

Studies on the life histories of catadromous
fishes, *Trachidermus fasciatus* and *Cottus*
kazika (Family: Cottidae)

鬼倉, 徳雄
Graduate School of Agriculture, Kyushu University

<https://doi.org/10.11501/3150853>

出版情報 : 九州大学, 1998, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

3. ヤマノカミの生活様式

有明海に流入する鹿島川を主な研究の場として、ヤマノカミの生活史、初期形態発育や遡上と降河などの回遊ならびに産卵習性等を、飼育実験と野外調査によって明らかにした。そして、ヤマノカミの成長、出現域とその生活史を Fig.41 に簡潔に示した。

本種の受精卵は粘性沈着卵で、雄親魚の保護により水温 5℃下で約 32 日間の長い卵内発生期間を経て孵化に至る。孵化直後の仔魚は腹部に卵黄と油球を持ち、すでに開口している。仔魚は正の走光性を持ち、水槽内では水面に向け活発に泳ぎ回り、水槽の壁際に群れをなす。孵化後 5 日目には卵黄を完全に吸収し、前屈曲仔魚期に移行するとともに、摂餌を開始する。一般に分離浮性卵を産む魚類では卵は小型で卵黄量が少なく、孵化までの所要時間が短い(岩井, 1985)。このため、孵化仔魚の諸器官は未発達で、口や肛門は開いていない(塚本, 1989)。これに対し、沈性卵・付着卵から生まれる仔魚は孵化までの所要時間が長いために、発育が進んだ状態で孵出し、比較的大型で開口していることが多く、孵化後まもなく摂餌を開始する(塚本, 1989)。ヤマノカミの場合は後者の沈性付着卵から生まれる発達の進んだ大型の仔魚であり、このような特徴は他の淡水カジカ科魚類全般にも当てはまる(水野・丹波, 1961; 後藤, 1975; 清水ら, 1994)。

ヤマノカミの仔魚は毎年 2 月から出現し始め、有明海では奥部沿岸域に、鹿島川では満潮前後にのみ汽水域に現れ、潮の干満で河川内と海域を往復する。飼育下では体長 10~11mm の脊索上曲の前後に各部位の体長比における変曲点が多くみられ、稚魚期に移行する体長 15mm、および若魚期に移行する体長 18mm 頃に、骨格の形成と第 2, 第 3 の体長比における変曲点が認められる。これらの内部的あるいは外部的形態の変化に合わせた形で、生態的な特徴である遊泳層や走光性にも変化が認められるようになる。稚魚および若魚移行期か

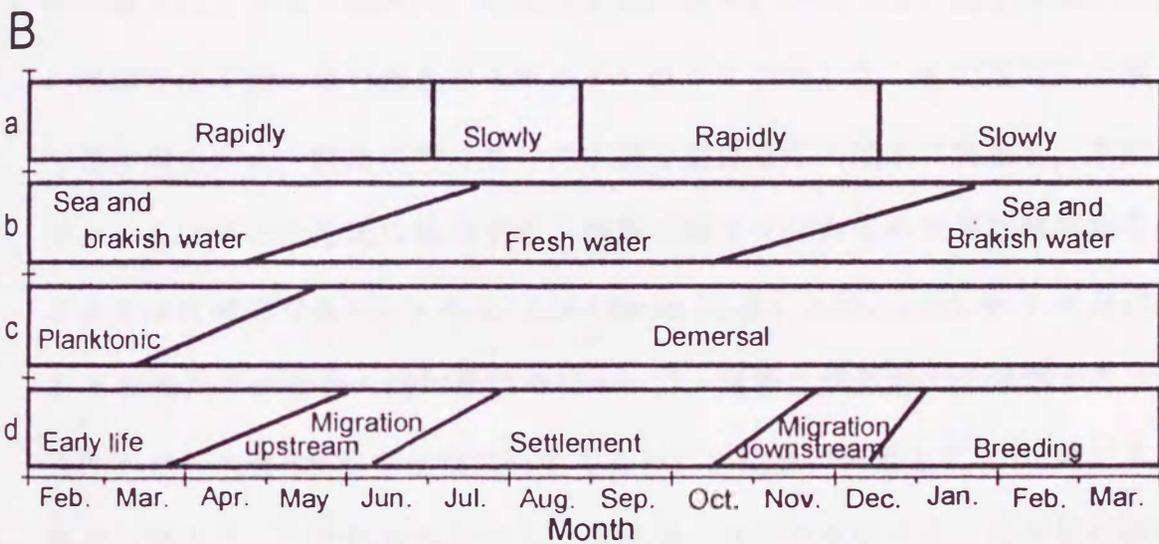
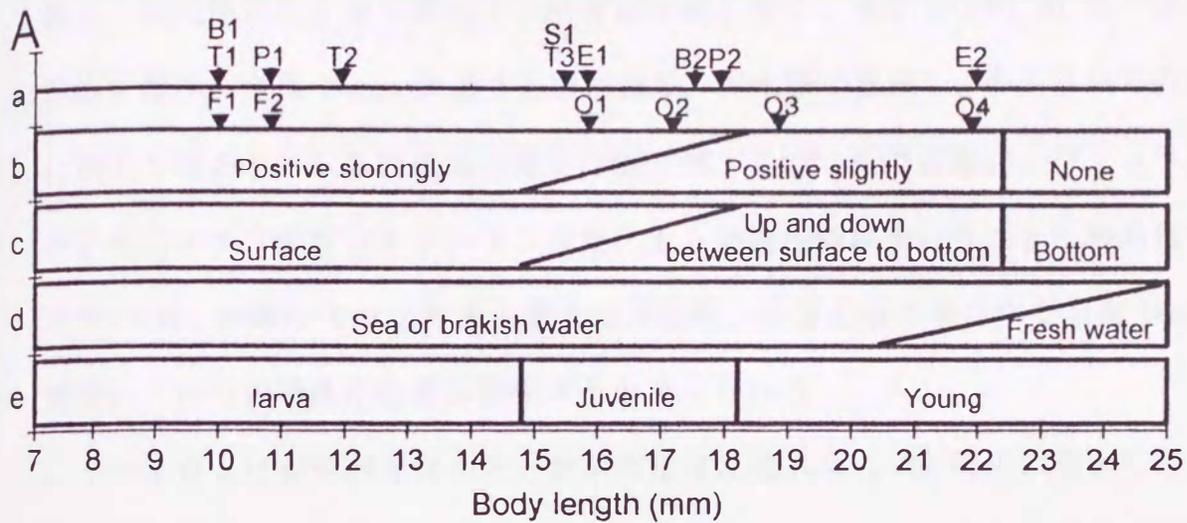


Fig.41. Body length in early life(A) and periods(B) when the morphology, behavior, habitat and migration of *T. fasciatus* change.

- A a: position of flecion point, ossification.
- b: phototaxis.
- c: swimming layer.
- d: habitat.
- e: developmental stage.
- B a: growth.
- b: habitat.
- c: swimming layer.
- d: life history.

Marks indicate flecion points; F1, F2) notochord; T1~T3) total length; S1) snout length; P1, P2) preanal length; B1, B2) body depth; E1, E2) eye diameter; O1~O3) ossification.

ら、表層性や走光性が徐々に薄れ、ほぼ全ての化骨が終わる頃、水槽底部に着底し、走光性がなくなり淡水での飼育が可能となる。天然では約 30 日の浮遊生活を営み、全長 24mm に達する頃に海域、汽水域で着底し、4~5 月から河川に遡上し始める。広塩性魚類の多くは鰓や腸、腎臓の機能調節およびプロラクチンやコルチソルなどのホルモン作用により浸透圧調節を行うことが知られており(平野, 1994)、ヤマノカミの場合は浮遊期から着底期に移行する全長 24mm 前後にそれらの機能や作用が発現すると考えられる。

ヤマノカミは有明海北部沿岸と諫早湾沿岸に流入する 28 河川に遡上した。その遡上は 7 月まで継続し、その生息域は淡水に移行する。遡上末期には多くの河川で最下流の堰を遡上できずにその直下に密集した。その後河川の淡水域で定住期を迎え、鹿島川では夏の高水温を避けるため湧水に集まり、水温の低下とともにその生息域は拡張する。鹿島川産ヤマノカミの成長は産卵期を迎えるまでは直線的であり、1 年で 120~190mm に達するが、1995 年 7~9 月における 1 日当たりの全長の増加量は 0.16mm で、夏場は成長がやや停滞する。飼育条件下でも水温 28℃で生残は可能であったが成長は停滞した。10 月に入ると降河が始まり、二次性徴が発現し、生殖腺の発達を開始する。降河期は雌の方が長期化し、その生殖腺重量は雄の方が早く上昇する。降河は 1 月まで継続すると考えられ、その後 1 月末から 3 月中旬までの間有明海沿岸と河口域で繁殖する。このようにヤマノカミは降河回遊型の生活史を送り、同じ回遊スタイルを持つ種は日本では同じ淡水カジカ科魚類のカマキリ、そしてウナギ *Anguilla japonica* だけである(塚本, 1994)。

ヤマノカミは鹿島川沖合数 km、塩分 8 以上の海域で繁殖した。水槽内実験により卵塊の付着が良く、高い受精率を得るためには塩分 20 以上で産卵させ、正常で高い孵化率を得るためには塩分 10 以上で卵を発生させることが条件であることが明らかにされた。これらの結果により、ヤマノカミは塩分の高い満

潮時に、干潮時の汀線際にあるカキ殻内に産卵することが、潮の干満の影響で水位と塩分変動が大きい有明海で(管野, 1981)繁殖するためには有利な戦略と考えられる。

天然域におけるヤマノカミの産卵基盤の大半はカキの殻で1雄が複数の卵塊を保護する。水槽内の繁殖様式からヤマノカミの産卵は雄主導型で行われるペア産卵で、淡水カジカ科魚類に共通した前適応的形質であるが(後藤, 1988, 1994), 婚姻形態は他の淡水カジカ類が Polygyny であるのに対し(Goto, 1987; Brown, 1973), ヤマノカミは Polygamy である。水槽内での雄の実効繁殖期間は2~3日と短く、卵保護期間を短くするための有利な戦略と考えられた。本種の繁殖行動は営巣、産卵および卵保護行動に至るまで、日本産の他の淡水カジカ類と似ているが、求愛行動においてかみつぎ行動が、卵保護行動においてバイブレーション行動がみられた点で異なっていた。産卵期のヤマノカミは最大190mmに達し、これらはすべて満1歳魚であった。産卵後の個体は一部で河川への再遡上が確認され、水槽内では温度管理下(25℃以下)で満2歳魚で繁殖に寄与した個体がいるものの(竹下・木村, 1994), 大半は産卵後1~2ヶ月で寿命を終える。そして、約1ヶ月に及ぶ雄の卵保護によって、次世代の生活史が開始する。

鹿島川を主要な研究の場として、ヤマノカミの生活史をとりまとめたが、本種は日本では有明海の北部に流入するほとんどの河川に分布し、これらの生息域の環境は異なることが示唆される。とくに最下流の堰の位置によって感潮域や汽水域の長さが異なり、その堰を遡上できるか否かによって本種の生息域も多少異なると考えられる。しかし、本種に関する研究報告は少なく、断片的であるが、これらの知見を統合すると基本的な生活様式については本研究と一致しており、ヤマノカミの生活史を解明したと考える。

4. 保護と増殖対策

ヤマノカミは近年資源数が急減しているといわれ、環境庁のレッドデータブックでは危急種に指定されている(竹下・木村, 1995)。その原因として、河口域開発や埋め立てなどによる産卵場所と仔稚魚の成育環境の減少、河口堰建設による遡上阻害に伴う成育河川の減少、農薬や生活排水の河川流入による生息環境水の悪化などが挙げられる。ここではそれらの中で本種の生息に特に影響を及ぼしていると考えられる堰による遡上阻害とその対策、人工産卵基盤による増殖について検討する。

1) 堰の遡上阻害とその対策

有明海に流入する 8 河川で最下流の堰の上流部でヤマノカミの採集を行ったが、生息が確認されたのは鹿島川と牛津川の 2 河川のみであった。これらの河川のうち 3 河川の堰には魚道が設置されていたにもかかわらず上流部でのヤマノカミの生息は確認されなかった。諫早湾に流入する河川でも堰より上流部への遡上は確認されておらず(田北・近本, 1994)、堰やダムが存在が本種の遡上を妨げているのは紛れもない事実である。田北・近本(1994)は感潮域上限近くの堰やダムに設置されている魚道の多くは落差の大きい階段状であり、動きが鈍い魚類の遡上に適した構造ではないことを指摘している。そこで、天然河川における本種の魚道の遡上状況を把握するため、1997 年 6~8 月に佐賀県中川の最下流堰の魚道にトラップを仕掛けた(Fig.42A)。中川の魚道は 9 個の隔壁からなる階段式魚道で、幅 2 m、落差が 30 cm であった。幅 75cm、落差 20cm の切り欠けが設置してあり、最も下段の切り欠け部分にトラップを仕掛けた。このトラップは長さ 1.5m、幅 0.75m、目合い 6mm の直方体で、20 × 75cm の開口部をもち、高さが 0.5~1m の範囲内で調節できるものである。隔壁から落下する直前の水脈部に開口部が当たるように、調査時に高さを調整した。この魚



Fig.42. Fishway of the lowest dam and a trap in the Naka River.
A) fishway and a trap; B) individuals captured with a trap.

