

島根県沿岸における岩礁性重要貝類の
増養殖に関する研究

Study on resource regeneration and aquaculture of the
commercially valuable shellfish species in rocky shore
of Shimane Prefecture

佐々木 正

2021

目 次

第 I 章 緒言	1
第 II 章 サザエの初期生態に関する研究	
第 1 節 成熟と産卵期	8
第 2 節 浮遊幼生採集用人工コレクターの開発	15
第 3 節 浮遊幼生の出現期と分布特性	21
第 4 節 着底過程と初期減耗	30
第 5 節 0~1 歳貝の初期成長と密度変化	39
第 III 章 イワガキの人工種苗生産技術の改善に関する研究	
第 1 節 半屋外 100 k l 大型水槽を用いた付着期幼生の大量生産	46
第 1 項 予備試験	46
第 2 項 飼育条件の検討	58
第 3 項 キートセロス・カルシトランスの屋外における大量安定培養 ..	79
第 2 節 シングルシード用の樹脂製軟質採苗器の開発	102
第 IV 章 総合考察（総括）	124
謝 辞	132

引用文献	134
図 表	147
Summary	228
要 約	235
学位論文の基礎となる学術論文	240
参考論文	242

第 I 章 緒 言

全国で 10 番目に長い海岸線を有する島根県では、釣り、刺網、磯根漁業および養殖業などの沿岸漁業が盛んであり、その就業者数は県全体の就業者数の約 55%（島根県農林水産基本計画 2020）を占めることから地域の漁村集落を支える重要な漁業となっている。しかし、現在、島根県の沿岸漁業では高齢化に伴う就業者数の減少傾向が継続し、この 20 年間で就業者数は約 2,800 人から約 1,400 人に半減し（島根県農林水産基本計画 2020）、将来的には漁村集落の存続も危ぶまれる状況にある。そのため、島根県では漁業就業者数の減少に歯止めをかけるために、後継者の育成や UI ターンの積極的な誘致などによる新規就業者確保の取組みが重点的に実施されている。

一方、島根県の沿岸域では岩礁域が発達し、アラメ類やホンダワラ類の大型海藻群落が形成され、それを餌とするサザエ *Turbo (Batillus) sazae* H. Fukuda, 2017 やアワビ類などを漁獲対象とする磯根漁業が全域で営まれている。また、隠岐諸島や県東部の島根半島ではリアス式海岸が発達し、日本海の冬季の季節風を防ぐことのできる好適な条件を利用してイワガキ *Crassostrea nippona* をはじめとする養殖業が営まれ、数少ない安定した収入源として貴重な役割を担っている。これらの定着性の高い水産物を漁獲対象とする磯根漁業や給餌作業の不要な養殖業は、比較的少ない初期投資である程度安定した収入が見込める漁業でもあることから、新規就業者を確保する上でこれらの漁業の動向が重要な鍵となってくると考えられる。

そこで、本研究ではそれぞれの漁業で重要な位置づけにある岩礁性貝類のサザエとイワガキを対象に、それぞれが抱える問題点や課題の解決について検討を行うこととした。

岩礁性巻貝であるサザエの島根県における 2017 年の生産量は、421 トンで全国総生産量の約 6.9%（全国都道府県別で第 5 位）を占め、日本海側では全国 2 位の山口県に次いで主要な産地となっている（農林水産省大臣官房統計部

生産流通消費統計課 1970-2017)。このため、本県のサザエは、他の主要な磯根漁業対象種であるアワビ類、ウニ類、ナマコ類と比較してもその生産量は突出して多く、直近3年間の平均値（島根県漁獲統計システム 2015-2017 資料）と比較すると、全体（主要磯根漁業4種）に占める割合は生産量で約75%（418トン）、生産金額で約51%（2億5千2百万円）となり（Fig. 1）、磯根漁業を代表する最も重要な種であるといえる。

全国のサザエの生産量（Fig. 2）をみると、1998年の12,556トンをピークに漸減傾向となり、直近5年間はピーク時の約半分の5～6千トンの間を推移している（農林水産省大臣官房統計部生産流通消費統計課 1970-2017）。島根県においても、生産量のピーク（1988年：1,377トン）は全国と異なるものの、それ以降は全国と同様に漸減傾向となり、近年はピーク時の3～4割の4～5百トン付近を推移している状況にある（Fig. 2, 3）。本来サザエは卓越年級群の発生などにより、数十年単位で資源が大きく変動する種と考えられており（野中ら 1971; 伏見 1980）、島根県においても漁獲量が1984年の174トンから1988年の1,377トンまで4年間で約8倍に増加したが、これは殻高組成調査から1983年発生の卓越年級群に由来するものであることが推定されている（石田 1989）。また、近年では大洋規模の気候変動が、数年～数十年単位でサザエを含む巻貝類の資源変動に影響を及ぼす可能性も指摘されている（早川ら 2007）。

生産量が減少傾向にあるサザエ資源について、今後もその動向が注視されるところであるが、島根県の磯根漁業においてサザエに次いで重要なアワビ類でも生産量が減少していることから（Fig. 3）、このまま生産量の減少に歯止めがかけられない場合は、磯根漁業ひいては本県の沿岸漁業の経営に大きな影響を及ぼす可能性があるといえる。

こうした資源の減少傾向への対策として、サザエではアワビ類と同様に種苗放流技術の研究開発（葭矢 1990; 岡部 1995; 堀井ら 1997）により栽培漁業の取り組みが全国的に実施され、2016年では太平洋側（東京都、神奈川県）や日本海側（石川県、京都府、兵庫県、鳥取県、長崎県）の各都道府県におい

て年間約 300 万個の種苗が生産され、各海域に放流されている（国立研究開発法人水産研究・教育機構 2018）。しかし、島根県のような数百トンレベルの漁獲資源を種苗放流によって増大させるには相当数の種苗が必要となることや販売単価が約 10 倍以上あるアワビ類と比較すると、その費用対効果などの経済面での有効性は限定的であると推察される。

したがって、島根県において今後サザエ資源を安定的に維持・利用するためには、資源管理による手法（藤井 1998; 堀井 1998）がより適していると考えられる。現在、島根県では県の漁業調整規則において、漁獲禁止サイズ（蓋径 2.5cm 以下）や禁漁期（5、6 月の禁漁）を設定して資源保護を図っているが、資源の減少が継続していることからこれらの管理手法だけでは不十分であり、より有効な資源管理体制を確立することが急務となっている。特に、資源変動の大きいサザエでは、資源の発生状況に応じた管理を行うことが望ましいと考えられるが、近縁のアワビ類と比較すると生態学的な知見が乏しく、産卵から着底に至る初期生態の情報が不足し、資源解析の基礎となる加入量の変動機構の解明が課題であった。

一方、岩礁性二枚貝であるイワガキは、1992 年に島根県が全国に先駆けて人工種苗生産の実用化に成功したことを契機に、隠岐諸島を主体とした海域において養殖技術の研究開発が進み、養殖が普及した（吉田・常盤 2011; 石原・常盤 2013; 森脇・常盤 2013; 勢村 2015）。2017 年の島根県の養殖イワガキの生産個数は 103 万個、生産金額は 2 億 3 千 3 百万円（Fig. 4）で、全国有数の養殖産地となっている（隠岐支庁水産局資料、松江水産事務所資料）。近年では、古くから行われていたワカメ養殖を生産量、金額ともに上回り、イワガキは島根県の海面養殖を代表する最も重要な種として位置づけられている。養殖種苗の需要の増加に伴い、1996 年からは島根県栽培漁業センターにおいて人工種苗の量産が開始され、現在、公益社団法人島根県水産振興協会栽培漁業センター（以下栽培センターと略す）において養殖用種苗の大部分となる年間 100 万個以上の種苗が生産され、県内の養殖業者に出荷されている（Fig. 5）（栽

培漁業センター資料)。

しかし、近年では、イワガキ養殖業者の増加に伴って養殖用種苗の需要が拡大しつつあることや付加価値向上を目的としたシングルシード養殖法の新たな取り組みが開始されたことから、栽培センターでは種苗のより効率的な大量安定生産方法やシングルシード用種苗の新たな生産方法などの技術開発が急務となっている（佐々木ら 2018a）。

そこで、本研究において、サザエでは資源管理に必要な産卵から稚貝の発生までの加入量変動にかかわる初期生態の解明を、イワガキでは養殖の安定化に欠くことのできない人工種苗生産技術における諸課題を解決することを目的として以下の調査・研究を行った。

サザエの初期生態に関する研究

第II章第1節では、島根県におけるサザエの産卵期を明らかにするための研究を行った。島根県では産卵期間中の母貝の保護のために古くから県の漁業調整規則において5、6月の禁漁期が設けられているが、近隣の山口県、京都府の調査事例や、県内の磯根漁業従事者への聞き取り結果などの実態から、現行の禁漁期の設定の妥当性を明らかにする必要があると考えられた。そこで、島根県沿岸のサザエの生殖巣熟度指数（GI）、組織学的成熟度および卵径分布の調査を実施し、本県のサザエの産卵期について検証を行った。その結果、島根県における現行の禁漁期間の設定は、実際の産卵期と一致しないことを明らかにした。

第II章第2節では、サザエ浮遊幼生採集用人工コレクター（以下コレクターと略す）の開発を試みた。浮遊幼生や着底稚貝の定量的な調査において、人為的に作成した付着基盤へ幼生を付着させ、浮遊幼生の出現量や稚貝の着底量をより効率的に推定する目的でコレクターを考案し、野外試験により検証を行った。その結果、市販の塩化ビニール製鶏卵パックを材料としたコレクターを用いた調査方法により、サザエの浮遊幼生の効率的な採集が可能であることを示

した。

第II章第3節では、特に知見が乏しいサザエの浮遊幼生の動態を解明するために、島根県東部においてプランクトンネットおよび前述のコレクターを用いて浮遊幼生の出現期、分布域について調査を行った。その結果、数日間の急激な水温変化がサザエの配偶子放出を誘起する一つの環境要因であることや、サザエのベリジャー期の浮遊幼生は底層よりも中層から表層付近に偏って分布する傾向があることを明らかにした。

さらに、第II章第4節では、サザエの着底場として有節石灰藻群落に着目し、島根県東部の有節石灰藻群落において着底直後のサザエ稚貝を連続的に採集し、サザエ稚貝の着底過程および着底直後の減耗過程について追跡した。その結果、着底後の稚貝の分布水深、減耗過程およびその減耗要因を明らかにした。

続く第II章第5節では、同調査区域においてサザエの着底直後から1歳貝までの期間を対象に連続的な採集を実施し、その初期成長と密度変化を調査した。その結果、サザエの満1歳時における成長や、発生翌年の春季以降に稚貝が成長と共に徐々に有節石灰藻群落外へ生息域を拡大することを明らかにした。また、発生翌年の春季に、有節石灰藻群落内の稚貝を定量的に調査することにより、効率的なサザエの加入量の予測ができる可能性を示した。

イワガキの人工種苗生産技術の改善に関する研究

第III章第1節1項では、近年のイワガキ養殖業者の増加に伴って養殖用種苗の需要が拡大しつつあり、その種苗の供給機関である栽培センターではより安定的な種苗生産技術の構築が重要な課題となっていることから、半屋外の100klの大型水槽を用いてイワガキの付着期幼生の生産を試験的に試み、従来の1klの小型水槽と組み合わせることでより効率的な生産が行えないか検討した。その結果、大型水槽を用いた粗放的な生産方法でも、従来の小型水槽を用いた集約的な生産方法と同様に付着期幼生の生産ができる可能性を示した。

続く第III章第1節第2項では、大型水槽を用いた浮遊幼生の大量生産方法を

より安定的で効率的な手法とするために、基本的な飼育条件について検討した。その結果、初期餌料、D型幼生の収容密度および水槽換えなどの適切な基本条件を把握し、屋外で粗放的に培養した餌料を用いて大量の付着期幼生を低コストで省力的に生産できることを明らかにし、栽培センターにおける従来の生産方法のバックアップ用の生産方法として適していることを示した。

さらに、第III章第1節第3項では、珪藻類の中でも利用価値が高く優れた餌料である *Chaetoceros calcitrans*（以下カルシトランスと略す）の屋外における大量安定培養の可能性を明らかにすることを目的に、屋外培養に適している *Chaetoceros neogracile*（以下ネオグラシーレと略す）と比較することにより評価を行った。

その結果、これまで屋外培養が困難とされていたカルシトランスは、高水温期には最高細胞密度がネオグラシーレにやや劣る傾向があるものの、屋外での安定的な培養が十分可能であることが判明し、市販品を元種に用いることでより効率的な培養ができる可能性を示した。また、夏季の高温期に遮光幕を用いて培養水温を低下させる培養方法は、高温耐性が低いカルシトランスをはじめ、高温耐性が高い *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate)（以下タヒチと略す）やネオグラシーレの安定培養に効果的であることが判明した。

さらに、屋外培養したカルシトランスを用いた二枚貝類（イワガキ、サルボウガイ *Anadara kagoshimensis*）の種苗生産試験を行い、屋外培養したカルシトランスは実用的な使用が可能であることを明らかにした。

第III章第2節では、栽培センターにおけるシングルシード種苗の生産を導入することを念頭に、採苗効率が高いシングルシード用の新型採苗器を開発することを目的として、樹脂製の採苗器を試作して採苗試験を行い、その有効性や実用性について評価・検討を行った。その結果、耐久性が高く、繰り返し利用が可能なポリプロピレン樹脂を用いた採苗器がシングルシードの生産に適しており、稚貝の成長はやや劣るものの、採苗器の表面に凹凸状の微細な構造があること、採苗器の形状は立体的（傘型）であることなどが幼生の付着効率を

高めることが判明した。新型ではこれらの有効な条件を組み合わせることにより従来のホタテ殻採苗器と同等の付着効率を有し、さらに使用後の採苗器は未使用のものより稚貝の付着効率が高くなることから、繰り返しの使用によりシングルシードの低コストで効率的な生産が可能となることを示した。

これらの研究成果を元に、第IV章では、研究結果を総括した上で、サザエ・イワガキといった重要貝類の増養殖に関して有効な資源管理手法や種苗生産技術についての提言を行った。

第II章 サザエの初期生態に関する研究

第1節 成熟と産卵期

島根県においてサザエは磯根漁業を代表する巻貝であり、そのため古くから県の漁業調整規則において5, 6月の漁獲および蓋径2.5 cm以下の漁獲が制限されており、このうち禁漁期の設定は産卵期間中の母貝の保護のためと解釈されている。しかし、島根県のサザエの産卵期に関する詳細な報告は無く、その根拠が不明確であった。

一方、近隣の山口県（角田ら 1986）、京都府（葭矢・桑原 1988b）では、サザエの産卵期は6~10月でその盛期は7, 8月とされている。また、県内の磯根漁業従事者も、サザエの放精を7, 8月に観察することが多いとしており、本県の禁漁期間である5, 6月は実態と異なることが推察される。

そこで本節では、1990年から3年間、島根県沿岸のサザエの成熟と産卵期の状況を調べ、島根県における実態を明らかにした。

材料および方法

標本は島根県沿岸の水温条件の異なる東部（多古）、隠岐島（浦郷）、西部（益田）の3地区から入手した（Fig. 6）。このうち、東部地区は素潜り、隠岐島と西部地区はかなぎ（見突き）で漁獲された殻高60~80 mm（東部地区の一部を除く）の範囲のものを対象に、1990年、1991年および1992年（西部地区を除く）の4月から10月にかけて月に1~2回の頻度で調査を行った。1回当たりの標本の個数は各地区とも30~40個体とした。

標本は生鮮状態で試験場に運搬後、殻高、殻付重量、軟体部重量を測定し、10%ホルマリン溶液で固定した。数ヶ月後に水洗して70%エタノール溶液中で保存した。その後、雌雄各10個体を無作為に抽出し、既往の方法（山本・

山川 1985) にしたがって、生殖巣を先端から 1/3 の部位で切断し、断面積中に占める生殖巣の面積割合から生殖巣熟度指数 (Gonad Index : GI と略す) を算出した。

$$\text{生殖巣熟度指数 (GI)} = (\text{生殖巣の面積} / \text{断面全体の面積}) \times 100$$

さらに、1990 年の標本については、前述の断面部分から常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシンで二重染色後、生殖巣の成熟度を観察した。卵細胞の成熟度は以下の 5 段階に分けた (山本・山川 1985)。

I 期 (卵原細胞期) : 最も若い生殖細胞で平均細胞直径は 8 μm 。

II 期 (染色仁期・無卵黄期) : ヘマトキシリンに濃染され、平均細胞直径は 10 ~ 40 μm 。

III 期 (油球期) : 油球の蓄積が始まり、細胞長径は 40 ~ 80 μm 。

IV 期 (卵黄球期) : 細胞質に卵黄が蓄積し、卵細胞はゼリー質で囲まれる。不規則な楕円形で細胞長径は 120 ~ 200 μm 。

V 期 (成熟期) : ほぼ球形で平均細胞直径は 180 μm 。

雄の生殖細胞の成熟度は既往の方法 (富田 1968) に従い、精原細胞、精母細胞、精細胞、精子に分類し、生殖組織像全体に占める精子の面積比率を目測により 10% 単位で測定した。

また、1990 年に東部地区で採集した殻高 60 ~ 80 mm の標本について、上記の断面部分から卵細胞を分離し、卵細胞の径 (長径と短径の平均) を計測した。標本は各回 5 個体ずつ無作為に抽出し、計測は 1 標本につき卵細胞 100 個とし、30 μm 未満のものは計測しなかった。

結果

組織学的成熟度の経月変化 (1990 年)

(1) 殻高 60 ~ 80 mm

雌の成熟度 4 月には IV 期の卵細胞が主体であったが (Fig. 7-1), 5 月以降 V

期の卵細胞の占める割合が増加し、6月後半～7月前半に生殖巣はV期の卵細胞で充満した (Fig. 7-2, 3)。その後、7月後半～8月後半にV期の卵細胞の割合が徐々に減少するとともに、IV期以下の若い卵細胞や退行変性に陥った退化卵および崩壊途上にある卵細胞の割合が増加した。退化卵は卵黄が融合し、細胞質とモザイク状を呈した (Fig. 7-4)。

V期の卵細胞の占める割合は8月下旬に最低となった後、9月にかけてふたたび増加し、生殖巣はV期の卵細胞で充満した (Fig. 7-5)。そして、10月にはV期の卵細胞はほとんど消失し、崩壊途上にある残存卵とIII期以下の若い卵細胞で占められた (Fig. 7-6)。7月後半～8月後半のV期の卵細胞の減少傾向は、東部、隠岐島地区で顕著で、西部地区でゆるやかであった。

雄の成熟度 4月にはすでに精子の形成がみられ、生殖組織像全体に占めるその面積比率は10～30%程度であった (Fig. 7-7)。5月以降その割合は増加し、6月後半～7月前半には全ての標本で面積比率が50%以上となり、生殖巣は精子で充満した。その後精子の面積比率は急減し、東部、隠岐島地区は8月後半に、西部地区は7月後半に10～20%まで減少した。しかし、9月にはふたたび精子の面積比率が50%以上まで増加し、生殖巣は精子で充満した。その後10月に精子はほとんど消失し、その面積比率は0～10%となり、放出痕とみられる空隙が多く観察された。また、6月後半～9月に生殖巣の精子密度がある部分から急変し、密度を2分する像が観察された (Fig. 7-8)。この密度変化は精子が部分的に放出された状態を示すものとみなされ、その放出過程には生殖巣の一端から他端に向ける方向性が確認された。この像は西部地区の6月後半～7月後半に最も多く観察され、その出現割合は各回標本の40～60%であり、この期間の放精が活発であったことを示した。

以上の観察結果を基に、雌はV期の卵細胞が生殖組織中で面積的に優占する状態を成熟とし、雄は生殖組織全体に占める精子の面積比率が50%以上となる状態を成熟と判定して個体の成熟度の指標とすると、各回の標本調査における成熟個体の出現割合は、雌雄がよく同調し、6月後半～7月前半と9月の2

回，高率となった (Fig. 8-a, b, c)。

(2) 殻高 60 mm 未満

標本の殻高は 43.9～59.8 mm の範囲にあり，その調査回次ごとの平均値は 50.8～55.2 mm であった。

組織像の成熟，退化過程は雌雄とも同地区の殻高 60 mm 以上の群とほぼ同様の傾向を示したが，6 月後半の成熟ピーク後の V 期の卵細胞および精子の消失傾向はより顕著であった (Fig. 8-d)。また，雄の成熟期の精子の面積比率は，殻高 60 mm 以上の群よりも高い傾向があり，最大で 80% の個体も観察された。

GI の変化

(1) 1990 年

殻高 60 mm 以上の群の GI の変化は雌雄がほぼ同調し，その平均値は 6 月～7 月前半に最高値を示した (Fig. 8-a, b, c)。その値は雌雄それぞれ東部地区で 75.5, 72.8, 隠岐島地区で 77.0, 68.5, 西部地区ではともに 76.4 であった。その後 GI は減少し，8 月後半には雌雄とも平均 40 前後となったが，9 月にはふたたび増加し，平均値は雌雄それぞれ東部地区で 53.1, 55.0, 隠岐島地区で 41.7, 41.3, 西部地区で 65.2, 67.0 であり，この増加傾向は西部地区で顕著で，隠岐島地区ではわずかであった。各地区とも GI の変動傾向は生殖組織の成熟個体の出現率の変動傾向とよく対応したが，西部地区では GI の平均値のピークは成熟個体の出現率のピークよりわずかに早かった。

殻高 60 mm 未満の群の GI の変化も雌雄がよく同調したが，同地区の殻高 60 mm 以上の群と比較すると全体的に GI は低く，そのピークは不明瞭であった (Fig. 8-d)。GI の平均値が最高となったのは雌が 6 月中旬，雄が 5 月中旬で値は各々 39.9, 48.8 であった。

(2) 1991 年

GI は雌雄がよく同調し，その平均値は東部，西部地区では 7 月前半に，隠岐島地区では 8 月前半に最高値を示した (Fig. 9)。その値は雌雄それぞれ東部

地区で 72.2, 76.2, 隠岐島地区で 75.4, 64.7, 西部地区で 83.6, 80.7 であった。調査回数が少ないため、1990 年 9 月にみられたような GI の明瞭な再上昇は確認できないが、東部、隠岐島地区では GI の組成変化から 9~10 月にわずかながら増加傾向が認められた。また、西部地区の 9 月は 1990 年と同様に比較的高い値を示した。

(3) 1992 年

GI は前年と同様に雌雄がよく同調し、その平均値は東部、隠岐島地区ともに 6 月後半~7 月前半に最高値を示した (Fig. 10)。その値は雌雄それぞれ東部地区で 77.9, 74.5, 隠岐島地区で 75.6, 67.5 であった。

以上、3 年間の GI は、年によって異なるがおよそ 6 月から 7 月にかけて高い値を示し、このときの各地の表層水温は 21~23℃の範囲にあった (Fig. 12)。

卵径分布の経月変化 (1990 年東部地区)

卵径は 4 月以降増大し、7 月と 9 月に大型の卵細胞の割合が増加した (Fig. 11)。大型の卵細胞の割合の減少傾向から、放卵期は 7~8 月と 9~10 月の 2 回確認された。各月の卵径分布を卵細胞の成熟段階による区分に当てはめると、4~9 月は IV, V 期、10 月は III 期以下および退化卵に相当し、9 月の成熟は 8 月の IV 期の卵細胞に由来することが示された。

考察

3 年間の GI の調査では、各地とも GI のピークは 6~7 月にあり、7 月以降その低下がみられた。しかし、1990 年の組織学的成熟度調査では、GI の増加はわずかではあるが、9 月に 6~7 月と同様に成熟度が高くなることが認められ、卵径分布においても大型の卵細胞の割合が増加した。GI と組織学的成熟度の変化はほぼ対応したが、成熟期において GI のピークが早くなる場合があること、および 9 月の組織像の変化は、GI の増減に現れにくい点で異なった。

このことは生殖巣の状態を GI は量的に、組織学的成熟度は質的に捉えていることに起因すると考えられる。

以上述べた GI、組織学的成熟度および卵径分布の調査結果を総合すると、島根県沿岸におけるサザエの産卵期は 6 月後半～10 月の間で、その盛期は GI が急減する 7～8 月であると推定される。そして、産卵期が比較的長期に及ぶのは個体差に由来するのではなく、同一個体において成熟と産卵が繰り返されることによるものと考えられる。

種苗生産においてサザエは生殖巣の発達する夏よりも秋の方が母貝の誘発率は高いとされ、室内実験（松岡 1975）では同一個体が夏と秋に放精することから、産卵は水温の上昇期と下降期に分かれると推定している。採集地付近の表層水温の変動状況は年により異なり、島根県水産試験場海洋観測結果によると、夏季の水温は平年に比べ 1990 年はかなり高く、1991 年、1992 年はやや低く推移した（Fig. 12）。1990 年の成熟、産卵過程をその年の水温変動と対応させると、産卵は成熟後の 7～8 月の水温上昇期と 9～10 月の水温下降期に行われたものと考えられ、前述の知見と合致する。そしてサザエの室内飼育で、産卵が水温変動の大きい時に行われたこと（山田・勢村 1992）から、短期間の水温変動が産卵の一つの誘発要因であると考えられ、成熟後の 7～8 月の水温上昇の程度により、産卵の進行度合が決定されると推察される。

したがって、産卵の過程は水温条件により年および海域で異なると考えられ、1990 年の産卵過程は成熟後の水温上昇が顕著であったため、産卵が同調的に行われたと推定される。そして、水温上昇期の産卵が 8 月前半でほぼ終了するとともに、残存する若い卵細胞、精細胞が成長を開始し、水温下降期に再び成熟、産卵に至ったと考えられる。

最後に、1990 年東部地区の殻高 60 mm 未満の群の成熟期である 6 月の標本 30 個体を用いて生物学的最小型の推定を行った。殻高と GI および組織の成熟度の関係を Fig. 13 に示す。30 個体中雌は 13 個体、雄は 15 個体で殻高 47.5 mm と 49.8 mm の 2 個体は生殖巣が未発達で性別が不明であった。雌雄とも殻高

が大きくなる程 GIが大きくなる傾向があった。雌では殻高 43.9 mm と 47.1 mm の 2 標本がⅢ期以下の卵細胞しか認められなかったが、それ以外の標本は全て V期の卵細胞が認められた。雄ではすべての標本において精子の形成が認められた。以上より、少なくとも、雄は殻高 45 mm 以上で放精が、雌は殻高 50 mm 以上で産卵が可能であると推定される。しかし、GI は小型のものほど低い傾向があるため、その産卵加入初期の 1 個当たりの産卵量はわずかであると考えられる。

第 2 節 サザエ浮遊幼生採集用人工コレクターの開発

サザエの初期生活史において、産卵に続いて資源の加入量に影響を及ぼす要因である浮遊幼生から着底稚貝の動態について把握することが重要であり、そのためには浮遊幼生の出現と分布状況について連続的かつ定量的に調査を行う必要がある。浮遊幼生の採集にはプランクトンネット曳きによる方法、ポンプによる揚水法などがあるが、産卵期が比較的長くかつ浮遊期間が 3 日程度（阿井 1965）と短いサザエでは、これらの方法による浮遊幼生の定量化は多くの労力を必要とすると考えられる。

そこで、人為的に作成した付着基盤に、出現する浮遊幼生を付着させることにより浮遊幼生の定量化を試みることとし、市販の塩化ビニール製鶏卵パックを材料としたサザエの浮遊幼生採集用の人工コレクター（以下コレクターと略す）を考案した。

コレクターを用いて天然海域において検証を行った結果、簡便で実用的な浮遊幼生のモニタリングが可能であることが明らかとなった。

材料および方法

採集試験

コレクターの設置場所は島根半島中部の多古地区、片句地区の 2 地点とした（Fig. 14）。両区とも海底は転石と岩盤が混在し、サザエの漁場となっている。

巻貝類の浮遊幼生については、近縁種であるエゾアワビ *Haliotis discus hannai* において、ホタテ貝殻（佐々木 1989）、ポリカーボネイト製波板（水産庁東北区水産研究所 1994）、アクリル板（堀井ら 2006）などを用いたコレクターによる浮遊幼生の採集が試みられているが、サザエでのコレクターを用いた調査事例は無い。サザエの稚貝はアワビ類に比較して付着力が弱いと考えられることから、コレクターの付着基質には波浪による付着後の稚貝の脱落を

防ぐための構造が必要であると考えられた。そこで、コレクターの材料には、複雑な構造を有する市販の塩化ビニール製鶏卵パック（株式会社栗原製作所製）を用いた。鶏卵パック 1 個のサイズは、縦 24 mm, 横 21 mm, 高さ 2.5 mm, 厚さ 180 μm で、表面積は約 0.2 m^2 である。鶏卵パックはあらかじめ約 2 週間陸上水槽にて微細藻類などを着生させた後、口径 92 cm, 長さ 80 cm, オープニング 4.5 mm のポリエチレン製ネット（通称ニンニク袋）に 20 枚を重ねないように詰めてコレクターとした（Fig. 15）。

コレクターの設置および回収の回数は、多古地区が 1994 年 7 月 12 日から同年 11 月 1 日までに 4 回、片句地区が 1994 年 6 月 9 日から同年 11 月 1 日までの 5 回であった。設置期間は 20 日前後を目安としたが、波浪などの影響により多古地区が 13~41 日、片句地区が 23~35 日の間隔となった。設置方法は底層式（Fig. 16-A タイプ）とし、水深 4 m の海底からコレクターの下端が約 30 cm 上に立ち上がるように、コレクターの内部に小型の浮子（浮力 400 g）を入れて浮力を調整した。

コレクターの設置、回収はスキューバ潜水により行った。回収したコレクターは稚貝の脱落に留意して船上に揚げ、ナイロン袋に入れて持ち帰った。その日のうちに 100 l 水槽に入れた水道水中で 1 枚ずつよく振って稚貝を剥離し、100 μm のネットで濾過した後、残渣を約 5%ホルマリン溶液で固定した。サザエ稚貝の計数は実体顕微鏡下で行った。

コレクターへの微細藻類付着による前処理の有効性

コレクターへ予め珪藻などの微細藻類を着生させたもの（処理区）と、無処理のもの（無処理区）との比較試験を実施した。処理区は鶏卵パックを陸上水槽の砂ろ過海水の流水中で約 2 週間放置した後、前述の方法と同様にコレクターを作成した。着生した微細藻類は自然に着生したものであり、取り上げ時の外見は薄く褐色に色付く程度であった。無処理区は新品の鶏卵パックをそのまま使用した。

設置場所は前述の 2 地区のそれぞれ水深 5, 10 m の地点で、設置方法は垂下式 (Fig. 16-B タイプ) とした。水深 5 m の地点は下層 (深度 4 m) に、水深 10 m の地点は上層 (深度 1 m) および下層 (深度 9 m) にコレクターを 1 器ずつ設置した。コレクターの設置、回収は船上から行った。試験は 2 地区とも 1995 年 8 月 2 日から 8 月 17 日および 9 月 26 日から 10 月 11 日の 2 回実施した。前述と同様の方法で処理した後、サザエ稚貝を計数した。

処理区と無処理区の稚貝の付着数の有意差の検定には、 t 検定を用い、有意水準は 5% とした。解析には Microsoft 社製 Excel を用いた。

結果と考察

採集試験

多古地区のサザエ稚貝採集結果を Table 1 に、片句地区のサザエ稚貝採集結果を Table 2 に示す。

多古地区は全ての回で稚貝が採集された。ただし、4 回目に採集された稚貝は設置期間に比べて殻径が大きいため、浮遊幼生由来のものではなく、着底稚貝が波浪により巻き上げられて再度付着したものであると判断された。設置 1 日当りの採集数で見ると 1 回目が多く、その後徐々に低下していった。付着個体数と殻径組成から判断すると、浮遊幼生の付着期は 8~10 月でそのピークは 8 月であったと推定された。

片句地区は 3, 4 回目で稚貝が採集された。なお、5 回目は波浪によりコレクターが流失した。10 月以降のデータは欠落しているが、1, 2 回目で付着が無いこと、設置 1 日当りの採集数および稚貝の殻径組成などから判断すると、浮遊幼生の付着は 8~9 月で多古地区と同様に 8 月がピークであったと推定された。

コレクターへの微細藻類付着による前処理の有効性

多古地区、片句地区のサザエ稚貝の採集数を Table 3 に示す。稚貝の採集数は、試験 1 回次の片句地区 10 m 上層、多古地区 10 m 下層、試験 2 回次の多古地区 5 m 下層で無処理区の方が処理区より多くなったが、その差は僅かであった。試行回数が少なかったこともあり、試験全体としては前処理の有無による有意差は認められなかったが、ほとんどの場合、処理区は無処理区より採集数が多く、前述の 3 例を除くとその採集数は処理区が無処理区の平均 3.4 倍多い値となった。この理由は以下のように考えられた。付着性微細藻類が浮遊幼生の着底に及ぼす影響については、エゾアワビでは浮遊幼生の着底が付着珪藻によって誘起されることが知られている（大貝ら 1991; 河村・菊池 1992）。サザエについても、種苗生産の採苗時において波板に珪藻付けを行った方が幼生の付着率が向上することが経験的に知られている（岡部ら 1991）。したがって、無処理区には設置直後にコレクターの基面に珪藻類などの着底、変態誘起因子が存在しなかったため幼生の付着が少なかったと推測された。また、たとえ付着があったにしてもコレクター上の餌料条件が悪く、餌不足のため付着後脱落した可能性も考えられた。

採集数の多かった試験 1 回次の各地区の 10 m 上層のコレクターで得られた稚貝について、その殻径組成を Fig. 17 に示す。両地区とも処理区が無処理区に比べて大型個体の割合が多かった。片句地区で処理区と無処理区の採集数に差が生じなかったのは、設置後期に付着した貝の割合が後者で高かったためであると判断されるが、この原因としては設置からある程度時間が経過したことにより無処理のコレクター基面の餌料環境が処理区と比較してより良好であった可能性も考えられる。

試行回数が限られるので前処理の有無の比較において有意差は確認できなかったものの、コレクターの設置期間が短い場合には予め珪藻類などの微小藻類による処理を行った方が稚貝の付着数の促進に効果的である可能性が高いと推察された。

天然海域におけるサザエの浮遊幼生調査例は少ないが、総じてその出現密度

は低く、最大でも 21.0 個/m³ (山田・勢村 1995), 6.8 個/m³ (丸山 1994) である。そのため調査定点, 時期で出現数にばらつきが大きく, 浮遊幼生の出現傾向を定量的に示すに至っていない。これを明らかにするためには調査定点, 頻度をできる限り増加する必要があるが, 現実的には限度があり, 浮遊幼生を直接定量化する方法には限界がある。その点, コレクターによる採集法では浮遊幼生の着底を促す環境を人為的に作り出すことにより, コレクターに接する幼生を集積することが可能となり, その結果, コレクターに付着した稚貝は浮遊幼生の出現量の相対的な指標となると考えられる。そのため, コレクターの設置時期や設置場所を変化させることにより, 浮遊幼生の発生期や分布密度の推定を効率的に行うことができると考えられる。ただしその際, コレクターの基質は浮遊幼生の着底条件およびその後の生存条件を満たし, かつ, 波浪による振動, 海水の流動による稚貝の脱落を防ぐ構造を持つことが要求される。

本試験で作成したコレクターは, 基質に鶏卵パックを採用したことでこれらの必要条件を満たしていると考えられる。すなわち, 鶏卵パックは透光性に優れているので付着性微細藻類の着生が良好となるため, 浮遊幼生の付着や稚貝の餌料の供給といった条件を作り出しやすいと考えられる。そして, 袋詰めによりさらに複雑性が向上するので稚貝の脱落が軽減されると推察される。この他にもこのコレクターは, 以下に述べる特色を持ち, 波板などを使用した従来のもものと比較しても同等かそれ以上の機能を有していると考えられる。

- ・軽量である (コレクター1 個当り重量 300 g)
- ・表面積が大きい (コレクター1 個当り表面積約 4 m²)
- ・耐久性がある (数十日の設置後も原形を留めた)
- ・材料単価が低い (コレクター1 個当り 133 円)
- ・作製方法が簡便

これらの条件を備えた鶏卵パックを材料としたコレクターによる浮遊幼生の採集法は, サザエのように浮遊幼生の分布密度が低く, 浮遊期間が短い種類にとっては非常に有効な手段であり, 限られた調査回数から浮遊幼生の出現期,

分布域や稚貝の着底量に関する情報が簡便に得られ, 加入機構の解明に役立つと考えられる。また, サザエだけでなく, 近縁のアワビなどの他の藻食性生物や浮遊幼生密度が低い種の調査にも十分に応用が可能であると考えられる。

第 3 節 浮遊幼生の出現期と分布特性

サザエの加入機構を解明するための調査の一環として、産卵から着底に至る過程で重要となる浮遊幼生の動態を把握するための調査を行った。前節で開発したコレクターおよびプランクトンネットを用いて浮遊幼生を採集し、水温・波浪の環境要因との比較から本種の配偶子放出に関する有益な知見を得るとともに、沿岸域における本種の浮遊幼生の分布特性を明らかにした。

材料および方法

調査区の概要

プランクトンネットおよびコレクターによる調査は、島根半島東部に位置する多古地区で実施した (Fig. 18)。多古地区沿岸は転石と岩盤が混在する岩礁域であり、サザエの好漁場となっている。多古地区の南西向きおよび北西向きの海岸に岸側から沖側に向けて各々一本の調査ライン (前者:ライン A, 後者:ライン B) を設けた。ライン A 付近の底質は岸側から水深 20 m まで転石帯が続き、以降は徐々に砂泥域に達する。転石帯における植相は小型海藻ではヒメモサヅキ *Jania adhaerens*, ピリヒバ *Collarina pilulifera*, フサカニノテ *Marginisporum aberrans* などのサンゴモ科海藻やヘラヤハズ *Dictyopteris prolifera* などのアミジグサ科の海藻が優占し、大型海藻ではイソモク *Sargassum hemiphyllum*, ヨレモク *S. siliquastrum*, ヤナギモク *S. ringgoldianum*, ノコギリモク *S. macrocarpum* などのホンダワラ科褐藻類が優占している。ライン B 付近の底質は主として岩盤帯であり、植相は小型海藻ではサンゴモ科海藻が優占し、大型褐藻類ではホンダワラ科褐藻類やクロメ *Ecklonia kurome* が優占している。また、ライン B は外海に面するためライン A より波浪が直接的に接岸する。

プランクトンネット調査は各ラインにおける水深 10 m 付近を採集地とし、

コレクター調査は各ラインの水深 5, 10, 20, 30 m 付近を定点とした。ライン A の水深 5 m 付近で採集したサザエを用いて成熟度調査を実施した。

プランクトンネットによる浮遊幼生の採集

プランクトンネットによる採集は 1995 年 6 月 1 日～11 月 7 日の間、時化の日を除いて毎日実施した。プランクトンネットには北原式プランクトンネット（口径 46 cm, オープニング 100 μm ）を使用した。多古地区における従来の調査（山田 1996a）からサザエの浮遊幼生は主に表層から中層で採集されている。このため、曳網する深度は 1～2 m 層とし、定点を基点に約 30 m の距離の水平曳きを行った。曳網方向は岸に対し水平方向に、曳網回数は各定点で 1 回、曳網速度は約 1 kt で実施した。採集物は約 5% の中性ホルマリンで固定後、直ちに実体顕微鏡で検鏡した。サザエ幼生の同定は被面子で原殻の長径が 270～290 μm の範囲であること、周口部がラッパ状に開くことおよび原殻表面の種固有の模様があること（林 1983）などで行った。

調査期間中の環境データとして、水温と波浪について調査した。水温はプランクトンネットの曳網と同時に各定点の表面水温を測定し、その平均値を用いた。波浪データは松江地方気象台の鹿島波浪計の資料に依拠し、平均有義波高 2 m 以上を時化日とみなして用いた。サザエのベリジャー幼生の出現は 1～3 日前の産卵に由来すると考えられている（阿井 1965）ことから、サザエの浮遊幼生の出現と水温、波浪との関係を検討した。

母貝の熟度調査

成熟度の調査には GI を用い、算出方法は第 1 節の方法と同様とした。1995 年 5 月～10 月までの間、毎月 1～2 回の頻度で標本をスキューバ潜水により採集し、殻高 60 mm 以上の個体について雌雄各 10 個体を無作為に抽出して GI を求めた。

コレクターによるサザエの浮遊幼生の出現期および分布域の調査

コレクターによる調査は、サザエの浮遊幼生の出現期および浮遊幼生の分布域の推定を目的として実施した。

出現期の調査 コレクターは立縄式 (Fig. 16-B タイプ) とした。調査定点はコレクターの波浪などによる流失を防ぐために、波浪の比較的穏やかなライン A の 2 水域に設けた。各定点の水深は 10 m と 5 m で、水深 10 m 地点では上層 (深度 1 m) と下層 (深度 9 m) の 2 ヶ所に、水深 5 m 地点では下層 (深度 4 m) のみにコレクターを各々 1 器ずつ設置した。調査期間は 1995 年 6 月 12 日～11 月 6 日の間で、この間約 2 週間ごとにコレクターの設置と回収を繰り返した。なお、水深 10 m 地点に 8 月 29 日設置したコレクターについては流失したため回収できなかった。

分布域の調査 コレクターは出現期の調査と同様に立縄式 (Fig. 16-B タイプ) とし、水深別に設置した (Fig. 19)。ライン A, B の水深 5, 10, 20, 30 m の水域を定点とした。水深 5 m 地点は上層 (深度 1 m) と下層 (深度 4 m) にコレクターをそれぞれ 1 器設置した。水深 10, 20, 30 m 地点は上層 (深度 1～2 m)、中層 (水深 10 m 地点は深度 5 m、水深 20 m 地点は深度 10 m、水深 30 m 地点は深度 10 m および 20 m)、および下層 (海底から上方に 1～2 m) にコレクターをそれぞれ 1 器設置した。調査期間は 1995 年 6 月 12 日～10 月 30 日の間で、この間約 5 週間ごとにコレクターの設置と回収を 4 回繰り返した。なお、ライン B の水深 5 m および 10 m の定点については波浪が激しく、コレクターの施設の維持が困難であったので途中で調査を中止した。また、ライン A の定点の一部については、波浪や船舶の接触などによりコレクターの施設が流失または大きく移動したため欠測となった。

コレクターの構造は、前節と同様にポリエチレンネットに付着基質として塩化ビニール製鶏卵パックを 20 枚詰めたものである。出現期の調査のコレクターには、浮遊幼生の着生を促すため海中に設置する直前に陸上水槽で約 2 週間の間珪藻などの微細藻類を付着させる前処理を行った。しかし、分布域の調査

のコレクターは前処理をせずそのまま使用した。

コレクターの設置および回収作業は、基本的にはスキューバ潜水により行ったが、波浪状態により潜水できない場合は船上に施設を引き上げて行った。回収したコレクターは淡水中で丁寧に稚貝を剥離し、100 μm のネットで濾過した後、残査を約 5%ホルマリン溶液で固定した。サザエ稚貝の選別、計数は実体顕微鏡下で行った。

結果

母貝の成熟

採集したサザエの GI の平均値の推移を Fig. 20 に示す。GI は雌では 7 月 4 日に 87、雄では 7 月 19 日に 81 とピークを示した。その後、8 月 4 日に雌雄とも減少し、雌は 62、雄は 67 となった。以後 9 月まで雌は 70 以上、雄は 60 以上の高い値を維持した後、10 月 11 日には雌雄とも急減し、その値は雌では 35、雄では 41 となった。GI の平均値は雄に比べ雌がやや高い値を示したが、その減少期は雌雄ともほぼ同様の傾向を示し、7 月後半～8 月前半と 9 月後半～10 月前半の 2 回減少した。

プランクトンネットによるサザエの浮遊幼生の採集および物理的環境条件

ライン A、B の定点において、プランクトンネットにより採集されたサザエのベリジャー幼生数、表面水温の推移および 2 m 以上の有義波高の出現状況について Fig. 21 に示す。

サザエの浮遊幼生はライン A、B とも 8 月と 9 月に多く採集された。ライン A では、浮遊幼生は 8 月前半と 9 月に多く採集された。1 曳網当たり採集数は 9 月が 8 月より多い傾向があり、9 月 25 日には調査期間中の最大値 22 個を記録した。ライン B では、浮遊幼生は 8 月前半に多く採集され、1 曳網当たり採集数は 1～9 個であった。9 月は 8 月よりも採集された回数は減少したが、ラ

ライン A で最大値を記録した 25 日の採集数は、曳網当たり 7 個と高い値を示した。サザエの浮遊幼生の最初の採集日（6 月 30 日）の表面水温は 21.7 °C、最後の採集日（10 月 26 日）の表面水温は 21.1 °Cであった。また、サザエの浮遊幼生が採集された日のうち、表面水温の最高値は 8 月 25 日の 29.5 °Cであった。

表面水温は 7 月下旬と 9 月下旬に数日間で大きな変動を示した。前者は 7 月 23 日～28 日の 5 日間で 4.2°C上昇した。後者は 9 月 15 日～21 日の 6 日間で 4.7°C下降した後、9 月 21 日～25 日の 4 日間で 3.2°C上昇した。

水温、波浪の環境変化とサザエの浮遊幼生の出現との関係を検討したところ、9 月の水温の変動期に明らかな対応がみられた。9 月 15 日～24 日の急激な水温変化直後の 25 日にライン A で浮遊幼生の最大値を記録し、ライン B でも多くの浮遊幼生が採集された。一方、時化日と浮遊幼生の出現との関係については、9 月 11 日の有義波高 2.4 m に対し、翌日の 12 日にはライン A で 1 曳網当たり 7 個、ライン B で 1 曳網当たり 5 個と比較的多くの浮遊幼生が採集された。しかし、有義波高の最大値を記録した 9 月 17 日には、対応する浮遊幼生の出現はみられなかった。

プランクトンネットによる浮遊幼生の採集状況から、多古地区の 1995 年のサザエの産卵期は 6 月下旬～10 月下旬の間で、水温 21 °C以上の水温上昇期および下降期に産卵したものと判断された。

コレクターによる浮遊幼生の出現期の調査

コレクターで採集したサザエ稚貝数の推移を Fig. 22 に示す。水深 10 m の表層（深度 1 m 付近）では、6 月 12 日～7 月 4 日の間設置したコレクターで殻径 280 μm の付着直後のサザエの稚貝が 1 個体採集された。しかし、その後 7 月 4 日～18 日および 7 月 18 日～8 月 2 日の間設置したコレクターで稚貝は採集されなかった。8 月 2 日～17 日の間設置したコレクターでは 71 個採集され、この定点における最大値を記録した。その後、採集数は 8 月 17 日～29 日の間設置したコレクターで減少したが、9 月 13 日～25 日の間設置したコレクター

で再び増加し、10月11日～24日の間設置したコレクターまで連続して採集された。一方、水深10mの下層（深度9m付近）では8月2日～17日、9月13日～25日および9月25日～10月11日の間設置したコレクターでサザエの稚貝が採集されたが、その採集数は1～4個体と少なかった。

水深5mの下層（深度4m付近）では、7月18日～8月2日の間設置したコレクターで初めてサザエの稚貝が採集された。8月2日～17日の間設置したコレクターでは24個採集され、水深10mの表層と同様にこの定点における最大値を記録した。その後、採集数は8月17日～29日の間設置したコレクターで減少したが、8月29日以降設置したコレクターで再び増加し、10月11日～24日の間設置したコレクターまで連続して採集された。

水深10mの定点の一部に欠測があるが、コレクターで採集されたサザエ稚貝数の変化やその殻径組成から、多古地区のサザエの浮遊幼生の出現期は7月上旬～10月下旬の間で、そのピークは8月前半と9月後半であった。

コレクターによる稚貝の採集結果とプランクトンネットによる浮遊幼生の採集結果およびGIは、ほぼ対応して変化した。コレクターで稚貝が多く採集された8月前半および9月後半は、浮遊幼生が比較的多く採集された時期であり、この期間はGIの減少期でもあった。以上のことから、多古地区のサザエの産卵ピークは8月前半と9月後半の2回であった。

コレクターによる浮遊幼生の分布域の調査

ラインA、Bに設置したコレクターで採集したサザエ稚貝の鉛直分布をFig. 23に示す。ラインA、Bともにサザエ稚貝は底層より表層から中層付近で多く採集される傾向があった。特に、7月18日～8月22日の間設置したコレクターでは、設置水深が浅い程サザエ稚貝の採集数が多くなる傾向があった。また、水平的な拡がりについて、ラインAの上層に設置したコレクターで採集されたサザエの稚貝数を同一ライン上で比較すると、沖側（深所）の方が多い場合（7月18日～8月22日の間設置したコレクター）と岸側（浅所）が

多い場合（8月22日～9月25日の間設置したコレクター）があり、水深を反映した傾向は認められなかった。

考察

浮遊幼生の出現と産卵および水温、波浪との関係

第1節の調査では、生殖巣の観察と水温変動の関係からサザエは表層水温21～23℃で最も成熟し、1990年のように夏季の水温上昇が顕著な年の産卵期は7～8月の水温上昇期と9～10月の水温下降期に分かれることが確認されている。今回のプランクトンネットによる調査でも、浮遊幼生が表層水温21℃以上の時期に出現したことから、島根県沿岸のサザエの産卵は表層水温約21℃以上で行われるものと考えられる。そして、1995年の夏季も水温上昇が比較的顕著であったことから、産卵盛期が8月前半の水温上昇期と9月後半の水温下降期に分かれたものと推定される。

海産巻貝類の配偶子放出を誘起する環境要因に関し、エゾアワビ（佐々木1989, 1994, 2000, 2001; 水産庁東北区水産研究所1996; Miyake et al. 2011; 中家・高見2012）をはじめ、暖流系アワビ（田中ら1986; 小宮ら2009; 旭ら2013）やトコブシ *Haliotis diversicolor*（Onisuka et al. 2007, 2008, 2010）で研究が行われ、浮遊幼生の出現には直前の水温変動や波浪が関係し、特に台風の通過時などの波浪により大規模な産卵が行われることが報告されている。

本研究において、浮遊幼生の採集数が最大値を示した9月25日には、直前の急激な水温変化との対応がみられた。また、天然海域でのサザエの産卵行動の観察において、直前の表層水温の変化（2日で約2℃の上昇）との比較から水温変動の関与が指摘されている（阿井ら1964）。これらのことから、数日間の急激な水温変化は、サザエの配偶子放出を直接的に誘起する一つの環境要因であるといえる。この時、浮遊幼生の採集場所とほぼ同地点のサザエのGIが9月中旬以降急激に低下していることから、この期間に集中的な産卵があった

と考えられる。一方、アワビ類で観察された台風の通過時の波浪の産卵への直接的な対応は本研究では認められなかったものの、それを契機に水温の大幅な低下がみられたことから、産卵への間接的な関与があったと推察される。

浮遊幼生の分布

垂下深度の異なるコレクターで稚貝の採集数を比較する場合、垂下深度によって照度が異なり、底層に垂下したコレクターでは照度不足により付着珪藻などの餌料環境が悪く、稚貝が付着後に減耗する可能性が考えられる。しかし、出現期の調査でコレクターに事前に珪藻などの微細藻類が十分に着生し、餌料環境を良好にした基盤を使用したものでも稚貝の採集数は下層より表層が著しく多い結果となっていることや、サザエのベリジャー期の浮遊幼生が底層より中層から表層で多く採集されていることから（山田 1996a）、コレクターによる稚貝の採集数の多寡は付着後の稚貝の生残率の差異よりもその場の浮遊幼生の数量に由来するものであるといえる。したがって、サザエのベリジャー期の浮遊幼生は、中層から表層方面に偏って分布する傾向があると考えられる。

海産巻貝類の浮遊幼生の鉛直分布については、エゾアワビについての報告がある。24 時間の連続採集によりエゾアワビの浮遊幼生の日周変動を調査した結果、浮遊幼生は主に 6 m 以深に多く出現し、夜間のみ 3 m 以浅に出現した（富田・磯貝 1979）。また、エゾアワビの浮遊幼生は沖側では水深 15 m～表層付近に、岸近くではその海底近くとなる水深 3～6 m 層付近に分布する傾向があり、エゾアワビと共に採集された *Tegula* 属（クボガイ *Chlorostoma lischkei*, コシダカガンガラ *Omphalius rusticus*）の浮遊幼生がエゾアワビの浮遊幼生とは異なり、沖合域では水深 10 m～表層付近に、岸近くでは表層 1 m 付近に分布する傾向が認められている（Sasaki and Shepherd 1995）。これらのことからサザエの浮遊幼生の分布の様相は、沖側の分布、岸側の分布ともエゾアワビよりは *Tegula* 属の分布と近似していることが示唆され、これらの分布の違いは種特性によるものである可能性が考えられる。

日本海におけるサザエの1歳未満の稚貝の生息場所については、潮間帯（内場ら 1982）および水深 1~4 m（山田 1996a）などの浅い海域での報告がある。本研究でみられた岸近くでのサザエの浮遊幼生の表層付近への分布が幼生の能動的な行動に起因するのか、水塊の移動による受動的なものなのかは不明であるが、1歳未満の稚貝の分布と岸近くでの浮遊幼生の分布の傾向が一致したことから、サザエの着底過程と浮遊幼生の分布特性との関連性が示唆される結果となった。

第 4 節 着底過程と初期減耗

サザエの加入機構を解明するための調査の一環として、コレクターおよび潜水調査による着底直後の稚貝の連続的な採集を実施し、本種の着底過程および着底直後の減耗過程を明らかにした。

材料および方法

調査区の概要

サザエ稚貝の採集は、島根半島中央部に位置する片句地区で実施した (Fig. 24)。片句地区沿岸は外海に面し、転石と岩盤が混在する岩礁域であり、サザエの好漁場となっている。片句漁港の東に位置する通称チジラ湾の西岸湾口部に位置する水域を調査区域とし、岸側から沖側に向けて一本の調査ラインを設けた。調査ライン付近の底質は岸側から水深 8~10 m までは平坦な棚状の岩盤帯が続き、それ以降は転石帯となっている。調査ライン付近における植物相は、下草として有節のサンゴモ科の海藻（以下有節石灰藻とする）がベッド状に群落を形成し、その上にエビアマモ *Phyllospadix japonica*, フクロノリ *Colpomenia sinuosa*, ヘラヤハズなどの小型海藻やナラサモ *S. nigrifolium*, イソモク, ヤツマタモク *S. patens*, ヤナギモク, ノコギリモクなどのホンダワラ科海藻およびクロメの大型海藻の着生がみられる。これを水深帯ごとの優占種でみると、水深 0~4 m 帯はヒメモサヅキ, ピリヒバ, フサカニノテなどの有節石灰藻およびイソモクが, 水深 5~7 m 帯はクロメ, ヤナギモクが, 水深 8 m 以深はノコギリモクがそれぞれ優占種となっている。調査ライン付近の動物相は、ハナチグサガイ *Cantharidus callichrous*, サラサバイ *Phasianella solida*, ヒメヨウラクガイ *Ergalatax contractus*, ムギガイ *Mitrella bicincta*, ボサツガイ *Anachis misera misera*, フトコロガイ *Euplica scripta* などの小型の巻貝やエビスガイ *Calliostoma unicum*, コシダカガンガラ, オオコシダカガンガラ *Omphalius*

pfeifferi carpenter, ウラウズガイ *Astraea haematraga*, サザエ, レイシガイ *Thais bronni* などの中型の巻貝およびバフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus*, ムラサキウニ *Heliocidaris crassispina* などのウニ類の生息がみられる。

稚貝の採集

サザエ着底稚貝の採集は、産卵期直前の 1995 年 6 月から 1996 年 1 月までスキューバ潜水により実施した (Table 4)。調査頻度はサザエの産卵期である 7 ~10 月を主体に、1 ヶ月に 1 回程度の割合で行った。サザエ稚貝の採集場所としては調査ライン付近の有節石灰藻群落を選定した。有節石灰藻群落を選定したのは、1) 経験上、殻高 10 mm 未満のサザエ稚貝が肉眼で発見される頻度が高いこと、2) サザエ 0 歳貝の採集事例 (内場ら 1982; 山崎・石渡 1987, 1988) があること、3) 定量的な採集が比較的容易であることなどの理由によった。

採集場所の水深帯は水深 2 m と水深 4 m の 2 地点とした。水深の上限を 2 m としたのは、それ以浅では波浪の影響により安定した採集が困難であり、水深の下限を 4 m としたのは、それ以深では経験的に小型のサザエがあまり観察されないことなどの理由によった。この他、8 月と 1 月には採集水深の範囲を拡大し、水深 1 m, 6 m および 8 m においても採集を実施した。有節石灰藻群落は亀裂や段差のある場所を避け、平坦な場所をできる限り無作為に選定し、32 × 32 cm (0.1 m²) の方形枠を用いて 1 水深帯当たり 0.25 ~ 0.5 m² 採集した。

稚貝の採取にはエアーリフティングを用いた採集機を用いた (Fig. 25)。この採集機は本体、採集袋、空気タンクからなり、採集物の剥離と吸い上げを同時に行う構造となっている。本体は口径 30 mm の塩化ビニール管にエアーガンのノズルを上方に向けて固定したものであり、採集袋はポリエチレン製ネット (口径 400 mm, 長さ 470 mm) を使用した。採集袋の目合いは 7 ~ 10 月には 180 μm, 1 月には 500 μm のものを使用した。採集物でネットが詰まり、袋内にたまった空気で採集器が浮き上がるのを防止する目的で、本体の先端部に 1 ~ 2 kg の鉛製の錘を付けて調整した。空気タンクには潜水用のものを用いた。

採集物は採集袋に入れたまま実験室に持ち帰り、淡水で数回洗浄後、10%の中性ホルマリンで固定し、70%のエタノール溶液中で保存した。その後、採集物を3段階（4, 2, 1 mm）の目合の篩を用いて試料として分割した。2 mm以上の目合の篩に残った試料については、目視によってサザエ稚貝を選別した。2 mmの目合を通過したものは、全て実体顕微鏡下で選別した。1 mmの目合を通過した試料については、全量もしくは1/2量を検鏡した。着底直後のサザエの同定は原殻の長径が260~290 μm の範囲であること、原殻の周口部がラッパ状に開くことおよび原殻表面の種固有の模様（林 1983）があることなどで行った。以上の手順で選別したサザエ稚貝の殻径を計測した。さらに、軟体部の無い個体は死殻とみなし、生貝と同様に殻径を計測し、貝殻の損傷の有無を観察した。

コレクターによる浮遊幼生の出現調査

浮遊幼生の出現期および出現量を定量化し、着底稚貝の出現との関係を比較する目的で、第2節で開発したコレクターによる調査を実施した。コレクターの設置個数は1個とし、設置方法は垂下式（Fig. 26）とした。設置定点は調査ライン付近の水深5 m地点の深度4 mに設けた。コレクターの設置と回収はスキューバ潜水および船上から行った。調査期間は1995年6月20日~10月24日で、この間約2週間ごとにコレクターの設置と回収を繰り返した。回収したコレクターは淡水中で丁寧に稚貝を剥離し、100 μm のネットで濾過した後、残渣を5%ホルマリン溶液で固定した。サザエ稚貝の選別、計数は実体顕微鏡下で行った。サザエの同定は前述と同様に原殻表面の種固有の模様などの特徴によって行った。

結果

着底稚貝

サザエ 0 歳貝の生貝および死殻の採集水深ごとの採集密度を Table 5 に、平均殻径を Table 6 に示す。水深 2 m と水深 4 m の調査において、生貝は 6 月 28 日の調査では採集されなかったが、7~10 月の調査では毎回採集された。この間 8 月 4 日には水深 2 m で 176 個/m²、10 月 11 日には水深 4 m で 177 個/m² と比較的高い密度で採集された。死殻も生貝と同様に 7~10 月の調査で毎回採集されたが、その密度は生貝よりやや低い値を示した。その後、1 月 22 日の調査では生貝、死殻ともにその採集密度は低い値となった。生貝の平均殻径は 7 月以降増加したが、その割合は緩やかであった。

生貝、死殻の採集密度を水深 2 m と水深 4 m で比較すると、生貝、死殻ともにその採集密度は 7、8 月では水深 2 m の方が水深 4 m よりも高く、9、10 月は逆に水深 4 m の方が水深 2 m よりも高い傾向があった。また、採集水深の範囲を拡大した 8 月 24 日の調査では、生貝の出現密度は、水深が浅くなる程高い傾向がみられ、特に水深 1 m では 312 個/m² と調査期間中の最大値を示した。1 月 22 日の調査では、8 月 24 日とは逆に生貝、死殻の採集密度は、水深が浅い地点では低く、水深 6 m、8 m で高い傾向を示した。

水深 2、4 m (1 月 22 日は稚貝の採集数が少なかったので水深 6 m も含めた) で採集されたサザエ 0 歳貝について、1 m² 当たりに換算したサザエ 0 歳貝殻径頻度分布組成の推移を Fig. 27 に示す。

生貝については、7 月 19 日、8 月 24 日および 10 月 11 日の各調査においていずれも 400~500 μm の階級にモードがみられた。8 月 4 日の調査では 800~900 μm の階級にモードがあり、その大きさから 7 月 19 日のモードに由来すると判断された。1 月 22 日には、稚貝は殻径 900~3,300 μm の範囲に断続的にみられた。この間の生貝の採集密度は 7 月から 8 月にかけて急増し、8~10 月に 120~136 個/m² の密度を維持した後、1 月には 18 個/m² まで急激に減少した。死殻については、各調査において生貝と同様にモードがみられたが、その階級は生貝のモードより 1~2 階級小さい方にずれる傾向にあった。この間の死殻の採集密度は生貝の傾向とやや異なり、7 月から 8 月にかけて 80~92 個/m²

まで増加した後、9月に24個/m²まで減少したが、10月には再び83個/m²と増加し、その後1月には6個/m²まで急激に減少した。

採集された死殻の殻径頻度分布組成を Fig. 28 に示す。死殻の大きさは着底直後の殻径 260 μm から殻径 2,100 μm までの範囲にあった。死殻には破壊などの大きな損傷はほとんど無かったが、一部に穿孔が観察され (Fig. 29), その割合は死殻全体の 24% であった (Fig. 28)。

コレクターにより採集されたサザエ稚貝

コレクターの設置期間ごとのサザエ稚貝採集数を Fig. 30 に示す。サザエの稚貝は 6 月 20 日～7 月 3 日設置したコレクターでは採集されなかったが、7 月 3～18 日に設置したコレクターから 9 月 26 日～10 月 11 日設置したコレクターまで連続して採集された。この間、7 月 3～18 日および 9 月 13～26 日に設置したコレクターでは多くのサザエ稚貝が採集された。

考察

着底過程

6 月 28 日の着底稚貝の調査で稚貝が採集されず、コレクター調査でも 6 月 20 日～7 月 3 日設置のコレクターで稚貝が採集されなかったことから、サザエの稚貝の着底は 7 月 3 日以降に始まったと推定される。

7 月 19 日の殻径組成における 400～500 μm の階級のモード群は、コレクター調査において 7 月 3～18 日設置のコレクターで 300 μm 以上の稚貝が多く採集されたことから、7 月上旬に着底した群であり、この時期には規模の大きな着底があったと考えられる。

8 月 4 日の殻径組成では、7 月 19 日のモード群に由来すると判断される 700～800 μm の群の他に、500 μm 未満の階級にまとまった群が採集されたが、この群はその大きさから 7 月下旬以降に着底した群であると考えられる。

8月24日の殻径組成では、400～500 μm の階級のモード群は、コレクター調査において8月2～17日設置のコレクターでややまとまった量の稚貝が採集されたことから、8月上～中旬に着底した群であると考えられる。また、1,100～1,400 μm の階級にある小さな群は、それまでの殻径組成の推移から7月19日のモード群に由来する可能性が高く、この間の減耗により密度が低下したものと考えられる。

9月14日の殻径組成では、大きなモード群はみられなかった。1,200 μm 未満の階級で連続して採集された群は、それまでの殻径組成の推移から8～9月に着底した群であると考えられる。また、1,400～2,000 μm の範囲に断続的に採集された群は、それまでの殻径組成の推移から7月に着底した群であると考えられる。

10月11日の殻径組成では、400～500 μm の階級の大きなモード群は、コレクター調査において9月13～26日設置のコレクターで300 μm 未満の付着後間も無い稚貝が多く採集されたことから、9月下旬の着底群であり、この時も7月上旬と同様に比較的規模の大きな着底があったと考えられる。400 μm 未満の階級の個体については、コレクター調査において9月26日～10月11日設置のコレクターで稚貝が採集されたことから10月上旬に着底したものであると推定される。また、それまでの殻径組成の推移から、1,300～1,800 μm に連続的にある群は8月に着底した群であり、2,300～2,400 μm の階級の個体は7月に着底したものであると考えられる。

1月22日の殻径組成では、1,000～3,300 μm の広い範囲に断続的に低い密度で採集されたが、これらは10月11日の殻径範囲との比較から7～10月の着底に由来する個体であると推定される。

着底後の減耗過程とその要因

着底直後の稚仔の減耗に関し、近縁種であるアワビ類についてはいくつかの調査事例があり、エゾアワビでは天然玉石から着底直後の稚仔を186～192個

/m²の密度で採集し、その後 8~12 日で 10~18%まで急激に減耗したことが報告されている (Sasaki and Shepherd 1995)。今回の調査における生貝の殻径組成の追跡から、サザエもアワビ類と同様に着底直後から急激に減耗していくものと考えられる。死殻から得られる情報については、死亡後の時間経過を異にする個体が混在することや波浪などによる調査区外への流失の可能性を考慮すると、稚貝の死亡の実態を必ずしも正確に反映するものではないと考えられるが、各調査日の殻径組成において生貝のモードから 1~2 階級小さい所に死殻のモードがあったことから、死殻の殻径組成は調査日より少し前の死亡の実態をある程度反映しているといえる。したがって、各調査日の死殻の殻径組成から総合的に判断すると、着底直後のサザエ稚貝の殻径は 260~290 μm であるため 300 μm 未満の階級での死殻の採集数は少ないものの、300 μm 以上では小型サイズほどその数が多い傾向にあることから、着底初期ほど減耗の程度は大きく、その減耗の主因は稚貝の死亡によるものであると推察される。生貝の採集密度が 8~10 月は 120~136 個/m²とあまり変化がなかったのは、稚貝の着底による新規加入と死亡による減耗が均衡していたためであると判断される。

