>3</sup>)が次式から求められる。

$$V = \pi r^2 \cdot dF$$

例えば、ノルバックネットのような口径が45cmのネットでは、無網試験でのワイヤー長を50mとすると、上式は

$$V = 8(t/T)$$

となる。

#### f. 試料固定液

固定剤として広く用いられ、かつ使用を勧められるものは中性ホルマリンである。市販の良質のホルマリン(37~40%ホルムアルデヒド。10%ホルマリンは4%ホルムアルデヒドを意味する。)1lに30~40gのホウ砂(sodium tetraborate)を加え、よく攪拌して1~2ヶ月保存する。使用前にろ紙を使って沈澱物を除去し、得られた中性ホルマリンを原液とする。固定標本には一般に10%(V/V)ホルマリンが用いられるが、大型プランクトンが少なかったり、標本の量が多くなければ5%で十分である。

なお、繊毛虫類などの原生動物を含む微小動物プランクトンの種査定用試料は植物プランクトン種査定用の採水試料で兼用できるので、その固定法は前述の通りである。

#### (5) 分析・測定方法:

##### ① 植物プランクトン

##### a. 試料の濃縮

固定試料については、沈澱法(倒立顕微鏡使用或いは普通顕微鏡使用)を用いる。0.5~1lの採水試料を一昼夜静置沈澱させ、その上澄みをアスピレーターで取り除き、残った濃縮試料を100mlスクリュウ管に移す。次に、これを一昼夜静置沈澱させ、その上澄みを再度アスピレーターで取り除き、残った濃縮試料を30mlまたは

50 ml の沈澱管に移す。更に、これを一昼夜静置沈澱させ、上澄みを捨て、最終的には 5 ml または 10 ml の濃縮試料を得る。

b. 計数および種査定（普通の生物顕微鏡使用）

得られた濃縮試料中で植物プランクトンの分布が均一になるように攪拌し、マイクロピペットでそのうちの 0.1 ml を分取後、1 mm 罫線（格子状）入りスライドガラス上に滴下し、24×55 mm カバーガラスをかけて全細胞数を計数する。計数は細胞数に応じて 1 試料につき 1 (0.1 ml) ~ 4 (0.4 ml) 回行う。検鏡（査定・計数）は、基本的には 10×10 のレンズ倍率で行うが、必要に応じて高倍率（10×40）にする。細胞密度は単位海水（普通 1 l あるいは 1 ml）に含まれる細胞数で表示する。

海産植物プランクトンの代表的な種査定書として、山路（1984）、福代他（1990）及び千原・村野（1997）が挙げられる。

c. クロロフィル a 濃度測定法（古谷，1996参照）

クロロフィル a に青色光を照射すると赤色蛍光を発する。一定の励起光量のもとでは蛍光強度とクロロフィル量が比例することから、クロロフィルを測定するのが蛍光法の原理である。クロロフィル抽出液に酸を添加するとクロロフィルから Mg がはずれてフェオフィチンとなり、蛍光強度が弱くなることを利用して、蛍光法では酸添加の前後の蛍光強度の変化から、クロロフィル a とフェオ色素（フェオフィチン a + フェオフォルバイト a）を分別測定する。

以下に、一般的に広く使われているクロロフィル測定用標準光学キット（光源：GE ブルーランプ F4T 或いは白色昼光ランプ F4T5D、励起光フィルター：CS.5-60、蛍光側フィルター：CS.2-64）を組み込んだターナー（デザイン）蛍光光度計を用いた測定法を中心に概説する。

測定に際して予め、使用する感度のブランク（溶媒のみ）を測定する。各感度それぞれについて計る。次に、色素抽出液の蛍光強度を測定する。冷蔵抽出液は、そのまま測定するとキュベットが結露するので暗所で室温に戻してから測定する。抽出液をキュベットに入れて蛍光光度（Fo）を読む。次に、5%（v/v）塩酸を 1 滴加え、30秒ほどしてから、再び蛍光光度（Fa）を読む。両読み取り値から、

$$\begin{aligned} \text{クロロフィル } a (\mu\text{g/l}) &= t_i \cdot (F_o - F_a) \cdot v \\ \text{フェオ色素 } (\mu\text{g/l}) &= t_i \cdot (R \cdot F_{a'} - F_o') \cdot v \end{aligned}$$

