

酸素ナノ・マイクロバブルによるホタテガイの活力回復効果

緒方由美、吉岡武也、中谷光政*、宮下英司*

Effect of Oxygen Nano-micro Bubbles on the Recovery of Vitality in the Scallop *Mizuhopecten yessoensis*

Yumi Ogata, Takeya Yoshioka, Mitsumasa Nakatani*, Hideshi Miyashita*

要 旨

本研究では、ホタテガイ稚貝を実験試料に用いて、ホタテガイ稚貝貝柱の生体内エネルギー成分であるATP量とアルギニンリン酸量を指標として酸素ナノ・マイクロバブルによるホタテガイの活力回復効果を化学的に評価した。干出処理してストレスを与えたホタテガイ稚貝を天然海水または酸素ナノ・マイクロバブル海水で蓄養し、干出処理前のATP量とアルギニンリン酸量に回復するまでにかかる時間を調べた結果、酸素ナノ・マイクロバブル海水区のホタテガイ稚貝のATP量とアルギニンリン酸量の回復時間は、天然海水区の1/4と1/8であり、酸素ナノ・マイクロバブルの使用により従来よりも短時間でホタテガイの活力を回復できることが認められた。

ホタテガイ養殖業は北海道の基幹産業の一つであるが、ここ数年、夏季の高水温や低酸素など、ホタテガイにとって大きな負荷となる海洋環境の変化がしばしば発生し、生産に大きな損害を与えている。また、ホタテガイ養殖で行なわれる稚貝の分散作業や垂下式養殖で行なわれる耳吊り作業などはホタテガイにストレスを与え、これらの作業後にホタテガイの活力が低下しやすいことが漁業者の経験則として知られている。そのため、漁業者は、分散や耳吊り作業を行なった直後の稚貝を、海水をかけ流しにした水槽にしばらく入れて安静にさせ、活力を回復させてから海に戻すなどの工夫を凝らしている。実際に武田らは、ホタテガイに様々な環境ストレスを与えた試験を行ない、ストレスが負荷されたホタテガイは活力が低下し、酷い場合はへい死に至る危険があることを報告している¹⁾²⁾。

ここで、ホタテガイの活力と生体内エネルギー成分の関係について説明したい。ホタテガイの



図1 触手を伸ばしているホタテガイ

活力を確認する簡単な方法として、殻の開閉運動があげられる。活力の高いホタテガイは人が貝に触れるなどの刺激を与えると素早く殻を閉じる。また、図1のように口を大きく開け、外套膜から触手と呼ばれるヒゲ状のものがよく伸びている状態は、ホタテガイの活力が高く、リラックスしているときに起こるといわれている。一

*北海道ニチモウ株式会社

責任著者連絡先 (Yumi Ogata) : ogata@techakodate.or.jp

方、活力の低いホタテガイは刺激を与えたときの殻の開閉動作が鈍く、このような活力の低い貝は貝柱閉殻筋のアルギニンリン酸量が低いことが報告されている。アルギニンリン酸とは、ホタテガイの生命活動に必要な ATP を生成するためのエネルギー貯蔵の役割を果たす高エネルギーリン酸化合物である。ホタテガイは安静時に ATP のエネルギーをアルギニンリン酸として蓄え、活動時には、運動によって消費された ATP を補うため、アルギニンリン酸を消費する。生体内で ATP は呼吸によって多く生産されるため、海水中の酸素を呼吸によって体内に取り込むホタテガイにとって、海水中の酸素量は非常に重要である。

2000 年以降、北海道のホタテガイ養殖現場でナノ・マイクロバブルが利用され始めた。マイクロバブルは直径 $1\ \mu\text{m}$ 以上で $100\ \mu\text{m}$ 未満の気泡、ナノバブルは直径 $1\ \mu\text{m}$ 以下の気泡であり、ホタテガイ養殖の現場では、分散や耳吊り作業後や活ホタテガイの出荷前の活力回復の目的で使用されている。酸素ガスを使用し、海水中に酸素ナノ・マイクロバブルを発生させることで、海水中の溶存酸素量を上昇させる。前述のとおり、呼吸によって酸素を取り込むことでホタテガイの体内では ATP が作られ、エネルギー源としてアルギニンリン酸が蓄えられるため、活力が回復するというメカニズムであるが、実際に活力が低下したホタテガイに酸素ナノ・マイクロバブルを供給したときのホタテガイ生体内の ATP 量とアルギニンリン酸量は確認されていない。そこで本研究では、酸素ナノ・マイクロバブルによるホタテガイの活力回復効果をホタテガイ貝柱の ATP 量とアルギニンリン酸量により評価した。

