

# 紀伊水道の栄養塩環境が二枚貝生産に及ぼす影響解明

諏訪 剛・葦澤崇博・武田崇史（増養殖部）

## 目 的

近年、瀬戸内海のアサリやハマグリが生産量は減少しているが、和歌山県の干潟域でも同様である。浜口<sup>1)</sup>は、アサリ・ハマグリが生産性低下の原因のひとつとして、海域の栄養塩の低下や冬季水温の上昇など環境変化による影響を考察している。

本課題では、和歌山市和歌浦干潟（以後、「和歌浦」と表記）及び田辺市新庄町地先の干潟（以後、「新庄」と表記）（図1）において、二枚貝漁場周辺海域における栄養塩などの水質等環境調査を実施するとともに、アサリ等二枚貝を用いた飼育試験を実施し、海域の栄養塩動態や餌料環境、二枚貝の成長量等を把握し、海域の栄養塩環境が二枚貝の生産性に及ぼす影響を検討する。

なお、本調査は、令和3年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩、赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発「栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」（水産庁委託）により実施した。



図1 調査地

## 方 法

### 1. 水質等環境調査

2021年4～6, 8, 10～12月の各月1回、多項目CTD（RINKO-Profiler, JFEアドバンテック株式会社）による水温、塩分の測定を行うとともに、栄養塩環境およびアサリ等二枚貝の餌料環境を把握するため、採水・採泥サンプリングを実施し、自動分析機器（SWAAT, BLTEC株式会社）による海水の栄養塩分析（ $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ ）および蛍光分光光度計（FP-6500, 日本分光株式会社）による海水・干潟堆積物のクロロフィルa分析（干潟堆積物は8月を欠測）に供した。海水は、上げ潮時に水深80cmに達した際の海底上約1cmから採水した。干潟堆積物は、4～6月は通常の干潟域から、10～12月は二枚貝飼育試験でトリカルネットの蓋をした試験区のカゴ内部から、干潮時に表層0～5mmを採泥した。干潟堆積物のクロロフィルa分析については、検体を1.5g秤量した後、滅菌海水を加え、上清と沈殿物に分けた。海水および干潟堆積物の上清は0.2 $\mu\text{m}$ , 2 $\mu\text{m}$ , 10 $\mu\text{m}$ , 20 $\mu\text{m}$ の濾紙で濾過し、その濾紙からNN-ジメチルホルムアミドを用いて抽出したクロロフィルa量を0.2～2 $\mu\text{m}$ , 2～10 $\mu\text{m}$ , 10～20 $\mu\text{m}$ , 20 $\mu\text{m}$ 以上の分画に分けて測定した。沈殿物についてはそのままクロロフィルa量を測定した。

珪藻類の分析（組成、細胞密度）は、上記の方法で採取した海水と干潟堆積物（上清）について実施したが、干潟堆積物（上清）は二枚貝飼育試験で網を被せた試験区のカゴ内部から採泥したものについても調べた。海水は5, 6, 10～12月分、干潟堆積物（上清）は10～12月分を調べた。

泥の粒度組成分析は、10～12月に珪藻類分析用に採泥したのと同じ場所で採取した干潟堆積物1.5gを20mLの0.2%洗剤溶液で懸濁させ、レーザー回折式粒度分布測定装置（SALD-3100, 島津製作所）により実施した。

### 2. 二枚貝飼育試験

飼育試験は、290×150×100mmのカゴに目合い20mmのトリカルネットで蓋をした試験区（以後、「トリカル区」と表記）と、520×365×305mmのカゴに目合い4mmと20mmの網を二重に被せた試験区（以後、「網区」と表記）で実施した。各試験区にはカゴを2個ずつ埋設した。試験に用いたアサリは9月に和歌浦で採取した殻長3cm前後の個体で、1カゴ当たりの収容個数はトリカル区が12個、網区が40個である。カゴ内の基質には篩（目合い5mm）で夾雑物を除去した現地の砂を使用した。試験は10～12月に和歌浦と新庄で実施した。

