

ブリ迅速育種技術開発試験

石川 豪大・水野 かおり・曾根 謙一*・新野 洋平*

目 的

ブリは本県の重要な養殖魚種であり、近年輸出需要が増加しているが、さらなる輸出拡大のためには、天然資源への影響が少なく、トレーサビリティを確保できる人工種苗を用いた完全養殖が必須となる。人工種苗生産技術は、これまでに数万尾規模の生産に成功しており、他県との競争に打ち勝つ、低コストかつ商品価値の高い優良な家系（高成長、大型化、低魚粉対応等）を作出する育種の重要性が増している。そこで本事業では、親子鑑定技術を活用した迅速な優良家系の育種を行うとともに、人工種苗に適した養殖手法を確立することを目的とした。

方 法

1 有用形質の検討

令和3年度に選抜した高成長個体及び低魚粉飼料高成長個体を当センター地先の海面小割生簀（5m×5m×5m）小割に収容したブリ（令和3年度に導入した天然種苗）に通常飼料（オプティマBU-ECO、スクレッティング株式会社）を給餌し、養成した。

2 親子鑑定試験

令和4年度の種苗生産で生産した62個体について、親子鑑定を実施し、親魚との照合を実施した（親魚は令和4年度に遺伝子型を解析済み）。

親魚は、令和2年度に生産した200尾を当センター地先の海面小割生簀（5m×5m×5m）で約1年間飼育後、高成長及び低成長親魚を雌雄ごとに各5個体を抽出後、採精・採卵を試みた。雄は全個体から採精し、雌は高成長親魚2個体、低成長親魚1個体から採卵した。その後、人工授精を行い、それぞれ高成長親魚同士を掛け合わせた種苗及び低成長親魚同士を掛け合わせた家系を作出し、同じ水槽で稚魚まで生産を継続した。

生産した種苗200尾を6月5日に当センター地先の海面小割生簀（3m×3m×3m）に収容し、約2か月間飼育し、測定した。そして、増体重上位31個体、下位31個体を抽出し、胸鰭の一部を採取して、99%エタノールで固定した後、Quick Gene DNA 組織 kit（KURABO Co.）を用いて、DNAを抽出した。なお、DNA抽出以降のマイクロサテライト分析による親子鑑定については、株式会社日本総合科学に委託した。

3 人工種苗に適した養殖手法の確立

(1) 種苗生産

1) 採卵並びに卵及びふ化仔魚管理

親魚には、当センターの海面生簀（5m×5m×5m）で養成したブリ30尾を用いた。親魚は令和5年10月27

日に100kL水槽（G2）に陸上げし、12日間の馴致を行った後、長日処理（15：00–21：00 照明点灯）するとともに、水温を19℃に調整して催熟を開始した。親魚には、ハマチ用EP（オプティマBU-ECO 16.0、スクレッティング株式会社）にハイビタCプラス（あすかアニマルヘルス株式会社）を飼料重量の1–2%添着して給餌した。令和6年1月16日に、雌親魚（平均魚体重10.25kg）からカニューレにより卵巣卵の一部を採取し、卵径を測定した後、6尾に黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ（LHRHa）2mgを含むコレステロールペレットを左背筋肉に埋め込んだ。同月16日に雌親魚3尾から採卵、雄親魚7尾から採精し、人工授精した。受精卵は、卵管理ネットで管理し、同月18日に浮上卵のみを分離して、500Lアルテミアふ化槽2面に収容してふ化させ、日齢0で70kL水槽1面（S1）に収容した。卵管理以降の水温は21℃とした。

2) 生産方法

卵収容から開口（日齢3）までは仔魚の沈降死を防止するために強通気とし、開口からは仔魚の摂餌と開鰓を妨げないように弱通気とした。飼育水温は21℃から開始し、取揚げまでに22℃まで上昇させた。日齢3からタウリンで15時間、濃縮ナンノクロロプシスで7時間、さらにバイオクロミス（クロレラ工業株式会社）で4時間栄養強化したS型ワムシを、水槽内の密度が5個体/mLとなるように給餌した。ワムシの強化剤濃度は、タウリン：400g/kL 培養水、濃縮ナンノクロロプシス：100mL/1億個体、バイオクロミス：9.5g/1億個体とした。日齢17からはバイオクロミスで2時間栄養強化したアルテミアを、1日に1水槽あたり220万–2,700万個体給餌した。アルテミアの強化濃度は、バイオクロミス：4.1–6.2g/100L 培養水とした。また、日齢23から毎日、冷凍コペポータ50–150gを海水で溶かしてジョウロで給餌した。日齢27からは配合飼料（おとひめ、日清丸紅飼料株式会社及びアンブローズ、フィード・ワン株式会社）を給餌した。日齢3から11まで、開鰓を促すため油膜取り器を設置した。また、共食い防止を目的として、日齢36でフィッシュポンプ及びモジ網を用いて分槽した。さらに小サイズは、日齢46及び59で、6.35mm及び8.46mmの金網による選別を行った。日齢60で、74%の濃塩水による鰓の有無及び奇形の選別を行った。

3) 測定項目

① 計数および取揚げ尾数

ふ化計数を日齢0で行うとともに、日齢4及び8で夜間計数を行い、生残率を算出した。フィッシュポンプでの移槽時に、フィッシュカウンターを用いて取揚げ

*現 農林水産部水産局水産課

尾数を算出した。

②摂餌率、開鰓率および全長

日齢 3 から 10 まで数日おきに各水槽 8-25 個体ずつ仔稚魚のサンプリングを行い、摂餌率、開鰓率及び平均全長を求めた。摂餌率は、仔魚を生物顕微鏡下で消化管中にワムシの咀嚼器が確認できた個体数の割合で示した。また、同時に鰓内にガスが確認できた個体の割合を開鰓率とした。平均全長は万能投影機で測定した。

(2) 養殖試験

令和 4 年度及び 5 年度に当センターが種苗を配布した宇和島市吉田及び下波の養殖業者の海面生簀において試験養殖している人工種苗及び同養殖業者の他の生簀で飼育されている天然種苗について、定期的に水中ステレオカメラで撮影し、画像から尾叉長と体高を測定して、魚体重を算出した。

結果及び考察

1 有用形質の検討

高成長個体・低魚粉飼料高成長個体について、通常飼料を給餌し、親魚養成を行った。今後、増体重上位群及び下位群を親魚に用いて種苗生産し、これらの形質が親魚選抜の指標として有効であるか検討する必要がある。

2 親子鑑定試験

採精及び採卵した親魚、増体重上位種苗、及び下位種苗のマイクロサテライト 5 遺伝子座の遺伝子型を表 1、2、3 に示す。種苗の遺伝子型はすべて、生産に使用した雄親魚及び雌親魚の遺伝子型に由来したものであった。種苗の遺伝子型と親魚の遺伝子型に関連がみられたことから、マイクロサテライト DNA 解析を用いた親子鑑定技術がブリにおいても有効であることがわかった。

一方で、増体重上位種苗及び下位種苗の遺伝子型に低成長親魚に由来するものが含まれていなかった。そのため、高成長親魚を掛け合わせた種苗と低成長親魚を掛け合わせた種苗は比較できず、親魚の形質と種苗の形質の関連は確認できなかった。これは、試験開始時に低成長親魚同士を掛け合わせた種苗が含まれておらず、種苗生産の過程で低成長親魚を掛け合わせた種苗が全てへい死した可能性が考えられる。

表 1 採精及び採卵した親魚の遺伝子型

親魚	雌雄	遺伝子型
高成長	♂	247
高成長	♂	256
高成長	♂	294
高成長	♂	298
高成長	♂	311
高成長	♀	260
高成長	♀	293
低成長	♂	283
低成長	♂	230
低成長	♂	237
低成長	♂	207
低成長	♂	210
低成長	♀	90

表 2 増体重上位種苗の遺伝子型

子	母親候補*	父親候補*		
	母親候補1	父親候補1	父親候補2	父親候補3
大1	290	298		
大2	293	298		
大3	260	298	311	
大4	260	207	247	
大5	293	298		
大6	260	311		
大7	260	207	298	
大8	293	298		
大9	260	298	311	
大10	260	298	311	
大11	260	298	311	
大12	260	247		
大13	260	298		
大14	293	298		
大15	260	207	298	311
大16	293	298		
大17	260	298		
大18	260	298	311	
大19	260	298	311	
大20	260	298		
大21	293	298	311	
大22	260	298	311	
大23	293	298		
大24	260	311		
大25	293	298		
大26	293	298		
大27	260	298		
大28	293	298		
大29	260	207	298	
大30	293	298		
大31	293	298		

※種苗の遺伝子型から推定される親魚の遺伝子型を示した。複数の親魚候補の可能性がある場合は、可能性が高い順に親魚候補を示した。

表 3 増体重下位種苗の遺伝子型

子	母親候補		父親候補		
	母親候補1		父親候補1	父親候補2	父親候補3
小1	260		210	247	
小2	293		298	311	
小3	293		298		
小4	260		298		
小5	293		298		
小6	293		298		
小7	260		298		
小8	260		298		
小9	293		311		
小10	260		210	298	
小11	260		210	298	
小12	293		311		
小13	260		298	311	
小14	260		298		
小15	293		298		
小16	260		298		
小17	293		247		
小18	293		210	298	
小19	293		298		
小20	260		207	311	
小21	260		311		
小22	293		298	311	
小23	260		298		
小24	260		210	298	
小25	260		207	298	
小26	260		247		
小27	260		311		
小28	260		311		
小29	260		298		
小30	260		247		
小31	260		247		

3 人工種苗に適した養殖手法の確立

(1) 種苗生産

1) 採卵並びに卵及びふ化仔魚管理

卵巣卵の平均卵径が 667-709μm の雌親魚 2 尾から採卵し、合計 30.4 万粒の浮上卵を得た。得られた浮上卵は、アルテミア水槽 2 面に 15.2 万粒ずつ分けて収容した。

2) 生産結果

日齢 0 の仔魚数は 10.4 万尾であり、日齢 4 では 7.1 万尾、日齢 8 では 4.2 万尾であった。日齢 36 のモジ網選別で小サイズを 8.6KL 水槽 (L1) に、大サイズを S2 に分槽し、14 千尾を取揚げた。取揚げ時の生残率は 13.5% であった (表 4)。また、日齢 60 の濃塩水による選別では、正常個体 14 千尾 (平均全長 67.8mm) を S2 に収容し、ポリカーボネート水槽の底に沈んだ個体及び奇形個体 1127 尾を廃棄した (表 5)。

2) 測定項目

① 計数および取揚げ尾数

ふ化仔魚数は 10.4 万尾であった。仔魚数は日齢 4 で 7.1 万尾、日齢 8 で 4.2 万尾、生残率は日齢 4 で 68.2%、

日齢 8 で 40.4% であった。また、取揚げ尾数は 14 千尾、生残率は 13.5% であった (表 5)。

表 4 取揚げ結果

水槽 No.	ふ化計数		夜間計数 (日齢4)		夜間計数 (日齢8)		取揚げ(日齢36)	
	月日	尾数 (万尾)	尾数 (万尾)	生残率 (%)	尾数 (万尾)	生残率 (%)	尾数 (千尾)	生残率 (%)
S-1	1月16日	10.4	7.1	68.3	4.2	40.4	14.0	13.5

② 摂餌率、開鰓率および全長

摂餌率は、日齢 3 で 76.9% であり、日齢 5 で 100% に達した。開鰓率は、日齢 7 で 71.4% であった (表 6)。日齢 0 から 10 までの平均全長の推移を図 1 に示す。日齢 10 での平均全長は、5.67mm であった。

表 5 塩水選別結果

水槽No.	正品	塩水ハネ*	奇形	合計
S-1	13,731	515	454	14,700
M-3	1,097	72	86	1,255

*塩水選別時にパンライトの底に沈んだ個体 (未開鰓個体)

表 6 摂餌率及び開鰓率の推移

水槽 No.	摂餌率 (%)				開鰓率 (%)			
	日齢3	日齢4	日齢5	日齢6	日齢4	日齢5	日齢6	日齢7
S-1	76.9	77.8	100.0	100.0	11.1	63.0	88.9	71.4

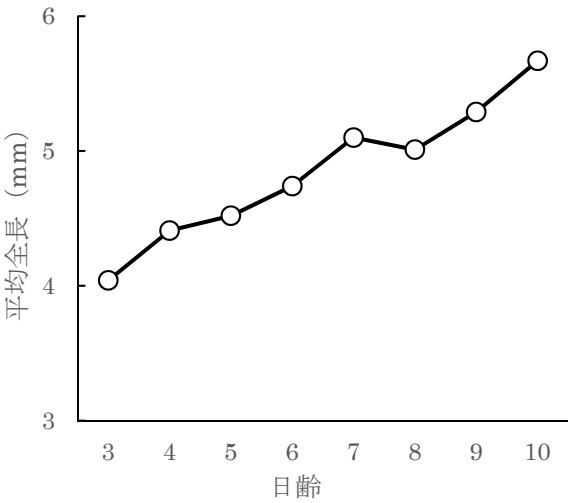


図 1 平均全長の推移

(2) 養殖試験

令和 4 年度に配布した人工種苗及び同養殖業者の天然種苗の平均魚体重の推移を図 2 に示す。吉田での人工種苗の平均魚体重は、令和 5 年 7 月 13 日に 2,312g であったが、9 月 27 日に 2,779g、12 月 13 日に 3,806g であった。また、天然種苗は令和 5 年 7 月 13 日に 2,267g であったが、9 月 27 日に 2,912g、12 月 13 日に 3,716g であった。下波での人工種苗の平均魚体重は、令和 5 年 6 月 16 日に 2,578g であったが、9 月 13 日に 3,371g であった。また、天然種苗は令和 5 年 6 月 16 日に 2,673g であったが、9 月 13 日に 3,557g であった。

令和 5 年度に配布した人工種苗及び同養殖業者の天

然種苗の平均魚体重の推移を図 3 に示す。吉田での人工種苗の平均魚体重は、令和 5 年 6 月 28 日に 188g、9 月 27 日に 783g、12 月 13 日に 1,299g、2 月 20 日に 1,633g であった。また、天然種苗は令和 5 年 9 月 27 日に 671g、12 月 13 日に 1,119g、2 月 20 日に 1,386g であった。下波での人工種苗の平均魚体重は、9 月 13 日に 498g、12 月 15 日に 1,024g、2 月 21 日に 1,269g であった。

この間における両漁場での人工種苗と天然種苗の成長率は同程度であったことから、令和 4 年度及び 5 年度に当センターが配布した人工種苗は、天然種苗と比較して成長率はおおむね同等であると考えられた。

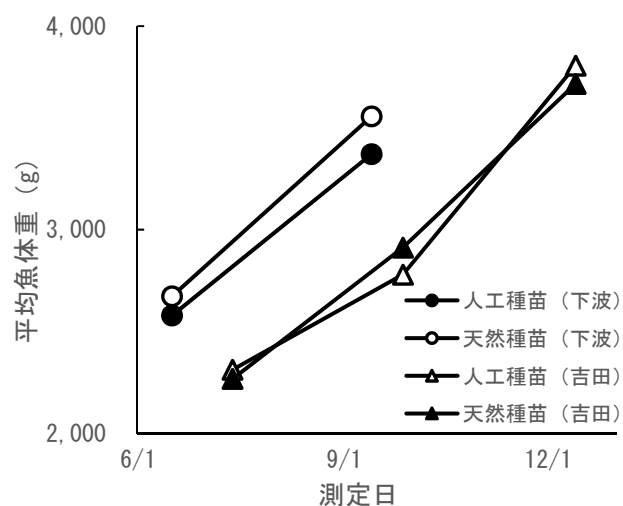


図 2 令和 4 年度配布種苗の平均魚体重の推移

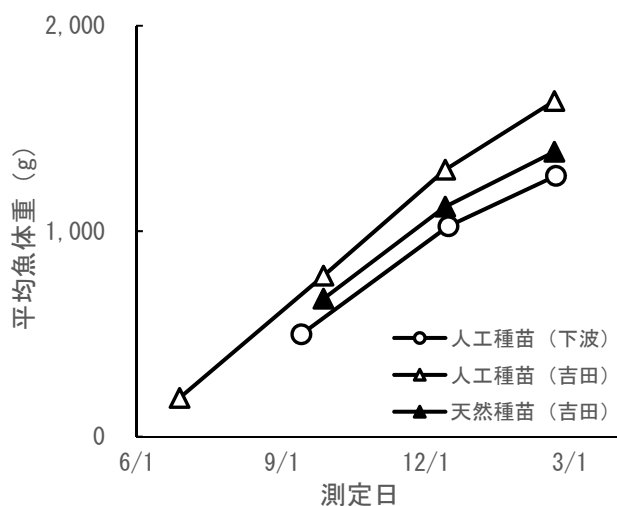


図 3 令和 5 年度配布種苗の平均魚体重の推移

スマ養殖普及に向けた低コスト・効率化技術開発

水野 かおり・曾根 謙一・新野 洋平・石川 豪大
・松原 孝博^{*1}・後藤 理恵^{*1}・斎藤 大樹^{*1}・小林 真也^{*2}

目 的

本県では、スマ養殖の実現に向けて、平成 25 年度から愛媛大学と共同で種苗生産、養殖技術の開発を進めている。これまで、スマ種苗 8 万尾の生産及び養殖業者による製品出荷率 8 割を目標に研究に取り組んでいるが、実績は、種苗生産 4 万尾及び製品出化率約 4 割にとどまる。現状では、種苗生産期・養殖導入期・養殖期の各期に残された課題があり、これらの課題を解決しなければ目標の達成は困難である。そこで、本事業では収益性の高い新魚種としてスマ養殖の産業化に向けて、種苗代を含めた養殖コストの低減を図るため、種苗生産期・養殖導入期・養殖期の各期に残されたコスト面や品質面の課題解決に取り組む。なお、親魚管理については、国立大学法人愛媛大学南予水産研究センターに委託して実施した。

