

第4章 塩分変動に対する適応

水産無脊椎動物は水圏環境下において、温度、酸素、塩分などの種々の環境要因の変化に適応して生命を維持している。これら環境要因の変化に対して内部環境の恒常性を維持するため、生物はさまざまな代謝調節機構を発展させた。このような環境適応に関する生理生態学的研究は欧米を中心に行われ、多くの成果が挙げられている (Robertson, 1964; Lockwood, 1976; Gilles, 1979; Somero & Bowlus, 1983)。環境水の塩分変動に対する適応もその一つであるが、これらの研究で興味を惹くのは、遊離アミノ酸などの低分子有機化合物が細胞内の浸透圧調節に重要な役割を担うということである。

水産動物、とりわけ海産無脊椎動物は高濃度に遊離アミノ酸を含有しており、これら遊離アミノ酸が環境水の塩分変動に対し、細胞内浸透圧調節因子、いわゆるオズモライト (osmolytes) として働くことが判明している (鴻巣・品川, 1988)。しかし、これらの研究は多くの場合、海産動物に限られ、汽水域に生息する無脊椎動物に関しては、十分な研究が行われていない。また、宍道湖をはじめ、汽水域は淡水域や海洋に比べ、塩分濃度がしばしば急激に変化するきびしい環境である。このような環境に生息するヤマトシジミは、第3章第1節において体液浸透圧が環境水の浸透圧とほぼ等浸透で、しかも広い範囲の塩分変動に耐性を示す広塩性の浸透順応型であることが判明した。浸透順応型の動物ではなによりも細胞内の浸透圧調節が重要である。

そこで本章では、細胞内浸透圧調節因子とされる有機物中、特に重要な物質である遊離アミノ酸を中心に、環境水の塩分変化に対応して、これら物質が生体内でどのように働き、浸透圧を維持しているかについて検討した。まず、第1節では塩分濃度以外の環境要因を一定にした実験室内の水槽において飼育実験を行い、塩分変化に対する遊離アミノ酸の動態を明らかにした。第2節では第1節の実験結果を実証するため、実際のフィードである宍道湖において、ヤマトシジミの生体成分と湖水の塩分変動を周年調べることにより、ヤマトシジミの生体成分とフィールド (宍道湖) の塩分変動との相関を明らかにすることを目的とした。

第1節 水槽実験での体内成分の変化

本節では、実験室において水槽飼育水の塩分濃度変化に伴うヤマトシジミの遊離アミノ酸含量の変動を調べ、浸透圧調節におけるそれら成分の役割を明らかにしようとするものである。

1-1. 異なる塩分濃度で24時間馴致したときの生体成分の変動

宍道湖は年間平均塩分約 5psu であり, Redeke (1933) の汽水の分類において, 貧鹹性汽水と - 中鹹性汽水の中間に分類される日本を代表する汽水湖である。そこに生息しているヤマトシジミがどのように細胞内の浸透圧を調節して生命を維持しているのかを明らかにするために, まず 0psu の淡水, 5psu (宍道湖平均湖水塩分) および 10psu の汽水中に 24 時間飼育したとき, 遊離アミノ酸がどのように変動するのかを調べ, 加えてアミノ酸変動の雌雄特性についても検討した。

材料および方法

試料および馴致方法 1992 年 7 月に採集したヤマトシジミの成貝 25.79 ± 2.09 mm を用いた。塩分 0 (淡水飼育), 5 および 10psu (汽水飼育) の 3 試験区の水槽 (10 ℓ) にそれぞれ 30 個体ずつを直接収容し, 24 時間馴致した。なお, 本節の飼育実験において水温は 20 ± 1 , エアーポンプによる空気曝気は行わなかった。

馴致後, 水管の刺激に対し反応のよい貝を約 20 個体選別し, 直ちに開殻, 軟体部を取り出した。次いで, 軟体部表面の水分を除くためキムワイブ上に移し, 生殖腺の色により雌雄に分別した。軟体部は雌雄別々に細切して均一に混合し, 各種分析用試料とした。

分析方法 本章では各節ごとに水分, エキス窒素, 遊離アミノ酸の測定結果を取りまとめて述べるが, エキス調製法, 水分, エキス窒素, 遊離アミノ酸, ベタイン類の分析方法はすべてに共通なので, 本節 1-1 で一括して述べ, 本節 1-2 以降では省略する。

1. エキスの調製 分析用試料約 5g を精秤し, エタノール濃度がほぼ 80% (V/V) になるように特級エタノール 16ml を加え, さらに 80%エタノールを 30ml 添加し, トリオブレンダー (トリオサイエンス株式会社製, 型式 TR-BL) で約 2 分間ホモジナイズした。次いでホモジネートを遠心分離 (3000rpm, 10 分間) し, 沈殿をさらに 80%エタノール 50ml で同様に抽出し, 合計 2 回の抽出液を 500ml 容ナス型フラスコに合一後, 減圧下でエタノールを留去した。得られた濃縮液を同量のエチルエーテルで 2~3 回脱脂し, 水槽を減圧濃縮後蒸留水で 50ml に定容し, 80%エタノールエキスとした。得られた 80%エタノールエキスをエキス窒素, 遊離アミノ酸およびベタイン類の分析に供した。

2. 水分 分析用試料の水分は, 常圧加熱乾燥法により測定した。

3. エキス窒素 セミマイクロケルダール法により測定した。

4. 遊離アミノ酸 ATTO MLC-703 型アミノ酸自動分析計を用い, 生体液の分析条件 (Table 4-1-1 および 4-1-2) に従って行った。

5. ベタイン類 ベタイン類 (グリシンベタイン, -アラニンベタイン, -ブチロベタイン, ホマリ

ンおよびトリゴネリン)の分析は、前処理として、80%エタノールエキスを Dowex 1x8(OH-) + Amberlite IRC-50(H+)の混合カラム (1×7cm)を用いて蒸留水で溶出し、溶出液を高速液体クロマトグラフィーにインジェクトした。分析条件はTable 4-1-3 にまとめた。

6. 体液塩分濃度 解剖用のメスを用いて開殻し、殻腔内部からの滴下液を体液とした。体液の塩分は海水濃度計 (アタゴ社製, サリニティ/Mill) で測定した。

分析結果の表示 遊離アミノ酸およびペタイン類の分析結果は、各試料の浸透圧への寄与率が容易に推定できるように水分 1kg 当たりのミリモル (mmol/kg water)で示し、本文中では単に mmol と省略した。また、従来の研究 (Gilles, 1979; 鴻巣・品川 1988) などから、遊離アミノ酸のうちでは、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニンおよび β -アラニンの 5 成分 (以後、この 5 成分を MAA と呼ぶ) が主要な細胞内浸透圧調節因子といわれているので、それらの合計量 (MAA-Total) と、その他の遊離アミノ酸 (以後 OAA と呼ぶ) の合計量 (OAA-Total), および遊離アミノ酸総量 (FAA-Total あるいは T-FAA) を表示した。

エキス窒素は軟体部 100g 中の窒素量 (mg) で表した。

結果

水分、エキス窒素および遊離アミノ酸の分析結果を Table 4-1-4 にまとめた。なお、主要な遊離アミノ酸、およびその他のアミノ酸合計量を別に Fig. 4-1-1 に示した。

水分含量 (Table 4-1-4) は、雌雄いずれも淡水飼育時に高く、オスで 84.1%、メスで 84.0%の値であった。5 および 10psu の汽水飼育では、塩分濃度の上昇に伴い水分含量は減少した。ことに、メスでは 0~10psu の塩分変動で 7.3%の水分の減少が観察された。

エキス窒素量 (Table 4-1-4) は雌雄とも淡水に馴致した試料が最も低く、塩分濃度の上昇に伴い、エキス窒素量は顕著に上昇した。変動量は極めて大きく、淡水飼育時(オス:63.4mg,メス:41.4mg)に対し、10psu の汽水飼育時ではオスで約 2.1 倍 (134.1mg), メスで約 3.1 倍 (130.0mg) の増加を観察し、生体内の窒素成分が環境水の塩分濃度に影響されることが示唆された。また、エキス窒素量に占める遊離アミノ酸中の窒素 (以後本文中ではアミノ態窒素と略す) の割合は低塩分域で飼育されたヤマトシジミほど低く、その傾向はオスで顕著であった。なお、アミノ態窒素の割合は淡水, 5psu および 10psu の汽水飼育において、それぞれオスで 34.1% (21.62mg), 65.0% (57.20mg), 69.3% (92.93mg), メスで 53.3%, (22.08mg) 65.0% (53.56mg), 54.3% (71.30mg) であった。

遊離アミノ酸総量 (Table 4-1-4, Fig. 4-1-1) は雌雄とも飼育水の塩分濃度の上昇に伴い顕著に増加した。すなわち、オスでは 10psu に馴致させたとき 79.71mmol を示し、淡水飼育時の総量 (15.26mmol) に比べ約 5.2 倍に増加した。メスにおいても 10psu の総量 (64.58mmol) は淡水時のそれ (15.59mmol) の約 4.1 倍に達した。

MAA (Table 4-1-4, Fig.4-1-1) では、0~10psu 間において、変動量の大きい成分は雌雄ともアラニン、プロリン、グリシン、グルタミン酸および β -アラニンであり、これら 5 成分で 0~10psu 間の遊離アミノ酸量の変動幅（以後、塩分変動による遊離アミノ酸の変動幅を総変動量と呼ぶこととする）（オス：64.4mmol, メス：49.0mmol）のそれぞれ 83.2% (53.6mmol) と 88.0% (43.1mmol) に達した。特にアラニンの変動は顕著で、総変動量の 41.1 (オス：26.5mmol) と 46.8% (メス：23.0mmol) を占めた。次いでプロリンの変動量が大きく、14.9 (オス：9.6mmol) と 19.3% (メス：9.5mmol) であった。グリシンは雌雄で変動量が異なり、オスで 8.47mmol (13.1%) とプロリンに次ぐ大きな変動を認めた。一方、メスでは 2.48mmol (5.1%) とオスの約 1/3 の変動にとどまった。グルタミン酸および β -アラニンは雌雄ほぼ同じ変化量であった。

OAA (Table 4-1-4) ではタウリン、バリンおよびオルニチンでやや大きく変動したが、ひとつの成分で総変動量の 3% を越える成分はなかった。

ベタイン類はトリゴネリンのみ検出された。0, 5 および 10psu 飼育時の値はオスでそれぞれ 0.54, 0.52, 0.91mmol, メスで 0.47, 0.56, 1.24mmol であった。塩分濃度が高いほどトリゴネリンも高含量を示すが、遊離アミノ酸の総変動量に比べ極めて少なかった。これ以後、ベタイン類の分析は行わないこととした。

考察

汽水産二枚貝の遊離アミノ酸に関する研究は極めて少なく、ヤマトシジミの軟体部中の遊離アミノ酸については、二、三の報告をみるにすぎない。その中で高橋ら (1965) は市販の試料を自動アミノ酸分析計を用いて定量している。それによると遊離アミノ酸総量は 185mg/100g (約 20mmol) と非常に少なく、最も多く検出されたアラニンでも 84mg (9.3mmol) と少なく、次いでグルタミン酸とプロリンが多少検出されたと述べている。本研究の結果と比べると淡水飼育時の遊離アミノ酸総量 (約 15mmol) に近く、高橋らの試料は水道水に浸けられた状態で市販されていたものと推測した。また、アラニン、グルタミン酸およびプロリンが多い点では一致しているが、10psu 汽水飼育の遊離アミノ酸ではグリシンも多く検出され、生息環境水の塩分濃度の差により浸透圧調節に関与する成分が異なる可能性が示唆された。一方、Matsushima *et al.* (1984) は約 10psu の汽水中で飼育したヤマトシジミを用い、鰓、外套膜、足筋中の D, L-アラニンを分析し、それら組織中に 25mmol 前後検出され、しかも D, L 比ではやや L 体のアラニンが多いと報告している。さらに浸透圧調節との関連で、淡水で飼育したヤマトシジミを 10psu の汽水に移した時の D, L-アラニンを分析し、両成分ともに増加し、L-アラニン以外に D-アラニンも浸透圧調節に大きな役割を果たすと述べている。しかし、アラニン以外のアミノ酸は分析されてなく、他成分の浸透圧調節に関しては報告されてない。本研究では D-アラニンの詳細な分析は行わなかったが、Aswad (1984) の分析方法に従い一部の試料で予備的に測定したところ、D, L-アラニンの面積比がクロマトグラム上ほぼ 1:1 であ

り、ほぼ等量の D, L-アラニンが存在するものと思われた。

ヤマトシジミ以外では、海産の広塩性斧足類の細胞内浸透圧調節に関する研究が多く行われている。その中で Pierce&Greenberg(1972)や Gilles(1972)はイガイ科の *Mitilus edulis* と *Modiolus demissus* について、通常の海水から低張海水に移行した時の閉殻筋中の、主として遊離アミノ酸の変動を調べ、タウリン、グリシン、アラニンが減少し、*M. edulis* では遊離アミノ酸以外にグリシンベタインの減少も大きかったと報告している。また、Baginski&Pierce(1978)や Deaton *et al.*(1985)は *M. edulis* の高張海水における閉殻筋の遊離アミノ酸の変動を調べ、イガイ科の貝はアラニンとグリシンの増加により浸透圧を維持していると述べている。また、鴻巣・品川(1988)は狭塩性二枚貝であるタイラギのオズモライトを調べ、タウリン、グリシン、アラニン、 γ -アラニンを浸透圧調節に寄与する成分としている。本研究の結果と比較すると、アラニン、グリシン、 γ -アラニンが環境水の塩分濃度に応じて変動する成分である点については一致するが、海産の二枚貝で多く検出されるタウリンやグリシンベタインなどは汽水産のヤマトシジミでは検出されないか、あるいは痕跡的に認められる程度で、上記 2 成分はヤマトシジミの浸透圧調節には関与しないと推定した。このように塩分濃度の異なる生息環境と遊離アミノ酸やベタイン類との関連を調べ、成分の生息環境特性を研究した例としては、タウリン(Allen&Garrett,1971;Stephen *et al.*,1983)、グリシンベタイン(Schoffeniels&Gilles,1972;Somero&Bowlus,1983)およびホマリン(Gasteiger *et al.*,1955;Beer,1967)についての報告があり、これら成分は淡水産種ではほとんど検出されず、海産無脊椎動物の浸透圧調節に関与する可能性が指摘されている。本研究において、ホマリンは検出されず、前述のグリシンベタインおよびタウリンも同様検出されなかった。この事実は海産種が利用するオズモライトをヤマトシジミは利用しない、すなわち、体内成分的にもヤマトシジミは汽水産種の二枚貝であると思われた。なお、ベタインではトリゴネリンのみが検出されたが、含量および変動量とも小さく、ヤマトシジミではベタイン類の浸透圧調節への寄与はないものと判断した。

