

令和5年度

さけ・ます等栽培対象資源対策事業
新規栽培対象種技術開発（二枚貝）

調査報告書

さけ・ます等栽培対象資源対策共同研究機関
新規栽培対象種技術開発（二枚貝）グループ

令和6年3月

目 次

はじめに	1-7
ア. 親貝の養成と採卵技術の開発	
① タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発	7-17
② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発- 1	18-26
- 2	27-32
イ. 人工種苗生産技術の開発	
① タイラギ人工種苗生産技術の開発- 1	33-37
- 2	38-41
② ハマグリ人工種苗生産技術の開発- 1	42-45
- 2	46-52
- 3	53-57
ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発	
① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発	58-63
② 東京湾におけるハマグリ育成技術の開発	64-66
③ 伊勢湾におけるハマグリ育成技術の開発	67-73
④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発	74-77
エ. 母貝団地造成技術の開発	
① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発	78-88
② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発	89-93
③ タイラギの標識技術の開発	94-97
④ 三河湾におけるハマグリの母貝団地造成技術の開発	98-106
⑤ 伊勢湾におけるハマグリの母貝団地造成技術の開発	107-111
⑥ 餌料源分析を通じたハマグリの母貝団地造成技術の開発	112-118
オ. 親貝選抜のための種同定DNA マーカーの開発	119-134
カ. 検討会の開催	135-140

はじめに

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

伊藤 篤

【研究開発の目的】

近年、ホタテ、カキを除く二枚貝は、全国的に漁獲量が低迷し、これまでのピークに比べ、タイラギは1/50、アサリは1/20、ハマグリは1/16にまで減少している。二枚貝に係る増殖等の取り組みは、漁協の単位などで行われてはいるものの、資源を回復させるには至らず、このままでは国内の二枚貝資源の安定供給に支障を来すことが懸念されている。特に有明海では、ハマグリとタイラギはアサリと並んで象徴的な二枚貝であり、周辺各地では古くから無くてはならない重要食材として親しまれてきた。有明海はかつて国内有数のタイラギ生産海域で盛期には2万9千トンの漁獲があり、タイラギ漁は地域経済を支える重要な産業でもあったが、タイラギの資源量が激減したことで、現在は休漁に追い込まれている。ハマグリ類は1965年には13,700トンあった漁獲が、1980年に2,000トン、2006年には867トン（うち有明海106トン）と低迷し、往時の16分の1に減少している。現在環境省では絶滅危惧種としてレッドリストに掲載されている状況である。

このような国内資源状態の中で需要に対応するために、両種は中国、台湾、韓国等からの輸入に依存するようになっており、ハマグリは国内流通量の90%以上、タイラギは約80%が輸入されている。しかし、輸入の不安定性、貝毒や農薬の検出等による食の安全・安心の毀損、産地偽装や不当表示、輸入活貝に混在して国内に侵入する有害寄生生物や外敵生物による在来二枚貝への悪影響や遺伝的攪乱など、さまざまな問題が懸念されている。こうした水産業のみならず社会問題を背景として、両種の資源回復のための抜本的な方策が、漁業者や消費者から強く望まれている。

そこで、技術的課題の多いハマグリおよびタイラギの安定的な人工種苗生産技術の開発に取り組むとともに、親貝集団を造成するための稚貝育成技術を開発することで資源回復に向けた手法を開発することを目的とする。本事業は主要な産地である東京湾、三河湾、伊勢湾、瀬戸内海および有明海を中心として研究開発に取り組み、ハマグリおよびタイラギ資源の減少が著しい各海域へ広く成果を普及することを最終目標として、関係機関が有機的に連携した態勢で実施する。

【目標設定の妥当性】

タイラギの浮遊幼生は、D型幼生への変態直後から個体同士が凝集し、気泡や水面、飼育水槽の壁面および底面等に付着して死亡するものが多い。このため、アサリ・マガキ等の一般的な二枚貝類幼生飼育に用いられる飼育方法ではわずか数日しか飼育できず、人工種苗生産ができなかった。この原因として幼生による粘液分泌、殻の物理化学的性状などが考えら

れているが、明確な結論は得られていない。このような状況の中で国立研究開発法人水産研究・教育機構では、平成 23～27 年にかけて、タイラギ浮遊幼生の飼育装置の改良等に取り組み、平成 25 年に浮遊幼生から変態した稚貝（着底稚貝）の生産に初めて成功し、従来の生産記録（平成 18 年に長崎県総合水産試験場が生産した稚貝 1,500 個体）を大幅に更新する着底稚貝 7 万個体の生産を達成した。また、平成 27 年には 190 万個体を生産するなど、大量種苗生産技術は徐々に向上しつつある。しかしながら、親貝の養成と採卵技術はいまだに不安定であり、人工種苗を用いた増養殖技術への展開に必要な、脆弱な稚貝から小型サイズまでの中間育成技術、母貝団地造成技術については未開発の状態である。タイラギは古くから水産物として利用されているにもかかわらず、その生態や生理特性には不明な点が多く、着底稚貝以降の好適な飼育・餌料環境については十分に把握されていない。成貝までの育成技術の不安定さと、成貝の適正環境等の知見の少なさが母貝団地造成の隘路となっており、その技術開発が喫緊の課題となっている。

一方、ハマグリ種の種苗生産研究は 1950～80 年代にかけて取り組まれていたが、受精卵から稚貝までの生残率が低く、稚貝からの成長が遅く放流効果も低かったことから、ほとんどの機関で技術開発の取り組みを中止していた。近年、千葉県水産総合研究センターによって浮遊幼生期及び初期稚貝の飼育・餌料条件が見直され、1,000 万個体以上の着底直前幼生（フルグロウン期）の飼育が可能となったが、未だに着底期前後に原因不明の大減耗を引き起こすことが問題となっている。また、初夏に採卵、育成した稚貝は秋季には殻長 2mm 程度に成長するが、秋～冬季はカゴ等により保護育成しても生残が低く、成長も停滞するなど、育成は困難であるのが現状である。本種の人工種苗を活用した母貝場造成を行うためには、これらの問題を解決していく必要がある。

本研究開発では、これらの問題を解決するためにタイラギとハマグリ種の飼育研究に実績のある複数の機関が連携し、従来の飼育手法の検証と改良を行うとともに、他貝種で開発された飼育手法や機器類などを導入することで、両種の種苗生産技術の開発を迅速かつ確実に遂行する計画となっている。さらに、母貝団地を造成するために適した環境条件を調査し、母貝場として適正と判断された海域に人工種苗を放流し、その母貝場における放流個体の成長と生残、成熟と産卵の調査（タイラギ、ハマグリ）を行うことで、天然資源への加入量の底上げに貢献することを目標としている。

以上の理由から研究目標は「栽培漁業総合推進委託事業（新たな栽培対象種の技術開発促進）」の目的を達成するために妥当であると考えられる。

【研究開発の内容】

（1）全体計画

本研究開発では、タイラギとハマグリについて、親貝の養成と採卵技術、人工種苗生産技術、人工種苗から成貝までの育成技術、母貝団地造成技術および種同定のための DNA マーカーを開発する。親貝の養成と採卵技術では、天然採苗が難しいハマグリとタイラギについて、飼育環境下での良質な親貝の養成と、対象種に応じた産卵誘発等の採卵技術を開発する。人工種苗生産技術では、タイラギ、ハマグリについて、飼育環境

条件を変化させ、大量死亡時期等の把握から、幼生飼育で回避すべき条件の検討および着底までの飼育方法の検討等を行う。人工種苗から成貝までの育成技術では、タイラギ、ハマグリについて、種苗生産された稚貝が移植可能と考えられる殻長サイズまでの飼育試験を行い、効率的・効果的に成貝まで育成する手法を検討する。母貝団地造成技術では、タイラギ、ハマグリについて、人工種苗を天然海域に移植し、成長、生残、成熟の調査を行い、母貝団地の造成手法を検討するとともに、タイラギにおいては移植個体の追跡調査のために標識技術を開発する。さらに、交雑種が存在することが知られているタイラギについて、種苗生産に用いる親候補個体の種を同定するとともに、種同定のための DNA マーカーを開発する。

なお、本事業では、実施計画及び実施結果について意見を求めるため、種苗生産・放流技術に精通した外部有識者を招聘し、検討会を各 1 回開催する。また、構成機関の連携強化を図り、技術開発を迅速かつ的確に推進するために、必要に応じて貝種ごとの現地検討会を開催する。

具体的な研究開発課題と担当機関は以下のとおりである。

(2) 研究開発課題と担当機関

ア. 親貝の養成と採卵技術の開発

① タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

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、国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所、
三重県水産振興事業団

イ. 人工種苗生産技術の開発

① タイラギ人工種苗生産技術の開発：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

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、愛知県水産試験場、三重県水産振興事業団

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発：

山口県水産研究センター

② 東京湾におけるハマグリ育成技術の開発：

千葉県水産総合研究センター

③ 伊勢湾におけるハマグリ育成技術の開発：

三重県水産研究所

④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

エ. 母貝団地造成技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術：

山口県水産研究センター

② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術：

大分県農林水産研究指導センター 水産研究部

③ タイラギの標識技術の開発：

香川県水産試験場

④ 三河湾におけるハマグリを母貝とする母貝団地造成技術の開発：

愛知県水産試験場

⑤ 伊勢湾におけるハマグリを母貝とする母貝団地造成技術の開発：

三重県水産研究所

⑥ 餌料源分析を通じたハマグリを母貝とする母貝団地造成技術の開発：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

オ. 親貝選抜のための種同定 DNA マーカーの開発

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産資源研究所

カ. 検討会の開催

① 研究推進会議の開催：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

② 現地検討会の開催：

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

【研究内容と方法】

ア. 親貝の養成と採卵技術の開発

① タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

瀬戸内海および有明海産のタイラギ親貝を、三重県五ヶ所湾に位置する南勢庁舎地先筏等に垂下して養成飼育する。生殖巣が十分発達した時期に産卵誘発を行い、課題イ. ①へ受精卵を提供する。産卵誘発剤の投与による採卵試験結果より産卵期間中のどの時期の親貝を生産に使用するのが最適か検討する。また、親貝の卵巣や卵の状態と、人工受精等で得られる幼生の正常発生率との関係を調べて、卵質の評価指標となる要素について検討する。

② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

担当機関：熊本県水産研究センター、国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所、三重県水産振興事業団

天然親貝を確保し、肥満度・成熟・水温等の経時変化を把握しデータを蓄積することで、産卵可能時期を把握し、親貝養成・採卵時期を検討する。さらに、千葉県水産総合研究センターで実施している産卵誘発手法を活用して安定採卵手法の検証に取り組む。

イ. 人工種苗生産技術の開発

① タイラギ人工種苗生産技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

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等を用いて、飼育水の水質変化が浮遊幼生の生残や成長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。

② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

担当機関：千葉県水産総合研究センター、愛知県水産試験場、三重県水産振興事業団

千葉県水産総合研究センターの研究成果を活用して D 型幼生から着底稚貝まで飼育し、特に、一番課題となっている着底期～初期着底稚貝期の大量減耗に対処するため、着底前後の飼育環境における好適な水温、水質、餌料密度等を検証する。

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発

担当機関：山口県水産研究センター

垂下カゴ等を用いて効率的な放流種苗の育成技術を開発する。台風接近時の陸上避難や陸上水路式での給餌の工夫による成長、生残との関係等、最適な条件を検討する。

② 東京湾におけるハマグリ育成技術の開発

担当機関：千葉県水産総合研究センター

被覆網等を活用した稚貝の保護育成試験を実施し、殻長 3mm 程度の人工種苗を成貝まで効率的に育成する技術を開発する。

③ 伊勢湾におけるハマグリ育成技術の開発

担当機関：三重県水産研究所

得られた人工種苗を、陸上水槽でのブラウンウォーター（クルマエビの飼育水等、植物プランクトンが豊富に含まれる海水）給餌等による飼育や、天然海域における垂下飼育等により、放流サイズまで育成する飼育技術を開発する。

④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

被覆網を活用した稚貝保護育成試験において、炭素・窒素安定同位体比等を用いたハマグリ餌料源分析を実施する。餌料源と肥満度等の生体情報を用いて、干潟域での適正な保護育成条件を検討する。

エ. 母貝団地造成技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

担当機関：山口県水産研究センター

好適な環境条件を解明し、放流条件（放流サイズ等）と放流手法（網の設置等）を組み合わせた効果的な母貝団地の造成方法を検討する。

② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

担当機関：大分県農林水産研究指導センター水産研究部

大分県北部海域において、海底移植による増殖試験を実施し、成長や成熟等を調査することにより、人工種苗等を用いたタイラギ母貝団地造成の技術開発に取り組む。

③ タイラギの標識技術の開発

担当機関：香川県水産試験場

母貝団地に移植する個体を追跡調査するためには、天然発生個体と見分ける必要があるため、標識技術の開発に取り組む。

④ 三河湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術の開発

担当機関：愛知県水産試験場

種苗を効果的に母貝資源として添加するため、天然ハマグリ分布生態と好適な環境条件を把握するとともに、放流条件や手法を組み合わせた母貝団地造成技術の開発に取り組む。

⑤ 伊勢湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術の開発

担当機関：三重県水産研究所

種苗の放流適地を明らかにするため、伊勢湾における天然ハマグリ主産地である桑名地区等において、天然ハマグリ分布調査を実施する。また、分布中心の環境条件を確認する。選定した放流適地に種苗を放流し、カゴ等の保護飼育による母貝団地造成技術を開発する。

⑥ 餌料源分析を通じたハマグリ之母貝団地造成技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

ハマグリ干潟内における移動が成長に伴う餌料源の変化に起因する可能性を検証するため、干潟上での飼育試験を通じて得られたハマグリについて、炭素・窒素安定同位体比等を用いた餌料源分析を実施する。

オ. 親貝選抜のための種同定 DNA マーカーの開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産資源研究所

交雑種が存在することが知られているタイラギについて、種苗生産に用いる親候補個体の種を同定するとともに、種同定のための DNA マーカーを開発する。

カ. 検討会の開催

① 検討会の開催

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

外部有識者を招聘し、年度ごとの研究計画と成果の取り纏め等を検討するための検討会を年2回開催する。

② 現地検討会の開催

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

構成機関の連携強化を図り、技術開発を迅速かつ的確に推進するために、必要に応じて現地検討会を開催する。

ア. 親貝の養成と採卵技術の開発

①タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

松本才絵・船山翔平

前田 雪・山田充哉

瀬戸内海および有明海産のタイラギ親貝を、三重県五ヶ所湾に位置する南勢庁舎地先筏から垂下して養成飼育した。生殖巣が十分発達した時期に産卵誘発を行い、課題イ. ①へ受精卵を提供した。産卵誘発剤の投与による採卵方法を検討した。また、親貝の卵巣や卵の状態と、人工受精で得られる幼生の正常発生率との関係を調べて、卵質の評価指標となる要素について検討した。

1) 親貝養成

【目的】

種苗生産、中間育成を経て低水温に耐久性のあるサイズのタイラギ稚貝を母貝場に移植するには、天然の産卵期より早期に採卵する必要がある。早期に採卵するために親貝を瀬戸内海よりも水温の高い三重県五ヶ所湾で養成し、採卵可能になる積算温度について検討することを目的とする。

【研究方法】

瀬戸内海産と有明海産のタイラギを親貝として養成した。香川県水産試験場で垂下飼育した個体（以降、瀬戸内海産天然貝と呼ぶ）を2023年2月から採卵直前の2023年5月まで三重県五ヶ所湾で垂下飼育により養成した。有明海産親貝は、2023年に熊本県で採捕された個体（以降、有明海産天然貝と呼ぶ）を2023年3月から採卵直前の2023年5月まで五ヶ所湾で垂下飼育により養成した。垂下飼育中の水温を測定し、4月に雌雄判別した。

【研究成果の概要】

瀬戸内海産天然貝は、生殖腺の発達状況を確認し、4月末に雌雄判別した（メス14、オス16、不明1）。このうち遺伝子解析の結果から選別された個体を5月23日に百島庁舎へ送付し（メス6、オス8）、5月24日に採卵した。採卵日までの積算温度は2103°C・日であった。有明海産天然貝は、生殖腺の発達状況を確認し、4月中旬に雌雄判別した（メス23、オス14、不明1、雌雄同体3）。5月29日に百島庁舎へ送付し（メス14、オス11、その他死亡）、5月31日に採卵した。採卵日までの積算温度は2217°C・日であった。

【次年度に向けた提言】

今年度の瀬戸内海産天然貝は、例年の採捕場所である香川県丸亀市沖で親貝の採捕ができなかったことから、昨年度までに採捕され香川県水産試験場で垂下飼育されていた親貝を用

いて養成を行った。今後もこのような親貝確保が難しい状況は起こる可能性がある。

2019年から有明海産天然貝を五ヶ所湾で垂下飼育しているが、2021年までの3年間は毎年飼育中の大量死が起こっていた。2021年に飼育した人工種苗由来の親貝や、2022年に垂下飼育した2019-2021年とは採捕場所が異なる有明海産天然貝では大量死はみられなかった。このことから、垂下飼育での生残には、採捕場所の生息環境や垂下飼育開始前の環境が影響すると考えられた。一方、2023年は2022年と同様の採捕場所由来の有明海産天然貝を養成したが、垂下飼育中に大量死が見られたことから、採捕場所の生息環境や垂下飼育開始前の環境に変化があった可能性がある。

2) 採卵

【目的】

瀬戸内海産天然貝と有明海産天然貝を用いて、産卵誘発剤の投与による人工産卵誘発を行い、オスとメスの反応率（放精・放卵）や採卵数、ふ化率などを調べて、産卵誘発方法の有効性について検討することを目的とする。得られたふ化幼生は、イ. ①に供試する。

【方法】

Sekino *et al.* (2023) によって瀬戸内海のリシケタイラギ（有鱗型、ミトコンドリア L2 系統とも呼ばれる）とズベタイラギ（無鱗型、ミトコンドリア L1 系統とも呼ばれる）の間で交雑が生じている実態が明らかになった。本事業で種苗生産用に用いる親貝にも交雑個体が混入している可能性が高いと考えられたことから、今年度は親貝として可能な限り純系に近い個体を選別して使用する方針とした。このため、採卵までに親貝候補となる 121 個体のリシケタイラギ（殻の形態に基づいて同定）について RAD-seq 法によるゲノム解析を行い、ゲノム中にズベタイラギの遺伝要素が全くもしくはほぼ含まれていない個体を選別した。同時に、LAMP（loop-mediate isothermal amplification）法によるミトコンドリア系統判別も行い（Hashimoto *et al.* 2018）、ミトコンドリア系統解析とゲノム解析の両面でリシケタイラギと判別された個体を採卵に用いた。

瀬戸内海産タイラギに対する人工産卵誘発は、日時を変えて計 3 回、水産技術研究所百島庁舎にて実施した（表 1）。採卵用親貝には、2022 年 1 月 25 日に香川県丸亀市沖（手島北部海域）で漁獲され、香川県水産試験場の試験筏で 1 年間垂下飼育したリシケタイラギを用いた。水産技術研究所南勢庁舎の試験筏で垂下養成した 14 個体（輸送時の性：オス 8 個体、メス 6 個体）を宅配便で百島庁舎に移送し、百島庁舎では 19–20 °C に設定した親貝飼育水槽（1,000 L 角型 FRP 水槽）に收容した。

5 月 24 日および 6 月 22 日に実施した人工産卵誘発は、基本的にすべての個体に産卵誘発ペプチドを注射し、集団採卵方式で行った。清浄海水 200L を入れたポリカーボネート製 500L アルテミア水槽に供試個体を設置し、まずメスの閉殻筋に産卵誘発ペプチドを注射した。その約 20 分後、オスにも同様に注射し、放卵と放精のタイミングが揃うようにした。この作業手順だとオスの放精がメスの放卵より少し早く始まるため、放精を確認した時点から清浄海水 300L を追加して 500L にし、その中で放精・放卵させた。受精卵の回収は 105 μ m と 17 μ m

のプランクトンネットで行い、卵数を計数した後、25°Cの清浄海水を入れた 1,500L 角型 FRP 水槽をふ化用水槽として上限密度 33 個/mL になるように収容した。ふ化用水槽には受精卵収容と同時に *Pavlova lutheri* を 5,000cells/ml になるように添加した。7 月 19 日の採卵は、課題ア. ① 4) 関連技術開発において個別採卵方式で行ったものであり、得られた卵と精子を同時に混合して受精させ、前述と同様の手法で洗卵した後、ふ化用水槽に収容した。

有明海産タイラギへの人工産卵誘発は百島庁舎において 2 回実施した(表 2)。採卵用親貝には、2023 年 1 月から 2 月にかけて熊本県荒尾市地先で採集されたリシケタイラギを使用した。25 個体(オス 11 個体、メス 15 個体)を 5 月 29 日から 30 日にかけて南勢庁舎から百島庁舎に宅急便で移送した。親貝飼育水槽への収容、産卵誘発およびその後の飼育は瀬戸内海産タイラギと同様の手順で行った。

【研究成果の概要】

産卵誘発の結果を表 1 および表 2 に示した。

瀬戸内海産タイラギでは、3 回実施したすべての産卵誘発でペプチドを注射した全個体が放精・放卵した。しかし、5 月 24 日および 6 月 22 日の産卵誘発における放精・放卵量は例年に比べて少なく、採卵時の観察によると受精卵の多くは 1 ないし 2 個体のメスが放卵した卵で占められる状況であった。7 月 19 日の産卵誘発は個別採卵方式によるという違いはあるが、供試個体数が少ないにもかかわらず採卵数は 3 回のうちで最も多かった。これは、5 月 24 日時点では個体によって生殖腺の発達程度がばらついており、7 月 19 日にかけて発達が進むことで産卵に適した卵を持つ個体が増えたことによる結果と考えられる。

有明海産タイラギを用いた 2 回の産卵誘発では、それぞれの回次でペプチドを注射しても放精しないオスが 1 個体見られた。採卵数は 5 月 31 日の産卵誘発でメス 8 個体から 3.8 億粒と極めて多く、瀬戸内海産タイラギと異なり個体による顕著な放卵量の偏りは観察されなかった。しかし、7 月 6 日に実施した産卵誘発では、ペプチドを注射したメス 1 個体と注射しなかったメス 3 個体が放卵したものの、得られた卵数は 3,275 万粒と極めて少なかった。

これらの結果から、産卵誘発ペプチドを用いることでほぼ確実に受精卵を得ることは可能であるが、採卵を実施する時点での親貝の生殖腺発達状況によって得られる卵数は大きく変動する可能性がある事が明らかとなった。本試験結果からは、今年度の瀬戸内海産タイラギ親貝については 5 月下旬の採卵は少し早すぎた一方で、有明海産タイラギ親貝は 5 月下旬が採卵に最も適した成熟状態にあったと言える。

【次年度に向けた提言】

今年度の採卵では、供試個体の中で産卵誘発に反応した個体数は多かった。しかし、5 月の採卵においては、瀬戸内海産タイラギの放卵量が個体によって大きく異なっており、得られた卵数も例年より少なかった。タイラギの母貝団地造成に向けた生産スケジュールの中では、天然の産卵盛期よりも早い 5 月中に初回の人工採卵を行って種苗生産する事で、その後の中間育成および越冬育成における生残率が高まることから、6 月中旬までの採卵を早期産卵と位置付けて実施している。産卵誘発ペプチドの開発により産卵誘発の成功率は格段に上昇し

たことから、今後は早期産卵においてどの個体からも充分量の卵が得られる成熟状態をどのように作り出すかが重要になる。そのために、南勢庁舎での親貝養成に入る時点で親貝をどのような状態に育成しておく必要があるのか、そのために必要な環境条件を明らかにしていかなければならない。

【参考文献】

Hashimoto K, Yamada K, Nagae A, Matsuyama Y (2018) Lineage specific detection of the scaly form of the pen shell *Atrina* spp. by a loop-mediated isothermal amplification method. Fisheries Science. 84: 837–848

Sekino M, Hashimoto K, Nakamichi R, Yamamoto M, Fujinami Y, Sasaki T (2023) Introgressive hybridization in the west Pacific pen shells (genus *Atrina*) : Restricted interspecies gene flow within the genome. Molecular Ecology, 32: 2945-2963

3) 産卵誘発剤の投与による採卵

【目的】

タイラギの産卵誘発ペプチドは親貝への投与により温度刺激や精巣破砕液を必要とせずに安定して計画的に放卵・放精を誘発することができる (Funayama *et al.*, 2022)。これまでに五ヶ所湾で垂下飼育したタイラギを用いた投与試験の結果、4月から7月の産卵期にある親貝に産卵誘発ペプチドを投与することで、ほぼすべての個体がペプチドに反応して産卵することを確認した。このペプチドを用いた効率的な採卵方法について検討するために、どのような状態にある親貝が採卵に適しているか、個体ごとの産卵回数や年齢の違いによる反応時間、産卵数、受精率、孵化率および平均卵径の変化を、同一個体を用いた複数回採卵により調べることを目的とする。

【研究方法】

採卵試験には 2022 年に漁獲され、2022 年 2 月から五ヶ所湾で垂下飼育した香川県産有鱗型タイラギ (2022 年群、推定 3 才貝) と 2021 年に漁獲され、2021 年 2 月から五ヶ所湾で垂下飼育した有鱗型タイラギ (2021 年群、推定 4 才貝) を使用した。2022 年群は 5/18、6/22、7/13、2021 年群は 5/25、6/29、7/20 に採卵試験を実施した。雌雄は各群 5 個体を用意し、同一個体を用いて採卵した。ペプチド投与試験では、殻サイズ、全重量を測定後、塩類溶液に溶解し、1 μ M に調製したペプチド 1mL/個体を閉殻筋に注射した。放卵放精を開始した時間を記録するとともに、メス個体ごとに産卵数と卵径を計測した。オスの放精海水は 1 個体あたり 100mL ずつ採り、全個体分混合して媒精に用いた。媒精後、洗卵して得られた受精卵は 5 L ビーカーに収容し 25°C でインキュベートした。受精 3 時間後に沈殿している卵を一部回収し受精率を計数し、翌朝孵化率を算出した。

【研究成果の概要】

① 2022 年群の採卵結果

反応時間は 5/18 の実験開始日には 50 分弱、6/22 には約 40 分、7/13 には 30 分強と徐々に放卵開始までの時間は短くなった。産卵数は 5/18 は個体間に差が大きく 2000 万から 1 億粒超の個体も認められた。6/22 は 5 個体中 4 個体で産卵数が増加し、個体当たり 1 億粒を超える産卵数の個体が多くみられた。7/13 はすべての個体で産卵数が減少し、2000 万から 3000 万粒程度であった。受精率は 5/18 は若干低めの個体もみられたが、6/22 と 7/13 は高い値で推移した。孵化率は試験ごとに変化する個体と変化しない個体がみられた。平均卵径は 5/18、6/22、7/13 と平均卵径は徐々に小さくなり、すべての個体で同様の傾向が認められた (図 1)。

② 2021 年群の採卵結果

反応時間は 2022 年群と同様に試験ごとに短縮されていく傾向を示した。産卵数は 5/25 の段階では個体ごとのばらつきが大きく、その後 6/26 はすべての個体で 1 億粒以上を放出した。7/20 の試験では 2022 年群と同様に産卵数が減少した。受精率は試験期間を通じて高い値で推移した。孵化率は 2022 年群と同様に試験ごとに変化する個体も変化しない個体もいた。平均卵径は 2021 年群においても産卵回数を重ねるごとに小さくなることがわかった (図 2)。

【次年度に向けた提言】

同一個体を用いた複数回採卵による採卵結果の変化については、反応時間や産卵数は変動するが受精率は概ね一定で、孵化率は個体ごとに異なり、平均卵径は産卵回数ごとに小さくなったことから、孵化率と卵径が幼生の生残率に影響するのであれば、最適な採卵時期を判断する基準となり得る可能性が示唆された。

親貝の年齢による採卵結果の違いについては、推定 3 才と 4 才の貝では同様の採卵結果が得られることがわかった。今年度の試験に用いた親貝のような年齢にあれば、採卵時期によって産卵数や孵化率などに変動はあるが、早期採卵の時期から産卵期としては後半にあたるような時期でも、生産に必要な受精卵数は確保できることを示している。

【引用文献】

Funayama S, Matsumoto T, Kodera Y, Awaji M (2022) A novel peptide identified from visceral ganglia induces oocyte maturation, spermatozoa active motility, and spawning in the pen shell *Atrina pectinata*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 598: 9-14

4) 関連技術開発

【目的】

タイラギの受精卵を得る方法は①産卵誘発刺激による採卵と②切開法を用いた人工受精による採卵がある。効率的に採卵を行うには、十分成熟した親貝を用いる必要があるが、現在用いられている成熟指標は、生殖腺指数 (IOV) や組織切片観察など、致死的な手法が主である。本課題では、親貝を解剖せずに成熟状態 (卵の状態) を判定する指標を探索するために、昨年度に引き続いて、親貝の卵巣や卵の状態と、採卵誘発ペプチド (以下 SIP) を用いた個別採卵で得られた放卵数や幼生の孵化率・正常発生率との関係を調べて、卵質の評価指標となる要素について検討した。

【研究方法】

本課題では、個体を生かした状態で採取した卵巢組織を用いて卵質の評価指標となる要素について検討するために、6月28日、7月12日、7月19日、および7月28日に瀬戸内海産タイラギを用いたSIP投与試験を行った。この試験では、SIPを投与する直前にバイオプシーにより卵巢組織を採取したのち、タイラギ雌雄それぞれの後閉殻筋にSIPを投与し、放精したすべてのオスの精子を混合して各メスの放出した卵に媒精して、個別別に放卵数、幼生の孵化率、および正常発生率を調べた。その後、バイオプシーで採取した卵巢組織からRNAを抽出して、遺伝子解析に供した。遺伝子解析は、一部のサンプルを用いて網羅的遺伝子発現解析を実施したのち、網羅的遺伝子発現解析により得られた遺伝子発現データと、個別採卵によって得られた個別の放卵数・孵化率・正常発生率の情報を組み合わせてWGCNA（加重相関ネットワーク分析、Langfelder and Horvath, 2008）を実施して、卵質の評価指標となる候補遺伝子を探索した。放卵数、幼生の孵化率、および正常発生率のそれぞれに対して正の相関が見られた遺伝子群のうち、一部の遺伝子については定量的PCR解析系を確立して詳細な発現量解析を行い、卵質の評価指標としての精度を確認した。

また、昨年度までの成果で卵質の評価指標となる遺伝子として有力と考えられた2種類の遺伝子、NEK2X2とRETSTについて、今年度のサンプルを用いて定量的PCR解析を行い、昨年度と同様の傾向が得られるかどうかについて確認した。

【研究成果の概要】

SIP投与試験の結果を図3に示した。6月28日の試験では、5個体中5個体がSIPに反応しなかった。この原因として、供試個体を収容していた親貝飼育水槽内で試験の1週間前に多くの個体が自然に放精・放卵しているのが観察されていたことから、試験時は多くの配偶子が放出された後であった可能性が挙げられる。また、7月19日の試験では正常発生率が低かったが、これは卵計数時の計算を間違えたため受精卵の収容卵数を通常の数倍量収容してしまったことが原因と考えられる。以上の結果から、7月12日の5個体および7月19日の未反応個体1個体を合わせた合計6個体を代表的なサンプルとして網羅的遺伝子発現解析に用いた。WGCNAの結果を図4に示した。WGCNAでは遺伝子発現データから発現パターンの類似性を基準として遺伝子グループを同定し、分析に用いた生物学的な数値（ここでは放卵数・孵化率・正常発生率が該当）と遺伝子発現との相関を調べることができる。分析の結果、遺伝子は全部で40個の遺伝子グループに分類された。各遺伝子グループの遺伝子発現量と放卵数・孵化率・正常発生率の相関係数を求めたところ、孵化率と正常発生率はほぼ同じ結果となった。また、放卵数と最も強い正の相関が見られた遺伝子はbrownグループに属する327個、孵化率および正常発生率と最も強い正の相関が見られた遺伝子はdarkslateblueグループに属する176個が見つかった。これらの遺伝子の一部について、定量的PCR解析系を確立して詳細な発現量を調べ、実際の相関を求めた結果を図5に示した。WGCNAで放卵数と相関が見られた遺伝子は、放卵数が最も多かった1サンプルにおいて発現量が高い傾向が見られたが、有意な相関は得られなかった。また、WGCNAで孵化率・正常発生率と相関が見られた遺伝子は、遺伝子によっては若干の相関($R^2=0.5$)が見られたものの、個体間で発現量が大き

大きく異なり、こちらにも有意な相関は得られなかった。

次に、昨年度までに得られた2つの候補遺伝子 (NEK2X2、RETST) について今年度のサンプルを用いて定量的 PCR 解析を実施した (図 6)。これらの遺伝子の発現量は、昨年度のサンプルにおいては正常発生率と強い正の相関を示したが、今年度のサンプルでは正の相関を示す再現性は得られなかった。

【次年度に向けた提言】

網羅的遺伝子発現を組み合わせる卵質の評価指標となりうる遺伝子を探索した結果、WGCNA により複数の候補遺伝子を見出すことができたが、定量的 PCR 解析による詳細な発現量の定量を行った結果、個体間で発現量が大きく異なり、卵質の要素に対して明瞭な相関を示す遺伝子は得られなかった。また、昨年度までに得た候補遺伝子は今年度のサンプルで正の相関を示さず、再現性が得られなかった。網羅的遺伝子発現解析に用いるサンプル数を増やす (特に、異なる時期や異なる年の多様なサンプルを組み合わせる) ことや、候補遺伝子の探索基準を変更する (放卵数や正常発生率を多い (高い) / 少ない (小さい) で分ける) ことで、より再現性の高い候補遺伝子の探索が可能になると考えられる。

【引用文献】

Langfelder P, Horvath S (2008) . WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. BMC Bioinformatics. Dec 29;9:559.

【図表】

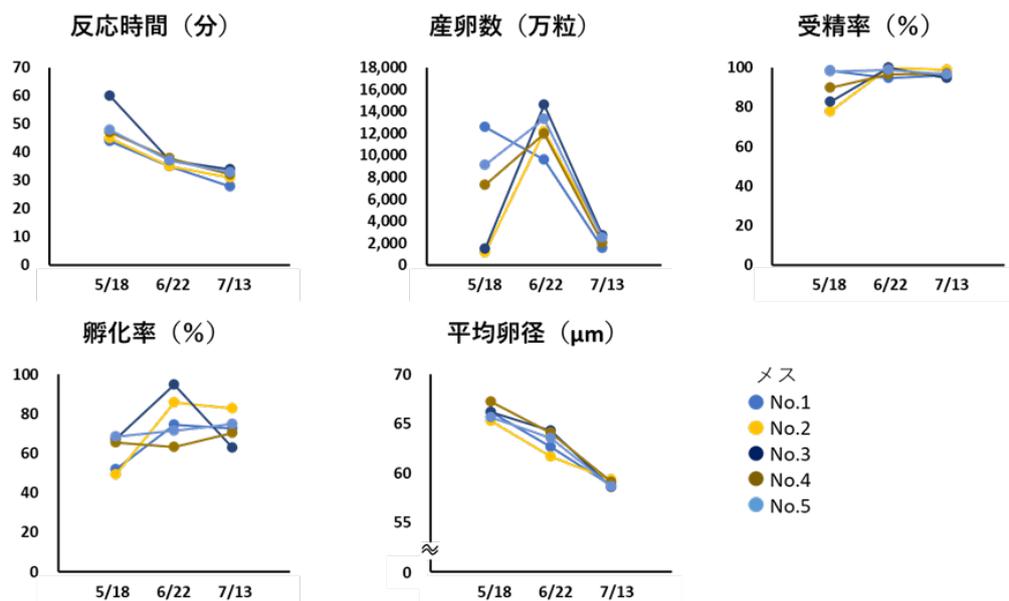


図 1. 産卵誘発ペプチド投与による同一個体からの複数回採卵の結果 (2022 年群)。試験したメス個体のペプチド投与から放卵までの反応時間 (上段左)、産卵数 (上段中央)、受精率 (上段右)、孵化率 (下段左)、平均卵径 (下段右)。

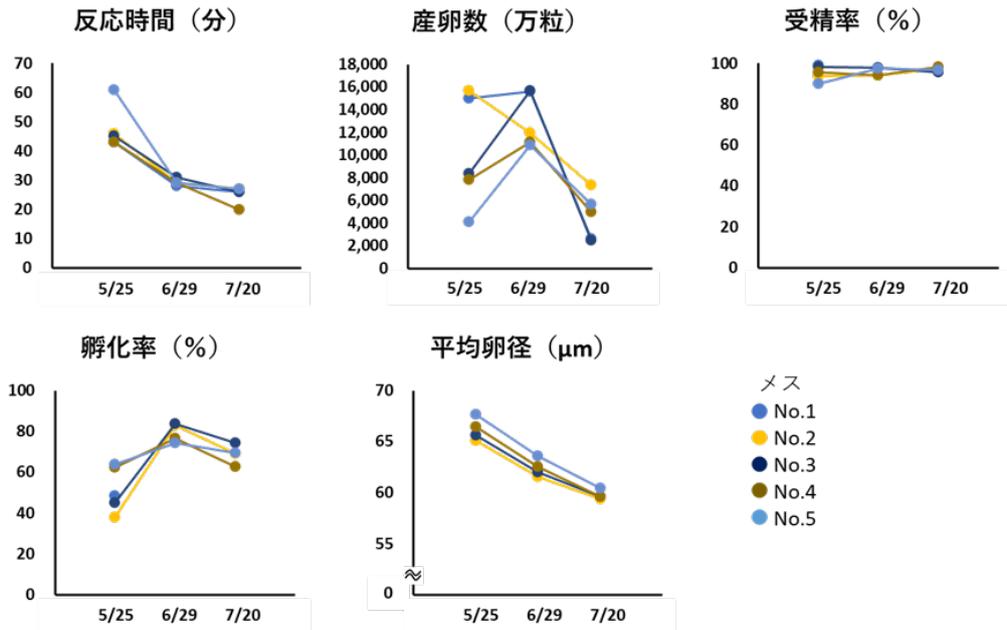


図 2. 産卵誘発ペプチド投与による同一個体からの複数回採卵の結果 (2021 年群)。試験したメス個体のペプチド投与から放卵までの反応時間 (上段左)、産卵数 (上段中央)、受精率 (上段右)、孵化率 (下段左)、平均卵径 (下段右)。

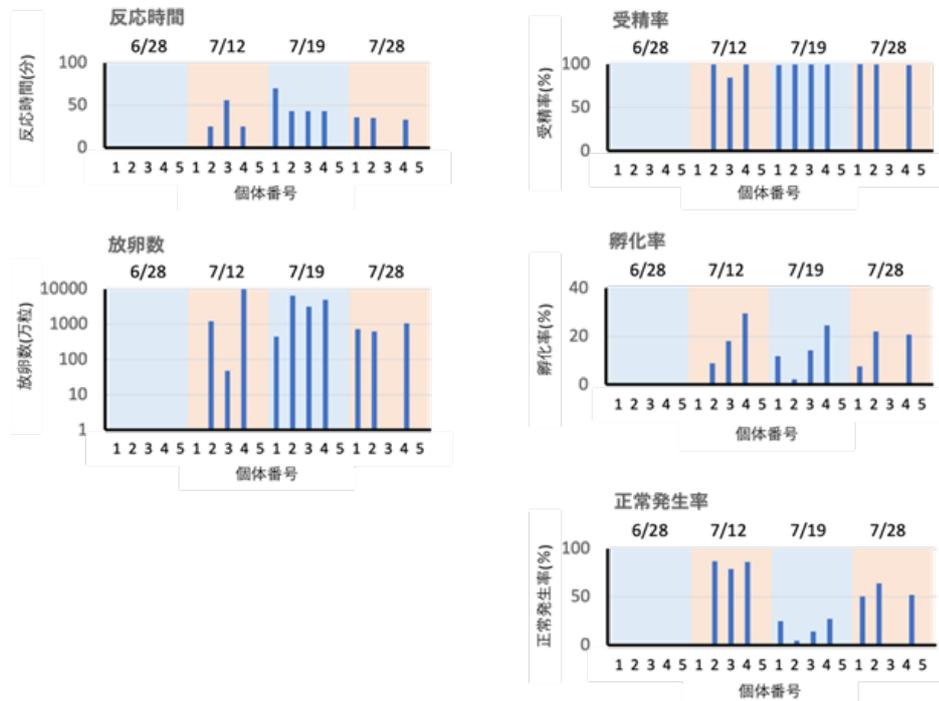


図 3. SIP 投与試験の試験結果。SIP 投与後に配偶子が放出されるまでの時間 (反応時間)、1 個体が放出した卵の総数 (放卵数)、受精率、孵化率、および正常発生率を示した。試験に使用したメス個体は全て別の個体を用いた。

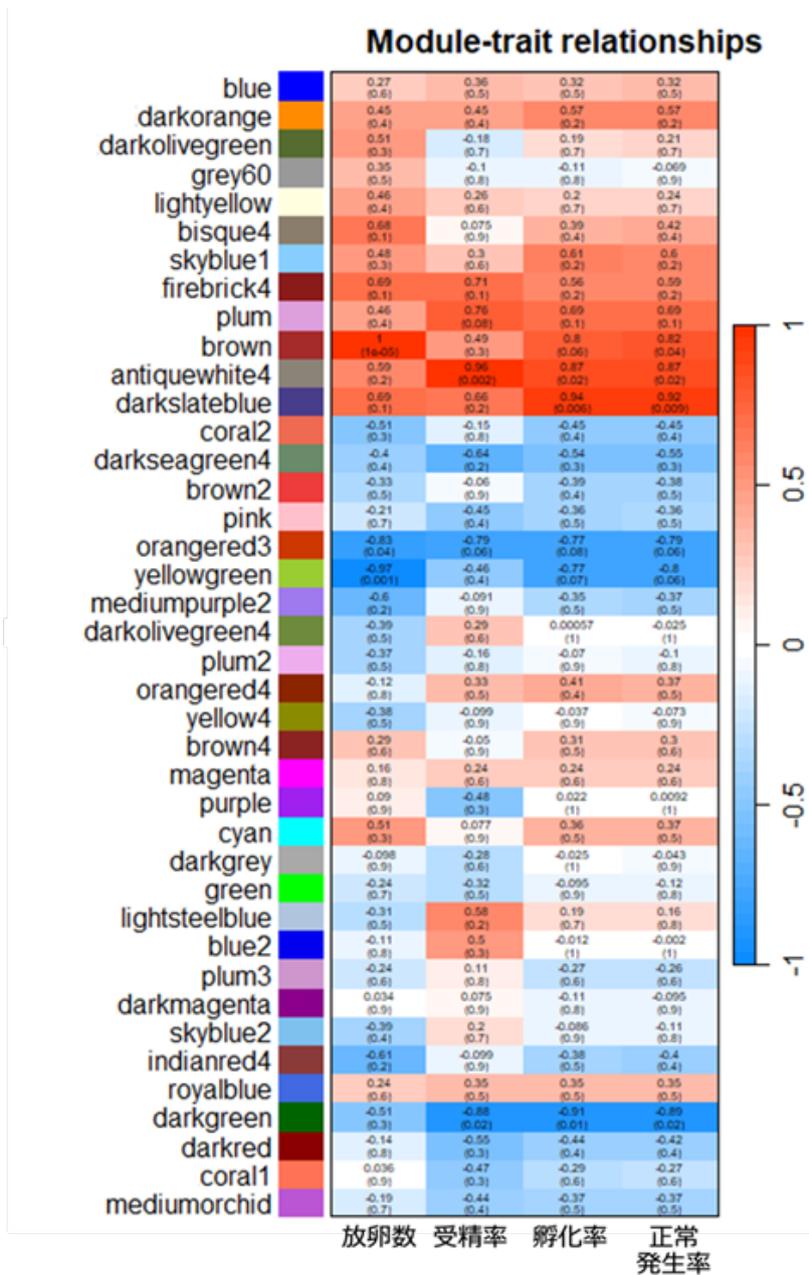


図 4. WGCNA の結果。セルに記載された数値は、各遺伝子グループの代表的な発現パターンと放卵数・受精率・孵化率・正常発生率との相関係数を示しており、括弧内の数値は検定統計量を示している。赤いほど正の相関が強く、青いほど負の相関が強い。

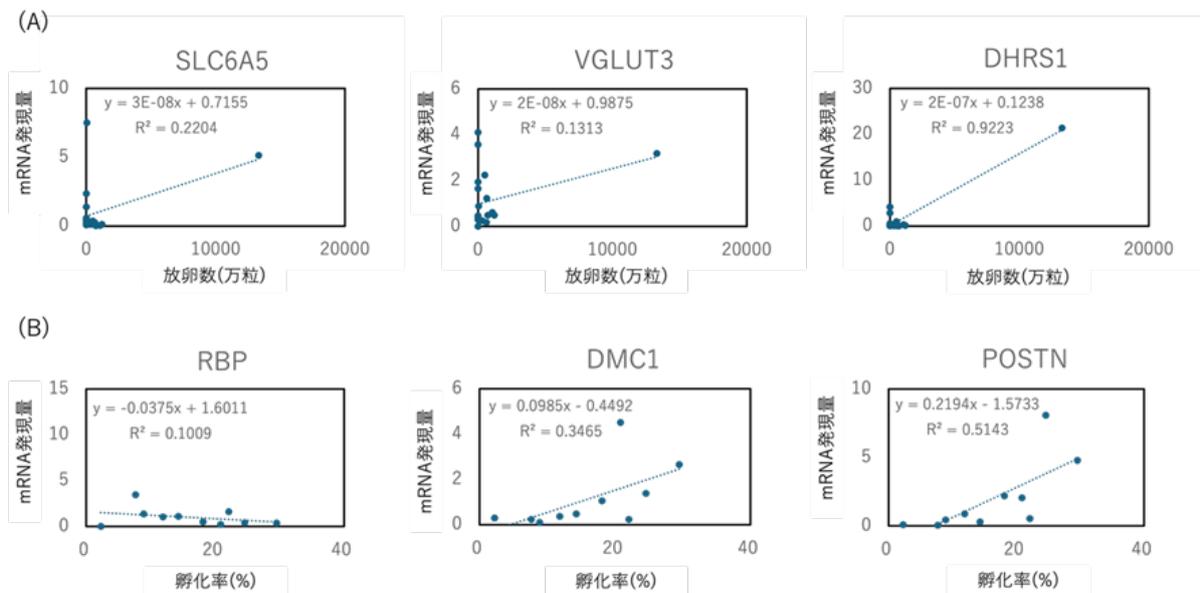


図 5. WGCNA 分析の結果、放卵数または孵化率と正の相関が見られた遺伝子グループに属する遺伝子の発現量。(A) 放卵数と各遺伝子の発現量との相関 (B) 孵化率と各遺伝子の発現量との相関

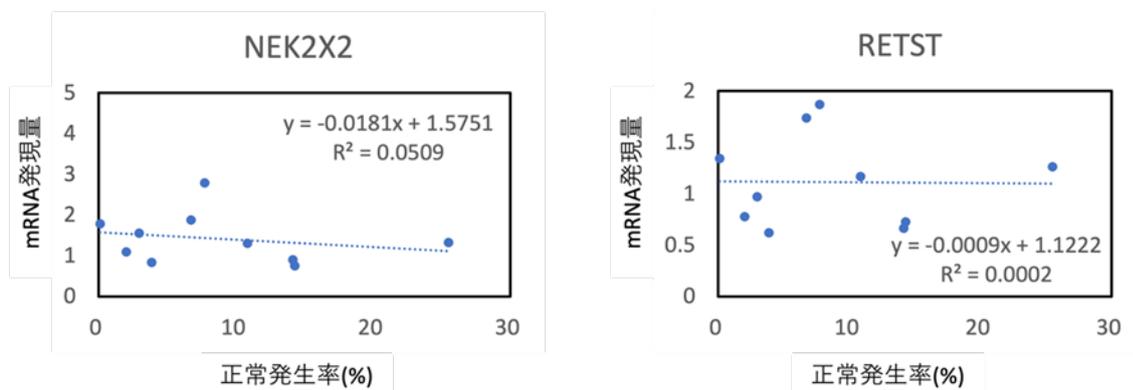


図 6. 令和 4 年度に正常発生率と強い相関を示した遺伝子の令和 5 年度に採取したサンプルにおける発現量

表 1. 令和 5 年度における瀬戸内海産タイラギを用いた産卵誘発試験結果

産卵誘発日	誘発方法	供試貝種 (雌雄)	供試個体数(※)	放精・放卵個体数(※)	採卵数 (万粒)	心化率 (%)	D型発生率 (%)	水槽収容幼生数 (万個体)	6日齢幼生数 (万個体)	生産稚貝数 (個体)
5月24日	全個体ペプチド注射	リシケ (♂)	8 (8)	8 (8)	4,564	74.9	≒99.9	1,431	1,258	12,278
		リシケ (♀)	6 (6)	4** (6)						
6月22日	ほぼ全個体ペプチド注射	リシケ (♂)	7 (6)	6 (6)	8,130	80.6	96.3	1,375	800	53,429
		リシケ (♀)	7 (7)	2 (7)						
7月19日	全個体ペプチド注射	リシケ (♂)	3 (3)	3 (3)	15,008	65.0	70.1	400	213	14,041
		リシケ (♀)	5 (5)	4 (5)						

※ () 内は産卵誘発ペプチド注射を実施した個体数を示す

※※ 1個体は4月19日時点でメス判定であったが放精した

表 2. 令和 5 年度における有明海産タイラギを用いた産卵誘発試験結果

産卵誘発日	誘発方法	供試貝種 (雌雄)	供試個体数(※)	放精・放卵個体数(※)	採卵数 (万粒)	心化率 (%)	D型発生率 (%)	水槽収容幼生数 (万個体)	6日齢幼生数 (万個体)	生産稚貝数 (個体)
5月31日	一部個体にペプチド注射	リシケ (♂)	8 (5)	7 (4)	38,090	65.0	88.0	1,298	607	26,918
		リシケ (♀)	8 (6)	8 (6)						
7月6日	一部個体にペプチド注射	リシケ (♂)	7 (6)	6 (5)	3,275	69.0	70.2	1,105	471	31,466
		リシケ (♀)	7 (1)	4 (1)						

※ () 内は産卵誘発ペプチド注射を実施した個体数を示す

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- 1

熊本県水産研究センター

徳留剛彦・上原美咲・安藤典幸

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も一つの重要な施策として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

2022年12月20日～2023年11月27日の期間、熊本市地先の緑川漁場（図1）において、5月～8月までは潮ごとに、それ以外は月1回、川口漁業協同組合の生産者が緑川河口域で採捕した天然ハマグリを買い上げ、大サイズ（ゆり目35mm以上）を5個、小サイズ（ゆり目17mm以上35mm未満）を10個のサンプルを採取し、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、水産技術研究所にて組織観察を行った。

2) 組織観察

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）※1に従って判定した。

3) 積算水温の検討

2022年12月13日～2023年8月30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砂面から10cm程度の位置（ハマグリを潜す深度）に埋めて設置し、その水温と組織観察の結果から、生殖腺の発達が始まる水温との関係を検討した。

4) 親貝養成による生殖腺成熟状況と産卵誘発の関係性の検討

1) でサンプルングしたもののうち、2023年3月7日と2023年5月8日の2群の親貝養成を実施した。厚さ10cm程度のアンスラサイトを入れた水槽に一晩静置し、潜砂した個体を選別して親貝とした。

飼育水槽は1t巡流水槽に1kwチタンヒーターを設置し、水流発生のために水槽内に水中ポンプとブローアを設置した。ろ過海水を1回転/日の換水率でかけ流しとし、水槽上面には遮光と保温のため保温材を設置し、水槽内にプラスチックメッシュカゴを入れて親貝を収容した。濃縮パブロバ(有限会社アイエスシー)と濃縮キートセロス・グラシリス(ヤンマーマリファーム製)を20,000cell/mlずつ混合した40,000cell/mlの餌料を手撒きもしくは定量ポンプで1日3回給餌し、餌料濃度10,000cell/ml以上を維持するようにした。

水温は、3月養成群は水槽収容時の水温13°Cから1日1°C程度ずつ升温し、23°Cまで升温させたら水槽内での産卵暴発を防ぐため、23°Cで水温を維持した。5月養成群は、収容時から水槽水温を23°Cとして産卵誘発まで養成を行った。

3月養成群の産卵誘発は、漁場からの積算水温が約700°C、1,200°C、1,600°C、1,800°Cとなる時に緩慢升温刺激と生殖腺懸濁海水の添加にて行った。5月養成群は、約1,900°C、2,000°C、2,200°Cの時に同様の方法で実施し、採卵数の確認を行った。

2. 採卵技術の開発

1) 採卵試験

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)を買い上げ親貝とした。持ち帰った親貝は、17°C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、毎日1回換水を行いながら1日以上静置してから産卵誘発に用いた。

採卵試験は、5月上旬～9月中旬の潮ごとに計10回実施した。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150Wヒーターを投入し、水温20°Cから30°Cまで、水温を1～2°C/時間上昇させる緩慢升温刺激で行った。水温が25°C以上となった時に、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:180μm(ゴミ取り用)、30μm(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、ウォーターバスにて25°Cに加温、もしくは空調にて水温が25°C程度となるように調整して孵化まで静置した。卵の収容密度は、過去の試験結果より、過密による奇形の発生が抑えられる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。また、親貝1個体あたりの産卵数(万粒)と孵化率(%)と正常D型幼生率を乗じて算出した親貝1個体あたりから生まれる正常D型幼生数の推移から採卵適期の検討を行った。

2) 個別採卵

6月22日～8月16日までの間に計5回実施した。個別採卵での誘発への反応が悪いことが想定されたことから、産卵誘発は3つの手法を検討した。1つ目は、通常の産卵誘発を行っている水槽内から、放卵しているメス個体のみを個別容器に取り出し卵数を確認する手法(手法1)とした。2つ目が、平面のバットに海水を入れ、20個体ハマグリを並べて収容し、通常と同じように緩慢升温刺激と生殖腺添加し、放卵個体を個別容器に回収する方法(手法2)で実施した。3つ目が、ろ過海水を入れた150Lの角形バットに500mlビーカーを入れ、その中にハマグリを入れてウォーターバスで緩慢升温刺激と生殖腺添加を行う方法(手法3)とし、

1 個体あたりの放卵量を確認した。また、1 回目の採卵は手法 1 で実施し、2 回目は手法 2 で実施、3～5 回目は手法 3 で実施した。

3) 抑制無し採卵による孵化状況の確認

産卵盛期と考えられた 6 月 20 日と 7 月 4 日の 2 回実施した。抑制なしの操作として、同じ群の親貝から採捕後翌日に採卵するものと、17°C で数日の抑制期間をおいて採卵したものの採卵結果を比較検討した。採卵手法は前述の採卵試験の緩慢昇温刺激で行った。

