

ヤマトシジミの人工種苗生産に関する研究

佐々木義隆

北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場

Study on Artificial Seed Production of the Brackish Water Bivalve *Corbicula japonica* in Hokkaido

YOSHITAKA SASAKI

*Salmon and Freshwater Fisheries Research Institute, Fisheries Research Department, Local Independent Administrative Agency
Hokkaido Research Organization, Kitakashiwagi 3-373, Eniwa, Hokkaido 061-1433, Japan*

Abstract: Freshwater Fisheries and Aquaculture produced about 7 thousand tons of fishery resources in 2007 in Hokkaido Island. Production of the brackish water bivalve, *Corbicula japonica* accounts for about 15 percent of total production. The production of the brackish water bivalve peaked in the 1980s, and has declined since the 1990s in Hokkaido. The decrease of catch occurred mainly in Teshio River, Lake Panke and Ishikari River. Regulations have been implemented in these areas to restrict the fishing quota and, fishing season. However, the status of bivalves is in danger of depletion because there is no recruitment. Artificial propagation is required in order to produce fishery resources, while continuing resources management of wild production to sustain fisheries. It is necessary to investigate the annual reproductive cycle, artificial insemination conditions, breeding conditions of parents, inducing conditions of sexual maturation, feeding methods of larvae and juveniles and selective breeding programs in order to establish artificial propagation.

We investigated the annual reproductive cycle, determined the optimal environmental conditions for artificial propagation and identified the season in which survival of captive-bred larvae was highest in Teshio River and Lake Panke. The soft tissue index (soft tissue weight x 100 / total weight) and the gonad index (gonad weight x 100 / total weight) gradually increased from June to July, and sharply declined in early July. Judging from histological observations of the gonads, spawning occurred in early July. Artificial spawning was most successful at 5 psu and water temperature of 25°C. Among spawnings between early July and early August, the captive-bred larvae produced in early July showed the highest survival rate. These results indicate that the survival of captive-bred larvae is dependent on the timing at which artificial spawning is undertaken.

It is said to promote efficiency of it because laying eggs is hasty by maturity promotion the artificial seed production. *C. japonica* collected in the early spawning season were bred in different water temperatures from 12 to 30°C for one month; the gonad index of females increased at high water temperature and more spawning eggs were produced. The gonad index of males increased at low water temperature from 12 to 20°C. Sperm motility decreased from early August to early September. When *C. japonica*, which was collected in early June of the maturing season, was bred in different water temperatures and photoperiods for two months, the soft tissue index and the gonad index of the males and females did not increase. On the other hand, when *C. japonica* was collected in

佐々木

the mid-July, slightly earlier than the spawning season, and the water temperature was raised gradually to 25°C from one to two weeks, more spawned eggs and free-swimming larvae were produced. In addition, in the group that was fed by *Chaetoceros calcitrans* for two weeks, there was little decrease of the gonad index in comparison with that of no feeding, and then more spawned eggs and free-swimming larvae were produced. These results show that the maturity of *C. japonica* is promoted by regulating the water temperature from the early spawning season; the breeding water temperature for males and females to coincide for artificial spawning is from 20 to 25°C. The parents must be fed to obtain high survival rate of the seeds.

It is necessary to identify the kind of food, and to establish the optimal quantity and feeding method for larva and juvenile. *C. calcitrans*, leaf mold solution or diatom powder were given to free-swimming larvae of *C. japonica*; when given with *C. calcitrans*, the rate of juveniles showing high performance was high and all of them reached the stage of settled juveniles earlier than those fed other foods for 22 days. When the larvae of bivalve were reared with a water tank of 100 liters for 54 days, their survival rate was the highest for *C. calcitrans*, and their average shell lengths was the biggest in those fed on diatom powder. In addition, the biomass by average shell length, which increased with the number of survivals, was the highest for *C. calcitrans*. Next, single and mixed feed of *C. calcitrans*, *Chaetoceros gracilis*, *Pavlova lutheri* and *Chlorella* were given to free-swimming larvae of *C. japonica*; the survival rate was improved by the mixed-feed of *C. gracilis* and *C. calcitrans*, *C. calcitrans* and *P. lutheri* respectively. The optimal quantity of feeding showed that *C. gracilis* were 20×10^3 cells per single-fed larvae, *C. gracilis* and *C. calcitrans* were $5-40 \times 10^3$ cells per mixed-fed larvae and *C. calcitrans* and *P. lutheri* were $10-20 \times 10^3$ cells per mixed-fed larvae, respectively.

In order to improve the production of aquaculture, it is important that individuals showing high growth or survival are chosen by select-breeding. Therefore, seed production with artificial insemination was performed in the incubation room of Hokkaido Fish Hatchery. These seed were reared in a net in Lake Panke, and individuals with large shell length were selected. Judging from histological observations of bivalves cultured for two years, the biological minimum sizes in shell length of bivalves were 10.2 mm in females and 8.3 mm in males, respectively. In addition, the bivalves could inseminate at 3 years old. Then, F2 (second generation) groups of culture seeds were artificially produced by paired mating between large-sized females and males to examine the effect of selective breeding on the growth of their offspring. Average shell length for the F2 group was significantly higher than that for the wild groups. The seeds were bred according to large, medium and a small shell length. The F2 groups were compared with wild groups on survival rate and growth rate for each class of shell length. There were no significant differences in the survival rate among F2 and wild groups, but the F2 group showed a higher growth rate in the large class size. This suggests that selective breeding may be useful for genetically improving the growth in *C. japonica*.

It is hoped that technology for mass production will be established by using our fundamental knowledge in future. Although resources recovery is difficult, culturing technology may promote fishery activities while protecting natural resources.

Key words: ヤマトシジミ, *Corbicula japonica* Prime, 種苗生産, 初期餌料, 選抜育種

目 次

第I章 緒 言	4
第II章 天塩川水系に生息するヤマトシジミの生殖周期および人工産卵誘発技術の検討	
材料と方法	6
結 果	
1. 天塩川およびパンケ沼の水温および塩分と軟体部および生殖巣指数の推移	8
2. 観察期間中の生殖巣の組織学的変化	9
3. 人工産卵誘発方法の検討	11
4. 産出卵から浮遊幼生および着底稚貝までの生残性と成熟時期の関係	11
考 察	11
第III章 石狩川産ヤマトシジミの成熟促進並びに成貝への給餌と人工種苗浮遊幼生の生残性の関係	
III-① 産卵期における水温調節による成熟促進効果の検討	
材料と方法	13
結 果	14
III-② 成熟期における成熟促進効果の検討	
材料と方法	16
結 果	
1. 水温による成熟促進試験	18
2. 光周期による成熟促進試験	19
3. 人工産卵による放卵数および浮遊幼生数の比較	19
4. 成貝への給餌の有無と放卵数および浮遊幼生数の比較	20
考 察	21
第IV章 人工種苗に対する適正餌料の検討	
IV-① 人工種苗に対する餌料の探索	
材料と方法	23
結 果	
1. 人工種苗の浮遊から着底における <i>C. calcitrans</i> , 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験	25
2. 人工種苗の浮遊から初期稚貝における <i>C. calcitrans</i> , 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験	27
IV-② 人工種苗に対する最適餌料藻類の検討	
材料と方法	28
結 果	
1. <i>C. calcitrans</i> および <i>P. lutheri</i> の単独給餌試験	29
2. <i>C. calcitrans</i> , <i>C. gracilis</i> , <i>P. lutheri</i> およびクロレラの混合給餌試験	30
考 察	31
第V章 人工種苗の成熟と選抜育種の可能性	
V-① 人工種苗における大型選抜群の最小成熟サイズ	
材料と方法	33
結 果	
V-② 人工種苗大型選抜交配群の選抜効果の検討	
材料と方法	36
結 果	
1. 人工種苗大型交配群初期成長の比較	37
2. 階層別の生残率および成長率の比較	37
考 察	38
第VI章 総合論議	
要 約	42
謝 辞	44
文 献	45

第 I 章 緒 言

北海道は我国の水産業において極めて重要な地域である。平成 19 年の北海道における漁業生産量は 146 万トンで全国生産の 25.9% に及び、ホタテガイ、スケトウダラ、サケ、ホッケ、コンブは全国生産の大部分を占める（北海道，2009 a）。北海道水産林務部が取りまとめた北海道水産現勢による同年の統計では、北海道の海面漁業および浅海養殖業の生産高は数量で 135 万トン、金額では 2,901 億円である（北海道，2009 b）。一方、同年における内水面漁業および養殖業の生産量は 0.7 万トン、生産額 25 億円であり（北海道立水産孵化場，2009），海面生産に対して生産量ではおよそ 1/200，生産額ではおよそ 1/100 と極めて低い。しかし、生産物は都市部における一般消費の他、観光地などで消費される傾向が強く地域産業を支えている。内水面漁業（河川および湖沼漁業）における同年の魚種別生産量および生産金額で最も多いのはホタテガイ（生産量 4,357 トン，生産金額 8.7 億円）であり、次いでシジミ（生産量 928 トン，生産金額 6.8 億円）が多く、シジミは北海道における内水面漁業の内、生産量では約 15%，生産金額では約 27% を占める極めて重要な水産資源である（北海道立水産孵化場，2009）。

本邦に生息するシジミには、ヤマトシジミ *Corbicula japonica* Prime（汽水産，雌雄異体，卵生），マシジミ *C. leana* Prime（淡水産，雌雄同体，胎生）およびセタシジミ *C. sandai* Müller（淡水産，雌雄異体，卵生）の 3 種があり、北海道ではヤマトシジミのみが生息している。ヤマトシジミは河口域および汽水湖沼に生息し，体外受精後 3～10 日の浮遊期を経て底生生活に入る。産卵および卵や幼生の発生は完全な海水や淡水では起こらず，これらに適した塩分は約 5 psu とされている。稚貝は泥の少ない砂れき質の場所にすむが成貝は泥の多い底質の場所にも生息しており，珪藻類，鞭毛藻類などを餌とする（馬場，2003）。平成 15 年度の全国内水面魚種別漁獲量では，ヤマトシジミが 16,940 トン（総漁獲量の 28%）で最も多く，重要な内水面漁業対象種になっており（農林水産省統計部，2005），都道府県別漁獲量では，北海道が島根県，青森県，茨城県に次ぎ 4 番目に多い。

北海道のヤマトシジミの漁獲量は 1965～1980 年には 400～800 トンであったが 1982 年以降は 1,000～1,400 トンと高い水準となった（馬場，2003）。しか

し，1993 年から 2005 年における道内産地別漁獲量（北海道立水産孵化場事業成績書，1996～2007 a）をみると 1,200 トンから 1,000 トン前後へ激減している（Fig. 1）。道内産地別では網走湖が最も多く年間 800 トン前後（752～848 トン）を安定的に漁獲し，次いで天塩川水系（パンケ沼および天塩川）が 61～442 トンを漁獲している。1965 年から集計されている天塩漁業協同組合（現 北るもい漁業協同組合天塩支所）の漁獲資料によると，1985 年の 605 トンをピークに減少傾向にあり 2006 年には 94 トンまで減少しており（Fig. 2），北海道全体のシジミ漁獲量の減少分の大半を占めている（Fig. 1）。また，1990 年代にはおよそ 16 トンを漁獲し，天塩川に次いで北海道内では 3 番目の漁獲量であった石狩川では 2000 年代には 1/8 の 2 トンにまで減少している（Fig. 1）。

天塩漁業協同組合の 1997 年におけるヤマトシジミの漁獲は数量で 316 トン（漁協全体の約 27 %），金額で約 2 億円（漁協生産金額の約 40%）であり，重要な地域漁業資源となっている（坂井，2000）。天塩川水系パンケ沼は，北海道留萌支庁管内幌延町に位置し，周囲 7.3 km，面積 3.48 km²，最大水深 3.6 m，平均水深 1.0 m のほぼ円形の汽水湖である（北海道環境科学センター，2005）。今田（2006）によると，パンケ沼のヤマトシジミ資源量は 1982 年に 2,000 トンを超えると推定されていたが，近年の推定資源量は 400 トン弱にまで落ち込んでいる。水産技術普及指導所等がおこなった浮遊幼生および稚貝の採集調査結果によると，2～3 年に一度は大規模な産卵が起き，

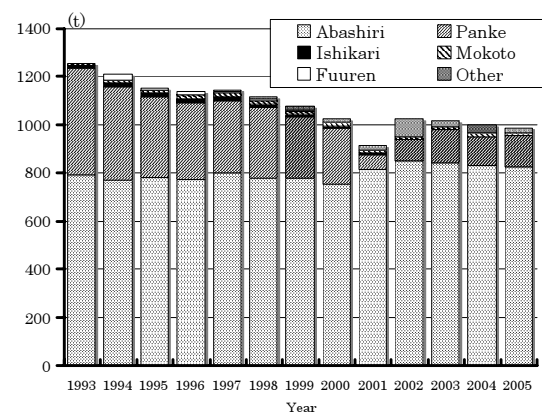


Fig. 1. Transition of the catches of *Corbicula japonica* in Hokkaido from 1993 to 2005. (Hokkaido Fish Hatchery report 1996-2009)

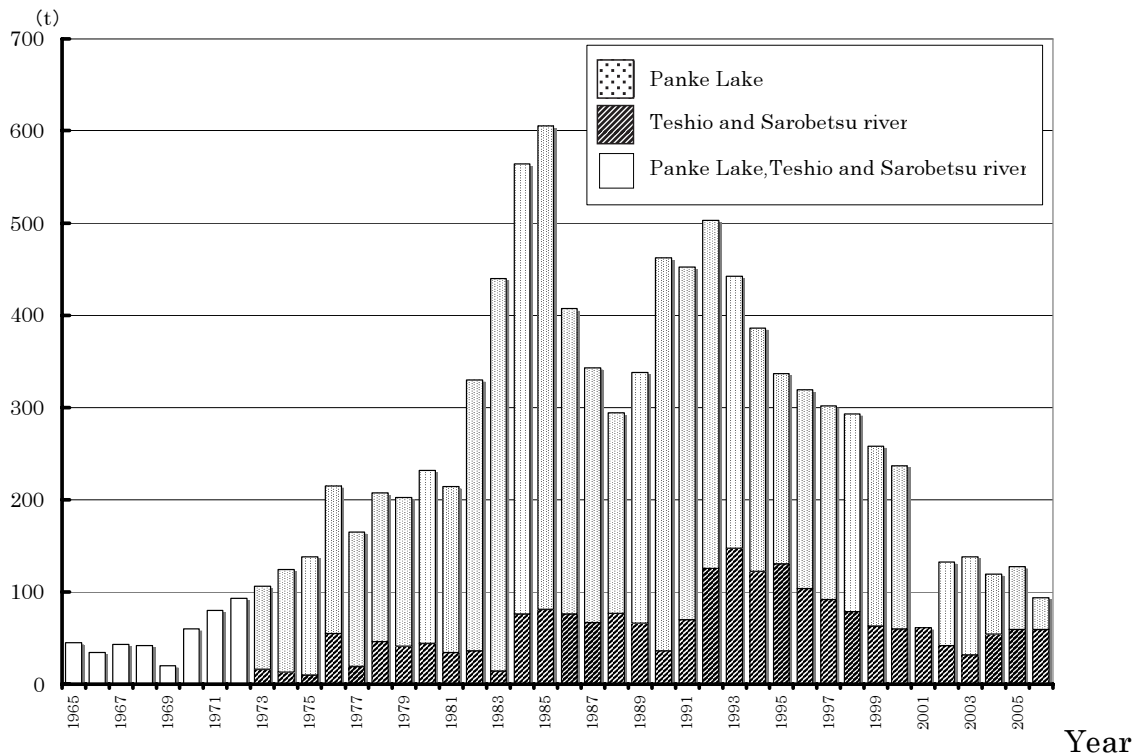


Fig. 2. Transition of the catches of *Corbicula japonica* in Teshio from 1965 to 2006. (Kitarumoi Fisheries Cooperative Teshio Branch report 1965-2006)

着底した稚貝は秋から翌年1月までの減耗は少ないものの、越冬後は急激に減少し1年以内にはほとんどの稚貝が減耗し採取されなくなっており、その減耗要因は不明とされている。同漁協では漁獲量を資源量の20%程度に設定した資源管理措置が取られているが、もしこのまま種苗の添加がなければ資源は枯渇する状況にある。石狩川でのヤマトシジミの漁獲量は1992年から1998年までは年平均15トンであったが、最近漁獲量が減少し平均5トン余りとなっており、資源増大対策として他地域産ヤマトシジミ種苗の移殖放流が進められ二次発生による資源添加をめざしているものの、塩分が産卵に必要な濃度に満たないことがヤマトシジミ資源増大事業に大きな課題となっている(海藤・鈴木, 2000; 佐々木, 2003; 丸ら, 2005 a)。北海道立水産孵化場は昭和62および63年度に「石狩湾水域生態調査」を行い、塩分、水温などの環境調査および軟体部指数の変動から再生産状況の推測したところ、8月上旬から中旬にかけて再生産が行われていることが推測されるものの、塩分および水温が慢性的に低いことから再生産にとって好条件とは言い難い環境であ

ることが分かっている(北海道立水産孵化場, 1989; 1990)。石狩川ではこのように産卵期である夏期の塩分濃度が低すぎることに加えて河川水温があまり上がらないために自然産卵が少ないことにより産卵から1年目の稚貝(当才貝)が極めて少なく、新規加入群がないことから資源量の増加は困難となっている。北海道で安定的に漁獲している網走湖では研究機関や漁業者の行う資源量調査の結果をもとに成貝の現存量および年間補充量から適正漁獲量を推定し、地元の漁協による資源管理が行われている(佐々木, 2004)。これに対し、天塩川水系および石狩川の両地域では漁獲量制限、漁期規制などにより資源管理を行っているものの、漁獲資源の減少に歯止めがかかっていない。このように自然産卵による新規参入群がみられない現状のままでは漁業資源が枯渇する危険があり何らかの方策が必要である。このような環境にありながらも、資源の維持を図りつつ漁業を継続していくためには資源管理を継続する一方で、人工種苗生産による漁業資源造成策を講じることは有効な手段と考えられる。種苗生産を行うには、対象生物の成熟時期を把握するととも

に、人工産卵誘発方法、親の管理方法、成熟促進方法、産出した稚仔に対する給餌方法（餌の種類、適正量）、選抜育種法を確立する必要があるが、ヤマトシジミの人工種苗生産に関する知見は極めて乏しい。

そこで、本研究では天塩川水系および石狩川に生息するヤマトシジミを対象に人工種苗生産技術について検討した。第Ⅱ章では天塩川水系のシジミ漁場である天塩川河口域およびパンケ沼に生息するヤマトシジミについて、生殖周期を明らかにし、成熟時期を特定することを目的に、初夏から初秋にかけて雌雄の軟体部および生殖巣指数の変化と生殖巣の組織学的変化を調べた。次に天塩川水系のヤマトシジミの最適な産卵誘発条件を明らかにすることを目的に、様々な水温および塩分条件下で産卵誘発試験を行った。さらに、人工産卵を行う最適な時期を特定するために、親貝の成熟時期と産出卵から得られる浮遊幼生および着底稚貝の生産性の関係から検討を行った。種苗生産の効率化には成熟促進による産卵の早期化が有効である。そこで第Ⅲ章では石狩川のシジミ漁場である河口域に生息するヤマトシジミについて、水温および光周期調節による成熟促進効果、採集時期および親貝への給餌と人工種苗浮遊幼生の生残性の関係について調べた。作出した浮遊幼生および着底稚貝に対しては最適な餌料および給餌方法を明らかにする必要があり、第Ⅳ章では人工種苗に対する最適な餌料について、浮遊幼生から着底稚貝における餌料として、*Chaetoceros calcitrans*、腐葉土および粉末珪藻を与え、生存率、活動率および着底率から適正餌料について検討した。次に、餌料用に開発されている藻類（*C. calcitrans*、*C. gracilis*、*Pavlova lutheri* およびクロレラ）について、単独給餌および混合給餌を行い、浮遊幼生から着底までの適正給餌量についても検討した。種苗生産では高成長や高生残性など優れた特性を持つ品種や系群を育成することが生産性を高める有効な手段であり、第Ⅴ章では前章で生産した稚貝を主に天塩川水系パンケ沼において垂下式で養成し、大型群を選抜した。人工種苗を継代するためには成熟に至る大きさを知る必要があることから、2年貝の夏季に人工種苗の生殖巣を組織学的に観察し最小成熟サイズについて検討した。また、人工種苗大型交配群（F2）の選抜効果について検討した。このように本研究では北海道のヤマトシジミ漁業の内、特に近年衰退傾向にある地域における人工種苗生産に必要な基礎的事項を検討し、天然資源の回復・維持を図りつつ漁業活動の継続と発展に役立つ方策を考察

した。

第Ⅱ章 天塩川水系に生息するヤマトシジミの生殖周期および人工産卵誘発技術の検討

これまで北海道では、藻琴湖（朝比奈，1941）、網走湖（丸，1981）および石狩川（丸ら，2005 a）産ヤマトシジミの生殖周期が明らかになっているが、天塩川水系に生息するヤマトシジミの生殖周期は知られていない。また、人工産卵誘発の環境条件については、水温および塩分に着目した数例の報告があるが（佐藤，1995：福井・松本，1997：Baba，2005：丸ら，2005 b：成田ら，2006）、これらの条件が天塩川水系のヤマトシジミに適合するかどうかは明らかになっていない。さらにアサリ（*Ruditapes philipinarum*）では、親貝の成熟度とその親貝を産卵誘発し得られた卵の生残性の関わりが報告されているが（鳥羽・深山，1991）、ヤマトシジミではこの知見は皆無である。

本章では天塩川およびパンケ沼に生息するヤマトシジミの生殖周期を明らかにするために、初夏から初秋にかけて雌雄の軟体部および生殖巣指数の変化と生殖巣の組織学的変化を調べた。天塩川水系産ヤマトシジミの最適な産卵誘発条件を明らかにするために、様々な水温および塩分条件下で産卵誘発試験を行った。さらに、親貝の成熟時期と産出卵から得られる浮遊幼生および着底稚貝の生産性の関係について検討を行った。

材料と方法

1. 天塩川およびパンケ沼の水温および塩分と軟体部および生殖巣指数の推移

ヤマトシジミの採取地点 A は北海道天塩川河口域の漁場で、水深は約 1 m である（Fig. 3）。2003 年 6 月から 9 月にかけて鋤簾（じょれん）を用いて 6 月 9 日，24 日，7 月 4 日，9 日および 9 月 10 日の 5 回ヤマトシジミを採取した。パンケ沼の漁場である地点 B（水深約 1~2 m）では同期間に 6 月 9 日，24 日および 9 月 10 日の 3 回採取を行った。また a および b 地点には水温・塩分自記計測機器（アレック電子株式会社製 ACT-16）を河床から約 10 cm の位置に設置し天塩川およびパンケ沼の水温と塩分を 1 時間毎に測定した。採集したヤマトシジミは殻長測定後、開殻せずに重量を計測し、雌雄とも約 10 個体について軟体部指

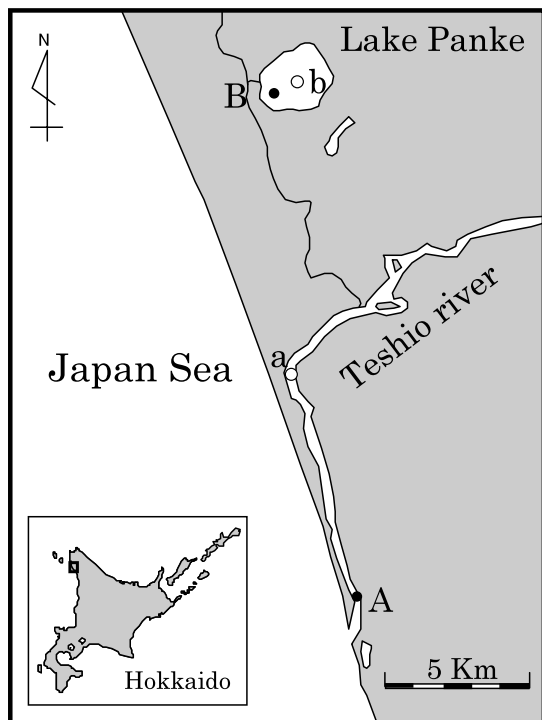


Fig. 3. Map showing sampling site for *Corbicula japonica*. Letters “A” and “B” show sampling sites at Teshio River and Lake Panke, respectively. Letters “a” and “b” indicate sites for monitoring water temperature and salinity at Teshio River and Lake Panke, respectively.

