HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	クロソイ人為繁殖および新規貝類養殖技術開発に関する研究
Author(s)	川崎, 琢真
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13098号
Issue Date	2018-03-22
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k13098
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70162
Type	doctoral thesis
File Information	Takuma_Kawasaki.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

クロソイ人為繁殖および新規貝類養殖技術開発に関する研究

（Studies on technical development for artificial breeding of black rockfish and for aquaculture of new shell species）

北海道大学大学院水産科学院

海洋応用生命科学専攻

Graduate School of Fisheries Sciences

Division of Marine Life Science

川　崎　琢　真

Takuma Kawasaki

平成 30 年（2018）

目　　次

第 I 章　緒言 1

第 II 章　海産胎生魚クロソイの人為繁殖技術開発 8

第 1 節　クロソイの人工授精技術開発 8

材料と方法 9

結果 14

1. 飼育水温 14

2. 人工授精 17

考察 23

第 2 節　仔魚の遺伝子解析による人工授精の成否検証 26

材料と方法 26

結果 28

1. 親子鑑定用マイクロサテライトマーカーの有効性 28

2. 親子鑑定 28

3. 人工授精により生まれた仔魚の遺伝的多様性 46

考察 48

第 3 節　北海道におけるクロソイ増養殖事業の現状と課題 50

方法 50

結果 51

1. 北海道におけるクロソイ種苗生産および配布状況、水揚状況 51

2. 北海道における各浜でのクロソイ種苗の活用方法 52

3. 親魚通年飼育と人工授精技術でのコスト比較 52

考察 58

第 III 章　北海道産アカザラガイの種苗生産および採苗技術開発 61
材料と方法 62
結果 68
1. 採卵リズム 68
2. 卵管理条件 68
3. 浮遊幼生飼育 74
4. 着底期飼育 84
5. 天然採苗 90
6. 2012 年から 2014 年にかけての人工種苗生産および天然採苗による
アカザラガイ稚貝の生産数量 97
考察 100

第 IV 章　北海道におけるイワガキ養殖技術開発 104
第 1 節　奥尻島周辺のカキ類の生息状況調査 104
材料と方法 105
結果 108
1. 天然カキ類の種判別 108
考察 116

第 2 節　冷涼な北海道におけるイワガキ人工種苗生産技術開発 118
材料と方法 118
結果 126
1. 採卵および授精 126
2. イワガキ人工種苗生産における成長過程. 132
3. 卵管理条件 132
4. 浮遊幼生飼育条件 138
5. 着底期の飼育条件 138
考察 146

第3節　イワガキ種苗生産技術の奥尻町への普及および現地での取り組み状況 149
方法 149
結果 151
1. 現地への種苗生産技術の指導状況 151
2. 実践的な種苗生産による生産成績 151
3. 生産コスト試算 156
4. 天然貝および養殖貝の直販による製品評価 156
5. 養殖貝の料理人による品質評価 163
6. 関係機関の取組の経緯 170
考察 174

第V章　総合論議 178

謝辞 187

第VI章　要約 188

第VII章　参考文献 194

第 I 章.　緒　言

近年、世界的な健康志向や和食の普及などにより、世界全体での水産物の消費量は増加の一途を辿っている。この様な世界的な水産物の需要拡大に伴い、供給量も増加の一途を辿っているが、天然資源を利用した漁業による水揚げ量は 1990 年代から横ばいであり、供給量の増加を支えているのは養殖生産量の増加である（株式会社日本政策投資銀行　2014）。2012 年時点での養殖生産量の内訳は、海面養殖が全体の 48%、内水面養殖が 45%、汽水面養殖が 7%を占めており、このうち海面養殖では海藻・貝類などの無給餌養殖による生産が 87%と大半を占めている（株式会社日本政策投資銀行　2014）。一方、内水面養殖は、中国や東南アジアを中心とした淡水魚類の養殖が生産の大半を支えている（株式会社日本政策投資銀行　2014）。日本は世界有数の水産物消費国であり、2015 年の水産物輸入量はピーク時の 2001 年（382 万トン）からは減少傾向にあるものの、2016 年で 238 万トンと、依然として大量に輸入している一方、国内での魚介類の消費量は減少し続け、2011 年以降は肉類の消費よりも少なくなっているのが現状である（水産庁　2017）。

この様な社会情勢の下では、日本国内の水産業従事者が置かれる状況は厳しいと言わざるを得ないが、水産物の安定供給という機能のみならず漁村地域を支える基幹産業としての漁業の存在価値は近年益々高まってきている。日本は国土の面積に対して非常に長い海岸を有する島国である。その為、他国との境界はすべて海によって隔てられており、この国境に隣接する地域社会の多くが漁村である。日本中に漁村として点在する地域社会の維持は、国の安全保証の面からも重要視されるようになり、2016 年には国境離島の振興に向けた予算措置が開始された。この様な漁村の多くは主要産業として漁業に極端に依存していることから、漁業の振興が地域社会の維持に非常に重要な役割を担うことになる。

日本における漁業振興の取り組みのうち、資源増大への取り組みとして 1960 年代から国策としての水産種苗の放流事業が開始された（社団法人日本栽培漁業協会　1983）。開始当初は高度経済成長期であったことから、魚価の継続的な上昇が続き、沖合・遠洋漁業を中心に漁業生産量は拡大を続けていた。しかし、これらの漁業は 1977 年に 200 海里経済水域が設定されたことで衰退した。この頃から安定した沿岸漁業生産への期待が高まり、1984 年に初めて国の栽培漁業基本方針が制定された。この方針は現在でも 5 年毎の見直しを行ないながら継続しており、第 7 次に当たる現在では、人口減少や魚介類消費の低迷などの時代背景を踏まえた取り組み内容の調整がなされている。日本国内で最大の漁業生産基地である北海道でも、国の動きに追従する形で「栽培漁業基本計画」を策定しており、現在は第 7 次の本計画に準じた取り組みを実施している（図 I-1）。

	漁業を取り巻く状況	国の動向	北海道の動向
1960-1970年代	高度経済成長の下、動力漁船の導入で沖合・遠洋漁業が拡大し漁業生産量が急拡大 （最大約1200万トン/年） 1977年 200海里経済水域の設定	1963年に栽培漁業協会の前身である瀬戸内栽培漁業協会が創立 都道府県営栽培漁業センターの設置開始 1974年　沿岸漁場整備開発法制定（法律上初めて栽培漁業という用語が登場） 1979年　日本栽培漁業協会が発足	明治時代から、ホタテガイ、シロサケの種苗放流事業を実施 1972年に北海道栽培漁業総合センターを創立 1979年　北海道栽培漁業振興公社　設立
1980-1990年代	90年代に入り、遠洋漁業・沖合漁業が徐々に衰退 沿岸漁業の重要性が高まる （漁獲量が1200万トン→約600万トンへ減少	1984年　沿岸漁場整備法改正に伴い、第一次栽培漁業基本方針を公表 1988年　第二次栽培漁業基本計画方針を公表 1994年　第三次栽培漁業基本計画方針を公表	1984年　水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（第1次栽培漁業基本計画）を策定 1988年　第2次栽培漁業基本計画策定 1994年　第3次栽培漁業基本計画策定
2000年以降	漁獲量は500万トン程度で推移 世界的な水産物消費が増加する一方、国内の水産物消費は減少し、魚価が低迷 冷蔵・冷凍技術の発達による水産物の国際流通の増加（世界的な価格は上昇傾向）	2000年　第四次栽培漁業基本計画方針を公表 2002年　水産基本計画策定 2005年　第五次栽培漁業基本計画方針を公表 2010年　第六次栽培漁業基本計画方針を公表 2012年　水産基本計画変更 2015年　第七次栽培漁業基本計画方針を公表	2000年　第4次栽培漁業基本計画策定 2005年　第5次栽培漁業基本計画策定 2010年　第6次栽培漁業基本計画策定 2015年　第7次栽培漁業基本計画策定

図 I-1　1960 年代から現在までの漁業を取り巻く状況と、水産増養殖事業に関する国および北海道の動向。

【引用元】水産庁 HP、北海道庁 HP　より抜粋

参考文献：社団法人日本栽培漁業協会（1983）　より抜粋

北海道における栽培漁業への取り組みを年代順に見ていくと、国策としての種苗放流事業が開始された1980年代から1990年代初頭にかけての第1次および2次栽培漁業基本計画ではヒラメ、エゾアワビ、エゾバフンウニ、ホタテガイの4種のみが対象とされていた。しかし、沖合・遠洋漁業が衰退し漁獲量が減少し始めた1990年代半の第3次計画では沿岸漁業の生産増が期待され、放流事業対象種はマツカワ、クロソイ、ニシンなどの魚類を中心に拡大した上、次期放流検討魚種の検討として10種の魚介類の基礎的な技術開発に着手する段階に至った（表I-1）。この流れは2000年代後半の第5次計画まで継続された後、第6次計画からは近年の国内での魚食離れや魚価低迷の影響を受け、種苗放流による効果の検証に重点が置かれるようになった。この様に、放流事業における経済性が重要視される傾向は現在も継続されており、さらに第7次計画では対象種の用途に「養殖」を出口とする魚種が加えられ、人の管理下での事業成果物が明確に示される増養殖事業の推進という、時代に合わせた取り組みに移行しつつある（表I-2）。

一方、実際の北海道周辺海域での増養殖への取り組みに目を向けると、必ずしも前述の栽培漁業基本計画に則った取り組みが行なわれているわけではない。北海道の水揚げの大半を占めるシロサケやホタテガイは増養殖事業種であるが、このような大規模な実用魚種は栽培漁業基本計画からは外れており、種毎に独立した別の取り組みが実施されている。また、全国的に有名な厚岸町のマガキ、苫小牧市のホッキガイなどの地域特産的な取り組みついては、小規模な取り組みという理由で北海道の計画には掲載されていない。つまり、地方自治体（北海道）が計画的に技術開発を推進する魚種は海域単位での広がりを期待したものが中心であり、これまでは必ずしも個々の浜での取り組みが反映されて来なかったのが実状である。しかし、新たな漁業の創出を目的として地方自治体（北海道）の研究機関が取り組みを行なう際には、必ず漁業の実際の現場での実践的な成果が必要になることから、市町村や漁業関連団体の研究ニーズの聞き取りを実施し、事業実施の理由付けを行なっている。これらの地域的なニーズには、多種多様な魚種についての様々な研究要望が含まれており、それぞれの現場ニーズに応じた事細かな課題解決が求められる。

2016年度に実施したニーズ調査のうち、増養殖研究に関連したニーズの抜粋を表I-3に示す。地域からのニーズのうち、北海道の栽培漁業基本計画に則った魚種に関連するものは、釧路管内のアカボヤおよびアサリ、檜山管内のバカガイ・イワガキ・マナマコ・マボヤおよびキツネメバル、日高管内のアカボヤおよびマツカワが該当する。一方で、後志・渡島・胆振・網走および宗谷から上げられたニーズはいずれも栽培漁業基本計画とは異なる地域ごとのニーズに該当する。2016年の場合で、北海道の栽培漁業基本計画に則った魚種に該当するニーズが12件であるのに比べ、それ以外が19件と道の計画に該当

表 I-1　北海道における栽培漁業基本計画第 1 次から第 4 次までの技術開発対象種および技術開発目標一覧

栽培漁業基本計画（年度）	対象種	用途	技術開発目標
第1次（1984-1987）	ヒラメ	放流	親魚幼生技術開発、色素異常防止、着底前後の餌料条件解明、中間育成
	エゾアワビ		人工餌料への早期転換技術開発、漁場の収容量解明、育成管理技術開発
	エゾバフンウニ		浮遊幼生飼育技術開発、放流技術開発
	ホタテガイ		健苗育成、漁場収容力把握、育成管理技術開発
第2次（1988-1993）	ヒラメ	放流	採卵安定化、仔魚生残率向上、餌料培養技術開発、放流技術開発
	エゾバフンウニ		餌料培養技術開発、種苗生産コスト低減、放流後の育成管理手法
	ホタテガイ		種苗の良質生産技術、育成管理技術開発
	エゾアワビ		種苗生産コスト低減、放流後の減耗対策、放流後の育成管理手法
第3次（1994-1999）	ヒラメ	放流	種苗生産技術移転、放流効果実証、放流効果向上
	マツカワ		種苗生産技術向上、量産技術開発、放流技術開発、放流効果検証
	クロソイ		放流技術開発、放流効果検証、海中飼育技術開発
	ニシン		放流技術開発、放流効果検証
	ホタテガイ		需給に対応した種苗生産技術開発、低コスト育成管理技術開発、
	エゾアワビ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発、人工種苗の天然資源添加状況把握
	エゾバフンウニ		種苗生産コスト低減、放流効果検証、漁場管理技術開発
	マコガレイ マガレイ ハタハタ キツネメバル ホッキガイ バカガイ ケガニ ハナサキガニ トヤマエビ マナマコ	放流	基礎技術開発
第4次（2000-2005）	ヒラメ	放流	放流効果実証、放流効果向上、魚病対策
	マツカワ		量産技術開発、放流技術開発、放流効果検証
	クロソイ		放流技術開発、放流効果検証、海中飼育技術開発
	ニシン		放流技術開発、放流効果検証
	ホタテガイ		需給に対応した生産技術確立、低コスト化
	エゾアワビ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発、人工種苗の天然資源添加状況把握
	エゾバフンウニ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発
	キタムラサキウニ		種苗生産コスト低減、放流効果検証、漁場管理技術の開発
	マガレイ マダラ ハタハタ キツネメバル バカガイ ケガニ ハナサキガニ マナマコ	放流	基礎技術開発

【引用元】水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画

参考文献　北海道（1984,1988,1994,2000）.

表 I-2　北海道における栽培漁業基本計画第 5 次から第 7 次までの技術開発対象種および技術開発目標一覧

栽培漁業基本計画（年度）	対象種	用途	技術開発目標
第5次（2006-2010）	ヒラメ	放流	放流効果実証、放流効果向上、魚病対策
	マツカワ		放流技術開発、放流効果実証、魚病対策
	クロソイ		放流技術開発、放流効果検証
	ニシン		放流技術開発、放流効果検証
	ホタテガイ		需給に対応した生産技術確立、低コスト化
	エゾアワビ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発、人工種苗の天然資源添加状況把握
	エゾバフンウニ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発
	キタムラサキウニ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発
	マガレイ クロガシラガレイ ハタハタ キツネメバル キチジ ケガニ ハナサキガニ マナマコ	放流	基礎技術開発
第6次（2011-2015）	ヒラメ	放流	放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減、魚病対策
	マツカワ		放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減、健苗育成技術開発
	クロソイ		放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減、放流手法の検討
	ニシン		放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減
	エゾアワビ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発、人工種苗の天然資源添加状況把握
	エゾバフンウニ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発
	キタムラサキウニ		種苗生産コスト低減、漁場管理技術開発
	マナマコ		種苗生産技術の改良、放流技術開発、放流効果把握
	マガレイ クロガシラガレイ キツネメバル タラバガニ	放流	基礎技術開発
第7次（2016-2020）	ヒラメ	放流	放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減、魚病対策
	マツカワ		放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減、魚病対策
	ニシン		放流効果の把握および向上、種苗生産コスト低減
	キツネメバル		親魚養成技術の改良、種苗量産化技術の改良、放流技術開発
	マナマコ		種苗生産技術の改良、放流技術向上、種苗生産・中間育成コスト低減
	タラバガニ	放流	基礎技術開発
	イワガキ	養殖	
	アサリ	放流/養殖	
	バカガイ		
	ホヤ類	養殖	

【引用元】水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画

参考文献　北海道（2005,2010,2015）.

表 I-3　2016 年度ニーズ調査結果抜粋（増殖関連事業）

※各ニーズの個別要望元は海域単位に集約

海域	研究要望課題名	研究内容
後志	給餌型ウニ畜養システムの技術開発・普及	海洋深層水施設でウニ畜養試験を実施して資料を収集
	藻場造成・磯焼け対策	コンブ遊走子の動態や付着に関する基礎研究とスポアバック効果の検証
	天然稚アユの遡上量の変動要因と増殖手法に係わる調査研究	天然稚アユの遡上量の安定化と、本州産稚アユの放流の効果や影響に関する研究
釧路	アカボヤ垂下式養殖技術開発試験	アカボヤ垂下養殖技術の開発
	北海道東部海域に適したアサリ垂下養殖技術開発	アサリ垂下養殖技術の開発
	新技術による地場採苗を活かしたマガキ養殖システムの開発	高品質のマガキを生産する養殖技術の開発
渡島	コンブ種苗生産と養殖コンブ漁業の安定化に向けた研究	(1)遊走子放出を簡易的に誘発する方法（コンブ版クビフリン）と放出された遊走子密度の算出方法に関する技術開発 (2)養殖コンブ類の種苗沖出し後の食害や脱落問題及び2年養殖用マコンブの1年目での枯死問題の解明と対策
	ヒジキ増養殖試験	ヒジキの増養殖に関する技術指導 ・生態調査（天然ヒジキの生態的知見の収集） ・人工種苗生産と養殖（種苗付着基質の検討と採苗後の育成管理技術の開発）
	アユ資源の安定化と効果的な増殖に関する研究	アユの資源の安定化と保全のため、現状の稚鮎の放流や人工採卵の効果の検証と効率的な増殖技術の開発研究
檜山	バカガイの資源管理指導及び畜養試験指導	・操業方法等改善の助言指導 ・港内での畜養試験への助言、指導 ・人工種苗を用いた港内養殖の助言、指導
	イワガキ種苗生産技術の改良に関する研究	・種苗の安定化 ・現場レベルにおける親貝の種判別技術開発 ・品質評価
	マナマコ増殖指導	・人工種苗生産における生残率向上、成長促進への助言、指導 ・マナマコ人工種苗放流追跡調査への協力、指導 ・麻袋を活用した人工種苗放流手法効果調査への助言指導 ・漁業者による荷捌き所種苗生産への技術指導
	DNA標識技術を利用したマナマコ人工種苗放流効果把握に関する研究	・DNA標識技術により成長、分散、残留率等を明らかにする。 ・他地区との結果を合わせて、より効果的な放流手法を明らかにする。
	ナマコの種苗生産における防疫対策の確立について	・スクーチカ症などの予防対策ち効果的な対処療法の開発
	マボヤ養殖指導	・マボヤ人工種苗生産技術指導 ・マボヤ養殖指導
	マナマコ養殖技術の確立	・養殖管理工程のマニュアル製作 ・生け簀養殖で使用できる餌の開発 ・適正飼育密度等
	養殖ホタテ貝の斃死の原因究明と対策について	・ホタテ貝の斃死原因究明と対策
	キツネメバルの人工種苗生産・放流試験及び放流効果調査	・人工種苗生産、放流試験の実施 ・人工種苗放流効果調査の実施
	適正なサケ稚魚放流時期の調査、指導	・サケ稚魚放流時期の餌生物調査及び放流時期への助言・指導
胆振	湖沼漁業の資源管理検討に向けた研究	ワカサギ、ヒメマスやサクラマスなどの漁業の資源維持と増殖を網羅した研究
日高	アカボヤ養殖技術の確立	へい死要因の究明、本養成技術の確立
	マツカワ天然稚魚発生調査、小型種苗の放流の可能性の検討、放流効果の偏在要因解明	マツカワの天然稚魚の発生状況を把握する。 小型種苗の放流の可能性を調査する。 放流後の分布・移動調査を実施する。
網走	カラフトマスの増殖効果の解明	・カラフトマスの沿岸漁獲物および河川捕獲魚に占める標識魚の割合の評価、および本種の増殖効果の定量的な評価
	ギンザケの防疫と種卵生産の効率化	ギンザケ偽雄による全雌生産技術の確立及びBKD防疫体制に関わる技術開発
	サクラマス遺伝子交雑に関する研究	国内移植種アマゴと本種とサクラマスの遺伝子解析を行い、交雑の実態を把握する研究
宗谷	チョウザメ生産の効率化と付加価値化に関する研究	チョウザメ養殖技術の改善、チョウザメ養成に適する餌の開発研究、チョウザメの肉質の品質向上と高付加価値化に関する研究
	湖沼における漁業資源の評価と管理に関する技術開発	イトウやワカサギなどの魚類の増殖や資源管理方策の検討となる基礎研究
	ヤマトシジミの寒冷地対応型増殖技術の開発	ヤマトシジミ資源の維持回復を目指した、人工種苗の放流効果の検証や生産体制の検討　生息環境の保全に向けた研究
その他	閉鎖循環式養殖に関する研究	北海道のサケ科魚類の養殖に適した閉鎖循環式飼育法の開発に向けて、本養殖システムの構築に関する研究
	低魚粉による餌料価格の軽減に向けた研究	ニジマス養殖に用いる低価格な餌料を開発する研究
	日本海漁業振興に係る協力依頼について	日本海地域各地にて、日本海振興に向けた様々な対策を協議・検討する過程で発生した課題等への的確な支援
	アサリ垂下式養殖における低コスト化	将来に渡り安定的な養殖業として普及していくために必須の低コスト化に関する調査研究

しないニーズが多数存在している。この様な事例は過去にも存在しており、第7次計画にて新たに道の計画に掲載されたイワガキ・バカガイ・アサリおよびホヤ類については、いずれも地域からのニーズが道の計画に引き込まれたものである。これらは、事業の成果を具体的に求められる現代の事情に合わせて、夢を追うトップダウン型の事業実施計画から、現実の地道な取組に焦点を当てたボトムアップ型の計画に移行しつつある状況を反映したものである。

このように、北海道における水産増養殖事業は近年急激に取組の形を変えつつあることから、事業評価体制についても再構築が進められている。これまで、事業実施元である行政機関が主体となって進めていたトップダウン型の事業では、事業推進者が事業評価を行なっていたため、事業への実際の取組に価値が見出されており、成果が重要視されることは少なかった。これに対し、近年は事業実施計画の立案そのものが事業実施者から提案されるボトムアップ型に急速に移行し、事業が具体的な地域ニーズに即した内容であるか、実際の漁業生産の向上もしくは直接の水揚げ増加に寄与するかという点について、計画段階から外部有識者による評価を受ける体制に変更された。これにより、ニーズ元である地域および新規増養殖事業を実施しようとする試験場などは、より明確な目的と具体的な成果を求められる状況にある。

以上のことから、本研究では北海道の地域から寄せられる様々な研究ニーズに対応するに当たり、試験研究機関が研究計画を立案するために必要な事前情報や条件を明らかにし、整理することを目的とし、3 つの具体的な研究事例について研究成果とその後成果活用状況について取りまとめた。まず、第Ⅱ章では、北海道で種苗放流事業が実施されているクロソイの種苗生産安定化を目的とし、人工授精技術開発を行なった事業について取りまとめ、研究成果の活用効果についても言及した。次に、第Ⅲ章では、函館市から寄せられたアカザラガイの増養殖に関するニーズへの対応として、人工種苗生産および天然採苗技術開発を行なった事業について取りまとめた。続いて第Ⅳ章では、奥尻町からのイワガキの新規特産化に関するニーズへの対応として、イワガキの人工種苗生産技術開発を行った。さらに、特産化に向けた取り組み支援として、養殖イワガキの品質評価や、漁業関係者・行政を含めた現地の取り組みについても取りまとめた。最後に第Ⅴ章では、本稿Ⅱ－Ⅳ章の具体的事例を基に、北海道における地域のニーズに対応した研究計画の立案に必要な条件について考察した。

第 II 章　海産胎生魚クロソイの人為繁殖技術開発

クロソイ *Sebastes schlegelii* は、日本沿岸の漁業対象種として、1980 年代から資源の増大を目的とした種苗放流が行なわれている。本種を含むフサカサゴ科のメバル属魚類は、年一回産仔型の胎生魚である（高野 1989）。また、メバル属魚類は雌雄で繁殖周期が異なるという特徴を有している。雄の性成熟は雌のそれに先行しており、性成熟開始時（卵黄形成初期）の雌に対して交尾が行なわれ、精子は卵巣内に送り込まれて貯留される。卵巣内の精子は機能停止状態となり、卵母細胞が最終成熟し排卵された際に活性化されて受精が起こるものと考えられている。日本沿岸に生息するメバル属では、一般に交尾から出産までの期間が南方種ほど短く、北方種ほど長いことが示されている（高野 1989）。このうち、北方種であるクロソイは特に交尾から出産までの期間が長く、秋から冬に交尾した後 6 ヶ月以上にわたり精子が雌の体内に貯留され、受精してからさらに 1 ヶ月程度の妊娠期間を経て出産される（Kusakari 1995）。そのため、クロソイの人工種苗生産では数百尾の親魚を 1 つの水槽で飼育し、自然交尾した親魚から仔魚を得ているが、飼育下での仔魚の確保の際に未受精卵の放出、早産および死産などの問題が生じており（野田・中川　2010）、仔魚の確保は不安定である。そこで本章第 1 節では、クロソイの種苗生産用の仔魚の安定確保に向けた人工授精技術の開発を試みた。また、本種は交尾してから妊娠していることを確認するまでに半年近くを要する特殊な繁殖形態であることから、第 2 節では得られた仔魚が人工授精により注入した精子に由来するかどうかについてマイクロサテライトマーカーを利用して確認した。さらに、第 3 節では北海道におけるクロソイ増養殖事業の現状を取りまとめ、本研究により得られた技術がどのように活用される可能性があるかについて考察した。

第 1 節　クロソイの人工授精技術開発

胎生魚の人工授精技術はカダヤシ科魚類を用いた種間交雑においてで初めて報告され（Clark 1950）、後にハイブリッドや系統作成に応用されている。海産種では、クロソイと同属で南方種のタケノコメバル *S. oblongus* で人工授精技術が開発されており、雌の輸卵管に雄の尿で希釈した精子を注入することで、仔魚を得ることに成功している（宮内ら 2012）。しかし、交尾から出産までの期間が長い北方種であるクロソイの人工授精について報告された例は無い。そこで本研究では、クロソイの人工授精技術を開発することを目的とし、成熟サイズのクロソイ雌魚に人為的に精子注入する条件を検討するとともに、その後の妊娠の有無および産仔数について調べた。

材料と方法

1. 供試魚

試験に用いたクロソイ雌親魚は、豊浦町で定置網により漁獲された活魚を用いた。雌親魚は漁獲時に腹部が膨満して妊娠している個体を選別し、飼育下で一度産仔させた経産魚を人工授精試験に用いた。クロソイ雄親魚には、室蘭公設市場に水揚げされた鮮魚、豊浦町で定置網により漁獲された活魚、栽培水産試験場および北海道栽培公社瀬棚事業所で飼育されていた活魚を用いた（表 II-1）。試験に用いた雄の鮮魚は、購入後精子を採取するまで 4℃ で冷蔵保存して当日中に試験に用いた。雌雄の活魚については、試験に用いるまで性別毎に別々の 20 kL 円形水槽にて自然水温の濾過海水かけ流しで飼育を行なった。飼育期間中、1-2 回/週の頻度で冷凍生餌（サンマ、イワシ、コウナゴ、イカなど）を給餌した。飼育期間中の水温は、栽培水産試験場の取水水温を記録すると共に、2013 年 11 月から 2014 年 6 月については、人工授精魚飼育水槽の水温を温度データロガー（T&D；おんどとり；Tr-52i）を用いて記録した。

2. 人工授精方法

2012 年の人工授精試験は、10 月 25 日から 12 月 25 日の 2 ヶ月間に渡り、24 尾の雌に対して実施した。活魚の雄親魚は 2－フェノキシエタノール（No.14129-01；関東化学株式会社）で麻酔した後、開腹時の流血を軽減するために尾柄部から注射器で脱血し、腹部を切開して精巣と貯精嚢を採取した。鮮魚の雄親魚は直接腹部を切開して精巣および貯精嚢を採取した。この時、膀胱に尿を蓄えている個体からは、プラスチックシリンジ（SS-10SZ；テルモ株式会社）および注射針（NN-2238R；テルモ株式会社）を用いて尿を採取した。精子を希釈しない場合は、貯精嚢を摩砕して染み出した粘液状の精子を 1 mL プラスチックシリンジ（No.3-316-840 S4010-LT；ケニス株式会社）にて数 μL 程度採取し、雌の外部生殖器から注入した。精子を希釈する場合は、貯精嚢の重量 1 g に対し 1 mL の割合でクロソイ雄の尿を加え、希釈液中で組織を摩砕して精子を分散させたものを後述の注入器具に充填し、雌の外部生殖孔から 100-200 μL 程度注入した。2012 年の人工授精は、雌 1 尾に対して雄 1 尾の精子を注入する 1 対 1 交配を実施した。検討項目として、精子を雄の尿で希釈する場合としない場合の検討、精子の注入に用いる器具として分注シリンジ（F164100；エムエス機器株式会社）と 10 μL ピペットチップ（I-201C；アズワン株式会社）を組み合わせたもの（以下分注シリンジ+チップ）、プラスチックシリンジ（SS-05SZ；テルモ株式会社）にディスポフィーディングニードル（FG5202；ケニス株式会社）を組み合わせたもの（以

表 II-1　人工授精試験に用いたクロソイ親魚の全長、体重および生殖腺重量（雄のみ）

年度	雌雄	尾数	平均全長(mm)	平均体重(g)	平均生殖腺重量(g)
2012	雄	15	399±34	903.1±158	8.4±4.6
	雌	24	371±67	1288.9±545	ー
2013	雄	15	393±77	914±322	6.1±3.9
	雌	20	425±77	1228±585	ー
2014	雄	10	416±18	1028±94	9.6±2.0
	雌	30	419±27	1526±275	ー

下ゾンデ）およびカテーテルシリンジ（SS-05CA21P；テルモ株式会社）に吸引針（ED-CA；テルモ株式会社）と内径 2 mm のシリコン管（94-0459；株式会社三商）を組み合わせたもの（以下カニューレ）を用いる場合の検討および精子を採取する雄が鮮魚か活魚かの検討を行った（図 II-1）。

2013 年の人工授精は、2013 年 11 月 15 日、11 月 29 日および 12 月 1 日の 3 回に分けて、合計雌 20 尾に実施した。雄活魚を 2−フェノキシエタノールで麻酔した後、開腹時の流血を軽減するために尾柄部から注射器で脱血し、腹部を切開して精巣と貯精嚢を取り出した。鮮魚の雄親魚は直接腹部を切開して精巣および貯精嚢を採取した。この時、膀胱に尿を蓄えている個体からは、プラスチックシリンジおよび注射針を用いて尿を採取した。貯精嚢は雄 5 尾分を集めて総重量を測定し、重量 1 g に対し 1 mL の割合で希釈液としてクロソイ雄の尿又は牛胎児血清（以下 FBS；Instant FBS；No.S382G；フナコシ株式会社）を加えた。希釈液中で組織を摩砕して精子を分散させた後ゾンデに装填し、雌の外部生殖孔から 1 尾当り 100 μL ずつ注入した（図 II-2）。2013 年の人工授精は、雌 1 尾に対し雄 5 尾の交配で実施した。人工授精の実施時期、精子希釈液としての雄の尿および FBS の有効性、精子を採取する雄が鮮魚か活魚かについて検討した。

2014 年の人工授精は、2014 年 11 月 21 日に合計雌 30 尾に実施した。雄活魚を 2−フェノキシエタノールで麻酔した後、腹部を切開して精巣と貯精嚢を取り出した。貯精嚢は雄 10 尾分を集めて総重量を測定し、重量 1 g に対し 1 mL の割合で希釈液として FBS を加えた。希釈液中で組織を摩砕して精子を分散させた後ゾンデに装填し、雌の外部生殖孔から 1 尾当り 100-300 μL ずつ注入した。2014 年の人工授精は、雌 1 尾に対し雄 10 尾の交配で実施し、精子注入量と人工授精の成否および産子数の関係を調べた。

3. 産仔と仔魚の計数

2012 年に人工授精した雌親魚は、20 k L 円形水槽で飼育を行ない、翌年 4 月から 6 月にかけて、腹部が膨満した個体から順にカニューレを用いて体内から仔魚を採取した。2013 年と 2014 年に人工授精を実施した雌親魚は、翌年 4 月から 5 月に腹部が膨満した個体から順に 500 L パンライト水槽に個別に収容した。雌親魚は 6 月にかけて産仔させた後、元の 20 kL 水槽に戻した。個別水槽に放出された仔魚を計数するため、水槽内を良く混合して仔魚を均一に分散させた後、10L の海水を採取し、ファインメッシュネット（スーパーカラーネット 3L；カミハタ養魚株式会社）で濾過して仔魚を採取した。電子天秤（UX4200H;株式会社島津製作所）を用いて仔魚の全湿重量を測定した後、雌個体毎に部分サンプル（0.33 ±0.10 g）の重量測定と仔魚数の計数を実施した。得られた重量と尾数の関係から、水槽内に産仔された全仔魚数を推定した。

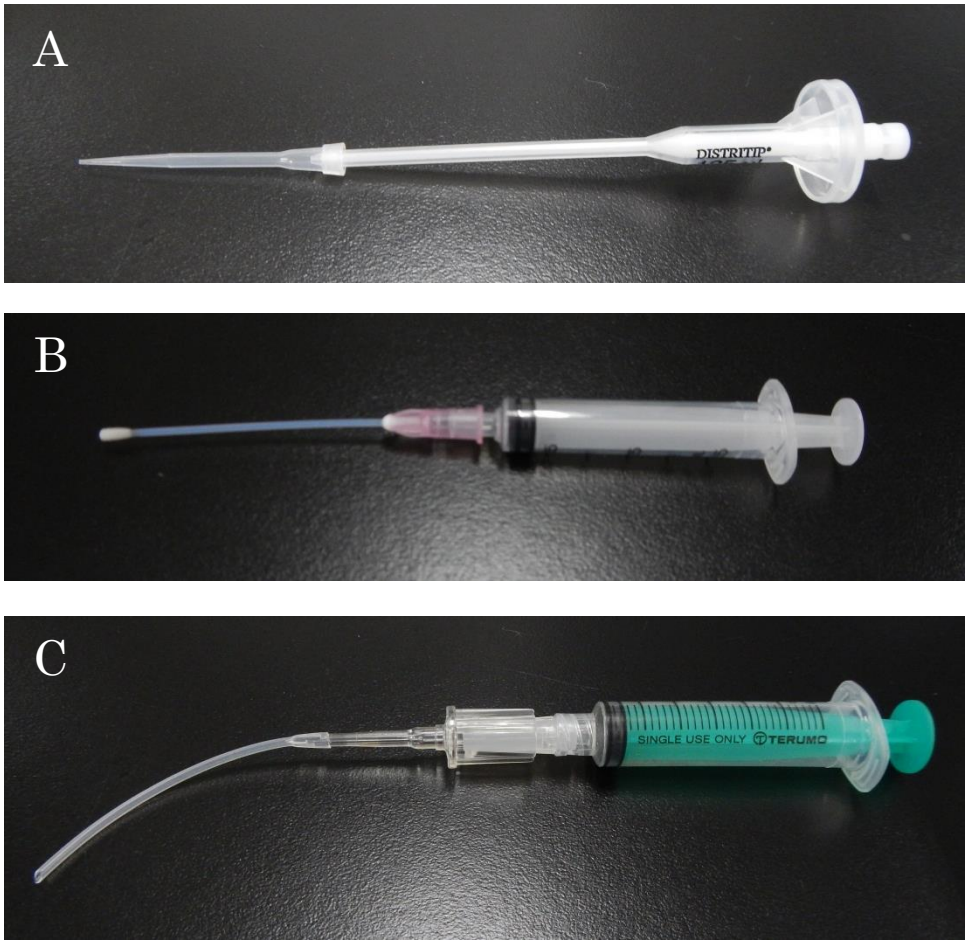


図 II-1　精子の注入に用いた器具。

A:分注シリンジ+チップ

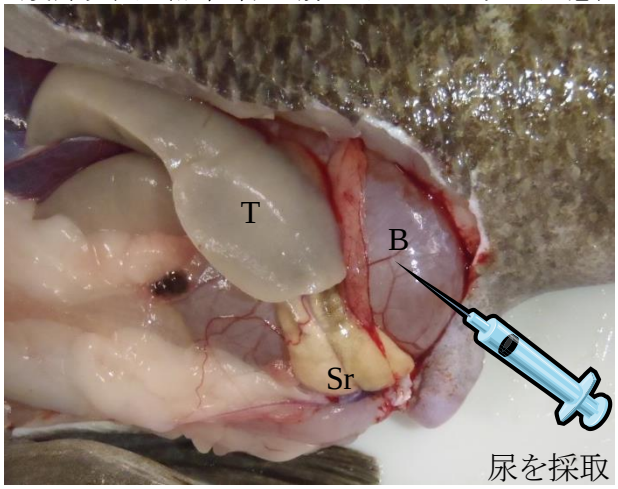
B:ゾンデ

C:カニューレ

麻酔した雄親魚



腹部切開（消化管を傷つけないように注意）



T：精巣 SR：貯精嚢 B：膀胱

精巣および貯精嚢を切出



組織をはさみで細断し希釈液中に精子を分散





ディスポフィーディング
ニードル（ゾンデ）
先端が尖っていない
柔らかい注射針



雌の生殖孔から希釈精子を注入

図 II-2　2013 年に実施した人工授精手法の概要。

4. 組織解析

2014 年に人工授精を行ない、2015 年春に産仔しなかった雌については、2ーフェノキシエタノール（No.14129-01；関東化学株式会社）で麻酔した後、腹部を切開して卵巣を取り出した。卵巣は重量を測定後、一部をブアン氏液で 1 晩固定した後、70%エタノールに置換して保存した。固定した卵巣は、常法に従い 5 μm のパラフィ包埋切片を作製した後、ヘマトキシリン-エオシン染色を行ない、光学顕微鏡（BX51；オリンパス株式会社）およびデジタルカメラ（DP71；オリンパス株式会社）を用いて組織像を観察した。

・統計解析

全てのデータは平均値±*SD* で示した。本試験で用いている統計解析は、Statccel3 ソフトウェア（Yanai 2013）を用いて解析した。

結　果

1. 飼育水温

2012 年から 2015 年の栽培水産試験場の天然海水かけ流し原水の水温を調べた結果、年間の最高水温は 8 月下旬から 9 月初旬で平均 20.9±1.4℃、最低水温は 2 月下旬から 3 月上旬で 1.4±0.2℃ であった（図 II-3）。2013 年に人工授精を実施した 11 月から、雌が産仔した 2014 年 6 月までの飼育水槽の水温を調べた結果、人工授精を実施した 11-12 月は水温が 15℃ から 10℃ 程度に低下していく時期であり、その後 2 月から 3 月にかけて 4℃ 以下の水温になり、産仔時期である 6 月は水温が 8℃ から 10℃ 程度に上がる時期であった（図 II-4）。

