

海生研リーフレットNo.3

ハマグリの卵、幼生および稚貝の高温耐性



平成2年3月

国立海洋生物環境研究所



# ハマグリの卵、幼生 および稚貝の高温耐性

## 目 次

はじめに.....	2
ハマグリの発生.....	2
試験材料.....	2
試験方法.....	7
試験装置.....	7
試験方法.....	7
生死等の判定方法.....	9
試験結果.....	10
考察.....	15
発育に伴う高温耐性の変化.....	15
発電所による昇温影響.....	15
参考文献.....	18

## は じ め に

日本の代表的な有用二枚貝の1種であるハマグリは、内湾の河口に近い潮間帯砂泥底を主な生息場としているが、一方では、海岸の埋め立てや水質・底質の劣化などによって、この貝の資源量の著しい衰退が伝えられている。

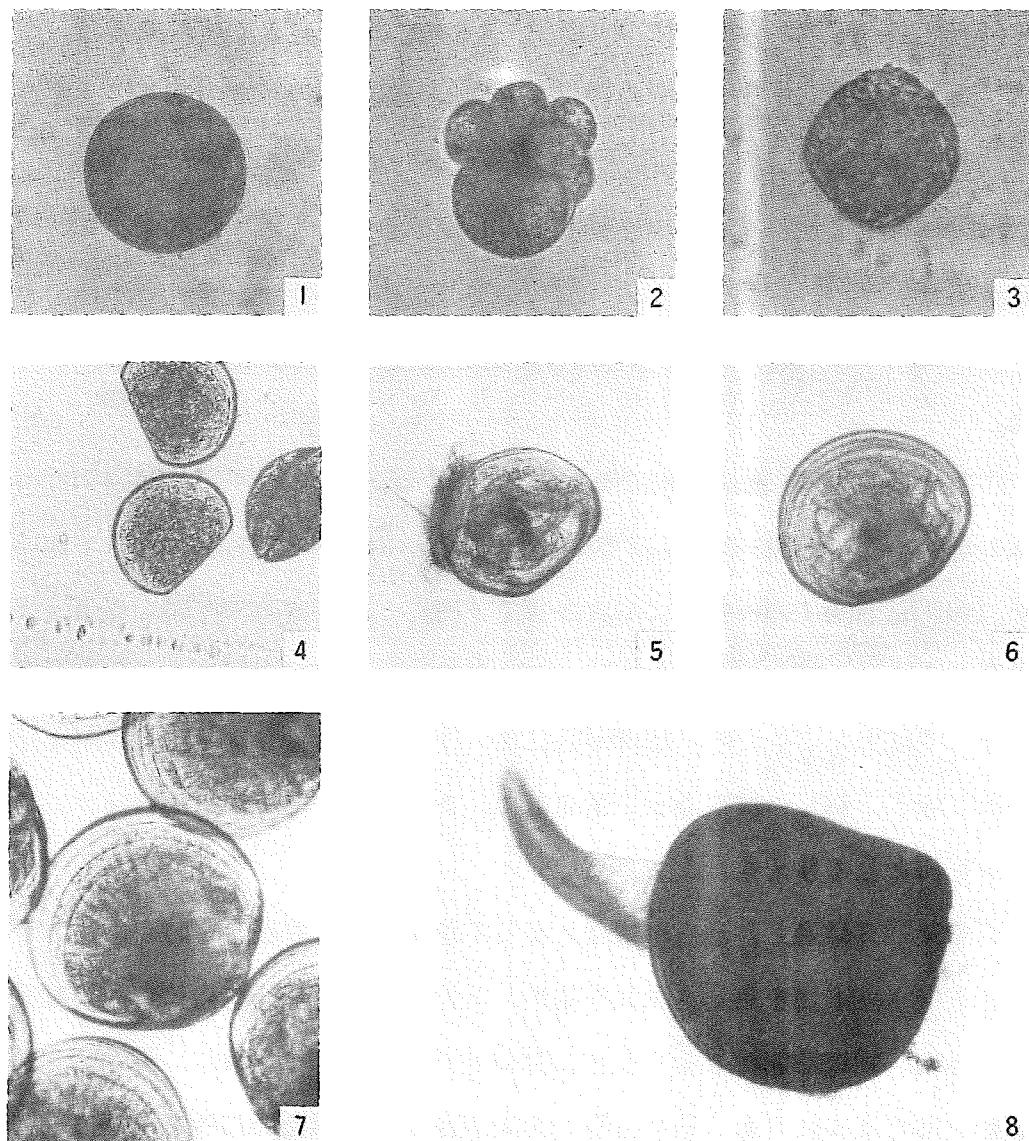
海生研では、温排水の影響をいろいろな生物について調べる研究を行っているが、その一環として、この貝の卵期から着底初期の稚貝期までのいろいろな発育段階ごとに、何°Cの海水にどれだけの時間耐えられるかということを調べるために実験を行った。二枚貝などの海の生物が自然の海水温より高い水温の海水に接した場合の反応を見る実験という意味で、この実験を高温接触試験とよんでいる。

