

# ヤマトシジミに対する貧酸素及び硫化水素の影響

管原庄吾（島根大学大学院総合理工学研究科）

清家 泰（島根大学エスチュアリー研究センター）

## 1. 宍道湖における硫化水素の挙動

### 背景・目的

宍道湖は、海水と淡水が入り混じる汽水湖である。宍道湖に海水（高塩水）が流入すると、その高塩水は湖底を這うように湖盆部まで移動し、成層化（低塩分層と高塩分層の2層構造が形成）する。この様に、密度や物質分布の大きな鉛直勾配が湖底近傍にのみ偏在するような構造を“底成層”と呼び、これは宍道湖特有の現象である（図1）。

2012年に行った宍道湖における硫化水素の平面分布調査（島根県環境政策課からの受託研究）において、宍道湖湖心の湖底直上水中から約22mgS/Lの硫化水素が検出された。また、湖心の底泥中から約140mgS/Lの硫化水素が検出されたことから、湖心の直上水から検出された硫化水素は、宍道湖湖心付近の湖底泥から溶出した可能性が極めて高い。このことから、底成層のモニタリングの重要性が見いだされた。そこで、底成層に着目し、観測を行った。

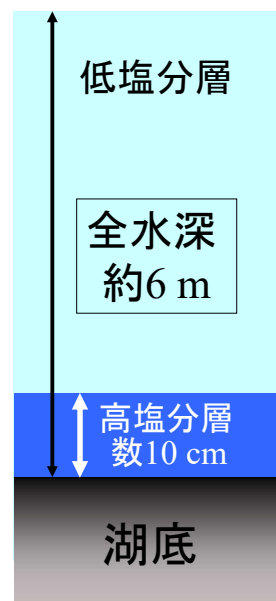


図1 底成層のイメージ図

### 結果

潜水作業によりアクリルパイプを用いて採水し、底泥から5cm層の硫化水素を測定した結果、2012年8月と2016年8月に極めて高濃度の硫化水素を検出した（図2）。しかし、同じ8月でも2014年と2015年は、硫化水素はほとんど検出されなかった（2013年8月は欠測）。