となる。Fo, Fa は同じ感度段階で読む。ここで Fo', Fa' はそれぞれ Fo, Fa からブランクを差し引いた値、ti は感度 i における換算計数であり、後に述べる校正によって求める。R は精製したクロロフィル a について酸を添加する前と後の蛍光光度の比、v はスケーリングファクター

であり、抽出液の色素濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）を海水からの濃縮率で割って海水中の濃度（ $\mu\text{g/l}$ ）に補正するものである。

汎用の分光蛍光光度計では、機器が安定したら、測定を開始する前に、既知濃度の蛍光物質標準液を測定して、蛍光度の読みが予め設定した値になるように調整する。標準液としてはフルオレセインナトリウム 100 mg/l を原液として、測定時に 100 倍に希釈する。

d. 蛍光光度計の校正

・暗所に凍結保存したクロロフィル a（和光純薬または Sigma 製）のごく少量（微粉程度）を 6 ml の溶媒（90%アセトンあるいは DMF）に溶かす。これをクロロフィル a 原液とする。

・このクロロフィル a 原液を吸光度が 0.03~0.05 (/cm) 程度になるように希釈した後、3 倍希釈シリーズを蛍光光度計の感度段階数より少し多めに作る。

・希釈液についてターナー蛍光光度計で蛍光強度 (Fo) を測定し、これに 5% (v/v) 塩酸 1 滴滴下して、クロロフィル a をフェオフィチン a に変えて、再び蛍光強度 (Fa) を読みとる。このとき Fo と Fa は同じ感度段階で読みとる。

・同様に、各希釈シリーズの Fo と Fa を読み取ることにより、すべての感度段階での測定が行われることになる。ある感度 i での係数 ti は、次式から得られる。

$$\begin{aligned} \text{測定した希釈段階でのクロロフィル } a \text{ 濃度 } (\mu\text{g/ml}) \\ = (F_o - F_a) \cdot t_i \end{aligned}$$

・ti は光源の消耗などによって経時的に変化する。その程度は使用時間や環境に依存する。このため定期的な校正をする必要がある。

② 動物プランクトン

a. 計数および種査定

試料を陸上実験室に持ち帰り、大型の動物プランクトン（体長：約 2 mm 以上）は全試料（1/1）から肉眼で各グループに選別・計数し、残りは小型動物プランクトン（体長：約 2 mm 以下）としてフォルサム型プランクトン標本分割器（図 II.2.4 上）や兩型プランクトン標本分割器（図 II.2.4 下）で等分割（1/2~1/8）した後、それらを双眼実体顕微鏡下で類別（一部種査定を含む）・計数する。または、等分割された副試料（サブサンプル）からある一定量の試料を口太の駒込ピペットで十分に攪乱しながら無作為に抽出し、それら動物プランクトン、特にカイアシ類などの主要グループを対象にし、生物顕微鏡を用いて種レベルでの査定・計数（総個体数で 200~300 個体を目安）を行う。

海産動物プランクトンの代表的な種査定書として、山路（1984）及び千原・村野（1997）を推薦する。

b. 現存量の測定

沈澱量、排水量、湿重量、乾燥重量及び炭素量などで

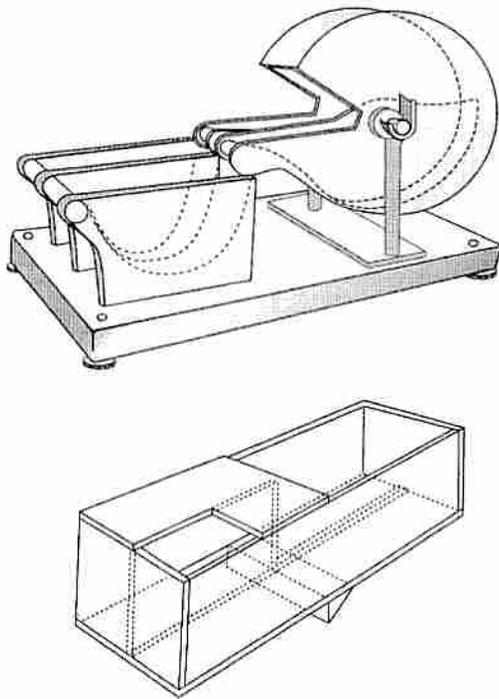


図 11.2.4 動物プランクトン標本分割器。上：フォルサム型 (McEwen et al. 1954)。下：兩型 (元田 1962)

