

大阪湾に生息する海洋生物3種の貧酸素応答に関する実験的研究

- アサリ、ヨシエビ幼生およびサザエ稚貝について -

An experimental research on the response of three species of marine organisms to hypoxia in Osaka Bay

-On the larvae of short-neck clam, greasyback prawn and juvenile of turban shell-

環境水域工学分野 池田健

アサリ、ヨシエビ、サザエの初期生活段階の貧酸素応答を検討するため、酸素濃度勾配カラムを用いて実験を行った。アサリ幼生のアンボ期は酸素濃度 2.6~2.7mg/L, ヨシエビのミスシス幼生は 2.1~2.6mg/L, ポストラーバ幼生の P4 期は 2.4~2.7mg/L, P15 期は 1.2~1.7mg/L を上限値として貧酸素水を忌避した。サザエ稚貝は酸素濃度 2.3~2.4mg/L では鉛直行動を示さずカラム底に偏在した。また、ヨシエビ幼生の忌避酸素濃度は底生期に移行するポストラーバ期で低くなることがわかった。

Laboratory experiments were carried out using an oxygen gradient column to clarify the response to hypoxia of the larval short-neck clam, larval greasyback prawn and juvenile turban shell. The Umbo larvae of short-neck clam escaped from hypoxia at DO concentrations less than 2.6–2.7mg/L, the Mysis larvae of greasyback prawn at less than 2.1–2.6mg/L, the postlarvae P4(4 days after the Mysis) at less than 2.4–2.7mg/L and the postlarvae P15 (15 days after the Mysis) at less than 1.2–1.7mg/L. The juveniles of turban shell stayed at the bottom without moving vertically in hypoxia at less than 2.3–2.4mg/L. These results suggested that greasyback prawns change their avoidance of hypoxia after they moved to benthic life style.

1. 背景

大阪湾は『茅渚の海』や『魚庭の海』と呼ばれ、水産資源豊富な内湾として有名であり、現在でも 300 種を超える魚類、800 種を超える貝類が大阪湾に生息している¹⁾。一方で、赤潮や貧酸素水塊による生息数の大きな減少が問題視されている。海の健全性を示す新たな水質指標として、環境省は「閉鎖性海域中長期ビジョンに関する懇談会」において底層の溶存酸素濃度(以下、DO 濃度)を重要視し、水産資源として重要な種について底層 DO 濃度の目標値を定めようとしている。この場合、生物が一生涯を通じて健全に生息できる海域であるためには、環境変化に対して最も脆弱である初期生活段階の海洋生物が貧酸素水から受ける影響に関する知見が重要となる。

初期生活段階の海洋生物が貧酸素水から受ける影響として、Keister ら(2000)はカタクチイワシの 1 種である Bay Anchovy(*Anchoa mitchilli*)やハゼの 1 種である Naked Goby(*Gobiosoma bosc*)が貧酸素水塊によって分布数を大きく減少することを野外調査から明らかにした²⁾。Liu ら(2011)は腹足綱 2 種の浮遊幼生に貧酸素水が及ぼす影響として、斃死だけでなく呼吸量や遊泳速

度の低下を引き起こす貧酸素水の DO 濃度について明らかにした³⁾。しかし、国内の初期生活段階の海洋生物の貧酸素応答に関する研究例は非常に少ない。本研究では、初期生活段階の海洋生物が忌避行動を行う DO 濃度について検討するため、形成した酸素勾配中の供試生物の分布を観察した。

2. 方法

[供試生物]