【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 に示した。大サイズの平均殻長は 52.08～60.95mm、肥満度は最高が 6 月 6 日の 11.36、最低が 3 月 21 日の 8.35 であった。小サイズの平均殻長は 36.18～44.18mm、肥満度は最高が 7 月 2 日の 12.71、最低が 4 月 20 日の 8.50 であった。

産卵期前で最も肥満度が上昇すると考えられる 6 月の肥満度は、過去の調査データの中で最も低かった。大サイズでは、産卵期での明確な肥満度の上昇は確認されなかったが、目視で確認できる生殖腺の発達は産卵期に確認することが出来た (図 2)。

(ア) 組織観察結果

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 3 に示した (上: 大サイズ、下: 小サイズ)。大サイズでは、1 月 4 日から 4 月 5 日まで成長初期を示した。4 月 20 日には成長後期を示す個体が出始めて、5 月 19 日には主に成熟期を示した。その後 8 月後半までは主に成熟期、放出期を示した。8 月には退行期を示す個体が見られた。

小サイズにおいては、2 月 21 日まで未分化期を示す個体が見られたが、4 月 20 日まで主に成長初期を示した。6 月 6 日まで成長初期及び成長後期を示す個体が見られたが、5 月 19 日からは主に成熟、放出期を示した。その後 8 月に退行期を示す個体が見られるものの主に成熟期、放出期が認められる傾向は変わらなかった。

(イ) 積算水温の検討

漁場の平均水温が、ハマグリ生殖巣が発達開始すると考えられる 11°C を下回ったのは 12 月中旬から下旬にかけてであり、大サイズ組織観察では、12 月下旬から 1 月上旬にかけて、未分化期から成長初期へ成熟が進んでいるのが確認された。しかし、1 月から 4 月までは主に成長初期のままであり、5 月に成長後期の割合が増え生殖巣の発達が進むのが観察され、昨年より成熟が遅い状況が確認された。一部放卵が確認された 6 月 8 日までの積算水温は 2,250°C であった (図 4)。過去の調査の積算水温は、令和 2 年調査 1,744°C (6 月 3 日)、令和 3 年調査 1,818°C (5 月 27 日)、令和 4 年調査 1,532°C (5 月 17 日) となっており、比較すると採卵可能時期となるのが遅く、積算水温が高くなった。

(ウ) 親貝養成による生殖腺成熟状況と産卵誘発の関係性の検討

3 月 7 日 (1 回目) および 5 月 8 日 (2 回目) 養成群の誘発結果および生殖腺成熟状況を表 2 および図 5 に示す。1 回目養成群では、肥満度は養成しても上昇せず、想定していた積算水

温となっても採卵することは出来なかった。しかし、組織観察では天然のものより成長後期や成熟期の割合が高く、養成によって成熟が進んでいたことを確認することが出来た。2回目養成群では、6月8日に採卵可能となり、時期的には天然と変わらなかったものの、通常の採卵がこの時356万粒であったのに対し、2回目養成群は1986.7万粒と採卵数が多かったことから、養成によって成熟が進み、誘発刺激に反応する個体が増えていたのではないかと考えられた。

2. 採卵技術の開発

1) 採卵技術の開発

産卵誘発試験を10回行い、その結果を表3に示す。6月上旬から9月中旬まで採卵することができ、生殖腺組織観察では、6～8月は成熟期及び放出期が主であり、8月下旬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多く観察された。

採卵数は、7月6日の採卵で大サイズが3,708.0万粒、小サイズが1818.7万粒と採卵数が最大となった。受精率は、8月3日の大サイズを除き、親貝サイズや採卵時期による大きな違いはなく、90%以上で安定していた。受精率が低かった時の発生状況は、ふ化率、正常D型幼生の割合が極端に低下した。孵化率は大サイズが34.7%～81.7%、小サイズは58.9%～84.5%であり、正常D型幼生の割合は大サイズが9.0%～93.4%、小サイズが14.7%～93.4%であった。

親貝1個体あたりの産卵数に孵化率(%)を乗じ、さらに正常D型幼生率を乗じた、誘発に使用した親貝1個体あたりから生まれる正常D型幼生数を算出した結果、大サイズ、小サイズともに7月19日に採卵したものが最も多い結果となった。よって、6月上旬～9月中旬まで採卵可能であるが、今年度は7月中旬が採卵適期であったと考えられた。

2) 個別採卵

今回検討した3つの手法のうち、手法1は、反応個体は得られるものの、どの個体が反応しているか把握が困難な点と、反応したオス個体を水槽から取り出し、海水の白濁を抑えようとしても、一斉に反応すると対応が困難であることから、手法としては最適ではないことが分かった。手法2は、平面に並べることで手法1のデメリットはなくなるものの、反応まで常時観察をする必要があり、放卵・放精の有無を確認するためにライトを照射するたびにストレスとなり、誘発への反応が悪くなっているように思われた。手法3は個別容器となっていることから誘発個体数に制限はあるものの、ライト照射による観察の頻度を落とすことができることからより適している手法であると考えられた。

5回実施した誘発結果を表4に示す。放卵個体が確認されたのは手法1で行った6月22日と手法3で行った8月4日のみであった。放卵した個体の生殖腺組織では、放卵した後であっても、まだ放卵可能な卵が生殖腺内に確認された。

3) 抑制無し採卵による孵化状況の確認

2回実施した結果を表5に示す。当初、抑制無しの場合は親貝の糞等の影響で、孵化幼生の発生状況の悪化が予想されたが、親貝1個体あたりの正常D型幼生数は、抑制無しの数値の方が良い状況も確認され、抑制期間での違いは確認されなかった。

【次年度に向けた提言】

1. 生殖腺成熟状況の調査

今年度の調査結果では、これまでに比べ産卵期前でも肥満度の上昇が見られなかった。しかし、生殖腺組織観察からは成熟が確認され、6月上旬には産卵誘発刺激による放卵・放精も確認することが出来た。積算水温は、これまでの試験結果から1,800°C程度と推測されていたが、2,250°Cとズレがあり、これが許容範囲のものであるか検証が必要である。

また、親貝養成による早期採卵では、当初想定していた水温で採卵が出来ず、約2,200°Cで採卵可能となったことから、栄養状態を示す肥満度が、成熟までの時間に関連している可能性も考えられた。早期採卵の安定的に実施を目指す場合は、この点をさらに調査する必要があると考えられる。

2. 採卵技術の開発

今年度までの5か年の試験で、緩慢昇温刺激による産卵誘発方法は技術的にほぼ確立したといえる。

【参考文献】

※1 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)

【図表】

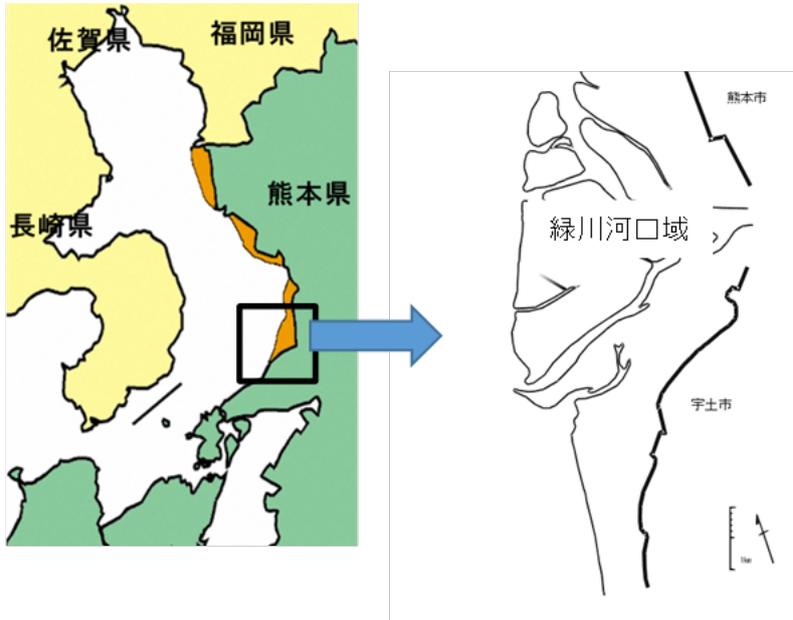


図1. ハマグリ採取場所

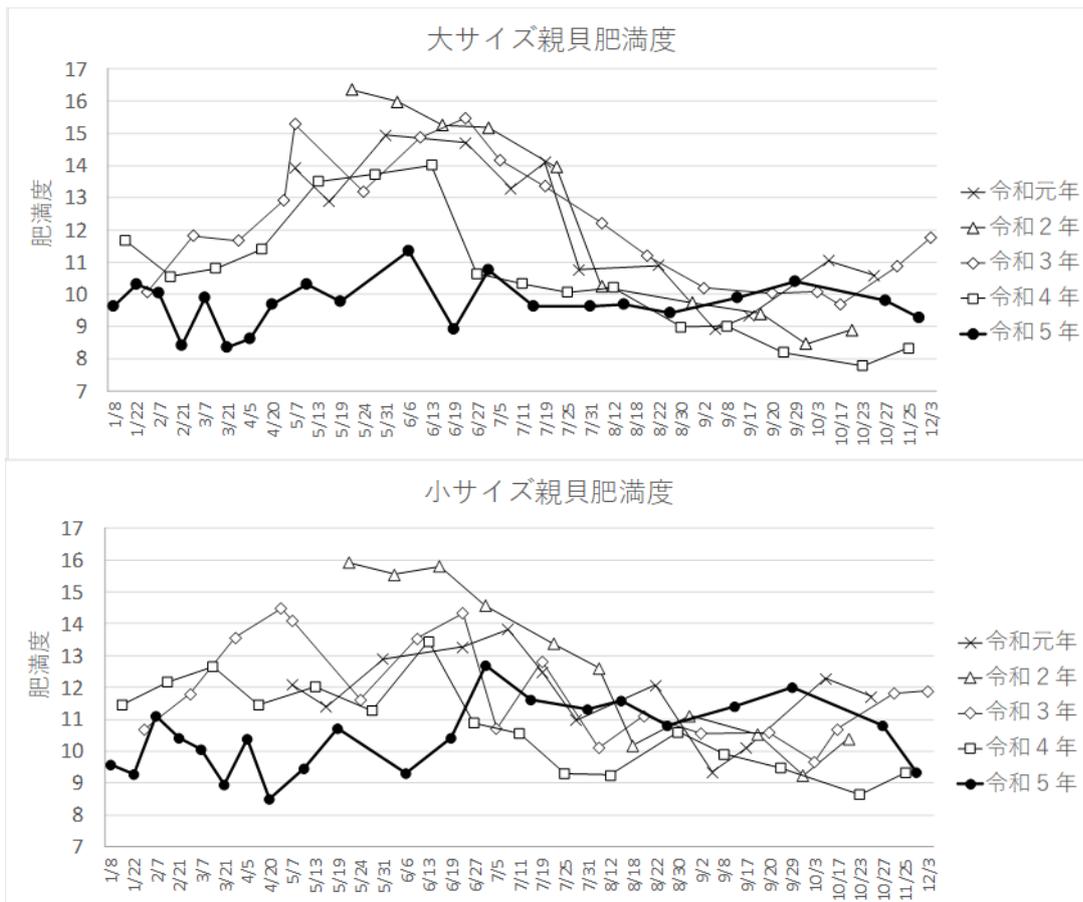


図2. 令和元年～5年度調査の肥満度の推移（上：大サイズ、下：小サイズ）

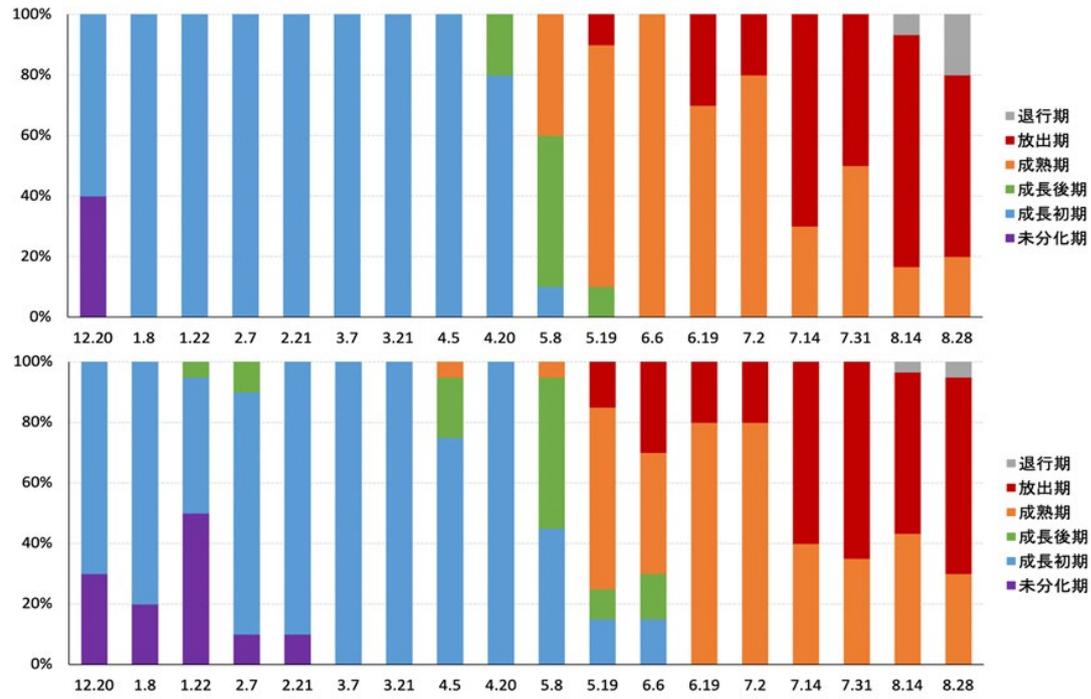


図 3. 組織観察によるハマグリ生殖腺の発達段階
 上：大サイズ 5 個体分、下：小サイズ 10 個体分の発達段階を示す。

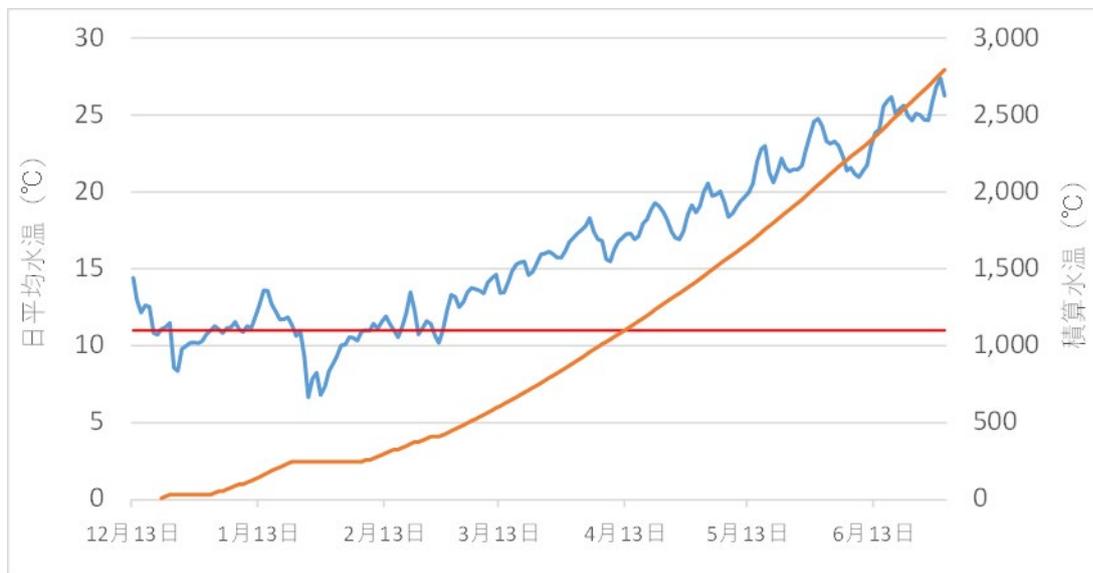


図 4. 漁場水温と積算水温の推移

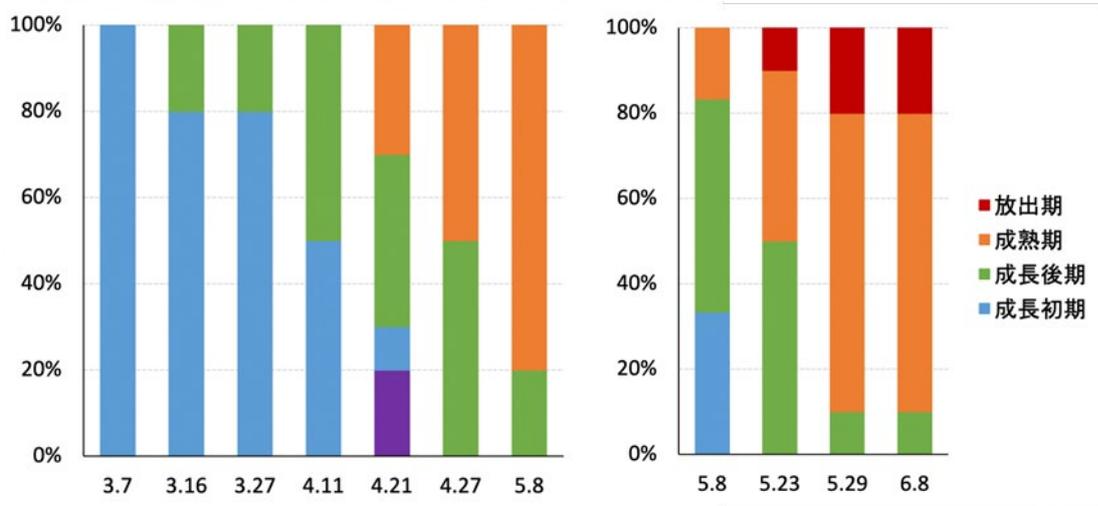


図 5. ハマグリ養成親貝の組織観察による生殖腺の発達段階

左：3月7日養成群 右：5月8日養成群

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 肥満度 (g)		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 肥満度 (g)	
12月20日	54.40	64.65	35.56	81.46	11.69	9.19	12月20日	39.28	46.73	25.43	29.76	4.74	10.09
1月8日	50.71	60.00	32.74	59.25	9.66	9.63	1月8日	35.91	42.13	22.14	20.53	3.23	9.57
1月22日	51.63	60.95	32.47	60.58	10.62	10.31	1月22日	36.72	43.20	23.02	21.99	3.39	9.27
2月7日	48.57	59.09	32.15	58.01	9.38	10.05	2月7日	36.69	42.62	22.67	21.43	3.96	11.10
2月21日	50.36	59.95	31.44	54.90	8.14	8.41	2月21日	35.05	40.93	21.59	18.50	3.24	10.43
3月7日	45.13	52.08	29.12	42.14	6.74	9.89	3月7日	31.55	36.66	19.32	13.32	2.28	10.06
3月21日	45.85	55.10	28.38	40.02	6.01	8.35	3月21日	35.42	41.57	22.37	19.96	2.97	8.95
4月5日	50.96	59.62	31.74	57.63	8.34	8.62	4月5日	37.44	44.18	23.42	23.10	4.05	10.39
4月20日	49.82	58.32	31.73	52.56	8.90	9.70	4月20日	36.56	43.17	22.93	21.46	3.10	8.50
5月8日	49.06	57.59	31.44	55.38	9.38	10.31	5月8日	36.07	42.35	22.54	21.11	3.44	9.82
5月19日	46.79	54.59	29.79	44.51	7.40	9.77	5月19日	32.62	38.19	19.98	15.13	2.68	10.72
6月6日	47.42	57.40	31.44	52.46	9.71	11.36	6月6日	33.03	39.75	21.33	17.56	2.70	9.30
6月19日	47.17	57.12	30.18	48.77	7.37	8.91	6月19日	31.66	37.99	20.12	14.72	2.52	10.42
7月2日	47.27	56.08	30.29	48.46	8.65	10.74	7月2日	31.71	37.40	20.05	14.45	3.14	12.71
7月14日	47.11	56.37	30.20	47.79	7.75	9.63	7月14日	31.39	36.18	19.18	13.20	2.57	11.61
7月31日	46.36	56.51	29.75	N.D	7.46	9.64	7月31日	32.70	38.44	20.56	12.10	2.98	11.31
8月14日	45.36	54.42	29.20	42.80	7.01	9.68	8月14日	31.60	37.13	19.92	14.44	2.77	11.59
8月28日	49.37	57.54	31.07	52.64	8.33	9.43	8月28日	31.75	37.03	19.70	13.93	2.52	10.81
9月11日	47.26	58.20	29.94	48.78	8.30	9.91	9月11日	30.80	36.07	19.55	13.62	2.55	11.39
9月29日	48.98	58.78	30.81	55.10	9.22	10.41	9月29日	33.52	39.01	21.01	N.D	3.32	12.02
10月27日	48.78	57.83	30.56	52.79	8.50	9.81	10月27日	33.09	39.33	21.15	17.50	3.12	10.81
11月27日	50.74	60.67	32.27	62.30	9.28	9.27	11月27日	34.29	39.19	21.66	12.60	2.79	9.34

表 2. 養成群の産卵誘発試験結果

左：1回目養成群 右：2回目養成群

採卵日	親貝数	肥満度	積算水温 (°C)	採卵数 (万粒)	親当たりの 採卵数(万粒)	採卵日	親貝数	肥満度	積算水温 (°C)	採卵数 (万粒)	親当たりの 採卵数(万粒)
3月16日	33	9.3	668		反応せず	5月23日	52	10.0	1,905		反応せず
4月11日	49	9.6	1,265		反応せず	5月29日	47	11.2	2,043		反応せず
4月27日	54	9.6	1,633		反応せず	6月8日	42	11.9	2,273	1,986.7	94.6
5月8日	62	9.8	1,886		反応せず						

表 3. 産卵誘発試験結果

採卵日	サイズ	親貝数	肥満度	採卵数 (万粒)	親当たりの 採卵数(万粒)	受精率 (%)	ふ化槽収卵 数(万粒)	ふ化率 (%)	正常D型 幼生率 (%) (孵化数)	正常D型 幼生率 (%) (卵収容数)	孵化後殻長 (μm)	親当たりの採卵数*ふ 化率*正常D型幼生率
5月10日	大	48	10.3									
	小	64	9.5									
5月22日	大	38	9.8									
	小	36	10.7									
6月8日	大	46	11.4									
	小	67	9.3	356.0	10.6	97.4	356	58.9	90.8	53.5	120.6	5.7
6月22日	大	37	8.9	206.0	11.1	93.3	206	78.0	87.1	68.0	118.4	7.6
	小	80	10.4	729.5	18.2	95.4	206	62.1	74.2	46.1	117.5	8.4
7月6日	大	27	10.7	3,708.0	274.7	93.2	500	74.7	28.1	21.0	118.1	57.7
	小	42	12.7	1,818.7	86.6	91.1	500	84.5	14.7	12.5	118.2	10.8
7月19日	大	29	9.6	2,904.0	200.3	90.3	500	63.8	65.0	41.5	118.6	83.1
	小	55	11.6	995.3	36.2	95.7	500	68.9	79.7	54.9	118.9	19.9
8月3日	大	40	9.6	1,191.7	59.6	82.5	500	34.7	9.0	3.1	113.1	1.9
	小	64	11.3	662.0	20.7	96.2	500	65.1	58.0	37.8	112.9	7.8
8月16日	大	37	9.7	66.3	3.6	ND	66.3	75.9	93.4	70.9	113.1	2.5
	小	89	11.6	85.0	1.9	ND	85	59.2	93.4	55.3	117.5	1.1
8月30日	大	36	9.4	1,412.7	78.5	99.2	500	81.7	70.4	57.5	117.0	45.1
	小	70	10.8	611.5	17.5	95.4	500	81.8	84.3	68.9	116.8	12.0
9月13日	大	34	9.9	305.3	18.0	97.4	152.6	75.5	84.7	64.0	118.5	11.5
	小	78	11.4	159.3	4.1	97.4	159.3	77.6	88.7	68.8	116.8	2.8

表 4. 個別採卵の採卵数

	殻高	殻長	殻幅	殻付き 重量	軟体部重量	肥満度	採卵数 (万粒)
6月22日	47.59	56.5	31.33	52.2	8.2	9.73	55.5
8月4日①	33.89	40.65	22.21	17.91	3.16	10.33	157.2
8月4日②	37.67	46.1	24.95	25.24	4.9	11.31	48.3

表 5. 抑制有無による採卵数および孵化状況

採卵日	サイズ	親貝数	肥満度	採卵数 (万粒)	親当たりの 採卵数(万粒)	受精率 (%)	ふ化槽収卵 数(万粒)	ふ化率 (%)	正常D型 幼生率 (%) (孵化数)	正常D型 幼生率 (%) (卵収容数)	孵化後殻長 (μm)	親当たりの採卵数*ふ 化率*正常D型幼生率
6月20日	抑制 無し	67	9.9	854.5	25.5	97.0	500	74.2	86.3	64.0	116.2	16.3
6月22日	大	37	8.9	206.0	11.1	93.3	206	78.0	87.1	68.0	118.4	7.6
	小	80	10.4	729.5	18.2	95.4	206	62.1	74.2	46.1	117.5	8.4
7月4日	抑制 無し	55	12.1	2,164.0	78.7	94.9	500	94.8	88.2	83.6	114.3	65.8
7月6日	大	27	10.7	3,708.0	274.7	93.2	500	74.7	28.1	21.0	118.1	57.7
	小	42	12.7	1,818.7	86.6	91.1	500	84.5	14.7	12.5	118.2	10.8

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-2

公益財団法人 三重県水産振興事業団 三重県栽培漁業センター

濱辺 篤

国立研究開発法人水産研究所・教育機構 水産技術研究所

松本才絵・船山翔平

【目的】

三重県栽培漁業センターではハマグリの採卵において、養成飼育をした親貝から安定的に受精卵を得られているが、養成飼育を行っていない親貝では、安定した採卵ができていない。そのため養成技術は必要不可欠なものとなっている。

本研究では、早期に安定して採卵するための親貝養成技術の開発と個別採卵を実施することで1個体あたりの産卵量や正常D型幼生の孵化率及び平均殻長の違いを調べた。

【研究方法】

1) 親貝養成飼育

親貝養成には令和5年3月8日から6月22日までに、三重県桑名市の赤須賀漁業協同組合で水揚げされたハマグリ（銘柄：中大サイズ）を使用した。採捕時の自然海水温が17°C未満の場合は、アンスラサイト1.3mm径を約5cm敷いたプラスチック容器（トロフネ80, 幅93cm×奥行62cm×高さ21cm）に親貝を収容し、全海水を1回転/時間になるよう注水した。翌日、潜砂した個体のみを使用した。購入時の自然海水温が17°C以上の場合は、親貝の放卵放精を抑制するため投げ込み式冷却器（ニットー製：CooL MasterN200）を用いて水温17°Cに設定した水槽に親貝を収容し、1日以上静置した。潜砂した親貝及び17°Cで抑制した親貝約30個を丸籠（直径45cm）に入れ、2.0m³FRP水槽に収容した。飼育水は、砂濾過海水（以下、海水）を1~2回転/日で注水し、水温は1kwチタンヒーターを用いて1~1.5°C/日で昇温し22~23°Cに保った。餌にはパブロバ・ルテリ（以下、パブロバ）とキートセロス・ネオグラシーレ（以下、ネオグラシーレ）を混合したものを使用した。コールターカウンター（ベックマン・コールター株式会社製：マルチサイザー3）を用いて残餌濃度を測定し、飼育水の餌料濃度が40,000cells/mlになるように調整して1日3回給餌した。夜間は餌料濃度が20,000cells/ml以下にならないよう定流量ポンプ（名東化工機械株式会社製：NE-1000）を使用し給餌を行った。3月8日に購入した親貝は定期的にサンプリングを行い、水産技術研究所において、サンプルの軟体部の一部をDavidson液で固定し、パラフィン包埋して切片を作成後、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した。それらの検鏡を行い生殖腺の発達段階を、成長初期、成長後期、成熟期、放出期の4つに分類をした。

上記の条件で養成したものを養成あり親貝とした。一方養成無しの親貝として令和5年5月31日から7月14日までに購入したハマグリは投げ込み式冷却器を使用し、水温17°Cに設定した水槽に1日以上静置してから採卵に用いた。

陸上水槽で養成飼育を行った場合、産卵に必要な積算温度を把握するため、徳留ら（2019）

を参考に、11°Cを超えた水温を積算した。

2) 集団採卵

小林 (2019) の方法に準じて実施した。採卵当日に親貝を水道水で洗浄後、直射日光下に 30～45 分間干出させ、20°Cの海水を入れた 100L アルテミア孵化槽に収容した。1kw チタンヒーターを用いて水温を 1～2°C/時間ずつ昇温させた。25°Cに達した時点で反応が見られない場合は、精子懸濁液を作成し、孵化槽に添加した。さらに 30°Cまで昇温しても反応がない場合は海水を注水し、水温を下げた。放卵放精が始まり、精子濃度が濃い場合は適度に雄を間引きした。得られた受精卵は、プランクトンネット (目合い: 20・40・80・132・230 μ m) を用いて海水で洗卵し、26～27°Cに調温した 30L パンライトに受精卵を収容した。受精から 22 時間後に正常 D 型孵化率と平均殻長を測定した。なお正常 D 型孵化率は次式により算出した。

$$\text{正常 D 型孵化率 (\%)} = \text{正常 D 型幼生数 (個)} / \text{卵収容数 (粒)} \times 100$$

3) 個別採卵

12 個を 1 組として、養成飼育した 3 月採捕群から 2 組、4 月採捕群から 4 組の採卵グループを設けた。親貝を個別に収容する小型水槽 (アイリスオーヤマ製: CY-M) は、上から 2cm の所に直径 1cm の穴を空け、トロフネ 140 (幅 123cm×奥行 76cm×高さ 21cm) 内に 12 槽設置したものを採卵容器とした。採卵当日に親貝を水道水で洗浄し、屋外で 30～45 分干出させた。トロフネ内に 20°Cの海水を溜め、水中ポンプ (NISSO 製: PP-51) で各小型水槽へラブコックを用いて流量調整を行いながら循環させた。親貝を小型水槽に 1 個ずつ収容後、1kw チタンヒーターで 1～2°C/時間ずつ昇温した。28°Cに達した時点で反応が見られない場合は、パブロバとネオグラシーレを混合した培養餌料又は精子懸濁液を凍結したものを添加した。その後 30°Cまで昇温し、30 分経過しても反応がない場合は海水を注水して 26°Cまで低下させた。途中で反応があった水槽は止水にした。反応した雄の放精海水を混合し、放卵から 1 時間以内に採精を行った。洗卵と卵収容は集団採卵と同様に行い、22 時間後に正常 D 型幼生の孵化率と平均殻長を測定した。また、雌雄別で反応率を以下の式より算出した。

$$\text{反応率 (\%)} = \text{反応親貝数 (個)} / \text{累計採卵親貝数 (個)} \times 100$$

【研究成果の概要】

1) 親貝養成飼育

親貝は令和 5 年 3 月 8 日から 6 月 22 日までに合計 4 回購入した。3 月 8 日と 4 月 12 日はアンスラサイト上に並べて選別を行い、5 月 31 日及び 6 月 22 日は 17°Cで抑制後に養成を開始した。

養成飼育を行った 3 月採捕群における生殖腺発達の推移と積算温度、及び 4 月 12 日の天然ハマグリ (4 月採捕群) の生殖腺発達段階を図 1 に示した。3 月採捕群は、水槽に収容後約 1 週間をかけて 23°Cまで昇温した。収容後 2 週間目から成熟が徐々に進んでいき、3 月 30 日

(積算温度 488°C・日)では採卵誘発に反応しなかった。4月10日(積算温度 741°C・日)には成熟期の割合が増え、採卵誘発に応じ 760.0 万粒の受精卵を得ることができた。それに比べ天然海域のハマグリ(4月採捕群)は4月12日の段階で主に成長初期を示しており、3月採捕群は養成飼育を行うことにより、成熟が順調に進んでいることを確認できた。昨年度の養成飼育は令和4年3月4日に採捕し、4月7日に採卵が可能となっており、今年度は3月8日に採捕し、4月10日に採卵に成功していることから、令和4年度と同様の結果となった。以上のことから本研究の親貝養成方法で3月上旬に採捕した親貝を飼育することで、積算温度が 750°C・日前後になった4月上旬に採卵可能となり、天然での産卵開始時期より1カ月以上採卵を早めることが可能となった。

2) 集団採卵

養成あり親貝の集団採卵結果を表1に示した。養成あり親貝は産卵開始時期を確認するために採卵を行い、3月採捕群は養成期間33日、4月採捕群は20日で採卵可能なことを確認した。5月採捕群は養成期間11日で自然放卵放精があり、6月採捕群は22日養成飼育し、産卵量は485.0万粒あったが正常D型孵化率は40.2%であった。養成無し親貝の集団採卵結果を表2に示した。養成無し親貝は全ての採捕群から少量の卵は得られたが、孵化しないか奇形で生まれるなど正常D型孵化率が2.9~27.5%と低く、正常D型幼生の平均殻長も107.8~113.0 μm と小型であった。

成熟した親貝を使用し、本研究の採卵方法であれば高い確率で受精卵を得ることが可能である。しかし、ハマグリは産卵最盛期である6~7月に採捕した親貝を採卵すると、正常D型孵化率が非常に低い。しかし、今回の研究結果から原因は特定できなかった。

3) 個別採卵

3月採捕群と4月採捕群の個別採卵反応結果をそれぞれ表3, 4に示した。3月群の1-組は3回、2-組は2回採卵を実施し、雄と雌の反応率はそれぞれ80.0%と52.0%となった。4月群は3,4,5,6-組があり、採卵回数はそれぞれ1回、1回、3回、2回実施し、雄と雌の反応率はそれぞれ46.2%と20.0%となった。採卵誘発に応じ、3回とも放卵または放精する個体を確認した。

3月採捕群と4月採捕群の個別採卵結果をそれぞれ表5, 6に示した。1個の親貝が1回の産卵で最大585.0万粒、合計は最大で882.5万粒産卵することが確認された。産卵回数を重ねると、卵量は増える傾向がある。図2で示した様に正常D型孵化率は1回目で80.9%、2回目では79.3%と差はほとんどなく、3回目では70.0%に下がった。また、産卵回数を重ねることで、正常D型幼生の平均殻長は小さくなる傾向があるのかもしれない。

【次年度に向けた提言】

3月上旬の伊勢湾で採捕された親貝を用いて、今試験の親貝養成方法を行えば積算温度750°C・日前後で採卵が可能となる。さらに養成飼育した親貝で採卵を行えば、正常D型孵化率は安定し、平均殻長の大きい幼生が得られる。しかし、親貝養成を行うためには、藻類培養や飼育管理に多大な労力を要する。今後は早期採卵のため、親貝を温暖な海域に早期から垂下飼育することで、省力化した親貝養成技術の開発を試みる必要がある。

【参考文献】

小林 豊 (2019) ハマガリ人工採卵技術. 令和元年度二枚貝類飼育技術研究会.

徳留剛彦・中野平二・松本才絵 (2019) 令和2年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業成果報告書.

【図表】

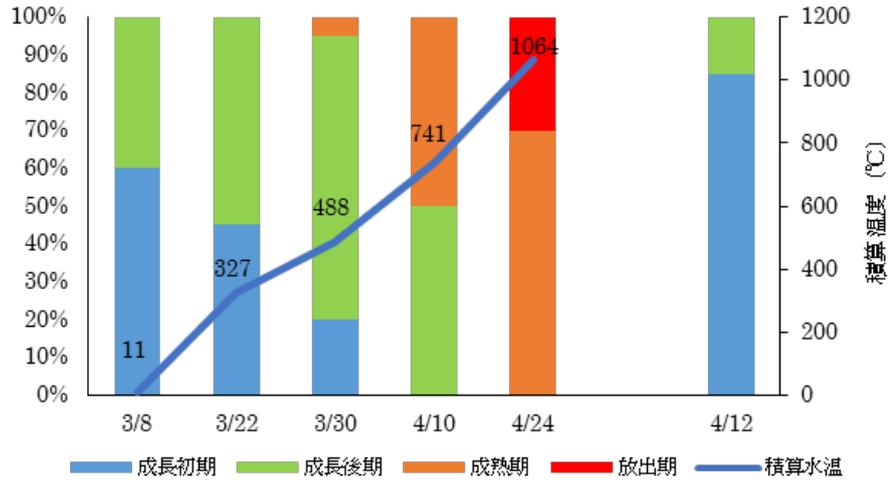


図 1. 養成飼育を行った 3 月採捕群における生殖腺発達の推移と及び 4 月採捕群の組織観察と積算温度, 及び 4 月 12 日の天然ハマグリ (4 月採捕群) の生殖腺発達段階

表 1. 養成あり親貝の集団採卵結果

採捕日	採卵日	養成期間 (日)	総重量 (g)	個数 (個)	産卵量 (万粒)	卵収容数 (万粒)	正常D型 幼生数 (万個)	正常D型 孵化率 (%)	殻長 (μm)	備考
3月8日	3月30日	22	602	20	-	-	-	-	-	
	4月10日	33	1336	43	760.0	760.0	433.3	57.0	119.4	
	4月19日	42	-	-	-	-	-	-	-	自然放卵放精
4月12日	5月2日	20	675.0	15	38.8	37.2	26.4	71.0	119.3	
5月31日	6月11日	11	-	-	-	-	-	-	-	自然放卵放精
6月22日	7月18日	22	2,080.0	66	485.0	485.0	195.0	40.2	107.8	6/26まで抑制

表 2. 養成無し親貝の集団採卵結果

採捕日	採卵日	抑制 日数 (日)	総重量 (g)	個数 (個)	産卵量 (万粒)	個体あたり の産卵量*1 (万粒)	卵収容数 (万粒)	正常D型 幼生数 (万個)	正常D型 孵化率*2 (%)	殻長 (μm)	備考
5月31日	6月1日	1	1027	30	-	-	-	-	-	-	放精のみ
	6月3日	3	1280	40	4.5	0.2	4.5	0.0	0.0	-	孵化は全て奇形
6月22日	6月22日	0	611	-	-	-	-	-	-	-	自然海水かけ流し
	6月23日	1	827	20	22.5	2.3	22.5	0.0	0.0	-	孵化せず
	6月26日	4	923.0	24	82.5	6.9	82.5	0.0	0.0	-	孵化せず
7月14日	7月14日	0	2,091	57	1240.0	43.5	1240.0	0.0	0.0	-	途中で打ち切り
	7月15日	1	3,241	94	255.0	5.4	255.0	7.5	2.9	107.8	
	7月16日	2	1,416	40	13.8	0.7	13.8	3.8	27.5	113.0	
	7月18日	4	1,389	39	15.8	0.8	15.8	3.8	24.1	110.0	

表 3.3 月群個別採卵反応結果

識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応			識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応	
				1回目 4/24	2回目 5/11	3回目 6/14					1回目 5/1	2回目 6/7
1-1	25.81	43.54	♀	○	○	○	2-1	31.10	48.80	♂	○	○
1-2	25.51	44.55	♂	○	○	○	2-2	32.90	51.76	♀	×	×
1-3	23.11	42.15	♂	×	○	×	2-3	31.17	47.53	♀	○	×
1-4	30.12	48.51	♂	○	○	○	2-4	27.02	48.30	♂	○	○
1-5	47.81	57.08	♀	○	×	×	2-5	33.07	49.51	♂	○	×
1-6	45.23	55.69	♀	×	×	×	2-6	34.33	51.52	♂	○	○
1-7	46.00	55.43	♂	○	○	○	2-7	26.88	45.94	♂	○	○
1-8	44.62	56.75	♂	○	○	○	2-8	33.59	49.84	♀	○	×
1-9	46.30	54.62	♂	×	×	×	2-9	26.10	46.71	♀	○	○
1-10	46.14	53.25	♂	○	○	×	2-10	26.96	44.84	♂	○	○
1-11	46.21	55.96	♀	×	○	○	2-11	27.71	47.35	♀	○	○
1-12	46.43	56.81	♀	×	○	×	2-12	29.47	48.34	♂	○	○

表 4.4 月群個別採卵反応結果

識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応 (○×)	識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応 (○×)	識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応 (○×)			識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	雌雄 (♂♀)	反応 (○×)	
														1回目 5/10	2回目 5/22	3回目 6/19					1回目 5/23	2回目 6/12
3-1	41.74	-	♀	×	4-1	37.68	52.38	♂	×	5-1	40.26	52.61	♂	○	×	×	6-1	39.12	-	-	×	-
3-2	41.36	-	♀	×	4-2	40.75	52.81	♂	○	5-2	41.92	53.71	♂	×	×	○	6-2	41.41	54.41	♀	○	×
3-3	40.02	-	♂	×	4-3	41.30	54.87	♂	○	5-3	41.71	55.59	♀	○	×	○	6-3	42.56	55.59	♀	○	○
3-4	41.92	-	♀	×	4-4	48.64	56.18	♀	×	5-4	43.52	55.30	♀	×	×	×	6-4	39.74	54.20	♂	○	○
3-5	40.89	-	♂	×	4-5	46.93	57.36	♂	×	5-5	43.83	55.52	♂	○	×	○	6-5	42.19	57.96	♀	×	×
3-6	46.23	-	♂	×	4-6	53.43	57.72	♂	×	5-6	46.59	57.79	♂	○	○	○	6-6	47.12	56.47	♂	×	×
3-7	47.03	-	♂	×	4-7	50.93	55.96	♀	×	5-7	52.03	57.40	♀	×	×	×	6-7	40.34	54.84	♂	○	○
3-8	43.04	-	♂	×	4-8	41.88	55.92	♂	○	5-8	46.79	56.64	♂	○	×	○	6-8	43.25	56.52	♀	×	×
3-9	50.36	-	♂	×	4-9	50.36	58.51	♂	×	5-9	48.34	57.53	♂	×	×	○	6-9	44.77	54.07	♂	×	○
3-10	47.04	-	♀	×	4-10	45.21	56.27	♂	×	5-10	51.56	58.06	♂	○	×	○	6-10	45.46	57.19	♂	×	○
3-11	57.84	-	♀	×	4-11	48.91	56.64	♀	×	5-11	44.32	55.08	♀	×	×	○	6-11	47.38	58.15	♀	×	×
3-12	56.31	-	♂	○	4-12	48.13	55.28	♂	○	5-12	58.06	59.22	♂	×	×	×	6-12	55.52	61.09	♂	○	×

表 5.3 月群個別採卵結果

識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	産卵回数 (回目)	産卵量 (万粒)	卵収容数 (万粒)	正常D型	正常D型	殻長 (μm)
						幼生数 (万个)	孵化率 (%)	
1-1	25.81	44.13	1	8.1	8.1	6.7	82.7	111.0
			2	16.3	16.3	11.3	69.2	118.4
			3	50.0	50.0	35.0	70.0	116.9
1-5	47.81	57.31	1	407.5	407.5	382.5	93.9	120.4
1-11	46.21	56.25	1	3.5	3.5	3.9	110.3	119.7
			2	62.5	62.5	55.0	88.0	114.9
1-12	46.43	56.81	1	585.0	585.0	310.0	53.0	120.2
2-3	31.17	47.53	1	255.0	255.0	220.0	86.3	122.5
2-8	33.59	49.84	1	72.5	72.5	62.5	86.2	119.8
2-9	26.10	46.71	1	67.5	67.5	52.5	77.8	118.5
			2	120.0	120.0	92.5	77.1	116.8
2-11	27.71	47.35	1	32.5	32.5	55.0	169.2	120.7
			2	100.0	100.0	90.0	90.0	120.1

表 6.4 月群個別採卵結果

識別NO.	重量 (g)	殻長 (mm)	産卵回数 (回目)	産卵量 (万粒)	卵収容数 (万粒)	正常D型 幼生数 (万个)	正常D型 孵化率 (%)	殻長 (μm)
5-3	41.71	55.59	1	392.5	392.5	296.3	75.5	120.7
			2	490.0	490.0	302.5	61.7	118.7
5-11	55.08	55.08	1	282.5	282.5	220.0	77.9	119.3
6-2	41.41	54.41	1	370.0	370.0	350.0	94.6	118.1
6-3	42.56	55.50	1	41.3	41.3	6.3	15.3	119.5
			2	250.0	250.0	225.0	90.0	119.5

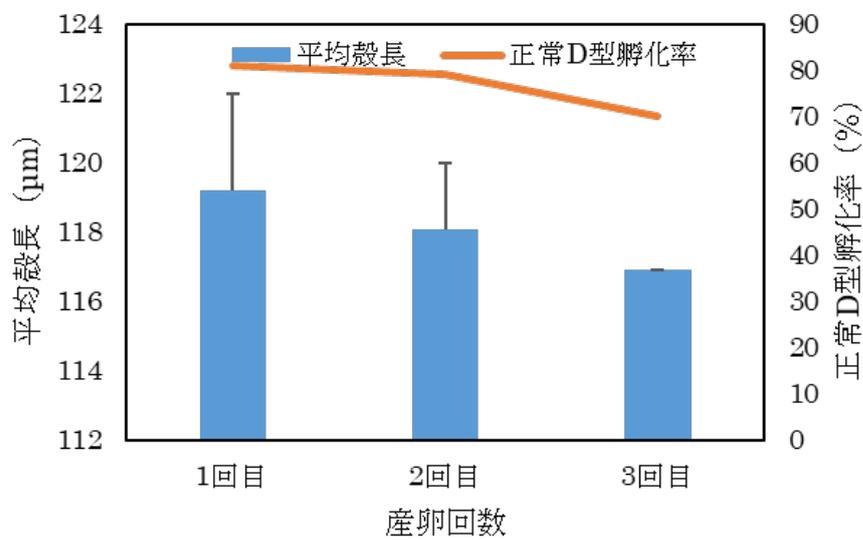


図 2. 平均殻長，正常 D 型孵化率と産卵回数の関係

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- 1

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・今井 正・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等を用いて、飼育水の水質変化が浮遊幼生の生残や成長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。

【方法】

5月24日に採卵した瀬戸内海産リシケタイラギの浮遊幼生を用い、5月25日から7月4日にかけて飼育水中の溶存態窒素量と浮遊幼生の生残・成長を調べた。

浮遊幼生飼育には、瀬戸内海区水産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6セットに收容した。連結水槽1セットあたりの收容数は100万個体とした。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。

給餌は一日2回朝夕に行い、2種の微細藻類の混合給餌とした。餌料には、これまでにタイラギ着底稚貝の生産実績がある *Pavlova lutheri*（自家培養）と *Chaetoceros calcitrans*（二枚貝養殖研究所製：Kくん）を用いた。細胞数に基づいて両種を1:3（パブロボ主体区）または3:1（カルシトランス主体区）の比率で混合して給餌した。両区についてそれぞれ連結水槽3セットを用意した。1日齢および2日齢は *Pavlova lutheri* のみを給餌後の密度が5,000 cells/mLとなるように給餌した。3日齢から混合給餌に切り替え、10日齢にかけて2日ごとに1,000 cells/mL ずつ給餌量を増やし、11日齢から20日齢にかけては給餌後の密度が10,000 cells/mLになるように給餌した。21日齢以降は11,000–13,000 cells/mLになるように給餌した。給餌の際は飼育室内を暗くして飼育水に懐中電灯の光を当て、飼育水の濁り具合から目視で各水槽の残餌量を見積もり、設定した給餌密度になるように微細藻類の添加量を調整した。

水質分析用の採水は朝と夕方の給餌前（朝は午前8時、夕方は午後4時）に行った。各連結水槽セットにおいて幼生が多い方の水槽からプラスチックビーカーで飼育水約50mLを掬った。掬い取った飼育水を6 μ m目合いのプランクトンネットで濾過して、タイラギ浮遊幼生や原生動物類を除いたものを分析用の試料とした。総アンモニア態窒素濃度はサリチル酸法、亜硝酸態窒素濃度はジアゾ化法、硝酸態窒素濃度はカドミウム還元法を用いて、いずれも吸光光度計（DR-3900, HACH）で測定した。

換水は火曜日と金曜日に行い、浮遊幼生がいない水槽を排水して洗浄した。同時に、浮遊幼生がいる水槽から内径4mmの亚克力管を用いて30mL（10mL×3本）の柱状採水を3回

行い、サンプル中の幼生数を計数し、容量法で各連結水槽中の浮遊幼生数を推定した。また、各水槽の幼生 50 個体の殻長を測定した。

全水槽における浮遊幼生の最大殻長が 400 μm に達してからは、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 250 μm のプランクトンネットで濾して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推定値を算出した。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 株)、*C. neogracile* を単独または混合給餌して飼育した。

【研究成果の概要】

<飼育水中の三態窒素量の変化と浮遊幼生の生残・成長>

パブロバ主体区とカルシトランス主体区について、連結水槽 3 セットの幼生数と総アンモニア態窒素および亜硝酸態窒素量、幼生数と硝酸態窒素量に基づく平均値の推移を図 1、図 2 に示した。同様に、両給餌区における幼生の平均殻長の推移を図 3 に示した。

今年度は飼育試験中に一部の連結水槽で幼生の大量減耗が発生するといった事例は無く、給餌区内の連結水槽間における幼生数と殻長のばらつきが抑えられたデータを取ることができた。このことは、令和 4 年度に示した少なめの給餌量が水槽間の飼育成績のばらつきを抑える可能性を支持するものと言える。

幼生数はパブロバ主体区とカルシトランス主体区がほぼ同様に変化し、2 日齢から 13 日齢にかけて 40–50 % まで減耗した後、試験を終了した 41 日齢にかけてはほぼ横ばいに近い漸減傾向を示した。13 日齢までの減耗は両給餌区で同様に発生したが、原因は不明である。平均殻長も両給餌区が同様に推移した。幼生数、殻長ともに、パブロバ区がカルシトランス区よりもわずかに高い傾向が見られた。

試験終了時（41 日齢）までに回収した着底稚貝数は、パブロバ主体区が 582 個体、カルシトランス主体区が 300 個体であった。試験終了後にすべての水槽の幼生を連結水槽 1 セットに集約して飼育を続けたところ、最終的に着底稚貝 11,396 個体を回収し、5 月 24 日採卵群から得られた総着底稚貝数は 12,278 個体となったが、飼育開始時の幼生数に対する着底稚貝数を表す種苗生産としての稚貝生産率は 0.2 % と極めて低かった。

三態窒素量は両給餌区で同様の变化を示したが、どれもパブロバ主体区の方がカルシトランス主体区よりもわずかに高く推移する傾向が見られた。亜硝酸態窒素量と硝酸態窒素量は 41 日間の試験期間中ともに検出下限値前後（亜硝酸態窒素 0.002–0.007 mg/L、硝酸態窒素 1.00–1.87 mg/L）であった。総アンモニア態窒素量は 12 日齢から検出され始め、41 日齢にかけて徐々に増加した。41 日齢までの飼育期間中における総アンモニア態窒素量の最大値はパブロバ主体区で 0.093 mg/L、カルシトランス主体区で 0.067 mg/L であった。ここまでの結果から、3–4 日間隔で換水を行う連結水槽の運用においては亜硝酸および硝酸が浮遊幼生の死亡要因になる可能性は低いと結論し、アンモニアの影響について検討した。両給餌区のすべての連結水槽について、換水日の間の総アンモニア態窒素の最大値と幼生減耗率を割り出して回帰分析を行った。その結果、相関係数は 0.0012 と極めて低く、相関性は見出だせなかつ

た（図4）。以上の結果に加え、総アンモニア態窒素量が増加しても幼生の成長停滞が見られなかったことから（図3）、連結水槽を用いて通常の管理方法でタイラギ幼生を飼育している範囲においては、三態窒素量の変化が幼生の生残・成長に影響している可能性は低いと考えられた。

本試験において、総アンモニア態窒素が徐々に増加したにもかかわらず、亜硝酸態窒素量および硝酸態窒素量の増加は認められなかった。このことから、連結水槽内では硝化細菌による硝化は起きていないと考えられる。連結水槽は3-4日ごとに交互に片方の水槽を換水、清掃しているが、一方の水槽だけで見れば7日に1回の頻度で清掃していることになる。つまり、この程度の間隔で水槽壁面を清掃すると硝化作用をもつ細菌類は定着しないものと思われる。本試験の結果から0.1 mg/Lまでの総アンモニア態窒素量では浮遊幼生に対する急性毒性はないと考えられたが、稚貝生産率が極めて低かったことは、慢性毒性もしくは着底変態に影響する可能性を想起させる。飼育水中のアンモニアがタイラギの種苗生産工程の中でどのような影響があるのか（または無いのか）、全貌を解明できていない現時点では、水槽内に徐々にアンモニアが増加するのを避けておいた方が良いのかもしれない。したがって、例えば換水頻度を上げるなど、何らかの対策を講じる必要がある。

【次年度に向けた提言】

本試験の結果、連結水槽を用いて3-4日間隔で換水を行う飼育方法では、飼育水中の亜硝酸態窒素および硝酸態窒素が増加する事はなく、唯一検出されたアンモニア態窒素もタイラギ幼生の生残・成長に影響している可能性は低いと考えられた。ただし、これは急性毒性の観点からの評価であり、慢性毒性が何らかの作用を及ぼしている可能性は残される。特に、着底期にあたる41日齢の幼生が各水槽で20万個体程度生残していたにもかかわらず、着底稚貝数が極めて少なかったことは、飼育水中にアンモニアが長期的に存在していた影響、もしくは幼生の着底変態にアンモニアが影響を与えている可能性を想起させる。したがって、今後は着底期に至る前に発生する幼生の大量減耗と、着底期の大量減耗は別の要因が作用している可能性を仮定して幼生の減耗要因解明を進める必要があると思われる。

次年度は、着底期以前の成長段階における減耗要因については水槽内の細菌叢や原生生物が影響している可能性、着底期の減耗要因解明に向けては引き続きアンモニアの影響を調べることを提案する。このようにして、自然界とは大きく異なる飼育水槽という環境の中で幼生の成長・生残・着底に負の影響を与える可能性がある因子を1つずつ検討し、タイラギの幼生飼育技術の安定化に向けて検討を重ねていくしかない。

