

二枚貝（オキシジミ）各組織の金属元素蓄積特性

—生物を用いた潮間帯金属元素汚染指標の確立に向けて—

伊 藤 由 喜^{*,†}・林 誠 司^{*}・山 本 鋼 志^{*}

(2012年10月8日受付, 2013年3月1日受理)

Bioaccumulation of metal elements in individual soft tissues of bivalves for establishment of a new bio-indicator of tidal zone environment

Yuki ITO^{*,†}, Seiji HAYASHI^{*} and Koshi YAMAMOTO^{*}

^{*} Department of Earth and Environmental Sciences,
Graduate School of Environmental Studies, Nagoya University
Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan

[†] Present Affiliation: Hitachi Zosen Corporation

Individual and whole-body soft tissues of bivalves, *Cyclina sinensis* and *Crassostrea gigas*, collected from tidal flats in Mikawa and Ise Bay, Aichi Prefecture, were analyzed for twelve metal concentrations (Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sn, Hg, Pb) by ICP-MS, in order to clarify the degree of metal element enrichment into individual soft tissues from ambient environments. Among individual soft tissues of *C. sinensis*, mantle, gills and mid-gut gland show high metal concentrations compared to other parts and whole-body soft tissue. Three patterns of seasonal change of metal concentrations are found for individual soft tissues: 1) constant through spring to winter, 2) a decreasing trend from spring to winter, and 3) enrichment in summer. Mid-gut gland shows a relatively small deviation compared to other parts and can be a bio-indicator of metal pollution for Hg, Sn, Mn and As in seasonal scale. Whole-body soft tissue of *C. sinensis* shows smaller seasonal change of metal concentrations than those of individual soft tissues and can be a bio-indicator of longer-term environmental change of As and Pb in annual scale. Whole-body soft tissue of *C. gigas* shows extremely high concentrations of Cu, Zn and Cd and constant metal concentrations through summer to winter.

Comparing individual soft tissues of *C. sinensis* collected from Shiokawa and Fujimae tidal flats and Okuda coast, samples from Fujimae tidal flat show high Mn concentration, those from Okuda coast show high Sn and low Mn concentrations and those from Fujimae tidal flat do high Pb concentration compared to the other two localities. This study suggests the possible use of soft tissues of *C. sinensis* as an environmental bio-indicator of metal pollution in tidal flats. In order to evaluate this possibility, we need to analyze specimens from other areas with various degrees of metal pollution and conduct culture experiment of *C. sinensis* under metal-doped conditions.

Key words: Bivalves, Tidal zone, Shiokawa tidal flat, Metal pollution, Bio-monitor, ICP-MS

1. 緒 言

^{*} 名古屋大学大学院環境学研究科地球環境科学専攻
〒464-8601 名古屋市千種区不老町 D2-2 (510)

[†] 現所属：日立造船株式会社エンジニアリング本部

近年、農業排水や工業排水により海洋に流入する汚染金属元素や化学物質は多様化している。しかし、現

在これらの汚染物質による海洋汚染を正確に評価する方法は確立されているとはいえない。

海洋のうち、潮間帯は生物多様性を維持する上で非常に重要な場と考えられている。しかし、潮間帯の堆積物中の金属元素濃度は、後背地の地質の違いや鉱物の不均質な分布、酸化還元状態の変化などにより大きく変化し、その汚染状況を正確に把握することは大変に困難である。そこで、長期的かつ安定した海洋汚染監視手法として、汚染物質の生物濃縮を利用したモニタリング手法が提案されている。海洋環境モニタリングには、藻類、プランクトン、二枚貝や魚類など多種の指標生物が用いられてきており、Zhou *et al.* (2008) によりそれぞれの生物指標の利点・欠点等がまとめられている。二枚貝に焦点を当てると、海洋汚染評価のためイガイ属などの貝類を生物指標としたモニタリング手法がヨーロッパを中心に用いられてきた (Goldberg, 1975)。また、高柳・坂見 (2002) は、マガキ (*Crassostrea gigas*) やミドリイガイ (*Perna viridis*) を指標としたモニタリング法を検討した。しかし、カキやイガイ類は岩礁性であり、砂泥質の潮間帯の汚染評価指標としては適切とはいえない。

本研究では主に三河湾・伊勢湾沿岸を主対象として「二枚貝各組織中の金属元素蓄積特性」を調査した。前述の貝類を用いた生物モニタリング手法では、軟体部全体を分析試料とし、ミキサー等で粉碎したのち一定量を分取して試料として用いる手法が主流となっている。しかし、この分析方法では個体間の組織重量の変化、雌雄の生殖腺発達度合の違いなどに対する解釈が難しく、また軟体部全体を均質化させることから組織毎の汚染物質蓄積特性を議論することが不可能である。組織毎に有する汚染物質蓄積特性に着目した例は Marigomez and Ireland (1989), Edward *et al.* (2009), Tarique *et al.* (2012) などがあり、曝露飼育実験により貝類の持つ金属元素蓄積特性を検証した先行研究が少数ながら見受けられる。特に、ヨーロッパタマキビ (*Littorina littorea*) に対するカドミウム曝露実験を行った Marigomez and Ireland (1989) は、消化腺が足や外套膜に比べておよそ10倍の蓄積特性を持つことを報告した。組織毎の金属元素蓄積特性の違いに着目し、貝類をより高感度な海洋汚染指標として用いるため、本研究ではオキシジミ (*Cyclina sinensis*) を組織別に金属元素の定量を行った。あわせて、従来手法である軟体部全体を用いた手法もオキシジミならびにマガキについて実施し、

組織別の金属元素濃度との比較から各金属元素に対して最も有効な指標組織の決定を目指した。さらに、季節毎の金属元素濃度の変化から、二枚貝各組織への金属元素濃度に影響を与える要因についても考察を行った。

2. 測定試料

2.1. 調査対象地域

主な調査地域として愛知県三河湾の最奥部に位置する汐川干潟、比較検討用として伊勢湾最奥部に位置する藤前干潟、愛知県知多半島美浜町に位置する奥田海岸の計3地点から試料採取を行った (Fig. 1)。三河湾・伊勢湾の両湾は合わせて海岸線延長660 km、水域面積2,342 km²を誇る大規模な内湾であり、ラムサール条約に登録された名古屋市の藤前干潟をはじめとして多様な生態系を育む干潟が数多く残されている (環境省自然環境局生物多様性センター, 2007)。農林水産省大臣官房統計部 (2009) によると愛知県は採貝・採藻の漁業品目生産量において北海道に次いで国内第2位 (シェア11.3%) であり、特にアサリを代表とした二枚貝類が豊富に漁獲される。このことから、当海域では環境指標の構築に適した貝類が種類、量ともに豊富に捕獲されることが期待できる。

今回主な対象地域とした汐川干潟 (Fig. 1b) は、約2.8 km²の面積を誇る県内最大規模の砂泥質干潟である。三河湾・伊勢湾の中では唯一泥質干潟に棲む軟体動物群集が生息しており、アマサギやコサギなど多くの渡り鳥の飛来地として知られている (鈴木ほか, 2006)。しかし、汐川干潟沿岸には多くの工場が立地しており、近年では農業排水や家庭排水の流入量増加などを要因としてアオサの大量発生などの環境問題が発生している。また、三河湾最奥部に位置し干潟に流入する河川がいずれも小規模であることから、汚染物質の滞留が懸念される。

比較検討用に調査を行った藤前干潟、奥田海岸の選定にあたっては、汐川干潟において個体数を十分に確保することが出来たオキシジミの生息状況を参考にした。

2.2. 研究対象とした二枚貝

本研究では、汐川干潟からオキシジミとマガキの2種を、奥田海岸と藤前干潟からはオキシジミのみを試料採取した (Fig. 2)。これら2種は北海道南部から九州にかけて広く分布し (環境省自然環境局生物多様性センター, 2007)、中国大陸沿岸や朝鮮半島など東ア

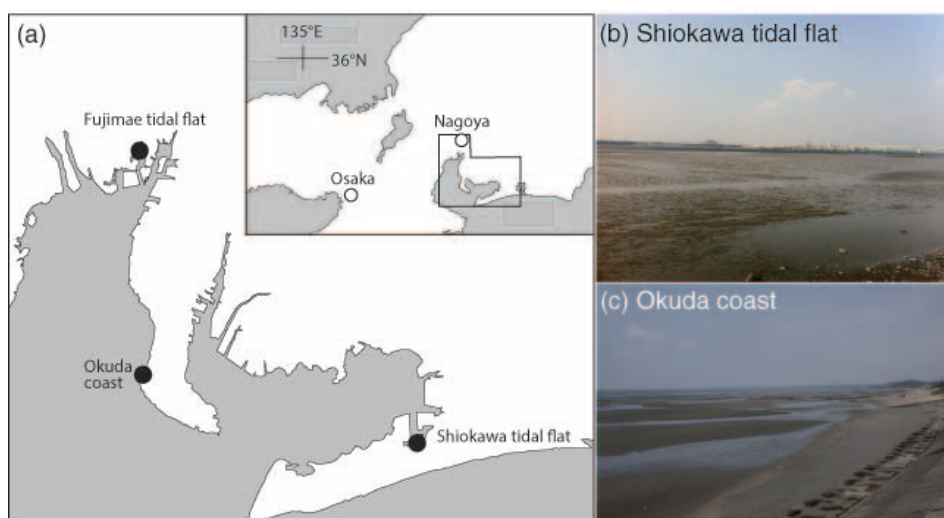


Fig. 1 (a) Sampling locations of *Cyclina sinensis* analyzed in this study. *Crassostrea gigas* was collected only at Shiokawa tidal flat. (b) and (c) show sceneries of Shiokawa tidal flat and Okuda coast, respectively.