貧酸素水塊が発達する夏季に浮遊幼生期をむかえ、かつ大阪湾において水産資源の面から重要種であるアサリ(*Ruditapes philippinarum*)とヨシエビ(*Metapenaeus ensis*)、並びにサザエ稚貝(*Turbo cornutus*)を供試生物とした(図-1)。アサリ幼生は孵化後 12 日(アンボ~フルグロウン期)のものを 2 回、ヨシエビ幼生は孵化後 7 日(ミスシス期)、14 日(ポストラーバ 4 日齢期(以降、P4 期とする))、25 日(ポストラーバ 15 日齢期(以降、P15 期)のものを 1 回ずつ計 3 回、サザエ稚貝は孵化後 98~107 日のものを 4 回、計 9 回酸素・塩分勾配カラムを用いた実験を行った(図-2)。アサリ幼生を 25 個体、ヨシエビ幼生を 15 個体、サザエ稚貝を 10 個体(1 回目のみ 15 個体)各酸素・塩分勾配カラムに添加した。

なお、アサリ幼生、サザエ稚貝、ヨシエビ幼生は各々兵庫県立農林水産技術総合センター 水産技術センター、京都府水産振興事業団栽培漁業センター、三重県栽培漁業センターで栽培されたものを使用した。

[酸素・塩分勾配カラム]

実験には、塩分のみ勾配をつけた塩分勾配カラム(対照区)と DO 濃度と塩分ともに勾配つけた酸素・塩分カラム(実験区)を用いて、カラム内の供試生物の分布から貧酸素応答について検討した(図-3)。本実験では、Tanaka(1990)が用いた密度勾配カラムを形成する過程で、使用する海水を窒素曝気することで、酸素濃度勾配を形成した⁴⁾。なお、海水は使用前の24時間以内に滅菌処理したものを用いた(図-4)。

[実験条件]

実験は 25±1℃、水面での光量 100μmol/m²/sec、12 時間、明期 12 時間暗期の条件で行った。塩分は4つの密度球(密度 1.0150, 1.0175, 1.0200, 1.0225g/cm³)をカラム内に入れ水温一定の条件下で推定し、DO 濃度は DO 濃度計(オキシガード)を用いて、水面からカラム底まで 10cm 間隔で計測し、酸素勾配について推定した。DO 濃度の計測時間はヨシエビ幼生では 8 時間、サザエ稚貝の4回目では6時間間隔、それ以外では実験前と実験後で計測した。なお、実験開始時に比べて底層 DO 濃度が 0.7mg/L 以上低下した場合は、検討対象外とした(表-1)。なお、本実験における底層 DO 濃度とはカラム底の直上水の DO 濃度を指す。

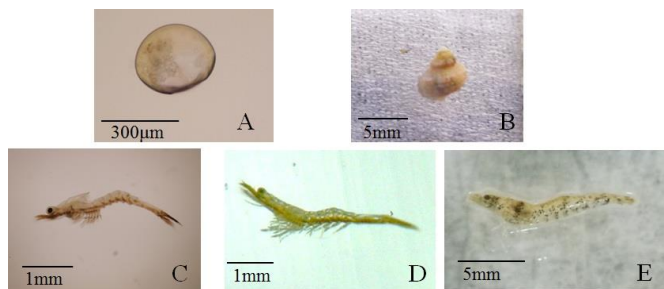


図-1 供試生物

A, アサリ幼生(アンボ期) B, サザエ稚貝,
C, ヨシエビ幼生(ミシス期) D, ヨシエビ幼生(P4 期)
E, ヨシエビ幼生(P15 期)

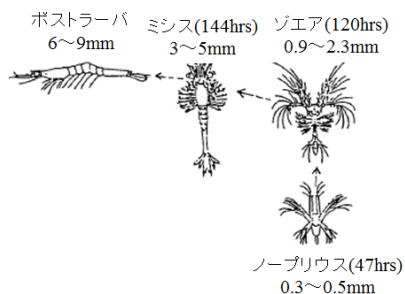


図-2 ヨシエビ生活史(浮遊幼生期)
(小田ら(1997)⁵⁾より引用)