【図表】

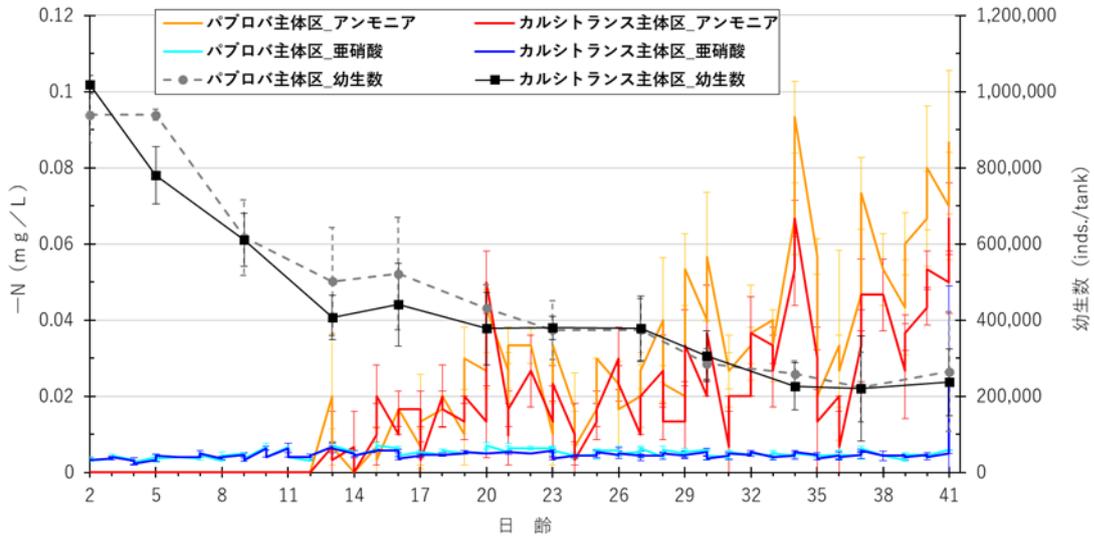


図 1. 瀬戸内海産タイラギ (5 月 24 日採卵) における給餌区別に推定した幼生数 (平均値と標準偏差)、総アンモニア態窒素量および亜硝酸態窒素量の推移

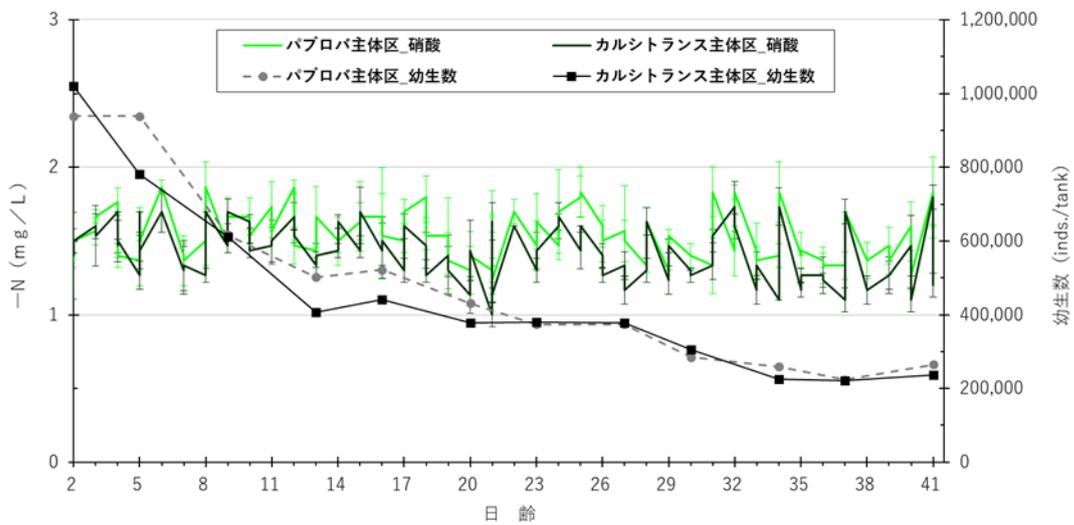


図 2. 瀬戸内海産タイラギ (5 月 24 日採卵) における給餌区別に推定した幼生数および硝酸態窒素量の推移

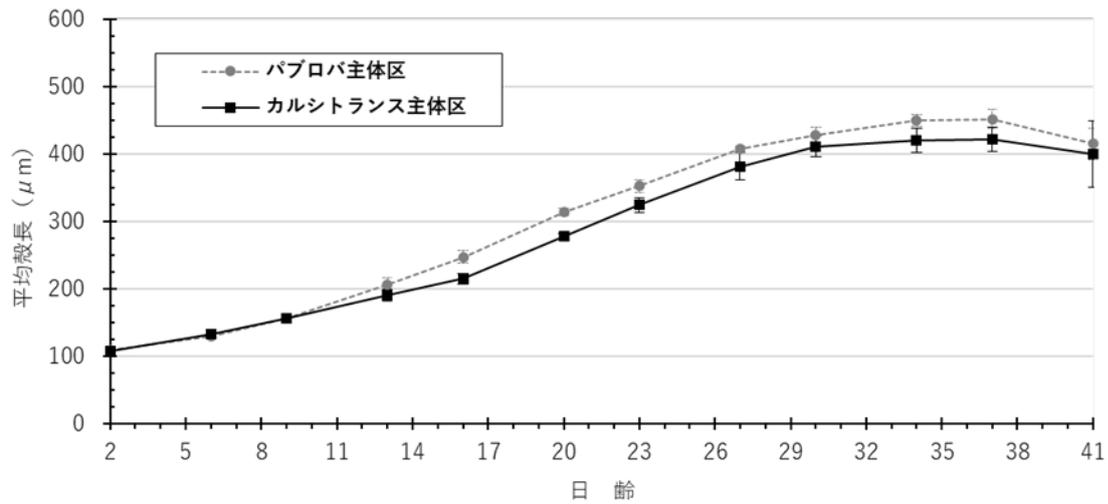


図 3. 瀬戸内海産タイラギ（5月24日採卵）における給餌区別に見た幼生の平均殻長の推移

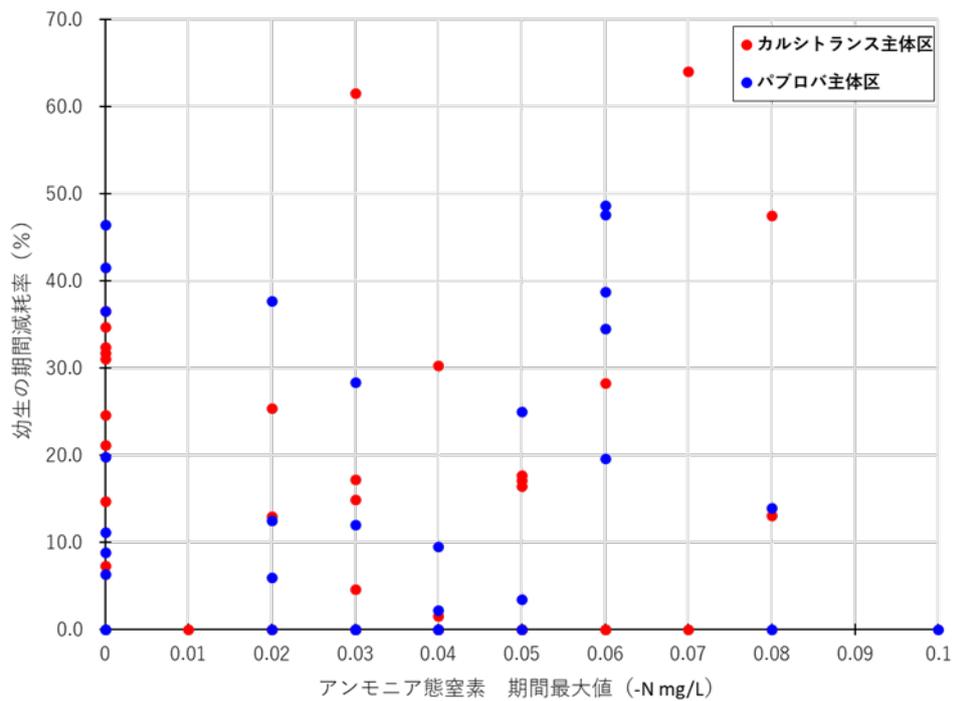


図 4. 瀬戸内海産タイラギ（5月24日採卵）の幼生飼育における換水日間の総アンモニア態窒素量の最大値と幼生減耗率の関係

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-2 (ICT 技術導入の検討)

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

手塚尚明

【目的】

近年、二枚貝の漁業・養殖において稚貝の安定確保の需要が高まっており、費用や労力をできるだけかけずに種苗を量産する技術の開発が課題となっている。二枚貝の種苗生産では、技術者が飼育水槽中の餌料密度や幼生の成長・生残等を常時把握し、餌料添加等の適切な飼育管理を行っている。しかしながら、種苗の安定確保を要望する各地先の生産現場では熟練の技術者が不足あるいは不在である場合が多く、飼育管理の省力化、省人化が課題となっている。本課題では、種苗生産時の主要な飼育管理工程である餌料密度管理の省力化を実現するため、飼育水槽内の餌料密度を定期的に計測し、餌料密度低下時に自動的に餌料藻類を添加する、自動給餌装置の検討を行った。このような装置は費用が高額になりがちであるが、数万円程度で製作可能な低価格な構成とすることを条件とした。また、自作可能な単純な構成とすることで、装置の作動原理を理解した上で使用でき、トラブル時のメンテナンスや、装置の改良、アップデートが容易になる利点がある。

【方法】

自動給餌の実現には、飼育水中の餌料密度の計測が第一に必要であり、R5年度は、飼育水中の餌料密度を自動的に計測する方法について検討した。餌料密度の計測にはいくつかの方法があるが、飼育水を細胞計算盤に採取し、顕微鏡下で餌料藻類細胞数を直接計数する方法が基本である。その他の代替手法として、クロロフィル計で蛍光値を計測し、別途求めたクロロフィル蛍光値と餌料密度との検量線をもとに餌料密度を推定する方法や、コールターカウンターを用いて粒子数を計測する方法等がある。クロロフィル計による推定は簡便ではあるものの、餌料藻類の蛍光強度変化等の影響を受けて検量線が変化し、精度が低下する場合がある。コールターカウンターは粒子数を高速に計測できるが、機器の導入コストが高い。また、クロロフィル計、コールターカウンターとも、飼育水中に従属栄養性の鞭毛虫が増殖した場合に気づきにくい問題がある。一方、顕微鏡による直接計数法は精度が高い反面、労力負担が大きい。そこで、餌料密度を計測する方法として顕微鏡による計数を自動化する方法を検討し、飼育水をフローセルに注水し、顕微鏡画像を取得後、画像処理により計数する装置を試作した。

【結果および考察】

試作した自動計数装置を図1に示した。試作装置は、顕微鏡 (Swift SW-150)、USB 接眼レンズ用カメラ (Swift EC5R)、ラズパイ (Raspberry Pi3A+)、チューブポンプ (古江サイエンス RJ-PJDC)、リレー (TLC241A、330Ω 抵抗)、フローセル (μ -Slide Luer0.2)、シリコンチュー

ブ (1.6×3.2、2×4)、チューブコネクタ (フィッティング VRS106、コネクタ EBC24)、電源 (ラズパイ、ポンプ、顕微鏡用) を用いて構成した。

画像処理による計数値を細胞数密度 (cells/ml) に換算するため、細胞計数盤 (C-chip DHC-F01) を対物 4 倍レンズで撮影し、画像面積を計測した (図 2)。画像面積は、幅 1.46mm×高 1.09mm=1.59mm² であった。試作装置のフローセルの深さは 0.2mm であるが、深さ方向の両端の一部はフォーカスが合わない。フォーカスが合わない範囲にある細胞は計数されない可能性があり、正確な合焦範囲は不明であるが上端下端 2.5%ずつ計 5%をフォーカスが合わずに計数されない範囲と仮定した。画像体積は、面積 1.59mm²×深さ 0.2mm×合焦範囲 0.95=0.302mm³≒0.3μl として cells/ml に換算した。

顕微鏡観察による直接計数と、試作装置による画像計数結果を比較するため、パプロバ培養液を 5 段階の濃度に希釈した試料をそれぞれの方法で計数した。顕微鏡観察による直接計数は、試料をルゴール固定後、界線スライドグラス (松浪 S6300) に採取し、10-20 グリッド (グリッド 1mm×1mm、深さ 1mm) 中の細胞を計数し、グリッド体積 1μl として cells/ml に換算した。試作装置による画像計数は、1L フラスコに試料を収容し、ポンプ作動と撮影を繰り返すことで 90 画像を取得し、画像処理による計数値を画像体積 0.3μl として cells/ml に換算した。また、クロロフィル計 (ターナー Aquafluor) を用いて試料のクロロフィル蛍光値を計測した。直接計数と画像計数の結果を図 3 に示した。画像計数により得られた細胞数密度はクロロフィル蛍光値との間に高い直線性を示し、直接計数と画像計数による計測結果は 1 : 1 に近かった。試作装置は餌料密度を十分精度よく計測しうると考えられる。参考として、撮影計数画像の例を図 4 に、撮影計数に使用したプログラムを図 5 に示した。今後、実際の飼育環境下で計測を行い、汚れによる精度低下等の課題抽出に取り組むとともに、給餌ポンプを追加し餌料密度の制御に取り組むことが課題である。

【図表】

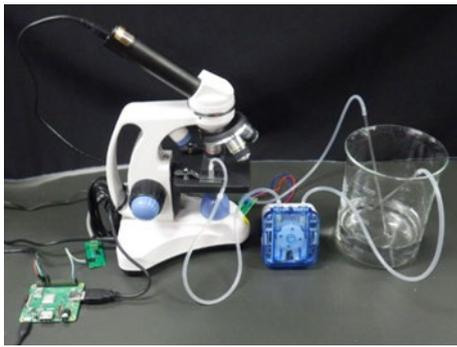


図 1. 試作した自動計数装置

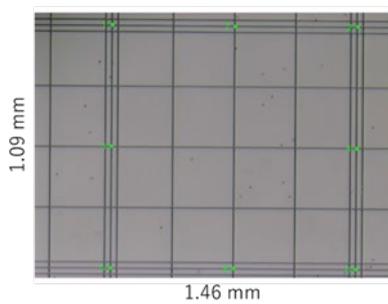


図 2. 画像面積の計測（対物 4 倍レンズ）

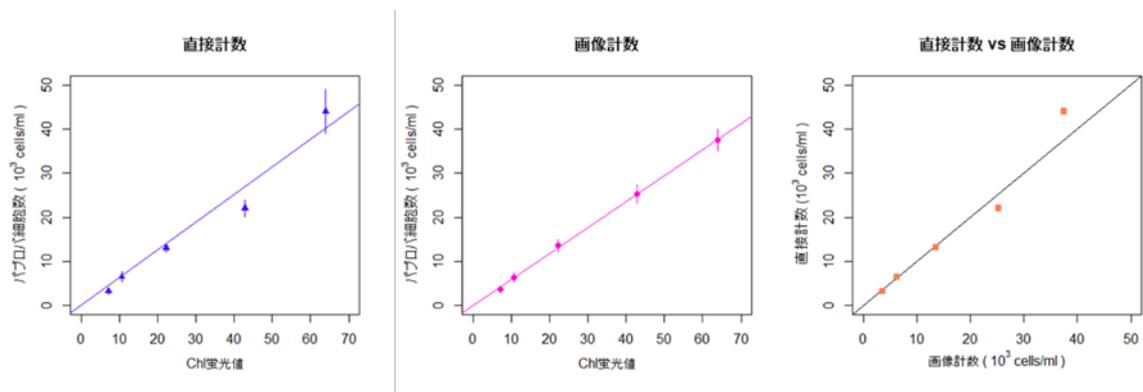


図 3. 顕微鏡観察による直接計数と試作装置による画像計数の比較

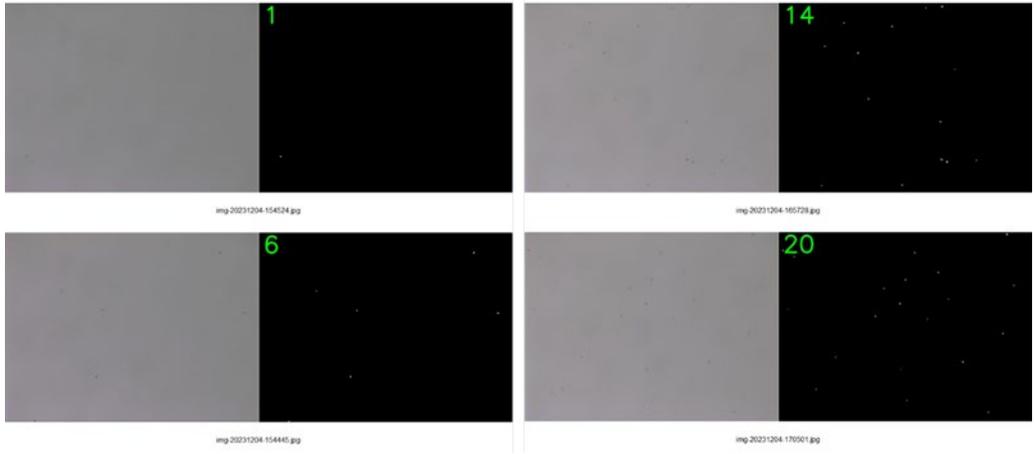


図 4. 試作装置による撮影計数画像の例

```
#!/bin/bash
progname=${basename $0}
version="ver.2023122"
basedir="/home/pi"
nframe=30
pump=21

main() {
  echo "progname $progname version start: $(date +"%Y/%m/%d %H:%M:%S")"

  echo "pump set output"
  raspi-gpio set $pump op
  sleep 1
  echo "pump on"
  raspi-gpio set $pump dh
  sleep 5
  echo "pump off"
  raspi-gpio set $pump dl
  sleep 0.5

  for i in $(seq 1 $nframe)
  do
    raspi-gpio set $pump dh
    sleep 0.1
    raspi-gpio set $pump dl
    sleep 5

    echo "capturing $i"
    img=$(date +"%Y/%m/%d-%H%M%S")
    ffmpegcam -a --no-banner -d /dev/video0 -r 640x480 -s Gain=100 -S 60 $basedir/img-$img.jpg
    done

    echo "pump set input"
    raspi-gpio set $pump ip

    echo "counting"
    python3 $basedir/count.py

    echo "moving img files"
    mv $basedir/img*.jpg $basedir/img/
    mv $basedir/cnt*.jpg $basedir/img/
    echo "finish: $(date +"%Y/%m/%d %H:%M:%S")"
  }

main >> $basedir/count.log 2>&1 &
```

count.sh

```
import cv2
import numpy as np
import glob
import os

basedir = "/home/pi"
src_files = glob.glob(basedir+"/*.jpg")
cnt_file = basedir + "/count.txt"
cnt = []
kernel = np.ones((3,3), np.uint8)

for src in src_files:
  img = cv2.imread(src, cv2.IMREAD_GRAYSCALE)
  h, w = img.shape[:2]
  mean, std = cv2.meanStdDev(img)
  thresh_value = int(mean - 3*std)
  thresh, img_thresh = cv2.threshold(img, thresh_value, 255, cv2.THRESH_BINARY)
  img_thresh = img_thresh
  img_thresh = cv2.morphologyEx(img_thresh, cv2.MORPH_CLOSE, kernel)
  contours, hierarchy = cv2.findContours(img_thresh, cv2.RETR_EXTERNAL, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)

  black_img = np.zeros((h,w), np.uint8)
  for i in range(len(contours)):
    cv2.drawContours(black_img, contours, i, 255, -1)

  black_img = cv2.cvtColor(black_img, cv2.COLOR_GRAY2RGB)
  cv2.putText(black_img,
    text=str(len(contours)),
    org=(10,50),
    fontFace=cv2.FONT_HERSHEY_SIMPLEX,
    fontScale=2,
    color=(0,255,0),
    thickness=3,
    lineType=cv2.LINE_AA)
  dst = basedir + "/cnt-" + os.path.basename(src)
  cv2.imwrite(dst, black_img)

with open(cnt_file, mode='a') as f:
  f.writelines(src + ", " + str(len(contours)) + "\n")
```

count.py

図 5. 撮影計数プログラム

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 - 1

千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

林 俊裕

【目的】

ハマグリの子生から殻長 1mm までの稚貝は、水温 33°C、60%希釈海水（塩分 19~20）の飼育条件の下で育成できることが分かっているが、着底初期に大量死亡が発生することがあり、種苗生産では着底期間を速やかに乗り切り、この間の大量死亡を軽減することが重要である。

そこで、昨年度までに着底までの飼育期間の短縮を目指し、愛知県で得られた知見を踏まえ、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 に調整する低塩分飼育試験を実施した結果、着底終了までの期間が 1 週間程度となり、従来と比較して 3~4 日間程度着底終了までの飼育期間を短縮することが可能となった。しかし、昨年度は着底前後の減耗を防ぐことができず、着底期から殻長約 1mm までの生残率は 1.8~9.3%にとどまった。

また、人工種苗から育成した親貝による採卵では、十分量の受精卵を得ることができたが、ふ化率が 9.2~28.0%にとどまり、ふ化率の向上が大きな課題として残った。

そこで、今年度は、人工種苗から育成した親貝の干潟からの回収時期や養成方法、ふ化条件の改良によるふ化率向上を目指すとともに、これまでの低塩分飼育試験で確認された飼育条件に加えて、飼育環境の清浄化を強化して種苗生産を実施することにより、種苗生産レベルでのハマグリ種苗の安定生産の再現性を検証した。

【研究方法】

種苗生産規模による飼育試験（幼生期から殻長 1mm 稚貝）

干潟でカゴや被覆網で育成した親貝を採卵の直前~約 3 週間前に飼育施設に回収し、1 日 3 回程度 40,000cells/ml の密度でキートセロス・グラシリスを給餌し養成した。採卵は常法により実施し、受精卵は 1 トン水槽にて水温 28°C 止水で管理し、翌朝ふ化した幼生を回収した。飼育試験は、幼生期から殻長 1mm 以降まで常時塩分 19 で飼育する通常塩分飼育、「D 型幼生期 19、アンボ期 15、着底期 12、着底後 15、翌日以降 19」で飼育する低塩分飼育の 2 条件とし、時期を分けて実施した。

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 753×903×200mm : RX-130 L、ダイライト（株））を配置し、その上に飼育水槽（内寸 903×1343×200mm : 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30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D型幼生を63～145万個/器×6器収容した。また、着底期には着底促進のため粒径150～200 μ m程度に粉砕した貝化石約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1 m^3 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 $^{\circ}$ Cに加温し、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、毎日海水でシャワー洗浄し、飼育容器は可能な限り、前日に塩素消毒済みの容器に交換した。

餌料はパプロバ・ルテリおよびキートセロス・カルシトランスを細胞密度1:1の割合で与えた。給餌目安は、1日1回以上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、飼育水槽内の餌料密度が2,000細胞/mlを下回らないよう調整した。

【研究成果の概要】

種苗生産規模による飼育試験(幼生期から殻長1mm稚貝)

採卵は6月29日～8月10日に5回実施し計1億4,793万個の受精卵を得た。ふ化率は平均15.8%で、高いふ化率には至らなかったが、試験に使用するふ化幼生は十分量を確保できた。ふ化幼生を用いた飼育試験結果を表1～2に示す。着底期(足を使用して匍匐する個体が現れ、浮遊する個体が減少する)までの幼生の残留率(選別とへい死による減耗を除いた種苗の残留率)は通常塩分飼育で21.8%、低塩分飼育で11.0～38.8%であった。浮遊幼生飼育時にはフルイによる選別を2～3回実施し、成長良好個体のみ飼育を継続したため、残留率は50%を下回ったが、実用的には特に問題のない数の着底期幼生を確保できた。着底期に達するまでの期間は通常塩分飼育で10日間、低塩分飼育では7～9日間で低塩分飼育が1～3日間短かった。

着底がほぼ完了する飼育日数は、通常塩分飼育で20日間、低塩分飼育では14～17日間で、低塩分飼育により3～6日間短縮できた。

着底期から殻長1mm以上に達するまでの生残率は、通常塩分飼育が1.5%、低塩分飼育では34.3～57.1%で低塩分飼育では昨年(1.8～9.3%)を大きく上回った。

生残率が向上した要因としては、「着底期前後の摂餌量減少を見越した給餌量の調整」、「高水温に強いキートセロスの混合給餌」、「飼育容器の交換」により水質悪化の防止と飼育環境の清浄化に努めたことが効果を発揮したと考えられた。

以上のことから、アンボ期以降に塩分条件を段階的に12.5まで下げ、ほぼ着底が完了した段階で塩分を15から19に上げることで、着底までの飼育日数の短縮化が可能であることが実証できた。また、飼育環境の清浄化により、着底期以降の生残率低下を防ぐことが出来た。

【次年度に向けた提言】

引き続き種苗生産した稚貝を干潟で育成して親貝を養成し、適切な時期に回収して、陸上水槽で十分な管理を施すことで、ふ化率の高い健全な幼生を確保し、種苗生産の効率化を目指す。

【図表】

表 1-1. 通常塩分による浮遊幼生飼育結果 (D 型～着底期)

飼育期間	塩分	開始時個体数	開始時平均殻長	着底期個体数	残留率	着底期平均殻長
6/30-7/9	19	124 万	0.12mm	27 万	21.8%	0.18mm

表 1-2. 通常塩分による着底稚貝飼育結果 (着底期～1mm)

飼育期間	塩分	開始時個体数	開始時平均殻長	終了時個体数	生残率	終了時平均殻長
7/10-9/22	19	27 万	0.18mm	0.43 万	1.5%	1.41mm

表 2-1. 低塩分による浮遊幼生飼育結果 (D 型～着底期)

飼育期間	塩分	開始時個体数	開始時平均殻長	着底期個体数	残留率	着底期平均殻長
7/5-13	19 (7/5-11)	520 万	0.11mm	57 万	11.0%	0.17mm
	15 (7/12-13)					
7/14-21	19 (7/14-18)	322 万	0.11mm	125 万	38.8%	0.18mm
	15 (7/19-21)					
8/1-8	19 (8/1-6)	422 万	0.11mm	150 万	35.5%	0.17mm
	15 (8/7-8)					
8/11-17	19 (8/11-16)	326 万	0.11mm	101 万	31.1%	0.17mm
	15 (8/17)					

表 2-2. 低塩分による浮遊幼生飼育結果（着底期～1mm）

飼育期間	塩分	開始時 個体数	開始時平 均殻長	終了時 個体数	生残率	終了時平 均殻長
	12.5 (7/14-19)					
7/14-9/22	15 (7/19-20) 19 (7/21-)	57 万	0.17mm	30.2 万	53.0%	1.21mm
	12.5 (7/22-25)					
7/22-9/22	15 (7/26) 19 (7/27-)	125 万	0.18mm	69.9 万	55.9%	1.01mm
	12.5 (8/9-11)					
8/9-10/25	15 (8/11-12) 19 (8/13-)	150 万	0.17mm	85.6 万	57.1%	1.28mm
	12.5 (8/18-21)					
8/18-10/25	15 (8/22) 19 (8/23-)	101 万	0.17mm	34.6 万	34.3%	1.04mm

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-2

愛知県水産試験場

澤田知希・平井 玲・和久光靖・日比野学・中島広人・進藤 蒼・
阿知波英明・武田和也・荒川純平・松井紀子・佐藤和久

【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、着底期前後の飼育環境における好適な水質、餌料密度等を検証した。

【研究方法】

1) 採卵

採卵は6月と8月に行った。親貝は、令和5年6月に、三河湾沿岸の蒲郡市三谷地先および豊川河口において、徒手または小型底びき網で採捕した。親貝は砂ろ過海水を入れたプラスチック製容器(横115cm×縦70cm×深さ18cm)に収容し、冷却装置(Tetra CPX-75)を用いて水温を17°Cとし通気及び換水を行い採卵当日まで静置した。採卵にあたっては小林¹⁾の方法に準じて、直射日光下に40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収容し、ヒーターを用いて2°C/時間の速度で30°Cまで昇温することにより、採卵誘発を行った。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。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収容海水を目合い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収容した。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、サイフォンにより飼育水を目合い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、17°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、アンストライト(粒径:2mm)を敷いたプラスチック製のかごに収容して当所地先の港(小佐)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

浮遊期の好適塩分および給餌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2回実施した。飼育は、ダウンウェリング法²⁾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收容し、観賞魚用ポンプ（エーハイム コンパクトオン 300）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、加温は幼生を收容した円形容器と観賞魚用ポンプの間隙にヒーターを入れて行った。

塩分試験の試験区はフルグロウン期幼生まで塩分19で飼育した試験区（N1）とアンボ期に19から15に落とした試験区（N2）とした。給餌試験では翌朝の飼育水槽内の餌料（残餌）密度を1,000cells/ml（N3-1）、2,000cells/ml以上（N2-1,N5-1）、5,000cells/ml以上（N4-1）とする試験区を設けた。なお、飼育水は塩分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、翌朝の飼育水槽内の餌料密度が塩分試験では2,000cells/ml以上、給餌試験ではそれぞれ設定した残餌密度となるように適宜調節して10,000~35,000cells/mLを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、毎日幼生の発育状況等を顕微鏡下で確認し、フルグロウン期になったことを確認した段階で、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

浮遊幼生飼育試験に継続して、6月から10月にかけて2回試験を行った。着底期以降の好適塩分条件を検討する塩分試験では、D型幼生期からアンボ期まで塩分19で飼育したフルグロウン期幼生を着底稚貝まで塩分19で飼育する試験区（N1-1,2）、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、着底期の飼育水の塩分を12.5、着底後の塩分を19とする試験区（N2-1,2）を設定した。また、好適給餌条件を検討する給餌試験では、翌朝の飼育水槽内の餌料（残餌）密度を1,000cells/ml（N3-1）、2,000cells/ml以上（N2-1）、5,000cells/ml以上（N4-1）とする試験区と、翌朝の飼育水槽内の餌料（残餌）密度を2,000cells/mlとし、着底期に5日間（7~11日齢）の無給餌期間を設ける試験区（N5-1,N3-2）を設けた。なお、遊泳器官がみられず匍匐行動のみ観察された時点で着底完了とした。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、1日1回給餌前に全量換水した。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塩分試験では2,000cells/ml以上、給餌試験ではそれぞれ設定した密度となるよう適宜調節して0~37,000cells/mlを1日2回、換水作業後（11時頃）と夕方（17時頃）に給餌した。試験終了時に、目合い250 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、生残率を求めた。

4) 摂餌量・成長の推定

比較的生存率の高かった試験区（N2-1、N4-1、N5-1）において浮遊幼生・着底稚貝飼育試験で得られた殻長と体重、試験終了時の個体数、摂餌量のデータから種苗生産の際に摂餌量や成長を推定するための関係式を検討した。各関係式の算出は表計算ソフト（エクセル）に

より行った。殻長については測定日間を線形で補完し、日齢ごとの殻長を推定した。また、着底稚貝飼育試験の回収日における重量および殻長の測定結果から殻長と体重の関係式を求めた。日別の現存個体数については浮遊幼生飼育試験・着底稚貝飼育試験における収容および回収時の個体数を表計算ソフト（エクセル）のソルバーを用いて係数を求めた指数関数により補完し推定した（図 1）。1 個体 1 日あたりの摂餌量については、給餌密度から残餌密度を差し引いた摂餌密度と水槽水量からパブロバの細胞数を算出し、現存個体数で除して 1 個体が摂餌した細胞数を算出した（図 2）。殻長・体重の日間成長算出にあたっては、実測値のサンプリング誤差による負の値の影響をなくすため、日齢と殻長・体重それぞれの関係式を求めた後、関係式に日齢を代入して算出した殻長・体重の値を用いた。

【研究成果の概要】

1) 採卵

採卵結果を表 1 に示した。令和 5 年 6 月に採取した親貝を用いて、6 月と 8 月に計 6 回採卵を実施し、合計 3,315 万粒の受精卵を回収した。採卵翌日に D 型幼生への変態を確認し、合計約 621 万個体の正常 D 型幼生を回収した。受精率は 51.5～87.8%、ふ化率は 16.4～95.6%、正常 D 型幼生回収率は 8.8～92.4%であった。得られた正常 D 型幼生を浮遊幼生飼育試験に用いた。

2) 浮遊幼生飼育試験

試験は 6 月 24 日～6 月 30 日、8 月 23 日～8 月 31 日の計 2 回実施し、結果を表 2 に示した。塩分試験について、1 回次では N1-1 の生残率が 75.2%、N2-1 が 61.1%と差がなかったが、2 回次では N1-2 の生残率は 27.0%と N2-2 の 72.4%と比べ低く、アンボ期の好適塩分は判別できなかった。給餌試験においては、翌朝の飼育水槽内の餌料密度を 5,000cells/ml 以上とした N4-1 の生残率が他の試験区に比べ低く、翌朝の飼育水槽内の餌料密度が 1,000～2,000cells/ml 程度となる給餌量が好適であると考えられた。

3) 着底稚貝飼育試験

試験は 6 月 30 日～8 月 16 日、8 月 31 日～10 月 13 日の計 2 回実施し、結果を表 3 に示した。塩分試験について 1 回次では N1-1 の生残率が 0.0%と N2-1 の 15.7%より低かったが、2 回次では N1-2 の生残率は 7.0%と、N2-2 の 4.7%とあまり差がなく、フルグロウン期の好適塩分を判別できなかった。しかし試験の初期、着底期に塩分を下げず塩分 19 で飼育した N1-1 では多量のへい死が生じたことから、着底期に塩分を下げることによって大量へい死発生の防止になる可能性が考えられた。給餌試験について、N3-1 の生残率が 4.2%と N2-1 の 15.7%、N4-1 の 13.5%より低く、回収日の平均殻長も他の試験区に比べ小さかったことから、着底期以降の給餌量は翌朝の飼育水槽内の餌料密度が 1,000cells/ml 程度となる量では不足であると考えられた。また、無給餌期間を設ける試験では 1 回次では N5-1 の生残率が 17.1%と無給餌期間以外の条件が同じ N2-1 の 15.7%より高く、2 回次でも N3-2 の生残率が 11.0%と N2-2 の 4.7%より高かったことから、着底期に 5 日間程度の無給餌期間を設けることで生残率が向上すると考えられた。1 個体 1 日あたりの摂餌量は着底期に一時的に減少しており（図 2）、浮遊幼生から着底稚貝へと変態するこの時期には餌の必要量が減ることが明らかになった。また着

底期に無給餌期間を設けた試験区の生残率が良好であったことは、残餌の影響を受けない清浄な飼育環境が寄与している可能性が考えられた。

着底については、1 回次・2 回次いずれの試験においても 12 または 13 日齢で完了しており、塩分・餌料環境による大きな差は認められなかった。

4) 摂餌量・成長の推定

推定された個体数を基に算出した 1 個体 1 日あたりの摂餌量は (図 2)、無給餌期間を設けない試験区でも 7 日齢前後から一旦減少し、15 日齢前後から再び増加して 30 日齢前後には約 20,000 細胞 / 個体・日に達し、その後も指数関数的に増加した。

推定した日別の殻長と摂餌量から求めた殻長と摂餌量の関係は、

$$y = 0.1638e^{0.004x} \quad (x : \text{殻長 } (\mu\text{m}), y : \text{摂餌量 (細胞数 / 個体・日)})$$

であった (図 3)。また、摂餌量と殻長日間成長の関係は、

$$y = 16.843x^{0.6742} \quad (x : \text{摂餌量 (細胞数/個体・日)}, y : \text{殻長日間成長 } (\mu\text{m}/\text{日}))$$

体重日間増重との関係は、

$$y = 3.9412x^{1.3037} \quad (x : \text{摂餌量 (細胞数 / 個体・日)}, y : \text{体重日間増重 } (\mu\text{g}/\text{日}))$$

であった (図 4,5)。

【まとめ】

6 回の採卵で 3,315 万粒の受精卵を回収し、令和 2 年度から導入した 2°C/時間の緩慢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。

浮遊幼生飼育においては、翌朝の飼育水槽内の餌料密度が 1,000~2,000cells/ml 程度となる給餌量が好適であると考えられた。

着底稚貝飼育については、塩分試験において着底期に塩分を下げることで大量へい死発生の防止になる可能性が考えられた。給餌試験では着底期以降の給餌量は翌朝の飼育水槽内の餌料密度を 1,000cells/ml 程度とする量では不足であると考えられた。また、着底期には摂餌量が一時的に減少するが、着底期に 5 日間程度の無給餌期間を設けることで生残率が向上すると考えられた。

試験において得られた、殻長・摂餌量・体重・個体数のデータから、殻長と摂餌量・摂餌量と成長の関係を推定した。これらの関係は種苗生産において、摂餌量からの飼育個体数推定や、給餌量の予測に活用することで生産計画の作成や都度の修正において有用な知見となると考えられた。

【参考文献】

- 1) 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.
- 2) 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.

表 1. 採卵結果

採卵日	親貝 採取日	親貝 採取場所	親貝 使用数 (個)	採卵数 (万個)	収容卵数 (万個)	受精卵数 (万個)	受精率 (%)	D型幼生 回収数 (万個)	消化率 (%)	正常 D型幼生 回収数 (万個)	正常D型 回収率 (%)	親貝1個 あたり 正常D型 幼生数 (万個)	親貝 平均 肥満度 (%)
			a	b	c	d	d/c*100	e	e/c*100	f	f/c*100	f/a	
6/12	6/2	三谷	117	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	14.5
6/13	6/2	三谷	109	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	16.0
6/22	6/19	三谷	285	216	216	123	56.7	102	47.4	86	39.8	0.3	14.0
	6/20	豊川	72	893	893	504	56.5	330	37.0	159	17.8	2.2	16.9
6/23	6/19	三谷	180	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	18.9
	6/20	豊川	297	1990	1990	1026	51.5	327	16.4	176	8.8	0.6	16.6
8/21	6/19	三谷・豊川	124	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	10.8
	6/20	小佐畜養											
8/22	6/19	三谷・豊川	157	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	15.9
	6/20	屋内畜養											
8/22	6/19	三谷・豊川	124	217	217	190	87.8	207	95.6	200	92.4	1.6	10.8
	6/20	小佐畜養											
8/22	6/19	三谷・豊川	152	0	-	-	-	-	-	-	-	0.0	15.9
	6/20	屋内畜養											
合計				3315	3315			967		621			

表 2. 浮遊幼生飼育試験結果

試験区	試験条件		収容日	回収日	D型収容数 (万個)	FG回収数 (万個)	平均生残率 (%)	平均殻長 (μm)
	給餌 (cells/mL)	塩分 D型→アンボ						
	a	b						
N1-1	2,000 以上	19→19	6/24	6/30	35.1	26.4	75.2 \pm 12.7	187 \pm 13
N2-1	2,000 以上	19→15	6/24	6/30	35.1	21.5	61.1 \pm 17.6	198 \pm 13
N3-1	1,000 程度	19→15	6/24	6/30	35.1	27.2	77.4 \pm 14.3	197 \pm 17
N4-1	5,000 以上	19→15	6/24	6/30	35.1	20.3	57.7 \pm 15.6	197 \pm 17
N5-1	2,000 以上	19→15	6/24	6/30	35.1	22.7	64.5 \pm 9.4	193 \pm 18
N1-2	5,000 以上	19→19	8/23	8/31	66.6	18	27.0 \pm 3.2	200 \pm 14
N2-2	5,000 以上	19→15	8/23	8/31	66.6	48.2	72.4 \pm 10.3	193 \pm 13
N3-2	5,000 以上	19→15	8/23	8/31	66.6	47.4	71.2 \pm 6.0	196 \pm 19

表 3. 着底稚貝飼育試験結果

試験区	試験条件		収容日	回収日	FG収容 (万個) a	稚貝回収 数 (万個) b	平均生残率 (%) b/a*100	平均殻長 (μm)	着底 完了時 日齢
	給餌 (cells/mL)	塩分 FG→着底稚貝							
N1-1	2,000 以上	19→19	6/30	8/16	18.0	0.0	0.0 ± 0.0	756 ± 22	13
N2-1	2,000 以上	12.5→19	6/30	8/16	18.0	2.8	15.7 ± 0.7	1111 ± 424	13
N3-1	1,000 程度	12.5→19	6/30	8/16	18.3	0.8	4.2 ± 0.3	818 ± 98	13
N4-1	5,000 以上	12.5→19	6/30	8/16	18.2	2.4	13.5 ± 0.8	1186 ± 340	13
N5-1	2,000以上 7~11日齢無給餌	12.5→19	6/30	8/16	18.3	3.1	17.1 ± 1.3	1116 ± 210	13
N1-2	5,000 以上	19→19	8/31	10/13	18	1.3	7.0 ± 3.4	1406 ± 400	12
N2-2	5,000 以上	12.5→19	8/31	10/13	18	0.8	4.7 ± 1.9	1336 ± 466	13
N3-2	5,000以上 7~11日齢無給餌	12.5→19	8/31	10/13	18	2.0	11.0 ± 5.2	1141 ± 315	13

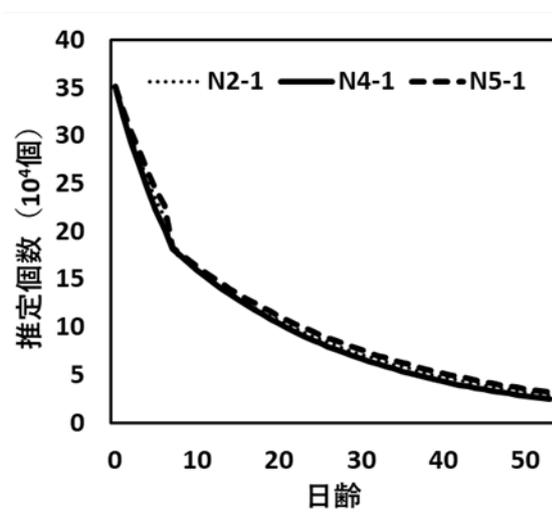


図 1. 推定した日齢ごとの個体数

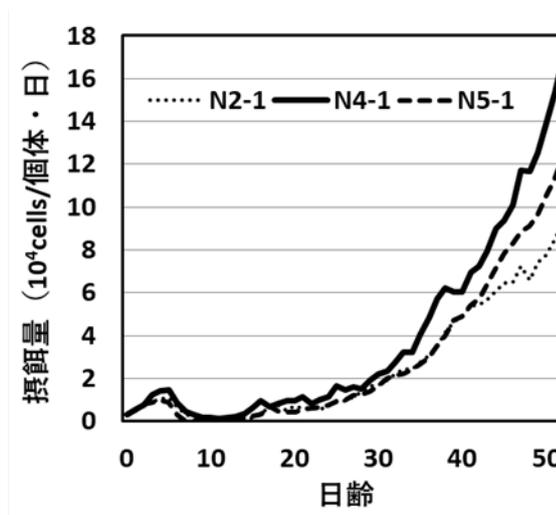


図 2. 1 個体あたり 1 日の摂餌量

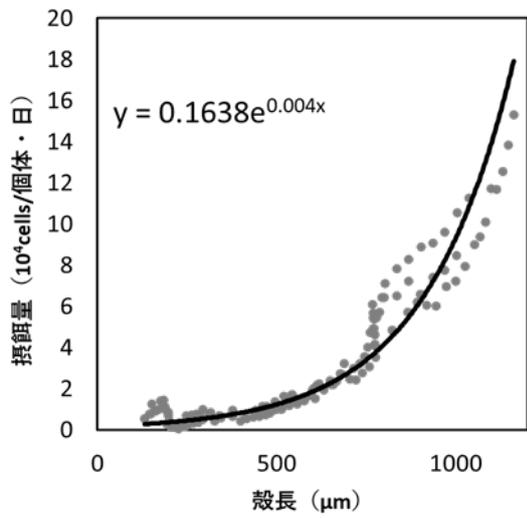


図 3. 殻長と摂餌量との関係

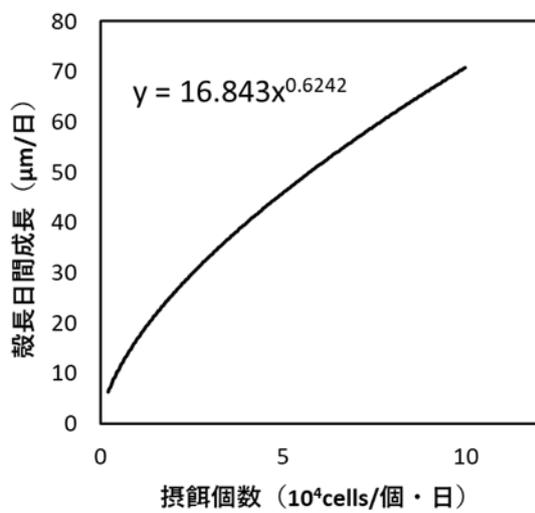


図 4. 摂餌量と殻長の日間成長との関係

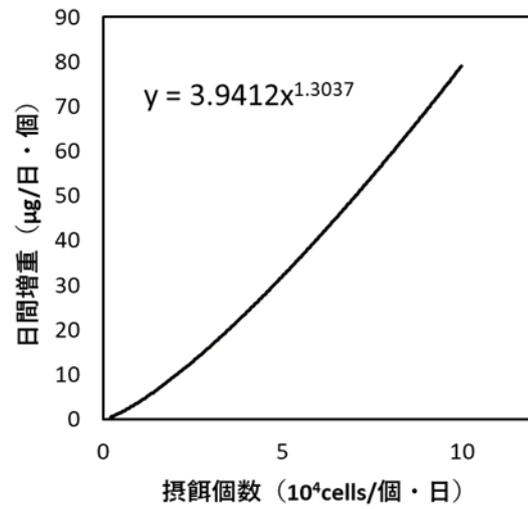


図 5. 摂餌量と体重の日間増重との関係

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-3

公益財団法人 三重県水産振興事業団 三重県栽培漁業センター
濱辺 篤

【目的】

ハマグリ人工種苗生産では、着底期から着底初期の大量減耗が問題となっている。本研究では正常 D 型幼生の孵化率および平均殻長と生残率の関係を明らかにすることで、着底期から着底初期の大量減耗を軽減できないか検討した。

【研究方法】

親貝の養成と採卵技術の開発事業で実施した、集団・個別採卵で得られた幼生の中から、正常 D 型幼生の孵化率および平均殻長に違いがあるロットを選び、下記に記した方法で飼育を行った。また、飼育終了まで各飼育ロットは混ぜずに、各飼育ロットの生残率を算出した。

<浮遊幼生飼育方法>

ダウンウェリング方式（牧野ら 2016）で水温 33°C、飼育海水は塩分調整を行い、飼育開始時から殻長 150 μ m までは塩分 19、殻長 150~180 μ m は塩分 15、殻長 180 μ m から着底完了までを塩分 12.5、着底完了後は塩分 19 とした（長谷川 2019）。飼育海水には砂濾過海水を 1.0、0.5 μ m の順にフィルターで濾過し、紫外線殺菌装置（ヤンマー船用システム製：YUV-4T）を用いて殺菌した海水（以下、UV 海水）と紫外線殺菌装置で殺菌した水道水を、使用する前日に混合させ、塩分を調整し 1kw チタンヒーターで 33°C に加温した。飼育容器には 30L パンライトを高さ 15cm 程度で輪切りにし、底面にプランクトンネット（目合い 58、80、106 μ m）を張ったものを用いた。飼育水槽には 100L パンライト（SLP-100）を使用し、13 Φ のパイプを縦 76cm（先端には 25 \times 13 Φ の異形ソケット） \times 横 38cm（先端は 13 Φ キャップ、パイプには直径 2.5mm の穴を 1cm ピッチ）の器具の下方からエアレーションを行い、エアリフトを用いて飼育容器上方から 0.5~1.0L/分で散水し、飼育水を循環させた。

餌料は培養したパブロバ・ルテリ（以下、パブロバ）とキートセロス・ネオグラシーレ（以下、ネオグラシーレ）およびキートセロス・カルシトランス（以下、カルシトランス）を使用した。給餌量は飼育水中の残餌をコールターカウンターで 1 日 2 回測定し、餌料濃度が 5,000~120,000cells/ml になる様に調整した。

着底期（殻長 180 μ m 前後、匍匐行動あり）には粒子径約 160~200 μ m に揃えた貝化石を飼育容器の底面に薄く覆う程度に散布した。飼育水と飼育水槽は毎日交換し、飼育容器及び幼生は UV 海水で毎日シャワー洗浄した。飼育容器は幼生の成長に合わせ、目合いの大きいものに適宜交換した。ベラムを用いて浮遊する個体がいなくなったのを着底完了とし、着底完了から 3 日以上飼育した後、稚貝飼育Iに移行した。

<稚貝飼育 I >

1.4m³水槽（有効水量 300L）を用いて、ダウンウェリング方式により殻長 250~500 μ m 前後

までの期間を飼育した。1.4m³水槽に飼育容器を最大で6個収容し、水中ポンプ（レイシー製：RSD-20）を用いて飼育容器上方より1.8~3.0L/分で散水し循環させた。飼育容器には浮遊幼生飼育と同型の容器の底面にプランクトンネット（目合い132、150μm）を張ったものを使用した。飼育水はUV海水と水道水を混合して塩分を19に調整し、1kwチタンヒーターで30~31℃に加温した。飼育水と飼育水槽は毎日交換し、飼育容器及び稚貝はUV海水で毎日シャワー洗浄した。稚貝の平均殻長が260μm以上に成長後、目合い150μmのネットを用いて貝化石を除去し、稚貝のみで飼育した。餌料は、パブロバとネオグラシーレを50%ずつの割合で混合し、給餌した。給餌量は飼育水中の残餌をコールターカウンターで1日2回測定し、餌料濃度が40,000cells/mlになる様に調節した。

<稚貝飼育II>

2.0m³FRP水槽（有効水量550L）を用いて、ダウンウェリング方式により平均殻長500~1,000μm前後までの期間を飼育した。2.0m³FRP水槽に飼育容器を最大8個入れ、水中ポンプ（レイシー製：RSD-40）を用いて飼育容器上方より3.0~5.4L/分で散水し循環させた。飼育容器には稚貝飼育Iと同型容器にプランクトンネット（目合い132、150、200μm）を張ったものを用いた。飼育水槽には、遮光幕（ダイオ化成株式会社：ダイオラッセル2000）を用いて遮光した。飼育水は砂濾過海水と水道水を混合し、塩分19に調整して1kwチタンヒーターで28℃に加温したものを飼育水槽とは別の水槽に貯水した。飼育水は定流量ポンプ（名東化工機製：NE-1000）を用いて、46~69L/時間で注水し飼育容器及び稚貝は水道水で毎日シャワー洗浄した。餌料はパブロバとネオグラシーレを50%ずつの割合で混合し給餌した。給餌量は、飼育水中の残餌をコールターカウンターで1日3回測定し、餌料濃度が40,000cells/mlになる様に調整し、夜間は20,000 cells/ml以下にならないように定流量ポンプ（Iwaki製：EHN-B11VCMR）を使用し給餌を行った。

正常D型孵化率および平均殻長と生残率の関係は、エクセル統計の順位相関（Spearman）を用いて分析した。

【研究成果の概要】

浮遊幼生飼育は6つの飼育ロットで合計14水槽の飼育を実施し、結果を表1に示した。生残率は17.8~94.8%であり、全飼育ロットで着底稚貝を得ることができた。正常D型孵化率と生残率の間には相関は認められず、平均殻長と生残率の間には正の相関があった（図1a, b; それぞれ $r = -0.1386$, $p > 0.05$; $r = 0.7761$, $p < 0.01$ ）。

ロット別の飼育終了までの結果を表2に示した。平均殻長284~1,035μmの稚貝を499.4万个生産し、生残率は15.0~48.0%であった。正常D型孵化率および平均殻長と生残率の間に有意な相関はなかった（図2a, b; それぞれ $r = -0.4865$, $p > 0.05$; $r = 0.5766$, $p > 0.05$ ）。

平均殻長の大きい正常D型幼生を飼育に用いることで、着底完了までの生残率は向上することが示唆された。しかし、表3で示すように浮遊幼生期の生残率が低いロットの方が、着底完了以降の生残率は高い傾向にある。ただし、飼育数や飼育容器ごとの密度、飼育期間など様々な条件が異なるため検証が必要であり、着底完了以降の飼育方法の改善が必要と考えられた。

【次年度に向けた提言】

ハマグリの子苗生産は飼育水温 33°C のダウンウェリング飼育と塩分コントロール、さらに殻長の大きい正常 D 型幼生を用いることで、生残率をあげることが可能となった。しかし、着底完了以降から平均殻長 1mm までの好適飼育条件については今後検討する必要がある。

【参考文献】

牧野 直・小林 豊・深山義文 (2016) ハマグリ子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 (2019) ハマグリ人工子苗生産技術の開発. 令和元年度二枚貝類飼育技術研究会.

