島根県沿岸における二枚貝の増養殖に関する研究

誌名	島根県水産技術センター研究報告
ISSN	18815200
著者名	勢村,均
発行元	島根県水産技術センター
巻/号	7号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-88
発行年月	2015年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

島根県水産技術センター研究報告
第７号
2015年３月

島根県沿岸における二枚貝の増養殖に関する研究

勢村　均

島根県沿岸における二枚貝の増養殖に関する研究*

目次

緒言 …… 1
1 島根県漁業の変遷 …… 1
2 島根県における養殖業の変遷 …… 2
3 本研究の意義 …… 5
4 本論文の構成と概要 …… 5
第1章 イタヤガイ母貝の成熟促進に関する研究…… 14
1 イタヤガイ成貝における餌料プランクトンの種および濃度と濾水速度，消化率，同化速度との関係 …… 14
2 投与餌料種による母貝の成熟過程の差異 …… 17
3 飼育水温による成熟の差異 …… 20
4 まとめ …… 22
第2章 イタヤガイの幼生飼育に関する研究…… 29
1 イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響 …… 30
2 飼育水中の細菌相の動態が幼生の生残および成長に与える影響 …… 32
3 *Nannochloropsis* sp. の飼育水への添加が幼生の成長や生残に及ぼす影響 …… 35
4 まとめ …… 37
第3章 イタヤガイ稚貝の天然採苗に関する研究…… 48
1 隠岐島浦郷湾におけるイタヤガイ母貝集団の造成が天然採苗に及ぼす効果 …… 48
2 まとめ …… 51
第4章 養殖イワガキの成長と成熟生態に関する研究…… 58
1 垂下養殖イワガキの成長 …… 58
2 養殖イワガキにおける最初の成熟過程 …… 61
3 まとめ …… 64
第5章 総括…… 74
謝辞…… 77
文献…… 78
Summary …… 83
摘要…… 86
学位論文の基礎となる学術論文…… 88

* 本論文は鳥取大学審査学位論文である.

島根水技セ研報７．１～88 頁(2015 年３月)

緒言

2007 年度後半から，農産物輸出国の天候不順やエネルギー生産のための飼料・食料作物から資源作物への転換が進み，食料穀物の価格高騰が起きている。我が国の食料自給率は約 39%(カロリーベース)であり，先進国の中でも特に低く[1]，自給率向上のための食料増産の必要性はより高まっている[2]。食料の自給において３大栄養素である炭水化物および脂質については休耕田の復活や油脂性作物の栽培増加により対応可能と予測されるが，タンパク質については四方を海に囲まれた我が国では水産資源に依存せざるを得ない。しかし FAO[3]によれば，海洋水産資源のうち約 1/2 が満限利用，約 1/4 が過剰利用か枯渇，残りの 1/4 が適度な利用か低・未利用とされている。また最近では燃油の高騰が漁業経営を圧迫しており，資源面・経済面から獲る漁業による水産資源の確保は次第に困難になりつつある。

この点，二枚貝の養殖は稚貝を海中に垂下し無給餌で一定期間栽培後に収穫でき，沿岸海域の生産力を効率的に利用した環境に低負荷で持続性に優れ，燃油などのエネルギーの消費も少ない，省エネルギー型漁業の一つであり，タンパク源確保の観点から今後重要性が増してゆくと考えられる。

1997 年から 2007 年にかけて，我が国の漁業による生産量は 598 万 4,857 トンから 439 万 6,826 トンまで減少したが，養殖貝類収穫量は全生産量に占める割合が１割程度と少ないものの，42 万トンから 49 万トンの間で比較的安定している[4]。しかし，日本海側においては秋田県から島根県までの養殖貝類収穫量は 2007 年に 3,875 トンであり，全国の収穫量の約 0.9%を占めるに留まっている[4]。この一因は，日本海側には冬期の風浪に耐えうる養殖場所が少ないことにあると考えられ，収穫量は新潟，石川県といった内湾域を持つ地域で多く，また，島根県は隠岐島に季節風を防ぐことができる内湾が多く，島根半島でも季節風の影響の少ない入り江が散在するため，養殖施設の設置が可能な水域が他の日本海側の県に比べて多いことから日本海側で第３位となっており[4]，特に隠岐島において養殖への関心は高い。

本章では，島根県の漁業・養殖業の変遷を概観し，本研究の意義について述べる。

１　島根県漁業の変遷

本節では，島根県内の漁業の中で，沿岸漁業に占める養殖業の位置づけを探るため，漁獲統計に沿岸漁業の区分が設定されている 1979 年から 2005 年の 27 年間について解析を行った。なお，解析にあたって用いた資料は，1979 ～ 2005 年「島根県漁業の動き」(島根農林統計協会発行) である。

Fig. 1 に，島根県の 1979 年から 2005 年にかけての総漁獲量，沿岸漁業による漁獲量，および養殖の生産量を示した。本県の漁獲量は，1979 年の 24 万 9,075 トンから 1989 年の 56 万 2,119 トンまで順調に増加したが，以後減少に転じた。1995 年にマイワシ *Sardinops melanosticus* の漁獲が半減したため，漁獲量が大きく落ち込み，2001 年に９万 7,144 トンと最低を記録した後は 10 万トンから 12 万トン程度で推移した。

Fig. 2 に示すように本県で最も漁獲量の多い漁業種類は広義のまき網 (大中まき網と巾着網) である。まき網漁業の漁獲量が全漁獲量に占める割合は 48 ～ 86%であり，中でもマイワシの漁獲が多かった 1989 年から 1995 年までは 80%前後を占めた。

一方，沿岸漁業 (定義：漁船非使用，無動力，動力船 10 トン未満，定置網，地引き網および海面養殖の総称) の漁獲量は，1979 ～ 1983 年に 10 万 1,100 ～ 12 万 227 トンであり，全漁獲量の 32 ～ 40%を占めたが，それ以降漁業経営体の減少やそれに伴う漁獲量の減少のため，除々に減少し，1998 年以降は１万トン台となった。それに伴い全漁獲量に占める割合も低下し，1989 年以降は９～ 16%を占めるに止まった。

沿岸漁業のうち海面養殖の収穫量は，1985 年に 3,500 トンを記録したが，以降ブリ養殖やワカメ養殖が不振となって減少し，2003 年以降は 1,000 トン以下となった。Fig. 3 に示すように沿岸漁業漁獲量の中で養殖収穫量の占める割合は養殖以外の沿岸漁業が盛んであった 1989 年までは２～５%であったが，1990 年以降のそれら沿岸漁業の漁獲量の減少に伴い相対的に養殖業が占める割合が上昇し，４～ 10%で推移しており，沿岸漁業の中で養殖業の重要度が高まりつつあると考えられた。

さらに、Fig. 4 に示すように本県の出雲，石見，および隠岐海区別に沿岸漁業の主要種類である刺し

網，イカ釣り，延べ縄，採貝藻，および定置網の総漁獲量と養殖収穫量を比較すると，養殖収穫量の占める割合は出雲海区で3～9%（平均5.6%），石見海区で0～1%(平均0.5%),隠岐海区で7～31%(平均16.4%）と，隠岐海区で際だって高く，隠岐における養殖業の重要度は極めて高い。

2 島根県における養殖業の変遷

本節では，本県の海面における養殖業の変遷を概観し，中でも本研究に関わりの深いイタヤガイとイワガキについては生態や漁業の概要，および両種が養殖種として選定された経緯や養殖技術開発の状況について記述する。

なお，本節では，「島根農林水産統計年報[5]」を資料として用いた。Fig.5に島根県の魚介類養殖の生産量の変遷を魚種別に示した。

2.1 魚類・藻類養殖の変遷

Fig.5に示すように本県では，1965年からブリ*Seriola quinqueradeiata*とワカメ*Undaria pinnatifida*の養殖が始まった[6,7]。ブリ養殖は主に隠岐地区で発展し，1979～1996年にかけて800トンを超え，1996年には最高の2,270トンの収穫があった。ワカメ養殖は出雲地区と隠岐地区で発展し，1969～1993年まで1,000トンを超え，1974年には最高の3,336トンの収穫を揚げた。このように両種とも一時期本県の代表的な養殖魚種となっていた。その後，ブリ養殖は餌となるマイワシ漁獲量の急減や販売価格の低迷などにより廃業する生産者が増加し，現在は島内消費程度の養殖量となり，ほとんど実体がなくなった。ワカメ養殖はその後輸入の増加や販売価格の低迷，生産者の高齢化により生産量が減少したが，本県特産の「板ワカメ」に根強い需要があり，2008年も300トン程度と本県第1位の生産量となっている。

また，ヒラメ*Paralichthys olivaceus*養殖は，島根県栽培漁業センター(現:島根県水産技術センター栽培漁業部，以降省略）で1984年からヒラメの種苗生産が行われ，養殖用の種苗の供給が開始されたことにより事業化され[8]，1987年から1994年にかけては100トン以上の生産を揚げた。しかし，それ以降，主に海面生け簀での疾病の発生や夏期高水温による斃死，および全国的な生産過剰による販売価格の下落・低迷により廃業が増加したため1997年以降生産量が激減し，2005年以降は漁獲統計に載らなくなった。

2.2 二枚貝の養殖の変遷

本県における二枚貝養殖は，1907年頃から中海で始まったサルボウガイ*Scapharca kagoshimensis*養殖が最も古い[9]。この養殖は，天然で発生した稚貝を漁具を用いて採取して生育適地に放流し，商品サイズとなった時に漁獲する方法と，海中にワラなどで作った採苗器を垂下し，付着した稚貝を生育適地に放流して漁獲する方法があり，いずれも粗放的な養殖手法であった[9]。生産量は1964年に111トン，1968年に651トンあり，その後200～300トンの生産があったが，環境悪化や干拓事業開始のため生産量が減少し，1978年には生産がなくなった[9]。また，マガキ*Crassostrea gigas*は中海において1939年頃から民間業者が宮城県などから種カキを移入して養殖を開始した[9]。1955年には970トンの生産があったが,1948年頃から大量斃死がたびたび発生し始め，1970年頃には養殖の実態がなくなった。

また，中海以外の地域での養殖は，1961年に民間業者が隠岐島西郷湾で始めたアコヤ真珠*Pinctada martensii*養殖とマガキ養殖が初めである[9]。しかし，アコヤ真珠養殖とマガキ養殖はその後ほとんど規模が拡大せず，他地域への波及もほとんどなかった。アコヤ真珠とマガキに続いて，1972年より北海道からホタテガイ*Patinopecten yessoensis*の半成貝（殻長5～6cm）を導入し，海水温がホタテガイの温度耐性の上限である24℃になる前に出荷することで養殖を成立させようとしたが[10]，長時間の搬送による斃死や成長不良により生産量が安定せず，1977，1979年の9トンを最高に，1979年以降は導入が中止された（Fig. 5B)。その後1980年から主に天然採苗により採取された稚貝を用いてイタヤガイ*Pecten albicans*養殖が行われた[11]。1984年には215トンと生産量が最大となったが，その年から天然採苗で得られる稚貝数が減少し，それを補うための人工種苗生産による種苗の供給も的確に行えなかったため，生産者の需要を満たせず，2003年以降は養殖生産がなくなった。1986年頃から隠岐地区の一部の生産者はイタヤガイ種苗の不足による養殖生産の縮小を回避するため，イタヤガイと同科のヒオウギ*Chlamys nobilis*を和歌山県，大分県などから導入し，1987年からは隠岐地区の民間業者がヒオウギの人工種苗生産を開始した。その後さらに

民間業者が1社参入し，現在計2社で種苗生産が行われている。生産量は1991年に13トンであったが1994年からは増加し，2003年を除いて22トンから56トンの間で推移している。本種は和歌山県，大分県などで先行して量産しており，後発の本県ではネット販売や島内向け販売などで販路が限られること，および同科のホタテガイに比べて小型のため一般の販売には不利であることなどから，生産量は低迷している。

また，イタヤガイの後継養殖種であるイワガキ *Crassostrea nippona* の人工種苗生産技術が開発され，1996年からは養殖イワガキの出荷が開始された。漁獲統計によれば，本県の養殖イワガキの生産量は1996年から2000年までは10トンレベルの生産量であった。しかし，1998年に島根県栽培漁業センターが種苗生産を開始し生産者へ稚貝の供給を始めるなどしたため，3年後の2001年には33 tの生産量となり，その後，2008年に172トンまで増加して本県第2位の生産量となっている。生産額は2007年に1億円を越えた。

Fig. 6に示すように二枚貝の養殖量は，2003年までは全養殖生産量の10%以下であったが，それ以降10%以上となり，2007年以降は30%を越え，重要性を増している。

2.3 イタヤガイ養殖

2.3.1 生態と漁業

イタヤガイは漁業上重要な種を多く含むイタヤガイ科に属し[12]，北海道以南の日本，中国，韓国，台湾沿岸の砂泥底に生息する二枚貝である。本種が主として漁獲されていた地域は東から千葉県館山海域，石川県外浦海域，鳥取県沿岸，島根県沿岸，福岡県玄界灘である[13]。Table 1に，1956年から1993年までの本種の地域別漁獲統計を示す[14]。

本種の年間総漁獲量は1トンから2万6,139トンまで著しい変動があった。最も多量に漁獲された年は1965～1967年の3年間であった。この時石川県および島根県で大量の漁獲が報告されたが，1987年以降は漁獲量が減少した。漁獲が報告されている府県のうち，石川県，鳥取県，島根県，福岡県，佐賀県および鹿児島県では多く漁獲されたが，比較的継続して漁獲されているのは鳥取県のみで，他は偶発的な大発生群を数年で漁獲しつくし，漁業が終了するという傾向が観察される。千葉県，神奈川県，三重県，大分県，京都府，および山口県では年間数トンから数十トンの漁獲が1年から3年続いた後漁獲が見られなくなった。

このように本種の漁獲は偶発的な大発生とそれに引き続く漁獲により資源が枯渇するという過程をたどり，稚貝の継続的な添加が見られないため[15]，資源管理による安定した漁獲は極めて困難である。

2.3.2 養殖業の変遷

本種が養殖対象としてとりあげられた要因は1978年から1980年にかけて島根半島で天然採苗が試みられ[16]，養殖の事業化に十分な量の稚貝が得られる見通しがたったこと，および得られた稚貝を用いて島根県隠岐島西郷湾で試験養殖が行われ，養殖開始から殻長8cm以上となり出荷に至る期間が約1年であることや，養殖貝は天然貝に比べて軟体部重量が大きいことがわかったことからである[17]。以後，島根県沿岸で天然採苗による稚貝の確保とそれを用いた養殖が事業化された。

2.3.3 養殖施設

本県での養殖は当初隠岐島西郷湾で試みられ，すぐに隠岐島島前海域や島根半島の内湾全域に拡大し，採苗稚貝数の増加に伴い次第に外海域にも拡大した。養殖施設は内湾の場合は筏から垂下する方式や中層浮子を使用しないのべ縄方式であるが，外海に面した沿岸や湾口の広い湾では中層に浮子のあるのべ縄方式であった。さらに水深50m前後の外洋域に1カ所，ホタテガイ外洋養殖施設と同様な施設が設置され，専用船で作業が行われていた[18]。

2.3.4 養殖生産量

Fig. 5に養殖生産量を示す。生産量は1980年には30トンだったが，1983年には148トンと急増した。1984年には215トンと最大の生産量となったが，その年から天然採苗で得られる稚貝数の減少が始まった。そこで，生産者らの要望を受けて1991年から県が人工種苗生産により種苗を供給したが，生産技術の開発に時間がかかり，さらに生産者が必要とする数の稚貝を供給できなかったため，養殖イタヤガイの生産量は1991年以降減少し，2003年の11トンを最後に統計上は生産がなくなった。

2.3.5 天然採苗

天然採苗はホタテガイ同様，タマネギ袋に定置古網などを入れて膨らませて採苗器とし，のべ縄方式

の施設に採苗器を等間隔に取り付けた連を垂下する。通常は12月に垂下し，翌年5～6月に取り上げて採苗器に入った稚貝を回収する[18]。前年の天然採苗により得られた殻長1cm以上の稚貝数と，養殖生産枚数の推移をFig.7に示す。稚貝数は1979年の91.7万個から1981年の138.9万個まで緩やかに増加し，1982年に546万個と急増した後減少に転じ，1989年以降は100万個以下の水準となった[11]。

2.3.6 イタヤガイの人工種苗生産

イタヤガイの人工種苗生産試験は掘田[19]により最初に取り組まれ，その後1980年代から1990年代にかけて宮崎県，石川県，広島県の公立試験研究機関および和歌山県の民間種苗生産機関が種苗生産に取り組んだが，安定的な種苗生産技術の開発には至らなかった。本県では生産者の要望に応えるため，1988年から本種の種苗生産技術開発試験を始め，島根県栽培漁業センターで種苗を生産し生産者向けに供給を始めたのはFig.8に示すように生産技術が開発された1990年以降からである。1996年に最高の52万6,000個の稚貝を出荷した。しかし，天然採苗量の減少に伴い，天然採苗由来の母貝の産卵誘発や幼生飼育の成績が次第に悪くなり，稚貝の生産量が低迷した。また，1998年にイワガキの人工種苗生産が開始されたことから生産量は漸次縮小し，2004年の9,000個を最後に中止された。しかし，本種の人工種苗生産技術開発の過程で得られた様々な知見は，後にイワガキの人工種苗生産技術を開発する際に非常に有用であった。

2.4 イワガキ養殖

2.4.1 生態と漁業

イワガキは，イタボガキ科に属し，我が国では北海道南部から九州までの外洋に面した水深2～20mまでの転石や岩礁に生息している。生息好適水温は5～25℃の範囲で，30℃近い水温にも耐えられる。また，塩分は28～35psuというごく限られた範囲に適応し，塩分が急激に変動しやすい内湾，潮間帯には生息せず，塩分など水質が安定し水交換のよい外海の海底を主な生活の場とする[20]。

天然個体の主な産地は日本海側の秋田県，山形県，新潟県および鳥取県であったが，近年，市場での需要が増えたため，富山県，石川県，京都府といった日本海側の府県に加えて関東，四国，九州地方の県からの出荷も増加している（鈴木私信）。2001年の全国の総漁獲量は2,135トン，漁獲金額8億4,785万円となっている[20]。本種の養殖は，島根県や京都府といった日本海側の府県に加えて岩手県，宮城県や愛媛県，長崎県など，近年全国的に取り組まれるようになっている。

2.4.2 イワガキを養殖対象種として選定した経緯

天然イワガキは前述したようにかつては鳥取県，秋田県，山形県などの日本海側の一部の県で漁獲，消費され，地域特産種的な扱いを受けており，隠岐島では生息はしているが漁獲対象とはされず，食習慣もなかった。しかし，1980年代の末頃から東京など都市の住民にも本種が食用貝類として認知され始め，市場の拡大が期待された。また，その頃種苗数の減少などが原因でイタヤガイ養殖が低迷しており，イタヤガイに替わる種の種苗生産を島根県でも検討していた。

本種の天然採苗や養殖は1977年に秋田県で試みられていたが[21]，事業化には至っていなかった。島根県における本種の養殖の実用化は1992年に人工種苗生産に全国に先駆けて成功し，試験養殖により2年あまりで商品サイズとなることを確認したことに始まる[22]。引き続き隠岐島の一部の生産者が養殖を実施していたが，もともと食習慣がなかったこともあり，地元の市場では販売が困難なため，ネット販売や旅館への直接持ち込みなどで販売していた。1998年頃から大阪市場などから引き合いが始まり，イワガキ養殖への新規参入者も増加したことから，島根県はイワガキ養殖の振興を決め，県の施設でも種苗生産を開始したが，養殖イワガキがどの程度消費者へ受け入れられるか不明であった。そこで，2000年に隠岐島のイワガキブランド化推進協議会を設立し，「隠岐のいわがき」の名称を決定するとともに，マーケティング調査を行い，当面1,000トン程度の養殖イワガキのマーケットが存在するという調査結果が得られた[23]。それ以降，島根県は本格的にイワガキを養殖対象種とし，種苗生産を始め様々な支援を行っている。

2.4.3 イワガキの人工種苗生産

本種の養殖用種苗は，ほぼすべてを人工種苗生産により供給されている。Fig. 8に示すように島根県栽培漁業センターの稚貝供給量は，1998年の採苗器9,000枚（稚貝数換算では約9万個）から漸増し，2009年には10万3,000枚（約103万個）となっ

ている[24]。また，民間の主な種苗生産施設は2施設であり，年により変動が大きいが，1施設で年間最大3万枚程度の種苗生産能力がある。

養殖イワガキの生産量は，種苗生産量の増加と共に増大し，2001年には33トンであったが，2008年には172トンとなった。

3　本研究の意義

島根県では隠岐島を中心に養殖が行われてきた。この水域ではかつてノリ養殖試験[25]やマガキ養殖試験[26]が行われていたが，いずれも生育不良や身入りの不良が生じ，結論として養殖場周辺水域が貧栄養のため事業化は困難と判断された。また，山陰から北陸の沿岸域では冬，夏期の透明度が高いことから，クロロフィルａ量が少ない海域とされている[27]。そのため，植物プランクトンを摂餌する二枚貝を養殖対象とする場合，クロロフィルａ量が少ない環境でも成長し，商品となる種を選定する必要があった。そこで，島根県ではそのような水域でも生育し，商品化が可能なイタヤガイやイワガキを対象種として選定し，人工種苗生産技術や養殖技術を開発してきた。イタヤガイは，人工種苗の供給開始時期が遅れ、また、養殖では短期間で生産できるという点から要望数量が多かったが、生産できた量は養殖の継続には不十分であったため生産が中止された。しかし，食糧事情が変化すれば，再開の可能性は残っているとも考えられている[28]。また，イタヤガイで培った技術を基に人工種苗生産技術を開発したイワガキは今のところ島根県がトップランナーとなっている。

本研究は当初，島根県の水産振興のために行ってきた。しかし，現状を俯瞰すると，本年70億人を突破し増え続ける世界人口やEEZを始めとする各国の資源の囲い込み強化等により，自国におけるタンパク源確保の必要性はさらに高まっている。二枚貝の養殖は前述のように，稚貝を海中に垂下し無給餌で一定期間栽培後に収穫でき，沿岸海域の生産力を効率的に利用した，環境に低負荷で持続性に優れ，燃油などのエネルギーの消費も少ない，省エネルギー型漁業の一つであり，タンパク源確保の観点から今後重要性が増してゆくと考えられている。本研究で対象としたイタヤガイやイワガキ等の外海に生息する二枚貝は，今後，餌料の少ない沖合域に設置可能な養殖施設を開発することにより，養殖が広く普及する可能性が高まるとともに，開発された種苗生産技術は，その他の外海に生息する有用二枚貝類等にも応用できると考えられ，我が国におけるタンパク源確保に寄与できると考えられる。

4　本論文の構成と概要

本論文は，「第１章　イタヤガイ母貝の成熟促進に関する研究」「第２章　イタヤガイの幼生飼育に関する研究」「第３章　イタヤガイ稚貝の天然採苗に関する研究」「第４章　養殖イワガキの成長と成熟生態に関する研究」「第５章　総括」の全５章から構成される。各章の概要を以下に記す。

イタヤガイの人工種苗生産では，自然条件下で養成した１齢貝を母貝として用いた場合，産卵盛期が短いため生産時期が限られ，生産者からの稚貝の要望数量を満たせない可能性が高かった。そこで，母貝の成熟を促進することにより，生産可能な期間を延長することを目指して，第１章では，イタヤガイ母貝の成熟促進の可能性を投与餌料と水温から検討した。

また，人工種苗生産では，人為的な環境下で浮遊幼生が高密度に飼育されるため，これまで自然環境下では重要視されていなかった飼育水の物理・化学的な性質の変化やウイルス・細菌感染などの要因が幼生の主な減耗要因となっていた。これらの要因を制御することが人工種苗生産を安定させる上で重要であることから，第２章では，イタヤガイの人工種苗生産を安定させるための技術開発を目的に，人工飼育下でのイタヤガイ幼生と飼育水中の細菌相との関わり，および細菌相の制御手法について検討した。

さらに，人工種苗生産のみでは，生産者への種苗供給量に限界があること，種苗生産時に様々なコストが発生することなどから，種苗の販売価格の低減が困難であった。これに対し，変動は大きいが，天然採苗は生産者にも取り組むことができ，かつ人工種苗生産に比べて低コストで種苗を確保できることから，第３章では，天然採苗量の増加を目的に，イタヤガイ母貝集団の造成が天然採苗に及ぼす効果について検討した。

次に，イタヤガイに引き続き取り組んだイワガキについては，人工種苗生産した稚貝の成長を確認する必要があった。また，カキ類の外部形態は生息環境により相違することが知られているため，養殖場所による成長の違いを知るためには，本種の成長を把握するのに最も適した部位を抽出する必要があ

る。そこで，第４章では，イワガキの増養殖の基礎的な知見を得ることを目的に，まず養殖イワガキの成長と形態変化を観察し，養殖イワガキと天然イワガキの成長パターンの差違を検討すると共に，イワガキの成長を解析するための実用的な測定部位の抽出を行った。さらに，資源を持続的に安定して生産するために重要な情報である産卵開始年齢や大きさを推定することを目的に，生育環境がほぼ同様であり連続した観察が容易な養殖イワガキを対象にして，最初の成熟過程を観察した。

第５章では，本研究結果を総括した。

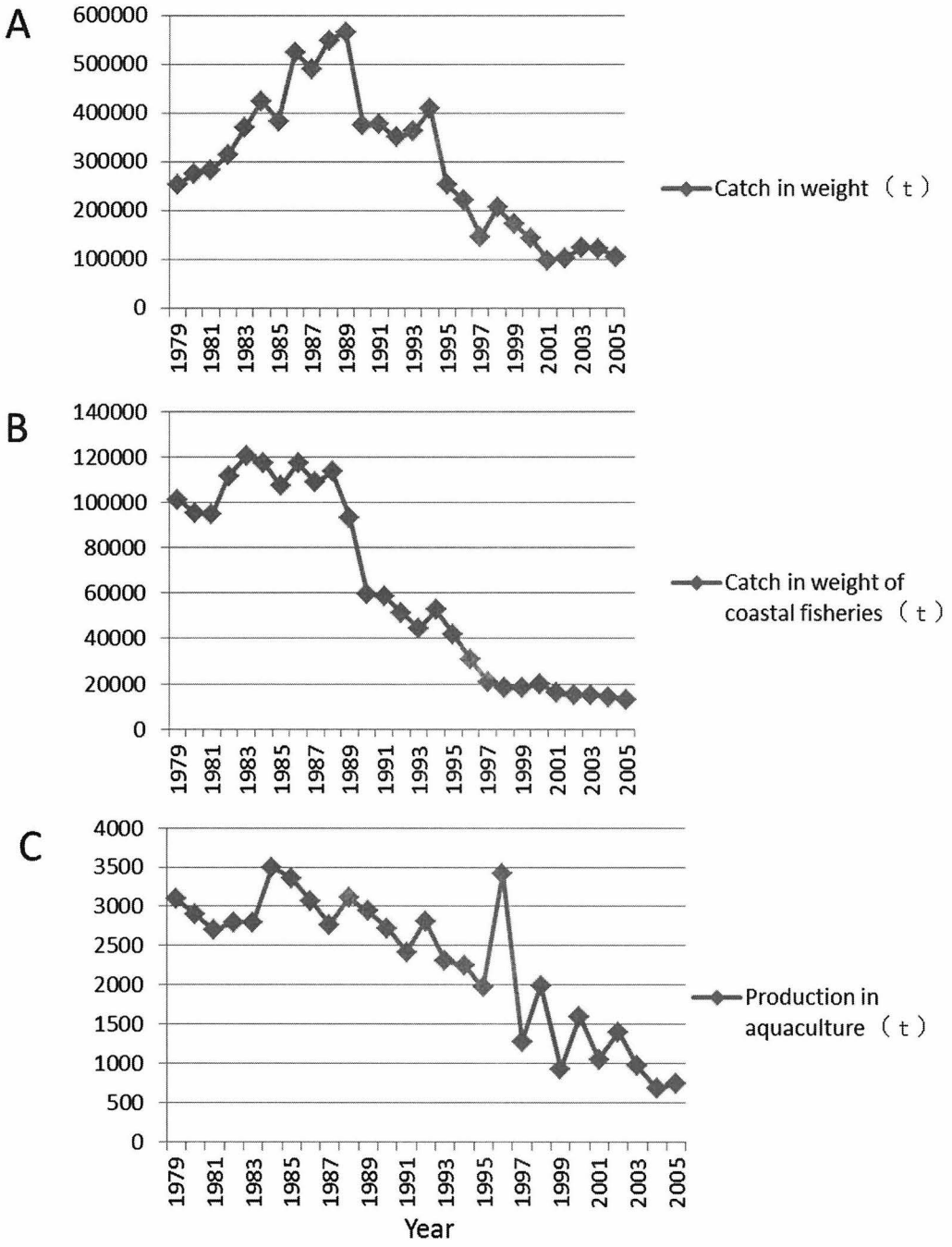


Fig. 1 Changes in annual catch in weight of fisheries, catch in weight of coastal fisheries, and annual production in aquaculture in Shimane Prefecture.
A: catch in weight of fisheries
B: catch in weight of coastal fisheries
C: production in aquaculture

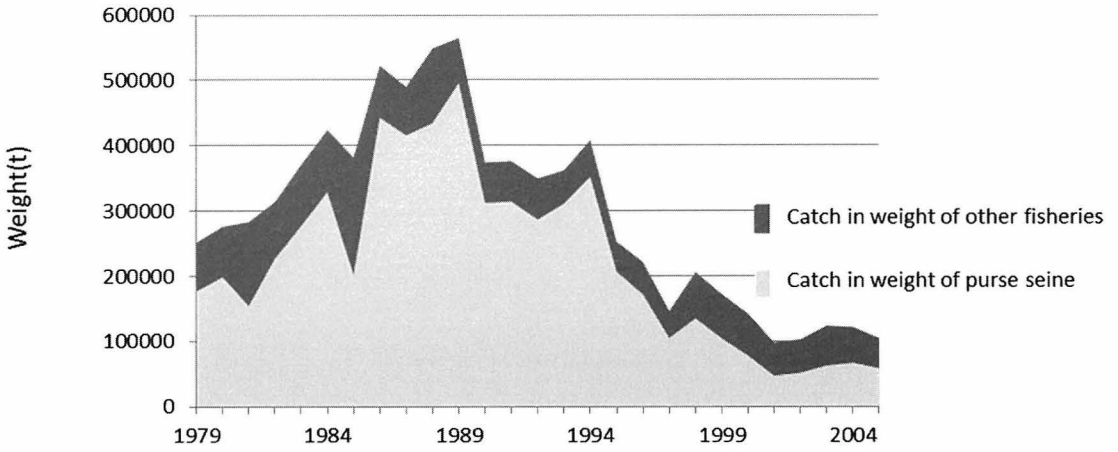


Fig. 2 Changes in annual catch in weight of purse seine and other fisheries.

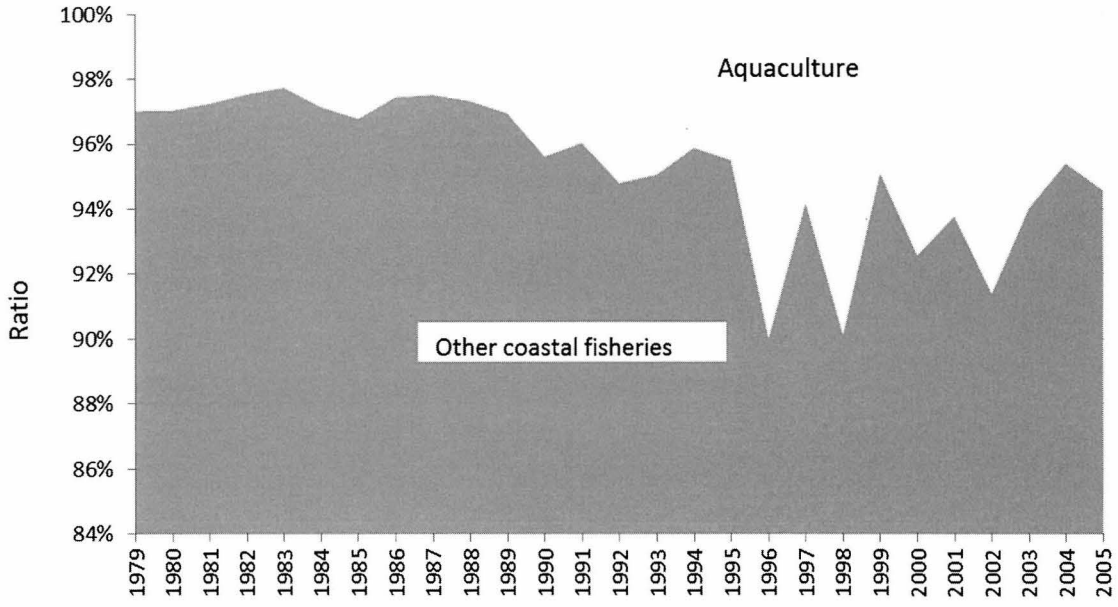


Fig. 3 Changes in ratio between annual catch in weight of coastal fisheries and production in aquaculture.

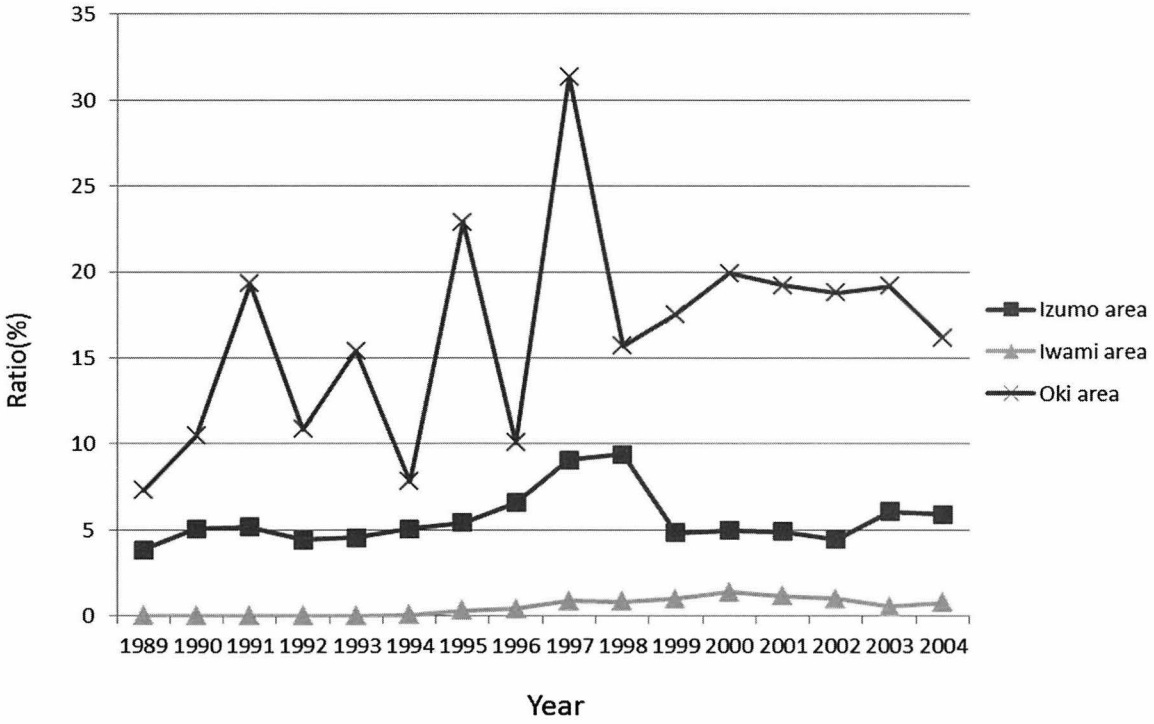


Fig. 4 Changes in ratio of production in aquaculture per catch in weight of coastal fisheries at each fisheries area in Shimane Prefecture.

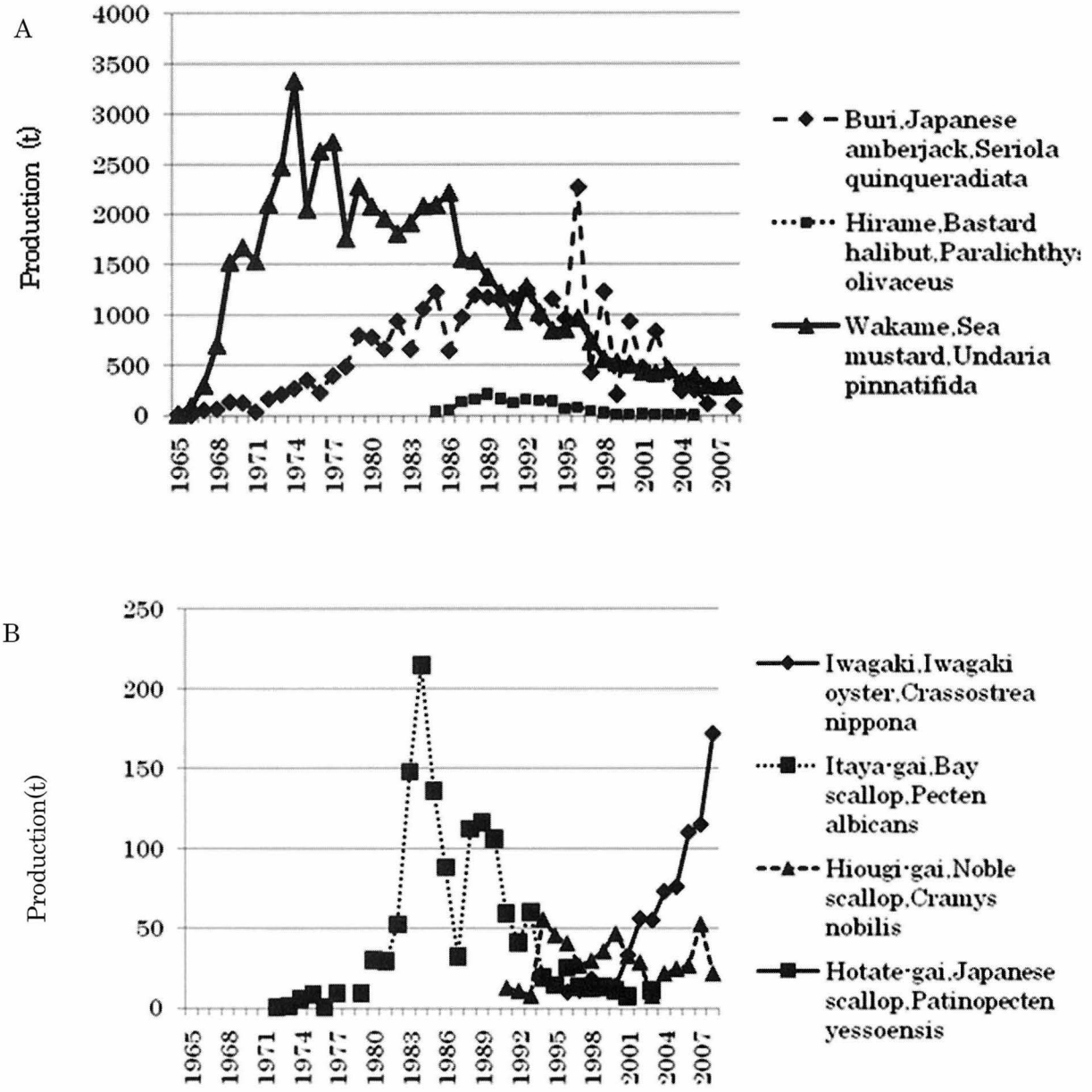


Fig. 5 Changes in annual production in aquaculture in Shimane Prefecture.
A: production of Buri, Japanese amberjack, *Seriola quinqueradiata*, Hirame, Bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*, Wakame, Sea mustard, *Undaria pinnatifid*a.
B: production of Iwagaki, Iwagaki oyster, *Crassostrea nippona*, Itaya-gai, Bay scallop, *Pecten albicans*, Hiougi-gai, Noble scallop, *Chlamys nobilis*, Hotate-gai, Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis*.