表示されるが、これらのうち、現在最も広く採用されている湿重量の測定方法について述べる。

プランクトンの体表面に付着する水分をできるだけ少なくして重量を測る方法である。プランクトン全体の湿重量を丸ごと測定する場合は、まず排水用ピベット (口部にプランクトンネット用網地を張ったものが望ましい) で標本瓶の中の上澄みを取り除いた後、試料をろ過装置に入れ残りの水を取る。次に、プランクトン全部を竹べらやピンセットで集めて塊を作り、吸湿性紙ろ紙 (トローヨール紙) に移す。しばらく放置してから別のろ紙に移し、プランクトンの塊を転がしても、水がろ紙ににじまなくなるまで除水操作を続ける。除水を急ぐため、プランクトンをヘラなどで圧縮してはならない。簡便法 (主に 1 試料の量が少ない場合) としてはプランクトンネット用網地 (網目: 0.06~0.10 mm) に標本をのせ、吸取紙を下から密着させて体内水以外の水分を吸い取る。個々にソートされた各グループの湿重量も簡便法により測定する。除水の完了した標本を予め重量を測定してある風袋 (小型シャーレ、秤量瓶、プランクトンネット用網地) に移し、0.01~0.001 g の精度で電子天秤などを用いて湿重量を秤量する。測定値は、海水 1 m<sup>3</sup> の値に換算し、通常 mg/m<sup>3</sup> (個体数の場合: 個体 / m<sup>3</sup>) を単位として表示する。

## 引用文献

千原光雄・村野正昭 (編), 1997. 日本海洋プランクトン検査

- 図説, 東海大学出版会, 東京, 1574 pp.
- 中央水産研究所水産研究官, 1994. プランクトン採集法標準化作業部会報告書. 水産業関係試験研究推進会議, 調査器具及び調査方法の標準化作業委員会, プランクトン採集法標準化作業部会, 中央水産研究所, 横浜, 50 pp.
- Conover, R. J., 1971. Some relations between zooplankton and bunker C oil in Chedabucto Bay following the wreck of the tanker Arrow. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **28**, 1327-1330.
- 福代康夫・高野秀昭・千原光雄・松岡教充 (編), 1990. 日本の赤潮生物一写真と解説一, 内田老鶴圃, 東京, 430 pp.
- 占谷 研, 1996. 蛍光法によるクロロフィル a の測定. 校正・検証のためのトランスデータ取得マニュアル, *NASDA/EORC OCTS Technical Memorandum*, **3**, 10-16.
- 服部 寛, 1989. カイアシ類の日周鉛直移動. 「生物海洋学—低次食段階論—」(西澤 敏編), 西澤 敏教授退官記念事業会, 仙台, pp. 73-94.
- 平川和正・井口直樹・平井光行, 1999. 重油影響調査. 1. プランクトンの分布状況. 平成 9 年度北洋海域生物資源調査事業海洋廃棄物生物影響調査「重油による海洋汚染の日本海沖合域の生態系への影響の把握と評価」成果報告書, 水産庁日本海区水産研究所・中央水産研究所, pp. 3-7.
- McEwen, G. F., M. W. Johnson and T. R. Folsom, 1954. A statistical analysis of the performance of the Folsom plankton splitter based upon test observations. *Arch. Meteorol. Geophys. Bioklimatol.*, **A**, **7**, 502-527.
- 森 慶一郎, 1989. イワシ類等を主対象とする卵・稚仔調査結果の一括とりまとめ・公表および採集方法の統一に関する提案. 1988年漁業資源研究会議, 浮魚・環境合同部会会議報告, pp. 80-89.
- 森 慶一郎, 1992. 小口径ネットによる鉛直曳網, 浮魚類卵・稚仔調査マニュアル, 水産業関係試験研究推進会議, 調査器具及び調査方法の標準化作業委員会, 浮魚類卵稚仔採集器具標準化作業部会, 中央水産研究所, 横浜, pp. 8-14.
- 元田 茂, 1957. 北太平洋標準プランクトンネットについて. 日本プランクトン研究連絡会報, **4**, 13-15.
- 元田 茂, 1962. 国際インド洋調査生物関係使用器具調査方法. 日本案, 日本プランクトン研究連絡会報, **8**, 40-53.
- 元田 茂, 1974. プランクトンの採集. 「海洋プランクトン」(丸茂隆三編), 海洋学講座(10), 東京大学出版会, 東京, pp. 191-225.
- Nakai, Z., 1962. Apparatus for collecting macroplankton in the spawning surveys of iwashi (Sardine, anchovy and round herring) and others. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **9**, 221-237.
- 緒方正名・三宅与志雄・長谷川京, 1983. 石油成分の海洋生態系への影響. 「海の環境科学」(平野敏行編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 476-483.
- 岡市友利, 1976. プランクトン. 水産学シリーズ16, 石油汚染と水産生物, 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 77-92.
- 大森 信・池田 勉, 1976. 動物プランクトン生態研究法. 共立出版, 東京, 229 pp.
- Shannon, C. E. and W. Weaver, 1963. *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana, 117 pp.
- 山路 勇, 1984. 日本海洋プランクトン図鑑, 第 3 版, 保育社, 大阪, 537 pp.