稚貝の減耗要因は、エゾアワビで佐々木 (2000) が指摘したように餌不足による死亡も考えられるが、死殻に観察された穿孔はアクキガイ科の肉食性巻貝の捕食 (小澤 1984) を受けた可能性を示唆し、有節石灰藻から採取した試料中に、同科に属するヒメヨウラクガイ、レイシガイの稚貝が多く観察されたことから、これらの種の食害による減耗があったと考えられる。サザエの食害種については、人工種苗の放流後の観察 (葭矢ら 1986; 翠川 1989) や室内捕食実験 (翠川 1989; 藤井 1991) から、前述の種の他にヒトデ類やカニ類が報告されている。ヒトデ類については捕食を受けた痕跡が残らないことから食害の有無は不明であるが、大きく破損した死殻はほとんど採集されなかったことからカニ類による食害は少なかったと考えられる。

幼生の着底と有節石灰藻および水深との関係

サザエの着底後数ヶ月を経過した時点での調査事例には、既述の内場ら（1982）、山崎・石渡（1988）の報告がある。前者は12月に水深50 cm以浅の潮間帯の有節石灰藻群落内において平均殻径0.74 mmの稚貝を39~650個/m²の密度で採集し、後者は11月に水深4 m以浅の潮下帯の有節石灰藻群落内において平均殻径1.7 mmの稚貝を22~177個/m²（2~16個/枠）の密度で採集している。本調査における10月のサザエの採集密度（平均殻径0.63 mmで94~177個/m²）と比較すると、その密度は内場ら（1982）より低く、山崎・石渡（1988）とほぼ同様の値といえる。内場ら（1982）の調査は1982年に実施されたものであり、この時は対馬暖流域でサザエの卓越年級群の発生が確認された時期とほぼ重なること（石田 1989）から、この時の稚貝の加入量は高かったものと考えられる。

これらの調査と今回の調査結果に共通するのは、いずれも有節石灰藻群落においてサザエの0歳貝が高い密度で採集されている点である。有節石灰藻群落とサザエ稚仔の関係に関しては、内場ら（1982）は有節石灰藻群落ではその物理的な形状（乱流形成など）から幼生の着底を促し、有節石灰藻自体の餌料価値は低いものの、稚貝の有効な餌料である付着珪藻が発生し易い環境にあることが、稚貝場形成の一因になっていると推察し、新井（1988）は潮間帯下部から漸深帯上部におけるサザエ稚貝の観察例から、有節石灰藻の密生する群落は、群落内部への波浪の影響を軽減し、稚仔が体を固定するのに都合の良い空間であると考察している。さらに、同じサンゴモ科の無節石灰藻は、近縁種のアワビ類浮遊幼生の着底、変態を高率に誘起し（Morse and Morse 1984; Shepherd and Turner 1985; McShane and Smith 1988）、無節石灰藻から分泌される揮発物質のジブロモメタンがウニ類の着底、変態を強く誘起する（Taniguchi et al. 1994）ことが明らかとなっており、有節石灰藻にもサザエ浮遊幼生に対して何らかの誘引作用がある可能性は否定できない。以上のことを総合すると、岩礁域に広く一般的に分布する有節石灰藻群落は、本種の初期生活史の中で重要な役割を果

たしている可能性があると考えられる。

8月24日の水深別の調査では、1～8mの各水深帯で生貝が採集されたことから、サザエの稚貝は比較的広い水深帯で着底していると推定される。水深が浅いほど採集数が多かったのは、前節の調査において、サザエの浮遊幼生が岸近くでは表層に偏って分布する傾向があったことから、浅い水深帯ほど浮遊幼生の密度が高かったためであると考えられる。1月22日の同様の調査では生貝は浅い水深帯で少なく、逆に6m、8mの深い水深帯で多くなったが、この原因としては冬季の波浪の影響による稚貝の減耗や移動が考えられるものの、調査回数が少ないため推測の域を出ない。今後、サザエ稚貝の加入過程を明らかにするためには、稚貝の減耗過程の追跡に併せて、住み場としての有節石灰藻の現存量および種組成の季節的変動や食害生物の動態などの調査を継続して行うことが重要であると考えられる。

第 5 節 0～1 歳貝の初期成長と密度変化

島根県沿岸におけるサザエの加入機構を解明するための調査の一環として、1991～1995 年までの 4 年間に渡って 0～1 歳貝の定期的な採集を実施し、サザエの初期成長と密度変化を明らかにした。さらに、得られた調査結果をもとに加入量の簡便で有効な把握方法について検討を行った。

材料および方法

調査は前節と同様に、島根半島中央部に位置する片句地区で実施し、片句漁港の東に位置する通称チジラ湾の西岸の海岸域の岸側から沖側に向けて一本の調査ラインを設けた (Fig. 24)。

サザエ稚貝の採集は、1991 年 5 月から 1995 年 10 月までスキューバ潜水により実施した。調査頻度は波浪の影響を受ける冬季を除くと、1～2 ヶ月に 1 回程度の割合であった。採集場所としてはライン付近の水深 2～4 m の有節石灰藻群落を選定した。有節石灰藻群落および調査水深の選定理由は前節と同様であった。

稚貝の採集方法は有節石灰藻群落ごと剥離する方法によった。石灰藻の剥離には 1991 年は金属ヘラを用い、剥離した有節石灰藻をそのまま静かにネット (目合 180 μm) に入れて採集した。しかし、この方法は波浪の影響を受けやすく非効率的であったので、1992 年の途中から前節と同様のエアリフトによる吸引 (吸い上げ法) に変更した。有節石灰藻群落における採集個所は、亀裂や段差のある場所を避け、できる限り無作為に選定し、数ヶ所に分けて採集したものを混合して 1 試料とした。そして、波浪などの採集条件の悪い場合以外は、方形枠 (32 × 32 cm, 50 × 50 cm) を用いてその剥離面積を記録した。

1990 年発生群は発生翌年の 5 月から、1991 年、1992 年発生群は発生年の 11 月から、1993 年、1994 年発生群は発生年の 7 月から採集を開始した。1994 年

発生群は方形枠による調査頻度を増し、稚貝の着底期間についてより詳細に調査を行った。また、1991年と1992年については、サザエ稚貝の生息場所や発生年級群の区分についての基礎資料を得るために、有節石灰藻群落外に生息するサザエの採集を有節石灰藻の採集と同時に実施した。発見したサザエは全て船上に持ち帰り、殻高を測定した後、再び発見した場所に戻した。

岩盤から剥離した採集物は袋ごと実験室に持ち帰り、淡水で数回洗浄、ふるいがけの後、10%の中性ホルマリンで固定、70%のエタノール溶液中で保存した。サザエ稚貝の同定は殻径2 mm以上の個体は肉眼で、それ未満の個体は実体顕微鏡で検鏡して行った。着底直後のサザエの同定は前節と同様に、原殻の長径が260~290 μm の範囲であること、原殻の周口部がラッパ状に開くこと、および原殻表面の種固有の模様があることなどで行った。軟体部の無い個体は死殻とみなし、生貝と同様に大きさを計測した他、貝殻の損傷の有無を観察した。

サザエ稚貝の貝殻は当初横（殻径）方向に伸張するが、成長とともに次第に横よりも縦（殻高）方向への伸張割合が増大することから、貝殻の計測部位は、殻径と殻高がほぼ同じ長さになる約3.5 mmを境にそれ以前は殻径をそれ以降は殻高とした。

結果

年級群の区分と生息場所

1992年に有節石灰藻群落内で採集されたサザエ稚貝および有節石灰藻群落外で目視により採集された殻高40 mm未満のサザエの殻高（径）頻度分布組成をFig. 31に示す。目視調査では、殻高15~35 mm程度の小型個体が有節石灰藻群落外の岩盤の溝、亀裂およびウニ穴などで多く発見された。4、7、9月の調査では、有節石灰藻群落内、外で出現した各群は単峰型であり、1991年発生貝（0歳）と1990年発生貝（1歳）の年級群は明確に区分された。しかし、

11月の調査では、1991年発生貝（1歳）と1990年発生貝（2歳）の殻径範囲は連続したため年級群の区分は不明確であった。このことから、サザエ稚貝の0歳と1歳についてはその大きさの違いにより、年級群の分離が可能であることが示された。

0歳貝の成長

前述の結果を基に、採集したサザエ稚貝を、発生した翌年の11月までの期間についてその殻高（径）組成から各年級群に分離して整理した（Table 7-1～5）。

Table 7-1～5より各年級群を総合すると（Fig. 32）、調査日ごとの殻高（径）の範囲は比較的広く、これを月ごとにみると、その殻高（径）範囲は11月0.4～2.7 mm、12月1.1～3.8 mm、翌3月1.3～4.4 mm、4月1.7～8.6 mm、5月2.3～5.2 mm、6月2.6～10.4 mm、7月3.5～9.9 mm、8月4.0～13.3 mm、9月4.7～15.5 mm、10月8.0～13.5 mm、11月8.2～16.3 mmとなった。また、発生年11月から翌年の春季までの稚貝の成長は緩やかであるが、夏季以降急激な成長を示した。サザエの産卵期は第1, 3節の調査から6月下旬～10月下旬と推定され、仮にその産卵期の中間の8月下旬を基準とすると、有節石灰藻群落内のサザエの満1歳時における平均的な殻高は、概ね4～14 mmの範囲にあり、その平均は8～10 mm程度であった。

0歳貝の採集密度

発生～春季の採集密度について、採集記録のある1994年級群をみると（Fig. 33）、稚貝は8月から採集され、その密度は17.3個/m²と低かったが、9月には急激に増加して186.7個/m²と最高値を示した。しかし、その後、採集密度は急激に減少し、11月は72.0個/m²、翌3月は12.7個/m²となった。他の年級群についても、発生年翌春～秋季までの採集密度は1994年級群とほぼ同様の減少傾向を示し、春季には5～25個/m²あったものが、秋季には0～3.8個/m²

まで低下した (Table 7-1~4)。

死貝の殻高 (径) 組成

1994 年級群の死殻について、殻高 (径) 頻度分布組成を Fig. 34 に示す。採集された死殻の大部分は、殻径 1 mm 未満の個体であった。死殻には破壊などの大きな損傷はほとんど観察されなかったが、前節と同様に殻の一部に穿孔痕が認められ、その割合は死殻全体の 31% であった。有節石灰藻中の採集物からはサザエ稚貝とともにアクキガイ科の肉食性巻貝であるレイシガイとヒメヨウラクの稚貝も採集されていることから、サザエ稚貝がそれらから食害を受けた可能性がある。

考察

着底期と殻高 (径) 組成範囲

葭矢・桑原 (1988a) はサザエの人工種苗生産において小型の稚貝が低水温期に減耗することから、9~10 月の秋季発生群は越冬期の生残が低く、夏期発生群が各年級群の主体になっていると推察している。しかし、前節における稚貝の着底とその後の生残過程の関係から、秋季発生群も夏期発生群と同様に生き残り、加入群として有効であると推察される。したがって、Fig. 32 においてサザエの殻高 (径) 範囲が広い理由としては、成長速度の個体差によるものもあるが、着底時期の差に起因するものが大きいと考えられる。

初期成長

サザエの初期成長に関し、天然個体の採集結果を基に解析された例は少なく、京都府地先の報告 (葭矢・桑原 1988a) と千葉県地先の報告 (山崎・石渡 1988) があるだけである。この中で満 1 歳時の平均殻高を葭矢らは 6 月基準で約 10 mm、山崎・石渡は 8 月下旬基準で約 12 mm と推定している。8 月下旬で 8~

10 mm となった本調査結果とこれらの値を比較すると、どちらも高い値といえる。しかし、京都の場合は目視採集した個体を基に推定された値であり、有節石灰藻中に生息する小型個体の見落としにより、平均値が高い方に偏っていた可能性が考えられる。これに対して、千葉の値は本調査と同様に有節石灰藻群落内の個体の測定結果を基にしていることから、本調査結果との比較は妥当であり、千葉の成長が島根より速い理由としては、太平洋と日本海の水温条件の差が関係している可能性が考えられる。また、本調査において着底後の稚貝は低水温期である冬季から春季の成長は著しく緩慢であり、夏季以降の水温の上昇とともに急速に成長したことから、当海域のサザエ稚貝の成長は水温に強く影響を受ける日本海型サザエの特徴（宇野 1962; 葭矢ら 1986）を示しているといえる。

密度変化と生息場の関係

前節および本調査結果から、本種の産卵期間の 6 月下旬～10 月下旬には着底と減耗が同時進行するために稚貝の密度は比較的高い値で増減しながら推移するが、着底が終了して新たな稚貝の補給が無くなると、1994 年級群の 0 歳貝の採集密度変化にもみられるように、その生息密度は急激に減少していくものと考えられる。そして、1994 年級群の死貝の殻高（径）組成で示したとおり、減耗の程度は殻径 1 mm 未満で特に大きく、前節と同様に死殻の食害痕の状況から、減耗要因の一つには同じ有節石灰藻群落内に生息するアクキガイ科の肉食性巻貝による食害（小澤 1984）が考えられた。

0 歳貝のサザエの生息密度の経時的な変化については、成長と同様に知見が少なく、有節石灰藻群落の内外における稚貝の採集密度の比較から、群落内で生息していた 0 歳貝が、満 1 歳直前から 2 歳にかけて、群落外へ生息場所を変えることが指摘されている（山崎・石渡 1988）。本調査においても 1992 年の目視調査で、10～30 mm の小型個体は有節石灰藻群落中よりも有節石灰藻群落外の岩盤上の亀裂や溝で多く採集されたことや、11 月における有節石灰藻内

外におけるサザエ稚貝の分布の比較から、有節石灰藻群落中の稚貝は、成長に伴って大型個体から徐々に有節石灰藻群落外へ生息域を拡大していくものと考えられる。

有節石灰藻群落外への移動要因としては、隠れ場としての物理的空間の不足や餌料条件によるものが考えられる。人工種苗生産においてサザエ稚貝は成長と共に付着珪藻から小型海藻へ食性を転換し、殻高 8~10 mm のサザエ人工種苗の放流後の追跡調査において、放流後の稚貝の成長がテングサ類やアナオサ *Ulva australis* の優占水域に放流したものより有節石灰藻優占水域で放流したものの方が劣っていたこと（葭矢ら 1987）から、有節石灰藻群落外への移動は、稚貝の成長に伴う摂餌量の増加や食性の転換が関係していると推察される。したがって、有節石灰藻群落中のサザエ稚貝の密度低下について、稚貝の多くが殻高 10 mm 以上に成長する夏季以降は、死亡による減耗の他に稚貝の有節石灰藻群落外への移動による密度低下が含まれており、このことは同時に夏季以降の有節石灰藻群落内のサザエは小型サイズに偏っている可能性があることを示唆するものである。このため、サザエの初期成長や年齢を明らかにしようとする場合、産卵期の長さに起因する年級内の殻高範囲の広さとともにその分布特性にも十分留意する必要があると考えられる。

0 歳貝発生量モニタリングの可能性

島根県におけるサザエの漁獲年齢は 3~5 歳が主体であり（山田・曾田 1997）、発生初期における加入量の定量化は数年後の資源水準を把握する上で意義あることと考えられる。第 2, 3 節においてサザエの浮遊幼生の定量化にコレクターが有効であることを示したが、着底直後から殻径 1 mm までに急激な稚貝の減耗がみられることから、浮遊幼生期や着底直後の稚仔の定量評価からは加入量を予測することはやや困難であるといえる。したがって、大きな減耗期を過ぎ、加入量がほぼ定まった稚貝期の段階で定量採集を行う方がより精度が高いといえる。これまでサザエの 0 歳貝の知見が少なかったのは、目視調査の限

界である殻高 10 mm 未満の個体の適当な採集方法がなかったことが一因にあると考えられるが、本調査では有節石灰藻群落においてエアリフトを用いた採集方法でサザエの 0 歳貝が安定的に採集されることが判明した。したがって、有節石灰藻群落内の稚貝の豊度からその後の加入量を予測することは可能であり、資源に対してある程度定量性を持つ可能性が考えられる。

有節石灰藻群落内においてサザエ 0 歳貝の発生量をモニタリングする時期としては、以下の理由から、発生翌年の春季に調査を実施するのが適当であると考えられる。

- ・産卵後期（秋季）に由来する小型個体が肉眼で判別可能な殻径 2 mm 以上に成長している
- ・産卵前期（夏季）に由来する大型個体が有節石灰藻群落内に留まっている
- ・春季は海況が比較的穏やかで計画的な採集が可能である

そしてその採集場所としては、本調査のように有節石灰藻群落が岩盤上の平滑面にベッド状に形成されている場所を選定することが、定量的な採集が容易であるという点で重要であると考えられる。また、第 3 節でサザエ浮遊幼生がコレクターで湾奥より湾口部で多く採集されたことから、サザエの稚仔は、波浪の渦動域（田中ら 1986）や岬の先端域および外海性湾入域（Sasaki and Shepherd 1995）で稚仔の採集が多いアワビ類と同様の集積機構があると示唆されることから、効率的な調査のためには、稚仔が安定的に集積する水域（稚貝場）を選定することも大切であり、その形成条件についても明らかにしていくべきであると考えられる。

第Ⅲ章 イワガキの人工種苗生産に関する研究

第 1 節 半屋外 100 kl 大型水槽を用いた付着期幼生の大量生産

第 1 項 予備試験

近年のイワガキ養殖業者の増加に伴って養殖用種苗の需要が拡大しつつあることから、種苗生産の現場にはより安定的な種苗の供給が求められており、さらには出荷後の成長が良好な生産初期（6～7月採卵）の種苗が好まれる状況にある。栽培センターにおけるイワガキ浮遊幼生の飼育は、従来から 1 kl の小型水槽約 50 槽を用いて行っている（以下従来の方法と称す）が、1 回の幼生の収容量には限りがあることや幼生の生残が不安定であることなどから、イワガキの採卵が可能な 6～10 月の比較的長期にわたり数回に分けて種苗生産を実施している状況にあり、種苗生産初期における大量安定生産が重要な課題となっている。

一方、過去に種苗の量産化を目的に 50～100 kl 規模の大型水槽を用いて浮遊幼生を管理する方法が、バカガイ *Maetra chinensis*（藤本ら 1988）やアカガイ *Anadara broughtonii*（岸岡・寺尾 1994）で試験的に実施され、このうちアカガイでは、幼生の生残率、成長とも従来小型水槽を用いた生産方法を上回る結果となったことが報告されている。

そこで、本項では、栽培センターで遊休施設となっている半屋外の大型水槽（100 kl）を用いてイワガキ付着期幼生の生産を試験的に試みた。さらに、用いる餌料は屋外培養により生産し、幼生飼育では日常的な底掃除・換水作業を行わない粗放的な管理方法を検討した。

材料および方法

浮遊幼生の飼育条件

幼生の飼育試験は受精翌日の D 型幼生から付着期幼生までの期間とした。幼生の飼育水槽には屋外の屋根付きコンクリート製角形 100 k l 水槽（10 × 5 × 深さ 2 m, 水量は餌料の添加状況により 70~80 k l の範囲で変動）を使用した。飼育水には砂ろ過海水を 1 μ m のカートリッジ式フィルターでろ過したのを用い、止水管理とした。従来の小型水槽を用いた生産と並行して行うことを想定して、作業の簡素化を図るため日常的な底掃除および換水は行わないこととした。飼育水の攪拌には 4 隅の底に固定したユニホースと中央に垂下したエアーストーンからの通気により行い、飼育水がゆっくり回転するように通気量を調整した。

飼育水の水質のモニタリングとして、水槽中央部において水温、pH および原生動物の数を毎日測定した。原生動物の計数にはフックスローゼンタール血球計算盤を用い、サンプルを固定せずに個体数のみ記録した。

幼生の密度・成長のモニタリングは、水槽の 4 隅の 4 箇所、中央の 2 箇所の計 6 箇所のエアークラスタ付近から各点 50 ml ずつ計 300 ml の飼育水を毎日採取して行った。幼生の摂餌状態を観察し、個体数を計数した後、殻長について 30 個体を測定した。また、日間成長率を以下の計算式により求めた。

$$\text{日間成長率 (\%)} = (L2-L1) / L1 \cdot 100$$

L1 は前日の平均殻長 (mm), L2 は当日の平均殻長 (mm) を示す。

餌料藻類の種類と培養

餌料藻類は屋外培養に適した種である珪藻類 *Chaetoceros neogracile* (以下ネオグラシーレと略す) とハプト藻類 *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate) (以下タヒチと略す) の 2 種の外、市販品 (サンカルチャー, マリンテック社) の珪藻類 *Chaetoceros calcitrans* (以下カルシトランスと略す) の計 3 種を用い、給餌条件の異なる 2 つの試験区を設けた (Fig. 35)。タヒチの元株は国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所「水産生物遺伝資源保存事業」により入手

したものを、ネオグラシーレの元株は栽培センター保有のものを用い、いずれも栽培センターで培養したものを使用した。

餌料藻類の大量培養は屋外に設置した水槽で行い、タヒチは 500 l 透明ポリカーボネイト水槽を、ネオグラシーレは 15 kl 角形 FRP 水槽 (3.9 × 3.9 × 深さ 1 m) を使用した。タヒチは 5 日程度の培養で約 3×10^6 細胞/ml, ネオグラシーレは 7 日程度の培養で約 2×10^6 細胞/ml の細胞密度に増殖したものを給餌した。元種の接種方法は、タヒチでは室内の恒温室の 5 l フラスコで培養したものを元種に使用したが、ネオグラシーレでは室内の恒温室の 5 l フラスコで培養したものを一旦屋外の 500 l 水槽に植え継いで拡大したものを元種として使用する方法と屋外培養の 15 kl 水槽 (水量 5~7 kl) の植え継ぎによる方法を併用した。

添加する栄養塩類には、タヒチは市販品の液体培養液 (KW21, 第一製網) を、ネオグラシーレは前述の培養液の他にケイ酸栄養塩 (ゲルカルチャー, 富士シリシア化学) を用い、添加量は培養水 1 l 当たり液体培養液が 0.3 ml, ケイ酸栄養塩が 0.2 g とした。なお、500 l 透明ポリカーボネイト水槽については、培養開始から梅雨明け (7 月 8 日) までの期間は降雨によるオーバーフローおよび塩分濃度急変の防止を目的に上面を開閉可能な塩ビ製の透明シートで覆い、天候によってシートの開閉を調整した。

1 回目試験

採卵には栽培センターの海面筏において垂下飼育している種苗生産用のイワガキ親貝を用いた。2013 年 6 月 25 日に雄 8 個体・雌 20 個体から切開法で得た受精卵を 500 l ポリカーボネイト水槽に収容し、数時間後に浮上したトロコフォア幼生を回収して計数後、飼育水槽に収容した。

初期餌料にはカルシトランスを用い、平均殻長 100 μm からタヒチを併用し、120 μm 以降にネオグラシーレに徐々に替えることとした (Fig. 35)。餌料系列は、珪藻類を単独給餌するとイワガキ幼生の大量斃死発生率が高くなること

(石原・常盤 2013) から、ハプト藻であるタヒチと珪藻類の併用期間が長くなる設定とした。栽培センターで培養した 2 種については、栄養価を考慮し(押尾ら 1995), 対数増殖期から定常初期までの状態のものを給餌した。

給餌量は毎朝測定した残餌量を基に、翌日に前日の餌がある程度残ることを目安として給餌量を決定した。給餌回数は給餌量に応じて調整し、1 日に 1~2 回行った。残餌量の測定には原生動物の測定と同様にフックスローゼンタール血球計算盤を用いた。また、飼育海水中の細菌叢の安定を目的に(佐藤ら 2000), 飼育水に栽培センターの屋外水槽 (500 l) で培養した *Nannochloropsis oculata* (以下ナンノクロロプシスと略す) を $0.5\sim 1 \times 10^4$ 細胞/ml の濃度を維持するように 1 日 1~2 回飼育水に添加した。

飼育開始時の幼生の収容密度は、従来の方法 (1.5~2.0 個体/ml) の約半分~1/3 となる 0.7~0.8 個体/ml に設定し、トロコフォア幼生の飼育水槽への収容時に密度を調整した。

2 回目試験

1 回目試験と同様に、2013 年 7 月 12 日に雄 6 個体・雌 10 個体から切開法で得た受精卵を 500 l ポリカーボネイト水槽に収容し、数時間後に浮上したトロコフォア幼生を回収して計数後、飼育水槽に収容した。

初期餌料にはタヒチを用い、平均殻長 120 μm 以降にネオグラシーレに徐々に替えることとした (Fig. 35)。餌料系列は、餌料コストの低減を図るために市販品であるカルシトランスを使用せず、自家培養の 2 種のみ使用することとし、さらに餌料培養作業の簡素化を図るために両種の併用期間を短くする設定とした。給餌量の決定、残餌量の測定方法およびナンノクロロプシスの添加量などの基本的な飼育条件は 1 回目試験と同様とした。

採苗試験

生産した幼生が実際に採苗できるかどうか確認することを目的に、1 回目試

験の付着期幼生の一部を用いて採苗試験を行った。7月16日（飼育開始16日目）に幼生約1,500万個体を500 lの円形ポリカーボネイト水槽24基に收容し、従来の方法と同様に、ホタテガイ原盤を用いた採苗器18,480枚に稚貝を付着させた。餌料は従来の方法と同様に、屋内で自家培養した *Pavlova lutheri*（以下パブロボと略す）、*Isochrysis galbana*（以下ガルバナと略す）および市販のカルシトランス（前述と同じ）を給餌した。水槽收容から10日後の7月26日に海面飼育に移行し、9月30日に採苗器における稚貝の付着数を測定した。

結果

1回目試験

当初の計画では、試験期間中は無換水とする設定であったが、飼育水槽内で増えた原生動物の除去を目的に、飼育15日目にオープニング70 μm のネットを用いてサイフォンにより幼生を回収して水槽替え（全換水）を行った。

飼育期間中の水温および飼育15日目以降のpH（それ以前の測定値については測定機器の不具合により値が不正確であると判断された）の推移を Fig. 36 に示す。飼育前半の飼育水温は22~23 $^{\circ}\text{C}$ 台で推移したが、梅雨明けとなった飼育13日目（7月8日）に1 $^{\circ}\text{C}$ 以上上昇し、その後は24~25 $^{\circ}\text{C}$ 台で推移した。飼育水のpHは、水槽換えを行う直前の飼育15日目は7.8であったが、水槽換え後は8.2に上昇し、その後は再び低下した。

浮遊幼生の密度およびその密度から推定した生残率（3日移動平均値）の推移を Fig. 37 に示す。飼育1日目のD型幼生の密度は0.81個/mlであり、当初の設定密度の範囲内であった。その後、浮遊幼生の密度はほぼ安定して0.7~0.8個/ml付近を推移したが、飼育10日目以降は緩やかに減少し、飼育後半には0.5~0.6個/ml付近を推移した。幼生の生残率は飼育9日目までは90%以上の高い値を維持したが、飼育10日目以降は緩やかに減少傾向となり、飼育14日目には80%前後、試験終了直前には70%付近まで低下した。

浮遊幼生の平均殻長および日間成長率（3日移動平均値）の推移を Fig. 38

に示す。飼育前半の幼生の成長は緩慢で、日間成長率は3~4%付近を推移したが、飼育13日目以降は成長が良好となり、日間成長率は8~15%を推移した。

飼育水中を浮遊する原生動物の出現密度の推移を Fig. 39 に示す。飼育2日目までは飼育水中に原生動物が確認されなかったが、飼育3日目以降に急激にその密度が増加し、飼育5日目には約 1×10^4 個体/ml と最高値を示した。その後、密度は低下し、 $10^2 \sim 10^3$ 個体/ml のオーダーで推移した。水槽替え後の2日間は原生動物がほとんど出現しなかったものの、水槽替え後3日目（飼育18日目）以降に再びその密度が増加し、 $10^2 \sim 10^3$ 個体/ml のオーダーで推移した。

飼育水槽中の餌料藻類の密度（残餌，給餌およびその合計値）を Fig. 40 に示す。残餌密度は給餌前の実測値，給餌密度は給餌した餌料の総細胞数から計算された値である。飼育1日目からカルシトランスの給餌を開始したが、飼育3日目に残餌量が給餌量以上となったため、飼育3,4日目の給餌を中止した。その後、飼育5日目以降は逆に残餌量が減少傾向となったため給餌を再開し、飼育13日目（平均殻長 136 μm ）まで継続した。飼育6日目（平均殻長 93 μm ）からはタヒチの給餌を開始し、飼育18日目（平均殻長 234 μm ）まで継続した。飼育12日目（平均殻長 118 μm ）からはネオグラシーレの給餌を開始し、試験終了まで継続した。なお、水槽替えに伴って残餌量が増加傾向となったため、飼育17日目は給餌を一時的に中止した。試験期間中の各餌料の総給餌量は、カルシトランス，タヒチ，ネオグラシーレが各々 65 l, 3.2 kl, 7.4 kl で、総給餌細胞数は、カルシトランス，タヒチ，ネオグラシーレが各々 3×10^{12} 細胞， 8×10^{12} 細胞， 1.1×10^{13} 細胞だった。飼育11日目以降の餌料の給餌密度は、従来の方法における給餌密度より高く、その値は水槽換え直後（飼育15日目）に最大 4.6×10^4 細胞/ml となり、従来の方法の同サイズにおける給餌密度の約3倍であった。なお、ナンノクロロプシスの総添加量は 354 l であった。

飼育19日目から眼点を有する幼生が確認され、飼育21日目にその出現率が

34%となり採苗適期となったため飼育試験を終了した。飼育水の 50%をサイフォンで回収して幼生の計測・計数を行ったところ、試験最終日における殻長（平均 ± 標準偏差）は $320 \pm 33 \mu\text{m}$ で、総個体数および D 型幼生から付着期幼生（採苗適期）までの生残率は、それぞれ約 3,500 万個、63.1%と推定された。

2 回目試験

試験開始時における D 型幼生の収容密度は、1 回目試験と同様の 0.7~0.8 個体/ml 程度に設定する予定であった。しかし、採卵に使用した雌貝の生殖巣の状態が悪かったことから、卵質に問題がある場合の幼生の初期減耗の可能性を懸念し、トロコフォア幼生を前述の設定密度より多く飼育水槽に収容し、D 型幼生の状態を確認後に飼育密度を調整することとした。また、1 回目試験と同様に、飼育水槽内で増えた原生動物の除去を目的に飼育 7 日目に水槽替え（全換水）を行った。

飼育期間中の水温および pH の推移を Fig. 36 に示す。飼育水温は 24~26°C 台で推移した。pH は水槽替えを行った飼育 7 日目までは 8.3 から 7.8 付近まで緩やかに低下したが、水槽替え後は 8 前後の値を安定して推移した。

浮遊幼生の密度および密度から推定した生残率（3 日移動平均値）の推移を Fig. 37 に示す。飼育 1 日目の D 型幼生の密度は 2.2 個/ml であり、従来の方法における飼育密度（1.5~2.0 個/ml）よりやや高い値であった。試験開始時に懸念していた卵質不良による D 型幼生の減耗はみられず、その後の生残状況も良好に推移したことから、幼生密度の再調整は行わず、高い密度のまま飼育を行うこととした。その後、浮遊幼生の密度は飼育日数の経過とともに緩やかに減少し、飼育後半には 1.2~1.4 個/ml 付近を推移した。幼生の生残率は飼育 4 日目付近までは 95%以上の高い値を推移したが、その後は緩やかに減少傾向となり、飼育後半には 70%前後となった。

浮遊幼生の平均殻長および日間成長率（3 日移動平均値）の推移を Fig. 38

に示す。幼生の成長は1回目試験と異なり飼育開始直後から順調に推移し、飼育4日目までの日間成長率は、1回目試験の2~3倍となる9~10%付近を推移した。その後、飼育5日目以降は成長がさらに良好となり、日間成長率は11~14%を推移した。

飼育水中を浮遊する原生動物の出現密度の推移を Fig. 39 に示す。1回目試験と同様に飼育2日目までは飼育水中に原生動物が確認されなかったが、飼育3日目以降にその密度が増加し、水槽替えを行った飼育7日目まで $1.2\sim 1.6 \times 10^3$ 個体/ml の密度で推移した。その後、1回目試験と同様に水槽替え後の2日間は原生動物が出現しなかったが、水槽替えから4日目（飼育11日目）以降に再びその密度が増加して、 10^2 個体/ml のオーダーで推移した。1回目試験と比較すると、原生動物の出現密度は全体的に低い値で推移した。

飼育水槽中の餌料藻類の密度（残餌、給餌およびその合計値）を Fig. 40 に示す。飼育1日目からタヒチの給餌を開始し、飼育9日目（平均殻長 $183 \mu\text{m}$ ）まで継続した。飼育2日目の残餌量は多かったが、飼育3日目以降は残餌量が減少した。飼育6日目（平均殻長 $124 \mu\text{m}$ ）からはネオグラシーレの給餌を開始し、試験終了まで継続した。なお、1回目試験と同様に水槽替えに伴い残餌量が増加傾向となったため、飼育10日目は給餌を一時的に中止した。試験期間中の各餌料の総給餌量は、タヒチが 4.5 kl 、ネオグラシーレが 7.4 kl で、総給餌細胞数は、タヒチが 1.0×10^{13} 細胞、ネオグラシーレが 1.1×10^{13} 細胞だった。餌料の給餌密度は全体的に従来の方法より高く推移し、その値は水槽換え前日（飼育6日目）に最大 4.4×10^4 細胞/ml となり、従来の方法の同サイズにおける給餌密度の約5.5倍であった。なお、ナンノクロロプシスの総添加量は 552 l であった。

飼育13日目から眼点を有する幼生が確認され、飼育14日目にその出現率が55%となり採苗適期となったため飼育試験を終了した。飼育水の25%をサイフォンで回収して幼生の計測・計数を行ったところ、試験最終日における殻長（平均 \pm 標準偏差）は $314 \pm 58 \mu\text{m}$ で、総個体数およびD型幼生から付着期

幼生（採苗適期）までの生残率は、それぞれ約 1 億 2,200 万個、79.5%と推定された。

D 型幼生から付着期幼生（採苗適期）までの幼生の生残率は、1 回目試験、2 回目試験ともに従来の方法における値（36%：過去 2 年間の平均値）を上回る結果となった。

採苗試験

浮遊幼生の採苗器への付着は良好に推移した。9 月 30 日の採苗器における稚貝の付着数を測定した結果、出荷の基準を満たしている採苗器（採苗器 1 枚当たり稚貝 10 個以上付着）の割合は 95%となり、従来の栽培センターの割合（66%：過去 2 年間の平均値）よりも高い値であった。

考察

二枚貝類の種苗生産における浮遊幼生の飼育において、今回の試験のような大型の水槽を用いる事例は少なく、全国的には純粋培養した餌料を用いて屋内で 0.5~1 kl の小型水槽を使用して集約的に管理する方法が一般的である。当県の栽培センターにおいても、純粋培養したパブロバ、ガルバナを主体とした餌料を用いて、屋内で 1 kl の透明ポリカーボネイト水槽を用いて幼生の飼育を行っている。小型水槽を用いるメリットとしては、換水や底掃除の日常の管理が容易であることその他、水槽内の幼生の状態が観察し易いことにある。イワガキの幼生の飼育では、しばしば活力の低下によるとみられる幼生の沈降現象が起きることから、幼生の生残状況の把握には幼生のサンプリングと合わせて水槽内の幼生の分布状態を観察することが重要となる。一方、今回のような大型水槽を用いる場合は、水槽内の幼生分布の観察ができないため、幼生の正確な生残状況の把握が困難となる事態が想定される。

しかし、今回の試験において幼生のサンプリングから推定した生残率は、試

験期間中を通して大きく変動することが無く、試験終了日直近の生残率と試験終了日にサイフォンにより回収して推定した生残率の差は、2回の試験とも1割前後に留まった。したがって、今回の試験では水槽内における幼生の分布がほぼ均一に維持されたため、幼生のサンプリングから推定した生残率はほぼ実態を反映していたものと考えられ、幼生の状態が試験期間を通じて良好に保たれたことを示すものであるといえる。

従来の方法においてイワガキ幼生の適水温とされる 25~26°Cで飼育した場合、飼育 15~17 日目で眼点が出現するが、これと今回の試験における眼点の出現日を比較すると、1回目試験（19 日目）はやや遅く、2回目試験（13 日目）はやや早い結果となった。1回目試験がやや遅れた理由としては、飼育前半において飼育水温が適水温より 2~3°C低く推移し、成長率の低い状態が継続したことが影響したものと考えられる。

以上のことから、今回の試験における幼生の生残・成長は、試験期間を通じて良好に推移し、従来の方法と同等もしくはそれ以上の結果を示したものと考えられる。特に、日常的な底掃除や換水を行わない粗放的な管理方法で飼育し、さらに従来の方法よりもやや高い飼育密度で試験を行った 2 回目試験において、約 80%の高い生残率が得られたことは予想外であり、得られた付着期幼生数は、当栽培センターの生産の 1 シーズン分にも匹敵する数であった。これらの結果は、アカガイの飼育例（岸岡・寺尾 1994）と同様に、イワガキにおいても大型水槽を用いた種苗生産が有効である可能性を示すものであり、餌料の大量培養が可能となる本種の生産期初期（6~7 月）において適した生産方法である可能性が示唆された。

今回の試験で用いた自家培養 2 種（タヒチ、ネオグラシーレ）は、屋外培養に適した種であり、6~7 月における屋外の大型水槽を用いた大量培養はほぼ順調に推移した。このうち、飼育前半に用いたタヒチは、高温耐性に優れ、大量培養における好適な培養条件も明らかにされている（鳥羽・深山 1993）。このため、夏季の屋外培養では非常に利用価値の高い種とされている（千葉県水

産研究センター 2004) が、一方で近種のガルバナと比較して、EPA や DHA の含有量が少なく栄養価が劣ることや細胞径がやや大きいことからふ化直後の二枚貝幼生の餌料としては不相当とされ(岡内 2012)、イワガキと近種のマガキ *Crassostrea gigas* 幼生の飼育試験において、タヒチを給餌した幼生の成長が二枚貝の初期餌料として一般的に用いられているカルシトランスを給餌したもののより劣ったとの報告もある(Helm and Laing 1987)。このため、1回目試験ではカルシトランスを初期餌料としたが、タヒチを初期餌料として単独で用いた2回目試験においても、幼生の生残・成長は1回目試験と同様で良好であった。イワガキ幼生の脂肪酸をはじめとする栄養要求が不明であり、イワガキの幼生にタヒチを初期餌料として用いた事例報告も無いことから、今回の結果について栄養成分の面から検証することは困難であるが、タヒチがイワガキ幼生の初期餌料として十分に使用できる可能性があることが示唆された。また、飼育後半に用いたネオグラシーレは、広い範囲の温度条件で安定して培養できる種であり(岡内 2012)、多くの二枚貝の餌料として使用され、高い餌料価値が認められている(押尾ら 1995; 千葉県水産研究センター 2004)。今回の試験においても、給餌量の増加する飼育後半に安定的な培養が可能であり、単独給餌となった飼育終盤においても幼生の成長・生残は問題無く順調に推移した。したがって、イワガキ幼生の飼育後半の餌料としての本種の利用価値は非常に高いと考えられる。

一方、今回の試験において幼生の成長・生残に問題は無かった反面、飼育期間中の餌料の給餌量は従来の方法と比較してかなり多い結果となった。この原因は飼育水中の原生動物の影響によるものであり、1回目試験、2回目試験とも飼育3日目以降に原生動物が増加し、飼育開始時に添加したナンノクロロプシスやタヒチに原生動物の混入を確認していることから、主に餌料由来の原生動物が飼育水槽内で急速に増殖したものと考えられる。原生動物の多くは幼生と餌料を競合することからその給餌ロスの影響は大きく、さらに、幼生の摂餌量を確保するために給餌密度を高くした場合、擬糞の排出量の増加(千葉・大

島 1957) による問題も生じる。水槽内で増殖した原生動物の除去には今回実施した水槽換えが最も効果的な方法であるが、水槽換え後 3~4 日で原生動物が再び増殖し、その効果は 3 日程度しか期待できないと考えられる。したがって、水槽換えを行う場合は、飼育水の水質や餌料の給餌効率などの各条件を総合的に判断し、最も効果的なタイミングで実施すべきであると考えられる。なお、今回の試験において水槽換えを行う直前の pH は、1 回目試験（飼育 15 日目）、2 回目試験（飼育 7 日目）ともに 7.8 付近であり、この値は魚類の稚仔魚の長期止水飼育いわゆる「ほっとけ飼育」（高橋 1998; 島 2006; 栗田・近藤 2011）における換水開始時の値 7.1~7.6 よりも高い値であった。魚類と二枚貝では求められる水質が異なると考えられるものの、水質悪化の簡易的な指標である pH の値に顕著な異常がみられず、幼生の状態も良好であったことから、水槽換え直前の飼育水の水質に問題は無かったものと推察される。従来の方法では予防的に毎日換水を行っているため pH の値が問題になることは無いが、今回のように長期間無換水で飼育する場合は、水質のモニタリングにおいて、水質悪化の指標である pH やアンモニア態窒素の値になんらかの基準を設けておくことが必要となると考えられる。

事例数は限られるものの、大型水槽を用いて粗放的にイワガキ幼生を管理する方法は、6~7 月の本種の種苗生産初期における付着期幼生の大量生産に適した方法であると考えられた。そして、本生産方法は日常の幼生管理に必要な時間は僅かであり、用いる餌料も屋外培養により比較的容易に生産できることから、従来的小型水槽を用いた生産方法と並行して行うことが可能であり、従来の方法の補完的な生産技術として本生産方法を導入することで、種苗生産期の初期における大量安定生産が期待できるものと推察される。

第 2 項 飼育条件の検討

前項の予備試験で、大型水槽（100 kl）を用いたイワガキ浮遊幼生の大量生産が可能であることが示されたことから、本項ではその有効性・再現性を確認するとともに、より安定的で効率的な手法とするために、初期餌料の種類や給餌期間および幼生の収容密度などの基本的な飼育条件を変えた試験区を設定し、それらの違いが幼生の成長や生残に与える影響について検討した。また、近年、栽培センターに対して生産要望が高まりつつあるシングルシード種苗の生産を目的に、試験で生産した付着期幼生を用いて、同様の大型水槽を用いた粗放的な採苗試験を行い、その生産の可能性についても併せて検討した。

材料および方法

浮遊幼生の飼育条件

基本的な飼育条件は予備試験と同様に以下の条件とした。幼生の飼育試験は受精翌日の D 型幼生から付着期幼生出現までの期間とした。幼生の飼育水槽には屋外の屋根付きコンクリート製角形 100 kl 水槽（10 × 5 × 深さ 2 m、水量は餌料の添加により 70～80 kl の範囲で変動）を用い、水槽替え用の水槽も含め 5 水槽（4 水槽は並列配置で同一棟に、1 水槽は別棟に位置する）を使用した。飼育水には砂ろ過海水を 1 μm のカートリッジ式フィルターでろ過したものを用い、止水管理とした。従来の方法と並行して行うことを想定して、作業の簡素化を図るため、日常的な底掃除および換水は行わないこととした。飼育水の攪拌には 4 隅の底に固定したユニホースと中央に垂下したエアーストーンからの通気により行い、4 隅のユニホースのエアリフト効果により飼育水が水平方向にゆっくり回転するように通気量を調整した。

飼育水の水質のモニタリングおよび幼生の密度・成長のモニタリングについても前項と同様とし、水温、pH、原生動物の数および浮遊幼生の数と殻長を

毎日測定した。この他、前項と同様に飼育水槽直上における日射量について適宜光量子束密度の測定を行った。

餌料藻類の種類と培養

基本的な餌料藻類の培養条件も予備試験と同様の条件としたが、屋外の大量培養では使用する培養水槽は異なった。タヒチでは、予備試験では 500 l 透明ポリカーボネイト水槽を用いたが、餌料の使用量に応じてより大型の 1 kl の同水槽に変更した。ネオグラシーレでは、予備試験では 15 kl 角形 FRP 水槽 (3.9 × 3.9 × 深さ 1 m) を用いたが、増殖効率の向上を目的に水深の浅い 6 kl 角形 FRP 水槽 (1 × 10 × 深さ 0.6 m) に変更した。各水槽の培養開始時の水量は、降雨時の増水によるオーバーフローを防止するために、天候に応じて前者は 800 l ~ 1 kl、後者は 5 ~ 6 kl の範囲で調整した。

餌料藻類の元株は、タヒチ、ネオグラシーレ (高温耐性株) とともに国立研究開発法人水産研究・教育機構増養殖研究所「水産生物遺伝資源保存事業」により入手したものをを用いた。拡大培養における元種の接種方法は、タヒチでは、室内の恒温室の 5 l フラスコで培養したものを使用方法と屋外培養の 1 kl 水槽の植え継ぎによる方法を併用し、ネオグラシーレでは、室内の恒温室の 5 l フラスコで培養したものを一旦屋外の 500 l 水槽に植え継いで拡大したものを元種として使用方法と屋外培養の 6 kl 水槽の植え継ぎによる方法を併用して行った。培養開始時の元種の接種密度は、両種とも約 $2 \sim 3 \times 10^5$ 細胞/ml の範囲を目安とし、タヒチは約 5 日の培養で約 3×10^6 細胞/ml、ネオグラシーレは約 6 日の培養で約 2×10^6 細胞/ml の細胞密度に増殖したものを給餌した。

また、予備試験において、タヒチは強光阻害と考えられる植え継ぎ時の培養不調がみられたことから、その防止対策 (根本・磯上 1996) として、接種後約 1 日間は木製の板を用いて日射の状況に応じて水槽上面の約 1/2 ~ 4/5 を覆って遮光し、光量を調整した。さらに、タヒチでは、大規模な降雨が予測される時には、事前に農業用の安価な透明マルチビニールシートで水槽上面を覆い、

オーバーフローを防止した。

餌料に関する試験区の設定

予備試験において、屋外で大量培養が可能なタヒチが本種の初期餌料として使用できる可能性が示唆されたことから、その再現性を確認するために、予備試験で用いた餌料系列 A (Fig.41) の評価を主体とする比較試験を行った。後期餌料であるネオグラシーレの給餌期間は、予備試験と同じ条件（平均殻長 120 μm で給餌開始）とし、初期餌料の種類・給餌期間を変えた他の 3 つの餌料系列 (B, C, D) との比較を行った (Fig. 41)。

A は初期餌料にタヒチを用いる餌料系列であり、予備試験において良好な結果が得られた系列である。A では餌料培養作業の簡素化を図るために、タヒチとネオグラシーレとの併用期間を短く設定し、タヒチの給餌終了は、イワガキ幼生飼育におけるネオグラシーレの給餌開始サイズ 120 μm (松浦・森 2005) と幼生の殻長組成との関係から、全ての幼生が 120 μm 以上となり、ネオグラシーレの摂餌が可能となる平均殻長 180 μm 前後とした。

B は二枚貝の種苗生産において初期餌料として一般的に用いられ、市販品として容易に入手が可能なカルシトランスを用いた餌料系列であり、A と同様の理由により、同餌料の給餌終了は平均殻長 180 μm 付近とした。

C は餌料のサイズ (押尾ら 1995; 岡内 2012) に留意し、細胞径が小さいとされるカルシトランスを初期餌料として用い、細胞径がやや大きいとされるタヒチを 100 μm 付近から給餌する餌料系列であり、A と同様に予備試験において良好な結果が得られた系列である。さらに C では、二枚貝の幼生の餌料系列において、幼生の成長や生残率の向上を目的に栄養価の異なる複数種の餌料藻類を混合して給餌することが推奨されていることから (押尾ら 1995)、ハプト藻のタヒチと珪藻のネオグラシーレとの併用期間を餌料系列 A より 3 日程度長く設定し、タヒチの給餌終了を平均殻長 240 μm 付近とした。

D は初期餌料にタヒチを用い、平均殻長 240 μm 付近まで給餌する餌料系列

であり、ネオグラシーレとの併給期間を C と同様の理由により、長めに設定したものである。

生産試験は、餌料系列 A と他の餌料系列 B～D の一つとを同時に比較する方法で、計 3 回（試験 1～3）実施した。

試験 1

試験 1 では、餌料系列 A, B（試験 1-A, 試験 1-B）を用いて、タヒチの初期餌料としての有効性についてカルシトランスとの比較を試みた。採卵には前項と同様に、栽培センターの海面筏において垂下飼育している種苗生産用の親貝を用いた。2014 年 6 月 25 日に、雄 10 個体・雌 19 個体から切開法で得た精子と卵子を受精後、受精卵を各々 0.5 l ポリカーボネイト水槽に收容した。数時間後に浮上したトロコフォア幼生を、サイフォンにより別の 500 l ポリカーボネイト水槽に移送し、エアレーションで攪拌しながら各々 50 ml 中の幼生数を計数後、各飼育水槽に收容した。

幼生の適切な收容密度を検討することを目的として、試験 1-A, 1-B の飼育開始時の D 型幼生の收容密度は、従来の方法（約 1.5 個体/ml）より低い 1 個体/ml に設定し、従来の方法より高い 2 個体/ml に設定した試験 2 の同じ餌料系列 A の生産結果について比較することとした。これらの幼生の密度の調整は、トロコフォア幼生の飼育水槽への收容時に行った。

また、幼生を收容する飼育水槽の選択にあたっては、飼育棟の外側に位置する水槽は、外部からのゴミや飛来する虫の混入が多いため可能な限り選択を避けるべきであるが、予備試験の 1 回目試験において、20℃台前半の低い水温が継続したことにより幼生の成長が停滞して飼育期間が長くなったことから、飼育期間の短縮化を図るために、試験 1-A, 1-B とともに日射量が多く飼育水温が高い（内側より 1℃程度上昇）飼育棟の外側に位置する水槽を選択した。しかし、後に、高い光量が原因と考えられる浮遊幼生が飼育水槽の底面に大量に沈む現象（大量沈下）が生じたことから、それ以降は外側に位置する水槽の外側

に遮光幕を設置して日射量の軽減を図った。

栽培センターで培養した餌料 2 種については、栄養価を考慮し（押尾ら 1995）、対数増殖期から定常初期までの状態のものを給餌した。給餌量の決定にあたっては、幼生および原生動物の摂餌量と光合成による水槽内での餌料の増加分とのバランスを総合的に判断し、幼生が飢餓状態とならないこと、逆に給餌過多により水槽内で餌料が必要以上に増えすぎないことに留意した。給餌量は、前日の給餌量と当日の残餌量の関係を基に、原生動物の密度や水槽換えからの日数などを勘案し、翌日に餌料がある程度残ることを目安に決定した。残餌量の目安は、幼生の成長段階に応じて、栽培センターの従来の方法の平均的な給餌密度 $0.5 \sim 2 \times 10^4$ 細胞/ml の範囲内とした。給餌回数は給餌量に応じて調整し、1 日に 1~2 回行った。残餌量の測定には原生動物の測定と同様に、フックスローゼンタール血球計算盤を用いた。飼育海水中の細菌叢の安定を目的に（佐藤ら 2000）、飼育水に栽培センターで培養したナンノクロロプシスを $0.5 \sim 1 \times 10^4$ 細胞/ml の濃度を維持するように 1 日 1~2 回添加した。

試験 2

試験 2 では、予備試験において異なる飼育条件で使用した餌料系列 A, C（試験 2-A, 試験 2-C）について、同時に同じ産卵群を用いてその再現性と有効性について比較を行った。2014 年 7 月 3 日に、雄 10 個体・雌 40 個体から得た受精卵を使用し、給餌およびナンノクロロプシスの添加などの基本的な飼育条件は試験 1 と同様とした。前述の試験 1 との比較のために、飼育開始時の D 型幼生の収容密度は、従来の方法より高い 2 個体/ml に設定し、試験 1 と同様にトロコフォア幼生の飼育水槽への収容時に密度を調整した。飼育水槽には、試験 2-A, 2-C とともに飼育棟の内側に位置する水槽を選択した。

試験 3

試験 3 では、餌料系列 A, D（試験 3-A, 試験 3-D）を用いて、タヒチの適

切な給餌期間について検討した。

2014年7月18日に、雄10個体・雌22個体から得た受精卵を使用し、給餌およびナンノクロプシスの添加などの基本的な飼育条件は試験1,2と同様とした。飼育開始時のD型幼生の収容密度は、試験2と同様に従来の方法(約1.5個体/ml)より高い2個体/mlに設定し、トロコフォア幼生の飼育水槽への収容時に密度を調整した。飼育水槽は飼育棟の内側に位置する1水槽を選択し、7日間飼育を行った後に2水槽に分槽して比較試験を開始した。

付着期幼生の生産目標および最終日における生残率の推定

各試験で生産目標とする付着期幼生数については、従来の生産方法のバックアップという観点から、栽培センターの従来の方法における採苗1回分に最低限必要な付着期幼生数、約3,000万個体(0.6個体/ml×1kl×50水槽)を目標値として設定した。試験2,3では、飼育最終日に飼育水槽内の6地点の上層、中層、下層の計18箇所において、各50mlずつ飼育水をサイフォンで採水し、得られた浮遊幼生の平均密度から飼育最終日における浮遊幼生の生残率を推定した。

シングルシード採苗試験

幼生の飼育試験で用いた100kl水槽において、シングルシードの生産が可能かどうかを確認することを目的に、試験3で生産した付着期幼生の一部を用いて採苗試験を行った。試験3-Dで生産した付着期幼生のうち約5,000万個体を、8月3日(日齢16日)に100kl水槽1槽(採苗水槽、水量70kl)に収容した。付着基材には園芸肥料用カキ殻粉末を用い、1mmメッシュのネットでふるいにかけて後、水洗して微塵を除去したもの(乾燥重量約25kg)を幼生の収容前日に採苗水槽底面に均一になるように散布した。8月7日までは止水管理とし、自家培養したネオグラシーレを 2×10^4 細胞/ml以上の濃度を維持するように、1日2~3回水中ポンプで直接給餌した。付着基材に十分な数の幼生の付

着が確認された 8 月 8 日からは、採苗水槽の水位を下げ（水量 30 kl）、隣接する 100 kl 水槽（水量 70 kl）を經由してサイフォンにより連続的に給水する流水管理に変更した。採苗水槽の換水率は 1 日 1~2 回転程度とし、ネオグラシーレの濃度が $2\sim 5 \times 10^4$ 細胞/ml を維持するように、給水元の 100 kl 水槽に添加するネオグラシーレの量を適宜調整した。採苗開始から 18 日後の 8 月 20 日に、採苗水槽の排水口に 1.5 mm メッシュのネットを設置して排水し、付着基材に付着した稚貝を全て回収した。回収した稚貝が均一になるように十分に攪拌した後に、5 g をサンプルとして採取し、実体顕微鏡下で生きた稚貝を計数して重量法により総稚貝数を求めるとともに、100 個体の稚貝の殻高を測定した。また、4 隅のユニホースのエアリフト通気により、採苗水槽内で発生した水流により付着基材が移動したため、露出した水槽底面にも稚貝が付着した。これらの稚貝については、金属製のヘラを用いて全て剥離して前者と同様に計数し、殻の損傷の少ない個体の殻高を測定した。

結果

屋外における餌料培養

1 kl 水槽を用いたタヒチの培養（欠測のある 6 月 26 日開始のものを除く）における細胞密度（3 日移動平均値）の推移を、培養時期別（6 月中旬，6 月下旬，7 月上旬，7 月中下旬）に Fig. 42 に示す。試験期間中において、タヒチはほぼ安定した培養を示し、全 25 回の培養のうち 22 回（88%）は目標とする細胞密度 3×10^6 細胞/ml に達した。 3×10^6 細胞/ml に到達しなかった 3 回（培養開始日：6 月 23，24 日，7 月 11 日）では、 $2.4\sim 2.6 \times 10^6$ 細胞/ml まで増殖した後に枯死した。培養結果は培養時期でやや異なり、6 月の培養では、培養開始 5~6 日目で $5\sim 6 \times 10^6$ 細胞/ml まで増殖する回次がみられたのに対して、7 月の培養では、 3×10^6 細胞/ml を大きく超えて増殖する回次はみられなかった。

6 kl 水槽を用いたネオグラシーレの培養（欠測のある 7 月 1，12，13，18，

27日、8月4日開始のものを除く）における細胞密度（3日移動平均値）の推移を、培養時期別（6月下旬～7月上旬、7月下旬～8月上旬）に Fig. 43 に示す。試験期間中において、ネオグラシーレは安定した培養を示し、全16回の培養のうち15回（94%）は目標とする細胞密度 2×10^6 細胞/ml に達した。 2×10^6 細胞/ml に到達しなかった1回（培養開始日：7月12日）では、 1.4×10^6 細胞/ml まで増殖した後に枯死した。

試験 1

飼育期間中の飼育水温、浮遊幼生の密度、その密度から推定した生残率（3日移動平均値）および浮遊幼生の平均殻長の推移を Fig. 44-a, b, c, d に示す。

飼育水温は、試験 1-A は 22～23℃台、試験 1-B は 21～23℃台で推移した。

飼育1日目の浮遊幼生の密度は、試験 1-A は 1.0 個体/ml で、計画した設定密度の範囲内であったが、試験 1-B は 1.2 個体/ml と、計画した設定密度よりやや高い値であった。その後、試験 1-A については、飼育3日目までは浮遊幼生の密度は安定して 0.9～1.0 個体/ml 付近を推移したが、飼育4日目に 0.71 個体/ml まで減少し、翌飼育5日目には幼生の大量沈下によりその密度は 0.02 個体/ml まで大きく減少した。その後、幼生の浮上がみられず、回復する見込みが無かったことから飼育7日目に試験を中止した。飼育4日目（飼育5日目以降は浮遊幼生のサンプル数が少なかったため未計測）の浮遊幼生の平均殻長は、90.8 μm であった。試験 1-B については、飼育4日目までは浮遊幼生の密度はほぼ安定して 1.1～1.2 個体/ml 付近を推移したが、飼育5日目に 0.97 個体/ml と減少傾向となり、試験 1-A と同様の幼生の大量沈下が予想されたため、同日にオープニング 50 μm のネットを用いてサイフォンにより幼生を全て回収して水槽替えを行った。水槽替え後は、飼育6～10日目までは浮遊幼生の密度はほぼ安定して 0.7～0.8 個体/ml 付近を推移したが、飼育11日目に幼生の大量沈下により 0.14 個体/ml まで急激に減少した。その後、幼生の浮上がみられず、回復する見込みが無かったことから、飼育12日目に試験を中止した。

飼育 11 日目（飼育 12 日目は浮遊幼生のサンプル数が少なかったため未計測）の浮遊幼生の平均殻長は、 $104.3 \mu\text{m}$ であった。

飼育開始から大量沈下があった日までの、飼育水中を浮遊する原生動物の出現密度および幼生の日間成長率の推移を Fig. 44-e, f に示す。試験 1-A では、飼育 2 日目から原生動物が確認され、その密度は、飼育 3~4 日目は $0.2\sim 2.5 \times 10^3$ 個体/ml であったが、浮遊幼生の大量沈下があった飼育 5 日目には急激に増加して 2.5×10^4 個体/ml となり、全試験中最も高い値を示した。またこのとき、飼育水には原生動物の他に大型の珪藻類が 6×10^2 細胞/ml の密度で観察された。試験 1-A の飼育 4 日目までの日間成長率は、5~9% 付近を推移した。試験 1-B では、飼育 3 日目から原生動物が確認され、水槽替えを行った 5 日目まで $1.6\sim 9.4 \times 10^4$ 個体/ml の範囲で推移した。水槽替え後 3 日目（飼育 8 日目）から再び原生動物の密度が増加し、飼育 10 日目まで $3.1\sim 5 \times 10^3$ 個体/ml の範囲で推移したが、幼生の大量沈下があった飼育 11 日目に急激に増加して 1.1×10^5 個体/ml となった。試験 1-B の幼生の成長は全体的に緩慢であり、日間成長率は 1~6% 付近を推移した。

飼育開始から大量沈下があった日までの、飼育水槽中のナンノクロロプシスの密度の推移を Fig. 44-g に示す。試験 1-A, 1-B とともに、飼育開始から晴天続きであったことや幼生を収容した水槽がいずれも外側に位置していたことで当初の想定以上に日射量が多く、飼育 1 日目に添加したナンノクロロプシスが飼育 2 日目以降に水槽内で急激に自然増殖し、飼育水が緑色となった。飼育 5 日目にはナンノクロロプシスの細胞密度は、試験 1-A が 3.4×10^4 細胞/ml、試験 1-B が 3.9×10^4 細胞/ml と高くなった。この期間の晴天時の飼育水槽直上付近における光量子束密度の平均値は、試験 1-A が $468 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、試験 1-B が $442 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ であり、これは内側に位置する水槽の約 4 倍の値であった。

飼育開始から大量沈下が起こった日までの飼育水槽中の餌料藻類の密度（残餌、給餌およびその合計値）を Fig. 45 に示す。残餌密度は、給餌前の実測値、給餌密度は、給餌した餌料の総細胞数から計算された値である。試験 1-A で

は飼育 1 日目からタヒチの給餌を開始し、飼育 3 日目には水槽内でタヒチが増殖し、残餌量が予定していた給餌量以上となったため給餌を中止した。試験 1-B では、飼育 1 日目からカルシトランスの給餌を開始し、飼育 2 日目以降は水槽内でカルシトランスが大量に増殖し、残餌量が予定していた給餌量以上となったため、飼育 2~4 日目の給餌を中止した。飼育 7 日目（水槽替え後 2 日目）も残餌量が増加したため給餌を中止した。

試験 2

飼育期間中の飼育水温、浮遊幼生の密度、その密度から推定した生残率（3 日移動平均値）および浮遊幼生の平均殻長の推移を Fig. 44-a, b, c, d に示す。

飼育水温は、試験期間を通じて試験 2-A、試験 2-C とともに 22~24°C 台であったが、飼育 4~7 日目については、試験 2-A が試験 2-C より 0.3~0.7°C 高く推移した。

飼育当初の浮遊幼生の密度は、試験 2-A、試験 2-C とともに 2.4 個体/ml（試験 2-C は 1, 2 日目の平均値）と、計画した設定密度よりやや高い値であった。その後、試験 2-A では、浮遊幼生の密度が飼育日数の経過とともに減少し、飼育 6 日目には 1.6 個体/ml となり、それ以降、飼育 10 日目まで 1.5~1.6 個体/ml 付近を安定して推移したものの、飼育 11 日目には再び減少して 1.1 個体/ml となり、それ以降、飼育後半にかけて 0.9~1.1 個体/ml 付近を推移した。試験 2-C では、飼育 5 日目に一時的に 1.1 個体/ml と低い値を示したものの、飼育 10 日目までの減少傾向は試験 2-A とほぼ同様であった。その後は、試験 2-A より高い 1.2~1.7 個体/ml 付近を安定して推移した。

浮遊幼生の生残率は、飼育 10 日目までは試験 2-A、試験 2-C とともに 100~60% の範囲でほぼ同様の傾向を示したが、飼育 11 日目以降は、試験 2-C が 60% 前半の高い値を維持したのに対し、試験 2-A は 40% 台と試験 2-C より低い値を推移した。

浮遊幼生の平均殻長は、飼育 2 日目までは試験 2-A、試験 2-C とほぼ同様

であったが、飼育 3 日目以降は、試験 2-A の方が試験 2-C よりやや高い値で推移し、飼育 8 日目に両者の差は約 26 μm と最大となった。その後は、両者の平均殻長の差は徐々に縮まり、飼育 17 日目にはほぼ同じ値となった。

飼育水中を浮遊する原生動物の出現密度および幼生の日間成長率の推移を Fig. 44-e, f に示す。試験 2-A では、飼育 4 日目から原生動物が確認され、その出現密度は $0.6\sim 4.7 \times 10^3$ 個体/ml の範囲で推移した。原生動物の除去を目的とする水槽替えを、飼育期間中に 2 回（飼育 5, 11 日目）実施した。試験 2-A の日間成長率は、原生動物が少ない水槽替え直後は高く（11~12%）、原生動物が多い水槽替え直前は低い（1~5%）傾向があった。試験 2-B でも試験 2-A と同様に飼育 4 日目から原生動物が確認され、その出現密度は $1.9\sim 2.5 \times 10^3$ 個体/ml の範囲で推移した。原生動物の除去を目的とする水槽替えを、試験 2-A と同様に 2 回実施したが、いずれも試験 2-A より 1 日遅れ（飼育 6, 12 日目）で行った。試験 2-C の日間成長率は、試験 2-A と同様に原生動物が少ない飼育開始時や水槽替え直後は高く（11~14%）、原生動物が多い水槽替え直前は低い（3~4%）傾向があった。

飼育水槽中のナンノクロロプシスの密度の推移を Fig. 44-g に示す。試験 2-A のナンノクロロプシスの細胞密度は、 $0.9\sim 8.4 \times 10^3$ 細胞/ml の範囲であった。試験 2-C のナンノクロロプシスの細胞密度は、飼育 3 日目に 1.6×10^4 細胞/ml と高かった以外は $1.6\sim 7.2 \times 10^3$ 細胞/ml の範囲であった。