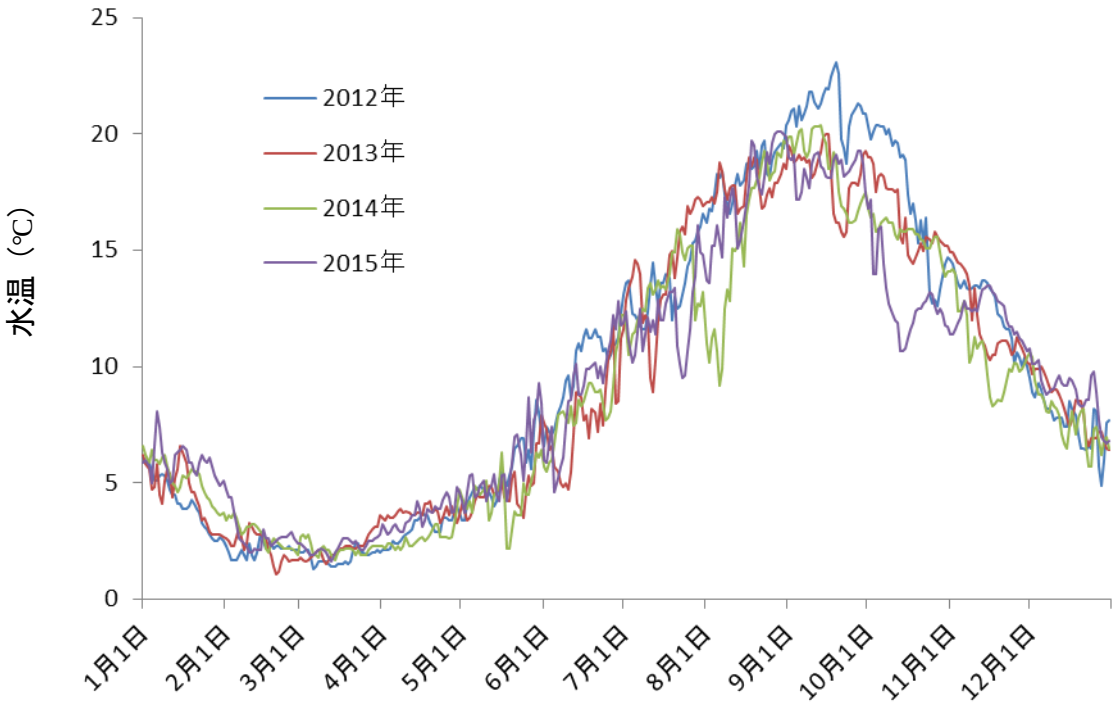


図 II-3　栽培水産試験場の天然海水かけ流し原水の日平均水温の変化。

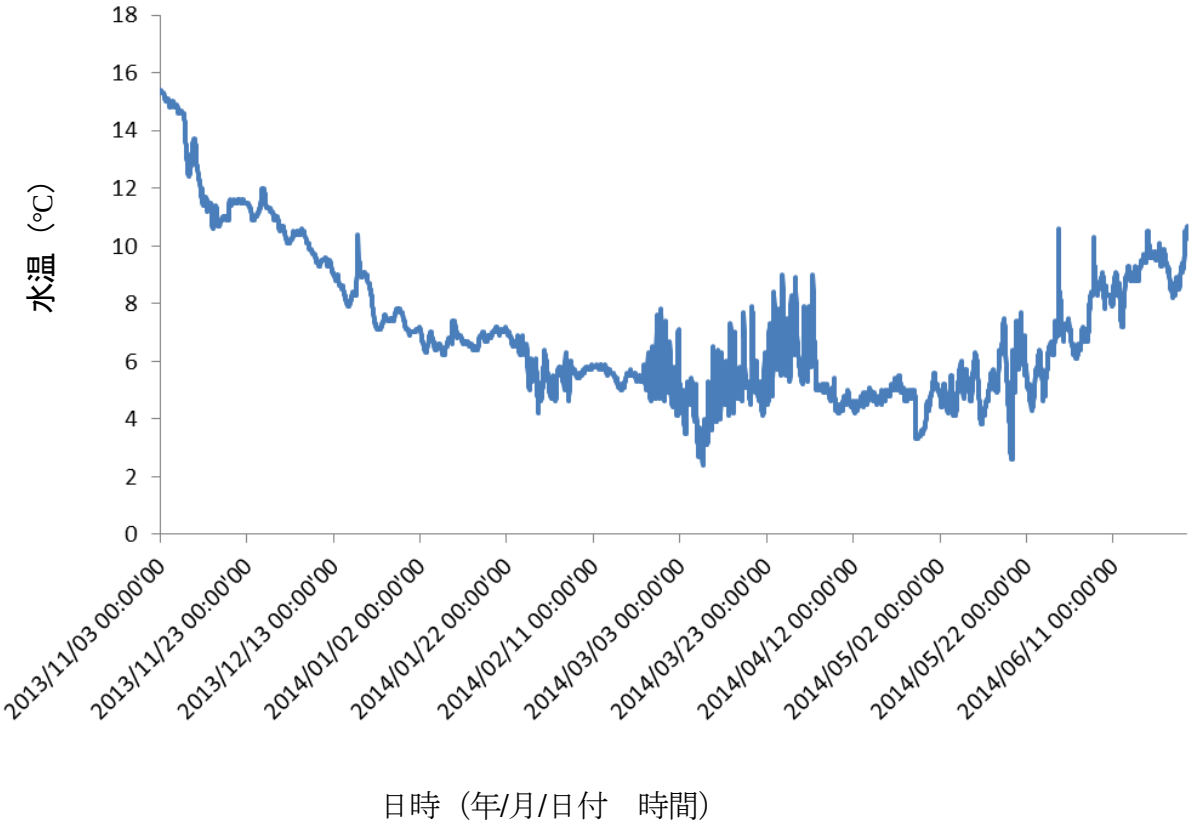


図 II-4　2013 年 11 月から 2014 年 6 月の人工授精魚飼育水槽の時間毎の水温変化。

2. 人工授精

2012 年に人工授精を実施したクロソイ雌 24 尾のうち、2013 年 6 月に 8 尾で妊娠が確認された。人工授精は 10 月 25 日、11 月 12 日、11 月 20 日、11 月 22 日および 12 月 25 日の 5 回に分けて実施したが、いずれの回でも妊娠した個体が得られた。人工授精に用いる精子は、死亡している鮮魚から採取したものと、活魚から採取したものを検討し、いずれも 4 尾ずつ妊娠した個体が得られた。精子の希釈の有無について検討した結果、希釈を行なわずに注入した場合で 7 尾、雄の尿で希釈した場合で 1 尾の妊娠魚が得られた。精子の注入に用いる器具を検討した結果、分注シリンジ+チップとゾンデを用いた場合で妊娠魚が得られ、カニューレを用いた場合では妊娠魚が得られなかった（表 II-2）。

2013 年に人工授精を実施したクロソイ雌 20 尾のうち、12 尾については 2014 年 6 月に産仔した。人工授精は 11 月 15 日、11 月 29 日および 12 月 1 日の 3 回に分けて実施し、いずれの回でも妊娠した個体が得られた。精子希釈液として雄の尿および FBS を検討した結果、尿で希釈した 15 尾中 10 尾で、FBS で希釈した 5 尾中 2 尾で妊娠した。人工授精に用いる精子は、死亡している鮮魚から採取したものと、活魚から採取したものを検討し、いずれも 6 尾ずつ妊娠した個体が得られた。妊娠した個体の産仔数は数万-30 万尾（平均 136,461±95,887 尾）であった（表 II-3）。

2014 年に人工授精を実施したクロソイ雌 30 尾のうち、19 尾については 2015 年 6 月に産仔した。人工授精の際、希釈精子の注入量について 100、200 および 400 μL 注入した群を設けたところ、100 μL と 400 μL 注入群で 6 尾、200 μL 注入群で 7 尾が産仔した（表 II-5）。2014 年に産仔した雌 1 尾当たりの平均産仔数は 199357±89754 尾であり、希釈精子注入量の違いによる産仔数の違いは見られなかった（図 II-5）。2015 年 7 月 2 日までに産仔しなかった個体（表 II-5 の-および△）について、腹部を切開して生殖腺外観および組織観察を行った結果、腹部が膨満しなかった雌 No.641、356、655、156、656、150 の 6 個体については、卵母細胞の成長が卵黄形成前の段階で止まっていた。腹部が膨満したものの、産仔しなかった雌 No.青 9、642、602、639、634 の 5 個体については、極少数の受精した胚が卵巣内に点在して見られた。卵巣組織を観察したところ、卵母細胞の成長段階は卵黄形成後期以降にあり、卵の核が観察される細胞も見られた（図 II-6）。

表 II-2　2012 年に実施した人工授精の結果

日付	雌個体 No.	雄個体 No.	雄親魚の生/死	精子希釈液	精子注入器具	妊娠の有無 *1
2012/10/25	143	10m1	鮮魚（死亡）	なし	分注シリンジ+チップ	＋
	216	10m1		尿		＋
	148	10m2		なし	ゾンデ	＋
	328	10m2		尿		－
	160	10m3		尿	カニューレ	－
2012/11/12	332	327	活魚	なし	ゾンデ	＋
	217	327		尿		－
	199	326		なし	カニューレ	－
	202	326		尿		－
	203	338		なし	分注シリンジ+チップ	－
	161	338		尿		－
2012/11/20	208	220	活魚	なし	ゾンデ	－
	178	318				－
	189	345				－
	197	330				＋
	159	334				＋
2012/11/22	221	11m1	鮮魚（死亡）	なし	ゾンデ	－
	152	11m2				－
	222	11m4				＋
2012/12/25	186	341	活魚	なし	ゾンデ	＋
	234	337				－
	233	331				－
	232	333				－
	230	247				－

*1　+：体内に仔魚を妊娠　－：雌未成熟又は未受精卵を体内に貯留

表 II-3　2013 年に実施した人工授精の結果

日付	雌個体 No.	雄個体 No.	精子希釈液	雄親魚の生/死	妊娠の有無 *1	産仔日	仔魚数 *2
2013/11/15	F1	M1-5 混合	尿	鮮魚（死亡）	+	2014/6/9	114942
	F2				+	2014/6/12	364444
	F3				+	2014/6/9	16350
	F4				−		
	F5		―――		+	2014/6/27	122727
	F6				−		
	F7		FBS		+	2014/6/27	50347
	F8				−		
	F9				+	2014/6/27	38235
	F10				−		
2013/11/29	F11	M6-10 混合	尿	活魚	+	2014/6/20	188775
	F12				+	2014/6/4	132954
	F13				+	2014/6/12	127808
	F14				−		
	F15				−		
2013/12/1	F16	M11-15 混合	尿	活魚	+	2014/6/11	230662
	F17				+	2014/6/22	226480
	F18				+	2014/6/12	74333
	F19				−		
	F20				−		

*1　+：体内に仔魚を妊娠　ー：雌未成熟又は未受精卵を体内に貯留
*2　容積法により求めた推定値
FBS: 牛胎児血清

表 II-4　2014 年に実施した人工授精の結果

日付	雌個体 No.	雄個体 No.	精子希釈液	希釈精子注入量 (uL)	妊娠の有無 *1	産仔日	仔魚数 *2
2014/11/21	659	2014__k 01-10 （10個体分混合）	FBS	100	+	2015/6/14	245109
	641				−		
	117				+	2015/6/13	172833
	636				+	2015/7/4	483051
	640				+	2015/6/17	246716
	356				−		
	118				+	2015/6/14	268679
	青9				△		
	635				+	2015/6/24	134654
	655				−		
	642			200	△		
	147				+	2015/6/23	127081
	357				+	2015/6/20	260441
	602				△		
	120				+	2015/6/23	175182
	660				+	2015/5/31	114667
	639				△		
	151				+	2015/6/22	116292
	122				+	2015/6/23	165170
	637				+	2015/7/9	226923
	658			400	+	2015/6/13	116667
	657				+	2015/6/5	48973
	156				−		
	656				−		
	160				+	2015/7/3	321951
	634				△		
	150				−		
	632				+	2015/6/28	162258
	170				+	2015/6/13	168306
	121				+	2015/6/29	202868

*1　+：体内に仔魚を妊娠　ー：雌未成熟又は未受精卵を体内に貯留　△：受精しているものの非常に受精率が低い
*2　容積法により求めた推定値
FBS: 牛胎児血清

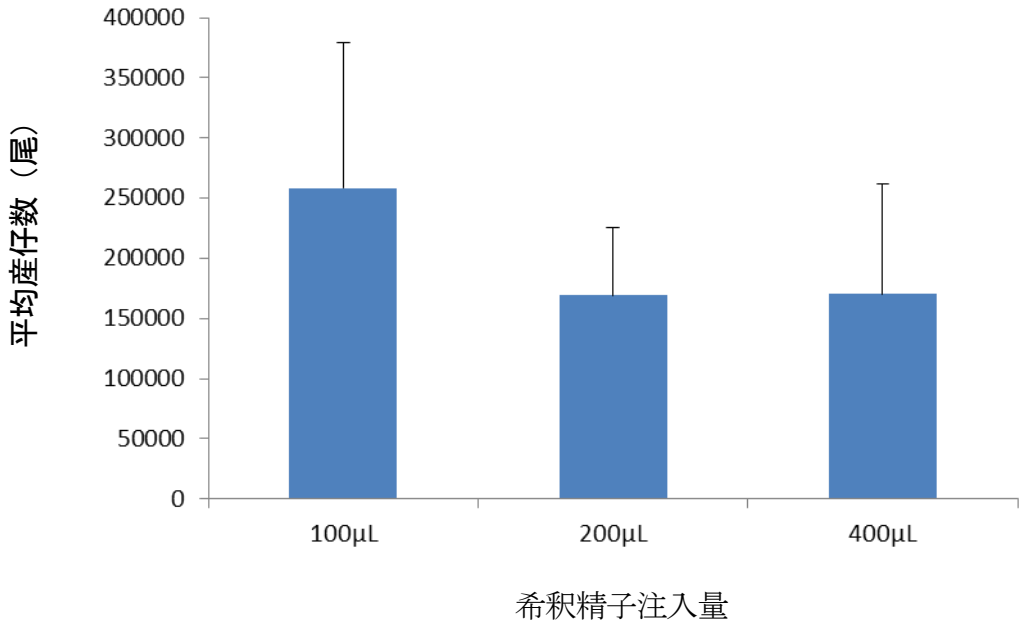


図 II-5　希釈精子の注入量が異なる各群の平均産仔数。
有意差検定（Tukey-Kramer 法　P<0.05）

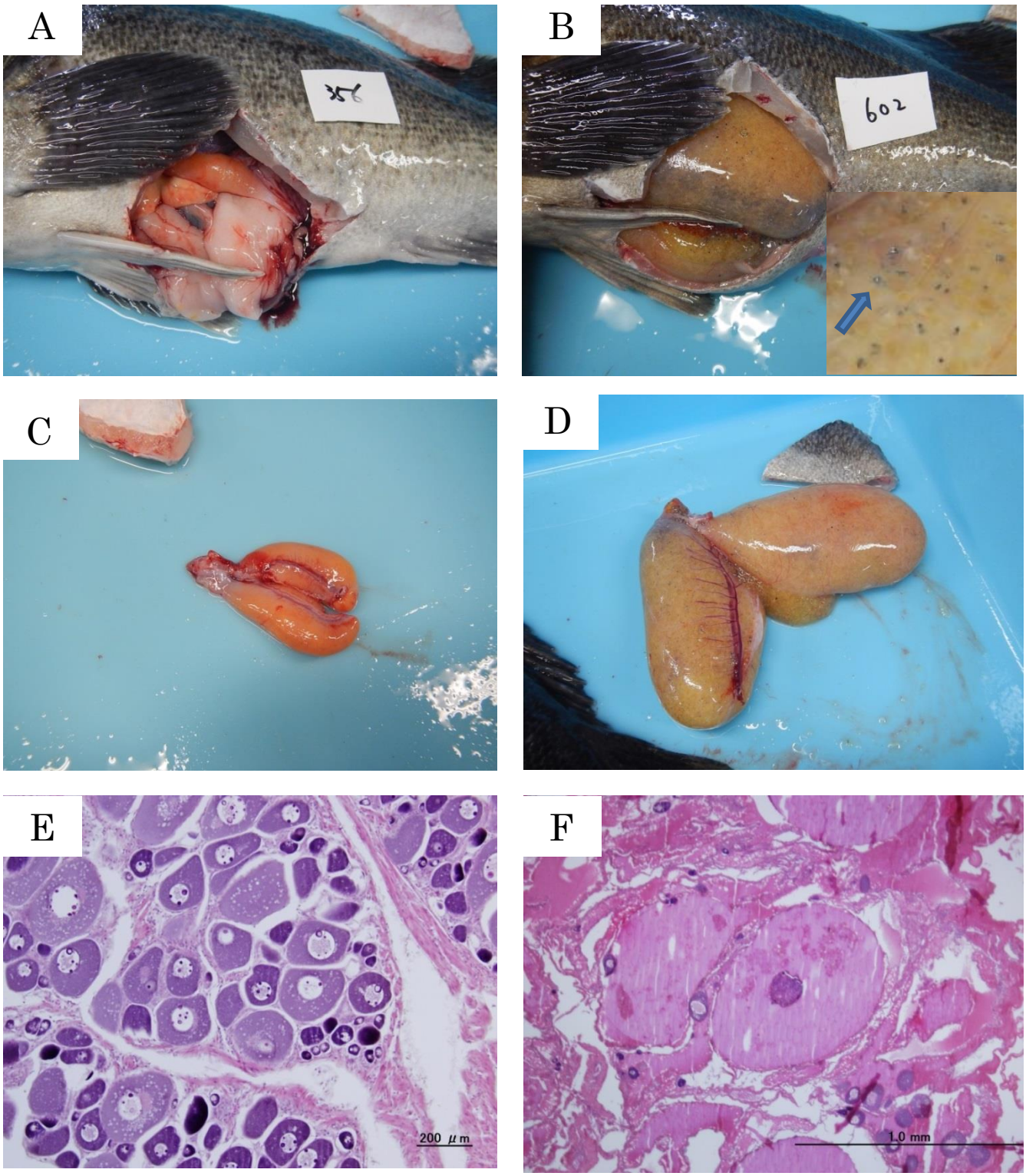


図 II-6　妊娠しなかった個体のうち、未成熟卵巣と成熟未受精卵巣を持つ雌。
の外観、生殖腺および生殖腺組織像
A、C：未成熟卵巣（雌 No.356）　B、D：成熟未受精卵巣（雌 NO.602）
E：未成熟卵巣の組織像　F：成熟未受精卵巣の組織像
矢印は、部分的に受精し発生している胚を示す。

考　察

本研究により、約半年間体内に精子を貯留する北方種のメバル属であるクロソイにおいて、人工授精が可能であることが示された。日本国内でのクロソイの種苗生産は、親魚数百尾の親魚を 1 つの水槽で飼育して自然交尾を促す方法が主流である（野田・中川　2010）。本試験において人工授精の成功率はであったが、確実に妊娠魚を得られることから、種苗生産施設での親魚の飼育尾数を低減することができる可能性がある。親魚の飼育数低減は、生産コストおよび作業従事者の負担の低減につながることから、クロソイの種苗生産において重要な技術開発であると考えられる。

人工授精の際、精子の注入に用いる器具について 2012 年に検討した結果、分注シリンジ+チップおよびゾンデを用いた場合に妊娠魚が得られた。これら 2 種類の器具のうち、ピペットチップを用いる方法はタケノコメバルでも用いられている（宮内ら　2012）。しかし、本試験において実際に人工授精を行なった際に、先端が固いピペットチップに比べて先端が柔らかいゾンデの方が親魚を傷つける可能性が少なく、精子の注入作業も容易であったことから、2013 年以降はゾンデを用いた方法を基本とした。

ソイ類の精液は精漿成分が非常に少ないため、極めて粘性が高い。2012 年はこの精液を希釈なしで人工授精に用いたが、粘性の高さから空気が混入する他、器具への装填量が極端に少ないなどの作業に支障があった。その為、2013 年以降は精子を雄の尿又は FBS により希釈してから用いる方法を実用的な方法として用いた。精子の希釈液として、雄の尿を用いる方法はタケノコメバルで報告があり（宮内ら 2012）、FBS は様々な魚類の精子希釈に用いられている溶液である（太田　2011）。本試験では、いずれの希釈液でも妊娠した個体が得られたことから、クロソイにおいてもこれらの精子希釈液が人工授精に有効であることが明らかになった。また、市販の FBS が利用可能であることが明らかになったことで、万が一雄の尿が採取できなかった場合に備えて FBS を準備しておくことで、人工授精の作業を滞りなく実施することが可能である。

一般に、淡水魚の精子の活性は低張な液体にさらされることで、海水魚では高張な液体にさらされることで運動が開始される（小林ら 2015）。しかし、胎生魚では体内から体内に精子が送られるため、浸透圧差は小さいと推察される。冷水性ソイ・メバル類において、精子の活性化要因が明確に示された例は無いが、本研究において用いた雄の尿や FBS 中では精子は運動を開始していたことから、体液に近い浸透圧の下で運動が生じる可能性が考えられる。しかし、精子の賦活化要因については別途詳細な研究が必要である。Dong et al., (2006) および Yang et al., (2007) では、ソードテール *Xiphophorus hellerii* を対象に、FBS の他、体液に近い HBSS 溶液でも人工授精に成功したことが報告されている。これらのこと

から、メバル属魚類においても、体液に近いリンゲル溶液を開発することができれば、精子賦活化の要因解明だけでなく、人工溶液による安定した人工授精技術への発展や試薬コストの低減が期待できる。

飼育下のクロソイでは、秋季の水温 15℃ 程度の時期から追尾行動が見られ、交尾に至るとされている（野田・中川　2010）。本試験において人工授精を実施した時期および水温は、2012 年が 10/25-12/25（水温 14.7-6.4℃）、2013 年が 11/5-12/1（水温 14.4-10.1℃）、2014 年は 11/21 日（水温 8.9℃）であり、これらいずれの回でも妊娠した雌が得られた。これらの結果から、自然交尾が行なわれると考えられる水温 15℃ 付近から、水温が 6℃ 程度まで低下する時期までの幅広い期間で、クロソイの雌が精子を受け入れられる状態にあることが示された。本試験において最長 10/25-12/25 日の 2 ヶ月間もの幅を持っても人工授精が成功したことで、クロソイに対して人工授精技術を適用できる期間は長いと考えられる。このことは、余裕を持って準備し作業に望むことが可能であることを示しており、種苗生産現場にとって非常に有益な情報である。

人工授精に用いた精子は、鮮魚から採取したものと活魚から採取したものを用いて検討を行ない、2012 年の人工授精では鮮魚由来の精子で 8 尾中 4 尾、活魚由来の精子で 16 尾中 4 尾が妊娠した。2013 年の人工授精では鮮魚由来の精子で 10 尾中 6 尾、活魚由来の精子で 10 尾中 6 尾が妊娠した。これらのことから、人工授精に用いる精子は必ずしも活魚から得る必要はなく、漁業で水揚げされて死亡した個体であっても、新鮮なものは利用可能であることが示された。これにより、人工種苗生産において漁獲物の雄を利用することが可能になり、周年親魚の飼育し続ける費用の低減に寄与できる可能性が高い。また、飼育親魚を用いる人工種苗生産では、特定の親魚に由来する種苗の生残率を高めることで、家系数の少ない類縁個体からなる集団を形成しやすいと言われている（社団法人日本水産資源保護協会　1999）ことから、鮮魚由来の精子の利用は、天然の遺伝子を容易に取り入れる手段として非常に簡便な方法になると考えられる。

人工授精により妊娠した雌魚の産仔数は、2013 年の人工授精で約 1-30 万尾、2014 年の人工授精で約 5-50 万と非常に個体差が大きかった。クロソイの卵巣における全長と擁卵数の関係は詳しく調べられており、全長 34-50cm の雌では、よう卵数に約 38,000-294,000 粒と非常にばらつきが大きいこと報告されている（Kusakari　1995）。本研究で人工授精により妊娠した雌の産仔数はこの報告と一致、または個体によってはさらに多い産仔数も見られており、産仔数に関して自然交尾魚との差は無いと考えられる。このことから、本研究で人工授精に用いた精子は、受精に十分な量がまかなえていたことが推察されるが、本研究では注入した精子の実数を数えていなかったことから、精子注入数と産仔数については今後さらに調査が必要である。

本研究において、2013 年に人工授精を行なった雌 20 尾のうち 8 尾（40%）で腹部の膨満が見られなかった。Kusakari （1995）では、天然クロソイの卵巣の成熟度調査を行ない、成熟サイズの雌であっても、平均 28%の割合で未熟な卵巣を持つことを報告している。このことから、2013 年の人工授精により妊娠しなかった個体は、カニュレーションにより未受精卵も観察されなかったことから、卵母細胞の成長が進まなかった個体の可能性がある。また、2014 年の人工授精では、30 尾の雌のうち 11 尾（36%）で腹部の膨満が見られなかった。これらの個体を解剖し卵巣の状態を確認した結果、11 尾中 5 尾では卵黄形成が進んでいる様子が観察され、卵巣内に点在するようにわずかに受精した胚が見られた。これらの卵巣の組織観察を行なった結果、卵黄形成後期の核を有する卵細胞が観察されたことから、多くの卵母細胞では卵成熟に至っていないと考えられた。部分的に受精している原因は特定できないが、卵巣が発達しているが、正常に産仔しなかった 5 尾については、卵母細胞の最終成熟が同期的に進まなかった可能性がある。残りの 6 尾については卵母細胞が卵黄形成期に至っておらず、人工授精実施年に雌が成熟しなかったことが妊娠に至らなかった原因と考えられた。現状、人工授精を実施する時点で雌が成熟に向かっているかを判断する方法は無いが、クロソイでは雌の成熟に伴う卵黄蛋白前駆物質（Vtg）や性ステロイドホルモンの血中動態が詳しく調べられており、秋に生殖腺体指数が増大する時期に、血中 Vtg およびエストラジオール-17β（E2）量が顕著に増加することが報告されている（Mori et al., 2003）。将来、これらの生化学的指標を用いて雌の成熟の進行の有無を判断することができれば、人工授精に用いる雌親魚の選抜が可能となり、より効率的な人工授精が可能になると考えられる。

第 2 節　仔魚の遺伝子解析による人工授精の成否検証

卵生魚の人工授精と比べ、胎生魚では交尾から受精までの間に長い期間を要する。特に、北方種のクロソイでは、交尾後半年程度の期間を経て受精および産仔に至るため、人工授精の成否を判別するためには、親子鑑定を行なう必要がある。メバル *S. inermis* では、マイクロサテライトマーカーを利用した放流種苗の判定が可能であることが報告されている（村上ら　2006）。クロソイでも、人工飼育下での交尾に関与した親魚の解析にマイクロサテライトマーカーが利用されている（Yoshida et al., 2001）。そこで本研究では、第 1 節で人工的に雌の体内に精子を注入して得られた妊娠魚の体内の仔魚が、注入した精子に由来することを明らかにするため、仔魚と親魚のマイクロサテライト解析を行なった。また、得られたアリルパターンから、授精に関与した雄の尾数や 1 腹の仔魚の遺伝的多様性について解析をした。

材料と方法

1. 供試魚

試験に用いたクロソイ天然魚は、豊浦町で定置網により漁獲された活魚を用いた。また、親子関係の確認に用いた親魚および仔魚は、第 1 節にて得られた試料を用いた。

2. 親子鑑定

試験に用いたクロソイ親魚から腹鰭の一部を切り取り、80%エタノール中で保存した。2013 年春に妊娠した雌の腹部から外径 2 mm、内径 1 mm のシリコンチューブ（No.94-2001-4；株式会社三商）を取り付けた 2.5 mL プラスチックシリンジ（SS-02SZ；テルモ株式会社）を用いて仔魚の一部を採取し、80%エタノール中で保存した。2014 年および 2015 年春に妊娠した雌は、個別水槽で産仔させ、水中に放出された仔魚の一部を採取し、80%エタノール中で保存した。親魚の鰭および仔魚から市販の DNA 抽出キット（A1125；プロメガ株式会社）を用いてゲノム DNA を抽出した。得られたゲノム DNA は、マイクロサテライト解析に供するまで-30℃ で保存した。

クロソイの親子鑑定に用いるマイクロサテライトマーカーの候補として、近縁種で報告されている *Sbi* シリーズ 4 種（Hyde and Vetter 2007）および *Sth* シリーズ 4 種（Sekino et al., 2009）の計 8 種の既知のマイクロサテライトを対象として解析を行なった。PCR 反応は市販の PCR キット（RR001A；タカラバイオ株式会社）を用い、マイクロサテライト検出には蛍光標識プライマー（Genescan 450056；サーモフィ

ッシャーサイエンティフィック株式会社）を用いた。PCR 反応液は Ex Taq 0.1 μL、10×Ex Taq Buffer 1 μL、dNTP mixture 0.8 μL、5 μM Forward primer 0.5 μL、5 μM Reverse primer 0.5 μL、DNA サンプル（10-100 ng/μL）1 μL、ミリ Q 水 6.4 μL の組成で作製し、サーマルサイクラー（Veriti 200；サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）で、94℃ で 5 分間の熱反応後、94℃ 30 秒／52℃ で 1 分の会合／72℃ で 1 分間の伸長を 30 回繰り返したのち、72℃ で 4 分間の最終伸長を行なった。PCR 反応産物は、フラグメント解析に用いるまで 4℃ で保存した。

蛍光標識プライマーを用いた PCR 産物をフラグメント解析に供するため、10 μL Hidi-Folmamide（4311320；サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）、0.5 μL 600 Liz size standard（4366589；サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）、1 μL PCR 産物の割合で混合し、95℃ で 5 分間解離させた後 4℃ まで急冷した。得られた反応液を、キャピラリーシーケンサー（3130xl；サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）を用いてフラグメント解析に供した。得られた結果から、フラグメント解析ソフトウェア（Gene Mapper v4.1；サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）を用いて各マイクロサテライトのアリルを決定した。

親子鑑定に利用するマーカーを選定するため、20 尾分のクロソイ天然魚由来のゲノム DNA を鋳型とし、8 種のマイクロサテライトマーカーのフラグメント解析を行った。得られた天然魚のアリルから、親子鑑定ソフトウェア（PARFEX；Sekino et al., 2000）を用いて各マーカーの多様度と親子鑑定成功率を調べた。親子鑑定成功率の計算は、Polymorphic information contents（PIC）を指標として仔魚 1000 尾を分析した際の単一の両親を特定できる割合とした。

人工授精を行った両親と妊娠魚の体内の仔魚のマイクロサテライト解析を行ない、得られたアリルから親子関係を検証した。各マーカーの多様度、有効性および親子関係の検証には、親子鑑定ソフトウェア（PARFEX；Sekino et al., 2000）を用いた。2012 年と 2014 年に実施した試験では親子関係の確認のみを行ない、2013 年に実施した試験では両親の特定および受精に関与した雄の個体差を調べた。

・統計解析

全てのデータは平均値±*SD* で示した。本試験で用いている統計解析は、Statccel3 ソフトウェア（Yanai 2013）を用いて解析を行なった。

結　果

1. 親子鑑定用マイクロサテライトマーカーの有効性

8 種のマイクロサテライトについて、天然クロソイ 20 尾のゲノム DNA を鋳型としてアリルの多様性を調べた結果、*Sbi1*、*Sbi3*、*Sth3b*、*Sth56* の 4 種が 10 以上の多様なアリルを有することが明らかになった。各マーカーの PIC から、親子鑑定への有効性を検証した結果、同時に解析可能な 4 種のマイクロサテライトマーカーとして *Sbi1*、*Sbi3*、*Sth3b*、*Sth56* の組み合わせを用いた場合、親子鑑定の成功率は 94.8%であった（表 II-5）。

2. 親子鑑定

2012 年に人工授精を実施し、妊娠した 8 尾の雌の仔魚と両親のゲノム DNA から、4 種類のマイクロサテライトの解析を行なった結果、1 対 1 交配により得られた 8 尾の妊娠魚の体内の仔魚は、人工授精に用いた両親に由来するアリルを両親から片方ずつ受け継いでいることが明確に示された（表 II-6）。

2013 年に人工授精を実施し（2013 年には雄 5 尾分の精子を混合して人工授精）、妊娠した 12 尾の雌の仔魚と両親のゲノム DNA から、4 種類のマイクロサテライトの解析を行なった結果、全ての個体で人工授精した雄の精子に由来する仔魚を妊娠していることが明らかになった（表 II-7～9）。このうち、雌 No.F9 では人工授精に用いた雄 4 尾に由来する仔魚を、その他の雌 11 尾については、雄 5 尾に由来する仔魚を妊娠していた。仔魚 50 尾から雄親を特定できた割合はおよそ 70-90%であった（表 II-10）。雄 5 尾から得られた精子を混合して人工授精に用いた際、受精に関与する雄に差がでるのかを調べた結果、11 月 15 日に人工授精して妊娠した 6 尾の雌から生まれた仔魚では、雄 No.M4 が M5 に比べ有意に多く受精に関与していた。11 月 29 日に人工授精して妊娠した 3 尾の雌から生まれた仔魚では、雄 No. M9 が M6, 7 および 8 に比べ有意に多く受精に関与していた。12 月 1 日に人工授精して妊娠した 3 尾の雌から生まれた仔魚では、雄 No. M11 が M15 に比べ多く授精に関与していた（図 II-7）。

2014 年に人工授精を行ない（2014 年には雄 10 尾分の精子を混合して人工授精）、妊娠した 19 尾の雌の仔魚と両親のゲノム DNA から、4 種類のマイクロサテライトの解析を行なった結果、内 16 尾で人工授精した雄の精子に由来する仔魚を妊娠していることが明らかになった（表 II-11、II-12 および II-14）。残りの 3 尾の雌のうち、雌 No. 147 および 160 では、一部の仔魚の遺伝子型のパターンから妊娠した親魚とは異なる特定の 1 尾の雌親の遺伝子型が推定された（表 II-13 および II-15）。一方、雌 No. 170 では、妊娠した雌親と仔魚の遺伝子型は一致せず、少なくとも 2 尾の別の雌の遺伝子型が推定された（表 II-16）。

表 II-5　クロソイ天然魚 20 尾で解析した、8 種類のマイクロサテライトマーカーの多様度と、親子鑑定への有効性

マーカー	アリル数	*Ho*	*He*	PIC	有効性順位	両親を特定できる確率(%)
Sbi3	14	0.85	0.923	0.892	1	2.2
Sth56	14	0.85	0.915	0.883	2	60.5
Sth3b	11	0.95	0.9	0.865	3	87.8
Sbi1	12	0.95	0.853	0.818	4	94.8
Sbi4	6	0.35	0.359	0.337	5	98.3
Sth45	2	0.4	0.328	0.269	6	98.4
Sbi2	4	0.3	0.273	0.25	7	98.5
Sth3a	1	0	0	0	8	98.5

Ho: ヘテロ接合度の観察値
He: ヘテロ接合度の期待値
PIC: 多型情報含有値
有効性順位：各マーカーの多様度に基づいた親子鑑定に有用なマーカーの順位
両親を特定できる確率：有効性順位に従いマーカーを組み合わせた場合に両親を特定できる確率

表 II-6　2012 年に人工授精を行ない、2013 年に妊娠した親魚
および仔魚のマイクロサテライト解析結果
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル、
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	10m1	**94/164**	**137/141**	**163/175**	**193/223**
雌親	143	88/96	141/143	145/159	217/223
仔魚の遺伝子型のパターン（N=42）		88/**94**	**137**/143	145/**175**	**193**/217
		88/**164**	*141*	145/**163**	**193**/223
		94/96	**141**/143	159/**175**	217/**223**
		96/**164**	**137**/141	159/**163**	*223*
雄親	10m1	**94/164**	**137/141**	**163/175**	**193/223**
雌親	216	88/90	137/143	159/175	209/223
仔魚の遺伝子型のパターン（N=52）		88/**94**	*137*	159/**163**	**193**/209
		88/**164**	**137**/143	159/**175**	**193**/223
		90/**94**	**141**/137	163/**175**	209/**223**
		90/**164**	**141**/143	*175*	*223*
雄親	10m2	**96/124**	**133/133**	**163/165**	**217/221**
雌親	148	92/94	127/139	161/163	203/211
仔魚の遺伝子型のパターン（N=27）		92/**96**	127/**133**	161/**163**	203/**217**
		92/**124**	**133**/139	161/**165**	203/**221**
		94/**96**		*163*	211/**217**
		94/**124**		163/**165**	211/**221**
雄親	327	**110/104**	**133/141**	**165/169**	**217/219**
雌親	332	88/92	125/133	165/165	217/229
仔魚の遺伝子型のパターン（N=22）		88/**104**	125/**133**	165/**169**	*217/217*
		88/**110**	133/**141**	*165*	217/**219**
		92/**104**	125/**141**		**217**/229
		92/**110**			**219**/229
雄親	330	**94/110**	**127/147**	**161/165**	**217/223**
雌親	197	88/104	135/149	159/163	193/197
仔魚の遺伝子型のパターン（N=79）		88/**94**	**127**/135	159/**161**	193/**217**
		88/**110**	**127**/149	159/**165**	197/**223**
		94/104	135/**147**	**161**/163	193/**217**
		104/**110**	**147**/149	163/**165**	197/**223**
雄親	334	**94/104**	**127/133**	**161/167**	**217/217**
雌親	159	88/94	125/143	159/163	215/219
仔魚の遺伝子型のパターン（N=46）		88/**94**	125/**133**	159/**161**	215/**217**
		88/**104**	125/**127**	**161**/163	219/**217**
		94	**127**/143	163/**167**	
		94/**104**	**133**/143		
雄親	11m4	**92/106**	**135/135**	**163/171**	**193/203**
雌親	222	88/96	147/147	159/165	205/221
仔魚の遺伝子型のパターン（N=22）		88/**92**	**135**/147	159/163	**193**/205
		88/**106**		159/**171**	**193**/221
		92/96		**163**/165	**203**/205
		96/**106**		165/**171**	**203**/221
雄親	341	**104/110**	**141/147**	**161/169**	**217/223**
雌親	186	90/98	143/149	171/173	219/223
仔魚の遺伝子型のパターン（N=50）		90/**104**	**141**/143	**161**/171	**217**/219
		90/**110**	143/**147**	**161**/173	219/**223**
		98/**104**	**147**/149	**169**/171	*223*
		98/**110**	**141**/149	**169**/173	217/**223**

表 II-7　2013 年 11 月 15 日に人工授精し 2014 年に産仔した親魚および仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル、

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	M1	**88**	**133/149**	**159/173**	**193**
	M2	**88/96**	**133/141**	**145/171**	**219/221**
	M3	**96**	**133/135**	**163/165**	**193/231**
	M4	**96/124**	**119**	**159/163**	**217/223**
	M5	**88/100**	**135/151**	**161/163**	**193/225**
雌親	F1	88/96	133/143	145/159	217/223
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		*96*	**133**/143	145/**163**	217/**231**
		88/96	**135**/143	159/**163**	*217/223*
		96/**124**	143/**151**	145/**165**	217/**225**
		88/**124**	**119**/143	145/**159**	*223*
		88/**110**	**141**/143	*159*	223/**231**
			143/**149**	159/**171**	**219**/223
				145/**171**	**193**/223
				145/**173**	**221**/223
雌親	F2	88/104	135/149	159/163	193/197
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**96**	*149*	159/**165**	193/**223**
		88/**104**	**141**/149	*159/163*	197/**219**
		96/104	149/**151**	*159*	197/**225**
		104/**124**	**119**/149	**145**/163	197/**221**
		88/**124**	**133**/149	**161**/163	193/**217**
		100/104	**119**/135	**145**/159	197/**217**
		88	*135*	*163*	197/**231**
				163/**165**	193/**231**
				159/**161**	*193*
				163/**173**	
				159/**171**	
雌親	F3	88/94	135/149	161/165	223/225
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**96**	*135*	**159**/165	**217**/225
		88/**124**	**119**/149	**163**/165	**193**/223
		88/94	**133**/149	161/**173**	**217**/223
		94/**124**	**119**/135	161/**163**	*225*
		88/**100**	**141**/149	165/**171**	*223*
		94/**96**	*149*	**145**/161	**219**/223
		88	149/**151**		*223/225*
			135/**151**		**219**/225
					193/225
					221/223
					223/**231**
					225/**231**

表 II-7（続き）　2013 年 11 月 15 日に人工授精し 2014 年に産仔した親魚および仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル、

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	M1	**88**	**133/149**	**159/173**	**193**
	M2	**88/96**	**133/141**	**145/171**	**219/221**
	M3	**96**	**133/135**	**163/165**	**193/231**
	M4	**96/124**	**119**	**159/163**	**217/223**
	M5	**88/100**	**135/151**	**161/163**	**193/225**
雌親	F5	90/92	141/151	171	209/223
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		90/**124**	*151*	**159**/171	209/**223**
		88/92	**119**/151	**145**/171	**219**/223
		92/**96**	133/**141**	**163**/171	**193**/209
		92/**124**	*141*	**161**/171	209/**221**
		88/90	**119**/141	171/**173**	*223*
		90/**96**	**135**/141	*171*	**193**/223
		92/**100**			209/**225**
					217/223
					209/**217**
					209/**231**
					223/**231**
雌親	F7	88	127/139	145/163	217/221
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**96**	**119**/127	*145/159*	217/**225**
		88/**124**	**135**/139	*163/165*	217/**231**
		88	127/**149**	*145/163*	217/**223**
		88/**100**	139/**149**	*159/163*	221/**223**
			119/139	*163*	*221*
			139/**141**	145/**171**	**193**/221
			133/139	**159**/163	**193**/217
			139/**151**	145/**159**	**219**/221
				145/**173**	217/**219**
				163/**173**	
雌親	F9	88/166	137/141	145/169	213/223
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		**96**/166	**133**/137	145/**171**	**221**/223
		88/**96**	*141*	145/**159**	213/**217**
		88/166	**119**/141	145/**163**	**193**/223
		88/**124**	**133**/141	**159**/169	*213/223*
		124/166	141/**149**	**163**/169	*223*
		88	137/**149**	169/**171**	223/**225**
			137/**151**	**165**/169	213/**219**
			135/137	169/**173**	223/**231**
				145/**173**	

表 II-8　2013 年 11 月 29 日に人工授精し 2014 年に産仔した親魚および仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル、

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	M6	**90/98**	**137/141**	**165/171**	**193/221**
	M7	**94/110**	**127/133**	**161/165**	**223**
	M8	**108/110**	**133/135**	**161/165**	**217/223**
	M9	**104/110**	**133/141**	**165/169**	**217**
	M10	**94/104**	**133/141**	**145/161**	**217/219**
雌親	F11	88/110	131/149	159/163	193/213
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**94**	**127**/149	**145**/163	193/**217**
		88/**104**	131/**133**	159/**161**	193/**223**
		88/**110**	131/**135**	159/**169**	213/**223**
		104/110	131/**141**	159/**165**	213/**217**
		108/110	**133**/149	163/**165**	193/**219**
		110	**135**/149	163/**169**	213/**221**
		98/110	**141**/149		213/**219**
		88/**98**			
雌親	F12	88/92	125/133	165	217/229
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**104**	125/**141**	**145**/165	217/**219**
		88/**110**	125/**133**	**161**/165	*217*
		88/**94**	125/**127**	*165*	217/**223**
		88/**108**	125/**137**	165/**169**	217/**223**
		90/92	*133*	165/**171**	**217**/229
		92/**104**	133/**141**		**219**/229
		92/**110**	133/**135**		**221**/229
		92/**94**			**223**/229
		92/**108**			**193**/217
		92/**98**			**193**/229
		88/**98**			
雌親	F13	88/96	135	161/163	221/227
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**108**	**127**/135	**145**/161	**217**/227
		88/**110**	**133**/135	**145**/163	**217**/221
		88/**104**	*135*	*161/165*	**219**/221
		94/96	135/**141**	**161**/163	221/**223**
		96/**110**	135/**137**	161/163	**223**/227
		96/**104**		*161*	**193**/227
		90/96		163/**165**	**193**/221
				163/**169**	
				161/**171**	
				163/**171**	

