

ホタテは環境変化にどのように反応するか ～貝リングルを使って殻の開閉の意味を探る～

櫻井 泉（東海大学生物学部）

1. はじめに

ホタテガイは北海道を代表する水産物であり、2009年度の道内生産量は45.2万トン、生産額は478億円に上っていますが、本種の養殖では大量死亡が度々発生し、安定生産の障害となっているのは周知のとおりです。

養殖ホタテガイの主な死亡原因としては、水温変動、高濁度、貧酸素および高波浪といった環境変化が指摘されています¹⁾。このため、サロマ湖や噴火湾の養殖場では、死亡の予兆の察知を目的とした環境モニタリングが実施されていますが、調査船による採水・分析では限界があり、死亡が起こった後に環境履歴をさかのぼって原因究明と防止策の検討に当たっているのが実情です。

一方、アコヤガイ養殖では、貝殻の開閉に伴う殻体運動によって環境変化を察知し、大量死亡を未然に防ぐための装置「貝リングル」が開発されています²⁾。この装置は、殻体運動に伴って貝殻に装着したホール素子とフェライト磁石との間に発生する磁束密度の変化を波形として連続的に記録するもので、これまでに死亡原因となる貧酸素や硫化水素に対してアコヤガイが特異的な殻体運動を示すことが明らかにされ³⁾、養殖環境のモニタリングに活用されています。

こうした中、サロマ湖養殖漁業協同組合では、ホタテガイの殻体運動により死亡の予兆を察知するための技術開発を目指して貝リングルを導入し、養殖貝の殻体運動のモニタリングを行いました。その結果、ホタテガイの殻体運動にはアコヤガイと同様、幾つかのパターンが認められることが明らかとなりました。また、環境因子の観測も並行して実施し、これらと殻体運動の関係も検討しましたが、養殖場では複数の因子が複雑に絡み合うため、各因子と殻体運動との間に明瞭な関係を見出すことができず、現段階において技術開発は足踏み状態となってい

ます。このため、殻体運動の特徴を因子ごとに検討し、上述のパターンが意味する環境変化を明らかにすることが技術開発の進展と定着を図る上で喫緊の課題となっています。

こうした中、殻体運動に基づいたホタテガイ養殖場の環境モニタリング技術確立に向けて、水温変化、高濁度、貧酸素および高波浪に対する殻体運動のパターンを室内実験により類型化し、各環境に対する特異的な殻体運動のパターンを検討しましたので、今回の講演会では得られた実験結果について紹介します。

2. 材料および方法

供試貝の採集・飼育 実験には、サロマ湖で採集された養殖ホタテガイ（殻高 88.6～95.3mm、重量 90.6～117.1g）を使用しました。採集した貝については、濾過海水（塩分濃度 35～36psu）を掛け流した2トン水槽内で約1か月間馴致するとともに、飼育中は餌料として二枚貝用配合飼料 M-1（日本農産社）を1日当たり 250mg/L の割合で給餌しました。

実験手順 殻体運動の計測は、永井の方法²⁾に準拠して行いました。まず、上述の飼育貝の中から無作為に8個体を抽出し、各々の左殻および右殻前縁部にそれぞれホール素子センサー（東京測器研究所社 HS-05）および丸型フェライト磁石（直径 7mm×厚さ 2mm）を、互いに貝を挟んで対面するようにアクリル樹脂系瞬間接着剤（コニシ社）で接着しました。固着後、ポケット式ホタテガイ養殖用ネット2枚（市販品を2段に裁断）にそれぞれ4個体ずつ収容し、飼育水槽に戻した後、安定した開殻が続くことを確認し、以下の実験に供しました。なお、供試貝の殻体運動については、殻の開閉に伴う磁束密度の変化によって生ずる

ホール素子センサーの出力電圧を、貝リングル測定器（東京測器研究所社 SL-108B）を用いて 0.5 秒ごとに連続記録しました。

水温変化に対する殻体運動 100L 円形容器 2 基を用意し、各々を実験区および対照区として濾過海水 100L を注入しました。次いで、温調器を用いて飼育水槽と同じ水温 15°C に調温した後、先述の養殖ネットを 1 枚ずつ容器に垂下し、暗視条件下でエアレーションを施しながら以下の処理を行いました。まず、実験区では、供試員の殻体運動に乱れないことを確認しながら 1 時間放置し、水温を 1 時間かけて 5°C 上昇、2 時間かけて元の状態に戻した後、1 時間放置しました。一方、対照区では、15°C 一定とし、5 時間放置しました。実験中の水温は、養殖ネットの下端部に取り付けた自記水温計（Onset 社 HOBO Pendant）により観測するとともに、上述の処理について両区の供試員を 1 回ごとに入れ替えながら 4 回反復しました。なお、波形解析については、両区とも水温変化に晒した時間帯（3 時間）を対象としました。

