

ア. 親貝の養成と採卵技術の開発

② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

熊本県水産研究センター

上原 美咲・徳留 剛彦・中野 平二

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

松本 才絵

【目的】

ハマグリは、二枚貝の中でもアサリと並び、重要な水産資源として利用されてきたが、熊本県では、2006年には漁獲が106トンとピーク時の50分の1にまで減少している。

ハマグリ資源の回復のためには、人工種苗を用いた母貝団地造成が必要とされており、安定的な人工種苗生産から母貝団地造成までの技術開発が不可欠となっている。

本研究では、種苗生産に必要な良質な卵を大量に確保するため、生殖腺成熟状況の調査による採卵適期の推定と採卵技術を開発することを目的とした。

【研究方法】

1. 生殖腺成熟状況の調査

1) サンプルング

2021年1月29日～12月2日の期間、熊本市地先の緑川漁場（図1）から、5月～10月までは潮ごとに、それ以外は月1回、大サイズ5個、小サイズ10個のサンプルを入手し、殻高、殻長、殻幅、殻付重量、むき身重量を測定し、肥満度を算出した。測定後サンプルをDavidson液で固定し、水産技術研究所に送付した。

2) 組織観察

軟体部をDavidson液で固定した軟体部の中央部を切り出しパラフィン包埋して切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色後に検鏡した。生殖腺の発達段階は、未分化期、成長初期、成長後期、成熟期、放出期、退行期の6段階に分類し、松本等（2014）に従って判定した。

3) 積算水温の検討

2020年12月11日～2021年8月27日までの間、ペンダントデータロガー（Onset社製）を緑川河口域のハマグリ漁場のハマグリが潜砂していると考えられる砂面から10cm程度の位置に埋めて設置し、組織観察の結果から、生殖腺の発達が始まる生物学的零度の検討を行った。

2. 採卵技術の開発

1) 使用した親貝

川口漁業協同組合の生産者が緑川河口域で採捕したハマグリ（大サイズ、小サイズ）を買い上げ、採卵試験の親貝とした。持ち帰った親貝は、17℃に設定した恒温室内に設置し

た 100L パンライト水槽に収容し、1 日以上静置してから採卵誘発に用いた。

2) 採卵誘発方法

6 月上旬～8 月下旬までの潮ごとに実施し、計 6 回行った。採卵誘発は、大サイズと小サイズで分けて行い、50L アルテミア孵化水槽に棒状の 150W ヒーターを投入し、水温 20°C から 30°C まで、1～2°C/時間のペースで水温を上昇させる緩慢昇温刺激で行った。水温が 25°C を超えた時に、あらかじめオスから切り出した生殖腺懸濁海水を添加し、誘発刺激を行った。

得られた受精卵は、受精率を確認するとともに、メッシュネット（目合：180 μ m（ゴミ取り用）、30 μ m（回収用））を用いて回収・洗卵した後、孵化水槽（200L パンライト水槽）に収容し、ウォーターバスもしくは空調にて水温が 25°C を下回らないように調整して孵化まで静置した。卵の収容密度は、200L 水槽に 500 万粒を上限として収容し、採卵した翌日に、表層に浮いている幼生を回収し、計数した。

親貝 1 個体あたりの産卵数（万粒）と孵化率（%）を乗じて算出した”親貝 1 個体あたりから生まれる幼生数”の推移から採卵適期の検討を行った。

【研究成果の概要】

1. 生殖腺成熟状況の調査

1) サンプルング結果

サンプルング回次別の測定結果を表 1 に、期間中の肥満度の推移を図 2 と図 3 に示した。大サイズの平均殻長は 50.94～67.72mm、平均殻高は 42.09～56.85mm、平均殻幅は 26.63～36.68mm、平均重量は 32.37～87.47g、平均むき身重量は 6.32～20.72g、肥満度は最高が 6 月 21 日の 15.48、最低が 10 月 17 日の 9.68 であった。

小サイズの平均殻長は 33.89～41.26mm、平均殻高は 27.09～34.56mm、平均殻幅は 17.78～22.54mm、平均重量は 11.19～20.82g、平均むき身重量は 1.76～3.99g、肥満度は最高が 4 月 23 日の 14.49、最低が 10 月 3 日の 9.68 であった。

今年度は 1 月から 12 月まで 1 年を通したサンプルングを行ったが、4 月下旬頃と 6 月下旬頃の 2 つ肥満度のピークの山がみられた。肥満度は今年も含めた 3 年連続で 7 月上旬から下旬にかけて低下しており、調査海域ではこの時期に産卵しているものと考えられた（図 2，図 3）。

2) 成熟状況調査

組織観察したハマグリ（大サイズ 5 個体、小サイズ 10 個体）生殖腺の発達段階を図 4 に示した（上：大サイズ、下：小サイズ）。大サイズでは、1 月 29 日は未分化期であったが、2 月 23 日には成長初期を示すようになった。4 月 23 日には成熟期を示す個体が出始めて、6 月 7 日には放出期が認め 1 個体みられた。その後 7 月までは主に成熟、放出期を示した。8、9 月には退行期を示す個体もみられたが、主に成熟、放出期が認められる傾向は変わらなかった。10 月には全ての個体が未分化期を示し、産卵が終了したと考えら

れた。12月には再び成長初期、成長後期を示した。

小サイズにおいても、1月29日は未分化期を示していたが、2月23日には成熟初期を示す個体が出てきた。5月7日から成熟期が見られるようになり、5月24日には放出期がみられた。7月までは大サイズと同様に主に成熟、放出期を示し、8月4日には退行期、8月19日には産卵終了して未分化期を示す個体が認められたが、9月まで主に成熟、放出期が認められる傾向は変わらなかった。10月には主に退行期、未分化期が認められ、大サイズ同様産卵が終了したと考えられた。12月には全ての個体が成長初期にあった。

3) 積算水温の検討

1月～4月の漁場の平均水温を表2に示す。組織観察の結果より、未分化期から成長初期へと生殖腺の発達が進む1月下旬～2月下旬の平均水温は11°Cであり、チョウセンハマグリの生物学的零度（高島ら、2001年）と同様であったが、生物学的零度を特定するにはさらなるデータの蓄積が必要である。

漁場水温と積算水温の推移を図5に示す。生物学的零度を11°Cとして検討した結果、漁場水温が11°Cを上回った1月16日から採卵可能となった6月8日までの積算水温は2,109°Cとなった。昨年の積算水温は1,744°Cであり、有明海のハマグリの積算水温は2,000°C前後と推定される。

2. 採卵技術の開発

採卵誘発試験を6回行い、6月上旬から8月下旬まで採卵することができた（表3）。また、生殖腺組織観察では、6、7月は成熟期及び放出期が主であり、8月は産卵終了個体も認められるものの依然として成熟期及び放出期が主であった。このため、上記の成熟状態の個体を親貝として使用するのであれば、親貝養成することなく採卵可能であった。

親貝当たりの採卵数は、親貝の性比を複数回の潮サンプルで確認したところ、ほぼ1:1であったことから、採卵数/(親貝数/2)で算出した。初回の6月9日の誘発試験から両サイズともに受精卵を得ることができた。7月26日の採卵で大サイズが2,378万粒（親当たりの採卵数148.6万粒）、小サイズが2,005万粒（親当たりの採卵数64.7万粒）と採卵数がピークとなった後、8月に入ると採卵数が減少した。昨年度の試験では8月以降は産卵誘発開始から放卵・放精するまでの時間が長くなる傾向があったが、今年度の試験では時間が長くなる傾向はみられなかった。受精率は、8月26日に小サイズから回収した受精卵の受精率が低かったものの、それ以外では親貝サイズや採卵時期による大きな違いはなく、安定していた。

昨年度の収容密度比較試験により、卵の収容密度が正常D型幼生率に影響を与える可能性が示唆されたことから、今年度は200L水槽に500万粒を上限として収容した。孵化率は大サイズが67.1～96.1%、小サイズは59.3～82.4%であり、正常D型幼生の割合は大サイズが76.9～95.3%、小サイズが67.5～96.1%であった。昨年度の孵化率は大サイズが36.6～63.2%、小サイズは39.2～70.9%であり、正常D型幼生の割合は大サイズが52.4～85.0%、小サイズは29.5～90.1%であったことから、収容密度の上限を設けることにより、

孵化率及び正常 D 型幼生の割合も高くなることが示唆された。

今年度の採卵試験では上限を設けてふ化槽に卵を収容したため、収容密度の違いによる孵化率への影響を排除できた。親貝 1 個体あたりの産卵数（万粒）、孵化率（%）を乗じて、誘発に使用した親貝 1 個体あたりから生まれる幼生数を算出した結果、大サイズでは 8 月 10 日の採卵結果が最も良く、小サイズでは 7 月 26 日の採卵結果が最も良かった。採卵は 6 月上旬～8 月下旬まで採卵可能であるが、今年度は 7 月下旬～8 月上旬が採卵適期であった。