本研究とこれらの報告を合わせて考えると、0~10psu までの塩分変動に対して、ヤマトシジミは雌雄とも D, L-アラニンが主に細胞内浸透圧調節に関与し、次いでプロリン、グリシン、グルタミン酸、 γ -アラニンが寄与するものと思われた。またグリシンにおいて、オスで浸透圧への寄与率が高く、メスで低い傾向を示したが、グリシンの浸透圧に対する雌雄差については、今後さらに検討する必要がある。

1-2 . 淡水に馴致したときの生体成分の経時変化 (低浸透圧調節における遊離アミノ酸の応答)

本章 1-1 の淡水飼育において、汽水飼育 (5, 10psu) に比べ、24 時間以内に遊離アミノ酸が激減

することが判明した。しかし、淡水飼育開始から 24 時間以内のどの時点で生体成分が減少したのかは依然不明である。そこで本研究では淡水飼育直後からヤマトシジミの体液塩分濃度および生体成分を経時的に分析し、飼育水の塩分減少（飼育水の浸透圧減少）が体液塩分濃度および生体成分量の動態にどのように影響するのかを解明するため、以下のような実験を試みた。

材料および方法

試料および馴致方法 1992年8月に採集したヤマトシジミの成貝 23.4 ± 0.94 mmを用いた。塩分3psuの汽水水槽（10ℓ）を5セット用意した。試料は直ちに各水槽中にそれぞれ約30個体ずつを収容し、約12時間順応させた。その後、5つの淡水水槽（10ℓ）に約30個体ずつを移し、0, 0.5, 1, 2, 3, 6, 24時間経過後、試料（各20個体ずつ）を水槽から取り出し、本章1-1と同様に処理した。

結果

体液塩分濃度、水分、エキス窒素および遊離アミノ酸の分析結果を Table 4-1-5（オス）および Table 4-1-6（メス）にまとめた。なお、体液の塩分濃度と水分含量の経時変化、ならびに主要な遊離アミノ酸、アミノ酸総量の変動をそれぞれ Fig. 4-1-2 と Fig. 4-1-3 に示した。

体液塩分濃度（Tables 4-1-5, 4-1-6 および Fig. 4-1-2）は馴致後6時間目まで著しく減少し、6時間目以降ほぼ一定の値で推移した。水分含量の変動（Fig. 4-1-2）は雌雄いずれにおいても淡水に馴致直後から2時間目まで急激な上昇がみられ、2時間目以降やや緩やかな増加傾向を示し、馴致後6時間で最高値を観察した。すなわち、オスで84.4から86.1%と1.7%、メスで84.7から86.7%と2%上昇した。その後、徐々に減少傾向を示し、24時間目ではオスで1%、メスで0.6%水分の低下を観察した。

エキス窒素量（Tables 4-1-5 および 4-1-6）は雌雄とも経時的に減少した。オスでは馴致直後110.5mg存在した窒素は馴致後6時間で、94mgと14.9%減少し、馴致後24時間では74.6mgと32.5%減少した。メスにおいても淡水飼育直後101.3mgの窒素は馴致6時間で92.1mgと9.1%減少し、飼育後24時間では、60.3mgと40.5%の大幅な減少を認めた。また、エキス窒素量に占めるアミノ態窒素（以後、本論文では遊離アミノ酸中の窒素をアミノ態窒素とよぶこととする）の割合も徐々に減少し、オスでは馴致開始前で42.5%（46.96mg）を占めたアミノ態窒素が24時間の淡水馴致で24.8%（18.48mg）まで激減した。メスにおいても馴致直後45.2%（45.74mg）が24時間経過後に25.3%（15.29mg）まで減少し注目された。

遊離アミノ酸総量（Tables 4-1-5, 4-1-6 および Fig. 4-1-3）は雌雄とも馴致時間の経過に伴い減少した。オスの減少率は馴致直後（34.45mmol）から2時間で23.6%（26.32mmol）、6時間で36.2%（21.97mmol）、24時間では64.8%（12.14mmol）減少した。メス（馴致直後33.84mmol）にお

いても、6時間で39.2% (20.56mmol)、24時間で69.7% (10.24mmol) 減少した。

MAA (Fig. 4-1-3) では、淡水馴致2時間までにアラニンやグリシンの急激な減少が認められ、その後24時間までは緩やかに減少した。24時間経過後において減少量の最も大きい成分は雌雄ともアラニンで、1成分で総変動量(オス:22.31mmol,メス:23.6mmol)のそれぞれ42.7%(9.52mmol)、55.2%(13.02mmol)に達し、特にメスの変動率が大きいのが目立った。次いで、グリシンの変動が大きく、総減少量に対する雌雄それぞれの減少率は26.3%(5.87mmol)と10.6%(2.49mmol)を占めた。また、グリシンの変動はアラニンと異なりオスの変動率の大きいのが注目された。次いでグルタミン酸の変動が大きく、しかも雌雄間にあまり相違はみられず、それぞれ7.9%(1.76mmol)と9.2%(2.17mmol)減少した。これら主要3成分で雌雄それぞれ総減少量の約80%(18.0mmol)と75%(18.81mmol)を占めた。プロリンおよびγ-アラニンは雌雄とも絶対量が少なく、減少量に対する貢献度は低かった。

考察

ヤマトシジミをはじめとする二枚貝は、環境水の塩分濃度の変化に対し、細胞内の遊離アミノ酸プールをコントロールして細胞内浸透圧を調節している。そして、これらの組成は生息環境の塩分濃度や種によって異なり、また分布は特定の少数の成分に偏っている場合が多いことが知られている(Robertson, 1964; Lockwood, 1976; Gilles, 1979; Somero&Bowlus, 1983; 鴻巣・品川, 1988)。これらを総合すると、浸透圧調節や細胞容積調節に關与する主な成分は組織中に高濃度に含まれる限られた数の成分であることが多い。

本研究においても前項で、組織中に高濃度に検出されたアラニン、プロリン、グルタミン酸、グリシンおよびγ-アラニンがオズモライトとして浸透圧調節に寄与していることを示し、加えて雌雄の違いにより成分間で浸透圧調節への寄与度が違うことも明らかにした。しかし、前項の実験は飼育水の塩分濃度を変えてから24時間後の時点の成分変化にすぎず、経時的な動態は捉えていない。そこで、まず本項では通常の生息環境より塩分濃度が低い環境、すなわち淡水飼育(低浸透圧環境)における体液塩分、水分含量、遊離アミノ酸などの変動について実験を行った。これによると、体液塩分濃度は馴致3時間目に顕著な減少を認め、6時間以降24時間までほぼ一定の値で推移した。また、水分含量は雌雄とも6時間まで増加したが、6時間以降24時間までに減少した。遊離アミノ酸の変化では、対照試料(飼育開始直前の試料)中に多く検出されたアラニン、グリシン、グルタミン酸が大きく減少し、飼育開始2時間で対照試料の20%以上の減少が認められ、6時間で約40%、24時間で70%弱と初期の減少速度が早く、浸透圧変化に即座に反応することがわかった。

汽水や淡水に生息する二枚貝の浸透圧調節や細胞容積調節に關する報告は、海産の二枚貝に比べ非常に少ない。しかもヤマトシジミと同科に屬する二枚貝について報告した例は極めて乏しい。Gainey (1978a, b) は、淡水から20psuに生息する *Polymesoda caroliniana* および淡水に生息する

Corbicula manilensis を用い、低浸透圧調節における体液浸透圧の変化、細胞容積調節、そして遊離アミノ酸の変化を経時的に調べている。これによると体液浸透圧が一定のレベルまで低下するのに要する時間（淡水順応時間）は、汽水産の *P. caroliniana*（約 20 時間）の方が淡水産の *C. manilensis*（約 9 時間）より長かった。これに対し、ヤマトシジミの体液の塩分濃度の変化は、6 時間でほぼ一定の値に達することから、淡水に生息している *C. manilensis* の体液浸透圧変化と類似した。これより、汽水に生息するヤマトシジミは淡水に即座に順応できると思われる。

また、低浸透圧に対応した volume 調節は、*P. caroliniana*、*C. manilensis* とともに淡水馴致後 6 時間でもとの volume に戻ることが確認されている。本研究においても水分含量の変化からヤマトシジミは 24 時間までにある程度の水分調節を行い、細胞容積をコントロールする可能性が示唆された。

さらに低浸透圧における浸透圧調節において、*P. caroliniana*、*C. manilensis* とともに、最も重要な成分はアラニン、次いでグルタミン酸であり、他の成分では、*P. caroliniana* でグリシン、セリン、タウリン、*C. manilensis* でグリシン、セリン、プロリンが浸透圧調節に寄与していたと述べられている (Gainey, 1978a, b)。本研究においても、遊離アミノ酸で最も重要な成分はアラニンで、次いでグルタミン酸とグリシンが浸透圧調節に関与する点では一致しているが、セリンやタウリンが浸透圧調節に寄与する点でヤマトシジミのオズモライト組成とは違いがみられた。また、ヤマトシジミでは、グリシンの浸透圧調節に対する寄与度はメスよりオスで高いことが本実験から示唆された。

本研究において注目されたのは、エキス窒素に占めるアミノ態窒素の割合が低浸透圧調節の進行とともに低下することである。また、アミノ態窒素以外の窒素量では淡水馴致後 2~3 時間で減少し、その後やや増加傾向を示した。アミノ態窒素以外の含窒素成分としてはペプチド、核酸関連物質などがある。そのうち、遊離アミノ酸と最も関連する物質としてペプチドが挙げられる。ヤマトシジミが低浸透圧に曝された時、細胞内の浸透圧を調節するためには、まず細胞内のアラニンなど遊離アミノ酸を細胞外に放出して浸透圧を維持し、次に、放出されたアミノ酸を再利用するため外界に放出せず浸透圧維持と無関係な高分子のペプチドに合成し、変動しやすい環境に備えていると考えられる。これに関しては今後さらに研究の必要があろう。なお、Bedford (1971) は細胞内浸透圧の調節に利用される遊離アミノ酸と水溶性のタンパク質の関係を調べ、アミノ酸レベルが低下すると水溶性タンパク質含量がやや増加すると述べている。

本研究では 3psu から淡水への馴致であり、プロリンや γ -アラニンなどの遊離アミノ酸は初期値が極めて低い状態であった。仮に、10psu からの淡水移行であれば上記 2 成分も相当量減少したものと考えられ、より高塩分からの低浸透圧調節を今後検討する必要がある。

1-3. 淡水から汽水（5 および 10_{psu}）に馴致したときの生体成分の経時変化（高浸透圧調節における遊離アミノ酸の応答）

本章 1-1 において、ヤマトシジミの生体成分含量は生息する環境水の塩分濃度に大きく影響され、環境塩分濃度が高いほど遊離アミノ酸含量は増加することが判明した。また、1-2 において、3_{psu} の汽水から淡水に移行したヤマトシジミの生体成分を分析したところ、淡水飼育後 6 時間で遊離アミノ酸などの生体成分が飼育直後の約 2/3 まで減少し、24 時間後では約 1/3 まで激減することが判明した。ここでは、淡水飼育により減少したヤマトシジミの体液塩分および生体成分の動態を精査するため、淡水飼育後汽水環境（5 および 10_{psu}）に戻し、経時的に生体成分の分析を行った。

材料と方法

試料および馴致方法 1993 年 1 月に採集したヤマトシジミ成貝 $22.81 \pm 0.78\text{mm}$ を用いた。試料は直ちに淡水水槽（40 ℓ）中に收容し、約 12 時間順応させた。その後、5 および 10_{psu} の異なる塩分濃度の汽水水槽（40 ℓ）に移し、0、2、4、6、10、24 時間経過後、試料（各 20 個体）を水槽から取り出し、本章 1-1 と同様に処理した。なお、本実験における飼育水温は 15 ± 1 であった。

結果

5 および 10_{psu} 汽水飼育におけるヤマトシジミの水分、エキス窒素、遊離アミノ酸および体液塩分濃度の分析結果をそれぞれ Table 4-1-7 および Table 4-1-8 にまとめた。また、5 および 10_{psu} 飼育時の成分変動を比較するため、体液塩分濃度と水分含量は Fig. 4-1-4 に、エキス窒素、主要アミノ酸総量およびその他のアミノ酸総量の変動については Fig. 4-1-5 に、主要な遊離アミノ酸の変動については Fig. 4-1-6 に示した。

淡水から 5_{psu} の汽水に馴致させた時の各成分変動 (Table 4-1-7) をみると、体液の塩分濃度 (Fig. 4-1-4) は馴致後 2 時間で 5 から 7_{psu} まで上昇し、その後ほぼ一定の値で 24 時間まで推移した。水分の変動 (Fig. 4-1-4) では馴致後 2 時間で明確な減少がみられ、4 時間目以降は 80% 前後とほぼ一定の値であった。

エキス窒素量 (Fig. 4-1-5) は経時的に増加し、馴致直後 52.09mg 検出された窒素量は馴致後 4 時間で 66.01mmol まで上昇し、24 時間経過では 95.73mg と馴致直後の値と比較し、1.8 倍の増加を認めた。また、エキス窒素量に占めるアミノ態窒素の割合は調べた試料すべて 50% 前後でほとんど変動しなかった。

遊離アミノ酸総量 (Table 4-1-7, Fig. 4-1-5)は馴致時間の経過に伴い緩やかに増加した。増加量は馴致直後 (19.39mmol) から4時間で1.31倍 (25.47mmol) , 10時間で1.6倍 (31.67mmol) , 24時間で2.1倍 (41.43mmol) であった。

MAA (Table 4-1-7, Fig. 4-1-6) では, アラニン, グルタミン酸, プロリン, グリシンの4成分が5psu 汽水中に移行後から24時間まで緩やかに増加した。増加量の最も大きい成分はアラニンで, 総変動量 (22.04mmol) の27.6% (6.09mmol) を示した。次いでグルタミン酸が13.9% (3.07mmol) 増加したが, プロリンやグリシンの増加量はさほど大きくなかった。また, γ -アラニンは24時間時点で増加は認められなかった。OAA ではグルタミンがグルタミン酸に次ぐ増加量を示し注目された。

淡水から10psu のやや塩分濃度が高い汽水中に馴致させた時の各成分変動 (Table 4-1-8) では, 体液の塩分濃度は馴致後2時間で5から10psu まで急激に上昇し, その後24時間まで緩やかな上昇を示した (Fig. 4-1-4)。水分の変動は83.04% (馴致直後の対照試料) の水分が10psu 汽水に移行後2時間で78.51%まで急激に低下し, 10時間目に約80%まで上昇したが再び低下し, 24時間ではほぼ78%であった (Fig. 4-1-4)。

エキス窒素量 (Fig. 4-1-5) は馴致直後52.09mg 認められた窒素量は馴致後6時間で95.82mg まで急激に上昇した。その後緩やかに増加し, 24時間経過では135.66mg と対照試料の窒素量に比べ, 2.6倍の増加を認めた。エキス窒素量に占めるアミノ態窒素の比率は馴致後6時間までは50%前後でほとんど変動しなかった。しかし, 10時間と24時間ではアミノ態窒素の割合がそれぞれ45.5%と38.8%まで減少した。

