児島湖における貧酸素と硫化水素の発生が テナガエビの生存に及ぼす影響

姜 柱賛, 松田 治, 今村 憲史

(1993年3月15日受付)

Effects of Hypoxia and Hydrogen Sulfide on Survival of the Prawn *Macrobrachium nipponense* in Lake Kojima, Japan

Ju-Chan Kang,* Osamu Matsuda,* and Norifumi Imamura*

Effects of hypoxia and hydrogen sulfide on the survival of the prawn *Macrobrachium nipponense*, collected from Lake Kojima were studied in a continuous flow system. The survival rate of the prawn decreased at the hypoxia ($\leq 1.2 \text{ mgO}_2/\text{l}$). The combined exposure to hypoxia and hydrogen sulfide ($\leq 3.2 \text{ mgO}_2/\text{l} + 25 \text{ } \mu\text{gS}/\text{l}$, $2.0 \text{ mgO}_2/\text{l} + \geq 10 \text{ } \mu\text{gS}/\text{l}$) significantly affected the survival rate of the prawn. The survival rate lowered in combined exposure to hypoxia and hydrogen sulfide ($\leq 3.2 \text{ mgO}_2/\text{l} + 25 \text{ } \mu\text{gS}/\text{l}$) than in single exposure to hypoxia ($\leq 3.2 \text{ mgO}_2/\text{l}$).

The results of the field survey in Lake Kojima revealed the depletion of oxygen ($0-3 \text{ mgO}_2/\text{l}$) and the presence of hydrogen sulfide ($20-10000 \text{ } \mu\text{gS}/\text{l}$) in the bottom layer of a part of the lake.

The results of the present investigation lead us to conclude that these combined levels of hypoxia and hydrogen sulfide of the lake could markedly affect the distribution and population of the prawn by increased mortality.

キーワード：児島湖, テナガエビ, 生存, 貧酸素, 硫化水素

水域の富栄養化に伴い、湖、内湾、沿岸などで発生する貧酸素水塊は水生生物、特に底層ならびに近底層に生息する水生生物の生存に強い影響を与える。貧酸素条件下における水生生物の生存は、それらが酸素を利用するメカニズムと低酸素耐性に依存し、種によって異なっている。^{1,2)} このような底層水の貧酸素化は夏季の高水温成層期に多発する。³⁾ さらに、貧酸素化に伴う硫化水素(H_2S)の発生は水生生物の生存に強い影響を与える。^{4,5)}

児島湖は児島湾の湾奥部を締め切って淡水化した人工湖である。このために湖底の一部には高塩分水が残存し、強い密度成層に伴う底質内の還元状態が形成され、水域によっては貧酸素水塊が報告されている。^{6,7)} テナガエビ *Macrobrachium nipponense* はこの水域の底生動物生物量の半分以上を占める種であるのみならず、漁業生物として重要なため、その分布と生息の一般的環境条件に関しては報告がなされている。^{8,9)} しかし、テナガエビの主な生息場が底層水中であるにもかかわらず、底質に関連した底層水中の環境条件、特に貧酸素化に伴う

H_2S の発生に関する研究はなされていない。

本研究では児島湖の貧酸素化とこれに伴う H_2S の発生が、テナガエビの生存と分布域の変動に及ぼす影響を推定するため、現場調査と室内実験を行い、現場の DO 濃度と H_2S 濃度がテナガエビに及ぼす影響を検討した。

現場調査

調査水域および時期 調査は1990年7月15日と12月20日に行い、夏季と冬季として示した。調査水域は定点1を中心とし夏季4定点、冬季6定点で行った(Fig. 1)。

水質調査 水温と塩分の測定には STD (アレック電子社製) を使用し、水深1m毎に観測結果を記録した。試水は北原式採水器により採水し、DO濃度はウィンクラー法により測定した。 H_2S 濃度は試水をBOD瓶に採水後、直ちに酢酸亜鉛溶液を加えて固定し、メチレンブルー法¹⁰⁾により測定した。ここで H_2S と HS^- と S^{2-} を総称して定義し、結果はSの重量濃度 $\mu\text{gS}/\text{l}$ で表現

* 広島大学生物生産学部 (Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739, Japan).

