

3. 母貝育成技術の開発（小課題1－2－1）

3.1 小規模実証実験

3.1.1 方法

令和2年4月に現地で採集した殻長数 mm の稚貝（令和元年秋発生群）を殻長別に異なる育成方法で育成し、9月に殻長約 20 mm に成長したアサリを以下の機材に収容、造成した小規模実証実験について引き続き観察を行う。

(1) 使用機器（図 23）

1) 碎石入り網袋

ラッセル網袋（大きさ：300×600 mm、目合：4×4mm 角目）に碎石を約 5 kg 収容。

（設置面積）台形として仮定

$$（上底 200 \text{ mm} + 下底 300 \text{ mm}） \times 高さ 400 \text{ mm} = 0.1 \text{ m}^2$$

$$\begin{aligned} \text{（収容数、密度）} & 100 \text{ 個体/袋 } (=1,000 \text{ 個体/m}^2) \times 75 \text{ 袋} \\ & = 7,500 \text{ 個体} \end{aligned}$$

（碎石）調整碎石 7 号相当（粒径約 2.5～5 mm）



2) 牡蠣養殖用カゴ

（大きさ）縦 750 mm×横 200 mm、設置面積 0.15 m²

（目合）φ 12mm パンチング

$$\begin{aligned} \text{（収容数、密度）} & 150 \text{ 個体/カゴ } (=1,000 \text{ 個体/m}^2) \times 50 \text{ カゴ} \\ & = 7,500 \text{ 個体} \end{aligned}$$



図 23 使用機材

(2) 方法

令和2年10月より実験開始した小規模実証実験において計測用として抽出した碎石入り網袋 5 袋および牡蠣養殖用カゴ 5 カゴについて、今年度も引き続き生残率、殻長、湿重量の計測および肥満度、群成熟度の分析を行い、機材の比較検討を行った。更に、今年度から産卵の確認と母貝場の産卵ポテンシャルの推定のため、生殖腺の組織観察および産卵実験を追加した。また、7 月には漁獲作業を行い、工数等の確認を行った。