【次年度に向けた提言】

1. 生殖腺成熟状況の調査

今年度は、1 年を通じた肥満度の推移を明らかにすることができた。また、漁場水温を記録するとともに、1 月から生殖腺組織観察をしたことで、2 月下旬から生殖腺の発達が進み、ハマグリは生物学的零度が 11°C であることが推定された。しかし、2020 年から 2021 年にかけての冬季は暖冬であったことから、産卵可能となる時期が早かった可能性が考えられるため、さらに 1 年を通じたサンプリングを行う必要がある。

積算水温は、昨年は 1,744°C であったのに対して、今年度は 2,109°C と差がみられた。今年度は 6 月 9 日実施の初回の誘発で採卵が可能であり、それ以前の誘発状況は未確認である。もし 5 月に採卵できていた場合、今年度の積算水温は昨年度の積算水温と類似しているため、来年度は 5 月から採卵試験を実施して採卵可能かどうかを確認するとともに、データを蓄積する必要がある。

2. 採卵技術の開発

今年度の試験においても、緩慢昇温刺激による産卵誘発方法により安定して産卵することができたため、緩慢昇温刺激による誘発方法は有効であることが確認できた。

今年度の試験では、6 月上旬から 8 月下旬まで安定した採卵が可能であった。6 月上旬から両サイズともに採卵が可能であったことから、来年度は 5 月から採卵を行う必要がある。また、成熟期及び放出期が主となる 6 月から 8 月の採卵であれば親貝養成は必要なかったが、来年度実施予定の 5 月採卵の結果次第では、5 月採卵のために短期間でも親貝養成が必要となる可能性がある。

【参考文献】

- 松本等、日本国内 6 地点におけるアサリの生殖周期 日本水産学会誌、80、548-560 (2014)
高島葉二、鹿島灘はまぐりの産卵期—II 茨木水試研報 39、7～14 (2001)

【図表】



図1. ハマグリ採取場所

表1. サンプル測定結果

大サイズ							小サイズ						
採捕日	平均殻高 (mm)	平均殻長 (mm)	平均殻幅 (mm)	平均重量 (g)	平均むき 身重量(g)	肥満度	採捕日	平均殻高 (mm)	平均殻長 (mm)	平均殻幅 (mm)	平均重量 (g)	平均むき 身重量(g)	肥満度
1月29日	43.38	51.64	28.58	42.05	6.50	10.08	1月29日	29.83	34.95	18.95	13.29	2.17	10.70
2月23日	50.82	61.17	32.32	61.01	11.96	11.82	2月23日	31.39	36.61	20.33	15.57	2.79	11.81
3月29日	56.54	67.72	36.17	87.47	16.25	11.66	3月29日	30.54	34.68	18.89	13.47	2.80	13.58
4月23日	52.97	63.21	34.20	75.74	15.08	12.92	4月23日	27.09	34.45	18.86	13.26	2.54	14.49
5月7日	49.44	57.98	32.41	59.12	14.24	15.28	5月7日	30.72	35.72	19.05	14.32	2.97	14.11
5月24日	51.80	61.75	33.41	67.70	14.19	13.19	5月24日	30.16	34.95	18.92	13.52	2.34	11.62
6月7日	56.68	67.67	36.68	85.48	20.72	14.87	6月7日	33.83	39.58	21.43	18.47	3.99	13.54
6月21日	50.29	60.40	32.36	62.63	15.45	15.48	6月21日	30.23	35.26	18.76	13.61	2.90	14.34
7月5日	44.82	53.56	28.71	42.17	9.89	14.17	7月5日	29.99	35.35	18.45	12.74	2.12	10.71
7月19日	48.62	57.82	31.20	54.98	12.29	13.36	7月19日	30.58	35.98	19.50	14.35	2.87	12.82
8月4日	56.85	63.48	33.92	77.85	15.33	12.22	8月4日	28.85	33.89	17.78	11.39	1.76	10.11
8月19日	42.49	50.94	26.63	37.29	6.64	11.19	8月19日	29.37	34.30	18.22	11.19	2.04	11.11
9月2日	52.16	61.58	33.21	64.49	11.05	10.20	9月2日	31.19	36.61	19.53	13.19	2.39	10.56
9月20日	53.28	64.28	33.91	72.98	11.78	10.04	9月20日	34.56	41.26	22.54	20.82	3.44	10.59
10月3日	47.12	57.32	31.02	53.32	8.47	10.08	10月3日	31.66	37.34	20.32	15.88	2.38	9.68
10月17日	44.70	55.16	29.58	32.37	7.18	9.68	10月17日	31.34	37.33	20.11	12.37	2.61	10.70
11月4日	42.09	50.98	27.11	37.77	6.32	10.87	11月4日	31.97	37.82	20.17	17.14	2.95	11.82
12月3日	43.42	52.58	28.30	40.50	7.65	11.77	12月3日	33.63	40.26	22.07	19.61	3.57	11.89

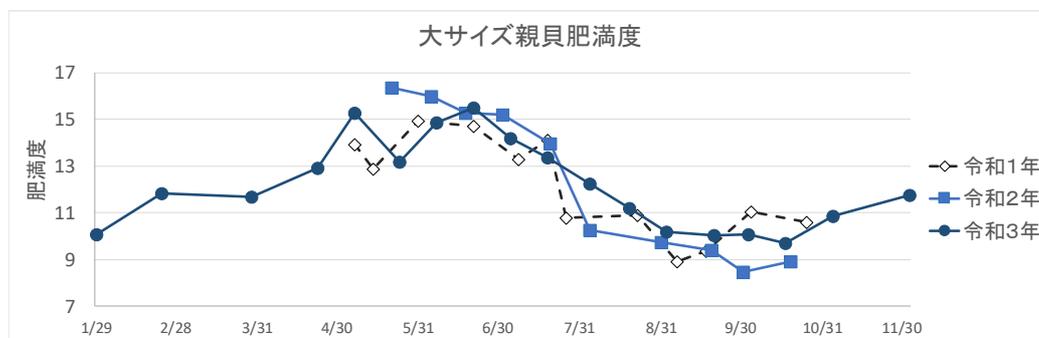


図2. 令和1～3年度調査の肥満度の推移（大サイズ）

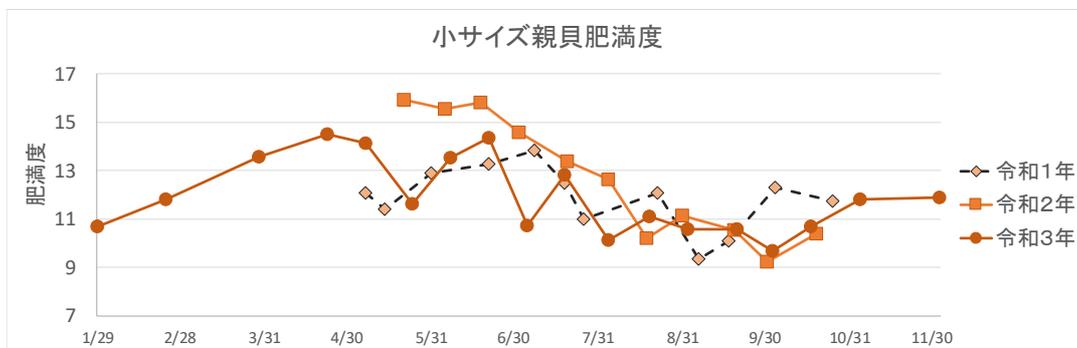


図3. 令和1～3年度調査の肥満度の推移 (小サイズ)

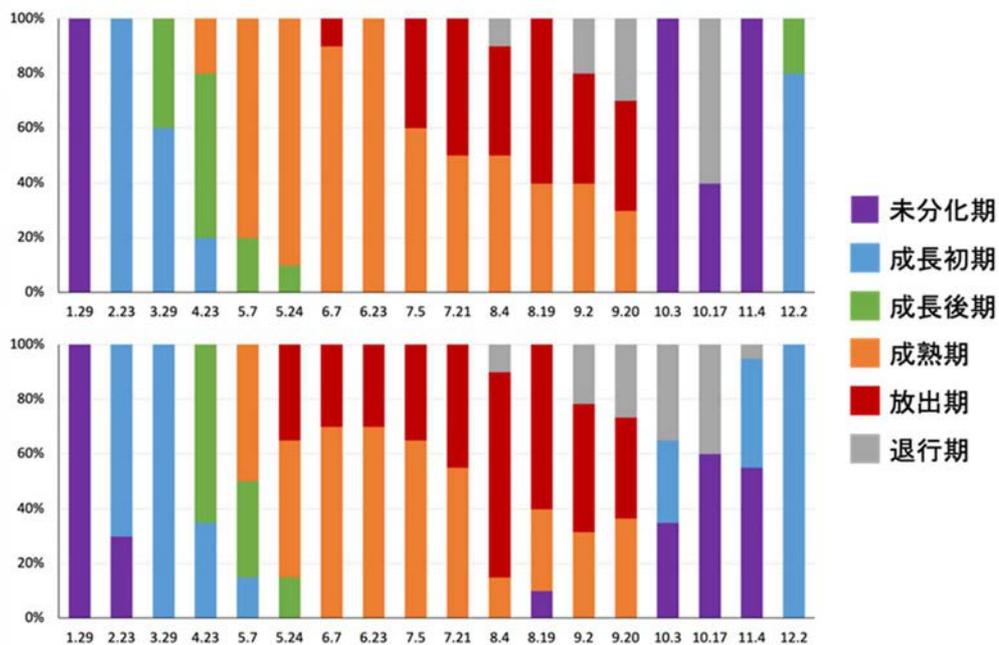


図4. 組織観察によるハマグリ生殖腺の発達段階。
上：大サイズ5個体分、下：小サイズ10個体分の発達段階を示す。

平均水温(°C)		
	上旬	9.1
1月	中旬	9.7
	下旬	11.4
	上旬	10.9
2月	中旬	10.8
	下旬	12.6
	上旬	12.7
3月	中旬	14.4
	下旬	15.4
	上旬	16.4
4月	中旬	16.5
	下旬	18.8



