

博 士（水産科学） ミランダ トレス リチャード マルセロ

学 位 論 文 題 名

Aquaculture of the Neptune whelk *Neptunea arthritica* oriented to the recovering depleted populations around Hokkaido, Japan

（北海道周辺のヒメエゾボラ資源回復のための水産増殖）

学位論文内容の要旨

The fisheries of the Neptune whelk *Neptunea arthritica* have been severely affected from overfishing and serious imposex problems. In addition, intrinsically, *N. arthritica* shows other problems such as high predation rates on their non-motile deposited eggs, high embryo mortality and low hatching rate. Also external factors are known to reduce its reproductive capacities, as imposexed whelks still remain at different places of Hokkaido as well as parasite infection. All these suggest that recruitment of this species may be partially or completely limited. Under this scenario, this study was developed to provide tools for the recovery and management of affected populations. Following this mainframe, artificial seed production arises as a suitable alternative to solve this problem through reseedling programs or mariculture.

This work comprises two main topics: aquaculture and genetic population structure. For the aquaculture topic, three investigations were done with focus into first steps in the development of artificial seed production technology: 1) study of the copulation behavior of *Neptunea arthritica* to determine if broodstock maintenance is required as first step in the development of an artificial seed

production, 2) determination of the most suitable conditions for the process between egg mass deposition until the hatching of *N. arthritica* juveniles. Substrata preference for egg mass deposition and potential variability between egg masses deposited in natural and controlled environments under different water temperatures were evaluated, and 3) establishment of the best conditions for growth and survival of juveniles treated at different diets and water temperature were investigated for seed production technology requirements. The second issue, genetic population structure, was examined in order to provide valuable information for the management and reseedling programs on target areas of this resource. Genetic population study was done using nucleotide sequence analysis of 430 base pairs (bp) in the 5' portion of the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I gene (COI) of whelks collected from 7 localities around Hokkaido Island.

Artificial seed production of the Neptune whelk could be carried out under controlled conditions. The whelk showed polygamy in copulation behavior. However, low mating percentage of maintained adult whelks under controlled conditions and female rejection during copula suggest that maintenance of broodstocks would not be economically reasonable due to the great number of whelks required and related logistical factors. Results here found indicate that, as first step in seed production technology, collection of egg masses from wild condition during breeding season should be considered. Collected egg masses should be kept under controlled conditions of water temperature (12-15°C), photoperiod (12:12), continuous or re-circulating water flow and soft aeration. These conditions will promote a high hatching rate (> 50%) of emergent juveniles (size: 8.0-9.2 mm in shell length) within 4 months. The hatched juveniles could be cultured under the same conditions described above. However, it is recommended to

utilize continuous water flow or other system that allows stability of water quality, given that, whelks should be feed at rates of 20-25% of their body weight. The use of fish as main food (e.g. sardine) at least every 3 days substantially decreased water quality due to accumulating waste. Under these conditions juveniles of *N. arthritica* would reach 20 mm in shell length within 6 months, with mortality fluctuating between 20-40%. The maintenance of egg masses and juveniles under controlled conditions improves notoriously its performance compared with those in wild conditions. Strong increments in hatching rate, developmental time and hatching size are expected, while the same situation is projected for growth and mortality in juveniles.

The utilization of artificial seed oriented to recover depleted fishing areas of this resource should consider *N. arthritica* genetic population structure, which is composed by two main haplotype groups (clade A and B) around Hokkaido. Clade A, the main group was observed at all sample sites of the island, while clade B was observed at the southern part of Hokkaido. Recovering projects, which consider collection of egg masses and introduction of juveniles in target areas should be carefully done to minimize the potential impact on the genetic population structure, especially at the southern part of Hokkaido, basically because this region showed a high degree of gene flow.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 五 嶋 聖 治
副 査 教 授 仲 谷 一 宏
副 査 教 授 阿 部 周 一
副 査 准教授 和 田 哲

学 位 論 文 題 名

Aquaculture of the Neptune whelk *Neptunea arthritica* oriented to the recovering depleted populations around Hokkaido, Japan

(北海道周辺のヒメエゾボラ資源回復のための水産増殖)

