

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：82627

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25289326

研究課題名(和文)セルオートマトン法に基づくフジツボ類の船体付着確率と侵入確率予測手法の研究

研究課題名(英文) Study on the cellular automaton model to simulate states of antifouling coating and probability predict model of barnacles invasion by adhesion to the ship

研究代表者

亀山 道弘 (KAMEYAMA, Michihiro)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：40373427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,200,000円

研究成果の概要(和文)：フジツボ類の越境移動に関わる船体への付着、航海中での成長・生存・繁殖等に関する確率的な要素モデルを作成するため、船舶に使用される防汚塗装の浸漬試験やココポーアカフジツボを対象とした海水温や塩分に対する耐性試験や生息海域での抱卵率の観察等を行い、要素モデルの作成に必要なパラメータを把握した。また、防汚塗膜の断面画像を対象に塗膜の経年変化をセルオートマトン法により予測する基本モデルと船舶の運航記録に基づいてフジツボ類の越境移動を確率的に推定する手法を作成した。ココポーアカフジツボが付着した船舶を対象に解析を行い、フジツボ類の船体付着による侵入確率の予測手法の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：To estimate the invasion probability of barnacle attached to the ship hull, we obtained the data on adhesion possibility of barnacles on antifouling coatings, survival rate for seawater temperature and the salinity and incubation rate on Megabalanus coccopoma through executing immersion test, resistant examination and observation in the habitation sea area. In addition, we developed cellular automaton model based on the section image of the scanning electron microscope (SEM) to simulate the states of antifouling coating due to aging and probability predict model of barnacles invasion by adhesion to the ship based on ship navigation log. We carried out the analysis for real examples that Megabalanus coccopoma attached to a ship and showed the effectiveness and problems of the developed predictive technique on the invasion probability by the hull adhesion of barnacle.

研究分野：環境影響評価

キーワード：船体付着 越境移動確率 評価手法 ココポーアカフジツボ 生態特性

1. 研究開始当初の背景

(1) 船体付着による越境移動が具体的に確認されたのは、実船の船体に付着したココポーアカフジツボ(パナマ原産)を対象にDNA解析に基づいて推察した報告(山口、2008)が最初である。本研究の開始前に実施した実船調査の結果から、船体へのフジツボ等の水生生物の付着状況は、船舶の運航状況や防汚塗料の種類の違いなどにより船毎に異なることが把握されていた。

(2) 船体付着した水生生物の越境移動に関する解析は、豪州の一部の港が半定量的に航海日数、活動海域、ドックの入渠作業などに基づいて係数を設定するスコアリング方式を生物種を特定しない形で実施しているが、数学モデルを取り入れた定量的な解析手法は明らかにされていない。

(3) 水生生物が付着する船舶の防汚塗装に関しては、防汚塗膜を均一化した解析が僅かに実施されているだけであり、フジツボ付着の足場となる塗膜表面の凹凸の解析事例はない。また、フジツボ類の生活史や付着機構の研究は数多くあるが、ココポーアカフジツボの環境耐性や繁殖などの詳細は不明な部分が多い。

2. 研究の目的

(1) フジツボ類などの船体付着による越境移動のシナリオは①船体への付着、②航海中の生存、③繁殖・散布、④定着の要素で構成すると想定し、フジツボ類などが船体に付着して越境移動し、生息地でない港に侵入する確率の解析方法を明らかにする。

(2) ココポーアカフジツボをモデル生物とし、その生息環境、繁殖、海水温度や塩分濃度に対する耐性等の生態的特性を把握し、セルオートマトン法により開発する防汚塗膜の経年変化の予測モデル等と合わせ、侵入シナリオの各要素モデルを作成する。