殻長は、トリカル区では全ての個体をデジタルノギスで測定し、網区では各カゴから無作為に抽出した 15 個体、カゴ 2 個で計 30 個体をトリカル区と同様に測定した。測定したアサリは元のカゴへ戻した。軟体部湿重量は、トリカル区では各カゴからアサリ 3 個体、カゴ 2 個で計 6 個体、網区では各カゴからアサリ 5 個体、カゴ 2 個で計 10 個体を無作為に採取して水産試験場へ持ち帰り、デジタルノギスで殻長、殻高、殻幅を測定した後、メスで切開して取り出した軟体部をペーパータオルで水分除去して電子秤で計測した。軟体部湿重量の測定に用いたアサリの各個体データから各月の肥満度[軟体部湿重量 g/ (殻長×殻高×殻幅 cm) ×100]を算出した。12 月に生残個体を計数し、生残率を求めた。

### 3. 脂肪酸の調査

海水は 5, 6, 10~12 月に水質等環境調査と同じ方法で採取した。125  $\mu$ m のフィルターに通した後、あらかじめ 450℃ で 3 時間加熱処理したグラスファイバー濾紙 (Whatman 社製 GF/F フィルター) で濾過し、その濾紙を検体とした。濾過した海水量は 5 月が 13L, 6 月が 6L, 10~12 月が 12L である。

干潟堆積物は 10~12 月に、珪藻類分析や泥の粒度組成分析のために採泥したのと同様に採取した。20g を計量し、30mL の滅菌海水を加えて 10 秒間攪拌した後、20 秒間静置して浮泥以外の上清を採取した。これを 125  $\mu$ m のフィルターに通し、海水の場合と同じ濾紙で濾過して検体とした。

アサリは 10~12 月に湿重量を測定した軟体部 1~1.5g を検体とした。軟体部の生殖腺にメスの先端を刺して採取した体液を光学顕微鏡 (TE2000-U, 株式会社ニコン) 下で観察し、卵または精子を確認して個体毎の雌雄を判別した。

海水、干潟堆積物、アサリの検体は、凍結乾燥機 (FDU-2100, 東京理化器械) を用いて乾燥した後、乳鉢で細かくすり潰し、50mL ねじ口試験管へ移した。脂肪酸の抽出とメチルエステル化は Abdulkadir & Tsuchiya<sup>2)</sup> の提案した One-step method に従い、検体の入った試験管にヘキサン 4mL, BF<sub>3</sub> メタノール 2mL, 内部標準液 1mL を加え、ガスパレーにより窒素を充填し、100℃ の湯煎で 2 時間煮沸した。続いてこの試験管を 1 分間、手動で激しく攪拌し、遠心分離機 (海水と干潟堆積物は 3000rpm で 5 分間、アサリは 2500rpm で 3 分間) により 2 層分離した。上層のヘキサン層をパスツールピペットで回収して専用のバイアル瓶へ移し、ガスクロマトグラフ (6890N, アジレントテクノロジー) を用いて分析した。

## 結果及び考察

### 1. 水質等環境調査

水温、塩分、栄養塩濃度 ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ ) の調査結果を図 2~7 に示した。

和歌浦では 8 月に低塩分、高栄養塩であった。北村ら<sup>3)</sup>、諏訪ら<sup>5)</sup>は和歌浦における降雨後の河川水流入による陸域からの栄養塩供給を考察しており、今回観測された 8 月の低塩分と高栄養塩も降雨の影響と考えられる。