道には底部に 20 cm 幅のウナギ穴が設置してあったが、今回の調査ではウナギ穴は塞いで行った。

魚道トラップ採集結果を Table 23 に示した。6 月 30 日~7 月 1 日と 7 月 29 日に 3 時間間隔で 24 時間調査を行った。この堰直下の周辺を潜水観察したところ、いずれの調査日でもヤマノカミ当歳魚が多数観察されたが、魚道内では 1 尾も採集されなかった。トラップで採集された生物の中ではカワムツ *Zacco temmincki*, オイカワ *Z. platypus* が多く、他にフナ類 *Carassius auratus sp.*, バラタナゴ類 *Rhodeus ocellatus sp.*, ウグイ *Tribolodon hakonensis*, ドンコ *Odontobutis obscura obscura*, ヨシノボリ類 *Rhinogobius sp.*, カムルチー *Channa argus*, スジエビ *Paraemon paucidens* の遡上が確認された (Fig.42B)。調査中の魚道内の流速は 37.0~192.0cm/s で、魚道内の流量は 13.0~158.6l/s であり、河川流量の 4.4~12.3% であった。

次に、ヤマノカミの遡上力を調べるため、耐水ベニア板を用いて幅 12cm, 長さ 240cm, 深さ 20cm の水路を作製した。実験は水深と流量を調整して、流速を 13, 18, 23 および 33cm/s の 4 段階に設定し、高さ 0, 2, 4, 8 および 12cm の隔壁を設置して、全長 30mm から 10mm 間隔で全長 80mm までのヤマノカミを各 50~60 尾ずつ収容して行った。そして、30 分後の最上部への遡上個体数を計数し、遡上率を算出した。これらの結果を Fig. 43 に示した。隔壁を設置しない高さ 0cm の場合は全長 60mm 以下の個体の遡上が少ない以外は全体に高い遡上率を示した。隔壁がある場合、全長 40mm 以下の個体ではどの流速、隔壁高においても遡上率が極めて低かったが、それ以上の個体では流速 23cm/s 以下であれば 2cm の隔壁で 20%以上、4cm の隔壁で 15%以上が遡上した。隔壁の高さが 8cm になるとその遡上率は 20%以下、12cm の隔壁高では 50mm 以上の個体のごくわずかに遡上したにすぎなかった。

佐賀県中川で行った魚道の遡上調査では、魚道の周囲には複数の当歳魚が生

Table 23. The speed and the amount of flowing water in the fishway, and number of individuals of the species collected with a trap placed on the fishway at the lowest dam in the Naka River

Date	Time	The speed of flowing water (cm/S)	The amount of flowing water (l/S)	The ratio of the amount of flowing water (fishway : dam)	Number of individuals collected with a trap											
					*Zp	Zt	Ps	Ca	Ro	Th	Oo	Rs	Ca	Pp	Tf	
30 Jun.	7:00	47.8	122.5	4.6 : 90.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10:00	192.0	158.6	11.4 : 88.6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	13:00	68.0	95.2	9.9 : 90.1	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	16:00	53.6	96.5	12.3 : 87.7	83	97	27	12	19	0	0	0	0	0	0	0
	19:00	69.6	69.6	10.6 : 89.4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	50	0
	22:00	-	-	-	0	0	0	8	0	0	0	0	0	1	20	0
1 Jul.	1:00	-	-	-	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	10	0
	4:00	-	-	-	1	0	0	0	0	1	4	4	0	0	0	0
	7:00	93.7	26.4	6.3 : 93.7												
	29 Jul.	0:00	39.7	13.9	4.6 : 95.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	3:00	37.0	13.0	-	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6:00	39.4	13.8	5.5 : 94.5	0	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	9:00	45.7	14.4	4.4 : 95.6	0	60	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	12:00	56.0	15.7	5.3 : 94.7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15:00	46.7	13.1	4.4 : 95.6	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	18:00	49.2	19.0	-	0	2	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
	21:00	50.7	14.2	5.5 : 94.5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	24:00	47.3	13.2	-												

*Zp: *Zacco platypus*; Zt: *Z. temmincki*; Ps: *Pseudorasbora parva*; Ca: *Carassius auratus* sp.; Ro: *Rhodeus ocellatus* sp.; Th: *Tribolodon hakonensis*; Oo: *Odontobutis obscura obscura*; Rs: *Rhinogobius* sp.; Ca: *Channa argus*; Pp: *Paraemon paucidens*; Tf: *Trachidermis fasciatus*.

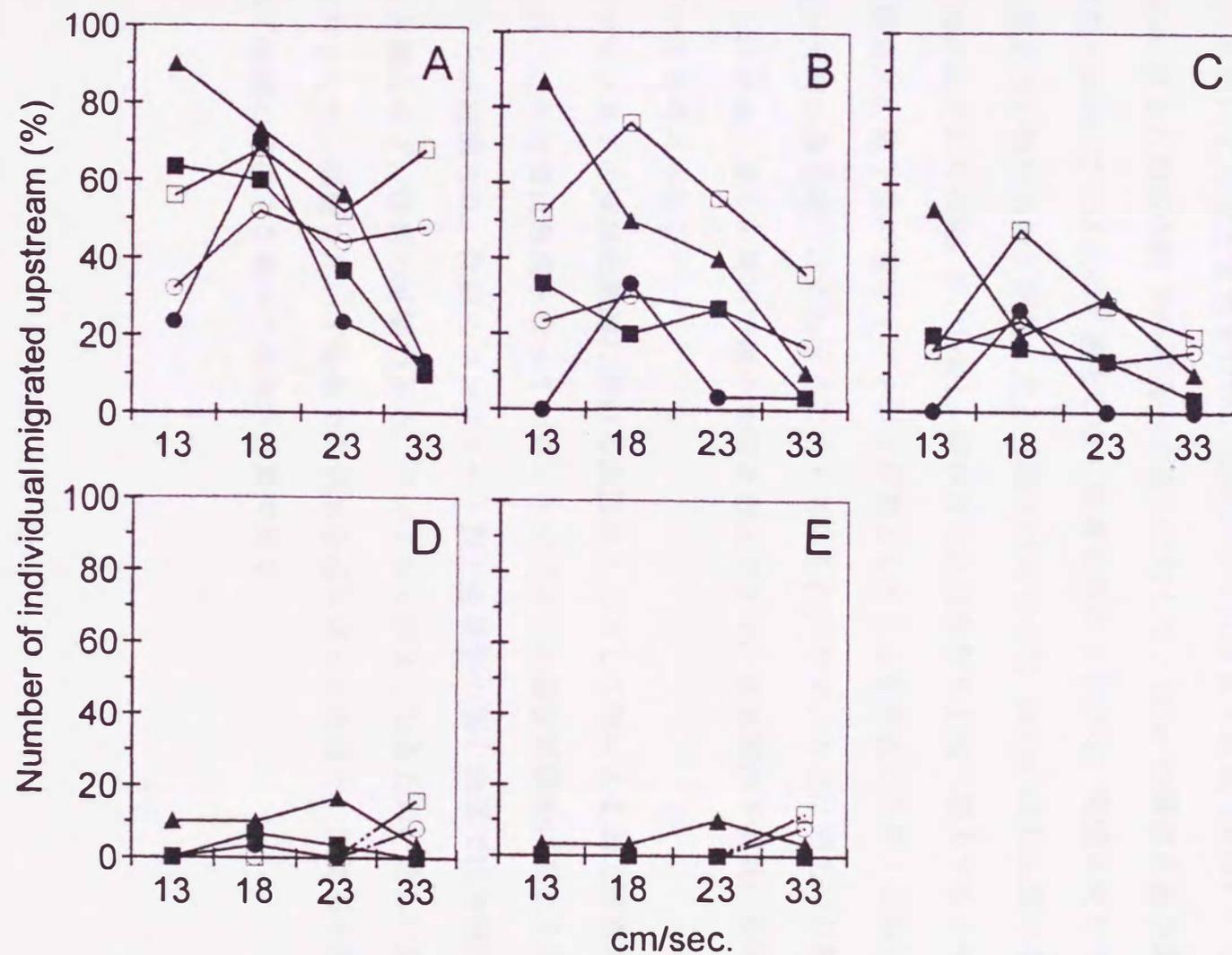


Fig.43. Number of individuals migrated upstream in the fishway experiments. Solid circles, squares, triangles, and open circle, squares indicate 30~40, 40~50, 50~60, 60~70, 70~80mm TL, respectively. A) no partition; B) 2cm partition; C) 4cm partition; D) 8cm partition; E) 12cm partition.

息しているにもかかわらず、ヤマノカミは全く採集されなかった。オイカワ、カワムツなどは十分に上っており、ヤマノカミの遡上力は極めて乏しいか、あるいは積極的な遡上を行わない魚種であることが推察された。これを確かめるため水路による遡上実験を行い、隔壁がなければ最大流速 33cm/s でも全長 60mm 以上の個体の約 50%が遡上するのに対して、12cm の隔壁がある場合は流速 13cm/s でもほとんど遡上しない結果を得たことから、隔壁に対して本種の遡上力が弱いものと結論した。韓国では河口から 100km 以上上流で本種が採集されており(Choi ら, 1983), 堰がなければかなり上流へ遡上する。牛津川と鹿島川の最下流の堰をヤマノカミが遡上したことを前述したが、これらは両堰が大潮の満潮時には水没するためと考えられ、ヤマノカミは遡上力が極めて乏しいため、多くの河川で堰や魚道を遡上できず、生息域が下流域に狭められていると考えられる。

ヤマノカミの資源の急減における原因の 1 つとして堰による遡上阻害が考えられ、この対策は急務となっている。ヤマノカミの場合実験的に遡上力が乏しいことが証明され、既設のコンクリート製と金属製の堰と魚道では本種はほとんど遡上せず、改善の必要がある。ヤマノカミのような遡上力の乏しい魚への対策として、隔壁を用いず傾斜で天然石を組み込んだ魚道や、天然石を積み重ねて水脈の連続する堰への改良が必要である。

2)産卵環境の改善策としての人工産卵基盤の利用

堰などによる遡上阻害以外には、河口域開発や埋め立てなどによる産卵環境の悪化もヤマノカミの資源が急減している原因の1つとして挙げられる。前に述べたようにヤマノカミは汀線際に固着するカキ殻とタイラギ殻(塚原, 1952)に産卵する。カキやタイラギは有明海の漁獲対象物であるうえ、河口域開発や埋め立てなどにより生息域が減少しているため、その数が変動しやすい。鹿島川沖合で行われた産卵場調査では、干潟に転がったタイラギ殻は多くあったが、地面に固着しておらず、産卵床として利用されていなかった。また、カキ礁はハッチ状に分布し、産卵場として良好な塩分条件を満たす範囲に少なく、さらに小型のカキ殻が多くみられ、全体的に産卵基盤が不足していると推察された。この問題を解決するため、人工産卵床の投入による産卵基盤の造成を提案する。まず、ヤマノカミの人工産卵基盤として有効な巢材を検討するため、水槽内で様々な人工構造物への繁殖を試みた。

人工産卵床に対するヤマノカミの繁殖実験結果を Table 24 に示した。アルミニウム製缶 (Fig.44A)、ガラス製瓶、塩化ビニル製管 (Fig.44B)、煉瓦製植木鉢 (Fig.44C)、プラスチック製植木鉢 (Fig.44D)、煉瓦製およびコンクリート製ブロック、石、水槽のガラス壁の全てで、雄の営巣、ペア形成、産卵が確認された。このうち、プラスチック製と煉瓦製植木鉢、煉瓦製ブロック、石、水槽壁では産卵は行われたが、その後数日間に卵塊が巣から外れた。しかし、それらは最終的には孵化に至った。アルミニウム缶、ガラス瓶、塩化ビニル管、コンクリートブロックはいずれも筒状で、ヤマノカミはその内部に繁殖したが、植木鉢も同様の形状であるにもかかわらず、その壁面に繁殖した。石や煉瓦は陥没部分がある場合はその中で、ない場合はその底部か側面で繁殖した。

このように今回の水槽内実験では設置した全ての人工基盤が繁殖に利用された。基盤の形態が筒状の場合はその内部に、但し植木鉢のように開口部が広い

Table 24. The size of the spawned *T. fasciatus*, types, materials and sizes of the artificial nests, and conditions of spawning and hatching in aquaria

Total length (mm)		Artificial nest		Conditions from spawning to hatching ^{**}			
male	female	material	size (mm) ^{**}	spawning	adhesion of eggs	guarding by a male	hatching
162	143	aluminum can	65 × 150 ^a	○	○	○	○
131	155	glass bottle	65 × 150 ^a	○	○	○	○
179	139	poly-vinyl pipe	60 × 90 × 150 ^b	○	○	○	○
171	155	plastic flowerpot	100 × 150 × 125 ^b	○	×	×	○
170	162	brick flowerpot	100 × 150 × 125 ^b	○	×	×	○
176	153	brick block	210 × 100 × 30 ^b	○	×	×	○
181	175	concrete block	255 × 143 × 70 ^c	○	○	○	○
171	136	stone	300 × 200 × 120 ^c	○	×	○	○
143	156	glass wall	-	○	×	×	○

^{**}, a: diameter × length; b: diameter in lower × diameter in upper × length; c: length × width × height.

^{**}, ○: success; ×: no success.

