

3-2 二枚貝

3-2-1 資源量

1 浮遊幼生

かつてアサリが採れていた干潟において、アサリが採れなくなっている原因のひとつとして、浮遊幼生の供給が無くなったことが考えられる。そこで、浮遊生活期を持つアサリ等の二枚貝類資源の診断の第一歩としては、漁場に幼生が供給されているかどうかを調べる必要がある。調査は定期的に調査対象漁場並びに海域で実施する必要があり、それにより浮遊幼生の供給の有無あるいはその量を調べて評価し対策方法に結びつける必要がある。

a アサリの初期生活史

干潟に生息するアサリ成貝は冠水時に産卵し、産出された受精卵（図 3-2-1, a）は干潮とともに干潟沖合いに輸送される。このとき、干潟上の海水は陸域からの淡水の影響によって塩分が低く、また気温が高い時期は大気の影響によって高水温になっている。そのため流出する海水は密度が小さく、沖合い水の表層に沿って薄く拡散する。受精卵はゼリー層を有して沈降速度が遅いため、流出する海水に保持されながら表層を中心に輸送される。アサリの受精卵は 20℃では 6~7 時間でふ化し、トロコフォア幼生（図 3-2-1, b）となる。トロコフォア幼生は繊毛運動によって活発に遊泳し、負の走地性を示しながら海面表層に集中する。受精後 2 日で幼生は貝殻を形成して D 状幼生（図 3-2-1, c）となり、摂餌を開始する。初期の D 状幼生も上層を遊泳する傾向を示すため、この間（20℃で産卵後 4~5 日間）は表層付近の流れによって短時間に水平方向に広く拡散される可能性がある。幼生は発育とともに底層を遊泳する傾向を強め、初期の拡散傾向とは対照的に滞留傾向を示すようになる。着底期の幼生は遊泳器官である面盤を持ちながら、成長とともに足が大きく発達して、自身の殻長と同じくらいの長さまで伸長させることができるようになる（図 3-2-1, d）。足の先端部には付着能力があり、この部分を他物に付着させて足を収縮させることによって、貝殻全体を引き寄せられるようにしてしゃくとり虫のように移動することができる。着底期の幼生はこのような匍匐（ほふく）行動と遊泳行動を繰り返す。着底期幼生は上げ潮とともに干潟に来遊するが、干潟上に一様に来遊するわけではない。海水は上げ潮時に沖から進入してくるので、当然ながら干潟では岸側より沖側の方が幼生の来遊する可能性は高い。しかし、海水は周囲の地形や干潟面の起伏・勾配などによってさまざまな流れを伴いながら進入してくる。その中では、滞留域や密度の異なる海水の混合域などが生じ、そのような場所では幼生の密度が高くなる可能性がある。干潟に来遊した幼生は、そこで何らかの外部刺激に反応して変態する。この刺激がどのようなものかは不明である。二枚貝の稚貝着底には、底質、海水の流動条件、同種大型個体による誘引などが影響すると言われている。幼生は変態によって面盤の繊毛を脱落させ、遊泳能力を失って初期稚貝（図 3-2-1, e）となる。来遊した幼生は、同一産卵群に由来するものであっても成長差があるため、1 回の来遊で 1 群の幼生全てが着底するわけではない。幼生群の殻長分布と成長速度から推測すると、1 群の着底には数日から 1 週間程度かかると考えられる。

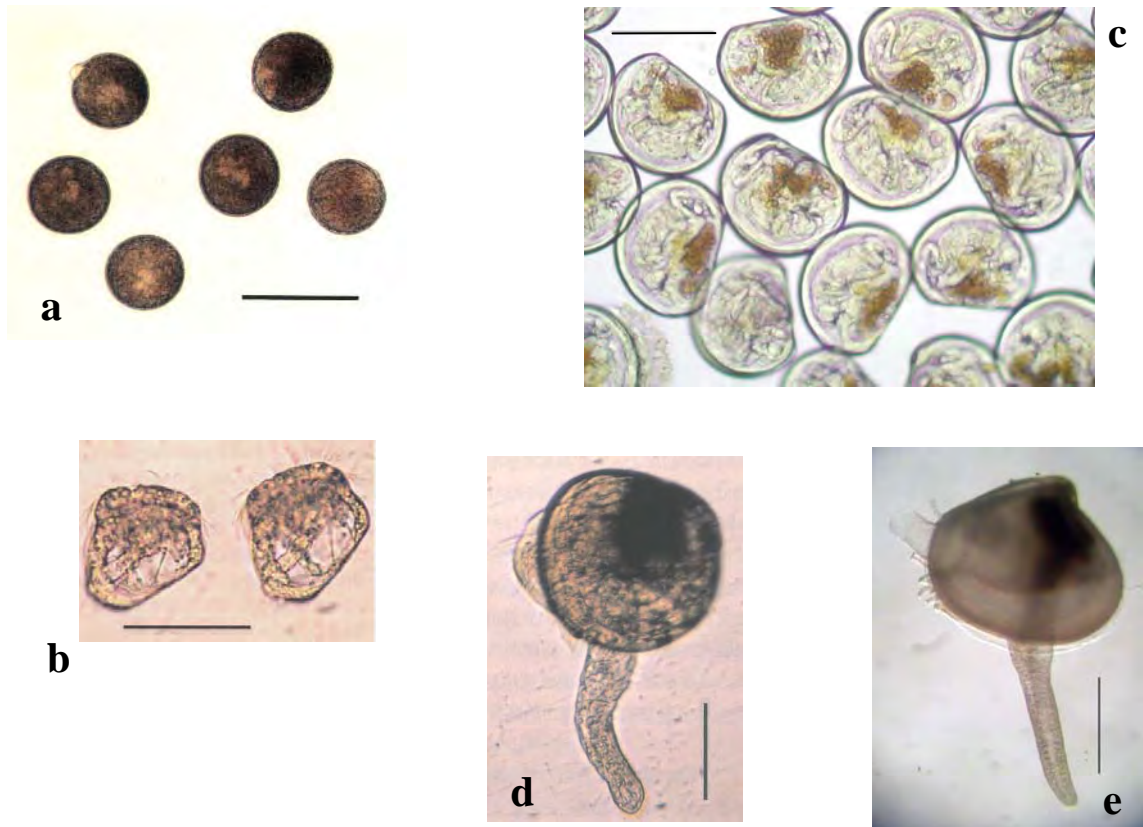


図 3-2-1 アサリ初期発育段階（鳥羽光晴氏提供）

a: 受精卵, b: トロコフォア幼生, c: D 状幼生, d: フルグロウン幼生, e: 着底初期稚貝
 (各写真中のバーは 100 μ m)

干潟上での初期稚貝の行動を観察した例はほとんどない。室内観察によれば変態直後の初期稚貝でも砂に潜るような行動を示す。もちろん、初期稚貝の殻長は 0.2~0.3mm で粗砂の粒径とほぼ同じであり、砂粒子を押し分けてその間や下に隠れることはできるが、深く潜砂できるわけではない。海底表面（干潟面）の砂はわずかな海水の流動で巻き上げられるため、初期稚貝は砂の下に隠れたとしても波や流れによって移動させられやすい。ただし、前述のように初期稚貝の足は強い付着能力があり、さらに殻長 0.3mm 程度ですでに足糸を形成することができるため、砂粒子や貝殻などの地物に付着して移動をある程度抑制することができると思われる。いずれにしても、成貝とは異なって、初期稚貝にとっては波浪などによる巻き上げは日常的生活形態であり、このことが直ちに稚貝の生存にとって大きな脅威になるとは思われない。現場観察では、殻長 1mm 以下の初期稚貝は特に荒天ではない通常の天候でも波や流れによって日常的に巻き上げられていることが確認されている。問題となるのは、巻き上げの結果、不適な生息環境のところに輸送されてしまうことであろう。

稚貝は成長とともに深く潜砂するようになる。しかし、室内観察では殻長数 mm の稚貝の潜砂深度は殻長の 1~2 倍程度であり、稚貝自身の大きさから見た相対的な潜砂深度には大きな変化はない。稚貝が成長して大きくなることによって絶対的な潜砂深度が深くなることになる。波や流れによって稚貝が移動させられるのは砂の巻き上げによるので、問題なるのは絶対的な潜砂深度である。殻長数 mm の稚貝では、通常の天候で巻き上げられることは少ない。

幼生の濃密に着底する場所が継続して稚貝が多く見られる場所であるとは限らない。これは、幼生の着底に好適な条件と稚貝の生息に好適な条件が必ずしも一致しないことを考えればむしろ当然である。千葉県盤洲干潟の小櫃川河口域での観察では、幼生の集中的な着底は干潟縁辺部を中心に起き、その後、潮下帯の着底稚貝は成長とともに岸方向干潟方面へ拡散するように分布を広げ、殻長 1mm 未満の稚貝の分布中心は干潟域となり、干潟縁辺部の着底稚貝密度は低下してゆく。愛知県矢作川河口での観察では、着底稚貝は河口直近から上流部に向かって広い範囲で見られるが、殻長数 mm 以上の稚貝の分布はその中の一箇所に限られている。稚貝の集中分布が見られるのは砂堆の中央部であり、輸送による稚貝の集積が想定されている。着底から稚貝までの分布変化は輸送（移動）と死亡の複合結果である。このうち、現在は外力による輸送について重点的な研究が進められているが、能動的な移動および不適環境や食害などによる死亡については定量的な知見が少ない。

b 必須調査項目および関連環境項目

アサリやアワビ類等重要な水産対象種であり、かつ多くの研究蓄積がある生物でも、近年、初期生態について精力的に研究が進められ、その結果に基づく新たな資源回復のための方策が立てられつつある（河村, 2002; 寺脇・浜口, 2004a）。アサリは受精後 3 週間程度プランクトンとして海水中を浮遊して成長し、そして適当な場所に着底して底棲生活期に入る。アサリは発生初期の段階では捕食、飢餓、移送等によって生残率が極めて低いので、たえず浮遊幼生が供給されなければ資源加入に繋がらないと考えられる。したがって、ある海域において相当数の親貝が存在しなければ、資源加入に繋がる量の幼生は供給できない。そのために、乱獲による親個体数の減少は幼生量の減少を招き、資源の減少に繋がる恐れがある。また、浮遊生活期が 3 週間程度あるということは海況によっては相当の距離を移動する可能性があり、東京湾のような場所では盤洲干潟（木更津市）で生まれた幼生が必ずしもその場所に帰るとは限らないし、あるいは盤洲干潟以外の場所にしか着底できない可能性もある。このように幼生の移動・分散を介した各干潟間の幼生のやり取りを“幼生移送ネットワーク”（以下、幼生ネットワークと標記する）と呼び、その概念は風呂田（2000）の総説に詳しく解説されている。したがって、ある干潟のアサリの生産を考える上では、その干潟が属する湾や灘等のレベルで幼生の動態を調べ、各干潟間の関係を明瞭にする必要がある。これによって、産卵母貝集団の特定等、ある干潟のその海域におけるアサリの再生産に及ぼす寄与率が推定でき、適切な保護方策を立てることが可能になる。しかし、これまでの海洋生態学において、浮遊期を持つ生物について幼生ネットワークによる相互作用を実際に幼生の動態を調べて実証した例は少ない。その理由として、幼生が海水中に均一に存在しないので、かなりの数の定点を設定し、短時間の間に複数回調査を実施しなければならない。そのために、莫大な調査経費が必要となるとともに、次に挙げる問題点が生じることから海域における浮遊幼生の動態を解明するための大規模な調査・研究がこれまで行われなかった。