図5. 漁場水温と積算水温の推移

表2. 漁場の平均水温

表3. 採卵誘発試験結果

採卵日	サイズ	親貝数	採卵数 (万粒)	親当たりの採卵数	受精率 (%)	ふ化槽収容卵数 (万粒)	ふ化率 (%)	正常D型幼生率 (%)
6月9日	大	20	1207	120.7	82.0	500	85.7	81.1
	小	75	325	8.7	77.0	325	59.3	67.5
6月24日	大	28	875	62.5	93.0	498	67.1	76.9
	小	58	1330	45.9	91.0	500	77.4	93.8
7月8日	大	33	1261	76.4	72.0	500	96.1	91.2
	小	65	462	14.2	77.0	500	70.7	96.1
7月26日	大	32	2378	148.6	81.0	500	72.8	78.9
	小	62	2005	64.7	84.0	500	64.2	82.8
8月10日	大	14	872	124.6	90.0	500	90.9	95.3
	小	93	963	20.7	81.0	500	77.2	81.8
8月26日	大	53	874	33.0	89.0	500	78.4	86.0
	小	76	439	11.6	62.0	439	82.4	87.6

イ. 人工種苗生産技術の開発

① タイラギ人工種苗生産の開発

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

山田 充哉・伊藤 篤

【目的】

タイラギの浮遊幼生を飼育するために、水産研究・教育機構において開発した連結式飼育装置を用いて、飼育密度の違いが浮遊幼生の成長や生残に与える影響を調べて、人工種苗生産技術の安定化を検討するとともに、着底稚貝を人工種苗から成貝までの育成技術の開発課題（ウ. ①とウ. ②）に供試する。

【方法】

タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発課題（ア. ①）において5月27日に行った瀬戸内海産タイラギの産卵誘発で得られた受精卵からふ化した浮遊幼生を用い、5月30日から7月2日にかけて飼育試験を実施した。

浮遊幼生飼育には、瀬戸内海区水産研究所（現・水産技術研究所）で開発した連結式幼生飼育装置（総水量 1,000l：以下、連結水槽）を用いた。連結水槽をウォーターバスの中に設置し、連結水槽中の水温が 25°Cになるように加温した。ふ化水槽で遊泳している正常発生胚（トロコフォア期～D 型期）を海水ごとバケツで掬い取り、連結水槽に収容した。収容数は連結水槽 1 セットあたり 100 万個体または 50 万個体とし、それぞれの収容条件について 3 反復を設定した。飼育水攪拌用のローターの回転数は毎分 90 回転とし、水面に張り付いた浮遊幼生を沈めるために水槽上部から 20 分に 1 回 20 秒間の海水噴射を行った。

令和 2 年度の浮遊幼生に対する給餌試験において 8 日齢まで *Pavlova lutheri* を単独給餌した後 *Chaetoceros calcitrans* との混合給餌に切り替えた場合に成長率が最も高くなったことから（伊藤、2021）、飼育開始から 8 日目までは *P. lutheri* のみ、9 日目以降は *P. lutheri* と *C. calcitrans* を混合して給餌した。給餌は午前 9 時と午後 5 時に行った。*P. lutheri* の単独給餌期間中、1 回あたりの給餌量（給餌後の飼育水中の餌料濃度）は 1 日目が 5,000 細胞/ml、2 日目以降は毎日 1,000 細胞/ml を追加し、5 日目から 7 日目は 10,000 細胞/ml とした。8 日目以降は *P. lutheri* と *C. calcitrans* が飼育水中でそれぞれ 5,000 細胞/ml（併せて 10,000 細胞/ml）になる量を混合して給餌した。

飼育水の換水は毎週火曜日と金曜日に行い、浮遊幼生が連結水槽の片側に寄った時に、浮遊幼生がいない水槽を排水および洗浄した。このとき、浮遊幼生が入っている水槽から内径 4mm のアクリル管を用いて柱状採水を行った。採水量は各水槽 50ml とし、そこに含まれる浮遊幼生の個体数と殻長を測定した。各連結水槽中の推定浮遊幼生数は採水試料中の幼生数に基づいて算出した。浮遊幼生の最大殻長が 400 μ m を超えた水槽は、換水時に排水および海水噴射によって水槽底から剥ぎ落とした付着物を目合い 300 μ m のプランクトンネットでも濾すことにより着底稚貝の確認と回収を行った。着底稚貝の計数は目視で行い、数が多い

場合には箱型プランクトン分割器による分画の計数値に基づいて算出した。回収した着底稚貝は中間育成課題に供するまでダウンウェリング容器に収容し、*P. lutheri*、*Isochrysis* sp. (Tahiti)、*Chaetoceros neogracile* を単独または混合で給餌して飼育した。

また、タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発課題（ア．①）において6月17日に実施した有明海産タイラギの産卵誘発で得られた浮遊幼生についても同様の手順で飼育し、着底稚貝を生産した。連結水槽4セットを使用し、幼生収容数はそれぞれ100万個体とした。連結水槽2セットについて、浮遊幼生が33日齢（7月20日）に達したところで半量を新たに設置した連結水槽に分ける作業を行い（以下、分槽）、それぞれの連結水槽で飼育を継続して分槽の有無による浮遊幼生の成長・生残の変化を調べた。

【研究成果の概要】

5月28日に連結水槽1セットにつき100万個体または50万個体のふ化幼生を収容したが、翌日に幼生数を調べたところ全水槽で半数程度に減耗していたため、一部の水槽についてはふ化水槽から幼生を補充して収容数を調整した。その際、密度計算を誤ったことから、5月30日の試験開始時における飼育密度は結果的に1セットにつき50万個体（以下、50万区）と30万個体（30万区）となったが、試験を継続した。水槽別の推定浮遊幼生数と平均殻長の推移を図1および図2に示した。幼生数はどちらの密度区においても漸減したが、減少曲線の傾きは両区ではほぼ同じであった。平均殻長は19日齢まで両区に大きな差は見られなかったが、それ以降50万区の方が急速に成長する傾向が見られた。各水槽における最初の着底個体は両区とも29日齢で確認され、収容密度は着底日数の短期化に影響しないと考えられた。各水槽の収容幼生数に対する着底稚貝数の比（以下、稚貝生産率）は、30万区が平均1.86%、50万区が平均3.26%であった（表1）。試験終了後は幼生数の少ない連結水槽を順次集約して飼育を継続し、瀬戸内海産タイラギの着底稚貝62,562個体を得た。また、百島庁舎での産卵誘発で得た受精卵の一部を香川県水産試験場での浮遊幼生飼育技術普及に供し、そこで得られた着底稚貝と併せて人工種苗から成貝までの育成技術の開発課題（ウ．①とウ．②）に供試した。

有明海産タイラギにおける水槽別の推定浮遊幼生数と平均殻長の推移を図3および図4に示した。浮遊幼生の収容直後における幼生数は連結水槽2セットが約104万個体、残り2セットが約83万個体と約88万個体であったが、柱状採水でのサンプリング誤差を考慮して個体数調整は行わずに飼育を継続した。その後、瀬戸内海産タイラギの場合と同様に幼生数は漸減したが、その程度は全水槽で概ね同じであった。各水槽における着底開始は29～47日齢の間に確認されたが、29日齢で着底したのは1個体であり、当該水槽における本格的な着底開始は50日齢であった。分槽を行った2水槽では、分槽元と比較して分槽先の水槽で成長がわずかに促進される傾向が見られ（図4）、着底開始が3ないし7日早まった（表1）。稚貝生産率は分槽元よりも分槽先で高く、分槽によって成長および着底が促進される可能性が示唆された。本試験で得られた着底稚貝は250,787個体であり、その一部は今後の

採卵試験に向けて飼育を継続するとともに、関係機関の承諾の下、78,860 個体を福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県が実施する有明海漁業振興技術開発事業に供試した。

【次年度に向けた提言】

瀬戸内海産タイラギと有明海産タイラギを用いて異なる浮遊幼生密度での成長・生残・稚貝生産率を調べた結果、連結水槽 1 セットあたり 100 万個体を収容して飼育を開始することで少ない収容数の場合よりも安定的に高い稚貝生産率を得られる可能性を見出した。また、分槽を行うことで特に分槽先的水槽において稚貝生産率を高められる可能性が示された。しかしながら、これらの現象の機序は不明である。さらに、依然として着底期における着底遅延や大量減耗といった生産性の低下を招く事象への対応策がないのが実情である。今後は、分槽作業が浮遊幼生の成長や着底に与える影響とそのメカニズム解明に注力することで種苗生産技術の高度化を図ることができると考える。