3. 研究の方法

(1) フジツボ類の越境移動に関わる船体への付着、航海中での成長・生存、繁殖等に関する確率的な要素をモデル化するため、付着確率では、船舶の防汚塗料を対象に浸漬試験や実船調査を行い、浸漬試験片へのフジツボ類の付着までの浸漬日数や防汚塗膜の表面・断面の状態等の計測・分析結果に基づいて、防汚塗膜の状態とフジツボ類の付着の関係を明らかにする。

(2) 越境移動種のココポーアカフジツボを対象に、暴露環境に関する耐性試験や成熟・繁殖に関する観察・試験を行い、フジツボの海水温度や塩分の暴露時間に対する生存率や孵出(散布)確率及び定着確率の要素モデルを作成する。

(3) 船舶の防汚塗膜の状態は防汚塗料の種類や船舶の航海条件によって異なるため、セルオートマトン法により防汚塗膜の経年変

化を再現するシミュレーション手法を作成する。また、作成した各要素モデルを統合し、船舶の運航記録に基づいてフジツボ類の越境移動を確率的に推定する手法を作成する。また、実際にココポーアカフジツボが付着した船舶に開発した手法を適用し、その評価方法の有効性を示す。

4. 研究成果

(1) 防汚塗装面へのフジツボ類の付着

新たに塗装した防汚塗膜等を対象に長期間の浸漬試験を行い、フジツボ類の付着開始時期などの付着状況とフジツボ類付着への防汚塗膜の表面粗さの影響を防汚塗料種類や劣化方法別に明らかにした。

①付着状況

主に亜酸化銅を防汚剤とする2種類の防汚塗料(A、B)を対象に試験片を作成し、実海域に約3年間浸漬させた。また、一部の試験片には浸漬前に防汚塗膜の表面を清水の流水と活性物質で表面処理を行った。浸漬試験片の塗膜表面の推移を図1に示す。なお、図中の矢印はフジツボ類の付着位置を示す。

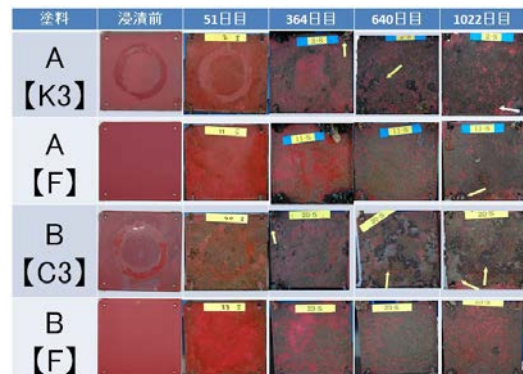


図1 塗膜表面の推移  
表面処理条件：【F】未処理、【K3】流水3カ月、【C3】活性物質3カ月

浸漬日数を基準に防汚塗料(A、B)の試験片に付着したフジツボ類の累積数を劣化処理の方法別に図2と図3に示す。付着数は計測対象の付着に対して試験片の浸漬面積(枚数)を考慮して算出した。

フジツボ類の付着総数は塗料Aが塗料Bより約40%多く、フジツボ付着面数(12枚、両面：24面)は塗料A：23/24面、塗料B：22/24面で未処理の試験片の一部には付着がなかった。未処理の試験片に最初に付着した平均浸漬日数は850~860日で塗料種類による大きな違いはなかった。また、浸漬前処理をした試験片ではフジツボ類の付着開始時期の早期化や付着数の増加が塗料A、Bともあり、塗料Aでは付着開始時期が大幅に早期化した。また、塗料Aでは流水暴露、塗料Bでは活性物質で前処理場合に付着数の増加が見られた。

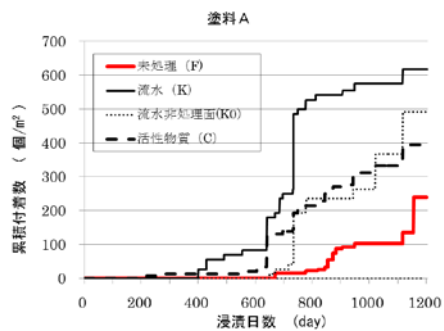


図2 フジツボ類の付着数(塗料A)

