

令和6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7年3月

## 目 次

はじめに

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
- ② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

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
- ② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

- ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発
- ② 大分県北部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発
- ③ タイラギ標識技術の開発
- ④ 東京湾におけるハマグリ育成技術の開発
- ⑤ 環境モニタリングを通じたハマグリの適地選定技術の開発
- ⑥ ハマグリの餌料生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発

エ. 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査

オ. 二枚貝類の生産現場における ICT の活用

カ. 検討会の開催

- ① 検討会の開催
- ② 現地検討会の開催

## 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、現在環境省のレッドリストに絶滅危惧種として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、瀬戸内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、ハマグリの子種苗生産研究は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、母貝育成技術と標識技術の開発、瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査、二枚貝類の生産現場における ICT の活用を行う。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。母貝育成技術と標識技術の開発では、タイラギ、ハマグリについて、人工生産した稚貝を効率的に母貝へ育成する技術を開発するとともに、稚貝の育成および母貝場の造成に適した環境条件を明らかにする。また、野外に移植した稚貝を追跡するための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、人工種苗生産における親貝選択の知見に資するために、一塩基多型マーカーを用いて、瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態を調べる。また、二枚貝類の生産現場における省力化、省人化を図るために、浮遊幼生や稚貝、成貝の飼育水槽内の餌料密度を定期的に計測し、餌料密度の低下時に自動的に餌料藻類を添加するシステムを開発する。

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

#### ② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発：

三重県水産振興事業団、国立研究開発法人水産研究・教育機構

### 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

#### 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

### ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

#### ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発：

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母貝育成技術の開発

大分県農林水産研究指導センター水産研究部

- ③ タイラギの標識技術の開発：  
香川県水産試験場
- ④ 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
- ⑤ 環境モニタリングを通じたハマグリの適地選定技術の開発：  
国立研究開発法人水産研究・教育機構、千葉県水産総合研究センター
- ⑥ ハマグリの餌料生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発：  
国立研究開発法人水産研究・教育機構、千葉県水産総合研究センター

エ. 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査

国立研究開発法人水産研究・教育機構

オ. 二枚貝類の生産現場における ICT の活用

国立研究開発法人水産研究・教育機構、国立大学法人熊本大学

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
- 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

【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

産卵誘発剤投与により採卵試験を行い、産卵回数による採卵結果の変化と幼生飼育成績との関係から、卵質の評価指標の有効性について検討する。

- ② ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

担当機関：三重県水産振興事業団、国立研究開発法人水産研究・教育機構

天然親貝を確保し、早期採卵のため加温給餌飼育あるいはより簡便な垂下飼育により親貝を養成し、それぞれの養成方法による採卵可能時期や採卵結果の変化を検討する。

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

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、換水頻度の違い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 ハマガ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

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、良質なふ化幼生確保による生残率の向上効果や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. 母貝育成技術と標識技術の開発

① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発

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、移植条件（育成密度）と移植手法（干潟移植式、カゴ垂下式）を組み合わせた効果的な母貝育成技術の開発を行う。

② 大分県北部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発

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育成技術の開発を行う。

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 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。

⑤ 環境モニタリングを通じたハマグリに適地選定技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構、千葉県水産総合研究センター

河口干潟に分布するハマグリの子成・母貝場の条件を明らかにするため、流入河川の感潮域から河口干潟までの連続性を考慮した環境およびハマグリ同位体比のモニタリングを実施する。また、生息地の重複、近接するアサリやシジミなど他の二枚貝類との同期的変動をモニタリングすることで、生息場の評価に資する情報を収集する。

⑥ ハマガリの餌料生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構、千葉県水産総合研究センター

ハマグリ稚貝の育成および母貝場の造成に適した餌料生物および餌料環境を明らかにするため、稚貝や母貝の生息地において試料を採取し、メタバーコーディング等の手法を用い

て、ハマグリ消化管内容物と環境中の餌料候補について生物組成を分析・比較する。また、必要に応じて同所的に出現する他の二枚貝類についても同様の分析を実施し、貝類間の比較によってハマグリ生息適地の評価に資するデータを取得する。

#### エ. 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構

人工種苗を利用した母貝場造成においては、人為的に遺伝子汚染を促進することがないように、雑種を種苗生産の親貝として使わないようにする必要がある。そこでタイラギの種同定のために開発した一塩基多型マーカーを用いて、種苗生産に用いる親候補個体の種を同定するとともに、種苗生産における親貝選択の情報として活用するために、瀬戸内海各地におけるタイラギの交雑の実態について調べる。

#### オ. 二枚貝類の生産現場における ICT の活用

担当機関：国立研究開発法人水産研究・教育機構、国立大学法人熊本大学

二枚貝類の浮遊幼生や稚貝、成貝の飼育においては、二枚貝類の摂餌によって減少する飼育水槽内の餌料藻類の密度（餌料密度）を自動的に補うような給餌システムを構築するために、飼育水槽内の餌料密度を定期的に計測し、餌料密度の低下時に餌料藻類を添加するシステムを試作して作動検証を行う。

#### 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

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

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

#### 【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水産技術研究所南勢庁舎の試験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。また、産卵誘発剤の投与により採卵試験を行い、産卵回数による採卵結果の変化と幼生飼育成績との関係から、卵質の評価指標の有効性について検討した。

#### 【研究方法】

##### 1) 親貝養成

瀬戸内海産と有明海産のリシケタイラギ（有隣型）および瀬戸内海産のズベタイラギ（無隣型）を親貝として養成した。

瀬戸内海産リシケタイラギは 2024 年 1 月 23 日に香川県丸亀市沖で漁獲され、香川県水産試験場で垂下飼育した 80 個体（瀬戸内海産天然貝）を 2024 年 2 月 29 日から採卵直前の 2024 年 6 月 3 日まで三重県五ヶ所湾で垂下飼育により養成した。ズベタイラギは 2022 年 1 月 25 日に丸亀市沖で漁獲され香川県水産試験場で垂下飼育していた個体を、2024 年 7 月 10 日から百島庁舎の陸上水槽で給餌飼育した。

有明海産親貝は、昨年度まで親貝が得られていた熊本県荒尾地先において採捕がなかったことから、福岡県水産海洋技術センター保有の 2023 年に熊本県で採捕された 4 個体（福岡県保有天然貝）と 2020 年度産人工種苗から育成され採卵用に母貝団地から回収された 45 個体（福岡県保有人工貝）を 2024 年 3 月 28 日から、また水産技術研究所保有の 2022 年度産人工種苗から育成された 20 個体（技術研保有人工貝）を 2024 年 4 月 5 日から、いずれも採卵直前の 2024 年 5 月 27 日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た。

##### 2) 種苗生産のための採卵

瀬戸内海産リシケタイラギの採卵用親貝には、MassARRAY による SNP 遺伝子型判定によってズベタイラギの遺伝要素を全く含まない純系のリシケタイラギと判定された個体を用いた。ズベタイラギは殻の形態に基づいて同定し、遺伝子型判別は行わなかった。人工産卵誘発は、リシケタイラギに対して 2024 年 6 月 5 日、8 月 21 日、9 月 4 日の計 3 回（それ

ぞれ1、2、4回次採卵)、ズベタイラギに対して2024年8月22日の1回(3回次採卵)、すべて水産技術研究所百島庁舎で実施した(表1)。

1回次および2回次採卵には、南勢庁舎の試験筏で垂下養成した後、2024年6月3日から4日にかけて宅配便で百島庁舎に移送し、20–21℃に設定した親貝飼育水槽(1,000 L角型FRP水槽)で給餌飼育した個体を用いた。3回次の採卵用親貝は、2022年から香川県水産試験場の試験筏で垂下飼育し、2024年7月10日に百島庁舎に持ち込んで20–21℃の親貝飼育水槽で給餌飼育した個体を用いた。4回次の採卵用親貝は、2024年1月23日に漁獲された後、香川県水産試験場の試験筏で垂下飼育し、2024年8月27日に百島庁舎に持ち込んで20–21℃の親貝飼育水槽で給餌飼育した個体を用いた。

有明海産タイラギは、分析用組織片の採取による衰弱を避けるため、天然貝の遺伝子判別は行わなかった。南勢庁舎から百島庁舎に移送した後は20–21℃に設定した親貝飼育水槽(1,000 L角型FRP水槽)で給餌飼育した。

有明海産タイラギの採卵において、ペプチド製剤の不足により注射しなかったオスの人工具2個体を除き、人工産卵誘発はすべての回次において全供試個体に産卵誘発ペプチドを注射することで行い、集団採卵方式で受精卵を得た。

人工産卵誘発からふ化槽への受精卵収容は次の手順で実施した。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(SIP)を注射した。10–20分後、同様にオスに注射し、放卵と放精のタイミングがある程度揃うようにした。この手順では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で清浄海水の注水を開始して500Lにし、その中で放精・放卵を継続させた。受精卵は105 $\mu$ mと17 $\mu$ mのプランクトンネットを重ねて回収し、卵数を計数した後、25℃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5,000 cells/mLになるように添加し、幼生の摂餌開始時に水槽内に餌が存在するようにした。

### 3) 採卵技術開発

#### ① 個別採卵試験

採卵試験には2024年に漁獲され、2024年2月から五ヶ所湾で垂下飼育した香川県産リシケタイラギを使用した。採卵試験は産卵初期と産卵盛期に同一個体を用いて2回採卵する試験(2回採卵)と産卵盛期に1回採卵する試験(1回採卵)を実施した。

2回採卵は5/28、6/20、1回採卵は6/12と6/18にそれぞれ実施した。雌雄は各群5個体を用意して殻サイズ、全重量を測定後、採卵した。SIPの投与は、SIPを塩類溶液に溶解し、1 $\mu$ Mに調製して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5Lビーカーに収容し25℃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。受精後約24時間後のD型幼生の殻長を測定した。

## ② 卵質評価の指標

卵質評価可能な指標として、卵径と幼生の殻長を個別採卵試験と種苗生産における採卵で比較した。また指標となりうる候補遺伝子として、タイラギ幼生で発現しており、かつ他の生物において胚発生に必須であることが報告されている遺伝子を 4 つ選定し、今年の採卵試験で得られたサンプルを用いて有効性を検証した。

### 【研究成果の概要】

#### 1) 親貝養成

瀬戸内海産親貝は、遺伝子解析の結果からリシケタイラギに選別された 40 個体を 6 月 3 日に百島庁舎へ送付し、6 月 5 日に採卵した。採卵日までの積算温度は 2325°C・日であった。

有明海産親貝は、5 月 27 日に百島庁舎に送付し（福岡県保有天然貝 3 個体、福岡県保有人工貝 26 個体、技術研保有人工貝 14 個体）、5 月 29 日に採卵した。

#### 2) 種苗生産のための採卵

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、1 回次の産卵誘発では 5 個体のメスから計 2 億粒以上の受精卵を得られた。一方、1 回次以降に陸上水槽で給餌飼育した親貝を用いた 2 回次の産卵誘発において放精・放卵した個体はなく、受精卵を得られなかった。また、南勢庁舎での養成を行わずに香川県水産試験場で垂下飼育を続けた親貝を用いた 3 回次および 4 回次産卵誘発では、繁殖盛期より遅い 8 月 22 日および 9 月 4 日であったにもかかわらず、メス 3 個体から 4,600 万粒および 7,500 万粒の受精卵を得ることができた。

有明海産タイラギでは、放卵しなかったメスの人工貝 5 個体を除き、天然貝 3 個体を含む 24 個体が放精・放卵し、3 億粒以上の受精卵を得ることができた。

今年度実施した種苗生産試験の中で、着底稚貝を得られたのは瀬戸内海産タイラギの 1 回次と 4 回次産卵誘発群、および有明海産タイラギであり、瀬戸内海産のズベタイラギを使用した 3 回次は孵化率および D 型発生率が計数できないほど低く、2 日齢で幼生飼育を終了した。得られた着底稚貝数は、瀬戸内海産タイラギの 1 回次産卵誘発群が連結水槽 6 セットを用いて計 49,164 個体（飼育開始時幼生数の 0.78%）、4 回次産卵誘発群が同じく 6 セットを用いて 1,346 個体（飼育開始時幼生数の 0.02%）、有明海産タイラギが連結水槽 5 セットを用いて 46,548 個体（飼育開始時幼生数の 0.89%）であった。

以上の結果から、全個体に産卵誘発ペプチドを注射して得られた受精卵でも種苗生産が可能であることが実証された。また、7 月から 9 月にかけて採卵を実施する場合は、従来のように親貝を陸上水槽で給餌飼育するのではなく、海面での垂下飼育を続けた個体でも採卵できる可能性が示された。

#### 3) 採卵技術開発

##### ① 個別採卵試験

2 回採卵では、放卵までの反応時間は 5/28、6/20 とともに約 40 分であった。産卵数は約 6,000

万粒から1億粒であり、5/28と6/20で同等の産卵数の個体と6/20に減少する個体が認められた。受精率は5/28、6/20ともに高い値で推移した。孵化率は5/28と6/20で個体ごとに異なる変動を示した。平均卵径は6/20に小さくなり、すべての個体で同様の傾向が認められた。D型幼生の殻長は卵径と同様に6/20に小さくなった(図1)。

1回採卵では放卵までの反応時間は6/12、6/18ともに約40分であった。産卵数は約1億から2億粒を放出する個体が認められた。受精率は6/12、6/18ともに高い値であった。孵化率は40%から70%と個体によって異なっていた。平均卵径は6/12と6/18ともに2回採卵の中間の値であり、幼生の殻長は2回採卵の5/28よりも小さかった(図2)。

## ② 卵質評価の指標

種苗生産において着底稚貝を得られた瀬戸内海産貝の1回次と4回次産卵誘発群(瀬1R-2: 6/5; 瀬2R-2: 9/4)、および有明海産貝(有明-1,2: 5/29)の採卵結果と個別採卵試験における採卵結果を卵径と幼生の殻長で比較すると、卵径は瀬戸内貝1Rと有明貝は個別採卵の5/28と6/20の中間の値であり、瀬戸内貝2Rは1Rより小さかった。幼生の殻長は瀬戸内貝1Rと2Rは個別採卵5/28とほぼ同等、有明貝はそれより小さく個別採卵6/20とほぼ同等であった(図3)。生産結果は飼育6日目の生残率が52.7-77.8%であり、いずれも着底稚貝が得られた。卵径と幼生殻長の結果からは、個別採卵による幼生を飼育したとすればいずれも着底稚貝が得られたと考えられる。

指標となりうる4つの候補遺伝子 *periostin*、*papilin*、*LDL-R*、*Notch* について、昨年試験に用いた2021年群の採卵1-3回目の受精卵と幼生での発現量を定量PCRで測定した。*periostin*、*papilin* は受精卵と比較して幼生で発現量が高いことが確認されたが、*LDL-R*、*Notch* にはそのような傾向は認められなかった(図4)。

## 【次年度に向けた提言】

### 1) 親貝養成

今年度は有明海産天然貝の採捕ができなかったことから、福岡県保有の昨年度までに採捕された天然貝および人工貝、また技術研保有の人工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続く可能性がある。

2019年から有明海産天然貝を養成しているが、2022年を除き毎年垂下飼育中の大量死がみられる。今年度も福岡県保有人工貝と技術研保有人工貝で、飼育中の死亡率はそれぞれ42%と30%であった。瀬戸内海産天然貝の死亡は80個体中3個体のみであり、垂下飼育開始前の生息環境や個体の状態に影響されると考えられる。

### 2) 種苗生産のための採卵

1回次の採卵以降、陸上水槽で水温20℃前後を維持しながらキートセロス、パブロバ、イソクリシス等の培養藻類を連続給餌して約2ヶ月半飼育した親貝からは採卵することができなかった。タイラギの種苗生産技術を安定化させるためには、孵化から着底に至るまでの長期的な挙動を調べる方法と、浮遊幼生の各成長段階について比較的短期間における様々

な飼育実験を繰り返して最適な飼育条件を明らかにしていく方法があり、試行回数を増やし再現性の高い結果を得るためには、採卵可能な親貝をできるだけ長期間維持しておく必要がある。

### 3) 採卵技術開発

タイラギの産卵期に同一個体を用いて産卵期の初期と盛期に 2 回採卵を実施した結果、反応時間は大きく変動しなかった。5/28 と 6/20 の水温が同等であったことから産卵までの反応時間は水温が関係している可能性が考えられた。産卵数については個体ごとに異なるが産卵盛期まで産卵誘発せずに飼育した個体の産卵数は多かった。また、産卵期初期の採卵では大きい卵が得られ、そこから発生する D 型幼生も大きかった。産卵盛期の採卵では、個体によっては初期よりも卵径、幼生殻長が小さめであったことから、既に産卵した個体が混じると考えられた。

個別採卵試験と種苗生産における採卵結果からは、産卵盛期のやや小さめの卵径、幼生殻長であっても飼育により着底稚貝が得られると考えられた。瀬戸内貝 2R では卵径が 1R より小さいが幼生殻長が 1R と同程度であったことから、採卵の時期によっては小さめの卵から大きめの幼生が得られる可能性があると考えられる。

卵質評価の 4 候補遺伝子のうち、*periostin*、*papilin* は幼生で発現量が高いことが確認され、正常に発生が進んでいることを示す指標として利用できる可能性が示唆された。さらにサンプル数を増やして有効性を検証する必要がある。

【図表】

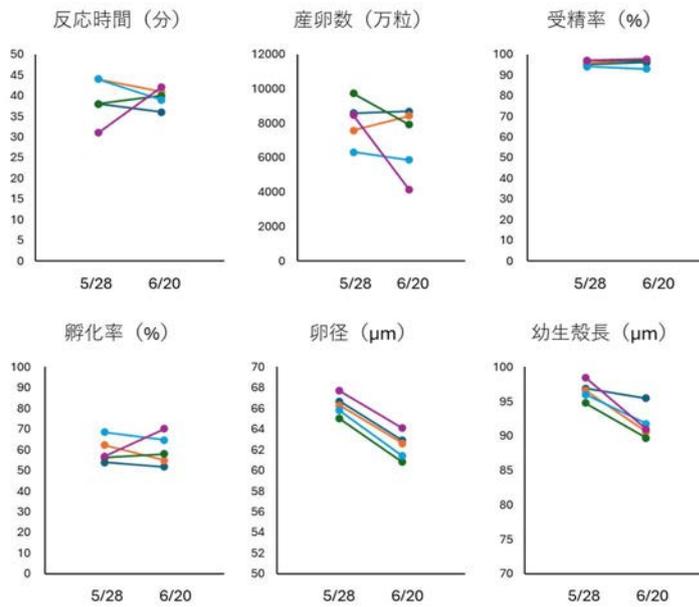


図 1 個別採卵試験の同一個体からの 2 回採卵の結果。5/28 と 6/20 に試験したメス個体の産卵誘発ペプチド投与から放卵までの反応時間（上段左）、産卵数（上段中央）、受精率（上段右）、孵化率（下段左）、卵径（下段中央）、幼生殻長（下段右）。

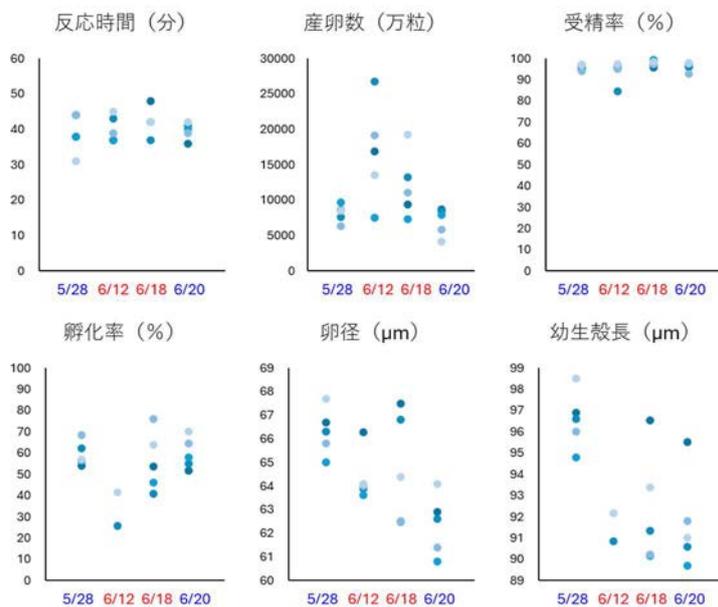


図 2 個別採卵試験の産卵盛期における 1 回採卵の結果。6/12 と 6/18 に試験したメス個体の産卵誘発ペプチド投与から放卵までの反応時間（上段左）、産卵数（上段中央）、受精率（上段右）、孵化率（下段左）、卵径（下段中央）、幼生殻長（下段右）。比較のため 2 回採卵の 1 回目（5/28）と 2 回目（6/20）の結果を示す。

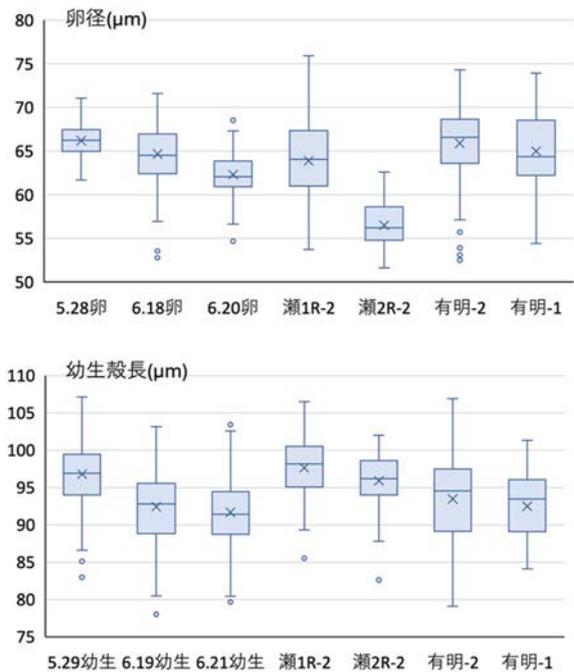


図3 個別採卵と生産における採卵で得られた卵径（上）と幼生殻長（下）。5.28:2回採卵の1回目、6.18:1回採卵、6.20:2回採卵の2回目、瀬1R-2:瀬戸内貝1R孵化水槽2、瀬2R-2:瀬戸内貝2R孵化水槽2、有明-2:有明貝孵化水槽2、有明-1:有明貝孵化水槽1。

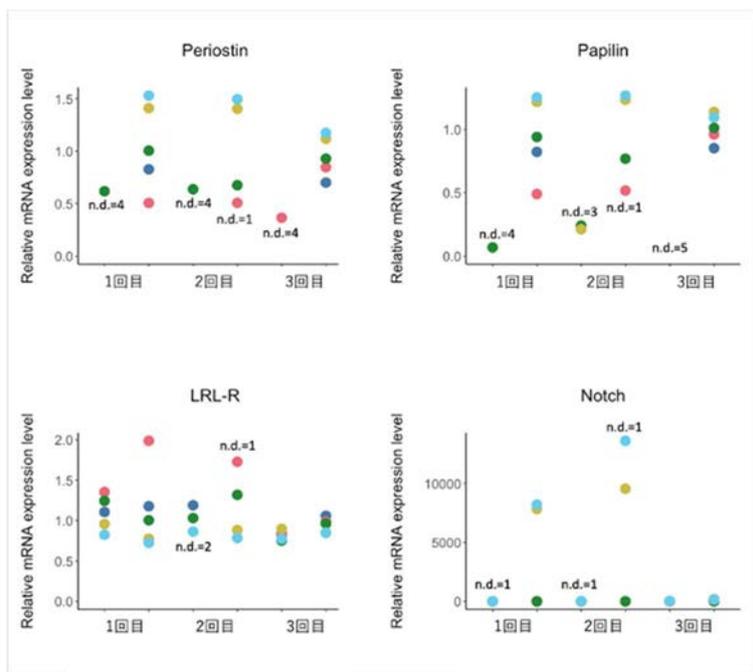


図4 卵質評価の候補遺伝子の発現量。左から順に採卵1回目の受精卵、幼生、2回目、3回目のサンプルにおける発現量を示す。n.d.=:検出されなかった個体数

表1 百島庁舎における令和6年度の瀬戸内海産タイラギの産卵誘発および種苗生産試験結果

回次	産卵誘発日	供試具種 (雌雄)	天然/人工	生産年/由来	供試個体数*	放精・放卵個体数*	採卵数 (万粒)	孵化率** (%)	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)
1st	6月5日	リシケ (♂)	天然	— / 備読瀬戸	3 (3)	2 (2)	20,650	69.3	96.4	630	478	49,164
		リシケ (♀)	天然	— / 備読瀬戸	5 (5)	5 (5)	—	68.4	93.1	—	—	—
2nd	8月21日	リシケ (♂)	天然	— / 備読瀬戸	2 (2)	0 (2)	0	—	—	—	—	—
		リシケ (♀)	天然	— / 備読瀬戸	6 (6)	0 (6)	—	—	—	—	—	—
3rd	8月22日	ズベ (♂)	天然	— / 備読瀬戸	4 (4)	3 (4)	4,655	計数せず*	計数せず*	計数せず*	0	—
		ズベ (♀)	天然	— / 備読瀬戸	4 (4)	3 (4)	—	—	—	—	—	—
4th	9月4日	リシケ (♂)	天然	— / 備読瀬戸	7 (7)	6 (7)	7,580	≧99.9	80.5	660	457	1,346
		リシケ (♀)	天然	— / 備読瀬戸	3 (3)	3 (3)	—	≧99.9	97.0	—	—	—

\* ( )内は産卵誘発ペプチドを注射した個体数

\*\* ※ 上段 - 孵化水槽No.1；下段 - 孵化水槽No.2

表2 百島庁舎における令和6年度の有明海産タイラギの産卵誘発および種苗生産試験結果

産卵誘発日	供試具種 (雌雄)	天然/人工	生産年/由来	供試個体数*	放精・放卵個体数*	採卵数 (万粒)	孵化率** (%)	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29日	リシケ (♂)	人工	R4/福岡母貝団地	6 (6)	6 (6)	—	—	—	—	—	—
	リシケ (♀)	人工	R4/福岡母貝団地	10 (10)	8 (10)	—	—	—	—	—	—
	リシケ (♂)	人工	R4/水研百島	8 (6)	5 (6)	32,442	41.9	92.8	526	376	46,548
	リシケ (♀)	人工	R4/水研百島	5 (5)	2 (5)	—	75.3	80.5	—	—	—
	リシケ (♀)	天然	— / 荒尾 (福岡提供)	3 (3)	3 (3)	—	—	—	—	—	—

\* ( )内は産卵誘発ペプチドを注射した個体数

\*\* ※ 上段 - 孵化水槽No.1；下段 - 孵化水槽No.2

## ア. 親貝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

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】

ハマグリの採卵において、3月上旬から加温給餌した陸上養成をすることで、安定的に早期採卵が可能となってきた。餌料培養や親貝の飼育管理の作業等は繁忙になってしまうが、養成を行っていない親貝から安定した採卵はできないため、早期採卵や安定した採卵のためには陸上養成をする必要がある。

本研究では、加温給餌飼育より簡便な垂下飼育を温暖な海域で実施することで、早期採卵は可能か確かめた。また、養成親貝の採卵可能期間を把握するため、採卵結果の変化を調べ、さらに天然親貝からの採卵方法の改善を試みた。

#### 【研究方法】

##### 1) 垂下養成と陸上養成の比較試験

親貝は令和6年2月と3月に、三重県桑名市の赤須賀漁業協同組合（以下、赤須賀漁協とする）で水揚げされたハマグリ（銘柄：中大，大サイズ）を使用した。採捕当日は、アンストラサイト 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、砂濾過海水（以下、海水）を 1 回転/時間になるよう注水した。翌日潜砂した親貝を取り上げ、垂下養成は約 10 個と砂利、軽石と一緒にネットに詰め、丸籠（直径 45cm）に収容し、水産技術研究所南勢庁舎地先筏に垂下した。陸上養成は約 30 個を丸籠（直径 45cm）に入れ、2.0m<sup>3</sup>FRP 水槽に収容した。陸上養成の飼育水は、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）、キートセロス・ネオグラシーレ（以下、ネオグラシーレ）、ロドモナスの 3 種を細胞比 5 : 5 : 1 で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4e）を用いて残餌濃度を測定し、飼育水の餌料濃度が 3~5×10<sup>4</sup>cells/ml になるように定流量ポンプ（名東化工機械株式会社製：NE-1000）を使用し給餌を行った（以下、上記の陸上養成方法で養成した親貝を養成親貝とする）。

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。その際、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、未分化期、成長初期、成長後期、成熟期、放出期の 5 つに分類をした。また、産卵に必要な積算温度などを把握するため、徳留ら（2019）を

参考に、11°Cを超えた水温を積算した。

採卵は小林 (2019) の方法を参考に実施した。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收容した。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、水温を下げていった。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 μm) 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收容した。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、養成方法で結果を比較した。なお正常 D 型孵化率は次式により算出した。

正常 D 型孵化率 (%) = 正常 D 型幼生数 (個) / 卵收容数 (粒) × 100

## 2) 養成親貝の抑制・維持試験

令和 6 年 3 月に赤須賀漁協で水揚げされたハマグリ (銘柄: 中大, 大サイズ) を使用し、陸上養成した。養成親貝が採卵可能になったのを確認して、水温 17°C (以下、17°C区とする) と 23°Cの水槽に分けた。23°Cの水槽で自然産卵が発生した場合は水温を 20°C (以下、20°C区とする) まで低下させた。随時、採卵を実施し、正常 D 型孵化率と平均殻長を調べた。

## 3) 天然貝の抑制方法の変更

親貝は令和 6 年 6 月に赤須賀漁協で水揚げされたハマグリ (銘柄: 中大, 大サイズ) を使用した。昨年度までは水温 17°Cに設定した水槽に親貝を收容し、止水の無給餌で 1 日以上静置し、採卵に使用していた。今年度は自然産卵を抑制するため冷却加温器 (マリンリバー製: MR-900HVS) を用いて水温 17°Cに設定し、アンスラサイト 1.3mm 径を約 5cm 敷いたプラスチック容器に親貝を收容し、飼育水の餌料濃度が  $3\sim 5\times 10^4$  cells/ml になるように給餌を行ないながら、海水を 1 回転/時間で注水し 10 日以上流水飼育してから採卵に用いた。親貝 1 個あたりの産卵量は雌雄比 1:1 とし、総産卵量/雌個数で算出した。また、得られた受精卵を管理し、翌日の正常 D 型孵化率と平均殻長を調べた。

### 【研究成果の概要】

#### 1) 垂下養成と陸上養成の比較試験

親貝は令和 6 年 2 月 8 日と 3 月 6 日に購入し、垂下は 2 月、陸上は 3 月から養成を開始した。

生殖巣組織観察結果を図 1 に示した。4 月上旬の 2、3 月垂下養成親貝と天然貝の生殖巣

組織観察では大半が成熟初期を示し、成熟状態に大きな差は見られなかった。一方で3月陸上養成親貝は4月10日で成熟期が半数以上となり、天然貝と比較して1か月以上早く成熟していた。

過去2年間の陸上養成の結果を含めた、肥満度の推移を図2に示した。過去2年間の陸上養成では肥満度を上昇させることはできなかったが、今年度の陸上養成は採卵が可能になった4月10日の時点で4.1上昇させることができた。これは今まで餌料濃度を $2 \times 10^4$  cells/ml以上を保つなどの餌料条件を見直し、ロドモナスを使用したことに加え、餌料濃度を $3 \sim 5 \times 10^4$  cells/mlに保つように変更した効果だと考えられる。一方で垂下養成では、採卵が可能になった時点の肥満度は14前後で、天然貝や陸上養成よりは低かった。

陸上養成親貝の組織観察と積算温度の関係を図3に示した。4月10日（積算温度 $769^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）には成熟期の割合が増え、採卵誘発に応じ受精卵を得ることができた。その後、4月16日（積算温度 $900^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）に水槽内で自然産卵が発生した。これまでの過去の結果と同様に、本研究の陸上養成方法で3月上旬に採捕した親貝を飼育することで、積算温度 $750^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ 前後で採卵可能となった。そして、採卵可能になってから、短期間で自然産卵が発生してしまうことも確認できた。

垂下・陸上養成の採卵結果を表1に示した。2月垂下養成は5月1日に成熟期が3割を超えたため（図1：a）、5月14日に採卵を実施したが誘発に応じることはなかった。その後2月垂下養成は6月3日、3月垂下養成は6月5日に採卵が可能となったが、4月中を想定していた早期採卵はできなかった。正常D型孵化率は27.8～93.5%と一例を除き70%以上となり、平均殻長は $116.8 \sim 120.2 \mu\text{m}$ であった。3月陸上養成は4月10日に採卵が可能となり、通常の産卵期より1か月以上早い早期採卵ができた。正常D型孵化率は32.7～55.0%と垂下養成の結果より低く、平均殻長は $117.9 \sim 119.0 \mu\text{m}$ であった。

## 2) 養成親貝の抑制・維持試験

積算温度の推移と自然産卵の発生を図4に示した。4月10日（積算温度 $769^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）に採卵が可能であることを確認し、 $17^\circ\text{C}$ 区は水温を下げ、試験終了の7月1日（積算温度 $2,221^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）まで自然産卵することはなかった。一方で $20^\circ\text{C}$ 区は4月16日（積算温度 $900^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）で自然産卵を確認し、水温を $20^\circ\text{C}$ まで下げた。その後、6月15日（積算温度 $2,159^\circ\text{C} \cdot \text{日}$ ）で再度自然産卵を確認した。

4月10日から7月1日までの約3か月間で7回の採卵を実施し、正常D型孵化率は低めであったが、試験期間後半に正常D型孵化率の極端な低下や、平均殻長が小さくなる傾向は確認されなかったため、3か月程度であれば卵質や成熟状態は維持できる可能性が示唆された。

## 3) 天然貝の抑制方法の変更

親貝には令和6年6月14日に採捕された貝を用いた。採捕時の生殖巣組織観察では、大

半が成熟期、一部が放出期を示した状態であり、十分に成熟した状態であった（図 1:d）。

採卵結果を図 6 に示した。中大の産卵量と正常 D 型孵化率はそれぞれ 10 日目で 85.7 万粒/個、26.3% となり、19 日目では 121.4 万粒/個、68.6% となった。大の産卵量と正常 D 型孵化率はそれぞれ 12 日目で 448.8 万粒/個、43.5% となり、19 日目では 410.0 万粒/個、80.7% となった。昨年 6 月に採捕された親貝を用いて、1~4 日目に実施した採卵では、産卵量 2.3~6.9 万粒/個と少量で、その後は孵化しない状態であった。これらのことから採捕後の抑制期間を長くすることで、卵量は大幅に改善されることがわかった。正常 D 型孵化率においても、抑制期間が長くなるにつれ改善される傾向があった。

