

断続的な貧酸素曝露がアサリの栄養状態および貧酸素耐性に与える影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2024-08-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 健吾, 清本, 節夫, 輿石, 裕一 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010513

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



原著論文

断続的な貧酸素曝露がアサリの栄養状態および 貧酸素耐性に与える影響

鈴木健吾^{*1}・清本節夫^{*1}・興石裕一^{*2}

Effects of Periodic Hypoxia on Nutritional Condition and Tolerance of Hypoxic Conditions in the Short-neck Clam *Ruditapes philippinarum*

Kengo SUZUKI, Setuo KIYOMOTO and Yuichi KOSHIISHI

Laboratory experiments were conducted to examine the effect of periodic hypoxia on the nutritional condition and tolerance of hypoxia in the short-neck clam *Ruditapes philippinarum*. Experiments were carried out in the spring and autumn of 2003. Clams were well nourished in spring but not in autumn. For conditioning, clams were exposed to hypoxic and normoxic conditions, which were switched every 24 hours, for 2 weeks. We subsequently measured glycogen content, condition factor, and survival time under anoxic conditions at 20 °C. In spring, there was no significant difference in glycogen content between clams exposed to periodic hypoxia and the controls. However, in autumn, the glycogen content of clams exposed to periodic hypoxia was lower than that of the controls. There was no significant difference in condition factor between clams exposed to periodic hypoxia and the controls. Tolerance tests for hypoxia indicate that under normal nutritional conditions, clams may not be seriously affected by periodic hypoxia; however, clams in a poor nutritional state may be damaged by periodic hypoxia, which increases glycogen consumption.

2011年10月3日受付, 2012年1月31日受理

近年、諫早湾周辺のアサリ養殖漁場において、アサリの大量へい死が発生し問題となっている。平野ら¹⁾の調査により、諫早湾では赤潮の発生に伴い日中は溶存酸素が過飽和となり、夜間から朝にかけて貧酸素化が進行する現象が確認されている。この漁場では、貧酸素環境の継続時間は既往研究²⁻⁴⁾により報告される致死時間ほど長くはないと考えられるにもかかわらず、アサリの大量へい死が発生している。この大量へい死について日向野・品川⁵⁾は、貧酸素に加え30℃を超える高水温と硫化水素の影響により短期間にアサリが死亡する可能性を指摘している。一方で、致死的不是な長さの貧酸素環境への曝露でも繰り返されるとアサリに影響を及ぼす事が懸念される。

アサリの貧酸素耐性については、実験的な検討により無酸素環境、25℃以下で4~5日とされている²⁾。しかし、柿野⁶⁾は同じような水温でも季節により無酸素環境下でのアサリの生存時間が異なることを報告し、その要因として、アサリの生理状態、特にグリコーゲン含有量の違いを指摘した。グリコーゲンは二枚貝の嫌気代謝に利用されること⁷⁾から、青山ら⁸⁾はアサリの貧酸素耐性を溶存酸素飽和度と水温およびグリコーゲン含量で説明するモデルを提案しており、当該モデルは三河湾におけるカゴ試験のへい死状況および中村ら⁹⁾による貧酸素耐性試験の結果と良い一致を見ている。UZAKI *et al.*¹⁰⁾は、三河湾において断続的な貧酸素にさらされたアサリの生残状況とグリコーゲン含有量に関する実験を行い、へい死が

*1 独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所

〒851-2213 長崎県長崎市多良町 1551-8

Seikai National Fisheries Research Institute, FRA, 1551-8 Taira, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, Japan

skengo@fra.affrc.go.jp

*2 独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所

起きた漁場のアサリはグリコーゲン含量が減少していることを報告した。また、山口・内田¹¹⁾は、中海における試験結果から貧酸素水によりアサリの肥満度が低下することを示唆している。これらの報告から、漁場におけるアサリの貧酸素耐性を検討する上で、致死的でない貧酸素環境に曝露された履歴に伴う栄養状態の変化を通じてアサリの生残に影響を及ぼす可能性が指摘される。しかし、断続的な貧酸素環境に曝されたアサリがどの程度グリコーゲンを消費するか、またそれによって貧酸素耐性に变化が生ずるのかどうかについて実験的に検証した例は報告されていない。そこで本研究では、断続的な貧酸素環境に曝露したアサリと貧酸素環境を経験していないアサリの間で、グリコーゲン含有量、肥満度および貧酸素耐性に違いが見られるかどうかを実験的に確認することを目的とした。また、基本的な栄養状態の違いがこれらの反応に影響を及ぼす可能性についても検討した。

材料および方法

実験期間と供試個体 実験は、2003年の春期（4月20日～5月23日）と秋期（10月27日～11月17日）の2回おこなった。なお、本研究では、断続的な貧酸素環境の影響について検証することを主眼に置いたため、実験時の温度条件についてはアサリの棲息に好適な約20℃とした。

実験には福岡県柳川市の干潟で採集した殻長30mm前後のアサリを用いた。実験個体は、栄養状態の異なる通常群と絶食群の2群を設定した。通常群は、実験開始前日に採集し一晩飼育水槽で馴致した個体とした。絶食群は、実験開始の約1ヵ月前に採集し、実験までの1ヶ月間を西海区水産研究所内の水槽で無給餌畜養した個体とした。無給餌畜養の間、アサリは飼育水槽に敷いた厚さ5cmの清浄な海砂に潜砂させ、飼育水は砂濾過海水のかけ流しとした。

断続的貧酸素曝露による条件付け 断続的な貧酸素環境への曝露の影響を検討するために曝露の前・後および対照の3通りの操作について比較した。実験操作の手順を図1に示す。条件付けには約2週間の期間を設定し、断続的貧酸素曝露区、対照区とも条件付けの期間は無給餌とした。

1. **曝露前区** 条件付けの間に起きる栄養状態等の変化についても検討できるように条件付けを行う前の個体（通常群、絶食群、各50個体）を採取し曝露前区とした。なお、曝露前区では貧酸素耐性試験を採集後すぐに行った。