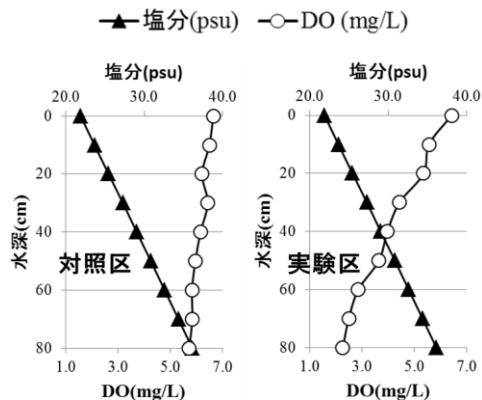


図-3 実験に用いたカラム

対照区(Tanaka(1990)と同様で塩分のみ勾配をつけた)
実験区(DO 濃度・塩分ともに勾配をつけた)

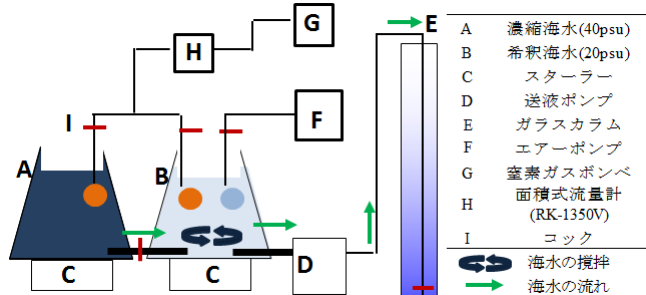


図-4 濃度勾配の形成装置

表-1 底層 DO 濃度の時間変化

種名	実験	測定時	塩分勾配		酸素・塩分勾配			
			対照区	実験区1	実験区2	実験区3	実験区4	
アサリ幼生	1回目	実験前	6.1	3.5	3.0	2.3	1.7	
		実験後	6.1	3.6	3.2	2.5	1.9	
	2回目	実験前	5.8	2.9	2.4	1.6	—	
		実験後	5.5	1.4	0.5	0.1	—	
サザエ稚貝	1回目	実験前	—	2.2	—	—	—	
		実験後	※	1.1	—	—	—	
	2回目	実験前	5.7	3.3	2.7	2.1	1.5	
		実験後	0.5	0.3	0.1	0.2	0.2	
	3回目	実験前	5.8	2.4	1.7	—	—	
		実験後	5.0	2.3	1.6	—	—	
	4回目	実験前	5.7	4.1	3.7	3.0	—	
		6時間後	5.4	4.1	3.5	3.0	—	
		12時間後	5.6	4.3	3.6	2.4	—	
		18時間後	5.8	3.7	2.9	1.9	—	
		実験後	0.5	0.3	0.1	0.2	—	
		実験前	5.9	3.3	2.6	2.0	1.6	
ミシス期	8時間後	5.5	3.0	2.5	1.8	1.3		
	16時間後	5.8	2.8	2.3	1.8	0.9		
	実験後	4.7	3.2	2.5	1.4	0.7		
ヨシエビ幼生	P4期	実験前	5.7	3.1	2.7	2.3	1.7	
		8時間後	—	3.1	2.1	2.4	1.7	
		16時間後	5.3	2.7	2.4	2.0	1.6	
	実験後	4.0	1.2	1.9	1.5	0.8		
	P15期	実験前	5.7	3.1	2.7	2.3	1.7	
		8時間後	5.6	1.2	1.3	1.3	1.2	
16時間後		1.5	1.1	0.3	0.7	0.2		
実験後	1.1	0.3	0.1	0.1	0.1			

※ … サザエ稚貝の実験(1回目)の対照区は未測定
— … 実験を行っていないためデータなし

[統計処理]

対照区と実験区において帰無仮説： H_0 「分布数に有意な差がない($P>0.05$)」を χ^2 検定により検定した。有意差($P>0.05$)がない場合には H_0 が採用され、塩分や貧酸素は影響を及ぼしていないとなる。有意差が見られる場合には H_0 は棄却され、対立仮説 H_1 ：「分布数に有意な差がある($P<0.05$)」が採択され、貧酸素化した底層のDO濃度が供試生物の分布に影響を及ぼしたとなる。さらに、底層以外の貧酸素化が分布に影響を及ぼしているかみるために、底層を除いて検定を行う。有意差($P<0.05$)が見られなくなる水深まで検定を行い、その時の境界DO濃度を生物が忌避する上限値とした。