#### 【次年度に向けた提言】

今試験の垂下養成方法では 4 月中の早期採卵はできなかった。しかし、垂下養成は陸上養成と比較すると肥満度は低かったが、正常 D 型孵化率は高く安定していた。このことから現在の陸上養成方法には、改善の余地があると考えられる。両養成方法での親貝の状態や採卵成績などの比較を継続し、早期採卵のための親貝養成方法の確立を目指す。今後、種苗生産の現場で複数回の生産を想定した場合、仕立てた親貝の自然産卵を抑制し、卵質を維持しながら産卵可能期間を延長する技術が必要となってくる。

#### 参考文献

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

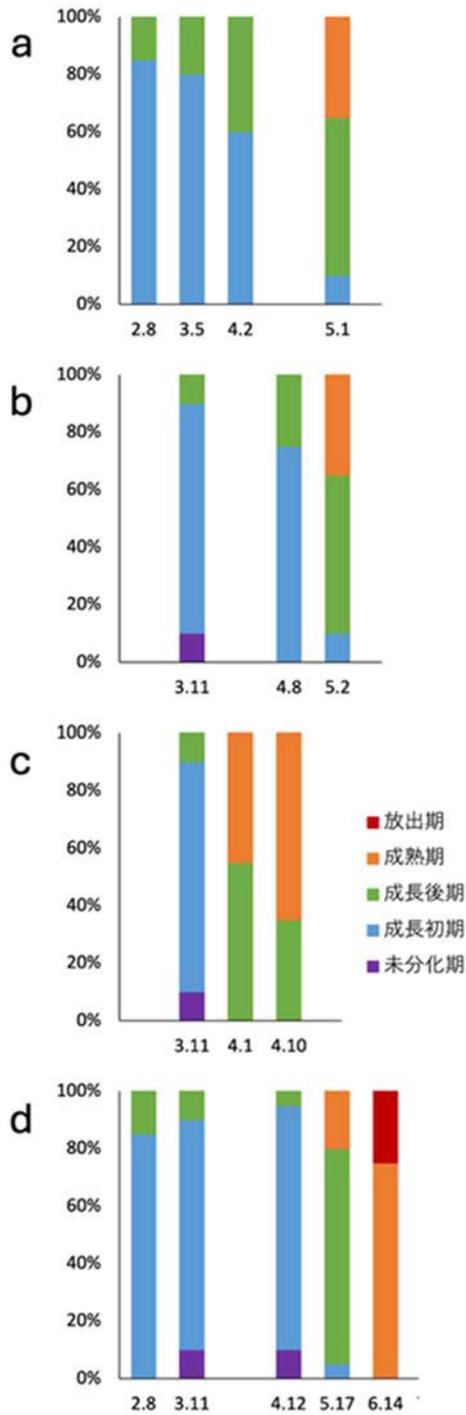


図1 生殖巣組織観察結果

a:2月垂下養成、b:3月垂下養成、c:3月陸上養成、d:天然貝

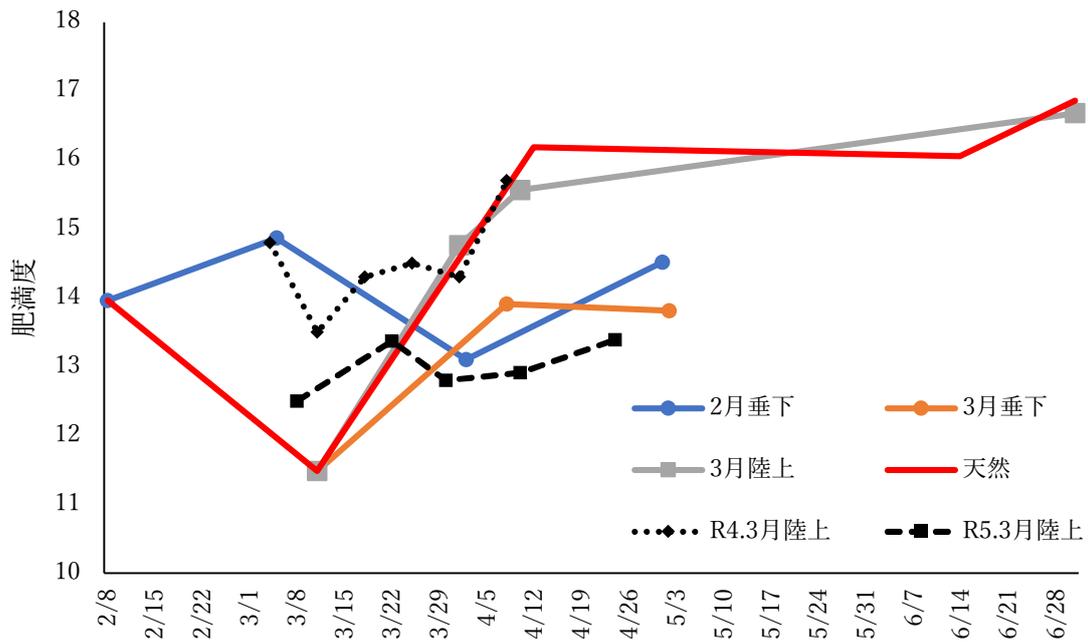


図2 肥満度の推移

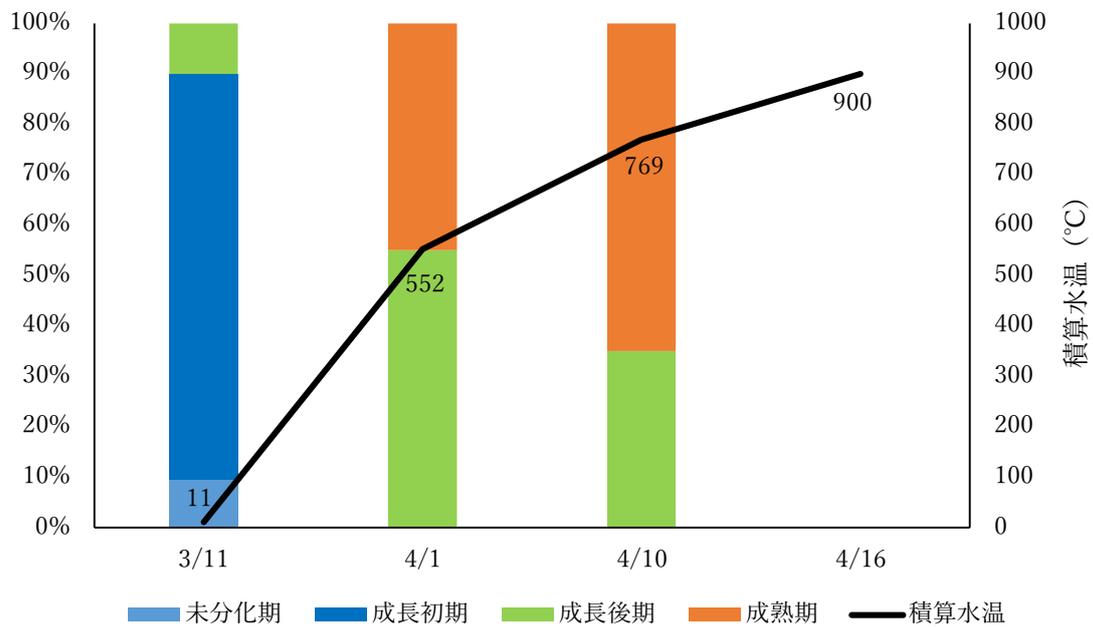


図3 陸上養成親貝の組織観察と積算温度

表1 垂下・陸上養成の採卵結果の比較

養成方法	採捕日	採卵日	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 (万个)	正常D型 孵化率 (%)	殻長 ( $\mu\text{m}$ )	
垂下養成		5月14日	1686.5	29	-	-	-	-	-	
	2月7日	6月3日	2349.5	39	410.0	410.0	317.5	77.4	119.1	
					200.0	200.0	165.0	82.5	118.8	
	3月6日	6月5日	1692.5	40	586.7	586.7	420.0	71.6	116.8	
					155.0	155.0	145.0	93.5	119.7	
					1180.0	935.0	260.0	27.8	116.3	
					475.0	245.0	185.0	75.5	117.5	
	陸上養成	3月6日	4月10日	1656.5	36	355.0	355.0	270.0	76.1	120.2
						120.0	120.0	90.0	75.0	119.6
						2290.0	1,000.0	550.0	55.0	119.0
1,000.0						467.5	46.8	118.9		
1543.3						771.2	252.5	32.7	117.9	
771.2						317.5	41.2	118.0		

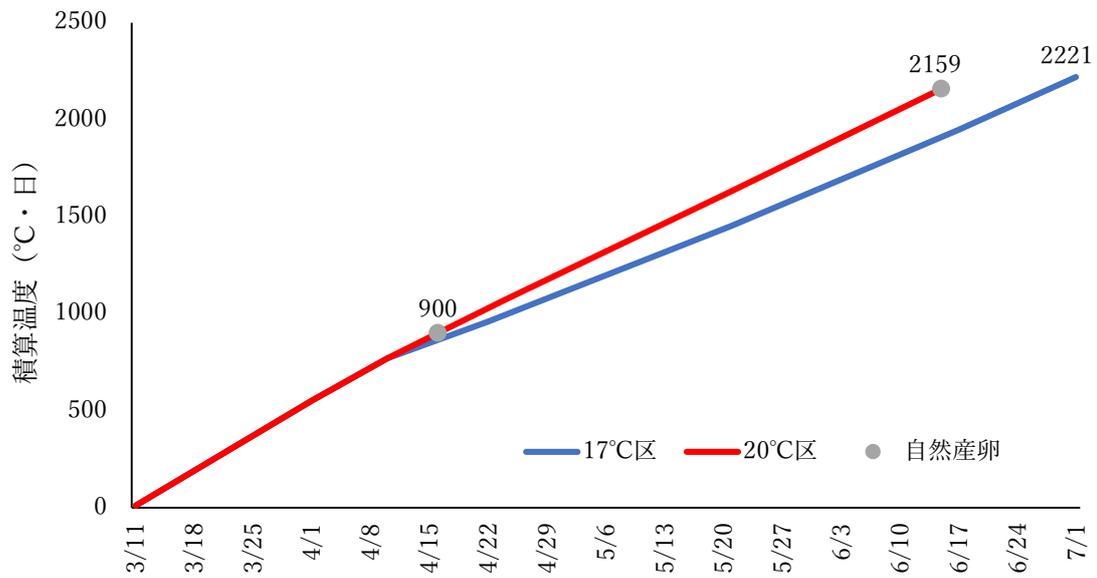


図4 積算温度と自然産卵

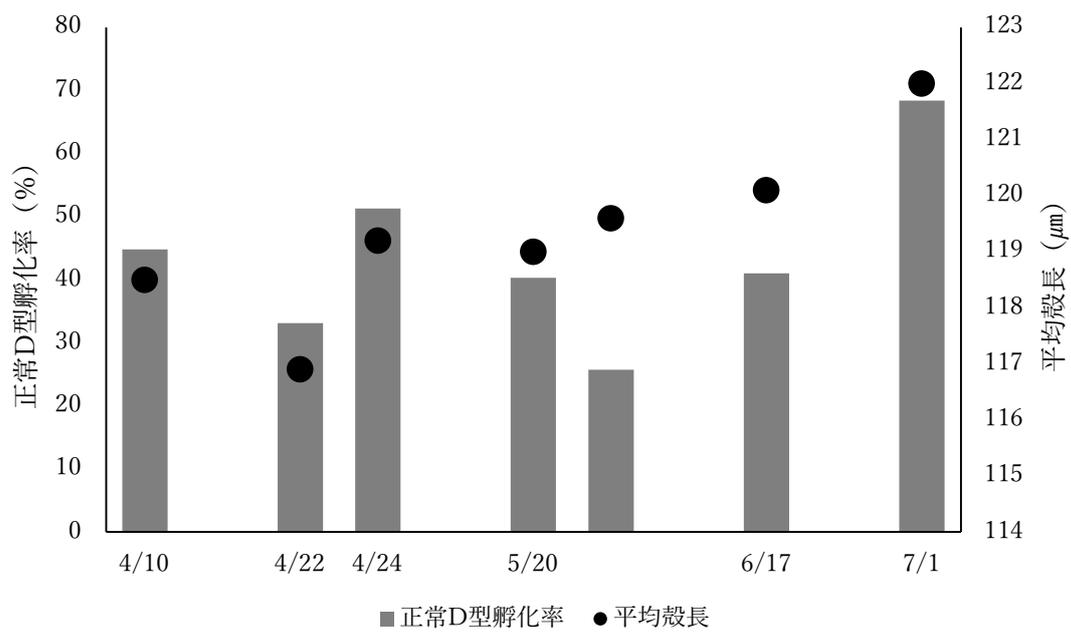


図5 抑制期間中の採卵結果

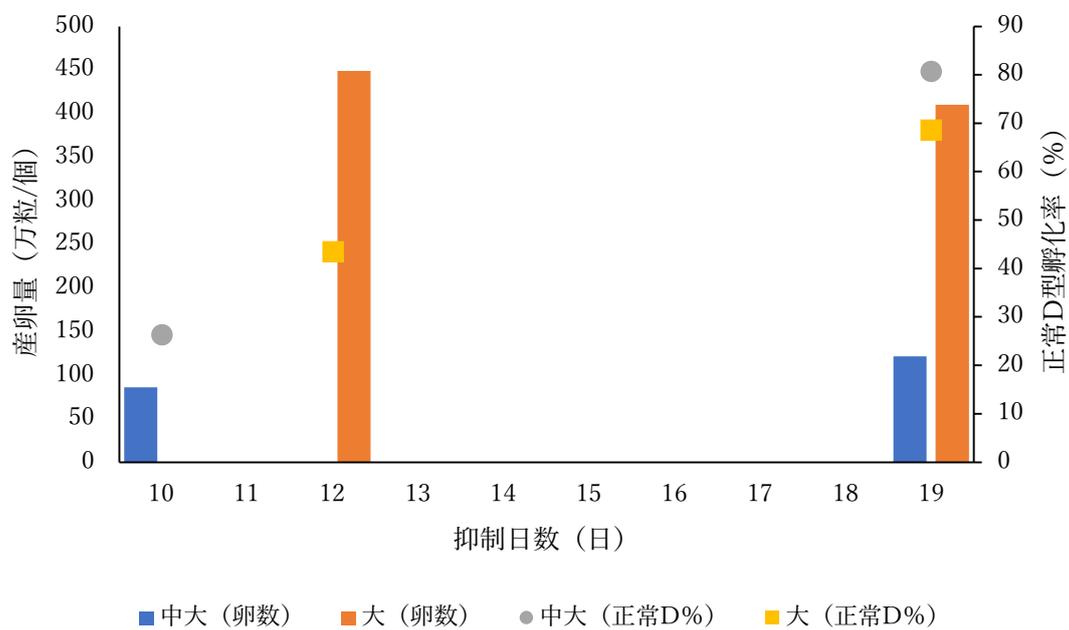


図6 天然貝の採卵結果

## イ. 人工種苗生産技術の開発

### ①タイラギ人工種苗生産の開発

国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所

山田 充哉・前田 雪・今井 正・伊藤 篤

#### 【目的】

タイラギの安定した種苗生産技術を開発するために、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、換水頻度の違いが浮遊幼生の生残や成長に与える影響を調べる。

#### 【方法】

##### (1) 試験区の設定と幼生飼育および着底稚貝の回収

換水頻度が幼生の生残に与える影響を調べるため、換水頻度が異なる 3 試験区を設定した。瀬戸内海産タイラギの 1 回次産卵誘発群（以下、瀬戸内 1R）では、3 日毎に換水する区（以下、3 日区）と火曜および金曜に換水する区（以下、火金区）を設け、それぞれ連結水槽 3 セットを用意した。4 回次産卵誘発群（以下、瀬戸内 2R）では、上記 2 区に加え、換水を全く行わない区（以下、無換水区）を設け、それぞれ連結水槽 2 セットを用意した。無換水区は火金区と同様の幼生移槽を行い、火曜および金曜に幼生が居ない側の水槽を洗浄せずに循環を逆転させた。瀬戸内 1R は 2024 年 6 月 6 日から 8 月 23 日、瀬戸内 2R は 2024 年 9 月 5 日から 10 月 27 日にかけて幼生飼育を行った。

浮遊幼生飼育には、水産研究・教育機構で開発した連結式幼生飼育装置（総水量 1,000 L：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。孵化水槽で遊泳している正常発生胚（D 型期幼生）を海水ごとバケツで掬い取り、連結水槽に収容した。連結水槽 1 セットあたりの収容数は 105 万ないし 110 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。

換水時には浮遊幼生が居ない水槽を排水して洗浄する一方で、浮遊幼生が入っている水槽から内径 4mm のアクリル管を用いて 30mL（10mL×3 本）の柱状採水を行った。各水槽について 30mL 分の採水を 3 回行い、それぞれの浮遊幼生数を計数した。また、3 回分の幼生をスライドグラス上に集め、最大 30 個体の殻長を測定し、連結水槽ごとの平均殻長を算出した。

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。微細藻類の種や混合比は、これまで実績のある *Pavlova lutheri*（自家培養）または *Isochrysis sp. (Tahiti)* と *Chaetoceros calcitrans*（ヤンマー製）を細胞数に基づいて 1:1 とした。水温が 26°C 以上になった時点で *Pavlova lutheri* の使用を止め、*Isochrysis sp. (Tahiti)* に切り替えた。瀬戸内 1R では、給餌前に各連結水槽の幼生が多く寄っている水槽から飼育水を採取し、コールターカウンター（Multisizer 3、ベックマンコールター社製）で残餌量を測定し、目標値に対して不足した分

の餌を投入することで全水槽の給餌後餌料密度が同じになるように調整した。1日齢から5日齢にかけては *Pavlova lutheri* のみを給餌後密度が 5,000 cells/mL となるように給餌した後、6日齢から混合給餌に切り替え、10日齢にかけて1日ごとに 1,000 cells/mL ずつ給餌量を増やした。11日齢から16日齢にかけては給餌後の密度が 9,000 cells/mL になるように給餌し、17日齢から23日齢にかけては 10,000 cells/mL、24日齢以降は 13,000 cells/mL になるように給餌した。瀬戸内 2R では、残餌量の測定は行わず、*Chaetoceros calcitrans* (ヤンマー製) と *Isochrysis* sp. (Tahiti) を細胞数に基づいて 4:1 の比率で混合し、朝夕に規定量を投入した。1日齢から3日齢は飼育水中の餌料密度が 5,000 cells/mL となる量を給餌し、4日齢から7日齢にかけて1日ごとに 1,000 cells/mL 増やし、8日齢以降は 10,000 cells/mL に固定して給餌した。

浮遊幼生の最大殻長が 400 $\mu$ m に達した後は、換水時に着底稚貝の回収作業を行った。連結水槽からの排水、ならびに水槽底の付着物を海水噴射で洗い落とし、それらを目合い 250 $\mu$ m 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分画回数を乗じて推定値を算出した。回収した着底稚貝はダウンウェリング容器に収容し、*P. lutheri*、*Isochrysis* sp. (Tahiti)、および *C. neogracile* を単独または混合給餌して飼育した。*P. lutheri*、*Isochrysis* sp. (Tahiti)、および *C. neogracile* は、ポリカーボネート製透明 500 L タンクを使用して太陽光下で培養したものをを用いた。

## (2) 飼育水からの細菌採取と細菌数および細菌相の分析

D 型期からフルグロウン期にかけてのタイラギ幼生が大量死亡する原因として、飼育水中の細菌量が増加することで産生されたタンパク質分解酵素による影響、および病原性細菌が発生した可能性を想定し、飼育水中の細菌の動態を調べた。

瀬戸内 1R および 2R について、毎日 12 時から 14 時の間に、その日に幼生が寄っている水槽の表層から飼育水を採水した。採水した飼育水を吸引式フィルターホルダー(250ml,  $\phi$ 47mm, 16510, ザルトリウス)に取り付けたプレフィルター( $\phi$ 47mm, AP4004705, Merck)で濾過して幼生、餌料、および原生生物を除去した後、ニュークリポアメンブレン( $\phi$ 47mm, 0.2 $\mu$ m, ワットマン)で濾過して細菌を回収した。メンブレンは DNA 抽出時まで -20 $^{\circ}$ C で凍結保存した。DNA 抽出には QuickGene DNA tissue kit S を用い、プロトコールに従って DNA 抽出を行った。

飼育水中の細菌量を調べるため、Nadkarni et al. (2002)の方法に従って飼育中の細菌 DNA の半定量解析を行った。Nadkarni et al. (2002)にしたがって 16S rDNA(16S rRNA をコードする遺伝子)を増幅するプライマーおよびプローブを作成し、SsoAdvanced Universal Probes Supermix(BIO-RAD)を用いて qPCR 解析を行った。スタンダードとして Microbial DNA standard from *Escherichia coli* を用いた検量線を作成し、各サンプルで得られた Ct 値に基づいて海水 1ml 中の細菌 DNA 量を算出した。

飼育水中の細菌組成を調べるため、16S rRNA のアンプリコン解析を行った。アンプリコン解析はフィルジェン株式会社へ委託し、次の内容を実施した。抽出した DNA をテンプレートにし、細菌 16S rRNA 遺伝子の V3 および V4 領域を増幅するプライマーで PCR を行ってライブラリを作製した。次に、次世代シーケンサーでシーケンシング解析を行い、得られた配列を対象にプライマー配列に一致したリードの抽出やリードの結合を行った。その後、微生物群集解析用プログラムである QIIME2 を使用して、代表配列と ASV 表を出力し、細菌データベース SILVA(ver. 138.1)の 99% OTU を比較して、系統推定を行った。

### (3) 飼育水中のアンモニア態窒素の定量

飼育水中に発生するアンモニア態窒素が幼生の着底を阻害している可能性を想定し、飼育水中のアンモニア態窒素濃度と着底稚貝数の関係を調べた。水質分析用の採水は朝の給餌前に行った。採水する時点で幼生がより多く寄っている水槽からプラスチックビーカーで飼育水約 50mL を掬った。そのままではタイラギ浮遊幼生や原生動物類が多く混入するため、掬い取った飼育水を 6 $\mu$ m 目合いのプランクトンネットで濾過し、分析に供した。サリチル酸法を用い、吸光光度計 (DR-3900, HACH) で総アンモニア態窒素濃度を測定した。

### (4) 統計解析

瀬戸内 1R と 2R のそれぞれについて、換水頻度と幼生の生残数の関係性を一般化加法混合モデル (GAMM) を用いて解析した。この解析では、換水間隔および経過日数 (日齢) を説明変数、各日の幼生密度を応答変数とし、水槽の別をランダム効果に設定した。

また、瀬戸内 1R と 2R のそれぞれについて、換水頻度と幼生の殻長の関係性を GAMM を用いて解析した。この解析では、換水間隔および経過日数 (日齢) を説明変数、各日の殻長を応答変数とし、水槽の別をランダム効果に設定した。

飼育開始から着底開始までの日齢における換水頻度と飼育水中の細菌 DNA 量との関係性、および飼育開始から着底開始までの日齢における細菌 DNA 量と幼生密度の関係を一般化線型モデル (GLMM)により解析した。

アンプリコン解析で得られた代表配列について、16S rRNA 配列に基づく細菌叢解析を行った。まず、全てのサンプルについて細菌の組成を科(Family)レベルで分類し、積み上げ棒グラフで可視化した。各サンプルの細菌相を比較するため、 $\alpha$  多様性(Shannon index: サンプル全体に対する種の割合を示す。種が多く、それぞれの種が均等に存在すると高い値を示す)を求め、各日齢における試験区間の差、および飼育期間中の各試験区内における差について、ペアワイズ t 検定および holm 補正を行った。

瀬戸内 1R と 2R で得られた着底稚貝数について、換水頻度によって着底稚貝数に差があるか t 検定を行った。また、換水頻度によって着底稚貝数に有意な差が見られた瀬戸内 1R に関して、換水頻度と飼育水中のアンモニア態窒素濃度の関係性を解析した。アンモニア態窒素濃度のデータはゼロデータを多く含んでいることから、ゼロデータと非ゼロデータを

区分して処理するデルタ型 2 段階法を用いた一般化加法混合モデル (delta-GAMM) を使用した。この解析では、換水間隔および経過日数 (日齢) を説明変数、各日のアンモニア態窒素濃度を応答変数とし、水槽の別をランダム効果に設定した。さらに、瀬戸内 1R において着底稚貝数が有意に多かった火・金区の 3 水槽について、着底開始後の日齢におけるアンモニア態窒素濃度と水槽別の着底稚貝数の関係性を delta-GAMM により解析した。この解析では、経過日数 (日齢) およびアンモニア態窒素濃度を説明変数、着底稚貝数を応答変数とし、水槽の別をランダム効果に設定した。

各モデル解析では、選択されたモデルによって予測される応答変数の 95 %信頼区間を 1,000 回のブートストラップシミュレーションにより推定した。

### 【研究結果の概要】

#### (1) 換水頻度の違いが幼生の生残と成長、および着底稚貝数に及ぼす影響

瀬戸内 1R の換水区別、水槽別の幼生数の推移を図 1 に示した。3 日区の 3 水槽は類似した推移を示し、どの水槽も幼生数がなだらかに減少した。火・金区は、1 水槽 (図 1 : 水槽 6) が 14 から 16 日齢にかけて大量死亡が発生したため急減し、他の 2 水槽は 24 から 27 日齢にかけて大量死亡が発生して急減した。着底稚貝を初めて視認した日数は、3 日区が 38 日齢、火・金区が 41 日齢であり、着底稚貝の初視認日における生残幼生数は 3 日区が 11 から 26 万個体 (／水槽)、火・金区が 6~25 万個体 (／水槽) であった。GAMM による解析の結果、着底が始まるまでの日齢においては、幼生の生残数に対して換水頻度の有意な影響は検出されなかった (図 2)。次に、無換水区を設けた瀬戸内 2R の換水区別、水槽別の幼生数の推移を図 3 に示した。3 日区と火・金区は同様の傾向を示したが、無換水区はやや異なる推移を示し、38 日齢以降に大量死亡が発生して急減した。着底稚貝の初視認日における幼生生残数は 3 日区が 36 ないし 54 万個体 (／水槽)、火・金区が 64 ないし 69 万個体 (／水槽)、無換水区が 25 ないし 51 万個体 (／水槽) であった。GAMM による解析の結果、着底が始まるまでの日齢においては、幼生の生残数に対して換水頻度の有意な影響は検出されなかった (図 4)。

着底稚貝数は、瀬戸内 1R では 3 日区よりも火・金区が有意に多かったが、瀬戸内 2R では 3 区とも極めて少なく、換水頻度による差は見られなかった (表 1)。

瀬戸内 1R および 2R のそれぞれについて、換水区別、水槽別の殻長の推移を図 5 および図 6 に示した。瀬戸内 1R では、14 から 16 日齢にかけて大量死亡を起こした火・金区の 1 水槽 (図 1 : 水槽 6) において 14 から 27 日齢の間に成長停滞が見られたものの、その後は復調して他水槽よりも早く成長した。着底稚貝の初視認日における浮遊幼生の殻長は、瀬戸内 1R の 3 日区が 441~468 $\mu\text{m}$ 、火・金区が 468~502 $\mu\text{m}$ 、瀬戸内 2R の 3 日区が 347 ないし 355 $\mu\text{m}$ 、火・金区が 312 ないし 313 $\mu\text{m}$ 、無換水区が 316 ないし 362 $\mu\text{m}$  であった。GAMM による解析の結果、着底が始まるまでの日齢において、瀬戸内 1R、瀬戸内 2R ともに換水頻度

によって幼生の殻長に有意差は認められなかった。

これらの結果から、連結水槽を用いてタイラギ幼生を D 型期から着底が始まる直前のフルグロウン期まで飼育する場合、換水は 3 日間隔でも 3 日および 4 日間隔の繰り返しのどちらでも幼生の生残および成長は変わらず、必ずしも従来行われてきた 3 日間隔での換水にこだわる必要はないと言える。また、瀬戸内 2R においては 3 日区、火・金区、無換水区の間で生残、成長に有意な差が認められなかったことから、着底開始まで換水を一切行わずに飼育することも可能であることが示されたが、通常の生産期にあたる 5 月下旬から 8 月下旬にかけての期間に無換水での飼育が可能かは不明である。

### (3) 換水頻度の違いが細菌量および細菌相に及ぼす影響

細菌 DNA 量は、瀬戸内 1R の 3 日区は平均値が  $1.3 \times 10^{-1} \pm 1.7 \times 10^{-1} \mu\text{g/L}$ 、最大値は  $1.7 \mu\text{g/L}$ 、最小値は  $2.2 \times 10^{-6} \mu\text{g/L}$  であった。火・金区は平均値が  $1.8 \times 10^{-1} \pm 3.1 \times 10^{-1} \mu\text{g/L}$ 、最大値は  $2.8 \mu\text{g/L}$ 、最小値は  $2.1 \times 10^{-6} \mu\text{g/L}$  であった (図 7)。瀬戸内 2R の 3 日区は平均値が  $9.4 \times 10^{-2} \pm 7.1 \times 10^{-2} \mu\text{g/L}$ 、最大値は  $4.2 \times 10^{-1} \mu\text{g/L}$ 、最小値は  $2.2 \times 10^{-3} \mu\text{g/L}$  であった。火・金区は平均値が  $1.1 \times 10^{-1} \pm 1.9 \times 10^{-1} \mu\text{g/L}$ 、最大値は  $1.6 \mu\text{g/L}$ 、最小値は  $2.1 \times 10^{-3} \mu\text{g/L}$  であった。無換水区は平均値が  $2.1 \times 10^{-1} \pm 5.2 \times 10^{-1} \mu\text{g/L}$ 、最大値は  $4.3 \mu\text{g/L}$ 、最小値は  $5.2 \times 10^{-4} \mu\text{g/L}$  であった (図 8)。細菌 DNA 量と換水頻度の関係を GAMM で解析した結果、瀬戸内 1R および 2R のいずれにおいても換水頻度による細菌 DNA 量への有意な影響は認められなかった (図 9)。一方、細菌 DNA 量と幼生密度の関係を GLMM で解析した結果、1R において幼生密度が高いと細菌 DNA 量が多く、また細菌 DNA 量が多いと幼生密度が高いという有意な関係がみられた (図 10)。

瀬戸内 1R と 2R の全水槽における換水日と換水翌日の細菌 DNA 量を比較すると、換水翌日には細菌 DNA 量が減少する傾向が認められた。しかし、次の換水日までに換水前と同水準まで増加するか、前回換水日よりさらに増加する日もあった。また、瀬戸内 2R の無換水区でも細菌 DNA 量の増減がみられた。

瀬戸内 1R の 1 水槽 (図 1 : 水槽 6) において幼生の大量死亡が発生した 14 から 17 日齢 (6 月 19–21 日) において、同じ換水区の他の 2 水槽との間に細菌 DNA 量の目立った増減はみられなかった (図 7)。一方、他の 2 水槽 (図 1 : 水槽 4 および 5) において幼生の大量死亡が発生した 24 から 27 日齢 (6 月 28 日–7 月 2 日) においても水槽間で細菌量の違いはみられなかった。

瀬戸内 1R および 2R の各水槽において、存在比の大きい細菌上位 10 科の百分率を図 11 に示した。上位 10 科中、1R と 2R に共通して検出された細菌の種類は、Pseudomonadota 門  $\alpha$  プロテオバクテリア綱ペラジバクター目 SAR11 系統、Pseudomonadota 門  $\alpha$  プロテオバクテリア綱ロドバクター目ロドバクター科、Pseudomonadota 門  $\beta$  プロテオバクテリア綱スピリルム目メチロフィルス科、放線菌門アシディマイクロビウム綱 Actinomarinales 目 Actinomarinaceae 科、バクテロイデス門フラボバクテリウム綱フラボバクテリウム目フラボ

バクテリウム科、およびユーリ古細菌門テルモプラズマ綱 Marine group II の 6 科（またはグループ）であった。1R と 2R のそれぞれについて、異なる換水区間、および区内の日齢間で代表的な細菌の組成に大きな違いは認められなかった。また、病原性の強い種を含むビブリオ属細菌については、相対存在量が 100% 中  $1.2 \times 10^{-3}$ % 程度と極めて少なく、幼生の生残に与える影響は小さいと考えられた。1R において大量死亡が生じた日齢のサンプルからはビブリオ属細菌の DNA は検出されなかった。

各サンプルの  $\alpha$  多様性を求めた結果を図 12 に示した。各日齢における換水区間の差をペアワイズ t 検定により検定したところ、1R および 2R の両方において有意差は認められなかった。このことから、1R において大量死亡が生じた水槽に特異的な細菌相は認められないことがわかった。次に、それぞれの換水区について日齢間の差をペアワイズ t 検定および holm 補正で検定した結果、1R では 3 日区と火・金区の両方で、2R では 3 日区と無換水区において日齢間で有意差のある組合せが認められたが、換水日とその翌日の  $\alpha$  多様性に有意差は認められなかった（図 12）。1R では両換水区において飼育開始序盤で  $\alpha$  多様性が高く、中盤になるにつれて低下した後、終盤では 3 日区で再び増加した一方、火・金区は低い状態で維持される傾向がみられた。2R では、3 日区で 1R と同様の傾向が見られ、火・金区では飼育開始序盤に  $\alpha$  多様性が低く、中盤にかけて上昇した後、ふたたび低下して、最後に再度上昇する傾向が見られた。このことから、換水頻度の違いは飼育水中の細菌相に影響を与えないものの、水槽内では飼育日数の経過に伴って細菌相が変化することが示された。

これらの結果から、換水によって飼育水中の細菌量は減少するものの、2-3 日のうちに元通りになるか、それ以上に増加すること、換水によって飼育水中の細菌相は変化しないことが明らかになった。したがって、飼育水中の細菌量は幼生の死亡要因ではないと考えられた。また、飼育水中の細菌 DNA 量は水槽内の幼生数と強く関連しており、幼生が排泄する糞や粘液を基質として細菌が増殖している可能性が考えられた。

#### （4）飼育水中のアンモニア態窒素と着底稚貝数の関係

瀬戸内 1R および 2R における水槽別のアンモニア態窒素濃度の推移と着底稚貝の回収数の変化を図 13 および図 14 に示した。アンモニア態窒素濃度が飼育日数の経過に伴って増加した昨年度と異なり、今年度は瀬戸内 1R で 23 から 59 日齢の間のみ、瀬戸内 2R では 8 から 20 日齢、25 から 34 日齢、41 から 51 日齢の間でのみ検出された。また、検出された濃度は最高でも 0.08 mg/L と極めて少量であった。

瀬戸内 1R について、delta-GAMM による解析の結果、換水頻度によってアンモニア態窒素濃度に有意な差は認められなかった（図 15）。また、瀬戸内 1R の中で着底稚貝数が有意に多かった火・金区の 3 水槽に関して delta-GAMM による解析の結果、アンモニア態窒素濃度による着底稚貝数の有意な差は認められなかった（図 16）。

これらの結果から、今年度の飼育試験で検出されたアンモニア態窒素濃度の範囲においては、飼育水中のアンモニア態窒素の存在が着底の阻害要因になっている可能性は低いと

考えられた。

#### 【次年度に向けた提言】

瀬戸内2Rにおいて無換水でもフルグロウン期までの幼生飼育が可能であることが示されたが、通常の生産期にあたる5月下旬から8月下旬にかけての期間においても無換水での飼育が可能であるか検討が必要である。また、百島庁舎における現在の飼育条件下では、換水が細菌相やアンモニア態窒素量、幼生の生残や成長に必ずしも大きな影響を与えていないことが明らかになったことから、タイラギ幼生飼育における換水の意味を再考する必要がある。

今年度の試験によって飼育水中の細菌の動態が幼生の大量死亡要因になっている可能性をほぼ棄却することができたものの、細菌DNA量と幼生密度に有意な関係があることの直接的なメカニズムを解明することはできず、その解明には追加の解析が必要である。また、幼生の大量死亡要因は依然として不明であることから、三態窒素や細菌以外の要因を調べる必要がある。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。

着底稚貝数が前任者の頃よりも少ない点も問題である。過年度の経験から、少ない給餌量で飼育すると水槽間における生残および成長が比較的均一になる一方で、給餌量を増やすと水槽間のばらつきが大きくなる印象がある。再現性の高い飼育試験結果を得るために給餌量を少なめにしてきたが、その結果として着底稚貝数が減少している可能性が考えられる。今年度の結果は比較的少ない給餌量で飼育した場合の結果であるが、着底稚貝数の増加を目的として給餌量を増やした場合に低頻度の換水または無換水で今年度と同様の飼育結果が得られるかも検討する必要がある。

タイラギ幼生を飼育していると何らかの不調により水槽底面に幼生が沈降して塊をなすことがある。多くの場合、沈降した幼生は既に死亡しているか近いうちに死亡する。今年度、水槽底に幼生の沈降を発見した際にその発生日と目測による大きさを記録してみたところ、瀬戸内1Rでは12日齢以降、2Rでは18日齢以降に目立った幼生の沈降が生じるようになり、特に換水日の翌日に大規模な幼生の沈降が発生する傾向にあることを見出した。一方、瀬戸内2Rの無換水区では27日齢と40日齢でそれぞれ500円玉3個分、および3×10cm以上の幼生の沈降が発生したものの、着底開始までに幼生の沈降はほぼ発生しなかった。今年度の結果から換水による細菌や溶存態窒素への影響はないと言えることから、上記の現象の機序を解明するには他の水質的要因を探る必要があるものの、幼生が大量死亡するタイミングの定量化と従来の換水操作の変更による幼生の大量死亡の回避法も検討する必要がある。

【参考文献】

Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. Microbiology (Reading). 2002 Jan;148(Pt 1):257-266. doi: 10.1099/00221287-148-1-257. PMID: 11782518.