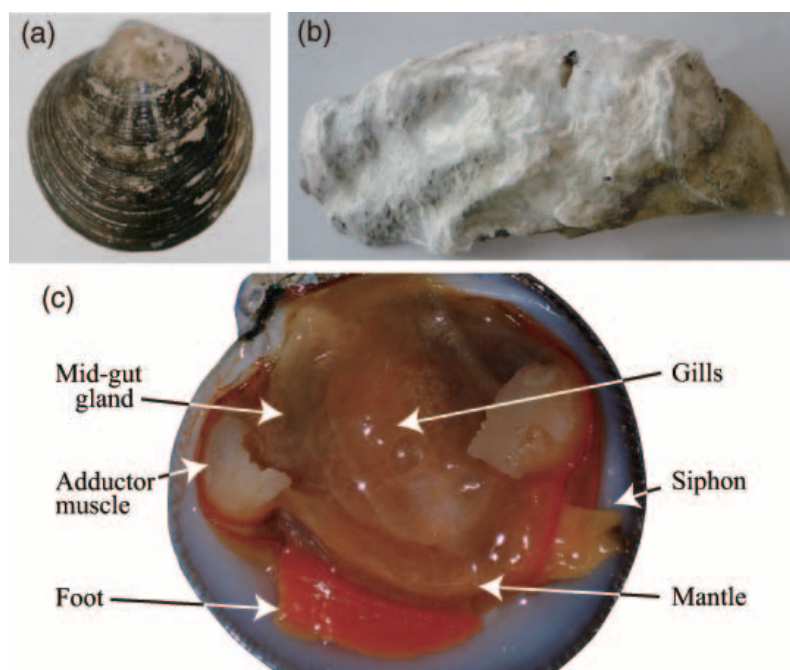


Fig. 2 Appearances of (a) *Cyclina sinensis* and (b) *Crassostrea gigas*. Scale bars are 3 cm. (c) Internal structure of *Cyclina sinensis*. Mid-gut gland and gills are behind mantle.

ジア沿岸の各地に生息している。またアサリ (*Ruditapes philippinarum*) やシオフキガイ (*Macra veneriformis*) などの二枚貝よりも比較的大型であり（殻長30 mm～）、解剖に際して容易に組織の判断がつくこと、多量採取可能であるなどの理由によりこれら2種を採用した。

三河湾最奥部に位置する汐川干潟では、2010年4月16日にオキシジミ10個体、7月15日にオキシジミ18個体とマガキ10個体、10月22日にオキシジミ13個体とマガキ10個体、2011年1月24日にオキシジミ20個体とマガキ10個体を採取した。愛知県知多半島中央の伊勢湾側に位置する奥田海岸では2011年7月31日にオ

キシジミ14個体を、伊勢湾の最奥部に位置する藤前干潟では2011年11月26日にオキシジミ14個体を採取し分析に供した。個体のサイズに関しては、捕獲時点で同程度（およそ4 cm）の大きさのものを選出し試料として用いた。

2.3. 堆積物試料

二枚貝は泥中であって堆積物表層面に水管を伸ばし、そこから水中のプランクトンや有機懸濁物を吸い込み摂餌を行うろ過摂餌法を採るものが多い（波部ら, 1999）。そのため、二枚貝体内の金属元素濃度は、海水もしくは堆積物表層に含まれる有機物中の金属元素濃度に影響を受けると考えられる。海水中に含まれる有機懸濁物量は少なく分析が困難であるため、本研究では堆積物に含まれる有機物が有機懸濁物の化学組成を表すものと仮定し、ジクロロメタン抽出により堆積物に含まれる有機物中の金属元素を定量した。二枚貝の金属元素濃度と抽出した有機物中の金属元素から求めた堆積物金属元素濃度との比から濃縮係数（Concentration factor）を算出することを目的とし、二枚貝を採取した周辺環境から堆積物試料を汐川干潟秋期サンプリング分から10試料ずつ採取した。堆積物試料は表層から3 cm 以内のものをポリエチレンパックに採取した。採取した試料は凍結保存をした。

3. 分析方法

3.1. 試料の処理

採取した二枚貝は、消化管内に有機懸濁物が残存している可能性がある（Cossa, 1989; Chin and Chen, 1993）ため、人工海水（富田製薬, Marine Art SF-1）中にて4日間飼育した後、凍結保存を行った。また、組織毎の解剖においてはステンレス製のハサミ、ヘラ、ピンセットを用いた。以下に試料作製時の実験手順を示す。

3.1.1. 構成組織別の化学分析（オキシジミ） (1) 凍結した二枚貝を90°C の湯で温めたのち、閉殻筋をコーキングヘラで剥がし貝殻を開く。(2) 目視にて、判別可能な臓器（水管 siphon, 外套膜 mantle, えら gill, 閉殻筋 adductor muscle, 足 foot, 中腸腺 mid-gut gland）ごとにステンレス製ハサミで切断する（Fig. 2c）。(3) 超純水（Advantec, CPW-200）で満たしたガラス製ピーカーに臓器を入れ、超音波洗浄器にて臓器表面を10分間洗浄。これを3回繰り返す。

(4) 臓器を冷凍庫にて再び凍結させたのち、凍結乾

燥処理（-50°C, 10 Pa 以下）を1日施す。(5) 臓器重量（乾燥重量）を測定し、マイクロウェーブ分解装置用テフロン容器に入れたのち、12%に希釈した硝酸（多摩化学工業, Tamapure AA-100）を6 mL 添加する。(6) マイクロウェーブ分解装置（Milestone, mls 1,200 mega）により分解操作を施す。(7) 冷却したのち、試料をポリエチレン製容器にマイクロピペッターを用いて移し、超純水を添加して硝酸濃度を4%まで希釈する。(8) 作成した試料を ICP-MS（Hewlett-Packard HP 4500ならびに Agilent 7700 x）を用い、12元素（Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sn, Hg, Pb）を定量分析する。

定量に当たっては、原子吸光分析用1,000 ppm 溶液を希釈混合した標準溶液を用いた。試料の分解毎にブランク試料を加え、ブランク補正を行った。Cd や Hg, Pb などは多くの試料についてブランクとの差が明確でなく、定量できない組織が含まれている。なお、各元素の定量値は試料の乾燥重量あたりの濃度として算出した。また上記の12元素は、水質汚濁防止法や各県が定める排水基準などを参照し決定した。

3.1.2. 軟体部全体の化学分析（オキシジミ, マガキ） マガキについては組織別に解剖を行わず、従来手法（例えば, Shulkin *et al.*, 2002; Besada *et al.*, 2011）との比較を行うために軟体部全体を分析試料として用いた。また、オキシジミの一部も各臓器中の金属元素濃度との比較用に、軟体部全体を試料としたものを作成した。

(1) 凍結した二枚貝を90°C の湯で温めたのち、閉殻筋をコーキングヘラで剥がし貝殻を開く。(2) 超純水で満たしたガラス製ピーカーに軟体部全体を入れ、超音波洗浄器にて軟体部表面を10分間洗浄する。これを3回繰り返す。(3) 冷凍庫にて再び凍結させたのち、凍結乾燥処理を1日施す。(4) 電動ミル（テスコム, TML 180）で試料を粉末化する。(5) 粉末試料を50 mg 秤量し、マイクロウェーブ分解装置用テフロン容器に入れたのち、12%に希釈した硝酸を6 mL 添加し、マイクロウェーブ分解装置により溶液化した。以下、組織別と同様の手順に従った。

3.1.3. 堆積物試料の処理 堆積物に含まれる有機物を分析対象とするため、一定量分取した堆積物試料に対してジクロロメタン（キシダ化学, 残留農薬-PCB 試験用）を用いて有機溶媒抽出を施した。なお、ジクロロメタン抽出した溶液中には、ナトリウムや塩素はほとんど含まれておらず、間隙水起源の金属元素

は抽出されていないと考えられる。以下にその手順を示す。

(1) 凍結保存した堆積物試料を一定量 (10 g) 分取する。(2) 分取した堆積物試料を冷凍庫で再び凍結させたのち、凍結乾燥処理を3日施す。(3) 凍結乾燥した堆積物試料を遠沈管に移し、乾燥重量を測定する。(4) 遠沈管にパスツールピペットを用いてジクロロメタンを20 mL 添加したのち、超音波洗浄を10分間施す。(5) 遠心分離機 (KUBOTA, KN-70) を用いて10分間遠心分離 (2,600 rpm) を行う。(6) パスツールピペットを用いて上澄みを回収し、梨型フラスコに移す。(4)~(6) の工程を3回繰り返し、上澄みを60 mL 程度回収する。(7) ロータリーエバポレーター (EYELA, N-N series) を用いて残り5 mL 程度になるまで蒸発させる。(8) 残ったジクロロメタンをマイクロウェーブ分解装置用テフロン容器に入れたのち、ドラフト中で全て揮発させる。(9) 12%に希釈した硝酸を6 mL 添加し、マイクロウェーブ分解装置により分解操作を行う。以下、組織別と同様の手順に従った。

4. 分析結果と考察

4.1. 貝種・組織毎の金属元素濃度

はじめに分析値の分散を見るために、オキシジミの足について、6元素の分析結果をヒストグラムに示した (Fig. 3)。足は組織全体の内、もっとも分離が容易であり、他組織の混入が無いと考えられる。Fig. 3を見ると、Zn や Cu は正規分布に近いヒストグラムを示す。しかし、Mn, As, Pb などは低濃度側に高い頻度が現れ、正規分布とは言い難い。そこで、本研究では正規分布データに対して用いられる平均と標準偏差に代えて、代表値を表すために中央値 (Median) を、分析値の変動を表すために四分位偏差 (Quartile deviation) を用いた。四分位偏差とは、75パーセンタイル値と25パーセンタイル値の差を2で割った値である。

Fig. 4に汐川干潟において採取したオキシジミ40個体の組織別の金属元素濃度の箱ひげ図 (Box Plot) を示した。合わせて、オキシジミ21個体、マガキ30個体の軟体部全体の分析結果も Fig. 4に示した。箱の上下は、75パーセンタイル値と25パーセンタイル値を示し、箱の中の横線は中央値を示す。また、ひげにより最大値と最小値を示したが、箱の長さの1.5倍以上離れている値は外れ値として除いた。また、組織毎の

平均重量について Table 1に示した。

Fig. 4から各元素とも、えら、外套膜、中腸腺で比較的高濃度を、水管や閉殻筋、足で低濃度を示す傾向が見られた。えらは水管を介して餌となる有機懸濁物を海水中から摂取し、それらを濾しとる器官である。よって、摂餌の初期段階では汚染金属を含む有機物を一時集積する役割を果たしていると考えられる。Chin and Chen (1993) は、ハマグリ飼育実験で、低濃度の水銀を含む海水中ではえらがもっとも水銀を濃集することを報告している。一方、実験操作においてえらに付着した懸濁物質の洗浄が不十分であり、その影響により高濃度を示している可能性もある。外套膜は縁辺部から炭酸カルシウムを分泌して貝殻を形成する役割を持っている。同時に汚染物質を軟体部外に排出する役割を担っていることから、濃度が高くなったと推察される。こうした二枚貝のえら、外套膜に対する金属元素の濃集傾向は Wong *et al.* (1980), Swaileh *et al.* (1994) でも指摘されている。しかし、えら、外套膜では、固体間の濃度変化が大きく、非常に四分位偏差が大きい元素も存在する。一方、中腸腺は軟体動物の臓器中で消化を行う組織であり (波部ら, 1999), 栄養を蓄積する役割を持つ。こうした機能を有することから、各種化学物質、金属元素濃度が高くなる傾向が確認されており (中山ほか, 2009), 汚染指標としての活用が期待できる。本研究でも中腸腺における一部元素の濃集は確認された。しかし、こうした中腸腺への濃集は海洋の汚染が起こっていない環境でも発生しており、汚染状態の異なる海域の個体を用いた検証を行う必要がある。