表 II-9　2013 年 12 月 1 日に人工授精し 2014 年に産仔した親魚
および仔魚のマイクロサテライト解析結果
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル、
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	M11	**94/104**	**141/147**	**165/169**	**217**
	M12	**94/110**	**133/135**	**161/165**	**201/217**
	M13	**88/92**	**133/137**	**165**	**193/217**
	M14	**90/98**	**137/141**	**163/169**	**193/221**
	M15	**94/110**	**135/147**	**165**	**217/223**
雌親	F16	88/96	145/147	159/165	205/221
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		88/**94**	**133**/147	159/**165**	**201**/221
		88/**110**	**133**/145	159/**161**	**201**/205
		88/**104**	**135**/145	159/**163**	205/**217**
		90/96	**135**/147	**161**/165	205/**223**
		94/96	**141**/147	**163**/165	**217**/221
		96/**104**	145/**147**	*165*	*221*
		96/**110**	**137**/145	159/**169**	**193**/205
		96/**98**	**137**/147	165/**169**	**193**/223
		92/96			
		88/**92**			
雌親	F17	100	143/149	163/171	211/213
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		**88**/100	**133**/143	**161**/163	**201**/211
		92/100	**133**/149	**161**/171	211/**217**
		94/100	**135**/149	163/**165**	211/**221**
		98/100	**137**/143	*163*	213/**217**
		100/**110**	**137**/149	163/**169**	213/**223**
		100/**104**	**141**/143	**165**/171	**193**/211
		90/100	**141**/149	**169**/171	**193**/213
			143/**147**		
			147/149		
雌親	F18	100/134	133/141	161/165	203/209
仔魚の遺伝子型のパターン (N=50)		**88**/134	133/**135**	*161/165*	**193**/203
		88/100	*133/141*	161/**163**	**193**/209
		90/100	133/**137**	161/**169**	**201**/203
		90/134	133/**147**	*161*	**201**/209
		92/134	**135**/141	*165*	203/**217**
		92/100	**137**/141	165/**169**	209/**217**
		94/100	*141*		209/**221**
		94/134			203/**223**
		98/100			209/**223**
		100/**104**			
		100/**110**			
		104/134			

表 II-10　2013 年に人工授精を行ない、2014 年に産仔された仔魚が由来する雄親の割合（N=50）

（単位：%）

雌親 No.	雄親 No.															雄親特定成功	雄親特定不能
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15		
F1	10	20	14	22	6											72	28
F2	16	10	14	20	2											62	38
F3	8	8	18	24	20											78	22
F5	16	12	6	28	8											70	30
F7	32	18	4	14	6											74	26
F9	42	18	0	24	2											86	14
F11						6	6	8	50	16						86	14
F12						18	10	18	18	26						90	10
F13						10	4	16	24	22						76	24
F16											24	14	18	20	8	84	16
F17											24	8	24	18	12	86	14
F18											22	24	8	12	16	82	18

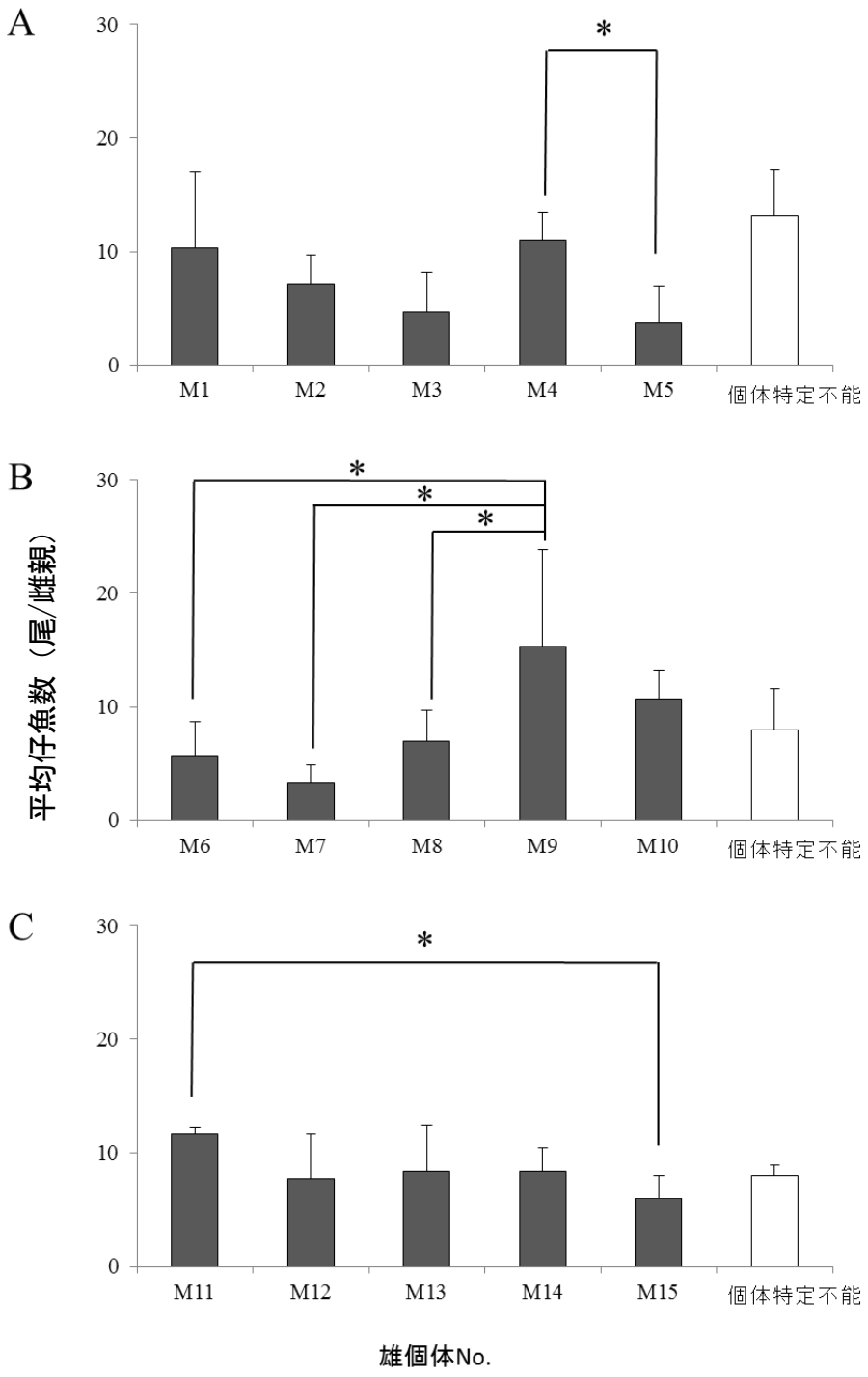


図 II-7　5 尾の雄から得た精子を混合して人工授精した際の受精への関与の個体差。グラフは、雌 1 尾が産んだ仔魚 50 尾のうち、各雄に由来する仔魚の尾数の平均値を示す。

A：2013 年 11 月 15 日に人工授精した群

B： 2013 年 11 月 29 日に人工授精した群

C： 2013 年 12 月 1 日に人工授精した群

＊は群間に有意な差があることを示す（Turkey-Kramer test, P<0.05）。

表 II-11　2014 年に希釈精子を 100 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚のマイクロサテライト解析結果
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	659	90/104	144	170/172	224/228
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		*90/104*	144/**146**	**144**/172	**220**/224
		90/**94**	**126**/144	**162**/172	**226**/228
		90/**110**	**136**/144	**162**/170	**204**/224
		90/**98**	**132**/144	*170/172*	**220**/228
		94/104	**140**/144	**168**/172	**204**/228
		104/**110**		**166**/170	**196**/224
		104		**144**/170	224/**226**
		90/**92**		**166**/172	
		88/90			
雌親	117	98/108	144/150	144/164	206/222
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		98/**110**	**126**/144	164/**166**	206/**220**
		88/108	**132**/150	144/**166**	222/**226**
		92/98	144/**146**	*144/164*	**220**/222
		90/98	**136**/150	*164*	**196**/206
		108/**110**	**134**/150	144/**170**	**204**/206
		104/108	**140**/150	144/**162**	**204**/222
		92/108	**146**/150	*144*	
		98/**104**	**140**/144	**162**/164	
			126/150	144/**162**	
			136/144	164/**168**	
雌親	636	90/124	140/144	160/170	196/218
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		90/**110**	**126**/140	160/**166**	196/**204**
		90/**94**	144/**146**	**162**/170	196/**220**
		110/124	140/**146**	**144**/160	**192**/218
		104/124	**136**/144	**164**/170	218/**220**
		108/124	**116**/144	160/**168**	218/**224**
		90/**104**	**136**/140	160/**162**	**192**/196
		90/**108**	**134**/140	160/**164**	*196/218*
		90/**96**	*140*	**144**/170	*196*
		90	*140/144*	*170*	**204**/218
		90/**92**		**166**/170	
		88/124			

表 II-11（続き）　2014 年に希釈精子を 100 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚の
マイクロサテライト解析結果
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	640	92/126	136/142	144/164	196/212
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		92/**110** **110**/126 **88**/126 **104**/126 **98**/126 **94**/126 *92* **88**/92 *92/126* 92/**104** **108**/126	*136/142* 142/**146** **134**/142 **126**/136 **126**/142 136/**146** *136* **134**/136	164/**166** **162**/164 144/**162** 144/**166** *144/164* *164* 164/**170** *144*	196/**204** 196/**220** 212/**220** 196/**226** *196/212* 212/**226** **192**/212
雌親	118	88/90	126/134	170/174	224/226
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		90/**110** *88/90* 88/**96** 88/**110** 90/**104** 88/**104** 90/**94** 88/**94**	134/**146** *126/134* *134* 126/**136** 126/**146** **132**/134 *126* **116**/134	**144**/170 **162**/174 **164**/170 **166**/170 **166**/174 **162**/170	**220**/224 **192**/224 *224/226* *226* **220**/226 **204**/224 **204**/226
雌親	635	88/94	134/148	162/166	226/228
仔魚の遺伝子型のパターン (N=20)		88/**98** *94* 88/**110** 94/**104** 94/**110** *88/94* **92**/94 88/**104**	134/**140** 134/**146** **126**/148 **136**/148 **146**/148 134/**136** **126**/134 **140**/148 *134* **132**/134 **132**/148 *134/148*	162/**170** **144**/166 *162/166* 166/**168** *162* *166* **144**/162	**196**/226 *226* **204**/228 **196**/228 **220**/226 **220**/228 *226/228* **204**/226

表 II-12　2014 年に希釈精子を 200 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚の
マイクロサテライト解析結果（雌 No.147 を除く）
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	357	88/90	138/144	160/176	212/226
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		90/**110**	**132**/144	160/**162**	212/**220**
		88/**110**	138/**146**	**166**/176	**204**/226
		88/**94**	**126**/138	160/**166**	**220**/226
		88	**136**/144	**162**/176	*212/226*
		90/**94**	144/**146**	**144**/176	**204**/212
		88/**104**	**126**/144	160/**168**	*226*
		90/**104**	**134**/138		
		88/**92**	**132**/138		
		88/90	**140**/144		
			138/**140**		
雌親	120	102/134	132/140	162/166	206/212
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		**110**/134	**126**/140	**144**/162	206/**220**
		108/134	*132/140*	*162/166*	212/**220**
		102/**110**	140/**146**	*162*	**192**/206
		94/134	**116**/140	**164**/166	**204**/212
		88/102	**126**/132	*166*	206/**226**
		94/102	132/**146**	**144**/166	**204**/206
		102/**104**	**134**/140		
			132		
			140		
雌親	660	90/98	144/148	172/174	222/226
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		90/**110**	**126**/144	**162**/172	**220**/222
		88/90	144/**146**	**162**/174	**220**/226
		98/**110**	**136**/144	**166**/172	**204**/226
		90/**92**	**146**/148	**144**/174	*222/226*
		90/**94**	**126**/148	**144**/172	*226*
		88/98	**134**/144	**164**/172	**196**/222
		98/**104**		**166**/174	
		90/**104**			
		98			
		94/98			

表 II-12（続き）　2014 年に希釈精子を 200 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚の
マイクロサテライト解析結果（雌 No.147 を除く）
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	151	90/98	148/150	164/172	224/226
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		**88**/98	**126**/148	**144**/164	**196**/224
		90/**104**	**126**/150	**144**/172	**204**/224
		90/**110**	**132**/148	**162**/164	**204**/226
		92/98	**132**/150	**162**/172	**220**/224
		94/98	**134**/150	164/**166**	**220**/226
		98/**110**	**136**/150	*164/172*	*224/226*
			136/148	*164*	*226*
			146/150	**166**/172	
			146/148		
雌親	122	88/96	144/146	160/166	208/224
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		96/**110**	**126**/146	**162**/166	208/**220**
		88/**110**	*146*	160/**162**	**204**/224
		88/96	**132**/146	*166*	**196**/208
		96/**98**	**136**/146	160/**170**	*224*
		94/96	**134**/146	*160/166*	**220**/224
		88/**94**	*144/146*	**144**/166	208/**226**
		88	**126**/144	**144**/160	224/**226**
		96/**104**	**136**/144		**204**/208
			134/144		*208/224*
			132/144		**196**/224
			140/144		
雌親	637	90/92	140/150	172	212/226
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		90/**94**	140/**146**	**162**/172	212/**220**
		92/**104**	**126**/150	**168**/172	**220**/226
		90/**110**	*140*	**166**/172	**196**/212
		92/**98**	**136**/140	**144**/172	*226*
		92/**110**	**132**/150	**170**/172	**204**/212
		92/**94**	**126**/140		**196**/226
		88/90	*140/150*		
		88/92	**146**/150		
		90/**104**	**136**/150		
		90/92			
		90/**98**			

表 II-13　2014 年に希釈精子を 200 μL 注入して人工授精し、2015 年に産仔した雌親 No.147 の親魚と仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

網掛け：雌親の遺伝子型と一致しない仔魚の遺伝子型

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	147	88	118/134	166/168	196/214
仔魚の遺伝子型のパターン（N=88）		88/**90**	126/144	144/172	192/212
		88/**92**	126/146	**144**/166	196/**204**
		88/**94**	132/146	**162**/166	196/212
		88/**104**	134/**146**	162/172	196/**220**
		88/**110**	134/**144**	164/172	196/**226**
		88	136/144	**164**/166	*196*
		90/92	136/146	*166*	204/212
		92/94	140/144	*166/168*	212/220
		92/96	140/146	166/172	212/226
		92/104	142/146	168/172	*220*
		92/110	144/146	170/172	
			146		
仔魚の解析結果から推測される雌親		88/92	144/146	166/172	196/220

表 II-14　2014 年に希釈精子を 400 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚の
マイクロサテライト解析結果（雌 No.160 および 170 を除く）
太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	658	88/96	134/136	162/164	224/230
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		88/**104**	134/**146**	**144**/164	**220**/224
		96/**104**	136/**140**	162/**170**	**226**/230
		94/96	**126**/134	*162/164*	**196**/224
		88/**98**	136/**146**	**144**/162	**220**/230
		96/**110**	*134/136*	164/**170**	*224/230*
		88/**110**	**134**/140	*162*	
		92/96	*136*	162/**166**	
		88	**116**/134	162/**168**	
		88/96			
雌親	657	88/92	124/132	166	220/226
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		88/**110**	*124/132*	*166*	226/**232**
		92/**110**	*132*	**144**/166	*220/226*
		88/92	124/**146**	**162**/166	**196**/220
		88	132/**136**	**164**/166	220/**232**
		88/**96**	**126**/132	166/**170**	*220*
		92/**104**	124/**140**		**204**/220
		90/92	124/**136**		
		88/**94**	**116**/132		
			132/**140**		
			132/**146**		
			132/**134**		
			124/**126**		
雌親	632	88/98	134/138	164	222/228
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		*88*	138/**146**	**144**/164	**226**/228
		98/**104**	134/**146**	**162**/164	**220**/228
		88/**110**	**126**/138	164/**166**	**204**/222
		98/**110**	**126**/134	164/**170**	222/**226**
		88/**104**	**132**/134	164/**168**	**220**/222
		88/**94**	134/**136**		**204**/228
		94/98	138/**140**		**196**/228
		88/**90**	134/**140**		

表 II-14（続き）　2014 年に希釈精子を 400 μL 注入して人工授精し、
2015 年に産仔した親魚および仔魚の
マイクロサテライト解析結果（雌 No.160 および 170 を除く）
太字：雄親のアリル　並字：雌親のアリル
イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	121	102	144/148	164/172	214/216
仔魚の遺伝子型のパターン（N=20）		**88**/102	**136**/148	**162**/172	**196**/216
		94/102	**126**/144	**162**/164	216/**226**
		102/**110**	**140**/148	*164*	214/**220**
		92/102	**146**/148	**162**/164	216/**220**
		102/**104**	**126**/148	**144**/172	**204**/214
		96/102	**136**/144	**166**/172	**204**/216
		90/102	**140**/144	164/**166**	**192**/214
			144/**146**	**144**/164	**196**/214
			132/148		
			132/144		

表 II-15　2014 年に希釈精子を 400 μL 注入して人工授精し、2015 年に産仔した雌親 No.160 の親魚と仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

網掛け：雌親の遺伝子型と一致しない仔魚の遺伝子型

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	160	90/112	136/142	166/170	220/224
仔魚の遺伝子型のパターン（N=62）		**88**/90	126/134	144/160	196/218
		88/106	136/**146**	144/162	204/218
		90/**94**	**126**/136	160	218/220
		90/**98**	132/146	160/162	218/226
		90/**104**	134/146	160/166	
		90/**110**	136/**146**	160/170	
		94/106	146	162	
		98/106		*162/166*	
		104/106			
		106/110			
仔魚の解析結果から推測される雌親		90/106	134/146	160/162	218

表 II-16　2014 年に希釈精子を 400 μL 注入して人工授精し、2015 年に産仔した雌親 No.170 の親魚と仔魚のマイクロサテライト解析結果

太字：雄親のアリル、並字：雌親のアリル

イタリック体：両親共に持ち、由来が特定できないアリル

網掛け：雌親の遺伝子型と一致しない仔魚の遺伝子型

	個体No.	各マイクロサテライトの遺伝子座			
		Sbi1	*Sbi3*	*Sth3b*	*Sth56*
雄親	2014_k01	**90/98**	**136/140**	**166/170**	**196**
	2014_k02	**96/108**	**116/136**	**164/166**	**192/224**
	2014_k03	**110**	**132/136**	**166**	**204/226**
	2014_k04	**104/110**	**144/148**	**144/162**	**220**
	2014_k05	**104/110**	**140**	**162/168**	**220**
	2014_k06	**104/110**	**126/146**	**144/162**	**220**
	2014_k07	**110**	**126/146**	**162/166**	**204/220**
	2014_k08	**88/92**	**134/136**	**164/166**	**196/220**
	2014_k09	**88/94**	**126/146**	**144/162**	**220/226**
	2014_k10	**94/110**	**126/146**	**162/166**	**220/226**
雌親	170	88/110	126/132	160/162	192/220
仔魚の遺伝子型のパターン（N=62）		*88*	*126*	**144**/160	192/**196**
		88/**90**	*126/132*	144/172	192/**204**
		90	126/**134**	160/**162**	*192/220*
		90/94	126/**136**	160/**166**	192/**226**
		90/104	126/**140**	160/**168**	196/226
		90/**110**	126/142	160/**170**	204/226
		94	126/**146**	162/172	*220*
		104	*132*	164/172	220/**226**
		110	132/**140**	166/172	226
			132/**146**		
仔魚の解析結果から推測される仔魚コンタミの由来雌親		90/104	126/142	160/172	220/226 196/220
		94	126/146	162/172	192/226 192/226

3. 人工授精により生まれた仔魚の遺伝的多様性

2012 年の人工授精は雌 : 雄＝1 : 1 で、2013 年の人工授精は雌 : 雄＝1 : 5 で、2014 年の人工授精は雌 : 雄＝1 : 10 で実施し、それぞれ翌年春に仔魚が得られた。各年の人工授精で得られた仔魚のマイクロサテライト解析結果から、雌親魚 8 尾について仔魚各 20 尾が持つ 4 種のマイクロサテライトのアリル数の平均値を算出した結果、雌 : 雄＝1 : 1 に比べ、雌 : 雄＝1 : 5 および 1 : 10 で人工授精を行った群で、*Sbi3*、*Sth3b* および *Sth56* の 3 つのマイクロサテライトすべてで仔魚に受け継がれたアリル数が有意に多かった。*Sbi1* では、雌 : 雄＝1 : 10 でかけ合わせた群で他の 2 群に比べて仔魚が持つアリル数が有意に多かった（図 II-8）。

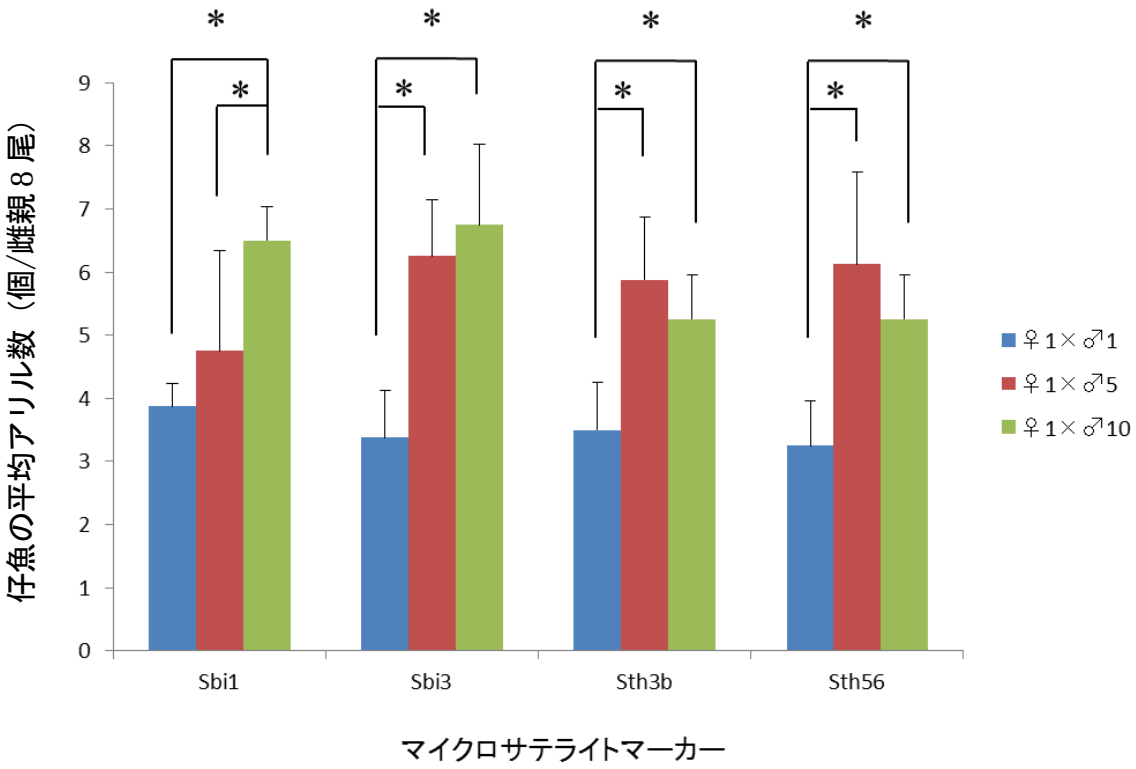


図 II-8　人工授精により得られた仔魚が受け継いた、各マイクロサテライトの平均アリル数
平均アリル数は各群雌親 8 尾について、各個体が妊娠した仔魚 20 尾の遺伝子型を解析した結果から得られた値。
＊は群間に有意な差があることを示す
（sbi1:Steel-Dwass 法 $p<0.05$）
（sbi3,sth3b,sth56:Turkey-Kramer test, $P<0.05$）.

考　察

マイクロサテライトマーカーを用いた親子鑑定の有効性を検証するため、天然魚を対象として近縁種で用いられている 8 つのマイクロサテライトマーカーの有効性を検証した結果、*sbi1*、*sbi3*、*sth3b*、*sth56* の 4 つで Hexp（ヘテロ接合度の期待値）が 0.85 以上の高い値が得られた。さらに、これら 4 種のマーカーを組み合わせた場合の親子鑑定の成功率は 94.5％と十分に高いことが示された。クロソイを対象としたマイクロサテライトマーカーは、本試験で用いたものの他、Ssc シリーズ 6 種（Yoshida et al., 2005）および KSs シリーズ 14 種（Hye et al., 2009）などが開発されており、より多様性の高いマーカーを上手く組み合わせることで、親子鑑定精度はさらに高めることができる可能性がある。4 種のマイクロサテライトマーカーを用いた親子鑑定により、2012 年および 2013 年に人工授精を行ない翌年妊娠した雌は、すべての個体で人工授精により注入した精子に由来する仔魚を妊娠していることが遺伝子レベルで確認できた。2014 年に人工授精を行ない妊娠した雌のうち No. 147 および 160 では、雄の遺伝子は人工授精した精子由来であることが明瞭なものの、雌親の遺伝子型が一致しなかった。さらに、No. 170 では、雌親が複数想定された。青木（2002）によると、ヒトを対象とした親子鑑定においてマイクロサテライトの突然変異による親子関係の矛盾の発生が 8 マーカーで平均 0.2％程度と報告されていることから、本研究でマイクロサテライト解析に見られた矛盾は、突然変異などではなく人為的な作業ミスによるサンプル取違えの可能性が非常に高いと考えられた。

クロソイの自然交尾では、水槽内で交尾する場合には雌 1 尾が雄 1-5 尾と交尾することが（Yoshida et al., 2001）、天然魚では雌 1 尾が雄 1-4 尾と交尾している可能性（村山　2017）が報告されている。本研究において、2013 年および 2014 年に実施した人工授精では、複数の雄に由来する精子を注入することで、1 尾の妊娠魚の体内の仔魚が人工授精に用いた複数の雄に由来することが明らかになったことから、自然交尾や天然の交尾状況に近い妊娠状況を人工授精により作り出せる可能性がある。一方、2013 年の人工授精により生まれた仔魚は、用いた 5 尾の雄のうち、由来する雄が偏る結果となった。本研究において人工授精に用いた精子は、それぞれの精子数や精子活性について調べていないことから、受精に関与した雄の偏りが精子の注入量によるものなのか、受精能などの精子の質によるものなのかを明らかにするためには、より詳細な研究が必要である。断片的な情報ではあるが、2014 年に注入する精子の量の検討を行ない、妊娠尾数や産仔数に差が見られなかったことから、現状の方法で十分な量の精子を注入できていると考えられる。

近年、種苗放流における天然集団の遺伝的多様性への配慮が求められている（村上ら　2006）。クロソ

イを含む冷水性ソイ・メバル類の天然魚の遺伝的多様性に関しては、清水ら（2013）で部分的な知見があり、人工種苗は天然集団に比べて遺伝的な多様性が少ないことが分かっている。これらの魚種は胎生魚であることから、卵生魚のように人為的に多数の親を用いた受精をさせることがこれまでは困難であったが、本研究により開発した人工授精技術を活用することで、より多様な人工種苗を生産することが可能になると考えられる。

以上、本研究により交尾から産仔までの精子貯留期間が非常に長いクロソイにおいて、雌への精子の注入により人工授精が可能であることが示された。本技術を活用することで、自然交尾に依存したクロソイの種苗生産をより計画的、安定的に実施することが可能になると考えられる。また、将来の遺伝的多様性に配慮したクロソイの種苗放流を確立する上で、多様な種苗を生産できる可能性のある本技術は非常に有用である。

第 3 節　北海道におけるクロソイ増養殖事業の現状と課題

北海道におけるクロソイの種苗放流事業は、1997 年に始まり現在でも継続されている。放流用種苗の生産のため、種苗生産施設では数百尾の親魚を周年飼育し、一部の自然交尾個体から得られる仔魚を育成するという方法を用いている。このようにして生産された人工種苗は、全長 30 mm 程度まで育成された後、道内各地の配布希望機関へと運搬される。配布された種苗は、そのまま海中に放流される場合、一時的に海面又は陸上で中間育成される場合、海面養殖される場合の 3 種に大別される方法で活用されてきた。しかし、大量放流が開始されてから 20 年近くが経過した近年では、魚価の低迷に加え費用負担に対する効果の不明瞭さから生じた事業への不信感が原因となり、種苗配布希望数が減少している。本研究では、北海道におけるクロソイ種苗生産及び放流事業に関する経緯や活用する浜の現状について取りまとめ、本章にて開発してきた人工授精技術がどのような役割を果たせるかについて考察した。

方　法

1. 北海道におけるクロソイ種苗生産および配布状況、水揚状況

北海道におけるクロソイ種苗の配布数については、公益社団法人北海道栽培漁業振興公社の事業報告を参照した。海域別の種苗放流数は水産庁が発行する栽培漁業種苗生産，入手・放流実績（全国）より取りまとめた。海域別のソイ類の漁獲量および漁獲金額については、マリンネット北海道の水産現勢よりソイ類の統計値を引用した。

2. 北海道における各浜でのクロソイ種苗の活用方法

クロソイ人工種苗の用途別の活用例として、直接放流を除く中間育成放流と養殖の事例について各浜の状況を聞き取りした。中間育成については、十勝海域の大津漁協、渡島海域の噴火湾（森、八雲、落部）および知内漁協の取り組みについて、各地の水産普及指導所を通じて情報収集を行った。養殖については、室蘭漁協の取り組みの現状と、平成 20 年まで養殖を実施していた古平町の取り組みについて聞き取りを行なった。

3. 親魚通年飼育と人工授精技術でのコスト比較

2013 年に栽培公社瀬棚事業所にて聞き取りを行った目標生産数 100 万尾の場合の仔魚収容数や親魚飼

育尾数の条件を基本とし、人工授精技術を活用したパターンとして 1）雌雄共に通年飼育、2）雌のみ通年飼育で雄は鮮魚購入、および 3）雌のみ半年飼育で雄は鮮魚購入、の 3 つの場合で 1 年間の飼育コスト試算を行なった。雌 1 尾当たりの産仔数は、栽培水産試験場にて 2015 年に産仔したクロソイ 19 尾の産子数平均が 19 万 7 千尾であったことから、20 万尾/雌 1 尾とした。人工授精に用いる雄の尾数は雌と同数とした。試算に用いた親魚の大きさは、2014 年に人工授精試験に用いた成熟クロソイ（雌 30 尾、雄 10 尾）から平均重量 1.4 kg を求めて、飼育尾数との積を総飼育重量とした。給餌量は、野田・中川（2010）の中間育成における給餌量が体重 3-4%、Satoh et al.,（2013）の給餌試験での平均摂餌量が体重の 1.4%であることから、これらの中間をとって 2.5%として試算した。給餌回数および餌料は野田・中川（2010）を参照し、週 3 回の冷凍生餌とした。冷凍生餌の購入価格は、2016 年 7 月に見積をとり、冷凍チカ（￥4940/12 kg）、冷凍マイカ（￥3360/12 kg）、冷凍サンマ（￥2390/8 kg）、冷凍コウナゴ（￥3980/15 kg）の平均価格として￥313/ kg を試算用価格とした。人工授精用に購入する雄鮮魚の価格は、2013 年に室蘭公設市場で実際に購入した￥680/kg を試算用金額とした。親魚用活魚の購入価格は、室蘭漁協が活魚出荷を行なう価格である￥1400/kg を試算用金額とした。飼育作業員の人件費は、栽培水産試験場にて契約職員を雇用する際の予算である 16 万円/月を試算用金額とした。作業時間は、栽培水産試験場にて実施する親魚管理作業時間である 2 時間/日とした。人工授精実施に必要な消耗品費として、1 mL プラスチックシリンジ￥3200 およびディスポーザブルフィーディングニードル￥12000 を計上した。なお、飼育設備および光熱費は試算から除外した。

結　果

1. 北海道におけるクロソイ種苗生産および配布状況、水揚状況

クロソイ種苗の配布数は、1998 年に 64.5 万尾で最大になった後、2006 年には 46 万尾、2014 年には 22.8 万尾へと減少した。配布されたクロソイの放流海域および放流数は、1998 年には 9 海域で 70.2 万尾（前年種苗の中間育成魚を含む）規模であったが、2006 年には 8 海域で 39.3 万尾、2014 年には 3 海域 17.9 万尾へと減少した（図 II-9）。北海道内のソイ類の漁獲量は、1998 年から 2014 年にかけては 1500-2000 トンの間で推移しており、2014 年時点で約 1500 トンとなっている。2014 年の漁獲量を海域別に見ると、根室（502 トン）、後志（456 トン）、渡島（273 トン）の 3 海域で全体の 82%を占めており、その他海域での漁獲量は年間 100 トン未満である。一方、北海道全体での漁獲金額は右肩下がりの傾向にあり、1998 年に約 9.2 億円規模であったものが、2014 年時点で 5.5 億円まで減少した。2014 年時点での海域別の平

均 kg 単価は、渡島および石狩で最も高く約 600 円/kg で、最も安価な十勝で 200 円/kg、全体平均は 398 円/kg であった（図 II-10）。

2. 北海道における各浜でのクロソイ種苗の活用方法

クロソイ人工種苗の配布先のうち、中間育成を行なう大津漁協、噴火湾沿岸の協議会参加漁協、上磯郡漁協（知内地区）では、大津と上磯郡漁協では陸上水槽での中間育成を、噴火湾では海面生け簀での中間育成を実施していた。前者は漁協職員が管理し、後者は漁協青年部事業としての実施であるが、いずれも全長約 3cm で受け入れた種苗を 3-4 ヶ月間育成して全長約 10 cm で放流を行なっていた。各浜ともに生残・成長に対する問題は発生しておらず、順調に事業を継続しているとのことであった（表 II-17）。このうち噴火湾での漁協青年部が主体となる中間育成については、若手漁業者の勉強や経験を積む機会として活用されていた。

一方、養殖に取り組む室蘭漁協と東しゃこたん漁協では、室蘭では漁協職員と特定の漁業者が、東しゃこたんでは漁業者が作業に従事していた。育成期間は 2 ヶ所で大きく異なり、室蘭では目標サイズである 500 g に達するのに 4-5 年を要す一方、東しゃこたんでは 2.5 年の育成期間で目標サイズ 500-800 g に達していた。一方、販売価格は圧倒的に室蘭が高く￥1400/kg での定額販売を行っていた。これら 2 漁協はいずれも養殖事業からの撤退を決定しており、室蘭漁協が平成 28 年度で終了、東しゃこたん漁協が平成 20 年度で終了した。事業を打ち切る理由として、室蘭漁協では複数の要因があるが、最も大きな課題は養殖作業従事時間を他の漁業に当てた方が漁業者の収入として大きいという点であった。東しゃこたん漁協では、マツカワとクロソイの複数魚種養殖を実施していたが、採算性の悪化と従事者の高齢化が撤退の主要因であった（表 II-18）。

3. 親魚通年飼育と人工授精技術でのコスト比較

既存のクロソイ人工種苗生産における親魚飼育と、本研究にて開発した人工授精技術を利用した場合の親魚維持コスト（消耗品および人件費）の試算を行った結果、既存技術での総コストは約 100 万円であったのに対し、人工授精技術を利用した場合は既存技術の 6 割から最大 3 割程度まで削減される見込みとなった。内訳の中で大きく違いが現れたのは親魚購入費用、親魚飼育尾数、餌料費および人件費でいずれも自然交尾に比べて人工授精で大幅に少なく見積られた。人工授精技術を利用した試算のうち、飼育尾数が少ないほど、また飼育期間が短いほど、想定されるコストは少なくなった（表 II-19）。

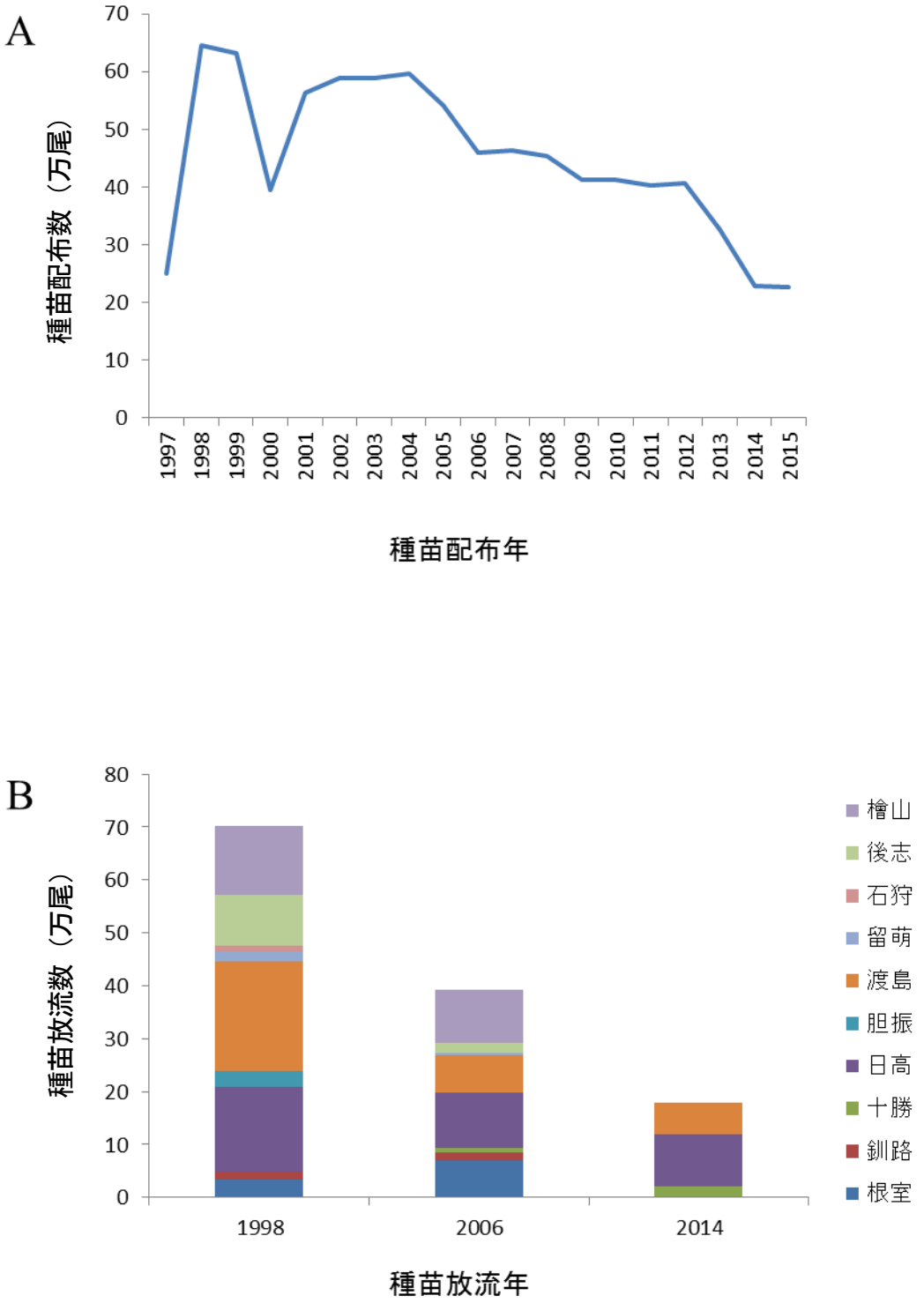


図 II-9　北海道におけるクロソイ種苗の配布数（A）および北海道の海域別放流数（B）の推移。横軸は年号を示す。

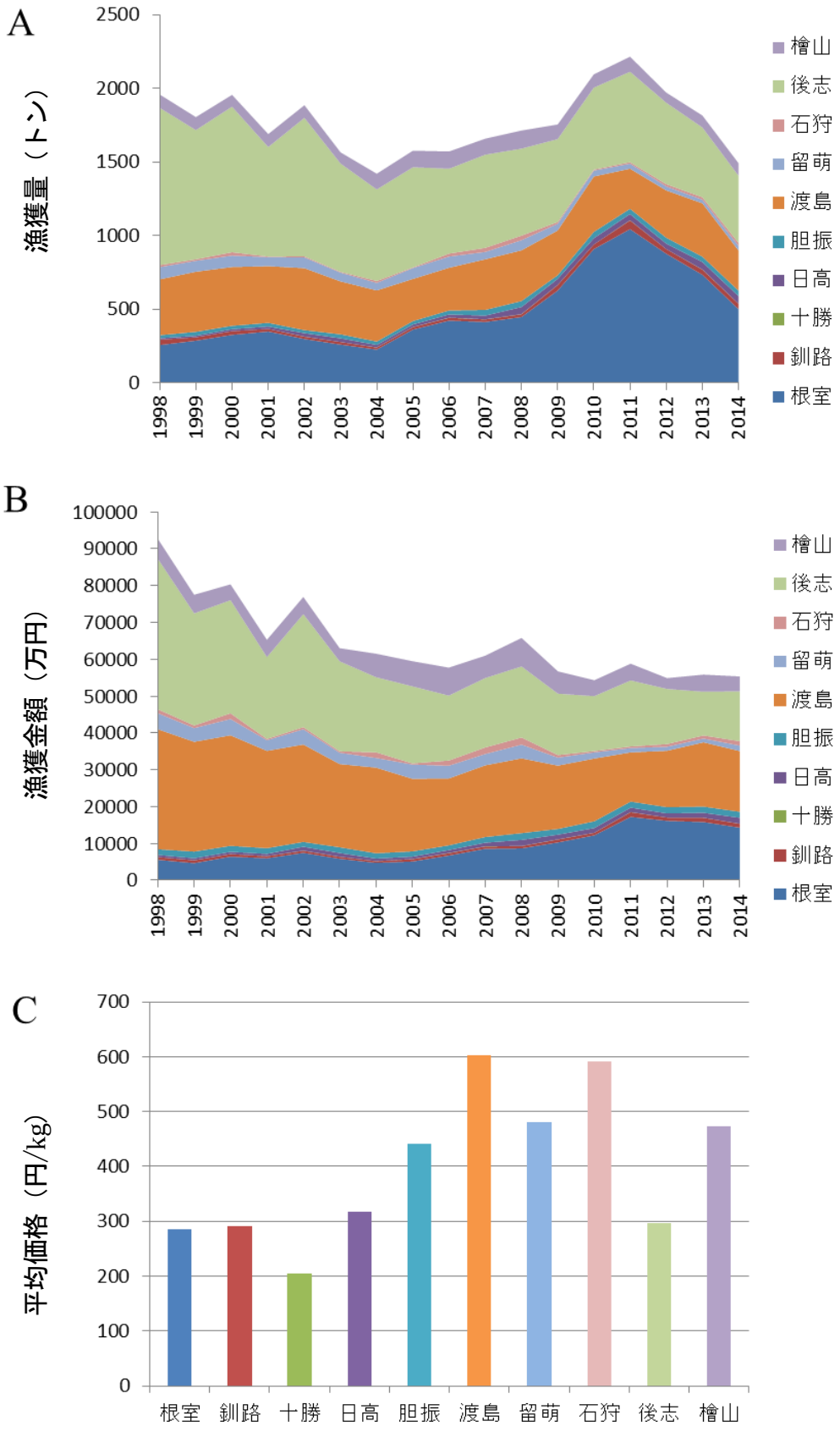


図 II-10　北海道におけるソイ類の海域別年間漁獲量（A）、海域別年間漁獲量（B）の推移および、2014 年の海域別年平均単価（C）。

表 II-17　クロソイ種苗の中間育成を行なう各浜の状況

	事業主体		
	大津漁協	噴火湾各単協 （森、八雲、落部）	上磯郡漁協（知内）
受入状況 （2015年時点）	約2万尾	約12万尾	約7万尾
飼育施設	陸上水槽 （3-4トン水槽×6基）	海面小割り生け簀	陸上水槽
飼育期間	3-4ヶ月	約3ヶ月	約4ヶ月
放流サイズ	10-13cm	約9cm	約10cm
作業従事者	漁協職員	漁協青年部	漁協職員
課題等	特になし	特になし	特になし

