

貧酸素水がアサリ浮遊幼生の遊泳停止と沈降後のへい死に及ぼす影響

蒲原 聡^{1†}, 山田 智¹, 曾根亮太¹, 堀口敏宏², 鈴木輝明³

Influences of swimming stop and death due to sedimentation by hypoxia on larvae of the Japanese littleneck clam, *Ruditapes philippinarum*

Satoru KAMOHARA^{1†}, Satoshi YAMADA¹, Ryota SONE¹, Toshihiro HORIGUCHI² and Teruaki SUZUKI³

In Japan, gross reduction of water quality-related substances has been conducted to achieve the environmental standard levels for chemical oxygen demand, total nitrogen, and total phosphorus in bay areas. However, damage to fisheries, such as catch decline, is still a serious problem. Therefore, establishment of a new environmental standard for dissolved oxygen concentration (DO) in the bottom layers of bay areas is currently being discussed by the government of Japan. Unfortunately, there have been only a few studies on the adverse effects of hypoxic water on fishes, crustaceans, and mollusks, particularly on their fries, larvae, and juveniles; these stages of the organisms are required to determine DO standard values. Therefore, we performed laboratory experiments to investigate potential behavior relation to hypoxic water by using the early life stages of the Japanese littleneck clam, *Ruditapes philippinarum*, as the representative species in bay areas. The following stages of the Japanese littleneck clam showed the highest sedimentation percentages in hypoxic water: pedi veliger > umbonal veliger > D-shaped veliger. The sedimentation percentages in hypoxic water were increased by decreasing the DO percentage in the same stage. The following stages of the Japanese littleneck clam showed the highest lethality percentages in hypoxic water: D-shaped veliger > umbonal veliger > pedi veliger. The lethality percentages for hypoxia were increased by decreasing the DO percentage in the same stage. On the basis of the results, we formulated their sedimentation and lethality values against low DO for understanding the effects of hypoxic water on the pelagic larvae of the Japanese littleneck clam in marine environments. A DO of $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ or more is required in the bottom layers of the bay areas to prevent the influence of hypoxia on the clam larvae. In addition, a DO of at least $2.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ or more is required in the bottom layers in order to preserve about 90% of the clam larvae.

Key words: Japanese littleneck clam larvae, effects of hypoxia, density-gradient water column, swimming stop and following lethality

はじめに

我が国内湾域では、富栄養化（佐々木, 1997）、干潟・浅場の減少に起因する水質浄化能力の低下（Suzuki, 2001）、浚渫窪地など海底地形の変化（武田ほか, 2006）、河川流量の減少による潮流の低下（鈴木, 1995; 宇野木, 1998）等を原因として、貧酸素水塊が発生している。環境省の環

境基本計画（2006）によると、富栄養化対策として化学的酸素要求量（COD）、総窒素（TN）、総リン（TP）の環境基準が設定され、その達成のために水質総量削減が実施されているが、水域によっては基準の達成状況にかかわらず貧酸素水塊の発生が持続し、水利用や水産生物等の生育・生息に障害が生じている状況にあり、漁獲量の減少等水産上の利水障害は依然として深刻である。伊勢・三河湾においてもCODを環境基準の指定項目として、1980年に水質総量削減計画が策定され、さらに、2002年に策定された5次総量削減計画からは、窒素およびリンを項目に追加し、流入負荷削減対策の強化が図られてきた。しかし、愛知県の三河湾里海再生検討報告書（2011）によると、赤潮の発生件数、発生延べ日数、貧酸素水塊の規模、苦潮の発生件数ともに横ばいのままで改善効果はみられていない。

このことを受け、新たな水質基準として、底層の溶存酸素濃度（DO）の導入が検討されている。底層のDO基準

2012年11月3日受付, 2013年9月23日受理

¹ 愛知県水産試験場

Aichi Fisheries Research Institute, 97 Wakamiya, Miyatyo, Gamagori, Aichi 443-0021, Japan

² 独立行政法人国立環境研究所

National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

³ 名城大学大学院総合学術研究科

Graduate School of Environmental and Human Sciences, Meijo University, 1-501 Shiogamaguchi, Tempaku, Nagoya, Aichi 468-8502, Japan

† E-mail: satoru kamohara@pref.aichi.lg.jp

を策定するためには、魚介類の貧酸素に対する致死濃度や再生産に対する影響濃度を把握する必要があるが、成体に関する情報（萩田, 1985; 関根ほか, 1997）に限定され、再生産の確保という観点から見た幼稚仔に対する影響についての情報は、ガザミに関する姜ほか（1993）の報告を除いてほとんどない。このような状況の中、内湾の典型種であるアサリ *Ruditapes philippinarum* に着目し、貧酸素海域におけるアサリ浮遊幼生のへい死予測モデルの構築が試みられている。モデルにおいて想定される多様なDOに対応させるには、より精度よく貧酸素水塊のアサリ資源全体への影響を評価する必要がある。そのためには、石田ほか（2005）が用いた密度成層水柱を利用し、塩分勾配に合わせて様々なDO勾配を作製した上で、低DOに対するアサリ浮遊幼生の行動への影響を評価することが有効と考えられた。アサリ浮遊幼生は、生息環境が低DO状態になるとへい死の前段階として、遊泳を停止する行動が観察されている（蒲原, 2012）。そこで、本研究では、遊泳行動に着目し、DO低下と遊泳を停止した後の沈降およびそれに伴うへい死との関係を検討し、幼生が生残するためのDOを検証することを目的とした。