【図表】

表 1. 浮遊幼生飼育結果

飼育ロット	水槽No.	採卵日	採捕月	採卵方法	正常D型 孵化率 (%)	収容数 (万個)	開始時 殻長 (μ m)	着底 稚貝数 (万個)	生残率 (%)	殻長 (μ m)	着底 日齢 (日)
1	1	4月10日	3月群	集団	57.0	120.0	119.4	67.5	56.3	272.6	21
	2					120.0		83.6	69.7	238.0	21
	3					120.0		70.0	58.3	265.0	21
2	4	4月24日	3月群	個別	93.9	120.0	120.4	73.8	61.5	240.2	20
	5					120.0		62.5	52.1	227.0	20
	6					120.0		83.8	69.8	227.8	20
3	7	5月22日	4月群	個別	75.5	120.0	120.7	57.5	47.9	253.5	18
	8					120.0		113.8	94.8	290.5	18
4	9	5月29日	4月群	個別	94.6	120.0	118.1	23.8	19.8	287.0	20
	10					120.0		21.3	17.8	254.5	20
5	11	6月7日	3月群	個別	77.1	92.5	116.8	42.5	45.9	229.0	21
	12				90.0	90.0		120.1	40.0	44.4	238.5
6	13	6月19日	4月群	個別	61.7	120.0	118.7	42.5	35.4	265.5	21
	14					120.0		28.8	24.0	279.5	21

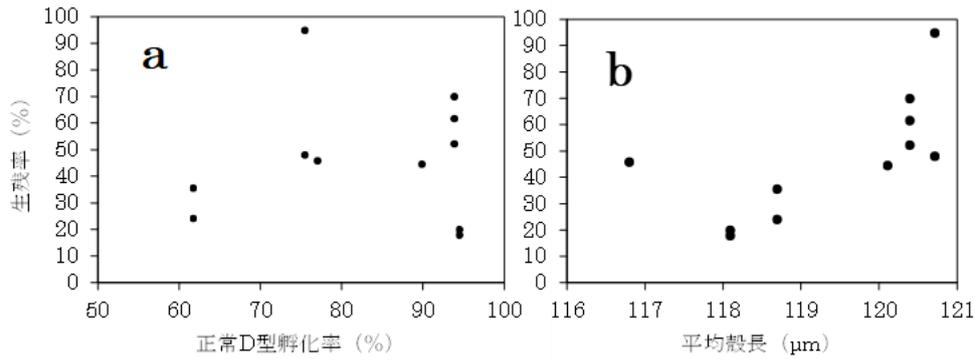


図 1. 個別採卵時の正常 D 型孵化率及び平均殻長と生残率の関係（浮遊幼生期）
（a;正常 D 型孵化率, b;平均殻長）

表 2. 飼育ロット別飼育結果

飼育回次	採卵日	採捕月	採卵方法	正常D型	開始時殻	収容数	飼育日数	稚貝数	殻長	生残率
				孵化率	長					
				(%)	(μm)	(万個)	(日間)	(万個)	(μm)	(%)
1	4月10日	3月群	集団	57.0	119.4	360.0	78	114.3	942	31.8
2	4月24日	3月群	個別	93.9	120.4	360.0	65	109.7 4.8	1,035 632	31.8
3	5月22日	4月群	個別	75.5	120.7	240.0	57	81.5 33.7	855 526	48.0
4	5月29日	4月群	個別	94.6	118.1	240.0	58	45.8 1.5	807 442	19.7
5	6月7日	3月群	個別	77.1	116.8	92.5	51	16.7 3.5	676 534	21.8
				90.0	120.1	90.0	51	12.2 1.3	710 458	15.0
6	6月19日	4月群	個別	61.7	118.7	240.0	39	62.6 11.8	518 284	31.0

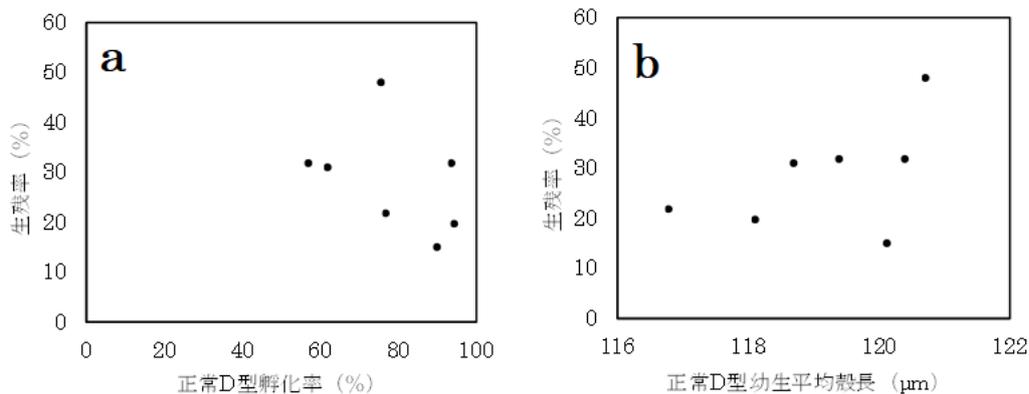


図 2. 全飼育期間の正常 D 型孵化率および平均殻長と生残率の関係
（a;正常 D 型孵化率, b;平均殻長）

表 3. 浮遊幼生期と着底期以降の生残率の比較

飼育 ロット	平均殻長 (μm)	正常D型 孵化率 (%)	収容数 (万個)	飼育開始～着底完了			着底完了～飼育終了時		
				稚貝数 (万個)	殻長 (μm)	生残率 (%)	稚貝数 (万個)	殻長 (μm)	生残率 (%)
1	119.4	57.0	360.0	221.1	258.5	61.4	114.3	942	51.7
2	120.4	93.9	360.0	220.1	231.7	61.1	109.7 4.8	1,035 632	52.0
3	120.7	75.5	240.0	171.3	272.0	71.4	81.5 33.7	855 526	67.3
4	118.1	94.6	240.0	45.1	270.8	18.8	45.8 1.5	807 442	104.9
5	116.8	77.1	92.5	42.5	229.0	45.9	16.7 3.5	676 534	47.5
	120.1	90.0	90.0	40	238.5	44.4	12.2 1.3	710 458	33.8
6	118.7	61.7	240.0	71.3	272.5	29.7	62.6 11.8	518 284	104.3

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

①瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発

山口県水産研究センター内海研究部

多賀 茂

【目的】

ふ化したタイラギ幼生は水温 25°Cでは4週間程度で変態・着底を開始し、7~8週間で約8割程度が殻長 0.6~0.8mmの着底稚貝となる。着底直後の稚貝は脆弱で環境変動や食害による斃死が多く、小型稚貝となっても低水温に非常に弱いことから、母貝団地造成用の種苗として、これらの減耗要因に耐えうるサイズまで速やかに育成する必要がある。この中間育成では、稚貝の成長・生残に最適な密度等の飼育条件、好適な餌料、作業の省力化及び低コスト化が求められる。そこで、海面でのカゴ垂下式及び山口県水産研究センターが開発した陸上水槽の1種である水路式水槽を用いた稚貝の育成（以下、陸上水路式）に取り組み、効率的な飼育方法の開発を行う。

【研究方法】

(1) カゴ垂下式

過去4か年のタイラギ育成結果では、台風による海域の低塩分化（R1年度）や、台風の影響を避けるために行った陸上避難の長期化（R2年度）で40%前後の低生残率であったが、台風の影響のなかったR3年度は80%前後の高生残率となり、タイラギの殻長も目標である殻長50mmを上回る殻長60mmの好成績となった。タイラギ中間育成は、台風の接近が要因となって育成結果が左右されることから、台風への備えについて試験を行った。

試験は瀬戸内海西部海域に位置する山口県山口市の山口湾に設置されたロープ筏で行った。育成容器には、これまでの試験結果からタイラギの育成に適していると判断された、サンテナーカゴ（幅35×長さ52×高さ27cm、底面積0.182m²、容量44.6L）を用いた（図1、2）。育成容器内に基質として砂（粒径3mm>）を約6cmの厚さに敷きつめ、内部にタイラギ稚貝を収容した。台風接近時に育成容器を避難させる水槽として、当所屋外にFRP角型3t水槽（幅140×長さ500×高さ50cm）を準備した（図3）。台風接近時に育成容器を陸上水槽に避難を行う試験区1（n=4）、海上垂下継続を行う試験区m（n=4）を設定した。各区には、水産技術研究所百島庁舎で採卵、生産された殻長7.0mmの稚貝1,000個（密度5,494個/m²）を収容した。これらの容器を2023年9月27日に水深1.5mに垂下し、育成試験を開始した。なお、稚貝の逸散を防ぐため、サンテナーカゴの蓋とカゴの穴をネット（目合1mm）で塞いだ。育成開始後は毎週1回、カゴ内部の目視観察を行い、食害生物の駆除を行った。

(2) 陸上水路式

①陸上水路の基本構成

山口県水産研究センター内海研究部の敷地内に外壁をコンクリートブロックで組み、内側

に水漏れ防止用のブルーシートを張った、1列が長さ4m×幅0.25m×深さ0.4mの陸上水路を設置し、一方から毎時900Lで生海水を給水し、もう一方から排水することで流れをつくり、水路内の流速を調整した。水路内の砂床には砂(粒径3mm>)を水面から砂床表面までの水深が3cm程度になるように敷設し、砂床表層1cmだけは粒径0.25mm>の砂を用いた。また、水路砂床内には、トリカルネット(目合7.5mm)で作成した升(0.5m×0.25m×h0.2m)を埋設しておき、種苗取り上げ時には升ごとフルイがけすることで種苗への物理的負担を軽減した。餌料用に、キャンバス水槽(16t×2基、50t×1基)でケイ酸栄養資材(ゲルカルチャー)と農業用肥料(硫安及び過リン酸石灰)やアサリ施肥育成用配合肥料(フィッシャリーMF)を投与してプランクトンを粗放的に培養した。その培養水を毎時45Lで生海水の給水と同時に給餌した。供試タイラギは前述のカゴ垂下式と同じ稚貝を用いた。水槽の遮光は農業資材である50%遮光ネットを用いた(図4)。

① 餌料添加手法改良試験

R3年度の密度試験では、最も成績の良かったのが800個/m²で生残率94.0%、平均殻長58.7mmであった。2,400個/m²では生残率が71.0%、平均殻長50.2mmと低くなったが、1,600個/m²の密度では生残率92.3%、平均殻長52.6mmとなり800個/m²と遜色なかった。しかし、移植等の作業性が向上する殻長50mm以上に限った生産数及び生産率(殻長50mm以上個数/収容密度)では800個/m²で614個及び76.8%、1,600個/m²で731個及び45.7%となり、1,600個/m²では生産率が50%を下回ってしまう。一方で、殻長50mm以上の中には殻長70mm以上の大型個体が多数含まれており成長に偏りがある。この偏りは給餌が水槽の1カ所のみで行われていることに起因すると推察された。そこで、殻長50mm以上の生産数及び生産効率を上げるため、密度試験と併せて給餌カ所を増設する育成試験を行う予定とした。収容密度を、1,600個/m²(区)、800個/m²(区)で設定し、1,600個/m²(区)には試験区として育成途中から給餌を水路中央部に増設し2カ所とし、その他の区では従来どおり給餌は1カ所とする。育成タイラギの平均殻長が40mmまで成長した時点で給餌を2カ所(2カ所目は水路中央部)にする試験区O(1,600個/m²)と、給餌カ所を1カ所のままにする試験区P(1,600個/m²)及び試験区Q(800個/m²)を設定し、試験区毎に3つの水路(n=3)を準備した(図4)。2023年9月27日に殻長7.0mmの稚貝を各試験区に収容し試験を開始した。殻長及び生残の確認は3回行い、生残は目視による全数計数を行った。前述の試験も含め、統計値の計算にはエクセル統計を用いた。

【研究成果の概要】

(1) カゴ垂下式

台風接近時における陸上避難

2023年9月27日から11月27日(61日間)にかけて殻長7.0mmの稚貝を育成容器に収容して育成試験を行った結果、生残率及び殻長は試験区1(n=3:1カゴ紛失)で51.9%±34.2及び44.4±1.8mm、試験区m(n=4)で45.9%±27.7及び48.3mm±0.8であった(図5)。育成期間中に警戒すべき台風の接近は確認されず、大雨による塩分低下も観察されなかったことから、育成容器の陸上避難は行っていない。水温は、育成開始直後に25℃を下回り、10月下旬には

20°C以下となった。Chl-a量は10月下旬まで2µg/L以下であったが、11月以降は2µg/L以上が多く確認された(図6)。試験期間中はカゴ内の目視観察を毎週行い試験区1及び試験区mの各2カゴ(計4カゴ)から甲幅長12mm~23mmのイシガニを確認できたため取り除いた。イシガニを確認したカゴ(n=3)の平均生残率は27.0%であり、イシガニを確認できなかったカゴの平均生残率64.6%を大きく下回った。カゴ垂下式における育成カゴ内の食害生物駆除の重要性が再確認された。

(2) 陸上水路式

餌料添加手法改良試験

2023年9月28日から11月28日(61日間)にかけて殻長7.0mmの稚貝を収容して育成試験をおこなった結果、試験区の生残率及び殻長は、試験区Oで89.8%±3.2及び36.7mm±1.0、試験区Pで86.4%±4.9及び37.9mm±0.7、試験区Qで92.6%±4.6及び36.9mm±1.3であった(図7)。各試験区の生残率と殻長には、ともに有意差が認められなかった(ANOVA)。育成期間中の水温・塩分・クロロフィルa量の推移を見ると、水温は10月2日に25°Cを下回り、11月上旬には20°Cを下回った。塩分は31前後で安定して推移し、クロロフィルa量は、育成期間を平均すると10.5µg/L(最少1.0µg/L、最大23.9µg/L)であったが、水温20°C以上の期間で値が低く、水温20°C以下となつてからの期間で値が高くなり、タイラギ稚貝の成長に適した給餌とはならなかった(図8)。

(3) 2020年から2023年におけるカゴ垂下式中間育成

4年間の育成結果と水質環境の関係を見ると、2020年は生残率41.5%で日間成長が0.7mmであった。台風接近のため育成カゴの陸上水槽避難を行ったが、避難期間が10日間に及び、その間に生残率の低下と成長停滞を招いた。2021年は生残率が78.0%で日間成長が0.93mmであった。台風は接近せず、育成期間の多くが水温25°C以上であり、安定した成長が続いた。2022年は生残率が57.5%で日間成長が0.71mmであった。育成開始が9月末となり、育成開始1カ月後には水温20°Cを下回った。2023年は生残率54.1%で日間成長が0.68mmであった。育成開始が9月末となり、2022年と同じような水温と育成傾向を示した(図9)。

2021年は台風の影響がなく、高水温期に育成をすることで育成が好成績であったと思われるが、他の年は、台風の影響や育成開始の遅れ等により成績が思わしくなかった。中間育成には、自然の影響とともに育成開始時期も重要な要素と思われる。

【次年度に向けた提言】

昨年度に引き続き、カゴ垂下式では台風接近時の避難対策、陸上水路式では餌料添加手法改良による殻長の偏り解消を試みる試験を行った。しかし、カゴ垂下式では台風の影響が観測されず、陸上水路式では殻長の偏りが大きくなるまで育成できず餌料添加試験を実施できなかった。いずれも、中間育成開始が9月末となり、台風シーズンやタイラギ成長の良い高水温期を活用できなかったためと思われる。

次年度以降については、中間育成開始時期に影響してくる人工種苗の早期及び安定生産に

向けた課題を優先する必要があると思われる。

【参考文献】

山本昌幸、伊藤 篤、山崎 英樹、兼松正衛. 異なる基質・密度で中間育成したリシケタイラギ稚貝の生残率と成長率. 水産増殖 2017; 65: 263-269.

Kurihara T, Nakano S, Matsuyama Y, Hashimoto K, Yamada K, Ito A, Kanematsu M. Survival time of juvenile pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae) in hyposaline water. *International Aquatic Research* 2018; 10: 1-11.

【図表】

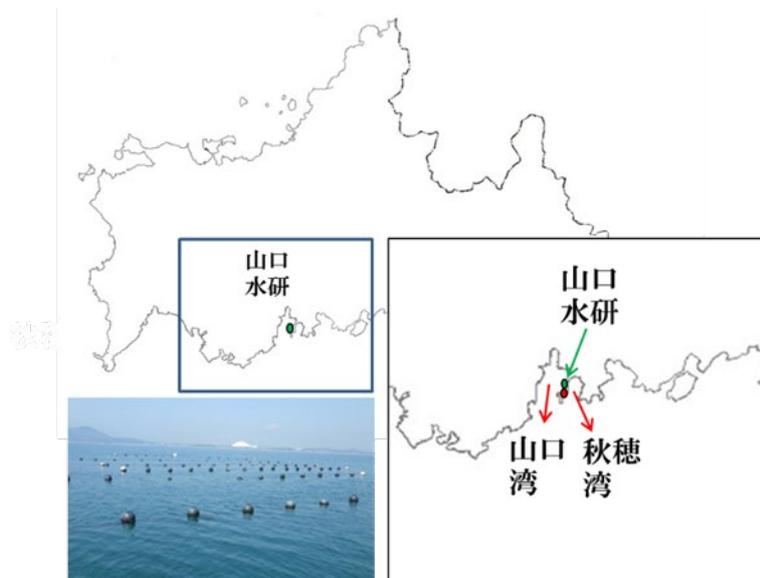


図1. カゴ垂下式及び陸上水路式育成を実施している山口湾及び山口県水産研究センター



図 2. サンテナーカゴ (育成容器)



図 3. 台風接近時の避難水槽

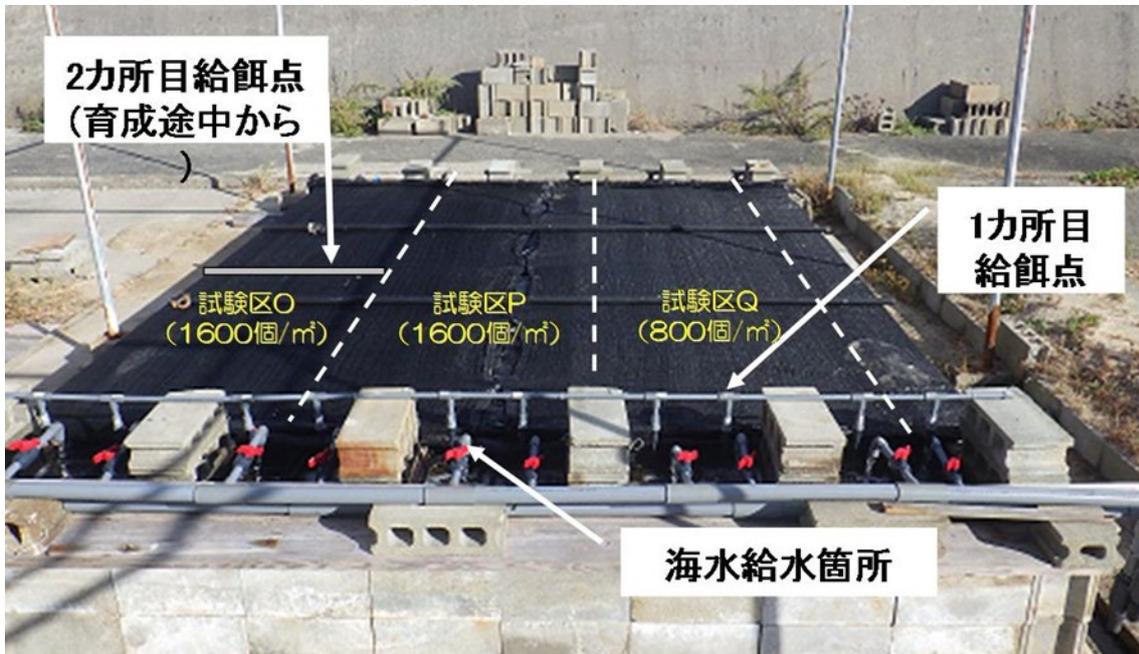


図 4. 陸上水路式育成装置

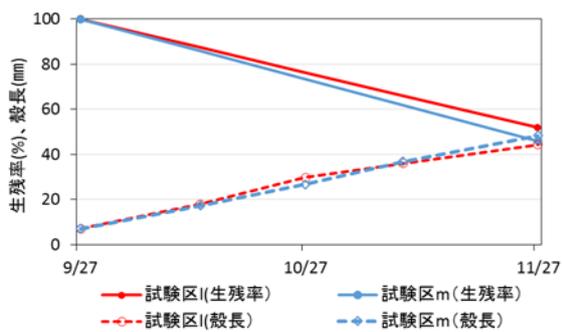


図 5. 生存率と殻長の推移 (カゴ垂下式)

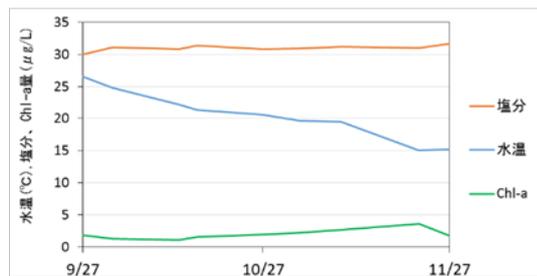


図 6. 環境項目の推移 (カゴ垂下式)

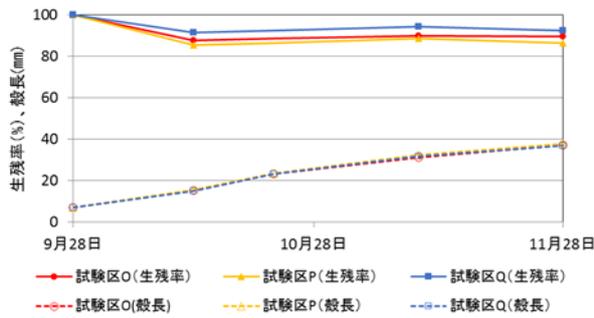


図7. 生残率と殻長の推移（陸上水路式）

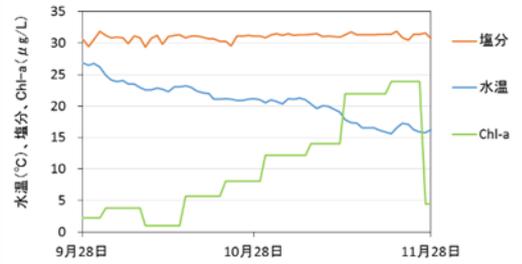


図8. 環境項目の推移（陸上水路式）

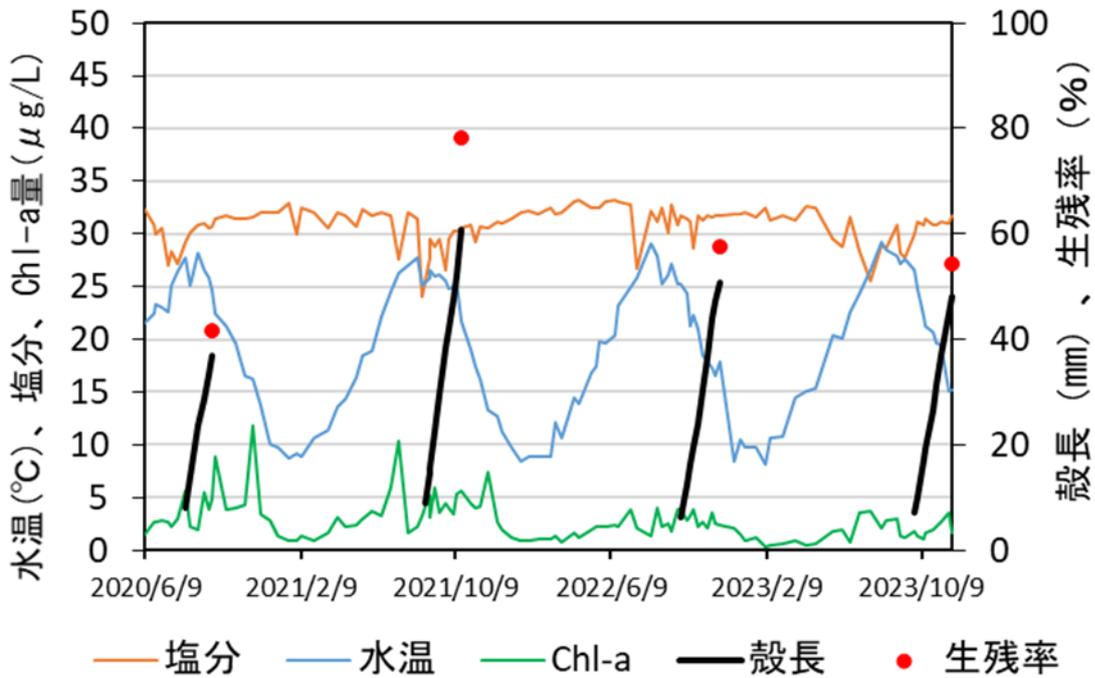


図9. 2020年から2023年におけるカゴ垂下式中間育成の推移

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

②東京湾におけるハマグリ育成技術開発

千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

林 俊裕

【目的】

これまでの試験で殻長 1mm 以降のハマグリ稚貝の育成方法効率化に向けて 3 段式循環水槽（直径 60cm の飼育容器を用いたダウンウェリング方式）での飼育密度別飼育に取り組み、殻長 3mm 程度まで育成する際は 50 個体/cm²程度が高成長を得られる最大の密度であることが明らかとなった。

また、殻長 3mm 以上の稚貝は春季に干潟高地盤域で被覆網により育成することで、秋季までに 20mm 以上まで成長し越冬可能となることが明らかになっているが、更なる大型化に向けた好適な育成条件を明らかにするため、同場所で令和 2 年 11 月から干潟で被覆網による育成密度試験（400、800、1,200 個/m²の 3 試験区）を開始した。その結果、殻長は翌年（令和 3 年）春～秋に良好な成長を示し 30mm 前後まで成長したものの以降は成長速度が鈍化し、令和 5 年 2 月の平均殻長は 37.1～39.6mm で目標とした平均殻長 40mm には到達しなかった。

殻長 30mm 以降は春夏期にも成長が停滞していることや、餌料源分析の結果（詳細はウ-⑤参照）から、設定した干潟高地盤域の育成場所は成貝サイズの生育に適していない可能性が示唆された。

そこで、殻長 3mm 以上の稚貝を成貝サイズまで効率的に育成する技術の確立を目指し、干潟高地盤域での 3mm サイズの稚貝の種貝サイズ（20mm）までの成長速度と安定的育成の再現性を確認するとともに、従来の育成場所に加えて沖側にも育成場所を設け異なる密度で育成することで、殻長 30mm サイズの個体の効率的育成条件の検討を目的とした試験に取り組む。

【研究方法】

1) 干潟での被覆網による育成試験（殻長 3mm 以降）

千葉県木更津市盤洲干潟の小櫃川河口北側干潟域の岸側（地盤高+0.9m 程度）で、令和 4 年 6 月に採卵し、陸上水槽で育成したハマグリ稚貝（平均殻長 6.0mm、50,000 個）を用いて、令和 5 年 6 月 20 日から干潟域で 3×3m 被覆網（目合 2mm）による育成試験を開始した。調査は定期的実施し、15×15cm のコアサンプラーで底質とともにハマグリ稚貝を採取し、殻長を測定して成長を追跡した。また、令和 6 年 1 月には、同サンプラーで網内 6 か所のハマグリを採取し残留率を算出した。

2) 干潟での被覆網による育成試験（殻長 30mm から成貝サイズまで）

千葉県木更津市盤洲干潟の小櫃川河口北側干潟域の岸側（調査点岸：地盤高+0.9m 程度）および約 500m 沖（調査点沖：地盤高+0.6m 程度）で、令和 2 年 6 月に採卵し陸上水槽で育

成後、干潟被覆網で育成したハマグリ（平均殻長 33.3mm）を用いて、令和 5 年 5 月 24 日から 100、400 個体/m² の 2 段階の育成密度の試験区（1.5×1.5m、目合 6mm 被覆網）での育成試験を開始した。調査は原則として月 1 回実施し、15×15cm のコアサンプラーで網内の 3 か所を採取し、成長（殻長）及び残留率を把握した。

【研究成果の概要】

1) 干潟での被覆網による育成試験（殻長 3mm 以降）

令和 5 年 6 月 20 日に開始した被覆網での育成試験では、平均殻長は開始時の 6.0mm から 8 月 31 日に 15.6mm、11 月 10 日には 23.8mm まで順調に成長した（図 1）。この間の成長速度は 3.4mm/月で、令和 3 年の同時期に実施した育成試験結果（3.6mm/月）とほぼ同等の成長が確認できた。冬季は成長が停滞し、令和 6 年 1 月 18 日の平均殻長は 24.7mm であったが、残留率は 56% で、殻長 3mm 以上の稚貝は本育成場所において安定的に 20mm 以上のサイズまで育成できることを確認できた。

2) 干潟での被覆網による育成試験（殻長 30mm から成貝サイズまで）

令和 5 年 5 月 24 日に開始した干潟岸・沖での密度別育成試験では各試験区のハマグリは順調に成長し、平均殻長は 11 月 10 日には岸が 42mm 前後、沖で 43～44mm となった（図 2）。冬季は成長が停滞し 2 月 13 日の値は岸（100 個/m²）43.7mm、岸（400 個/m²）41.8mm、沖（100 個/m²）42.7mm、沖（400 個/m²）44.4mm であった。沖の成長がやや早い傾向が見られたが、育成場所や育成密度による有意な成長差は生じなかった。残留率（開始時の生息密度から逸散やへい死による減耗を除いた率）は 2 月 13 日まで 67～89% を維持し大規模な逸散やへい死は生じなかった。今期は 5～11 月の成長速度は約 2mm/月で前年同期の約 2 倍に達し、平均殻長 40mm 以上に育成し高い残留率を維持することができたが、育成場所や育成密度による明確な差は確認されなかった（図 3）。

【次年度に向けた提言】

干潟での被覆網による育成試験

今回の試験では育成場所や育成密度による成長・生残に有意な差は認められなかったが、沖の成長がやや早い傾向が見られた。そこで、次年度は干潟上でさらに沖の育成地点を設けて、岸・中間地点・沖の 3 地点で、殻長 25mm 前後の稚貝を用いた育成試験（育成密度 400 個/m²）を行い、成長速度を比較することで育成適地選定を進めていく。

【図表】

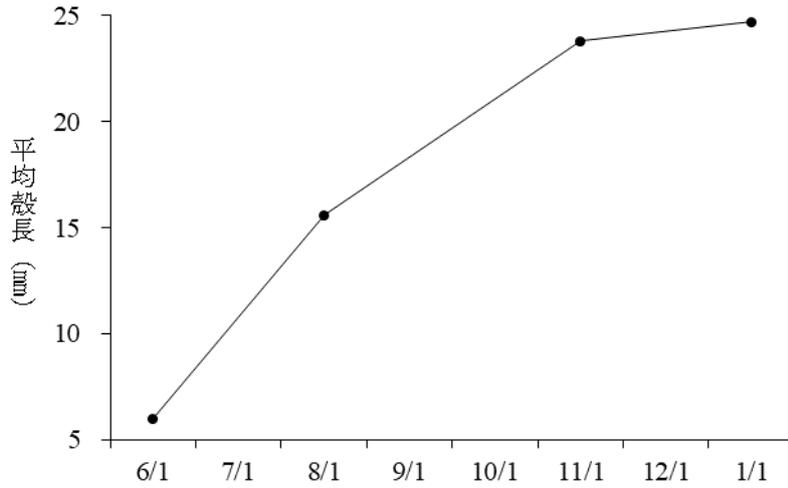


図1. 被覆網による育成試験（殻長 3mm 以降）平均殻長の推移

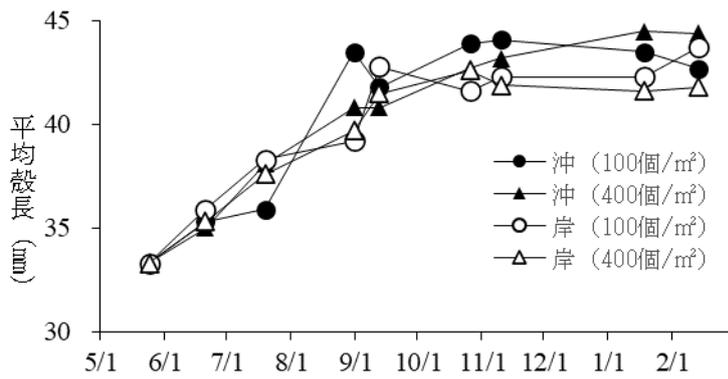


図2. 被覆網による育成試験（殻長 30mm から成貝サイズまで）平均殻長の推移

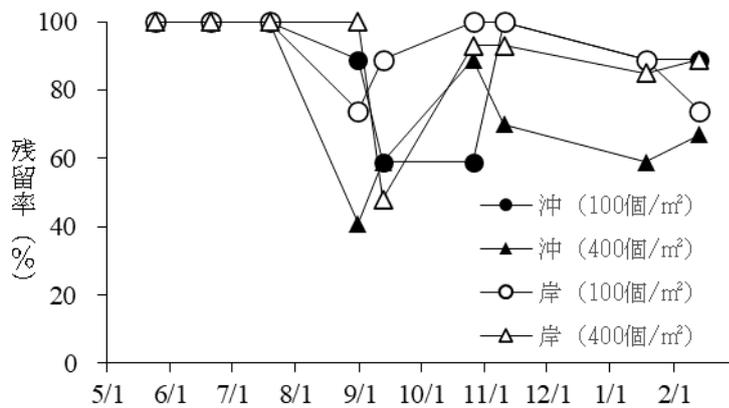


図3. 被覆網による育成試験（殻長 3mm から成貝サイズまで）平均残留率の推移

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

③伊勢湾におけるハマグリ育成技術の開発

三重県水産研究所
小林智彦・岩出将英・北川強司

【目的】

桑名地区では、昭和 50 年頃からハマグリ資源の回復に向けて、ハマグリ稚貝（人工種苗）の生産技術開発と稚貝の放流、資源管理、干潟造成などに取り組んでおり、平成 15 年頃からハマグリ資源が増加して平成 26 年には年間水揚量が約 200 トンまで回復した。

しかし、その後は資源が再び減少して令和 2 年の水揚量は約 64 トンとなっている。また、平成 28 年頃から伊勢湾中・南部の香良洲、松阪、伊勢地区などでもハマグリが増加したが、近年はこれらの地区でも水揚量が横這い、または減少傾向にある。

三重県のハマグリ資源は、いち早く桑名地区で回復した後に他地区でも増加したことから、桑名地区が伊勢湾のハマグリ母貝場である可能性が高いと考えられる。そのため、ハマグリ資源の増加、安定には、桑名地区におけるハマグリ加入量および資源の底上げが急務である。本研究では、赤須賀漁協が生産したハマグリ稚貝を屋外（干潟、黒ノリ養殖漁場など）で中間育成する適地・環境条件を把握し、屋外適地におけるハマグリ稚貝の中間育成技術を開発する。

【研究方法】

1) 陸上水槽での中間育成

鈴鹿市にある北部中間育成施設において、放流用クルマエビ種苗の中間飼育が行われる 6～11 月において、飼育排水を活用したハマグリ稚貝の中間育成試験を実施した。クルマエビの中間育成を行っている円型コンクリート水槽下に、2tFRP 水槽を 6 基設置し、円形コンクリート水槽から飼育水を引き込んで、FRP 水槽の上部に穴をあけた塩ビ管を設置して、ダウンウェリング注水した。飼育期間中は、FRP 水槽の上部を遮光ネットで覆い、毎日 1 回、全排水を行って水槽内をブラシ清掃した。また、飼育容器は毎日 2 回、水道水のシャワー散水により、飼育カラムと稚貝を洗浄した。飼育期間中は、1 週間に 1 回程度、飼育稚貝の殻長を測定した。なお、円形コンクリート水槽のクロロフィル量はプランクトンの消長により変化するため、水槽の一つに IoT 機器を設置し、リアルタイムでクロロフィル量を把握できるようにした（水槽 A）。もう一つの水槽では簡便な方法として透明度を図り、プランクトンの消長を把握した（水槽 B）。クルマエビ飼育排水は施設内の汲み上げ海水で 1/2 希釈を基本にして飼育するが、1 つの FRP 水槽では IoT 機器でクロロフィル量が低下した際、希釈を調整した。

試験に供した稚貝は、浜島栽培漁業センターで生産された人工種苗を用い、種苗の飼育容器は目合い 500 μ m のメッシュを張った塩ビ製円筒容器を用いた（表 1）。育成が進み、円筒容器で稚貝同士が重なる程度に大きくなったら選別し、大サイズを収穫ネットに入れたものを

野菜カゴに收容し、円形コンクリート水槽へ垂下し、育成を続けた。

2) 天然海域での中間育成

1) の中間育成施設は、放流用クルマエビの飼育が行われる 6 月から 11 月のみ稚貝の中間育成が可能で、飼育期間に限られる。このことから、ハマグリ産地として知られる赤須賀漁港の船溜まりで実施した(表 2)。飼育カゴは、これまでの検討により、害敵生物の侵入がほとんど見られず、付着生物の除去が比較的容易であった沖出し袋を用いることとし、昨年引き続き砂基質の有無について生育比較を行った。昨年実施した県南部の尾鷲では餌不足からへい死が多かった為試験は実施しなかった。その他、今年度は沖合のノリ漁場では冬季ハマグリ漁が行われず保護されること、羽生によりノリ漁場周辺が母貝となる成貝の分布域とも重なることからノリ漁場で保護飼育を行えないか検討することとし、垂下試験を実施した(表 3)。

【研究成果の概要】

1) 陸上水槽での中間育成

北部中間育成施設において、クルマエビ種苗の飼育排水を希釈して飼育水とするがクロロフィル量の推移を IoT 機器により随時観測し、クロロフィル量の減少した際にブラウンウォーターを他の水槽から添加する試験区(水槽 A)と、1/2 に希釈して飼育水とした水槽 B における水温、塩分を図 3 に、クロロフィル a の推移を図 4 に示した。また、透明度板による簡易餌料モニタリング結果を図 5 に示す。

水温は 20.4~29.6°C (平均 26.7°C) で、塩分は 13.1~22.8‰ (平均 16.7‰) で推移し、水槽間で差はほとんど見られなかった。クロロフィル a は、IoT 機器を設置した水槽 A において、0~634µg/L (平均 89.9µg/L) で推移した。透明度板による簡易モニタリング結果については、8 月中旬までは両水槽共類似した変動であったが、8 月中旬から下旬にかけて水槽 A では餌料濃度の低い時期が見られた。それに対し水槽 B は低下傾向にあるものの下降の程度は緩やかだった。9 月以降は逆に水槽 A はある程度の餌料濃度が確保できているものの水槽 B では餌料の低い状況が続いた。

陸上水槽における中間育成試験は、6 月 29 日から 10 月 16 日にかけて実施した。導入したハマグリ稚貝の殻長推移を図 6 に示した。

6 月 29 日の飼育開始当初平均 1mm 程度の大きさから、選別前日の 9 月 11 日の測定では水槽 A では平均 3.6~3.9mm、水槽 B では平均 4.5~5.0mm へ生育した。9 月 11 日にはカラム内でのハマグリ稚貝の重なりが多くなってきたので篩を用いて選別した。水槽 A では小型の貝も見られることから 4mm 目合い、水槽 B は 5mm 目合いを使用した。選別により篩に残ったハマグリ稚貝は大サイズとしてナイロン袋に收容し、野菜カゴに入れてクルマエビ水槽に垂下、篩から落ちた貝は小サイズとして引き続きカラムに收容した。

選別作業は前年の試験で飼育経過により生育停滞が見られた為、カラム内の飼育密度の低減を目的としてクルマエビ飼育槽に直接垂下する方式が有効とされた。

2) 天然海域での中間育成

赤須賀漁港での垂下試験

殻長の推移を図 7 に示す。令和 5 年 3 月までほとんど成長が見られず、4 月以降少しずつ成長していくものと思われたが、5 月末から 6 月にかけての断続的な降雨による低塩分によりへい死が急増し、6 月中には試験を取りやめた。

ノリ漁場での垂下試験

殻長の推移を図 8 に示す。昨年度赤須賀漁港ではほとんど成長は見られなかったが、今年度は僅かずつではあるが成長が見られた。両区共収容密度による違いは見られなかったがノリ漁場区の方が成長は良かったことから、ノリ漁場での保護飼育は有効であると考えられる。

【まとめ】

中間育成（陸上：6～11 月）

クルマエビ中間育成の排水を利用することにより、6 月末に 1mm 程度の稚貝を 10 月には 4mm 以上の稚貝を 120 万個程度安定的に生産することができるようになった。試験を行った中間育成場の施設全体を利用すると 700 万個以上の生産が可能。

中間育成及び保護飼育（野外：11 月～）

ノリ漁場での垂下飼育で少しずつ成長させて保護飼育ができる可能性がある。

【図表】



図 1. 飼育排水を活用したダウンウェリング飼育

表 1. 中間育成試験用の飼育容器

飼育容器	ダウンウェリング用 円筒容器	ラッセル養生カゴ	沖出し袋 (鉄枠入り)	野菜かご +収穫ネット
サイズ	φ39cm (1194cm ²)	40×40cm (1600cm ²)	40×40cm (1600cm ²)	
目合	500μm	1mm	1.2mm	
外観				

表 2. 天然海域における中間育成試験の飼育条件

6月までの赤須賀漁港垂下試験

実施地	開始日	沖出し袋 目合(mm)	稚貝数 (千個/飼育容器)	開始時の平均殻 長(mm)	基質
赤須賀漁港	10月31日	1.2	3.0	9.27	砂あり
		1.2	6.0	9.27	
		1.2	6.0	9.27	基質なし
		1.2	2.0	9.27	

11月からのノリ漁場等垂下試験

実施地	開始日	沖出し袋 目合(mm)	稚貝数 (千個/飼育容器)	平均殻長(mm) (11/16時点)	基質
ノリ漁場	11月9日	1.2	大サイズ 6.0	9.44	なし
		1.2	大サイズ 3.0	9.44	
		1.2	小サイズ 6.0	3.90	
赤須賀漁港	11月9日	1.2	小サイズ 3.0	3.90	なし
		1.2	小サイズ 6.0	3.90	

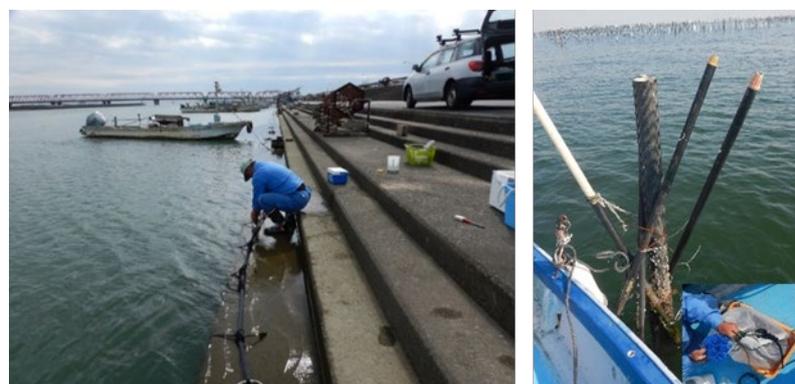


図 2. 天然海域での中間育成試験場所 (左) とノリ漁場 (右)

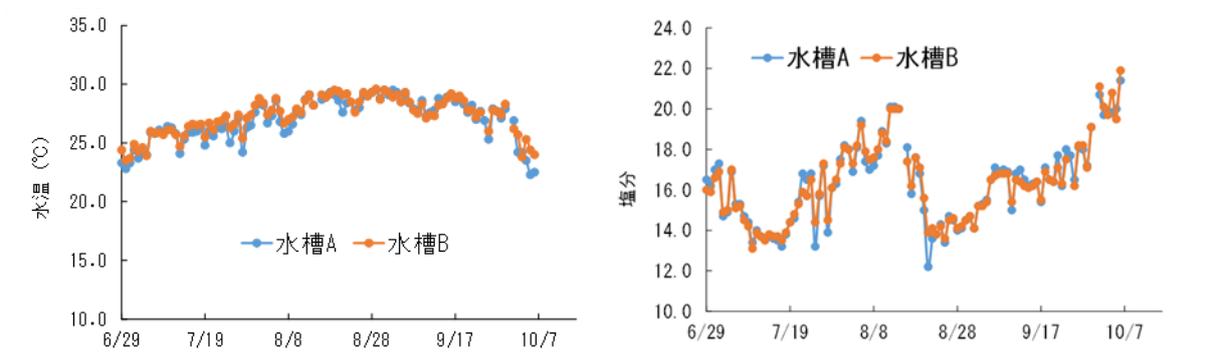


図 3. 陸上水槽における水温（左図）・塩分（右図）の推移

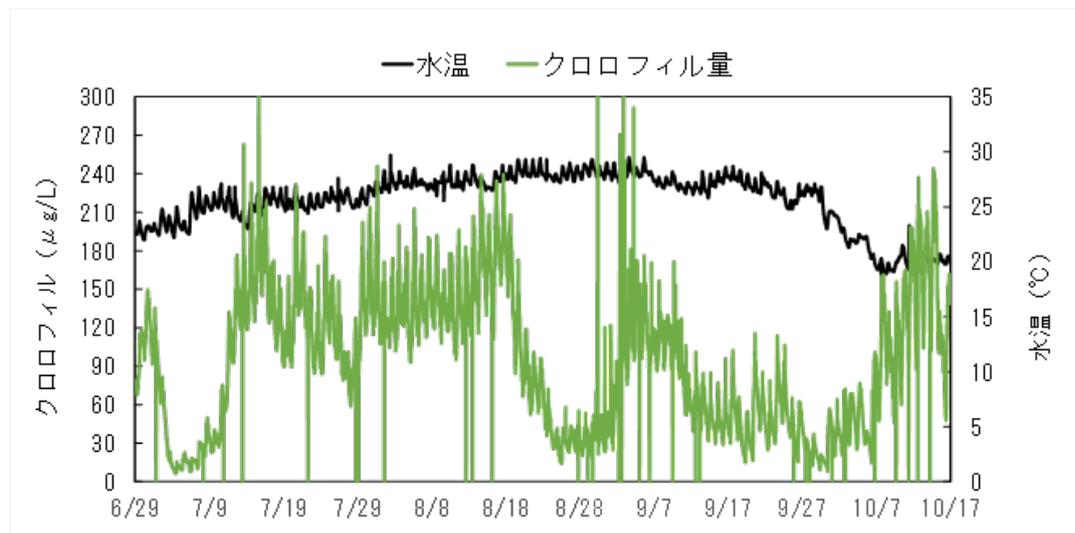


図 4. IoT 観測機器によるクロロフィルのモニタリング（クルマエビ飼育水槽 A）

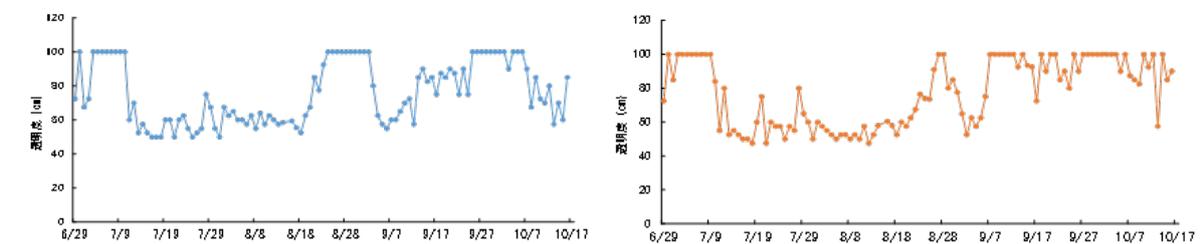


図 5. 透明度板を使った簡易餌料モニタリング（クルマエビ水槽 A,B）

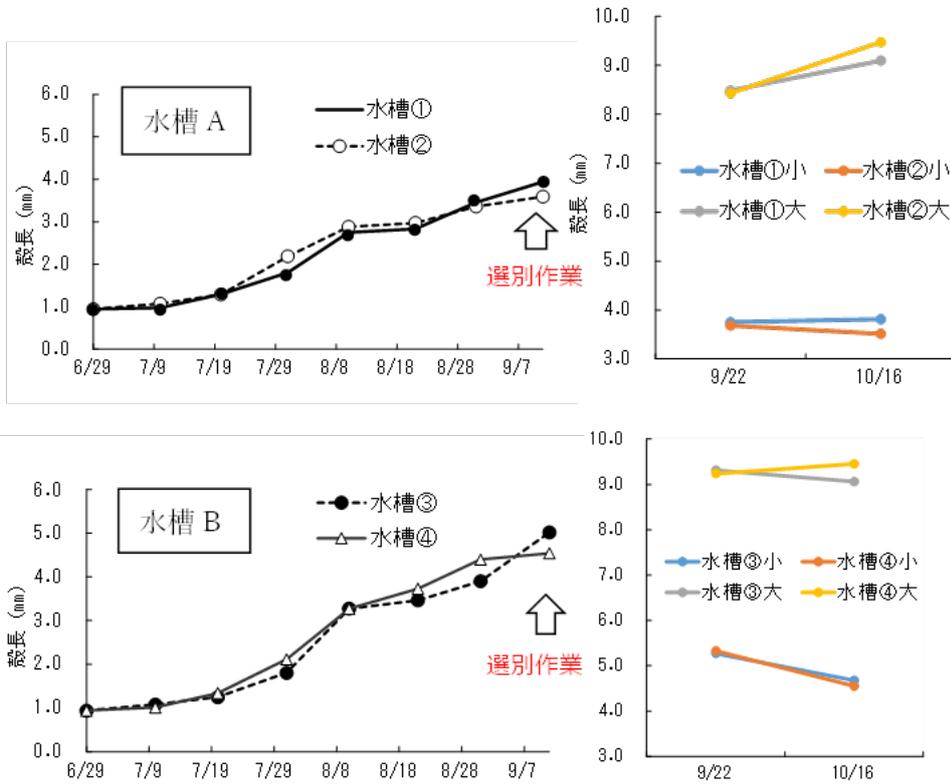


図 6. ハマグリ稚貝の殻長推移 (左 2 図：選別前、右 2 図：選別後)

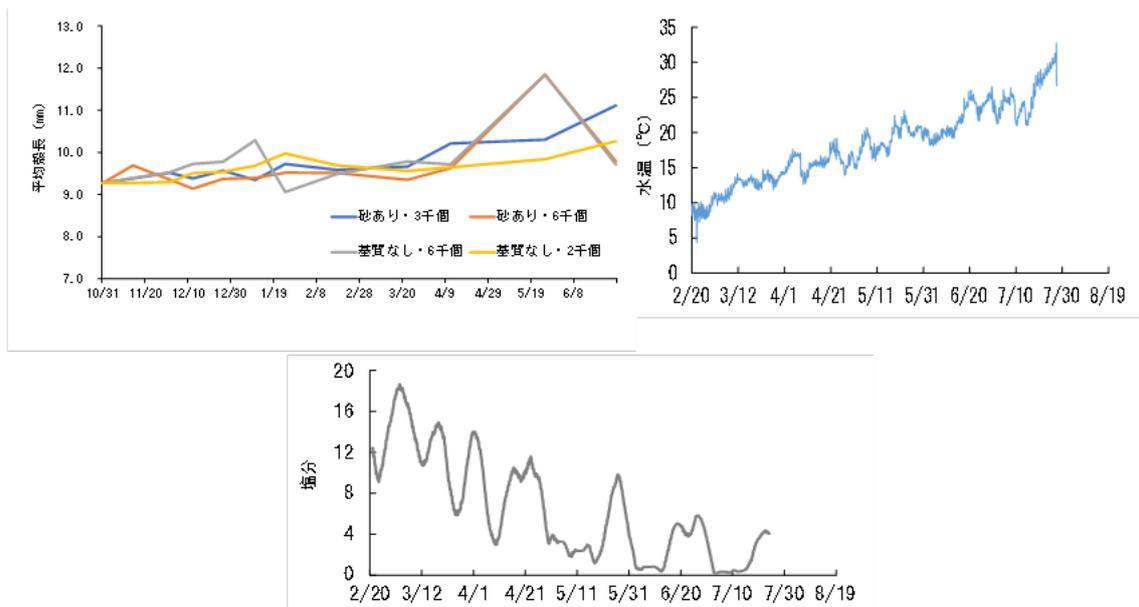


図 7. 赤須賀漁港に垂下した令和 4 年度種苗の殻長 (左上) と赤須賀漁港の水温 (右上) と塩分 (下)

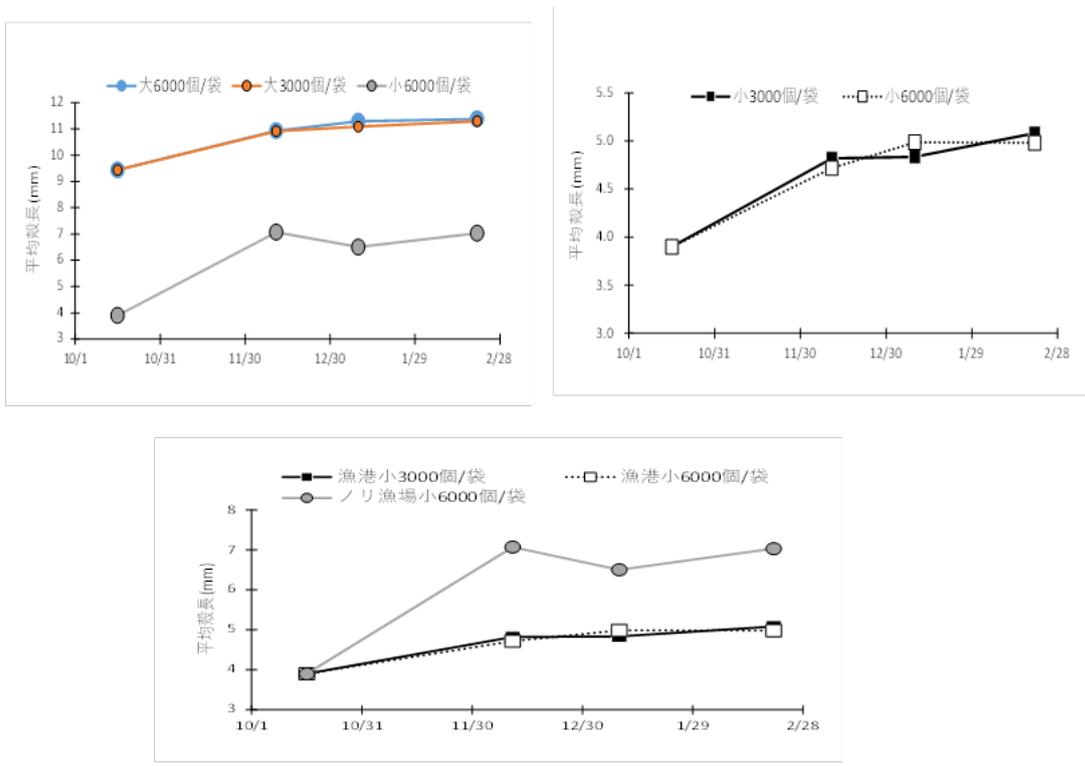


図 8. 令和 5 年度種苗の殻長推移 ノリ漁場 (左上)、赤須賀漁港 (右上)、地点間比較 (下)

★三重県版ハマグリ種苗生産流れ (案)

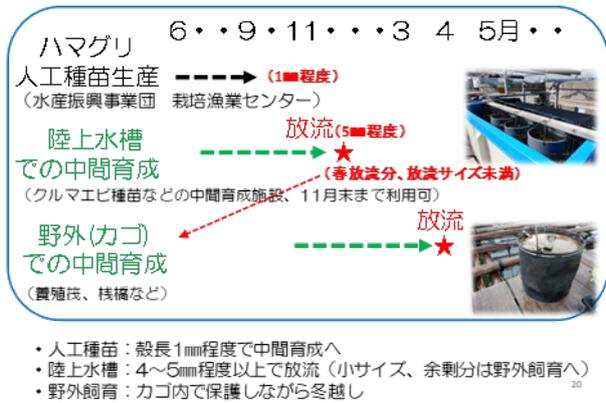


図 9. 三重県におけるハマグリの種苗生産の流れ (案)



図 10. 飼育ハマグリ種苗のサイズ

(参考情報) 中間育成目標サイズ：5mm 以上

- 中間育成サイズ 2mm：生残 21%、5mm で 81% (1991 高野)
- 土嚢枠および PE ネット枠への放流試験から、2mm サイズは初期減耗が高く、殻長 5mm 以上を放流することが望ましい。

ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

④餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発

国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所

西本篤史・高田宜武・丹羽健太郎

【目的】

沿岸漁業を下支えしてきたアサリの漁獲量が低迷する中で、近年、各地でハマグリがみられるようになってきた。ハマグリは漁獲加入までに3年近く要するため、漁場での適切な管理が求められる。本課題では、千葉県水産総合研究センターが実施する干潟域での被覆網を活用した稚貝保護育成試験において、餌料源や肥満度等の生態情報を調べることで、干潟域での適正な保護育成条件、特に収容密度条件を検討することを目的とする。

【研究方法】

1) 被覆網を用いた干潟での育成試験

本課題に用いる試料は、課題ウ. ②にて、千葉県が令和2年11月から実施した被覆網密度試験区（収容密度400個体/m²、800個体/m²、1,200個体/m²）から提供を受け、令和3年4月から令和5年3月にかけてサンプリングを行った。なお、サンプリングの頻度は、令和4年9月までは月1回、それ以降は2ヵ月に1回とした。