表 II-18　クロソイ種苗の養殖を行なう各浜の状況

	事業主体	
	室蘭漁協	東しゃこたん漁協
受入状況	約1万尾 （2016年時点）	約2万尾 （2008年時点）
飼育施設	海面生け簀	海面生け簀
飼育期間	4-5年	2.5年
出荷サイズ	約500g	500-800g
販売価格	￥1400/kg	¥750/kg
作業従事者	漁協職員及び漁業者	漁業者
課題等	・育成年数が長い ・作業従事者である漁業者が、作業時間に別の漁業を行った場合の収入に対して売上が見合わない ・専業の養殖従事者がいないため、十分な養殖管理ができない ・施設の老朽化により、改修を行なう費用を工面できない	・養殖従事者の高齢化 ・採算性の悪化

表 II-19　クロソイ種苗生産における既存方法と人工授精技術を利用した場合のコスト試算

細目		人工授精技術活用		
	自然交尾（既存技術）	雌雄共に通年飼育	雌のみ通年飼育、雄は鮮魚購入	雌のみ半年飼育、雄は鮮魚購入
目標生産数（尾）	100万	100万	100万	100万
仔魚収容数（尾）	200万	200万	200万	200万
平均産仔数（雌1尾当たり）	20万	20万	20万	20万
必要妊娠魚数（尾）	10	10	10	10
妊娠成功率（%）	不明	60	60	60
必要雌親魚数	想定不能	17	17	17
雌雄親魚数合計（尾）	150	34	34	34
活魚購入費用（円）	¥294,000	¥66,640	¥33,320	¥33,320
鮮魚購入費用（円）	なし	なし	¥16,184	¥16,184
飼育総重量（1.4kg×尾数）	210	47.6	23.8	23.8
給餌量（kg/回）	5.25	1.19	0.595	0.595
月給餌量（kg）	63	14.28	7.14	7.14
年給餌量（kg）	756	171.36	85.68	42.84
年間餌料費（円）	¥236,628	¥53,636	¥26,818	¥13,409
飼育作業時間（時間/月）	40	40	40	40
日作業時間比率（%）	25	25	25	25
年間作業員コスト（円）	¥480,000	¥480,000	¥480,000	¥240,000
人工授精実施消耗品（円）	なし	¥15,200	¥15,200	¥15,200
総コスト（円/年）	¥1,010,628	¥615,476	¥571,522	¥318,113
既存手法に対するコスト比率（%）	100%	61%	57%	31%

考　察

北海道におけるクロソイの人工種苗放流は、1998 年に 64 万尾で最高に達した後減少の一途をたどり、2014 年時点で 22 万尾程度まで減少している。しかし、道内のソイ類の水揚げ量は放流尾数との関連は見られないことから、クロソイの資源量は環境収容力の限界に達しており、放流による水揚げ量の拡大の望みは薄いと考えられる。水揚げ増加の手応えが感じられないことは、放流事業そのものの継続意欲を低下させるため、種苗配布を希望する機関数も年を追う毎に減少したと考えられる。一方で、ソイ類の魚価は海域によって違いが大きく、渡島や石狩地方の平均￥600/kg に対し、十勝地方では平均￥200/kg と安価である。しかし、放流事業は渡島海域、十勝海域共に現在も継続されていることから、単純に魚価が安価であるというだけでは放流事業の継続可否に対する決定的な意思決定には至らないことが推察される。岩手県の宮古湾におけるクロソイの放流効果調査では、放流によりクロソイの水揚げが底上げされている例が報告されている（陳・野田　2010）。この報告でも、水揚げ金額をベースに栽培漁業としての効果を評価すると経済的にはあまり有効な手段として見積ることが困難であり、漁業以外の観光や遊漁などの効果を含めるべきと提言されている。これらのことから、放流事業による効果は、漁業としての水揚げ量だけでなく、事業実施地域での活用方法を含めた上で継続又は事業終了の判断がなされていると考えられる。流通や観光を含めた地域経済への効果を試算するのは、別途多大な労力を要することが予測されるが、今後の栽培漁業を計画する上では、市場への水揚げ以外により広範な成果指標を模索することが必要であろう。

クロソイ人工種苗の配布を希望する地域又は団体では、直接放流、中間育成後の放流および養殖と 3 種の活用事例が見られる。このうち、直接放流は種苗費用の負担以外にはコストがかからないが、中間育成と養殖では別途育成費用が必要になる。現在でも中間育成を継続している団体への状況聞き取りを行った結果、聞き取りを行った 3 ヶ所すべてで事業継続上の課題は抱えていないことが明らかになった。このうち、噴火湾での事例では、中間育成作業自体を若手漁業者の育成活動として活用している。十勝海域の大津と津軽海峡の知内では漁協の取り組みとして中間育成が行なわれており、いずれも継続的な事業が実施されている。漁業共同組合でのこのような取り組みは、漁業権の維持や拡大に必要な資源維持の取り組み事例として活用される例が多く、必ずしも放流対象種の漁獲量や水揚げ高の推移とは一致しない取り組みのようである。次に、クロソイの養殖を行なう団体への聞き取りを行った結果、2 ヶ所とも養殖事業からの撤退が決定していた。養殖に取り組んでいた団体は、日本海の東しゃこたん漁協と太平洋の室蘭漁協であり、海洋環境や生産年数、販売額などには地域独特の違いが見られた。中でも顕

著な違いが見られたのは、育成期間と販売金額である。一般に、北海道の沿岸海域では、暖流が入り込む日本海側の水温が高く、寒流が入る太平洋では水温が低い。クロソイは低水温に強く、太平洋の最低水温である 2℃ 前後でも生存には影響が無いが、年間通じて水温が低い太平洋側に位置する室蘭で成長に時間がかかったものと考えられた。一方販売額は、太平洋産が日本海産の倍程度で取引されていた。これは、日本海産クロソイに特有に見られるリリアトレマ・スクリジャビニという寄生虫のメタセルカリヤ幼虫が可食部に黒色色素の沈着を誘起することが原因で、刺身用としての流通に向かない為安価に取引される現状に起因している（三浦・伊藤　2003）。しかし、価格が優位な室蘭漁協では、飼育期間が長いことに加え、飼育管理業務時間を他の漁業（ウニ、ナマコ等）に当てた方が従事者の収入が高いという非常に重大な課題に長年に渡り直面してきた。これらのことから、海域の異なる両事業者共に、クロソイの養殖は事業としての継続が困難であるという結論に達したようである。魚類の放流事業の効果の指標として北田（2016）は YRP（yield per release 放流 1 個体当たりの回収量）を提唱し、北海道ではシロサケやホタテでは経済効果（回収金額/放流コスト）が 1 を上回っていることが報告されている。本報告の中で、種苗放流の肝となるのは、生残率が高いこと、大きく成長すること、魚価が高いことが重要とされており、クロソイは生残率こそ高いものの、大きく成長するまでに時間が掛かることから、安価な小型のうちに漁獲されやすく、種苗生産コスト回収にあまり向いている魚種ではないと考えられる。さらに、育成期間もコストがかかる養殖にこれらの指標を適用すると、成長に時間がかかる冷水魚は、魚価が非常に高くなければ経済的に成り立たないことが明白である。ところが、世界的な水産物の水揚げ動向に目を向けると、天然資源の漁獲量は 1980 年代からほぼ横ばいであるにも関わらず、総生産量は増加の一途をたどっている。つまり、地球規模での水産物の増加を支えているのは養殖生産量の増加である（社団法人日本政策投資銀行　2014）。ただし、本報告の中では、給餌養殖での経済的に成立する事業としては、中国の内水面および海面養殖とノルウェーおよびチリのサーモン養殖に限定しており、特に日本国内での給餌養殖の経済的な成立については否定的な見解を示している。その中で、先進国における養殖生産については、無給餌養殖（海藻、貝類）が中心とされており、こちらは経済的な成立が可能であるとされる。これらの知見を踏まえると、クロソイの放流事業や養殖事業は経済的な成立が難しいと言える。本研究では、事業実施後の状況からこのような悲観的な考察をせざるをえなかった。しかし、水産試験場の研究者として、今後新規事業への取り組みを希望する自治体等への客観的なアドバイスを行なう際、クロソイの事例を基に漁業生産の向上だけを判断基準とするのではなく、事業実施や流通販売まで含めた経済的な展望についても具体的な試算を用いて提案することが必要であろう。

現在のクロソイ放流用種苗生産方法と、人工授精技術を取り入れた場合の生産コスト試算を行ったと

ころ、人工授精では得られる妊娠魚の尾数の予測ができることで、飼育親魚数そのものを現状に比べて大幅に削減できるため、親魚購入費用や餌料費が大幅に削減できると試算された。ただし、単に親魚候補を減らして種苗生産を行うことは､遺伝的に多様な種苗の生産に支障をきたす可能性がある｡その為、現段階では、人工授精の成功率（約 60%）を踏まえた上で、生産に必要な仔魚を十分に得られる雌親魚数を確保し、鮮魚を中心としてできるだけ多くの天然成熟雄から精子を採取して遺伝的に多様な放流種苗を作成することが必要であろう。さらに、人工授精を前提として通年親魚を飼育することを見直した場合、飼育作業に関わる人件費も削減され、最大で現状の 30%程度までコストを縮減できる可能性が示された。ただ、現実的には既存の作業からいきなり最大のコスト削減成果が得られる方法まで変更するにはリスクが懸念されることから、人工授精技術による飼育作業軽減策を既存方法に少しずつ取り入れることで、コストを少しずつ削減しながら作業を効率化できるのではないかと考えられる。現在クロソイの配布希望数は減少傾向にあることから、今後は少数箇所への少数配布の時代に進んで行くことが予想される。この様な、小規模生産に柔軟に対応するためにも、大規模生産時代と同じ方法ではなく必要数に見合った効率的な生産に転換していくことが必要であり、人工授精技術は今後のクロソイ放流用種苗生産の事業継続において有効に活用できる技術である。

以上、本節では北海道におけるクロソイ種苗放流事業の現状と、種苗の活用状況について取りまとめた。また、時代の変化によりあり方の見直しが必要と考えられる本種の種苗生産事業について、新たに開発した人工授精技術は、今後の事業を計画する上でコスト削減という一つの大きな事業改革を可能できる可能性があることを示した。

第 III 章　北海道産アカザラガイの種苗生産および採苗技術開発

アカザラガイ *Chlamys farreri akazara* は、東北以北の日本海および太平洋沿岸の浅海域に生息する付着性二枚貝である。本種は、東北地方以南に生息するアズマニシキ *C. farreri nipponensis* と北海道などに生息するアカザラガイ *C. farreri akazara* の 2 型に分けられていたが、近年の遺伝子レベルでの解析によりこれらは種としては同一であると報告されている（Yuan et al., 2012）。北海道函館市周辺地域では、ホタテガイの養殖が盛んになるよりも以前からアカザラガイを肉の代替品として消費する習慣があり、現在でも函館市周辺では特産食材としての需要がある。一方、天然物の漁獲量は減少傾向にあることから供給が安定しておらず、生産量の少なさからむき身で浜値が￥1,500/kg を超える場合もある高価値な水産物となっている。

函館市周辺ではアカザラガイの特産化を目指す動きがあるが、生産状況が安定しないことから製品化には至っていない。魚介類の生産安定化の手法の一つとして、蓄養および養殖技術は非常に有用な手段であり、本種の養殖についても東北地方を中心に垂下養殖による育成が可能であると報告されている（谷田・菅野　1959；鈴木ら 2012）。アカザラガイを含むイタヤガイ科の 2 枚貝には養殖対象種が多く、国内ではイタヤガイ、ヒオウギガイおよびホタテガイが産業規模で養殖されている。また、日本のアカザラガイとは地域変種と考えられている Zhikong scallops *C. farreri* Jones et Preston は中国において 100 万トン規模の商業的養殖が行われている水産重要種である（Jie et al., 2005）。

二枚貝の養殖のうち、マガキやホタテガイに代表される大規模養殖では、一部の特殊な例を除き養殖用種苗のほとんどすべてが天然採苗により賄われている。一方、イワガキやヒオウギガイなどの地域特産的な種では、人工種苗生産による養殖種苗の確保が行なわれている。アカザラガイについては、ホタテガイの採苗方法を応用した天然採苗（鈴木ら 2012）、マガキ養殖時の自然付着稚貝の利用（谷田・菅野 1959）および人工種苗生産（結城 1987）について報告がなされており、それらのいずれにおいても、種苗の確保が可能とされている。

これらの知見から、アカザラガイの養殖および蓄養は技術的に可能であると考えられるが、海水温が低い北海道では種苗生産に取り組んだ例がない。そこで本研究では、北海道産のアカザラガイを対象とし、養殖用の種苗確保のための人工種苗生産および天然採苗方法の検討を行なった。

材料と方法

1. 供試貝

採卵用の親貝は、北海道函館市函館漁港周辺の天然漁場からタモ取りにより漁獲された物を用いた。親貝の採取は 2012 年-2014 年のいずれも 5 月から 6 月に行ない、2 週間程度蓄養した際に活力が高くかつ殻高 70 mm 以上の貝を選択して採卵に用いた。親貝は採取後、栽培水産試験場にて水量 1 トンの平型角水槽で自然海水かけ流しで飼育した。

飼育試験に用いた卵および浮遊幼生は、海水 3-5 mL 中の個数を 3 回計数し、得られた平均値から容積法により水槽内の総数を決定した。遊泳能力のある浮遊幼生の場合は採取した海水に微量の 10%ホルマリン溶液を数滴添加して動きを止めてから計数および測定を行った。浮遊幼生および稚貝の殻長測定は、デジタルノギス（CD-51SC；株式会社ミツトヨ）を用い、殻長が 2 mm 以下の場合は、万能投影機（V-12B；株式会社ニコン）を用いて計測した。

2. 産卵・放精誘発および人工授精

親貝を 10 L 角型プラスチック水槽に個別に収容した後、精密濾過機（PS-813P；日本濾水機工業）を通した海水を紫外線照射装置（アイ液体用殺菌装置；GMV120VF410XT；岩崎電機株式会社）で紫外線照射をし、ヒーターで元の飼育水温+5℃ の加温を行った上で各水槽に流すことで、自発的な産卵および放精を促した。産卵又は放精が確認できた個体の水槽には海水添加を停止した。放精した雄の水槽から精子を含む海水約 100 mL を採取し、3-5 個体分を混合した後、海水で 10 倍希釈したもの約 100 mL を産卵した雌の水槽に添加して授精させた。

3. 雌個体の産卵回数および産卵数

前述の産卵誘発方法を用いて、2012 年 6 月 22 日から 7 月 24 日にかけて、個体識別した 15 個のアカザラガイ雌個体に対し毎週 1 回産卵誘発を行なった。誘発時間は 4 時間程度とし、終了までに産卵が確認できた個体については産卵数を決定した。本試験は 5 週間に渡り計 5 回実施して、個体別の産卵回数および産卵数を調べた。

4. 受精卵管理密度の影響

2013 年 6 月 16 日から 7 月 1 日にかけて産卵誘発により得られた受精卵を、200 L パンライト水槽

（M-200；株式会社マツイ）に 0.8-96 個/mL の間の様々な密度で収容し、無給餌、室温でエアレーションを行ないながら 72 時間飼育した。72 時間後に飼育水の一部を採取し、D 型幼生数を調べた。密度試験は、様々な密度で計 27 回実施した。

5. 受精卵管理時の水温の影響

水温に関する試験は、3 回に分けて実施した。試験には産卵誘発により得られた受精卵を用い、まず自然海水温（12.7℃）の 30 L パンライト水槽（M-30；株式会社マツイ）9 槽に約 10 個/mL の密度で収容した後、室温区、20℃ 区および 25℃ 区の 3 群各 3 水槽に分け、48 時間の飼育を行なった（受精卵管理水温試験 1）。次に、受精卵を 18℃ の 30 L 水槽 9 槽に約 10 個/mL の密度で収容した後、自然海水温区（約 14℃）、室温区（約 18℃）および 25℃ 区の 3 群各 3 水槽に分け、48 時間の飼育を行なった（受精卵管理水温試験 2）。さらに、受精卵を室温（約 18℃）、22℃ および 25℃ 加温区の 30 L 水槽各群 3 槽に約 10 個/mL の密度で収容し、一定の水温で 48 時間の飼育を行った（受精卵管理水温試験 3）。加温区では、水中ヒーター（100V-500W；日東機材株式会社）およびコントローラー（デルサーモ；日東機材株式会社）によりウォーターバス形式で調温を行った。試験期間中は、水温および D 型幼生数を調べた。

6. 受精卵管理時の光の影響

産卵誘発により得られた受精卵を、500 L 水槽に平均 35 個/mL で収容し、透明な水槽、透明な水槽上に 90％遮光幕、黒色水槽上に 90％遮光幕および黒色水槽上に 100％遮光幕をかける 4 つの群を各 3 水槽設け、63 時間飼育した。飼育期間中は水温を測定するとともに、水面直上方向からの光量を照度計（DX-100；株式会社竹村電機製作所）で測定した。さらに、試験終了時の各群の D 型幼生への移行率および浮遊幼生の殻長（N=30）を調べた。

7. 浮遊幼生の成長過程

2011 年 6 月 30 日に産卵誘発により得た受精卵から、2 日齢の D 型幼生を水温 18-19℃、10 個/mL の密度で 500 L パンライト水槽（M-500；株式会社マツイ）に収容した。濃縮キートセラスグラシリス（厚岸町カキ種苗センター）を成長に合わせて 5000-20000 個/mL・日で給餌を行ない、適宜換水を行ないながら 2012 年 1 月 23 日まで約 7 ヶ月間飼育を行なった。飼育期間中、浮遊幼生又は着底稚貝の形態観察と殻長測定（N=30）を行なった。殻長 1　mm 以下の幼生の形態は、生物顕微鏡（BX51；オリンパス株式会社）およびデジタルカメラシステム（DP71；オリンパス株式会社）を用いて撮影した。殻長 1 mm

以上の稚貝の形態は、実態顕微鏡（SZX-16；オリンパス株式会社）およびデジタルカメラシステム（DP71；オリンパス株式会社）を用いて撮影した。

8. 減耗時期の調査

2012 年 7 月 7 日に採卵した受精卵を 500 L パンライト水槽 2 槽で 60 日間飼育した。飼育期間中は、餌として濃縮キートセラスグラシリスを成長に合わせて 5000-10000 細胞/mL・日で給餌し、2-3 日おきに 45 μm のメッシュを用いて換水を行なった。試験終了後、水槽内の死殻および生貝合計約 600 個の殻長を測定した。

9. 浮遊幼生飼育における密度の影響

D 型幼生を海水 1 mL 当り 5 個、10 個および 20 個の密度で収容する群を設け、200 L パンライト水槽で各群 3 水槽を設けて室温（約 20℃）で飼育を行った。飼育試験は 2013 年 8 月 21 日から 8 月 30 日まで実施し、飼育期間中は濃縮キートセロスグラシリスを 5000 細胞/mL・日で給餌し、適宜水換えを行なうとともに、浮遊幼生数および浮遊幼生の殻長の測定を行なった。試験期間中は、24 時間照明を点灯し、照度の日内変化が無い条件で飼育した。飼育試験中は、数日おきに浮遊幼生の密度を計数し、試験開始時と 7 日目に殻長測定（N=20）を行なった。

10. 浮遊幼生飼育における飼育水温の影響

受精後 4 日齢のアカザラガイ幼生を天然海水温区、室温区および 22℃ 区の 3 群各 3 水槽に分け 30 L パンライト水槽計 9 槽に平均 5 個/mL で収容した。飼育期間中は、濃縮キートセロスグラシリス（1 万細胞/mL・日）を給餌し、適宜水換えを行ないながら 2012 年 7 月 17 日から 8 月 6 日までの約 3 週間飼育した。試験期間中は、水温データロガー（おんどとり TR-52i；株式会社 T&D）により飼育水温を記録するとともに、数日おきに浮遊幼生数および幼生の殻長測定（N=20）を行なった。

11. 浮遊幼生飼育における栄養添加剤の効果

D 型幼生を海水 1 mL 当り約 7 個の密度で 500 L パンライト水槽（M-500）に収容し、濃縮キートセロスグラシリスのみ（5000-10000 細胞/mL・日）を給餌する群と、カキ卵巣摩砕物（ランマ OH；二枚貝養殖研究所）1 mL を追加する群を設け、各群 3 水槽で 2014 年 7 月 12 日から 7 月 27 日まで 15 日間飼育を行なった。水温データロガー（おんどとり TR-52i；株式会社 T&D）により飼育水温を記録するととも

に、試験開始時と試験終了時に浮遊幼生数および幼生の殻長測定（N=30）を行なった。

12. 着底基質の検討

500 L パンライト水槽に着底期幼生を約 115 万個収容し、着底基質としてタマネギ袋にネトロンネット（1 m×2 本）、ネトロンネット 1 m（大日本プラスチック株式会社）と 9 mmΦのサイザル麻ロープ 5 m（株式会社マツイ）、ネトロンネット 1 m と人工杉葉 3 枚を入れた 3 種類の着底基質を各 3 セット投入して 2013 年 9 月 9 日から 11 月 19 日まで飼育を行なった。試験開始時と終了時にアカザラガイ幼生の殻長測定（N=30）を行なうと共に、試験終了時に各基質への着底数を調べた。

13. ダウンウェリング水槽による着底促進効果の検討

100 L パンライト水槽 2 基に着底期のアカザラガイ幼生約 1 万個を収容し、水槽の底に着底させる群と、直径 35 cm のアクリル円筒に 100 μm のメッシュを貼り付けて製作したダウンウェリング水槽（図Ⅲ-1）を入れその中に着底させる群を設けた。室温（約 20℃）で 20 日間飼育した後、水槽内を良く撹拌して一部を 5 回採取し、生きた貝の総数と着底後の殻形成個体数および生きた貝の殻長（N=30）を調べた。

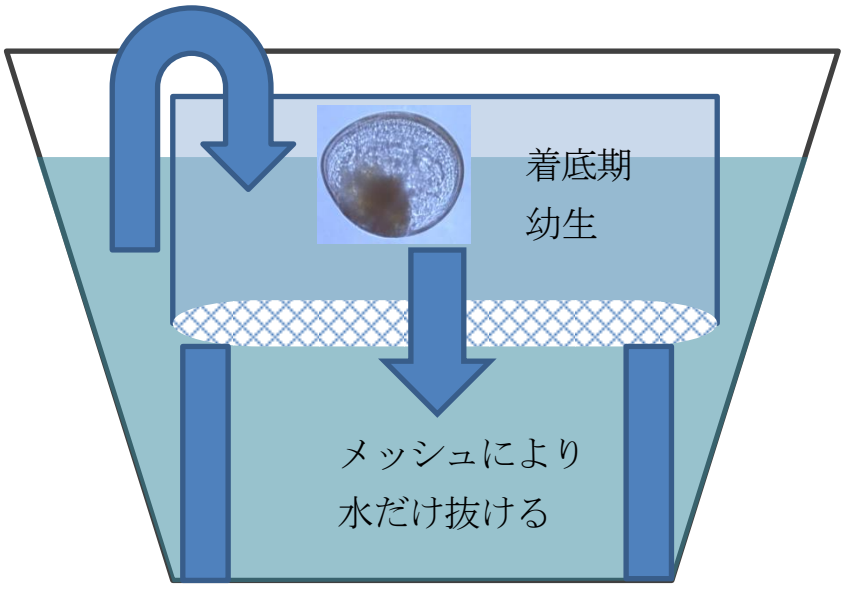
14. 着底期の給餌量の検討

500 L パンライト水槽 6 槽に、約 6 個/mL の密度で着底期幼生を収容し、着底基質としてタマネギ袋にネトロンネット（1 m×2 個）を入れたものと、ネトロンネット（1 m×1 個）と 9 mmΦハイクレ岩糸 5 m（大嘉産業株式会社）を入れたものを 2 袋ずつ投入した。このうち 3 水槽には、1 日当たり濃縮キートセロスグラシリスを 1 万細胞/mL を給餌した（対照区）。残り 3 水槽には 2 万細胞/mL を給餌した（給餌量増量区）。試験は 2014 年 7 月 27 日に開始し、8 月 15 日まで前述の給餌を行なった後、8 月 16 日から 8 月 25 日までは、対照区には 1 日 2 万細胞/mL、給餌増量区には 1 日 3 万細胞/mL を給餌した。8 月 26 日から 10 月 6 日までは対照区には 1 日 4 万細胞/mL、給餌増量区には 1 日 5 万細胞/mL を給餌した。10 月 6 日に各水槽の採苗器を回収し、着底生残数および稚貝の殻高（N=30）を測定した。

15. 天然採苗における採苗器投入時期の検討

タマネギ袋にネトロンネット（1 m×2 個）を入れたものを 1 本に 10 個取り付けた採苗器を作成し、2013 年の 6 月 26 日と 8 月 6 日に函館漁港内の養殖桁に設置した。採苗器は、2013 年 12 月 3 日に回収し

エアリフトによる水の循環



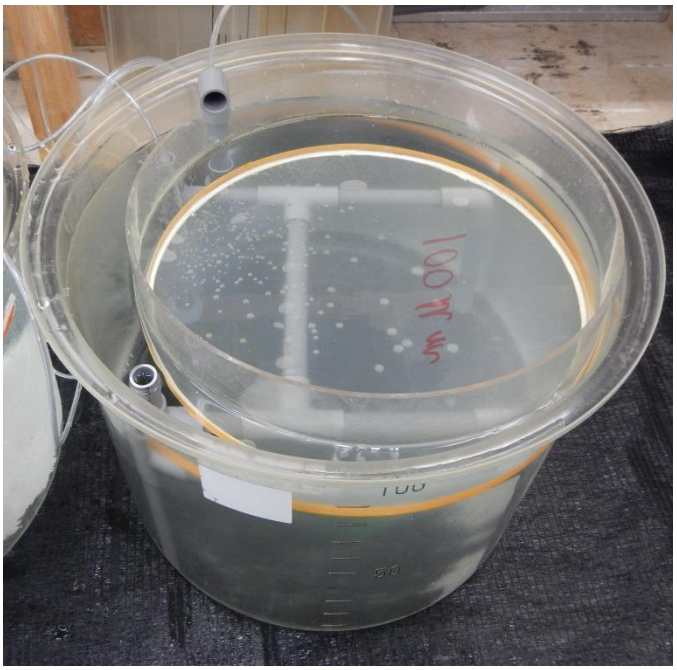


図 III-1　ダウンウェリング水槽の模式図（上）
および実際の試験水槽（下）。

て、稚貝の計数と殻長測定を行なった。同様に、タマネギ袋にネトロンネット（1 m×2 個）を入れたものを 1 本に 5 個取り付けた採苗器を作成し、2014 年 7 月 2 日と 7 月 28 日に函館漁港内の養殖桁に設置した。採苗器は、2014 年 12 月 5 日に回収して稚貝の計数と殻長測定（N=50）を行なった。

15. 天然採苗用基質の検討

着底基質としてタマネギ袋にネトロンネット（1 m×2 個）を入れたものと、ネトロンネット（1 m×1 個）と 9 mmΦハイクレ岩糸 5 mを入れたものを 1 対として 1 本の採苗器に 5 段の採苗袋を設置したものを 10 本作成した。2014 年 7 月 2 日および 7 月 28 日に 5 本ずつ函館漁港内の養殖桁に垂下し、12 月 5 日に回収して着底貝の計数と殻長測定（N=50）を行った。また、回収時の天然採苗器の様子を記録した。

16. 天然環境調査

2013 年および 2014 年 5 月-9 月に天然採苗試験を実施した函館漁港内において、STD（RINKO－Profiler ASTD102；JFE アドバンテック株式会社）による水温の鉛直分布調査およびバンドーン採水器（株式会社 離合社）による深度 0、1、2、3 m 層の採水を実施した。調査および採水を実施したのは 2013 年 5 月 20 日、6 月 26 日、7 月 4 日、7 月 24 日、8 月 16 日、9 月 26 日、2014 年 5 月 16 日、6 月 27 日、7 月 24 日、8 月 21 日、9 月 16 日である。ただし、2013 年 7 月 4 日は採水を行なわなかった。採水した試水 300 mL を Whatman GF/F 濾紙（GE ヘルスケア・ジャパン株式会社）でろ過し，濾紙を N-N ジメチルホルムアミド（和光純薬工業株式会社）に浸漬することによりクロロフィル a を抽出した。抽出したクロロフィル a は蛍光分光光度計（FP6300；JASCO）を用いて、酸添加法（Holm-Hansen et al., 1965）により定量した。

17. 統計処理

本研究において使用した統計解析はすべて Statcel3 ソフトウェア（Yanai 2013）を用いた。

結　果

1. 産卵回数および産卵数

2012 年 6 月 22 日から 7 月 24 日にかけて､15 個の雌のアカザラガイを用いて毎週産卵誘発を行った結果、誘発応答個体は 1 回に平均 261 万粒の卵を放卵した。1 度の産卵誘発での最大産卵数は 993 万粒、最少産卵数は 8 万粒であった（表 III-1)。さらに、同一個体で 4 回以上の産卵誘発に耐えた個体の産卵数を調べた結果、アカザラガイの雌は概ね 2 週間に 1 度産卵誘発に応答し、大量に放卵する傾向が見られた（図 III-2)。

2. 受精卵管理条件

2-1. 受精卵管理密度の影響

2013 年に産卵誘発で得た受精卵を、海水 1 mL 当たり 0.8-96 個の様々な密度で 200 L パンライト水槽に収容し、72 時間後の D 型幼生数を求めた結果、受精卵の密度が 60 個/mL 未満では卵数に応じて D 型幼生の数は増加したが、80 個/mL 以上では受精卵の密度に応じた D 型幼生数の増加は見られなかった. 受精卵の密度が 60 個/mL 以下と以上の水槽での D 型幼生移行率を比較した結果、60 個/mL 以上では、60 個/mL 以下の群に比べ、優位に D 型幼生移行率が低かった（図 III-3)。飼育期間中の水温は 10-18℃であった。

2-2. 受精卵管理水温の影響

①受精卵管理水温試験 1

産卵誘発により得られた受精卵を、水温 12℃ の水槽に収容した後、室温（18℃)、20℃ および 25℃ に調温して D 型幼生移行数を調べた結果、水温 25℃ では 24 時間で、室温および 20℃ では 48 時間で概ね D 型幼生に移行した（図 III-4)。48 時間後の D 型幼生数は各群間に有意差は見られなかった（Tukey-Kramer 法、$p>0.05$)。

②受精卵管理水温試験 2

産卵誘発により得られた受精卵を、水温 18℃ の水槽に収容した後、自然海水温（14℃）室温（18℃）および 25℃ に調温して D 型幼生移行数を調べた結果、水温 25℃ では 24 時間で、室温および自然海水温では 48 時間で概ねすべて D 型幼生に移行した（図 III-5)。48 時間後の D 型幼生数は、各群間に有意

表 III-1　アカザラガイ雌 15 個体を週に 1 回、5 週間に渡って産卵誘発した際の産卵数（単位：万粒）

雌　No.	初回	1週間後	2週間後	3週間後	4週間後
F1	116	33	0	死亡	死亡
F2	993	55	218	死亡	死亡
F3	0	90	13	204	8
F4	0	233	0	80	0
F5	0	0	225	死亡	死亡
F6	0	0	747	0	死亡
F7	356	90	275	201	死亡
F8	289	123	18	99	死亡
F9	0	730	0	死亡	死亡
F10	0	180	0	258	37
F11	0	330	0	死亡	死亡
F12	0	150	0	446	死亡
F13	0	790	0	死亡	死亡
F14	403	44	0	死亡	死亡
F15	0	191	0	825	22

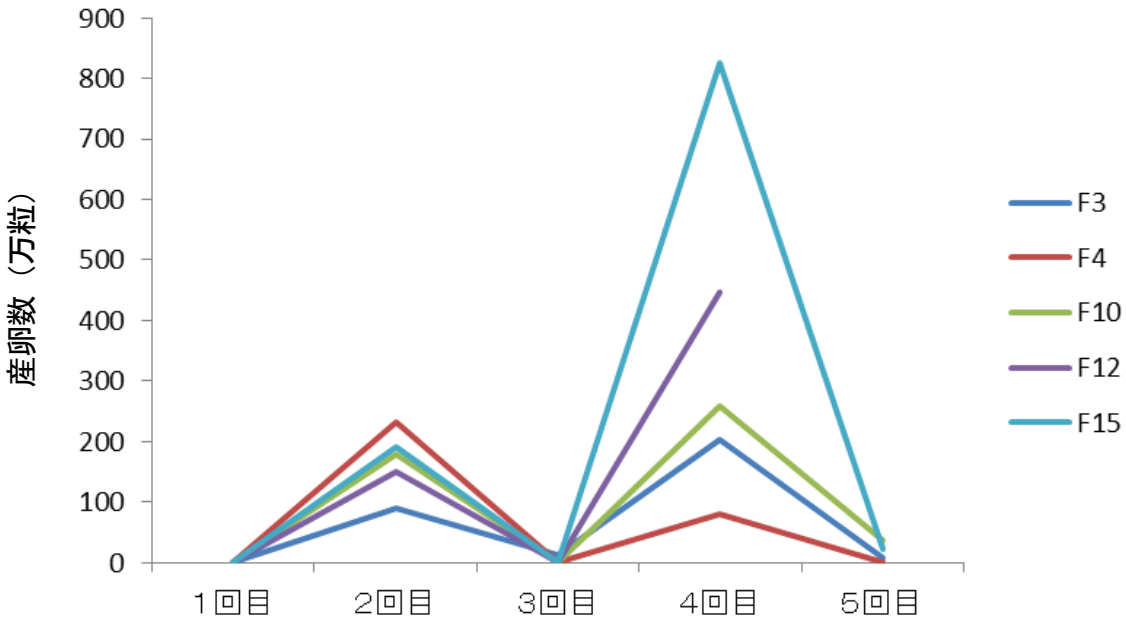


図 III-3　4 回以上の産卵誘発に耐えた雌個体の産卵数の推移。

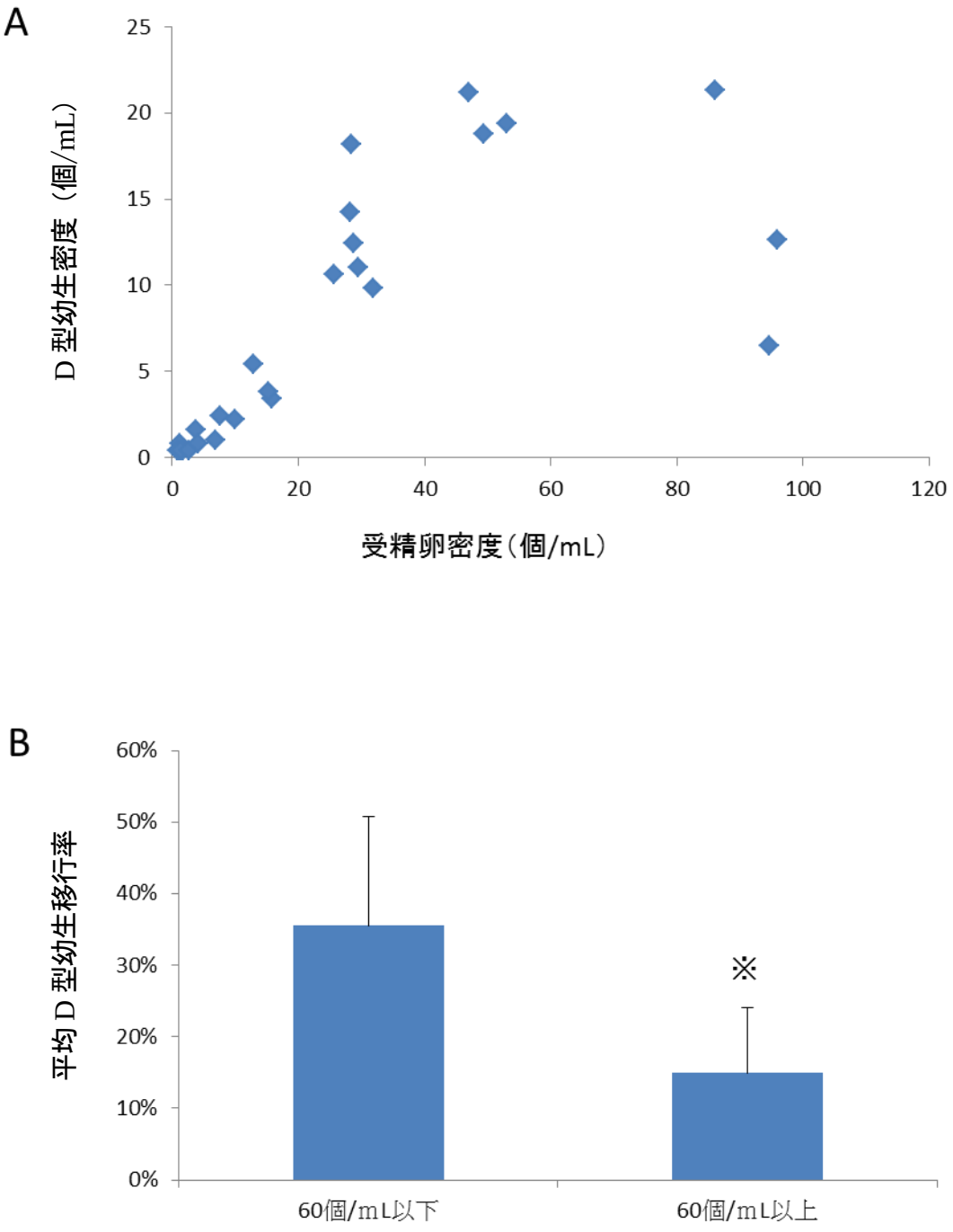


図 III-3　様々な密度で受精卵を培養した際の D 型幼生密度（A）
および、密度 60 個/mL 以上と以下での D 型幼生移行率の違い（B）。
※は有意差があることを示す（*t* 検定　$p<0.05$）