【図表】

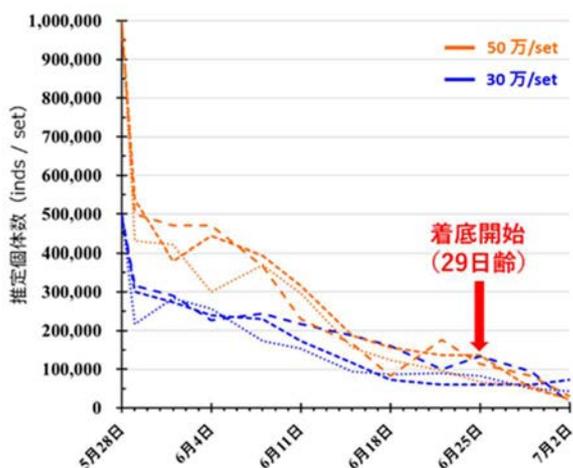


図1. 瀬戸内海産タイラギにおける浮遊幼生の水槽別推定幼生数の推移

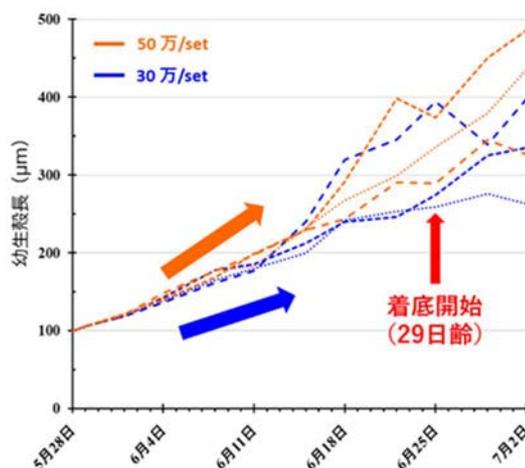


図2. 瀬戸内海産タイラギにおける浮遊幼生の水槽別平均殻長の推移

表1. 連結水槽別の浮遊幼生数と稚貝生産数

	連結水槽番号	試験開始時 幼生数	着底開始時 日齢	着底開始時 幼生数	分槽直後幼生数 (36日齢)	着底稚貝数	稚貝生産率 (%)
瀬戸内海産タイラギ	No.1	316,667	29	133,333	-	837	0.26
	No.2	216,667	29	83,333	-	10,902	5.03
	No.3	300,000	29	60,000	-	896	0.30
	No.4	430,000	29	66,667	-	6,437	1.50
	No.5	536,667	29	136,667	-	6,483	1.21
	No.6	500,000	29	113,333	-	35,407	7.08
有明海産タイラギ	No.7	875,000	40	183,333	-	80,518	9.20
	No.8	825,000	40	266,667	-	19,165	2.32
	No.9	1,037,500	50*	196,667	226,667	14,963	6.60
	No.10 (No.9から分槽)	-	47	150,000	240,000	30,345	12.64
	No.11	1,037,500	43	100,000	96,667	35,028	36.24
	No.12 (No.11から分槽)	-	40	83,333	83,333	70,768	84.92

* 29日齢で1個体着底した後、50日齢まで着底なし

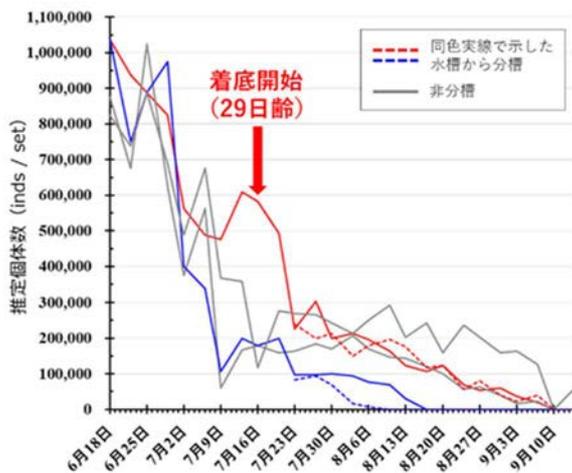


図3. 有明海産タイラギ浮遊幼生における水槽別推定幼生数の推移

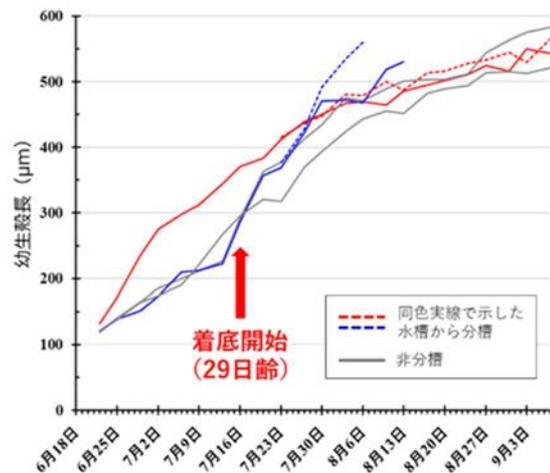


図4. 有明海産タイラギ浮遊幼生における水槽別平均殻長の推移

イ. 人工種苗生産技術の開発

② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

小林 豊

【目的】

ハマグリは浮遊幼生から殻長 1 mm 稚貝までは、水温 33°C、60%希釈海水（塩分 19~20）、餌料はパブロバ ルテリで育成できることが判明している。しかし、着底期から着底初期に大量死亡が発生することがあり、種苗生産ではこの時期の大量死亡を軽減させる必要がある。

昨年度の本事業において、愛知県が実施した幼生期から着底初期の小規模な塩分濃度比較試験では幼生中期（以降、アンボ期と呼ぶ）に塩分 15、着底期に塩分 12.5 に調整することにより、着底が促進され、生残率も有意に高いことが報告された。

そこで、本年度は愛知県の塩分比較試験の結果の再現性を確認するため、幼生期から殻長 1 mm稚貝まで、種苗生産規模による塩分比較試験を実施し、その結果を踏まえて好適と思われる塩分条件による種苗生産試験を 2 回実施した。

【研究方法】

1) 種苗生産規模による塩分比較試験（幼生期から殻長 1 mm稚貝）

試験区は、試験区 1「アンボ期 15、着底期 12、着底後 19」、試験区 2「アンボ期 19、着底期 12、着底後 19」の 2 試験区とした（数字は塩分）。

水槽は多段式循環水槽による飼育装置を使用した。飼育架台は木製で、最下段に循環水槽（内寸 753×903×200 mm : RX-130 L、ダイライト（株））を配置し、その上に飼育水槽（内寸 903×1343×200 mm : RX-240 L、ダイライト（株））を 3 段配置し、循環水槽から水中ポンプ（CSL-100L、寺田ポンプ製作所（株））で各水槽へ注水し、再び循環水槽へ排水する仕組みとした。飼育海水を 33°Cに保つため、下段の循環水槽に 1kw チタンヒーターを設置した。飼育容器には塩化ビニール製の円筒型容器（直径 600mm、高さ 150mm）の底面に 45、85、125 μ m 角目のナイロンネットを貼ったものを使用した（45 μ m は D 型幼生期、85 μ m はアンボ期、125 μ m は着底期以降に使用）。各水槽には 2 つの飼育容器を設置することで、1 水槽当たり最大 6 器設置可能とした。飼育容器への注水はダウンウェリング方式とし、容器への注水量は 0.5~1.2L/分程度とした。

試験に供した幼生は、平成 29 年度に種苗生産し、干潟で育成した親貝から採卵したもので、各試験区の水槽にアンボ期幼生を 70 万個/器×6 器収容し、420 万個/水槽とした。また、着底期には着底促進のため貝化石約 50g を飼育容器の底面に敷設した。

飼育海水は、砂ろ過海水を使用する前日に円形の 1t 水槽に収容し、水道水で希釈し、通気しながら 1kw チタンヒーターで 33°Cに加熱し、小型の紫外線殺菌装置（UV バズーカ、ゼンスイ（株））に循環させて殺菌処理を行った。

飼育期間中の水槽内の飼育水は着底期から着底までは毎日、着底後は隔日で換水した。飼育容器内の稚貝および貝化石は、毎日希釈海水でシャワー洗浄した。

餌料はパブロバ ルテリおよびキートセロス ネオグラシーレを与えた。給餌目安は、原則的に午前中の給餌前にコールターカウンター（ベックマン・コールター社製 Z2）で残餌密度を測定し、残餌が 1,000 細胞/ml を下回らないよう調整した。

2) 好適な塩分条件による種苗生産試験

試験は 2 回実施し（以降、1、2 回次と呼ぶ）、飼育水槽、飼育管理、給餌量の調整は上記試験と同様とした。塩分条件は D 型幼生期 19、アンボ期 15、着底期 12、着底後 15、翌日以降 19 とした。ただし、2 回次は 1 回次で着底初期に死亡個体がみられ、匍匐個体が少なかったことから、1 回次より早く、ほぼ着底した時点で 15 に上げ、翌日に 19 とした。