高濁度に対する殻体運動 本実験では、濁り物質として実験中に沈降することなく高濁度を維持できる浮遊珪藻の一種 *Chaetoceros gracilis*（環境バイオ研究所）を使用し、水温変化に対する観測と同様の条件において以下の処理を行いました（ただし、水温は 12°C 一定）。まず、実験区では、*C. gracilis* を 1×10^3 細胞/mL の濃度になるように飼育水に添加し、供試員の殻体運動に乱れないことを確認しながら 1 時間放置した後、*C. gracilis* を飼育水の濃度が 1×10^5 細胞/mL になるように追加し、4 時間放置しました。一方、対照区では、*C. gracilis* を飼育水の濃度が 1×10^3 細胞/mL になるように添加した後、5 時間放置しました。実験中の濁度は、養殖ネットと並列するように垂下したクロロフィル・濁度計（JFE アドバンテック社 Infinity-CLW）により観測するとともに、先述の処理について両区の供試員を 1 回ごとに入れ替えながら 4 回反復しました。なお、波形解析

については、両区とも高濁度に晒した時間帯（4 時間）を対象としました。

貧酸素に対する殻体運動 水温変化に対する観測と同様の条件において、以下の処理を行いました（ただし、水温は 12°C 一定）。まず、実験区では、供試員の殻体運動に乱れがなく、溶存酸素濃度が飽和状態を維持しているのを確認しながら 1 時間放置した後、エアレーションを停止し、窒素ガス通気により溶存酸素濃度を 20 分かけて 0.05mg/L 以下に低下させました。この状態で 40 分放置した後、窒素ガス通気を止めてエアレーションを再開することにより溶存酸素濃度を 1 時間かけて飽和状態に戻し、その後 1 時間放置しました。一方、対照区では、エアレーションを施した状態で 4 時間放置しました。実験中の溶存酸素濃度は、養殖ネット中央部にセンサーを取り付けた蛍光式 DO メーター（HACH 社 HQ30d）により観測するとともに、上述の処理について両区の供試員を 1 回ごとに入れ替えながら 4 回反復しました。なお、波形解析については、両区とも貧酸素状態に晒した時間帯（2 時間）を対象としました。

高波浪に対する殻体運動 実験には造波水槽（長さ 27m、幅 1.5m、深さ 2m）を使用しました。水槽内に濾過海水を深さ 1m になるように注入し、水温を飼育水槽と同じ 11°C に調温した後、先述の養殖ネットを 2 枚並列するように水槽内へ垂下し、暗視条件下でエアレーションを施しながら以下の処理を行いました。まず、供試員の殻体運動に乱れないことを確認しながら 2 時間放置し、これを対照区としました。次いで、波高 40cm、周期 3 秒の波を 2 時間作用させ、これを実験区としました。なお、実験中は、養殖ネットと並列するように垂下した電磁式流速計（JFE アドバンテック社 Infinity-EM）により流速を観測するとともに、上述の処理を中 1 日において 2 回反復しました。また、波形解析について、実験区では高波高に晒した 2 時間、対照区では波高を与える前の 2 時間を対象としました。