<平川 和正>

## 2.2 付着生物

### 1) 付着生物への影響

潮間帯を中心とした転石、岩礁、護岸域には、多様な付着生物が生息している。油が沿岸域に漂着した場合、それらの生物は油の被覆や毒性によって大きな影響を受ける可能性がある。

水島、エクソン・バルディーズ号、ナホトカ号等の油流出事故関連資料（水産学シリーズ16 石油汚染と水産生物（1976）、Proceedings of the Exxon Valdez Oil Spill Symposium（1996）、矢島（1997）、「ナホトカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書（1998））から、これらの生物に対する油汚染の影響を整理してみると、以下のようになる。

- ①石油成分や油処理剤成分の生物体内への取り込みと蓄積
- ②油臭
- ③体表への油の付着
- ④付着力の低下によるカサガイ類、アワビ類等の脱落
- ⑤ウニ類の脱棘、死亡
- ⑥油の被覆によるフジツボ類等の死亡
- ⑦海藻類の変色や脱色
- ⑧潮間帯生物群集の変化

①～③は対象生物が油に暴露されたかどうかの判定、④～⑦は生物への影響、⑧は総合的な結果としての生物群集への影響である。⑧に関しては、例えば、エクソン・バルディーズ号事故の場合、カサガイ類、タマキビ類（巻貝類の仲間）、イガイ類、フジツボ類、ヒバマタ類（褐藻類の仲間）の減少が認められている。

また、一般的な傾向としては、①油汚染に対して、潮下帯生物は潮間帯生物より、幼生は成体より、そしてウニなどの棘皮動物は他の生物よりそれぞれ弱い傾向があること、②生物被害は油の影響を受けやすい潮間帯で大きく、潮下帯に及ぶことはまずないこと、③甚大な生物被害は芳香族成分比が高く、毒性の強いディーゼル油等が閉鎖的な海域に流出した場合に起こること、④原油や重油の流出事故の場合は、油の毒性より油による被覆や油除去作業に伴う生物被害の方が大きいことなども分かってきた（水産学シリーズ16 石油汚染と水産生物（1976））。

以上のことを踏まえ、ここでは油汚染の生物影響を如何に検出するかに主眼をおいて記述した。

### 2) 影響調査法

#### (1) 調査項目と方法

①現場の写真撮影、②石油及び油処理剤分析用生物試料の採取、③生物の油臭の有無、④生物への油の付着の有無、⑤カサガイ類等の付着力検査、⑥ウニ類の脱棘の

有無、⑦海藻の変色や形状異常の有無、⑧生物群集調査、⑨環境中の油残留レベル、の各調査を実施する。

いずれの場合も、調査日時、目印となる調査基準点、調査地点、試料採取地点等を野帳に記録しておく。わかりにくい場合は、後の混乱を防ぐため、ペンキの塗布や釘の打ち込みなどによる印を付けておく。また、生物の種名は極力記載する。種名が分からない場合は、標本として採取し、後から図鑑等で調べるか、専門家の鑑定を仰ぐ。

具体的な調査方法は、以下の通りである。

#### ① 現場の写真撮影

概観撮影と接写撮影を行う。概観撮影は通常のカメラでいい。干潮時に、調査域全体の写真を撮っておく。また、接写撮影は接写用のカメラを用い、潮上帯～潮間帯のいくつかの潮位で、それぞれ複数の写真を撮っておく。最近は取り扱いが非常に簡単で、10 cm 程度までの接写が可能なカメラが安く手に入る。15～20 cm の距離から撮れば、多くの生物は後から同定できる。性能はやや劣るが、使い捨ての接写用カメラもあり、40 cm 程度までの撮影が可能である。接写の際、被写体のサイズが分かるように、物差しや既知の長さのものを一緒に写し込んでおくと後から役に立つ。