その原因として二つの大きな問題点があげられる。第一に、アサリ等の浮遊幼生は自己の運動によって垂直方向には移動可能であるが、水平方向の動きは海水の動きによって支配されている。また、塩分フロントの形成等いくつかの海洋構造は幼生の分散に影響を与えるので、幼生の動態を解明するためには海洋環境を詳細に解析する必要がある（石田ら, 2005）。そこで、流れ等海洋

環境並びに分散・回帰を調べるためのモデル研究の専門家の協力が必要となる。このように、幼生ネットワークを解明するためにはアサリの生理・生態に詳しい生物あるいは水産分野と流れ等海洋環境分野の専門家と、極めて大量な試料の採取・分析を実施できる海洋調査会社等で構成されるグループを作り、干潟のある湾・灘単位での流れと幼生の動態を調査することが望ましい。それによって時空間的に高密度の幼生分布調査データを得て、それを利用することによって正確なシミュレーションモデルが構築され、調査海域における幼生の動きや逆推定を行うことによって母貝集団の位置の特定等が可能となる。

第二の問題点は、貝類の浮遊幼生は 50~800 μm であり、非常に小さくかつ種による形態学的な差異が小さい。そのために、従来から種を同定することは困難であることが知られている。近年の二枚貝類の同定方法については Garland and Zimmer (2002) の総説によって解説されているが、我が国では浜口ら (1997) や浜口 (2004b) の総説があるので興味がある方は参照されたい。

c 浮遊幼生の調査の実際

必要な調査機材：浮遊幼生の採集調査に必要な主要機材類は、水中ポンプを用いる方法では、ハンドネット式プランクトンネット、水中ポンプ、ホース、バケツ、300-500ml 程度のサンプル瓶、ストップウォッチであり、プランクトンネット水平・垂直曳きでは、プランクトンネットとろ水計である。

1) 調査対象となる漁場への浮遊幼生の供給ルート調べる場合 (幼生ネットワークの調査)

① 浮遊幼生調査の範囲

調査対象となる漁場が存在する場所が東京湾や三河湾のような内湾域の場合、湾内の海水交換時間 (日数) を調べる。それによって浮遊幼生調査の範囲が以下のように異なる。

ケース 1：海水交換時間 > 調査対象となる二枚貝の浮遊幼生期間 → 湾内のみを調査範囲。

ケース 2：海水交換時間 < 調査対象となる二枚貝の浮遊幼生期間 → 湾外まで対象を広げる必要。

三河湾、東京湾、有明海ではそれぞれの湾内のみ調査で良いが、周防灘沿岸の徳山湾、山口湾では周防灘全体、厚岸湖では湖外の厚岸湾など、海域特性によっては周辺海域を含めて調査定点を設定する必要がある。湾外についても考慮に入れる必要がある場合は、流れの特性や季節的変動を考慮して調査範囲を決める。

② 野外調査の方法

調査は対象海域が広がる小潮時に実施し、浮遊幼生の分布、水温、塩分、(密度) の他、調査時の風向・風速のデータも調べる。調査対象を発生初期の D 型幼生とする。したがって、浮遊幼生の採取は、プランクトンネットの鉛直曳きあるいは水中ポンプによる方法が良い。また、使用するネットの目合いを 50 μm とし、採水量は 150~250L とする。浮遊幼生の垂直分布は海域によって異なるので、事前に調査するかあるいは既存の調査結果から判断し、調査対象となる二枚貝の浮遊幼生が多い層を中心にその上下 2 層が好ましい。広島湾西部海域から周防灘では 4~5m、三河湾では 3m、浜名湖では 2m 層に多い傾向がある。ただし、アサリでは垂直分布は塩分によっ

て変化し、降雨により塩分が低下した場合、塩分 30psu 前後の層に分布する。したがって、アサリ幼生の調査を実施する場合は、同時にクロロテックや CTD により水温および塩分の鉛直分布の調査を行うべきである。また、調査時の風向・風速のデータは近傍のアメダスデータ等が活用できる。また、静岡県水産試験場浜名湖分場による势力的な調査により、浜名湖のアサリ浮遊幼生の分布は吹送流の影響を強く受けると考えられている。

③海水流動数値シミュレーション

数値シミュレーションは時空間的に連続な動きを把握できる。さらに、物理環境（海水温、風、潮汐、流れ）なども再現できるため、非定常な海洋環境の様々な条件を再現でき、それによる幼生分散の変化も解明できる。このため、海水流動数値シミュレーションにより幼生の移動・分散を解析した例は多数有り、アサリでは東京湾（日向, 2005）および三河湾（鈴木ら, 2002）での事例がある。これらの解析例によって特定の海域内における幼生の動きは把握できる。

しかし、海水流動数値シミュレーションによる粒子追跡計算で幼生の動態を調べる際には、幼生に模擬した粒子の特性が問題となる。一般に、幼生の水平方向への運動性は弱く、流れによる移動の方がはるかに大きい。幼生は単なる粒子ではなく、生物としての様々な行動様式をとる。例えば、アサリ幼生の分布水深は塩分や光環境（石田ら, 2005）、および時刻によって変化するし、ベラムを出して遊泳状態にある場合とそうでない場合でも、沈降速度は変化する。さらに、捕食者や不適な環境の逃避・忌避行動等についても考慮すべきであろう。そこで、幼生の動きをより正確に計算結果に反映するために、近年様々な試みがなされている。例えば、海域における幼生の分布データは、上記の生物特性に加え、無効分散や集積等を支配する様々な海況を反映したものであり、このようなデータを増やし、キャリブレーションを繰り返すことによって海水流動数値シミュレーションに基づく幼生動態モデルをより現実のものに近づけることができる。

また、近年、広範囲にわたって表面流速分布等を調べることの出来る短波海洋レーダー（HF レーダー）やバンドレーダー、多層流速を計測することの出来る超音波多層流速計（ADCP）等といったモニタリング機器類が開発されている。これらにより、リアルタイムで海水流動分布構造を把握しながら、その期間中に大規模な幼生分布調査を行うことが可能となり、それによって得られた実測データはより高精度な数値モデルの開発にも役立っている。灘岡・波利井（2004）は、HF レーダーや GPS 搭載漂流ブイ（アルゴスブイ）ならびに幼生の分布調査を組み合わせ、慶良間列島が本島西岸へのサンゴ幼生の重要な供給源の一つとなっていることを示した。2004 年には、鈴木らは同海域において、外洋影響も考慮した多重ネスティング海水流動モデルを開発し、表層流速観測の値と対応した流れの再現に成功した。サンゴではこの計算結果を用いてサンゴ幼生を模擬した粒子追跡計算を行ったところ、慶良間列島に投入した粒子がこれまでの漂流ブイによる観測結果と同様の経路を辿って沖縄本島西岸域に輸送されることが証明された。また、アサリでは Kasuya et al. (2004) の HF レーダーでの流れの測定期間中に実施した東京湾でのアサリ幼生大規模分布調査の結果を解析した例（日向, 2005）があり、東京湾内のいくつかのハビタット（漁場や干潟）間の繋がりが明らかにされている。このような知見からは、それぞれの海域でのサンゴやアサリ幼生の動態から様々な有用な情報が得られ、特定海域における幼生の供給源（ソース）と着底場・漁場（シンク）の関係がより明らかになる。また、遺伝子流動が頻繁に起こる近接した個体群間の関係はいかなる遺伝的手法によっても解析が困難であるので、以上に述べたような方法

で解析すべきであろう。

④浮遊幼生調査を行わずに幼生ネットワークを解明する方法

浮遊幼生の動態調査を行わなくても、形成された干潟毎の群から得られる情報により、特定海域あるいは広範囲な海域における個体群間の関係（ネットワーク）を調べることができる。このような解析にはアロザイム、ミトコンドリア DNA およびマイクロサテライト DNA 解析等個体群間の集団遺伝学的手法が用いられる。Kojima et al. (1997)がミトコンドリア DNA の COI 領域のハプロタイプ解析により、海流に伴うサザエ (*Turbo cornutus*) の個体群間の分化を証明している他、この手法に関する多数の報告がある。しかし、アロザイムやハプロタイプ解析は、一部の例外を除いては比較的距離の離れた個体群間の関係評価に用いられており、近接する個体群間の関係の評価するにはより分離能の高い手法が必要である。実際にアサリでは国内、国外各地のミトコンドリア DNA の部分解析や全長解析（浜口・大越, 2005）によって地域間の塩基置換が詳細に調べられているが、地理的に離れた集団間（国産と中国産等）でしか適用できないことが明らかにされている。したがって、ミトコンドリア DNA の解析では、同一海域内での個体群間の相互作用（ネットワーク）を評価するのは困難である。

2) 調査対象となる漁場への浮遊幼生の供給の有無あるいは供給量を調べる

①浮遊幼生調査の範囲

調査対象は、特定の漁場や干潟直上でよく、1) の調査より範囲は狭い。

②野外調査の方法

干潟や漁場の上に定点を設け小潮もしくは満潮時に船を用いて調査を行う。水深が浅いのでプランクトンネットの鉛直曳きよりは水中ポンプにより試料を採取する方法の方が良い。使用するプランクトンネットは目合い 100 μ m のものを用い、採水量は 250~1000 L とする。調査対象となる干潟への浮遊幼生の供給の有無だけを調べる場合は、スナップショット的な観測でよいが、供給量を把握したい場合は連続採水等による方法が望ましい。連続観測による方法では、養殖研究所の日向野博士が考案した連続採水器を用い、一定時間浮遊幼生試料を採取して定量を図る（図 3-2-2）。調査では、水温、塩分、（密度）の他、調査時の風向・風速のデータも調べる。アサリの場合、浮遊幼生の供給量と着底の関係は必ずしも一定でないという見解があり、かつ、幼生の供給量の目安は海域毎に異なるのでどのくらいの密度があればよいというものではない。しかし、概ね再生産が認められる漁場では海水トンあたり 10³ 個体程度の密度が高頻度で出現する。浮遊幼生の供給量が多いほど個体群の形成に至る確率は高くなると考えられる。

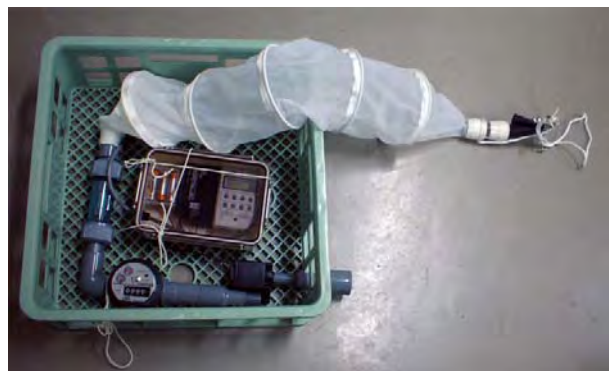


図 3-2-2 浮遊幼生連続採集器

2 稚貝～成貝

二枚貝等の底生動物の個体数を推定する場合、コドラート（方形枠）を用いた枠どり法を行う。コドラートを干潟の砂面に差し込んで、コドラートの中の土砂をすくい取り、ふるいでふるって底生動物を採集する。ふるいの目合サイズは調査目的に従って選択する。ひとつの場所から複数のコドラート標本を無作為に採集し、平均個体密度を推定する。底生動物の分布は一様ではないことが多い。このように個体数の粗密の差が大きな状態を集中分布という。