飼育水槽中の餌料藻類の密度（残餌、給餌およびその合計値）を Fig. 46 に示す。試験 2-A では、飼育 1 日目からタヒチの給餌を開始し、飼育 11 日目（平均殻長 170 μm ）まで継続した。飼育 7 日目（平均殻長 126 μm ）からはネオグラシーレの給餌を開始し、試験終了まで継続した。水槽替え後の飼育 12~14 日目は、飼育水槽内でネオグラシーレが大量に増殖し残餌量が増加したため、給餌を一時的に中止した。試験 2-A の試験期間中の各餌料の総給餌量は、タヒチが 3.3 kl、ネオグラシーレが 3.4 kl で、総給餌細胞数は、タヒチが 9.7×10^{12} 細胞、ネオグラシーレが 9.4×10^{12} 細胞であった。餌料の給餌密度は全体的に

従来の方法より高く推移し、その値は水槽換え前日（飼育 10 日目）に最大 4.6×10^4 細胞/ml となり、従来の方法の同サイズにおける給餌密度の約 3.8 倍であった。餌料生産に要した経費は、4,200 円（培養液に用いる栄養塩・殺菌剤などの購入費が主体で実際の給餌量の 1.5 倍量で計算、飼育水槽のエアレーションおよび元種の生産・管理に係る電気代については従来生産における余剰分の使用が可能であるため計算から除外、培養に用いた海水および洗浄用水道水については算出が困難なため計上せず）であった。

試験 2-C では、飼育 1 日目からカルシトランスの給餌を開始したが、飼育 2 日目に残餌量が予定していた給餌量以上となったため、飼育 2,3 日目の給餌を中止した。カルシトランスの給餌は、飼育 8 日目（平均殻長 117 μm ）まで継続した。飼育 4 日目（平均殻長 91 μm ）からはタヒチの給餌を開始し、飼育 15 日目（平均殻長 238 μm ）まで継続した。飼育 9 日目（平均殻長 132 μm ）からはネオグラシーレの給餌を開始し、試験終了まで継続した。試験 2-C の試験期間中の各餌料の総給餌量は、カルシトランス、タヒチ、ネオグラシーレが各々 50 l, 4.7 kl, 3.6 kl で、総給餌細胞数は、カルシトランス、タヒチ、ネオグラシーレが各々 2.5×10^{12} 細胞、 1.3×10^{13} 細胞、 8.8×10^{12} 細胞であった。餌料の給餌密度は全体的に従来の方法より高く推移し、その値は飼育 15 日目に最大 4.2 万細胞/ml となり、従来の方法の同サイズにおける給餌密度の約 2.3 倍であった。餌料生産に要した経費は、4,900 円（計算方法は試験 2-A と同様）であり、カルシトランスの購入費用は 108,000 円であった。

試験 2-A では、飼育 16 日目から眼点を有する付着直前の幼生が確認され、飼育 17 日目にその出現率が 11% となり、採苗適期となったため飼育試験を終了した。最終日における殻長（平均 \pm 標準偏差）は、 $278 \pm 29 \mu\text{m}$ (Fig. 44-d) で、サイフォンを用いた層別の幼生の採集結果 (Fig. 48) から推定した総個体数および D 型幼生からの生残率は、それぞれ約 8,200 万個体、47.5% と推定され、当初の目標を大きく上回る付着期幼生数が得られた。

試験 2-C では、試験 2-A と同様に飼育 16 日目から眼点を有する付着直前の

幼生が確認され、飼育 17 日目にその出現率が 9%となり、採苗適期となったため飼育試験を終了した。試験最終日における殻長（平均 ± 標準偏差）は、 $273 \pm 36 \mu\text{m}$ （Fig. 44-d）で、サイフォンを用いた層別の幼生の採集結果（Fig. 48）から推定した総個体数および D 型幼生からの生残率は、それぞれ約 1 億 2,300 万個体、73.1%と推定され、試験 2-A と同様に当初の目標を大きく上回る付着期幼生数が得られた。

飼育最終日に実施したサイフォンを用いた層別の幼生の採集では、両試験区ともに上層から下層に向けて多くなる傾向がみられた。その平均幼生密度は、試験 2-A は 1.12 個体/ml、試験 2-C は 1.69 個体/ml と推定され、いずれも同日にエア－攪拌部表層付近で採集した幼生のモニタリングにおける推定値（試験 2-A は 1.07 個体/ml、試験 2-C は 1.35 個体/ml）より高い値であった（Fig. 48）。

試験 3

飼育期間中の飼育水温、浮遊幼生の密度、その密度から推定した生残率（3 日移動平均値）および浮遊幼生の平均殻長の推移を Fig. 44-a, b, c, d に示す。

飼育水温は、試験 3-A が 24～27℃台、試験 3-D が 24～28℃台で推移した。

飼育 1 日目の浮遊幼生の密度は、2.2 個体/ml で、計画した設定密度よりやや高い値であった。その後、浮遊幼生の密度は緩やかに低下し、分槽を行った飼育 7 日目には 1.7 個体/ml となった。分槽後の飼育 8 日目の浮遊幼生の密度は、試験 3-A、試験 3-D とともに 0.8 個体/ml となった。その後、試験 3-A の浮遊幼生の密度は減少傾向となり、0.5～0.6 個体/ml 付近を推移した。一方、試験 3-D の浮遊幼生の密度は試験 3-A と同様に減少したが、その程度はより緩やかであり、飼育後半にかけて 0.7～0.8 個体/ml 付近を推移した。

浮遊幼生の生残率は、分槽を行った飼育 7 日目には 86%となった。分槽後の飼育 8 日目以降は試験 3-A が飼育後半にかけて 60%前後まで低下したのに対し、試験 3-D は飼育後半でも 70%以上の高い値を維持した。

浮遊幼生の平均殻長は、分槽後 5 日目（飼育 12 日目）までは試験 3-A、試

験 3-Dともほぼ同様であったが、分槽後 6 日目（飼育 13 日目）以降は試験 3-Dの方が試験 3-Aより高くなり、飼育 15 日目に両者の差は約 55 μm と最大となった。

飼育水中を浮遊する原生動物の出現密度および幼生の日間成長率の推移を Fig. 44-e, f に示す。分槽後は、試験 3-A では分槽後 3 日目（飼育 10 日目）から、試験 3-D では分槽後 2 日目（飼育 9 日目）から原生動物が確認され、その出現密度は両試験区とも、分槽後 5 日目（飼育 12 日目）まで約 1×10^4 個体/ml 前後まで増加した後、減少傾向となった。日間成長率は、試験 1, 2 と同様に原生動物が少ない飼育開始直後は高く、原生動物の出現とともに低くなる傾向があった。分槽後の日間成長率は、試験 3-A, 3-D ともに原生動物が少ない数日間は高い値（13~15%）を示したが、原生動物が増加傾向となった分槽後 4 日目（飼育 11 日目）以降は数%まで低下し、その後は値が日々大きく変動し、不安定となる傾向があった。

飼育水槽のナンノクロロプシスの密度の推移を Fig. 44-g に示す。ナンノクロロプシスの細胞密度は、飼育 3 日目に 2.4×10^4 細胞/ml と一時的に高かったが、分槽後は試験 3-A, 試験 3-D ともに $0.6 \sim 5.6 \times 10^3$ 細胞/ml の範囲であった。

飼育水槽中の餌料藻類の密度（残餌，給餌およびその合計値）を Fig. 47 に示す。飼育 1 日目からタヒチの給餌を、飼育 6 日目（平均殻長 114 μm ）からネオグラシーレの給餌を開始した。分槽後、タヒチの給餌を試験 3-A では飼育 9 日目（平均殻長 152 μm ）で終了したのに対し、試験 3-D では飼育 12 日目（平均殻長 217 μm ）まで継続した。また、両試験区ともに試験開始直後の 4 日間（飼育 8~11 日目）はネオグラシーレの残餌量が増加傾向となったため、給餌を一時的に中止したが、続く 2 日間（飼育 12~13 日目）は逆に残餌量が大きく減少したため給餌量を大幅に増加し、その後は残餌量に応じて給餌量を調整した。

試験 3-A の試験期間中の各餌料の総給餌量は、タヒチが 1.1 kl、ネオグラシーレが 4.5 kl で、総給餌細胞数は、タヒチが 3.3×10^{12} 細胞、ネオグラシーレ

が 1.2×10^{13} 細胞であった（分槽前の飼育 1~7 日目は実際の給餌量の 1/2 として計算）。試験 3-D の試験期間中の各餌料の総給餌量は、タヒチが 1.7 kl, ネオグラシーレが 3.2 kl で、総給餌細胞数は、タヒチが 5.1×10^{12} 細胞, ネオグラシーレが 8.2×10^{12} 細胞であった（試験 3-A と同様に分槽前の給餌量を補正）。餌料の給餌密度は、試験 3-A, 3-D とともに全体的に従来の方法より高く推移し、その値は飼育 13 日目に最大で約 7×10^4 細胞/ml となり、従来の方法の同サイズにおける給餌密度の約 4.7 倍であった。餌料の生産に要した経費は、試験 3-A が 4,700 円, 試験 3-D が 3,600 円であった（計算方法は試験 2 と同様）。

試験 3-A では、飼育 15 日目から眼点を有する付着直前の幼生が確認され、飼育 17 日目にその出現率が 21% となり、採苗適期となったため飼育試験を終了した。試験最終日における殻長（平均 ± 標準偏差）は、 $268 \pm 49 \mu\text{m}$ (Fig. 44-d) で、サイフォンを用いた層別の幼生の採集結果（Fig. 48）から推定した総個体数および D 型幼生からの生残率は、それぞれ約 5,500 万個体, 70.1% と推定され、当初の目標を上回る付着期幼生数が得られた。

試験 3-D では、試験 3-A より 1 日早い飼育 14 日目から眼点を有する付着直前の幼生が確認され、試験 3-A より 2 日早い飼育 15 日目にその出現率が 27% となり、採苗適期となったため飼育試験を終了した。試験最終日における殻長（平均 ± 標準偏差）は、 $292 \pm 40 \mu\text{m}$ (Fig. 44-d) で、サイフォンを用いた層別の幼生の採集結果（Fig. 48）から推定した総個体数および D 型幼生からの生残率は、それぞれ約 6,000 万個体, 77.2% と推定され、試験 3-A と同様に当初の目標を大きく上回る付着期幼生数が得られた。

飼育最終日に実施したサイフォンを用いた層別の幼生の採集では、試験 2 と同様に両試験区ともに、上層から下層に向けて多くなる傾向がみられた。その平均幼生密度は、試験 3-A は 0.75 個体/ml, 試験 2-D は 0.83 個体/ml と推定され、いずれも試験 2 と同様に、同日にエア－攪拌部表層付近で採集した幼生のモニタリングにおける推定値（試験 2-A は 0.58 個体/ml, 試験 2-C は 0.67 個体/ml）より高い値であった（Fig. 48）。

シングルシード採苗試験

試験最終日において、底面の付着基材に付着した稚貝は約 190 万個体と推定され、試験開始時に収容した幼生数に対する採苗率は 3.8%、殻高（平均 ± 標準偏差）は 2.4 ± 0.65 mm であった。水槽底面に直接付着した稚貝は約 73 万個体と推定され、その殻高（平均 ± 標準偏差）は 3.9 ± 0.98 mm と付着基材に付着した稚貝より大型であった。なお、水槽壁面への稚貝の付着はほとんどみられなかった。

考察

従来の生産方法のバックアップ体制の構築を目的に実施した本試験では、使用する水槽数や試験回数に制限があることから、幼生の成長・生残に大きな影響を与えると考えられる餌料条件に絞った試験区を設定して付着期幼生の大量生産を試みた。餌料には、屋外培養により比較的容易に生産が可能であるタヒチとネオグラシーレを用い、初期餌料として用いたタヒチの評価を主体に検討を行った。

タヒチの初期餌料としての有効性について検討するために実施した試験 1 では、飼育初期に発生した幼生の大量沈下により結果は得られなかった。イワガキの幼生の成長・生残に良好な影響を与える細菌叢を人為的に構築する方法として、ナンノクロロプシスの培養上清を飼育水へ添加する方法が有効であるが、その一方で添加するナンノクロロプシスの濃度が 10^5 細胞/ml と高い場合は、幼生の摂餌が妨げられることにより幼生の密度が減少することが報告されている（佐藤ら 2000）。そして、イタヤガイ *Pecten albicans* を用いた試験において、ナンノクロロプシスを飼育水に 10^4 細胞/ml 以上の濃度で添加すると幼生の浮遊密度が大きく減少することから、幼生の成長・生残に好影響を及ぼす添加濃度は、 $0.5 \sim 1 \times 10^4$ 細胞/ml が適当であるとされている（勢村 2015）。こ

このことから、試験 1-A における幼生の大量沈下は、飼育初期に継続した高い日射量により前述の適正密度をはるかに超える $3\sim 4 \times 10^4$ 細胞/ml の密度まで著しく増殖したナンノクロロプシスの影響を受けた可能性があると考えられる。試験 1-B については、同様にナンノクロロプシスの密度が高くなったものの、飼育 5 日目に幼生の大量沈下が起きなかった。しかし、試験 1-B の幼生の日間成長率は飼育 3 日目以降に試験 1-A と同様に著しい低下がみられたことから、この時、ナンノクロロプシスの増殖による幼生の成長阻害が生じていたものと考えられ、仮に飼育 5 日目に水槽替えを行わなかった場合は、1-A と同様に幼生の大量沈下が発生した可能性が考えられた。試験 1-B は、水槽替えによりナンノクロロプシスによる成長阻害が解消されたことにより飼育 7, 8 日目にかけて日間成長率が一時的に回復したと考えられるが、その後は日間成長率が再び低下し、飼育 11 日目に幼生が大量に沈下した。この原因については不明であるが、ナンノクロロプシスによる成長阻害の影響が残っていたことや市販のカルシトランスの単独使用による大量斃死現象（石原・常盤 2013）などが考えられる。以上の結果から、今後は、飼育水中におけるナンノクロロプシスの大量増殖を防止するために、特に植物プランクトンの捕食者である原生動物が少ない飼育開始時や水槽替え直後においてはナンノクロロプシスの添加量に十分留意する必要がある。飼育水槽の光量については、飼育棟の外側に位置する水槽では遮光幕を張ることで内側の水槽と同様の条件とすることが可能であり、現行の状態において飼育水槽内で餌料藻類の自然増殖がみられ、給餌量の低減に有効に機能していることから大きく変更する必要は無いものの、今後は適切な光量について検討する必要がある。

試験 2 では、予備試験において使用した餌料系列 A, C について、同じ採卵群を用いて比較を試みた。その結果、両試験区で飼育前半において飼育水温に差が生じたことや、水槽内における餌料の自然増加分や原生動物による捕食分の予測が困難であるために残餌量などの摂餌条件が試験区間で大きく異なったことから、餌料系列の差が幼生の成長・生残過程に与える影響について把握

することは困難であった。しかし、両試験区とも予備試験と同様に従来の方法における値（40%：過去3年の平均値）を上回る生残率が得られ、目標とした付着期幼生数 3,000 万個体の生産を行うことが可能となった。

試験 3 では、タヒチの適切な給餌終了期間について検討した。試験 3-A においてタヒチの給餌を終了した飼育 9 日目以降の成長について日間成長率の推移で比較すると、飼育 12 日目以降に試験 3-A が低くなる傾向がみられ、特に飼育 14 日目および 16 日目には見かけ上マイナスの成長率となるような顕著な成長停滞がみられた。この時の成長停滞が影響し、試験 3-D より付着期幼生の出現で 1 日、採苗適期で 2 日遅くなる結果となった。一方、生残率では、試験 3-A の飼育 11 日目に密度の減少がみられ、その差が両者の最終的な生残率の差として影響したものと考えられる。試験 3-A において急激な成長率の低下がみられた飼育 14, 16 日目や幼生の密度が低下した飼育 11 日目において残餌量は十分にあったことから、これらの事象に餌料不足が影響したとは考えにくく、タヒチの給餌を早期に終了した影響が可能性の一つとして考えられた。

ここで、餌料系列に関して予備試験および本試験 2, 3 の結果を総括する。初期餌料としてのタヒチの評価については、試験実施前の時点では、化学成分から見た栄養価は低く、細胞の大きさもやや大型であるためふ化直後の二枚貝幼生には給餌されないこと（岡内 2012）やタヒチを給餌したマガキ幼生の成長がカルシトランスを給餌したものより劣ったとの報告（Helm and Laing 1987）などから、初期餌料として用いた場合の幼生の成長・生残の良否や安定性に与える影響が懸念された。しかし、初期餌料にタヒチを単独で用いた餌料系列 A, D の飼育結果や初期餌料にカルシトランスを用いた餌料系列 C との比較から、本生産方式においてタヒチを初期餌料に用いることは可能であり、タヒチとネオグラシーレを使用する餌料系列で付着期幼生の大量生産が可能であると判断された。なお、市販品のカルシトランスについては、省力化のメリットが期待できる反面、購入単価が高価であり、原生動物の影響により従来の生産方法より給餌量が多くなる傾向にある本生産方式において使用する場合は、餌料コ

ストの上昇を招くデメリットが考えられる。したがって、付着期幼生のバックアップ体制の構築を目指す現時点においては、屋外の大量培養が可能で生産コストが低いタヒチの使用が適しており、市販品のカルシトランスについては補助的な使用に留めるのが妥当であろう。また、タヒチとネオグラシーレとの適切な併給期間については、試験3の結果から、タヒチとネオグラシーレとの併給期間の長短が、幼生の成長・生残に関与した可能性が示唆されたものの、併給期間の短い前項の2回目試験や本項の試験2-Aおよび3-Aにおいて、従来の方法を上回る生残率や同等の成長が得られていることから、バックアップ体制の構築において大きな影響を与えるものではないと判断される。タヒチの適切な給餌期間および給餌量については、今後、試験回数を重ねてその成長や生残に及ぼす効果を確認した上で、併給期間の長期化によるデメリット（餌料の培養・給餌作業量の増加）との兼ね合いの中で決定すべきであろう。

次に、餌料条件以外の飼育条件について検討する。水槽替えについては、前報で指摘したとおり飼育水中で増殖する原生動物の除去を目的とするものであり、各条件を総合的に判断した上で、最も効果的な方法（時期、回数）を選択すべきである。従来の生産方法のバックアップ、つまり同時並行的に生産を行うことを前提とする現段階では、管理作業の省力化を考慮する必要がある、原生動物の摂餌により給餌量が増加するデメリットはあるものの、極力少ない水槽替えで生産を行うことが重要である。現在、水槽替え作業に必要な時間は約3時間（幼生の移動2時間、準備・片づけ各30分）で、慣れれば一人でも十分に対応可能である。今回の試験で行った5～7日に1回の水槽替えの頻度（1生産期間中に1～2回）であれば作業量に問題は無く、バックアップに十分な数量の付着期幼生が得られていることから、現時点では妥当な回数であると考えられる。一方、試験2、3において原生動物の出現と残餌量および幼生の日間成長率の関係をみると、飼育開始もしくは水槽替え後3～4日目から原生動物との餌の競合が原因とみられる幼生の成長率の低下が確認されている。幼生の成長・生残を優先する場合は、原生動物の影響を極力排除するために3

～4日間隔で水槽替えを行うことが最も効果的であり、飼育水中における餌料の自然増殖によって、給餌量を軽減できる効果も期待される。今後は、必要な幼生数や作業量などの各条件を整理した上で、最も効果的な方法について検討すべきであると考えられる。

浮遊幼生の適切な収容密度については、当初に計画した餌料系列 A の比較（試験 1-A と試験 2-A）はできなかったものの、予備試験において D 型幼生の収容密度 0.8 個体/ml に対して付着期幼生 3,500 万個体を生産したことや、本試験 3 において D 型幼生 2.2 個体/ml の飼育密度で飼育を開始し、その後 2 分割してそれぞれの水槽で付着期幼生を 5,000～6,000 万個体生産できたことから、D 型幼生の収容密度は 1 個体/ml 程度あれば栽培センターにおける 1 回の採苗に必要な付着期幼生を十分確保できるものと考えられる。ただし、2 個体/ml 程度の従来生産より高い収容密度でも高い生残率が得られているので、卵質に問題があった場合やその他の不測の事態の発生に備えて、概ね 1～2 個体/ml の範囲で収容しておけば問題ないと考えられる。そして、幼生収容後の幼生数のモニタリングについては、最終日に行ったサイフォンを用いた層別採集により推定した幼生密度とエア－攪拌部表層付近のモニタリングで推定した幼生密度が 4 水槽のうち 3 水槽で 2～3 割程度異なったことから、その推定方法を再検討する必要があると考えられる。最終日の飼育水槽内で観察された幼生密度の鉛直方向の偏りについては、従来小型水槽を用いた生産において幼生の状態が良好な水槽でも付着期になると幼生が水槽の底付近に集まる傾向が認められることから、今回も同様の現象が起きていたものと推察される。最終日の層別採集の上層における幼生密度とモニタリングの値を比較すると、値が大きく異なった 3 水槽の値の差は 1 割以内にまで減少することから、飼育後半に幼生が沈んだ場合には現行のモニタリング方法では上層付近の幼生密度しか把握できず、水槽全体の幼生数を過小評価する危険性が考えられる。ただし、現行の幼生のモニタリング方法は簡便であり付着期以前の幼生密度の把握には適していると判断されるので、今後は、今回行った層別採集や柱状採水

(千葉県水産研究センター 2004) などの方法も取り入れながら、大型水槽における適切なモニタリングの方法について検討すべきであると考えられる。

カキ類のシングルシードの生産については、国内では屋内において純粹培養された餌料を用いて数百～数千 l 規模の小型水槽を使用して集約的に行う方法が一般的であるが(加藤 2002; 鬼木 2013)、今回、屋外で培養した餌料を用いて大型水槽を使用して粗放的に行う方法でも十分生産できることが確認された。近年、全国的にシングルシードを由来とする殻付きブランドカキの生産が拡大し、その需要が高まりつつあるが(鬼木 2015; 宮田 2019)、本県栽培センターにおいても、シングルシード種苗に対する県内養殖業者の要望が年々高まる傾向にある。本技術で得られる付着期幼生数には、現状ではバックアップ分以外にも十分に余剰があることから、その有効利用法として大型水槽を用いたシングルシード生産の導入について検討する余地はあるといえる。今回の試験では、付着基材が移動して底面が部分的に露出したために採苗ロスがみられたが、今後は適切な採苗条件や給餌条件について把握する必要がある。

本試験結果から、大型水槽を用いて粗放的にイワガキ幼生を管理する方法における餌料・換水・飼育密度などの基本的な飼育条件が明らかとなり、本生産方法は従来の方法のバックアップとして導入することが十分可能であると考えられる。そして、従来の方法は日常的に行う飼育水の換水や底掃除の作業が全体の作業量の約 7 割を占める(森脇・常盤 2013)のに対し、本生産方法は日常的な換水や底掃除は不要で省力的であり、さらに、屋外培養による低コスト餌料の大量供給により生産コストの大幅な低減も期待できる優れた生産方法であるといえる。このため、栽培センターでは 2016 年以降の生産において、従来の方法のバックアップとして本生産方法が取り入れられ、さらに一部の生産回次では従来の方法に替えて本生産方法が単独的に実施されている。今後は、生産回数を重ねてその安定性を十分に確認し、最適な飼育条件を把握した上で、本生産方法を本格的に導入することによりイワガキ種苗の大量安定および低コスト生産体制の構築が期待できる。

第 3 項 キートセロス・カルシトランスの屋外における大量安定培養

前項において、屋外培養に適している珪藻類のネオグラシーレとハプト藻類のタヒチの 2 種を屋外において自然光を利用して粗放的に大量培養し、これを大型水槽におけるイワガキの浮遊幼生の粗放的な生産に供給することにより、付着期幼生を低コストで大量に生産することが可能となった。さらにこの結果をもとに、中海産の汽水性二枚貝であるサルボウガイ *Anadara kagoshimensis* においても、これら 2 種の屋外培養餌料を用いた人工種苗生産試験において、低コストで安定した種苗生産ができることが確認されている（開内・佐々木 2017, 2018）。

一方、ネオグラシーレと同属のカルシトランスは、ネオグラシーレよりも栄養価やサイズなどの面で餌料としての価値が高く評価されており（押尾ら 1995; 日清マリンテック（株）ら 2003; 岡内 2012）、高密度培養技術（日清マリンテック（株）ら 2003）や濃縮技術（加藤ら 2004）を用いた製品が市販され、多くの種苗生産機関で使用されている。当県の栽培センターの屋内施設における 1 kl の小型水槽を用いたイワガキの種苗生産でも、自家培養したハプト藻類と混合してカルシトランスの市販品が用いられている（石原ら 2012; 石原・常盤 2013）。また、サルボウガイでは、漁業者が行う種苗生産（開内 2016）において D 型幼生から稚貝までの餌料に同市販品が単独的に使用されている。しかし、市販品は自家培養餌料の供給量が不足する種苗生産機関や餌料培養施設を持たない漁業者にとって利便性が高い反面、これを大量に用いる場合には生産コストが高くなることが欠点であった。

同様に、前項の大型水槽を用いたイワガキ幼生の生産においても、生産コストを低く抑えるためには、屋外における餌料培養技術をより効率的で安定的なものとする必要がある。

そこで本項では、餌料価値の高いカルシトランスについて屋外培養を試み、その安定性や実用性について評価を行った。試験では屋外培養に適しているネ

オグラシーレとカルシトランスの比較を行った他、培養の効率化を図るために、カルシトランスの市販品を元種に用いる方法や盛夏期の対策として遮光幕を用いて培養水温を低減する培養方法についても検討した。さらに、屋外で培養したカルシトランスを用いた二枚貝類（イワガキ，サルボウガイ）の付着期幼生の生産試験を行い，種苗生産におけるその実用性について確認した。

材料および方法

秋季，春季における屋外培養試験（試験 1～3）

培養適期と考えられる秋季（2017 年 8 月下旬～10 月上旬）および春季（2018 年 5 月中旬～6 月下旬）において，カルシトランスとネオグラシーレの培養試験を繰り返し実施した。培養水槽は容量 100 l（直径 60 cm × 深さ 45 cm）の透明円型ポリカーボネイト水槽（以下 100 l 水槽と略す）を主体としたが（試験 1-1～5），さらに春季には，容量 500 l（直径 105 cm × 深さ 75 cm）の透明円型ポリカーボネイト水槽（以下 500 l 水槽と略す）および容量 5 kl（直径 3,000 cm × 深さ 80 cm）の FRP 製円型水槽（以下 5 kl 水槽と略す）を併せて用いた（試験 2-1～3，試験 3）。試験開始時の水量は，降雨によるオーバーフロー防止のため 100 l 水槽の 1 回目試験（水量 90 l）以外は，100 l，500 l，5 kl 水槽でそれぞれ 80 l，400 l，4 kl に設定した。培養試験を実施した場所は，秋季は島根県水産技術センター浅海科庁舎（以下水産技術センターと略す）敷地内の飼育棟（高さ約 7 m）の西側で実施したが，春季以降は同東側に変更したため，秋季と春季以降では建物により日射が遮られる時間帯が異なった（西側は概ね 10 時まで，東側は概ね 15 時以降日射が遮られる）。

各試験ではカルシトランスとネオグラシーレの水槽を各 1 槽使用し，100 l と 500 l の水槽には樹脂製のパレット（110 cm × 110 cm × 高さ 15 cm）を敷いた。水槽の配置では日照条件に差が生じ無いような並べ方に留意し，相互の種の混入を防止するために水槽の間隔を十分に空けた。培養水には水産技術セン

ター地先海域から揚水して砂ろ過した海水を 1 μm のカートリッジ式フィルターでろ過を行い、10 ppm の次亜塩素ナトリウムで 16 時間以上殺菌処理後にチオ硫酸ナトリウムで中和したものを使用した。通気はいずれの水槽も中央に配置したエアーストーンにより行い、水槽内で飼育水がゆっくり循環するように、通気量を 100 l、500 l 水槽ではそれぞれ約 5 l/分、約 8 l/分に調整した。培養試験に用いた元株は、ネオグラシーレは国立研究開発法人水産研究・教育機構増殖研究所「水産生物遺伝資源保存事業」から入手した高温耐性株を、カルシトランスは市販品（サンカルチャー、マリンテック（株））由来のものを用いた。いずれも室内の 5 l フラスコで明期 12 時間の周期で約 10^7 細胞/ml 以上に増殖させた対数増殖期から定常期の初期段階にあるものを元種として用いた。

屋外培養では $1\sim 3 \times 10^5$ 細胞/ml の密度で接種して培養試験を開始した。強光障害の防止対策（根本・磯上 1996）として、接種後約 1 日間は木製の板を用いて日射の状況に応じて水槽上面の約 1/2~4/5 を覆って遮光し、光量を調整した。基本的にいずれか片方が定常期もしくは死滅期に達するまで培養を行った。培養水に添加する栄養塩類には、市販の液体培養液（KW21、第一製網）およびケイ酸栄養塩（ゲルカルチャー、富士シリシア化学）を用い、試験開始時の添加量は培養水 1 l 当たり前者が 0.3 ml、後者が 0.2 g とし、その後培養密度の増加に応じて同量を 1~2 回追加で添加した。

餌料のモニタリングとして細胞密度と総細胞数を毎日記録した。細胞密度の計測にはトーマ式血球計算盤を用いて、計測を 3 回繰り返してその平均値から細胞密度を算出した。なお、細胞が 2 連結したものは 2 個体としてカウントした。一方、細胞が 3 連結以上のものや、複数の細胞が塊状に集合しているものおよび細胞質の大部分が委縮して死滅期とみなされる細胞については、二枚貝幼生が摂餌不能あるいは餌料価値が低いと判断し、計数対象から除外した。総細胞数は 10 時に計測した各水槽の水量に細胞密度を乗じて算出した。

培養水の水質モニタリングとして、10 時および 1 日のうちで最も水温が高くなる傾向にある 15 時にハンディタイプの水温塩分計（LF330、WTW）を用

いて各水槽の水温・塩分 (psu) を測定した。また、培養を不安定にする要因の一つである培養水中の浮遊性の原生動物 (兼松ら 1989; 千葉県水産研究センター 2004) について、1日1回以下の方法でモニタリングした。原生動物の計数には、出現密度に応じてフックスローゼンタール式およびトーマ式血球計算盤を用い、計測はサンプルを固定せずに目視で1~2回行い、細胞径約10 μm 未満 (以下小型と略す) とそれ以上 (以下大型と略す) に分けて個体数を記録した。大型の原生動物については、餌料藻類の捕食の可能性を想定し、千原・村野 (1997) および末友 (2013) を参考に大まかに分類した。

日射量については、毎日10時にハンディタイプの照度計 (TM209M, TENMARS) および光量子計 (3415F, SPECTRUM TECHNOLOGIES) を用いて培養水槽の直上の照度と光量子束密度の測定を行った。なお、用いた光量子計の最大測定値が2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ であり、晴天時にはこの値を超えたため測定不能となったが記録上は2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。

秋季に実施した100 l水槽の2回目の試験 (試験1-2) において、台風の通過による大雨が予測されたので、通過日 (9月17日) の前後1日は各水槽の上面を農業用の透明マルチビニールシートで個別に覆って培養水のオーバーフローを防止した。

試験期間中の降雨量については、各水槽の日々の水量の変動から推定した。欠測日は気象庁松江地方気象台の松江市の測定ポイント (AMeDAS) における値を用いた (以下の試験も同様)。

盛夏期における遮光幕を用いた屋外培養試験

予備試験 室内の5 lフラスコで培養したカルシトランス、ネオグラシーレおよびタヒチの3種を用いて、遮光幕の効果を把握するための予備的な培養試験を2017年7月31日から8月8日に水産技術センターにおいて実施した。

屋外における培養水槽には100 l水槽を用い、基本的な培養条件は前述と同様とした。遮光幕は農業用の遮光率50%のものを1枚用い、遮光幕の両端に

沿って張った径 1.5 mm の被覆ワイヤーと遮光幕の両端を結束バンドで連結し、高さ約 2.5 m の位置で固定した。遮光幕の内側と外側に種ごとにそれぞれ 1 水槽を設けて培養を行った。餌料細胞密度の計測を毎日 10 時に実施した他、10 時および 15 時に遮光幕の内外で各水槽の水温、照度および光量子束密度の測定を行った。測定方法は前述と同様とした。なお、最高・最低気温については、気象庁松江地方気象台の松江市の測定ポイント (AMeDAS) における値を用いた (以下同様)。また、8 月 7 日以降は台風の接近に伴う強風が予想されたことから遮光幕を撤去した。

実証試験 (試験 4, 5) 遮光幕による水温上昇抑制効果を実証するための培養試験を、盛夏期である 2018 年 7 月 8 日 (翌 9 日に梅雨明け) から 8 月 14 日までの期間に実施した。この間に、100 l 水槽を用いた培養試験を 5 回 (試験 4-1~5)、500 l 水槽を用いた培養試験を 3 回 (試験 5-1~3) 実施した。

元種には室内の 5 l フラスコで培養したカルシトランス、ネオグラシーレの 2 種を用い、基本的な培養条件は前述と同様とし、両種もしくはいずれかの種が定常期もしくは死滅期に達するまで培養を行った。なお、100 l 水槽の 3 回目 (試験 4-3) と 500 l 水槽の 2 回目 (試験 5-2) の試験では、両種とも途中で二枚貝類の餌料に使用したため定常期前に試験を終了した。

遮光幕には遮光率 75% (遮光率 50% のものを 2 枚重ねて使用) のものを用いた。遮光幕は前述と同様に両端を被覆ワイヤーに連結し、開閉が容易にできる構造とした。遮光幕は 1 回目の試験を開始した 2 日後の 7 月 10 日に設置し、試験期間中は基本的に遮光幕を閉じた状態で培養を行ったが、台風が通過した 7 月 29 日と被覆ワイヤーを結束した支柱が破損した 8 月 13 日には遮光幕を終日全開した。

市販品を用いたカルシトランスの屋外培養試験

培養水槽には 100 l 水槽を用い、基本的な培養条件は前述と同様とした。2018 年 5 月 14 日に製造・発送された市販品 (サンカルチャー, マリンテック (株))

を 4℃で冷蔵保存したものを元種とし、メーカーによる推奨保存期間を参考に製造後 3 日目（5 月 16 日）以降 3～5 日間隔で 6 日目（5 月 20 日）、10 日目（5 月 24 日）、14 日目（5 月 28 日）、19 日目（6 月 2 日）、23 日目（6 月 6 日）および 27 日目（6 月 10 日）の計 7 回の屋外培養試験を行った。なお、培養 1 回目と 7 回目は室内の 5 l フラスコで自家培養（以下培養と略す）した元種も使用し、市販品（以下市販と略す）との比較を行った。各試験とも $2\sim 3 \times 10^5$ 細胞/ml の密度で接種し、基本的に定常期に達するまで培養を行った。

目標細胞密度を基準としたカルシトランスの屋外培養の評価

2017 年 9 月および 2018 年 5～8 月に、水産技術センターにおいて実施した 100 l、500 l 水槽を用いた全ての屋外培養を対象に、目標細胞密度（以下目標密度と略す）を基準としたカルシトランスの評価を行った。目標密度は、水産技術センターにおける二枚貝の種苗生産で、屋外培養のネオグラシーレを餌料として給餌を開始する際の目安の細胞密度とし、使用水槽の容量に応じて 100 l 水槽では 3×10^6 細胞/ml、500 l 水槽では 2×10^6 細胞/ml と定めた。

集計には前述の各屋外培養試験の水槽の他、二枚貝（イワガキ、サルボウガイ）の飼育試験において給餌用に培養した水槽も加え、カルシトランスは 92 回（100 l 水槽 64 回、500 l 水槽 28 回）、ネオグラシーレは 109 回（100 l 水槽 62 回、500 l 水槽 47 回）の培養結果を用いた。そして、次式を用いて算出した達成率と目標密度に到達するまでに要した培養日数について、盛夏期とそれ以外の時期に区分した期間ごと（100 l 水槽は 5～6 月、7～8 月および 9 月の 3 期間、500 l 水槽は 5～6 月、7～8 月の 2 期間）に集計し、両種の結果を比較した。

$$\text{達成率 (\%)} = \text{目標密度に達した培養回数} / \text{全培養回数} \times 100$$

なお、二枚貝類の給餌用水槽については、元種の由来が異なるもの（屋内培養、屋外培養および市販品）が混在したが、目標密度までの培養結果には大きな差が無かったと判断されたことから同一の集計とした。元種以外の基本的な

培養条件は、前述の各屋外培養試験とほぼ同様であった。

両種の有意差については、達成率は Fisher の正確確率検定を行い、目標密度に到達するまでに要した培養日数は t 検定を行った。有意水準はいずれも 5%とした。なお、解析には Fisher の正確確率検定では R (Version 3.6.3) を用い、 t 検定では Microsoft 社製 Excel を用いた。

屋外培養カルシトランスを用いた二枚貝（イワガキ、サルボウガイ）の付着期幼生の生産試験

屋外培養カルシトランスを用いた付着期幼生の生産試験を、イワガキは 2017 年 7 月 9～23 日に、サルボウガイは同年 6 月 17～30 日に水産技術センターにおいて実施した。餌料は両種とも前項のタヒチを初期餌料とする系列 (Fig. 41-A) とし、平均殻長 120 μm 以降にネオグラシーレの代わりにカルシトランスを給餌する餌料系列とした (Fig. 49)。

基本的な飼育条件は前項と同様としたが、前項で飼育海水中の細菌叢の安定を目的に行った飼育水へのナンノクロロプシスの添加は、餌料培養の省力化のために行わなかった。

その他の飼育条件は以下のとおりとした。幼生の飼育は受精翌日の D 型幼生から付着期幼生の出現までの期間とし、屋内施設において FRP 製円型水槽を用いて行った。飼育水槽の容量は、イワガキは 3 kl のものを 1 水槽 (飼育試験 1)、サルボウガイは 5 kl のものを 2 水槽 (飼育試験 2-1, 2-2) 用い、採卵翌日に D 型幼生を収容した。飼育水は砂ろ過海水を 1 μm のカートリッジ式フィルターでろ過し、イワガキは希釈せずにそのまま、サルボウガイは水道水で 2/3 海水まで希釈して使用した。日常的な換水は行わず止水管理とし、両種とも飼育水内の原生動物が増殖する前に水槽換え (4～5 日に 1 回の頻度、期間中合計 2 回) を行った。飼育水の攪拌には中央に垂下したエアーストーン 1 個からの通気により行った。

給餌量は、前日の給餌量と当日の残餌量の関係を基に、原生動物の密度や水

槽換えからの日数などを勘案し、翌日に餌料がある程度残ることを目安に決定した。残餌量の目安は幼生の成長段階に応じて、前項と同様に栽培センターの従来の方法の平均的な給餌密度 $0.5 \sim 2 \times 10^4$ 細胞/ml の範囲内とした。給餌回数は給餌量に応じて調整し、1日に1~2回行った。

幼生の密度・成長のモニタリングは、水槽の中央のエアージャケット部表層付近から飼育水を各点 50 ml ずつ 3 回 (計 150 ml) の毎日採取して個体数を計数した後、30 個体の幼生の殻長を測定した。

結果

秋季、春季における屋外培養試験

100 l 水槽を用いた培養試験 (試験 1) 100 l 水槽で実施した 5 回の試験における培養結果の概要を Table 8-1 に、水温 (10 時, 15 時)、塩分および降水量の日々の値を Fig. 50 a, b に、カルシトランスとネオグラシーレの各水槽のサイズ別 (小型, 大型) の原生動物の出現密度の 3 日移動平均値を Fig. 50 c, d に、餌料細胞密度と総餌料細胞数の各 3 日移動平均値の推移を Fig. 50 e, f に示す。なお、水温と塩分については両種の水槽の値はほぼ同様であったのでカルシトランスの水槽の値のみ示した (以下同様)。

8 月 23 日に開始した 1 回目の試験 (試験 1-1) では、両種ともに試験開始から順調に増殖した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 5.19×10^6 細胞/ml, 4.85×10^{11} 細胞で、ネオグラシーレより前者で 12.2%, 後者で 13.6% 低い値を示した。培養 17 日目にネオグラシーレの水槽で細胞径が 10~15 μm の渦鞭毛藻類が出現し、18 日目にかけて 5×10^4 個体/ml の密度まで増加したため試験を中止した。

9 月 10 日に開始した 2 回目の試験 (試験 1-2) では、両種ともに試験開始から増殖したが、試験開始直後から試験 1 回目と同様の渦鞭毛藻類が出現し、培養 9 日目にはカルシトランスで 4×10^4 個体/ml, ネオグラシーレで 1×10^5 個

体/mlの密度まで増加したため試験を中止した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 3.66×10^6 万細胞/ml, 3.37×10^{11} 細胞でネオグラシーレより前者、後者ともに 13%程度低い値を示した。

9月20日に開始した3回目の試験(試験1-3)では、カルシトランスは培養開始直後に一時的な密度低下があったものの、その後はネオグラシーレと同様に培養6日目までは順調に増殖した。その後、両種ともに培養7~8日目の44 mm(7日目33 mm, 8日目11 mm)の降雨の後に増殖がやや停滞した。培養11日目には59 mmの降雨により水量が115 lまで増加したことから、オーバーフローを防止するために各培養水から15 lずつ廃棄した(Fig. 50 fの10月3日以降の値は、廃棄した15 l分も加えて補正)。その後、培養16日目に再び30 mmを超える降雨があり、オーバーフローが予測されたため試験を中止した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 3.75×10^6 万細胞/ml, 4.11×10^{11} 細胞で、ネオグラシーレより前者で28.4%、後者で30.1%低い値を示した。

なお、1, 2回目の試験で発生した大型の渦鞭毛藻類の発生源が近傍に放置してあった未洗浄の使用済み養殖資材であると考えられたため、試験を開始する前にこれを撤去したところ、3回目の試験では同藻類の発生はみられなかった。

5月11日に開始した4回目の試験(試験1-4)では、両種ともに試験開始から順調に増殖した。培養17日目にカルシトランスが定常状態に達したと判断したため試験を終了した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 6.23×10^6 細胞/ml, 5.67×10^{11} 細胞でネオグラシーレより前者で5.5%、後者で1.0%低い値を示した。この時、カルシトランスの細胞密度は100 l水槽で実施した試験における最高値(6.66×10^6 細胞/ml)を記録した。また、ネオグラシーレの水槽では培養6日目に小型の原生動物の密度が増加し、培養13日目まで高い値(最大値 6.60×10^5 個体/ml)が継続した後に減少する現象がみられたことが特異的であった。

6月13日に開始した5回目の試験（試験1-5）では、両種ともに試験開始から順調に増殖したが、培養8日目以降にネオグラシーレに比較してカルシトランスの増殖が大きく劣る傾向がみられた。培養15～16日目に99 mm（15日目47 mm, 16日目52 mm）の降雨があり水量が115 lまで増加し、翌日も降雨の予報でオーバーフローが予測されたため試験を中止した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 5.41×10^6 細胞/ml, 4.45×10^{11} 細胞でネオグラシーレより前者で39.8%, 後方で31.6%低い値を示した。この時、ネオグラシーレの細胞密度は100 l水槽で実施した試験における最高値（ 9.60×10^6 細胞/ml）を記録した。また、カルシトランスの水槽では培養後期に長径が約40 μ mの大型の繊毛虫類が出現し、その密度は最大で 2.0×10^4 個体/mlであった。

500 l水槽を用いた培養試験（試験2） 500 l水槽で実施した3回の試験における培養結果の概要をTable 8-2に、水温（10時, 15時）、塩分および降水量の日々の値をFig. 51-A(a, b)に、カルシトランスとネオグラシーレの各水槽のサイズ別（小型, 大型）の原生動物の出現密度をFig. 51-A(c, d)に、餌料細胞密度と総餌料細胞数の各3日移動平均値の推移をFig. 51-A(e, f)に示す。

5月11日に開始した1回目の試験（試験2-1）では、両種ともに試験開始から順調に増殖したが、培養7日目の40 mmの降雨以降はやや増殖が停滞し、定常状態に達したと判断し、培養17日目に試験を終了した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 3.79×10^6 細胞/ml, 1.64×10^{12} 細胞でネオグラシーレより前者で2.3%, 後方で1.3%低い値を示した。

5月28日に開始した2回目の試験（試験2-2）では、両種ともに試験開始から順調に増殖し、培養20日目にカルシトランスが定常状態に達したと判断し、試験を終了した。カルシトランスの細胞密度および総細胞数の移動平均の最高値は、それぞれ 5.61×10^6 細胞/ml, 2.37×10^{12} 細胞でネオグラシーレより前者で20.3%, 後方で18.3%低い値を示した。この時、両種の最高細胞密度はともに500 l水槽で実施した試験における最高値（カルシトランス： 6.04×10^6

細胞/ml, ネオグラシーレ : 7.83×10^6 細胞/ml) を記録した。また, 両水槽で培養後期に細胞径が約 $15 \mu\text{m}$ の大型のプラシノ藻類が最大で 2.0×10^4 個体/ml 出現したが, 試験終了時には確認されなかった。

6月12日に開始した3回目の試験(試験2-3)では, 両種ともに試験開始から順調に増殖したが, カルシトランスは培養8日目以降にネオグラシーレに比較して増殖が劣る傾向がみられた。培養14日目以降は曇天や雨天が継続したためか細胞密度の減少がみられ, 両種とも死滅期に入ったと判断して培養17日目に試験を終了した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は, それぞれ 3.51×10^6 細胞/ml, 1.34×10^{12} 細胞でネオグラシーレより前者, 後者ともに23%程度低い値を示した。また, カルシトランスの水槽で培養後期に細胞径が $15 \sim 20 \mu\text{m}$ の大型の放散虫類が最大で 2.0×10^4 個体/ml 出現したが, 試験終了時には確認されなかった。

5 k l 水槽を用いた培養試験 (試験3) 5 k l 水槽で実施した試験における培養結果の概要を Table 8-2 に, 水温 (10 時, 15 時), 塩分および降水量の日々の値を Fig. 51-B(a, b) に, カルシトランスとネオグラシーレの各水槽のサイズ別 (小型, 大型) の原生動物の出現密度を Fig. 51-B(c, d) に, 餌料細胞密度と総餌料細胞数の各3日移動平均値の推移を Fig. 51-B(e, f) に示す。

試験は5月28日に開始し, 両種とも試験開始からほぼ順調に増殖し, 培養20日目にカルシトランスが死滅期に入ったと判断し, 試験を終了した。カルシトランスの細胞密度と総細胞数の移動平均の最高値は, それぞれ 2.58×10^6 細胞/ml, 1.1×10^{13} 細胞でネオグラシーレより前者で11.0%, 後者で8.2%低い値を示した。また, 両水槽で原生動物が出現したが, 小型, 大型 (繊毛虫類) ともに出現密度は低い値であった。

100 l ~ 5 k l 水槽を用いた各試験の結果を総括すると, カルシトランスの培養ではいずれの試験でもほぼ順調に推移し, 15 日前後の培養で最高細胞密度 $2 \sim 6 \times 10^6$ 細胞/ml 程度の実用的な値までの増殖が得られたが, ネオグラシーレとの比較では, 培養水温が低く推移した5月の試験以外は水温が高くなるほど

細胞密度や総細胞数でネオグラシーレにやや劣る傾向が確認された。また、各試験の培養後期には、顕微鏡観察時においてカルシトランスがネオグラシーレより細胞サイズが大きく観察されることが多く、培養水槽の目視においても培養水の色がカルシトランスの方がより濃く見える現象が観察された。100 l水槽の1回目の試験（試験 1-1）の培養 11 日目に行った両種の 50 細胞の細胞径（長径と短径）の測定では、カルシトランスの方が平均値で 1 割程度大きい（カルシトランス 6.7 μm ，ネオグラシーレ 5.8 μm ）ことを確認した。原生動物については、小型の原生動物は培養前半から出現したものの、日数の経過とともにその密度は低下する傾向にあった。小型の原生動物は、各試験において出現する個体の外部形態が経過日数とともに異なる傾向がみられたことから、出現種が遷移している可能性が示された。大型の原生動物は、100 l水槽の1回目と2回目の試験（試験 1-1, 2）で出現した渦鞭毛藻類を除くと、繊毛虫類をはじめとする数種類が培養後半に出現する傾向があった。ただし、その出現は一過性のもので密度も低く、いずれも増殖に大きな影響を及ぼすことは無かった。

盛夏期における遮光幕を用いた屋外培養試験

予備試験 試験期間中の最高・最低気温と降水量を Fig. 52(a)に、10 時における遮光幕の内側と外側の水槽（ネオグラシーレの水槽で代表）の直上の照度と光量子束密度を Fig. 52(b)に、10 時と 15 時における培養水温を Fig. 52(c)に示す。

最高・最低気温はそれぞれ 30.7~37.7°C, 26.6~32.3°Cの範囲で推移した。培養 7, 8 日目にはまとまった降雨があったために気温が低下したが、それ以外の日は晴天が継続し、特に培養 4~6 日目の 8 月 4~6 日には最高気温で 36~37°C台が連続し、5 日には松江市における当時の観測史上 2 番目の最高気温 37.7°Cを記録した。

試験期間中の照度と光量子束密度は、遮光幕無しではそれぞれ 14,300~

90,000 lx, 250~2,000 (上限値) $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 遮光幕ありではそれぞれ 14,300~40,000 lx, 250~1,300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で推移した。照度と光量子束密度の測定値から計算された遮光率は 45~53% の範囲であり, 遮光幕の規格 50% とほぼ同程度であった。

試験期間中の 10 時および 15 時の培養水温は, 遮光幕無しではそれぞれ 26.4~33.5°C, 31.8~40.7°C, 遮光幕ありではそれぞれ 26.0~32.3°C, 30.2~35.8°C の範囲で推移した。遮光の有無による培養水の水温差は, 10 時では平均 0.9°C (0.1~1.8°C) と僅かであったが, 15 時では平均 5.1°C (3.5~6.1°C) となり, 遮光により水温上昇を大きく抑制できた。

Fig. 53 に試験期間中のネオグラシーレ (a), カルシトランス (b), タヒチ (c) の餌料細胞密度 (A) および総餌料細胞数 (B) の 3 日移動平均値の推移を示す。試験期間中, ネオグラシーレは遮光幕無しの試験区でも増殖したが, 遮光幕ありの試験区の方の増殖が良好に推移し, 試験最終日の細胞密度と総細胞数の移動平均値は, 遮光幕無しでそれぞれ 2.83×10^6 細胞/ml, 2.89×10^{11} 細胞, 遮光幕ありでそれぞれ 3.38×10^6 細胞/ml, 3.43×10^{11} 細胞であった。カルシトランスの遮光幕無しの試験区では培養 2 日目に細胞密度が低下した後 3 日目に枯死したが, 遮光幕ありの試験区では順調な増殖がみられ, 試験最終日の細胞密度および総細胞数の移動平均値は, それぞれ 2.83×10^6 細胞/ml, 2.86×10^{11} 細胞であった。タヒチの遮光幕無しの試験区では水温が 40°C 台と高水温となった 8 月 4 日以降に細胞密度が大きく低下したが, 遮光幕ありの試験区では順調な増殖がみられ, 試験最終日の細胞密度および総細胞数の移動平均値は遮光幕無しでそれぞれ 1.26×10^6 細胞/ml, 1.10×10^{11} 細胞, 遮光幕ありでそれぞれ 5.23×10^6 細胞/ml, 5.26×10^{11} 細胞であった。

以上の結果から, 盛夏期において遮光幕により水温上昇が大幅に抑制され, いずれの種も増殖効率が向上することを確認した。

実証試験 (試験 4, 5) カルシトランスとネオグラシーレの 100 l 水槽と 500 l 水槽の試験の概要をそれぞれ Table 9-1, Table 9-2 に示す。試験期間中の

最高気温と 100 l 水槽と 500 l 水槽の水温（10 時，15 時）を Fig. 54(a)に，カルシトランスとネオグラシーレの 100 l 水槽と 500 l 水槽の細胞密度の 3 日移動平均値をそれぞれ Fig. 54(b)，Fig. 54(c)に示す。なお，培養水槽の水温については，両種の水槽の値はほぼ同様であったのでネオグラシーレの水槽の値のみ示し，試験期間以外は近傍に設置した他の培養水槽の値を示した。

7 月 9 日の梅雨明け以降，降雨がほとんど無く晴天続きで，最高気温 30℃以上の真夏日が 36 日，35℃以上の猛暑日が 13 日（8 月 1 日は松江市の当時の観測史上 2 番目の 37.8℃を記録）と記録的な暑さが継続し，試験期間 37 日間の最高気温の平均値は 33.9℃であった。

7 月 10 日以降の各培養水槽の水温は，100 l 水槽は 10 時が 26～32℃台（平均 29.4℃），15 時が 29～34℃台（平均 32.1℃），500 l 水槽は 10 時が 26～31℃台（平均 28.6℃），15 時が 25～34℃台（平均 30.7℃）で推移した。

100 l 水槽における試験（試験 4-1～5）では，カルシトランスは全ての試験で増殖したが，その細胞密度は概ねネオグラシーレより低く推移した。カルシトランスとネオグラシーレの 1～5 回の試験の細胞密度の移動平均の最高値は，それぞれ培養 5～10 日目で $2.22\sim 4.23 \times 10^6$ 細胞/ml（平均 3.58×10^6 細胞/ml）， $2.96\sim 6.39 \times 10^6$ 細胞/ml（平均 5.17×10^6 細胞/ml）の範囲に達し，カルシトランスはネオグラシーレより 18.1～34.9%（平均 28.6%）低い値を示した（試験を中断した 3 回目の試験は 8 日目の値で両種を比較）。

500 l 水槽における試験（試験 5-1～3）では，カルシトランスは全ての試験で増殖したが，100 l 水槽と同様にその細胞密度はネオグラシーレより低く推移した。カルシトランスとネオグラシーレの 1～3 回の試験の細胞密度の移動平均の最高値は，それぞれ培養 6～7 日目で $1.61\sim 2.27 \times 10^6$ 細胞/ml（平均 1.84×10^6 細胞/ml）， $1.90\sim 2.98 \times 10^6$ 細胞/ml（平均 2.51×10^6 細胞/ml）に達し，カルシトランスはネオグラシーレより 14.3～45.0%（平均 24.9%）低い値を示した。

なお，同時期に実施した 100 l 水槽の 5 回目（試験 4-5）と 500 l 水槽の 3 回

目の試験（試験 5-3）の 8 月 13 日には、遮光幕を連結した支柱が破損したトラブルにより遮光幕の無い状態で培養を行ったが、翌日にかけてカルシトランスの細胞密度の急激な減少が観察された。このとき最高・最低水温がともに 30℃以上の高温に上昇したことから遮光幕撤去との関連性が疑われた。

市販品を用いたカルシトランスの屋外培養試験

試験期間中の日々の降水量およびカルシトランスの細胞密度の 3 日移動平均値の推移を Fig. 55 に示す。市販のカルシトランスを用いた試験では、5 月 20 日に開始した製造後 6 日目の試験において培養初期に一時的な培養不調があったが、降雨による細胞密度の一時的な停滞を除くとほぼ全ての試験回次で安定した増殖を示し、細胞密度の移動平均の最高値は $4.22\sim 8.95 \times 10^6$ 細胞/ml に達した。一方、室内の 5 l フラスコで培養した元種由来の培養と市販を比較した 5 月 16 日と 6 月 10 日開始の試験では、いずれも培養開始後 5 日目程度までは市販と培養はほぼ同様の増殖を示したが、培養日数の経過とともに市販が培養に比べて増殖がやや劣る傾向を示した。試験後半における細胞密度の移動平均値は、5 月 16 日と 6 月 10 日開始の試験とも市販が培養に対して 25%程度低い値を示した。

目標細胞密度を基準としたカルシトランスの屋外培養の評価

目標密度を基に集計したカルシトランスとネオグラシーレの 100 l 水槽と 500 l 水槽の培養結果をそれぞれ Table 10-1, Table 10-2 に示す。

100 l 水槽では、5～6 月と 9 月は両種とも培養が安定し、目標密度（ 3×10^6 細胞/ml）の達成率は 90%以上の高い値を示した。盛夏期の 7～8 月はカルシトランスで目標密度に達しない培養水槽（3 水槽）が増加し、達成率は 84.2%とネオグラシーレ（1 水槽）の 96.2%に対してやや低くなったが、両者の間に有意差は無かった。カルシトランスで基準密度に達しなかった 3 水槽は、いずれも培養 4～5 日目で基準密度の 6～9 割にあたる $1.80\sim 2.71 \times 10^6$ 細胞/ml まで

増殖した後に減少し、数日で枯死した。一方、基準密度に到達するまでに要した平均日数は、5～6月と9月はカルシトランスがそれぞれ5.6日、5.8日と、ネオグラシーレのそれぞれ5.0日に対して高い値を示した ($P < 0.05$)。7～8月の同平均日数はカルシトランスが6.5日まで増加し、ネオグラシーレの5.4日に対して1.1日高い値を示した ($P < 0.05$)。

500 l水槽では、5～6月はカルシトランス、ネオグラシーレともに目標密度 (2.0×10^6 細胞/ml) に達しない水槽は1水槽ずつのみで、達成率は90%を超える高い値を示した。盛夏期の7～8月は100 l水槽と同様にカルシトランスで目標密度に達しない培養水槽(4水槽)が増加し、達成率は76.5%とネオグラシーレ(2水槽)の94.3%に対して低い値を示したが、両者の間に有意差は無かった。カルシトランスで培養不調となった4水槽は、いずれも培養4～5日目で基準密度の8～9割にあたる $1.52 \sim 1.90 \times 10^6$ 細胞/mlまで増殖した後に減少し、数日で枯死した。一方、目標密度に到達するまでに要した平均日数は、5～6月はカルシトランスが5.8日、ネオグラシーレが5.7日と両者の間に有意差は無かったが、7～8月は100 l水槽と同様にカルシトランスが6.2日とネオグラシーレの5.1日に対して1.1日高い値を示した ($P < 0.05$)。

屋外培養カルシトランスを用いた二枚貝(イワガキ、サルボウガイ)の付着期幼生の生産試験

イワガキとサルボウガイの浮遊幼生の飼育結果を Table 11 に示す。

イワガキでは、浮遊幼生の収容密度が水産技術センターにおける標準的な収容密度(2.0個/ml)より高い値(2.6個体/ml)となったが、そのまま飼育を行った。飼育開始後、幼生の大きな減耗も無くほぼ順調に推移し、飼育14日目(日齢14)に眼点を有する付着期幼生が確認された。飼育15日目(日齢15)にその出現率が32.3%となり採苗適期となったため飼育試験を終了した。最終日における浮遊幼生数は約390万個体で、殻長(平均 \pm 標準偏差)は $307 \pm 26 \mu\text{m}$ 、D型幼生からの生残率は48.6%と推定された。

サルボウガイでも、浮遊幼生の収容密度が飼育試験 2-1, 2-2 とも水産技術センターにおける標準的な収容密度 (3.0 個/ml) より高い値 (それぞれ 3.6 個体/ml, 4.1 個体/ml) となったが、そのまま飼育を行った。飼育開始後、イワガキと同様に 2 水槽とも幼生の大きな減耗も無くほぼ順調に推移し、飼育 12 日目 (日齢 12) に眼点を有する付着期幼生が確認された。その後、飼育 14 日目 (日齢 14) には付着期幼生の出現率が飼育試験 2-1 では 37.9%, 飼育試験 2-2 では 12.9%となり、採苗適期となったため飼育試験を終了した。飼育試験 2-1 と飼育試験 2-2 の最終日における浮遊幼生数はそれぞれ約 700 万個体, 1,050 万個体で、殻長(平均 ± 標準偏差)はそれぞれ $238 \pm 30 \mu\text{m}$, $209 \pm 25 \mu\text{m}$, D 型幼生からの生残率はそれぞれ 38.9%, 51.2%となった。

考察

同じキートセロス属でも、ネオグラシーレは屋外で安定培養が可能であるとされる一方で、カルシトランスでは屋外培養が困難で室内培養に限られるとされている (押尾ら 1995; 日清マリンテック (株) ら 2003; 岡内 2012)。カルシトランスの屋外培養については、海外ではバイオリアクターを利用した閉鎖的環境下で行われた培養の報告がいくつかみられる (Banerjee et al. 2011; Lai et al. 2012)。一方国内では、有用な知見はほとんど無く、近年のアサリ *Ruditapes philippinarum* (山田 2016) やサルボウガイ (石原・佐々木 2019) の種苗生産において市販品を使用した培養事例の断片的な情報があるのみである。

今回、カルシトランスの屋外培養の可能性について 100 l から 5 kl までの小型～大型水槽を用いて培養時期や水槽の大きさなどの異なる条件の下でネオグラシーレとの培養を比較した。その結果、カルシトランスは、培養適期と考えられた秋季、春季にはネオグラシーレより細胞密度や総細胞数の最高値が低くなる傾向があったものの大きな培養不調も無く、ネオグラシーレとほぼ同等に安定的な培養ができることを確認した。また、培養条件の厳しい盛夏期でも、

同様に細胞密度の最高値がネオグラシーレより低くなるものの、カルシトランスの大量培養が可能であることを確認した。

試験期間におけるカルシトランスの増殖と高水温の関係については、培養水温の最高値とカルシトランスの水温耐性の対比から以下の通り説明することができる。すなわち、5月実施の100 l水槽の4回目と500 l水槽の1回目の試験におけるカルシトランスは、ネオグラシーレとほぼ同様の増殖曲線で経過し、細胞密度の最高値もほぼ同程度となった。これは、最高水温の平均値がカルシトランスの増殖率の低下が始まる25°C付近（岡内 2012）に留まったため、その増殖が良好に推移したものと考えられる（Fig. 50 の試験 1-4 および Fig.51 の試験 2-1 の各 a, e, f）。これに対し、8月後半～9月および6月の試験におけるカルシトランスは、ネオグラシーレより増殖が劣り、細胞密度の最高値はネオグラシーレより平均で2割程度低い値を示した。これは、最高水温の平均値が増殖率の低下が始まる25°Cを超えて増殖限界とされる30°C付近（岡内 2012）に達したことが影響したものと考えられる（Fig. 50 の試験 1-1, 2, 3, 5 および Fig.51 の試験 2-2, 3 の各 a, e, f）。そして、盛夏期におけるカルシトランスの細胞密度の最高値はさらに低下し、ネオグラシーレより平均で3割程度低い値を示した。これは、遮光幕により培養水温の上昇を大幅に抑制できたものの、最高水温の平均値はカルシトランスの増殖限界とされる30°Cを1～2°C上回ったことで増殖が抑制されたものと推察される（Fig. 54）。

盛夏期のカルシトランスの培養については、給餌に使用する際の細胞密度を基準とした評価（Table 10-1,2）において、目標密度に到達するまでの培養日数がネオグラシーレより平均で約1日多く、目標密度に到達しない水槽が複数みられるなどの課題があった。しかし、目標密度に到達しない水槽でも100 l水槽、500 l水槽ともに目標密度近くまでの培養は可能であったことから、盛夏期のカルシトランスの培養では、ネオグラシーレにやや劣るものの給餌を開始する細胞密度をネオグラシーレよりも低く設定することにより、概ね実用的な培養ができるものと考えられる。

カルシトランスの屋外培養が困難な理由として、高温耐性株が開発されているネオグラシーレと異なり高水温への耐性が劣ること(岡内 2002, 2012, 2014), バクテリアによる影響を受けやすいこと(押尾ら 1995; 根本・磯上 1996)などが指摘されてきた。盛夏期の高水温への対応については、今回、記録的な猛暑であったにもかかわらず、遮光幕を用いて培養水温の上昇を大幅に抑制できたことにより増殖が可能となった。盛夏期ではこれまでカルシトランスに限らず、より高温耐性の高いネオグラシーレやタヒチでも安定培養の制限要因となっていたが、遮光幕の利用はこれらの餌料藻類の培養の安定化に応用できる可能性があると考えられる。

今回と同様に、盛夏期に 500 l の透明水槽を用いてネオグラシーレの屋外培養を行った過去の培養事例(綿貫ら 2004)では、冷却器を用いて培養水温を 30°C以下に調整することで $2.86 \sim 3.67 \times 10^6$ 細胞/ml までの増殖が得られている。一方、今回のネオグラシーレの培養では、培養水を冷却すること無く前述の報告とほぼ同様の細胞密度までの増殖が得られていることから、遮光幕の使用はより簡便かつコストの面でもメリットが大きいと考えられる。実証試験では、水温の上昇抑制効果を重視して遮光率の高い遮光幕を用いたが、結果的に遮光による水温低下のメリットと光量低下のデメリットのバランスが比較的良好に保たれたものと推察された。今後は事例を重ねた上で、気象条件に応じた適切な遮光条件を決定する必要があるだろう。

なお、水温と同様に餌料藻類の屋外安定培養に影響する気象要因として降雨の問題がある。今回の試験では降雨後に増殖の停滞がみられた試験(試験 1-3, 試験 2-1, 3)があり、その原因としては塩分の変動や日照量の低下の影響が想定されたが、いずれも培養不調に大きく影響した事例は確認されなかった。給餌に供する場合は基本的に増殖期から定常期初期に給餌することが推奨されており、実際の培養では当水産技術センターの二枚貝の事例(培養 5~6 日から給餌開始)のように、培養が長期間に及ぶことが無いと想定されることから、培養開始時の水位をある程度下げておくことで通常の降雨対策は可能であ

ると考えられる。また、試験期間中には台風の通過により 1 日で約 100 mm の大規模な降雨があったが (Fig. 50 の試験 1-2 の b), その発生頻度は限られており、今回用いた安価な透明シートを用いる工夫により対応ができると考えられる。さらに盛夏期の実証試験では、遮光幕を容易に開閉可能な構造としたことにより、台風通過に伴う強風時においても遮光幕の破損の被害を未然に防止できた。

一方、今回の試験においてバクテリアと同様に培養に影響を及ぼす可能性のある原生動物についてモニタリングした結果、原生動物の増加による明らかな培養不調はカルシトランス、ネオグラシーレいずれでも観察されなかった。100 l 水槽の 4 回目の試験において小型の原生動物の出現密度が大きく異なったこと (Fig. 50 の試験 1-4 の c) を除くと、両種で原生動物の発生状況に大きな差が無かったものと考えられる。