遊離アミノ酸総量 (Table 4-1-8, Fig. 4-1-5) は馴致後4時間まで急激に増加し, 以後24時間まで緩やかに上昇した。増加量は馴致直後 (19.39mmol) から4時間で2.1倍 (40.53mmol) , 24時間では2.7倍の52.69mmol まで増加した。

MAA (Table 4-1-8, Fig. 4-1-6) の変動では, アラニン, グルタミン酸およびプロリンの3成分は10psu 汽水に順応後4時間まで急激に増加した。4時間以降, アラニンとプロリンは24時間まで緩やかに増加した。しかし, グルタミン酸は10時間以降増加はほとんど認められなかった。グリシンは24時間まで徐々に増加した。しかし, γ -アラニンは24時間経過時点では対照試料の含量 (0.32mmol) より低かった。それら成分中, 24時間時点で最大増加量を示した成分はアラニンで, 総変動量 (33.3mmol) の46.6% (15.52mmol) を占めた。次いでグルタミン酸, グリシン, プロリンの順で増加量が多く, これら4成分で総変動量の約70%に達した。OAA では5psu 汽水馴致実験と同様グルタミンの増加が目立ったが, 上記4成分ほどの増加は認められなかった。

考察

前項1-2では低浸透圧調節における成分変動について調べた。そこで, 本項では淡水馴致させた

ヤマトシジミを 5 および 10psu の汽水環境（高浸透圧環境）に移し，経時的な体液塩分，水分，遊離アミノ酸などの変動について実験した。その結果，体液塩分濃度は馴致後 2 時間でかなりの上昇を認め，以後 24 時間まで徐々に上昇した。水分含量も 2 時間～4 時間までに急激に減少したが 6 時間以降ほぼ一定の値であった。遊離アミノ酸の変化では，5psu と 10psu 飼育で変化の様相が異なった。5psu では水分含量の変化と異なり成分の急激な変化は認められず，24 時間まで緩やかに上昇した。一方，10psu では水分含量や体液の塩分同様の急激な変動を示す成分と緩やかに変動する成分が認められた。すなわち，アラニン，グルタミン酸，プロリンが，まず環境水の浸透圧の変化に即座に应答して上昇し，高浸透圧環境が持続されると，アラニン，プロリンが徐々に増加する。グルタミン酸はある程度の含量以上には増加しなかった。これはグルタミン酸が他の物質，たとえばプロリンなどの前駆体として働く可能性（Campbell & Bishop, 1970）を示唆するものである。グリシンは浸透圧の急激な変化に対して，前 3 者と異なり 緩やかに増加し続けた。アラニンは，増加量は多くないものの 12 時間まで変動し，アラニンなどと同様の変動を示した。しかし，24 時間経過時には減少しており，浸透圧変化に対し即時的に应答する成分と思われる。

このように高浸透圧調節において，浸透圧の変動幅の違いにより浸透圧調節物質の挙動が異なる可能性が示唆された。

汽水や淡水に生息する二枚貝を用いた高浸透圧調節に関する研究には，Gainey (1978a, b) の報告がある。彼は 20psu までの汽水に棲息する *Polymesoda caroliniana* および淡水に棲息する *Corbicula manilensis* を用い，淡水飼育から高浸透圧環境移行における，細胞容積調節，体液浸透圧および遊離アミノ酸の変化を経時的に捉えている。これによると，体液浸透圧の変化速度は汽水産 *P. caroliniana* の方が淡水産の *C. manilensis* より高塩分に対応する時間が短く，前者は約 8 時間を要したのに対し，後者では約 12 時間でほぼ一定のレベルに達したと報じている。本研究においても，ヤマトシジミは体液の浸透圧を外界とほぼ等浸透にするのに要する時間はほぼ 4 時間で速やかに対応しており，淡水馴致（前項 1-2）時よりも対応が速く，ヤマトシジミの至適環境水が汽水域にあることを証明している。

また，Gainey (1978a) は，汽水産 *P. caroliniana* の高浸透圧における細胞容積調節は低浸透圧時よりも長時間を要し，約 36 時間かかるが，淡水産の *C. manilensis* では高浸透圧の環境では細胞容積調節はできなかつたと報告している。ヤマトシジミは水分含量の変化からある程度の水分調節を行い，細胞の容積を調節すると推定される。

さらに，高浸透圧における浸透圧調節において，*P. caroliniana*，*C. manilensis* ともアラニンが最も重要な成分であり，他の成分では，*P. caroliniana* でグルタミン酸とグリシン，*C. manilensis* でグルタミン酸が浸透圧調節に寄与していたと述べている。本研究においても，遊離アミノ酸で最も重要な成分はアラニンで，他にグルタミン酸，グリシンが浸透圧調節に寄与する点では一致しているが，ヤマトシジミではプロリンも関与する点で違いがみられた。

本節 1-2 同様，注目されたことは，エキス窒素に占める遊離アミノ酸の窒素以外の含窒素成分の

割合が、高浸透圧調節の進行とともに顕著に増加することである。Bedford(1971)は巻貝(*Siphonaria zelandica*)を用いて高浸透圧調節時の遊離アミノ酸とタンパク質の関係を調べ、遊離アミノ酸の上昇とともにタンパク質含量の低下を認めている。本研究においては遊離アミノ酸以外のエキス窒素成分の増加はタンパク質からの分解によるペプチド成分の増加とも考えられ、今後検討する必要がある。

ヤマトシジミの高浸透圧に対する遊離アミノ酸の応答は、塩分濃度の変動幅により異なることがわかった。すなわち、変動が大きい時はアラニン、グルタミン酸およびプロリンが速やかに対応し、グリシンは遅れて増加することがわかった。また、浸透圧調節に最も寄与する成分はL-アラニンおよびD-アラニンで、次いでグルタミン酸、プロリンおよびグリシンが多少関与していると思われる。

なお、ヤマトシジミが棲息している通常の塩分域(10psu までの汽水環境)では、細胞内の浸透圧を環境水の浸透圧と等浸透にするために、約24時間あるいはそれ以上の時間を要すると考えられる。しかし、本研究は24時間までの実験であり、24時間以降の遊離アミノ酸などの変動については今後の研究課題である。

1-4. 高塩分域で長期間馴致したときの

生体成分変動

これまでの研究により、ヤマトシジミの生息環境水より低張な環境水、すなわち淡水に馴致させた場合、飼育2時間で生体成分の減少が観察され、24時間後には馴致前に比べ約70%もの遊離アミノ酸が減少した。また、淡水に順応させたヤマトシジミを汽水に再順応させた場合、生体成分の変動は淡水馴致に比べやや緩やかだが、飼育4時間で顕著な生体成分の上昇が認められ、馴致塩分濃度により異なるが、24時間後では馴致直後より相当量の遊離アミノ酸の上昇を認めた。これらより、ヤマトシジミが生息している通常の塩分域においては、細胞内の浸透圧を環境水の浸透圧と等浸透にするために約24時間を要すると推測された。しかし、10psuよりも高張な環境水における細胞内浸透圧調節については検討されていないのが現状である。そこで、15psu以上の高塩分域に7日間馴致させたときの生体成分の変動を調べた。

材料および方法

試料および馴致方法 本節1-3と同様の試料および水槽を用いた。試料を5psuの汽水水槽(40ℓ)中に収容し、約48時間順応させた。その後まず、塩分濃度15psuの水槽に移し7日間順応させ、次に塩分濃度20psuの水槽に移しまた7日間順応させた。同様の手順でより高い塩分濃度の25、30お

よび 35psu に順次移し、それぞれの濃度の水槽で 7 日間ずつ順応させた。各濃度で 7 日間の順応後、それぞれの水槽から試料を取り出し、本章 1-1 と同様に処理した。

結果

体液塩分濃度、水分、エキス窒素、遊離アミノ酸の分析結果を Table 4-1-9 にまとめた。なお、水分、エキス窒素量の変動については Fig. 4-1-7 に、主要な遊離アミノ酸およびその他のアミノ酸総量の変動については Fig. 4-1-8 に示した。

体液塩分濃度 (Table 4-1-9) は 7 日間にわたる長期馴致により、どの水槽においても、その水槽の塩分濃度より、2 から 3psu 高い体液塩分濃度を示した。また、水分含量は塩分濃度の上昇に伴い緩やかに減少した。

エキス窒素量 (Table 4-1-9, Fig. 4-1-7) は 5psu で馴致したときの試料 (対照試料) 中に 90.9mg 存在し、塩分濃度の上昇に伴い、顕著な増加を示した。すなわち、塩分 15psu では対照試料の 1.9 倍 (170.8mg)、20psu で 2.4 倍 (214.7mg)、25psu で 2.6 倍 (234.8mg)、30psu で 2.8 倍 (256.6mg)、35psu では 3.1 倍 (283.8mg) とほぼ直線的に上昇した。エキス窒素量に占めるアミノ態窒素の割合は 5psu の対照試料で 50%であったが、15psu 以上の塩分濃度で順応したほとんどの試料は 80%を越え、30psu および 35psu のほぼ海水に等しい環境で順応した試料は約 90%の比率を占めた。

遊離アミノ酸総量 (Table 4-1-9) は馴致水槽の塩分濃度の上昇に伴い、顕著に増加した。増加量は対照試料 (30.03mmol) と比べ極めて大きく、それぞれ、15psu で 4 倍 (119.32mmol)、20psu で 4.9 倍 (146.74mmol)、25psu で 5.7 倍 (172.19mmol)、30psu で 6.9 倍 (206.70mmol)、35psu では 7.5 倍 (225.5mmol) であった。

MAA (Table 4-1-9, Fig. 4-1-8) の変動は、5psu から 15psu への移行により主要 5 成分の顕著な増加が認められた。増加量の最も大きい成分はアラニンで、総増加量 (89.29mmol) の 79.2% (70.68mmol) に達した。次いでグリシン 6.1% (5.43mmol)、グルタミン酸 5.3% (4.7mmol)、プロリン 4.3% (3.85mmol)、 γ -アラニン 1.5% (1.33mmol) それぞれ増加し、主要 5 成分で総増加量の 96.3% (85.99mmol) を占めた。15psu から 20psu への移行では、グルタミン酸含量の増加は認められなかった。一方、他の 4 成分は増加し、中でもアラニンの増加が大きかった。20psu から 25psu および 25psu 以上の塩分濃度における馴致では、グルタミン酸以外に γ -アラニンもほぼ一定の値で推移した。他方、アラニン、プロリン、グリシンの 3 成分は 35psu への移行まで増加し続けた。

OAA (Table 4-1-9) の増加はほとんどなく、むしろ減少傾向を示す成分が多かった。

考察

前項 1-3 において、5 および 10psu の高浸透圧環境における経時的な成分変動について調べた。ここでは 15psu ~ 35psu (通常海水の塩分濃度) までの成分変動を調べた。

水分含量の変動では、環境水の塩分濃度が 5psu から 35psu と大幅に増加したにもかかわらず組織中の水分は約 4% の変動しか示さず、細胞内の水分を調節していると思われる。二枚貝の水分調節に関しては、汽水産の *Polymesoda caroliniana* は高浸透圧下で細胞の容積をコントロールできると報告されており (Gainey 1978a)、本研究においても同様の傾向が伺える。

遊離アミノ酸の変動では、35psu まで連続的な上昇を示す成分はアラニン、プロリンおよびグリシンであった。しかも、この 3 成分は環境水の浸透圧の上昇に伴い、アミノ酸総量に占める割合が大きくなった。そのうち、アラニンが最も大きく、5psu (対照試料) で 31.1%、15psu で 67.1%、20psu で 70.8%、25psu で 74.0%、30psu で 75.9%、35psu で 76.3% を占め、ヤマトシジミの細胞内浸透圧調節にはアラニンが不可欠で、しかも高浸透圧環境ほど重要な役割を演ずることがわかる。次にプロリンとグリシンもアラニンと同様の挙動を示したが、貢献度はアラニンの 1/10 以下であることも判明した。グルタミン酸は 20psu 以降減少したが、プロリンなど他のアミノ酸の前駆体としての役割があり重要な成分と判断される。外界の塩分濃度変化が遊離アミノ酸の代謝におよぼす影響については、これまで甲殻類や軟体類の一部で行われ、その代謝が部分的に明らかになりつつある (Gilles 1975, 1979)。それによると細胞内浸透圧に主要な役割を演ずるアラニン、グリシン、プロリン、グルタミン酸は、解糖または TCA 回路の中間生成物へのアミノ基の付加により合成され、ピルビン酸からアラニン、3-ホスホセリンからグリシン、 α -ケトグルタル酸からグルタミン酸やプロリンが生成される。すなわち、甲殻類や軟体類の水産生物を高張海水に移行したとき、はじめにおこる細胞内の無機イオンレベルの増加がグルタミン酸脱水素酵素を活性化させ、グルタミン酸濃度を高め、次いでグルタミン酸濃度の増加はプロリン濃度を高め、同時にアミノ基供与体としてアラニンとグリシンの生成を促進するという。グルタミン酸は代謝回転が速く、他の成分の前駆体として働くほか、グリシンやアラニンより分子量が大きいこともグルタミン酸蓄積へ偏らない要因と考えられる。

ヤマトシジミのような汽水産の二枚貝を海水まで馴致させ、細胞内の遊離アミノ酸を測定した例はない。また、アラニンのような一成分が遊離アミノ酸総量の 70% を越える組成を示す二枚貝もこれまで認められていない。アラニン含量が多い二枚貝としてはウバガイ (高木ら、1970) やハマグリ (高橋・浜口、1963) などがあるが、アラニン含量は遊離アミノ酸量の多くても 30% 含まれる程度という。

汽水産種以外の二枚貝における高浸透圧時の細胞内浸透圧調節に関して、Bagibski & Pierce (1977)、Deaton *et al.* (1985) および Fuke *et al.* (1993) は *Mytilus edulis* を用いて遊離アミノ酸の変動を調べ、アラニンとグリシンおよびタウリンにより浸透圧を維持していると報告している。本研究でもアラニンとグリシン含量の上昇を認めたが、タウリンは海産種の浸透圧調節因子で、ヤマトシジミにははじめからさほど検出されない点で海産種との違いがみられた。

本節 1-2 および 1-3 と同じように注目されたことは、エキス窒素に占めるアミノ態窒素の割合が

高浸透圧環境に伴い上昇する点である。このことは解糖系による遊離アミノ酸合成以外にペプチドなどの分解によりアミノ酸の細胞内蓄積が進行しているものと考えられる。

以上より、汽水産種のヤマトシジミの極めて高い浸透圧環境における細胞内浸透圧調節因子は主にアラニンで、さらにプロリンとグリシンが多少寄与していると結論できる。

第2節 フィールドでの適応

(湖水塩分とヤマトシジミ生体成分の季節変動)