また、組織別平均重量 (Table 1) と金属元素濃度 (Fig. 4) の比較から、組織の重量と金属元素濃度の間には目立った相関が見られない。このことは、少なくとも産卵等の生殖過程との関連が低い組織に関しては、組織の金属元素濃度は成長量や年齢差の影響が小さいことを示している。このような性質は、環境指標として利用する場合には非常に有益である。以下、二枚貝種の金属元素濃度について述べる。

4.1.1. オキシジミ 各金属元素において、えらと外套膜は他組織より相対的に高濃度を示す。しかし、Ni, Co では閉殻筋が最も高い濃度を示し、Sn では中腸腺が最高濃度を示すことから、金属元素によって濃集する組織が異なることが分かる。

Fig. 4は1年間の濃度を平均して出した結果であるため、季節間での濃度変動が大きい組織ほど大きな四

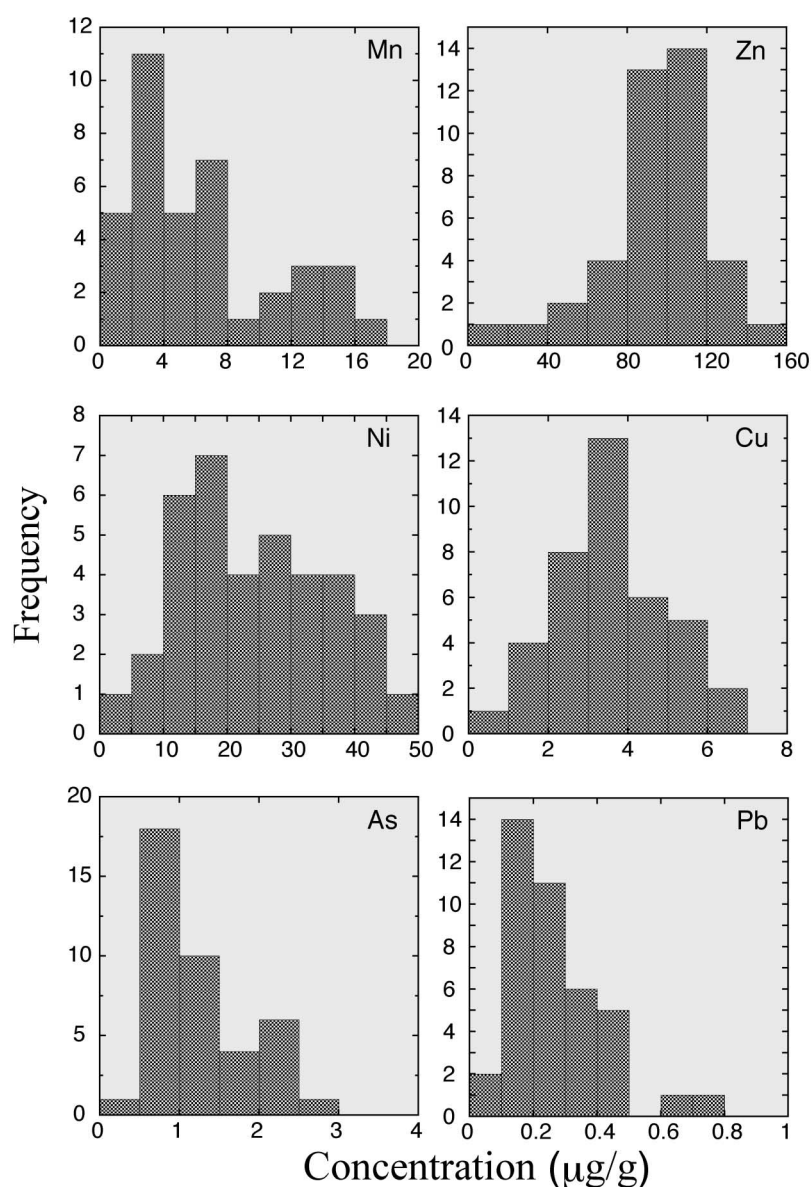


Fig. 3 Histogram of selective 6 metal element concentrations in foot samples of *Cyclina sinensis*.

分位偏差を示す。この点については季節間での濃度変動の章で後述するが、1年間を通した濃度指標としては軟体部全体を用いることで分散が抑えられ、より季節間の変動を低減した指標として活用出来る可能性がある。実際に特定組織を金属元素の汚染指標とする場合には、対象となる金属元素を決め、その金属元素に対応した組織の使用が望ましい。Yap *et al.* (2008) はセンニンガイ (*Telescopium telescopium*) の組織別の金属元素濃度測定を試み、金属元素ごとに濃集組織が異なることに加え、採取した地点によって濃集組織が若干異なることを報告している。Cu および Zn

は組織間の濃度差が小さく、特定組織を用いるよりも、軟体部全体を指標とする方がより簡便である。

オキシジミの組織別平均重量に着目すると、重量は閉殻筋>外套膜>足>えら>水管>中腸腺の順に大きい。最も平均重量の高い閉殻筋が最高濃度を示した元素は Co, Ni, Zn のみであり、また閉殻筋の平均重量と金属元素濃度の相関係数 (R) は Co の 0.1045 が最高値であった。従って、組織別の金属元素濃度は組織の重量と比例して増減するものではないことが明らかとなった。

4.1.2. マガキ カキ類は、欧州を中心としてモニ

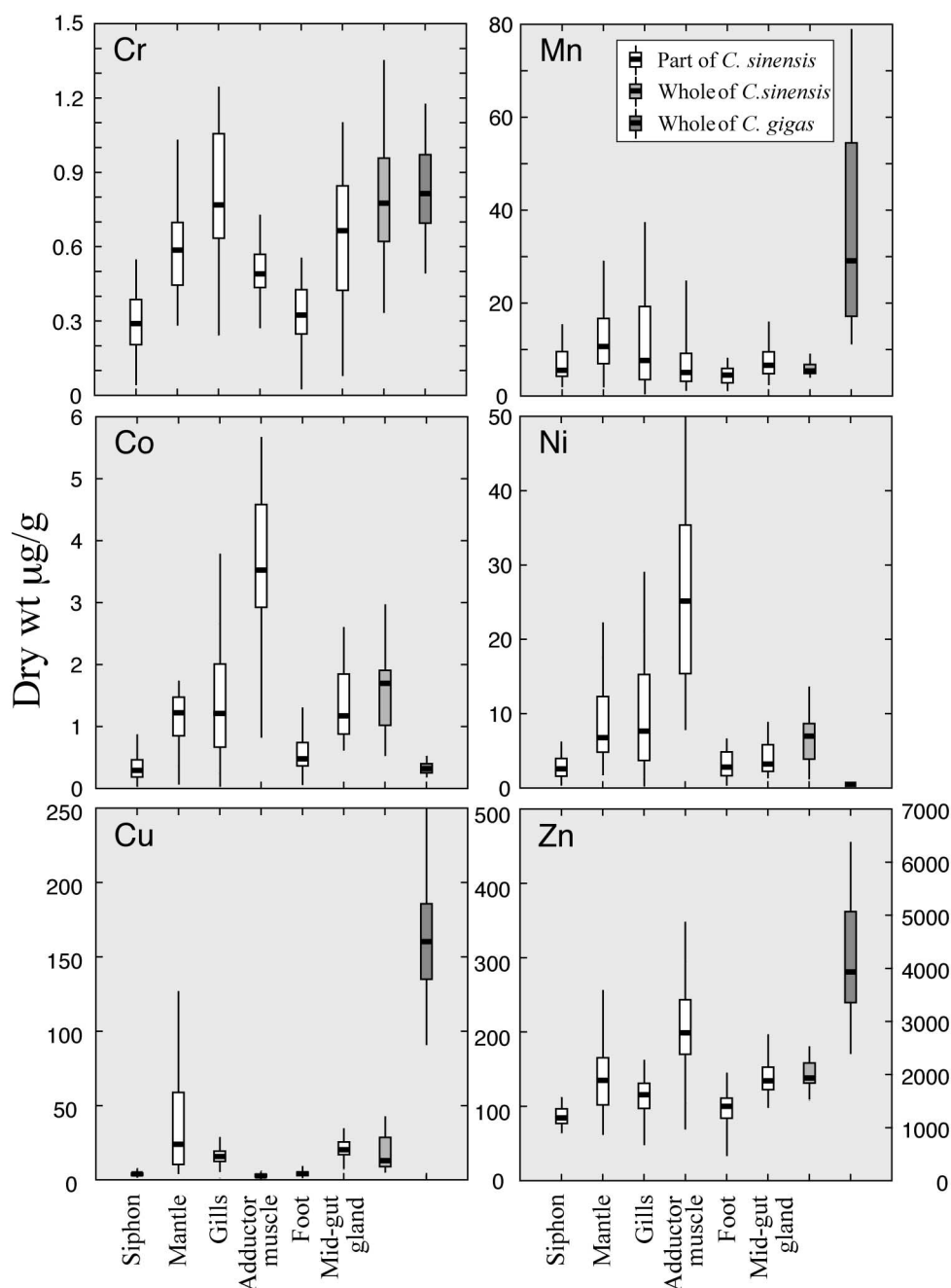


Fig. 4 Box plots of metal elements in individual soft tissues of *Cyclina sinensis* and whole soft tissues of *Cyclina sinensis* and *Crassostrea gigas* collected at Shiokawa tidal flat.