#### ② 石油及び油処理剤分析用生物試料の採取

ムラサキイガイ、カキ等の付着性二枚貝など、容易に見つかり、かつある程度の量が採集可能な比較的大型の生物を採取する。採取量は1種当たり数十g（二枚貝ではむき身重量として）は欲しい。ムラサキイガイなら殻長3 cm のもので10～20個あれば、複数回の分析が可能である。二枚貝の場合は、採集後約3%の塩水中に1昼夜放置し、消化管内を空にし、水道水で殻を洗った後、水をふき取り、種類別にビニール袋に入れ、冷蔵庫で冷凍保存する。貝以外は、採集後水道水でさっと洗って水を拭き取り、以下二枚貝類と同様に保存する。採集場所、日時等をラベルに記載し、試料と一緒にビニール袋に入れておく。

なお、具体的な分析方法や分析対象物質については、II.6.2 流出油成分の分析法を参照のこと。

#### ③ 生物の油臭の有無

現場でムラサキイガイ、カキ等の油臭の有無を調べる。油漂着後は、現場での油臭の確認は難しいので、生物試料を持ち帰り、検査する。ただし、II.8 の油臭魚官能調査法に示した通り、厳密な検討には最低でも300 g の試料が必要である。

#### ④ 生物への油の付着の有無

貝類、フジツボ類、海藻類等について目視で付着油の有無と程度を確認する。生物を持ち帰り、70°C の湯に浸けて、油が浮き出すかどうかによって判定することもできる。この方法はナホトカ号事故の際、石川県（「ナホ

トカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書（1998）が採用している。

#### ⑤ カサガイ類等の付着力検査

現場で、殻を指で軽く前後に揺すって剥離するかどうかで判定し、剥離個体の割合を求める。種名と検査個体の状態（水中にいるのか、それとも干上がった岩の上にいるのか）を記録しておく。油漂着後は、貝が剥離した場合でも、貝の活力が落ちたためか、それとも基質面が油汚染されて付着しにくくなっているためか判断できないこともあるので、清浄なアクリル板等を持参し、貝の活力低下による剥離かどうかを確認する。具体的にはカサガイ類を板上に乗せて水中に置き、アクリル板に馴染んでから付着力を判定する。

#### ⑥ ウニ類の脱棘の有無

ウニ類の棘の脱落の有無を目視観察し、脱棘個体の割合を求める。

#### ⑦ 海藻の変色や形状異常の有無

色や形を主要な種類毎に記録する。

#### ⑧ 生物群集調査

油汚染影響把握のための付着生物群集の調査方法は、一般的な方法と何ら変わることはない。従って、ここでは極く概略を記すこととし、詳細については、生態学研究シリーズ3 海の生態学（1972）、付着生物研究法（1986）、潮間帯の生態学（1999）等の成書を参照して頂きたい。

潮上帯から潮間帯の下部にかけて、等間隔で適当数の方形枠を置き、枠内の生物を調べる。方形枠のサイズは、対象とする生物にもよるが、一般的に50×50 cm (=0.25 m<sup>2</sup>) か1×1 m (=1 m<sup>2</sup>) が扱いやすい。枠内を針金や適当なヒモで4ないし16等分しておく。

動物では枠内の個体数を種類毎に数える。個体数の多い種については枠内のいくつかの小区分内の数を数える。群体性の動物の場合は被度を記録する。主要種については、併せてサイズ測定を実施する。植物では種毎に被度を記録する。被度については%で示すか、または、たとえば5（75～100%）、4（50～75%）、3（25～50%）、2（5～25%）、1（1～5%）、+（1%以下）といった、いくつかの階級に分けて記録する。

#### ⑨ 環境中の油残留レベル

油漂着後、表 II.2.2 に従い、目視によって、転石・岩礁・護岸域の油残留レベルを記録する。

#### (2) 調査手順と影響評価

可能であれば、油流出事故発生後、油が漂着する前に、事故発生域の周辺沿岸域で、前項①～⑦の調査を実施する。時間的な余裕はほとんどないと思われるので、生物群集調査（⑧）は不可能であろう。環境中の油残留レベル（⑨）については、油漂着後に調査を開始すればいい。①～⑦の調査結果は貴重なバックグラウンドデータとな