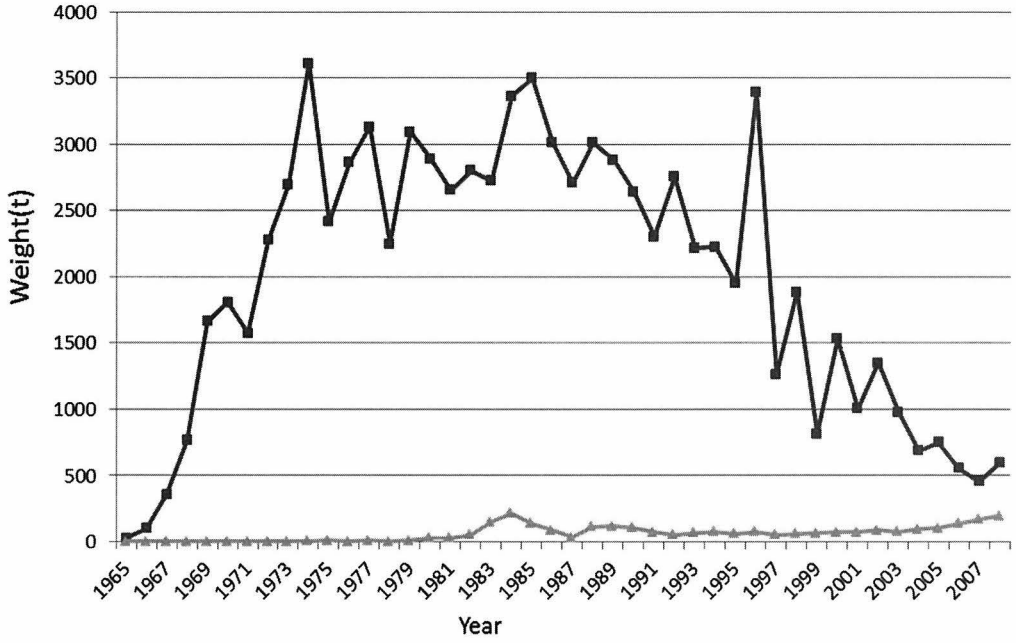


Fig. 6 Changes in annual production in aquaculture in Shimane Prefecture.
■: total production
▲: production of hanging culture of bivalves

Table 1 Changes in annual production of bay scallop *Pecten albicans* by fisheries in Japan. (Data source was reference 14)

Year	Total production (t)	Chiba Pref.	Kanagawa Pref.	Mie Pref.	Oita Pref.	Ishikawa Pref.	Kyoto Pref.	Tottori Pref.	Shimane Pref.	Yamaguchi Pref.	Fukuoka Pref.	Saga Pref.	Kagoshima Pref.
1956	265.3												265.3
1957	1990.6			14.6	3.2							552	1420.8
1958	1375.9	34.8		29.3			13.4	45		6		8.5	1238.9
1959	159.3				1		4.2	86					68.1
1960	80	3.3					7.7						69
1961	39.8				15.7		0.1	24					
1962	35.1					25	8.6			1			0.5
1963	53.4				52.8								0.6
1964	599							599					
1965	21021					2478		853	17690				
1966	20858					12876		397	6800			785	
1967	26139					26017		82			40		
1968	1161							730			431		
1969	737					319		418					
1970	495		29					74				392	
1971	261											261	
1972	279											279	
1973	365											365	
1974	215											215	
1975	2260										79	2181	
1976	814										575	239	
1977	888											888	
1978	143							103			40		
1979	188							186				2	
1980	36							36					
1981	29							29					
1982	30							30					
1983	53							53					
1984	38							38					
1985	13							13					
1986	62							62					
1987	1							1					
1988	5							5					
1989	4							4					
1990	44							44					
1991	5							5					
1992	0							0					
1993	0							0					

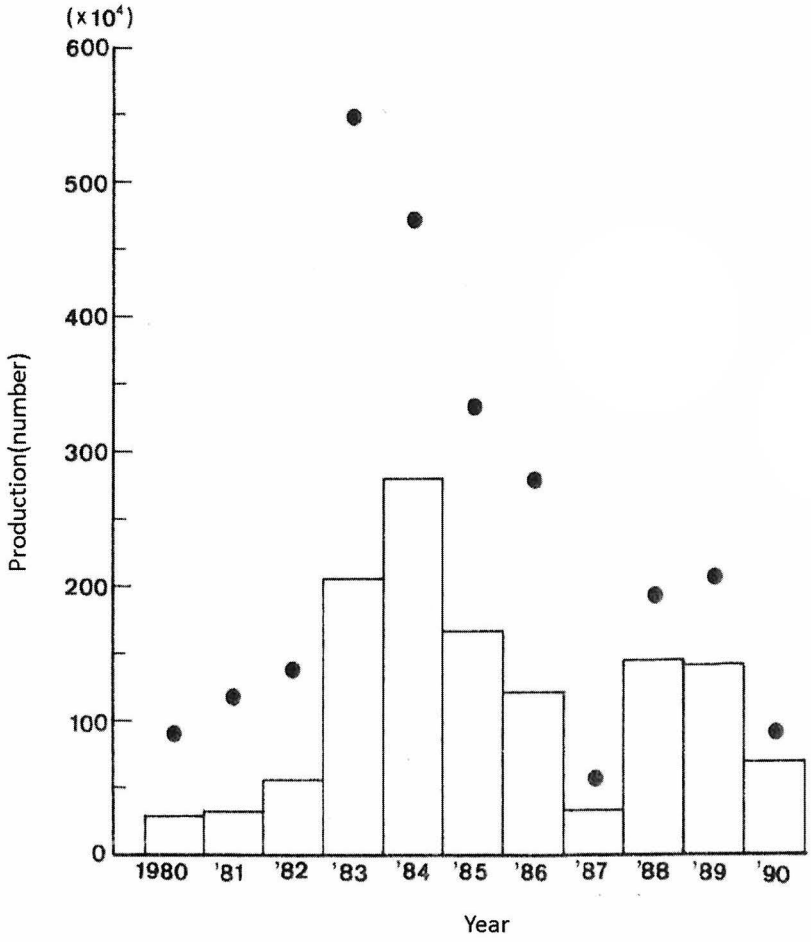


Fig. 7 Changes in annual production of bay scallop *Pecten albicans.*
●: number of collected seeds in the previous year
Bars: number of production in aquaculture

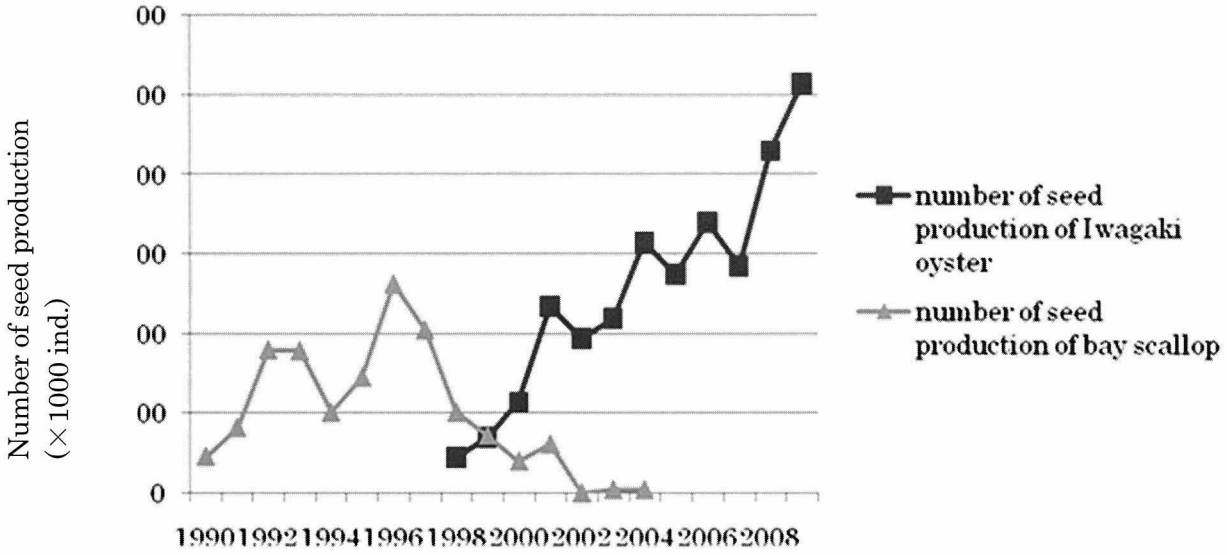


Fig. 8 Annual change of number of artificial seed production of Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* and bay scallop P*ecten albicans.*

第１章　イタヤガイ母貝の成熟促進に関する研究

イタヤガイ漁業は，天然海域において突発的に大量発生した群を漁獲し尽くす形で行われるため，イタヤガイは資源管理が困難な種類であった。島根県では本種の天然採苗が可能であることが分かったことから，1979年から養殖対象種となり，天然採苗によって養殖用稚貝の供給が行われてきた。しかし，1983年以降は天然採苗数が減少に転じたことから，生産者などの要請により，島根県で人工種苗生産が試みられた[11]。本種の人工種苗生産にあたっては，(1) 稚貝を量産するための母貝の成熟促進による早期採卵技術の開発，(2) 生産効率を高めるための浮遊幼生の安定的な飼育技術の開発，が大きな課題であると認識された。また，減少した天然採苗数を人為的に増加させるための技術開発も生産者などから要請があり，取り組みを行った[11]。

本章では，そのうちイタヤガイ母貝の成熟促進についての調査研究結果を述べる。

二枚貝類の生殖周期は温度，餌料，塩分，光といった環境要因によって大きな影響を受け，生殖活動は，これらの環境要因と生体の内部要因との相互作用によって発現するとされている。イタヤガイ科の数種については，生殖周期と環境要因との関わりが明らかにされつつあるが[29,30]，イタヤガイに関しては研究されていない。

そこで，まず人為的に供給可能な植物プランクトンのうち最も成熟促進に適した種を選択する目的で，母貝に数種の植物プランクトンを投与し，消化率や同化速度を測定した。そして，消化率や同化速度の高い種を数種選び，母貝に投与して成熟状況を観察した。また，水温制御による母貝の成熟促進を目的に，水温を自然水温より下げて給餌飼育し，成熟状況を観察した。

１　イタヤガイ成貝における餌料プランクトンの種および濃度と濾水速度，消化率，同化速度との関係

本節では，イタヤガイ母貝の成熟と餌料の質および量との関係を観察する際の基礎的な知見とするため，植物プランクトン４種を与えた場合の母貝の濾水速度と消化率を測定し，若干の知見を得た。

1.1　材料および方法

1.1.1　供試母貝と餌料種類および設定条件

実験に用いた母貝は，平均殻長8.4cm（8.3～8.7cm），軟体部平均湿重量27.3g（25.5～29.9g），軟体部平均乾重量4.7g（4.4～5.1g）の個体であり，一連の実験には同一の母貝を用いた。母貝は一連の実験を開始する１週間前に海中に垂下した養殖籠から室内に搬入し，径100μm以上の粒子を除去した海水で飼育した。それぞれの実験開始の前２日間は径0.4μm以上の粒子を除去した海水で飼育した。

使用した植物プランクトンの種類は，珪藻類の*Chaetoceros gracilis*（以下*Chaetoceros*と略す），ハプト藻類の*Pavlova lutheri*（以下*Pavlova*と略す），プラシノ藻類の*Tetraselmis tetrathele*（以下*Tetraselmis*と略す），真正眼点藻類の*Nannochloropsis oculata*（以下*Nannochloropsis*と略す）の４種類で，ProvasoliのES培養液を添加して19～24℃の恒温室で5Lの三角フラスコを用いて通気培養し，対数増殖期末期から定常期に入った細胞を実験に用いた。

実験は1993年７～８月に行い，実験中の水温は21～23℃であった。

1.1.2　濾水速度の測定

濾水速度の測定は，直接計量法[31]を用い以下の手順で行った。すなわち，20L円型黒色水槽に，精密濾過器（日本濾水機，P-81型）により0.4μm以上の粒子を除去した海水を20 L注入し，エアー・ストーンで穏やかに通気した。そこへ殻表面の付着物を取り除いた母貝を１個体収容して30分以上放置し，環境に順化させた。１回の実験には６～８水槽を用い，２水槽を１組として，各餌料濃度に２個体を供試し，投与する餌料濃度を３～４段階に設定した。その後，培養した植物プランクトンを投与し，通気を一時的に強くして均一に攪拌した。設定した餌料濃度は，予備実験により得られた，擬糞を排出する以前の濃度を最高値とし，最低値は，Bricelj & Shumway[32]によるイタヤガイ科の他種の濾水速度と餌料濃度の関係を参考にして設定した。各々の植物プランクトンについて設定した餌料濃度は，*Chaetoceros*が7.4×10^{-8}，14.8×10^{-8}，22.2×10^{-8}，29.6×10^{-8} g/ml，*Pavlova*が3.5×10^{-8}，7.0×10^{-8}，

10.5×10^{-8}, 14.0×10^{-8}, 46.6×10^{-8}, 93.2×10^{-8}, 186.4×10^{-8}g/ml, *Nannochloropsis* が 1.0×10^{-8}, 2.0×10^{-8}, 4.0×10^{-8}, 8.0×10^{-8} g/ml, *Tetraselmis* が 33.0×10^{-8}, 66.0×10^{-8}, 99.0×10^{-8}, 165.0×10^{-8} g/ml であったが，実際の餌料濃度は設定濃度に対して *Chaetoceros* が －13.1 ～ 37.2 %, *Pavlova* が －20.4 ～ 37.1 %, *Nannochloropsis* が －20.0 ～ 60.0%, *Tetraselmis* が－25.8 ～ 10.3%の誤差が生じた。なお，*Pavlova* の最高餌料濃度を投与した水槽のうち1水槽については，実験終了後蝶番がはずれているのがわかったので，データから除外した。

植物プランクトン濃度は，攪拌直後と，それから30分ないし1時間後に水槽水を採取して計数した。採取した水槽水は，5%の濃度になるよう中性ホルマリン液を混合して固定し，容量5 ～ 10ml の沈殿計数筒に入れて3日間放置した後，倍率100 ～ 200倍の倒立顕微鏡下でUtermohl 法[33]により計数した。なお，実験中の植物プランクトンの増殖はないものとした。

濾水速度（F:l/ 個体 / 時間）は，大森ら[31]に従って算出した。すなわち，植物プランクトンの増殖がない場合は

$$F=V(\ln C_0-\ln C_{tf})/(N \cdot t)$$

ここで，Vは実験水槽の水の容量，Nはその中に収容した動物の個体数，C_0ははじめに与えた植物プランクトンの濃度，C_{tf}はt時間後の植物プランクトンの濃度である。

また，摂食速度（I: g/ 個体 / 時）は，

$$I=(V(C_0-C_{tf})/(N \cdot t)) \cdot W$$

ここで，Wは植物プランクトン1細胞あたりの乾燥重量である。

同化速度は，摂食速度（I）に，以下で述べる方法で得た消化率と植物プランクトンの有機物含量を乗じて求めた。

1.1.3 消化率の測定

消化率の測定は，比率法[34]によった。糞の回収は，濾水速度測定後3 ～ 5時間母貝を水槽中に放置し，排出された糞のうち，明らかに投与した植物プランクトン由来と考えられるものに限った。排糞が少量であった個体については，再び実験時と同量の餌料を投与し，排泄された糞を駒込ピペットで回収した。糞は，あらかじめ450℃で3時間焼いて有機物を除いたフィルター（ミリポア社, AP25 プレフィルター）上に載せ，脱水，脱塩（3%のアンモニウムホーメイトで除去）後60℃で恒量になるまで乾燥し，乾燥重量を測定した。次いで，450℃で3時間焼き，燃焼前後の重量差より有機物量を求めた。

餌料とした植物プランクトンについても，細胞数を計数後，培養液ごと50ml を，あらかじめ450℃で3時間焼いて有機物を除いたワットマンGF/Cフィルター上に20cmHG 以下の圧力で濾過，回収し，糞と同様に有機物含量を求めた。

消化率（A）は，次式により求めた。

$$A(\%) = (F'-E') / ((1-E') \cdot F') \times 100$$

ここで，

F' = 餌料の灰分を除いた乾燥重量 / 餌料の全乾燥重量

E' = 糞の灰分を除いた乾燥重量 / 糞の全乾燥重量

1.2 結果

1.2.1 餌料とした植物プランクトンの乾重量および有機物含量

餌料とした植物プランクトンの乾重量および有機物含量をTable I-1-1 に示す。4種類の餌料プランクトンの乾重量は，5.00×10^{-8} ～ 6.59×10^{-6}g/10^4 細胞の範囲で，最も少なかった種は *Nannochloropsis* であり，最も多かった種は *Tetraselmis* であった。有機物含量は64.2 ～ 86.5 %で，最も少なかった種は *Chaetoceros* であり，最も多かった種は *Nannochloropsis* であった。有機物量は，4.33×10^{-8} ～ 5.04×10^{-6}g/10^4 細胞の範囲で，最も少なかった種は *Nannochloropsis* であり，最も多かった種は *Tetraselmis* であった。

1.2.2 餌料濃度と濾水速度の関係

餌料濃度と濾水速度の関係をFig. I-1-1 に示す。*Chaetoceros* では，餌料濃度が 6.6×10^{-8} ～ 36.0×10^{-8}g/ml の範囲で，濾水速度は，9.8 ～ 58.9L/ 個 / 時であり，餌料濃度が 19.3×10^{-8}g/ml の時に最も高かった。*Pavlova* では，餌料濃度が 4.3×10^{-8} ～ 170.3×10^{-8}g/ml の範囲で，濾水速度は，6.7 ～ 31.3L/ 個 / 時であり，餌料濃度が 13.6×10^{-8}g/ml の時に最も高かった。*Nannochloropsis* では，餌料濃度が 1.2×10^{-8} ～ 12.8×10^{-8}g/ml の範囲で，濾水速度は，4.9 ～ 21.0L/ 個 / 時であり，餌料濃度が 12.8×10^{-8}g/ml の時に最も高かった。*Tetraselmis* では，餌料濃度が 31.2×10^{-8} ～ 181.9×10^{-8}g/ml の範囲で，濾水速度は，5.5 ～ 46.5L/ 個 / 時であり，餌料濃度が 49.2×10^{-8}g/ml の時に最も高かった。

以上のように，濾水速度は餌料濃度が 19.3×10^{-8} ～ 49.2×10^{-8}g/ml の範囲で高くなることが明らかとなり，餌料濃度がそれ以下，またはそれ以上の濃度では低くなる傾向が示された。また，餌料種類では，*Chaetoceros* が最も高く，次いで *Tetraselmis*，*Pavlova* の順で，*Nannochloropsis* は最も低かった。

1.2.3 餌料濃度と摂食速度との関係

餌料濃度と摂食速度との関係を Fig. I-1-2 に示す。摂食速度は，*Chaetoceros* では 7.0×10^{-4} ～ 59.6×10^{-4}g/ 個 / 時，*Pavlova* では 5.8×10^{-4} ～ 138.0×10^{-4}g/ 個 / 時，*Nannochloropsis* では 0.8×10^{-4} ～ 16.7×10^{-4}g/ 個 / 時，*Tetraselmis* では 15.7×10^{-4} ～ 203.1×10^{-4}g/ 個 / 時であり，*Nannochloropsis* を投与した場合の摂食速度が最も低かった。

いずれの餌料種類でも，餌料濃度の増加に従って摂食速度は高くなる傾向があったが，餌料濃度が 50×10^{-8}g/ml 以上になると，速度の伸び率が低くなる傾向があった。

1.2.4 餌料濃度と消化率との関係

餌料濃度と消化率との関係を Fig. I-1-3 に示す。*Chaetoceros* を投与した場合の消化率は，餌料濃度が 19.3×10^{-8}g/ml までは 50％以上であったが，32.6×10^{-8}g/ml では 8.1％と急激に低下した。*Pavlova* を投与した場合の消化率は，餌料濃度が 17.8×10^{-8}g/ml までは 83.0 ～ 94.1％の範囲であったが，それ以上では低下した。*Nannochloropsis* を投与した場合の消化率は，餌料濃度が 6.4×10^{-8}g/ml までは 83.2 ～ 89.8％の範囲であったが，それ以上では低下した。*Tetraselmis* を投与した場合の消化率は，餌料濃度が 103.1×10^{-8}g/ml までは 71.1 ～ 84.8％の範囲であったが，それ以上では低下した。

以上のように，*Chaetoceros* を投与した場合には，消化率がその他の種類に比べて低く，かつ少ない餌料濃度で消化率が著しく低下することが明らかとなった。その他の種類でも餌料濃度の増加に従って消化率は低下したが，その割合は *Chaetoceros* ほどではなかった。

1.2.5 餌料濃度と同化速度との関係

餌料濃度と同化速度との関係を Fig. I-1-4 に示す。高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における同化速度は，*Chaetoceros* では 24.1 ～ 201.0×10^{-5}g/ 個 / 時，*Pavlova* では 46.3 ～ 247.7×10^{-5}g/ 個 / 時，*Nannochloropsis* では 6.0 ～ 23.3×10^{-5}g/ 個 / 時，*Tetraselmis* では 101.7 ～ 720.2×10^{-5}g/ 個 / 時の範囲であった。

高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における同化速度は，餌料濃度の増加に従って速くなったが，*Nannochloropsis* が最も遅く，*Chaetoceros* および *Pavlova* がほぼ同様の値であり，*Tetraselmis* が最も速かった。

なお，同化速度の比較を，高い消化率が維持される餌料濃度の範囲での餌料濃度についての値に限った理由は，それ以上の餌料濃度では，餌料が摂取される前に擬糞により排出され始めるので，正確な同化速度が推定できないと考えられたためである。

1.3 考察

イタヤガイの濾水速度，消化率，および同化速度は，投与した餌料種類および濃度によって異なった。すなわち，餌料として *Chaetoceros* を投与した場合には，濾水速度は他種より速くなる傾向があるが，消化率は最も低く，餌料濃度の増加に伴い，顕著に減少した。*Pavlova* を投与した場合には，濾水速度は *Chaetoceros* に次いで速かった。また，消化率は最も高く，餌料濃度の増加による消化率の低下は緩やかであった。*Tetraselmis* を投与した場合には，濾水速度は *Pavlova* に次いで速く，消化率も *Chaetoceros* より高かった。餌料濃度の増加による消化率の低下は *Pavlova* と同様緩やかであった。*Nannochloropsis* を投与した場合には，濾水速度は 4 種中最も遅く，消化率は *Tetraselmis* と *Pavlova* の中間の値であったが，少ない餌料濃度で消化率が低下する傾向があった。また，高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における最大の同化速度は，*Pavlova* と *Chaetoceros* がほぼ同様な値であり，*Tetraselmis* はそれらの約 2 倍の値で最も速く，*Nannochloropsis* はそれらの約 10 分の 1 の値で，最も遅かった。

濾水速度が餌料プランクトンの種および量により異なった一因として，餌料プランクトンの大きさと，イタヤガイの鰓で保持できる粒子の大きさとの関係が考えられる。ホタテガイ類が鰓で効率よく保持できる粒子の大きさは，5 ～ 7μm が限界とされている[32]。本実験に用いた餌料プランクトンの大きさは，*Nannochloropsis* が細胞長径約 2.9μm と最も小型で，*Pavlova*（細胞長径約 5.2μm），*Chaetoceros*（細胞長径約 6.5μm），*Tetraselmis*（細胞長径約 13.3μm）の

順に大型となる。従って，鰓で効率よく保持できる種類は*Tetraselmis*のみであり，保持効率の最も低い*Nannochloropsis*では濾過効率が低いため，*Nannochloropsis*を投与したときの濾水速度が他種を投与したときより遅くなったと考えられる。また，ほぼ同様な細胞長径で，保持効率がほぼ同様と考えられる*Chaetoceros*と*Pavlova*で，*Chaetoceros*の方が濾水速度が速い傾向があったが，Ward *et al.*[35]は*Placopecten megellanicus*の濾水量および消化率が珪藻類の*Chaetoceros muelleri*の代謝産物で高まると報告しており，本実験に用いた同属の*Chaetoceros gracilis*も，同様な代謝産物を排出したためと考えられる。

Palmer[36]は，*Argopecten irradians concentricus*の濾水速度が2×10^{-6}g wet wt./mlを越える餌料濃度では遅くなったことを報告し，この値は富栄養化した沿岸域のPOCレベルとしては低いと考えられることから，野外での本種の成長阻害要因として，高濃度の餌料による摂餌，消化能力の阻害の可能性を示唆したが，イタヤガイも同様に高い餌料濃度より低い餌料濃度に適応していると考えられる。

また，本実験では，実際に投与した餌料濃度は，あらかじめ設定した餌料濃度に対して誤差が大きく，同一濃度区を2水槽設定した意味が薄くなった。さらに本実験で得られた濾水速度は個体差が大きかった。Palmer[36]は，本実験と同様な方法で*Argopecten irradians concentricus*の濾水速度を測定し，実際の投与餌料濃度が設定値から5～25%の誤差が生じたこと，および濾水速度は個体差が大きかったことを報告した。従って，濾水速度に関してより精度の高い値を得るには，迅速に餌料濃度を計測できる装置を用い，同一個体について反復して餌料濃度と濾水速度の関係を測定する作業を繰り返す必要があると考えられる。

消化率について，Peirson[37]は，^{14}Cで標識した8種の植物プランクトンを用いて，2mm^3/Lの密度で浮遊させ，合計10mm^{3}を与えて*Argopecten irradians concentricus*成体の消化率を測定した結果，Chlorella autotrophicaを投与した場合の消化率が17.4%であった以外は，78.1～89.9%であったと報告した。本実験で測定された値は，測定手法が異なるため，直接の比較は困難であるが，消化率は*Chaetoceros*を投与した場合に，52.6～69.3%と低かったが，他の種類ではPeirson[37]とほぼ同様な値が測定された。

ホタテガイ類では，消化率は餌料濃度の上昇に伴い，減少するとされているが[32]，本実験でも，同様な現象が観察された。また，*Chaetoceros*を投与した場合には，餌料濃度の上昇に伴う消化率の低下が著しかったが，本種を高濃度で投与した場合には，他の種類に比べて擬糞の排出が著しかったことから，糞とともに擬糞の一部を回収，分析したため，消化率が実際より低く算出された可能性がある。

消化率の高低は，必ずしも貝の成長の良否と相関せず，それだけでは餌料の価値は判断できないとされている[32]。Langdon & Waldock[38]は，*Crassostrea gigas*稚貝の成長には，ω3不飽和脂肪酸のうち，20:5 n-3や22:6 n-3が必要であると報告している。従って，貝の成長や成熟には，摂餌量や消化率のみではなく，餌料プランクトンの脂肪酸等の成分も考慮する必要があると考えられる。

今後は，消化率が減少しない程度の餌料濃度で各種餌料プランクトンを実際に与えて飼育し，イタヤガイの成熟状況を観察する必要がある。また，より餌料価値の高い植物プランクトンを探索する必要もあると考えられる。

2　投与餌料種による母貝の成熟過程の差異

母貝の成熟を人為的に制御する場合，どの餌料が適しているか知るために，1節では餌料種類ごとの摂餌量や消化率を測定した。しかし，消化率の高低は必ずしも貝の成長の良否と相関せず，それだけでは餌料の価値は判断できないとされている[32]。そこで本節では，1節の実験で有機物摂取量が多いと推定された順に，*Tetraselmis tetrathele*（以下*Tetraselmis*と略す），*Chaetoceros gracilis*（以下*Chaetoceros*と略す），*Pavlova lutheri*（以下*Pavlova*と略す）の3種類を選び，餌料とするプランクトンの質的差違を観察するため，単位時間あたりの有機物摂取量がほぼ同様となるような濃度でプランクトンを投与して母貝の生殖巣が未熟期の段階から成熟期に達するまで飼育を行い，成熟状況と卵巣の脂肪酸組成，貝柱のグリコーゲン含有量の差違を観察した。

2.1　材料および方法

*Tetraselmis, Chaetoceros, Pavlova*を単独に投与する水槽を1水槽ずつ，計3水槽を島根県水産技術センター浅海グループ庁舎の実験室内に設置し，そ

れぞれ *Tetraselmis* 区，*Chaetoceros* 区，*Pavlova* 区とした。母貝は島根県隠岐島の島根県水産技術センター栽培漁業部の桟橋の水深 5m で垂下養成された個体を 1994 年 9 月 8 日に試験場まで保冷して運搬し，貝殻表面の付着物を除去した後，実験に供した。実験に使用した海水は，砂濾過海水をさらに孔径 1μm の簡易カートリッジ・フィルター（東洋濾紙製）で濾過した海水を用いた。海水は 100L 円型黒色水槽に 100L 注水し，中央にエアー・ストーンを 1 個設置して海水が緩やかに攪拌されるよう通気を調整した。水温調整は室温調節により行った。1 投与区について母貝 10 個体を 100L 水槽に収容し，定量ポンプ（TACMINA CORP., N-FEEDER）により *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Pavlova* をそれぞれ，前節の測定結果から同化速度が 1,400 ～ 1,600 × 10^{-6}g/ 個 / 時となると推定される濃度である 33 × 10^{-8}g・dry wt./ml(500 cells/ml)，18.6 × 10^{-8}g・dry wt./ml (2,500 cells/ml)，14.0 × 10^{-8}g・dry wt./ml (6,000 cells/ml) として，収容されている貝が飼育水をほぼ全量濾過すると推定される，30 分毎に投与した。母貝の軟体部乾燥重量を **1．1 節** の実験結果から軟体部湿重量 27.3g の 17%の 4.7g と仮定すると，母貝 1 個あたりの乾燥重量に対して 1 日に投与した餌料プランクトンの乾燥重量は，それぞれ 2.9%，1.7%，1.2%である。換水は，毎日，前日から海水を入れて飼育槽と同じ場所に設置していた水槽に貝を入れ替えて行った。なお，餌料の投与と換水は，休日は中止した。投与した植物プランクトンは，Provasoli の ES 培養液を添加して 19 ～ 24℃の恒温室で 5L のフラスコを用いて通気培養し，対数増殖期末期から定常期に入った細胞を用いた。飼育期間は，1994 年 9 月 9 日から 12 月 9 日までのおよそ 3 ヶ月間とした。母貝の蝶番が外れたり斃死が確認された場合にはただちに取り除いたが，新たな母貝は追加せず，餌料の投与量も調整しなかった。なお，比較のため実験に供した母貝と同一の母貝群から無作為に採取した母貝を水産技術センター浅海グループで 9 月 16 日と 12 月 28 日に 10 個体ずつ測定し，海中垂下区とした。

実験に用いた母貝は天然採苗後 1 年以上垂下養殖された，いわゆる 1 齢貝を用いた。実験開始時の平均殻長と平均全重量は，*Tetraselmis* 区で 8.5cm(7.2 ～ 8.8cm) と 74.2g(60.0 ～ 82.6g)，*Chaetoceros* 区で 8.2cm(8.1 ～ 8.7cm) と 72.3g(61.7 ～ 88.1g)，*Pavlova* 区で 8.0cm(7.5 ～ 8.6cm) と 68.7g(55.2 ～ 88.5g)，海中垂下区で 8.2cm (7.8 ～ 9.2cm) と 69.8g (63.9 ～ 85.2g) であった。

成熟段階は，佐竹ほか[39]に準拠し，肉眼で判定した。判断基準としては，「未熟期」生殖巣は半透明で精巣，卵巣の区別がつかない，「成長期」生殖巣で，精巣と卵巣の区別がつき，精巣は白濁～乳白色，卵巣はわずかに着色～橙色となるが，外部から消化管が認められる，「成熟期」精巣は乳白色，卵巣は橙色であり，生殖巣は肥大して外部から消化管は認められない，「放出期」生殖巣はやや軟弱で退色する，とした。

各種測定は，餌料プランクトンを投与した 3 区について 1994 年 9 月 9 日，10 月 20 日，12 月 9 日に行い，9 月 9 日と 10 月 20 日には殻長をノギスにより 0.1mm 単位まで，全重量を電子天秤により 0.1g 単位まで測定した後，生殖巣の成熟段階を佐竹ほか[39]に従い，肉眼により判定した。また，12 月 9 日には殻長，全重量を前述の方法で測定し，メスで殻から軟体部を分離した後，軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量を電子天秤により 0.1g 単位まで測定し，成熟段階を肉眼により判定した。さらに，9 月 16 日と 12 月 28 日には海中垂下していた母貝を 10 個体ずつ，3 区と同様な方法で測定し，海中垂下区とした。

最後に，餌料プランクトンを投与した 3 区については 12 月 9 日の実験終了後，海中垂下区については 12 月 28 日の測定終了後に各実験区の供試貝の卵巣および貝柱を－ 80℃で冷凍保存し，卵巣中の脂肪酸量および脂肪酸組成と貝柱中のグリコーゲン量を，財団法人日本冷凍食品検査協会に委託して測定した。脂肪酸量および脂肪酸組成の測定はガスクロマトグラフ法で，グリコーゲン量の測定はソモギー変法により行った。

2.2 結果

2.2.1 水温

実験期間中の飼育水温の推移を Fig. I-2-1 に示した。実験を開始した 9 月から 10 月中旬までは 23℃台であったが，それ以降水温が低下し，10 月下旬～ 11 月中旬にかけて 19 ～ 21℃となり，12 月初めにかけては 17 ～ 20℃の間で変動した。また，海中垂下区の母貝が養成されていた隠岐郡西ノ島町の島根県水産技術センター栽培漁業部の水深 10m の水温は，実験開始時には 27.7℃であったが，以後下降し続け，10 月上旬には室内の飼育水温と同様の

23℃台となった。その傾向は11月末まで続いたが，その後室内の飼育水温より2～3℃低い水温で推移した。

2.2.2 母貝の成長と成熟

母貝の測定結果をTable I-2-1に示した。餌料を投与した3区では，供試貝の殻長，全重量は9月9日の実験開始時と12月9日の実験終了時でほとんど変わらなかった。また，12月9日の3区の軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量の平均値が等しいかどうかの検定を行った。その結果，それぞれの測定項目において3区の間に有意な差が認められなかった（t検定,$p > 0.01$）。全重量に対して軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量の占める割合は，それぞれ28.7～31.2%，17%，14～15%であった。しかし，12月28日に測定した海中垂下区では，殻長および全重量が9月16日に比べて明らかに増加していた。また，全重量に対して各部位の占める割合は軟体部重量が36.8%を，貝柱重量が25 %を占め，餌料を投与した3区より割合が高かったが，生殖巣重量の占める割合は15%と実験区とほぼ同様であった。

各区の成熟段階の推移をTable I-2-1に示した。9月9日の実験開始時には，すべての区の母貝の生殖巣は透明で，雌雄判別のつかない未熟期であった。10月20日には成熟が進み，成長期の個体が*Pavlova*区で12%，*Chaetoceros*区で40%を占めたが，*Tetraselmis*区では成長期の個体が86%と最も多く出現していた。12月9日には，*Pavlova*区，*Chaetoceros*区および海中垂下区ではすべての個体が成熟期であったが，*Tetraselmis*区では成熟期の個体の他に放出期と推定される個体が20%出現した。

生残率は開始約40日目の10月20日には*Pavlova*区で80%，Chaetoceros区で100%，*Tetraselmis*区で70%，3ヶ月後の実験終了時の12月9日には*Pavlova*区で60 %，*Chaetoceros*区で70 %，*Tetraselmis*区が50%で，*Tetraselmis*区が他の2区に比べてやや低かった。卵巣の脂肪酸量および組成をTable I-2-2に示した。脂肪酸の含有量は，*Pavlova*区が2,000mg/100gと最も少なかったが，その他の3区は2,600～2,800mg/100gとほぼ同様な値であった。脂肪酸組成のうち卵巣形成に必要[37]とされるC20:5 n-3の含有割合は*Chaetoceros*区が15.9%と最も高く，その他の2区は14.5～14.7%であったが，海中垂下区では12.5%と最も少なかった。卵巣の色調は，海中垂下区では鮮やかな橙色であったが，餌料投与区ではすべて白っぽい橙色であった。

貝柱のグリコーゲン量は，海中垂下区の母貝が1,100mg/100gであるのに対して，人為投与区の3区では，Pavlova区が200mg/100gと最も少なく，*Tetraselmis*区が220mg/100g，*Chaetoceros*区が240mg/100gであり，海中垂下区の母貝より一桁少なかった。

2.3 考察

餌料投与区での母貝の殻長，全重量は実験開始前後でほとんど変わらず，実験終了時の軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量の平均値には3区の間で有意な差がなかったにも拘わらず，成熟段階の進行度合いは*Tetraselmis*区が*Pavlova*および*Chaetoceros*区より進んでいる傾向が観察された。また，海中垂下区の母貝の成熟段階はすべて成熟期であり，放卵・放精した個体は観察されなかったが，*Tetraselmis*区では放卵・放精したと推定される個体が20%出現しており，成熟段階は海中垂下区より進んでいる傾向が確認された。この原因として，*Tetraselmis*の含有成分が質的に母貝の成熟に適していた可能性，あるいは*Tetraselmis*区の母貝の生残率が他の2区より低かったことから，餌料投与量が他の2区より多くなり，有機物摂取量が増加したことで成熟が進行した可能性が考えられる。

質的な差違に関しては，*Tetraselmis*は他の植物プランクトンに比べて多くの総蛋白質や総脂質が含まれていることが知られており[40]，これが反映されて*Tetraselmis*区の母貝の卵巣に含まれる脂肪酸含有量が他の3区に比べて多かったのではないかと考えられる。また，*Tetraselmis*はC20:5 n-3の含量が他の2種より少ないとされている[40]ものの，卵巣の脂肪酸組成のうちC20:5 n-3の含量割合は海中垂下区を含む4区ともほぼ同様であった。Marty *et al.*[41]によれば，*Pecten maximus*は，C20:5 n-3を選択的に卵巣に取り込むと報告しているので，イタヤガイも同様にC20:5 n-3を選択的に取り込んでいると考えられる。

次に餌料の投与量に関しては，本実験では母貝の斃死に伴う投与量の調整は行わなかったので，結果として生残率が他の2区よりやや低かった*Tetraselmis*区の母貝1個体あたりの有機物摂取量が途中から増加した。しかし，*Tetraselmis*区の母

貝は他の2区と同様，成長が認められず，生殖巣重量も他の2区とほぼ同様であったため，有機物摂取量の増加が成長や成熟に及ぼした影響は小さいと推定される。このことから，成熟を進行させた主な要因は，有機物摂取量の増加ではなく *Tetraselmis* の含有成分によるものと考えられる。

また，実験終了時の生残率は *Tetraselmis* 区が50％と最も低く，次いで *Pavlova* 区，*Chaetoceros* 区の順であった。Frias *et al.*[43]は，閉鎖循環系におけるマガキの成熟促進実験中の斃死は，水槽への入れ替えなどの人為的なハンドリングが原因であると推定している。本実験においてもほぼ毎日水槽換えを行っており，そのたびに殻を開閉させて遊泳している個体が観察されたこと，除去した個体がすべて蝶番の外れた個体であったことから，マガキと同様，実験中の斃死はハンドリングが主な原因であると考えられる。

なお，餌料を投与した3区の母貝と比較して，海中垂下区の母貝は実験期間中明らかに成長が認められ，軟体部重量や貝柱重量も3区より大きかった。この原因は，餌料を投与した区では餌料の質や量が限定されたのに対して，海中垂下区では多様な餌料種類を適当量摂餌することが可能であったためと推定される。しかし，成熟の進行度合いはテトラセルミス区が12月の時点では海中垂下区より進んでいた傾向があったことから，今後 *Tetraselmis* を中心として，他の餌料との混合投与や投与量の調整により，イタヤガイ母貝の成熟促進を図ることができる可能性があると考えられる。

3　飼育水温による成熟の差異

二枚貝の生殖周期は基本的には遺伝的に制御されているが，水温などの環境要因によっても大きな影響を受ける。生殖活動はこれらの環境要因と生体の内部要因との相互作用によって発現する。すなわち，ある一定の生理状態に達した母貝は，前提となる環境条件が与えられれば生殖巣の成長と配偶子形成を開始する[29]。

人工種苗生産の母貝として使用するイタヤガイ1齢貝の産卵盛期は12月から翌年1月と比較的短く，自然条件下で養成した母貝を使用する場合には人工種苗生産回数が限られ，要望数量を生産できない可能性がある。そこで，できるだけ多数回の人工種苗生産を行うためには母貝の成熟促進により採卵可能な期間をできるだけ長くする必要がある。

2節において，母貝に餌料を人工的に投与することにより生殖巣の成長と発達が起こることを確認したことから，さらに水温の制御を行うことにより母貝の成熟促進の可能性を検討した。

佐竹・森脇[39]によれば8月に未熟期であった個体の生殖巣はその後質的に変化し，10月には濾胞期から成長期となったが，その時の海水温は21℃台であったと報告している。また，2節では水温が23℃から21℃へと低下した時期に成熟段階が進んでいたことから，本種の生殖原細胞が発達を開始する水温帯は21～23℃の間に存在し，その水温帯を通過しないと成熟が開始されないと考えられる。そこで，最高水温期以降に成長期の個体を，母貝が成熟期に達する17℃前後の水温で飼育し，成熟状況を観察した。

なお，2節の実験において，餌料を母貝の乾燥重量の1.2～2.9％投与したところ実験期間中の成長が認められなかったこと，海中垂下群の母貝は実験期間中明らかに成長が認められたことから，単一種の餌料投与より複数種の投与が適当であると考え，本試験では，餌料投与割合を母貝の軟体部乾燥重量の4％とし，餌料種類を *Tetraselmis tetrathele* と，*Pavlova lutheri* またはほぼ同様な細胞径をもつ *Isochrysis galbana* とし，混合投与した。

3.1　材料および方法

母貝は島根県松江市美保関町野井地先の水深7～8mで垂下育成された個体を1997年9月30日に試験場に保冷して運搬し，貝殻表面の付着物を除去した後，実験に供した。10月1日から11月18日までの49日間母貝10個体を水温16.7～17.9℃の恒温室内の黒色蓋付き100L円型ポリエチレン水槽に収容し，餌料である *Tetraselmis tetrathele* と，*Pavlova lutheri* または *Isochrysis galbana* を餌料濃度がそれぞれ 33.0×10^{-8}g・dry wt. /ml(500 cells/ml)，4.66×10^{-8}g・dry wt. /ml(2000 cells/ml)となるよう混合した後，定量ポンプを用いて30分毎に投与した。培養液を含んだ総投与量は、1日あたり総水量100の2％程度であった。植物プランクトンは，ProvasoliのES培養液を所定量添加して19～24℃の恒温室で5 Lの三角フラスコを用いて通気培養し，対数増殖期末期から定常期に入った細胞を給餌した。換水は砂濾過し，さらに目合い1μmの簡易カートリッジフィルター（東洋濾紙

製）で濾過した海水を飼育槽と同容量の水槽に入れ，恒温室に静置して飼育水温とほぼ同等な水温にした後，母貝を入れ替えることにより行なった。餌料の投与と換水は休日を除く毎日行った。なお，餌料プランクトンの投与量は乾燥重量で0.16g/日／個と計算され，母貝の軟体部乾燥重量を前節の実験結果から軟体部湿重量の17%と仮定すると本実験に供した母貝の平均軟体部乾重量は3.8gとなるので，1日母貝1個体あたりの餌料投与割合は母貝軟体部乾重量の約4%となった。

測定は実験開始前の10月1日に，実験に供した母貝と同一群で，供試貝の大きさとほぼ同様な大きさの貝を10個体選択し，殻長，全重量，軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量を測定すると同時に生殖巣の成熟段階の目視観察を行った。また，11月18日には実験終了後の恒温飼育した貝と野井地先に継続して垂下飼育していた同一群の貝10個体について，実験開始時と同様な測定と観察を行った。殻長をノギスを用いて0.1mm単位まで，全重量を電子天秤で0.1g単位まで測定した後，メスで殻から軟体部を切り離し，水分をキムタオルでよく除去した後生鮮状態で軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量を電子天秤で0.1g単位まで測定した。成熟度指数は，軟体部重量に対する生殖巣重量の割合で算出した。また，生殖巣の成熟段階は佐竹・森脇[39]に従い，肉眼で判定した。なお，野井地先の水温の代替指標として，島根県水産技術センター浅海グループが休日を除く毎日10時に測定している，西に約15km離れた松江市鹿島町恵曇の水深12mの水温を用いた。