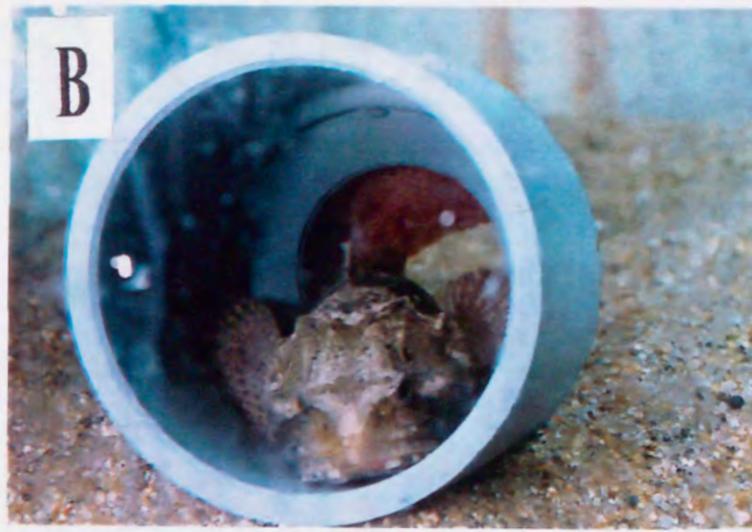


Fig.44. Artificial nests where *T. fasciatus* used in aquaria. A) a empty can, 65mm in diameter, 150mm in length; B) a poly-vinyl chloride pipe, 60 and 90mm in diameter, 75 and 75mm in length; C) a brick flowerpot, 100 and 150mm in diameter, 125mm in length; D) a plastic flowerpot, 100 and 150mm in diameter, 125mm in length.

場合は壁面に、それ以外の基盤の場合は陥没部分か底部、壁面に産卵した。著者がこれまでに行った繁殖実験から、天然で利用されている二枚貝を使った場合でもそれらが不安定な状態であれば繁殖を行わない場合が多く、しっかりと地面に固定されていることが条件の1つと考えられる。そして、筒上の基盤の場合卵塊が外れることなく正常な卵内発生と孵化が行われたことから、開口部が狭いアルミニウム缶、ガラス瓶、塩化ビニル管、コンクリートブロックが人工産卵床として適していると結論される。しかし、ガラス瓶は破損しやすく、アルミニウム缶や塩化ビニル管の場合、重量が軽く地面への固定が難しいため、天然海域での使用は難しく、コンクリートブロックが最適であると考えられる。

天然の産卵場で実際に人工産卵床がヤマノカミに利用されるかを確かめるために、1996~1998年1~3月に鹿島川沖合の産卵場にコンクリートブロックを投入した。産卵床の投入地点、産卵床が使われた地点とその環境についてはすでに述べたので{4-(3)}、ここではコンクリートブロックの利用状態をTable 25に示した。発見された卵塊は1997年に2卵塊、1998年に18卵塊であった。人工産卵床の利用の内訳は、雄が単独でいる状態(3例)、雄1尾が1~数個の卵塊を保護している状態(7例)、雄1尾が1~数尾の雌という状態(4例)、雄1尾が1~数個の卵塊を保護し、1~数尾の雌と混在する状態(3例)、2尾の雄、1尾の雌が混在する状態(1例)、1~数個の卵塊のみがある状態(3例)であった。

このように、人工産卵床として投入したコンクリートブロックの内部でヤマノカミの営巣と産卵が確認された。天然の主要な産卵基盤であるカキ殻における内部の状態と同様であり、コンクリートブロックはヤマノカミの巣材に適していると判断される。前述したように、天然ではカキ殻以外にも竹、空き瓶、鉄パイプなどでの産卵が確認されており、コンクリートブロック以外の巣材であっても地面にしっかりと固定される安定した基盤であれば、人工産卵床として利用可能であると推察される。前述したように、ヤマノカミの産卵場は干潮時

Table 25. The conditions of the artificial nests used by *T. fasciatus*

Year	Date	Stations	Number of the blocks*	Number of the used holes in the block	Conditions in the holes
1997	Feb. 8	7-M	2	1	A male and four females stayed and a egg masses adhered.
	Mar. 8	8-M	2	1	A male stayed and a egg mass adhered.
1998	Feb. 12	8-M	4	2	A male stayed.
	Feb. 28	8-M	4	3	A male and two females stayed.
					A male and a female stayed and two egg masses adhered.
	Mar. 14	8-M	4	6	A male stayed and two egg masses adhered.
					A male stayed and two egg masses adhered.
					A male and a female stayed and a egg mass adhered.
	Mar. 28	8-M	4	2	A male stayed.
A egg mass adhered					
Feb. 12	11-M	4	4	A egg mass adhered.	
Feb. 28	11-M	4	2	Two males and a female stayed.	
				A male and two females stayed.	
Feb. 28	11-M	4	2	A male and three females stayed.	
				Two males and three females stayed.	
Feb. 28	11-M	4	2	A male stayed and a egg mass adhered.	
				A male stayed and a egg mass adhered.	

*, The block is composed of 3 holes.

の汀線際に形成された。そして、本種の産卵に必要な塩分である満潮時 20 以上、干潮時 10 以上を満たし、産卵基盤密度が高いことがヤマノカミの産卵の条件であることはすでに述べた。今後はこれらの条件を満たす場所に、魚礁の投入などによる人為的な手段を施し、産卵基盤の密度を高めることにより、ヤマノカミの産卵場は維持できると考えられる。

II. カマキリの生活史

1. 研究方法

本種の生活史を解明する手法として、基本的には生息河川における野外観察と採集、そして得られた標本の観察と解析によったが、これらの方法では解決できない部分については九州大学農学部附属水産実験所の飼育実験施設を使った水槽内での飼育観察、実験によった。これらの方法の詳細については飼育実験と野外調査に区別して下記した。

1) 飼育実験

卵内発生と水温、塩分の関係 1996年10月~1997年12月に島根県江の川で採集した成魚を、約4cmの厚さの砂を敷いた水槽内(60×30×35cm)に収容し、冷凍オキアミ、スジエビ *Palaemon paucidens*、イソゴカイ *Gnorimosphaeroma rayi* を餌として飼育し、コンクリート製U字溝(幅25~45、高さ9cm)を産卵基盤として雌雄1尾ずつのペアを組ませて自然産卵させた。そして、得られた卵を供試卵とし、卵内発生過程の観察を行い、水温と孵化所要日数の関係を調べた。水温と孵化日数の関係は既知の水温区を含め(鈴木・山田, 1990)、ウォーターバスにより5水温区(9.2, 10.0, 11.0, 13.0, 13.5℃)を設定し、11ビーカーに30~50粒ずつ収容して調べられた。本種の孵化は比較的長期にわたるため、その半数が孵化した日を孵化日とした。受精卵は数千粒の卵塊の状態で産み出され、親魚が保護して卵塊を清掃し、水流を与えるが、卵内発生の観察、水温と孵化日数の関係を調べる実験は、卵塊内部まで十分な酸素が供給されないことが考えられたため、卵塊を一粒一粒分離して行われた。

後述するように本種の産卵場は河口付近の海域に形成される。この水域は潮の干満や河川流量の変化により塩分が変動し、産卵時の塩分が場所によって異なることが予想される。このような塩分の違いが卵内発生や孵化に及ぼす影響

を調べるために、次の方法で塩分と孵化率の関係を調べた。この実験では産卵以前から塩分 0, 5, 10, 15, 20, 25 および 32 区に調整した水槽内に親魚を収容して自然産卵させ、そのまま孵化させた。後述するようにカマキリも他のカジカ科魚類と同様に雄が卵を保護する習性を持ち、この実験ではカマキリ雄の卵保護習性を利用し、卵塊を自然水温下(5.2~10.5 °C)で孵化まで雄に保護させた。水槽のサイズは 60 × 30 × 35cm で、底に砂を敷き、前述した U 字溝を産卵基盤とした。雄親魚には 1~2 日に 1 回冷凍オキアミを与え、1 日おきに 1/3 ずつ換水した。

仔稚魚の発育に伴う形態変化 前述と同様の方法で自然産卵させ、雄の卵保護のもとで孵化した仔魚を、30l ポリカーボネイト水槽に移して飼育し、仔稚魚の発育様式が調べられた。発育様式の区分は稚魚期までを A. W. Kendall (1984) に従い、親魚と同じ体色を呈してからを若魚期とした。水槽は止水式とし、2~3 日おきに 1/3 ずつ換水し、アルテミア *Artemia salina* 幼生、冷凍マルミジンコ *Chydorus sphaericus*、冷凍ユスリカ *Ortholadius akamusi* 幼生を成長に応じて与えた。カマキリもヤマノカミと同様に浮遊生活後、河川遡上すると考えられたため、飼育水は孵化後 20~30 日は海水(塩分 33~34)とし、その後徐々に塩分を低下させ、着底後 10 日前後に淡水とした。また、水槽壁にぶつかることが原因と考えられる顎骨異常が予備飼育で認められたため、本実験では通気により一定方向への水流を起こし、常に水槽内で回転するように仔稚魚を遊泳させた。このような方法で 1 つの卵塊から孵化したもののの中から、定期的に 5% 中性ホルマリンで 10 尾前後の仔稚魚を固定し、外部形態変化の観察とスケッチが実体顕微鏡下で行われた。また、実体顕微鏡下でこれらの各部位 (Fig.2) を計測し、標準体長比を求め、その変化を調べた。さらに、同標本を Dingerkus and Uhler (1977) の方法により透明化し、アルシャンブルーとアリザリンレッドで

二重染色を施した後、実体顕微鏡で観察し、成長に伴う化骨過程を調べた。また、上述の飼育したカマキリは以下の飼育実験の供試魚ともされた。

仔稚魚の発育に伴う遊泳層、走光性の変化 仔稚魚の昼夜における鉛直分布を調べるために、透明アクリル製水槽(5×15×150cm)に飼育した仔稚魚を収容し、日中と夜間に仔稚魚の位置を調べ、成長に伴う遊泳層の変化を検証した(Fig.3A)。また、暗室に設置した5×180×5cmの木製水槽に仔稚魚を収容し、15V150Wの落射照明装置(MHF-150S, MORITEX)を使って水槽の1カ所に光を照射し続け、30分後に仔稚魚の位置を調べ、発育に伴う走光性の変化を検証した(Fig.3B)。これらの実験は日齢0(平均体長7.0mm)、1(7.1mm)、3(7.3mm)、5(7.5mm)、7(7.8mm)、10(8.0mm)、14(8.4mm)、21(8.5mm)、28(9.5mm)、35(10.2mm)、42(12.5mm)および49(15.3mm)の12成長段階で各1回ずつ行われ、水槽への仔稚魚の収容数は20~30尾とした。

飼育魚の耳石に出現する輪紋の日周性の検証 孵化直後(日齢0)から飼育された孵化日の明瞭な日齢0、3、6、12および30の仔稚魚の99%エタノール固定標本各10尾から耳石を摘出して観察し、日齢(孵化後日数)と耳石に刻まれた輪紋数との関係を調べた。耳石は水洗後、瞬間接着剤を使ってスライドガラス上に包埋された。そして、耐水サンドペーパー(No.1500, 2000)で研磨後、0.05N HCLで脱灰し、光学顕微鏡(200~400倍)下で輪紋数を計数した。

仔稚魚の生残と成長に及ぼす塩分の影響 仔稚魚の生残率と成長に及ぼす塩分の影響を調べるために、下記の3成長段階の飼育仔稚魚を用いて飼育実験を行った。

卵黄吸収前仔魚：日齢1, 6.8 ± 0.3 mm TL(SD), n=400(/1区)

稚魚 : 日齢 47, $15.3 \pm 0.6\text{mm}$, $n=180$

着底期稚魚 : 日齢 93, $23.9 \pm 2.4\text{mm}$, $n=30$

実験魚はそれぞれの成長段階において 0, 11, 23 および 34ppt の 4 塩分区に調整した 30l ポリカーボネイト水槽に個体数がほぼ均一になるように収容した。各区は止水式で、常時弱い通気を行い、毎日約 1/3 ずつ換水した。給餌は、1 日 3~5 回各区に等量ずつ、成長段階に応じてアルテミア *Artemia salina* 幼生、冷凍マルミジンコ *Chydorus sphaericus*、冷凍ユスリカ *Ortholadius akamusi* の順に与えた。実験は自然水温下で行われた。各区の死亡個体を毎日数えて除去し、1~2 日おきに各水槽から無作為に 20 尾を採取し、ノギスで全長を測定後、再び水槽内に戻した。そして、試験終了時の各区供試魚の平均全長は一元配置分散分析で平均値間の差の存在を確認後、t 検定 (2 区間)、Scheffe test (3 区間以上) により区間有意差の有無を検定した。

幼魚の成長、生残率に及ぼす水温の影響 カマキリ当歳魚における成長、生残率に及ぼす水温の影響は飼育実験によって検証された。実験魚は 1997 年 8 月に江の川の河口から約 15km 上流で採集したもの (実験 1)、および 1998 年 8 月に島根県下府川最下流堰下で採集した個体 (実験 2) を用いた。実験 1 では自然水温下 (22.5°C) の 3 水槽 ($60 \times 30 \times 35\text{cm}$) に 25 尾 (全長 $59.5\sim 89.3\text{mm}$) ずつ収容し、1 日かけて各々水温 20, 24 および 27°C に調整した。実験 2 では自然水温下 (20.0°C) の 8 水槽 ($60 \times 30 \times 35\text{cm}$) に 10 尾 (全長 $44.6\sim 79.2\text{mm}$) ずつ収容し、1 日かけて各区 2 水槽の水温を 6, 10, 15 および 20°C に調整した。最低水温区の 6 および 20°C 区は実験室温の調整により、それ以外の区はサーモスタット (THERMO Z 500S) と 100V300W の水中用観賞魚用ヒーターを使って水温の調整が行われた。各区は止水式で、常時弱い通気を行い、毎日約 1/3 ずつ換水した。そして、10 日間各区等量のメダカ *Oryzias latipes* (全長 $15\sim 30\text{mm}$) を給餌し