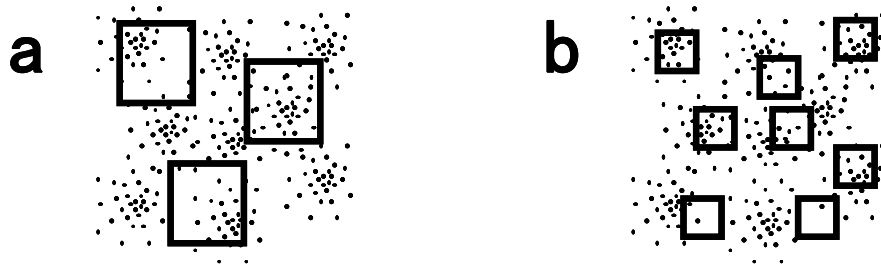


図 3-2-3 底生動物の集中分布とコドラートの大きさの関係

一般に同じ場所から反復して採集するコドラートの数が多いほど、平均個体密度をより正確に推定することができる。大きなコドラートを用いると一様分布（個体間の距離がほぼ均一な状態）からのサンプリングに近づくため、平均個体密度を推定するには便利だが、小さな空間スケールでの個体数のばらつきの情報が埋もれてしまう（図 3-2-3, a）。一方、小さなコドラートを用いた場合、小さな空間スケールでの個体数のばらつきを表現できるが、信頼できる平均個体密度を推定するには採集個所を数多くする必要がある（図 3-2-3, b）。また、コドラートが極端に小さく個体数がゼロのコドラート数が増えると、統計的手法による解析が困難になる場合がある。このため、対象生物の分布パターンにあわせてコドラートの大きさを選択する必要がある。赤嶺(2007)は、データを解析する際に通常の統計的手法を使用できるように、ランダム分布（個体間の距離が不規則な状態）からのサンプリングになるような調査計画を立てることが望ましいと述べている。また、通常の生物の分布は集中分布であり、このまま個体数を推定することは困難であるため、いくつかの区画に分割してサンプリングするなどの対策が必要であるとも述べている。以上を考慮すると、本格的な調査に着手する前に予備調査を行い、コドラートから得られたサンプル内の個体数が 0 にならないよう、またコドラート間の個体数のばらつきが小さくなるよう、適切なコドラートの大きさを選択し、調査計画を吟味することが、調査目的を達成する早道であることが分かる。また、生物種の同定と計数を外注する場合などに、1 標本あたりの分析費用を減らす目的で、複数のコドラート採集試料を混ぜてひとつの標本にする例がみられるが、個体数の空間的なばらつきの情報が失われ、また事後に修復できないので、これは行うべきでない。

a 調査デザイン

干潟全体における対象生物の個体数を推定する目的で大規模な分布調査が行われることがある。しかし、研究や事業のなかで最終的に明らかにしたいことは何なのか、その目的を達成するためにこのような大規模な調査を行うことが不可欠なのか、慎重に検討してから実施に踏み切るほう

がよい。また、対象生物の空間的な分布パターンを知る目的で、等間隔のグリッド（格子）に沿った採集がよく行われる。このような調査からは平均個体密度を地図上に表示するなど視覚にアピールする情報を得られるが、1 地点で反復して採集するコドラートの数が少なくなると平均個体密度の推定精度が低くなる。また、生物分布の空間的自己相関（対象生物が帯状に分布し、一定の距離間隔で個体密度が増減していること）とグリッド間隔が重なった場合、正確な個体数を推定できないという問題点が指摘されている。

例として、人為的な環境変化によってアサリ稚貝の定着が促進されることを示したい場合を想定しよう。まず思いつく調査方法は、環境変化した場所（実験区）とそうでない場所（対照区）でそれぞれ枠どりを行い、稚貝の平均個体密度を比較することだろう。しかし、これで十分だろうか？例えば環境変化した場所の平均個体密度が対照区よりも高いという結果が得られたとしても、それはふたつの場所で稚貝の平均個体密度が異なっていることを示すだけで、環境変化と稚貝の個体密度との関係が証明されたとはいえない。生物は集中分布を示し、環境条件が同じでも場所によって個体数が異なることは普通である。ふたつの場所を比較するだけでは、平均個体密度に差があったとしても、（環境勾配と無関係な）場所の違いによる個体密度の違いなのか、それとも環境勾配に支配された個体密度の変動なのか明らかにすることができない。このような問題を克服するためには、複数の対照区を設定し、それらの間での平均個体密度のばらつきを考慮しても、なお実験区の平均個体密度が異なっていることを示せばよい。このとき、実験区での環境変化の影響範囲が予想より大きく対照区にまで及んでいると、環境変化による個体密度の変動を実験区と対照区とで比較することの意味がなくなってしまう。このため、実験区と対照区の配置は複数の空間スケールに基づく階層的なデザインにする必要がある（Underwood and Chapman, 2003）。また、実験区の設置のため、何らかの環境変化を行ったとき、工事等によってその場所を攪乱してしまうことは不可避である。このため、実験区と対照区で個体密度を比較するだけでは、実験区の効果によるものなのか、実験区を設置する過程での攪乱による効果なのか見分けることができない。このような問題を解決するためには、実験区の設置のときと同じ攪乱を加え、再び元に戻した手続的対照区 procedural control（Underwood, 1997）を導入することが必要である。次に、これらの問題を考慮した野外実験のデザインの例を示す。

a-1 入れ子状の配置

実験区 E、手続的対照区 PC 及び対照区 C の各ユニットを無作為に配置し、さらにユニット内にそれぞれ同数のコドラートを無作為に配置して標本を採集する（図 3-2-4）。各区のユニット数、各ユニットのコドラート数を必ず等しくする。欠測に対処できるように、各ユニットで予備のコドラート標本を採集しておくことが望ましい。

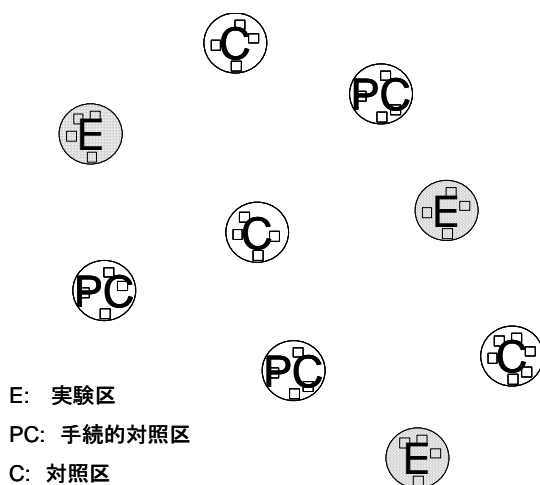


図 3-2-4 ユニット・処理区・コドラートの配置の模式図

b 二枚貝の計数・計測とコホート分離

採集した二枚貝の大きさ（殻長や殻幅等）を計測する。二枚貝は、齢によって経験した環境条件と減耗要因が異なるので、殻長分布から加入群（コホート）を分離できる場合、加入群ごとの個体密度を求めることが望ましい。図 3-2-5 に示した例であれば、殻長 14mm を境界にふたつのコホートに分離して個体密度を集計できる。

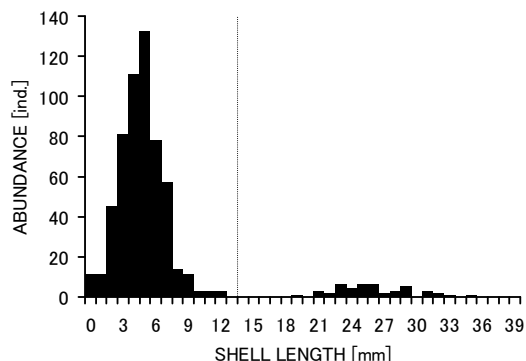


図 3-2-5 アサリのコホート分離（豊川河口干潟；アサリ資源全国協議会資料より）

c 統計解析

c-1 正規性・等分散性の検定と変数変換

分散分析などのパラメトリック検定（データが正規分布に従い、分散が等しいことを前提としている）を行う場合、母集団の個体数が正規分布から外れていないこと（D'Agostino-Pearson 検定など）及び分散が異なっていないこと（Cochran 検定など）を事前に確かめなくてはならない。特に等分散性からの逸脱がないかを確認しておくことは検定結果を誤って解釈しないために重要である。底生動物のように集中分布する生物の枠どり採集では、低密度のコドラートが大部分を占めるのに対し、高密度のコドラートの頻度が少ないことが普通である（図 3-2-6, a）。また、平均個体密度が大きいくほど、個体密度の分散が大きくなる傾向が知られている。このため、個体密度の頻度分布は左右対称の正規分布型にならず、さらに平均個体密度の異なる調査区では個体密度の分散も異なる。このため、枠どり調査から得られた個体数データのまま、正規分布と等分散を前提にしているパラメトリック検定を用いることは、多くの場合、適切とはいえない。この問題は、個体密度の対数 $\log(N+1)$ または平方根 \sqrt{N} に変換することによって解決されることが多い（図 3-2-6, b）。個体密度の標準偏差が平均と同等 ($\sigma \approx \mu$) であるときは対数変換、分散と平均が同等 ($\sigma^2 \approx \mu$) であるときは平方根変換を使用することによって、データ分布の正規性と等分散性を得られる。実際の二枚貝の定量採集では中間的な分布パターンを示すことが多く、どちらの変換方式を使用するか、実際のデータや過去の知見をもとに適宜判断する必要がある。なお、パラメトリック検定の前提条件であるデータ分布の正規性や等分散性の確認作業を回避する目的で、ノンパラメトリック検定が用いられることがあるが、ノンパラメトリック検定でもデータの分布型が同一であることなどの前提条件に基づいており、どのようなデータに対してもノンパラメトリック検定を使用すれば問題がないと考えるのは正しくない。

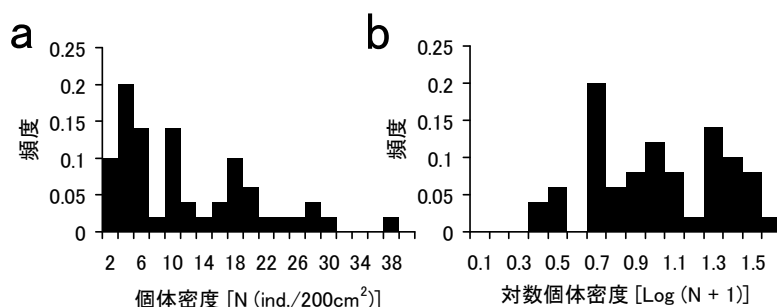


図 3-2-6 アサリ個体密度の頻度分布（豊川河口干潟；アサリ資源全国協議会共有資料より）

c-2 入れ子状の分散分析から直交比較

各コードラートの個体数データをもとに、市販またはフリーウェアの統計解析ツールを用いて、入れ子状の分散分析 *nested ANOVA* を行って、対照区 C・手続的対照区 PC・実験区 E の間での平均個体密度の変動について検定する。分散分析の結果に有意差がなければ、実験区の個体数は対照区と差があるとはいえない。分散分析の結果に有意差があれば、どの区の個体数が有意に異なっているかについての直交比較や多重比較に進むことができる。これらの比較によって実験区の個体数が他の 2 区よりも有意に異なることが示されれば、実験区での処理の効果が示されたと理解される。

表 3-2-1 は、3 ユニット×4 コドラートの入れ子状のサンプリングでの模擬的な枠取り調査を示している。左側の個体数 (x) は、対数正規分布から発生させた擬似乱数である。パラメトリック検定に適したデータにするため、対数変換した個体数を右側に記した。