### ハマグリの発生

第1図にハマグリの発生の様子を簡単にまとめた。ハマグリは、直径約80  $\mu\text{m}$ (0.08mm)ほどの小さな卵を産み、受精した卵は分裂を繰り返し、トロコフォアという幼生になって泳ぎだす。その後、殻の形がアルファベットのDの形をしたD型期幼生から、殻の頂上がしだいにせりだってきてアンボ期(殻頂期)幼生となり、さらに稚貝とほぼ同じ形をしたフルグロン期幼生へと変態した後に着底して、稚貝となる。

### 試 験 材 料

ハマグリの卵を得るために、大分県の沿岸で採られた母貝をアイスボック



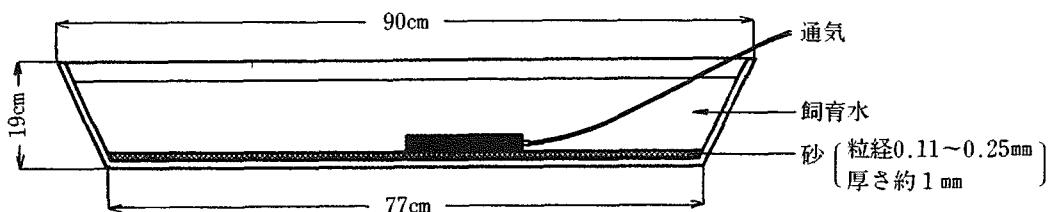
第1図 ハマグリの発育経過

発育段階	受精後経過時間	殻長(μm)
1. 放卵直後	0時間	75~80(卵径)
2. 8細胞期卵	2.5時間	
3. トロコフォア期幼生	20時間	
4. D型期幼生	27時間	115~120
5. アンボ期幼生	4日	145
6. アンボ期幼生	5日	170
7. フルグロン期幼生	11日	220
8. 着底稚貝	40日	700

スに入れて、産地から海生研中央研究所(千葉県御宿町)まで運んできた。このハマグリに産卵をさせるために、大分県水産試験場のアドバイスにしたがって干出(母貝を直射日光中に一定時間あてる)と温度刺激を併用した。放卵・放精が行われた後には、飼育海水の水質悪化を防ぐために、卵がビーカーの底に沈むのを待ち、サイフォンで静かに水をくみ出し、新しい海水を加えるという方法を数回繰り返して卵を洗浄し、余分な精子や体液などを取り除いた。

今回の試験では、濾過海水に淡水を加えて、塩分濃度が約27‰(普通天然海水の塩分濃度は約33~35‰)になるように調整したものを飼育海水として用いた。洗卵後、500 ℥の水槽内に飼育海水 1 ℥当たり数個体の密度になるように受精卵を入れ、緩やかな通気を行った。受精後約24時間が経過してD型幼生となって浮上してきた時、水槽の底に沈んでいる未受精卵などをサイフォンで取り除き、新しい飼育海水を補充した。また、この時期から植物プランクトンを餌として与えた。

受精後12日経過し、幼生が稚貝となって水槽の底に着底した時点で、プランクトンネット地を用いて稚貝を集め、大型バット(第2図)内に移して飼育を続けた。飼育期間中は5日ごとに飼育海水を半量ずつ交換し、海水の水質悪化を防ぐようにした。最初は稚貝の大きさが小さいために砂との分離がで



第2図 ハマグリ稚貝飼育用大型バット

きないので、バットの底に砂を敷かずに飼育を行った。

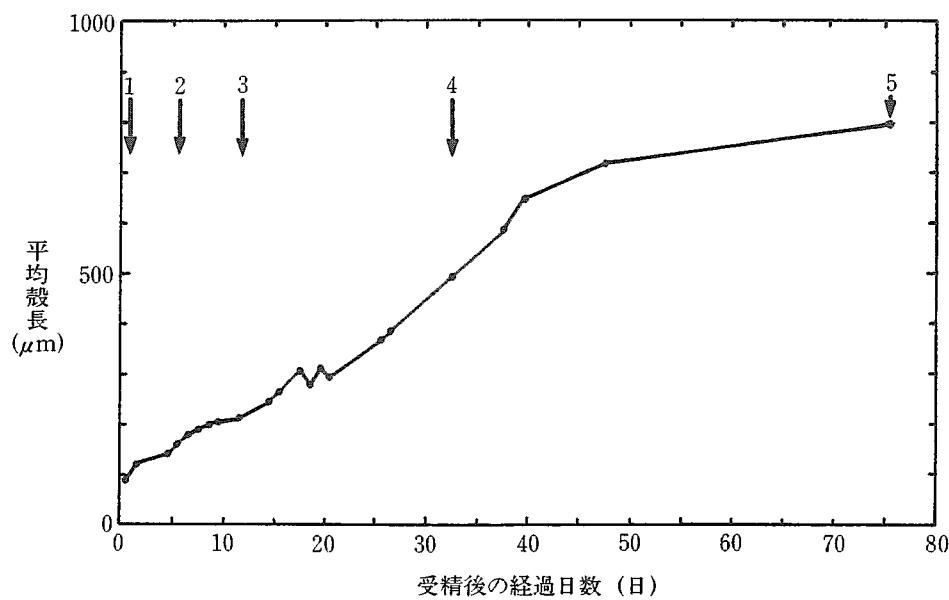
しかし、受精後35~40日経過した頃から、稚貝の殻の表面に糞や纖毛虫等の付着が目立ちはじめたので、粒径0.11~0.25mmの砂を約1mmの厚さに敷いた。この時には稚貝の大きさも0.5mmを越えていたので、プランクトンネット地によって稚貝を砂から簡単に分離でき実験に使うことができた。