なお、両種ともに 100 l の 1, 2 回目の試験では培養後期に渦鞭毛藻が増殖して試験を中断したが (Fig. 50 の試験 1-1, 2 の d), この時は試験以外の他の培養水槽でも同じ渦鞭毛藻がほぼ同時に発生し、水槽によっては約 10^6 個体/ml までの増殖がみられた。この渦鞭毛藻による餌料藻類の摂食および培養密度の急激な減少は確認されなかったものの、餌料藻類の増殖に何らかの悪影響を及ぼす可能性が懸念された。その後、発生源の撤去と全ての培養水槽をリセットすることにより新たな発生・蔓延を防止できた。このことから、屋外培養を行う場合には、他の汚染生物の発生や侵入リスクの可能性が低い場所を選択することが重要であると考えられる。

今回の試験では、各餌料の細胞サイズのモニタリングを行わなかったことから本試験における詳細な実態は不明であるが、日々の目視観察では培養後期においてカルシトランスの細胞径がネオグラシーレより大きい傾向が観察され、単発的に実施した細胞径の測定でもその差が確認された。珪藻類は環境に応じて細胞の大きさを変化させること (千原・原 1988; 高野 1988; 鈴木 2012) や微細藻類は培養ステージにより含有色素量が変化すること (岡内ら 1990)

などが指摘されていることから、今後は細胞数だけでなく細胞のサイズや色素量(山本ら 2015)などの総合的かつ連続的なモニタリングを行うことにより、屋外培養におけるカルシトランスの餌料価値についてよりの確に評価する必要があると考えられる。

市販のカルシトランスを元種とした屋外培養試験では、市販品と自家培養の増殖状況の比較や保存期間の長さが培養に与える影響について断続的に培養を実施して検討したところ、市販品は自家培養を元種としたものより培養後期において増殖がやや劣る傾向があった (Fig. 55)。しかし、元種として使用することは十分可能であり、製造から4週間を経過しても休眠細胞(板倉 2000)となることもなく増殖できることが判明した。試験回数が少ないのでその安定性については今後さらに確認する必要があるが、培養に使用する元種を保存・培養するための室内培養工程が不要となるメリットは大きく、市販の濃縮ネオグラシーレを元種に500 l水槽を用いて行われた培養事例(兼松ら 2008; 山田・兼松 2017)と同様に、カルシトランスにおいても市販品を元種として有効に利用することでより省力的に培養できることが示唆された。

なお、カルシトランスにおいて複数の市販品を比較したところ、増殖率や安定性が販売元により大きく異なったことから、市販品の選択においてはその性状について事前に十分確認することが重要であると考えられる。また、今回使用した市販品は給餌用として比較的低価格で供給されるメリットがある一方で、使い切りを前提としているため、常に元種として使用可能かどうか品質のチェックを行い、的確な判断をする必要がある。

屋外培養のカルシトランスを給餌したイワガキとサルボウガイの幼生の付着期幼生の生産試験では、両種とも飼育期間中に幼生の大きな減耗も無く順調に推移した。この結果と過去の生産結果を生残率で比較すると、本試験のイワガキの生残率48.6%は、ほぼ同じ幼生密度で試験を開始した前項の大型水槽を用いたネオグラシーレを用いた試験2-Aの47.5%とほぼ同等で、栽培センターの小型水槽を用いた従来の方法(36%:2012, 2013の平均値)を上回るこ

とからも、十分に実用的な値であると判断される。一方、サルボウガイの生残率 38.9%、51.2%は、水産技術センターにおけるネオグラシーレを用いた過去 2 年の生残率 28~71%（開内・佐々木 2017, 2018）の範囲にあり、イワガキと同様に実用的な値であると判断される。したがって、試行回数は少ないものの、イワガキやサルボウガイの付着期幼生の生産において、ネオグラシーレと同様に屋外培養のカルシトランスが使用できる可能性が高いと考えられる。

本研究において、カルシトランスの屋外培養では、ネオグラシーレとほぼ同様に安定した培養をすることができることが判明し、高水温への対策を行うことにより盛夏期の培養も可能であることを確認した。そして、100 l、500 l の透明水槽を用いる場合、水温や日照条件が培養に適する 5~6 月には最高細胞密度で約 6×10^6 細胞/ml までの増殖が見込まれ、5~6 日間の培養で実用的な細胞密度まで安定して到達した。光量や外気温が高くなり水温条件が最も厳しい 7~8 月においても、ネオグラシーレよりも最高細胞密度がやや低くなるものの、6~7 日間の培養で実用的な細胞密度までの培養が期待できるといえる。また、1 回の試行であるが培養条件がより厳しくなる 5 kl 規模の FRP 水槽でも 2×10^6 細胞/ml を上回る培養ができることを確認し、より大規模な培養の可能性があることが示唆された。

以上から、屋外培養に適している珪藻類のネオグラシーレとハプト藻類のタヒチの 2 種に加えて、より餌料価値の高いとされるカルシトランスを屋外で粗放的に大量培養し、これを大型水槽におけるイワガキの浮遊幼生の生産に利用することにより、付着期幼生の効率的で安定的な生産に寄与することが期待できるといえる。また、栽培センターにおける従来のイワガキの小型水槽を用いた種苗生産やサルボウガイの種苗生産においても、カルシトランスの屋外培養を導入することは可能であり、特に給餌量が増加する着底後の稚貝の飼育に、より利用価値の高い本種を低コストで大量に供給できるメリットは大きいと考えられる。

今後は、さらに屋外培養の事例を重ねてその安定性を十分に確認し、最適な

培養条件を把握することによりカルシトランスの屋外培養技術をさらに確実なものとするのが望まれる。

第 2 節 イワガキのシングルシード用の樹脂製軟質採苗器の開発

島根県では隠岐諸島を中心にイワガキの養殖が盛んであり、種苗の主な供給元である栽培センターにおいて、ホタテ殻原盤を用いた採苗器（出荷規格：採苗器 1 枚当たり殻高 10 mm 以上の稚貝が 10 個体以上付着していること）が年間約 10～20 万枚生産され、県内の各養殖業者に配布されている。従来の養殖方法では、養殖業者の海面施設において数年間垂下養殖された後に、出荷直前に採苗器周囲に塊状に成長したイワガキを個別に剥がして出荷しているが、成長や殻の形状が不良な商品価値の低い個体の出現率が高くなる問題があった。そこで近年では、イワガキの成長や殻の形を良くすることを目的として貝が大きくなる前に採苗器から剥がし、個別にロープに固定して飼育する耳吊り法（田中・藤原 2005）や水中セメント法（市村ら 2008）に移行しつつあるものの、この方法では採苗器から種苗を剥がす作業に大変手間がかかり、人件費の増加や殻の破損による種苗の損失などが課題であった。さらに、全国的にシングルシードを由来とする殻付きブランドカキの生産が拡大し、その需要が高まりつつあること（鬼木 2015; 宮田 2019）から、一部の県内養殖業者から栽培センターに対してシングルシード種苗の供給の強い要望があり、その対応が求められている状況にあった。その対応策として、栽培センターでは、フランスの天然採苗において用いられているシングルシード用の樹脂製採苗器（COUPELLE, MULOT 社）を使用した採苗試験（島根県水産技術センター 2013）を試みたものの、ホタテ殻に比べて扱いにくく、水槽当たりの採苗効率が低いことなどの問題があることが判明した。

そこで、採苗効率が高いシングルシード用の採苗器を新たに開発することを目的として、イワガキ養殖関係者らと共同で樹脂製軟質採苗器を試作し、その有効性や実用性について、採苗、海面飼育および剥離の工程ごとに従来のホタテ殻採苗器との比較を行った。採苗および剥離の工程では、以下の一連の比較試験を実施し、試作した採苗器の検証をはじめ、採苗器の素材、形状、表面の

構造および使用履歴の諸条件の差が採苗効率（稚貝の付着数，生残，成長および殻の破損など）に与える影響について検討した。

- ・ 試作した採苗器とホタテ殻採苗器との比較（試験 1， 2）
- ・ 採苗器に貝殻粉を混合する効果の比較（試験 1， 2 および剥離試験）
- ・ 形状の異なる採苗器（平板と傘型）の比較（試験 2）
- ・ 採苗器表面に突起構造をつける効果の比較（試験 1， 2 および剥離試験）
- ・ 履歴の異なる採苗器（使用前と使用后）の比較（試験 1， 2， 3）

材料および方法

採苗器の設計

シングルシード用の新型採苗器（以下新型と略す）の設計では，栽培センターにおける採苗作業の効率性を考慮し，採苗において従来のホタテ殻と同様に扱えることを基本条件とした（Fig. 56- A タイプ）。すなわち，新型はホタテ殻と同様に中央にロープを通す構造（穴の直径も同じ 12 mm）とし，1 連当りの採苗器数も同じ 35 枚，1 水槽当りの収容連数もほぼ同様（500 l 水槽：約 20 連，1 kl 水槽：約 40 連）とした。採苗器の上下の間隔も従来と同じ 1.5 cm としたが，間隔を保持するためにロープに通して用いている円柱状の管（通称：スペーサー）については，採苗器連の作成の省力化を目的に採苗器と一体型の構造とした。

稚貝を採苗器から剥離する際に採苗器を折り曲げることから，新型の素材には繰り返しの折り曲げに強いポリプロピレン（以下 PP と略す）を採用した。ただし，PP は比重が 0.9 であり，採苗時に浮いて扱いにくいことから，比重の重いマガキ殻粉末と炭酸カルシウム粉末との混合物（以下貝殻粉と略す）を混合することにより採苗器の比重を調整することとした。貝殻粉の混合率は，採苗時にエアレーションに由来する気泡が採苗器に付着して浮力がさらに増加することや，逆に採苗器の重量が重くなることによる作業性の低下などの諸

条件を考慮して総重量の 40%と 50%の 2 種類を作製した。また、稚貝の付着状態の観察を容易にするために採苗器の色は白色とし、混合する顔料の成分を調整した。

PP 素材の平板状の採苗器を用いて実施した予備試験（未発表）において、エアレーション由来の気泡が採苗器下面に滞留して空気溜りを形成することにより採苗器の浮力がさらに増加する現象が生じたことから、新型の形状は採苗器下面に滞留するエアーが採苗器中央の穴から上方にスムーズに抜けることを期待して傘形状とし、採苗器の高さはホタテ殻の膨らみの強い方の殻（右殻）と同程度の 2 cm とした。採苗器下端の直径は、水槽内における採苗器の水平方向の面積占有率が従来と同程度となるようにホタテ殻の最大径に合わせて 12 cm とした。

新型の厚さは 1 mm（突起部分を除く）とし、採苗器の表面の微細な構造が幼生の付着を促す効果（中本ら 2010）を期待して採苗器の表面に網目状の突起構造を設けた。突起の配置パターンについては、株式会社中村化学工業（以下中村化学工業と略す）の既存のものを採用し、採苗器の中心から等間隔の同心円状に配置（12 本）したものと採苗器の中心から放射状に配置（同心円の半分となる 6 番目より内側は放射角 5° 刻みで計 72 本、それより外側は放射角 2.5° 刻みで計 144 本）したもので格子状に構成され、各格子の大きさは概ね 1~2 × 4 mm 程度の範囲であった。突起の幅、高さはそれぞれ 0.8 mm, 0.6 mm とした。

新型の金型を含む製作は中村化学工業に発注し、貝殻粉の混合方法については同社の既存技術（実用新案登録第 3182951 号）を用いた。

試験区の設定（新型とホタテ殻の比較）

新型とホタテ殻を比較するための採苗試験を栽培漁業センターにおいて 2 回実施した。採苗水槽には、1 回目の試験（試験 1）、2 回目の試験（試験 2）とも従来の栽培センターにおける採苗と同じ円型透明ポリカーボネイト水槽

を用いた。新型とホタテ殻の比較の他、採苗器の形状や表面の突起構造などの条件の違いが採苗結果に及ぼす影響を把握するために、各条件の異なる数種類の採苗器を用いた比較も同時に行った。各比較試験で用いた採苗器の概要を Table 12, 13 に示す。採苗器の形状は、傘型状で表面に突起構造を有するスペーサー一体型のもの（A タイプ）、平板状で表面に突起構造を有するスペーサー一体型のもの（B タイプ）および平板状で表面に突起構造の無いスペーサー分離型のもの（C タイプ）の 3 種類である（Fig. 56）。B タイプの採苗器については、中村化学工業が商品サンプルとして素材に PP を用いて作成したものであり、平板状の形状（直径 12 cm，厚さ 1 mm）で表面に新型と同様の突起構造（突起の高さ 0.5 mm）を設けたものである。C タイプの採苗器については、市販の白色 PP 板（積水成型工業株式会社）を円形に切って加工したもの（直径 12 cm，厚さ 1 mm）を使用した。

1 回目の採苗試験（試験 1） 500 l の水槽 3 基（水槽 1～3）を用いて、1 水槽に 2 種類の異なる種類の採苗器を収容して比較を行った（Table 12）。採苗は栽培センターの方法とほぼ同様の、1 連当り 35 枚連結、1 水槽当り 20 連収容とし、採苗器と採苗器の上下の間隔は 1.5 cm で、採苗器の連結には直径 6 mm の PP 製ロープを用いた。

水槽 1 では、ホタテ殻 16 連と貝殻粉の混合率 50% の新型（A・S + 50%）4 連の計 20 連を 1 水槽に収容して比較した。

水槽 2 では、B タイプの採苗器を使用し、貝殻粉を混合する効果について検討した。貝殻粉を混入しない採苗器（B・S - ）10 連と貝殻粉を混合（混合率は不明）した採苗器（B・S + ）10 連の計 20 連を 1 水槽に収容して比較した。

水槽 3 では、素材に PP を使用した C タイプの採苗器を使用し、採苗器の生産コストの低減を意図して、一度採苗に使用した採苗器の再利用（使用後）について検討した。貝殻粉を混入しない採苗器（C・S - ）10 連と、同タイプの使用後の採苗器（C・S - ・R）7 連の計 17 連を 1 水槽に収容して比較した。なお、C・S - ・R については、C・S - と同様の採苗器を 2013 年に実施した

予備試験において採苗に使用したものであり、採苗器に付着したイワガキ稚貝を剥離後にコンクリートミキサーを用いて剥離剤（砂，砂利）とともに攪拌して表面に残る付着物を剥離し，さらに次亜塩素酸ナトリウムを用いて殺菌処理を行ったものである。また，採苗条件を水槽 1 および 2 と同様とするため，不足する 3 連分は同じ PP を素材とした C タイプと同型の採苗器（表面構造はやや異なる）を使用して 20 連に調整した。

2 回目の採苗試験（試験 2） 1 kl の水槽 1 基（水槽 4）を用い，試験 1 と同様に採苗器の種類ごとに分けて配置した連間で比較する方法（試験 2-1）の他，2 種類の採苗器を一つの連に 1 枚ずつ交互に配置して両者を比較する方法（試験 2-2）も併せて実施した。新型は，両試験ともに貝殻粉の混合率が試験 1 と異なる 40% のものを用いた（Table 13）。

試験 2-1 では，新型（A・S + 40%），ホタテ殻，B・S + ，B・S - ，C・S - ，C・S - ・R の採苗器各 6 連計 36 連を用い，試験 1 と同様にホタテ殻と新型の比較をはじめ採苗器に貝殻粉を混合する効果，使用後の採苗器の評価を把握するための試験区を設定した。また，採苗器の形状や表面の突起構造の効果についても，その他の条件が同じ試験区間で比較することにより検討を行った。

試験 2-2 では，ホタテ殻と新型（A・S + 40%）との比較を行う試験区 3 連と，新型と同形の A タイプで貝殻粉を混合しない採苗器（A・S - ）と新型（A・S + 40%）との比較を行う試験区 1 連の計 4 連を用いた。なお，試験 2-2 において，前者の試験区では 1 連当たりの採苗器の数は試験 1 と同様に 35 枚としたが，後者の試験区では A・S - の採苗器枚数が不足したため，試験に用いる採苗器の数は A・S - ，A・S + 40% 各 14 枚の計 28 枚とし，不足する 7 枚（上 4 枚，下 3 枚）はホタテ殻を代用して 35 枚とした。試験 2-1 の 36 連と試験 2-2 の 4 連の合計 40 連を 1 水槽に収容して同時に採苗を行った。

採苗と海面飼育 採苗にあたり，試験 1，2 における各採苗器連の配置については，採苗器の種類ごとに水槽内で偏りが生じないように分散して配置した。また，浮力を軽減するために，貝殻粉を含まない PP を素材とした採苗器各連

の下部に陶器製の沈子を付けた他、PP を素材とした採苗器各連の最上位の採苗器の直上のロープに木製のストッパー（爪楊枝）を差し込んで採苗器を安定させた。

試験 1 の採苗では、2014 年 7 月 19 日に、第 1 節第 3 項で開発した大型水槽を用いた生産方法で生産した付着期幼生（日齢 16）を従来の方法と同程度の密度 0.8 個体/ml に調整して、各採苗器を設置した各水槽に収容した。各採苗器は事前に栽培センターにおける方法と同様に次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌を行った後、幼生の付着を促進するための前処理（イワガキ親貝を約 8 kg 収容した 2 kl FRP 水槽内で約 1 週間ろ過海水のかけ流し）を行った。採苗期間中の基本的な飼育管理も栽培センターにおける方法に準じて行い、餌料は市販のカルシトランス（サンカルチャー、マリンテック）を給餌し、途中で採苗器の上下反転を 1 回行った。飼育水の攪拌は水槽の中央 1 ヶ所および外周付近 2 ヶ所に配置したエアーストーン計 3 個から行った。

各採苗器に付着した稚貝の大部分が殻高 1~2 mm（ノギスによる簡易測定）の沖出し適サイズ（吉田・常盤 2011）となった 8 月 6 日（採苗器設置後 18 日目）に、栽培センターの海面施設へ沖出しして海面飼育に移行した。海面飼育は栽培センターにおける管理方法に準じて行い、各採苗器を 4×4 m の筏に設置したナイロン製のモジ網（4×4×4 m、約 6 mm メッシュ）内に収容した。9 月 18 日（沖出し後 43 日目）および 12 月 8 日（沖出し後 95 日目、ホタテ殻と新型のみ実施）に各試験区から 5 連（5 連未満のものは全て）を無作為に抽出し、各連の上から 5, 10, 15, 20, 25, 30 枚目の採苗器の上面および下面に付着した稚貝（スパーサー部分の付着個体は除く）の個数を計数した。さらに、このうちの 3 連について上から 5, 10, 15, 20, 25, 30 枚目の採苗器に付着した稚貝の殻高をノギスで測定した。殻高は上、下面から各 20 個を限度に無作為に抽出して測定した（無作為測定）。また、栽培センターにおける出荷規格（採苗器 1 枚当たり殻高 10 mm, 10 個体以上付着）を考慮し、各面の殻高の値の高い上位 5 個体（5 個体未満の場合は全数）を測定する方法（上位 10 個

体)も併せて行った。新型については、一部を12月8日の測定後も飼育を継続し、採苗器の上下の間隔をそれまでの2倍の3 cmに広げて1連当たりの採苗器の枚数を採苗時の約半分(17~18枚)とした。翌2月26日(沖出し後204日目)に新型の稚貝を徒手により剥離して計数し、無作為に抽出した100個体について殻高、重量を測定した。

試験2の採苗では、同年9月12日に、試験1と同様に大型水槽を用いた生産方法で生産した付着期幼生(日齢17)を密度0.8個体/mlに調整して、各採苗器を設置した水槽に収容した。採苗器の前処理および採苗期間中の基本的な飼育管理も試験1と同様とした。

試験1と同様に、各採苗器に付着した稚貝の大部分が沖出し適サイズ(吉田・常盤2011)となった9月24日(採苗器設置後12日目)に、海面飼育に移行した。海面飼育の管理方法は試験1と同様に栽培センターにおける管理方法に準じて行った。11月7日(沖出し後44日目)および12月12日(沖出し後79日目、ホタテ殻と新型のみ実施)に、試験2-1では各試験区から3連を無作為に抽出し、試験1と同様に各連の上から5, 10, 15, 20, 25, 30枚目の採苗器に付着した稚貝の個体数を計数し、試験2-2では各試験区の全ての採苗器に付着した稚貝の個体数を計数した。さらに、試験2-1については11月7日および12月12日(ホタテ殻と新型のみ実施)に採苗器に付着した稚貝の殻高を測定した。測定数および測定方法は試験1と同様とした。試験1と同様に、新型の一部を12月12日の測定後も飼育を継続し、採苗器の上下の間隔を広げて1連当たりの採苗器の枚数を採苗時の約半分とした。翌2月26日(沖出し後155日目)に、新型の稚貝を徒手により剥離して計数し、無作為に抽出した100個体について殻高、重量を測定した。

各採苗器における稚貝の付着状況の評価については、各試験区の採苗器に付着した稚貝の殻高の無作為測定、もしくは上位10個体の平均値が、栽培センターにおける出荷基準サイズ殻高10 mm以上に成長した段階(試験1は9月18日、試験2は11月7日)の値を用いて行った。

なお、同一採苗器における稚貝の付着状況の連続的な観察結果から、育成中における天然イワガキ個体の付着が確認されなかったことから、採苗器に付着した稚貝は全て人工種苗生産由来の個体であるとみなされた。また、試験 1 では 9 月 18 日に、試験 2 では 11 月 7 日に全ての採苗器について塩水浴により食害種であるヒラムシ類の駆除を行った。

単位面積当りの稚貝の付着数を推定するために、各採苗器の表面積を算出した。不定形であるホタテ殻については、採苗器として用いたものから右殻、左殻各 10 個体ずつ無作為に抽出し、各々の殻長と殻高の平均値を直径、殻の膨らみの平均値を高さとする円錐の面積として算出し、その平均値（右殻と左殻の割合は 1 : 1 と仮定）を面積として用いた。なお、各採苗器の突起などの表面の微細な構造は無視して計算した。

試験区の設定（新型における未使用と再利用の比較）

3 回目の採苗試験（試験 3） 新型を用いて、再利用（使用后）の採苗器の付着効率の評価を行うための採苗試験を水産技術センターにおいて行った。採苗試験では、未使用の採苗器とイワガキの人工種苗生産で使用したものを比較する試験区（試験 3-1）および未使用の採苗器と天然海域に一定期間垂下して付着生物を人為的に付着させたものとを比較する試験区（試験 3-2）を設定した（Table 14）。

試験 3-1 では、試験 1 と同様に 500 l の円型透明ポリカーボネイト水槽を用い、採苗器を 1 連当り 40 枚連結し、1 水槽当り 20 連収容とした。未使用の新型（A・S + 40%・R - ）10 連と同タイプの使用后（A・S + 40%・R + ）10 連の計 20 連を 1 水槽（水槽 5）に収容した。使用后のものは、過去 2 年連続して水産技術センターにおいてイワガキの採苗器として使用したものであり、コンクリートミキサーを用いて剥離剤（砂、砂利）とともに約 2 分間攪拌して表面に残る付着物を剥離後に、次亜塩素酸ナトリウムを用いて殺菌処理を行ったものを試験に用いた。

試験 3-2 では同様に 500 l の円型透明ポリカーボネイト水槽を用い、未使用の新型 (A・S + 40%・R -) 10 連と同タイプの使用後 (A・S + 40%・R +) 10 連の計 20 連を 1 水槽 (水槽 6) に收容した。使用後のものは、採苗試験の直前に汽水湖である中海の水産技術センターの海面養殖施設 (水深約 5 m) の深度 2.5 m の層に、約 1 ヶ月間垂下して採苗器にフジツボなどの生物を人為的に付着させたものであり、試験 3-1 と同様に、試験前に表面の付着物を剥離、殺菌処理を行ったものを試験に用いた。

なお、水槽内における採苗器の配置については、試験 3-1、試験 3-2 とともに未使用と使用後の各採苗器に偏りが生じないように均等に配置した。また、コンクリートミキサーによる採苗器表面の剥離の影響を考慮し、未使用の採苗器についてもコンクリートミキサーによる同様の剥離、殺菌処理を行った。

採苗と飼育 採苗は、2016 年 8 月 19 日に行った。イワガキ付着期幼生 (日齢 18) を密度 1.4 個体/ml に調整して各採苗器を設置した各水槽に收容した。採苗期間中の基本的な飼育管理は、採苗器の上下反転は行わなかったこと以外は試験 1、2 と同様とした。

各採苗器への稚貝の十分な付着を確認した 8 月 23 日 (採苗 4 日目) に採苗を終了し、同水槽に採苗器を收容した状態で飼育を継続した。飼育期間中の餌料は屋外で培養したネオグラシーレを給餌した。試験 3-1 は 10 月 7 日 (採苗後 45 日目) に、試験 3-2 は 9 月 30 日 (採苗後 38 日目) に、水槽の中心 (エアーストーン的位置) から等距離に位置する採苗器を各試験区 2 連ずつ (各試験区採苗器 80 枚) を抽出し、全ての採苗器に付着した殻高約 1 mm 以上の稚貝の個数を計数した。さらに、無作為に抽出した稚貝 50 個体の殻高をノギスで測定した。

剥離試験

試験 1 の各試験区の採苗器について、2014 年 12 月 9 日 (沖出し後 96 日目) に採苗器に付着した稚貝を徒手により剥離した。採苗器の種類ごとに剥離した

稚貝から無作為に抽出した各 50 個体の殻高を測定するとともに、殻の破損の有無を観察した。殻に破損が認められた個体について、破損の程度が大きいもの（殻の破損が全体に及ぶもの）と破損の程度が小さいもの（殻の破損がヒビや穴などの部分的であるもの）に分けてその個体数を記録した。さらに、採苗器から剥離後の稚貝の生残率を推定することを目的に、剥離した稚貝を採苗器の種類ごとに 200 個体ずつパールネット（1.5 分目合）に収容して垂下飼育を継続し、約 2 ヶ月後の 2015 年 2 月 12 日に取り上げて生貝と死貝を計数し、この間の生残率を推定した。

この他、試験 1, 2 の貝殻粉の混合率が異なる（採苗器の弾力性が異なる）新型各 1 連を用いて、イワガキ生産者が補助事業で導入した電動剥離機（フランス MULOT 社製 DETROC COUPELLES SIMPLE）による剥離が可能かどうかを確認するための試験を実施した。試験に用いた採苗器 1 連当たりの採苗器の枚数（貝殻粉の混合率）は、前者が 18 枚（50%）、後者が 17 枚（40%）であった。電動剥離機による剥離は 2 月 26 日（前者は沖出し後 204 日目、後者は沖出し後 155 日目）に採苗器にロープを通した状態で行った。剥離した稚貝は、観察・計数の後、無作為に抽出した 100 個体について殻高と重量を測定した。また、剥離できずに採苗器に残存した稚貝も同様に計数の後、剥離して殻高と重量を計測した。

データ解析

試験 1～3 における各採苗器に付着した稚貝の平均個数、単位面積当り平均個数および無作為測定個体の平均殻高の有意差の解析では、Microsoft 社製 Excel を用いて t 検定を行った。有意水準はいずれも 5% とした。

結果

採苗試験（試験 1）

9月18日の測定時における各採苗器の稚貝の付着状況（ホタテ殻，C・S - ・Rを除く）を Fig. 57 に，各採苗器に付着した稚貝の平均個数，単位面積当たり平均個数および無作為測定個体の平均殻高を Fig. 58 に示す。

ホタテ殻と新型（A・S + 50%）を比較した水槽1由来の採苗器では，稚貝の平均個数は，新型（47.1個）がホタテ殻（28.1個）に対して約1.7倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）が，単位面積当たり平均個数では，新型（0.20個/cm²）とホタテ殻（0.16個/cm²）の間に差は無かった。一方，無作為測定の稚貝の平均殻高は，ホタテ殻（9.5 mm）が新型（7.7 mm）に対して高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。

貝殻粉を混合する効果について比較した水槽2由来の採苗器では，稚貝の平均個数（採苗器の表面積が同じであるため単位面積当たり平均個数の比較は略す，以下同様）は，貝殻粉を混合したもの（B・S + : 9.8個）が貝殻粉を混合しないもの（B・S - : 6.3個）に対して約1.6倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。一方，無作為測定の稚貝の平均殻高では，貝殻粉を混合したもの（B・S + : 10.8 mm）と貝殻粉を混合しないもの（B・S - : 11.7 mm）の間に差は無かった。

使用後の採苗器の評価について検討した水槽3由来の採苗器では，稚貝の平均個数は，使用後のもの（C・S - ・R : 32.3個）が未使用のもの（C・S - : 10.5個）に対して約3.1倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。一方，無作為測定の稚貝の平均殻高は，未使用のもの（C・S - : 14.4 mm）が使用後のもの（C・S - ・R : 11.0 mm）に対して高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。

採苗試験（試験2-1）

11月7日の測定時における水槽4由来の各試験区の採苗器に付着した稚貝の平均個数，単位面積当たり平均個数および無作為測定の平均殻高をそれぞれ Fig. 59 に示す。

ホタテ殻と新型（A・S + 40%）を比較した採苗器では，稚貝の平均個数は，新型（73.0個）がホタテ殻（48.7個）に対して約1.5倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）が，単位面積当たり平均個数では，新型（0.31個/cm²）とホタテ殻（0.28個/cm²）

の間に差は無かった。一方、無作為測定の子貝の平均殻高は、ホタテ殻(9.3 mm)が新型(7.5 mm)に対して高い値を示した($P < 0.05$)。

貝殻粉を混合する効果について検討した採苗器では、子貝の平均個数は、貝殻粉を混合したものが(B・S+ : 23.3 個)貝殻粉を混合しないもの(B・S- : 15.5 個)に対して約 1.4 倍高い値を示した($P < 0.05$)。一方、無作為測定の子貝の平均殻高は、貝殻粉を混合したもの(B・S+ : 9.7 mm)と貝殻粉を混合しないもの(B・S- : 9.6 mm)は同程度の値であった。

使用後の再利用について検討した採苗器では、子貝の平均個数は、使用後のもの(C・S-・R : 9.8 個)が未使用のもの(C・S- : 3.7 個)に対して約 2.6 倍高い値を示した($P < 0.05$)。一方、無作為測定の子貝の平均殻高は、使用後のもの(C・S-・R : 11.6 mm)と未使用のもの(C・S- : 12.5 mm)の間に差は無かった。

この他、採苗器の形状の効果については、傘形状の新型(A・S+ 40%)と平板状(B・S+)との間で子貝の平均個数(両者の採苗器の表面積はほぼ同じ)の比較を行い、傘形状(73.0 個)が平板状(23.3 個)に対して約 3.1 倍高い値を示した($P < 0.05$)。また、表面の突起構造の効果については、同じ平板状の突起構造を有するものと突起構造の無いものとの間で子貝の平均個数の比較を行い、突起構造を有するもの(B・S- : 15.5 個)が無いもの(C・S- : 3.7 個)に対して約 4.2 倍高い値を示した($P < 0.05$)。

採苗試験(試験 2-2)

11月7日の測定時における水槽4由来の各試験区の採苗器に付着した子貝の平均個数、単位面積当たり平均個数をそれぞれ Fig. 60 に示す。ホタテ殻と新型(A・S+ 40%)を比較した3連の採苗器では、子貝の平均個数は、新型が各々77.9 個、79.6 個、76.2 個、ホタテ殻が各々48.0 個、55.3 個、41.1 個で、新型がホタテ殻に対して1.4~1.8 倍高い値を示した($P < 0.05$)。単位面積当たり平均個数では、新型が各々0.33 個/cm²、0.34 個/cm²、0.32 個/cm²、ホタテ殻が

各々0.28 個/cm², 0.32 個/cm², 0.24 個/cm²で両者の間に差は無かった。一方、新型と同形のものをを用いて貝殻粉を混合する効果について比較した採苗器では、稚貝の平均個数は、貝殻粉を混合したもの（新型：55.1 個）が混合しないもの（A・S - : 36.6 個）に対して約 1.5 倍高い値を示した ($P < 0.05$)。

出荷基準サイズ以降のホタテ殻と新型採苗器の比較（試験 1, 2-1）

試験 1（水槽 1 由来）、試験 2-1（水槽 4 由来）のホタテ殻と新型の海面飼育期における稚貝の平均個数、単位面積当り平均個数および平均殻高の推移を Fig. 61 に示す。なお、試験 1 の 8 月（沖出し時）と試験 2-1 の 9 月（沖出し時）の平均殻高は簡易測定値を、試験 1 の 9 月、12 月と試験 2-1 の 11 月、12 月の平均殻高は無作為測定値を、試験 1、試験 2-1 の 2 月の平均殻高は採苗器から剥離後の稚貝 100 個体の値を用いた。

試験 1 では、栽培センターの出荷基準に達した 9 月 18 日から 51 日後の 12 月 8 日には、稚貝の平均個数、単位面積当り平均個数はホタテ殻、新型とも減少し、新型が各々 38.1 個、0.16 個/cm²、ホタテ殻が各々 18.1 個、0.1 個/cm² となり、新型がホタテ殻に対して平均個数で約 2.1 倍、単位面積当り平均個数で約 1.5 倍高い値を示した（いずれも $P < 0.05$ ）。一方、稚貝の平均殻高は、ホタテ殻（19.6 mm）が新型（14.3 mm）に対して約 1.4 倍高い値を示した ($P < 0.05$)。

試験 2-1 では、栽培センターの出荷基準に達した 11 月 7 日から 35 日後の 12 月 12 日には、稚貝の平均個数、単位面積当り平均個数はホタテ殻、新型とも大きく減少し、新型が各々 40.3 個、0.17 個/cm²、ホタテ殻が各々 30.2 個、0.18 個/cm² となり、新型がホタテ殻に対して平均個数で約 1.3 倍高い値を示したが ($P < 0.05$)、単位面積当り平均個数は両者とも同定度の値であった。一方、稚貝の平均殻高は、ホタテ殻（16.0 mm）が新型（12.3 mm）に対して約 1.3 倍高い値を示した ($P < 0.05$)。

3 回目の採苗試験（試験 3）

10月7日の測定時における各試験区の採苗器に付着した稚貝の平均個数をそれぞれ Fig. 62 に示す。

未使用と使用後（イワガキの種苗生産に使用）を比較した試験 3-1 の採苗器では、稚貝の平均個数は、使用後（187.7 個）が未使用（52.9 個）に対して約 3.6 倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。なお、稚貝の平均殻高では、使用後（7.8 mm）と未使用（8.4 mm）の間に差は無かった。

未使用と使用後（天然海域に垂下）を比較した試験 3-2 の採苗器では、稚貝の平均個数は、使用後（123.3 個）が未使用（21.5 個）に対して約 5.7 倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。なお、稚貝の平均殻高では、未使用（8.4 mm）が使用後（6.7 mm）に対して約 1.3 倍高い値を示した（ $P < 0.05$ ）。

剥離試験

徒手による剥離試験 試験 1 の採苗器から剥離した稚貝の平均殻高の範囲は、19.6～26.7 mm であった。採苗器の種類別の剥離時における稚貝の殻の破損状況および剥離稚貝の飼育後の生残率を Fig. 63 に示す。採苗器の種類により殻の破損状況は異なり、破損の程度が大きいものと小さいものを合計した殻の破損個体の割合で比較すると、新型、B・S- が各々14, 10%と低い値を示したのに対し、B・S+ , C・S- , C・S-・R は各々34, 52, 54%と高い値を示した。これを破損の程度が大きいものの割合で比較すると、新型、B・S- が各々4, 6%と低い値を示したのに対し、B・S+ , C・S- , C・S-・R が各々28, 18, 18%と高い値を示した。稚貝の殻の破損の大部分は、採苗器側の付着面（左殻）の破損であり、採苗器の表面に突起構造の無い C タイプの採苗器由来の稚貝の左殻の表面は平滑で、剥離時の衝撃に弱く割れやすい特徴が観察された。一方、採苗器の表面に突起構造を有する A, B タイプの採苗器由来の稚貝の左殻の表面は凹凸があり、剥離時の衝撃に強く割れにくい特徴が観察された。

剥離した稚貝の飼育後の生残率は、新型、B・S- がいずれも 96%と高い値

を示したのに対し、B・S + , C・S - , C・S - ・R が各々78, 75, 70%と低い値を示した。なお、剥離を行った12月9日における新型の1枚当りの有効個体数は、その後の稚貝の生残率から逆算すると36.4個体と推定された。

電動剥離機による剥離試験 電動剥離機による新型の稚貝の剥離結果をTable 15に示す。稚貝の剥離率（剥離個体数 / 付着数）および剥離した稚貝における殻の破損の無い個体の割合は、貝殻粉の混合率に関係なくいずれも90%後半と高い値を示し、電動剥離機を用いた剥離が可能であると判断された。一方、剥離作業後の採苗器において、貝殻粉の混合率が40%の採苗器では17枚全て無傷であったが、貝殻粉の混合率が50%の採苗器では用いた18枚のうち4枚（22.2%）に亀裂や欠損などの破損が生じた。このことから、貝殻粉の混合率が50%の採苗器は40%のものに比べて弾力性が劣り、採苗器の耐久性が低いことが判明した。

考察

採苗効率が高いシングルシード用の採苗器を開発することを目的として実施した本試験では、試験に用いる採苗器の製作・入手が遅れたため、試験回数や採苗器の使用枚数に制限があった。このため、試験区の設定においては、全ての試験を栽培センターにおける採苗と同じ条件の下で、複数種の採苗器を同一水槽内に設置する方法により各採苗器の評価を試みた。

試作した新型については、従来用いているホタテ殻との比較によりその有効性、実用性を検証する。さらに、採苗器の素材、形状、表面の構造および使用履歴の諸条件の差が採苗効率に与える影響についても、異なる複数の種類の採苗器間で比較することにより検討する。

新型の評価

試験1（9月18日）と試験2-1（11月7日）では、新型に付着した稚貝の平

均個数は、ホタテ殻より 1.5～1.7 倍高い値を示した。これは新型がホタテ殻より採苗器の表面積が約 1.4 倍大きいことや、単位面積当りの付着個数が 1.1～1.2 倍高い傾向を示したことに起因する。ホタテ殻は、左殻と右殻が混在し、様々な大きさの殻を含んでいる。一方、新型では各採苗器の大きさを規格化でき、その形状を立体的にしたことで採苗器の表面積を増加することが可能であった。さらに、新型では採苗器に幼生の付着を促す諸条件を付加した。これらのことから、採苗器全体に付着した稚貝の個体数は、従来のホタテ殻よりも新型の方が多くなったと考えられる。そして、新型では稚貝が出荷基準サイズとなった後もホタテ殻に劣ることなく生残したことから、栽培センターから出荷後も、剥離までの期間においてホタテ殻と同程度に付着状態を維持するものと判断される。なお、稚貝の平均個数および単位当たり平均個数の減少率は、試験 1 と試験 2-1 で大きく異なったが、稚貝の密度が高かった試験 2-1 では、密度効果により稚貝の成長に伴って付着スペースや餌料条件が悪化したため稚貝の減耗率がより高くなったものと考えられる。一方、稚貝の成長についてみると、評価を行った 9 月 18 日（試験 1）、11 月 7 日（試験 2-1）時点における無作為測定の子貝の平均殻高は、試験 1、試験 2-1 とも付着数とは逆に新型がホタテ殻より低い値を示した。試験 1 については、稚貝の単位面積当たり平均個数が高かった新型の方が前述と同様に密度効果により稚貝の成長において少なからず不利であったと考えられる。

試験 2 では、両者を連間で比較する方法（試験 2-1）に加えて、一つの連に交互に異なる採苗器を配置して両者を比較する方法（試験 2-2）も用いたが、稚貝の平均個数、単位面積当たり個数は、試験 2-1 と同様に新型がホタテ殻より高い値を示し、その値も試験 2-1 と大きな差は無かった。連間で比較する方法は、水槽内における連の位置の違いが幼生の付着数に少なからず影響することから複数連を用いて平均化する必要があるが、一つの連で比較する方法は、水槽内における位置を考慮する必要が無く前者より簡便である。しかし、この方法は上下の隣接する採苗器間の距離が近いことから、各採苗器の幼生の誘因効

果を比較する場合は正確な比較が出来ない可能性が懸念される。今回の場合は、結果的に一つの連に交互に異なる採苗器を配置する方法でも連間での比較と同様な結果が得られたことから問題は無かったと考えられる。

貝殻粉を混合する効果

採苗器の形状が B タイプを用いた試験 1, 試験 2-1 の採苗器では、いずれも貝殻粉を混合したものが無処理のものに対して、稚貝の平均個数で前者が 1.6 倍、後者が 1.4 倍高い値を示し、さらに、採苗器の形状が A タイプを用いた試験 2-2 の採苗器でも同様に、貝殻粉を混合したものが無処理のものに対して 1.5 倍高い値を示した。このことから、採苗器に貝殻粉を混合することは、設計時に意図した浮力の調整機能だけに留まらず、稚貝の付着数を増加させる効果があると判断される。このことは、貝殻粉に含まれる成分に幼生の付着を誘因する作用がある可能性を示唆するものである。マガキでは、幼生の付着が同種のマガキおよび近縁のイワガキの貝殻に含まれる付着誘起物質により促進されることが確認されている (Vasquez et al. 2013) が、同様に採苗器に混合した貝殻粉に含まれるマガキ殻の付着誘起物質によって近縁のイワガキ幼生の付着が誘起された可能性が考えられる。

採苗器の形状

同一水槽内の採苗条件としては、試験 2-1 における傘型の新型と平板の B・S + との 1 回の比較しかできなかったものの、稚貝の単位面積当り個数で傘型が平板に対して 3 倍以上高かったことから、幼生の付着効率は傘型が平板より高いと判断できる。この要因としては、採苗器の設計時に意図したとおり、傘型の採苗器は平板のものよりも採苗器下面に滞留するエアが上方に抜けやすい構造となっており、このことが採苗器の浮力を抑える効果とともに幼生の付着を阻害すると考えられる空気溜りが減少したことで採苗器下面における幼生の付着をより促進した可能性が考えられる。また、採苗器の形

状が立体的な構造となったことで採苗器の周囲の水流が変化し、このことが幼生の付着効率に好影響を及ぼした可能性もある。

採苗器の表面に突起構造を有する効果

前者と同様に、同一水槽内の採苗条件としては、試験 2-1 における突起構造を有する B・S - と突起構造の無い C・S - との 1 回の比較しかできなかったものの、採苗器の形状の比較と同様に稚貝の単位面積当たり個数の差が突起構造のあるものがないものに対して 4 倍以上高かったことから、採苗器表面の突起構造は幼生の付着効率の向上に有効であると考えられる。アコヤガイ *Pinctada fucata* 幼生では、付着基質の表面がザラザラした方に多く付着し（中本ら 2010）、マガキでは、プラスチック板の表面に砕いたマガキの殻を貼り付けることにより稚貝の付着数が増加すること（大橋 2011a）が報告されており、イワガキにおいても採苗器の表面の突起構造には幼生の付着効率を増加させる要因があると推察できる。採苗器表面の微細な構造と幼生の付着基質の選択性との関係は不明であるが、飼育水槽内における幼生の付着直後の観察において、大部分の稚貝が突起間に形成された溝に付着していたことから、この溝が物理的に幼生をトラップしやすい構造として有効に機能した可能性も考えられる。

ところで、今回の試験では、稚貝の単位面積当たり平均個数が多い試験区では稚貝の平均殻高が小さくなる傾向が認められたが、この要因の大部分は稚貝の成長がその密度に影響を受ける密度効果によるものであると考えられる。このため、比較を行った採苗器間で稚貝の密度が異なることから、各採苗器の構造と稚貝の成長を関連付けて評価することが困難であった。しかし、試験 1 の評価を行った 9 月 18 日において、水槽は異なるものの同じ平板状の採苗器である表面に突起構造を有する採苗器 B・S +（水槽 2）と表面に突起構造の無い採苗器 C・S -（水槽 3）を比較すると、両者の稚貝の単位面積当たり平均密度はほぼ同程度であったにもかかわらず、その無作為測定で稚貝の平均殻高は後者が 1.3 倍高い値を示した。両者の採苗器は貝殻成分の混合の有無でも条件が

異なるが、この違いが採苗器の表面の物理的な構造に与える影響はほとんど無いことから、両者の成長差は採苗器の表面の突起構造の違いに起因する可能性が高いと判断される。剥離した稚貝を観察すると、突起構造の無い採苗器の稚貝の左殻（付着面）は平滑な形状であるのに対し、突起構造を有する採苗器の稚貝の左殻は採苗器の突起構造と同じ格子状の起伏の激しい形状となっていることから、表面の突起構造は稚貝の殻の成長の阻害要因となることが示唆される。このことは、同時に表面に突起構造を有する新型は少なくとも稚貝の殻の伸長において不利である可能性を示唆するものである。現に、試験 2-1 の 11 月 7 日～12 月 12 日の新型とホタテ殻の平均殻高の推移 (Fig. 59) において、稚貝の付着密度が両者で大きな差が無かったにもかかわらず、平均殻高はホタテ殻が新型に対して有意に高い値を示したが、これは新型の稚貝の殻高の成長率がホタテ殻より劣ることを示すものであり、その要因として新型の突起構造が影響した可能性が大きいと考えられる。

採苗器の再利用

採苗器の形状が平板状の C タイプを用いた試験 1、試験 2-1 では、使用後の採苗器が未使用の採苗器に対して、稚貝の平均個数で前者が 3.1 倍、後者が 2.6 倍高い値を示した。さらに、新型を用いた試験 3-1、3-2 でも、使用後の採苗器が未使用の採苗器に対して、稚貝の平均個数で前者が 3.6 倍、後者が 5.7 倍と高い値を示した。このことから、PP 素材の採苗器の再利用が可能であるだけでなく、使用後の採苗器では幼生の付着効率が增加するメリットがあることが判明した。付着効率が増加した要因としては、使用後の採苗器の表面に残るイワガキやその他の生物の付着痕が幼生の付着に影響した可能性が考えられるが、それが物理的なものなのか化学的なものなのかは不明である。なお、試験 3-2 の結果から、採苗器を一定期間天然海域に垂下してフジツボなどの生物を人為的に付着させる方法は、未使用の新型の採苗効率を向上させる有効な手段として応用できるものと考えられる。

剥離後の稚貝の生残率

次に、採苗器から稚貝を剥離する際にみられた貝殻の破損と稚貝の生残率との関係について考察する。試験 1 において、採苗器から稚貝を徒手剥離する際の貝殻の破損の程度や破損個体の出現率は、採苗器の種類によって異なったが、剥離後の稚貝の生残率は、全ての種類の採苗器で殻の破損が無い個体の割合より高い値を示した。予備試験において、貝殻の破損が殻全体におよび、軟体部の損傷もしくは軟体部の大部分の露出を伴う場合には、稚貝は殻を修復できずに死に至るが、その破損がヒビや穴などの小規模で軟体部に損傷が無い場合には、稚貝は殻を修復することが可能であることを確認している。したがって、各採苗器における稚貝の死亡は、主に殻の破損の程度によるものではないかと考えられる。そこで、殻の破損の程度が大きい個体の出現割合と採苗器の種類との関係について検討した。殻の破損の程度が大きい個体の出現割合が約 20% と高かった C・S - , C・S - ・R の採苗器の表面は平滑であることから、稚貝の付着面である左殻も平滑であるため、剥離時に殻が破損する個体の割合が高かったものと判断される。そして、殻の破損の程度が大きい個体の出現割合が数% と低かった新型、B・S - の採苗器の表面は、突起構造を有することから、その左殻は凹凸状で殻の強度が高まる構造となったことにより、剥離時に破損する個体の割合が低かったものと判断される。一方、同じ突起構造を有する B・S + の採苗器は、前者とは逆に殻の破損の程度が大きい個体の出現割合が約 28% と最も高かったが、この原因としては採苗器の硬さが影響したことが指摘できる。採苗器から稚貝を徒手で剥離する作業では、採苗器を軽く折り曲げることで稚貝を剥離することができるが、曲げすぎると殻の破損率が増加するのでその力を微調整する必要がある。しかし、本採苗器は硬く、弾力性が低いことから、採苗器を折り曲げる際の力の微調節が困難であった。このため、必要以上に採苗器を曲げ過ぎたことにより貝殻の破損率が高くなったと考えられる。本採苗器は既存のサンプル品であり貝殻粉の混合率は不明であるが、

PP 素材本来の弾力が大きく低下していることからその混合率は比較的高いと判断できる。

今後の課題

今回の試験では、採苗器から稚貝を剥離するという前提条件のもとで、採苗器の素材には、繰り返しの折り曲げに強く耐久性の高い PP を選択してその実用性を検討した。その結果、市販の PP 板を加工しただけの平板状の採苗器は、ホタテ殻より付着効率が劣り実用的でないが、貝殻粉の混合、傘型の立体的な形状、表面の突起構造などの幼生の付着を促す諸条件を付加した新型は、幼生の付着効率がホタテ殻と同程度まで向上した。さらに、採苗器の規格化により表面積を増加することで、ホタテ殻より効率的な採苗が可能であることを確認した。そして、表面の突起構造により、採苗器から剥離後の稚貝の生残率も高いことから、今回製作した新型はイワガキの人工種苗生産において有効性が高く、十分に実用的であると考えられる。しかし、一方で稚貝の殻の成長は従来のホタテ殻と比較してやや劣ることも判明し、今後さらに、効率的で実用的なものとするためには以下の検討すべき課題が残されている。

新型の主な素材である PP は合成樹脂の中では比較的低単価ではあるが、試験で使用したホタテ殻 1 枚当りの単価約 4.7 円（送料込）と比較すると、PP 平板 1 枚当りの単価は約 15.6 円（送料込、加工費は含まない）と高単価である。しかし、試験 3 の結果から、新型は製造から少なくとも 3 年が経過しても繰り返し使用でき、さらに幼生の付着効率が增加することが判明し、再利用によるコストの低減化が十分可能であると見込まれる。したがって、今後はさらに新型の耐久性を確認するとともに、使用後の採苗器の洗浄作業の発生などのデメリットを勘案した上で、採苗器の再利用体制の構築について検討すべきであると考えられる。

今回の試験において、貝殻粉の混合率が高い場合には、本来 PP 素材の特徴である弾力性が低下し、稚貝の徒手剥離の際に稚貝の殻の破損率が増加するこ

とや採苗器の耐久性が低下することが判明した。新型の貝殻粉の混合率については、採苗器の浮力調整、作業性および耐久性を総合的に判断すると概ね40%程度が妥当であると考えられるが、将来的には再利用の回数と耐久性との兼ね合いの中で最適な混合率を決定すべきであろう。

採苗器の形状については、現行の傘型で概ね問題無いと考えられるが、円錐の高さについては若干の検討の余地がある。高くすることで採苗器の付着面積を物理的に増加することができる一方で、採苗器内部の換水率の低下が懸念されることから最適な高さについて検討する必要がある。

表面の突起構造については、幼生の付着効率の増加のメリットと稚貝の殻の成長率の低下のデメリットの両面から最適な条件を検討すべきである。特に、突起の高さは、採苗器の厚さとともに採苗器の耐久性や剥離作業の効率性にも影響する重要な要素であると考えられる。稚貝の剥離作業において、現行の貝殻粉の混合率40%の新型は、機械剥離では問題無いものの徒手剥離では折り曲げる際にやや硬くて作業性に問題があると判断されたことから、今後は、出荷先の養殖業者の状況に応じてこれらの条件を総合的に判断した上で、最適な採苗器の厚さと突起の高さを決定する必要がある。

第IV章 総合考察（総括）

本研究では、島根県の沿岸漁業における最も重要な岩礁性貝類 2 種を対象に、一連の調査・研究を行った。その結果、サザエではこれまで知見が不足していた島根県における産卵、浮遊幼生および稚貝の発生の加入量変動にかかわる初期生態について新たな知見を明らかにし、イワガキでは種苗生産における大量安定生産およびシングルシード生産のための実用的な技術を開発した。以下、対象種および課題ごとに整理した上で、これら重要貝類の増養殖に関して有効な資源管理手法や種苗生産技術についての提言を行う。

サザエ資源の有効な管理手法

産卵期と禁漁期間の設定

成熟と産卵に関する一連の調査において、島根県沿岸のサザエの産卵期は、概ね表層水温が 21°C 以上となる 6 月後半～10 月の間で、その盛期は 7～9 月であると推定され、現行の島根県の漁業調整規則で定められている禁漁期間（5、6 月）は、実際の産卵盛期と一致しないことを示した。また、産卵期が比較的長期に及ぶのは、同一個体において成熟と産卵が繰り返されることによるものであることや、サザエの配偶子放出を誘起する環境要因には数日間の急激な水温変化が関係していること、さらにはサザエの雄は殻高 45 mm 以上で放精が、雌は殻高 50 mm 以上で産卵が可能であることなども明らかとなった。

サザエの産卵を観察したことのある漁業者への聞き取りでは、サザエの産卵は数個から数十個体が岩盤や転石のより高い位置（瀬の上）に蝸集して行われるとされ、著者も潜水調査時において、サザエの産卵期には数個体が蝸集して分布する傾向にあることを確認している。この産卵に伴う蝸集行動により、産卵期には産卵期以外の時期よりもサザエが漁獲され易い状況にあると推察されることから、産卵期に産卵母貝を保護し、再生産を有効に機能させることは重要であると考えられる。また、漁業者への聞き取りでは、現行の禁漁期であ

る5,6月は大型海藻であるホンダワラ類が繁茂する時期であり,元々サザエを漁獲しにくい時期であるとされている。したがって,現行の禁漁期をより適切で効果的な時期へ変更する必要があると考えられる。本研究を行った1990年代は,サザエの生産量が1,000トン付近の高い値を維持していたこともあり,県の漁業調整規則の改正の議論には至らなかったものの,近年県に対して,漁獲量の低迷を危惧する漁業者から規則改正の要望があったことを契機に,県の水産行政担当課において規則の改正について検討することが決定した。これを受けて現在,県の水産技術センターにおいてサザエの産卵期の再調査を実施しているところである。

新たな禁漁期の設定にあたっては,少なくとも産卵盛期に設定するのが望ましいと考えられるが,特に7,8月はお盆や観光シーズンでサザエの需要が増加する時期でもあり,その変更は容易ではないと推察される。したがって,産卵期の保護は重要な資源管理の手段であることを県内の漁業者をはじめ関係する系統団体,行政機関内で十分に周知・認識した上で,今後の資源動向を注視しながら,関係者の合意のもとでより適切な時期に決定されるべきであると考えられる。

有節石灰藻群落における加入量の把握の可能性

島根県東部における一連の調査の結果,サザエの稚貝は浅場の有節石灰藻群落において連続的に採集できることが判明した。そして,サザエの着底は7月から10月上旬まで断続的に行われるが,殻径1mmまでの初期減耗が大きく,その減耗要因としてはアクキガイ科の肉食性の巻貝による食害が大きいことが明らかとなった。その後,本研究の後に行われた太平洋側の研究において,有節石灰藻群落にサザエ稚貝が選択的に着底すること,有節石灰藻上の付着珪藻や微小な海藻の幼芽がサザエ稚貝の重要な餌料源になっていること,サザエの初期生活史において有節石灰藻群落の方がテングサ群落より重要度が高いことなどの多くの知見が明らかとなり,有節石灰藻群落がサザエ稚貝の好適な

生息場として機能していることが示された（早川 2010）。さらに、アクキガイ科の肉食性の巻貝であるヒメヨウラクによる捕食は、サザエの初期生残に強く影響すること（Hayakawa et al. 2012）、有節石灰藻群落の存在が食害種からの捕食を低減させること（Hayakawa et al. 2013）なども判明し、サザエの加入量変動は、初期生息場である有節サンゴモ群落の生物的環境の変動による生残率の高低によって引き起こされる可能性が指摘されている。

島根県のサザエ漁場周辺においても有節石灰藻群落は広く分布し、稚貝の生息場として重要な役割を果たしていると考えられる。そして、発生翌年の夏季から秋季にかけて稚貝が成長と共に有節石灰藻群落外へ移動し、徐々に生息域を拡大することも判明した。有節石灰藻群落外へ移動後の稚貝は、転石の隙間や岩盤の穴や溝などの複雑な地形に棲場を変えて漁場内に広く分散することから、これを定量的に採集することは労力的に困難であると予想される。

したがって、稚貝の発生量をモニタリングする方法としては、稚貝が着底直後の大量減耗期を経過し、有節石灰藻群落外へ分布を広げる直前である発生翌年の春季において、浅場の有節石灰藻群落内で稚貝の採集を行う方法が最も効率的であると考えられる。この時の稚貝は肉眼で観察可能なサイズまで成長していることから、試料の分析や定量化も比較的容易であり、前述のモニタリング方法は、稚貝の発生量の多寡を最も早期に簡便に把握することができるという意味で、本研究の主な目的である加入量把握の有効な手段の一つになり得ると考えられる。今後は、本手法をより確実なものとするために、サザエの稚貝が安定的に集積する水域（稚貝場）の形成条件について明らかにする必要がある。また同時に、稚貝の初期生活場として重要な有節石灰藻群落を維持・保全していく視点も必要であると考えられる。

一方、近年の西日本沿岸域では、海水温の上昇傾向により、夏季における藻類の生育限界を超える水温の発生や冬季における植食性生物の活動の活発化などによる藻場の変遷や衰退が懸念され（原口ら 2005; 大塚 2006; Yamaguchi et al. 2010; 村瀬・野田 2018）、九州西岸域では藻場の衰退とアワビ資源の急

激との関連が指摘されている（Kiyomoto et al. 2010; 清本 2016; 清本ら 2018）。島根県においても近年、海水温の上昇による藻場の衰退が進行していると考えられ（吉田 2016）、水温上昇の主な原因とされる地球温暖化が今後も進行する場合は、それを餌料として利用しているサザエ、アワビをはじめとする磯根資源類への影響が危惧される場所である。

こうした背景のもと、現在、島根県ではサザエの資源管理の方策として禁漁期間や漁獲サイズ（蓋径 2.5 cm 以下の採捕禁止）による規制を主体に行っているが、今後サザエ資源がさらに減少し、漁獲圧が高くなる場合には、前述の禁漁期間の見直しは無論、乱獲防止のための漁具・漁法の制限や漁獲量の規制などのより厳しい資源管理体制も視野に入れて検討すべきであると考えられる。そのためには、サザエの資源構造を常に把握しておく必要があり、加入量から予測されるその後の資源量に応じた管理手法を選択することで、より有効で適切な資源管理が可能となると考えられる。今後は、資源のさらなる減少に備えて、加入量把握のための稚貝のモニタリング体制の確立について、さらに議論する必要があると考えられる。

イワガキ人工種苗の大量安定生産とシングルシード法

大型水槽を用いた浮遊幼生の大量生産技術

栽培センターで遊休施設となっている半屋外の大型水槽（100 kl）を用いて、日常的な底掃除、換水作業を行わない粗放的な生産方法によりイワガキの付着期幼生の生産を試みた結果、従来の室内における小型水槽を用いた生産方法よりも高い生残率が得られ、付着期幼生を数千万～1億のオーダーで生産することが可能であった。そして、基本的な飼育条件について検討した結果、D型幼生を1～2個体/mlの範囲で収容し、水槽換えを5～7日間隔で行うことにより、大量の付着期幼生を低コストで省力的に生産できることが判明し、付着期幼生の大量生産方法として適していることを明らかにした。

数十トン規模の大型水槽を用いて浮遊幼生を管理する生産方法は、本県の栽

培センターのイワガキ種苗生産の他に、長崎県佐世保市水産センターのマガキ、イワガキの生産でも採用され（佐々木 2021c）、浮遊幼生の大量安定生産に有効に機能している。また、大分県農林水産研究センターでは、本研究の飼育方法に準じて、30 kl 規模の水槽を用いたアサリの浮遊幼生の生産試験が行われ（山田 2016）、カキ類以外の二枚貝の浮遊幼生の大量生産技術として応用できる可能性が示されている。

二枚貝類の種苗生産における浮遊幼生の飼育において、全国的には純粋培養した餌料を用いて屋内で 0.5~1 kl の小型水槽を使用して集約的に管理する方法が一般的であるが、本研究において、屋外培養餌料を用いた 100 kl 規模の大型水槽による日常的な底掃除、換水作業を行わない粗放的な生産方法でも、十分に付着期幼生を安定的に大量に生産できる方法を開発した。今後は、この生産方法がイワガキをはじめとするその他の二枚貝の大量生産において導入され、低コスト大量種苗生産体制の確立に寄与することが期待される。

屋外培養餌料の利用による低コスト化

半屋外の大型水槽においてイワガキ浮遊幼生の生産を行う場合、原生動物の発生による餌料ロスが課題であったことから、餌料には屋外で粗放的に大量培養な種を用いて低コスト化を図った。その結果、屋外培養が可能なタヒチを初期餌料、ネオグラシーレを後期餌料とする餌料系列により、低コストで餌料を安定して供給できることが判明した。また、ネオグラシーレよりも栄養価やサイズなどの面で餌料としての価値が高く評価されているカルシトランスについて、従来から困難とされていた屋外培養について検討した結果、高水温期には増殖率や最高細胞密度でネオグラシーレにやや劣るものの、ネオグラシーレと同様に屋外でも安定的な培養が可能であることを明らかにした。そして、市販品を元種に用いることにより効率的な培養ができることを確認した。さらに、夏季の高温期の対策として、遮光幕を用いて培養水温を低下させる培養方法が有効であり、カルシトランスをはじめとする各餌料の安定培養に効果的である

ことを示した。

これらの餌料の屋外培養では、低塩分の培養条件でも問題なく増殖し（佐々木 2021b）、春季～秋季の長期間に渡ってほぼ安定した培養が可能であることから、他の二枚貝類の種苗生産においても浮遊幼生や稚貝の飼育に十分に利用できる可能性があると考えられる。二枚貝の種苗を大量生産する場合はいかに生産コストを抑えるかが重要であり、これらの屋外培養餌料を有効に用いることで大幅な生産コストの低減が期待できると考えられる。

シングルシードを用いた養殖方法の普及促進

島根県のイワガキ養殖は、これまで順調にその生産量を伸ばしてきたが、近年では生産の伸びがやや頭打ちで、海域によっては密植による成長の遅れなどの問題が出てきている状況にある。さらに、近年、他府県の公的な研究機関や民間業者においてイワガキの種苗生産技術（大橋 2011b; 新山 2016; 小菌ら 2017; 森ら 2019; 上野 2019）や養殖技術（田中・藤原 2005; 吉本 2019）の研究開発が進展し、イワガキ養殖が全国的に拡大傾向にあると考えられる。

今後、他府県との競争の中で生き残っていくためには、限られた海域においていかに養殖コストを下げるかが重要で、効率的で付加価値の高い養殖方法への転換が課題であり、シングルシードを用いた新たな養殖方式はその有効な対策の一つになり得ると考えられる。

国内のカキ類のシングルシードの人工種苗生産では、採苗器を用いないカルチレスにより行う方法が一般的であるが（加藤 2002; 鬼木 2013）、今回、イワガキの人工種苗生産において、PP 素材の採苗器を用いた方法でも問題無くシングルシードの生産ができることを確認した。特に、この方法は、栽培センターにおいては従来のホタテ殻と同じ工程で採苗作業ができることから、導入が容易で実用的な生産方法であるといえる。そして、従来の採苗方法と比較すると、ホタテ殻を用いた場合は、採苗器 1 枚から得られる生産品は最大で 20 個程度（藤原 1998）であるのに対し、PP 素材の採苗器を用いた場合は、稚貝

を早期に採苗器から剥離することで付着した稚貝を有効に利用することが可能となるため、効率的に多くの生産品が得られるメリットがあると考えられる。今回の剥離試験では、新型の採苗器 1 枚当たりの有効稚貝数は約 36 個とみなされたが、さらに早期に剥離を実施すればより多くの稚貝数を得ることも可能であり、養殖生産の現場においては、稚貝の最適な剥離サイズ・時期について検討し、より多くの種苗を効率的に生産できる最適な方法を把握することが課題である。

本研究で開発した採苗器を用いて生産したシングルシードは、パールネットを用いた方法により中間育成が可能であることを確認済みであり（佐々木ら 2018b）、各養殖場においてシングルシードを用いた養殖体系を積極的に導入することができれば、効率的で付加価値の高いイワガキの生産体制の構築が十分に期待できるものと考えられる。

最後に

本研究では、本県の沿岸漁業の新規就業者を確保する上で重要な鍵となっている磯根漁業や二枚貝養殖業において、それぞれ重要な位置づけにある岩礁性貝類のサザエとイワガキを対象に検討を行った。その結果、サザエでは資源管理に必要な産卵から稚貝の発生までの加入量変動に係わる初期生態の一端が明らかとなり、イワガキでは養殖の安定化に欠くことのできない人工種苗生産技術における諸課題の解決に一定の成果を得ることができた。そして、サザエでは適正な禁漁期間の設定や加入量のモニタリング体制の確立などの資源管理の推進の必要性について提言を行った。さらに、イワガキでは本研究で取組んだ大型水槽を用いた浮遊幼生の大量生産技術や屋外の餌料培養技術の導入が、二枚貝類の種苗の低コスト大量生産体制の確立に繋がることを指摘するとともに、島根県のイワガキ養殖においてシングルシードを用いた養殖方法の普及促進が重要であることを提言した。

今後もそれぞれの漁業において、サザエやイワガキをはじめとする資源管理

の積極的な推進, 種苗の安定供給体制の確立および効率的で付加価値の高い養殖方法への転換などの取組みを継続し, 持続的で安定的な生産体制を構築していく必要があると考えられる。本研究の成果が, 今後の島根県の沿岸漁業の発展に少しでも寄与することを願い, 稿を終える。

謝 辞

本研究を行うにあたり、終始懇切なるご指導とご鞭撻をいただき、ご校閲の労をとっていただいた島根大学生物資源科学部教授、山口啓子博士に心から感謝致します。国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所、浜口昌巳博士には、国際的な貝類研究者として専門的な見地からご校閲の労をとっていただくとともに本論文の取りまとめにあたって所属の垣根を超えて精力的にご支援をいただいた。衷心よりお礼申し上げます。海士町役場産地商課種苗センター、勢村 均博士（元島根県水産技術センター）には、職場の上司としてだけでなく、貝類研究者の先輩として終始多大なご支援と有益なご助言を賜り、この研究を推進する大きな力となった。また、同種苗センターの川越レアジョイ博士には英文の校閲をしていただいた。この場を借りて深謝の意を表します。

サザエの研究では、著者の大学時代の恩師という立場を越えて生態学的視点から終始貴重なご助言およびご指導を賜りました山川 紘博士（東京海洋大学）に衷心よりお礼申し上げます。研究の遂行にあたり、サザエ供試貝の採取や調査にご協力いただいた漁業協同組合 JF しまねの恵曇支所、島根支所、浦郷支所および益田支所の漁業関係者の皆様、特に浮遊幼生の採集にご尽力を賜った同島根支所多古地区漁業者の矢田昌男氏に謝意を表します。また、島根県漁業調査船「やそしま」の海事職員の方々、特に江川賢一氏（元島根県水産試験場）、木村三好氏（同左）、青山喜久雄氏（元島根県水産技術センター）および坂根孝幸氏（島根県水産技術センター）には、調査の安全な遂行や潜水作業のパートナーとしてご協力いただいた。同じく島根県水産技術センターの加藤栄子氏、谷掛さつ子氏には、標本の処理や測定などの作業を確実に実行していただき、大変お世話になった。皆様に謝意を表します。

イワガキの大型水槽を用いた大量生産の研究は、平成 26 年度独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター（攻めの農林水産業の実現に向けた革新的技術緊急展開事業）の「セミスマートな二

枚貝養殖技術の開発と応用」の一環として実施した。共同実施機関の関係者の方々に謝意を表します。岡内正典博士（元独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所）には、微細藻類の培養に関するご助言をいただいた。さらに、元島根県水産技術センター栽培漁業科の常盤 茂氏，近藤徹郎氏の両氏には、イワガキの飼育作業に大変ご助力いただいた。ここに記してお礼申し上げます。

カルシトランスの屋外における大量安定培養の研究では、マリンテック株式会社の五十島 昇氏には、市販品を用いた試験結果の公表についてご理解とご配慮をいただいた。島根県水産技術センター内水面浅海部浅海科の職員の方々には、餌料培養や測定業務などに終始ご協力とご支援をいただいた。特に、餌料の培養作業においてご助力いただいた形岡靖子氏，原生動物の分類に関して有益なご助言を賜った松本洋典氏には大変お世話になった。ここに記してお礼申し上げます。

イワガキのシングルシード用の採苗器の開発の研究では、研究を実施するにあたり、海士いわがき生産株式会社の鈴木和弘氏，大脇安則氏および中村化学工業の中村省三氏には、試験に供した採苗器をご提供いただくとともに試験全般にわたってご協力いただいた。また、幼生の飼育においてご助力いただいた公益社団法人島根県水産振興協会の職員の方々，特にイワガキ担当の小中大輔氏には、多大なご支援をいただいた。ここに記してお礼申し上げます。

論文作成に関して絶えざるご指導と暖かい励ましをいただいた安達二郎博士（元島根県水産試験場長）をはじめ、歴代の島根県水産試験場長および島根県水産技術センター所長の方々には、本研究の遂行にご配慮とご支援をいただいた。ここに記して厚くお礼申し上げます。

本論文は以上の方々をはじめとする関係者の皆様のご指導・ご協力がなければ完成することはできなかった。全ての方々のご氏名を挙げられなかったことをお許し願うとともに皆様に改めて心からお礼申し上げます。

最後に、研究の継続に理解を示し、側面から支えてくれた家族に心から感謝します。

引用文献

緒言

国立研究開発法人水産研究・教育機構（2018）平成28年度栽培漁業．海面養殖用種苗の生産・入手・放流実績（全国）～資料編～．90-91.