本章第1節において、室内実験、いわゆる人為的塩分環境操作におけるヤマトシジミ生体成分の変動について述べた。その結果、環境水の浸透圧の変化に伴い、生体内の遊離アミノ酸が大きく変動し、細胞内の浸透圧を調節していることが判明した。しかし、フィールド、すなわち宍道湖に生息するヤマトシジミの生体成分が湖水塩分濃度の変動にどのように対応するかについてはいまだ検討されていない。また、一般に動物の生体成分は、季節（鴻巣，1971）あるいは部位（鴻巣，1992）により異なることが多く、ことに水産動物は陸上動物に比べて生殖周期（須山，1992）による変化が大きいことが知られている。加えて、土用シジミと称されるようにヤマトシジミの食味が季節により変化する可能性があることから、呈味に関連の深いエキス成分、特に遊離アミノ酸が季節により変動すると予想される。そこで本節では、宍道湖の湖水塩分濃度とヤマトシジミの生体成分の季節変動をほぼ2年間にわたり実施し、生体成分の変動とその要因について検討した。

材料および方法

試料 1993年1月から1994年11月の23カ月にわたり宍道湖の玉湯禁漁区域で採集したヤマトシジミを用いた。試料は殻長約20mm前後のものを使用し測定は行わなかった。

分析方法 1.湖水塩分濃度：第3章第1節の方法と同様に行った。2.体液ナトリウム濃度：体液のナトリウム濃度は堀場製作所製（Model C-122）ナトリウムイオンメーターにより測定した。

結果

1993年1月から1994年11までにおけるヤマトシジミ軟体部中の水分、エキス窒素、遊離アミノ酸、湖水塩分濃度、体液塩分濃度および体液ナトリウム濃度の分析結果をそれぞれTable 4-2-1にまとめた。また、湖水塩分濃度と各成分の関係を明確にするため、湖水塩分と水分、体液塩分濃度、体液ナトリウム濃度、アミノ酸総量およびエキス窒素の変動についてはFig. 4-2-1、湖水塩分と主

要な遊離アミノ酸の変動については Figs. 4-2-2 および 4-2-3 に示した。なお、湖水塩分濃度と各成分の相関関係を Figs. 4-2-4 および 4-2-5 に示した。

ヤマトシジミの水分含量は平均値 $79.8\% \pm 1.4$ で 77.60% から 82.61% の範囲で変動し、季節による明確な特徴はなかった。湖水塩分濃度との関係 (Fig. 4-2-1) では 1993 年 7 月以降の湖水塩分の低下とともに水分含量の上昇を観察したが、1994 年以降の湖水塩分濃度の上昇に伴い、水分含量も増加し、両者間に明確な相関は認められなかった。なお、湖水塩分と水分含量の一次相関を算出したところ、 $y=0.0501x+79.6$ 、 $r=0.122$ となり、両者の間にはほとんど相関がないことがわかった。

体液の塩分濃度は $5.3\text{psu} \sim 24.6\text{psu}$ の広い範囲で変動しており、水分含量同様、季節による特徴的な変化は認められなかった。しかし、湖水塩分濃度との関係では、1994 年の 10、11 月以外の調査したすべての月で類似した変動パターン (Fig. 4-2-1) を示した。また、一次相関 (Fig. 4-2-4) では $y=0.9428x+8.275$ 、 $r=0.766$ となり、2 成分間には危険率 1% 以下で有意の強い相関があることがわかった。

体液ナトリウム濃度 (Figs. 4-2-1, 4-2-4) も体液塩分濃度と同様の変動パターンを示した。湖水塩分と体液ナトリウム濃度間の相関関係は ($y=1807.8x+3984.6$ 、 $r=0.903$) 危険率 1% 以下で有意に、極めて強い相関があると判定された。

エキス窒素量 (Fig. 4-2-1) は $67\text{mg} \sim 176\text{mg}$ とかなりの幅で変動した。また、エキス窒素の季節変動には明瞭な特徴は認められなかった。湖水塩分濃度と共通した曲線を描き、一次相関も $y=6.904x+74.74$ 、 $r=0.783$ の関係式が得られ、危険率 1% 以下で有意に 2 成分間には強い相関があると判定された。さらに、エキス窒素量の変動曲線は体液塩分の曲線と類似しており、相関係数を求めたところ $r=0.879$ 、危険率 1% 以下で有意であった。このことよりエキス窒素の変動は、湖水塩分量より体液塩分濃度との間により深い関わりがあることがわかった。

遊離アミノ酸総量 (Fig. 4-2-1) は $23.72\text{mmol} \sim 100.25\text{mmol}$ の範囲で 4 倍以上変動した。しかし、明確な季節変動は認められなかった。湖水塩分濃度との相関は $y=5.092x+17.903$ 、 $r=0.868$ 、危険率 1% 以下でエキス窒素と湖水塩分との関係より強い相関を示した。加えて、遊離アミノ酸総量も体液塩分濃度とより強い相関 ($r=0.911$) が有り注目された。

MAA5 成分 (Figs. 4-2-2, 4-2-5) の変動には季節による明確な特徴は認められなかった。各成分と湖水塩分とで一次相関をもとめたところ、危険率 1% 以下でそれぞれ Fig.4-2-5 に示す通りとなった。湖水塩分との相関はアラニンが最も強く、次いでグルタミン酸、グリシン、 γ -アラニン、プロリンの順で湖水塩分と強い相関があると判定された。MAA の変動量は グルタミン酸 $2.18\text{mmol} \sim 6.57\text{mmol}$ 、プロリン $0.45\text{mmol} \sim 3.81\text{mmol}$ 、グリシン $0.62\text{mmol} \sim 8.94\text{mmol}$ 、アラニン $5.7\text{mmol} \sim 42.42\text{mmol}$ 、 γ -アラニン $0.39\text{mmol} \sim 4.58\text{mmol}$ の範囲で変動し、5 成分合計の遊離アミノ酸総量に占める割合も $43.7\% \sim 71.7\%$ と高い比率を示した。そのうち、変動量の最も大きい成分はアラニンで、遊離アミノ酸総量の $24.1\% \sim 47.2\%$ に達した。以上より浸透圧調節のためにアラニンが深く関与する可能性が示唆された。

考察

これまでの結果により、ヤマトシジミは環境水の塩分濃度変化に対応して遊離アミノ酸が変動し、特にアラニンの変動により浸透圧を維持していることが判明した。しかし、実際のフィールドに棲息するヤマトシジミの生体成分が湖水塩分の影響を受けるか否かについてはこれまで不明であった。そこでほぼ2年間にわたり湖水塩分濃度とヤマトシジミ生体成分を分析した。

それによると、調べた生体成分には一定の季節変動は認められず、水分含量を除く、ほとんどの成分変動は湖水の塩分と強い相関があることが判明した。

これまで二枚貝の各種成分の季節変動に関しては、高木・清水(1963)がアサリ、マガキ、マシジミおよびムラサキガイの一般成分(水・炭水化物・タンパク質・脂質)およびエキス窒素などを、特に味との関連で調べている。これによるとマガキはエキス窒素量、アミノ態窒素量、遊離アミノ酸含量に明確な季節変動があったが、アサリ、マシジミ、ムラサキガイには明瞭な季節的变化は認められていない。マガキの遊離アミノ酸の季節変動については、Sakaguchi & Murata(1989)が詳細に検討し、グルタミン酸、アラニン、グリシン、プロリンなどの呈味性のあるアミノ酸含量が冬から早春に最大値を示し、夏季に最小になることを報じている。佐伯・熊谷(1989a, b)はヤマトシジミの一般成分ではいずれの成分も季節変動を認めているが、塩分変化との関係については検討されていない。本研究では水分含量や各種成分に明確な季節変動はなく塩分との相関が強かった。

遊離アミノ酸などの成分は生殖周期により大きく変化することが知られている(須山, 1992)。しかし、本研究の成分変化は生殖周期(丸, 1981)とも明確な相関は認められなかった。たとえば、産卵・放精が終了する9, 10月は成分含量が低いと予想される。確かに1993年の9, 10月はほとんどの成分で低い値を示したが、1994年では同時期ほとんどの成分で高い値を示し逆の結果が得られた。

汽水域に生息するヤマトシジミの場合、その体内成分の変化は、環境水塩分濃度と密接な関わりを持っており、そして環境水塩分濃度の季節変化は、年によって大きく異なることがある。したがって、ヤマトシジミのように汽水域に生息する二枚貝では、生活史特性と同時に環境塩分の変動も把握しながら生体内成分の季節変動を論議することが大切である。

以上より、本研究で調べたヤマトシジミの生体成分は明確な季節変動は認められず、湖水塩分濃度の変動に対応して変化することが判明した。また、ヤマトシジミは塩分変動の激しい汽水湖において、細胞内の遊離アミノ酸、中でもアラニンをダイナミックに作用させ、細胞内の浸透圧を調節することが推定された。

Table 4-1-1. Analytical conditions of free amino acid.

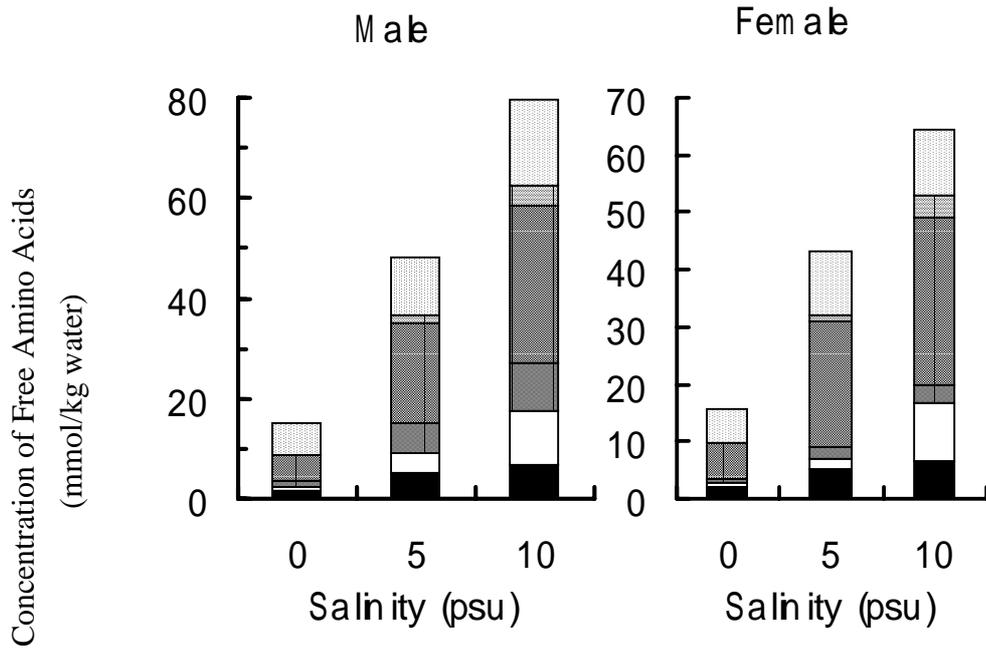
Ion exchange	DIAION CKIOS (Lithium Form)
Column size	4.0 ϕ x 250 mm
Flow rate	Buffer, 0.4 ml / min Nihydrin, 0.3 ml / min
Column temp.	37
Analytical time	240 min

Table 4-1-2. Buffer compositions of analysis of free amino acid.

	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
pH	2.93	3.4	3.87	7.84	10	-
Lithium hydroxide (g)	-	-	-	13.3	21	12.6
Lithium citrate (g)	9.6	9.6	9.6	17.8	28.2	-
Lithium chloride (g)	3	8.4	8.4	-	-	-
Citric acid (g)	37.7	17	10.5	17.9	25.6	-
Boric acid (g)	-	-	-	30	12.4	-
Ethanol (ml)	32	-	-	20	-	-
Polyoxyethylenelauryl-						
Ether (25g / 100 ml) (ml)	2	2	2	2	2	2
Thiodiglycol (g)	2	2	2	2	2	-
n-Caorylic acid (g)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Final volume (g)	1	1	1	1	1	1

Table 4-1-3. Analytical conditions of betaine.

Column	Zorbax SCX-300 (4.6 ϕ x 250mm)
Mobile phase	5% acetonitrile in 50mM KH ₂ PO ₄ (pH 2.25)
Flow rate	0.6 ml/min
Column temp.	ambient temp.
Wave-length	210 nm



■ Glu □ Pro ■ Gly ■ Ala ■ -Ala ■ others
 Fig. 4-1-1. Changes in Glu, Pro, Gly, -Ala, Ala and other free amino acids in *C. japonica* exposed to different salinities for 24h.

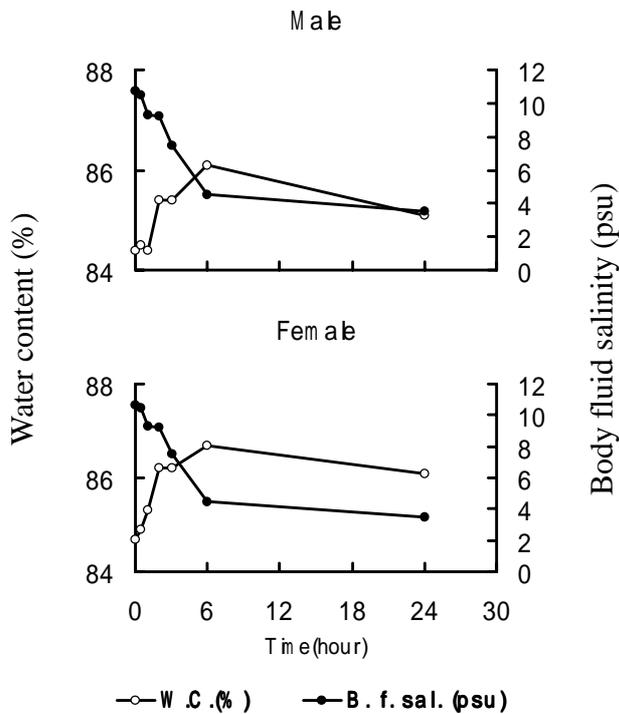


Fig. 4-1-2. Changes in water content and body fluid salinity of *C. japonica* during fresh water acclimation.

Table 4-1-4. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in the brackish water bivalve *C. japonica* exposed to different salinities for 24h.