2. **曝露後区** 貧酸素環境への曝露には60lの角形水槽（L:W:H 60×30×36cm）を用いた。水槽には厚さ5cmの清浄な海砂を敷き、アサリを潜砂させた。飼育水は基本的に砂濾過海水の掛け流しとしたが、窒素曝気を行う時間は海水を交換しなかった。貧酸素環境とす

るために、換水の停止後にポンベからレギュレーターで圧力調整した窒素を小型のエアストーンを通して曝気した。水槽中の溶存酸素濃度はDOメーター（WTW社Oxi340i）を用いて10分間隔で記録した。窒素曝気の時間と海水掛け流しの時間を24時間おきに繰り返した。およそ2週間の間に7回の断続的な貧酸素環境（溶存酸素量1mg/l以下）に実験個体を曝露し曝露後区とした。

3. **対照区** 対照区は、曝露後区と同じ期間を砂濾過海水の掛け流しにエアレーションを行った状態で無給餌畜養した。

条件付けを行うアサリの個体数は条件付け期間中の減耗を想定して各区それぞれ約70個体とした。条件付けを行った各区の実験個体から50個体を抽出し、殻長、殻高、殻幅および殻を含む湿重量を測定した。50個体のうち15個体を肥満度の測定、15個体をグリコーゲン含有量の測定、残り20個体を貧酸素耐性試験用のサンプルとした。ただし、条件付け後の生残個体数が50個体に満たない場合は貧酸素耐性試験に用いる20個体を優先し、残りを肥満度およびグリコーゲンの測定用として均等に振り分けた。

貧酸素耐性試験 貧酸素耐性試験では、死亡個体の腐敗が他個体の生理状態や生残に影響することを避けるため貧酸素海水を満たしたポリスチレン容器（アズワン スチロール棒瓶）に1個体ずつ封入した時の生残時間を測定した。ポリスチレン容器の容積は50mlで、これに窒素曝気して溶存酸素濃度を0.6mg/l以下とした濾過海水を満たし、アサリを1個体ずつ収容した。これに密栓をして恒温機に入れ、温度を春期、秋期ともに20℃、明暗周期は12/12時間として経過を観察した。アサリの生存状況の観察は8～12時間ごとに行い、生死の判定は殻を開いていること、外套幕の萎縮が見られること、振動刺激に対する反応が見られないことの3条件すべてに合致した場合を死亡と判定した。

測定項目 栄養状態の指標とするため、グリコーゲン含有量と肥満度の測定を行った。

グリコーゲン含有量の分析にはアサリの軟体部全体を用い、軟体部湿重量あたりの含有量（mg/g）で表した。分析方法は、吉中・佐藤¹²⁾を参考に、熱アルカリ抽出-エタノール沈殿によりグリコーゲンを抽出したのち、アンスロン-硫酸法で測定した。なお、本測定方法で得られた値は複数の糖類を含む炭水化物含有量をグリコーゲン等量で表したものであるが、本研究では便宜的にこれをグリコーゲン含有量と呼ぶこととした。

