

# ホタテガイ稚貝へい死対策試験

吉田 達・小坂 善信・篠原 由香・鹿内 満春

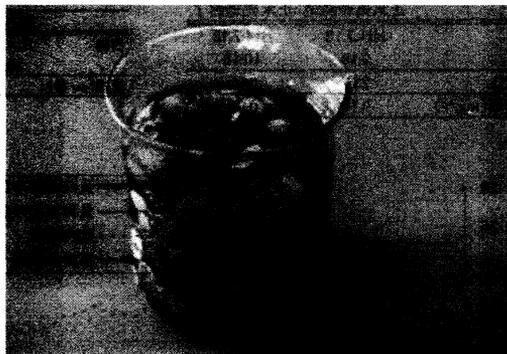
平成13年度ホタテガイ新基準種苗養殖技術開発研究（ホタテガイの健康評価と養殖技術の改善に関する研究）では、稚貝採取時のホタテガイは高水温、止水、流れの複合的な影響を受けることにより、外套膜や鰓が損傷し、成長、生残率が低下することが明らかになっている<sup>1)</sup>。しかし、これは負荷試験終了から1週後の測定結果であることから、翌年の耳吊り後の成長、生残率、組織の状態を継続して把握することにより、影響が長期化するかどうかを明らかにするものである。

## 1 材料及び方法

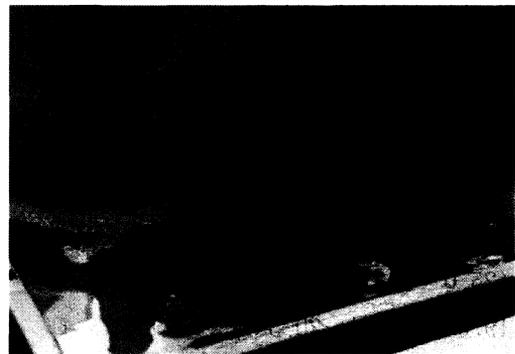
平成14年7月18日に久栗坂実験漁場の採苗器から稚貝を採取し、サイズを揃えるため目合2、3分目から落ち、2分目の篩に止まったものを試験に供した。この稚貝を用いて、止水、高水温、流速負荷の3つの障害をかけて飼育した区と、対照区を以下のように設定した（表1、図1）。

表1 試験区と対照区の条件設定

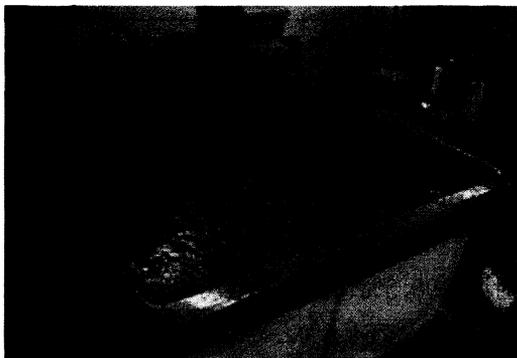
	試験区	対照区
①止水	・300mlのビーカーに1時間収容した。	・コンテナにろ過海水をかけ流しにして1時間収容した。
②高水温 流速負荷	・目合1.5分目のパールネット2枚に200個体ずつ入れ、400ℓFRP製角型水槽に収容した。 ・25℃の調温海水をかけ流し、水中ポンプで1ノットの流れが当る位置にパールネットを設置して、平成14年7月18日から7月21日の3日間負荷を与えた。	・目合1.5分目のパールネット2枚に200個体ずつ入れ、200ℓパンライト水槽に収容した。 ・20℃のろ過海水をかけ流し、ろ過海水が直接パールネットに当たらない位置に設置して、平成14年7月18日から7月21日の3日間静置した。



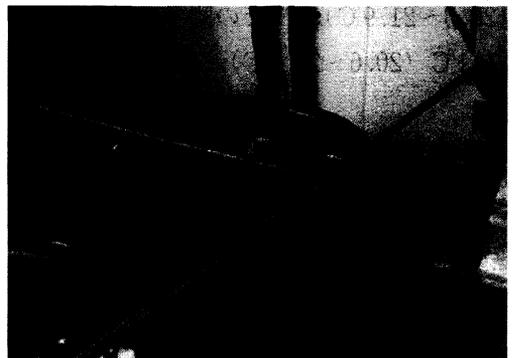
止水処理



未処理（ろ過海水かけ流し）



25℃流速負荷試験区



20℃対照区

図1 止水処理、流速負荷等の作業工程

負荷試験終了後、対照区（未処理）、試験区（止水、高水温、流速負荷）ともに200ℓパナライト水槽（20℃ろ過海水）に7月21日から7月24日まで収容した。その後、対照区は1.5分目のパールネット6段に50個体/段、試験区はパールネット8段に50個体/段収容して、7月24日から7月25日まで研究所前の筏に垂下した後、平成14年7月25日に久栗坂実験漁場に垂下した。10月17日には両区とも2.0分目のパールネットに15個体/段に分散し、平成15年2月19日に耳吊り（50段、2枚吊り）を行い、8月20日に取り上げた。