方 法

1 種苗生産期の配合飼料への早期餌付け方法の検討

現在の技術では、スマの種苗生産期に主に魚類仔魚を給餌するため、その供給可能量が生産量の制限要因となっている。そこで、配合飼料を併用した生産技術を開発するために、飼育試験を行った。

親魚として、当センターで養成したスマを用い、円型水槽 2 面（G1、G2：水量 95kL）に収容した。受精卵を G1 には 1,160,000 粒、G2 には 440,000 粒収容し、種苗生産を開始した。飼育水温は 23.5–27.0℃ に設定した。

日齢 2 から 9 までは、タウリンで 18 時間、さらにバイオクロミス（クロレラ工業株式会社製）及び冷凍ナンノクロロプシス（K-2、クロレラ工業株式会社製）で 5 時間栄養強化した S 型ワムシを給餌した。加えて、日齢 8 からはマダイのふ化仔魚を給餌した。

G1 では、ふ化仔魚の給餌を日齢 11 までとし、日齢 9 から試験終了まで配合飼料（アンブロシア、フィードワン株式会社）を給餌した。G2 では、日齢 15 までふ化仔魚の給餌を続け、日齢 11 からは配合飼料を合わせて給餌した。

G1 は日齢 16 で、G2 は日齢 20 で取揚げ比色法により生残尾数を求めた。

2 最適な配合飼料の開発

スマに最適な配合飼料を明らかにするため、成長促進効果が期待できる酵素処理魚粉を配合した飼料を作製し、2 回の飼育試験を実施した。

試験 1 では、養殖初期を想定した粒径 2mm の飼料

を用い、試験区として酵素処理魚粉の配合割合を 70%、45%、25%、0%とした 4 区を設けた。試験 2 では、養殖後期を想定した粒径 6mm の飼料を用い、試験区として酵素処理魚粉の配合割合を 25%、12.5%、0%とした 3 区を設けた。試験飼料の配合組成と一般成分組成を表 1 に示す。

試験 1 では、角型コンクリート水槽（水量 8kL）4 面に平均全長 62.5mm、平均体重 2.0g のスマを 250 尾ずつ収容し、1 日 3 回飽食量を給餌し 22 日間飼育した。期間中の飼育水温は、18.1–20.0℃であった。試験 2 では、海面小割生簀（5m×5m×5m）3 面に平均体重 740g のスマを 40 尾ずつ収容し、1 日 2 回飽食量を給餌し 64 日間飼育した。期間中の飼育水温は、18.2–23.7℃であった。

表 1 試験飼料の配合組成と一般成分組成

試験区名 (酵素処理魚粉含量)	粒径2mm				粒径6mm		
	試験区1 (70%)	試験区2 (45%)	試験区3 (25%)	試験区4 (0%)	試験区1 (25%)	試験区2 (12.5%)	試験区3 (0%)
配合組成 (%)							
一般魚粉 ^{※1}	—	25.0	45.0	70.0	44.0	56.5	69.0
酵素処理魚粉	70.0	45.0	25.0	—	25.0	12.5	—
その他原料 ^{※2}	30.0	30.0	30.0	30.0	31.0	31.0	31.0
一般成分組成 ^{※3} (%)							
粗タンパク質	58.7	55.6	56.7	54.4	55.2	56.8	54.4
粗脂肪	16.2	15.4	15.1	15.2	16.8	16.8	15.5
粗灰分	7.1	9.1	11.3	13.8	10.3	12.2	13.1

※1 養魚飼料グレード

※2 その他原料：穀類、魚油、アミノ酸、ビタミン、ミネラル等

※3 乾物換算値

3 尾数測定システムの開発

水槽内のスマの尾数を把握するシステムを開発するため、尾数測定装置を試作して尾数の推定試験を実施した。

円型水槽（S3：水量 65kL）内に三次元位置観測装置を試作し設置し映像を撮影した。4 月 29 日から 5 月 29 日にかけて水槽内の映像を撮影し、作成した魚影検出モデルを用いて飼育水槽内の魚数推定を行った。収容尾数は、試験終了時に実数を計数した際の尾数を基に、撮影期間中の各日で死亡した個体数から逆算した値を用いた。

結果及び考察

1 種苗生産期の配合飼料への早期餌付け方法の検討

G1 では 102,800 尾（平均全長 24.9mm）、G2 では 75,000 尾（平均全長 23.7mm）を取揚げた（表 2）。

G1 では日齢 11 でふ化仔魚の給餌を終了したが、日齢 12 には配合飼料の摂餌率 100%に達した。日齢 9 か

ら配合飼料を給餌することで4日後の餌付けに成功し、さらに102,800尾を取揚げた。これまでの飼育例では日齢13以降に必要なふ化仔魚が急増することから、それ以前に配合飼料へ餌付けすることが重要な課題と考えていたが、今回の方法でふ化仔魚の使用量を抑えながら早期に餌付ける方法が確立できた。

表 2 生産結果

水槽No.	収容			取揚げ			
	月日	卵数 (粒)	ふ化仔魚 (尾)	日齢	全長 (mm)	尾数 (尾)	生残率 (%)
2R	G1 4/19	1,160,000	919,000	20	24.9	102,800	11.2
	G2 4/23	440,000	317,000	15	23.7	75,000	23.7

※取揚げの生残率は、ふ化仔魚数から算出した値

※収容日が日齢0

2 最適な配合飼料の開発

試験1飼育成績を表3に示す。成長および増肉係数は、酵素処理魚粉の割合が高い区ほどよい結果であった。これは、酵素処理魚粉が一般魚粉に比べて消化吸収がしやすいため、飼育成績が向上したと考えられた。スマ養殖では、短期間で成長させることが重要であり、成長促進効果が高い酵素処理魚粉を使用することが有効である。

表 3 試験1の飼育成績

試験区名 (酵素処理魚粉含量)	試験区1 (70%)	試験区2 (45%)	試験区3 (25%)	試験区4 (0%)
開始時平均体重(g)	1.99	1.99	1.99	1.99
終了時平均体重(g)	18.5	11.2	9.72	9.44
増重率 (%)	253	176	145	132
日間増重率 (%)	5.37	4.66	4.40	4.35
増肉係数	0.56	0.90	1.04	1.07
日間摂餌率 (%)	1.44	2.35	2.52	2.50
累積死亡率 (%)	76.0	64.4	64.4	68.4

試験2飼育成績を表4に示す。各区の成長、増肉係数等の飼育成績に差はなく、酵素処理魚粉の有効性は確認できなかった。今回の試験では、増重率が低く増肉係数が高い値を示している。試験の実施期間が、スマの成長が落ちる低水温期にあたり、各区の差が付きづらかった可能性が考えられた。

表 4 試験2の飼育成績

試験区名 (酵素処理魚粉含量)	試験区1 (25%)	試験区2 (12.5%)	試験区3 (0%)
開始時平均体重(g)	740	740	740
終了時平均体重(g)	946	930	944
増重率 (%)	22.9	25.3	26.2
日間増重率 (%)	0.81	0.76	0.81
増肉係数	7.99	7.21	7.29
日間摂餌率 (%)	3.02	2.79	2.92
累積死亡率 (%)	21.1	5.7	8.8

3 尾数測定システムの開発

影の画像認識に対する障害となる濁りが生じているため、画像認識の精度は尾数計数の精度に繋がることから、濁りに対する対策が必要と考えられた。アンサンブル学習を取り入れた魚影認識アルゴリズムの評価を行った。アンサンブル学習を行うことで、実際に魚である魚影に限定した認識結果を得ることが可能となった。その結果、アンサンブル学習を用いた場合は、用いなかった場合に比べて、魚影認識の適合率、再現率等に改善がみられた。

媛スマ養殖用種苗安定供給事業

曽根 謙一・水野 かおり・新野 洋平・石川 豪大

目 的

愛育フィッシュ全体のけん引役として期待される養殖スマの養殖生産量を増加させ、産業として定着させるため、媛スマ養殖低コスト・効率化技術開発試験によって得られる配合飼料の早期餌付け技術により生産の効率化を図り、養殖業者へスマ種苗を安定供給する。

方 法

1 種苗生産

(1) 極早期種苗生産

親魚として、当センターで養成したスマを用い、令和5年4月7日に得られた受精卵520,000粒を円型水槽(S1:水量65kL)に(1R-1)、同年4月8日に得られた受精卵880,000粒を円形水槽(S4:水量65kL)に(1R-2)、同年4月10日に得られた受精卵800,000粒を円型水槽2面(S5、6:水量65kL)に収容し(1R-3)、種苗生産を開始した。飼育水温は23.5–27.0℃に設定した。

日齢2から、タウリンで18時間、さらにバイオクロミス(クロレラ工業株式会社製)及び冷凍ナンノクロロプシス(K-2、クロレラ工業株式会社製)で5時間栄養強化したS型ワムシを、日齢7からマダイふ化仔魚を給餌した。また、S1は日齢10、S4は日齢11から配合飼料(鮪心:日清丸紅飼料株式会社製、アンブロシア:フィード・ワン株式会社製)を給餌した。S1は日齢17、S4は日齢16、S5、6は日齢15で取揚げ、比色法で計数した後、活魚選別器で選別して中間育成に移行した。

(2) 早期種苗生産

令和5年4月19日に、極早期種苗生産と同じ親魚から得られた受精卵1,160,000粒を円型水槽(G1:水量95kL)に(2R-1)、同年4月23日に得られた受精卵440,000粒を円形水槽(G2:水量95kL)に収容し(2R-2)、種苗生産を開始した。飼育水温は24.0–26.0℃に設定した。

日齢2から、極早期と同様に栄養強化したS型ワムシを給餌し、日齢8からマダイふ化仔魚を給餌した。また、G1は日齢9、G2は日齢11から配合飼料を給餌した。G1は日齢20で、G2は日齢16で取揚げ、比色法で計数した後、活魚選別器で選別して中間育成に移行した。

2 中間育成中に発生した疾病

令和5年5月11日から19日にかけて、当センター地先の海面小割生簀へ移送し飼育を続けたところ、死亡が続いたことから、その原因について調べた。

結果および考察

1 種苗生産

(1) 極早期種苗生産

令和5年4月24日に、1R-1を日齢17(全長18.9mm)で13,000尾、1R-2を日齢16(全長17.7mm)で5,600尾、1R-3を日齢15で84,000尾(S5:40,000尾、全長23.4mm、S6:44,000尾、全長20.3mm)取揚げた(表1)。取揚げた種苗は、選別器で分けられたサイズごとに管理し、同年5月6日に35,000尾(全長43.6mm)、5月25日に5,300尾(全長90.0mm)を県内の養殖業者に配付した。

(2) 早期種苗生産

G1は、令和5年5月9日に、日齢20で102,800尾(全長24.9mm)、G2は、同年5月8日に、日齢16で75,000尾(全長23.7mm)を取揚げた(表1)。取揚げた種苗は、選別器で分けられたサイズごとに管理し、同年5月15日に23,780尾(全長49.0mm)、同年5月26日に6,300尾(全長75.0mm)、同年5月30日に12,000尾(全長90.0mm)、同年5月31日に20,000尾(全長90.0mm)、同年6月16日に2,500尾(全長130.0mm)を県内の養殖業者に配付した。

表1 種苗生産結果

水槽No.	収容			取揚げ				
	月日	卵数 (粒)	ふ化仔魚 (尾)	ふ化率 (%)	日齢 実施日	全長 (mm)	尾数 (尾)	生残率 (%)
1R-1	S1 4/7	520,000	330,000	63.5	17	18.9	13000	3.9
1R-2	S4 4/8	888,000	560,000	63.6	16	17.7	5600	1.0
1R-3	S5 4/10	410,000	220,000	53.7	14	23.4	40,000	18.2
	S6 4/10	390,000	250,000	64.1	14	20.3	44,000	17.6
2R-1	G1 4/19	1,160,000	919,000	79.2	20	24.9	102,800	11.2
2R-2	G2 4/23	440,000	317,000	72.0	15	23.7	75,000	23.7

※卵数は重量法、仔魚数は柱状サンプリングによる。

※取揚げの生残率は、ふ化仔魚数から算出した値

2 中間育成中に発生した疾病

海面小割生簀へ移送直後から、体表に1~5mm程度の複数の潰瘍が形成された個体がみられ、それらが原因と考えられる死亡が続いた(図1)。各生簀の日間死亡率は0.4~8.4%、15日目の累積死亡率は23.4~35.0%に達した。また、その後も飼育を続けた2生簀では、30日目の累積死亡率が、51.3%、62.5%に達した。

死亡魚の体表潰瘍部を検鏡したところ、多数の菌糸が確認できた。また、潰瘍部を小川培地に塗布して培養したところ、黒色真菌が分離された。分離された3株の黒色真菌の相同性解析を行った結果、スコレコバシディウム(*Scolecobasidium*)属と高い類似性が認められ、これらが潰瘍形成の原因菌であると推察された。



図1 死亡魚の体表にみられた潰瘍

低水温下におけるマダイ低魚粉飼料の成長性改善試験

(養殖業成長産業化技術開発事業)

新野 洋平*・水野 かおり・曾根 謙一*・石川 豪大

目 的

近年の世界的な養殖生産の増大に伴い、主要な飼料原料である魚粉の価格は高騰し、国内の養殖業における利益率は低迷している。また、世界的なタンパク質供給不足への懸念から、天然水産資源への負担が小さい飼料原料の活用による持続可能な養殖業への転換が求められている。

このような背景から、養魚飼料の低魚粉化は喫緊の課題であり、植物性原料等の種々の魚粉代替原料を利用した低魚粉飼料が開発されてきた。しかし、低魚粉飼料を低水温期に給餌した場合、魚粉主体飼料より摂餌量が少なくなり、成長も低下するとされている。本事業では、主要な養殖魚種であるマダイとブリにおいて、飼料コストを低減し、低水温下においても成長と価格のバランスのよい飼料を消化生理に基づいて開発することを目的としている。

これらの課題のうち、愛媛県水産研究センターでは、本県を代表する養殖対象種であるマダイを対象とし、摂餌を誘引すると考えられる原料を低魚粉飼料に添加した際の飼育成績等を比較することとした。

なお、結果の詳細は、令和5年度養殖業成長産業化技術開発事業報告書のうち、「(1) 養殖魚の低価格・高効率飼料の開発」に記載した。

方 法

飼育試験として、愛媛県で低魚粉飼料を用いて育成し、高成長を示した個体を3世代選抜した系統のマダイに、市販エクストルーテッド飼料（魚粉含量 50%以上）を給餌する対照区と摂餌誘引効果が期待される原料を添加した低魚粉飼料（魚粉含量 30%）を給餌する試験区を設定した。なお、摂餌誘引物質の候補としては3種（A・B・C）の原料を採用し、それぞれ1試験区とした。

飼育試験は、継続的に水温が低下する11～12月（17～21℃）にかけての6週間と水温が低く維持される期間の1～2月（15～18℃）の4週間の2回に分けて実施した。

飼育試験終了後には速やかに魚体重を測定し、日間の成長率や摂餌率、肥満度や増肉係数などの飼育成績を確認した。また、一部の個体については、筋肉中の水分、灰分、粗脂肪や粗タンパク質の割合といった身質の分析を実施した。

結果及び考察

飼育試験終了後の魚体重は、11～12月試験時のB・Cの原料添加区で対照区より僅かに小さかったものの、増肉係数を除く飼育成績や身質については、いずれの試験区においても対照区と比較して大きな違いは認められなかった。増肉係数については、全ての試験区において、対照区よりやや劣っていた。

飼育試験の結果をまとめると、試験終了時の魚体重や飼育成績について、対照区と試験区で大きな違いは認められず、とりわけ低水温が維持される1～2月の間にも同様の結果が得られたことから、今回使用したA・B・Cの原料が低水温下でのマダイの摂餌活性を向上させている可能性が考えられた。養殖現場での飼料費の低減に貢献するためには、これらの飼料原料の添加によるコストの増加より、魚粉含量を低下させることによるコストの減少が十分に大きくなる必要がある。そのため、今後はより魚粉含量を低下させた飼料を使用した場合の摂餌誘引物質の有効性を検討していかなければならない。