タリング指標に用いられているムラサキイガイ (*Mytilus galloprovincialis*) の日本における代替種として提案されており、利用研究例として森田 (1995) などが挙げられる。マガキについては、組織別の分析を行わず、軟体部全体を用いて平均濃度を求めた。

森田 (1995) をはじめ、Lee *et al.* (1996), Mouneyrac *et al.* (1998) などでも報告されるように、マガキは Cu ($170 \mu\text{g/g}$), Zn ($3,700 \mu\text{g/g}$) を高濃度に濃集する傾向が見られたほか、Cd もオキシジミに対して高濃度を示した。一方、Co, Ni はオキシジミと比べ低濃度であり、種間での金属元素の濃集傾向の

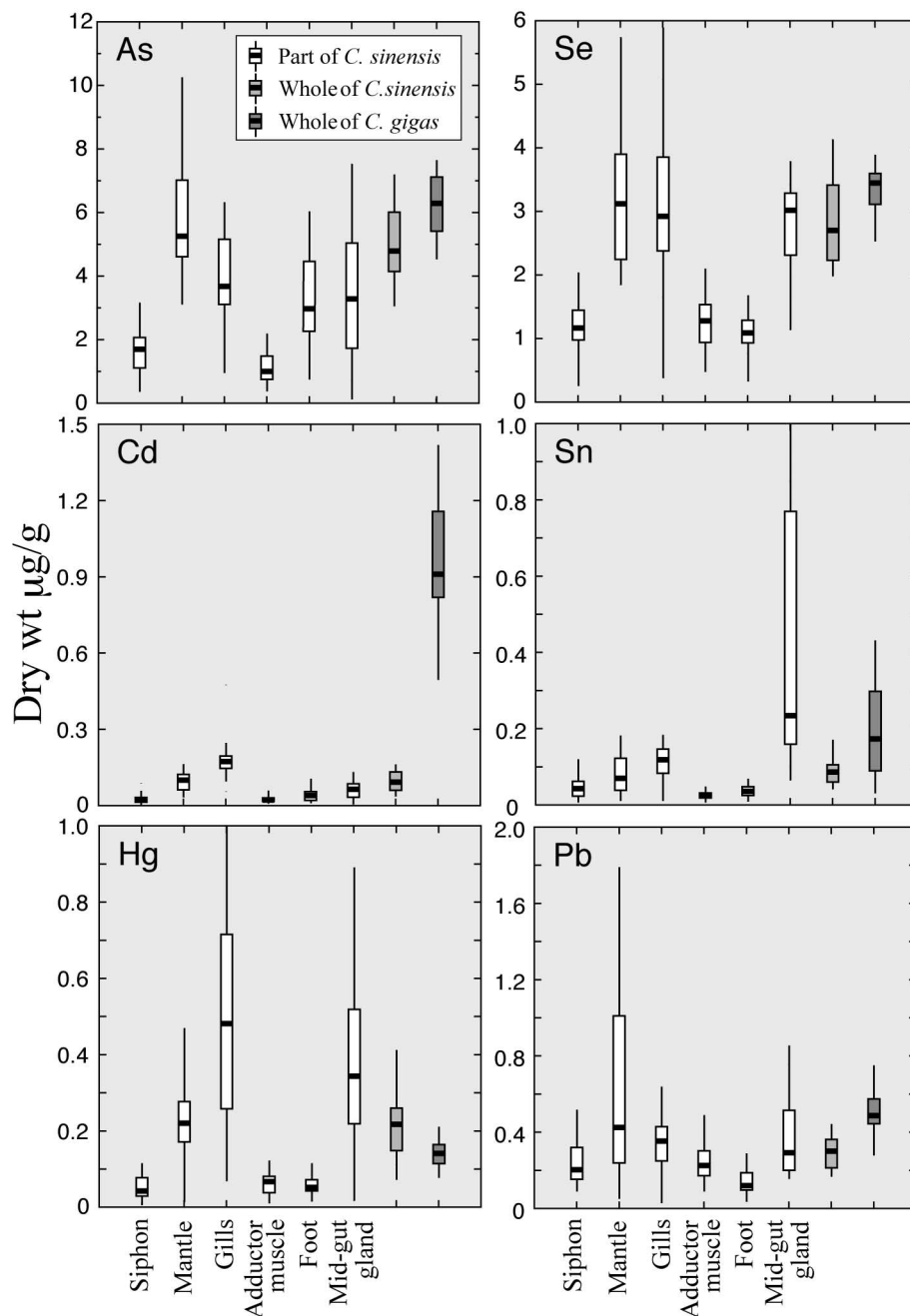


Fig. 4 Box plots of metal elements in individual soft tissues of *Cyclina sinensis* and whole soft tissues of *Cyclina sinensis* and *Crassostrea gigas* collected at Shiokawa tidal flat.

違いが明確に示された。また、四分位偏差も、組織別に分析したオキシジミと比べてやや小さい金属元素が多く、軟体部全体を試料とした場合の分散の低減効果も確認された。カキは他の貝種と違い岩礁や岸壁へ固着して生活するものがほとんどであり、潮汐に合わせて移動も行わないため、砂に潜って生活する種と比べ

堆積物の影響が少ないものと考えられる。その生活様式からも、マガキは外的要因による体内金属元素濃度の変動が他種の二枚貝と比べて小さいと推察される。

4.2. 季節間変動

貝類をはじめとした生体試料を環境指標として用いる場合、産卵期などの生体サイクルや季節間における

Table 1 Average dried weight of soft tissues of 40 *Cyclina sinensis* specimens.

Part	Weight (mg)	S. D.
Siphon	15.4	6.42
Mantle	36.5	13.0
Gills	21.4	7.45
Adductor muscle	91.5	38.5
Foot	25.9	10.8
Mid-gut gland	8.86	3.21

汚染物質の体内濃度変動を考慮する必要がある。そこで、汐川干潟より採取したオキシジミ、マガキを例に季節間の金属元素濃度変動を中央値の変化により図示した (Figs. 5, 6)。

各組織の金属元素濃度の季節変化を見ると、1) 一年を通してほぼ濃度の変わない組織、2) 春期から経時的に単調な金属元素濃度の減少を示す組織、3) 産卵期への応答性の違いを反映する組織、が確認できた。また、オキシジミとマガキの軟体部全体の結果を比較すると、マガキの濃度変動がオキシジミに比べて小さいことから、種によっても季節変化に対する応答性が異なることがわかった。こうした応答性の違いに着目することで、二枚貝がどれほどの期間の金属元素濃度変動を反映しているかを判断できる。

4.2.1. オキシジミ 2010年4月16日から約3か月ごとに、汐川干潟において採取したオキシジミの組織別 (40試料)、ならびに軟体部全体 (21試料) の金属元素組成を基に議論する (Fig. 5)。なお、軟体部全体については、2010年7月15日以降のデータを用いた。Fig. 5から、上述のように3つの変動パターンが確認できる。

(1) 安定型 Zn や Cu に見られるように、水管や足に含まれるこれらの元素は、他部位に比べて年間を通して濃度が低い。他の組織における金属元素挙動に関係なく濃度がほぼ変わらず、これらの組織は環境の変動に対する応答性が弱い可能性がある。

(2) 単調減少型 Co, Ni, Cd は、特にえらや外套膜において金属元素濃度が春期から冬期に向かって減少する傾向を示した。春期に最高濃度を示すが、これは貝自体の有する生体サイクルを反映するのか、過去にあった汚染の影響が徐々に減少しているのか、もしくは汐川干潟沿岸で作られている春作物に関係した

影響かの判断が難しく原因を決定できない。こうした要因を考察するためには何年かの連続した二枚貝と堆積物の測定データが必要である。

Co に着目すると、夏期から冬期に向けて閉殻筋の中央値が $4.81 \mu\text{g/g}$ から $2.59 \mu\text{g/g}$ (0.54倍) へと変化しているのに対し、軟体部全体の中央値は $1.69 \mu\text{g/g}$ から $1.70 \mu\text{g/g}$ (1.01倍) と変化度合に違いが見られる。高濃度を示す蓄積組織が軟体部全体よりも大きな濃度変化傾向は Cu や Hg でも確認できる。4.1節のオキシジミの組織別金属元素濃度で示した各組織における大きな四分位偏差は、各試料の示す個体差のみでなく季節変化も反映したものと判断できる。

(3) 夏期極大型 Cu, Hg は複数の組織で、Co, Ni, Zn は閉殻筋で夏期に最も高い濃度が確認された。Bai *et al.* (2008) によると、オキシジミの産卵期は7月中旬から8月下旬と報告されている。また、Serra *et al.* (1999) によると、ムラサキガイを初め、二枚貝類は産卵期に金属結合タンパク質であるメタロチオネインの生成量が増大することが報告されている。このメタロチオネインはシステインに富む低分子量金属結合タンパク質であり、 Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} などの金属イオンと親和性が高く、生体内での必須微量元素の維持に関わっているとされている (Leung and Fuaness, 1999; Wang *et al.*, 1996)。以上を踏まえ、夏期にピークを示す各元素は、産卵期におけるメタロチオネインの分泌量増加に起因すると考えられる。

4.2.2. マガキ 汐川干潟において、2010年7月15日から約3か月ごとに採取した30個体から得られたデータを Fig. 6に示した。

マガキは、夏期から冬期にかけて Mn の濃度減少や Zn の濃度増加を示したほか、Cd, Hg もわずかな濃度増加を示した。しかし、オキシジミの場合と比べ、Co, Se, Pb など季節間で濃度がほとんど変わらない元素が大半を占め、年間を通した濃度変化が少ない種といえる。今井ほか (1971) は、マガキの産卵期は6~8月であり、産卵期前後では放卵・放精の影響でマガキの個体重量が著しく減少すると述べている。また、夏期から冬期に向けた濃度増加傾向を示した Zn, Cd は、メタロチオネインとの親和性が高く代謝経路が非常に類似していることが知られている (山根ほか, 1981)。よって、同様の濃度傾向を示す Zn, Cd に関しては放卵・放精によって夏期の濃度減少を起こしたものと考えられる。