χ^2 検定は水面からカラム底までで10cm間隔で区切り、供試生物の分布を対照区と実験区で比較した。検定には9回観察して得られた分布の合計値を用いる。また、著しく分布の偏りがある場合には検定結果の信頼性が損なわれるため⁶⁾、「集中が見られる層」と「それ以外の層」の2層に分けた。なお、本実験では「底層」に分布しているとは、生残している幼生がカラム底にいる状態のことを指す。

3. 結果と考察

3.1 アサリアンボ期幼生

アサリアンボ期幼生は、対照区で上層(水面～水深30cm)への集中が見られ、観察された全個体数の55.6%が分布した。一方、下層(水深60cm～カラム底)では18.4%の分布が見られ、実験区では、実験区1(底層DO 3.5～3.6mg/L)、実験区2(底層DO 3.0～3.2mg/L)では大きな違いが見られず、下層に21.7、14.5%が分布した。しかし、貧酸素化した実験区3(底層DO 2.3～2.5mg/L)での分布は全個体の8.2%を示し(図-5)、実験区4(底層DO 1.7～1.9mg/L)では4.4%を示した(図-6)。以上の結果から、底層の貧酸素化に伴って下層(水深60cm～カラム底)における分布の集中率は減少する傾向がみられた。

アサリ幼生の分布結果に対して、 χ^2 検定を用いて検討を行ったところ、実験区3、4(底層DO 2.3～2.5mg/L、底層DO 1.7～1.9mg/L)で個体数の分布に有意差($P<0.05$)が見られた。繰り返し検定を行った結果、実験区4からはDO 2.6～2.7mg/L(水深60cmのDO濃度)まで忌避していることが考えられた。一方、実験区3ではDO 5.0～4.3mg/L(水深40cmのDO濃度)まで忌避したという結果が得られた。ただ、実験区3から得られた値は忌避したアサリ幼生が水深30～40cmの層に集中したために得られたと考えられる。そのため、実験区4から得られた値のみを採択した。その結果、アサリ幼生(アンボ期)が忌避するDO濃度の上限値はDO 2.6～2.7mg/Lであることが明らかになった。