表 3-2-1 入れ子状の配置 (3 ユニット × 4 コドラート) での枠どり調査の模擬事例

処理	ユニット	個体数 (x) コドラート番号				対数個体数 Log (x+1) コドラート番号					
		1	2	3	4	1	2	3	4	平均	
C	1	2	3	2	2	0.48	0.60	0.48	0.48	0.51	0.53
C	2	2	2	2	4	0.48	0.48	0.48	0.70	0.53	
C	3	2	2	8	1	0.48	0.48	0.95	0.30	0.55	
PC	1	2	2	4	1	0.48	0.48	0.70	0.30	0.49	0.51
PC	2	2	2	2	1	0.48	0.48	0.48	0.30	0.43	
PC	3	4	2	3	3	0.70	0.48	0.60	0.60	0.60	
E	1	4	22	8	9	0.70	1.36	0.95	1.00	1.00	0.93
E	2	7	8	5	6	0.90	0.95	0.78	0.85	0.87	
E	3	4	3	7	28	0.70	0.60	0.90	1.46	0.92	

対数変換した個体数データに対して、フリーウェアの統計解析ツールである R を用いて入れ子状の分散分析を行った結果が表 3-2-2 である。処理間の変動は有意であるが、ユニット間の変動は有意でない。なお、R の取り扱いは、別途、解説書を参照されたい。詳細な解説書としては *Crawley (2007)* が新しい。

表 3-2-2 模擬事例での分散分析表

	自由度	平方和	平均平方和	F 値	P 値
処理	2	1.36075	0.68038	16.738	1.87E-05***
ユニット (処理)	6	0.09488	0.01581	0.389	0.8795
残差	27	1.09751	0.04065		

参考までに、この結果を導くまでの R での入出力を転記すると次のようになる。行頭に">"が付いているのがユーザーからの入力、付いていないのが計算結果の出力である。read.table 文の ("") 内のパス名とファイル名は、データファイルの作成時に指定する。

----- (以下, R の操作画面) -----

```
> data<-read.table("c:¥¥data.txt",header=T)
> attach(data)
> model<-aov(対数個体数~処理/ユニット)
> summary(model)
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
処理	2	1.36075	0.68038	16.738	1.871e-05 ***
処理:ユニット	6	0.09488	0.01581	0.389	0.8795
Residuals	27	1.09751	0.04065		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

----- (以上) -----

read.table 文で呼び出したデータのテキストファイルは、下記の通りである。先頭行に項目名が付いていることに注意されたい。read.table 文の () 内の“header=T”は、先頭行が項目名であることを示している。

----- (以下, データファイル"c:¥¥data.txt") -----

処理	ユニット	対数個体数
C	C1	0.477121255
C	C1	0.602059991
C	C1	0.477121255
.	.	.
.	.	.
.	.	.
E	E3	1.462397998

----- (以上) -----

入れ子状の分散分析の結果、ユニット間の変動が有意でなく P 値が十分に大きかった場合、ユニット間で個体数の変動はみられないと判断し、ユニットを区別せずにプールすることができる。Underwood (1997) は閾値として 0.25 を採用している。この方法は、多くの場合、プールしない場合よりも検出力が高くなるので、いったん処理間の変動が有意でないと判定された場合に有効である。プーリングの詳細は Underwood の前掲書を参照されたい。上記の模擬事例では、P 値が十分に大きいのでプールすることもできるが、すでに有意と判定されているので、プールせずに処理間の比較に進む。

直交比較では、対照区 C と手続的対照区 PC の平均個体密度を比較するための分散比 F と、対照区と実験区の平均個体密度を比較するための分散比 F を次式により求める。

$$MS(L_1) = \frac{(\bar{X}_C - \bar{X}_{PC})^2 n}{2} \quad (\text{式 1})$$

$$MS(L_2) = \frac{(\frac{\bar{X}_C + \bar{X}_{PC}}{2} - \bar{X}_E) n}{1.5} \quad (\text{式 2})$$

$$F = \frac{MS(L_k)}{MS_{\text{残差}}} \quad (\text{式 3})$$

この F 値が、所定の有意水準 $\alpha (=0.05)$ と自由度 1、 $3 \times (\text{ユニット数}-1)$ の F 分布表から得た F_{α} 値より大きければ有意と判定される。まず、式 1 と式 3 を使って対照区と手続的対照区の間で平均個体密度を比較するが、ここで結果が有意であれば検定を中止する。対照区 C と手続的対照区 PC のあいだで平均個体密度の差が有意でなかった場合、こんどは式 2 と式 3 を使って C+PC と実験区 E の間での平均個体密度の比較に進む。ここで結果が有意であれば、実験区と対照区のあいだでの平均個体密度の差が有意であると判定される。先の模擬事例で直交比較を行うと次のようになる。

$$MS(L_1) = \frac{(0.531... - 0.505...)^2 \times 3}{2} = 0.000978...$$

$$F = \frac{MS(L_1)}{MS_{\text{残差}}} = \frac{0.000978...}{0.0406...} = 0.0240... < 5.98... = F_{0.05,1,6}$$

$$MS(L_2) = \frac{\left(\frac{0.531... + 0.55...}{2} - 0.930...\right) \times 3}{1.5} = 0.339...$$

$$F = \frac{MS(L_2)}{MS_{\text{残差}}} = \frac{0.339...}{0.0406...} = 8.34... > 5.98... = F_{0.05,1,6}$$

対照区 C と手続的対照区 PC のあいだでは有意差がないのに対し、実験区 E とのあいだには有意差がある。以上の検定結果と合わせて個体数の関係を図示すると図 3-2-7 のようになる。

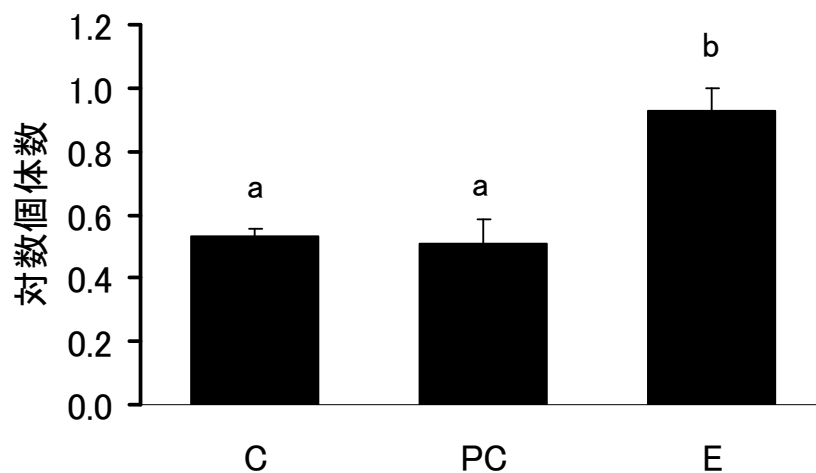


図 3-2-7 模擬事例の対数個体数の比較。縦棒は標準誤差。アルファベットは直交比較の結果

直交比較の他に、多重比較を用いた方法もあるが、他の専門書や統計解析ツールの解説書を参照されたい。参考までに、代表的な多重比較である Tukey HSD の R を使用した計算例を下に示す。先ほど分散分析を行った続きの画面に、“TukeyHSD(model)”と入力し、Enter ボタンを押すだけである。

実際の出力画面ではユニットどうしの比較の結果も出力されるが、ここでは省略した。この出力結果は、実験区 E と対照区 C のあいだ及び手続的対照区 PC と実験区 E のあいだに個体数の有意な差がみられ、手続的対照区 PC と対照区 C のあいだには有意な差がみられないことを示しており、判定は直交比較の場合とほぼ同じである。

野外実験によっては、実験区での処理効果が発現されるには大規模な空間が必要となり、費用や自然保護上の制約により複数の実験区や手続的対照区を設置することが不可能である場合がある。また、自然に条件が形成された場所を実験区とみなし、個体数が他の場所と異なっていることを示したい場合も、実験区を自由に確保することができない。このような場合は、対照区を複数設定することで、個体数の空間的なばらつきを把握し、実験区の個体数がそれらの対照区と異なっているかをテストするなど、工夫が必要になることもあるだろう。

----- (以下, R の操作画面の続き) -----