*現 農林水産部水産局水産課

県産サーモン開発試験

友田 帆乃香*¹・桧垣 俊司*²

目 的

サーモン需要の高まりに伴い、栽培資源研究所では平成 28 年度からサケ類、特にニジマス海面養殖の本県に適した海水馴致方法や成果品の高付加価値化の試験を実施した。しかし、本県では海面水温や養殖後の小型個体の出現により、県内で事業化された事例は少ない。

そこで本事業では、県内におけるサーモン海面養殖の普及を図るため、これまでの知見や技術を活用し、本県の漁場環境に適したサーモンの系統作出とその養殖技術の確立を目指す。

方 法

1 高成長系統作出試験

育種による高成長系統化を検証するため、所内及び県内養魚場で育成した 2 歳魚を親魚として種苗を作出した。雄親魚として、令和 2 年度の海水飼育試験で高成長を示した親魚を用いて令和 3 年度に作出した偽雄（以下、R3 偽雄）及び同じ親魚から作出した種苗のうち、令和 4 年度の海水飼育試験で高成長を示した種苗（以下、R3 高成長雄）を使用した。雌親魚として、R3 高成長雄と同系統の種苗（以下、R3 高成長雌）を使用した。常法に従って、採卵、洗卵、媒精を行い、ふ化後は所内の循環ろ過水槽で育成を行った。

2 高水温耐性系統作出試験

育種による高水温耐性系統化を検証するため、所内及び県内養殖場で育成した 1 歳魚による高水温耐性試験を実施した。系統は①R2 淡水全雌×R1 偽雄（以下、R4 淡水全雌）、②R2 高水温全雌×R1 偽雄(以下、R4 高水温全雌)を使用した。試験は令和 5 年 12 月 7 日に実施した。淡水を 30℃ に加温した 1kL 円形水槽を用いて、系統ごとに 50 尾を 8 分間浸漬し、13℃ の水槽へ戻した時点での生残率を求めた。

3 系統別海水飼育試験

系統による海水投入後の成長及び生残への影響について検証するため、所内及び県内養殖場で育成した 1 歳魚に各個体へ PIT タグを挿入後、屋外の 50 kL 円形水槽（100%海水）に各種苗を直接投入する手法で、海水飼育試験を実施した。系統は①R4 淡水全雌、②R2 海水全雌×R1 高成長雄（以下、R4 海水高成長）、③R4 高水温全雌、④R2 高成長全雌×R1 高成長雄（以下、R4 高水温高成長）を使用した。試験は 3 区とし（表 1）、内水面Ⅰ区及びⅡ区では県内内水面養魚場で育成していた種苗を、高水温処理区については、2 の手法により高水温処理した種苗をそれぞれ使用した。

結果及び考察

1 高成長系統作出試験

11 月 10 日から 12 月 27 日までの計 5 回の採卵で計 60,739 粒の卵が得られ、2 月 14 日に全雌稚魚 7,105 尾、高成長稚魚 8,322 尾の稚魚を得た。以降の成長比較試験については事業見直しにより未実施となった。

2 高水温耐性系統作出試験

試験終了後の生存率は、R4 淡水全雌が 70.5%、R4 高水温全雌が 58.0%であり、高水温処理由来の系統で高生残率を示すことはなかった。

3 系統別海水飼育試験

各区の飼育結果を表 1 に示した。いずれの区も R4 海水高成長及び R4 高水温高成長群で高い成長率を示した。高水温処理区の生存率が R4 淡水全雌以外低い結果となったが、これは、海水投入後 1 週間での斃死が非常に多く、その後は斃死が落ち着いていたことから、選別や高水温処理などハンドリングによるストレスが原因と考えられる。

親魚が海水での高成長を示した個体を親魚とすると、次世代の生残・成長が良い傾向があると考えられる。海水飼育における高水温に対する各系統への影響については、今後高水温下での継続飼育により明らかにする必要があるが、本事業は見直しにより本年度で終了となったため、試験は未実施となった。

表 1 飼育試験結果

試験区	日数 (日)	尾数 (尾)	平均体長 (mm)	平均体重 (g)	増重倍率	成長率 (%)	生残率 (%)	水温 (℃)
内水面Ⅰ	R4淡水全雌	0	50	251	269.1		100.0	
		35	50	264	381.0	1.41	0.97	100.0
		70	49	288	527.7	1.96	0.89	98.0
		92	41	301	622.9	2.32	0.51	82.0
	R4海水高成長	0	50	262	278.7		100.0	
		35	48	275	427.8	1.53	1.18	96.0
		70	48	306	654.0	2.33	1.16	96.0
		92	45	327	835.2	2.98	1.03	90.0
	R4高水温全雌	0	50	250	329.0		100.0	
		35	50	278	459.6	1.40	0.93	100.0
		70	49	298	604.4	1.84	0.67	98.0
		92	38	318	743.2	2.26	0.50	76.0
内水面Ⅱ	R4高水温高成長	0	50	264	341.0		100.0	
		35	49	293	534.4	1.57	1.26	98.0
		70	49	326	797.2	2.33	1.16	98.0
		92	44	349	995.7	2.91	0.81	88.0
	R4淡水全雌	0	50	248	260.9		100.0	
		35	47	258	356.3	1.36	0.85	94.0
		70	43	277	472.0	1.81	0.74	86.0
		92	26	296	563.9	2.11	0.31	52.0
	R4海水高成長	0	50	261	276.6		100.0	
		35	49	276	431.0	1.56	1.24	98.0
		70	47	309	654.3	2.37	1.13	94.0
		92	44	327	801.3	2.92	0.79	88.0
高水温処理区	R4高水温全雌	0	50	251	328.4		100.0	
		35	50	275	448.3	1.36	0.85	100.0
		70	49	296	603.4	1.83	0.75	98.0
		92	44	309	669.3	2.05	0.28	88.0
	R4高水温高成長	0	50	264	341.5		100.0	
		35	49	295	532.0	1.55	1.23	98.0
		70	49	325	791.7	2.32	1.07	98.0
		92	46	338	921.8	2.71	0.50	92.0
	R4淡水全雌	0	75	257	277.7		100.0	
		32	74	263	370.3	1.33	0.85	98.7
		67	66	288	513.7	1.84	0.86	88.0
		91	59	304	647.6	2.32	0.74	78.7
高水温処理区	R4海水高成長	0	75	242	242.8		100.0	
		32	48	254	345.9	1.43	1.08	64.0
		67	44	281	536.9	2.23	1.16	58.7
		91	41	304	675.0	2.79	0.81	54.7
	R4高水温全雌	0	75	209	156.9		100.0	
		32	15	224	234.8	1.40	1.03	20.0
		67	14	249	325.4	1.96	0.88	18.7
		91	12	261	378.6	2.25	0.68	16.0
	R4高水温高成長	0	75	225	193.4		100.0	
		32	44	239	284.1	1.45	1.13	58.7
		67	41	266	415.9	2.12	1.03	54.7
		91	39	285	528.3	2.69	0.93	52.0

*¹ 現 南予地方局農林水産振興部水産課 *² 退職

アコヤガイへい死緊急対策事業

I 環境資源室

関 信一郎・三門 哲也

目 的

令和元年から国内各地の真珠養殖漁場において発生しているアコヤガイ稚貝の大量へい死に及ぼす漁場環境の影響を明らかにすることを目的とした。

方 法

各漁場の水温及び溶存酸素濃度をモニタリングするため、当県及び宇和海水温情報運営管理協議会が愛南町家串・油袋地区、宇和島市津島町曾根・須下地区及び宇和島市下波地区の3m及び5m層に設置した水質観測センサーのデータを収集した。

結 果

3地点の5m層における午前10時の水温の推移を図1-3に示した。油袋および下波地区では、7月から9月ごろにかけて、黒潮由来の暖水波及によるとみられる水温の乱高下がみられ、平年より高めで推移した。なお、須下地区では、機器を設置している浮棧橋の補修工事のため夏季のデータが欠測となった。

また、3地点の3m層における1日平均の溶存酸素濃度の推移を図4-6に示した。機器の故障や付着生物の影響による欠測期間があるものの、アコヤガイの生残に影響を与える値は確認されなかった。



図1 水温の推移（油袋地区）

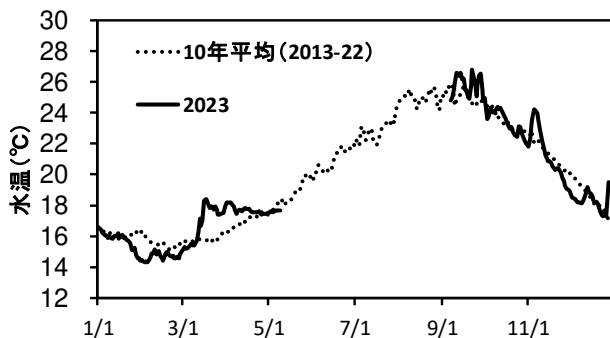


図2 水温の推移（須下地区）

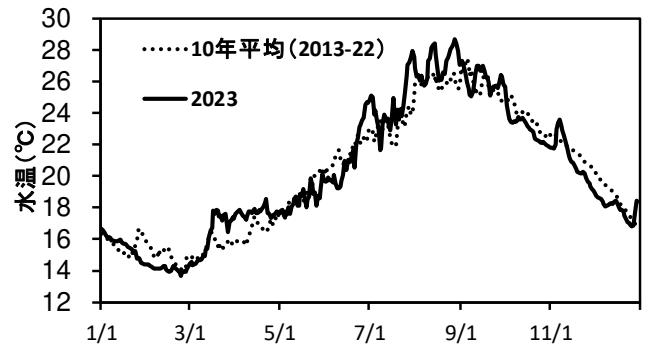


図3 水温の推移（下波地区）

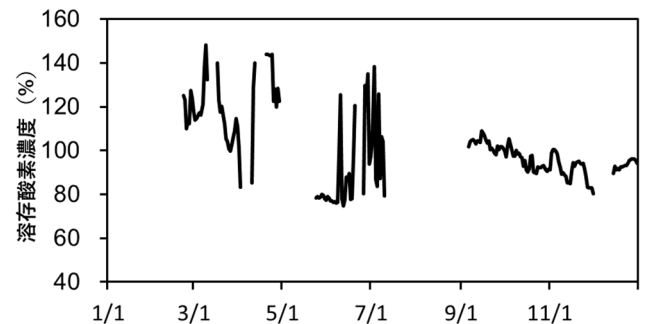


図4 溶存酸素濃度の推移（家串地区）

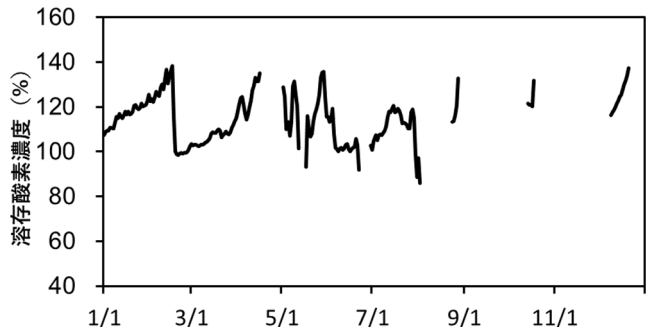


図5 溶存酸素濃度の推移（曾根地区）

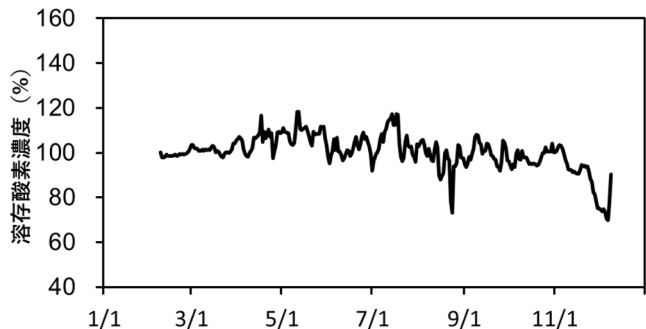


図6 溶存酸素濃度の推移（下波地区）

アコヤガイへい死緊急対策事業

Ⅱ 養殖推進室

西川 智・中岡 典義・森 創太

目 的

令和元年の夏から発生しているアコヤガイの大量へい死の原因を究明するとともに、生残率向上を図るための養殖手法を検討する。また、高水温、低餌料環境でも高生残が期待できる貝の選抜育種を行い現場に普及する。

方 法

1 モニタリング調査

令和4年春生産の母貝は、貝殻または貝肉の異常、閉殻筋の赤変化及びグリコーゲン含量並びにへい死率を、令和5年春生産稚貝は、貝殻または貝肉の異常及びへい死率を調査した。

2 殻体運動計測

アコヤガイの殻の開閉運動を調査するため、当センター地先に設置した貝リングル（東京測器研究所製）により、水深3.5mで飼育した日中交雑貝3年貝の開閉運動を、1秒間隔で連続観測を行うとともに、同じ水深に係留型クロロテック（JFEアドバンテック社製）を垂下し、水温、クロロフィルa量及び濁度を、1時間間隔で連続観測した。

3 養殖手法改善試験

令和5年5月24日に生産した日中交雑貝を、日齢36日目の6月29日に宇和島市下波の海面と栽培資源研究所（伊予市）内の陸上飼育に分け、定期的に測定を行った。なお、陸上飼育は、室温25℃の屋内の0.5トン水槽2面に各5千貝収容し、砂ろ過海水を1回転/日注水し、市販の濃縮プランクトン餌料を連続給餌または朝夕2回に分けて与えた。

4 耐病性遺伝子マーカーの検索

感染症を発症しないアコヤガイが特異的に持つ遺伝子を検索するために、本感染症の特徴である貝殻異常の有無で区別し、全ゲノム配列を取得した。

結果および考察

1 モニタリング調査

令和元年度から毎年、宇和海全域で、ウイルス感染による稚・母貝の異常^(※1)が確認されており、異常貝には貝肉の萎縮や真珠層の異常（褐変、脱灰、段）が確認され、稚貝を中心に大量へい死が発生している。

2年貝では、前年と同様、6月中旬の調査時にウイルス感染時にみられる真珠層の褐変が初出現し、その後、調査期間を通して、病状の回復に伴う貝殻内面の段が確認されたが、異常死は中・南部海域で最大10%程度であり、閉殻筋の赤変化^(※2)は確認されなかった（図1）。閉殻筋グリコーゲン含量は、中・南部海域で7月以降減少傾向であったが、健康度の指標となる3%を下回ること

はなかった（図2）。

稚貝では、宇和海中部海域で7月6日の調査において、令和5年春生産稚貝の一部に、へい死と真珠層の異常が初確認された。8月中旬以降は新たなへい死個体の出現は低下し、稚貝のへい死率は令和元年以降最も低かった（図3、4）。しかし、1~3月生産貝のへい死率が最大70%程度に対し、4月以降の生産貝がほぼ全滅であったことから、次年度は早期採卵が進むものと考えられた（図5）。

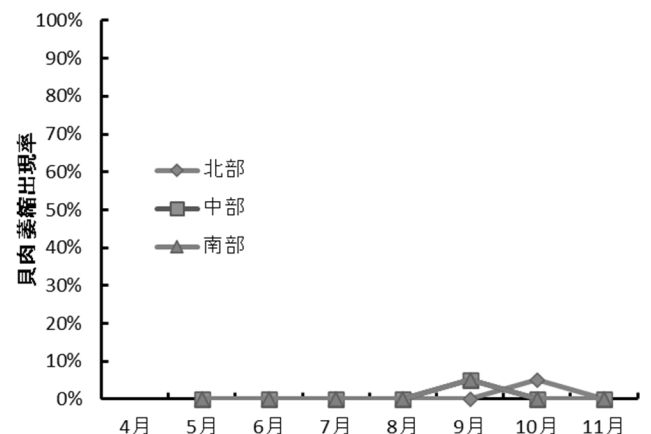
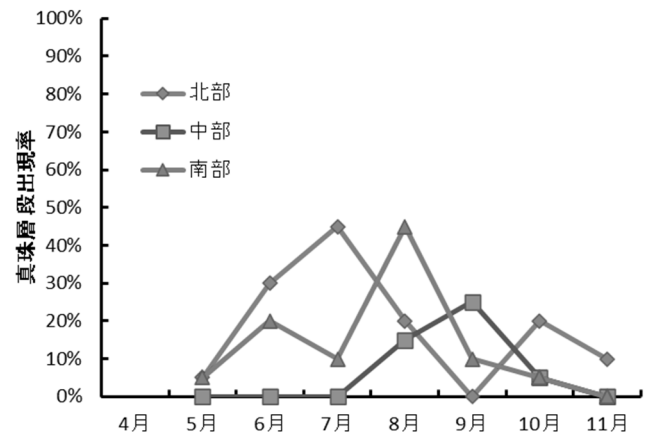
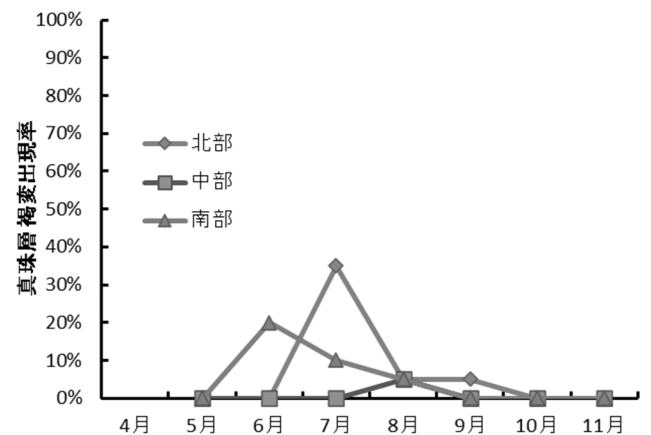