測定は、平成14年10月17日、平成15年2月19日、8月20日に行い、生貝と死貝を計数し生残率を算出したほか、生貝50個体については殻長、全重量、軟体部重量を測定した。また、10月17日には両区とも10個体について、貝柱を0.25M Sucrose-1 mM EDTA-20mM Tris-HCl (pH7.5) 溶液中でホモジナイズした後、STS法により核酸量を、Lowry法により全タンパク質量を測定し、これらの値からRNA/DNAと全タンパク質量/DNAを算出した。さらに、10月17日に両区とも数個体を1%グルタルアルデヒド+1%ホルムアルデヒドで固定し、凍結乾燥後に300Ωの金を蒸着して、走査型電子顕微鏡（日本電子JSM 5400LV）で外套膜及び鰓の組織観察を行った。

なお、止水処理時の水温、溶存酸素量はマルチ水質モニタリングシステム（HORIBA U-22.23）を用いて測定した。流速は、電磁式流向流速計（アレック電磁流向流速計ACM210-D）を用いてパールネット中心部付近を5秒間10回計測した。流速負荷試験から筏に垂下時までの水温は、自記式水温計（オンセットコンピューター社StowAway TidbiT）を用いて1時間間隔で測定した。

## 2 結果と考察

### (1) 止水、流速負荷試験時の水温等の結果

止水処理時の水温、溶存酸素の変化を表2に、流速負荷試験の水槽内の流速を表3に、流速負荷試験開始時から筏垂下時の水温の変化を図2にそれぞれ示した。

止水処理時の水温は23.7℃から24.5℃に若干上昇、溶存酸素は9.16mg/ℓから0.98mg/ℓに激減した。

流速負荷試験中の、試験区の平均流速は0.491 m/秒、水温は平均25.1℃（25.0~25.3℃）、対照区の水温は平均19.6℃（18.4~20.5℃）であった。また、室内馴致中の水温は平均21.1℃（20.3~21.9℃）、筏での馴致中は平均21.1℃（20.6~21.2℃）であった。

表2 止水処理の結果

日時	止水処理開始 止水処理終了	
	H14.7.18 9:18	H14.7.18 10:18
水温(℃)	23.7	24.5
溶存酸素(mg/ℓ)	9.16	0.98

表3 流速負荷の結果

日時	負荷開始 負荷終了	
	H14.7.18 10:30	H14.7.21 10:30
流速(m/秒)	0.491	

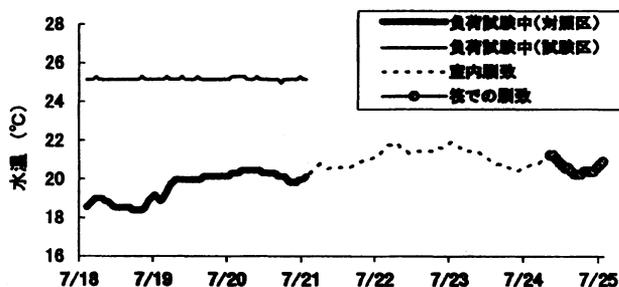


図2 負荷試験における水温変化

### (2) ホタテガイの測定結果

試験開始時から終了時までの、対照区と試験区のホタテガイの測定結果を表4、図3~6に、検定結果を表5に示した。

試験開始時（流速負荷終了時）の生残率は、対照区98.5%、試験区94.0%と差は見られなかったが、平成14年10月17日の分散時には対照区で98.5%、試験区で64.5%とかなりの差が見られた。その後、平成15年8月20日まで両区ともへい死貝はほとんど見られなかった。

平成13年度試験では負荷直後の試験区の生残率は21.7%と極めて低かった。今回の試験では、10月

の分散と、2月の耳吊りを行うために、大量の試験員が必要だったことから、FRP水槽内に通常のパールネットに稚貝を収容して、ポンプの水流を直接当て流速負荷をかけたが、パールネット中心部以外の流速は1ノットに達していなかった可能性がある。平成13年度試験ではFRP水槽上部に設置した15cm×13cm×150cmの亚克力製水路内のミニパールネットを用いて1ノットの流速負荷をかけたことや、平均水温も26.5℃(26.1~27.7℃)とやや高めだったことから、この違いがへい死率の差として現れたものと考えられた。