Salinity (psu)	Male			Femal		
	0	5	10	0	5	10
Water content (%)	84.10	77.30	80.10	84.00	79.40	76.70
Extractive nitrogen (mg/100g)	63.40	87.70	134.1	41.40	82.40	130.0
Glutamic acid	1.42	5.19	6.92	1.95	5.09	6.59
Proline	1.11	4.03	10.69	0.77	1.85	10.23
Glycine	0.87	5.72	9.34	0.68	2.23	3.16
Alanine	5.20	20.18	31.72	6.29	21.74	29.24
-Alanine	0.32	1.34	3.85	0.15	1.14	3.75
MAA-Total	8.92	36.46	62.53	9.84	32.06	52.96
Phospho serine	0.08	0.08	0.11	0.06	0.10	0.11
Taurine	0.85	0.76	2.31	0.46	0.58	1.03
Aspartic acid	0.28	0.62	1.03	0.21	0.62	0.57
Threonine	0.35	0.93	1.19	0.43	1.05	0.97
Serine	0.25	0.78	1.03	0.32	0.56	0.45
Glutamine	0.41	0.50	0.16	0.54	0.59	0.24
-Aminoadipic acid	0.10	0.19	0.43	0.08	0.13	0.32
-Aminobutyric acid	0.12	0.33	0.65	0.12	0.42	0.28
Valine	0.46	1.15	1.60	0.58	0.87	1.17
Cystine	0.00	0.01	0.02	0.00	0.01	0.01
Methionine	0.07	0.25	0.44	0.12	0.22	0.15
Cystathionine	0.01	0.07	0.10	0.02	0.03	0.02
Isoleucine	0.39	0.75	0.88	0.34	0.63	0.73
Leucine	0.45	1.01	1.38	0.38	0.86	1.00
Tyrosine	0.17	0.38	0.61	0.20	0.40	0.35
Phenylalanine	0.13	0.28	0.48	0.16	0.28	0.27
-Aminoisobutyric acid	0.09	0.11	0.16	0.06	0.10	0.14
-Aminobutyric acid	0.05	0.04	0.06	0.05	0.05	0.08
Ammonia	0.42	0.38	0.37	0.14	0.30	0.46
Ornithine	0.54	1.12	1.56	0.32	1.16	1.33
Tryptophan	0.08	0.17	0.23	0.06	0.12	0.20
Lysine	0.25	0.68	0.82	0.39	0.80	0.56
-Methylhistidine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Histidine	0.13	0.39	0.47	0.13	0.28	0.35
-Methylhistidine	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02
Arginine	0.63	0.88	1.08	0.58	0.95	0.83
OAA-Total	6.33	11.88	17.18	5.76	11.14	11.62
FAA-Total	15.26	48.34	79.71	15.59	43.20	64.58

Table 4-1-5. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in males of brackish water bivalve *C. japonica* during freshwater acclimation.

Time (hour)	0	0.5	1	2	3	6	24
Water content (%)	84.40	84.50	84.40	85.40	85.40	86.10	85.10
Extractive nitrogen (mg/100g)	110.50	112.60	113.90	91.60	99.40	94.00	74.60
Body fluid salinity (psu)	10.7	10.5	9.3	9.2	7.5	4.5	3.5
Glutamic acid	3.45	3.23	3.90	2.93	3.27	2.46	1.69
Proline	0.68	0.95	0.83	0.64	0.60	0.47	0.23
Glycine	7.51	8.21	8.16	5.36	4.40	3.25	1.64
Alanine	12.87	14.61	13.99	10.86	11.34	7.70	3.35
-Alanine	0.48	0.31	0.28	0.20	0.17	0.30	0.07
MAA-Total	24.99	27.30	27.16	19.99	19.78	14.18	6.99
Phospho serine	0.13	0.06	0.09	0.08	0.09	0.08	0.06
Taurine	1.62	1.46	1.48	0.64	2.21	1.51	1.02
Aspartic acid	0.48	0.31	0.39	0.40	0.36	0.38	0.26
Threonine	0.50	0.51	0.65	0.34	0.54	0.37	0.22
Serine	0.67	0.27	0.32	0.35	0.25	0.25	0.19
Glutamine	0.62	0.53	0.61	0.50	0.54	0.41	0.20
-Aminoadipic acid	0.05	0.10	0.07	0.10	0.04	0.05	0.03
-Aminobutyric acid	0.11	0.21	0.20	0.17	0.15	0.14	0.10
Valine	0.62	0.55	0.52	0.44	0.58	0.53	0.34
Cystine	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
Methionine	0.16	0.22	0.16	0.15	0.16	0.15	0.12
Cystathionine	0.03	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
Isoleucine	0.38	0.34	0.35	0.29	0.33	0.32	0.23
Leucine	0.49	0.50	0.44	0.37	0.42	0.41	0.27
Tyrosine	0.24	0.26	0.26	0.21	0.21	0.18	0.12
Phenylalanine	0.13	0.19	0.19	0.15	0.16	0.13	0.10
-Aminoisobutyric acid	0.23	0.22	0.20	0.12	0.17	0.16	0.11
-Aminobutyric acid	0.03	0.05	0.05	0.02	0.03	0.02	0.01
Ammonia	0.42	0.49	0.56	0.21	0.48	0.34	0.21
Ornithine	1.00	0.58	0.65	0.39	0.62	1.07	0.35
Tryptophan	0.05	0.06	0.05	0.04	0.04	0.05	0.02
Lysine	0.37	0.44	0.43	0.37	0.38	0.33	0.29
-Methylhistidine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Histidine	0.19	0.22	0.20	0.12	0.14	0.12	0.12
-Methylhistidine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginine	0.94	0.92	0.81	0.83	0.83	0.79	0.75
OAA-Total	9.46	8.53	8.69	6.33	8.75	7.79	5.16
FAA-Total	34.45	35.83	35.85	26.32	28.53	21.97	12.14

Table 4-1-6. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in females of brackish water bivalve *C. japonica* during freshwater acclimation.

Time (hour)	0	0.5	1	2	3	6	24
Water content (%)	84.70	84.90	85.30	86.20	86.20	86.70	86.10
Extractive nitrogen (mg/100g)	101.30	106.10	102.20	68.50	90.00	92.10	60.30
Body fluid salinity (psu)	10.7	10.5	9.3	9.2	7.5	4.5	3.5
Glutamic acid	3.87	3.15	3.05	2.65	2.90	3.07	1.70
Proline	0.85	0.88	0.89	0.61	0.62	0.49	0.20
Glycine	3.00	2.87	2.97	1.73	1.70	1.38	0.51
Alanine	16.47	15.22	13.95	10.30	10.23	8.58	3.45
-Alanine	0.52	0.48	0.33	0.31	0.29	0.18	0.04
MAA-Total	24.71	22.59	21.18	15.61	15.75	13.71	5.90
Phospho serine	0.10	0.10	0.08	0.69	0.08	0.06	0.08
Taurine	1.66	1.24	0.58	0.81	1.55	1.37	0.72
Aspartic acid	0.46	0.29	0.23	0.31	0.29	0.34	0.24
Threonine	0.60	0.55	0.53	0.41	0.45	0.46	0.24
Serine	0.55	0.18	0.13	0.23	0.13	0.25	0.14
Glutamine	0.51	0.43	0.42	0.37	0.42	0.43	0.21
-Aminoadipic acid	0.08	0.04	0.04	0.03	0.03	0.01	0.02
-Aminobutyric acid	0.17	0.19	0.14	0.11	0.18	0.15	0.09
Valine	0.45	0.49	0.46	0.41	0.53	0.36	0.24
Cystine	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Methionine	0.13	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.13
Cystathionine	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
Isoleucine	0.30	0.32	0.29	0.27	0.28	0.25	0.23
Leucine	0.38	0.48	0.43	0.34	0.38	0.33	0.29
Tyrosine	0.16	0.23	0.21	0.16	0.17	0.15	0.10
Phenylalanine	0.11	0.18	0.17	0.15	0.16	0.11	0.11
-Aminoisobutyric acid	0.19	0.23	0.16	0.12	0.16	0.11	0.06
-Aminobutyric acid	0.03	0.05	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01
Ammonia	0.35	0.48	0.69	0.20	0.48	0.27	0.20
Ornithine	1.65	0.74	0.69	0.26	1.07	1.08	0.26
Tryptophan	0.05	0.06	0.05	0.03	0.03	0.03	0.03
Lysine	0.42	0.48	0.39	0.33	0.40	0.32	0.33
-Methylhistidine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Histidine	0.16	0.16	0.13	0.10	0.11	0.10	0.10
-Methylhistidine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginine	0.56	0.54	0.61	0.48	0.55	0.50	0.47
OAA-Total	9.13	7.68	6.63	6.01	7.64	6.85	4.34
FAA-Total	33.84	30.27	27.81	21.61	23.38	20.56	10.24

Unit is mmol/kg water.

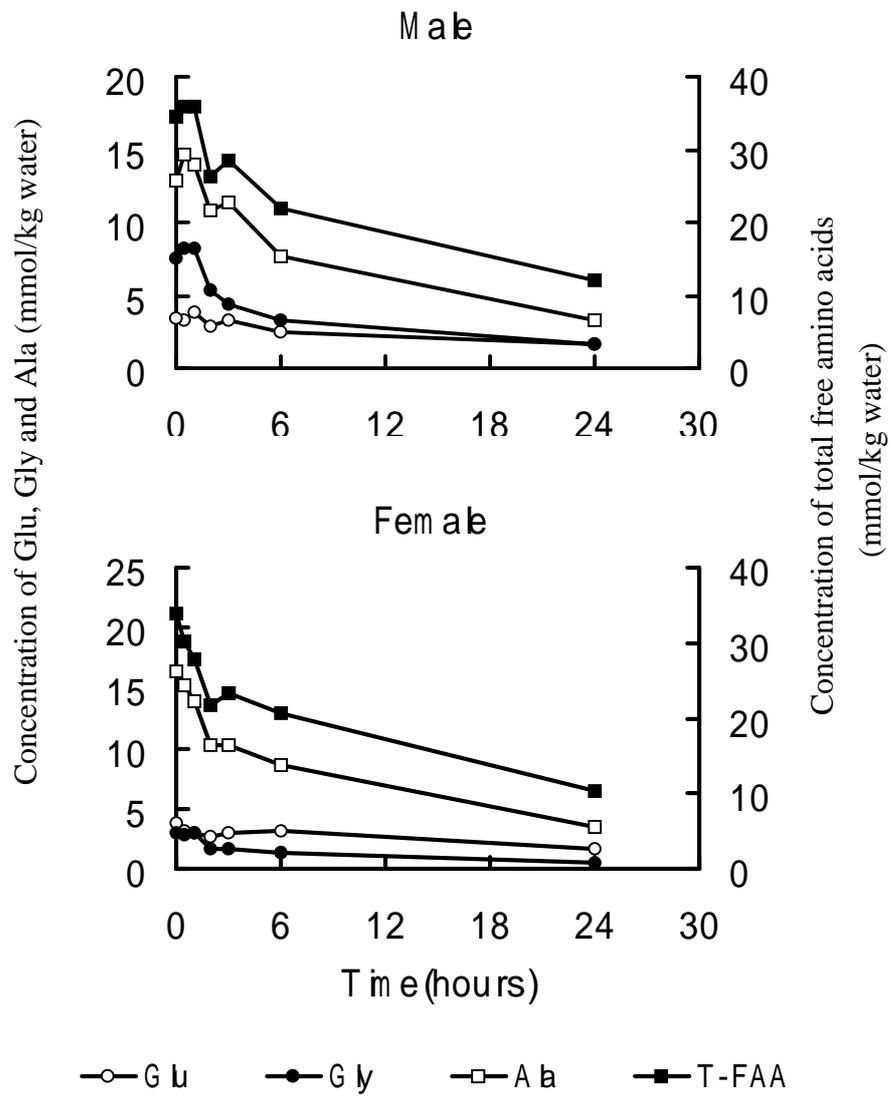


Fig. 4-1-3. Changes in Glu, Gly, Ala and total free amino acids(T-FAA) in *C. japonica* during fresh water acclimation.

Table 4-1-7. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in brackish water bivalve *C. japonica* exposed from fresh water to 5psu salinity.

Time (hour)		0	2	4	6	10	24
Water content (%)		83.04	81.49	79.61	79.88	80.04	79.75
Extractive nitrogen (mg/100g)		52.09	57.15	66.01	62.76	64.56	95.73
Body fluid salinity (psu)		5.0	7.0	7.0	7.0	7.0	8.0
Glutamic acid		2.14	2.45	2.95	3.23	3.82	5.21
Proline		0.51	0.64	0.87	0.88	0.76	1.10
Glycine		0.59	0.39	0.65	0.62	0.98	1.90
Alanine		2.96	3.09	4.10	4.38	6.18	9.05
-Alanine		0.32	0.58	0.61	0.70	0.88	0.27
MAA-Total		6.53	7.15	9.19	9.82	12.63	17.53
Phospho serine		0.07	0.07	0.11	0.06	0.07	0.09
Taurine		1.13	1.00	1.19	0.94	1.16	1.25
Aspartic acid		0.42	0.44	0.40	0.37	0.44	0.64
Threonine		0.33	0.41	0.45	0.43	0.48	0.62
Serine		0.42	0.47	0.38	0.51	0.57	0.30
Glutamine		2.37	2.57	2.78	3.10	4.10	4.28
-Amino adipic acid		0.17	0.27	0.21	0.25	0.24	0.12
-Aminobutyric acid		0.13	0.14	0.15	0.11	0.11	0.12
Valine		0.30	0.36	0.42	0.35	0.36	0.70
Cystine		0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04
Methionine		0.08	0.11	0.13	0.12	0.11	0.10
Cystathionine		0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
Isoleucine		0.18	0.22	0.27	0.22	0.21	0.26
Leucine		0.21	0.25	0.33	0.28	0.28	0.44
Tyrosine		0.06	0.09	0.10	0.10	0.10	0.12
Phenylalanine		0.05	0.08	0.10	0.10	0.10	0.15
-Aminoisobutyric acid		0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
-Aminobutyric acid		0.00	0.01	0.01	0.05	0.05	0.04
Ammonia		0.57	0.43	0.59	0.37	0.44	2.07
Ornithine		0.44	0.36	0.66	0.44	0.50	0.27
Tryptophan		0.05	0.05	0.07	0.07	0.06	0.05
Lysine		0.21	0.19	0.29	0.21	0.22	0.19
-Methylhistidine		0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Histidine		0.17	0.19	0.23	0.19	0.20	0.18
-Methylhistidine		0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginine		0.89	0.97	1.05	0.94	1.02	0.76
OAA-Total		8.33	8.77	10.01	9.29	10.92	12.85
FAA-Total		19.39	21.13	25.47	25.98	31.67	41.43

Unit is mmol/kg water.

Table 4-1-8. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in brackish water bivalve *C. japonica* exposed from fresh water to 10psu salinity.