肥満度は軟体部乾燥重量をもとに次式で算出した。

$$CF = \frac{DW}{SH \times SL \times SW} \times 100$$

ここでCF：肥満度、DW：軟体部乾燥重量（mg）、SH、

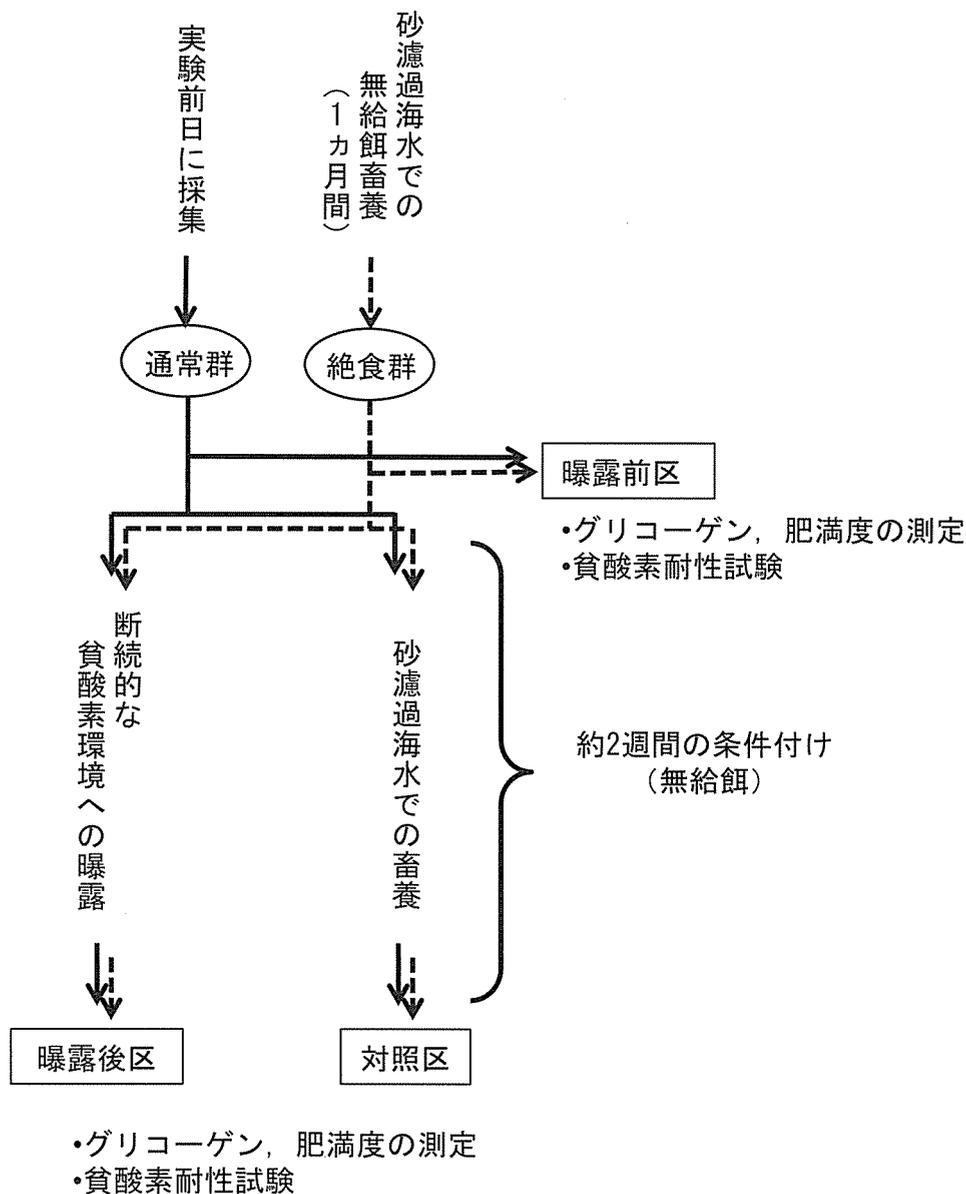


図1. 実験操作のフロー図

曝露前区の貧酸素耐性試験は、曝露後区・対照区とは別に採集後すぐに行った

SL, SW: 殻高, 殻長, 殻幅 (mm) とした。軟体部乾燥重量は、軟体部を殻から取り出し 75℃ で 48 時間乾燥した後に測定した。

統計分析 統計分析には R (Ver.2.7.0)¹³⁾ およびそのパッケージ survival を用いた。条件付け前の通常群, 絶食群の間のグリコーゲン含有量および肥満度の差についてウィルコクソンの順位和検定¹⁴⁾ により検定した。断続的貧酸素環境への曝露等の条件付け操作 (曝露前, 曝露後および対照) がグリコーゲン含有量および肥満度におよぼす影響についてはスティール・ドゥワース法による多重比較¹⁵⁾ により検定した。密閉試験の結果に対し, カプラン・マイヤー法による生残曲線の当てはめ¹⁶⁾ を行い, 生残時間の中央値およびその上下 95% 信頼区間を

算出した。また, 生残曲線の間の差についてログランク検定¹³⁾ およびカイ二乗検定とボンフェローニ法による多重比較¹⁵⁾ を行った。

結 果

実験に使用したアサリの殻長 (平均 ± 標準偏差) は, 春期が 28.0 ± 2.6mm, 秋期が 32.1 ± 2.1mm であった。条件付け期間中の死亡のため生残個体数が 50 個体に満たなかった場合があり, 貧酸素耐性試験では全ての区に 20 個体のアサリを配分できたものの, グリコーゲン含有量や肥満度の測定に供したアサリは表 1 のように 12 ~ 15 個体となった。

条件付けを行う前の通常群および絶食群のグリコー

表 1. 各分析に供したアサリ個体数

		貧酸素耐性	グリコーゲン分析	肥満度	
春期	通常群	曝露前	20	15	14
		曝露後	20	14	13
		対照	20	15	15
	絶食群	曝露前	20	15	15
		曝露後	20	15	14
		対照	20	15	15
秋期	通常群	曝露前	20	14	14
		曝露後	20	12	12
		対照	20	12	12
	絶食群	曝露前	20	15	15
		曝露後	20	14	14
		対照	20	15	14

表 2. 条件付け前の通常群と絶食群におけるグリコーゲン含有量および肥満度*1

		通常群	絶食群
春期	グリコーゲン含有量 (mg/g)	24.77 ± 7.31	11.31 ± 4.48**
	肥満度	4.25 ± 1.15	2.76 ± 0.80**
秋期	グリコーゲン含有量 (mg/g)	3.14 ± 0.72	2.89 ± 0.80
	肥満度	2.25 ± 0.31	1.66 ± 0.21**

*1 数値は平均値 ± 標準偏差を表す

** 有意水準 1% で通常群との間に有意差有り (ウィルコクソン順位検定)

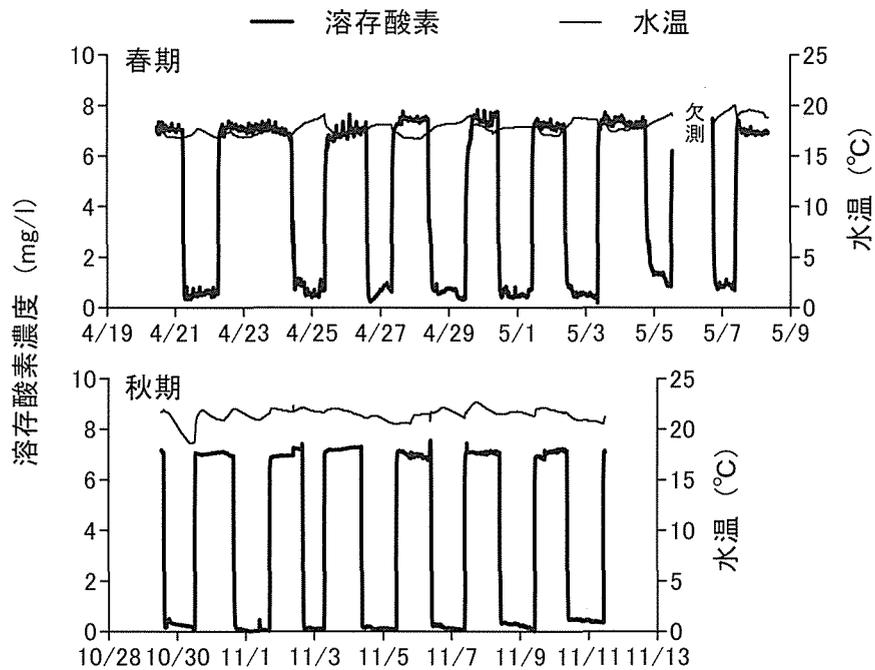


図 2. 春期および秋期試験における貧酸素曝露操作時の溶存酸素の推移
 春期試験の 7 回目の貧酸素曝露では溶存酸素濃度が十分に下がり切らなかったため、追加して 8 回目の貧酸素曝露を行った

ゲン含有量および肥満度を表 2 に示す。春期は、通常群と絶食群のグリコーゲン含有量がそれぞれ 24.77 と 11.31mg/g、肥満度がそれぞれ 4.25 と 2.76 となり、グリコーゲン含有量、肥満度も絶食群が通常群に比べて有意に低い状態であった。秋期は、通常群と絶食群のグリコーゲン含有量がそれぞれ 3.14 と 2.89mg/g、肥満度が