各実験区内の配置図を図 24 に、現地の状況を図 25 に示した。

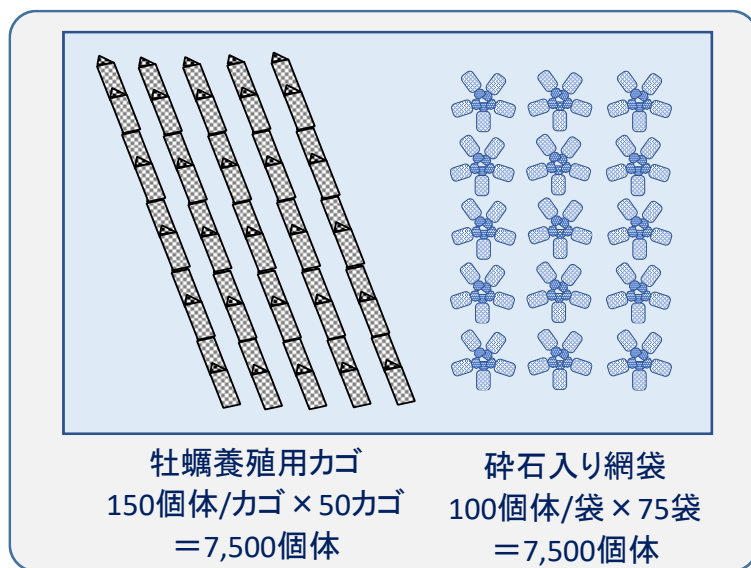


図 24 小規模実証実験 実験区配置模式図

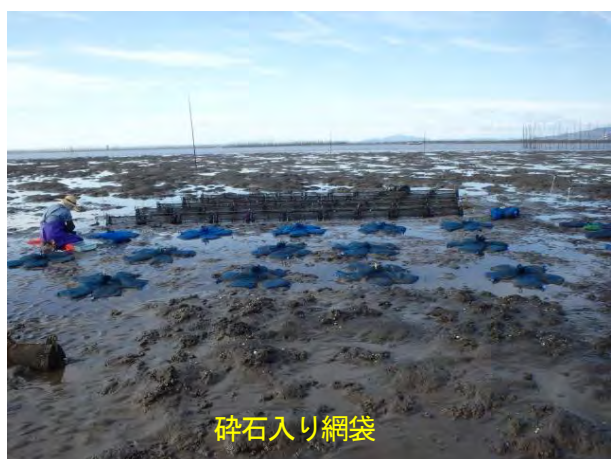


図 25 設置状況

1) モニタリング

モニタリングは原則として1か月に1回、配置を分散させて選出した碎石入り網袋5袋及び牡蠣養殖用カゴ5カゴから母貝を取り出し、生残率（生貝数、死貝数）、全体の湿重量及び無作為に抽出した25～30個体程度について大きさ（殻長）を計測した。計測後の母貝は元の碎石入り網袋及び牡蠣養殖用カゴにそれぞれ戻し再設置した。なお、成貝数及び死貝数の計数は、計数盤（図 26）を利用し、調査回間の個体数の整合性を確認した。また、収容したアサリが正常に産卵していることを確認するため、原則として2か月に1回、サンプリング用に別途設置した碎石入り網袋及び牡蠣養殖用カゴから母貝をランダムに20個体程度取り出し、ホルマリンで固定後に持ち帰って肥満度、群成熟度を計測した。肥満度は、鳥羽、深山¹⁸⁾に基づき、軟体部重量、殻長、殻高、殻幅から求めた。群成熟度は、20個体について、生殖腺の発達段階を安田ら¹⁹⁾に基づいて調べ、求めた。肥満度と群成熟度とは別にサンプリングした各20個体について成熟度・産卵を確認するため、4月～7月に生殖腺の組織観察を行った。なお、組織観察は国立研究開発法人水産研究・教育機構

水産技術研究所養殖部門生理機能部（以下水産技術研究所とする）にて実施し、方法は既報²⁰⁾に従った。



図 26 アサリ計数盤

2) 産卵実験

母貝生産額の算出のために必要な産卵数のポテンシャルは、肥満度、群成熟度より産卵が予測された5月に温度・干出刺激による産卵実験で放卵を確認し、産卵数より求めることを試みた。

サンプルは、肥満度計測用サンプルと同じユニットより取り出した個体を用い、水産技術研究所および海洋エンジニアリング株式会社九州センターで以下の通り実験を実施した。

- (a) 5/13～ 水産技術研究所
 - (b) 5/31～ 水産技術研究所
 - (c) 6/1～ 海洋エンジニアリング(株)九州センター
- 各実験手順については結果にて後述する。

3) 漁獲

春季の産卵確認後、夏季の高温、台風や豪雨に伴う塩分の低下が起これと予想される前（7月）に漁獲・回収を行った。漁獲対象アサリは、住吉漁業協同組合で設定している漁獲制限サイズの殻幅 13 mm（4 分 3 厘）以上とし、漁業者が使用しているユリ目（スリット選別具）を使用して選別した。漁獲に際しては各々の碎石入り網袋または牡蠣養殖用カゴについて漁獲個体数を計数し、一部については網・カゴあたりの湿重量等を記録し、作業工数を確認した。また、計測に供した各5ユニットは夏季の生残を継続してモニタリングするため撤収せずに残置し、施設設置から1年後の10月まで生残、殻長、湿重量のモニタリングを継続した。

漁獲したアサリは漁業者に紹介・説明後に、原地盤に放流した。漁獲作業状況を図 27、漁業者への説明状況を図 28 に示した。



図 27 漁獲作業



図 28 漁業者への説明

3.1.2 結果

(1) モニタリング結果

昨年度からのモニタリング項目の生残率の推移を図 29、殻長の推移を図 30、1 個体あたりの湿重量の推移を図 31、肥満度を図 32、群成熟度を図 33 に示した。なお、図中のエラーバーは標準偏差を表している。また、7/23 時点での碎石入り網袋と牡蠣養殖用カゴの検定結果を表 9 に示した。