3.2 結果

水温の変化をFig. I-3-1に示す。自然水温は，10月には21℃台であったが，下旬には20℃台に低下し，11月には19℃台で推移した。一方，恒温室の水温は16.7～17.9℃の間に保たれ，自然水温とは2.7～5.3℃の差があった。

母貝の殻長と重量，成熟度の測定結果をTable I-3-1に示す。10月1日の実験開始時の母貝の平均殻長は7.6cm，平均全重量は58.3g，平均軟体部重量は22.6g，平均貝柱重量は7.4g，平均生殖巣重量は2.3gであり，成熟度指数は10.0で，成熟段階はすべての個体が成長期であった。11月18日の実験終了時では，恒温飼育区の平均殻長は8.1cm，平均全重量は69.1g，平均軟体部重量は24.7gであり実験開始時よりやや大きかったが，平均貝柱重量は6.1gとやや小さかった。また，平均生殖巣重量は2.5g，平均成熟度指数は10.1であり，実験開始時とほとんど変わらなかったが，成熟段階は成熟期が5個体，一部放精放卵済みの個体が5個体と実験開始時に比べて進んでいた。なお，実験中に水槽内で3回の産卵，放精が観察された。

一方，海中垂下区の平均殻長は8.0cm，平均全重量は66.4g，平均軟体部重量は24.6g，平均貝柱重量は6.5gであり，恒温飼育区とほとんど差がなかった。また，平均生殖巣重量は2.8g，平均成熟度指数は12.1と，恒温飼育区よりやや大きかった。両群の生殖巣重量の平均値が等しいかどうかの検定を行ったところ，有意な差は認められなかった（t検定，$p > 0.01$）。成熟段階は成熟期が8個体，一部放精放卵済みの個体が2個体であった。

なお，検定（Fisherの正確確率検定）では有意な差があるとはいえなかったが，恒温飼育区において実験終了までに放卵，放精した個体の割合が50%と，海中垂下区で放卵，放精した個体の割合より多い傾向が見られた。実験期間中に斃死は確認されなかった。

3.3 考察

佐竹・森脇[39]によれば，養殖イタヤガイ0齢貝の産卵期は1月下旬～5月上旬にかけてであり，7，8月には成熟度指数は最も低下し，内部は完全な空腔である未熟期となるが，9～10月中旬には精母細胞や卵母細胞が存在する濾胞期となる。また，11月から12月には成熟度指数はやや低いが成熟期となることが報告されている。このように，本種は水温下降期に成熟に向かう。アメリカイタヤガイ*Argopecten irradians*の場合，生殖巣に体貯蔵物質が少しでも蓄積されていれば，水温20℃以上に上昇する5～6月に配偶子分化を開始する。すなわち，配偶子形成に関する最小閾値温度は20℃であり[42]，休止期の貝は20℃以上で給餌飼育すれば直ちに配偶子形成が始まるが，それ以下の温度では成熟しないとされている。イタヤガイについてもアメリカイタヤガイと同様な生殖巣発達の閾値が存在すると考えられる。すなわち佐竹・森脇[39]によれば8月に未熟期であった個体の生殖巣はその後質的に変化し，10月には濾胞期から成長期となったが，その時の海水温は21℃台であったと報告している。また，2節では水温が23℃から21℃へと低下した時期に成熟段階が進んでいたことから，本種の生殖原細胞が

発達を開始する水温帯は21～23℃の間に存在し，その水温帯を通過しないと成熟が開始されないと考えられる。

本実験では，この閾値を海中で経過し生殖巣が成長期となった母貝を用い，10月から水温約17℃で飼育を行ったところ，成熟に至り，さらに餌料種類を複数種とし投与量を母貝の乾燥軟体部重量の4%とすることで，人工飼育母貝が天然の垂下母貝と遜色のない成長および成熟を示した。マガキの場合も本試験結果と同様に、成熟促進のためには，1日貝1個体あたりの餌料の乾燥重量の割合が2%では不足するのではないかと考えられており，また，2種の餌料プランクトンを混合投与した場合のみ顕著な生殖細胞の容積増加が観察されたと報告している[43]。また，本試験では恒温飼育区において実験終了までに放卵，放精した個体の割合が50 %と，海中垂下区で放卵，放精した個体の割合より多い傾向が見られたことから，恒温飼育区の個体でやや成熟が進んでいる傾向があった。しかし，放卵，放精は水槽交換などのハンドリングによって引き起こされた可能性もあり，水温制御や餌料投与による明瞭な促進効果は見られなかった。

4 まとめ

イタヤガイの成熟促進による早期採卵を目的として，イタヤガイ母貝の成熟と餌料の質および量との関係を観察する際の基礎的な知見を得るため，植物プランクトン4種を与えた場合の母貝の濾水速度と消化率を測定した。

イタヤガイの濾水速度，消化率は，投与した餌料種類および濃度によって異なった。すなわち，餌料として*Chaetoceros*を投与した場合には，濾水速度は他種より速い傾向があるが，消化率は最も低く，餌料濃度の増加に伴い，顕著に減少した。*Pavlova*を投与した場合には，濾水速度は*Chaetoceros*に次いで速かった。また，消化率は最も高く，餌料濃度の増加による消化率の低下は緩やかであった。*Tetraselmis*を投与した場合には，濾水速度は*Pavlova*に次いで速く，消化率も*Chaetoceros*より高かった。餌料濃度の増加による消化率の低下は*Pavlova*と同様に緩やかであった。*Nannochloropsis*を投与した場合には，濾水速度は4種中最も遅く，消化率は*Tetraselmis*と*Pavlova*の中間の値であったが，少ない餌料濃度で消化率が低下する傾向があった。また，高い消化率が維持される餌料濃度の範囲での最大の同化速度は，*Pavlova*と*Chaetoceros*がほぼ同様な値であり，*Tetraselmis*はそれらの約2倍の値で最も速く，*Nannochloropsis*はそれらの約10分の1の値で，最も遅かった。

ただし，消化率の高低は，必ずしも貝の成長の良否と相関せず，それだけでは餌料の価値は判断できないとされている[32]ことから，同化速度がほぼ同様となる濃度で*Chaetoceros, Pavlova, Tetraselmis*の3種のプランクトンを実際に与えて飼育し，イタヤガイの成熟状況を観察した。

その結果，人為的に餌料を投与した各区における母貝の殻長，全重量は実験開始前後でほとんど変化が観察されなかった。また，実験終了時の軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量の平均値には3区の間で有意な差はなかった。しかし，目視観察による成熟段階は*Tetraselmis*区が*Pavlova*区および*Chaetoceros*区よりやや進んでいる傾向が見られた。また，飼育水温を制御することによるイタヤガイ母貝の成熟促進を検討したところ、成長期から17 ℃前後で飼育を行うことにより卵巣の質的な発達が起こり，さらに，投与する1日当たりの餌料量を母貝の軟体部乾燥重量の4%に増加し，餌料種類を複数種とすることにより実験室内における母貝の成長を天然の垂下個体とほぼ同様とすることができた。

以上のことから，テトラセルミスを含む複数種を1日当たり母貝の乾燥軟体部重量の4%投与し、母貝の成熟段階が成長期から水温17℃前後で飼育することで、海中垂下群とそん色のない成長、成熟を示すことが明らかになり、イタヤガイの成熟促進を行う前提となる人工飼育の条件が判明した。今後、水温や日照条件を検討することで実用的な母貝の成熟促進技術が開発できると考えられる。

Table I-1-1 Dry weight and weight of organic matter of algae.

Species name	Dry weight ($g/10^4$cells)	Ash free dry wt/dry wt ratio(%)	Weight of organic matter ($g/10^4$cells)
Pavlova lutheri	2.33×10^{-7}	86.3	2.01×10^{-7}
Chaetoceros gracilis	7.44×10^{-7}	64.2	4.77×10^{-7}
Tetraselmis tetrathele	6.59×10^{-6}	76.5	5.04×10^{-6}
Nannochloropsis oculata	5.00×10^{-8}	86.5	4.33×10^{-8}

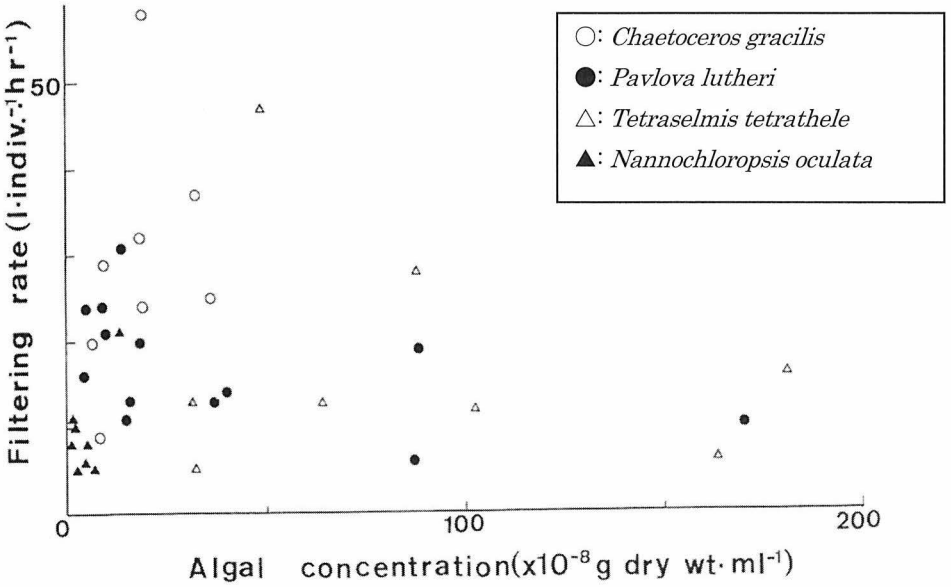


Fig. I-1-1 Relationship between algal concentration($\times10^{-8}$ g-dry weight/ml) and filtering rate($\times$l/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

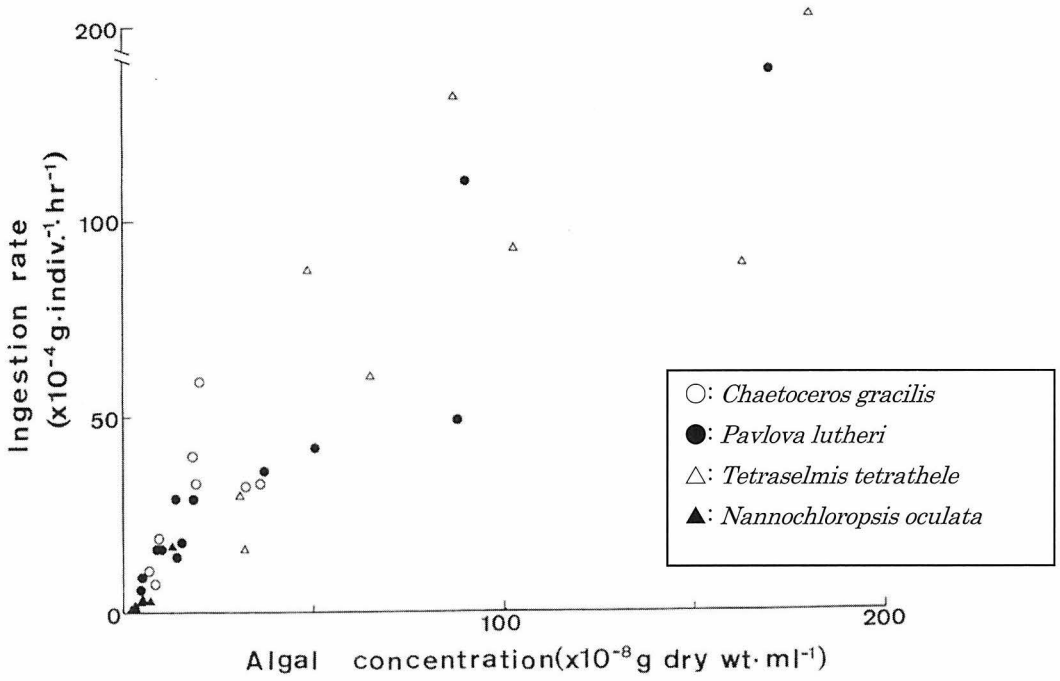


Fig. I-1-2 Relationship between algal concentration($\times 10^{-8}$ g-dry weight/ml) and ingestion rate($\times 10^{-4}$ g/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

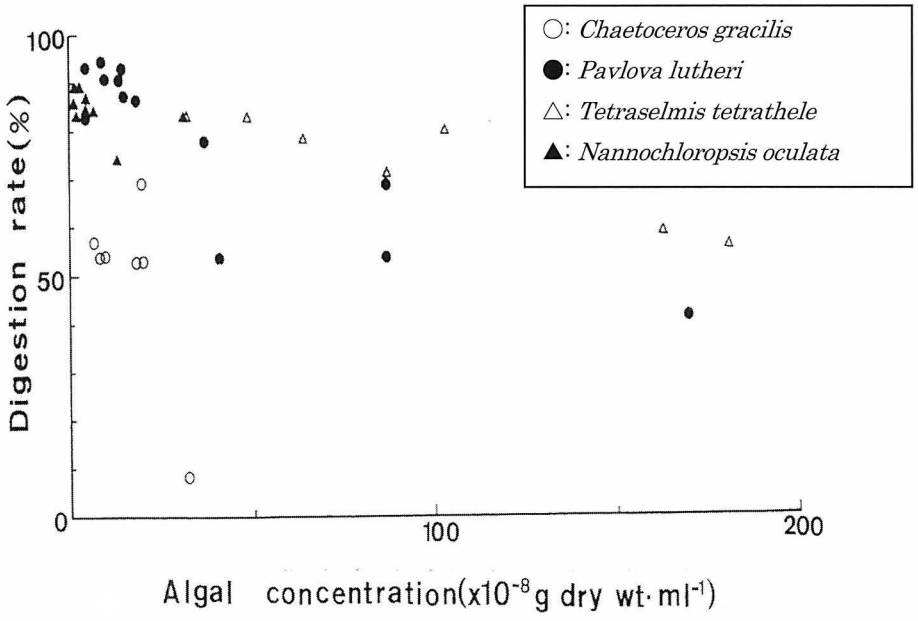


Fig. I-1-3 Relationship between algal concentration($\times 10^{-8}$ g-dry weight/ml) and digestion rate(%) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

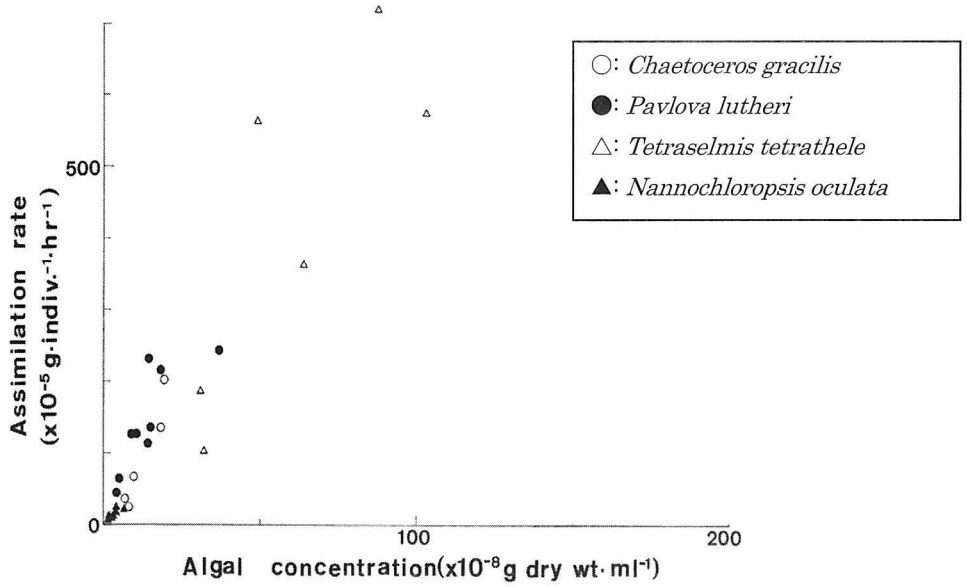


Fig. I-1-4 Relationship between algal concentration($\times 10^{-8}$ g-dry weight/ml) and assimilation rate($\times 10^{-5}$ g/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

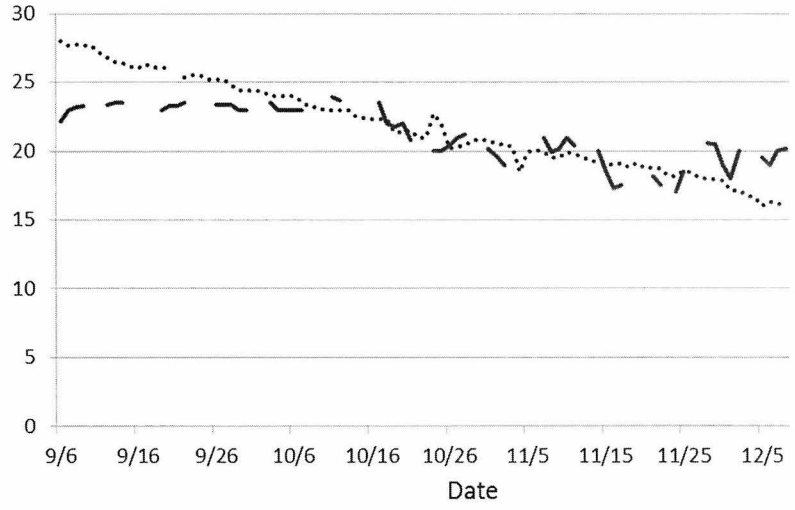


Fig. I-2-1 Changes in water temperature.
——— : water temperature in 100 L tank reared bay scallop *Pecten albicans* at the laboratory
--------- : water temperature on 10 m depth at the site of Sea Farming Division, Shimane Prefectural Fisheries Technology Center

Table I-2-1 Changes of shell length, total weight, tissue weight, adductor muscle weight, gonad weight, gonad condition and survival number of bay scallop *Pecten albicans* reared with 3 different species of microalgae.

Food	Date measured	Shell length (cm)	Total weight (g)	Tissue weight (g)	Adductor muscle weight (g)	Gonad weight (g)	Gonad condition	Survival number
Pavlova lutheri	9/9	8.0±0.42	68.7±8.67				Immature stage 100%	10
	10/20	8.2±0.46	70.8±8.39				Immature stage 88% Growth stage 12%	8
	12/9	8.3±0.46	68.3±9.65	21.3±4.89 (31.2%)	3.7±0.28 (17%)	3.0±1.40 (14%)	Mature stage 100%	6
Chaetoceros gracilis	9/9	8.2±0.29	72.3±8.66				Immature stage 100%	10
	10/20	8.4±0.39	76.3±9.36				Immature stage 60% Growth stage 40%	10
	12/9	8.3±0.33	75.4±10.44	22.3±4.33 (29.6%)	3.9±1.00 (17%)	3.25±0.87 (14%)	Mature stage 100%	7
Tetraselmis tetrathele	9/9	8.5±1.35	74.2±7.64				Immature stage 100%	10
	10/20	8.3±0.20	74.2±7.64				Immature stage 14% Growth stage 86%	7
	12/9	8.2±0.26	71.1±3.37	20.4±5.34 (28.7%)	3.4±1.37 (17%)	3.17±1.58 (15%)	Mature stage 80% Spawning stage 20%	5
Control (Hanging-culture)	9/16	8.2±0.42	69.8±6.10				Immature stage 100%	–
	12/28	9.2±0.59	92.2±17.32	33.9±8.35 (36.7%)	8.5±2.85 (25%)	5.1±2.46 (15%)	Mature stage 100%	–

Table I-2-2 Contents and composition of fatty acid in ovary of bay scallop *Pecten albicans* reared with 3 different species of microalgae.

	Ovary of shells rearing with *Pavlova lutheri*	Ovary of shells rearing with *Tetraselmis tetrathele*	Ovary of shells rearing with *Chaetoceros gracilis*	Ovary of shells by hanging culture
Fatty acid(mg/100g)	2000	2800	2700	2600
Composition of fatty acid(%)				
C12 : 0	0.4	0.2	0.3	0.3
C14 : 0	2.5	1.4	1.5	2.9
C14 : 1	0.1	0.1	0.1	0.1
C15 : 0	0.5	0.6	0.5	0.7
C16 : 0	16.4	17.8	20.5	17.9
C16 : 1	6.1	4.7	14	5
C17 : 0	1.2	1.3	1	1.3
C17 : 1	0.4	0.2	0.2	0.5
C18 : 0 iso	2.5	2.4	2.5	2.3
C18 : 0	6.6	6	6.4	5.2
C18 : 1 n-9	4	8.5	2.9	3.9
C18 : 1 n-7	5.6	3.6	4.4	3.4
C18 : 2 n-6	1.3	2.2	1.1	1.8
C18 : 3 n-3	1	3.3	0.5	2.2
C18 : 4 n-3	2.9	2.4	1.2	6.3
C20 : 0	0.6	0.6	0.4	0.6
C20 : 1 n-11	0.4	0.4	0.3	0.6
C20 : 1 n-9	1.1	1.7	0.7	1.1
C20 : 2 n-6	0.5	0.5	0.3	0.7
C20 : 3 n-6	0.4	0.4	0.3	0.4
C20 : 3 n-3		0.1		0.2
C20 : 4 n-6	2.5	3	3	1.6
C20 : 4 n-3	0.3	0.4	0.2	0.8
C20 : 5 n-3	14.7	14.5	15.9	12.5
C21 : 5 n-3	0.5	0.7	0.4	1
C22 : 5 n-3	0.3	0.4	0.2	0.8
C22 : 6 n-3	18.2	12.8	12.5	16.2
Others	9	9.8	8.7	9.7

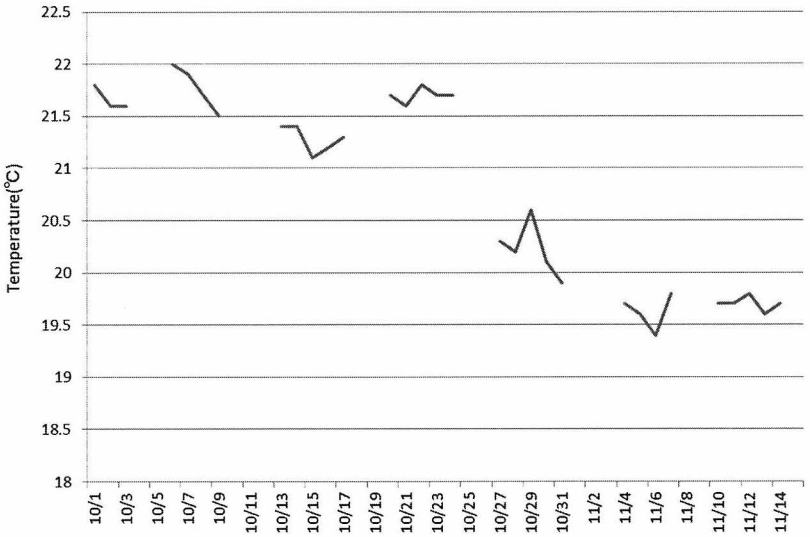


Fig. I-3-1 Changes in water temperature measured on 12 m depth at Etomo, Matsue.

Table I-3-1 Changes of shell length, total weight, tissue weight, adductor muscle weight, gonad weight, maturity index, and gonad condition of bay scallop *Pecten albicans* reared with two different temperatures.

Date sampled	Rearing temperature	Shell length (cm)	Total weight (g)	Tissue weight (g)	Adductor muscle weight (g)	Gonad weight (g)	Maturity index	Gonad condition
1997/10/1	Natural temp.	7.6±0.45	58.3±9.44	22.6±3.40	7.4±1.30	2.3±0.70	10.0±2.75	Growth stage 100%
1997/11/18	Constant temp.	8.1±0.37	69.1±8.77	24.7±5.14	6.1±1.51	2.5±1.08	10.1±2.51	Mature stage 50% Spawning stage 50%
1997/11/18	Natural temp.	8.0±0.50	66.4±12.38	24.6±5.60	6.51±2.20	2.8±0.98	12.1±3.70	Mature stage 80% Spawninig stage20%

第2章　イタヤガイの幼生飼育に関する研究

二枚貝養殖を行うためには，海中の浮遊幼生を人為的に付着させ種苗とする天然採苗技術や採卵から一貫して人為的に稚貝を生産する人工種苗生産技術により種苗を確保することが必須である。

イタヤガイの養殖は島根県で，1980年より天然採苗で得られた稚貝を用いて始まった[17]。しかし，天然採苗数は，1982年に546万個を記録した後急減した[11]。そこで，1989年からは島根県水産技術センター栽培漁業部で稚貝の人工種苗生産が行われた[44]が，人工種苗生産を事業化するに当たっては，生産を安定させるための技術開発が必要となった。

自然環境下ではイタヤガイ浮遊幼生の最高密度は10個体/m^3程度である[45]。天然採苗に至るまでの稚貝の生残や成長の制限要因は，餌料となる植物プランクトンの量や着底基質の特性，捕食者の量，水温や塩分などの自然環境要因の変動が考えられる[46]。しかし，人工種苗を生産するために人為的環境下で浮遊幼生が高密度飼育された場合には，飼育水の物理化学的な性質の変化や[47-49]，ウイルス・細菌感染などの自然環境下ではそれほど重要視されない要因が主な幼生の減耗要因となる[46,50-63]。その対策として飼育水の濾過処理や紫外線照射，オゾン処理，薬剤の散布などの物理化学的方法により病原性微生物（細菌，ウイルス）を含めたすべての微生物を対象とした無選択的な除去，あるいは微生物数の低減を実施しているのが現状である[64-68]。しかし，現状では微生物数のある程度の低減は可能であっても，完全に微生物を除去した無菌環境の創出は不可能であり，また一過的な微生物数の低減はその反動で時に幼生に悪影響を与える細菌の増殖を招くこともあり[69,70]，事実上，幼生に悪影響を与える微生物学的要因の完全な除去は不可能である。

最近，このような無選択的な微生物の除去に代わり，免疫学や生態学を意識した生物学的な手法の開発が1つの方向として脚光を浴びつつある。例えば，甲殻類のガザミ幼生飼育において，単菌種細菌の接種は安定した成果を得るのに有効であるとの報告がある[71,72]。この手法の有効性は細菌細胞自体が餌となり栄養状態を向上させる効果とともに，一般に飼育生物に悪影響を与えるとされる *Vibrio* に分類される細菌群の増加を抑制することにあるとされている[71,72]。この手法は生物学的制御，すなわち生物を用いた生物の制御を意味するバイオコントロールの1つと定義され，水産増養殖ではこの例のみが実用化に至っている。バイオコントロールは植物生産分野で考案された手法であり，天敵微生物利用による害虫防除，あるいは拮抗微生物，弱毒ウイルス利用による病害防除などの手法が実践されている[72]。

このバイオコントロールの概念に基づいて，健苗性すなわち生残および成長の良い幼生を得る手法を開発するために，以下の2点に着目して，幼生の人工飼育時に制御すべき主な事象を考えた。すなわち，(1) 幼生が抵抗力を獲得する条件：悪影響を与える要因に対して，幼生は抵抗力を高めることにより健苗性が高くなるが，この抵抗力上昇は環境中の生物学的な要因に幼生が感作されることも大きなウエイトを占めている。二枚貝類の幼生飼育環境は動物プランクトンである幼生と微生物である細菌で形成されているマイクロコズムと考えられることから，飼育水中の細菌相の動態は幼生の抵抗力の形成に重要な役割を持つと考えられる。(2) 幼生の飼育環境下において，悪影響を与える生物学的要因の抑制を行う。この主な生物学的要因として，飼育水中の細菌の動態が考えられる。例えば，無処理水中では滅菌処理水中と比較して数種の病原菌の消失が著しいという報告等がある[73,74]。これは滅菌処理水では細菌の絶対数が少なく，安定した細菌相が形成されていないため細菌相が変化しやすいのに対し，無処理水中では安定した細菌相が形成されており，飼育に悪影響を与える細菌群が急激には増殖し得ない状態が形成されているためと考えられている。

以上のことから，二枚貝の幼生飼育において幼生の生残および成長に最も大きな影響を与えているのは，飼育水中の細菌相の動態であると捉えバイオコントロールの対象は特定細菌種ではなく総体的な細菌相にあると考えた。

そこで本章では，仮説の妥当性を確認するため，まず飼育水の濾過，殺菌処理の違いによる細菌数および細菌のコロニー組成と幼生の生残，成長を観察し，飼育水の濾過，殺菌処理の違いによる細菌の数的，質的な変動が幼生に及ぼす影響を考察した。次に，幼生の生残，成長が良い飼育水の換水法を取った系と悪い換水法を取った系の水中の細菌数と細菌相の変動を観察し，それらの動態が幼生に及ぼす影

響について考察した。

1 イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響

二枚貝の幼生飼育時の減耗要因として飼育水中の病原菌が引き起こす疾病[50,51,75,76]，および飼育水中に多量に増殖した細菌による悪影響[64,70]が報告されている。とくに後者の場合，マガキ*Crassostrea gigas*で，飼育水の前処理法により，細菌の増殖が顕著に異なり，飼育水として用いられない場合があるとされている[70]。しかし，イタヤガイ科の幼生飼育では未だ検討されていない。

そこで，本節ではイタヤガイの幼生飼育に適した海水の処理法を検討するため，処理法の異なる海水で飼育したときの飼育水中における生菌数の変動を観察し，それが幼生に及ぼす影響について考察した。

1.1 材料および方法

1.1.1 幼生飼育

本試験で使用する幼生はイタヤガイ母貝を温度刺激し，卵および精子を放出させた後，孔径1μmのカートリッジ・フィルターで濾過した海水中で，受精および発生させることにより得た。受精の際には，自家受精を避けるようにした。第1回目の試験では，幼生をトロコフォアの段階で，あらかじめ以下に述べる処理海水を1槽ずつ満たした500L円型黒色ポリエチレン水槽中に2日後に収容した。第2回目の試験では，以下に述べる1μm簡易濾過海水を満たした水槽に収容して，3日間飼育した後，2つの試験区にほぼ等量ずつ分割した。収容密度は，第1回目の試験では0.8～1.2個体/ml，第2回目の試験では1.4および1.6個体/mlであった。

飼育水は第1回目の試験では，島根県水産技術センター浅海グループの二次濾過器（東京久栄，孔径40μm）を通過した海水を，(1) 精密濾過器（日本濾水機，P－81型，孔径0.4μm）で濾過した海水（以下0.4μm濾過区と略す），(2) 0.4μm濾過水をさらに紫外線流水殺菌機（千代田工販，フロンライザー，照射管2本）に通過させた海水（以下紫外線区と略す），(3) 孔径1μmの簡易型カートリッジ・フィルター（東洋濾紙）で濾過した海水（以下1μm濾過区と略す）を用いた。また，第2回目の試験では，1μm簡易濾過海水と3μmの簡易カートリッジ・フィルター（東洋濾紙）で濾過した海水（以下3μm濾過区と略す）を用いた。

飼育水は2日ごとに半量を交換した。また，毎日水槽底を観察し，斑状の幼生の沈積の有無とその程度を確認した。幼生の沈積は，サイフォンで取り除くとともに，多量に沈積した日は換水を行った。飼育水温は室温調節により，20℃前後に保ち，室内はブラインドで遮光した。餌料は*Pavlova lutheri*および*Isochrysis galbana*を1日1回，培養液とともに混合投与した。

飼育期間中，幼生の浮遊密度と殻長の測定を，2～4日に1回行った。浮遊密度は各水槽の通気点付近の飼育水を100ml採取し，その中に含まれる幼生数を計測した。殻長の測定は，幼生30個体について，接眼マイクロメーターを用いて行った。

なお，これらの試験は，1993年1月から2月にかけて行った。

1.1.2 細菌分離用培地の調整

飼育水中の細菌を分離，培養するため，培地としてZoBell-2216E培地，およびこの培地をTable II-1-1に示すように改変した培地（以下ZoBell改変培地と略す）を用い，両培地に常法により飼育水を希釈，塗布した後，20℃の恒温器中で10日間培養し，出現した生菌数を比較した。

1.1.3 飼育水中からの細菌分離，培養および計測

飼育水中からの細菌分離は，毎日，換水前に常法により行い，20℃の恒温器中で10日間培養した。生育したコロニーは，（1）白色または真珠色，（2）白色で小さく，虫ピンの頭大，（3）黄色，（4）透明，（5）その他，の5型に区分して計数した。

1.2 結果

1.2.1 細菌分離用培地の選択

ZoBell-2216E培地とZoBell改変培地で生菌数を比較した結果，ZoBell-2216E培地では平均19.3±4.51個のコロニーが，ZoBell改変培地では平均39.7±3.21個のコロニーが得られた。t検定の結果，5％の水準でZoBell改変培地で得られた生菌数が有意に多かったので，飼育水中の生菌数の調査には，ZoBell改変培地を用いた。

1.2.2 飼育槽中の生菌数の変動と幼生の浮遊密度および殻長の変化

Fig. II-1-1に示すように第1回目の試験では，貯

水終了3時間後，および貯水1日後の生菌数はいずれも1×10^3CFU/mlから1×10^4CFU/mlの間であり，紫外線区が最も少なく，1μm濾過区が最も多かった。貯水2日後にはすべての区で生菌数が10^4CFU/mlとなったが，やはり紫外線区が最も少なく，0.4μm濾過区と1μm濾過区はほぼ同じ値であった。幼生収容1日後には逆に紫外線区において生菌数が最も多くなり，1μm濾過区が最も少なくなった。4日後には紫外線区が，5日後には0.4μm濾過区が10^5CFU/mlとなり，10～11日後まで10^5CFU/mlで生菌数が推移した。

一方，1μm濾過区では，生菌数が6～9×10^4CFU/mlの間で推移した。Fig. II-1-2に示すように培地上のコロニーの性状は，1μm濾過区では，飼育期間を通じて白色で虫ピンの頭大のコロニーが60%以上を占めた。紫外線区では，幼生収容1日後以降，白色で虫ピンの頭大のコロニーと白色または真珠色のコロニーの割合がほぼ等しく，5日目以降に透明なコロニーがわずかに出現した。0.4μm濾過区は紫外線区とほぼ同様な傾向を示したが，5日目以降透明なコロニーが著しく増加した。なお，透明なコロニーをBTBテイポール培地で培養したが，発育しなかった。

水槽底に形成された幼生の斑状の沈積は，飼育水中の生菌数が，10^5CFU/mlとなり，透明なコロニーが出現，増加した日以降に多く観察される傾向があった。なお，紫外線区では収容6，7日後，0.4μm濾過区では6，7と9，10，11日後であり，1μm濾過区では観察されなかった。

Fig. II-1-3に示すように幼生の浮遊密度は，1μm濾過区と紫外線区が飼育開始から4日後にかけて減少したが，それ以降は6日後に増加した後，再び緩やかに減少した。なお，紫外線区で，飼育当初は幼生が水槽底に着底または直上に多く分布していたため，飼育当初の浮遊密度より後半の浮遊密度が高くなった。0.4μm濾過区では，飼育開始当初から水槽底近辺に分布している幼生が多かったため，浮遊密度は当初から低く，その傾向は6日後まではほとんど変化しなかったが，それ以降減少し，最終的にはほぼ全滅した。幼生の成長は3区ともほとんど変わらなかった。

Fig. II-1-4に示すように第2回目の試験では，幼生収容1日後に1μm濾過区の生菌数は10^5CFU/mlであったが，3μm濾過区は10^4CFU/mlで低かった。1μm濾過区では，3日目以降生菌数は減少し，10^4CFU/mlで推移した。一方，3μm濾過区では逆に増加し，4日目以降10^5CFU/mlで推移した。

培地上のコロニーの性状は，両区とも，飼育開始当初は白色または真珠色のコロニーが優占したが，次第に白色で虫ピンの頭大のコロニーの出現割合が増加した。また，黄色のコロニーは，両区で観察されたが，3 μm濾過区で，4日目以降出現割合の増加が著しかった。

水槽底への幼生の斑状の沈積は，3μm濾過区で生菌数が10^5CFU/ml以上となり，黄色のコロニーの出現割合が増加した，4日目以降に数回観察された。

幼生の浮遊密度は，1μm濾過区では，第1回目の試験と同様，飼育開始から6日後にかけていったん減少した後9日後にかけて増加し，以降は再び減少した。3μm濾過区では飼育開始当初から緩やかに減少し続けた。幼生の成長は，両区でほとんど変わらなかった。

1.3 考察

飼育水の濾過，殺菌の程度により，幼生収容後の生菌数およびコロニーの性状が異なることがわかった。すなわち，孔径0.4μmで濾過を行うか，その後紫外線照射し，人為的に細菌数を減少させた飼育水は，貯水当初は生菌数が少ないが，幼生収容後は急激に増加して，孔径1μmで濾過を行った飼育水中の生菌数より多い状態で安定し，出現したコロニーの性状も異なった。また，孔径3μmで濾過した飼育水中の生菌数は，幼生収容当初は孔径1μmで濾過した飼育水中の生菌数より少なかったが，それ以降1μm濾過では生菌数は徐々に減少した後に安定した。これに対し，3μm濾過では徐々に増加した後に安定し，やはりコロニーの性状が異なった。一方，幼生の沈積は生菌数が10^5CFU/mlとなり，かつ特徴的なコロニーが増加した時に多く観察される傾向があった。

Garlandら[70]は，孔径0.2μmのメンブラン・フィルターで濾過した飼育水中の生菌数が急増する原因として，濾過後の飼育水中に含まれる細菌相が単純になり，細菌間で競合が起こりにくくなるので細胞数を急激に増加させる種が出現しやすいためではないかとしている。今回観察された幼生の浮遊密度の低下や死亡の原因も，飼育水中の生菌数が急激に増加し，その状態で推移したために幼生が悪影響を受けたのではないかと思われる。また，幼生の浮遊密度の低下や死亡が観察された飼育水中には特定の性

状のコロニーの出現が急増する傾向があったが，増加したのは第1回目と第2回目の試験で全く異なる色素を産生するコロニーであったので，特定の病原性を持つ細菌が増加したとは考えられない。

また，従来の幼生飼育例[77]では，0.4μm濾過または濾過後紫外線照射した飼育水を用いた場合は，本試験と同様，孔径1μmや3μmで濾過した飼育水を用いた場合に比べて，幼生の生残率が悪い場合が多かった。しかし，1μmで濾過した飼育水による飼育と3μmで濾過した飼育水による飼育では今回の試験と異なってほとんど差異がみられなかった。したがって，前述した幼生飼育方法で，浅海グループの前面海域において取水された海水を用いる場合には，孔径1μmの簡易カートリッジ・フィルターで濾過した海水を用いれば，再現性の良い幼生飼育が可能であると考えられる。ただし，この方法が適用されるのは，浅海グループの取水と同程度の細菌性状の海水が得られ，かつ病原菌の混入がない場合に限られると考えられる。取水する海域や時期によっては，イタヤガイ幼生に悪影響を及ぼす細菌の混入の可能性があるため[75]，今回の方法が必ずしも適用できるとは考えられない。病原性細菌による被害の防止には，飼育水の紫外線照射，および無菌餌料の投与および環境中の細菌数の低減が有効とされるが[78]，これらの処理を行った場合に今回の実験で紫外線区で観察されたように，逆に生菌数が急増し，幼生に悪影響を与えることも考えられる。そこで，病原性細菌の混入を防止すると同時に生菌数を抑制するためには，濾過後，静菌化の措置をとる必要がある。飼育水へ抗生物質を添加して幼生が飼育されており[78]，イタヤガイ幼生飼育においても実験的には幼生の成長および生残に効果がみられたが[79]，耐性菌の出現や，作業員への影響が懸念されるため，最善の方法とは考えられない。したがって，飼育水中に含まれる細菌組成を人為的に制御できるような，海水の処理技術や幼生の飼育技術を開発する必要がある。また，これらの技術を開発する上で，飼育水中の生菌数の増加が幼生に与える影響，および細菌の組成や菌数の安定する機構に不明な点が多いので，これらの解明が必要であると考えられる。

2 飼育水中の細菌相の動態が幼生の生残および成長に与える影響

1節の試験結果で起こった幼生の浮遊密度の低下や斃死が観察された原因は，飼育水中の生菌数が急激に増加し，その状態で推移したために幼生が悪影響を受けたのではないかと考えられた。また，幼生の浮遊密度の低下や斃死が観察された飼育水中には特定の性状のコロニーの出現が急増する傾向があったが，急増したコロニーの特徴は試験回次により異なったことから，特定の細菌ではないと考えられた。しかしながら，二枚貝の幼生飼育において経時的に飼育水中の細菌相全体の動態と幼生の生残および成長との関連性を検討することは大変な労力を要するため，詳細な検討は行われておらず，微生物学的に良好な飼育環境は把握されていない。

そこで，本節では，飼育水中の細菌相全体の動態が二枚貝幼生の生残や成長に及ぼす影響を明らかにするため，イタヤガイ浮遊幼生の飼育において，常に幼生の成長や生残が低いとされている連続換水飼育と，成長や生残が比較的良い止水換水飼育[80]における飼育水中の細菌動態を，浮遊幼生の成長および生残状況と共に調べ，水中細菌相の変化が浮遊幼生の成長や生残に及ぼす影響を推定した。

2.1 材料および方法

2.1.1 幼生飼育

イタヤガイの母貝には，採卵前まで島根県松江市島根町野井地先で海中垂下していた個体を用いた。試験に供した幼生は，種苗生産マニュアル[81]に記載した操作により得た。