材料と方法

アサリ浮遊幼生の生産

鳥羽（1992）の温度刺激法をもとに、10℃と25℃にそれぞれ冷却、加温させた精密ろ過海水（ROSUIKI, R-31精密ろ過装置）に三河湾産のアサリを交互に20分間浸漬して、放精・放卵させ受精卵を得た。きょう雑物を取り除くために、100 μmメッシュのナイロンネットで受精卵をろ過し、海水をかけ流した500 lパンライト水槽内で3時間洗浄し、その後48時間静置した。24時間後には、トロコフォア幼生となり、48時間後にはD状期幼生となった。この上水を30 μmメッシュのナイロンネットを用いて濃縮し、別の500 lパンライト水槽に移し培養を開始した。幼生の収容密度は15 個体・ml⁻¹として弱いエアレーションを施した。精密ろ過と紫外線照射（セン特殊光源, UZ40TMR）を施した飼育水を1日当たり水槽容量の2倍量交換した。アサリ幼生の餌料としてパプロバ *Pavlova lutheri* を3×10⁴ cells・ml⁻¹の濃度になるように1日1回給餌した。孵化後2日目から16日目まで、幼生の殻長を毎日30個体測定した。実験には、3日目および5日目のD状期幼生、7日目および9日目のアンボ期幼生、12日目および15日目のフルグロウン期幼生を用いた。

貧酸素影響実験

密度成層水柱による浮遊卵の比重測定法（Coombs, 1981; 田中, 1991）にしたがって、石田ほか（2005）が実施した塩分勾配作製手法によりDO勾配を作製した。石田ほか（2005）によると、幼生はD状期の初期には一旦やや高塩分層に分布し、その後アンボ期からフルグロウン期にかけて

次第に低塩分層（塩分21–23付近を中心とする層）へ浮上する傾向を強めることが報告されている。そこで、D状期では分布の中心に近い塩分層が、アンボ期からフルグロウン期では浮上過程の塩分層が低DOとなるように、全体の塩分20–28のうち塩分24–28の部分を貧酸素層とした。塩分およびDO勾配を作成する実験装置をFig. 1に示した。円筒ガラスシリンダー（内径 50 mm, 高さ 800 mm）に近いフラスコには塩分20の海水を、シリンダーから遠いフラスコには塩分30の海水をそれぞれ用意し曝気を施した。連結したこの2つのフラスコから、ぜん動ポンプ（Iwaki, PST-100）を用いて円筒シリンダーに海水を注入した。この際、曝気に用いたガスを、空気から窒素ガスへ切り替えていき、最後に低DOの海水が円筒シリンダーの底にくるようにして、DO勾配を作製した。空気と窒素ガスの割合は海水の注入が、シリンダーの底から1/3の所までは空気のみ、1/3から2/3までは混合したもの、そして2/3より上では窒素ガスのみとした。ここでは、3つの成長段階で底層のDOが0近くから飽和に近くなる範囲に、8実験区（A区からG区と対照区）を作製した。対照区は全量を空気の曝気とし高濃度区とした。浮遊幼生は、明条件と暗条件で塩分選択行動が変わらない（石田ほか, 2005）ことから、恒温室内を暗条件として実施した。また、幼生の水温ストレスを避けるため、飼育水温に近い23℃に室温を設定した。

DO成層の崩壊を避けるため、円筒シリンダーの水面からピペットを用い静かに幼生を注入した。試験開始24時間後に予め底面から3 mm浮かせて設置したガラス管を用いて、底層からサイフォンで100 mlずつ海水を採取し、直ちにDO（東亜ディーケーケー株式会社製、ポータブル溶解酸素計DO-31P型）と塩分（東亜電波工業株式会社製、WM-22EP）を測定した。また、採取した海水に濃度が3%になるように中性ホルマリンを添加して幼生を固定した。後日、層別に幼生数を計数して、実験に供した全幼生数で

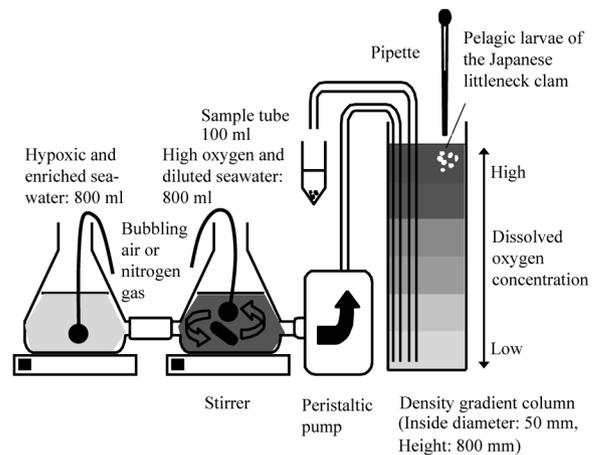


Figure 1. The experimental apparatus used to create the density-gradient water column.