3. 結果および考察

各実験で得られた殻体運動の波形を比較した結果、図1に示す9つのパターンに類型化することができました。各パターンの特徴は、以下のとおりです。

【パターンI】閉殻した後、緩慢に開殻する行動を3~5分間隔で繰り返すパターン。波形のスパイクの高さは、個体により異なります。

【パターンII】敏速な開閉行動を断続的に繰り返すパターン。スパイクの高さは個体により異なりますが、鋭い峰を呈するのが特徴です。

【パターンIII】小刻みな波形変化を繰り返すパターン。閉殻行動ではなく、殻を振動させているものと推察されます。10~20分続くのが特徴です。

【パターンIV】僅かに開殻した後、敏速に閉殻し、その後緩慢に開殻する行動を繰り返すパターン。10~20分連続するのが特徴です。

【パターンV】連続した小刻みな開閉行動を不規則に繰り返すパターン。IIIとは異なり、行動の連続時間が1分程度です。

【パターンVI】閉殻した後、一瞬開殻するものの再び閉殻し、その後は緩慢に開殻する行動を繰り返すパターン。小刻みな開閉動作が2回連続する場合も観察されます。

【パターンVII】敏速な開閉行動を連続的に繰り返すパターン。スパイクの形が酷似するIIとは、行動が30秒程度連続する点で異なります。

【パターンVIII】不規則な開閉が続くパターン。実験室内での振動（ドアの閉音等）による乱れと推察されます。

【パターンIX】開閉行動を示さないパターン。安静な状態と推察されます。

以上の波形パターンについて、実験中に観測された回数を環境刺激ごとに整理し、図2に示しました。ここでは、連続した波形パターンの区切りの判別が困難でしたので、10分ごとに区分した波形の中で同種のタイプが2回以上検出された場合を1回と計数しました。結果をみると、水温上昇および低下の実験区ではパターンIを示す回数が対照区に比べて高く、特に水温上昇では有意差が認められました。また、高濁度の実験区ではパターンIIIおよびV、貧酸素の実験区ではパターンII、VおよびVII、高波高の実験区ではパターンIIIおよびIVを示す回数が各々の対照区に比較して有意に増加しました。

そこで、有意差が検出されたパターンI、III、

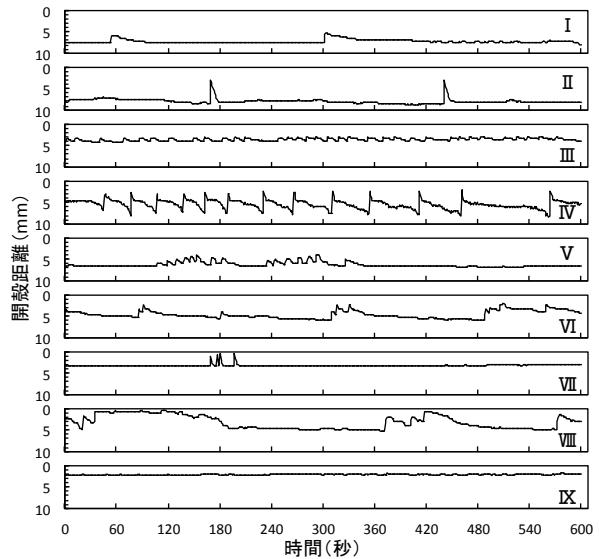


図1 ホタテガイ殻体運動の波形パターン

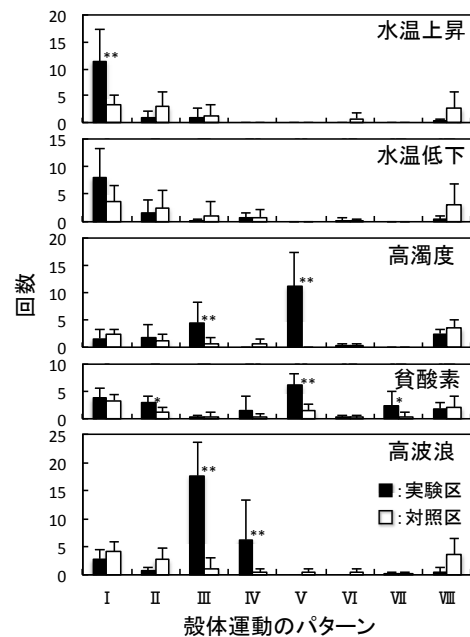


図2 各刺激を与えた時に記録された波形パターンの回数比較。回数は個体ごとにすべての実験結果を集計した平均値を示す。*: P<0.05, **: P<0.01 (U-test)

IV、VおよびVIIを対象に、環境変化に対する指標としての利用可能性を検討するため、各刺激に対する波形パターンの回数を比較しました(図3)。ここでは、実験時間の異なる刺激間で各波形パターンの回数を比較するため、図2に示した各回数を1時間あたりの値に換算しました。その結果、パターンIでは、水温上昇時に有意に増加することが示され、この波形パターンが1時間に2回以