幼生の飼育に供した餌料は，ハプト藻類*Isochrysis galbana, Pavlova lutheri*および珪藻類*Chaetoceros gracilis*の計3種である。培養に用いた保存株は，単種培養種であるが無菌ではなかった。培養はES改変培地[81]を所定量添加した滅菌海水を5L容の三角フラスコに入れ，これに保存株を接種し，エアポンプにより0.2μmメンブラン・フィルターで濾過した空気を餌料が活発に攪拌される程度に通気した。また，培養温度は室温調節により*Isochrysis galbana, Pavlova lutheri*は20℃，*Chaetoceros gracilis*は24～25℃に保持した。なお，餌料としては対数増殖期から定常初期までの状態のものを用いた。

本試験では，流水系と止水系の2つの換水方法により幼生飼育を行い，この2条件における全生菌数および細菌相を構成する属組成の変化を調査し，それがイタヤガイ幼生の生残および成長に与える影響を検討した。飼育水は水産技術センター浅海グルー

プ庁舎より 100m 沖合の底層から取水した海水を，砂濾過により 60μm 以上の粒子を除去した後，繊維濾過で 20μm 以上の粒子を除去し，さらに孔径 1μm のアドバンテク社製ポリプロピレンフィルターで濾過した海水を使用した。Fig. Ⅱ-2-1 に示すように流水系は貯水・加温槽と飼育槽とを設け，チタンヒーターで飼育水と同水温に加温した貯水・加温槽内の海水を飼育水全量が 1 日に 1 回交換する程度の速度で飼育槽に流入させた。

止水系は貯水槽に 1 日貯水し，室温で加温することにより飼育水と同水温とした海水を 2 ～ 3 日毎に 1 度，半量をサイフォンで排水した後，貯水槽の海水を水中ポンプで注水することにより換水した。両系とも幼生が排水と共に排出されないように，流水系では排水孔に幼生より小さい目合いのネットを貼り付けた容器を装着し，止水系では同様の容器でサイフォンの排水を受け，幼生を回収した。飼育水槽は 500L 容ポリエチレン製円型水槽を用い，幼生収容密度は約 1.2 個体 /ml，飼育水温は室温調節により全飼育期間を通して 20 ± 1.6℃に保持した。なお止水系では，飼育 8 日目に目合い 100μm のネットで幼生を選別するとともに水槽交換および全換水を行った。餌料種は 7 日目まで *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*，7 日以降 *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* および *Chaetoceros gracilis* を等量ずつ混合して用いた。給餌および換水は種苗生産マニュアル[81]を参考に行った。投餌量は幼生の成長に合わせて 1 日 1 回，餌料培養液とともに飼育水中の餌料プランクトンの細胞密度が 10^3 ～ 10^4cells/ml となるよう培養液とともに投与した。なお、培養液の量は飼育水槽容量の 0.1％程度であった。なお，流水系では飼育水の流出による餌料の損失を補うため，貯水槽にも同量の餌料を添加した。止水系は，換水を 2 日または 3 日毎に 1 度，半量行い，また毎日水槽底を観察し，肉眼で観察できる幼生の沈積の有無を確認した。幼生の斑状の沈積を認めた場合は沈積した幼生をサイフォンで取り除いた。

なお，幼生の浮遊密度は，飼育水槽の通気部付近の水を 100ml 採水し，その中に含まれる幼生数を計測することにより推定した。また，殻長は，浮遊密度を計測した後の幼生のうち 30 個体を無作為に測定した。浮遊密度の測定は 1 日 1 回，殻長の測定は 2 ～ 3 日毎に 1 回行い，細菌相調査は使用する直前の飼育水，飼育水槽へ投入する直前の孵化水，止水系における使用直前の換水用水，および，流水系における飼育開始から 3 日間の換水用水について行った。さらに，飼育開始から 13 日目までの両系の飼育水を対象として 1 日 1 回細菌相調査を行った。

2.1.2　細菌相調査

海洋細菌の分離および計測には ZoBell-2216E 平板培地を用いた[82]。調査対象とした幼生を含む飼育水および孵化水は滅菌済み 40μm メッシュ付きピペットを用い，幼生を含まない換水用水および餌料培養液は滅菌済みピペットを用いて滅菌済みの試験管に採取し，これを試料原液とした。この試料原液を滅菌海水 9ml に試料 1ml を順次分注し希釈を行う，10 倍希釈法により適当な濃度に希釈した。

全生菌数の測定は各段階の希釈試料 0.1ml を 1 段階につき 3 枚の ZoBell-2216E 平板培地に塗抹して，20℃で 7 日間培養し，具現化したコロニー数を計測し，その平均値を算出し CFU/ml (Colony Forming Unit /ml) として求めた[82]。

また，コロニー組成は，コロニー数が約 20 ～ 200 個出現した各希釈段階の平板培地のコロニーを，形状と色調別に分類・計測し，異なるコロニーごとの百分率を算出してコロニー組成比（%）として求めた。

2.1.3　海洋細菌の単離，培養，保存および属組成の測定

海洋細菌の単離は ZoBell-2216E 平板培地上に具現化したコロニーを釣菌することにより行った。得られた各菌株の培養および保存は ZoBell-2216E 高層培地を用い，継代培養は約 2 ヶ月に 1 度行った。属組成は平板上に具現化した全てのコロニーのうちコロニー組成を反映させた 50 菌株を釣菌し，その各菌株を絵面，清水の方法[82]を一部改変し，Fig. II-2-2 に示した 1 次鑑別同定図式に基づき属決定を行い，属ごとの百分率を算出して属組成比（%）として求めた。

同定試験は 1 次鑑別同定図式に従い，グラム染色試験，運動性試験，Oxidation-Fermenntation(O-F) 試験，塩類要求性試験，DNA 分解性試験，発光性試験，オキシダーゼ試験および寒天分解性試験の計 8 項目を行った[82,83]。各試験に用いた菌体は保存菌株の一部を ZoBell-2216E 斜面培地に移植し，20℃，2 ～ 7 日間培養することにより得た対数増殖期から定常期に至る状態の新鮮培養菌体を用いた。各試験における操作は，沿岸環境調査マニュアル[82]に記載され

た方法に従った。なお，鞭毛の有無および性状の判定は，運動性試験時に行った。

2.1.4 多様度指数の算出

測定した属組成から，下記に示した各項目を算出し，式 (1)，(2) に従い多様度指数の１つである Shannon index を求めた[84]。

$$I = \ln \frac{N!}{n1!n2!\cdots\cdots ns!} \quad , N = \sum_{i=1}^{S} ni \quad \cdots\cdots\cdots (1)$$

$$H' = \lim_{N\to\infty} \frac{I}{N} \simeq -\Sigma pi \ln pi \quad , ni = piN \quad \cdots\cdots\cdots (2)$$

ここで　I ：情報エントロピー

N　：属分類した総菌株数

S　：分類した属数

ni　：i 属に分類された菌株数

H'　：Shannon index

2.2 結果

2.2.1 幼生飼育

Fig. II-2-3 に浮遊幼生の密度と殻長の推移を示す。浮遊幼生の密度は，止水系では水槽交換および幼生の選別を行った飼育開始後 8 日目までほとんど変化がなく約 1.0 ～ 1.2 個体 /ml の高い値で推移したのに対し，流水系では飼育初期から緩やかな減少が見られ，飼育開始後 4 日目以降は約 0.6 個体 /ml の低い値で推移した。

また，流水系と比較して止水系では，飼育期間を通して常に幼生の成長が早く殻長も大きかった。止水系の幼生は，飼育開始後 7 日目には殻頂期となり，13 日目には約 50％が変態期に達し，平均殻長は 218 ± 24.9μm であったのに対し，流水系では 9 日目にはほとんどの個体が D 型期であり，13 日目でも殻頂期と D 型期の幼生が混在し，平均殻長は 148 ± 30.5μm であった。t 検定の結果，5％の水準で有意差があり止水系の幼生の殻長が大きかった。

2.2.2 細菌相の動態

Table II-2-1 に各海水・飼育水中の全細菌数および細菌組成を示す。飼育に用いた各海水の細菌学的な初期条件に関して，全生菌数は流水系に使用した使用直前の換水用水のみ 10^2CFU/ml であり，その他の海水は全て 10^4CFU/ml であった。また，各海水中の細菌組成は，使用直前の飼育水では *Moraxella* が，投入する直前の孵化水では *Pseudomonas* および *Vibrio* が優占し，止水系に使用した使用直前の換水用水では *Moraxella* が優占するものとなった。流水系に使用した換水用水では，使用直前（1 月 19 日）は *Moraxella* が優占したのに対し，2 日目（1 月 20 日）には *Vibrio* が，3 日目（1 月 21 日）には *Vibrio* および *Alteromonas* が優占する属組成となった。

次に，Fig. II-2-4 に飼育期間中における飼育水中の細菌数の経時変化を示す。飼育開始後の細菌相の動態であるが，図に示すように飼育水中の全生菌数は止水系および流水系とも幼生投入直前には 1.2 × 10^4CFU/ml であり，止水系では飼育開始後 11 日目に，流水系では 12 日目にそれぞれ 10^5CFU/ml に達し，その後は両系とも 10^4 ～ 10^5CFU/ml で変動しており，ほぼ類似した変動傾向を示した。

一方，Fig. II-2-5 に示すように各系の細菌組成は，飼育結果に明確な差が見られた飼育開始後 5 日目までの間において，明らかに異なる変動パターンを示した。また，全飼育期間を通して，流水系では，止水系と比較して各属の占有率が大きく変動した。すなわち，流水系では飼育開始直後から 5 日目までの各属の比率は 1 日ごとに大きく変動した。また，飼育開始 5 日目以降では，止水系は *Vibrio*，*Pseudomonas*，*Moraxella*，*Cytophaga*，*Flavobacterium* の比率が一定となる安定性の高い状態で推移したのに対し，流水系では飼育日数の経過とともに属分類の不可能な菌株の増加とともに *Moraxella* が優占する多様性のない，単純な菌相に収束する様相を示した。

さらに，各系列の多様度指数を算出し，その変化から各系の細菌相の変動を検討した結果，Fig. II-2-6 に示すように止水系の多様度指数の変動幅は飼育期間を通して小さく，属組成の安定性が高かったのに対し，流水系の多様度指数の変動幅は飼育期間を通して大きく，属組成の安定性が低かった。

2.3 考察

二枚貝幼生の飼育不良の原因として，水中細菌の量的・質的変化を指摘する報告が多い。これらは，飼育水中の全生菌数の変化を重視した報告[53-56]と，特定の細菌相の変化に注目した報告に分けられる。後者では *Vibrio* の影響を指摘した報告が圧倒的に多く[57-60]，次いで *Aeromonas*[61,62]，*Pseudomonas* の影響が報告されている[63]。

しかし，これらの属は通常の飼育水中に存在する細菌相の構成属であり，健康状態が良好な幼生は常

に *Vibrio* や *Pseudomonas* を含めた多種の微生物を濾過摂食し，消化管内や組織にもこれらの細菌が存在していることが確認されている[50]。従って，病原菌に属する細菌の存在が必ずしも感染を引き起こす原因にならないことは明らかである。一方，無処理海水中では，滅菌処理した海水中と比べ病原菌数の減少が短期間に生ずるという報告[73]，また病原性を持つ特定の細菌が増加していない飼育環境においても幼生の生残に差が生じるという報告もある[69]。これらの報告を総合すると，病原菌の消長に水中細菌相全体の変化が大きな役割を果たしている，すなわち，飼育水中における個々の細菌の消長ではなく，細菌相全体の動きが幼生の生残や成長に重大な影響を及ぼすものと推察される。

本研究においても，換水方法の違いにより，飼育開始後の飼育水中の全生菌数の変動には差異がみられなかったものの，細菌相を構成する属組成の変動は大きく異なった。すなわち，幼生の生残および成長が不良であった流水系では，飼育初期に各属の占有率が大きく変動しており，細菌相を構成する属組成の安定性が幼生の生残および成長に大きな影響を与える要因の一つであることが示唆された。

なお，流水系の幼生の生残および成長が不良であった原因には，換水の流入による物理的ストレスが関係している可能性もある。しかしながら，流水系では毎分あたり 0.3 ～ 0.4L の緩やかな連続換水であったのに対し，止水系では換水にあたって一時的にせよ毎分あたり約 10L の速度で急速な換水を行っており，換水による物理的ストレスは幼生に影響を与える要因であるとは考えられない。

両系の飼育水中細菌の属組成を詳しく観察すると，流水系では飼育中期から後期にかけて属分類の不可能な菌株の増加とともに，*Moraxella* のみが優占する単純な菌相に収束したのに対し，幼生の生残および成長が良好であった止水系では複数の属の比率がほぼ一定となる安定性の高い属組成が維持された。しかし，*Moraxella* は両系ともに存在していたことから，この属が幼生に直接の悪影響を与えているとは考えられない。止水系では複数の属からなる安定な細菌相が形成されていたことから，特定細菌群の影響を排除する緩衝的機能が働き，その結果，良好な幼生の生残および成長につながったものと推察される。

なお，止水系では飼育開始後 8 日目に，飼育水槽および飼育水の交換と幼生の選別を行ったが，その前後の総生菌数および細菌相はほとんど変化しなかった。この原因は，交換に用いた海水は，1 日貯水したものであったので，飼育水槽内に安定した細菌相がほぼ形成されていたこと，および収容後の幼生密度の低下が観察されなかったことから，活力低下や死亡した幼生体内で特定の細菌群が増殖しなかったことによると考えられる。

一方，細菌を幼生の餌料として捉えると，細菌自体を構成する脂肪酸に二枚貝幼生にとっての必須脂肪酸は含まれていない[76]が，細菌は幼生の成長に必要なビタミン類や，酵素などを含んでいるため，餌料とした微細藻類の補足的な栄養源となりうると考えられている[76]。したがって，安定した水中細菌相の効果は，幼生にとって細菌学的に良好な環境状態を整えることと同時に，有効な餌料を供給することにあると考えられる。

近年，幼生にとって有益な単細菌種を投入することにより，良好な飼育成果を得る手法が報告されている[85,86]。これらの報告では、細菌は幼生の餌料として有効であると報告されており、幼生に悪影響を与える細菌群に対する緩衝的機能については言及されていないことから，一概に特定細菌種が優占する細菌相を構築することが，必ずしも良好な飼育結果をもたらすとは限らず，水中の細菌組成を多様化し，安定性の高い状態に保つことが，二枚貝幼生を飼育する際の最も重要な要因であると考えられる。

3 *Nannochloropsis* sp. の飼育水への添加が幼生の成長や生残に及ぼす影響

2 節で述べたように，流水式飼育は幼生の浮遊密度の減少が著しく，成長も悪かった。この一因は，流水式飼育では飼育水中の細菌相の変動が著しいことにあると考えられ，佐藤ら[87]はこの変動を緩和するため，魚介類の種苗生産でいわゆる「水作り」のために用いられている真正眼点藻類の *Nannochloropsis* sp. に注目し，その培養液の上清を飼育水に添加すると細菌制御効果が発現し，幼生の成長，生残が改善することを報告した。しかし，この方法は *Nannochloropsis* sp. の 10 万 cells/ml 相当の培養液の濾液を作成して毎日添加する必要があり，飼育現場では煩雑で実際的ではない。佐藤ら[87]は *Nannochloropsis* sp. の 10 万 cells/ml を細胞ごとイワガキ幼生飼育水に添加したところ，幼生の浮遊密度が減少したことを報告し，原因として添加

した*Nannochloropsis* sp. の細胞が過剰であり，幼生の摂餌を妨げたためと推定している。また，*Nannochloropsis* sp. の培養液の添加濃度は，事前の予備実験により明確に細菌相に差異があると判断された濃度としているが，培養液上清の添加による細菌制御効果は，*Nannochloropsis* sp. の細胞の細胞外分泌物によるいわゆるアレロパシーによる部分が大きいと考えられ，*Nannochloropsis* sp. の細胞を低密度で飼育水に添加し，それらの細胞が分泌物を持続的に分泌することで上清の添加と同様な効果が得られる可能性も考えられる。そこで，*Nannochloropsis* sp. の細胞を幼生の摂餌に障害が生じない範囲で培養液ごと飼育水に添加し，イタヤガイ幼生の生残や成長の改善を図る目的で試験を行った。

3.1 材料および方法

試験は，1997年12月4～15日までと1998年1月8～20日までの2回おこなった。飼育には，Fig. II-2-1と同様な流水式飼育装置（500L円形水槽使用）を用いた。飼育水は，島根県水産技術センター浅海グループ庁舎より100m沖合の底層から取水した海水を，砂濾過により60μm以上の粒子を除去した後，繊維濾過で20μm以上の粒子を除去し，さらに1μmのアドバンテク社製ポリプロピレンフィルターで濾過した海水を用いた。流水量は毎分約400mlとし，24時間流水とした。

イタヤガイ母貝には，採卵前まで島根県松江市島根町野井地先で海中垂下していた個体を用いた。試験に供した幼生は，種苗生産マニュアル[81]に記載した操作により得た。

幼生の飼育に供した餌料はハプト藻類の*Isochrysis galbana*と珪藻類の*Chaetoceros gracilis*を用いた。この2種の保存株は，単種培養であるが無菌ではなかった。培養はES改変培地を所定量添加した滅菌海水を5L容の三角フラスコに入れ，これに保存株を接種し，エアポンプにより0.2μmメンブラン・フィルターで濾過した空気を餌料が活発に攪拌される程度に通気し，培養温度は室温調節により，*Isochrysis galbana*は20℃，*Chaetoceros gracilis*は24～25℃に保持した。なお，餌料としては対数増殖期から定常初期までの状態のものを用い，標準量を飼育槽と貯水槽へ1日1回投入した。また，添加した*Nannochloropsis* sp. の培養法は，*Isochrysis galbana*と同様な方法で行った。*Nannochloropsis* sp. は，イタヤガイ幼生で予備的に試験したところ，10,000cells/mlを超えて添加すると幼生の浮遊密度が大きく減少したので，5,000cells/ml添加する区（以下5,000細胞添加区と略す）と10,000cells/ml添加する区（以下10,000細胞添加区と略す），および無添加のコントロール区（以下コントロール区と略す）の3区を設けた。水槽への添加方法は餌料と同様とした。但し，*Nannochloropsis* sp. を添加する区は，水槽に幼生を収容する前日にあらかじめ*Nannochloropsis* sp. を所定量添加した。また毎日水槽底を観察し，肉眼で観察できる幼生の沈積の有無を確認した。幼生の斑状の沈積を認めた場合は沈積した幼生をサイフォンで取り除いた。

なお，幼生の浮遊密度は，飼育水槽の通気部付近の水を100ml採水し，その中に含まれる幼生数を計数することにより推定した。また，殻長は，浮遊密度を計数した後の幼生のうち30個体を無作為に測定した。浮遊密度の測定は1日1回，殻長の測定は2～4日に1回行った。飼育水温は17℃から20℃の間であった。

3.2 結果

3.2.1 1回目試験

Fig. II-3-1に幼生の浮遊密度の変化を示した。トロコフォアは1.9～1.7個体/mlの密度で収容した。幼生の浮遊密度は，コントロール区で飼育開始2日目に1.1個体/mlに急減し，6日目以降は飼育開始時のほぼ1/2の0.7～0.9個体/mlの密度で推移した。一方*Nannochloropsis*添加区では両区とも飼育開始以降緩やかに密度が低下し，5,000細胞添加区では12日目に1.0個体/mlと最低になったが，13日目に1.5個体/mlまで回復した。10,000細胞添加区でもやはり12日目に1.2個体/mlと最低となったが，13日目に1.5個体/mlまで回復した。

Fig. II-3-2に幼生の平均殻長の推移を示した。幼生の平均殻長は，飼育開始4日目には120.7～120.8μmで3槽ともほぼ同様であったが，7日目には5,000細胞添加区で146.9μm，10,000細胞添加区で143.8μm，コントロール区で141.4μmと，*Nannochloropsis*添加区の方が大きくなった。この傾向は10日目以降も続き，13日目には，5,000細胞添加区で208μm，10,000細胞添加区で190.3μm，コントロール区で170.8μmと，*Nannochloropsis*添加区の成長がコントロール区を上回り，平均値が等

しいかどうか検定を行ったところ，5,000 細胞添加区とコントロール区，および 10,000 細胞添加区とコントロール区ではそれぞれ有意な差が認められた（t 検定、$p<0.01$）。また，*Nannochloropsis* 添加区の間でも平均殻長は 5,000 細胞添加区が 10,000 細胞添加区を上回り，平均値に有意な差が認められた（t 検定、$p<0.01$）。

3.2.2 2回目試験

Fig. II-3-1 に幼生の浮遊密度の変化を示した。トロコフォアは 1.0 ～ 1.6 個体 /ml の密度で収容した。幼生の浮遊密度は，コントロール区で飼育開始 8 日目に 0.4 個体 /ml と最小密度を記録したが，それ以外は 0.6 ～ 1.1 個体 /ml の密度で推移し，1 回目試験のような大幅な減少は見られなかった。一方 *Nannochloropsis* 添加区では両区とも飼育開始以降緩やかに密度が低下し，5,000 細胞添加区および 10,000 細胞添加区では 1.0 ～ 1.6 個体 /ml で推移した。

Fig. II-3-2 に幼生の平均殻長の推移を示した。幼生の平均殻長は，飼育開始 2 日目には 119.5 ～ 121.2μm で 3 槽ともほぼ同様であったが，4 日目以降 *Nannochloropsis* 添加区の方がコントロール区より殻長が大きくなった。12 日目には 5,000 細胞添加区で平均殻長 221.5μm，10,000 細胞添加区で 213μm，コントロール区で 187.8μm と，*Nannochloropsis* 添加区の方が大きくなり，平均値が等しいかどうか検定を行ったところ，5,000 細胞添加区とコントロール区，および 10,000 細胞添加区とコントロール区ではそれぞれ有意な差が認められた（t 検定、$p<0.01$）が，5,000 細胞添加区と 10,000 細胞添加区では有意な差が認められなかった。

3.3 考察

この試験では，直接細菌数や細菌相の変動を観察せず，イタヤガイ幼生の生残と成長の差違により *Nannochloropsis* sp. 細胞の添加効果を推定した。*Nannochloropsis* sp. 細胞を 5,000 細胞添加した区と 10,000 細胞添加した区は，添加しなかったコントロール区と比較して幼生の成長が早く，浮遊状態が良いと考えられたことから，飼育水中の細菌相の制御は培養液を細胞ごと添加する方法でも可能と推定された。また，5,000 細胞添加区と 10,000 細胞添加区と比較すると，浮遊密度は 10,000 細胞添加区でやや変動が少なかったが，平均殻長は，5,000 細胞添加区が 10,000 細胞添加区を上回ったので，*Nannochloropsis* sp. 細胞を 5,000 ～ 10,000cells/ml の範囲で添加することで，幼生の成長，生残の改善が期待できると考えられる。

4 まとめ

飼育水の濾過，殺菌の程度により，幼生収容後の生菌数およびコロニーの性状が異なることがわかった。すなわち，孔径 0.4μm で濾過を行うか，その後紫外線照射し，人為的に細菌数を減少させた飼育水は，貯水当初は生菌数が少ないが，幼生収容後は急激に増加して，孔径 1μm で濾過を行った飼育水中の生菌数より多い状態で安定し，出現したコロニーの性状も異なった。また，孔径 3μm で濾過した飼育水中の生菌数は，幼生収容当初は孔径 1μm で濾過した飼育水中の生菌数より少なかったが，それ以降 1μm 濾過では生菌数は徐々に減少した後に安定した。それに対し，3μm 濾過では徐々に増加した後に安定し，やはりコロニーの性状が異なった。一方，幼生の沈積は生菌数が 10^5CFU/ml となり，かつ特徴的なコロニーが増加した時に多く観察される傾向があった。したがって，孔径 1μm の簡易カートリッジ・フィルターで濾過した海水を用いることで，再現性の高い幼生飼育が可能である。

さらに，細菌の属まで査定し，飼育水中の細菌相の変動を観察した。その結果，幼生の生残および成長が不良であった系では，飼育初期に各属の占有率が大きく変動しており，細菌相を構成する属組成の安定性が幼生の生残および成長に大きな影響を与える要因の一つであることが示唆された。すなわち，幼生の生残および成長が不良であった系では飼育中期から後期にかけて属分類の不可能な菌株の増加とともに，*Moraxella* のみが優占する単純な菌相に収束したのに対し，幼生の生残および成長が良好であった系では複数の属からなる安定な細菌相が形成されていたことから，特定細菌群の影響を排除する緩衝的機能が働き，その結果良好な幼生の生残および成長につながったものと推察される。したがって，水中の細菌組成を多様化し，安定的な状態に保つことが，二枚貝幼生を飼育する際の最も重要な要因である。

飼育水中の細菌相を安定させる目的で，佐藤ら[87]はイワガキ幼生を用いて，*Nannochloropsis* sp. の培養液を飼育水へ添加することにより良好な細菌相

を保つことができると報告した。この結果を基に人工種苗生産の現場で実行可能な手法として，*Nannochloropsis* sp. の細胞を直接飼育水へ添加してイタヤガイ幼生の成長や生残を観察したところ，*Nannochloropsis* sp. の培養液を細胞ごと 5,000 ～ 10,000cells/ml の範囲で添加することでも同様な効果が期待できることが分かった。この手法は現在，イワガキの人工種苗生産にマニュアル化[99]して取り入れられており種苗の安定供給に貢献している。

Table II-1-1 Composition of modified ZoBell's 2216 E medium for the isolation of bacteria from sea water used in the mass culture of bay scallop *Pecten albicans.*

Peptone	5 g
Yeast extract	1 g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1 g
Agar	15 g
Sea water	800 ml
Fresh water	200 ml
pH	7.6–7.8

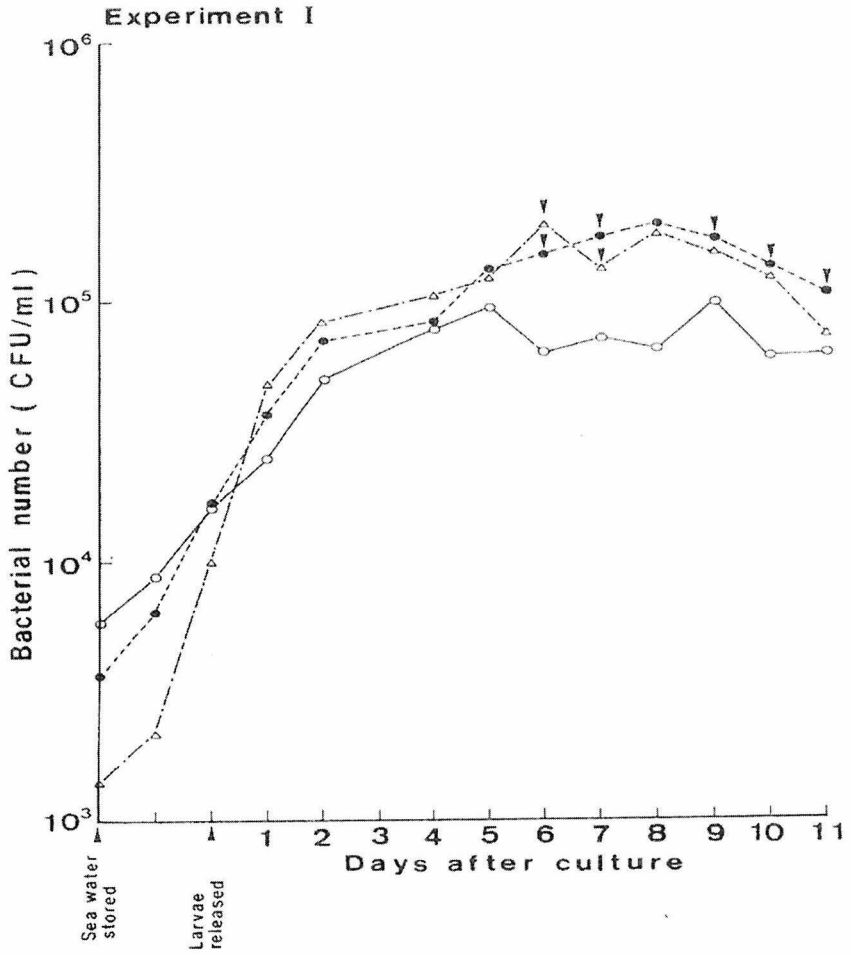


Fig. II-1-1 Changes in total bacterial counts in seawater of experiment I, used in the mass culture of bay scallop *Pecten albicans*. Open circles, 1 µm cartridge-filtered seawater; open triangles, 0.4 µm ceramic-filtered U. V. irradiated seawater; solid circles, 0.4 µm ceramic-filtered seawater; solid arrows, appearance of brown spots or patches at the bottom of the larval tank.

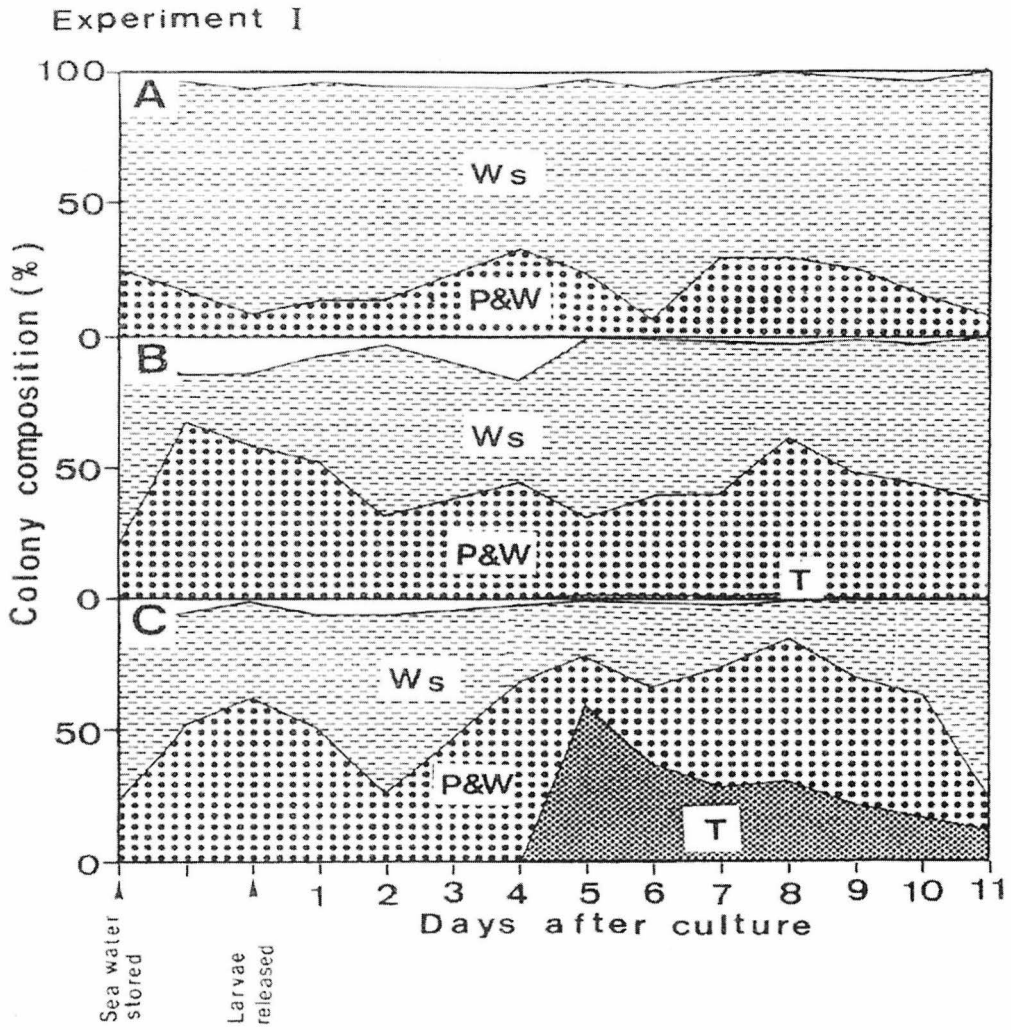


Fig. II-1-2 Changes in colony compositions of bacteria isolated from; A, 1 µm cartridge-filtered; B, 0.4 µm ceramic-filterd U. V. irradiated; C, 0.4 µm ceramic-filtered seawaters of experiment I, used in the mass culture of bay scallop *Pecten albicans.*
Ws, pin-head like white colonies; P & W, pale and white colonies
T, transparent colonies.

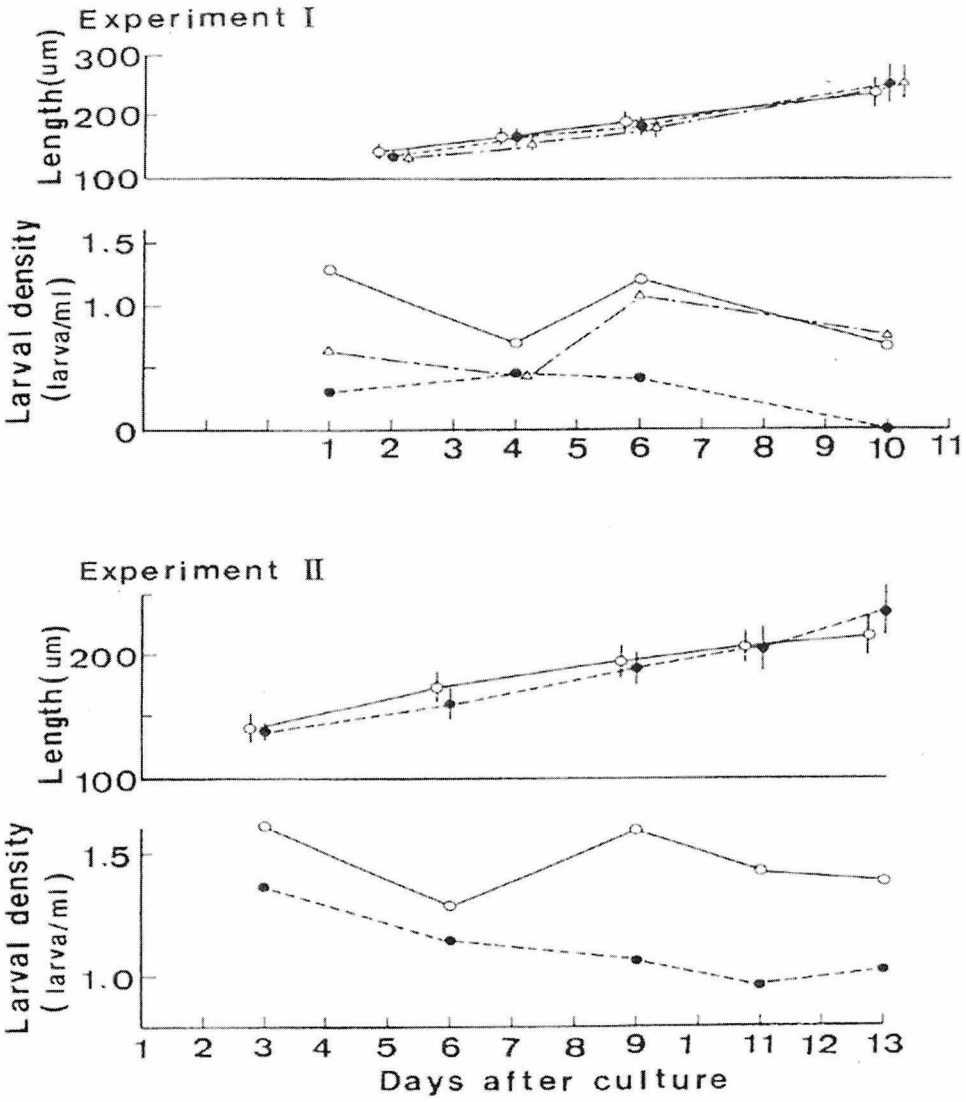


Fig. II-1-3 Growth and larval density in tanks of experiments I and II. Experiment I; open circles, 1 µm cartridge-filtered seawater; open triangles, 0.4 µm ceramic-filtered U. V. irradiated seawater; solid circles, 0.4 µm ceramic-filtered seawater. Experiment II; open circles, 1 µm cartridge-filtered seawater; solid circles, 3 µm cartridge-filtered seawater. Circles and vertical bars for growth represent mean value and S. D., respectively.

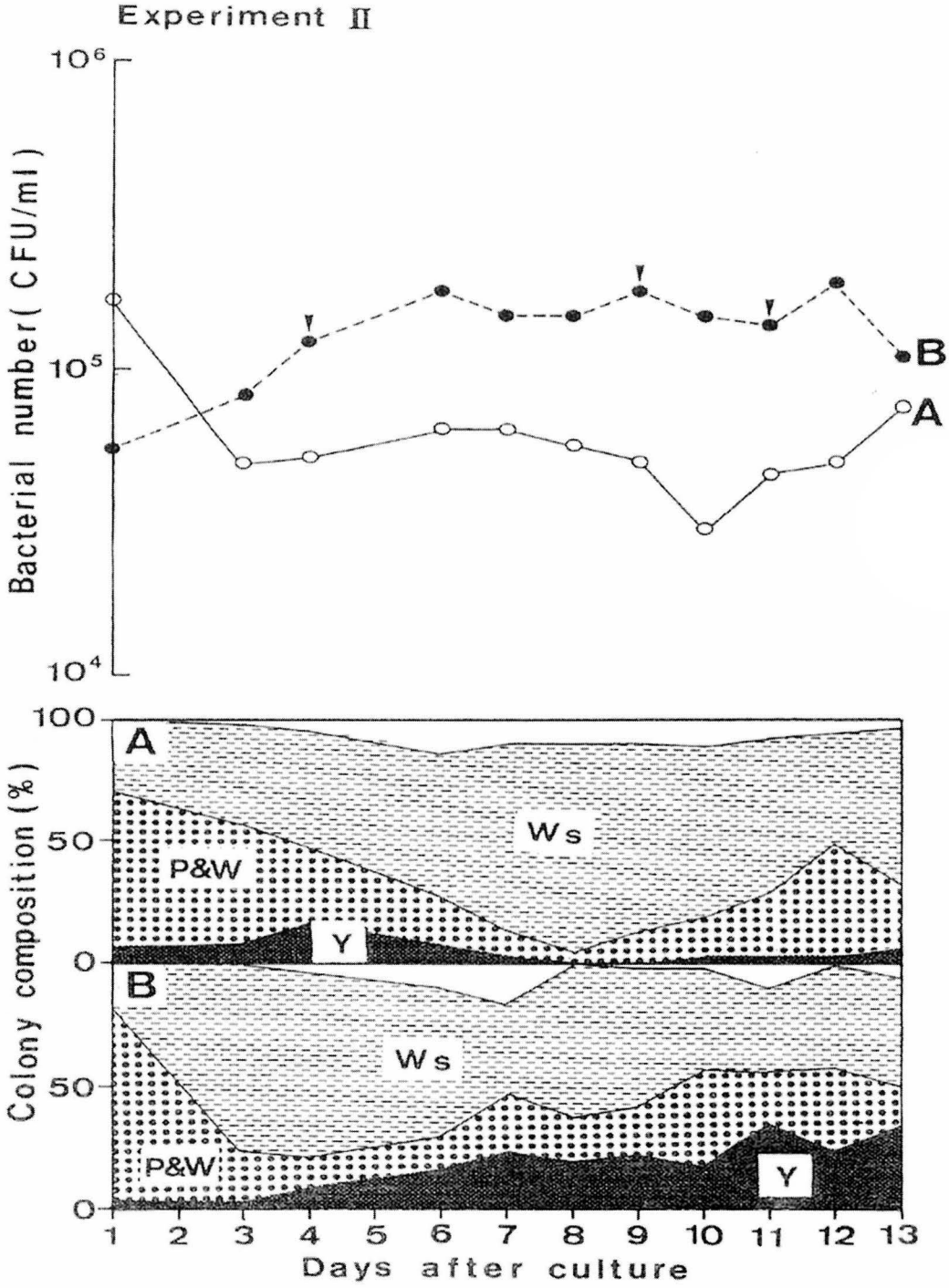


Fig. II-1-4 Changes in total counts and colony compositions of bacteria isolated from; A, 1 µm cartridge-filtered seawater, and B, 3 µm cartridge-filterd seawater of experiment II, used in the mass culture of bay scallop *Pecten albicans*. Ws, pin-head like white colonies; P & W, pale and white colonies; Y, yellow colonies; solid arrows, appearance of brown spots or patches at the bottom of the larval tank.