また、成長については、10月17日には殻長、全重量、軟体部重量とも試験区が有意に高い値を示した。その後、平成15年2月19日には差は見られなくなったが、8月20日には殻長、全重量とも試験区が有意に高い値を示した。

表4 稚貝へい死対策試験における測定結果

		開始時			
		H14.7.18	H14.10.17	H15.2.19	H15.8.20
生存率 %	対照区	98.5	98.5	98.0	95.0
	試験区	94.0	64.5	64.5	63.1
殻長 mm	対照区 平均	10.25	28.43	70.40	95.32
	SD	1.31	3.07	3.51	5.74
	試験区 平均	10.25	30.45	69.37	98.19
	SD	1.31	3.16	4.10	4.59
全重量 g	対照区 平均	0.11	2.56	38.31	102.88
	SD	0.04	0.70	4.99	15.10
	試験区 平均	0.11	3.16	36.95	112.25
	SD	0.04	0.89	5.55	14.63
軟体部重量 g	対照区 平均	-	0.75	16.07	41.06
	SD	-	0.21	2.42	5.78
	試験区 平均	-	0.88	15.32	43.07
	SD	-	0.25	2.59	6.16

表5 殻長、全重量、軟体部重量の平均値の差の検定結果

	H14.10.17	H15.2.19	H15.8.20
殻長	**		**
全重量	**		**
軟体部重量	**		

\*\*はP<0.01で有意差あり

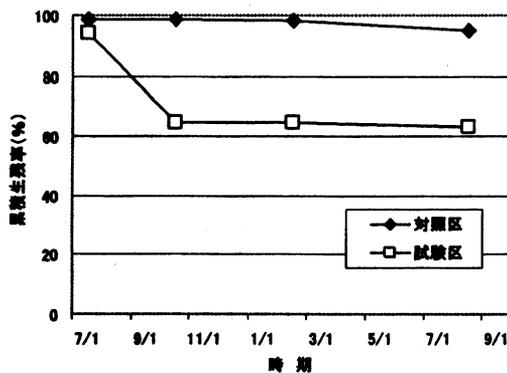


図3 稚貝へい死対策試験における累積生存率の推移

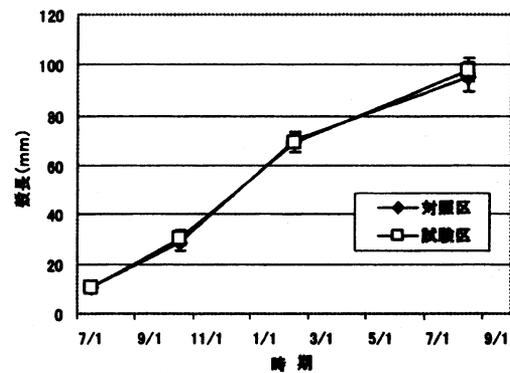


図4 稚貝へい死対策試験における殻長の推移

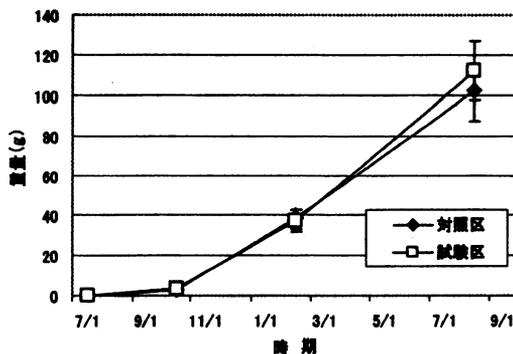


図5 稚貝へい死対策試験における重量の推移

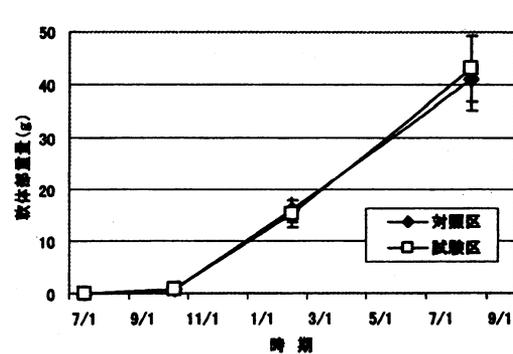


図6 稚貝へい死対策試験における軟体部重量の推移

10月17日の対照区、試験区のホタテガイ生貝の貝柱の生化学分析結果を表6、図7に示した。

対照区と試験区の貝柱重量、貝柱1g当りの全タンパク質量、貝柱1g当りのDNA、貝柱1g当りのRNA、RNA/DNA、全タンパク質量/DNAにはいずれも有意な差は見られなかった。