【研究成果の概要】

1) 種苗生産規模による塩分比較試験（幼生期から殻長 1 mm 稚貝）

塩分比較試験結果を表 1 に示す。生残率は試験区 1、2 それぞれ 6.3%、4.9% と非常に低い結果となった。平均殻長は両試験区とも 1.3 mm であった。生残率が非常に低かった要因は着底前後の大量死亡によるものであった。ただし、塩分を下げた試験区 1 のほうが着底期に達する期間が 1 日早く、従来よりも小型であった。さらに、着底期に 12 に下げた方が、従来（19～20）よりも 5 日前後は着底が早かった。一方で、本試験では着底期の個体が小さかったことから、着底まで目合の小さい 85 μ m ネット容器で飼育した。目合の小さいネットでの飼育期間が長くなったことから、大量死亡の要因は細菌性疾病などが疑われた。

2) 好適な塩分条件による種苗生産試験

1 回次の D 型幼生から着底期の結果を表 2 に示す。着底期までの平均生残率は 55.4%、飼育期間は 8 日間、平均殻長は 0.17 mm で、着底期までの期間は従来（19～20）よりも 1～2 日早く、小型（従来は 0.18 mm 程度）であった。

着底期から 1 mm 稚貝までの飼育結果を表 3 に示す。着底期には 125 μ m ネット選別を行い、留まった個体は 125 μ m ネット容器で飼育し、落ちた個体は着底後に 125 μ m ネットに交換した。殻長 1 mm 稚貝の平均生残率は 125 μ m ネットで留まったものは 48.2% で、着底までは 1 週間程度と早く、過去の好事例と遜色なかった。一方、125 μ m ネットで落ちた個体の平均生残率は 16.2% と低かった。1 回次の着底前後の観察では、塩分 12 下では匍匐する個体が少なく、着底後に死亡する個体がみられた。そのため着底が終わった時点で塩分を 15、翌日に 19 に上げ、稚貝の洗浄を水道水で行ったところ、死亡はみられなくなり、活発に動くようになった。

2 回次の D 型幼生から着底期の結果を表 4 に示す。着底期までの平均生残率は 25.8%、飼育期間は 7 日間、平均殻長は 0.17 mm で、着底期までの期間は 1 回次と同様に従来（19～20）よりも 1～2 日早く、小型であった。

着底期から 1mm 稚貝までの飼育結果を表 5 に示す。着底期以降は 1 回次と同じ方法で 125 μ m ネットを用いて選別して殻長 1mm 稚貝まで飼育し、さらに、1 回次より早く、ほぼ着底した時点で、塩分 15、翌日に 19 に上げ、稚貝の水道水洗浄を行った。平均生残率は、125 μ m ネットで留まったものは 45.1%で、着底までは 1 週間程度と早く、過去の好事例と遜色なかった。125 μ m ネットで落ちた個体の平均生残率は 9.3%と低かった。

以上のことから、アンボ期以降に塩分条件を段階的に下げ、着底期以降は 125 μ m ネット容器で飼育し、ほぼ着底した段階で塩分を 15、翌日に 19 に上げ、水道水で稚貝の洗浄を行う方法により安定した種苗生産が可能であることが考えられた。

【次年度に向けた提言】

種苗生産した稚貝から育成した親貝を使用して、今年度に判明した飼育手法で安定生産の可能性を検証する。

【図表】

表 1. 塩分比較試験結果（飼育期間：7 月 17 日～8 月 20 日、34 日間）

試験区	容器収容 個体数	収容容 器数	1水槽収容 個体数	開始時平均 殻長 (mm)	平均生残率 (%)	標準偏差	平均殻長 (mm)	標準偏差
試験区1	70万/器	6	420万	0.15	6.3	1.86	1.29	0.25
試験区2	70万/器	6	420万	0.15	4.9	0.95	1.29	0.26

給餌密度：アンボ期～着底 (7/17-28)；15,500～44,000 細胞/ml×1 回

着底以降(7/29-8/20)；17,000～55,000 細胞/ml×3 回給餌（午前、午後、夜）

表 2. 1 回次種苗生産（D 型～着底期、飼育期間：8 月 31 日～9 月 8 日、8 日間）

試験区	容器収容 個体数	収容容 器数	1水槽収容 個体数	開始時平均 殻長 (mm)	平均生残率 (%)	標準偏差	平均殻長 (mm)	標準偏差
水槽1	100万/器	6	600万	0.11	55.4 ※	7.94	0.17	0.02

※ネット破れで流失した 1 容器を除いた生残率

給餌密度：3,500～33,000 細胞/ml×1 回

表 3. 1 回次種苗生産（着底期～1 mm 稚貝、飼育期間：9 月 8 日～11 月 5 日、58 日間）

試験区	容器収容 個体数	収容容 器数	1水槽収容 個体数	開始時平均 殻長 (mm)	平均生残率 (%)	標準偏差	平均殻長 (mm)	標準偏差
125 μ m ネット留まり	55万/器	4	220万	0.18	48.2	3.23	1.00	0.26
125 μ m ネット落ち	47万/器	2	94万	0.16	16.2	0.99	1.25	0.36

給餌密度：9/8：40,000 細胞/ml×1 回、9/9-11/5；15,000～106,000 細胞/ml×3 回（午前、午後、夜）

表 4. 2 回次種苗生産 (D 型～着底期、飼育期間 : 9 月 3 日～9 月 10 日、7 日間)

試験区	容器収容 個体数	収容容 器数	1水槽収容 個体数	開始時平均 殻長 (mm)	平均生残率 (%)	標準偏差	平均殻長 (mm)	標準偏差
水槽2	97万/器	6	582万	0.11	25.8	2.34	0.17	0.01

給餌密度 : 3,500～29,000 細胞/ml×1 回

表 5. 2 回次種苗生産 (着底期～1 mm 稚貝、飼育期間 : 9 月 10 日～11 月 2 日、53 日間)

試験区	容器収容 個体数	収容容 器数	1水槽収容 個体数	開始時平均 殻長 (mm)	平均生残率 (%)	標準偏差	平均殻長 (mm)	標準偏差
125 μ mネット留まり	28万/器	4	112万	0.18	45.1	12.6	1.16	0.26
125 μ mネット落ち	30万/器	2	60万	0.16	9.3	6.22	1.47	0.36

給餌密度 : 9/10 : 38,000 細胞/ml×1 回、9/11-11/2 : 12,000～84,000 細胞/ml×3 回 (午前、午後、夜)

イ. 人工種苗生産技術の開発

② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

愛知県水産試験場

鈴木 貴志

【目的】

ハマグリ人工種苗生産の技術開発が進められているが、着底期前後に減耗が発生するなど、この時期の飼育条件の適正化が課題となっている。

そこで本研究では、ハマグリ浮遊幼生の着底期前後の生残率を向上させることを目的に、着底期前後の好適塩分濃度を検討した。

【研究方法】

1) 採卵

採卵に使用した親貝は、令和3年6月に、三河湾沿岸の蒲郡市三谷地先および西尾市矢作川河口において、徒手または小型底びき網で採取した。親貝は砂ろ過海水を入れたプラ舟（横115cm×縦70cm×深さ18cm）に收容し、冷却装置（Tetra CPX-75）を用いて18°Cで1日～2日、通気・換水を行い採卵当日まで静置した。小林（2019）の方法に準じて、直射日光下に30分程度干出させた後、自然水温の砂ろ過海水を入れた100L黒色ポリカーボネイト水槽に收容し、ヒーターを用いて2°C/1時間の速度で30°Cまで昇温することにより、採卵を行った。なお、25°Cに達した時点で、放卵・放精がみられなかった場合には、精子懸濁液を投入し、放卵、放精を促した。水温を十分な産卵量が確認された際には、サイフォンにより産卵後の收容海水を目合い59 μ mのプランクトンネットでろ過し、受精卵を回収した。受精卵は、27°Cに調温した精密ろ過海水を用いて洗卵した後、止水・微通気とした100L黒色ポリカーボネイト水槽に底面積あたり1,500個/cm²の密度となるように收容した。採卵翌日、ふ化幼生がD型幼生に変態していることを確認後、サイフォンにより海水を目合い59 μ mのプランクトンネットでろ過してD型幼生を回収し、浮遊幼生飼育試験に供した。なお、産卵を誘発しても放卵・放精が確認されなかった場合は、再度、18°Cの海水中に親貝を静置し、翌日に採卵を実施した。採卵後の親貝については、アンストラサイト（粒径：2mm）を敷いたカゴに收容して当所地先の港に垂下し、次回の採卵に使用するまで畜養した。一部の親貝については精子懸濁液の作製時および採卵後に殻長(mm)、殻高(mm)、殻幅(mm)、軟体部湿重量(g)を計測し、肥満度（軟体部湿重量 g/(殻長 mm×殻高 mm×殻幅 mm)）の算出に供した。

2) 浮遊幼生飼育試験

浮遊幼生の好適塩分条件を検討するために、回収したD型幼生を供試個体として、6月から8月にかけて飼育試験を3回実施した。飼育は、ダウンウェリング法（牧野ら2016）で行い、塩分を調節した精密ろ過海水を入れた60Lプラスチックコンテナ（縦48cm×横73cm×深さ20cm）内に底面を69 μ mの目合のプランクトンネットで覆った塩化ビニール製