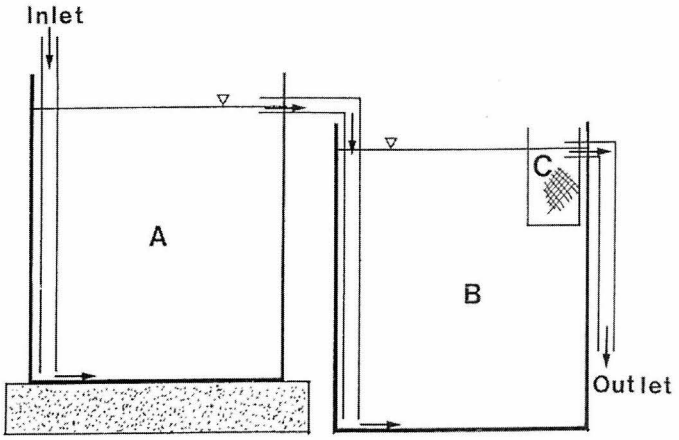


Fig. II-2-1 Schematic diagram of flowing water system.
A: storage and heating tank
B: culture tank
C: sieve
→: flow of sea water

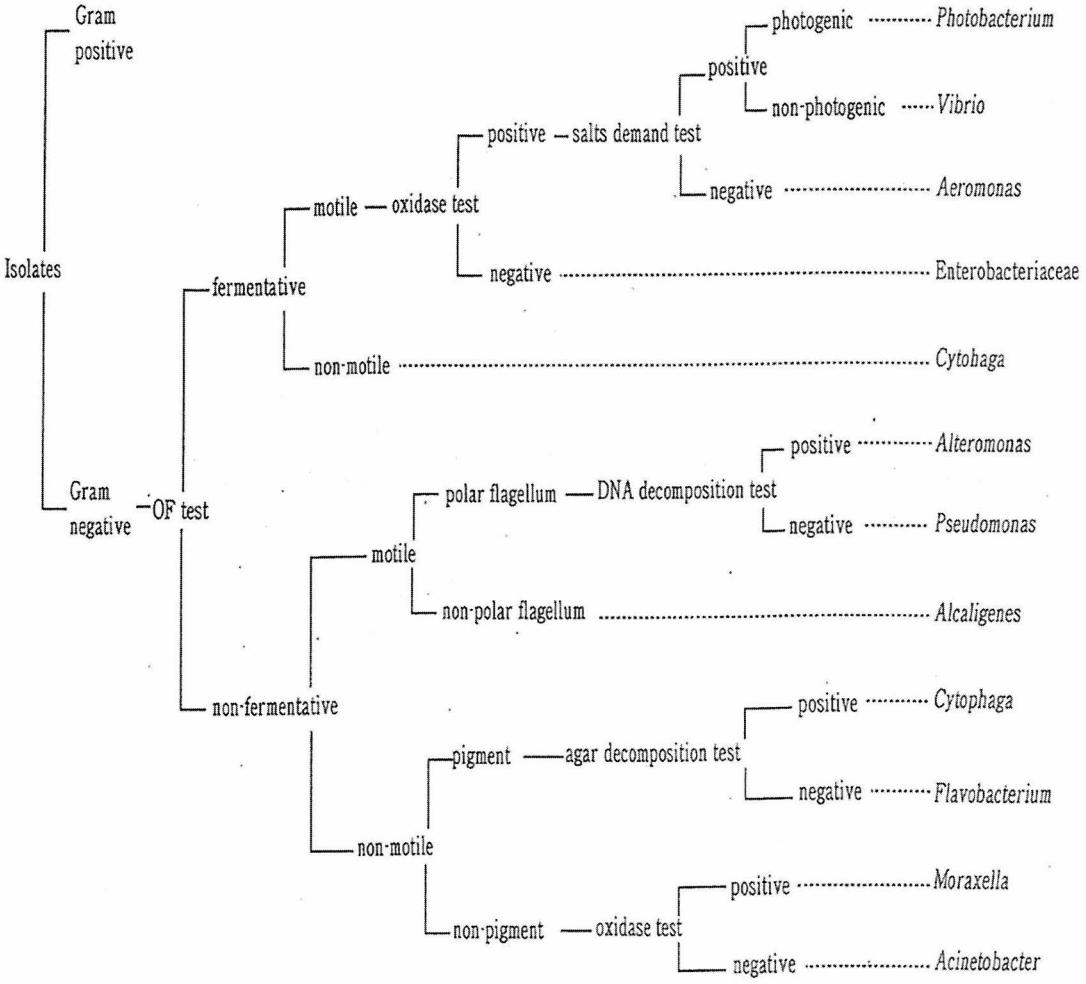


Fig. II-2-2 Scheme used for the identification of bacteria from culture water based on the Ezura and Shimizu methods[82].

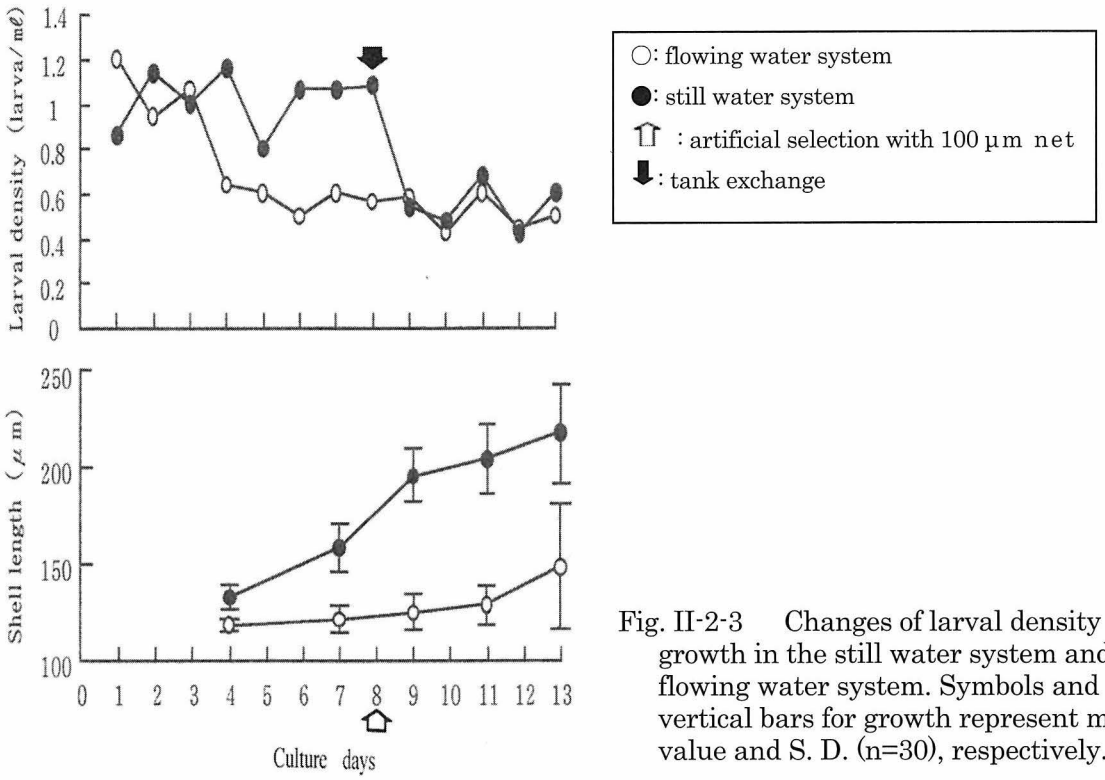


Fig. II-2-3 Changes of larval density and growth in the still water system and the flowing water system. Symbols and vertical bars for growth represent mean value and S. D. (n=30), respectively.

Table II-2-1 Total bacterial counts and genus compositions in sea water obtained from four different sources of initial conditions used in the mass culture of bay scallop *Pecten albicans*. Stored water, seawater just before the culture; hatching water, hatching seawater just before the culture; exchanging water, exchanging seawater on still water system; flowing water, flowing seawater on flowing water system.

genus (%)	Stored water 【Jan.18】	Haching water 【Jan.18】	Exchanging water 【Jan.20】	Flowing water 【Jan.19】	【Jan.20】	【Jan.21】
Vibrio	4	28	12	18	42	50
Pseudomonas	2	42	—	4	18	6
Moraxella	90	6	62	40	18	4
Cytophaga	2	14	6	16	10	4
Flavobacterium	—	—	—	—	—	—
Alcaligenes	—	—	2	—	—	—
Alteromonas	—	—	—	—	—	24
Aeromonas	—	6	—	—	2	—
Enterobacteriaceae	—	—	—	4	—	—
Stapylococcus	—	—	—	—	—	—
Not detected	2	4	18	18	10	12
Total bacterial count (CFU/ml)	1.2×10^4	5.0×10^4	8.2×10^4	3.5×10^2	8.5×10^4	2.6×10^4

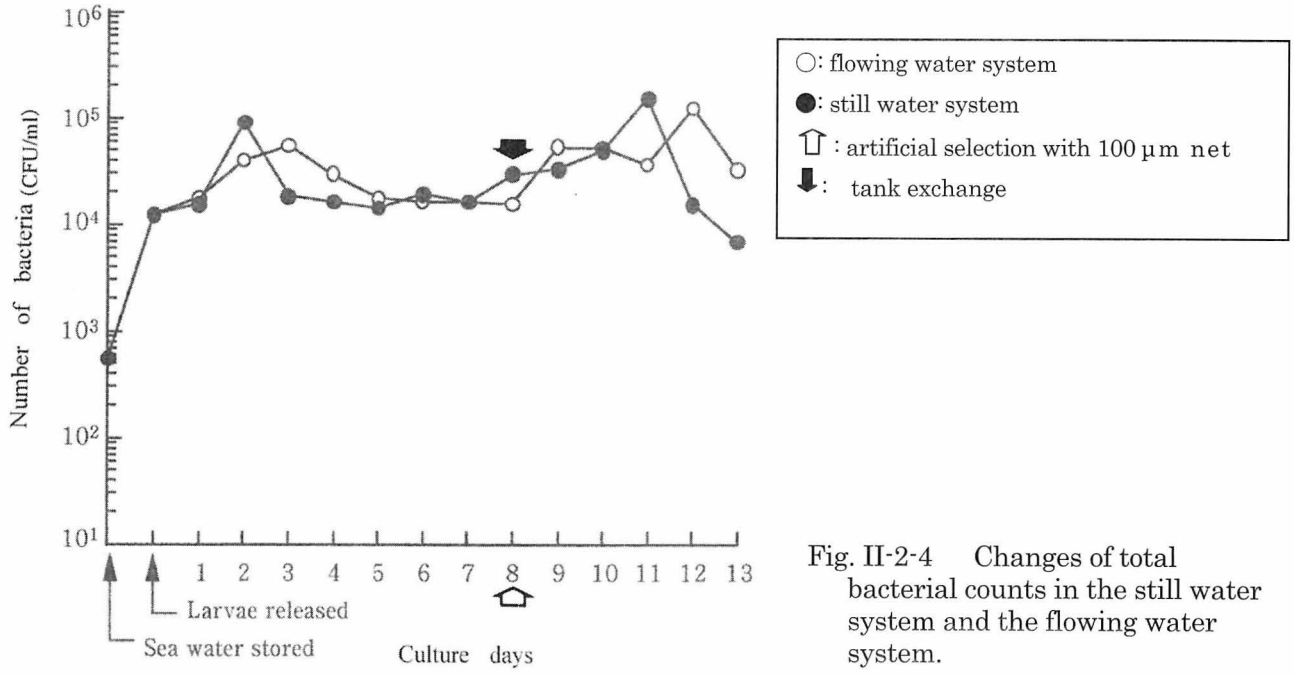


Fig. II-2-4 Changes of total bacterial counts in the still water system and the flowing water system.

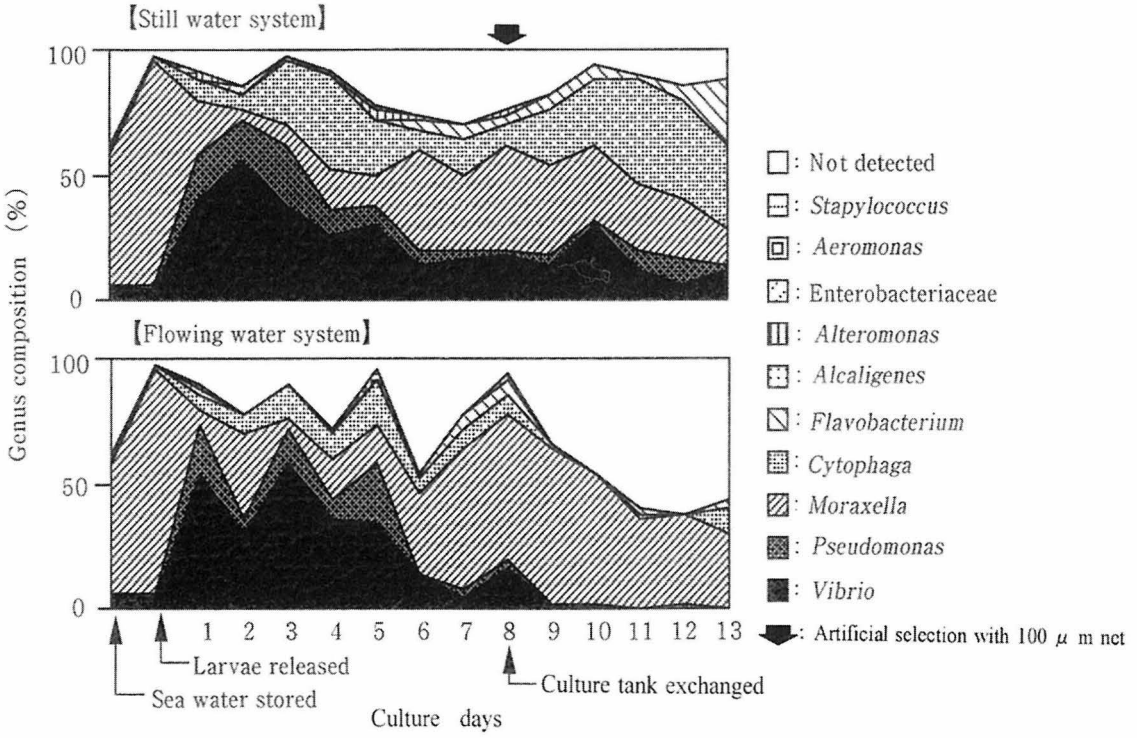


Fig. II-2-5 Changes of genus compositions in the still water system and the flowing water system.

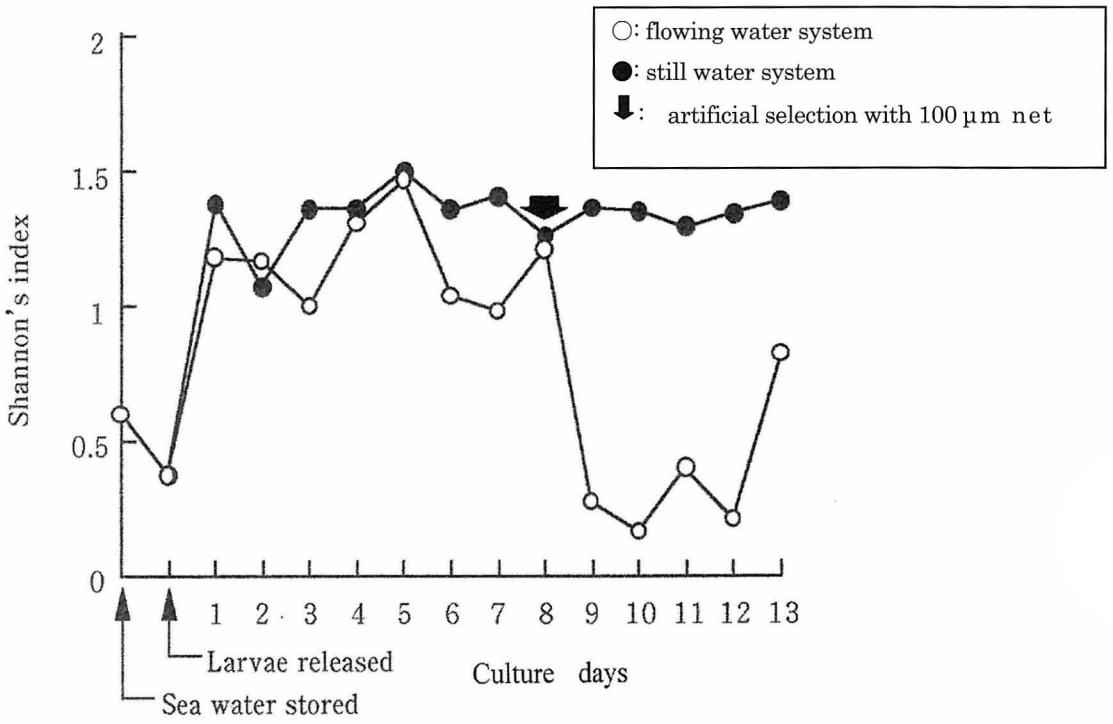


Fig. II-2-6 Changes of Shannon's index calculated from genus compositions in the still water system and the flowing water system.

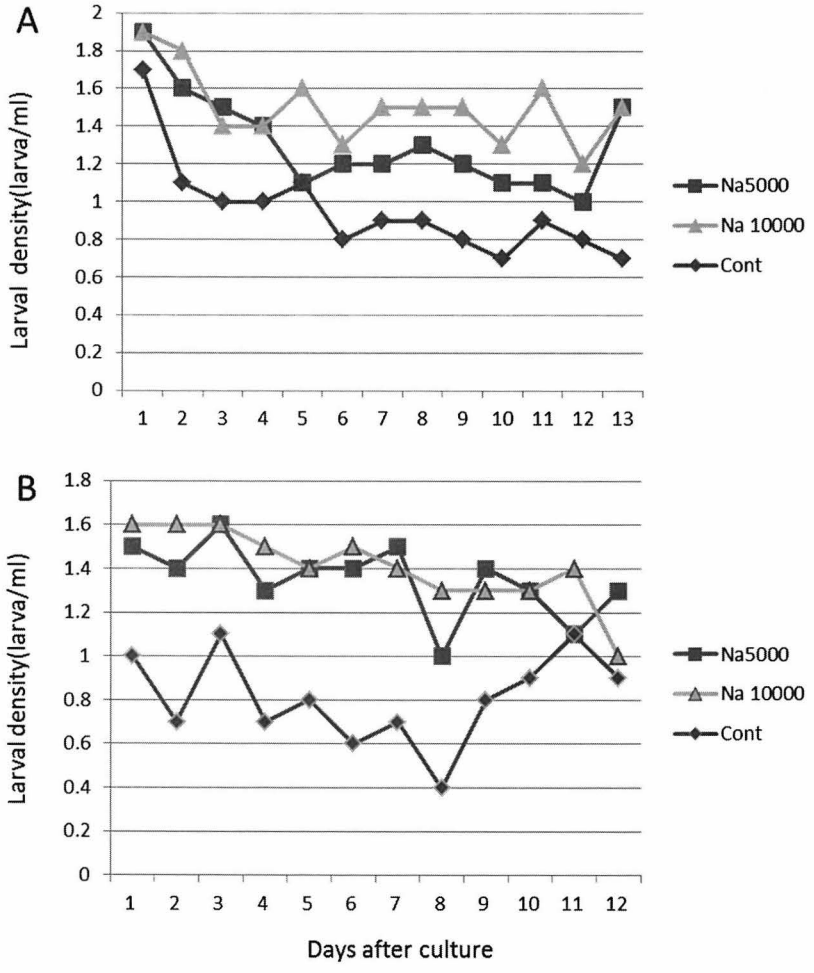


Fig. II-3-1 Changes of larval density of bay scallop *Pecten albicans* in tanks of three different systems using the *Nannochloropsis* sp. culture at 1st. (A) and 2nd.(B) experiments. Na5000: cultivation with 5000 cells/ml of *Nannochloropsis* sp. culture, Na10000: cultivation with 10000 cells/ml of *Nannochloropsis* sp. culture, Cont: non-treatment cultivation.

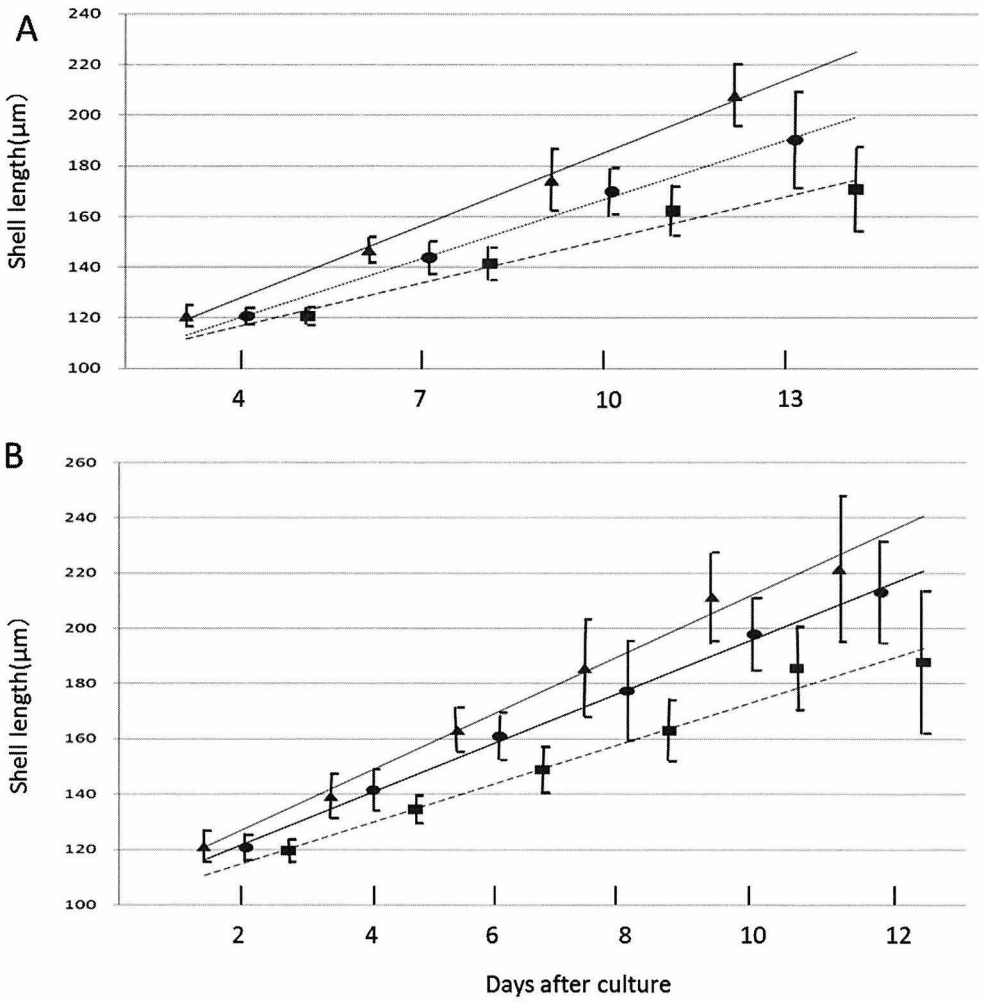


Fig. II-3-2 Changes of larval shell length of bay scallop *Pecten albicans* in tanks of three different systems using the *Nannochloropsis* sp. culture at 1st. (A) and 2nd.(B) experiments. Vertical bars indicate ±1 S. D.. ▲: cultivation with 5000 cells/ml of *Nannochloropsis* sp. culture, ●: cultivation with 10000 cells/ml of *Nannochloropsis* sp. culture, ■: non-treatment cultivation.

第3章 イタヤガイ稚貝の天然採苗に関する研究

二枚貝のうち，既に養殖量が多いマガキ[88]，ホタテガイ[89]などでは，稚貝の付着基質を海中垂下し付着した稚貝を養殖種苗として用いる天然採苗技術が確立されており，同一地域内で繰り返し再生産を行う完結型省エネルギー養殖が行われている。天然採苗は人工種苗生産に比べコストが低く種苗を確保するための優れた手法であり，今後，二枚貝養殖に積極的に導入を図るべき技術であるが，いまだ確立された種は少ない。新たな種において天然採苗を実用化するためには，対象水域における母貝集団の成熟，産卵から浮遊幼生の動態，稚貝の付着時期と量を調査して母貝集団の効果を推定する必要がある。

本章では，母貝集団を造成することで天然採苗の増加を図ることを目的に，検討を行った結果について述べる。

1 隠岐島浦郷湾におけるイタヤガイ母貝集団の造成が天然採苗に及ぼす効果

1980年代後半に急減した天然採苗量を増加させる手段として，隠岐島島前地域浦郷湾内で人為的に母貝集団を造成し，母貝の成熟・産卵状況，浮遊幼生の出現状況，稚貝の付着状況などを調査した結果を解析し，母貝集団が島前地域の天然採苗に及ぼす効果について検討した結果を述べる。なお本検討は，浦郷湾における母貝集団の造成が同湾周辺の天然採苗量の増加に有効であることを示唆する最初のものである。

1.1 材料および方法

1.1.1 母貝の養成

島根県のイタヤガイ養殖では，天然採苗後10ヶ月から1年半の間で殻長8cm以上に成長した個体から順に出荷され，さらに1年持ち越すことはない[17]。よって養殖個数は多いが，抱卵数が少なく産卵前に出荷されるものが多いことから有効な母貝集団となってはいない[90]。出荷される養殖1齢貝をさらに次の産卵期まで飼育すると抱卵数は2,700万粒を越え，天然に生息する同じサイズの貝の3個体から4個体分の抱卵数となることから，有効な母貝集団となることが示唆されていた[90]。しかし，1齢貝を次の産卵期まで養殖することは夏期に斃死が多く経済性が悪いことから行われていなかった。本実験ではこの1齢貝を用いて母貝集団の造成を行った。

母貝としては，1986年4月から6月にかけて天然採苗し，1987年6月まで垂下養成した1齢貝約15,000個体を用いた。この母貝を飼育密度等の影響を検討するためFig. III-1に示すように，5段丸籠（直径50cm，高さ100cm，一段の高さ20cm，目合い約3cm）の一段にそれぞれ2，5，7，10，15個ずつ収容して（計39個体），水深5，15，25，35mの位置に各1籠（計4籠）取り付けたものを1連とし，浦郷湾南東部の珍崎付近に設置した延べ縄施設に計96連垂下した。

1.1.2 水温測定

母貝群を垂下した延べ縄施設の水深5mおよび35mにデジタル水温記録計（新日本気象海洋（株）製METOCEAN DTR MODEL MOX-DTR1）を垂下設置し，1987年6月29日より1988年4月20日まで1時間毎に水温を測定した。

1.1.3 1齢貝の生残率と成熟過程の観察

Table III-1に示すように1987年8月から1988年3月まで毎月1回，延べ縄施設で垂下養成している1齢貝のうち1連（4籠）を取り上げ，各水深における1齢貝の生残率および成熟度を調査した。成熟度指数は下記の式により求めた。

成熟度指数 ＝（生殖巣重量／軟体部重量）× 100

1.1.4 浮遊幼生および付着稚貝の採取・計測方法

浮遊幼生の採集は，Fig. III-1に示すSt. 1からSt. 4の4定点においてTable III-1に示すように1987年11月26日から1988年3月15日まで，浮遊幼生の出現予測に応じて各月1から5回，Norpac net（口径45cm，側長180cm，目合い95μm）を用いて海底直上2mから表面までの垂直曳きを行い採集した。得られた浮遊幼生は，直ちに10%中性ホルマリン海水で固定し，採集後1ヶ月以内に判別した。なお，計測は明らかにイタヤガイ幼生と判別できる殻頂期および変態期の幼生を対象とした。

付着稚貝の採集は，市販のタマネギ袋（38 × 86cm，目合い2mm）に定置網の古網を袋がふくらむ程度に収容して採苗袋とし，1本のロープに5m

間隔で計9袋取り付けて1連の採苗器とした。この採苗器を1齢貝が垂下されている延べ縄施設に1987年11月より1988年2月まで毎月1連設置し，設置後1ヶ月で引き上げ付着稚貝数を計測する方法と11月から2月まで各月毎に遅延的に1本ずつ設置し，すべてを6月に引き上げ付着した総稚貝数を計測する二つの方法で付着稚貝数を計測した。

1.2 結果

1.2.1 水温の変動

Fig. III-2に5mおよび35mにおける水温の変化を示した。測定期間中において6月下旬から9月下旬までは成層期であった。水深5mの水温は，7月下旬に入ってから25℃を越え，最高水温は8月31日の26.1 ℃であり，27℃を越えることはなかった。その後9月1日に24℃前後まで急低下したが9月中旬までは25℃前後で推移し，それ以降は徐々に低下して循環期に入り，3月上旬に最低水温である11℃台まで低下した。水深35m層の水温は，成層期において5m層の水温より約3℃低く推移し，この傾向は8月下旬まで続き，最高水温は8月31日の25.5℃であった。その後短期的に変動を繰り返し，10月以降は循環期となり5mとの水温差はほとんどなくなり，3月上旬の最低水温期（水温11℃台）まで徐々に水温が低下した。

1.2.2 1齢貝の生残率

Fig. III-3に水深5，15，25，35m層に垂下した5段丸籠に収容された1齢貝の生残率を示した。籠各段の収容密度の違いによる生残率は試験期間を通じて一定の傾向が観察されなかったため，1籠に収容されている39個体全体の生残率を表した。月毎に全ての垂下層を平均した生残率は，8月には84%と高かったが9月から11月にかけては70%台，12月から3月にかけては60%台に低下した。

また垂下層別の生残率は，35m層が8月にすでに61.5%と低くなっており，そのまま低い値が続いて最終的に翌年3月に53.8%と各層で最も低くなった。一方，25m層では試験期間中80%以上であり生残率が最も高かった。この原因として，35m層に垂下した籠では籠の下段が海底に近接しており，底泥の影響により下段に収容された貝の斃死が増加したためと考えられる。また，5m，15m層では11月頃より収容されていた貝に付着物が著しく多くなり，翌年3月の生残率はそれぞれ64.1 %，66.7%であった。

1.2.3 1齢貝の成熟度

Fig. III-4に5，15，25，35mの各水深に垂下した1齢貝の，1987年8月から1988年3月までの成熟度指数の月毎の変化を示した。月毎に全ての垂下層を平均した成熟度指数（以下平均成熟度指数と略す）は，8月に1.85，9月には2.44とわずかな上昇であったが，卵巣の色調は，すでに薄橙色の個体が約20%観察され，濃橙色の個体もみられた。平均成熟度指数は10月には7.17，11月には10.88と大きく上昇し，11月には生殖巣の色調・大きさから，すでに産卵を行ったと思われる個体も観察された。12月には平均成熟度指数は11.23と最も高くなり，2月には5.8と急激に低くなった。すなわち産卵は11月から始まり12月および1月が盛期であったと推定された。

また垂下層別に成熟度指数を観察すると，水深5m層では11月に成熟度指数が11と最も高く，12月から1月にかけて9から10.5で推移し，2月には7.2まで低下した。水深15m層および25m層では，11月には11.0から11.4となり，12月に11.7から12.7と5m層より約1ヶ月遅れて最も高くなった後，1月には9.9から10.4と低下が始まり，2月には5.5から5.9へと大きく低下した。水深35m層では，成熟度指数の変化が他の垂下層のように明確ではなく，11月から1月にかけて9.1から10.0の間で推移し，2月に4.9へ低下した。すなわち，各垂下層別には水深が浅いほど成熟度指数が早期に最大となる傾向があったが，1月から2月には各層とも大きく指数値が低下した。

1.2.4 浮遊幼生の出現状況

Fig. III-5に1987年11月26日から1988年3月15日にかけての浦郷湾内の浮遊幼生の水平分布を採集日毎に示した。また，Fig. III-6に各採集日に得られた浮遊幼生の変態期と殻頂期の割合を示した。

浮遊幼生は11月下旬には出現が観察され，12月9日には浦郷湾西側の3定点に，12月15日には全点に出現し，定点1，2で出現密度が高かった。平均出現密度は12月9日に0.4個体/m^3，12月15日に1.1個体/m^3であった。変態期幼生の占める割合は，12月9日に15 %，12月15日に38%であった。12月21日から1月12日にかけては散発的に低密

度で出現したが，1月19日から2月2日にかけては再び全点に出現し，1月19日には定点2で，2月2日には定点1で出現密度が高かった。平均出現密度は1月19日に0.9個体/m^3，1月26日に0.4個体/m^3，2月2日に1.2個体/m^3であった。変態期幼生の占める割合は1月19日に65%，1月26日に71%，2月2日に12 %であった。

すなわち，浮遊幼生の出現には11月26日から翌年3月15日にかけて2回のピークが観察された。1回目のピークは12月9日から15日であり，2回目は1月19日から2月2日であった。また，同時期には変態期幼生も出現し，2回目のピーク時の方が浮遊幼生中に占める割合が高い傾向であった。

1.2.5 付着稚貝の出現状況

採苗器を1987年11月から1988年2月にかけて毎月垂下し，約1ヶ月後に回収して稚貝数を計測した結果，および同時期に垂下し，6月に一斉に回収して稚貝数を計測した結果をTable III-2に示した。

採苗器を1987年11月から1988年2月にかけて毎月垂下し，約1ヶ月後に回収して稚貝数を計測したところ，11月9日から12月15日には計38個，12月15日から1月12日には計6個，1月12日から2月16日には計355個，2月16日から3月10日には計19個と，1月から2月の間垂下した採苗器から最も多くの稚貝が得られた。

稚貝の殻長は，11月から12月の平均が1,163μm，12月から1月は欠測，1月から2月の平均が1,111μm，2月から3月の平均が822μmと，垂下時期が早いほど大きかった。

また，1987年11月から1988年2月にかけて毎月垂下し，6月に回収して稚貝数を計測したところ，11月から6月で計349個，12月から6月で計1,075個，1月から6月で計549個，2月から6月で計65個の稚貝が得られ，12月から6月まで設置した採苗器で最も多くの稚貝が採集され，1月から6月まで設置した採苗器がそれに次いだ。11月に垂下した採苗器の付着稚貝数が少なかったのは，12月の幼生が多く出現した時に採苗袋が付着に適さない状態になっていたか，設置期間が最も長かったので採苗器の目詰まりが起こり，付着した稚貝が斃死したためと考えられる。

なお，付着した稚貝の平均殻長は，11月から6月まで設置した採苗器で21.1mm，12月から6月まで設置した採苗器で19.5mm，1月から6月まで設置した採苗器で17.3mm，2月から6月まで設置した採苗器で17.4mmと設置期間が長いほど大型であった。

稚貝の付着状況から推定すると，付着は1月12日から2月16日にかけて最も多く，次いで11月9日から12月15日にかけて多かったと考えられる。

1.3 考察

1.3.1 母貝の適正垂下水深

イタヤガイは水温27℃以上で斃死が多くなると報告されており[17]，母貝集団を造成するときに高水温は1齢貝の生残率を低下させ，集団を十分機能させるための阻害要因となる。本試験期間中1齢貝は，25m層が最も生残率が高かったが5m層および15m層においても最終的に60%以上となり比較的高い値となった。この原因は1987年夏期が比較的低水温であったためと考えられた。しかし，垂下水深5mおよび15m層では11月以降付着物が多くなり，貝殻の変形などの母貝への悪影響が見られたが，25m層では年間を通して付着物もあまりみられず，産卵を終了するまでの生残率は最終的に80%以上と高い値が得られた。また，籠各段の収容密度の違いによる生残率は試験期間を通じて一定の傾向が観察されなかった。以上の結果から母貝集団造成には1齢貝を5段丸籠の1段当たりの収容密度を15個以下とし，水深20mから30mに垂下することにより，水温や付着物の影響が小さく，産卵期までの生残りが良くなると考えられる。

1.3.2 母貝の再生産

調査結果によれば，1齢貝は11月9日に既に産卵を行った個体が観察され，2月16日には成熟度指数が3月と同様の低い値になっていたことから，産卵期は11月上旬から翌年2月上旬と考えられた。また，12月15日に成熟度指数が最も高く，翌年1月12日にやや低下し，2月16日には低い値となったことから，産卵盛期は12月下旬から1月下旬と考えられた。

産卵から付着まで冬期の現場水温で飼育した記録はないが，水温17℃から18℃で飼育した場合21日前後で付着サイズとなったとの記録[44]があるため，この値を参考に1齢貝の産卵期から変態期幼生の出現時期を推定した。

産卵期は11月上旬から2月上旬と推定されるため，便宜上，上旬の基準日を5日と定め，浮遊期間の21日を加えると変態期幼生の出現時期は11月

26日から翌年2月26日と算出される。また，産卵盛期は12月下旬から翌年1月下旬と推定されるため，下旬の基準日を便宜上25日と定め，浮遊期間を加えると，変態期幼生の出現時期は1月16日から2月16日と計算される。

一方，湾内の浮遊幼生の出現には12月9日から12月15日の小さいピークと翌年1月19日から2月2日までの大きいピークがあり，後期には変態期幼生も多く出現し，1齢貝の成熟度から推定した変態期幼生の出現時期とほぼ一致する。さらに，付着稚貝を1ヶ月ごとに取り上げた結果では，1月12日から2月16日まで垂下した採苗器で付着が最も多く，11月9日から12月15日まで垂下した採苗器がそれに次ぎ，浮遊幼生の出現状況とほぼ一致した。

以上のように1齢貝の成熟・産卵状況と浮遊幼生出現状況，稚貝の付着状況が関連づけられた。また，Table III-3に示すように1986年から1988年にかけて島根県が行った採苗量調査[91]によれば，島前地域の外海に面した採苗場所と浦郷湾を含む島前湾に面した採苗場所における稚貝の採苗量は，島前湾内の浦郷付近で1988年に顕著に増加していた。

このことから，今回造成した母貝集団由来の稚貝が同区域の天然採苗量の増加に寄与していたと推測される。

久保ら[92]は浦郷湾の流況調査を行い，湾口付近に形成される循環流の影響が大きく，湾口から1km程度は海水交換が極めて良いことが窺われること，また，湾奥域では風，気圧変動，内部波など何らかの原因で時として比較的大きな流動が生じ，湾奥の海水が大きく更新されることを報告している。流動の影響を最も大きく受けるステージは浮遊幼生であると考えられる。調査期間を通じて浮遊幼生は海水交換の良い湾口部付近の定点での出現頻度が高かった。この区域では循環流による海水の持ち出しとともに持ち出された海水の環流も想定されているため，いったん湾外に持ち出された母貝集団由来の幼生は再び湾内に戻ってくる。しかし，母貝集団由来の幼生とともに天然母貝由来の幼生も湾内に流入してくると考えられることから[92]，湾口付近の定点に出現した幼生のうち母貝集団由来の幼生が占める割合は推定できなかった。また，産卵期間から推定して出現が期待された2月中・下旬に浮遊幼生群が出現しなかったが，この原因として湾内に時として生じる大きな流動の影響により湾外に搬出された可能性も考えられる。

今回の調査では，人為的に形成した母貝集団由来と考えられる浮遊幼生が湾内に出現し，稚貝の天然採苗量の増加に寄与していると推定された。しかし，従来から養殖用に採取されている，天然海域に生息する母貝に由来すると考えられる稚貝がどの程度混入しているか推定できなかったため，人為的に造成した1万個体規模の母貝集団から生産された稚貝量の推定はできなかった。

浦郷湾を含む島前海域では1980年から1988年にかけて毎年16万枚から80万枚のイタヤガイを養殖し，天然採苗後10ヶ月から1年半の間で殻長8cm以上に成長した0齢貝や1齢貝を順に出荷していた。しかしFig. III-7に示すように，1980年から1988年までの島前海域の養殖イタヤガイの年間生産量と，それらの貝に由来すると考えられる同年の稚貝天然採苗量との間には相関があまり見られないこと，また天然採苗された貝の最初の産卵期は翌年4月から6月にかけてとされているが[93]，その時期には天然採苗がほとんど期待できなかったことから[94]，漁業者が養殖していたイタヤガイは母貝集団としてはほとんど機能していなかったと考えられる。

2　まとめ

母貝集団造成には1齢貝を5段丸籠の1段当たりの収容密度を15個以下とし，水深20mから30mに垂下することにより，水温や付着物の影響が小さく，産卵期までの生残りが良くなると考えられる。

また，今回の調査では，人為的に造成した母貝集団由来と考えられる浮遊幼生が湾内に出現し，稚貝の天然採苗量の増加に寄与していると推定された。しかし，従来から養殖用に採取されている，天然海域に生息する母貝に由来すると考えられる稚貝がどの程度混入しているか推定できなかったため，人為的に形成した1万個規模の母貝集団から生産された稚貝量の推定はできなかった。

以上より，イタヤガイ母貝の越夏場所としては水深20m～30mが適当であることが分かった。また，湾内に母貝集団を造成することで天然採苗量が増加したことから，母貝集団の造成が天然採苗に有効であることが分かった。

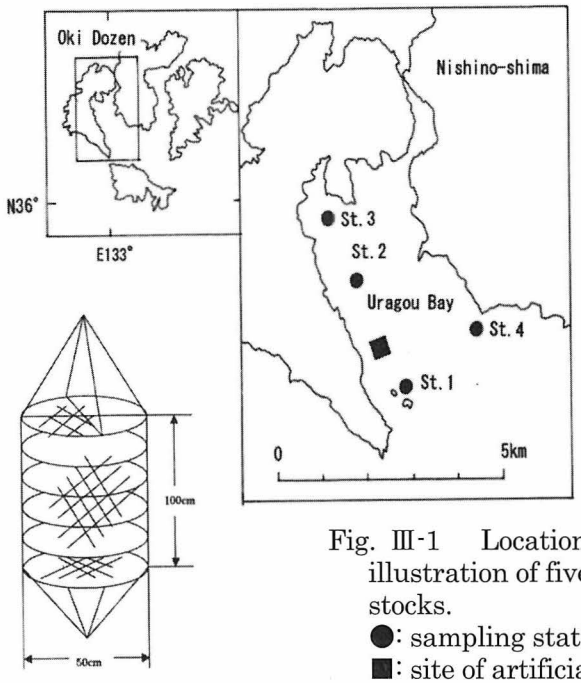


Fig. Ⅲ-1 Location of investigation site in Uragou Bay, and illustration of five stair circle basket for making artificial parental stocks.
●: sampling stations for velliger
■: site of artificial parental stocks and natural spat collection

Table III-1 List of investigation days with each object.