【図表】

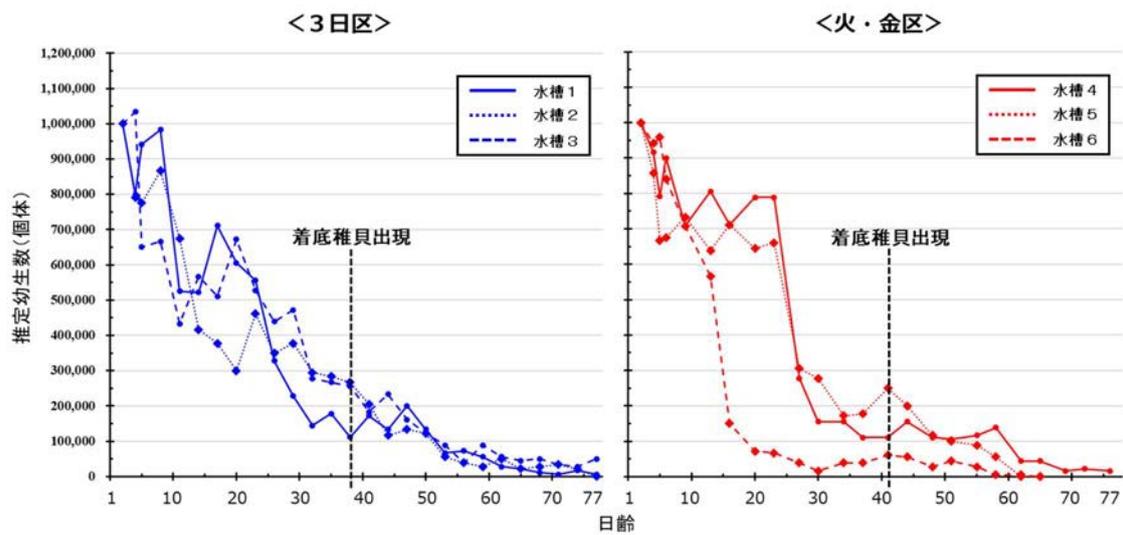


図1. 瀬戸内海産タイラギ1R (6月5日採卵) における換水頻度別にみた連結水槽別の幼生数の推移

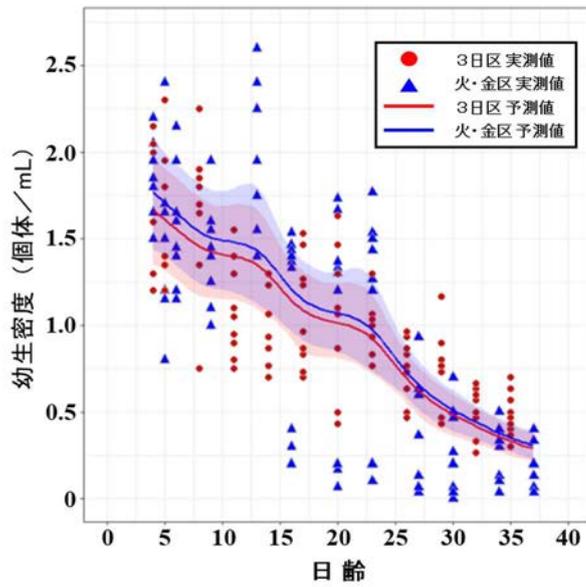


図2. 瀬戸内海産タイラギ 1R (6月5日採卵) の着底開始以前における換水頻度別の幼生密度と一般化加法混合モデルによって予測された幼生密度の変化 (bootstrap 1,000回試行により予測値と5%信頼区間を算出)

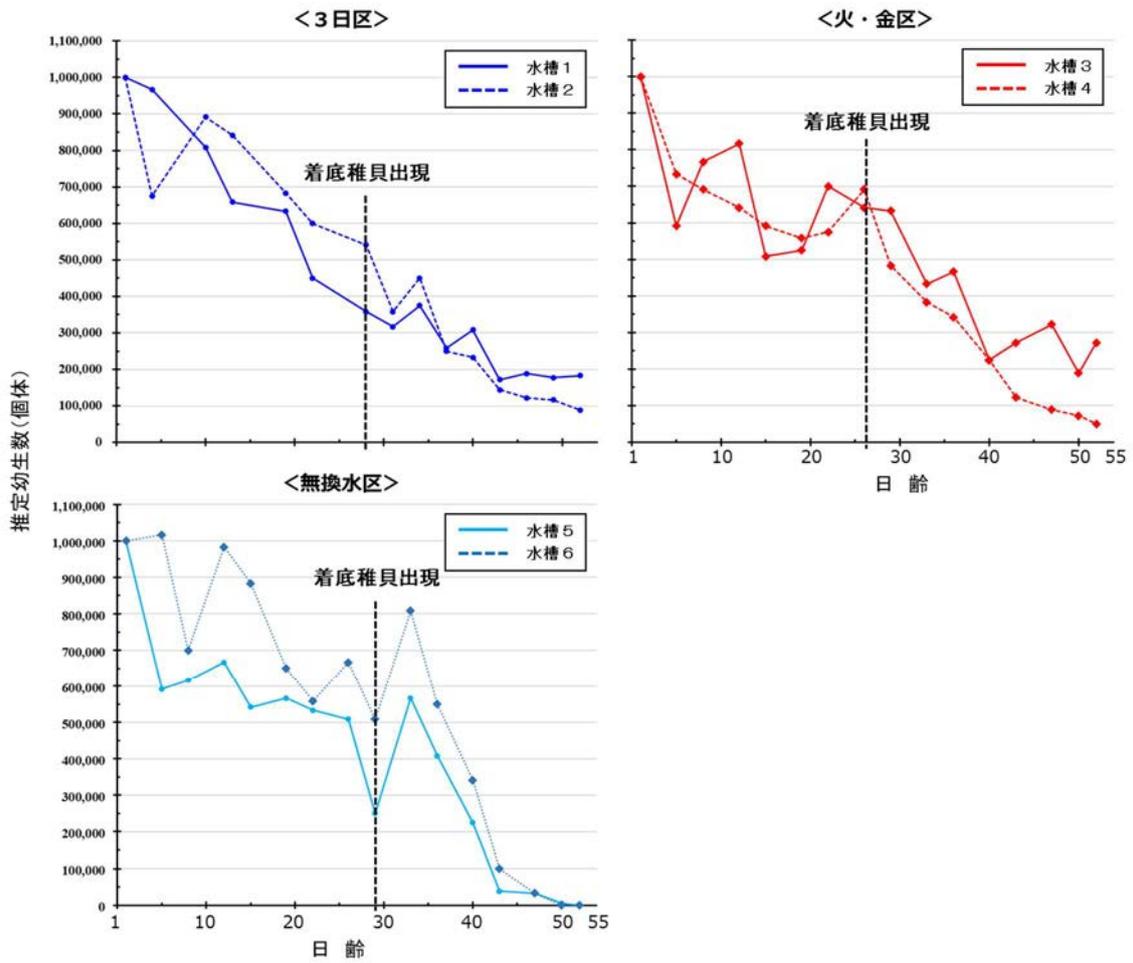


図3. 瀬戸内海産タイラギ2R (9月4日採卵)における換水頻度別にみた連結水槽別の幼生数の推移

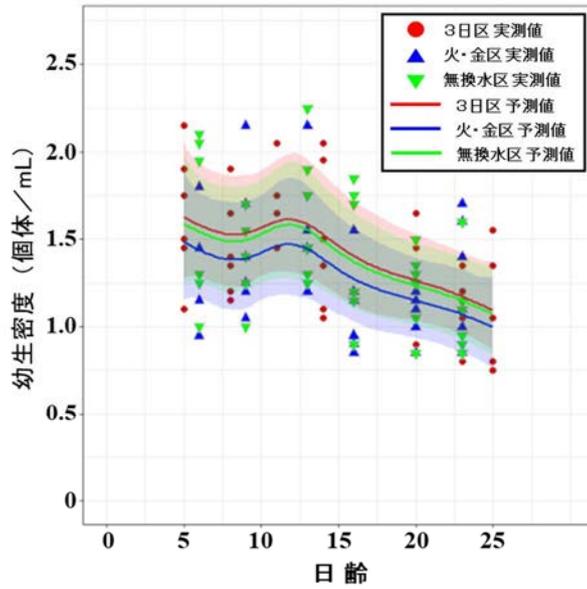


図4. 瀬戸内海産タイラギ2R (9月4日採卵) の着底稚貝出現以前における換水頻度別の幼生密度と一般化加法混合モデルによって予測された幼生密度の変化 (bootstrap 1,000 回試行により予測値と5%信頼区間を算出)

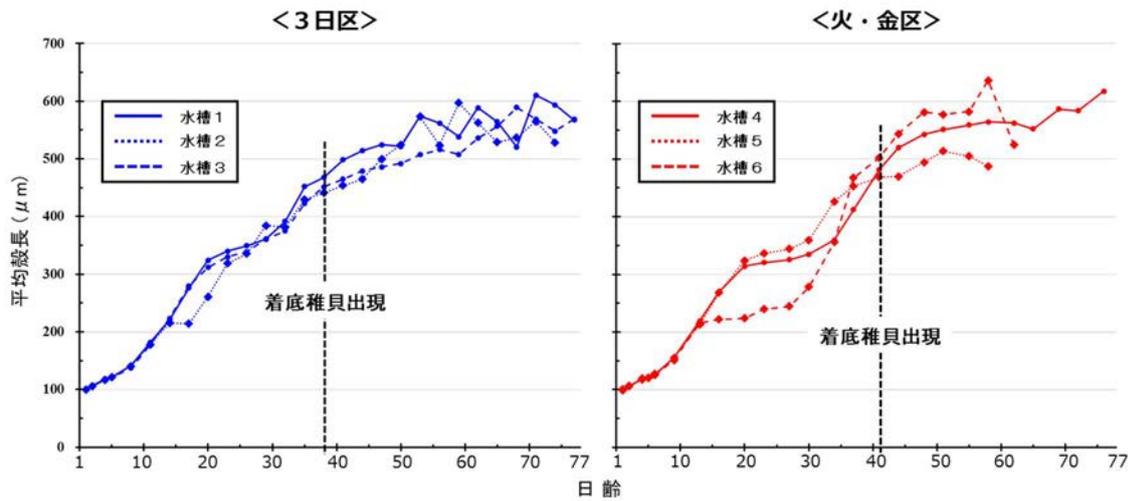


図5. 瀬戸内海産タイラギ1R (6月5日採卵) における換水頻度別にみた連結水槽別の平均殻長の推移

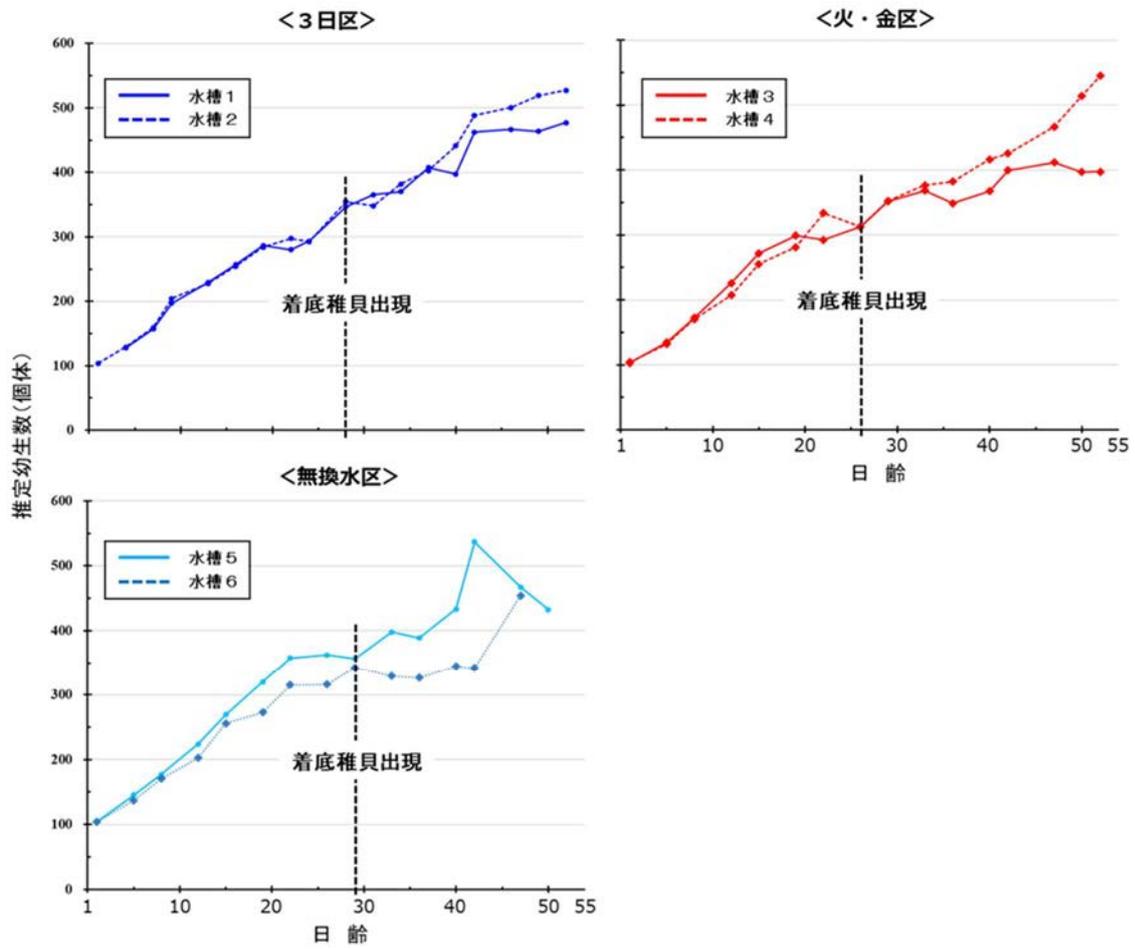


図6. 瀬戸内海産タイラギ2R (9月4日採卵) における換水頻度別にみた連結水槽別の平均殻長の推移

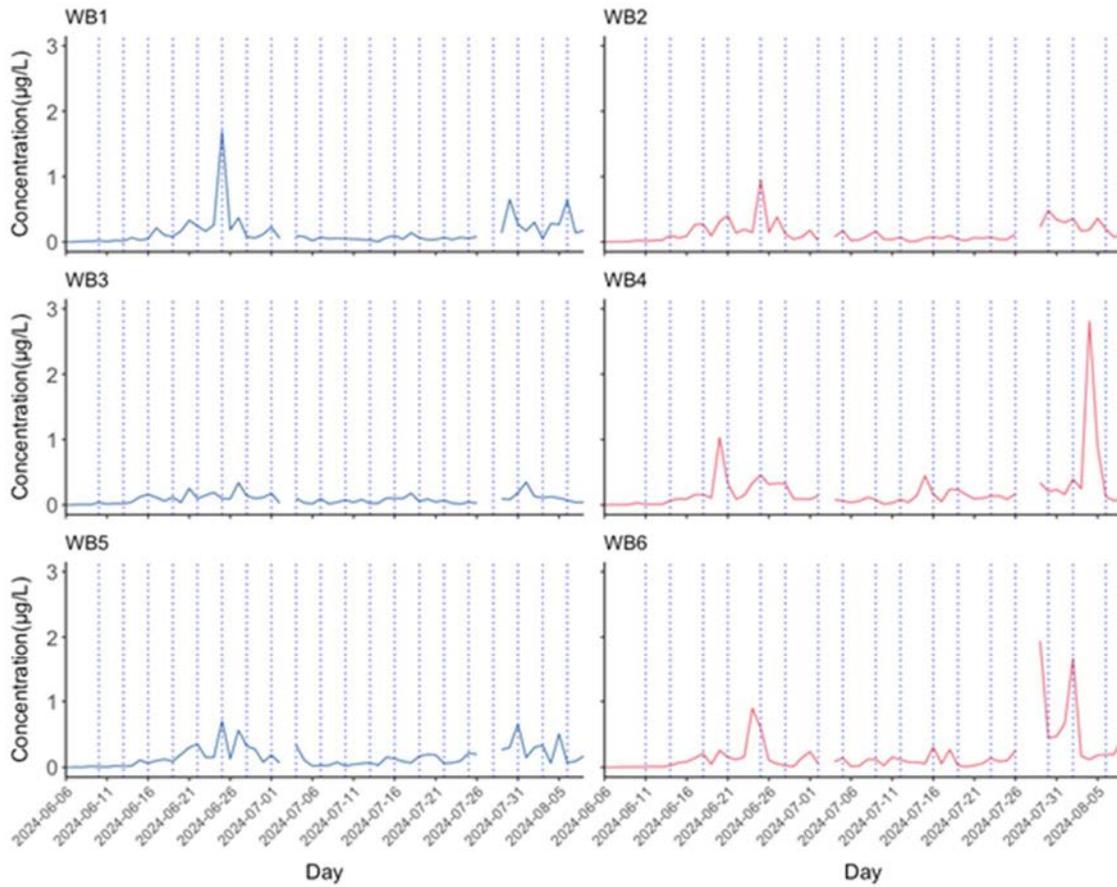


図7. 瀬戸内海産タイラギ 1R (6月5日採卵) の各水槽における飼育水中の細菌 DNA 量の推移。

青実線：3日区、赤実線：火・金区、青破線：換水日を示す

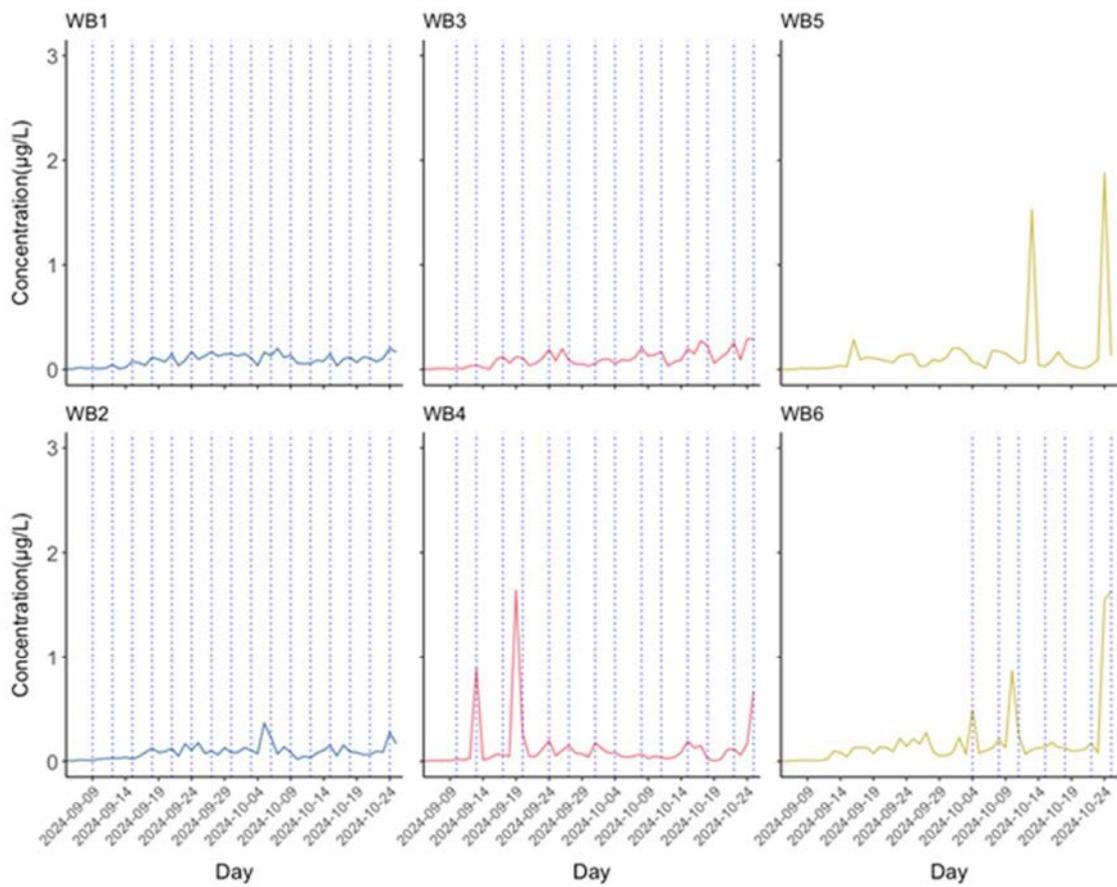


図8. 瀬戸内海産タイラギ2R (9月4日採卵) の各水槽における飼育水中の細菌 DNA 量の推移。

青実線：3日区、赤実線：火・金区、黄実線：無換水区、青破線：換水日を示す

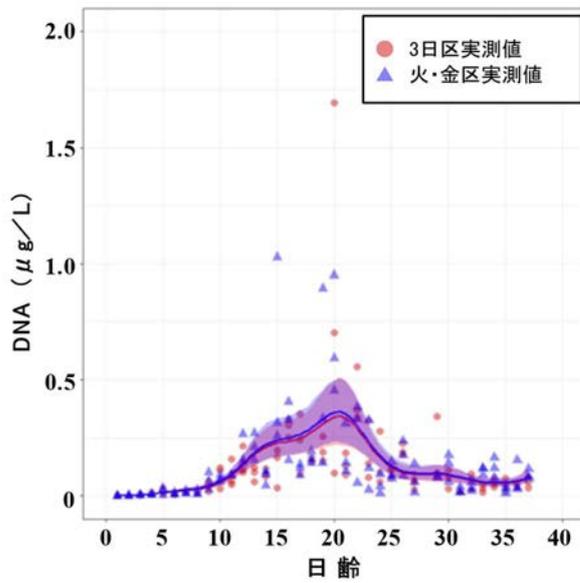


図9. 瀬戸内海産タイラギ1R (6月5日採卵) の着底稚貝出現以前における換水頻度別の細菌 DNA 量と一般化加法混合モデルによって予測された細菌 DNA 量の変化 (bootstrap 1,000 回試行により予測値と 5%信頼区間を算出)

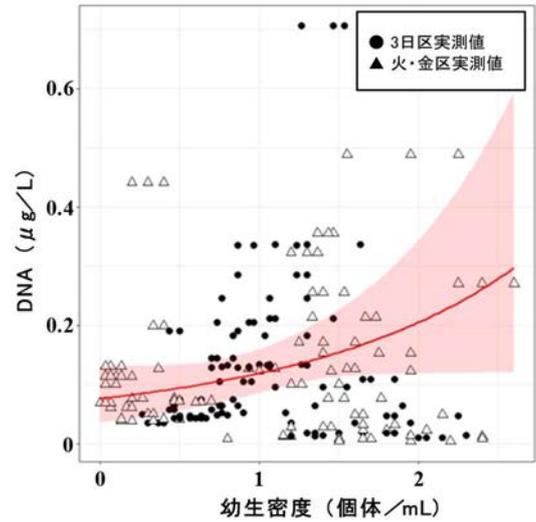
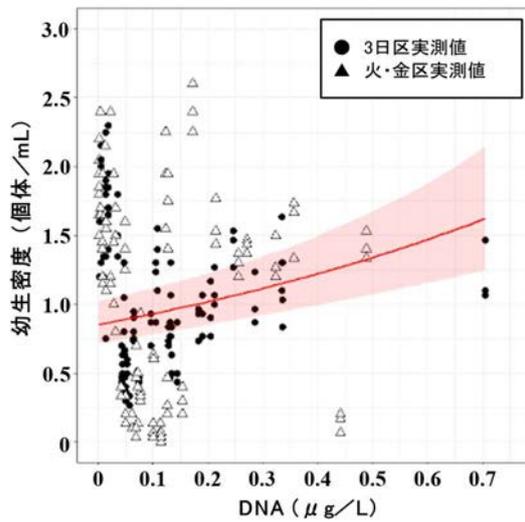
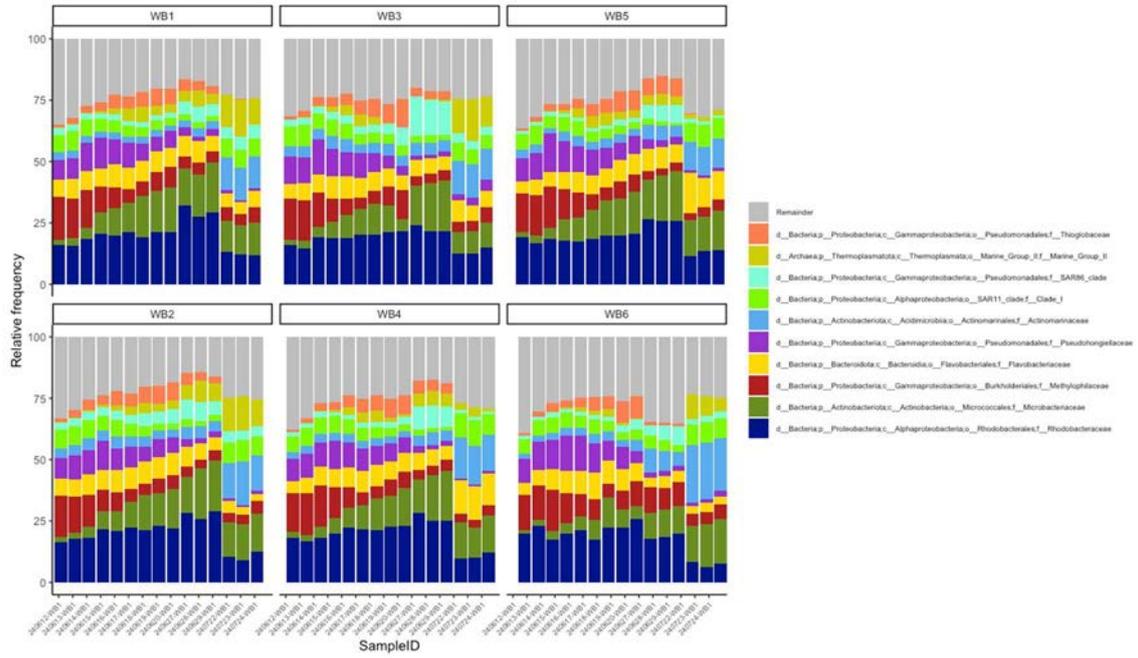


図10. 瀬戸内海産タイラギ1R (6月5日採卵) の着底稚貝出現以前における細菌 DNA 量に対する換水頻度別の幼生密度と一般化線型混合モデルによって予測された幼生密度の変化(左)、および幼生密度に対する換水頻度別の細菌 DNA 量と一般化線型混合モデルによって予測された細菌 DNA 量の変化(右) (bootstrap 1,000 回試行により予測値と 5%信頼区間を算出)

(A)



(B)

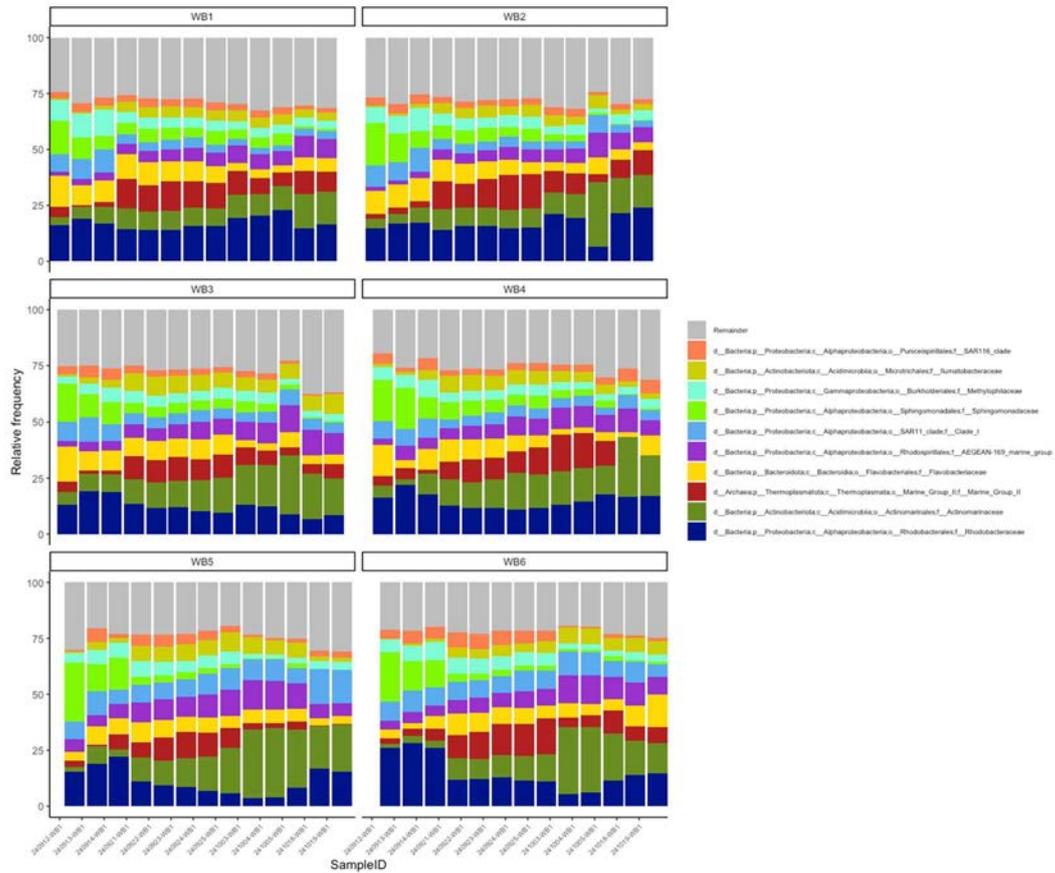
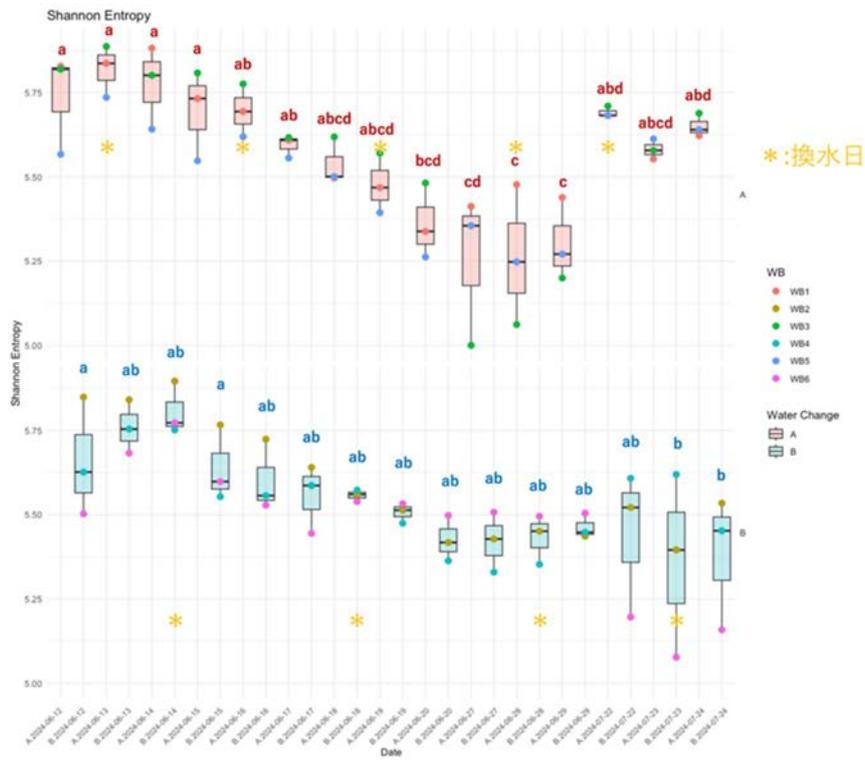