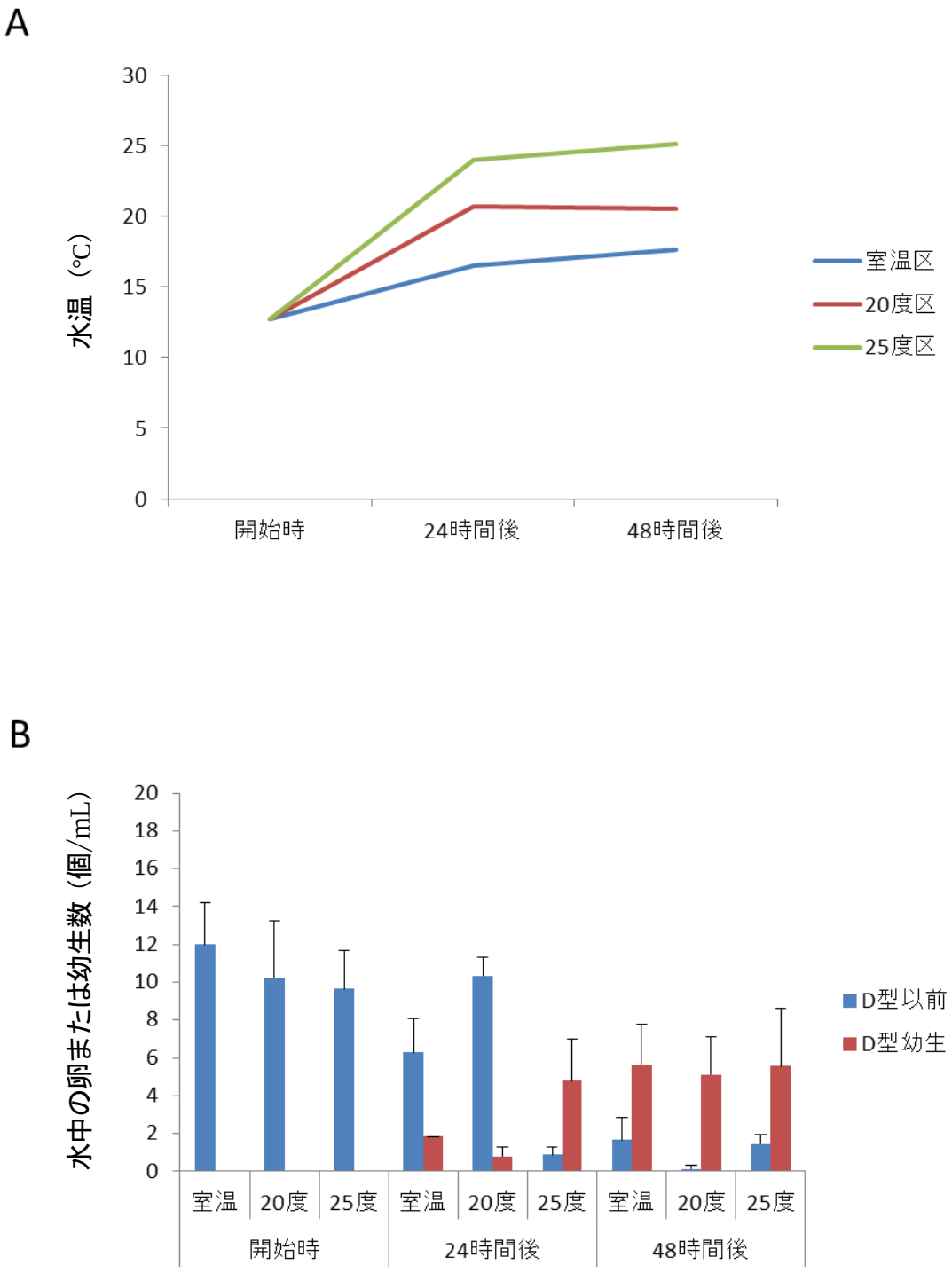


図 III-4　受精卵管理水温試験 1　における飼育水温（A）および飼育期間中の各群の幼生数の推移（B）。

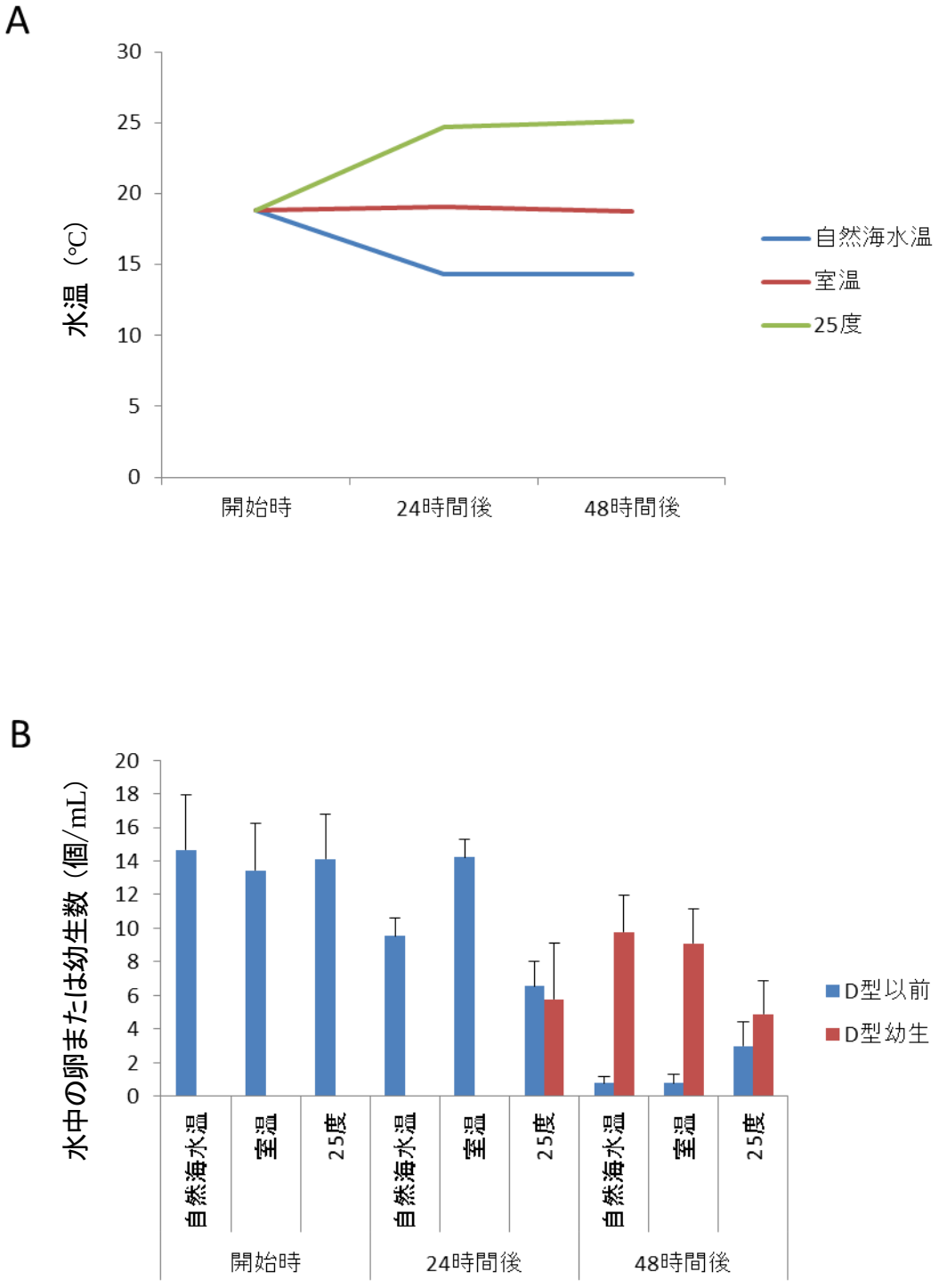


図 III-5　受精卵管理水温試験 2　における飼育水温（A）および飼育期間中の各群の幼生数の推移（B）。

差は見られなかったものの、25℃ 区で他の群に比べ少ない傾向が見られた。

③受精卵管理水温試験 3

産卵誘発により得られた受精卵を、室温（18℃）、22℃ および 25℃ に調温した水槽に収容した後、D 型幼生移行数を調べた結果、室温および 22℃ では 48 時間で概ねすべて D 型幼生に移行したが、25℃ ではほとんど D 型幼生にならず、奇形が多数見られた（図 III-6、7）。48 時間後の D 型幼生数は、各群間に有意差は見られなかったものの、25℃ 区で他の群に比べ少ない傾向が見られた。

2-3. 卵管理時の光の影響

受精卵を明るさが異なる様々な水槽で管理した際の各水槽の水面に直上方向から来る光の強さを、2014 年 7 月 11 日午前 11 時（曇天）に計測した結果、透明水槽＞透明水槽+90%遮光幕＝黒色遮光水槽+90%遮光幕＞黒色遮光水槽+100%遮光幕の順に光の強度が弱くなった（表 III-2）。受精卵の D 型幼生移行率および D 型幼生の殻長を調べた結果、群間に差は見られなかった（一元配置分散分析法　$p<0.05$）（図 III-8）。試験期間中の水温は、約 16-19℃ であった。

3. 浮遊幼生飼育

3-1. 浮遊幼生の成長過程

アカザラガイの幼生を約 7 ヶ月間人工飼育した結果、卵は受精後 2 日で D 型幼生に変態した。D 型幼生は飼育 20 日目頃から水槽底に沈み、足を使って匍匐する様子が観察された。着底後は、浮遊期間とは異なる文様の殻を形成し、7 ヶ月間の飼育により最大殻長 6 mm 程度まで成長した（図 III-9～11）。稚貝の成長に伴い、日間成長が大きくなる傾向が見られた（図 III-12）。

3-2. 人工種苗生産における減耗時期

アカザラガイ幼生を 60 日間飼育した際の、水槽内の生貝と死殻の殻長組成を調べた結果、水槽 1 の生貝の平均殻長は 586 μm、死殻の平均殻長は 224 μm、水槽 2 の生貝の平均殻長は 468 μm、死殻の平均殻長は 184 μm であった。両水槽ともに、生貝の殻長組成は 250-800 μm の範囲に広く分布していたが、死殻の殻長組成は、160-200 μm の間に集中していた（図 III-13）。

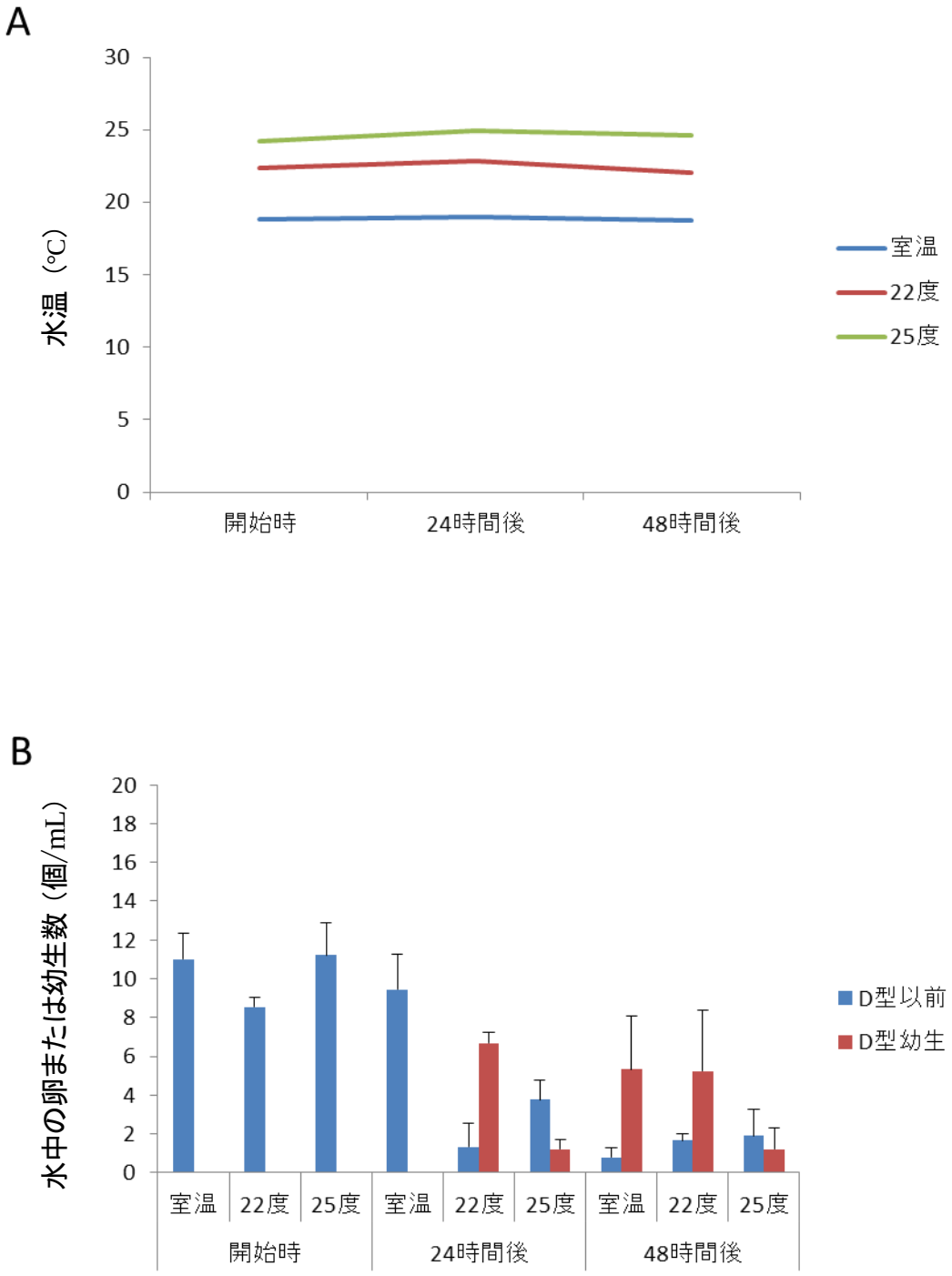


図 III-6　受精卵管理水温試験 3　における飼育水温（A）および飼育期間中の各群の幼生数の推移（B）。

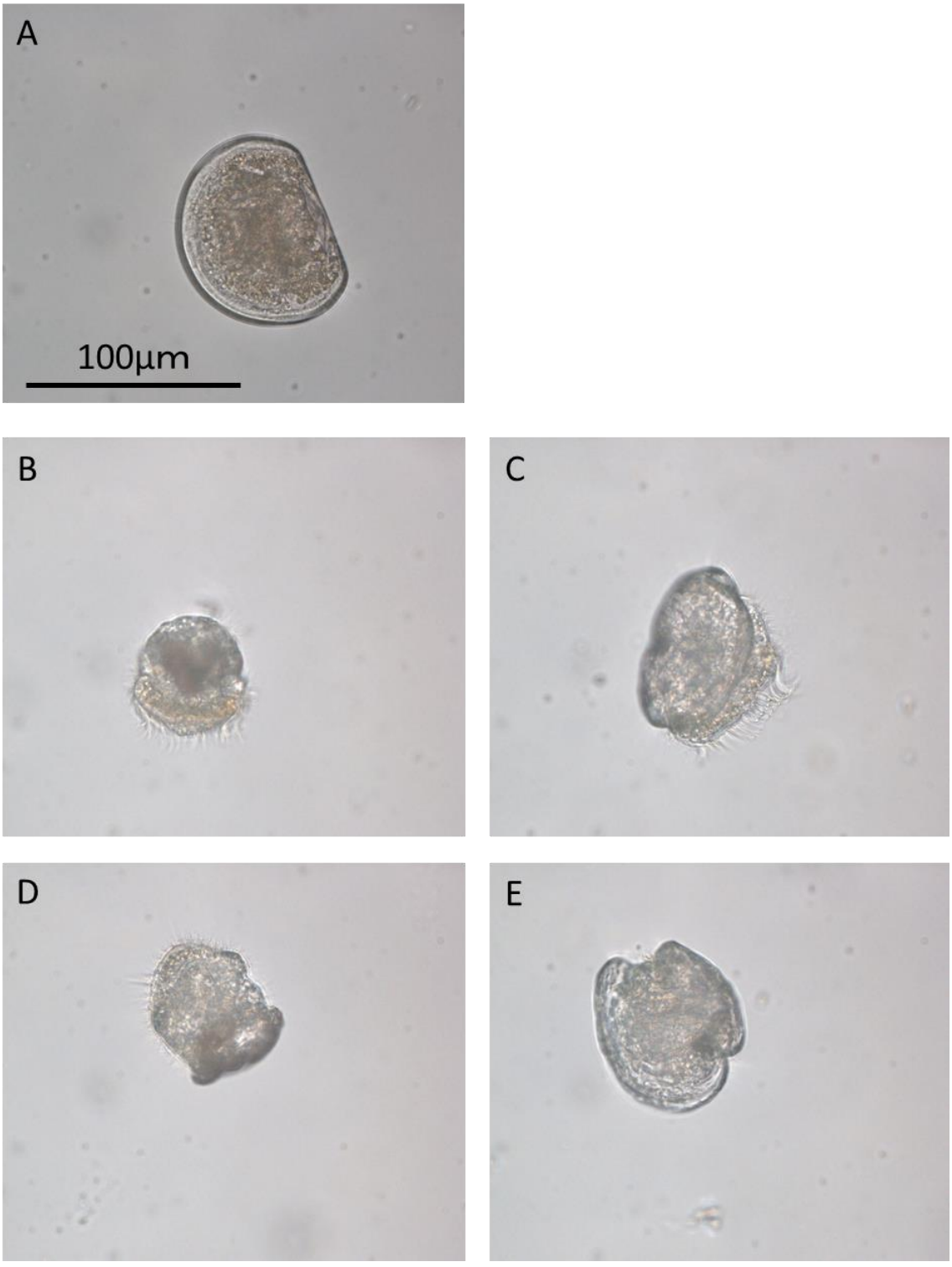


図 III-7　正常な D 型幼生の形態（A）および受精卵管理水温試験 3 の 25℃区で見られた奇形幼生（B-E）。

表 III-2　卵管理時の光の影響を調べる試験
における各群の水面直上方向からの光の強度

グループ	光量（LUX）
透明パンライト水槽 覆いなし	700
透明パンライト水槽＋90%遮光膜	80
黒色遮光水槽＋90%遮光膜	80
黒色遮光水槽＋100%遮光膜	3

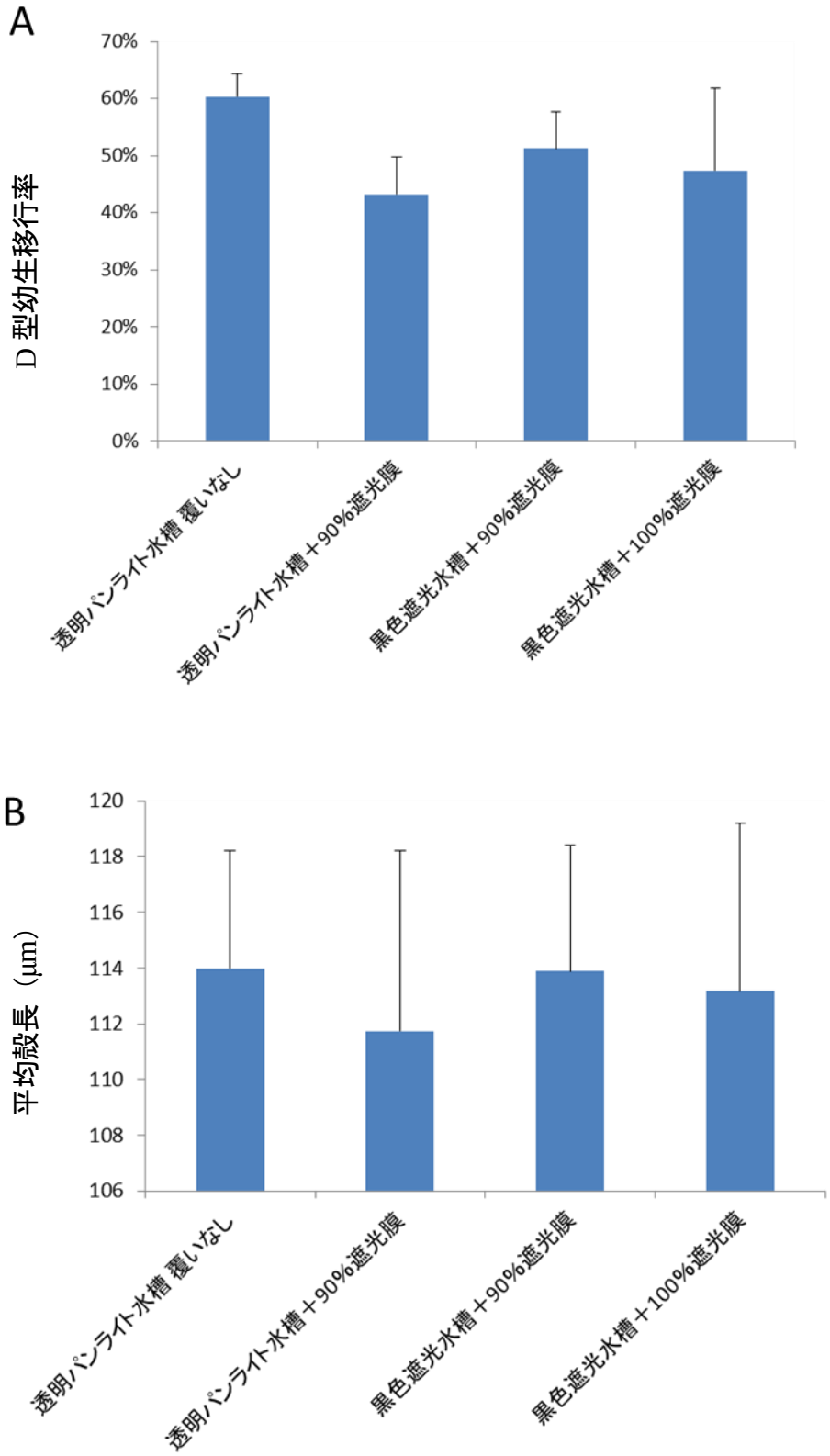


図 III-8　卵管理時の光の影響を調べる試験
における各群の D 型幼生移行率（A）および
試験終了時の D 型幼生の殻長（B）。

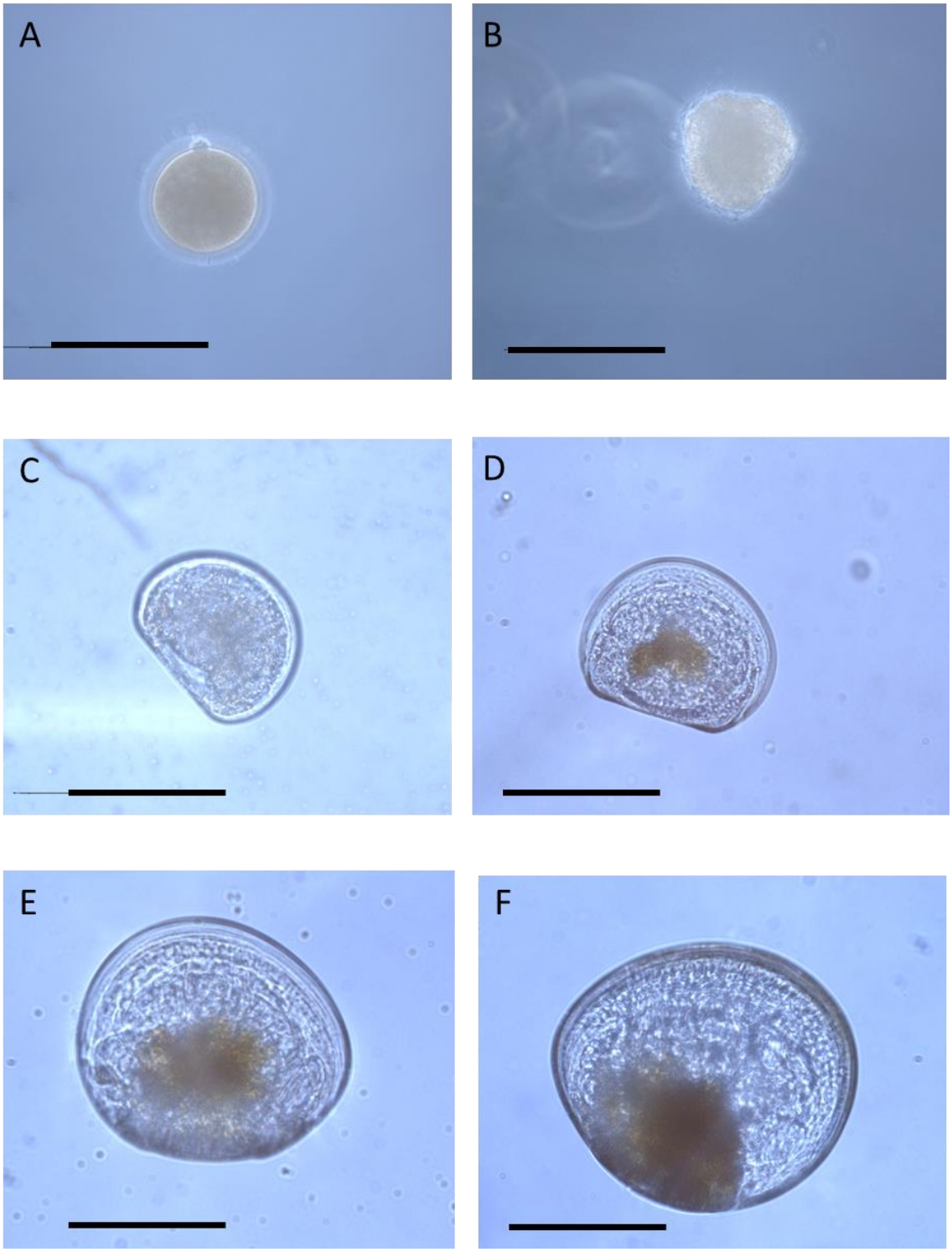


図 III-9　アカザラガイ受精卵および浮遊幼生の成長過程。

A：受精卵　B：トロコフォア幼生（1 日齢）　C：D 型幼生（2 日齢）

D：浮遊幼生（6 日齢）　E:浮遊幼生（11 日齢）　F：浮遊幼生（16 日齢）

バーは 100 μm を示す。

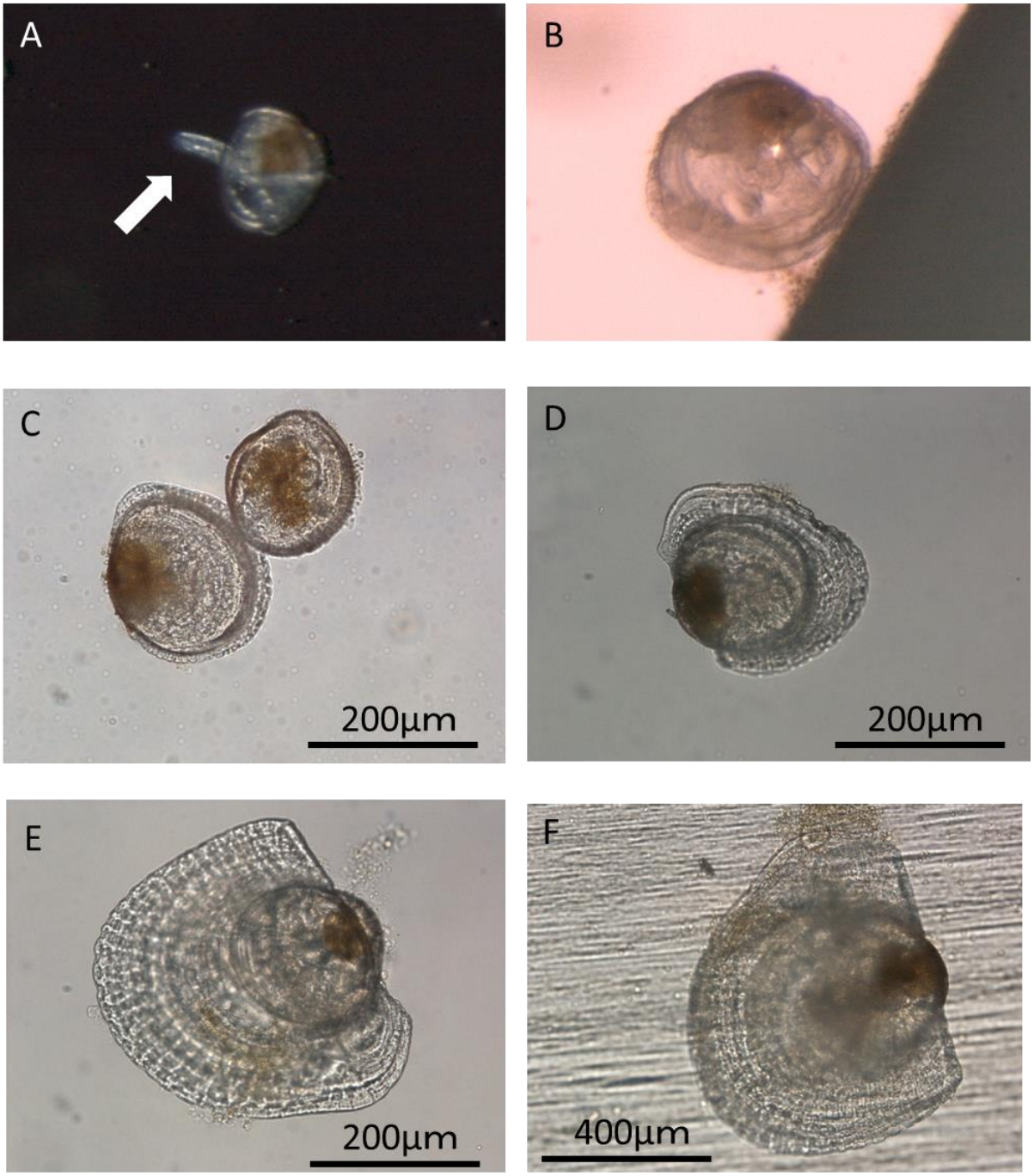
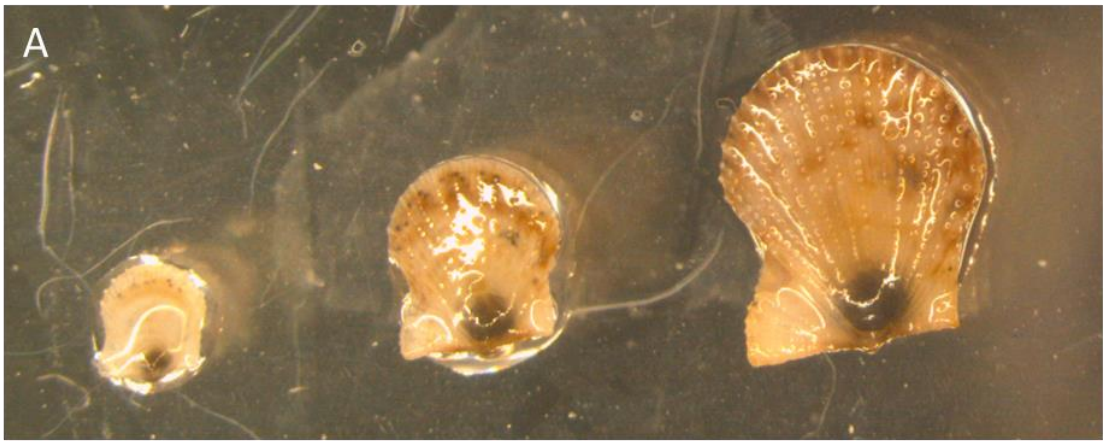


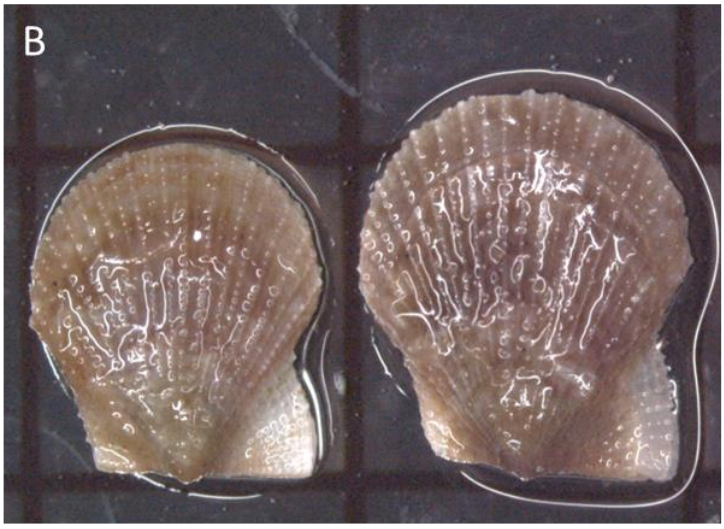
図 III-10　アカザラガイ着底期幼生および着底稚貝。

A：着底期幼生（19 日齢）　矢印は足を示す　B：着底期幼生（26 日齢）

C：着底稚貝（31 日齢）D：着底稚貝（38 日齢）　E：着底稚貝（45 日齢）

F：着底稚貝（59 日齢）





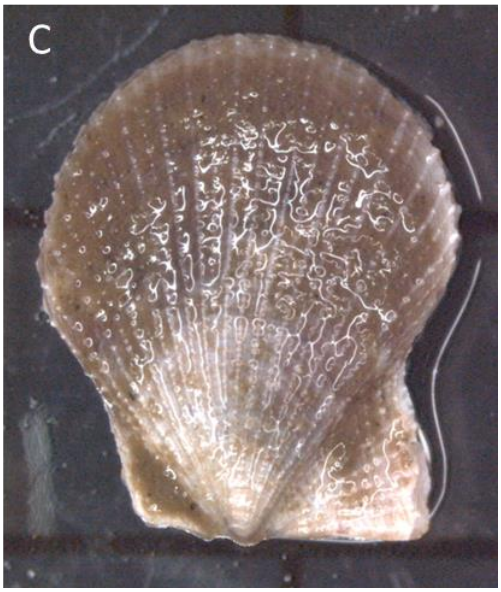


図 III-11　アカザラガイ稚貝の外観。

A：稚貝（119 日齢）　左から殻長 1 mm,2 mm,3 mm

B：稚貝（152 日齢）　左：殻長 4 mm　右：殻長 5 mm

C：稚貝（152 日齢）　殻長 6 mm

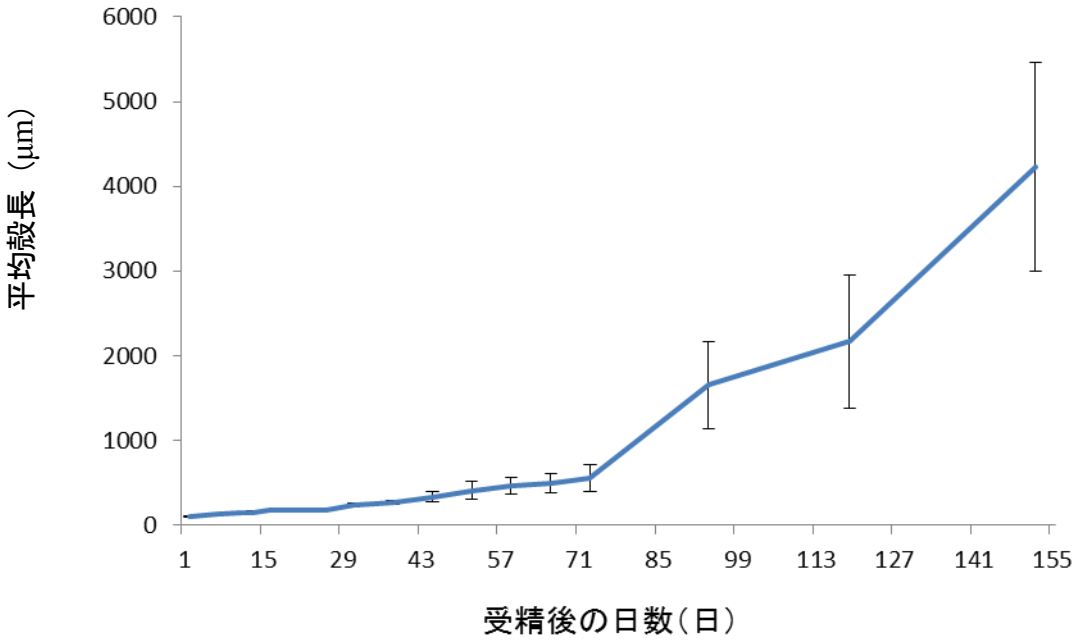


図 III-12　人工飼育下でのアカザラガイの成長。

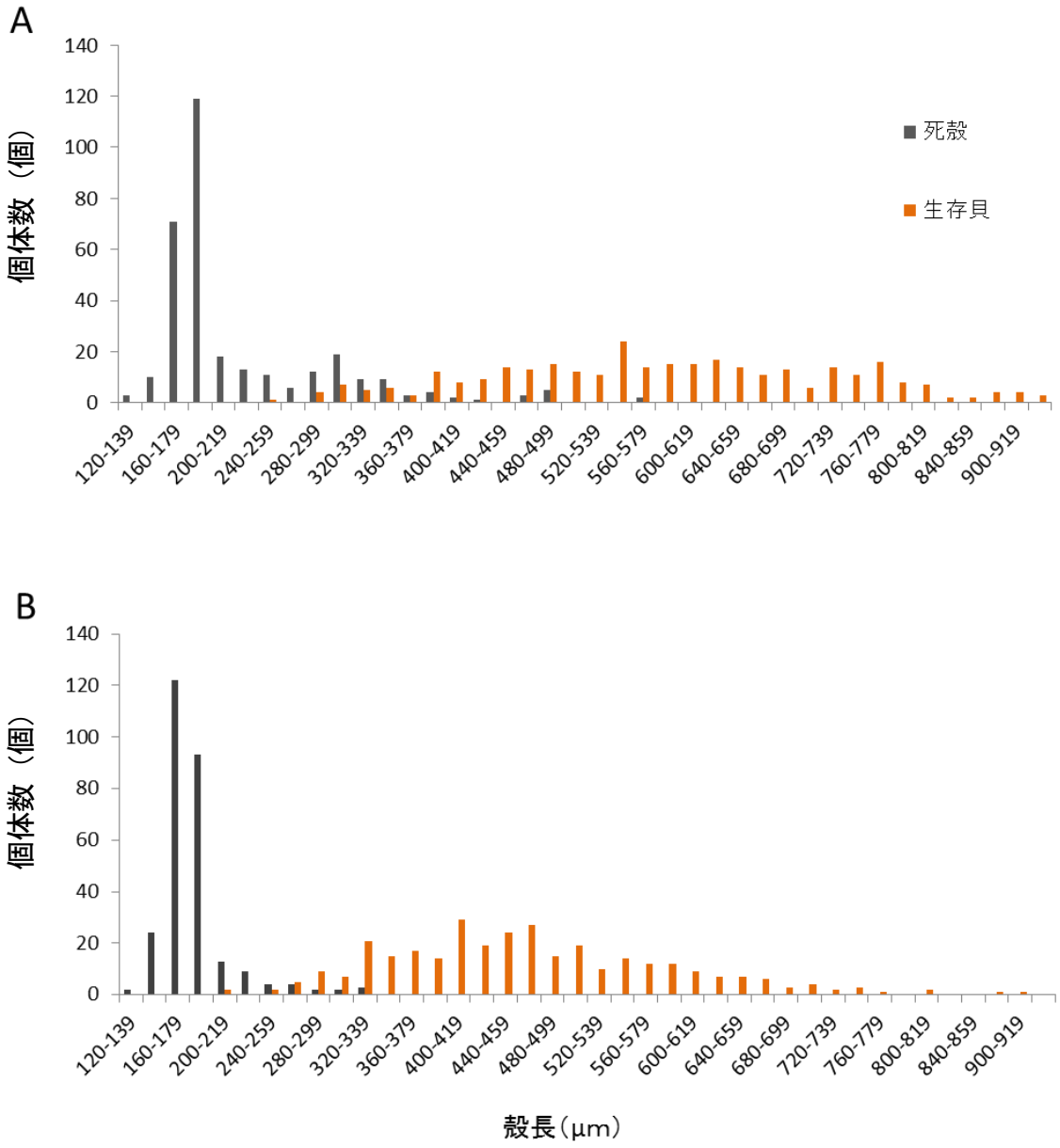


図 III-13　60 日間人工飼育したアカザラガイ種苗の生貝と死殻の殻長組成。

A：水槽 1（N=640）　B：水槽 2（N=597）

3-3. 浮遊幼生飼育における密度の影響

浮遊幼生の飼育密度を検討した結果、9 日後には飼育水 1 mL 当り D 型幼生 10 個および 20 個の群で全滅したのに対し、5 個の群では平均生残率が 40%程度と他の群に比べ良い傾向が見られた。また、有意差は無いものの、飼育密度が低い群程平均殻長が大きい傾向が見られた（図 III-14）。

3-4. 浮遊幼生飼育における飼育水温の影響

試験期間中の平均水温は、22℃ 区で 22.2℃、室温区で 20.2℃、天然海水温区で 17.7℃ であった。浮遊幼生数は、試験期間中を通じて天然海水温区で他の 2 群に比べて少ない傾向が見られた。浮遊幼生の平均殻長についても、試験期間中を通じて天然海水温区で他の 2 群に比べて小さい傾向が見られた（図 III-15）。

3-5. 浮遊幼生飼育における栄養添加剤の効果

浮遊幼生飼育における飼育水中へのカキ卵巣摩砕物の添加の影響を調べるため 15 日間飼育を行った結果、濃縮キートセラス単独給餌群の平均生残率 75%に対し、カキ卵巣摩砕物を追加した群で 107%と生残が良い傾向が見られた。試験期間中、各群の平均殻長には明瞭な差は見られなかった（表 III-3）。飼育期間中の平均水温は 18.9℃ であった。

4. 着底期飼育

4-1. 人工種苗生産における着底基質の検討

様々な着底基質を用いて、アカザラガイの基質毎の着底数を調べた結果、ネトロンネットのみや、人工杉葉を加えたものに比べ、サイザル麻ロープを加えた群で着底数が多くなる傾向が見られた（One-way ANOVA $p<0.05$：多重比較検定では群間に差は見られない）。着底貝の殻長は各群に差は見られなかった（表 III-4）。着底基質のうち、ネトロンネットでは網目の交差する場所に、サイザル麻ロープでは結び目に、人工杉葉では枝の付け根に多く付着している様子が観察された（図 III-16）。