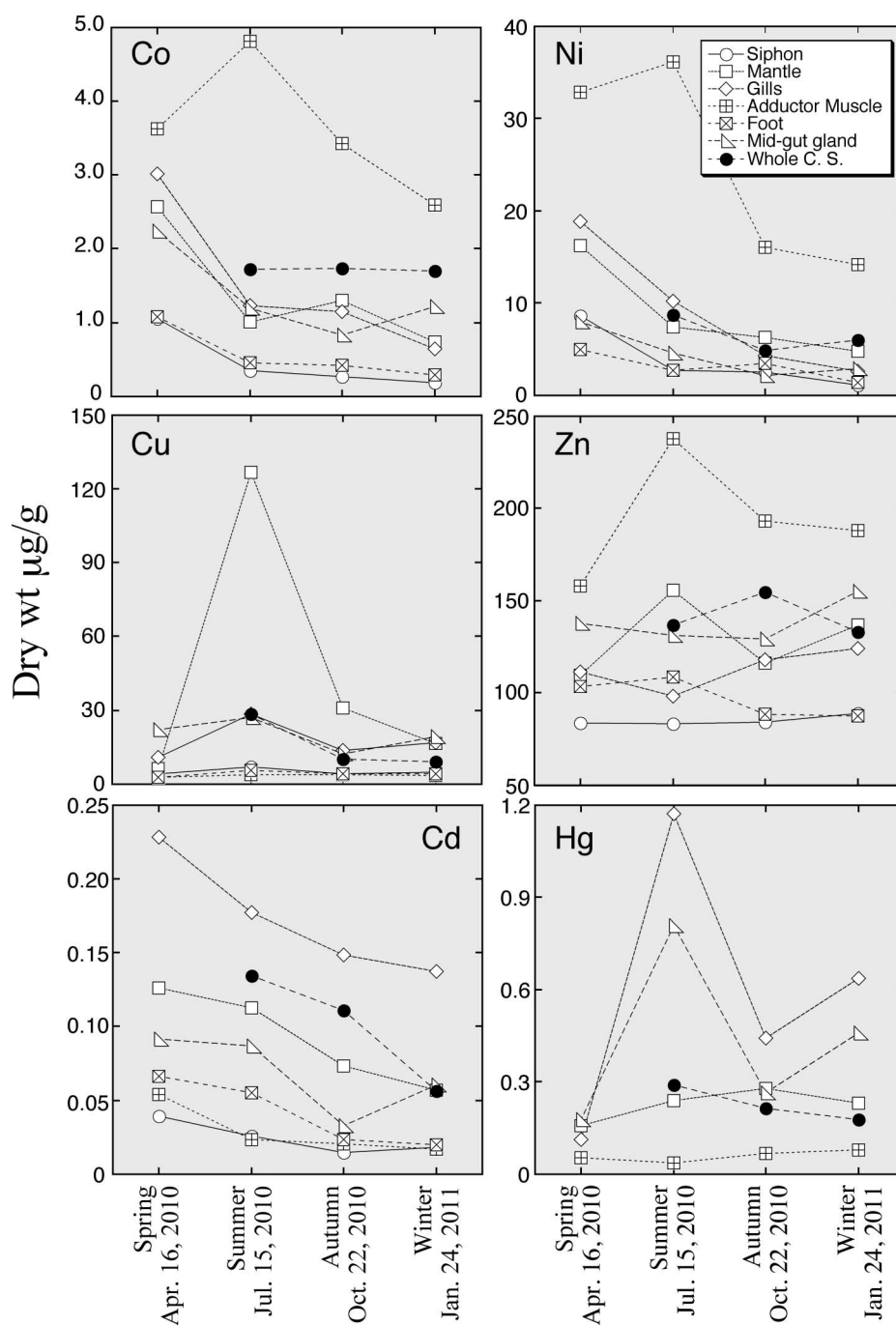


Fig. 5 Seasonal variations of metal element concentrations from spring to winter in individual and whole-body soft tissues of *Cyclina sinensis* collected at Shiokawa tidal flat.

Muraoka *et al.* (1997) は、八代海沿岸域から採取したマガキの金属元素分析を行い、Cu, Zn, Cd ならびに Mn が産卵期の夏期に濃度減少を示すことを報告している。本研究で分析した汐川干潟のマガキは、Zn, Cd については同様に夏期の濃度減少を示し

たが、Cu, Mn については明確な濃度減少を示さなかった。マガキを Cu, Mn 汚染の指標生物として用いるためには、さらに検証する必要がある。

4.3. 個体間変動

前述のように、各組織の金属元素濃度は、季節に

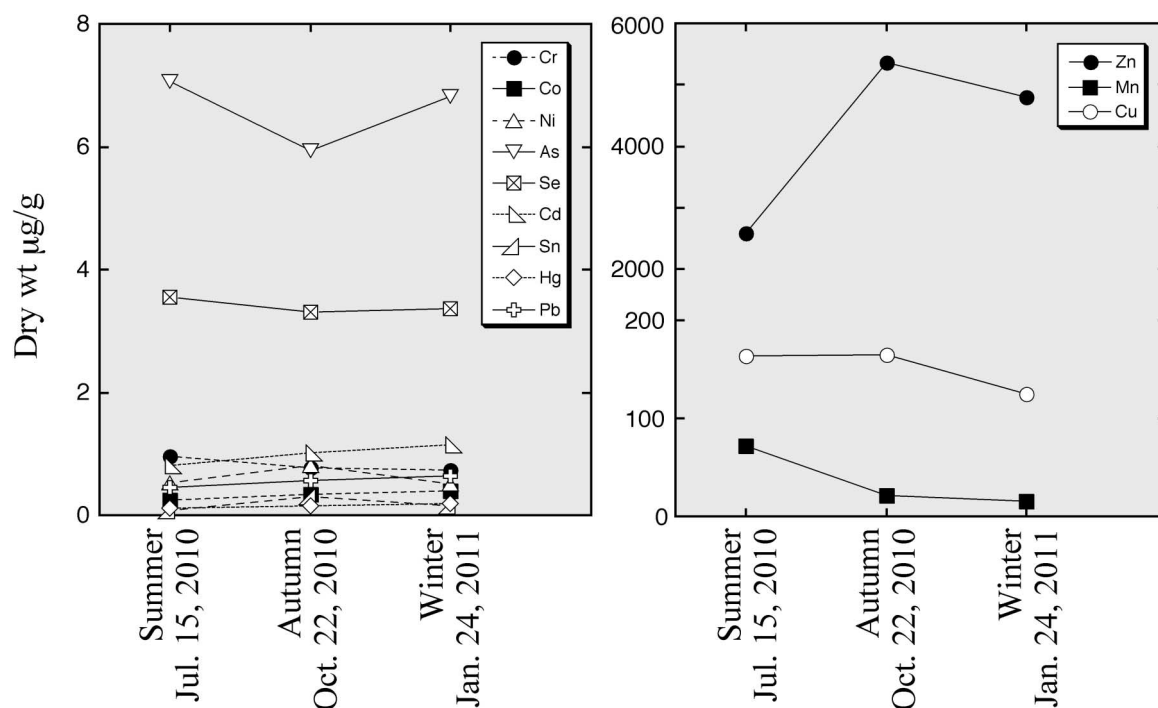


Fig. 6 Seasonal variations of metal element concentrations from summer to winter in whole-body soft tissues of *Crassostrea gigas* collected at Shiokawa tidal flat.

よって大きく変化する場合がある。そこで、固体間の変動を調べるために、それぞれの季節毎に採取したオキシジミ試料について金属元素濃度の中央値と四分位偏差を Table 2 に示した。

分析値の分散の程度は、元素毎に、また組織毎に異なっている。今回分析した元素のうち、Mn は、いくつかの組織で四分位偏差が中央値の50%を超えており、個体間の濃度の分散が大きいのにに対し、Co, Ni, Cu, Zn, Se, Pb は四分位偏差が50%を越える組織が少なく比較的個体間の分散は小さいといえる。組織別に見ると、えらでは個体間の分散が大きい。えらの場合には多くの組織と接するため、その境界がわかりにくい。そのため組織の切除が不完全となり、他組織と混合してしまったため分散が大きくなった可能性がある。一方、サンプリングに当たっては干潟の広い範囲から試料採取を行った。後述のように、干潟堆積物から有機溶媒（ジクロロメタン）抽出された金属元素濃度は、干潟内では大きな変動をしめす。このような堆積物の化学組成の不均質性を各オキシジミ試料が反映している可能性もある。

軟体部全体の分析値を見ると、四分位偏差が各組織と比べた場合に小さい傾向にあり、長期的な汚染調査

には軟体部全体を用いる方が、季節変動もより小さく、個体間の分散も小さく適していると考えられる。3か月以下の短期間の金属元素濃度を調査する場合には、組織別の測定により組織毎の蓄積特性を活かした指標として活用できる可能性がある。以上のことから、二枚貝類を組織別に指標として用いる場合には、その期間、分散に制限を設け、軟体部全体を利用する旧来の方法と併用が望まれる。

4.4. 周辺環境と濃縮係数

二枚貝体内の金属元素濃度は、海水中的プランクトンや有機懸濁物もしくは堆積物表層に含まれる有機物中の金属元素濃度に影響を受けると考えられる。海水中に含まれるプランクトンや有機懸濁物量は少なく分析が困難であるため、本研究では表層堆積物に含まれる有機物がプランクトンや有機懸濁物の化学組成を表すものと仮定し、二枚貝の金属元素濃縮係数を求めることを試みた。なお、プランクトンなども海水中から金属元素を選択的に濃縮するが、堆積物中の有機物はその効果も含んでいるものとする。汐川干潟において、2010年10月22日、2011年1月24日に行ったサンプリングでそれぞれ10試料ずつ堆積物試料を採取し、有機物をジクロロメタンで抽出し、そこに含まれ

Table 2 Medians of toxic metal concentrations ($\mu\text{g/g}$) for individual and whole-body soft tissues of *Cyclina sinensis* collected from Shiokawa tidal zone. Also shown in parentheses are quartile deviations ($\mu\text{g/g}$). If the quartile deviations are larger than the 50% of medians, the values are underlined.