Time (hour)	0	2	4	6	10	24
Water content (%)	83.04	78.51	78.39	78.15	81.65	77.86
Extractive nitrogen (mg/100g)	52.09	73.33	83.28	95.82	97.38	135.66
Body fluid salinity (psu)	5.0	10.0	11.0	11.5	11.5	13.0
Glutamic acid	2.14	4.15	4.92	4.62	5.34	5.42
Proline	0.51	1.08	1.63	1.71	1.82	2.19
Glycine	0.59	0.73	1.16	1.45	1.42	3.04
Alanine	2.96	8.03	10.98	12.71	14.30	18.48
-Alanine	0.32	0.97	1.50	1.54	1.32	0.13
MAA-Total	6.53	14.97	20.19	22.03	24.19	29.26
Phospho serine	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.08
Taurine	1.13	1.25	1.47	0.81	0.86	0.81
Aspartic acid	0.42	0.39	0.39	0.39	0.34	0.48
Threonine	0.33	0.48	0.62	0.54	0.69	0.73
Serine	0.42	0.73	0.78	0.68	0.83	0.51
Glutamine	2.37	3.26	3.08	3.51	3.76	3.77
-Aminoadipic acid	0.17	0.17	0.15	0.18	0.19	0.10
-Aminobutyric acid	0.13	0.12	0.10	0.12	0.13	0.10
Valine	0.30	0.35	0.34	0.30	0.32	0.50
Cystine	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
Methionine	0.08	0.12	0.13	0.12	0.14	0.09
Cystathionine	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
Isoleucine	0.18	0.19	0.17	0.19	0.19	0.20
Leucine	0.21	0.19	0.23	0.21	0.25	0.35
Tyrosine	0.06	0.08	0.11	0.10	0.09	0.13
Phenylalanine	0.05	0.08	0.11	0.11	0.10	0.74
-Aminoisobutyric acid	0.05	0.11	0.11	0.11	0.11	0.02
-Aminobutyric acid	0.00	0.02	0.02	0.01	0.01	0.16
Ammonia	0.57	0.30	0.23	0.15	0.29	2.12
Ornithine	0.44	0.78	0.97	0.85	0.98	0.25
Tryptophan	0.05	0.03	0.05	0.04	0.05	0.03
Lysine	0.21	0.10	0.16	0.15	0.13	0.16
-Methylhistidine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Histidine	0.17	0.13	0.12	0.12	0.13	0.10
-Methylhistidine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginine	0.89	0.53	0.48	0.51	0.53	0.42
OAA-Total	8.33	9.53	9.91	9.30	10.21	11.91
FAA-Total	19.39	33.31	40.53	41.13	45.73	52.69

Unit is mmol/kg water.

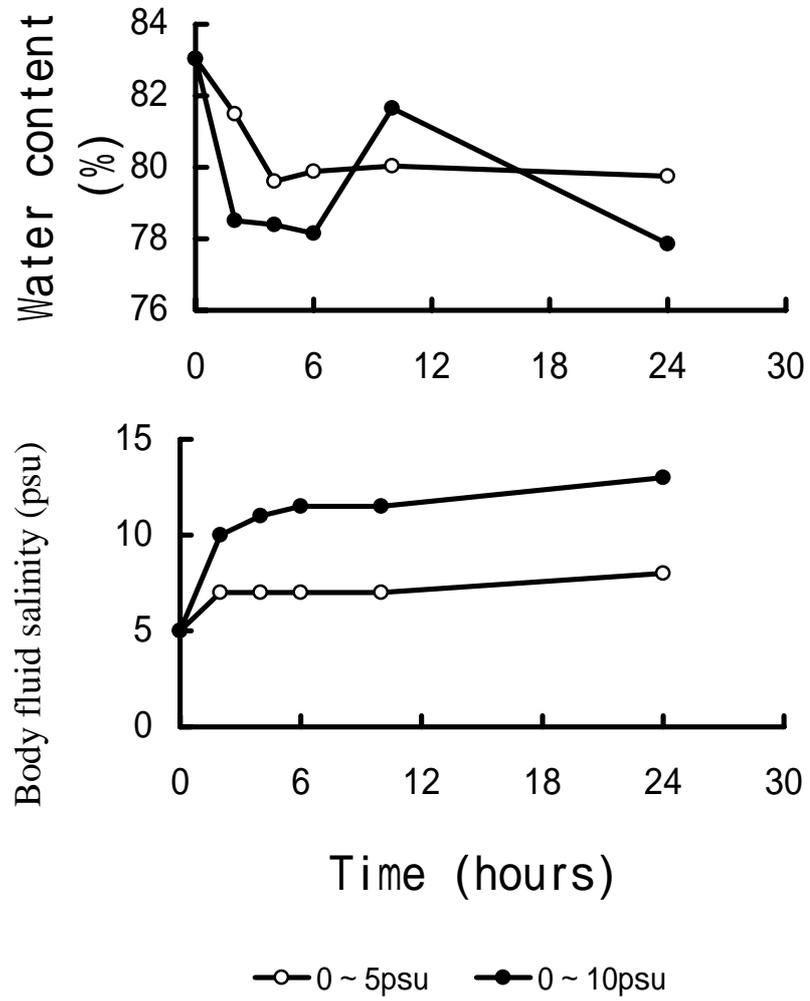


Fig. 4-1-4. Changes in water content and body fluid salinity of *C. japonica* exposed from fresh water to 5 or 10psu salinity.

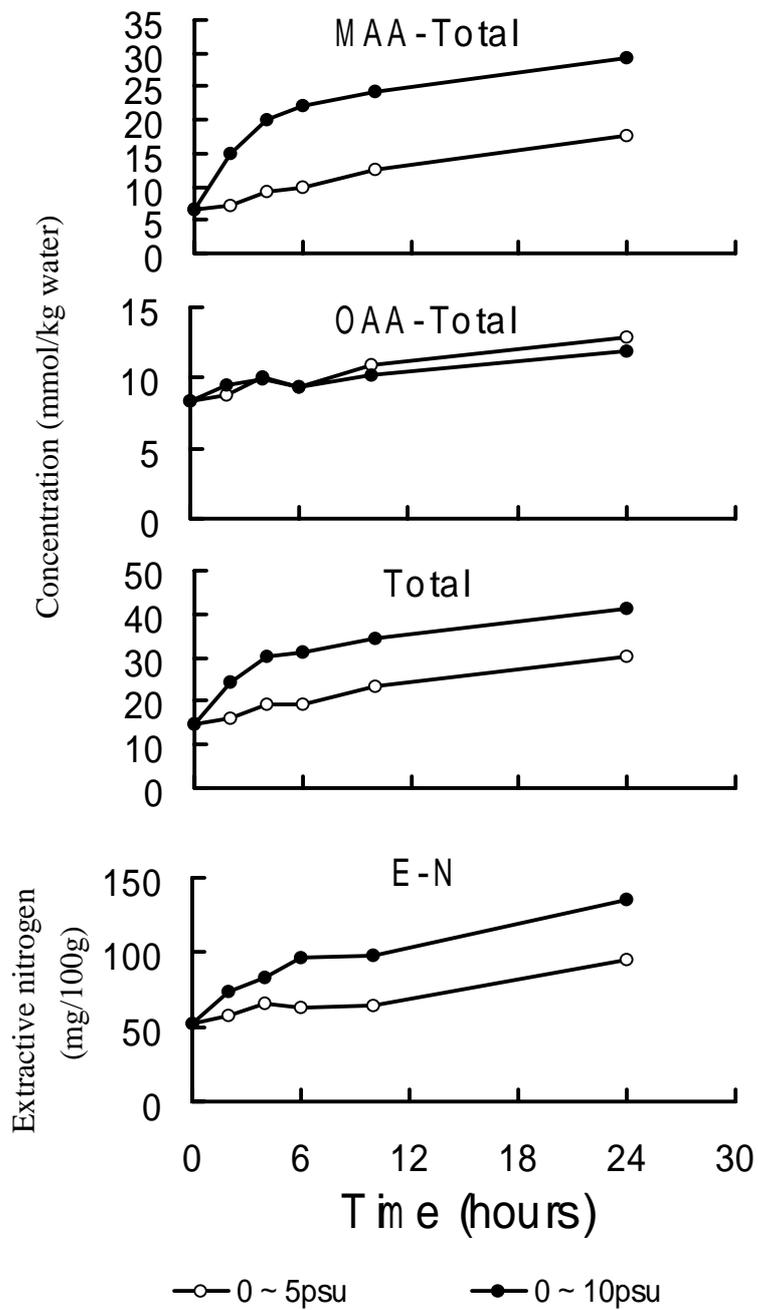


Fig. 4-1-5. Changes in free amino acids(FAA and OAA) and extractive nitrogen(E-N) of *C. japonica* exposed from fresh water to 5 or 10psu salinity.

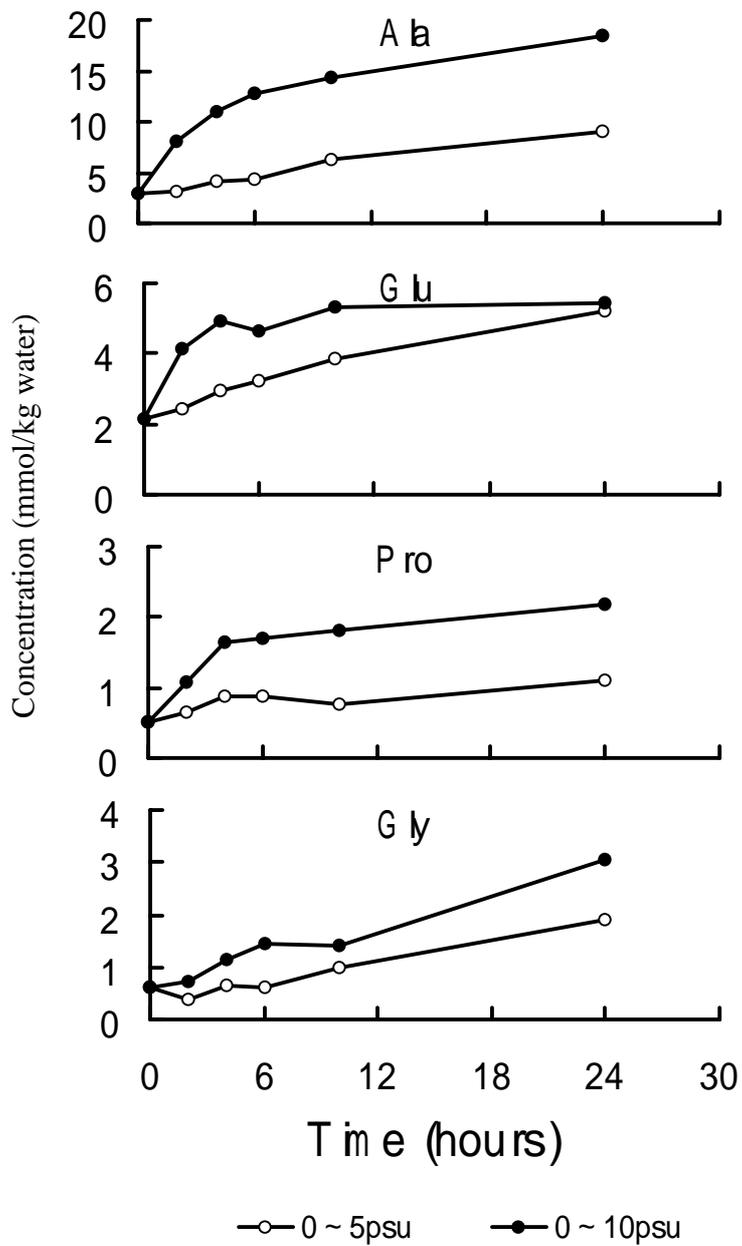


Fig. 4-1-6. Changes in Glu, Pro, Gly and Ala in *C. japonica* exposed from fresh water to 5 or 10psu salinity.

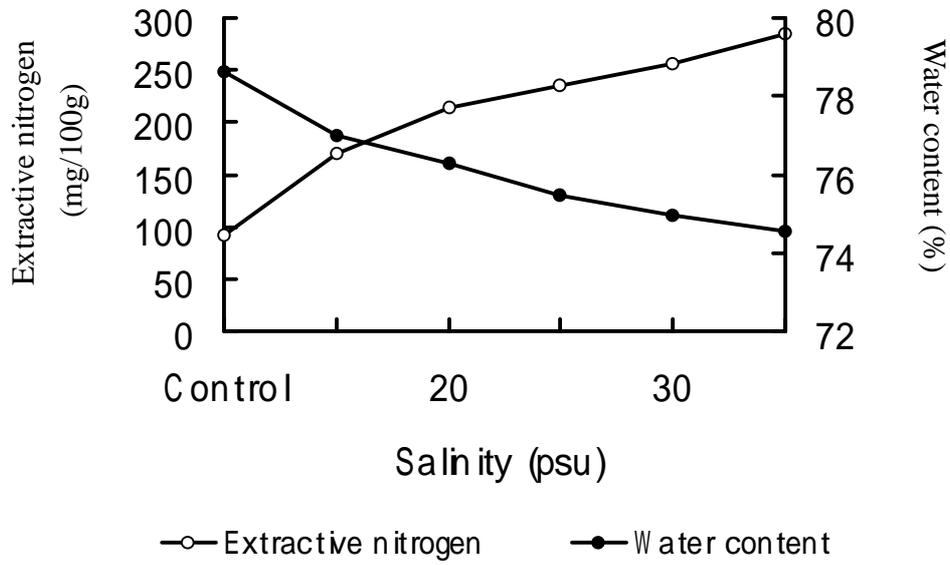


Fig. 4-1-7. Changes in water content and extractive nitrogen of *C. japonica* exposed to different high salinities for a week.

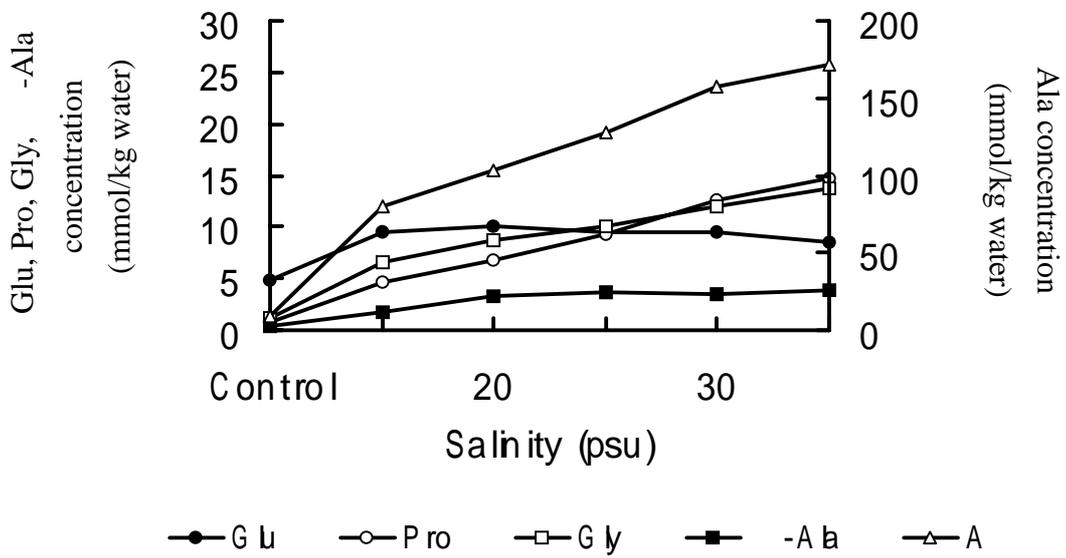


Fig. 4-1-8. Changes in Glu, Pro, Gly, -Ala and Ala of *C. japonica* exposed to different high salinities for a week.