表6 稚貝へい死対策試験における貝柱の生化学分析結果

月日	項目	貝柱重量 (g)	全タンパク質量 (mg)	DNA ( $\mu$ g)	RNA ( $\mu$ g)	RNA/DNA	全タンパク質量/DNA
H14.10.17	試験区 平均	0.24	72.45	713.52	859.24	1.21	103.10
	SD	0.08	7.00	84.52	120.11	0.12	18.54
	対照区 平均	0.20	75.74	697.28	869.77	1.25	112.94
	SD	0.06	8.87	123.43	328.17	0.44	31.72

※全タンパク質量、DNA、RNAは貝柱1g当り

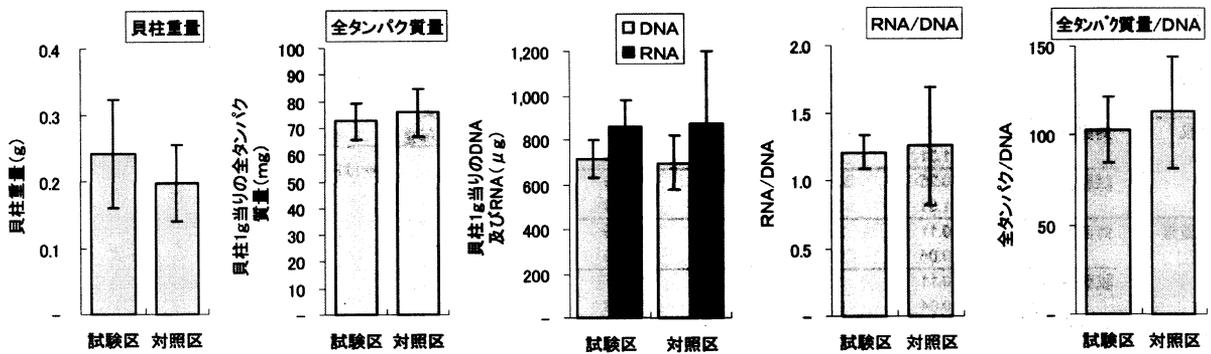


図7 稚貝へい死対策試験における貝柱の生化学分析結果

殻長、全重量、軟体部重量には有意差 ( $P < 0.01$ ) が見られたが、測定個体数が50個体であり、これに対して生化学分析の個体数は10個体と少ないことから、個体別の分析データの比較を図8に示した。

対照区には貝柱重量が低い2個体が見られるが、この2個体は貝柱1g当りのDNAが最も低く、逆に貝柱1g当りのRNA、全タンパク質量/DNAが最も高かった。この2個体は、1個当りの細胞数は大きいものの、細胞数が少ない個体であると考えられるが、試験区では負荷によりこのような個体が淘汰さ