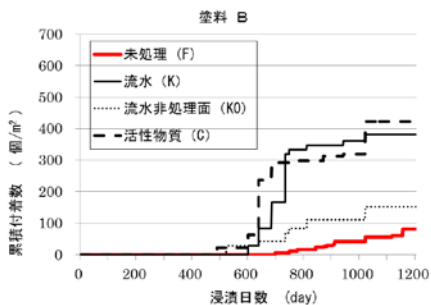


図3 フジツボ類の付着数(塗料B)

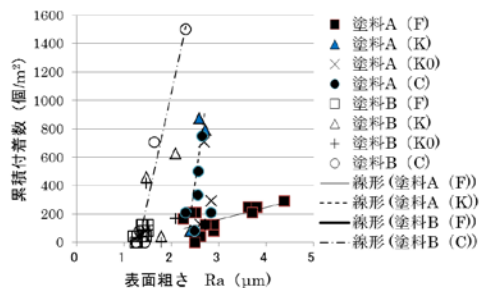


図4 表面粗さとフジツボの付着数

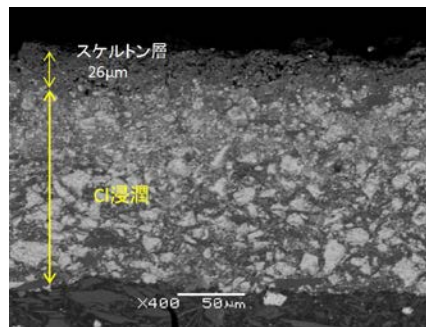
## ②防汚塗膜の表面粗さ

試験片の表面粗さRa(算術平均粗さ)とフジツボ類の付着数を図4に示す。表面粗さRaは、接触式の表面粗さ計で各面毎に18点の計測値の平均値とした。全試験片の表面粗さRaの平均値は塗料A:  $2.8\mu\text{m}$ 、塗料B:  $1.5\mu\text{m}$ となった。塗料種類や浸漬前処理の内容等により程度は異なるが、表面粗さRaの減少に伴いフジツボ類の付着数が減少する傾向を示した。また、活性物質による劣化処理では、塗料A、Bとも表面粗さRaの増加に対して付着量が大幅に増加する傾向を示した。

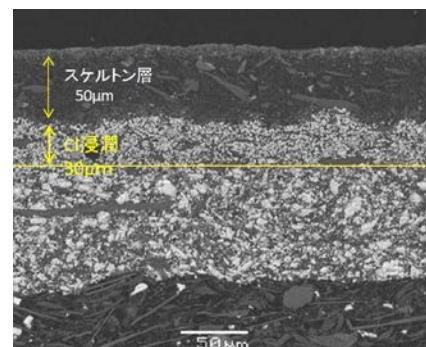
## ③防汚剤の溶出速度

浸漬試験の終了後、防汚塗膜表面からの防汚剤(銅)の溶出速度の計測と塗膜断面の電子顕微鏡(SEM)による元素分析を行った。塗料A及びBの試験片の電子顕微鏡画像を図5に示す。全試験片の溶出速度の平均は、塗料

A:  $36(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day})$ 、塗料B:  $31(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day})$ であり、塗膜表面の粗さとの相関関係は見られなかった。また、電子顕微鏡画像の観察と元素分析の結果、スケルトン層(防汚塗膜から防汚剤が抜けて樹脂だけが残った状態)の発達や海水の塗膜への浸潤量の違いを確認した。



塗料A



塗料B

図5 長期浸漬後の防汚塗膜の断面状況

## ④フジツボの付着試験

表面粗さとフジツボの付着率の関係を調査するため、表面粗さの異なる5種類の塩化ビニル製の試験片(5cm×5cm、色:黒)等を対象に、タテジマフジツボの付着期幼生(キプリス)を用いて付着試験を行い、表面粗さの違いによるキプリス幼生の付着率を計測した。

