

漁場環境変動に伴うアサリのグリコーゲン含量の変動

黒田伸郎^{*1}・甲斐正信^{*1}・原 保^{*2}Fluctuation in glycogen content of Japanese littleneck, *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeves) with fluctuation of fishery ground environment.KURODA Nobuo^{*1}・KAI Masanobu^{*1} and HARA Tamotsu^{*2}

Abstract

Glycogen content of Japanese littleneck, *Ruditapes philippinarum* taken from natural fishery ground and field cage experiment were analyzed to assess the relationships between tolerance to low oxygen of the shellfishes and fluctuation of environment. Glycogen content of the clams at tidal flats in the Mikawa Bay showed seasonal variation and little deviation was found among individuals of identical sampling. These facts suggest that the glycogen content would be good indicator of physiological condition of the clams. The result of the field cage experiment accomplished at the bottom in the inner part of the Mikawa Bay in summer season would be summarized as follows. During water temperature changed within 20 to 25° C and dissolved oxygen frequently dropped below 20% saturation, average of the glycogen content was constant, but the deviation among individuals was enlarged. This fact suggests that among the clams, there is individual deviation of tolerance to low oxygen. During water temperature increased above 25° C and oxygen frequently dropped below 10%, glycogen content of every clam was lowered. Consequently, all of the clams were dead under frequent anoxic condition, probably due to consumption of glycogen below the level necessary to survive.

キーワード ; アサリ, 苦潮, 貧酸素, 高水温, 耐性, グリコーゲン含量

はじめに

三河湾では、例年夏季から秋季にかけて底層に貧酸素水塊が発達し、底棲生物のへい死が起こる。重要な漁獲対象物であるアサリもその例外ではない。干潟域に生息するアサリのへい死は、貧酸素水塊の湧昇現象である苦潮によってみられることもある。こうしたアサリのへい死には、貧酸素水塊の発生時期、規模、持続時間、あるいは苦潮の頻度、苦潮に含まれる硫化水素等の有害物質の濃度、高水温、低塩分といったさまざまな要因が関わると思われる。しかし、これらのストレスにさらされたときに、アサリがへい死するか否かは、年ごと・漁場によって異なり、ひとつの漁場でもいっせいにへい死が起こるわけではない。このようにへい死過程が一様でないのは、アサリがその時持っている貧酸素に対する耐性が異なるためであると考えられる。^{1) 2)} アサリの貧酸素耐性は、それまでに環境から受けたダメージの程度、餌環境、成熟・産卵といったアサリ自

身の生理条件や遺伝的特性などによって規定されるであろう。³⁾

二枚貝の低酸素に対する耐性に関しホチャチカは、二枚貝の嫌気代謝に関わる解糖系は、他の動物の解糖系に比べ多様性が高くエネルギー効率が高いために、低酸素に対し耐性が高い、と述べている。⁴⁾ しかし、解糖系の出発点は二枚貝においてもグルコースであり、嫌氣的代謝においてはグルコースの貯蔵形態であるグリコーゲンが再生産されることはないから、アサリが貧酸素や苦潮に対しどの程度の耐性を示すかは、嫌氣的代謝に切り替わる溶存酸素濃度の閾値やその時点で蓄積しているグリコーゲンの量とその消費速度によって影響されると考えられる。

このようにグリコーゲン含量はアサリの低酸素に対する耐性に深く関わっていると考えられるが、生息環境の変動と関連づけてグリコーゲン含量を実測した例は知られていない。そこで本研究では、三河湾内におけるアサリのグリコーゲン含量を周年にわたって把握するとともに、夏季に貧酸素化が進行する三河湾奥部浅海域の底泥中でアサリを

* 1 愛知県水産試験場 (Aichi Fisheries Research Institute, Miya Gamagori, Aichi 443-0021, Japan)

* 2 現所属 : 愛知県農業水産部水産振興室 (in present: Aichi Fisheries Promotion Division, Nagoya, Aichi 460-8501, Japan)

飼育し、環境変動に伴うグリコーゲン含量の変動を実測したので報告する。

材料と方法

1. 三河湾内アサリ漁場におけるグリコーゲン含量調査

アサリは三河湾沿岸の3ヶ所のアサリ漁場（福江、一色、吉良）で採取した。分析に供したアサリの出所、採取時期をTable 1に、採取地点をFig.1に示した。アサリは採取後速やかに、殻長、個体総重量を測定後、可食部湿重量を測定し、グリコーゲン分析に供するまで-40℃で冷凍保存した。