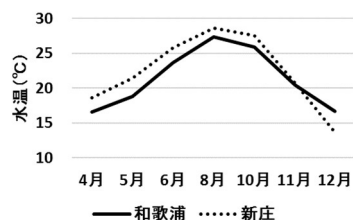


図 2 水温の調査結果

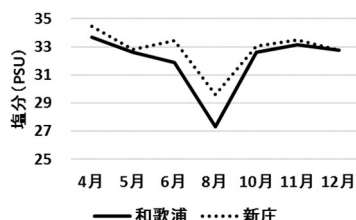


図 3 塩分の調査結果

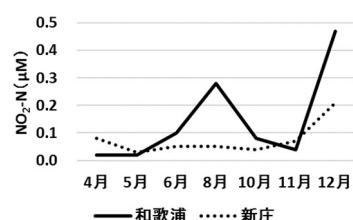


図 4  $\text{NO}_2\text{-N}$  の調査結果

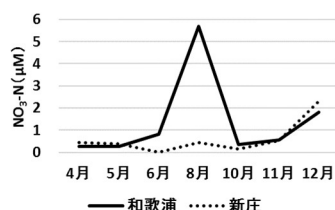


図 5  $\text{NO}_3\text{-N}$  の調査結果

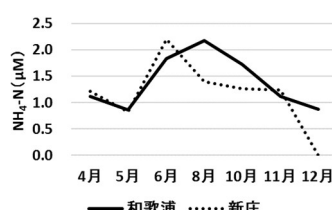


図 6  $\text{NH}_4\text{-N}$  の調査結果

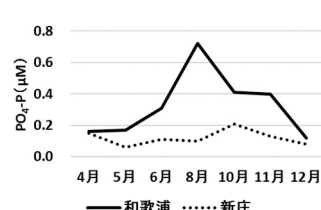


図 7  $\text{PO}_4\text{-P}$  の調査結果

海水および干潟堆積物（上清＋沈殿物）のクロロフィル *a* の調査結果を図 8～9 に示した。

海水に含まれる珪藻類の細胞密度（浮遊性の中心目と底生性の羽状目を分けて表示）を図 10 に示した。和歌浦では、いずれの月も中心目が半数以上を占めた。新庄では、5 月以外は、いずれの月も羽状目が 8 割以上を占めた。

トリカル区と網区における干潟堆積物（上清）に含まれる珪藻類の細胞密度（中心目・羽状目）を図 11～12 に示した。トリカル区（図 12）は、和歌浦では全て羽状目、新庄でもほぼ羽状目だが中心目が 1～8% 含まれた。網区（図 14）は、ほぼ羽状目で占められたが、和歌浦の 10 月と新庄の 10、11、12 月は中心目が 3～8% 出現した。

海水および干潟堆積物（上清）の分画別クロロフィル *a* を図 13～14 に示した。和歌浦、新庄ともに、海水（図 13）は干潟堆積物（上清）（図 14）に比べて  $20\mu\text{m}$  以上分画のクロロフィル *a* が目立ち、干潟堆積物（上清）は  $2\sim 20\mu\text{m}$  分画のクロロフィル *a* が主体となった。同様の結果は北村ら<sup>4)</sup>、諏訪ら<sup>5)</sup> が和歌浦で報告している。

