

栄養状態に着目したアサリの生息環境調査について

山口県環境保健センター

惠本 佑, 角野 浩二, 弘中 博史, 佐々木 紀代美, 神田 文雄, 下尾 和歌子*
谷村 俊史, 田中 克正, 松原 友紀, 下濃義弘

(*現・山口県萩健康福祉センター)

A Survey of the Habitat of *Ruditapes philippinarum* that Focused on Nutritional status

Yu EMOTO, Kouji KAKUNO, Hiroshi HIRONAKA, Kiyomi SASAKI, Fumio KOUDA, Wakako SHITAO* Toshifumi

TAMINURA, Katsumasa TANAKA, Yuki MATSUBARA and Yoshihiro SHIMONO

Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment

* Present Affiliation: *Yamaguchi Prefectural Hagi Health and Welfare Center*

1 諸言

山口県では山口湾の悪化した干潟生態系を改善するため「樫野川河口域・干潟自然再生協議会」を支援し、里海の再生を目指した活動を行っている。

干潟再生活動としては、干潟に人為的な働きかけを継続する方法の一つとして、底質環境改善を目的とした人力による干潟耕耘や、ナルトビエイ等の大量捕食生物から保護するための被覆網の設置等を行い、これまでに様々なベントスが増加するなどの成果がみられている。中でもアサリ *Ruditapes philippinarum* は干潟の水質浄化システムや生態系において重要な役割を担う上に、水産有用種として研究知見も多く、干潟生物の中でも一般的になじみ深いことから干潟再生の指標生物として、当センターでは個体数調査等のモニタリングを実施している。

しかしながら、再生活動を実施している樫野川河口干潟（南潟）では活動フィールド内でも地点によってアサリの生残率に差が生じており、協議会の効率的な活動の妨げとなっている。アサリ斃死の原因は不明であるが、南潟は地点によって底質の性状・餌料環境・地盤高・潮流等が異なり、アサリの生息環境として一様ではないことから、この違いが生残率の分布差に少なからず影響していると考えられる。

本調査は南潟の特徴的な地点にアサリを放流し、放流後のアサリの栄養状態をモニタリングすることでアサリ

の生育に適した地点を探索し、効率的な干潟再生活動を行うための基礎資料とすることを目的として実施した。

2 調査方法

(1) 調査地点および試験区の設置

南潟において図 1 に示す①から⑥の地点に試験区を設置した。地点①は対照区として、被覆網の設置により現状安定してアサリが生息している区域の近傍とした。②は防波堤付近で地盤が高く泥質な地点、③は波浪抑制のために 2011 年度に設置した竹柵に囲まれた地点、④は春に年一回の耕耘を実施し、アサリ初期稚貝の定着がみられるものの冬季に原因不明の減耗や斃死が生じている地点、⑤は再生活動を行っていない低地盤泥質の地点、⑥は再生活動を行っておらず砂の堆積が発生する低地盤の地点とした。

(2) 実験方法

ア 試験区へのアサリの放流と回収

平成 23 年 11 月下旬、①から⑥の各試験区にプラスチック製のカゴ（縦 37 cm、横 29 cm、深さ 12 cm）を埋設し、安定してアサリが生息している地点①近傍の被覆網下から採取した殻長約 3 cm のアサリ計 380 個体をカゴ内に放流した。なお、食害による被害を防ぐため、カゴには 6 mm メッシュの被覆網を施し、四方を結束バンドで固定した。