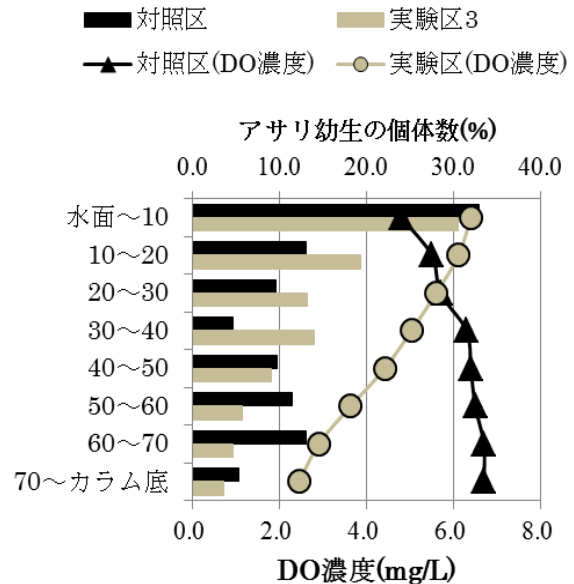


図-5 アサリ幼生(アンボ期)の鉛直分布とDO濃度 対照区と実験区3

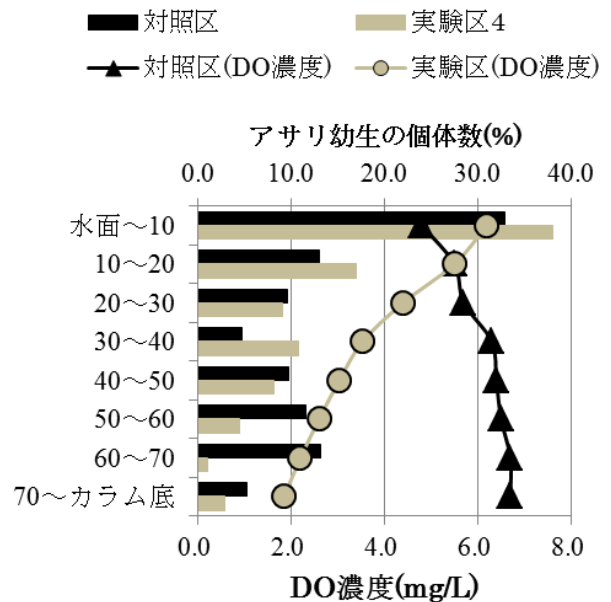


図-6 アサリ幼生(アンボ期)の鉛直分布とDO濃度 対照区と実験区4

3.2 サザエ稚貝

サザエ稚貝は対照区において、添加されたカラム底から水面に向かって移動する鉛直行動が見られ、水面上の分布も確認された。鉛直行動を行う個体数は、実験ケースごとに異なったが、全4回の実験で稚貝の鉛直移動が確認された。しかし、底層が貧酸素化した実験区では、鉛直移動を行う個体数の大きな減少が見られた。稚貝の生死を実験終了時に確認したところ、全実験において稚貝の生残が確認された。そのため、死亡したのではなく、カラム底から動かなかったことが考えられた。カラム底の偏在率として、1回目の実験区(底層DO 2.2～1.1mg/L)では83.7%、3回目の実験区1(底

層 DO 2.4~2.3mg/L), 実験区 2(底層 DO 1.7~1.6mg/L) ではそれぞれ 40.0%と 55.7%がカラム底に分布した. 一方で, 4 回目の実験区 1(底層 DO 4.1~4.3mg/L), 実験区 2(底層 DO 3.7~3.6mg/L), 実験区 3(底層 DO 3.0~2.4mg/L)におけるカラム底の分布は少なく各々 12.0, 10.0, 0%を示した(図-7).

影響を及ぼす DO 濃度について χ^2 検定を用いて検討したところ, 10cm 間隔で分布数を分けた場合は検定の信頼性が大きく損なわれる. そこで, 検討する分布を「カラム底」と「カラム底以外」の 2 つにのみ分け, サザエ稚貝がカラム底から鉛直移動を行うか検討した. その結果, 底層 DO 2.3~2.4mg/L まで有意差(P < 0.05) が得られ, 影響を及ぼす上限値は DO 2.3~2.4mg/L であることが明らかになった.

3.3 ヨシエビ幼生

ヨシエビ幼生のミシス期, ポストラーバ期の幼生がとる貧酸素応答について検討した. 実験で酸素・塩分勾配カラムの DO 濃度が大きく低下したため, 検討時間を各々ミシス幼生, ポストラーバ幼生の P4 期を 16 時間, ポストラーバ幼生の P15 期を 8 時間とした.

[ミシス期]

ミシス幼生は対照区で中層(水深 30~60cm)に全個体の 52%が集中した. 実験区においても同様の傾向が見られ, 約 50%の個体が中層に集中した. 一方で, 下層(水深 60cm~カラム底)における分布は対照区において 19.8%だったのに対して, 実験区 3(底層 DO 2.0~1.8mg/L)では 10.3%(図-8), 実験区 4(底層 DO 1.6~0.9mg/L)では 9.0%が分布して, 大きな減少がみられた.

χ^2 検定を用いて検討を行ったところ, 実験区 3(底層 DO 2.0~1.8mg/L)で有意差(P<0.10)が得られ, 底層 DO 濃度を忌避したことが示唆され, 水深 70cm の DO 濃度まで忌避していることが分かった. ただ, 16 時間後の水深 70cm の DO 濃度を測定していないため, 水深 60cm の DO 2.6mg/L で補完し, 忌避する DO 濃度の上限値は DO 2.1~2.6mg/L が得られた.