採取したハマグリ試料は、殻長、殻高、殻幅、湿重量を測定したのち、殻を剥き、軟体部の湿重量（キムワイプで軽く水分を除去）、前・後閉殻筋の湿重量、殻重量を測定し、肥満度を算出した。

2) カゴを用いた干潟での収容密度試験

上記の被覆網試験区において、ハマグリのサイズ、肥満度等に密度操作区間の違いが検出されなかったことから、更なる高密度試験区を設定するため、令和4年5月から、盤洲干潟の【岸】および【中間】サイトにて、より収容密度を高く設定したカゴ試験区（収容密度556個体/m²（低密度区）、1,667個体/m²（中密度区）、3,333個体/m²（高密度区））を設置した。なお、試験には殻長17.9 ± 3.1mmのハマグリを用いた。設置後、3ヵ月に1度の頻度でサンプリングを行い、1)と同様にハマグリ形態の精密測定を実施した。なお、サンプリング時に死殻も採取し、死亡率を算出した。

3) モニタリング指標としての同位体比

上記2試験にて採取したハマグリ試料について、切り出した前・後閉殻を真空凍結乾燥機にて乾燥させ、クロロフォルム・メタノール混合溶液およびメタノールを用いて脱脂処理した。オープン（60℃）で再び乾燥させた後、0.8mgを目安に錫箔に詰め、炭素・窒素安定同位体比（以下、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ）分析に供した。 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析には、元素分析計 vario MICRO cube（Elementar Analysensysteme, Langensfeld, Germany）と質量分析計 IsoPrime 100（Elementar UK Ltd., Cheshire, UK）の連結システムを用いた。

【研究成果の概要】

1) 被覆網を用いた干潟での育成試験

ハマグリ¹の肥満度における季節性を確認すると、令和3年の春先に最も高く、夏季にかけて低下。秋季にわずかに上昇し、再び冬季に低下した(図1)。本来、餌料環境を考慮すると、このような季節性を示すことが期待されるが、令和4年の春には肥満度がほぼ上昇せず、通年、肥満度が低かった。これは、令和3年秋の時点で、平均殻長が30mmを越え、懸濁物食性が強まっていたため(課題エ-⑤参照)、試験を実施した岸寄りのサイトが、棲息に適した場所では無くなったことによる影響と考えられる。但し、こうした肥満度が低い状態においても、令和4年の春から夏にかけて、CN比の上昇がみられた。これは、閉殻筋中のグリコーゲン含量が増えたことによる影響である可能性が考えられ、成熟との関連が疑われる。なお、これら肥満度およびCN比に加えて、 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ についても、収容密度区間に明瞭な傾向は検出されなかった。これは、被覆網内でハマグリ個体が局在し、収容密度に関する操作が被覆網下において反映されなかったことが要因として考えられる。

2) カゴを用いた干潟での収容密度試験

令和4年5月に設置したハマグリ(殻長: $17.9 \pm 3.1\text{mm}$)は、18ヵ月後の令和5年11月時点で、【岸】 $39.1 \pm 3.1\text{mm}$ 、【中間】 $41.0 \pm 4.1\text{mm}$ へと成長した。種苗サイズのハマグリを使用したカゴ試験区では、【岸】で成長が良い旨を報告したが(令和3年度報告書の課題エ⑤)、殻長20mm前後になると、少し沖出しした方が、ハマグリ¹の成長が良いように思われる。また、肥満度についても、【岸】に比べて【中間】の方が高い傾向が見られた。これは、上述の通り、殻長30mm付近で懸濁物食性が強まることによって、沖出しした方が冠水時間および摂餌可能時間が長くなることによる影響と考えられる。但し、密度区間で比較すると、必ずしも低密度であるほど、成長が良いといった傾向は確認されなかった(図2)。

但し、死亡率に着目すると、高密度区において、低・中密度区に比べて高い死亡率が確認され、【中間】サイトでは令和5年2月から5月の間に、【岸】サイトでは令和5年5月から8月の間に、大量斃死²が起きた。死亡率はそれぞれ、31.8%および32.3%であった。令和5年度報告書において、令和5年2月のサンプリング時に、表出個体が多かった旨を報告したが、この現象がその後の大量斃死に繋がったと考えられる。以上のことから、高密度に収容することによって、確かに大量斃死²が起こるリスクがあることを確認することが出来た。また、冬季に大量斃死²の起きた【中間】サイトでは、春以降、死亡率が大きく低下したのに対して、夏季に大量斃死²の起きた【岸】サイトでは、秋以降もダラダラと死亡が確認された。これは、冬季減耗の場合は、春季の好適な餌環境下で肥満度が回復する一方で、夏季減耗の場合はその後の秋・冬期にも斃死²が継続することを示唆するものであり、今後、温暖化の進行と共に注視していくべき事象と考えられる。

3) モニタリング指標としての同位体比

カゴを用いた中間育成試験では、高密度区ほど、 $\delta^{13}\text{C}$ が高く、 $\delta^{15}\text{N}$ が低い傾向が確認されつつある。一般的に、底生微細藻類の $\delta^{13}\text{C}$ は、植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ よりも高いことが知

られており、高密度に収容することで植物プランクトンを巡る競争が起き、底生微細藻類の寄与が相対的に上昇したのかもしれない。これについては、更なるデータの蓄積が必要であり、引き続き、次期事業の中で報告したい。

【次期事業に向けた提言】

被覆網を用いた中間育成試験では、収容密度区間に違いは検出されなかった。一方で、2年間におよぶ長期データを採取したことにより、ハマグリ $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ の時間変動を確認することが出来た。これらのデータは、河川水（塩分 0）および干潟底質中のクロロフィル a 濃度と同期的に変動しているように見られていることから、河口干潟における生産性との関係性が疑われる。こうした長期変動は、少なくとも 5 年は見る必要があることから、継続した調査が必要である。ハマグリの棲息場である河口干潟を中間育成場・母貝場として活用するためには、まずは、場の生産性について理解を深める必要がある。そのためには、干潟だけでなく、流入河川の感潮域から干潟までを網羅した調査を行う必要がある。

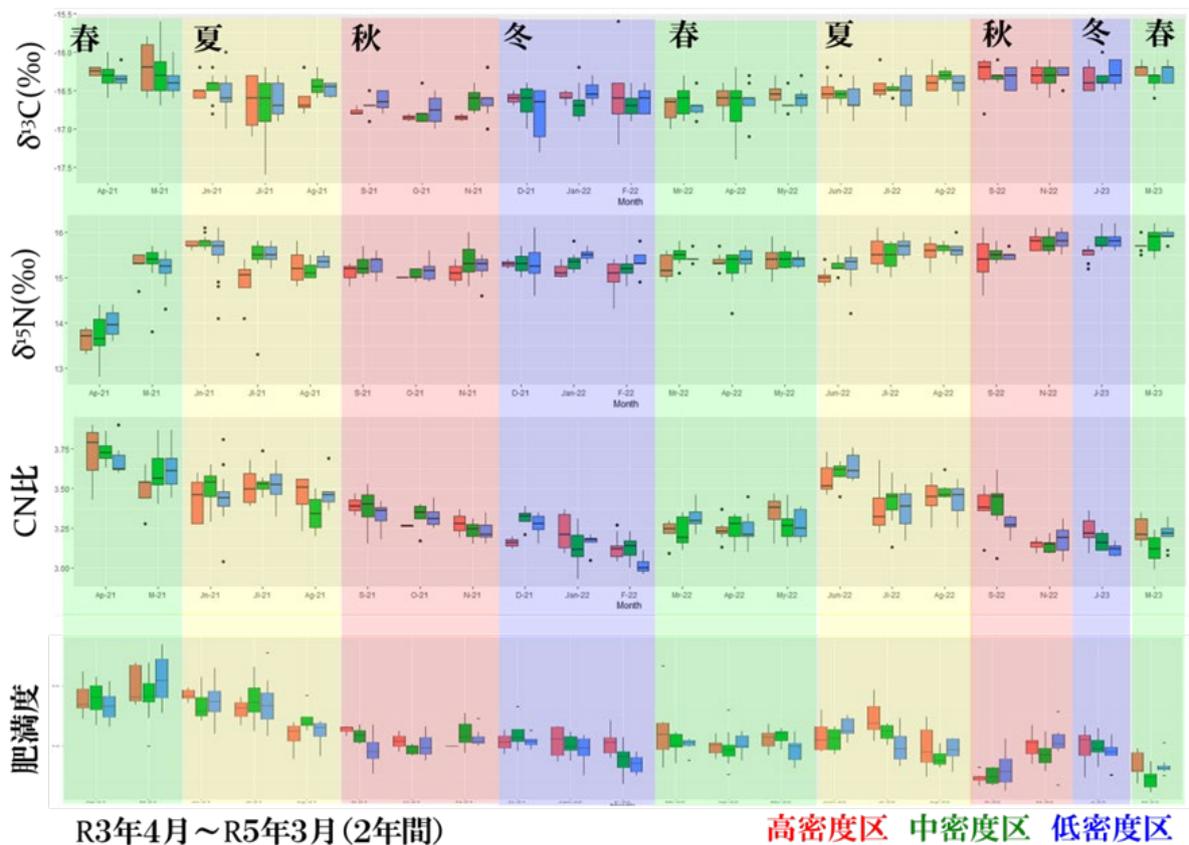


図 1. 被覆網試験区におけるハマグリの炭素・窒素安定同位体比、CN 比、肥満度の推移

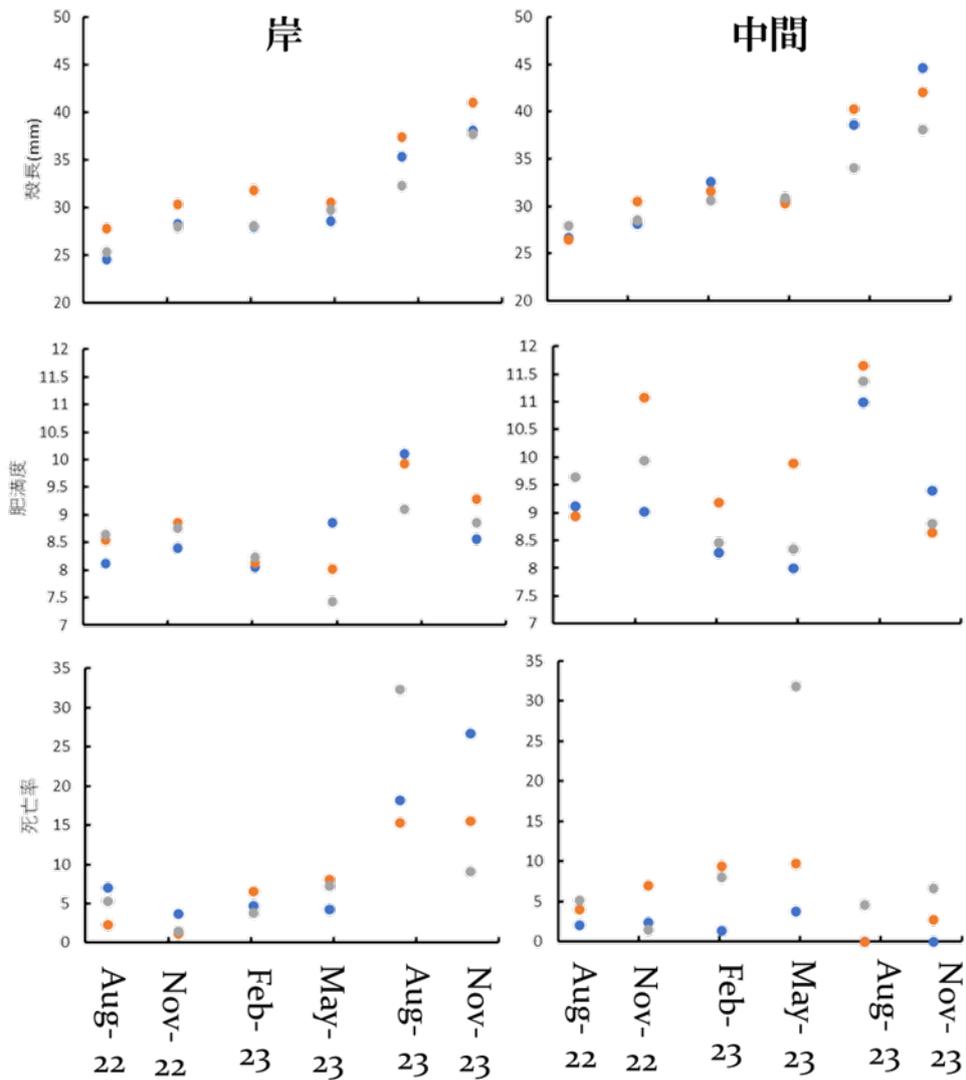


図2. カゴ試験区における殻長、肥満度、死亡率の推移

青色：低密度区、オレンジ色：中密度区、灰色：高密度区

エ. 母貝団地造成技術の開発

①瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

山口県水産研究センター内海研究部

多賀 茂

【目的】

瀬戸内海の西部海域では、アサリの母貝団地造成が多くの干潟で広く試みられている。干潟域は季節風や台風通過時の波浪による底質の移動と種苗の逸散、冬季は干出と水温の低下、夏季は高温など変動の激しい環境であるが、アサリでは食害生物による減耗を防止するため網を被せることで母貝団地造成の効果が認められている。一方、海面でのカゴ垂下育成では環境が比較的安定し、良好な成長や生残が見込まれるが最適な収容密度等を把握しておく必要がある。そこで、干潟域では被覆網による移植式、海面の垂下式ではカゴを用いて収容密度など育成方法を検討し、タイラギに最適な母貝団地造成技術の開発を行う。

【研究方法】

1) 干潟域での移植式

試験は、山口県水産研究センター内海研究部に隣接する山口市秋穂湾の干潟で行った(図1)。

①タイラギ移植場所比較試験 (R3 から R4 年度実施の riii試験区追跡調査)

タイラギを干潟に移植し効率的な母貝団地造成の条件を探るため、秋穂湾中央、湾奥及び湾口の干潟3ヵ所(それぞれ st1, st2 及び st4)に調査地点を設け(図2)、地盤高+30cm(潮位表基準面)の場所に殻長 80.6mm(2021年産)を 40個/m²の密度で移植し、試験区 riii (n=4)とした。移植したタイラギは目合 16mmの網を用い、盛り上げ式被覆網(図3)により保護を行い2021年12月3日から2023年11月27日にかけて追跡調査を行った。殻長測定等は、2022年4月、7月、10月、2023年10月及び11月に行い、他の月は目視による生残調査のみを行った。また、各調査点で環境項目として水質と底質を測定した。水質は大潮満潮時に合わせ2週間毎に海底直上 0.5mの水質、塩分及びクロロフィル a 量(μg/L)について、底質は2021年12月、2022年4月、8月、11月、2023年5月、8月に表面から 10cm 深までの底泥を内径 4cmの筒でサンプリングし全硫化物量(mg/g 乾燥泥)及び粒度組成を測定して中央粒径値と泥分率(63μm>)を求めた。

②タイラギ移植密度試験

前述の移植場所比較試験を実施した調査地点の内、st2において移植密度試験を行った。殻長 143.3mm(2021年産:移植当日までカゴ垂下式育成)のタイラギを 10個/m²、20個/m²及び 30個/m²の密度で移植し、それぞれ試験区 st2-di、st2-dii及び st2-diiiとした。各試験区とも5区(n=5)設けた。試験区には、測定用サンプル採取を目的として同じ密度の移植区を併設した(図4)。移植したタイラギは目合 16mmの網を用い、盛り上げ式被覆網(図3)により保護を行い2022年11月24日から2023年10月31日にかけて追跡調査を行った。

③干潟移植タイラギの成熟状況調査

タイラギ移植密度試験で設定した測定用サンプルを用いて、干潟移植後のタイラギ成熟状況調査を行った。2023年4月,6月,7月,8月,10月に試験区 di,dii,diii から各10個体を採取し測定した。測定項目は肥満度(軟体部重量 g ÷ 殻長 mm ÷ 殻高 mm ÷ 殻幅 mm × 10⁵)、貝柱指数(貝柱重量 g ÷ 殻長 mm ÷ 殻高 mm ÷ 殻幅 mm × 10⁵)、雌雄判別を行った。また、試験区 dii 及び diii の6月,7月,8月サンプルについては、生殖巣を Davidson 液で固定し、水産技術研究所南勢庁舎において生殖巣の組織学的な発達段階及び雌雄比を判定した。

2) 海面でのカゴ垂下式

試験は山口湾に設置されたロープ筏で行い、タイラギの育成には、R3年度に開発したタイラギ用育成カゴを用いた(図1,2,5)。

①タイラギ収容密度試験 iii 殻長 200mm 育成試験

山口県漁業調整規則では殻長 200mm 以下を採捕禁止サイズとしている。殻長 200mm 以上のタイラギによる母貝団地造成を目指すための密度試験を行った。平均殻長 164.5mm のタイラギ(2020年産)を8個,16個,32個/カゴの密度で収容し、それぞれ試験区 x,y,z とした。カゴ内部に基質として軽石(粒径約 10mm)を用い、収容したタイラギ後縁まで覆った。各試験区とも4区(n=4)を設け、2022年4月20日から水深 1.5m に垂下し生残・成長の追跡を行った。毎月1回観察を行い、死亡個体の計数を行うとともに、タイラギの後縁が基質表面よりも露出していた場合は、基質の補充を行い、常にタイラギ後縁まで基質に埋在している状態を保った。環境測定項目として水質を調べた。大潮満潮時に合わせ2週間毎に海面から 1.5m 深の水温,塩分及びクロロフィル a 量(μg/L)を測定した。

②タイラギ収容密度試験 iv 殻長 200mm 育成試験

密度試験 iii よりもタイラギ収容密度を増大させた密度試験を行った。平均殻長 150.6mm のタイラギ(2021年産)を12個,24個,48個/カゴの密度で収容し、それぞれ試験区ア,イ,ウとした。カゴ内部の基質と収容タイラギの状態は前述の試験と同様とした。各試験区とも4区(n=4)を設け、2022年11月22日から水深 1.5m に垂下し生残・成長の追跡を行った。毎月1回観察を行い、死亡個体の計数を行うとともに、タイラギの後縁が基質表面よりも露出していた場合は、基質の補充を行い、常にタイラギ後縁まで基質に埋在している状態を保った。環境測定項目は前述の試験と同様である。なお、前述までの試験を含め、全ての試験の統計値計算にはエクセル統計を用いた。

【研究成果の概要】

1) 干潟での移植式

①タイラギ移植場所比較試験

2021年12月3日から2023年10月27日(st2)及び11月29日(st1, st4)にかけて追跡調査を行った。調査地点毎の結果を見ると、生残率は st1-riii で 23.1%±4.7 (n=4)、st2-riii で 41.8%±5.9 (n=4)、st4-riii で 31.5%±4.9 (n=3) となった。生残率が高かったのは湾奥地点の st2 であった(図6)。生残率の減少傾向は、全ての調査地点で移植直後から翌春にかけて表れた

が、夏になると減少傾向が緩やかになり、その後に大きな減少は見られなくなった。

殻長は st1-riii で 211.8 ± 16.2 (n=15)、st2-riii で $216.1.2\text{mm}\pm 14.1$ (n=15)、st4-riii で $177.3\text{mm}\pm 12.9$ (n=15) となった。湾奥 st2 から湾中央 st1 で成長が良く、湾口 st4 で成長が劣っている。殻長の推移を見ると、全ての調査地点で冬から春にかけて成長はほとんどせず、夏から秋にかけて成長していた(図 6)。なお、調査地点毎の生残率及び殻長には有意差が認められた(ANOVA)。

水温の推移を見ると、季節によって調査地点毎の特徴が見られた。低水温期(1月から2月)では st4 で高く $7.8^{\circ}\text{C}\sim 10.3^{\circ}\text{C}$ 、次に st1 で $7.4^{\circ}\text{C}\sim 10.3^{\circ}\text{C}$ 、最も低いのが st2 で $6.7^{\circ}\text{C}\sim 10.0^{\circ}\text{C}$ であった。水温上昇期から高水温期(4月から8月)では st2 で高く $16.1^{\circ}\text{C}\sim 30.3^{\circ}\text{C}$ 、次に st1 で $15.6^{\circ}\text{C}\sim 29.9^{\circ}\text{C}$ 、最も低いのが st4 で $14.5^{\circ}\text{C}\sim 28.9^{\circ}\text{C}$ であった。湾奥は低水温及び高水温になりやすく、湾口は低水温及び高水温になりにくい特徴が見られた。塩分については調査地点での差はほとんどなく、梅雨末期に 26~28 まで低下したものの、全体的に 32 前後を推移していた。クロロフィル a 量も塩分同様に調査地点での違いはほとんど見られず、6月上旬まで $2\mu\text{g/L}$ 未満で推移し、6月中旬になって $3\mu\text{g/L}$ 以上の値が観測されるようになってきた。ただし、10月から11月にかけて st2 では他の地点よりもクロロフィル a 量が $1\mu\text{g/L}$ ほど高い時期が観測された。水温は4月以降上昇を続け5月下旬には 20°C を上回っているが、クロロフィル a 量は水温に比べて2カ月以上遅れて6月中旬から上昇傾向となった(図 7)。

底質の推移を見ると、調査地点毎の特徴が見られた。全硫化物量は、st4 で高く $0.045\sim 0.127\text{mg/g}$ 乾泥、次に st1 で $0.033\sim 0.103\text{mg/g}$ 乾泥、最も低いのが st2 で $0.028\sim 0.047\text{mg/g}$ 乾泥であった(図 8)。中央粒径値は、st4 で高く $1.0\sim 2.0\text{mm}$ 、次に st2 で $0.7\sim 1.2\text{mm}$ 、最も低いのが st1 で $0.4\sim 0.9\text{mm}$ であった(図 9)。泥分率は、st2 で高く $4.1\sim 10.9\%$ 、次いで st1 で $3.1\sim 7.1\%$ 、最も低いのが st4 で $2.8\sim 5.4\%$ であった(図 10)。st2 では、中央粒径値が 1mm 前後で安定し全硫化物量の少ない干潟であるが、泥分率は比較的高く、その増減も激しい。泥分の堆積と逸散が繰り返される干潟と思われる。st4 では、中央粒径値が大きく泥分率の低い干潟であるにもかかわらず全硫化物量が多かった。st4 は岩礁に囲まれた干潟であるため、岩盤の上に砂泥が堆積した干潟の可能性があり、岩盤の影響で底質内の透水性が悪く硫化物が生じやすい場所と思われる(図 8,9,10)。

②タイラギ移植密度試験

2022年11月24日から2023年10月31日にかけて追跡調査を行った。試験区毎の生残率は st2-di で $40.0\%\pm 20.0$ (n=5)、st2-dii で $50.0\%\pm 7.1$ (n=5)、st2-diii で $64.0\%\pm 12.3$ (n=5) となった。移植密度が高い試験区で生残率が高くなる傾向が見られた。生残率の減少は冬から初夏にかけて観察された(図 11)。

殻長は st2-di で $188.6\text{mm}\pm 7.2$ (n=20)、st2-dii で $187.2\text{mm}\pm 15.8$ (n=20)、st2-diii で $186.7\text{mm}\pm 12.4$ (n=20) となった。初夏から秋にかけて急激な成長が観察されたが、試験区による成長差はほとんどない(図 11)。試験区毎の生残率及び殻長には有意差は見られなかった(ANOVA)。調査を継続する。

③干潟移植タイラギの成熟状況調査

2022年11月24日から2023年10月31日にかけて4月、6月、7月、8月、10月の5回の調査を行った(7月の st2-di 欠測)。

肥満度は st2-di で 6.4~9.0、st2-dii で 7.7~9.0、st2-diii で 7.7~9.2 の範囲で変化した。全ての試験区で移植開始から春までは横ばい又は減少し、8月に最も高くなった(図 12)。

貝柱指数は、st2-di で 1.1~2.5、st2-dii で 1.2~2.7、st2-diii で 1.0~2.6 の範囲で変化した。全ての試験区で移植開始から夏まで減少し、秋に最も高くなった(図 13)。

雌雄判別率は、全体として 5月~6月に向けて 90~100%になり、7月に 50~70%に低下した。8月に再び 90~100%となった後、10月には 0%となった(図 14)。

6月から8月における生殖巣の組織学的な発達段階は、6月に成熟期・放出期が 82.5%と高かったが、成長初期・後期も 16%確認された。7月に成熟期・放出期は 57.5%に低下したが、退行期が 17.5%確認された。8月には成長初期・後期は見られなくなり、成熟期・放出期が 85%と最も高くなった(図 15)。雌雄比は 6月にオス 90%、メス 10%であったが、8月にはオス 55%、メス 40%となり、雌雄比が 1対1に近づいた(図 16)。

これらのことから、6月から7月、8月にかけて産卵していると思われ、8月が最盛期と思われる。干潟移植式のタイラギも産卵に寄与していると考えられ、母貝団地としての機能を有すると思われる。

2) 海面でのカゴ垂下式

①タイラギ収容密度試験 iii 殻長 200mm 育成試験

2022年4月20日から試験を開始し、2023年10月17日(545日目)の調査結果では、試験区毎の生残率及び殻長は、試験区 x で 46.8%±21.3 及び 185.8mm±12.8、試験区 y で 67.1%±10.7 及び 198.5mm±7.8、試験区 z で 57.8%±6.0 及び 199.5mm±8.2 であった(図 17)。試験区毎の生残率に有意差は認められなかったが、殻長には有意差が認められた(ANOVA)。最も密度の低い試験区 x で生残率及び殻長の成長が劣っている傾向が見られた。

期間中の水温、塩分及びクロロフィル a 量の推移を見ると、水温は 8.2~29.2°C の範囲で推移し、極端な低水温や高水温は観測されなかった。塩分は 25.6~33.2 の範囲であったが、30を下回るのは梅雨時期等であり、育成期間中は概ね 32 前後で推移した。クロロフィル a 量は 0.39~4.06µg/L の範囲であった。1月から4月クロロフィル a 量は 1µg/L 未満が多く、クロロフィル a 量が上昇してくるのは5月以降となり、水温上昇から2カ月近く遅れている(図 18)。調査を継続する。

②タイラギ収容密度試験 iv 殻長 200mm 育成試験

2022年11月22日から試験を開始し、2023年10月16日(328日目)の調査結果では、試験区毎の生残率及び殻長は、試験区アで 60.4%±17.2 及び 169.7mm±10.7、試験区イで 44.8%±15.0 及び 173.1mm±12.5、試験区ウで 53.1%±7.1 及び 169.7mm±14.7 である(図 19)。試験区毎の生残率及び殻長に有意差は認められなかった(ANOVA)。

期間中の水温、塩分及びクロロフィル a 量の推移については、前述とほぼ同様の様子であった(図 18)。調査を継続する。

【次年度に向けた提言】

干潟移植式では、2021年に移植した殻長 80mm 当歳貝を追跡したところ、st2 において生残

率 41.8%、殻長 211.8mm まで成長することを確認できた。St2 である湾奥の特徴として、水質では冬期及び夏期に低水温及び高水温になりやすい傾向があるものの、秋期にはクロロフィル a 量が高めに推移する。底質では底泥の中央粒径値が 1mm 前後で安定しているものの、泥分率が比較的高くまた、泥分が堆積と逸散を繰り返して場所であった。2022 年から殻長 143mm のタイラギを用いて密度試験を行ったところ、1 年後の 2023 年 10 月の調査では、殻長は 180mm 台後半で移植密度による差は小さいものの、生残率は高密度ほど高い傾向が見られた。適正密度を把握するには、継続的調査と密度設定の変更等が必要と思われる。同時に成熟調査を行ったところ、6 月から 8 月にかけて生殖巣の成熟・放出期が観察される等、干潟においてもタイラギ母貝団地が機能する可能性が示唆された。

カゴ垂下式では、殻長 200mm までの密度試験において、干潟同様に密度が高いほど生残成長が良好な試験区も見られ、適正密度を把握するに至っていない。また、2021 年産を用いた試験では、干潟移植式で最も低成長であった st4 とカゴ垂下式の成長がほとんど変わらず、干潟移植式の st1 や st2 の成長をカゴ垂下式の成長が下回る結果となった (図 11,19)。

次年度は、干潟移植式及びカゴ垂下式における移植密度について引き続き調査を行うとともに、水質及び底質環境の観測を継続する。また、カゴ垂下式では、干潟移植式よりも低成長であった要因を検討し対策を行うことで殻長 200mm に成長させるための手法を開発する。

【参考文献】

山下康夫・小野原隆幸 (1980) 有明海タイラギに関する研究－III. 地理的分布、形態、性比、多毛類による被害について 佐賀県有明水産試験場報告 (7) P.95-109.

Kurihara T, Nakano S, Matsuyama Y, Hashimoto K, Yamada K, Ito A, Kanematsu M. Survival time of juvenile pen shell *Atrina pectinate* (Bivalvia:Pinnidae) in hyposaline water. *International Aquatic Research* 2018; 10: 1-11.

鈴木健吾他 . 各種の基質で垂下飼育したリシケタイラギ稚貝の成長、生残および潜行. 水産技術 2013;5 : 119-124

山本昌幸、伊藤 篤、山崎 英樹、兼松正衛. 異なる基質・密度で中間育成したリシケタイラギ稚貝の生残率と成長率. 水産増殖 2017; 65: 263-269.

【図表】



図 1. 干潟での移植式及びカゴ垂下式を実施している山口湾及び秋穂湾
写真は山口湾（左）と秋穂湾干潟（右上）

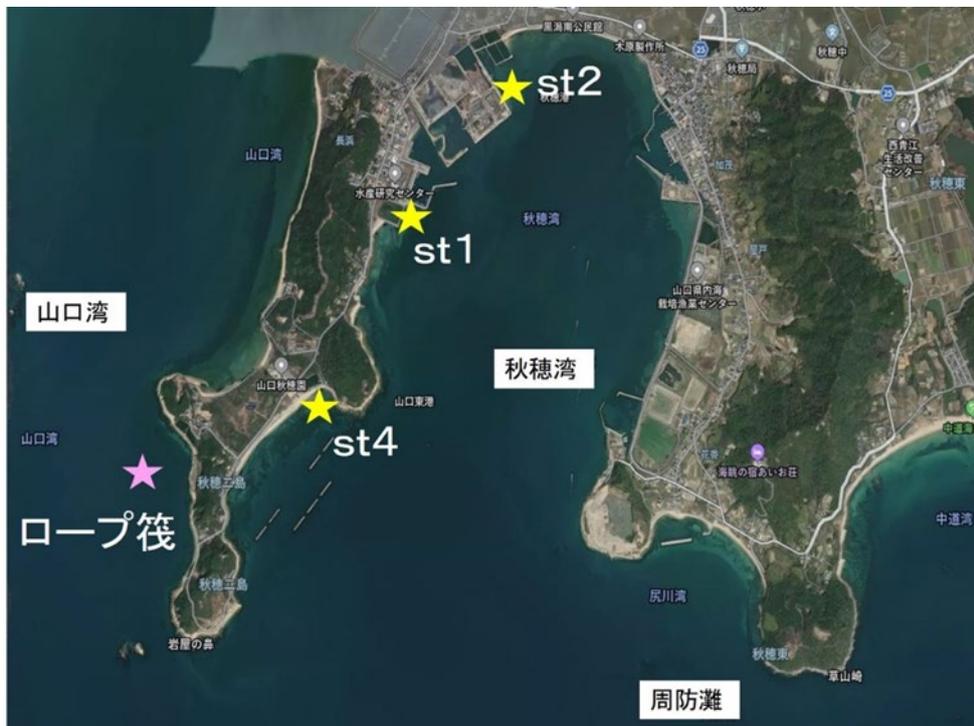


図 2. 干潟での移植式調査及びロープ筏地点



図 3. 盛り上げ式被覆網

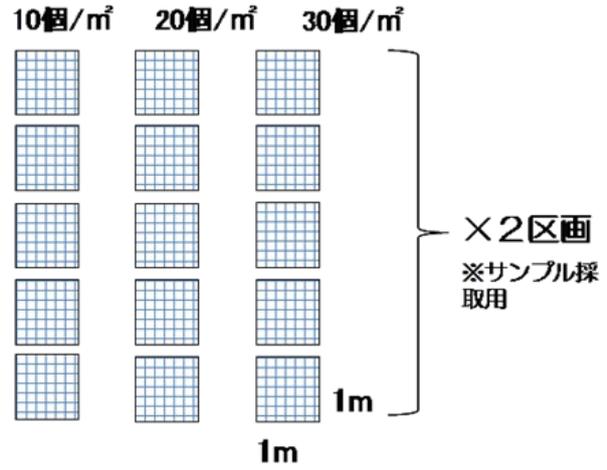


図 4. 試験区の設定



トリアルネットの仕切り

タイラギ後縁まで基質を入れる

蓋に穴を空けトリアルネット装着

図 5. タイラギ用育成カゴ

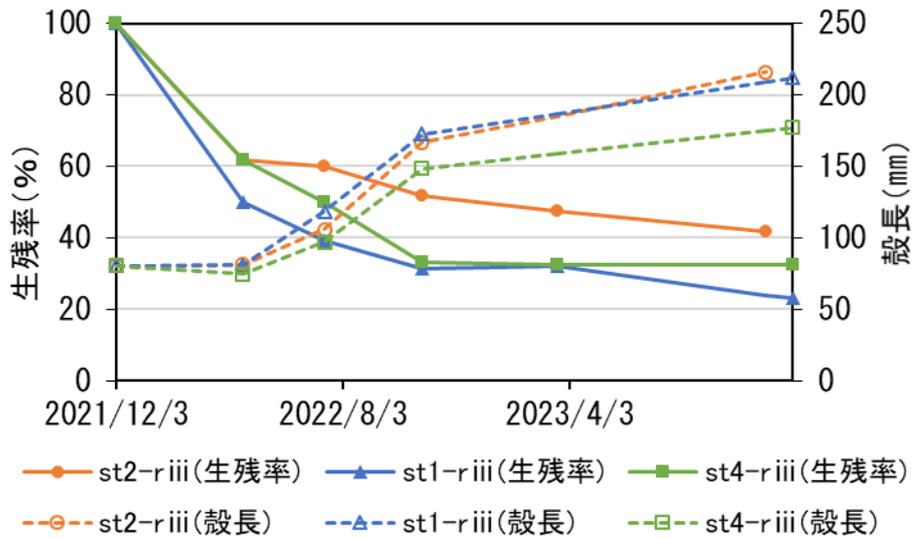


図 6. タイラギ移植場所比較試験 生残率と殻長の推移 (2021 年産 riii試験区)

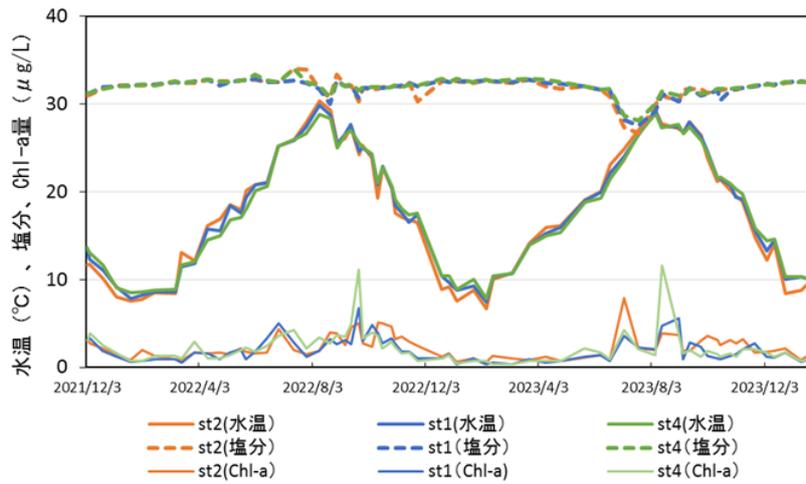


図 7. 水質環境項目の推移 (干潟移植式)

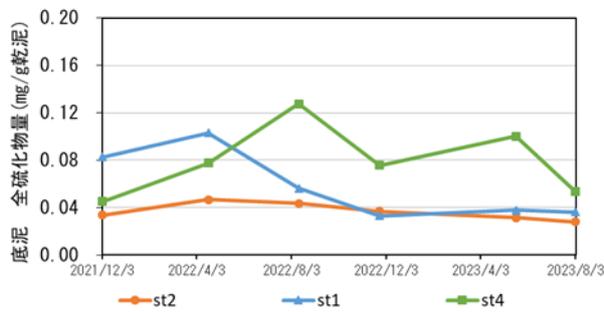


図 8. 全硫化物量 (mg/g 乾泥)

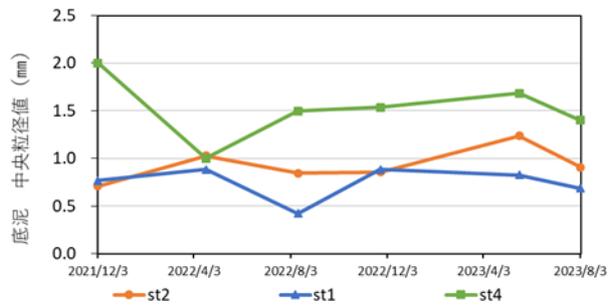


図 9. 中央粒径値 (mm)

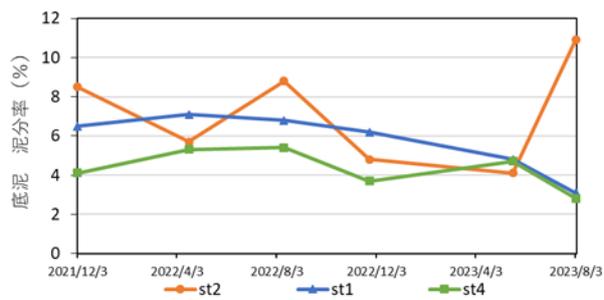


図 10. 泥分率 (%)

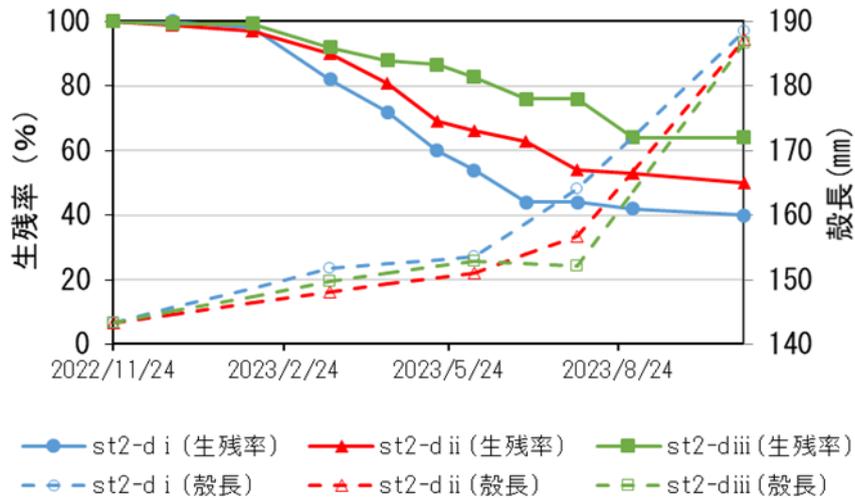


図 11. タイラギ移植密度試験 生存率と殻長の推移

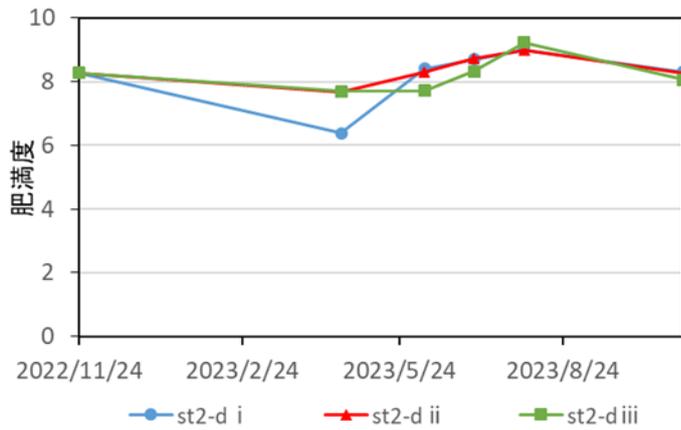


図 12. 肥満度の推移

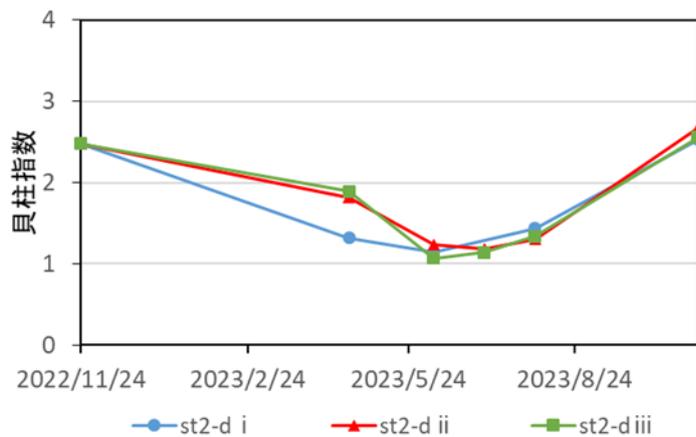


図 13. 貝柱指数の推移

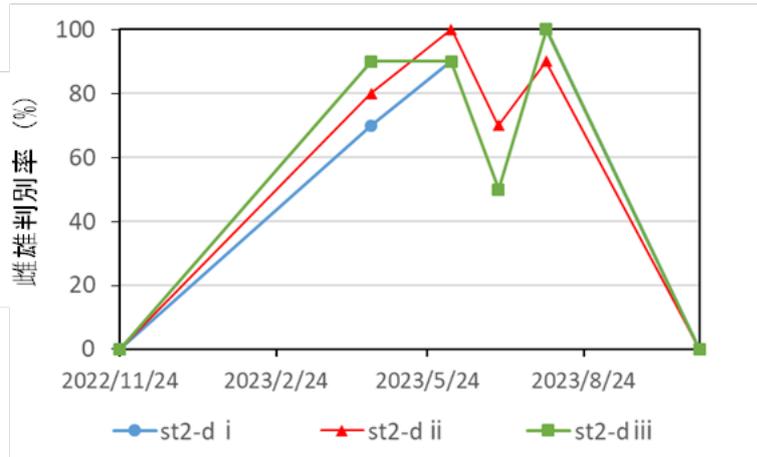


図 14. 雌雄判別率の推移

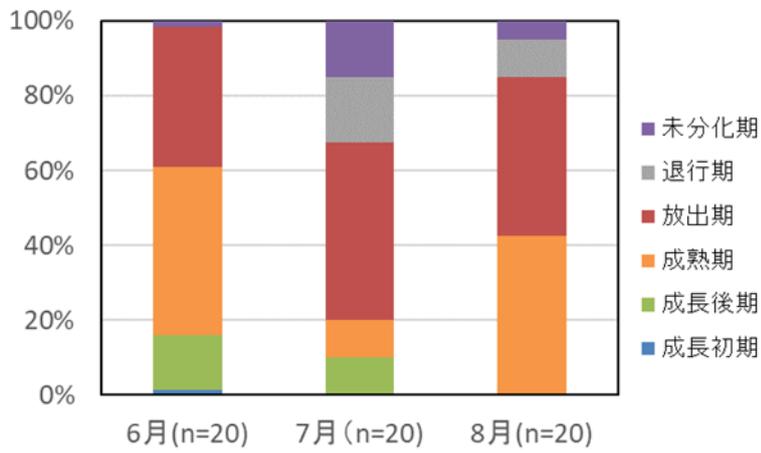


図 15. 生殖巣の組織学的な発達段階

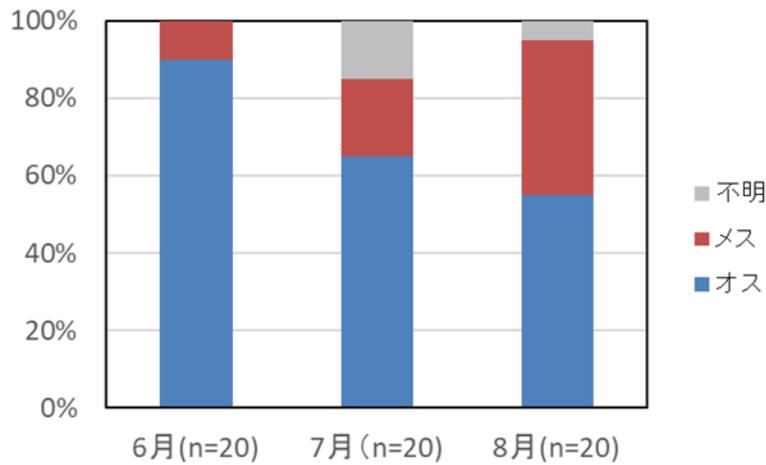


図 16. 雌雄比状況

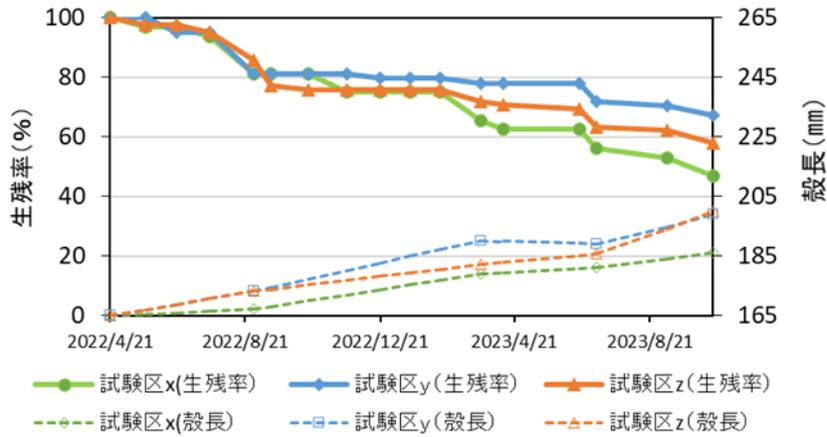


図 17. 生残率と殻長の推移 タイラギ収容密度試験iii

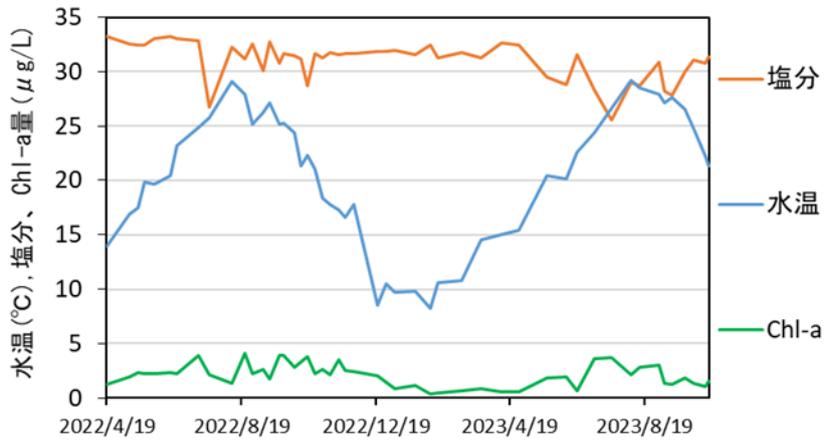


図 18. 水質環境項目の推移 (カゴ垂下式)

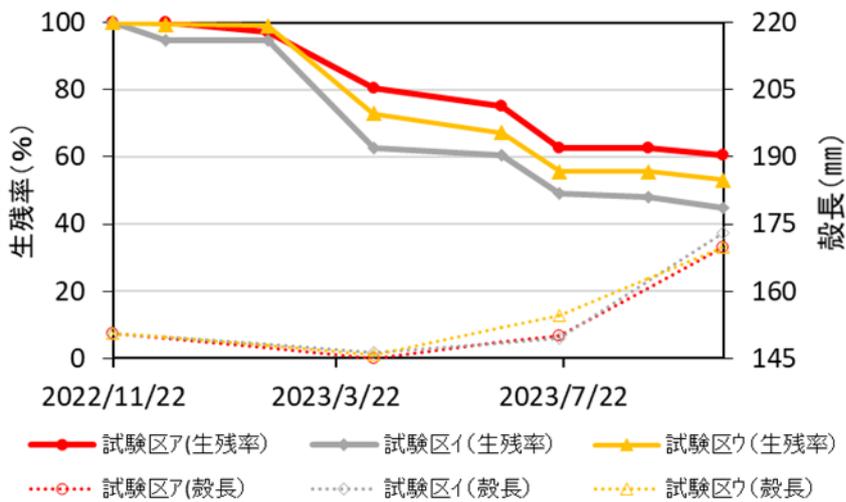


図 19. 生残率と殻長の推移 タイラギ収容密度試験iv

エ. 母貝団地造成技術の開発

②大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

大分県農林水産研究指導センター 水産研究部 北部水産グループ
内海訓弘・林 亨次・徳光俊二・高橋杜明

【目的】

大分県は北部海域における人工種苗を用いたタイラギ母貝団地造成技術を開発することを目的とした。

これまでの研究成果では、殻長約 5cm の有鱗型タイラギ人工種苗を海底に蒔いて移植し被覆網を用いて保護した。その後、タイラギは満 2 歳の春にはほぼ全ての個体に成熟し、その冬には殻長 17.9～19.8cm に成長した。なお、この冬時点の生残率は 0.0～18.5%であった。このため、さらなる成長と生残率の向上を目指して被覆網の管理方法について検討を行った。

【研究方法】

試験には 2021 から 2023 年に国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所（百島庁舎）が採卵し、殻長 10mm 程度まで飼育後、山口県水産研究センターが約 2 カ月間中間育成した有鱗型タイラギ人工種苗を用いた。なお、それぞれ 2021 年生まれ、2022 年生まれ、2023 年生まれとした。

2021 年生まれは 2021 年 11 月 29 日大分県北部海域の姫島の北側に位置する観音崎地先(図 1)に 51.6±10.8mm の有鱗型タイラギ稚貝および 12 月 6 日両瀬地先に 60.5±13.3mm の稚貝を、それぞれスキューバ潜水によって地元潜水漁業者が各試験区を設置した。試験区は 1×1m の範囲内に人工種苗を 400 および 200 個/m² の密度で地撒き放流した後、その海底上面を逸散・食害防止のための被覆網（目合い 15mm、空隙確保のため網中央部に浮子および網周囲に沈子コードを装着：写真 1）を設置し、2～3 月毎に海中にて被覆網を手で揉んで汚れを落とすことで網を掃除した。2022 年 11 月 5 日に観音崎および 12 月 3 日に両瀬において区画内の生存個体を取り上げ、網を大きくした 2×2m の被覆網に替えて再収容を行った。なお、観音崎の 200 個/m² の試験区ひとつについては取上げを行わずに 2×2m の網替えのみを行った。これらは 2～3 月毎に試験区毎に生存しているタイラギを無作為に 10 個体程度サンプリングし、殻長・つがい長・殻高・殻付き重量・軟体部重量・閉殻筋（貝柱）重量を測定した。また、採取時に確認できた死殻もあわせて回収した。

2022 年生まれは 2022 年 12 月 3 日観音崎に同様の方法で試験区を設置した。試験区は 1×1m の被覆網に重さ 90g/m の沈子コードを 1-3 重に装着した基本区、2 倍区、3 倍区およびサンプリングをしない 3 倍区の 4 試験区に、45.0±7.7mm タイラギ稚貝の 200 個/m² の密度で地撒き放流した。また、2024 年 1 月 27 日に区画内の生存個体を取り上げ、2×2m の被覆網に替えて再収容を行った。なお、2021 年生まれと同様の管理・サンプリングを行った。

2023 年生まれは 2023 年 12 月 4 日観音崎および 12 月 5 日両瀬に同様の方法で試験区を設置した。試験区は 2.4×2.4m の被覆網にサンプリングをするおよびしない試験区をそれぞれ設

置き、 $46.7\pm 10.1\text{mm}$ タイラギ稚貝の各 750 個体、 130.2 個/ m^2 の密度で地撒き放流した。なお、2021 年生まれと同様の管理・サンプリングを行った。

また、これら被覆網には温度ロガー（onset 社、TidbiT.v2）を設置し水温を測定した。

【研究成果の概要】

観音崎および両瀬の現場水温の推移を図 2 に示した。観音崎では最高値で 29.2°C 、最低値で 8.6°C であった。両瀬では最高値 28.0°C 、最低値 8.4°C であった。秋から冬にかけて近年の平均および前年よりやや高く推移した。

2021 年生まれは移植から約 2 年経過した 2023 年 12 月 4 日の観音崎の再収容区で $152.5\pm 8.8\text{mm}$ 、網替のみ区で $156.1\pm 15.0\text{mm}$ であり、12 月 6 日の両瀬の再収容区で $181.0\pm 13.8\text{mm}$ であった（図 3）。成長はこれまでの試験と同様に 1 年目の春から秋にかけて高成長が認められるが、2 年目以降の成長は停滞し特に春の成長が悪いということが再現された。これには性成熟によるものと推測される。

生残率は調査回次毎に母数からサンプリング個数と死殻回収数を差し引く方法で算出したが、再収容時の全数取り上げでは所在不明な個体が多く出現し、正確な生残率や所在不明貝の状況は分からなかった。このうち、2022 年 6 月に回収した死殻は底質上に露出し、蝶番が付いたままの状態でも割れていた（写真 2）。さらに、潜水作業を行った漁業者が試験区のすぐ近くの海底でマダコがタイラギを捕らえているのを目撃していることから、観音崎においては、マダコがタイラギを食害し、持ち去った可能性が考えられた。また、夏に回収された死殻の多くは端先の割れなどが見られなかったことから、別の死因が考えられる。

2022 年生まれは移植から約 1 年経過した 2023 年 12 月 4 日に基本区で $134.8\pm 9.5\text{mm}$ 、2 倍区で $143.3\pm 16.7\text{mm}$ 、3 倍区で $126.4\pm 8.3\text{mm}$ であった（図 4）。成長はこれまでの試験と同様に 1 年目の成長に遜色はなかった。生残率については 2024 年 1 月 27 日に回収し、再収容したが、所在不明な個体が多く出現した。今年度については死殻の大量回収などが無かったことから、網の沈子コードと底の間に空隙があったなどの情報はあがるが、不明貝の状況は分からなかった。