試験には、タテジマフジツボ成体から得たキプリス幼生を冷暗処理で維持して3日間加齢した3日齢キプリスのうち、行動が活発な約100個体を容積約45mLの三角柱の試験区に入れ、試験を行った。なお、三角柱のうち1面を試験面とし、約60時間後の付着率を計測した。試験条件の表面粗さは5条件(公称Ra: 0.01、0.1、1、2.5、 $10\mu\text{m}$ )とし、水温 $25^\circ\text{C}$ 、塩分28‰、照明:12時間明期・暗期、3000 luxの管理下で実施した。なお、試験期間中、常に7mL/minの海水を三角柱の上部から注水した。試験の実施状況を図6に示す。

表面処理をしていない表面粗さRa0.01  $\mu\text{m}$ の試験片のうち、灰色の試験片の付着率が最も低く、ほぼ同じ粗さの黒色の試験片の付着

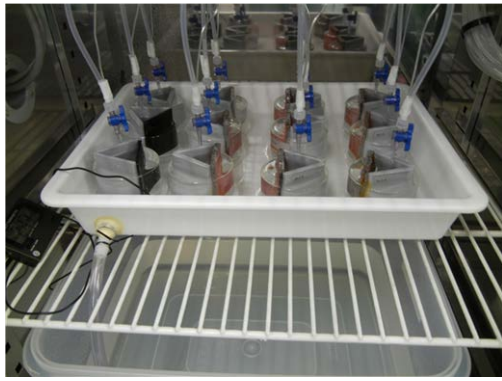


図6 試験の実施状況

率はやや高くなった。黒色の試験片では、キプリス幼生は、概ね平滑面よりも粗面により付着する傾向が見られたが、表面粗さRa約 $2\mu\text{m}$ での付着率は低下した。試験片の色を含め、キプリス幼生の付着率と表面粗さの関連性を得るためには、試験例数を重ねることが必要と考えられる。

#### (2) ココポーマアカフジツボの生態特性

ココポーマアカフジツボは南米を原産地とし、熱帯から中間温帯まで幅広い海域に生息している。ココポーマアカフジツボを対象に生存試験や抱卵率等の調査を行い、確率モデルの作成に必要な生存・繁殖に関わるデータを明らかにした。なお、試験に使用したフジツボは、筑波大学下田臨海実験センター沖のブイから採取し、種の同定を行った後に試験に使用した。採取したココポーマアカフジツボを写真1に示す。

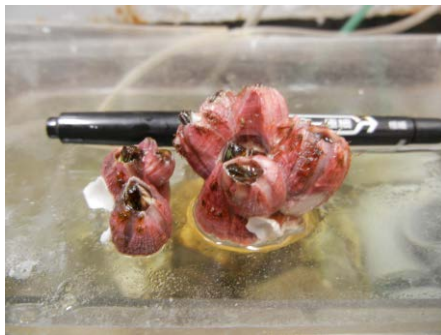


写真1 採取したココポーマアカフジツボ

#### ①高温耐性

ココポーマアカフジツボの高温海水における生理的耐性を把握するため、高温海水に暴露する生存試験を行った。試験に使用するココポーマアカフジツボは採取後、試験の基準水温 $20^{\circ}\text{C}$ に順応させるため、天然ろ過海水にて換水を行う等、1ヶ月以上の期間、一定の環境で維持・飼育した。試験では、水槽内で海水温度を管理した高温海水に、試験条件毎に20個体のフジツボを暴露し、経過時間に対する生存率（死亡率）を計測した。試験水温は4

条件（ $31^{\circ}\text{C}$ 、 $32^{\circ}\text{C}$ 、 $35^{\circ}\text{C}$ 、 $38^{\circ}\text{C}$ ）とし、 $20^{\circ}\text{C}$ から各試験の目的水温まで約 $0.2^{\circ}\text{C}/\text{分}$ で上昇させた。高温海水の暴露試験状況を図7に示す。