数（軟体部重量×100／全重量）と生殖巣指数（生殖巣重量×100／全重量）を算出した。両指数の値は総て平均値±標準誤差で示した。また、両指数の推移については、6月9日の値に対する平均値の差の検定から検討した。その際、比較する群に等分散性が認められた場合は一元分散分析を行い、認められない場合はKruskal-Wallis検定を用い、有意差の検定は5%水準で行った。

2. 観察期間中の生殖巣の組織学的変化

生殖巣は軟体部から鰓、中腸腺および足部を除いた部分とし、切り出した生殖巣はブアン氏液で固定後、定法に従って7 μmパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を行い観察した。生殖巣の成熟度については丸（1981）、森（1989）およびBaba（2005）を参考にして5段階に分類した。すなわち、休止期；雌では生殖上皮に卵原細胞期、初期卵

母細胞期、無卵黄期が、雄では精原細胞が確認されるもの、成長期；雌では卵黄形成期の卵が、雄では精母細胞から精細胞の形成が確認され一部に精子が出現しているもの、成熟期；雌では小嚢壁から遊離した熟卵が多数みられ、雄では成熟した精子が多く見られるもの、放出期；雌では成熟卵の放出により小嚢腔内に空隙ができ、雄では精子の放出により空隙が認められるもの、放出終了期；雌と雄の小嚢腔にはそれぞれ成熟卵および精子の放出により空隙が多くなり、退化過程にある残存卵および精子がみられるもの、の5段階である。

3. 人工産卵誘発方法の検討

実験には、2003年7月4日に天塩川河口域のA地点において鋤簾を用いて採取したヤマトシジミ（平均殻長 31.8 ± 0.15 mm）を用いた。産卵誘発条件として、異なる3段階の水温（20、25および30℃）、それぞれに対して4段階の塩分濃度（0、2、5および10 psu）を組み合わせ、合計12群の条件を設定した。各群の実験水槽にはポリプロピレン製容器（容量500 ml、底面積120 cm²）を用い、水量を500 mlで一定とした。水槽の水温設定は、恒温器ヒーターを用い、塩分設定は海水濃度屈折計（ATAGO製S/Mill-E）で確認することによって行った。供試貝を塩分5 psuの海水に入れて一晩冷蔵庫内で4℃で保存した後、12群の何れの実験水槽にも各15個体ずつを直接移し産卵誘発を試みた。各塩分濃度の海水の作成には、淡水は北海道恵庭市にある北海道立水産孵化場の湧水を用い、海水は北海道余市町にある北海道立水産試験場で濾過された余市沖の天然海水を用いた。供試貝の様子を観察し、放出された卵を顕微鏡で確認しながら産卵が終了したと思われる3時間後に試験を終了した。各群の総産卵数は、試験水500 mlのうち1 mlあたりに含まれる卵数を、計数盤を用いた実体顕微鏡観察により3回計数し、その平均卵数を500倍することにより求めた。内臓囊の色彩により雌雄を区別し（丸、1981）、雌1個体あたりの産卵数（総産卵数／雌個体数）を比較した。

4. 産出卵から浮遊幼生および着底稚貝までの生残性と成熟時期の関係

2003年7月7日から8月5日にかけて5回、天塩川河口域の調査定点Aにおいて鋤簾を用いてヤマトシジミ約100個体（平均殻長 32.0 ± 0.40 mm）を採取

し試験に供した (Fig. 3)。産卵誘発には供試員を塩分 5 psu の海水に入れて一晩冷蔵庫内 (4 °C) で保存した後、恒温器で 25 °C に保った塩分 5 psu の水の入った実験水槽へ供試員を移した。実験水槽にはポリカーボネート製容器 (容量 500 l, 底面積 7,462 cm²) を用い、水量を 200 l とした。塩分調節、使用した淡水および海水については前述と同様とした。産卵・放精を確認してから 3 時間後に産卵数を、24 時間後に幼生数を調べた。産卵数の算出は前述の方法に従い、幼生数の算出方法は産卵数の算出に準じた。前述の方法に従い、雌雄を区別し、雌 1 個体あたりの産卵数および幼生数を調べた。10 日後に水槽底 3.14 cm² の区画に生息する総ての着底稚貝をピペットにより吸い取り、実体顕微鏡下で着底稚貝数を 3 回計数した。この平均着底稚貝数を底面積全体に引き延ばすことにより、総着底稚貝数とし、この総数を雌親貝数で割ることにより雌 1 個体あたりの着底稚貝数を求めた。また、この期間水槽の水交換および給餌は行わなかった。

結 果

1. 天塩川およびパンケ沼の水温および塩分と軟体部および生殖巣指数の推移

天塩川の水温は、6 月上旬以降徐々に上昇し 8 月 23 日に 21.7 °C で最高値を示し、その後低下した。この間の水温変化は 13.3~21.7 °C の範囲内であった (Fig. 4)。塩分は 6 月上~中旬の間 0~32 psu の範囲で変動し最高値は 7 月 30 日の 33 psu であった。6 月下旬から 7 月上旬にかけて 30~32 psu を維持し、その後 9 月下旬まで 1~33 psu の間を大きく変動した。雌の軟体部指数は、6 月 9 日 (22.1±0.54) から最高値の 6 月 24 日 (24.9±1.24) にかけて有意に増加し、その後 9 月 10 日には 20.4±0.76 となり低下した。雄の軟体部指数は、6 月 9 日 (21.2±0.53) から最高値の 7 月 4 日 (25.9±0.60) にかけて有意に増加し、その後 9 月 10 日 (21.0±0.59) まで有意に低下した。雌の生殖巣指数は 6 月 9 日 (10.4±0.34) から最高値の 7 月 4 日

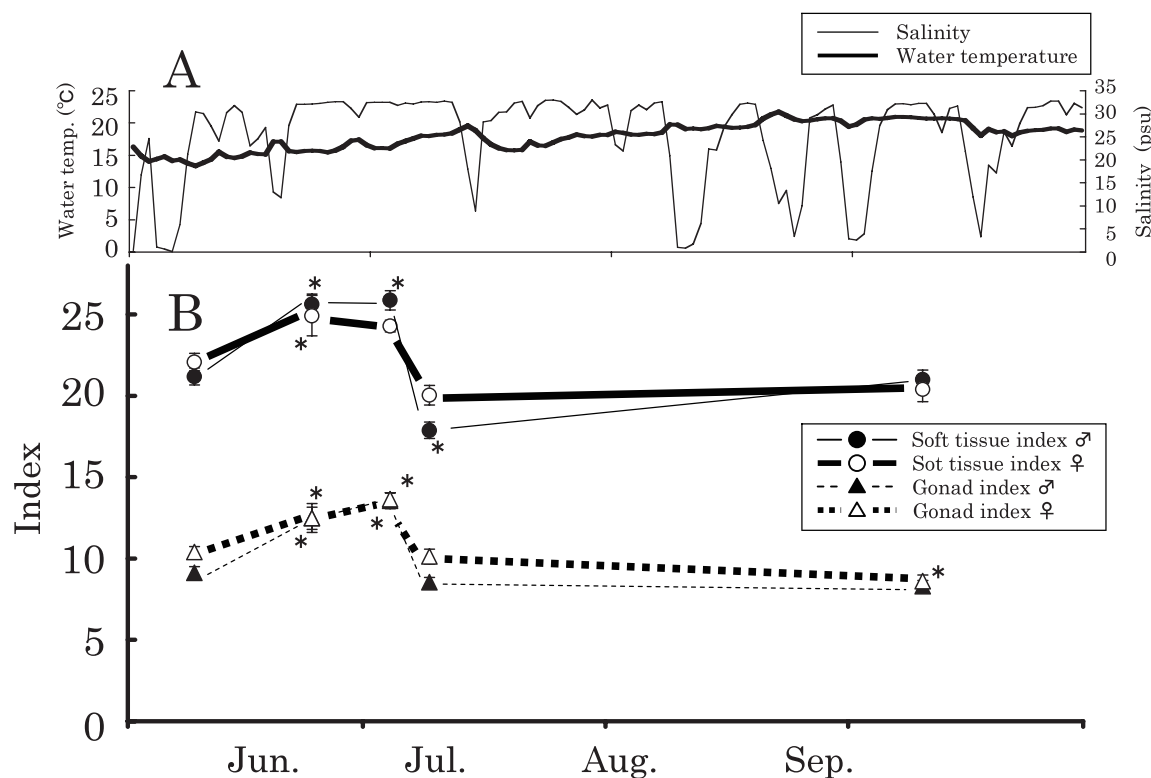


Fig. 4. Changes in (A) water temperature and salinity at Teshio River, and (B) soft tissue and gonad indexes of *C. japonica*. Each point and vertical bar indicate the mean and SE. Values significantly different from that of June 9th are shown by *($P < 0.05$).

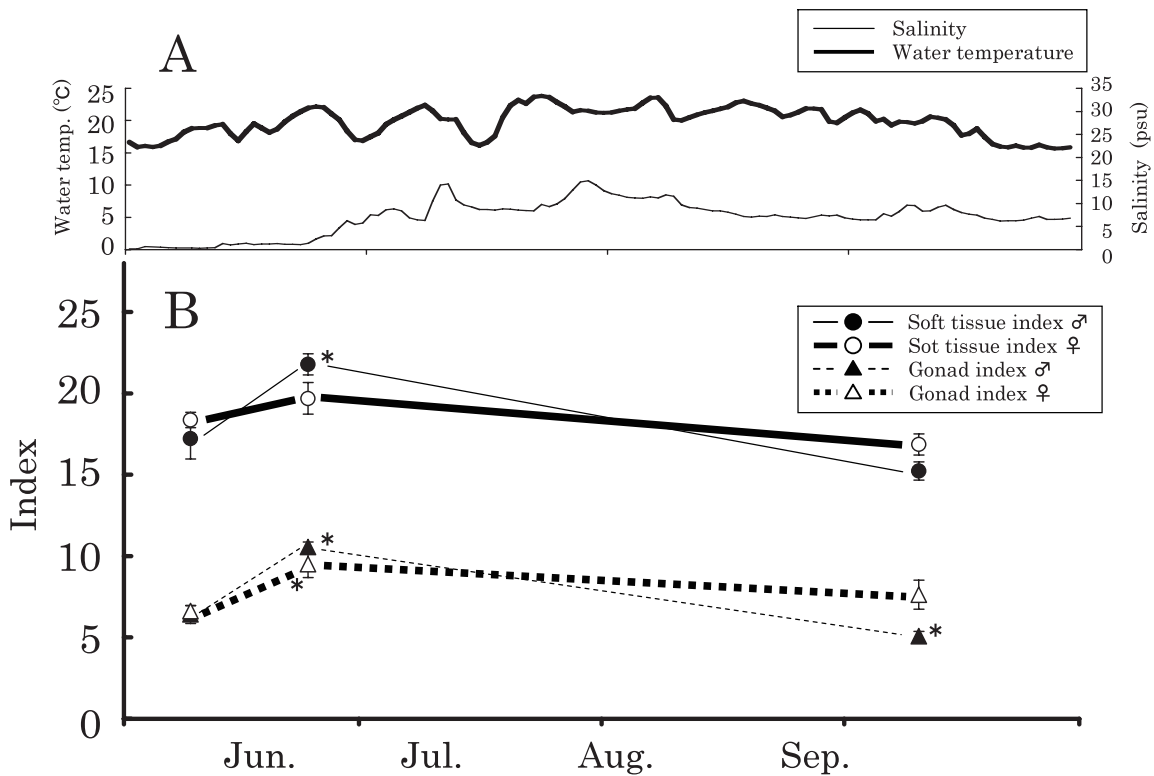


Fig. 5. Changes in (A) water temperature and salinity at Lake Panke, and (B) soft tissue and gonad indexes of *C. japonica*. Each point and vertical bar indicate the mean and SE. Values significantly different from that of June 9th are shown by $*(P<0.05)$.

(13.7 ± 0.40) にかけて有意に増加し、その後9月10日 (8.6 ± 0.39) まで有意に減少した。雄の生殖巣指数は6月9日 (9.1 ± 0.37) から最高値の7月4日 (13.6 ± 0.50) にかけて有意に増加し、その後9月10日 (8.3 ± 0.36) まで有意に低下した。雄雌で軟体部指数および生殖巣指数ともに7月4日から7月9日にかけて急減した。

パンケ沼の水温は6月上旬以降徐々に上昇し7月24日に 23.8°C で最高値を示し、その後低下した (Fig. 5)。この間の水温変化は $15.9 \sim 23.8^{\circ}\text{C}$ の範囲だった。塩分は6月上旬には 1 psu 以下だったが、6月中旬から下旬にかけて 5 psu まで上昇した。その後7月30日には最高値の 15 psu となり、9月下旬まで 5~15 psu の間で推移した。雌の軟体部指数は、6月24日に最も高い値 (19.7 ± 0.97) を示したが、6月9日 (18.4 ± 0.47) から9月10日 (16.9 ± 0.64) にかけて変化がみられなかった。雄の軟体部指数は6月9日 (17.2 ± 1.27) から最高値の6月24日 (21.8 ± 0.65) にかけて増加し、その後9月10日には 15.2 ± 0.57 へと

低下した。雌の生殖巣指数は6月9日 (6.6 ± 0.32) から最高値の6月24日 (9.5 ± 0.84) にかけて有意に増加し、9月10日には 7.6 ± 0.89 へと低下した。雄の生殖巣指数は6月9日 (6.4 ± 0.55) から最高値の6月24日 (10.6 ± 0.32) にかけて有意に増加し、その後9月10日には 5.1 ± 0.30 へと有意に減少した。

2. 観察期間中の生殖巣の組織学的変化

6月9日に採取された天塩川のシジミの雌では卵黄形成期の卵が小嚢壁に沿って出現しており、観察した10個体全てが成長期にあった (Fig. 6-1,2)。また、雄では観察した8個体のうち2個体が休止期で、残り6個体は成長期 (Fig. 7-1,2) と判定された。6月24日の雌では10個体中総てが成長期であったのに対し、雄は8個体中5個体で成熟期 (Fig. 7-3) に達していた。7月4日の雌では成熟期 (Fig. 6-3) の個体は9個体中7個体あり、雄では8個体中全てが成熟期であった。7月9日の雌では放出期 (Fig. 6-4) が10個体中7個体あり、雄でも放出期 (Fig. 7-4) が10個体中9

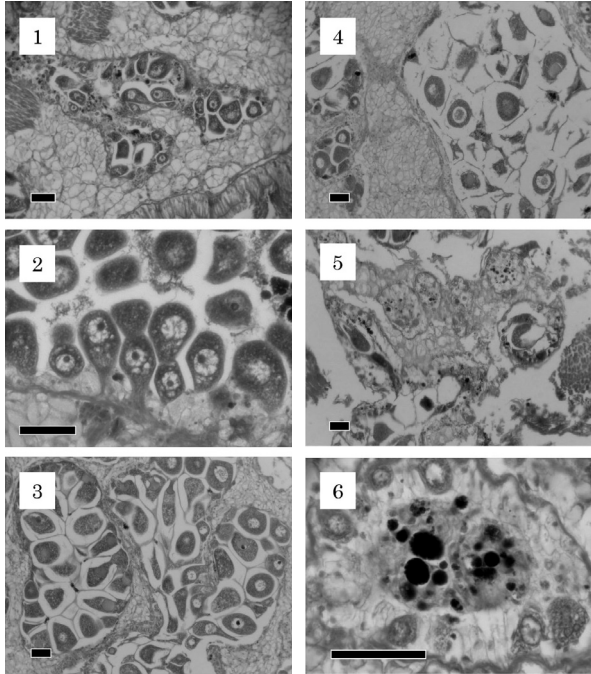


Fig. 6. Maturation stages of female gonads of *C. japonica*. 1 and 2, Growing stage; 3, Mature stage; 4, Breeding stage; 5 and 6, Spent stage. Bars indicate 50 μ m.

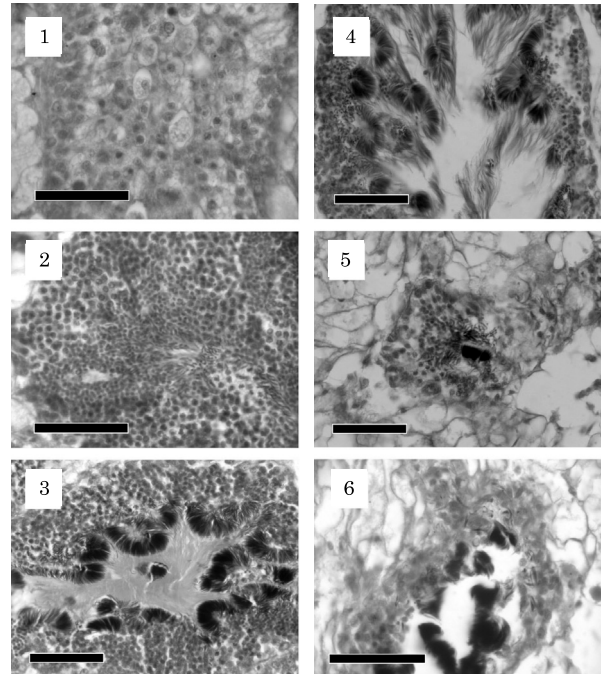


Fig. 7. Maturation stages of male gonads of *C. japonica*. 1 and 2, Growing stage; 3, Mature stage; 4, Breeding stage; 5 and 6, Spent stage. Bars indicate 50 μ m.

Table 1. Changes in the maturational stages of gonads in *C. japonica* at the Teshio river and the Lake Panke from June to September in 2003

Sampling site	Sex	Sampling date	Stage					Total no.	Range of shell length (mm)
			Resting	Growing	Maturing	Spawning	Spent		
Teshio river	Female	9. Jun.		10				10	30.9-35.4
		24. Jun.		10				10	28.4-36.4
		4. Jul.		2	7			9	28.2-33.8
		9. Jul.			3	7		10	25.5-36.6
		10. Sep.					7	7	29.4-33.3
	Male	9. Jun.	2	6				8	29.9-36.6
		24. Jun.		3	5			8	29.5-38.0
		4. Jul.			8			8	28.8-32.8
		9. Jul.			1	9		10	29.4-35.2
		10. Sep.			1	2	9	12	27.5-32.1
Lake Panke	Female	9. Jun.		7				7	26.6-35.7
		24. Jun.		1	6			7	24.2-35.6
		10. Sep.					8	8	27.4-33.7
	Male	9. Jun.		10				10	30.7-36.7
		24. Jun.			8			8	30.1-36.4
		10. Sep.	4	1		2	5	12	29.1-35.6

個体みられた。9月10日の雌では7個体中全てが放出終了期 (Fig. 6-5,6) であり、雄においても12個体中9個体が放出終了期 (Fig. 7-5,6) にあった (Table 1)。パンケ沼では、6月9日に採集した雌雄全てが成

長期にあった。6月24日では雌7個体中6個体が成熟期であり、雄で8個体全てが成熟期であった。9月10日の雌では8個体全てが放出終了期であり、雄は12個体中5個体が放出終了期、さらに4個体が休止

期であった (Tabel 1)。

3. 人工産卵誘発方法の検討

産卵数は、水温 20℃塩分 0, 2, 5 および 10 psu の群でそれぞれ 540, 470, 241 および 22 粒, 25℃塩分 0, 2, 5 および 10 psu の群ではそれぞれ 237, 6,587, 7,432 および 0 粒, 30℃塩分 0, 2, 5 および 10 psu の群ではそれぞれ 0, 1,225, 2,079 および 394 粒であった (Fig. 8)。このように塩分 5 psu で比較的多くの産卵がみられ、水温 25℃塩分 5 psu の条件で最も多くの産卵がみられた。

4. 産出卵から浮遊幼生および着底稚貝までの生残性と成熟時期の関係

7月7日では7,432粒の産卵がみられたものの、24時間後の浮遊幼生および10日後の着底稚貝を発見することはできなかった。7月9日の産卵数は110,274粒、24時間後の浮遊幼生数は99,082個体、10日後の着底稚貝数は44,726個体だった。7月16日では産卵数が30,500粒、24時間後の浮遊幼生数は13,179個体、10日後の着底稚貝数は38個体であり、観察期間中に個体数が大きく減少した。7月30日および8月5日については産卵がみられなかった (Fig. 9)。このように7月9日の産卵数が最も多く、着底稚貝まで生残したのは7月9日と7月16日のみだった。7月9日および16日の産卵から着底までの生残率はそれぞれ40.6%と0.1%であり、7月9日に人工産卵を行った場合に生産性が最も高かった。

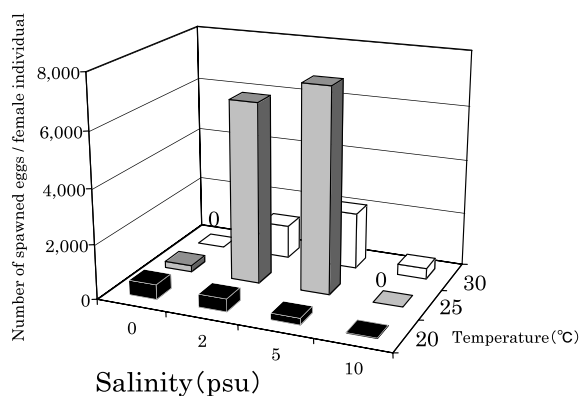


Fig. 8. Mean numbers of spawned eggs in artificial stimulation experiment in different water temperature and salinity in *C. japonica*. The data shows the mean numbers of eggs per female individual.

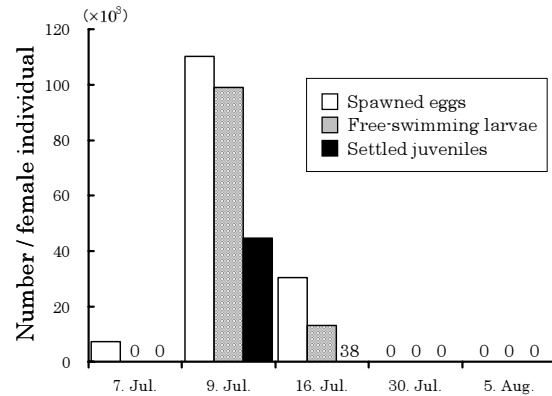


Fig. 9. Mean numbers of spawned eggs, larvae after 24 hours from spawning and juveniles after 10 days from spawning per female individual in *C. japonica*.

考 察

天塩川では、雌雄の軟体部および生殖巣指数がともに6月上旬に低く7月上旬にかけて増加し、その後9月上旬にかけて減少した。生殖巣の組織は、両指数の増加した6月上旬から下旬にかけて成長期を示し、両指数が急激に減少した7月上旬には成熟期から放出期に移行し、9月には放出終了期だった。7月上旬の軟体部および生殖巣指数の短期間での減少は成熟卵および精子の放出によるものと推測される。また、パンケ沼では、雌雄の軟体部および生殖巣指数の推移は天塩川と同様の傾向を示した。しかし、組織学的には6月下旬の段階で天塩川に比べ成熟期に達している個体が多く、9月には休止期の個体も観察された。この結果は、パンケ沼での成熟進行が天塩川のそれに比べ早いことを示している。二枚貝における生殖巣の発達には水温の他、日照時間 (丸, 1976) などが密接に関連することが知られている。今回調査した天塩川河口域およびパンケ沼は15 kmの距離にありほぼ隣接しており、日照時間については差がないと考えられる。両地点の水温変動をみたところ、ヤマトシジミの成熟期であり卵黄形成が進行する6月から7月にかけて、パンケ沼の水温は天塩川よりも3~5℃程度高く推移していた。従って、この水温の差がパンケ沼と天塩川の成熟進行の差異に影響していると思われる。以上の結果から、天塩川水系に生息するヤマトシジミの成熟については、6月上旬から7月上旬にかけて卵形成が進行、6月下旬から7月上旬にかけて産卵が開始すると推

察された。

朝比奈（1941）は北海道東部に位置する藻琴湖産のヤマトシジミを材料として生殖巣の組織観察を行い、成熟期が7月中旬から9月上旬に及ぶとしている。丸（1981）は藻琴湖に隣接する網走湖産の個体について観察し、雌では成長後期と成熟期が6月、放出期が7～9月、雄では成熟期が6～7月、放出期が7～9月と報告している。また、丸ら（2005 a）は北海道西岸中部に位置する石狩川では地場から採取したヤマトシジミの軟体部指数と卵巣の成熟度から産卵期と産卵条件について調査し、軟体部指数の低下は7月下旬～8月中旬にみられ、産卵個体がみられたのは、7月下旬～9月上旬であったと報告している。このように北海道東部では7月から9月にかけて約2ヶ月に亘り成熟し産卵していることと、北海道西岸中部の石狩川での成熟時期は藻琴湖および網走湖に比べて1～2旬ほど遅く始まり、早い時期に終わっていることが解る。今回北海道北部に位置する天塩川水系で得られた結果では、成熟期の開始時期は藻琴湖および網走湖と一致するものの、終了時期は藻琴湖および網走湖より早いと考えられる。

Baba（2005）は網走湖産ヤマトシジミを用い、産卵には最低でも水温 22.5℃、塩分 2.3 psu 以上が必要だと報告している。丸ら（2005 b）は石狩川で採集したヤマトシジミを塩分 0～21 psu で約1ヶ月間飼育し、その期間中に2～12 psu の環境下での産卵を確認し、好適な産卵環境は塩分 2～6 psu と報告している。また、成田ら（2006）は青森県小川原湖南西部に生息するヤマトシジミについて低塩分（塩分量 2.0 psu 以下）条件下における産卵誘発条件を検討し、水温が 29℃であれば塩分 1.0 psu でも産卵し正常に発生することを確認している。一方、佐藤（1995）は秋田県八郎湖産ヤマトシジミを用い塩素量 600～9,400 ppm（塩分量 1.0～13.2 psu）の条件下で約5時間の干出（水面上に露出させる）による産卵を確認し、干出が産卵誘発の契機となる可能性を示している。福井・松本（1997）は鳥取県東郷池産ヤマトシジミを用い、産卵刺激として塩素量およそ 5,000 ppm（塩分量 8.5 psu）の海水に親貝を一晩冷蔵庫で冷やすことで種苗生産が可能であることを報告している。このように本種の産卵を誘発する条件として、塩分はおおよそ 1～13 psu の範囲にあり、2～6 psu 付近が適しており、水温では 22.5℃以上が必要である。その他、産卵誘発の契機となる条件としては干出あるいは海水に浸した冷暗処理

があげられる。本研究では、水温 25℃、塩分 5 psu の条件で最も多くの産卵がみられた。これらのことから、天塩川産ヤマトシジミについても先の報告例と同様の水温および塩分条件により産卵誘発が可能であることが明らかとなった。

産出卵から浮遊幼生および着底稚貝までの生残性と産卵時期の関係を調べた試験では、7月9日に人工産卵した群において雌1個体あたりの産卵数が最も多く、また10日後における着底稚貝までの生残率が最も高かった。この僅か2日前では着底稚貝まで生残する個体は認められず、また1週間後では7月9日に比べて1/100以下の生残率に低下し、それ以降の群では全く産卵がみられなかった。鳥羽・深山（1991）は飼育アサリの産出卵の卵径と幼生の生残率との関係を調べ、十分に成熟していない貝から産出された小型卵の生残率は低く、大型卵の中にも生残率の高い十分に成熟した貝から生まれた卵と、生残率の低い退行過程に入った貝から生まれた卵が混在することを報告している。そのため、本研究でも7月9日以前あるいは以後に産出された卵には未熟もしくは退行など成熟状態に問題があった可能性が考えられる。このことは、天塩川産ヤマトシジミを用いて人工種苗生産を効率的に行うためには成熟時期の把握が極めて重要であることを示しており、今回の結果では天塩川河口域に生息するヤマトシジミの人工種苗生産適期は極めて限られた期間であったが、パンケ沼など生息域全体で毎年同様な結果になるかは不明であり、複数年にわたり生息域全体で検討する必要がある。人工種苗の生残率が最も高かった時期は、軟体部および生殖巣指数が急激に減少し、かつ生殖巣は排卵期に当たる成熟のピークと良く一致していた。このことは、種苗生産適期を判断するために、6～7月にかけた親貝の軟体部および生殖巣指数の変化から成熟のピークを見つけることが重要であることを示唆しており、人工種苗の産卵や幼生の生残性に影響を及ぼす要因についてもさらに精査する必要がある。

第三章 石狩川産ヤマトシジミの成熟促進並びに成貝への給餌と人工種苗浮遊幼生の生残性の関係

貝類において水温条件で天然産卵期が早まることにより、夏季の高水温環境下での飼育や放流・中間育成までの飼育期間の長期化など、稚貝育成は優位になる

ことが知られており（關，1994），エゾアワビの種苗生産では水温条件で成熟を進行させる手法が開発されている（佐々木，2005）。アカガイでは高水温による催熟の際，母貝への給餌が効果的であり（松浦，2005），二枚貝における生殖巣の発達には水温の他，日照時間（丸，1976）などが密接に関連する。しかし，これらの条件がヤマトシジミの成熟に適合するかは全く明らかになっていない。

本章では石狩川河口域に生息するヤマトシジミを材料に成熟促進による早期採卵を目的に，生殖腺指数，精子の運動能および人工産卵数を指標として，水温と光周期の調節による成熟促進効果の可能性を検討した。また，母貝への給餌の有無と人工種苗浮遊幼生の生残の関係について調べた。丸ら（2005 a）は石狩川産シジミは7月下旬～9月上旬に産卵個体が見られることを報告しており，北海道立水産孵化場が行った産卵時期の調査結果では1987年では8月下旬～9月上旬，1988年では8月上旬～中旬と推定されている。そこで，本章-①では石狩川産シジミの産卵時期が開始される7月に成貝を採取し，水温による成熟促進効果を検討した。本章-②では採集時期を更に早め，成熟時期である6月に成貝を採取し，水温および光周期の調節による成熟促進効果について検討した。

Ⅲ-① 産卵時期における水温調節による成熟促進効果の検討

材料と方法

2002年7月28日に石狩川河口付近のシジミ漁場（水深約1～1.5 m）から鋤簾を用いてシジミ成貝（測定個体数20，平均殻長 27.5 ± 1.08 mm（標準誤差））を採集し（Fig. 10），異なる水温（12，20，25，30℃）で2ロットに分けて管理した。飼育には90 lのアクリル水槽を用い，各水槽に120個体を収容しエアレーションをしながら止水で9月2日まで管理した。飼育水は石狩川水系でシジミ漁場に隣接しておりヤマトシジミの生息を確認している真蕪別川の水を用い，週2～3回水量の約2/3を交換した。水温の測定は毎日10時に行い，調節は投げ込み式の100 V電気ヒーターを用いた（Table 2）。

飼育期間中に7月31日，8月5日，8月19日および9月2日の4回，1ロットについて各20個体について軟体部指数および生殖腺指数を調べた。その際，開殻せずに重量を計測し軟体部指数（軟体部重量×100/全重量）と生殖巣指数（生殖巣重量×100/全重量）を算出した。両指数の値は総て平均値±標準誤差

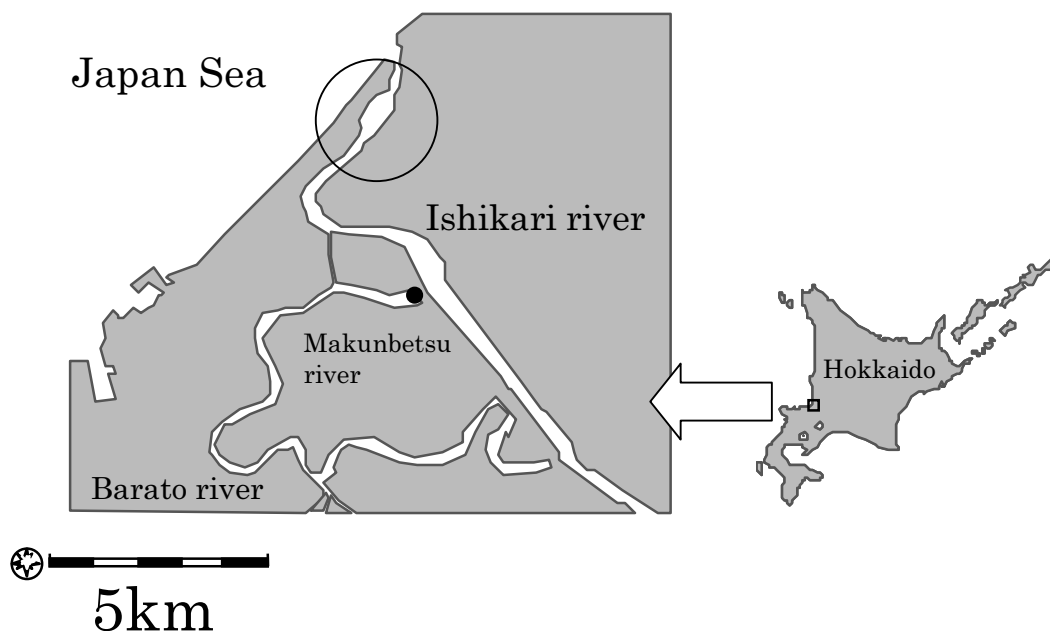


Fig. 10. Map showing fishing ground (○) for *Corbicula japonica* and river water intake place (●) in Ishikari River.