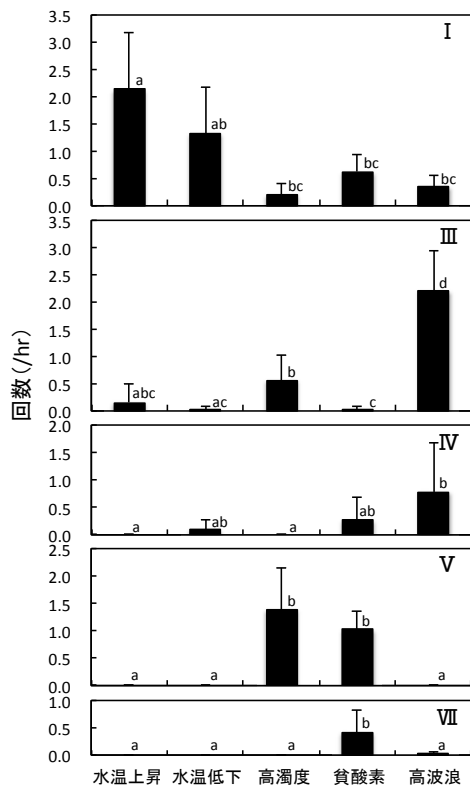


図3 刺激の違いによる波形パターンの回数比較. 回数は個体ごとにすべての実験結果を集計・平均した後、1時間あたりの値に換算、最大値は6回となることに注意、同じアルファベット間には有意差なし (Steel-Dwast test, $P < 0.05$)

上観測された場合には水温上昇が疑われることが示唆されました。また、パターンIの回数は、水温低下時にも増加しましたが、他の刺激との間に有意差はみられませんでしたので、本パターンは水温上昇に限定した指標になり得るものと判断されました。なお、水温上昇に対してホタテガイがパターンIの殻体運動を示す理由については、今のところ不明です。

次に、パターンIIIでは、高波高時に有意に増加する傾向がみられ、この波形パターンが1時間に2回以上観測された場合には、波浪による攪乱が起こっている可能性が示唆されました。また、パターンVでは、高濁度時と貧酸素時に有意に増加することが示されるとともに、パターンVIIでは貧酸素時に有意に増加する結果となりました。このことは、パターンVが高濁度および貧酸素発生時の指標として利用可能であり(1時間に1回以上)、両者はパターンVIIの有無で識別できることを示唆しています。

なお、高濁度に対してホタテガイがパターンV

の殻体運動を示したのは、摂餌の過程において鰓表面の繊毛運動による分別だけでは懸濁粒子を擬糞として体外に排出する処理が追いつかないため、殻の小刻みな開閉により水流を起こした結果によるものと考えられました。また、貧酸素に対するパターンVおよびVIIの殻体運動は、連続的な殻の開閉に伴う水流発生により鰓表面へ酸素を取り込もうとする行動と推察されました。

一方、パターンIVでは、高波高時に水温上昇および高濁度時に比べて有意に増加する傾向がみられましたが、水温低下および貧酸素時との間に有意差は検出されず、環境変化に対する指標としては利用不可能と判断されました。

4. おわりに

本研究では、サロマ湖におけるホタテガイ養殖環境モニタリング技術の確立に向けて、水温変化、高濁度、貧酸素および高波高に対する殻体運動を、貝リング装置を用いて室内実験により類型化し、各環境変化に対して特徴的に示される波形を検討しました。その結果、本種の殻体運動の波形を9つの特徴的なパターンに類型化できました。また、各パターンを示した回数を比較した結果、パターンIは水温上昇、パターンVは高濁度、パターンVおよびVIIは貧酸素、パターンIIIは高波浪の指標になると推察され、パターンIおよびIIIでは1時間に2回以上、パターンVおよびVIIでは1時間に1回以上検出された場合に各環境変化が起こっている可能性のあることが示唆されました。

今後は、養殖現場において上述の波形パターンと環境変化の対応関係を確認するとともに、指標となる波形パターンを定量化し、モニタリングの自動化を図る必要があると考えます。

5. 参考文献

- 1) 吉田達ほか: ホタテガイによる環境モニタリング法に関する研究開発. 青森県増養殖研究所事業報告, **36**, 199-210 (2007)
- 2) Nagai K *et al.*: Detecting the shellfish killer *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) by measuring bivalve value activity with a Hall element sensor. *Aquaculture*, **255**, 395-401 (2006)
- 3) 郷譲治ほか: ホール素子センサーを用いたアコヤガイ殻体運動による貧酸素および硫化水素含有貧酸素海水の監視法. 水産増殖, **57**, 449-453 (2009)