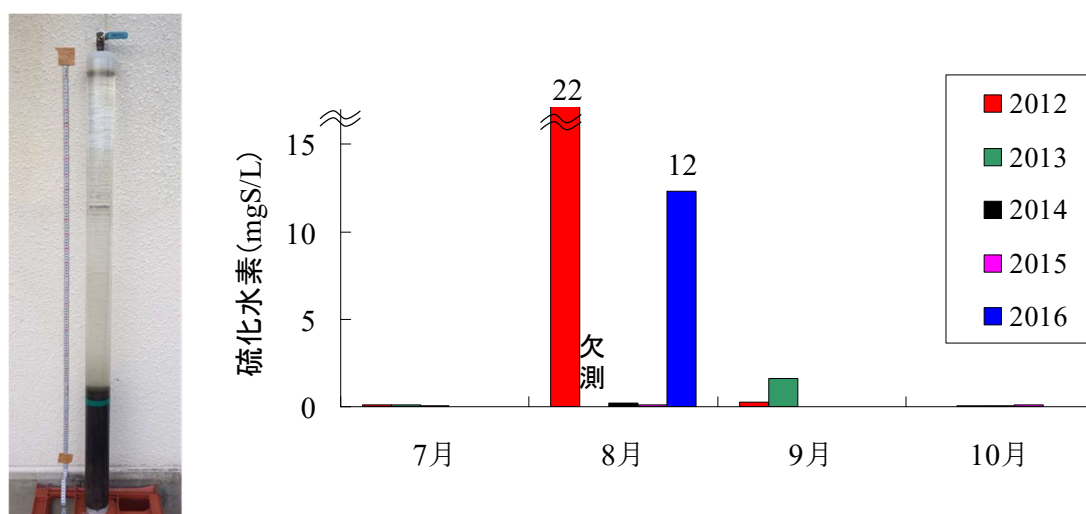


図2 アクリルパイプを用いて採水した様子（左）、2012年から2016年の7月から10月までの湖底上5cm層における硫化水素濃度の変化（右）

## 1) 底成層の発達と破壊

### 背景・目的

2週間に1回の頻度で底成層の観測を行い、底成層形成時と破壊後の水質を比較した。

### 結果

調査は、2014年7月から8月にかけて2週間に1回頻度で行った。7月24日は、湖底に近づくにつれて塩分が多少上昇していたことから、湖底付近に弱い底成層が形成していた。溶存酸素(DO)は、湖底に近づくにつれて減少したものの、湖底直上水でも60%程度あり、硫化水素はほとんど検出されなかった。8月7日は、表層と底層の塩分差が大きくなっていったことから、7月24日に比べると底成層が発達しており、湖底付近が無酸素・還元化し、硫化水素が約0.2mgS/L検出された。溶存無機態窒素(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)は、その大部分がNH<sub>4</sub><sup>+</sup>の形で存在し、湖底付近で約1000μg/L検出した。また、リン酸態リン濃度も湖底に近づくにつれて上昇し、湖底付近で約800μg/L検出した。8月21日は、底成層はみられず、湖底まで酸素が供給されていた。また、高濃度で蓄積していた栄養塩濃度も減少していた。8月7日から8月21日の間に台風11号の影響で強風が長時間観測されたことから、底成層が破壊された要因は“長時間の強風”だと考えられる。よって、底成層が破壊されると底層環境が改善されることが分かった。