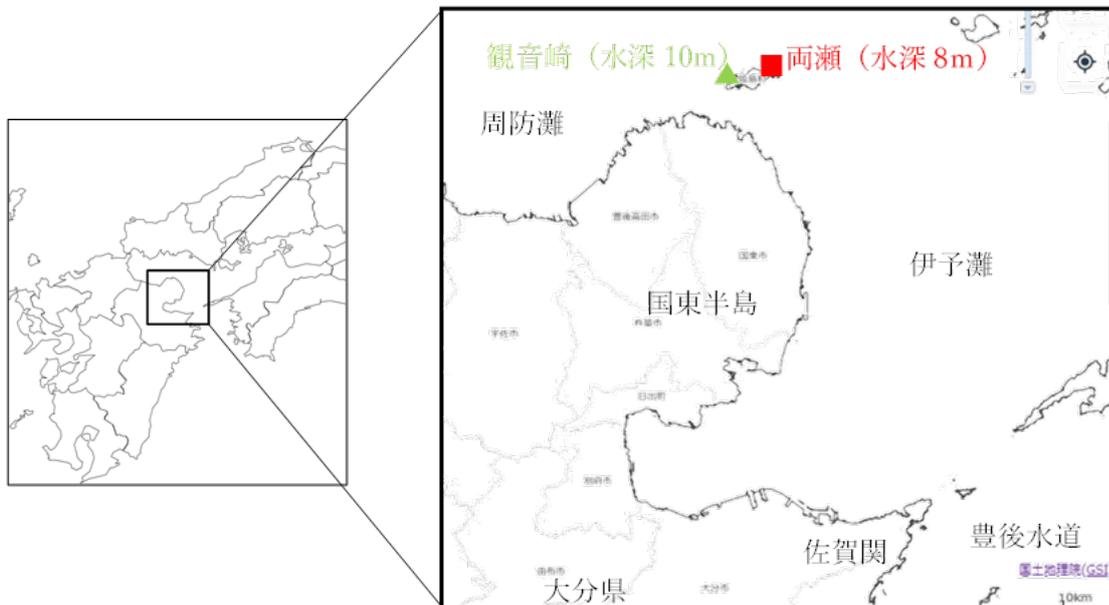
2023 年生まれは移植 91 日後の 3 月 4 日にサンプリングを行ったが、殻長 $66.8\pm 4.3\text{mm}$ に成長しており（図 5）、潜砂している様子が観察された。

【次年度に向けた提言】

今年度の調査でも引き続き管理手法の検討を行ったが、食害や成熟による衰弱などの状況を確認出来なかった。これには生残率の正確な把握が必要なことから、取上げを行わない方法での生息個体数の把握方法の検討を行う。

また、2 年目以降は性成熟による成長の遅滞が推測され、高密度で管理された場合に精子放出などの産卵刺激を頻繁に受けている可能性、また、それにより衰弱している可能性があることから、産卵期後の管理方法の検討を行う。

【図表】



出典：海洋状況表示システム (<https://www.msil.go.jp/>) を加工

図 1. 海底移植試験の実施場所 (2 地区)



写真 1. 被覆網の構造と水中での網なり

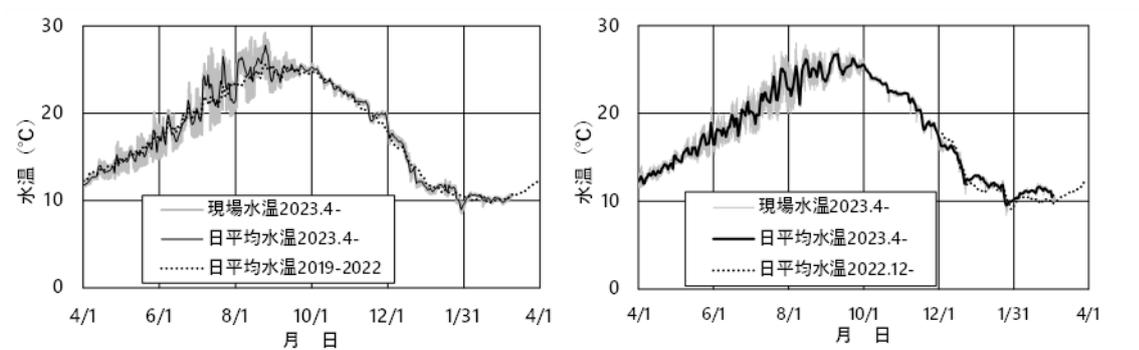


図 2. 観音崎 (左) および両瀬 (右) の現場水温の推移

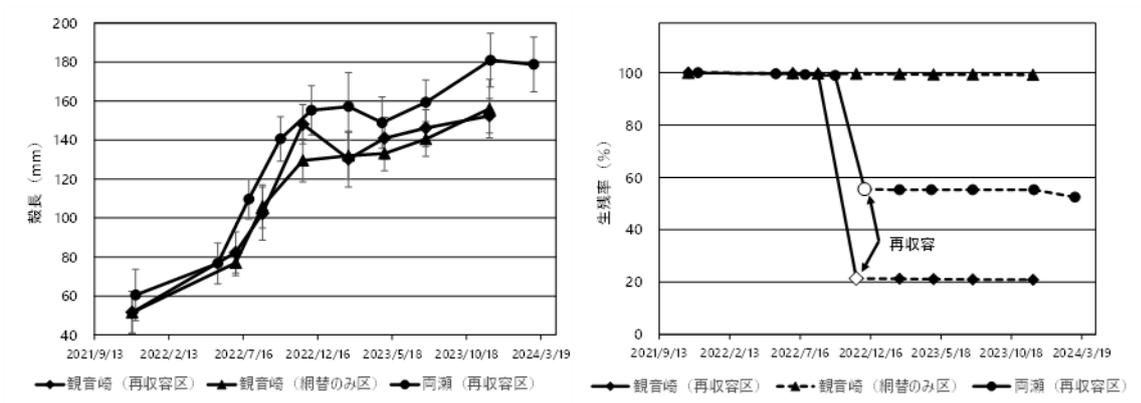


図 3. 2021 年生まれの成長と累乗生存率の推移



写真 2. 食害が疑われる回収死殻 (2022 年 6 月 観音崎試験区)

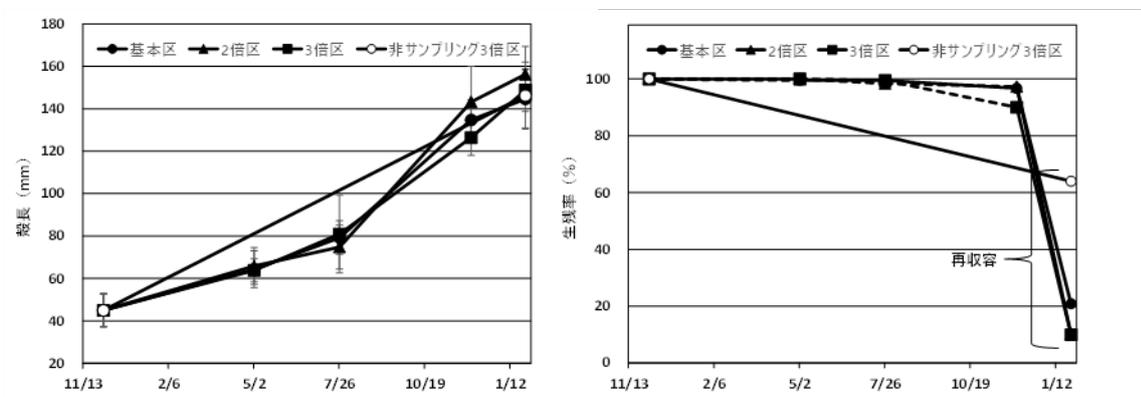


図 4. 2022 年生まれの成長と累乗生存率の推移

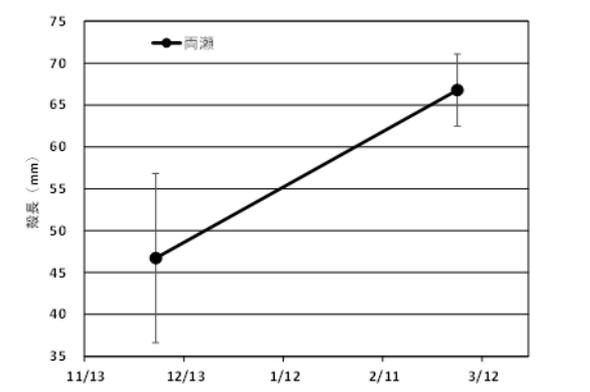


図 5. 2023 年生まれの殻長の推移

エ. 母貝団地造成技術の開発

③タイラギの標識技術の開発

香川県水産試験場
宮城良介・牧野弘靖

【目的】

中間育成されたタイラギ稚貝は、種苗放流や母貝団地の造成に利用されているが、放流、移植した個体を追跡調査するためには天然発生個体と見分ける必要がある。

本研究では、放流、移植後の追跡調査が可能となるよう、標識技術を開発することを目的とした。

【研究方法】

試験は、瀬戸内海備讃瀬戸に位置する屋島湾内の香川水試地先の小割筏にて実施した（図1）。標識については、耐水紙、ポリエチレンフィルム、ラッカー Sprey の3種類とした。耐水紙及びポリエチレンフィルムは、殻表面の水分をキムタオルで拭き取り、左殻背側中央付近にアロンアルファゼリー状（東亜合成）で接着し30分程度乾燥させた（図2）。ラッカー Sprey は、殻表面の水分をキムタオルで拭き取り、左殻全面に赤色の油性シリコンラッカー Sprey（カンペハピオ）を吹き付け30分程度乾燥させた（図2）。飼育容器は、丸形収穫カゴ（直径27×高さ23cm、8L；アロン化成）を使用し、標識した個体それぞれ10個体ずつと標識していない個体10個体の計40個体を収容した。小割筏の水深1.5mに垂下して生残率と標識の脱落率を調べた。

供試した稚貝については、国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所百島庁舎において採卵、種苗生産され、香川県水産試験場にて中間育成した稚貝（有鱗型タイラギ）を使用した。

飼育容器は、ホヤ類やフジツボ類などが付着するのを防ぐため、シリコン系生物付着防止剤のセイフティプロ（西海養殖技研）によって防汚処理を施した。基質は、粒形1mmのアンスラサイト（トーケミ）を使用した。収穫ネット袋（35×60cm；日本マタイ、通称、玉ねぎ袋）を設置した後、アンスラサイトを約6L入れた。飼育の途中にネットを開いて、稚貝の観察や食害生物の除去等を行うが、収穫ネット袋のビニールひもの劣化により作業し難いことがあるため、試験実施前にビニールひものを直径2～3mmの細いハイクレロープ（PKロープ）に交換した。

取り上げは、木枠ふるい（枠寸法：400×600mm、目合：4.75mm）と特大型平バット（外寸法：924×616×210mm）を用い、基質とタイラギに選別した。

また、試験期間中は小割筏にて環境測定を行い、水温、塩分、DOを記録した。（図3）

【研究成果の概要】

試験は8月10日～9月12日、9月13日～10月13日、10月19日～11月20日の計3回実

施し、各回次の生残率の試験結果を表 1、標識脱落率の試験結果を表 2 に示した。1 回次では飼育開始（平均殻長 65 mm）から 34 日目に取り上げし、耐水紙区、ポリエチレンフィルム区、ラッカースプレー区、標識無し区が生残率はそれぞれ 93、97、97、97%、2 回次では飼育開始（平均殻長 84 mm）から 31 日目に取り上げし、生残率はそれぞれ 97、97、100、93%、3 回次では飼育開始（平均殻長 101 mm）から 33 日目に取り上げし、生残率はそれぞれ 100%であった。各回次ともに生残率の高い結果となり、試験回次が進むにつれ、生残率が高くなる傾向が見られた。開始殻長が大きくなることで環境への順応能力が高くなったためだと推察された。また、試験区間で生残率に明瞭な差は見られず、標識による生残への影響はないことが分かった。

標識脱落率は 1 回次の耐水紙区、ポリエチレンフィルム区、ラッカースプレー区でそれぞれ 27、20、13%、2 回次でそれぞれ 23、27、10%、3 回次でそれぞれ 30、27、7%であった。試験区ごとの標識脱落率には有意差が認められ（ANOVA, $p < 0.05$ ）、耐水紙区及びポリエチレンフィルム区に比べラッカースプレー区の標識脱落率が低い結果となった。ただし、ラッカースプレー区の標識はそのほとんどが剥がれ落ちており、耐久性が懸念された。

【次年度にむけた提言】

今回の試験で、標識の接着、塗装による生残率への影響が見られなかったことから、殻表面への標識の接着、塗装は有効であることが分かった。また、ラッカースプレーによる標識は耐久性に懸念があるものの、脱落率が 10%程度と低いことから調査が短期間で終了する場合には利用価値が高いと考えられた。

今年度は、試験期間が 1 カ月程度と比較的短期間の影響に関するものであったため、次年度は数カ月以上の長期間の影響について明らかにする必要があると思われる。また、ラッカースプレーは耐久性に懸念があるため、より耐久度の高い塗装方法の検討が必要であると考えられる。

【図表】

表 1. 生残率について

回次	試験期間	開始時 平均殻長	試験区	生残率
1	8/10～9/12、34日間	65mm	耐水紙区	93%
			ポリエチレンフィルム区	97%
			ラッカースプレー区	97%
			標識なし区	97%
2	9/13～10/13、31日間	84mm	耐水紙区	97%
			ポリエチレンフィルム区	97%
			ラッカースプレー区	100%
			標識なし区	93%
3	10/19～11/20、33日間	101mm	耐水紙区	100%
			ポリエチレンフィルム区	100%
			ラッカースプレー区	100%
			標識なし区	100%

表 2. 標識脱落率について

回次	試験期間	開始時 平均殻長	試験区	脱落率
1	8/10～9/12、34日間	65mm	耐水紙区	27%
			ポリエチレンフィルム区	20%
			ラッカースプレー区	13%
2	9/13～10/13、31日間	84mm	耐水紙区	23%
			ポリエチレンフィルム区	27%
			ラッカースプレー区	10%
3	10/19～11/20、33日間	101mm	耐水紙区	30%
			ポリエチレンフィルム区	27%
			ラッカースプレー区	7%

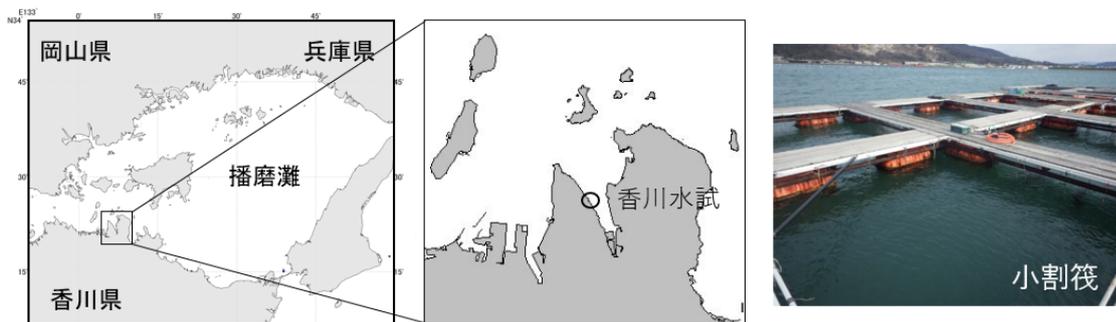


図 1. 試験場所（香川県水産試験場地先の小割筏）



図 2. 標識個体（耐水紙、ポリエチレンフィルム、ラッカースプレー）

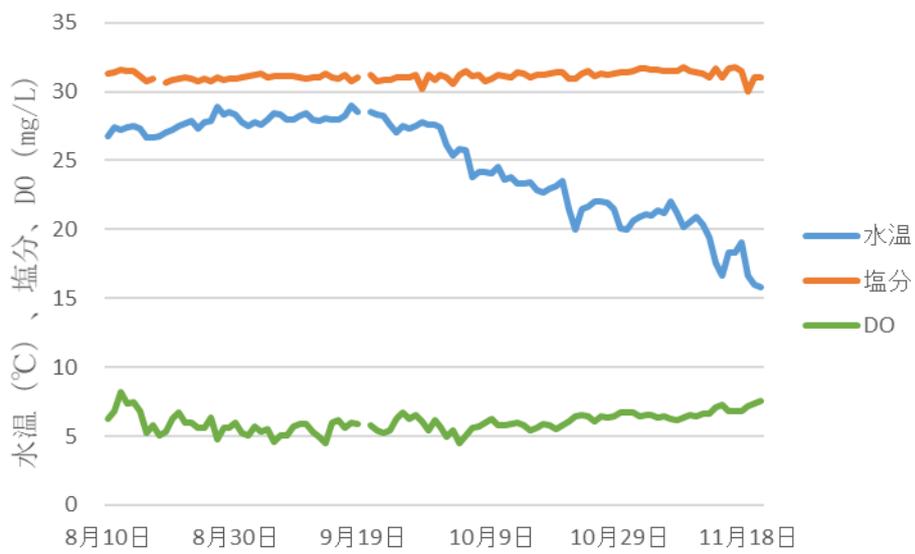


図 3. 試験地先の水温、塩分、DO

エ. 母貝団地造成技術の開発

④三河湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術の開発

愛知県水産試験場

日比野学・平井 玲・澤田知希・和久光靖・中島広人・進藤 蒼・
阿知波英明・武田和也・荒川純平・松井紀子・佐藤和久

【目的】

種苗生産や中間育成によって得られたハマグリ稚貝を効果的に母貝資源として添加するため、天然ハマグリ分布生態と好適な環境条件を把握するとともに、放流等に適した条件と手法を組み合わせた母貝団地造成技術の開発に取り組む。令和5(2023)年度は、河口域においてハマグリ分布生態と底質条件の関連について、過年度データも含めて整理し、好適条件を明らかにした。また、既設の増殖場や適地候補への稚貝移植を行い、母貝団地としての機能を検証した。

【研究方法】

分布生態調査

今年度は放流等の適地条件や時期に関する知見を蓄積するため、三河湾に流入する規模の大きい河川の代表である矢作川河口(西尾市)において(図1)、過年度の調査でハマグリ高密度分布が見られた左岸干潟に5点を設定し、6~11月に採泥による稚貝調査を行った。採泥は軽量グラブ採泥器を用い、1地点あたり5回採泥し、1回分を目開き1mm、3回分を2mmのフルイでそれぞれ選別し、さらに1回分の採泥からφ76mm、目開き59μmのコアサンプラーを用いて底土表面を採取し、その中のハマグリ初期稚貝(殻長3mm以下)を計数した。直径15mmのコアサンプラーを用いて、底泥を深さ1cmまで採取し、DMFの浸漬によりクロロフィルaを抽出し、蛍光光度計(ターナーデザイン社、AU-10)を用いてクロロフィルa量及びフェオフィチン色素量を測定した。また、100g程度の底泥を採取し、フルイ法により底質粒径別の乾重量を求め、中央粒径値、泥分率及び淘汰度を求めた。また、過年度に調査を実施した矢作川河口、矢作古川河口(西尾市)及び矢作古川周辺干潟、西田川河口(蒲郡市)における(図1)ハマグリ採捕密度、底質条件(淘汰度、泥分率、底泥クロロフィルa量、同フェオ色素量)及び肥満度のデータを集約しそれらの関係を整理し、経年的な殻長組成データからコホートを分離し、調査日間の平均殻長の差から日間成長量及び日間成長率を求めた。

稚貝移植試験

試験は、衣崎地区の潮間帯(潮干狩場)で2018年度に7号(粒径2.5-5mm)規格の碎石で造成された碎石区(St.1)及び対照として細砂区(St.2;中央粒径134μm、淘汰度0.71)において(図2)行った。碎石区では、2018年夏季にハマグリ稚貝がアサリ稚貝に交じり移植され、2020年に行われた漁獲試験¹⁾において40-50mmの成貝として採捕されたこと、また対

照区は淘汰度において適地条件を満たすと判断し、稚貝移植による母貝団地造成の可能性を想定し試験設定した。今年度試験では、既に移植された稚貝の残留状況を確認するとともに母貝機能の発現について確認した。移植は、2022年に矢作川で6月に採捕した天然稚貝を殻長別に大小2群（大サイズ：平均殻長 19.8mm、小サイズ：平均殻長 10.0mm）に分け、大サイズ群を緑色、小サイズ群を水色のラッカースプレーによりそれぞれ貝殻を着色標識した上で行った。またさらに前年の2021年にも、矢作川及び矢作古川で5月に採捕された天然稚貝（平均殻長 21.5mm；ラッカー標識；オレンジ色）をそれぞれ 48 個/m²の密度で移植した。試験区における採捕は2023年4月20日及び7月4日に行い、うち7月4日に採捕した標識貝 23 個体を含む計 37 個体を用い、7月6日に緩慢昇温法²⁾による産卵誘発を行った。放卵放精が確認された時点で取り上げ移植群を確認した後、別水槽へ移動させ放卵放精を継続させた。

【研究成果の概要】

分布生態調査

今年度実施した矢作川河口域におけるハマグリ初期稚貝及び 1mm 又 2mm のフルイに残った稚貝の個体密度の月別変化を図 3 及び図 4 に示した。殻長 0.4mm 以下の着底後間もない初期稚貝は、6月のみ L5L と L5R で出現した。また 0.6-0.8mm の初期稚貝は L5 において7月と8月に出現したが、9月以降は 2mm 以上の稚貝が出現した。フルイに残った稚貝の採捕密度は8月に L5、L5L 及び L6 で急増し、概ね同様な傾向で 10 月まで推移し、11 月にはやや密度が低下するとともに L4 での採捕密度の増加が見られた。殻長組成をみると（図 5）、7月に平均殻長 2.5mm のコホートが確認され、8月には採捕密度の急増を伴い平均殻長 4.0mm となり9月には 6.9mm と成長した。また9月には前年度発生群とみられる平均殻長 13.0mm のコホートが新たに確認され、10月にはさらに 4.2mm の新規の小型群が出現し11月には 7.6mm となった。先行研究の結果³⁾や過年度も含めた本調査でも肥満度や群成熟度の上昇ピークも年1回であること（図 6）、さらにハマグリ着底稚貝の河口への加入は6月に1回のみであったことから、1つの発生群から成長速度が異なる群が派生している可能性が示唆された。そこで過年度の殻長組成からコホートを分離し加入状況を検討したところ（図 7）、5-6月に平均殻長 8-9mm の群と 9-10月に平均殻長 3-4mm の群が認められた。このうち前者は産卵期と殻長から前年生まれの低成長群（S 群）、後者が当年生まれの高成長群（F 群）と推定され、同年発生群でも成長様式の異なる群（または個体変異が大きい）が存在する可能性が示唆された。また、フルイに残るサイズの F 群と S 群の日間成長には（図 8）、顕著な差が認められなかったため、2群の成長差は着底後から殻長 3mm 程度までの間に生じている可能性が考えられた。熊本県の緑川又は白川では9月の新規加入群は冬季に成長が停滞するとされるが⁴⁾、これは本海域での S 群の成長に類似すると考えられ、F 群は秋口に速やかに成長していると考えられた。また、殻長と日間成長の関係では（図 9）、矢作川で日間成長量が高く、日間成長率も特に小型において高い傾向がみられた。このことは、河口規模の大きな矢作川では高成長が得られやすい可能性が考えられる。すべてのコホートの日間成長量を月別に整理すると（図 10）、5-9月に比較的高い成長量がみられた。過去年の採捕密度と各地点の河口左右岸の中間点からの距離との関係をみると（図 11）、矢作川や矢作古川など河口内に分布する場合

には 400-1500m 上流、古川周辺干潟や西田川のように河川近傍の干潟に分布する場合には河口から 500m までの範囲で採捕密度が高かった。加布里干潟でもハマグリは河口及びその周辺域に分布し⁵⁾、熊本県の緑川及び白川河口域では河口から 500m 以内で採捕密度が高いことが示されており⁶⁾、本研究の結果も同様の傾向であった。ただし、同報で指摘されているような河口外で大型個体が多いという特徴には一致せず、河口内で稚貝と同所的に成貝が分布した。3 河川及び過年度データを統合し、ハマグリ採捕密度が高い底質条件を検討した(図 12)。ハマグリ採捕密度は淘汰度が低く中央粒径値が小さいと高くなる傾向がみられた。また、泥分率や底泥フェオ色素量が低い条件でも高くなる傾向がみられた。最も散布図に偏りがみられた淘汰度について、全採捕事例の平均対数密度(4.7 個/m²)の上下を 1-0 の二項分布と仮定し、ロジスティック分析をしたところ(図 13)、淘汰度 0.76 より低い底質条件で平均密度以上のハマグリの出現が期待できると考えられた。中央粒径値がハマグリに分布に影響を与えることは、緑川及び白川河口域でも明らかにされており⁶⁾、今回の結果とあわせると粒径が細かく均質な条件が好適条件であると考えられた。

以上より、河口及び河川周辺干潟でのハマグリは、稚貝から成貝まで同所的に分布し成長がみられた。また、母貝団地造成における適地候補として河口距離によるおおよその目安となる距離や淘汰度等の底質条件が明らかになった。また成長様式は多様であり、稚貝移植や放流のタイミングにはある程度柔軟であると推定される一方、高成長時期である 6-9 月の高水温期が適当である可能性が考えられる。これらの天然稚貝の分布生態等を勘案した適地選定が重要であると考えられた。

放流試験

2022 (R4) 年度に移植した標識個体の再捕経過を表 1 に示した。今年度は採捕密度の定量はしなかったが、計 22 個体が採捕されうち 21 個体でラッカー標識が確認できた。その内訳は、St.1 で大サイズが 5 個体、小サイズが 5 個体、St.2 で大サイズが 4 個体、小サイズが 4 個体、無標識が 1 個体であった。平均殻長は、いずれの試験区又はサイズでも 30mm を超え、平均肥満度は St.1 で 10.3、St.2 で 10.5 であった。7 月 4 日の調査では(表 2)、計 37 個体が採捕されうち 23 個体でラッカー標識が確認できた。その内訳は、St.1 では 2021 年度移植群が 1 個体採捕され、2022 年度移植群では大サイズが 4 個体、小サイズが 3 個体、無標識が 7 個体、St.2 では 2022 年度移植群のみで大サイズが 9 個体、小サイズが 6 個体、無標識が 7 個体であった。7 月 6 日の産卵誘発により 13 個体が放卵放精をし、うち標識個体が 9 個体含まれた。なお、放卵放精した個体の殻長範囲は St.1 で 26.4-54.6mm、St.2 で 29.4- 52.1mm であった。放卵放精を確認した個体は、標識等を確認の上別水槽に移したが、放卵放精を継続し、計 856 万粒の受精卵を得た。受精率は約 90%であり、水温 28°Cで一晩卵管理したのち翌日には平均殻長 116µm の 531 個体の正常 D 型幼生となった(正常 D 型幼生率: 68.9%)。なお、標識個体では塗料標識が残存(一部)しており、放流個体であることが識別できた。加えて、本試験区では当該移植群以外の移植や天然個体の発生は認めていないことから、今回標識が確認できなかった個体のほとんどはラッカー標識が剥離した移植群であると考えられる。移植個体の日間成長量は大サイズで 0.074-0.075mm/日、小サイズで 0.115-0.143mm/日となり、

小サイズで高く、かつ河口域における成長と同等であった。昨年度の6月30日に移植された後、同年8月29日には雌個体で成熟期の卵が確認されたことから、移植2か月後から1回目の母貝場機能が発現しており、加えて今年度の7月にも産卵誘発により放卵・放精が確認でき、殻長10mm以上での移植稚貝による母貝団地造成の有効性が確認された。

【次年度に向けた提言】

今年度及び過年度の調査により明らかになった天然稚貝の分布生態や分布に適した底質環境条件は、種苗の放流適地選定や母貝団地造成のための重要な基礎情報である。また、稚貝移植によりそれらが定着・成熟することが明らかになり、母貝機能の発現が認められた。以上の点を総括した稚貝移植による母貝団地造成スキームについて図15に示す。まず、移植場所については、河口近傍や淘汰度といった諸指標をもとに適地選定を行い、適地と判断されれば、殻長3mm程度の天然稚貝が多数分布したことから、そこへ種苗を添加することで粗放的に中間育成したのち母貝場へ移植する、あるいはそのまま母貝機能を発現させ母貝団地とすることとなる。一方で適地条件に合致しない場合には、適宜中間育成技術を適用し、定着率の高い10mmサイズまで育成したのち、母貝場へと移植し母貝団地とすることとなる。このようなスキームにより再生産に寄与する母貝を育成し天然発生を促進していくとともに、本事業で得られた資源生態的知見も参考にしつつ、適正な資源管理により持続的な資源利用に努めていくことが重要であると考えられる。

【参考文献】

- 1) 日比野学・松村貴晴・服部宏勇・長谷川拓也・阿知波英明・石樋由香・三輪正毅 (2021) 三河湾におけるアサリの漁場造成手段としての砕石覆砂の効果と環境要因との関連. 愛知水試研報, 26, 17-30. 2)
- 2) 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.
- 3) 岩田靖宏・柴田晋作・服部克也 (2019) 三河湾・蒲郡地先干潟に生息するハマグリに見られた肥満度の季節変化. 愛知水試研報, 24, 22-23.
- 4) 熊本県 (2013) 熊本県ハマグリ資源管理マニュアル. 熊本県水産研究センター, pp.22.
- 5) 亀井涼平・林田宣之・佐藤博之・濱田弘之・中本崇・松井繁明・内藤剛・小谷正幸 (2021) 加布里干潟におけるハマグリの資源動向と稚貝保護・育成手法の検討. 福岡水海技セ研報, 31, 1-8.
- 6) M Hashiguchi, J Yamaguchi, Y Henmi (2014) Distribution and movement between habitats with growth of the hard clam *Meretrix lusoria* in the Shirakawa-Midorikawa estuary of the Ariake Sea. *Fish. Sci.*, 80, 687-693.

【図表】

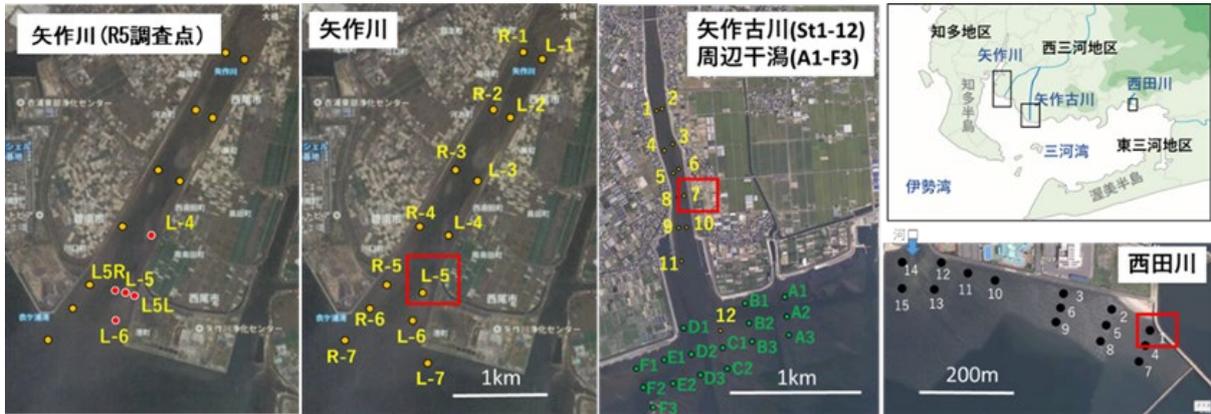


図 1. 2023 年度の矢作川河口調査点及び過年度（2020-2023 年度）に実施した各河口域における調査点

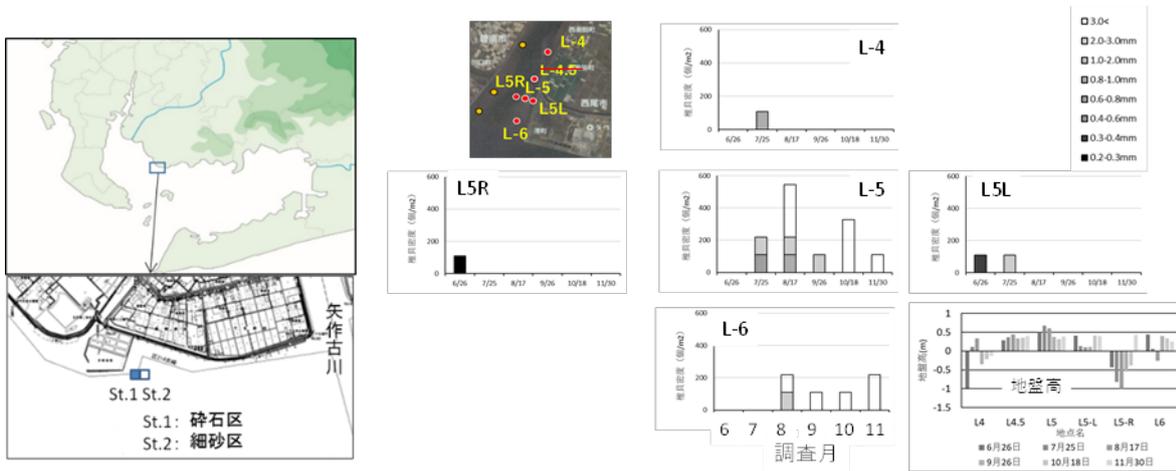


図 2. 稚貝移植試験の実施場所

図 3. 矢作川各地点におけるハマグリ初期稚貝（殻長 3mm 以下）の出現密度及び地盤高（右下）

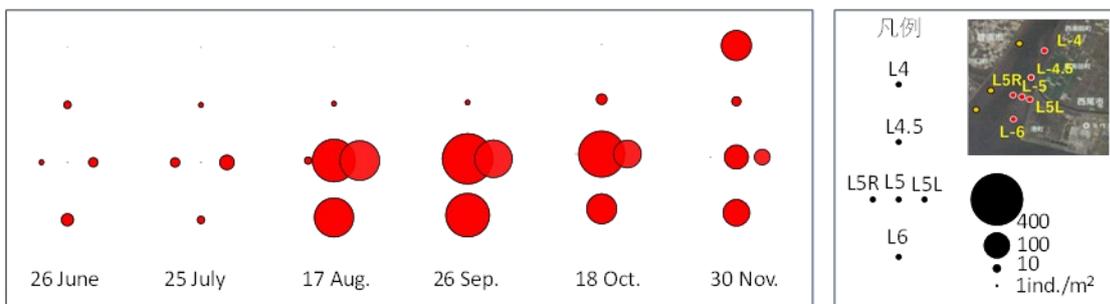


図 4. 矢作川各地点における稚貝（1mm フルイ<）の出現密度

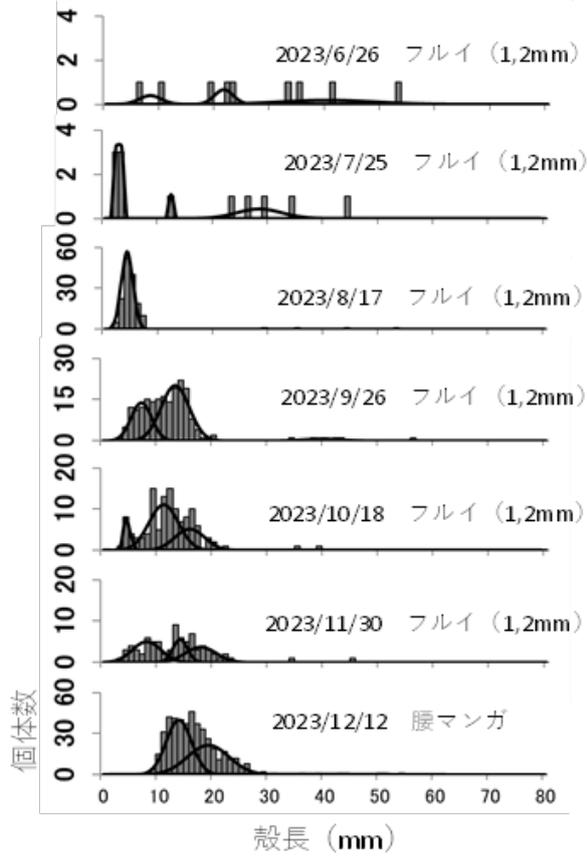


図 5. ハマグリの殻長組成

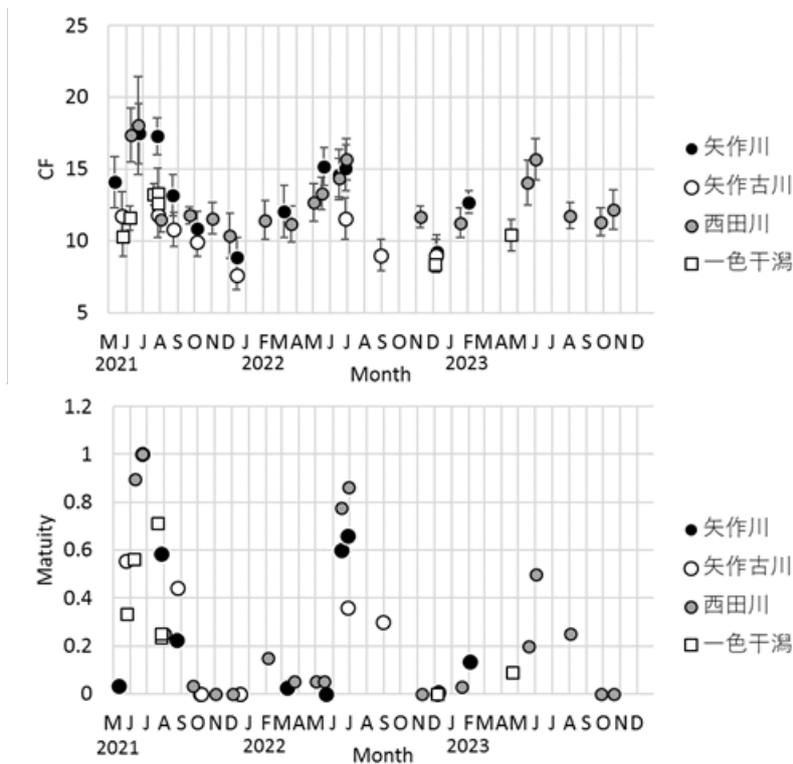


図 6. 各河口等におけるハマグリの肥満度（上）と群成熟度（下）の季節変化

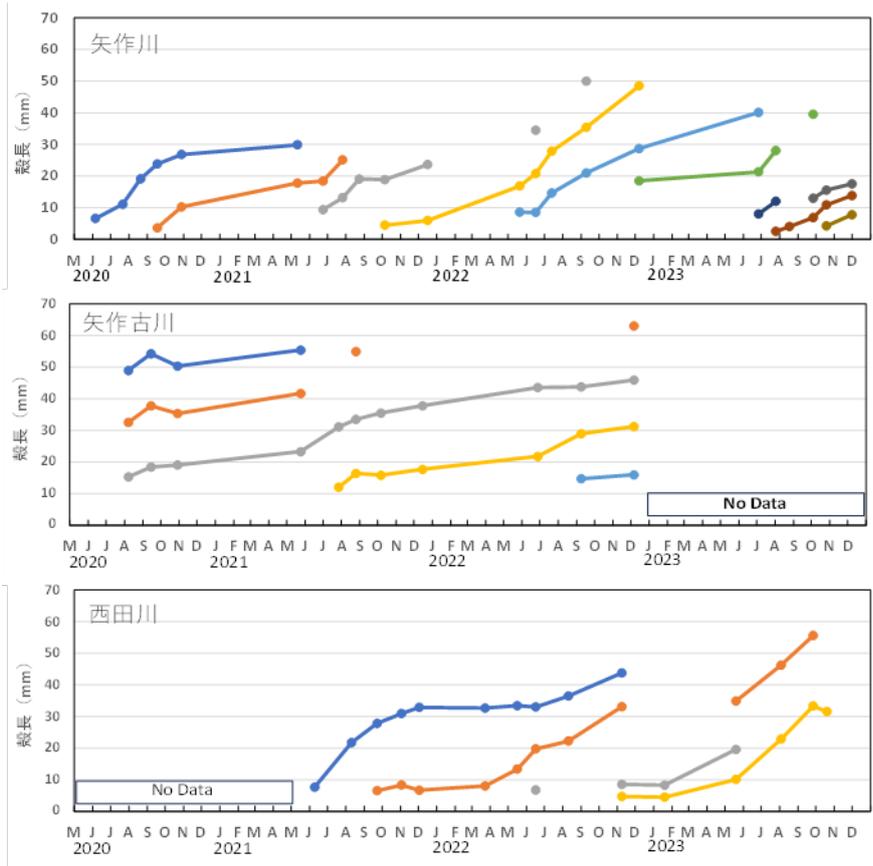


図 7. 各河口におけるハマグリのコホート別平均殻長の推移

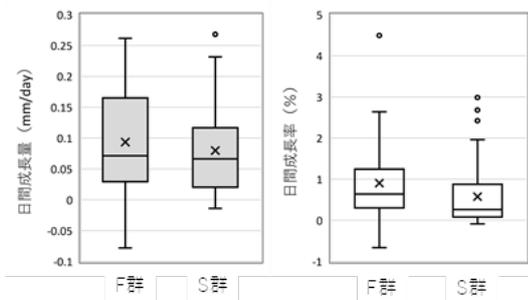


図 8. F 群と S 群の日間成長量 (左) 及び日間成長率 (右)

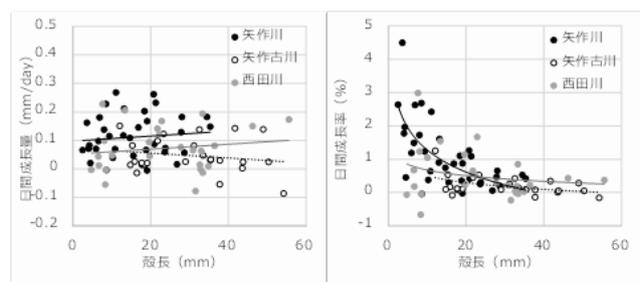


図 9. 各河口における殻長と日間成長量 (左) と日間成長率 (右)

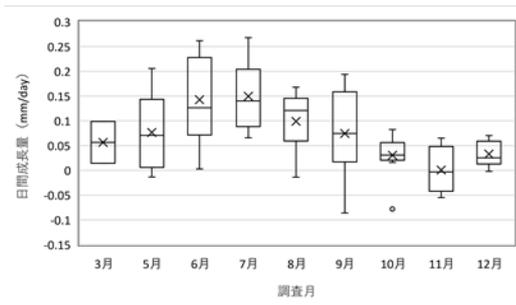


図 10. 日間成長量の月別変化

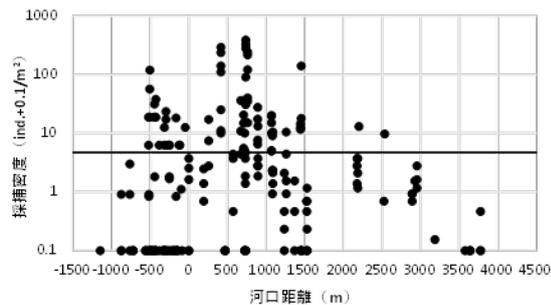


図 11. 河口距離とハマグリ採捕密度の関係
(3 河川合計、図中の線は平均対数密度を示す)

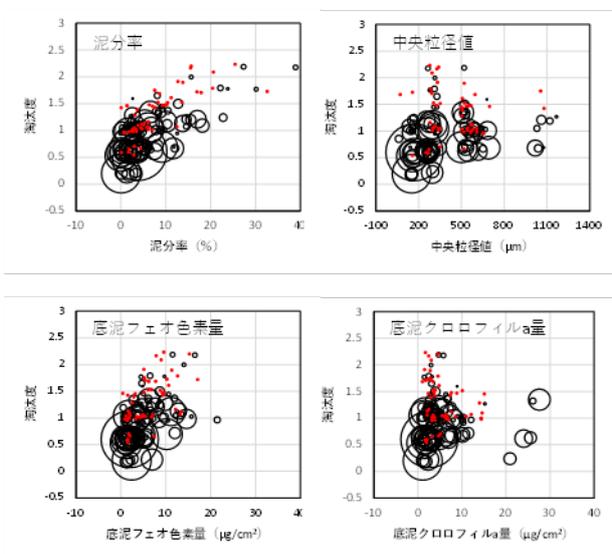


図 12. ハマグリ採捕密度と底質条件の関係
(3 河川及び 2021-2023 年データを統合、赤点は採捕されず)

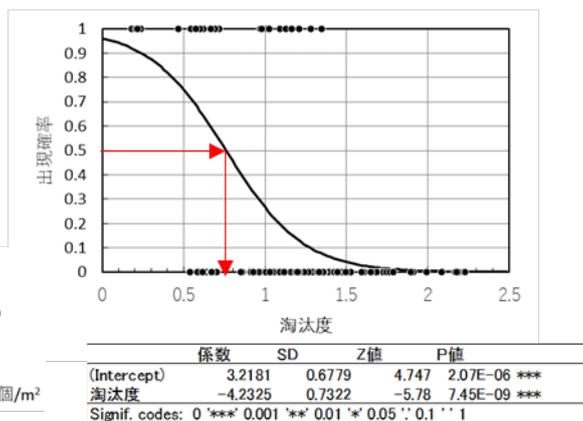


図 13. 淘汰度を説明変数としたロジスティック曲線(下表は係数及び統計量)

表 1. 2022 (R4) 年度移植稚貝の再捕経過

試験区	R4移植時 (R4.6.30)	R4.8.29	R4.10.26	R5.4.20
碎石区 大 小	50・19.8mm 50・10.0mm	53・26.8mm (80)*・19.1mm	21・28.5mm 21・23.5mm	-・32.8mm -・30.8mm
細砂区 大 小	50・19.8mm 50・10.0mm	21・27.8mm 21・22.7mm	21・28.6mm 11・26.7mm	-・32.1mm -・30.0mm



図 14. 再捕個体の緩慢昇温法による誘発と翌日の D 型幼生

表 2. 7 月 4 日に採捕された標識個体の殻長範囲と移植群別放卵・放精経過
(太字表記が誘発により放卵・放精を確認した個体数)

移植群	St.1	St.2	計
2021年	1個体うち 1個体 (51.7mm)	確認できず	1個体うち 1個体
2022年 (大)	4個体うち 0個体 (31.1-43.8mm)	9個体うち 5個体 (29.3-48.7mm)	13個体うち 5個体
2022年 (小)	3個体うち 1個体 (29.8-35.6mm)	6個体うち 2個体 (33.2-41.1mm)	9個体うち 3個体
標識確認できず	7個体うち 3個体 (24.1-55.1mm)	7個体うち 1個体 (28.7-52.2mm)	14個体うち 4個体
計	15個体うち 5個体	22個体うち 8個体	37個体うち 13個体

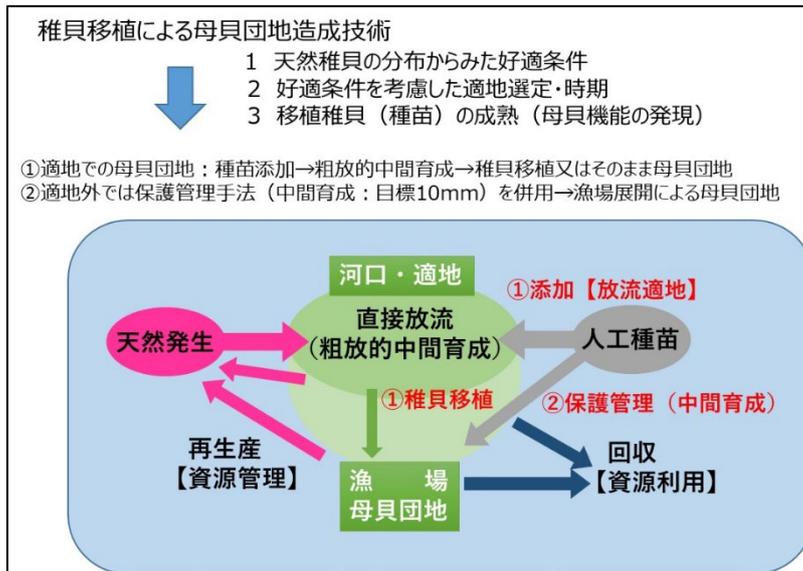


図 15. 稚貝移植による母貝団地造成スキーム

エ. 母貝団地造成技術の開発

⑤伊勢湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術の開発

三重県水産研究所
小林智彦・岩出将英・北川強司

【目的】

桑名地区では、昭和 50 年頃からハマグリ資源の回復に向けて、ハマグリ稚貝（人工種苗）の生産技術開発と稚貝の放流、資源管理、干潟造成などに取り組んでおり、平成 15 年頃からハマグリ資源が増加して平成 26 年には年間水揚量が約 200 トンまで回復した。しかし、その後は資源が再び減少して令和 2 年の水揚量は約 64 トンとなっている。また、平成 28 年頃から伊勢湾中・南部の香良洲、松阪、伊勢地区などでもハマグリが増加したが、近年はこれらの地区でも水揚量が横這い、または減少傾向にある。

三重県のハマグリ資源は、いち早く桑名地区で回復した後に他地区でも増加したことから、桑名地区が伊勢湾のハマグリ母貝場である可能性が高いと考えられる。そのため、ハマグリ資源の増加、安定には、桑名地区におけるハマグリ加入量および資源の底上げが急務である。

本研究では、桑名地区におけるハマグリ稚貝の放流効果を高めるため、同地区で天然ハマグリ分布調査を行い、その調査結果をもとに、中間育成したハマグリ稚貝の放流適地を明らかにし、母貝団地の造成技術を開発する。

【研究方法】

桑名地区において、ハマグリ分布調査を 6 月、10 月に実施した。調査地点は木曾三川の河口域において、漁獲情報をもとに、ハマグリが生息していると考えられる 121 地点を選定した（図 1）。調査は、軽量簡易グラブ採泥器を用いて各地点で 2 回ずつ（0.05m²/回）、深さ 0.2m で海底堆積物を採取し、目合 2mm のフルイに残ったハマグリなどの二枚貝類を採取して個数、殻長、湿重量を計測した。また、各調査地点で海底堆積物の表層約 2cm を採取し、乾燥粉碎後、強熱減量（IL）と粒度組成を測定した。各調査地点では水深の測定を行い、また、6 月調査時には、各調査地点で多項目水質計を用いて水温、塩分、溶存酸素濃度（DO）を測定した。

【結果の概要】

1) 稚貝の分布

令和 5 年度に実施した 6 月と 10 月の分布調査結果を図 2 に示した。ハマグリは 6 月には木曾川河口沖合に見られた。昨年は木曾川河川内にも見られたが、今年は降雨による出水の後に調査を行った為、調査域より沖に流されたものと考えられる。10 月には、6 月に見られた測点より上流域でも採取されていることから 6 月以降の加入があったものと考えられる。なお、稚貝が見られた水域は成貝が分布すると考えられるハマグリ漁船が漁を行う場所と重なっている。

ヤマトシジミは木曾川、揖斐川とも河川内を中心に分布がみられ、アサリは沖合での分布が確認されていた。アサリは昨年の調査では調査範囲全般に多く分布していたが今年は沖合で見られるのみであった。

次に各調査で採取されたハマグリの子殻組成を図 3 に示した。2 月調査では、稚貝は採取されなかったが、6 月には前年の加入群と思われる殻長 4~7mm のピークを見られた。また、10 月調査には殻長 3mm 前後のピークがみられ、これは当年生まれの加入群によるものと考えられた。

2) 稚貝の分布と環境

調査地点は木曾三川の河口域で、潮汐の影響を受けることから、一昨年度調査も含めた調査地点全体の塩分は広範囲であった。このうち、ハマグリが 20 個/m² 以上確認された調査地点の塩分は、7.0~29.8ppt (平均 19.0ppt) で、アサリの 12.0~29.7ppt (平均 19.5ppt) に比べ、より低塩分側にも分布が見られた。

また、ハマグリが確認された地点の粒度組成は、中砂、細砂の占める割合が高く、シルト、泥、礫・粗砂などは少なかった。これはこれまでの調査と同様の傾向であった。ハマグリが 20 個/m² 以上確認された調査地点での、粒度組成における細砂~中砂の占める割合が平均 90.2% となっており、全調査地点平均の 78% を大きく上回った (図 4)。平均粒径のまわりに粒度がどれくらい集中するかを示す指標である淘汰度 (数値が 0 に近いほど粒径がそろっている) を泥分率とともに図 5 に示した。ハマグリは、淘汰度が 0.5 程度、泥分率 0% のところに集中しているが、ヤマトシジミやアサリは淘汰度や泥分率の高いところにも多く分布していた。これらの結果より、ハマグリ稚貝は細砂から中砂の、比較的粒径がそろった底質を好んで生息しているものと考えられた。

【まとめ】

木曾三川河口域で 6 月頃に河口部で見られ、10 月には河口付近には見られず、沖合に分布した。これは出水による影響とみられる。他事業によるハマグリ母貝となる成貝の分布域も本調査で稚貝が見られた水域と一致した為、中間育成したハマグリ稚貝を木曾川河口地先の海域に放流することで資源の補強が出来ると考えられた。

【図表】



図1. 調査地点 (121 地点)