ながら飼育し，生残率と成長(平均全長，平均全長の伸び率，平均日間成長率)を求めた。

繁殖行動と配偶者選択 カマキリの繁殖行動，婚姻形態の解析は 1994~97 年 10~12 月に江の川で採集した親魚を持ち帰り，水槽内で自然産卵させて行った。海水(塩分 33~34)を入れた 12 個の水槽(60 × 30 × 35cm)に砂を敷き，産卵基盤としてコンクリート製 U 字溝(幅 25~45，高さ 9cm)を入れ，雌雄 1 尾ずつ(雄：全長 165~225mm；雌：全長 158~230mm)を収容し，合計 12 組のペアを作製した。そして，収容直後から繁殖および孵化に至るまでその行動をビデオで録画し，繁殖行動を解析した。また，1998 年 1 月には背部にリボンタグをつけて個体識別した雄 5 尾(全長 152~202mm)，雌 5 尾(全長 145~210mm)を，海水(塩分 33~34)を入れた 3.5 × 1.5 × 0.7m の屋外のコンクリート水槽に収容した。産卵基盤として所定の位置に 8 個の U 字溝(幅 25~45，高さ 9cm)を入れ，1 日 5~10 回，水温測定，雌雄の居場所とペアの組み合わせおよび産卵の有無の確認を行い，婚姻形態を解析した。この際雄の占有する巢内に卵塊が確認された場合，その雄が放精したものとみなした。これらの産卵実験の飼育水は止水式で，エアレーションを施し 2~3 日おきに 1/3 換水した。親魚の餌は冷凍オキアミ，スジエビ *Palaemon paucidens*，イソゴカイ *Gnoringosphaeroma rayi* とし，それらを 1 日 1~2 回与えた。

2) 野外調査

(1) 調査場所

カマキリの分布域は秋田県から宮崎県とされ(後藤, 1989), 九州大学から近いところでは島根県江の川に本種が比較的多く生息しているという情報を得た。そこで, カマキリの野外生態調査は同河川の本, 支流で行った。この川は流域面積 3870km², 流路延長 194km の一級河川で, その源は広島県の阿佐山(標高 1218m)にあり, 切り立った山間部を流れ, 日本海に面した江津市内に河口をなしている(Fig.45A)。この河川の汽水域は上流約 8km までで, 流量によって変動するものの 6~8km 上流まで底層に塩分が侵入してくる。潮汐による干満差は最大でも 2.5m 足らずで, 河口域でも干潟や潮間帯はほとんど形成されない。本流の川幅は広く, 河口域では最大 500m, 河口から 40km 上流でも川幅 80m, 水深 3m を越える。河口部の左岸側はコンクリート護岸で水深が 3m 以上, 右岸側は砂浜で水深 1m 未満の浅所である(Fig.45A)。本流の河口から約 57km 上流に浜原ダムがある。このダムは島根県邑智郡邑智町地先に発電専用ダムとして設置されたもので, 高さ 19m, 総貯水量 1120 万 m³, 最大水深 15m, 表面積 1.49km² である。このダムには魚道が設置されているが, ダムの上流域におけるカマキリの生息数は極めて少ないことが漁業者からの情報により明らかとなったため, 河口からそこまでの本流部と, 本流との合流部に堰がない 5 支流(上津井川; 八戸川; 濁川; 三谷川; 尻無川)を調査域とした。特に個体識別による標識・再捕調査は追跡の容易な比較的規模の小さい支流である上津井川, 濁川, 三谷川, 尻無川で行われた。上津井川には河口から約 9.5km に本流との合流点があり, 川幅 2m 足らずの小河川であり, 合流部から 500m 上に落差約 30cm のコンクリート堰があり, そこまでを調査区域とした。八戸川は河口から 15.7km に合流点を持ち, 江の川支流域では比較的大きな支流であり, 合流部から 4.7km 上流の堰までを調査区域とした。濁川, 三谷川は 31.0km お



Fig.45. Sampling sites around the river mouth of the Gonokawa River.
A) the river mouth; B) Gotsu Port.

よび 35.0km 上流に合流部を持つ中規模の支流である。それぞれ合流部から約 1.8km, 2.7km に最下流のコンクリート製堰があり、通常はこれより上流への本種の遡上はないと判断されたため、合流部からそこまでを調査区域とした。尻無川は調査支流の中で最も最上流に位置し、本流の河口から約 51.0km に合流点を持つ。この川には堰がないため、合流部から約 1.4km 上流の志君川との分岐点までを調査区域とした。

また、本流の河口部を中心に、その約 0.5km 東に位置する江津漁港において産卵場調査および仔稚魚の採集を行った。江津漁港は外海側をテトラポットとコンクリート堤防で、陸部の大部分をコンクリート護岸で囲まれた入り江であるが、西奥部は砂浜と岩礁から、南奥部は石組み護岸からなり、比較的自然の景観を残している。特に西奥部の砂浜、岩礁域(St.2)には転石が多く、ホンダワラやアオサなどの海藻が繁茂した場所である(Fig.45B)。この漁港は河口に隣接しているにもかかわらず常時表底層とも塩分 30 を越える。

一部の遡上調査は島根県浜田市内に注ぐ二級河川の下府川で行った。

(2) 調査方法

カマキリの生息河川 カマキリは日本の固有種であるが、その詳細な分布域を明らかにするため、文献調査を行った。主要な文献として環境庁(1987, 1994)がまとめた第3回および第4回自然環境保全基礎調査、河川調査報告書を用いた。

仔稚魚の分布 カマキリ仔稚魚の生息域を明らかにするため、1995年3月14日と4月24日に江の川河口域を中心として、約1ktで走行する船上から口径0.8m、目合0.3mmの稚魚ネットを曳いた。調査地点は河口から0~1km上流に8地点、沖合0~2kmに4地点、江津漁港内に4地点設けられ、各1~2回の曳網

が行われた。その結果、江津漁港内に本種の仔稚魚が多数生息していることが判明し、以後はこの漁港を中心に調査を行った。まず、卵黄吸収前仔魚は1997年と1998年の1~3月に全8地点で(Fig.46A)、日没後1~2時間に燈下に集めて採集された。カマキリ仔魚は孵化後しばらくの間は光に集まる習性をもち、1地点60分ずつ投光器(55W)で海面を照らし、光に集まった仔魚をたも網(目合:0.1mm)ですくった。一方、屈曲前後の仔魚および着底稚魚採集は投光器のライトに集まらなかったため、1995~1998年の1~6月にSt.1, 2で(Fig.46A)、潜水しながらたも網(目合:0.1mm)で採集した。浮遊個体は表中層域を遊泳するもの、着底個体は底に体を定着しているものとし、潜水下でいずれであるかを確認しながら捕獲した。また、着底稚魚採集はSt.3, 10でも行い、これらの地点は透明度が低く潜水観察が難しかったため、投網(目合:12mm)を用いた。採集した仔稚魚は全て5%中性ホルマリン中に保存した。そして、同固定により仔魚期で96.0%、稚魚期で97.1%に縮むことが事前に判明したので($n > 100$)、標本はこれをもとに生時全長に換算された。

仔稚魚の成長、孵化日、浮遊期間 天然個体の日齢査定は1995~1997年の1~6月に江津漁港と江の川河口域で採集した全標本のうち、無作為に選んだ個体、各年それぞれ73, 79, 118尾について行われた。これらの標本は5%中性ホルマリンで固定後、すぐに99%エタノール中に移され、保存された。前述した飼育個体と同様の方法で処理し、輪紋数を計数した。そして、飼育個体の観察結果によって得られた日齢と輪紋数の関係式により各個体の日齢を査定し、天然個体における仔稚魚の成長、孵化日と浮遊期間を推定した。

移動生態 カマキリの遡上、定住、降河などの移動生態を解明する目的で、様々な方法によって1995年4月から1998年9月まで採集が行われた。調査地

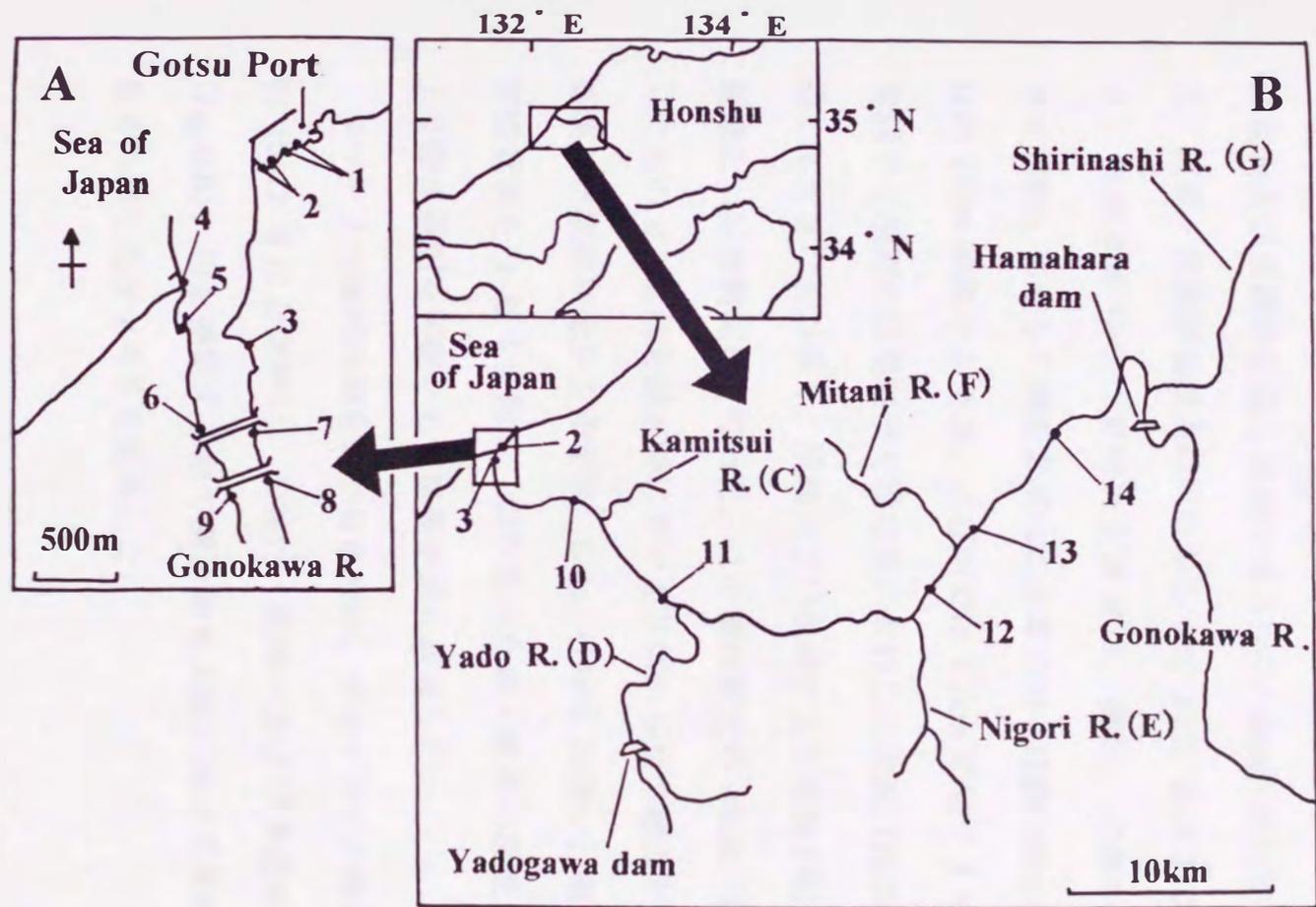


Fig.46. Map of the sampling sites around the river mouth (A), the main course and the tributaries (B) of the Gonokawa River. Numbers of figure A and B indicate the sampling stations, respectively.

点は河口部に隣接する江津漁港 (St.2), 河口部 (St.3), 河口から 6.5, 14.5, 28.5, 32.2 および 43.8km 上流 (各々 St.10, 11, 12, 13, 14) の 7 地点とした (Fig.46B). 川底の形状に応じて投網 (目合: 12mm) と曳網 (目合: 3mm), またはいずれか一方を使った採捕調査を行い, その際投網の広がる平均面積 (12.56m²) とその投数および曳網の距離と袖網の長さから 100m² 当たりの採集個体数を算出した. 標識・再捕調査は主に河口から 9.5, 31.0, 35.0 および 51.0km 上流に本流との合流点をもつ, 支流の上津井川, 濁川, 三谷川と尻無川で行われた (Fig.46B). 前述した調査区域内に上津井川では約 150m 間隔で 4 地点, 濁川では約 250m 間隔で 8 地点, 三谷川では 1.2km 間隔で 3 地点, 尻無川では 300m 間隔で 5 地点の採集場所を設けた. これらの支流は溪流の景観をなし, 河床が狭くて大きな岩が多く, 投網および曳網による採集が困難であったため, 潜水観察とかぶせ網採集を行った. この網は網丈約 40cm, 目合 12mm の投網型をしたもので, これを潜水時にカマキリにかぶせて網ごと手づかみで捕獲した. 採集した標本は全長を測定後, Goto (1985) に従い, 第一背鰭棘条および第二背鰭軟条を 1~数本切除し, 切り取った棘・軟条の位置と本数の組み合わせにより個体識別を可能として採集地点に放流した.

カマキリの降河時期を調べるために, ヤマノカミと同様に 1996 年と 1997 年の 10~12 月に上津井川, 三谷川, 尻無川および本流部 St.11 の計 4 カ所に (Fig.46B), 川を横断する形で開口部を上流に向けて降河トラップを設置し, 毎日入網したカマキリを採集した.