Fig. 1. Location of sampling stations in Lake Kojima and topographical map of the bottom.

した。

底質調査 底泥を K-K 式柱状採泥器（橋本科学製、内径 51 mm）で採取し、水銀棒状温度計を挿入して泥温を測定した。下船後、同試料を用いて酸化還元電位は ORP メーター（東亜電波社製、RM-1 型）、pH は土壤挿入式メーター（藤原製作所製、pH-33 型）により測定した。全硫化物量、強熱減量（IL）、化学的酸素要求量は水質汚濁調査指針¹¹⁾により測定した。

室内実験

実験動物 テナガエビは児島湖で漁獲され、実験室（水温、 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ；塩分、 $10 \pm 1\%$ ）で馴致させた。餌料は二枚貝の生肉と冷凍オキアミを混合し、毎日充分に供給した。実験には 1 週間以上馴致したエビ（23.5～38.2 mm）を年齢、性別にかかわらず使用した。

実験装置 実験は半流水式装置により実施した（Fig. 2）。すなわち、150 ml/min の流量の濾過水が貯水槽から DO 濃度の調節装置に流入し、DO 濃度が調節された実験水は H_2S 濃度の調節装置に導入された。この部位には硫化ナトリウム（ $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ）溶液が供給され、その濃度と供給量より H_2S 濃度が調節された。DO 濃度と H_2S 濃度が調節された実験水は密閉された実験水槽に流入し、この水槽にエビを収容した。実験水槽からの排水はオーバーフローを通して流出し、そのうち半分の実験水はポンプにより再循環された。DO 濃度と H_2S 濃度は予備実験結果に基づいて、まずエビを収容しない状態で設定値に調整し、実験中の水質の変動は実験水槽への流入水、中央位置、流出水に対して 12 時間毎に測定した。同様の実験装置 6 個のうち、一つを対照実験に供し、明暗周期は自然の状態で行った。

Fig. 2. Schematic drawing of experimental apparatus.

A, test water; B, reservoir 1; C, temperature control system; D, air vent; E, thermometer; F, relay system; G, water regulating valve; H, sample collecting outlet; I, test chamber; J, sample collecting port; K, reservoir 2; L, centrifugal pump; M, hydrogen sulfide solution; N, water outflow; O, nitrogen gas cylinder; P, air pump.

H_2S の急性毒性 96 時間実験は H_2S 濃度 15～130 $\mu\text{gS/l}$ の範囲でそれぞれ異なる 4 水準を設定して 4 回、15 日間実験は H_2S 濃度 15～80 $\mu\text{gS/l}$ 範囲の 4 水準で 1 回実施した。96 時間実験では給餌しなかったが、15 日間の実験では馴致期間と同じ餌を供給した。24 時間毎に死亡した個体を計数し、96 時間半数致死濃度（96 h- LC_{50} ）と 15 日半数致死濃度（15 days- LC_{50} ）を求めた。¹²⁾

生存に及ぼす貧酸素と H_2S の影響 貧酸素単独条件における DO 濃度は、 N_2 ガスと O_2 ガスを適当な比率に混合することにより、約 0.6, 1.2, 2.0, 3.2 mg/l の 4 水準とし、対照区は約 6.8 mg/l に設定した。貧酸素と H_2S の複合的な条件（以下複合条件と略記）は DO 濃度 2 水準（約 1.2, 3.2 mg/l ）と H_2S 濃度 2 水準（約 10, 25 $\mu\text{gS/l}$ ）を組み合わせ計 4 種類を設定した。実験は 2 回反復して行い、実験区と対照区あるいは貧酸素単独条件区と複合条件区との生存率の差は分散分析（ANOVA）により検定した。

現場調査結果

水質の変動 水温、塩分、DO および H_2S 濃度の鉛直分布を Fig. 3 に示した。水温は夏季には表層から 2 m 付近まで 30°C 以上で、水深が 6 m 以上ある Stn. 1, 5 の 4 m 以深では次第に低くなる傾向を示し、表層水と底層水間の水温差は最大 12°C であった。冬季の水温は表層水では概ね 6°C 以下と低かったが、水深 4 m 以深には 10°C 以上の比較的高温の水塊が存在した。塩分の鉛直分布は夏季には表層水から 2 m 付近まで淡水層が

Fig. 3. Vertical distribution of temperature, salinity, dissolved oxygen and hydrogen sulfide in Lake Kojima.