1) 生残率

生残については実験開始の昨年 10 月から 2 月まで差が見られなかったが、令和 3 年 1 月より牡蠣養殖用カゴの生残率が碎石入り網袋よりも有意に低かった。7 月初旬までは碎石入り網袋が牡蠣養殖用カゴより有意に高かった (t -test: $p=0.026$) が、7 月の漁獲時の検定結果では有意差は認められなかった ($p=0.067$)。漁獲後は碎石入り網袋及び牡蠣養殖用カゴとも生残率が低下する傾向が見られ、特に碎石入り網袋の低下率が高く、標準偏差も大きくなっていた。しかし、網袋内の生存率の低下のユニット間の差は、流れの向きや岸 or 沖でランダムに見られた。

2) 殻長、1 個体あたりの湿重量

殻長および 1 個体あたりの湿重量においては実験当初の 11 月から碎石入り網袋が牡蠣養殖用カゴより高い値を示していた。特に 1 個体あたりの湿重量では漁獲の時点で碎石入り網袋が牡蠣養殖用カゴの約 1.5 倍の湿重量となっていた。また、牡蠣養殖用カゴでは 5 月から 8 月まで 1 個体あたりの湿重量は少しずつ増加しているが、殻長が停滞しており成長が鈍化していた。碎石入り網袋では漁獲時に殻長の低下が見られた。

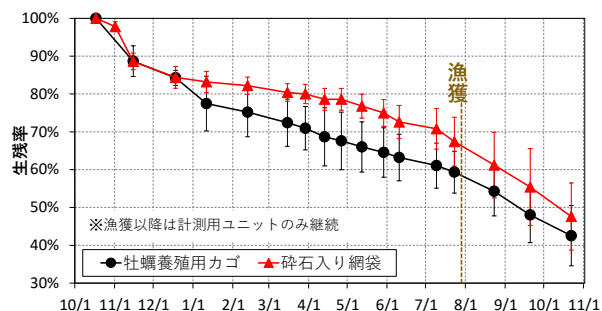


図 29 生残率の推移

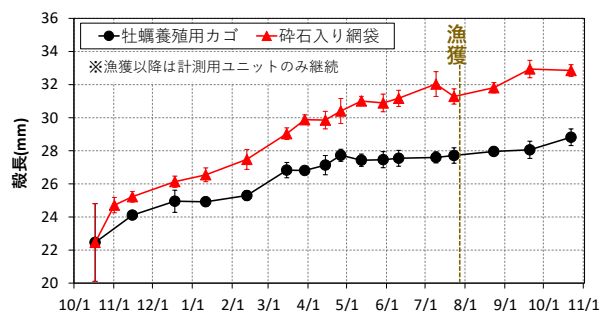


図 30 殻長の推移

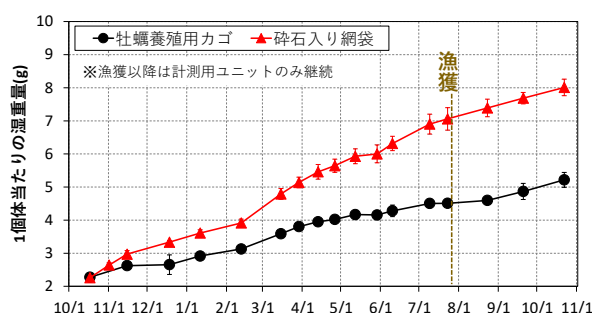


図 31 1 個体あたりの湿重量の推移

表 9 検定結果（小規模実証実験）

調査日	検定項目	条件	t 検定	
			P値（両側）	検定結果
2021/7/23	生残率	牡蠣養殖用カゴ	0.067	有意差なし
		碎石入り網袋		
	殻長	牡蠣養殖用カゴ	1.9.E-06 ◎	網袋 > カゴ
		碎石入り網袋		
	1個体あたりの湿重量	牡蠣養殖用カゴ	8.2.E-05 ◎	網袋 > カゴ
		碎石入り網袋		