年齢と成長 カマキリの年齢を求めるため, 1995 年 4 月から 1997 年 3 月までに江の川とその河口付近で採集した 10%中性ホルマリン標本と, 1996 年秋に江の川で採集し飼育した後, 12~翌 4 月に固定した標本計 179 尾を用いて, カマキリの年齢査定を行った. 扁平石を取り出し, スライドグラス上で瞬間接

着剤中に包埋し，砥石と耐水サンドペーパー (No.1500) で研磨，横断面を作製し，実体顕微鏡下で不透明帯の有無と数を観察した。

成長を明らかにするため，上述した年齢査定を行った 179 尾に，1995~1998 年に江の川で採集した 649 尾を加えて，日齢と全長の関係を調べた。後述するが {3-(3)}，カマキリの孵化のピークは各年 2 月中旬頃であり，2 月 15 日を日齢 0 と仮定して，その採集日と年齢から日齢を求めた。

また，前に述べた標識再捕調査で捕獲した個体の標識時と再捕時の大きさから日間全長増加量，そして次式を用いて日間成長率 (GL) を調べた。

$$GL=100 \times (L_2-L_1)/L_1/T$$

(L_1 : 放流時の全長， L_2 : 再捕時の全長， T : 放流から再捕までの間隔日数)

食性 カマキリの食性の観察には 1995~1998 年に採集した江の川産の 10% 中性ホルマリン標本 (1242 尾) を用いて，それらの胃内容物の種類組成と各々の種類の捕食個体数を測定し，これらを時期別，全長別に比較した。

成熟 1995 年 4 月から 1997 年 3 月までに江の川とその河口付近で採集した 10% 中性ホルマリン標本 (雄: 119 尾，雌: 167 尾) は本種の成熟過程の解析にも使われた。まず，生殖腺重量指数 ($GSI = \text{生殖腺重量 } g \times 100 / \text{体重}$) を算出し，あらかじめ生殖腺中の部位によって成熟状態に差がないことを下記のパラフィン切片による組織観察により確認したうえ，試料の採取が容易な腹面から見て左側の生殖腺の先端を取り出した。それをエタノール，テルピネオールで脱水後，パラフィン包埋法を用いて組織切片とし，ヘマトキシリン・エオシンによる二重染色を施して成熟ステージを観察した。さらに，海域で採集した雌の卵巣は重量法を用いて孕卵数を，また卵巣の卵径分布を求めてその季節的变化を調べた。

産卵場所の特定 後述するように {3-(2)}, 仔稚魚の分布調査において孵化直後と考えられる仔魚が江津漁港内に出現, 採集されたことから, この水域が産卵場所であることが推察された. そこで, カマキリの産卵場所の詳細を明らかにするために, 1995~1998年の12~4月に江の川に隣接する江津漁港で, 素潜りとスキューバによってカマキリの産卵床, 卵塊, 親魚を探索した(Fig.46A).

2. 結果と考察

1) 卵内発生と水温, 塩分の関係

(1) 卵内発生

カマキリの受精卵は卵径 1.71~1.84mm の沈着卵で, 受精直後無数の油球(直径 0.03~0.35mm)があった。卵は雌から産出されると, 長径 8cm, 短径 4cm, 高さ 2cm の 1 つの塊となって産卵基盤の上部に張り付き, 卵塊によってその色彩は黄, 橙, 赤褐色などの変異があったが, 卵内発生の進行に伴う色彩の変化は観察されなかった。これらの卵を自然水温(9.6 ± 1.2 °C)下で飼育, 観察したところ, 20 時間で桑実胚, 30 時間で胞胚, 60 時間でのう胚に達し, 8 日目で胚体が観察された(Table 26)。その後, 11 日目で眼胞, クッパー氏胞と 10 筋節が形成され, 12 日目で脳の分化, 20 筋節の形成, クッパー氏胞の消失が, 16 日目で眼胞の黒化と心臓の拍動が開始し, 筋節が定数化した。22 日目で下顎が分化し, 受精後 25 日目で孵化に至った(Table 26)。

水槽内で産卵させたカマキリの受精卵は黄, 橙, 赤褐色で, 卵径 1.71~1.84mm 前後であった。一方, 九頭竜川産の平均全長 216mm の 14 尾の雌から産み出されたカマキリの卵は黄淡色で, 卵径 1.78~1.82mm と報告されており(鈴木・山田, 1990), ほぼ同じであった。今回観察に用いた卵塊を産出した雌親魚の全長は 205.6mm であり, 雌の大きさにおいても九頭竜川産のものと同様であった。後述する天然で採集した卵塊は白色, 黄色, 褐色と様々で, 水槽内で自然産卵させたものよりもやや薄い色彩を示した。このようにカマキリの卵塊はその色彩に多様性があり, この原因として親魚の餌料生物に影響を受けていることが挙げられる。後述するように {3-(6)}, 天然では様々な餌料生物を食べているが, 本実験に用いた親魚の場合, オキアミ中心の比較的単純な餌であったため, 天然と比べて卵塊の色彩において親魚による差が出現しなかったと推察される。

Table 26. Egg development of *C. kazika*

Time elapsed after spawning	Development stages	Water temperature (°C)
0 hrs	Newly-spawning eggs	8.0
6 hrs	Blastocyst stage	8.8
10 hrs	2-cell stage	9.9
14 hrs	8-cell stage	9.9
16 hrs	16-cell stage	9.7
20 hrs	Morula stage	9.9
30 hrs	Blastula stage	9.9
62 hrs	Early gastrula stage	10.6
7 days	Late gastrula stage	8.7
8 days	Appearance of embryo	8.4
11 days	Formation of optic vesicles, lense and 10 myomeres Appearance of Kupffer's vesicle	8.9
12 days	Formation of notochord and differentiation of brain Disappearance of Kupffer's vesicle. 20 myomeres	9.8
16 days	Appearance of melanophores on optic cup Beginning of heart pulse. 34 myomeres	13.2
22 days	Formation of branchial mantles and nares Differentiation of lower jaw	9.7
25 days	Beginning of hatching	9.2

(2) 水温と孵化日数

水温(X)と孵化日数(Y)の関係を Fig.47 に示した。両者には以下の関係式が高い相関で求められた。

$$Y=129.5 \times 10^{-0.06215 \times X} \quad (r=0.961)$$

この関係式により、各水温における孵化所要日数を算出すると、水温 5℃で 63.3 日、10℃で 31.0 日、15℃で 15.1 日となり、ヤマノカミと同様に水温の上昇に伴う孵化日数の指数関数的短縮が認められた。本種の卵の致死水温は 21℃であることが知られているが(杉本ら, 1993)、カマキリの生息域は秋田県から宮崎県の緯度的に広い範囲にわたり(後藤, 1989)、地域や河川によって孵化時の水温環境もかなりの違いがあると考えられる。後述するように {4-(3)}, 同じ河川でも産卵期が長期にわたり、その時期によって水温に違いがみられるため、同一場所でも孵化所要日数に差が生じると推察される。

(3) 卵内発生に及ぼす塩分の影響

塩分の異なる 8 区、計 25 水槽に親魚として雌雄各 1 尾ずつを収容した結果、全ての水槽内で自然産卵が観察された。産卵時と同じ塩分に保ち、親魚に卵を保護させ、卵内発生過程と孵化率を調べた結果を Table 27 に示した。塩分 15~35 で行った 5 塩分区、16 水槽では全て 95%以上の孵化率を示したが、塩分 10 では 2 水槽で 95%以上、1 水槽は 70%の孵化率であった。塩分 0 と 5 区の場合は胚盤隆起後発生が停止し、孵化には至らなかった。

このようにカマキリは全塩分区で産卵は行ったものの低塩分では孵化に至らず、孵化が可能な塩分の限界を孵化限界塩分とすると、その値は 10 であった。また、海水で人工受精し、卵を低塩分水に移した場合でも、淡水では孵化に至らないことが知られている(鈴木・山田, 1990; 山田・杉田, 1991)。これらの実験結果は本種の繁殖場所を限定する重要な要素と推察される。カマキリの産

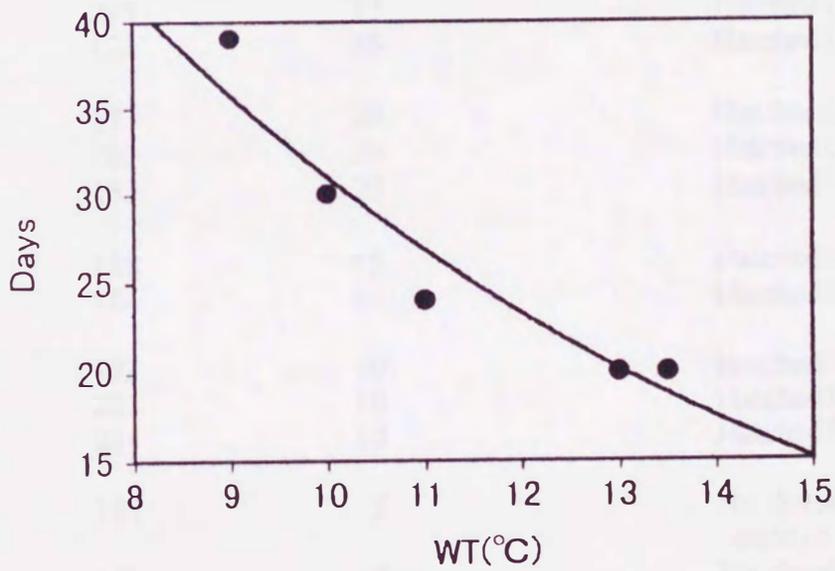


Fig.47. Relationship between days to hatching and water temperature in *C. kazika* eggs.

Table 27. Viability of eggs of *C. Kazika* for salinities in case of same salinity from pre-spawning to hatching

No.	TL (mm) of parents		Salinity at fertilization	Viability (Hatching rate)
	males	females		
1	206	188	35	Hatched (>95%)
2	163	153	35	Hatched (>95%)
3	185	159	35	Hatched (>95%)
4	181	184	30	Hatched (>95%)
5	240	219	30	Hatched (>95%)
6	197	129	25	Hatched (>95%)
7	197	206	25	Hatched (>95%)
8	197	190	25	Hatched (>95%)
9	195	207	25	Hatched (>95%)
10	217	215	25	Hatched (>95%)
11	219	123	25	Hatched (>95%)
12	177	173	20	Hatched (>95%)
13	195	205	20	Hatched (>95%)
14	196	183	20	Hatched (>95%)
15	181	188	15	Hatched (>95%)
16	191	184	15	Hatched (>95%)
17	175	173	10	Hatched (>95%)
18	205	203	10	Hatched (>95%)
19	190	214	10	Hatched (>70%)
20	190	186	5	No development after embryo stage (0%)
21	185	178	5	No development after embryo stage (0%)
22	186	151	5	No development (0%)
23	196	183	5	No development (0%)
24	240	219	0	No development (0%)
25	173	184	0	No development (0%)
	(195 ± 19) (184 ± 26)			

Parentheses indicate average ± standard deviation.

卵場所は河口域およびその周辺海域と考えられており(後藤, 1989), 長良川では河口近くに投入した人工産卵床に(建設省・水資源開発公団, 1992), 静岡県清水市三保地先の潮間帯では石の裏に付着したカマキリの卵塊が発見されている(野口・荒尾, 1998). これらの地点の塩分は明記されていないが, 少なくとも本実験における孵化限界塩分の 10 以上の水域であったことが予想される. また, 産卵場所が塩分の変動する河口域やその周辺部に形成されるとすると, その塩分は潮時によって変化し, 産卵時刻を検討する上での要因のひとつになる可能性を示唆している.

(4) 孵化時刻, 孵化期間

複数の雌雄を収容した水槽内で 1997 年 2 月 10 日と 2 月 12 日に 1 尾の雄と異なった 2 尾の雌が産卵し, 雄が 2 卵塊を保護した. この卵塊の孵化時刻と孵化仔魚数の日変化を Table 28 に示した. 3 月 2 日に孵化が始まり, 3 月 6 日から 11 日にかけて最初の孵化ピークが認められ, このピーク期間におよそ 10000 尾が孵化した. それ以降は 15 から 19 日にかけて約 1000 尾が孵化したが小規模であり, 3 月 21 日に孵化が終了した. 時刻別の孵化個体数は 0~6 時では合計 604 尾(1 日平均 29 ± 50 尾), 6~12 時では 342 尾(平均 16 ± 17), 12~18 時では 8449 尾(平均 402 ± 1154), 18~24 時では 3171 尾(252 ± 52)となり, 12~18 時の孵化個体数が 0~6 および 6~12 時に比べて有意に多かった(ANOVA, Scheffe test : $p < 0.05$).

このように 2 卵塊の産卵日の差は 2 日間であったが, 孵化期間は全体で約 20 日間であり, 同一の雄が保護する卵塊でも孵化所要日数にはかなりの差がみられた. これは本種の卵が塊状で産み出されるため, 卵塊の内外部で誤差が生じることによるものと推察される. しかし, 5 日間に約 10000 尾が集中して孵化しており, 極端に早くあるいは遅く孵化した仔魚は異常個体と考えられる. こ

Table 28. Daily changes in numbers of newly hatched larvae
C. kazika at intervals of 6 hours from two egg masses
guarded by a male.