広がり、冬季には夏季よりも表層の低塩分層が薄くなることを示した。DO 濃度は夏季、冬季ともに浅水域では極端な低下を示さなかったが、深みの底層水中で夏季のみならず冬季においても無酸素状態であった。H₂S 濃度は夏季の Stn. 1 の底層水中で 7180 $\mu\text{gS/l}$ と極めて高く、浅水域の Stn. 3, 4 の底層水の中では 20 $\mu\text{gS/l}$ 前後であった。冬季の底層水中の H₂S 濃度は Stn. 1 で 10000 $\mu\text{gS/l}$ と非常に高く、浅水域では 10~50 $\mu\text{gS/l}$ であった。

底質の変動 児島湖の底質分析の結果を Table 1 に示した。底質中の全硫化物量は深みの Stn. 1, 5 で夏季には 4.93, 5.43 mgS/g-dry と高く、冬季にも 5.46, 5.69 mgS/g-dry と高かった。ORP は夏季、冬季ともに深みの点で非常に低かった。IL は夏季、冬季ともに深みでは 12.3~15.2% と大きく、一方浅水域では小さかった。

実験結果

H₂S の急性毒性 H₂S の毒性実験結果を Table 2 に

Table 1. Sediment characteristic in Lake Kojima

Date	Stn.	pH	Sulfide-S (mgS/ g-dry)	ORP (Eh, mV)	IL (%)	COD (mgO ₂ / g-dry)
1990	1	7.19	4.93	-220	15.2	52.50
15. Jul.	3	7.02	1.32	-160	7.1	16.33
	4	7.01	1.05	-130	5.6	8.41
	5	7.01	5.43	-250	15.1	48.14
20. Dec.	1	7.84	5.46	-190	12.7	68.51
	2	7.95	3.16	-130	11.3	65.49
	3	7.37	1.15	-90	7.7	22.44
	4	7.08	1.14	0	3.9	4.51
	5	7.21	5.79	-160	13.3	41.43
	6	7.93	4.51	-190	12.3	29.30

示した。4 回の実験から得られた 96 h-LC₅₀ の平均値は 51.2 $\mu\text{gS/l}$ であり、15 days-LC₅₀ は 23.5 $\mu\text{gS/l}$ であった。

DO と H₂S の変動 実験期間中の DO と H₂S 濃度の変動を Table 3 に示した。実験 1, 2, 3, 4 が貧酸素あるいは複合条件区、実験 5 が対照区に担当する。DO 濃度の変動幅は $\pm 0.03 \sim 0.10 \text{ mg/l}$ と小さく、設定目標に対し 0.10~0.22 mg/l の差を示した。H₂S 濃度は設定目標より 1.0~1.9 $\mu\text{gS/l}$ 低目に保持されたが、変動幅は $\pm 0.34 \sim 0.52 \mu\text{gS/l}$ と小さく、DO 濃度とともにほぼ設定目標が保たれていたものとみなした。

生存に及ぼす貧酸素と H₂S の影響 貧酸素条件下におけるエビの生存率には、DO 濃度 1.2 mg/l 以下で対照区に対し有意な減少が認められたが、2.0 mg/l 以上では有意な差が認められなかった (ANOVA, $P < 0.05$; Fig. 4)。複合条件でのエビの生存率は、1.2 mgO₂/l + $\geq 10 \mu\text{gS/l}$, 3.2 mgO₂/l + 25 $\mu\text{gS/l}$ で対照区に対し有意な減少を示したが、3.2 mgO₂/l + 10 $\mu\text{gS/l}$ では有意な差を示さなかった (ANOVA, $P < 0.05$; Fig. 5)。これ