図1 貝殻又は貝肉に異常が確認された母貝の出現率の推移

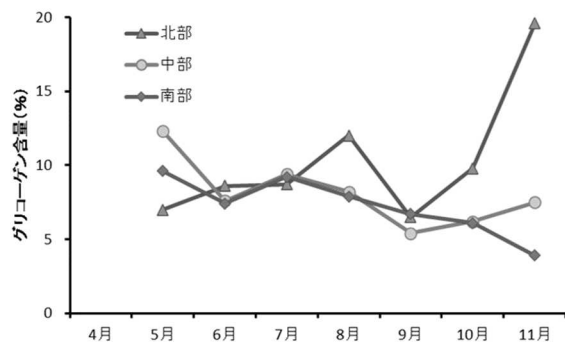


図2 閉殻筋のグリコーゲン含量の推移

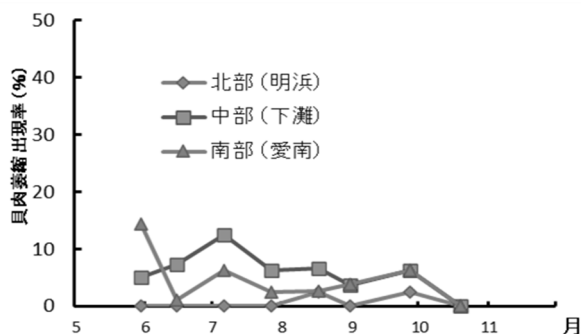
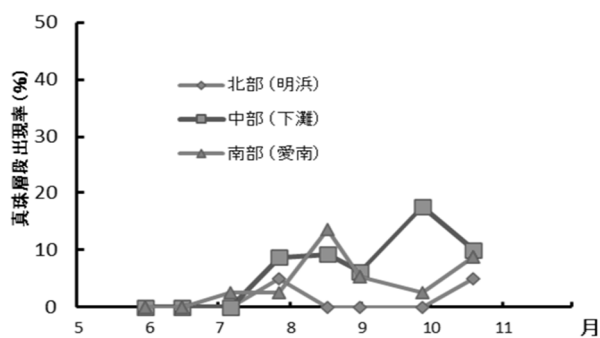
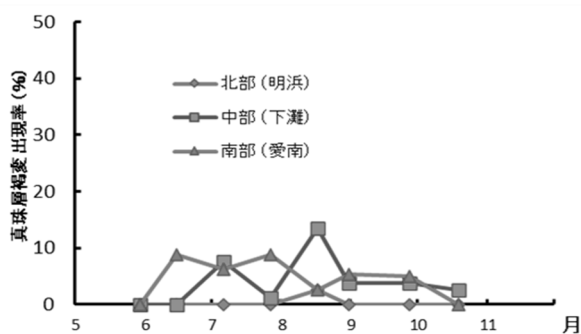


図3 貝殻又は貝肉に異常が確認された稚貝の出現率の推移

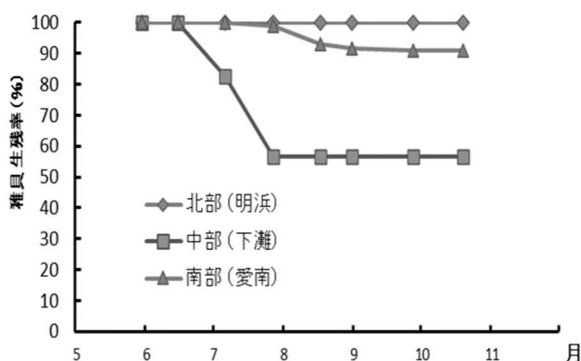


図4 稚貝の生残率の推移

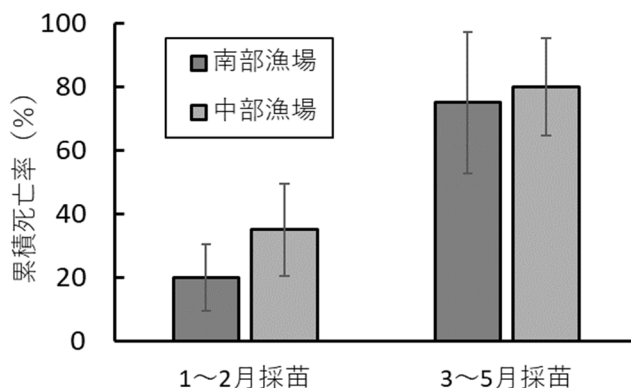


図5 採苗時期による稚貝のへい死率

2 殻体運動計測

図6に貝リングルの解析結果を示す。貝が嫌悪や忌避を示したと推定される2時間以上の閉殻頻度は、昨年に比較して高くなっている。特に8月中旬以降は高頻度で観測されている。

貝リングルを設置している宇和島市下波の水産研究センター地先では、7月上旬から8月上旬にかけて、危険濃度を超えるカレニア・ミキモトイ赤潮が観測されているが、同時期に異常な挙動と稚・母貝のへい死は確認されていない。

しかし、真珠養殖業者からの聴き取りから、閉殻頻度が多く観測された8月中旬以降、カレニア・ミキモトイ赤潮発生中に挿核した貝及び養生中に同赤潮に暴露した貝にへい死と脱核が目立ち、生残した貝から浜揚げされた真珠は有機層に覆われたクズ球の出現率が高いことが確認された。カレニア・ミキモトイ赤潮は、アコヤガイ無害であると認識されているが、同赤潮発生中には挿核作業と養生には注意が必要であると考えられた。

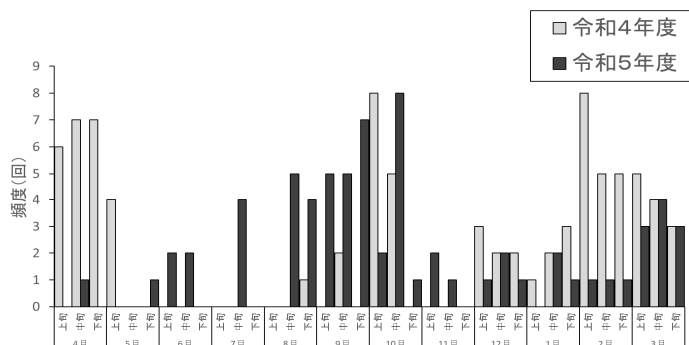


図6 2時間以上閉殻した頻度の月別推移

3 養殖手法改善試験

図7に試験貝の成長を示す。日齢145日目の10月16日には、海面飼育では累計へい死率が約30%であったが、陸上飼育ではへい死は確認されなかった。しかし、陸上飼育では、連続給餌区及び間欠給餌区ともに大量減耗はなかったが、海面飼育の対照区に比べて著しく成長が劣り、特に貝殻が薄く(稜柱層が充実せず)脆弱なままで、内面の真珠層の形成も不十分だった。

また、陸上飼育では、陸上水槽から海面に移した後の

生育が未知なため、今後は追跡調査と飼育環境（餌、水流等）の改善を試みる予定である。

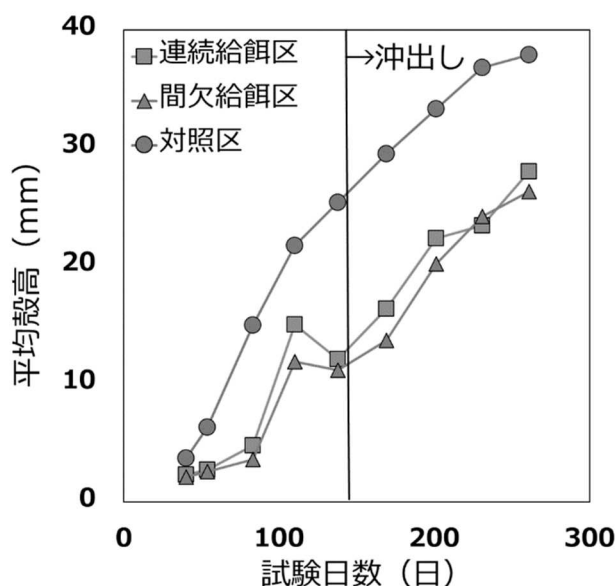


図7 陸上飼育稚貝の成長経過

4 耐病性遺伝子マーカーの検索

令和3年度に当センターで作出した日本貝を対象に、図8のように本感染症の特徴的な症状である貝殻真珠層の異常（凹凸）に着目し、50個体（正常群25個体、異常群25個体）を選別した。

選別した個体の閉殻筋からDNAを抽出し、NBSEQ-G400（MGI Tech社製）を用いて、 2×150 bpの条件でシーケンシング解析を行った。今後は、得られた配列データの解析を行い、貝殻異常がない個体に特有の配列、すなわち耐病性に関与していると考えられる領域の検索に取り組む予定である。



図8 ゲノム解析に供したアコヤガイの貝殻

※1) 「アコヤガイの大量死の原因病原体を特定」 令和4年

2月1日 水産研究・教育機構ウェブサイト

<https://www.fra.go.jp/home/kenkyushokai/press/pr2021/20220201.html>

※2) 愛媛県宇和海における軟体部の赤変化を伴うアコヤガイの

大量へい死. 森実 庸男, 滝本 真一, 西川 智, 松山 紀彦, 蝶野 一徳, 植村 作治郎, 藤田 慶之, 山下 浩史, 川上 秀昌, 小泉 喜嗣, 内村 祐之, 市川 衛, 魚病研究 36 (4), 207-216, 2001.

アコヤガイへい死緊急対策事業

Ⅲ 魚類検査室

板野 公一

目 的

令和元年の夏季以降、国内各地の養殖アコヤガイで稚貝のへい死や特徴的な異常（貝殻内面の褐変等）が発生し問題となっており、本県においても真珠・真珠母貝養殖業に大きな被害を与えている。これまでの調査・研究で、その原因は新種のウイルスによる感染症と判明している。

本調査では、本症の被害軽減対策の一助とすることを目的として、前年度に実施した種苗生産時の垂直感染や、発生海域での水平感染の可能性を再検討するとともに、アコヤガイ以外の生物による感染の可能性など、感染経路について検討を行った。

また、母貝より稚貝の被害が大きいことから、稚貝のサイズで本ウイルスへの感受性に差があるか検討を行うとともに、稚貝の自然免疫記憶および自然免疫刺激の効果を確認する目的で、発生海域での垂下試験を行った。

方 法

【垂直感染】

調査は、2023 年に行った種苗生産 5 回分について行った。生産に使用する親貝は、本症発生海域で養殖されたオス 26 個、メス 27 個の計 53 個を使用した。種苗は、生産回次に対し 1 回、沖出し前にサンプリングを行った。親貝は外套膜を 50mg、稚貝は飼育水を遠心分離した沈渣 50mg をサンプルとした。これらのサンプルからの RNA 抽出は TRIzol を用い、本ウイルス遺伝子の検出はリアルタイム PCR 法（以下、qPCR）で行った。

【水平感染】

発生海域におけるウイルス動態の調査は、愛南町家串地先で行った。供試貝は、2022 年に生産され、発生海域で飼育した越年貝および 2023 年春に生産された稚貝を使用した。調査は越年貝を 1 月に、稚貝を 3 月に垂下してサンプリングを行った。サンプルは、越年貝は 3 個／回、稚貝は成長に応じて 15 個～70 個／回採取した。また、海水は垂下地点の周辺 4 地点で採水した。調査期間は、1 月から 7 月末まで計 25 回行い、海水からのウイルスの回収は、鉄凝集後、0.8 μ m フィルターでろ過した（Kawato et al. 2016）¹⁾。これらのサンプルについて、qPCR 法を用いて本ウイルス遺伝子の検出を行った。

【その他の生物】

アコヤガイ以外の生物による感染の可能性についての調査は、水平感染の調査に併せて行った。調査対象は、稚貝を収容した飼育籠中に生息する等脚目 145 個体を採取し、qPCR により本ウイルス遺伝子の検出を行った。サンプルは 2 日間飼育し、その間、滅菌海水により 3 回洗

浄して供試した。プランクトンの調査は、4 地点について 500ml の海水サンプルを 8 μ m のフィルターでろ過し、qPCR 法を用いて本ウイルス遺伝子の検出を行った。

【サイズ別感受性試験】

供試貝は、2023 年春に生産され非発生海域で飼育した稚貝を用いた。試験区は、平均殻長 4、9、15、20 および 25mm の 5 区を設け、各区 12～24 個とした。ウイルス液は、水産研究・教育機構水産技術研究所病理部から供与されたものを使用し、人為感染を行った。

感染は、25℃の滅菌海水 18ml に感染液を 2ml 添加して 1 時間浸漬後、供試貝を個別に細胞培養用 6well プレートに収容し、毎日、飼育水を交換した。感染後 48 時間、72 時間、96 時間および 2 週間後に各 well の飼育水を採水し、qPCR で感染の有無及び本ウイルスの動態を調べた。試験は、約 1 カ月間観察し、各試験区の死亡率を求めた。なお、対照区は、滅菌海水で浸漬した区を設け、感染試験区と同様に飼育を行った。

【免疫記憶試験】

試験は、水平感染試験に供試した令和 5 年春に生産された稚貝を使用した。試験区は、水平感染調査で稚貝から本ウイルス遺伝子を確認したのち、稚貝を水深 2m に垂下した A 区、水深 2m から水深 20m へ垂下した B 区（水深 2m→20m）、水深 2m から水深 20m へ垂下し、再び水深 2m に吊り上げた C 区（水深 2m→20m→2m）、を設けた。また、感染が確認される前に水深 20m に垂下した D 区（水深 20m）を合わせ計 4 区とした。供試貝は、各区 200 個とし、試験終了時に各区の生残個体から qPCR により本ウイルス遺伝子の検出と本症の症状の有無を確認するとともに、死亡個体を計数した。

【免疫刺激試験】

試験は、2023 年 5 月に生産された殻長 2mm の稚貝を使用した。試験区は、免疫刺激区と対照区を設けた。免疫刺激区は、供試貝 1,863 個を 0.1mg/ml となるようろ過海水で調製した Poly (I:C) (HMW) (InvivoGen) に 1 時間浸漬させ、陸上施設で 1 週間飼育を行い、その後発生海域に垂下した。対照区は、供試貝 1,433 個を海水に 1 時間浸漬させ、同様に飼育し垂下した。刺激中および陸上施設内の飼育水温は 23℃とした。

結 果

【垂直感染】

親貝のオスでは 13 プール中 1 プール、メスでは 27 プール中 6 プールからビルナウイルスの遺伝子が検出さ

れた。一方、稚貝からは本ウイルスの遺伝子は検出されなかった（表 1）。

表 1 垂直感染の結果

生産回数	親 貝	稚 貝
	♂	
	1/9プール	
5 (1/11～3/22)	(陽性率 3～19%)	0/15
	♀	
	2/16プール	
	(陽性率 7～19%)	
水 温	21-22℃	25℃

※♂：26 個体、♀：27 個体を調査
各プールの収容個体は 1～4 個体とし、陽性率は個体数で算出（最小値～最大値）

【水平感染】

発生海域での本ウイルスの動態について、当海域で飼育した越年貝では、調査開始時の 1 月から遺伝子が確認され、調査終了時の 7 月末まで継続して検出された。稚貝では、5 月下旬の調査で初めて遺伝子が検出された。一方、海水は稚貝から本ウイルス遺伝子が検出される前の 5 月上旬に検出された（表 2）。

表 2 発生海域でのウイルス動態

	調査月										
	1月	2月	3月	4月	5月(上)	5月(中)	5月(下)	6月(上)	6月(中)	6月(下)	7月
越年貝	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
海 水	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
稚 貝	NT	NT	-	-	-	+	+	+	+	+	+

※NT：No test

【その他の生物】

アコヤガイ以外の生物調査では、稚貝から本ウイルス遺伝子が検出された後に、プランクトンおよび等脚目で本ウイルス遺伝子が検出された。

【サイズ別感受性試験】

攻撃後の本ウイルス遺伝子量と検出率を図 1、2 に示す。本ウイルス遺伝子量は、4mm 区および 9mm 区で高いコピー数（log2～3.6 コピー/2ul）を示す個体が多く、15mm、20mm および 25mm 区では、個体によって高い値を示すものの 4mm および 9mm 区と比べ低い傾向にあった。一方、ウイルスの検出率は、各試験区とも攻撃後 48 時間では 80%以上と、感染は稚貝の大きさに関係なく高い傾向を示し、経過時間とともに検出率は低下した。