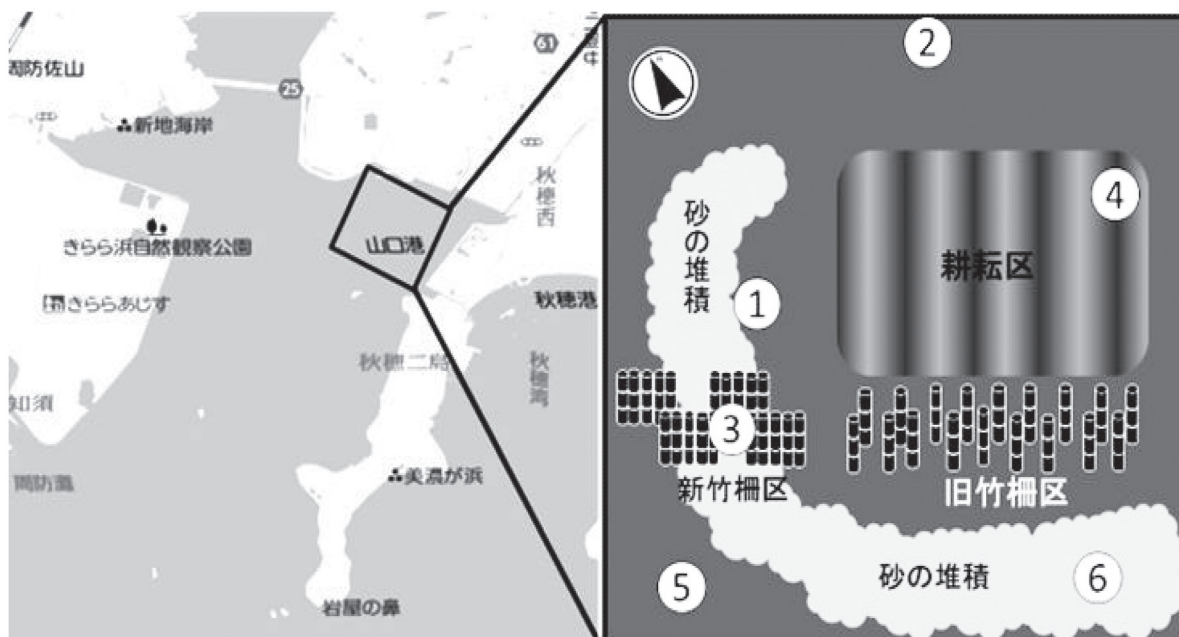


図 1 設置した試験区の位置図

平成 24 年 1 月, 3 月, 5 月に, 各試験区につき計 25 個体, 合計 150 個体のアサリを回収した. なお, 採取後のグリコーゲン量の変化を抑えるため, 採取後ただちにクーラーボックス内で -25°C の蓄冷剤によりアサリを冷凍し持ち帰った.

イ アサリの基礎データ収集

電子ノギスを用いて, 回収したアサリ全個体の殻長・殻高・殻幅を測定した. また, 電子天秤でアサリの軟体部重量を測定し, アサリの肥満度 [肥満度 = 軟体部重量 $\text{g}/(\text{殻長 cm} \times \text{殻高 cm} \times \text{殻幅 cm}) \times 100$] を求めた¹⁾.

ウ グリコーゲンの分析

アサリ軟体部からのグリコーゲン抽出は藤井らの方法²⁾を参考とし, 定量は本田の方法に準じてアンスロン硫酸法で行った^{3, 4)} (図 2).

すなわち, アサリ 1 個体の軟体部全量を試験管に入れ, 蒸留水 2 mL を加えた. これを氷冷しながらホモジナイザーで均質化し, 得られたホモジネート 1 g を遠沈管に分取した. 遠沈管に 1 mL の 30% 水酸化カリウム溶液を加え, 沸騰水浴中で 1 時間反応させた. 水道水で室温まで冷却後, 99.5% エタノール 2 mL を加え, タッチミキサーで攪拌した後, 沸騰水中で加温した. 水中で急冷後, 静置して室温まで戻し, 3,000 rpm で 30 分遠心分離し, 上澄みを捨てた. 沈殿物に水 1 mL を加えて加温溶解させ, 飽和塩化カリウム溶液 1 滴とクロロホルム-エタノール混液 (1:4) 2 mL を加え, タッチミキサーで

攪拌した後, 沸騰水中で加温し, 遠心分離 (3,000 rpm, 30 min) した. 上澄みを捨て, 沈殿物に水 1 mL を加えて加温溶解し, 飽和塩化カリウム溶液 1 滴とエタノール 2 mL を加えてタッチミキサーで攪拌し, 沸騰水中で加温した. 3,000 rpm で 30 分遠心分離し, 上澄みを捨て, 沈殿物を水で溶解し, 1 mL にメスアップしたものをグリコーゲン抽出液とした. グリコーゲン抽出液を適宜希釈し, 遠沈管に 1 mL 分取し, 氷水中でアンスロン試薬 (アンスロン 0.2 g, 濃硫酸 95 mL, 水 25 mL) を 5 mL 加え, 沸騰水中で 15 分反応させた後, 氷水急冷した. 急冷後, 室温に戻し分光光度計で波長 620 nm の吸光度を測定した. 同時にグルコース標準溶液 (0, 10, 30, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) についても測定を行い, 検量線を作成した. 検量線によって算出した検体のグルコース濃度を Morris の換算係数⁵⁾により 1.11 で除し, グリコーゲン濃度とした.