第1表にはハマグリの卵から稚貝までの飼育の経過を、第3図には飼育期間中の殻長の変化をそれぞれ示した。これらのうち、第2表に示したとおり、8細胞期卵、アンボ期幼生、フルグロン期幼生、受精後32日経過した平均殻長約0.5mmの稚貝(以下、稚貝Ⅰ期と略記)、受精後75日経過した平均殻約0.8mmの稚貝(以下、稚貝Ⅱ期と略記)を、それぞれ試験材料とした。

第1表 飼育経過

月／日	経過日数	水温(℃)	殻長(μm)	歩留(%)	備 考
9 / 5*	0	23.8	82**	—	・採卵
6	1	24.6	120	100	・D型期となり摂餌開始
9	4	23.7	142	104	・アンボが円く肥厚、大きさに個体差が認められる
10*	5	23.0	164		
11	6	23.3	182	38	
12	7	24.0	190	54	・フルグロン期
13	8	24.0	199	27	
14	9	24.4	206	31	
16*	11	25.4	215	25	・ベラム退化、しばしば足で匍匐
19	14	22.4	246	30	
20	15	22.4	266		
22	17	23.4	309		
23	18	22.8	277		
24	19	21.7	311		
25	20	22.6	291		
30	25	20.6	367		—・死亡殆ど認められず
10 / 1	26	20.4	385		
7*	32	22.5	497		
12	37	23.0	586		
14	39	19.9	646		
22	47	19.2	717		
11 / 19*	75	19.6	791	23	

\*高温接触試験実施 \*\*卵径



第3図 ハマグリ浮遊幼生、稚貝の殻長変化（数字は高温接触試験実施時期）  
 1 ; 8細胞期, 2 ; アンボ期 3 ; フルグロン期  
 4 ; 稚貝I期(32日) 5 ; 稚貝II期 (75日)

第2表 高温接触試験開始時期

発育段階	受精後経過時間	
	時間	(日)
8細胞期卵	2	(0)
アンボ期幼生	120	(5)
フルグロン期幼生	268	(11)
稚貝I期	768	(32)
稚貝II期	1,800	(75)

## 試験方法

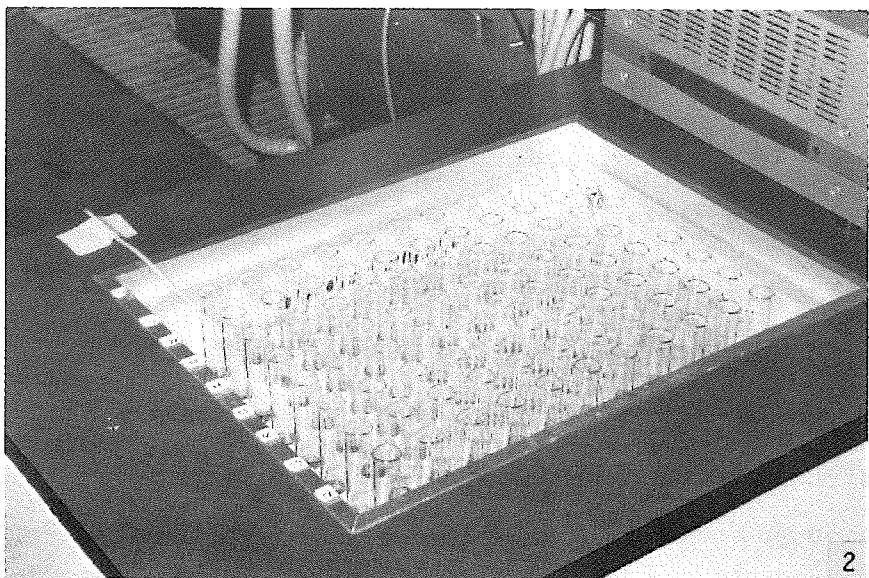
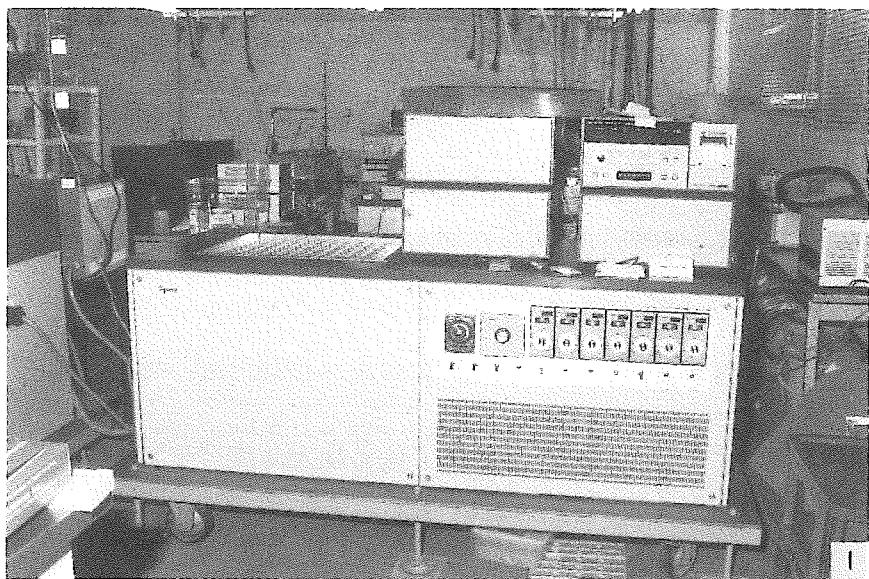
### 試験装置