図 11. 各水槽における飼育水中の細菌相の百分率。A：瀬戸内 1R、B：瀬戸内 2R。存在比が多い上位 10 科について色分けして表示。

(A)



(B)

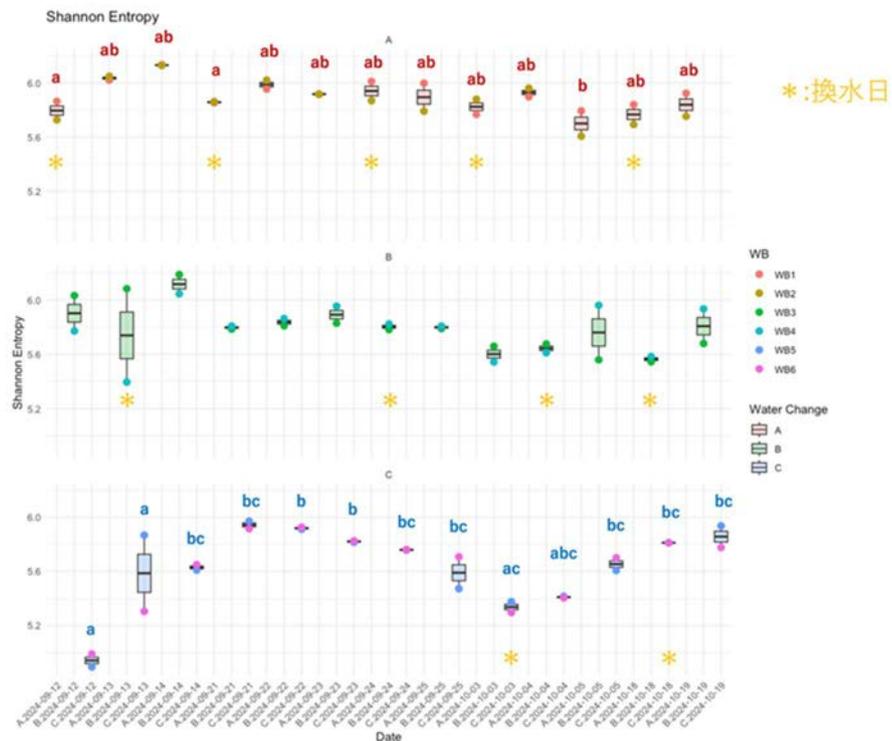


図 12. 各換水区における  $\alpha$  多様性の推移。(A) : 瀬戸内 1R、(B) : 瀬戸内 2R。同じアルファベットが記載されたデータ間に有意差はない ( $p < 0.05$ )。

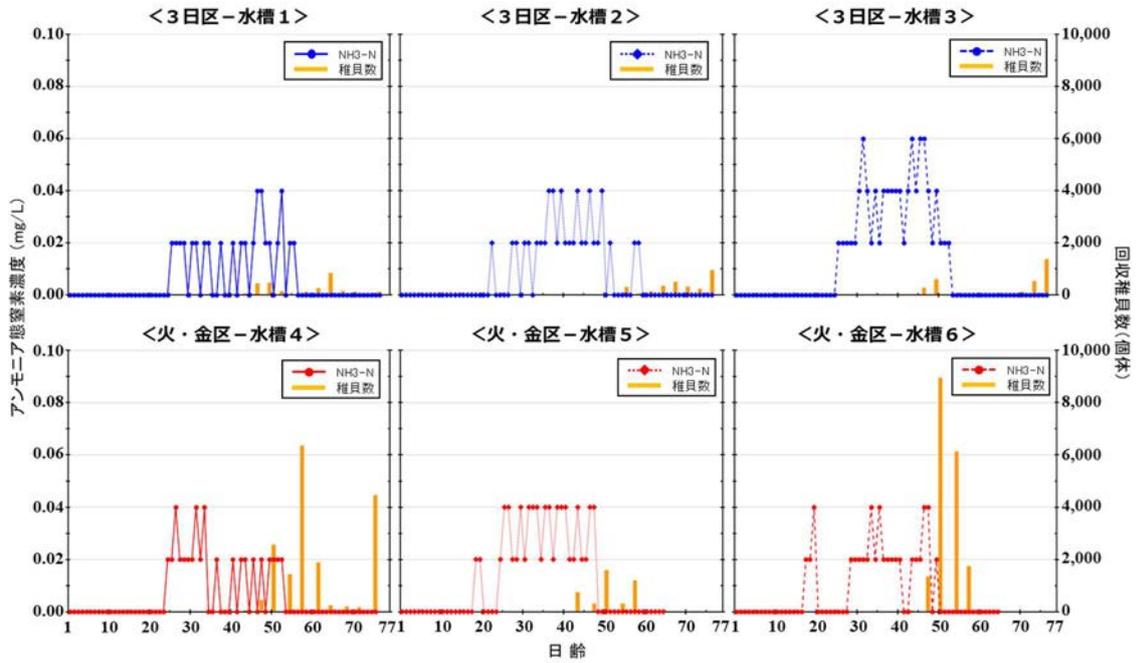


図 13. 瀬戸内海産タイラギ 1R (6 月 5 日採卵) における換水頻度別、連結水槽別にみたアンモニア態窒素量と着底稚貝回収数の推移

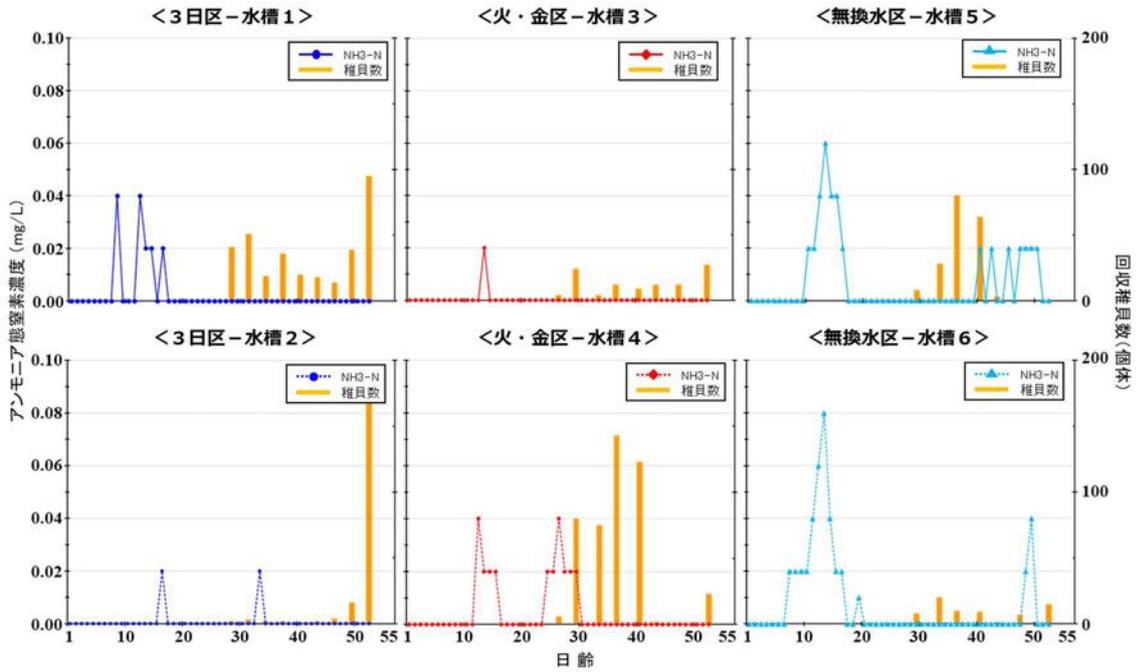


図 14. 瀬戸内海産タイラギ 2R (9 月 4 日採卵) における換水頻度別、連結水槽別にみたアンモニア態窒素量と着底稚貝回収数の推移

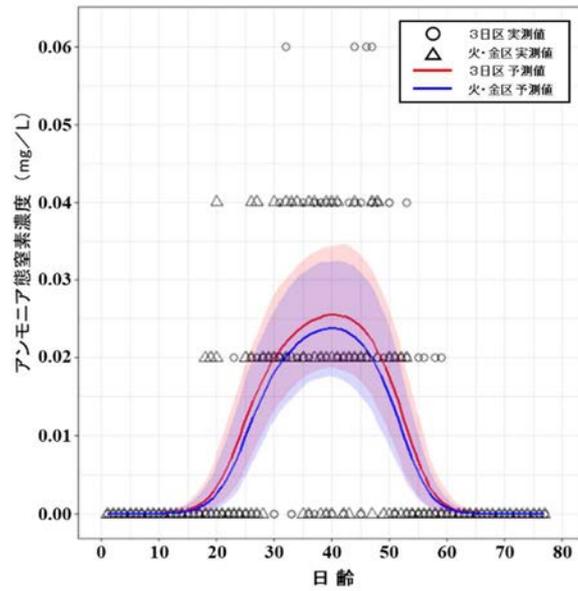


図 15. 瀬戸内海産タイラギ 1R (6 月 5 日採卵) における毎日の換水頻度別のアンモニア態窒素濃度とデルタ型 2 段階法を用いた一般化加法混合モデルによって予測されたアンモニア態窒素発生量の推移 (bootstrap 1,000 回試行により予測値と 5% 信頼区間を算出)

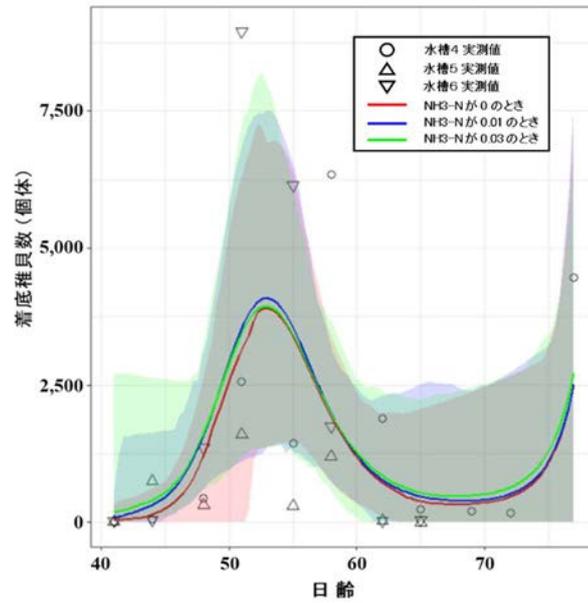


図 16. 瀬戸内海産タイラギ 1R (6 月 5 日採卵) の火・金区 3 水槽における着底開始以降の着底稚貝数とデルタ型 2 段階法を用いた一般化加法混合モデルで予測されたアンモニア態窒素濃度別の着底稚貝数の推移 (bootstrap 1,000 回試行により予測値と 5%信頼区間を算出)

表 1. 令和 6 年度瀬戸内海産タイラギの種苗生産試験における水槽別の着底稚貝数

水槽	1R		2R	
	試験区	稚貝数	試験区	稚貝数
1	3 日	2,810	3 日	333
2	3 日	2,955	3 日	203
3	3 日	3,004	火・金	104
4	火・金	17,822	火・金	453
5	火・金	4,218	無換水	183
6	火・金	18,355	無換水	70

## 令和6年度報告書

### イ. 人工種苗生産技術の開発

#### ② ハマグリ人工種苗生産技術の開発

千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

久保 賢二

#### 【目的】

これまで、人工種苗から育成したハマグリ親貝からの採卵では、十分量の受精卵を得ることができているが、ふ化率は6.1～35.0%にとどまり、ふ化率の向上が大きな課題として残っている。

そこで今年度は、人工種苗から育成した親貝を適切な時期に回収し、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。

また、愛知県で得られた知見である着底期前後の低塩分飼育条件（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）を用いた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について再現性を検証する。

#### 【研究方法】

##### 1) 親貝養成手法の改良

千葉県で種苗生産を行い、盤洲干潟久津間地先で被覆網により育成している親貝を7月22日に回収、一日に3万 cells/mL 程度給餌していた親貝を験に用いた。飼育には止水区と流水区を設定し、どちらも30L パンライト水槽に親貝2.5kgを入れ、室温調整により水温は20℃とし、飼育海水は砂ろ過海水を1トン水槽に貯め、1日以上エアレーションで温度調整後に使用した。餌料にはキートセロス・カルシトランスを用いて試験を始め、残餌密度の測定にはコールターカウンターを用いた。

止水区への給餌にはポンプを用い、散水用タイマーで給餌量と回数を設定した。

流水区は、注水用の30L パンライト水槽に1日分の餌料を加えた15Lの海水を入れ、定量ポンプで24時間かけて注水した。

止水区は1日に給餌量5万 cells/mL×3回で試験を開始したが（表1）、残餌量の経時変化（図1）から、初期設定の給餌量では大幅な餌不足と考えられた。そこで、餌料を冷蔵パブロバに切り替えて、給餌回数を日中1時間に1回（8回）、昼夜問わず2時間に1回（12回）、タイマーの最高設定回数である1日に20回と増やした。

流水区は開始時に5万 cells/mL を給餌し、5万 cells/mL 3回分を15L 海水に入れて24時間かけて定量ポンプで注水した。流水区では給餌2時間後の残餌量が2,000 cells/mL であったため、止水区と同じく大幅な餌不足と考えられた。そこで、餌料を冷蔵パブロバに切り替えて、2時間後の残餌量を参考に給餌量を徐々に増やした。

8月21,22日に肥満度の測定（5個体）と採卵（干出後の昇温と生殖腺懸濁液添加）を行

ったが、6,7 月と比較すると採卵数が少なく、肥満度は両試験区とも試験開始時より低下したため、給餌量をさらに増やした。9 月 10,11 日に再度採卵を行ったが、肥満度はさらに低下し、放精も起きなかったため、試験を終了した（表 2）。

また、盤洲干潟久津間地先の被覆網で育成している親貝と、金田漁業協同組合、新木更津漁業協同組合（中里）及び市川市漁業協同組合から入手したハマグリ親貝の肥満度を測定した（表 3）。

## 2) 種苗生産規模による飼育試験（採卵から殻長 1mm 稚貝）

飼育試験は、「D 型幼生期 19、アンボ期 15、着底期 12、着底後 15、翌日以降 19」で飼育する低塩分飼育とし、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。餌料はパブロボ・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、コールターカウンター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】

### 1) 親貝養成手法の改良

流水区の肥満度が上がらなかった原因として、計画していた餌料密度 2 万 cells/mL では餌料が不足していたと考えられる。また、市販されている冷蔵パブロボの細胞サイズは、当所で飼育しているパブロボ・ルテリよりも明らかに小さかったことも給餌量が不足した原因の一つとして考えられた。

盤洲干潟久津間地先の被覆網で育成している親貝の肥満度は、5 月に 11.3 と低く 7 月も 15.0 で、肥満度が 15 を超えなかった。肥満度が 15 を超えたのは、市川と金田から入手した親貝のみであった。肥満度が高かった市川の育成場所は最大干潮時でも干出ししない地盤高、金田は地盤高 0.4m 程度であった一方、試験区は地盤高 0.9m 程度であったことから、地盤高が低い場所で肥満度が高い傾向がみられた（表 3）。

### 2) 種苗生産規模による飼育試験（採卵から殻長 1mm 稚貝）

採卵から D 型幼生までにおいては、受精卵は十分量得られたが、2 回目以降のふ化率が非常に低く、2 回目以降は肥満度が 15 以下であったことがふ化率に影響したと考えられた。その他に卵収容槽ではエアレーションを行わなかったため、溶存酸素濃度が影響した可能性が考えられた。（表 4）

D 型幼生から着底期においては、1 回目採卵群は着底時の斃死が多く生残率は 16.6%で、2 回目採卵群は着底時の斃死が少なく、生残率は 65.6%となった。過去には 100 万個/器で収容し、着底期の生残率 50%前後だったこともあるが、1 回目採卵群の低生残率は、収容数が多いことが原因の一つとして考えられた。（表 5）

着底期以降の飼育においては、6 月 25 日採卵分は、9 月 10 日時の個体数が 90 万個で生残率 30%（この時に 18 万個取出）だったが、以降斃死が増え、最終的には 16 万個生残率

6% (13%) となった。前年と同様の方法で飼育したが、生残率は 2 回とも 6%で、前年 (34.3~57.1%) より低下し、前々年 (1.8~9.3%) と同程度であった。(表 6)

斃死が増え始めた 9 月中旬に、紫外線殺菌装置のポンプ 1 台が不調だったため、紫外線殺菌が十分に行われなかったことが低生残率の原因の一つとして考えられた。

【次年度に向けた提言】

親貝の肥満度は地盤高が低い場所で高い傾向がみられたため、親貝の育成場所には地盤高が低い場所が望ましい。

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】

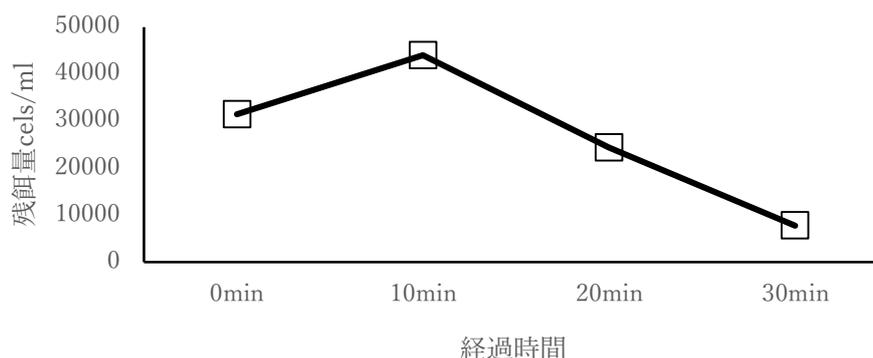


図 1 止水区の残餌量の経時変化

表 1 一日当たりの給餌量推移

	8月7日	8月13日	8月15日～	8月23日～
止水区	5万 cells/mL×3	5万 cells/mL×8	5万 cells/mL×12	5万 cells/mL×20
流水区	5万 cells/mL×4	5万 cells/mL×13	5万 cells/mL×25	5万 cells/mL×31
流水区の2時間後残餌	2000cells/mL	7000cells/mL	20000cells/mL	24000cells/mL

表2 採卵・D型幼生回収結果

採卵日	親貝種類	親貝量	採卵数	D型幼生数(ふ化率)	肥満度
8/7	7/22 入手	5kg		養成開始	12.9
8/21	止水区	2.5kg	713万	0(0%)	11.7
8/22	流水区	2.5kg	340万	17万(5%) (水カビ発生で処分)	12.5
9/10	2.5kg		0	—(—%)	11.8
9/11	2.5kg		0	—(—%)	11.4

表3 ハマグリ親貝の肥満度

漁場	貝の由来	育成方法	入手日	肥満度
試験区(久津間)	種苗生産	被覆網	5/22	11.3
			7/22	15.0
対象区(市川)	他県から購入	育成区域	6/11	20.8
			6/25	18.9
対象区(金田)	種苗生産	育成区域	6/20	18.3
対象区(中里)	種苗生産	被覆網	6/17	12.2

表4 種苗生産の結果(採卵・D型幼生確保)

採卵日	親貝種類	親貝量	肥満度	採卵数	D型幼生数(ふ化率)
6/25	6/20 入手	5 kg	18.3	6,120万	2309万(37.7%)
7/30	7/22 入手	5 kg	15.0	6,460万	253万(3.9%)
8/21	7/22 入手	2.5 kg	11.7	713万	0(0%)
8/22	7/22 入手	2.5 kg	12.5	340万	17万(5%) (水カビ発生で全数処分)
計		15 kg		13,633万	2,562万(18.8%)

表5 種苗生産の結果 (D型幼生～着底期の飼育)

採卵日	開始時個体数	開始時平均殻長(mm)	着底期個体数	着底期平均殻長(mm)	生残率(%)	開始時容器数	開始時密度	塩分
6/25	1,628万	0.11	270万	0.17	16.6	18	87,97万/器 300-340個/cm <sup>2</sup>	19 (6/25-7/3) 15(7/3-8) 12(7/9-11)
7/30	253万	0.11	172万	0.17	65.6	6	42万/器 150個/cm <sup>2</sup>	19 (7/30-8/5) 15(8/6-8) 12(8/9-15)

表6 種苗生産の結果 (着底期以降の飼育)

採卵日 (飼育期間)	開始時個体数	開始時平均殻長(mm)	終了時個体数	終了時平均殻長(mm)	生残率	開始時容器数	開始時密度	塩分
6/25 採卵(7/9-9/24)	270万	0.17	16万 (途中18万個取出)	1.30	6% (13%)	12	23,22万/器 81,78個/cm <sup>2</sup>	12(7/9-11) 15 (7/12-13) 19(7/14-9/24)
7/30 採卵(8/9-9/24)	172万	0.17	11万	1.37	6%	6	32,13万/器 113,46個/cm <sup>2</sup>	12(8/9-15) 15(8/16) 19 (8/17-9/24)

## ウ 母貝育成技術と標識技術の開発

### ①瀬戸内海西部海域におけるタイラギ母貝育成技術の開発

山口県水産研究センター

茅野 昌大・畑間 俊弘

#### 【目的】

瀬戸内海西部海域において、人工種苗を用いて、干潟移植式と海域垂下式によって、移植・垂下場所の環境調査、移植・垂下技術の開発、移植・垂下種苗の保護育成、移植・垂下育成の効果把握を行うことにより、殻長 200mm 以上のタイラギ母貝を育成する技術を開発することを目的とする。

#### 【研究方法】

##### 1) 干潟移植式

###### ①試験場所

試験は山口県山口市の秋穂湾干潟域で行った（図 1）。なお、これまでの試験結果から、秋穂湾においては、湾央、湾口に比べて湾奥がタイラギ稚貝の育成に適している可能性が示唆されている。

###### ②環境調査

タイラギ稚貝を育成する場所の環境を把握するため、秋穂湾奥に調査地点（St.2）を設け（図 2）、水質と底質の環境項目の調査を行った。水質環境項目は、令和 5 年 12 月から令和 6 年 3 月までの期間は概ね 2 週間ごとに、令和 6 年 4 月から令和 7 年 2 月までの期間は概ね 10 日間ごとに調査を行い、午前 9 時頃に海底上 0.5m 層の水温、塩分およびクロロフィル a を測定した。また、底質環境項目は、令和 5 年 11 月から令和 7 年 1 月までの期間に概ね 3 か月間ごとに調査を行い、内径 4cm の筒を用いて表面から 10cm 深までの底質を採取し、全硫化合物量および粒度組成を測定して中央粒径値と泥分率を求めた。

###### ③移植密度試験

タイラギ稚貝の適正な移植密度を求めるための試験を行った。令和 5 年 12 月 13 日から令和 6 年 10 月 18 日までの期間（310 日間）、秋穂湾奥の干潟域における地盤高+30cm（潮位表基準面）の場所（St.2）に試験区を設けた（図 2）。試験には、水産技術研究所（百島庁舎）が種苗生産し、山口県水産研究センターが中間育成した、平均殻長 118.3mm のタイラギ稚貝（令和 4 年産有隣型）を用い、15 個/m<sup>2</sup>の低密度、30 個/m<sup>2</sup>の中密度、60 個/m<sup>2</sup>の高密度で移植した（n=4）。併せて、殻長測定用に採取する稚貝試料として、同様の密度で移植した（n=4）。試験区は、目合 16mm の網を用いた盛り上げ式被覆網（図 3）により保護を行った。追跡調査は、試験期間に 1 か月間ごとに生残率および令和 6 年 4 月から同年 10 月の期間に原則として 2 か月間ごとに殻長の測定を行った。干出時に調査を行う必要があるため、調査日時は原則として大潮期の干潮時刻とした。

###### ④移植密度試験（移植手法の検討）

これまでの試験は、タイラギ稚貝を手植えて移植して行ってきたが、これからの試験は、手植えでは困難な高密度での移植が必要となることが想定される。このことから、移植手法としてのばらまきの有効性を検討するための試験を行った。令和6年5月8日から令和6年12月17日までの期間（223日間）、秋穂湾奥の干潟域における地盤高+30cm（潮位表基準面）の場所（St.2）に試験区を設けた（図2）。試験には、水産技術研究所（百島庁舎）が種苗生産し、山口県水産研究センターが中間育成した、平均殻長59.8mmのタイラギ稚貝（令和5年産有隣型）を用い、手植えとばらまきでそれぞれ100個/m<sup>2</sup>の密度で移植した（n=5）。併せて、殻長測定用に採取する稚貝試料として、同様の密度で移植した（n=5）。試験区は、目合16mmの網を用いた盛り上げ式被覆網（図3）により保護を行った。追跡調査は、令和6年12月に生残率の測定を行い、令和6年8月と同年10月に殻長の測定を行った。前述の試験のとおり、調査日時は原則として大潮期の干潮時刻とした。

## 2) 海域垂下式

### ①試験場所

試験は山口県山口市の山口湾浅海域に設置したロープ筏で行った（図1）。

### ②環境調査

タイラギ稚貝を育成する場所の環境を把握するため、山口湾に調査地点を設け（図2）、水質環境項目の調査を行った。令和5年12月から令和6年3月までの期間は概ね2週間ごとに、令和6年4月から令和7年2月までの期間は概ね10日間ごとに調査を行い、午前9時頃に水深1.5mの水温、塩分およびクロロフィルaを測定した。

### ③収容密度試験（育成方法の検討）

これまでの試験では、海域垂下式は干潟移植式に比べると、タイラギ稚貝の成長が遅く、目標とする殻長200mmに到達できていない状況である。成長阻害の要因として、育成カゴ内に空隙を設けるために設置した仕切りによる稚貝抑制の影響が考えられたことから、改めて育成方法を検討するための試験を行うこととした。試験は途中であるが、令和6年10月8日から令和7年2月25日までの期間（140日間）、山口湾のロープ筏に試験区を設けた（図2）。試験には、水産技術研究所（百島庁舎）が種苗生産し、山口県水産研究センターが中間育成した、平均殻長108.5mmのタイラギ稚貝（令和5年産有隣型）を用い（図4）、育成には、丸カゴ（0.071 m<sup>2</sup>）、角カゴ（小）（0.100 m<sup>2</sup>）、角カゴ（大）（0.182 m<sup>2</sup>）を用い、可能な限り収容密度を統一して、それぞれ8個/カゴ（113個/m<sup>2</sup>）、11個/カゴ（110個/m<sup>2</sup>）、20個/カゴ（110個/m<sup>2</sup>）の密度で収容した（n=5）。軽石（粒径約10mm）を基質に用い、収容した稚貝の後縁まで覆い、水深1.5mに垂下した。追跡調査は、試験期間に1か月間ごとに生残率の測定を行った。稚貝後縁が基質表面よりも露出していた場合、基質の補充を行い、常に稚貝後縁まで基質に埋入している状態を保った。

## 【研究成果の概要】

### 1) 干潟移植式

#### ①環境調査

水質環境項目では、水温は 6.8℃（令和 7 年 2 月中旬）～30.6℃（令和 6 年 9 月中旬）の範囲で、塩分は 28.72（令和 6 年 7 月下旬）～32.76（令和 7 年 2 月下旬）の範囲で、クロロフィル a は 0.15μg/L（令和 7 年 2 月下旬）～5.32μg/L（令和 6 年 7 月下旬）の範囲で推移した（図 5、図 6、図 7）。それぞれの特徴として、水温は 9 月上旬から 11 月中旬まで平年より高めであったこと、塩分は 7 月に大量降雨の影響により低下したこと、クロロフィル a は 7 月に塩分が低下した直後に増加がみられたことが挙げられる。

底質環境調査では、全硫化物量は 0.03mg/g 乾泥（令和 5 年 11 月、令和 6 年 4 月）～0.09mg/g 乾泥（令和 6 年 10 月）の範囲、中央粒径値は 0.4mm（令和 6 年 10 月）～0.7mm（令和 5 年 11 月、令和 6 年 4 月、令和 7 年 1 月）の範囲、泥分率は 3.7%（令和 5 年 11 月）～7.6%（令和 6 年 10 月）の範囲で推移した（図 8、図 9、図 10）。全ての環境項目について、タイラギ稚貝を育成する環境として適していたと考えられる。

#### ②移植密度試験

平均生残率（令和 6 年 10 月）は、15 個/m<sup>2</sup>の低密度区で 28.3%、30 個/m<sup>2</sup>の中密度区で 62.5%、60 個/m<sup>2</sup>の高密度区で 62.5%であった（図 11）。なお、令和 6 年 5 月から同年 9 月までの期間の追跡調査は、潮位と作業量の関係で、生残個体を全量計数することが困難であった。そのため、目視により死殻を計数し、前回調査時の密度から差し引くことで生残率を推定したが、測定誤差が生じていると考えられた。

平均殻長（令和 6 年 10 月）は、15 個/m<sup>2</sup>の低密度区で 168.8mm、30 個/m<sup>2</sup>の中密度区で 170.7mm、60 個/m<sup>2</sup>の高密度区で 169.3mm であった（図 12）。なお、令和 6 年 8 月の低密度区における追跡調査は、想定以上の減耗により、必要数量の稚貝試料を採取できなかったことから欠測とした。

殻長に試験区による成長差はみられなかったが、生残率は低密度区よりも中・高密度区で高く、密度効果の逆転現象が生じた。これは既往知見を支持する結果であった。試験結果から、中・高密度区が適正密度であると考えられた。

#### ③移植密度試験（移植手法の検討）

平均生残率（令和 6 年 12 月）は、手植えによる 100 個/m<sup>2</sup>の密度区で 26.8%、ばらまきによる 100 個/m<sup>2</sup>の密度区で 26.2%であった（図 13）。当初、追跡調査は、平均殻長と併せて、令和 6 年 10 月に行う予定であったが、試験区が干出しなかったため、令和 6 年 12 月に行うこととした。

平均殻長（令和 6 年 10 月）は、手植えによる 100 個/m<sup>2</sup>の密度区で 129.2mm、ばらまきによる 100 個/m<sup>2</sup>の密度区で 128.4mm であった（図 14）。

生残率・殻長ともに、手植えとばらまきで差はみられなかった。試験結果から、移植手法としてばらまきは有効であることが確認された。

## 2) 海域垂下式

### ① 環境調査

水質環境項目では、水温は 7.4℃（令和 7 年 2 月下旬）～29.2℃（令和 6 年 9 月中旬）の範囲で、塩分は 28.02（令和 6 年 7 月下旬）～32.63（令和 7 年 1 月中旬）の範囲で、クロロフィル a は 0.46μg/L（令和 7 年 1 月下旬）～4.10μg/L（令和 5 年 12 月上旬）の範囲で推移した（図 5、図 6、図 7）。山口湾でも前述した秋穂湾と共通する特徴がみられた。

### ② 収容密度試験（育成方法の検討）

平均生残率（令和 7 年 2 月時点）は、丸カゴ区で 95.0%、角カゴ（小）区で 98.2%、角カゴ（大）区で 94.0%であった（図 15）。

平均殻長は、令和 7 年 2 月時点で追跡調査は行っていない。水温の上昇を待ち、令和 7 年 4 月以降に開始予定である。

稚貝は概ね順調に育成しており、今後も試験を継続し、母貝を育成するために適した方法を検討する。

#### 【次年度に向けた提言】

干潟移植式では、今年度は稚貝 60 個/ m<sup>2</sup> 以下の密度における適正密度を確認できたが、まだ最適密度は判明していない。今年度、ばらまきが移植手法として有効であることを確認できたことから、次年度は、環境調査を継続するとともに、ばらまきにより非常に高密度な移植試験を行い、最適密度を明らかにする必要がある。

海域垂下式では、次年度は、環境調査を継続するとともに、異なる育成カゴを用いた試験を継続し、母貝の育成方法を確立する必要がある。

## 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 pectinata* (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 試験場所（山口湾および秋穂湾）



図2 調査地点（St.2 およびロープ筏）



図3 盛り上げ式被覆網



丸カゴ (0.071m<sup>2</sup>)      角カゴ(小) (0.100m<sup>2</sup>)      角カゴ(大) (0.182m<sup>2</sup>)