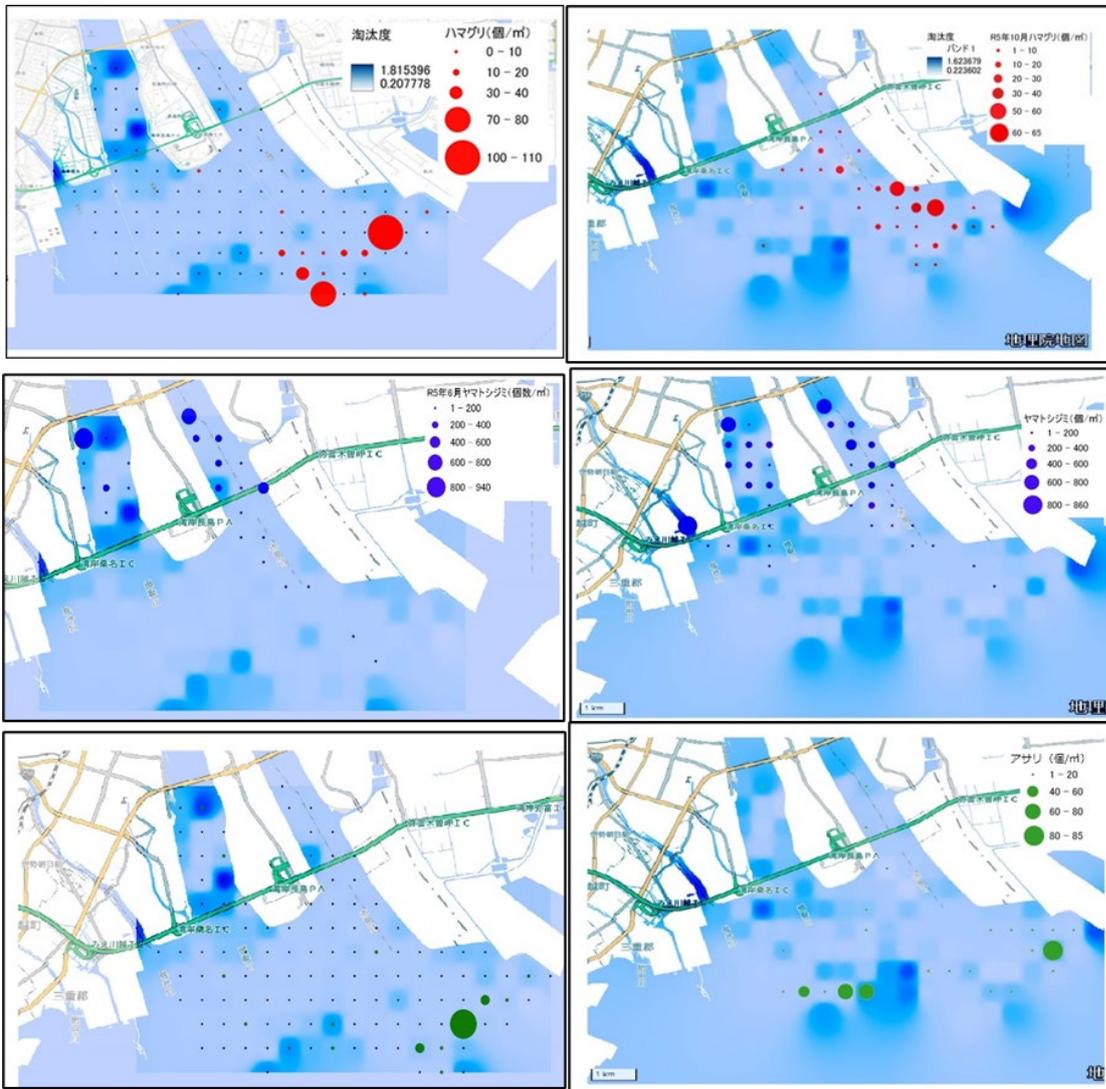
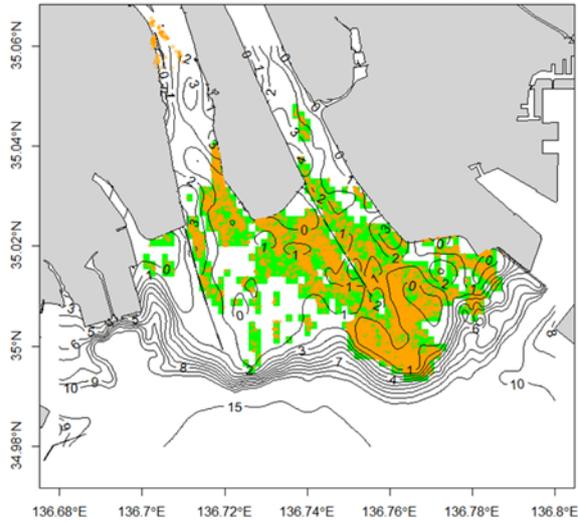


図2. 二枚貝の分布状況 (6月分布調査結果 (左3図) と10月分布調査結果 (右3図))



茶色は、曳網ごとの平均座標、
緑色は、平均座標を含むメッシュ

図 3. 2021 年 4 月 15 日～2023 年 1 月 6 日までのハマグリ漁船の操業位置調査（羽生未発表）

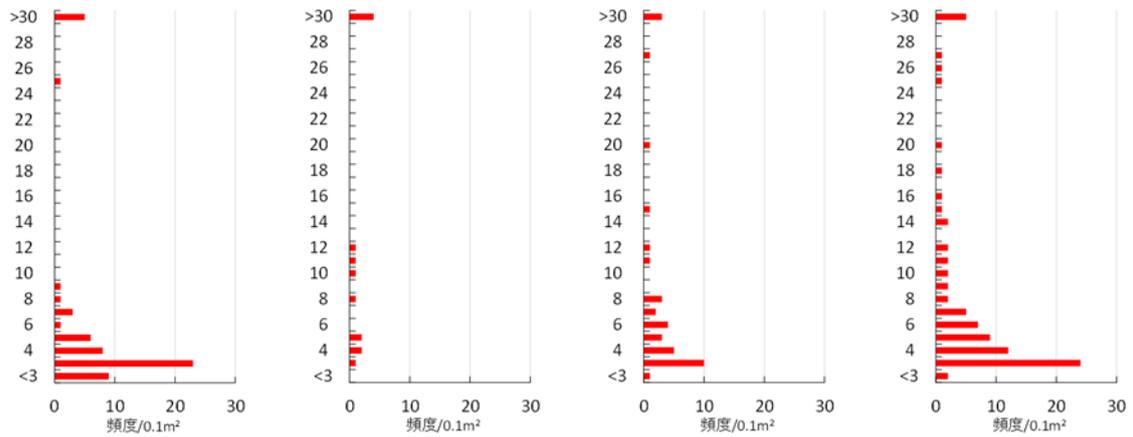


図 4. 採取されたハマグリ of 殻長組成

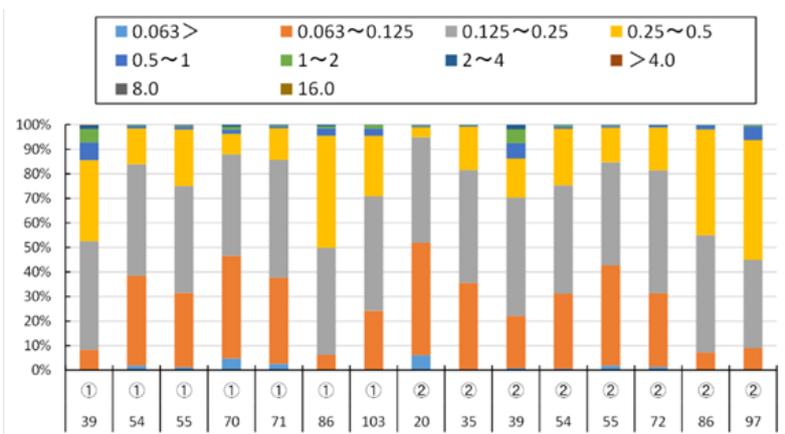


図 5. ハマグリ採取地点（20 個/m²以上）での粒度組成

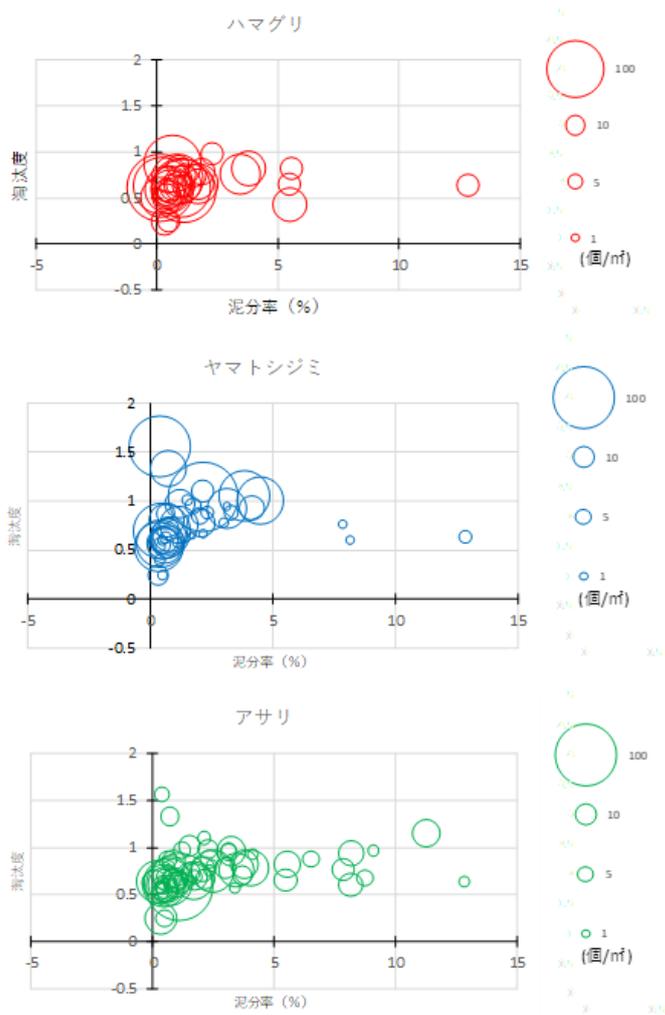


図 6. 二枚貝採取場所の淘汰度と泥分率

(参考情報) 好適環境 (文献) との比較

- ・ 粒度分布
- ・ 水温 : 22~34.5°C (沼田 1987)
- ・ 塩分 : 19.3~32.2‰ (沼田 1987)
- ・ 地盤高 (TP) : 0.7~1.4cm (高野ら 1991)
- ・ 中央粒径値 : 0.2~0.51 (高野ら 1991)
- ・ 泥分率 (0.063mm 以下の粒子) : 5%以下 (高野ら 1991)

エ. 母貝団地造成技術の開発

⑥餌料源分析を通じたハマグリ母貝団地造成技術の開発

国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所
西本篤史・高田宜武・丹羽健太郎

【目的】

沿岸漁業を下支えしてきたアサリの漁獲量が低迷する中で、近年、各地でハマグリがみられるようになってきた。ハマグリは漁獲加入までに3年近く要するため、漁場での適切な管理が求められるが、その生態については情報が乏しい。本課題では、成長に伴う干潟内でのハマグリの移動に着目し、本種の干潟内における移動が成長に伴う餌料源の変化に起因する可能性を検証する。これにより、成長段階別に、干潟内での適正な育成場・母貝場の条件を明らかにすることを目的とする。

【研究方法】

1) 天然稚貝の同位体比の把握

本課題を実施している千葉県の盤洲干潟では、天然稚貝のまとまった加入が確認されておらず、稚貝試料の採集に課題があった。そこで、令和3年3月から9月にかけて実施したフィールドでの飼育試験では、課題イ. ②およびウ. ②で千葉県が生産・育成した殻長約5mmの人工種苗を用いたところである。しかし、設置後間もなく、ほとんど成長していない個体では、人工種苗生産期の培養藻類の炭素・窒素同位体比（以下、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ）の影響が残っている可能性がある。そのため、極端に低い $\delta^{15}\text{N}$ を示したハマグリ稚貝の餌料源推定には、データの解釈上、困難な部分があった。

そこで、課題エ. ④の愛知県と連携し、2023年5月19日に三河湾の西田川河口にて採集された、稚貝から成貝まで幅広い殻長組成のハマグリ試料を入手した。採集された試料は、閉殻筋を切り出し、凍結乾燥した後、クロロフォルム・メタノール混合液およびメタノールを用いて脱脂した。その後、0.8mgを目安に錫箔に詰め、元素分析計（varioMicro cube）および同位体質量分析計（IsoPrime 100）の連結システムを用いて、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析を行った。

得られた $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ の値と殻長との相関を確認した。また、殻長区分（10mm以下、10~20mm、...、60~70mm）毎に、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ に統計的に有意な違いがあるかどうか、Kruskal-Wallis検定において確認した。統計的に有意な違いがみられた場合は、Steel-Dwass検定を行い、どの殻長区分間に統計的に有意な違いがあるかをテストした。

2) 混合モデルにおけるエンドメンバーおよび濃縮係数の再検討

炭素・窒素安定同位体比を用いた餌料源解析を行うためには、対象生物の同位体比に加えて、餌料源候補（エンドメンバー）の同位体比が必要になる。本課題を実施している盤洲干潟は小櫃川の河口干潟に相当することから、餌料源候補として、海水中の粒子状有機物（POM: particulate organic matter）、底生微細藻類に加えて、淡水POMを加えた3つを検討した。今回、

前者 2 つのエンドメンバー、ならびに濃縮係数について再検討した。更にそれを踏まえ、改めてハマグリ の殻長区分別の餌料源推定を行った。解析には、R の MixSiar パッケージを使用した。

3) 消化管内容物のメタゲノム解析

成長に伴う食性が変化する要因と関連して、消化管内容物のメタゲノム解析についても、令和 4 年度から、試行的に取り組んだ。

2023 年 4 月 21 日に、千葉県の盤洲干潟の【岸】と【沖】の 2 サイト (図 1) に、1mm 目合いのネットで内張したカゴを 2 つずつ、計 4 個設置した。各サイトにおいて、1 つ目のカゴには、平均殻長約 5mm の人工種苗を約 500 個。2 つ目のカゴには、【中間】サイトで採集した殻長 20mm 台および 60~80mm 台のハマグリ、そして同じく中間サイトで採集したアサリとシオフキも収容した。

4 日後の 2023 年 4 月 25 日に【岸】と【沖】の 2 サイトを再訪し、貝類試料を回収した。回収した貝類試料は、その場でニッパーを用いて殻の端を少し割り、99.5%エタノールの入った容器に入れて固定し、実験室に持ち帰った。また、貝類試料に加えて、周辺の水 1L ずつ (塩分 0、15、25) と【岸】と【沖】サイトのカゴの内・外の底質も併せて採取した。実験室に持ち帰った貝類試料は、1 週間の内に 3 回エタノール交換し、次の操作まで冷蔵庫にて保管した。水試料は GF/F フィルターを用いて濾過し、フィルター上に残った残渣を冷凍保管した。底質試料については、人工海水を加えて攪拌し、上澄みを GF/F フィルターを用いて濾過し、フィルター上に残った残渣を冷凍保管した。

貝類試料については、解剖して消化管 (胃および腸を含む) を切り出した。切り出した消化管試料および上記のフィルター試料を株式会社 生物技研に送付し、DNA 抽出、葉緑体 *rbcL* 領域上に設計された珪藻特異的なユニバーサルプライマー (Maitland et al., 2020) を用いた 1st PCR、ライブラリの作成、シーケンシング解析、BLAST による相同性検索結果の作成まで依頼した。なお、サンプルの溶解には Lysis solution F。DNA 精製には Lab-Aid824s。PCR には KOD を使用した。これら解析については、三重大大学の伯耆助教にアドバイスを仰ぎながら実施した。また、得られた珪藻類データの解釈には、水産資源研究所釧路庁舎の渡辺主任研究員に御協力頂いた。

【研究成果の概要】

1) 天然稚貝の同位体比の把握

$\delta^{13}\text{C}$ は、殻長区分間で統計的に有意な違いが検出され (Kruskal-Wallis, $\text{chi-squared}=36.299$ 、 $p<0.05$)、殻長 10mm 台 (-17.3 ± 0.3 、 $N=27$) が、殻長 30mm 台 (-16.4 ± 0.3 、 $N=11$) および 40mm 台 (-16.4 ± 0.3 、 $N=7$) と比べて統計的に有意に異なり (Steel-Dwass, $p<0.05$)、1%程度低い値を示した。 $\delta^{15}\text{N}$ は、殻長区分間で統計的に有意な違いは検出されたが (Kruskal-Wallis, $\text{chi-squared}=16.035$ 、 $p<0.05$)、2 群間での比較では統計的に有意な違いは検出されなかった (Steel-Dwass, $p>0.05$)。

以上の結果から、人工種苗を用いて実施したカゴ試験区において確認された稚貝期の極端

に低い $\delta^{15}\text{N}$ (令和 3 年度および 4 年度報告書にて既報) は、稚貝期における摂餌生態の違いではなく、種苗生産時の培養藻類の影響が残っていたことによるものであることが強く示唆された。一方で、 $\delta^{13}\text{C}$ においてみられた 1% 程度のバラツキは、成長に伴う変化と考えられる。こうした $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ による違いは、窒素に比べて炭素の方が **turn over** が早いことによる影響と考えられる。

令和 4 年度の報告書にて既報の、ハマグリ の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ の経月変化のグラフも踏まえて、混合モデルによる餌料源解析時には、最低でも、設置後 2 ヶ月間のデータを除去する必要があることを改めて確認することが出来た。その上で、更に万全を期すため、殻長 10mm 以下の成長の悪いハマグリ 個体についても除去することとした。

2) 混合モデルにおけるエンドメンバーおよび濃縮係数の再検討

干潟調査時に採取した塩分 25 以上の水に含まれる POM の同位体比では、ハマグリ の同位体比を十分に説明することが出来ていなかった。そこで、海水中の POM の同位体比として、2019 年 5 月と 8 月に盤洲沖および富津沖で、千葉県 の漁業調査船「ふさなみ」に乗船して採取した海水試料を用い、 $\delta^{13}\text{C}$: $-18.4 \pm 1.3\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$: $11.6 \pm 1.1\%$ を採用した。また、底生微細藻類については、クオリティーチェックとして $\text{CN} > 10$ のデータを除去することにより、【岸】では $\delta^{13}\text{C}$: $-18.5 \pm 2.4\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$: $9.2 \pm 1.7\%$ 。【中間】では $\delta^{13}\text{C}$: $-19.0 \pm 2.1\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$: $8.4 \pm 2.0\%$ 。【沖】では $\delta^{13}\text{C}$: $-20.0 \pm 2.3\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$: $7.0 \pm 1.4\%$ を採用した。また、濃縮係数として、部位別の濃縮係数を調べた Yokoyama & Ishihi 2006 を参照し、閉殻筋を用いた際の濃縮係数として、 $\delta^{13}\text{C}$: 1.9‰、 $\delta^{15}\text{N}$: 4.6‰ を採用した。

以上の再検討を踏まえ、改めてベイズの混合モデルを用いて解析した結果 (図 3)、殻長 20mm 台までは、海水 POM に加えて、底生微細藻類も高い割合で餌利用していることが示唆された。その後、殻長 30mm 台から 40mm 台にかけて海水 POM の割合が上昇することから、成長に伴い、懸濁物食が強まる傾向が確認された。懸濁物食が強まった場合、冠水時間の長い沖合の方が適地となることから、成長に伴う摂餌生態の変化が、ハマグリ の成長に伴う干潟上での沖合方向への能動的な移動を駆動しているものと考えられる。

3) 消化管内容物のメタゲノム解析

貝類試料のうち、消化管内容物の増幅結果として 1 万リード以上のデータが得られた個体について、BLAST による相同性解析の結果得られた分類群ごとに、生活型 (浮遊、底生または付着) に基づいて整理した (図 4)。令和 4 年度の分析では、ハマグリ の殻長に依らず、消化管内から得られた珪藻類のほぼ全てが浮遊性であったのに対して、特に岸サイトにて採取した殻長 20mm 台のハマグリ において、底生型あるいは付着型の藻類が 5 割を超す値を示す個体を確認した。また、殻長 40mm 台のハマグリ においても、2 割近い割合で底生あるいは付着性の珪藻を利用している個体も見られたが、殻長 20mm 台のハマグリ に比べて、浮遊性の珪藻への依存度が高かった。これらの事実は、上述の同位体混合モデルによるハマグリ 餌料源の推定結果と整合するものであった。なお、生育地について見ると、沖サイトから採取したイボキサゴならびにシオフキ 1 個体ずつ計 2 個体を除いて、いずれの貝類試料についても

海水産の珪藻類が 100%を占めた。2 割程度、淡水産珪藻も確認されていた令和 4 年度報告書にて既報の分析結果（2022 年 9 月 26 日採取）に比べて、淡水産珪藻の占める割合が低かった。このように、試料を採集する時期によって、餌料藻類の生活型・生育地からして、大きく変化することが明らかになり、継続したモニタリングに基づく情報の蓄積の必要性が示唆された。なお、殻長 10mm 台のハマグリ稚貝を含めて、全体的に PCR の増幅が上手く行っていないこともあり、現場でしっかり殻を割ってエタノール固定することを徹底するなど、現場でのサンプルの固定方法等を含め、今後の改善が必要である。

【まとめ】

ハマグリは河口周辺に着底後、成長に伴い干潟上での分布を広げることが知られている。本研究を通して、殻長 20mm 台までは底生微細藻類に強く依存し、それ以降は懸濁物食性が強まることが明らかになった。盤洲干潟の【岸】【中間】【沖】サイトでは、岸の方で底質のクロロフィル a 濃度 ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) が高いことも確認していることから、稚貝期の中間育成においては、岸側のサイトが適地であることが示唆された。この事実は、令和 3 年度報告書にて報告した、稚貝の生残・成長が【岸】サイトにおいて良好であることと整合性が取れる。

30mm 台以降は、懸濁物食性が強まることから、冠水時間の長い沖方向へと出して管理することが望ましいと考えられる。これに関しては、中間育成課題についての報告書についても参照されたい。ハマグリは、殻長 17-20mm で成熟し、再生産に寄与することから (Nakamura et al. 2010)、漁獲加入（殻長 40mm 以上）よりも前に、母貝場としての機能を有することになる。そのため、干潟上での育成が、そのまま、母貝場としての機能を持たせることにもつながると考えて良い。令和 3 年から令和 5 年までの 3 ヶ年かけて行った調査結果をもとに、盤洲干潟における中間育成および母貝場造成スケジュール（案）（図 5）を作製した。今後、漁業者と得られた成果を共有し、安定したハマグリの漁業生産へと繋がることを期待する。

【残された課題】

二枚貝には当たり年、外れ年があることが知られているように、干潟の中間育成場、あるいは母貝場としての機能は、毎年一定のモノではなく、年によって変化すると予想される。本事業では、中間育成場、母貝場の候補である河口干潟だけを調査してきたが、河口干潟の生産性を把握し、適切に利用するためには、流入する河川内も含めてモニタリングすることで、河口干潟そのものの理解を深めて行く必要がある。また、混合モデルやメタゲノム解析について、他種との比較を行う中で、なぜ、近年ハマグリが見られるようになってきたのか、ということについてもアプローチして行く必要があるだろう。

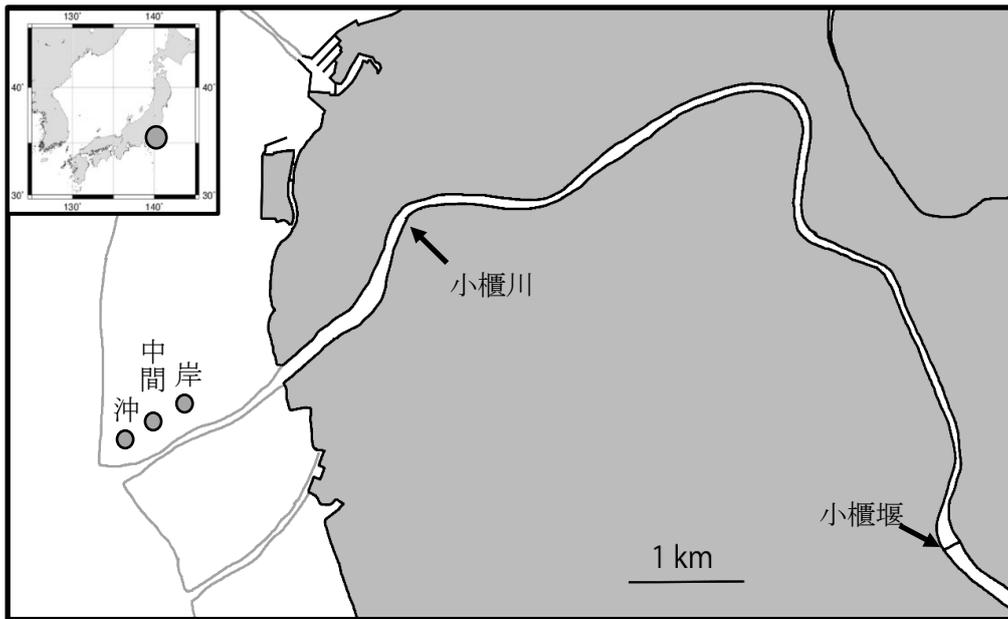


図 1. 研究サイト

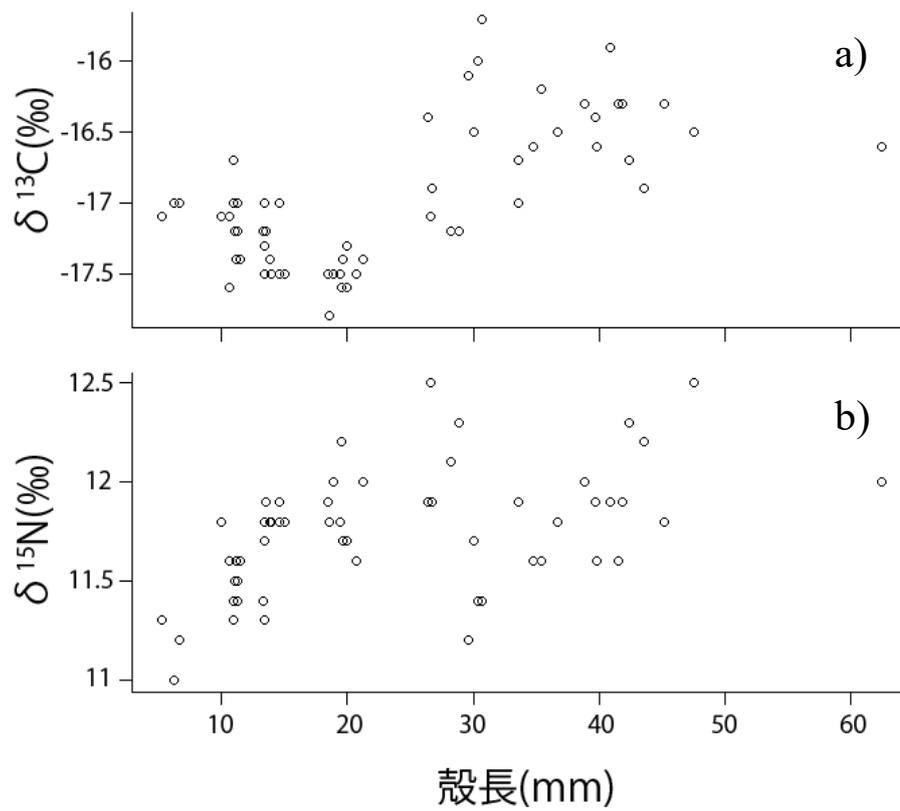


図 2. 西田川における天然ハマグリ（ハマグリ）の殻長と a) 炭素・b)窒素安定同位体比の関係

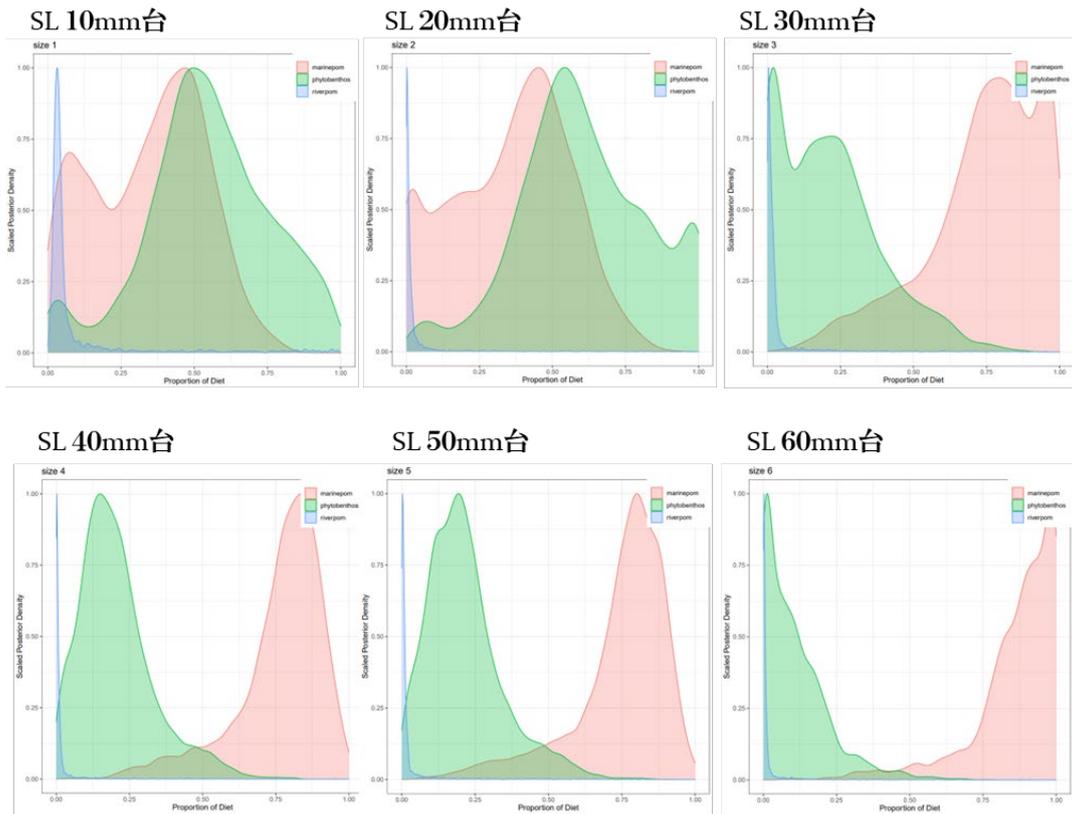


図3. 同位体混合モデルを用いた、ハマグリの子殻長クラス別餌料源推定結果

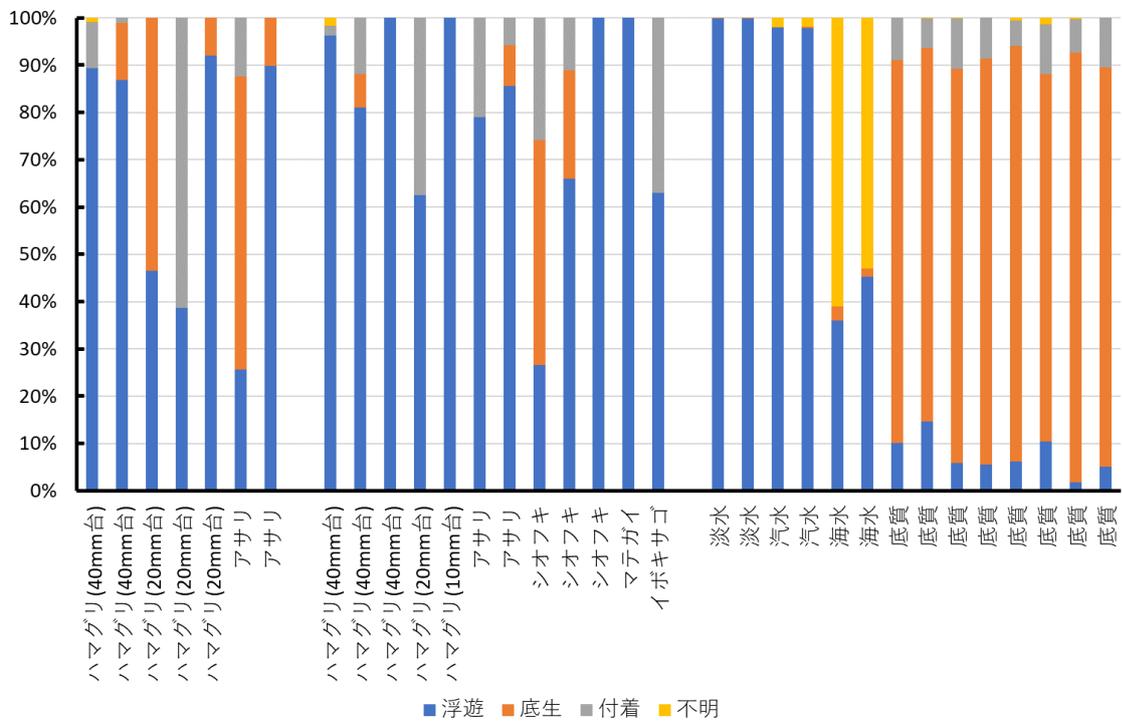


図4. 消化管内容物のメタゲノム解析からハマグリ餌料珪藻の生活型

	春	夏	秋	冬
1年目	採卵 →			
		陸上養成 →		5 mm
2年目	中間育成 @干潟(岸)	カゴ →	被覆網 →	20 mm
3年目	中間育成&母貝場 @干潟(中間)		被覆網 →	40 mm
4年目以降	母貝場&漁場 @干潟(沖)		囲い網 →	

【陸上養成】

【中間育成】

【母貝場造成】

干潟(岸寄り)へ移植
18,000個/m²

干潟内で少し沖出し
1,500個/m²

干潟内で更に沖出し



春先までに
殻長3~5mmの稚貝

2年目の秋までに
殻長20mm程度

3年目の秋までに
殻長40mm程度

半粗放的な方法が理想

図 5. 盤洲干潟におけるハマグリの中間育成および母貝場造成の概要

オ. 親貝選抜のための種同定 DNA マーカーの開発

水産研究・教育機構 水産資源研究所 生命情報解析部

關野正志・中道礼一郎・山本佑樹

水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 生産技術部

山田充哉・前田 雪

【目的】

瀬戸内海の香川県沖には、有隣型のリシケタイラギ（以降、リシケと表記）と無隣型のズベタイラギ（ズベ）のハイブリッドが存在する（横川 1996 ; Sekino *et al.* 2023）。横川（1996）は、香川県沖の天然タイラギについてアイソザイムマーカーによる集団多型解析を行い、両種の間で交雑が起こっていることを報告したが、雑種第一世代（F₁）の繁殖能力の欠如から、片方の種の遺伝子プールに他方の遺伝子が浸透していく“遺伝子浸透”は起こっていないと主張した（補足資料 1 参照）。しかし、ゲノムをより詳細に調べる一塩基多型（SNP）解析と統計解析手法の進歩により、香川県沖のリシケとズベの間で遺伝子浸透が生じていることが明らかになった（Sekino *et al.* 2023 ; 補足資料 1）。さらに令和 4 年度の本事業の成果から、種苗生産にリシケとズベのハイブリッドが用いられ、かつそれらのハイブリッドが多くの子供を残す可能性があることが分かった（令和 4 年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業報告書）。

瀬戸内海の香川県沖においてリシケとズベ間で遺伝子浸透が起こっていることは確実であるものの、多くの個体ではミトコンドリア DNA（mtDNA）のタイプ（ズベは L1, リシケは L2 ; Liu *et al.* 2011 および Hashimoto *et al.* 2021）と貝殻形態が一致している。このことから、外的もしくは内的要因により不完全ながら種の独立性が保たれていると考えられる。仮に再生産可能なハイブリッドを生産し、天然海域に大量移植した場合、長期にわたる種間相互作用のバランスのもとで維持されてきた種の独立性が破壊され、種あるいは資源の崩壊を導くリスクがある。さらにハイブリッドを移植用種苗生産の親として用いることは、種および種多様性保全の観点から倫理的にも問題がある。そのため、種苗生産に用いられる親個体中に含まれるハイブリッドを検出するためツールが必要である。リシケとズベ間のハイブリッドは、両種の間接型の形態を持つこともあるが、主観的な形態観察だけでハイブリッドを確実に特定することは不可能である。また母系遺伝の mtDNA マーカーでハイブリッドを同定することはできない。そこで本課題では、ハイブリッド検出ツールとして核 DNA の SNP マーカーを開発することを目的とした。

SNP 解析では、RAD 法（Baird *et al.* 2008）^{注1}などの次世代型 DNA シーケンサー（NGS）を使った手法が用いられることが多い。しかし NGS ベースの SNP 解析では、実験および各個体のジェノタイプ^{注2}を決定するまでのバイオインフォマティクス解析に時間と手間を要する。そこで本課題では、本事業においてタイラギの親子判別などに用いてきた MassARRAY システム（Agena Bioscience ; Gabriel *et al.* 2009; Ellis & Ong 2017）の使用を前提とした SNP マーカーの開発を行う。MassARRAY 解析には、NGS ベースの SNP 解析よりもジェノタイプング（ジェノタイプ決定）結果が頑強であることや、ジェノタイプングにバイオインフォマテ

イクス解析が不要なため、用いる SNP マーカー数が 100 から 200 程度と比較的少ない場合には、より迅速にジェノタイプデータを得ることができるというメリットがある。

【研究方法】

1. 種苗生産用親候補個体中のハイブリッド検出

水産技術研究所百島庁舎における 2023 年度種苗生産に用いる親の選択指標に資するため、天然タイラギ 118 個体 (MP23 サンプル) を対象としてハイブリッド検出を試みた。なお、MP23 サンプル中には、ズベ形態を持つ個体も少数含まれていた。種苗生産前の段階では MassARRAY 解析用のマーカーは未開発であったため、SNP 解析法として RAD 法を採用した (Sekino *et al.* 2016 ; 制限酵素 *SbfI* を使用)。種々のデータフィルタリング後に得られた SNPs を用いて、各個体のゲノム中のリシケとズベ由来の DNA を定量的に推定することができる Admixture 解析を行った (ソフトウェア Structure version 2.3.4 ; Prichard *et al.* 2000)。Admixture 解析では、リシケとズベの参照純種集団サンプルとして、それぞれ五島集団サンプル ($N=33$) と函館集団サンプル ($N=45$) のデータを用い、さらに佐賀県沖で得られた集団サンプル (有明海、 $N=40$) のデータも加えた (Sekino *et al.* 2023 のデータ)。

2. MassARRAY 解析用 SNP マーカーの開発

Sekino *et al.* (2023) が分析した五島集団 (リシケ純種) サンプルと函館集団 (ズベ純種) サンプルについて、それぞれ 15 個体ずつを選択し、制限酵素 *Spe I* を用いた RAD 法により RAD ライブラリーを作製した。なお、制限酵素 *SbfI* (研究方法 1) と *SpeI* ではゲノムを消化 (切断) する場所が異なる。このため、*Spe I* に基づく MassARRAY 解析用 SNP マーカー開発の対象となる SNP サイトは、種苗生産用親候補個体中のハイブリッド検出 (研究方法 1) で用いられたものとは異なることが期待される。ライブラリーの DNA シーケンシングには、NGS の一機種である NextSeq 500 (Illumina) を用いた (Single-end、150 塩基)。得られたシーケンスリードをリシケとズベの参照ゲノム配列にマッピングし、リードがマッピングされ、かつ種間で相同な DNA 領域を抽出した。抽出された DNA 領域上で、五島と函館集団サンプル間でアレル置換^{註3}が生じていたサイトを、ハイブリッド検出マーカーの候補サイトとして探索した。

ソフトウェア Assay Designer version 4.0.0.2 (Agena Bioscience) を用いて、マーカー候補サイトのジェノタイプを検出するための PCR プライマーおよび一塩基伸長プライマーを設計した。さらに同ソフトウェアにより、1 回の実験および MassARRAY 分析で同時に調べることができる SNP パネルを得た^{註4}。

Sekino *et al.* (2023) の天然タイラギ標本 ($N=355$) と MP23 サンプル、計 473 個体を用いて、設計したプライマーセットのスクリーニングを行った。Comp iPLEX Gold Genotyping Set (Agena Bioscience) を用いて PCR と一塩基伸長反応を行い、反応産物を MassARRAY システムで分析した。ジェノタイプングにはソフトウェア Typer Analyzer version 5.0.4.146 (Agena Bioscience) を用いた。このスクリーニングの結果に基づき、ジェノタイプ決定が困難であったプライマーセットを除外した。スクリーニングをパスしたプライマーセットのうち、五島と

函館サンプルの個体数を増やした時に（五島、 $N = 15 \rightarrow 33$ ；函館、 $N = 15 \rightarrow 45$ ）、いずれかあるいは両方のサンプルで低頻度のヘテロ接合が認められたセット、すなわち純種間でアレルを共有していたセットは除外した^{注3}。

【研究成果の概要】

1. 種苗生産用親候補個体中のハイブリッド検出

制限酵素 *Sbf*I を使った RAD 法で得られた SNP サイトのうち、リシケとズベの参照純種集団サンプル間で完全アレル置換が認められた 763 サイトのジェノタイプを抽出し、Admixture 解析を行った（図 1A と 1B）。MP23 サンプル中には、リシケとズベの両種由来の DNA を有する個体が検出されたことから、種苗生産の親候補個体中にハイブリッドが含まれていたことが明らかになった。この結果を受けて、百島庁舎では、ズベ由来の DNA の割合 (q_{zube}) がゼロに近い個体を親としてリシケの種苗生産を行った。

2. MassARRAY 解析用 SNP マーカーの開発

制限酵素 *Spe*I を使った RAD 法によって得られた SNP データに基づくと、純種リシケ集団とズベ集団間で、106,867 のアレル置換サイトが認められた。このうち 305 サイトを対象としてプライマー合成を行い、プライマーセットのスクリーニングを行った。その結果、216 のプライマーセットでは、明瞭にジェノタイプを分けることができた。しかし、これらのうち 14 セットでは、MassARRAY 解析において純種集団サンプルの個体数を増やした結果、いずれかあるいは両方の集団サンプルで低頻度のヘテロ接合が検出されたため^{注3}、残りの 202 セットをハイブリッド検出マーカーとした。これらのマーカーは、8 つの SNP パネル（SD1–SD8）に振り分けられている。補足資料 2 に、各マーカーのプライマー配列および SNP パネルへの振り分けを示す。

MP23 サンプルを使って、どれだけの SNP パネルを解析すれば制限酵素 *Sbf*I を用いた RAD 法の結果と同等の精度でハイブリッドを検出できるかを、以下の手順により調べた。

- 1) マーカー数の多い SNP パネル順にランクづけした。パネルのマーカー数が同じ場合、便宜上パネル番号（1 から 8）の小さい方を高ランクとした。
- 2) 1)において高ランクであったパネルから順に 1 パネルずつ加えて Admixture 解析を行った（パネルの組合せは表 1 に示すように 8 通り）。
- 3) 各個体の q_{zube} の値を RAD 法の結果と比較することにより、ハイブリッド検出力を評価した。

各パネル組合せにおいて Admixture 解析を行った結果を図 2 に示す。図の見やすさのため、パネル組み合わせの総マーカー数が 100 未満の場合と 100 以上の場合に分けてある（それぞれ図 2A と 2B）。 q_{zube} は用いる SNP パネル数が少なくても（100 マーカー以下）、RAD 法を用いた時と比べて大きな乖離は無かった。しかし 4 パネル以上（100 マーカー以上）を使用することにより、特に q_{zube} の値が低い時に ($q_{\text{zube}} < 0.1$)、パネル組み合わせ間での q_{zube} 推定値バラ

ツキが小さくなった。

以上の結果から、高解像度なハイブリッド検出には、100 マーカー以上の解析が可能になる4 パネル以上を用いることが望ましい。しかし、解析の目的が“明らかなハイブリッドを親候補個体から除外する”ということであれば、少数のパネル（少数のマーカー）の解析でも十分と考えられる。図 2A・2B のように、使用パネル数が変わっても、 q_{zube} が高くなるとパネル組み合わせ間の誤差が小さくなる傾向がある。このことから、明確な基準があるわけではないものの、仮に 100 個以上のマーカーを使った時に q_{zube} が 0.1 以上である個体を明らかなハイブリッドとすれば、1 パネル（SD1、28 マーカー）を使うだけでも、誤って明らかなハイブリッドを親として選択するリスクを大幅に低減できると考えられる。なお、以上の提言はリシケの種苗生産を前提としているが、ズベの種苗生産を行う場合は、 q_{zube} を各個体のゲノムにおいて検出された“リシケの DNA”の割合に置き換え、その割合が低い個体を親として用いることになる。

注 1：ゲノム DNA 中の特定の塩基配列が存在する場所で DNA を消化（切断）する制限酵素を用いて DNA を断片化し、NGS を用いて切断場所の両側の短い塩基配列中に生じている SNP を検出する方法。用いる制限酵素の種類に依存して、SNP 検出の対象となるゲノム領域が変わる。数千、数万という多くの SNP を調べることができる反面、実験作業が煩雑であるとともに、得られたデータの処理に時間を要する。

注 2：二倍体生物の場合、1 組（二本）の相同染色体が存在する。一塩基多型が生じているサイトにおいて、相同染色体のそれぞれが“アリル”を持つ。例えばある個体の 1 組の相同染色体の特定のサイトにおいて、片方の染色体にアリル A、もう一方の染色体にアリル C という異なるアリルがあるとすると、そのサイトは一塩基多型サイト（SNP サイト）であり、ジェノタイプは AC となる。ジェノタイプを決定することをジェノタイピングと呼ぶ。

注 3：例えばアリル A と C のみが存在する SNP マーカーでは、二倍体生物ではジェノタイプとして AA、AC および CC の 3 種類しか生じない。異なる 2 種（種 1 と種 2）において、種 1 の個体ではジェノタイプ AA、種 2 の個体ではジェノタイプ CC しか見られない場合、両種は当該マーカーにおいてアリルを共有しない。このことを完全アリル置換と呼び、完全アリル置換しているマーカーはハイブリッド検出の強力なツールになる。ある SNP サイトにおいて、種 1 のすべての個体のジェノタイプが AA、種 2 のほとんどの個体のジェノタイプが CC であるが、種 2 でヘテロ接合 AC が 1 個体検出された場合は、そのサイトにおいて種間でアリル A を共有しているため、完全アリル置換しているとは言えない。

注 4：MassARRAY 解析では、1 回の実験・分析で調べることのできるマーカー数に上限がある（通常 40 マーカーまで）。このため、開発されたマーカーを複数の SNP グループに分け、

グループごとに分析を行う必要がある。グループ分けされたマーカーの1セットを“SNP パネル”と呼ぶ。SNP パネルを作成するためには、マーカー間のプライマー干渉を最小限にすることや、一塩基伸長後の一塩基伸長プライマーの質量 (Mass) が重複しないようにすることなどを考慮する必要があり、単純に任意のマーカーを選んで一つの SNP パネルを作成するわけではない。

【引用文献】

- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA, Selker EU, Cresko WA, Johnson EA (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE* 3: e3376.
- Ellis JA, Ong B (2017) The MassARRAY® system for targeted SNP genotyping. In: White S, Cantalieri S (eds) *Genotyping. Methods in Molecular Biology* volume 1492. Humana Press, NY
- Gabriel S, Ziaugra L, Tabbaa D (2009) SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform. *Current Protocols in Human Genetics* 60: 2.12.1–2.12.18.
- Hashimoto K, Yamada K, Sekino M, Kobayashi M, Sasaki T, Fujinami Y, Yamamoto M, Choi K-S, Henmi Y (2021) Population genetic structure of the pen shell *Atrina pectinata* sensu lato (Bivalvia: Pinnidae) throughout East Asia. *Regional Studies in Marine Science* 48: 102024.
- Liu J, Li Q, Kong L, Zheng X (2011) Cryptic diversity in the pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae): high divergence and hybridization revealed by molecular and morphological data. *Molecular Ecology* 20: 4332–4345.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Sekino M, Nakamichi R, Iwasaki Y, Tanabe AS, Fujiwara A, Yasuike M, Shiraishi M, Saitoh K (2016) A new resource of single nucleotide polymorphisms in the Japanese eel *Anguilla japonica* derived from restriction site-associated DNA. *Ichthyological Research* 63: 496–504.
- Sekino M, Hashimoto K, Nakamichi R, Yamamoto M, Fujinami Y, Sasaki T (2023) Introgressive hybridization in the west Pacific pen shells (genus *Atrina*): restricted interspecies gene flow within the genome. *Molecular Ecology* 32: 2945–2963.
- 横川浩治 (1996) タイラギ 2 型の遺伝的分化. 日本貝類学会誌 55: 25–39.

【図表】

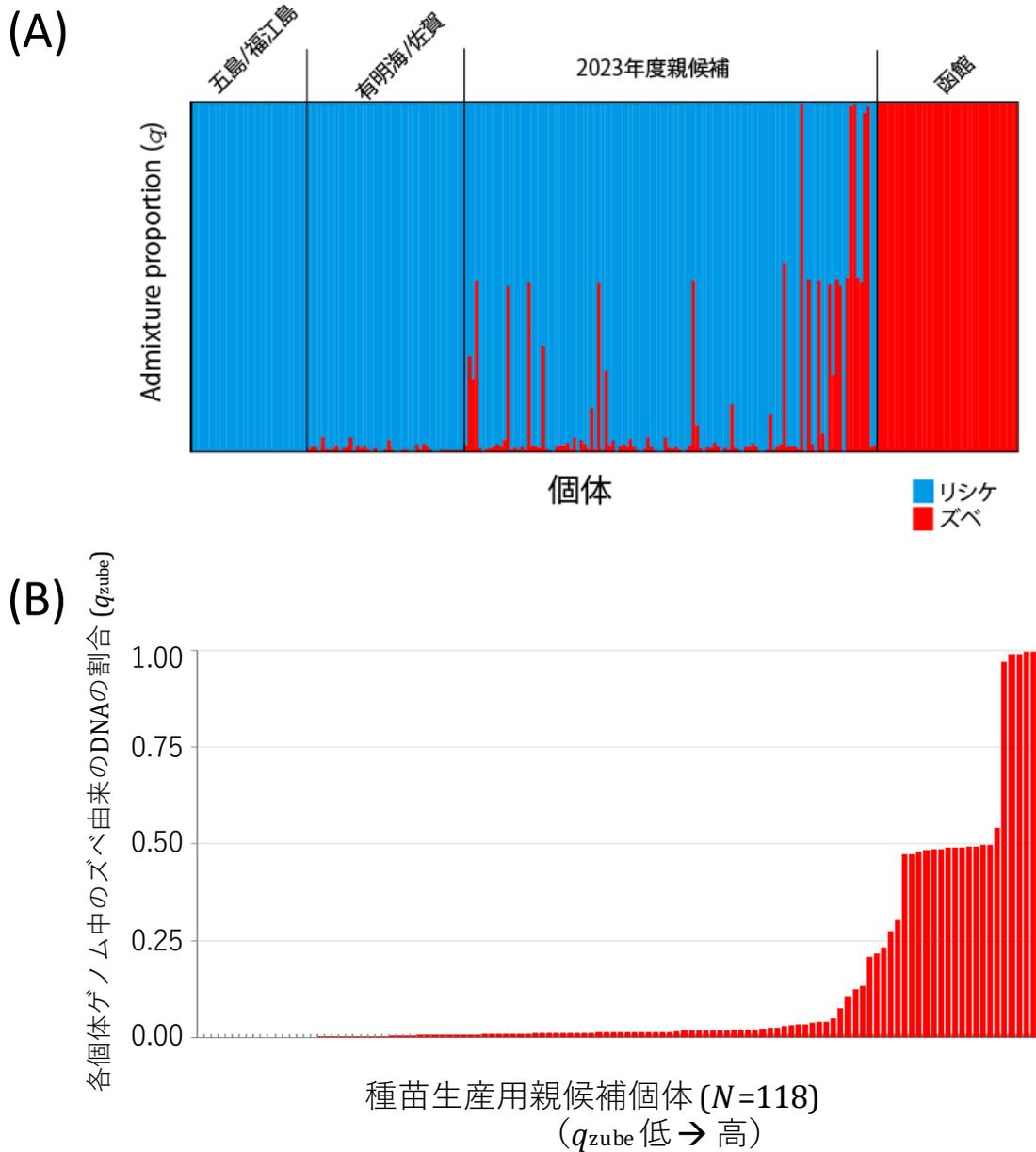


図 1. RAD 法（制限酵素 *Sbf*I）に基づく SNPs を使った 2023 年度親候補個体の Admixture 解析
(A) 横軸は各個体（図上部に各個体が由来する集団サンプルを記す）、縦軸は Admixture proportion（各個体のゲノムにおけるリシケとズベ由来の DNA の割合）で、青がリシケ由来の DNA、赤がズベ由来の DNA。五島と函館集団サンプル間で完全アレル置換していた 763 SNPs を使用。(B) 図 1A の”2023 年度親候補“の個体のみを抽出し、各個体のゲノムにおけるズベ由来の DNA の割合 (q_{zube} ; 縦軸) がより低い個体が左に、高い個体が右になるように並べ替えた図。

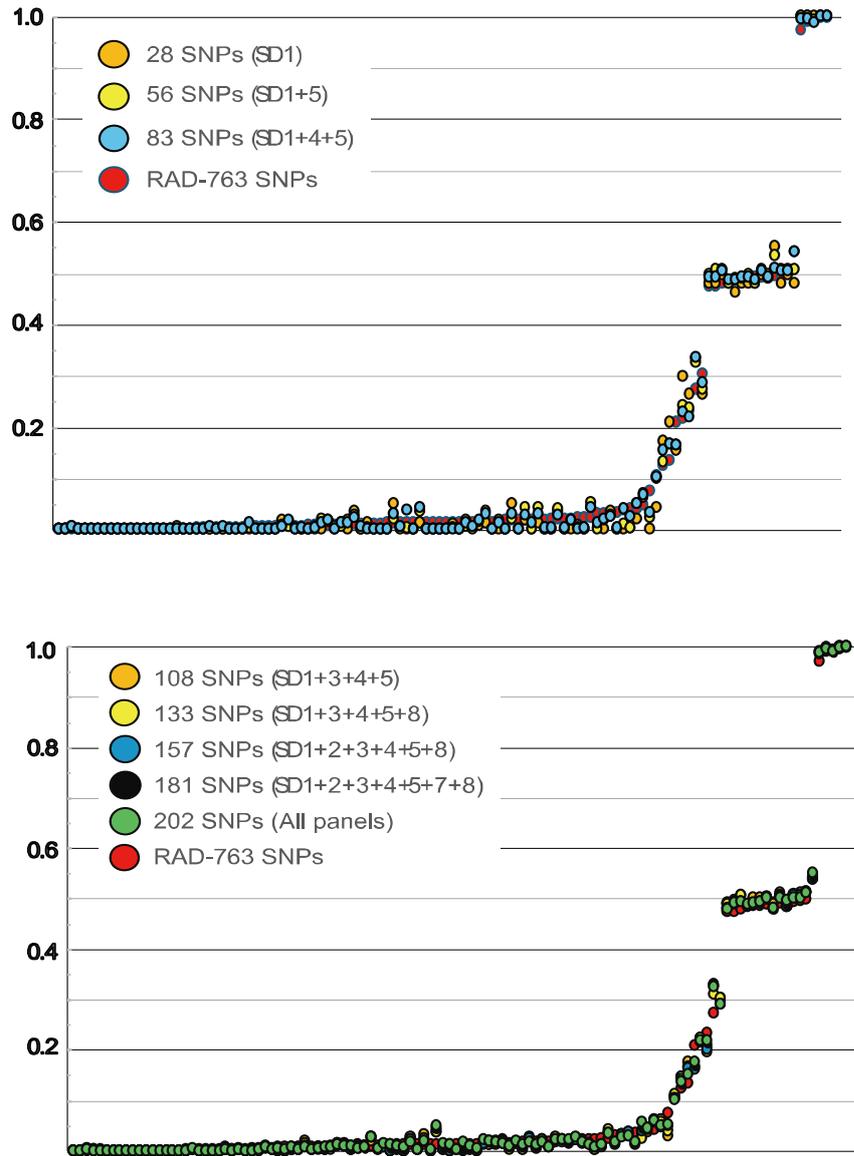


図 2. MassARRAY 解析の SNP パネルを用いた Admixture 解析

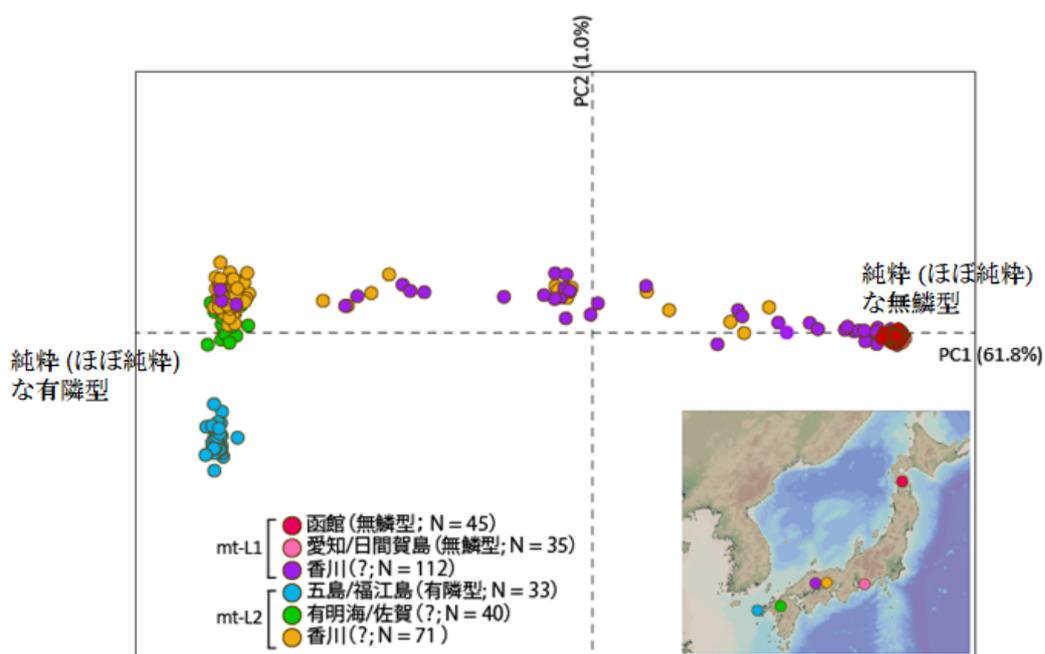
(A) 100 マーカー以下 (3 パネル以下) 使用時。縦軸は q_{zube} 、横軸は各個体 (個体の順序は図 1B と同じ)。 (B) 100 マーカー以上 (4 パネル以上) 使用時。

図 2A、2B とも赤丸は RAD 法による SNP 解析 (763 SNPs) で得られた q_{zube} (図 1B の棒グラフを散布図にしたもの)。特に RAD-SNP で q_{zube} が 0.1 以下では、100 個未満のマーカー使用時 (3 パネル以下) は、100 個以上のマーカー使用時 (4 パネル以上) よりもパネル組み合わせ間の q_{zube} のバラツキがやや大きい傾向があった。

表 1. Admixture 解析における SNP パネルの組み合わせと総マーカー数

SNP パネル 組合せ (括弧内は付加したパネルのマーカー数)	総マーカー数
SD1 (28)	28
SD1+SD5 (28)	56
SD1+SD5+SD4 (27)	83
SD1+SD5+SD4+SD3 (25)	108
SD1+SD5+SD4+SD3+SD8 (25)	133
SD1+SD5+SD4+SD3+SD8+SD2 (24)	157
SD1+SD5+SD4+SD3+SD8+SD2+SD7 (24)	181
SD1+SD5+SD4+SD3+SD8+SD2+SD7+SD6 (21)	202

補足資料 1. リシケとズベ間の遺伝子浸透



上図は、RAD 法で得られた 1,469 個の SNPs に基づき、主成分分析によって日本各地で採集されたタイラギを個体レベルでグループ分けした結果である (Sekino *et al.* 2023 を改変)。五島の福江島 (水色) と函館 (赤色) では、それぞれ典型的なリシケ形態 (有隣型) を持つミトコンドリア DNA mt-L2 系統、ズベ形態 (無隣型) の mt-L1 系統しか生息が確認されていない。このため福江島のサンプルは純粋なリシケ、函館のサンプルは純粋なズベであると考えられる。日間賀島 (ピンク) では圧倒的にズベ (mt-L1) が多いが、ごく稀にリシケ (mt-L2) が漁獲される (Hahimoto *et al.* 2021)。佐賀 (有明海; 黄緑色) では、現在リシケが多いが、過去にはズベも比較的高頻度に見られ (古賀 1992; 伊藤 2004)、近年でも低頻度ながら mt-L1 系統が認められる (荒巻 2013; Hashimoto *et al.* 2018, 2021; ただし本解析に用いたサンプルはすべて mt-L2 系統であった)。またリシケとズベの中間形態を持つ個体も見られる (図中のサンプル説明では“?”で表記)。香川 (瀬戸内海) にはリシケとズベが同所的に生息し、両者の中間型も頻繁に見られる。図中では香川の mt-L2 系統をオレンジで、mt-L1 系統を紫色で示

してある。

福江島のサンプルが純粋なリシケ、函館のサンプルが純粋なズベとすれば、図の左の方に位置づけられている個体は、純粋かほぼ純粋なリシケのグループ、右の方に位置づけられている個体は、純粋かほぼ純粋なズベのグループとみなすことができる。リシケのグループには、福江島と佐賀の全サンプルおよび香川 mt-L2 系統の大多数のサンプルが含まれ、ズベのグループは、函館と日間賀島の全サンプルおよび香川 mt-L1 系統の大多数のサンプルで構成されていた（日間賀島のサンプルは函館サンプルの背後に点状にクラスタリングされている）。一方、香川の mt-L1 と mt-L2 系統ともに、リシケとズベグループの間に、スレッド状に位置づけられる個体が認められた。これらはリシケとズベのハイブリッドと断定できる。

横川（1996）は、アイソザイム解析に基づき、香川にはリシケとズベのハイブリッドが存在するが、 F_1 は不妊であると推察している。 F_1 が不妊であれば、それぞれの種の遺伝子プールの独立性が維持される。一方、 F_1 が次世代を残すことができる場合、 F_1 と純種の交配を端緒として、片方の種の DNA が、もう片方の種の遺伝子プールに浸透していく。この現象を遺伝子浸透と呼び、遺伝子浸透を伴う交雑を浸透性交雑と呼ぶ。横川の主張が正しければ、 F_1 は次世代を残すことができないため、遺伝子浸透は起こらないということになる。 F_1 が不妊であれば、つまり F_1 以降の世代のハイブリッドが存在しなければ、主成分分析の図で言えば、両種から DNA を半分ずつ受け継ぐハイブリッド (F_1) は、スレッド状ではなくリシケとズベグループの中間付近に位置づけられるはずである。しかし境界が曖昧なスレッド状に位置づけられた個体が多数検出されたということは、 F_1 が再生産可能であるために遺伝子浸透が生じ、リシケとズベの DNA を様々な割合で有している個体が存在することを意味する。したがってこの結果は、 F_1 が不妊であるという横川の主張を否定する。また、香川の 3 個体は、mt-L1 系統であったのにも関わらず（紫）、核 DNA では純粋かほぼ純粋なリシケとみなされた。このことは遺伝子浸透が比較的長い間続いているということを示唆する。

【補足資料 1 の引用文献】

荒巻 裕（2013）有明海産タイラギの DNA 分析による種判別. *佐有水研報* 26: 89–91.