[ポストラーバ期]

ポストラーバ幼生の P4 期は対照区・実験区ともに下層(水深 60cm~カラム底)に集中し, 特にカラム底へ著しく分布した. 対照区では全体の 59.6%が分布し, 実験区 1(底層 DO 3.1~2.7mg/L), 実験区 2(底層 DO 2.7~2.4mg/L), 実験区 3(底層 DO 2.3~2.0mg/L), 実験区 4(底層 DO 1.7~1.6mg/L)における下層の分布は各々 46.6, 37.5, 25.6, 18.8%だった. この結果から, カラム底が貧酸素化するに従って, ポストラーバ幼生の分布数が減少する傾向が見られた. ポストラーバ幼生の P15 期も同様に, 対照区・実験区ともにカラム底への集中が見られた. 対照区では全個体数の 62.2%, 実験

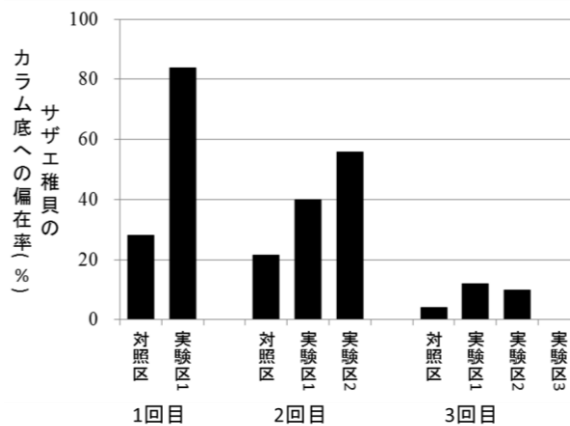


図-7 サザエ稚貝のカラム底の偏在率

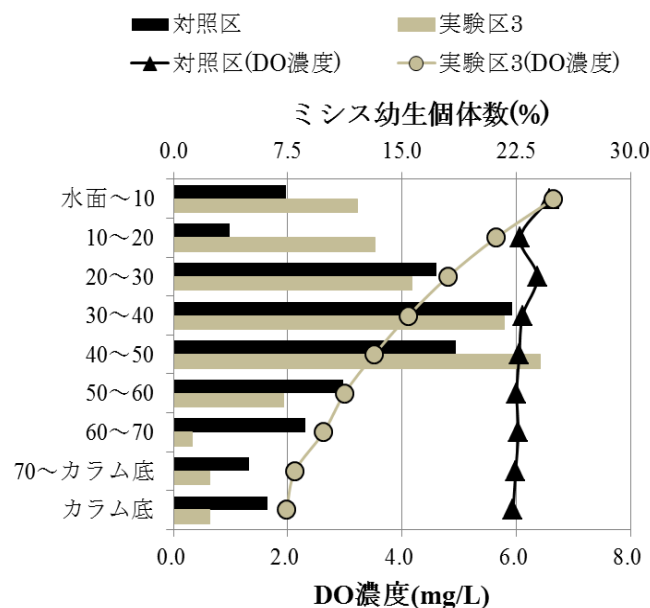


図-8 ヨシエビ幼生(ミシス期)の鉛直分布と DO 濃度 対照区と実験区

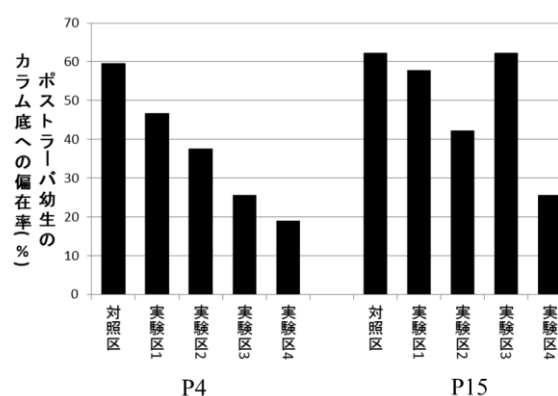


図-9 ポストラーバ幼生のカラム底の偏在率 左, P4 期 右, P15 期

区 1(底層 DO 3.1~1.2mg/L), 実験区 2(底層 DO 2.7~1.3mg/L), 実験区 3(底層 DO 2.3~1.3mg/L)でのカラム底への分布は 57.8, 42.2, 62.2%となり, 大きな違いは見られなかった. 一方で, 実験区 4(底層 DO 1.7~1.2mg/L)では 25.6%であり, ポストラーバ幼生の分布

が大きく減少した(図-9)。