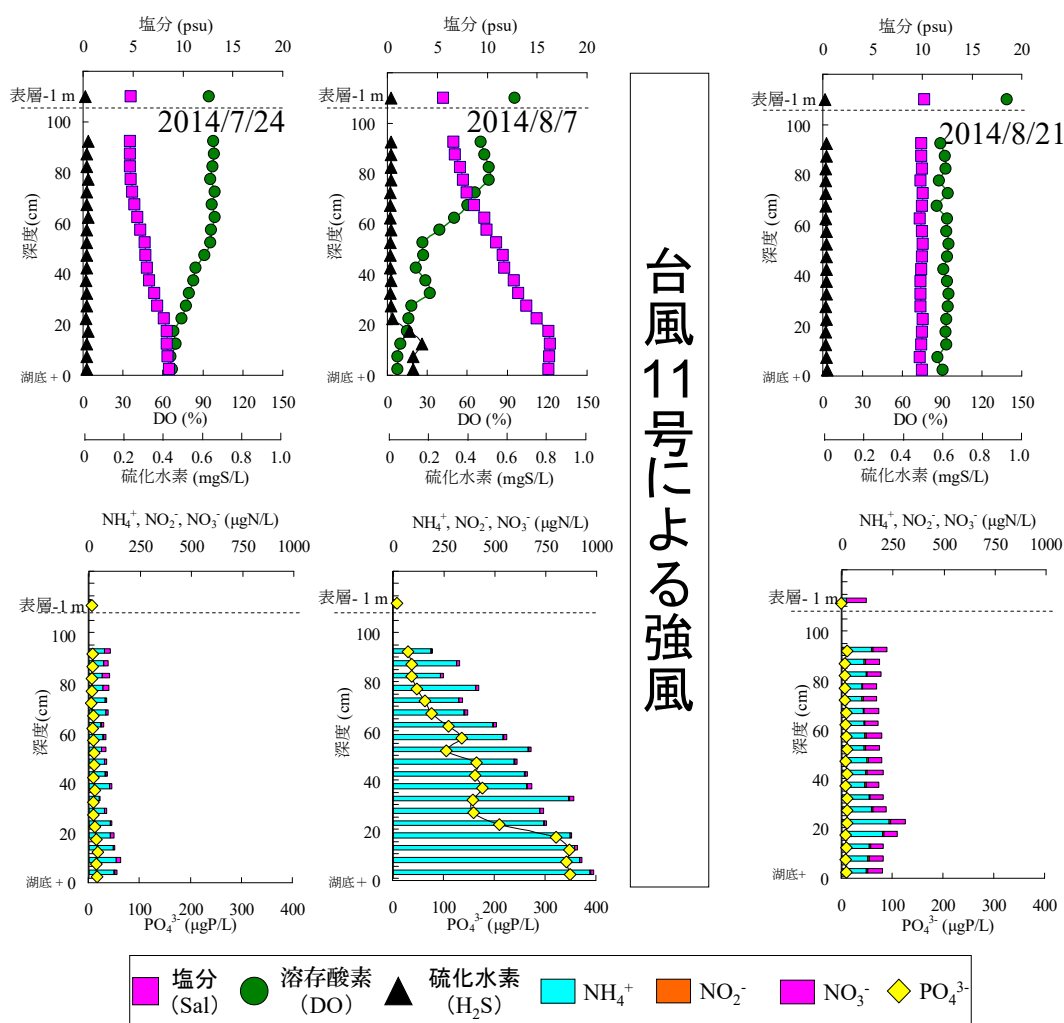


図3 塩分、溶存酸素、硫化水素及び栄養塩（窒素、リン）の鉛直分布

## 2. ヤマトシジミの殻長別硫化水素耐性

### 背景・目的

2012年9月、宍道湖の西岸において青潮が発生した。青潮とは、硫化水素を含む水塊が風等の影響で浅場に一気に湧昇する現象であり、青潮が発生すると湖面が乳白色や青白色を呈すことから“青潮”と呼ばれている。このときの青潮の原因となった硫化水素は、2012年8月に宍道湖湖心で観測された硫化水素である可能性が極めて高いことから（図2参照）、この青潮によって、ヤマトシジミが一時的に高濃度の硫化水素に曝された可能性がある。そこで、室内実験において殻長別硫化水素耐性実験を行った。

※硫化水素耐性試験に用いる試験水の調整方法と硫化水素耐性試験の方法を独自に開発し、その方法を用いて殻長別硫化水素耐性試験を行った（図4）。



図4 硫化水素耐性試験の様子

### 実験方法

殻長は1-2mm, 6.5mm, 10mm 及び20mm のシジミ 5 個体をガラスシリンジに入れ、試験水（塩分 5psu, 25°C, 有酸素区, 貧酸素区 (DO<20%), 硫化水素 10mgS/L 区, 硫化水素 30mgS/L 区, 最終 pH を 7 又は 8 に調整) を入れて密栓した (n=5)。毎日新しい試験水に交換し、実験期間は最長 14 日間とした。

### 結果（概要）

- ・硫化水素が存在すると早く死亡に至った。
- ・硫化水素濃度が高ければ高いほど先に死亡した。
- ・殻長別にみると成貝（殻長 20mm）の方が早く死亡に至った。
- ・硫化水素に曝されても 2 日間は 100% 生存（データは示していない。）
- ・貧酸素区では、成貝のみ実験期間内に全滅した。

表 1 殻長別硫化水素耐性試験結果

実験区	死亡時間 (日)	殻長(mm)							
		1		6.5		10		20	
		pH 7	pH 8	pH 7	pH 8	pH 7	pH 8	pH 7	pH 8
有酸素	LT 50	-	-	-	-	-	-	-	-
	LT 100	-	-	-	-	-	-	-	-
0 mgS/L (貧酸素)	LT 50	-	-	-	-	-	-	9	9
	LT 100	-	-	-	-	-	-	11	11
10 mgS/L	LT 50	9	9	5	5	5	5	5	5
	LT 100	12	13	8	8	8	6	6	6
30 mgS/L	LT 50	5	6	4	4	4	4	4	4
	LT 100	7	8	5	6	5	6	4	4

LT50 は半数死亡時間, LT100 は全数死亡時間を意味する.