◎ : $p < 0.01$, ○ : $p < 0.05$

3) 肥満度及び群成熟度

令和 2 年度に実験開始した収容時点で群成熟度は 0.87 と高く、その後 11 月中旬を極大に 12 月中旬には大きく低下し 1 月中旬には更に低下していた。また肥満度も同様の傾向であったことから、この間に産卵があったと推測された。2 月中旬には碎石入り網袋と牡蠣養殖カゴ共に肥満度は増加するが、群成熟度では碎石入り網袋が 1 月中旬と同じ値であったのに対し、牡蠣養殖用カゴでは 0.11 まで更に低下した。その後牡蠣養殖用カゴ及び碎石入り網袋とも 3 月中旬までの 1 か月間で群成熟度が急増し 0.9 を超えていた。これと同様に肥満度も急増し約 24 と極大値を示した。その後、肥満度は減少傾向であったが、群成熟度では極大値が 5 月中旬まで継続しており、その後減少傾向に転じていた。7 月初旬には肥満度、群成熟度とも低下したため、産卵期の終了と推測された。

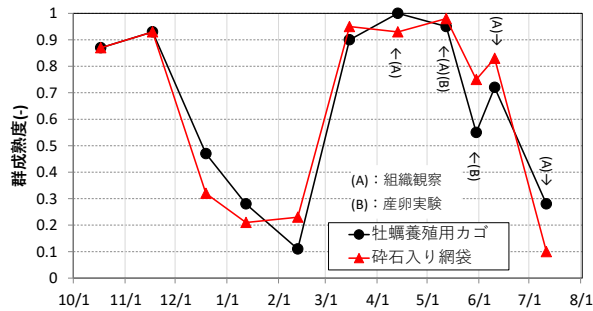


図 32 肥満度の推移

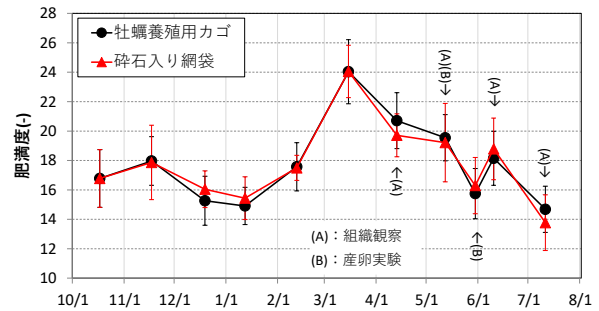


図 33 群成熟度の推移

(2) 生殖腺の組織観察

アサリの生殖腺の組織観察結果を図 34、観察されたアサリの卵巢組織の写真を図 35 に示した。

4 月には成長後期と成熟期ではほぼ 90%を占めていたが、5 月には成長後期が見られず、これに替わって放出期の割合が多くなっていた。6 月には更に放出期の割合が増加し、退行期や未分化期が出現しておいた。7 月には退行期が多くを占めており、産卵の終了が確認された。これらより 5 月から 6 月が産卵盛期であったと確認された。なお、碎石入り網袋と牡蠣養殖用カゴでは似た傾向を示していた。