除したものを浮遊率とした。なお、水面から1層, 2層と順に命名し, 最下層を13層とした。

本研究では, 遊泳を停止してシリンダーの底に沈降する行動の多寡を低DOに対するアサリ浮遊幼生の行動影響の指標とした。そこで, 全ての海水を採取した後, シリンダーの底に沈降した幼生を培養水と同様の海水で洗浄して回収し, 直ちに実体顕微鏡下で生死別に幼生を計数した。アサリ浮遊幼生は, 殻が半透明で内容物が透けて見えることから, 沈降した幼生を観察し, 繊毛活動と内蔵塊の縮動を確認できた幼生は生存個体, 動かないものはへい死個体とした。沈降幼生数を全幼生数で除したものを沈降率, へい死幼生数を沈降幼生数で除したものを沈降中に占めるへい死率とした。なお, 1シリンダーあたり, 1,977-4,333個体の幼生を使用した。

結果

アサリ浮遊幼生の生産

Fig. 2に示されるように, 飼育期間中の水温は21.6-24.6°Cであった。また, 期間中における塩分は29.0-30.2であった。D状期からフルグロウン期(孵化後16日目)までの生残率は35%で, 30 l水槽を用い10個体・m⁻¹の収容密度で実施した幼生飼育事例(上妻, 1994)の収容15日目の生残率21%と比較してもほぼ順調な歩留りであった。実験に供した幼生の平均殻長±標準偏差は, D状期幼生が110.1±5.5 μm(孵化後3日目)および116.3±9.4 μm(5日目), アンボ期幼生が132.9±11.0 μm(7日目)および143.0±14.6 μm(9日目), フルグロウン期幼生が167.0±14.8 μm(12日目)および177.9±13.1 μm(15日目)であった。孵化後3日目から15日目までの日間成長量は5.7 μm・day⁻¹であった。上妻(1994)の孵化後3日目(114±1.6 μm)から15日目(185±19.4 μm)までの日間成長量は5.9 μm・day⁻¹であったことから, 本研究のアサリ浮遊幼生の生産における成長

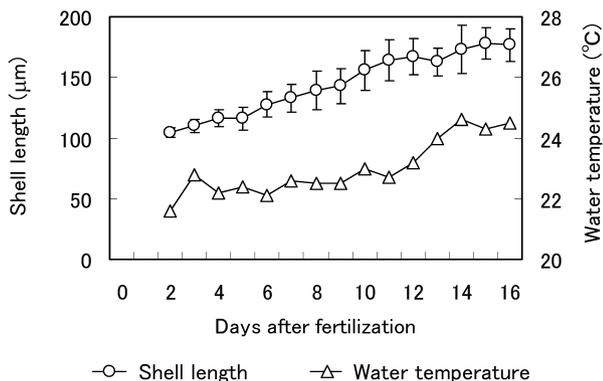


Figure 2. Growth of the pelagic larvae of the Japanese little-neck clam used in this study and temporal changes in the water temperature for breeding. Each vertical bar represents the standard deviation of the mean ($n=30$).

はほぼ順調であった。

貧酸素影響実験

塩分, DOおよび幼生の鉛直分布を成長段階ごとにFig. 3に示した。塩分は, 1層および13層がそれぞれD状期幼生では20.3-21.5および26.8-28.3の幅, アンボ期幼生では20.6-21.2および26.5-27.9の幅, フルグロウン期幼生では20.5-21.2および26.6-27.5の幅にあった。DOは, 1層および13層がそれぞれD状期幼生では5.00-5.90 mg・l⁻¹および0.69-5.34 mg・l⁻¹の幅, アンボ期幼生では5.13-5.99 mg・l⁻¹および0.70-5.40 mg・l⁻¹の幅, フルグロウン期幼生では3.76-5.97 mg・l⁻¹および0.79-4.72 mg・l⁻¹の幅にあった。

浮遊, 沈降, 沈降中に占めるへい死の幼生数および割合を成長段階毎にTable 1に示した。浮遊率は, D状期幼生では0.5-93.3%, アンボ期幼生では0.4-93.3%, フルグロウン期幼生では3.2-94.9%の幅にあった。沈降率は, D状期幼生では6.7-99.5%, アンボ期幼生では6.7-99.6%, フルグロウン期幼生では5.1-96.8%の幅にあった。沈降中に占めるへい死率は, D状期幼生では16.5-100.0%, アンボ期幼生では5.2-73.8%, フルグロウン期幼生では4.3-49.2%の幅にあった。

対照区は, D状期幼生では92.1%が浮遊し, 鉛直分布は1層(塩分21.5), 12層および13層(塩分26.8-28.3)に10.2%, 43.1%と二峰型となったが, 密度は12層および13層の方が高かった(Fig. 3, I-control)。アンボ期幼生は90.2%が浮遊し, 1層(塩分21.1), 11-13層(塩分25.9-27.9)に6.9%, 46.4%と分布が二峰型となったが, 密度は11-13層の方が高かった(Fig. 3, II-control)。フルグロウン期幼生は94.9%が浮遊し, 1層(塩分21.2), 12層および13層(塩分26.7-27.5)に12.3%, 69.9%と分布が二峰型となったが, 密度は12層および13層の方が高かった(Fig. 3, III-control)。このように対照区では, どの成長段階においても下層の密度が高くなった。そこで, 成長段階毎の各実験区において, それぞれの対照区で幼生の密度が高い層(以下, 下層と称する。)と同じ層のDOを平均してTable 1に示した。下層の平均DOは, D状期幼生では0.73-5.54 mg・l⁻¹, アンボ期幼生では0.61-5.62 mg・l⁻¹, フルグロウン期幼生では0.87-4.78 mg・l⁻¹であった。