円形容器（内径 20cm）を 3 個設置して行った。円形容器には幼生を収容し、観賞魚用ポンプにより飼育水を上方から円形容器内へ散水させる形とした。

なお、飼育水温は 33°C とし、加温は幼生を収容した円形容器とプラスチックコンテナの間隙にヒーターを入れて行った。試験区はフルグロウン期幼生まで塩分 20 で飼育した試験区（L20）とアンボ期に 20 から 15 に落とした試験区（L15）とした。なお、飼育水は塩分濃度を精密ろ過海水と水道水で希釈して調節した後、翌日まで曝気と紫外線殺菌したものを使用した。餌料は培養した *Pavlova lutheri*（以下、パブロバ）を使用し、10,000～25,000 細胞/mL の密度で 1 日 1～2 回、給餌した。換水は、飼育水と同じ塩分・水温の精密ろ過海水を用いて、全量を給餌前に 1 日 1 回行った。試験期間中、サンプリングを行って、幼生の発育状況等を顕微鏡下で確認した。幼生がフルグロウン期になったことを確認した段階で、サイフォンを用いて飼育海水を目合い 95 μ m のプランクトンネットでろ過し、フルグロウン期幼生を回収し、生残率の評価を行った。

3) 着底稚貝飼育試験

着底期以降の好適塩分条件を検討するため、D 型幼生期に塩分 20、アンボ期に塩分 15 で飼育したフルグロウン期幼生を用いて、飼育水の塩分を 10 (T10)、12.5 (T12.5)、15 (T15) に設定した 3 試験区で飼育試験を開始した。飼育水槽は、60L プラスチックコンテナ（縦 48cm×横 73cm×深さ 20cm）内に底面を 125 μ m の目合のプランクトンネットで覆った塩化ビニール製円形容器（内径 20cm）を 3 個設置した。飼育容器の底面には基質として貝化石（粒径 125～250 μ m）を 9g 散布し、浮遊幼生飼育同様にダウンウェリング法により行った。飼育水の塩分は浮遊幼生飼育試験と同様に調整し、ヒーターで 33°C に加温して使用して給餌前に毎日全量換水した。餌料には培養したパブロバを使用し、翌朝の飼育水槽内の餌料密度が 2,000 細胞/ml 以上に保たれるように適宜調節して 35,000～100,000 細胞/ml を 1 日 2 回、換水作業後（11 時頃）と 17 時に給餌した。試験終了時に、目合い 500 μ m のフルイを用いて、基質と稚貝を分離し、単位重量当たりの生残個体数を計数後、重量法により飼育水槽毎の生残個体数を推定した。

【研究成果の概要】

1) 採卵

採卵結果を表 1 に示した。親貝は令和 3 年 6 月 9 日、22 日、23 日に入手し、採卵は 6 月から 8 月にかけて合計 8 回実施した。8 回中 5 回で産卵が確認でき、合計約 3,965 万粒の受精卵が得られた。採卵翌日に D 型幼生への変態を確認し、合計約 1,008 万個体の D 型幼生を回収した。6 月 10 日～13 日の 4 回の採卵では産卵したのは 2 回で採卵数は約 293 万粒であったが、6 月 24 日～8 月 24 日の 4 回の採卵では 3 回産卵し、3,672 万粒採卵できたことから、採卵適期は 6 月下旬から 8 月下旬と考えられた。採卵期間中の肥満度は 16.5～19.8（平均 17.5）で大きな変動はみられなかった。また、採卵後の 6 月 13 日から 8 月 23 日まで地先の港内に畜養した親貝から 8 月 24 日に採卵できたことから、同一親貝ロットでも産卵期間内であれば複数回採卵に利用可能と考えられた。

2) 浮遊幼生飼育試験

試験は6月12日～6月20日、6月26日～7月3日、8月25日～9月4日の計3回実施し、それぞれの試験結果を表2に示した。飼育開始から7～10日目にフルグロウン期幼生が確認された。1回次では生残率が2回次、3回次と比べ11.4～36.5%と低く、塩分以外の要因が影響したと考えられた。2回次では生残率は56.5～82.3%と高かったが、L15とL20の生残率に差はみられなかった。3回次では生残率は55.3～81.2%となったが、L15がL20より高かった (*Mann-Whitney U test: P<0.05*)。また、生残率の高かった2～3回次の平均生残率は、L15は69.5%、L20は68.8%であり、L15の生残率がやや高い傾向がみられた。今回の結果では昨年と比べ、実施した全試験の平均生残率は45.1%から54.0%に向上した。

3) 着底稚貝飼育試験

試験は6月21日～6月26日、7月4日～8月18日、9月5日～10月18日の計3回実施し、それぞれの試験結果を表3に示した。なお、1回次は浮遊幼生試験の生残率が低く、供試個体が少なく、試験開始直後からへい死が続き、14日目で試験を中止した。2回次では飼育開始から45日目に1mmサイズの稚貝を回収し、T10区、T12.5区、T15区の生残率はそれぞれ0.3、2.3、2.1%であった。3回次では飼育開始から43日目に1mmサイズの稚貝を回収し、T10区、T12.5区、T15区の生残率はそれぞれ0.6、4.1、14.9%であった。いずれの回次においてもT10区は最も悪く、T12.5区とT15区では回次によっては有意な差がみられ (*Mann-Whitney U test: p<0.05*)、塩分は12.5よりも15の方がよいことが示唆された。一方、長谷川(2020)は、着底期の塩分を15から12.5に下げると塩分15を維持するよりも着底率が高くなることを確認している。このことから、着底率は塩分12.5で向上するものの、着底完了以降の好適塩分はより高くなる可能性が示唆された。

【次年度に向けた提言】

採卵を行った8回のうち5回で受精卵が得られ、そのうち3回で1,000万粒以上の受精卵を回収することができた。昨年度から導入した1～2°C/時間の昇温刺激により安定して受精卵を回収することができた。また、これまでの採卵結果から愛知県海域におけるハマグリ採卵適期が示されたことで、効率的に成熟した親貝を確保することが可能となり、安定した採卵に繋がったと考えられた。

浮遊幼生飼育においては、ダウンウェリング法において水温を33°Cに加温し、塩分を幼生の変態時期に応じて段階的に20から15に調整する方法でフルグロウン期幼生までの生残率が高くなる傾向がみられた。一方、生残率が低い場合は塩分以外の要因も原因と考えられる。採卵が不安定な採卵適期前の採卵の見直しや浮遊期の飼育管理方法について他共同研究機関と連携して改善を図る必要がある。

着底稚貝飼育については、本試験では着底期から1mm稚貝までの生残率は塩分15が塩分12.5や10より高かったが、着底期の塩分を12.5に下げると着底率が向上することが確認されていることから長谷川(2020)、着底期前後と着底完了以降で好適塩分が異なる可能性が

示唆された。このことから着底期に塩分を 12.5 に下げ、着底完了後に塩分を 15 に上げる等、成長段階に応じた塩分調整が必要と考えられた。また、1 回次では昨年度と同様に大量へい死が生じて試験を中止しており、着底期以降の飼育管理方法についても他共同研究機関と連携して改善を図る必要がある。

【参考文献】

- 小林 豊 (2019) ハマグリ人工採卵技術. 令和元年度二枚貝類飼育技術研究会.
 牧野 直・小林 豊・深山義文 (2016) ハマグリ種苗生産における浮遊幼生期の飼育条件について, 千葉水総研報, 10, 7-13.
 長谷川拓也 (2020) 令和3年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業成果報告書

【図表】

表 1. 採卵結果

回次	採卵実施月日	親貝採取日	親貝産地	親貝採取方法	親貝使用数 (個) a	水槽数 (個)	収容受精 卵数 (万個) b	ふ化D型 幼生数 (万個) c	ふ化率 (%) 100*c/b	正常回収D 型幼生数 (万個) d	正常D型回 収率 (%) 100*d/b	親貝1個あ たり正常D 型幼生数 (万個) d/a	肥満度
1	6/10	6/9	三谷	徒手	228	2	0	-	-	-	-	-	17.5
2	6/11	6/9	三谷	徒手	218	2	224.1	114.5	51.1	94.4	42.1	0.4	17.6
3	6/12	6/9	三谷	徒手	211	2	69.0	33.0	47.8	19.5	28.3	0.1	17.0
4	6/13	6/9	三谷	徒手	205	2	0	-	-	-	-	-	17.2
5	6/24	6/22	三谷	徒手	394	3	870.2	304.4	35.0	215.7	24.8	0.5	19.8
		6/23	矢作川河口	底びき	100	1	326.4	91.1	27.9	63.3	19.4	0.6	-
6	6/25	6/22	三谷	徒手	384	2	462.4	236.7	51.2	140.9	30.5	0.4	16.5
		6/23	矢作川河口	底びき	100	1	570.2	210.7	37.0	102.5	18.0	1.0	17.5
7	8/23	6/9	三谷(畜養)	徒手	99	1	0	-	-	-	-	-	17.0
8	8/24	6/9	三谷(畜養)	徒手	92	1	1,443.0	593	41.1	372.0	25.8	4.0	-
計							3,965.3			1,008.3			