各区の累積死亡（衰弱）率を図 3 に示す。今回の感染試験では死亡個体が少なく、各区とも 1～2 個体であったことから、死亡個体に加え外套膜の萎縮およびプレートに基着しなくなった衰弱個体を含め死亡（衰弱）率と表現した。4mm および 9mm 区は、感染後 14 日目に衰弱した個体が見え始め、試験終了後の死亡（衰弱）率は、

それぞれ 58.3 および 37.5%となった。一方、15mm 以上の試験区の死亡（衰弱）率は、8.3～16.7%と 4mm および 9mm 区と比べ低く推移した。なお、滅菌海水で飼育した区では死亡および衰弱した個体はなかった。

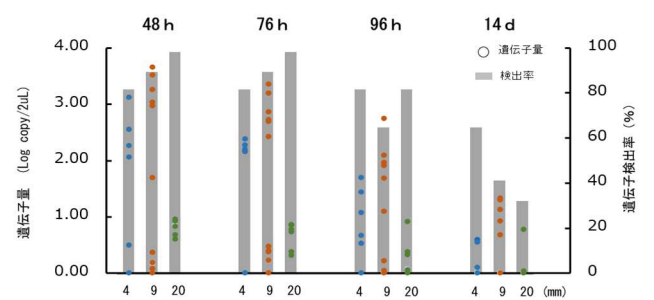


図 1 飼育水中のウイルス遺伝子量と検出率の変化（4mm～20mm）

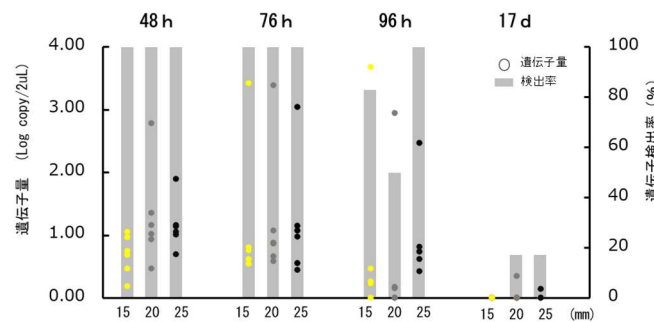


図 2 飼育水中のウイルス遺伝子量と検出率の変化（15mm～25mm）

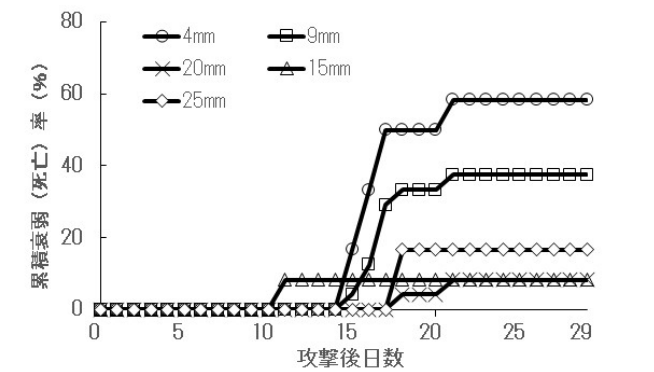


図 3 各試験区の衰弱（死亡）率の推移

【免疫記憶試験】

試験終了後の死亡率、段形成率および qPCR の結果を表 3 に示す。

各区とも死亡率や段の形成率に有意な差は認められなかった。一方、本ウイルスの遺伝子は、A および B 区の浅く垂下した区から検出され、深く垂下した C および D 区からは検出されなかった。

表3 稚貝での自然免疫記憶試験の結果

試験区	供試数	死亡率(%)	段形成率(%)	qPCR
A	200	11	4.5	陽性
B		4	10.4	陽性
C		5	8.4	陰性
D		14	5.2	陰性

【免疫刺激試験】

海面に飼育期間中の死亡状況と供試貝の本ウイルス遺伝子量を表4に示す。両区とも飼育期間中に目立った死亡は確認されなかった。本ウイルスの遺伝子は、海面に垂下後16日目のサンプリングで対照区から検出され、垂下後27日目では遺伝子量は増加した。一方、刺激区からは検出されなかった。試験期間中の水温は23℃～28℃で推移し、垂下後27日目の両区の平均殻長は9mmであった。なお、以降の調査は悪天候により中止した。

表4 免疫刺激剤の投与効果

試験区	調査日	供試数	死亡数	PCR結果	コピー数 (copy/mg)
刺激区	16日目	1,863	0	—	—
	27日目			—	—
対照区	16日目	1,433	0	+	10
	27日目			+	155

※試験終了時の殻長は、AおよびB区で20mm、CおよびD区で15mm

考 察

アコヤガイ稚貝で見られる大量死の感染経路について調査した結果、養殖漁場では、稚貝から本ウイルス遺伝子が確認されるまでの間、飼育籠で観察される等脚目や海水中のプランクトンから遺伝子は検出されなかったことから、これら生物が本ウイルスを媒介する可能性は低いと思われる。一方、発生海域で飼育した越年貝は、一定量のウイルスを保有していること、海水中から遺伝子が検出されること、これまでの研究において感染母貝と稚貝との同居感染が成立することなどから、養殖漁場では感染母貝が海水中にウイルスを排出することで稚貝へ水平感染が起こっているものと考えられた。

養殖現場では、殻長20mm程度の大きさに成長した稚貝は、本ウイルスによる被害が少ないとされている。サイズ別感受性試験の結果からも成長にともないウイルスの影響は受けにくい結果が得られたことから、被害を軽減するうえで、漁場内にウイルスがまん延する初夏までに早めに養殖を開始するなどの対策が必要である。

コイのKHVでは、感染耐過した親魚がウイルスを排出しても、仔魚が感染を受ける危険性は低いことが報告されている(Ito et al., 2007)²⁾。本調査の結果から、外套膜を含めた各器官が未発達な幼生や生産直後の種苗からは本ウイルスの遺伝子は検出されず、殻長4mm以上の個体で感染が確認された。生産直後の貝に対する攻撃試験を行っていないことから一概に比較できないものの、貝の成長過程において本ウイルスに感受性を示す細胞

分化の可能性がある、二枚貝でもコイのKHVのような現象が起こるのではないかと推察され、人工種苗が養殖漁場での大量死の直接的な原因となる可能性は低いものと考えられた。

魚類では、RNAウイルスに対する感染防御法として、Poly (I:C) を用いたインターフェロンの誘導による自然免疫の活性化により、抗ウイルス状態となることが報告されている(吉水ほか,2013)³⁾。また、アコヤガイと同じ二枚貝のカキでは、Poly (I:C) で処理した親から生まれた幼生にヘルペスウイルスを感染させた結果、生残率が向上することが報告されている(Green et al.,2016)⁴⁾。今回、感染防御の活性を促す目的で、Poly (I:C) で処理した稚貝を発生海域に垂下した結果、処理区では約1ヵ月間、遺伝子が検出されなかったことから、一定の効果があつたものと考えられた。Poly (I:C) の投与は、特異抗体をもたない二枚貝において、自然免疫を活性化させ感染防御効果を高めるものと推察され、ウイルスがまん延する初夏での被害の軽減が期待できるものと考えられた。今後は、より強い感染防御活性を付与するため、免疫を付与する稚貝の大きさや浸漬時間、濃度、温度および浸漬回数などの処理方法について検証する必要がある。

自然免疫記憶の試験では、ウイルスの至適増殖温度より低い20℃付近において緩やかにウイルスに感染させ、その後、垂下する水深をかえることにより水温調整を行い、死亡状況等の観察を行った。令和2年以降、令和4年まで、養殖現場では2m深に垂下した稚貝は6月から7月にかけて大きな死亡が認められたが、今回の試験ではA区およびB区で本ウイルスの遺伝子が検出された以外は、各区の死亡率や本症特有の症状である段の形成率に大きな差は認められず、免疫記憶の有無を確認することはできなかった。A区で大きな死亡が認められなかった理由は不明だが、耐病性育種が進んでいる可能性もある。

今後は、稚貝や種苗生産に使用する親貝への免疫刺激・免疫記憶の調査を行うなど、自然免疫機能を活用した感染防除法の検討を行う必要がある。

本事業は、令和5年度水産防疫対策委託事業の助成で行った。

【参考文献】

1) Yasuhiko Kawato ,Takafumi Ito,Takashi Kamaishi , Atushi Fujiwara,Mitsuru Ototake,Toshihiro Nakai ,Kazuhiro Nakajima (2016). Development of red sea bream iridovirus concentration method in seawater by iron flocculation. Aquaculture, 450,308-312.

2) Takafumi Ito,Motohiko Sano,Jun kurita,Kei Yuasa and Takaji iida(2007). Carp Larvae Are Not Susceptible to Koi Herpesvirous.Fish Pathology,42(2),107-109.

- 3) 吉水 守,笠井久会,西澤豊彦,高見生雄,大迫典久,Oh Myung-Joo(2013).養殖現場を視野にいた魚類ウイルス RNA ワクチンの実用化.科学研究費助成事業研究成果報告書,平成 25 年 5 月 20 日.
- 4) Timothy J Green, Karla Helbig, Peter Speck, David A Raftos(2016). Primed for success:Oyster parents treated with poy(I:C)produce offspring with enhanced protection against Ostreid herpesvirus type I infection. j.molimm,2016.Oct:78,113-120.

真珠母貝仕立技術開発事業

西川 智・中岡 典義・森 創太

目 的

アコヤガイの大量へい死に対応するため、感染症に強い新たな選抜育種貝や外国産貝の導入が進んでおり、従来の経験や勘に依存する取り扱い技術では浜揚げできた真珠もシミや傷が多いなど、良質な真珠の比率が低い。この問題を解決するため、業者独自の勘と経験で行われていた母貝の「仕立（抑制）」を科学的・定量的に明らかにして、真珠養殖業者間で大きな差のあった真珠の製品率を高いレベルで安定化させる。

方 法

宇和島市三浦の真珠業者2業者の下で、県内産日中交雑貝と県外産ペルシャ貝の3年貝を用いて、春挿核（抑制）と夏挿核（短期抑制+オゾン処理）に分けて各試験区140貝について実施した。真珠層の追跡は、直径1.0mmのタングステンカーバイト球を包埋した2.1分核を挿核した挿核貝を、翌年1月の浜揚げ時まで定期的に、軟X線撮影装置(SOFTEX 社製 CMBW-2)を用いてX線画像を撮影し、画像（図1）をパソコンに取り込み解析を行った。浜揚げ時には個体別に肉質と真珠品質を評価するとともに、珠の一部をエポキシ樹脂に包埋し、ダイヤモンドカッターを用いて0.8mmの薄片に切断して真珠層の断面を観察した。

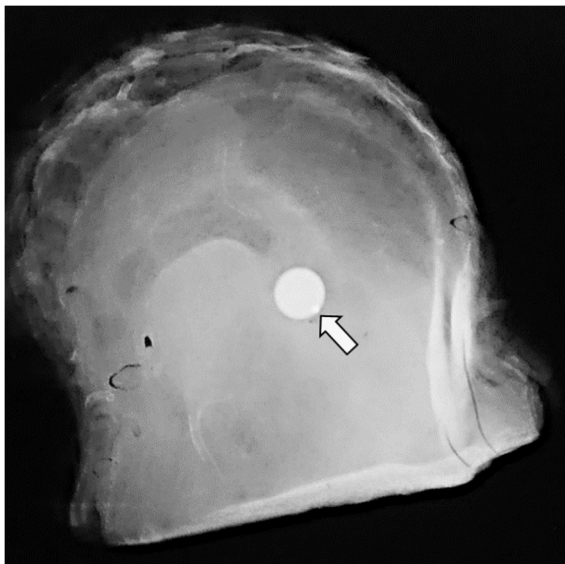


図1 挿核貝の軟X線画像

（矢印の白く映る部分はタングステンカーバイト球の位置を示す）

結果および考察

挿核作業は4～7月（春挿核）から8～9月（夏挿核）にかけて行われ、前年12月頃から予め抑制作業を行うが、夏挿核では抑制期間が長くなり貝に負担がかかるため、短期抑制とオゾン処理により貝を仕立てている。浜揚げした珠を評価すると、春挿核貝の商品率は日中交雑貝61.6%、ペルシャ貝23.2%、夏挿核貝はそれぞれ33.3%と47.2%であり、抑制による春挿核では、ペルシャ貝から商品珠を出すのは困難であることが確認された（図2）。

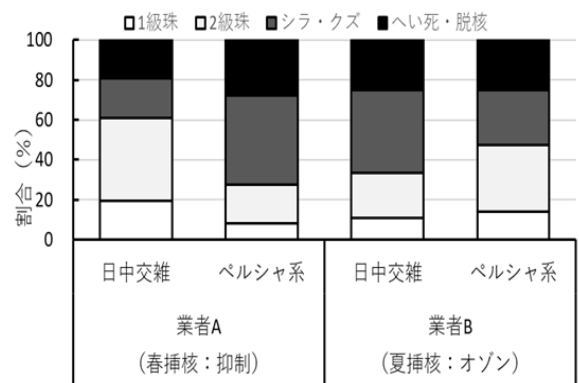


図2 貝の種類と真珠の品質

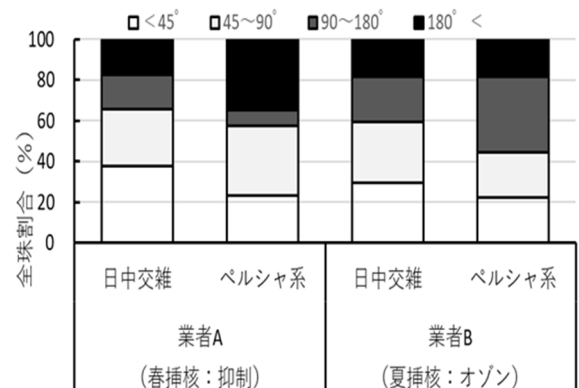


図3 貝の種類と真珠の回転

X線画像により核の挙動を解析すると、ペルシャ貝は日中交雑貝よりも核の回転角度が大きく（図3）、回転角度と珠の品質をみると、回転角度が大きくなると1級品の割合が低くなる傾向がみられ、抑制のペルシャ貝では90度以上回転した核には1級品珠は出現しなかった（図4）。また、2級品珠とクズ珠の多くには突起やシミの形成が確認され、X線画像解析から突起の91.2%が端先側に出現しており、挿核時の傷口に起因していると考えられた。

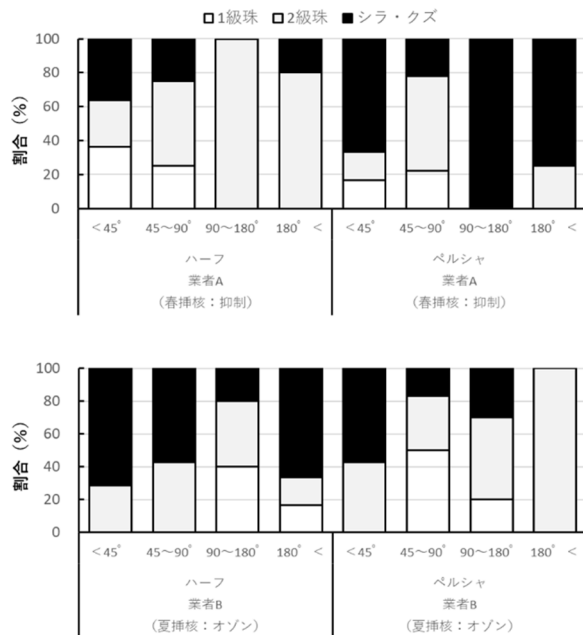


図4 珠の回転と真珠品質

珠の断面を観察すると、核直上の巻出しの部位に異常が確認され、異常の確認された部位で真珠袋の形成不良が発生したと推察された。また、浜揚げ時の貝の肉質と、珠の品質を比較すると、両者は一致しておらず、肉質の良い貝にはシラ・クズ珠の割合が多く、この傾向はペルシャ貝で顕著であった（図5）

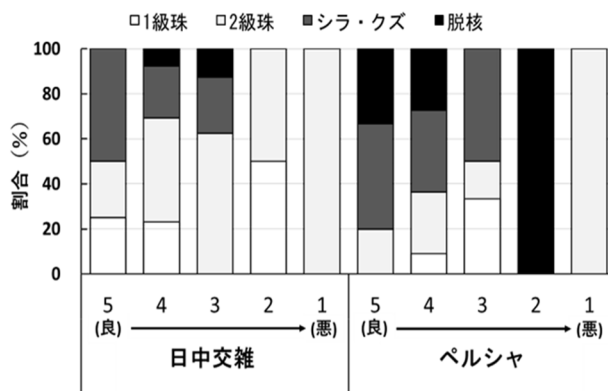


図5 浜揚げ時の貝の肉質と真珠品質

これらの結果から、ペルシャ貝を導入するためには新たな養殖・仕立技術の開発が不可欠であり、真珠品質は、真珠袋の形成と挿核作業に伴う傷の修復が大きく関与していることが推察された。