Table 2. Setting water temperature in Experiment 1

Setting temperature (°C)	12		20		25		30	
Lot	1	2	1	2	1	2	1	2
Mean	12.1	12.2	18.9	18.8	24.3	24.1	29.1	29.4
Maximal	16.5	20.2	26.5	26.7	25.8	26.9	30.7	30.7
Minimum	10.4	10.4	13.7	13.7	19.6	17.7	22.0	25.2
Standard deviation	1.14	1.25	1.89	1.78	1.42	1.66	1.34	1.31

で示した。また、両指数の推移については、7月31日の値に対する平均値の差の検定から検討した。その際、比較する群に等分散性が認められた場合は一元分散分析を行い、認められない場合はKruskal-Wallis検定を用い、有意差の検定は5%水準で行った。

精子運動能は8月5日、8月19日および9月2日の3回を調べた。その際、雄生殖巣を切り出し滲み出た精液をピペットで少量取り、スライドガラス上の5 psu 溶液に懸濁し顕微鏡下で運動する精子を観察した。目視により全く動かない場合を-、運動している精子の量に応じ、0%を-、10%以下を±、10~30%を+、30~60%を++、60%以上を+++とした。

また、飼育から8日後の8月5日に、各試験区から各12個体を無作為に抽出し産卵誘発を行い人工産卵数を調べた。供試目を塩分5 psuの海水に入れて一晩冷蔵庫内で4°Cで保存した後、水温25°C塩分5 psuに移し、産卵数を確認した。各群の総産卵数は、試験水500 mlのうち1 ml 当たりに含まれる卵数を、計数盤を用いた実体顕微鏡観察により3回計数し、その平均卵数を500倍することにより求めた。内臓囊の色彩により雌雄を区別し(丸, 1981)、雌1個体あたりの産卵数(総産卵数/雌個体数)を比較した。塩分濃度5 psu 溶液の作成には、淡水は北海道恵庭市にある北海道立水産孵化場の湧水を用い、海水は北海道余市町にある北海道立中央水産試験場で濾過された余市沖の天然海水を用いた。

結果

雌の軟体部指数は7月31日(22.3±0.85)から20°C区で8月5日(17.8±1.00)にかけて有意に低下し、その他は変化がみられなかった(Fig. 11)。雄の軟体部指数は7月31日(19.5±1.20)から20°C区で8月5日(24.3±1.11)にかけて有意に増加し、9月2日(16.2±0.48)にかけて有意に低下した(Fig. 12)。雌

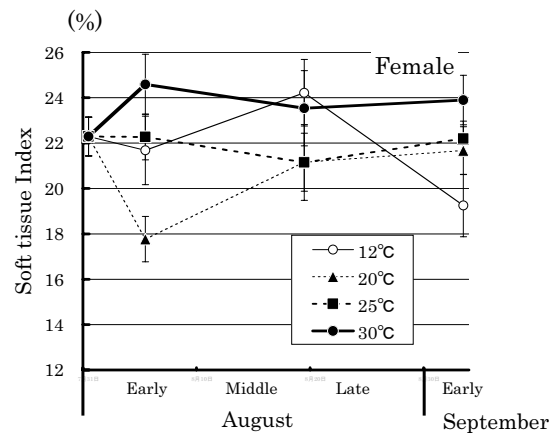


Fig. 11. Changes in soft tissue of female *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar indicate the mean and SE, respectively. Values significantly different from that of July 31st are denoted by *($P < 0.05$).

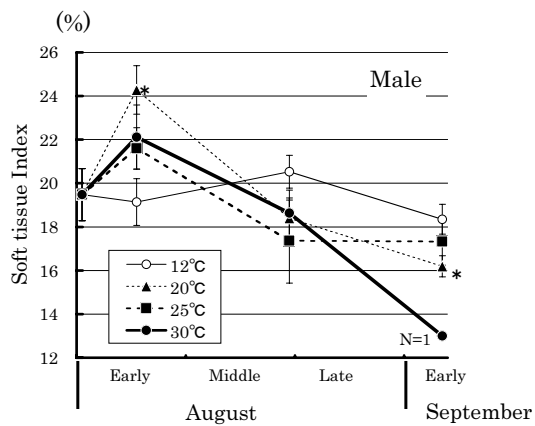


Fig. 12. Changes in soft tissue of male *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar indicate the mean and SE, respectively. Values significantly different from that of July 31st are denoted by *($P < 0.05$).

の生殖巣指数では7月31日 (11.4 ± 0.72) から25℃区で8月19日 (12.4 ± 1.46) にかけて、30℃区では8月5日 (13.6 ± 1.16) にかけて有意に増加した (Fig. 13)。雄の生殖巣指数では7月31日 (7.38 ± 0.69) から12℃区で8月19日 (9.93 ± 0.58) にかけて、20℃区では8月5日 (11.8 ± 0.83) にかけて有意に増加した (Fig. 14)。

精子運動能では8月5日の12℃区では9個体のうち5個体が+, 2個体が++であり約8割が+以上であった。20℃区では12個体のうち8個体が+, 4個体が++であり、全てが+以上であった。25℃区では10個体中6個体が+, 2個体が++であり、8割が+以上であった。30℃区では8個体中5個体が±であ

り, +は1個体のみであった。8月19日の12℃区では13個体中7個体が+であり, ++および+++がそれぞれ2および1個体であり, 約8割が+以上であった。20℃では16個体中6個体が+であり, 3個体が++であり, 約6割が+以上であった。25℃区では7個体中2個体が+であり, +以上は約3割であった。30℃区では7個体中1個体のみが+であった。9月2日の10℃区では21個体中7個体が+, 2個体が++であり, +以上は約4割であった。20℃区では16個体のうち1個体が+であり, +以上は1割以下であった。25℃区では9個体の1個体が+であり, +以上は約1割であった。30℃区では2個体のうち精子運動のみられる個体はなかった (Table 3)。このように8

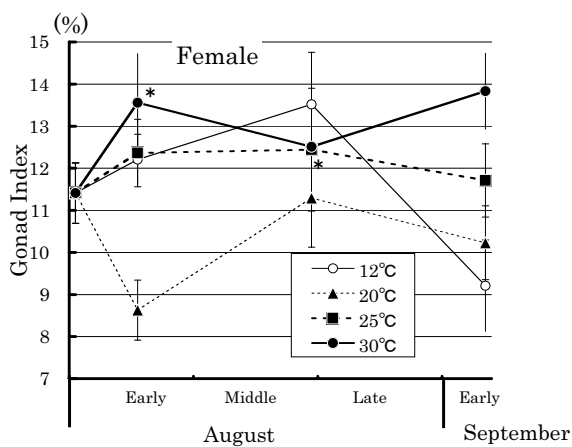


Fig. 13. Changes in gonad of female *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar indicate the mean and SE, respectively. Values significantly different from that of July 31 st are denoted by $*(P<0.05)$.

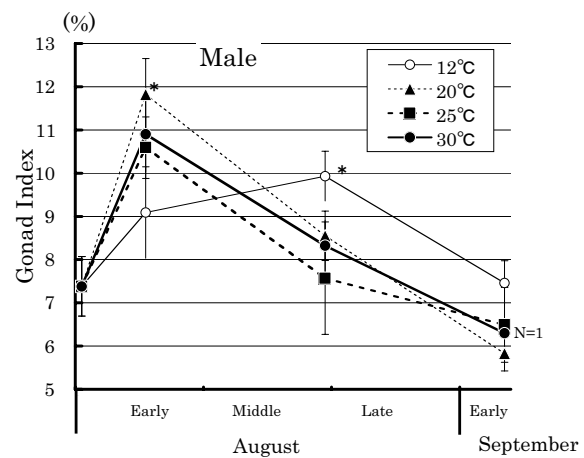


Fig. 14. Changes in gonad of male *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar indicate the mean and SE, respectively. Values significantly different from that of July 31 st are denoted by $*(P<0.05)$.

Table 3. Sperm motility in the different breeding water temperature

Experimental plot	breeding water temperature	Date																			
		5. August					19. August					2. September									
		Number	Sperm nothing	Sperm motility				Number	Sperm nothing	Sperm motility				Number	Sperm nothing	Sperm motility					
		-	±	+	++	+++			-	±	+	++	+++			-	±	+	++	+++	
	12°C	9		2		5	2	13		1	2	7	2	1	21		2	10	7	2	
	20°C	12				8	4	16		1	6	6	3	16	1	4	10	1			
	25°C	10		2		6	2	7	2	2	1	2		9		3	5	1			
	30°C	8		2	5	1		7		1	5	1		2		2					

月5日から9月2日にかけて精子の運動能を持つ個体の比率は低下した。特に25および30℃より低温の12および20℃で運動能の高い個体の比率が高い傾向を示した (Fig. 15)。

人工産卵による産卵数は、12℃区では産卵はみられず、20℃区では1区で14,869粒の産出卵数であった。25℃区では5,560粒および17,663粒の産出がみられ、30℃区では30,593粒および2,119粒の産出卵数であった。平均値では産出のみられた20℃区、25℃区および30℃区の産出卵数はそれぞれ、7,434粒、11,611粒および16,356粒であった (Table 4)。

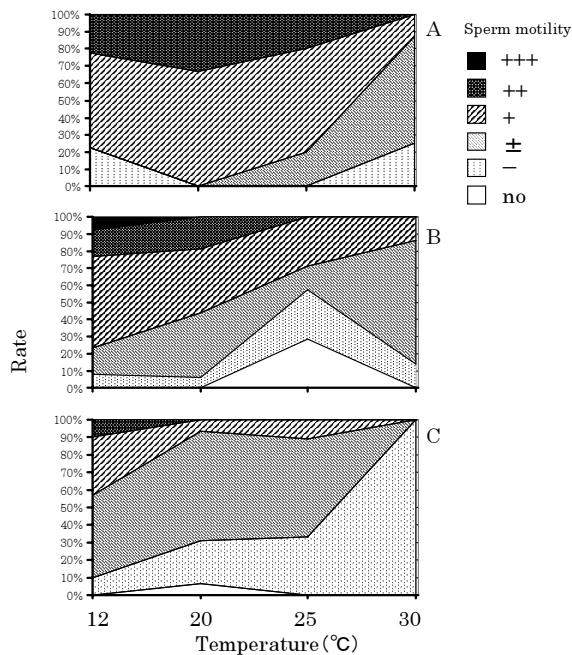


Fig. 15. Sperm motility in different breeding waters. A, 5th August; B, 19th August; C, 2nd September.

Ⅲ-② 成熟時期における成熟促進効果の検討

材料と方法

1. 水温による成熟促進試験

2003年6月4日および7月16日に石狩川河口付近のシジミ漁場 (水深約1~1.5 m) から鋤簾を用いて採集し異なる水温条件で飼育を行った。両日の採取個体数並びに平均殻長±標準誤差はそれぞれ160個体、平均殻長28.1±0.69 mm および130個体、平均殻長35.0±0.92 mmであった。飼育には60ℓのアクリル水槽を用い、エアレーションし、毎日約2割の飼育水 (真勲別川河川水) を交換した (Fig. 10)。6月4日に採取し飼育を開始した群について、直接25℃で飼育した群を試験区1-1、1ヶ月かけて徐々に水温を25℃に上昇させた群を試験区2-1とし、石狩川河川水の上昇を想定して2ヶ月かけて徐々に水温を25℃に上昇させた群を試験区3-1とした (Table 5)。7月16日に採取し飼育を開始した群については、直接25℃に上昇させた群を試験区1-2、1週間かけて徐々に25℃に上昇させた群を試験区2-2とし、2週間かけて25℃に上昇させた群を試験区3-2とした (Table 5)。水温の調整は100 Vの投げ込み式電気ヒーターを用いて毎日行った。

飼育期間中に6月4日、7月1日、7月14日、7月23日および7月30日の5回、軟体部指数および生殖腺指数を調べ、試験区1-1については7月14日まで行った。両指数は開殻せずに重量を計測し、軟体部指数 (軟体部重量×100/全重量) と生殖腺指数 (生殖巣重量×100/全重量) を算出した。両指数の値は総て平均値±標準誤差で示した。また、両指数の推移については、6月4日の値に対する平均値の差の検定から検討した。その際、比較する群に等分散性が認めら

Table 4. Mean number of eggs spawned by artificial stimulation at the different water temperature in *C. japonica*

water temperature (°C)	Number of spawned eggs / female											
	female individual				Number of spawned eggs (10 ³)				individual (10 ³)			
	12	20	25	30	12	20	25	30	12	20	25	30
lot No.1	5	4	3	5	63	59,475	16,681	152,963	13	14,869	5,560	30,593
lot No.2	4	2	6	4	0	0	105,975	8,475	0	0	17,663	2,119
Average					32	29,738	61,328	80,719	6	7,434	11,611	16,356

れた場合は一元分散分析を行い、認められない場合は Kruskal-Wallis 検定を用い、有意差の検定は 5%水準で行った。

人工産卵数について、試験区 1-1 は 7 月 14 日に卵巣の一部を切り出しプレパラートに挟み、実体顕微鏡で卵巣像を観察したところ、卵巣内で卵黄が蓄積し成熟期にある像（丸ら，2005 a）がみられたため、7 月 19 日に人工産卵を行った（Table 5）。その他の試験区 1-2, 2-1, 2-2, 3-1, 3-2 については 7 月 30 日に行った。供試貝各試験区 20 個体を塩分 5 psu の海水に入れて一晩冷蔵庫内で 4 °C で保存した後、水温 25 °C 塩分 5 psu に移し、産卵数を確認した。塩分 5 psu 溶液の作成に使用した淡水および海水については前述と同様とした。各群の総産卵数は、試験水 500 ml のうち 1 ml 当たりに含まれる卵数を、計数盤を用いた実体顕微鏡観察により 3 回計数し、その平均卵数を 500 倍することにより求めた。内臓囊の色彩により雌雄を区別し（丸，1981）、雌 1 個体あたりの産卵数（総産卵数／雌個体数）および 24 時間後の浮遊幼生数（浮遊幼生数／雌個体数）を比較した。

2. 光周期調節による成熟促進試験

2003 年 6 月 4 日に前述のとおり成貝を採集し異なる光周期環境下で飼育を行った。飼育には 60 l のアクリル水槽を用い、エアレーションおよび飼育水の交換は前述と同様とした。光周期の調整は北海道立水産

孵化場の光周期調整室（東芝電材株式会社製：PROGRAM TIMER）で行った。石狩川でのヤマトシジミの産卵時期は丸ら（2005 a）および北海道立水産孵化場（1989, 1990）によるとそれぞれ 7 月下旬～9 月上旬および 8 月上旬～中旬とされており、石狩川産ヤマトシジミの産卵期の盛期を 8 月中旬と想定した。理科年表（平成 15 年度版）により、当年の夏至（6 月 20 日）の日長時間は 15 時間 21 分であり、想定した産卵期盛期（8 月中旬）は 13 時間 50 分であった。飼育開始時から直接日長時間 13 時間 50 分で飼育管理した区を短日（試験区 4）とした。飼育を始めた 6 月上旬から産卵期盛期の 8 月中旬に至るおよそ 80 日のうち、半分の 40 日で採卵期盛期の日長時間（13 時間 50 分）に達するように短縮した区を試験区 5 とした（Fig. 16,

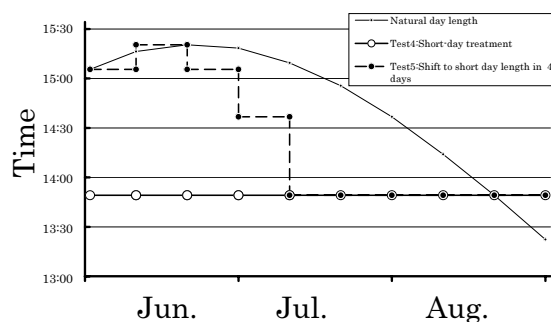


Fig. 16. Photoperiod setting experiment.

Table 5. Experimental scheme to examine temperature and photoperiod induction of spawning in *C. japonica*

Test number	Method	Breeding Condition	Breeding period		Artificial Stimulation
			start	end	
1-1	temperature	water temperature of direct 25 °C	4. Jun.	14. Jul.	19. Jul.
1-2	temperature	water temperature of direct 25 °C	16. Jul.	30. Jul.	1. Aug.
2-1	temperature	Raised a breeding water temperature to 25 °C in one months	4. Jun.	30. Jul.	1. Aug.
2-2	temperature	Raised a breeding water temperature to 25 °C in one week	16. Jul.	30. Jul.	1. Aug.
3-1	temperature	Raised a breeding water temperature to 25 °C in two month	4. Jun.	30. Jul.	1. Aug.
3-2	temperature	Raised a breeding water temperature to 25 °C in two week	16. Jul.	30. Jul.	1. Aug.
4	Photoperiod	Short-day	4. Jun.	30. Jul.	1. Aug.
5	Photoperiod	Shift to short day length in 40 days	4. Jun.	30. Jul.	1. Aug.

Table 5)。試験区 5 の日長の調整は 10 日毎に行った。水温の調整は 100 V の投げ込み式電気ヒーターを用いて 20 °C に設定した。各試験区の個体数は約 70 個体とした。

飼育期間中に 6 月 4 日, 7 月 1 日, 7 月 14 日, 7 月 23 日および 7 月 30 日の 5 回, 各試験区 15 個体について軟体部指数および生殖腺指数を調べた。軟体部指数, 生殖腺指数の算出および平均値の差の検定は前述のとおりである。また, 人工産卵を 7 月 30 日に前述の方法で行い, 人工産卵による産卵数および浮遊幼生の生残性との関係を検討した。

3. 成貝への給餌の有無と放卵数および浮遊幼生数の比較

2003 年 7 月 16 日に石狩川河口付近のシジミ漁場で鋤簾を用い採集した成貝から 60 個体を試験に供した (Fig. 10)。成貝は 60 ℓ アクリル水槽で飼育し, *Chaetoceros calcitrans* (製造元: 田崎真珠) を餌として給餌区と無給餌区で各 30 個体とし, 同年 7 月 30 日まで飼育した。給餌量は 1 日あたり 50 ml (濃度 5 億細胞/ml) とした。7 月 16 日, 7 月 23 日および 7 月 30 日に前述の方法で軟体部指数および生殖腺指数を計測した。また, 7 月 30 日に既述の方法に従い人工産卵を行い, 産卵数および浮遊幼生数を調査した。飼育水温は 100 V の投げ込み式電気ヒーターを用いて 20 °C に設定した。

結 果

1. 水温による成熟促進試験

雌の軟体部指数は 6 月 4 日 (19.8 ± 1.01) から試験区 2-1 で 7 月 14 日 (15.8 ± 0.97) および 7 月 23 日 (15.0 ± 1.23) にかけて有意に低下し, 試験区 1-1 では 7 月 14 日 (15.0 ± 1.37) にかけて低下した (Fig. 17)。雄の軟体部指数は 6 月 4 日 (18.3 ± 0.90) から試験区 2-1 で 7 月 1 日 (14.6 ± 1.60) にかけて有意に低下し, 試験区 3-1 では 7 月 14 日 (15.0 ± 0.94) にかけて有意に低下し, 試験区 1-1 では 7 月 14 日 (13.7 ± 0.80) にかけて有意に低下した (Fig. 18)。

雌の生殖腺指数では 6 月 4 日 (8.2 ± 0.63) から 7 月 30 日にかけて試験区 2-1 では 6.8 ± 0.70 , 試験区 3-1 では 6.3 ± 0.80 に低下し, 試験区 1-1 では 7 月 14 日にかけて 6.6 ± 0.90 に低下したが, 有意差は認められなかった (Fig. 19)。雄の生殖腺指数では 6 月 4 日 (7.1

± 0.53) から試験区 1-1 で 7 月 14 日 (4.7 ± 0.33) に有意に低下した他に変化はみられなかった (Fig. 20)。このように軟体部指数および生殖腺指数ともにいずれの試験区でも 6 月に採取した群での増加はみられなかった。

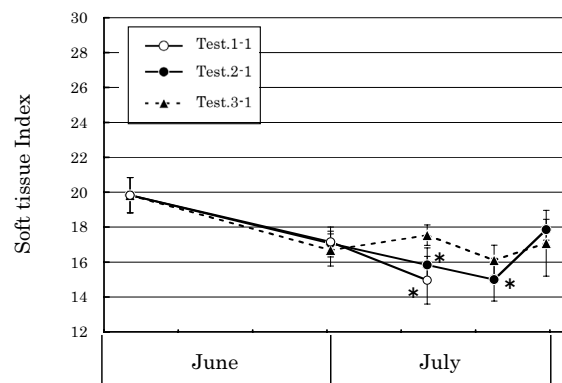


Fig. 17. Changes in soft tissue index of female *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4 th are denoted by $*(P < 0.05)$.

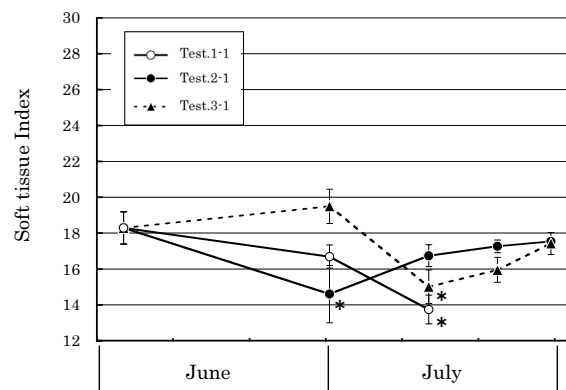


Fig. 18. Changes in soft tissue index of male *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4 th are denoted by $*(P < 0.05)$.

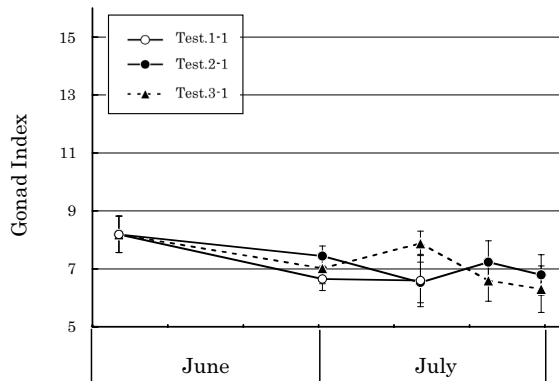


Fig. 19. Changes in gonad index of female *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by $*(P<0.05)$.

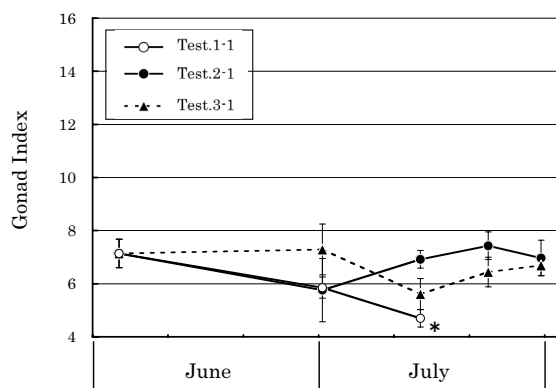


Fig. 20. Changes in gonad index of male *C. japonica* in different water temperatures. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by $*(P<0.05)$.

2. 光周期による成熟促進試験

雌の軟体部指数は6月4日 (19.8 ± 1.01) から試験区4および試験区5で7月23日 (15.9 ± 0.86) にかけて有意に低下した他に変化はみられなかった (Fig. 21)。雄の軟体部指数は6月4日 (18.3 ± 0.90) から試験区4および試験区5で7月23日にそれぞれ 14.3 ± 0.45 および 15.1 ± 0.57 に有意に低下した (Fig. 22)。

雌の生殖巣指数では6月4日 (8.2 ± 0.63) から試験区4および試験区5で7月23日にかけてそれぞれ 6.6

± 0.66 および 6.6 ± 0.23 に低下したが、有意差は認められなかった (Fig. 23)。雄の生殖巣指数では6月4日 (7.1 ± 0.53) から試験区4で7月1日 (5.8 ± 0.46) および7月23日 (5.5 ± 0.50) にかけて有意に減少し、試験区5では7月23日 (5.4 ± 0.54) にかけて有意に減少した (Fig. 24)。このように軟体部指数および生殖巣指数ともにいずれの試験区でも6月に採取した群での増加はみられなかった。

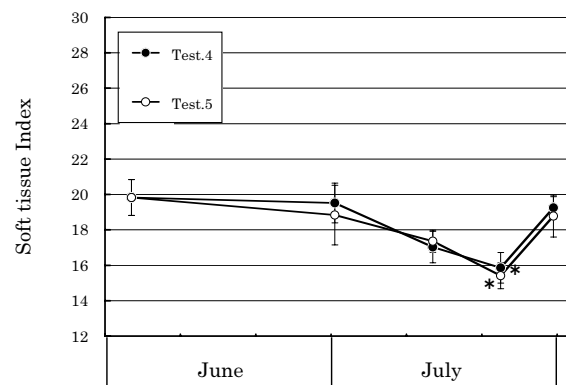


Fig. 21. Changes in soft tissue index of female *C. japonica* in different photoperiods. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by $*(P<0.05)$.