図7 高温海水の暴露試験状況

各試験条件での経過時間における累積死亡率をプロビット変換した。プロビット変換は生物学的評価において対数変換された用量と死亡率の関係を線形化するために用いられる手法である。試験結果の死亡率のプロビット値が高温海水の暴露時間の対数値に比例したことから、高温海水に暴露した場合のココポーマアカフジツボの死亡率は、暴露時間の対数に対して正規分布を適用することが可能と考えられる。なお、死亡率のプロビット値と暴露時間の対数に基づいて作成した1次回帰直線から推定した死亡率50%となる暴露時間（LD50）は、 $31^{\circ}\text{C}$ ：160時間、 $32^{\circ}\text{C}$ ：37.7時間、 $35^{\circ}\text{C}$ ：9.0時間、 $38^{\circ}\text{C}$ ：1.6時間であった。

#### ②塩分耐性

ココポーマアカフジツボの海水塩分における生理的耐性を把握するため、水槽内で塩分を管理した海水に暴露させ、経過時間に対する生存率（死亡率）の計測を行った。試験塩分は30PSUを基準とし、5条件（0、15、20、25、40PSU）とした。試験水温は $20^{\circ}\text{C}$ とし、試験個体数は塩分条件毎に32個体とした。

高温耐性と同様に、経過時間における累積死亡率をプロビット変換し、暴露時間の対数に基づいて1次回帰直線を作成した。塩分が0PSUの場合を除いて死亡率にばらつきが生じ、高塩分ほど相関係数が低下する傾向がみられた。作成した1次回帰直線から推定した死亡率50%となる暴露時間（LD50）は、0PSU：11時間、15PSU：25時間、20PSU：85時間、25PSU：127時間、40PSU：161時間であった。

また、試験結果からココポーマアカフジツボが幅広い海水塩分濃度に比較的耐性を持つことが示されたが、低塩分又は高塩分条件下では海水温度による死亡率への影響が大きいことも示唆された。

#### ③繁殖と胚の発生所要日数

幼生の孵出（孵化し、体外へ放出）などの繁殖活動は生息地の海水温度との一致により生じると考えられ、ココポーマアカフジツボ

の繁殖活動と海水温度の関係を把握する。そのため、鍋田湾（静岡県下田市）に設置されたブイに付着したココポーアカフジツボを対象に、抱卵率（卵巣の有無）と胚から孵化までの所要時間を計測した。

抱卵率の調査は2015年6月から2016年1月に行い、採取したココポーアカフジツボの殻口径、殻底径、受精卵及び卵巣の有無等を計測・観察した。ココポーアカフジツボの卵巣と卵塊（抱卵）を写真2に示す。ブイは前年の2014年11月から設置した。抱卵固体は調査を開始した2015年6月から見られ、2016年1月まで抱卵個体が存在した。抱卵率は夏季の7月（平均水温20.1℃）から8月（同24.7℃）で約40～50%と高かった。また、新たに設置したブイに付着した個体の調査では、ブイ設置後、概ね3ヶ月で殻底径25mm程度まで成長し、抱卵した個体を確認した。



写真2 ココポーアカフジツボの卵巣（左）と卵塊（抱卵）

胚から孵化までの所要時間の調査では、得られた卵塊（受精卵）から胚の発生ステージ（10段階）を観察し、胚の発生ステージがより初期（ステージ1～3）の卵塊から選別した胚を対象に、一定の水温下（18、20、23、26、28、30℃）において胚発生の経過を観察し、胚の孵化時間と孵化率の計測を行った。

観察事例が少なかったステージ1の胚の観察結果も含め、胚の孵化時間（ステージ1～孵化）までの日数は、海水温にも依存するが、抱卵率が高い通常の繁殖期（7月～8月）では概ね約3日程度と考えられる。