Date	Year	1987												1988													
	Month	8	9	10	11		12							1				2					3				6
	Date	10	19	9	9	26	3	9	15	21	28			6	12	19	21	2	9	11	16	23	1	8	10	15	6
Maturity index and survival ratio of one-year old bay scallop		●	●	●	●				●						●						●				●		
Collecting velliger	St. 1						●	●	●	●	●	●		●	●	●	●	●	●		●	●	●	●		●	
	St. 2							●	●	●	●	●		●	●	●	●	●		●	●	●	●	●		●	
	St. 3							●	●	●	●	●		●	●	●	●	●		●	●	●	●	●		●	
	St. 4							●	●	●	●	●		●	●	●	●		●	●	●	●	●	●		●	
Collecting spat (○: set up) (●: period)					○				●						●						●				●		
									○						●						●						
															○						○						
					○																				●		
									○																●		
															○										●		
																					○				●		

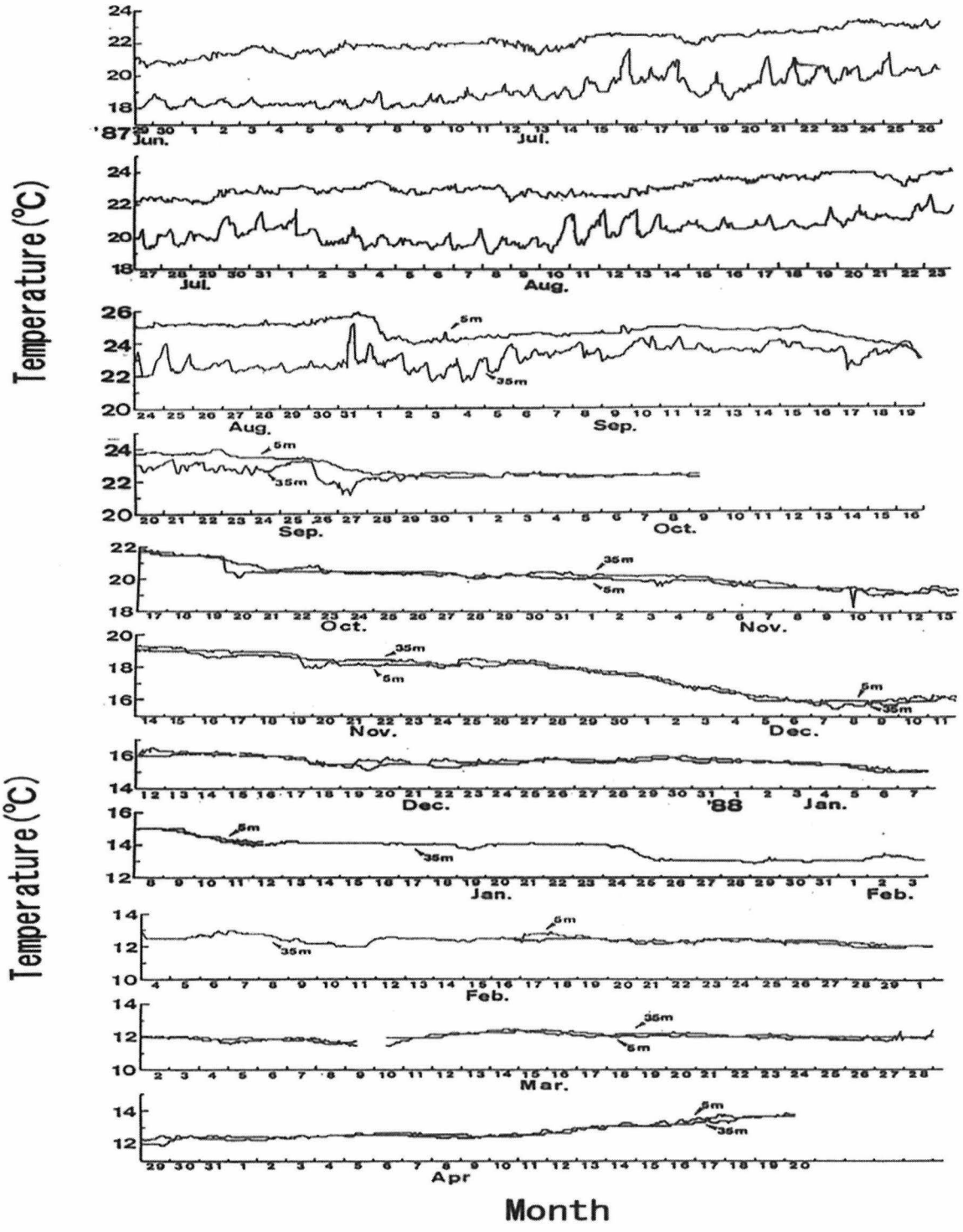


Fig. III-2 Seasonal changes of temperature on 5 m and 35 m depth at the site of parental stocks.

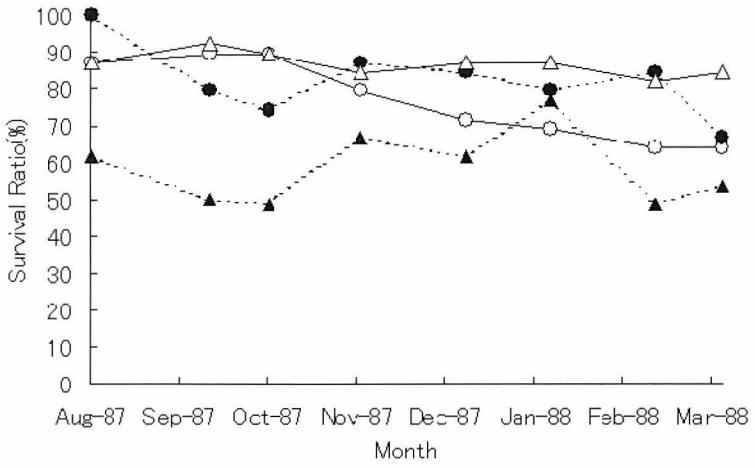


Fig. III-3 Temporal survival ratio changes of one-year old bay scallop *Pecten albicans* hanging on 5 m, 15 m, 25 m and 35 m depth.
○: 5 m, ●: 15 m, △: 25 m, ▲: 35 m

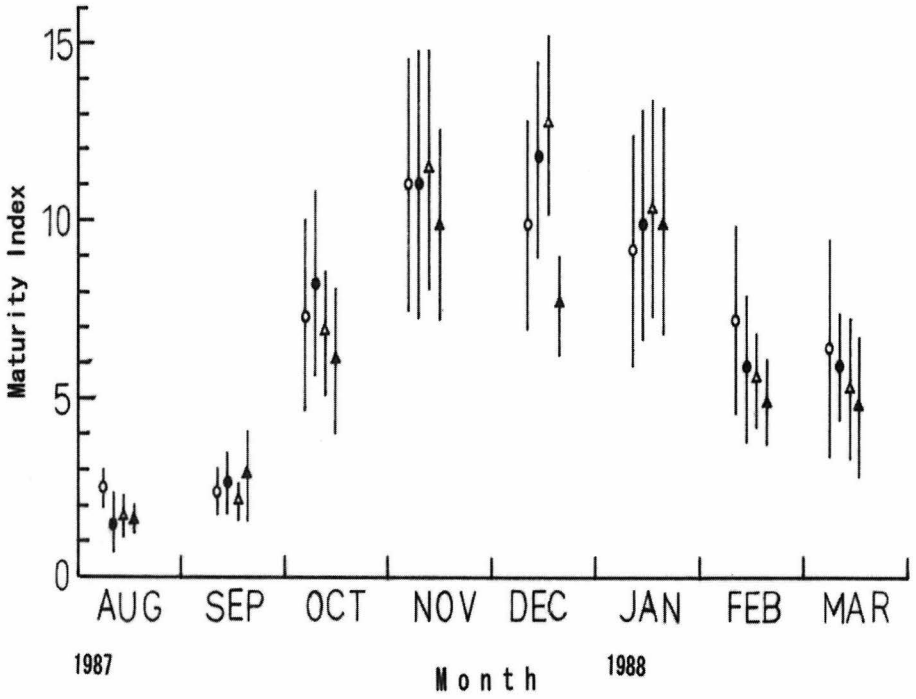


Fig. III-4 Temporal maturity index changes of one-year old bay scallop *Pecten albicans* hanging on 5 m, 15 m, 25 m and 35 m depth denoted with standard deviation (±1 S. D.).
○: 5 m, ●: 15 m, △: 25 m, ▲: 35 m

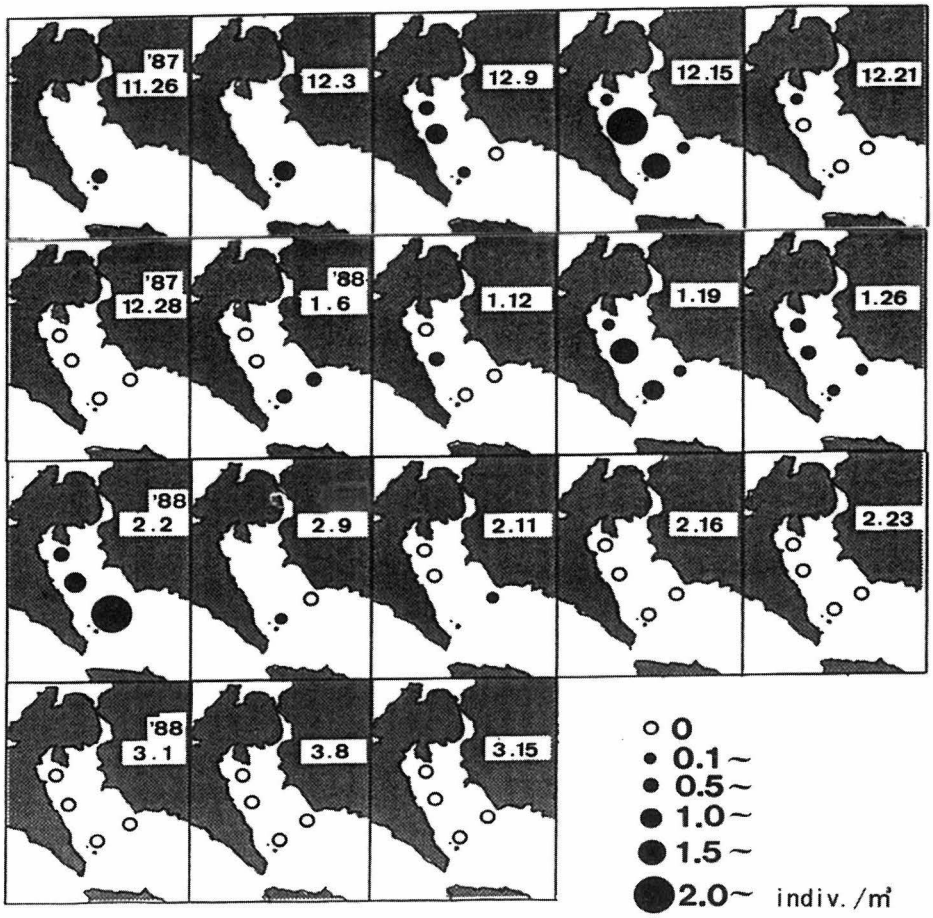


Fig. III-5 Temporal horizontal distribution changes of bay scallop *Pecten albicans* velliger in Uragou Bay.

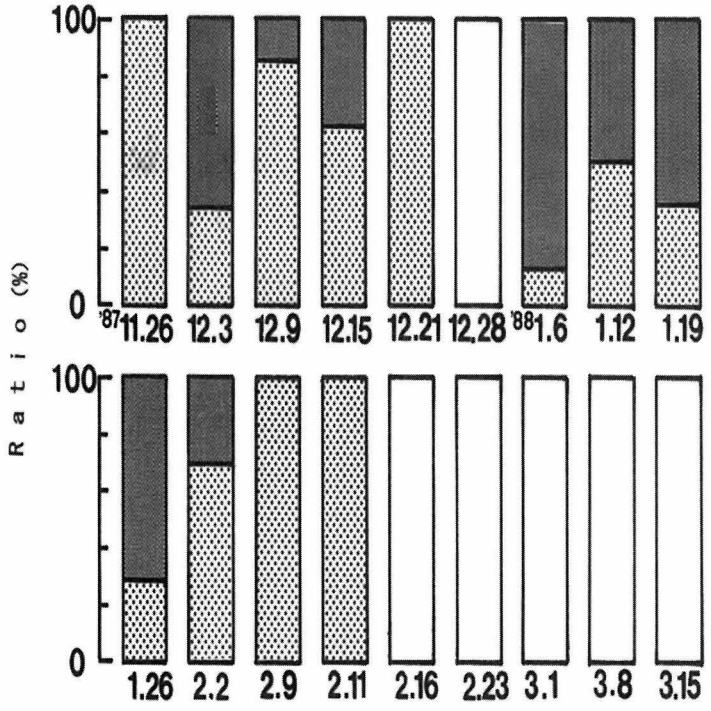


Fig. III-6 Ratios of umbo stage velliger and full grown stage velliger at each collecting day.
□ : not collection
▨ : umbo stage
■ : full grown stage

Table III-2 The number of spat by natural spat collection in different hanging period.

Hanging period of collectors	Number of spat per collector
1987/11/9-1987/12/15	38
1987/12/15-1988/1/12	6
1988/1/12-1988/2/16	355
1988/2/16-1988/3/10	19
1987/11/9-1988/6/6	349
1987/12/15-1988/6/6	1,075
1988/1/12-1988/6/6	549
1988/2/16-1988/6/6	65

Table III-3 Collecting numbers of natural spat at three collecting sites in Dozen Bay and open sea area, from 1986 to 1988 (×1,000 indiv.).
Data source was reference 91)

	Year		1986	1987	1988
Collecting site	Dozen Bay	Uragou	100[1)]	140[1)]	500[1)]
		Ama	20[1)]	28[1)]	40[1)]
	Open sea area	Minami	45[1)]	75[1)]	68[1)]

1) Collecting numbers(×1,000 indiv.)

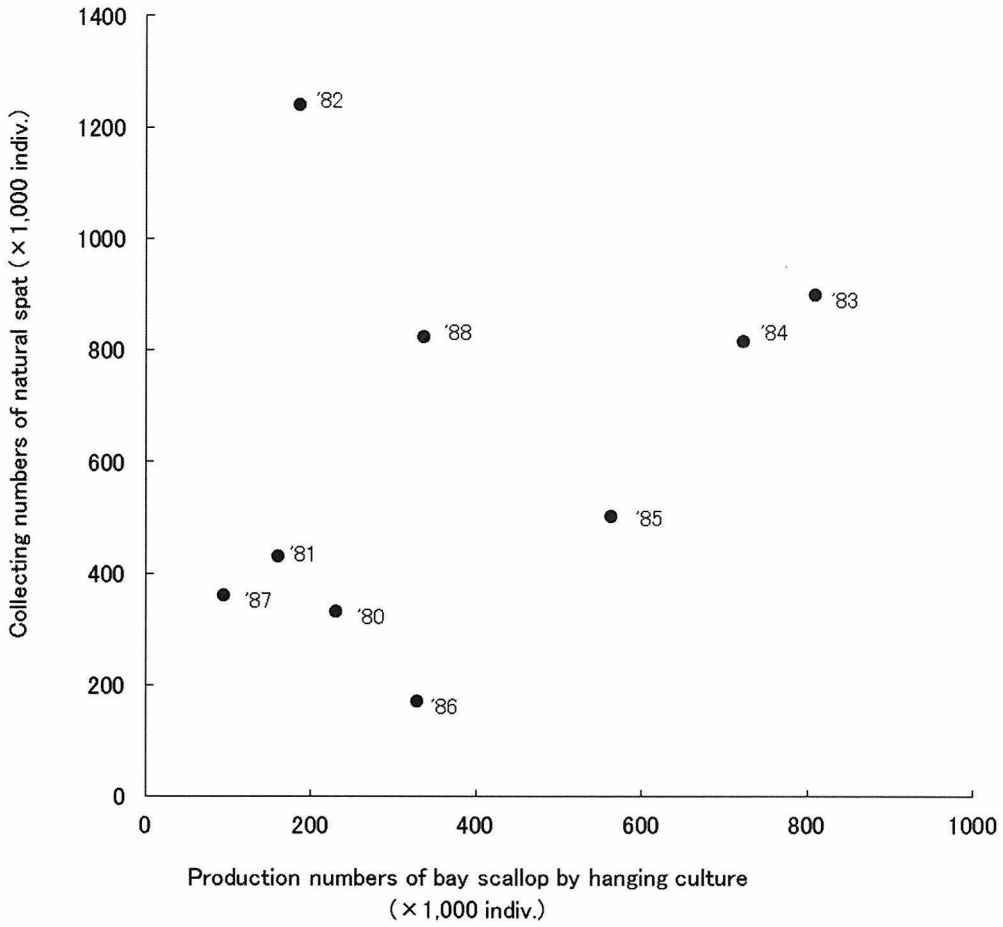


Fig. III-7 Relationship between collecting numbers of natural spat and production numbers of bay scallop *Pecten albicans* by hanging culture in Dozen sea area including Uragou Bay from 1980 to 1988.

第4章 養殖イワガキの成長と成熟生態に関する研究

イワガキ *Crassostrea nippona* は日本を含む西部太平洋に分布する種であり，東南アジアでは近似種が食用とされている[95]。しかし，本種の養殖は，1970年代に秋田県で試みられたのみで[21]，島根県で事業化されるまでは世界的にも例がなかった[95]。

本種の養殖は天然の種苗が入手できないため，人工種苗生産により稚貝を供給する必要があったことから，勢村[96]は人工種苗生産と幼生の外部形態の観察を行ない，中上ら[22]は人工種苗生産した種苗の養殖試験を行い，事業化が可能であることを報告した。また，本種と同様な外洋性二枚貝のイタヤガイについて，人工種苗生産の安定のためには，幼生飼育水中の微生物相の変動を制御することが必要とされたが[97]，佐藤ら[87]は，微細藻類の真正眼点藻類の1種である *Nannochloropsis* sp. の培養液をイワガキ幼生の飼育水中に添加することで制御が可能であることを見いだした。その後，*Nannochloropsis* sp. の培養液を培養細胞ごと飼育水に添加し，種苗生産を安定させることが可能となった[98]ことで，種苗生産数は安定している。

本章では，まず養殖イワガキの成長と形態変化を観察することにより，養殖イワガキと天然イワガキの成長パターンの差違を検討するとともに，イワガキの成長を解析するための実用的な測定部位の抽出を検討した。また，天然採苗を可能とするための母貝集団の造成や養殖に不向きな地域での天然資源の維持・増大のためには，資源管理が必要であるため，その基礎的知見を得ることを目的に，イワガキの最初の成熟過程を観察した。

1 垂下養殖イワガキの成長

カキ類の外部形態は付着場所，潮流，濁り，水温などの生息環境により相違することが知られている[99]。そこで，カキ類の成長の指標となる形質の把握が試みられ，Loosanoff & Nomejko[100]はバージニアガキ *Crassostrea virginica* の殻高，殻長，殻幅，全容積の増加率と水温の変動との関係を観察することにより，全容積の変化が水温変化と最も相関が高いと報告した。また，Bulter[101]も，バージニアガキの成長の観察には，殻高より容積の測定がより適切であると報告した。従って，カキ類の成長を表すには，容積が最も適切な指標であると考えられている。しかし，それらの報告以降，容積がカキ類の成長の指標として積極的に採用されることはなく，依然として殻高が用いられている[102,103]。イワガキも他のカキ類と同様，生息場所や密度などにより外部形態が変異するため，生息環境が成長に与える影響を観察，比較しようとした場合，成長を良く反映し，かつ測定が容易な形質を把握する必要がある。このような場合，できるだけ均一な条件下で生育する個体の成長を追跡することが望ましいが，自然状態では非常に困難である。

そこで，本節では，養殖という人工管理下で育成されたイワガキを用いて，その成長を明らかにした。また，得られた知見を基にして，イワガキの成長を解析するための実用的な測定部位の抽出を検討した。

1.1 材料および方法

イワガキの標本は，島根県隠岐島，島前湾に養殖場をもつ中上養殖場 (Fig. IV-1-1) で，1994年8月に生殖巣を切開法により採卵し，*Pavlova lutheri*, *Chaetoceros gracilis* を投餌しながら約50日間室内飼育した後，殻高約2mmでネットをかぶせて1.5cmまで海中垂下後，ネットを外し間隔を広げて垂下養成されている個体を用いた。

これらの個体が垂下されている水深は5～7mであり，このうちヒオウギガイ *Chlamys nobilis* の殻に20個体前後付着した群を用い，殻が極端に曲がっていない個体の中から無作為に30個体を抽出した。測定は1995年5月（付着後8ヶ月）から1996年7月（付着後1年10ヶ月）まで，原則として月1回行なった。測定項目として全高（左殻高），殻高（右殻高），殻長，殻幅，全重量，左および右殻重量，軟体部重量，閉殻筋重量，全容積，殻容積，内容積を選んだ。それらのうち，1995年9月（付着後12ヶ月目）から1996年7月（付着後22ヶ月目）まで，性判定できる個体について殻高，全重量，全容積を雌雄間で比較した。Fig. IV-1-2に示すように全高は，左殻の殻頂から一番遠い周縁部までの直線距離，殻高は右殻の蝶番先端部より一番遠い周縁部までの直線距離，殻長は殻の前後周縁部の接線を取り，その最も長い部分の直線距離，殻幅は咬線に直角に一番

広い幅の直線距離とし，ノギスを用いて0.1mm単位まで測定した。

全重量，左及び右殻重量，軟体部重量，閉殻筋重量は，殻上の付着物をできるだけ取り除いた後，電子天秤をいて0.1gまで測定した。全容積,殻容積は，上皿式電子天秤上に，淡水を入れた2Lビーカーを置き，貝や殻を容器に触れないように水中に沈下させ，重量の増加分を容積とした。内容積は全容積から殻容積を引いた値とした。なお，これらの測定値は同一の母集団から得られた値であるので，これらの季節変化は成長と見なすことができる。成長を細胞数の増加およびその容積の増大と見なした場合[104]，全容積は成長の最も良い指標とみなすことができる。またShumway[105]は，バージニアガキの成長を表すには，殻高を用いるより全容積を用いた方がより適切に評価できるとしている。しかし，この全容積といえども成長の一面を示すに過ぎず，測定するためには極めて時間がかかり不便である。特に現場などでは時には測定不可能な場合もある。そこで，より実用的で簡便な測定部位をみるために，一般的に良い成長の指標とされる全容積と各測定部位との回帰関係を調べ，全容積に代わる測定部位を推定した。なお，回帰分析は，全測定期間に得られた標本個体のうち，全項目が測定できた244個体の資料をもちいて単回帰分析した。

現場の水温測定は，自記水温計（New-RMT5221：離合社製）を養殖場の水深 5mの定点に設置して10分間隔で測定した。

1.2 結果

1.2.1 水温の変動

養殖場所の水温の変動をFig. IV-1-3に示す。イワガキが垂下養殖されている水深5mの午前10時の水温は，1995年8月中旬から下旬にかけて25℃を超え，最高で27.5℃に達した後下降し始めた。11月上旬には20℃以下，12月下旬には15℃以下となり，1996年2月上旬から3月下旬には最低水温期となった。この期間は，ほとんど11℃台であったが，まれにそれ以下となり，最低値は，2月下旬の10.9℃であった。4月に入ると再び水温の上昇が始まり，5月中旬には15℃以上，6月下旬には20℃以上となった。

1.2.2 雌雄による成長差

イワガキの雌雄による成長差を見るために，1995年9月から1996年7月にかけて測定した殻高，全重量，全容積の3項目の月別変化を雌雄別に，9～11月，12～4月，5～7月の3期に区分し，各々の平均値または中央値が等しいかどうかの検定を行った。Fig. IV-1-4に示すように，いずれの測定項目においても月ごとの雌雄に有意な差は認められなかった（t検定 ： $p > 0.05$)。したがって，以後に行なった全ての測定項目についての解析では，雌雄の区別を行わなかった。

1.2.3 各部の長さの変化

各部の長さの変化をFig. IV-1-5に示す。各部の長さは，全高が最も長く，次いで殻高，殻長，殻幅の順で短くなった。全高と殻高は，付着後10ヶ月まではほとんど同様な長さであったが，それ以降全高が殻高を上回った。各部の伸長度合いは，1995年11，12月と1996年4，6，7月に停滞する傾向があるものの，ほぼ直線的に伸び，季節による明確な差異は見いだせなかった。殻高は，観察を開始した1995年5月(付着後8ヶ月目)では平均34.5mmであったが，8月（付着後11ヶ月目）では52.2mm，11月(付着後14ヶ月目）では75.2mmとなった。その後12月まで1ヶ月程度成長が停滞したが,翌年2月(付着後17ヶ月目)には94.8mmに伸長した。それ以降3，4月の2ヶ月間は伸長せず,5月（付着後20ヶ月目）に106.2mmまで伸長した後停滞した。すなわち殻高は，ふ化後約1年目の1995年8月では平均52.2mmであったが，約2年目の1996年7月では106.2mmとほぼ2倍に伸長した。全高，殻長，殻幅とも，殻高とほぼ同様な変化が観察されたが，変動の幅が殻高と異なる点，2月から4月にかけての増加が観察された点で異なった。また，ふ化後約1年目と2年目では，全高は，それぞれ55mm，112.4mm，殻長はそれぞれ44.2mm，87.3mm，殻幅はそれぞれ19.7mm，39.3mmであり，殻高と同様，2倍前後の成長を示した。

1.2.4 各部の重量の変化

各部の重量の変化をFig. IV-1-6に示す。各部の重量は，全重量が最も大きく，次いで左殻重量，右殻重量，軟体部重量の順で小さくなった。軟体部重量と右殻重量は1995年11月（付着後14ヶ月目）までは右殻重量がわずかに軟体部重量を上回る程度であった。左殻重量は全重量の38～52%を占め，ほとんどの月で40%以上であった。全重量は1995

年6月（付着後9ヶ月目）には平均9.7gであったが，その後急速に増加し，7月には23.6g，8月（付着後11ヶ月目）には25.6gとなった。それ以降は増重割合が低くなり，11月から12月にかけては若干減少した。しかし，全重量は12月から翌年2月（付着後17ヶ月目）にかけて再び急速に増加し，118.5gになった。その後も全重量は増加を続け，4月から5月にかけても再び急速な増重がみられた。5月以降は平均183.9gから197.9gとなり増重は停滞した。軟体部重量は全重量ほど変動が著しくなかったものの，変化の様子はほぼ同様であった。しかし，軟体部重量が全重量に占める割合は約20%以上であり大きくは変動しなかったが，1995年7月と翌年2，3月にはそれ以下となった。特に2，3月の場合には，前々月の12月から軟体部重量の割合が減少し始め，2月に15%と最低になった後再び値が上昇した。一方，左，右殻重量は，11月から12月にかけての重量の減少が観察されなかった点で，全重量および軟体部重量とは傾向は異なっていたが，全重量および軟体部重量が増加する3月から4月にかけて殻重量は一次停滞ないし減少した。

1.2.5 各部の容積の変化

各部の容積の変化をFig. IV-1-7に示す。各部の容積のうち，全容積が最も値が大きく殻容積がそれに次いだ。全容積は，1995年5月（付着後8ヶ月目）には平均5.4cm^{3}であったが，7，8月までに急速に増加し，8月（付着後11ヶ月目）に19cm^{3}となった後12月までやや停滞した。しかし，翌年2月までに約2倍に増え，その後4月まで緩やかに増加した後5月にかけて再び大きく増加し，7月（付着後22ヶ月目）には平均126.9cm^{3}となった。内容積も全容積と同様な傾向を示し，5月の平均2.1cm^{3}から翌年7月には平均53.1cm^{3}となった。一方，殻容積は，全容積や内容積のように11月から12月にかけて平均値が下がることはなかった。しかし，翌年2月から4月にかけて殻容積は若干ではあるが減少した。その他は全容積や内容積と同様の傾向であり，5月の平均3.3cm^{3}から翌年7月には平均73.8cm^{3}となった。

1.2.6 全容積と各形質間との回帰関係

全容積と各形質間の回帰分析結果をTable IV-1-1に示した。なお，表の回帰係数および回帰定数は，それぞれ危険率1%となり有意であった。全容積と各形質間の決定係数は，全容積と閉殻筋重量を除く各部重量，および全容積と各部容積の間で高く，全容積と各部の長さとの間では低かった。最も決定係数が高かった形質は全重量であり，殻容積と左殻重量がそれに次いだ。また，長さのうち最も決定係数が高かった部位は，殻高であった。

1.3 考察

山田[106]は天然におけるイワガキの成長を鳥取県沿岸水深15mから20mのブロック上の群で観察し，それらの成長は，見かけ上水温と相関し，8月から11月の高水温時には大きく，11月から7月の低水温時には停滞すると報告している。隠岐島の養殖イワガキの場合，おおまかにみれば，1995年11月（付着後14ヶ月目）までは各部の伸長，増加の度合いが一定であるが，その後12月の測定結果では停滞するか，または若干減少していた。さらにその後，急激に伸長，増加する時期（1995年12月から1996年2月，および1996年4月から5月）と，停滞ないし緩やかに増加する時期（1996年2月から4月および5月から7月）が交互に観察された。この停滞ないし緩やかに増加する時期のうち，11月から12月の間と，翌年4月から5月にかけての時期は，貝の生殖物質の放出後および生殖巣が急激に発達する時期に当たる（勢村他，未発表）。また，2月～4月の間は養殖場付近の水温が最低となる期間であることから，これらの成長の停滞は，貝の生殖物質の放出，栄養細胞の貯蔵ならびに低水温によるものと考えられる。一方，調査年は異なるが，良い成長を示す時期では2月に湾内でクロロフィルの増加[107]や，5月に透明度の低下[108]が観察されていることから，養殖場付近の餌料が増加した時期と推定される。各部位の成長を細かく見ると，成長の様子が少しずつ異なる時期がみられた。1996年2月から4月にかけて，各部位の長さの測定では，殻高は停滞するものの他の部位は伸長していたことから総体的に殻は伸長していることを示している。また，全重量，全容積および内容積も同様に漸増したが，殻重量および殻容積は同時期に停滞ないし減少した。さらに軟体部重量が全重量に占める割合は，2月に最低となった。これらのことよりこの時期は，軟体部の増加に先立ち内容積が増加する時期であったと考えられる。

近縁種のマガキの場合，殻の成長は水温に大きく影響を受け，一般に春から夏の水温の高い時期に顕

著な成長を示し，冬季には停滞する[109]。しかし，富栄養の養殖域では成熟，放卵，放精期を通じて肉重量を増しながら，放卵，放精に引き続いて急激な身入りと重量の増加が認められ，周年成長が持続することが観察されている[103]。これより，養殖イワガキの成長も，基本的にはマガキと同様な要因に影響されていると考えられる。今後再生産に伴う生理状態，生息水温，および餌料の質と量といった要因と成長との詳細な関係把握が望まれる。

イワガキの年齢と成長は山形県[110]および鳥取県[106]で，いずれも人為的に沈設されたブロック上のイワガキについて調査されており，山形県では10月から11月時点で0+：殻高5mm，1+：15～25 mm，2+：45mm，3+：65～75mm，鳥取県では3+：108 mm-200g，4+：135mm-375g，5+：142 mm-517gと推定している。養殖イワガキでは，ほぼ満1歳（付着後11ヶ月目）では平均殻高52.2mm，全重量25.6g，ほぼ満2歳（付着後22ヶ月）で平均殻高106.2mm，全重量183.9gとなり，山形県の約2倍，鳥取県の約1.5倍の成長を示した。一方，全重量に占める軟体部重量の比率も養殖イワガキでは天然イワガキより倍近く大きいことが知られている[22]。その一因として海底に近い場所に付着し，飛砂など餌料の取り込みを阻害する要因が多い天然イワガキに比べて，養殖イワガキは，時化の影響を受け難く，餌料の取り込みが持続するなど餌料の取り込み環境の相違が考えられる。

以上の養殖イワガキの成長に対して，近縁な養殖マガキの成長は，三重県的矢湾で，付着後4ヶ月から5ヶ月目（12月）には平均殻高1cm前後であるが，翌年春から成長が良くなり，付着後8ヶ月目（3月）には4cm，11ヶ月目（6月）には6.5cm，20ヶ月目（翌年3月）には10cmに達するとされている[102]。また，本研究に用いたイワガキ養殖場に近い，隠岐島海士町北部湾に昭和31年から32年にかけて宮城県産マガキ種苗を試験養殖したところ，付着後15ヶ月目には平均殻高8.6cm，20ヶ月目には11.3cmに成長しており[111,112]，的矢湾での成長とほぼ同様であることを示している。したがって，イワガキの成長は，付着後満1年まではマガキに劣るが，それ以降はほぼ同様な成長を示すと考えられる。

本種の成長を良く反映し，かつ測定が容易な形質を摘出するために，養殖イワガキの全容積を基準とし，各測定部位との回帰関係を検討した結果，全容積に次ぐ測定部位として容積測定より簡便な全重量や左殻重量を測定する方法が適していると考えられる。重量は，漁獲量を漁獲個体数に換算する際に重要な資料であるため，標本の剥離や解剖が可能であればこれらの重量の測定が必須である。しかしながら，限られた時間内で大量の標本処理が要求された場合や，現場の調査などで標本を剥離できない場合などを考えると，重量や容積などに比べて長さを測定するメリットは極めて大きい。各部位の長さのうち殻高は最も決定係数の値が高く，他の容積や重量に比べても決定係数の値が大きく異なることはなかった。したがって，上記のような場合には測定部位として殻高を測定することがイワガキの成長を定量化するために最も実用的である。

2　養殖イワガキにおける最初の成熟過程

イワガキは，近年になり広く認知されてきたことから，全国で漁獲や養殖が盛んになり地域ブランド化も進んでいる[20,22,113,114]。しかし，その生物学的知見や研究は養殖の歴史が古いマガキに比べると著しく少ない。特に成熟・産卵については，秋田県[115]，鳥取県[116]，京都府[117]の公設試験研究機関の調査報告等に報告されているが，漁獲サイズに達した個体についての記載があるのみである。一方，漁獲サイズに達していない個体についての報告は，産卵開始年齢や大きさに関する情報が水産学上や海洋資源を管理する上で極めて重要であり，イワガキ生産においても規模拡大や安定で持続的な生産を行う上で不可欠な情報である。しかしながら，漁獲サイズに達していない個体についての知見は松浦・森[20]による，殻高50mm程度で産卵するとの報告があるのみである。

そこで本節では，養殖イワガキの成熟過程を明らかにするために，島根県隠岐島で養殖されているイワガキを用いて，ふ化後から最初に成熟するまでの5月から12月の8ヶ月間における生殖巣の発達過程を検討し，その結果，生殖巣の発達開始時期，性成熟に達するサイズ，また放卵・放精時期について得られた知見を述べる。

2.1　材料および方法

イワガキは，島根県隠岐島浦郷湾の中上養殖場で1994年8月に切開法により採卵し，人工的に浮遊幼生を飼育してヒオウギガイ殻の基盤に付着した稚貝を，Fig. IV-2-1に示す海域の水深5～7mに垂下

養成したものである。このうち1枚あたり20個体前後の稚貝が付着している基盤を1995年5月から12月の8ヶ月の間，毎月2枚を抽出して付着しているイワガキ0歳貝のうち殻の曲がりなどの異常の少ない19～28個体を選択して測定に用いた。

水温は，1995年5月1日から7月31日までは，イワガキの養成場所から北に約2.5km離れた島根県水産技術センター栽培漁業部の取水口（水深10m）から汲み上げられた午前10時の海水温度を測定した。次に，8月1日から12月31日までの水温は，養殖場所の水深5mに自記水温計（New-RMT5221：離合社製）を設置して10分間隔で測定した水温のうち，午前10時の水温を用いた。なお，5月1日から7月31日までの水温は実際に養殖していた場所での水温とは異なるが，1996年[108]および1997年[118]に行った浦郷湾の水温鉛直分布観測結果によれば4月から8月にかけての当該2点間の水温差は1℃未満であったことから，1995年についても同様な傾向であったと推定し，本研究の結果の説明や考察に用いても問題がないと判定した。

イワガキの標本は，生鮮状態で殻高，軟体部中央部横断面の短径と同一断面の消化盲嚢の短径をノギスで0.1mm単位まで測定した。生殖巣指数は，次式を用いて算出した。

$$(A-B) \div A \times 100$$

A：軟体部中央横断面の短径

B：消化盲嚢の短径

測定した軟体部は，余分な水分を除き，重量は電子天秤を用いて0.1g単位まで測定した後，生殖巣の一部を10%中性ホルマリン液で固定した。固定した生殖巣の一部を組織学的観察のために常法どおりパラフィン包埋したのち，厚さ5～8μmの切片を作製し，デラフィールドのヘマトキシリン・エオシン二重染色を施して検鏡した。

生殖巣の発達過程は道家ら[117]に従い，(1) 発達期，(2) 成熟期，(3) 放出期，(4) 再吸収期，(5) 休止期の5段階に区分した。すなわち，(1) 発達期は生殖巣間質結合組織中の二次濾胞内で卵および精子の形成が盛んに行われており，濾胞そのものも増大する時期，(2) 成熟期は雌の卵巣内には十分成長した第一次卵母細胞が，雄の精巣内にはすでに変態を終了した精子が充満している時期，(3) 放出期は卵あるいは精子の放出により生殖巣間質結合組織中に空隙が生じる時期，(4) 再吸収期は放卵放精後に濾胞の収縮と残存する生殖細胞の再吸収が行われる時期，(5) 休止期は生殖細胞が活動を休止し，濾胞は退縮し，組織学的にも雌雄を判別することは困難な時期として区別した。

2.2 結果

2.2.1 水温の変動

水温の変化はFig. IV-2-2に示す。水温は5月中旬まで15℃台であったが，6月下旬に19℃，7月下旬に23℃をそれぞれ超え，8月上旬から9月上旬には25℃を超えて最高27.6℃を示した。その後9月中旬に23℃台まで急速に下降し，一時停滞したが，10月下旬には21℃前後に下降し，12月末には14℃以下となった。なお，1995年の海水変動の状況について，気象庁ホームページに示されている，1995年5月から12月にかけての日本海月平均海面水温の平年差の水平分布によれば，隠岐島周辺では8月は0から0.5℃と平年並みかやや高い水温であったが，そのほかの月はいずれも0からマイナスの値であり，平年をやや下回っていた。

2.2.2 イワガキの成長

イワガキの平均殻高の変化をFig. IV-2-3に，平均軟体部重量の変化をFig. IV-2-4に示す。まず，平均殻高は5月の34.5mmから増加し，7月から8月にかけてやや停滞がみられた。しかし，平均殻高は8月に52.2mmに達し，11月以降では70mmを越えた。その後12月までは成長が見られなかった。次にイワガキの平均軟体部重量は，5月に1.1gであったものが8月には6.2gとなり，10月以降には10gを越えた。

2.2.3 生殖巣の成熟段階の推移

成熟段階の変化をFig. IV-2-5に示す。5月には雌雄の判別が困難な休止期の個体が24%，発達期の個体が76%を占めた。6月には発達期の個体は80%に増加し，休止期の個体は10%に減少した。また，成熟期の個体が10%出現した。7月には発達期の個体は68%に減少し始め，成熟期の個体が32%に増加した。8月には発達期の個体は7%となり，成熟期の個体が93%に急増した。9月には成熟期の個体が11%に急減し，放出期の個体が83%に急増し，再吸収期の個体も6%観察された。10月から11月にかけて放出期の個体の割合は減少し，再

吸収期の個体の割合が増加した。12月には再吸収期の個体は11月より減少し，代わって休止期の個体が33%出現した。

また，雌雄の判別が困難な休止期の個体が多かった5月と12月を除いた雌雄別の成熟段階の変化をFig. IV-2-6に示した。成熟の進行は雌より雄の方が早い傾向が見られる。すなわち，6月に雌では発達期の個体のみ出現し，雄では成熟期の個体が出現した。また，9月には雌では成熟期と放出期の個体が出現し，雄では再吸収期の個体の出現が観察された。

2.2.4 生殖巣指数の推移

平均生殖巣指数の変化と休止期で雌雄の判別が困難な個体を除いた雌雄別の平均生殖巣指数の変化をFig. IV-2-7に示す。平均生殖巣指数は，5月に2.8であったが，6月に14.9に上昇し，7月に40.0，8月に51.9と急激に上昇した。その後，9月には40.9まで下降し，10月から11月に29.8～28.8と横ばいとなった後12月に19.4まで再度下降した。また，雄の平均生殖巣指数は，生殖巣が発達を始める時期には雌より上昇度合いが大きく，また放出後再吸収が始まる10月以降の下降度合いは小さい傾向を示した。

2.2.5 雌雄の比率の推移

Fig. IV-2-8に雌雄の割合の推移を示す。5月には雌雄の判別が困難な個体が24%を占めたが，6月にはほとんどの個体で，7月以降はすべての個体で雌雄の判別が可能となった。しかし，12月には再び雌雄の判別が困難な個体が33%出現した。

5月，6月および12月の雌雄判別が困難な個体が出現した時期を除くと，観察期間を通じて雌の個体が全標本に占める割合は28%から55%と雄の個体より少ない傾向が見られたが，検定の結果10月を除いて有意な差は認められなかった。また，6月には組織学的に雌雄同体と考えられる個体が1個体出現した。

2.3 考察

2.3.1 成熟サイズ

松浦・森[20]は，「殻高5cm程度の小さな1年貝でも性成熟する。」としているが，具体的なデータは示されていない。本研究によれば，組織学的に成熟期の個体の割合が最も高かったふ化後，満1歳となる8月のイワガキの平均殻高は52.2mmと松浦・森[20]らの報告と一致した。成熟期に達していると判定される最も小さい個体は雄で殻高35.8mm，雌で43mmであった。一方，天然ではイワガキの成長はその場の環境により異なるため，成熟，産卵が開始される年齢は，本研究の結果と異なるものと考えられる。例えば，山形県沿岸のコンクリートブロック上に付着したイワガキでは，2歳で殻高45mm，3歳で殻高65～75mmに成長するとの報告があり[110]，本試験の結果と相関させると成熟，産卵の開始は2歳以降となると考えられる。

2.3.2 生殖巣の発達開始時期

漁獲サイズのイワガキの生殖巣の発達について，秋田県男鹿半島では水温9℃前後になると生殖細胞の増殖，発達が始まり，5月中旬にはすべて発達期となるとの報告がある[115]。また，鳥取県沿岸では水深12mのイワガキ個体群の生殖巣の発達を観察した結果，4月には雌雄とも発達期となり，5月には成熟期に近くなるとの報告もある[116]。京都府は若狭湾西部海域のイワガキ個体群の生殖周期の観察結果から，水温10℃から25℃に上昇する時期が発達期，25℃から28℃が成熟期を示し，3月から5月には発達期の個体のみ見られ，6月には成熟期の個体も見られたと報告している[117]。

一方，本研究の結果から，発達期と考えられる水温15℃の5月にふ化後1年未満のイワガキ0歳貝では，休止期の個体と発達期の個体が併存したことから，漁獲サイズの個体に比べて生殖巣の発達が開始される時期が遅れると考えられる。この原因として，個体の成長度合いが生殖巣の発達度合いに影響するのではないかと考え，5月の休止期の個体と発達期の個体の殻高，軟体部重量を比較した。しかし，休止期および発達期の個体とも平均殻高は34.5mm，平均軟体部重量は1.1gであり，検定したところ危険率5%で平均の差がなく，個体の成長度合いが生殖巣の発達度合いに影響を及ぼしているとは考えられなかった。また，発達期の個体の生殖巣の状態は，組織学的にみて初期および中期と考えられる個体の割合がほぼ同程度であったことから，殻高35mm程度で生殖巣の発達が始まり，休止期と発達期が混在するのは個体差により発達時期が若干異なるためと考えらる。

2.3.3 雌雄の出現比率

本研究の結果，雌雄同体の個体が確認され，10

月には雌雄の比率の偏りが認められた。マガキでは性転換や，時期や場所による雌雄の比率に偏りがあることが古くから確認されており[119,120]，その原因として遺伝的要因と環境的要因の相互作用によると考えられているが，詳細は解明されていない[121]。イワガキでもマガキと同様な現象が起こっていると考えられるが，本研究からは原因を特定することはできなかった。

2.3.4 放卵・放精時期

イワガキの放卵・放精時期は，秋田県男鹿半島では海水温が最高の26℃になる7月下旬から8月上旬に始まり，水温が20℃以下となる10月中旬に終了する[115]。一方，鳥取沿岸では水温が25℃前後になる7月上旬頃から放卵・放精が始まり，水温が下がり始める9月上旬までの間に起こると推測されている[116]。さらに，京都府は海水温が最高になった時期から25℃まで下がる8月から10月までが放卵・放精期であるとしている[117]。本研究では，生殖巣指数が8月に最高値を示した後9月に低下した。組織学的な成熟段階は，8月に成熟期の個体が90%を超えた後，9月には放出期の個体が大部分を占めたことから，群としての産卵は8月から9月にかけて行われたと考えられた。この間，水温は8月上旬に25℃を超え，下旬に水温の最高値である27.6℃を示した後，9月上旬に25℃以下に下った。この結果は，海水温が最高に達したあとに水温の下がる時期に放卵・放精が起こるという上記の報告と一致した。しかし，7月には雌雄とも外部刺激により放卵・放精が起こるとされる成熟期の個体が出現しているため，7月以降には水温変動や波浪などの外部刺激により散発的に放卵・放精が起こっている可能性があると考えられる。

3 まとめ

人工種苗生産イワガキのふ化後の平均殻高，平均全重量，平均全容積は，12ヶ月後にそれぞれ52.2mm，25.6g，19cm^{3}に，23ヶ月後には106.2mm，183.9g，126.9cm^{3}に達した。この成長は鳥取県の天然イワガキの約1.5倍の早さである。イワガキの成長は，放卵・放精や生殖巣の発達，低温や植物プランクトン量から推定された利用可能な餌料の影響を受けたと考えられた。

イワガキの成長を良く反映し，かつ測定が容易な形質を摘出するために，養殖イワガキの全容積を基準とし，各測定部位との回帰関係を検討した結果，全容積に次ぐ測定部位として容積測定より簡便な全重量や左殻重量を測定する方法が適していると考えられる。重量は，漁獲量を漁獲個体数に換算する際に重要な資料であるため，標本の剥離や解剖が可能であればこれらの重量の測定が必須である。しかしながら，限られた時間内で大量の標本処理が要求された場合や，現場の調査などで標本を剥離できない場合などを考えると，重量や容積などに比べて長さを測定するメリットは極めて大きい。各部位の長さのうち殻高は最も決定係数の値が高く，他の容積や重量に比べても決定係数の値が大きく異なることはなかった。したがって，上記のような場合には測定部位として殻高を測定することがイワガキの成長を定量化するために最も実用的である。

また，隠岐島浦郷湾で垂下養殖されたイワガキを対象とし，最初の成熟過程を，1995年5月から12月にかけて，0歳貝の殻高，生殖巣指数および組織学的成熟段階の推移を観察した。その結果，生殖巣の発達開始時期は，従来報告されている漁獲サイズのイワガキの発達開始時期より遅れるものの殻高50mm程度で性成熟に達し，放卵・放精時期は漁獲サイズのイワガキと同様に最高水温期からの下降期であることが分かった。

結論として，人工種苗生産したイワガキは23ヶ月後には平均全重量が183.9gに達し，一部は商品として出荷可能となることが確認された。また，養殖場所による成長の差違を連続的に観察するなど，標本を剥離できない場合の測定部位として殻高が優れていることが分かり，その後の養殖場所の選定に役だった。さらにイワガキは殻高50mm程度で性成熟に達することが分かり，今後本種の資源管理を考える時の基礎的資料が得られた。

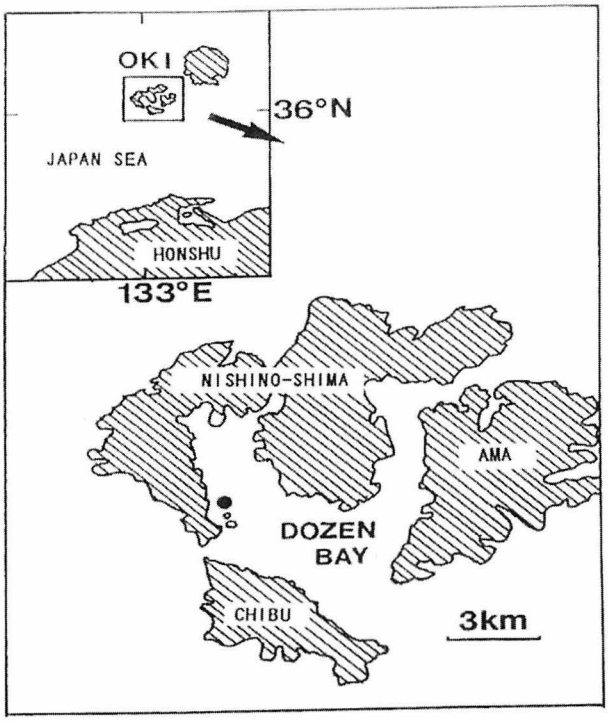


Fig. IV-1-1 Location of the study site in Dozen Bay, the Oki Islands, where the hanging-cultured Iwagaki oyster, *Crassostrea nippona* was sampled (solid circle).