### 1) 成貝のみ実験期間中に全滅した要因の解明【貧酸素区】

#### 背景・目的

殻長別硫化水素耐性実験において、貧酸素区の殻長 20mm のみ実験期間中に全滅した。水交換時のアンモニア態窒素と硫化水素に着目すると、シジミが活着している間はほとんど検出されなかったのに対し、死亡時には試験水中から高濃度のアンモニア態窒素と硫化水素が検出された（図 5）。このことから、このアンモニア態窒素と硫化水素は、ヤマトシジミの死亡時に殻腔内から放出されたと推察した。そこで、この仮説を実証するため、殻腔内のアンモニア態窒素と硫化水素を実測することとした。なお、ヤマトシジミから得られる体腔液の液量が極めて微量であったため、通常の方法では硫化水素の分析が出来なかった。そこで、試料量が微量でも硫化水素を測定できるように新規に手法を開発し、その手法を用いて分析した。

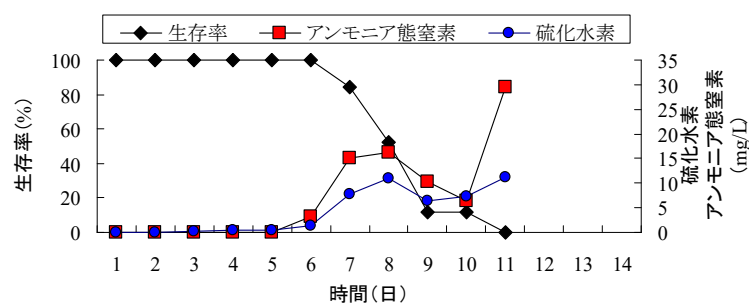


図 5 ヤマトシジミの生存率と試験水中アンモニア態窒素と硫化水素濃度

#### 実験方法

殻長 20mm のシジミ 5 個体をガラスシリンジに入れ、試験水（塩分 5psu, 水温 25°C, pH8, 貧酸素 (DO<20%)）をいれて密栓し、経時的にアンモニア態窒素と硫化水素を定量した (n=5)。水交換は毎日行った。

#### 結果

貧酸素条件下でヤマトシジミを飼育した結果、体腔液や軟体部から高濃度のアンモニア態窒素

が検出された (図 6 左). 通常, 二枚貝はアンモニアを尿として排出するが, 貧酸素に曝されたことで尿を排出できず, 殻腔内に蓄積したと考えられる. また, 尿毒症で死亡した可能性も示唆された.

硫化水素については, 飼育 1 日後は体腔液から硫化水素が検出されたものの, 試験水中からは検出されなかった (図 6 右). このことから, ヤマトシジミの死亡時に検出された硫化水素の由来はアンモニアと同様にヤマトシジミの殻腔内である可能性が極めて高い.

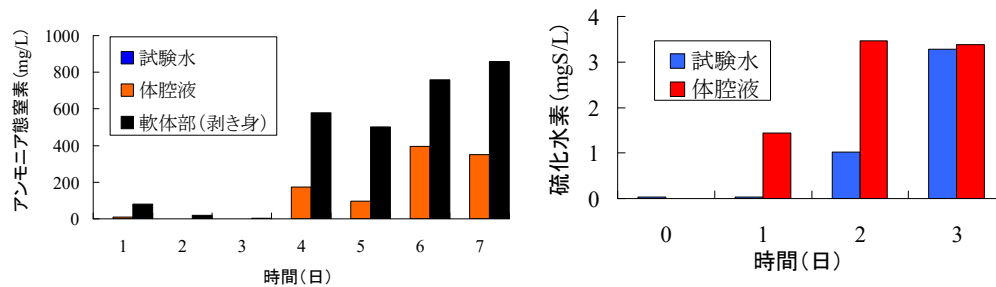


図 6 アンモニア態窒素 (左) と硫化水素濃度の変動 (右)

## 2) アンモニアと硫化水素の毒性比較試験

### 背景・目的

アンモニアと硫化水素は共に毒性物質である. 硫化水素は分子状  $H_2S$  が最も強いとされており, アンモニアは分子状  $NH_3$  が最も強いとされている (図 7). 硫化水素とアンモニアは, pH によって存在割合が変わり, 硫化水素は pH の低下に伴い  $H_2S$  の割合が上昇する. 逆にアンモニアは pH の上昇に伴い  $NH_3$  の割合が上昇する. そこで, ヤマトシジミが貧酸素に加え硫化水素 and/or アンモニアに曝された場合, どのくらい死亡が早まるかを確かめる実験を行った.