農林水産省大臣官房統計部生産流通消費統計課（1970～2017）海面漁業生産統計調査，長期累年．

<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500216&tstat=000001015174&cycle=0&tclass1=000001034726>

島根県農林水産部（2020）島根県農林水産基本計画．pp.135.

サザエ

阿井敏夫・野中 忠・佐々木 正（1964）サザエの産卵と発生－I．日本水産学会誌，**30**，828-830.

阿井敏夫（1965）サザエの産卵と発生－II．日本水産学会誌，**31**，105-110.

新井省吾（1988）磯根生物と住み場環境の安定性．海洋科学，**20**，355-362.

旭 隆・黒木洋明・照井方舟・鬼塚年弘・三宅陽一・早川 淳・河村知彦・滝口直之・浜口昌巳・堀井豊充（2013）相模湾東岸における大型アワビ類浮遊幼生の出現動態に影響する環境要因．水産海洋研究，**77**，10-20.

藤井昭彦（1991）各種海産動物によるサザエ稚貝の捕食．水産増殖，**39**，123-128.

藤井昭彦（1998）対馬沿岸におけるサザエの資源生物学的研究．長崎県水産試験場研究報告，**24**，72-115.

伏見 浩（1980）サザエの卓越年級群の生態と漁業．日本ベントス研究会連絡誌，**19/20**，59-70.

原口展子・村瀬 昇・水上 譲・野田幹雄・吉田吾郎・寺脇利信（2005）山口県沿岸のホンダワラ類の生育適温と上限温度．藻類，**53**，7-13.

早川 淳・山川 卓・青木一郎（2007）アワビ類およびサザエ資源の長期変動

- とその要因. 水産海洋研究, **71**, 96-105.
- 早川 淳 (2010) 相模湾長井におけるサザエの初期生態に関する研究. 東京大学博士論文, 238 pp.
- Hayakawa, J., T. Kawamura, S. Ohashi, N. Ohtsuchi, H. Kurogi and Y. Watanabe (2012). Predation by neogastroids on *Turbo cornutus* juveniles and other small gastropods inhabiting coralline algal turfs. Fisheries Science, **78**, 309-325.
- Hayakawa, J., T. Kawamura, H. Kurogi and Y. Watanabe (2013). Shelter effects of coralline algal turfs: protection for *Turbo cornutus* juveniles from predation by a predatory gastropod and wrasse. Fisheries Science, **79**, 15-20.
- 林 育夫 (1983) サザエ *Turbo (Batillus) cornutus* の稚貝の貝殻形態. VENUS, **42**, 212-216.
- 堀井豊充・藤井明彦・前迫信彦 (1997) 放流漁場内におけるサザエ種苗の移動および放流個体数と可能漁獲量との関係について. 水産増殖, **45**, 187-193.
- 堀井豊充 (1998) アワビ・サザエ素潜り漁業における資源管理に関する研究. 長崎県水産試験場研究報告, **24**, 117-156.
- 堀井豊充・黒木洋明・梶ヶ谷義一・滝口直之・浜口昌巳 (2006) 相模湾沿岸でみられたアワビ類浮遊幼生と付着初期稚貝の種組成の相違. 水産総合研究センター研究報告, 別冊 **5**, 85-89.
- 石田健次 (1989) 浅海増殖試験 (クロメ, サザエ). 島根県水産試験場事業報告昭和 62 年度, 146-160.
- 角田信孝・渡辺 直・由良野範義・陣之内征龍 (1986) サザエの成熟, 産卵期に関する研究. 山口県外海水産試験場研究報告, **21**, 1-8.
- 小宮朋之・橋本加奈子・柴 輝和・田中種雄 (2009) 千葉県外房海域におけるアワビ類の浮遊幼生, 着底稚貝の出現状況と成長過程. 千葉県水産総合研究センター研究報告, **4**, 21-34.
- 河村知彦・菊池省吾 (1992) エゾアワビ幼生の着底と変態に及ぼす付着珪藻の影響. 水産増殖, **40**, 403-409.

- Kiyomoto, S., M. Tagawa, Y. Nakamura, T. Horii, S. Watanabe, T. Tozawa, K. Yatsuya, T. Yoshimura and A. Tamaki (2010) Decrease of Abalone Resources with Disappearance of Macroalgal Beds Around the Ojika Islands, Nagasaki, Southwestern Japan, *J. Shellfish Research*, **32**, 51-58.
- 清本節夫 (2016) 高水温条件下の藻場と暖流系アワビ類の変遷. *豊かな海*, **38**, 53-56.
- 清本節夫・門田 立・種子田 雄・吉村 拓 (2018) 九州西岸域における藻場の変遷. *海洋と生物*, **236**, 210-219.
- McShane, P. E. and Smith, M. G. (1988) Measuring abundance of juvenile abalone *Haliotis rubra* leach (Gastropoda Haliotidae); comparison of a novel method with two other methods. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **39**, 331-336.
- 翠川忠康 (1989) サザエの放流初期減耗原因の研究. *和歌山県水産増殖試験場報告*, **20**, 29-37.
- 丸山克彦 (1994) 新潟県出雲崎海域におけるサザエの成長と再生産. *日本海ブロック試験研究集録*, **30**, 17-23.
- 松岡祐輔 (1975) サザエの種苗生産研究 (I), 産卵誘発と産卵期について. *京都府水産試験場事業報告*, 132-139.
- Miyake, Y., S. Kimura, T. Kawamura and H. Takami (2011) Population connectivity of Ezo abalone on the north Pacific coast of Japan in relation to the establishment of harvest refugia. *Marine Ecology Progress Series*, **440**, 137-150.
- Morse, A. N. C. and Morse, D. E. (1984) Recruitment and metamorphosis of *Haliotis larva* induced by molecules uniquely available at the surface of crustose red algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **75**, 191-215.
- 村瀬 昇・野田幹雄 (2018) 水温の変動が藻場構成種および植食性魚類に与える影響. *海洋と生物*, **236**, 226-232.

- 中家 浩・高見秀輝 (2012) エゾアワビの異なる繁殖形態による加入機構の比較. 日本水産学会誌, **78**, 1217-1220.
- 野中 忠・伏見 浩・中川征章・佐々木 正 (1971) 静岡県沿岸の磯根資源に関する研究－VIII. 静岡県水産試験場研究報告, **4**, 25-29.
- 岡部 久 (1995) 市場調査による放流サザエの検出と回収率の推定. 水産増殖, **43**, 283-288.
- 岡部三雄・桑原昭彦・西村元延・葭矢 護 (1991) サザエの増殖. 日本水産資源保護協会, 東京, 47.
- Onitsuka T., T. Kawamura, S. Ohashi, T. Horii and Y. Watanabe (2007). Synchronized spawning of abalone *Haliotis diversicolor* triggered by typhoon events in Sagami Bay, Japan. Marine Ecology Progress Series, **351**, 129–138.
- Onitsuka T., T. Kawamura, T. Horii, N. Takiguchi and Y. Watanabe (2008) Survival, growth and recruitment of abalone *Haliotis diversicolor* in Sagami Bay, Japan. Journal of Shellfish Research, **27**, 843–855.
- Onitsuka T. Kawamura and T. Horii (2010) Reproduction and Early Life Ecology of Abalone *Haliotis diversicolor* in Sagami Bay, Japan. Japan Agricultural Research Quarterly, **44**, 375-382.
- 大貝政治・若野 真・長井 敏 (1991) エゾアワビ幼生の着底と稚貝の成長におよぼす付着性微細藻類の影響. 水産増殖, **39**, 263-266.
- 大塚耕司 (2006) 室戸沿岸の磯焼け海域を対象とした海洋深層水放流影響の予測. 水産工学, **43**, 21-33.
- 小澤智生 (1984) 貝類食者の捕食活動と貝類の適応・進化. 海洋と生物, **30**, 2-8.
- Sasaki, R. and Shepherd, S. A. (1995) Larval dispersal and recruitment processes of *Haliotis discus hannai* in Kesenuma Bay, Japan. Australian Journal of Marine and Freshwater Research, **46**, 519-29.
- 佐々木 良 (1989) 宮城県におけるエゾアワビ浮遊幼生, 着底稚仔の出現態様

- とその漁獲量変動要因. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, **8**, 1-13.
- 佐々木 良 (1994) 宮城県北部海域におけるエゾアワビ浮遊幼生の加入初期過程. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, **9**, 1-17.
- 佐々木 良 (2000) アワビの再生産過程における諸問題. 日本水産学会誌, **66**, 315.
- 佐々木 良 (2001) エゾアワビの加入機構に関する生態学的研究. 宮城県水産研究報告, **1**, 1-86.
- 佐々木 正 (2003) 島根県東部沿岸サザエの着底過程と初期減耗. 島根県水産試験場研究報告, **11**, 15-22.
- 佐々木 正 (2003) 島根県東部沿岸サザエ 0~1 歳貝の初期成長と密度変化. 島根県水産試験場研究報告, **11**, 23-29.
- Shepherd, S.A. and Turner, J.A. (1985) Studies on southern Australian abalone of juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **93**, 285-298.
- 水産庁東北区水産研究所 (1994) 特定研究開発促進事業アワビの再生産機構の解明に関する研究中間報告書, pp. 49-61.
- 水産庁東北区水産研究所 (1996) 特定研究開発促進事業アワビの再生産機構の解明に関する研究総括報告書, pp. 91-96.
- 田中邦三・田中種雄・石田 修・大場俊雄 (1986) 千葉県南部沿岸のアワビ浮遊幼生並びに着底稚貝の分布. 日本水産学会誌, **52**, 1525-1532.
- Taniguchi, K., K. Kurata, T. Maruzoi and M. Suzuki, (1994) Dibromomethane, a chemical inducer on settlement and metamorphosis of the sea urchin larvae. *Fisheries Science*, **60**, 795-796.
- 富田恭司 (1968) 礼文島エゾアワビの精果の成熟. 北海適立水産試験場報告, **9**, 56-59.
- 富田恭司・磯貝辰彦 (1979) エゾアワビの浮遊幼生の垂直分布とその日周変動. 北水試月報, **36**, pp. 1-6.
- 宇野 寛 (1962) サザエの増殖に関する基礎研究. 東京水産大学特別研究報告,

6, 1-76.

内場澄夫・二島賢二・山本千裕・岸本源次（1982）サザエの生息生態に関する研究I. 福岡県福岡水産試験場事業報告, 157-165.

山田 正・勢村 均（1992）サザエの産卵期, 漁獲物組成調査. 島根県水産試験場事業報告平成2年度, 123-128.

山田 正・勢村 均（1993）島根県沿岸のサザエの成熟と産卵期. 栽培漁業技術開発研究, 22, 5-12.

山田 正・勢村 均（1995）サザエの産卵期, 稚貝の出現, 標識放流. 島根県水産試験場事業報告平成5年度, 120-123.

山田 正（1996a）サザエの成熟, 産卵と稚貝の発生. 日本海ブロック試験研究集録, 33, 83-89.

山田 正（1996b）サザエ浮遊幼生採集用人工コレクター. 水産増殖, 44, 255-259.

山田 正・曾田一志（1997）資源管理型漁業（地域重要資源調査）. 島根県水産試験場事業報告平成7年度, 98-104.

山田 正（1998）島根県東部沿岸のサザエ浮遊幼生の出現期と分布特性. 水産増殖, 46, 1-6.

山本哲生・山川 紘（1985）サザエの生殖巣成熟に関する研究. 日本水産学会誌, 51, 357-364.

Yamaguchi, A., K. Furumitsu, N. Yagishita and G. Kume (2010) Biology of herbivorous fish in the coastal areas of western Japan. In Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea (Eds., A. Ishimatsu and H.J. Lie) Terrapub and Nagasaki university 181-190.

山崎明人・石渡直典（1987）サザエの生態学的研究II. 稚貝の生息場所. うみ, 25, 184-189.

山崎明人・石渡直典（1988）サザエの生態学的研究III. 初期成長と密度変化. うみ, 26, 12-18.

吉田太輔（2016）島根県沿岸における藻場の状況と磯焼けに関する聞き取り調

- 査．島根県水産技術センター研究報告，**9**，37-42.
- 葭矢 護・和田洋蔵・桑原昭彦・浜中雄一（1986）放流サザエの成長と生残．日本水産学会誌，**52**，14-47.
- 葭矢 護・桑原昭彦・浜中雄一（1987）サザエ稚貝の成長と生残に及ぼす生息環境条件の影響．日本水産学会誌，**53**，239-247.
- 葭矢 護・桑原昭彦（1988a）サザエの生態研究とその応用③－成長．海洋と生物，**54**，52-56.
- 葭矢 護・桑原昭彦（1988b）サザエの生態研究とその応用⑤－成熟と産卵．海洋と生物，**56**，214-217.
- 葭矢 護（1990）サザエ増殖のための資源・漁場管理方法の開発．京都府立海洋センター研究論文，43 pp.

イワガキ

- Banerjee S., W.E. Hew, H. Khatoon, M. Shariff and F.M. Yusoff (2011) Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology*, **10**, 1375-1383.
- 千葉健治・大島泰雄（1957）アサリを主とする海産二枚貝類の濾水・摂餌に及ぼす濁りの影響．日本水産学会誌，**23**，348-353.
- 千葉県水産研究センター（2004）アサリ種苗生産の現場基礎技術－富津研究所の経験－．千葉県水産研究センター業績IV，pp. 15-17.
- 千原光雄・原 慶明（1988）餌料藻類の分類と培養．さいばい，46，35-51.
- 千原光雄・村野正昭編（1997）日本産海洋プランクトン検索図説．東海大学出版会，東京，1574 pp.
- 藤原正夢（1998）イワガキ養殖における開始時最適付着数と最適養殖水深について．京都府立海洋センター研究報告，**20**，13-19.
- 藤本敏昭・小林 信・鶴島治市（1988）バカガイ *Mactra chinensis philippi* の種

- 苗生産企業化試験－I. 福岡県豊前水産試験場研究報告, 95-111.
- Helm, M. M. and I. Laing (1987) Preliminary observations on the nutritional values of '*Tahiti Isochrysis*', to bivalve larvae. *Aquaculture*, **62**, 281-288.
- 開内 洋 (2016) 中海におけるサルボウガイの増養殖技術の開発. 島根県水産技術センター年報平成 26 年度, 88.
- <https://www.pref.shimane.lg.jp/industry/suisan/shinkou/suigi/publish/jigyouhou/2014/>.
- 開内 洋・佐々木 正 (2017) 中海におけるサルボウガイの増養殖技術の開発. 島根県水産技術センター年報平成 27 年度, 75-76.
- <https://www.pref.shimane.lg.jp/industry/suisan/shinkou/suigi/publish/jigyouhou/2015/>.
- 開内 洋・佐々木 正 (2018) 中海におけるサルボウガイの増養殖技術の開発. 島根県水産技術センター年報平成 28 年度, 74-75.
- <https://www.pref.shimane.lg.jp/industry/suisan/shinkou/suigi/publish/jigyouhou/2016/>.
- 市村高央・金谷宗輝・高野博幸・墨谷裕司・畠山重篤 (2008) 貝類養殖用資材「カイデライト」の開発. 太平洋セメント研究報告, **154**, 49-55.
- 石原成嗣・佐々木 正 (2019) 中海におけるサルボウガイの増養殖技術の開発. 島根県水産技術センター年報平成 29 年度, 72-73.
- <https://www.pref.shimane.lg.jp/industry/suisan/shinkou/suigi/publish/jigyouhou/2017/>.
- 石原成嗣・常盤 茂・土川陽子・柳谷浩一・富室孝仁・小中大輔 (2012) イワガキの種苗生産 (栽培漁業種苗生産事業). 島根県水産技術センター年報平成 22 年度, 100.
- 石原成嗣・常盤 茂 (2013) イワガキ種苗生産における餌料藻類の検討. 島根県水産技術センター研究報告, **5**, 7-11.
- 板倉 茂 (2000) 沿岸性浮遊珪藻類の休眠期細胞に関する生理生態学的研究.

- 瀬戸内海区水産研究所研究報告, **2**, 67-130.
- 兼松正衛・前田昌調・与世田兼三・米田博貴 (1989) *Nannochloropsis* を摂食する鞭毛虫の駆除法について. 日本水産学会誌, **55**, 1349-1352.
- 兼松正衛・高橋 誠・山崎哲男・桑田 博(2008)市販の珪藻 *Chaetoceros gracilis* を元株としたバッチ式培養における増殖率の季節変化. 栽培漁業センター技報, **7**, 33-36.
- 加藤元一 (2002) 厚岸カキの人工種苗生産技術とシステム. 養殖, **39**, 86-88.
- 加藤元一・岡内正典・中神秀一 (2004) 珪藻類キートセロス属 2 種の濃縮技術の開発と濃縮細胞の再生. 水産増殖, **52**, 231-237.
- 岸岡正伸・寺尾百合正 (1994) 屋外 100m³ 水槽を用いたアカガイ *Scapharca broughtonii* 種苗の大量生産. 水産増殖, **42**, 529-533.
- 小菌勇貴・松元則男・今吉雄二・小湊幸彦 (2017) 有用介類種苗生産試験 (イワガキ種苗生産技術開発). 平成 29 年度鹿児島県水産技術センター事業報告書, 271-282.
- http://kagoshima.suigi.jp/jigyohoukoku/jigyo_h29.html.
- 栗田守人・近藤徹郎 (2011) マダイ種苗生産におけるほっとけ飼育技術の有効性の検討. 島根県水産技術センター研究報告, **3**, 33-40.
- Lai J., F.M. Yusoff and M. Shariff (2012) Large-scale culture of a tropical marine microalga *Chaetoceros calcitrans* Paulsen Takano 1968 at different temperatures using annular photobioreactors. Pakistan Journal of Biological Sciences, **15**, 635-640.
- 松浦裕幸・森 勝義 (2005) 水産増殖システム **3**. 貝類・甲殻類・ウニ類・藻類 (森 勝義編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 269-278.
- 宮田 勉 (2019) クローズアップシングルシードマガキ養殖の実力, 日本におけるシングルシードマガキ養殖の発展. 月刊養殖ビジネス, **56**, 18-21.
- 森 拓也・西山雄峰・村上 淳・林 省吾 (2019) 愛媛県農林水産研究所水産研究センター平成 29 年度事業報告書, 185.

<https://www.pref.ehime.jp/h35115/report2017/report2017.html#zouyousyoku>.

森脇和也・常盤 茂 (2013) イワガキ種苗生産における換水及び底掃除作業軽減の検討. 島根県水産技術センター研究報告, **5**, 25-29.

中本 崇・松井繁明・秋本恒基・濱田弘之 (2010) アコヤガイ幼生の付着基質に関する基礎研究. 福岡県水産技術センター研究報告, **20**, 73-76.

根本昌弘・磯上孝太郎 (1996) *Chaetoceros calcityans* および *Pavlova lutheri* の安定・大量培養 (福島県). 平成3年度～7年度特定研究開発促進事業総括報告書 (微小藻類の大量培養技術開発研究) 福島県・茨木県・千葉県・熊本県・沖縄県, 福島 1-福島 72.

新山 洋 (2016) 魚介類の飼育排水を利用したイワガキの種苗生産について. 豊かな海, **38**, 47-48.

日清マリンテック (株)・日清オイリオ (株)・ヤマハ発動機 (株) (2003) 珪藻類の高密度・大量培養技術と種苗生産への可能性. 養殖, **2**, 82-85.

岡内正典・周 文堅・郁 婉虹・福所邦彦・金沢昭夫 (1990) 異なる増殖相におけるナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* の栄養価の相違. 日本水産学会誌, **56**, 1293-1298.

岡内正典 (2002) 海産魚介類の初期餌料用微細藻類の大量培養技術の開発. 日本水産学会誌, **68**, 625-628.

岡内正典 (2012) 水産餌料生物用. 藻類ハンドブック (渡邊 信編), エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 679-680.

岡内正典 (2014) 餌料用微細藻類の高増殖株作出とその培養法および利用. 日本水産学会誌, **80**, 323-326.

押尾明夫・關 哲夫・谷口和也 (1995) 二枚貝の餌料となる微小藻類の培養ハンドブック. 水産庁東北水研藻類増殖研資料, pp. 3-6.

鬼木 浩 (2013) 養殖技術講座－二枚貝－第2回マガキシングルシードの養殖と経営. 月刊養殖ビジネス, **50**, 21-23.

鬼木 浩 (2015) ブランドカキの売り方戦略. 月刊養殖ビジネス, **52**, 3-18.

- 大橋智志 (2011a) マガキシングルシードの改良について. 長崎県漁業協同組合連合会漁連だより, 199.
- 大橋智志 (2011b) 有用二枚貝 4 種の浮遊幼生における消化器官の形成に関する組織学的検討および種苗生産への知見の応用. 長崎県水産試験場研究報告別刷, 37, 16-20.
- 佐々木 正・常盤 茂 (2014) 半屋外 100 kl 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の生産の試み. 水産増殖, 62, 433-44.
- 佐々木 正・近藤徹郎・常盤 茂 (2016) 半屋外 100 kl 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の大量生産における飼育条件の検討. 水産増殖, 64, 295-307.
- 佐々木 正・近藤徹郎・常盤 茂・小中大輔・鈴木和弘・大脇安則・木村 克 (2018a) 樹脂製軟質採苗器を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* シングルシードの人工種苗生産試験. 水産増殖, 66, 71-84.
- 佐々木 正・佐藤勇介・近藤徹郎・常盤 茂 (2018b) 隠岐諸島におけるイワガキシングルシードの海面中間育成試験. 島根県水産技術センター研究報告, 11, 21-29.
- 佐々木 正 (2021a) *Chaetoceros calcitrans* の屋外における大量安定培養の試み. 水産増殖, 69, 55-69.
- 佐々木 正 (2021b) 餌料用微細藻類 3 種 (*Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros neogracile*, *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate)) の屋外培養における低塩分濃度の影響. 島根県水産技術センター研究報告, 13, 9-23.
- 佐々木 正 (2021c) 大型水槽を活用したイワガキ付着期幼生の低コスト・大量生産の試み. 豊かな海, 53, 32-37.
- 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.
- 勢村 均 (2015) 島根県沿岸における二枚貝の増養殖に関する研究. 島根県水産技術センター研究報告, 7, 88 pp.

- 島根県水産技術センター（2013）軟質素材を用いたイワガキの採苗試験．トビ
ウオ通信号外とびくす， **66**， 1-3.
https://www.pref.shimane.lg.jp/industry/suisan/shinkou/umi_sakana/tobics/tobics51-70.html
- 島 康洋（2006）マダイ・トラフグの「ほっとけ飼育」－手間をかけずに仔稚
魚を飼おう－．平成 18 年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集， pp. 1-11.
- 末友靖隆編（2013）日本の海産プランクトン図解（第 2 版）．共立出版，東京，
268 pp.
- 鈴木秀和（2012）水産餌料生物用藻類ハンドブック（渡邊 信編），エヌ・ティ
ー・エス，東京， pp. 59-60.
- 高橋庸一（1998）ヒラメの種苗生産マニュアル－「ほっとけ飼育」による飼育
方法．栽培漁業技術シリーズ **4**， pp. 1-57.
- 高野秀昭（1988）種苗生産用餌料としての珪藻の分類と培養．昭和 63 年度栽
培漁業技術研修事業基礎理論コース餌料生物シリーズ， **5**， 1-12.
- 田中雅幸・藤原正夢（2005）耳吊り方式によるイワガキの養殖手法．京都府立
海洋センター研究報告， **27**， 31-34.
- 鳥羽光晴・深山義文（1993）イソクリシス・タヒチ株の大量培養－I．好適培
養条件．栽培漁業技術開発研究， **21**， 45-53.
- 上野淳一（2019）クローズアップシングルシードマガキ養殖の実力．うみの(株)
におけるカキ類の人工種苗生産．月刊養殖ビジネス， **56**， 22-24.
- 綿貫 啓・廣瀬紀一・門谷 茂（2004）藻類増殖用水溶性ガラスを用いた珪藻
Chaetoceros gracilis の簡易な半連続培養システムの開発．水産増殖， **52**，
11-16.
- 山田英俊（2016）養殖・種苗生産に関する技術指導－1 アサリ増養殖推進事業
②．大分県農林水産研究指導センター水産研究部事業報告， 248-249.
<https://www.pref.oita.jp/soshiki/15090/jigyhouhoukoku.html>.
- 山田徹生・兼松正衛（2017）冬季における浮遊珪藻 *Chaetoceros neogracile* 市

- 販濃縮製品を元株とした低コスト大量培養法. 水産技術, **9**, 1-8.
- 山本慧史・岡内正典・吉松隆夫 (2015) クロロフィル a 量を用いた吸光度法による 微細藻類 *Rhodomonas* sp. 細胞密度の推定. 水産増殖, **63**, 353-355.
- Vasquez, H. E., K. Hashimoto, A. Yoshida, K. Hara, C. C. Imai, H. Kitamura and C. G. Satuito (2013) A glycoprotein in shells of conspecifics induces larval settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Plos One **8**, 1-12.
- 吉本剛宏 (2019) クローズアップシングルシードマガキ養殖の実力, シングルシードによる日本式バスケット養殖の普及. 月刊養殖ビジネス, **56**, 9-13.
- 吉田太輔・常盤 茂 (2011) 隠岐諸島・島前海域のイワガキ種苗生産における付着稚貝の沖出しサイズの検証. 島根県水産技術センター研究報告, **3**, 29-32.

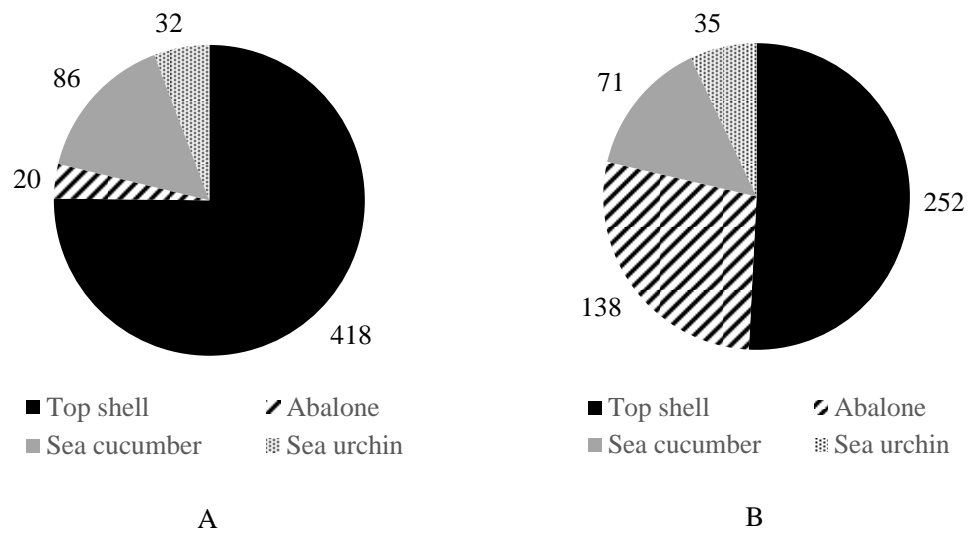


Fig. 1. Annual fisheries production (A, in tons) and value (B, in million yen) from 2015 to 2017 of the four main species (Japanese top shell, abalone, sea cucumber, and sea urchin) inhabiting the rocky shores of Shimane Prefecture.

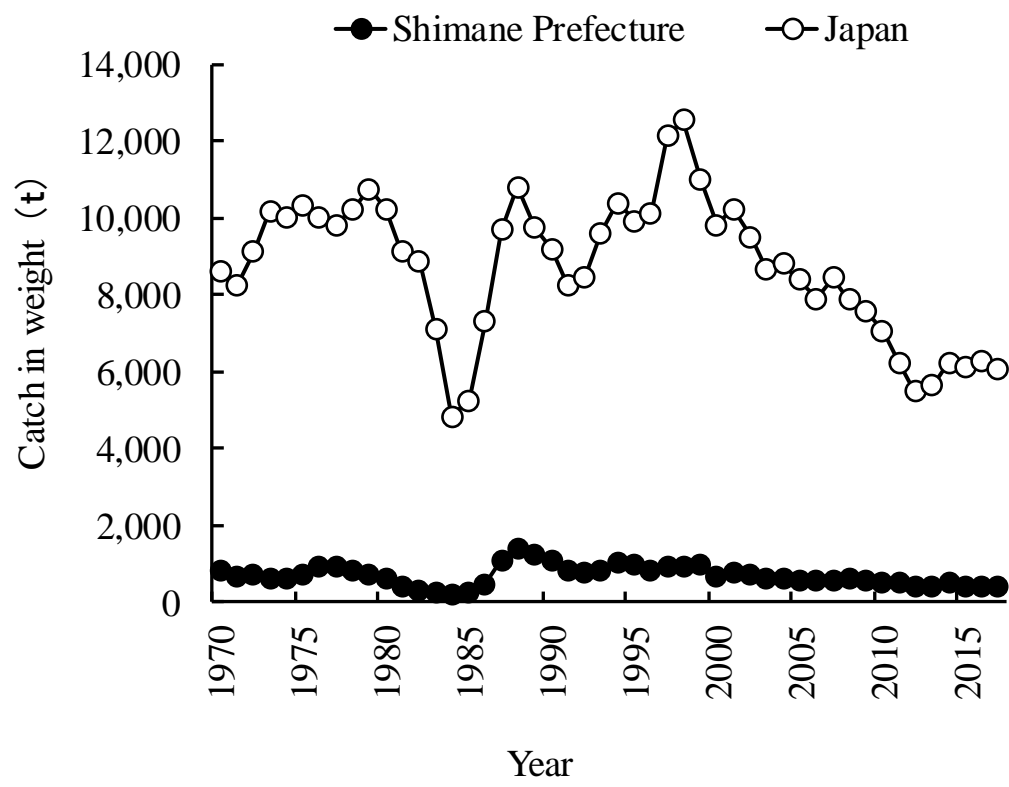


Fig. 2. Changes in the annual fisheries production (in tons) of the Japanese top shell in Japan and in Shimane Prefecture.

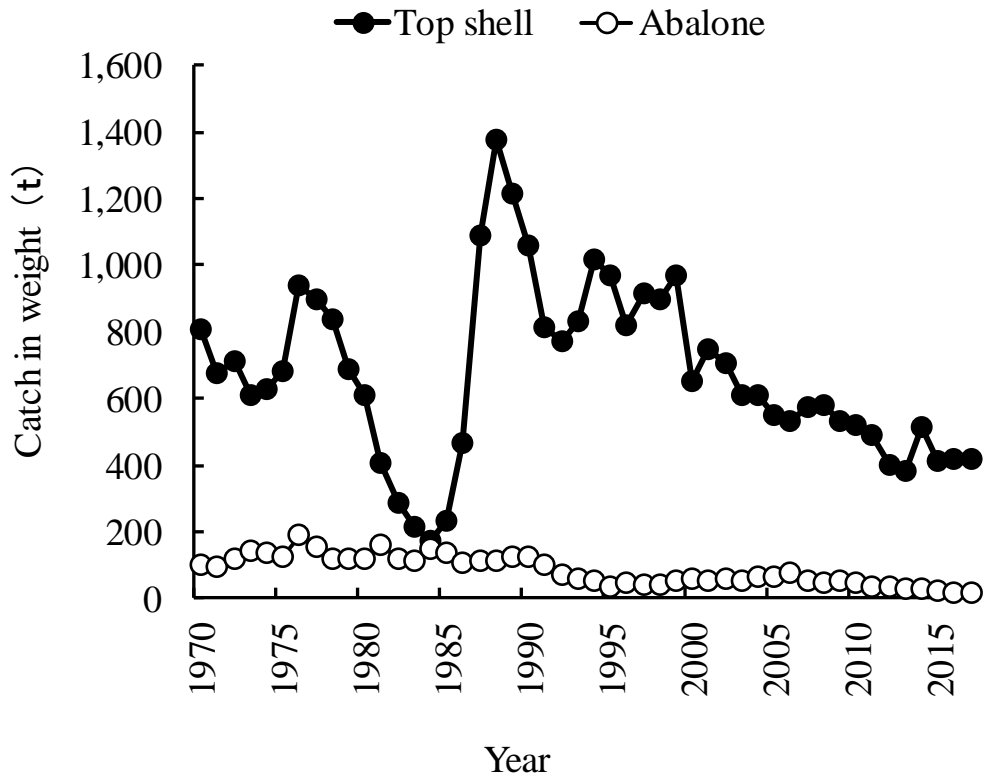


Fig. 3. Changes in the annual fisheries production (in tons) of the Japanese top shell and abalone in Shimane Prefecture.

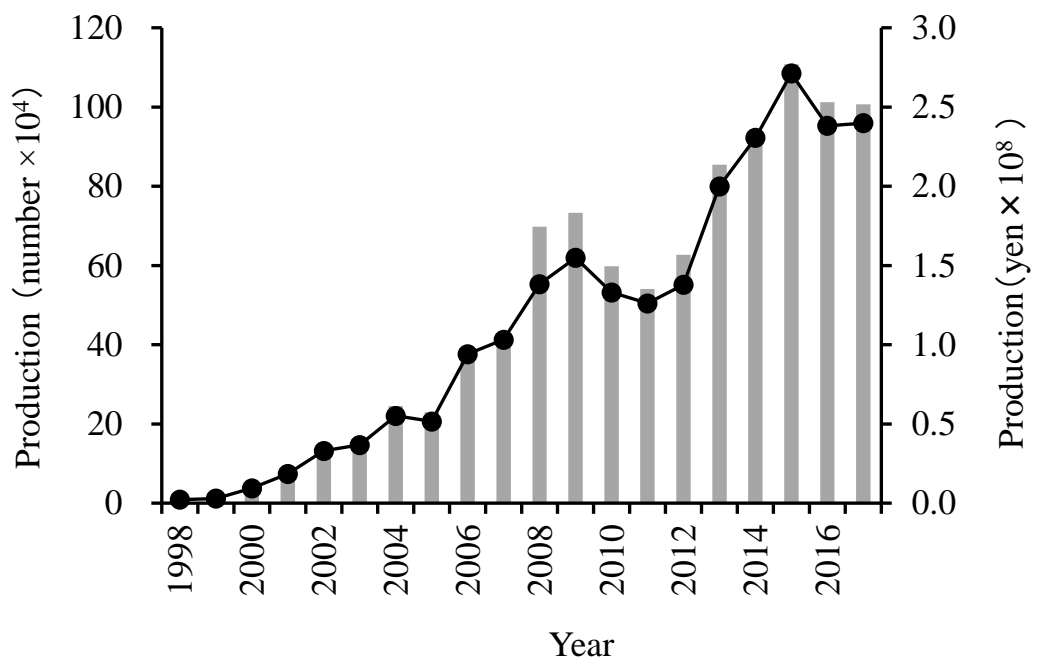


Fig. 4. Changes in the annual aquaculture production (■, in number of individuals) and value (●, in hundred million yen) of Iwagaki oysters in Shimane Prefecture.

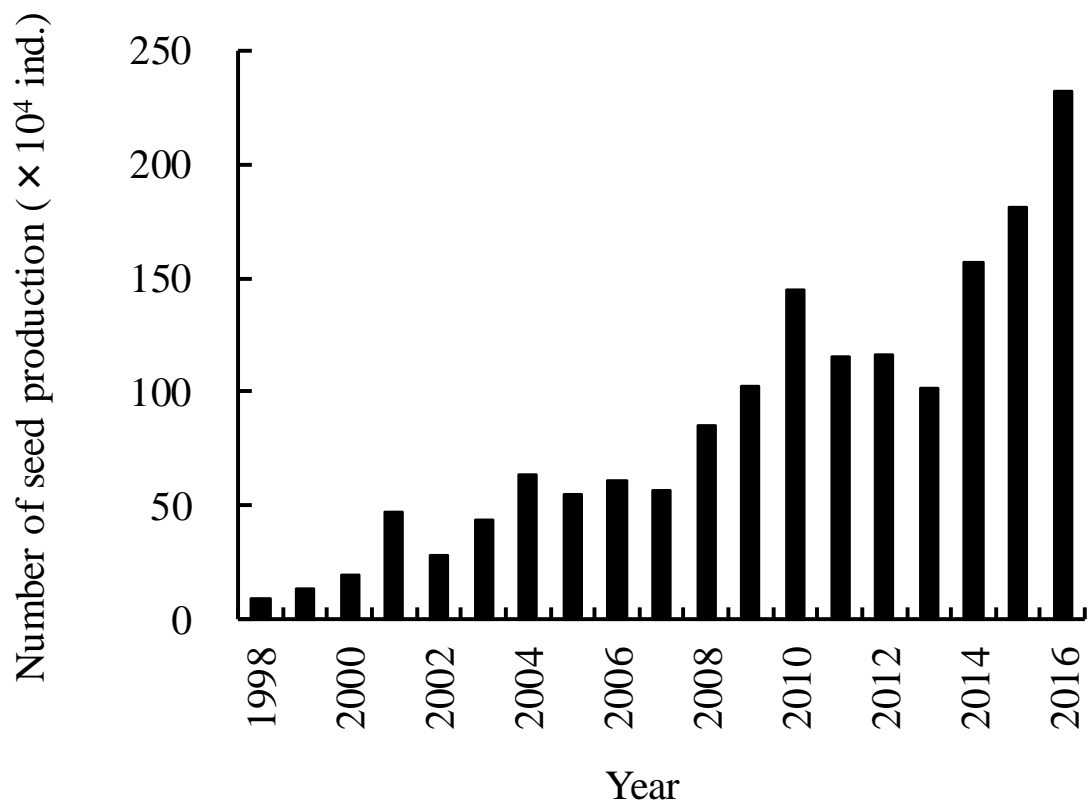


Fig. 5. Changes in the annual artificial seed production (in number of individuals) of Iwagaki oysters at the Shimane Prefectural Sea Farming Center.

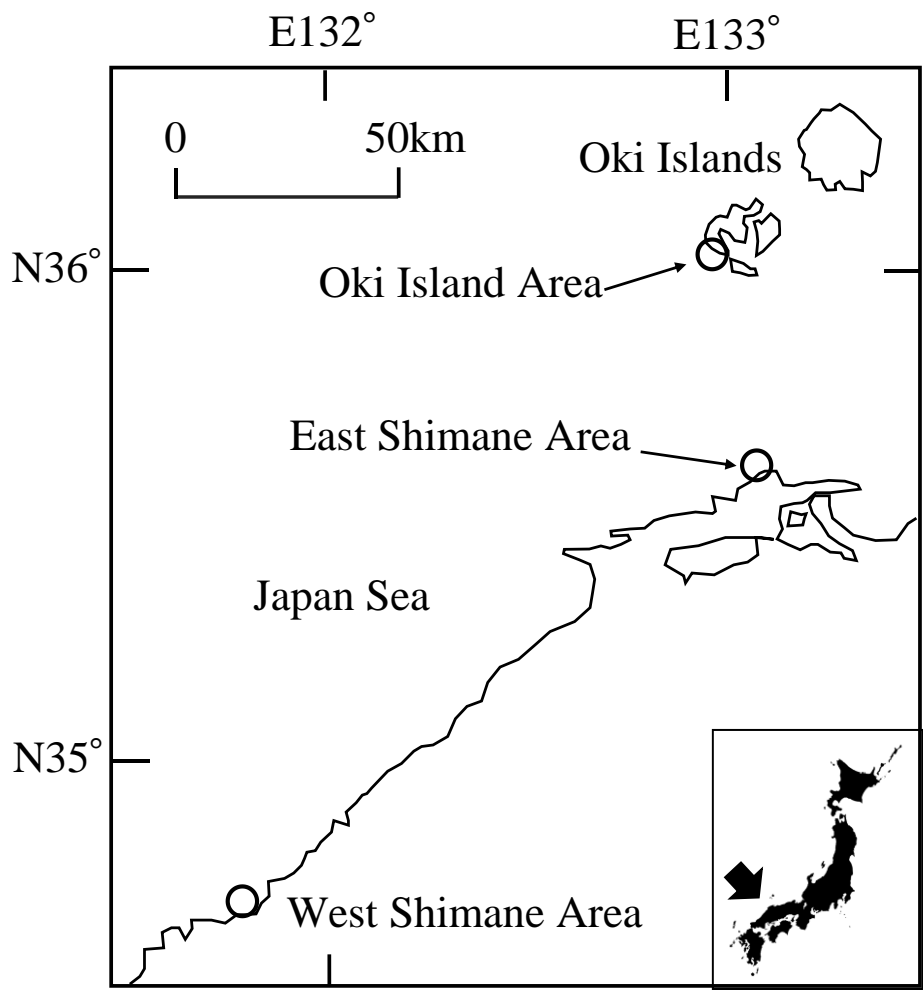


Fig. 6. Location of sampling areas along and off the coast of Shimane Prefecture.

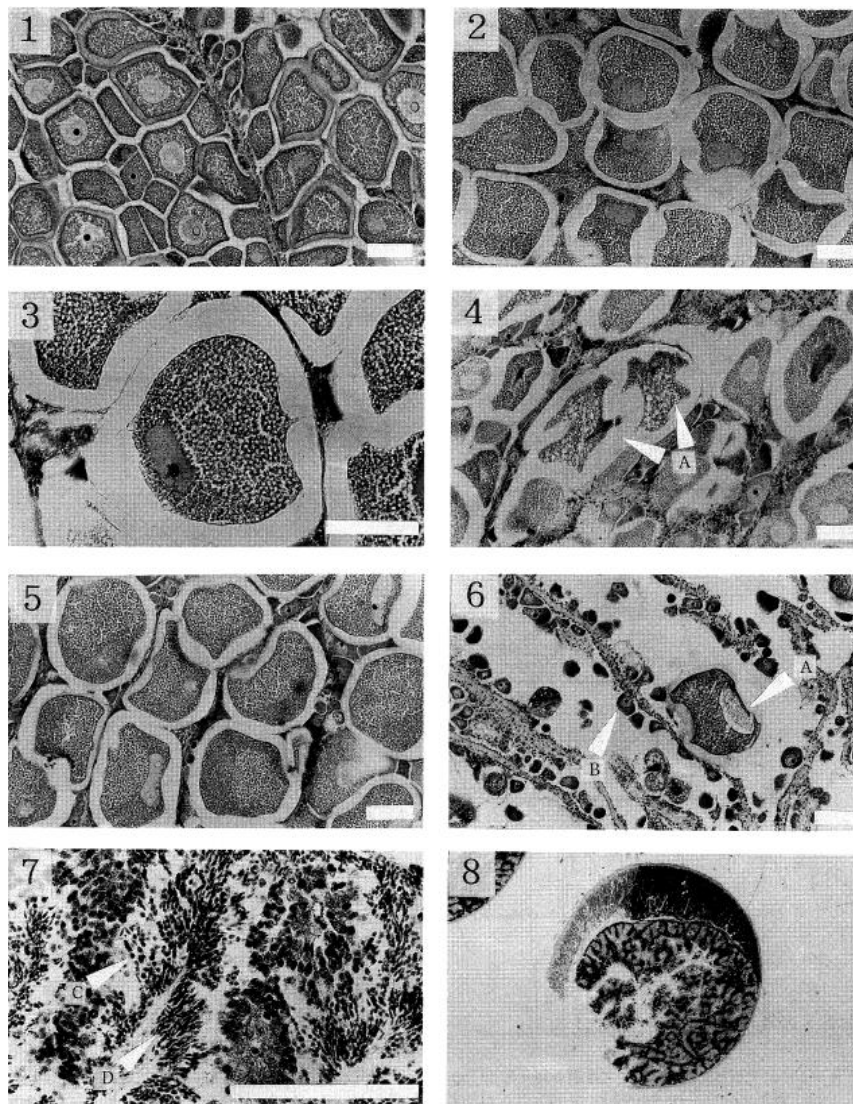


Fig. 7. Photomicrographs of different histological sections from gonads of the Japanese top shell.

1. Ovary in Phase IV collected in April. Bar = 100 μm ($\times 100$)
2. A mature ovary in Phase V collected in June. Bar = 100 μm ($\times 100$)
3. A mature ovary in Phase V collected in June. Bar = 100 μm ($\times 200$)
4. A spent ovary in Phase IV collected in August. Arrow (A) indicates the spent ovary. Bar = 100 μm ($\times 100$)
5. A mature ovary in Phase V collected in September. Bar = 100 μm ($\times 100$)
6. A spent ovary in Phase III collected in October. Arrow (A) indicates the spent ovary. Arrow (B) indicates ovary in Phase III. Bar = 100 μm ($\times 100$)
7. Testis collected in April. Arrow (C) indicates a spermatid. Arrow (D) indicates a sperm. Bar = 100 μm ($\times 400$)
8. A section of the male gonad collected in August. ($\times 40$)

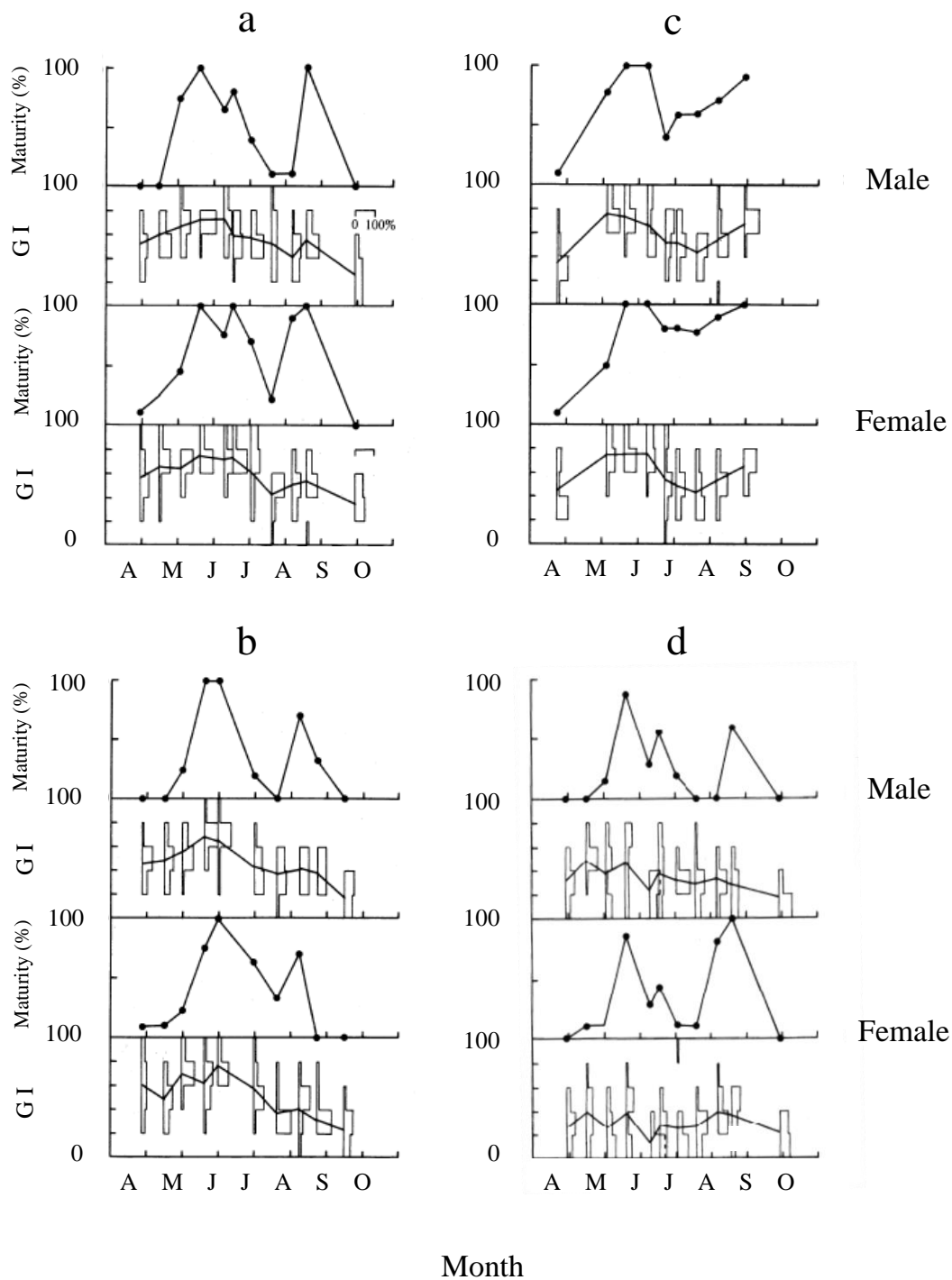


Fig. 8. Seasonal changes in the sexual maturity rate (solid circles) and gonad index (GI) of the Japanese top shells in 1990.

a. East Shimane area (shell height ≥ 60 mm); b. Oki Islands area (shell height ≥ 60 mm); c. West Shimane area (shell height ≥ 60 mm); d. East Shimane area (shell height < 60 mm).

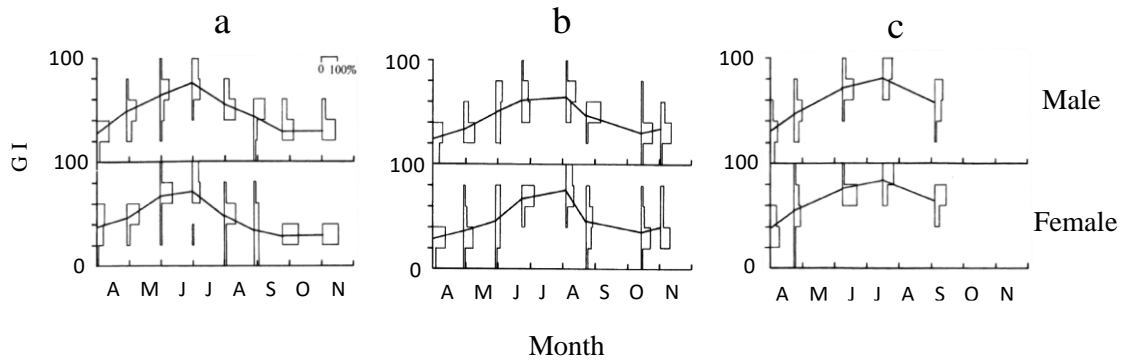


Fig. 9. Seasonal changes in the gonad index (GI) of the Japanese top shells in 1991.
 a. East Shimane area (shell height ≥ 60 mm); b. Oki Islands area (shell height ≥ 60 mm); c.
 West Shimane area (shell height ≥ 60 mm).

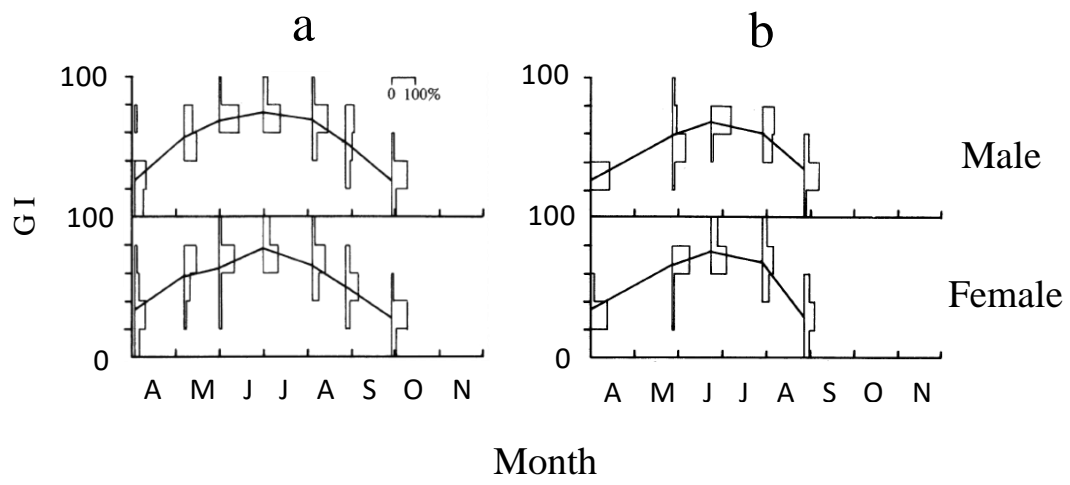


Fig. 10. Seasonal changes in the gonad index of the Japanese top shells in 1992. a. East Shimane area (shell height ≥ 60 mm); b. Oki Islands area (shell height ≥ 60 mm).

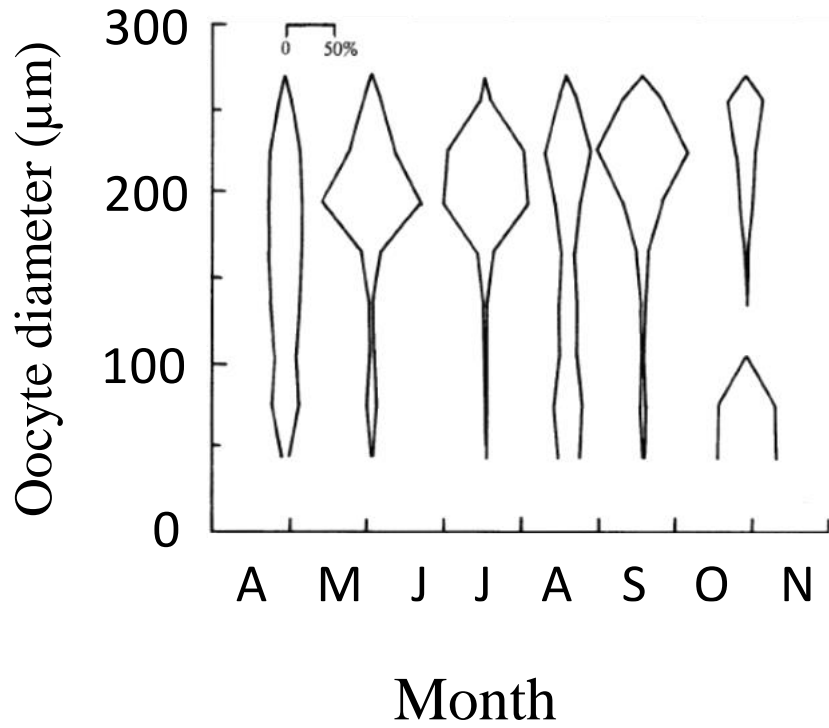


Fig. 11. Frequency distributions of the oocyte diameter of the Japanese top shells in East Shimane area in 1990.

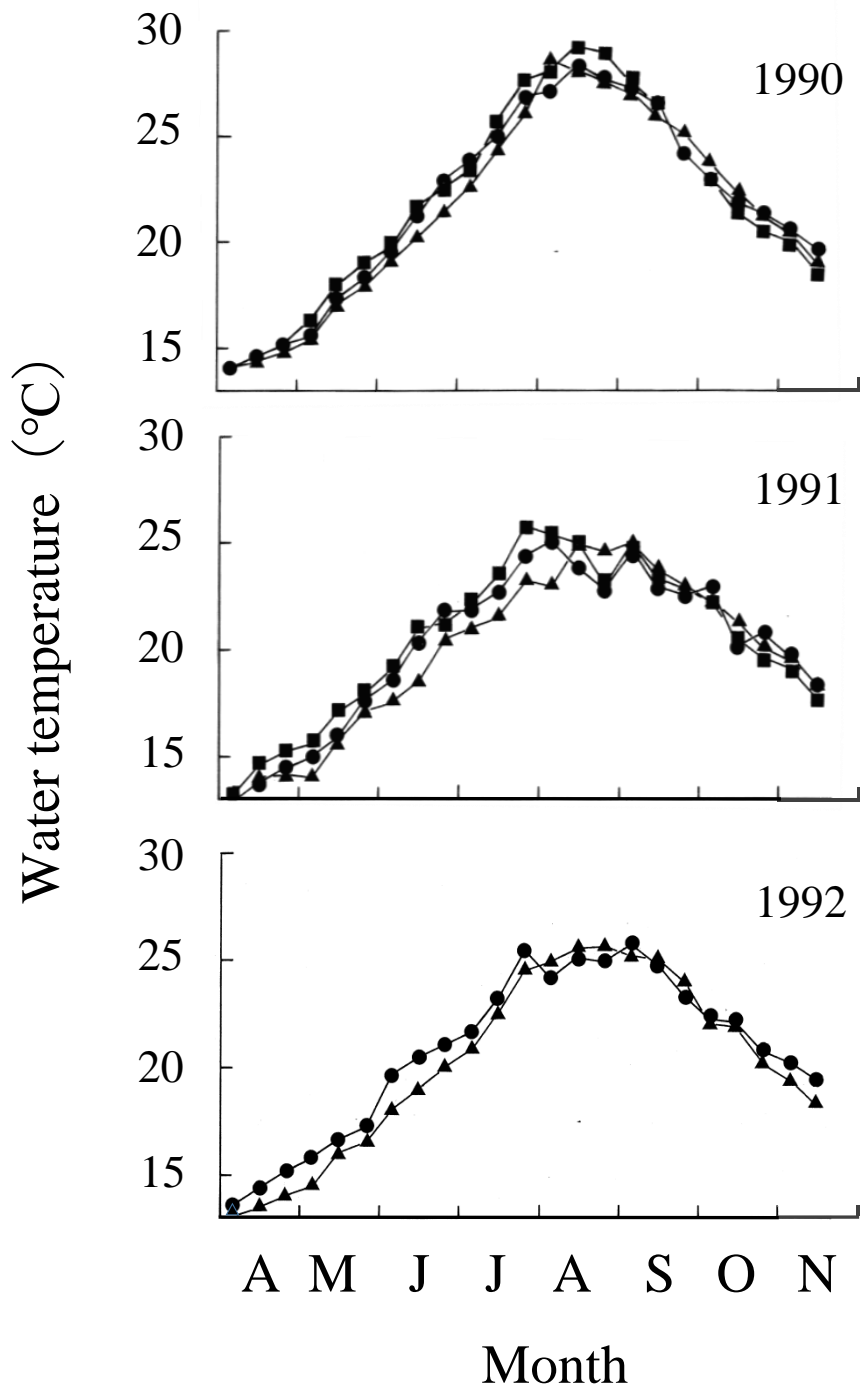


Fig. 12. Seasonal changes in the surface water temperature of each research area from 1990 to 1992. ● = East Shimane; ▲ = Oki Islands; ■ = West Shimane.

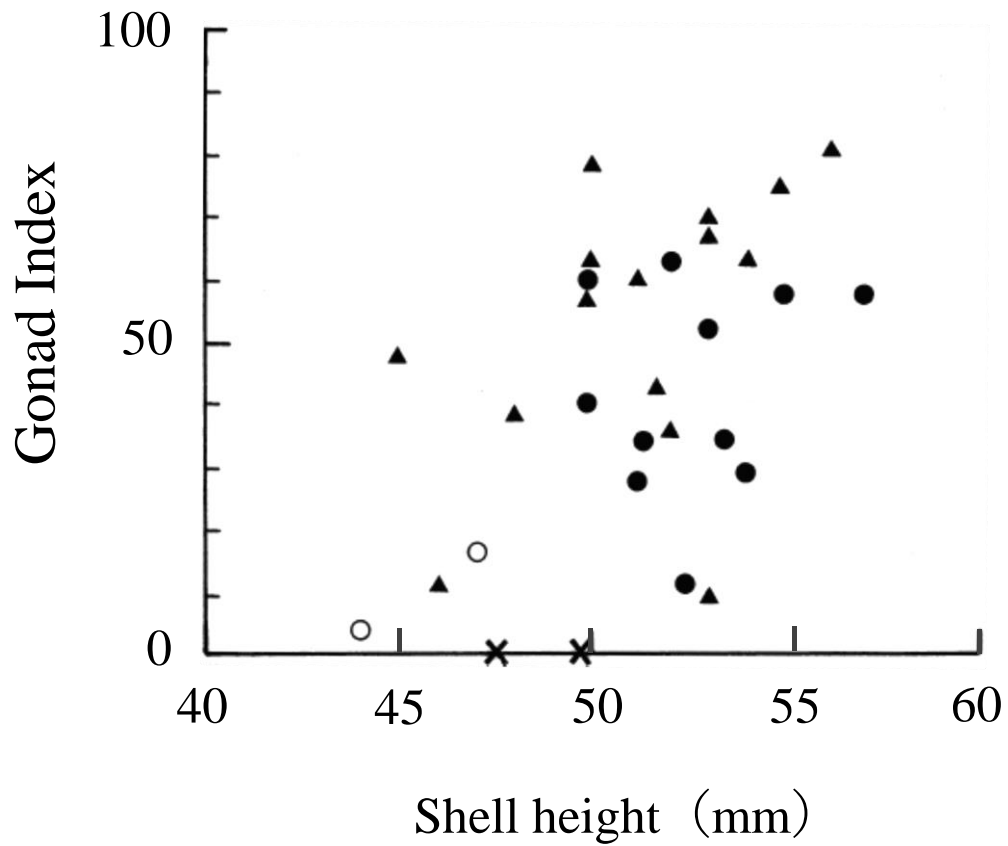


Fig. 13. Relationship between gonad index (GI) and shell height of the Japanese top shells sampled in East Shimane area (shell height ≤ 60 mm) in 1990.

● = Mature female in Phase V; ○ = Immature female in Phase I–III; ▲ = Mature male with sperm; × = Indeterminable.