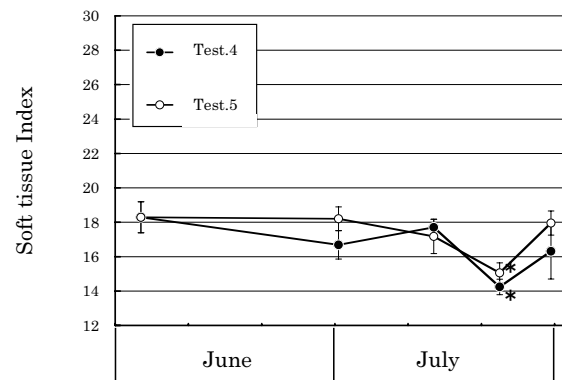


Fig. 22. Changes in soft tissue index of male *C. japonica* in different photoperiods. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by $*(P<0.05)$.

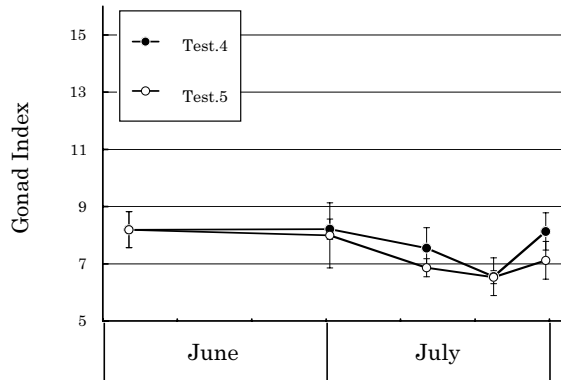


Fig. 23. Changes in gonad index of female *C. japonica* in different photoperiods. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by * ($P < 0.05$).

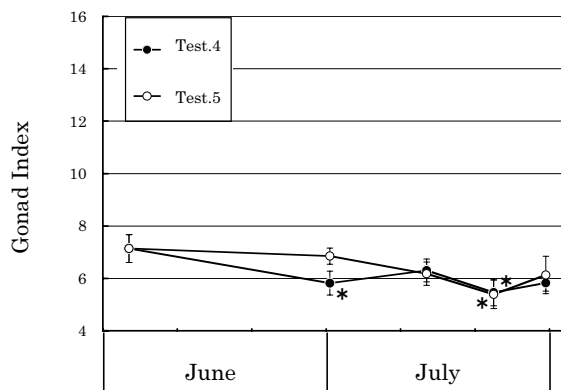


Fig. 24. Changes in gonad index of male *C. japonica* in different photoperiods. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. Values significantly different from that of June 4th are denoted by * ($P < 0.05$).

3. 人工産卵による放卵数および浮遊幼生数の比較

6月4日から飼育を開始した群のうち、試験区 1-1 で7月19日に人工産卵を行ったところ、1,620粒の産卵がみられたものの、24時間後の浮遊幼生は発見できなかった。6月4日から飼育を開始し、8月1日に人工産卵を行った試験区 2-1 の産卵数は4,833粒、24時間後の浮遊幼生数は1,396個体だった。同じく試験区 3-1 では産卵はみられなかった。試験区 4 および 5 ではそれぞれ2,174粒、2,000粒の産卵がみられたが、

24時間後の浮遊幼生数はいずれも0であった (Fig. 25)。

7月16日から飼育を開始し、8月1日に人工産卵を行った群のうち、試験区 1-2 では産卵がみられなかったものの、試験区 2-2 および 3-2 ではそれぞれ53,300粒および202,538粒の産卵がみられ、24時間後の浮遊幼生数はそれぞれ18,300および157,692個体であった (Fig. 25)。このように、7月16日に採集し、2週間後に人工産卵した群で産出卵数および浮遊幼生数が多く、特に飼育水温を緩やかに上昇させた群で多くの浮遊幼生が生残した。

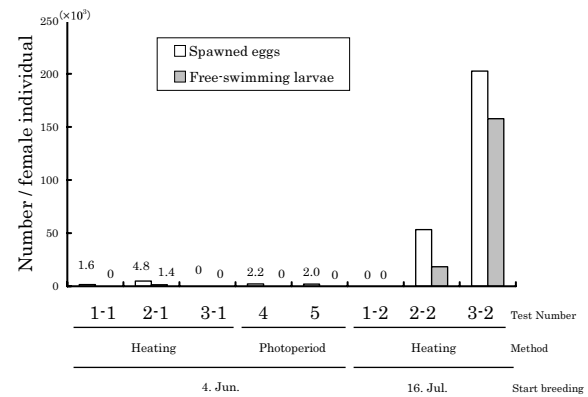


Fig. 25. Mean numbers of spawned eggs and free-swimming larvae 24 hours after spawning in *C. japonica*, in different water temperature or photoperiod conditions.

4. 成貝への給餌の有無と放卵数および浮遊幼生数

雌の軟体部指数は7月16日 (30.8 ± 1.13) から給餌区では7月23日 (24.0 ± 1.20), 7月30日 (20.4 ± 0.84) にかけて有意に低下し、無給餌区でも7月23日 (23.0 ± 1.17), 7月30日 (20.8 ± 1.56) にかけて有意に低下した。雌の生殖巣指数では7月16日 (14.2 ± 0.70) から給餌区では7月23日には変化なく、7月30日 (10.3 ± 0.69) に有意に減少した。無給餌区では7月23日 (10.9 ± 0.67) および7月30日 (9.5 ± 1.19) にかけて有意に低下した (Fig. 26)。

雄の軟体部指数は7月14日 (26.6 ± 2.8) から給餌区では7月23日 (21.1 ± 0.89) および7月30日 (20.0 ± 1.17) にかけて有意に低下した。無給餌区では7月23日 (21.1 ± 0.53) および7月30日 (17.5 ± 0.91) にかけて有意に低下した。雄の生殖巣指数は給餌区で

は7月14日 (10.5 ± 0.99) から7月30日 (8.8 ± 0.67) まで変化がなく、給餌区では7月30日 (7.11 ± 0.81) に有意に低下した (Fig. 27)。

人工産卵を行ったところ、給餌区の産卵数は58,580粒であり、24時間後の浮遊幼生数は14,516個体であった。無給区の産卵数は1,100粒であり、24時間後の浮遊幼生数は1,000個体であった (Fig. 28)。このように給餌を行った群で多くの産卵がみられ、多くの浮遊幼生が生残した。

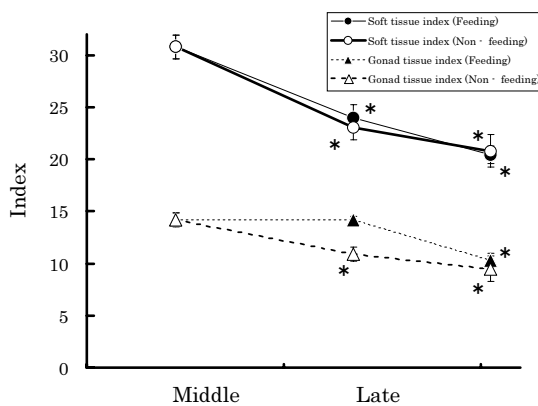


Fig. 26. Changes in soft tissue index and gonad index of female *C. japonica* in feeding and non-feeding condition. Each point and bar value indicate the mean \pm SE respectively. Values significantly different from that of July 16th are denoted by $*$ ($P < 0.05$).

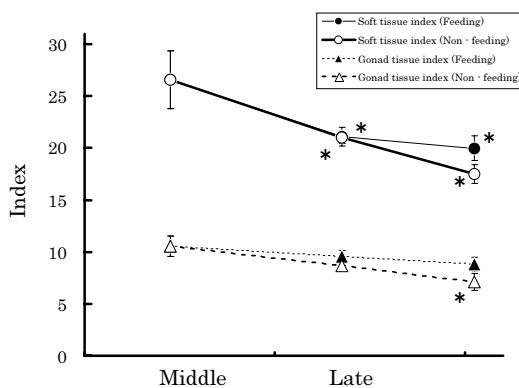


Fig. 27. Changes in soft tissue index and gonad index of male *C. japonica* in feeding and non-feeding condition. Each point and bar value indicate the mean \pm SE respectively. Values significantly different from that of July 16th are denoted by $*$ ($P < 0.05$).

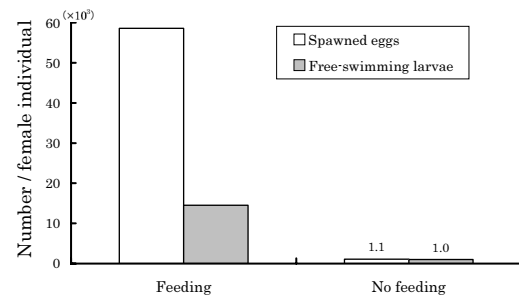


Fig. 28. Mean numbers of spawned eggs and free-swimming larvae at 24 hours from spawning per female individual in *C. japonica*, in feeding and non-feeding conditions.

考 察

石狩川に生息するヤマトシジミの産卵期初期である7月下旬に採取したヤマトシジミ成貝を12~30℃の異なる水温で約1ヶ月間飼育管理し軟体部指数、生殖巣指数および精子運動能を、また飼育8日後の人工産卵数から飼育水温による成熟促進効果を検討した。その結果、軟体部指数は20℃で飼育した雌で飼育1週間後に減少し、雄では飼育1週間後に増加し、1ヶ月後に減少する傾向がみられた。生殖巣指数では雌で25℃および30℃でそれぞれ3週間後および1週間後に増加する傾向がみられ、雄では12℃および20℃でそれぞれ3週間後および1週間後に増加する傾向がみられた。このように雌では25℃および30℃の高水温において軟体部指数では変化が見られなかったが、生殖巣指数が増加する傾向がみられたことから、生殖巣で卵黄形成が進んでいるものと考えられる。飼育から8日後に人工産卵を行った結果では、産出卵数の平均値で水温の高い区で多くの産卵がみられた。このことから、産卵期初期に採取した雌では25~30℃に管理することにより、成熟が促進され人工種苗生産が可能であることが示された。一方、雄では12℃および20℃の低水温で生殖巣指数が増加する傾向がみられ、精子の運動能では8月上旬から中旬、さらに9月上旬にかけて精子活性を持つ個体が少なくなった。雄では20℃以下で飼育管理した群で精子活性を持つ個体の比率が高い傾向を示し、軟体部指数および生殖巣指数と同様の傾向を示した。このことは飼育管理する水温が高すぎると弊害をもたらす可能性も考えられ、人工

産卵を行う際には雄雌の産卵放精時期を同調していることが不可欠であることを考え合わせると、今回の結果から適正な水温は20℃～25℃と考えられる。

ヤマトシジミの採取時期を産卵期から成熟期に早め、石狩川での成熟期である6月上旬から異なる水温環境および光周期環境で2ヶ月間飼育管理し、軟体部指数の推移から成熟促進効果を調査した。その結果水温環境を調整した、飼育開始から直接25℃で飼育した群、飼育開始から2ヶ月間で徐々に水温を25℃に上昇させた群、飼育開始から1ヶ月で徐々に水温を25℃に上昇させた群は、雌雄ともに、軟体部指数および生殖巣指数ともに増加せず、成熟促進効果はみられなかった。また、日長時間を調整し、成熟期の盛期と推定される短日環境で飼育した群および自然日長から短日への移行期間を半分の日数に短縮した群の何れでも、雌雄ともに軟体部指数および生殖巣指数ともに増加せず、成熟促進効果はみられなかった。次に人工産卵を行い、産卵数と24時間後の浮遊幼生数について調査したところ、産卵期開始時期の7月下旬より1旬早い7月中旬に採取し、1～2週間かけて徐々に水温を25℃に上昇させた群で産卵数および浮遊幼生数が多かった。このことから、産卵期に近い時期に成貝を採取し水温調節することにより、天然の産卵期より早く種苗生産できる可能性が示された。

このように6月上旬に採取し2ヶ月間飼育した群では水温および光周期条件によって成熟促進効果はみられず、人工産卵数および浮遊幼生数が極めて少なかったのに対し、7月中旬に採取し水温調節した群で多くの産出卵および浮遊幼生が得られた。本試験での母貝の飼育管理では、飼育水を生息環境である河川水を用いているものの、ほぼ無給餌に等しい飼育環境であったと考えられる。次に7月中旬に採取し、*C. calcitrans*を2週間与えて飼育した群は無給餌の群に比べて生殖巣指数の減少が少なく、人工産卵による産卵数および浮遊幼生の生残数も多かった。このことから、人工種苗生産においては母貝の飼育管理には給餌することが必要であることが示唆された。ただし、今回の給餌量では軟体部指数および生殖巣指数は増加が見られなかったことから、今後適正な給餌量および栄養価などの質の問題について検討する必要がある。また、飼育水温調節と組み合わせることにより、効率的な種苗生産技術を確立するためには、さらに詳細な検討が必要である。

貝類で古くから人工種苗生産が行われているアワビ

類で産業的に重要な4種のうち、北方系のエゾアワビは暖海系3種（クロアワビ、マダカアワビ、メガイアワビ）に比べて成長が鈍いものの、種苗生産体系の過程で水温条件を調整することで母貝の成熟を進行させている（佐々木，2005）。關（1994）によればエゾアワビの多くの種苗生産施設では、水温が最低となる冬季に水温条件を20℃に加温して母貝を育成することで天然産卵期より数ヶ月早い春季に産卵誘発し、夏季の高水温を稚貝飼育に有効利用している。今回の結果からヤマトシジミについても同様に高い水温で母貝を管理することにより産卵期初期の母貝に対しては成熟を促進できる可能性が示された。ただし、成熟期から高い水温で管理した場合では軟体部および生殖巣指数の増加はみられなかった。産卵期より更に早い時期である成熟期から成熟促進が図られれば、エゾアワビと同様に稚貝を夏季の高水温環境で飼育することができ、大型の稚貝を育成することが可能となることから、今後さらなる検討が必要である。

松浦（2005）は食用として市場価値の高いアカガイの種苗生産について、採卵に適した3～4年貝を海水温10℃の時点で海から取り上げ、給餌しながら水温23℃を維持して室内飼育を継続することで人為的に性成熟を促す（催熟）ことができ、稚貝の成長の良い水温15℃を超える6～7月に中間育成できるように親貝の早期採苗を行っていることを報告している。また、小塩ら（1994）によると陸奥湾のホタテガイでは1齢貝を11月～翌年2月まで水槽内の水温を6℃と9℃に保ち、*Pavlova lutheri*と*Chaetoceros gracilis*の給餌区と無給餌区で飼育した後、15℃の紫外線殺菌海水に浸漬し産卵誘発した結果、給餌区では両水温下のホタテガイが1月中旬から産卵し、通常産卵期よりも1ヶ月以上早く産卵させることができたが、無給餌区では放精、放卵はみられなかったことを報告している。今回のヤマトシジミの結果では、母貝に給餌を行った場合の人工産卵数が多かったことから、母貝に対する給餌が必要であることが示唆された。ただし、飼育期間中に軟体部および生殖巣指数は減少しており、今後は適切な給餌量について検討する必要がある。丸（1976）によると、二枚貝における生殖巣の発達には水温の他に日照時間も密接に関係していることを報告している。しかし、今回の試験結果では、ヤマトシジミについては日照時間を産卵時の日長時間に調整することによる成熟促進効果はみられなかった。貝類については人為的に日照時間を調整することによる成熟促

進効果に関する報告はみあたらず、今後検討が必要である。

第IV章 人工種苗に対する適正餌料の検討

ヤマトシジミの餌料に関する報告は少ないが、腸中の観察から藻類、原生動物、輪虫類、その他小型のプランクトン(朝比奈, 1941)とされている他、近年では安定同位体元素の分析からヤマトシジミの体成分は陸上由来の有機物(Kasai and Nakata, 2005)との報告がある。天然から採取したヤマトシジミ稚貝に対して給餌を行った例ではコイ池底泥の懸濁物(伊藤ら, 1989)を用い餌料効果を確認した報告がある。貝類の人工種苗生産技術開発課題として幼生や稚貝と餌料藻類との関係は重要であり、対象種に有効な餌料種の選定や給餌方法の検討は、生産の安定化や大量生産さらに事業の効率化や省力化につながるとされている(中島ら, 1997)。二枚貝の人工種苗生産では幼生期、稚貝期と餌料との関係を報告した例は多く、特に幼生飼育の好適餌料や餌料価値について、アコヤガイ(Okauchi, 1990)、アサリ(深山・鳥羽, 1990)、クロチョウガイ(田中ら, 1970)、トリガイ(西広, 1980)、カキ(Helm and Lang, 1987)、バカガイ(中島ら, 1997)などで研究されている。二枚貝幼生に対する餌料生物としては *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* が知られており(田中, 1982)、混合給餌の有効性についてはトリガイ(西広, 1980)、カキ(Helm and Lang, 1987)、バカガイ(中島ら, 1997)で報告されているものの、ヤマトシジミの種苗生産を目的としたこれら餌料生物等による餌料効果に関する報告は全く見あたらない。そこで、本章①では浮遊幼生に対する浮遊、着底および初期稚貝までを対象に、*C. calcitrans*, 腐葉土および珪藻代替餌料として市販されクルマエビの種苗生産で使用されている粉末珪藻について最適餌料の検討を行った。本章②では浮遊幼生に対する浮遊から着底稚貝までを対象に貝類種苗生産で餌料として使用されている藻類である *C. calcitrans*, *C. gracilis*, *P. lutheri* およびクロレラを用い、単独給餌および混合給餌を比較し、生残および成長に及ぼす最適給餌量について検討を行った。

IV-① 人工種苗に対する餌料の探索

材料と方法

1. 人工種苗の浮遊から着底における *Chaetoceros calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験

2003年7月6日に天塩川河口付近で鋤簾を用いて採集した成貝を用い人工産卵により受精卵を得た(Fig. 29)。人工産卵は成貝を塩分5 psuの海水に入れて一晩冷蔵庫内で4℃で保存した後、25℃の塩分5 psuの海水に直接移行することで産卵誘発を行った。産卵の翌日に浮遊幼生約200個体をシャーレ(ポリスチレン製)に収容し飼育水を30 ml、塩分を5 psuに調整し20℃に保ったインキュベータ内で管理した。5 psu溶液の作成には、淡水は北海道恵庭市にある北海道立水産孵化場の湧水を用い、海水は北海道余市町にある北海道立中央水産試験場で濾過された余市沖の天然海水を用いた。試験区1は *C. calcitrans* (製造元: 田崎真珠) を与え、給餌量は $1 \times 10^6 \sim 25 \times 10^6$ 細胞の範囲で3段階とした。試験区2は腐葉土溶液とし、くぬぎやならの葉を原料とする腐葉土(製品名: 腐葉土, アイリスオーヤマ製)を材料とし伊藤ら(1989)の方法に従い、超音波洗浄器で粉碎して作成した。給餌量は0.5 mg~12.5 mgの範囲で3段階とした。試験区3は珪藻代替餌料である粉末珪藻(製品名: ZM Food for zoea, 株式会社ヒガシマル製)を与え、給餌量は0.04 mg~1 mgの範囲で3段階与えた。対照区1では河川水を与え、0.66 ml~16.5 mlの範囲で3段階の濃度で与えた。河川水は石狩川水系でシジミ漁場に

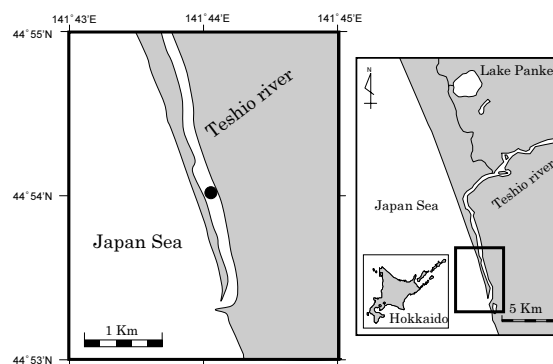


Fig. 29. Map showing sampling site for *Corbicula japonica*. "A" shows the sampling site at Teshio River.

隣接しヤマトシジミの生息を確認している真蕪別川の水とした (Fig. 10)。対照区 2 は北海道恵庭市にある北海道立中央水産孵化場の湧水を使用し、無給餌とした。給餌は試験開始時の 1 回とし、20 °C に保ったインキュベータ内で 22 日間管理した。各試験区は 3 ロット用意し生存率 (生存個体数×100/全個体数)、活動率 (着底後足を出して活発に移動している個体数×100/全個体数) および着底率 (着底個体数×100/全個体数) を比較した。幼生の浮遊および着底は実体顕微鏡下で観察した。生死は殻中の身体の有無で判断し、生存率、活動率および着底率は視野内における生存個体数および斃死個体数の総数 (全個体数) に対する割合とした。

2. 人工種苗の浮遊から初期稚貝における *C. calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験

2003 年 7 月 6 日に天塩川で鋤簾を用いて採集した成貝を用い、前述と同様の方法で人工産卵により受精卵を得た。産卵の翌日に 100 ℓ および 500 ℓ のパンライト製水槽を用い容量 50 ℓ に対し浮遊幼生約 1,040 ×

10³ 個体を収容し *C. calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻を与えた。餌料は前述と同様の物を使用した。給餌は産卵から 2 日目に 1 度与え、13 日目までは水交換を行わなかった。14 日目以降は 2~3 日毎に給餌と水交換を行った。水交換は容量の 2/3 程度とした。試験区 1 は *C. calcitrans* を産卵から 2 日目に 20 × 10⁹ 細胞与え、14 日目以降は 1 日あたり、49 × 10⁸ 細胞与えた。試験区 2 では腐葉土を産卵から 2 日目に 5.0 g 与え、14 日目以降は 1 日あたり 98 mg 与えた。試験区 3 では粉末珪藻を産卵から 2 日目に 1.0 g 与え、14 日目以降は 98 mg 与えた (Table 6,7)。各試験区とも産卵から 13 日目までは塩分 5 psu で管理した。塩分 5 psu 溶液の作成に使用した淡水および海水については前述と同様とした。飼育は止水でエアレーションを行い管理した。水槽に投げ込み式 100 V 電気ヒーターを用い、飼育水温は 20~25 °C の範囲に調整した。飼育水の水交換には北海道立水産孵化場の湧水を使用し、14 日目以後はほぼ淡水で飼育した。対照区 1 は天然環境を模して前述のとおり真蕪別川の河川水で飼育を行った。対照区 2 は無給餌となるように北海道立水産孵化場の

Table 6. Amount of feeds given during 2 nd to 13 th days after spawning

Test Number	Material	Tank		The number of the Free-swimming larvae (×10 ³)	Quantity of feeding
		Capacity (L)	Quantity of water (L)		
1	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	100	50	1,041	20 × 10 ⁹ cells
2	Leaf mold solution	100	50	1,041	5.0(g)
3	Diatom powder	100	50	1,041	1.0(g)
Cont. 1	River water	500	150	3,124	42(l)
2	No feeding	100	50	1,041	-

Table 7. Amount of feeds quantity of feeding after the 14 th day from spawning and onward

Test Number	Material	Tank		The number of the Settled juveniles at breeding (×10 ³)	Quantity of feeding / day
		Capacity (L)	Quantity of water (L)		
1	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	100	50	1,040	49 × 10 ⁸ cells
2	Leaf mold solution	100	50	93	98(mg)
3	Diatom powder	100	50	151	98(mg)
Cont. 1	River water	500	150	2,204	22(l)
2	No feeding	100	50	355	-

湧水を用い、飼育は54日間とした。飼育8日目、14日目、22日目、35日目および54日目に平均殻長を測定した。平均殻長は水槽底に生息する着底稚貝をピペットにより吸い取り、約30個体について殻長を計測した。飼育54日目に各水槽から生存個体を洗い流し、目合200 μm 、300 μm および500 μm のプランクトンネットで濾し、重量法で生存個体数を算出し、浮遊幼生数からの生残率を算出し生残性を比較した。平均殻長の差の検定はTukeyの検定を用い、飼育54日目の値で対照区1（無給餌）および対照区2（河川水飼育）に対する有意差の検定を1%水準で行った。また現存量=平均殻長 \times 個体数とし、54日目の現存量について比較した。

結 果

1. 人工種苗の浮遊から着底における *C. calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験

生存率は試験区1の給餌量 1×10^6 細胞では飼育期間中94~99%, 給餌量 5×10^6 細胞では91~99%, 25×10^6 細胞では96~100%といずれも高い値であった

(Fig. 30,A)。試験区2の給餌量0.5 mgでは飼育18日目までは87~99%であったが22日目は66%, 給餌量2.5 mgでは飼育18日目までは94~100%であったが22日目は83%, 給餌量12.5 mgでは飼育18日目までは98~100%であったが22日目は90%であった (Fig. 30, B)。試験区3の給餌量0.04 mgで飼育期間中95~100%であり、給餌量0.2 mgでは飼育期間中97~100%, 給餌量1 mgでは飼育5日目で57%でありその後85~100%であった (Fig. 30, C)。対照区1の給餌量0.66 mlでは飼育18日目までは90~98%で22日目は17%であり、給餌量3.3 mlでは飼育18日目までは81~96%で22日目は71%であり、給餌量16.5 mlでは飼育7日目は79%であり、その他の期間は90~100%であった (Fig. 30, D)。対照区2の無給餌では飼育期間中88~100%であった (Fig. 30, no feeding)。

活動率は試験区1の給餌量 1×10^6 細胞では飼育期間中43~62%, 給餌量 5×10^6 細胞では40~84%であった。 25×10^6 細胞では52~78%であった (Fig. 31,A)。試験区2の給餌量0.5 mgでは飼育期間中9~26%, 給餌量2.5 mgでは19~27%であった, 給餌量12.5

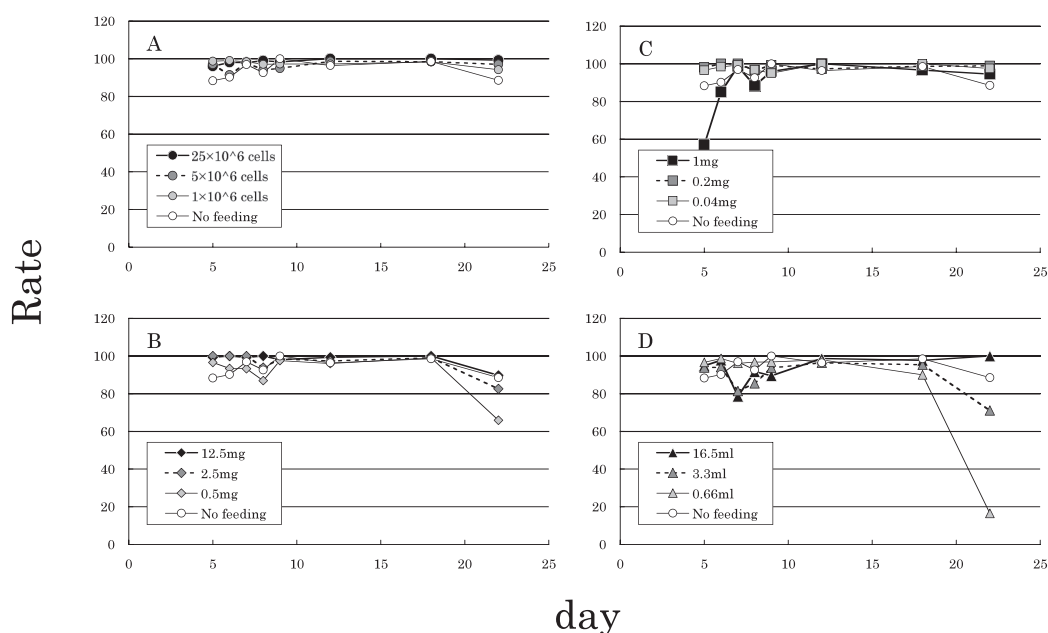


Fig. 30. A comparison of the rate of survived larvae and juveniles of *C. japonica* larvae given different feeds with different feeding amount. A, The larvae that were given *C. calcitrans*; B, The larvae that were given leaf mold solution; C, The larvae that were given diatom powder; D, The larvae that were given river water.