沈降率は, D状期幼生では下層の平均DO 2.35-5.54 mg・l⁻¹では6.7-8.3%と低かったが, 1.39 mg・l⁻¹では42.0%と高くなり, 0.73-1.02 mg・l⁻¹では80.9-99.5%とさらに高くなった。アンボ期幼生では, 下層の平均DO 3.12-5.62 mg・l⁻¹では6.7-10.8%と低かったが, 0.61-1.28 mg・l⁻¹では76.1-99.6%と高くなった。フルグロウン期幼生では, 下層の平均DO 2.03-4.78 mg・l⁻¹では5.1-20.5%と低かったが, 0.87-1.09 mg・l⁻¹では85.0-96.8%と高くなった。

沈降中に占めるへい死率は, D状期幼生では下層の平均DO 5.54 mg・l⁻¹では16.5%と低かったが, 2.55 mg・l⁻¹では53.0%と高くなり, 0.73-2.35 mg・l⁻¹では70.6-100%とさら

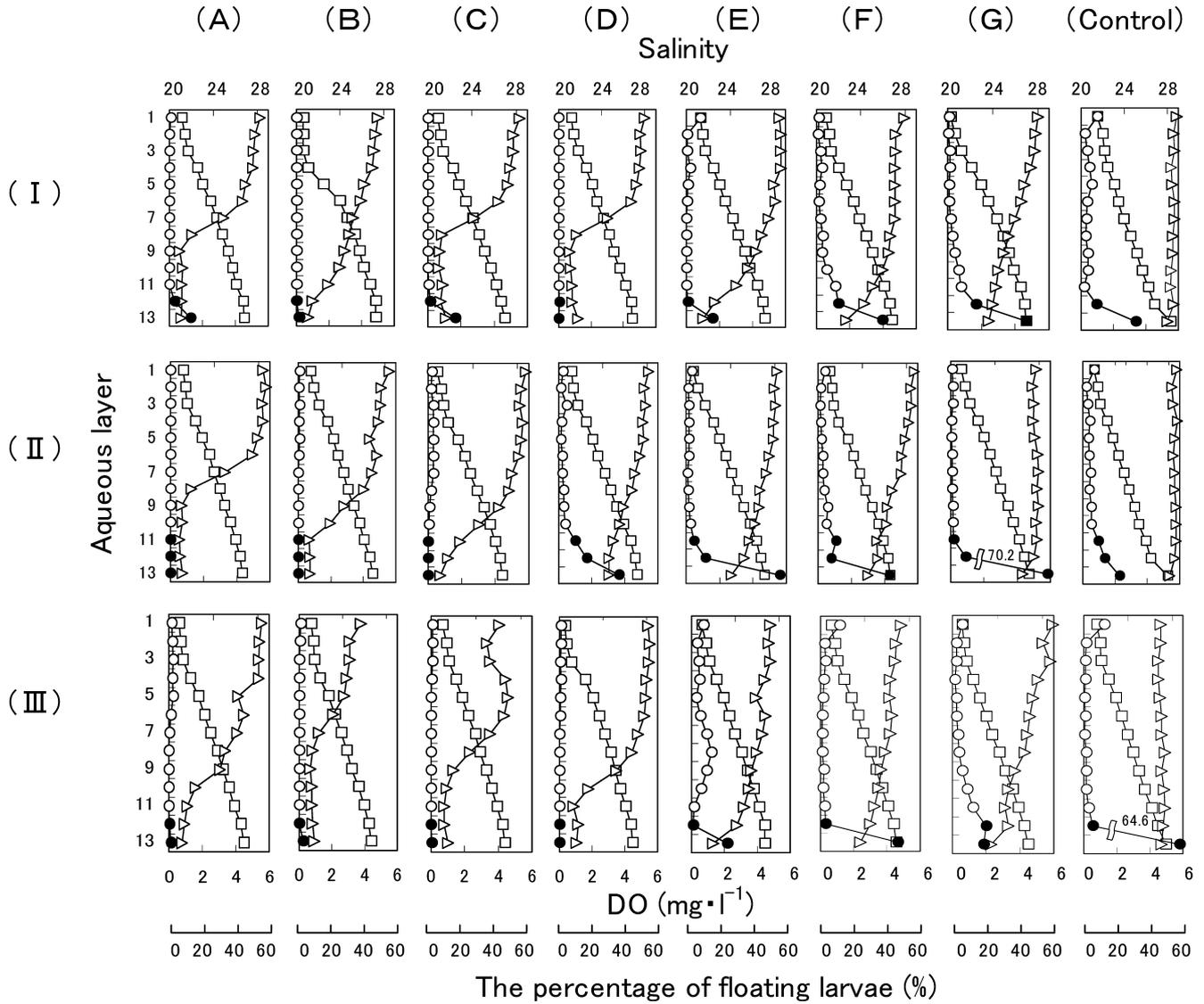


Figure 3. Vertical distribution of salinity, dissolved oxygen concentration, and the percentage of floating larvae of the Japanese littleneck clam in experimental group (A–G) and the control. (I), (II), and (III) represent the growth stages of D-shaped veliger, umbonal veliger, and pedi veliger, respectively. (□: Salinity. ▷: dissolved oxygen concentration. ○: The percentage of floating larvae in the same aqueous layer in which few pelagic control larvae were concentrated [upper layer]. ●: The percentage of floating larvae in the same aqueous layer in which the pelagic control larvae were concentrated [lower layer]).