### (3) 防汚塗膜と越境移動確率の解析手法

防汚塗膜の経年変化を再現するシミュレーションと船舶の運航記録に基づくフジツボ類の越境移動の確率の推定手法を作成した。

#### ①防汚塗膜シミュレーション

防汚塗膜を構成する防汚剤、樹脂、顔料等の形状や配置を表現し、海水の塗膜内への拡散や防汚剤の溶解等を数値モデル化し、フジツボ類の付着に関わる塗膜表面の凹凸（表面粗さ）や防汚剤の溶出速度等、防汚塗膜の経年変化の状況を再現することを目的とした。

防汚塗膜の防汚剤や樹脂等の形状や配置は、走査型電子顕微鏡（SEM）で撮影した防汚塗膜の断面画像に基づいてデータ化した。

セルオートマトン法を適用した数値モデルでは、海水による防汚剤（亜酸化銅）の溶解や樹脂への拡散と加水分解等をモデル化し、防汚塗膜の経年変化を再現するシミュレーション手法を開発した。防汚塗膜を対象としたシミュレーションの実施例を図8に示す。

シミュレーションの結果、セルオートマトン法を用いることで、防汚塗膜の表面の凹凸形状、スケルトン層（塗膜から防汚剤が抜けた樹脂だけの層）の発達及び防汚剤の溶出速度等の経年変化を表現することができ、防汚塗膜面へのフジツボ類の付着可能性の評価への適用可能性を示した。

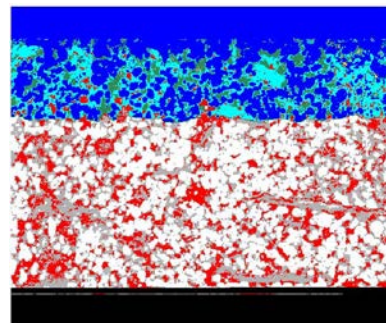
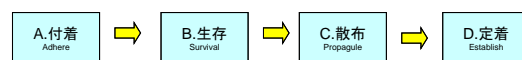


図8 セルオートマトン法による防汚塗膜の経年変化シミュレーション状況

#### ②船体付着による越境移動確率の推定手法

本研究では、船舶の運航によるフジツボ種の越境移動確率として、1つのフジツボ種(i)がある船舶(j)に港(k)で付着し、航海中に成体となり、その後に入港した港(L)で幼生を孵化・放出し、その幼生が放出された海域で生息・定着する確率を対象とした。想定した侵入確率の概念を図9に示す。

#### ●越境水生生物の侵入シナリオと侵入確率



$$P(i, j, k, l) = PA \times PB \times PC \times PD$$

図9 侵入確率の解析モデル

侵入シナリオとして想定した付着、生存、散布（孵出）、定着の4つの要素モデルは、対象とするフジツボ類の生息地や越境移動先の海域の海気候区分、海水温度に基づく胚発生の所要日数と産卵周期、防汚塗膜の防汚性能の経年変化及び海水温度と塩分に対する耐性を考慮してモデル化した。要素の確率モデルのうち、ココポーアカフジツボの耐性試験結果に基づいて作成した高温海水と塩分に関する生存確率モデルを図10に示す。

また、ココポーアカフジツボが付着した石炭撤積船（主に日本と豪州の往復）を対象に、開発した越境移動確率の推定手法を適用し、船体に付着した可能性が高い港、船体付着したフジツボから幼生を孵化・放出（散布）