図4 育成カゴ

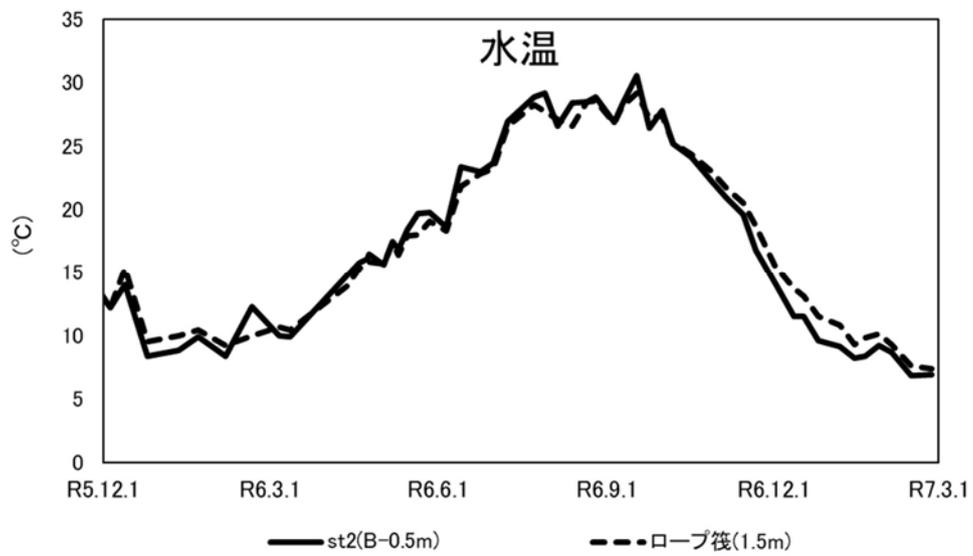


図5 水温の推移

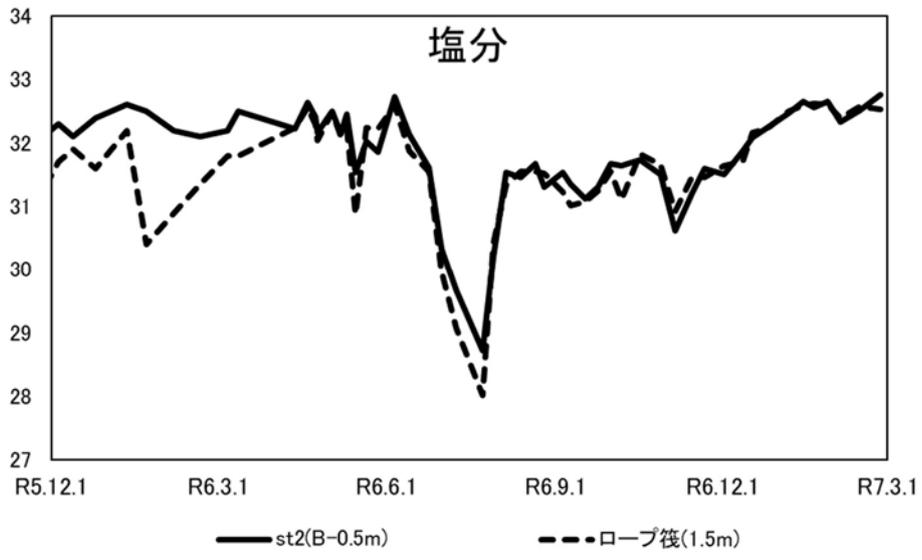


図6 塩分の推移

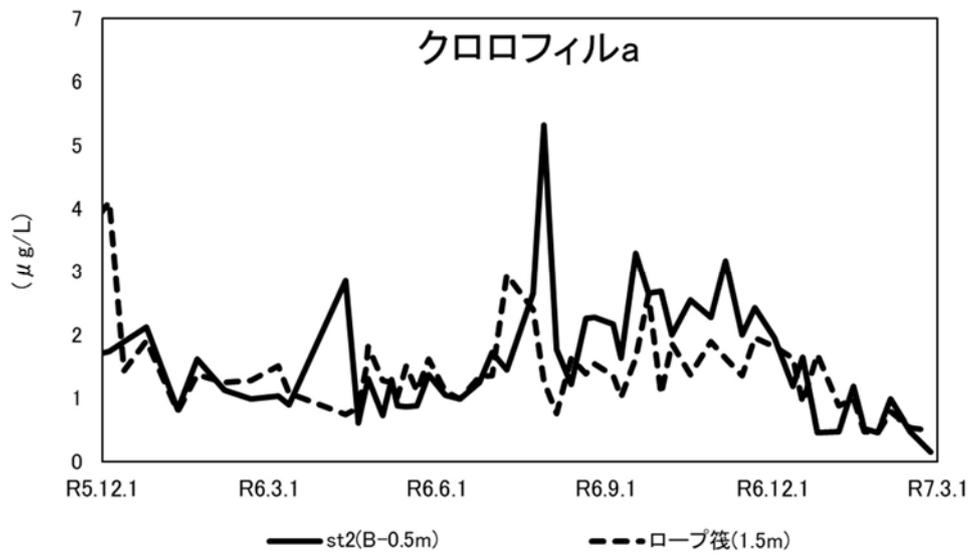


図7 クロロフィルaの推移

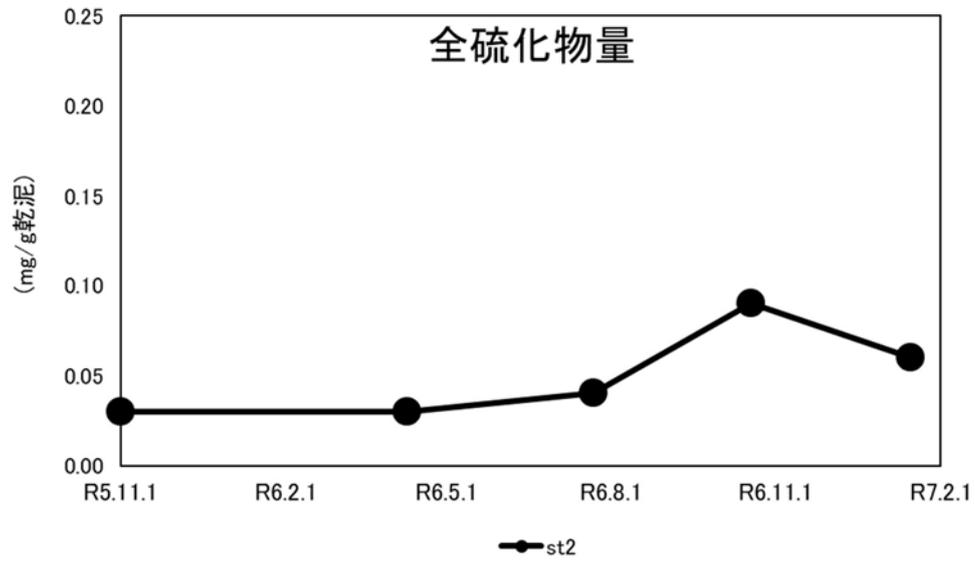


図8 全硫化物量の推移

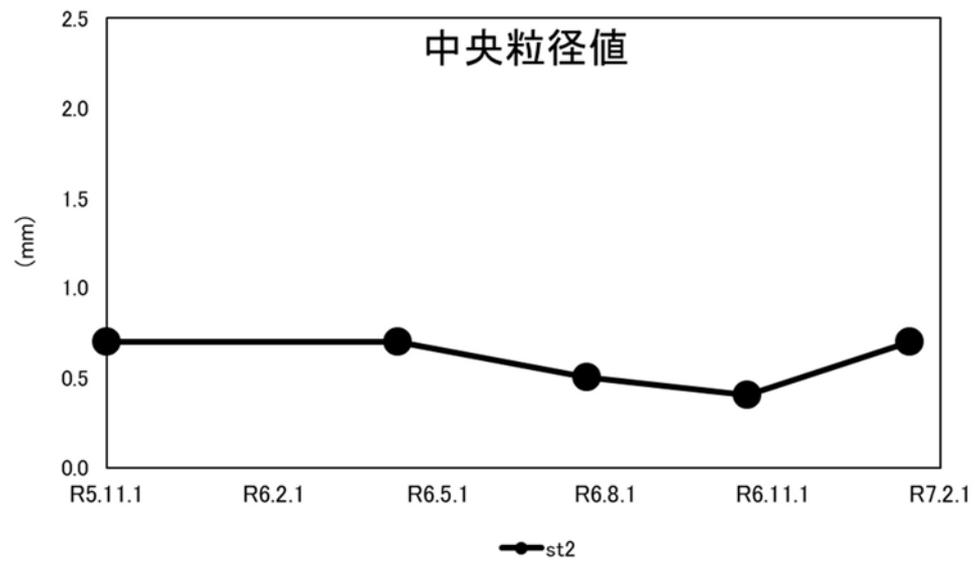


図9 中央粒径値の推移

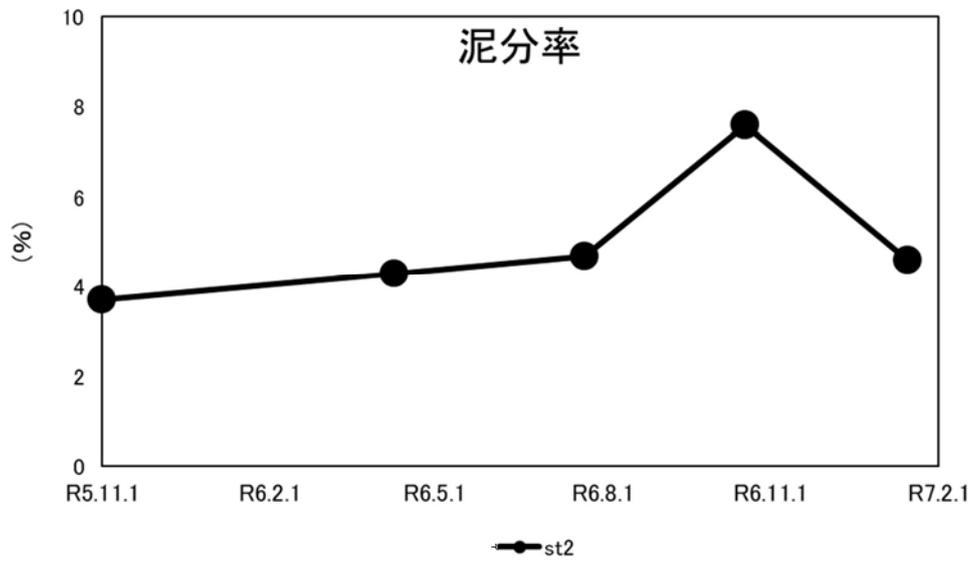


図 10 泥分率の推移

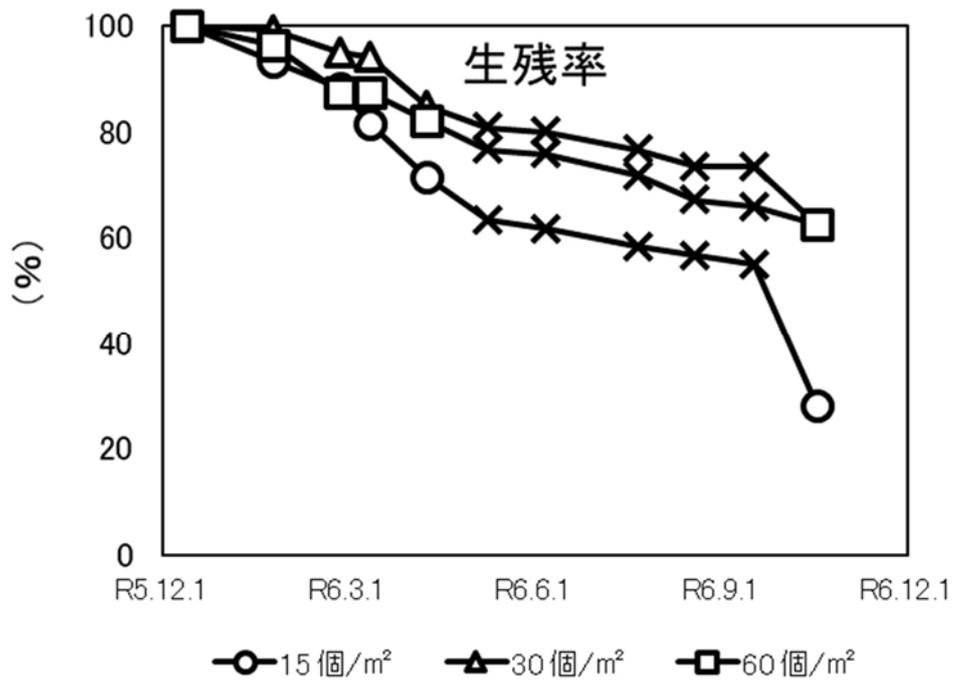


図 11 平均生存率の推移 (②移植密度試験)

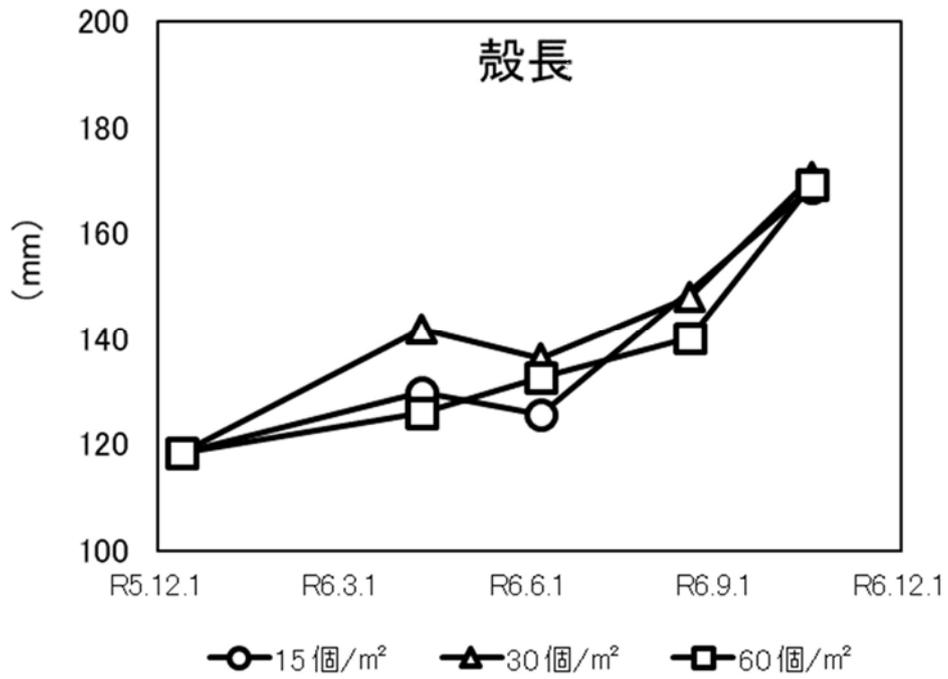


図 12 平均殻長の推移 (②移植密度試験)

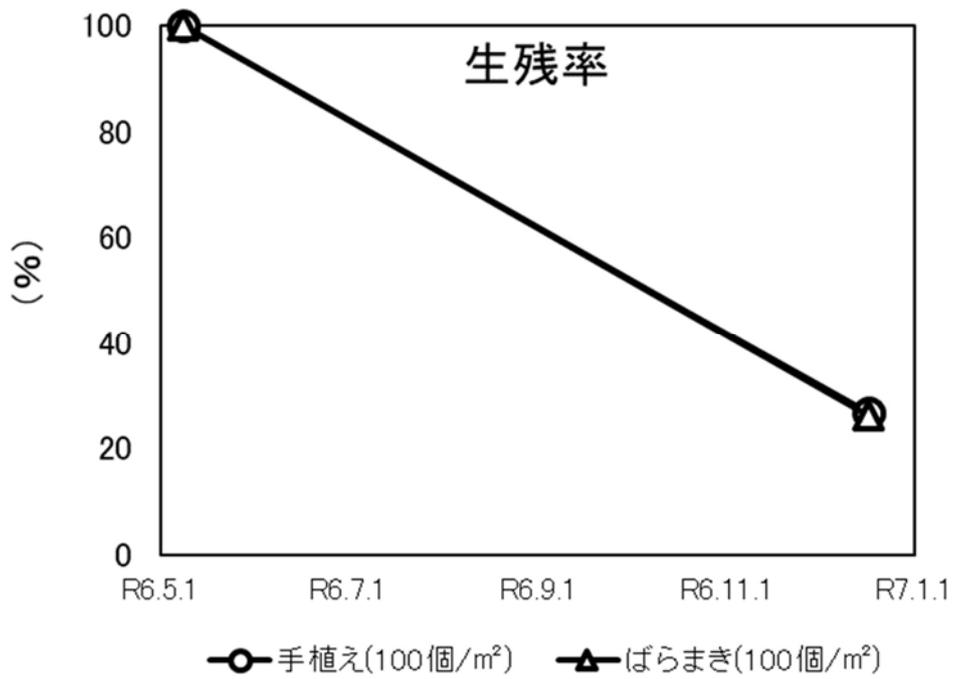


図 13 平均生存率の推移 (③移植密度試験)

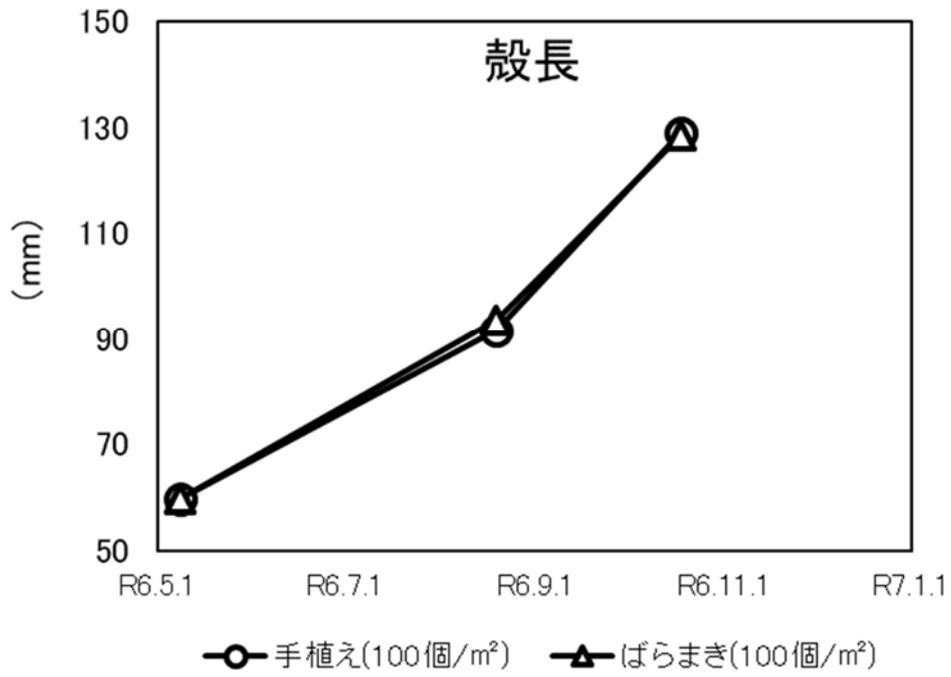


図 14 平均殻長の推移 (③移植密度試験)

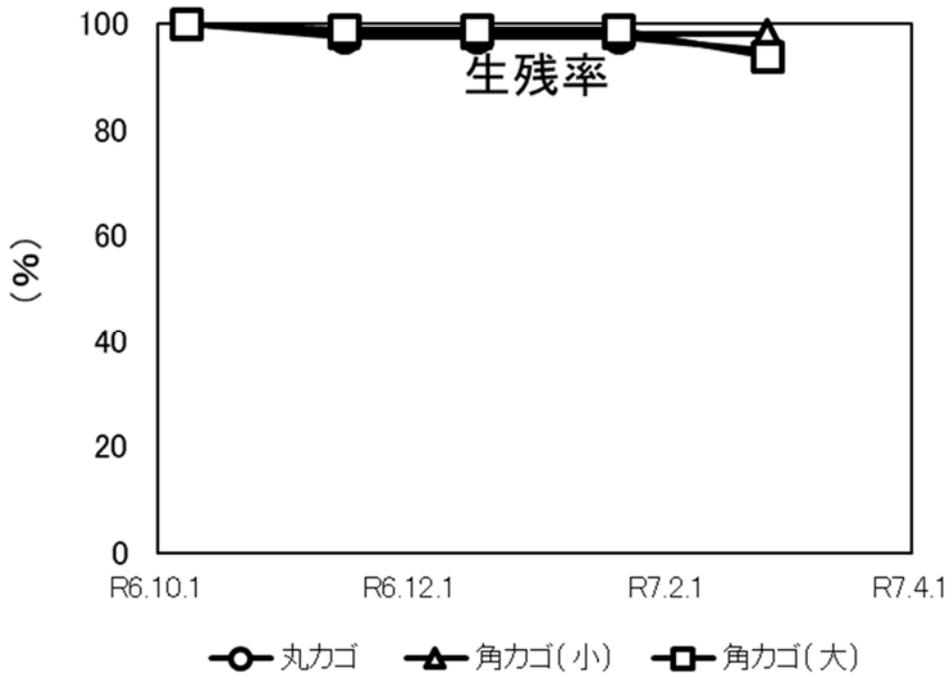


図 15 平均生存率の推移 (収容密度試験)

## ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

### ②大分県北部海域におけるタイラギの母貝育成技術の開発

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・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が成熟し、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2024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か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、2024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 $51.6\pm 10.8\text{mm}$ の稚貝、および12月6日両瀬地先に $60.5\pm 13.3\text{mm}$ 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に設置した。試験区は $1\times 1\text{m}$ の範囲内に人工種苗を400および200個/ $\text{m}^2$ 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）を設置した。これらは2~3か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、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 $2\times 2\text{m}$ の被覆網に広げて再収容（以下、展開という。）を行った。なお、観音崎の200個/ $\text{m}^2$ の試験区ひとつについては取上げを行わずに $2\times 2\text{m}$ の被覆網に網替えのみを行った。観音崎の展開区は2024年3月15日に6個を回収し、すべての個体を取り上げた。また、展開を行わなかった網替えのみの区は2024年10月12日にすべてを取り上げた。また、両瀬地先の展開区は引き続き調査を行っている。

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 $1\times 1\text{m}$ 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、 $45.0\pm 7.7\text{mm}$ タイラギ稚貝の200個/ $\text{m}^2$ 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の被覆網に替えて展開を行った。なお、2021年生まれと同様に管理・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区、およびしない区をそれぞれ設置し、46.7±10.1mmタイラギ稚貝の各750個体、130.2個/m<sup>2</sup>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。

2024年生まれは、2024年12月12日西浦、および12月2日両瀬に同様の方法で試験区を設置した。試験区は1×1mの上部を巾着状にした鉄筋カゴ区（側面トリカルネット9mm、上部ナイロンラッセル網15mm）、モジ網区（目合い4mm）、ナイロンラッセル網区（目合い15mm）をそれぞれ設置し（写真2）、46.7±10.1mmタイラギ稚貝の各500個/m<sup>2</sup>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、それぞれの地先の被覆網の1つに温度ロガー（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（図2）。

2021年生まれは移植から約3年経過した2025年1月23日の両瀬の展開区で213.2±9.3mm、で初めて平均殻長200mmを超えた（図3）。2年目以降に性成熟によると推測される成長停滞が春から夏にかけて認められたが、両瀬ではそれ以降に良好な成長が認められた。観音崎では成長が遅いことから2024年10月12日に全数126個を取り上げた。ここまでの生残率は16.9%であった。その後、12月17日にポケットカゴに収容し、佐伯市上浦の水産研究部の筏に垂下した。

2022年生まれは観音崎にのみ移植しており、約2年経過した2025年1月24日に展開区で175.1±18.7mmであった（図4）。成長はこれまでの試験と同様に2年目に性成熟によると推測される成長停滞が認められたが、2021年生まれと比較すると成長は良かった。

2023年生まれは移植から約1年後の2025年1月24日に観音崎で146.7±16.1mm、1月23日に両瀬で163.7±12.2mmであった（図5）。

#### 【次年度に向けた提言】

全数を取り上げる方法以外での生残率の正確な把握に向けて、写真撮影による画像からの生息個体数把握の検討を行った。しかし、潜砂場所に偏りがあること、潜砂している小型個体の判別が難しいことなど課題があり、調査方法は定まらなかった。2024年生まれは被服網を1×1mに小型化し、ステン棒内の表面の砂を飛ばすなどの方法を検討したい。

また、2年目以降は性成熟によると推測される成長停滞は認められたが、両瀬では秋以降

の成長は概ね良好であった。今年の生息環境が特に良好であったとも考えられることから、水温やクロロフィル量などとの比較検討を行っていきたい。また、2024年生まれの移植場所は成長の遅い観音崎からやや流れのある西浦に変更し、経過を観察していきたい。

今年度はマダコの被服網内への侵入による食害は認められなかったが、サンプリングで被服網の裾を捲る際に隙間が生じることが問題となることから、被服網上部を巾着状にして上部からサンプリングを行い、裾は埋設するように改良を行った。

【図表】

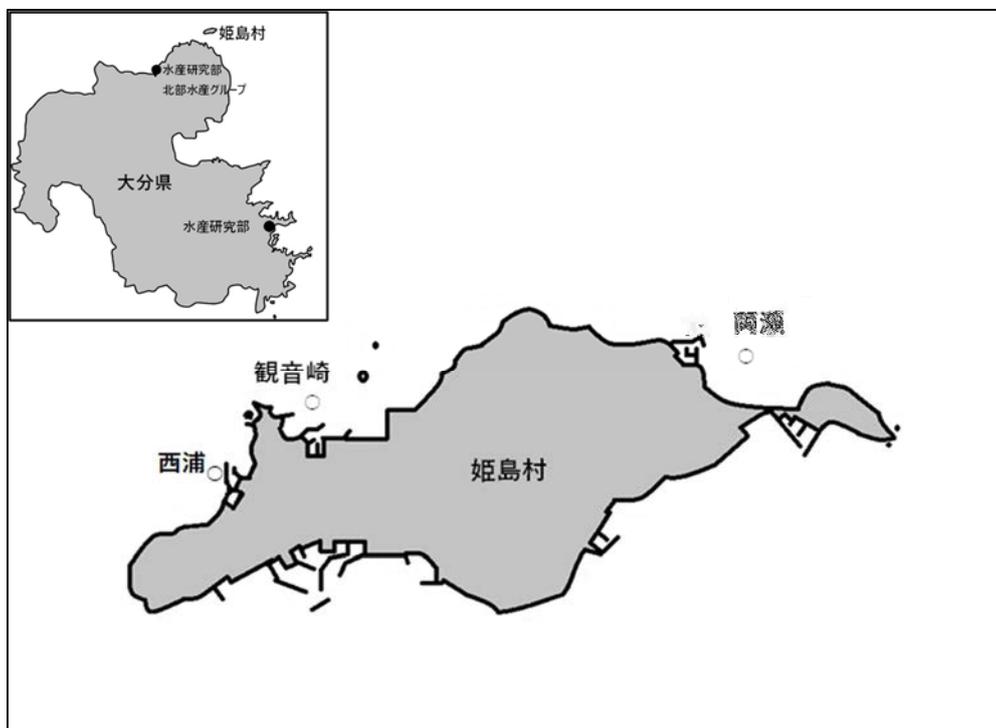


図1 海底移植試験の実施場所



写真1 被覆網の構造と水中での網なり



写真2 鉄筋カゴ(右)、モジ網 4mm(中央)、ナイロンラッセル 15mm 網(左)

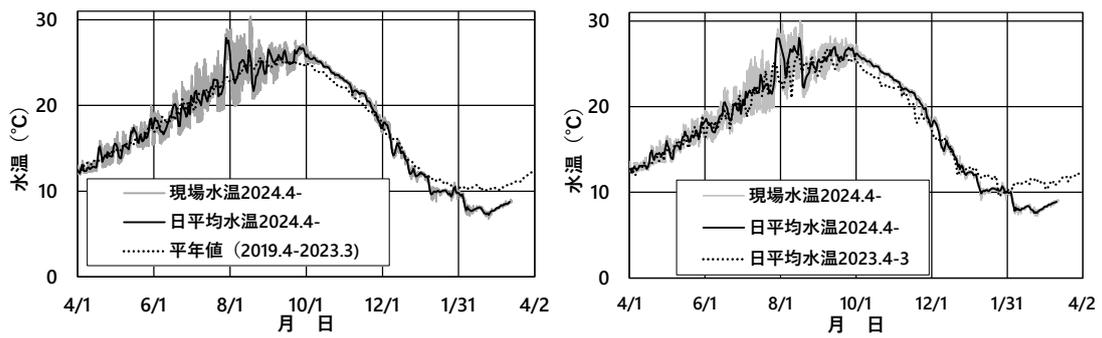


図2 観音崎(左)および両瀬(右)の現場水温の推移

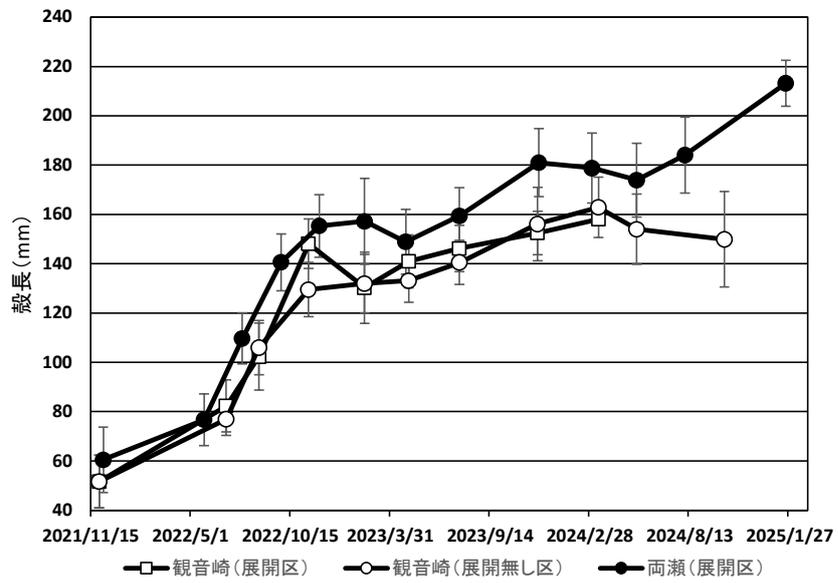


図 3 2021 年生まれの成

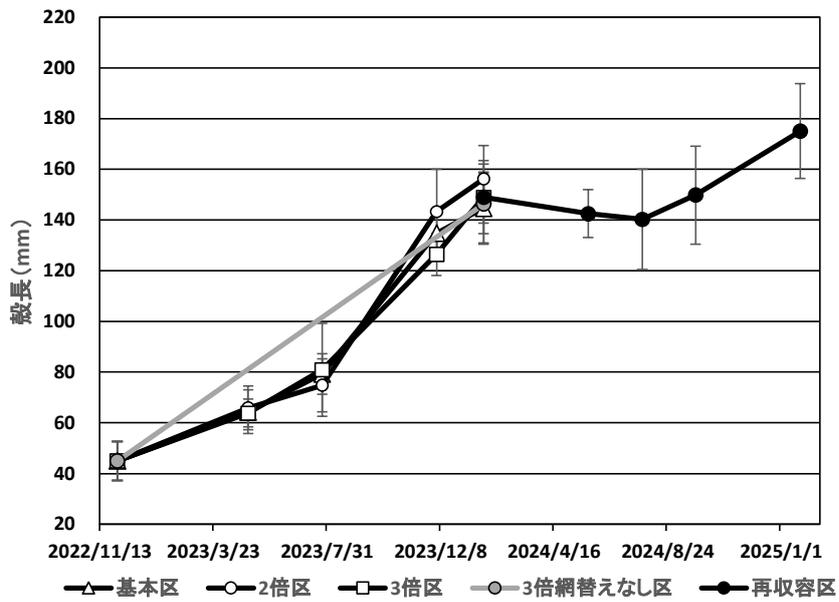


図 4 2022 年生まれの成

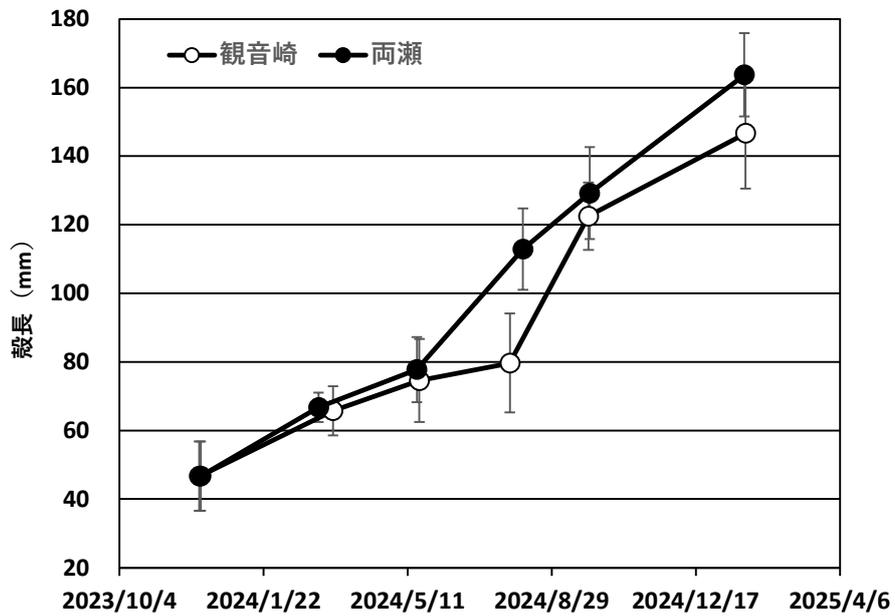


図 5 2023 年生まれの成

3 月調査予定

図 6 2024 年生まれの成



写真 3 潜砂している小型個体は判別が難しい

## ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

### 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・中山 博志・西岡 俊洋

#### 【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】

##### 1) 標識の脱落と生残

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、稚貝に標識を装着又は塗布する方法 6 通りを設けた。具体的な標識方法は以下のとおりとした。

##### ①耐水紙 (アロンアルファ) 区

稚貝の左殻を乾かした後、耐水紙 (8×4mm) をアロンアルファゼリー状 (以下、アロンアルファ) で接着した。

##### ②耐水紙 (アロンアルファ+硬化剤) 区

稚貝の左殻を乾かした後、耐水紙 (8×4mm) をアロンアルファで接着し、アロンアルファ専用硬化剤を塗布した。

##### ③耐水紙 (アロンアルファ+UV 硬化材) 区

稚貝の左殻を乾かした後、耐水紙 (8×4mm) をアロンアルファで接着し、UV 硬化材を塗布して UV ライトで硬化した。

##### ④ポリエチレンフィルム (UV 硬化材) 区

稚貝の左殻を乾かした後、ポリエチレンフィルム (8×4mm) に UV 硬化材を塗布して UV ライトで硬化した。

##### ⑤ポリエチレンフィルム (アロンアルファ+UV 硬化材) 区

稚貝の左殻を乾かした後、ポリエチレンフィルム (8×4mm) をアロンアルファで接着し、UV 硬化材を塗布して UV ライトで硬化した。

##### ⑥ラッカースプレー区

稚貝の左殻を乾かした後、赤色の油性シリコンラッカースプレーを塗布し、乾かした。飼育容器は、SB 型コンテナ (間口 612mm×奥行 421mm×高さ 319mm; 三菱ケミカル) を使用し、標識した稚貝それぞれ 10 個体ずつと標識していない稚貝 10 個体の計 70 個体

を収容した。試験区は3区 (n=3) 設け、小割筏の水深 1.5m に垂下して標識の脱落状況と生残数を調べた。供試した稚貝については、2024年6月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において採卵され、香川県水産試験場にて種苗生産、中間育成した平均殻長 63mm の稚貝 (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 2mm のアンスラサイト (トケミ) を使用した。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、塩分を記録した。(図2)

## 2) ラッカー Sprey の残存状況

ラッカー Sprey については、時間経過に伴う標識部分の残存状況を調べた。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、標識した稚貝を 10 個体収容した。試験区は3区 (n=3) 設け、小割筏の水深 1.5m に垂下した。供試した稚貝、防汚処理、基質及び取り上げ方法は前述の試験と同様とした。

## 【研究成果の概要】

### 1) 標識の脱落と生残

試験は 2024 年 11 月 13 日から 2025 年 2 月 12 日 (92 日間) にかけて実施し、標識の脱落率の試験結果を図 3、生残率の試験結果を図 4 に示した。海水温は 4.6~20.7°C の範囲で、平均海水温度は 11.2°C であった。塩分は 29.51~32.21 の範囲であった。

標識ごとの結果を見ると、脱落率は耐水紙 (アロンアルファ) 区で 3.3%±4.7、耐水紙 (アロンアルファ+硬化剤) 区で 0.0%±0.0、耐水紙 (アロンアルファ+UV 硬化剤) 区で 3.3%±4.7、ポリエチレンフィルム (UV 硬化剤) 区で 46.7%±17.0、ポリエチレンフィルム (アロンアルファ+UV 硬化剤) 区で 6.7%±9.4、ラッカー Sprey 区で 0.0%±0.0 となった。標識の脱落率には有意差が認められ (ANOVA,  $p < 0.05$ )、ポリエチレンフィルム (UV 硬化剤) 区が他の標識と比べ脱落率の高い結果となった。ポリエチレンフィルム (UV 硬化剤) 区では、稚貝の成長に伴い殻が膨らむことで殻と標識の間に隙間ができていたため、徐々に標識の接着面が減少し、取り上げ作業等の衝撃で剥離したと考えられる。