忌避濃度について検討したところ、サザエ稚貝と同様に分布に大きな偏りが生じているため、10cm 間隔で分布を分けた場合に χ^2 検定の結果の信頼性が大きく損なわれる。そのため、サザエ稚貝と同様に分布を「底層」と「底層以外」の2つに分け底層 DO 濃度を忌避するかどうかについて検討した。その結果、ポストラバ幼生の P4 期は実験区 2, 実験区 3, 実験区 4 で有意差(P <0.05)を忌避したことから、忌避する濃度の上限値として DO 2.4~2.7mg/L が得られた。また、ポストラバ幼生の P15 期は実験区 4 のみで有意差(P <0.05)が得られたことから、忌避濃度の上限値として DO 1.2~1.7mg/L を持つことが明らかになった。

4. 総合考察

ヨシエビ幼生のミス期とポストラバ期が忌避する DO 濃度の上限値について比較した(表-2)。ミス幼生とポストラバ幼生の P4 期では大きな違いが見られないが、ポストラバ幼生の P4 期とポストラバ幼生の P15 期では大きな差が見られた。

この要因として、成長によってヨシエビ幼生の貧酸素耐性が高まったことが考えられた。本実験の結果の一つとして、実験区における死亡率は成長するごとに低下しており、また他の2段階に比べて活発に遊泳していたことが観察結果として挙げられる(図-10)。ヨシエビの稚エビ(体長 40-72mm)は貧酸素耐性が高い⁷⁾と報告されており、成長によって環境変化に対して強くなっていることが示唆された。

表-2 供試生物が忌避する DO 濃度の上限値

種名	発育段階	DO濃度 (mg/L)
アサリ幼生	アンボ期	2.6~2.7
サザエ稚貝	稚貝	2.3~2.4
	ミス期	2.1~2.6
ヨシエビ幼生	ポストラバ P4期	2.4~2.7
	ポストラバ P15期	1.2~1.7

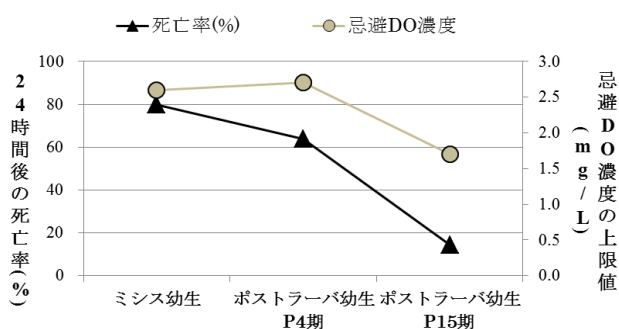


図-10 ヨシエビ幼生の実験区における死亡率と忌避する DO 濃度の上限値

5. まとめ

本研究において以下の結論が得られた。

1. 本実験で用いた3種の幼生、稚貝が忌避する DO 濃度について明らかにした。
2. ヨシエビのポストラバ幼生が忌避する DO 濃度は成長にともない大きく低下することが明らかになった。この時期はヨシエビ幼生が浮遊性から底生期に完全に移行する時期と一致していた。