Table 2. Lethal concentrations of hydrogen sulfide for *M. nipponense*

Test No.	Range of H ₂ S conc. ($\mu\text{gS/l}$)	Water quality		96 h-LC ₅₀ ($\mu\text{gS/l}$)	15 days-LC ₅₀ ($\mu\text{gS/l}$)
		DO* (mg/l)	pH*		
1	52.3-132.0	6.5 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.5	51.3	—
2	55.4-121.2	6.3 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.2	49.2	—
3	22.0- 92.3	6.6 $\pm$ 0.3	7.4 $\pm$ 0.5	53.2	—
4	14.2- 82.1	6.4 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.4	51.0	25.3
	Average			51.2	

Temperature, 20 $\pm$ 1°C; Salinity, 10 $\pm$ 1‰.

* Data are presented as mean $\pm$ SD (n=9).

Table 3. Experimental conditions and the test concentrations of hydrogen sulfide and dissolved oxygen of the survival experiments

	Test chambers				
	1	2	3	4	5
Hypoxia					
DO(mg/l)	0.82±0.05	1.32±0.04	2.17±0.09	3.33±0.10	6.92±0.07
pH	7.42±0.18	7.24±0.23	7.31±0.15	7.34±0.19	7.62±0.12
Hypoxia+H ₂ S					
DO(mg/l)	1.31±0.06	1.38±0.03	3.10±0.07	3.32±0.10	6.91±0.08
H ₂ S(μgS/l)	8.08±0.34	23.52±0.52	9.01±0.42	23.07±0.38	—
pH	7.22±0.41	7.41±0.23	7.34±0.32	7.23±0.31	7.52±0.51

Temperature, 20±1°C; Salinity, 9.7~11.2‰.

Data are presented as mean±SD (n=28).

Fig. 4. Survival rate of *M. nipponense* exposed to different concentrations of dissolved oxygen during 18 days. **Fig. 5.** Survival rate of *M. nipponense* exposed to low dissolved oxygen with hydrogen sulfide during 18 days.

らの結果を貧酸素単独条件下 (Fig. 4) に比べると, H₂S 濃度 25 μgS/l の付加により, DO 濃度 3.2 mg/l 以下では生存率が有意な減少を示した (ANOVA, $P < 0.05$).

考 察

H₂S の急性毒性 水生生物に対する H₂S の毒性は, 同条件下でも種によって異なる。¹³⁾ これまでに報告されている水生生物に対する H₂S の LC₅₀ を Table 4 に整理した。テナガエビの 96 h-LC₅₀ は 51.2 μgS/l で, 実験条件が類似な *Gammarus pseudolimmaeus* より 2 倍以上高かった。H₂S の毒性は一般に水中の DO 濃度, 水温, pH などの条件によって異なるので,¹⁷⁾ 毒性の比較には注意が肝要であるが, Table 4 の結果はテナガエビが水生生物の中で H₂S に対してかなり高い抵抗性をもつことを示唆している。

生存に及ぼす貧酸素と H₂S の影響 水生生物に必要な最小限の酸素要求量は種によりかなり異なると考えられている。Childress¹⁹⁾ によれば, 平均 DO 濃度 0.5 mg/l の水中から採集した *Gnathophausia ingens* は, DO 濃度 0.26 mg/l で 3 カ月間生存した。また, エビ *Penaeus aztecus* と *Penaeus setiferus* は, 2.0 mg/l の DO 濃度では生存に影響を受けないが,²⁰⁾ Renaud²¹⁾ によれば penaeid shrimp の生存率は DO 濃度 2.0 mg/l 以下で減少する。テナガエビの生存率が DO 濃度 2.0 mg/l 以上では直接的な影響を受けなかったが, 1.2 mg/l 以下で有意な減少を示したことは, テナガエビの生存に必要な DO 濃度レベルが, 上記の底生性エビ類と同程度のものであることを示唆する。

水生生物に対する H₂S の影響として, 水生生物の抵抗性は H₂S 濃度の上昇に反して低下することが指摘されている。¹³⁾ 本試験 (18 日間) の結果, テナガエビの