エ 総脂質の分析

フローチャートを図 3 に示す. 前述のアサリホモジネート 1 g を蓋付き試験管に入れ, 飽和塩化カリウム溶液 1 滴, 酢酸を 2 滴, クロロホルム-メタノール混液 (1:2) 3 mL を加え, 十分に攪拌し, 室温で一晩静置した. 3,000 rpm で 30 分遠心分離を行い, パスツールピペットを用いてクロロホルム層をアルミ皿に採取した. その後, 試験管にクロロホルム 2 mL を加え, 再度攪拌し, 一晩静置した. 3,000 rpm で 30 分遠心分離した後, クロロホルム層を採取し, 先

に採取したクロロホルム層と併せた。アルミ皿内の溶媒をドラフトで風乾して重量を測定し、アサリ1個体あたりの総脂質量を求めた。

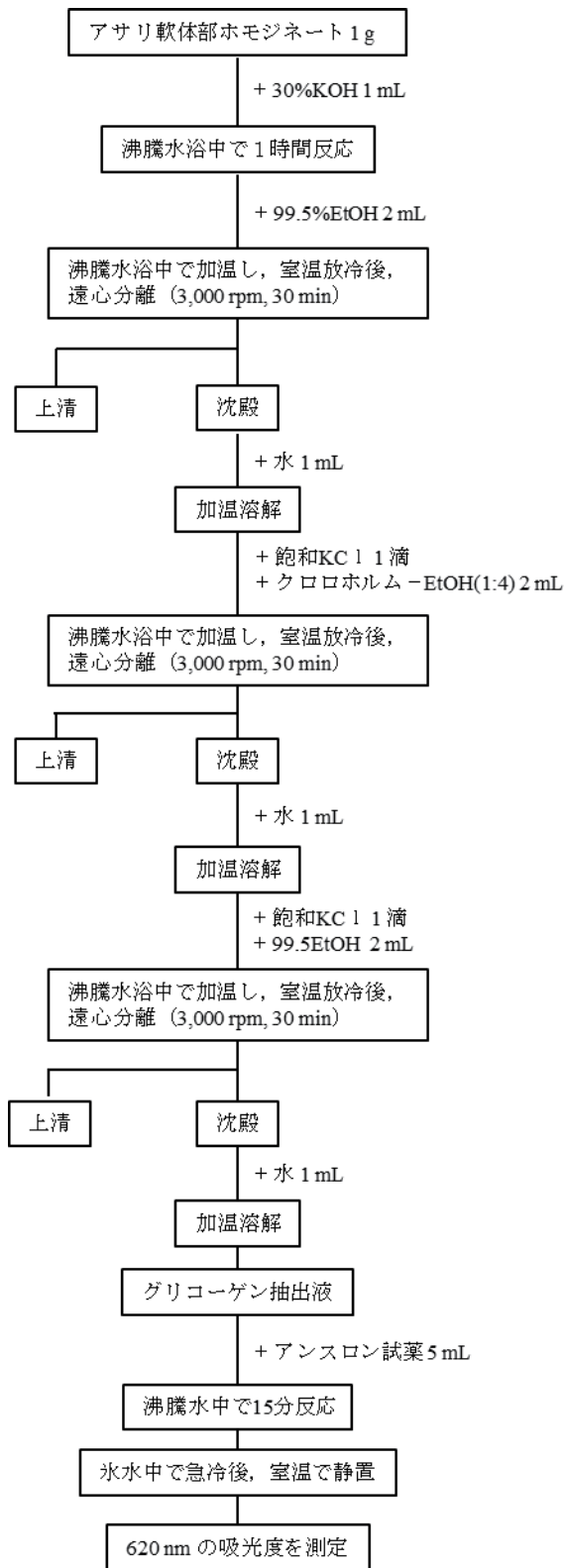


図2 グリコーゲンの分析フローチャート

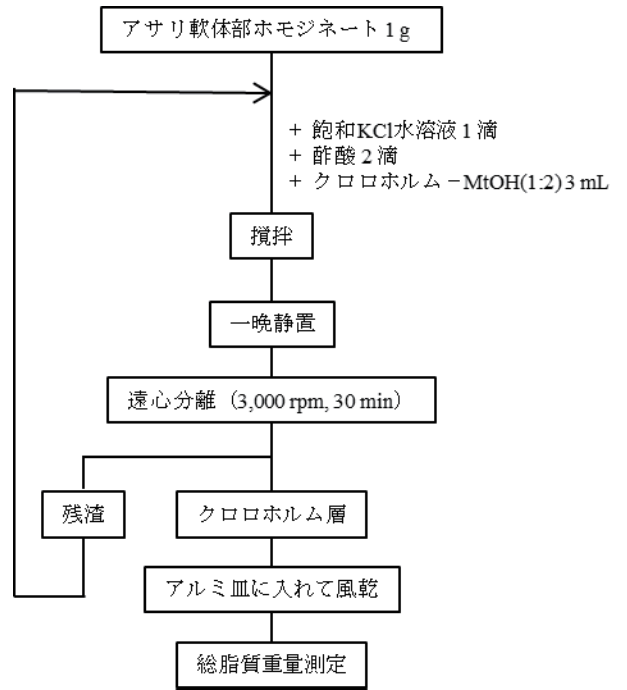


図3 総脂質の分析フローチャート

3 結果

アサリの肥満度の調査結果を図4に、アサリ1個体あたりのグリコーゲン量 (mg/個体)の結果を図5に、総脂質量 (mg/個体)の結果を図6に示す。

肥満度、グリコーゲン量および総脂質量は全体的な傾向として、冬季からアサリの繁殖期である春季にかけて上昇傾向が見られた。測定した軟体部湿重量の値は生殖腺重量を含むため、この時期の肥満度の増加は生殖腺の発達を表していると考えられる¹⁾。