泥の粒度組成分析結果を図 15 に示した。網区では和歌浦、新庄ともに期間を通して粒径  $0.25\text{mm}$  以下が主体であった。

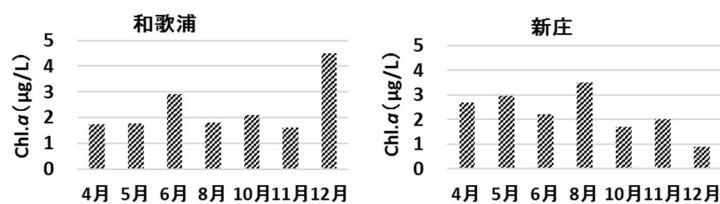


図 8 海水のクロロフィル *a* 調査結果

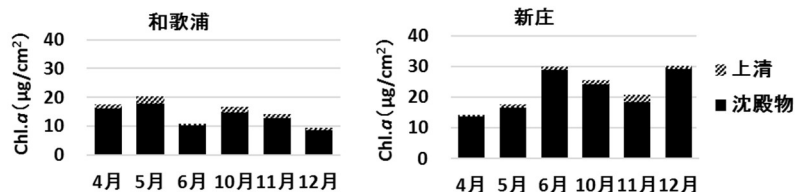


図 9 干潟堆積物（上清＋沈殿物）のクロロフィル *a* 調査結果

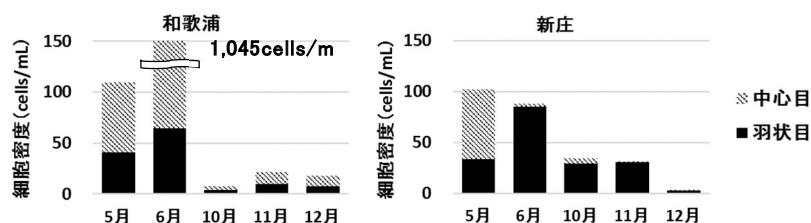


図 10 海水の珪藻類（中心目・羽状目）細胞密度

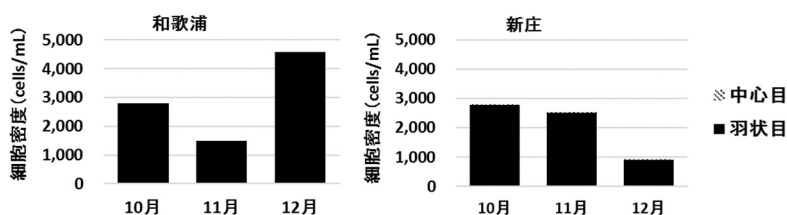


図 11 トリカル区における干潟堆積物（上清）の珪藻類（中心目・羽状目）細胞密度

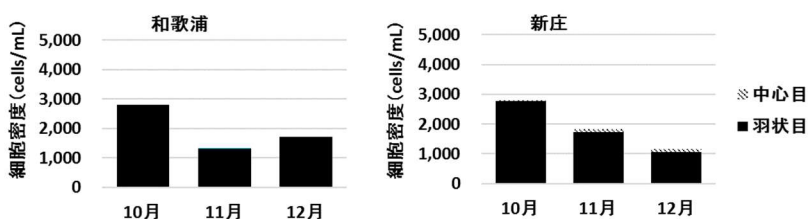


図 12 網区における干潟堆積物（上清）の珪藻類（中心目・羽状目）細胞密度

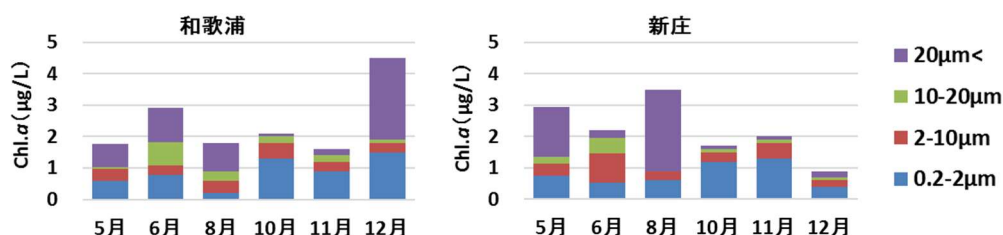


図 13 海水 1L 中の分画別クロロフィル *a* 量（上段）

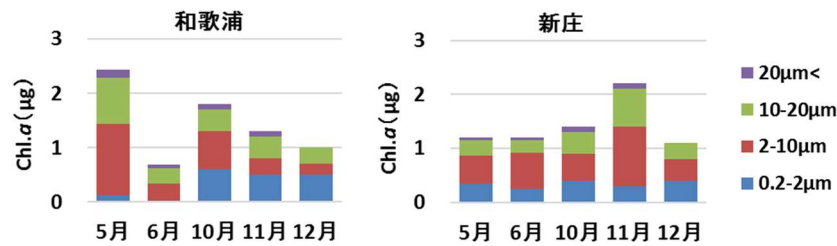


図 14 1cm<sup>2</sup> 当たり干潟堆積物（上清）中の分画別クロロフィル a 量（上段）

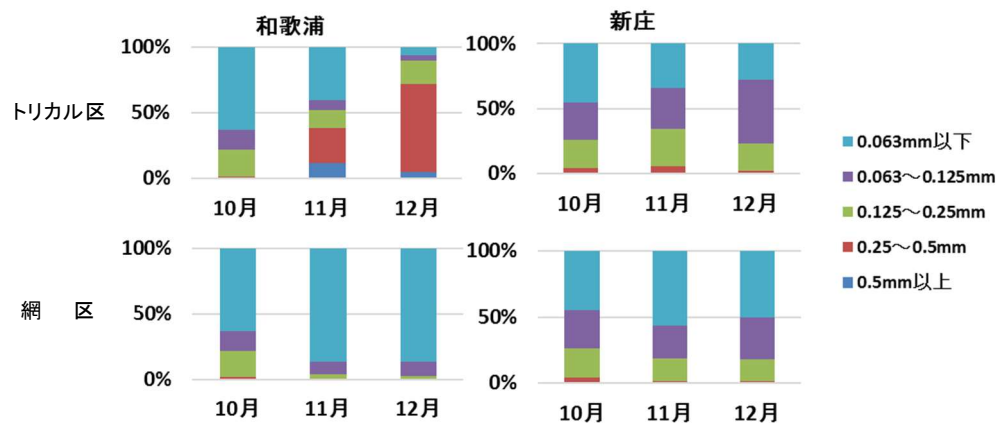


図 15 泥の粒度組成分析結果

## 2. 二枚貝飼育試験

アサリの殻長、軟体部湿重量および肥満度の調査結果を図 16 に示した。肥満度は、いずれの試験区でも 12 月に低下したが、11 月に肥厚していた生殖腺が 12 月に萎縮していたことから産卵によるものと考えられた。12 月における生残率は、トリカル区が和歌浦 54.2%，新庄 41.7%，網区が和歌浦 75.0%，新庄 67.5%であった。