Table 4. Lethal concentrations of hydrogen sulfide for aquatic animals

Test animal	Exposure time (h)	LC ₅₀ conc. (μgS/l)	Experimental condition		
			DO conc. (mg/l)	Temp. (°C)	pH
^{*1} Bluegill <i>Lepomis macrochirus</i>	96	45	5.8-6.4	18.8-21.9	7.8-8.0
^{*2} Northern pike, <i>Esox lucius</i>					
Adult	96	26	6.0	13.0	7.7
Juvenile	96	9	2.0	13.0	7.7
^{*3} Walleye, <i>Stizostedion v. vitreum</i>					
Egg	48	46	5.6	13.0	7.4
Juvenile	48	14	8.1	12.8	7.5
^{*4} Channel catfish <i>Ictalurus punctatus</i>	3	64	—	—	6.8-7.6
^{*5} <i>Gammarus pseudolimmaeus</i>	96	20	7.4-8.9	17.8-18.1	7.4-8.9
^{*6} <i>Macrobrachium nipponense</i>	96	51	6.2-6.5	19.5-20.2	7.1-7.2

^{*1} Smith et al. (1976)¹⁴⁾, ^{*2} Adelman and Smith (1970)¹⁵⁾, ^{*3} Colby and Smith (1967)¹⁶⁾, ^{*4} Bonn and Folis (1967)¹⁷⁾, ^{*5} Oseid and Smith (1974)¹⁸⁾, ^{*6} Present study.

生存率は H₂S 濃度が高いところで低下することが明らかとなった。このことはテナガエビの生存率が貧酸素と H₂S の共存する水域では貧酸素のみを評価した場合よりもさらに低下することを意味している。

現場水域における影響の評価 テナガエビの生存率は 1.2 mg/l 以下の貧酸素単独条件とともに、DO 濃度 3.2 mg/l 以下では H₂S 濃度 25 μgS/l の複合条件で低下することが明らかとなった。従って、児島湖でこのような環境が形成される場合、テナガエビの資源と分布は強い影響を受けるものと予想される。

児島湖調査の結果、深みの Stn. 1, 5 の底層水では夏季、冬季ともに無酸素状態であり、H₂S 濃度は夏季 7180 μgS/l、冬季 10000 μgS/l と非常に高く、深みにおける有機物の蓄積がうかがわれ、DO 濃度と H₂S 濃度だけからすると、この水域ではテナガエビの生息は全く不可能である。無酸素化機構について考察してみると、児島湖の深みに残存する高塩分水は強い密度成層を形成するため、夏季、冬季ともに表層水から底層水への酸素供給を妨げ、さらに有機物が蓄積した堆積物による酸素消費が大きいため、深みの底層水では著しく無酸素化が進行したものと考えられる。

テナガエビは一般に四季を通して水深が 0.5~4 m の水域、特に 3~3.5 m 付近を主な生息場所とすることが知られている。⁹⁾ 児島湖においてテナガエビは湖内に広く分布するものの、主としては水深が 4 m 以内の南西部に多く分布する傾向がうかがえる。⁸⁾

松村、寺嶋⁹⁾は児島湖のテナガエビが盛漁期の 6~8

月には、本調査水域を含む締切堤防に近い部分にはほとんど分布していないことを指摘し、これらの水域では DO 濃度 2.0 mg/l 以下、底質中の硫化物量が 1 mgS/g-dry 以上であることを報告している。^{6,7)} また、杉山⁹⁾は児島湖のテナガエビが水質と底質が比較的良好な水域に多く分布し、その分布域は底質中の硫化物の分布にほぼ対応していることを指摘した。これらの結果は児島湖のテナガエビの分布は、DO 濃度と底質中の硫化物量により左右されることを意味する。一方、松村、寺嶋⁹⁾は本調査水域にも 5, 11, 12 月にはテナガエビが分布することを報告しているが、その主な生息域は水深が 4 m 以内の Stn. 2, 3, 4 周辺と推定される。しかし、この結果はほぼ 10 年前の DO 濃度と底質中の硫化物量に基づくものであり、貧酸素化に伴う H₂S の発生からの研究はなされていない。また、現時点の分布を推定するためにはその間の水質と底質の変化を考慮することが肝要である。現場調査の結果から、本調査水域の浅水域ではテナガエビの生存率を低下させた DO 濃度 3.0 mg/l 以下と H₂S 濃度 20~50 μgS/l、底質中の硫化物量 1 mgS/g-dry 以上が観測された。この結果は調査時点で、本調査水域内にテナガエビが分布する可能性は低く、従って湖内の生息域は以前より狭くなったものと考えられる。このように児島湖のテナガエビの生存と分布は、貧酸素化に伴う H₂S の発生による両者の複合的影響に強く規定されているものと考えられる。