表 II.2.2 油残留レベル

- 5：漂着油（油塊、油膜）が海面を漂い、海岸一面を覆う。
- 4：海岸に油の付着が濃く、広く認められる。
- 3：海岸に油の付着がはっきり認められる。
- 2：よく見ると海岸に斑状に油の付着が認められる。
- 1：海岸には油の付着が認められないが、少し掘ると油の滲出が認められる。  
岩礁部では凹部に油が認められる。
- 0：海岸には油の付着が認められず、少し掘っても油の滲出が認められない。

「ナホトカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書（1998）から引用

る。現場の写真撮影（①）によって油漂着前の生物相の概観が把握できる。②で油漂着前の生物体内の油汚染等のレベルを測定するための生物試料が得られる。また、油漂着前には、通常、油臭（③）、生物への油の付着（④）、カサガイ類等の基質への付着力低下（⑤）、ウニ類の脱棘（⑥）等はないと考えられるが、事前の確認をしておく。海藻の色や形状（⑦）を記録しておき、油漂着後との比較をする。

流出事故の発生海域にもよるが、調査研究機関の専門家による上記の現場周辺緊急調査が行えないことも多いと思われる。危険のない範囲で簡単な調査や試料採取をボランティアに依頼することも考慮すべきであろう。その場合には、報道機関からの調査協力依頼、調査マニュアルのボランティアへの伝達などが必要である。調査マニュアルは事前に作成し、いつでも配布出来るように準備しておく。また、予めボランティアの事前登録やその人たちに対する調査指導を行っておき、いざという時に協力を依頼することも考えられる。これまで、油流出事故の明確な影響評価がほとんどできなかった大きな理由は、適切なバックグラウンドデータがなかったことであり、この観点からみてもボランティアへの依頼は重要であろう。

油漂着後は、①～⑦に加えて、生物群集調査（⑧）、環境中の油残留レベル調査（⑨）を実施する。油汚染域と対象域（油汚染域と類似の環境を持ち油汚染を免れた海域）にそれぞれ複数の調査地点を設定し、少なくとも1年間は調査を継続する。油漂着直前の調査が実施できている場合は、それらの調査地点での調査も併せて継続する。油漂着直前と直後の比較、漂着時と1年後の比較、油漂着域と非漂着域との比較等を行い、影響を評価する。

また、過去にその海域で調査が実施されている場合には、既往調査の方法と事故後の調査方法を可能な限り一致させ、調査結果の比較を容易にすることが大切である。例えば、生物群集調査であれば、調査の場所や調査地点の潮位、方形区（コードラート）のサイズ、種同定のレベル、調査結果の表し方等を一致させる。油漂着後に既

往調査と同じ季節に実施した調査結果は、影響評価のいい指標となる。ただし、既往調査があるとしても、対照となりうるのはせいぜい数年前までの調査結果であろう。それ以前のデータは油汚染以外の要因による影響も大きくなると思われるので、対照としての使用には注意が必要である。

### 引用文献

- 梶原 武, 1986. 付着動物の調査法, 「付着生物研究法」(付着生物研究会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 141-156.  
「ナホトカ号」油流出事故現地連絡協議会, 1998. 「ナホトカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書, 542 pp.  
日本水産学会, 1976. 水産学シリーズ 16 石油汚染と水産生物, 恒星社厚生閣, 東京, 154 pp.

- 西村三郎, 1972. 海浜域における生物群集の構造と維持, 「生態学研究シリーズ 3 海の生態学」(時岡 隆・原田英司・西村三郎共著), 築地書館, 東京, pp. 204-295.  
Raffaelli, D. & S. Hawkins, 1996. *Intertidal Ecology*. Chapman & Hall. [朝倉 彰訳, 1999. 潮間帯の生態学上F, 第1刷, 文一総合出版, 東京, 上巻 311 pp., 下巻 205 pp.]  
Spies, R. B., S. D. Rice, D. A. Wolfe and B. A. Wright, 1996. The effects of the Exxon Valdez oil spill on the Alaskan coastal environment. In "Proceedings of the Exxon Valdez Oil Spill Symposium" (ed. by Rice, S. D., R. B. Spies, D. A. Wolfe and B. A. Wright), American Fisheries Society, Maryland, pp. 1-16.  
矢島孝昭, 1997. 重油漂着と潮間帯生物, 海洋科学, 29, 623-627.