佐々木

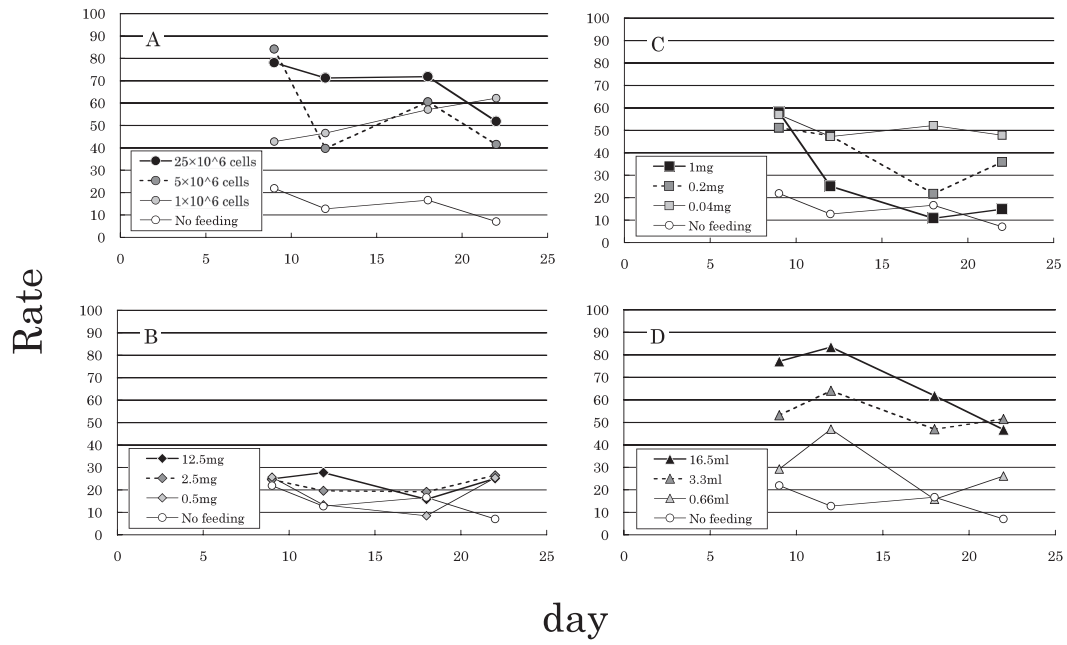


Fig. 31. A comparison of the rate of juveniles that shows movement of *C. japonica* larvae given different feeds with different feeding amount. A, The larvae that were given *C. calcitrans*; B, The larvae that were given leaf mold solution; C, The larvae that were given diatom powder; D, The larvae that were given river water.

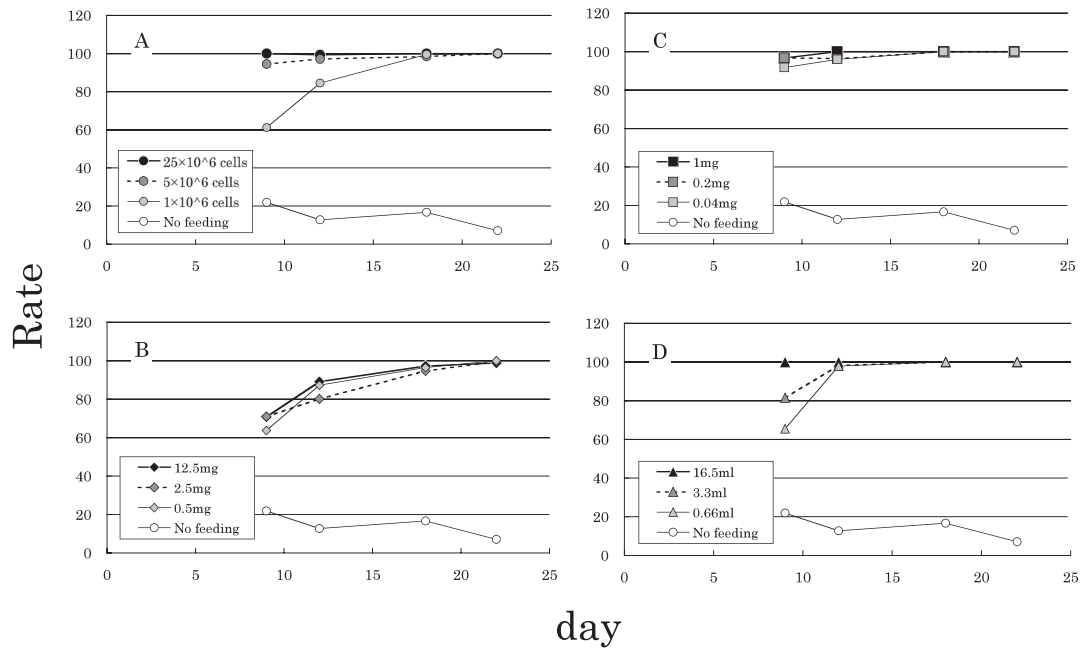


Fig. 32. A comparison of the rate of settled juveniles of *C. japonica* larvae given different feeds with different feeding amount. A, The larvae that were given *C. calcitrans*; B, The larvae that were given leaf mold solution; C, The larvae that were given diatom powder; D, The larvae that were given river water.

mg では 16~28%であった (Fig. 31, B)。試験区 3 の給餌量 0.04 mg では飼育期間中 47~57%であり, 給餌量 0.2 mg では 22~51%, 給餌量 1 mg では 11~58%であった (Fig. 31, C)。対照区 1 の給餌量 0.66 ml では飼育期間中 16~47%, 給餌量 3.3 ml では 47~64%, 給餌量 16.5 ml では 47~83%であった (Fig. 31, D)。対照区 2 の無給餌では飼育期間中 7~22%であった (Fig. 31, no feeding)。

着底率は試験区 1 の給餌量 1×10^6 細胞では飼育 9 日目の 61%から 22 日目の 100%に増加し, 給餌量 5×10^6 細胞では 9 日目の 94%から 22 日目の 100%へ増加し, 25×10^6 細胞では 9 日~22 日にかけて 99~100%であった (Fig. 32, A)。試験区 2 の給餌量 0.5 mg では飼育 9 日目の 64%から 22 日目の 100%へ増加し, 給餌量 2.5 mg では飼育 9 日目の 71%から飼育 22 日目の 96%へ増加し, 給餌量 12.5 mg では飼育 9 日目の 71%から 99%へ増加した (Fig. 32, B)。試験区 3 の給餌量 0.04 mg では飼育 9 日目の 92%から 18 日以降は 100%であり, 給餌量 0.2 mg では飼育 9 日目の 97%から 18 日以降は 100%であり, 給餌量 1 mg では飼育 9 日目の 97%から 12 日以降は 100%であった (Fig. 32, C)。対照区 1 の給餌量 0.66 ml では飼育 9 日目の 67%から飼育 18 日以降は 100%であり, 給餌量 3.3 ml では飼育 9 日目の 82%から飼育 18 日以降は 100%であり, 給餌量 16.5 ml では観察期間中全て 100%であった (Fig. 32, D)。対照区 2 の無給餌では飼育 9 日目の 22%から 22 日目の 7%に低下した。

2. 人工種苗の浮遊から初期稚貝における *C. calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻の餌料効果比較試験

平均殻長の推移は飼育 8, 14, 22, 35, および 54 日目で, 試験区 1 ではそれぞれ, $173.3 \pm 4.17 \mu\text{m}$, $274.3 \pm 9.39 \mu\text{m}$, $388.7 \pm 16.59 \mu\text{m}$, $455.0 \pm 23.26 \mu\text{m}$ および $680.6 \pm 27.72 \mu\text{m}$ であった (Fig. 33)。試験区 2 ではそれぞれ $180.8 \pm 3.16 \mu\text{m}$, $263.3 \pm 7.78 \mu\text{m}$, $276.0 \pm 18.44 \mu\text{m}$, $402.3 \pm 17.76 \mu\text{m}$ および $500.8 \pm 36.31 \mu\text{m}$ であった。試験区 3 ではそれぞれ $182.5 \pm 3.10 \mu\text{m}$, $221.7 \pm 6.95 \mu\text{m}$, $319.8 \pm 21.19 \mu\text{m}$, $362.5 \pm 44.19 \mu\text{m}$, $818.3 \pm 43.03 \mu\text{m}$ であった。同様に, 対照区 1 ではそれぞれ $177.7 \pm 2.91 \mu\text{m}$, $244.2 \pm 7.23 \mu\text{m}$, $475.8 \pm 13.46 \mu\text{m}$, $475.8 \pm 32.98 \mu\text{m}$, $886.9 \pm 41.01 \mu\text{m}$ であり, 対照区 2 ではそれぞれ $165.4 \pm 2.74 \mu\text{m}$, $190.7 \pm 3.86 \mu\text{m}$, $226.7 \pm 9.57 \mu\text{m}$,

$356.7 \pm 13.07 \mu\text{m}$, $379.8 \pm 22.71 \mu\text{m}$ であった。飼育 54 日後の平均殻長は試験区 3 の粉末珪藻, 試験区 1 の *C. calcitrans*, 試験区 2 の腐葉土の順に大きく, 対照区に対する有意差は試験区 3 の粉末珪藻および試験区 1 の *C. calcitrans* が対照区 2 の無給餌に対して有意に大きく, 試験区 2 の腐葉土が対照区 1 の河川水飼育に対して有意に小さかった (Fig. 33)。

生残率は試験区 1 の *C. calcitrans* が 12.4%で最も高く, 試験区 2 の腐葉土の 9.5%が次に高く, 試験区 3 の粉末珪藻の 4.9%が最も低い値であった (Fig. 34)。

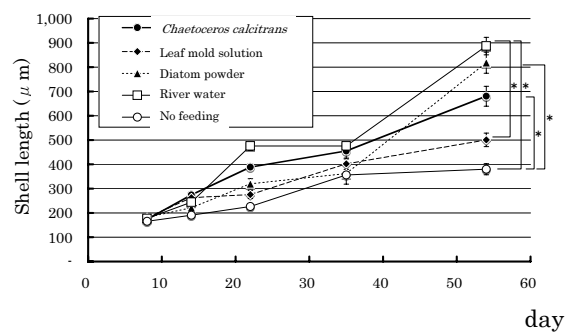


Fig. 33. Changes in average shell length of juvenile *C. japonica*, fed with four different feeds or without feeding. Each point and bar represent mean and SE, respectively. Significant difference ($P < 0.05$) was observed by K-W method among the groups at 54 days after the spawning. *Significant difference between the groups was observed by Turkey method ($P < 0.01$).

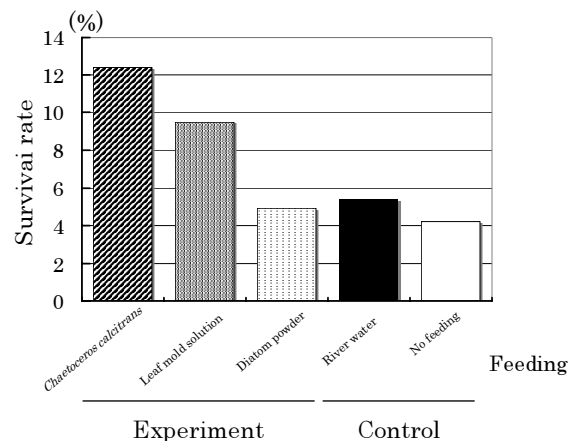


Fig. 34. Comparison in survival rate of juvenile *C. japonica*, fed with four different feeds or without feeding, at 54 days after spawning.

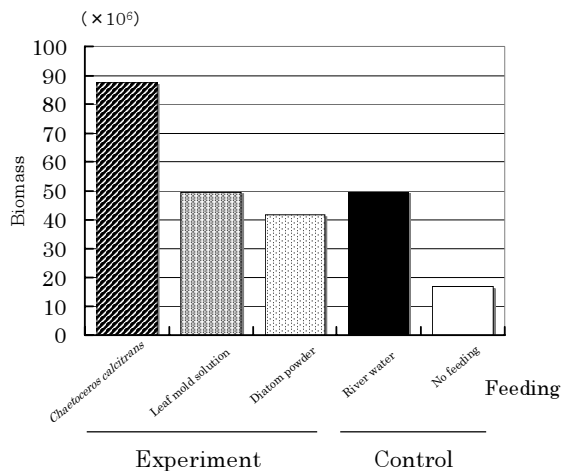


Fig. 35. Comparison in biomass of juvenile *C. japonica*, fed with four different feeds or without feeding, at 54 days after spawning.

対照区 1 の無給餌では 4.2% で、対照区 2 の河川水飼育で 5.4% であった。

各試験区の飼育 54 日目の現存量は、試験区 1 が 87.6×10^6 で最も多く、次いで試験区 2 の 49.6×10^6 、試験区で最も低かったのは試験区 3 の 41.7×10^6 であった。同様に対照区 1 は浮遊幼生個体数が試験区の 3 倍であったため、1/3 に換算し、 49.7×10^6 となり、対照区 2 は 36.4×10^6 であった (Fig. 35)。このように平均殻長では粉末珪藻を給餌した群が最も大きかったものの、平均殻長と生残個体数を乗じた現存量では *C. calcitrans* を給餌した群が最も多く、生産性が高い傾向を示した。

IV-② 人工種苗に対する最適餌料藻類の検討

材料と方法

1. *C. calcitrans* および *P. lutheri* の単独給餌試験

2004 年 7 月 16 日に天塩川で鋤簾を用いて採集した成貝を用い、人工産卵により受精卵を得た (Fig. 29)。人工産卵は前述のとおり行った。産卵翌日の浮遊幼生に *C. calcitrans* および *Pavlova lutheri* を与え 15 日間管理し、着底稚貝までの生残率と平均殻長を比較した。*C. calcitrans* は田崎真珠製を用い、*P. lutheri* は北海道立栽培漁業総合センター (現 北海道立総合研究機構栽培水産試験場) で継代されている株を用いた。人工産卵翌日の浮遊幼生約 500 個体をシャーレ (ポリスチ

レン製) に收容し給餌は 2 日毎に行い、 20°C に保ったインキュベータ内で管理した。*C. calcitrans* は浮遊幼生 1 個体 1 日あたり 0.001×10^3 個から 10×10^3 個にかけて 10 倍毎に 5 段階で与え、*P. lutheri* は浮遊幼生 1 個体 1 日あたり 25×10^3 から 100×10^3 個にかけて 3 段階で与えた。対照区は無給餌とし、試験区はそれぞれ 2~3 ロット設定し平均値で比較した。生残率は 15 日後にシャーレ底面に着底し生存している個体を実体顕微鏡下で全数計数し算出した。平均殻長は生存個体の殻長をマイクロメータで測定し、30 個体の平均値とした。生存個体が 30 個体に満たない場合には全数の平均値とした。平均殻長は平均値 \pm 標準誤差で示した。また、平均殻長について二元配置分散分析法を用い、有意差の検定は 5% 水準で行った。

2. *C. calcitrans*, *C. gracilis*, *P. lutheri* およびクロレラの混合給餌試験

2005 年 7 月 31 日にパンケ沼で鋤簾を用いて採集した成貝を用い、人工産卵により受精卵を得た (Fig. 29)。人工産卵は前述のとおり行った。受精翌日の浮遊幼生に *C. calcitrans*, *C. gracilis*, *P. lutheri* およびクロレラを餌料に、単独および混合して与え 16 日間管理し、生残率と平均殻長を比較した。*C. calcitrans* および *P. lutheri* は前述と同様の物とし、*C. gracilis* は田崎真珠製およびクロレラはクロレラ工業製を使用した。産卵翌日の浮遊幼生約 200 個体を 100~300 ml ビーカー (ポリプロピレン製) に收容し給餌は 2~3 日毎に行い、 20°C に保ったインキュベータ内で管理した。試験区 1~20 は *C. gracilis* に対する混合餌料の検討を行い、浮遊幼生 1 個体 1 日あたりの給餌量は試験区 1~4 では 1×10^3 個、試験区 5~8 は 5×10^3 個、試験区 9~12 は 10×10^3 個、試験区 13~16 は 20×10^3 個、および試験区 17~20 は 40×10^3 個とし、クロレラ (製品名: シェルフード, クロレラ工業株式会社), *C. calcitrans* および *P. lutheri* と比率 1:1 で混合し総量で上記の給餌量とした (以下, 同じ) (Table 8)。この内、試験区 1, 試験区 5, 試験区 9, 試験区 13 および試験区 17 は *C. gracilis* のみで濃度を調節した。試験区 21~29 は *C. calcitrans* に対する混合餌料の検討を行い、浮遊幼生 1 個体 1 日あたりの給餌量は試験区 21~23 では 5×10^3 個、試験区 24~26 は 10×10^3 個、試験区 27~29 は 20×10^3 個とし、クロレラおよび *P. lutheri* と比率 1:1 で混合した (Table 8)。この内、試験区 21, 試験区 24 および試験区 27 は *C.*

Table 8. Feeding regimens of the experiment

Test Number	Feeding Material	addition	Concentration ($\times 10^3$ /larva/day)
1	<i>C. gracilis</i>	No	1
2	<i>C. gracilis</i>	Clorella	1
3	<i>C. gracilis</i>	<i>C. calcitrans</i>	1
4	<i>C. gracilis</i>	<i>P. lutheri</i>	1
5	<i>C. gracilis</i>	No	5
6	<i>C. gracilis</i>	Clorella	5
7	<i>C. gracilis</i>	<i>C. calcitrans</i>	5
8	<i>C. gracilis</i>	<i>P. lutheri</i>	5
9	<i>C. gracilis</i>	No	10
10	<i>C. gracilis</i>	Clorella	10
11	<i>C. gracilis</i>	<i>C. calcitrans</i>	10
12	<i>C. gracilis</i>	<i>P. lutheri</i>	10
13	<i>C. gracilis</i>	No	20
14	<i>C. gracilis</i>	Clorella	20
15	<i>C. gracilis</i>	<i>C. calcitrans</i>	20
16	<i>C. gracilis</i>	<i>P. lutheri</i>	20
17	<i>C. gracilis</i>	No	40
18	<i>C. gracilis</i>	Clorella	40
19	<i>C. gracilis</i>	<i>C. calcitrans</i>	40
20	<i>C. gracilis</i>	<i>P. lutheri</i>	40
21	<i>C. calcitrans</i>	No	5
22	<i>C. calcitrans</i>	Clorella	5
23	<i>C. calcitrans</i>	<i>P. lutheri</i>	5
24	<i>C. calcitrans</i>	No	10
25	<i>C. calcitrans</i>	Clorella	10
26	<i>C. calcitrans</i>	<i>P. lutheri</i>	10
27	<i>C. calcitrans</i>	No	20
28	<i>C. calcitrans</i>	Clorella	20
29	<i>C. calcitrans</i>	<i>P. lutheri</i>	20
30	<i>P. lutheri</i>	No	10
31	<i>P. lutheri</i>	Clorella	10
32	Cont. Clorella	No	10
33	Cont. No feeding		

calcitrans のみで濃度を調節した。試験区 30 は *P. lutheri* を与え、浮遊幼生 1 個体 1 日あたりの給餌量を 10×10^3 個とし、試験区 31 は *P. lutheri* とクロレラを比率 1 : 1 で混合し 10×10^3 個の給餌量で与えた (Table 8)。また、試験区 32 はクロレラを 10×10^3 個の給餌量で与え、試験区 33 を対照区として無給餌とした (Table 8)。クロレラは珪藻培養液と同等になるように希釈して使用した。また現存量=平均殻長×個体数とし単独給餌に対する混合給餌の餌料効果を検討した。

結 果

1. *C. calcitrans* および *P. lutheri* の単独給餌試験

C. calcitrans を濃度別に与えたところ、浮遊幼生 1 個体 1 日あたり 0.1×10^3 細胞以下では飼育 13 日目で生残個体はみられなかったのに対し、 1×10^3 細胞では飼育 15 日目に 3 ロットで 7.2, 11.2 および 12.8% が生残し、最も高濃度であった給餌量 10×10^3 細胞では 37.5, 50.4 および 47.2% が生残した (Fig. 36)。対照区の無給餌では生残率は 1 ロットで 2.0%, 残りの 2

ロットは 0% であった。また 15 日目の平均殻長は給餌量 1×10^3 細胞では各ロットで $173 \pm 2.85 \mu\text{m}$, $172 \pm 2.05 \mu\text{m}$ および $173 \pm 3.01 \mu\text{m}$ であり、給餌量 10×10^3 細胞では 3 ロットで $192 \pm 2.62 \mu\text{m}$, $200 \pm 2.50 \mu\text{m}$ および $205 \pm 4.10 \mu\text{m}$ であった。対照区の無給餌では $154 \pm 3.24 \mu\text{m}$ であった。平均殻長では給餌量 10×10^3 細胞で給餌量 1×10^3 細胞より有意に大きい傾向が認められた (Fig. 37)。

P. lutheri を濃度別に与えたところ、浮遊幼生 1 個

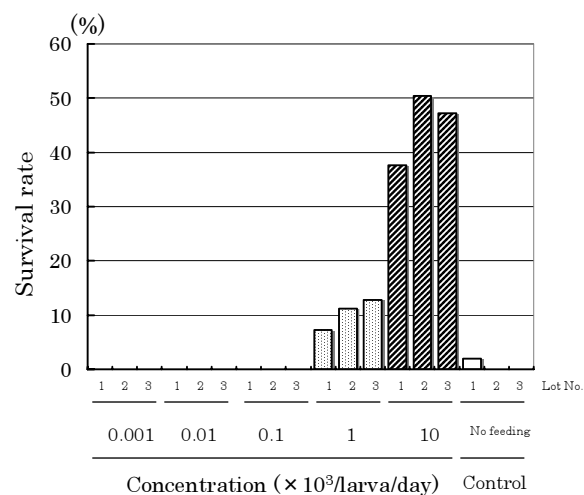


Fig. 36. Effects of *C. calcitrans* concentrations on the survival rate of juvenile *C. japonica* at 15 days after spawning.

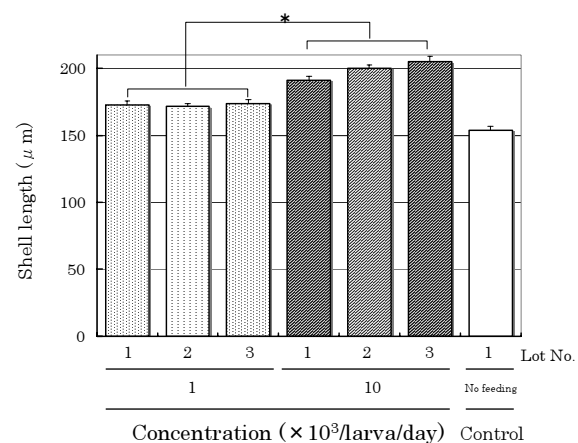


Fig. 37. Effects of *C. calcitrans* concentrations on shell length of juvenile *C. japonica* at 15 days after spawning. *Significant difference ($P < 0.05$) by Two-factor factorial ANOVA.

体1日あたり 5×10^3 細胞では飼育15日目の生残率は2ロットで53.2および49.0%であり、 10×10^3 細胞では44.4および33.8%であり、 20×10^3 細胞では38.8および54.0%であった (Fig. 38)。対照区の無給餌では1ロットで4.0%であり、もう1ロットでは0%であった。また、15日目の平均殻長は給餌量 5×10^3 細胞では $189 \pm 2.94 \mu\text{m}$ および $177 \pm 2.33 \mu\text{m}$ であり、 10×10^3 細胞では $179 \pm 2.00 \mu\text{m}$ および $171 \pm 2.04 \mu\text{m}$ であり、 20×10^3 細胞では $175 \pm 2.09 \mu\text{m}$ および

$173 \pm 2.00 \mu\text{m}$ であった (Fig. 39)。平均殻長では給餌量 5×10^3 細胞は給餌量 10×10^3 細胞および 20×10^3 細胞より有意に大きい傾向が認められた。

2. *C. calcitrans*, *C. gracilis*, *P. lutheri* およびクロレラの混合給餌試験

試験区1~20の *C. gracilis* とクロレラ、*C. calcitrans* および *P. lutheri* の混合給餌では次のような結果であった (Fig. 40,(A))。試験区1~4の浮遊幼生1個体1日あたりの給餌量 1×10^3 細胞では、*C. gracilis* の単独およびクロレラとの混合給餌では生残率が0%であり、*C. calcitrans* および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ2.0および1.0%、平均殻長はそれぞれ $160 \pm 7.07 \mu\text{m}$ および $140 \mu\text{m}$ であった。試験区5~8の給餌量 5×10^3 細胞では、*C. gracilis* の単独および、*C. calcitrans* との混合給餌では生残率はそれぞれ1.0および3.0%、平均殻長はそれぞれ $160 \mu\text{m}$ および $155 \pm 4.56 \mu\text{m}$ であり、クロレラおよび *P. lutheri* との混合給餌では生残率が0%であった。試験

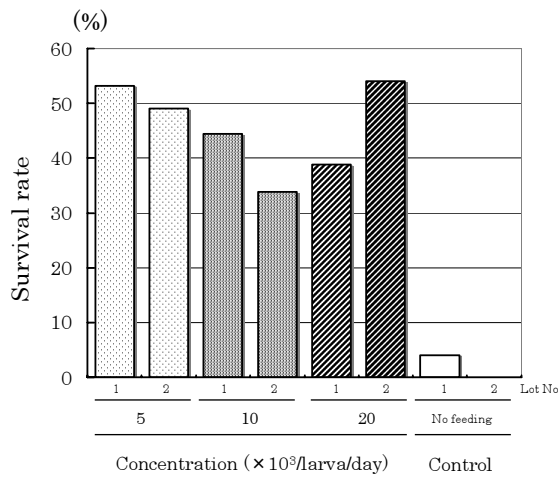


Fig. 38. Effects of *P. lutheri* concentrations on the survival rate of juvenile *C. japonica* at 16 day after spawning.

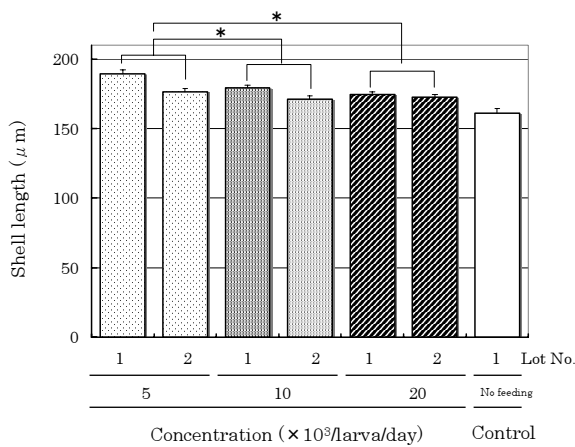


Fig. 39. Effects of *P. lutheri* concentrations on shell length of juvenile *C. japonica* at 16 days after spawning. *Significant difference ($P < 0.05$) by Two-factor factorial ANOVA.