```
> TukeyHSD(model)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = 対数個体数 ~ 処理/ユニット)
```

\$処理	diff	lwr	upr	p adj
E-C	0.39906396	0.1949860	0.6031420	0.0001319
PC-C	-0.02553542	-0.2296134	0.1785426	0.9484284
PC-E	-0.42459938	-0.6286774	-0.2205214	0.0000576

----- (以上) -----

3-2-2 生物学的状態

1 成熟と産卵

a 孕卵（ようらん）数

これまでにアサリの孕卵数の判定は、天然成熟個体を解剖して調べたもの（Yap, 1977）や人工的に成熟させた個体に産卵誘発を複数回かけて算出された卵数から計測した結果（鳥羽ら, 1992）がある。これらの方法から、アサリの孕卵数は殻長 25mm、30mm、35mm でそれぞれ、 $1.5\sim 2.0\times 10^6$ 、 $2.0\sim 3.0\times 10^6$ 、 $5.0\sim 6.0\times 10^6$ 個程度であった（図 3-2-8）。

近年、韓国の Park and Choi (2004) はアサリの卵黄成分に対するポリクローナル抗体を用いた ELISA による卵数直接定量法を報告している。前述した報告と比較して、簡便に個体レベルでの孕卵数を求めることができる。これによって、Park et al. (2006) は *Perkinsus* 原虫に感染した個体の孕卵数を計測しており、本原虫に重篤に感染することによって孕卵数が減少し、再生産機構に影響を及ぼすのではないかと考察している。一方、浜口・薄 (2006) は、Park and Choi (2004) の方法を改良し、モノクローナル抗体を用いた 2 step ELISA による孕卵数定量方法を提唱しており、この方法を用いて環境ホルモン物質として疑われた経緯のある化学物質ノニルフェノール等のアサリへの影響を調べている。ノニルフェノールの暴露によって、アサリの孕卵数は増加する傾向が見られるなど、現在、アサリの孕卵数に及ぼす様々な要因が調べられている。

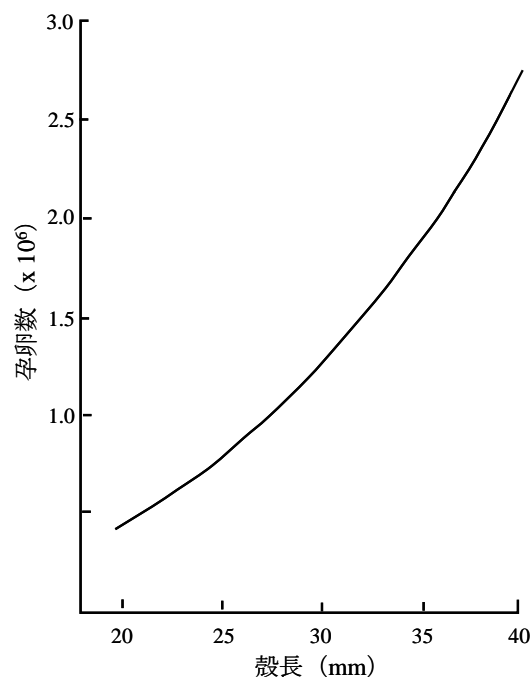


図 3-2-8 アサリ天然個体の孕卵数と個体サイズの関係（Yap, 1977 より）

b 産卵

二枚貝の成熟は水温と餌料による影響を受ける (Delgado and Camacho, 2002; 鳥羽, 1989; 鳥羽ら, 1992)。アサリの成熟期に達する最小サイズは、佐世保湾 (高, 1954) や舞鶴湾 (辻ら, 1994) で殻長 10mm 以上と報告されているが、産卵が認められる個体は、一般に殻長 20mm 以上の場合が多い。また、高緯度に生息する個体ほど最小成熟サイズが大きく、厚岸湖で雄 22~27mm と雌 30~35mm (山本・岩田, 1956)、サロマ湖では雄 24~26mm、雌 26~28mm (五嶋ら, 1996) であると報告されている。二枚貝の多くは、雌雄異体であり、放卵・放精によって受精する。アサリの性比については、概ね 1:1 であると考えられるが (伊藤, 2002)、松野ら (2004) が山口県の天然アサリと種苗生産によって得られたアサリの性比について調べた結果、雌に偏る傾向が見られているが原因を特定するまでには至っていない。

二枚貝の 1 個体あたりの産卵量は、アサリ 100~620 万個 (鳥羽ら, 1992)、バカガイ 63~350 万

個（藤本, 1992）、ヤマトシジミ約 100 万個という報告がある。1 個体あたりの産卵量は、個体サイズと成熟度に依存すると考えられる（鳥羽ら, 1992）。アサリ産卵誘発実験によって求められた殻長と産卵量の関係を図 3-2-9 に示す（鳥羽ら, 1992; 鳥羽, 2004）。アサリについて、各殻長クラスでの最多産卵量と平均産卵量を示すと、平均産卵量については不明瞭であるが、最大産卵量については、殻長の増加とともに増加し、殻長 40mm では逆に減少していることがわかる。

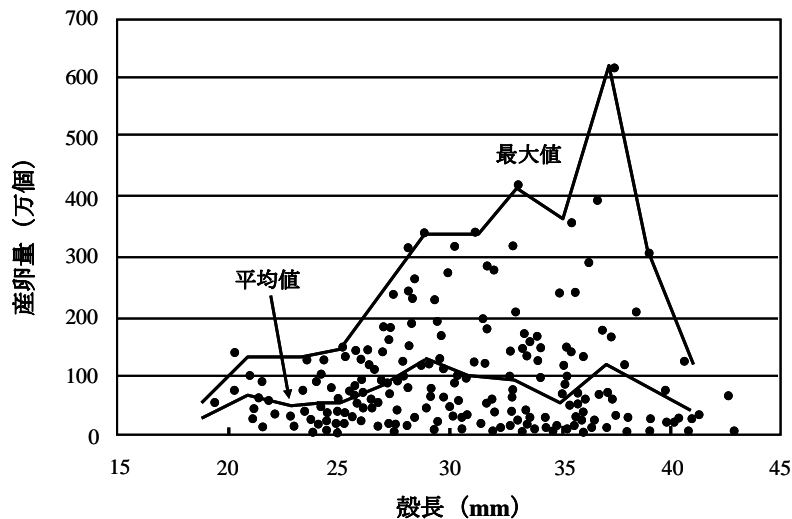


図 3-2-9 親貝の大きさと産卵量の関係。各点は産卵した雌親貝 1 個体あたりの産卵量を示す。最大値と平均値は、殻長を 2mm ごとに区分して大きさ別に求めた値を結んだ折れ線（鳥羽, 2004 より）。

産卵期については、二枚貝の種類や地域によって異なるが（表 3-2-3）、概ね春季～秋季が中心である。アサリについて、地理的な産卵パターンを区分すると、東京湾以南で産卵盛期が年 2 回、松川浦を境界とした以北では年 1 回であると推察される。アサリの産卵期のピークは、東京湾、伊勢湾、三河湾において、春季～夏季と秋季の 2 回（鳥羽ら, 1992; 萩田・石川, 1985; 山田ら, 1996）、福島県・松川浦では年 1 回の場合と 2 回の場合が確認され（松本ら, 1988）、舞鶴湾では秋季の 1 回（辻ら, 1994）、北海道の厚岸湖やサロマ湖では夏季の 1 回（五嶋ら, 1996）である。また、同じ海域でも生息場所の局所的な温度や餌料環境の違いによっても産卵パターンに違いが生じる。東京湾では、干出域において産卵が年 1 回の場合があり、非干出域では明確に年 2 回の産卵が確認されている（鳥羽, 2004）。

表 3-2-3 二枚貝と海域別の産卵期（盛期）の一覧

種名	海域	産卵期（盛期）	文献
アサリ	野付湾	7月中旬～9月上旬（8月上旬）	中川・伊藤（1994）
	サロマ湖	7月～9月	五嶋ら（1996）
	厚岸湖	7月下旬～9月上旬	山本・岩田（1956）
	松川浦	6月～7月中旬	松本ら（1988）
	舞鶴湾	6月～12月（11月～12月）	辻ら（1994）
	東京湾	3月下旬～6月，7月中旬～10月中旬	鳥羽ら（1993）
	伊勢湾・三河湾	3月～12月（5・6月，10月）	山田ら（1996） Miyawaki and Sekiguchi（1999）
ハマグリ	東京湾	6月上～10月下旬（8月中・下旬）	瀧（1949）
	周防灘	6月下～8月下	小形（1965） 上城（1980）
	有明海	5月中～7月中	藤森（1929）
チョウセンハマグリ	鹿島灘	5～9月（7～8月）	高島（2001）
アゲマキガイ	有明海	9月下旬～10月末	吉本ら（1986）
サルボウ	有明海	6月中旬～10月中旬（7月下旬～8月中旬）	田中（1954）
バカガイ	北海道西岸	7月下旬	嶋田（1995）
	北海道 苫小牧沿岸	7～9月	櫻井ら（1992）
	豊前海	5月下旬～6月上旬，10月中旬～10月下旬	藤本（1992）

2 成長と生残

a 二枚貝類の成長

漁業管理を行う上で漁獲物の成長速度は重要な要因の一つである。一般的に海産生物の成長は生残と密接な関係にあることや、成長速度が漁業に加入するまでの時間を規定することなどがその理由として挙げられる。二枚貝の大きさの測定項目には、殻長、殻高、殻幅があるが、大きさの指標として通常は殻長を用いる（図 3-2-10）。漁場で選別のためにふるいにかける場合は、殻幅で選り分けることになるので、漁協によっては大きさ制限を殻幅で示す場合もある。殻長成長と殻高や殻幅には負の相関があり、成長の悪い場所のアサリは、殻長に対して殻高や殻幅が相対的に大きくなるダルマ型とよばれる形状を呈するようになる。殻幅/殻長や殻高/殻長の比は、丸型指数（柿野, 1988）とよばれ、広域で長期的なアサリの生息環境を調査するための有効な指標とされている。

二枚貝の成長速度は、水温、餌料環境をはじめ多くの要因と関連する。アサリの成長速度の地域的な差をみても、殻長 30mm に到達するまでの時間は、北海道（厚岸湖）で3年であるのに対して東京湾や有明海といった成長が早い場所では1年程度であり、寒冷地ほど成長は遅い（表 3-2-4）。一般に水温が高いほど成長速度は速く、水温 25℃付近において成長が最大となる（秋山, 1985; 磯野ら, 1998）。同一海域内においても成長速度の違いがあることが報告されているが、これらは主に餌料環境の違いに起因するものであると考えられている（西沢ら, 1992; 小池ら, 1992; 小沼ら, 2002; 多賀ら, 2005; Waite et al., 2005）。岸沖方向の最大干出距離が最大 1km に達する盤洲干潟では、潮下帯付近に生息する

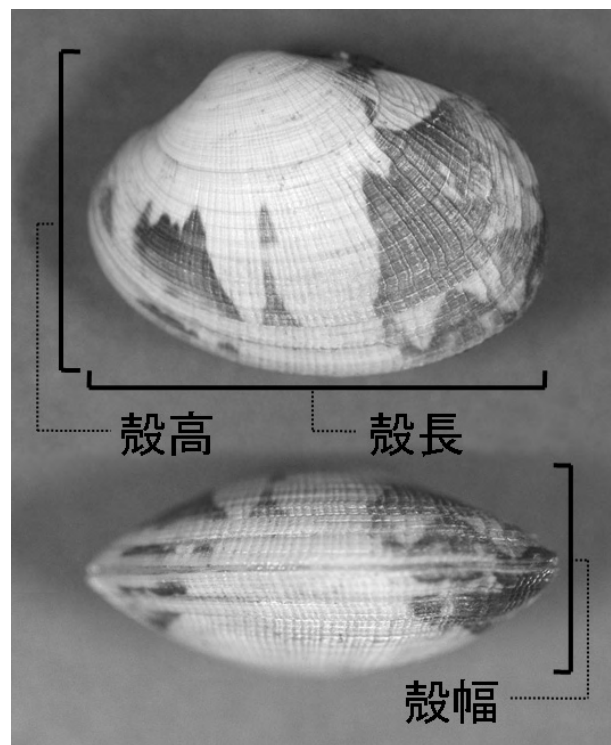


図 3-2-10 二枚貝の大きさ測定部位

る個体と岸側に生息する個体では、成長速度が潮下帯側ほど早い（西沢ら, 1992）。この理由は、主に沖合から供給される植物プランクトンが二枚貝によってろ過されるため、岸側ほどクロロフィル濃度は低くなり（秋山, 1985; 野村・中村, 2002; 野村・中村, 2003; 神尾ら, 2004）、岸側のアサリが餌料制限を受ける結果、成長速度の違いが形成されるためと考えられる（図 3-2-11: 小沼ら, 2003）。

表 3-2-4 各海域におけるアサリの年齢と殻長との関係

海域	年齢と殻長	参考文献