2. 三河湾浅海部におけるアサリ飼育実験

蒲郡市三谷町地先の三河湾、水深約5mの地点で底上0.5mの位置に1997年5月29日より7月29日までDOSTメータ（SEA BIRD社製 SBE-16/DO）を設置し、底層の溶存酸素飽和度（以下DOと呼ぶ）、水温、塩分を10分ごとに観測した。メータ設置地点をFig.1に示した。これに合わせ、

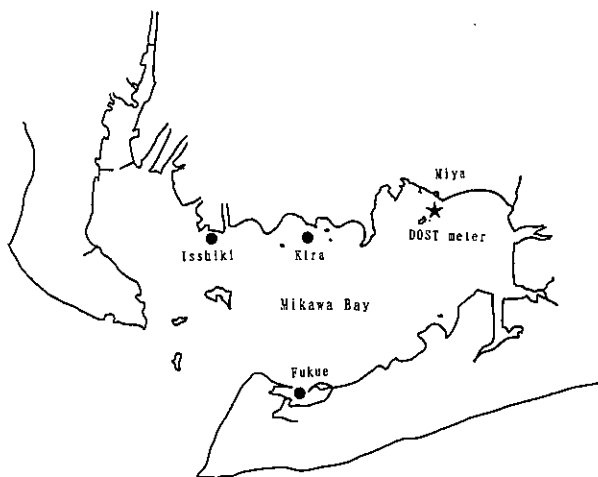


Fig 1. Sampling station of Japanese littlenecks and the clam cage set site accompanied by DOST meter measurement.

吉良町地先で前日に採取したアサリ50個体ずつを収容した縦25cm×横35cm×高さ10cm、目合い5mmのステンレス製金網籠4基を底泥に埋設した。約1週間ごとにそのうちの1つまたは2つをスキューバ潜水によって引き上げ、アサリの生残率を測定すると同時に、無作為に3個体をグリコーゲン分析用に取り上げ、残りは再び籠に収容して元の場所に埋設した。アサリは採取後速やかに、殻長、個体総重量を測定後、可食部湿重量を測定し、グリコーゲン分析に供するまで-40℃で冷凍保存した。

3. グリコーゲンの定量法

グリコーゲンの定量はHagedorn-Jensenの硫酸加水分解法⁵⁾によった。その概要は以下のとおりである。

(1) グリコーゲンの抽出・精製

- ①アサリ1個体分の貝肉を沸騰30%水酸化カリウム溶液10ml中で液化分解した。
- ②冷却後、純エタノール20mlを加え混和し、3000rpmで15分間遠沈した。
- ③上澄みを捨て、沈澱物に純水5mlを加えて加温溶解後、飽和KCl溶液1滴、純エタノール7.5mlを加えて混和し、3000rpmで15分間遠沈した。これを2回繰り返し、上澄みを捨て、エタノール臭がなくなるまで加温した。

(2) グリコーゲンの加水分解、グルコースの定量

- ①純水5mlに溶解後、3N硫酸3mlを加え沸騰水中で2.5時間加熱した。放冷後フェノールフタレイン溶液1滴を加え、1N水酸化ナトリウム溶液で中和し、50mlに定容した。
- ②試料を滴定範囲に入るように希釈後、試料溶液、グルコース標準溶液及びブランク（純水）各5mlにHagedorn-Jensen試薬a 5mlを加え沸騰水中で15分加温した。冷却後 Hagedorn-Jensen試薬b 5ml、5%酢酸3mlを加えて直ちに1/40Nチオ硫酸ナトリウムで滴定した。