	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Cd	Sn	Hg	Pb
Spring, Apr. 16, 2010												
Siphon	0.39 (0.086)	6.10 (1.67)	1.05 (0.29)	8.60 (3.41)	4.09 (1.10)	84.0 (13.9)	2.36 (0.67)	<u>1.09 (0.65)</u>	0.04 (0.01)	0.06 (0.02)	0.07 (0.01)	0.42 (0.13)
Mantle	<u>0.94 (0.55)</u>	<u>8.27 (4.21)</u>	2.57 (0.69)	16.2 (1.22)	6.25 (1.25)	110 (23.2)	5.73 (1.33)	3.33 (0.38)	0.13 (0.01)	0.13 (0.01)	0.16 (0.01)	0.52 (0.20)
Gills	1.19 (0.16)	12.7 (5.07)	3.01 (1.03)	18.8 (6.49)	10.9 (2.85)	111 (11.2)	5.24 (0.40)	3.46 (0.67)	0.23 (0.05)	0.13 (0.01)	0.12 (0.05)	0.42 (0.05)
Adductor muscle	0.43 (0.16)	7.10 (1.13)	3.63 (0.98)	32.8 (9.28)	2.81 (0.68)	157 (39.0)	1.11 (0.45)	1.54 (0.16)	0.05 (0.01)	0.04 (0.01)	<u>0.04 (0.03)</u>	0.39 (0.07)
Foot	0.34 (0.16)	4.11 (1.17)	1.08 (0.42)	5.01 (2.80)	2.78 (0.80)	104 (10.4)	3.35 (0.55)	0.95 (0.17)	0.07 (0.02)	0.03 (0.01)	0.06 (0.01)	0.18 (0.06)
Mid-gut gland	0.71 (0.22)	8.80 (1.52)	2.24 (0.20)	7.99 (1.20)	22.0 (2.54)	138 (20.6)	<u>5.31 (2.95)</u>	3.11 (0.19)	0.09 (0.02)	0.11 (0.03)	0.17 (0.08)	0.68 (0.15)
Summer, Jul. 15, 2010												
Siphon	0.26 (0.10)	8.28 (2.95)	0.35 (0.11)	2.75 (0.29)	7.11 (2.10)	83.2 (5.80)	1.05 (0.43)	1.28 (0.0)	0.03 (0.0)	0.04 (0.02)	0.00 (0.0)	0.26 (0.09)
Mantle	0.39 (0.05)	10.6 (4.92)	1.00 (0.19)	7.38 (2.28)	126 (44.7)	155 (30.4)	4.86 (0.61)	2.33 (3.52)	0.11 (0.01)	0.06 (0.01)	0.24 (0.05)	1.23 (0.24)
Gills	0.68 (0.14)	<u>7.83 (10.1)</u>	1.23 (0.43)	10.3 (4.12)	<u>28.6 (16.3)</u>	98.4 (20.6)	4.42 (1.19)	2.08 (0.97)	0.18 (0.01)	0.09 (0.02)	1.19 (0.27)	0.48 (0.07)
Adductor muscle	0.52 (0.04)	<u>7.85 (5.62)</u>	4.81 (0.20)	36.2 (3.00)	3.67 (0.80)	238 (28.0)	1.03 (0.20)	0.71 (0.15)	0.02 (0.0)	0.02 (0.0)	0.04 (0.01)	0.27 (0.04)
Foot	0.27 (0.03)	4.19 (1.32)	0.45 (0.11)	2.70 (0.70)	5.48 (1.28)	108 (8.48)	2.51 (1.01)	1.06 (0.0)	0.06 (0.0)	0.04 (0.01)	0.00 (0.0)	0.16 (0.03)
Mid-gut gland	0.34 (0.08)	5.67 (2.49)	1.20 (0.21)	4.64 (1.29)	26.9 (4.87)	131 (9.02)	2.13 (0.57)	2.20 (0.0)	0.09 (0.02)	0.22 (0.03)	<u>0.80 (0.54)</u>	0.20 (0.06)
Whole-body	1.01 (0.14)	9.40 (4.40)	1.69 (0.15)	9.30 (1.70)	31.4 (5.50)	136 (9.97)	6.18 (0.48)	3.52 (0.34)	0.13 (0.01)	0.09 (0.01)	0.29 (0.08)	0.38 (0.04)
Autumn, Oct. 22, 2010												
Siphon	0.28 (0.04)	8.28 (2.86)	0.27 (0.06)	2.55 (1.18)	4.25 (0.69)	84.2 (8.08)	1.62 (0.47)	1.05 (0.15)	0.01 (0.0)	0.06 (0.01)	0.03 (0.01)	0.18 (0.02)
Mantle	0.57 (0.09)	12.4 (5.24)	1.30 (0.17)	6.28 (1.76)	30.9 (6.11)	116 (11.9)	6.22 (1.64)	4.43 (1.12)	0.07 (0.02)	0.06 (0.02)	0.27 (0.06)	0.28 (0.09)
Gills	0.64 (0.12)	19.0 (13.8)	1.14 (0.28)	4.28 (0.65)	13.6 (1.12)	118 (5.58)	3.35 (0.29)	3.75 (0.37)	0.15 (0.03)	0.15 (0.04)	0.46 (0.04)	0.18 (0.02)
Adductor muscle	0.46 (0.03)	<u>6.15 (5.27)</u>	3.42 (0.34)	16.1 (5.92)	3.75 (0.85)	193 (26.3)	0.89 (0.22)	1.41 (0.17)	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.07 (0.02)	0.16 (0.03)
Foot	0.38 (0.04)	4.96 (0.88)	0.42 (0.12)	3.43 (0.60)	4.10 (0.74)	88.6 (12.6)	3.07 (0.88)	1.07 (0.20)	0.02 (0.01)	0.05 (0.02)	0.05 (0.01)	0.09 (0.02)
Mid-gut gland	0.79 (0.11)	<u>6.43 (3.71)</u>	0.84 (0.14)	2.17 (0.38)	12.2 (2.24)	129 (6.13)	1.75 (0.75)	2.35 (0.83)	0.03 (0.01)	1.45 (0.45)	0.26 (0.06)	0.19 (0.01)
Whole-body	0.35 (0.09)	7.82 (1.24)	1.73 (0.29)	4.91 (1.24)	10.2 (1.36)	155 (7.14)	4.80 (0.26)	3.37 (0.11)	0.11 (0.01)	0.17 (0.03)	0.21 (0.01)	0.21 (0.03)
Winter, Jan. 24, 2011												
Siphon	0.31 (0.10)	4.43 (0.47)	0.19 (0.04)	1.13 (0.36)	4.90 (0.25)	89.1 (9.64)	1.87 (0.19)	1.29 (0.24)	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.04 (0.03)	0.20 (0.05)
Mantle	0.61 (0.09)	10.1 (1.91)	0.74 (0.11)	4.77 (0.93)	16.6 (6.36)	137 (42.7)	5.38 (1.42)	2.74 (0.52)	0.06 (0.01)	0.04 (0.04)	0.23 (0.03)	0.23 (0.06)
Gills	0.80 (0.21)	4.45 (1.37)	0.64 (0.05)	2.65 (0.70)	16.8 (3.85)	124 (21.3)	3.14 (0.42)	2.57 (0.26)	0.14 (0.03)	<u>0.02 (0.03)</u>	0.65 (0.26)	0.30 (0.05)
Adductor muscle	0.50 (0.03)	3.34 (0.14)	2.59 (0.45)	14.2 (3.91)	3.30 (1.15)	188 (37.8)	1.10 (0.23)	1.22 (0.14)	0.02 (0.0)	0.02 (0.0)	0.08 (0.01)	0.19 (0.04)
Foot	0.29 (0.08)	4.50 (1.76)	0.30 (0.11)	1.39 (0.45)	4.12 (1.02)	87.5 (21.9)	3.00 (1.31)	1.05 (0.24)	<u>0.02 (0.01)</u>	0.03 (0.01)	0.07 (0.01)	0.14 (0.06)
Mid-gut gland	0.67 (0.12)	5.65 (0.46)	1.22 (0.23)	2.92 (0.37)	19.2 (2.38)	155 (11.1)	4.95 (0.58)	3.10 (0.25)	0.06 (0.03)	0.33 (0.10)	0.48 (0.09)	0.50 (0.04)
Whole-body	0.63 (0.12)	5.41 (0.35)	1.70 (0.41)	5.47 (1.67)	8.64 (1.16)	137 (18.1)	4.18 (0.66)	2.20 (0.06)	0.05 (0.01)	0.09 (0.02)	0.18 (0.05)	0.23 (0.06)

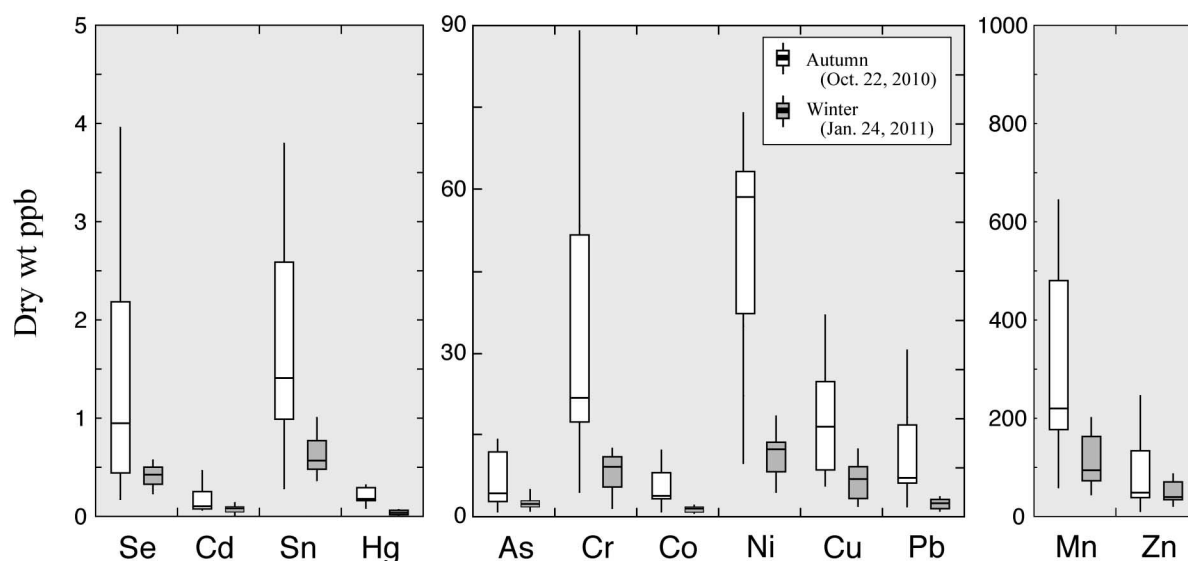


Fig. 7 Box plots of metal concentrations in surface sediments collected in autumn and winter in Shiokawa tidal flat. Metal elements were extracted with dichloromethane. The extracted metals were normalized to the weight of used dry sediment and expressed in ppb.