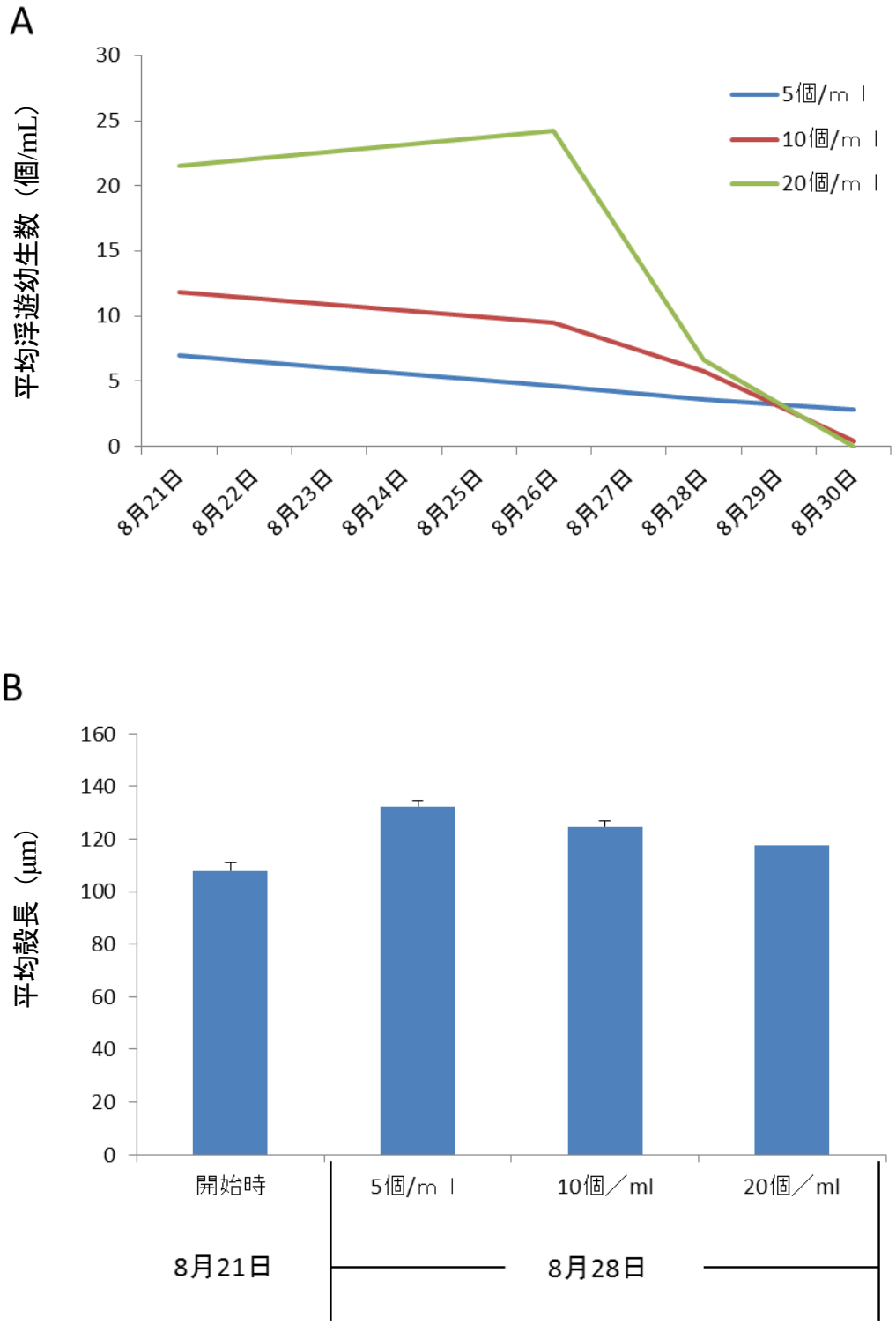


図 III-14　異なる密度でアカザラガイ幼生を飼育した際の浮遊幼生数変化（A）および各群の平均殻長の変化（B）。

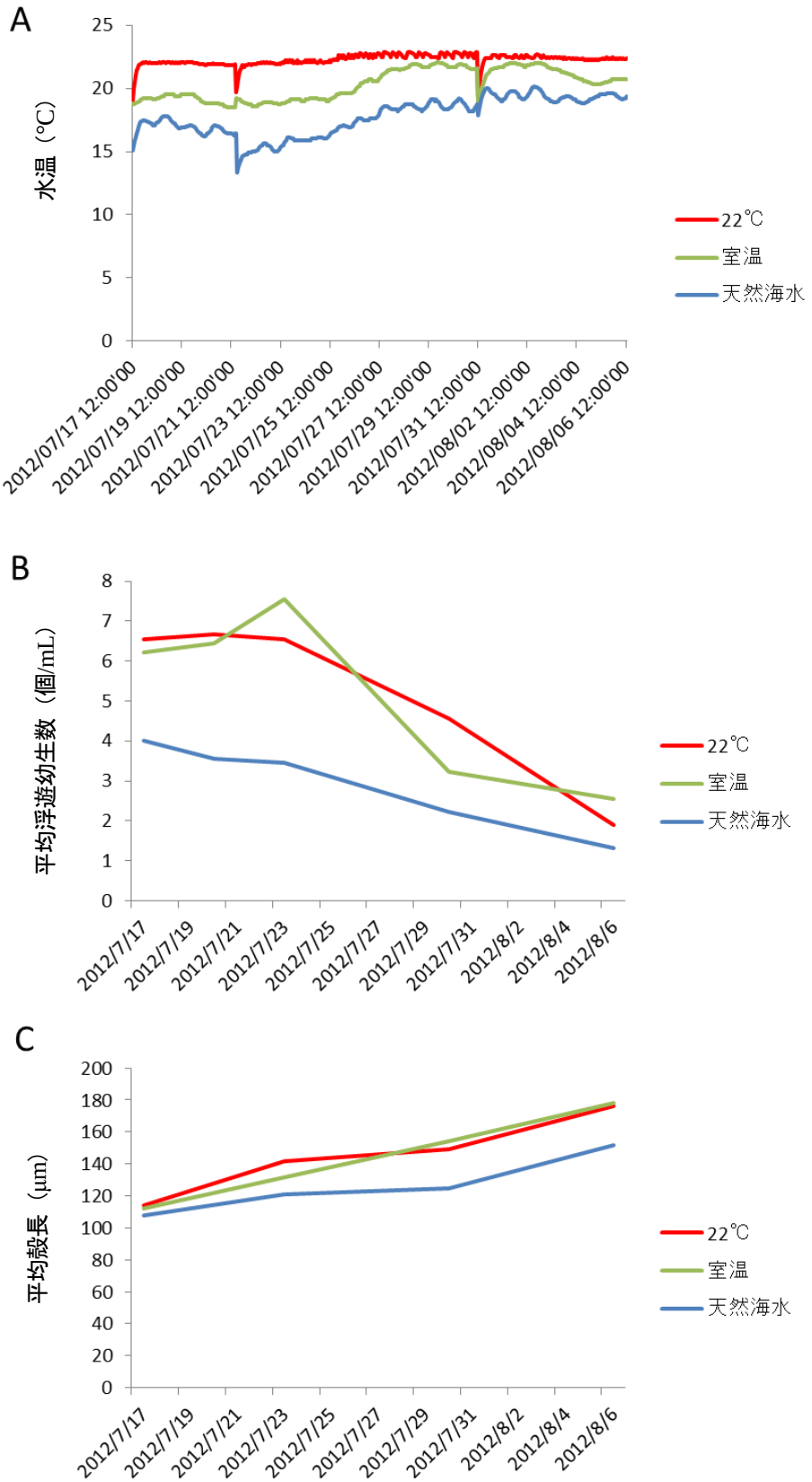


図 III-15　異なる水温でアカザラガイ幼生を飼育した際の試験中の水温変化（A）、平均浮遊幼生数変化（B）および平均殻長の変化（C）。

表 III-3　アカザラガイ浮遊幼生飼育における、栄養添加の効果

給餌（1日当り）	キートセラス 5000-10000/ml	キートセラス500-10000/ml ＋カキ卵巣摩砕物0.5mg
開始時の平均幼生収容数	3,920,000	3,286,667
15日後の平均浮遊幼生数	2,916,667	3,466,667
15日後の平均生残率	75.1%	106.6%
15日後の平均殻長（μ m）	157	160

表 III-4　様々な着底基質を用いたアカザラガイ幼生の着底試験結果

	ネトロンネット 1m×2枚	ネトロンネット1m 9mmΦ サイザル麻ロープ5m	ネトロンネット1m 人工杉葉3枚
平均着底数 （個/採苗器±*SD*）	392±133	1040±372	392±234
平均殻長（mm±*SD*）	2.61±0.35	2.34±0.49	2.59±0.44
着底生残稚貝総数 （個/採苗器3個）	1178	3120	1178

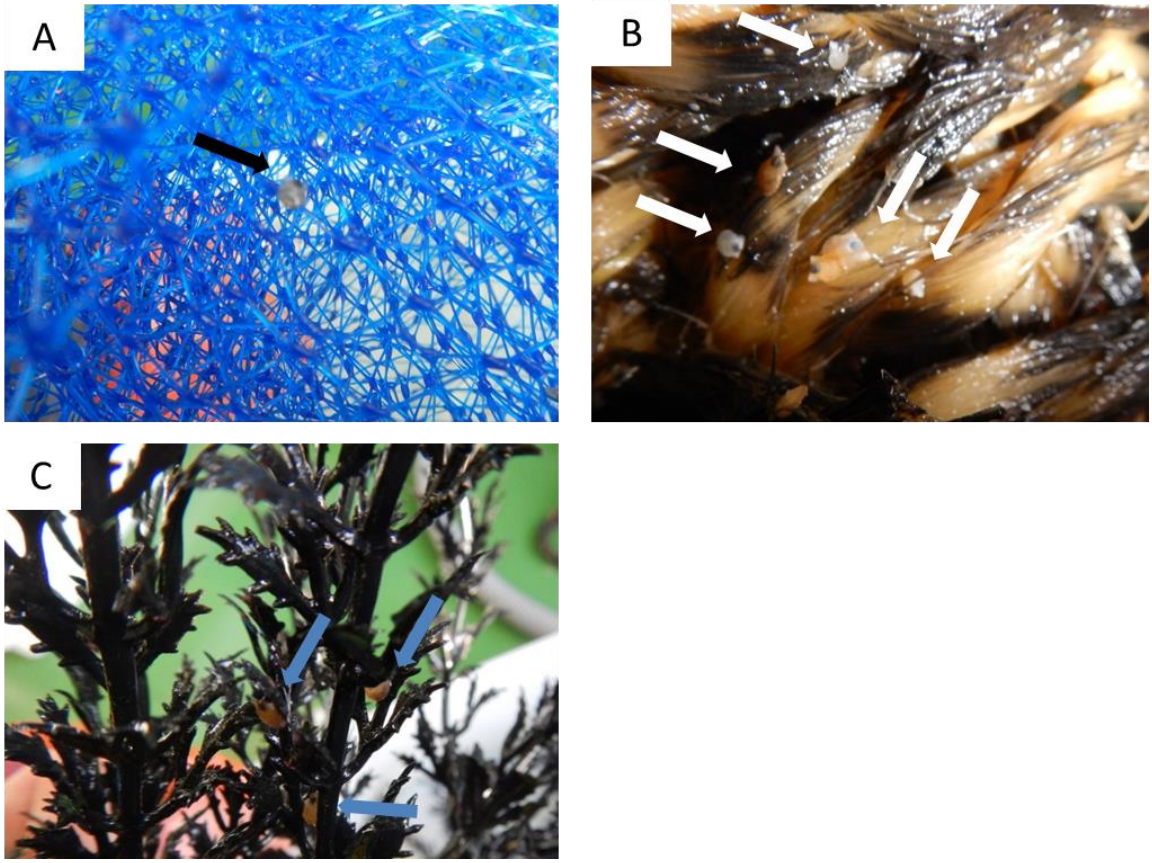


図 III-16　様々な着底基質を用いたアカザラガイ幼生の着底試験の様子

A：ネトロンネット

B：サイザル麻ロープ

C：人工杉葉

矢印はアカザラガイの着底稚貝を示す

4-2. ダウンウェリング水槽による着底促進効果

アカザラガイの着底期幼生を 100L パンライト水槽の底に着底させる方法と、直径 35 cm アクリル円筒に 100 μm のメッシュを貼り付けて製作したダウンウェリング水槽で着底させる方法を比較した結果、生残個体のうち、着底後に形成する特徴的な殻形成を行っている個体の割合は、パンライト水槽着底区で平均 12.3%であったのに対し、ダウンウェリング着底区で平均 43.8%と有意に高かった。また、着底稚貝の殻長はパンライト水槽区で平均 271 μm であったのに対し、ダウンウェリング水槽区で 315 μm と有意に大きかった（図 III-17）。試験終了時点のパンライト水槽区の着底稚貝は、着底して成長した貝の死殻が多く見られ、ダウンウェリング水槽区では、着底後に生きて成長している貝が多く見られた（図 III-18）。

4-3. 着底期の給餌量の影響

着底期幼生の飼育の際の濃縮キートセラスの給餌量が着底数や成長に及ぼす影響を調べた結果、給餌量増量区で対照区に比べて着底生残稚貝数が有意に多かった。着底稚貝の平均殻高は、給餌量増量区で対照区に比べ小さい傾向が見られた（図 III-19）。

5. 天然採苗

5-1. 採苗器投入時期が採苗に及ぼす影響

2013 年の天然採苗結果、6 月 26 日に設置した採苗器に比べ、8 月 6 日に設置した採苗器で採苗された稚貝数が有意に多かった。2014 年は、7 月 2 日に設置した採苗器で、7 月 28 日に設置した採苗器よりも採苗された稚貝数が有意に多かった。天然採苗により得られた稚貝は、両年ともに採苗器を早い時期に設置したもので遅い時期に比べ稚貝の殻長が有意に大きかった（図 III-20）。

5-2. 天然採苗における採苗基質の種類が採苗に及ぼす影響

様々な採苗用基質を用いて天然採苗を行った結果、ネトロンネットのみ、又は人工杉葉を用いた採苗器で、ロープを用いた採苗器に比べ有意に多い数の稚貝が採苗された。一方、採苗された稚貝の殻長は、ロープを用いた採苗器の群が他の２群に比べ有意に大きかった（表 III-5）。回収時の天然採苗器は泥に覆われており、採苗器内はネトロンネットや人工杉葉では比較的清潔であったが、天然繊維であるサイザル麻ロープは一部腐敗している様子が見られた（図 III-21）。

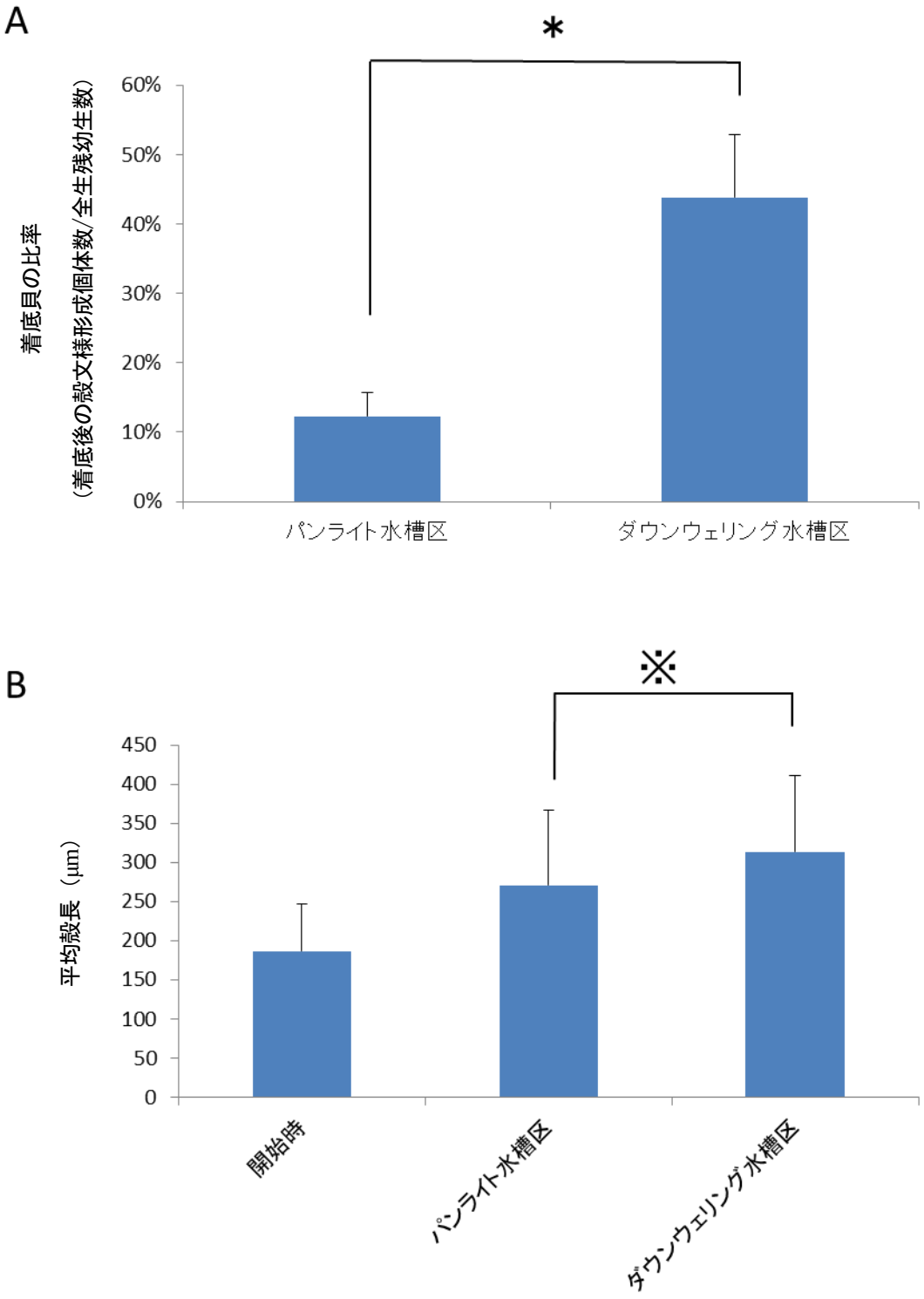


図 III-17　着底期幼生をパンライト水槽とダウンウェリング水槽で飼育した際の 14 日後の着底貝の比率（A）および各群の平均殻長（B）。

＊は群間に有意な差があることを示す（*t* 検定　$p<0.05$）。

※は群間に有意な差があることを示す（マンホイットニ検定　$p<0.05$）。

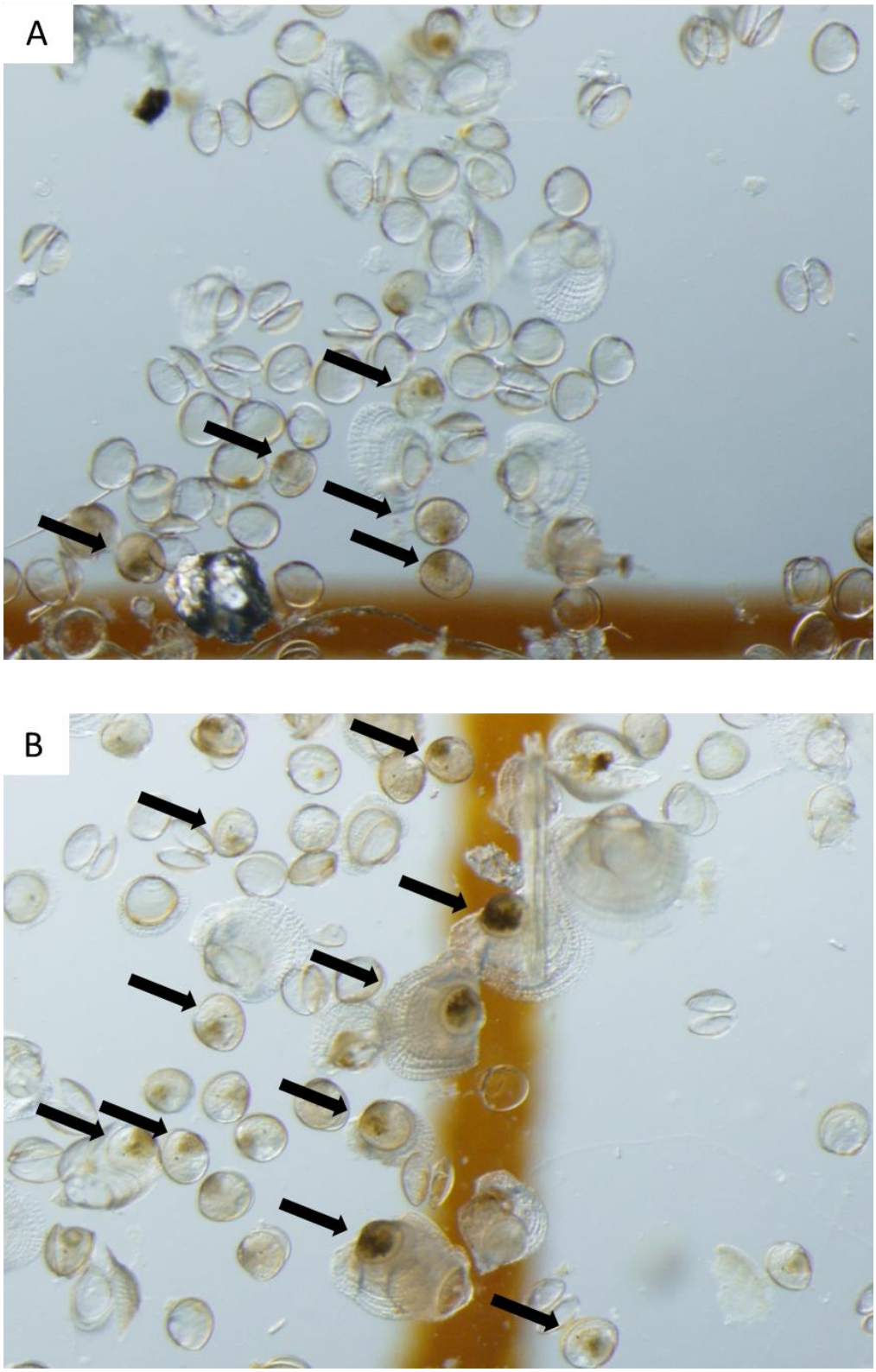


図 III-18　着底期幼生をパンライト水槽とダウンウェリング水槽で飼育した際の 14 日後の着底貝の様子。　A：パンライト水槽　B：ダウンウェリング水槽
矢印は生きている貝を示す。

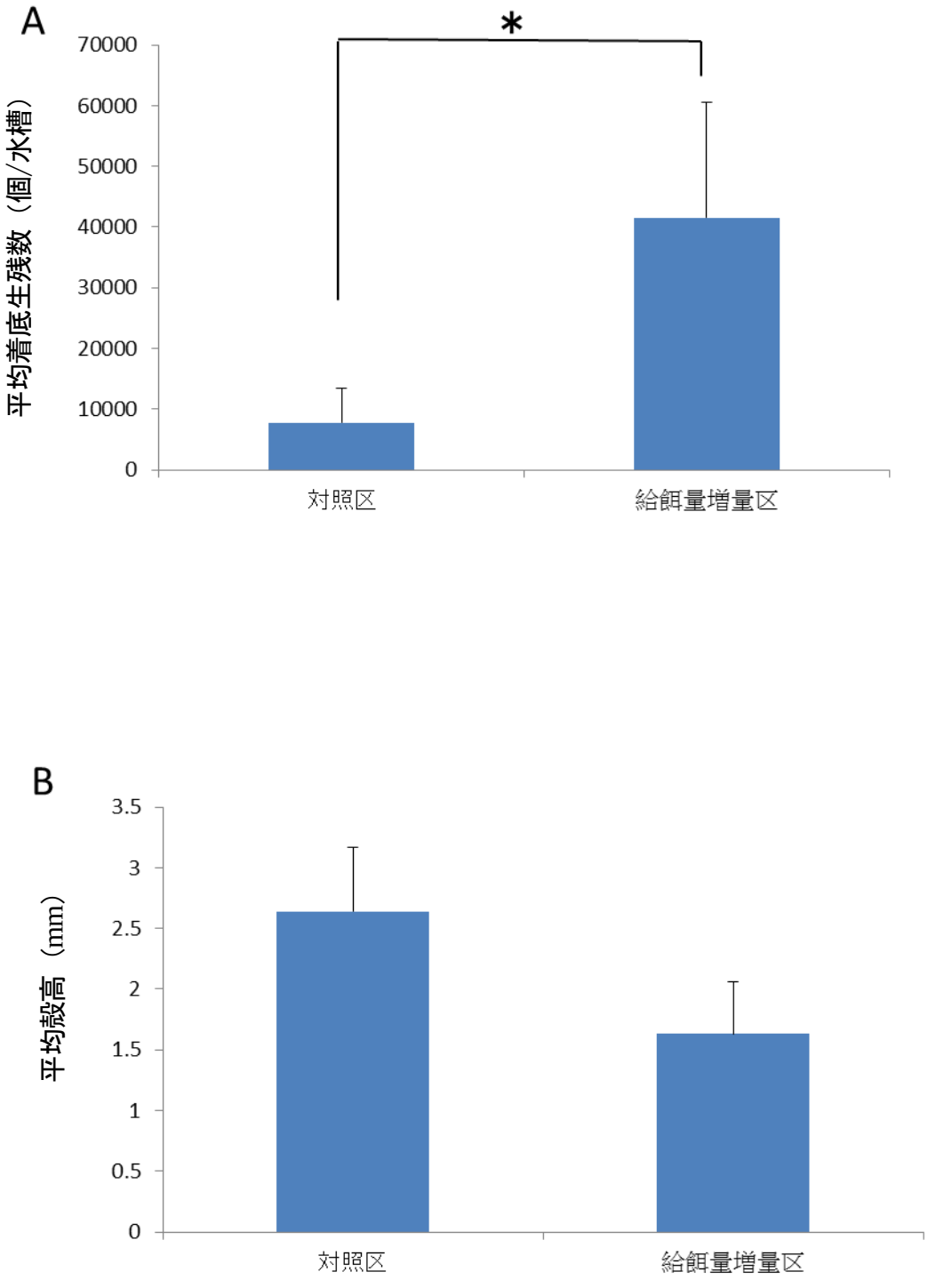


図 III-19　異なる給餌量でアカザラガイ幼生を飼育した際の
着底生残数の稚貝（A）および各群の着底稚貝の殻高（B）。
＊は群間に有意な差があることを示す（t 検定　$p<0.05$）。

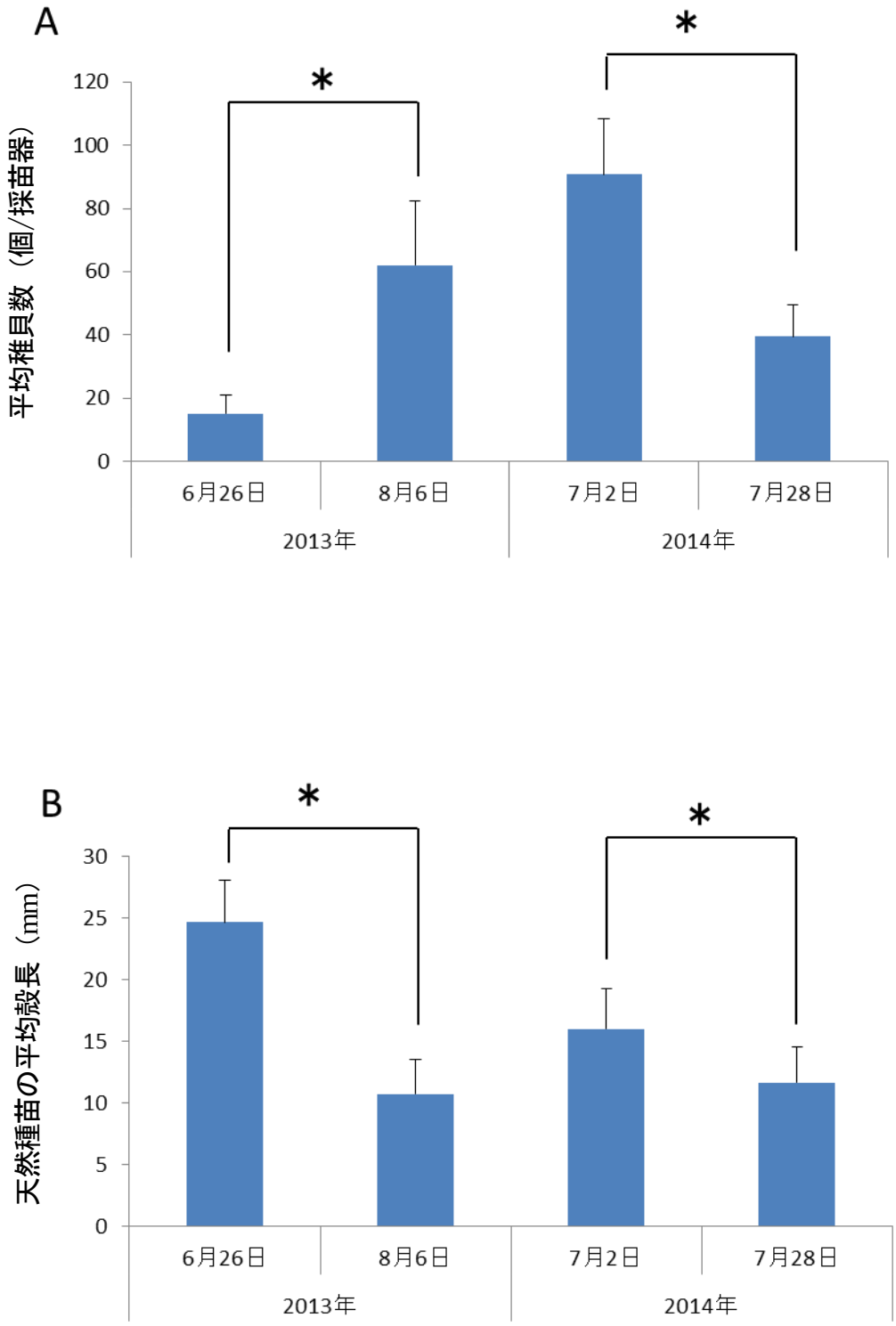


図 III-20　函館漁港での異なる時期に設置した天然採苗器の
採苗器 1 個当たりの稚貝数（A）、採苗された稚貝の平均殻長（B）。
＊は群間に有意差があることを示す（t 検定　$p<0.05$）。

表 III-5　函館漁港にて、様々な採苗基質を用いて天然採苗した際の採苗結果

採苗基質	ネトロンネット 1m×2枚	ネトロンネット1m 9mmΦ サイザル麻ロープ5m	ネトロンネット1m 人工杉葉3枚
平均着底数 （個/採苗器±*SD*）	62±20	27±17＊	74±23
平均殻長（mm±*SD*）	10.6±2.83	13.2±2.96※	11.5±2.78
着底生残稚貝総数 （個/採苗器10個）	1178	3120	1178

＊は他の群との間に有意な差があることを示す（Scheffe's　F test　$p<0.05$）

※は他の群との間に有意な差があることを示す（Tukey-Kramer 法　$p<0.05$）



図 III-21　函館漁港での様々な天然採苗基質を用いた際の
採苗器回収時の外観（A)、
ネトロンネットに採苗された稚貝（B）
サイザル麻ロープに採苗された稚貝（C)、
人工杉葉に採苗された稚貝（D)。

5-3. 函館漁港内の水温および餌環境

天然採苗器を設置した函館漁港内の水温を調べた結果、アカザラガイの産卵期と考えられる 6 月から 8 月にかけて、水温は上昇傾向にあった。7 月の水温は 2013 年が 19.7℃ であったのに対し、2014 年は 21.4℃ と高めに推移した。8 月の水温は、2013 年が 24.8℃ であったのに対し、2014 年は 22.0℃ と低めに推移した。餌環境の指標となるクロロフィル a 量は、6 月から 8 月にかけては減少傾向にあった。 7 月のクロロフィル a 量は 2013 年が 2.1 μg/L であったのに対し、2014 年は 1.3 μg/L と低く推移した。8 月のクロロフィル a 量は 2013 年が 1.1 μg/L であったのに対し、2014 年は 1.4 μg/L と高く推移した（図 III-22）。

6. 2012 年から 2014 年にかけての人工種苗生産および天然採苗によるアカザラガイ稚貝の生産数量

本研究を通じ、アカザラガイの人工種苗生産により得られた稚貝は、平均殻長 2-4 mm が 3 年間の合計で約 25 万個であった（表 III-6）。また、天然採苗により得られた稚貝は、平均殻長 8-13 mm が 3 年間合計で約 9700 個であった（表 III-7）。これら２つの方法で得られたアカザラガイ稚貝には、人工種苗生産では小型の種苗が数多く得られ、天然採苗では大型の種苗が少数得られるという特徴が見られた（図 III-23）。

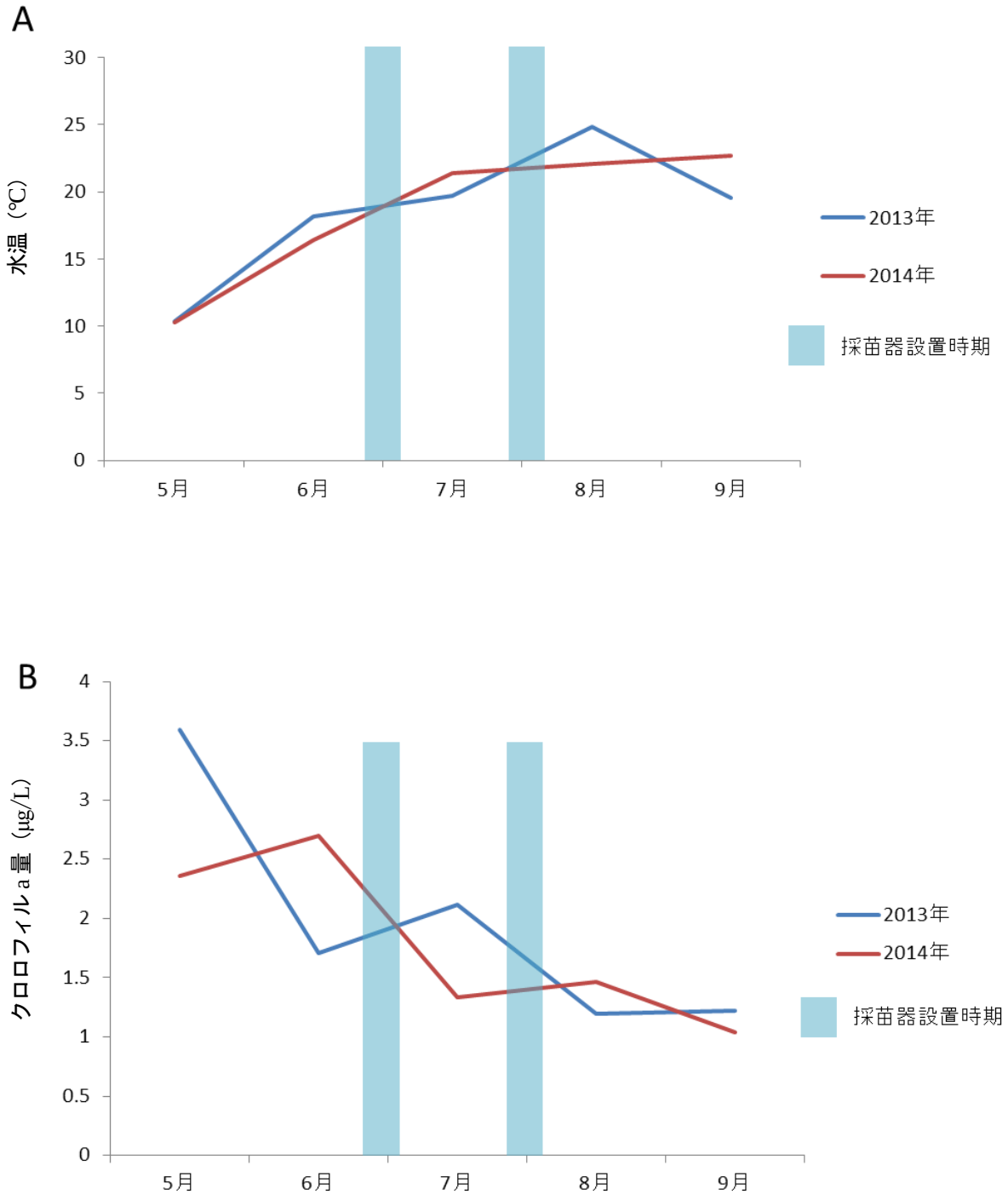


図 III-22　函館漁港内の水温（A）およびクロロフィルａ量（B）。

表 III-6　本研究を通じて人工種苗生産により得られたアカザラガイ稚貝数

年度	出荷日	平均殻長(mm)	採苗水槽数(基)	出荷数(個)
2012	10月26日	4.1	500L×1	約13000
2013	11月19日	2.5	500L×1	約7300
2014	10月6日	2.1	500L×6	約230000

表 III-7　本研究を通じて天然採苗により得られたアカザラガイ稚貝数

年度	採苗器回収日	平均殻長(mm)	採苗器数(個)	総採苗数(個)
2012	12月3日	11.6	30	約2000
2013	12月5日	8.2	50	約1990
2014	12月5日	13.2	100	約5740

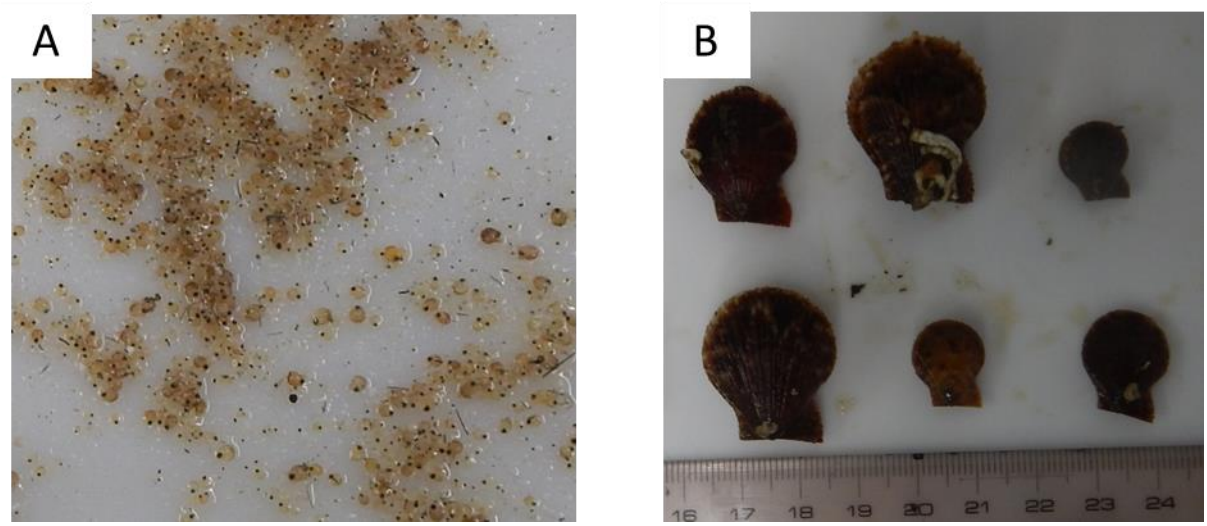


図 III-23　人工種苗生産により得られた稚貝（A：2013 年 11 月 20 日）および天然採苗で得られた稚貝（B：2014 年 12 月 5 日）の様子。

考　察

本研究において得られた北海道産アカザラガイの人工および天然採苗の結果から、冷涼な気候の北海道において本種の養殖用種苗を確保することが可能であると考えられた。アカザラガイは、中国沿岸では100万トン規模で大量に養殖が行われている種であり、事業規模の養殖に対応する天然および人工採苗技術が確立されていると報告されている（Jia and Chen 2001）。しかし、国内ではマガキ養殖の際に自然に付着したアカザラガイを集めて出荷する場合はあるものの、本種を対象とした専門の養殖漁業は行われていない。近年、海水温の上昇により北海道南部海域から順にホタテガイの養殖適性が損なわれてきている。同じイタヤガイ科であるアカザラガイは、ホタテガイに比べ温かい海域でも生息していることから、代替魚種となりうる可能性を秘めている。養殖対象種の転換を検討する際、本研究により得られたアカザラガイの種苗生産に関する知見は貴重な資料となる。

アカザラガイの採卵のリズムについて調べた結果、雌の母貝は人為的な産卵誘発に対し、概ね2週間間隔でまとまった量の卵を複数回産卵することが明らかになった。近縁のホタテガイなどでも産卵は複数回行われると考えられているが、個体別の詳細な報告はなされていない。また、本試験で1個の母貝から得られた卵数は最大993万個であり、近縁のホタテガイでの8500万個（丸　1985）や、1億個以上産卵するマガキ（水島・鳥澤　2003）と比べて格段に少なく、600 万個程度しか産卵しないアサリ（水島・鳥澤　2003）に比べ多いことが示された。アカザラガイと近縁のホタテガイでは、セロトニンによる放精、放卵の制御が報告されている。放卵の制御の過程では、第一減数分裂の中期で停止した卵母細胞がセロトニンの作用により減数分裂を再開し、卵核胞崩壊を起こして放卵される（野村　1995）。これらの知見は *in vitro* の試験環境下で得られた報告であるが、本研究にて得られたアカザラガイの産卵誘発による産卵リズムから、減数分裂停止状態の卵母細胞が産卵誘発により一度全て放卵され、次の未熟な卵母細胞が減数分裂中期に至って停止するまでに最低2週間かかっていることが推察される。この様な複数回産卵の過程において、未熟な卵母細胞が減数分裂中期で停止するまでの途中の過程においては、セロトニンの作用による卵母細胞の最終成熟と放卵が抑制されていると考えられるが、この過程を明らかにするためにはホタテガイと同様に *in vitro* の試験等により詳細に解析する必要がある。

産卵誘発により得られた受精卵の管理条件について検討したところ、卵管理密度60個/mL以上ではD型幼生に移行する個体数が低下することが明らかになった。アサリの卵管理において、1 mL当たり100個以上で奇形の発生が、150 個以上では孵化率の低下が報告されている（上妻　1994）ことから、アカザラガイについても受精卵管理の際の密度を適正に管理することが必要である。次に、受精卵の管理水

温について検討した結果、受精直後に 25℃ 以上の水温にさらすと、D 型幼生への移行時に奇形が発生し、正常な幼生数が少なくなることを明らかにした。結城（1987）では、水温 25℃ でのアカザラガイ人工種苗生産を報告しており、この報告でも飼育開始 3 日後で生残率が 33%程度まで激減していることから、本研究でも見られた高水温による奇形が発生していた可能性がある。一方で、受精卵の管理環境として、光の強さについては本研究からは明確な関連性は見いだせなかった。以上の結果より、アカザラガイの採卵から D 型幼生までの受精卵管理においては、受精直後の卵は 25℃ 以上の海水に晒さないことや、卵の培養密度を 60 個/mL 以上にしないことについて注意を払うことで、健全な D 型幼生を得ることができると考えられた。