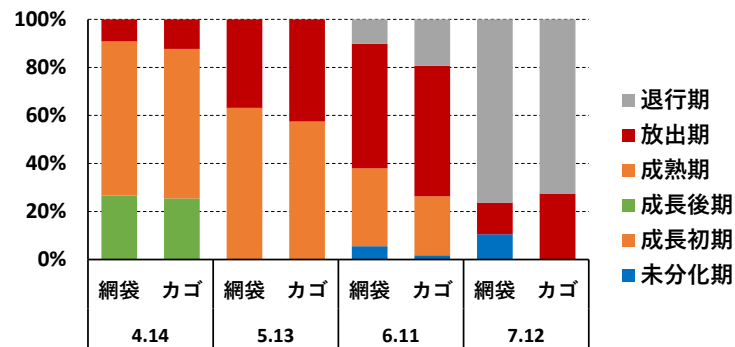
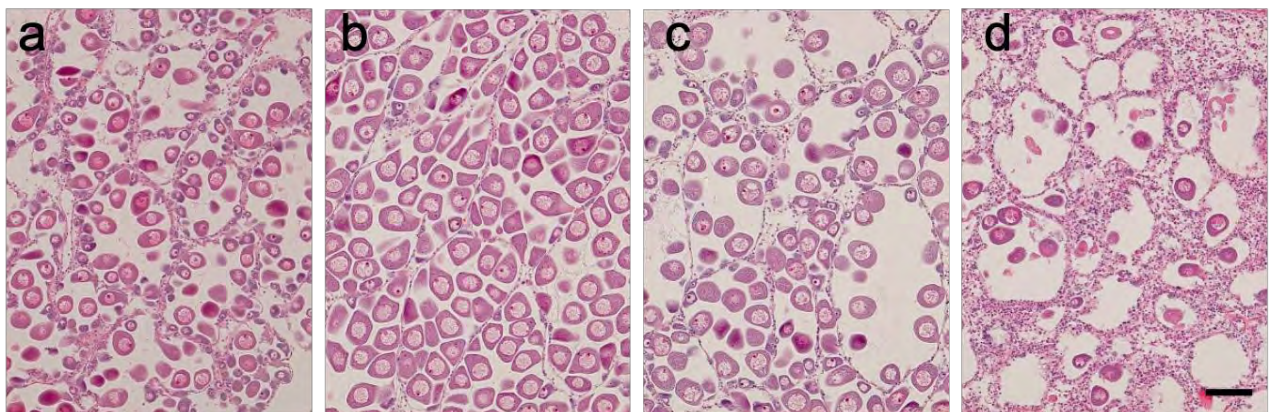


図 34 生殖腺の組織観察結果



a : 成長後期

b : 成熟期

c : 放出期

d : 退行期

図 35 アサリ卵巢組織写真 (bar=100μm)

(3) 産卵実験

産卵実験は産卵が推定された5月に実施した。

1) 5/13～ 実施機関：水産技術研究所

砕石入り網袋:30 個体、牡蠣養殖用カゴ:30 個体を実験に供した。

畜養中に一部で放精が見認められたので試験を開始したが、放卵放精は見られなかった。供試個体の生殖腺を観察するとほとんどが産卵後であったため、高い成熟レベルに達していたと考えられ、畜養中に小さな刺激で産卵してしまったと推測された。

2) 5/31～ 実施機関：水産技術研究所

砕石入り網袋:30 個体、牡蠣養殖用カゴ:30 個体を実験に供した。

5/31 より全てのアサリを1つの水槽に入れ、18℃の海水を少量ずつかけ流し畜養した。6/2 より実験区ごとに個別水槽に移し21℃の海水を少量ずつ入れた。

砕石入り網袋、牡蠣養殖用カゴのいずれでも放精する個体が5個体以上あり、個別に収容するも大半は放精がとまった。個別容器で放精が確認できたのは、砕石入り網袋の3個体のみであった。途中1度水換えをはさみ、夕方まで様子をみるも、それ以上の放卵放精は認められなかった。その後6/3まで実験を継続したが放出は見られなかった。

放精が認められるも量は多くないことを考えると放出できる個体は、放出してしまっていると思われた。

3) 6/1～ 実施機関：海洋エンジニアリング(株)九州センター

実験時の状況を図36および図37、確認された産卵の状況を図38および図39に示した。

＜実験手順＞

- ① 冷蔵保存(13℃)した砕石入り網袋:10 個体、牡蠣養殖用カゴ:30 個体を室温(26℃)で30分間放置し温度・干出刺激を与えた。
- ② その後産卵誘発用に牡蠣養殖用カゴより20 個体をまとめて水槽へ収容(水温22℃)、残りの砕石入り網袋:10 個体、牡蠣養殖用カゴ:10 個体は個別の容器に収容した。収容用の海水はろ過海水を水道水で現場濃度に希釈して用いた。
- ③ 4時間観察後放精放卵が確認されなかったため、再度温度・干出刺激(40分間冷蔵保存後に、30分間室温放置)を与えた。
- ④ 6時間後に産卵誘発用水槽で放精放卵が確認できたため、これらの個体も個別の容器に収容し、放精した3個体の上澄みを混合して精子溶液とし、各個別容器に10 mLずつ添加した。
- ⑤ 1時間後に、放精7 個体、放卵2 個体を確認後、一晩放置した。
- ⑥ 翌日、すべての個体について上澄みを顕微鏡観察し放卵放精を確認し、卵は個別容器内の全ての溶液を分取しホルマリンで固定後分析に供した。
- ⑦ 残ったアサリは全て個体識別ナンバリングし、水産技術研究所にて肥満度を計測した。