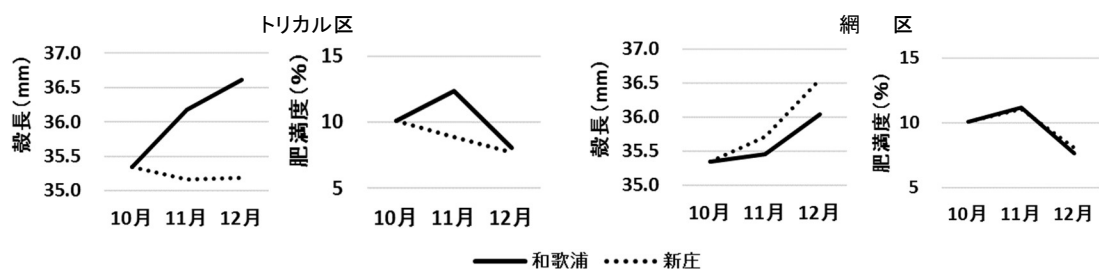


図 16 アサリ飼育試験結果

## 3. 脂肪酸の調査

海水、トリカル区と網区における干潟堆積物、アサリの脂肪酸組成分析結果を図 17～20 に示した。海水の脂肪酸含量は、和歌浦、新庄ともに月を経るごとに低下し、脂肪酸組成はいずれの地先、月でも飽和脂肪酸がほとんどを占め、C16:0（パルミチン酸）、C18:0（ステアリン酸）、C14:0（ミリスチン酸）などが検出された（図 17）。トリカル区における干潟堆積物の脂肪酸含量は、和歌浦で 10、11 月に同じであった他は月を経るごとに低下し、脂肪酸組成は、和歌浦で一価不飽和脂肪酸が僅かに出現した他は飽和脂肪酸で占められ、海水と同じくパルミチン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸などが検出された（図 18）。網区における干潟堆積物の脂肪酸含量は、和歌浦、新庄ともに月を経るごとに低下し、脂肪酸組成は和歌浦の 10 月以外は飽和脂肪酸で占められ、海水やトリカル区の干潟堆積物と同じくパルミチン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸などが検出された（図 19）。アサリの脂

脂肪酸含量は、和歌浦、新庄ともに 11 月に最も多く、12 月に最も少なく、脂肪酸組成はいずれの地先、月でも飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸の順に多く、パルミチン酸、ステアリン酸、C20:5（エイコサペンタエン酸）、C22:6（ドコサヘキサエン酸）などが検出された（図 20）。