又は定着する可能性が高い港の推定を行った。対象船舶の入出港記録に基づいて解析した航海中に暴露する海水温度と塩分を図11に示す。

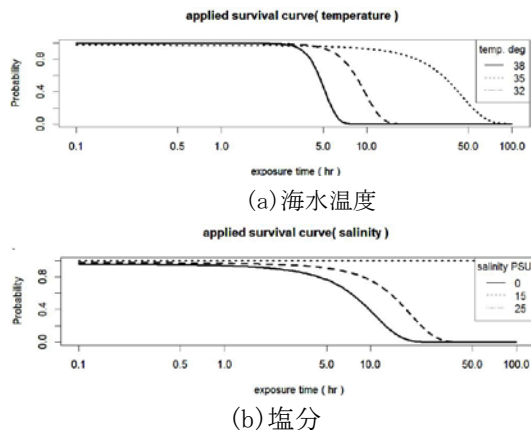


図10 航海中の生存確率モデル

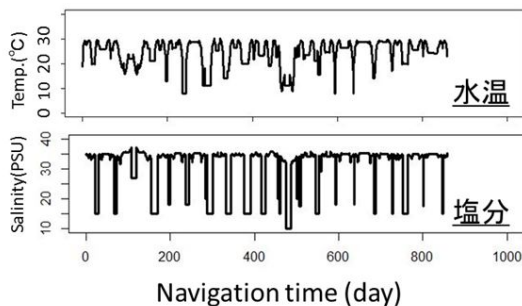


図11 海水温度と塩分の暴露履歴

塩分の大幅な低下は、寄港する日本国内の港が河口に立地しているために生じている。

解析の結果、防汚塗料の塗装後の早い時期に入港し、荷役のため長い停泊時間のあった豪州東海岸の港では、ココポーマアカフジツボのキプリス幼生との接触率は高かったが、防汚塗装面への付着可能性が低く、付着確率は低下した。航海中の生存率は主に日本の港での停泊中に、低塩分の海水に長く暴露されることで、より大きく低下した。その後、ココポーマアカフジツボは日本の港で付着し、荷役時間の長い豪州西海岸の港で、船体付着したフジツボからその幼生が孵出され、移入する可能性が高いことが推定された。

実船の航海記録に基づいた解析の実施を通じて、大海を航走中のフジツボの付着の可能性や港での停泊中の海水塩分の暴露状況の推定方法などに課題があると考えられるが、フジツボ類の船体付着による越境移動の確率を船舶の運航計画に従って時系列に予測する手法の有効性を示した。

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 4 件)

①神谷享子、山下桂司、亀山道弘、山口寿之、伊豆半島鍋田湾におけるココポーマアカフ

ジツボの繁殖と胚発生、2016年日本付着生物学会総会・研究集会、2016年3月30日、東京海洋大学(東京都・品川区)

②亀山道弘、宮田修、小野正夫、今里元信、櫻井昭男、菅澤忍、長期浸漬試験での異なる防汚塗装面へのフジツボ類の付着状況、第85回(平成27年)マリンエンジニアリング學術講演会、2015年10月26日、富山国際会議場(富山県・富山市)

③小野正夫、菅澤忍、櫻井昭男、亀山道弘、宮田修、今里元信、他、フジツボ類の付着と防汚剤の溶出速度に関する実船調査結果、2014年6月24日、海上技術安全研究所(東京都・三鷹市)、

<https://www.nmri.go.jp/main/publication/s/paper/pdf/2B/14/00/PNM2B14>

④小野正夫、櫻井昭男、亀山道弘、宮田修、菅澤忍、他、実船の防汚剤溶出速度への塩分濃度等の影響、2013年6月25日、海上技術安全研究所(東京都・三鷹市)、

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

亀山 道弘 (KAMEYAMA, Michihiro)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：40373427

### (2) 研究分担者

宮田 修 (MIYATA, Osamu)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：10450678

櫻井 昭男 (SAKURAI, Akio)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：20373417

菅澤 忍 (SUGASAWA, Shinobu)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：40371091

小野 正夫 (Ono, Masao)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：80399526

今里 元信 (IMASATO, Motonobu)

国立研究開発法人 海上技術安全研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：80443240

### (3) 連携研究者

山口 寿之 (YAMAGUCHI, Toshiyuki)

神奈川大学・理学部・非常勤講師

研究者番号：10101106