今回の試験には、海生研が特注製作した卵・稚仔温度反応試験装置(第4図; MERI-01)を用いた。この装置の温度設定方式は、88本( $11 \times 8$ )の試験管を挿入するための孔(直径24mm)をあけたアルミニウム製ブロック(縦620mm、横430mm、厚さ102mm)の1辺側を温め、反対側を冷やすことによって生じるアルミブロック自体の温度の勾配を利用して、11段階の試験温度が得られるようになっている。また、各挿入部の温度は設定プログラムに従って、一定時間毎に記録装置に収録されるようになっている。

### 試験方法

アルミブロック内に挿入した各試験管に30mlの濾過海水を入れ、設定試験温度になった後、ピペットを用いて卵または幼生を試験管内へ静かに入れた。そして、決められた接触温度に所定の時間だけ接触させた。材料の密度は、酸素欠乏にならないように充分に検討を加え8細胞期の場合は6個体/ml以下、アンボ期以降の場合は3個体/ml以下とした。接触温度の設定範囲は材料の発育段階によって多少異なるが、全体としての範囲は約28~47°Cとした。

接触後は25°Cに保った恒温水槽内に試験管のまま移して約1日間飼育した。また、別に設けた25°Cの恒温水槽内にもあらかじめ飼育海水と試験材料の入った試験管を設置して同じ様な操作を行って、温度以外の要因がハマグリの卵や幼生に悪影響を与えないことを確かめた(第5図)。接触時間の設定範囲は、各発育段階とも7.5分から1,440分(24時間)としたが、接触時間の設定段階数は、8細胞期では8段階、アンボ期とフルグロン期では6段階、稚貝Ⅰ期では5段階、稚貝Ⅱ期では7段階とした。



第4図 卵・稚仔温度反応試験装置 (MERI-01)

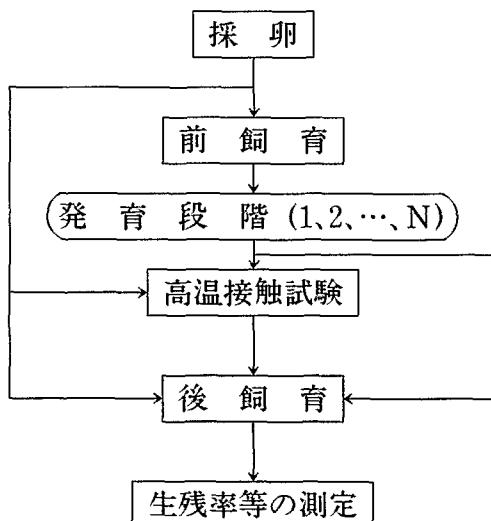
1. 正面

2. 加温試験部

## 生死等の判定方法

試験に用いた幼生の生死等の判定は、全て高温接触を開始してから24~27時間経過後に行った。その理由は、8細胞期卵でも約24時間後にはD型幼生にまで発育が進み、生死の判定や正常・奇形個体の識別が簡単になること、また、試験中は餌を与えないで、長時間の飼育が不可能であることなどのためである。

8細胞期卵で接触を開始したものについては、24~27時間経過時にホルマリン固定を行い(この時にはD型期幼生になっている)，殻の様子から判定して正常・奇形個体別に計数した。