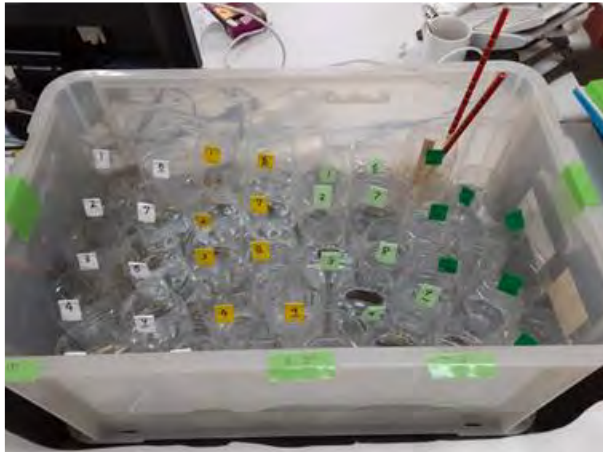


図 36 産卵実験状況-1 (個別収容)



図 37 産卵実験状況-2 (産卵誘発)



図 38 産卵状況-1 (放卵)



図 39 産卵状況-2 (放精)

＜産卵数分析手順＞

- ① 試料を一昼夜静置し、上澄みを捨てて容量が 100 mL となるように調整した。
- ② 試料を十分に攪拌して一定量分取し、計数盤を用いてその中に含まれる卵数を計測した。この操作は 3 回行い平均値を求めた。なお、卵は直径 50 μm 以上を計数した。
- ③ 平均値に希釈率を積算して全体のアサリ産卵数を算出した。

表 10 に 6/1 実施の産卵実験の結果を整理した。

放卵はサンプルの 10～20%で確認され、産卵数は 7 千～23 万個であった。

表 10 産卵実験まとめ（令和3年6月1日実施）

実験区	供試 個体数	放卵 個体数	放精 個体数	未産卵 個体の 肥満度	産卵確認 個体の 肥満度	♂：♀	放卵個体 No.	卵数 [千粒/個体]
碎石入り網袋	10	1	1	17.27	15.94	4:6	1	163
牡蠣養殖用カゴ	10	2	1	16.65	15.63	7:3	1	237
							2	52
牡蠣養殖用カゴ （産卵誘発用）	20	2	0	16.07	13.6	14:6	1	76
							2	7

(4) 漁獲・回収

漁獲は計測用およびサンプリング用を除いた機材を対象に、7/24 に碎石入り網袋 55 袋、7/26 に牡蠣養殖用カゴ 13 カゴ、8/10 に牡蠣養殖用カゴ 14 カゴで実施した。漁獲作業時に計測した漁獲量等の概要を表 11 に、漁獲物の状態を図 40 に示した。

漁獲時の状況として特異であったのは、牡蠣養殖用カゴ内にイシガニが混入していた（図 41）。混入したイシガニは甲幅約 10cm 程度で、6 つのカゴから計 6 匹が確認され、一部のカゴではアサリが全滅していた。

表 11 漁獲概要（漁獲作業時計測）

漁獲作業日	7/24	7/26	8/10
対象実験区	碎石入り網袋	牡蠣養殖用カゴ	牡蠣養殖用カゴ
ユニット数(袋またはカゴ)	55	13	14
漁獲量(kg)	30.4	3.6	4.6
1 ユニット当たりの漁獲量(kg/ユニット)	0.55	0.28	0.33
単位面積当たりの漁獲量(kg/m ²)	5.5	1.8	2.2
個体数(個体)	3,828	582	672
漁獲率(%) = 漁獲個体数/当初収容数	69.6	29.8	32.0
作業工数 (作業内容)	3 名×70 分 (回収、選別)	3 名×30 分 (回収、選別)	[参考] 5 名×60 分 (回収、選別、計 数・質重量測定)