試料中のグリコーゲン量 (mg) は、試料中のグルコー

Table 1. Japanese littlenecks used for glycogen analysis

Date of sampling	Locality	Shell length (mm)	Whole weight (wet g)	Edible part (wet g)	Number of individuals
Nov. 8, 1995	Fukue	32.3-34.2	7.56-8.73	1.34-2.97	6
Dec. 13, 1995	Fukue	31.3-35.9	6.50-10.2	1.10-2.21	3
Jan. 18, 1996	Fukue	31.0-32.4	5.93-6.74	1.27-1.65	5
May. 1996	Isshiki	—	—	1.22-2.28	4
Aug. 29, 1996	Isshiki	28.1-33.0	4.81-8.83	0.68-1.28	3
May. 28, 1997	Kira	30.9-33.8	6.05-7.20	1.75-1.94	3
Oct. 28, 1997	Fukue	30.0-32.5	4.58-6.00	1.55-1.68	3

ス量 (mg) に 0.9 を乗じて得た。試料中のグルコース量 G は次式から求めた。

$$G = \left[(\text{ブランク滴定値} - \text{試料溶液滴定値}) / (\text{ブランク滴定値} - \text{標準溶液滴定値}) \right] \times \text{標準溶液中のグルコース量} \times \text{試料の希釈率}$$

Hagedorn-Jensen 試薬 a : フェリシアン化カリウム 8.25g, 無水炭酸ナトリウム 10.6g を純水に溶かして 1 ml とする。
Hagedorn-Jensen 試薬 b : ヨウ化カリウム 12.5g, 硫酸亜鉛 7 水和物 25g, 塩化ナトリウム 125g を純水に溶かして 500ml とする。

グリコーゲン含量は、アサリの可食部湿重量あたりの % (w/w) として示した。

結 果

1. 三河湾内アサリ漁場におけるアサリのグリコーゲン含量

Fig.2 に三河湾沿岸のアサリ漁場で採取したアサリの貝肉に含まれるグリコーゲン量を採取時期別、個体別に示した。全体でみるとアサリのグリコーゲン含量は 0.3~5.5% の幅で大きく変動した。季節的にみると、5 月に採取したアサリが試料中で最も高いグリコーゲン含量を示し、8 月にかけて急速に減少し、10、11 月に採取したアサリが最も低い値を示した。その後、12 月から 1 月にかけて採取したアサリは、グリコーゲン含量が増加した。また、同一時期に同一場所で採取したアサリのグリコーゲン含量の個体差は、5 月の一色漁場の 1 例を除いていずれも約 1% の範囲内にあり、小さかった。

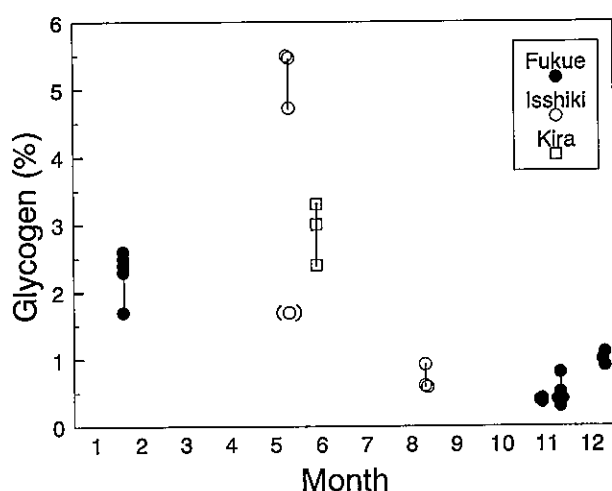


Fig. 2. Glycogen content of Japanese littlenecks taken from tidal flats in the Mikawa Bay.

2. 三河湾浅海部における漁場環境変動とアサリのグリコーゲン含量の変動

1997年5月29日から7月29日まで三河湾の三谷地先の底層でDOSTメータによって測定した水温、塩分、DOの変動をFig.3に示した。底層水温は、6月中は20℃前後を推移していたが7月に入り、急激に25℃前後まで上昇し、7月6日、22日にはそれぞれ28.9、29.3℃を記録した。またDOは、6月の前半にも一時的には10%以下の低い値を示したが、6月20日過ぎから20%以下の低酸素を示す頻度が高くなり、7月10日以降はその頻度が著しく高まった。さらに7月16日以降は無酸素状態が頻繁に観測されるようになるとともに、変動の幅が拡大した。DOの短期間の変動は塩分の変動と一致しており、潮汐・吹送流によって密度躍層が上下することによって生じると考えられた。⁶⁾