文 献

- 1) V. Dethlefsen and H. Von Westernhagen: Oxygen deficiency and effects on bottom fauna in the eastern German Bight, 1982. *Meeresforsch.*, **30**, 42-53 (1983).
- 2) M. Rsoignol-Strick: Marine anoxic event on the Brittany Coast, July, 1982. *J. coast. Res.*, **1**, 11-20 (1985).
- 3) S. L. Santos: Response of soft bottom benthos to annual catastrophic disturbance in South Florida estuary. *Mar. Biol. Prog. Ser.*, **3**, 347-355 (1980).
- 4) B. B. Jørgensen: Seasonal oxygen depletion in the bottom water of Danish fiord and its effect on the benthic community. *Oikos*, **34**, 68-76 (1980).
- 5) M. Stachowitsch: Mass mortality in the Gulf of Trieste: the course of community destruction. *Mar. Ecol.*, **5**, 243-264 (1984).
- 6) 三宅与志雄, 浮田和夫, 藤沢邦康: 児島湖の水質と底質について. 岡山水試事報, 100-107 (1978).
- 7) 藤沢邦康, 三宅与志雄: 児島湖の水質と底質について. 岡山水試事報, 135-138 (1979).
- 8) 松村眞作, 寺嶋 朴: 児島湖における漁業と漁業生物の生息実態およびテナガエビの2, 3の生態. 岡山水試事報, 68-103 (1983).
- 9) 杉山英之, 安家重材, 福田富男, 山本喜久蔵: 児島湖のテナガエビについて. 岡山水試事報, 79-84 (1978).
- 10) S. H. Fonselius: Determination of hydrogen sulphide, in "Methods of seawater analysis" (ed. by K. Grasshoff, M. Ehrhardt, and K. Kremling), 2nd ed., Verlag Chemie, Weinheim, 1983, pp. 73-80.
- 11) 日本水産資源保護協会: 水質汚濁調査指針, 恒星社厚生閣, 東京, 1980, pp. 244-257.
- 12) L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, and R. R. Trussell: Standard methods, 16th ed., American Public Health Association, Washington DC, 1985, pp. 715-726.
- 13) H. Theede, A. Ponat, K. Hiroki, and C. Schlieper: Studies on the resistance of marine bottom invertebrates to oxygen deficiency and hydrogen sulfide. *Mar. Biol.*, **2**, 325-337 (1969).
- 14) L. Smith, D. Oseid, G. Kimball, and S. Kandelgy: Toxicity of hydrogen sulfide to various life history stages of Bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **3**, 442-449 (1976).
- 15) I. Adelman and L. Smith: Effect of hydrogen sulfide on northern pike eggs and sac fry. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **3**, 501-509 (1970).
- 16) P. Colby and L. Smith: Survival of walleye eggs and fry on paper fiber sludge deposits in Rainy River, Minnesota. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **96**, 278-296 (1967).
- 17) E. Bonn and B. Follis: Effects of hydrogen sulfide on channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **96**, 31-36 (1967).
- 18) D. Oseid and L. Smith: Chronic toxicity of hydrogen sulfide to *Gammarus pseudolimnaeus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **4**, 819-822 (1974).
- 19) J. J. Childress: Oxygen minimum layer: vertical distribution and respiration of the mysid *Gnathophausia ingens*. *Science*, **160**, 1242-1243 (1968).
- 20) J. G. Broon: Shrimp culture. *Proc. 1st Annu. Meet. World Maricult. Soc.*, **1**, 63-68 (1971).
- 21) M. L. Renaud: Hypoxia in Louisiana coastal waters during 1983: implications to fisheries. *Fish. Bull. NOAA*, **84**, 19-26 (1986).