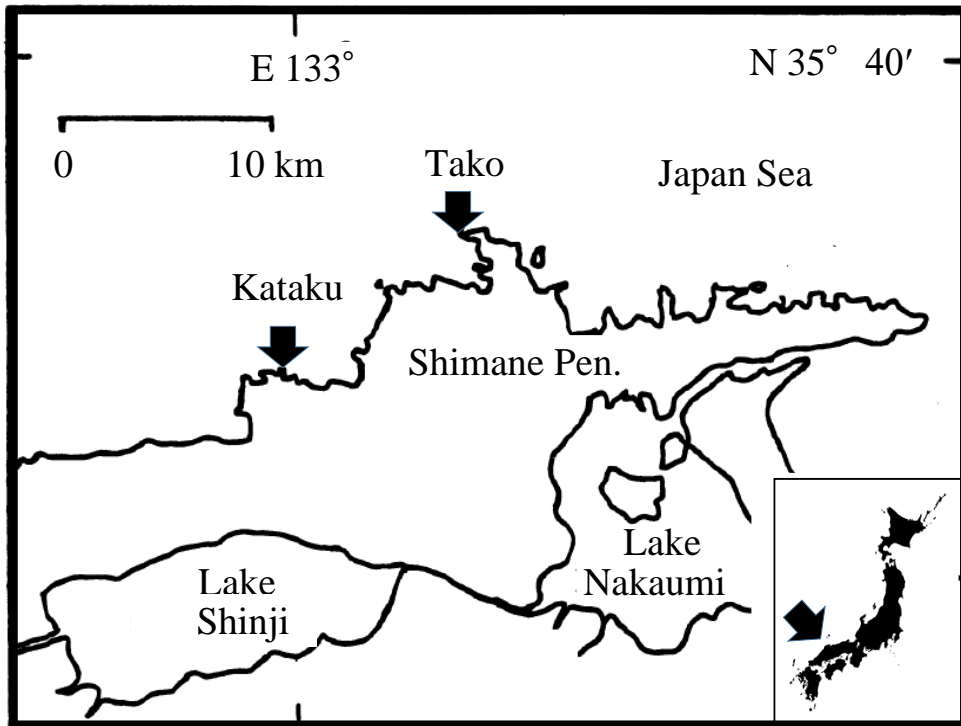


Fig. 14. Location of the sampling sites

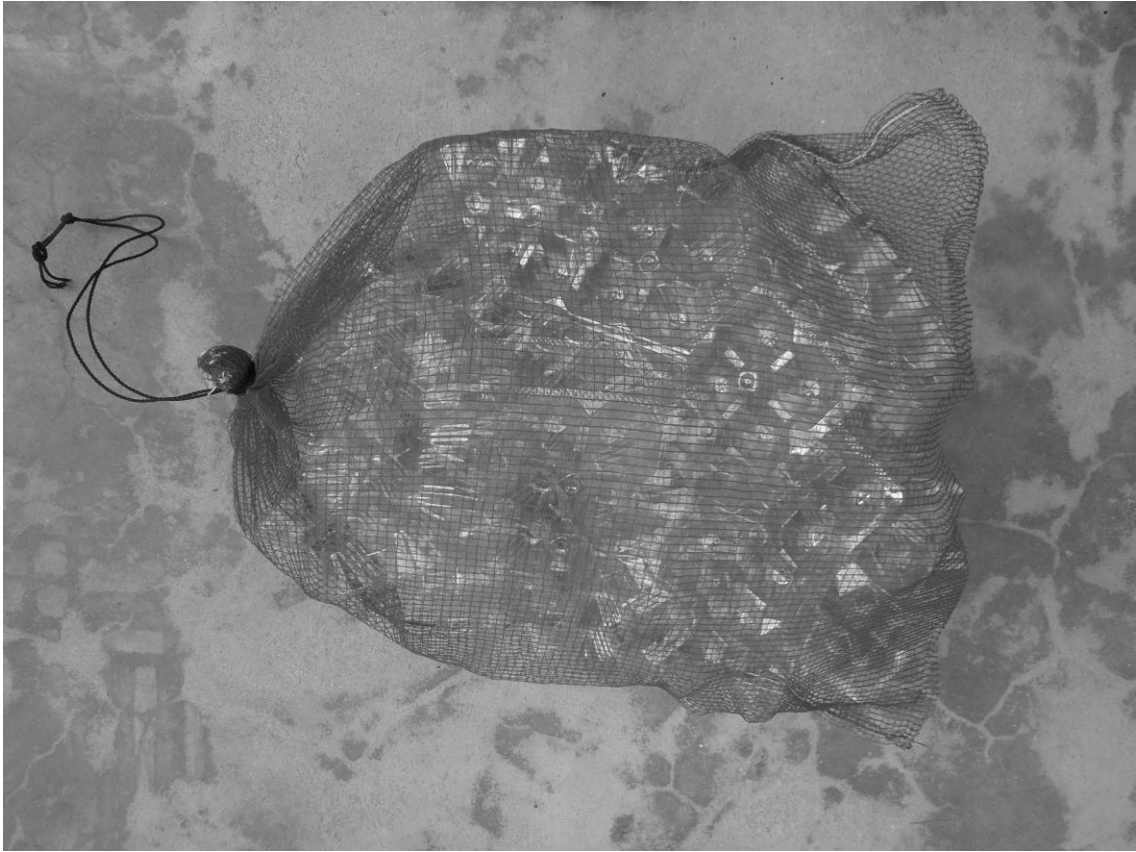


Fig. 15. An artificial collector ($60 \times 30 \times 25$ cm) made from vinyl chloride egg containers.

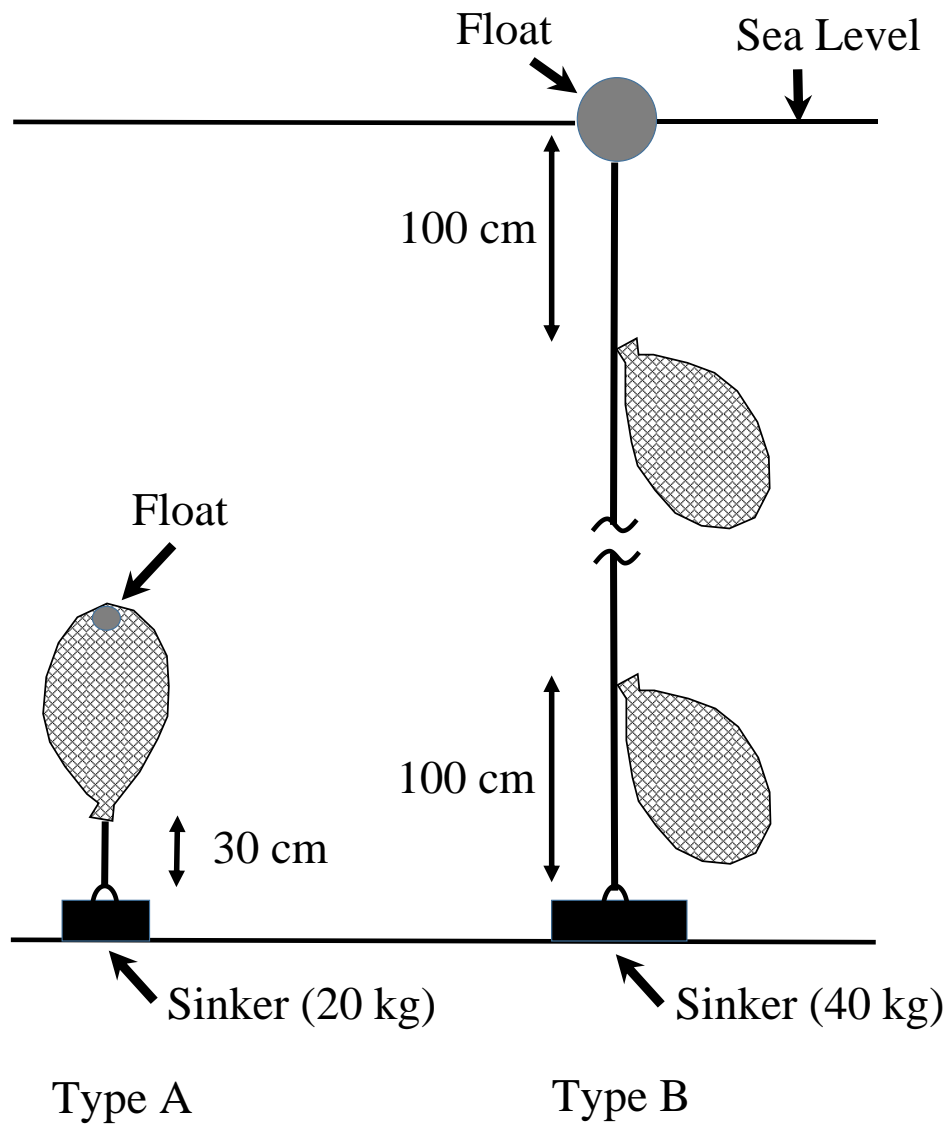


Fig. 16. A schematic diagram of the method for installing the artificial collectors previously shown in Fig. 15.

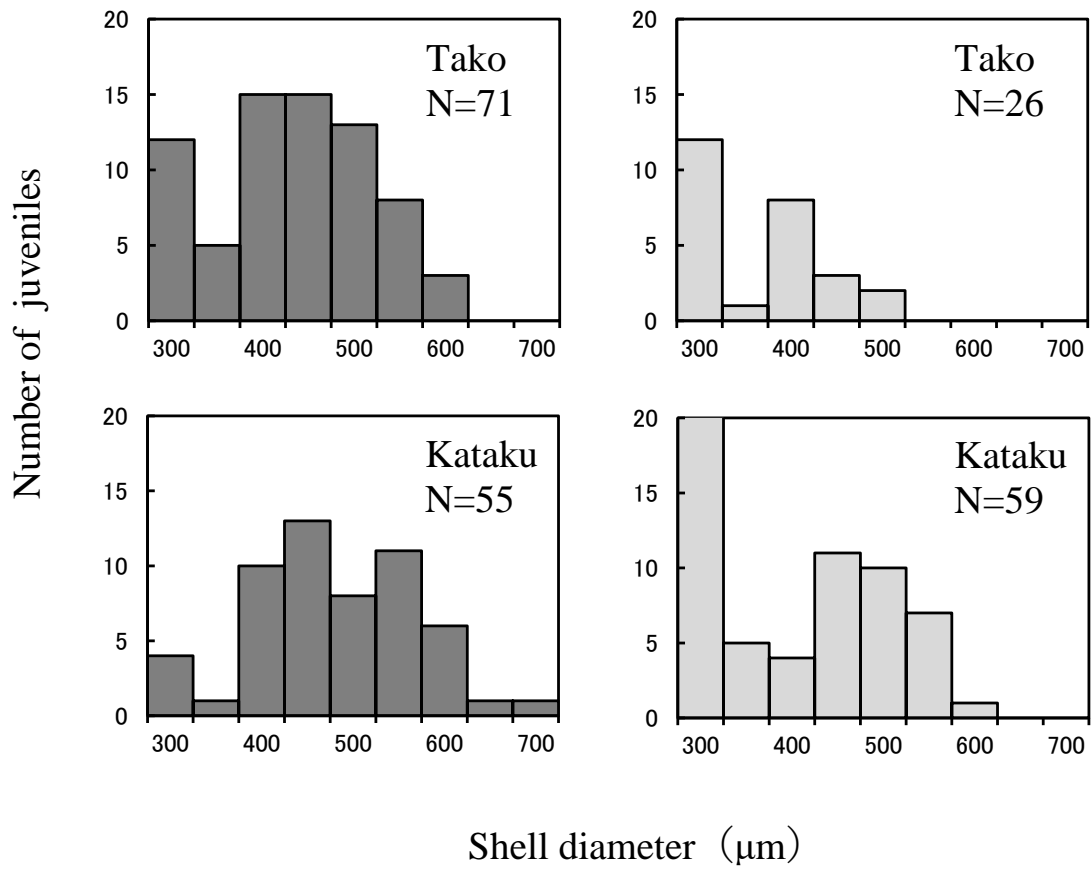


Fig. 17. Comparison of the size frequency distributions (in shell diameter, μm) of the juvenile Japanese top shells between artificial collectors (10m upper, test 1) with attached microorganisms and diatoms (■) and those without attachment (□).

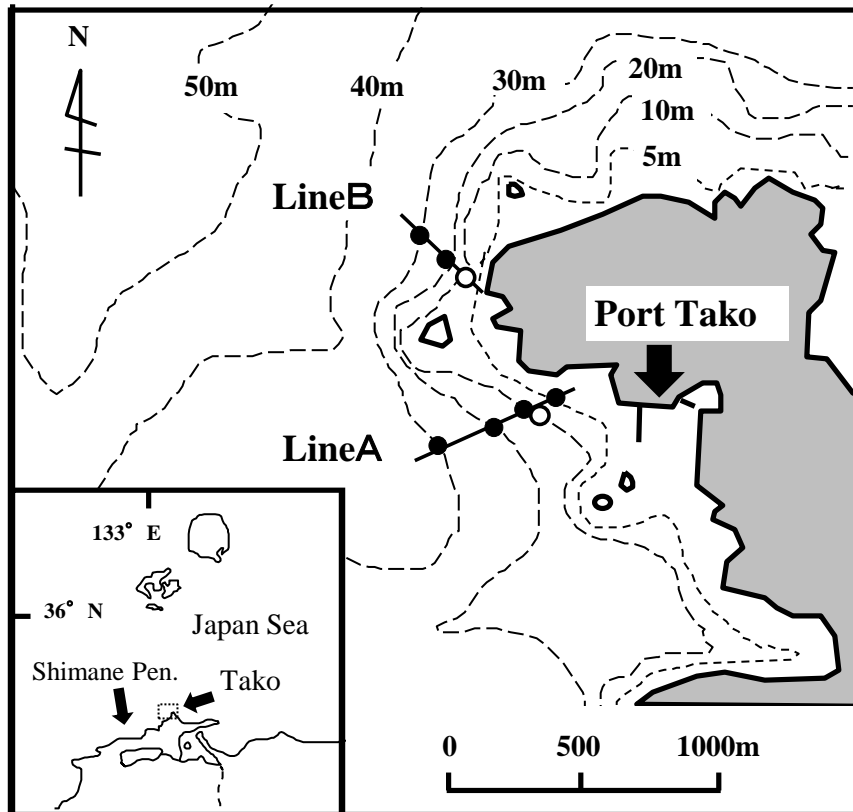


Fig. 18. Location of the sampling stations.

Open circles denote sampling stations where plankton nets were used while. Solid circles denote sampling stations where artificial collectors were used.

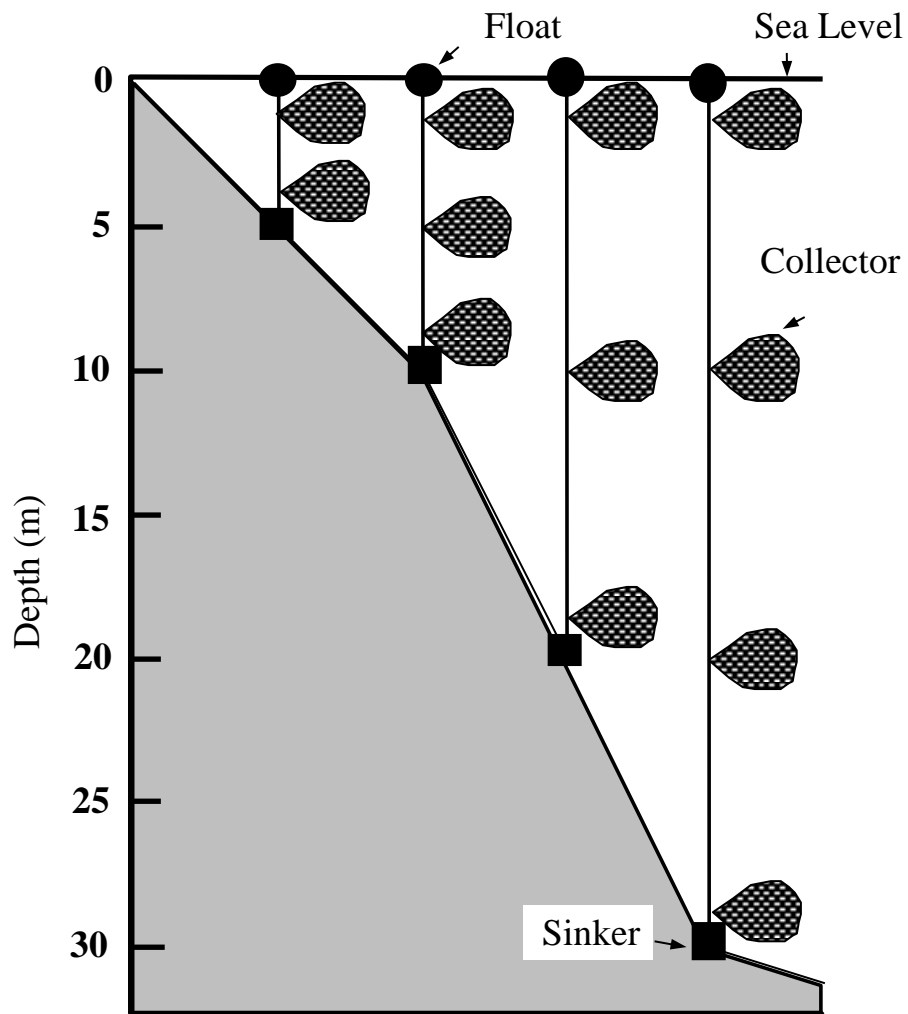


Fig. 19. A schematic diagram of the method for installing the artificial collectors. The shaded portion represents the sea bottom.

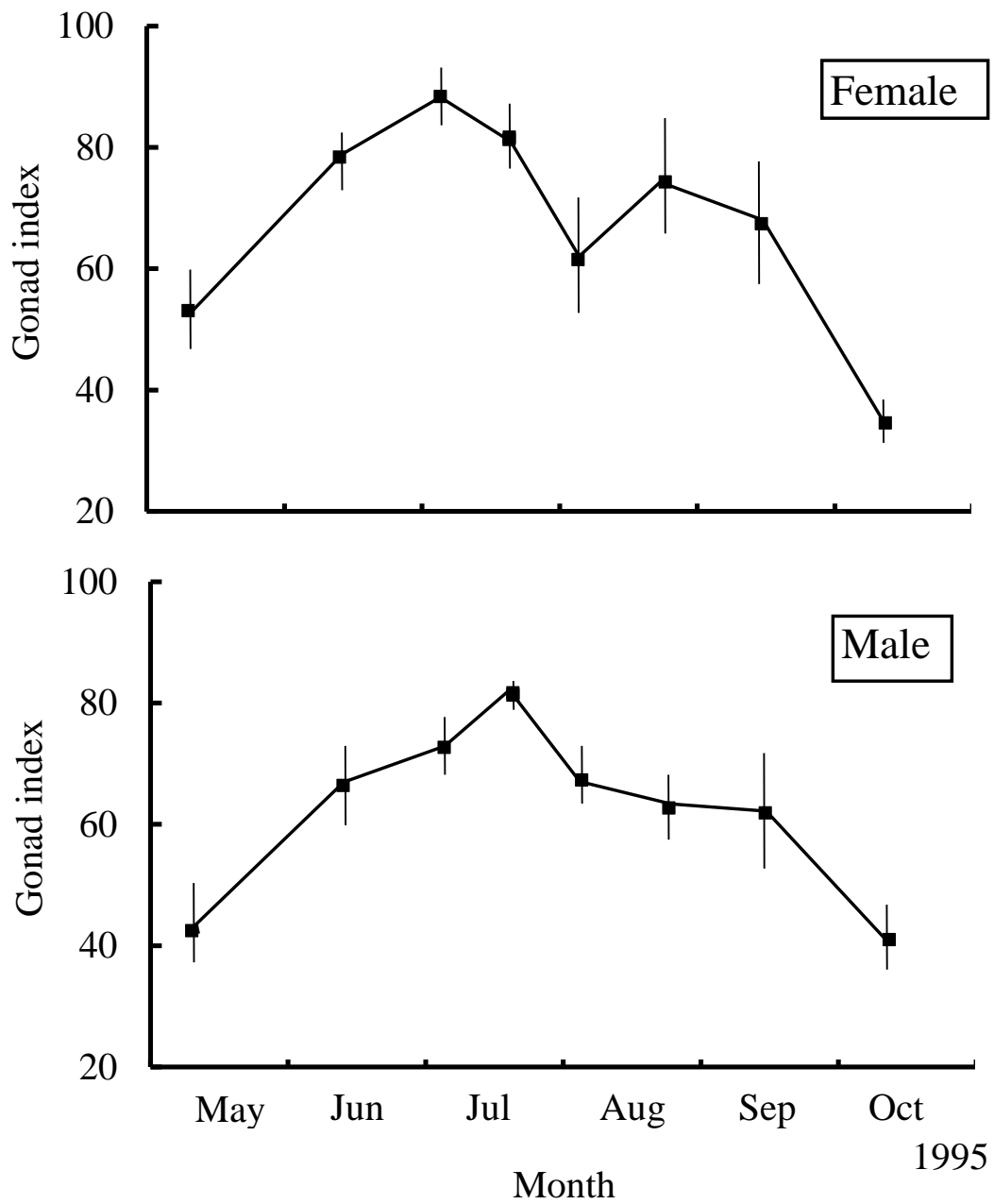


Fig. 20. Seasonal changes in the gonad index (GI) of the Japanese top shells in 1995. Solid squares and vertical bars indicate the means and standard deviation (\pm SD), respectively. GI = Gonad area / Total area of section \times 100.

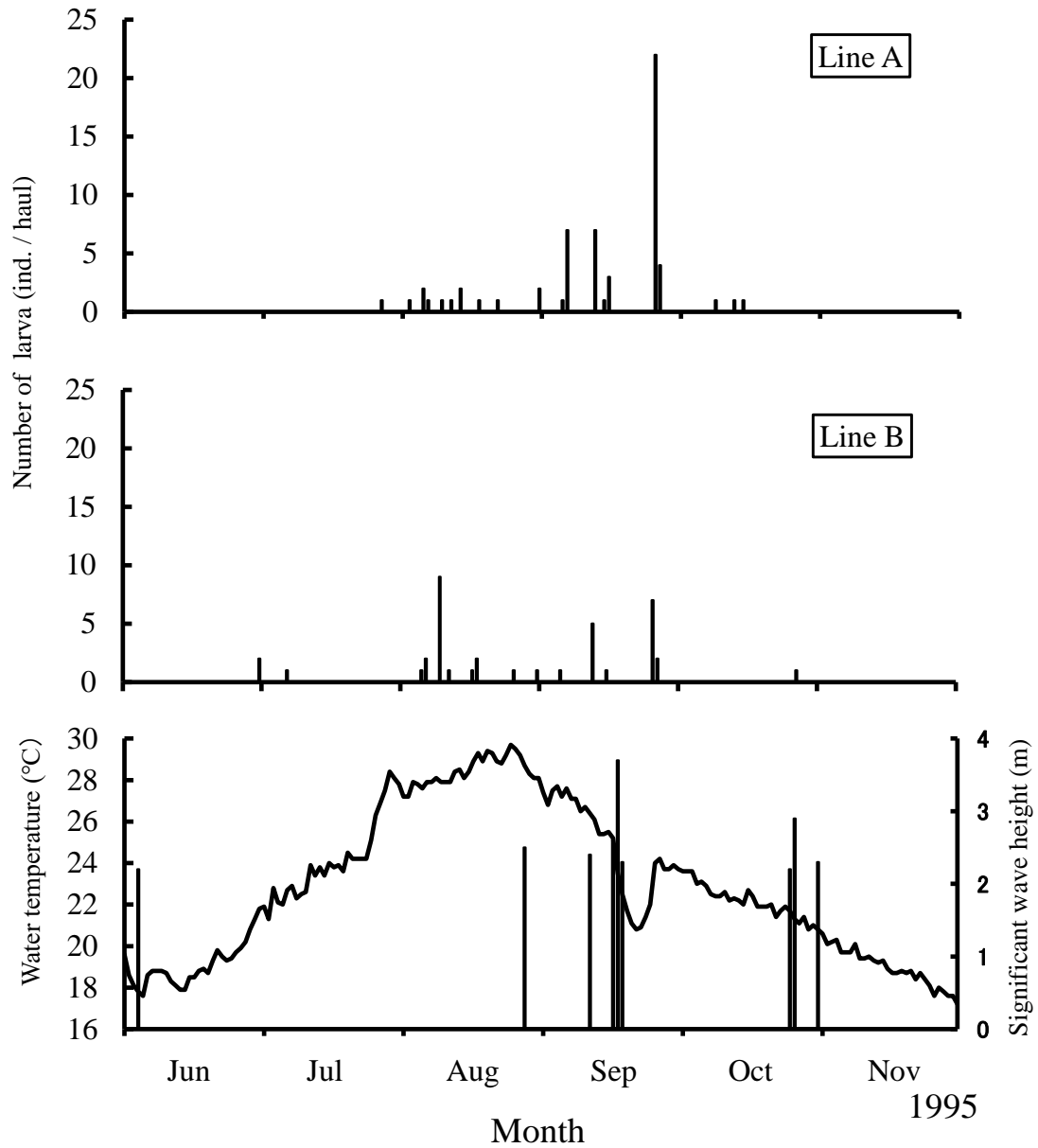


Fig. 21. Timing of the appearance of the larval stage of the Japanese top shell in correlation to fluctuations in surface water temperature (in °C), and daily mean of the significant wave height (in m) in 1995.

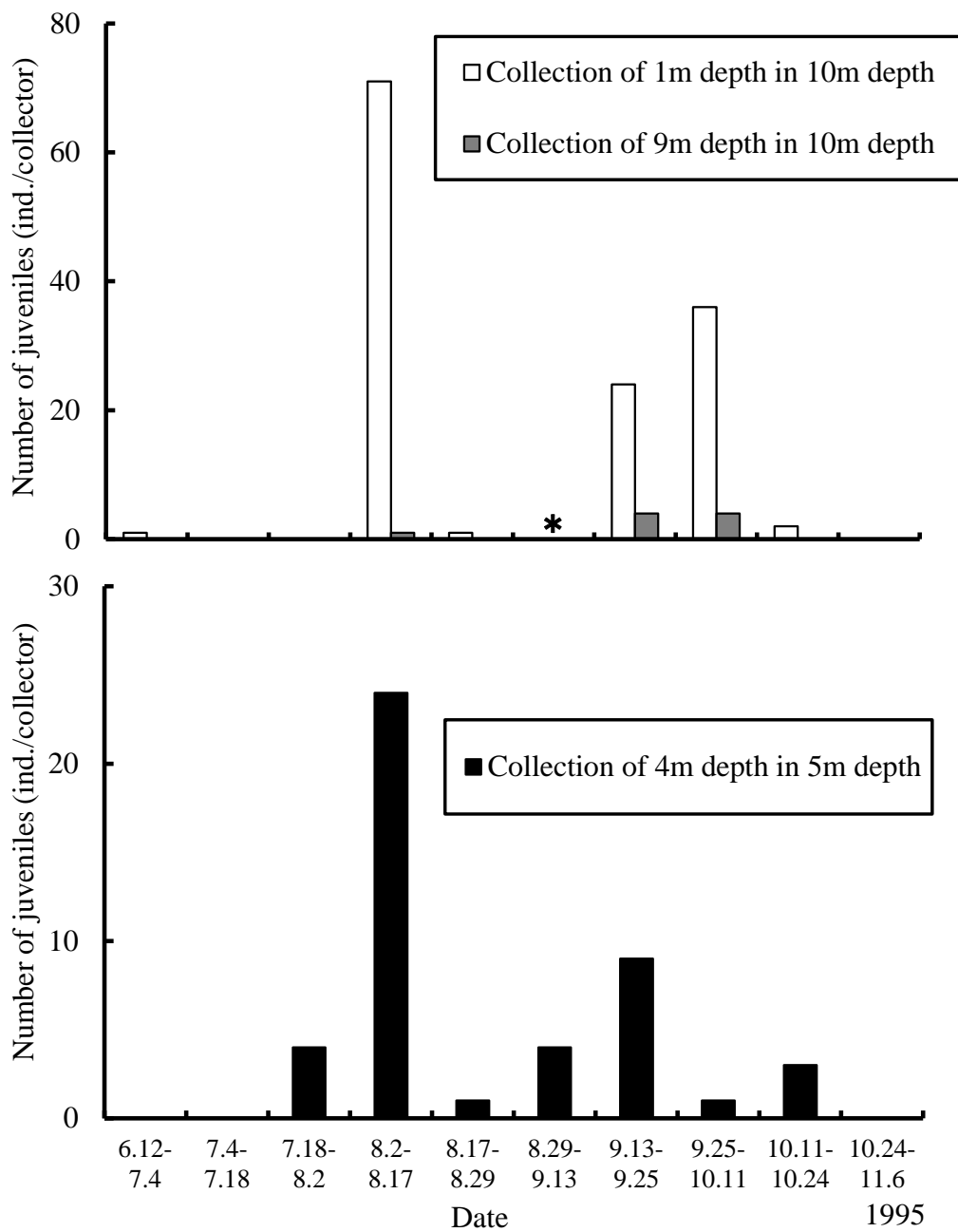


Fig. 22. Seasonal changes in the number of juvenile Japanese top shells collected from artificial collectors at the station of Line A (upper, 10 m depth; lower, 5 m depth) in 1995. The asterisk denotes sampling date with lost collectors.

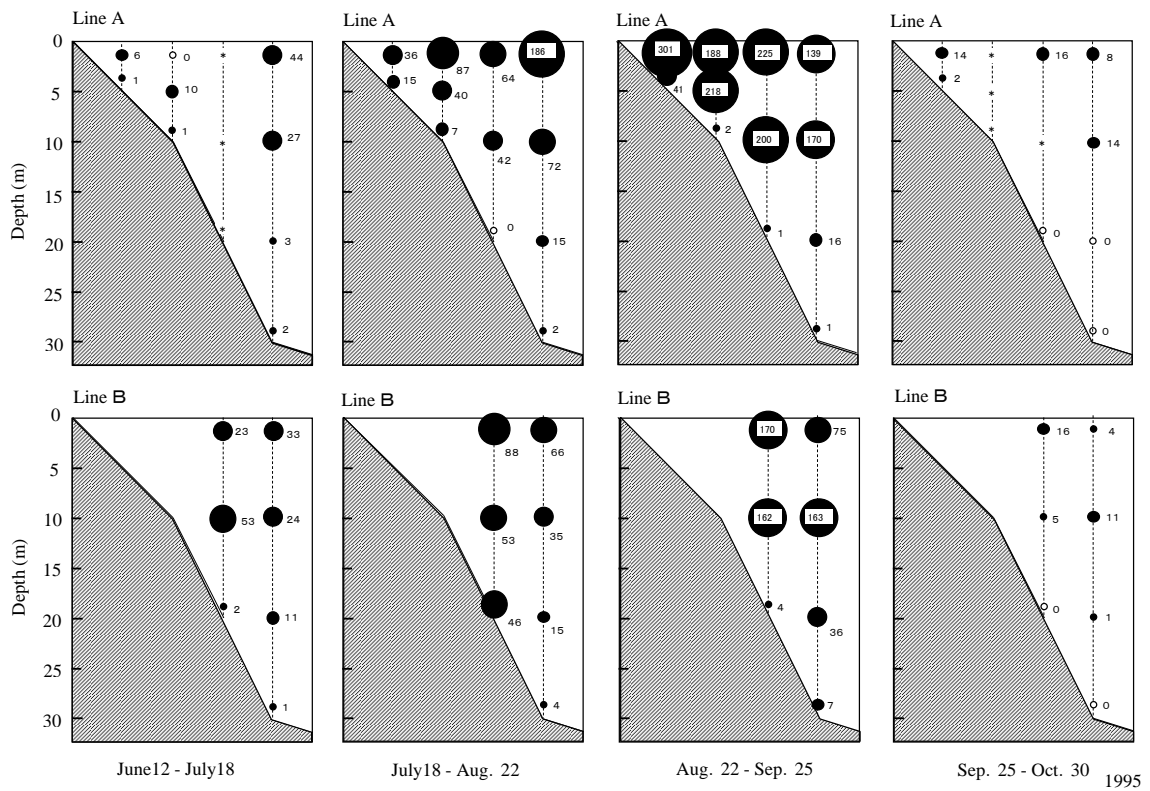


Fig. 23. Vertical distributions of the juvenile Japanese top shells sampled with the artificial collectors at Lines A (upper) and B (lower) in 1995. Data values denote the number of juveniles (ind./collector) collected at each corresponding depth. Asterisks denote data values with lost collectors. The shaded portion represents the sea bottom.

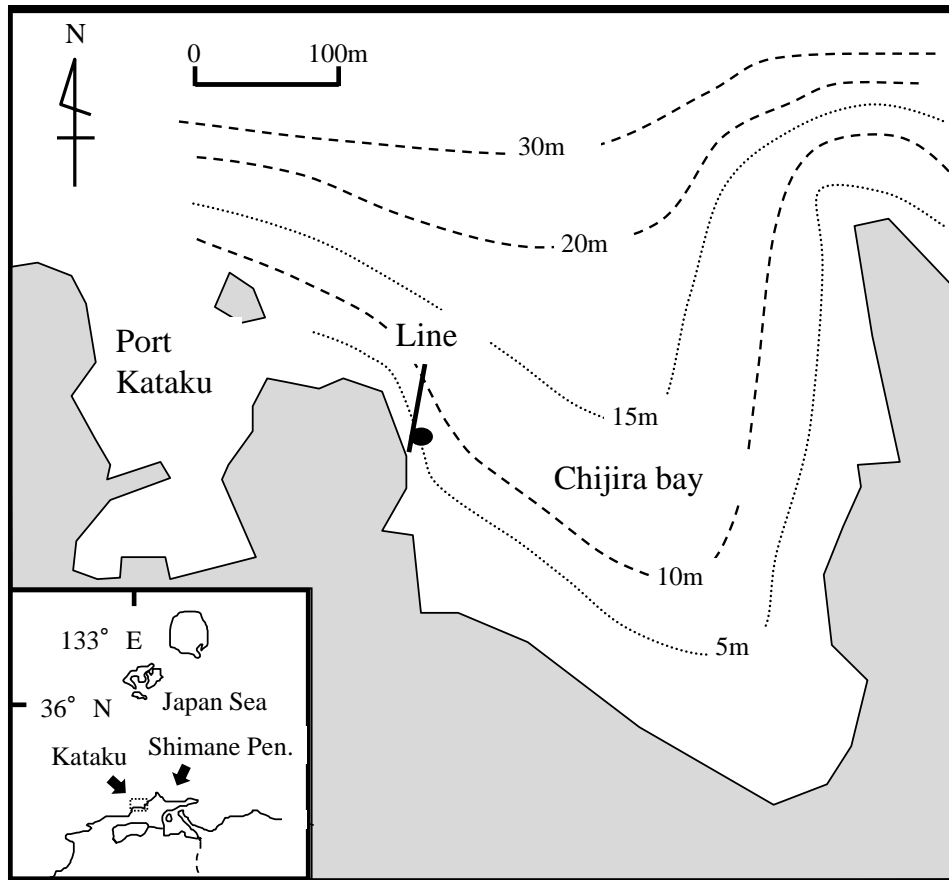


Fig. 24. Location of the sampling stations. The solid circle indicates the sampling station which used the artificial collector shown in Fig. 15.

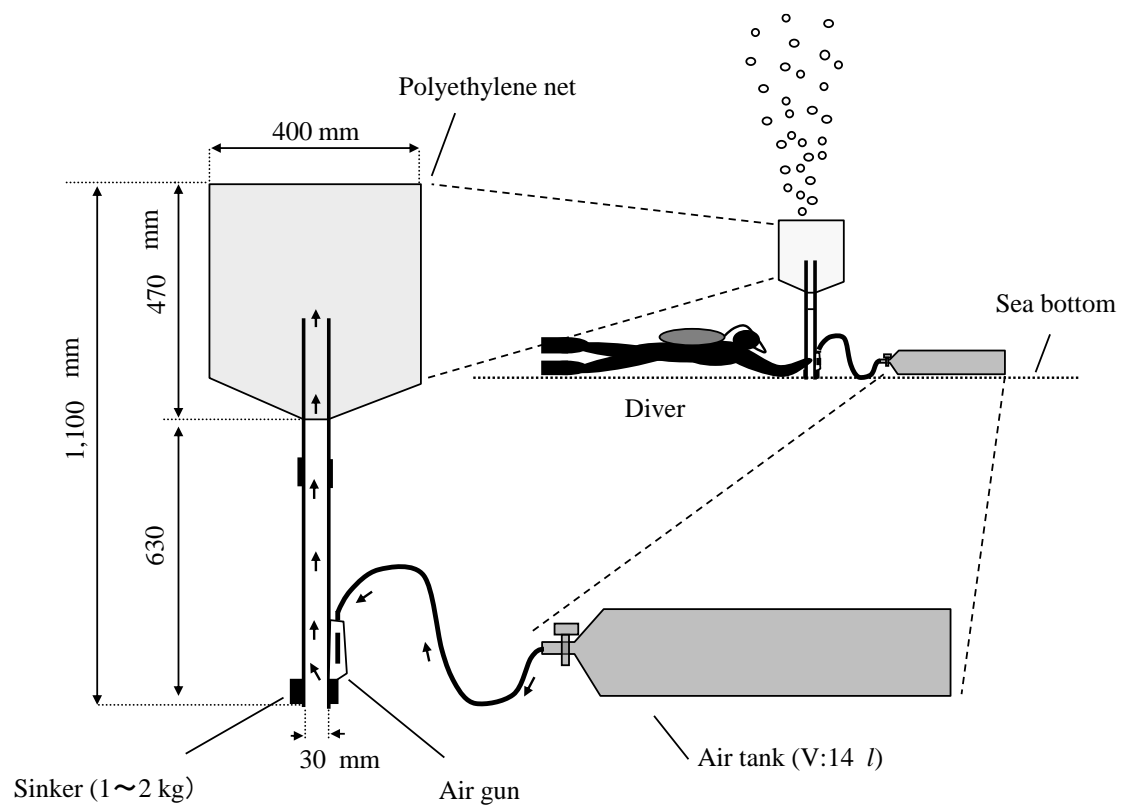


Fig. 25. A schematic diagram of the sampling method using a suction sampler.

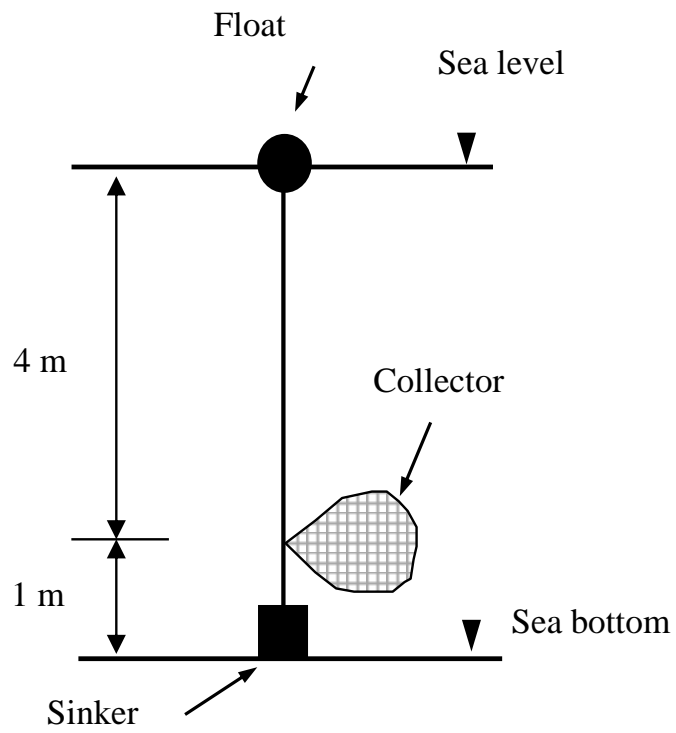


Fig. 26. A schematic diagram of the method for installing the collector shown in Fig. 15.

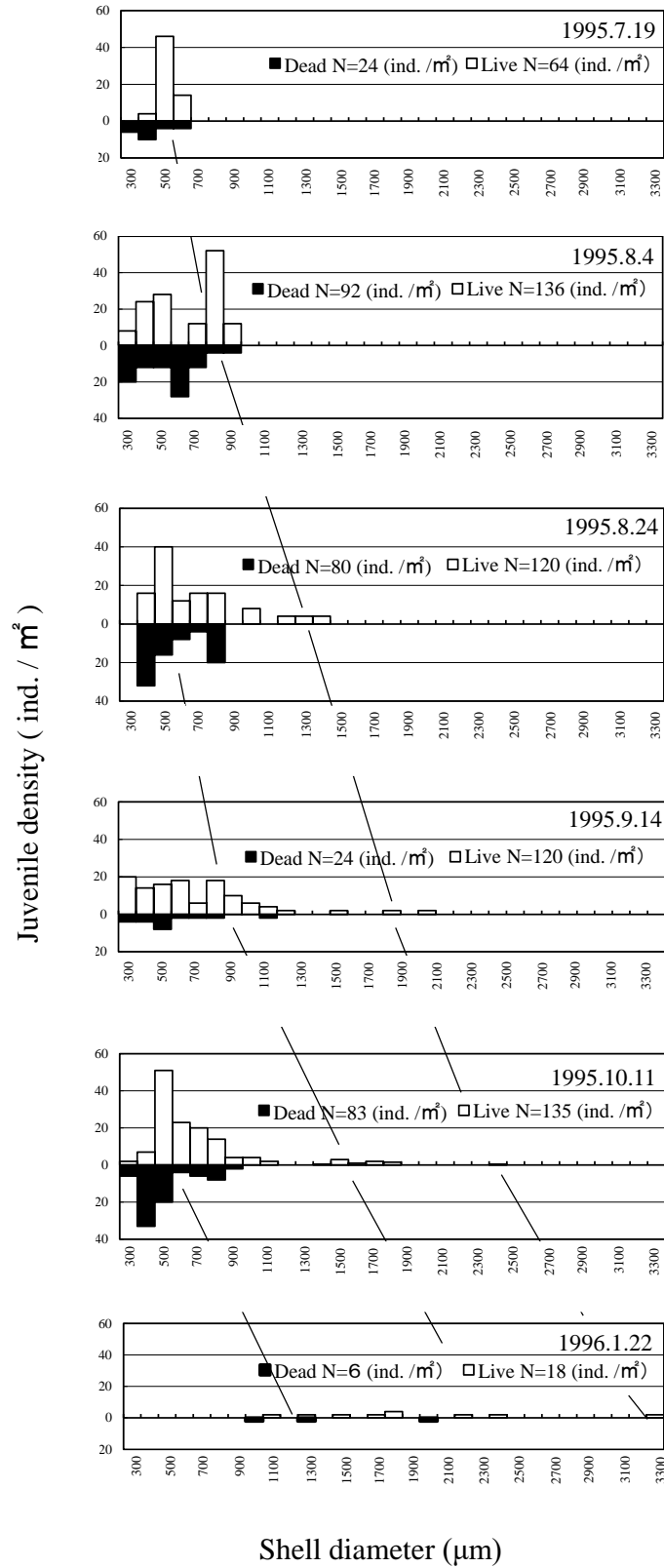


Fig. 27. Seasonal changes (1995 to 1996) in the size frequency distribution of live and dead juvenile Japanese top shells taken by the suction sampler at 2 m and 4 m depths.

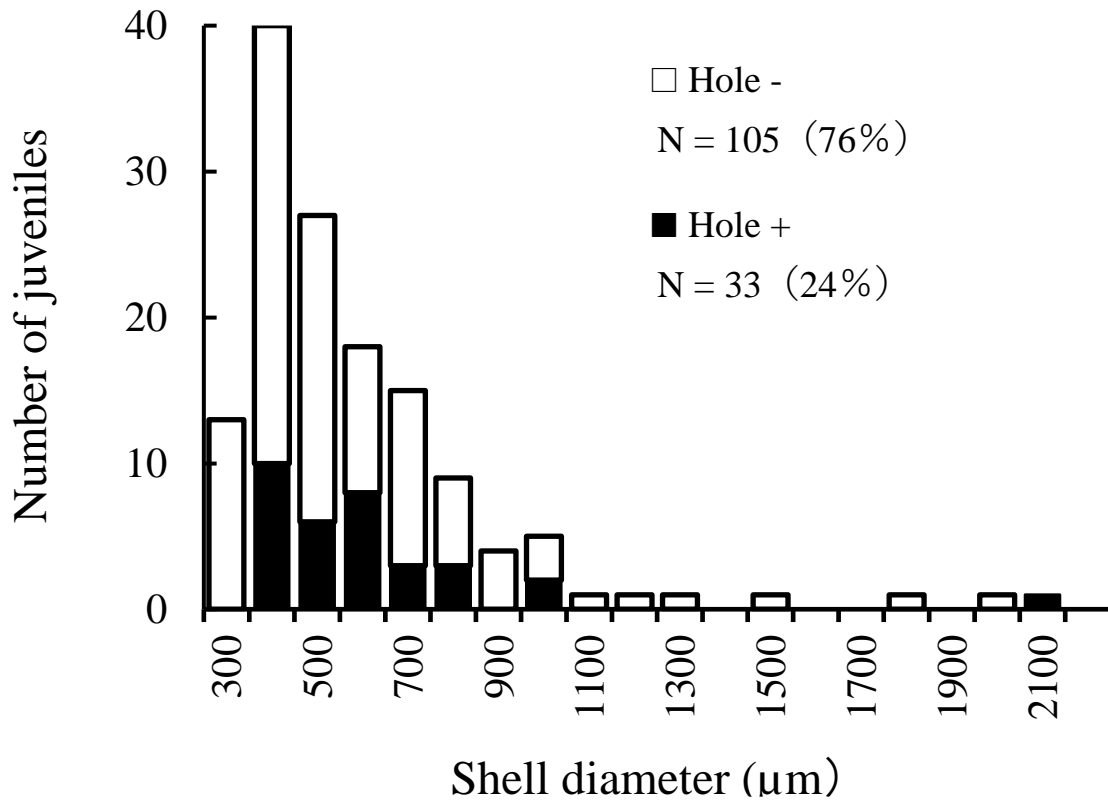


Fig. 28. Size frequency distribution of dead juvenile Japanese top shells showing the proportions of hole and no hole shells sampled from the study site from 1995 to 1996.

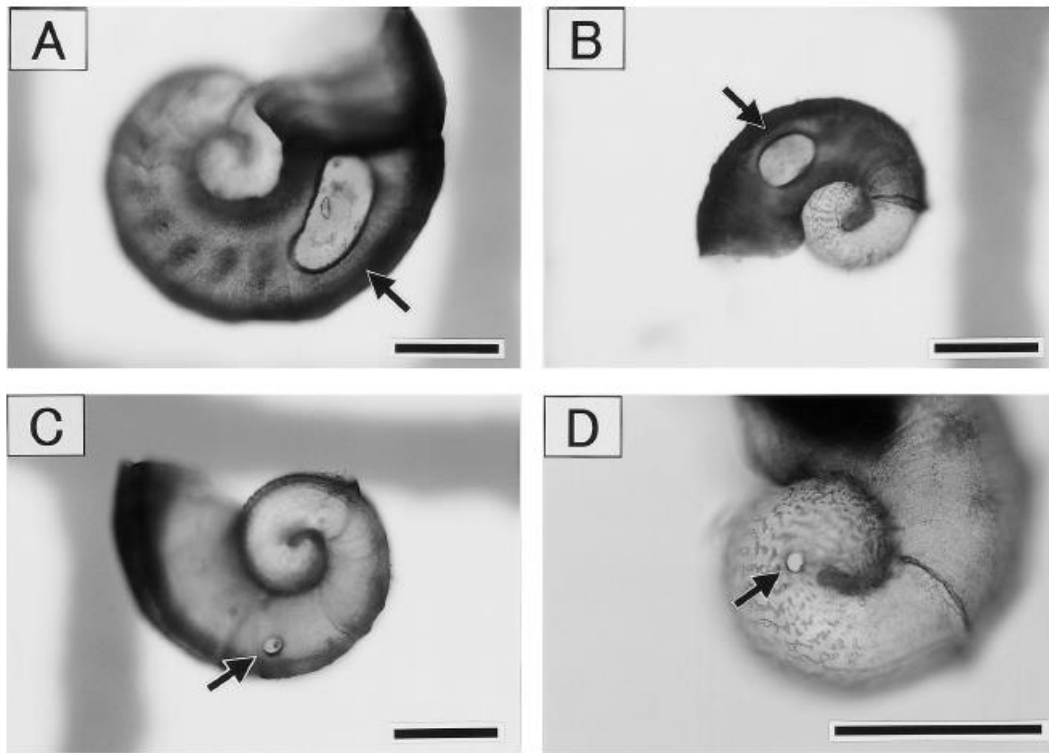


Fig. 29. Dead juvenile Japanese top shells with holes sampled at 2 m depth on August 8 (A, B, C) and at 4 m depth on September 14 (D). Scale bars = 200 μm . Arrows indicate the holes.

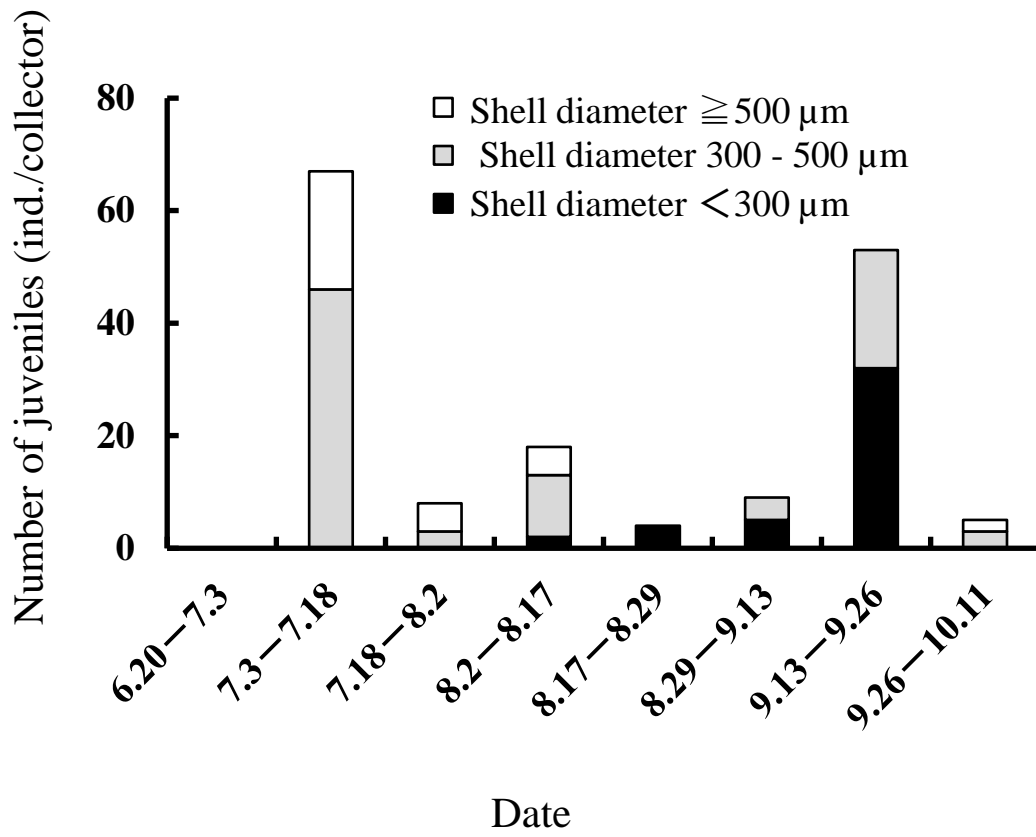


Fig. 30. Seasonal changes in the number of juvenile Japanese top shells collected by artificial collectors in 1995.

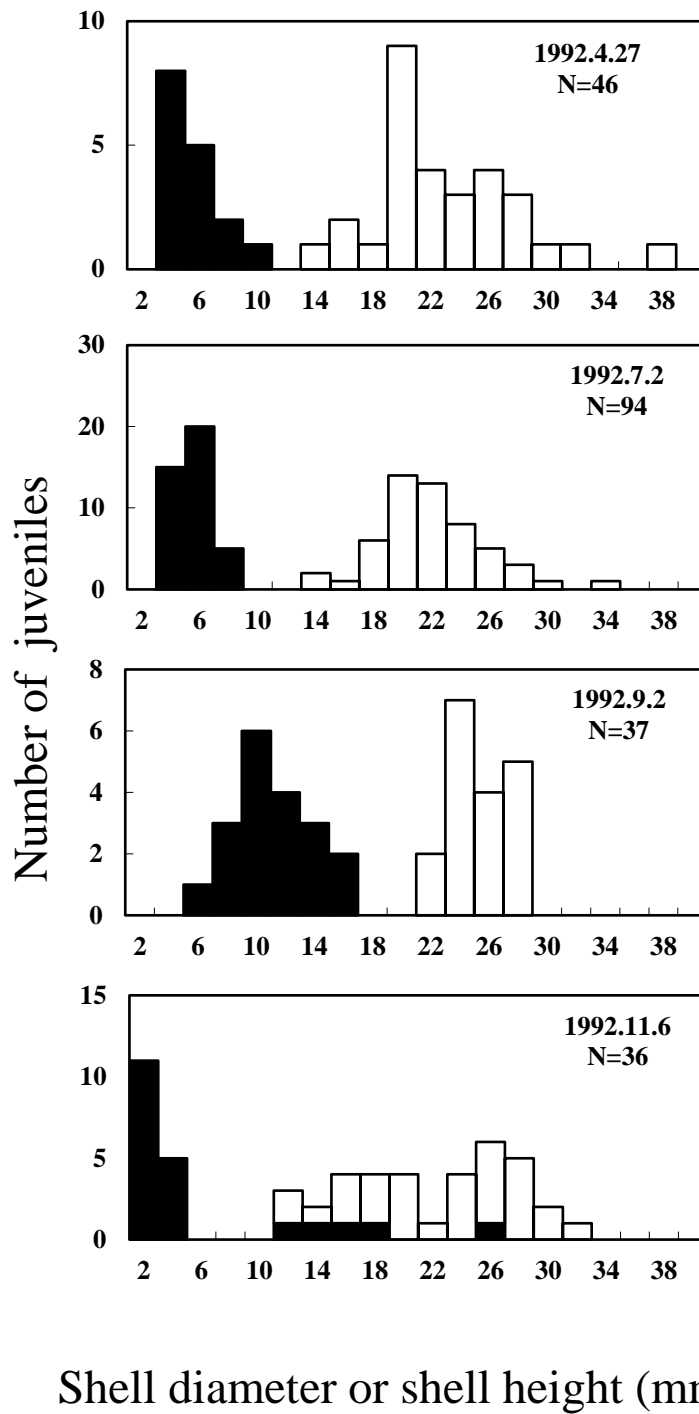


Fig. 31. Seasonal changes in the shell diameter (under 3.5 mm) or shell height (over 3.5 mm) frequency distribution of the juvenile Japanese top shell. The histograms show the observed frequency of populations within the articulated coralline algal beds (black parts) and those outside the algal beds (white parts).

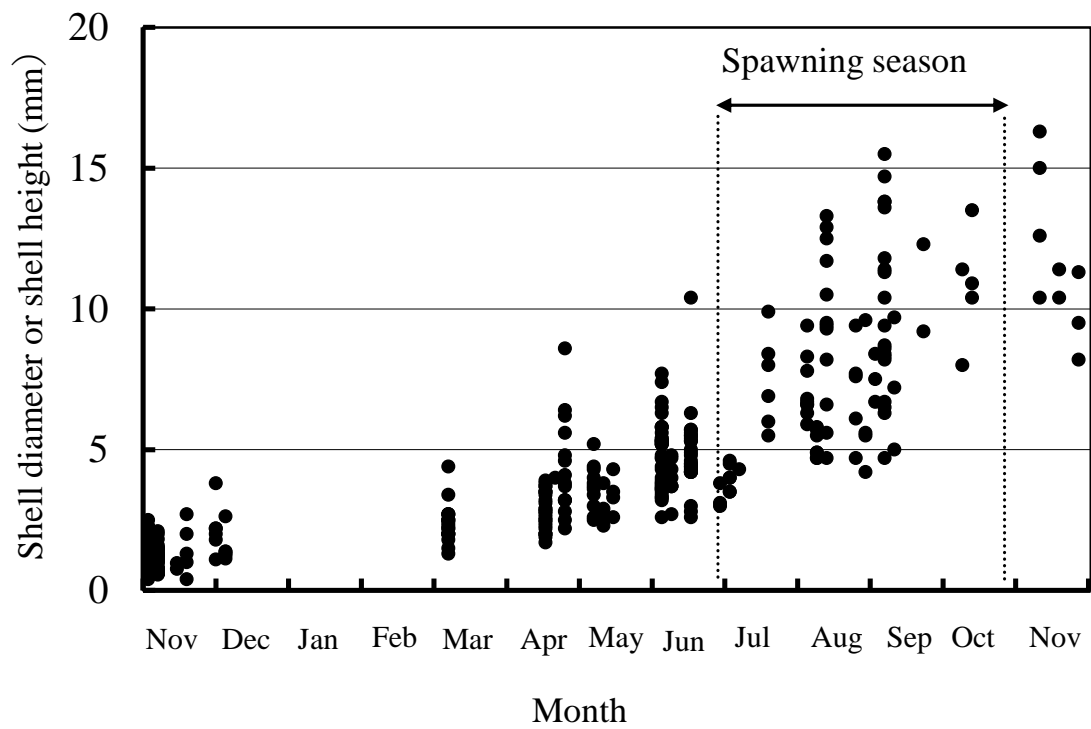


Fig. 32. Seasonal changes in the shell height (over 3.5 mm) or diameter (under 3.5 mm) frequency distribution of the 1991-1994 juvenile Japanese top shell cohorts.

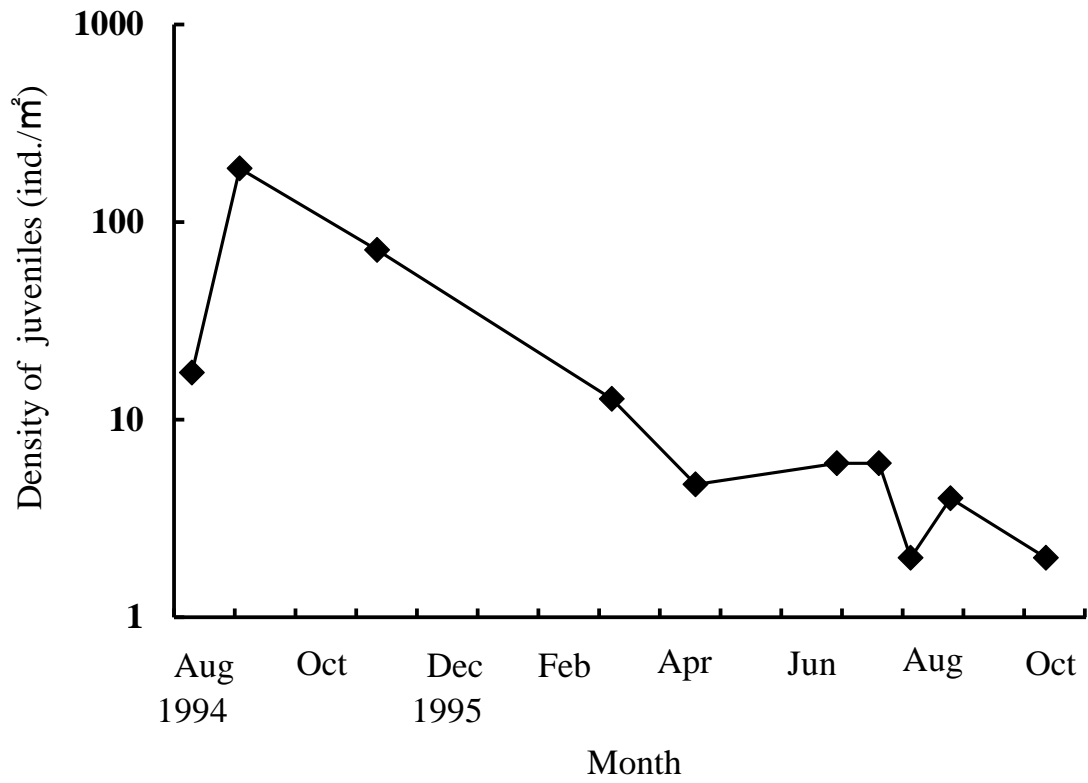


Fig. 33. Seasonal changes in the density of the 1994 juvenile Japanese top shell cohort.

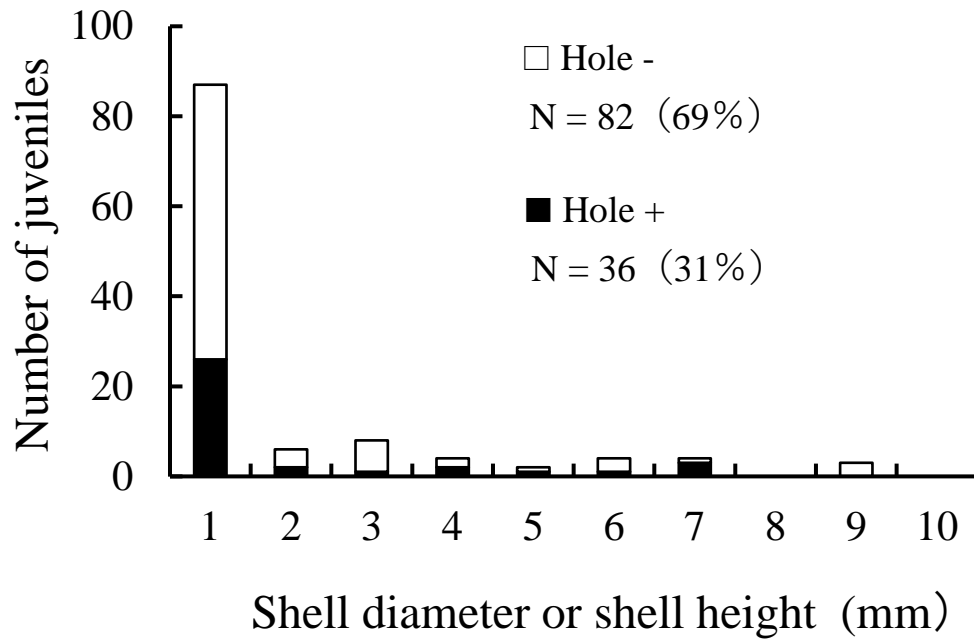


Fig. 34. Size frequency distribution of dead juvenile Japanese top shells of the 1994 cohort showing proportions of hole and no hole shells.

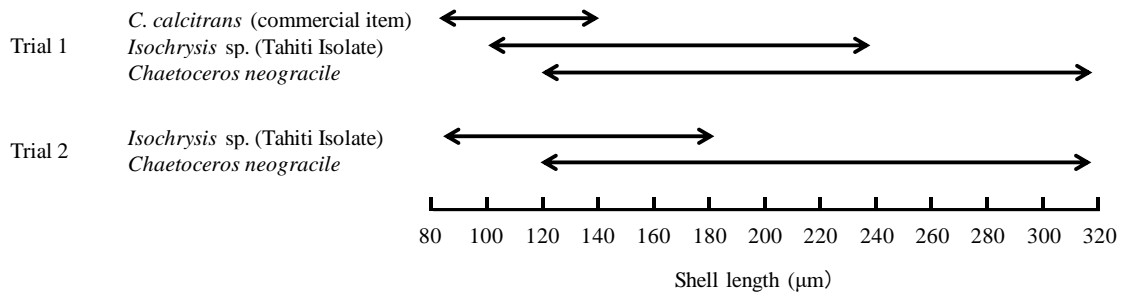


Fig. 35. Feeding regimen for Iwagaki oyster larva under two experimental trials.

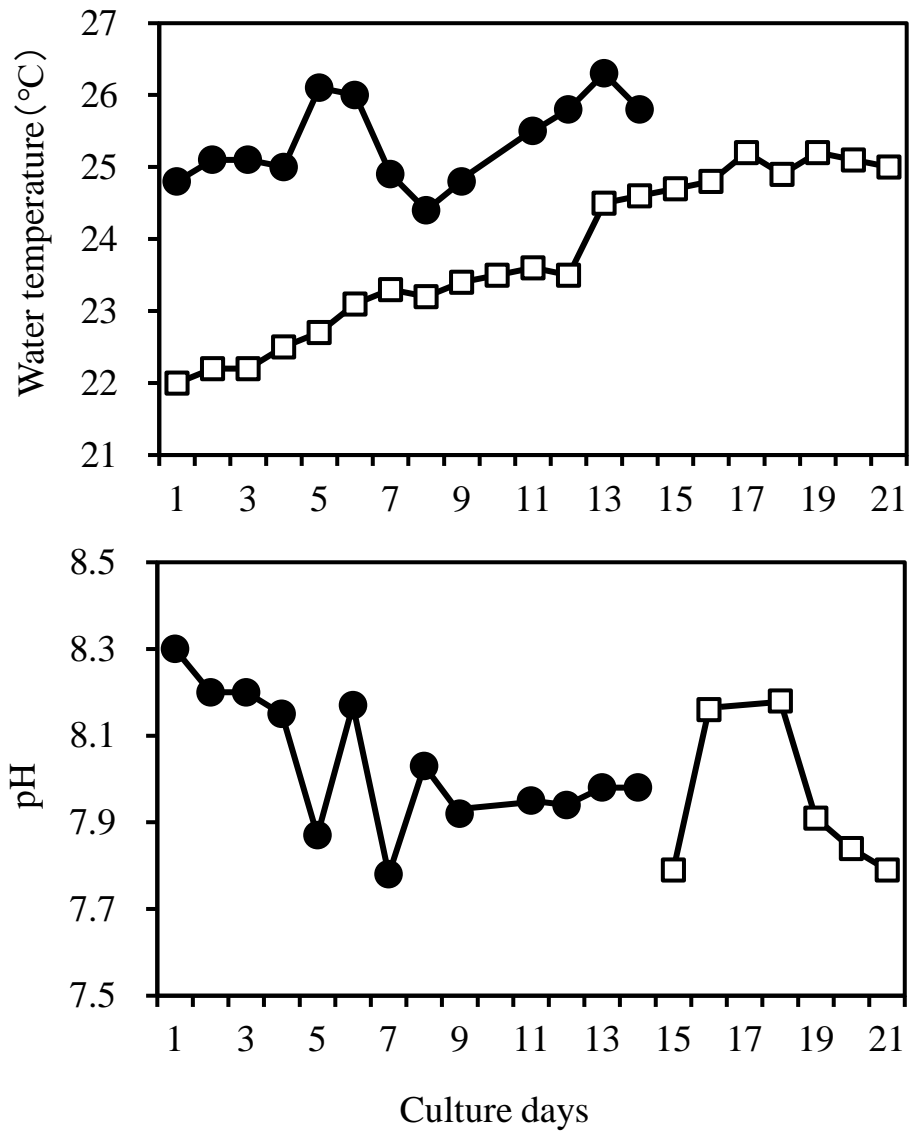


Fig. 36. Daily water temperature and pH of the rearing tanks (□ = Trial 1; ● = Trial 2) during seed production of Iwagaki oysters.