DOSTメータの観測期間中に、約1週間ごとに底層から引き上げた金網籠の中のアサリの生残率と、グリコーゲン含量の変動をFig.4に示した。生残率は底層の水温が上昇し始めた7月3日に83%とやや低下がみられ、その後横ばいであったが、底層の無酸素が頻繁に観測されるようになった7月16日以降に急激にへい死し、7月24日に底層から引き上げたアサリは1個体を除き全て死亡していた。

グリコーゲン含量の平均値は飼育開始前には2.9%であったが、底層に設置後はじめは増加傾向を示し、6月18日には4.3%まで増加した。また、この間個体間の測定値の変動幅は1%前後と小さかった。その後、7月3日までは平均値は横ばいであったが、個体間の変動幅は2%前後となり、個体差が拡大した。7月3日から7月16日までグリコーゲン含量の平均値は3.3%まで徐々に減少し、個体差も依然として大きかった。ほぼ全ての個体が短期間に死亡した7月16日から24日にかけては、3.3%から1.8%まで急減した。

考 察

アサリのグリコーゲン含量は、アサリ自身の成熟・産卵過程に伴って季節変動すると考えられる。本研究のアサリの採取場所は一ヶ所ではないし、採取回数も少ないものの、採取場所はいずれも三河湾沿岸の良好な漁場であることから、Fig.2は三河湾沿岸部における平均的な季節変動を反映していると考えられる。一般にアサリのグリコーゲン含量は、成熟と密接な関連があるとされており、5月から10月にわたる産卵に備え、エネルギー源として蓄積するが、産卵に伴って消費し急激に減少するとされている。⁷⁾ 今回の三河湾の結果もこれと良く一致し、5月から6月の成熟期に最も高くなり、秋の産卵後の10月には最も低く、その