第5図 高温接触試験方法

アンボ期とフルグロン期に接触を開始したものについては、試験開始時から終了時までの間では発生の進行による形態変化がほとんど無いことから、試験終了時に試験管の底に沈んでいる個体をピペットで取り出し、顕微鏡を使って生死判定を行った。また、泳いでいる個体については全て正常なものと見なしてホルマリンで固定した後計数を行った。

着底後の稚貝については、殻を開いたままのものを死亡個体、殻を閉じたままのものを異常個体、足を出して活発に動くものを正常個体とし、ホルマリン固定をせずに判定を行った。

第6図は8細胞期卵に対する高温接触試験でみられた接触温度と形態の変化の例を示したものである。

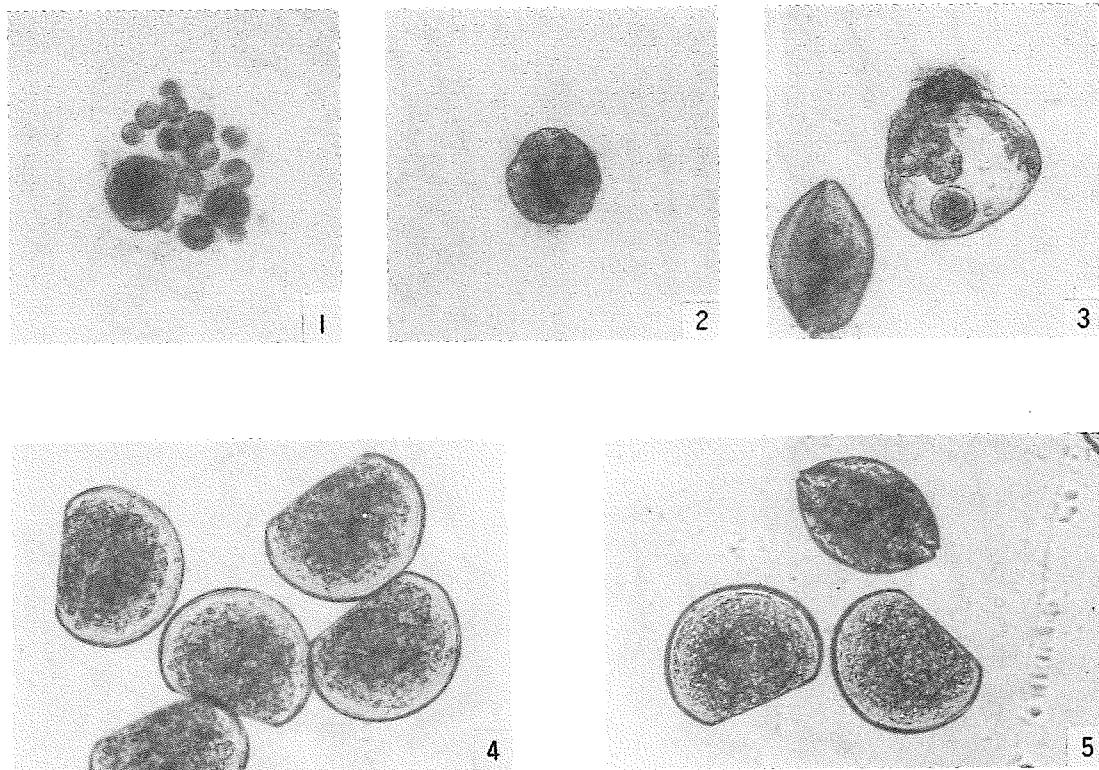
なお、今回の試験では、奇形個体も異常個体も全て死亡するものと考え、全試験個体数中に占める正常個体数の割合を「正常生残率」とし、これに基づいて50%正常生残温度を計算した。

## 試験結果

各発育段階に対する試験結果を第7図の立体図に示した。図中左の斜め軸が接触時間、右の斜め軸が接触温度を表しており、縦軸はそれらの接触時間と接触温度における正常生残率を示している。