それぞれ 2.25 と 1.66 となり、グリコーゲン含有量には有意差がなかったものの、肥満度は絶食群が通常群に比べて有意に低い状態であった。

断続的な貧酸素曝露の条件付けを行った時の、飼育水槽の溶存酸素濃度の推移を図 2 に示す。春期の試験では、7 回目の貧酸素曝露時に溶存酸素濃度が十分に下がらな

かったので、8回目の貧酸素曝露を行った。条件付けの際に溶存酸素濃度が1mg/l以下となった時間は、春期試験でのべ138時間、秋期試験ではのべ157時間であった。春期、秋期とも水槽内の海水が貧酸素状態になった時間にアサリが底質上にはい出しているのが観察された。春期試験では、はい出した個体は溶存酸素濃度が通常に戻ると再び潜砂したが、秋期試験では溶存酸素が通常に戻っても潜砂せず底質上に止まっている個体が観察された。

各実験区のグリコーゲン含有量の測定結果を図3に示す。春期試験のグリコーゲン含有量は通常群の各区で軟体部湿重量1g当たり23~25mg、絶食群の各区でおよそ11mgとなり、通常群、絶食群とも条件付けによる有意差は見られなかった。秋期試験のグリコーゲン含有量は通常群の各区で軟体部湿重量1g当たり2.2~3.1mg、絶食群の各区で1.8~2.9mgとなった。通常群、絶食群とも曝露前区、対照区、曝露後区の順にグリコーゲン含有量が多く、曝露前区と曝露後区との差は有意水準5%で有意となった。

次に肥満度の測定結果を図4に示す。春期試験の肥満度は通常群の各区で3.3~4.3、絶食群の各区で2.5~2.8となった。通常群では曝露前区の肥満度が他の2区に比べて有意水準5%で有意に高かったが、絶食群では3つの区間に有意差は無かった。秋期試験の肥満度は通常群の各区で1.6~2.4、絶食群の各区で1.4~1.7となり通常群、絶食群とも曝露前が他の2区より有意水準5%で有意に肥満度が高かった。

次に春期の密閉容器を用いた貧酸素耐性試験の結果を図5に示す。通常群では、曝露前区で69時間後から死

亡個体が見られ、165時間後に実験個体全てで死亡が確認された。曝露後区では121時間後、対照区では136時間後から死亡個体が見られ、両区とも255時間後に全ての個体で死亡が確認された。絶食群では、曝露前区、曝露後区、対照区で最初の死亡個体が確認された時刻がそれぞれ148時間後、136時間後、71時間後、全ての個体で死亡が確認されたのが、それぞれ309時間後、357時間後、304時間後となった。

秋期の貧酸素耐性試験の結果を図6に示す。通常群では、曝露前区と曝露後区とでそれぞれ41時間後と37時間後から死亡個体が見られたが、全ての個体の死亡が確認されたのは、88時間後と109時間後となった。対照区では63時間後から死亡個体が見られ、119時間後に全ての個体で死亡が確認された。絶食群では、曝露前区、曝露後区、対照区で最初の死亡個体が確認された時刻がそれぞれ47時間後、16時間後、50時間後、全ての個体で死亡が確認されたのが、それぞれ138時間後、109時間後、119時間後となった。

カプラン・マイヤー法¹⁶⁾により生残曲線を当てはめた場合の生残時間中央値および95%信頼区間を表3に示す。季節別にみると春期試験で生残時間が長く、秋期試験で短い傾向が明らかであった。また、春期試験、秋期試験とも通常群の曝露前区の生残時間中央値がそれ以外と比較して大幅に短くなる結果となり、春期試験では前者が77時間に対し後者が191~280時間、秋期試験は前者が46.5時間に対し後者が71.0~88.4時間であった。春期試験では通常群、絶食群で曝露後区の生残時間中央値が最も大きくなった。一方、秋期試験では通常群、絶食群のいずれの栄養状態でも曝露後区の生残時間中央

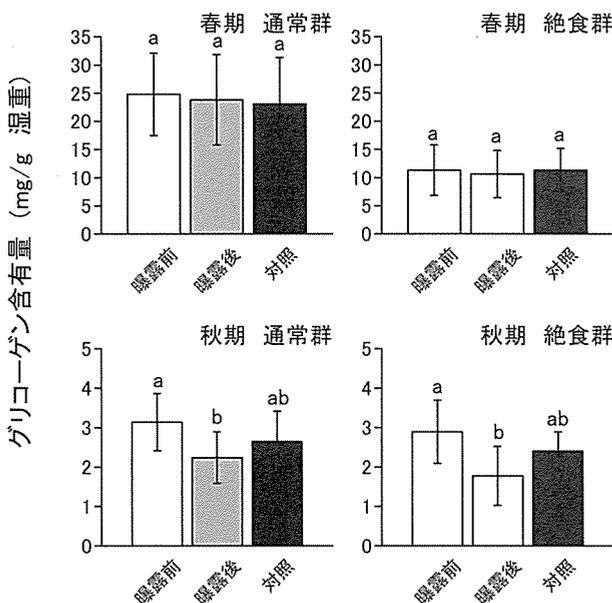


図3. 春期および秋期試験におけるアサリのグリコーゲン含有量平均値と標準偏差を示す
a, bは統計的な有意差 ($p < 0.05$; スティール・ドゥワース法による多重比較)を示す