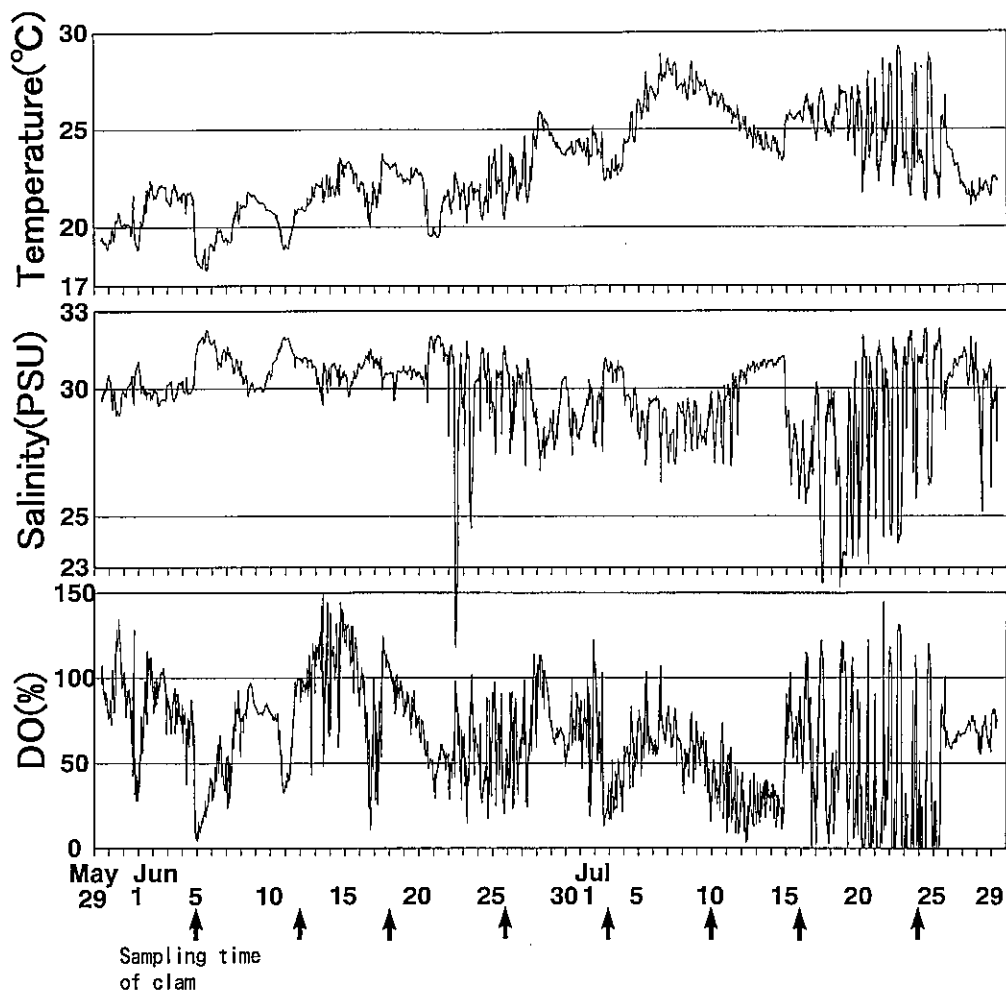


Fig.3 Changes in water temperature, salinity and oxygen % saturation in the bottom layer of the inner part of the Mikawa Bay from May 29th to July 29th in 1997.
Arrows show sampling time of the clam.

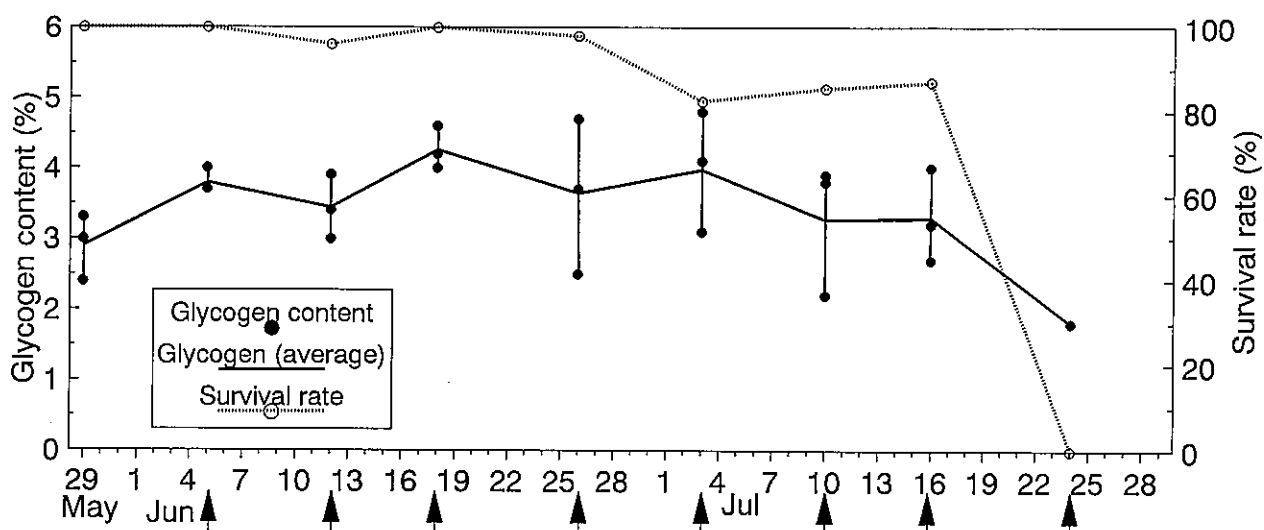


Fig 4. Changes in survival rate and glycogen content of Japanese littlenecks in the cage set on the bottom of the inner part of the Mikawa Bay.
Arrows show sampling time of the clam.

後春にかけて再び徐々に回復していった。ただし、8月の一色漁場の測定値が低かったことは、産卵の影響に加え高水温によるエネルギー消費が増大したことを示しているのかもしれない。三河湾内漁場で採取したアサリのグリコーゲン含量はこのように季節的に大きく変化したものの、同一場所、同一時期に採取したアサリの個体差は5月の1検体を除き約1%と小さかった。5月の一色漁場で1個体のみ特に低い値であった理由は不明であるものの、これらのことは、ある一定の生息環境に置かれた同時期のアサリはほぼ同じグリコーゲン含量をもっていることを示している。

三河湾浅海部における夏季の飼育実験 (Fig.4) では、6月18日まではグリコーゲン含量の増加がみられた。この時期は底層の水温が20℃前後と低くDOも一時的に低下しただけで、アサリにとって比較的良好な環境にあったと考えられる。したがって、アサリは積極的に摂餌を行うとともにエネルギー消費も少なかったと考えられる。