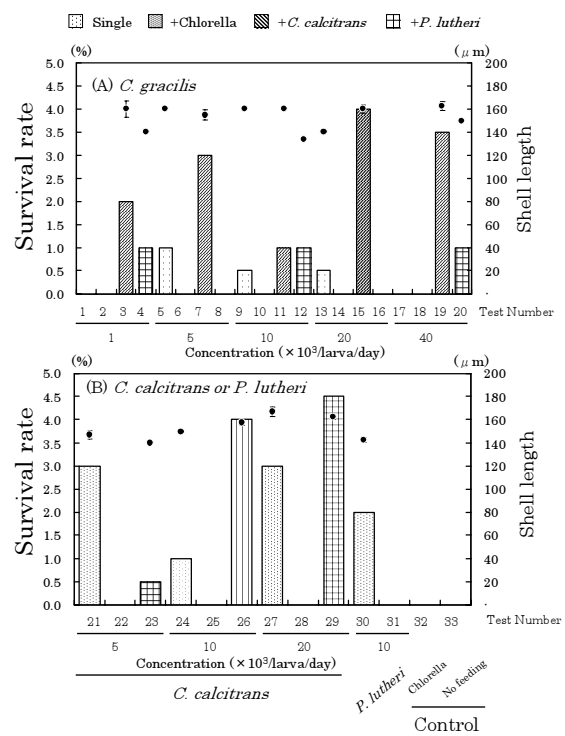


Fig. 40. Effects of different feeding regimens on the survival rate (bars) and shell length (circles) of *C. japonica* at 16 days after spawning. (A), *C. gracilis*; (B), *C. calcitrans* or *P. lutheri*.

区 9~12 の給餌量 10×10^3 細胞では, *C. gracilis* の単独給餌, *C. calcitrans* および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ 0.5, 1.0 および 1.0%, 平均殻長はそれぞれ 160 μm , 160 μm および 134 μm であり, クロレラとの混合給餌では生残率が 0% であった。試験区 13~16 の給餌量 20×10^3 では, *C. gracilis* の単独給餌, *C. calcitrans* との混合給餌では生残率はそれぞれ 0.5 および 4.0%, 平均殻長はそれぞれ 140 μm , $160 \pm 3.54 \mu\text{m}$ であり, クロレラおよび *P. lutheri* との混合給餌では生残率が 0% であった。試験区 17~20 の給餌量 40×10^3 細胞では, *C. calcitrans* および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ 3.5 および 1.0%, 平均殻長はそれぞれ $162.9 \pm 3.85 \mu\text{m}$, 150 μm であり, *C. gracilis* の単独給餌およびクロレラとの混合給餌では生残率が 0% であった。

試験区 21~29 の *C. calcitrans* とクロレラおよび *P. lutheri* の混合給餌では次のような結果であった (Fig. 40, (B))。試験区 21~23 の浮遊幼生 1 個体 1 日あたりの給餌量 5×10^3 では, *C. calcitrans* の単独給餌および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ 3.0 および 0.5%, 平均殻長はそれぞれ $146.7 \pm 3.85 \mu\text{m}$ および 140 μm であり, クロレラとの混合給餌では生残率が 0% であった。試験区 24~26 の給餌量 10×10^3 細胞では, *C. calcitrans* の単独給餌および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ 1.0 および 4.0%, 平均殻長はそれぞれ $150.0 \pm 3.85 \mu\text{m}$ および $157.5 \pm 2.34 \mu\text{m}$ であり, クロレラとの混合給餌では生残率が 0% であった。試験区 27~29 の給餌量 20×10^3 細胞では, *C. calcitrans* の単独給餌および *P. lutheri* との混合給餌では生残率はそれぞれ 3.0 および 4.5%, 平均殻長はそれぞれ $166.7 \pm 3.85 \mu\text{m}$ および $162.2 \pm 2.10 \mu\text{m}$ であり, クロレラとの混合給餌では生残率が 0% であった。

また, 試験区 30 の給餌量 10×10^3 細胞での *P. lutheri* の単独給餌では生残率 2.0%, 平均殻長は $142.5 \pm 2.17 \mu\text{m}$ であり, 試験区 31 のクロレラとの混合給餌, 試験区 32 のクロレラの単独給餌および試験区 33 (対照区) の無給餌では生残率は 0% であった (Fig. 40, (B))。

このように, *C. gracilis* の単独給餌に比べて *C. calcitrans* を加えた場合, 何れの濃度でも生残率が向上した。*C. calcitrans* の単独給餌に比べて *P. lutheri* を加えた場合, 給餌量 10×10^3 細胞および給餌量 20×10^3 細胞で生残率が向上した。また, クロレラを添加

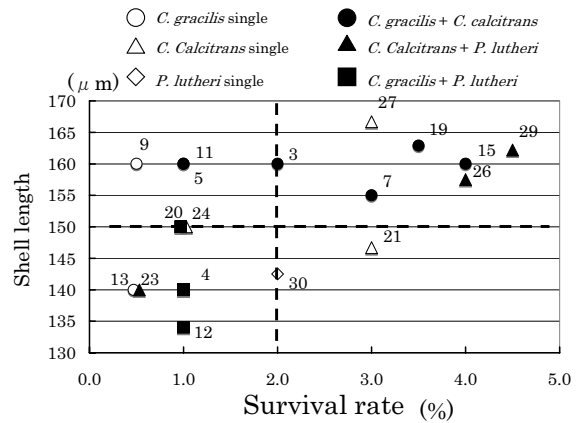


Fig. 41. Relationships between survival rate and shell length of juvenile *C. japonica*, reared under different feeding regimes. Data were obtained at 15 days after the spawning. The numerals in the diagram show the test numbers. The vertical dot-line shows the average survival rate. The horizontal dot-line shows the average shell length.

した場合は何れの試験区でも生残はみられなかった。生残のみられた 18 区について, 平均値を計算したところ, 生残率の平均は 2.0%, 平均殻長の平均は 152.64 μm であった。この内, 生残率および平均殻長の平均を上回った区は, 単独給餌では試験区 27 の *C. calcitrans* (給餌量 20×10^6 細胞), 混合給餌では, *C. gracilis* と *C. calcitrans* の試験区 7 (給餌量 5×10^6 細胞), 試験区 15 (給餌量 20×10^6 細胞) および試験区 19 (給餌量 40×10^6 細胞), 並びに *C. calcitrans* と *P. lutheri* の試験区 26 (給餌量 10×10^6 細胞) および試験区 29 (給餌量 20×10^3 細胞) の 6 区であった (Fig. 41)。

考 察

人工種苗の浮遊から着底に至るまでの成長, 生残に及ぼす餌料の種類および量の効果を検証する目的で, 人工産卵翌日の浮遊幼生に対し *C. calcitrans*, 腐葉土および粉末珪藻を与え 22 日間シャーレで管理したところ, 生存率では対照区の河川水を 0.66 ml 与えた区で 17% であった以外は何れの試験区とも 60% 以上の値を示し, 無給餌区でも 89% を示したことから大きな差は見られなかった。活動率では, 無給餌区では飼育期間中 7~20% の低い値であったのに対し, *C.*

calcitrans および河川水を与えた区では濃度が高くなるにつれて活動率が高くなる傾向がみられた。粉末珪藻を与えた区では低量 (0.04 mg/浮遊幼生 200 個体) で活性率が高く、腐葉土を与えた区では無給餌区とほぼ同様な活性率であった。また着底率では、無給餌の区では 22 日目まで 100% になったのに対して、*C. calcitrans* および河川水を与えた区では、多く与えた場合 9 日目まで 100% を示し早く着底していた。関口 (1996) によると浮遊幼生をもつ二枚貝類の生活史では変態直後の被面子幼生、特に変態期幼生 (pediveliger) には着底基盤の有無などに関係した着底の遅延現象があり、ヤマトシジミの生活史では受精後 6 日に殻長 172~198 μm の殻頂期幼生 (後期ベリジャー幼生) となり、受精後 10 日に殻長 210~220 μm の変態期幼生となって、着底し初期稚貝へ変態する。このことから、着底の前後はヤマトシジミの変態前に相当し、餌の種類および量によって生じた着底時期の差は発生の早遅を表すものと考えられる。このように、生存率では各餌料の差はみられなかったものの、活動率からは *C. calcitrans* および粉末珪藻、着底率からは *C. calcitrans* が餌料として有効である可能性が示された。次に人工種苗の浮遊から初期稚貝までの成長、生残に及ぼす餌料の種類の効果を検証する目的で 100 ℓ のパンライト水槽を用いて人工産卵翌日の浮遊幼生約 $1,040 \times 10^3$ 個体を収容し、*C. calcitrans*、腐葉土および粉末珪藻を与え止水環境で 54 日間飼育したところ、生残率では *C. calcitrans* を与えた区が最も高く、平均殻長では粉末珪藻を与えた区が最も大きかった。生残と成長について両者を乗じ現存量として総合的に判断したところ、*C. calcitrans* を与えた区が最も高かった。このように *C. calcitrans* はヤマトシジミ人工種苗に対して、浮遊幼生から着底および初期稚貝を育成する際に与える餌料として有効であることが明らかとなった。また、餌料効果は低いものの、腐葉土の懸濁物についても餌料効果が認められた。Kasai and Nakata (2005) は炭素と窒素の同位体比を用いてヤマトシジミの餌料を推定したところ、底生珪藻や植物プランクトンの寄与は小さく、陸起源とする有機物が最も重要であることを報告している。Kasai et al. (2006) は同様の手法で環境の異なる三つの汽水湖 (十三湖、小河原湖および宍道湖) におけるヤマトシジミの餌料を調べ、生産の低い十三湖では下流側では海産植物プランクトンに依存し、上流側で陸起源の有機物を多く同化していることを報告している。さらに、Sakamoto et al. (2007)

はヤマトシジミの消化器官においてセルロースを段階的にグルコースまで分解する酵素活性の存在を確認し、ヤマトシジミはセルロースを摂取し分解することによって、水性環境において炭素の循環に貢献していることを報告している。これらのことから本試験においてみられた腐葉土懸濁物による餌料効果はヤマトシジミの持っているセルロースを分解消化し餌料としている現象と考えられる。なお、対照区に使用した河川水でも餌料効果がみられた。採集した真薫別川の上流に位置する茨戸湖でプランクトン調査を行っている北海道立衛生研究所の藻類の調査結果では、茨戸湖には珪藻、藍藻および鞭毛藻の藻類が高い頻度でみられ、中でも珪藻 (*Aulacoseira ambigua*, *A. granulata*, *Asterionella gracillima* 等) が豊富な水域であることを報告している (Hino and Tada, 1985; Takano et al., 2004)。このことから河川水内にヤマトシジミの餌となる藻類が豊富に含まれていたものと考えられる。

次に人工産卵翌日の浮遊幼生に対し *C. calcitrans* および *P. lutheri* を単独で種々の濃度で与え、15 日後の生残率および平均殻長から餌料効果を調べたところ、*C. calcitrans* では浮遊幼生 1 個体 1 日あたり 10×10^3 細胞で約 50% の生残率が得られ、平均殻長は約 200 μm まで成長した。同様に *P. lutheri* では同様に $5 \sim 20 \times 10^3$ 細胞の範囲で約 30~50% の生残率が得られ、平均殻長は約 170~180 μm まで成長し、両藻類とも単独に与える餌料として有効であり必要な給餌濃度が明らかとなった。さらに人工産卵翌日の浮遊幼生に対して、*C. calcitrans*、*C. gracilis*、*P. lutheri* およびクロレラを材料に単独給餌および混合給餌 (比率 1:1) を行い、16 日後の生残率および平均殻長を調べたところ、*C. gracilis* と *C. calcitrans* の混合給餌、*C. calcitrans* と *P. lutheri* の混合給餌で単独給餌に比べて生残率が向上する傾向がみられた。生残率と平均殻長について両者共に平均値を上回った給餌方法と濃度は、単独給餌では *C. gracilis* で浮遊幼生 1 個体 1 日あたり給餌量 20×10^3 細胞、混合給餌では *C. gracilis* と *C. calcitrans* の場合の給餌量は同じく $5 \sim 40 \times 10^3$ 細胞、*C. calcitrans* と *P. lutheri* の場合の給餌量は同じく $10 \sim 20 \times 10^3$ 細胞であり、これらの餌料効果が高いことが明らかとなった。一般に二枚貝の成長は混合給餌の結果が良好で、アサリ (鳥羽ら, 1994)、トリガイ幼生 (西広, 1980)、ミルクイガイ稚貝 (大澤・山田, 1995)、バカガイ (中島ら, 1997) 等でその有効性が報告されている。今井 (1971) によると、餌料生物は

単一のものを与えた場合よりも二種以上を混合して与えた方が良好であるという結果は、貝類・甲殻類いずれの場合にも認められ、単一餌料のみによっては貝類が要求する栄養素のすべてを供給することが困難で、二種以上の餌料を混合することによって相互の栄養的欠陥を補って均衡のとれた栄養を供給することができることを示すとしている。今回の結果はヤマトシジミに関しても、混合給餌が幼生の栄養要求の相互補完になっていることを示唆するものと考えられる。

第V章 人工種苗の成熟と選抜育種の可能性

増養殖用種苗生産では、高成長や高生残性など優位な特性を持つ品種や系群を育成することが生産性を高める方法の一つと考えられる。貝類ではアコヤガイで黄色真珠の出現率(和田, 1984; 和田, 1985), リンゴガイの孵化率の向上(Fujio et al., 1997), エゾアワビの成長(原, 1992)の選抜効果に関する報告があり、エゾアワビの種苗生産施設では成長を基準に選抜した親貝を用いた種苗生産が試みられている(小林ら, 2006)。一方ヤマトシジミに関する報告は皆無であり、検討する必要がある。種苗生産において人工種苗を育成し選抜、交配させる場合、最小成熟サイズを把握することで早期に選抜し交配に用いることが可能となる。ヤマトシジミの最小成熟サイズは、天然種苗については網走湖産のヤマトシジミで丸(1981)が報告しているものの、人工種苗については全く見あたらない。そこで天塩川水系のヤマトシジミについて、天然貝および人工種苗稚貝での成熟最小サイズおよび選抜育種効果について検討した。本章①では天塩川で採取した成貝から人工産卵で得た人工種苗を育成し、大型種苗を選抜して人工種苗の成熟最小サイズを検討した。本章②では成熟した人工種苗の大型群を交配し得られたF₂について生残率と平均殻長から選抜効果を検討した。

V-① 人工種苗における大型選抜群の最小成熟サイズ

材料と方法

人工種苗の育成と大型選抜

第IV章①-2の餌料試験において2003年に生産した人工種苗を天塩パンケ沼において垂下養殖によって、

および北海道立水産孵化場餌料培養室で育成し、以下のように大型群を選抜した。すなわち、餌料試験終了後の2003年9月7日に各試験区で生産した全ての稚貝 555.0×10^3 個体について、目合 $500 \mu\text{m}$ および $300 \mu\text{m}$ メッシュを用いて3区画に分け、目合 $300 \mu\text{m}$ メッシュ以上の 393.0×10^3 個体について、目合 $500 \mu\text{m}$ 区画以上(289.0×10^3 , 平均殻長 $924 \mu\text{m}$)および目合 $300 \sim 500 \mu\text{m}$ 区画(104.0×10^3 , 平均殻長 $651 \mu\text{m}$)をそれぞれ目合 $500 \mu\text{m}$ および $300 \mu\text{m}$ のプランクトンネット製籠に入れ、さらにホタテガイ垂下養殖用籠(アンドン籠)に収容し、パンケ沼に垂下し養成した(Fig. 42,43)。目合 $300 \mu\text{m}$ メッシュ以下であった 162.0×10^3 個体(平均殻長 $408 \mu\text{m}$)は北海道恵庭市にある北海道立水産孵化場培養室において、さけます増養殖で使用するアトキンス式孵化器を改良した循環水槽内(Fig. 44)でプランクトンネット製籠(目合 $100 \mu\text{m}$)を用い、飼育水は絶えず各飼育

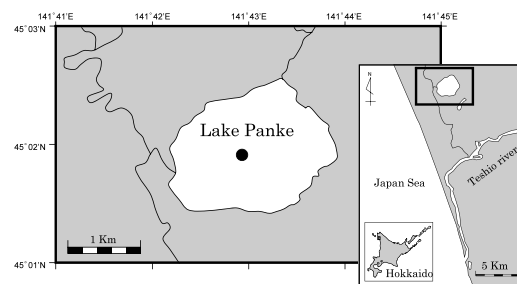


Fig. 42. Map showing the site of aquaculture (●) for *Corbicula japonica* at Lake Panke.

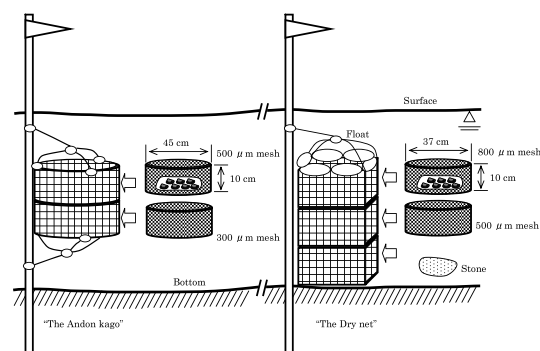


Fig. 43. "The Andon kago" and "The Dry net" used for the aquaculture of *C. japonica* in the experiment.

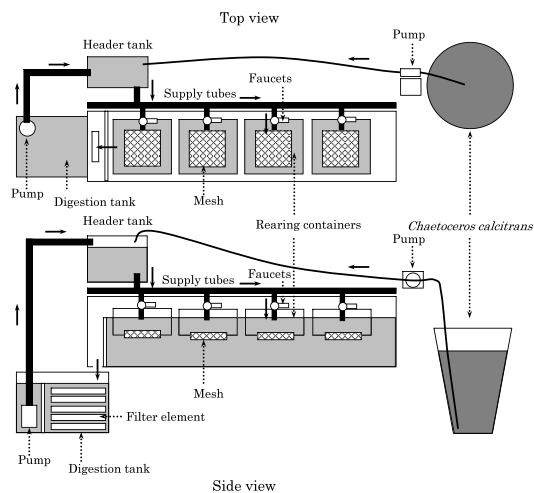


Fig. 44. A rearing system for *Corbicula japonica* in the incubation room of Hokkaido Fish Hatchery. Arrows represent the direction of water flow.

籠に上部から滴下させ、飼育期間中は微量送流ポンプを用いて *Chaetoceros calcitrans* (製造元：田崎真珠) 培養液を1時間置きに給餌し、パンケ沼における周年のクロフィル量の最低量である $1 \mu\text{g}/\ell$ 以上を維持するように調整した (北海道立水産孵化場, 2007 a)。飼育期間中の水温は電気ヒーターを用いて $20\sim 25^\circ\text{C}$ に調整し、エアレーションを行った。この群は約2ヶ月後の同年11月12日に目合 $800 \mu\text{m}$ および $500 \mu\text{m}$ メッシュを用いて3区画に分け、目合 $500 \mu\text{m}$ 以上の 139.0×10^3 個体について、目合 $800 \mu\text{m}$ 以上 (3.0×10^3 個体, 平均殻長 $2,274 \mu\text{m}$) および目合 $500\sim 800 \mu\text{m}$ 区画 (136.0×10^3 個体, 平均殻長 $1,050 \mu\text{m}$) をそれぞれ目合 $800 \mu\text{m}$ および $500 \mu\text{m}$ のプランクトンネット製籠に入れ、さらに万能干し籠 (ドライネット) に収納し、パンケ沼中心部付近に垂下し養成した。2004年5月24日にパンケ沼から取り上げ重量法で生残尾数を算出し、2003年9月7日に移殖した目合 $500 \mu\text{m}$ メッシュ籠では 99.8×10^3 個体 (平均殻長 $1,626 \mu\text{m}$) および目合 $300 \mu\text{m}$ メッシュ籠では 14.8×10^3 個体 (平均殻長 $1,455 \mu\text{m}$) を回収した。同年11月12日に移殖した目合 $800 \mu\text{m}$ メッシュ籠では 1.8×10^3 個体 (平均殻長 $2,512 \mu\text{m}$) および目合 $500 \mu\text{m}$ メッシュ籠では 29.3×10^3 個体 (平均殻長 $1,256 \mu\text{m}$) を回収し、合計で 145.6×10^3 個体を回収した。回収した稚貝は北海道立水産孵化場餌料培養室に輸送し、アトキンス式孵化器を改良した循環水槽内

(Fig. 44) でプランクトンネット製籠 (目合 $300, 500, 800$ および $1000 \mu\text{m}$) を用い、前述の通り飼育した。

2004年6月28日に飼育している全ての稚貝について 2mm トリカルネットおよび $1000 \mu\text{m}$ メッシュを用いて3区画に分け、 2mm 区画以上の 6.9×10^3 個体 (平均殻長 $5,673 \mu\text{m}$)、 $1,000 \mu\text{m}\sim 2 \text{mm}$ 区画の 44.4×10^3 個体 (平均殻長 $3,313 \mu\text{m}$) および $1,000 \mu\text{m}$ 以下の 94.0×10^3 個体 (平均殻長 $1,358 \mu\text{m}$) についてそれぞれ目合 2mm のトリカルネット製籠、目合 $1,000 \mu\text{m}$ のプランクトンネット製籠、および目合 $800 \mu\text{m}$ のプランクトンネット製籠に入れ、さらにホタテガイ垂下養殖用籠に収容し、パンケ沼に垂下し養成した (Fig. 42,43)。

2004年11月11日に回収し、重量法により生残個体数を算出したところ、 2mm トリカルネット製籠では 4.8×10^3 個体 (平均殻長 $9,415 \mu\text{m}$)、 $1,000 \mu\text{m}$ プランクトンネット製籠では 22.5×10^3 個体および $800 \mu\text{m}$ プランクトンネット製籠では 50.0×10^3 個体 (平均殻長 $3,449 \mu\text{m}$) であった。これらを 2mm トリカルネットで濾したところ、 2mm 区画以上は 27.3×10^3 個体 (平均殻長 $6,411 \mu\text{m}$)、 2mm 区画以下は 50.0×10^3 個体 (平均殻長 $3,449 \mu\text{m}$) となった。この上位である 27.3×10^3 個体を大型群として 2mm トリカルネット製籠に収容し、前述のとおりパンケ沼に垂下し養成を継続した (Fig. 43)。

人工種苗の最小成熟サイズの検討

パンケ沼で垂下養殖した2003年産人工種苗生産員44個 (殻長 $5.5\sim 20.1 \text{mm}$) を2005年6月27日に採取し、同時にパンケ沼で採泥機を使用し、殻長 $5.8\sim 20.2 \text{mm}$ の天然貝69個を採取した。採取した貝から軟体部を切り出しブアン氏液で固定後、定法に従って $7 \mu\text{m}$ パラフィン切片を作成した。切片はヘマトキシリン・エオシン二重染色を行い、生物顕微鏡を用いて生殖巣を観察した。成熟、未成熟の判定は、丸 (1981) を参考に、5型に分類した。すなわち、生殖腺を雌の成熟期 (小囊壁から遊離した大型球形の成熟卵が観察されるもの)、雌の未成熟期 (卵黄形成期の卵母細胞は観察されるが、成熟卵が観察されないもの)、雄の成熟期 (成熟した精子が観察されるもの)、雄の未成熟期 (精原または精母細胞は観察されるが、精子は観察されないもの)、未分化期 (卵巣、精巣の見分けのつかないもの) に分類し、殻長と生殖腺の分類型との関係を調べた。

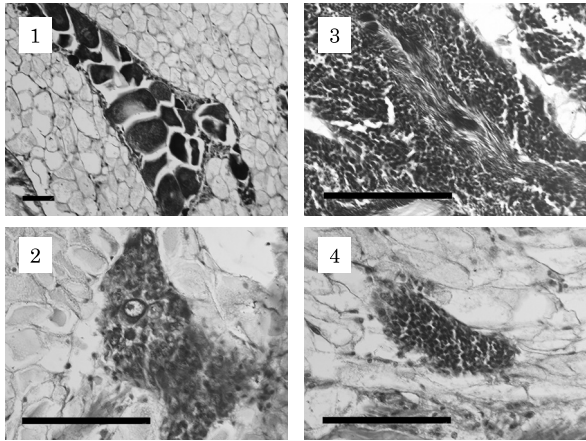


Fig. 45. Histological observations of gonads of *C. japonica* after the size-selection aquaculture. 1, Mature stage (female); 2, Growing stage (female); 3, Mature stage (male); 4, Growing stage (male). Bars indicate 50 μ m.

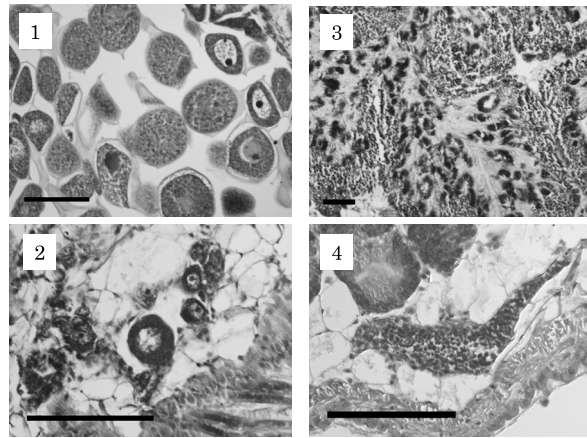


Fig. 47. Histological observations of gonads of the wild seed of *C. japonica*. 1, Mature stage (female); 2, Growing stage (female); 3, Mature stage (male); 4, Growing stage (male). Bars indicate 50 μ m.

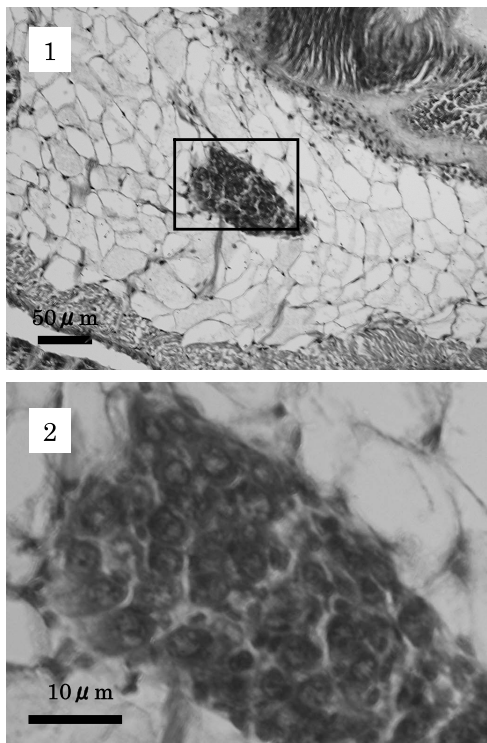


Fig. 46. Histological observations of gonads of *C. japonica* after the size-selection aquaculture. 1, Undifferentiated; 2, Magnified figure.

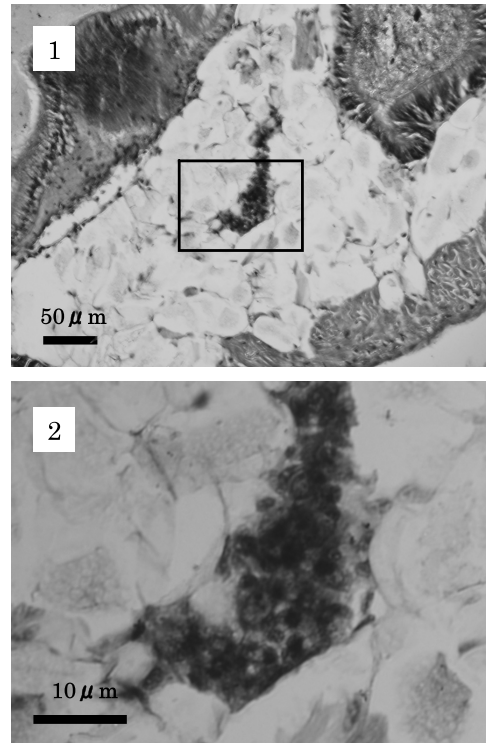


Fig. 48. Histological observations of gonads of the wild seed of *C. japonica*. 1, Undifferentiated; 2, Magnified figure.