Date	Time				(total)
	0~6	6~12	12~18	18~24	
March					
1	0	0	0	0	(0)
2	0	0	3	2	(5)
3	0	1	2	0	(3)
4	4	16	30	31	(81)
5	9	26	83	79	(197)
6	22	28	220	154	(424)
7	37	51	61	531	(680)
8	25	6	3652	529	(4212)
9	24	41	38	961	(1064)
10	18	33	4074	172	(4297)
11	227	44	27	170	(468)
12	13	6	5	36	(60)
13	1	8	7	23	(39)
14	18	8	10	19	(55)
15	6	4	50	110	(170)
16	72	10	124	97	(303)
17	5	6	13	90	(114)
18	48	10	3	150	(211)
19	70	39	24	13	(146)
20	2	2	0	2	(6)
21	1	3	2	2	(8)
22	2	0	0	0	(2)
23	0	0	0	0	(0)
24	0	0	0	0	(0)
(total)	(604)	(342)	(8449)	(3171)	

のような孵化期間の長期化と集中した孵化は同じような卵塊を産卵するヤマノカミにも観察され、夕刻以降に孵化仔魚数が多い傾向もほぼ同じであった。後述するように{4-(4)}, 本種もヤマノカミのように孵化が近づくと卵塊を揺するバイブレーション行動をし、夕刻以降における孵化の集中は捕食者に対する内在的な適応と推察される。

2) 飼育魚の発育様式

(1) 発育に伴う形態と行動変化

外部形態変化 水槽内で自然産卵後、飼育したカマキリ仔稚魚の形態変化を Fig.48 に示した。孵化直後の仔魚の体長は 6.3~7.0mm で、すでに開口し、筋節数は $10+12+20+23=32+34$ であった (Fig.48A)。卵黄背部の腹腔壁に明瞭な大型黒色素帯を持ち、卵黄の腹中線上に 5~7 個の、尾部の筋節腹面に 10 個の黒色素が点列し、卵黄前部に直径約 0.3mm の油球が存在した (Fig.48A)。仔魚は孵化すると同時に水槽内で中底層域を漂っていた。日齢 3 (体長 6.5~7.3mm) で卵黄と油球の吸収が進み、摂餌を開始し、遊泳層が表層へ移行した (Fig.48B)。日齢 6 (体長 6.6~7.6mm) で下尾骨と後頭部棘の形成が始まり、油球と卵黄が消失し、前屈曲仔魚期に移行した (Fig.48C)。日齢 9 (体長 7.2~8.8mm) で脊索の上屈と前鰓蓋棘の形成が始まり、頭部に 4~8 個の黒色素胞が観察された (Fig.48D)。孵化後 15 日 (体長 8.6~9.4mm) で脊索が上屈し、後屈曲仔魚期に移行するとともに、胸鰭、尾鰭の鰭条が形成され始め (Fig.48E)、21 日 (体長 8.8~9.6mm) で後頭部の 2 棘、前鰓蓋の 4 棘が明瞭になり、第 2 背鰭と臀鰭鰭条が形成され始めた (Fig.48F)。日齢 30 (体長 10.1~11.4mm) では各鰭の鰭条が定数化し、胸鰭と第 1 背鰭の鰭膜が黒化し、体側に黒色素帯が形成され始め、稚魚期に移行した (Fig.48G)。この頃、遊泳層は底層に移行し、水底に静止する個体も多数出現した。そして、孵化後 35 日 (体長 12.0~14.1mm) で第 2 背鰭と臀鰭が尾鰭と完全に分離し、親魚とほぼ同じ体色を呈し若魚期に移行した (Fig.48H)。

カマキリの発育に伴う各測定部位の体長比の推移を Fig.49 に示した。全長は 8.3mm までは減少傾向を示し、その後 9.8mm までは急上昇した。そして、体長 11.9mm までは緩やかに上昇し、親魚とほぼ同じ比率となった。変曲点は体長 8.3, 9.8, 11.9mm の 3 カ所に認められた。吻長では体長 8.5mm と 14.3mm の 2 カ所に変曲点があり、8.5mm までは上昇、14.3mm までは減少傾向を示しその

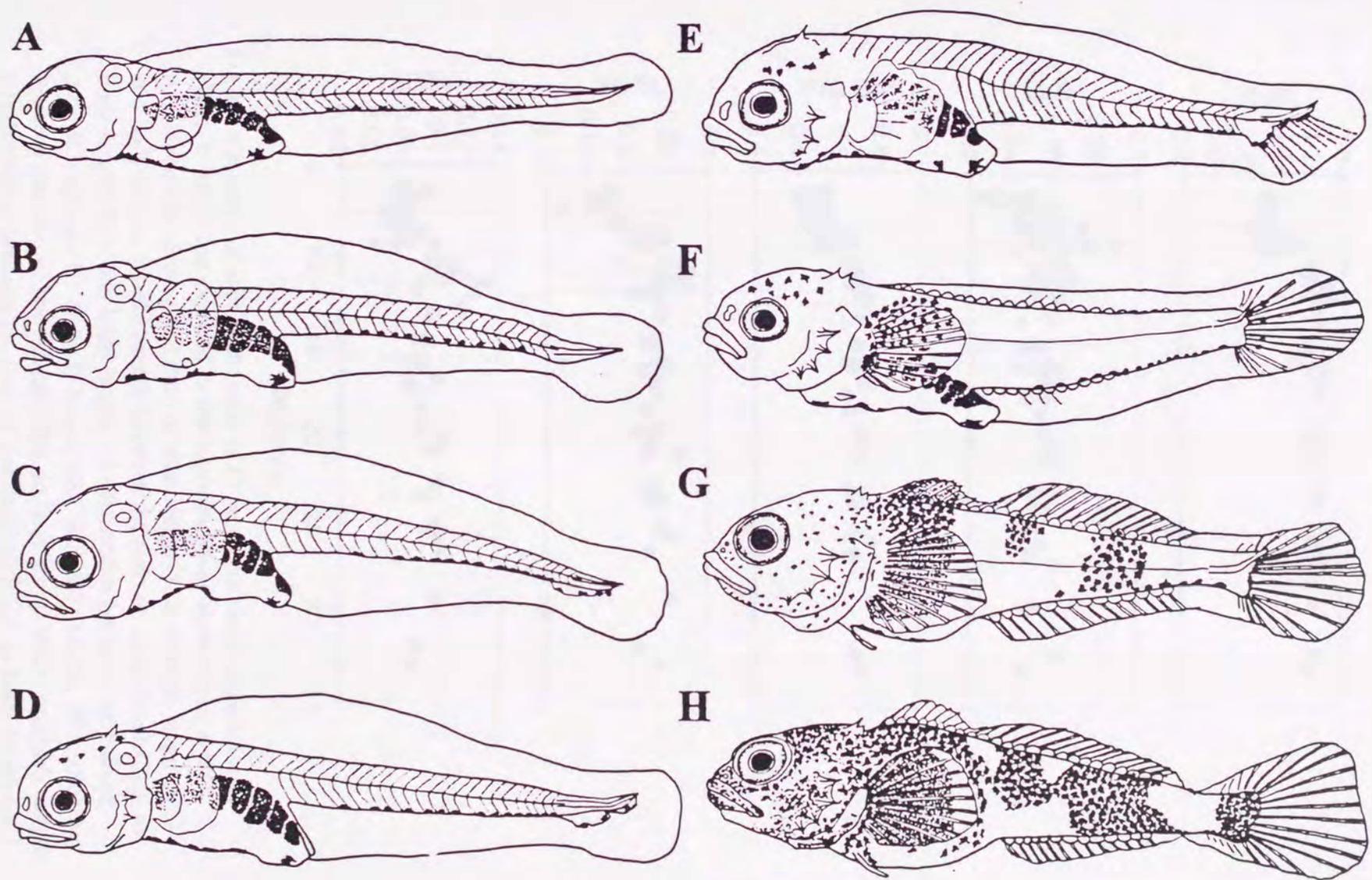


Fig.48. Larvae and juveniles of *C. kazika*. A) yolk-sac larva, 0 days, 6.5mm BL; B) yolk-sac larva, 3 days, 6.9mm BL; C) preflexion larva, 6 days, 7.1mm BL; D) flexion larva, 9 days, 8.2mm BL; E) postflexion larva, 15 days, 8.9mm BL; F) postflexion larva, 21 days, 9.3mm BL; G) juvenile, 30 days, 10.5mm BL; H) young, 35 days, 13mm BL.

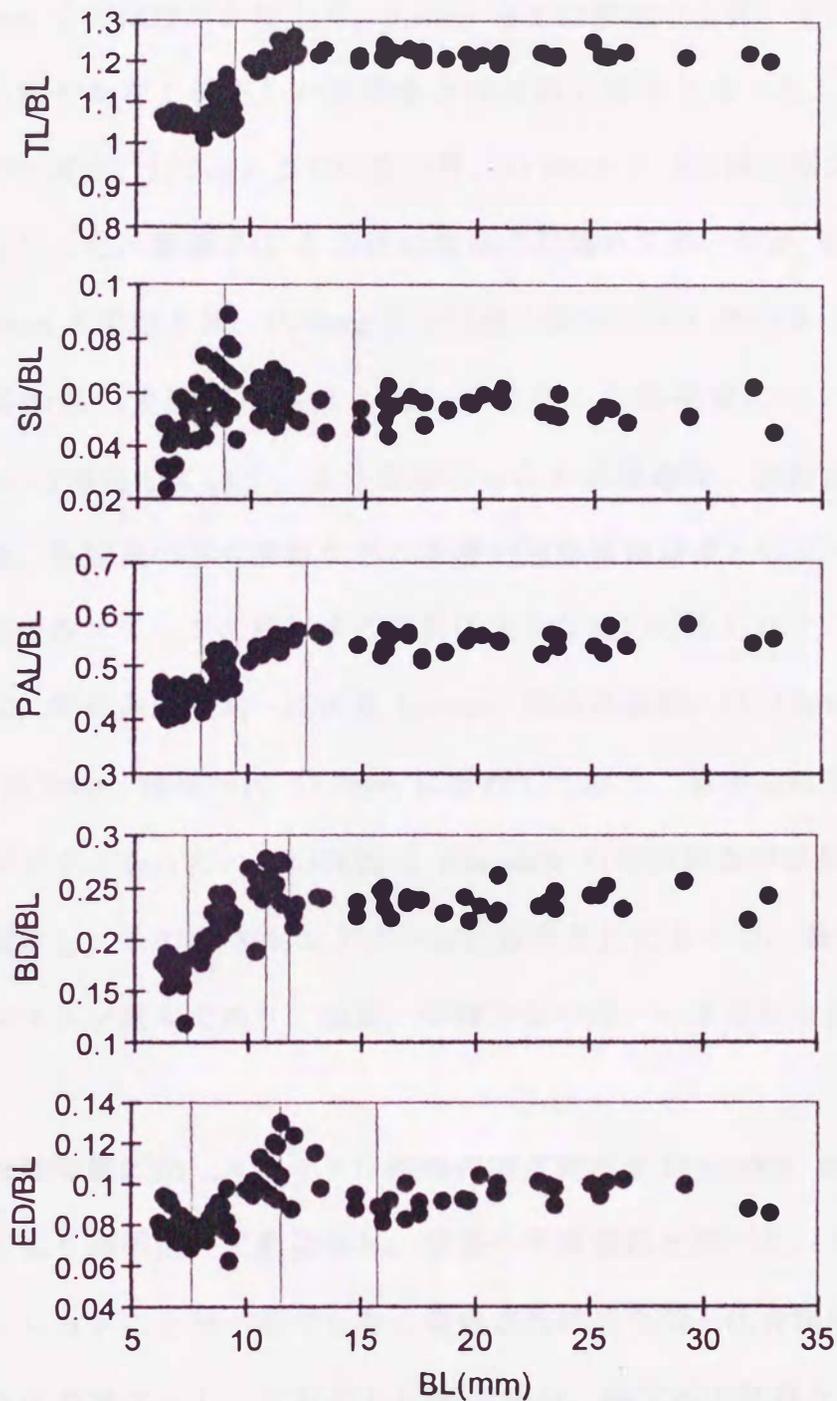


Fig.49. Allometry of each body parts of *C. kazika* reared in aquaria (solid circle, n=103) and captured in the Kashima River (open circle, n=94). A) relationship between the ratio of total length (TL) to body length (BL) and body length; B) relationship between the ratio of snout length (SL) to body length (BL) and body length; C) relationship between the ratio of preanal length (PAL) to body length (BL) and body length; D) relationship between the ratio of body depth (BD) to body length (BL) and body length; E) relationship between the ratio of eye diameter (ED) to body length (BL) and body length

後一定となった。肛門前長では全長とほぼ同じ3カ所の変曲点がみられ、全長8.3mmまでは緩やかな上昇、9.3mmまでは急激な上昇、そして体長11.9mmまでは緩やかな上昇をした後親魚とほぼ同じ比率となった。体高は体長8.0mmまでは減少、10.5mmまでは急上昇、11.8mmまでは減少傾向を示し、その後一定となった。眼径では3カ所の変曲点が認められ、体長8.3mmまでは減少、11.3mmまでは上昇、15.9mmまでは減少傾向を示しその後一定となった。

高知県の土佐湾で採集された仔稚魚の形態発育について Kinoshita ら (in press) は報告しており、黒色素胞の分布と発現過程、前鰓蓋と頭部の棘の発現過程、各鰭条の形成過程などは著者の形態観察結果とほぼ一致していたが、両者間で各ステージに移行する体長に大きな違いがみられた。Kinoshita らの結果では、前屈曲仔魚期へは体長5.4mm、屈曲仔魚期へは7.0mm、後屈曲仔魚期へは10.7mm、稚魚へは11.7mmに移行しており、著者の結果よりもその全ステージで小さかった。この原因は Kinoshita らの供試魚が採集後10%ホルマリンで固定し、その後80%エタノールに保存されたもので、著者のものは5%中性ホルマリン標本であり、固定、保存方法の違いによるものと考えられる。