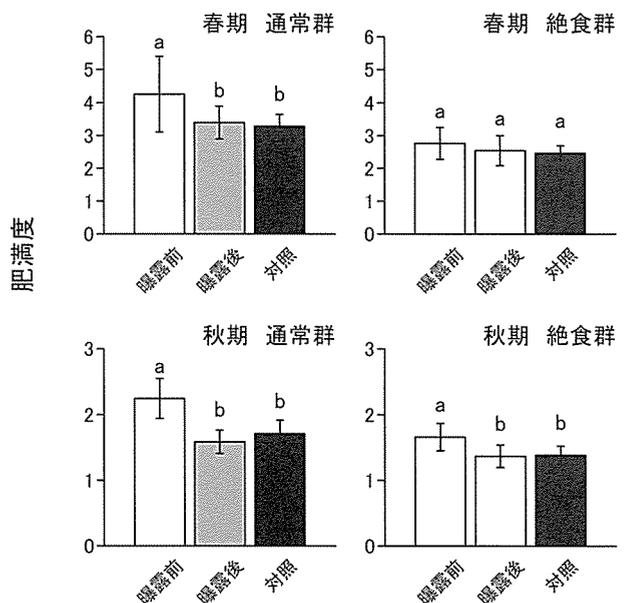


図4. 春期および秋期試験におけるアサリの肥満度平均値と標準偏差を示す
a, bは統計的な有意差 ($p < 0.05$; スティール・ドゥワース法による多重比較)を示す

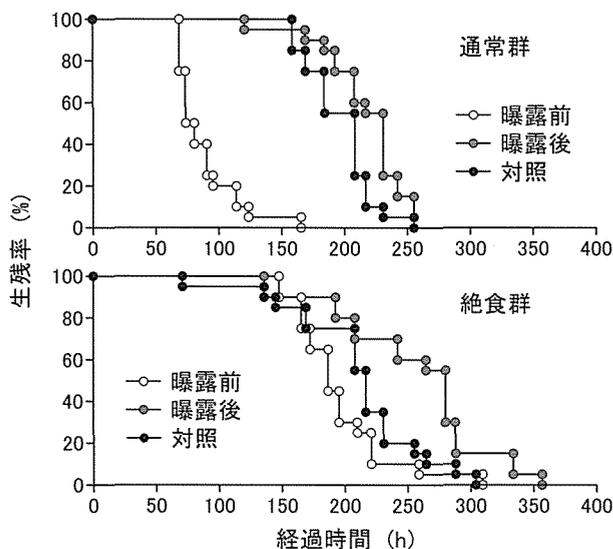


図5. 春期における貧酸素耐性試験の結果
スチロール容器に密封後の経過時間とアサリの生残率を示す

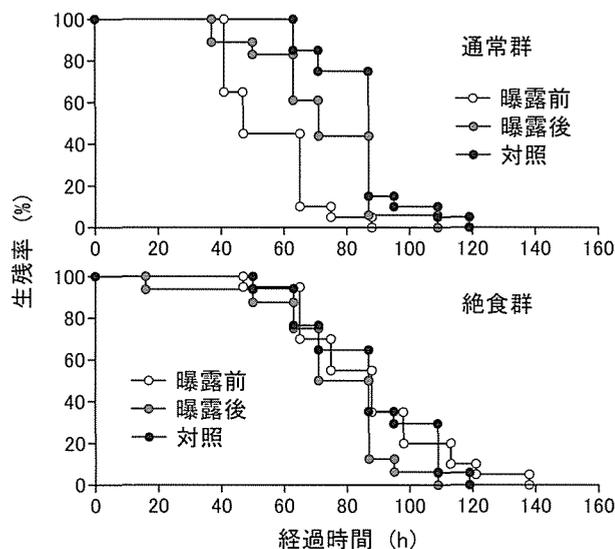


図6. 秋期における貧酸素耐性試験の結果
スチロール容器に密封後の経過時間とアサリの生残率を示す

表3. カプラン・マイヤー法により当てはめた生残曲線の中央値およびその95%信頼区間

栄養状態		操作	生残時間中央値	95% 下限	95% 上限
春期	通常群	曝露前	77.0	73.5	95.3
		曝露後	231.0	207.9	241.9
		対照	208.0	184.0	216.7
	絶食群	曝露前	191.0	172.0	221.0
		曝露後	280.0	242.0	288.0
		対照	217.0	208.0	231.0
秋期	通常群	曝露前	46.5	40.6	64.8
		曝露後	71.0	62.8	87.0
		対照	79.1	71.1	87.1
	絶食群	曝露前	88.4	75.0	97.5
		曝露後	87.0	87.0	87.0
		対照	87.1	71.1	109.3

表4. 生残曲線における操作間の差に関するログランク検定およびカイ二乗検定による多重比較

栄養状態		p 値	操作間の多重比較	p 値
春期	通常群	<0.01 **	曝露後 - 対照	0.073
			曝露前 - 曝露後	<0.001 ††
			曝露前 - 対照	<0.001 ††
	絶食群	<0.01 **	曝露後 - 対照	0.011 †
			曝露前 - 曝露後	<0.001 ††
			曝露前 - 対照	0.250
秋期	通常群	<0.01 **	曝露後 - 対照	0.070
			曝露前 - 曝露後	0.010 †
			曝露前 - 対照	<0.001 ††
	絶食群	0.26	曝露後 - 対照	0.140
			曝露前 - 曝露後	0.225
			曝露前 - 対照	0.498

* : 5%, ** : 1% の有意水準で有意差あり

† : 5%, †† : 1% ボンフェローニ法で修正した有意水準 (5% : $p = 0.017$, 1% : $p = 0.003$) で有意差あり

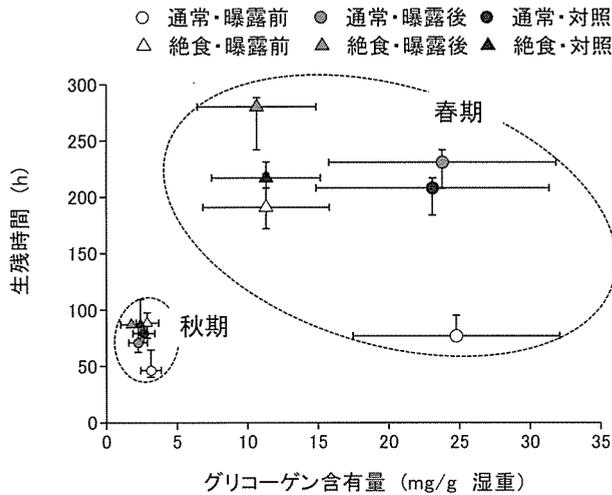


図7. 貧酸素耐性試験における生残時間中央値とグリコーゲン含有量の関係
横軸にグリコーゲン含有量の平均値と標準偏差, 縦軸に生残時間の中央値と上下95%信頼区間を示す