厚岸湖	1年: 8.8mm、2年: 21.3mm、3年: 34.4mm	山本・岩田 (1956)
東京湾	1年: 約 30.0mm	西沢ら (1992)
有明海	1年: 28mm	中原・那須 (2002) 堤ら (2002)

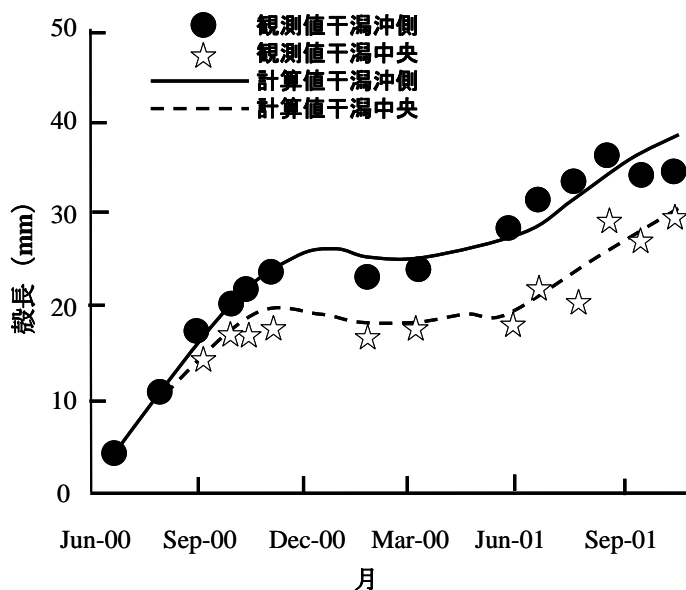


図 3-2-11 盤洲干潟の干潟沖側と中央におけるアサリの殻長成長（小沼ら, 2002 より）
各月の殻長は、各地点で得られた殻長別個体数データを基にしたコホート解析から得た値。
計算値は、Solidoro et al. (2000) が提案した個体成長モデルを用いて計算した。

b 成長速度推定方法

二枚貝類の成長速度は、コホート解析（堤ら, 2002）、標識放流（Ito, 1985; 長本ら, 2004; 伊藤ら, 2001）、ケージ設置による現場飼育（伊藤ら, 2001; 柿野, 1996）などによって推定することができる。コホート解析は、計算に多くの個体群データを必要することから、標本数や対象面積などに留意する必要がある。また、連続的な加入がある場合、殻長組成によるコホート分離が難しいという問題点がある。標識放流法は、コホート解析のように多くのデータを必要としないが、放流後の移動・分散が大きい海域では回収が難しく適用できない場合がある。ケージ法は、あらかじめ大きさを測定した個体を囲いに入れて一定期間飼育した後に回収し、成長量を推定することから、コホート解析に比べて多くの個体群データを必要としないメリットがある。しかし、一般的に囲いの中では成長が良くなる傾向があり、飼育条件が自然状態と異なる可能性について考慮する必要がある（Kanaya et al., 2005）。また、二枚貝の貝殻表面に形成される同心円状の成長線（障害輪）や、貝殻断面に観察される光の透過度が異なる帯状の成長線（図 3-2-12）を利用して齢査定や成長解析を行うことができる（Masu et al., in press; 伊藤ら, 2001; Koike, 1980; 小池ら, 1992;



図 3-2-12 アサリ貝殻正中線に形成される成長線断面像（上）と断面のレプリカ像（下）。

田・清水, 1997)。ただし、これらの成長線の形成周期は二枚貝の生息水深帯で異なる場合があるので予め確認が必要である。とくに、これまで冬季の成長停滞により形成されると考えられてき

た貝殻表面の障害輪（年輪）の形成周期は環境により大きく異なるので注意が必要である。

c 着底後の生残

着底生活以降の生残率は成長段階や環境条件等で大きく異なり、流れや地盤高といった物理的環境、溶存酸素濃度や塩分濃度などの化学的環境、食害生物や競合種といった生物的環境など多くの要因が関連していると考えられている。柿野（1992）は、東京湾盤洲干潟における資源調査と漁獲資料から生残率を推定した結果、自然発生した稚貝と種苗放流された稚貝のうち約70%が漁獲サイズ（30mm）になるまでに減耗すると推定している。柿野（2000）は、同海域での現地調査により殻長1mm未満から20mm未満（殻長1.6～20mm）に達するまでの生残率を約2.0%と推定し、さらに潮下帯（0.54%）と潮間帯（4.40%）で生残率に顕著な違いがあることを示した。同じく盤洲干潟における Toba et al. (2007)による調査によると、5月から10月にかけて連続的に起こる着底のうち、夏着底群の多くは消滅し秋着底群の加入成功率が高いことが示されている。アサリの大きさや着底時期とその後の生残の関係は地域によって異なる。これは禁漁期や禁漁区の設定などにより保護すべきコホートを決定する際に必須の情報なので、それぞれの漁場での状況を確認することでより効果的な漁業管理が可能となる。

二枚貝の生息密度は、幼生の加入量（着底稚貝量）と上記の生残率によって決定されるが、生息密度が高くなると個体間での餌料の競合が起こり、その結果生残率の低下を招くことが多くの二枚貝で報告されている（堀井ら, 2002; Melià et al., 2004; Reusch, 1998; Weinberg, 1998）。このことに関連して、アサリの種苗放流時の適切な放流密度について、いくつか報告がある（鳥羽監訳, 1996; Melià et al., 2005）。バーレイ湾における3～4mmのアサリ稚貝の放流密度と生産率との検討結果によると、至適放流密度は30～60個体/m²以下と試算されている（鳥羽監訳, 1996）。種苗放流が漁業の主体となっているイタリアのアサリ漁場では、個体群動態モデルと経済モデルを用いて種苗放流密度（放流時殻長10mm、漁獲サイズ35mm）と生産量・収益の関係が検討されており、砂質地盤では放流密度を1500個体/m²以下に抑えることが生産力と収益の両面で最も適しているとの試算がある（Melià et al., 2005）。以上のように、アサリの至適密度は干潟の環境収容力や漁業形態などによって異なる。それぞれの漁場に適した種苗放流量や漁獲量を見極めた漁業を行うことが肝要である。

上記に示した初期減耗は、多産多死の繁殖戦略を持つ二枚貝類の生活史には織り込み済みの現象であり、これらを良く理解することで資源の管理に役立てることができる。さらに、これらに加えて、海域の貧酸素化や洪水による出水等、一過性の環境悪化による貝類の大量へい死事例の報告がある（柿野, 1986; 陣之内ら, 1991; 蔵田, 2000）。以下に着底後の生残にかかる物理的環境の影響について解説した。

1) 高温・低温の影響

春や秋の着底時期であれば、水温が問題になることはほとんどない。問題になる可能性があるのは、夏季および冬季の干出時の温度である。冬季はアサリの着底期ではないが、秋に着底した稚貝はそのままほとんど成長せず殻長1mm以下で冬を経過することが多いので、冬季の低温も考慮しなければならない。夏季の干出時には露出した砂表面は38℃前後、水深のほとんどない潮溜まりなども同程度まで温度が上昇することがある。冬季の干出時には砂表面や潮溜まりは0℃前

後にまで低下する。稚貝が砂の表面に露出している場合は、太陽の直接の輻射熱や低気温による凍結、さらには乾燥が加わり、死亡の危険が高まる。しかし、たとえ僅かであっても潜砂するなどして砂や地物の下に隠れている場合は、このような極端な温度に暴露されることは少ない。また、このような高温や低温に暴露されるのは干出時に限られるので、干出時間（地盤標高と潮位変化）が場の評価の目安になる。一般的なアサリの生息域であれば、干出時間は最大で連続3時間前後であろう。

2) 泥の影響

泥は稚貝の生存に悪影響を与える。日常的に泥が堆積している場所、あるいは河川出水などで泥がたまりやすい場所は稚貝増殖場には不適である。どうしてもそのような場所を使いたいときは、何らかの手段でその泥を取り除いたり堆積を防止したりしなければならない。このような場所では、稚貝増殖を目的に構造物を設置しても多かれ少なかれ泥分が増加する場合が多い。

泥が稚貝の生存に影響を与える過程は二通りあると考えられる。①一つは懸濁した高密度の泥粒子による稚貝の濾水阻害である。泥の懸濁粒子は濾水によって稚貝の鰓に捕捉され、粘液で連結されて擬糞として排出される。粒子が高密度だと連続的に擬糞を排出しなければならず、さらに高密度になると稚貝は濾水を停止してしまう。稚貝は本来の摂餌や呼吸ができなくなって疲弊する。②もう一つは、新たに堆積してくる泥による埋没である。砂などが堆積した場合には、稚貝は水管を海底面に出せるように潜砂深度を浅くする。ところが新たに堆積した泥は軟弱なため、稚貝は其中で定位できず、潜砂深度を浅くできない。多量の泥が堆積すると稚貝は水管を海底面に出せず、摂餌と呼吸ができなくなる。

稚貝の生存に影響が大きいのは埋没である。泥の懸濁や堆積による稚貝への悪影響は、泥分の多い底土が荒天時に巻き上げられた場合などにも起きるが、大量死亡につながるのは河川出水の場合である。逆に、底質に泥分が多くても、含水率が低く締まっていれば、上記のような問題は起こりにくく稚貝の生存に影響は少ない。

3) 波・流れの影響

稚貝（殻長1mm以下）の巻き上げは、底面流速（底面直上約5cmで観測）が一定以上の時に起き、巻き上げられる稚貝と砂の量は比例関係を示す。すなわち、稚貝の巻き上げには非連続的な限界流速域があり、流速がそれを越えると稚貝は砂とともに一斉に巻き上げられ始める。巻き上げの継続時間、すなわち底面流速が移動限界流速を超える時間は波高と潮位によって左右される。東京湾盤洲地先の干潟（表層砂の中央粒径は0.09~0.10mm、砂の比重は約1.6）では、移動限界流速（有義波流速振幅）は約25cm/s、底面流速がそれを越えた時間は2~3時間という観察例がある。

巻き上げにともなう輸送は潮流にともなう移流によってもたらされると思われるが、当然ながら稚貝が巻き上げられている時間帯の移流の方向が重要になる。この移流の方向は海岸地形、海底地形、潮時によって異なるので、輸送方向は場所によって異なり時間とともに変化することが予想される。稚貝は潜砂能力が高ければ、表層の砂が動かされても潜砂深度を深くして巻き上げや洗掘を避けることができる。従って、稚貝は成長とともに巻き上げられにくくなり、水温が高く潜砂速度が速い時期には輸送されにくくなる。

3 疾病

a アサリ等二枚貝類のブラウンリング病 (BRD: Brown Ring Disease)