まず、各発育段階の結果とも接触温度が低い場合、ほぼ100%に近い生残率を示し、接触温度の高い試験区では生残率は0あるいは非常に低い値になっている。

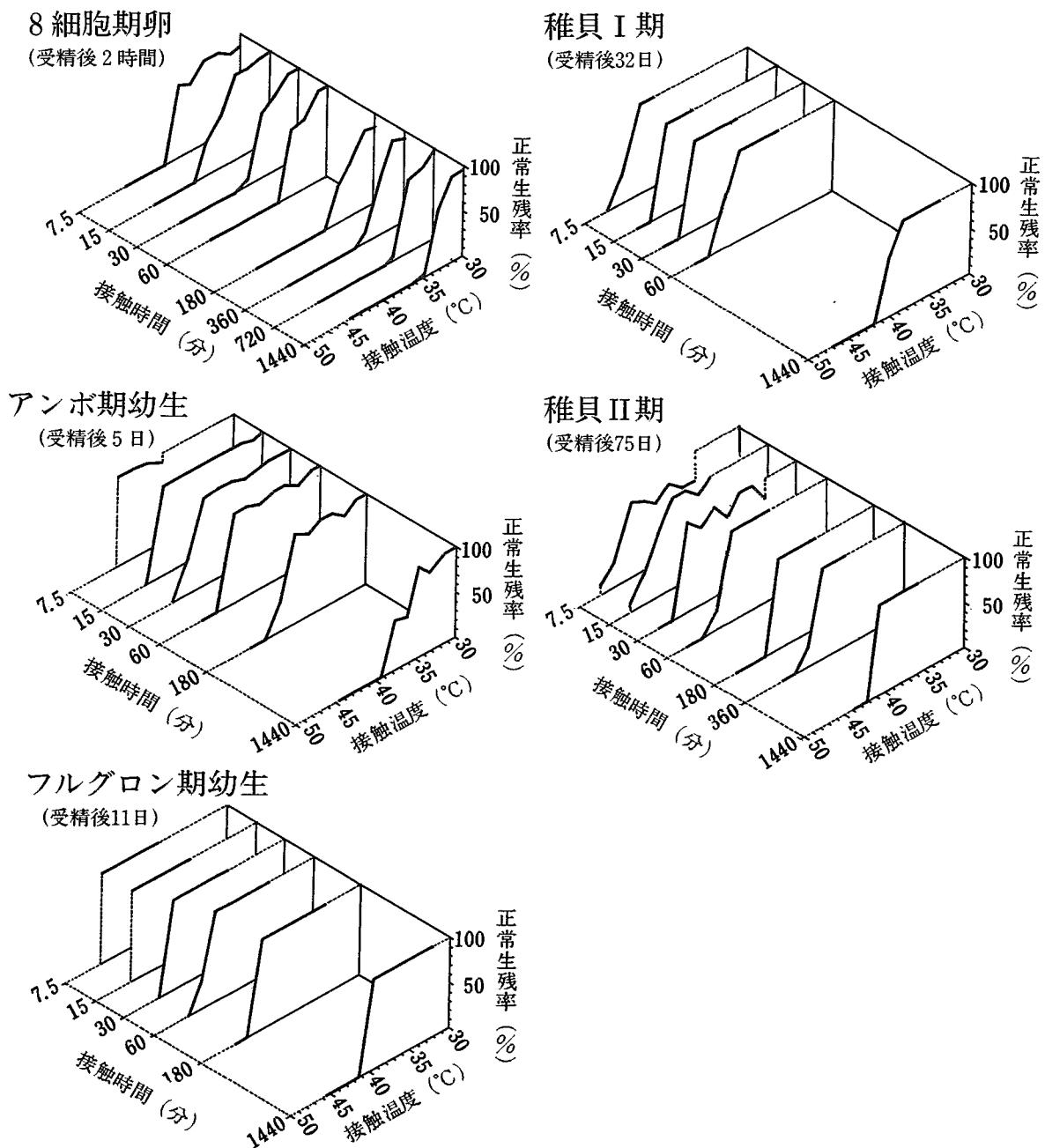
また、接触時間が短い試験区では生残率が高く、接触時間の長い試験区では生残率が0あるいは非常に低い値になっている。つまり、接触時間が短い



第6図 ハマグリ8細胞期卵における接触温度と形態変化例

$\left. \begin{array}{l} 27.9\sim44.7^{\circ}\text{C} の 11 段階の 温度 に 7.5 \text{ 分間の 接触 を 行い } \\ 25^{\circ}\text{C} の 水温 に も どして 27 \text{ 時間 後 に ホルマリン 固定 } \end{array} \right\}$

- 1. 接触温度  $42.7^{\circ}\text{C}$  (組織崩壊)
- 2. //  $39.2^{\circ}\text{C}$  (幼殻をもたず)
- 3. //  $39.2^{\circ}\text{C}$  (D型幼生:異常)
- 4. //  $37.7^{\circ}\text{C}$  (D型幼生:外部形態の異常認められず)
- 5. //  $22.9^{\circ}\text{C}$  ( // )