に高くなった。アンボ期幼生では、下層の平均DO 3.12–5.62 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では5.2–16.8%と低かったが、1.28 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では20.7%と高くなり、さらに0.61–0.70 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では71.8–73.8%と高くなった。フルグロウン期幼生では、下層の平均DO 2.71–4.78 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では4.3–11.9%と低かったが、0.87–2.03 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では28.3–49.2%と高くなった。

考察

塩分は、成長段階毎の各実験区とも1層 (20.4–22.3) と13層 (26.5–28.3) の間は逆転がなく、ほぼ均等な密度勾配を持つ成層状態が再現された (Fig. 3)。

対照区の塩分成分層に応答した幼生は、D状期幼生では全体の92.1%が浮遊し、塩分26.8–28.3 (12, 13層) の層に43.1%が集中し密度が高くなった (Fig. 3, I-control)。アンボ期幼生は全体の90.2%が浮遊し、塩分25.9–27.9 (11–13層) の層に46.4%が分布し、13層を頂点としたなだらかな分布となった (Fig. 3, II-control)。フルグロウン期幼生は全体の94.9%が浮遊し、そのうち塩分21.2の1層に12.3%が分布した (Fig. 3, III-control)。1層の分布は、D状期幼生の10.2%、アンボ期幼生の6.9%より高くなった。このように成長するに従って低塩分層に分布を上げる傾向は、D状期の初期にはやや高塩分層に一旦沈降し、その後アンボ期

Table 1. The values of population and percentage of floating, sedimentation, death due to sedimentation, and the average dissolved oxygen concentration of the same aqueous layer in which the pelagic control larvae were concentrated (lower layer) and the same aqueous layer in which few pelagic control larvae were concentrated (upper layer) for each dissolved oxygen concentration group (A–G).

Item	A	B	C	D	E	F	G	Control
D-shaped veliger								
All the larvae	2,026	1,977	3,382	2,171	3,054	3,557	3,412	3,200
The population of floating larvae	356	37	647	10	1,772	3,262	3,182	2,946
The population of sedimentation larvae	1,670	1,940	2,735	2,161	1,282	295	230	254
The population of dead larvae due to sedimentation	1,660	1,370	2,645	2,160	965	219	122	42
The percentage of floating larvae (%)	17.6	1.9	19.1	0.5	58.0	91.7	93.3	92.1
The upper layer (%)	1.3	0.5	1.2	0.3	14.2	38.7	29.8	49.0
The lower layer (%)	16.3	1.4	17.9	0.2	43.8	53.0	63.5	43.1
The percentage of sedimentation larvae (%)	82.4	98.1	80.9	99.5	42.0	8.3	6.7	7.9
The percentage of dead larvae due to sedimentation (%)	99.4	70.6	96.7	100.0	75.3	74.2	53.0	16.5
Average DO concentration of the upper layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	3.35	3.78	3.26	3.28	4.91	4.53	4.21	5.68
Average DO concentration of the lower layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	0.73	0.87	0.93	1.02	1.39	2.35	2.55	5.54
Umbonal veliger								
All the larvae	2,660	2,627	3,652	3,629	3,932	3,575	4,183	3,437
The population of floating larvae	10	106	872	3,236	3,558	3,336	3,800	3,099
The population of sedimentation larvae	2,650	2,521	2,780	393	374	239	383	338
The population of dead larvae due to sedimentation	1,956	1,810	576	66	39	24	20	28
The percentage of floating larvae (%)	0.4	4.0	23.9	89.2	90.5	93.3	90.8	90.2
The upper layer (%)	0.4	3.8	23.6	25.8	18.0	31.2	9.9	43.8
The lower layer (%)	0.0	0.2	0.3	63.4	72.5	62.1	80.9	46.4
The percentage of sedimentation larvae (%)	99.6	96.0	76.1	10.8	9.5	6.7	9.2	9.8
The percentage of dead larvae due to sedimentation (%)	73.8	71.8	20.7	16.8	10.4	10.0	5.2	8.3
Average DO concentration of the upper layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	3.87	4.32	5.06	4.77	4.92	5.06	5.11	5.71
Average DO concentration of the lower layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	0.61	0.70	1.28	3.12	3.30	3.39	4.84	5.62
Pedi veliger								
All the larvae	2,173	1,981	2,887	2,028	3,765	3,694	3,246	3,801
The population of floating larvae	325	75	93	101	3,368	2,935	2,906	3,607
The population of sedimentation larvae	1,848	1,906	2,794	1,927	397	759	340	194
The population of dead larvae due to sedimentation	523	730	1,376	777	120	33	31	23
The percentage of floating larvae (%)	15.0	3.8	3.2	5.0	89.5	79.5	89.5	94.9
The upper layer (%)	13.3	1.4	2.9	4.7	66.8	29.8	50.9	25.1
The lower layer (%)	1.7	2.4	0.3	0.3	22.7	49.7	38.6	69.8
The percentage of sedimentation larvae (%)	85.0	96.2	96.8	95.0	10.5	20.5	10.5	5.1
The percentage of dead larvae due to sedimentation (%)	28.3	38.3	49.2	40.3	30.2	4.3	9.1	11.9
Average DO concentration of the upper layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	3.96	2.00	3.01	4.33	4.16	4.10	4.58	4.70
Average DO concentration of the lower layer ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	0.87	0.89	0.89	1.09	2.03	2.71	2.82	4.78