干潟域および砂浜浅海域に生息する二枚貝類の大量死に関与する疾病について、国内における発生はこれまで確認されていないが、近年韓国のアサリでブラウンリング病の発生例が報告された。本病はアサリ類に病原性が高く、我が国への侵入も危惧されることから、本病について解説する。

1987年の春から夏にフランス、ブルターニュ州フィニステール県北部大西洋岸のランデダのアサリ養殖場においてアサリの大量死(死亡率:50%)がみられた(Paillard et al., 1989)。大量死する直前にはアサリは海底より這い出る行動がみられ、開殻すると大部分の貝の貝殻内側に茶色の沈着物が観察された。この大量死により、ブルターニュ州の二枚貝養殖は壊滅的な打撃を受け、以後安定的な貝類養殖ができなくなっている。翌1988年には、同国大西洋岸の天然漁場(ブレスト湾、モルビアン湾など)においても本病によると思われるアサリの大量死がみられた。同時期ヨーロッパでは、二枚貝類の移出入に関する法的な規制が整備されていなかったことから、本病はイタリア、スペイン、イングランドそしてアイルランドに広まった(図3-2-13)。

1) 病名

ブラウンリング病(brown ring disease;以下BRDと略す)の名称は罹病貝の外観症状に由来する。すなわち病貝では貝殻内側の外套膜線(pallial line)にコンキオリン(CD;貝殻をつくる蛋白質)の沈着異常により形成される特徴的な茶色のリングが形成される(図3-2-14)。

2) 病原体

病原体は1990年にフィニステール県ランデダのアサリから分離された*Vibrio*属の細菌で、当初Predominat 1または*Vibrio* P1(VP1)と呼称されていた(Paillard and Maes, 1990; Borrego et al., 1996)。正式名は*V. tapetis*である。感染実験により、*V. tapetis*が本病の原因菌であることが証明された。この病原菌の増殖可能(培養条件下)温度は4~22℃である(Paillard and Maes, 1990; Borrego et al., 1996)。*V. tapetis*は高温に対する感受性が高く、30℃以上の温度では増殖しない。塩化ナトリウム濃度が1.5%で増殖し、0%、6%では増殖しない(Borrego et al., 1996)。漁場および室内実験から、高水温がBRDの感染から回復を早める効果があるとの報告がある(Allam et al., 2002; Paillard et al., 2004)。また、塩分もBRDの検出率に影響を与え、実験感染において20%などの低塩分飼育下では、BRDの検出率を有意に増加させる(Reid et al., 2003)。

フランス大西洋岸のロワール川は、本病の天然の境界となっている。川をはさんで北側のBRDの出現率は20~60%に対して、南側では、0~3%ときわめて低い。

フランスでは、一般に養殖貝におけるBRDの出現率は天然貝のそれに比べて高く、冬季から春季にかけて養殖アサリの幼貝および成貝に高頻度でみられ、しばしば大量死をもたらす。感染すると貝の成長、軟体部重量および肥満度に影響を及ぼす。病貝は健全貝に比べて成長が遅く、肥満度も低い。BRDの感染により衰弱した貝は、環境ストレス、水質の汚れ、養殖過程および流通過程(高密度蓄養、輸送、転地など)のハンドリングに対する耐性も低下する。

3) 宿主

BRD は、*Ruditapes* (=Tapes) 属および *Venerupis* 属の二枚貝に罹病する。自然感染では、*R. philippinarum*, *R. decussatus*, *R. rhomboides*, および *Venerupis aurea* が罹病する。実験感染では、*R. philippinarum* が最も感受性が高く、漁場におけるアサリの大量死事例がみられたことと一致する。

R. philippinarum の他に、*R. decussatus* や *V. aurea* の瀕死貝からも本菌が分離された。また、症状が認められないが、cockle (*Cerastoderma edule*) のように *V. tapetis* が高い菌濃度で分離されるものもある。カキ類 (*Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis*, *C. virginica*, *C. edule*) およびホンビノスガイ (*Mercenaria mercenaria*) では、実験感染において CD の沈着異常はみられない (Paillard et al., 1996)。ホタテガイ類 (*Pecten maximus*) でも感染実験後 CD の沈着は観察されなかった。

二枚貝類以外の宿主では、2種の魚類、ノルウェーのベラ科魚類 wrasse (*Symphodus melop*) の瀕死魚およびスコットランドの養殖ハリバット (*Hippoglossus hippoglossus*) の瀕死魚からそれぞれ *V. tapetis* が分離された (Jensen et al., 2003; Reid et al., 2003)。しかしながら、両種とも感染実験では、病徴の再現にはいたらなかった。

4) 地理的分布

BRD は、1987年にフランスで初めて報告され、その後1994年にスペイン、1997年にイングランド、1998年にアイルランドでの発生例が報告されている (図 3-2-13) (Paillard and Maes, 1994; Castro et al., 1996; Novoa et al., 1998)。1993年には、イタリアの北部アドリア海で発生したが、大規模な伝播はせず夏季の数ヶ月間うちに終息した。スペインでは、北部のガリシア沿岸のリアス式海岸域に生息する *R. decussatus* および *R. philippinarum* の両種に発生した。同海域の温度条件がフランス大西洋岸と類似している特長があった。アジアでは、2004年に韓国西岸 Anmyeondo 島のアサリから *V. tapetis* が分離された (図 3-2-15) (Park et al., 2006)。これまで米国西部海岸およびカナダからは報告されていない。*V. tapetis* はノルウェー、スコットランドにおいて魚類から分離された (3) 宿主参照)。

5) 診断法

BRD の診断法は、外部観察、菌分離、免疫学的手法および分子生物学的手法による検出である。

① 菌分離法

BRD の感染アサリから海水寒天培地などを用いて *V. tapetis* は分離できる。*V. tapetis* は、培養に際して、スクロースおよびマニトールが利用できないこと、TCBS (チオ硫酸クエン酸胆汁スクロース) で増殖すること、27°C以上では増殖しないことの特徴を利用した選択培地により培養することで分離培養が可能である。これらの条件を満足したコロニーを分離精製して、遺伝子型、血清型および分子生物学的特徴を調べることができる。

菌体の検出限界は、貝の湿重量または外套腔液換算でそれぞれ 5×10^3 CFU/g、 5×10^3 CFU/mL である。分離菌の模式種との同一性を確認するためには、DNA-DNA ハイブリダイゼーションおよび少なくとも4つの遺伝子(16S rDNA, gyrase, rpoD, recA)のシーケンシングを行わなければならない。さらには、分離菌を外套腔に接種して4週間後に臨床的な症状が再現されることを確認する (Paillard and Maes, 1990)。

② 免疫学的手法による検出

フランス、イングランド、スペインでは、抗 *V. tapetis* のポリクローナル抗体を作製し、間接蛍光抗体法 (Allam et al., 1996, 2000; Castro et al., 1995, 1997)、スライド凝集試験 (Castro et al., 1995)、間接ドットブロット法 (Castro et al., 1995)、ELISA 法 (Noel, 1996)を用いて、*V. tapetis* を検出している。

ドットブロット法は同じ *Vibrio* 属の *V. pelagiusto* と *V. splendius* と弱い交差反応を示す (Castro et al., 1995)。間接蛍光抗体法は、菌の局在性だけでなく、通常の菌分離法で検出限界以下の場合などでも検出できる (Castro et al., 1997)。ELISA 法は外套腔外液および血リンパで *V. tapetis* の菌濃度を定量できる。ELISA 法の検出限界は、平均 5×10^4 CFU/mL である。

③ 分子生物学的手法による検出および同定

V. tapetis の迅速診断法および母貝のスクリーニング法として有効な PCR 法が開発された (Paillard et al., 2006)。検出限界は、 10^2 CFU/mL・外套腔液で、天然および養殖アサリ稚貝、幼貝、成貝から同定できる。

6) 診断基準

検体が BRD に感染していないという判断は、以下の①～③の項目について2つの項目すなわち、①と②又は①と③に該当している場合になされる。

- ①肉眼観察で茶色の色素沈着が検出されない。
- ②菌分離法およびスライド凝集法により分離あるいは検出されない。