また、生残率は耐水紙 (アロンアルファ) 区で 100.0%±0.0、耐水紙 (アロンアルファ+硬化剤) 区で 90.0%±8.2、耐水紙 (アロンアルファ+UV 硬化剤) 区で 100.0%±0.0、ポリエチレンフィルム (UV 硬化剤) 区で 93.3%±9.4、ポリエチレンフィルム (アロンアルファ+UV 硬化剤) 区で 96.7%±4.7、ラッカー Sprey 区で 93.3%±9.4、無標識区で 96.7%±4.7 となった。生残率に明瞭な差は見られず、標識装着のハンドリングや塗布による生残への影響はないことが分かった。また、成長に伴う貝殻の形質への影響も見られず、成長差も見られなかった。

## 2) ラッカー Sprey の残存状況

試験は2024年12月20日から2025年1月20日(32日間)にかけて実施し、標識の残存割合の試験結果を図5に示した。海水温は6.9~11.6℃の範囲で、平均海水温度は9.0℃であった。塩分は30.7~31.9の範囲であった。

標識の残存割合は92.5%±9.5となった。塗布したラッカー Sprey の剥離は一部にしか見られず、主に殻の復縁・後縁部が基質と擦れて剥離しているようであった。なお、生残率は100.0%であった。

### 【次年度にむけた提言】

試験期間が3か月と比較的短期間の影響に関するものであったため、次年度は長期的な影響について明らかにする必要があると思われる。また、標識貝の放流や移植においては、大量の稚貝に標識を施す必要があるため、装着作業を効率的に行う必要がある。本年度有効性が確認された標識方法等を用い、効率的な標識方法の確立を進めていく必要があると思われる。

### 【図表】

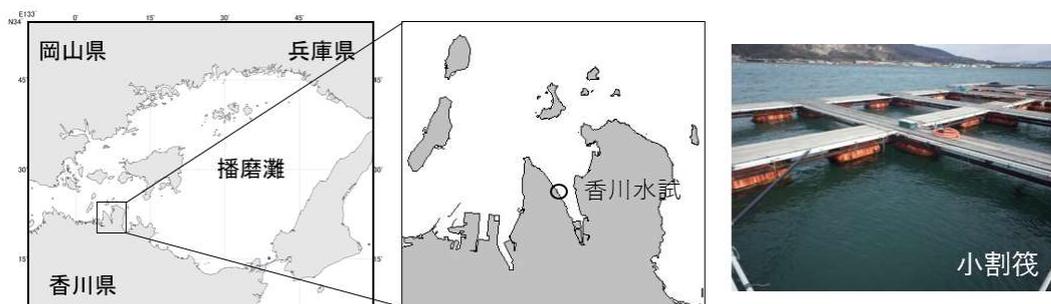


図1. 試験場所(香川県水産試験場地先の小割筏)

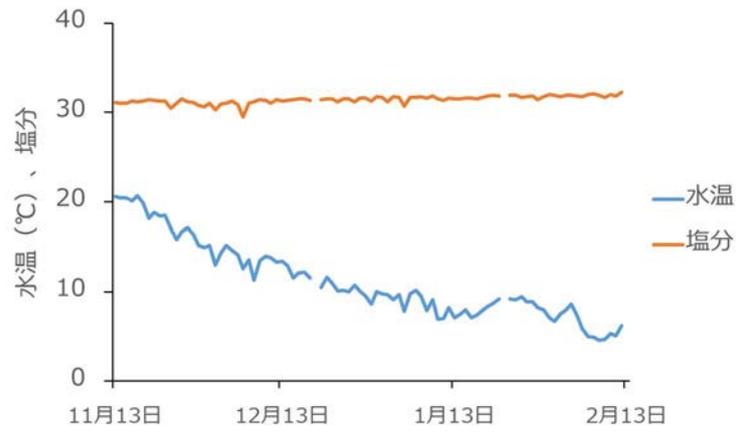


図2. 試験場所における水温と塩分

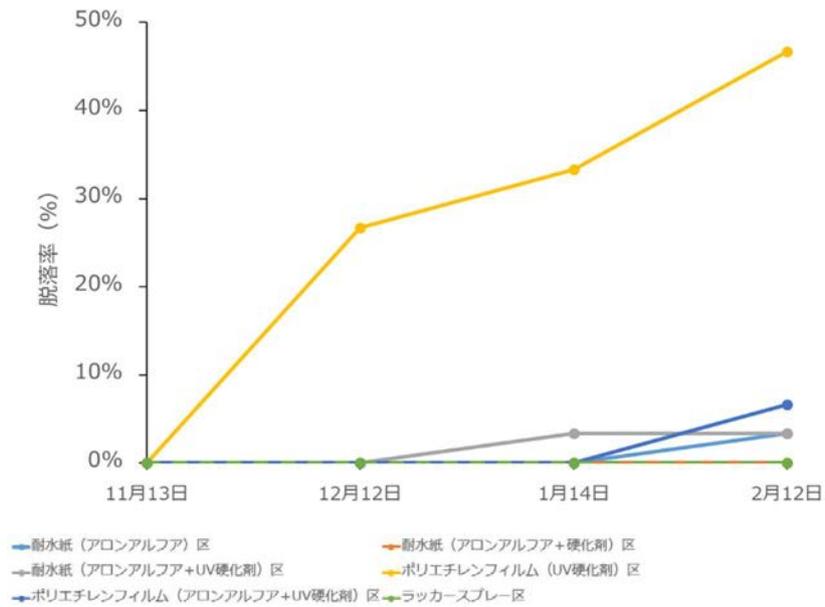


図3. 各標識の脱落率

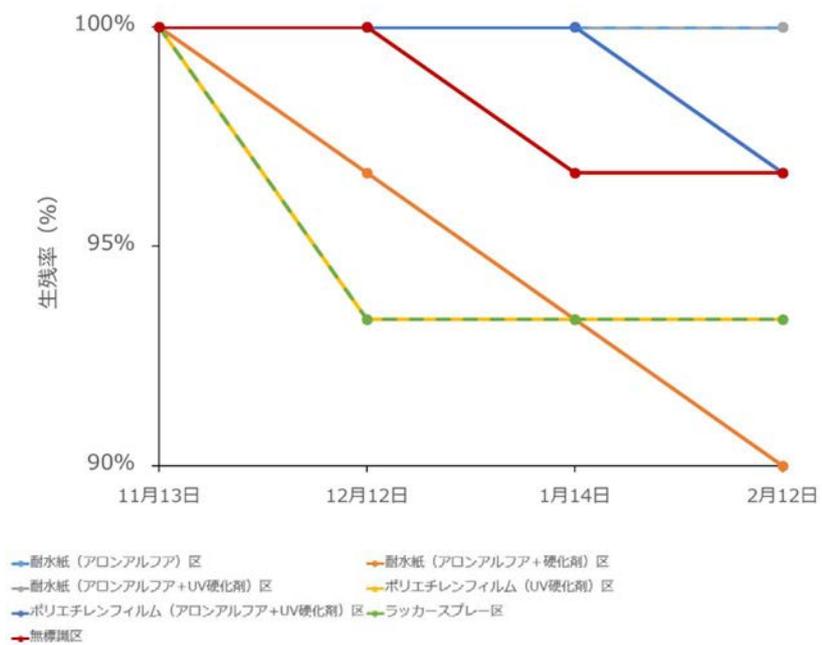


図 4. 標識個体の生残率

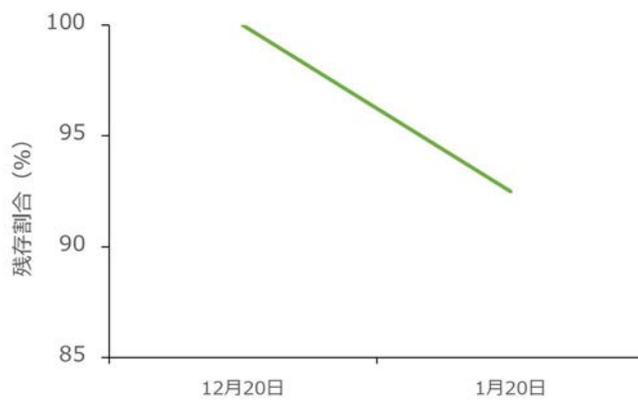


図 5. ラッカースプレー標識部分の残存割合

## ウ. 人工種苗から成貝までの育成技術の開発

### ④ 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

久保 賢二

#### 【目的】

種苗生産後のハマグリ育成については、1mm から陸上水槽で、翌春の約3mm からは干潟の被覆網で、30mm からは育成条件（密度や場所等）を変えて干潟の被覆網での育成試験を行ってきたが、完全に確立されてはいない。

そこで、これまで陸上水槽による育成を行ってきた殻長1mm 以降のハマグリ稚貝については、その生産費用が課題となっているため、コスト削減を目的に海面での育成方法について試験を行う。

また、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、令和5年から始めた岸と沖での育成密度試験（100、400個/m<sup>2</sup>の4試験区）の全数取上げによる再検証、令和6年はさらに沖側と、河口からやや離れた場所で育成を行い、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（1mm から翌春まで）

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（地盤高+0.9m程度）、同干潟の木更津市中島地先、木更津市畔戸地先で、令和6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1.3mm、60,000個×3）を用いて、令和6年9月から干潟域で3×3m被覆網（目合2mm）による育成試験を開始した。木更津市中島地先及び畔戸地先については稚貝の半数をカインズ社製ワイシャツ用洗濯ネット50×40cm（目合い約0.5mm）に入れて育成した。調査は定期的を実施し、直径40mmのアクリル製筒で底質とともにハマグリ稚貝を採取し、個体数と殻長を測定して生残と成長を追跡した。洗濯ネット内の個体については、ネット内容積の約20分の1程度を取り上げ、持ち帰って測定した。参考に令和6年10月から市川漁港内で千葉県漁連が行っている垂下式育成試験についても一部をサンプリングし測定した。

##### 2) 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5年6月からハマグリ稚貝（平均殻長5mm、50,000個）を用いて、3×3m被覆網（目合2mm）により始めた育成試験については、令和6年7月に全数取上げして全個体の殻長を測定した。

同場所で、令和6年5月から令和5年に採卵して陸上水槽で育成したハマグリ稚貝（平

均殻長 2.3mm、60,000 個) を用いて、干潟域で 5×5m 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、くま手により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 7 年 2 月には、15×15cm のコアサンプラーで底質とともに網内 8 か所のハマグリを採取し残留率を算出した。

### 3) 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+0.4m 程度) で、令和 4 年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 29.5mm) を用いて、令和 6 年 7 月 22 日から 59 個体/m<sup>2</sup> 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。また、金田漁協が被覆網で育成したハマグリ (平均殻長 34.4mm) を入手し、7 月 25 日に盤洲干潟 (中島) に 59 個体/m<sup>2</sup> の育成密度の試験区 (1.5×1.5m、目合 6mm 被覆網) を設置した。同調査は原則として月 1 回実施し、くま手により網内のハマグリを採取し、成長 (殻長) を把握した。また、2 月に 15×15cm のコアサンプラーで網内の 5 か所を採取し残留率を把握した。

## 【研究成果の概要】

### 1) 干潟での被覆網による育成試験 (1mm から翌春まで)

11 月の調査時点ですべての試験区の残留率が 1%未滿になった (表 1)。10 月から始めた市川漁港の垂下式では、成長は見られないが死貝がほとんど見られず、1 月の残留率は 95% であった。干潟育成での残留率は低く、稚貝サイズ約 1.3 mm に対して被覆網の目合いが 2 mm であったため、網から稚貝が流出したことが原因の一つとして考えられるが、設置の翌月にはメッシュ袋内の残留率も低かったことから、餌料などの環境要因も影響したと考えられた。

### 2) 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、令和 6 年 1 月 18 日の平均殻長は 24.7mm、残留率は 56% であったが、7 月 22 日の平均殻長は 29.5mm、残留率は 0.5% で 1 月から大幅に減少した。(図 1)

令和 6 年 5 月から始めた育成試験では、11 月 13 日の平均殻長は 23.7mm、2 月 4 日の残留率は 2.7% であった。2 年続けて残留率が低かったが、両試験区とも令和 6 年の 5,6 月の河川増水により斃死したと考えられ、今後は河川の増水による影響を受けにくい場所での試験が必要だと思われる。参考に同一種苗を金田漁協が盤洲干潟 (中島) に被覆網を設置して育成している稚貝の殻長を測定したが、従来区よりも成長の早い傾向がみられた (図 1)。

### 3) 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、2 月 13 日の値は岸

(100 個/m<sup>2</sup>) 43.7mm、岸 (400 個/m<sup>2</sup>) 41.8mm、沖 (100 個/m<sup>2</sup>) 42.7mm、沖 (400 個/m<sup>2</sup>) 44.4mm で、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差な成長差は生じなかった (図 2)。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 (図 3)。令和 6 年 7 月 22 日の全数取上げでは、岸 (100 個/ m<sup>2</sup>) 46.2mm、岸 (400 個/ m<sup>2</sup>) 44.7mm、沖 (100 個/ m<sup>2</sup>) 47.1mm、沖 (400 個/ m<sup>2</sup>) 46.2mm で、岸 (400 個/ m<sup>2</sup>) の成長が他の試験区より悪く (t 検定、 $p<0.05$ )、沖では密度による成長差がなかったが、岸では密度による成長差があり、100 個/ m<sup>2</sup> の密度では沖と岸に成長差はないが、400 個/ m<sup>2</sup> では岸の成長が悪い結果になった (図 2)。7 月の残留率は 8~27%で、2 月の 67~89%から大幅に減少し、大規模な逸脱もしくは斃死があったと考えられた (図 3)。

令和 6 年 7 月 22 日に開始した干潟岸・沖・盤洲干潟 (中島) での育成試験では各試験区のハマグリは順調に成長し、11 月 13 日の値は岸 33.7mm、沖 36.3mm、11 月 14 日の盤洲干潟 (中島) は 41.4mm で (図 3)、開始時の殻長が異なったため盤洲干潟 (中島) との比較はできなかったが、沖と岸の比較では沖の成長が良かった (t 検定、 $p<0.05$ )。2 月の残留率は岸が 60%、沖が 45%、盤洲干潟 (中島) が 60%で大きな差はなかった (図 4)。

#### 【次年度に向けた提言】

##### 1) 干潟での被覆網による育成試験

5 月から 7 月までの間に全ての試験区で残留率が大きく下がったが、原因として河川増水時の泥の影響が考えられたため、今後は河川増水時に泥の影響を受けにくい適地選定をし、育成を進めていく。

【図表】

表1 干潟での被覆網による殻長1mm稚貝の育成試験結果

試験場所 (開始日)	育成方 法	放流時 殻長 (mm)	放流数 (個)	9月末の 生残率 (殻長)	10月の 生残率 (殻長)	11月の 生残率 (殻長)
小櫃川 河口 (9/17)	被覆網	1.3mm	6万		0 (10/15)	
盤洲干潟 (中島) (9/18)	被覆網	1.3mm	3万	1.45%(9/30)	1.4%(10/17)	0%(11/14)
	袋		3万	10%以上 (1.2mm)	1.2%(10/17) (1.4mm)	0.8%(11/14)
盤洲干潟 (畔戸) (9/18)	被覆網	1.3mm	3万	0%(9/30)	0%(10/17)	0.48%(11/14)
	袋		3万	9.8%(9/30) (1.4mm)	0%(10/17)	0.4%(11/14)
市川漁港 (参考) (10/17)	垂下式	1.9mm	4万			95% (1/10)  1.8mm

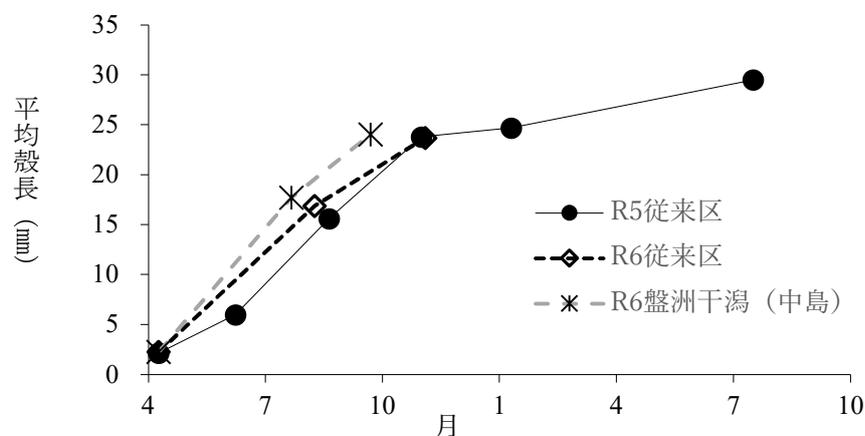


図1 被覆網による育成試験（殻長3mm以降）平均殻長の推移

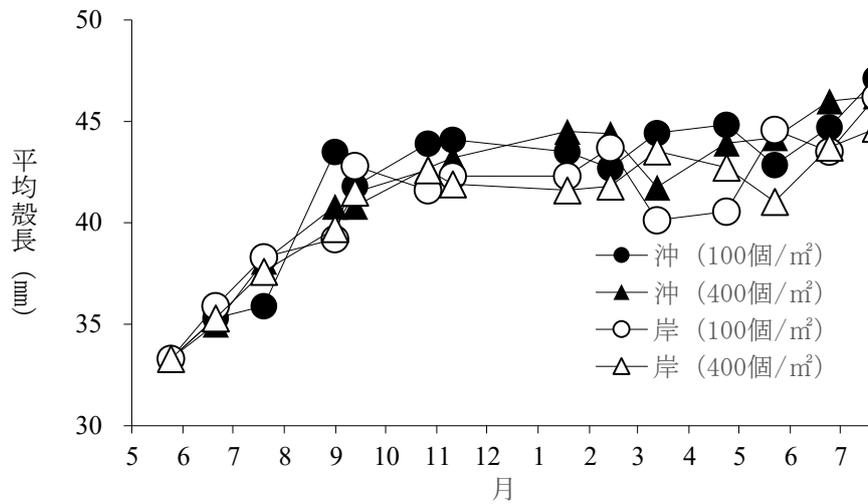


図2 被覆網による育成試験（殻長 30mm から成貝サイズまで）平均殻長の推移(R5～)

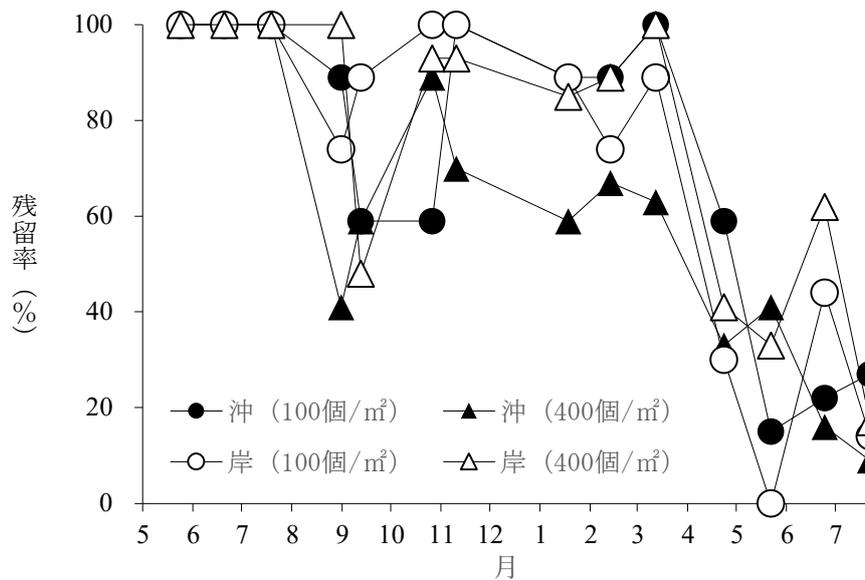


図3 被覆網による育成試験（殻長 30mm から成貝サイズまで）平均残留率の推移(R5～)

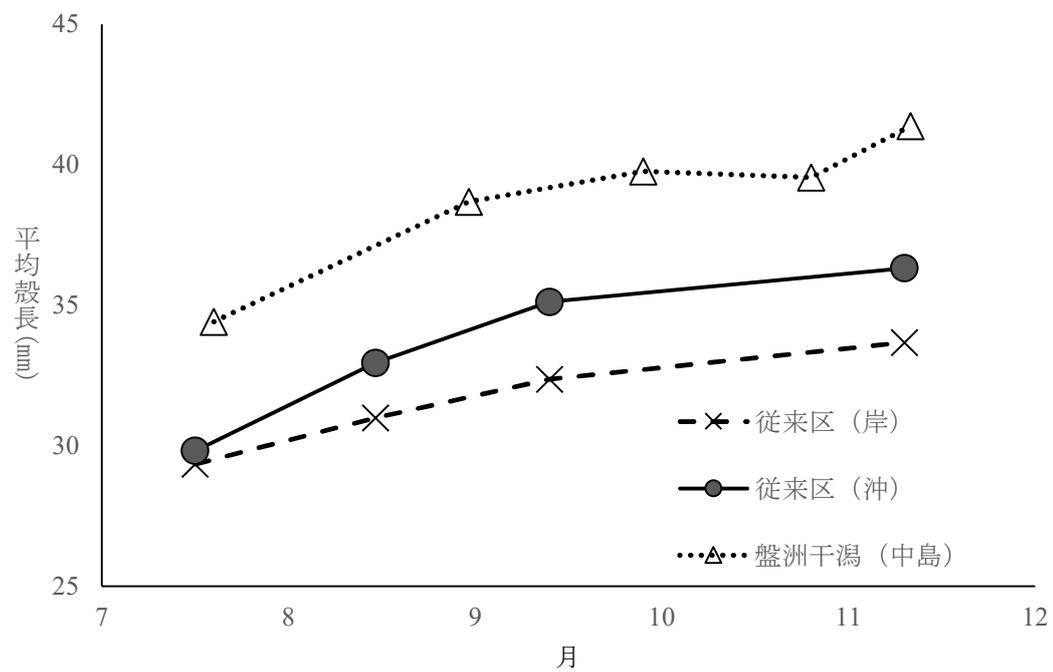


図4 被覆網による育成試験（殻長30mmから成貝サイズまで）平均殻長の推移

## ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

### ⑤環境モニタリングを通じたハマグリに適地選定技術の開発

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

水産資源研究所

渡辺 剛

千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

久保 賢二・石井 光廣

千葉県水産総合研究センター 内水面水産研究所

藍 憲一郎・平田 淳一

#### 【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。漁業者のハマグリに対する期待は高いものの、ハマグリ生態に関する知見は乏しく、効果的な場の管理が難しい。特に、ハマグリは河口周辺の干潟に限られるものの、流入河川からの影響を考慮した研究は行われてこなかった。本研究では、流入河川から河口干潟、更に沖合へと、連続体の中の干潟に着目し、環境勾配および優占する有機物源の流程に沿った変化を把握することで、ハマグリに着底場、育成場、母貝場適地の条件を明らかにすることを目的とする。また、長期データの取得を通じて、近年、アサリが減ってハマグリが増えている要因の理解に資する情報の収集を試みる。

#### 【研究方法】

##### 1) 環境調査

東京湾東岸の盤洲干潟と、その主要な流入河川である小櫃川の感潮域において、水と底質を月に1度の頻度で採取した(図1)。また、盤洲干潟の沖合にて、月に1度の頻度で表層水を採取した。なお、特別採捕許可や船のスケジュールから、沖合での採水は2024年6月から、小櫃川感潮域における調査は2024年8月から開始した。

水中のクロロフィルa濃度測定用に、採取した水300mlをGF/Fフィルターでろ過した。ろ過後のGF/FフィルターをDMF(ジメチルホルムアミド)に浸漬し、クロロフィルaを抽出した。クロロフィルa濃度の分析には蛍光光度計AU-10(Turner Designs)を用い、分析法としてはHolm-Hansen法を採用した。また、水中のPOM(particulate organic matter: 粒子状有機物)の炭素・窒素安定同位体比分析用に、500ml×2本、計1Lの水を、485°Cで4時間焼出したGF/Fフィルターでろ過した。濾過後のGF/Fフィルターは、塩酸蒸気を用いて脱塩した後、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、炭素・窒素安定同位体比( $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ )分析に供した。

底質の強熱減量、およびSOM(sediment organic matter)の炭素・窒素安定同位体比分析用に、ヘッドをカットした50mlのシリンジを用いて、深さ1.5cm(表層10ml)の底質を採取

した。強熱減量の測定方法、および SOM 試料の採取方法については、本報告書では割愛する。底質のクロロフィル a 濃度分析用に、ヘッドをカットした 2ml のシリンジを用いて、深さ 1.2cm (表層 0.4ml) の底質を採取し、現場で DMF に浸漬した。クロロフィル a 濃度分析については、上記の水試料と同じ方法を採用した。また、粒度分析用には、同じく 2ml のヘッドカットシリンジを用い、深さ 5cm 程度の底質を採取した。粒度分析には、レーザ回折式粒度分布測定装置 (島津製作所 SALD-3100) を用いて、中央粒径と淘汰度を調べた。

### 3) 二枚貝類のサンプリングおよび同位体比分析

盤洲干潟の岸・中間サイト、および小櫃川感潮域の各サイトにて、二枚貝類を採取した。干潟上では、カゴおよび被覆網を用いた中間育成試験区から試料を採取した。小櫃川感潮域では、徒手あるいは手投げドレッジを用いて試料を採取した。採取した二枚貝類は、形態測定後、閉殻筋を切り出した。切り出した閉殻筋を凍結乾燥後、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。0.8mg を目安に錫箔に詰め、上述の分析システムを用いて、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$  分析を行った。

### 4) 盤洲干潟における貝類の分布密度調査

盤洲干潟の岸沖方向に設置した 4 サイトにて、2024 年 4 月から偶数月に、貝類の分布密度調査を行った。底質のサンプリングには、21cm×21cm のコドラートを用い、各地点で 3 回ずつ採取した。採取した底質は、現場で 2mm 目合いの篩で篩い、残渣を実験室に持ち帰った。サンプルは実体顕微鏡下で種同定し、形態測定を行った。

## 【研究成果の概要】

### 1) 環境調査による干潟内、そして河川から沖合も含めた環境勾配の把握

#### ・干潟内の岸沖方向の環境勾配

今期から新たに【極岸】サイトを加えたことで、干潟における岸沖方向の環境勾配を把握することが出来た。まず、底質の中央粒径をサイト間で比較すると、【極岸】では  $136 \pm 42 \mu\text{m}$  と小さく、岸近くに泥干潟が広がっていることが確認できた (図 2)。【岸】になると中央粒径が  $243 \pm 22 \mu\text{m}$  と急激に大きくなった。【岸】から【沖】にかけては、後者の中央粒径が  $260 \pm 22 \mu\text{m}$  であり、ほとんど変化がなかった。中央粒径の小さい【極岸】では、強熱減量が  $2.98 \pm 2.5\%$  と非常に大きく、SOM の同位体比分析から、河川から流入した陸上由来の有機物が多く含まれていることも確認できた ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{SOM}}: -24.4 \pm 1.1\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{SOM}}: 4.8 \pm 0.7\%$ )。また、底質のクロロフィル a 濃度は  $6.73 \pm 2.64 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  と低かった。中央粒径が大きくなると強熱減量は低下し、底質のクロロフィル a 濃度は上昇した。但し、干潟の縁辺部に位置する【沖】では、底質のクロロフィル a 濃度が再び低下した。このように、一見、一様に見える河口干潟において、明瞭な岸⇄沖方向の環境勾配を確認することが出来た。

・河川内から干潟にかけての環境勾配

小櫃川の河口から堰までの感潮域区間の各サイトにて底質を調べた結果、中央粒径は1.5km 地点を除いて干潟域よりも粗く、結果として底質の強熱減量は低い傾向がみられた。一方で、干潟域とは異なり、中央粒径が粗くても底質クロロフィル a 濃度は低かった（図3）。以上のことから、河川内感潮域では、底生系の餌料源としての寄与は低いことが示唆された。一方、小櫃堰直下で2021年4月から継続している水中のクロロフィル a 濃度を確認すると、2.50 $\mu\text{g/L}$ ~43.48 $\mu\text{g/L}$ と幅が広いものの、沖合の海水（4.03 $\mu\text{g/L}$ ~27.43 $\mu\text{g/L}$ ）にも劣らない基礎生産であることが確認できた。

2) 二枚貝類の炭素・窒素安定同位体比からみた、優占有機物の流程に沿った変化

今期から新たに開始した河川内の調査では、0.5km 地点でハマグリとアサリを1個体ずつ採取しただけで、採取した二枚貝類のほぼ全てが、ヤマトシジミあるいはマシジミだった。前事業にて、愛知県および三重県から報告のあった河川では、河口から上流に遡って、広くハマグリやアサリが分布していたことから、二枚貝類の分布状況が河川によって大きく異なることを確認できた。なお、今回用いた手投げドレッジでは、殻長4.57mmのヤマトシジミも採取されていることから、採取方法による小型貝の取りこぼしはないと考えられる。

河口からの距離と二枚貝類の同位体比との相関をプロットしたところと、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ともに、きれいな相関を示すことを確認した（図4）。これらの二枚貝類は受動的あるいは能動的に移動することが知られているが、基本的には、各サイトで優占する二枚貝種の同位体比はそのサイトにおいて優占する有機物を反映していると考えられる。なお、 $\delta^{13}\text{C}$ は河川上流から干潟にかけて単調に上昇する傾向を示したが、河川内から干潟域にかけて扱う種が切り替わる際に、ギャップがあることも確認した。つまり、河口から0.5km 地点では、ハマグリ、アサリ、およびヤマトシジミの3種を採取したが、種ごとに値が異なる傾向を確認した。但し、河川内におけるハマグリおよびアサリ試料の検体数は少なく、今後も継続したサンプリングを通じて、検体数の充実を図る必要がある。

3) 盤洲干潟における貝類の分布状況

2025年3月現在、計4回のサンプリングを実施したが、本事業の対象であるハマグリは【中間】サイトにて1個体（SL：47.69mm）採取されただけであり、盤洲干潟において、ハマグリ空間分布を求めることが非常に難しいことを改めて確認した。また、小櫃川の河川内感潮域においても、複数の調査点を設け、ハマグリ天然稚貝の着底場の探索を行ったが、河口から0.5kmの地点から、わずか1個体の成貝（SL：68.77mm）を採取できたただけであった。このように、小櫃川—盤洲干潟においては、まだ天然ハマグリに着底場を見つけるに至っておらず、そもそも天然ハマグリが加入がない可能性もある。但し、干潟上での調査データは充実しており、引き続き、小櫃川—盤洲干潟においても、調査を継続予定である。

ハマグリとは異なり、盤洲干潟では【極岸】から【沖】にかけて、広くアサリが分布した。

但し、盤洲干潟では、干潟縁辺部にアサリ稚貝が着底し、成長しながら岸側に流され、移動することが知られているように、【沖】サイトに見られるアサリは殻長  $5.11 \pm 2.51 \text{mm}$  と小さく、その組成は稚貝が中心であった。漁獲サイズのアサリはというと、【中間】サイトに多くみられた。なお、【極岸】サイトはホソウミニナが優占し、【岸】から【沖】にかけてはアサリが優占するものの、【岸】ではホソウミニナ、【中間】ではシオフキ、【沖】ではイボキサゴが貝類相を特徴づけた（図 5）。上述した岸沖方向の環境勾配のように、貝類相にも岸沖方向の傾向があることは確かであり、今後、更なるデータの蓄積を図る計画である。