<玉井 恭一>

## 2.3 底 生 物

### 1) 底生生物への影響

油が沿岸域に漂着した場合、干潟・砂浜域や潮下帯以深の砂～泥底域に生息する底生生物も、油の被覆や毒性による影響を受ける可能性がある。しかし、野外調査からこれらの生物に対する油汚染の影響を明確に示した例は少なく、特に、潮下帯の生物に対する影響に関しては、水島事故、ナホトカ号やエクソン・バルディーズ号の事故のような大事故の場合でも、明確なものはほとんどない。これは、多くの底生生物は底質中に生息しているの、岩や護岸などの基質表面に生息している付着生物よりも漂着油の影響を受けにくくまた目に触れにくいこと、比較出来る事前資料が乏しいことなどが原因として考えられる。しかし、毒性の高い多量の油が閉鎖的な海域に流出した場合には、底生生物にも大きな被害が生じるおそれがあるので、的確な影響調査を実施することが重要であると言える。

### 2) 影響調査法

#### (1) 調査項目と方法

①現場の写真撮影、②石油及び油処理剤分析用生物試料の採取、③生物の油臭の有無、④生物への油の付着の有無、⑤生物群集調査、⑥環境中の油残留レベル、の各調査を実施する。

潮間帯調査の場合は、調査日時、調査基準点（必要に応じ、調査基準点に釘を打ち込んだり、ペンキで印をつけておく）と調査基準点から調査地点や試料採取地点までの距離・方向、底質（砂、泥、砂泥等）等を野帳に記録しておく。調査基準点と日印となる他の1点を結んだ線上を歩測、または厳密には麻縄等を利用して距離を測り、調査地点や試料採取地点を決める。

潮下帯調査の場合は、調査日時、調査地点の緯・経度、水深、底質等を記録する。

生物の種名は極力記載する。種名が分からない場合は、標本として採取し、後から図鑑等で調べるか、専門家の鑑定を仰ぐ。

具体的な調査方法は、以下の通りである。

#### ① 現場の写真撮影

概観撮影を行う。干潮時に、通常のカメラを用いて、調査域全体の写真を撮る。

#### ② 石油及び油処理剤分析用生物試料の採取

アサリなど、容易に見つかり、かつある程度の量が採集可能な比較的大型の生物を採取する。採集量は1種当たり数十g（二枚貝ではむき身重量として）は欲しい。アサリなら殻長3cmのもので10～20個あれば、複数回の分析が可能である。二枚貝の場合は、採集後約3%の塩水中に1昼夜放置し、消化管内を空にし、水道水で殻

を洗った後、水をふき取り、種類別にビニール袋に入れ、冷蔵庫で冷凍保存する。貝以外は、採集後水道水でさっと洗って水を拭き取り、以下二枚貝類と同様に保存する。採集場所、日時等をラベルに記載し、試料と一緒にビニール袋に入れておく。

なお、具体的な分析方法や分析対象物質については、II.6.2 流出油成分の分析法を参照のこと。

#### ③ 生物の油臭の有無

現場でアサリ等の油臭の有無を確認し、油臭個体の割合を求める。油漂着後は、現場での油臭の確認は難しいので、生物試料を持ち帰り、検査する。ただし、II.8の油臭魚官能調査法に示した通り、厳密な検討には最低でも300gの試料が必要である。

#### ④ 生物への油の付着の有無

貝類、カニ類等について日視で付着油の有無と程度を確認し、全体に対する割合を求める。生物を持ち帰り、70°Cの湯に浸けて、油が浮き出すかどうかによって判定することもできる。この方法はナホトカ号事故の際、石川県「ナホトカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書（1998）が採用している。

#### ⑤ 生物群集調査

油汚染影響把握のための底生生物群集の調査方法は、一般的な方法と何ら変わることはない。従って、ここでは極く概略を記すこととし、詳細については、生態学研究シリーズ3 海の生態学（1972）、海洋科学基礎講座5 海藻・ベントス（1976）、海洋環境調査法（1979）、沿岸環境調査マニュアル〔底質・生物篇〕（1986）等の成書を参照して頂きたい。