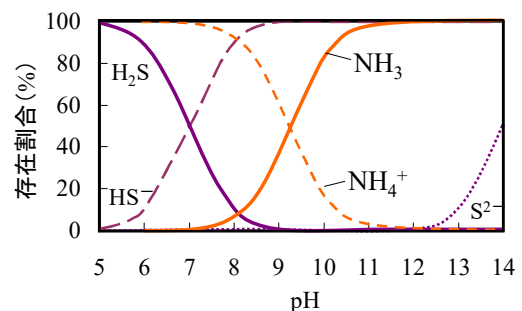


図 7 pH による硫化水素とアンモニアの存在割合

### 実験方法

殻長 20mm のシジミ 5 個体をガラスシリンジに入れ, 試験水 (塩分 5psu, 水温 25°C, pH8, ①貧酸素 (貧酸素区), ②貧酸素+アンモニア態窒素 (10mg/L) (アンモニア区), ③貧酸素+硫化水素 (10mg/L) (硫化水素区), ④貧酸素+アンモニア態窒素 (10mg/L) +硫化水素 (10mg/L) (混合区) を入れて飼育した (n=5). 水交換は 1 日 1 回行った.

### 結果

貧酸素区よりもアンモニア区の方が先に死亡したことから, アンモニアの毒によって死亡が早まったと考えられる (図 8). しかし, 硫化水素とアンモニアの混合区と硫化水素のみを添加し

た硫化水素区の死亡時間がほとんど変わらなかったことから、アンモニアの毒性よりも硫化水素の毒性が強いことが示唆された。

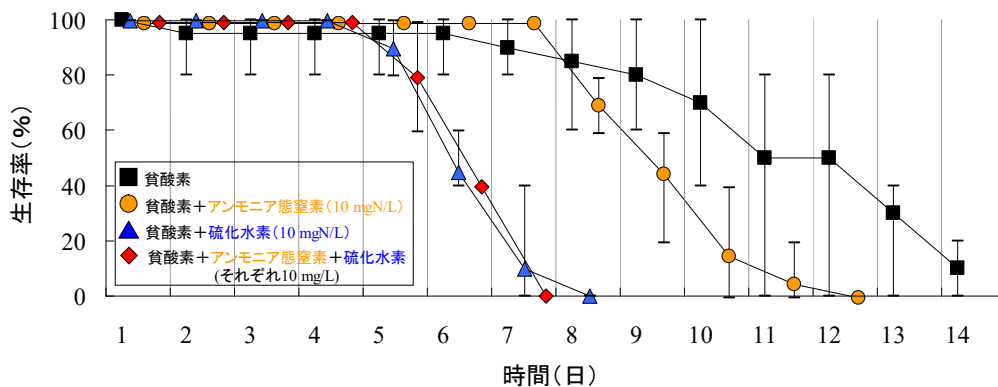


図 8 生存率の時系列変化

### 3) 硫化水素区において成貝が先に死亡した要因の解明

#### 背景・目的

硫化水素区において成貝が先に死亡した要因を解明するため、水交換時（開始 24 時間後）の試験水中硫化水素濃度に着目した。硫化水素 10mgS/L 区と 30mgS/L 区の 24 時間後の硫化水素濃度は、殻長 20 mm 区のみ大幅に減少しており、その濃度はそれぞれ 1.3mgS/L 及び 9mgS/L だった（図 9）。硫化水素濃度が減少した要因を確かめるため、次の実験を行った。