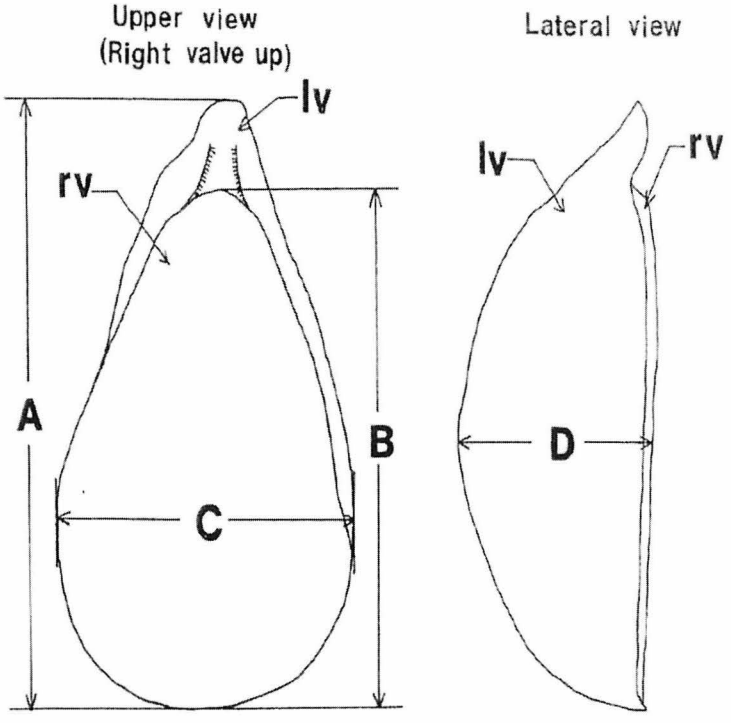


Fig. IV-1-2 Illustration of measured parts of Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* shell.
A: total shell height, B: shell height, C: shell length, D: shell width, lv: left valve, rv: right valve.

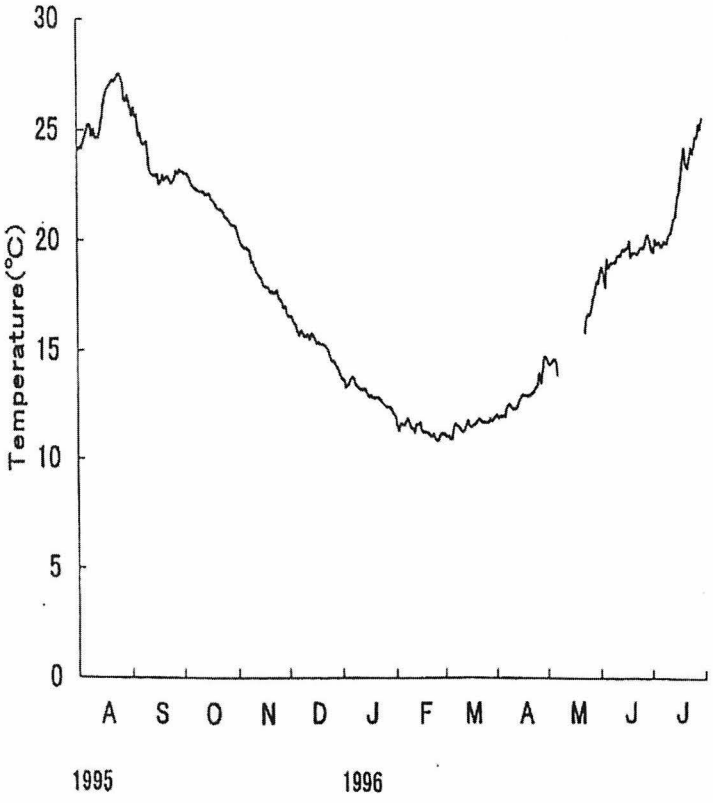


Fig. Ⅳ-1-3 Seasonal changes in water temperature measured on 5 m depth at the study site in Dozen Bay.

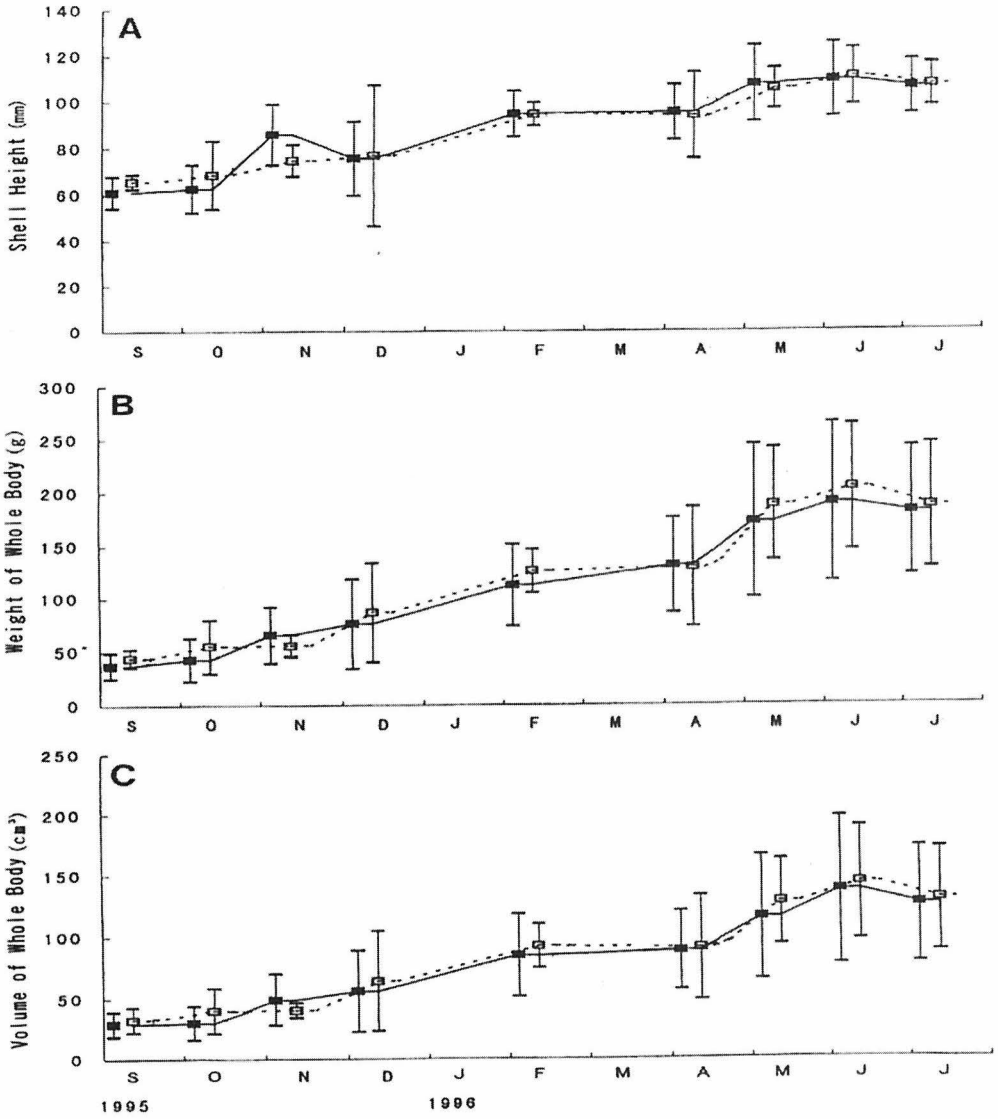


Fig. IV-1-4 Seasonal changes in shell height(A), weight of whole body(B), and volume of whole body(C) for hanging cultured Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* in Dozen Bay.Vertical bars indicate ±1 S. D..
■: male, □: female

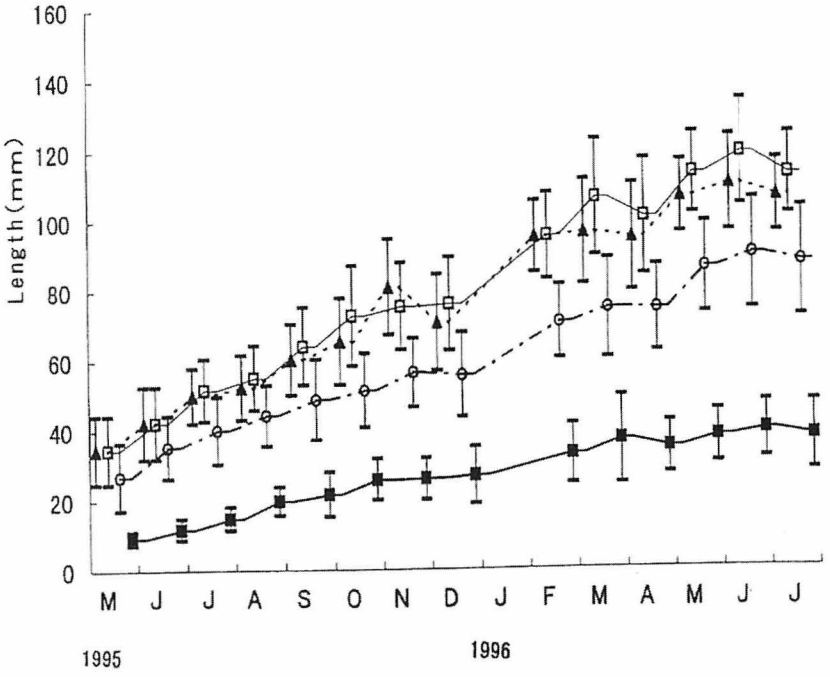


Fig. IV-1-5 Seasonal changes in lengths of four parts for hanging cultured Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* in Dozen Bay. Vertical bars indicate ±1 S. D..
▲: shell height, □: total shell height, ○: shell length, ■: shell width.

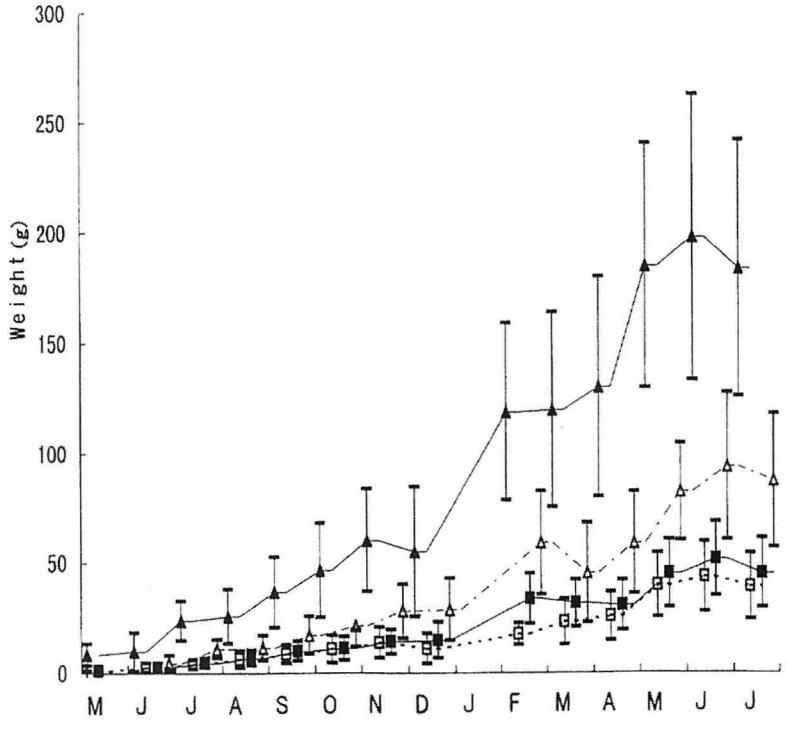


Fig. IV-1-6 Seasonal changes in weights of four parts for hanging cultured Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* in Dozen Bay. Vertical bars indicate ±1 S. D..
▲: weight of whole body, ■: weight of right valve, △: weight of left valve, □: soft body weight.

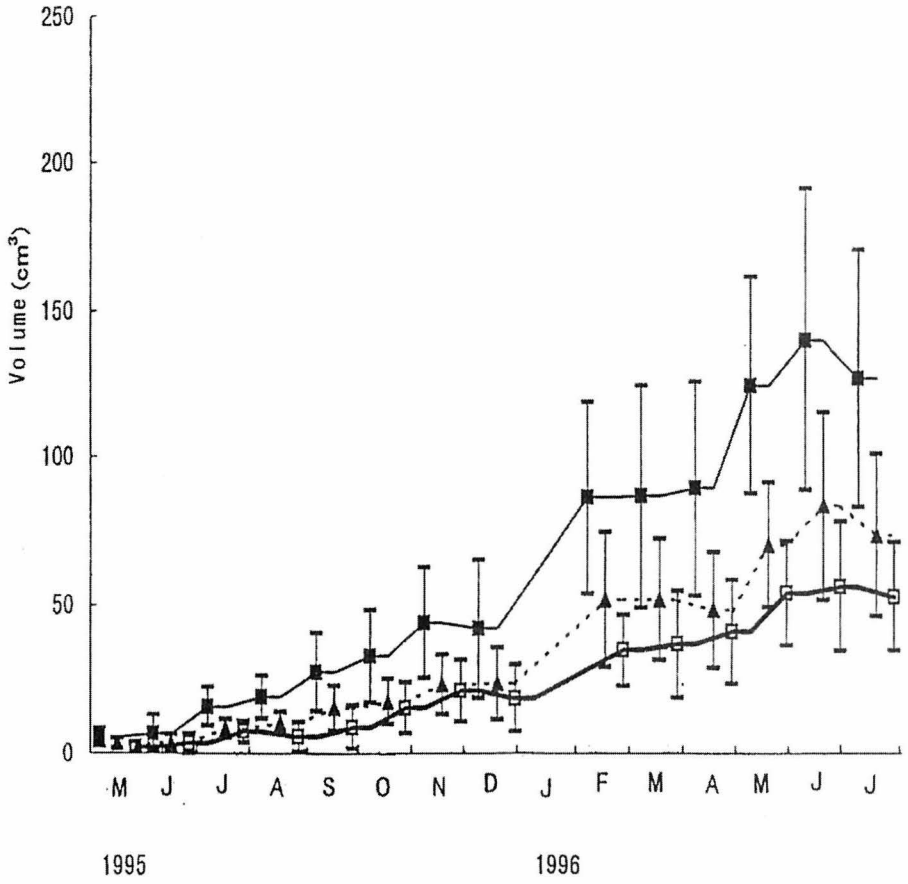


Fig. IV-1-7 Seasonal changes in volumes of three parts for hanging cultured Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* in Dozen Bay. Vertical bars indicate ±1 S. D..
■: volume of whole body, ▲: volume of valves, □: volume of inner space.

Table IV-1-1 Regression analysis of various body parts(x) against volume of whole body(y).

Variables	Regression equations	Coefficient of determination
Weight of whole body(g)	y=2.3979+0.7205x	0.9804
Volume of valves(cm^3)	y=2.1818+1.7018x	0.9699
Weight of left valve(g)	y=2.4394+1.5347x	0.9557
Volume of inner space(cm^3)	y=3.1086+2.4248x	0.9408
Weight of right valve(g)	y=3.9708+2.9542x	0.9048
Soft tissue weight(g)	y=1.5965+3.3568x	0.9007
Shell height(mm)	log(y)=3.4196+2.7003Log(x)	0.8972
Total shell height(mm)	log(y)=3.3631+2.6351Log(x)	0.8666
Shell length(mm)	log(y)=2.6602+2.4407Log(x)	0.8496
Shell width(mm)	log(y)=1.2126+2.0298Log(x)	0.7358
Weight of adductor muscle(g)	y=26.8787+41.841x	0.6729

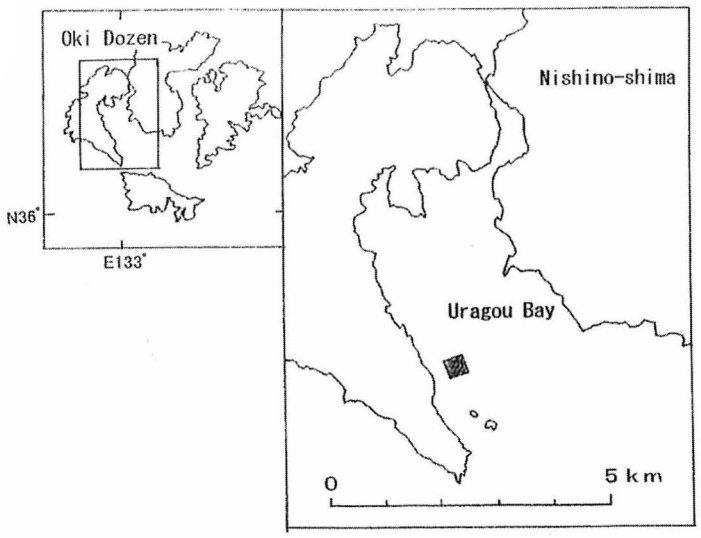


Fig. IV-2-1 Sampling station in Uragou Bay.
■: site of hanging culture

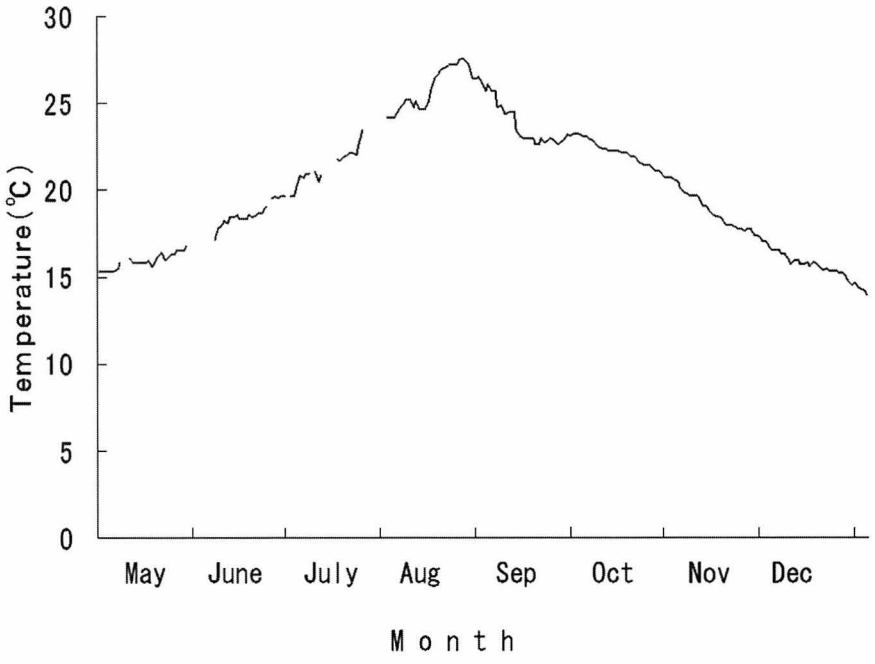


Fig. IV-2-2 Seasonal changes in water temperature on 10 m depth at the site of Sea Farming Division, Shimane Prefectural Fisheries Technology Center, 2.5 km distant from the site of hanging culture (from May 1995 to July 1995) and on 5 m depth at the site of hanging culture (from August 1995 to December 1995).

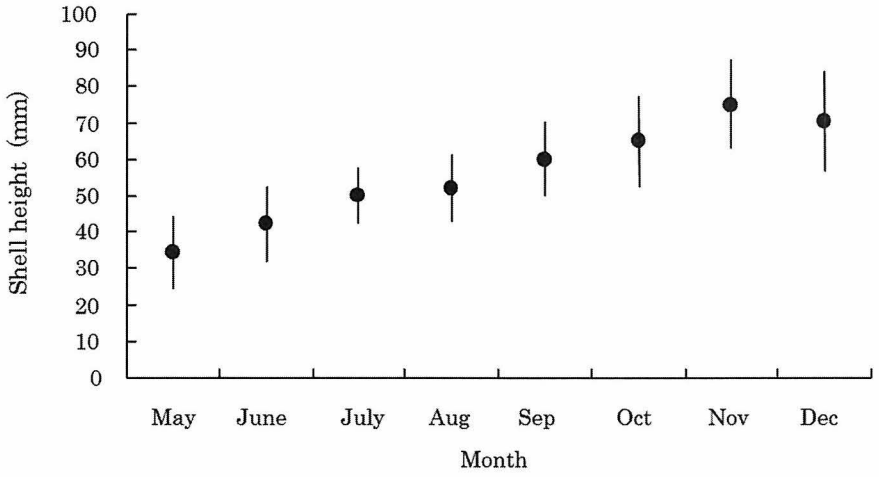


Fig. IV-2-3 Seasonal changes in mean shell height of Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanginig culture from May to December 1995. Vertical bars indicate ±1 S. D..

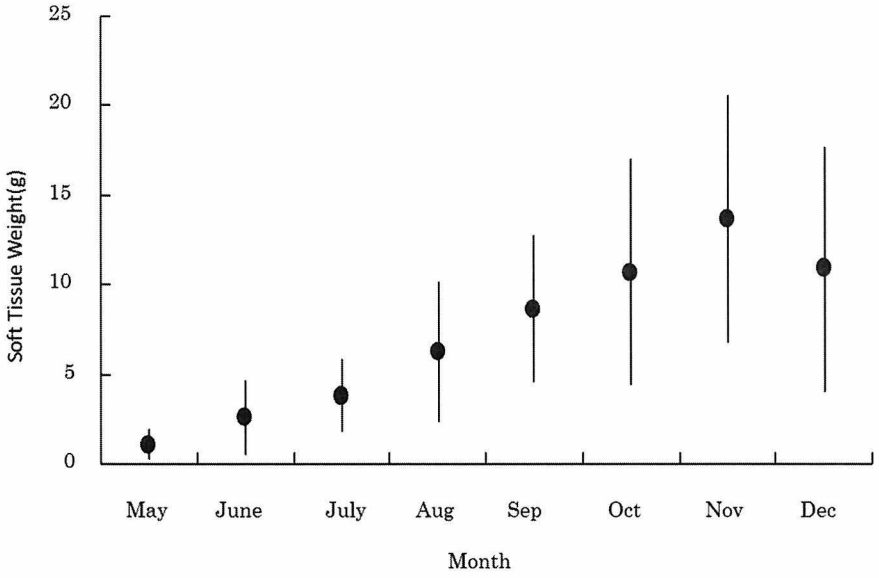


Fig. IV-2-4 Seasonal changes in mean soft tissue weight of Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanginig culture from May to December 1995. Vertical bars indicate ±1 S. D..

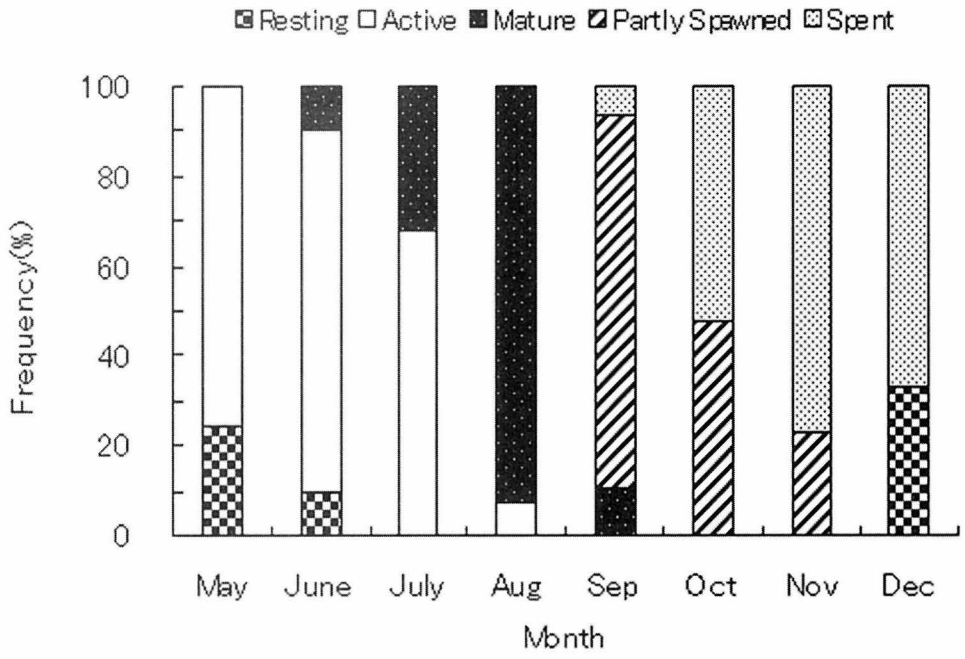


Fig. IV-2-5 Frequency distribution of gonadal development stages of Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanging culture from May to December 1995.

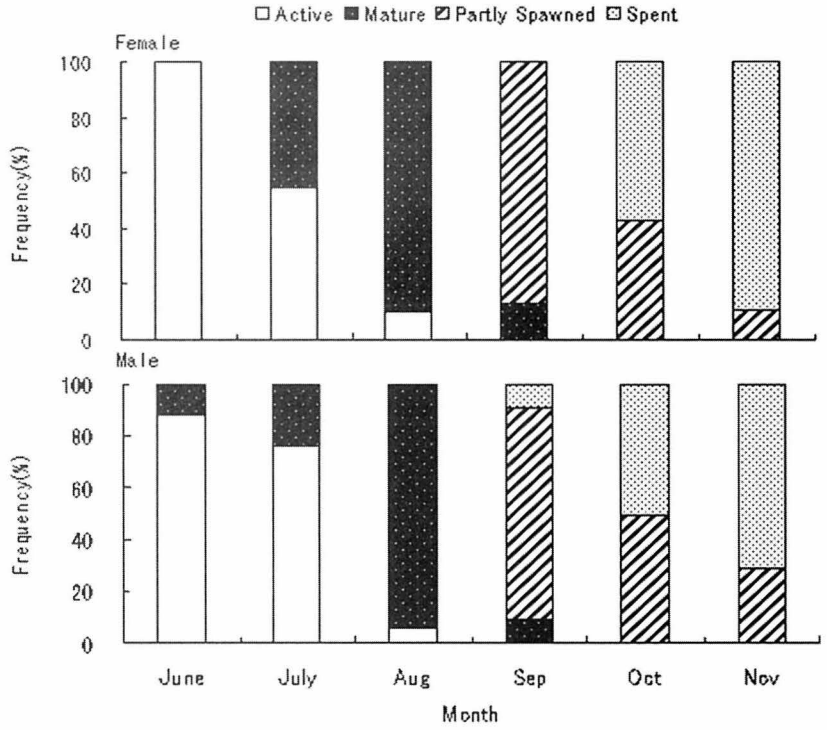


Fig. IV-2-6 Frequency distribution of gonadal development stages of female and male Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanging culture from May to December 1995.

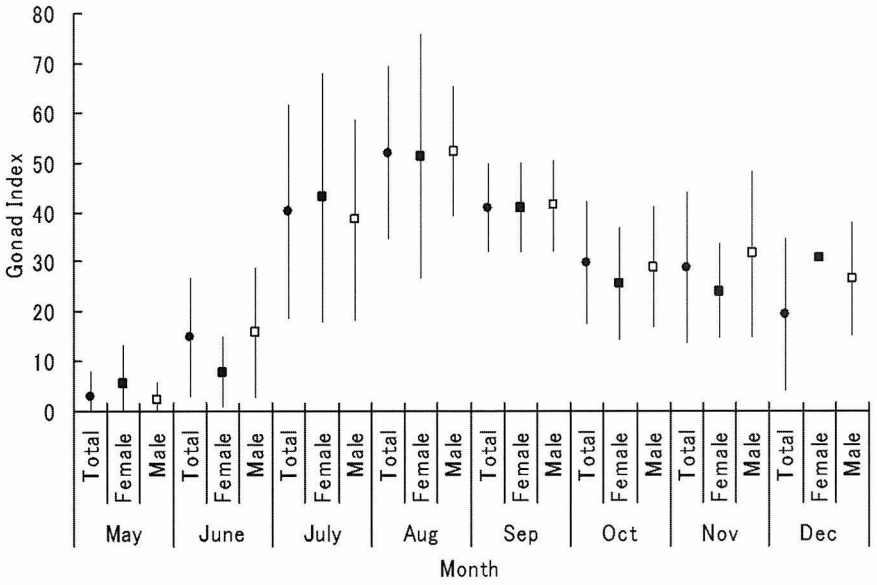


Fig. IV-2-7 Seasonal changes in gonad index of Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanging culture from May to December 1995. Vertical bars indicate ±1 S. D..

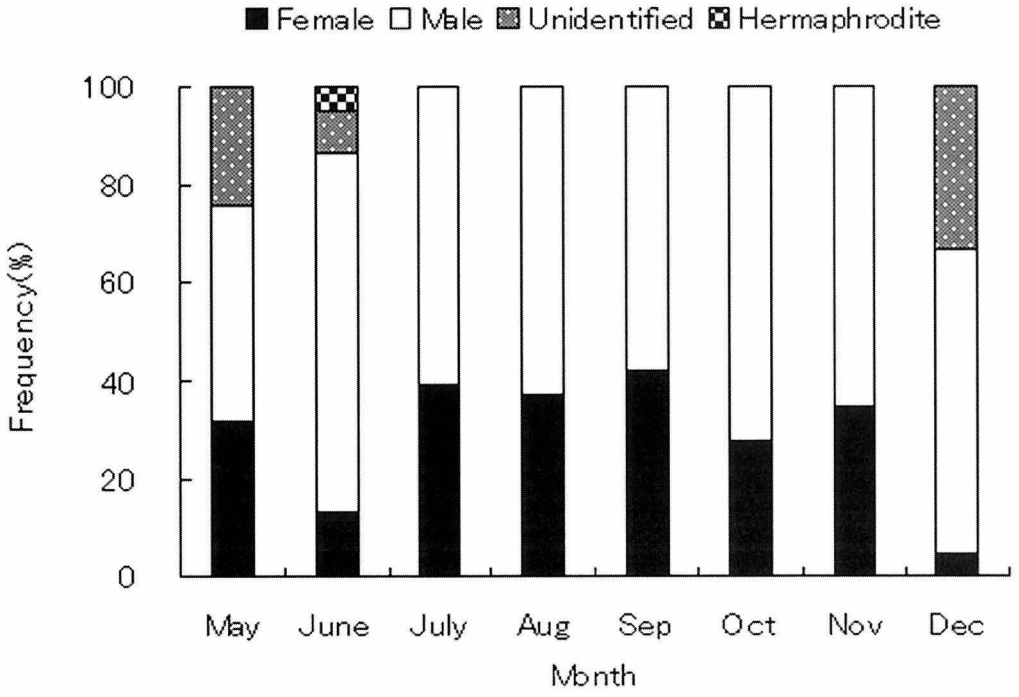


Fig. IV-2-8 Frequency distribution of sex ratios in Iwagaki oysters *Crassostrea nippona* at the site of hanging culture from May to December 1995.