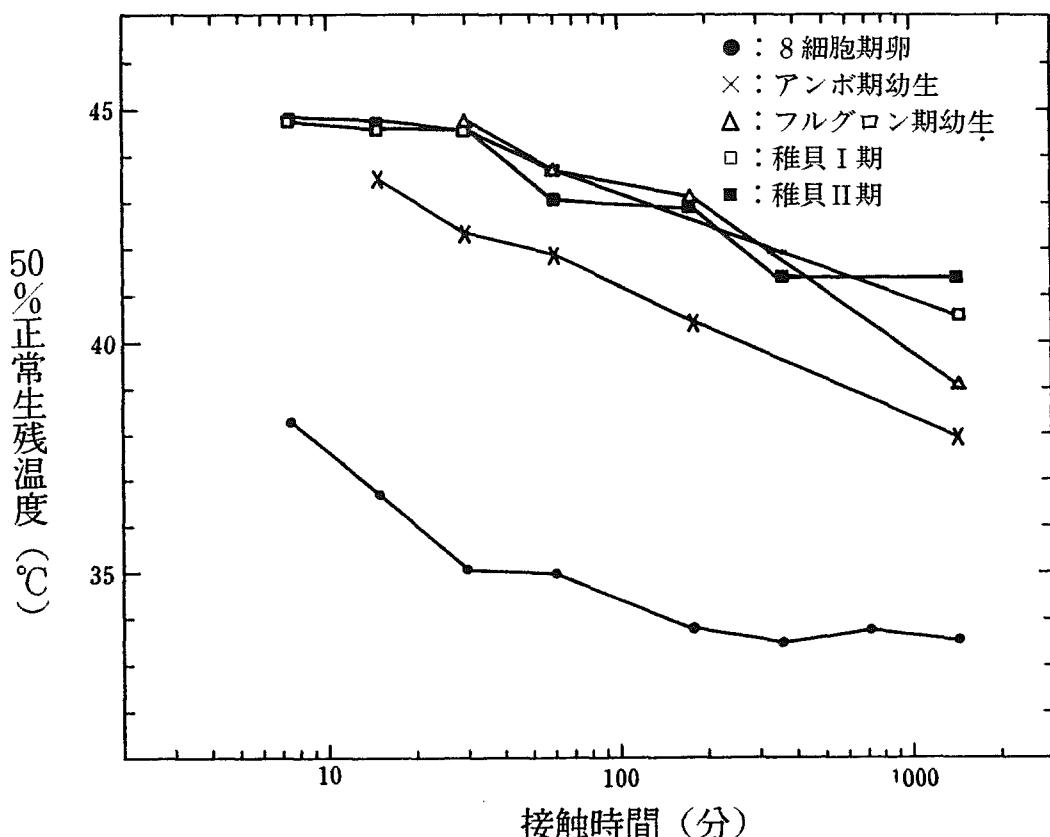


第7図 各発育段階における高温接触試験結果—接触温度・接触時間と正常生残率との関係

ほど、図のついたて状の面積が大きいことがわかる。

また、各発育段階別に比較すると、8細胞期のついたて状の面積が他の発育段階のものより狭く、この発育段階における高温耐性が明らかに低いことがわかる。

なお、アンボ期の試験の接触時間7.5分区の場合と、フルグロン期の試験の接触時間7.5分区および15分区の場合には、最も高い設定温度(アンボ期で44.4°C、フルグロン期で45.7°C)でも生残率が低下せず、50%正常生残温度を直接把握することができなかった。つまり50%正常生残温度は設定した接触温度の上限値よりも高かったことになる。



第8図 各発育段階における接觸時間と50%正常生残温度との関係

第3表 各発育段階における50%正常生残温度 (°C)

発育段階	接触時間別50%正常生残温度 (°C)							
	7.5分	15	30	60	180	360	720	1440
8 細胞期	38.3	36.7	35.1	35.0	33.8	33.5	33.8	33.6
アンボ期	>44.4	43.5	42.3	41.9	40.4	—	—	37.9
フルグロン期	>45.7	>45.6	44.7	43.7	43.1	—	—	39.1
稚貝 I 期	44.7	44.5	44.5	43.7	—	—	—	40.6
稚貝 II 期	44.8	44.7	44.5	43.1	42.9	41.4	—	41.4

第8図および第3表は、各発育段階における接触時間と50%正常生残温度との関係を示したものである。8細胞期に行った試験では50%正常生残温度が、接触時間7.5分区で38.3°C, 15分区で36.7°C, 24時間(1,440分)区で33.6°Cと、接触時間が長くなるほど低くなり、33°C付近に近づく傾向を示した。

一方、アンボ期以降の各発育段階における50%正常生残温度は、接触時間7.5分区で44.4~45.7°C以上、24時間(1,440分)区で37.9~41.4°Cとなった。

これらの値を8細胞期のそれと比較すると、いずれも4~6°C高く、8細胞期からアンボ期に移行する間に高温に対する耐性が大きく変化することが明らかになった。一方、アンボ期から稚貝II期に至る間には高温耐性に大きな変化はみられないが、アンボ期のそれはフルグロン期以降よりも弱い傾向が認められた。

## 考　　察

### 発育に伴う高温耐性の変化

二枚貝では、卵割期、トロコフォア期、D型期と発生が進むにつれて高温耐性が強くなることは、マルスダレガイ科の *Mercenaria mercenaria*、バカガイ科の *Mulinia lateralis*、アメリカカガキなどで知られている。

今回の試験によって、ハマグリについても少なくとも接触時間が24時間以内という条件下では、8細胞期とアンボ期以降から稚貝(約0.8mm)に至るまでの各発育段階との間には、4～6°C以上の高温耐性の差があることが確認できた。海生研では、今回の報告とは別の伊勢湾産のハマグリ母貝から得た材料を用いた試験で、D型期幼生についても高温接触試験を行っているが、その高温耐性は、今回の試験のアンボ期にほぼ等しいという結果が得られた。