内部形態変化 カマキリ仔稚魚の固定標本を Dingerkus and Uhler (1977) の方法により透明化、二重染色し、骨格の形成過程を調べた。各骨格部位がアリザリンレッドにより一部でも赤く染色され始めた時を化骨開始、全体が染まった時を化骨終了とし、それぞれ化骨開始時、終了時の体長を示した (Fig.50)。脊柱では体長8.7~9.9mmに椎体、神経棘、血管棘の硬骨化を開始し、椎体では体長11.7mmまでに、神経棘、血管棘では体長12.8mmまでに化骨を終了した。胸鰭を形成する部位では、体長6.9mmに擬鎖骨の化骨を開始し、7.8mmまでに終了した。上擬鎖骨、後側頭骨では体長9.9mmまでに化骨した。烏口骨、肩甲骨、射出骨の硬骨化は11.7mmに開始、12.8mmまでに終了した。胸鰭軟

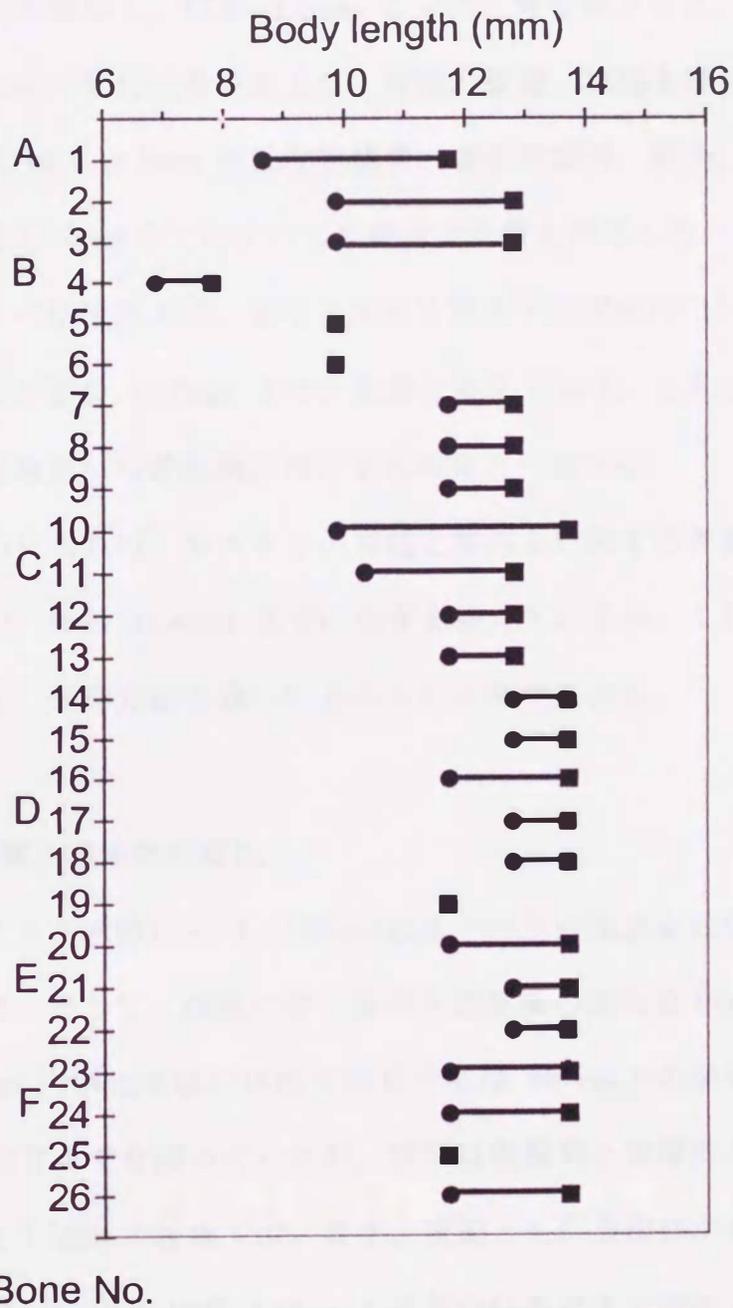


Fig.50. Development process of several bones of *C. kazika* larvae, juvenile, and young. Solid circles and squares indicate beginning and finishing ossifications, respectively.

Bone No. A) vertebral column; 1) centrum; 2) neural spine; 3) heamal spine; B) pectral fin; 4) cleithrum; 5) supercleithrum; 6) postcleithrum; 7) coracoid; 8) scapula; 9) actinost; 10) ray; C) caudal fin; 11) urostyle; 12) hypural; 13) parhypural; 14) epural; 15) uroneural; 16) ray; D) dorsal fin; 17) proximal pterygiophore; 18) distal pterygiophore; 19) spine; 20) ray; E) anal fin; 21) proximal pterygiophore; 22) distal pterygiophore; 23) ray; F) pelvic fin; 24) distal pterygiophore; 25) spine; 26) ray.

条は体長 9.9~13.7mm の間に化骨を終えた。尾鰭を形成する部位では、体長 10.3mm に尾部棒状骨、体長 11.7mm に下尾骨、準下尾骨、体長 12.8mm に上尾骨、尾神経骨の硬骨化を開始し、12.8~13.7mm までに化骨を終了した。尾鰭軟条では体長 11.7~13.7mm の間に化骨を終えた。背鰭、臀鰭、腹鰭を形成する部位では、各鰭とも体長 11.7~12.8mm に近位担鰭骨、遠位担鰭骨、軟条、棘条の硬骨化が始まり、体長 13.7mm までにすべての部位で化骨を終了した。

このようにカマキリの仔稚魚では、脊柱と胸鰭を形成する部位が 12.8mm までに、それ以外の部位が体長 13.7mm までに化骨を終えており、これは前述したようにカマキリが稚魚期から若魚期に移行する時期と一致する。

Kinoshita ら (in press) によれば、カマキリの脊柱と尾部を形成する骨格は著者のものよりやや小型の、体長 11.4mm までに化骨を終えているが、これは前述した両者の標本の固定、保存方法の違いによるものと考えられる。

(2) 発育に伴う遊泳層と走光性の変化

遊泳層の推移 アクリル水槽 (15 × 5 × 150cm) にカマキリ仔稚魚を収容し、昼夜間の遊泳層を調べた。そして、成長に伴う昼夜別遊泳層の変化を Fig.51 に示した。平均体長 7.0mm の孵化直後の仔魚では日中には 90%以上の個体が水槽底部からその 60cm 上方までを漂っていたが、夜間は底層部と表層部に分かれた。日齢 1, 平均体長 7.1mm の仔魚では、日中、夜間ともに全個体が表層に集まり、その傾向は日齢 14, 平均体長 8.4mm の後屈曲仔魚期まで継続した。日齢 21 (平均体長 8.5mm) から 35 (10.2mm) までの後屈曲仔魚および稚魚は、表層部、中層部、底層部の広い範囲を上下に遊泳していた。若魚移行期の日齢 42 (12.5mm) を過ぎてからは昼夜を問わず底層部に多く集まり、これらの個体は全て着底していた。

前述したように本種の主要な遊泳器官を司ると推察される脊柱、胸鰭、尾鰭

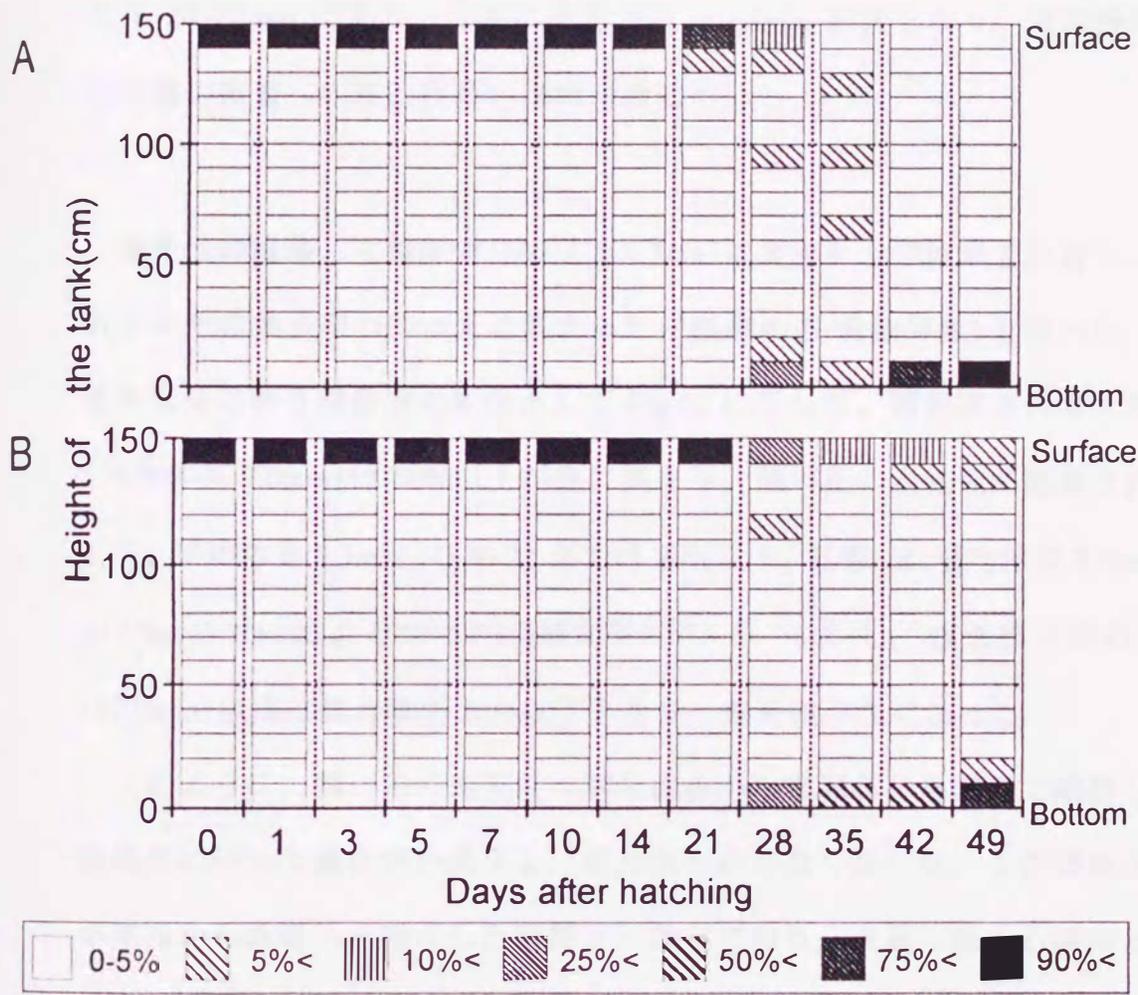


Fig.51. Changes of the swimming layers of *C. kazika* reared in aquarium.
 A) day; B) night.

を形成する骨格部位は体長 13.7mm までに硬骨化を終了する。これは本実験において水槽内で着底する時期であり、骨格の形成に伴って遊泳層を次第に底層へと移行することが示唆された。後述するように{3-(2)}, 江津港内で浮遊期の仔稚魚と着底後の稚若魚が潜水観察下で確認された。浮遊稚魚の最大個体は全長 20~22mm であり、体長に換算すると 16mm 前後となり、本実験における遊泳層の底層への移行体長とほぼ一致している。

走光性の推移 木製水槽(180 × 5 × 5cm)にカマキリ仔稚魚を収容し、光を照射してその集合率(100 × 光に集まった仔稚魚の数/全個体数)を調べた。その結果を成長に伴う集合率の変化として Fig.52 に示した。孵化直後のカマキリ仔魚(平均体長 7.0mm)は 80%以上が光に集まり、強い正の走光性が観察された。そして、平均体長 8.5mm, 日齢 21 までは 80%以上, 日齢 28(平均体長 9.5mm)と 35(12.5mm)ではおよそ 30~50%の集合率を示した。しかし、若魚移行期の日齢 42(12.5mm)以降は集合率が 10%以下となり、走光性がなくなった。

このように、強い正の走光性は孵化直後から後屈曲仔魚期まで継続し、その後成長に伴って集合率が低下し、走光性を示さなくなった。この傾向は遊泳層が表層から底層へと移行した時期と一致しており、表層に集まる傾向と正の走光性との間には関連性があると考えられる。

Kinoshita ら (in press) は高知県四万十川河口域, 同県土佐湾沿岸域, 京都府由良川河口域でそれぞれ全長 5.1~35.2mm の仔稚魚 302 個体, 全長 5.1~18.0mm の仔稚魚 138 個体, 全長 4.3~5.9mm の仔稚魚 93 個体を採集している。これらのうち、集魚灯採集によって得られた個体は全て全長 10.0mm 未満のものであった。著者が江の川河口付近で行った集魚灯採集でも、採集個体の大半は卵黄吸収前仔魚で、屈曲前後の仔魚は採集されなかった{3-(2)}。本実験では後屈曲仔魚期までは強い正の走光性がみられ、光に集まらなくなったのは若魚移行期

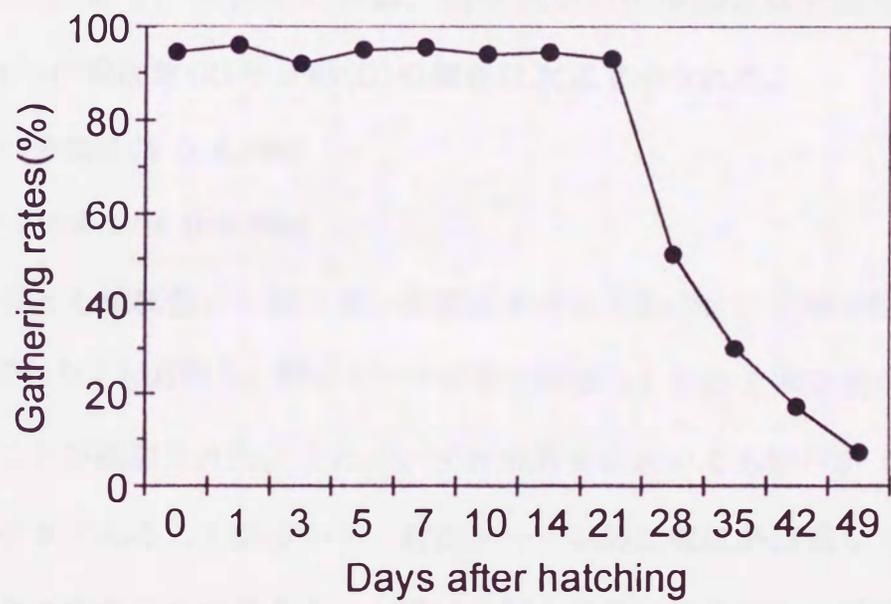


Fig.52. Changes of the gathering rates under the light of *C. kazika* reared in aquarium.