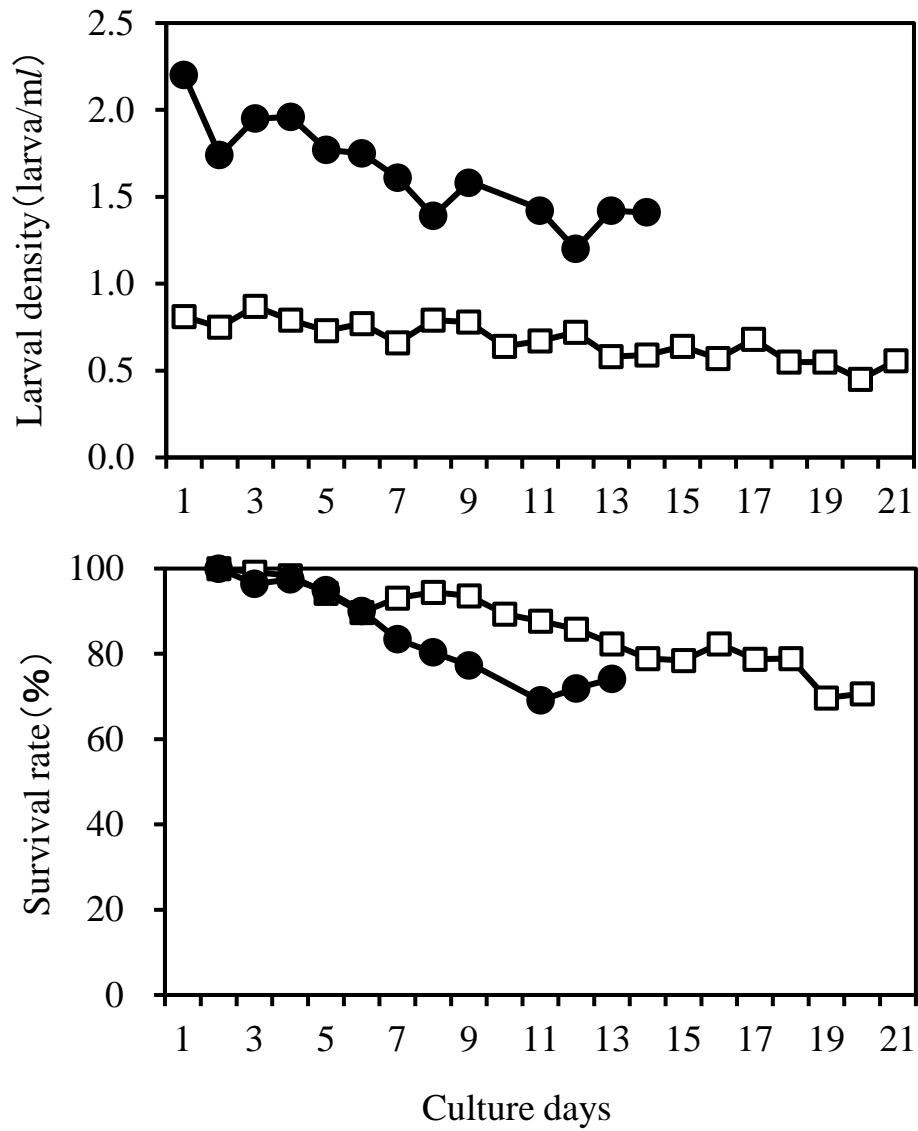


Fig. 37. Daily larval density and survival rate of the Iwagaki oyster larva reared in tanks (□ = Trial 1; ● = Trial 2).

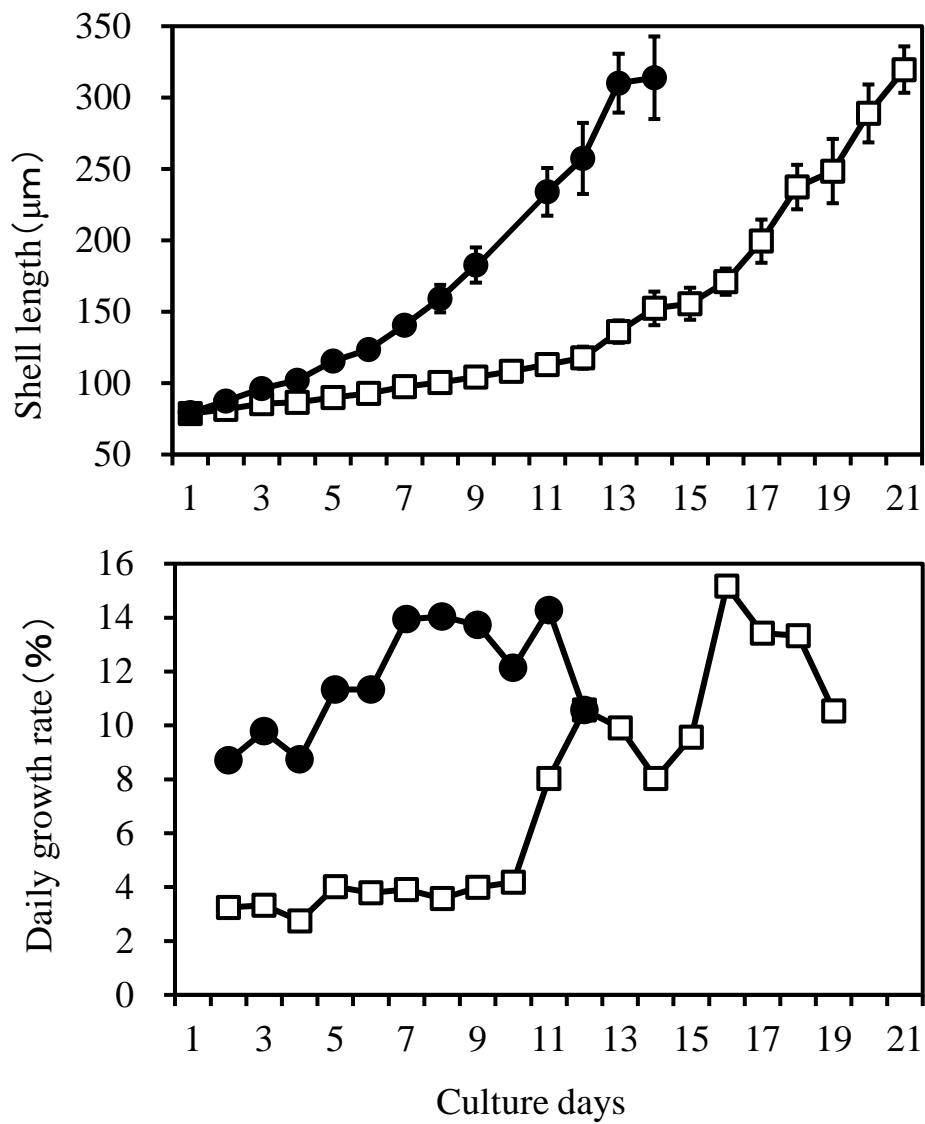


Fig. 38. Daily mean shell length and growth rate (3-day moving average) of the Iwagaki oyster larva reared in tanks (□ = Trial 1; ● = Trial 2). Vertical bars on shell length values indicate SD.

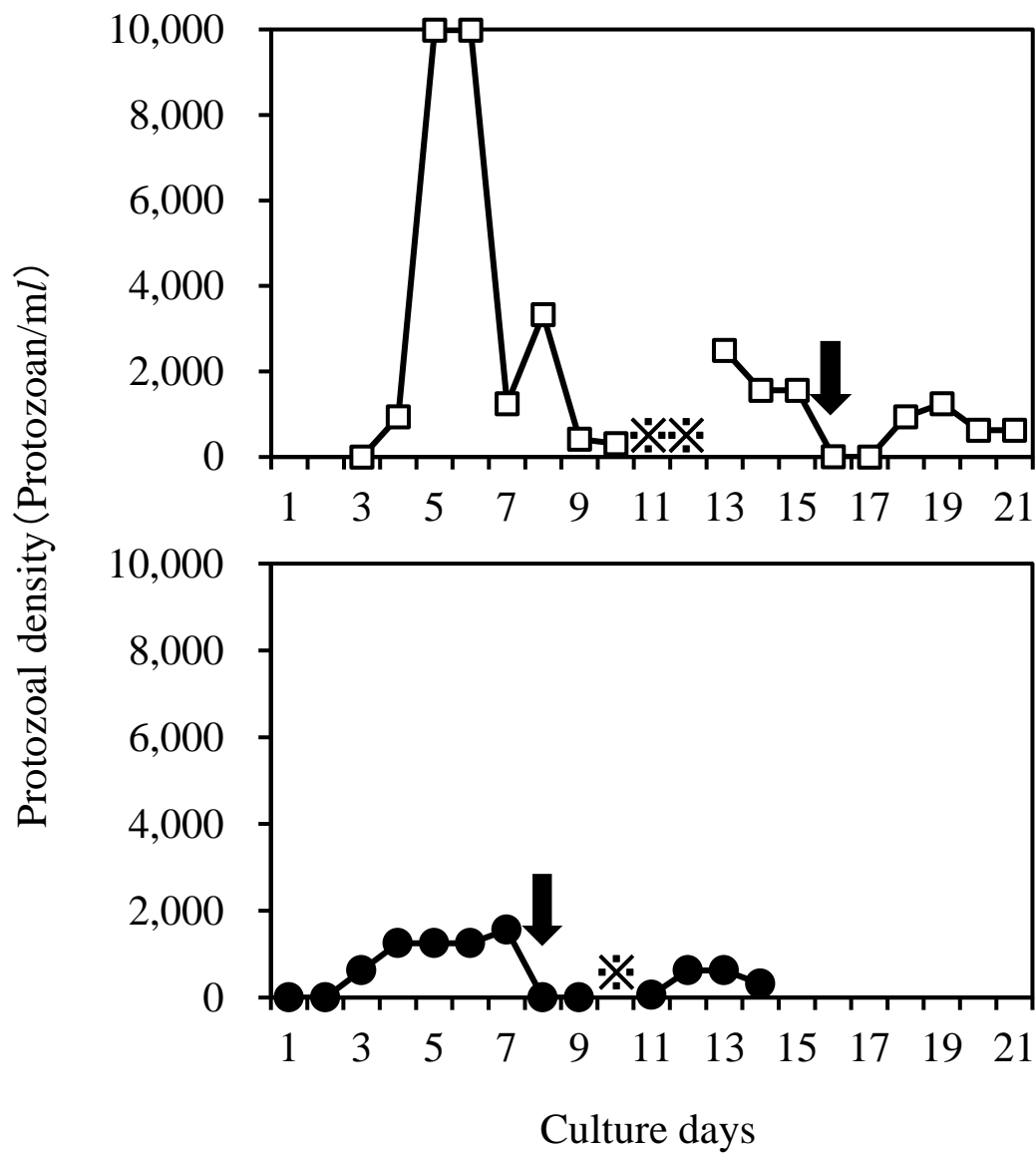


Fig. 39. Daily protozoan density in the tanks (□ = Trial 1; ● = Trial 2).
 * = No data; ↓ = Replacement of water tank.

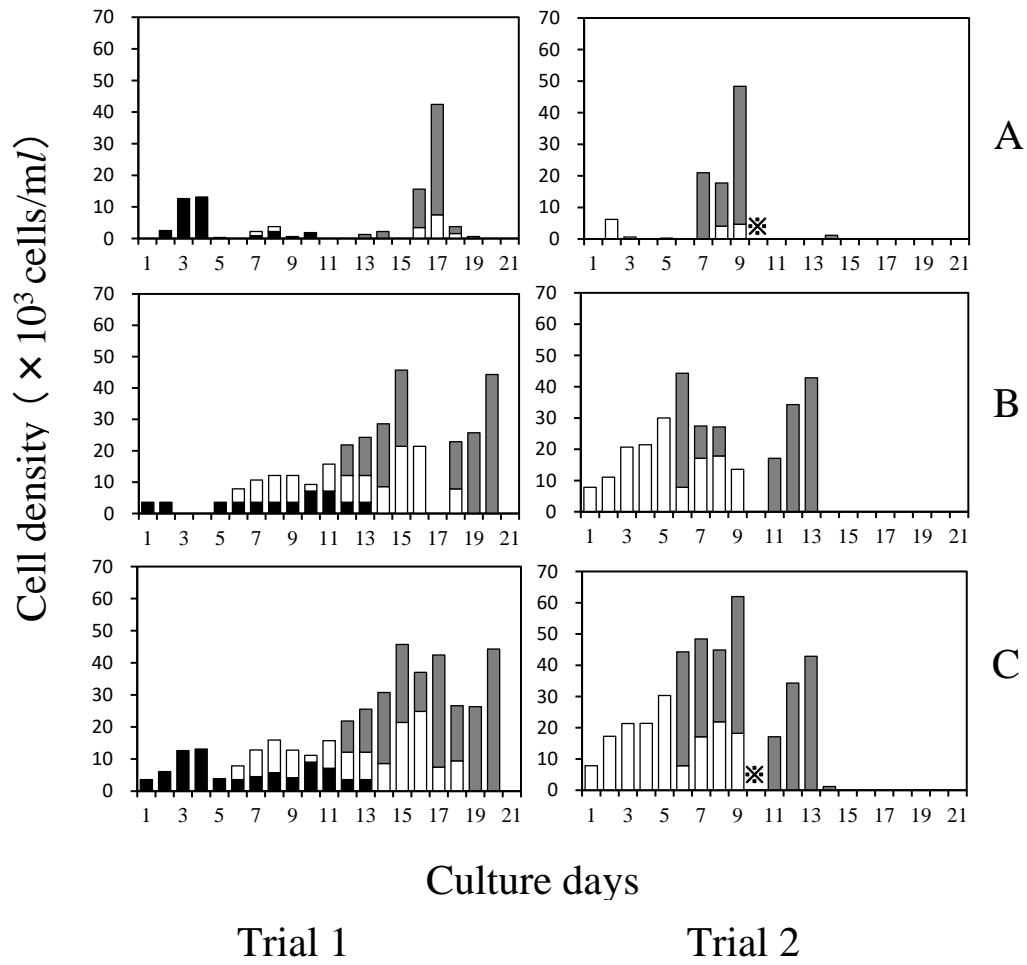


Fig. 40. Daily cell density of the microalgal diets [■ = *Chaetoceros calcitrans*; □ = *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate); ■ = *Chaetoceros neogracile*] in the rearing tanks. A. Residual microalgal density before feeding; B. Supplemented microalgal density; C. Total microalgal density available (A+B); * = No data.

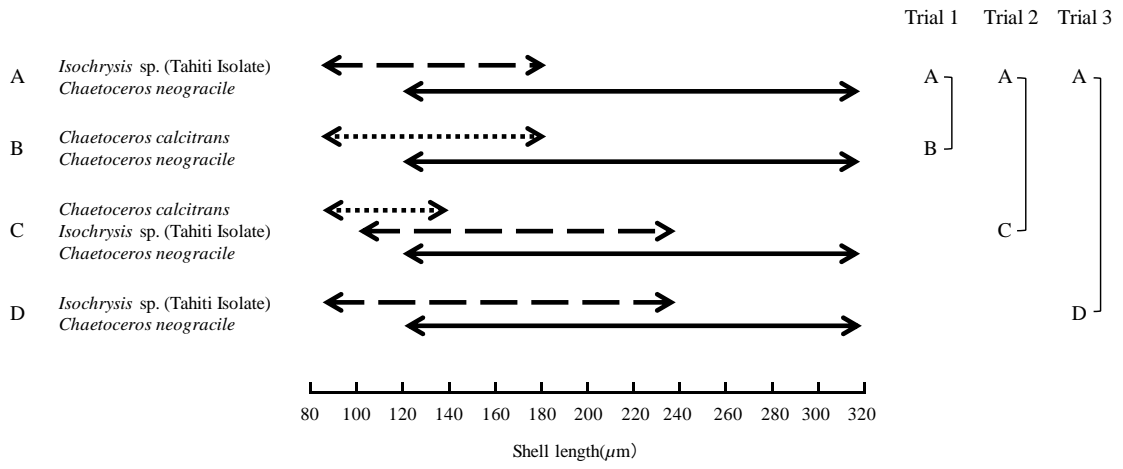


Fig. 41. Feeding regimen for the Iwagaki oyster larva in each experimental trial.

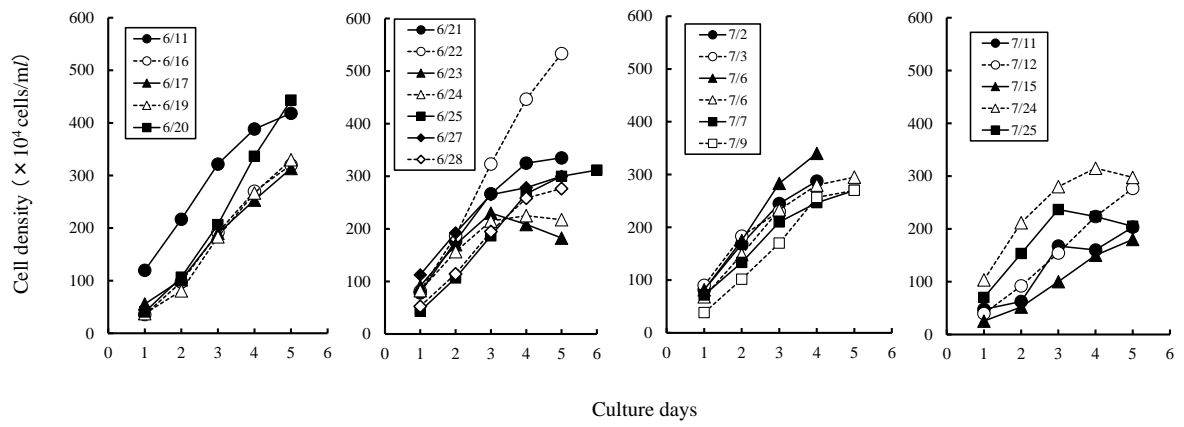


Fig. 42. Daily 3-day moving average cell density of *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate) in the 1-kL tank.

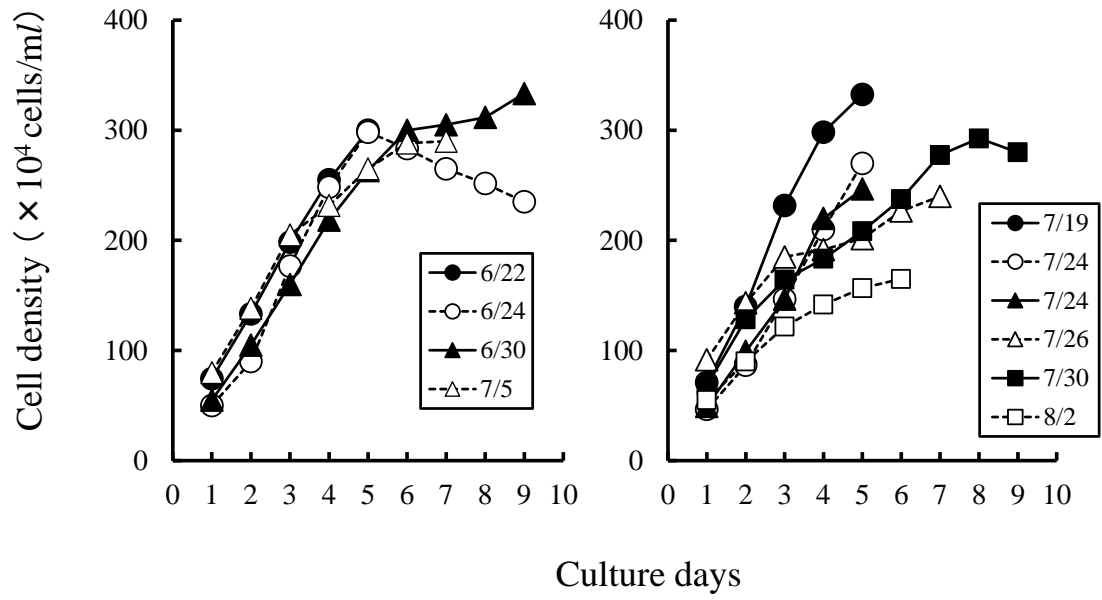


Fig. 43. Daily 3-day moving average cell density of *Chaetoceros neogracile* in the 6-kl tank.

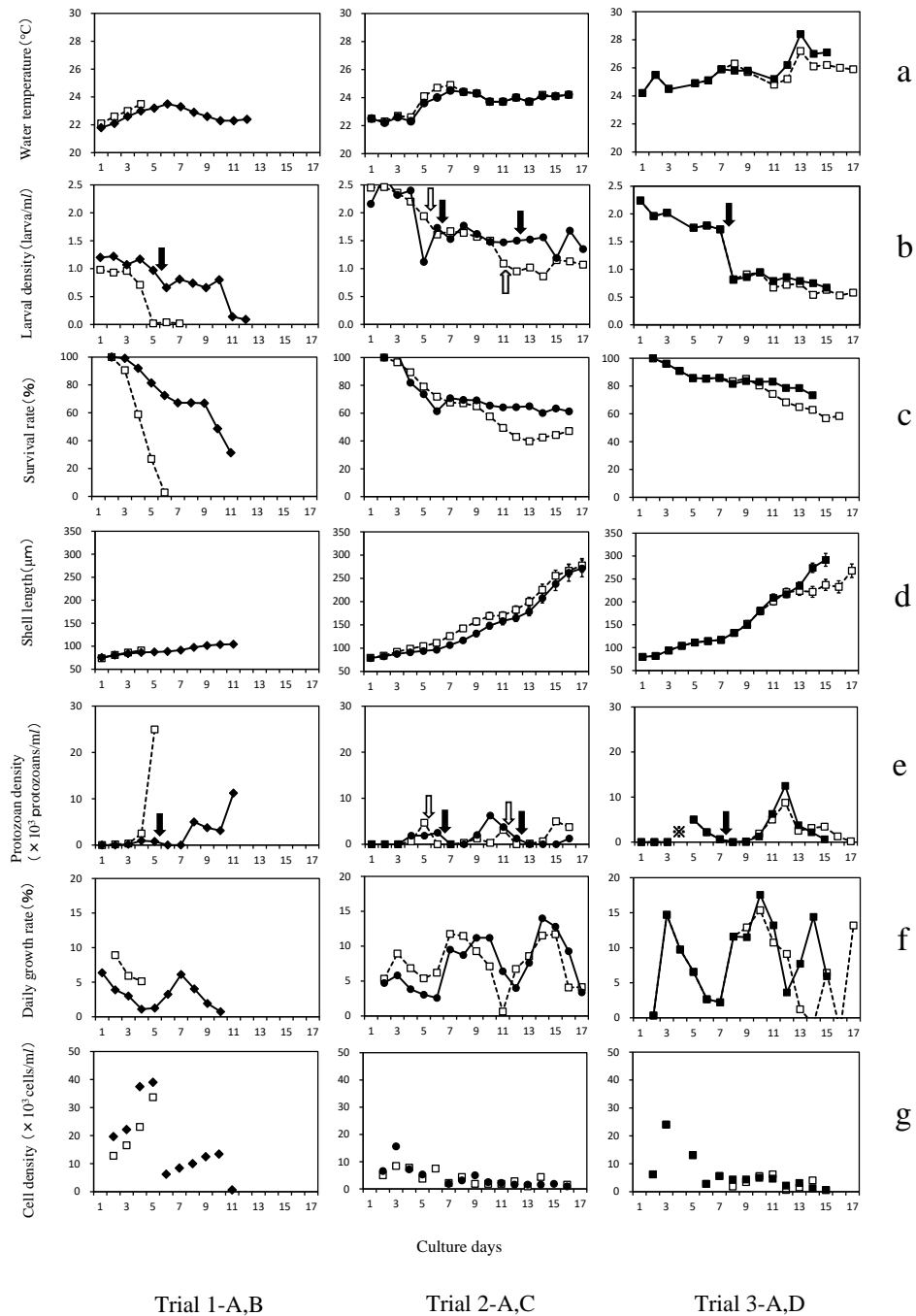


Fig. 44. Water temperature in the rearing tanks (a), larval density (b), 3-day moving average of the larval survival rate (c), mean shell length (d), protozoan density in the tanks (e), larval growth rate (f) and cell density of *Nannochloropsis oculata* in the tanks (g) during seed production of Iwagaki oyster. All parameters were measured daily. □ = Feeding regimen A; ◆ = Feeding regimen B; ● = Feeding regimen C; ■ = Feeding regimen D. Arrows in (b) and (e) indicate replacement of water in the tanks. Vertical bars on shell length values indicate SD. * = No data.

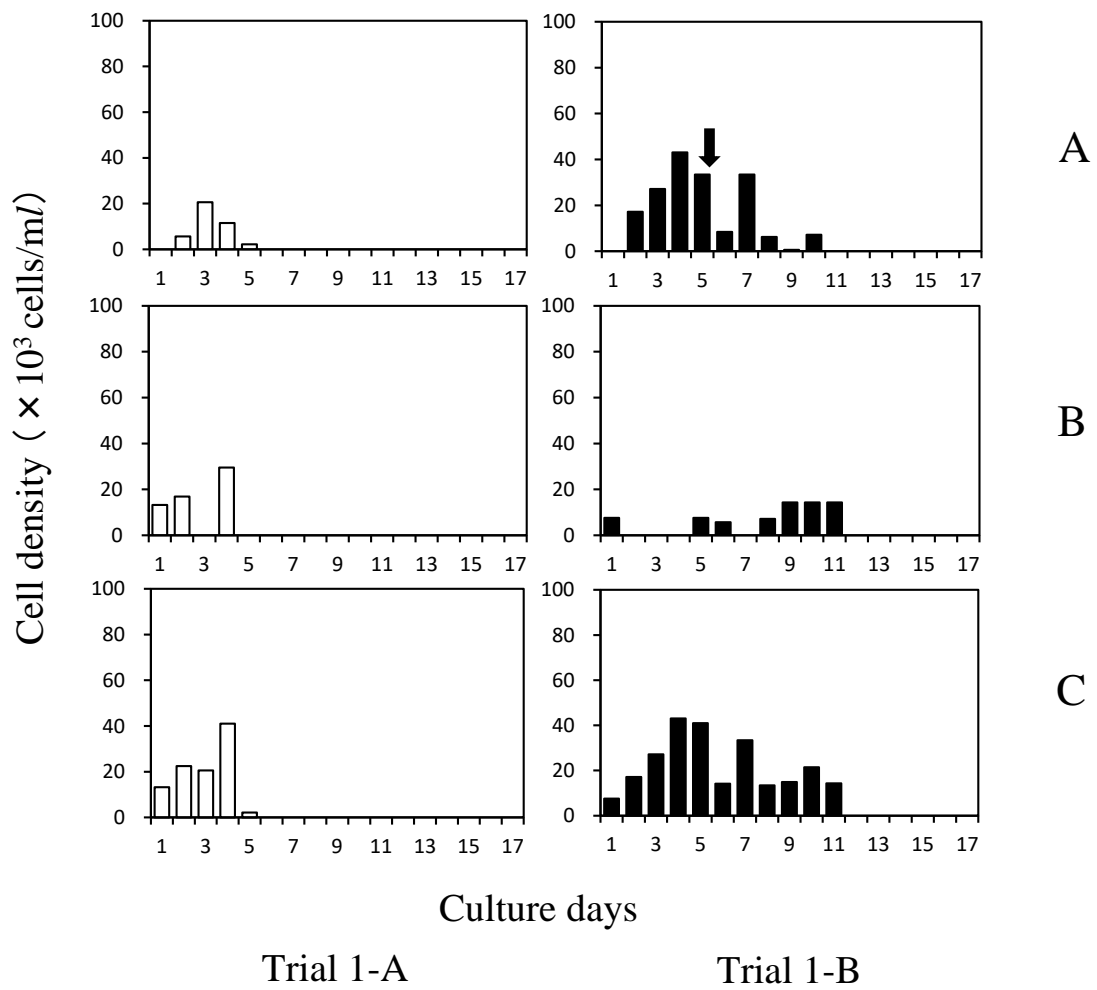


Fig. 45. Daily cell density of the microalgal diets (\square = *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate); \blacksquare = *Chaetoceros calcitrans*) in the rearing tanks of Trial 1. A, Residual microalgal density before feeding; B, Supplemented microalgal density; C, Total microalgal density available (A+B); \downarrow = replacement of water in the tanks.

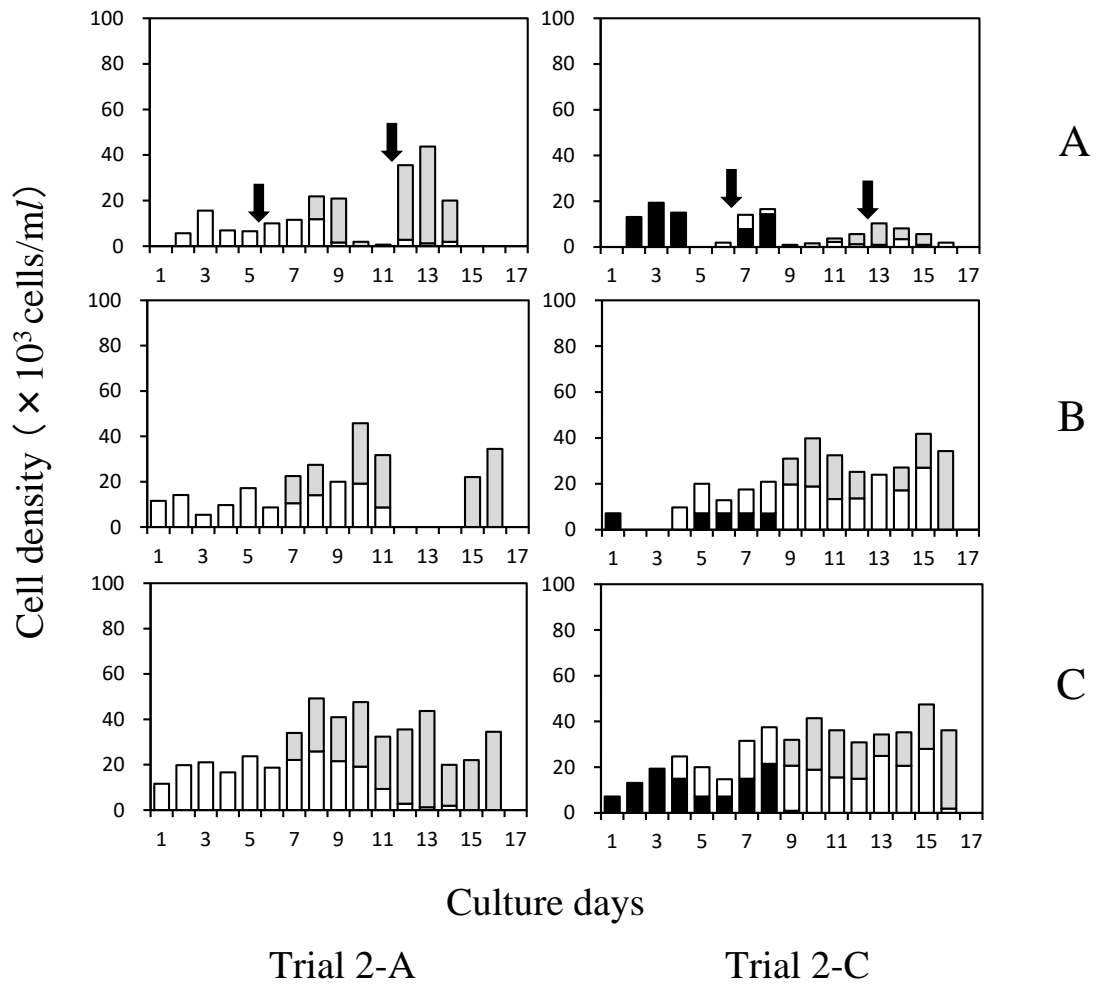


Fig. 46. Daily cell density of the microalgal diets (■ = *Chaetoceros calcitrans*; □ = *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate); ▒ = *Chaetoceros neogracile*) in the rearing tanks of Trial 2. A, Residual microalgal density before feeding; B, Supplemented microalgal density; C, Total microalgal density available (A+B); ↓ = replacement of water tank.

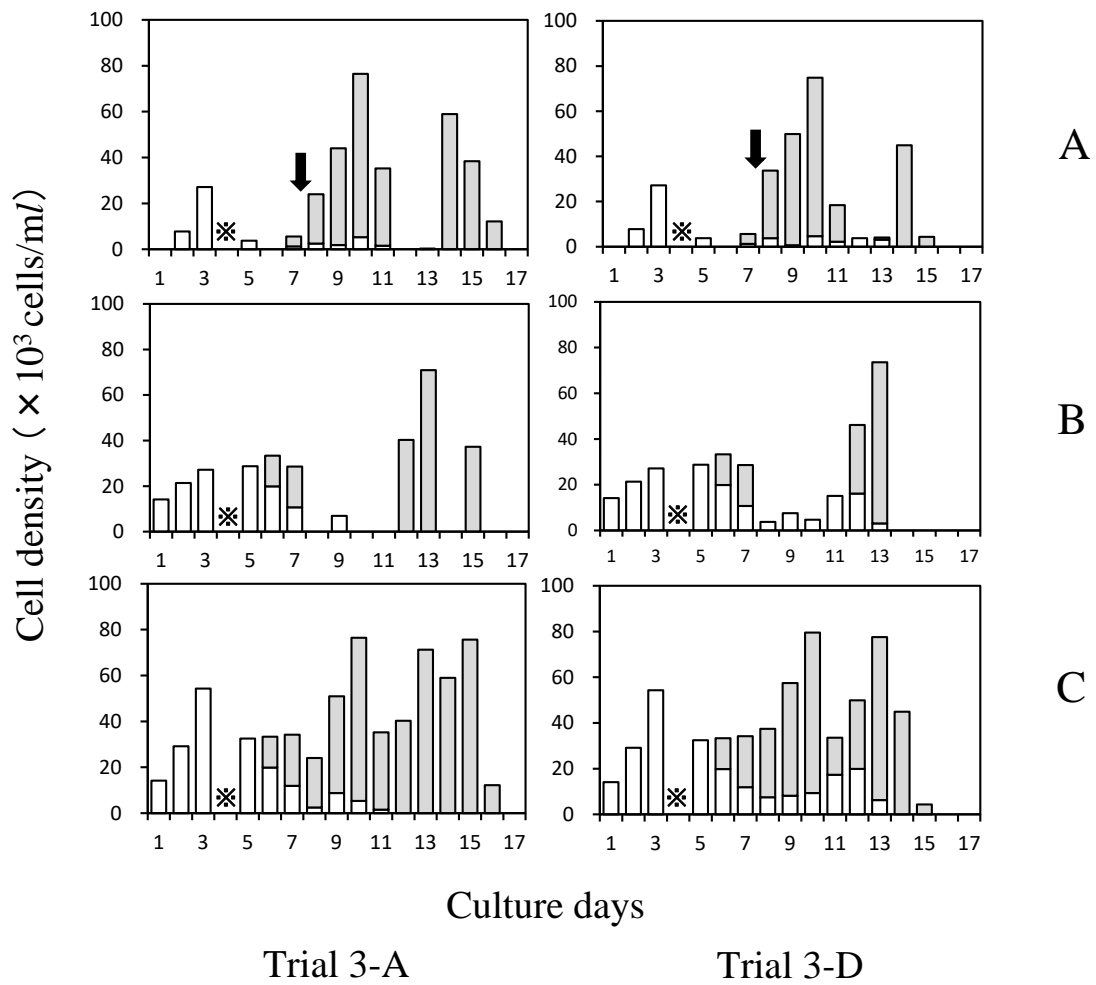


Fig. 47. Daily cell density of the microalgal diets (\square = *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate); \blacksquare = *Chaetoceros neogracile*) in the rearing tanks of Trial 3.

A, Residual microalgal density before feeding; B, Supplemented microalgal density; C, Total microalgal density available (A+B); \downarrow = Replacement of water in tank; * = No data.

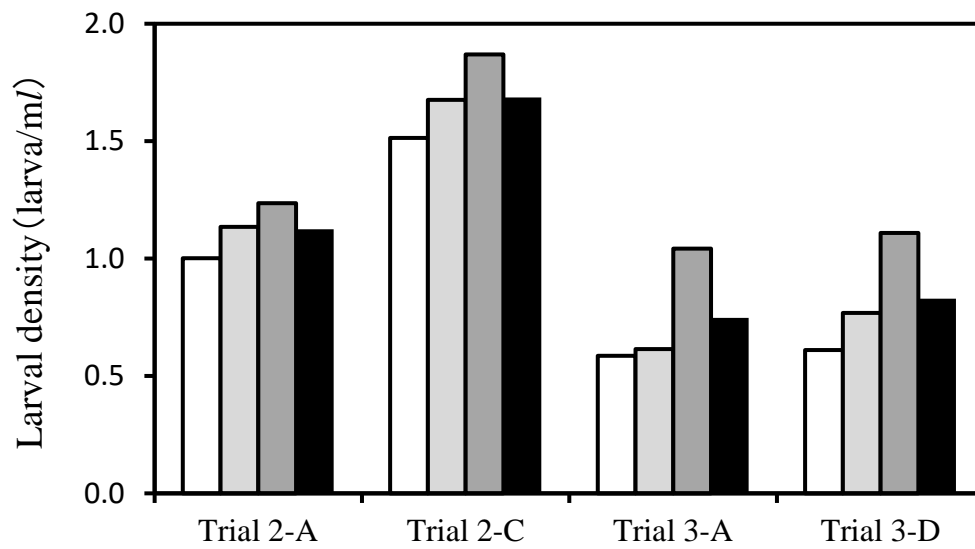


Fig. 48. Final density of the Iwagaki oyster larva reared in tanks (□ = Upper water layer; ■ = Middle water layer; ■ = Lower water layer; ■ = Mean).

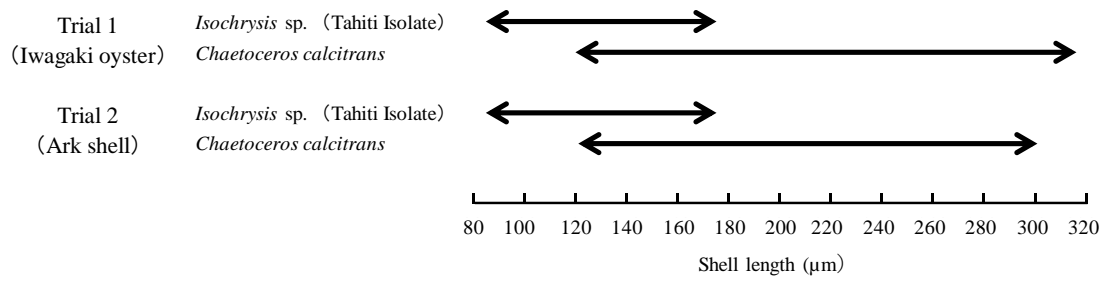


Fig. 49. Feeding regimen for Iwagaki oysters and ark shell larva under each experimental trial.

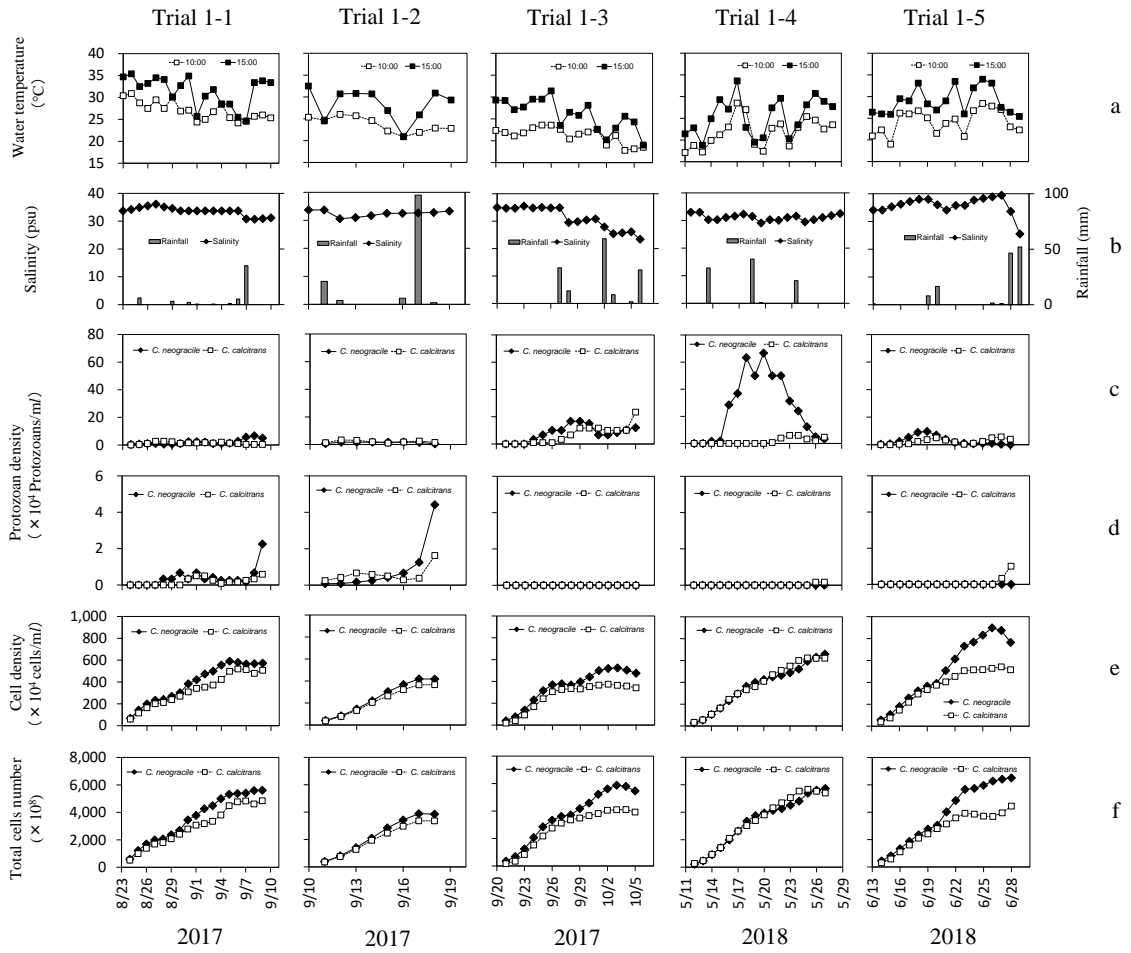


Fig. 50. Water temperature (\square = At 10:00; \blacksquare = At 15:00) (a), salinity (\blacklozenge) and rainfall (\blacksquare) (b), 3-day moving average of the small protozoan density ($< 10 \mu\text{m}$) density (c), large protozoan ($\geq 10 \mu\text{m}$) density (d), 3-day moving average of the microalgal cell density (*Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile*) (e), and total microalgal cells (f) in the 100-l tank in each trial (1-1, 1-2, 1-3, 1-4, and 1-5). All parameters were measured daily from 2017 to 2018. Symbols in (c)–(f) indicate *C. calcitrans* (\square) and *C. neogracile* (\blacklozenge).

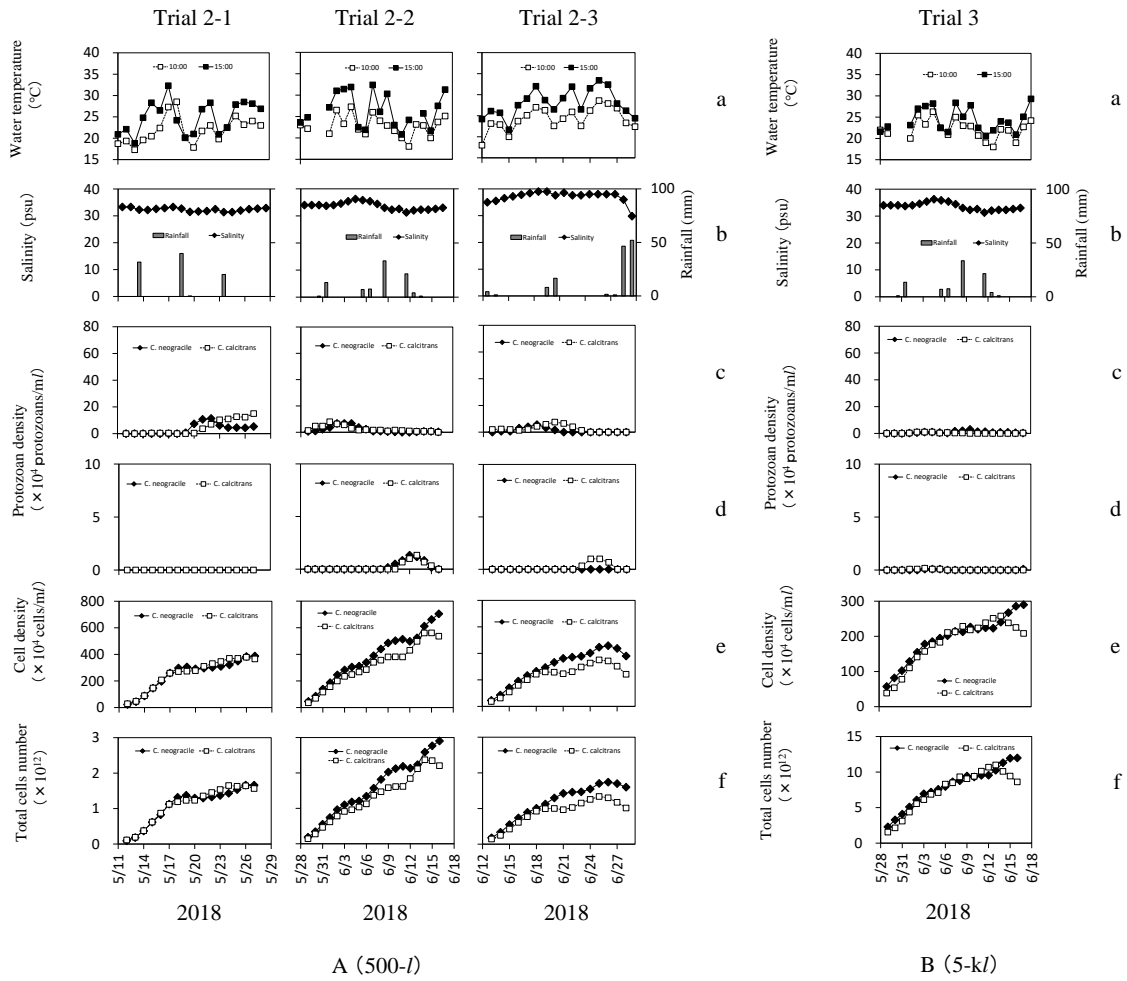


Fig. 51. Water temperature (\square = At 10:00; \blacksquare = At 15:00) (a), salinity (\blacklozenge) and rainfall (\blacksquare) (b), 3-day moving average of the small protozoan ($< 10 \mu\text{m}$) density (c), large protozoan ($\leq 10 \mu\text{m}$) density (d), 3-day moving average of the microalgal (*Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile*) cell density (e) and total microalgal cells (f) in the 500-l tank in each trial 2-1, 2-2, 2-3 (A) and in the 5-kL tank in trial 3 (B). All parameters were measured daily in 2018. Symbols in (c)–(f) indicate *C. calcitrans* (\square) and *C. neogracile* (\blacklozenge).

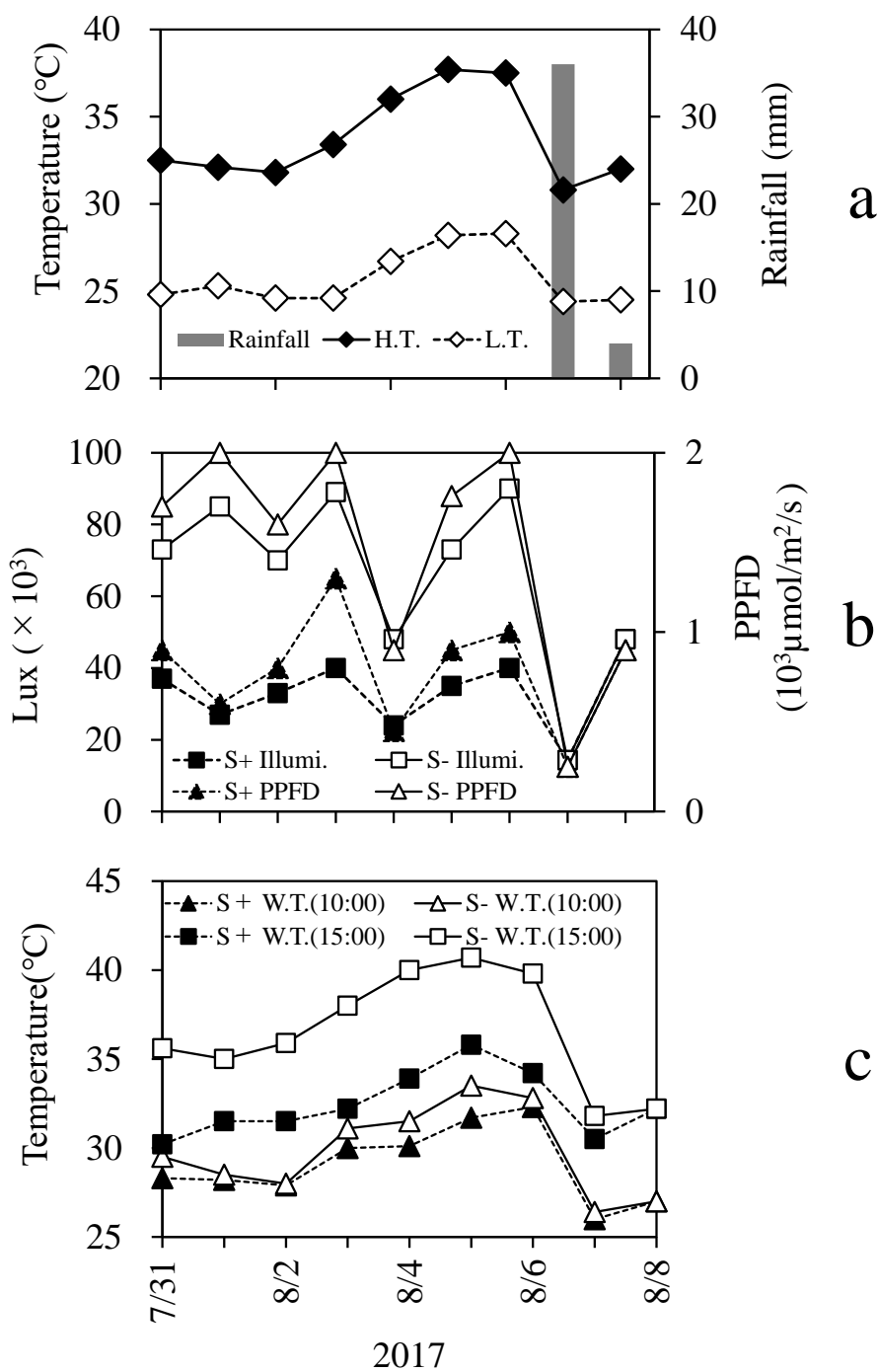


Fig. 52. Daily rainfall (■) and air temperature (◆ = Highest; ◇ = Lowest) (a), daily irradiance measured in lux (□ = Shielding−; ■ = Shielding+) and in photosynthetic photon flux density (PPFD) (△ = Shielding−; ▲ = Shielding+) at 10:00 (b) and daily water temperature at 10:00 (△ = Shielding−; ▲ = Shielding+) and 15:00 (□ = Shielding−; ■ = Shielding+) (c) in 2017.

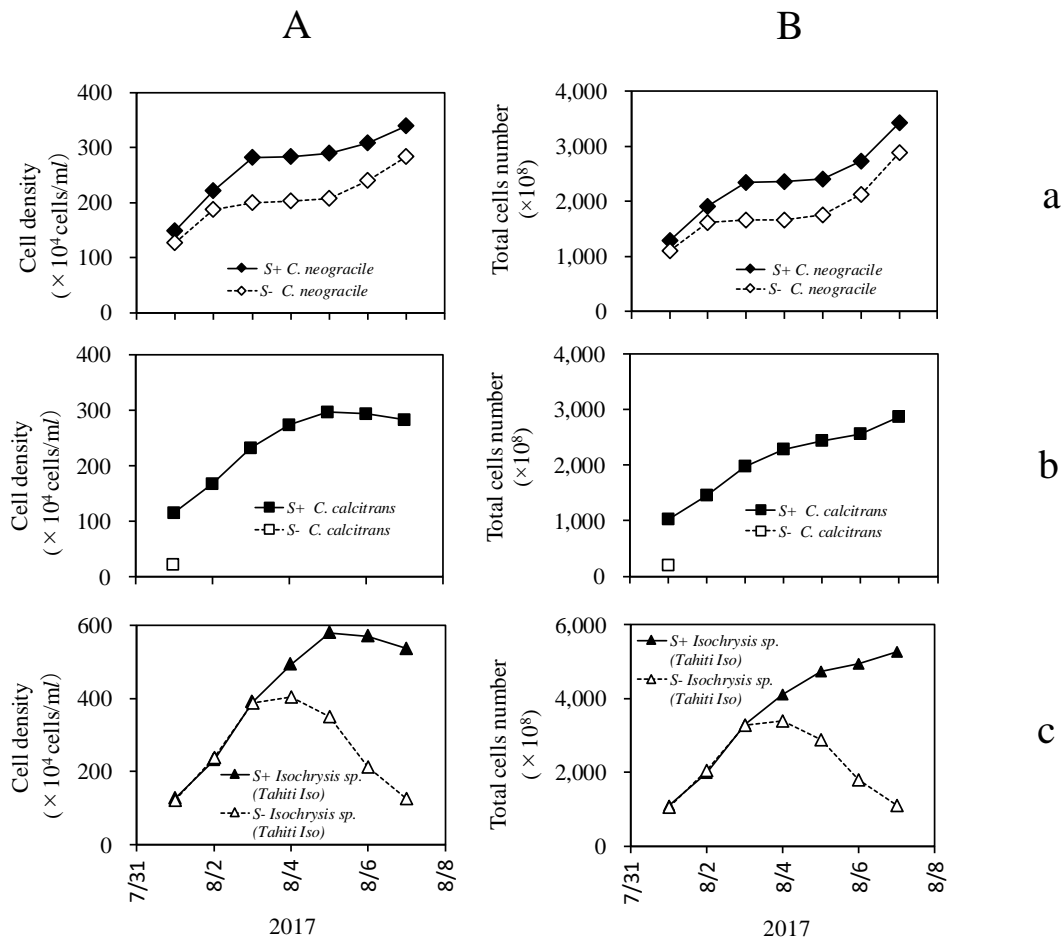


Fig. 53. 3-day moving average of the daily cell density (A) and total cells (B) of *Chaetoceros neogracile* (\diamond , Shielding -; \blacklozenge , Shielding +) (a), *C. calcitrans* (\square , Shielding -; \blacksquare , Shielding +) (b) and *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate) (\triangle , Shielding - ; \blacktriangle , Shielding +) (c) in 2017.

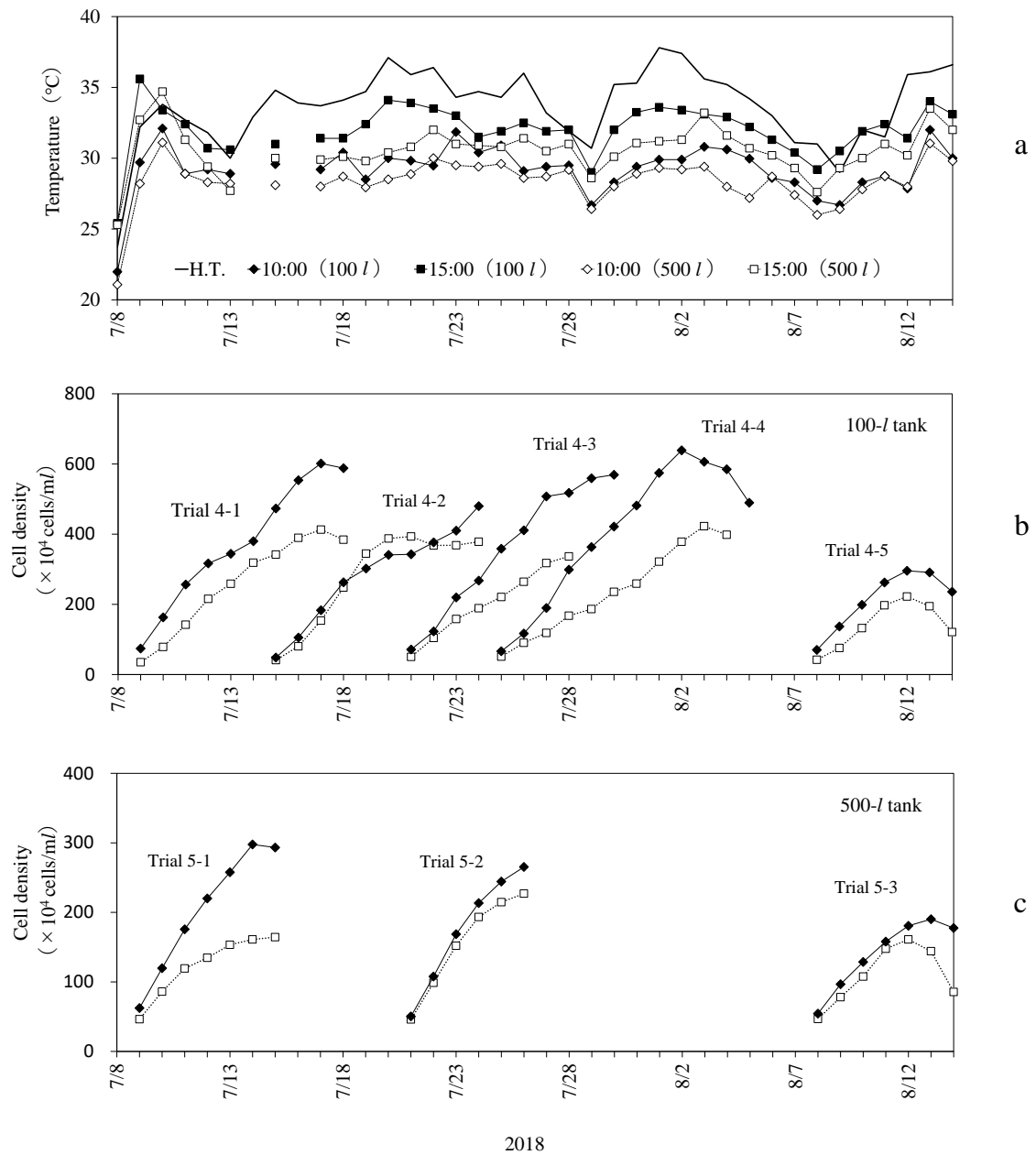


Fig. 54. Highest air temperature (solid line (H T)), water temperature at 10:00 (\blacklozenge = 100-l ; \diamond = 500 l) and 15:00 (\blacksquare = 100-l ; \square = 500-l); (a) 3-day moving average of the cell density in 100-l (b) and in 500-l (c) tanks of *Chaetoceros calcitrans* (\square) and *C. neogracile* (\blacklozenge). All measurements were done daily in 2018.

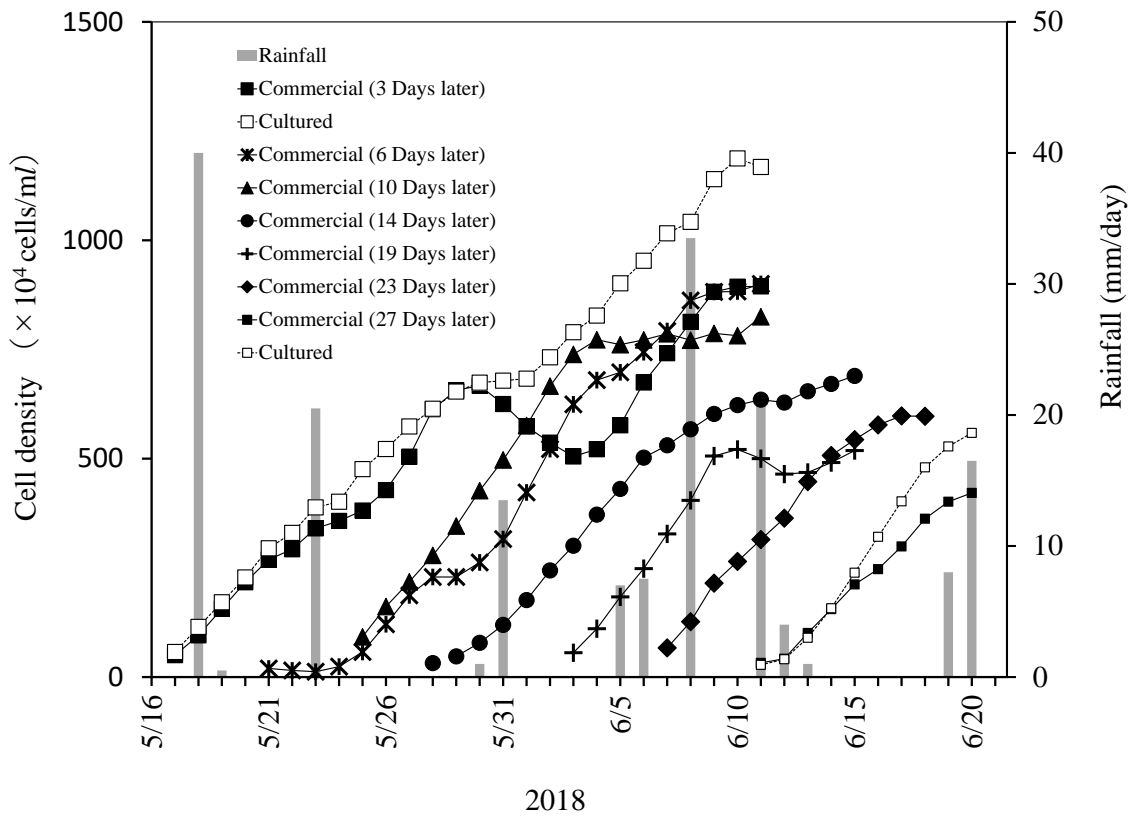


Fig. 55. Daily rainfall and 3-day moving average of the cell density of *Chaetoceros calcitrans* using cultured or commercial inoculum.

The numbers in the brackets show the days of preservation by refrigeration after production in 2018.

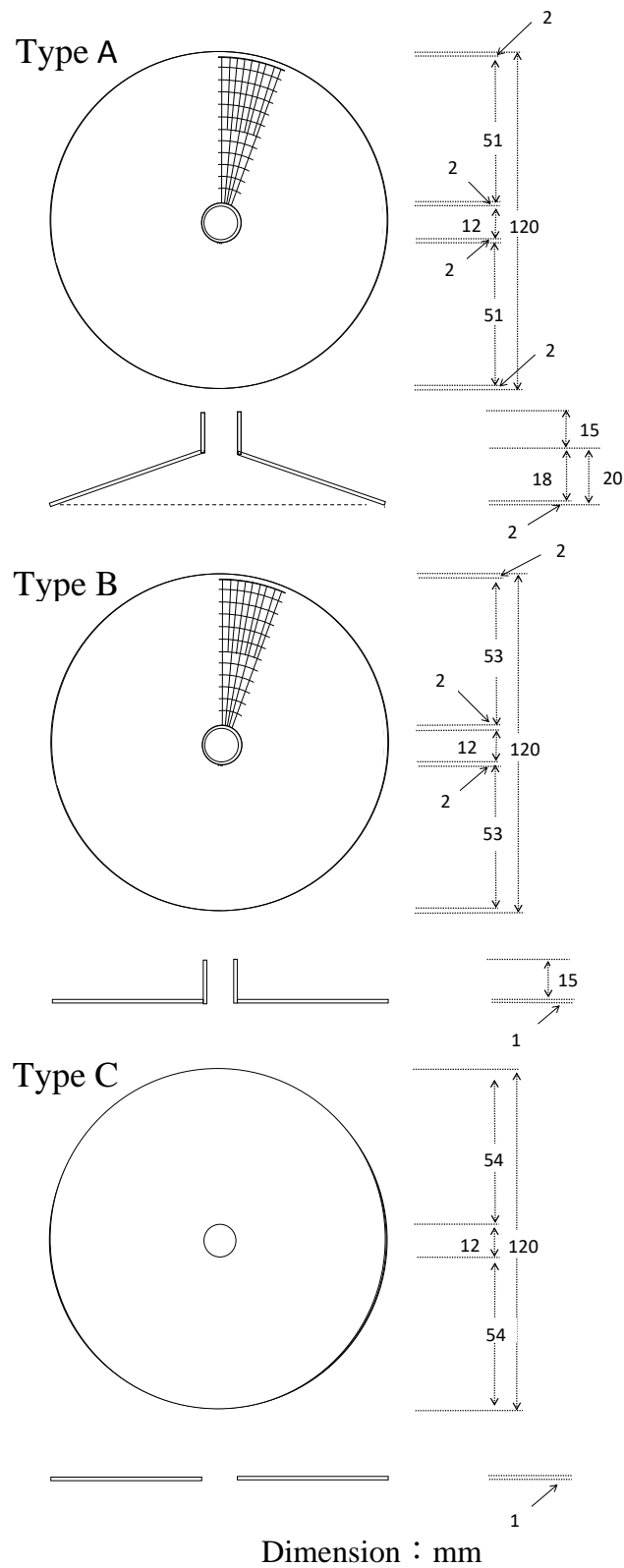


Fig. 56. Plane view (Upper) and cross-sectional view (Lower) of the collector used in each experiment.