表 2. 浮遊幼生試験結果

試験区	塩分	試験開始日	試験終了日	使用容器数	D型幼生収容数 (万個/A)	フルグロウン 幼生回収数 (万個/B)	生残率 (%・B/A)
L15-1-1	20→15	6月12日	6月20日	3	31.5	11.5	36.5 ^a
L15-1-2	20→15	6月12日	6月20日	3	31.5	3.6	11.4 ^b
L20-1-1	20	6月12日	6月20日	3	31.5	7.2	22.9 ^b
L15-2-1	20→15	6月26日	7月3日	3	60	33.9	56.5
L15-2-2	20→15	6月26日	7月3日	3	60	35.6	59.3
L20-2-1	20	6月26日	7月3日	3	60	49.4	82.3
L15-3-1	20→15	8月25日	9月4日	3	60	48.7	81.2 ^a
L15-3-2	20→15	8月25日	9月4日	3	60	48.5	80.8 ^a
L20-3-1	20	8月25日	9月4日	3	60	33.2	55.3 ^b

※同一回次において異なる文字間で有意差あり (Mann Whitney U test $P<0.05$)

表 3. 着底稚貝飼育試験結果

試験区	塩分	試験開始日	試験終了日	使用容器数	フルグロウン 幼生収容数 (万個/A)	着底稚貝 回収数 (万個/B)	生残率 (%・B/A)
T10-1	10.0	6月21日	6月26日 (試験中止)	3	3	-	-
T12.5-1	12.5	6月21日	6月26日 (試験中止)	3	3	-	-
T15-1	15.0	6月21日	6月26日 (試験中止)	3	3	-	-
T10-2	10.0	7月4日	8月18日	3	15	0.03	0.2 ^b
T12.5-2	12.5	7月4日	8月18日	3	15	0.35	2.3 ^a
T15-2	15.0	7月4日	8月18日	3	15	0.32	2.1 ^a
T10-3	10.0	9月5日	10月18日	3	15	0.09	0.6 ^c
T12.5-3	12.5	9月5日	10月18日	3	15	0.61	4.1 ^b
T15-3	15.0	9月5日	10月18日	3	15	2.23	14.9 ^a

※同一回次内において異なる文字間で有意差あり (Mann Whitney U test $P<0.05$)

イ. 人工種苗生産技術の開発

② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

熊本県水産研究センター

上原 美咲、徳留 剛彦

【目的】

ハマグリは、二枚貝の中でもアサリと並び、重要な水産資源として利用されてきたが、熊本県では、006年には漁獲が106トンとピーク時の50分の1にまで減少している。

ハマグリ資源の回復のためには、人工種苗を用いた母貝団地造成が必要とされており、安定的な人工種苗生産から、人工種苗を用いた母貝団地造成までの技術開発が不可欠となっている。

本研究では、母貝団地造成に必要な人工種苗確保のため、千葉県総合水産研究センターの研究成果を活用して、初期着底稚貝を安定的に大量確保する技術開発を目的とした。

【研究方法】

1. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証

1) 飼育水槽（図1）及び飼育環境

緩慢昇温刺激と生殖腺（精子）添加による誘発刺激により得られた受精卵で人工種苗生産を行った（採卵の詳細は、ア. ②「ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発」に記載）。浮遊幼生及び初期着底稚貝の飼育は、200L プラブネと角型ポリ容器 95L の2段水槽を使用した。95L 角型ポリ容器には500w 棒状ヒーターと水中ポンプ（EHEIM 製 コンパクトオン 1000）を設置し、200L プラブネには底面にメッシュネットを張った直径50cm、高さ20cmの幼生収容カラムを2個設置し、カラム上面から穴をあけた塩ビ管でダウンウェリング注水し、二つの水槽の飼育水を循環させた。注水量は、幼生の成長に合わせて800mL/分-1500mL/分程度で調整し、幼生収容カラムのメッシュの目合いは、幼生の成長に合わせて48 μ m、80 μ m、着底後は125 μ mの目合いで飼育を行った。また、水槽上面には保温、遮光及び飛沫防止のために保温材を設置した。

飼育水は、ろ過UV殺菌した海水を塩分19に希釈して、33°Cに加温したものを使用し、飼育期間中は原則毎日全換水した。ほふく運動が頻繁に観察され始めたら、粒径が125-250 μ mの貝化石を投入し、着底を促した。

今年度からの新たな取組みとして、防疫対策の強化を行った。使用する器材は希釈した次亜塩素酸ナトリウム（100ppm）で消毒を行い、手足の消毒も併せて徹底した。飛沫防止のため、水槽の底上げと蓋つきポリバケツを使用した。

2) 飼育概要

飼育試験は、6月10日、7月9日、7月27日、8月11日の4回行い、浮遊幼生の収容個数は50万個/カラムを上限として飼育を行った。着底後には、20~25万個/カラムを上限として再収容した。

餌料は、千葉県より分与を受け培養したパブロバ・ルテリ、及びヤンマーバイオイノベーションセンターマリファーム製の濃縮キートセロス・グラシリス（以下グラシリス）を単独もしくは混合給餌した。給餌量は 10,000~72,500 細胞/mL を浮遊期は 1 日 1 回、着底後は午前と午後の 1 日 2 回給餌を行った。換水前に血球計数板で残餌計数し、残餌に併せて給餌量を調整した。着底稚貝の取り上げは 250 μ m のメッシュで回収して計数した。

2. 着底期の低塩分化による比較試験

1) 飼育水槽（図 2）及び飼育環境

浮遊幼生及び初期着底稚貝の飼育は、プラスチックコンテナ内に、内径 15cm の塩ビ管の底面にメッシュネットを張ったカラムを 2 個設置し、150w 棒状ヒーターと水中ポンプ（EHEIM 製 コンパクトオン 1000）を設置した。カラム上面から穴をあけた塩ビ管でダウンウェリング注水し、水槽内の飼育水を循環させた。注水量は、幼生の成長に合わせて 75mL~144mL/分程度で調整し、幼生収容カラムのメッシュの目合いは、幼生の殻長に合わせて 48 μ m、80 μ m、着底後は 125 μ m の目合いで飼育を行った。また、水槽上面には保温、遮光及び飛沫防止のために保温材を設置した。

飼育水は、ろ過 UV 殺菌した海水を 33°C に加温したものを使用し、飼育期間中は原則毎日全換水した。浮遊幼生のほふく運動が頻繁に観察され始めたら、粒径が 125-250 μ m の貝化石を投入し、着底を促した。

本試験も、「2. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証」と同様に、防疫対策の強化を行った。

2) 試験区

着底期の低塩分化による生残率の向上を検討するため、対照区と試験区を設定した。対照区は、「2. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証」と同様に、塩分 19 に希釈した飼育海水を使用した。試験区は、飼育開始時は塩分 19 で飼育し、アンボ期（殻長 140-150 μ m）の割合が増えたら塩分を 15 に下げた。また、フルグロウン期（殻長 180 μ m）の割合が増え、ほふく個体や着底個体が確認されるようになれば塩分を 12.5 へさらに下げた。浮遊個体がみられなくなった時点で塩分を 19 に戻して飼育を継続した。

3) 飼育概要

飼育試験は、6 月 24 日、7 月 27 日の 2 回行い、浮遊幼生の収容個数は、10 万個/カラムを上限として飼育を行った。

餌料は、「2. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証」と同じ餌料を使用した。給餌量は、パブロバ細胞数換算で 10,000~120,000 細胞/ml を浮遊期は 1 日 1 回、着底後は午前と午後の 1 日 2 回給餌を行った。換水前に血球計数板で残餌計数し、給餌量を残餌に併せて調整した。

【研究成果の概要】

1. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証

4回の飼育試験結果を、飼育開始から着底までを表1に、着底から稚貝取り上げまでを表2に示した。また、飼育回次ごとの浮遊幼生及び着底稚貝の平均殻長と給餌量の推移を図3に示した。

1回次の飼育では、100万個のD型幼生を收容し、飼育12日目に平均殻長182.6 μm のフルグロウン期幼生62万個を回収した。着底基質を投入後、継続飼育を行ったが、給餌量を抑え気味で行っていたため、餌不足と考えられるへい死が出始め、殻長約200 μm 前後で大量へい死が起き、22日齢で試験を中止した。

2回次の飼育では、100万個のD型幼生を收容し、飼育11日目に平均殻長192.7 μm のフルグロウン期幼生79万個を回収して、着底基質を投入後、継続飼育を行った。1回次は餌不足と考えられるへい死が起きたため、給餌量を増やしたが、着底後に残餌が増えると同時に、死殻も増え始めた。底質環境の悪化による大量へい死が起き、25日齢で試験を中止した。