実験試料には、北海道噴火湾で水揚げされた耳吊り用のホタテガイ稚貝（殻高 $46.8 \pm 1.6\text{mm}$ 、無作為に抽出した 20 個体について計測）を使用した。酸素ナノ・マイクロバブルの発生には北海道ニチモウ株式会社の AQUASILK（図 2）を用い、天然海水中に酸素ナノ・マイクロバブルを曝気した海水（以降、酸素ナノ・マイクロバブル海水と呼ぶ）を調製した。本実験では、陸揚げして行なうホタテガイ稚貝の耳吊り作業を想定して、干出によるストレス負荷を与えることとした。



図 2 酸素ナノ・マイクロバブル発生装置 AQUASILK（北海道ニチモウ株式会社製）

表 1 蓄養時間における海水温度と溶存酸素量

	天然海水		酸素ナノ・マイクロバブル海水	
	温度 (°C)	溶存酸素量 (mg/L)	温度 (°C)	溶存酸素量 (mg/L)
0h	15.8	10.1	17.3	38.0
0.5h	15.8	9.1	17.1	35.6
1h	15.8	8.5	17.1	37.6
2h	15.9	8.1	17.0	38.0
3h	15.9	8.0	17.0	37.8
4h	16.2	8.0	17.1	37.8
6h	16.5	8.4	17.0	37.4
24h	15.8	9.8	16.9	40.0

生きたホタテガイ稚貝を海水から取り出しプラスチック容器に並べ、ホタテガイ稚貝の ATP 量とアルギニンリン酸量を減少させるため、 10°C のインキュベーターで 27 時間保管した（干出処理と呼ぶ）。干出処理したホタテガイ稚貝を天然海水または酸素ナノ・マイクロバブル海水をかけ流した状態で短時間蓄養した。蓄養時の天然海水および酸素ナノ・マイクロバブル海水の温度と溶存酸素量は表 1 のとおりである。経時的にホタテガイ稚貝を取り出し、貝柱中の ATP とアルギニンリン酸を定量した。ATP とアルギニンリン酸の抽出液は、貝柱 1g に冷 5% 過塩素酸 25mL を加えてホモジナイズした後、遠心分離（7,000rpm、10 分間）を行ない、分離した上清を 5N 水酸化カリウム溶液で中和し、50 mL に定容して調製した。ATP は UPLC（Waters ACQUITY UPLC）により定量した。カラムには ACQUITY UPLC HSS T3 $1.8\ \mu\text{m}$ ($2.1 \times 100\ \text{mm}$ 、Waters) を用い、カラム温度 40°C 、溶離液 100 mM リン酸