6月18日から7月3日にかけて、アサリのグリコーゲン含量の平均値は横ばいであったが、個体差が増大しそれまでより低い値を示す個体が出現した。この時期は、DOが20%以下を示す頻度が増加しており、アサリの生息環境の悪化が認められた。このことは、DO低下に対するアサリの耐性には個体差があり、グリコーゲン含量を維持・増大させる個体がある一方、耐性の低い個体のグリコーゲン含量が低下しはじめたことを示唆している。実際にへい死した個体のグリコーゲン含量は測定していないが、この時期から生残率の減少がみられるようになったのは、グリコーゲン含量が低下した一部の個体がこの時期にへい死しはじめたためと考えられた。また、この時期の水温は20~25℃の範囲を推移したが、この水温ではアサリの酸素消費が最も活発であることが知られている。⁸⁾したがって、DOが回復したときには多くの個体がまだ十分な酸素呼吸を行うことができ、一方的にグリコーゲンを消費し尽くして大量へい死に至ることがなかったのかもしれない。7月3日から16日にかけては、個体差は依然として大きかった。また、平均値は横ばいから減少に転じ、測定値のうちの最大値も減少したことから、個体群全体のグリコーゲン含量が低下したことがうかがわれた。この時期は、DOが10%以下の貧酸素を示す頻度が増加するとともに、水温が酸素呼吸速度が低下する25℃以上に上昇していたため、グリコーゲンの消耗がより著しくなったと考えられる。

無酸素状態が頻発した7月16日以降は、それまでのグリコーゲン含量に関わりなく殆どのアサリがへい死したが、

生残した1個体のグリコーゲン含量は1.7%と観測例の中で最も低い値であった。へい死した個体はへい死直前には著しくグリコーゲン含量が低下したと考えられるが、グリコーゲン含量が最後に生残した個体と同程度あるいはそれ以下のレベルまで低下していたのかどうかは、今回の結果からは明かではない。海水中の酸素濃度が低下すると二枚貝は酸素呼吸速度が低下し、⁹⁾体内に蓄積されたグリコーゲンを嫌氣的に代謝することによって生存すると考えられているが、⁴⁾嫌氣的代謝に切り替わる酸素濃度や水温条件、蓄積されていたグリコーゲンの消耗速度は一定ではなく、個体によりかなり差のあることが、環境変動とグリコーゲン含量の測定から明らかにされたと考えられる。さらに極度に貧酸素化が進行した場合、嫌氣的代謝による生存の限界とグリコーゲン含量がどのように関連するのか、例えば生死を分けるグリコーゲン含量の閾値が存在するかどうかは低酸素条件下におけるアサリ漁場の管理にとって極めて重要であり、今後へい死直前のサンプリングを密にすることによって、明らかにする必要がある。

謝 辞

本稿の執筆にあたり、貴重なご助言をいただいた千葉県内水面水産試験場柿野純養殖研究室長、愛知県水産試験場鈴木輝明博士に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 愛知県水産試験場 (1995) 平成6年度夏季におけるアサリの大量へい死について. 愛知水試研究業績C-16, pp 21.
- 2) 柿野純 (1982) 青潮によるアサリのへい死原因について. 千葉県水産試験場研究報告. 40, 1-6.
- 3) 柿野純 (1996) アサリ漁業の動向と近年の調査結果. 水産海洋研究. 60, 265-268.
- 4) P.W.ホチャチカ (1984) 二枚貝におけるグルコースとアミノ酸分解代謝の共役. 「低酸素適応の生化学 (橋本周久他訳)」, 恒星社厚生閣, 東京, 40-54.
- 5) 食品鑑別・検査法研究会編 (1986) グリコーゲンの定量. 改訂食品鑑別・検査法ハンドブック, 建帛社, 493-494.
- 6) 鈴木輝明・青山裕晃・甲斐正信・今尾和正 (1998) 底層の貧酸素化が内湾浅海底棲生物群集の変化に及ぼす影響. 海の研究. 印刷中.
- 7) 佐伯清子・熊谷洋 (1980) アサリの一般成分および無機成分の季節的変動. 日水誌, 46, 341-344.
- 8) 海老原天生・村田晴彦 (1967) アサリの酸素消費量 (第1報). 千葉県内湾水試試験調査報告書, 9, 89-97.