図 40 漁獲状況（砕石入り網袋分）



図 41 混入したイシガニ（牡蠣養殖用カゴ）

7/24 および7/26 の漁獲作業と同時にサンプリングした砕石入り網袋5袋および牡蠣養殖用カゴ5カゴを対象に、機材の目合い（砕石入り網袋4×4 mm、牡蠣養殖用カゴφ12 mm）に残った全個体を採集し、持ち帰って計測した結果のうち、殻幅13 mm以上の漁獲対象アサリの状況を表12、漁獲対象を含む全採集個体の状況を表13に示した。

漁獲対象の個体数、殻長および1個体あたりの湿重量は砕石入り網袋で牡蠣養殖用カゴより高かった。当初の収容数を考慮した漁獲率は砕石入り網袋で牡蠣養殖用カゴより2倍程度高く、漁獲作業時の計測とほぼ等しい結果であった。

また、漁獲対象を含む全採取個体を対象にした機材1ユニット当たりの平均個体数では、砕石入り網袋において平均出現個体が364個体であり、当初収容数（砕石入り網袋：100個体）から2倍以上の収容後の加入が見られた。また、全採取個体数に対する漁獲対象個体数の割合は牡蠣養殖用カゴが砕石入り網袋より高かった。平均殻長に関しては、砕石入り網袋が18.39 mmであり、牡蠣養殖用カゴの27.84 mmよりも小さい結果となった。この結果は、漁獲対象種のための砕石入り網袋の結果の34.70 mmとも大きく異なる結果だった。これについては、下記の考察にて言及する。

表14に漁獲対象個体に対して牡蠣養殖用カゴと砕石入り網袋の有意差検定の結果を示した。いずれの検査項目でも砕石入り網袋が牡蠣養殖用カゴより有意に高い結果であった。

表 12 漁獲対象アサリの状況（持ち帰り分析）

項目\実験区		砕石入り網袋 (n=5)	牡蠣養殖用カゴ (n=5)
機材 1 ユニット当たり	漁獲対象平均個体数 (標準偏差)	68 (4)	48 (7)
	漁獲率(%) = 漁獲対象平均個体数 /当初収容数*100	68	32
	漁獲対象平均殻長(mm) (標準偏差)	34.70 (0.45)	31.17 (0.97)
	漁獲対象 1 個体あたりの湿重量(g) (標準偏差)	8.1 (0.3)	6.0 (0.4)
	漁獲対象丸形指数 (標準偏差)	45.4 (0.5)	45.9 (0.5)

※当初収容数 砕石入り網袋：100 個体、牡蠣養殖用カゴ：150 個体

表 13 全個体の状況（持ち帰り分析）

項目\実験区		砕石入り網袋 (n=5)	牡蠣養殖用カゴ (n=5)
機材 1 ユニット 当たり	平均個体数 (標準偏差)	364 (141)	148 (60)
	平均殻長(mm) (標準偏差)	18.39 (1.77)	27.84 (1.53)
全体	個体数	1821	738
	漁獲対象個体数 (全個体数に対する割合)	339 (18.6%)	242 (32.8%)

表 14 検定結果（持ち帰り分析・漁獲対象個体）

調査項目	検定項目	条件	t 検定	
			P値（両側）	検定結果
漁獲対象個 体の計測	漁獲率 = 漁獲対象個体数/当初収容数	牡蠣養殖用カゴ	2.1.E-06 ◎	網袋 > カゴ
		基質入り網袋		
	殻長	牡蠣養殖用カゴ	3.2.E-04 ◎	網袋 > カゴ
		基質入り網袋		
	1個体あたりの湿重量	牡蠣養殖用カゴ	2.0.E-05 ◎	網袋 > カゴ
		基質入り網袋		

◎：p<0.01, ○：p<0.05