グリコーゲン量については、冬季にアサリの斃死が顕著な④耕耘区東側は他の試験区と比較して3月のグリコーゲン量が少なめであった。⑥低地盤砂質区は調査を実施したいずれの月においてもグリコーゲン量が多かった。

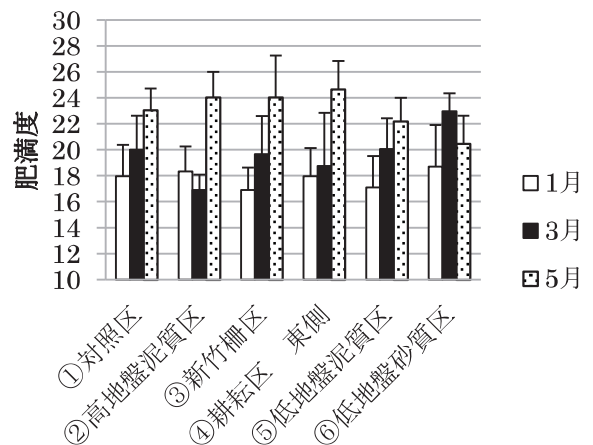


図4 1月, 3月, 5月における各試験区の肥満度

4 考察

各試験区に放流したアサリについて、グリコーゲン量の結果および総脂質量の結果を合わせて評価するために、グリコーゲン量をグルコース量換算としたものを炭水化物として、アサリ1個体あたりの貯蔵エネルギー量で表した結果を図7に示す。

現状、安定してアサリが生息している①対照区と他の試験区を比較してみると、⑥低地盤砂質区は調査したいずれの月も良好な結果を示しており、性成熟期の生息環境として適していると考えられる。

一方、アサリ生残率の低い④耕耘区東側は3月の貯蔵エネルギー量が少なかった。総脂質量は他試験区と大きな違いは無いにも関わらず、グリコーゲン量が少ないことから、この地点は餌料環境は他の試験区と大きな差は無いが、グリコーゲンを消費する何らかの環境要因があると考えられる。通常エラ呼吸を行うアサリにとってグリコーゲンは、干出時における無酸素時の貴重なエネルギー源といわれており、次第に水温が上昇しアサリの活性が高まってくる3月にグリコーゲンが低下することは斃死のリスクが高まるといえる。なお、この地点は冬季に砂れんの発生が確認されていることから、洗掘されることでグリコーゲンを消費し、干出時の斃死を招いている可能性等について考慮する必要がある。