る金属元素を定量した。堆積物試料の重量を基準に濃度を求め Fig. 7 に示した。また、堆積物からオキシジミ体内への金属元素の濃縮係数を Fig. 8 に示した。

4.4.1. 堆積物試料 秋期と冬期の堆積物に含まれる有機物抽出により求めた金属元素濃度を見ると (Fig. 7), 秋期から冬期に向けて明らかに濃度が減少し、四分位偏差も秋期の堆積物が Ni と Hg を除く全ての元素が中央値の50%を越えるのに対し、冬期は Hg を除く全ての元素が50%以下へと小さくなっている。この違いを生じた原因の一つとして、貧酸素水塊の影響が可能性の一つとして考えられる。2010年10月4～6日、18～21日に行われた愛知水産試験場漁業環境研究部による伊勢・三河湾貧酸素情報の調査によると、4～6日において発生していた三河湾奥部（汐川干潟周辺）の貧酸素水塊が18～21日では解消されたことが報告されている。この報告から、二枚貝のサンプリングを行った2010年10月22日は貧酸素水塊の発生・消滅の最終時期である。貧酸素水塊の発生は低層水中の有機懸濁物（死滅したプランクトンなど）の分解に伴う酸素の消費が大きな要因として挙げられ、貧酸素水塊中には多量の有機物がふくまれている。これらの有機物の供給と貧酸素化に伴う有機物の酸化分解の抑制が秋期の高い金属元素含有量を生じたものと考えられる（神菌ほか、1995）。また、2011年1月24日に行った冬期サンプリング分の金属元素濃度、四分

位偏差が共に減少しているのは、秋期に発生していた貧酸素水塊の影響の消滅に起因するものと考えられる。

4.4.2. オキシジミの濃縮係数 オキシジミの各組織の金属元素濃度を有機溶媒抽出で求めた堆積物中の金属元素濃度で割ることで濃縮係数を求め、その中央値を Fig. 8 に示した。この係数は元素によって大きな違いを示し、Cr, Mn, Sn, Pb は比較的小さく $10 \sim 10^2$ 程度を示すのに対し、Cu, Zn, As, Se, Hg は $10^3 \sim 10^4$ と大きな値を示す。中腸腺の場合、Cr の濃縮係数が $50 \sim 90$ 倍程度に対して、Hg は $2,000 \sim 20,000$ 倍にも達する。このような元素毎の極端な濃縮係数の違いは、閉殻筋やえらなどでも確認できる。

先に論じたオキシジミ各組織の金属元素濃度の季節変化を見ると、夏期から冬期に向けて濃度の減少を示す元素が認められた。しかし、周辺の堆積物中の金属元素濃度の減少の方が大きく、結果として秋期と冬期を比べると濃縮係数は冬期の方が高い値を示す元素が多い。このことは、二枚貝の方が環境変化に対する金属元素濃度の応答が遅く、長期的な指標として活用するならば、堆積物中の有機物よりも二枚貝の方が適していると言える。濃縮係数が季節により異なるため、二枚貝体内の濃度から干潟における実際の濃度を算出するには、各季節で蓄積倍率を調査し二枚貝の生活史との関係を知る必要がある。

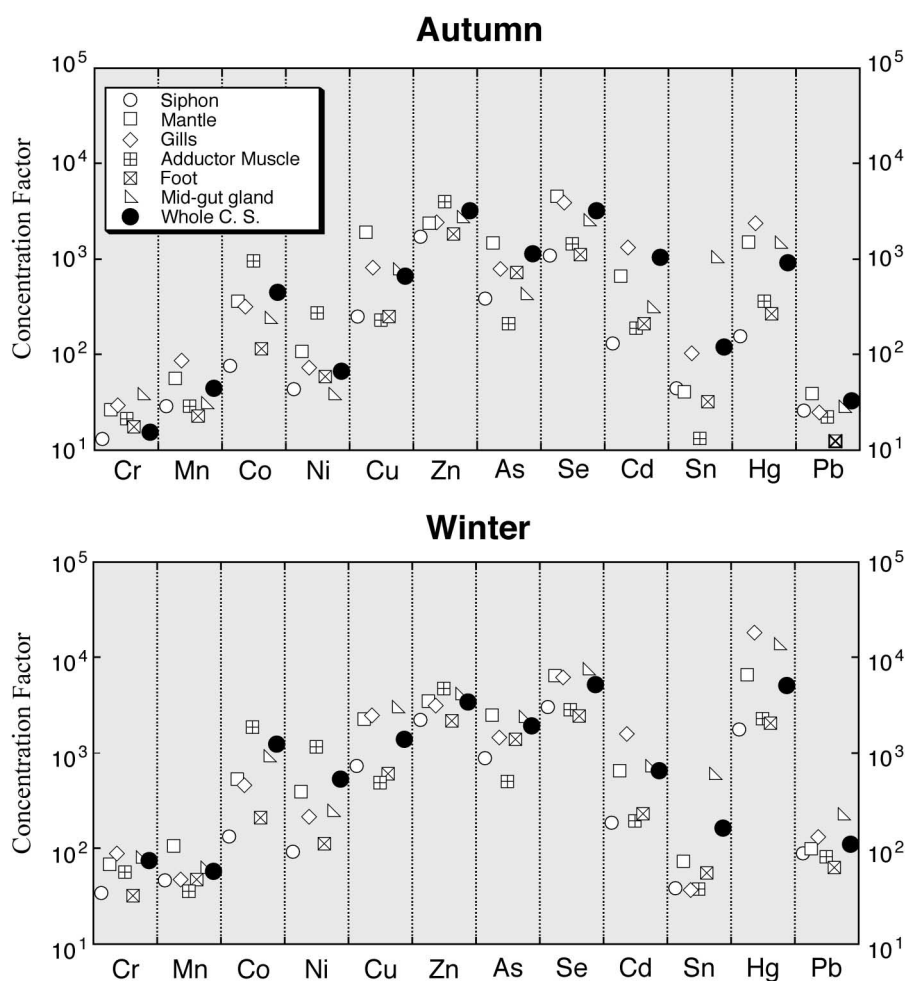


Fig. 8 Concentration factors of metal elements in individual and whole-body soft tissues of *Cyclina sinensis* collected at Shiokawa tidal flat. In calculation of concentration factors, metal element concentrations of individual and whole-body soft tissues were divided by those of surface sediments collected at the same time.

また、堆積物とオキシジミ組織別の金属元素濃度の四分位偏差を比べると、堆積物中有機物から求めた金属元素濃度の四分位偏差に対し、オキシジミの組織別金属元素濃度は小さい。このことから、二枚貝を用いた汚染評価指標は堆積物中有機物を直接測定するよりも分散を低減し、貧酸素水塊に起因する金属元素濃度の空間変動を平均化した指標として利用できることがわかった。ただ、常に二枚貝の利用が有効であるわけではなく、より短い期間での汚染に着目する場合には、堆積物中有機物や海水の化学分析を行うなど、調査したい期間、対象元素に合わせて測定試料を選択すべきである。

4.5. オキシジミ試料の地域差

前述のように、オキシジミは組織ならびに元素によって金属元素濃度の季節変化を示す。本研究では3つの調査地域での採取時期がそれぞれ異なるため、奥田海岸の試料に対しては汐川干潟で夏期に採取したものと、藤前干潟の試料に対しては汐川干潟の秋期の試料とそれぞれ中央値を用いて比較を行った (Fig. 9)。

夏期の奥田海岸と汐川干潟、秋期の藤前干潟と汐川干潟を比較すると、Coはオキシジミの各組織がお互いに近い濃度を示した (Fig. 9)。Cr, Niも同様な傾向を示した。これらの元素については、各干潟の汚染度に大きな違いが見られない可能性と、試料採取地点

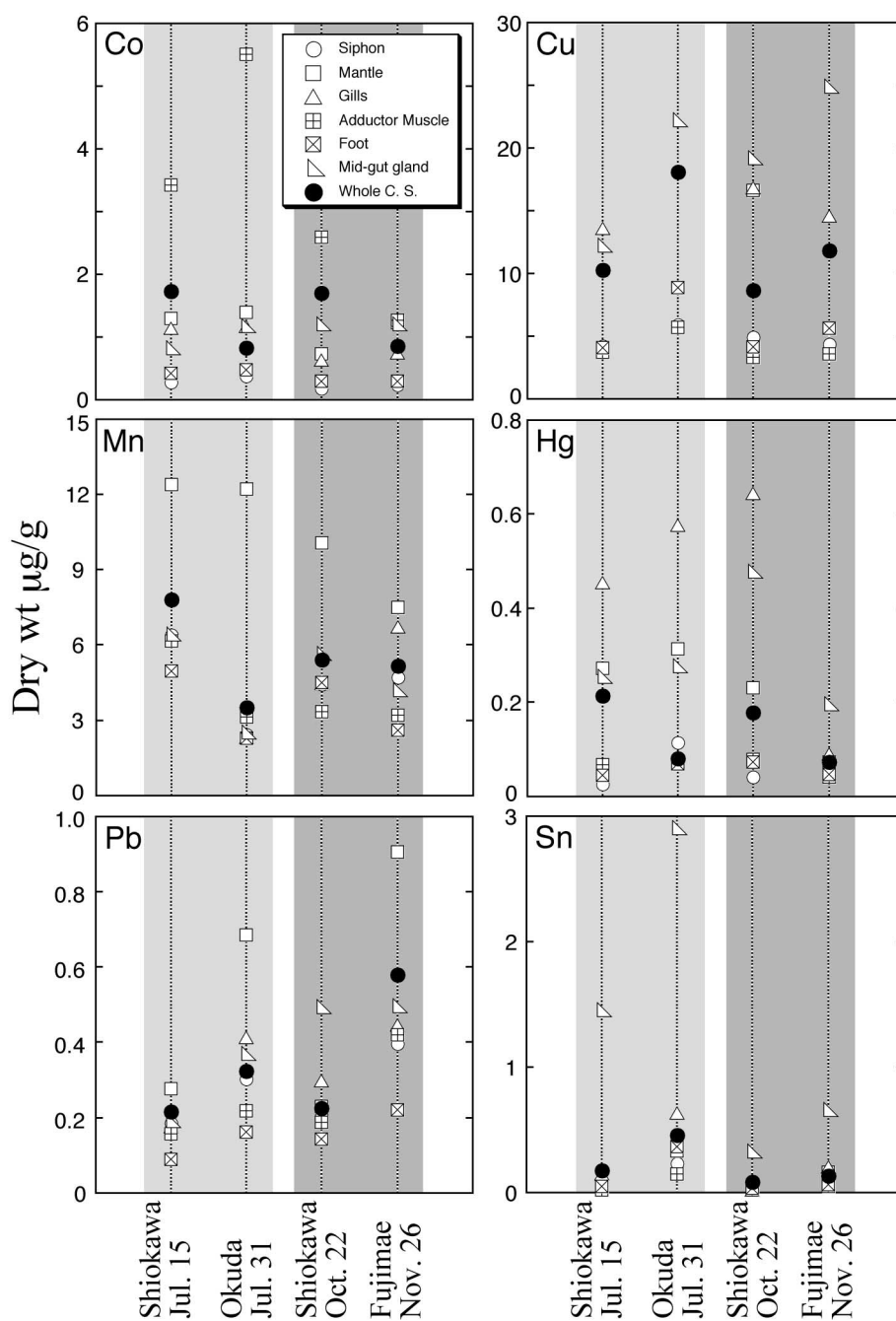


Fig. 9 Comparison of metal concentrations in individual and whole-body soft tissues collected at Shiokawa tidal flat with those at Okuda coast collected in autumn and with those at Fujimae tidal flat in winter.