3回次の飼育では、100万個のD型幼生を收容し、飼育11日目に平均殻長196.9 μm のフルグロウン期幼生62万個を回収して、着底基質投入後、継続飼育を行った。給餌量は、着底前までは残餌の状況をみながら上限を設けずに給餌し、浮遊生活から着底生活に移行する着底時期に給餌量を一度抑制することで、過給餌による着底後のへい死は起らなかった。着底後大量へい死はみられなかったが、飼育25日目以降にへい死が目立ち始めて、取り上げまでだらだらとへい死が続いた。飼育57日目に平均殻長982 μm の稚貝を5.7万個取り上げた。

4回次の飼育では、100万個のD型幼生を收容し、飼育9日目に平均殻長196.1 μm のフルグロウン期幼生61万個を回収して、着底基質投入後、継続飼育を行った。3回次同様に、着底後大量へい死はみられなかったが、飼育23日目以降にへい死が目立ち始めて、取り上げまでだらだらとへい死が続いた。飼育49日目に平均殻長799 μm の稚貝を0.4万個取り上げた。

今年度の試験では、防疫対策を強化し、收容密度の上限を設けたことで、昨年度問題となった着底前のへい死は一回も起らなかった。着底後には、1回次と2回次に給餌量が原因と考えられる大量へい死が起きたが、残餌及び着底状況をみながら、給餌量を調整することで改善することができた。3回次と4回次には飼育23~25日目以降にへい死が目立ち始めたが、この原因については成長に伴う汚れの増加に対応できていなかった可能性がある。

2. 着底期の低塩分化による比較試験

2回の飼育試験結果を、飼育開始から着底まで(表3)と着底から稚貝取り上げまで(表4)にわけて示した。また、飼育回次ごとの浮遊幼生及び着底稚貝の平均殻長の推移を図4に示した。

1回次の飼育では、各試験区で20万個のD型幼生を收容し、12日目に対照区は平均殻長202.2 μm のフルグロウン期幼生10万個を回収し、低塩分区は平均殻長195.1 μm のフル

グロウン期幼生 9 万個を回収して、着底基質投入後、継続飼育を行った。着底後に両試験区で大量へい死と考えられる大量へい死がおき、24 日齢で試験を中止した。

2 回次の飼育では、各試験区で 20 万個の D 型幼生を收容し、10 日目に対照区は平均殻長 191.4 μm のフルグロウン期幼生 6 万個を回収し、低塩分区は平均殻長 189.3 μm のフルグロウン期幼生 8 万個を回収して、着底基質投入後、継続飼育を行った。着底後は、低塩分区でへい死が出始めて、大量へい死により、25 日齢で試験を中止した。一方、対照区はへい死が起きず、順調に成長し、平均殻長 1,028 μm の着底稚貝を 1.83 万個取り上げることができた。

本試験では、着底前までの生残率は 1 回次と 2 回次で結果が異なるため、低塩分化による生残率の向上は明らかにできなかった。2 回試験を実施して共通している点は、低塩分区は対照区よりも着底時の殻長が小さかったことである。また、着底後については、1 回次は餌不足と考えられる大量へい死が起きているため、2 回次の結果のみをみると低塩分区は着底後にへい死が起きた。他の参画機関の試験結果でも、着底後も低塩分で継続飼育していると生残等の成績が悪いとの結果が出ているため、今回は塩分を 12.5 から 19 へ上げるタイミングが遅かった可能性が考えられる。

【次年度に向けた提言】

1. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証

今年の試験では、4 回の飼育試験で 400 万の浮遊幼生を飼育し、うち、2 回の飼育で合計 6 万個の着底稚貝を取り上げることができた。昨年度問題となった着底前の大量へい死については、防疫対策を強化し、收容密度の上限も設けたことにより、着底前のへい死は一度も起らなかった。また、給餌量についても、着底前までは上限を設けずに給餌を行うことで成長が早くなり、浮遊生活から着底生活に移行する着底時期に給餌量を抑えることで、着底直後のへい死も抑えることができた。3 回次と 4 回次に起きた着底してしばらくしてからのへい死は成長に伴う汚れ増大に対応できていなかった可能性が考えられるため、洗浄方法を改善する必要がある。

2. 着底期の低塩分化による比較試験

着底前までの生残率は 1 回次と 2 回次で結果が異なるため、低塩分化による生残率の向上は明らかにできなかったが、着底後の塩分切り替えのタイミングが重要である可能性が示唆されているため、塩分を上げるタイミングを検証する必要がある。

【図表】



図1. ダウンウェリング飼育水槽外観（左：飼育部分、右：水槽の外観）



図2. 着底期の低塩分化による比較試験水槽の外観

表1. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証結果の概要（飼育開始から着底まで）

飼育回次	飼育開始日	飼育開始時の幼生数(万個) ①	着底時幼生数(万個) ②	着底時の生残率(%) (②/①*100)	着底まで飼育日数	着底時平均殻長(μm)
1	6月10日	100	62	62	12	182.6
2	7月9日	100	79	79	11	192.7
3	7月27日	100	62	62	11	196.9
4	8月11日	100	61	61	9	196.1

表2. ダウンウェリング飼育での安定飼育再現性の検証結果の概要（着底から稚貝取り上げまで）

飼育回次	着底時平均殻長(μm)	着底時の収容数(万個) ③	取り上げ時の稚貝数(万個) ④	取り上げ時の生残率(%) (④/③*100)	取り上げ時までの飼育日数	取り上げ時の平均殻長(μm)
1	182.6	50			大量へい死により、22日齢で中止	
2	192.7	50			大量へい死により、25日齢で中止	
3	196.9	40	5.7	14	57	982.78
4	196.1	40	0.4	1	50	799.01

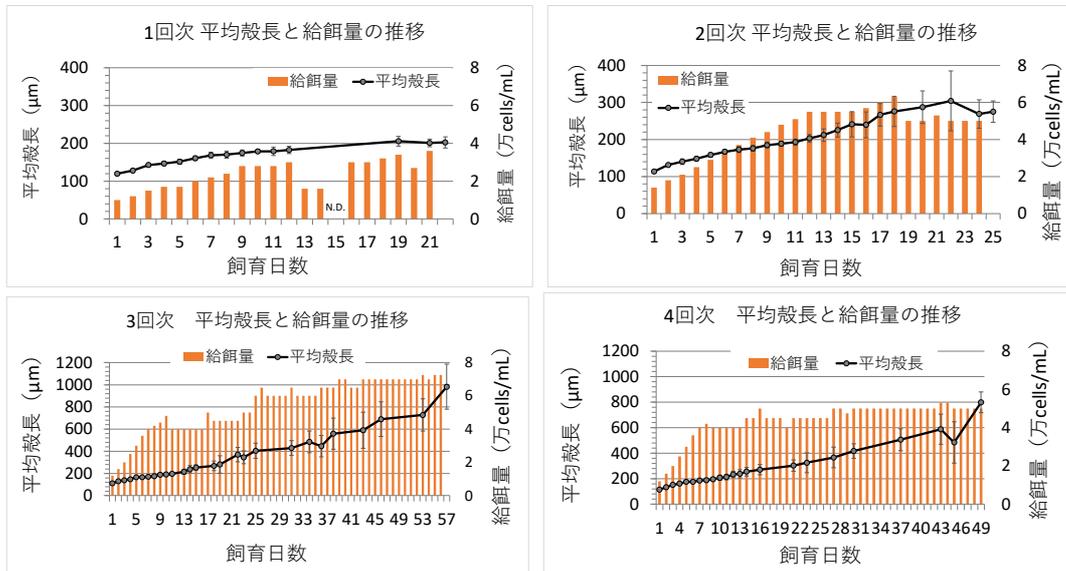


図3. ハマガリの平均殻長と給餌量の推移 (左上：1回次、右上：2回次、左下：3回次、右下：1回次)

表3. 着底期の低塩分化による比較試験結果の概要 (飼育開始から着底まで)

飼育回次	試験区	飼育開始日	飼育開始時の幼生数 (万個) ①	着底時幼生数 (万個) ②	着底時の生残率 (%) (②/①*100)	浮遊個体が確認されなくなった飼育日数	着底時平均殻長 (μm)
1回目	低塩分区	6月24日	20	9	43	16	195.1
	対照区		20	10	48	16	2021.6
2回目	低塩分区	7月27日	20	8	40	13	189.3
	対照区		20	6	30	12	191.4

表4. 着底期の低塩分化による比較試験結果の概要 (着底から稚貝取り上げまで)

飼育回次	試験区	取上時の稚貝数 (万個) ④	取り上げ時の生残率 (%) (④/②*100)	取り上げ時までの飼育日数	取り上げ時の平均殻長 (μm)
1回目	低塩分区	大量へい死により、24日齢で中止			
	対照区	大量へい死により、24日齢で中止			
2回目	低塩分区	大量へい死により、25日齢で中止			
	対照区	1.83	31	50	1028

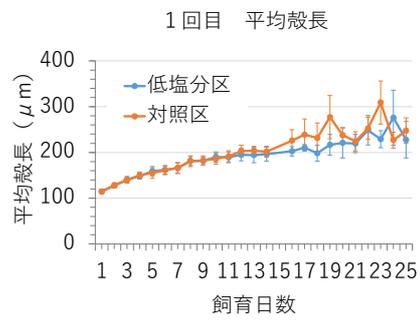


図4 平均殻長の推移 (左: 1回目、右: 2回目)