8細胞期に対する試験の結果では、接触時間が長くなるにつれて50%正常生残温度が33°C付近に近づく傾向がみられた。一方、アンボ期幼生以降の場合には、接触時間が24時間以内では、50%正常生残温度が一定の温度に近づいて行く傾向を示さなかった。しかし、接触時間24時間区でも、50%正常生残温度は8細胞期の場合と比較して4°C以上高い値を示した。

今回の試験では温度以外の条件をできるだけ一定にするため、海水の塩分濃度を約27‰に調整して使ったが、一般に塩分濃度の変化によっても致死温度(正常生残温度)が変化することはよく知られている。ハマグリのように、干潟や河口域に生息する生物については、この点についてもさらに検討する必要があると考えられる。

### 発電所による昇温影響

今回の試験のデータなどをもとに、ハマグリの卵、幼生および稚貝に対す

る発電所による昇温の影響について考察を行った。ここではハマグリに及ぼす発電所の昇温影響を、卵や浮遊幼生が発電所の冷却水路系内に吸い込まれ、そこで経験する急激で比較的短時間の昇温影響と、温排水の昇温域内に着底した稚貝が経験する昇温幅は小さいが比較的長い期間の昇温影響に区分して考察してみた。

### ① 卵・浮遊幼生に対する発電所内連行に伴う昇温影響

日本の臨海発電所では、海水が冷却水路系内を通過するのに必要な時間は10~15分以内で、発電所前面海域に放出された温排水は、まわりの海水と混じりあったり大気に冷やされたりして、急激に周辺海域との温度差を失って行く。そこで、今回の試験における接触時間15分区の50%正常生残温度に基づいて考察を進めることとした。

前に述べたとおり、最も高温耐性が弱かったのは8細胞期の卵で、15分接触区における50%正常生残温度は36.7°Cであった。一方、ハマグリの野外における自然産卵水温について述べた報告はほとんど皆無に近いのが現状で、相良(1958)は受精卵の温度段階別の飼育試験を行い、D型幼生の生残率等を考慮してその発生のための至適温度範囲を21~27°Cと報告している。さらに、各県水産試験場等における種苗生産や、実験の際に得られた産卵水温データもほぼこの範囲に含まれていることから、自然条件下における産卵もこの水温範囲内で行われているものと考えられる。今回は考察にあたって、評価の基準になる環境水温をこの適温最高値の27°Cとすると、この27°C、接触時間15分区の50%正常生残温度との差は、8細胞期で9.7°C、アンボ期以降では16.5~18.6°C以上となる。一方、わが国で最近建設される大部分の臨海発電所における設計昇温幅( $\Delta T$ )は7°Cであることから、前述の基準温度との差とこの $\Delta T$ とを対比すると、50%正常生残温度が最も低い値を示した8細胞期に

おいても約2.7°Cの差があるということになる。

## ② 着底稚貝に対する温排水の昇温影響

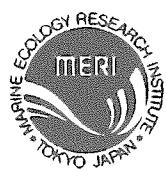
発電所施設内に連行された卵・幼生が極めて短い時間に $\Delta T = 7^{\circ}\text{C}$ という急激な昇温を受けるのに対し、温排水が海底に接する区域内に着底した稚貝は、穏やかな昇温に長期間にわたって曝されることになる。

今回の着底稚貝に対する試験結果では、24時間接触区における50%正常生残温度は32日稚貝で40.6°C、75日稚貝で41.4°Cという極めて高い値となり、高温耐性の強さがうかがわれる。沼口・田中ら(1987)はハマグリの初期稚貝を10~37°Cの8段階の水温条件下で18日間の飼育を行い、34°Cという極めて高い温度条件下で最も高い成長率(39.0%)を示したこと、また、最高温度の37°C区においても死亡個体は20個体中3個体のみであったことを報告している。そして、ハマグリの種場造成手法の開発に際し、温度については特別に制約されることなく対応可能と結論づけている。これらの事実から発電所温排水による昇温がハマグリの着底稚貝に及ぼす影響については問題はないと考えられる。

## 参考文献

- 道津光生・木下秀明(1988). ハマグリの卵・幼生および稚貝の高温耐性.  
海生研報告, No.88201. 23pp.
- 沼口勝之・田中弥太郎(1987). ハマグリの初期稚貝におよぼす水温および  
塩分の影響. 養殖研報, (11):35-40.
- 相良順一郎(1958). ハマグリの発生初期に於ける適温適比重について.  
東北水研報, (22):27-32.





事務局 〒101 東京都千代田区内神田1-18-12 北原ビル ☎(03)233-4173  
中央研究所 〒299-51 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地 ☎(0470)68-5111  
実証試験場 〒945-03 新潟県柏崎市荒浜4-7-17 ☎(0257)24-8300