【図表】

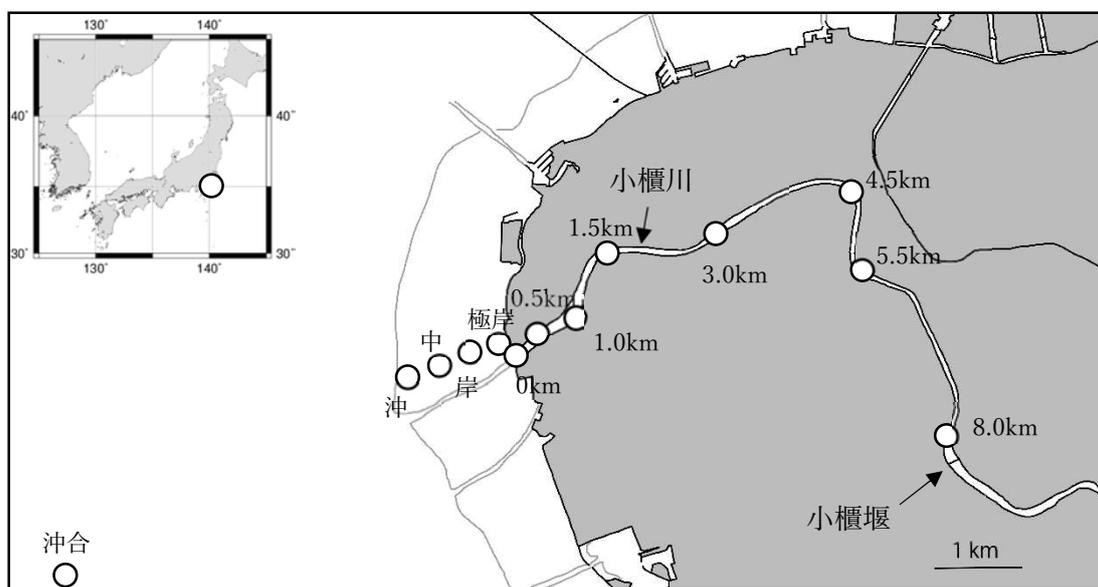


図 1 調査地

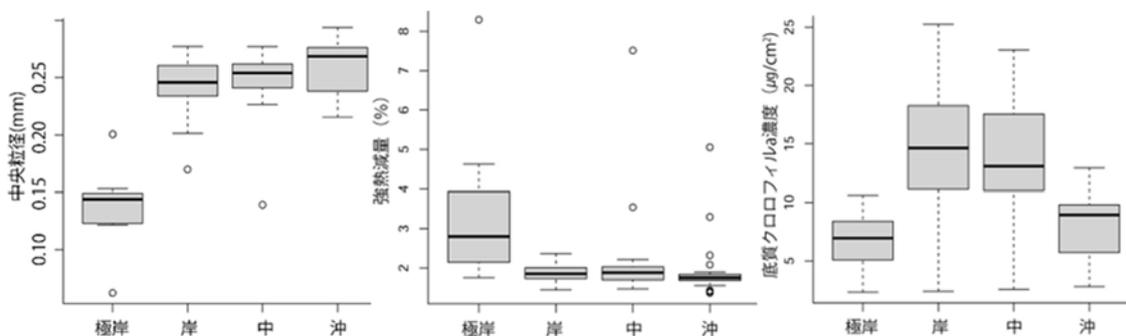


図 2 干潟内の岸沖方向の環境勾配

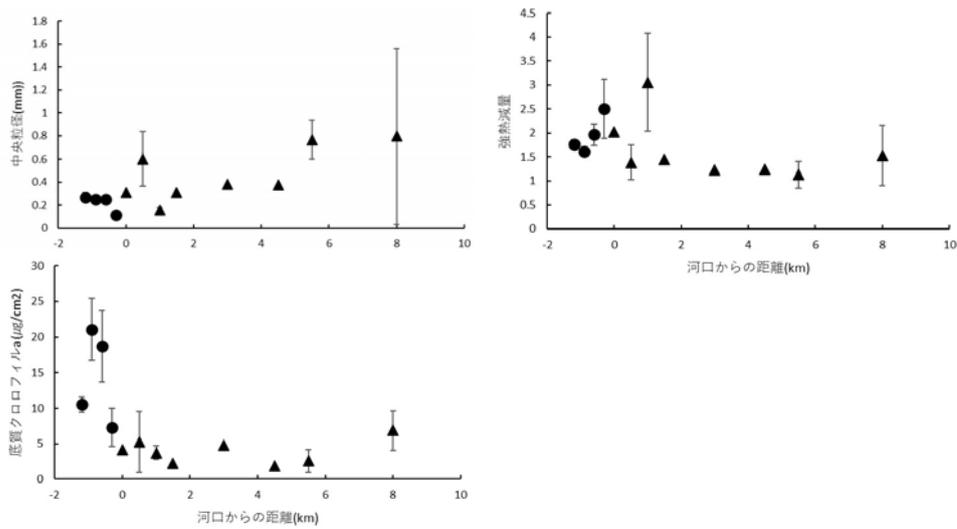


図3 干潟内から河川内にかけての環境勾配

●：干潟、▲：河川

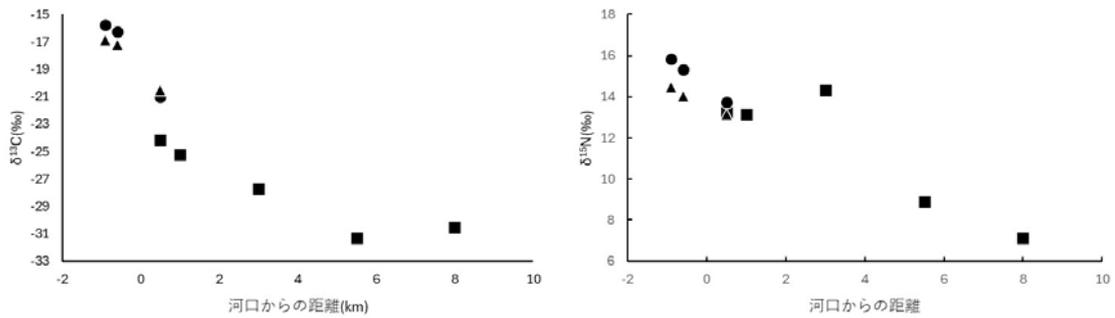


図4 二枚貝類の同位体比からみた優占有機物の流程に沿った変化

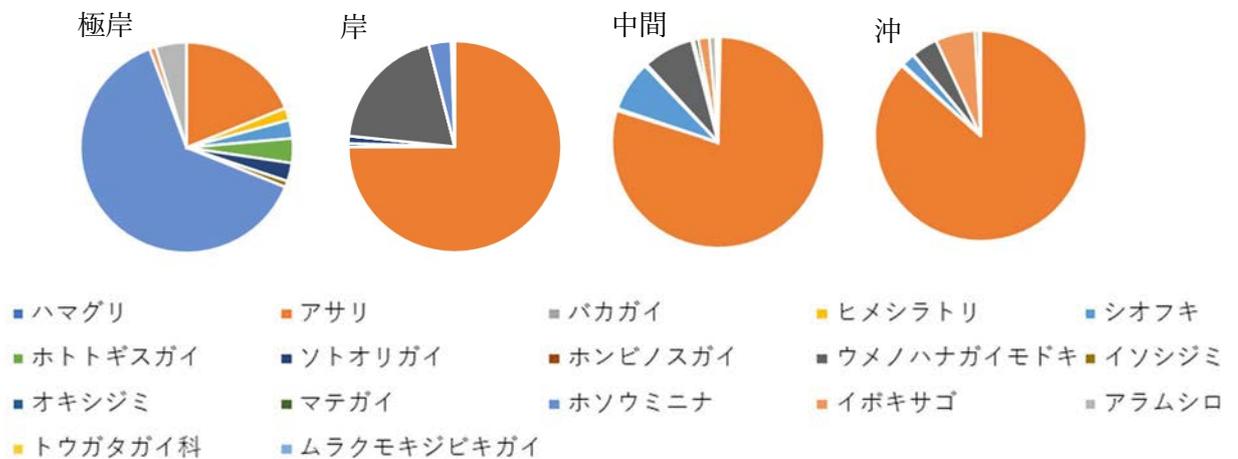


図5 干潟上における貝類の分布

## ウ. 母貝育成技術と標識技術の開発

### ⑥ハマグリ の 餌料生物 および 餌環境 に 基づく 生息適地 の 選定 技術 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

渡辺 剛・長谷川 夏樹

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

#### 【目的】

ハマグリ稚貝の育成および母貝場の造成に適した餌料生物および餌料環境を明らかにするため、稚貝や母貝の生息地において試料を採取し、メタバーコーディング等の手法を用いて、ハマグリ の 消化管内容物 と 環境中 の 餌料候補 について 生物組成 を 分析・比較 する。

ハマグリ の 消化管内容物 や 生息環境 の 調査 に 先立ち、 先行研究 が 少ない ハマグリ 消化管内容物 の メタバーコーディング 解析 に 適した 1) 固定方法、 2) DNA 抽出方法、 および 3) 遺伝子領域 を 明らかに する。 ハマグリ の 固定 は 消化管内容物 の 餌料生物 の 形態 を 保持 でき DNA も 保存 できる 方法、 DNA 抽出 は 消化管内容物 中 の DNA を 安定的 に 保管 でき、 かつ DNA の 収量 が 多く PCR の テンプレート に 適する 方法 が 理想的 である。 消化管内容物 には 多様な 生物 が 含まれて いる と 推定 される ため、 幅広い 生物群 を 把握 できる 遺伝子領域 の 組み合わせ を 明らかに する。

#### 【研究方法】

ハマグリは 2024 年 5 月 22 日に千葉県久津間海岸で採取した。固定方法の検討には、固定開始を揃えるために、冷蔵で釧路に輸送後 5 月 24 日に解剖し、エタノール(以下 Et-OH)、冷凍および、ルゴールで固定した。固定後 Et-OH とルゴールの検体は冷蔵、冷凍は-30℃で DNA 抽出まで保管した。DNA 抽出法の検討に用いる個体は採取時にルゴールで固定した。DNA 抽出は、尿素バッファー法 (Asahida et al. 1996)、動物組織 DNA 抽出キット (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen)、土壌 DNA 抽出キット (DNeasy PowerSoil Pro Kit, Qiagen) の 3 通りの方法で比較した。尿素バッファー法は Asahida et al. (1996) に従い、各 DNA 抽出キットは製品のプロトコルに従った。遺伝子領域の検討には、葉緑体 23S rDNA (Sherwood et al. 2007)、葉緑体 *psbA* (Okumura and Kaga 2017) および、核 18S rDNA V7-V9 領域 (Dzhembekova et al. 2018) を用いた。葉緑体の各領域は原核から真核の植物を幅広く解読でき、核 18S rDNA V7-V9 領域は真核生物のメタバーコーディングで最も汎用されている。上述の各検体について、3 つの遺伝子領域でメタバーコーディング解析を実施し、得られた配列の生物組成に基づき最適な固定方法、DNA 抽出方法および、遺伝子領域の組み合わせを検討した。

### 【研究成果の概要】

ハマグリ消化管内容物のメタバーコーディング解析に適した手法を検討した。固定方法では、Et-OH が検体によらず DNA の抽出濃度と PCR の成功率が高く、平均配列数は他の手法に劣るものの検出した属数は最も多かった。DNA 抽出法では、尿素バッファー法が検体によらず DNA 収量と PCR 増幅が安定していた。遺伝子領域はそれぞれ検出できる生物が異なり、葉緑体 23S rDNA 領域は原核藻類（シアノバクテリア）の割合が高く、真核藻類では緑藻が優占した（図 1A）。これに対し *psbA* 領域は原核藻類の割合が低く、真核藻類では珪藻が優占した（図 1B）。検出した属数の平均は *psbA* より 23S rDNA のほうが多かった。核 18S rDNA 領域は 98%以上を二枚貝が占め、二枚貝を除くと微細藻類では珪藻や渦鞭毛藻が優占した（図 2）。これらの結果から、ハマグリでは Et-OH 固定した個体の消化管を、尿素バッファーで DNA 抽出して遺伝子領域の増幅に用いるのが適当と判断した。遺伝子領域については、現状のプライマーセットでは葉緑体 23S rDNA と核 18S rDNA 領域の組み合わせが、幅広い生物群の検出に適していると結論付けた。

### 【次年度に向けた提言】

既存の 18S rDNA V7-V9 領域のプライマーセットは二枚貝の配列が大半を占め、生物組成の解析に十分な配列数を得られなかった。効率よく消化管内容物の真核生物組成を把握するために、ハマグリ遺伝子が増幅しにくいプライマーを開発する。葉緑体遺伝子では領域間で生物組成に相違が見られた。この要因は主に参照する塩基配列の登録数に依存すると考えられるが、ハマグリ餌料の解析に適した遺伝子領域については、海水や底質のメタバーコーディング解析と検鏡計数の生物組成の比較によって検証したい。

### 【参考文献】

- Asahida, T., Kobayasi, T., Saitoh, K. & Nakayma, I. (1996) Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffer containing high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62(5), 727-730.
- Dzhembekova, N., Moncheva, S., Ivanova, P., Slabakova, N., & Nagai, S. (2018). Biodiversity of phytoplankton cyst assemblages in surface sediments of the Black Sea based on metabarcoding. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(6), 1507–1513.
- Okumura, Y. and Kaga, S. (2017), Retrospective analysis of phytoplankton assemblages on the Iwate coast before and after the 2011 tsunami using cryopreserved DNA samples. *Fisheries Oceanography*, 26: 234-250.
- Sherwood, A.R. and Presting, G.G. (2007), Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. *JouDNAI of Phycology*, 43: 605-608.

【図表】

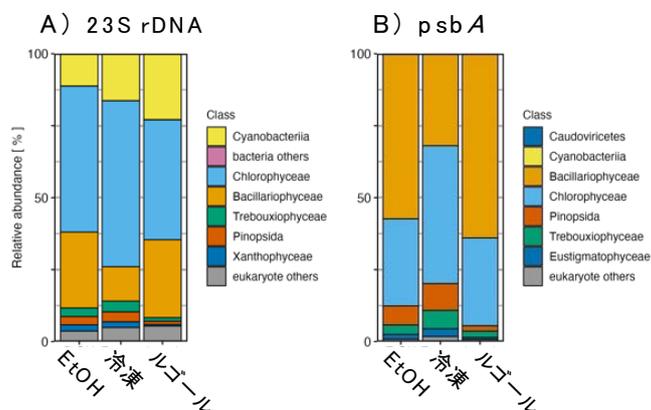


図1 葉緑体 A) 23S rDNA 領域と B) psbA 領域に基づく生物組成。23S rDNA は原核藻類 (黄色) の割合が高く、微細藻類では緑藻 (水色) が優占した。psbA では原核藻類の割合が低く、珪藻 (オレンジ) が優占した。

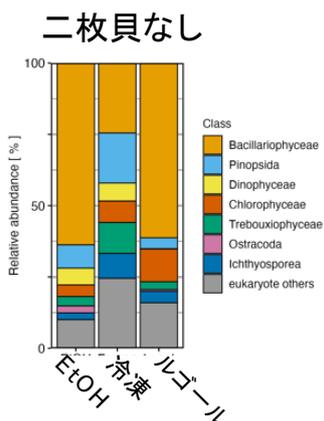


図2 核 18S rDNA V7-V9 領域に基づく真核生物の組成。配列のうち 98%以上を二枚貝が占めたので、それらを除いた生物組成を示す。微細藻類では珪藻 (オレンジ)、渦鞭毛藻 (黄色)、緑藻 (赤) の割合が高い。

## エ. 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査

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

### 【既往知見とこれまでの成果】

瀬戸内海の香川県沖には、有隣型（通称ケン）と呼ばれるリシケタイラギ (*Atrina lischkeana*；以降、リシケと表記) と無隣型のズベタイラギ (*Atrina japonica*；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、香川沖の天然タイラギを対象とし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示し、雑種第一世代 ( $F_1$ ) 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推察した (補足資料 1 参照)。しかし、ゲノムをより詳細に調べることができる一塩基多型 (SNP) 解析と集団遺伝統計学の進歩により、香川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)。また令和 4 年度の本事業の成果から、種苗生産の親貝としてリシケとズベのハイブリッドが用いられ、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)。

香川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が、多くの個体ではミトコンドリア DNA のタイプ (ズベは L1, リシケは L2; Liu *et al.* 2011, 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。再生産可能なハイブリッド人工種苗を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・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、種多様性および遺伝的多様性保全の観点から、倫理的に問題がある。そのため令和 5 年度には、種苗生産用の親候補個体中に含まれるハイブリッド (あるいは純種) を迅速に同定するためツールとして、MassARRAY システム (Agena Bioscience) で解析することを前提とした 202 個の SNP マーカーを開発した (令和 5 年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業報告書)。

### 【令和 6 年度の目的】

本課題の目的の一つは、開発した SNP マーカーを用いて、水産技術研究所百島庁舎において令和 6 年度リシケ種苗生産に用いられる親候補の中からハイブリッドを検出し、その情報を親貝の選択指標 (純種を選択するための指標) として活用することである。また、同じく SNP マーカーを用いて、瀬戸内海におけるハイブリッドの分布を調べることを二つ目

の目的とした。これまでに遺伝子浸透が確認されているのは、上記のように瀬戸内海の香川沖のみであり、遺伝子浸透がそこで局所的に起こっているのか、あるいは瀬戸内海全域における現象であるのか、全く不明である。仮に純種しか生息していない海域にハイブリッド種苗を移植した場合、人為的に遺伝子浸透を促進することによる遺伝子汚染のリスクを伴う。一方、純種しか生息しない海域の個体を用いて種苗生産を行う場合は、時間・労力を要する DNA に基づくハイブリッド検出の必要性は低くなる。これらのことから、瀬戸内海の各海域において交雑の実態を調べることは、タイラギの種・資源保全上、重要な課題である。

### 【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いて令和 6 年度種苗生産に用いる予定であったリシケ形態の親候補個体 (MP24 サンプル) のうち、95 個体を対象として、令和 5 年度に開発した SNP マーカーを使ってハイブリッド検出を行った。MassARRAY 解析に関連する DNA 実験には、Comp iPLEX Gold Genotyping Set (Agena Bioscience) を用い、PCR や一塩基伸長等の反応条件は Sekino *et al.* (2025) に従った。また、令和 5 年度の成果から、ハイブリッド検出のみを目的とする場合、100 個程度のマーカーを用いれば十分であることが分かっているため (令和 5 年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業報告書)、本解析には 108 個のマーカーから成る 4 つの SNP パネル<sup>註1</sup>を使用した。得られたジェノタイプデータ<sup>註2</sup>に基づき、各個体のゲノムにおける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、リシケ純種とズベ純種の参照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) を用いた。なお、両参照集団サンプルのジェノタイプデータ (開発した 202 個のマーカー) は令和 5 年度に取得済みである。

#### 2. タイラギの交雑の実態調査

以下の瀬戸内海 4 海域から得られたタイラギについて、全マーカー (202 個) のジェノタイプデータを収集した：岡山県笠岡 (OKK24; N=30)、香川沖 (KGWA+MP23+MP24; N=411)、淡路島一宮 (HYI24; N=39)、大阪府泉佐野 (OSI24; N=47)。香川沖については、Sekino *et al.* (2023) が解析した 183 個体 (KGWA)、令和 5 年度の百島庁舎種苗生産用親候補を含む 130 個体 (MP23)、令和 6 年度の百島庁舎種苗生産用親候補を含む 98 個体 (MP24) を合わせたサンプルである。得られたジェノタイプデータに基づき、上記の Admixture 解析を実施した。

## 【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

108 個のマーカ―を使用した Admixture 解析の結果を図 1 に示す。MP24 サンプルの個体は、形態ではすべてリシケと判定されたが、リシケとズベの両種に由来する DNA を持つ個体が検出されたことから、親候補個体中にハイブリッドが含まれていたということになる。この結果を百島庁舎と共有し、ゲノム中にズベの DNA が全く含まれていないと考えられる 25 個体 ( $q_{zube} = 0.000$ ) を、リシケの種苗生産に用いることを推奨した。

### 2. タイラギの交雑の実態調査

瀬戸内海の 4 海域のサンプルおよびリシケとズベ純種の参照集団サンプルのジェノタイプデータを用いて Admixture 解析を行った (図 2)。岡山のサンプルには、リシケ形態、ズベ形態、およびそれらの中間形態の個体が混在しており、香川沖サンプルと同様に、リシケとズベの両種から DNA を受け継ぐハイブリッドが高頻度で見られた。淡路島の個体は、形態ではすべてズベと判定され、明らかなハイブリッドは検出されなかったが、リシケの DNA を僅かに持つ“ほぼ純粋な”ズベが多く見られた。大阪のサンプルではズベ形態の個体が多く、リシケ形態は 6 個体、中間形態は 2 個体であったが、明らかなハイブリッドは 1 個体のみであった (図 2 の“OSI24”サンプルの一番右の個体)。大阪府の南部海域ではズベが優占しており、リシケはごく一部の海域のみ (阪南市尾崎地先) で漁獲され、両種が住み分けているという情報もあるため、それが両種間の生殖隔離に大きく貢献しているのかもしれない。このように、瀬戸内海内部でも海域によってハイブリッドの出現頻度は大きく異なっていた。

形態と SNP マーカ―によるハイブリッド検出結果を照合した。この照合では、(1) リシケとズベの中間形態を持つと判断された個体が真にハイブリッドであるかということ、および (2) DNA でハイブリッドとみなされた個体の形態が純種の形態と区別できるか、という二点について調べた。岡山のサンプル (OKK24)、香川沖サンプルのうち MP23 と MP24、淡路島のサンプル (HYI24) および大阪のサンプル (OSI24) を対象とし、他種の DNA を 5%以上の割合で有している個体をハイブリッドと定義した。また形態と DNA で不一致が無い“純種あるいはほぼ純種”の個体はあらかじめ除外した。結果を表 1-1 と表 1-2 に示す。中間形態と判定された 10 個体のうち、6 個体はハイブリッドであった (表 1-1)。一方、ハイブリッドであっても形態では純種と判定されたケースは 35 であった (表 1-2)。このように、中間形態の個体がハイブリッドである可能性は高いものの、ハイブリッドであっても形態では純種との区別が困難な個体も多いため、ハイブリッドを確実に同定するためには、DNA 情報が不可欠であろう。

**注 1 :** 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―数に上限がある (通常 40 マーカ―まで)。このため、開発されたマーカ―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。

**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。

#### 【引用文献】

- 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, 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.
- Sekino M, Nakamichi R, Ojima D, Ito A (2025) Multiplex panels of SNP markers based on single-base primer extension in the west Pacific pen shell *Atrina lischkeana* (Clessin, 1891). *Molecular Biology Reports* 52: 73.
- 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.

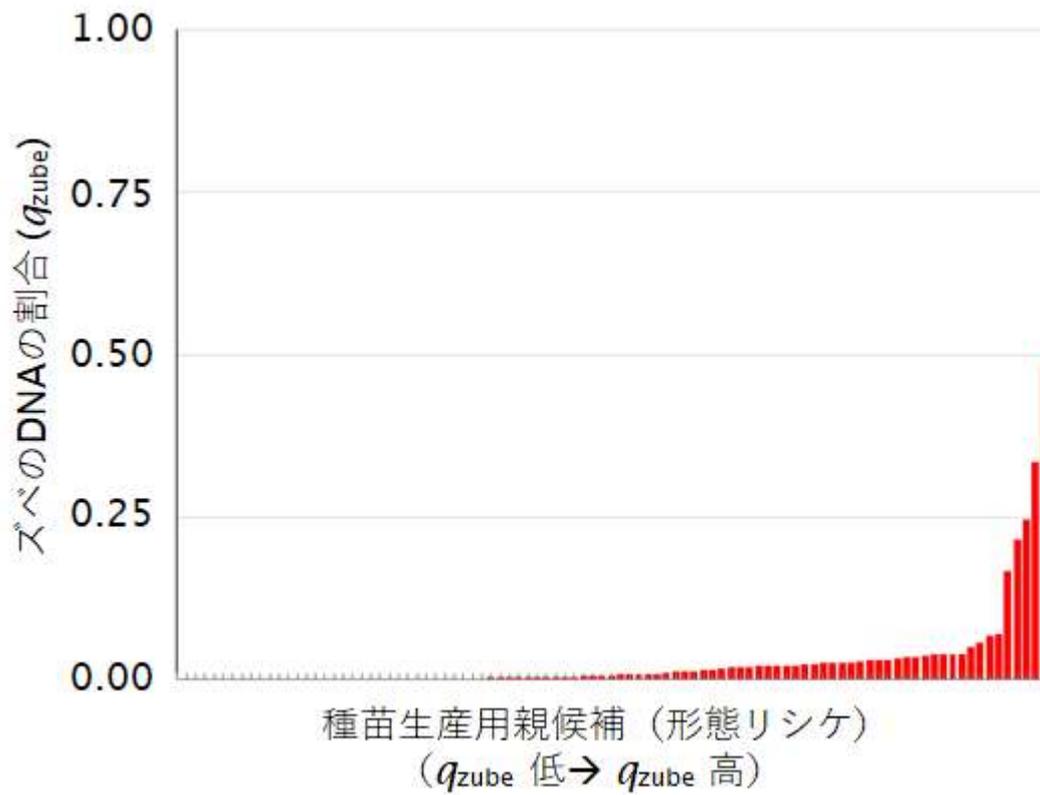


図1. 令和6年度百島庁舎種苗生産親候補個体の Admixture 解析結果

(A) 縦軸は各個体のゲノムにおけるズベ由来の DNA の割合 ( $q_{zube}$ )、横軸は各親候補個体 ( $q_{zube}$  が低い方から高い方へ個体を並べてある)

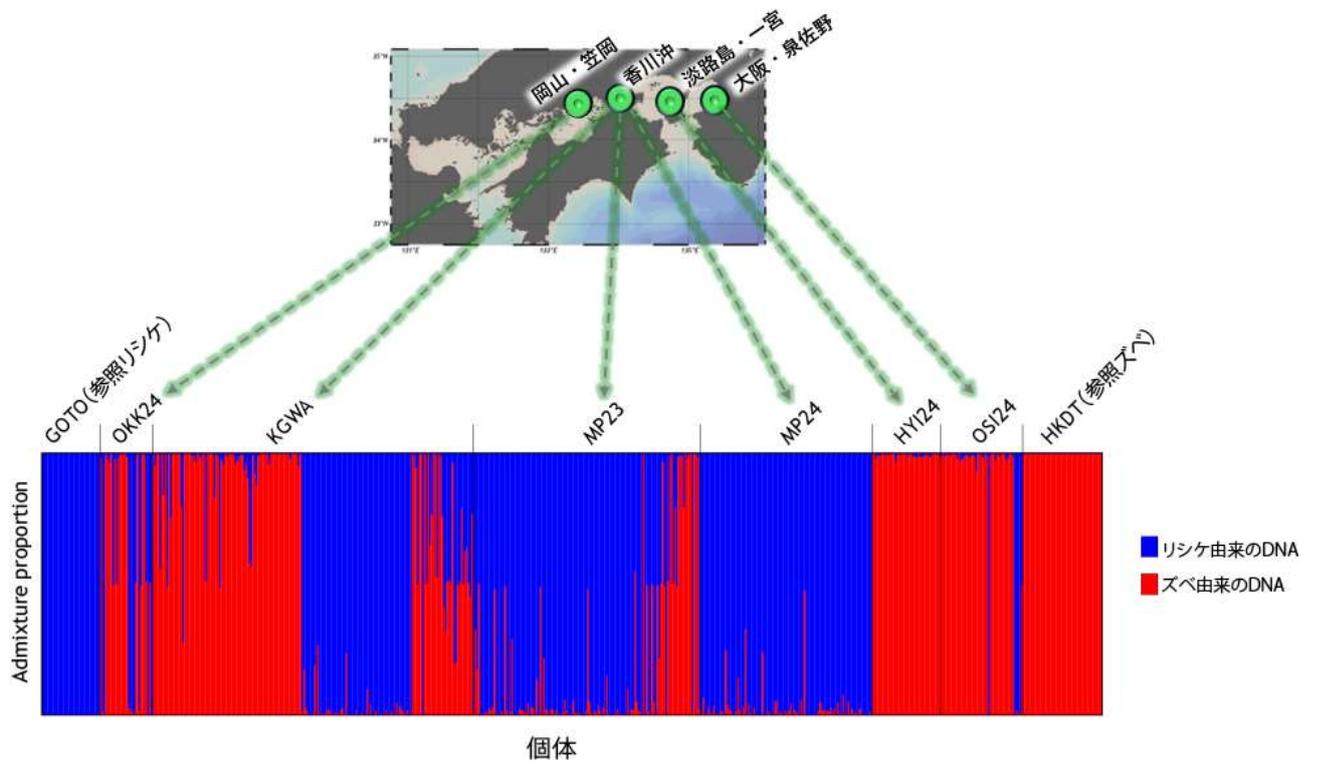


図 2. 瀬戸内海 4 海域のタイラギの Admixture 解析結果

縦軸は Admixture proportion (青がリシケ由来の DNA、赤がズベ由来の DNA)、横軸が各個体。GOTO は、五島福江島の純粋なリシケ、HKDT は北海道函館の純粋なズベの参照集団サンプル

表1-1. 中間形態の個体のAdmixture proportion

ID <sup>*1</sup>	貝殻形態 <sup>*2</sup>	Admixture proportion <sup>*3</sup>	
		$q_{zube}$	$q_{lisch}$
MP23_156	中間	0.502	0.498
OSI24-21	中間?	0.930	0.070
OSI24-22	中間?	1.000	0.000
OKK24-01	中間?	0.985	0.015
OKK24-21	中間?	0.504	0.496
OKK24-24	中間?	0.495	0.505
OKK24-26	中間	0.997	0.003
OKK24-27	中間	0.509	0.491
OKK24-28	中間?	0.000	1.000
OKK24-29	中間	0.507	0.493

<sup>\*1</sup>中間形態を持ち、かつSNPマーカーでハイブリッドとみなされた個体を赤字で示す

<sup>\*2</sup>純種形態との区別が曖昧な中間形態には"?"を付してある

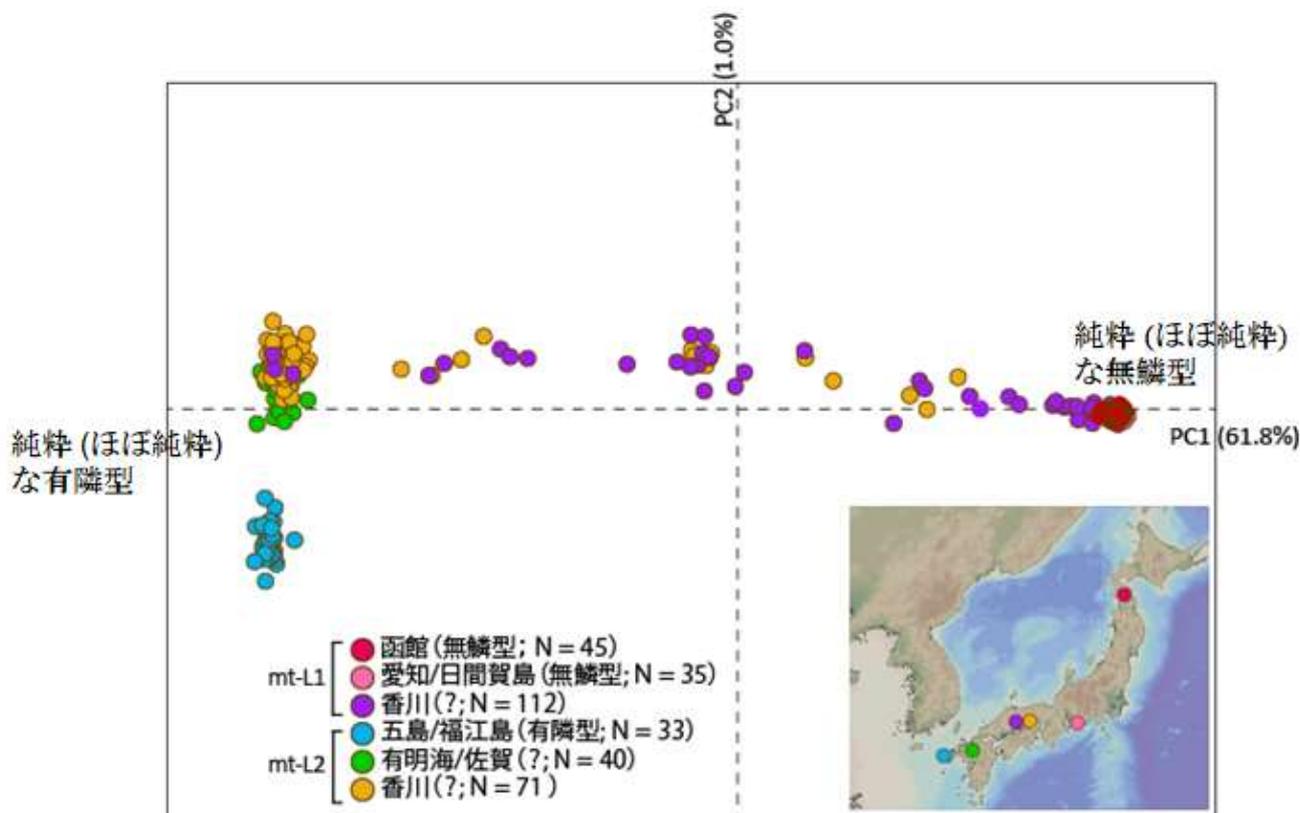
<sup>\*3</sup> $q_{zube}$ と $q_{lisch}$ は、それぞれズベ由来およびリシケ由来のDNAの割合

表1-2. 形態で純種とみなされたハイブリッドのAdmixture proportion

ID	貝殻形態	Admixture proportion <sup>*1</sup>	
		$q_{zube}$	$q_{lisch}$
MP23_004	リシケ	0.325	0.675
MP23_005	リシケ	0.175	0.825
MP23_006	リシケ	0.502	0.498
MP23_022	リシケ	0.479	0.521
MP23_031	リシケ	0.492	0.508
MP23_038	リシケ	0.288	0.712
MP23_055	リシケ	0.134	0.866
MP23_057	リシケ	0.490	0.510
MP23_059	リシケ	0.217	0.783
MP23_071	リシケ	0.057	0.943
MP23_076	リシケ	0.054	0.946
MP23_084	リシケ	0.482	0.518
MP23_095	リシケ	0.150	0.850
MP23_108	リシケ	0.101	0.899
MP23_112	リシケ	0.550	0.450
MP23_119	リシケ	0.497	0.503
MP24-02	リシケ	0.063	0.937
MP24-15	リシケ	0.247	0.753
MP24-22	リシケ	0.141	0.859
MP24-26	リシケ	0.328	0.672
MP24-36	リシケ	0.239	0.761
MP24-43	リシケ	0.052	0.948
MP24-58	リシケ	0.054	0.946
MP24-60	リシケ	0.477	0.523
MP24-84	リシケ	0.077	0.923
MP24-87	リシケ	0.051	0.949
OSI24-47	リシケ	0.499	0.501
OKK24-08	リシケ	0.495	0.505
OKK24-10	リシケ	0.500	0.500
MP23_155	ズベ	0.215	0.785
MP23_158	ズベ	0.492	0.508
MP23_158	ズベ	0.492	0.508
MP23_163	ズベ	0.502	0.498
MP23_164	ズベ	0.795	0.205
MP23_165	ズベ	0.492	0.508

\*1  $q_{zube}$ と $q_{lisch}$ は、それぞれズベ由来およびリシケ由来のDNAの割合

## 補足資料 1. リシケとズベ間の遺伝子浸透



上図は、RAD 法 (Baird *et al.* 2008) 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を持つミトコンドリア DNA L2 系統、ズベ形態の 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 (L1) が多いが、ごく稀にリシケ (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 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 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の“?”は、中間形態の個体を含むという意味)。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 L2 系統をオレンジで、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 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 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 L1 と 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、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りシケとみなされた。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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 古賀秀昭（1992）有明海産タイラギに関する研究—VI. 貝殻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.