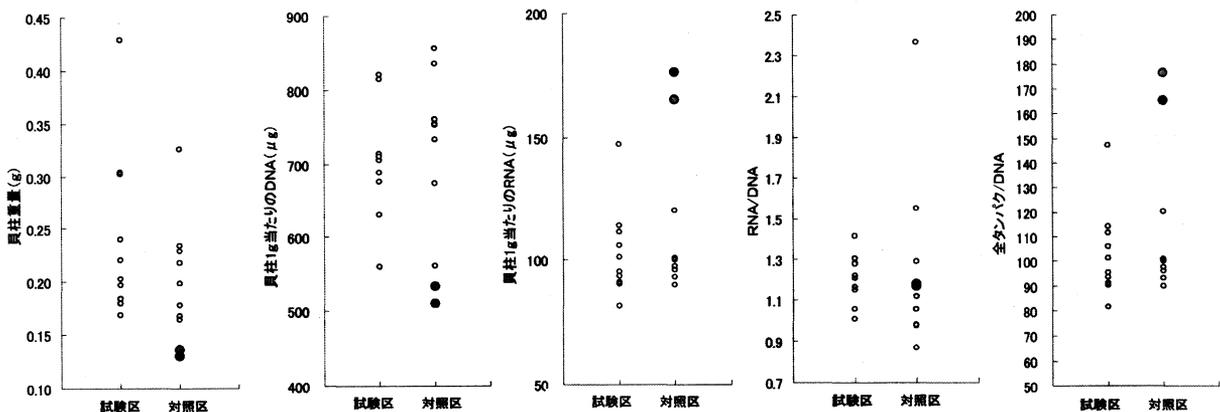


図8 稚貝へい死対策試験における貝柱の生化学分析結果（個体別）

●、◐ は貝柱重量が低い個体

れた可能性も考えられ、結果的に殻長、全重量、軟体部重量に有意差が見られたものと考えられる。

10月17日の対照区、試験区のホタテガイ生貝の鰓、外套膜の電子顕微鏡写真を図9に示した。

試験区で、鰓の繊毛の一部剥離、外套膜の異常分泌が見られたものの、全体的には負荷による損傷はほとんど見られなかった。

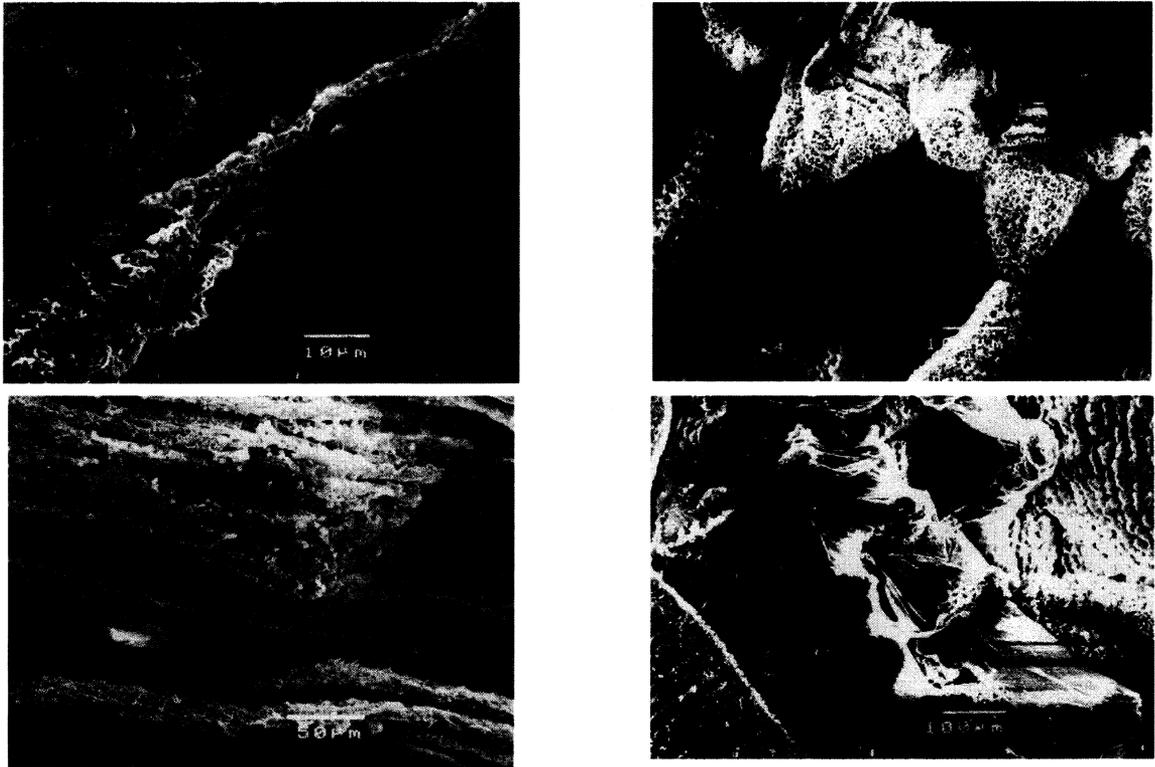


図9 稚貝へい死対策試験における鰓、外套膜の電子顕微鏡写真  
(上段が対照区、下段が試験区、左が鰓、右が外套膜)

以上の結果から、稚貝採取時に酸欠、高水温、流れによる障害を受けた稚貝は、10月の分散時までにはほとんどがへい死し、翌年以降にまで影響が及ぶことは少ないものと考えられた。しかし、今回の試験は、止水処理が1時間、流速負荷が1ノット、水温25℃で行った結果であり、稚貝採取後の負荷の程度が大きかった場合については、さらに検討を行う必要がある。

### 3 参考文献

- 1) 吉田達ら (2003) : 平成13年度ホタテガイ新基準種苗養殖技術開発研究 (ホタテガイの健康評価と養殖技術の改善に関する研究) . 青水増事業報告書, 32, 165-186.