結 果

人工種苗の最小成熟サイズの検討

人工種苗 44 個体のうち、雌は 23 個体あり、殻長 10.2~18.7 mm の 11 個体が成熟期であった (Fig. 45,1)。また、殻長 7.0~10.9 mm の 12 個体が未成熟期であった (Fig. 45,2)。雄は 19 個体あり、殻長 8.2~20.1 mm の 18 個体が成熟期であった (Fig. 45,3)。また、殻長 7.8 mm の 1 個体は未成熟期であり (Fig. 45,4)、殻長 5.5~6.8 mm の 2 個体は未分化期であった (Fig. 46)。天然貝 69 個体のうち、雌は 21 個体あり、殻長 10.3~18.0 mm の 17 個体が成熟期であった (Fig. 47,1)。また、殻長 7.8~9.5 mm の 4 個体は未成熟期であった (Fig. 47,2)。雄は 38 個体あり、殻長 7.3~20.2 mm の 32 個体が成熟期であった (Fig. 47,3)。また、殻長 7.2~9.0 mm の 6 個体は未成熟期であり (Fig. 47,4)、殻長 5.8~7.2 mm の 10 個体は未分化期であった (Fig. 48)。以上の結果から、天塩産シジミの成熟最小サイズは、人工種苗では雌で殻長 10.2 mm、雄で 8.3 mm、天然貝では雌で殻長 10.3 mm、雄

で 9.4 mm と推察された (Table 9,10)。

V-② 人工種苗大型選抜交配群の選抜効果の検討

材料と方法

1. 人工種苗大型選抜交配群初期成長の比較

本章①において大型選抜を行いパンケ沼で育成していた 2003 年産の人工種苗を用い、2006 年 7 月 4 および 5 日に人工産卵により受精卵を得た。北海道立水産孵化場培養室において *C. calcitrans* (製造元: ヤンマー船用システム株式会社, 濃度 1 億細胞/ml) を給餌し飼育した (以下, 大型 F2 群とする)。産卵から 1~2 日後の浮遊幼生を 30 ℓ ポリカーボネート製水槽に収容し、止水条件でエアレーションを行って飼育管理した。産卵から 2 週間以降は週に 2 回約 2/3 の飼育水を交換した。水温は電気ヒーターを用いて 20~25 °C に調整した。7 月 4 日の人工産卵から 14 日後, 24 日後, 35 日後, 47 日後および 58 日後に飼育水槽の底面から

Table 9. Gonad condition in the stage of gonad in *C. japonica* Culture and Wild seed at the Lake Panke

Seed	Sex	Gonad condition			Range of Shell length(mm)		
		Undifferentiated	Resting and growing	Maturing	Undifferentiated	Resting and growing	Maturing
Culture	Female		12	11		7.4-10.9	10.2-18.7
	Male	2	1	18	5.5-6.8	7.8	8.2-20.1
Wild	Female		4	17		7.8-9.5	10.3-18.0
	Male	10	6	32	5.8-7.2	7.2-9.0	7.3-20.2

Table 10. Difference in gonadal conditions of young shells by size groups

Shell length (mm)	Wild					Culture				
	Undifferentiated	Resting and growing		Mature		Undifferentiated	Resting and growing		Mature	
		Female	Male	Female	Male		Female	Male	Female	Male
5.0-5.9	2					1				
6.0-6.9	5					1				
7.0-7.9	3	1	3		2		2	1		
8.0-8.9		1	3		3		4			3
9.0-9.9		2			2		3			2
10.0-10.9				2	3		3			3
11.0-11.9					2					2
12.0-12.9				4	3					2
13.0-20.9				11	17					4
Total no.	10	4	6	17	32	2	12	1	11	18

ピペットで生息稚貝の一部を取り出し、殻長を測定した。対照区は2006年8月20日にパンケ沼で成貝を採集し、2006年8月21日に人工産卵により得た種苗を用いた（以下、天然交配群とする）。飼育方法は大型人工種苗F2群と同様に行った。飼育水温を同じになるように電気ヒーターで20℃に調節した。人工産卵から19日目以降、殻長を計測し大型F2群と同じ経過日数で合計5回、平均殻長を計測し成長を比較した。給餌量は両群とも飼育を開始した浮遊幼生数あたり等量になるように浮遊幼生1個体1日あたり 10×10^3 細胞を毎日与えた。成長の比較は両群の同じ経過日数毎に殻長について比較し、検定にはスチューデントのt検定を用いて検討した。

2. 階層別の生残率および成長率の比較

大型F2群および天然交配群ともに、産卵から2ヶ月間飼育した稚貝を用い、殻長からそれぞれ大型、中型および小型の3段階に区分し、容量約50mlの陶器製容器に各20個体収容後、さらに1ヶ月間飼育した。大型F2群から区分した大型、中型および小型で4ロット設置し、各ロットの平均殻長はそれぞれ、1,761~1,877 μm 、816~837 μm および 417~458 μm であった。天然交配群は同様に各区分で3ロット設置し、各ロットの平均殻長は1030~1076 μm 、620~658 μm および 350~358 μm であった。各飼育容器は前述したアトキンス式孵化槽を改良した循環水槽に収容し、*C. calcitrans* を送流ポンプで送り、クロロフィル量が1 $\mu\text{g/l}$ 以上となるように調節した。飼育終了後生存個体の計数と殻長の計測を行った。生残率を $100 \times \text{生残個体数} / \text{飼育開始個体数}$ とし、ロットの平均値で両者の各区分毎に比較した。また、成長率を $100 \times \text{飼育終了時の平均殻長} / \text{飼育開始時の平均殻長}$ とし、同様に平均値で比較した。その際、比較する群に等分散性が認められた場合は一元分散分析を行い、認められない場合はKruskal-Wallis検定を用い、有意差の検定は5%水準で行った。飼育期間中は*C. calcitrans* を給餌し、水温は電気ヒーターを用いて20~25℃に調整した。

結 果

1. 人工種苗大型交配群初期成長の比較

大型F2群の平均殻長は7月4日の産卵から14、24、35、47および58日目それぞれ、 148.0 ± 2.53

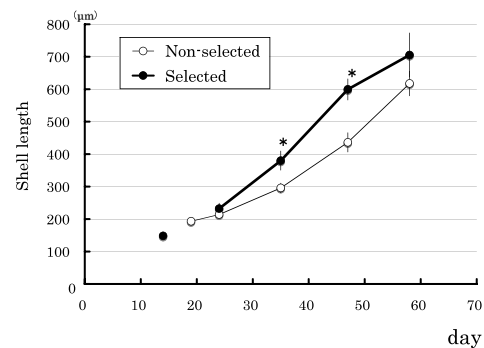


Fig. 49. Changes in average shell length of *C. japonica*. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. *Significant difference was observed between non-selected and selected groups on the same day ($P < 0.01$).

μm , 232.0 ± 16.59 μm , 380.0 ± 29.11 μm , 599.4 ± 32.42 μm および 705.4 ± 67.8 μm であった (Fig. 49)。天然交配群の平均殻長は同様に 193.2 ± 5.13 μm , 214.1 ± 6.31 μm , 295.8 ± 14.60 μm , 436.1 ± 29.54 μm , および 617.8 ± 37.74 μm となった。産卵から35日目では、天然交配群は平均殻長が296 μm であったのに対し、大型F2群は380 μm で約1.3倍の大きさであった。産卵から47日目では、天然交配群は436 μm であったのに対し、大型F2群は599 μm で約1.4倍の大きさであった。産卵58日目では、天然種苗交配群は618 μm であったのに対し、大型F2群は705 μm で約1.1倍の大きさであり、大型F2群の方が高い値を推移した。このうち飼育35および47日後では有意差 ($P < 0.01$) が認められた。

2. 階層別の生残率および成長率の比較

生残率は大型F2群の大型、中型および小型はそれぞれ55.0~85.7%、15.0~70.0%および5.0~40.0%の範囲にあり、平均値ではそれぞれ63.9%、33.8%および18.3%であった (Fig. 50)。天然交配群の生残率は大型、中型および小型ではそれぞれ40.0~55.0%、15.0~45.0%および5.0~25.0%の範囲にあり、平均値ではそれぞれ46.7%、26.7%および15.0%であった。大型F2群および天然交配群の生残率について各階層で平均値を比較すると、大型ではそれぞれ63.9%および46.7%、中型ではそれぞれ33.8%および26.7%、小型では18.3%および7.1%といずれも大型F2群が高い値を示した。また、同様に成長率の平均値を比較す

ると、大型では210%および174%、中型ではそれぞれ200%および176%、小型では256%および186%であった (Fig. 51)。生残率および成長率ともにいずれの階層でも、大型F2群が天然交配群を上回った。この内、生残率では大型F2群および天然交配群ともに大型は小型に対して有意に高く、成長率では大型で大型F2群が天然交配群に対して有意に高かった。

考 察

2003年7月9日に人工産卵し育成した人工種苗稚貝 555.0×10^3 個体について、同年9月7日からプランクトンネット製およびトリカルネット製籠に収容して主に天塩パンケ沼で垂下し、2005年6月下旬まで育成した稚貝を用いて生殖巣の組織学的観察により最小成熟サイズを検討した。その結果人工種苗では雌で殻長10.2 mm、雄で8.3 mmと推察された。また、天塩パンケ沼から採取した天塩産ヤマトシジミの成熟最小サイズは、雌で殻長10.3 mm、雄で9.4 mmと推察された。北海道に生息するヤマトシジミの生物学的最小形は網走湖産で報告があり、その成熟最小サイズは雌では10.5 mm、雄で殻長14.3 mmとされ、15 mm以上であればほぼ100%産卵可能であり (丸, 1981)、天塩産の天然産および人工種苗ともほぼ同じサイズで成熟することが明らかとなった。Baba (2005) は網走湖の初期稚貝の成長は非常に遅く、1歳で0.7 mm、2歳で2.1 mmと推定し、成長曲線と丸 (1981) の報告した成熟サイズから成熟する年齢を5歳と推定している。天塩産ヤマトシジミの成長と成熟に関する報告は見あたらず、天然種苗の成熟年齢は不明であるが、今回の報告により人工種苗においては天然環境で育成することにより、2歳で成熟および産卵でき、人工種苗を天然環境を利用して養成し、殻長約10 mm以上の個体を選別して人工産卵することにより、次世代を作出できることが明らかとなった。

次に人工種苗の大型貝同士を交配し大型F2群を作出し約2ヶ月間飼育して、天然交配群と平均殻長を比較したところ、大型F2群の方が高い値で推移した。また、両群を大型、中型および小型に階層別に飼育し、生残率および成長率を比較したところ、生残率では大型F2群と天然交配群で有意差は認められなかったものの、平均殻長では大型で大型F2群が高い値を示し、選抜効果があることが示唆された。ヤマトシジミの地域による成長差について、Baba (2005) は網走湖の稚貝の成長は遅く宍道湖のヤマトシジミの成長が早いという成長の差は環境の違いでは説明できず、地理的変異によるもので、遺伝的に決定されていると推測している。本報告において殻長による選抜交配により大型群の選抜効果が認められたことは、ヤマトシジミの成長が遺伝的形質であることを裏付けるデータであると考えられる。貝類の選抜育種に関する報告として、アコヤガイでは貝殻真珠層の実体色としての黄色およ

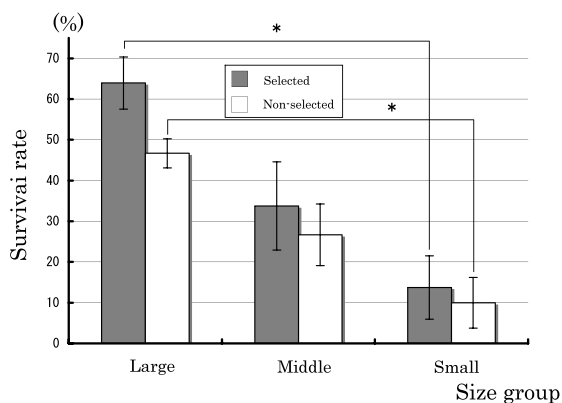


Fig. 50. Comparison of survival rate of *C. japonica*. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. *Significant difference was observed between non-selected and selected groups on the same size group ($P < 0.05$).

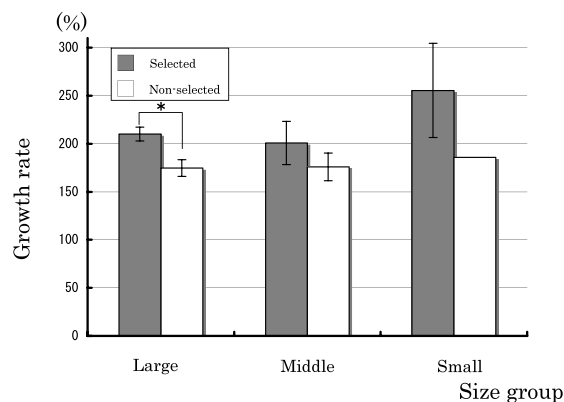


Fig. 51. Comparison of growth rate of juvenile *C. japonica*. Each point and vertical bar represent mean and SE, respectively. *Significant difference was observed between non-selected and selected groups on the same size group ($P < 0.05$).

び白色（非黄色）の2方向に選抜実験を行い、選抜反応から貝殻真珠層の実体色としての黄色発現は遺伝的な影響が強く、選抜育種によって真珠層に黄色色素を含まない移植片給与体集団を育成できることが指摘されており（和田，1984），選抜育種による黄色真珠の出現率の人為的制御が可能であることが実証されている（和田，1985）。増養殖を目的とした種ではマガキによる報告があり，Imai and Sakai（1961）は日本各地のマガキを集め，3代にわたって純系交配と品種間交配を行い，それらを各地の養殖場に移植して育種学的研究を行ったところ，地方型によって成長や貝殻の形態，養成中のへい死率，放卵・放精期，グリコーゲンの含有量，味などが異なり，またこれら地方品種間の交配は容易に行われ，F1は貝殻の形態，成長，グリコーゲン含量がいずれも両親の中間を示すことを明らかにしている。原（1990）はエゾアワビ人工種苗を用いて雄雌1：1交配によって得られた人工種苗群を同一環境下で飼育し，殻長を指標に成長の違いを調べたところ，交配群による成長の差異を確認し，種苗群間の成長の差異は親個体の持つ遺伝的差異によるものと推察し，親員の選抜による高成長な形質を有する種苗作出の可能性を示している。原（1992）はアワビ種苗生産現場で偶然に成長の良い，いわゆるトビの1群（選抜第1代）を発見し，この群からさらに成長のよい個体を交配し選抜第2代を種苗生産したところ，それらの大型群の殻成長は日間180 μm 以上となり，成長のよい個体群の選抜により生産効率のよい系統の作出が確認されている。アワビ類ではエゾアワビで海中養殖が行われ，岩手県各地区の漁協では種苗生産施設などを整備し，養殖用に適した成長の早い種苗の選抜育種に取り組むなど技術改善を重ねながら発展し現在に至っている（佐々木，2005）。本報告によりヤマトシジミについても同様に，成長の良い群を選抜，交配することにより高成長群を作出することが可能であり，世代を重ねることにより生産効率がさらに高まる可能性が考えられる。

選抜に伴っておこる近親交配の影響について魚類・貝類の生残率・成長率などで報告がある（藤尾，1978；佐々木・藤尾，1984）。Fujio et al.（1997）はリングガイで養殖集団の維持継代における選択や近交の影響を把握することを目的に，世代更新に伴う孵化率の変化を調べた。その結果，親個体数の減少による平均孵化率の低下が観察され，孵化率の高い方への1回目の選択で孵化率は上昇したが，2回目以降では選択効

果は観察されず，1回目の選択では孵化率の低い卵塊の割合が減少し，2回目以降で再び増加した。このことから1回目の選択での孵化率の上昇はヘテロシス効果によるものであり，それ以降の選択における孵化率の減少は近交弱勢によると考えられている。また，酒井ら（2000）によると，放流用の標識貝作成の目的で帯紋型青色アサリ（アオアサリ）を2～6代目の平均親貝数545.6個体に亘って集団選抜交配したところ，世代を重ねるごとにヘテロ接合体率は大きく低下し，近交係数は上昇した。この際使用した親貝数はFAO（国際連合食糧農業機関）の専門会議が人工種苗生産において遺伝的多様性を維持することを目的に，維持すべき親の数について提言している継代的種苗生産では500以上とする指針（谷口・エスツ，2001）を満たしていたものの，選抜交配により近交度が高まったことから遺伝的均質化が懸念されている。ヤマトシジミに関しては継代の際に用いる親貝数，継代回数と遺伝的多様性に関する報告は無く，今後検討する必要がある。また，一方で増殖用種苗として放流するのではなく，天然環境への逸散を防止し，垂下式養殖などによる育成を図るなどの養殖方法の開発についても検討する必要がある。

第Ⅵ章 総合論議

本研究は北海道天塩川水系および石狩川水系に生息するヤマトシジミを対象に人工種苗生産技術を確認することを目的とした。貝類の種苗生産技術を確認するためには，初めに対象とする貝の生殖周期を把握し人工産卵誘発技術を確認する必要がある。そこで本研究では，まず天塩川水系に生息するヤマトシジミについて軟体部および生殖巣指数の変化と生殖巣の組織学的変化を調べた。その結果，天塩川では雌雄ともに軟体部および生殖巣指数は6月上旬に低く7月上旬にかけて上昇し，その後短期間に急激に減少した。生殖巣の組織像は7月上旬には成熟期から放出期に移行しており，軟体部指数および生殖巣指数の急激な減少は成熟卵および精子の放出によるものと推測された。

次に，人工産卵誘発条件を明らかにすることを目的に，種々の水温条件と塩分条件における産卵数から人工産卵誘発に最適な条件を検討し，水温25℃，塩分5 psuの条件で最も多くの産卵がみられることが明らかとなった。さらに人工産卵可能な時期を特定することを目的に，7月～8月にかけて人工産卵誘発を行っ

たところ、7月9日に人工産卵を行った群において産卵数が最も多く、10日後における着底稚貝までの生残率が最も高かった。7月9日前後では産卵数および着底稚貝数が非常に少なかったことから、天塩川水系のヤマトシジミにおいて人工種苗生産に適した時期は極めて限られた期間であり、成熟時期の把握が極めて重要であることが明らかとなった。

種苗生産の効率化には親の成熟促進による産卵の早期化が有効であり、貝類の種苗生産でも水温条件で母貝の成熟を進行させ天然の産卵期より早めることによって稚貝の育成が優位となることが知られている（佐々木, 2005）。特に石狩川では産卵時期において低水温および低塩分環境にあるため、本研究では産卵期および成熟期に採取した成貝について、水温および光周期調節による成熟促進効果および母貝の飼育条件を明らかにすることを目的に検討を行った。まず、産卵期初期に採取した成貝を12~30℃の異なる水温で1ヶ月間飼育管理し軟体部指数、生殖巣指数および精子運動能を、また飼育1週間後の人工産卵数から飼育水温による成熟促進効果を検討した。その結果、生殖巣指数では雌で25℃および30℃で、雄では12℃および20℃でそれぞれ3週間後および1週間後に増加する傾向がみられ、雌では生殖巣で卵黄形成が進んでいることが示唆された。さらに1週間後に人工産卵を行ったところ、産出卵数の平均値で水温の高い区で多くの産卵がみられた。このことから、産卵期初期に採取した雌では25~30℃に管理することにより、成熟が促進されることが明らかとなった。一方、雄では12℃および20℃の低水温で生殖巣指数が増加する傾向がみられ、精子の運動能では8月上旬から中旬、さらに9月上旬にかけて精子活性を持つ個体が減少した。人工産卵を行う際には雄雌の産卵放精時期が一致していることが不可欠であることから、産卵に向けて成貝を飼育管理するには水温を20℃~25℃にすることが極めて重要であることが明らかとなった。さらに早期化を図ることを目的に、採取時期を産卵時期から成熟時期に早め、成熟時期である6月上旬から異なる水温環境および光周期を変えた環境で2ヶ月間飼育管理し、軟体部指数の推移から成熟促進効果を検討した。その結果、水温環境を調整し飼育開始から直接25℃で飼育した群、飼育開始から2ヶ月間で徐々に水温を25℃に上昇させた群、飼育開始から1ヶ月で徐々に水温を25℃に上昇させた群は、雌雄ともに軟体部指数および生殖巣指数とも増加せず、成熟促進効果はみられな

かった。また、日長時間を調整し、成熟時期である短日環境で飼育した群および自然日長より短日への移行を半分の日数に短縮した群の何れでも、雌雄ともに軟体部指数および生殖巣指数とも増加せず、成熟促進効果はみられなかった。次に人工産卵を行い、産卵数と24時間後の浮遊幼生の生残性から成熟促進効果を検討したところ、産卵期より1旬ほど早い7月中旬に採取し1~2週間かけて徐々に水温を25℃に上昇させた群で産卵数が多く、浮遊幼生の生残数も多かった。このことから、産卵期に近い時期に採取し水温調節することにより、天然の産卵期より早く種苗生産できることが明らかとなった。また、母貝の飼育管理において飼育水を生息環境である河川水を用いているものの、ほぼ無給餌に等しい飼育環境であったのに対して、7月中旬に採取し、*C. calcitrans*を2週間与えて飼育した群は無給餌の群に比べて生殖巣指数の減少が少なく、人工産卵による産卵数および浮遊幼生の生残数も多かった。このことから、人工種苗生産における母貝の飼育管理には給餌することが重要であることが明らかとなった。以上、種苗生産の効率化を図るためには成熟促進時期の早期化は有効な手法であり、本研究では成熟期からの水温調節および光周期調節による成熟促進効果は認められなかったものの、産卵期初期からの水温調節によって成熟の促進が可能であり、母貝の管理方法としては雌雄の放精放卵を同調させるために水温を20~25℃とし、また親貝へ給餌を行うことで産出卵の生残性が高まることが明らかとなった。

次に、人工産卵によって得られた浮遊幼生および稚貝を適切に育成するためには、適正な餌の特定、方法および量について明らかにする必要がある。貝類の種苗生産では幼生および稚貝に対し植物プランクトンなどの藻類等を給餌し育成が図られ、餌料藻類の混合給餌法などの有効性が報告されている（西広, 1980; Helm and Lang, 1987; 中島ら, 1997）。本研究では浮遊幼生および初期稚貝に対する最適な餌料の種類、給餌法および量を明らかにすることを目的に、腐葉土、粉末珪藻、*C. calcitrans*, *C. gracilis*, *P. lutheri*およびクロレラを与えた際の生残率および平均殻長から検討した。まず、人工産卵翌日の浮遊幼生に対し*C. calcitrans*、腐葉土および粉末珪藻を与え22日間シャーレで管理したところ、活動率では*C. calcitrans*を与えた区では濃度が高くなるにつれて活動率が高くなる傾向がみられた。粉末珪藻を与えた区では低量で活動率が高く、腐葉土を与えた区では無給餌区とほぼ同様な

活動率であった。また着底率では *C. calcitrans* および河川水を与えた区では多く与えた場合、9日目で100%を示し、給餌を行った方が早く着底した。このように活動率からは *C. calcitrans* および粉末珪藻、着底率からは *C. calcitrans* が餌料として有効であることが明らかとなった。次に飼育規模の拡大および飼育期間の長期化を図り、100ℓのパナライト水槽を用いて人工産卵翌日の浮遊幼生約 $1,040 \times 10^3$ 個体を収容して *C. calcitrans*、腐葉土および粉末珪藻を与え54日間飼育した。その結果、生残率では *C. calcitrans* を与えた区が最も高く、平均殻長では粉末珪藻を与えた区が最も大きかった。生残個体数と平均殻長について両者を乗じ現存量として検討したところ、*C. calcitrans* を与えた区が最も高かった。このように *C. calcitrans* はヤマトシジミ人工種苗に対して、浮遊幼生から着底および初期稚貝を育成する際に与える餌料として有効であり、浮遊幼生 $1,040 \times 10^3$ 個体規模で2ヶ月弱の期間、飼育することが可能であることが明らかとなった。さらに浮遊幼生に対する最適な餌料藻類、給餌量および混合給餌の効果を明らかにすることを目的に検討を行った。人工産卵翌日の浮遊幼生に対して、*C. calcitrans*、*C. gracilis*、*P. lutheri* およびクロレラを単独および1:1の混合給餌を種々の濃度で与え、16日後の生残率および平均殻長から適正な給餌方法を調べたところ、*C. gracilis* と *C. calcitrans* の混合給餌、*C. calcitrans* と *P. lutheri* の混合給餌で生残率が向上する傾向がみられた。生残率と平均殻長について両者を乗じ現存量として判断したところ、浮遊幼生1個体に対し最適な給餌量は、単独給餌では *C. gracilis* で給餌量 20×10^3 細胞、混合給餌では *C. gracilis* と *C. calcitrans* の場合の給餌量は $5 \sim 40 \times 10^3$ 細胞、*C. calcitrans* と *P. lutheri* の場合の給餌量は $10 \sim 20 \times 10^3$ 細胞であることが明らかとなった。

増養殖用種苗生産では、高成長や高生残性など優位な特性を持つ品種や系群を育成することが生産性を高める方法の一つと考えられ、貝類の種苗生産においても孵化率や成長を基準とした選抜育種が進められている(和田, 1984; 和田, 1985; Fujio et al., 1997; 原, 1992; 小林ら, 2006)。本研究ではヤマトシジミについて人工種苗の餌料試験を行なった際に得られた稚貝を用い、主に天塩パンケ沼で育成した人工種苗の大型個体を選抜し交配した場合の育種効果を検証することを目的に、最小成熟サイズの確認および選抜効果について検討した。まず、人工産卵により産出し給餌飼育で

得られた人工種苗稚貝 555.0×10^3 個体について、プランクトンネット製およびトリカルネット製籠に収容して天塩パンケ沼に垂下し育成し大型群を選抜した。人工種苗を継代するためには成熟に至る大きさを知る必要があることから生殖巣の組織学的観察により最小成熟サイズを検討した。その結果、2歳の人工種苗の生殖巣で成熟組織像が観察され、雌では殻長10.2mm、雄では8.3mmで成熟が確認され、人工種苗を継代する際に選択する最小サイズが明らかとなった。このように、人工種苗を餌料藻類を用いて育成し、さらに天然環境を利用して養成することによって2歳で成熟し、3歳で人工産卵が可能であり、殻長約10mm以上の個体を選別し人工産卵することによって継代できることが明らかとなった。次に人工種苗の大型貝同士を交配し大型選抜F2群を作出し、約2ヶ月間育成して天然交配群と平均殻長を比較したところ、F2群の方が高い値で推移した。また、両群を大型、中型および小型に階層別に飼育し、生残率および成長率を比較したところ、生残率ではF2群と天然交配群で有意差は認められなかったものの、平均殻長では大型でF2群が高い値を示し、選抜効果があることが示唆された。今後、大型の選抜継代を繰り返すことにより、高成長群を作出できる可能性があり研究の継続が期待される。選抜に伴っておこる近親交配の影響については魚類・貝類の生残率・成長率などで報告があり、ヤマトシジミに関しては継代の際に用いる親貝数、継代回数と遺伝的多様性に関する報告は皆無であり、今後検討する必要がある。本研究の対象とした天塩川水系では、2~3年に一度は大規模な産卵が起きているものの、着底した稚貝は1年以内にほとんどが減耗し採取されなくなっており、その減耗要因は不明とされている(今田, 2006)。また石狩川水系では他地域産ヤマトシジミ種苗の移殖放流を行っているものの、漁獲量の増加にはつながっていない(佐々木, 2003)。従って両地域で育成した人工種苗は、放流用種苗ではなく養殖用種苗として活用することが得策である。そのためには、天然環境への逸散を防止し垂下式養殖などによる育成を図るなどの養成方法の開発も重要である。