## オ. 二枚貝類の生産現場における ICT の活用

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・山田 充哉・前田 雪・西本 篤史・伊藤 篤  
国立大学法人 熊本大学  
戸田 真志

二枚貝の種苗生産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、不足時に自動的に給餌を行う自動給餌装置の開発に取り組み、装置を試作した。試作装置を用いた給餌テストでは、気泡の混入時に計測値が過剰になる不具合が確認されたものの、水槽内の餌料密度はおおむね設定した範囲内で推移した。本課題で試作した自動給餌装置は、消耗品価格の部品を組み合わせて自作可能な構成としており、約 10 万円で製作可能である。今後、気泡混入の影響軽減等、計測精度や制御精度の改善、使いやすさの向上に取り組むとともに、実際の幼生飼育を行い、課題の抽出や改善に取り組む必要がある。

### 【目的】

近年、二枚貝漁業・養殖業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稚貝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、自動給餌装置の開発を行うことを目的とした。省力化と同時に、飼育時の餌料密度等のデータを取得することで、生産工程の改善につながることを期待される。開発にあたっては、消耗品価格の部品で構成し、できるだけ低価格かつ自作可能な構成とすることを目標とした。自作可能な単純な構成とすることで、トラブル時のメンテナンスや、機能追加等の改良、アップデートが容易になる利点がある。

### 【研究方法】

自動給餌装置は、飼育水中の餌料密度を定期的に計測し、餌料密度が不足した場合には自動的に給餌を行うことで餌料密度を一定の範囲に制御する。R6 年度は、餌料密度の計測方法、給餌方法、装置全体の構成を検討するとともに、装置を試作し、飼育水槽での給餌テストを行った。

#### (1) 餌料密度計測方法の検討

顕微鏡計数と画像処理による餌料密度計測の概要を図 1 に示した。顕微鏡計数法は、飼育

水を細胞計数盤に採取し、複数グリッド中の餌料細胞数を顕微鏡下で計数し、グリッドあたりの平均細胞数を計算した後、グリッド体積（DHC-F01 の場合 0.2  $\mu\text{L}$ /グリッド）を用いて餌料密度（cells/mL）に換算する。画像処理による餌料密度計測も同様であり、飼育水をフローセルに採取し、複数の顕微鏡画像中の餌料細胞数を画像処理により計数し、画像あたりの平均細胞数を計算した後、画像体積（0.3  $\mu\text{L}$  画像）を用いて餌料密度に換算する。

画像処理による餌料密度計測では、計数画像数（顕微鏡計数グリッド数に相当）が少ない場合に、計測値（推定値）の誤差が大きくなる。そこで、パブロバ培養液を 0.2~2%に希釈した試料に対し、画像数  $n=32$  とし、各 4 回の実測を行い、4 回の計測値の誤差を調べた。同様に、画像中の餌料細胞数が平均 = 分散 =  $\lambda$  のポアソン分布に従うと仮定し、 $\lambda = 0.3 \sim 12$  cells/画像（ $1 \sim 40 \times 10^3$  cells/ml に相当）の仮想試料に対して、シミュレーションにより、画像数  $n = 32 \sim 128$  とし、各 100 回の計測を行い、誤差を調べた。

計数する画像数を増やせば誤差は低下するが、計測に要する時間は増大する。計測に要する時間を把握するため、試作した装置を用いて、画像数  $n=32 \sim 128$  に設定し、撮影に要する時間、計数処理に要する時間をそれぞれ計測した。

## (2) 給餌方法の検討

餌料密度の不足時に給餌を行うための、給餌量およびポンプ作動時間の計算方法を検討した。また、作動確認のため、希釈水槽を用いて給餌テストを実施した。給餌テストは、8Lの海水を収容した水槽に一定速度（36 mL/分）で海水を添加して希釈し、10 分毎に餌料密度を計測し（画像数  $n=32$ ）、設定値（20,000 cells/mL）の 75%を下回った場合に給餌を行う設定とした。

## (3) 全体構成の検討と装置の試作

給餌システムの全体構成を検討し、作動プログラムを作成するとともに、給餌装置を試作した。

## (4) 飼育水槽における給餌テスト

試作した給餌システムを用いて、飼育水槽における給餌テストを実施した。給餌テストは百島庁舎にて 2024 年 12 月 5 日から 11 日にかけて行った。水槽は 500L を使用し、アサリ成貝（殻長 38.7-51.9 mm）3~6 個体を収容した（作動開始 2.5 時間時に 3 個体を収容し 2 日後に 3 個体追加した）。水槽横に給餌装置を設置し、画像数  $n = 64$ 、設定餌料密度 20,000 cells/mL とし、毎時 0 分に計測を行い、設定餌料密度の 75%を下回った場合に給餌を行う設定とした。水槽は、タイラギ幼生飼育時と同様、常時プロペラで攪拌したが、給餌装置が海水飛沫により故障する可能性を考慮し、海水シャワーは使用しなかった。餌料藻類にはイソクリシス（タヒチ）を使用し、給餌ボトル（10L 培養容器）はエアーポンプで通気するとともに、LED ライトを照射した。給餌ボトル細胞密度の設定値として、給餌テスト開始直

前にコールターカウンターで計測した細胞密度 530 万 cells/mL をもとに、600 万 cells/mL に設定した。洗浄水には水道水を使用した。

装置の電源は、水槽横の AC100V コンセントに停電時の装置故障を防ぐためバックアップ電源 (APC、BE425M-JP) を接続し、さらにバックアップ電源に漏電保護タップ (TOSHIBA、LB120C) とタイマー (アズワン DT-01A) を介して 9V の AC アダプター (秋月電子、AD-B90P130) を接続し、給餌装置に給電した。バックアップ電源にはラズパイをインターネット接続するための WiFi ルータ (IO-DATA WN-CS300FR) を接続し、電源の周囲は厚手のビニール袋で覆った。タイマーはラズパイのフリーズ防止用に使用し、ラズパイは 1 日 4 回 (5:50,11:50,17:50,23:50) シャットダウンを行うよう設定し、シャットダウン後 (5:55, 11:55, 17:55, 23:55) にタイマーでラズパイへの給電をカットし、1 分後に再投入することで強制的に再起動させた。ただし、タイマーリセットは、タイマーとラズパイの時刻誤差が生じると作動中に給電をオフする恐れがあり、望ましい方法ではない。別のマイコンでラズパイのフリーズを検知し、フリーズ時にリセットするか、ラズパイに備わっているウォッチドッグリセット機能を使うことでフリーズ時の復旧を実現できる可能性がある。

## 【研究成果の概要】

### (1) 餌料密度計測方法の検討

パブロバ希釈試料の計測値 (実測) を図 2 に、シミュレーションによる計測値を図 3 に示した。実測では、パブロバ 1% 希釈試料の計 4 回の計測値の平均 18,300 cells/mL、標準偏差 1,400 cells/mL となり、最小値と最大値には約 3,000 cells/mL の誤差が見られた。シミュレーションでは、画像あたりの細胞数が平均  $\lambda$  のポアソン分布に従うとき、画像数  $n$  の平均細胞数の標準偏差 (誤差) は  $(\lambda/n)^{0.5}$  で与えられ、画像数  $n=64$ 、 $\lambda=6$  (細胞密度 20,000 cells/mL に相当) のとき、平均細胞密度  $\pm 1.96$  標準偏差 (95% 信頼区間) は  $20,000 \pm 2,000$  cells/mL となり、約 10% の計測誤差が生じる可能性があることがわかる。画像数の増加とともに誤差は低下し、画像数が 4 倍になると誤差は 1/2 に低下する。

計測に要する時間を表 1 および図 4 に示した。画像数  $n=64$  のとき、撮影に要する時間は約 8.5 分、計数 (画像処理) 時間は約 11 秒、撮影と計数を合わせた計測時間は約 9 分であった。

計測時間と精度のバランスのよい画像数として、画像数  $n=64$  とすることで、約 10 分で計測が終了し、ある程度精度の高い計測が可能であると考えられる。

### (2) 給餌方法の検討

給餌量および給餌ポンプ作動時間の計算手順を図 5 に示した。給餌量の計算の際に、給餌ボトル細胞密度を与えるが、給餌量が過剰になることを防ぐため、通常は、実際の細胞密度よりも多めの値を設定値として与えることを想定している。

希釈水槽を用いた給餌テストの結果を図 6 に示した。実験開始時に水槽にはあらかじめ

餌料を添加しなかったため、実験開始直後の餌料密度はほぼ 0 cells/mL で、設定餌料密度 20,000 cells/mL に達するよう給餌が行われたが、図 6 に示した 2 回目の計測値は 20,000 cells/mL を大きく下回っていた。これは、給餌ボトル細胞密度として与えた設定値が、実際の細胞密度よりも高かったため、給餌を行っても設定餌料密度に達しなかったことを示している。しかしながら、3 回目以後、計測と給餌が繰り返され、次第に給餌閾値 15,000 cells/mL ~設定餌料密度 20,000 cells/mL の範囲内に収まっていく様子が見てとれる。

### (3) 全体構成の検討と装置の試作

給餌システムの全体構成を図 7 に示した。給餌システムは、電源、ラズパイ、顕微鏡、カメラ、ポンプ、バルブ、リレー基板等から構成され、ラズパイは別途用意したルータに WiFi 接続され、インターネット時刻に同期される。給餌システムは定期的に計測と給餌を繰り返し、作動時は、水温計測後、フローポンプ、切替バルブを制御して飼育水をフローセルに採取し、顕微鏡撮影後、洗浄水を流し、餌料密度を計測する。餌料密度計測後、給餌が必要な場合は給餌量を計算し、給餌ポンプを作動して給餌を行う。ユーザは同じネットワークに接続した別のパソコンから作動設定や計測値の表示、データの回収を行う。ラズパイや顕微鏡等は防水ケースに収容される。

ラズパイは Raspberry Pi 3A+ を使用し、microSD カード (KIOXIA, EXCERIA 32GB, 100MB/s) に OS (2024-03-12-raspbian-bullseye-armhf-lite.img.xz) を書き込んだ。ラズパイを起動後、インターネットに接続し、画像処理用パッケージ (opencv)、撮影用パッケージ (fswebcam)、HTML 用パッケージ (flask) をインストールした。また、水温センサを使用するための機能 (1-wire) を有効化し、後述の給餌プログラムを導入した。

試作したリレー基板を図 8 に示した。リレー基板は 9V (または 12V) の電源に接続し、基板上の DC-DC コンバータ (Minmax, M78AR05-1) からラズパイに 5V を供給する。ラズパイはフォトリレー (TOSHIBA, TLP241A) を通じて顕微鏡、ポンプ、バルブに電力を供給する。リレー基板には水温センサ (Sparkfun, SEN-11050) を接続する端子を備える。

使用したポンプおよびバルブを図 9 に示した。ポンプは給餌用 (給餌ポンプ) と、撮影用 (フローポンプ) の計 2 個を使用した。切替バルブは、飼育水と洗浄水を切り替えて流路に流すために使用した。

防水ケースに収容した試作装置を図 10 に示した。防水ケース (タカチ電気工業、BCAP304018T) の内部には、顕微鏡 (Swift, SW200DL)、カメラ (Swift, EC5R)、ラズパイ、リレー基板を収容し、ケース側面にポンプ、バルブ、流路用のケーブルグランド (タカチ電気工業、RM8L-4B) を固定した。流路用のケーブルグランドには、樹脂製のパイプ (タミヤ、透明プラ材 3mm) を通し、シリコンチューブ (1.6×3.2) を接続した。ケース上面には、ケーブルグランド (タカチ電気工業、RM10L-6B) を固定し、電源用の VCTF ケーブル (極東電線、VCTF 0.3sq 2c)、水温センサを通した。防水ケース側面にはポンプ等を固定するための穴を開ける必要があり、ホールソー等を使用して自分で加工することも可能で

あるが、メーカーに図を送付することで加工品を購入可能である。

給餌プログラムの作動概略を図 11 に示した。給餌プログラム (`auto_feed.sh`) は、設定ファイル (`auto_feed.conf`) を読み込んだ後、水温計測、撮影、洗浄、計数後、給餌を行い、計測値を表示するための HTML ファイルを出力する。画像中の餌料細胞の計数は計数プログラム (`count.py`) が実行する。計数プログラムは全画像の平均画像を作成した後、各画像と平均画像の差分をとることで餌料細胞の領域を抽出し、計数を行う。設定ファイルには、水槽名 (飼育ロット名)、撮影回数、設定餌料密度等、水槽容量、等の設定項目がある。給餌プログラムの実行後、水温、餌料密度等の計測値は HTML またはプログラムの実行ログに記録されるが、これらの計測値が csv 形式で保存、ダウンロードできるようになっていないため、今後、改善の余地がある。

#### (4) 飼育水槽での給餌テスト

実験時の状況を図 12 に、餌料密度の推移を図 13 に示した。実験開始時の水槽には餌料を投入していなかったが、開始時の計測値は 10,000 cells/mL を超えていた。画像を確認したところ、気泡が写っており、気泡の影響で計測値が過剰になっていた (図 14)。12 月 7 日に 30,000 cells/mL を超えた計測時にも気泡が混入し、計測値が過剰になった。作動開始時の気泡の混入は、作動前にあらかじめ流路を水で満たすことで防ぐことが可能と考えられるが、作動途中の気泡混入を完全に防ぐことは難しいと思われるため、今後、気泡の影響を軽減する画像処理を検討する必要がある。これらの異常値を除けば、餌料密度は 13,700~25,100 cells/mL の範囲で推移し、計測値の上下 5% を除いた 90% の計測値は 14,500~22,100 cells/mL の範囲内であった。実験時の水温は 16.6~18.6°C で推移した。

12 月 7 日以後は、給餌後に計測値が設定餌料密度 20,000 cells/mL を超えた。これは、給餌ボトル細胞密度として与えた 600 万 cells/mL よりも実際の給餌ボトル細胞密度が高かったことを示唆している。給餌ボトル細胞密度の設定値 (600 万 cells/mL) は、実験開始時にコールターカウンターで実測した 530 万 cells/mL を参考に、やや多めの値を与えたが、コールターカウンター計測値は給餌システム計測値に比べやや低めの値となるバイアスがあり、実際には 530 万 cells/mL を超える細胞密度であったと考えられる。また、給餌ボトルの細胞密度が増殖により増加した可能性や、計測誤差の影響も考えられる。給餌ボトル細胞密度の設定値と実際の細胞密度が異なると、餌料密度が設定した範囲に収まらない可能性が生じるため、今後、給餌後の計測値から給餌ボトル細胞密度を推定するよう改善する必要がある。また、餌料密度の計測値には計測誤差があり、計測値が実際の餌料密度よりも低い場合は過剰給餌になる可能性がある。今後、計測誤差を考慮し、実際の餌料密度を推定する必要がある。

前述したが、給餌システムによる餌料密度計測値は、コールターカウンター計測値に比べやや高めの値となっていた (図 15)。この原因として、餌料密度の計算時に与える画像面積 (0.3  $\mu$ L/画像) の誤差の影響が考えられる。給餌システムの計測値とコールターカウンター

の計測値に近い値となるよう補正を行う必要がある。

今回の実験では、フローセルの汚れは計測に悪影響を与えるほど深刻ではなかったが、実験開始時と終了時の平均画像（64 画像の平均）の適応的二値化画像（周囲より暗い部分を抽出した画像）を比較すると、開始時に比べ終了時は汚れに起因すると考えられる領域（二値化画像中の白い部分）が増加していた（図 16）。6 日間程度の期間であれば、汚れはさほど問題にならない可能性があるが、水温が高い時期や、幼生飼育時は汚れが増加する可能性もあり、定期的に洗剤やハイターを流す等の措置が必用になる可能性がある。

### 【次年度に向けた提言】

今後、計測精度の改善（気泡や汚れの影響の軽減）、精度制御の改善（給餌ボトル細胞密度の推定）に取り組む必要がある。また、実際に数週間の幼生飼育を行い、課題の抽出や改善に取り組む必要がある。さらに、使いやすさの向上や、使い方マニュアルの整備に取り組む必要がある。

### 【図表】

#### 通常の顕微鏡計数による餌料密度計測

- 計32グリッド(1mm×1mm)の細胞数を顕微鏡下で計数
- グリッドあたりの平均細胞数を計算
- グリッド体積0.2μLとして細胞密度 (cells/mL) に換算



DHC-F01 <https://axel.as-1.co.jp/asone/d/2-7732-24/>

#### 画像処理による餌料密度計測

- 計32画像(1.09mm×1.42mm)の細胞数を画像処理計数
- 画像あたりの平均細胞数を計算
- 画像体積0.3μLとして細胞密度 (cells/mL) に換算

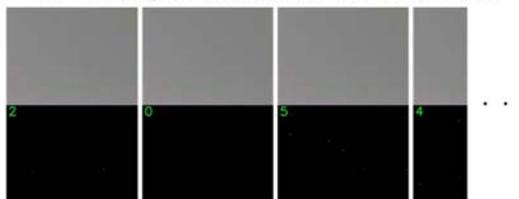


図 1 顕微鏡計数と画像処理による餌料密度計測の概要

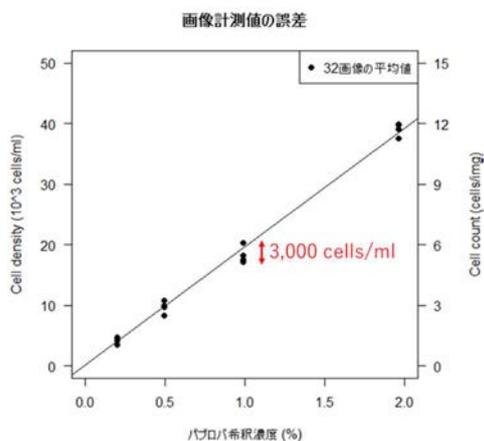


図 2 画像計測の誤差（実測）

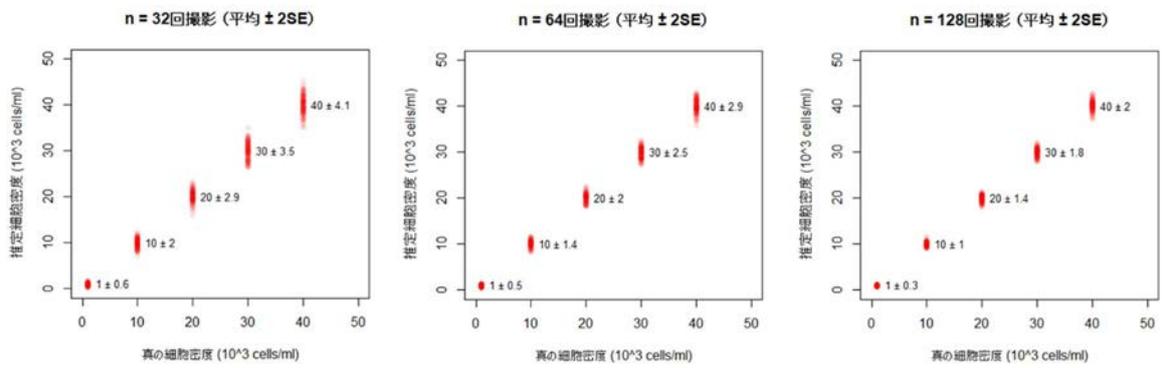


図3 画像計測の誤差 (シミュレーション)

表1 計測に要する時間

撮影回数	撮影時間	計数時間	開始～終了
32	4分13秒	10秒	4分51秒
64	8分25秒	11秒	9分03秒
128	16分54秒	15秒	17分38秒

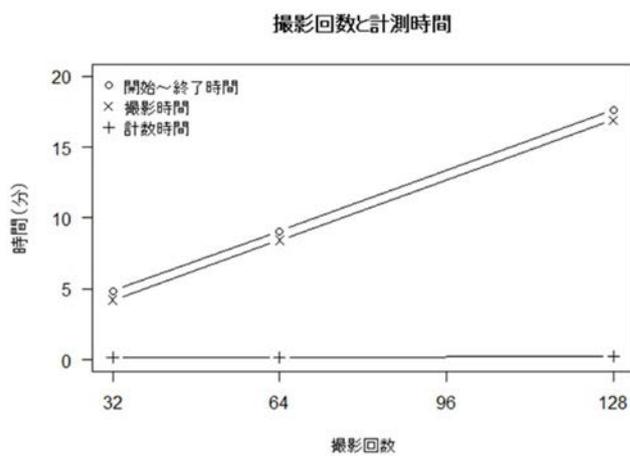


図4 計測に要する時間 (表1 をグラフ化したもの)

- ① 餌料密度 [cells/mL] = 平均細胞数 [cells/画像] / 画像体積 [ $\mu$ L/画像]  $\times$  1000
- ② 給餌細胞数 [cells] = (設定餌料密度 [cells/mL] - 餌料密度)  $\times$  水槽容量 [L]  $\times$  1000
- ③ 給餌量 [mL] = 給餌細胞数 [cells] / 給餌ボトル細胞密度 [cells/mL]
- ④ 給餌ポンプ作動時間 [sec] = 給餌量 [mL] / ポンプ速度 [mL/sec]

図 5 給餌量および給餌ポンプ作動時間の計算手順

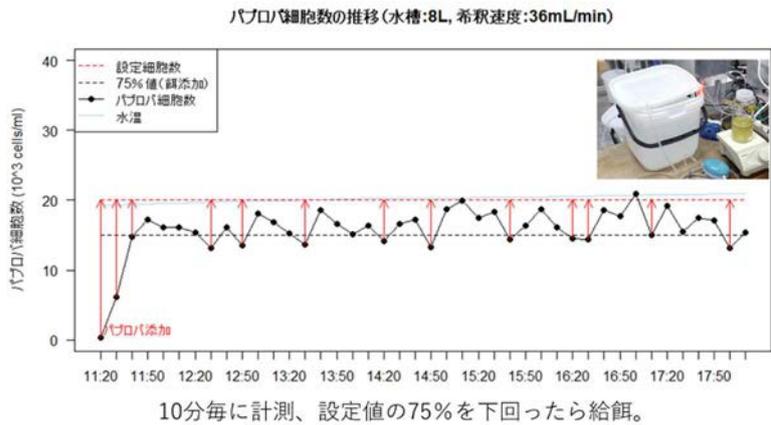


図 6 希釈水槽における給餌テストの結果

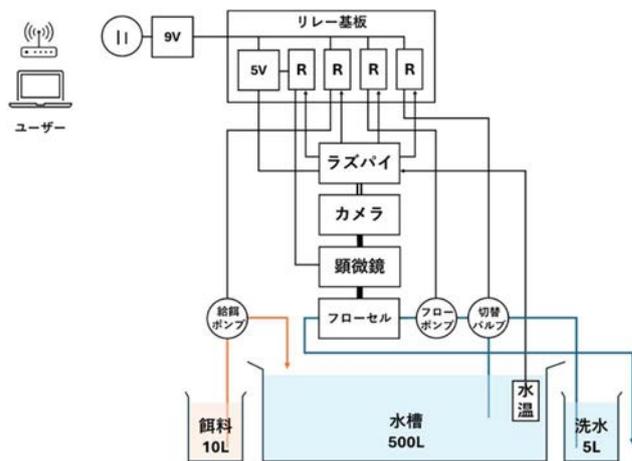


図 7 給餌システムの全体構成

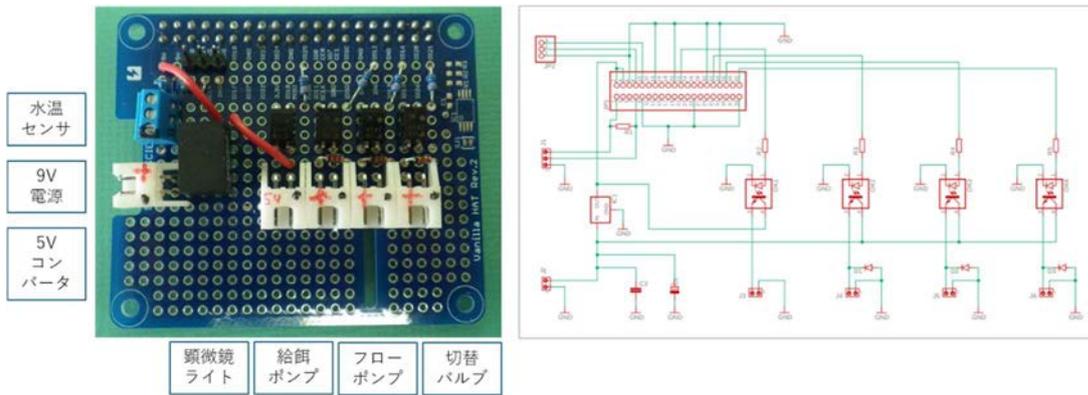


図8 試作したリレー基板

電源電圧毎のポンプ速度	ウェルコ WPM1-P3CA-WT3-WP 小型DCモーター 内径3mmチューブ用 (給餌ポンプ)	ウェルコ WPM1-P2CA-WT2-WP 小型DCモーター 内径2mmチューブ用 (フローポンプ)	高砂電気工業 PSK-1615W 適合シリコンチューブ 内1.6mm, 外3.2mm (切替バルブ)
電源電圧 12V	76.0 mL/分	40.9 mL/分	12V作動
電源電圧 9V	59.9 mL/分	28.6 mL/分	(作動確認)



図9 使用したポンプおよび切替バルブ

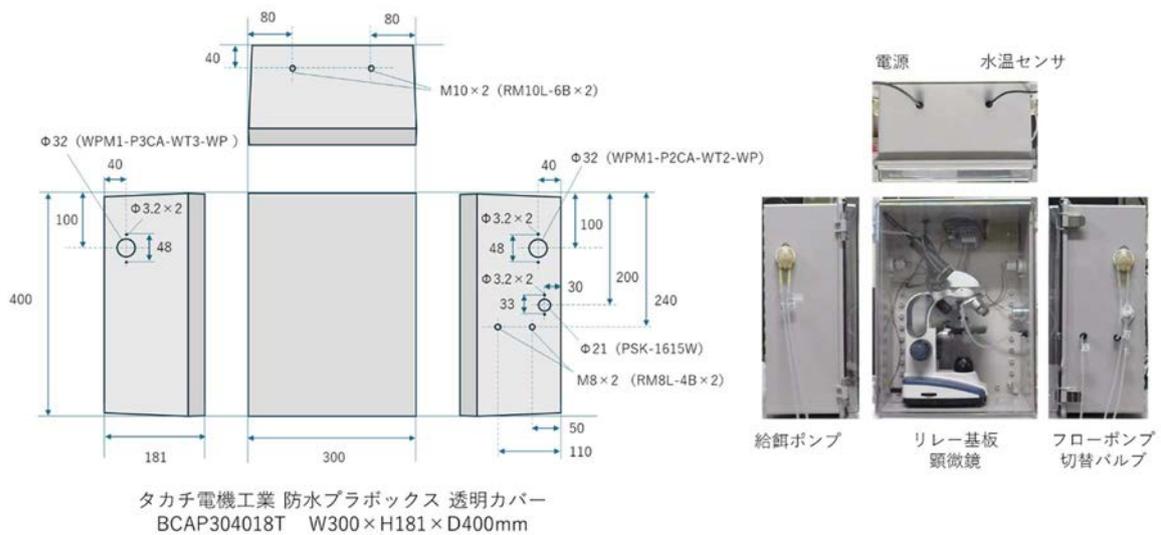


図10 防水ケースに収容した試作装置

auto\_feed.sh  
(給餌プログラム)



count.py  
(計数プログラム)

auto\_feed.conf  
(設定ファイル)

```
# 名前 半角英数で命名 (seto01, asari-01 など)  
auto_feed_id="seto01"  
  
# 撮影回数 32-128  
nframe=64  
# 設定餌濃度 20 * 10^3 cells/ml  
target_cells_ul=20  
# 給餌閾値 給餌閾値 × 設定餌濃度 を下回ったら給餌  
thresh=0.75  
# 水槽容量 500 L/tank  
L_tank=500  
# 給餌ボトル濃度 5000 * 10^3 cells/ml  
feed_cells_ul=5000  
  
# 給餌ポンプ速度 1 ml/sec = 60 ml/min  
feed_pump_ml_sec=1.0  
# 最大給餌時間 1800秒=30分  
max_feed_sec=1800
```

図 11 給餌プログラムの作動概略

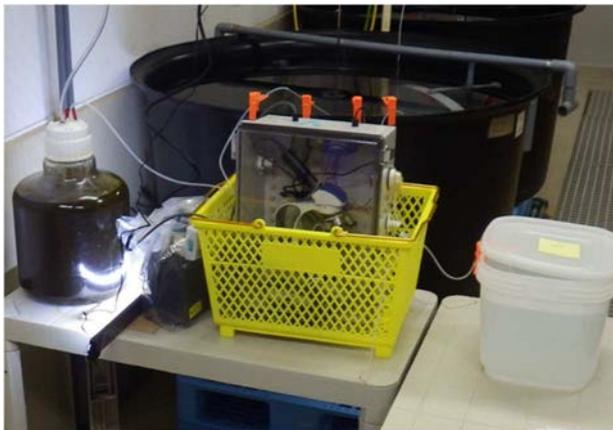


図 12 給餌テストの様子 (2024年12月5日~11日、百島庁舎)

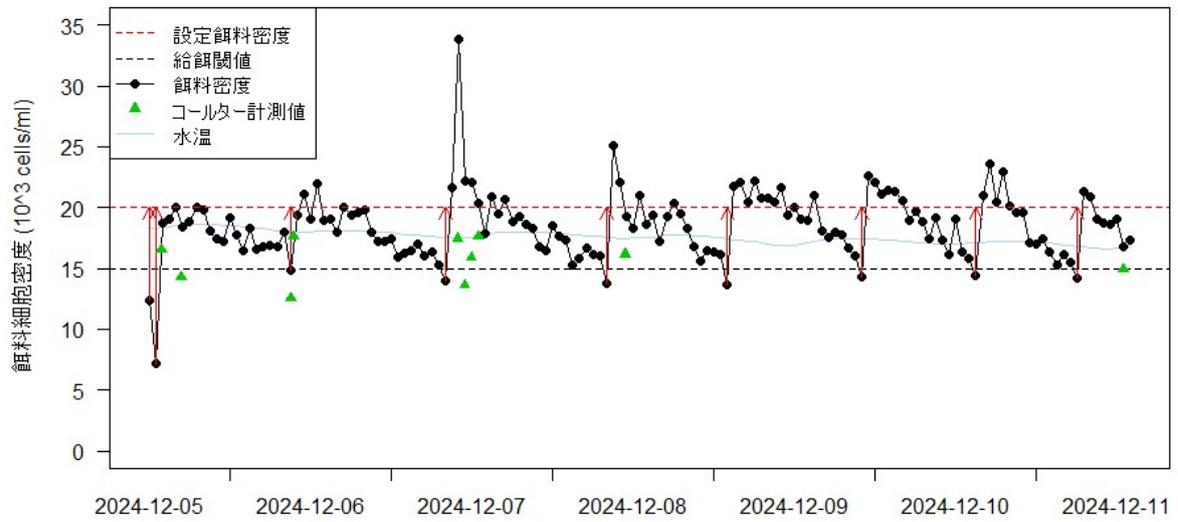


図 13 給餌テスト時の餌料密度の推移 (2024 年 12 月 5 日 12:00~11 日 14:00)

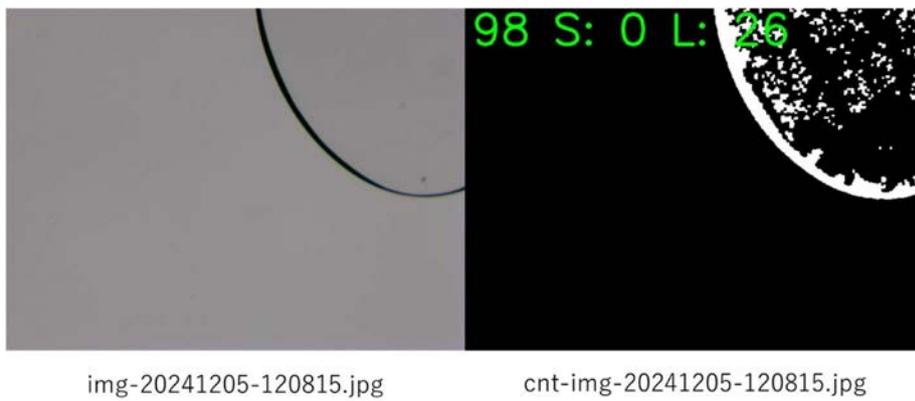


図 14 気泡による計測値の異常例 (2024 年 12 月 5 日 12:00 計測時)

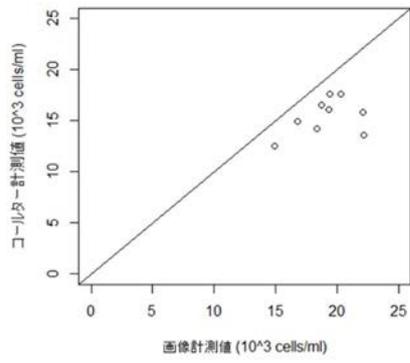


図 15 給餌システム計測値とコールターカウンター計測値の比較

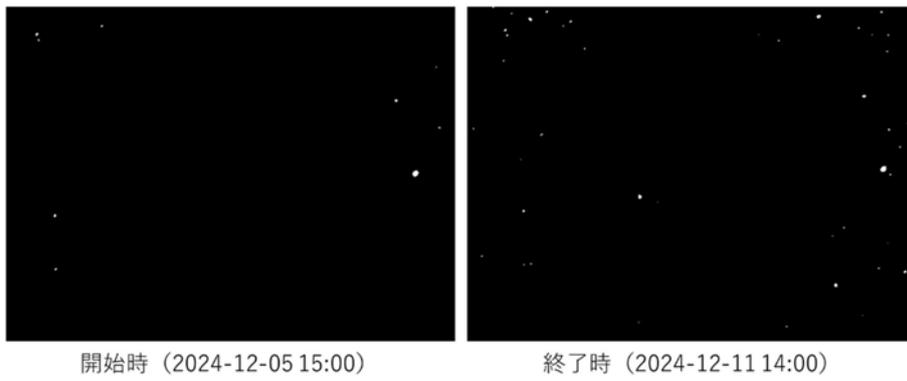


図 16 開始時および終了時平均画像の適応的 2 値化画像

令和6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6年7月16日(火) 11:00～17:00 (ハマグリ)  
17日(水) 9:30～14:30 (タイラギ)

場 所： RCC文化センター 703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. ハマグリ

(1) ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

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

(3) 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

(4) 環境モニタリングを通じたハマグリに適地選定技術の開発

水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター

(5) ハマグリ餌料生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発

水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター

3. 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) 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

(4) 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

(5) タイラギ標識技術の開発

香川県水産試験場

(6) 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査

水産資源研究所

(7) 二枚貝類の生産現場におけるICTの活用

水産技術研究所・熊本大学

4. 総合討論

5. その他

令和6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

日 時： 令和7年3月10日(月) 10:00～17:00 (タイラギ)  
11日(火) 9:30～16:30 (ハマグリ)

場 所： RCC文化センター 611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) 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
- (4) 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
- (5) タイラギ標識技術の開発 香川県水産試験場
- (6) 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査 水産資源研究所
- (7) 二枚貝類の生産現場における ICT の活用 水産技術研究所・熊本大学

3. ハマグリ

- (1) ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発  
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
- (3) 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
- (4) 環境モニタリングを通じたハマグリに適地選定技術の開発  
水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター
- (5) ハマグリ餌料生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発  
水産資源研究所・水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター

4. 総合討論

5. その他

※ 都合によって、発表の順番が前後することがありますので、ご了承ください。

令和6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7年1月8日(水) 13:00~17:00

場 所: 中津市教育福祉センター 中会議室B(中津市沖代町1丁目1番11号)  
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) 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          |
| (4) 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 |
| (5) タイラギ標識技術の開発                  | 香川県水産試験場             |
| (6) 瀬戸内海におけるタイラギの交雑の実態調査         | 水産資源研究所              |
| (7) 二枚貝類の生産現場における ICT の活用        | 水産技術研究所・熊本大学         |

3. 総合討論

4. その他

令和6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)

メール会議 (期間: 令和7年1月20日~2月3日)

- (1) ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発  
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
- (3) 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
- (4) 環境モニタリングを通じたハマグリに適地選定技術の開発  
水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター
- (5) ハマグリのお餌生物および餌環境に基づく生息適地の選定技術の開発  
水産資源研究所・水産技術研究所・千葉県水産総合研究センター