潮間帯域では、潮位の異なる数地点で、32×32 cm（=0.1 m<sup>2</sup>）や50×50 cm（=0.25 m<sup>2</sup>）の方形枠を用い、枠内の生物を採集する。枠内の泥または砂をスコップで素早くすくい取ってタライに入れ、水際まで運び、1 mm 目か2 mm 目のフルイを用いて選別する。フルイ上に残ったものは全てビニール袋に入れ、約10%になるようにホルマリンを加えて固定する。袋の中には、採集日時、採集場所、底質等を記載したラベルを入れておく。持ち帰り、種に分け、湿重量、個体数、種類数を記録する。また、主要種については、併せてサイズ測定を実施する。

潮下帯以深では、エクスマンバージ採泥器（採泥面積：0.0225 m<sup>2</sup> または 0.04 m<sup>2</sup>）やスミスマッキンタイア採泥器（採泥面積：0.05 m<sup>2</sup> または 0.1 m<sup>2</sup>）を調査船から降ろして採泥し、1 mm 目のフルイで選別する。前者の場合は人の手による上げ下ろしが可能だが、後者の場合はウインチが必要である。採集泥は船上で1 mm 目のフルイを用いて選別する。以下、潮間帯の場合と同様に処理する。ただし、2.3.1) で述べたように、油汚染の影響が潮下帯以深の底生生物に及ぶことはほとんどな

いと思われるので、大事故の場合以外は、潮下帯調査を省略することも可能であろう。

#### ⑥ 環境中の油残留レベル

油漂着後、表 II.2.2 に従い、目視によって、干潟・砂浜域の油残留レベルを記録する。

#### (2) 調査手順と影響評価

可能であれば、油流出事故発生後、油が漂着する前に、事故発生域の周辺沿岸域で、前項①～④の調査を実施する。時間的な余裕はほとんどないと思われるので、生物群集調査(⑤)は不可能であろう。環境中の油残留レベル(⑥)については、油漂着後に調査を開始すればいい。①～④の調査結果は貴重なバックグラウンドデータとなる。現場の写真撮影(①)によって油漂着前の干潟・砂浜域の概観が記録される。②で油漂着前の生物体内の油汚染レベルを測定するための生物試料が得られる。また、油漂着前には、通常、油臭(③)や生物への油の付着(④)はないと考えられるが、事前の確認をしておく。

付着生物調査の項でも述べたように、油流出事故直後の調査にボランティアの協力を仰ぐことも考慮すべきであろう。

油漂着後は、①～④に加えて、生物群集調査(⑤)、環境中の油残留レベル調査(⑥)を実施する。油汚染域と対象域(油汚染域と類似の環境を持ち油汚染を免れた海域)にそれぞれ複数の調査地点を設定し、少なくとも1年間は調査を継続する。油漂着直前の調査が実施できている場合は、それらの調査地点での調査も併せて継続す

る。油漂着直前と直後の比較、漂着時と1年後の比較、油漂着域と非漂着域との比較等を行い、影響を評価する。

また、過去にその海域で調査が実施されている場合には、既往調査の方法と事故後の調査方法を可能な限り一致させ、調査結果の比較を容易にすることが大切である。油漂着後に既往調査と同じ季節に実施した調査結果は、影響評価のいい指標となる。ただし、既往調査があっても、対照となりうるのはせいぜい数年前までの調査結果であろう。それ以前のデータは油汚染以外の要因による影響も大きくなると思われるので、対照としての使用には注意が必要である。

## 引用文献

- 堀越増興, 1976. ベントス研究調査法, 「海洋科学基礎講座 5 海藻・ベントス」(元田 茂編), 東海大学出版会, 東京, pp. 173-179.
- 「ナホトカ号」油流出事故現地連絡協議会, 1998. 「ナホトカ号」重油流出事故に係る水産資源及び生態系影響調査中間報告書, 542 pp.
- 日本海洋学会, 1979. 海洋環境調査法, 恒星社厚生閣, 東京, 666 pp.
- 日本海洋学会, 1986. 沿岸環境調査マニュアル〔底質・生物篇〕, 恒星社厚生閣, 東京, 266 pp.
- 西村三郎, 1972. 海浜域における生物群集の構造と維持, 「生態学研究シリーズ 3 海の生態学」(時岡 隆・原田英司・西村三郎共著), 築地書館, 東京, pp. 204-295.

<玉井 恭一>