からフルグロウン期にかけて低塩分層（塩分21–23付近を中心とする層）へ浮上する傾向を強めるという石田ほか（2005）の結果と類似した。本研究においては、アサリ浮遊幼生の低DOに対する遊泳停止やへい死の行動影響を評価するため、低DOが作製可能な底層を幼生が選択する塩分層の下端とし、幼生が低DO層に遊泳する状態を作った。沈降した幼生が高塩分を求めて沈降したのではないことは、対照区の浮遊率が9割以上と高いことから説明できる。すなわち、沈降は低DOの影響を受け遊泳を停止したことに

より生じたと考えられた。

成長段階毎に各データから対照区の沈降率を差し引いて、沈降率（Y: %）とDO（X: $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ）の関係をFig. 4のグラフに示した。なお、沈降率がマイナスの値になる場合はゼロとした。D状期幼生（ Y_{Dshp} ）、アンボ期幼生（ Y_{Umb} ）およびフルグロウン期幼生（ Y_{Pedi} ）でそれぞれ次式が得られた。

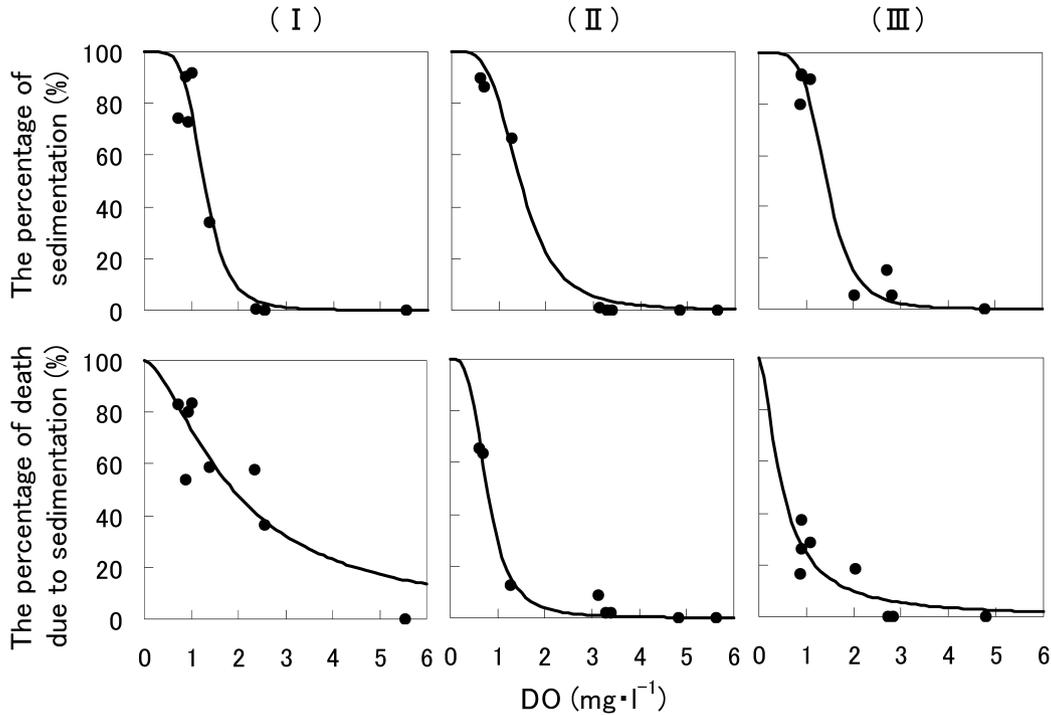


Figure 4. Observed values of the percentage of sedimentation and death due to sedimentation after 24 h of exposure to different dissolved oxygen concentrations in each growth stage of the pelagic larvae. (I), (II), and (III) represent the growth stages of D-shaped veliger, umbonal veliger, and pedi veliger, respectively.

$$Y_{Dshp} = \frac{100}{1 + (X/1.26)^{5.16}}$$

$$Y_{Umb} = \frac{100}{1 + (X/1.45)^{3.88}}$$

$$Y_{Pedi} = \frac{100}{1 + (X/1.43)^{5.17}}$$

D 状期幼生、アンボ期幼生およびフルグロウン期幼生の半数が沈降する濃度は、1.26 mg·l⁻¹、1.45 mg·l⁻¹、1.43 mg·l⁻¹であった。D 状期幼生、アンボ期幼生およびフルグロウン期幼生の各沈降率は、DO 3 mg·l⁻¹では順に1.1%、5.6%、2.1%、DO 2 mg·l⁻¹では8.5%、22.1%、15.0%、DO 1 mg·l⁻¹では76.8%、80.7%、86.4%であった。このように、同じ成長段階ではDOが低下するに従って沈降率は上昇し、DOが2 mg·l⁻¹から1 mg·l⁻¹に低下すると、成長段階順に、9.0倍、3.7倍、5.8倍と急上昇した。また、DO 1 mg·l⁻¹の沈降率は、幼生の成長に伴って増加した。フルグロウン期幼生は、面盤と足の両方を有し、海底の匍匐と遊泳を繰り返すことから（千葉県水産研究センター、2004）、他の成長段階と比較して能動的に着底する個体が多く、下層が低DOになると沈降する割合が高くなったためと考えられた。