- ③免疫学的手法または分子生物学的手法により検出されない。

* 他の生物(軟体動物、魚類、節足動物)については、*V. tapetis* に感染しているか否かの診断基準は、②または③のどちらか1つでよい。

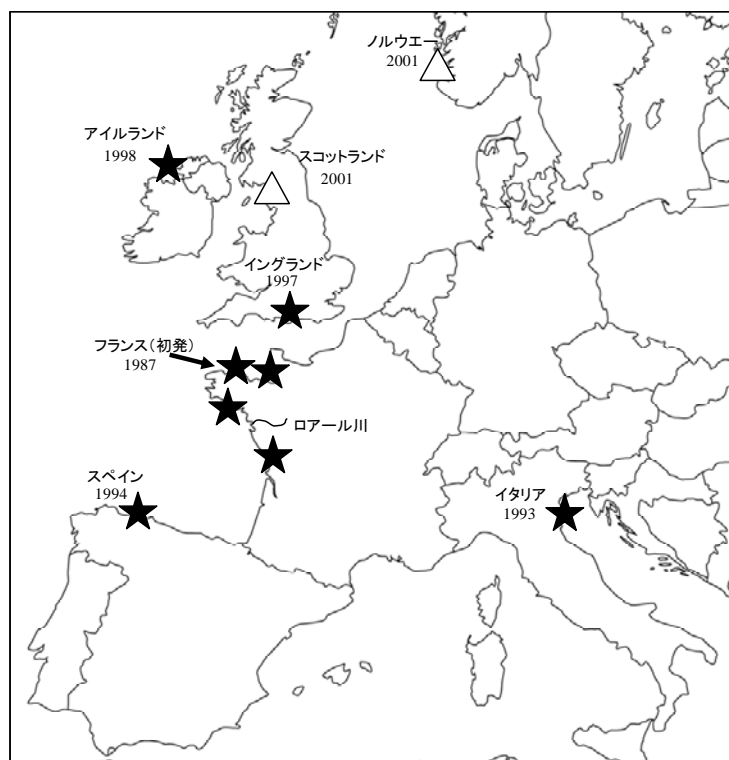


図 3-2-13 ブラウンリング病の発生年、*V. tapetis* の分離年および発生国 (★：二枚貝類，△：魚類)



図 3-2-14 ブラウンリング病（アサリの自然発病貝）
（韓国国立チェジュ大学 Choi 教授のご厚意による）



図 3-2-15 2004 年韓国 Anmyeondo 島のアサリから *V. tapetis* を分離

b アサリ等二枚貝類のパーキンサス症

原生動物の1種であるパーキンサス属原虫は、カキ (Mackin, 1950)、アワビ (Lester and Davis, 1981)、ホタテガイ (Blackbourn et al., 1988)など海産貝類に広範に感染し、その分布も全世界的である。特にアメリカガキでは外套膜の萎縮、消化盲囊の退色、成長および生殖腺の発達の遅滞がみられ、しばしば大量死を引き起こし産業的に大きな問題となる(Ray, 1996)。アワビ類では、結合組織および表皮の損傷および外套膜および足における膿疱形成により商品価値を損なう。このように貝類養殖に深刻な影響をおよぼすことから OIE (国際獣疫事務局) の重大疾病に指定されているものもある。

近年、我が国はじめ、韓国、中国およびタイにおいても、アサリ類などの二枚貝で本症の発生例が報告されている (Choi and Park, 1997; Park et al., 1999; Park and Choi, 2001; Hamaguchi et al., 1998; Maeno et al., 1999; Choi et al., 2002; Liang et al., 2001; Leethochavalit et al., 2004; Dungan and Reece, 2006)。そこで、アサリ等二枚貝類に発生するパーキンサス症について解説する。

1) 病名

パーキンサス症は 1946 年に米国ルイジアナ州の大量死したアメリカガキ *C. virginica* で最初に発生し、その原因生物は、1 種の原生動物 *Perkinsus marinus* (= *Dermocystidium marinum*) であることが明らかになった(Ray, 1996)。

以後、分類学的に種が同定されているものだけでも、オーストラリア南部でアカアワビ *Haliotis ruber* に *P. olseni* (Lester and Davis, 1981)が、カナダのブリティッシュコロンビア州のホタテガイ *Patinopecten yessoensis* に *P. qugwadi* (Bower et al., 1992) が、チェサピーク湾の *Mya arenaria* に *P. chesapeakei* (McLaughlin et al., 2000) が、同湾の *Macoma balthica* に *P. andrewsi* (= *P. chesapeakei*) (Coss et al., 2001)が、そしてスペイン地中海西部のバレアレス諸島のヨーロッパカキ *Ostrea edulis* に *P. mediterraneus* (Casas et al., 2004)が感染していた事例がある。アサリ類では 1989 年にポルトガル南部で大量死したアサリ類 *Ruditapes* (= *Tapes*) *decussatus* で *P. atlanticus* (= *P. olseni*) が感染したものが初記載である(Azevedo, 1989)。この他に、アコヤガイ類、アカガイ類およびイガイ類などの二枚貝からも、未同定な本属原虫の感染例が多数報告されている。

2) 病原体

アサリに感染するパーキンサス属原虫は、*P. olseni* (Azevedo, 1989; Navas et al., 1992; Ordas et al., 2001)、*P. honshuensis* (Dungan and Reece, 2006)および *P. spp.* (Choi and Park 1997; Park et al., 1999; Park and Choi, 2001; Hamaguchi et al., 1998; Maeno et al., 1999; Choi et al., 2002; Liang et al., 2001)がある。

パーキンサス原虫は、trophozoite、hypnospore および zoospore の 3 つの生活段階があり、trophozoite は、宿主の外套膜、鰓 (図 3-2-16)、消化盲囊(図 3-2-17)および足に観察され、宿主が死亡すると trophozoite から hypnospore (図 3-2-18)へ、さらには zoospore へと形態変化し、zoospore が他の貝に感染すると考えられている。

R. decussates に感染した *P. olseni* を培養し、zoospore 形成におよぼす環境要因を調べたところ、水温 24~28℃、塩分 25~35PSU および pH 7~8 が本種の好適な増殖条件であった (Auzoux-Bordenave et al., 1995)。

3) 宿主および地理的分布

海外のアサリ類では、スペインの大西洋岸および地中海岸の *R. decussatus*, *R. philippinarum*、*V. pullastra* および *Paphia aurea* に *P. olseni* の感染例がある。仏、イタリア、スペインおよび北アフリカの地中海岸の *R. philippinarum* から本属の未同定種の感染例がある。

国内では、酒井(2001)が、1998年9月に宮城県沿岸22水域においてRFTM培養法および組織学的観察によりアサリにおけるパーキンサス属原虫の分布を調べたところ、いずれの水域からも検出され、その感染率は、5~100%であった。

浜口ら(2002)は、1994年から2001年に国内74地点において、特異的プライマーを用いたPCR法および改変RFTM培養法によりアサリ類における *Perkinsus* sp.の感染状況を調べたところ、63地点で感染がみられ、感染率は3.1~100%であった。また、殻長15mm以下のアサリには感染がみられず、河口域などの淡水の影響を受ける海域では感染率は低く、アサリのほかオニアサリおよびヒメアサリが感染していた。

4) 診断法

パーキンサス症の診断法は、hypnospreの培養法および trophozoite の組織学的観察法がある。

① 培養法 (Ray's thioglycollate medium 法)

- ・解剖し、鰓、外套膜、足を摘出し、それぞれを5×5mmに細切し、抗生物質添加のチオグリコレットメディウムに入れ、22~25°Cの暗所で4~7日間培養する。
- ・培養後、各組織を顕微鏡下で圧平できるように軽く細切し、5倍希釈のルゴール液に10分間浸漬する。
- ・スライドガラスに各組織を取りだし、カバーガラスをかけ、黒または濃青色に染色された hypnospre を検出する (図 3-2-18)。

② 組織学的観察法

- ・解剖し、外套膜、鰓、消化盲嚢および足を摘出し、それらを Davidson 液または10%海水ホルマリン液で固定する。
- ・1~2日後にアルコールによる脱水、キシレンへ置換さらにパラフィン包埋し、4~5μmの切片を作製する。
- ・脱パラフィンの後、ヘマトキシリン-エオシン染色を施し、各組織における trophozoite を検出する (図 3-2-16、図 3-2-17)。

培養および組織学的観察は、本症の診断法として有効であるほか、スクリーニング法としても用いることが可能である。また、近年前述のパーキンサス属各種に対する特異的プライマーが開発され、PCR法などの分子生物学的手法による検出もなされているが、本法は特異性および検出感度が優れていることから、分類学的な異同を明らかにするのに有効な手法である。

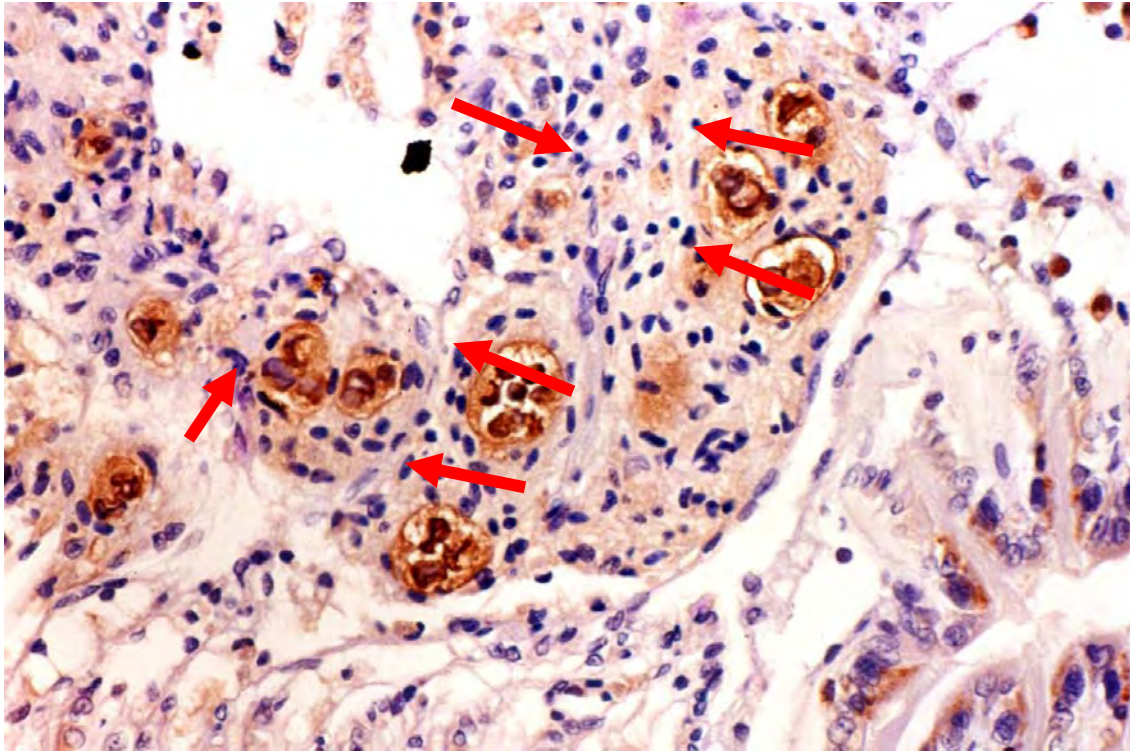


図 3-2-16 アサリ鯢にみられたパーキンサス属原虫の trophozoites (矢印)
抗-*Perkinsus marinus* 抗体による免疫組織化学染色、ヘマトキシリンによる対比染色

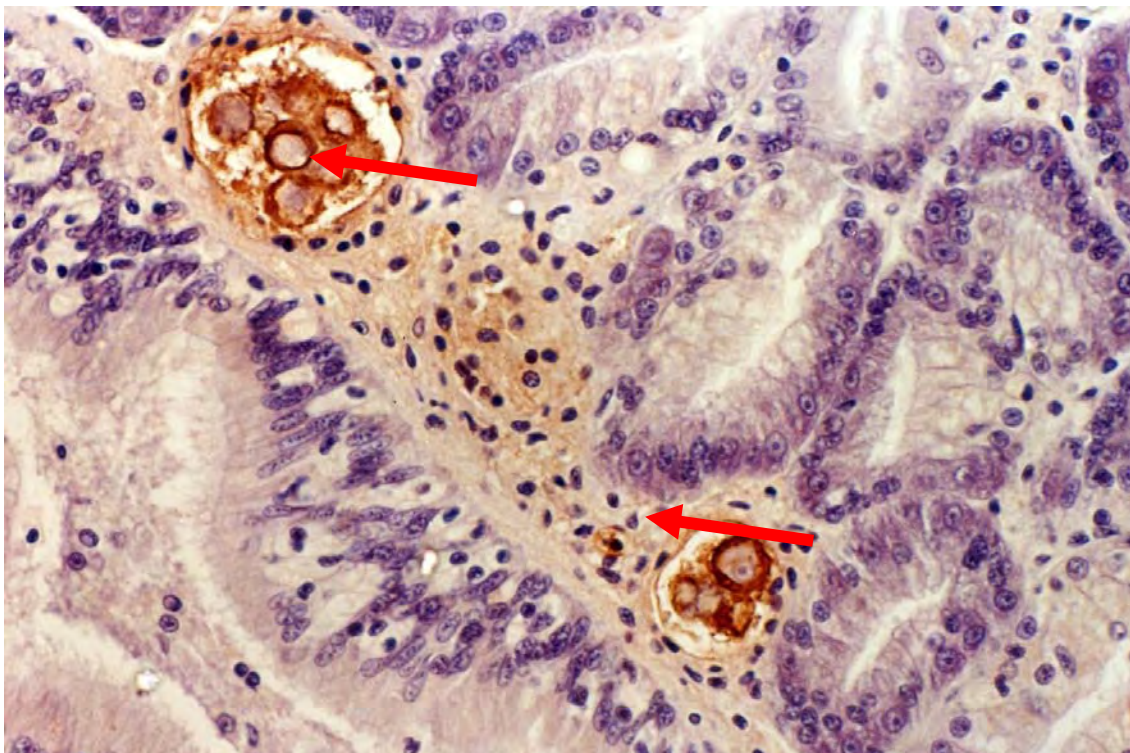


図 3-2-17 アサリ消化盲嚢にみられたパーキンサス属原虫の trophozoites (矢印)
抗-*Perkinsus marinus* 抗体による免疫組織化学染色、ヘマトキシリンによる対比染色

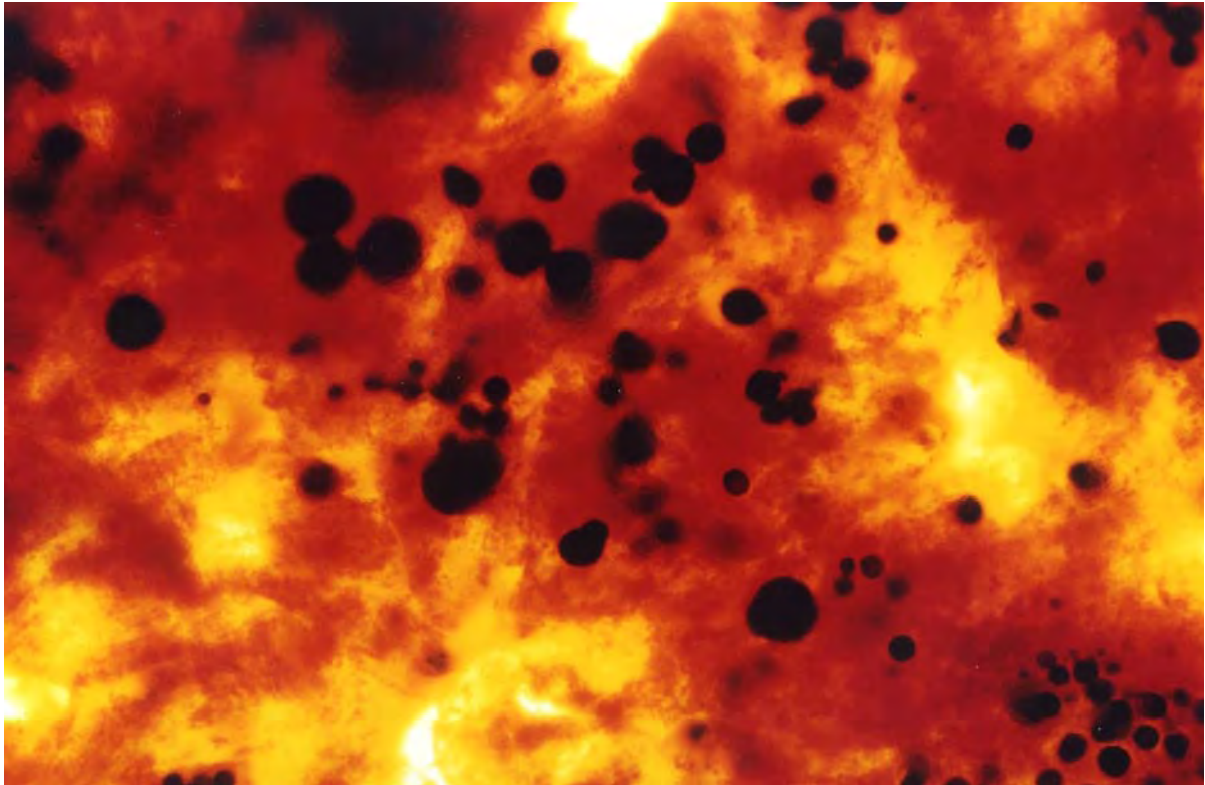


図 3-2-18 アサリ外套膜中にみられたパーキンサス属原虫の hypnospore (黒色円形)
Ray の thioglycollate medium による培養後 Lugol 染色を施したもの