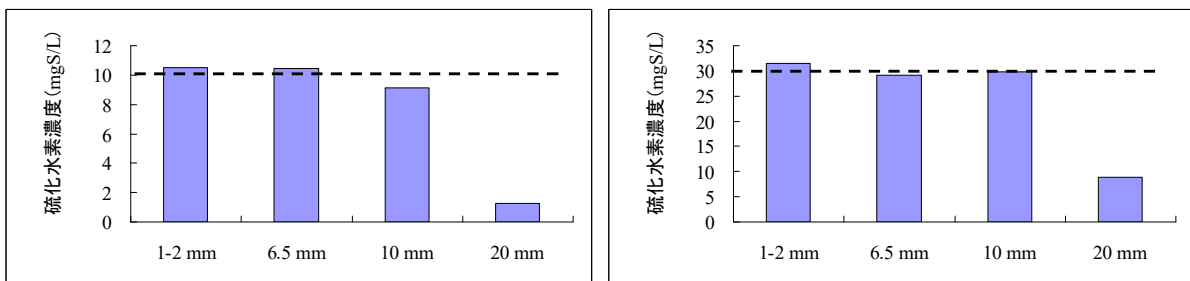


図 9 硫化水素 10mgS/L 区（左）と 30mgS/L 区（右）の試験水中硫化水素濃度

#### 実験方法

①軟体部（剥き身）3つ、②殻3つ、③生きたシジミ（殻長 20 mm）3 個体をそれぞれガラスシリンジに入れ、試験水（塩分 5 psu、水温 25°C、pH8、初期硫化水素濃度 23 mg/L）をいれて密栓し、経時的に硫化水素を定量した。

#### 結果

試験水を経時的に採水して硫化水素濃度を定量した結果、生きたシジミ区のみ硫化水素濃度が減少していた（図 10）。このことから、試験水中の硫化水素濃度が減少したのは、硫化水素が殻や軟体部に吸着したからではなく、生きたシジミの何らかの活動によって引き起こされた現象だと分かった。

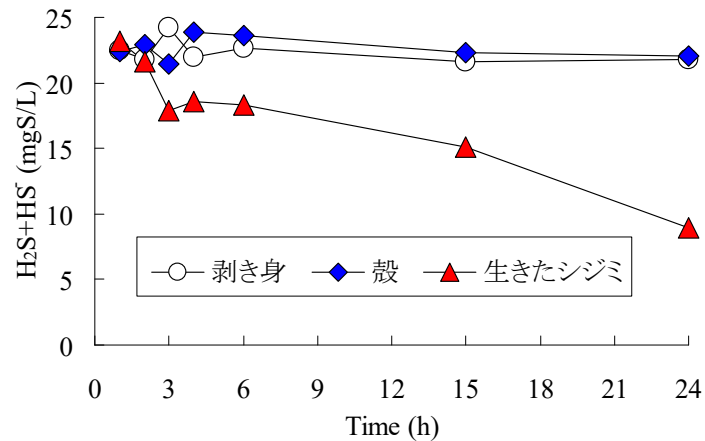


図 10 硫化水素濃度の時系列変化

#### 4) 試験水中の硫化水素が減少した要因の解明

##### 背景・目的

先の実験において硫化水素が減少した要因を解明するため、ヤマトシジミが硫化水素環境下でも濾水活動を行っているかと仮説を立て、その検証を行った。硫化水素環境下での濾水実験はこれまで例が無かったことから、独自に開発して実験を行った。

##### 実験方法

殻長 20mm のシジミ 3 個体をシリンジに入れ (n=3)、試験水 (塩分 5psu, 水温 25°C, 染色剤と硫化水素を添加し, pH8 に調整) を入れて密栓した。経時的に採水し、染色剤と硫化水素濃度を定量した。

##### 【結果】

開始 120 分後の染色剤の濃度は、開始直後よりも大幅に減少していたことから、硫化水素環境下でも濾水を行っていることが明らかとなった (図 11, 図 12)。また、硫化水素濃度も減少していたことから、ヤマトシジミの濾水によって硫化水素が減少したと考えられる。よって、硫化水素耐性試験において、硫化水素区が先に死亡したのは、ヤマトシジミが硫化水素環境下で濾水を行い、その時に硫化水素も取り込んだためだと考えられる。