Table 4-1-9. Changes in concentrations of free amino acids(FAA) in the brackish-water bivalve *C. japonica* exposed to different high salinities for a week.

Salinity(psu)	0	15	20	25	30	35
Water content (%)	78.62	76.98	76.26	75.48	74.97	74.56
Extractive nitrogen (mg/100g)	90.9	170.8	214.7	234.8	256.6	283.8
Body fluid salinity (psu)	8	17	22	27	33	37
Glutamic acid	4.77	9.47	10.01	9.47	9.51	8.58
Proline	0.81	4.66	6.76	9.20	12.65	14.62
Glycine	1.07	6.50	8.80	10.07	11.99	13.70
Alanine	9.35	80.03	103.84	127.37	156.88	172.08
-Alanine	0.33	1.66	3.36	3.72	3.44	3.82
MAA-Total	16.33	102.32	132.77	159.82	194.47	212.81
Phospho serine	0.12	0.08	0.11	0.09	0.12	0.10
Taurine	1.88	1.63	1.46	1.59	1.01	1.54
Aspartic acid	0.53	1.19	1.73	1.39	1.46	1.31
Threonine	0.42	1.71	1.23	1.02	1.14	0.92
Serine	0.40	1.22	1.24	1.11	1.29	1.19
Glutamine	6.26	6.01	3.40	2.76	2.69	3.21
-Aminoadipic acid	0.07	0.10	0.13	0.16	0.18	0.19
-Aminobutyric acid	0.05	0.21	0.27	0.26	0.30	0.27
Valine	0.33	0.68	0.50	0.44	0.49	0.47
Cystine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
Methionine	0.09	0.15	0.10	0.12	0.16	0.20
Cystathionine	0.01	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04
Isoleucine	0.16	0.28	0.26	0.25	0.31	0.29
Leucine	0.23	0.39	0.28	0.26	0.33	0.31
Tyrosine	0.10	0.20	0.22	0.24	0.29	0.25
Phenylalanine	0.08	0.17	0.14	0.16	0.23	0.19
-Aminoisobutyric acid	0.06	0.11	0.11	0.13	0.12	0.12
-Aminobutyric acid	0.05	0.01	0.03	0.03	0.03	0.03
Ammonia	0.37	0.84	0.85	0.78	0.39	0.39
Ornithine	1.26	0.42	0.37	0.22	0.17	0.17
Tryptophan	0.05	0.09	0.06	0.06	0.08	0.09
Lysine	0.19	0.29	0.26	0.25	0.28	0.28
-Methylhistidine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Histidine	0.16	0.19	0.19	0.22	0.28	0.27
-Methylhistidine	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginine	0.80	0.96	0.99	0.77	0.83	0.82
OAA-Total	13.70	17.00	13.97	12.37	12.23	12.69
FAA-Total	30.03	119.32	146.74	172.19	206.70	225.50

Unit is mmol/kg water.

Table 4-2-1. Seasonal variations in free amino acids(FAA) in the brackish water bivalve *C. japonica*.

Date	93'1	93'2	93'3	93'4	93'5	93'6	93'7	93'8	93'9	93'10	93'11	93'12	94'1	94'2	94'3	94'4	94'5	94'6	94'7	94'8	94'9	94'10	94'11
Water content (%)	78.71	77.70	78.10	79.20	78.41	78.50	79.63	81.19	80.02	80.59	79.63	80.59	81.28	80.65	80.97	79.16	78.96	79.22	80.74	82.46	82.61	79.82	77.60
Extractive nitrogen (mg/100g)	124.5 ₃	84.20	92.04	109.0 ₀	98.33	118.0 ₉	73.48	108.0 ₀	97.20	85.99	85.14	74.00	71.00	102.0 ₀	67.00	94.00	80.00	105.0 ₀	103.0 ₀	133.0 ₀	146.0 ₀	176.0 ₀	172.0 ₀
Lake salinity (psu)	5.6	3.6	4.6	2.5	4.3	8.1	3.6	1.5	0.6	0.4	1.1	2.2	1.9	4.0	1.2	0.8	2.5	4.6	5.9	8.4	13.6	9.0	8.5
Body fluid salinity (psu)	11.5	9.8	11	8.1	12.1	15.4	10.2	9	11.8	10.6	10.1	10.4	8.6	11.6	5.7	12.3	10.6	12.4	13.7	16.9	17	19.8	24.6
Body fluid Na (ppm)	-	-	-	8300	9370	15900	9170	5120	5580	3610	7560	9150	7300	7600	1300	7500	13000	12000	16500	26000	24500	12000	23100
Glutamic acid	5.19	5.02	5.65	-	5.21	5.51	3.59	2.55	2.18	3.36	3.24	3.22	2.83	3.15	3.38	3.25	4.13	5.53	6.31	6.14	6.26	6.57	6.40
Proline	1.34	1.08	1.45	-	0.64	1.35	0.88	1.22	1.25	0.88	0.68	0.47	0.53	1.52	0.45	1.19	0.72	1.12	1.35	1.61	1.74	3.15	3.81
Glycine	5.80	2.01	2.64	-	1.85	7.11	1.64	2.25	2.05	2.63	1.09	0.71	0.67	1.22	0.62	1.24	1.30	4.25	6.94	8.85	6.01	8.01	8.94
Alanine	21.15	9.62	15.32	-	13.18	25.29	8.26	8.09	8.19	11.35	11.46	9.83	7.40	14.76	5.70	9.85	10.53	21.82	24.95	38.01	35.83	42.42	30.98
-Alanine	1.28	1.23	1.18	-	0.97	2.16	1.28	2.00	1.66	0.79	1.10	0.70	0.65	1.16	0.39	1.42	1.02	1.96	2.54	3.09	3.51	4.58	3.08
MAA-Total	34.76	18.96	26.24	-	21.86	41.42	15.65	16.10	15.32	19.01	17.57	14.94	12.08	21.81	10.54	16.96	17.70	34.67	42.10	57.71	53.34	64.73	53.20
Phospho serine	0.11	0.15	0.17	-	0.10	0.09	0.09	0.08	0.06	0.06	0.17	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.09	0.15	0.11	0.10	0.13	0.18	0.13
Taurine	0.68	0.60	1.07	-	1.09	1.07	0.51	0.47	0.08	0.19	0.47	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Aspartic acid	0.70	0.70	0.77	-	0.74	0.58	0.43	0.27	0.44	0.48	0.39	0.57	0.45	0.61	0.35	0.40	0.39	0.57	0.87	1.06	1.24	1.10	0.94
Threonine	0.84	0.82	1.15	-	0.73	1.03	0.51	0.55	0.41	1.01	0.65	0.39	0.29	0.65	0.28	0.65	0.62	0.76	0.64	0.65	0.73	1.40	1.45
Serine	0.46	0.36	0.41	-	0.53	0.62	0.22	0.09	0.15	0.34	0.22	0.13	0.14	0.19	0.11	0.25	0.27	0.18	0.64	0.67	0.91	1.10	2.43
Glutamine	2.46	2.05	2.15	-	1.06	0.72	0.44	0.56	0.44	1.34	0.97	0.75	0.63	1.04	0.95	0.74	0.84	0.69	0.56	0.73	1.25	2.58	3.13
-Amino adipic acid	0.36	0.34	0.37	-	0.09	0.09	0.06	0.02	0.02	0.08	0.09	0.05	0.07	0.17	0.11	0.07	0.03	0.05	0.08	0.19	0.19	0.47	0.62
-Amino butyric acid	0.30	0.21	0.24	-	0.07	0.12	0.01	0.04	0.04	0.02	0.07	0.01	0.01	0.06	0.04	0.10	0.06	0.04	0.05	0.31	0.34	0.43	0.49
Valine	1.59	1.42	1.52	-	0.64	0.90	0.75	0.84	0.66	0.73	0.78	0.47	0.39	0.83	0.40	0.84	0.63	0.85	0.78	0.61	0.76	1.48	2.37
Cystine	0.01	0.02	0.02	-	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01
Methionine	0.21	0.29	0.35	-	0.19	0.25	0.22	0.23	0.19	0.17	0.23	0.06	0.09	0.24	0.09	0.36	0.17	0.04	0.23	0.21	0.42	0.89	0.98
Cystathionine	0.03	0.03	0.05	-	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	0.05
Isoleucine	0.82	0.67	0.95	-	0.34	0.52	0.42	0.45	0.41	0.44	0.48	0.29	0.26	0.67	0.30	0.62	0.37	0.45	0.42	0.40	0.48	0.87	1.58
Leucine	1.27	1.02	1.50	-	0.53	0.76	0.65	0.75	0.64	0.67	0.71	0.45	0.41	0.94	0.46	0.96	0.55	0.52	0.61	0.57	0.70	1.39	2.60
Tyrosine	0.15	0.18	0.31	-	0.27	0.60	0.35	0.37	0.26	0.25	0.34	0.18	0.18	0.38	0.17	0.45	0.26	0.24	0.31	0.36	0.39	0.73	0.61
Phenylalanine	0.22	0.23	0.43	-	0.22	0.38	0.30	0.34	0.24	0.25	0.28	0.14	0.16	0.35	0.16	0.43	0.21	0.12	0.29	0.25	0.32	0.66	1.01
-Amino isobutyric acid	0.11	0.19	0.20	-	0.09	0.07	0.07	0.06	0.04	0.06	0.06	0.06	0.08	0.18	0.14	0.16	0.09	0.15	0.24	0.06	0.22	0.39	0.27
-Amino butyric acid	0.02	0.05	0.07	-	0.01	0.04	0.07	0.05	0.04	0.02	0.07	0.08	0.06	0.06	0.06	0.11	0.02	0.05	0.01	0.01	0.05	0.07	0.16
Ammonia	0.67	0.91	1.81	-	1.05	1.87	1.18	3.70	1.76	1.39	1.26	0.95	0.65	0.80	0.80	0.89	1.04	4.75	0.44	0.71	0.85	2.73	1.44
Ornithine	1.54	1.55	0.91	-	0.47	1.20	1.03	1.42	1.18	0.88	1.11	0.74	0.61	0.92	0.39	1.80	0.94	0.26	0.93	0.70	0.99	1.60	1.83
Tryptophan	0.15	0.17	0.23	-	0.11	0.17	0.09	0.14	0.08	0.09	0.10	0.06	0.07	0.12	0.05	0.11	0.07	0.07	0.10	0.08	0.12	0.37	0.54
Lysine	0.43	0.40	0.42	-	0.32	0.57	0.38	0.45	0.50	0.36	0.49	0.23	0.23	0.53	0.26	0.69	0.42	0.14	0.64	0.55	0.62	0.93	1.51
-Methylhistidine	0.00	0.02	0.02	-	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.02	0.03
Histidine	0.39	0.43	0.55	-	0.27	0.32	0.20	0.23	0.19	0.15	0.23	0.14	0.10	0.33	0.12	0.34	0.21	0.14	0.23	0.19	0.22	0.50	0.71
-Methylhistidine	0.01	0.02	0.02	-	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.03	0.03
Arginine	0.92	0.98	1.21	-	0.83	1.04	0.96	0.95	1.05	0.67	0.89	0.56	0.61	1.01	0.72	1.46	0.26	0.43	1.41	1.29	1.26	1.60	1.73
OAA-Total	14.46	13.81	16.92	-	9.81	13.06	8.97	12.11	8.90	9.70	10.08	6.65	5.63	10.20	6.07	11.56	7.57	10.69	9.62	9.72	12.25	21.55	26.66
FAA-Total	60.24	43.43	55.15	-	42.74	66.17	32.24	33.62	28.86	35.84	34.53	28.42	23.72	38.71	23.77	35.43	34.05	57.09	65.13	80.47	78.89	100.2	93.44

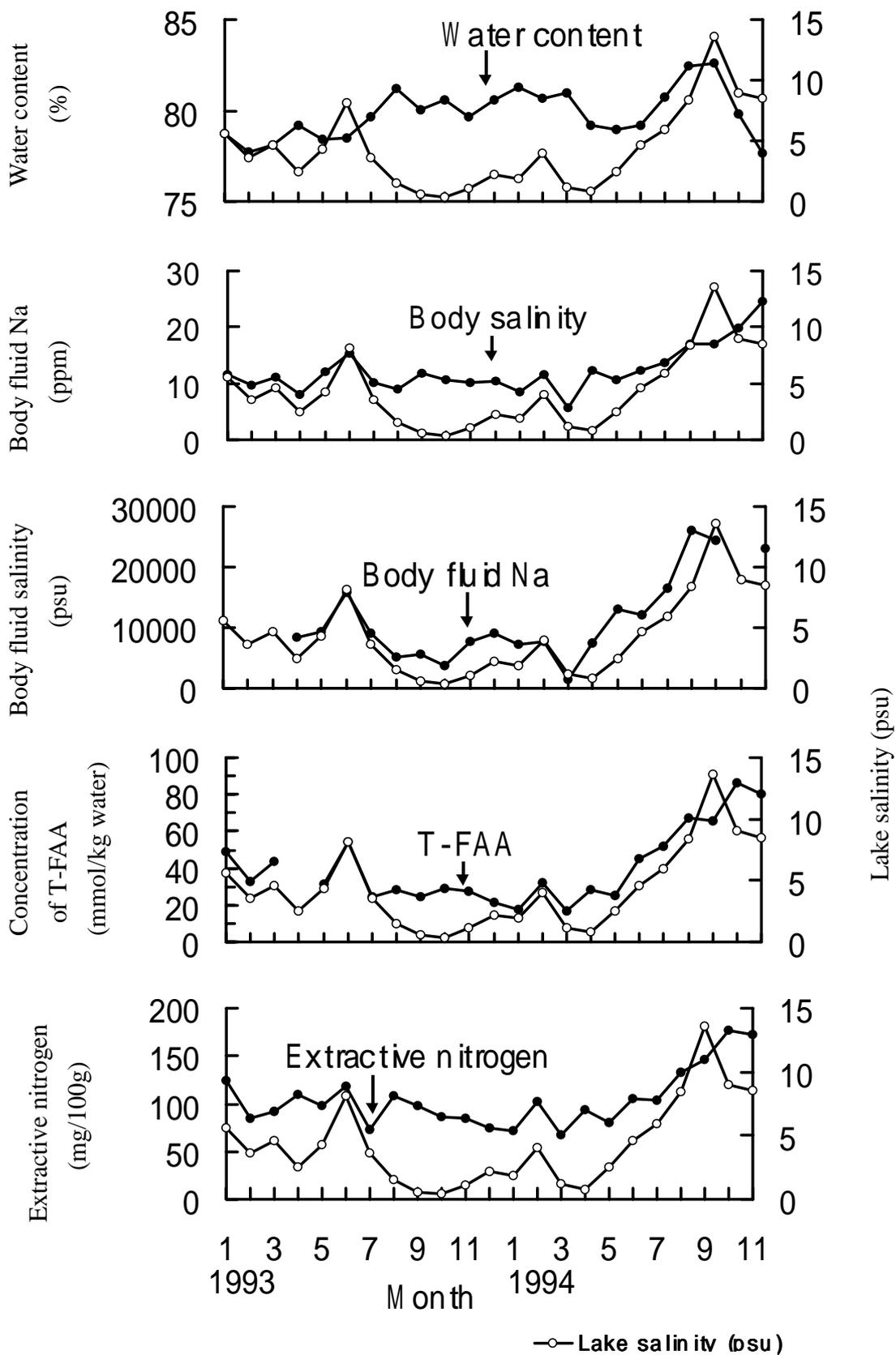


Fig. 4-2-1. Seasonal variations in water content, body fluid salinity, body fluid Na, concentration of total amino acid(T-FAA), and extractive nitrogen of *C. japonica*.