北海道周辺のヒメエゾボラ資源は、乱獲と、漁具や船底の塗料に含まれていた有機スズに起因するメスのオス化現象（インボセックス）による繁殖障害によって壊滅的な打撃を受けた。有効な資源回復策がない中、各地で当分の間禁漁とする措置が取られているにすぎない。ごく低レベルとなった本種の資源レベルの回復には、本種の持つ特徴的な生活様式も関係して、簡単には回復しにくい面もある。すなわち、本種は直達発生型の生活史を有し、基質に産みつけられた卵塊からふ化する稚貝は、数百個の卵からわずか1個体であり、他はすべて栄養卵としてふ化する個体に食われてしまう。ゆえに、ふ出率はごく低く、潜在的な個体数増殖率が低い生活史特性を持つ。本種は、捕食者が多いとされる潮間帯に卵塊を産みつけるため、卵期の被食率が高いこともあいまって、本種の増殖率は他の貝類と比較してもかなり低いことが知られている。加えて、二生目吸虫類の寄生による卵巣発達障害も各地で見られ、ヒメエゾボラ資源の回復策が待望されている。

有機スズの使用規制策がようやく効果を発揮し、各地のインボセックス個体の割合は低下傾向にある。しかし、いったんごく低レベルにまで減少した個体群では、親個体の絶対数不足に起因する加入稚貝の不足、すなわち加入制限（recruitment limitation）が働き、資源回復には困難が伴うのが一般的である。自然増殖率が低い本種の資源回復には、自然に任せるだけでなく、人為的な種苗添加も有効な手段となりうる。本研究は、ヒメエゾボラ資源回復のための有効な増殖技術の確立を目指し、その基本となる水産増殖学的研究を行い、有効な資源回復策の提言を行ったものである。

繁殖行動：本種の雌雄は産卵に先立って交尾行動を行う。オスは多くのメスと交尾しようとするが、メスの拒絶行動は激しく、時には拒絶されたオスがけがを負う場合もある。メスによる拒絶行動の激しさの原因は不明であるが、水槽内の交尾成功率は低い結果となった。これらの結果は、大きなコストをかけて多くの親個体を飼育しても、交尾率は低く、産卵率もそれほど高くは望めないことを示唆する。

産卵基質選択：メスは産卵する際に、卵塊を基質に付着させる。野外では、岩盤、石、貝殻等に産

みつける。水槽内にコンクリートブロック、ホタテガイ貝殻、プラスチック波板を同面積ずつ設置し、産卵基質選択実験を行った。その結果、コンクリートブロックと水槽壁面に産みつけた例が多かった。

稚貝ふ出率：産みつけられた卵塊を、各水温段階で飼育した結果、水温 12～15℃でのふ出率が 50% 以上ともっとも高い結果となった。約 4 か月後に、殻長 8.0～9.2mm の稚貝がふ出する。

稚貝の成長・生残：ふ出した稚貝をさまざまな水温条件、餌条件で飼育した結果、流水条件下で、3 日ごとに体重の 20～25% の魚類（イワシなど）を餌として与える方法が良いことがわかった。この飼育条件下で、6 か月後には殻長 20mm にまで成長し、この間の死亡率は 20～40% となった。

遺伝的組成：北海道内 6 か所からヒメエゾボラを採集して、その遺伝的組成を調べた。その結果、13 のハプロタイプが観察され、これらは大きく 2 つのクレードに分けられた。クレード A は北海道中で観察され、一方、クレード B はおもに北海道南部に多く見られることが分かった。

まとめ：以上の結果より、枯渇したヒメエゾボラ資源の回復を計るための有効な増殖手法として以下のような提言を行った。放流用種苗の生産のための稚貝確保は、親貝から飼育産卵させるよりも、野外で自然産卵された卵塊を採取し、卵塊を水槽内飼育してふ出稚貝を得ることがもっとも効率的である。ただし、自然産卵基質の不足している海域では、コンクリートブロックのような人為的産卵基質の設置がより有効である。得られたふ出稚貝は、流水条件下で、3 日ごとに体重の 20～25% の魚類を餌として与える方法が良いことがわかった。約 6 か月の飼育で殻長 20mm にまで成長し、この間の死亡率は 20～40% と低く抑えることができる。このようにして生産された種苗は、元々の生息地に放流するのがベストであるが、仮に放流対象地で十分な自然産卵の卵塊が得られない場合は、遺伝的組成を考慮して、北海道南部域では南部域内産の種苗放流に限定することが肝要である。一方、北方域のヒメエゾボラの遺伝タイプは道内各地で見られることから、それほどの制限は行う必要がないものと思われる。

本研究で得られたヒメエゾボラの水産増殖学的知見は、資源回復が待望されている本種の水産増殖に大いに役立つばかりでなく、人工種苗生産技術の開発が待たれる多くの底生動物にも応用が期待できる。よって審査員一同は、申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。