高水温耐性ノリ作出技術開発試験

榎 浩樹・関谷 真一*・平田 伸治・喜安 宏能

目 的

近年、全国的な問題となっている漁場の高水温化に伴う養殖ノリの不作への対策として、各県で漁場環境に適応した高水温耐性株の作出が進んでいるが、他県で開発された株は県外には提供されていない。

このため当所では H30-R2 年度まで、高水温下でも養殖可能な品種の作出に取り組み、候補となる株の選抜に成功した。

本事業では、同候補株を用いて室内培養試験及び養殖試験を実施し、本県でのノリ養殖漁場に適したオリジナル品種の作出を進める。

方 法

1 高生長・高水温耐性株の選抜育種

(1) 室内培養試験

前年度試験において、選抜・保存した高水温耐性候補株と、対照株として国立研究開発法人水産研究・教育機構が実施している水産生物遺伝資源保存事業により配布を受けた株 (U-51 株) を用いてカキ殻糸状体を作製、成熟させた。糸状体から放出された殻胞子を 4cm 長のクレモナ単糸に付着させ、ノリの生育には高水温となる 24℃ で 7 日間培養した後、適水温である 18℃ で 14 日間培養をおこない、葉長と高水温障害により生じるくびれ (組織の多層化) の数を計測し、高水温耐性を評価した。また、同時に 18℃ で 21 日間の培養試験をおこない、適水温での特性を評価した。

(2) 野外養殖試験

前年度試験において育成を開始した、選抜株及び対照株 (U-51 株) のカキ殻糸状体をそれぞれ成熟させ、採苗用ポリ袋に収容し、10 月 26 日に支柱式漁場で採苗を実施した。採苗には 1.8m×21.0m のノリ網を用いた。10 月 31 日にカキ殻糸状体を撤去、育苗を開始して高水温耐性を評価した。11 月 20 日に一部の網を冷凍保管し、12 月 24 日にこの網を浮き流し式漁場に設置して、適水温期における特性を評価した。

養殖試験期間中、水温は漁場に設置した自動計測装置 (米国オンセットコンピュータ社製 HOBO U22 ウォーターテンププロ v2) により 1 時間毎に測定した。

2 ノリ養殖漁場環境調査

愛媛県西条市沿岸のノリ養殖漁場 8 定点において (図 1)、令和 5 年 10 月 12 日から令和 6 年 3 月 7 日まで毎週 1 回漁場環境調査を実施し、水温、塩分を AAQ175 (JFE アドバンテック社製) で、表層水の栄養塩濃度

(NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、PO₄-P) を QuAAtro 39 (ビーエルテック社製) で分析した。また、表層水中の珪藻細胞数についても計数した。この他、上島町弓削 (以下、弓削地区) から持ち込まれるサンプルについても、同様に分析と計数を行った。なお、測定結果については「ノリ養殖漁場栄養塩速報」として取りまとめ、愛媛県漁協ノリ養殖関係支所等へ FAX で情報提供するとともに、本研究所ホームページに掲載、広報した。

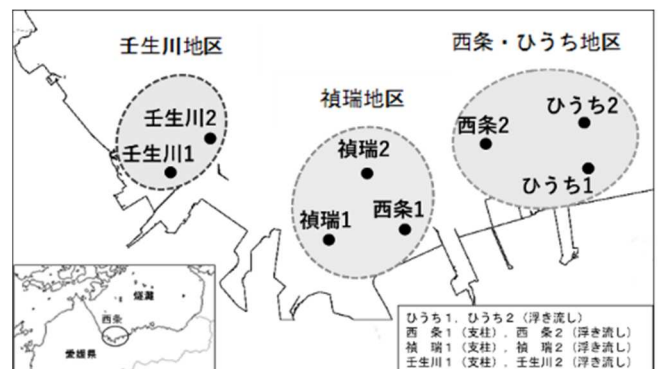


図 1 西条市沿岸の調査定点

ノリ葉体の生理状態の確認のため、養殖ノリの色調測定も行った。漁場環境調査時に、壬生川 2、禎瑞 2、西条 2、ひうち 1 地点近傍の養殖網からノリ葉体を採取し、室内において、白色アクリル板の上に広げ、色彩色差計 CR-20 (コニカミノルタ社製) で L*値を測定した。弓削から持ち込まれる葉体サンプルについても同様に測定した。

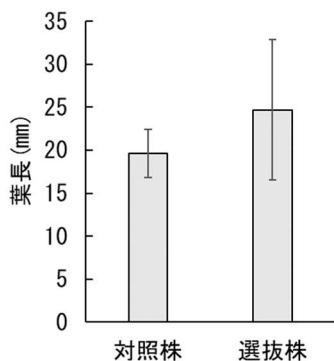
結果及び考察

1 高生長・高水温耐性株の選抜育種

(1) 室内培養試験

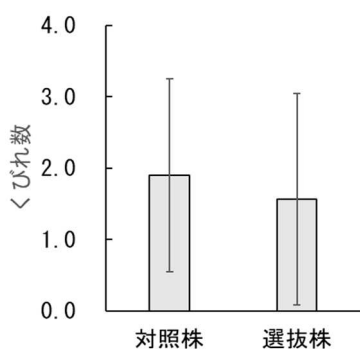
高水温培養のノリの葉長を図 2 に、1 個体あたりのくびれ数を図 3 に示す。葉長は選抜株が 24.53mm、対照株が 19.13mm で有意差が認められた (t-test、p<0.05)。くびれ数は選抜株が 1.57、対照株が 1.9 であったが有意差は認められなかった (T-test、p<0.05)。適水温培養の葉長を図 4 に、くびれ数を図 5 に示す。葉長は選抜株が 24.71mm、対照株が 19.61mm で有意差が認められた (t-test、p<0.05)。くびれ数は選抜株が 0.10、対照株が 0.20 であったが有意差は認められなかった (t-test、p<0.05)。これらのことから、選抜株は高水温において対照株より生長に優れ、高水温耐性が期待される。また、適水温においても選抜株は生長に優れており、養殖に有効な株であると考えられる。

*現 東予地方局農林水産振興部今治支局水産課



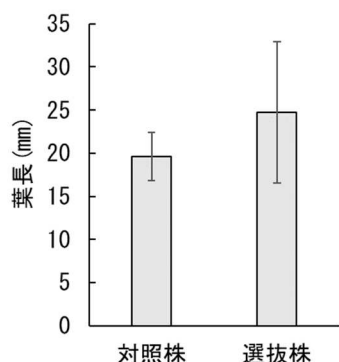
※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図2 高水温培養における平均葉長



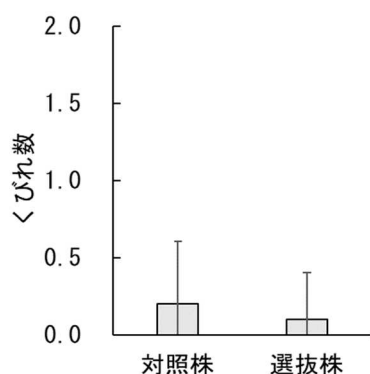
※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図3 高水温培養における平均くびれ数



※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図4 適水温培養における平均葉長



※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図5 適水温培養における平均くびれ数

(2) 野外養殖試験

高水温期試験期間中の干出時を除いた1日の最高水温の推移を図6に示す。11月19日に計測装置を取り換えた後に装置が流失したため、試験途中までの計測となった。水温は育苗を開始した10月31日は21.1℃で、以降は上昇傾向で推移し、11月6日に22.5℃となった後は下降傾向に転じた。

高水温期における養殖試験では、後述のノリ養殖漁場環境調査結果のとおり試験期間中の溶存態無機窒素(DIN)が低く推移し、栄養塩不足によりノリが生育不良となり、12月24日に試験終了となった。12月14日調査時の葉長を図7に、1個体あたりのくびれ数を図8に示す。葉長は選抜株が6.04mm、対照株が5.08mmで有意差が認められた(t-test、 $p<0.05$)。くびれ数は選抜株が0.33、対照株が1.47で有意差が認められた(t-test、 $p<0.05$)。このことから、選抜株は養殖漁場の高水温においても生長に優れ、高水温耐性が向上している可能性があるが、収穫サイズ(葉長約200mm)での比較ができなかったため、十分な栄養塩類濃度の環境下で育成し、検討を行う必要がある。

適水温期試験期間中の1日の最高水温の推移を図9に示す。水温は、試験を開始した12月24日には13.7℃で、以降は上昇傾向で推移し、12月27日に15.0℃となった。その後は緩やかな低下傾向に転じ、試験期間中はノリの生育に適した水温で推移したことが確認された。しかし、高水温期の試験に引き続き、栄養塩不足により、ノリは生長不良となった。試験期間中の令和6年1月11日調査時の葉長を図10に示す。葉長は選抜株が56.37mm、対照株が43.37mmで有意差が認められ(t-test、 $p<0.05$)、選抜株が適水温において生長に優れていることが養殖試験でも確認された。なお、くびれは両株ともみられなかった。

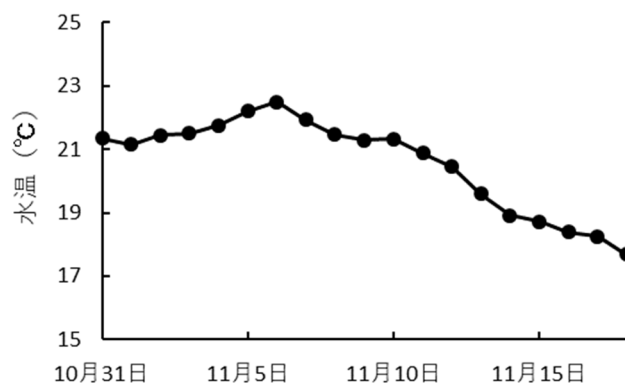
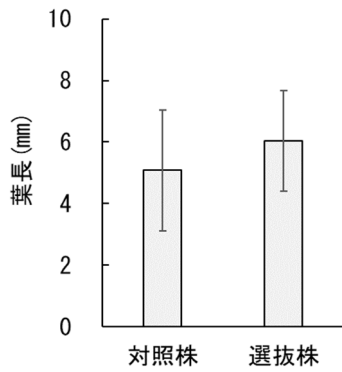
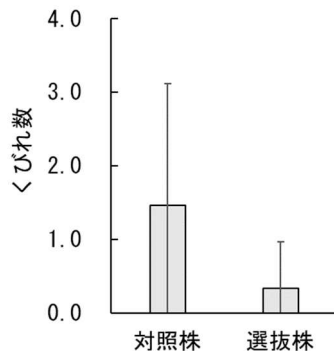


図6 高水温期試験の水温の推移



※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図7 高水温期試験における平均葉長



※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図8 高水温期試験における平均くびれ数

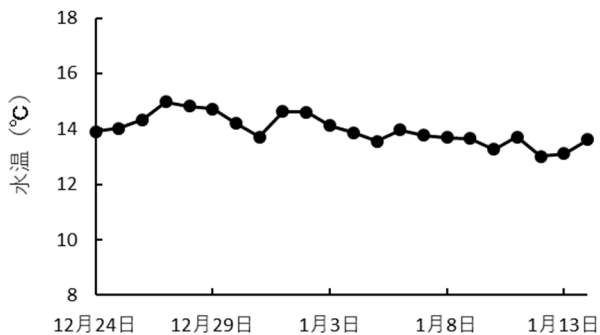
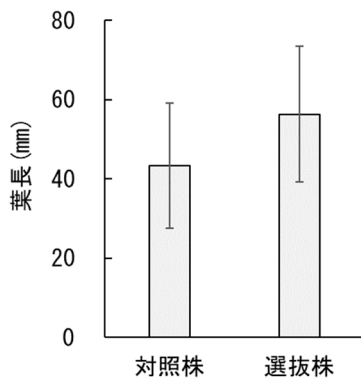


図9 適水温期試験における水温の推移



※縦棒は標準偏差を示す。n=30

図10 適水温期試験における平均葉長

2 ノリ養殖漁場環境調査

漁場水温について、西条市沿岸での推移を図11、弓削地区での推移を図12に示した。西条市沿岸では10.2–24.3°Cの範囲において、平年（平成3–令和2年）より高めで推移した。弓削地区では12.0–26.1°Cの範囲において、平年（平成3–令和2年）より高めで推移した。

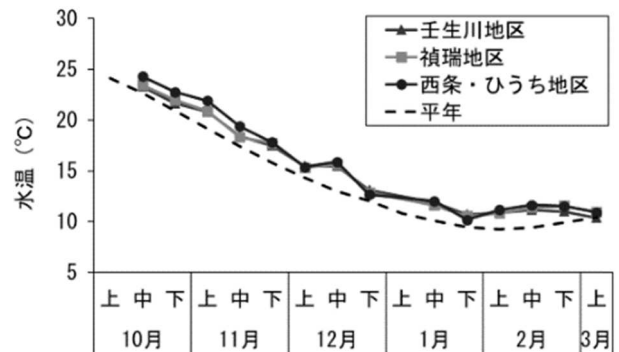


図11 西条市沿岸の漁場水温の推移

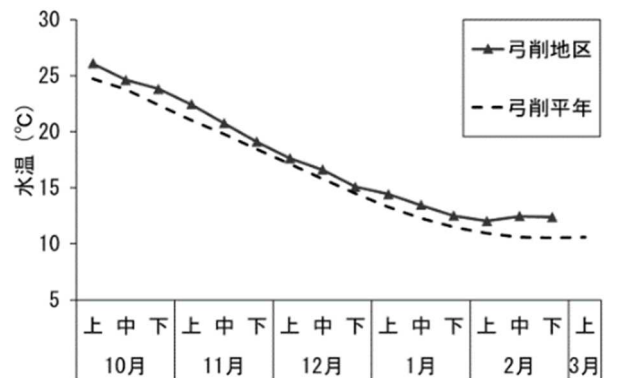


図12 弓削地区の漁場水温の推移

漁場珪藻細胞数について、西条市沿岸での推移を図13、弓削地区での推移を図14に示した。西条市沿岸では11月上旬から12月上旬にかけて増加し、12月上旬には壬生川地区で1,000細胞/mLを超えていた。弓削地区では11月上旬から12月中旬にかけて増加したが、期間を通して100細胞/mL未満の低位で推移した。

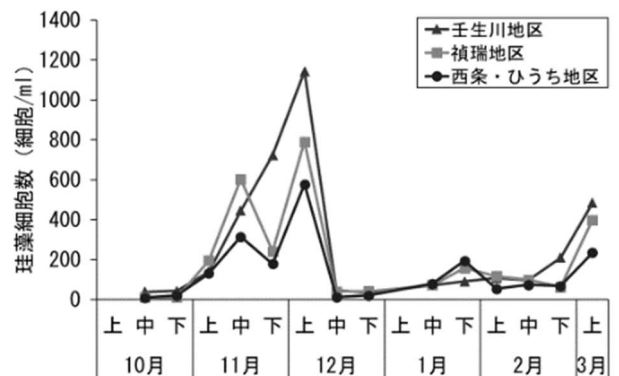


図13 西条市沿岸の漁場珪藻細胞数の推移

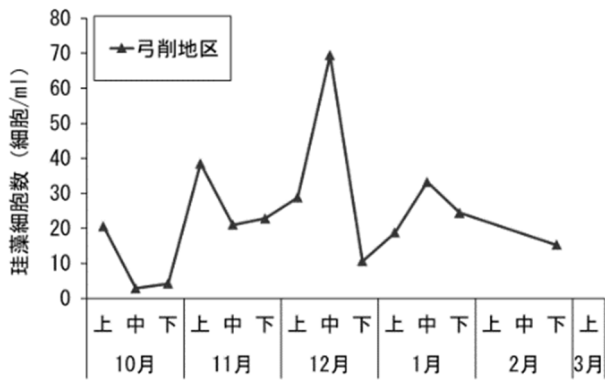


図 14 弓削地区の漁場珪藻細胞数の推移

溶存態無機窒素（DIN）濃度について、西条市沿岸での推移を図 15、弓削地区での推移を図 16 に示した。DIN 濃度は、西条市沿岸では調査の開始後から 1 月中旬まではおおむね低下傾向を示した。それ以降は、上昇傾向に転じたものの、期間を通してノリの色落ち目安である $3.5\mu\text{M}$ をおおむね下回って推移した。弓削地区では、11 月中旬から 12 月上旬は、 $3.5\mu\text{M}$ を超えて推移したが、その他の期間については $3.5\mu\text{M}$ 未満で推移した。