謝辞

本研究を進めるに当たり、多大な協力をいただいた(独)大阪府立環境農林水産研究所水産研究部主任研究員睦谷一馬氏、本実験のために人工種苗を提供して下さった兵庫県立農林水産技術総合センター 水産技術センター、京都府水産振興事業団栽培漁業センター、三重県栽培漁業センターの方々へ心よりお礼申し上げます。

参考文献

1. 生態系工学研究会(2009)：大阪湾における生物、大阪湾 - 環境の変遷と創造 -, p11-24, 60-77
2. Julie E. Keister, Edward D. Houde, Denise L. Breitburg (2000) : Effects of bottom-layer hypoxia on abundances and depth distributions of organisms in Patuxent River, Chesapeake Bay, MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES, vol. 205, p43-59
3. C.C. Liu, J.M.Y. Chiu, L. Li, P.K.S. Shin, S.G. Cheung (2011): Respiration rate and swimming activity of larvae of two sub-tidal *nassariid* gastropods under reduced oxygen levels: Implications for their distributions in Hong Kong waters, Marine Pollution Bulletin, vol.63, p230-236.
4. 小田一紀, 石川公敏, 城戸勝利, 中村善治, 矢持進, 田口浩一(1997)：内湾の生物個体群動態モデルの開発—大阪湾の「ヨシエビ」を例として—, 海岸工学論文集, vol.44(2) , p1196-1200
5. Yuji Tanaka(1990) : Changes in the Egg and Larval Densities of Striped Beakperch (Pisces; Oplegnathidae) during Development, 近畿大農紀要, p19-24
6. 石居進(1985):生物統計学入門 :具体例による解説と演習, 培風館, p79-89
7. Susumu Yamochi, Hiroyuki Ariyama, Masaki Sano (1995): Occurrence and Hypoxic Tolerance of the Juvenile *Metapenaeus ensis* at the Mouth of the Yodo River, Osaka , Fisheries Science , vol.61(3) , p391-395.

[質疑応答]

(貫上佳則 教授)

①, 浮遊幼生とサザエ稚貝はカラム内で遊泳するのか.

A, アサリ幼生は鉛直方向の最大遊泳速度が約 0.23cm/sec であること(孵化後 12 日)が石田ら(2005)より報告されている. また, サザエ稚貝は這うようにガラスカラムの側面を移動することを確認している.

②, 供試生物をどのようにカラム内に添加したのか.

A, アサリ幼生とヨシエビ幼生は水面付近に, サザエ稚貝はカラム底に添加しており, 添加後 30 分してから最初の観察を行っている. 日周鉛直運動を行うため, 添加した位置を変えても大きな差異がない.

③, 貧酸素応答実験に関して対照区と実験区を比較したところ, 塩分と水深に関する影響が不明瞭になるがどのように扱っているか.

A, 本研究は, 貧酸素応答実験だけでなく塩分応答実験も行っている. 貧酸素応答に関する対照区を塩分応答では実験区, 塩分が水面からカラム底まで一様であるものを塩分応答の対照区として扱っている.

(鍋島美奈子 准教授)

研究における新規性について詳しく教えてください

A, 浮遊幼生の貧酸素応答に関する知見は国内では非常に乏しい. 特に, 貧酸素応答について検討するうえで酸素勾配を利用したことから

(矢持進 教授)

酸素勾配の形成方法について

A, Tanaka(1990)が用いた塩分勾配の形成方法として, 希釈海水と濃縮海水を少しずつ混ぜながら形成している. 本研究では, N₂曝気と大気曝気をそれぞれに施し, 酸素勾配を形成する. なお, 酸素勾配の場合, 攪拌によって常に DO 濃度が変化するため, N₂曝気と DO 濃度計測を行いながら海水をカラムに注入する.

参考文献

1). 石田基雄, 小笠原桃子, 村上知里, 桃井幹夫, 市川哲也, 鈴木輝明(2005): アサリ浮遊幼生の成長に伴う塩分選択行動特性の変化と鉛直移動様式再現モデル, 水産海洋研究, vol.69(2), p73-82.