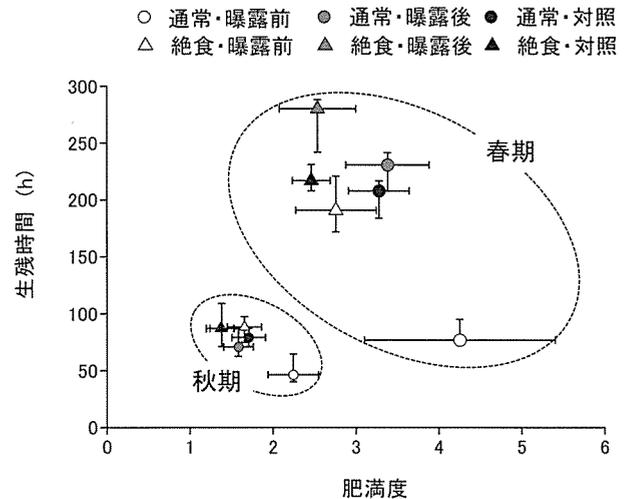


図8. 貧酸素耐性試験における生残時間中央値と肥満度の関係
横軸に肥満度の平均値と標準偏差, 縦軸に生残時間の中央値と上下95%信頼区間を示す

値は対照区より小さいかほぼ同等となった。

条件付け間の生残曲線の差についてログランク検定¹³⁾により比較した結果を表4に示す。それぞれの栄養状態について操作の異なる3本の生残曲線の間の差は秋期の絶食群を除いて有意水準1%で有意となった。それぞれの操作についてカイ二乗検定とボンフェローニ法による多重比較¹⁵⁾を行ったところ、春期、秋期とも通常群では、曝露前区の生残曲線が他の2区と有意に異なり生残時間が短かった。春期の絶食群では曝露前区および対照区と曝露後区に有意差があり、曝露後区の生残時間が長くなる結果となった。

栄養指標と生残時間の関係を整理するため、横軸にグリコーゲン含有量の平均値と標準偏差、縦軸に生残時間中央値とその95%信頼区間をプロットして図7に示した。全体的には春期はグリコーゲン含有量が多く生残時間が長くなり、秋期はグリコーゲン含有量が少なく生残時間が短いという傾向を示した。春期の試験では、通常群の曝露後区、対照区と絶食群の曝露前区、対照区の間で軟体部湿重量1gあたりのグリコーゲン含有量に12mg程度の差が生じていたが、生残時間はほとんど変わらなかった。一方、春期、秋期とも通常群の曝露前区のグリコーゲン含有量がそれぞれの期において最も高かったにもかかわらず、生残時間は最も短くなった。横軸に肥満度の平均値と標準偏差、縦軸に生残時間中央値とその95%信頼区間をプロットして示した図8においても、全体的に春期は肥満度が高く生残時間が長く、秋期は肥満度が低く生残時間が短いという傾向を示した。絶食による肥満度の差は、グリコーゲンほど顕著に表れていないが、春期、秋期とも通常群で曝露前区の個体の肥満度が高いにもかかわらず生残時間が短い傾向が示された。

考 察

アサリの栄養状態は、繁殖周期により季節変動する^{17,18)}ことが知られている。有明海産のアサリでは、春生まれ群と秋生まれ群が知られており、1年間に2回の産卵期があるとされる¹⁹⁾。同じ個体が春と秋の2回産卵するのか、個体群の中に春産卵の個体と秋産卵の個体が含まれるのかは明らかではないが、本研究で供試した春季のアサリは産卵直前の軟体部が充実した時期にあたり、秋期のアサリは産卵後の痩せた時期に相当していたと考えられる。

青山ら⁸⁾の式を用いて、本研究で行った試験条件(水温20℃、溶存酸素1mg/l以下)でのグリコーゲン消費速度を計算すると、1日の貧酸素曝露で軟体部湿重量のおよそ0.37%のグリコーゲンを消費することとなる。このため、無給餌下でグリコーゲンの増加がないとすると、初期条件のグリコーゲン含有量が軟体部湿重量1gあたり25mgの場合およそ7日(6.76日)でグリコーゲンを消費し尽くしてしまう計算になる。しかし、本研究で行った試験の結果では、貧酸素曝露による条件付けの前後でそれほど大きなグリコーゲンの減少は観察されなかった。春期の実験結果では、条件付けの前後でグリコーゲン含有量の低下は軟体部湿重量1gあたり2~3mgで有意とならなかった(図3)。一方、秋期の実験結果では、曝露前区、対照区、曝露後区の順にグリコーゲン含有量が減少していき、曝露前区と曝露後区の間は有意水準5%で有意となった(図3)。このため、今回の秋期試験のように非常にグリコーゲン含有量が低い個体においては、断続的な貧酸素曝露がグリコーゲンの消費を増加させる要因のひとつになると考えられるが、条件付けの期間が無給餌であったこともグリコーゲンの減少に寄与していたと推察される。

肥満度については、春期の通常区と、秋期の通常区および絶食区で2週間の条件付け期間の間に低下する結果となったが、いずれも曝露後区と対照区の間では差が見られなかった(図4)。従って、本研究で設定した条件では、貧酸素に繰り返し曝露したことが原因でアサリの肥満度が大きく低下するとは考えにくい。一方で、約2週間の条件付け期間の間に無給餌であったことは肥満度に影響したものと考えられる。SOBRAL and WIDDOWS²⁰⁾によると、ヨーロッパアサリでは溶存酸素分圧が低下するところ水活動と共に摂餌活性も低下することが報告されている。このため、断続的な貧酸素環境となる漁場でみられるアサリの栄養状態の低下^{10, 11)}の要因としては、貧酸素化による摂餌活性の低下が大きく関与しているのではないかと推察される。