の汚染状況よりもオキシジミの恒常性維持機構の影響を強く受けている可能性が考えられる。しかし、閉殻筋、中腸腺に関しては、例外的な傾向が認められる。例えば、秋期の汐川干潟では閉殻筋のCo濃度が $2.6 \mu\text{g/g}$ に対し、藤前干潟では $1.3 \mu\text{g/g}$ であった。このように、これらの元素については、組織よっては地域

による汚染度合の違いを反映している可能性がある。

また、汐川干潟ではMn、藤前干潟ではPb、奥田海岸ではSnの濃度が他地域よりも高いことが確認された。特に、奥田海岸でのSn濃度は中腸腺において $2.9 \mu\text{g/g}$ と、他2地点と比べ2~8倍高く明確な差が認められた。これは、他の元素で認められる地域間変動

よりも大きく、地域差を反映したものと思われる。Snは鉄よりも不活性のため鉄にメッキしてブリキとして用いられたり、銅との合金により青銅として利用されたりしている(馬淵, 1994)。海と陸の地球化学図(今井ほか, 2010)によれば、Snは後背地に工業地帯を控えた東京湾や伊勢湾、大阪湾などの堆積物が高濃度を示し、工業活動との関連が強く示唆される。従って、Snが奥田海岸で高い値を示すのは、沿岸からの流入が考えられる。この点については、堆積物試料との比較から地域別のバックグラウンドデータを調査し、より詳細な濃度差比較を行う必要がある。

4.6. 分析組織の検討

これまでの結果を総括し、オキシジミにおける分析組織の検討を行う。

分析組織の選定にあたっては以下の条件を設定した。

- (1) 軟体部全体を用いた従来手法よりも高濃度を示し、四分位偏差が $\pm 10\%$ 以下であること
- (2) (1)の関係が季節間、どの地域でも変わらないこと
- (3) 産卵期などに影響されず、地域間の濃度差を反映することが出来ること

外套膜やえらは、多くの元素について高濃度を示す(Fig. 4)が、分散が大きく再現性に欠け指標としては適さない。中腸腺と閉殻筋は、高い金属元素濃度を示し、濃度の分散も他組織に比べて小さく指標として適することがわかった(Table 2)。しかし、閉殻筋のCo, Ni, Znなどは季節毎の濃度変化が大きく、環境の汚染状況を反映しているのではなく、産卵期の影響を見ている可能性が高い(Fig. 5)。従って、閉殻筋を環境指標として利用することは困難である。一方、3カ所の試料採取地域間の比較から、中腸腺は地域によってHg, Sn, Mn濃度の明らかな違いを示し、環境指標として利用可能と考えられる(Fig. 9)。また、As, Pbなどは軟体部全体を利用することができることも明らかとなった。

一方、軟体部全体の分析結果は、四分位偏差が各組織に比べて小さい傾向を示す。長期的な汚染調査には軟体部全体を用いる方が、季節変動もより少なく個体間の分散も小さく適していると考えられる。3か月以下の短期間の金属元素濃度を調査する場合には、組織別の測定により組織毎の蓄積特性を活かした指標として活用できる可能性がある。

以上のことから、二枚貝、特にオキシジミにおいて

は組織別と軟体部全体の分析を併用することで、いくつかの特定金属元素については汚染指標として活用できることが示された。

謝 辞

三重大大学生物資源学部の木村昭一氏、愛知みずほ大学人間科学部の川瀬基弘博士には、オキシジミの生息地についてのご教示頂いた。名古屋大学大学院環境学研究科地球化学講座の皆様には、サンプリングの手伝いをして頂いた。東京大学大気海洋研究所の井上麻夕里博士には編集においてお世話になった。また愛媛大学の板井啓明博士と匿名の査読者には、有益なコメントを多数頂いた。ここに記して感謝の意を表します。

平成24年9月13日 日本地球化学会年会(九州大学)にて講演「二枚貝(オキシジミ)の組織別金属元素組成」

引用文献

- Bai, H., Ma, R., Gao, Y., Song, G. and Dalian, F. (2008) The gonadal development and reproductive cycle of clam *Cyclina sinensis* in coastal Dalian. *Dalian Shuichan Xueyuan Xuebao*, **23**, 196–199.
- Besada, V., Andrade, J. M., Schultze, F. and González, J. J. (2011) Monitoring of heavy metals in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Spanish North-Atlantic coast. *Continental Shelf Research*, **31**, 457–465.
- Chin, T. S. and Chen, H. -C. (1993) Bioaccumulation and distribution of mercury in the hard clam, *Meretrix lusoria* (Bivalvia: Veneridae). *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C*, **106**, 131–139.
- Cossa, D. (1989) A review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanologica Acta*, **12**, 417–432.
- Edward, B. E., Yap, C. K., Ismail, A. and Tan, S. G. (2009) Interspecific variation of heavy metal concentrations in the different parts of tropical intertidal bivalves. *Water Air Soil Pollution*, **196**, 297–309.
- Goldberg, E. D. (1975) The mussel watch - a first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, **6**, 111.
- 波部忠重・奥谷喬司・西脇三郎(1999) 軟体動物学概説(下巻), サイエンス出版社, pp. 321.
- 今井丈夫・沼知健一・森勝義・菅原義雄(1971) カキの生物学的研究「浅海完全養殖」. 恒星社厚生閣, pp. 81–148.
- 今井登・寺島滋・太田充恒・御子柴(氏家)真澄・岡井貴司・立花好子・池原研・片山肇・野田篤・富樫茂子・松久幸敬・金井豊・上岡晃(2010) 海と陸の地球化学図, 独立行政法人産業技術総合研究所 地質調査総合センター, pp. 207.

- 神岡真人・磯部篤彦・江藤拓也・俵 悟・小泉喜嗣（1995）周防灘南西部における貧酸素水塊形成機構—酸素消費速度の変動要因—. 沿岸海洋研究ノート, **32**, 167–175.
- 環境省自然環境局生物多様性センター（2007）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）業務報告書, pp. 344.
- Lee, C. -L., Chen, H. -Y. and Chuang, M. -Y. (1996) Use of oyster, *Crassostrea gigas*, and ambient water to assess metal pollution status of the charting coastal area, Taiwan, after the 1986 green oyster incident. *Chemosphere*, **33**, 2505–2532.
- Leung, K. M. Y. and Furness, R. W. (1999) Effects of animal size on concentrations of metallothionein and metals in periwinkles *Littorina littorea* collected from the Firth of Clyde, Scotland. *Marine Pollution Bulletin*, **39**, 126–136.
- 馬淵久夫（1994）元素の事典, 朝倉書店, pp. 304
- Marigomez, J. A. and Ireland, M. P. (1989) Accumulation, distribution and loss of cadmium in the marine prosobranch *Littorina Littorea* (L.). *Science of the Total Environment*, **78**, 1–12.
- 森田昌敏（1995）マッセルウォッチ イガイ類を指標生物とした環境モニタリング. 化学と生物, **33**, 825–830.
- Mouneyrac, C., Amiard, J. C. and Amiard-Triquet, C. (1998) Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oyster *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. *Marine Ecology Progress Series*, **162**, 125–135.
- 村岡俊彦・策俊郎・久保清（1997）マガキを用いた海域重金属モニタリングの検討. 熊本県保健環境科学研究所報, **27**, 51–57.
- 中山憲司・柴田康行・神和夫（2009）ホタテガイ中腸腺に蓄積するカドミウムの局在性. 道衛研所報, **59**, 35–57.
- 農林水産省大臣官房統計部（2009）平成21年漁業・養殖業生産統計, pp. 14–15.
- Serra, R., Isani, G., Tramontano, G. and Caepen , E. (1999) Seasonal dependence of cadmium accumulation and Cd-binding proteins in *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C*, **123**, 165–174.
- Shulkin, V. M., Presley, B. J. and Kavun, V. Ia. (2003) Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments. *Environment International*, **29**, 493–502.
- 鈴木尊仁・井上恵介・小澤智生（2006）伊勢湾・三河湾における1960年代以降の環境劣化と潮間帯軟体動物相の変化. 名古屋大学博物館報告, **22**, 31–64.
- Swaileh, K. M. and Adelung, D. (1994) Levels of trace metals and effect of body size on metal content and concentration in *Arctica islandica* L. (Mollusca: Bivalvia) from Kiel Bay, Western Baltic. *Marine Pollution Bulletin*, **28**, 500–505.
- 高柳和史・坂見知子（2002）沿岸海域の重金属汚染モニタリングに向けた指標生物候補としての二枚貝の特性—総説—. 水研センター研報, **2**, 35–46.
- Tarique, Q., Burger, J. and Reinfelder, J. R. (2012) Metal concentrations in organs of the clam *Amiantis umbonella* and their use in monitoring metal contamination of coastal sediments. *Water Air Soil Pollution*, **223**, 2125–2136, doi: 10.1007/s 11270-011-1009-0.
- Vakily, J. M. (1989) The biology and culture of mussels of the genus *Perna*. *ICLARM studies and reviews*, **17**, pp. 63.
- Wang, Y., Hess, D., Hunziker, P. E. and K gi, J. H. R. (1996) Separation and characterisation of the metal-thiolate-cluster domains of recombinant sea urchin metallothionein. *European Journal of Biochemistry*, **241**, 835–839.
- Wong, M. H., Choy, C. K., Lau, W. M. and Cheung Y. H. (1981) Heavy-Metal contamination of the Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) cultured in Deep Bay, Hong Kong. *Environmental Research*, **25**, 302–309.
- 山根靖弘・高島英伍・内山充（1981）環境汚染物質と毒性：無機物質篇. 南江堂, pp. 47.
- 柳哲雄（2004）—総説—貧酸素水塊の生成・維持・変動・消滅機構と化学・生物的影響. 海の研究, **13**, 451–460.
- Yap, C. K., Noorhaidah, A., Azlan, A., Nor Azwady, A. A., Ismail, A., Ismail, A. R., Siraj, S. S. and Tan, S. G. (2009) *Telescopium telescopium* as potential biomonitors of Cu, Zn, and Pb for the tropical intertidal area. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 496–506.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. and Jiang, G. (2008) Bio-monitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, **606**, 135–150.