本研究で得られたアカザラガイ D型幼生以降の浮遊幼生の成長過程は概ね前述した中国で報告されている事例（Jia and Chen 2001）と一致していた。本研究では、これらの一般的な成長過程に加え、減耗時期、飼育水温、飼育密度および餌料などの影響をより詳細に調べた。まず、アカザラガイの種苗生産における大量減耗の時期を調べた結果、殻長 160-200 μm の時期に浮遊幼生が大量に死亡していることが明らかになった。この時期は着底期の直前であり、浮遊生活から着底生活へと体の構造を大きく変える時期であることが、幼生の減耗の原因になっているのではないかと考えられた。著者らの所属する栽培水産試験場では、アサリやカキ類の種苗生産試験も行なっているが、着底時期の生残率はアサリで 10-30%程度、イワガキで 1%程度と同じ時期の大量減耗が見られる。次に、浮遊幼生期の飼育条件について調べた結果、飼育密度は 5 個/mL 以下、水温は 18-22℃ 程度で市販の濃縮キートセラスグラシリスで育成が可能であることが明らかになった。このうち、密度についてはイタヤガイ（石田ら 1995）やイワガキ（佐々木・常磐　2014）などの事業規模での種苗生産の報告においては 1-2 個/mL の飼育密度が使用されており、アカザラガイについても量産の段階ではさらに低密度で飼育の安定化を図る必要があると考えられる。また、本試験においてアカザラガイ幼生の飼育が順調であった水温は 18-22℃ 程度であり、母貝を採取した函館周辺の天然海域の 7-8 月の水温と同じ範囲であった。アカザラガイはイタヤガイ科の中では、水温 8℃ 程度で産卵するホタテガイ（木下　1940）よりも、水温 20℃ 前後で産卵するイタヤガイに近い繁殖生態を持つことが明らかになり、海水温が上昇傾向にある北海道周辺でのホタテガイ養殖からの代替種として適していると考えられる。幼生飼育における餌料については、市販されている濃縮キートセラスのみでも十分に育成可能であることが明らかになった。さらに、二枚貝の浮遊幼生用の栄養添加剤であるカキ卵巣摩砕物（ランマ OH；二枚貝養殖研究所）を併用することで、生残率をさらに向上させられる可能性があることを示した。

着底期に達したアカザラガイ幼生を用い、人工飼育下での着底に適した基質を検討した結果、水槽内

でアカザラガイを着底させる際には、ホタテガイの天然採苗で用いられているネトロンネットやアコヤ貝の養殖に用いられている人工杉葉に比べ、中国で *C. farreri* の採苗に用いられている麻ロープで最も多くの着底種苗が得られることが明らかになった。一方、同一の基質を天然採苗に用いた場合、麻ロープでは他の 2 種の基質に比べて採苗数が劣ることから、採苗方法（人または天然採苗）によって、採苗に用いる基質を使い分けるのが効果的と考えられた。また、アサリで用いられているダウンウェリング水槽をアカザラガイの着底に用いたところ、着底率やその後の成長が良い結果が得られた。人工種苗生産においては、減耗時期に当たる着底前後をダウンウェリング水槽で飼育した後、着底稚貝を広い水槽に分散して飼育する方法への展開がより効率的な種苗生産につながる可能性がある。着底期の給餌量を検討した結果、給餌量増量区では対照区に比べ平均着底数が 4 倍になり、着底期の生残性の向上に非常に有効であったと考えられた。一方、多数の着底稚貝が生き残った給餌量増量区では、対照区に比べ平均殻高は小さかったことから、飼育密度が高いことによる餌不足が生じていた可能性が考えられる。この様な飼育条件下では、単純に給餌量の増量による成長促進が可能であると予想されるものの、アサリでは最大成長を示す給餌量よりも過剰給餌を行なうと成長が返って低下すること（鳥羽・深山　1993）が報告されており、稚貝の大きさや飼育密度に適した給餌条件については、より詳細な検討が必要である。

函館漁港内で実施した天然採苗試験により、アカザラガイの天然採苗が可能であることが明らかになった。海面での天然採苗では、ホタテガイの採苗に用いられているネトロンネットの採苗器が最も安定して多くの種苗を確保できた。2013 年の試験では、アコヤガイの採苗に用いられている樹脂製の人工杉葉でも比較的多くの種苗が得られたが、本採苗基質は入手が不安定な製品になってしまっていることから、入手が用意なネトロンネットを採苗基質として用いるのが適当と考えられた。一方、室内での人工採苗で有効であったロープ類は、本研究での天然採苗では有効ではなかった。この原因の 1 つとして、ネトロンネットや人工杉葉に比べて表面積の大きいロープでは、海面垂下により多くの泥や付着物が見られたことから稚貝が付きにくい状況になった可能性がある。天然採苗器を設置する時期を検討した結果、水温が 20℃ を超えた後に設置した採苗器で採苗数が多いことが明らかになった。この水温は、昇温刺激により産卵が誘発される本種において採苗器投入時期の目安として活用できる可能性がある。ただし、産業規模で天然採苗を実施しているマガキ（内藤・後川　2016）やホタテガイでは、天然採苗の時期や水温に加えて、海中に浮遊している幼生の調査を行ない、採苗器の投入のタイミングを判断する方法が用いられていることから、環境調査に加えアカザラガイ浮遊幼生の調査も必要になると考えられる。さらに、天然採苗により得られたアカザラガイ稚貝の大きさは、各年ともにより早い時期に投入した採苗器でより大きな稚貝が得られたことから、多くの稚貝を必要とする場合とより大きな稚貝を必要

とする場合とで採苗器の投入時期又は回収時期を使い分ける必要がある。

本研究にて対象としたアカザラガイは、調査地である函館市では地域特産的な食文化が存在する水産物である。このため、本種への地元飲食店の需要は高く、高価格で取引される。このような背景から、本種の養殖への取り組みが行なわれているが、養殖設備への投資コスト、港湾設備と養殖海面の場所の競合および既存漁業との時間の競合といった新規漁業として成立させる上では様々な課題が残る。本研究により得られた技術面での課題の解決は、新たな漁業へ挑戦するきっかけを生み出す可能性はあるが、実際の漁業従事者が直面する前述のような課題を乗り越えるためには、財政支援および漁業許可を管轄する行政および漁業を産業として成立・継続させるためのパートナーとなる民間企業の協力が不可欠である。加えて、北海道の漁業従事者は多くが個別経営体であるが、養殖業のように規模が大きく日常の管理が発生する漁業においては、漁業者間の連携や共同経営体の創出を進めていくことも必要だと考える。

以上、本研究により北海道産アカザラガイの種苗生産に関する幅広い知見を得ることができた。本知見は、現在進行する海水温上昇による漁業対象種の変化のうち、特に既存のホタテガイ養殖が続けられなくなった場合の転換漁業対象種としてアカザラガイを代替魚種として提案できる可能性を示した。これらの知見は、将来の北海道漁業を考える上での貴重な情報となり得る。

第 IV 章　北海道におけるイワガキ養殖技術開発

北海道には厚岸町の「カキえもん」、知内町の「知内カキ」、寿都町の「寿カキ」などのいくつものブランドカキが生産されている。これらはいずれもマガキ *Crassostrea gigas* であり、基本的には冬から春が旬の水産物であるが、水温が低い道東海域のマガキは例外的に夏でも出荷が行なわれている。これらの養殖マガキを生産するための種苗は、厚岸のカキえもんを除きほぼすべてが宮城県産の天然種苗で賄われている。しかし、東日本大震災以降のマガキ種苗の入手の不安定化から、養殖用種苗の地場生産の動きも始まってきている。この他、養殖マガキを除くカキ類の生産は、ごく一部の海域で天然採取のカキが僅かに水揚げされているのみである。この様な状況の下、北海道の南西部の離島である奥尻島では、イワガキ *C. nippona* を新規特産品とした地域振興策を実施している。そこで本章第 1 節では、奥尻島周辺の天然カキ類の種判別を行ない、生息状況を明らかにした。また、奥尻町では将来イワガキの養殖を新規漁業として成立させることを目標としているが、イワガキの養殖用種苗は全て人工種苗に依存しており、北海道では本種の人工種苗生産が実施された例が皆無である。そこで第 2 節では、冷涼な北海道でイワガキの人工種苗生産を行なうことを目的とし、育成条件について検討した。さらに、第 3 節では北海道で初めてイワガキ養殖に取り組む奥尻町で、実際に漁業を創出するための現場の動きについて、状況を取りまとめた。

第 1 節　奥尻島周辺のカキ類の生息状況調査

北海道南西部日本海沿岸に位置する奥尻島では、離島振興策としてイワガキ養殖で成功例を納めている島根県隠岐町の事例（乾　2016）を参考に、近年新たな特産品としてイワガキに注目して、奥尻ブランドの確立に向け養殖試験に取り組んでいる。しかし、奥尻島の軟体動物相の報（木下　1939）ではカキ類は未報告であり、島周辺に生息しているカキ類は主要な漁獲対象ではないことからその種類や分布状況についてはほとんど調べられておらず、採苗用の母貝採取や蓄養用個体の採取が困難な状況にある。イワガキは分類上マガキと近縁であり、外観や軟体部の形状だけでは分類が困難であるとされている。そこで、遺伝情報を利用したイワガキの種判別技術が開発され現在はこの技術が形態判別と併用されている。カキ類の遺伝子解析による種の判別法として、ミトコンドリア DNA 上のチトクローム c 酸化還元酵素サブユニット 1（O’ Foighil et al., 1998）および 16S リボゾーム RNA の塩基配列の違いを利用したもの（O’ Foighil et al.., 1995）の他、リボゾーム DNA の Internal Transcribed Spacer 領域（ITS 領域）の長

さの違いを利用した方法（浜口　2000）があり、天然カキ類の種判別において DNA の鑑定が最も信頼性が高いとされている（飯塚・荒西　2008）。北海道におけるイワガキの生息は、1999 年に寿都町のマガキ養殖施設に天然発生した報告（浜口　2000）があるのみであり、図鑑でも生息北限は青森県とされている（川上　1983）。そのため、これまで道内ではイワガキを対象とした漁業は基本的に存在していない（但し、天然カキをイワガキと称して販売しているものを除く）。そこで本研究では、遺伝子情報に基づく種判別技術を用いて奥尻島周辺に生息する天然カキ類の種を確定し、分布状況を明らかにした。

材料と方法

1. 供試生物

奥尻島周辺のカキ類の生息状況調査には、2011 年 11 月-2012 年 11 月にかけて奥尻島周辺の 7 地点（A-G）から潜水により採集された天然のカキ類 297 個を用いた（表 IV-1）。なお、密漁防止の観点から、具体的な採集地点は非公開とする。

2. DNA 抽出

奥尻島周辺の天然カキ類は外観撮影および殻高測定を行なった後、開殻して閉殻筋の一部を採取した。閉殻筋試料は、DNA 抽出に用いるまで-30℃ で保存した。採取した閉殻筋より、尿素-SDS-Proteinase 法（飯塚・荒西　2008）又は DNA 抽出キット（Wizard® Genomic DNA Purification Kit；Promega 社）によりゲノム DNA を抽出した。得られた DNA 溶液は分光光度計（Nanodorop；サーモフィシャーサイエンティフィック社）を用いて濃度測定を行い、PCR 反応に供するまで-30℃ で保存した。

3. PCR 反応

抽出したゲノム DNA を鋳型とし、ミトコンドリア DNA 16S リボゾーム RNA 遺伝子の部分配列を PCR 法により増幅した。PCR 反応には 16Sar：5’-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3’および 16Sbr：5’-CGGTCTGAACTCAGATCACG-3’ のプライマーセットを用いた（Kessing et al., 1989）。PCR 反応液は、10 μL 反応系にて、10×Ex Taq Buffer（タカラバイオ株式会社）1 μL、 2.5 mM dNTP Mixture（タカラバイオ株式会社）0.8 μL、5 μM プライマー各 0.5 μL、TaKaRa Ex Taq（タカラバイオ株式会社）0.05 μL、および DNA のサンプル 10-100 ng の割合で混合して作製した。PCR 反応条件は、サーマルサイクラー（Veriti® ；ライフテクノロジーズ社）を用いて 94℃ で 2 分間の初期変性反応の後、94℃ で 30 秒間の変性/52℃ で

1 分間の会合/72℃ で 2 分間の伸張を 40 回繰り返し、72℃ で 7 分間の最終伸張を行なった。PCR 産物は、PCR 産物精製キット（ExoSAP－IT®；岩井化学薬品）を用いてプライマーおよび未反応 dNTPs の除去を行い、塩基配列解析用サンプルとして-30℃ で保存した。

4. 塩基配列解析

PCR 産物を鋳型とし、シークエンス PCR キット（BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit；ライフテクノロジー社）を用いて反応を行ない、シークエンス PCR 産物を得た。得られたシークエンス PCR 産物をシークエンス産物精製キット（Agencort CleanSEQ kit；ベックマンコールター社）を用いて精製し、残存したシークエンス PCR 試薬類を除去した。精製済みのシークエンス PCR 産物を試料として、キャピラリーシークエンサー（Applied Biosystems 3130xl ジェネティックアナライザ；ライフテクノロジー社）を用いて塩基配列を決定した。得られた塩基配列は NCBI の BLAST プログラム（Kaminuma et al., 2010）によりアライメントを行ない、99%以上の相同性がある種を判別種とした。種の特定のための比較対象として用いたカキ類の 16S リボゾーム RNA 遺伝子の部分配列は DDBJ データベース（日本 DNA データバンク）から取得し、コケゴロモガキ *Ostrea circumpicta* Pilsbry, 1904 に関してのみ飯塚・荒西（2008）にて報告されている配列を用いた。塩基配列の種間比較および樹形図の作成は ClastalX プログラム（Thompson et al., 1997）および MEGA4（Tamura et al., 2007）を用いた。

表 IV-1　2011 年の生息状況調査に用いた天然カキの採取地点、採取数および採取水深

採取地点	水深			合計
	1～3m	4～6m	7～9m	
A	40	0	0	40
B	28	0	20	48
C	36	20	0	56
D	26	0	0	26
E	52	0	0	52
F	21	0	0	21
G	10	24	20	54
			合計	297

結　果

1. 天然カキ類の種判別

カキ類の 16S リボゾーム RNA 遺伝子の部分配列を解析した結果、マガキとイワガキの 2 種についてデータベース登録情報と 99%以上の塩基配列が一致したものを判別種とした。また、塩基配列がオハグロガキ属の 1 種 *Saccostrea* sp.（Liu et al., 2011）として報告されているものと完全に一致した標本も含めて、99%以上一致したものについては、オハグロガキ属の 1 種とした。飯塚・荒西（2008）にて報告されているコケゴロモガキ *Ostrea circumpicta* の配列と 100%一致したものについてはコケゴロモガキと判別した。今回得られた塩基配列と国内に生息する主要なカキ類の塩基配列情報を用いて樹形図を作成した結果、オハグロガキ属の 1 種については、ケガキ *Saccostrea kegaki* Torigoe & Inaba, 1981 とクロヘリガキ *S. echinata* （Quoy & Gaimard, 1835） の間に位置した（図 IV-1）。これらの結果より、奥尻島周辺には 4 種のカキ類が生息しており、調査した 7 地点すべてにおいて複数種のカキ類が同所的に生息していることが明らかになった。このうち、海域 A および F では 4 種、海域 C および E では 3 種、海域 B、D および G では 2 種のカキ類が生息していた。このうち、海域 B、E および F ではマガキが、海域 A、C および G ではイワガキが、海域 D ではオハグロガキ属の 1 種が主要な構成種であった（表 IV-2）。DNA 鑑定により種が明らかになったカキのうちマガキ、イワガキおよびコケゴロモガキの 3 種については外観からの種判別は困難であった（図 IV-2）。オハグロガキ属の 1 種と考えられるカキでは、殻の辺縁部に棘状の突起が形成されている点が特徴的で、外部形態により上記 3 種と識別可能であった（図 IV-3）。調査したすべての海域に生息していたイワガキについて外部形態の比較観察を行なった結果、同一種であっても、採取地点により外観が様々であった（図 IV-4）。海域による外観の多様性については、他の 3 種にも共通であった。

DNA 鑑定により種判別した 4 種のカキ類について、種毎に殻高組成の解析を行なった結果、マガキでは殻高 40-110 mm（平均 74.7±24.5 mm）の範囲のものが最も多く、イワガキは 110-180 mm（平均 118.6±33.4 mm）とマガキに比べて大きな貝が多い傾向にあった。オハグロガキ属の 1 種では、特に殻高 30-50 mm(平均 75.6±32.8 mm)に集中していた。コケゴロモガキは個体数が少なく特徴は明確ではないが、10-120 mm（平均 41.3±8.0 mm）の範囲で幅広く出現した（図 IV-5）。

採取された水深帯別の出現頻度を解析した結果、マガキは水深 3 m 以浅に多く、イワガキは水深 1-9 m まで広く分布していた。オハグロガキ属の一種は 3 m 以浅でのみ見られた。コケゴロモガキは主に 3 m 以浅に分布していたが、7-9 m にもわずかに見られた。（図 IV-6）

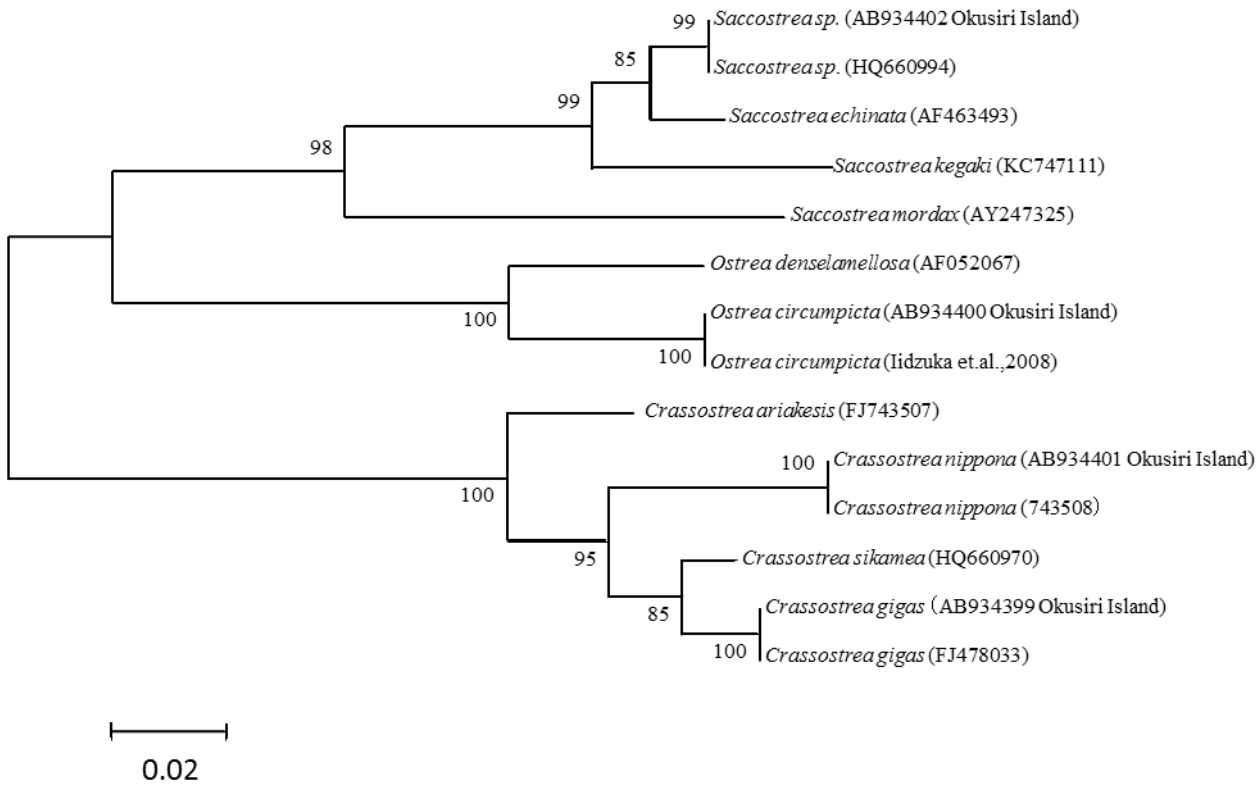


図 IV-1　16S リボゾーム RNA 遺伝子の部分配列（464bp）に基づく日本国内の主要なカキ類および奥尻島のカキ類の類縁関係を示す樹形図。

括弧内の記号又は数字は Genebank accession number を示す。

枝分かれ部分にある数字はブートストラップ検定（1000 回）での一致率を示す。

枝分かれの横の長さは遺伝的距離を示す。

表 IV-2　奥尻島周辺の天然カキ類の採取場所別種判別結果

採取地点	種類				合計
	マガキ（*Classostrea gigas*）	イワガキ（*Classostrea nippona*）	オハグロガキ属の1種（*Saccostrea sp.*）	コケゴロモガキ（*Ostrea circumpicta*）	
A	2	28	8	2	40
B	29	19	0	0	48
C	0	26	14	16	56
D	0	7	19	0	26
E	40	11	0	1	52
F	11	1	3	6	21
G	0	53	0	1	54
Total	82	145	44	26	297

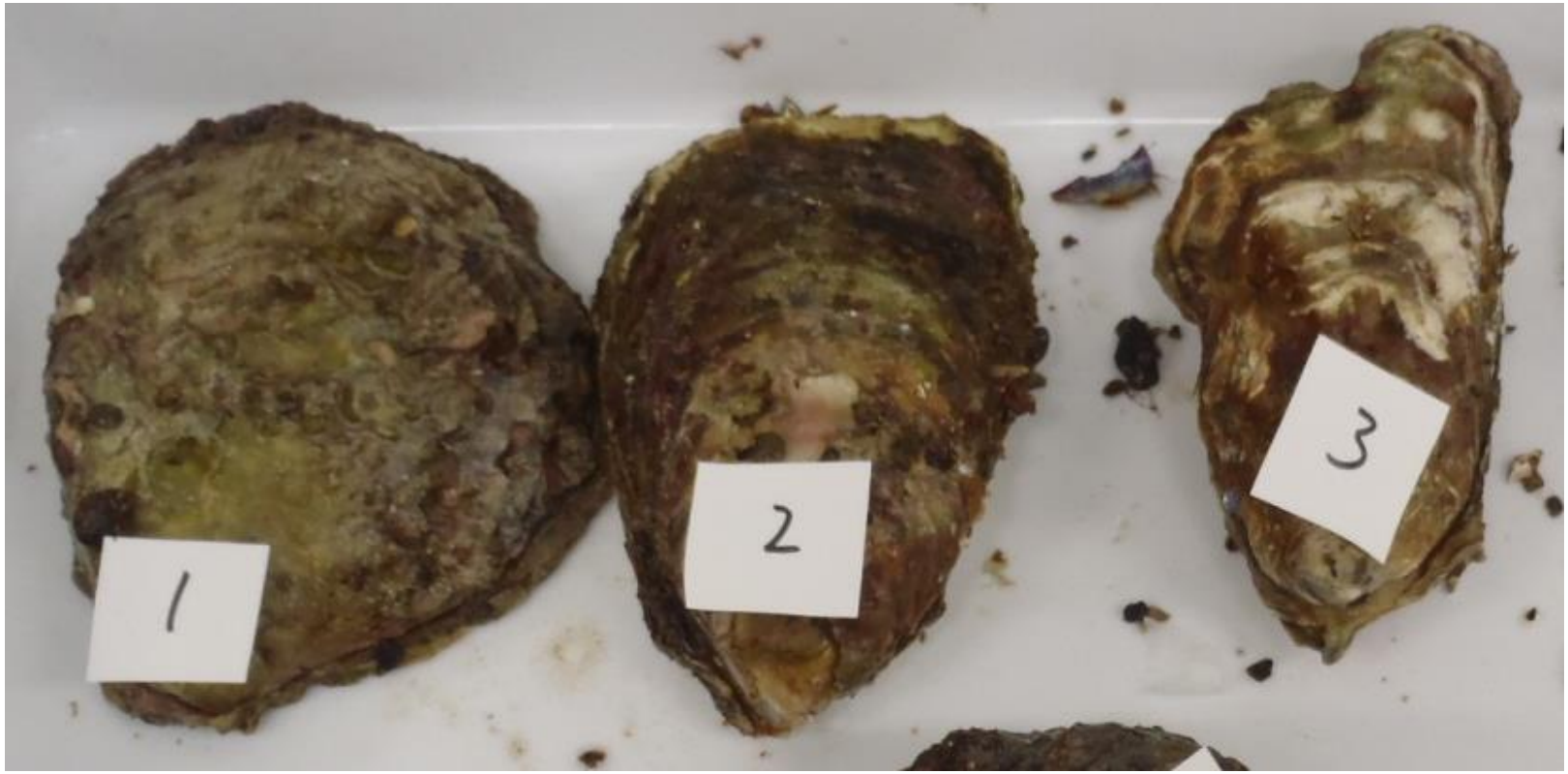


図 IV-2　同一海域で採取された天然カキ類。

図中 1：コケゴロモガキ　2：イワガキ　3：マガキ



図 IV-3　オハグロガキ属の 1 種に見られる殻縁辺部の特徴的な構造（矢印）。

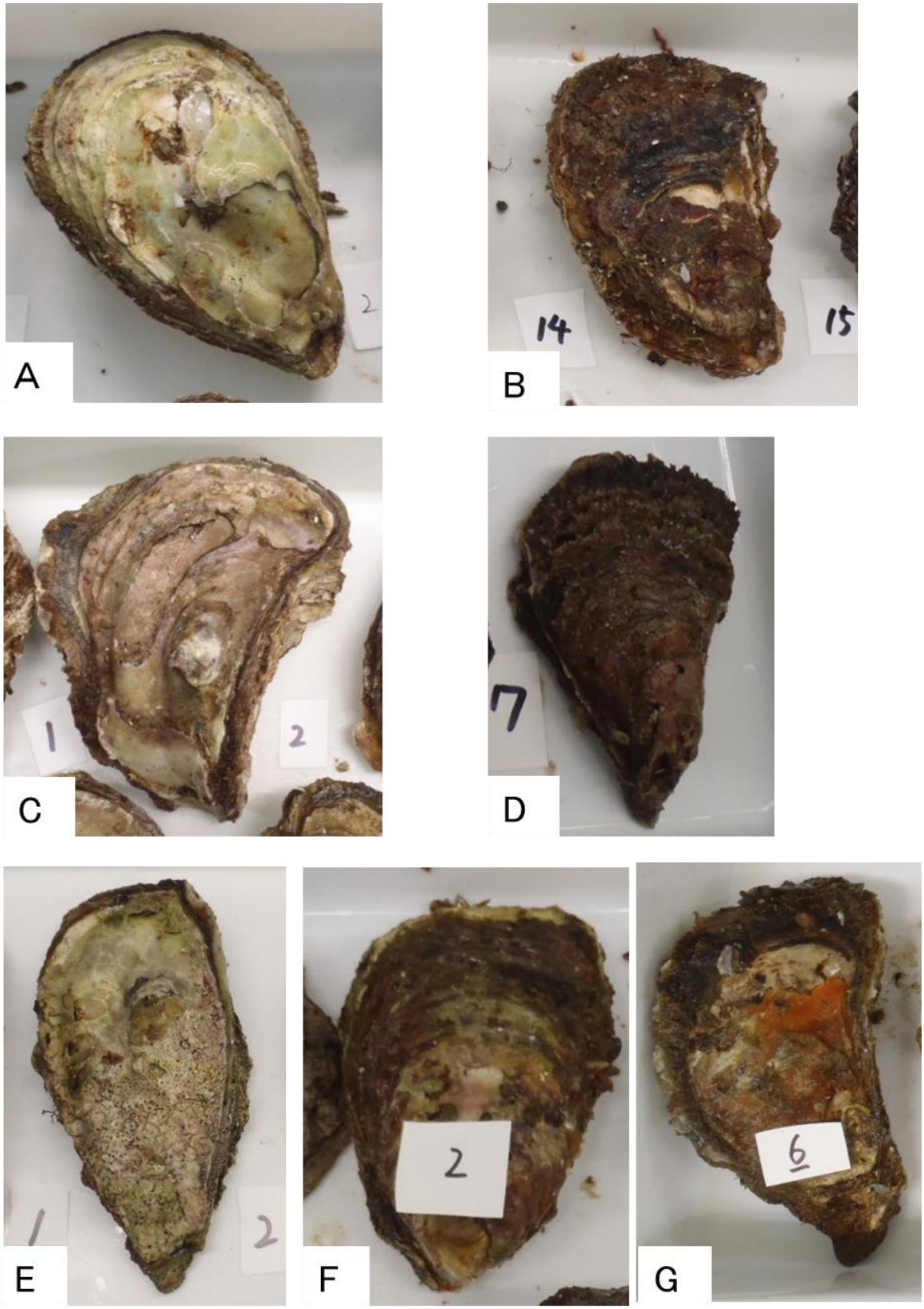


図 IV-4　異なる採取地点から得られたイワガキの外観。
アルファベットは採取地点を示す。

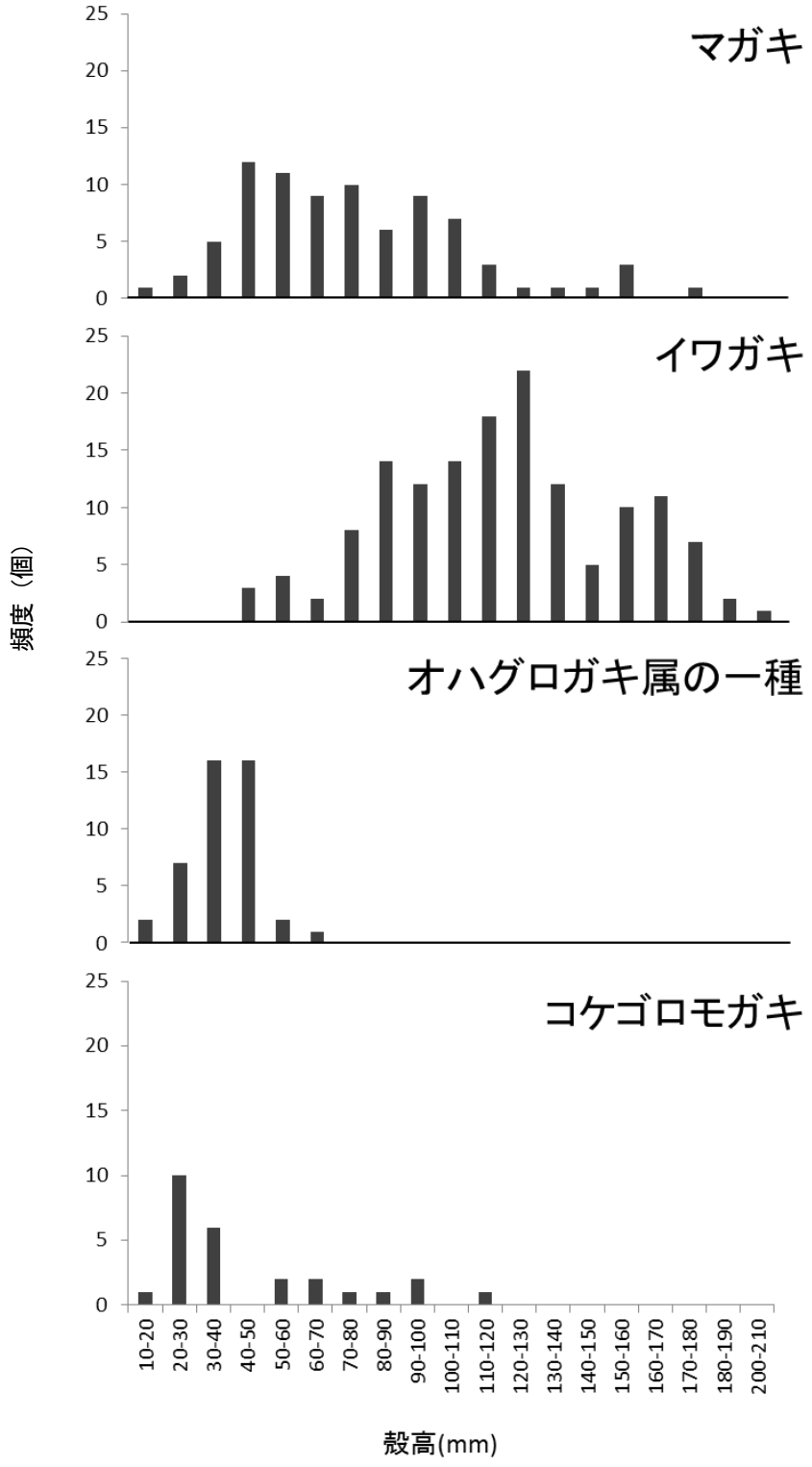


図 IV-5　奥尻島周辺に生息する天然カキ類の種毎の殻高組成。

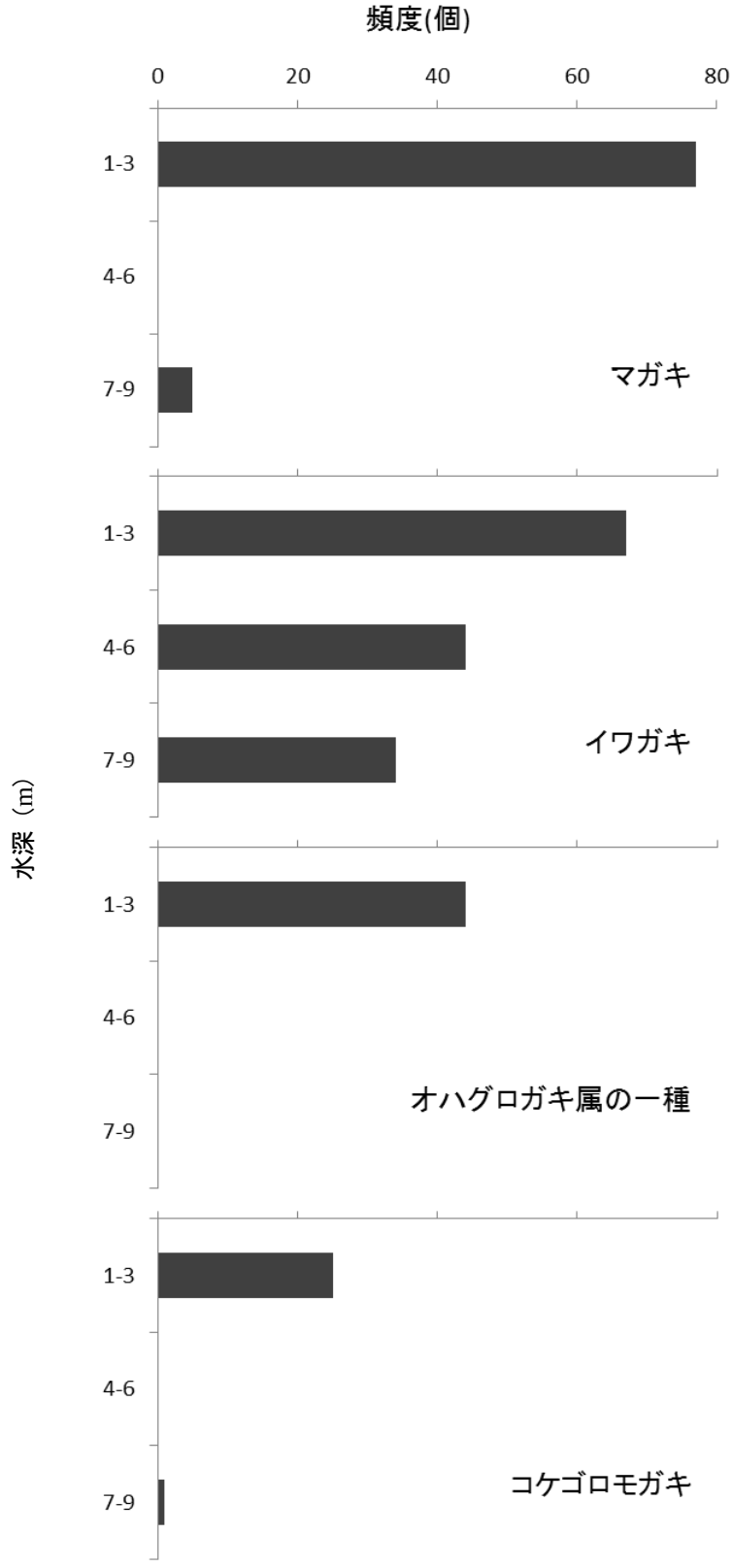


図 IV-6　奥尻島周辺の天然カキ類の種毎の採取水深別出現頻度。

考　察

ミトコンドリア DNA 16S リボゾーム RNA の部分配列の解析の結果、奥尻島周辺海域にはマガキ、イワガキ、コケゴロモガキ、オハグロガキ属の 1 種の 3 属 4 種のカキが生息していることが明らかとなった。これら 4 種は海域によっては同所的に混在しており、マガキ、イワガキおよびコケゴロモガキは外観での判別が困難であることから漁獲の際には複数種の混入が懸念される。本研究により奥尻島に生息が確認されたコケゴロモガキは、過去にもイワガキと外観が酷似している（松浦・森　2005）という報告があることからも、これらの種の判別には DNA 鑑定を用いるのが有効と考えられる。

コケゴロモガキは陸奥湾から九州まで分布が確認されており、本研究における奥尻島での発見は北海道初記録である。過去にコケゴロモガキの属するイタボガキ属 *Ostrea* のイタボガキ *O. denselamellosa* Lischke, 1869 の北海道分布報告（波部・伊藤　1965）がある。この種はコケゴロモガキと殻形態が酷似しており、分布も房総半島以南および能登半島以南（稲葉　2004）とされていることから、北海道におけるイタボガキの記録はコケゴロモガキである可能性が高い。

16S リボゾーム RNA の部分配列の解析により、オハグロガキ属の 1 種と考えられたカキは、樹形図から遺伝的にケガキとクロヘリガキの中間に位置し、姉妹群を形成した。また、オハグロガキ属の 1 種はケガキやクロヘリガキと同様に殻の縁に円筒状の長棘構造を持つという形態的特徴を有していた。過去に波部・伊藤（1965）は北海道にケガキが分布していると報告しているが、現在は陸奥湾から奄美大島まで（稲葉　2004）とされており、今回の結果は稲葉（2004）の見解を支持するものである。しかし、本研究にて発見したオハグロガキの 1 種は、外見的な特徴がケガキと類似していることから、波部・伊藤（1965）の報告にてケガキと判断された種が、今回発見されたオハグロガキ属の 1 種であった可能性も考えられる。

殻高や水深別の分布を解析した結果、奥尻島周辺の 4 種のカキのうち、イワガキについては殻高や生息水深に特徴が見られた。そのため、水深 5 m 以深で殻高 110 mm 以上のものを漁獲するなどの工夫をすることでイワガキを選択的に漁獲できる可能性がある。この他の 3 種では、水深および殻高では重複する点が多く、判別は困難と考えられる。

本研究により生息が確認されたコケゴロモガキは食用可能なカキであり、フランスがき（ヨーロッパガキ）類の一種として特徴づけてブランド化する地域もある（田村　2007）。現在の奥尻島では注目している種ではないが、将来の漁獲対象種となる可能性は秘めている。

本研究により、殻形態での類似性が高い奥尻島周辺に生息するカキ類の同定に関して DNA 鑑定の有

効性が示された。しかし、実際の漁業の現場において詳細な解析はできない。現状では、漁場や殻高の情報からイワガキとその他 3 種を分ける方法が考えられるが、将来的には種特異的な生化学マーカーを探索し、現場レベルで客観的に種を証明できる簡易な判別キットの開発が必要である。さらに、コケゴロモガキおよびオハグロガキ属の 1 種の発見は、北海道産海産軟体動物相の種多様性評価への分子生物学的手法の有用性を示す好例と考えられる。

以上、本研究により奥尻島周辺のカキ類の生息状況が明らかになった。しかし、天然カキ類を用いる限りイワガキ以外のカキ類が混入する可能性は否定できず、種を確定するためには遺伝子の比較を行なう必要があることが示された。そのため、イワガキの養殖用種苗生産に用いる際は、親貝がイワガキであることを遺伝子の検査により確定させた上で使用する必要がある。本種の種苗生産に関する研究については、本章次節にて詳述する。

第 2 節　冷涼な北海道におけるイワガキ人工種苗生産技術開発

イワガキの人工種苗生産技術は、島根県や京都府を中心に 20 年以上前から実施されており、実際に養殖に用いられている種苗はほぼすべてが人工種苗である。本種の人工種苗生産では、浮遊幼生期に突然の大量死が頻発することが大きな課題となっており、長年取り組んでいる島根県などでも克服できていなかったが、近年 100 kL 規模の大型水槽での生産が可能になる（佐々木ら 2014；2016）など、技術改良が継続されている状況である。しかし、本種の種苗生産では水温 25℃ 以上での飼育が必要であることから、冷涼な気候の北海道で種苗生産が試みられた例は皆無である。そこで本研究では、イワガキの養殖に用いる稚貝を地場で生産することを目標とし、冷涼な北海道でも実施可能な人工種苗生産技術の開発を行なった。

材料と方法

1. 供試生物

試験に用いる親貝として、奥尻島周辺の天然カキ類および 2014 年以降は人工種苗を育成した貝を用いた。天然カキ類は、採卵のためにカキを殺さずに種判別をする必要があるため、カキの殻の中心付近にドリルで直径 2 mm 程度の穴を開け、注射器を用いて生殖巣の一部を採取した。得られた試料の一部を顕微鏡で観察し、生殖細胞の形態から雌雄を判別した後、採取した生殖腺の一部は DNA 抽出に用いるまで-30℃ で保存した（図 IV-7）。サンプル採取をしたカキは、開けた穴にアンカータグ（TBF-1；株式会社田中三次郎商店）を打つことで個体識別をし、天然海水かけ流しで飼育した。