丸尾ら<sup>6)</sup>は二枚貝にとってドコサヘキサエン酸が軟体部を構成するために必要なエネルギーであると報告している。そこで、アサリの個体ごとにドコサヘキサエン酸の含量と肥満度の相関を調べた結果、雌個体だけの場合、雄個体だけの場合、雌雄を合わせた全個体の場合、いずれも正の相関（ $P<0.01$ ）が認められた（図 21）。このことから、ドコサヘキサエン酸がアサリの肥満度増加に重要な働きをしている可能性が考えられた。

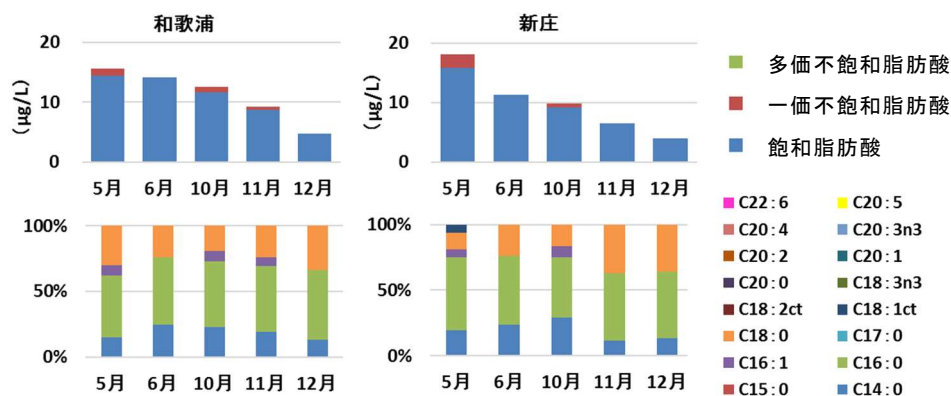


図 17 海水の脂肪酸含量（上段）と組成（下段）

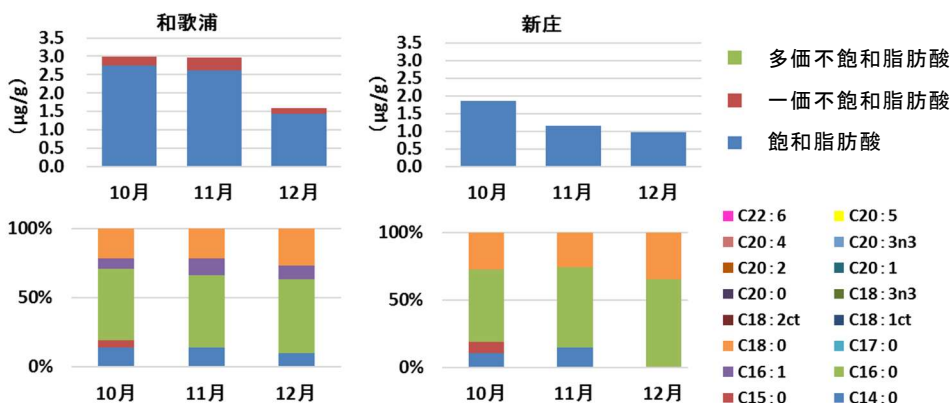


図 18 トリカル区における干潟堆積物の脂肪酸含量（上段）と組成（下段）

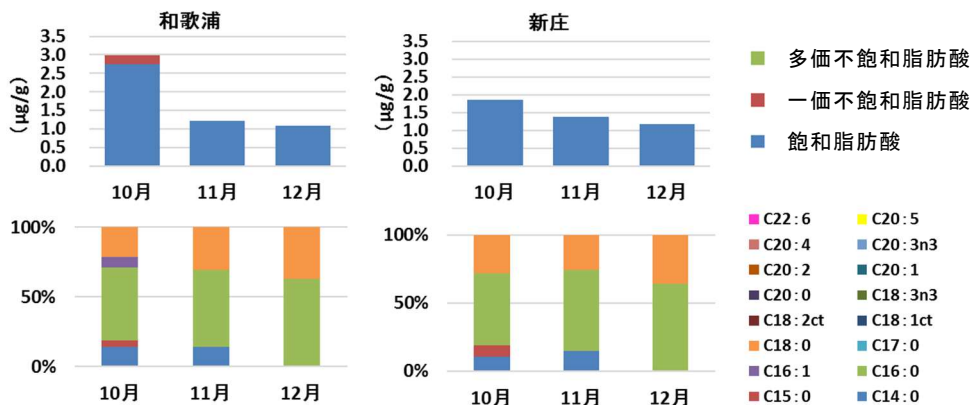


図 19 網区における干潟堆積物の脂肪酸含量（上段）と組成（下段）

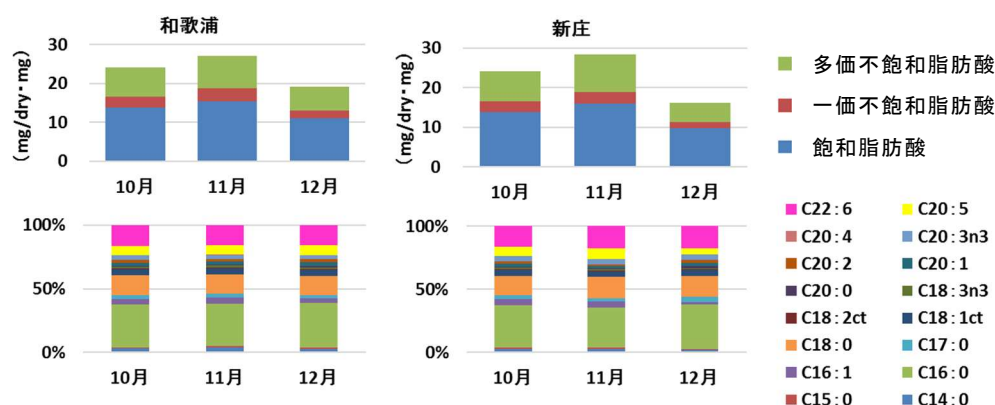


図 20 アサリの脂肪酸含量（上段）と組成（下段）

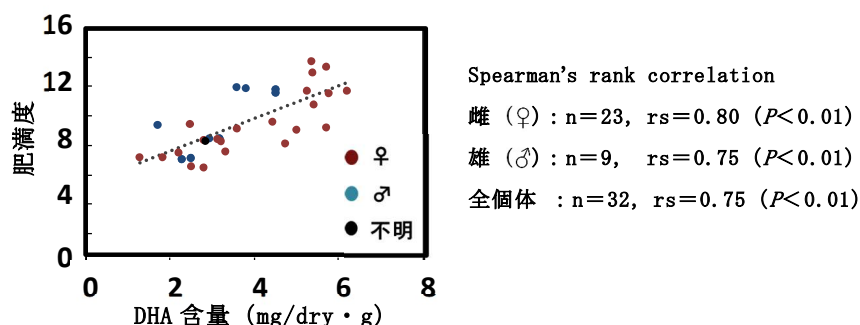


図 21 アサリのドコサヘキサエン酸含量と肥満度の相関

## 文 献

- 1) 浜口昌巳 (2011) 一次生産の変化と有用種の関係 (二枚貝). 水産総合研究センター研究報告, 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川. 33-47.
- 2) Abdulkadir S, Tsuchiya M (2008) One-step method for quantitative and qualitative analysis of fatty acids in marine animal samples. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 354(1), 1-8.
- 3) 北村章博, 森康雅, 竜田直樹 (2019) 平成 30 年度漁場環境改善推進事業「栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書. 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所, 26-32.
- 4) 北村章博, 森康雅, 竜田直樹 (2020) 平成 31 年度漁場環境改善推進事業「栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書. 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所, 26-34.
- 5) 諏訪剛, 葦澤崇博, 内田簾 (2021) 令和 2 年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩, 赤潮・貧酸素水塊に対する被害軽減技術等の開発「(1) 栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書. 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所, 28-36.
- 6) 丸尾知佳子, 藤林恵, 相川良雄, 西村修 (2012) イソシジミ (Nuttallia olivacea) の生育状況に影響を与える餌料源の検討. 土木学会論文集 G (環境), Vol.68, No7, III\_277-III\_283.