スチロール瓶への密閉によるアサリの貧酸素耐性試験を行った結果、全体的な傾向としては春期の栄養状態の良い個体の生残時間が長く、秋期の栄養状態の悪い個体は生残時間が短くなった(図7, 図8)。しかし、個々の条件を比較すると、春期、秋期ともそれぞれの試験で最も栄養状態の良い通常群の曝露前区が最も早く死亡した。絶食した個体は多くの場合グリコーゲン含有量や肥満度が低下していたが、密閉試験における生残時間は通常栄養状態の個体と同等か、もしくは長くなった。この結果から、アサリを採集してから試験を行うまでの無給餌畜養によってアサリの貧酸素耐性が変化している可能性が指摘される。IBARROLA *et al.*²¹⁾は cockle *Carastoderma edule* (L.) を用いた試験で、餌料環境が変化した場合11日程度の順応期間により同化効率や消化管の機能に変化が現れるとしている。これらの変化は、呼吸を含む生理活性の変化にも影響すると予想される。今回の試験のアサリにおいても、曝露操作のために要した約2週間の無給餌期間の間に生理活性が変化し、その結果貧酸素耐性が向上した可能性が考えられる。

断続的な貧酸素環境への曝露が密閉試験での生残時間に及ぼす影響について曝露後区と対照区を比較すると、春期試験では絶食群で曝露後区の生残時間が対照区より有意に長くなり、通常群でも曝露後区の生残時間が対照区より若干長くなる傾向が見られた(表3, 表4)。この時の条件付け前後のグリコーゲン含有量および肥満度(図3, 図4)を見ると、絶食群では曝露前区と曝露後区および対照区の間で有意な差はなく、栄養状態があまり変化していないことがわかる。通常群では条件付けの前後で肥満度の低下が見られたものの、グリコーゲン含有量は変わらなかった。したがって、春期の栄養状態であれば、約2週間の断続的な貧酸素曝露によってグリコーゲンが減少することにより貧酸素耐性が低下することはなく、むしろ貧酸素環境への順応が示唆される結果となった。

秋期試験では絶食群、通常群の両区において曝露後区の生残時間は対照区と変わらないか、むしろ短くなる傾

向が見られた。(表3, 表4)。この時の条件付け前後のグリコーゲン含有量および肥満度(図3, 図4)を見ると、絶食群、通常群とも条件付けの前後で肥満度の低下が見られ、グリコーゲン含有量も曝露後区は曝露前区より有意に減少していた。本研究の試験結果からアサリが水温20℃前後で貧酸素環境にさらされたときに嫌気代謝基質として利用するグリコーゲンの量はそれほど多くないと考えられるが、絶対的な栄養状態が低かった秋期の試験では、断続的な貧酸素曝露によるグリコーゲンの消費が含有量の差として現れたと考えられる。したがって、秋期試験の栄養状態では十分なエネルギーストックが得られなかったため、約2週間の断続的な貧酸素曝露によるグリコーゲンの消費が相対的に大きく、春期試験で見られた貧酸素環境への順応も進まなかったと考えられる。

以上のように、断続的な貧酸素曝露の影響が現れるかどうかは、アサリの栄養状態によって異なると考えられる。基礎的なグリコーゲン含有量がかなり低下している場合には、断続的な貧酸素曝露がグリコーゲン含有量を減少させることにより貧酸素耐性に影響を与える可能性が考えられる。しかし、ある程度のグリコーゲン含有量があれば、非致死的な貧酸素曝露が短期間でグリコーゲン含有量に影響し、貧酸素耐性を低下させるようなことは起こりにくいものと考えられる。

本研究の試験では、実験温度をアサリの生存に好適な20℃とした。しかし、夏季のアサリへい死現象はさらに高温の条件で起きるため、現場の状況を再現するには高温条件で試験を行う必要がある。また、漁場におけるアサリの栄養状態には、水温変動や底質の擾乱など餌料条件以外の環境要因が影響する可能性が考えられる。今後の課題として、アサリの栄養状態と貧酸素耐性の関係にどのような環境要因が大きく影響するのかを明らかにするため、室内実験により環境要因を制御した試験が必要になると考えられる。

また、本研究の結果、アサリを無給餌で馴致すると貧酸素耐性が向上する可能性が示された。今後、貧酸素水塊の影響により短期間に発生するアサリへい死現象を理解する上では、アサリの摂餌状況による生理活性の違いにも注目する必要がある。

謝 辞

グリコーゲンの分析について、(独)国際農林水産業研究センター水産領域主任研究員坂本達也博士よりご指導頂いた。本稿をまとめるにあたり西海区水産研究所有明海・八代海漁場環境研究センター長有瀧真人博士、西海区水産研究所有明海・八代海漁場環境研究センター資源培養グループ長松山幸彦博士に有益なご助言をいただいた。本研究は、平成14年度および15年度行政対応特別研究“有明海の海洋環境の変化が生物生産に及ぼす影響の解明”により行った。