成長段階毎に各データから対照区の沈降中に占めるへい死率を差し引いて、沈降中に占めるへい死率（Y: %）と

DO（X: mg·l⁻¹）の関係を Fig. 4 のグラフに示した。なお、沈降中に占めるへい死率がマイナスの値になる場合はゼロとした。D 状期幼生（Y_{Dshp}）、アンボ期幼生（Y_{Umb}）およびフルグロウン期幼生（Y_{Pedi}）でそれぞれ次式が得られた。

$$Y_{Dshp} = \frac{100}{1 + (X/1.88)^{1.60}}$$

$$Y_{Umb} = \frac{100}{1 + (X/0.78)^{3.40}}$$

$$Y_{Pedi} = \frac{100}{1 + (X/0.49)^{1.59}}$$

D 状期幼生、アンボ期幼生およびフルグロウン期幼生の沈降中に占める半数へい死濃度は、1.88 mg·l⁻¹、0.78 mg·l⁻¹、0.49 mg·l⁻¹であった。D 状期幼生、アンボ期幼生およびフルグロウン期幼生の各沈降中に占めるへい死率は、DO 3 mg·l⁻¹では順に32.2%、1.0%、5.4%、DO 2 mg·l⁻¹では47.6%、3.8%、9.8%、DO 1 mg·l⁻¹では73.3%、29.7%、24.6%となり、同じ成長段階ではDOが低下するに従って上昇した。D 状期幼生の沈降中に占めるへい死率は高く、他の成長段階と比較して2.8–32.2倍高かった。また、DO 1 mg·l⁻¹の沈降中に占めるへい死率は、幼生の成長に伴って減少した。このことは、貧酸素耐性が幼生の成長に伴って高まるという、貧酸素耐性実験の結果（蒲原ほか、2012；堀口ほか、

2012) と符合した。

成長段階毎の上層および下層の浮遊率を Table 1 に示した。D 状期幼生では、下層の平均 DO $1.39 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上においては上層の浮遊率が 14.2–49.0%，下層の浮遊率が 43.1–63.5% を示したが、下層の平均 DO $1.02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下においては上層の浮遊率が 0.3–1.3%，下層の浮遊率が 0.2–17.9% と共に少なくなった。アンボ期幼生では、下層の平均 DO $3.12 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上においては上層の浮遊率が 9.9–43.8%，下層の浮遊率が 46.4–80.9% を示した。下層の平均 DO $1.28 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下においては上層の浮遊率が 0.4–23.6%，下層の浮遊率が 0–0.3% を示した。下層の浮遊率が 63.4% から 0.3% へと減少しても、上層の浮遊率は 25.8% から 23.6% へと維持された。フルグロウン期幼生では、下層の平均 DO $2.03 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上においては上層の浮遊率が 25.1–66.8%，下層の浮遊率が 22.7–69.8% を示した。下層の平均 DO $1.09 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下においては、上層の浮遊率が 1.4–13.3%，下層の浮遊率が 0.3–2.4% と共に少なくなったが、A 区において 13.3% と若干上層に浮遊した。以上のことから、アンボ期幼生の C 区およびフルグロウン期幼生の A 区など一部において上層への忌避の可能性がある行動がみられたが、それ以外はいずれの成長段階においても、下層の浮遊率が低下すると上層の浮遊率も低下しており、上層への忌避行動はみられなかった。フルグロウン期幼生において、下層平均 DO $2.03 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上で上層に 25.1–66.8% と多く浮遊したことは、フルグロウン期幼生は低塩分層（塩分 21–23 付近を中心とする層）へ浮上する傾向を強める（石田ほか、2005）行動が出たためと考えられた。以上の浮遊と沈降の行動から、幼生は塩分に応答して浮遊するが、DO $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を切るあたりから、浮遊率が低下し、沈降率が急上昇して、沈降中に占めるへい死率も上昇するなど、幼生の行動に大きな影響が出始めることが示された。また、観察から約 3 時間で鉛直方向の分布がほぼ形成され、その後の変化も少ないことから、一旦沈降した幼生はほぼ再浮上せずにへい死に至ると考えられた。

東京湾では、底層までアサリ浮遊幼生が分布している水深 15 m 以浅の海域で、底層に貧酸素水が発達した場合、アサリ浮遊幼生の生息密度は底層で低下し、上層に高密度に分布することが観測されている（Toba et al., 2008）。しかし、この現象が、アサリ浮遊幼生の貧酸素水に対する忌避行動の結果として生じているのか、それとも上層に生き残った幼生であるかは、これまでの研究では明らかにされていない。そこで、本研究の結果をあてはめて推察を行った。貧酸素水塊が形成される時期に、アサリ浮遊幼生の生息密度が底層で低下し、上層に高密度に分布する現象は、貧酸素水塊が形成される水深 4–5 m の躍層付近から下に分布する幼生が貧酸素水に接触し沈降してへい死し、躍層より上部に分布する幼生が貧酸素水に接触せずに生き残ったことを表していると考えられた。したがって、貧酸素水塊