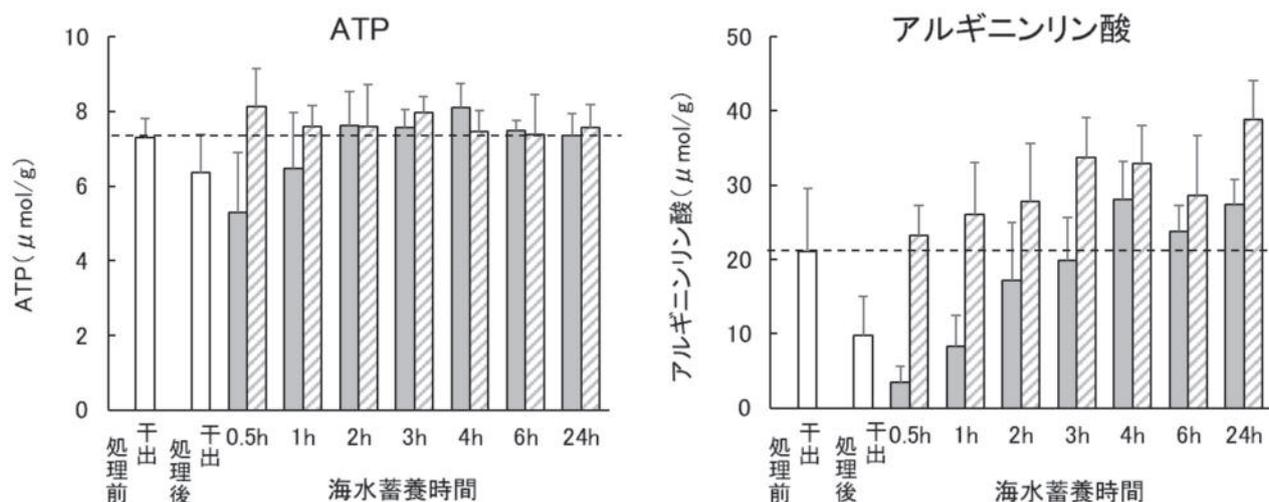


図3 酸素ナノ・マイクロバブルがホタテガイのATP量とアルギニンリン酸量の回復に及ぼす影響
 ■は天然海水区、▨は酸素ナノ・マイクロバブル海水区を、破線は干出処理前のATP量またはアルギニンリン酸量を表し、結果は平均±標準偏差 (n=5) で表した。

緩衝液 (pH 4.1)、流速 0.5 mL/min、検出波長 254 nm で分析した。アルギニンリン酸は、HPLC (日本分光 LC-2000 Plus series) により定量した。カラムには Shim-pack CLC-NH2 (6.0×150 mm、Shimadzu) を用い、カラム温度 40°C、溶離液 8 mM リン酸緩衝液 (pH 2.6)-20%アセトニトリル、流速 1.0 mL/min、検出波長 205 nm で分析した。

天然海水または酸素ナノ・マイクロバブル海水で蓄養したホタテガイ稚貝の貝柱中の ATP 量とアルギニンリン酸量の経時変化を図 3 に示した。干出処理前に 7.31 μmol/g あった ATP 量は、干出処理により 6.36 μmol/g に低下した。ATP 量が干出処理前の値に回復するまでに要した蓄養時間は、天然海水区が 2 時間であるのに対して、酸素ナノ・マイクロバブル海水区は 30 分間であった。アルギニンリン酸量は、干出処理前は 21.14 μmol/g であったが、干出処理後は 9.77 μmol/g と干出処理前の 50%以下まで低下した。アルギニンリン酸量が干出処理前の値に回復するまでに要した蓄養時間は、天然海水区が 4 時間であるのに対して、酸素ナノ・マイクロバブル海水区は 30 分間であった。干出処理により疲弊したホタテガイ稚貝の貝柱中のエネルギー成分は ATP 量の減少に比べ、アルギニンリン酸量の減少が著しく、これに対応するように天然海水区では ATP が先に回復し、次いでアルギニンリン酸が時間経過とともに回復する様子が見受けられた。本

実験では、酸素ナノ・マイクロバブル海水区は蓄養 30 分間ですでに ATP 量とアルギニンリン酸量のどちらも干出処理前の値まで回復しており、エネルギー成分の回復が非常に速かった。酸素ナノ・マイクロバブル海水区のホタテガイ稚貝の ATP 量とアルギニンリン酸量の回復時間は、天然海水区の 1/4 と 1/8 であった。

以上の結果から、酸素ナノ・マイクロバブルによるホタテガイの活力回復効果が ATP 量とアルギニンリン酸量により化学的に認められ、天然海水よりも短時間で回復できることを明らかにした。ホタテガイに様々な環境ストレスを与えた試験では、アルギニンリン酸量が 5 μmol/g 以下に低下したホタテガイは、その後、成育に適した海水 (水温 13°C、酸素濃度 8-9 mg/L) に戻してもへい死する可能性が高いことが報告されている²⁾。酸素ナノ・マイクロバブル海水による素早い酸素供給は、通常の天然海水ではへい死に至るエネルギー状態のホタテガイのエネルギー生産を助けて活力を回復させ、その後の生存率の向上に寄与すると考えられた。

参考文献

- 1) 武田忠明、櫻井泉、前川公彦、埜澤尚範：日本水産学会誌、vol.80、No.5 (2014)、pp.753-760
- 2) 武田忠明、櫻井泉、前川公彦、埜澤尚範：日本水産学会誌、vol.81、No.4 (2015)、pp.694-700