文 献

- 1) 平野慶二, 日向野純也, 中田英昭, 品川 明, 藤田孝康, 徳岡誠人, 向後恵一 (2010) 諫早湾のアサリ養殖場における夏季大量へい死対策 - 底層溶存酸素の改善試験 -, 水産工学, 47, 53-62.
- 2) 水産庁 (2008) 干潟生産力改善のためのガイドライン, 91-93 pp.
- 3) 倉茂英二郎 (松本文夫編) (1957) アサリの生態研究, 特に環境要素について. 「水産学集成」(末広泰雄編), 東京大学出版会, 東京, 611-655 pp.
- 4) 萩田健二 (1985) 貧酸素水と硫化水素水のアサリのへい死に与える影響, 水産増殖, 133, 67-71.
- 5) 日向野純也, 品川 明 (2009) アサリの代謝生理からみた貧酸素の影響とその対策. アサリと流域環境 - 伊勢湾・三河湾での事例を中心として (生田和正・日向野純也・桑原久実・辻本哲郎編). 恒星社厚生閣, 東京, 87-100 pp.
- 6) 柿野 純 (1982) 青潮によるアサリへい死原因について 貧酸素水および硫化物の影響. 千葉県水産試験場研究報告, 40, 1-6.
- 7) HOCHACHKA P. W. (1984) 低酸素適応の生化学 - 酸素なき世界で生き抜く生物の戦略 (橋本周久, 阿部宏喜, 渡部終五訳). 恒星社厚生閣, 東京, 194 pp.
- 8) 青山裕見, 甲斐正信, 鈴木輝明, 中尾 徹, 今尾和正 (1999) 三河湾における貧酸素化によるアサリ (*Ruditapes philippinarum*) の死亡率の定式化 II. 海洋理工学会誌, 5, 31-36.
- 9) 中村幹雄, 品川 明, 戸田顕史, 中尾 繁 (1997) 宍道湖および中海産二枚貝4種の環境耐性. 水産増殖, 45, 179-185.
- 10) UZAKI N., M. KAI, H. AOYAMA and T. SUZUKI (2003) Changes in mortality rate and glycogen content of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* during the development of oxygen-deficient waters, *Fisheries Science*, 69, 936-943.
- 11) 山口敬子, 内田晶子 (2005) 中海中心水域におけるアサリの生残試験と浅場の評価, 水産工学, 42, 39-48.
- 12) 吉中礼二, 佐藤 守 (1989) 水産化学実験法. 恒星社厚生閣, 東京, 89-90 pp.
- 13) R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- 14) QIAN S. S. (大森浩二・井上幹生・畑 啓生 監訳) (2011) 環境科学と生態学のためのR統計, 共立出版, 東京, 82-83 pp.
- 15) 永田 靖, 吉田道広 (1997) 統計の多重比較法の基礎, サイエンス出版社, 東京, 187pp.
- 16) 舟尾暢男 (2005) The R Tips データ解析環境 R の基本技・グラフィックス活用集. 九天社, 東京, 383 pp.
- 17) L. DRUMMOND, M. MULCAHY and S. CULLOTY (2006) The reproductive biology of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from the North-West of Ireland. *Aquaculture*, 254, 326-340.
- 18) MARIN M. G., V. MOSCHINO, M. DEPIERI and L. LUCCHETTA (2003) Variations in gross biochemical composition, energy value and condition index of *T. philippinarum* from the Lagoon of Venice, *Aquaculture*, 219, 859-871.
- 19) ISHII R., H. SEKIGUCHI, Y. NAKAHARA and Y. JINNAI (2001) Larval recruitment of the manila clam *Ruditapes philippinarum* in Ariake Sound, southern Japan. *Fisheries Science*, 67, 579-591.
- 20) SOBRAL P. and J. WIDDOWS (1997) Influence of hypoxia on the physiological responses of the clam *Ruditapes decussates* from southern Portugal. *Marine Biology*, 127, 455-461.
- 21) IBARROLA I., E. NAVARRO and M.B. URRUTIA (2000) Acute and acclimated digestive responses of the coker *Carastoderma edule* (L.) to changes in food quality and quantity I. Feeding and absorption of biochemical components. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 252, 181-198.

断続的な貧酸素曝露がアサリの栄養状態および貧酸素耐性に与える影響

鈴木健吾・清本節夫・興石裕一

アサリが致死的でない期間の貧酸素環境に繰り返し曝露された場合に、栄養状態および貧酸素耐性が変化するか実験により確認した。アサリ飼育水槽の環境を24時間おきに貧酸素と有酸素に切り替え、約2週間の条件付けを行った。栄養状態が低下した秋期には貧酸素曝露によるグリコーゲン含有量の低下がみられたが、肥満度には貧酸素曝露の影響は現れなかった。貧酸素環境への繰り返し曝露は、栄養状態が低下している場合には貧酸素耐性を低下させる恐れがあるものの、通常の栄養状態では貧酸素耐性に影響を与える可能性は小さいことが示された。

水産技術, 5 (1), 39-47, 2012

ナルトビエイによるアサリに対する食害の防除に関する水槽実験

薄 浩則・崎山一孝・山崎英樹

アサリの食害種であるナルトビエイについて、体盤幅50～85cmの供試魚を用いた水槽実験により複数の食害防除方法を比較検討した。その結果30cm以下の間隔での立て杭、1.6cm目合いの被覆網、18cm目合いの浮き網および20cm間隔の浮きロープで80%以上の残存率が得られ、防除効果の有効性が確認された。一方、アサリ大の玉石の散布は防除効果が得られなかった。また、ナルトビエイは掘ったアサリを海水とともに吸いこんで口に入れることが可能であること、殻長10mm程度のアサリ稚貝も摂餌対象であることが合わせて明らかとなった。

水産技術, 5 (1), 57-66, 2012

消化酵素活性によるアサリ摂餌状況評価の試み

坂見知子・日向野純也

アサリ稚貝の摂餌状況と消化酵素活性との関係を明らかにすることを目的とし、稚貝のセロビオシダーゼ活性を測定した。人工採苗した稚貝では5日間の給餌飼育試験で本酵素比活性が絶食区に比べて7～9倍高くなった。野外で採取した稚貝では、本酵素活性が個体毎に大きく異なったが、底土中のクロロフィル*a*やタンパク質の含有量が多い時に酵素活性が高い傾向がみられた。また潮間帯と潮下帯、あるいはホトトギスガイのマット内外から採取した稚貝では本酵素活性に差が認められ、アサリ稚貝の消化酵素活性が生息環境により異なることが示された。

水産技術, 5 (1), 49-55, 2012

被覆網を用いた春から夏季におけるアサリ人工稚貝干潟育成試験

小林 豊・鳥羽光晴・川島時英

秋季に産卵・育成した殻長3～7mmのアサリ人工稚貝を翌年の春季に千葉県木更津市盤洲干潟へ放流し、5m×5m規模の被覆網で保護育成する試験を実施した。試験は適地選定試験、放流殻長選定試験、被覆網目合選定試験を5月～8月の約2か月間で実施した。

残留率、成長および網の管理面から判断すると、育成場所は砕波帯付近ではない潮間帯の沖側の凸部、放流適正殻長は5mm程度、被覆網の目合は9mmと判断された。これらの条件下で、残留率は50%程度を見込め、育成終了時には殻長約20mmに成長することが分かった。

水産技術, 5 (1), 67-74, 2012