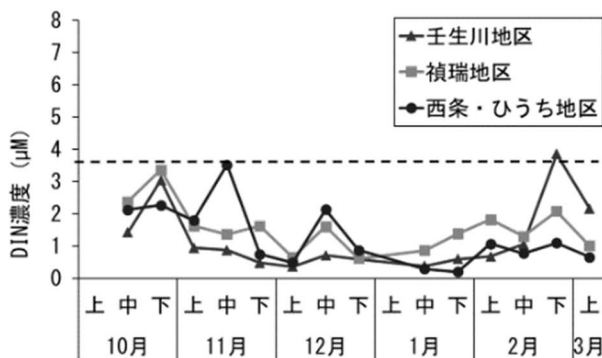


図 15 西条市沿岸の漁場栄養塩濃度の推移

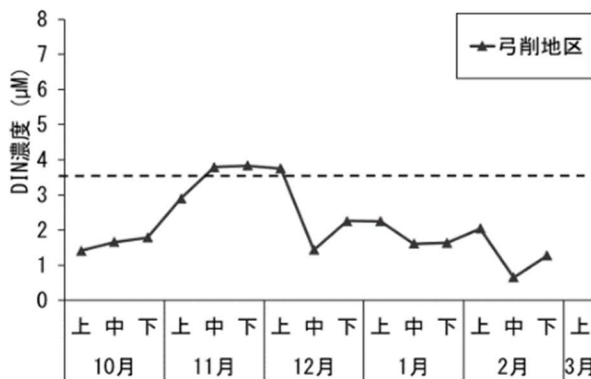


図 16 弓削地区の漁場栄養塩濃度の推移

養殖ノリの L^* 値について、西条市沿岸と弓削地区での推移を図 17 に示した。西条市沿岸の L^* 値は、2 月中旬までは色落ちと判断される 59 以上の値¹⁾ で推移

した。2 月下旬以降は栄養塩濃度の上昇にともない、色調の回復がみられた。弓削地区については、1 月下旬の L^* 値が約 61 であったものが、2 月下旬には約 73 にまで上昇したことから、今漁期は慢性的な色落ち状態だったと考えられた。

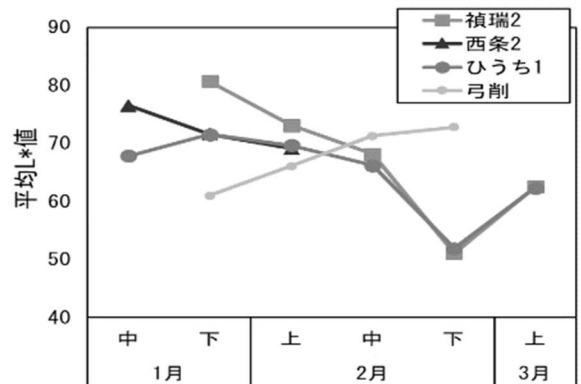


図 17 西条市沿岸及び弓削地区の養殖ノリ L^* 値の推移

総 括

ノリ養殖漁場の高水温化に伴う養殖ノリの不作対策として、高水温期ノリ養殖安定化技術開発試験（H30-R2 年度）で、高水温下でも養殖可能な品種の作出に取り組み、候補となる株の選抜に成功した。本事業では候補株を用いて引き続き株を作出し、室内培養試験及び養殖試験によりその特性を評価した。得られた成果は以下のとおりであった。

1 高生長・高水温耐性株の選抜育種

前事業で選抜採取した株を用いて室内高水温選抜を繰り返し実施した結果、高水温下で生長に優れ、高水温障害が小さい株の選抜に成功した。

また、高水温期及び適水温期に野外養殖試験を実施した結果、選抜株は養殖漁場においても高水温耐性を有し、適水温期でも生長に優れていることが示唆された。しかし、漁場の栄養塩濃度が低く推移したため、十分な栄養塩類濃度の環境下で製品サイズまで育成し、検討を行う必要がある。

2 養殖漁場環境調査

愛媛県西条市沿岸及び上島町弓削のノリ養殖漁場調査を実施し、測定結果については「ノリ養殖漁場栄養塩速報」として取りまとめ、愛媛県漁協関係支所及び関係機関へメールで送信するとともに、本研究所ホームページに掲載し、情報提供を行った。

水温については、令和 3 年度から令和 5 年度にかけて平年よりおおむね高めで推移したが、令和 3 年 12 月下旬から翌 1 月上旬までは平年より低めであった。

珪藻細胞数については、昨年までと同様に栄養塩濃度の上下に伴う増減を繰り返す傾向にあった。

栄養塩については、これまでの調査で西条市沿岸では降雨が主な供給源であることが明らかとなっているが、令和5年度は9月から12月の降水量が少なかったため、ノリの色落ち目安である $3.5\mu\text{M}$ を下回って推移した。

これらの調査は次年度以降の事業内でも継続して行う予定である。

引用文献

- 1) 川口 修・高辻英之：広島県東部海域における溶存態無機窒素動態とノリの色落ちへの影響. 日本水産学会 76(5):849–854 (2010)

アサリ資源回復技術高度化試験

関谷 真一*・楨 浩樹・平田 伸治

目 的

近年、全国的に減少しているアサリは、漁業、潮干狩りの対象として重要な種であることから、本県でも資源の回復が強く望まれている。

西条市の高須海岸干潟（図1）では、毎年5-6月になると北西部（図2）に天然のアサリ稚貝が多数発生する。しかし、食害や餌料不足等を原因に成貝となる前にその大半が消滅するため、漁獲に繋がっていない。

本事業では、過去の研究においてアサリ稚貝に対し、一定の保護効果を示した被せ網と、同じく一定の餌料環境改善効果を示した施肥を組み合わせ、資源回復に向けた技術の高度化を目指す。

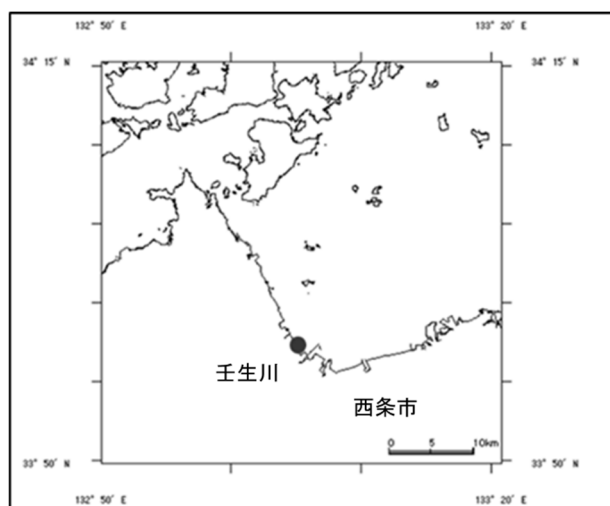


図1 高須海岸干潟（●）



図2 稚貝発生場所（●）

方 法

1 稚貝発生場所の保護技術開発試験

アサリ増養殖技術生産性向上試験（H30-R2年度実施）における1m×1m及び1m×5mの底網付き被覆網試験

の結果を元に^{1,3)}、本試験ではより簡易なアサリ増殖技術の開発を目的として、発生場所の稚貝を直接保護する方法について検討した。具体的には、今後の現場への普及を考慮して、底網なしの地表を覆うだけの簡便な構造の被せ網の有効性と干潟への新たな設置方法を検討し、設置後の網の破損の有無及びアサリの生残状況、流出の有無について調査した。

本試験で使用した被せ網（5m×5m）は、底びき網漁業用の漁網（目合い10mm）を用いて作成した。これを設置した試験区を被せ網区、設置しなかった区を対照区とした。



図3 大型被せ網（施肥なし）

試験は、令和5年6月1日から令和6年2月29日までの約9ヶ月間実施した。試験開始時の稚貝は平均殻長約6.12mmで、試験区の推定平均密度は3,889個/m²であった。

2 施肥による餌料環境改善技術開発試験

高須海岸干潟北西部は、夏季に底質の付着珪藻量が急減する。これが夏季以降大きく稚貝が減耗する要因の一つであると考えられており、発生場所で稚貝を安定的に保護するには、餌料環境の改善が必須である。

このため、餌料環境改善効果を示した施肥技術（引用）と、試験1で開発する被せ網を併用したアサリ保護技術について検討した。

網については、試験1と同規格の被せ網を用い、網中央部の2m×2mの区画上面に、0.3m×0.3mの施肥袋収容ポケットを9つ取り付けた。これを施肥区として、試験1と同日に、隣接箇所に被せ網を設置した（図4）。施肥については昨年度の試験と同じ方法で行った⁴⁾。なお、昨年度は、7-9月に施肥をした試験区の方が成長が劣ったことから、夏季の施肥は成長を阻害したと推察された⁴⁾。このため、7-9月は施肥袋の交換を行わなかった。

試験開始後は3ヶ月ごとにアサリの殻長を測定するとともに、0.2m×0.2mのコドラート内について、深さ0.1mまでの稚貝の密度を調査した。

*現 東予地方局農林水産振興部今治支局水産課



図4 大型被せ網（施肥区）

3 稚貝発生場所保護の規模拡大試験

開発した保護技術の普及に際し、保護面積の規模拡大は必須である。このため、本試験では前年度の稚貝発生場所の保護技術開発試験の成果を元に規模を拡大した被せ網による保護効果を検証した。

試験は、令和5年6月1日に開始し、令和6年2月29日まで（約9ヶ月間）実施した。試験網については、試験1、2と同規格の被せ網を用いた。干潟への設置方法については、1、2と同手法で設置した。試験開始時の稚貝の平均殻長及び平均密度は1と同様とした。

試験開始後は3ヶ月ごとにアサリの殻長を測定するとともに、0.2m×0.2mのコドラート内について、深さ0.1mまでの稚貝の密度を調査した。

4 底質環境改善試験

西条市禎瑞地先の干潟はシルト状の底質が広がっており、アサリの生息には適さない。このため、底質環境の改善及び底生の水産生物の増殖を目的に、同市高田地区を流れる大明神川の川砂により、令和2年12月8日に面積9m²、高さ0.2mの規模で覆砂した（図5-6）。本試験では、覆砂による干潟環境の変化について検討することを目的に、底生生物と底質のモニタリング調査を継続的に実施している。

調査は覆砂箇所2点、覆砂箇所より海側、陸側各1点ずつの計4点で行った。調査は底生生物と底質について行った。底生生物は、0.2m×0.2mのコドラート内の底質を深さ0.1mまで採取し、1.0mm目の篩にかけて残ったものを試料とした。底質については、中央粒径、クロロフィルa量、硫化物量、強熱減量を測定した。調査は6、9、12、翌3月に1回ずつ実施した。

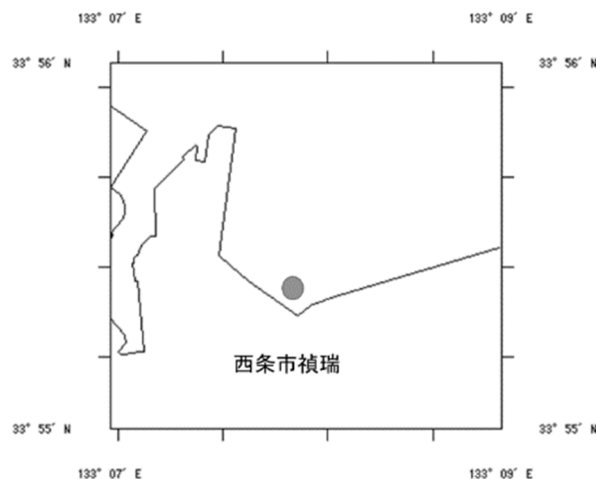


図5 覆砂場所



図6 令和5年12月5日時点の覆砂状況

結果及び考察

- 1 稚貝発生場所の保護技術開発試験
- 2 施肥による餌料環境改善技術開発試験
- 3 稚貝発生場所保護の規模拡大試験

試験1、2、3については結果を一括して記述する。

試験期間中の8月に上陸した台風の影響により、螺旋杭で固定していた試験網が破損して、試験区が一部暴露したが、破損した「被せ網+施肥試験区」では暴露した箇所周辺を除外してサンプル採取等を継続し、令和6年2月29日（約9ヶ月間経過後）に終了した。

試験終了時のアサリの密度については、被せ網区で433個/m²、被せ網+施肥区で478個/m²が確認され、被せ網の規模を拡大しても、一定の保護効果があることが明らかとなったのに対し、対照区では6カ月経過時点で、アサリは全く確認されなかった。殻長については、「被せ網区」で平均24.56mm、「被せ網+施肥試験区」で平均26.54mmであった。このことから、高須海岸干潟における被せ網の固定方法及び網の材質については、おおむね本試験の条件が適していると考えられた。結果からは、

設置以降、施肥区の方が密度、殻長ともに、施肥をしない被せ網区をほぼ上回って推移していたことから、施肥による生残、成長への有効性が示唆された。これらのことから、本固定方法を用いた被せ網によるアサリ保護は規模を拡大しても問題はなく、普及可能であることが明らかとなった。

試験区	全残存個体数 (個)	平均殻長 (mm)
被せ網区	433	24.56
被せ網+施肥区	478	26.54

表 1 試験結果

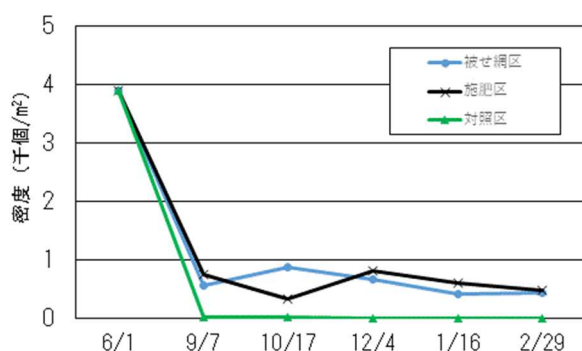


図 7 密度の推移

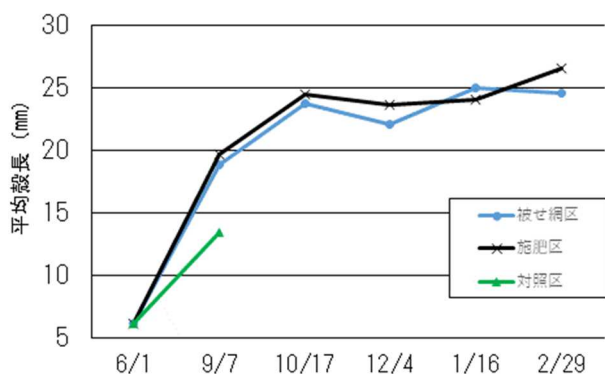


図 8 平均殻長の推移



図 9 試験終了時の大型被せ網（手前が施肥区）



図 10 残存したアサリ

4 底質環境改善試験

各結果を図 11-13 及び表 2 に示した。各調査項目の評価には、試験区内については 2 点の平均値を用いた。

中央粒径については、6 月 28 日から 9 月 21 日にかけて増大する傾向を示した。その後は縮小傾向に転じたが、海側の 3 月 13 日については増大傾向となった。区画内は 9 月 21 日と 12 月 14 日については、区画外の 2 点に比べ、中央粒径は大きかったが、その差は約 50 μ m と小さく、3 点ともおおむね同程度だった。このことと、目視による確認から覆砂は波浪等の影響により拡散・埋没しており、周辺環境と大きな差がなくなっていると考えられた。

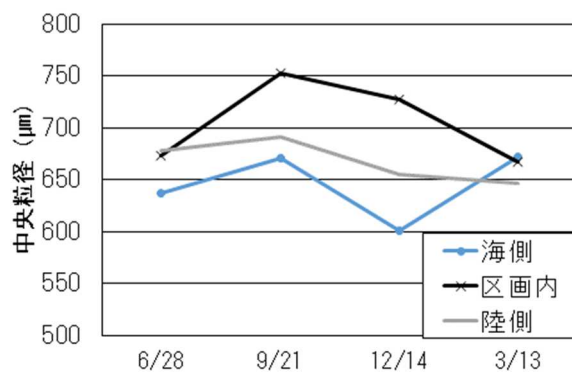


図 11 中央粒径の推移

底生生物量 (g/0.04m²) については、3 点とも同傾向だったが、6 月 28 日は海側 > 区画内 > 陸側の順に多く、9 月 21 日は区画内、陸側に比べ、海側が少なかった。12 月 14 日については陸側が最も多くなった。また、底生生物のうち、アサリについては、6 月 28 日の海側、9 月 21 日と 12 月 14 日の陸側、3 月 13 日の海側で少数が確認された。