本調査によって判明した各試験区におけるアサリの貯蔵エネルギー量の差は、餌料環境や底質の性状など様々な要素が複合した結果生じたと考えられる。その個々の要素について今後明らかにしていくことで、生息環境の適否のみに留まらず、アサリの斃死原因の究明等に繋がっていきたい。

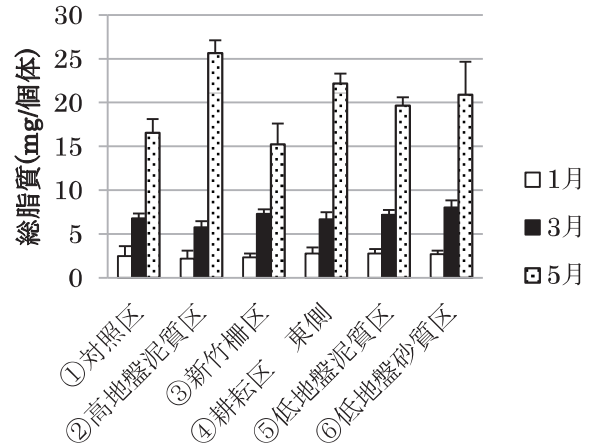


図6 1月, 3月, 5月における各試験区の平均総脂質量(mg/個体)

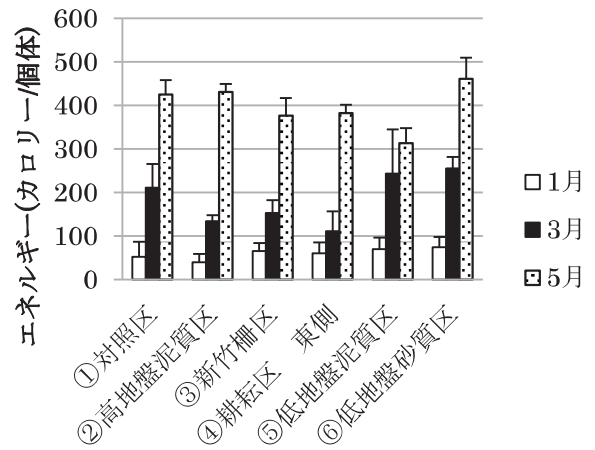


図7 1月, 3月, 5月における各試験区の平均エネルギー量(カロリー/個体)

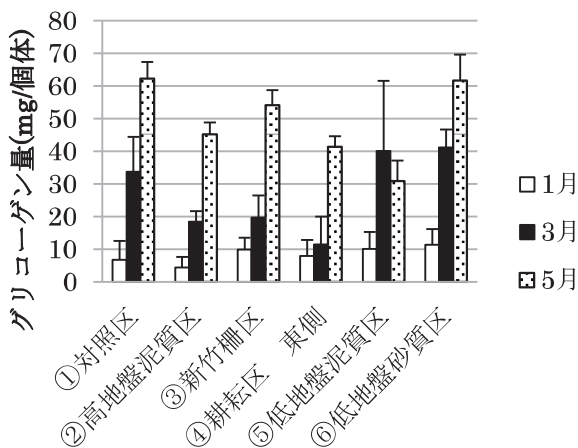


図5 1月, 3月, 5月における各試験区の平均グリコーゲン量(mg/個体)

5 参考文献

- (1) 干潟生産力改善の為のガイドライン, 水産庁. 2008
- (2) 藤井暢三, 生化学実験法(定性編), 南山堂. 1966
- (3) 福井作蔵, 生物化学実験法1還元糖の定量法, 第2版, 学会出版センター. 1998
- (4) 本田榮子, アオリイカ外套筋の死後変化に関する研究, 長崎大学生産科学研究科博士論文. 2009
- (5) Daniel L. Morris. : Quantitative Determination of Carbohydrates With Dreywood's Anthrone Reagent, Science. 107,254-255(1948)

謝辞: 本調査を実施するにあたって、様々なご協力を頂いた山口県自然保護課主任技師の元永直耕氏に感謝致します。