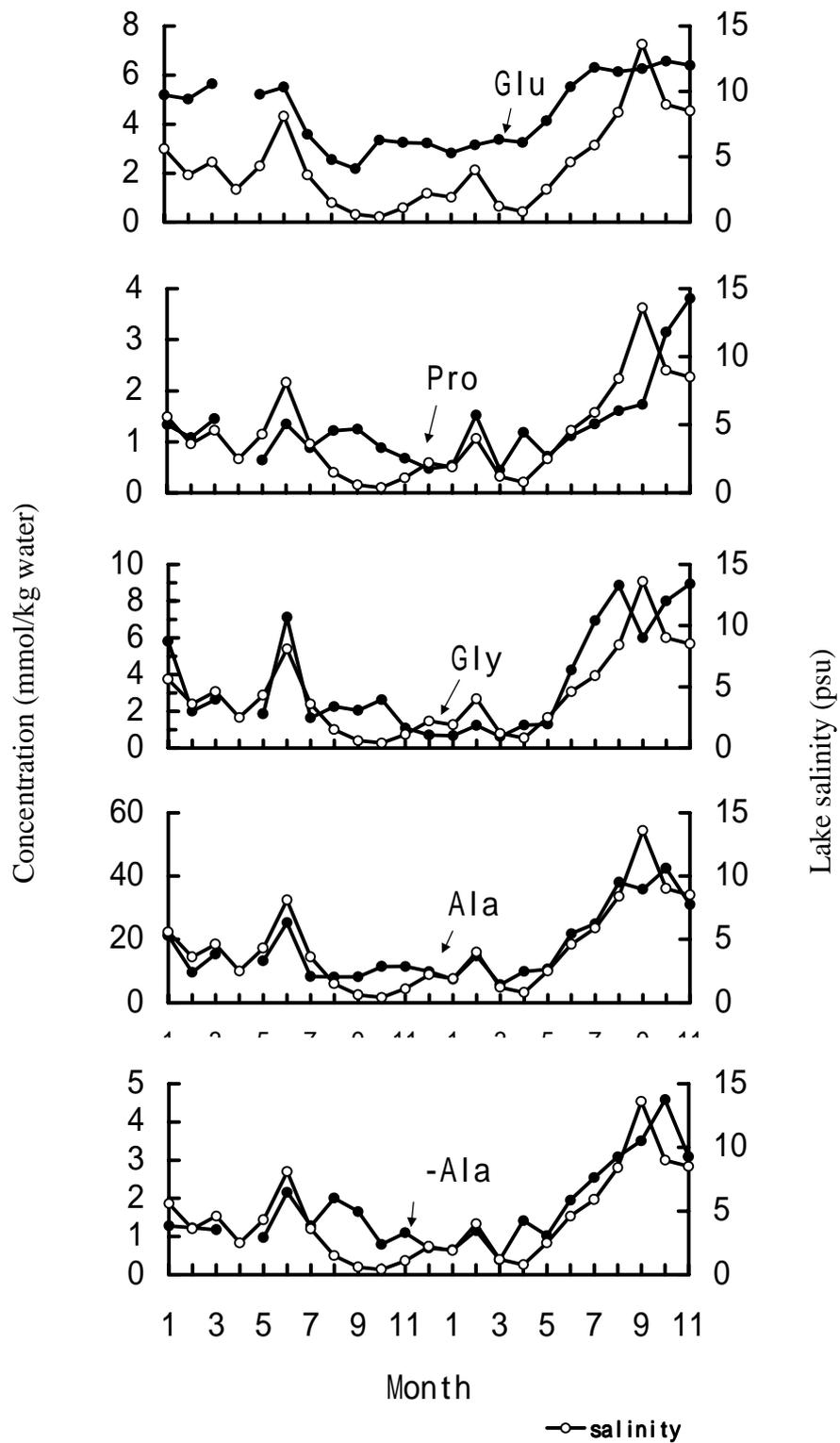


Fig. 4-2-2. Seasonal variations of Glu, Pro, Gly, -Ala and Ala in *C. japonica*.

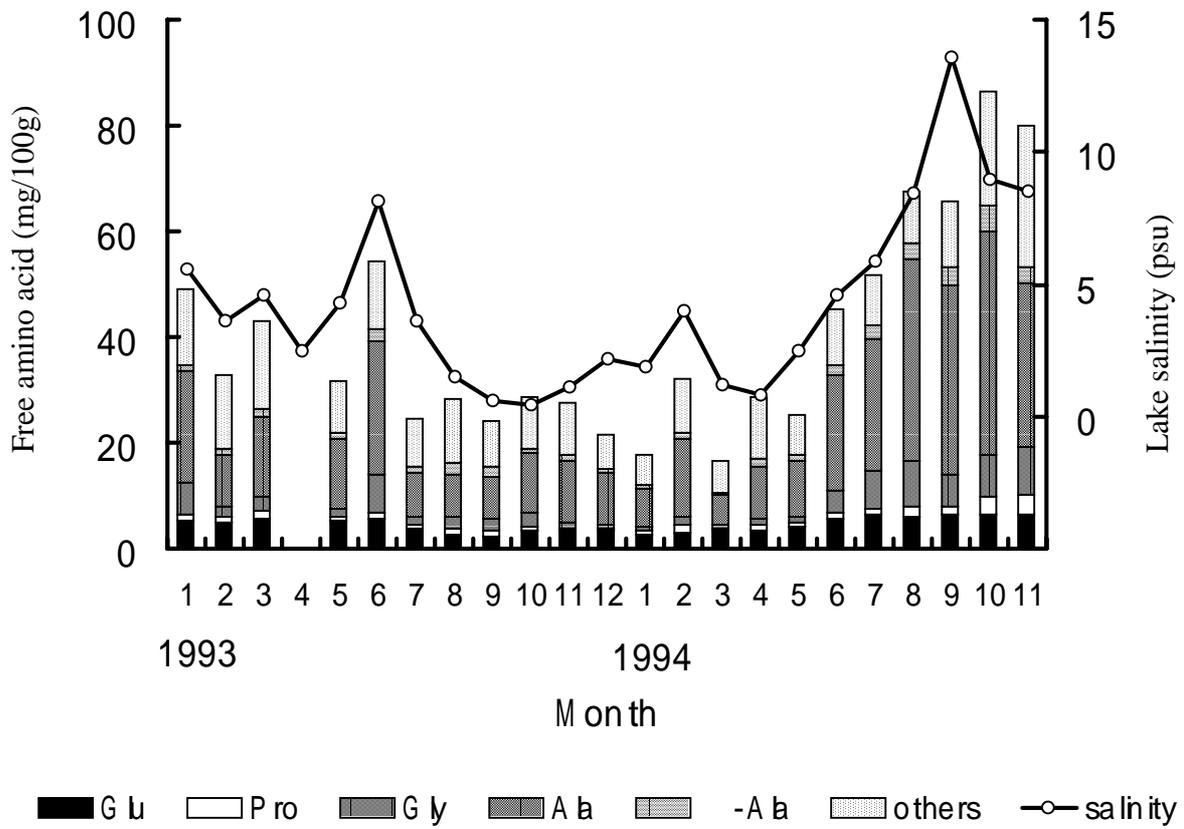


Fig. 4-2-3. Seasonal variations of Glu, Pro, Gly, -Ala, Ala and other free amino acids of *C. japonica*.

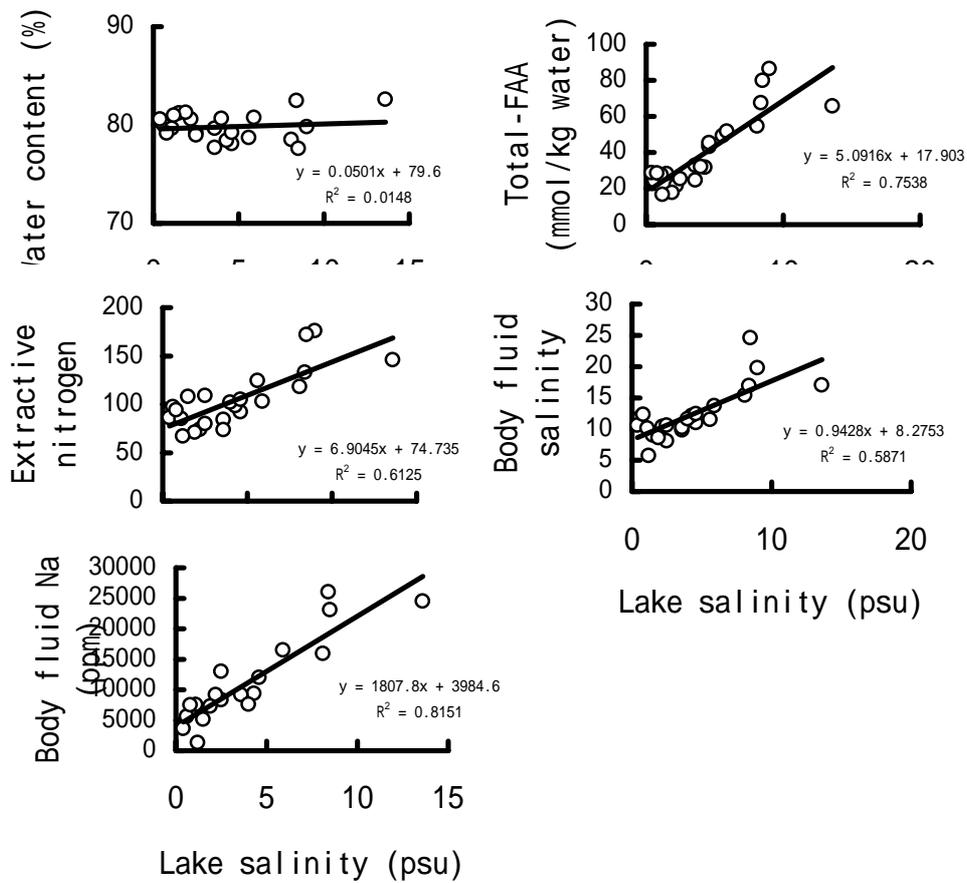


Fig. 4-2-4. Regression lines showing correlation between lake salinity water content, body fluid salinity, body fluid Na, extractive nitrogen and total free amino acids

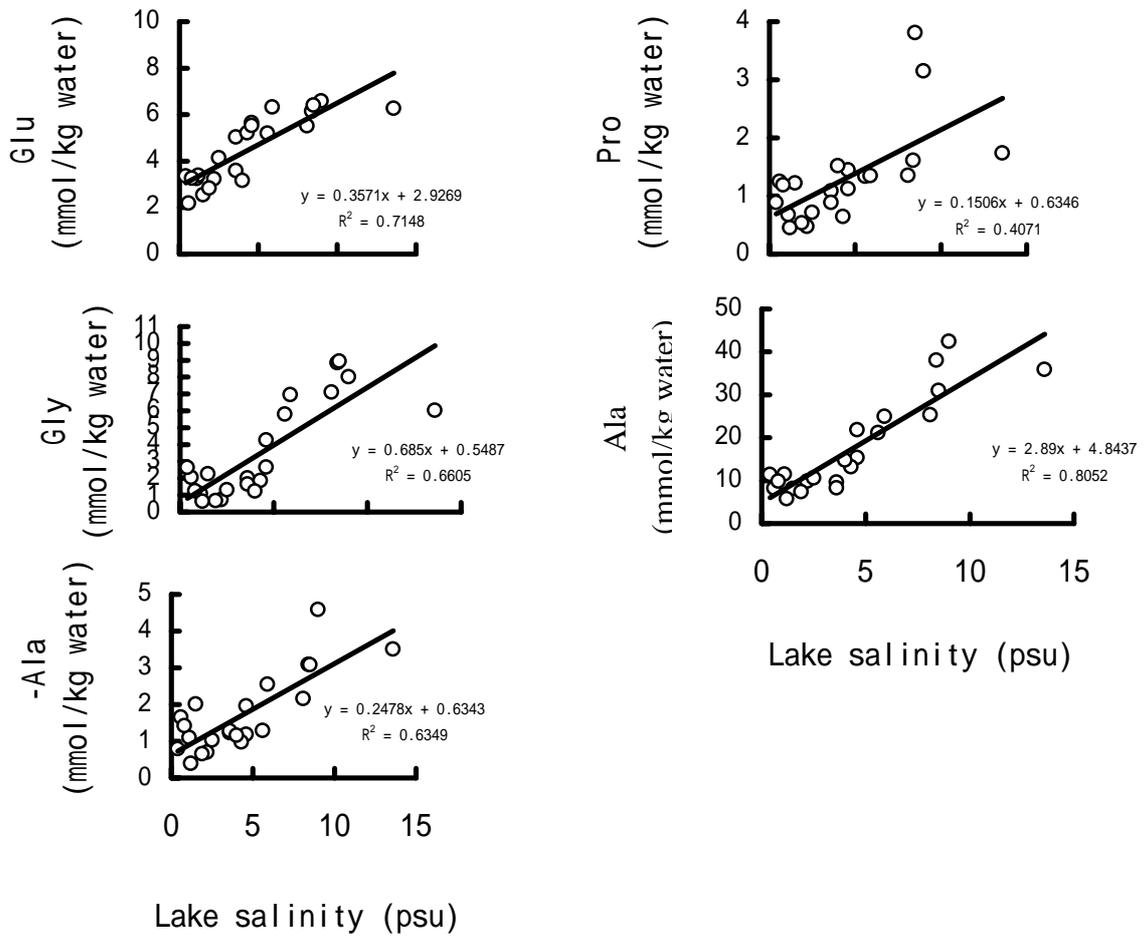


Fig. 4-2-5. Regression lines showing correlation between lake salinity and Glu, Pro, Gly, -Ala or Ala.