からであり、成長に伴う走光性の変化において天然個体と飼育個体の間で相違が認められた。

(3) 飼育魚の耳石に出現する輪紋の日周性の検証

カマキリの孵化直後の仔魚の耳石には扁平石(sagitta)と礫石(lapillus)が観察され、星状石(asteriscus)は観察されなかった。それらには孵化直後すでに3~6本の輪紋が確認され、その最も外側の輪紋が他よりも明瞭であり、孵化マークであると考えられた。そして、孵化後の日数(日齢)別に、孵化マーク以降に出現した輪紋数を計数し、それらの日齢、輪紋数別の出現個体数を図示した(Fig.53)。これらの輪紋数(R)と日齢(D)の関係は次式で示された。

$$\text{扁平石} : D = 1.00R - 0.05 \quad (r = 0.999)$$

$$\text{礫石} : D = 0.99R + 0.04 \quad (r = 0.998)$$

扁平石、礫石とも輪紋数と日齢は高い相関性を示しており、直線の傾きは1.00、0.99といずれも1に近似し、孵化マーク以降の輪紋は1日に1本形成される日周輪であることが確認された。また、いずれの耳石においても切片が0.04、0.05とほとんど0であることが分かり、孵化マーク以降に輪紋が出現していない個体を日齢0とすることができる。一般に魚類の耳石には日周輪が形成されることが知られており(Tsukamoto and Kajihara, 1987)、カマキリも同様であることが明らかとなった。若い日齢魚では扁平石、礫石のいずれを使用しても問題は生じないが、礫石は成長が遅く扁平石に比べると微小となるため、成長した稚魚、若魚では観察が難しかった。後述するように{(3)-3}、野外で採集したカマキリ仔稚魚の孵化日の推定や成長の推定には扁平石を用いた。

(4) 仔稚魚の生残と成長に及ぼす塩分の影響

異なった塩分で飼育された仔稚魚の生残率と全長の日変化を発育段階別に

Fig.54 に示した。浮遊仔魚期の日齢 1 より開始した試験では、塩分 0 区で試験開始後 3 日目から生残率が急減し、16 日目で死滅した (Fig.54a)。また、塩分 11 区でも生残率が減少し続け、32 日目で死滅した (Fig.54a)。塩分 23, 34 区が生残率は各々 32.5, 33.8% で (Fig.54a)、成長にも差がみられず (ANOVA, t-test : $p > 0.05$) (Fig.54b)、平均日間成長量は 0.22, 0.21mm であった。浮遊稚魚期の日齢 47 から開始した場合、試験終了時の生残率は塩分 0, 11, 23, 34 区の順に 38.3, 57.2, 45.6, 61.1% であった (Fig.54c)。試験終了時の全長は塩分 11 区が塩分 0 区よりも有意に大きく (ANOVA, Scheffe test : $p < 0.05$) (Fig.54d)、平均日間成長量は塩分 0 区から順に 0.14, 0.22, 0.18, 0.19mm であった。着底稚魚期の日齢 93 では、全ての区で 60%以上の生残率を示した (Fig.54e)。日間成長量は塩分 0 区から順に 0.15, 0.15, 0.13, 0.06mm であり (Fig.54f)、塩分 0 区、11 区が 34 区よりも有意に優れた (ANOVA, Scheffe test : $p < 0.05$)。

これらの結果から浮遊期の仔稚魚では高塩分が、着底後の稚魚では低塩分が生息に適することが明らかとなり、塩分に対するカマキリの生理的機能が成長に伴って拡張あるいは変化したと推察される。高知県四万十川のカマキリ仔稚魚は塩分 20 以上の河口付近に出現し、その後、成長につれてより低塩分の上流域に出現している (Kinoshita ら, in press)。このように天然個体の生息域の成長に伴った変化は、本飼育実験結果で得られた生理的機能の変化にもとづくものと考えられる。しかし、今回の実験結果で示されたように、着底後の個体では塩分 0 と 34 の両方で 50%以上の比較的高い生残率が認められ、着底期以降のカマキリは至適塩分をもちながらも、高塩分でも低塩分でも生残可能であると考えられる。谷村・根本 (1997) は水温管理条件下でカマキリ (平均全長 57.7mm) を飼育した場合、低水温下であれば海水でも生残に影響がないことを報告しており、着底後のカマキリは広い適応性を持つと考えられる。カマキリの場合もヤマノカミと同様に広塩性魚類に認められる浸透圧調整機能が、浮遊

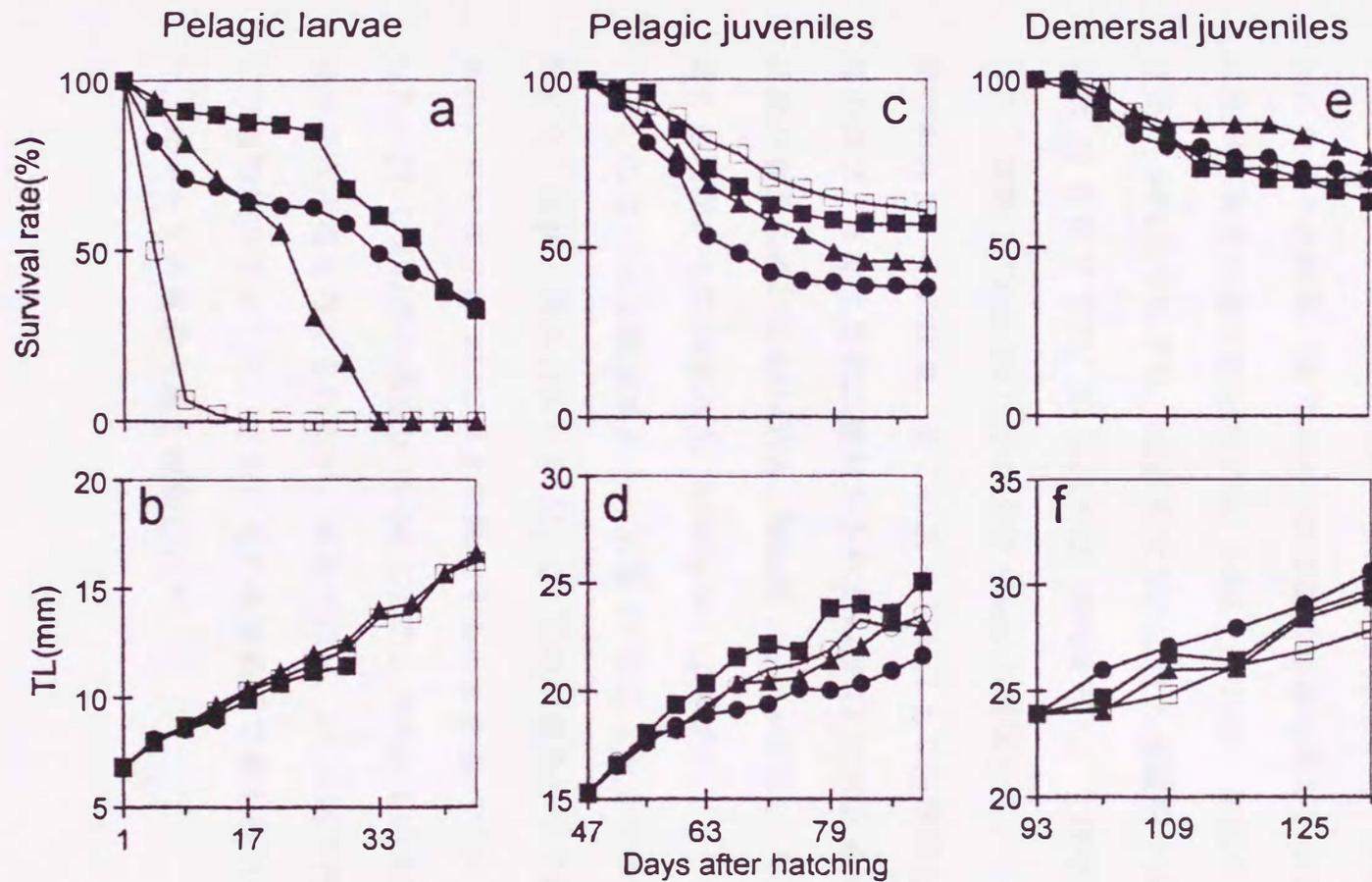


Fig.54. Survival rates (upper) and growth (lower) of reared *C. kazika* larvae and juveniles on various salinity conditions. Rearing experiments were conducted for 3 different growth stages: larvae (daily age 1~45), pelagic juveniles (daily age 47~91) and demersal juveniles (age 93~133). Solid circles, squares, triangles, and open squares indicate salinity 0, 11, 23, 34 ppt, respectively.

期から着底期に移行する全長 20~22mm 前後に発現すると考えられる。

(5) 幼魚の成長，生残率に及ぼす水温の影響

飼育条件下の各水温区における成長，生残率を Table 29, 30 に示した。実験 1 (Table 29) は平均全長 70mm の若魚を供試魚として，水温 20~27℃で 10 日間行われた。その結果，20℃区が 10 日間の全長の伸び，日間成長率とも他の 2 区に比べて有意に優れた (ANOVA, t-test : $p < 0.05$)。高温の 27℃では生残率が 5 日間で 44%まで低下し，成長もせず，以後の実験を中止した。24℃区が生残率は 10 日後で 72%，20℃区では 100%を示し，生残率は低水温区で良好であった。実験 2 (Table 30) は平均全長 54mm の個体を用いて，水温 6~20℃で 10 日間行われた。その結果，全ての区で 90%以上の生残率を示した。10 日間の全長の伸び，日間成長率に差がみられたのは 15℃区と 6℃区の間で，15℃区の成長が有意に優れた (ANOVA, Scheffe test : $p < 0.05$)。その他では区間有意差は認められなかった (ANOVA, Scheffe test : $p > 0.05$)。

以上の 2 つの実験結果から，水温 27℃以上をカマキリ当歳魚の致死水温と考えた。谷村・根本 (1997) も 23, 27℃の水温条件下で海水および淡水飼育を試み，カマキリが 27℃以上で斃死することを述べており，本実験結果と一致した。27℃区以外の水温区 (6~24℃) では 70%以上の生残率を示しており，生存可能な水温と考えられたが，成長では 6, 24℃区で停滞傾向を示し，10~20℃で増加傾向を示した。さらにその水温範囲で最も優れていたのは 15℃であり，カマキリの最適水温と推察された。

Table 29. Growth, survival rate and feed intake of *C. kazika* on the rearing test (20, 24, 27 °C)

Water temperature (°C)	20	24	27
Total diet intake (g)	42.4	39.3	11.2
Survival rate (%)	100	72.0	44.0
Total length (mm)			
Initial	71.1 ± 7.5	70.7 ± 7.0	69.4 ± 7.6
Final	71.4 ± 7.8	70.5 ± 8.1	70.1 ± 7.9
Gain *	1.4 ± 0.53 ^a	-0.12 ± 0.74 ^b	-0.26 ± 0.89 ^b
Growth rate (%) *	0.15 ± 0.13 ^a	-0.015 ± 0.096 ^b	-0.087 ± 0.19 ^b

*The rearing tests at 20~27 °C were designated by a-b for ANOVA. Superscripts shows those treatments in which the mean values are significantly different (p<0.05).

Table 30. Growth, survival rate and feed intake of *C. kazika* on the rearing test (6, 10, 15, 20 °C)

Water temperature (°C)	6	10	15	20
Total diet intake (g)	2.8	4.3	7.0	18.5
Survival rate (%)	93.8	100	100	100
Total length (mm)				
Initial	54.7 ± 7.5	53.7 ± 8.1	54.4 ± 7.4	54.3 ± 7.0
Final	54.9 ± 7.9	54.3 ± 8.1	55.2 ± 7.3	55.0 ± 7.3
Gain *	0.23 ± 0.63 ^b	0.59 ± 0.52	0.86 ± 0.50 ^a	0.65 ± 0.69
Growth rate (%) *	0.04 ± 0.11 ^b	0.11 ± 0.10	0.16 ± 0.09 ^a	0.12 ± 0.13

*The rearing tests at 6~20 °C were designated by a-b for ANOVA. Superscripts shows those treatments in which the mean values are significantly different (p<0.05).