が発達した海域において、躍層付近から下を浮遊する幼生は、貧酸素水塊の DO 高低に強い影響を受け、躍層より上部に分布する幼生の一部に貧酸素水塊から忌避した個体が含まれる可能性はあるものの、湧昇流などの物理的な影響を受けない限り、沈降し再浮上せずにへい死に至ると考えるのが妥当であろう。

幼生の行動への影響から判断すると、沈降率が DO $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を切るあたりから上昇し始めることから、底層の DO は $3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上が望ましく、1 割程度の沈降を可とするならば、最低でも $2.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上が必要であると考えられた。

本研究では、アサリ浮遊幼生の塩分選択性を基に、塩分 20–28 の範囲で DO に対する行動実験を行ったが、今後は海域と同レベルの塩分で実験を行い、忌避行動についても確認する必要がある。特に、フルグロウン期幼生は、沈降中に占めるへい死率が他の成長段階と比較して低かった。つまり、貧酸素水に対する耐性が高まることから、沈降後の再浮遊についても観察が必要である。また、実海域においてセジメントトラップ等を設置して、貧酸素水の影響による幼生の沈降およびへい死の状況を調査することも必要である。さらに、貧酸素水塊が多発する内湾の底質は、生物のへい死率が高いとされる硫化水素を含んでいることから、一旦沈降した幼生が再浮遊することなくへい死する可能性についても調査する必要がある。

謝 辞

今回の密度成層水柱を利用した実験にあたっては、全国水産技術者協会の石田基雄支部長に、実験手法等について懇切丁寧な指導を頂いた。横浜薬科大学の岩瀬晃盛教授、(株)サイエンスアンドテクノロジー名古屋支店の市川哲也博士には、貧酸素水が幼生に与える行動影響の回帰式に助言を頂いた。ここに記して謝意を表す。なお、本研究の一部は、環境省環境研究総合推進費「貧酸素水塊が底棲生物に及ぼす影響評価手法と底層 DO 目標の達成度評価手法の開発に関する研究（平成 22 年度–24 年度 課題番号 B-1003）」により実施された。

引用文献

- 千葉県水産研究センター（2004）アサリ種苗生産の現場基礎技術 富津研究所の経験。千葉県水産研究センター業績 IV, 63.
- Coombs, S. H. (1981) A density-gradient column for determining the specific gravity of fish eggs, with particular reference to eggs of the mackerel *Scomber scombrus*. Mar. Biol., **63**, 101–106.
- 萩田健二（1985）貧酸素水塊と硫化水素水のアサリのへい死に与える影響。水産増殖, **33**, 67–71.
- 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, **69**, 73–82.
- 蒲原 聡・和久光靖・山田 智（2012）アサリ浮遊幼生の貧酸素耐性。愛知水試研報, **17**, 27–30.
- 姜 柱賛・松田 治・山本民次（1993）広島湾の貧酸素と硫化水

- 素がガザミ幼生の初期発達段階に及ぼす影響. 広島大学生物生産学部紀要, **32**, 61–70.
- 佐々木克之 (1997) 失われゆく三河湾の生態系. 「とりもどそう豊かな海 三河湾」西条八東監修 三河湾研究会編, 八千代出版, 東京都, 312 pp.
- 関根雅彦・上浦慎太郎・山本義男・浜田悦之・浮田正夫 (1997) 沿岸開発に伴う貧酸素水塊発生がマコガレイの挙動に与える影響の実験的研究. 環境工学研究論文, **34**, 239–247.
- 鈴木輝明 (1995) 三河湾の環境, 三河湾の生きものと自然. 三河港海洋利用研究会, 109–126.
- Suzuki, T (2001) Oxygen-deficient waters along the Japanese coast and their effects upon the Estuarine ecosystem, *J. Env. Qual.*, **30**, 291–302.
- 武田和也・石田基雄 (2006) 三河湾における苦潮によるアサリ大量死と浚渫窪地内部の貧酸素化の状況. 海洋理工学会誌, **12**, 51–58.
- 田中祐志 (1991) 魚卵・仔魚の比重変化と流れの構造に関連した分布・移動. 「流れと生物と—水産海洋学持論—」川合英夫編, 京都大学学術出版会, 京都, 61–78.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1992) アサリ産卵誘発方法の比較. 水産増殖, **40**, 303–311.
- Toba, M., T. Kosemura, H. Yamakawa, Y. Sugiura, and Y. Kobayashi (2008) Field and laboratory observations on the hypoxic impact on survival and distribution of short-necked clam *Ruditapes philippinarum* larvae in Tokyo Bay, central Japan. *J. Plankton Res.*, **3**, 165–173.
- 上妻智行 (1994) アサリ種苗生産における採卵および幼生飼育技術. 福岡水技研報, **2**, 67–77.
- 宇野木早苗 (1998) 内湾の鉛直循環流量と河川流量の関係. 海の研究, **7**, 283–292.