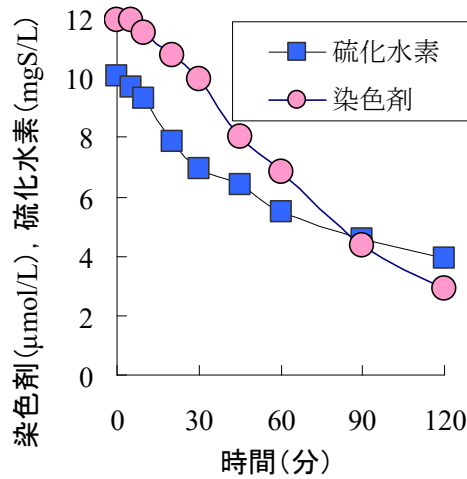


図 11 染色剤と硫化水素濃度の時系列変化



図 12 染色剤の濃度変化. (左) 開始直後, (右) 120 分後

## 5) 硫化水素発生抑制剤の開発

### 【背景・目的】

硫化水素を生成する硫酸還元細菌は、pH を上昇させることで、その活性が下がることが分かっている。そこで、pH を上昇させて硫化水素の発生を抑制するペレットを開発することとした。

### 【結果】

まず、pH をどこまで上げれば硫酸還元細菌の活性が失活するかを確認したところ、pH8.5 以上に上げれば良いことが分かった (図 13)。pH が上がりすぎるとアンモニア態窒素が毒性の高い  $\text{NH}_3$  になり、シジミに弊害が予想されることから、pH を上げる物質には水酸化マグネシウム (宇部マテリアルズ (株) 社製) を用いることとした。

硫化水素発生抑制剤には、ヤマトシジミの殻を高温

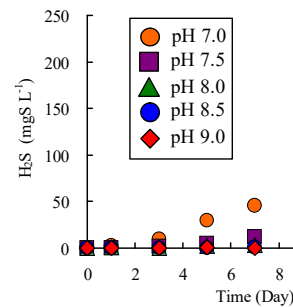


図 13 硫酸還元細菌に及ぼす pH の影響



処理後，粉末化したものに水酸化マグネシウム及びマグネシウム化合物に水を加えて乳濁させた．その後，型に流し込んで乾燥させた（図 14）．



図 14 硫化水素発生抑制剤の製作フロー

室内実験にてその効果を検証したところ，対照区と比較すると硫化水素の発生が 5 分の 1 だった（図 14）．また，本抑制剤の大きさは 8 mm であり，鋤簾（11 mm）に引っかからないため，シジミ漁場への散布も可能である．

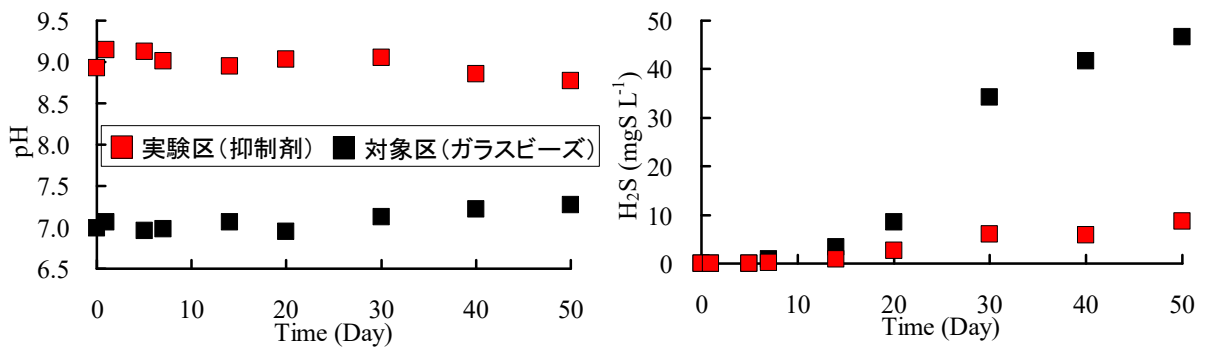


図 14 硫化水素発生抑制剤の検証実験結果

【研究担当者・連絡先】 菅原庄吾・清家 泰・e-mail : suga@riko.shimane-u.ac.jp