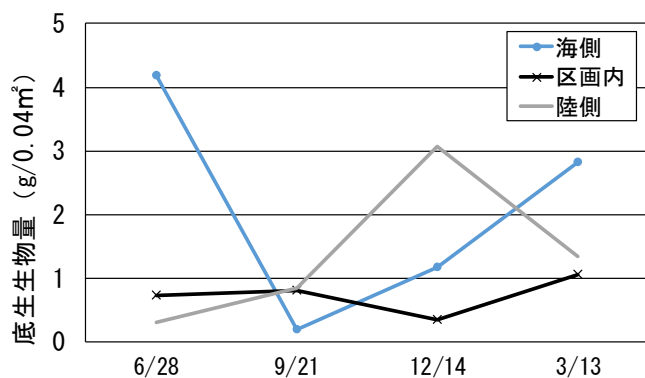


図 12 底生生物量の推移

底質のクロロフィル a 量については、3 点とも同傾向だったが、6 月 28 日は陸側＞海側＞区画内の順に多く、9 月 21 日は海側・区画内に比べ、陸側が多かった。12 月 14 日については陸側＞海側＞区画内の順であった。3 月 13 日では全体に増加し、陸側＞海側＞区画内の順であった。全体的に 6 月 28 日から 12 月 14 日にかけて減少後、3 月 13 日にかけて増加した。中央粒径の推移からは、海側のみ他 2 点と傾向が異なった。

底質の硫化物量については、4 回の調査全てで 3 点とも 0mg/g だった。また、強熱減量については、4 回の調

査全てで 3 点とも同傾向で、0.31%以下で推移した。

以上から覆砂による明確な環境への影響を確認することはできず、今後もモニタリングを継続し、検証する必要があると考えられた。

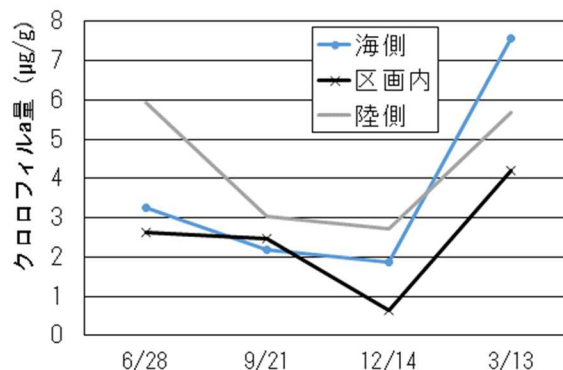


図 13 底質のクロロフィル a 量の推移

表 2 底生生物の個体数及び重量

調査日	定点名	アサリ		その他貝類		甲殻類		環形動物	
		個体数	重量 (g)	個体数	重量 (g)	個体数	重量 (g)	個体数	重量 (g)
2023/6/28	海側	12	0.31	29	3.74	1	0.06	8	0.08
2023/6/28	区画内			1	0.61			17	0.12
2023/6/28	陸側			2	0.14	1	0.15	1	0.01
2023/9/21	海側			2	0.11	1	0.07	20	0.01
2023/9/21	区画内			1	0.64	2	0.14	10	0.01
2023/9/21	陸側	1	0.28	6	0.22	5	0.32	12	0.03
2023/12/14	海側			8	0.96			30	0.21
2023/12/14	区画内			1	0.06	2	0.26	15	0.02
2023/12/14	陸側	1	0.50	14	2.52	1	0.01	49	0.04
2024/3/13	海側	1	0.84	67	1.78	2	0.10	12	0.10
2024/3/13	区画内			4	0.87	4	0.17	12	0.01
2024/3/13	陸側			13	1.29	1	0.01	12	0.05

参考文献

- 1) 喜安宏能・富士泰・高島景：アサリ増養殖技術生産性向上試験. 愛媛県農林水産研究所水産研究センター事業報告平成 30 年度：145-149(2020)
- 2) 渡部祐志・塩田浩二・高島景：アサリ増養殖技術生産性向上試験. 愛媛県農林水産研究所水産研究センター事業報告令和元年度：132-134(2021)
- 3) 渡部祐志・塩田浩二・高島景：アサリ増養殖技術生産性向上試験. 愛媛県農林水産研究所水産研究センター事業報告令和 2 年度：120-123(2022)
- 4) 渡部祐志・塩田浩二・関谷真一：アサリ資源回復技術高度化試験. 愛媛県農林水産研究所水産研究センター事業報告令和 4 年度 <https://www.pref.ehime.jp/uploaded/attachment/109600.pdf> (2022)

岡本俊治・日比野学・荒川純平・黒田伸郎：矢作川河口におけるアサリ稚貝資源の動向. 愛知水試研報 16:1-8 (2011)

サメを用いた高機能抗体作製技術開発

(AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業)

友田 帆乃香^{*1}・桧垣 俊司^{*2}

目 的

サメを用いることにより従来の技術では難しい、小さく優れた特性を持つ抗体（ナノボディ）を作製できることが知られている。サメのナノボディは、創薬や臨床検査における課題を解決できることが期待されているが、愛媛大学では、サメの入手ノウハウや飼育環境が整っておらず研究は進んでいなかった。

そこで本研究では、ナノボディ作製の実用化に向けた技術開発を目的に、愛媛大学で開発されたコムギ無細胞タンパク質合成系により生産した抗原を用いて、当研究所が入手したサメ（エイラクブカ）を免疫し、引き続き飼育を実施した。

方 法

用いたエイラクブカは、伊予漁業協同組合及び下灘漁業協同組合から、小型機船底びき網漁で漁獲されたものを入手し、10kL コンクリート製八角水槽に収容して、ろ過海水掛け流しで飼育した。入手後の初期斃死がなくなり、餌付きが確認できた個体を免疫試験に供した。餌料として小型魚類を1回／日、投餌した。なお、水温が15℃以下になると斃死が増えるため、4、

5月及び12月から3月まで15℃に加温した。

免疫試験として、令和4年6月10日から令和6年2月27日の間に計11回、40尾に愛媛大学が用意した各種抗原を筋肉に接種した（表1）。その後は、2週間毎を基本に免疫及び採血（1mL程度）し、抗体価の上昇が確認できた個体は、次回測定時に全採血を行った後、脾臓を摘出してRNA抽出用サンプルとした。免疫及び採血時には、500ppm 2-フェノキシエタノールで麻酔した。免疫処理したサメは、背鰭に装着したイラストマー蛍光標識の数と色及びPITタグにより個体識別した。飼育中に斃死または斃死直前となったサメについては、全採血と脾臓摘出を行い、愛媛大学へサンプルとして提供した。

結 果

飼育結果を表1に、飼育期間中の水温を図1に示した。飼育水温は、12.3℃から25.9℃の間で推移し、令和5年12月27日から15℃に加温した。

免疫した40尾のうち、抗体価の上昇が確認された14尾から脾臓を摘出した。なお、令和6年3月12日現在、免疫した18尾の飼育を継続している。

表1 飼育結果

	免疫			脾臓摘出		継続飼育中(令和6年3月12日現在)			
	日付	尾数	平均 体重(g)	尾数	飼育日数	尾数	平均 体重(g)	飼育 日数	生残率(%)
令和4年	3月17日	8	1519	0		0			0.0
	6月10日	8	1,583	3	90－335	0			0.0
	8月4日	2	1,665	0		0			0.0
	8月18日	1	1,664	0		1	1,995	572	100.0
	11月22日	9	2,477	2	184－287	4	2,976	476	44.4
	12月28日	4	2,249	1	204	2	2,375	440	50.0
令和5年	2月9日	3	2,284	1	306	1	2,279	397	33.3
	3月23日	1	2,625	0		0			0.0
	5月25日	1	2,107	0		1	2,435	292	100.0
	9月19日	4	1,933	2	119－175	2	2,650	175	50.0
令和6年	1月30日	3	2,240	0		3	2,106	42	100.0
	2月27日	4	2,469	0		4	2,403	14	100.0
	計	48		9		18			

^{*1} 現 南予地方局農林水産振興部水産課 ^{*2} 退職

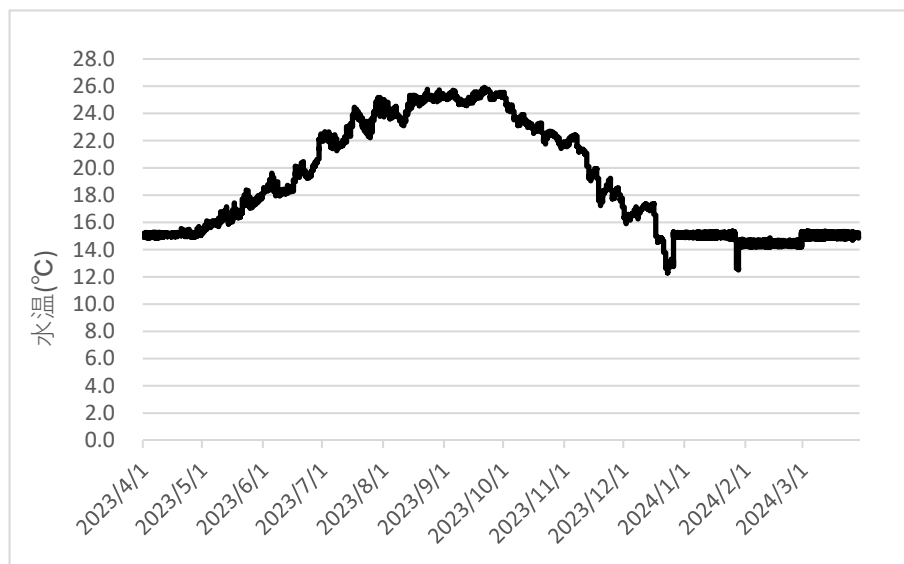


図1 飼育期間中の日平均水温の推移

養殖場と凍結精子を活用した育種産物普及システムの開発

(養殖業成長産業化技術開発事業)

曽根 謙一*・水野 かおり・新野 洋平*・石川 豪大

目 的

ブリは本県魚類養殖生産額の 3 割を占める重要魚種であるが、種苗を天然採捕に依存しており、令和 3 年度には記録的な不漁により漁家経営に支障が生じた。また、農林水産省では『みどりの食料システム戦略』を策定し、持続可能な食料システムの構築のため、ブリを 2050 年までに 100%人工種苗へ転換することを打ち出している。

当センターでは、平成 27 年度からブリの種苗生産技術開発研究に取り組み、さらに令和 3 年度からは他県との競争に打ち勝つ、低コストあるいは商品価値の高い家系（高成長等）の作出を目標に育種研究に取り組んでいる。しかし、当センターで飼育できる尾数は数百尾程度が限界であり、育種効果を高めるためには、より大きな母集団から優良な形質を持つ個体を選抜していく必要がある。

そこで、県内のブリ養殖業者の協力を仰ぎ、多くの個体から有用形質を持つ個体の選抜を試みる。さらに、（国研）水産研究・教育機構水産技術研究所では、ブリ精子の凍結保存に成功しており、本研究で得られた有用形質を持つ個体の精子を凍結保存することで、高品質種苗の安定的な供給体制を確立することを目指す。

方 法

供試魚には、令和 5 年 11 月 1 日に県内の養殖業者から購入後、当センターの海面生簀で養成した 1 歳魚（平均尾叉長 616mm、平均体重 3,824g）を用いた。令和 6 年 2 月 19 日から 6 月 12 日にかけて 6 回のサンプリングを行い、体重と生殖腺重量を測定し、生殖腺体指数（GSI＝生殖腺重量×100／体重）を算出した。生殖腺は、組織学的観察に供するため、ダビットソン固定液で固定し、（国研）水産研究・教育機構水産技術研究所に送付した。また、飼育期間中の水温をデータロガーで測定した。

分析を実施した。

結果及び考察

試験期間中の水温を図 1 に、GSI の季節変化を図 2 に示す。水温は、試験開始から徐々に下降し、1 月 15 日に 15.9℃と最も低くなり、その後は徐々に上昇した。GSI は雌雄ともに 2 月から 3 月にかけてわずかに上昇した後に急増し、4 月にピークの 2.89 に達し、それ以降は急減した。今後、得られたサンプルを組織観察に供す

るとともに、産卵期である 4、5 月に中心にサンプリングを実施し、より詳細に産卵時期を明らかにする。



図 1 水温の推移

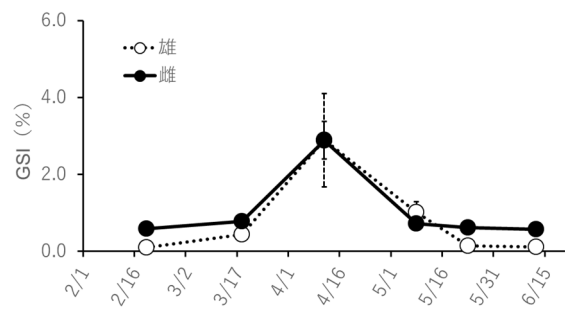


図 2 GSI の季節変化

*現 農林水産部水産局水産課

ブリ優良親魚最適組合せ選考を目的とした小規模種苗生産技術開発

(オープンイノベーション研究・実用化推進事業)

水野 かおり・曾根 謙一・新野 洋平・石川 豪大

目 的

ブリは本県魚類養殖生産額の3割を占める重要魚種であるが、養殖用種苗は天然採捕に依存している。農林水産省では『みどりの食料システム戦略』を策定し、持続可能な食料システムの構築のため、2050年までに100%人工種苗へ転換することを打ち出している。

当センターでは、平成27年度から令和2年度までブリの種苗生産技術開発研究に取り組み、令和3年度からは他県との競争に打ち勝つ低コストあるいは商品価値の高い家系（高成長等）の作出を目標に、育種研究に取り組んでいる。しかし、これまでの育種方法では、産卵できる親魚まで育成してから次世代を作出させるため数百尾程度から選抜するのが限界であり、育種効果を高めるためには、より大きな母集団から優良な形質を持つ個体を選抜する技術の開発が必要である。

そこで、優良形質を持った個体を1:1交配による人工受精で選抜するため、小規模水槽において安定的に種苗を生産できる飼育技術を確認する。

方 法

1 小規模種苗生産の技術開発

(1) 油膜除去方法の検討

鰾の開腔（開鰾）が正常になされない場合に生残率が大きく低下することから、仔魚の開鰾と関係が強いとされる油膜（飼育水面に生じる餌料由来の油分等の有機物）の除去方法を検討した。

飼育水槽には500Lの黒色ポリエチレン水槽3基を用い、飼育温度は20℃に設定した。ふ化仔魚を各水槽2,500尾ずつ収容（収容密度5000尾/kL）し、餌料には、日齢3からタウリン、バイオクロミス（クロレラ工業株式会社製）及び冷凍ナンノクロロプシス（K-2、クロレラ工業株式会社製）で栄養強化したS型ワムシを給餌した。

油膜除去は、日齢3から開始し、大型水槽で実施している飼育水面にエアを水面に向けて吹き付けて表面の油膜を油膜回収装置に集める区（試験区1）、水槽壁面にあけた穴からオーバーフローで飼育水と油膜を排出する区（試験区2）、油膜取りを行わない区（試験区3）を設け、日齢10までの開鰾率、日齢20の生残率を比較した。

(2) 仔魚の収容密度の検討

飼育開始時のふ化仔魚の収容密度がその後の生残尾数にどの程度反映されるかを検証し、最適な収容密

度を明らかにするために、収容密度の比較試験を実施した。

飼育水槽には500Lの黒色ポリエチレン水槽2基を用い、飼育温度は20℃に設定した。餌料には、日齢3からタウリン、バイオクロミス（クロレラ工業株式会社製）及び冷凍ナンノクロロプシス（K-2、クロレラ工業株式会社製）で栄養強化したS型ワムシを給餌した。油膜除去は、日齢3から前述のオーバーフロー法で実施した。

ふ化仔魚の収容密度を、5,000尾/kL（試験区1）および10,000尾/kL（試験区2）に調整し、日齢10までの開鰾率・日齢20の生残率を比較した。

結果および考察

1 小規模種苗生産の技術開発

(1) 油膜除去方法の検討

開鰾率および生残率は、試験区2（オーバーフロー）が最も高く、次いで試験区1（油膜回収装置）、試験区3（油膜除去なし）の順に低下した。この結果から、小規模飼育における油膜除去方法は、オーバーフロー法が適していることが分かった。

表1 油膜除去方法と飼育成績

試験区名 (油膜除去方法)	試験区1 (油膜回収装置)	試験区2 (オーバーフロー)	試験区3 (油膜除去なし)
開鰾率(%)	67.0	82.3	21.2
取揚尾数(尾)	50	421	0
生残率(%)	2.0	16.8	0

(2) 仔魚の収容密度の検討

今回、十分なふ化仔魚が得られず、試験区3（収容密度1.5万尾/kL）は設定ができず、試験区1および試験区2のみの比較となった。開鰾率は両区に差はなく、どちらも良好な成績であった。生残率は、試験区2が8.9%であったのに対し、試験区1は17.7%と高く、最終的な取り揚げ尾数に差がなかった。試験区2は試験区1の2倍のふ化仔魚を収容したにも関わらず効果的な生残に繋がらなかった。しかし、さらに高密度の試験区を設定できなかったことに加え1水槽での比較であり、最適な収容密度を明らかにするには再検討が必要と考えられた。

表2 収容密度と飼育成績

試験区名 (収容密度)	試験区1 (0.5万尾/kL)	試験区2 (1.0万尾/kL)	試験区3 (1.5万尾/kL)
開鰾率(%)	80.0	83.3	-
取揚尾数(尾)	421	443	-
生残率(%)	17.7	8.9	-