第５章　総括

本県では隠岐島を中心に養殖が行われており，二枚貝の養殖の重要性は高まってきているが，この水域では各地の内湾域で行われているノリやマガキ養殖の事業化は困難であると判断されていた。そこで，本県ではそのような水域でも生育し，商品化が可能なイタヤガイやイワガキを対象種として選定し，人工種苗生産技術や養殖技術を開発してきた。これらの外海に生息する二枚貝は，今後餌料の少ない沖合域に設置可能な養殖施設が開発されれば養殖が拡大する可能性が高まるとともに，開発された種苗生産技術は，その他の外海に生息する有用二枚貝類等にも応用できると考えられる。また，世界的な人口の増加やEEZなど各国の資源囲い込みに伴って将来必要となるタンパク源確保のための技術としても貢献できると考えられる。

本研究では，著者が関わったイタヤガイとイワガキの，種苗生産技術開発や成長・成熟に関する研究の成果について論述した。

まず，イタヤガイの人工種苗生産技術の開発を目的として，第１章では餌料の投与や水温制御による母貝の成熟促進を検討した。具体的には，まずイタヤガイ母貝の成熟と餌料の質および量との関係を観察する際の基礎知見とするため，植物プランクトン４種を与えた場合の母貝の濾水速度と消化率を測定した。

母貝の濾水速度，消化率は，投与した餌料種類および濃度によって異なった。すなわち，餌料として*Chaetoceros*を投与した場合には，濾水速度は他種より早い傾向があるが，消化率は最も低く，餌料濃度の増加に伴い，顕著に減少した。*Pavlova*を投与した場合には，濾水速度は*Chaetoceros*に次いで早かった。また，消化率は最も高く，餌料濃度の増加による消化率の低下は緩やかであった。*Tetraselmis*を投与した場合には，濾水速度は*Pavlova*に次いで早く，消化率も*Chaetoceros*より高かった。餌料濃度の増加による消化率の低下は*Pavlova*と同様緩やかであった。*Nannochloropsis*を投与した場合には，濾水速度は４種中最も遅く，消化率は*Tetraselmis*と*Pavlova*の中間の値であったが，少ない餌料濃度で消化率が低下する傾向があった。また，高い消化率が維持される餌料濃度の範囲での最大の同化速度は，*Pavlova*と*Chaetoceros*がほぼ同様な値であり，*Tetraselmis*はそれらの約２倍の値で最も多く，*Nannochloropsis*はそれらの約10分の１の値で，最も少なかった。

ただし，消化率の高低は，必ずしも貝の成長の良否と相関せず，それだけでは餌料の価値は判断できないとされていることから，実際に同じ有機物摂取量となる濃度で*Chaetoceros*，*Pavlova*，*Tetraselmis*の３種のプランクトンを与えて飼育し，イタヤガイの成熟状況を観察した。一日当たりの投与餌料量は母貝の軟体部乾燥重量の1.2～2.9%であった。その結果，人為的に餌料を投与した各区での母貝の殻長，全重量は実験開始前後でほとんど変化が観察されなかった。また，実験終了時の軟体部重量，貝柱重量，生殖巣重量の平均値には３区の間で有意な差が確認されなかった。しかし，目視観察による成熟段階の判定では*Tetraselmis*区が*Pavlova*および*Chaetoceros*区より若干ではあるが成熟が進んでいる傾向が見られた。

さらに，水温制御を行うとともに一日当たりに投与する餌料量を母貝の軟体部乾燥重量の4%に増加し，餌料種類を*Tetraselmis*を中心に複数種としてイタヤガイ母貝の成熟促進を試みた。その結果，実験室内でも母貝を天然の垂下個体と遜色ない程度まで成長させることができた。すなわち，*Tetraselmis*を含む複数種を１日当たり母貝の軟体部重量の4%投与し、母貝の成熟段階が成長期から水温17℃前後で飼育することで、海中垂下群とそん色のない成長、成熟を示すことが明らかになり、イタヤガイの成熟促進を行う前提となる人工飼育の条件が判明した。今後、水温や日照条件を検討することで実用的な母貝の成熟促進技術が開発できると考えられる。

第２章では，イタヤガイの人工種苗生産を安定させるための技術開発を目的に，飼育水中の細菌相の制御による幼生飼育の安定化について検討した。幼生の飼育水の濾過，殺菌状況を変化させて水中の細菌の状態を観察したところ，飼育水の濾過，殺菌の程度により，幼生収容後の生菌数およびコロニーの性状が異なることがわかった。すなわち，孔径0.4μmで濾過を行うか，その後紫外線照射し，人為的に細菌数を減少させた飼育水は，貯水当初は生菌数が少ないが，幼生収容後は急激に増加して，孔径1μmで濾過を行った飼育水中の生菌数より多い状態で安定し，出現したコロニーの性状も異なった。また，孔径3μmで濾過した飼育水中の生菌数は，幼生収容当

初は孔径 1μm で濾過した飼育水中の生菌数より少なかったが，それ以降 1μm 濾過では生菌数は徐々に減少した後に安定した。それに対し，3μm 濾過では徐々に増加した後に安定し，やはりコロニーの性状が異なった。一方，幼生の沈積は生菌数が 10^5CFU/ml となり，かつ特徴的なコロニーが増加した時に多く観察される傾向があった。

従って，孔径 1μm の簡易カートリッジ・フィルターを用いて濾過した海水を用いることで，再現性の高い幼生飼育が可能であると考えられた。さらに，細菌の属まで査定し，飼育水中の細菌相の変動を観察した。その結果，幼生の生残および成長が不良であった系では，飼育初期に各属の占有率が大きく変動しており，細菌相を構成する属組成の安定性が幼生の生残および成長に大きな影響を与える要因の一つであることが示唆された。

すなわち，幼生の生残および成長が不良であった系では飼育中期から後期にかけて属分類の不可能な菌株の増加とともに，*Moraxella* のみが優占する単純な菌相に収束したのに対し，幼生の生残および成長が良好であった系では複数の属からなる安定な細菌相が形成されていたことから，特定細菌群の影響を排除する緩衝的機能が働き，その結果良好な幼生の生残および成長につながったものと推察された。

以上のことから，水中の細菌組成を多様化し，安定性の高い状態に保つことが，二枚貝幼生を飼育する際の最も重要な要因であると考えられた。さらに，生産現場でも実行可能な，水中の細菌組成を多様化し，安定性の高い状態に保つ１手法として，*Nannochloropsis* sp. の細胞を直接飼育水へ添加してイタヤガイ幼生の成長や生残を観察したところ，*Nannochloropsis* sp. の培養液を細胞ごと 5,000 ～ 10,000cells/ml の範囲で添加することで幼生の生残や成長を高める効果があることが明らかとなった。

第３章では，イタヤガイについて人工種苗生産技術に比べ低コストで種苗を確保できる天然採苗技術の開発を目的に，母貝集団を造成することにより浮遊幼生の発生を増加させ，天然採苗量を増加させる方法を検討した。

その結果，母貝である１齢貝の収容密度を５段丸籠１段当たり 15 個以下として，水深 20 m から 30 m に垂下することにより，母貝に対する水温や付着物の影響が小さく，かつ産卵期までの生残りが良くなることが明らかとなり，母貝集団を造成できる可能性が高まった。

また，今回の実験では，人為的に造成した母貝集団由来と考えられる浮遊幼生が湾内に出現し，稚貝の天然採苗量の増加に寄与していると推定された。

しかし，従来から養殖用に採取されている，天然海域に生息する母貝に由来すると考えられる稚貝がどの程度混入しているか推定できなかったため，人為的に造成した１万個規模の母貝集団から生産された稚貝量の推定はできなかった。

第４章では，イワガキの増養殖の基礎的知見を得るため，まず，養殖イワガキの成長と，野外の現場で測定可能な，イワガキの成長を良く反映し，かつ測定が容易な形質を検討した。

その結果，人工種苗生産イワガキのふ化後の平均殻高，平均全重量，平均全容積は，12 ヶ月後にそれぞれ 52.2mm，25.6g，19cm^3 に，23 ヶ月後には 106.2mm，183.9g，126.9cm^3 に達した。イワガキの成長は放卵・放精や生殖巣の発達，低温や植物プランクトン量から推定された利用可能な餌料の影響を受けると考えられた。また，養殖イワガキの全容積を基準として，各測定部位との回帰関係を観察した結果，全容積に次ぐ測定部位として容積測定より簡便な全重量や左殻重量が適していると考えられた。重量は，漁獲量を漁獲個体数に換算する時に重要な資料であるので，標本の剥離や解剖が可能であればこれらの重量の測定が必須である。しかしながら，限られた時間内で大量の標本処理が要求される場合や，現場の調査などで標本を剥離できない場合などを考えると，重量や容積などに比べて長さを測定するメリットは極めて大きい。各部の長さのうち殻高は最も決定係数の値が高く，他の容積や重量に比べても決定係数の値が大きく異なることはなかった。従って，上記のような場合には殻高が成長を観察するために最も実用的な測定部位とみなすことができると考えられた。

続いて，近年，全国で漁獲や養殖が盛んになり地域ブランド化が進んでいるイワガキを持続的に安定して生産する上で重要な情報である産卵開始年齢や大きさを推定するため，養殖イワガキを対象にして，最初の成熟過程を観察した。1995 年５月から 12 月にかけて，隠岐島浦郷湾で垂下養殖されたイワガキ０歳貝の殻高，生殖巣指数および組織学的成熟段階の推移を観察したところ，生殖巣の発達開始時期は，従来報告されている漁獲サイズのイワガキの発達開始時期より遅れるものの殻高 50mm 程度で性成熟に達し，放卵・放精時期は漁獲サイズのイワガキと同

様に最高水温期からの下降期であると推定された。

以上のように本研究はまず，天然採苗の普及と採苗稚貝数の増加により島根県に普及したイタヤガイ養殖を継続させ，沿岸漁業の振興を図ることを目的とした技術開発から始まった。イタヤガイ母貝の成熟促進技術の開発では，適切な餌料の投与と水温制御により成熟促進を行う前提となる人工飼育の条件が判明した。人工種苗生産を安定させるための技術開発では，幼生の生残や成長が飼育水中の細菌相の動態に影響されていることを見いだし，細菌相の制御法として植物プランクトンの *Nannochloropsis* を飼育水中に添加することで，幼生の生残と成長を高める技術を開発した。この手法は現在，イワガキの人工種苗生産にマニュアル化して使われている。天然採苗量を増加させるための技術開発では，浦郷湾内に一定規模の母貝集団を造成することで，湾内に浮遊幼生が留まり，天然採苗数が増加することが分かった。このことは，浦郷湾と同様な性質を持つ湾であれば，イタヤガイと同様な性質を持つ二枚貝を対象にした母貝集団の造成により天然採苗が可能となることを示した。

次に，イタヤガイの後継種としてのイワガキ養殖の振興のためにイタヤガイの種苗生産で得られた知見を応用して人工種苗生産技術を確立し，人工種苗の成長を観察することで養殖の実用化を確認した。また，実用的な測定部位を決定できたことは，試験養殖を用いた好適な養殖場所の探索に役立った。

さらに，養殖イワガキを用いて最初に性成熟に達する大きさを推定し，本種の資源管理に有用な基礎資料を提供した。

本研究で対象とした，外海に生息する二枚貝は，今後餌料の少ない外海域に設置可能な養殖施設が開発されれば養殖が拡大する可能性が高まるとともに，開発された種苗生産技術は，その他の外海に生息する有用二枚貝類等にも応用できると考えられる。また，世界的な人口の増加や EEZ など各国の資源囲い込みに伴って将来必要となるタンパク源確保のための技術としても有用であると確信する。

謝辞

本研究を行うにあたり，終始懇切なるご指導ならびにご鞭撻をいただいた島根大学生物資源科学部教授，佐藤利夫博士に深謝の意を表する。

同じくご校閲の労をとっていただき有益なご助言を賜った島根大学汽水域研究センター教授，荒西太士博士，島根大学生物資源科学部准教授，山口啓子博士，山口大学農学部准教授，細井栄嗣博士，独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所，林育夫博士，株式会社「やつか」大島久満博士に衷心よりお礼申し上げる。

山本倫久氏（現蒲郡市民病院）は，共同研究者の一人として，二枚貝浮遊幼生の飼育水中の細菌相調査に際し膨大な試料を分析されるなど，精力的に活動され，この研究推進の大きな力となった。彼の助力なくしてはこの研究は成し遂げられなかった。

浜口昌巳博士（独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所）は，細菌の分類法についてご指導いただくと共に，二枚貝幼生や稚貝の生理・生態について有益なご教示をいただいた。

中上　光氏（中上養殖場）は自ら経営する養殖場で，イタヤガイやイワガキの飼育実験を許可されるなど，調査・研究の遂行に多大な便宜を図っていただいた。

山本孝二氏（島根県隠岐支庁水産局），石田健次氏（島根県水産技術センター）の両氏は，著者の同僚として調査・研究を共同して行い，取りまとめに際してご協力いただいた。

日当澄江氏，加藤栄子氏，坂根睦美氏，谷掛さつ子氏には，標本の測定や飼育実験の準備など，調査・研究のために必要な作業を確実に実行していただき，大変お世話になった。

また，安達二朗博士（元島根県水産試験場長）には論文作成に関して暖かい励ましをいただき，鳥羽光晴博士（千葉県水産総合研究センター東京湾漁業研究所），藤原正夢氏（京都府海洋センター）にはそれぞれ専門分野から貴重な議論や情報をいただいた。さらに島根県水産技術センター北沢博夫所長には，本論文の作成にあたり，種々のご便宜を賜った。本論文はこれらの方々のご指導・ご協力がなければ完成することはできなかったであろう。以上の方々に心からお礼申し上げます。

文献

1) 食料白書編集委員会 2008. 2008（平成20）年版食料白書，食料とエネルギー－地域からの自給戦略－ 153pp.

2) 農林水産省 2008. 平成20年度版食料・農業白書，p. 269，時事新報社

3) F.A.O.2007.The State of World Fisheries and Aquaculture 2006, FAO Fisheries and Aquaculture Development FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 29pp., Rome.

4) 農林水産省大臣官房統計部 2010. 平成19年漁業・養殖業生産統計年報，221pp.，（財）農林統計協会，東京.

5) 中国四国農政局島根農政事務所 1965～2008. 島根農林水産統計年報，島根農林統計協会，松江.

6) 竹内四郎，森本正英 1963. ハマチ養殖試験（36年度），島根水試事報，昭和34-36年度，278-281.

7) 服部守男，竹内四郎 1967. 有用藻類養殖試験（昭和39-40年度），島根水試事報，昭和39-40年度，77-81.

8) 松森 学，田中伸和 1983. ヒラメの種苗生産，島根県栽培漁業センター事業報告書，昭和57年度，9-16.

9) 島根県水産試験場 1982. 島根県水産試験場80年史，398pp.

10) 大島展志 1977. ホタテガイ養成試験（昭和47年度），島根水試事報，昭 和47-48年度，339-342.

11) 勢村 均 1991. 島根県のイタヤガイ養殖，日本海ブロック試験研究集録，(23)，59-64.

12) T.R.Waller 1991. Evolutionary relationships among commercial scallops (Mollusca;Bivalvia;Pectinidae), pp. 1-72. In “Scallops: Biology, Ecology, and Aquaculture (ed. S. E. Shumway)”, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 21, Elsevier, Amsterdam.

13) 田中弥太郎 1977. 貝類増殖場の形成条件イタヤガイ，水産土木，14，19-24.

14) 池原宏二，小川泰樹 1997. 全国の地方設定魚種の漁獲量（1956-1993年の全国統計対象種以外の漁獲量），水産庁振興部開発課，235pp.

15) 彦田和昭 1967. 出雲東部沖における *Pecten (Notovola) albicans* (Schroter) の調査について，島根水試事報，52，11-28.

16) 大島展志 1978. イタヤガイ天然採苗試験（予報），島根水試事報，昭和50年度，288-292.

17) 阿山多喜也 1986. イタヤガイ，pp. 446-454，“浅海養殖”（資源協会篇），大成出版社，東京

18) 勢村 均，由木雄一，竹内四郎 1983. イタヤガイ採苗，養殖の現状，水産の研究，8，114-120.

19) 堀田正勝 1973. 貝類種苗生産研究1，イタヤガイ，広島水試事報，昭和47年度，7-9.

20) 松浦裕幸，森 勝義 2005. イワガキ，pp. 269-278，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.

21) 小野 進 1978. イワガキ養殖試験，昭和52年度，秋田水試事報，358-359.

22) 中上 光，沖野 晃，勢村 均 1996. 島根県隠岐島前湾における養殖イワガキの成長（予報），日本海ブロック試験研究集録，(33)，71-74.

23) 水土舎 2001. 平成12年度島根県隠岐島前地区イワガキ特産化推進事業，隠岐島前地区イワガキマーケテイング戦略策定調査報告書，170 pp.

24) 島根県水産技術センター生産開発グループ 2009. 種苗生産実績，島根県水産技術センター年報（平成19年度），添付資料.

25) 彦田和昭 1975. 日本海におけるノリ養殖試験，島根水試事報，昭和44-46年度，319.

26) 彦田和昭，山城隆文，加藤章三 1961. カキ増殖試験Ⅰ，同上，昭和32-34年度，222-223.

27) 長田 宏 1994. 日本海南部におけるクロロフィルa量と透明度の関係，日水研報告，(44)，39-47.

28) 浮 永久 2003. 栽培漁業の発展方策とブラウンベルト構想，北水研ニュース，(64)，2-5.

29) 森 勝義 1989. 二枚貝の成熟，発生，成長とその制御，pp. 327-363，“水族繁殖学”（隆島史夫，羽生 功編），緑書房，東京.

30) B.J.Barber & N.J.Blake 1991. Reproductive physiology, pp. 377-428. In “Scallops: Biology, Ecology, and Aquaculture”(ed. by S. E. Shumway), Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol.21, Elsevier, Amsterdam.

31) 大森 信，池田 勉 1976. 動物プランクトン

生態研究法，共立出版，東京，pp. 1-229.
32) V. M. Bricelj & S. Shumway 1991. Physiology: Energy acquision and utilization, pp. 305-346. In " Scallops: Biology, Ecology, and Aquaculture " (ed. by S. E. Shumway), Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 21, Elsevier, Amsterdam.
33) G. R. Hasle 1978. Using the inverted microscope, pp. 191-196. In " Phytoplankton manual " (ed. by A. Sournia), Monographs on Oceanographic Methodology, Vol. 6, Unesco, Paris.
34) R. J. Conover 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. Limnol. Oceanogr., 11, 338-345.
35) J. E. Ward, H. K. Cassell & B. A. Donald 1992. Chemoreception in the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). I. Stimulatory effects of phytoplankton metabolites on clearance and ingestion rates. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 163, 235-250.
36) R. E. Palmer 1980. Behavioral and rhythmic aspects of filtration in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* (Say) and the oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 45, 273-295.
37) W. M. Peirson 1983. Utilization of eight algal species by the bay scallop *Argopecten irradians concentricus* (Say). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 68, 1-11.
38) C. J. Langdon & M. J. Waldock 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. J. Mar. Biol. Ass. U. K., 61, 431-448.
39) 佐竹武元，森脇晋平 1981. イタヤガイの成熟に関する研究－１，生殖巣の季節的変化. 島根水試研報，(3)，36-43.
40) 岡内正典 1988. テトラセルミスの大量培養に関する研究. 養殖研報，(14)，1-124.
41) Y. F. Marty, J. Dekaunay & J. F. Samain 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 163, 221-234.
42) A. N. Sastry 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae), pp. 113-292. In " Reproduction of Marine Invertebrates. " (eds. A. C. Giese & J. S. Pearse). Academic Press, New York.
43) R. Frias & M. Segodiva 2010. Gonad development of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* in a recirculating system: first step toward the development of conditioning and maturation protocols. J. Shellfish Res., 29, 303-308.
44) 石田健次，近藤徹郎，勢村 均 1995. 島根県栽培漁業センターにおけるイタヤガイ種苗生産の現状，栽培技研，23，135-139.
45) 田中邦三，永原正信，赤嶺達郎，池原宏二 1981. 昭和55年度「近海漁業資源の家魚化システムの開発に関する総合研究」プログレス・レポート（イタヤガイ），日本海区水産研究所，(1)，86-121.
46) T. E. Lewis, C. D. Garland & T. A. McMeekin 1986. Manual of Hygiene for Shellfish Hatcheries, University of Tasmania, 45pp.
47) V. L. Loosanoff 1959. The size and shape of metamorphosing larvae of *Venus (Mercenaria) mercenaria* grown at different temperatures. Biol. Bull., 117, 308-318.
48) B. L. Bayne 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilis deulis* (1). Ophelia, 2, 1-47.
49) A. Calabrese & H. C. Davis 1970. Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. Helgol. Wiss. Meeresunters., 20, 553-564.
50) C. J. Sinderman 1990. " Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish ", Vol. 2, Academic Press, pp 41-48.
51) C. J. Sinderman 1990. " Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish ", Vol. 2, Academic Press, pp 311-317.
52) C. Brown 1973. The effects of some selected bacteria on embryos and larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. J. Invertebr. Pathol., 21, 215-223.
53) P. R. Walne 1956a. Experimental rearing of larvae of *Ostrea edulis* (L) in the laboratory. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Fishery Invest., London Ser., 20, pp. 1-23.
54) P. R. Walne 1956b. Bacteria in experiments on rearing oyster larvae. Nature, 178, 91.

55) P.R.Walne 1958. The importance of bacteria in laboratory experiments on rearing the larvae of *Ostrea edulis* (L.). J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 37, 415-425.

56) R.Ukeles & B.M.Sweeney 1969. Influence of dinoflagellate trichocysts and other factors on the feeding of *Crassostrea virginica* larvae on *Monochrysis lutheri*. Limnol. Oceanogr., 14, 403-410.

57) A.S.Nottage & T.H.Birkbeck 1986. Toxicity to marine bivalves of culture supernatant fluids of the bivalve pathogenic *Vibiro* strain MCNB 1338 and other marine vibrios. J. Fish. Dis., 9, 249-256.

58) H.S.Tubiash, R.R.Colwell & R.Sakazaki 1970. Marine vibrios associated with bacilliary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. J. Bacteriol., 103, 272-273.

59) T.H.Birkbeck, J.G.Mchenery & A.S.Nottage 1987. Inhibition of filtration in bivalves by marine vibrios. Aquaculture, 67, 247-248.

60) L.H.DiSalvo, J. Blecka & R. Zebal 1978. *Vibrio anguillarum* and larval mortality in a California coastal shellfish hatchery. Appl. Environ. M. Microbiol., 35, 219-221.

61) H.S.Tubiash, P.E.Chanley & E.Leifson 1965. Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. Ⅰ.Etiology and epizotiology. J. Bacteriol., 90, 1036-1044.

62) R.R.L.Guillard 1959. Further evidence of the destruction of bivalve larvae by bacteria. Biol. Bull., 117, 258-266.

63) M.M.Helm & F.M.Smith 1971. Observation on a bacterial disease in laboratory-cultured larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis* L. Int. Counc. Explor. Sea.,Doc. C. M. 1971/K: 10, 7pp.

64) R.A.Murchelano, C.Brown & J.Bishop 1975. Quantitative and qualitative studies of bacteria isolated from seawater used in the laboratory culture of the American oyster, *Crassostrea virginica*. J. Fish. Res. Board Can., 32, 739-745.

65) D.Prieur & J.P.Carval 1979. Bacteriological and physic-chemical analysis in a bivalve hatchery; techniques and preliminary results. Aquaculture, 17, 359-374.

66) H.Hidu & H.S.Tubiash 1963. A bacterial basis for the growth of antibiotic treated bivalve larvae. Proc. Natl. Shellfish Assoc., 54, 25-39.

67) M.LePennec & D.Prieur 1977. Antibiotics in larval rearing of marine bivalves. Aquaculture, 12, 15-30.

68) C.Jeanthon, D.Prieur & J.C.Cochord 1988. Bacteriological survey of antibiotic-treated sea water in a Pecten *maximus* hatchery. Aquaculture, 71, 1-8.

69) 勢村 均 1994. イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響. 水産増殖, 42, 157-164.

70) C.D.Garland, S.L.Cooke, T.A.McMeekin & J.E. Valentine 1986. Effects of 0.2μm membrane-filtered seawater as a culture medium on filtered eggs and larvae of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Aust. J. Mar. Freshw. Res., 37, 713-720.

71) K.Nogami & M.Maeda 1992. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*. Can. J. FIsh. Aquat. Sci., 49, 2373-2377.

72) 前田昌調 1994. 水産増養殖における微生物バイオテクノロジー. 養殖研報, (23), 1-15.

73) H.Sako 1988. Survival of fish pathogenic bacteria in seawater. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 13, 45-53.

74) 絵面良男, 丸茂隆三 1984. 海洋の生物過程, 恒星社厚生閣, 東京 pp. 160-167.

75) 藤原正夢, 上野陽一郎, 岩尾敦志 1993. トリガイ幼生の斃死因と考えられるVibrio属細菌について. 魚病研究, 28, 83-90.

76) D.P.G.Mevel, J.L.Nicolas, A.Plusaquellec & M.Vigneulle 1990. Interactions between bibalve mollusks and bacteria in the marine environment. Oceanogr. Mar. Biol. Annual Rev., 28, 277-352.

77) 島根県 1993. 平成4年度地域特産種量産放流技術開発事業報告書（二枚貝グループ, イタヤガイ), 水産庁, 東京, 18pp.

78) M. Castagna & J. N. Kraeuter 1981. Manual for growing the hard clam *Mercenaria*. Special Rep. Appli. Mar. Sci. Ocean Engi., (249), 1-110.
79) 島根県 1991. 平成2年度地域特産種量産放流技術開発事業報告書（二枚貝グループ，イタヤガイ），水産庁，東京，20pp.
80) 島根県 1995. 平成6年度地域特産種量産放流技術開発事業報告書（二枚貝グループ，イタヤガイ），水産庁，東京，16pp.
81) 島根県栽培漁業センター 1995. イタヤガイ，餌料培養，種苗生産マニュアル，pp. 1-15.
82) 日本海洋学会 1990. 微生物篇，pp. 255-379. “沿岸環境調査マニュアルⅡ（水質・微生物編）”，恒星社厚生閣，東京.
83) 坂崎利一，吉崎悦郎，三木寛二 1988. “新細菌培地学講座，下”，近代出版，東京，pp. 66-69.
84) C. E. Shannon & W. Weaver 1964. The Mathematical Theory of Communication, University of Illinois Press, Urbana, 117pp.
85) P. A. Douillet & C. J. Langdon 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture, 119, 25-40.
86) P. A. Douillet & C. J. Langdon 1993. Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. Biol. Bull., 184, 36-51.
87) 佐藤利夫，山本倫久，勢村 均 2000. イワガキ浮遊幼生飼育水の細菌叢に及ぼす *Nannochloropsis* sp. 培養液の影響. 日本海水学会誌，54，102-110.
88) 菅原義雄 1995. マガキ，pp. 1-17，“カキ・ホタテガイ・アワビ”(野村 正監修)，恒星社厚生閣，東京.
89) 森 勝義 1995. ホタテガイ，pp. 18-27，“カキ・ホタテガイ・アワビ”（野村 正監修），恒星社厚生閣，東京.
90) 南西区水産研究所 1990. イタヤガイ，アカガイ，農林水産技術会議事務局マリーンランチング計画技術指導書，4，11 pp.
91) 水産庁・日本栽培漁業協会 1988-1991. 栽培漁業種苗生産，入手，放流実績
92) 久保 敏，乃万俊文 1990. 養殖漁場の物理環境と海水交換，水工研技報（水産土木），(12)，35-55.
93) 森脇晋平 1982. 垂下飼育したイタヤガイ当歳貝の生殖巣の発達について，水産増殖，30，57-62.
94) 島根県イタヤガイ養殖振興協会 1986. 島根県のイタヤガイ養殖の現状と問題点，40 pp.
95) M. R. Carriker & P. M. Gaffney 1996. A catalogue of selected species of living oysters (Ostreacea) of the world. pp. 1-18. In “The eastern oyster *Crassostrea virginica* “Ed. Kennedy, V. S., Newell, R. I. E. and Eble, A. F., A Maryland Sea Grant Book, College Park, Maryland.
96) 勢村 均 1994. 飼育したイワガキ幼生の形態と成長. 日本海ブロック試験研究集録，(30)：7-16.
97) 勢村 均，山本倫久，佐藤利夫 1999. イタヤガイ浮遊幼生に対する止水海水飼育系と流水海水飼育系における飼育水中の細菌叢の影響. 海水誌，53，267-275.
98) 島根県水産技術センター栽培漁業部 2010.「イワガキ生産マニュアル」，種苗生産および施設管理マニュアル，59-76.
99) M. R. Carriker 1996. The shell and ligament. pp. 76-168. In “The eastern oyster *Crassostrea virginica*” Ed. Kennedy, V. S., Newell, R. I. E. and Eble, A. F., A Maryland Sea Grant Book, College Park, Maryland.
100) V. L. Loosanoff & C. A. Nomejeko 1949. Growth of oysters, *O. virginica*, during different months. Biol. Bull., 47, 82-94.
101) P. A. Bulter 1953. Oyster growth as affected by latitulinal temperature gradients. Comm. Fish. Rev., 15, 7-12.
102) 佐藤忠勇 1971. カキ，pp. 571-620，“養魚学各論”，改訂版，恒星社厚生閣，東京.
103) 今井丈夫，沼知健一，大泉重一，佐藤 茂 1965. 松島湾におけるカキの大量斃死に関する研究Ⅱ. 移植試験による斃死原因の探索と 防御策の検討. 東北水研報，(25)，27-38.
104) 山田常雄，前川文夫，江上不二夫，八杉竜一，小関治男，古谷雅樹，日高敏高（編） 1979. 岩波生物学辞典，第2版，岩波書店，東京. 1654pp.
105) S. E. Shumway 1996. Natural environmental factors. pp. 467-514. In “The eastern

oyster *Crassostrea virginica* ” Ed. Kennedy, V. S., Newell, R. I. E. and Eble, A. F., A Maryland Sea Grant Book, College Park, Maryland.

106) 山田英明 1994. イワガキ資源漁場管理技術. 平成5年度鳥取水試年報, 123-136.

107) 山本孝二, 勢村 均, 中村幹雄 1989. 養殖場の母貝収容力. マリーンランチング計画プログレスレポート, (9), 7-15.

108) 島根県 1997. 平成8年度漁場保全対策推進事業調査報告書（海面）. 平成9年5月, 島根県, 69 pp.

109) T. Imai & S. Sakai 1961. Study of breeding of Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. Tohoku J. Agr. Res., 12: 125-171.

110) 平野 央, 本間仁一 1994. 試験礁におけるイワガキの成長と密度. 日本海ブロック試験研究集録, (32): 37-48.

111) 島根県水産試験場 1958. かき養殖試験. 昭和29-31年度島根県水産試験場事業報告, 927-966.

112) 島根県水産試験場 1961. かき養殖試験Ⅰ, Ⅱ. 昭和32-34年度島根県水産試験場事業報告, 203-240.

113) 井谷匡志, 葭矢 護 1999. 養殖イワガキの成長について. 京都海セ研報, (21), 22-28.

114) 勢村 均, 石田健次, 中上 光, 林 育夫 2001. 島根県隠岐島島前湾で垂下養殖されたイワガキの成長. Venus, 60, 93-102.

115) 菅原義雄 1992. イワガキの生態と増養殖の可能性. 日本水産資源保護協会月報, (317), 7-12.

116) 山田英明 1992. 鳥取県沿岸域のイワガキの漁場造成に向けて－イワガキの成熟状況－. 日本海ブロック試験研究集録, (23), 51-58.

117) 道家道生, 宗清正廣, 辻 秀二, 井谷匡志 1998. 若狭湾西部海域におけるイワガキの生殖周期. 栽培技研, 26, 91-98.

118) 島根県 1998. 「平成9年度漁場保全対策推進事業調査報告書（海面）」66 pp.

119) 高槻俊一 1949. “牡蠣”, 技報堂, 東京, 262 pp.

120) I. Amemiya 1928. A preliminary note on the sexuality of a dioecious oyster, *Ostrea gigas* Thumberg, Japanese Jour. Zool., 2, p. 99-102 (not seen; quoted in Takatuki 1949)

121) 森 勝義 2005. マガキ, pp. 171-268, 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.

Study for the Propagation and Aquaculture of Off-shore Bivalves in Shimane Prefecture

Summary

The present study aimed to establish the fundamental techniques for artificial seed production and a natural spat collection of off-shore bivalves, i.e., the bay scallop *Pecten albicans* and Iwagaki oyster *Crassostrea nippona*.

This study was conducted to understand the effect of various diets and different water temperatures on the manipulation of the gonad development of broodstock, the establishment of favorable bacterial flora for growth and survival of the larvae, and the effect of cultivated parental stock for collecting natural spats of the bay scallop. This study also examined the growth, characters best representing growth and first maturation of hatchery-produced Iwagaki oyster.

The contents are summarized below.

Changes in filtering and digestion rates of adult bay scallop were examined by feeding four species of microalgae, *Chaetoceros gracilis, Pavlova lutheri, Nannochloropsis oculata*, and *Tetraselmis tetrathele* at various concentrations. Filtering rates ranged from 4.9 to 58.9 L/ind./h, and were the highest for *Ch. gracilis* and the lowest for *Nanno. oculata* among the four species. Maximal filtering rates were observed at algal concentrations between 19.3 to 49.2 $\times 10^{-8}$ g/ml. Ingestion rates ranged from 52.6 to 94.1 % within this range of concentrations and were the highest for *P. lutheri* and the lowest for *Ch. gracilis*. Ingestion rate decreased with increase of algal concentrations. Assimilation rates of organic matter, which were estimated from filtering rates and ingestion rates at the above algal concentrations, ranged from 24.1 to 201.0 $\times 10^{-5}$ g/ind./h for *Ch. gracilis*, 46.3 to 247.7 $\times 10^{-5}$ g/ind./h for *P. lutheri*, 6.0 to 23.3 $\times 10^{-5}$ g/ind./h for *Nanno. oculata*, and 101.7 to 720.2 $\times 10^{-5}$ g/ind./h for *Tetra. tetrathele*.

Two experiments were carried out to analyze the effect of different diets and water temperature regimes on the maturation of the bay scallop. The first experiment was designed to evaluate the effect of different diets on broodstock, by providing with each of the micro-algae, *Chaetoceros, Pavlova*, and *Tetraselmis*. In the second experiment, broodstock were kept in water at 17 ℃ after spending the period of the highest summer temperature in natural sea water. They were provided with either *Pavlova or Isochrysis* and *Tetraselmis* every day, the amount of which was 4 % of their dry weight. From the first experiment it was revealed that the broodstock group which was fed with *Tetraselmis* seemed to mature faster than other groups. From the second experiment it was shown that the growth of the broodstock group kept at 17℃ was similar to that of those suspended in the sea, and the former seemed to mature faster than the latter.

Larvae of bay scallop were cultured at 20 ℃ in 500 L polyethylene tanks, and fed with *Pavlova lutheri* and *Isochrysis galbana*. One μm cartridge-filtered seawater (1 μm-seawater), 3 μm cartridge-filtered seawater(3μm-seawater), 0.4μm ceramic-filtered seawater(0.4μm -seawater), and ultraviolet irradiated 0.4μm-seawater (U.V.-seawater) were used as the culture media. Half of the culture waters were replaced with fresh media at 2 days intervals. During the culture period of scallop larvae, bacterial numbers in the culture media increased to more than 1 $\times 10^{5}$ CFU/ml in 3 μm-seawater, 0.4 μm-seawater U.V.-seawater, but less than 1 $\times 10^{5}$ CFU/ml in 1 μm-seawater. Moreover, composition of the colonies was different in different media for the identical culture period. Appearance of brown spots or patches of larvae at the bottom of the tank was observed when bacterial numbers increased to more than 1 $\times 10^{5}$ CFU/ml.

The growth and survival of the larvae cultured

by two different sea water supply methods, i.e., a still water system and a flowing water system, were investigated. In the flowing water system, sea water in the 500 L larval tank flowed out continuously in the amount of 500 L per day. The growth and survival of the larvae in the still water system were found to be higher than those in the flowing water system. The amount of bacteria was almost equal in the two water systems, but generic compositions of bacteria in the flowing water system fluctuated more sharply than those in the still water system. Thus, it is inferred that the growth and survival of the larvae are more affected by the fluctuation of generic composition of bacteria in culture water than by the amount of bacteria. In conclusion, all the genera for the good larval growth and survival have to be stable.

To approach a practical method to stabilize genera, larvae were reared in cultivation water containing 5,000-10,000 cells/ml of *Nannochloropsis* sp. cells, with the results of higher rate of growth and survival compared with the control group.

The effectiveness of making an artificial parental stock of bay scallops was investigated for the natural spat collection in Uragou Bay. A total of 15,000 individual one-year old bay scallops divided into several groups were suspended at 5 m, 15 m, 25 m, and 35 m depths in June 1987. We measured the survival ratio of each depth group, the larval appearance at the four stations, and the appearance of post-settlement spat.

The 25 m depth group showed the highest survival ratio of 80 % over all and we also observed a small quantity of extraneous matter till March 1988. These results suggested that a depth from 20 m to 30 m was suitable for making parental stock due to the small influence of high temperature and extraneous matter.

It was clear that the ripening/spawning time of one-year old bay scallops was related to larval appearance/spat adhesion time. So making an artificial parental stock of bay scallops was estimated to increase the number of natural spat collection in Uragou Bay. However, the numerical relation between the number of parental stock and production number of spat could not be estimated.

Growth of hatchery-produced Iwagaki oyster suspended at mean depth of 7 m at Dozen Bay was examined over 23 months. Means of shell height, weight of whole body, and volume of whole body after hatching, respectively attained 52.2 mm, 25.6 g, and 19 cm^3 after 12 months and 106.2 mm, 183.9 g, and 126.9 cm^3 after 23 months. The growth of Iwagaki oysters was affected by spawning, gonad development, low water temperature and possibly food availability inferred from the abundance of phytoplankton. Eleven shell characters : total shell height, shell height, shell length, shell width, weight of whole body, soft tissue weight, weight of right valve, weight of left valve, volume of valves, volume of whole body, and volume of inner space were measured, and analysis was carried out to determine which characters best represent growth in whole body volume. The results showed that weight of the whole body and weight of the left valve were the most representative, but suggested that shell height was the most convenient for practical use.

The first maturation and season of hanging cultured Iwagaki oyster were examined over 8 months in Uragou Bay. Oysters of 0-year age were collected monthly from May to December in 1995, and shell height, soft tissue weight, gonad index and standard histological analysis were measured to observe the stages of gametogenic development and spawning. From the results, it was clear that the season for starting early gametogenic development of oysters of 0-year age was later than that of fishery size oysters in published reports. Most of the oysters were mature in August, with a mean shell length of 52 mm. It was estimated that the spawning peak occurred between August and September, coinciding with a decrease in water temperature from the highest temperature, which is the same

season for fishery size oysters.

From the results described above, both of artificial seed production and natural spat collection of off-shore bivalves i.e., bay scallop *Pecten albicans* and Iwagaki oyster *Crassostrea nippona* are demonstrated to be possible. The problems in establishing the fundamental method for these are also extracted through this study.

摘要

本研究は，イタヤガイやイワガキのような外海に生息する二枚貝の人工種苗生産や天然採苗の基礎的な手法の確立を目指したものである。

イタヤガイについては，母貝の成熟に及ぼす餌料と水温との関係，人工種苗生産時に幼生の成長，生残の良い飼育水中の細菌相，海域での母貝集団の造成が天然採苗に及ぼす効果について検討したものであり，またイワガキについては，養殖イワガキを対象として，成長の観察と成長を定量化するために適する測定部位の推定，および養殖0歳イワガキの成熟過程について検討したものであり，その内容は以下のように要約される。

イタヤガイ母貝に*Chaetoceros gracilis*, *Pavlova lutheri*, *Nannochloropsis oculata*, および *Tetraselmis tetrathele* の4種類の餌料プランクトンを様々な濃度で摂餌させ，濾水速度，消化率，同化速度を調べた。その結果，濾水速度は4.9から58.9L/ind./hの範囲であり，最も速かったのは *Ch. gracilis*，最も遅かったのは *Nanno. oculata* であった。濾水速度の最高値はプランクトン濃度が 19.3 から 49.2×10^{-8}g/ml のときに観察された。消化率は上記のプランクトン濃度の時，52.6 から94.1%であり，最も高かったのは *P. lutheri*，最も低かったのは *Ch. gracilis* であった。消化率はプランクトンの濃度が増加するとともに減少した。上記のプランクトン濃度の範囲で濾水速度，消化率から推定された有機物の同化速度は，*Ch. gracilis* では 24.1 から 201.0×10^{-5}g/ind./h，*P. lutheri* では 46.3 から 247.7×10^{-5}g/ind./h，*Nanno. oculata* では 6.0 から 23.3×10^{-5}g/ind./h，*Tetra. tetrathele* では 101.7 から 720.2×10^{-5}g/ind./h であった。

イタヤガイ母貝の生殖巣の発達に及ぼす餌料プランクトンと飼育水温の影響を検討した。異なった餌料プランクトン *Chaetoceros gracilis*, *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis tetrathele* をほぼ同じ同化速度となる濃度で投餌した。その結果，*Tetraselmis* を投与した母貝の成熟が他に比べてやや進んでいた。次に水温を17℃として *Pavlova lutheri* または *Isochrysis galbana* と *Tetraselmis tetrathele* を乾燥重量にして一日当たり母貝の乾燥軟体部重量の約4%与え，母貝の成長と生殖巣の発達を調べた。その結果，17℃で飼育した母貝の成長は海中垂下飼育の母貝と同様であり，成熟はやや進んでいた。

イタヤガイの幼生飼育に適した海水の処理法を検討するため，孔径0.4μmの精密濾過器で濾過した海水（0.4μm濾過水），0.4μm濾過水を紫外線照射した海水（紫外線照射水），孔径1μmのフィルターで濾過した海水（1μm濾過水），3μmのフィルターで濾過した海水（3μm濾過水）を用いて飼育したときの，飼育水中の生菌数の変動と，幼生の生残および成長を観察した。その結果，幼生飼育中の生菌数は，1μm濾過水では 10^5CFU/ml となることはなかったが，ほかの飼育水では，1×10^5CFU/ml 以上に増加した。水槽底への幼生の集積は，生菌数が 1×10^5CFU/ml 以上に増加し，特徴的なコロニーが出現し始めたあとに観察された。

さらに，飼育水中の細菌相の変化が二枚貝幼生の生残および成長に与える影響について検討するため，イタヤガイ幼生を対象に，異なる換水方法，すなわち止水系と流水系の飼育水中の全生菌数と細菌の属組成を調査した。

流水系では500Lの浮遊幼生飼育槽の飼育水を1日当たり500L連続して換水した。止水系の幼生の成長と生残は流水系より高かった。生菌数は2つの換水法でほぼ同様であった。しかし，流水系の細菌の属組成は止水系より変動が大きかった。このことから，幼生の成長と生残は生菌数より細菌の属組成の変動に影響されていることが示唆された。結論として，幼生の成長と生残を良くするには，細菌の属組成が安定していることが必要である。

属組成を安定させる実用的な方法として，植物プランクトンの1種 *Nannochloropsis* sp. を飼育水に5,000 ～ 10,000cells/ml 添加して幼生飼育を行ったところ，添加しない系に比べて幼生の成長と生残が高かった。

島根県の隠岐島島前の浦郷湾において，イタヤガイの母貝集団を人工的に形成させ，イタヤガイ稚貝の天然採苗に及ぼす効果を調査した。

母貝として養殖1齢貝約15,000個を数群に分けて水深5，15，25，35mに1987年6月から垂下し，各水深における生残率，周辺4カ所のステーションにおける浮遊幼生出現頻度，および付着稚貝の出現状況を測定した。

1988年3月までの生残率は水深25mに垂下した群で80%以上と最も高く，また付着物も少なかった。この結果から，母貝集団形成には水温や付着物

の影響が小さい水深20mから30mの範囲が適していることが示唆された。

また，浦郷湾内では1齢貝の成熟・産卵時期と浮遊幼生出現時期，稚貝の付着時期が関連することが明らかとなり，母貝集団形成が稚貝の天然採苗量の増加に寄与していると推定された。しかし，母貝集団の量と生産された稚貝量の量的関係は推定できなかった。

島根県隠岐島島前湾の平均水深7mに垂下した人工種苗生産イワガキの成長を23ヶ月に渡って観察した。ふ化後の平均殻高，平均全重量，平均全容積は12ヶ月後にそれぞれ52.2mm，25.6g，19cm^{3}に，23ヶ月後には106.2mm，183.9g，126.9cm^{3}に達した。イワガキの成長は放卵・放精や生殖巣の発達，低温や植物プランクトン量から推定された利用可能な餌料の影響を受けると考えられた。本種の成長を良く反映し，かつ測定が容易な形質を摘出するために，養殖イワガキの全容積を基準とし，11の形質，すなわち全殻高，殻高，殻長，殻幅，全重量，軟体部重量，右殻重量，左殻重量，殻容積，全容積，内容積との回帰関係を観察した結果，全容積に次ぐ測定部位として容積測定より簡便な全重量や左殻重量が適していると考えられた。しかし，限られた時間内で大量の標本処理が要求された場合や，現場の調査などで標本を剥離できない場合などには殻高が成長を観察するために最も実用的な測定部位とみなすことができると考えられる。

次に島根県隠岐島浦郷湾で養殖イワガキの最初の成熟時期および成熟過程を明らかにした。1995年5月から12月にかけて，0歳のイワガキの殻高，軟体部重量，生殖巣指数の測定および組織学的分析を行い，成熟段階の推移を観察した。その結果，生殖巣の発達開始時期は，従来報告されている漁獲サイズのイワガキの発達開始時期より遅れることが分かった。また，ほとんどが殻高50mm程度になる8月頃に性成熟に達し，放卵・放精のピークは，漁獲サイズのイワガキと同様に8月から9月にかけての最高水温期からの下降期であると推定された。

以上の結果よりイタヤガイやイワガキのような外海に生息する二枚貝の人工種苗生産や天然採苗は可能であること，またその基礎的な手法の確立できる可能性も高いこと，さらに基礎的手法の確立に向けた課題も抽出され明確にすることができた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. 勢村　均：イタヤガイ幼生飼育において飼育水中に出現する細菌の数量的変動と幼生に及ぼす影響．水産増殖，42（1），157-164（1994）　【第2章】

2. 勢村　均：イタヤガイ成貝における餌料プランクトンの種および濃度と濾水速度，消化率，同化速度との関係．日水誌，61（5），673-678（1995）　【第1章】

3. 勢村　均，山本倫久，佐藤利夫：イタヤガイ浮遊幼生に対する止水海水飼育系と流水海水飼育系における飼育水中の細菌叢の影響．日本海水学会誌，53(4)，267-275（1999）　【第2章】

4. 勢村　均，石田健次，中上　光，林　育夫：島根県隠岐島島前湾における垂下養殖イワガキの成長．VENUS，60（1-2），93-102（2001）　【第4章】

5. 勢村　均，山本孝二，佐藤利夫：隠岐浦郷湾におけるイタヤガイ母貝集団の造成が天然採苗に及ぼす効果．日本海水学会誌，63（3），130-136（2009）　【第3章】

6. 勢村　均，石田健次，中上　光，林　育夫：島根県隠岐島浦郷湾の養殖イワガキにおける0から1歳にかけての成熟過程．日本海水学会誌，64（1），39-43（2010）　【第4章】