伊藤史郎（2004）有明海における水産資源の現状と再生. *佐有水研報* 22: 69–80.

Hashimoto K, Yamada K, Nagae A, Matsuyama Y (2018) Lineage specific detection of the scaly form of the pen shell *Atrina* spp. by a loop-mediated isothermal amplification method. *Fisheries Science* 84: 837–848.

Hashimoto K, Yamada K, Sekino M, Kobayashi M, Sasaki T, Fujinami Y, Yamamoto M, Choi K-S, Henmi Y (2021) Population genetic structure of the pen shell *Atrina pectinata* sensu lato (Bivalvia: Pinnidae) throughout East Asia. *Regional Studies in Marine Science* 48: 102024.

古賀秀昭（1992）有明海産タイラギに関する研究—VI. 貝殻表の類別による形態の相違とその分布. *佐有水研報* 14: 9–24.

Sekino M, Hashimoto K, Nakamichi R, Yamamoto M, Fujinami Y, Sasaki T (2023) Introgressive hybridization in the west Pacific pen shells (genus *Atrina*): restricted interspecies gene flow within the genome. *Molecular Ecology* 32: 2945–2963.

補足資料2. ハイブリッド検出用マーカーのPCRプライマー/一塩基伸長プライマー塩基配列

SNP panel	Marker	Allele	1st-/2nd-PCR primer (5' → 3') ¹	1-base extension primer (5' → 3') ²
SD1 28 markers	SD1_01	C/A	ACGTTGGATGGTCTTACTAGTGAAAATTG ACGTTGGATGTGCGCTGACCAGAAGTGAGA	TAGCCCAGGACCTTC
	SD1_02	A/G	ACGTTGGATGTGTACTCAAATTAATTTTGG ACGTTGGATGGAATAAGATCATGGACTAG	ATGGACTAGTGCCCC
	SD1_04	A/G	ACGTTGGATGGATAAAATCGTCTCCATCTCC ACGTTGGATGGTGGACTTTTTGTACTATTTG	ACACCTTTTCCCACTT
	SD1_07	A/G	ACGTTGGATGGGAGATTAAGTTCAAAC ACGTTGGATGGGCGCTTTTAAAGAGAAATGTC	CACATCTACGGCATCTA
	SD1_08	G/A	ACGTTGGATGGCTTGTGTCCAAAATTAAC ACGTTGGATGGTCTCAGTAAACAATTGGTC	agATTGGTCATGTGCCA
	SD1_09	T/C	ACGTTGGATGCTTCCCTTAATTAGAGGAC ACGTTGGATGGGCAATGAAACAATTCTTCC	TCCATGATACAACGACAC
	SD1_10	T/C	ACGTTGGATGCCTTGTACGCACTTTCTTTG ACGTTGGATGTTTATTTTCGCCGTTTCGTGC	agaCGTTCGTGCGAACAC
	SD1_11	C/A	ACGTTGGATGGGTCAGTAAATTTACTAGTG ACGTTGGATGCTCATCTGAAAGACCTTTGAC	cccaACCCACTAGGCCACA
	SD1_12	C/A	ACGTTGGATGCCACACACGTGACAGTTTTT ACGTTGGATGGATATCAAGAATGAGACAG	aaagTTTCGGTATGACCGC
	SD1_13	C/A	ACGTTGGATGTACAGGACCTTTCCCAAAC ACGTTGGATGCCCGTACTAAAGACTAGTTC	TGTTTCAAGAGTTTTGCAG
	SD1_16	A/G	ACGTTGGATGTAACACTCGACTGGCTTCAC ACGTTGGATGTAGCCGAAAGAGCATTGAC	cacaGAACACGTGCCCTTCC
	SD1_18	A/G	ACGTTGGATGGCAATTAACCTCCACCGAAT ACGTTGGATGGACTGAATACTGGAATGACC	TCAGGTTCAAGTATTGTCAGA
	SD1_19	T/C	ACGTTGGATGCAGCTGGTTATTTGTCAAC ACGTTGGATGCGCTCCAAGTATTGTGGT	TTCCATTTATCAACTCTCAGAC
	SD1_23	T/A	ACGTTGGATGCTGAAATTTCTTGGAAAGAGG ACGTTGGATGCAAGGTCTTTGTTTGTATGTC	GTCTTTGTTTGTATGCTCAGATT
	SD1_25	G/A	ACGTTGGATGCCGATTGCTACATCCTCTTG ACGTTGGATGAACCCCTACAACAACCACAG	ggacAACGAAAACCACGTGGTAAT
	SD1_26	G/T	ACGTTGGATGGAATGTCTGATTACTAGTG ACGTTGGATGGTTTATGACATCATTCCCTCC	ttttgCATCATTCCCTCCTTTTAGT
	SD1_27	T/C	ACGTTGGATGCAAAACGCCAACTAATAGTGC ACGTTGGATGCAGATTTAACACTGGAACGG	cttgCTCTCATTGTTTGGTTTCCTC
	SD1_28	A/G	ACGTTGGATGATCTTGTCTATACCCTATGTG ACGTTGGATGCATCTCACTAGTATAATAGAC	cAACCTATTTTCGAAATATCAACAG
	SD1_29	A/T	ACGTTGGATGATTTTCTGGTGAAGCATAAC ACGTTGGATGAGGATTAATAACAAGCATT	ggagTAAAATACAAGCATTTCAGC
	SD1_31	T/C	ACGTTGGATGTGGCAAACATTCACCTAGTC ACGTTGGATGGATCAGGATTTCAACATTG	ggccATCCAACTATAGACAGATTCT
	SD1_32	A/G	ACGTTGGATGTATAGCGTGCTAGGCTGAC ACGTTGGATGAAACAAACATATCTTTTGC	gaagTATGAGATGTACGGTACATTCT
	SD1_33	C/T	ACGTTGGATGATGCGTGACTTGTTCAGTGTG ACGTTGGATGACATTCATCAGAGTCACAC	ctccTTCTTCTACAAAATCACTTTGAG
	SD1_34	C/A	ACGTTGGATGGACTACCACATTTCACTGGC ACGTTGGATGGGAACTCTTTTAAATGTC	TTTACGTGATGTATATTGTATATCATT
	SD1_35	T/C	ACGTTGGATGATCATATGAATTTACCACTA ACGTTGGATGGCATCACACTCACCATTTTC	ctaATCACACTCACCATTTTCTATATTT
	SD1_36	T/C	ACGTTGGATGGGGAGGAATAAATGTAACACAG ACGTTGGATGACCTGCCGTTTGTTCACACAG	tacaTGCCGTTTGTTCACAGATTACCC
	SD1_37	C/T	ACGTTGGATGTTTAAACCCCTTATGGAGCCC ACGTTGGATGCGCTCATAAATTGGACCCAC	ggtagTCCCTAGTGAATTCAATCTAAAT
	SD1_38	T/C	ACGTTGGATGATGGCTAATCTTGTTCACAC ACGTTGGATGGATGATCCACTTTGACATAG	gggagCCACTTTGACATAGATCATTTTT
	SD1_39	C/A	ACGTTGGATGTATAGCGTGCTAGGCTGAC ACGTTGGATGAAACAAACATATCTTTTGC	ccttTACAAAACAGTTACACCCATTGCACC

¹両プライマーとも最初の10塩基 (ACGTTGGATG) は共通のテイル配列

²小文字は各SNPパネル内でプライマー質量の重複を避けるために付加した塩基

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer
SD2 24 markers	SD2_01	G/C	ACGTTGGATGAAACATGTACCCATTGATT ACGTTGGATGACTCAGACAGAAAGCAGACC	TCTGCTGCTCCATCC
	SD2_02	G/A	ACGTTGGATGAACGGTTCCAGCTGAAATTC ACGTTGGATGTCGGGGCTTTAGTTT TAG	GCCGCCTGAGCTTTA
	SD2_03	C/A	ACGTTGGATGAATATCGGTAACCGATAAT ACGTTGGATGAGTTT TAGCTCCGGAGCGGCA	GGAGCGGCACATTTA
	SD2_04	A/G	ACGTTGGATGGCATTGGCCTTTAAGAGTG ACGTTGGATGGTCTGAAAAGATCAGTATGAC	AGGTCCCTTTGCCATA
	SD2_05	T/C	ACGTTGGATGCTTCAGTTATATGTTGAGGC ACGTTGGATGACTAGTATTTTGGCGAGTG	gTGCGGAGTGGTTAGA
	SD2_06	A/G	ACGTTGGATGTGGAATTACATGACAGGG ACGTTGGATGGTAAGCACTAGTACTTAAT	tgACTCCACCGCTTCCA
	SD2_07	C/G	ACGTTGGATGGACCAAGTTCTTACCCTCC ACGTTGGATGTGTTTCATCGGAAGGACCTG	CTGGATTGTACAGACCC
	SD2_08	G/A	ACGTTGGATGCTGTAACTTACTAGTTTCC ACGTTGGATGAGGATATCATT CAGTGATGC	AGTACACTGAGGTCAAG
	SD2_09	A/G	ACGTTGGATGGTTCAGTACCTACTCCTGAC ACGTTGGATGGCATAGTGCTTCATCTGTTG	gATTCTTCACAGTCTCC
	SD2_10	G/A	ACGTTGGATGATCATTAGTTTGAAACCGGA ACGTTGGATGGCGTATGGAGTTCTGGATTC	TCGTGGCTATTCAAAGA
	SD2_11	A/G	ACGTTGGATGGCAACAGAATGTGCTATATC ACGTTGGATGCTCTAAGCTTCTGAGTCAAC	gaTGAGTCAACGAGAGTG
	SD2_13	G/T	ACGTTGGATGTTGTAGAACATGCACCGGAG ACGTTGGATGCCGT CATGGTTCCGACAAAAC	aaagCTTTGAAGCCGGCT
	SD2_15	G/C	ACGTTGGATGGGATGTCCCCTGCATAGATT ACGTTGGATGACCTCGACTGTCAATTAAC	acCAGTCATT CATTCCCAAG
	SD2_18	C/T	ACGTTGGATGGTATATATGTCCTTCCATC ACGTTGGATGGCTTGCAAAGAATCAGATGG	cTCAATTAACCGTGCACCTA
	SD2_21	A/G	ACGTTGGATGGGGCTAACTAGTCTGTCTAC ACGTTGGATGATCTAGTTAAGATGAGAGC	tGTTAAGATGAGAGCGATGAG
	SD2_24	C/T	ACGTTGGATGTGT CAGTTGTCCGATGGATG ACGTTGGATGGCCTTTAAAGTGT TTTGACCG	gACCTACCTGTTTATTTTGTCCC
	SD2_25	G/A	ACGTTGGATGTAGTAGGGACGGGTAAGTT ACGTTGGATGATAAACATCGATTACACG	cctcTTCTGGGCGCATTATACAT
	SD2_27	A/G	ACGTTGGATGTGGGTACTAGTACCGCAG ACGTTGGATGGTATGTTGTATGTTAGATG	taatTATAACACGACAATGTCAAT
	SD2_29	A/G	ACGTTGGATGTTT GAGTAATGGTGTCCGTG ACGTTGGATGTT CACGAAAAGCACA AAGGG	ccaaAAAGGGAAAATAGAGCAACA
	SD2_33	C/A	ACGTTGGATGTTACATCTGTCTTTGAATG ACGTTGGATGCGAGACAATTCTATCCAAA	aacagCACTTCCCACATTTTACC
	SD2_34	T/C	ACGTTGGATGGTGT TTTCA TTTTGTCTCTC ACGTTGGATGGCTATTTTCCATTTCTG	ccccTTTCTGAACAAAAATTTCCAAAT
	SD2_36	G/A	ACGTTGGATGAAGCCAAGCTGCTACAATTC ACGTTGGATGTAGCAAGCTGCACAGTAGAC	cccctGTTAGCCCTGCAGCTTGTGACAC
	SD2_37	G/A	ACGTTGGATGGTGAATGCACAAGTAAGCAA ACGTTGGATGTTTAGACTAGTATATGACG	caccTCGCATACATTCTGT CGAAGTTGT
	SD2_38	C/A	ACGTTGGATGCCTACCTGTACTCTTGTAAAG ACGTTGGATGCGACGGACAGACAAGATTTA	ggaatGACAGACAAGATTTAACTCAATT
SD3 25 markers	SD3_02	T/C	ACGTTGGATGAAACTACATGCATATGTTT ACGTTGGATGTGTCTACTAGTCTACATGTC	ATGCAGAAACACCCA
	SD3_03	T/C	ACGTTGGATGGAGCTCGGTGATTTT TAGAC ACGTTGGATGACGGCACACTTGGTAGAAAC	ACCAAAGAGGATGCC
	SD3_06	C/A	ACGTTGGATGACATTAATGTCGCGGGATAA ACGTTGGATGCTAGTATTAATTGCATGCC	GCGTGAAAAAGTCAGC
	SD3_09	T/A	ACGTTGGATGCTCCAGCAA ACTTCCATGCC ACGTTGGATGGTATGCAGTGTGTACGCAAG	CGCAAGATGAACCAATT
	SD3_11	T/C	ACGTTGGATGGCTCTGTTATAAAAACATAA ACGTTGGATGAGGAAAATCTAATGAACGG	acAATGAACGGAAGCGAC

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer	
SD3	SD3_13	C/A	ACGTTGGATGGCAGATATTAGTACTGGTAG ACGTTGGATGAAACACAGTGTGCAATCCCC	gttTGCAATCCCCCTCTGAT	
	SD3_14	A/T	ACGTTGGATGCACATCAACACTGAGTCAAG ACGTTGGATGGCGTAGGTATTTGTGATGGG	caacGCGGCGTGATTGTAG	
	SD3_15	C/A	ACGTTGGATGTTCTCACCTTTTCATAACCTG ACGTTGGATGACGTTTCATACTAGTTGG	aAATCCTTTTCACCCCATAA	
	SD3_16	C/T	ACGTTGGATGTCTGTTTCAACCAAACGC ACGTTGGATGTAATTTTCATTTTCGCGAGC	AAAATTCTCGCGAATAAAAC	
	SD3_18	T/C	ACGTTGGATGGATTGGTTAATCTGATCTTG ACGTTGGATGATAGACAATACCTGACGCA	cccgACCTGACGCAGGTTTAA	
	SD3_19	C/T	ACGTTGGATGCCAGAAGCCAGTAAATTATG ACGTTGGATGTATTTAACATATTTGTGAGG	AACATATTTGTGAGGAGAAAT	
	SD3_21	G/A	ACGTTGGATGAGCTTGGAAAAGTACTGTG ACGTTGGATGGCTTGTGTATATCTCGTTT	taataTTACCTCGGGACAAGTC	
	SD3_22	T/A	ACGTTGGATGCGTAAAGCATTATGCCGTCC ACGTTGGATGCTGGATTCCACTTCATATCTG	agACTGAAAAAGTACCGATAAG	
	SD3_23	C/T	ACGTTGGATGGCACTGATTGTGAAGTTGTC ACGTTGGATGGGCTCTAGATGTGCTCTATC	GCTCTATCTGATATTCATGAGTC	
	SD3_24	A/G	ACGTTGGATGTGCCCATATCAATGTGCAG ACGTTGGATGAGATGAGGTAAGTCCCTT	ctttTATATGCCAATCCTAACCC	
	SD3_26	C/A	ACGTTGGATGGATACATTTGAAATAAGATGC ACGTTGGATGCAGACAAGTACTATTCTGA	tggTCTGGTGAAAAATCAATAGTT	
	SD3_29	T/C	ACGTTGGATGATTCTAGAAGTTTCTGCCGC ACGTTGGATGTGTGGCTGCGAGGTTAAATA	tTGAAACTTTGACAGATTTTGATAT	
	SD3_30	G/T	ACGTTGGATGACGGGAAAATATTGGAAGAC ACGTTGGATGAGATTGGCAAATGCCATCTG	ctgaaTCATACCCATTCCAGGAATTT	
	SD3_32	A/G	ACGTTGGATGGAAATGAATAAACTAGTTCC ACGTTGGATGTCAAAGAATTTTCGGTTTAC	ccactTGACATGTGTACCCATTCCCCG	
	SD3_33	T/C	ACGTTGGATGGCTTGCCTTATTGTCACTGC ACGTTGGATGACGTGTTGTTGTTTGGG	cAAATCAATATGTTTATACGATGTATGC	
	SD3_34	A/G	ACGTTGGATGGGTAAGCATAACGCAATAG ACGTTGGATGCCGCAAGGGATTCAATAG	agatGGGATTCAATAGATGCACTAGTT	
	SD3_35	T/C	ACGTTGGATGCCCTCAAACACTAGTGTGAT ACGTTGGATGGGTGGTGGCCAATTTTAAATG	ccccTGGCTGTCCATGTGCTTTTTTAAAC	
	SD3_36	T/C	ACGTTGGATGCGAAGTTTATTTCAAGAGAC ACGTTGGATGAGAATGTCCAAAGCGATAAG	tttcTGTACTIONAGGATTCACATCTGGCCT	
	SD3_37	A/T	ACGTTGGATGCCAGCAGATTATTTTATGCTA ACGTTGGATGCTGGTATTAGACAAGTCAA	aaccACAATTTGAAGATAGGTTCTGTTT	
	SD3_38	A/G	ACGTTGGATGTCAGCGACACAATACTGTC ACGTTGGATGGAAATTAGACCGAATACGTTG	gaaagTAGACCGAATACGTTGAAAAATG	
	SD4 27 markers	SD4_02	A/G	ACGTTGGATGAGTCCGGAGAGCTAAGTTCA ACGTTGGATGCTAGGTCAAGGTTACTAGTTC	ATCAAAGCCCTGTCC
		SD4_05	A/T	ACGTTGGATGCCCTCTGCAGTTAAACATGA ACGTTGGATGATAAGATGGATTGACAGAGC	CACACCCATCCCTTAA
		SD4_06	G/A	ACGTTGGATGTACGATTACCAGCAATATC ACGTTGGATGCCATATAAATACTAGTTAG	CATGAGCTCTGGTGAT
		SD4_07	G/T	ACGTTGGATGCAGAGAGAATGCTCATATTG ACGTTGGATGCCACTAGTGTCAAATCTTGG	CAACGCCATTATCCAAA
		SD4_08	G/A	ACGTTGGATGGCTGAAGTCCCAGGTTTAA ACGTTGGATGTCATGATAGTGAGGGTTCT	GTGAGGGTTCTTTTCCA
		SD4_09	C/A	ACGTTGGATGAATTCGCCCTCTCACCTAAG ACGTTGGATGCAAAACAACATCCAATCG	cccTTTCAAAACGCCCCC
		SD4_12	C/A	ACGTTGGATGACGTTTGTGTGCACTAGAAT ACGTTGGATGCATTTGGTACTAGTTATCCAC	ggCTTCCGGTGGTATGGT
		SD4_15	G/T	ACGTTGGATGCCATATAAATACTAGTTAG ACGTTGGATGTACGATTACCAGCAATATC	TGTGTGTTAGAGAAGTGAT
		SD4_16	T/A	ACGTTGGATGCTACCTGAGACTTCGATGAG ACGTTGGATGAGAAATCATGCTCGTTCTAC	TGCTCGTTCTACTTGTTC

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer	
SD4	SD4_17	T/C	ACGTTGGATGGCTCAGGAGAAAAGTTGGTC ACGTTGGATGCTTTGACCTTTGACATTCTAC	ggTGTCTTGGTACTATGGT	
	SD4_19	C/T	ACGTTGGATGTTGGATTCTGTGACTGAGAC ACGTTGGATGCTCAAGAGGTTTCGATAAC	gAGAGGTTTCGATAACTAGTGA	
	SD4_20	A/G	ACGTTGGATGAACGTTTCGTTTGTGTTTCAC ACGTTGGATGCTTGAATCTACCTCTGGACG	ccccTCTGACCCCGTTTCAATC	
	SD4_21	G/T	ACGTTGGATGCAGCAAATAATTCTACTAGTG ACGTTGGATGGACTTTCTACAGCCAAGAGG	ACATGCCTCATTCTATATTCAT	
	SD4_22	A/T	ACGTTGGATGACGCTTAGAGGAGAAAATCCC ACGTTGGATGCCGACATTCTGTATTAACC	gggcTTGTCTTTTCCGGGTACA	
	SD4_23	T/C	ACGTTGGATGACCATCTGCAGAAAAACGTC ACGTTGGATGGAATAAATTACGCCACAAG	aaattGACGCCAATCAATCGCAC	
	SD4_24	C/T	ACGTTGGATGGGGTTTCTCAAGCAATTGTC ACGTTGGATGGATAAAAACTAGTCTGGTAG	ggagCTAGTCTGGTAGTACCTGA	
	SD4_25	T/C	ACGTTGGATGCTTATCGCACCAAGATTAA ACGTTGGATGCAGCTGTTGGCAGGTTTATC	ttgGGTTTATCTAAAGGGCAAAA	
	SD4_26	T/C	ACGTTGGATGTACTAGTCATATACGCGCAC ACGTTGGATGTGACACTTGTACCTCACAC	cACCTCACACAAATGTTTACCTAT	
	SD4_28	A/G	ACGTTGGATGAGCTCCAAGTTTTCATGCGG ACGTTGGATGGCAGTTGTAAGTACTACTTC	ccccTGTAAGTACTACTTCAACAGC	
	SD4_29	T/A	ACGTTGGATGTCATTGAGAGACAACTGTG ACGTTGGATGGTACATCTGTACGCAGTATC	GTACGCAGTATCTATTTCAAGTATT	
	SD4_30	G/A	ACGTTGGATGGACATGTCTGTGTAATGGC ACGTTGGATGGTCTATTTGTTTTATGACAGG	agagTTGTTTTATGACAGGTCTGTG	
	SD4_31	G/A	ACGTTGGATGTTTTCTGGGAAATGGCGG ACGTTGGATGGTACCAAGAACTGTGTGCG	ccccACTGTGTTGCGTTAGAAGTCTC	
	SD4_32	A/G	ACGTTGGATGCAAGCGTCTACATTTGCGAG ACGTTGGATGGACTAGTTTAAAGCACTCAC	caacAGTTTAAAGCACTCACATATCT	
	SD4_34	T/C	ACGTTGGATGAGTTGTGTTTACAAGTGGAG ACGTTGGATGTGTCAGTATCACGCAGTTGG	tcaggTGGTACTATTTCTTTAGAAGT	
	SD4_35	G/A	ACGTTGGATGCCAGTGGAAATGTAATTACG ACGTTGGATGTTCCGCCGAGTGTATAATGC	GAGTGTATAATGCTAATTCTATTGATA	
	SD4_36	A/G	ACGTTGGATGATACTCGACAAAAGAAACC ACGTTGGATGAAACCTGATAACTAGTTGG	ggggTGGTGTAAATATGCAACATAAG	
	SD4_37	A/T	ACGTTGGATGCCTTTGGTTTCGTTTCAATTT ACGTTGGATGGGCCAGTGGTCCCTTTCT	cacgAAAAACTTGCCGTTCCATTTGAC	
	SD5 28 markers	SD5_02	T/C	ACGTTGGATGCTAGTCAGAAATGCTCCTCC ACGTTGGATGGACAAGGGCTGTAGCCAATT	CCAATGGATTGCCCC
		SD5_03	C/T	ACGTTGGATGGCTACAAAAAGTTTGTGCG ACGTTGGATGCATGACAAAACAACTACAG	TGCAGGGAACCAAAAC
		SD5_05	G/T	ACGTTGGATGCATTGGAACCTTCACTGAG ACGTTGGATGGATAGCTCAAATCGTTTAAAC	CGGCATTTGGTGACTC
		SD5_07	C/T	ACGTTGGATGACAGGCAGTTCTAATGATAC ACGTTGGATGCCAATCAGTGGTTACCAAGG	aAACAGTGTGGCCTTG
		SD5_08	G/A	ACGTTGGATGACCAAGGTATGCTTTATTC ACGTTGGATGCATCATTGAACTTCATGC	TCTCGTTTTCTCTGATT
		SD5_10	A/G	ACGTTGGATGTTCTCGCTGATAACATAAG ACGTTGGATGGTTCTTGGTGGATGAGCTTG	ggGACAACCACGGCATTAA
		SD5_11	A/T	ACGTTGGATGGGGTCCAATTTTCTGGATG ACGTTGGATGCGCAGCTCCTTGTTTTACAG	ccccAAAACCTGCCCCCAC
		SD5_13	A/G	ACGTTGGATGGTTCTATGCAATCTTCTCC ACGTTGGATGCGGATCACGCCGAATTGAC	gagaCGAATTGACAGCCGC
		SD5_14	T/C	ACGTTGGATGGCAGAAATGACAGGTTTGC ACGTTGGATGCACACTTTTCTCGACCAAGC	ccetaTCGACCAAGCTACGCC
	SD5_15	A/T	ACGTTGGATGTGCAAAATGAAATGGGGCTAG ACGTTGGATGGATGTAAAAAACTAGTGGC	ttGTCATTTTTTGGTGCCCC	
	SD5_16	A/G	ACGTTGGATGGGCTGTCTCTTTCGTTCTTC ACGTTGGATGTGACTAGTGGTGACTCTGAC	ggGGTGACTCTGACAATGAT	

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer	
SD5	SD5_17	C/A	ACGTTGGATGGCTTTGGTCAGCATTCTGTGTC ACGTTGGATGAACTAGTCGGCCATGGAGA	tctctCCCACACCTGTCACTT	
	SD5_18	A/T	ACGTTGGATGCGTGTGACCAAGCACTTATT ACGTTGGATGTTCAAACCTAGTCATCGCTCC	agtaATCGCTCCATGGAAATT	
	SD5_19	G/T	ACGTTGGATGGACAGTTGCCAATTTATTGTC ACGTTGGATGGACATTTCGTTTCATTTGAG	ccccGAAACCTTGGACCCCGC	
	SD5_20	G/T	ACGTTGGATGAAAAATTAGCAGGGGCCAG ACGTTGGATGGGCTAACACACTCTGAAATC	ccCTCTGAAATCTACTAGTCTT	
	SD5_21	G/A	ACGTTGGATGTGCCGTTAGTCAATCAAGTG ACGTTGGATGCGTGTGACAGATTTGTGGG	tgcgTGTAGTTGGTGTTCGGTT	
	SD5_22	T/C	ACGTTGGATGCGACACGAGACCTCGATTTT ACGTTGGATGAATTCAGTAGAGAGGCACCC	gaggGAGGCACCCAATGACCGA	
	SD5_23	C/A	ACGTTGGATGCACAATCCTCATAAAGATTCC ACGTTGGATGACGAGGCTGAAATAAGGCC	tgacATAAGGCCCATTCCCGAT	
	SD5_24	G/C	ACGTTGGATGCACCTGTAACCTGAATCATGC ACGTTGGATGACAGTACCAAGTTCACCAG	gtaccACACCCCTACAACAATATC	
	SD5_25	T/C	ACGTTGGATGCATGTAAGCTTTGCTTAGAG ACGTTGGATGATGCATCTCCACTTCCCTTC	aacgGACCTTGCAGAACTTATTTT	
	SD5_26	G/C	ACGTTGGATGTGGAAAACTAGTTAGCACAC ACGTTGGATGGCCCCATTCCAGTTGCAAAA	GGCCAAGATGAAAAATAATCTAAT	
	SD5_27	C/T	ACGTTGGATGTATCGCGTAATGAAGTATG ACGTTGGATGGGTATATTGAAAACCTCACTAG	tacTTTCTCGCTCGCATACTGTAAA	
	SD5_28	C/T	ACGTTGGATGTATAACGCACCTCCGGGTAT ACGTTGGATGACACTAGTAGTTATGGGCAG	ataggAGTTATGGGCAGCTCCCTAG	
	SD5_29	A/G	ACGTTGGATGCATCAAGAGGCATAATGACC ACGTTGGATGGGTTGTGAACAAAATGGTGTGTC	ggaCAATGAATAAAGTAATTCAGCA	
	SD5_31	G/A	ACGTTGGATGTTTTACACTCAACACGTTT ACGTTGGATGGGATACAGTTGGTACTAGTG	ctcagGTCAACCTATTCAAATAGTGT	
	SD5_34	G/A	ACGTTGGATGCTAGAGAAGAGGAGCAGAAG ACGTTGGATGTCGCTAATCACATTTGATG	gggtCTAATCACATTTGATGTCAAATT	
	SD5_36	A/G	ACGTTGGATGCAGTACTAGTAATTTGTCCTG ACGTTGGATGAGACCACCAGTGTCAACATC	caccCCAGTGTCAACATCACAAAACAT	
	SD5_38	T/C	ACGTTGGATGGGGTGTAAACGAAATATCCA ACGTTGGATGGACTAGTCTGAAACAATAG	ggaacAGTCTGAAACAATAGAAAAGAAC	
	SD6 21 markers	SD6_02	C/A	ACGTTGGATGAGGCACTAGTCGAAACAC ACGTTGGATGTTGGGACGACCTATCCCTTC	ACACACGCACATACA
		SD6_05	G/A	ACGTTGGATGGTATTTGGGAAATAGATAGC ACGTTGGATGGACCTGAGCTATGAACTCTT	cTGAACCTTCGCGGT
		SD6_06	T/C	ACGTTGGATGATAGCCATGTTATACACTCC ACGTTGGATGCCGACAGCAGTTTACAAATAC	aTGACGGGTCAGGAAA
		SD6_07	C/T	ACGTTGGATGGCATGTCAATATATTGCACG ACGTTGGATGAAGAGCGTCCGACTAGTGTG	gaCGGTTTGGTTCACACA
		SD6_08	T/C	ACGTTGGATGCTAAAACACTGCTGAGTGTGA ACGTTGGATGATACTAGTACCGCACAACG	AGGTGAAATGACGTAGT
		SD6_10	G/T	ACGTTGGATGTGGCACCCCATTTACTGAAG ACGTTGGATGTTTGGGTGAAGACTTGGGAC	tGGCAGCATGATGGCCCC
		SD6_17	T/A	ACGTTGGATGTGCCACAGATTCTATATCGG ACGTTGGATGGGTGGTAATATCTGACTGAC	tCTAAGGACGAGTAGTGAGA
		SD6_18	T/A	ACGTTGGATGCCGACCTATGTGTATGTTTG ACGTTGGATGGACCGCTTTTGTAAATCCCC	gACTGACTTCGTA CTACTAGCG
		SD6_20	G/T	ACGTTGGATGAGGTTTCTCTCAACCTAT ACGTTGGATGGTGTGAAACTGAACAATGCG	AACTGAACAATGCGAAAAACAA
		SD6_21	T/C	ACGTTGGATGTGCCAAATGTAAGCCAATGC ACGTTGGATGTTTCGCTTGGCAGCAAACTC	agagAGCAATTAGACAGGACAA
	SD6_22	G/A	ACGTTGGATGTGCCAACAGAAAACTGC ACGTTGGATGGGGATCGAATCAACTTCCAC	ccTCAACTTCCACTTTACAGAAA	
	SD6_25	A/G	ACGTTGGATGTGCACTAGTAAGTGACAAAC ACGTTGGATGTCTCCTGCGACATCAGGATA	ttcTTACCCTCTCTGGATGAAAAT	

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer	
SD6	SD6_27	T/C	ACGTTGGATGCGACAGGAACCTCAGGTTTC ACGTTGGATGGATTAATGACATGACTAGTGG	GACATGACTAGTGAAAAATAAC	
	SD6_28	C/T	ACGTTGGATGGTCAGTCCATAGCACTAGTC ACGTTGGATGCATGTATCTCAAAAAGGCAC	cccaAAAAAGGCACAATGAGACCCT	
	SD6_30	C/T	ACGTTGGATGGATTAGCTCACTTACGACAC ACGTTGGATGAGAAGCTTAGGAACACACAGG	ACTAGTAATTCTGATACAATACACAC	
	SD6_31	T/C	ACGTTGGATGTGGCGATGAACCTGTCTAAC ACGTTGGATGAAAACACTGGCCGTATTACTG	ccaaACTGGCCGTATTACTGTAACAT	
	SD6_32	A/T	ACGTTGGATGCTTGAATACAAATCCCTGTG ACGTTGGATGGGGTTTTCTGATCAAGACGC	ggggCACTTTTGTAGTGCATCCAATAT	
	SD6_33	C/A	ACGTTGGATGCTAAGCCTTGCTATTAATAT ACGTTGGATGCTCTACCAAGCTGTACTGAC	accccCATCTAAATCACACTTGCAATA	
	SD6_34	G/A	ACGTTGGATGGAACAGGGATGATTCTGTC ACGTTGGATGCTCCACAGTAAGTACATGTT	ggaggTAATTTACGATCAGTACATGAA	
	SD6_36	A/G	ACGTTGGATGCAAAAAAGGTCGTGGTATGC ACGTTGGATGAGCGCCAGACAAACTAAACG	tctaGCCAGACAAAATAACGTTGACAT	
	SD6_38	G/T	ACGTTGGATGGGCCAAAATACAGTCCAACC ACGTTGGATGTCAACTGTCTCACAAAATG	caatTGGACACAAACTGGCTGTTGAAGG	
	SD7 24 markers	SD7_01	G/T	ACGTTGGATGGGAAGGGGTATAAAAAGGTC ACGTTGGATGCCTGTATTTTCAAAATGAAAAG	AGTCCCAACACCTCT
		SD7_02	G/A	ACGTTGGATGCTGAAAATATTGTTGAAAAGTG ACGTTGGATGGAGCTAATGTAAGTGCAGAG	ATTGACAGTGCCACA
		SD7_03	G/T	ACGTTGGATGCGTTGAACCCGTGACTACTA ACGTTGGATGGTTTTAGACGTTGTTGGTGG	CGGTGGAAGGTTCCG
		SD7_06	C/T	ACGTTGGATGCCAGCCTTCAACAAATAAAC ACGTTGGATGGTTTACTGCTTACTAGTCAC	GCCACCACCCGAACCCC
		SD7_07	C/G	ACGTTGGATGGACATTTATTCCTTTGCTAC ACGTTGGATGCACACAGGAGTAGAATCAAT	AAGAGCAAAAATGTCCG
SD7_08		C/A	ACGTTGGATGTCCCATTCTCTGATGAAG ACGTTGGATGTTGAATAATTGTGCCATT	cTCCCGTCACCATCCACA	
SD7_09		G/A	ACGTTGGATGTATCTGACTAAAGTGGATG ACGTTGGATGGTAATATCACACAAGCAATC	ctcACGCAATGATTCCGA	
SD7_10		A/G	ACGTTGGATGTGTGCTTCTTCAAACACGGG ACGTTGGATGGATGCAGTTAAATGGTGTCC	acaTATGAATCCAGCGCC	
SD7_11		G/A	ACGTTGGATGGATGTCCGCAACATACTACC ACGTTGGATGCCCATGGTATCTTTAAAAA	cctcCGTACCACCCACTTG	
SD7_12		C/T	ACGTTGGATGTCCGACTAGTTTGGCGGAC ACGTTGGATGTACGTTCCGAGAAGGAGTTT	AGCAGCTCCTCGTGATTGA	
SD7_13		G/A	ACGTTGGATGAGAGGATTGGGCACACACTG ACGTTGGATGGAATACTAGTGTACATAGC	gtgTTACGCCAAGACGAAT	
SD7_14		C/A	ACGTTGGATGCTACTTCCGGTGACCTCAA ACGTTGGATGTTAACATTAAGTCACTTTT	cctcgCGCATACCAAGCTCA	
SD7_15		G/A	ACGTTGGATGCTAGTGTATTTACTGCCTGG ACGTTGGATGTTGTGAAATGCCACTGTCC	AGACAAACGTAGATGGTATA	
SD7_16		T/C	ACGTTGGATGGTTCGTTTATTTGTCGTTACC ACGTTGGATGTGATAACTGTCAATCAACC	gtgggGCTTGGATCGTACGC	
SD7_20		G/T	ACGTTGGATGGTCTTACTAGTGTAAATTG ACGTTGGATGTGCGCTGACCAGAAGTGAGA	cctatCGATGCTCTAACCACTC	
SD7_21	C/T	ACGTTGGATGGAACCACATTTCCACAGCC ACGTTGGATGGCTTGGCCTTTAGGAAGTAG	AATGATGCCGACTTTATTTGAA		
SD7_23	C/T	ACGTTGGATGCGCAAGGCCGTTTCCAAAAC ACGTTGGATGGGAGAGTAGTCTATTGGTAA	tccTGAAACAGTCATAACACACT		
SD7_25	G/T	ACGTTGGATGGCTTAATCTCAAATTTGGCAGG ACGTTGGATGCTCTGCACTAAACCCATTA	TGCACTAAACCCATTAATCTTTTA		
SD7_26	C/T	ACGTTGGATGGTATGCATTTCTAGTAAAGC ACGTTGGATGACCTCAGTAACAAGGTGAAC	ccagACATATGGTACACGTCAAAA		
SD7_29	G/A	ACGTTGGATGAGGATAAGTTACCTTTCACG ACGTTGGATGGAATCCATCGTTTCATCTC	ggtgGGCTCGCTATATAAACAGTAG		

補足資料2. つづき

SNP panel	Marker	Allele	1st-PCR primer (above) and 2nd-PCR primer (below)	1-base extension primer
SD7	SD7_30	T/C	ACGTTGGATGCATACGACTTATTCTGCTC ACGTTGGATGTCGTCTGCTAGCGTCATTAC	gaatgGTGTCGCAGAAACAGTATCG
	SD7_32	C/A	ACGTTGGATGAGGACCTGACTAGTACTAAG ACGTTGGATGATACGGGCGTAGCATGCCAG	cacTTCGTCGTGTTATAATGGACTTA
	SD7_35	G/A	ACGTTGGATGGTCATTTACCGTGGCACACA ACGTTGGATGTCATTTCGAGCAAGTGATT	gATAGTTTAGAACTGATGTCATTATTT
	SD7_36	G/T	ACGTTGGATGTGTATCAAATATCGCCCTGC ACGTTGGATGGTGAGAGTGTCCAAATGACC	ggggTGAATTCCTGAAAAGGCAAGAAA
SD8 25 markers	SD8_01	A/G	ACGTTGGATGGGTCACATGCTAAAGATTG ACGTTGGATGTTATTAAGAAGCCATTATTC	CTGCACCCGGCATAAC
	SD8_02	C/T	ACGTTGGATGCCTAAAGCTAGTGACATCTC ACGTTGGATGTGTTTCATGTACATTGCCGG	TGCGGGATCTGTGTA
	SD8_08	C/T	ACGTTGGATGGGAATATGTAATTTGATAAATC ACGTTGGATGTGGACTCCAGGACAACACTAGG	GGACAACACTAGGACGAAT
	SD8_09	C/T	ACGTTGGATGTAAGTACGCGACAACACAC ACGTTGGATGCTCCTGACAACCTCGCTAATG	AACTCGCTAATGGTGGAT
	SD8_10	G/T	ACGTTGGATGCTTAAAGTCAGATACCCTT ACGTTGGATGATGTGACCACCACACAATC	CACCCACACAATCGTAACT
	SD8_13	T/C	ACGTTGGATGCGAACAGTTGCATGGAATAG ACGTTGGATGGGTAGTCATCATATAGTCCC	cctcTGCAACCAATCGTTTC
	SD8_14	C/G	ACGTTGGATGTCCCACTGATACGAAATTG ACGTTGGATGTTTCAGCCACAAAGGACAGAG	AAAGGACAGAGTAACTTCTA
	SD8_15	T/A	ACGTTGGATGTTGGATACTTCCAGCTGTG ACGTTGGATGACACCTGTCTTACTGGCATC	ggggACCTGAGGTCAGGTCT
	SD8_19	A/T	ACGTTGGATGCGGCACCTTTTATAACAAAC ACGTTGGATGCGGATCCTACGTTCAAAAAAC	cGAACAATATGCGGCTGATTAC
	SD8_20	G/A	ACGTTGGATGGTCAGCAATACAATATACATC ACGTTGGATGTGACTGGTCCAATGCAAAAAG	ggacGGCCTGGATAAAAGATAGA
	SD8_21	T/C	ACGTTGGATGTGTGTGCGATTTACTGCCTG ACGTTGGATGGACTAGTAGATAAAGTTTGGC	tatcAGTTTGGCCTATCTCTTTT
	SD8_22	C/T	ACGTTGGATGTAAAATTGAAGCCAGGGT ACGTTGGATGGGAAGGAACAATTAGCACGG	ggggaAATTAGCACGGACTCGAT
	SD8_23	T/C	ACGTTGGATGTGATGGTGTTCAGGCTGTC ACGTTGGATGACCTACCTTGCTGTACC	gggcGTGAGGCCTCGACTAGTA
	SD8_25	C/A	ACGTTGGATGGATGTAGGTCTTTATGAGCG ACGTTGGATGGAACTATACTTTGATAGTG	aacGGGACACCAACTTTATCAGAA
	SD8_26	A/G	ACGTTGGATGGTGCTATTCTTTCAATATC ACGTTGGATGTTCAAGGCTTTCTCTTTGTC	ggCATAGGAAATGTGTGTTAAGAT
	SD8_27	A/G	ACGTTGGATGCTTCTTCAAGTCAAATGGG ACGTTGGATGTCAGAAGAATCCATCCTGCC	ggacGAATCCATCCTGCCAGGTTAT
	SD8_29	C/T	ACGTTGGATGGCAAACCTCACCTGTTTGG ACGTTGGATGACTGCTCATCTAACACCAG	CATCTAACACCAGCATATTTTATATC
	SD8_30	C/T	ACGTTGGATGAAATCGATACAGATGGCGTG ACGTTGGATGCGAAGAAACAGCAGGTCTAC	ggAGGTCTACTAATAGGTTCCCTTTTC
	SD8_31	T/C	ACGTTGGATGTGGATCGTTGCACAATCTG ACGTTGGATGTTGACTGTGGATCCGGTTAG	ttcaGTTAGGTGTGACTAGTTGACA
	SD8_32	A/G	ACGTTGGATGCTCTATTACGCAAAGTGTGG ACGTTGGATGGACTAGTATCCATAGTAAC	ccctcCAGTTGTATACTACATACCCAG
	SD8_33	C/T	ACGTTGGATGGGTGACTATGGTTTCTGTCC ACGTTGGATGCATACACAGTCCCAAAGTT	gaacAGTTTTTAAACACAACACTAGCAA
	SD8_34	T/C	ACGTTGGATGCACAATAAGCGTACAACAAAG ACGTTGGATGGTAAATCTGGCGGAACTAAG	cggtCGGAACTAAGCCGTCCATGTTCA
	SD8_35	C/T	ACGTTGGATGCTGCAATCTAGAAGCCACAG ACGTTGGATGTCCACAGGGGTTGGATAAAG	ccccGGATAAAGCTGCATGCACCCTAC
	SD8_37	G/T	ACGTTGGATGCTTACACATATTATTCCAGC ACGTTGGATGCGTTACTGAATTGACGAAAC	gtttTCTAGGCGTGAATGACGCTCTTGT
	SD8_38	A/G	ACGTTGGATGCCAGCAAAGTAAATCAAGATG ACGTTGGATGCATGTAGACCAGGTAAGTAA	gggtgTTAGTGTAAAGGCTGGTCCCTCTA

令和5年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 第1回検討会 議事次第

日 時： 令和5年5月15日(月) 13:30～17:30 (タイラギ)
16日(火) 9:30～15:30 (ハマグリ)

場 所： I Ma To Space (イマトスペース) 5F Bスペース
(広島県三原市城町1丁目9-7)
オンライン会議併催 (Microsoft Teams)

議 事

1. 開会挨拶

2. タイラギ

- (1) タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発 水産技術研究所
- (2) タイラギ人工種苗生産技術の開発 水産技術研究所
- (3) 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発
瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発
山口県水産研究センター
- (4) タイラギ母貝団地造成技術の開発
 - ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
山口県水産研究センター
 - ② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
大分県農林水産研究指導センター水産研究部
 - ③ タイラギ標識技術の開発 香川県水産試験場
- (5) 親貝選抜のための種同定DNA マーカーの開発 水産資源研究所

3. ハマグリ

- (1) 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・水産技術研究所・三重県水産振興事業団
- (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・愛知県水産試験場・三重県水産振興事業団
- (3) 人工種苗から成貝までの育成技術の開発
 - ① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発 千葉県水産総合研究センター
 - ② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発 三重県水産研究所
 - ③ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所
- (4) 母貝団地造成技術の開発
 - ① 三河湾におけるハマグリ母貝団地造成技術 愛知県水産試験場
 - ② 伊勢湾におけるハマグリ母貝団地造成技術 三重県水産研究所

③ 餌料源分析を通じたハマグリ之母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所

4. 総合討論

5. その他

令和5年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 貝種別検討会 (タイラギ) 議事次第

日 時： 令和5年11月6日(月) 10:00~17:00

場 所： 尾道市民センターむかいしま こころ 研修室2・3
広島県尾道市向島町富浜 5531-1
オンライン会議併催 (Microsoft Teams)

議 事

1. 開会挨拶

2. タイラギ

(1) タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発 水産技術研究所

(2) タイラギ人工種苗生産技術の開発 水産技術研究所

(3) 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発
瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発

山口県水産研究センター

(4) タイラギ母貝団地造成技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

山口県水産研究センター

② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

大分県農林水産研究指導センター水産研究部

③ タイラギ標識技術の開発

香川県水産試験場

(5) 親貝選抜のための種同定 DNA マーカーの開発

水産資源研究所

3. 総合討論

4. その他

【現地検討会】 日 時： 令和5年11月7日(火) 10:00~12:00

場 所： 水産研究・教育機構 百島庁舎 (広島県尾道市百島町 1760)

令和5年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 貝種別検討会 (ハマグリ) 議事次第 (案)

日 時： 令和5年11月27日(月) 9:30～17:00

場 所： 半田市市民交流プラザ (クラシティ半田内)
愛知県半田市広小路町 155 番地の 3
Tel: 0569-32-3430
オンライン会議併催 (Microsoft Teams)

議 事

1. 開会挨拶

2. ハマグリ

(1) 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・水産技術研究所・三重県水産振興事業団

(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・愛知県水産試験場・三重県水産振興事業団

(3) 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発 千葉県水産総合研究センター

② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発 三重県水産研究所

③ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所

(4) 母貝団地造成技術の開発

① 三河湾におけるハマグリの母貝団地造成技術 愛知県水産試験場

② 伊勢湾におけるハマグリの母貝団地造成技術 三重県水産研究所

③ 餌料源分析を通じたハマグリの母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所

3. 総合討論

4. その他

【現地検討会】 日 時： 令和5年11月28日(火) 10:00～12:00

場 所： 愛知県水産試験場漁業生産研究所

愛知県知多郡南知多町大字豊浜字豊浦 2-1

令和5年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 第2回検討会 議事次第 (案)

日時： 令和6年3月7日(木) 9:30~16:30 (タイラギ)
8日(金) 9:30~16:30 (ハマグリ)

場所： RCC文化センター 701会議室
〒730-0015 広島市中区橋本町5-11 TEL 082-222-2277
オンライン会議併催 (Microsoft Teams)

議 事

1. 開会挨拶

2. タイラギ

- (1) タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発 水産技術研究所
- (2) タイラギ人工種苗生産技術の開発 水産技術研究所
- (3) 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発
瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発

山口県水産研究センター

(4) タイラギ母貝団地造成技術の開発

- ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

山口県水産研究センター

- ② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発

大分県農林水産研究指導センター水産研究部

- ③ タイラギ標識技術の開発

香川県水産試験場

- (5) 親貝選抜のための種同定DNA マーカーの開発

水産資源研究所

3. ハマグリ

- (1) 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・水産技術研究所・三重県水産振興事業団

- (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・愛知県水産試験場・三重県水産振興事業団

- (3) 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

- ① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発 千葉県水産総合研究センター

- ② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発 三重県水産研究所

- ③ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所

- (4) 母貝団地造成技術の開発

- ① 三河湾におけるハマグリ母貝団地造成技術 愛知県水産試験場

- ② 伊勢湾におけるハマグリ母貝団地造成技術 三重県水産研究所

③ 餌料源分析を通じたハマグリ之母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所

4. 総合討論

5. その他