中村(2000)によるとシジミにおける漁業管理の手法は、(1)漁獲量の制限、(2)体長・網目制限、(3)漁法に関する制限、(4)禁漁期の設定、(5)休漁日の設定、操業時間の制限、(6)禁漁区の設定があげられ、資源の現状を把握してこのような資源管理を行うことがシジミ資源を保護する本質的な方法と指摘し

ている。天塩では資源保護のために、近年漁獲量制限、操業期間設定（天塩川では5月中旬から7月中旬、パンケ沼では7月中旬から10月末）、禁漁区の設定（天塩川の一部、パンケ沼における操業区域の輪採制）を行っている（坂井，2000；中村，2000）ものの、資源量の減少に歯止めがかからず、漁獲量は年々減少し続けており資源回復に向けた方策が求められている（今田，2006）。禁漁期間を設定する規制の目的は漁業資源の再生産を図る産卵のための親貝保護にあり（中村，2000），夏季の産卵期に操業規制することが資源回復に有効と考えられる。天塩のシジミ漁業では産卵期にも操業しているため、この期間に漁獲制限が取られれば再生産を図る有効手段になると考えられる。また、北海道などの寒冷地では冬季に漁場が結氷するためシジミ漁の操業は不可能となり、結果的に禁漁期間となる（中村，2000）。馬場（2000）によると、北海道網走市の南東約8 kmに位置する藻琴湖でのヤマトシジミ漁獲量は昭和38～45年には15～40トンあったものが、昭和47～50年には約3トン前後まで落ち込み、高塩分環境のため産卵がみられず資源回復も望めないことから、大量の種苗を網走川から移植し、藻琴湖内で付加価値を高め、注文分だけを出荷する漁業形態に変化しており、特にヤマトシジミの値段が高くなる冬季（11～5月）に出荷することによって「藻琴湖の寒しじみ」としてのブランド化が成功し、近年では漁獲高が安定している。天塩および石狩においても冬季は漁場が結氷するため操業は不可能な状況になる。しかし、天塩および石狩地区での漁業協同組合には、ヒラメ畜養施設やワカサギふ化場のように冬期間は稼働していない畜養施設や増殖施設を有している。これらの施設を活用して天然資源に替わり人工種苗を生産および畜養し適宜に出荷できれば、漁業経営に寄与することが可能である。

以上、本研究では、ヤマトシジミの人工種苗生産技術に関し、知見の乏しかった、人工産卵誘発法条件、水温による成熟促進効果、母貝の管理条件（水温および給餌）、浮遊幼生および稚貝への給餌方法（藻類、混合給餌、量）を明らかにした。さらに人工種苗を天然環境で養成し大型貝の成熟を確認し、体サイズによる選抜育種効果の可能性を示した。今後、これらの基礎的知見を基に、初期生残性の向上、収容密度の適正化、育成方法の大型群の選抜継代の継続、網生簀等による養成手法の開発等を推進することにより安定的に大量生産されることが期待される。このような大量養

殖技術が確立されることにより、資源回復が見込まれない地域において、夏場の成熟期の操業規制あるいは操業不可能な冬季期間などに人工養殖種苗を出荷することにより、天然資源の保護と回復を図りつつ漁業活動の安定化と推進に貢献できるであろう。

要 約

本研究ではまず天塩川水系に生息するヤマトシジミの生殖周期および人工産卵誘発条件を明らかにする目的で軟体部および生殖巣指数の変化および生殖巣の組織像から推定した（第II章）。次に、石狩川に生息するヤマトシジミの早期採卵技術を開発することを目的に、水温および光周期を調節した飼育環境下のもとで、軟体部指数、生殖巣指数、精子の運動能および人工産卵数から影響を調べた（第III章）。続いて、人工産卵によって得られた浮遊幼生および初期稚貝に対する最適な餌料の種類、給餌法および量を明らかにする目的で、腐葉土、粉末珪藻、*C. calcitorans*, *C. gracilis*, *P. lutheri* およびクロレラを与えた際の生残率および平均殻長を調べた（第IV章）。最後に、人工種苗の餌料試験を行った際に（第III章）、得られた稚貝を主に天塩パンケ沼で育成し、人工種苗の大型選抜育種効果を確認することを目的に、最小成熟サイズの確認および選抜効果について調べた（第V章）。以下に得られた知見について要約する。

- 1) 天塩川水系のヤマトシジミを採取し軟体部および生殖巣指数の変化を調べるとともに、生殖巣の組織像から成熟時期の推定を行った。天塩川では雌雄ともに軟体部および生殖巣指数は6月上旬に低く7月上旬にかけて上昇し、その後短期間に急激に減少した。生殖巣の組織像は6月上旬から下旬にかけて成長期を示し、7月上旬には成熟期から放出期に移行していた。このことから軟体部指数および生殖巣指数の急激な減少は成熟卵および精子の放出によるものと推測された。
- 2) 天塩川水系から採取したヤマトシジミの人工産卵誘発条件として最適な水温および塩分条件について検討を行った。成貝を水温条件20～30℃に保った塩分0～10 psuの水に移行し産卵数を計測した結果、水温25℃、塩分5 psuの条件で最も多くの産卵がみられた。

3) 天塩川水系から採取したヤマトシジミの成熟時期と産出卵から浮遊幼生および着底稚貝の生産性の関係について検討した。7月7日～8月5日にかけて5回人工産卵誘発を行ったところ、7月9日に人工産卵を行った群において雌親個体あたりの産卵数が最も多く、また10日後における着底稚貝までの生残率が最も高かった。このことから天塩川水系産ヤマトシジミにおいて人工種苗生産に適した時期は極めて限られた期間であり、成熟時期の把握が極めて重要であることが明らかとなった。

4) 石狩川河口域でヤマトシジミ産卵期初期に採取した成員を12～30℃の異なる水温で約1ヶ月間飼育管理し軟体部指数、生殖巣指数を調査した。その結果、軟体部指数は20℃で飼育した雌で飼育1週間後に減少し、雄では飼育1週間後に増加し、1ヶ月後に減少する傾向がみられた。生殖巣指数では雌で25℃および30℃でそれぞれ3週間後および1週間後に増加する傾向がみられ、雄では12℃および20℃でそれぞれ3週間後および1週間後に増加する傾向がみられた。このように雌では高水温で軟体部指数では変化が見られなかったが、生殖巣指数が増加する傾向がみられたことから、生殖巣で卵黄形成が進んでいるものと考えられた。

5) 石狩川河口域でのヤマトシジミ産卵期初期の7月下旬に採取した成員を12～30℃の異なる水温で飼育管理し、飼育8日後人工産卵を行ったところ、産出卵数の平均値で水温の高い区(25および30℃)で多くの産卵がみられた。このことから、産卵期初期に採取した雌では25～30℃に管理することにより、成熟が促進され人工種苗生産が可能であるもの思われた。

6) 石狩川河口域でのヤマトシジミ産卵期初期の7月下旬に採取した成員を12～30℃の異なる水温で飼育管理し、雄の精子運動能を調査したところ、12℃および20℃の低水温で生殖巣指数が増加する傾向がみられ、精子の運動能では8月上旬から中旬、さらに9月上旬にかけて精子活性を持つ個体が少なくなった。人工種苗生産のためには雄雌の産卵放精時期を同調させることが不可欠であり、適正な水温は20℃～25℃と考えられた。

7) 石狩川河口域でのヤマトシジミ成熟期の6月上旬

に成員を採取し、異なる水温環境および光周期環境で2ヶ月間飼育管理し、軟体部指数および生殖巣指数の推移から成熟促進効果を調査した。その結果水温環境を調整した、飼育開始から直接25℃で飼育した群、飼育開始から2ヶ月間で徐々に水温を25℃に上昇させた群、飼育開始から1ヶ月で徐々に水温を25℃に上昇させた群は、雌雄ともに、軟体部指数および生殖巣指数ともに増加せず、成熟促進効果はみられなかった。また、日長時間を調整し、成熟期である短日環境で飼育した群および自然日長から短日への移行を半分の日数に短縮した群の何れでも、雌雄ともに軟体部指数および生殖巣指数ともに増加せず、成熟促進効果はみられなかった。

8) 石狩川河口域でのヤマトシジミ成熟期の6月上旬および産卵期開始時期より1旬ほど早い7月中旬に成員を採取し、異なる水温環境および光周期環境で飼育管理し、人工産卵を行い産卵数と24時間後の浮遊幼生数を調査した。その結果、7月中旬に採取し1～2週間かけて徐々に水温を25℃に上昇させた群で産卵数が多く、浮遊幼生の生残数も多かった。このことから、産卵期に近い時期に採取し水温調節することにより、天然の産卵期より早く種苗生産できる可能性が示された。

9) 石狩川河口域においてヤマトシジミを7月中旬に成員を採取し、*C. calcitrans*を2週間与えて飼育した群と無給餌の群について軟体部指数および生殖巣指数の推移、人工産卵による産卵数および24時間後の浮遊幼生数を調査した。その結果、給餌を行った群は無給餌の群に比べて生殖巣指数の減少が少なく、人工産卵による産卵数および浮遊幼生の生残数も多かった。このことから、人工種苗生産においては母貝の飼育管理には給餌することが必要であることが示唆された。

10) 人工産卵翌日の浮遊幼生に対し*C. calcitrans*、腐葉土および粉末珪藻を与え22日間シャーレで管理したところ、生存率では何れの区とも60%以上の値を示し大きな差は見られなかった。活動率では*C. calcitrans*を与えた区では濃度が高くなるにつれて活動率が高くなる傾向がみられた。粉末珪藻を与えた区では低量で活性率が高く、腐葉土を与えた区では無給餌区とほぼ同様な活性率であった。また着底率では*C. calcitrans*を与えた区では多く与えた場合、9日目

100%を示し早く着底していた。このように活動率からは *C. calcitrans* および粉末珪藻，着底率からは *C. calcitrans* が餌料として有効である可能性が示された。

11) 100 ℓ のパンライト水槽を用いて人工産卵翌日の浮遊幼生約 $1,040 \times 10^3$ 個体を収容し，*C. calcitrans*，腐葉土および粉末珪藻を与え 54 日間飼育した。その結果，浮遊幼生数に対する生残率では *C. calcitrans* を与えた区が 12.4% で最も高く，平均殻長では粉末珪藻を与えた区が $818 \mu\text{m}$ で最も大きかった。生残と成長について両者を含め現存量として比較したところ，*C. calcitrans* を与えた区が最も高かった。このように *C. calcitrans* はヤマトシジミ人工種苗において，浮遊幼生から着底および初期稚貝を育成する餌料として有効であることが明らかとなった。

12) 人工産卵翌日の浮遊幼生に対し *C. calcitrans* および *P. lutheri* を単独で種々の濃度で与え，15 日後の生残率および平均殻長を調べたところ，*C. calcitrans* では浮遊幼生 1 個体 1 日あたり 10×10^3 細胞で約 50% の生残率が得られ，平均殻長は約 $200 \mu\text{m}$ まで成長した。同様に *P. lutheri* では同様に $5 \sim 20 \times 10^3$ 細胞の範囲で約 30~50% の生残率が得られ，平均殻長は約 $170 \sim 180 \mu\text{m}$ まで成長し，両藻類とも単独に与える餌料として有効であり必要な給餌濃度が明らかとなった。

13) 人工産卵翌日の浮遊幼生に対して，*C. calcitrans*，*C. gracilis*，*P. lutheri* およびクロレラを材料に単独給餌および混合給餌（比率 1 : 1）を行い，16 日後の生残率および平均殻長を調べたところ，*C. gracilis* と *C. calcitrans* の混合給餌，*C. calcitrans* と *P. lutheri* の混合給餌で単独給餌に比べて生残率が向上する傾向がみられた。生残率と平均殻長について両者共に平均値を上回った給餌方法と濃度は，単独給餌では *C. gracilis* で浮遊幼生 1 個体 1 日あたり給餌量 20×10^3 細胞，混合給餌では *C. gracilis* と *C. calcitrans* の場合の給餌量は同じく $5 \sim 40 \times 10^3$ 細胞，*C. calcitrans* と *P. lutheri* の場合の給餌量は同じく $10 \sim 20 \times 10^3$ 細胞であり，これらの餌料効果が高いことが明らかとなった。

14) 2003 年 7 月に人工産卵し給餌試験を経て得られた人工種苗稚貝 555.0×10^3 個体について，同年 9 月からプランクトンネット製およびトリカルネット製

に収容して天塩パンケ沼で垂下し，2005 年 6 月下旬まで育成した稚貝を用いて生殖巣の組織学的観察により最小成熟サイズを検討したところ，人工種苗では雌で殻長 10.2 mm，雄で 8.3 mm と推察された。また，同時に天塩パンケ沼から採取した天塩産ヤマトシジミの成熟最小サイズは，雌で殻長 10.3 mm，雄で 9.4 mm と推察された。

15) 2003 年 7 月に人工産卵し給餌試験の後，同年 9 月からプランクトンネット製およびトリカルネット製籠に収容し，天塩パンケ沼で垂下し，2006 年 7 月 4 日および 5 日に人工産卵した。今回の報告により人工種苗においては天然環境で育成することにより，2 年で成熟し，3 年で人工産卵が可能であった。このことから人工種苗を天然環境を利用して養成し，殻長約 10 mm 以上の個体を選別し人工産卵することにより，次世代を作出できることが明らかとなった。

16) 人工種苗の大型貝同士を交配し大型 F2 群を作出し，約 2 ヶ月間止水条件下で *C. calcitrans* を与え飼育し天然交配群と平均殻長を比較したところ，大型 F2 群の方が高い値で推移した。また，両群を大型，中型および小型に階層別に飼育し，生残率および成長率を比較したところ，生残率では大型 F2 群と天然交配群で有意差は認められなかったものの，平均殻長では大型で大型 F2 群が高い値を示した。このことからヤマトシジミ人工種苗において殻長による選抜効果があることが示唆された。

謝 辞

稿を進めるにあたり，本研究に終始御懇切なる御指導を賜った北海道大学大学院水産科学研究院の足立伸次教授に深甚なる謝意を表します。また，ご多忙中，ご校閲を頂いた北海道大学大学院水産科学研究院の都木靖彰教授，井尻成保准教授，東藤孝准教授ならびに平松尚志助教に深く感謝致します。学部ならびに大学院在籍当初の指導教官である愛媛大学山内皓平教授には貴重なご指導，ご助言を頂きました。厚くお礼申し上げます。また，本種の生態・生理特性並びに種苗生産に関する情報をご教示頂いた茨城内水面試験場の根本隆夫主任，茨城県農林水産部の根本孝係長，㈱フィッシャーマンズコンサルタントの丸邦義室長，石狩湾漁業協同組合の鈴木隆夫参事，北るもい漁業協同組合天

塩支所の吉田豊支所長並びに大川和行氏および天塩町役場の守山義昭係長に対し深謝の意を表します。また、論文の作成にあたって助言をいただいた社団法人北海道栽培漁業振興公社今田和史氏、北海道立水産孵化場寺西哲夫主任研究員、水野伸也博士に心からお礼申し上げます。さらに、留萌開発建設部には天塩川およびパンケ沼における水温および塩分のデータをご提供頂きました。北海道立中央水産試験場中島幹二研究主幹には *P. lutheri* をご提供頂きました。ここに記して謝意を表します。本論文の第Ⅱ章は水産増殖においてすでに出版されていたものです（巻号頁：56巻2号，211-219（2008））。転載を許可していただきました日本水産増殖学会に感謝いたします。なお、本研究は天塩漁業協同組合（現 北るもい漁業協同組合天塩支所）との共同研究「天塩におけるヤマトシジミの人工産卵技術試験」（平成15年度）、石狩漁業協同組合（現 石狩湾漁業協同組合石狩支所）との共同研究「石狩におけるヤマトシジミの人工産卵技術試験」（平成15年度）および北海道一般試験研究「ヤマトシジミの資源増大に向けた増殖技術開発研究」（平成16年度～20年度）の一部である。

文 献

- 朝比奈英三（1941）. 北海道におけるシジミの生態学的研究. 日本水産学会誌, **10**, 143-152.
- 馬場勝寿（2000）. 藻琴湖. 日本のシジミ漁業（中村幹雄編著）, たたら書房, 米子, pp. 57-64.
- 馬場勝寿（2003）. ヤマトシジミ. 新 北のさかなたち（上田吉幸他編）, 北海道新聞社, 札幌, 310-315.
- Baba, K. (2005). Ecological study on spawning and early life stage of the brackish water bivalve *Corbicula japonica* in Lake Abashiri. *Doctoral dissertation, Hokkaido University, Hakodate*, 105 pp.
- 深山義文・鳥羽光晴（1990）. アサリの種苗生産試験-Ⅲ アサリ浮遊幼生に対する8種の微小藻の餌料価値. 千葉県水産試験場研究報告, **48**, 93-96.
- 福井利憲・松本勉（1997）. ヤマトシジミ種苗生産試験. 平成8年度鳥取県水産試験場年報, 122.
- Fujio, Y., Nakajima, M. and Showa, H. (1997). Selection and Inbreeding Depression in Maintenance of a Stock Population of the Apple Snail *Pomacea canaliculata*. *Fisheries Science*. **63**(3), 368-371.
- 藤尾芳久（1978）. マガキ集団の遺伝的分化. 水産育種, **3**, 13-16.
- 原 素之（1990）. エゾアワビ人工種苗の成長におよぼす遺伝的要因. 東北区水産研究所研究報告, **52**, 73-77.
- 原 素之（1992）. アワビの育種—アワビにおける選抜・交雑育種—. 水産育種, **18**, 1-12.
- Helm, M. M. and Lang, I. (1987). Preliminary observations on the nutritional value of 'Tahichi Isochysis' to bivalve larvae. *Aquaculture*. **62**, 281-288.
- Hino, S. and Tada, M. (1985). Seasonal Changes of Nutrients, Chlorophyll-a, and Organic Concentrations in Highly Eutrophic Lake Barato, Japan. *Japanese Journal of Limnology RIZAAU*. **46**(4), 268-278.
- 北海道（2009 a）. 北海道水産業・漁村のすがた 2009～北海道水産白書～. 北海道, 12-34.
- 北海道（2009 b）. 平成19年北海道水産現勢. 北海道水産林務部, 1.
- 北海道環境科学研究センター（2005）. 北海道の湖改訂版. 北海道環境科学研究センター, 170-171.
- 北海道立水産孵化場（1989）. 石狩湾水域生態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 昭和62年度, 144-148.
- 北海道立水産孵化場（1990）. 石狩湾水域生態調査 石狩川本流のヤマトシジミについて. 北海道立水産孵化場事業成績書, 昭和63年度, 135-137.
- 北海道立水産孵化場（1996）. 平成5年内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成6年度, 71-79.
- 北海道立水産孵化場（1997）. 平成6年内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成7年度, 69-74.
- 北海道立水産孵化場（1998）. 平成7年内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成8年度, 69-76.
- 北海道立水産孵化場（1999）. 平成8年内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成9年度, 93-99.
- 北海道立水産孵化場（2000）. 平成9年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成10年度, 113-121.
- 北海道立水産孵化場（2001）. 平成10年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書,

- 平成 11 年度, 141-149.
- 北海道立水産孵化場 (2002). 平成 11 年内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 12 年度, 133-139.
- 北海道立水産孵化場 (2003). 平成 12 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 13 年度, 99-104.
- 北海道立水産孵化場 (2004). 平成 13-14 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 14 年度, 101-108.
- 北海道立水産孵化場 (2005). 平成 15 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 15 年度, 85-92.
- 北海道立水産孵化場 (2006). 平成 16 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 16 年度, 93-101.
- 北海道立水産孵化場 (2007 a). 平成 17 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 17 年度, 69-77.
- 北海道立水産孵化場 (2007 b). ヤマトシジミの資源増大に向けた増殖技術開発研究. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 17 年度, 81-92.
- 北海道立水産孵化場 (2009). 平成 19 年度内水面漁業・養殖業実態調査. 北海道立水産孵化場事業成績書, 平成 19 年度, 55-63.
- 今田和史 (2006). 「天塩シジミ資源環境対策委員会」に加わって. 魚と水, **42**, 61-67.
- 今井丈夫 (1971). VI. 貝類の人工採苗技術, 改訂版 浅海完全養殖 (今井丈夫監修), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 423-433.
- Imai, T. and Sakai, S. (1961). Study of breeding of Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku Journal Agricultural Research*, **12**, 125-171.
- 伊藤絹子, 吉田晋, 鈴木あや子, 狩谷貞二 (1989). 超音波振動を利用した二枚貝類への投餌方法. 水産増殖, **37**(4), 241-246.
- 海藤 齋・鈴木隆夫 (2000). 石狩川. 日本のシジミ漁業 (中村幹雄編著), たたら書房, 米子, pp. 65-73.
- Kasai, A. and Nakata, A. (2005). Utilization of terrestrial organic matter by the bivalve *Corbicula japonica* estimated from stable isotope analysis. *Fisheries Science*, **71**, 151-158.
- Kasai, A. Toyohara, H., Nakata, A., Miura, T. and Azuma, N. (2006). Food sources for the bivalve *Corbicula japonica* in the foremost fishing lakes estimated from stable isotope analysis. *Fisheries Science*, **72**, 105-114.
- 小林俊将, 原素之, 小林正裕, 關野正志 (2006). 稚貝殻長で 4 世代にわたって選抜育種されたエゾアワビ集団の稚貝および成貝での成長特性. 水産増殖, **54**(2), 209-215.
- 小塩善信ら (1994). ホタテガイ優良品種作出試験-I, 室内飼育によるホタテガイの成熟促進. 青森県水産増殖事業報告書, **23**, 182-199.
- 丸 邦義 (1976). ホタテガイの生殖に関する研究, 第 1 報. 養殖ホタテガイの生殖周期. 北海道立水産試験場研究報告, **18**, 9-26.
- 丸 邦義 (1981). 網走湖産ヤマトシジミ *Corbicula japonica* Peime の生殖周期. 北海道立水産試験場研究報告, **23**, 83-95.
- 丸 邦義・山崎 真・中井純子 (2005 a). 石狩川のヤマトシジミの産卵期. 水産増殖, **53**, 245-250.
- 丸 邦義・山崎 真・中井純子 (2005 b). ヤマトシジミの産卵好適塩分. 水産増殖, **53**, 251-255.
- 松浦裕幸 (2005). アカガイ. 水産増養殖システム 3 貝類・甲殻類・ウニ類・藻類 (森 勝義編), 恒星社厚生閣, 東京, 121-130.
- 森 勝義 (1989). 二枚貝の成熟, 発生, 成長とその制御. 水族繁殖学 (隆島史夫, 羽生功編), 緑書房, 東京, pp.325-363.
- 中村幹雄 (2000). まとめ. 日本のシジミ漁業 (中村幹雄編著), たたら書房, 米子, pp. 220-225.
- 中島幹二, 奥村裕弥, 高島信一 (1997). バカガイ幼生の成長と生残に与える *Pavlova lutheri* と *Chaetoceros gracilis* の単独給餌と混合給餌の効果について. 北海道立水産試験場研究報告, **50**, 27-33.
- 成田光好・細井 崇・長崎勝康・古丸 明 (2006). 小川原湖産ヤマトシジミの低塩分条件下における産卵の可能性. 水産増殖, **54**, 201-208.
- 西広富夫 (1980). トリガイの人工種苗に関する研究-II 浮遊幼生の投与餌料と飼育密度について. 京都海洋センター研究報告, **4**, 18-21.
- Okauchi, M. (1990). Food value of *Isochrysis* aff. *galbana* for the growth of Pearl Oyster Spat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**(8), 1343.
- 大澤博・山田智 (1995). イソクリシスのミルクイガイ初期稚貝に対する餌科価値. 愛知県水試試験場

- 研究報告, **2**, 1-5.
- 農林水産省統計部 (2005). 平成 15 年度漁業・養殖業生産統計年報, pp. 162-165.
- Sakamoto, K., Tuhata, K., Yamashita, M., Kasai, A. and Toyohara, H. (2007). Cellulose digestion by common Japanese freshwater clam *Corbicula japonica*. *Fisheries Science*, **73**, 675-683.
- 坂井伸司 (2000). 天塩川・パンケ沼. 日本のシジミ漁業 (中村幹雄編著), たたら書房, 米子, pp. 32-41.
- 酒井治己, 土川陽子, 出射邦明, 鬼頭鈎, 岸岡正神, 松野進, 立石健, 井手尾寛 (2000). 継代選抜された帯紋型背色アサリの遺伝的多様性減少. 水産大学校研究報告, **49**(1), 29-33.
- 佐々木信行・藤尾芳久 (1984). 魚類の近交による繁殖力の低下. 水産育種, **9**, 27-30.
- 佐々木 良 (2005). アワビ類. 水産増養殖システム 貝類・甲殻類・ウニ類・藻類 (森 勝義編), 恒星社厚生閣, 東京, 85-120.
- 佐々木義隆 (2003). 石狩でのヤマトシジミ人工増殖-その必要性と可能性-. 魚と水, **39**, 95-101.
- 佐々木義隆 (2004). ヤマトシジミ (大和蜆). 魚と水, **41**, 133-135.
- 佐藤時好 (1995). 八郎湖ヤマトシジミの生息状況調査. 秋田県水産振興センター事業報告書, 290-297.
- 關 哲夫 (1994). エゾアワビの種苗生産, 遺伝, 裳華房, **48**, 45-51.
- 関口秀夫 (1996). 木曾川におけるヤマトシジミの幼生加入過程. 海洋, **28**(3), 157-165.
- Takano, K., Igarashi, I. and Hino, S. (2004). Seasonal changes in silicon content of diatoms estimated from the ratio of particulate silicon to diatom volume under silicon sufficiency in diatom-rich Lake Barato. *Limnology*, **5**, 115-120.
- 田中彌太郎 (1982). 二枚貝類幼生餌料としての耐性高温性珪藻 *Chaetoceros ceratosporum* OSTENFELD の有用性について. 養殖研究所研究報告, **3**, 29-32.
- 田中弥太郎, 伊野波盛仁, 嘉数清 (1970). 沖縄におけるクロチョウガイの種苗生産に関する基礎研究-III.東海区水産研究所研究報告, **63**, 79-85.
- 谷口順彦・エスツ スグロホ (2001). マイクロサテライト DNA マーカーによる魚類集団の有効サイズの推定. 水産育種, **30**, 89-95.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1991). 飼育アサリの性成熟過程と産卵誘発. 日本水産学会誌, **57**, 1269-1275.
- 鳥羽光晴, 深山義文, 境美恵 (1994). イソクリシス・タヒチ株の大量培養-IV 単一藻類給餌でのアサリ稚貝に対する餌科価値. 栽培技術研究報告, **22**(2), 75-81.
- 和田克彦 (1984). アコヤガイ *Plinctada fucata* の改良に関する研究. 養殖研究所研究報告, **6**, 79-157.