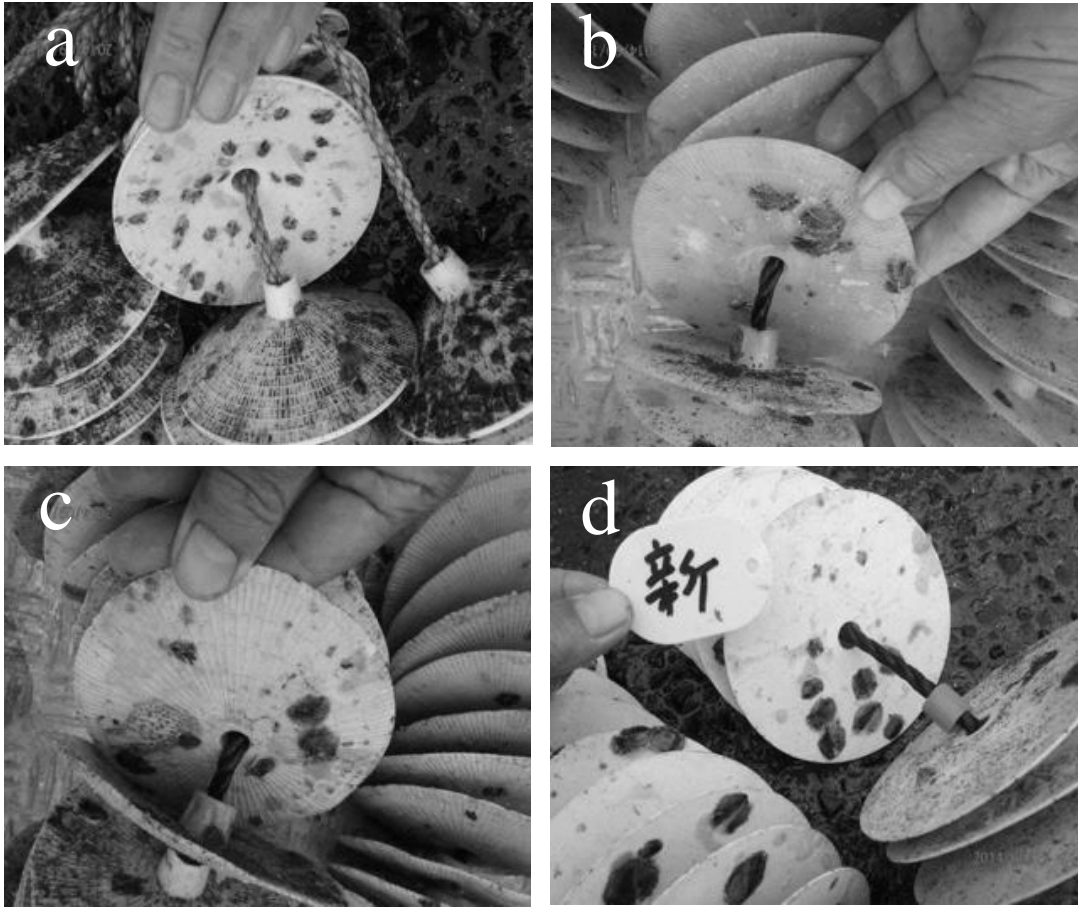


Fig. 57. Collectors [a, A·S + 50% (New type collector); b, B·S -; c, B·S +; d, C·S -] in Experiment 1 on September 18, 2014.

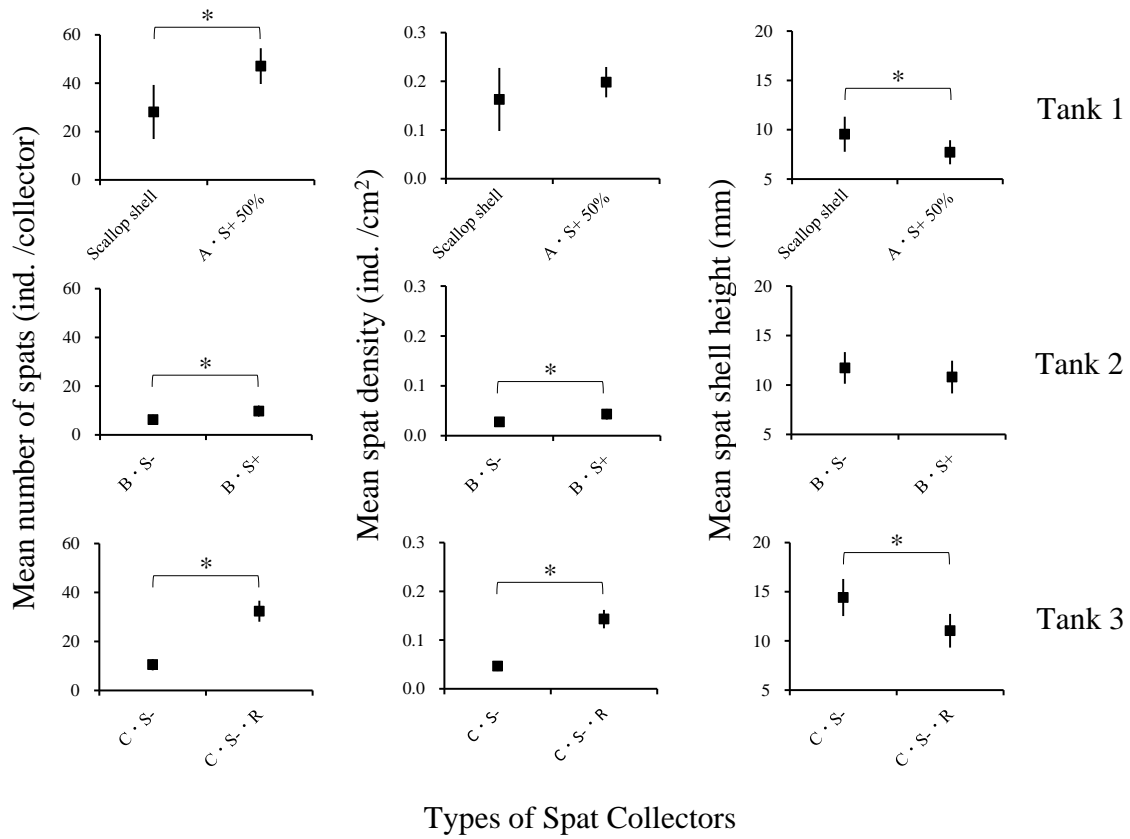


Fig. 58. Mean number of spats, mean spat density, and mean spat shell height in Tanks 1-3 of Experiment 1 on September 18, 2014. Vertical bars indicate SD. Asterisks indicate significant differences (*t*-test, $p < 0.05$).

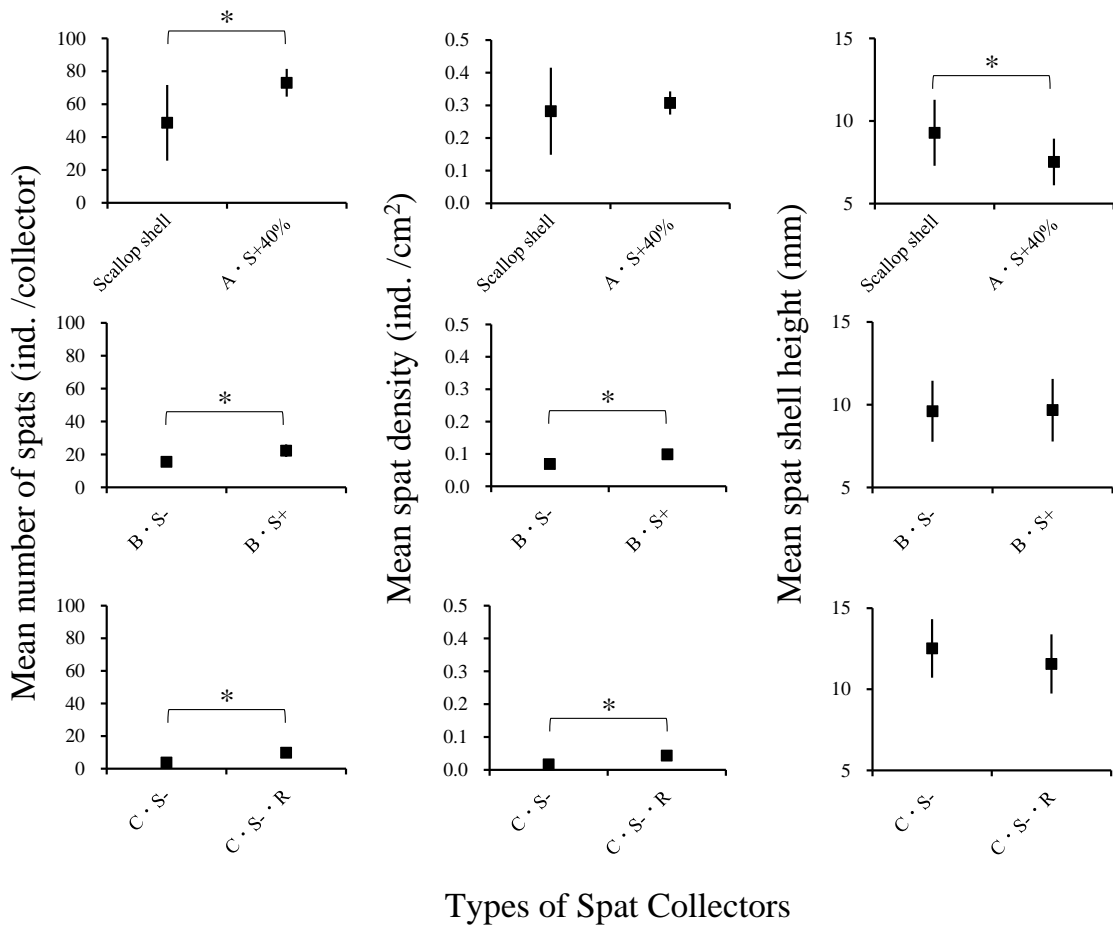


Fig. 59. Mean number of spats, mean spat density, and mean spat shell height in Tank 4 of Experiment 2-1 on November 7, 2014. Vertical bars indicate SD. Asterisks indicate significant differences (*t*-test, *p* < 0.05).

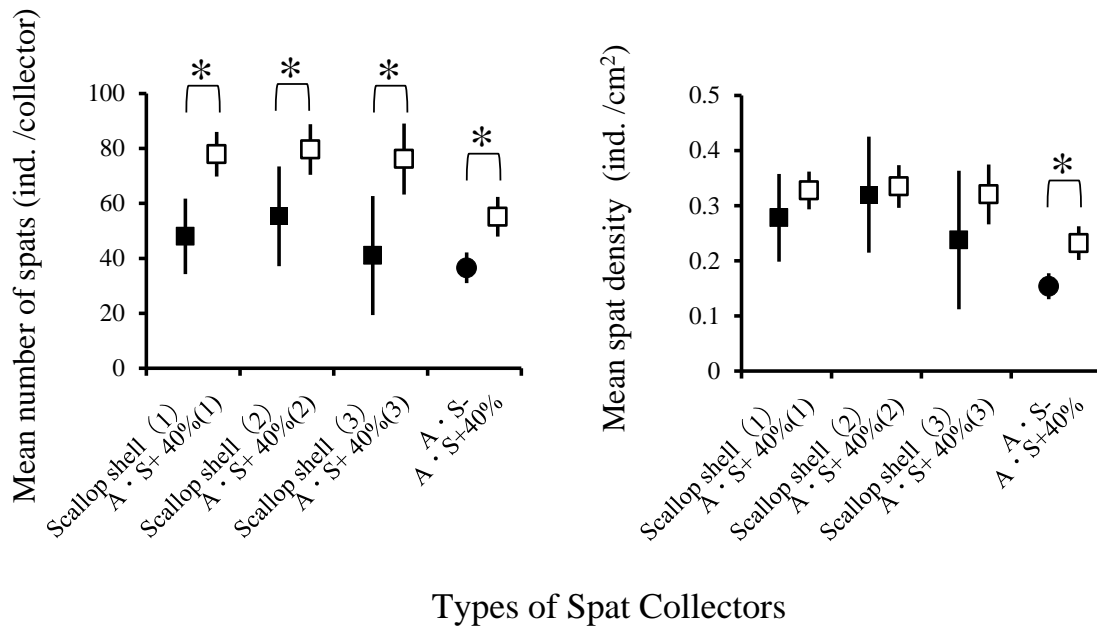


Fig. 60. Mean number of spats and mean spat density [\square = A·S + 40% (New type collector); \blacksquare = Scallop shell collector (conventional type); \bullet = A·S -] in Tank 4 of Experiment 2-2 on November 7, 2014. Vertical bars indicate SD. Asterisks indicate significant differences (*t*-test, $p < 0.05$).

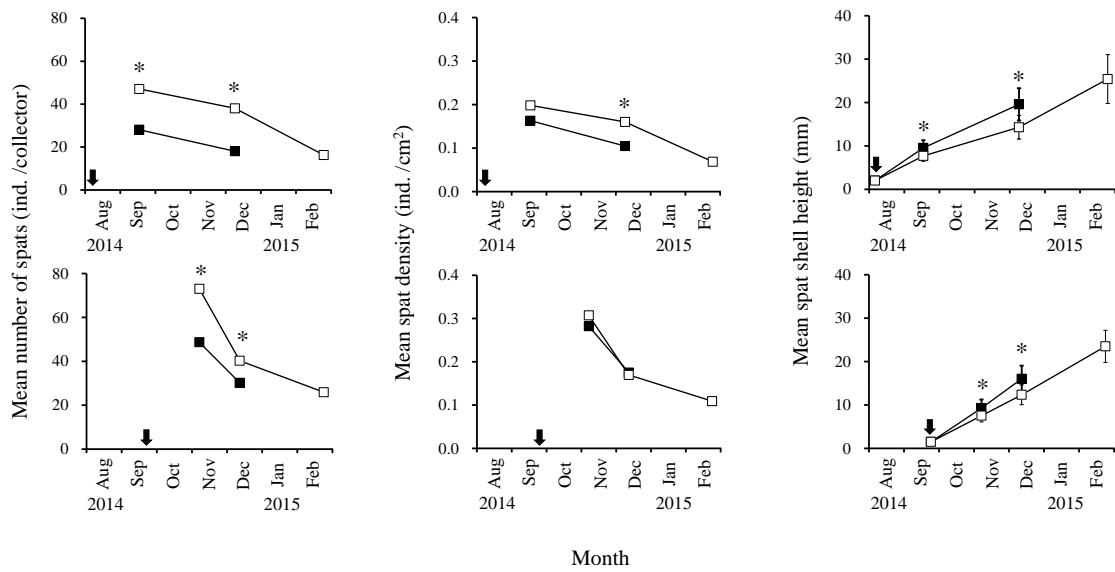


Fig. 61. Seasonal changes in the mean number of spats, mean spat density, and mean spat shell height (\square = New type collector; \blacksquare = Scallop shell collector) in each experiment. Upper = Experiment 1; Lower = Experiment 2-1; \downarrow = start of offshore breeding. Vertical bars indicate SD. Asterisks indicate significant differences (*t*-test, *p* < 0.05).

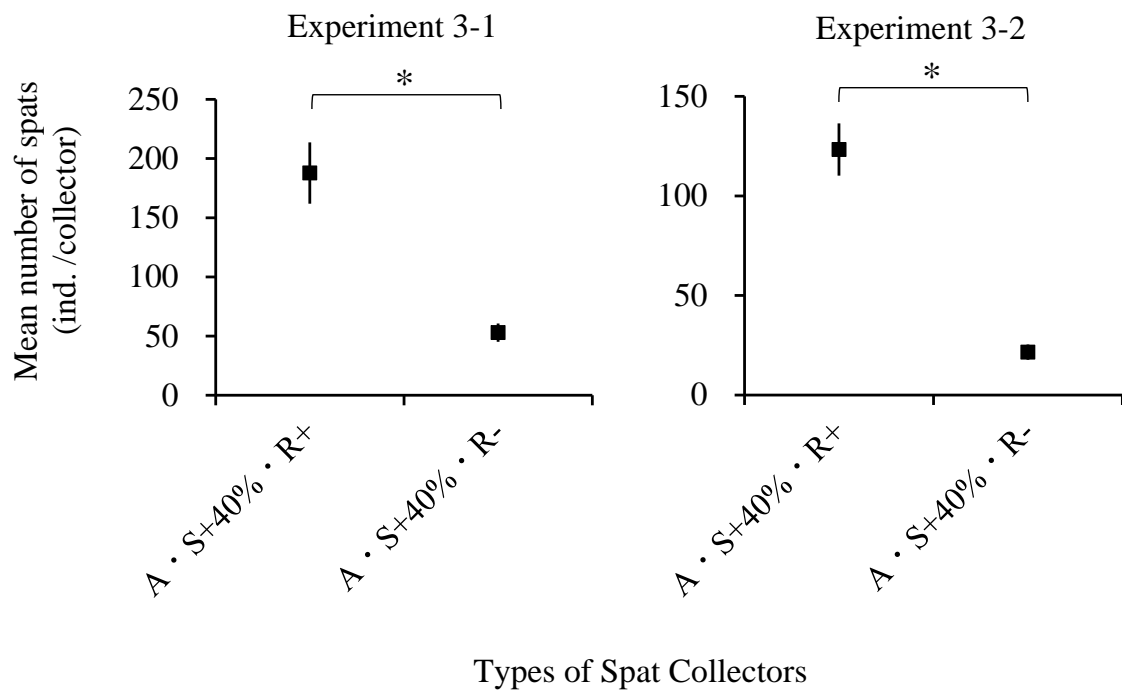


Fig. 62. Mean number of spats in Tank 5 of Experiment 3-1 and Tank 6 of Experiment 3-2 on October 7, 2016. Vertical bars indicate SD. Asterisks indicate significant differences (*t*-test, $p < 0.05$).

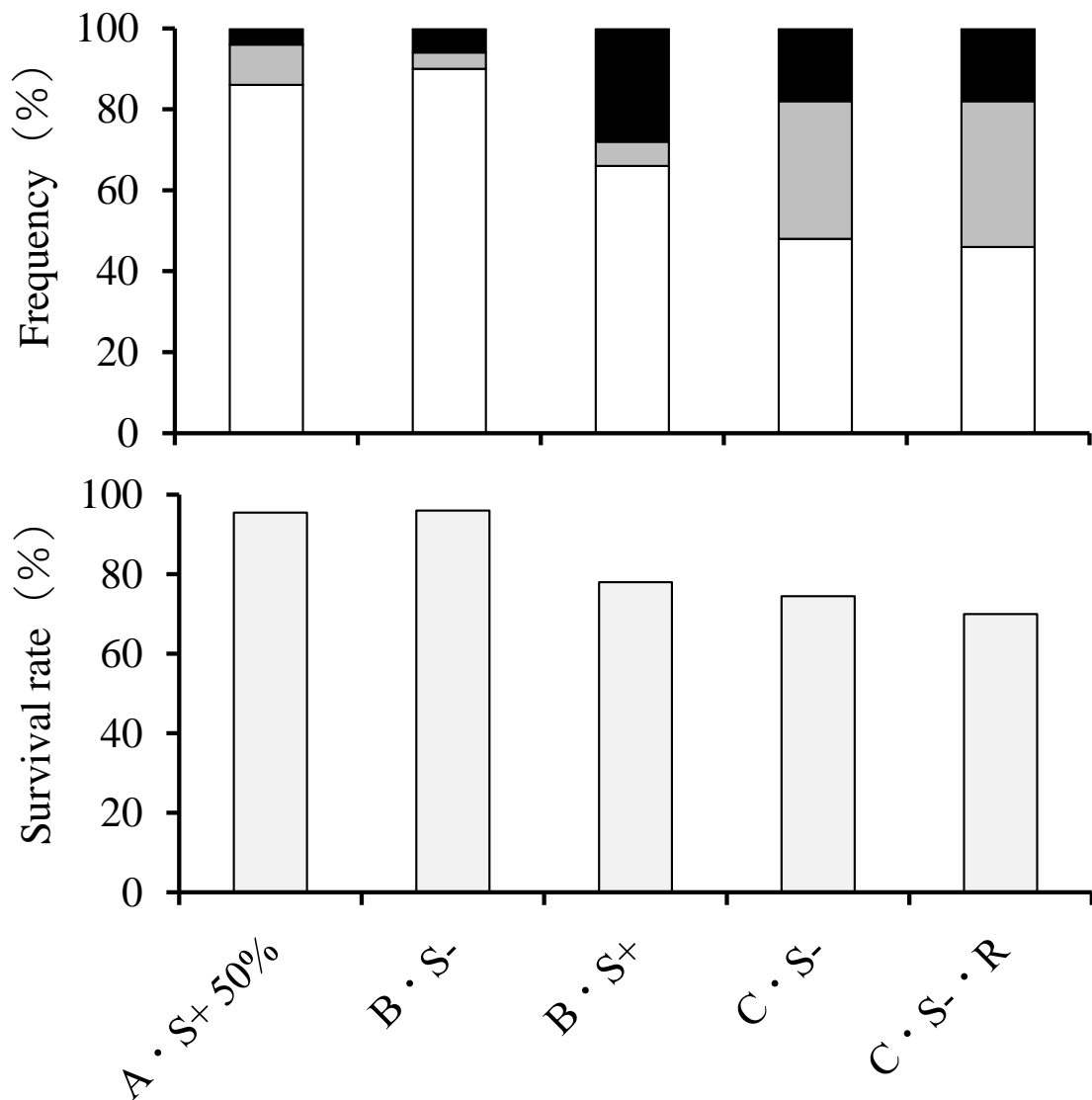


Fig. 63. Appearance frequency of broken shells (□ = Unbroken; ■ = Moderately broken; ■ = Severely broken) in the spat removal work in Experiment 1 on December 9, 2014 and survival rate(■) of the removed spats from each collector during the offshore breeding experiment from December 2014 to February 2015.

Table 1. Number and shell diameter of juvenile Japanese top shells sampled with the artificial collectors in Tako

Date	7.12 – 8.26	8.26 – 9.21	9.21 – 10.19	10.19 – 11.1
Time (days)	41	26	29	13
Number of juveniles	22	7	4	3
Range of shell diameter (μm)	390 ~ 670	270 ~ 940	290 ~ 450	420 ~ 600
Number of juveniles / day	0.54	0.26	0.13	0.23

Table 2. Number and shell diameter of juvenile Japanese top shells sampled with the artificial collectors in Katakai

Date	6.9 – 7.7	7.7 – 8.8	8.8 – 8.31	8.31 – 9.27	9.27 – 11.1
Time (days)	28	32	23	27	35
Number of juveniles	0	0	33	8	※
Range of shell diameter (μm)	–	–	280 ~ 800	330 ~ 790	
Number of juveniles / day	0	0	1.43	0.29	※

Note: ※ = Lost collectors.

Table 3. Comparison of the number of juvenile Japanese top shells sampled with the artificial collectors with attached microorganisms and diatoms (+) and those without attachment (-)

Depth (m)	Layer	Test 1 (8.2 – 8.17)				Test 2 (9.26 – 10.11)			
		Tako		Kataku		Tako		Kataku	
		+	-	+	-	+	-	+	-
5	Lower	24	11	18	14	1	2	5	3
10	Upper	71	26	55	59	36	9	14	2
10	Lower	1	2	9	7	4	1	3	1

Table 4. Sampling information and total surface area covered by the suction sampler

Sampling depth (m)	Total sampling area (m ²)						
	1995			1996			
	28-Jun	19-Jul	4-Aug	24-Aug	14-Sep	11-Oct	22-Jan
< 1				0.25			0.25
1~2	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25
3~4	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25
6				0.25			0.25
8				0.25			0.25

Table 5. Density of age 0 Japanese top shells taken by the suction sampler

Sampling depth (m)	Density (ind. / m ²)						
	1995			1996			
	28-Jun	19-Jul	4-Aug	24-Aug	14-Sep	11-Oct	22-Jan
Live shell							
< 1				312			4
1~2	0	96	176	120	112	94	0
3~4	0	32	96	120	128	177	0
6				104			32
8				56			16
Dead shell							
< 1				88			0
1~2	0	32	96	88	16	14	0
3~4	0	16	88	72	32	152	0
6				136			16
8				88			16

Note: Data is available only for age 0 juveniles.

Table 6. Mean shell diameter of age 0 Japanese top shells taken by the suction sampler

Sampling depth (m)	Mean shell diameter \pm SD (μm)						
	1995			1996			
	28-Jun	19-Jul	4-Aug	24-Aug	14-Sep	11-Oct	22-Jan
Live shell							
< 1				626 \pm 174			1,100
1~2	-	467 \pm 34	564 \pm 193	656 \pm 287	669 \pm 336	622 \pm 353	-
3~4	-	468 \pm 55	652 \pm 176	618 \pm 259	603 \pm 377	727 \pm 417	-
6				741 \pm 257			1,995 \pm 637
8				569 \pm 230			1,615 \pm 291
Dead shell							
< 1				423 \pm 180			-
1~2	-	390 \pm 102	559 \pm 125	495 \pm 151	610 \pm 330	618 \pm 196	-
3~4	-	392 \pm 75	421 \pm 180	536 \pm 187	460 \pm 140	453 \pm 138	-
6				556 \pm 202			1,433 \pm 513
8				538 \pm 191			1,850 \pm 624

Note: - = Not present.

Table 7-1. Sampling data of the 1990 juvenile Japanese top shell cohorts taken by the suction sampler

Year class 1990								
	TN (ind.)	NQ+ (ind.)	NQ- (ind.)	AQ (m ²)	Density (ind./m ²)	MDH (mm)	MaxDH (mm)	MinDH (mm)
1990								
Nov	-	-	-	-	-	-	-	-
Dec	-	-	-	-	-	-	-	-
1991								
Jan	-	-	-	-	-	-	-	-
Feb	-	-	-	-	-	-	-	-
Mar	-	-	-	-	-	-	-	-
Apr	-	-	-	-	-	-	-	-
15-May	4	4	-	0.2	20.0	3.40	4.30	2.60
Jun	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Jul	6	6	-	1.0	6.0	4.00	4.60	3.50
Aug	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Sep	3	3	-	0.6	5.0	7.30	9.70	5.00
Oct	-	-	-	-	-	-	-	-
22-Nov	3	3	-	0.8	3.8	9.70	11.30	8.20

Notes: TN = Total number of juveniles; NQ+ = Total number of sampled juveniles using the quadrat method; NQ- = Total number of sampled juveniles without using the quadrat method; AQ = Total surface area of sampling using the quadrat method; Density = Mean density of sampled juveniles; MDH = Mean shell diameter or shell height of juveniles (mm); Max DH = Maximum shell diameter or shell height of juveniles (mm); Min DH = Minimum shell diameter or shell height of juveniles (mm); — = No investigation.

Table 7-2. Sampling data of the 1991 juvenile Japanese top shell cohorts taken by the suction sampler

Year class 1991								
	TN (ind.)	NQ+ (ind.)	NQ- (ind.)	AQ (m ²)	Density (ind./m ²)	MDH (mm)	MaxDH (mm)	MinDH (mm)
1991								
22-Nov	5	-	5	-	-	1.40	2.70	0.40
15-Dec	6	-	6	-	-	2.20	3.80	1.10
1992								
Jan	-	-	-	-	-	-	-	-
Feb	-	-	-	-	-	-	-	-
Mar	-	-	-	-	-	-	-	-
27-Apr	15	3	12	0.3	10.0	4.30	8.60	2.20
May	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Jun	40	4	36	0.4	10.0	4.80	7.70	2.60
Jul	-	-	-	-	-	-	-	-
11-Aug	12	-	12	-	-	9.50	13.30	4.70
2-Sep	19	19	-	3.0	6.3	10.10	15.50	4.70
Oct	-	-	-	-	-	-	-	-
6-Nov	4	4	-	4.0	1.0	13.60	16.30	10.40

Notes: Abbreviations are the same as in Table 7-1. — = No investigation.

Table 7-3. Sampling data of the 1992 juvenile Japanese top shell cohorts taken by the suction sampler

Year class 1992								
	TN (ind.)	NQ+ (ind.)	NQ- (ind.)	AQ (m ²)	Density (ind./m ²)	MDH (mm)	MaxDH (mm)	MinDH (mm)
1992								
6-Nov	16	-	16	-	-	1.50	2.50	0.40
Dec	-	-	-	-	-	-	-	-
1993								
Jan	-	-	-	-	-	-	-	-
Feb	-	-	-	-	-	-	-	-
Mar	-	-	-	-	-	-	-	-
Apr	-	-	-	-	-	-	-	-
7-May	11	11	-	0.5	22.0	3.70	5.20	2.30
17-Jun	26	26	-	1.2	21.7	4.90	10.40	2.70
Jul	-	-	-	-	-	-	-	-
5-Aug	9	9	-	1.0	9.0	7.20	9.40	5.90
26-Aug	4	4	-	1.0	4.0	6.20	9.60	4.20
20-Sep	2	2	-	2.0	1.0	10.80	12.30	9.20
5-Oct	2	-	2	-	-	9.70	11.40	8.00
16-Nov	2	-	2	-	-	10.90	11.40	10.40

Notes: Abbreviations are the same as in Table 7-1. — = No investigation.

Table 7-4. Sampling data of the 1993 juvenile Japanese top shell cohorts taken by the suction sampler

Year class 1993								
	TN (ind.)	NQ+ (ind.)	NQ- (ind.)	AQ (m ²)	Density (ind./m ²)	MDH (mm)	MaxDH (mm)	MinDH (mm)
1993								
17-Jun	0	-	0	-	-	-	-	-
5-Aug	0	-	0	-	-	-	-	-
26-Aug	3	-	3	-	-	0.38	0.40	0.36
20-Sep	19	-	19	-	-	0.63	1.30	0.40
9-Oct	9	-	9	-	-	0.65	1.10	0.43
16-Nov	2	-	2	-	-	0.87	0.97	0.76
8-Dec	6	-	6	-	-	1.51	2.63	1.13
1994								
Jan	-	-	-	-	-	-	-	-
Feb	-	-	-	-	-	-	-	-
Mar	-	-	-	-	-	-	-	-
Apr	-	-	-	-	-	-	-	-
13-May	5	5	-	0.75	6.7	3.00	3.80	2.30
9-Jun	8	8	-	1.0	8.0	3.95	4.80	2.70
7-Jul	1	1	-	0.5	2.0	4.30	-	-
8-Aug	6	5	1	1.0	5.0	4.93	5.80	4.00
1-Sep	3	3	-	1.0	3.0	7.53	8.40	6.70
9-Nov	0	0	-	1.5	0.0			

Notes: Abbreviations are the same as in Table 7-1. — = No investigation.

Table 7-5. Sampling data of the 1994 juvenile Japanese top shell cohorts taken by the suction sampler

Year class 1994								
	TN	NQ+	NQ-	AQ	Density	MDH	MaxDH	MinDH
	(ind.)	(ind.)	(ind.)	(m ²)	(ind./m ²)	(mm)	(mm)	(mm)
1994								
7-Jul-20	0	0	-	1.0	0.0			
8-Aug	13	13	-	0.75	17.3	0.58	1.00	0.28
1-Sep	140	140	-	0.75	186.7	0.46	1.00	0.27
9-Nov	108	108	-	1.5	72.0	1.30	2.50	0.56
Dec	-	-	-	-	-	-	-	-
1995								
Jan	-	-	-	-	-	-	-	-
Feb	-	-	-	-	-	-	-	-
7-Mar	19	19	-	1.5	12.7	2.37	4.40	1.30
18-Apr	26	7	19	1.5	4.7	2.83	3.90	1.70
May	-	-	-	-	-	-	-	-
28-Jun	6	3	3	0.5	6.0	4.10	5.50	3.00
19-Jul	6	6	-	1.0	6.0	7.89	9.90	5.50
4-Aug	1	1	-	0.5	2.0	5.70	-	-
24-Aug	5	4	1	1.0	4.0	7.10	9.40	4.70
14-Sep	0	0	-	0.5	0.0			
11-Oct	3	3	-	1.5	2.0	11.60	13.50	10.40
Nov	-	-	-	-	-	-	-	-

Notes: Abbreviations are the same as in Table 7-1. — = No investigation.

Table 8-1. Different parameters in the outdoor cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile* in Trial 1 (100-l tank) conducted from 2017 to 2018

	Trial 1-1 (8/23~9/10, 2017)		Trial 1-2 (9/10~9/19, 2017)		Trial 1-3 (9/20~10/6, 2017)		Trial 1-4 (5/11~5/28, 2018)		Trial 1-5 (6/13~6/29, 2018)	
	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>
Mean water temperature at 10:00 (°C) (Range)	27.1 (24.2~30.9)		23.7 (20.9~26.0)		21.2 (17.8~23.6)		21.8 (17.1~28.5)		24.3 (19.0~28.4)	
Mean water temperature at 15:00 (°C) (Range)	31.5 (24.6~35.4)		28.3 (20.9~32.5)		26 (19.0~31.4)		25.4 (18.8~33.6)		28.9 (25.4~34.0)	
Mean daily salinity (psu) (Range)	33.5 (30.7~36.1)		32.4 (31.0~33.7)		31.1 (23.4~35.5)		31.1 (29.5~33.3)		35.8 (25.5~39.4)	
Initial cell density × 10 ⁴ cells/ml *	22.0		21.0		24.0		23.0		26.0	
Maximum of small protozoan density × 10 ⁴ cells/ml *	2.7	6.7	3.3	1.8	23.3	16.7	6.0	66.3	5.7	9.7
Maximum of large protozoan density × 10 ⁶ cells/ml * (Class)	0.6 (Dinoflagellate)	2.3 (Dinoflagellate)	1.6 (Dinoflagellate)	4.4 (Dinoflagellate)	0	0	0.2 (Polyhymenophora)	0	1.0 (Polyhymenophora)	0
Maximum cell density × 10 ⁴ cells/ml *	519	591	366	419	375	524	623	659	541	898
Culture days in the maximum cell density*	14	13	7	7	12	13	14	16	14	13
Maximum total cells number × 10 ⁸ *	4,849	5,614	3,369	3,892	4,106	5,878	5,670	5,729	4,450	6,510
Culture days in the maximum total cells number*	17	17	7	7	14	13	14	16	15	15

Note: * = 3-day moving average.

Table 8-2. Different parameters in the outdoor cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile* in Trial 2 (500-l tank) and Trial 3 (5-kI tank) conducted in 2018

	Trial 2-1 (5/11~5/28)		Trial 2-2 (5/28~6/17)		Trial 2-3 (6/12~6/29)		Trial 3 (5/28~6/17)	
	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>
Mean water temperature at 10:00 (°C) (Range)	21.9 (17.3~28.5)		22.8 (18.0~27.3)		24.3 (18.0~28.6)		22.0 (18.0~26.3)	
Mean water temperature at 15:00 (°C) (Range)	24.9 (18.3~32.5)		26.5 (20.8~32.4)		28.0 (21.7~33.4)		24.1 (20.6~28.4)	
Mean daily salinity (psu) (Range)	32.4 (31.4~33.3)		33.6 (31.3~36.2)		37.1 (29.8~39.0)		33.7 (31.3~36.2)	
Initial cell density × 10 ⁴ cells/ml *	12.0		19.0		20.0		30.0	
Maximum of small protozoan density × 10 ⁴ cells/ml *	15.0	11.3	8	6.7	7.5	5.7	1.0	3.0
Maximum of large protozoan density × 10 ⁴ cells/ml * (Class)	0	0	1.3 (Prasinophyceae)	1.3	1	0	0.2 (Polyhymenophora)	0.1
Maximum cell density × 10 ⁴ cells/ml *	379	388	561	704	351	458	258	290
Culture days in the maximum cell density*	15	16	17	19	13	14	16	19
Maximum total cells number × 10 ¹² *	1.64	1.66	2.37	2.9	1.34	1.75	11	11.9
Culture days in the maximum total cells number*	15	15	17	19	13	14	16	19

Note: * = 3-day moving average.

Table 9-1. Different parameters in the outdoor cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile* in Trial 4 (100-*l* tank) during which a shade curtain was used

	Trial 4-1 (7/8~7/19)		Trial 4-2 (7/14~7/25)		Trial 4-3 (7/20~7/30)		Trial 4-4 (7/24~8/6)		Trial 4-5 (8/7~8/15)	
	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>
Mean water temperature at 10:00 (°C) (Range)	29.6 (28.9~32.1)		29.8 (28.5~30.4)		29.6 (28.3~31.7)		29.6 (28.3~30.9)		28.4 (26.7~30.2)	
Mean water temperature at 15:00 (°C) (Range)	31.7 (30.6~33.4)		32.3 (30.6~34.1)		32.3 (29.0~34.1)		32.3 (29.0~33.6)		31.6 (29.2~34.0)	
Initial cell density × 10 ⁴ cells/ml *	15.0		15.0		15.0		15.0		19.0	
Maximum cell density × 10 ⁴ cells/ml *	413	602	393	480	337	569	423	639	222	296
Culture days in the maximum cell density*	9	9	7	10	8	10	10	9	5	5

Note: * = 3-day moving average.

Table 9-2. Different parameters in the outdoor cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile* in Trial 5 (500-l tank) during which a shade curtain was used

	Trial 5-1 (7/8~7/16)		Trial 5-2 (7/20~7/27)		Trial 5-3 (8/7~8/15)	
	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. neogracile</i>
Mean water temperature at 10:00 (°C) (Range)	28.8 (28.1~31.1)	29.1 (28.5~30.0)	28.2 (26.0~31.0)			
Mean water temperature at 15:00 (°C) (Range)	30.2 (25.3~34.7)	31.0 (30.4~32.0)	30.4 (27.6~33.5)			
Initial cell density × 10 ⁴ cells/ml*	15.0	15.0	17.0			
Maximum cell density × 10 ⁴ cells/ml*	164	227	161	265	190	
Culture days in the maximum cell density*	7	6	6	6	6	6

Note: * = 3-day moving average.

Table 10-1. Different parameters in the 100-l outdoor tank cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile*

	<i>C. calcitrans</i>			<i>C. neogracile</i>						
	W.T. (°C) at 10:00 ¹ (Range)	W.T. (°C) at 15:00 ¹ (Range)	Total no. of cultivations	Initial density ² (Range)	Target achievement rate (%) ³	Culture days ⁴ (Range)	Total no. of cultivations	Initial density ² (Range)	Target achievement rate (%) ³	Culture days ⁴ (Range)
May to June, 2018	23.3 (18.4~28.5)	27.1 (18.8~34.0)	33	22.1 (10~30)	100.0	5.6 ± 1.0* (4~8)	24	22.0 (11~30)	95.8	5.0 ± 1.1 (4~7)
July to August, 2018 ⁵	28.9 (23.4~30.9)	31.7 (22.4~34.1)	19	23.6 (15~30)	84.2	6.5 ± 1.4* (4~8)	26	25.4 (15~29)	96.2	5.4 ± 1.1 (4~8)
September, 2017	23.7 (20.4~28.5)	28.7 (20.9~33.8)	12	20.5 (19~22)	100.0	5.8 ± 0.8* (5~7)	12	23.7 (21~28)	100.0	5.0 ± 0.7 (4~6)

1, Mean water temperature of the tank.

2, Mean initial cell density ($\times 10^4$ cells/ml) of each culture.

3, Target achievement rate = the number of cultures that reached a density of 3 million cells per ml / total number of cultures.

4, Mean \pm SD number of days that cultures reached a density of 3 million cells per ml.

5, Culturing with a shade curtain.

*, Indicate significant differences between *C. calcitrans* and *C. neogracile* (*t*-test, $p < 0.05$).

Table 10-2. Different parameters in the 500-l outdoor tank cultures of *Chaetoceros calcitrans* and *C. neogracile*

	<i>C. calcitrans</i>				<i>C. neogracile</i>					
	W.T. (°C) at 10:00 ¹ (Range)	W.T. (°C) at 15:00 ¹ (Range)	Total no. of cultivations	Initial density ² (Range)	Target achievement rate (%) ³	Culture days ⁴ (Range)	Total no. of cultivations	Initial density ² (Range)	Target achievement rate (%) ³	Culture days ⁴ (Range)
May to June, 2018	23.7 (19.6~28.6)	27.0 (18.9~33.4)	11	18.3 (10~28)	90.9	5.8 ± 1.0 (5~8)	12	17.8 (13~25)	91.7	5.7 ± 0.5 (5~6)
July to August, 2018 ⁵	28.3 (23.8~29.6)	30.1 (22.2~33.0)	17	22.8 (14~30)	76.5	6.2 ± 1.5* (5~9)	35	22.6 (11~27)	94.3	5.1 ± 1.2 (4~8)

1, Mean water temperature of the tank.

2, Mean initial cell density ($\times 10^4$ cells/ml) of each culture.

3, Target achievement rate = the number of cultures that reached a density of 2 million cells per ml / total number of cultures.

4, Mean \pm SD number of days that culture reached a density of 2 million cells per ml.

5, Culturing with a shade curtain.

*, Indicate significant differences between *C. calcitrans* and *C. neogracile* (*t*-test, $p < 0.05$).

Table 11. Different parameters in the the trials for the mass-production of settlement-stage larva of Iwagaki oyster and ark shell using *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate) and *Chaetoceros calcitrans* in 2017

	Iwagaki oyster	Ark shell	
	Trial 1 (7/9~7/23)	Trial 2-1 (6/17~6/30)	Trial 2-2 (6/17~6/30)
Tank volume (kl)	3.0	5.0	5.0
Water temperature (°C)	26.2~29.0	22.1~25.0	22.1~25.0
Salinity (psu)	33.7~34.1	22.7~23.5	22.7~23.5
Start larval density (ind./ml)	2.6	3.6	4.1
Final larval density (ind./ml)	1.3	1.4	2.1
Mean shell length in the last day (µm)	307 ± 26	238 ± 30	209 ± 25
Final survival rate (%)	48.6	38.9	51.2
Rearing days	15	14	14

Table 12. Types of spat collector used in Experiment 1

Collector type	Experiment	Tank No	Shape of collector	MRSP (%)	SPS	Reuse
Scallop shell (Conventional collector)	1	1				
A · S + 50% (New type collector)	1	1	A	50	+	-
B · S -	1	2	B	-	+	-
B · S +	1	2	B	Unknown	+	-
C · S -	1	3	C	-	-	-
C · S - · R	1	3	C	-	-	+

Notes: MRSP = Mixing rate of shell powder into a collector; SPS = Surface projection structure. A = Type A (umbrella-shaped collector) shown in Fig. 56; B and C = Type B, C (flat collector) shown in Fig. 56; S+ = Mixing shell powder into a collector; S- = Not mixing shell powder into a collector; R = Reusing.

Table 13. Types of spat collector used in Experiment 2

Collector type	Experiment	Tank No	Shape of collector	MRSP (%)	SPS	Reuse
Scallop shell (Conventional collector)	2-1, 2-2	4				
A · S + 40% (New type collector)	2-1, 2-2	4	A	40	+	-
A · S -	2-2	4	A	-	+	-
B · S -	2-1	4	B	-	+	-
B · S +	2-1	4	B	Unknown	+	-
C · S -	2-1	4	C	-	-	-
C · S - · R	2-1	4	C	-	-	+

Notes: Abbreviations are the same as in Table 12.

Table 14. Types of spat collector used in Experiment 3

Collector type	Experiment	Tank No	Shape of collector	MRSP (%)	SPS	Reuse
A · S + 40% (New type collector)	3-1	5	A	40	+	-
A · S + 40% (New type collector) · R	3-1	5	A	40	+	+ a
A · S + 40% (New type collector)	3-2	6	A	40	+	-
A · S + 40% (New type collector) · R	3-2	6	A	40	+	+ b

Notes: + a = used in the Iwagaki oyster seed production; + b = suspended into the brackish water area of Lake Nakaumi for about one month. Other abbreviations are the same as in Table 12.

Table 15. Results of the experiments on the removal of spats in the new type collectors using an oyster spat trashing machine in February 2015

	A · S + 50% (Expt. 1)	A · S + 40% (Expt. 2-1)
Mean number of spats (ind. /collector)	21.2	22.6
Mean spat shell height (mm)	25.0	21.9
Rate of removed spats (%) ¹	96.3	99.0
Rate of unbroken spat (%) ²	97.6	96.1
Rate of broken collector (%) ³	22.2	0

Notes: Rate of removed spats ¹ = Number of removed spats from collectors/number of total spats at collectors; Rate of unbroken spat ² = Number of unbroken spats/number of removed spats from collectors; Rate of broken collector ³ = Number of broken collectors/number of total collectors.

Summary

Study on resource regeneration and aquaculture of the commercially valuable shellfish species in rocky shore of Shimane Prefecture

Chapter 1: *Turbo (Batillus) sazae* H. Fukuda, 2017 (Japanese top shell) is an important fisheries species found on the rocky shores of Shimane Prefecture, but in recent years its fisheries production has decreased to about 30 to 40% of the peak production. To sustainably use and maintain Japanese top shell resources, resource management is the most suitable approach and it is desirable that adaptive management according to the state of the resource generation is performed. However, information on the early life ecology of the Japanese top shell is lacking at present while mechanisms in the variation in recruitment quantity, which is the basis for resource analysis, also remains unclear. To promote adaptive management of Japanese top shell resources, it is therefore necessary to clarify the early life ecology of Japanese top shells in the coastal areas of Shimane Prefecture.

Crassostrea nippona (Iwagaki oyster) is one of important aquaculture species of Shimane Prefecture, much like the top shell, and the demand for Iwagaki oyster seeds has increased with the expansion in aquaculture farms. Initiation of new efforts to improve the value of the Iwagaki oyster has created the need for the Shimane Prefectural Sea-farming Center, which supplies cultivated seeds, to develop new seed production technologies in both single-seed and mass-seed production for culture.

This study was carried out to elucidate the early life ecology associated with variations in the recruitment quantity between spawning and development into juvenile Japanese top shell, and to solve issues in the seed production technology for Iwagaki oyster.

Chapter 2: Seasonal changes in the maturity of Japanese top shells were investigated based on the gonad index (GI), gonadal histology, and egg-size distribution using specimens collected during from April to October, 1990. Spawning in top shells was considered to occur from late June to October, with a peak in July and August when a marked increase in GI was observed. Based on the analysis of the relationship between gonad maturation and changes in water temperature, spawning in 1990 was considered to have occurred twice: once in summer (July and August) when water temperature is increasing, and again in autumn (September and October) when the water temperature is decreasing. The second spawning event in autumn was likely triggered by the subsequent maturation of immature oocytes after the summer spawning event. The results also showed that males and females reach sexual maturity at shell heights of 45 mm and 50 mm, respectively.

Juveniles of Japanese top shells were sampled with artificial collectors in sufficient quantities to elucidate seasonal variations in the recruitment of juveniles. The collectors were composed of 20 vinyl chloride egg containers (box size of $24 \times 21 \times 2.5$ mm, film thickness 180 μm) wrapped in a polyethylene net (46×80 cm, 4.5 mm mesh). The collectors were more effective when the egg containers were immersed for over 2 weeks in running seawater prior to use, which allowed the development of a film of micro-organisms and diatoms. The collector developed in this study seemed to be a simple and useful tool to collect the veliger larva of Japanese top shells.

The occurrence and distribution of planktonic larva of the Japanese top shell were studied by plankton net sampling (100 μm mesh, opening 46 cm) and the artificial collector sampling in the coastal waters of east Shimane Prefecture during the period from June to November, 1995. The results showed that planktonic larva

were commonly distributed in the middle and upper layers of coastal waters. A study on the presence of larva in relation to water temperature and mean height of the waves showed that spawning of the Japanese top shell is stimulated by changes in water temperature rather than the action of waves.

The process of settlement and mortality in the early stage of Japanese top shells were investigated by means of continuous collection of juveniles at a coralline algal bed in 1995. Continuous settlements of top shells in Katakai in 1995 were observed from July to October; a particularly large amount of settlement was observed at the beginning of July and at the end of September, with reference to the progress of shell-diameter composition and the amount of collectible planktonic larva. After settlement, the juvenile population density of the top shells decreased rapidly. This seems to have been caused by predatory carnivorous snails from the Family Muricidae. Results from the depth-specific sampling of Japanese top shells showed that juveniles were spread over a relatively wide depth while population density after settlement was found to be greater at shallower depths.

The growth and population density of juvenile Japanese top shells were observed in coralline algal beds from 1990 to 1995. The average shell height was 8-10 mm at the age of 1 and the growth of juveniles was slow from winter to spring at low temperature conditions; however, growth increased rapidly as the temperature increased after summer. The population density then decreased remarkably just after the settlement stage. From these results, an effective method to estimate the recruitment of juvenile top shells in the coralline algal beds is to make the assessment in the next spring after hatching.

Chapter 3: Production of settlement-stage larva of Iwagaki oyster was performed using a large tank (100-kl) in a semi-outdoor environment. To simplify the rearing procedures, routine bottom cleaning and replacement of sea water were not

undertaken throughout the duration of the larval production.

Four experimental treatments using different initial feeding and larval density conditions were established and the effects of these differences on the growth and survival of planktonic larva were investigated. The present study showed that initial feeding with *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate) which was mass-produced at a low cost outdoors, followed by *C. neogracile*, were optimal for the mass-production of settlement-stage larva. Based on this cost and labor-saving procedures, D-shaped larval density in 100-kl tanks at 1-2/ml and water replacement in 5 to 7-day intervals were suitable for the mass-production of settlement-stage larva.

Since the time allocated for daily larval management procedures (e. g. cleaning and so on) was markedly reduced and the diet used was produced outdoors in a comparatively easy manner, the rearing methods employed in this study are considered to be well-suited for the large-scale production of Iwagaki oyster seeds in the early part of the larval seed production season.

In addition, approximately 1.9 million spats with a mean shell size of 2.4 mm were produced by the single-seed method in the 100-kl tank using the settlement-stage larva produced in this trial.

The stability of *C. calcitrans* in outdoor mass cultivation for large-scale seed production of Iwagaki oyster was investigated in culture trials using 100-l, 500-l, and 5-kl outdoor tanks from spring to fall, with *C. neogracile* as the control group for comparison. In addition, the use of commercially available *C. calcitrans* products as a starter culture was studied. In spring, which is an optimal season for cultivation, the maximum density of *C. calcitrans* cells reached approximately 6 million cells/ml in the 100-l and 500-l tanks. Furthermore, the results demonstrated that *C. calcitrans* can be stably cultured like *C. neogracile*, although growth rates and maximum cell densities were slightly inferior to that of *C. neogracile*. The results also confirmed that *C. calcitrans* can be efficiently cultured as a starter

culture using commercially available products. The feasibility of culturing *C. calcitrans* with a light-shade curtain in summer was also studied. The use of a light-shade curtain to reduce the water temperature in summer was found effective for the stable culture of feed algae, suggesting that even heat-sensitive strains such as *C. calcitrans* can be cultured during summer.

Iwagaki oyster spats were experimentally collected using soft resin spat collectors with different shapes and surface characteristics, and the efficiencies of different collectors for the artificial cultivation of single-seed Iwagaki oysters were compared. This was done by comparing the number and growth of settled spat between different collectors and after removing the seeds from the collector. The survival rates of seeds produced on different separators were then compared after rearing them for several months. The results showed that polypropylene, which is highly durable and can be used repeatedly, is well suited for constructing the collectors. Umbrella-shaped collectors with rough surfaces (arranged in a lattice-pattern projection) promoted settling of spats; however, the growth rates of spats on such collectors were slightly inferior compared to that obtained using smooth, flat collectors under the same conditions. The rough surfaces were highly effective for promoting both spat settling and for preventing damage to the shells when the spats were removed from the collectors, increasing the spat survival. Thus, the use of rough-surfaced umbrella-shaped spat collectors with collection efficiencies comparable to the collectors that are currently used for cultivating scallops will likely increase the efficiency of single-seed oyster production. Furthermore, the merits of using polypropylene spat collectors are that these can be used repeatedly and reuse greatly increased the settling of spats.

Chapter 4: For the Japanese top shell, new ecological findings were obtained while for Iwagaki oysters, practical technologies for stable mass-seed production

and single-seed production were developed. We made the following proposals for the aquaculture of these two species.

As the close season stipulated for fishing in Shimane Prefecture's current fishery regulations (May to June) differ from the actual spawning season, it is thereby necessary to change the timing of the close season. However, as the demand for top shell increases in July and August during the spawning season, a decision on a new close season should be taken very carefully, with the agreement of fishermen and with close attention to the stock trends in the future.

Juveniles of Japanese top shell can be continuously collected from coralline algal beds, thereby suggesting that coralline algal beds may function as the optimum habitat for the juvenile Japanese top shell. The most effective way to monitor the quantity of juveniles of top shell is to collect them in coralline algal beds during the spring in the year following their production, after a period of mass depletion and immediately before they spread out beyond the coralline algal beds. This approach is thought to be an effective way to estimate the recruitment quantity. If the resources decrease even further in the future, it will be important to select management approaches that suit the future resource quantity predicted by the recruitment level. It is necessary to consider establishing a monitoring system for the juvenile Japanese top shell to achieve this as well.

A technique for producing mass settlement-stage larvae using a large-scale tank with a capacity of several tens of tons was developed. Furthermore, low-cost production of larva can be achieved by supplying food that has been extensively cultivated outdoors. Thus, it was found that *C. calcitrans*, which was previously considered difficult to culture outdoors, can be cultivated stably in the same way as *C. neogracile*. Furthermore, it was judged that using a light-shade curtain to effectively reduce high water temperatures during summer will allow an almost stable feed culture. As it was suggested that production technology using these large

tank and outdoor feed cultures can be applicable to oysters other than Iwagaki oysters and other bivalvia, it is thought that this technology can contribute to the stabilization and cost reduction in the mass production of bivalvia seedlings in the future.

We have developed a single seedling device made of resin, has high larval attachment efficiency, and has an effective structure for improving the survival rate of larva after removal. In recent years, Iwagaki oyster aquaculture has been expanding nationwide. To survive in the competition with other prefectures in the future, it is important to reduce the aquaculture costs in such a limited offshore area, and the challenge will be to shift to a more efficient culture method that will produce a greater value-added product. An aquaculture system using a single-seed is one of the effective ways around this, and in the future, aquaculture businesses will need to actively introduce this aquaculture system to try and establish a labor-saving and efficient production system for high-quality Iwagaki oysters.

要 約

島根県の沿岸漁業において、岩礁性貝類であるサザエとイワガキは、それぞれの漁業（磯根漁業、養殖業）を代表する最も重要な種として位置づけられている。

しかし、近年の島根県のサザエの生産量は、ピーク時の3～4割（4～5百トン）に低下し、本県の沿岸漁業の経営に大きな影響を及ぼす可能性が懸念されていることから、より有効な資源管理体制を確立することが急務となっている。一方、イワガキでは、養殖業者の増加に伴って養殖用種苗の需要が拡大しつつあることや付加価値向上を目的としたシングルシード養殖法の新たな取り組みが開始されたことから、種苗のより効率的な大量安定生産方法やシングルシード用種苗の新たな生産方法などの技術開発の必要性が生じている状況にある。

そこで、本研究では、島根県の沿岸漁業における最も重要なこれらの岩礁性貝類2種を対象に、サザエでは、資源管理に必要な産卵から稚貝の発生までの加入量変動にかかわる初期生態の解明を、イワガキでは、養殖の安定化に欠くことのできない人工種苗生産技術における諸課題を解決することを目的として研究を行った。その結果、サザエでは、島根県における産卵、浮遊幼生および稚貝の発生などの初期生態について新たな知見を明らかにした。イワガキでは、養殖種苗の供給元である栽培漁業センターの種苗生産における大量安定生産およびシングルシード種苗生産のための実用的な採苗技術を開発した。以下に研究の内容を要約する。

第I章では、サザエとイワガキについて生産量動向をはじめとする現状分析により、問題点と課題を整理した。サザエでは、有効な資源管理体制を確立するために、資源解析の基礎となる産卵や稚貝の加入量の変動機構の解明が重要であることを指摘した。イワガキでは、養殖用種苗の供給元である島根県栽培センターにおける効率的な人工種苗の大量安定生産方法やシングルシード用

種苗の新たな生産方法などの技術開発の必要性について分析した。

第II章では、サザエについて、成熟と産卵期（第1節）、浮遊幼生採集用コレクターの開発（第2節）、浮遊幼生の出現期と分布特性（第3節）、着底過程と初期減耗（第4節）、0～1歳貝の初期成長と密度変化（第5節）の各項目について検討した。

第1節では、島根県沿岸のサザエの成熟、産卵について、生殖巣のGI、組織学的成熟度および卵径分布の調査を実施した。その結果、産卵期は6月後半～10月の間で、その盛期はGIの急減する7～8月であると推定され、同一個体において成熟と産卵が繰り返されることにより産卵期が比較的長期に及ぶものと考えられた。組織学的成熟度と水温の変動状況との比較から、1990年の産卵は7～8月の水温上昇期と9～10月の水温下降期に行われたものと推察された。さらに、GI、組織学的成熟度の観察結果から、少なくとも雄は殻高45 mm以上で放精が、雌は殻高50 mm以上で産卵が可能であると推定された。

第2節では、浮遊幼生のモニタリングを目的に市販の塩化ビニール製鶏卵パックを材料としたコレクターを開発し、天然海域において検証を行った。鶏卵パックは透光性が高く、立体的で軽量であることから、サザエのコレクターの材質として優れており、使用前に表面に微細藻類を付着させることで幼生の採集量が増加することが判明した。コレクターを用いた方法は、サザエの加入機構を解明する上で簡便で実用的な調査手段であると考えられた。

第3節では、プランクトンネットおよびコレクターによる浮遊幼生の採集を行った。その結果、島根県東部の1995年のサザエの産卵期は、表層水温21℃以上の6月下旬から10月下旬の間であり、その盛期は8月前半と9月後半の2回あったと考えられた。さらに、水温および波浪の変化とサザエの浮遊幼生の出現との関係を検討したところ、数日間の急激な水温変化がサザエの配偶子放出を誘起する一つの環境要因であると考えられた。また、コレクターによる浮遊幼生の分布域の調査から、サザエのベリジャー期の浮遊幼生は底層よりも中層から表層付近に偏って分布する傾向が認められた。

第4節では、島根県東部の有節石灰藻群落において、サザエ稚貝の着底過程および着底直後の減耗過程について検討した。サザエ着底稚貝の殻径組成の推移とコレクターによる浮遊幼生の採集状況との比較から、1995年のサザエの着底は7月から10月上旬まで断続的にあり、7月上旬と9月下旬には規模の大きな着底があったと考えられた。また、着底後の稚貝は、殻径1mmまでの減耗が大きく、アクキガイ科の肉食性の巻貝による食害により減耗することを確認した。水深別に実施した採集結果から、サザエ稚貝は比較的広い水深帯で着底するが、水深が浅いほどその量が多い傾向が認められた。

第5節では、島根県東部の有節石灰藻群落において、サザエの稚貝を採集し、1990～1995年の年級群ごとの成長や密度について調査した。サザエの稚貝の着底から1歳までの殻高（径）組成分布の推移から、殻高（径）組成が広い範囲にあるのは、成長速度の個体差によるものではなく、着底期の違いによるものであると考えられた。稚貝の成長は冬季から春季は低水温のために緩慢であったが、夏季以降水温の上昇と共に急速に成長した。稚貝の採集密度は着底直後から殻径1mmまでの間に大きく低下した後、夏季から秋季にかけて緩やかに低下した。この原因としては、死亡減耗の他に、稚貝が成長と共に徐々に生息域を拡大し、有節石灰藻群落外へ移動することによる見かけ上の密度低下が含まれていると考えられた。これらの結果から、春季における有節石灰藻群落内の稚貝の定量的な調査により、加入量を予測することが可能であると考えられた。

第III章では、イワガキについて、半屋外の大型水槽（100kl）を用いた付着期幼生の大量生産（第1節）、シングルシード用の樹脂製軟質採苗器の開発（第2節）について検討した。

第1節では、半屋外の大型水槽（100kl）を用いたイワガキ付着期幼生の大量生産方法における、初期餌料や幼生の収容密度などの基本的な飼育条件を明らかにするための比較試験を行った。屋外で大量培養したタヒチとネオグラシーレを使用する餌料系列を用いて、D型幼生を1～2個体/mlの範囲で収容し、

水槽換えを5～7日間隔で行うことにより、大量の付着期幼生を低コストで省力的に生産できることが判明した。本生産方法は日常の幼生管理に必要な時間は僅かであり、用いる餌料も屋外培養により比較的容易に生産できることから、6～7月のイワガキ種苗生産初期における付着期幼生の大量生産方法として適していると考えられた。さらに、栄養価やサイズなどの面で餌料としての価値が高く評価されているカルシトランスの屋外における大量培養の安定性を明らかにするため、春～秋季に100 l、500 lおよび5 kl水槽を用いて、ネオグラシーレと比較する試験区を設定して屋外培養試験を実施した。カルシトランスは、従来の知見では屋外培養が困難とされていたが、培養適期の春季には最高細胞密度で100 l、500 l水槽とも 6×10^6 細胞/ml以上に達し、最高細胞密度がやや劣る傾向があるものの、同じ珪藻類のネオグラシーレと同様に安定的で実用的な培養が可能であることが判明した。さらに、カルシトランスの市販品を元種に用いることにより効率的な培養ができることや、夏季の高温期に遮光幕を用いて培養水温を低下させることにより高温期における培養が可能であることが明らかとなった。

第2節では、シングルシード種苗の生産を目的に、稚貝の剥離が容易な樹脂製の新型採苗器を試作してその有効性や実用性について検討した。また、採苗器の形状や表面構造など条件の異なる数種類の採苗器を用いた採苗試験を行い、各採苗器における稚貝の付着数、成長および採苗器から剥離後の稚貝の生残率などを比較した。その結果、耐久性が高く、繰り返し利用が可能なPP樹脂を用いた採苗器がシングルシードの生産に適しており、稚貝の成長はやや劣るものの、採苗器の表面に凹凸状の微細な構造があること、採苗器の形状は立体的（傘型）であることなどが幼生の付着効率を高め、さらに前者は、剥離時の稚貝の殻の破損を防ぐ効果により剥離後の稚貝の生残率の向上に有効であることが判明した。新型採苗器では、これらの有効な条件を組み合わせることにより従来のホタテ殻採苗器と同等の付着効率があることを示した。そして、使用後の採苗器は稚貝の付着効率が高くなることも判明し、繰り返しの使用に

よりシングルシード種苗の効率的な生産が期待できると考えられた。

第IV章では、研究結果を総括した上で、これら重要貝類の増養殖に関して有効な資源管理手法や種苗生産技術についての提言を行った。

サザエでは、現行の島根県漁業調整規則で定める禁漁期と実際の産卵期が異なることから、禁漁期をより適切で効果的な時期へ変更する必要性を指摘した。また、資源管理をより適切に行うための方策として、有節石灰藻群落における稚貝のモニタリング体制の確立が重要であることを示した。

イワガキでは、大型水槽を用いた幼生の生産方法および屋外餌料培養技術の導入が、イワガキをはじめとするその他の二枚貝の低コスト大量種苗生産体制の確立に寄与することを提言した。さらに、開発した樹脂製採苗器を用いてシングルシード養殖体系を積極的に導入することにより、効率的で付加価値の高いイワガキの生産体制の構築が期待できることを提唱した。

本研究で対象とした岩礁性貝類のサザエとイワガキは、本県の沿岸漁業の磯根漁業や二枚貝養殖業において、それぞれ重要な位置づけにあることから、今後も資源管理の積極的な推進、種苗の安定供給体制の確立および効率的で付加価値の高い養殖方法への転換などの取組みを継続し、持続的で安定的な生産体制を構築していく必要があると考えられた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. 島根県沿岸のサザエの成熟と産卵期

山田 正・勢村 均

栽培漁業技術開発研究 1993年 第22巻第1号 pp. 5-12.

(第II章第1節)

2. サザエ浮遊幼生採集用人工コレクター

山田 正

水産増殖 1996年 第44巻 第3号 pp. 255-259.

(第II章第2節)

3. 島根県東部沿岸のサザエ浮遊幼生の出現期と分布特性

山田 正

水産増殖 1998年 第46巻 第1号 pp. 1-6.

(第II章第3節)

4. 半屋外 100 kl 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の生産の試み

佐々木 正・常盤 茂

水産増殖 2014年 第62巻第4号 pp. 433-440.

(第III章第1節第1項)

5. 半屋外 100 kl 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の大量生産における飼育条件の検討

佐々木 正・近藤徹郎・常盤 茂

水産増殖 2016年 第64巻 第3号 pp. 295-307.

(第Ⅲ章第 1 節第 2 項)

6. 樹脂製軟質採苗器を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* シングルシードの
人工種苗生産試験

佐々木 正・近藤徹郎・常盤 茂・小中大輔・鈴木和弘・大脇安則・木村克
彦

水産増殖 2018 年 第 66 巻第 1 号 pp. 71-84.

(第Ⅲ章第 2 節)

7. *Chaetoceros calcitrans* の屋外における大量安定培養の試み

佐々木 正

水産増殖 2021 年 第 69 巻第 1 号 pp. 55-69.

(第Ⅲ章第 1 節第 3 項)

参考論文

島根県東部沿岸サザエの着底過程と初期減耗

佐々木 正

島根県水産試験場研究報告 2003年 第11号 pp. 15-22.

(第II章第4節)

島根県東部沿岸のサザエ 0～1 歳貝の初期成長と密度変化

佐々木 正

島根県水産試験場研究報告 2003年 第11号 pp. 23-29.

(第II章第5節)

隠岐諸島におけるイワガキシングルシードの海面中間育成試験

佐々木 正・佐藤勇介・近藤徹郎・常盤 茂

島根県水産技術センター研究報告 2018年 第11号 pp. 21-29.

(第IV章総合考察)

餌料用微細藻類3種 (*Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros neogracile*, *Isochrysis* sp. (Tahiti Isolate)) の屋外培養における低塩分濃度の影響

佐々木 正

島根県水産技術センター研究報告 2021年 第13号 pp. 9-23.

(第IV章総合考察)