2. 餌料培養

飼育試験に用いた餌料は、すべて自家培養したものを用いた。微細藻類は、国立研究開発法人水産総合研究センター増養殖研究所および瀬戸内海区水産研究所より元株の配布を受けたものを拡大培養して使用した（表 IV-3）。培養液は全ての種で共通とし、120℃ で 20 分の高圧蒸気滅菌を施した濾過海水 1 L に対し，市販培養液（KW21；第一製網）および 50 g/L メタケイ酸ナトリウム水溶液を各 1 mL の割合で添加した。微細藻類の各株を添加した培養液を容量 1 L の培養袋（エニーロック 3 号セット；BC-AL03SET 株式会社バイオメディカルサイエンス）で前培養した後、5 L の培養袋（エニーロック 1 号セット；BC-AL01；株式会社バイオメディカルサイエンス）で拡大培養して餌料として用いた。

3. 飼育水温調整および測定

イワガキ種苗生産試験における各試験での水温調整は、飼育水槽をより大きな水槽に入れ、外側の水槽に真水を張りチタンヒーター（100V-1KW；株式会社イワキ）およびサーモスタット（デルサーモ 100V；日東機材株式会社）を用いて目的温度まで調温して、飼育水槽はウォーターバスで調温した（ウォーターバス方式）。飼育期間中は、温度データロガー（Tr-52i；株式会社 T&D）を用いて水温を記録した。ウォーターバスとなる外側の水槽内に複数の水槽を入れて試験を行った場合には、中心付近の水槽の水温を代表値とした。

4. 採卵および採精

種苗生産用の受精卵を得る方法として、産卵誘発および切出法を検討した。産卵誘発法では、雌雄判別したイワガキ親貝を 10 L 角型プラスチック水槽に個別に収容した後、精密濾過機（PS-813P；日本濾水機工業）を通した海水を紫外線照射装置（アイ液体用殺菌装置；GMV120VF410XT；岩崎電機株式会社）で紫外線照射し、ヒーターで 27℃ に加温を行った上で各水槽に流すことで、自発的な産卵および放精を促した。産卵または放精が確認できた個体の水槽には海水添加を停止した。放精した雄の水槽から精子を含む海水約 100 mL を採取し、3-5 個体分を混合した後、海水で 10 倍希釈したもの約 100 mL を産卵した雌の水槽に添加して受精させた。切出法では、イワガキの親貝を開殻して軟体部を採取した後、個別に 10 L の 25℃ の濾過海水中で生殖巣を切開して卵または精子を水中に分散させた。卵は切開直後の涙状の形状から受精可能になる真球状の形状になったことを確認して、200 μm のメッシュで濾過して卵管理水槽へ移した。切出法により得られた精子は、3-5 個体各 100 mL を混合した後、海水で 10 倍希釈したもの約 100 mL ずつ卵管理水槽に添加して受精させた。各個体の産卵数および受精後の D 型幼生数は、海水 3-5 mL 中の個数を 3 回計数し、得られた平均値から容積法により水槽内の総数を決定した。また、各方法での D 型幼生移行率は水槽に収容した受精卵数に対する 48 時間後の D 型幼生数の割合として求めた。

5. 受精に用いる精子数の影響

イワガキの D 型幼生を効率良く得るため、水槽内に収容した卵数に対し、どの程度の精子を添加すればよいかを調べた。200 L パンライト水槽（M-200；株式会社マツイ）6 槽を 25℃ に調整した 2.5 トン水槽内に 6 個並べる試験区を 2 つ（計 12 水槽）用意し、すべての水槽に平均 12.9 個/mL の卵を収容した。精子懸濁海水中の精子活性を確認した後、精子数をトーマ血球計算盤（03-101-1 エルマ販売株式会社）

で算定し、卵数に対して、1 倍、10 倍、100 倍、1000 倍、1 万倍および 10 万倍量になるように添加する群を各群 2 水槽設けた。24 時間通気培養した後、水中の D 型幼生数、D 型幼生の殻長および奇形率を調べた。

6. 精子懸濁海水の吸光特性

イワガキ精子懸濁海水中の精子密度を迅速に調べる方法を検討するため、3 個のイワガキ雄から切り出し法により得た精子懸濁海水各 2 mL を光路長 10 mm のディスポーザブルセル（ディスポセル 2711；ケニス株式会社）に入れ、紫外・可視分光光度計（DU730；ベックマンコールター株式会社）で 400-900 nm の範囲の吸光値を 5 nm 毎に測定した。次に、吸光値と精子濃度の関係を明らかにするため、トーマ血球計算盤（03-101-1；エルマ販売株式会社）を用いて精子懸濁海水中の精子数を決定した。続いて、計数済みの精子懸濁海水を濾過海水で 1/2 希釈を繰り返しながら、単波長吸光度計（吸光度計 B；ABS-B470；株式会社共立理化学研究所）で 470 nm の吸光値を測定した。測定容器は光路長 20 mm の専用カップ（WAK-CC10；株式会社共立理化学研究所）を用いた。次に、精子数と吸光度計により測定した吸光値から散布図を描画し、近似式を計算して標準曲線とした。また、細胞密度と吸光度の関係を回帰分析により解析した。さらに、得られた標準曲線を用いて、簡易吸光度計の検出範囲で推定できる細胞密度の範囲を求めた。

7. イワガキの初期成長過程の観察

イワガキの受精卵から着底までの基本的な成長過程を観察するため、人工種苗生産の各課程でのイワガキ種苗の外観を記録した。採卵から着底期幼生までは生物顕微鏡（BX51；オリンパス株式会社）およびデジタルカメラシステム（DP71；オリンパス株式会社）を用いて撮影した。着底期幼生の眼点の撮影は、実態顕微鏡（SZX-16；オリンパス株式会社）およびデジタルカメラシステム（DP71；オリンパス株式会社）を用いて撮影した。着底稚貝の外観は、デジタルカメラ（COOLPIX；AW110；株式会社ニコン）を用いて撮影した。

8. 受精卵管理時の水温の影響

イワガキの受精卵培養に適した水温を調べるため、切開法により得たイワガキの卵を、室温（平均 18℃）、25℃ および 30℃ に調温した 30 L パンライト水槽（T-30；株式会社マツイ）各群 3 槽に平均 9.1 個/mL で収容した。各水槽にイワガキの精子を添加して授精させた後、エアレーションにより軽く撹拌

しながら、42 時間培養を行なった。24 時間後および 42 時間後に、各水槽の海水 5 mL を採取して D 型幼生数を調べた。42 時間後には、各群の D 型幼生の殻長を調べた（N=30）。

9. 受精卵管理時の密度の影響

イワガキの受精卵培養に適した密度を調べるため、2013 年に採卵したイワガキの卵を、延べ 22 個の 500 L 水槽で培養した際の受精卵収容密度と D 型幼生移行率の関係を調べた。受精卵数および D 型幼生数は、海水 5 mL 当たりの部分サンプルの計数値から算出したため、D 型幼生移行率が 100%を超えたものは 100%とした。また、受精卵収容密度が 30 個/mL 以下とそれ以上であった 2 つの群に分け、収容卵密度と D 型幼生移行率の関係を調べた。

10. 浮遊幼生飼育時の水温の影響

イワガキの D 型幼生を、30 L 水槽に平均 3.8 個/mL で収容する水槽を 9 槽設け、ウォーターバスで室温（約 19℃）、25℃ および 30℃ に調温する群を各群 3 水槽設けた。試験期間中は、1 日当たりパブロバ・ルセリを 1000 個/mL、キートセラス・カルキトランスを 3000 個/mL 給餌し、2 日に一度部分換水を行無いながら 6 日間飼育を行った。飼育期間中は、浮遊幼生数を調べるとともに、開始時および 5 日後に幼生の殻長（N=30）を調べた。

11. 浮遊幼生飼育における密度の影響

イワガキの D 型幼生を、200 L パンライト水槽（M-200；株式会社マツイ）を用いて海水 1 mL 当たり 1 個、5 個および 10 個収容する群を各群 2 水槽設けた。これら 6 水槽は 2.5 トン角型水槽内に設置し、2.5 トン水槽をウォーターバスとして水温 25-26℃ で管理した。各水槽はエアストーンを用いて通気を行ない、2 日に一度調温済みの海水を用いて全換水を行った。飼育試験は 20 日間行ない、開始から 7 日間は自家培養したパブロバ・ルセリを 1000 個/mL・日で給餌し、8 日目以降は自家培養したキートセラス・ネオグラシーレを 1000-3000 個/mL・日で追加給餌した。試験期間中、定期的に浮遊幼生数および幼生の殻長を調べた。

12. 浮遊幼生飼育における初期餌料の影響

イワガキの D 型幼生を、500 L パンライト水槽 3 槽（M-500；株式会社マツイ）に平均 2.6 個/mL の密度で収容し、餌料としてパブロバ・ルセリ、イソクリシス・タヒチ株又はキートセラス・カルキトラン

スを 1 日当たり 1000 個/mL 給餌する 3 つの群を設けた。飼育水温はウォーターバスを用いて 26℃ に維持し、エアレーションで通気をしながら 10 日間飼育を行なった。換水は、2 日に一度、調温海水で全換水を行ない、毎回の換水後に浮遊幼生数を調べた。また、開始時、5 日目および 10 日目に幼生の殻長を調べた（N=50）。

13. 着底基質の種類検討

イワガキ着底期幼生を、500 L パンライト水槽（M-500；株式会社マツイ）に 20 万個収容し、水槽内にホタテガイ貝殻、クペル（株式会社マツイ）、白色・透明・灰色プラスチック板および穴空きプラスチック板を着底基質として、表面積が約 40000 cm^2 になるように垂下した。水温 28℃ で 1 日当たり 2 万細胞/mL のキートセラス・ネオグラシーレを給餌し、適宜換水を行ないながら 20 日間飼育した。飼育終了時には、各基質への着底総数を調べた。

14. 着底期の水温の影響

イワガキの着底期幼生を 200 L パンライト水槽（M-200；株式会社マツイ）3 槽にそれぞれ約 10 万個収容し、室温で飼育するもの、24℃ で飼育するものおよび 28℃ で飼育するものを各 1 水槽設けた。各水槽にはホタテガイ貝殻 40 枚を 1 本のロープに通した採苗器を各水槽に 6 本ずつ設置した。餌料としてキーとセラス・ネオグラシーレを 2 万 5 千細胞/日添加し、数日毎に半量の換水を行ないながら 27 日間飼育を行した。飼育終了後、ホタテガイ貝殻への付着数と、稚貝の殻高を調べた（N=100）。

15. 着底期の明るさの影響

イワガキの着底期幼生を 1 トンパンライト水槽（M-1000；株式会社マツイ）2 槽にそれぞれ約 100 万個収容し、ウォーターバスで水温 25℃ に設定した。1 方の水槽には、農業用透明ビニールシートのみをかけ（明水槽）、他方の水槽には農業用ビニールシートの上から 90%遮光幕をさらに重ねた（暗水槽）。着底基質として、ホタテガイ貝殻 25 枚を 1 本のロープに通した採苗器を各水槽に 10 本ずつ設置した。各水槽の明るさは、晴天時の朝および昼に、水面直上方向からの光量を照度計（DX-100；株式会社竹村電機製作所）で測定した。餌料としてキーとセラス・ネオグラシーレを 1 万細胞/日添加し、数日毎に半量の換水を行ないながら 30 日間飼育した。飼育終了後、ホタテガイ貝殻への付着数と、稚貝の殻高を調べた（N=50）。

16. 統計解析

本試験で用いている統計解析は、Statccel3 ソフトウェア（Yanai　2013）を用いて解析を行なった。文中の結果の標記は平均値±標準偏差（SD）とした。



図 IV-7　種苗生産の親として用いる場合の種判別用サンプル採取と雌雄判別

表 IV-3　種苗生産試験に用いた餌料用微細藻類

グループ	種名	株名
珪藻類	*Chaetoceros neogracile*	NRIA-0023
珪藻類	*Chaetoceros calcitrans*	NRIA-0001
ハプト藻類	*Pavlova lutheri*	NRIA-0080
ハプト藻類	*Isochrysis sp.*(*Tahiti*)	NRIA-0076

結　果

1. 採卵および授精

1-1. 産卵誘発法と切出法での採卵方法の検討

2014 年 10 月 3 日に雌雄各 6 個に対して産卵誘発を行った結果、6 時間経過しても産卵又は放精する個体は見られなかった。2014 年 10 月 28 日に雌 10 個、雄 5 個に対して産卵誘発を行った結果、産卵誘発開始後 105-150 分程度で 7 個の雌で産卵が見られ、平均産卵数は約 5400 万粒であった。同時に誘発していた雄 5 個のうち、2 個が開始後 150 分時点で放精した。これらを授精させた際、D 型幼生への移行率は平均 61%であった（表 IV-4）。2013 年 9 月 2 日から 11 月 5 日にかけて 12 個の雌から切出法で採卵し、平均採卵数が約 2500 万粒であった。同じく切出法で精子を採取し、授精させた際の D 型幼生移行率は平均 57%であった（表 IV-5）。切出法での採卵又は採精に必要な時間は、1 個当り 10 分程度であった。

1-2. 授精に用いる精子数の影響

卵数に対して、様々な濃度で精子を入れて授精させた結果、24 時間後の D 型幼生数は卵数に対して 1 倍および 10 万倍量の精子を入れた群に比べ、10 倍、100 倍、1000 倍および 1 万倍量の精子を入れた群で有意に多かった。D 型幼生の殻長は、10 万倍量添加した群で他の群に比べ有意に小さかった（図 IV-8）。各群の D 型幼生のうち、奇形の個体数を調べた結果、精子量が 1 倍、10 倍、100 倍および 1000 倍では 7-10%程度であったが、1 万倍量で約 20%、10 万倍量で約 60%と高くなる傾向が見られた（表 IV-6、図 IV-9）。

1-3. 精子懸濁海水の吸光特性

イワガキ精子懸濁海水の 400-900 nm での吸光特性を調べた結果、3 つのサンプルいずれも 400 nm で最も吸光値が高く、900 nm に向かって吸光値がなだらかに低下した。精子懸濁海水希釈系列の 470 nm の波長で吸光値と精子数の関係を調べた結果、両者は直線的な比例関係にあることが明らかになった（図 IV-10）。吸光値と精子数の関係式から、用いた吸光度計の検出範囲である 0.1-1.5 の間での検出範囲を調べたところ、約 200 万～6000 万個/mL の範囲で精子濃度を推定可能であった（表 IV-7）。

表 IV-4　産卵誘発法による誘発応答時間、採卵数および D 型幼生移行率

個体No.	全重量（g）	誘発応答時間（分）	採卵数（万粒）	D型幼生移行率(%)
1	155	105	4080	42
2	165	105	6510	80
3	152	105	9320	53
4	127	120	5210	93
5	184	120	7700	68
6	148	150	66	30
平均	155	118	5481	61

表 IV-5　切出法による作業時間、採卵数および D 型幼生移行率

個体NO.	全重量（g）	作業時間（分）	採卵数（万粒）	D型幼生移行率(%)
2	146	10	4360	38
3	128	10	1580	0
4	90	10	2480	24
7	113	10	2680	58
8	138	10	3460	1
16	95	10	2000	87
19	111	10	3340	74
17	129	10	4480	100
26	75	10	400	100
65	104	10	3723	57
50	91	10	1100	67
36	129	10	1345	81
平均	112	10	2579	57

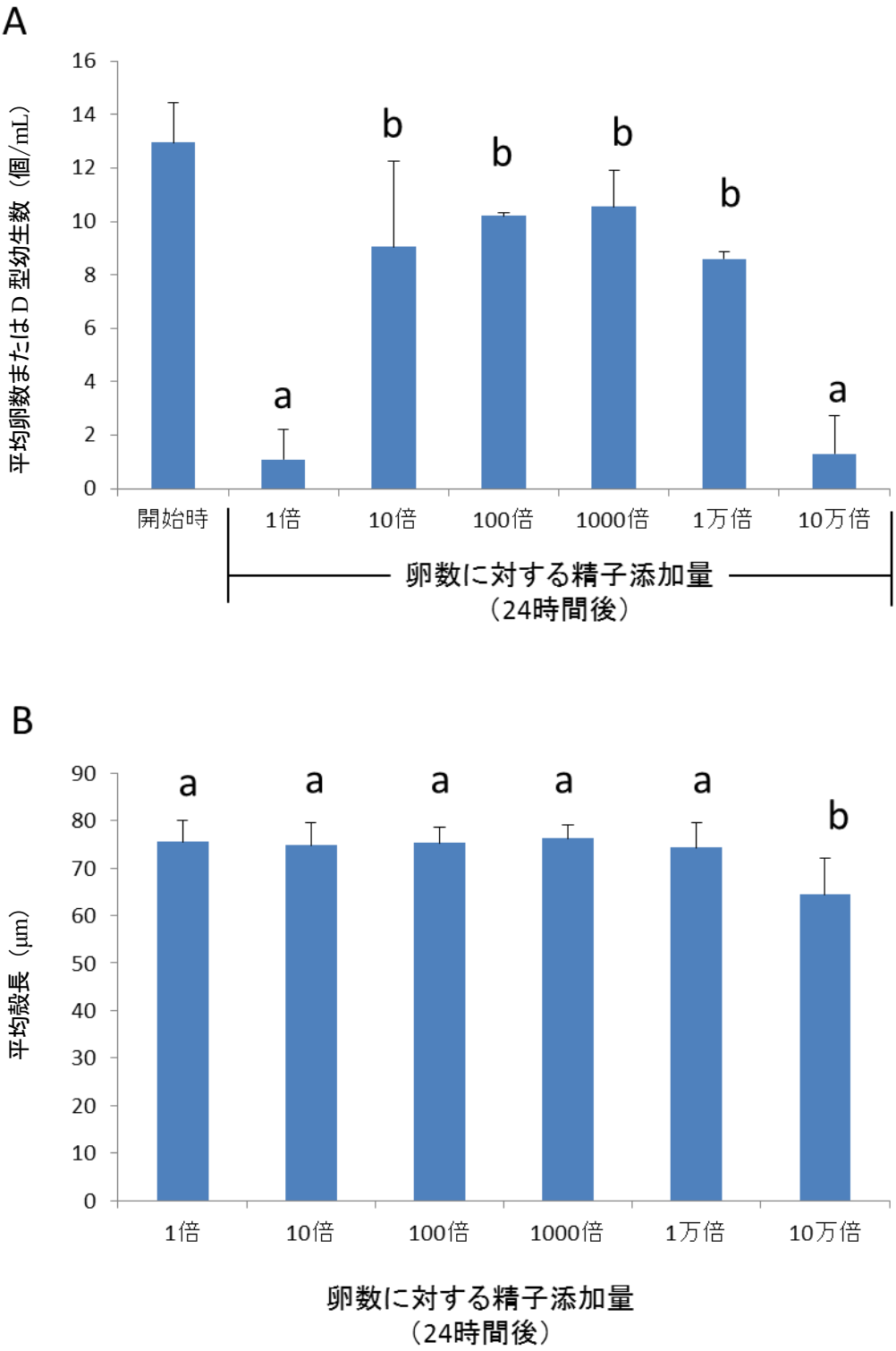


図 IV-8　イワガキの卵を様々な濃度の精子で受精させた際の D 型幼生数（A）および D 型幼生の平均殻長（B）。

異なるアルファベットは群間に有意差があることを示す。

グラフ A：Tukey-Kramer 法　$p<0.05$

グラフ B：Steel-Dwass 法　$p<0.05$

表 IV-6　様々な量の精子で受精させた際の D 型幼生の奇形率

卵数に対する精子添加量	計数全数（個）	奇形個体数（個）	奇形率（%）
1倍	211	23	10.9
10倍	234	23	9.8
100倍	224	24	10.7
1000倍	226	18	7.8
1万倍	206	41	19.9
10万倍	211	129	61.1

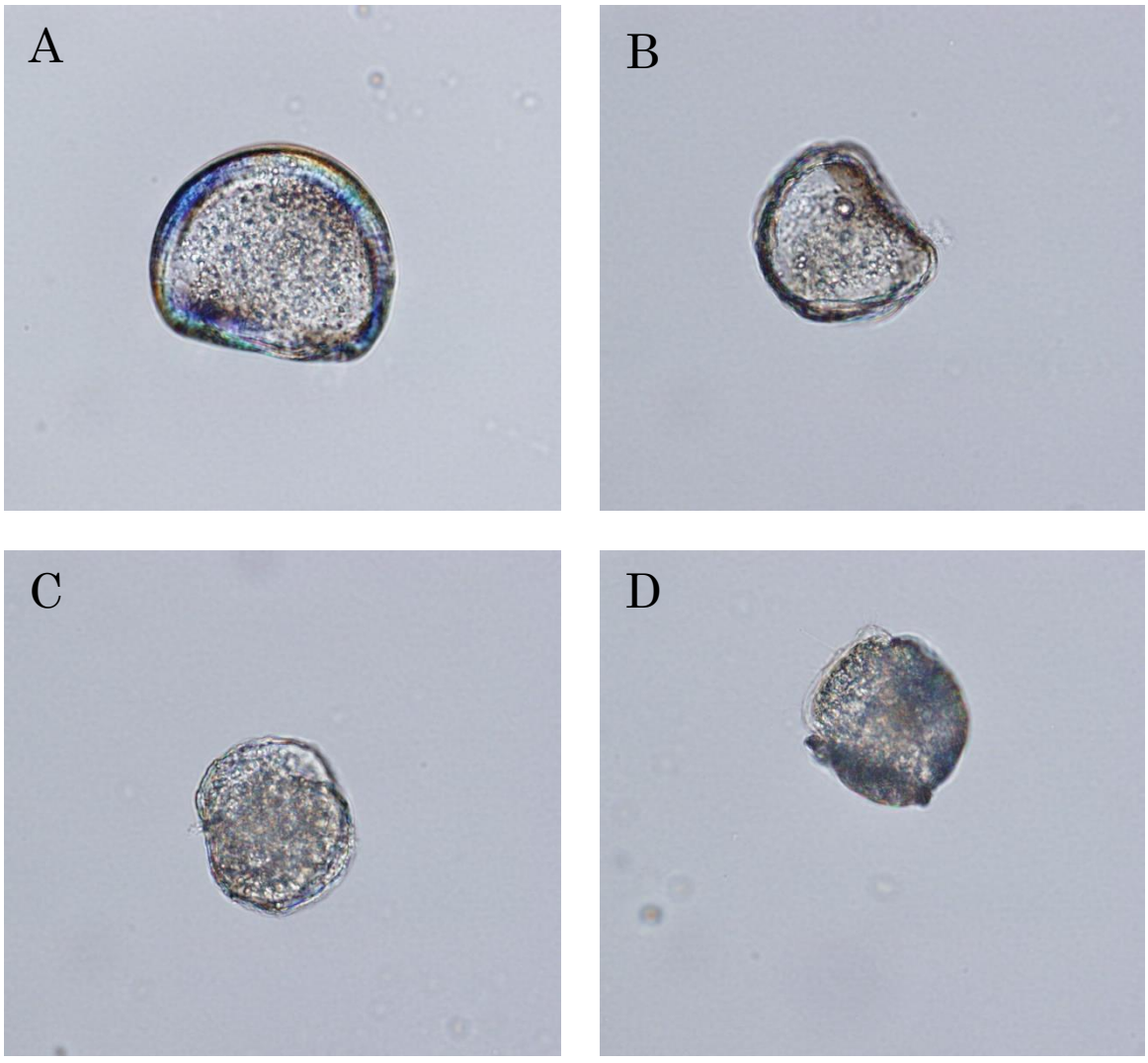


図 IV-9　イワガキの卵を様々な濃度の精子で授精させた際の D 型幼生（A）
および奇形の D 型幼生（B、C、D）

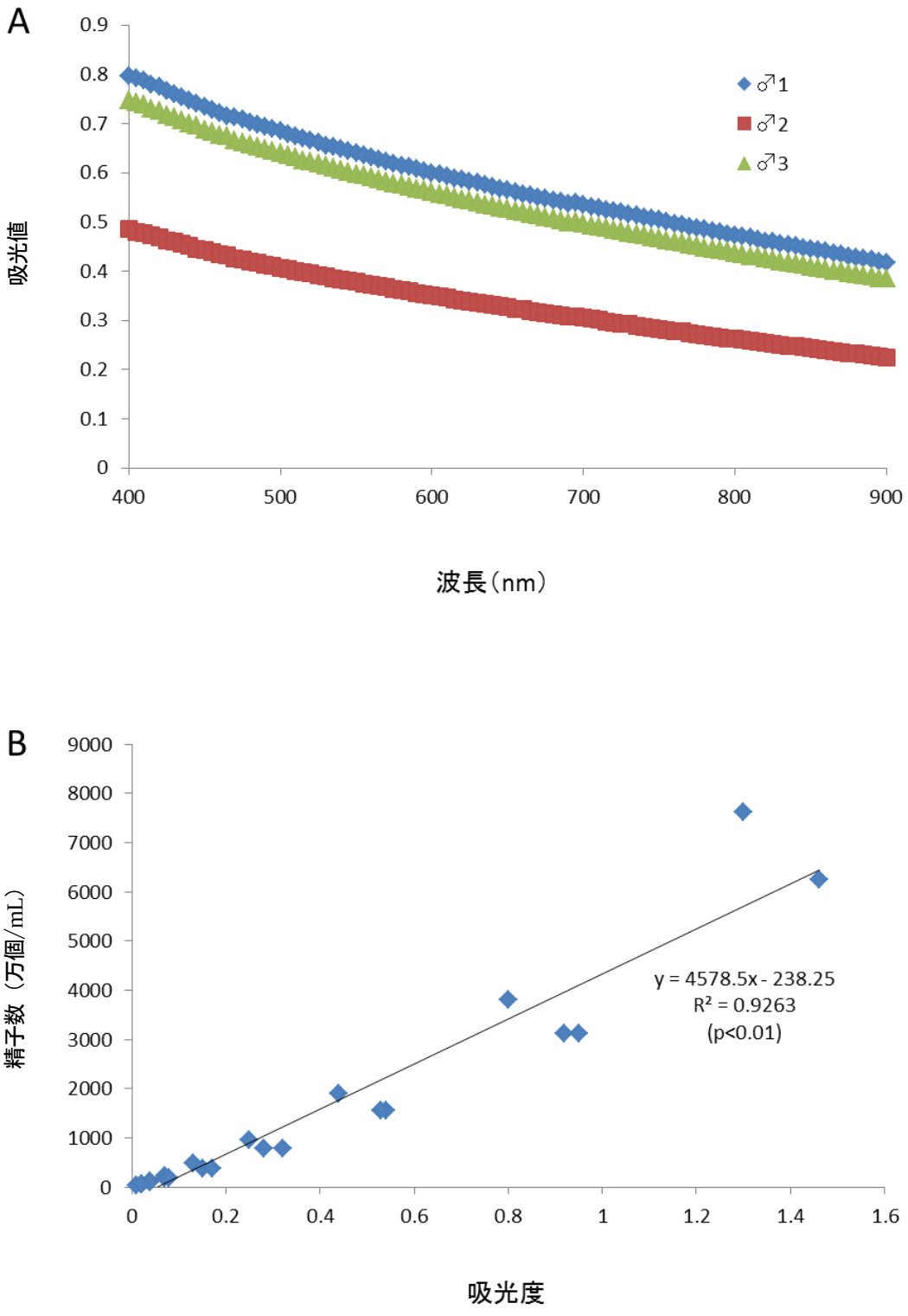


図 IV-10　イワガキの精子懸濁海水の吸光特性（A）および 470 nm における吸光値と精子数の関係（B）。

表 IV-7　470 nm での吸光値と
精子懸濁液中の精子数の関係

吸光値	精子数（万個/ml）
0.1	220
0.2	677
0.3	1135
0.4	1593
0.5	2051
0.6	2509
0.7	2967
0.8	3425
0.9	3882
1	4340
1.1	4798
1.2	5256
1.3	5714
1.4	6172
1.5	6630

2. イワガキ人工種苗生産における成長過程

イワガキ種苗の人工種苗生産の各過程を観察した結果、受精卵は受精後 6 時間後には孵化してトロコフォア幼生まで発達した。受精後 2 日目には殻を形成して D 型幼生に成長した後、10 日目から 20 日目にかけて殻頂期幼生へと変態した。浮遊幼生は受精後 30 日目には殻長約 300 μm に達し、眼点が観察される着底期幼生まで成長した（図 IV-11、IV-12）。着底期に達した浮遊幼生は、飼育水槽にホタテガイの貝殻を投入して着底を促した。着底基質を投入してから約 2 週間後には、肉眼で観察可能な殻高 0.5-2 mm 程度の着底稚貝がホタテガイの貝殻上に観察された。着底稚貝は 1 ヶ月後には殻高 3-6 mm 程度に、3 ヶ月後には殻高 10-20 mm 程度まで成長した（図 IV-13）。

3. 受精卵管理条件

3-1. 受精卵管理時の水温の影響

イワガキの受精卵を受精直後から水温の異なる水槽で培養した結果、室温（18℃）区では 42 時間後に D 型幼生が見られた。水温 25℃ 区および 30℃ 区では、24 時間後から D 型幼生が観察されたが、30℃ 区では 24 時間後に比べ 42 時間後では D 型幼生数が減少し、奇形個体が見られた。24 時間後の D 型幼生数は、30℃ 区に比べ 25℃ 区で有意に多かった。42 時間後には、30℃ 区＜室温区＜25℃ 区の順に D 型幼生が多く、各群に有意な差が見られた。25℃ 区では試験期間を通じて D 型幼生数が多く、卵数に対する 42 時間後の D 型幼生移行率は平均 95％であった。42 時間後の幼生の殻長を調べた結果、室温区に比べ他の 2 つの区で平均殻長が有意に大きく、水温が高い程殻長が大きくなる傾向が見られた（図 IV-14）。

3-2. 受精卵管理時の密度の影響

イワガキの受精卵を様々な密度で培養し、卵の収容密度と D 型幼生移行率の関係を調べたところ、卵数に比例して D 型幼生移行率が低くなる傾向が見られた。回帰分析の結果、卵数と D 型幼生移行率の間には有意な負の相関が見られた。卵の収容密度が 30 個/mL 以下と 30 個/mL 以上の 2 つのグループで D 型幼生移行率の差を調べたところ、30 個/mL 以下に比べ 30 個/mL 以上の群で D 型幼生移行率が有意に低かった（図 IV-15）。

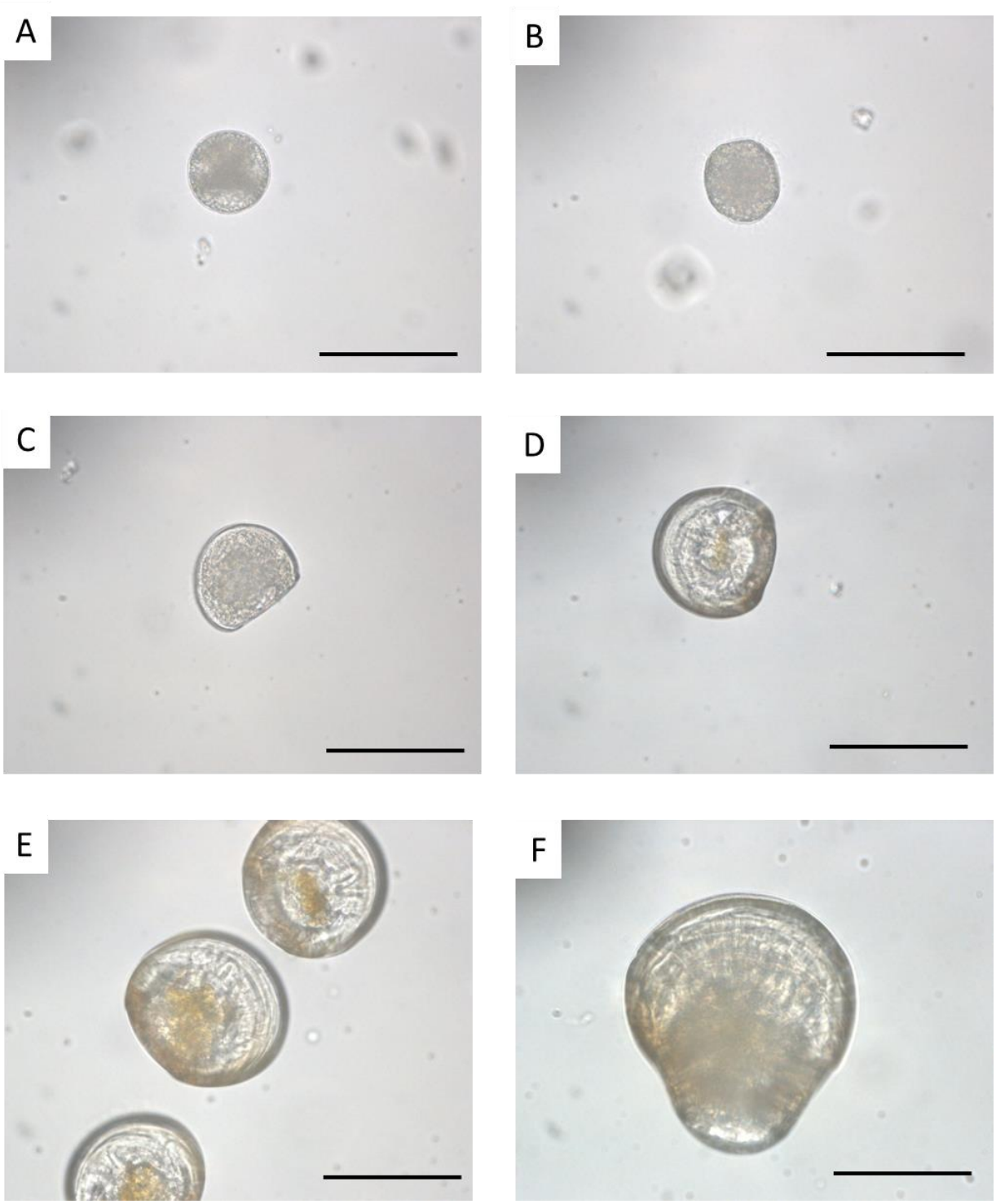


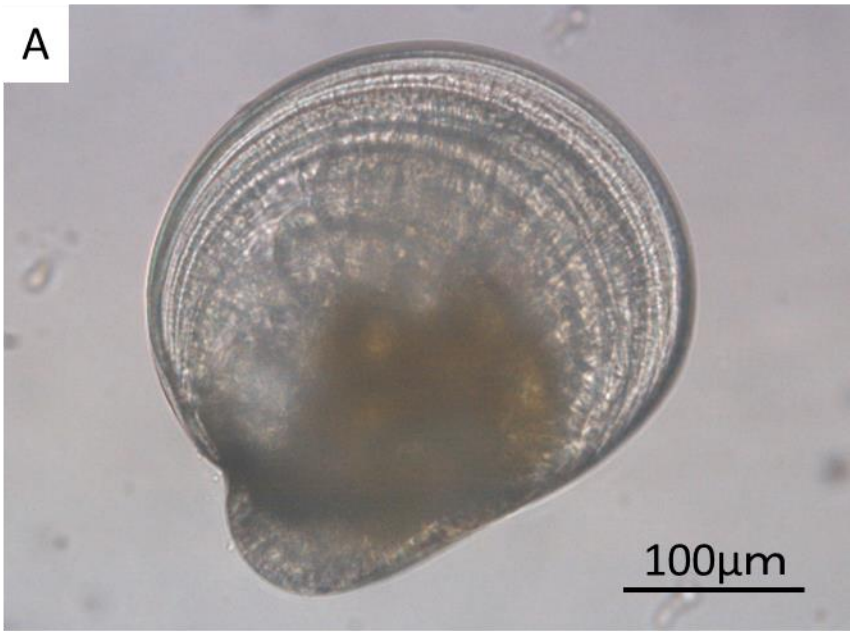
図 IV-11　イワガキ種苗生産における採卵から着底までの成長過程 1。

A：受精直後の卵　　B：トロコフォア幼生（受精後約 6 時間）

C：D 型幼生（受精後 2 日）　　D：浮遊幼生（受精後 7 日）

E：浮遊幼生（受精後 10 日）　　F：浮遊幼生（受精後 20 日）

黒色のバーは 100 μm を示す。



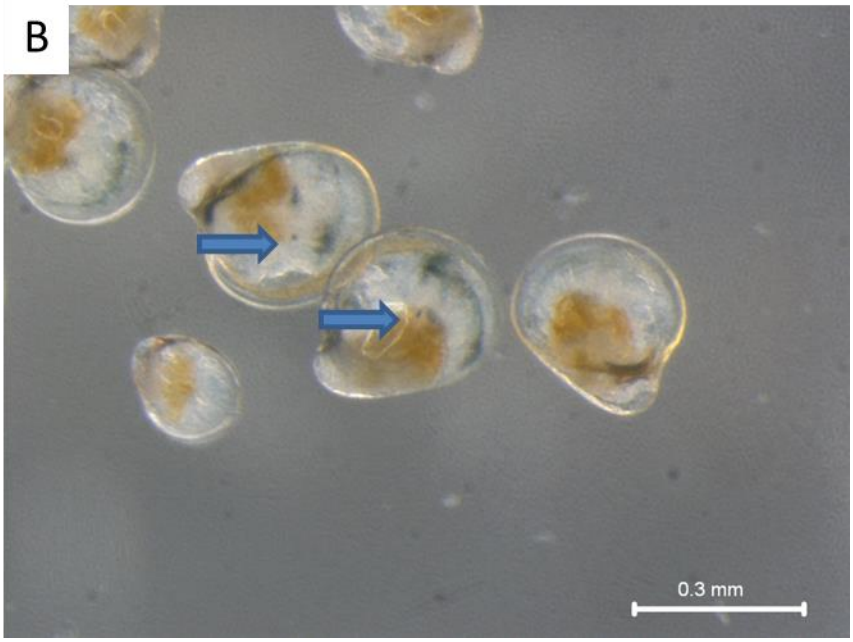


図 IV-12　イワガキ種苗生産における採卵から着底までの成長過程 2。

A：着底期幼生（受精後 30 日）

B：着底期幼生の実体顕微鏡観察像

矢印は眼点を示す。

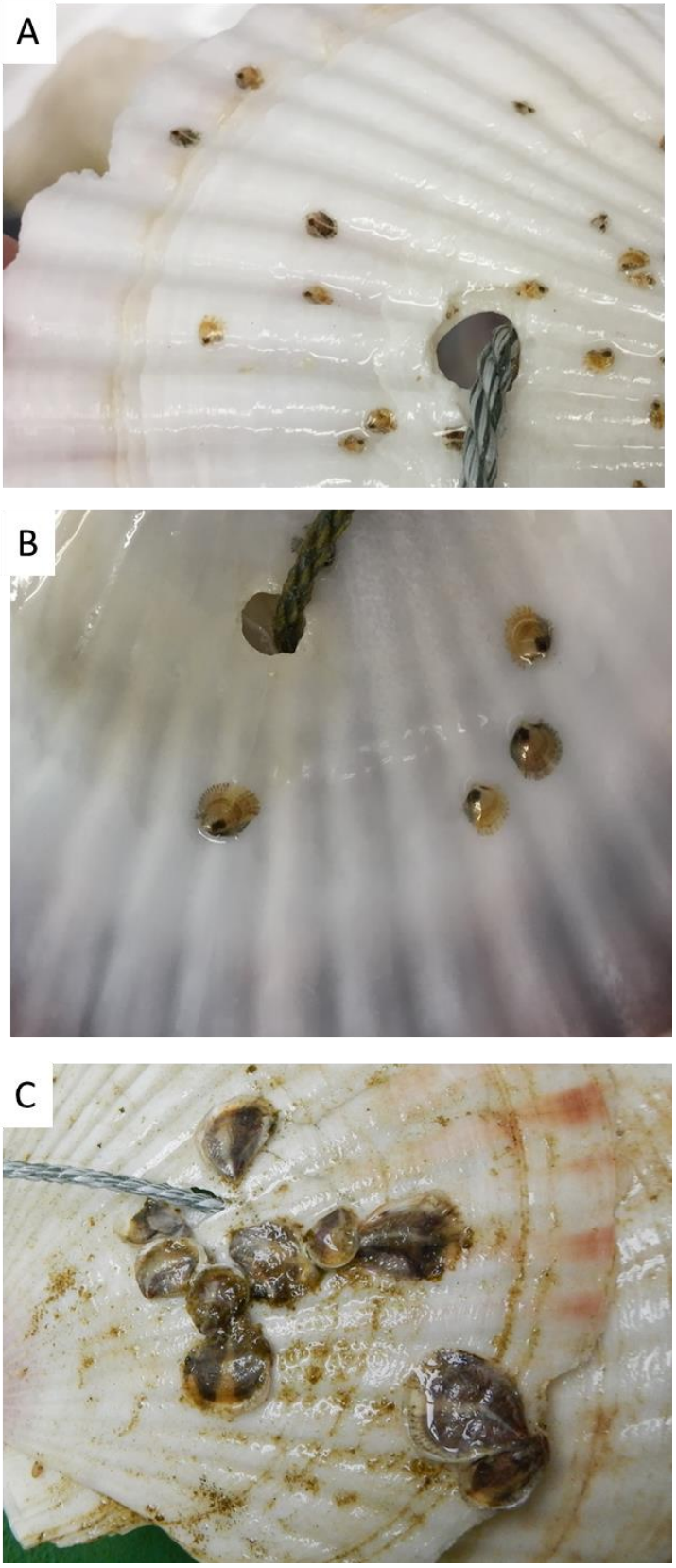


図 IV-13　イワガキ種苗生産における採卵から着底までの成長過程 4。

A：着底稚貝（着底後約 2 週間　殻高 0.5-2 mm）

B：着底稚貝（着底後約 1 ヶ月　殻高 3-6 mm）

C：着底稚貝（着底後約 3 ヶ月　殻高 10-20 mm）

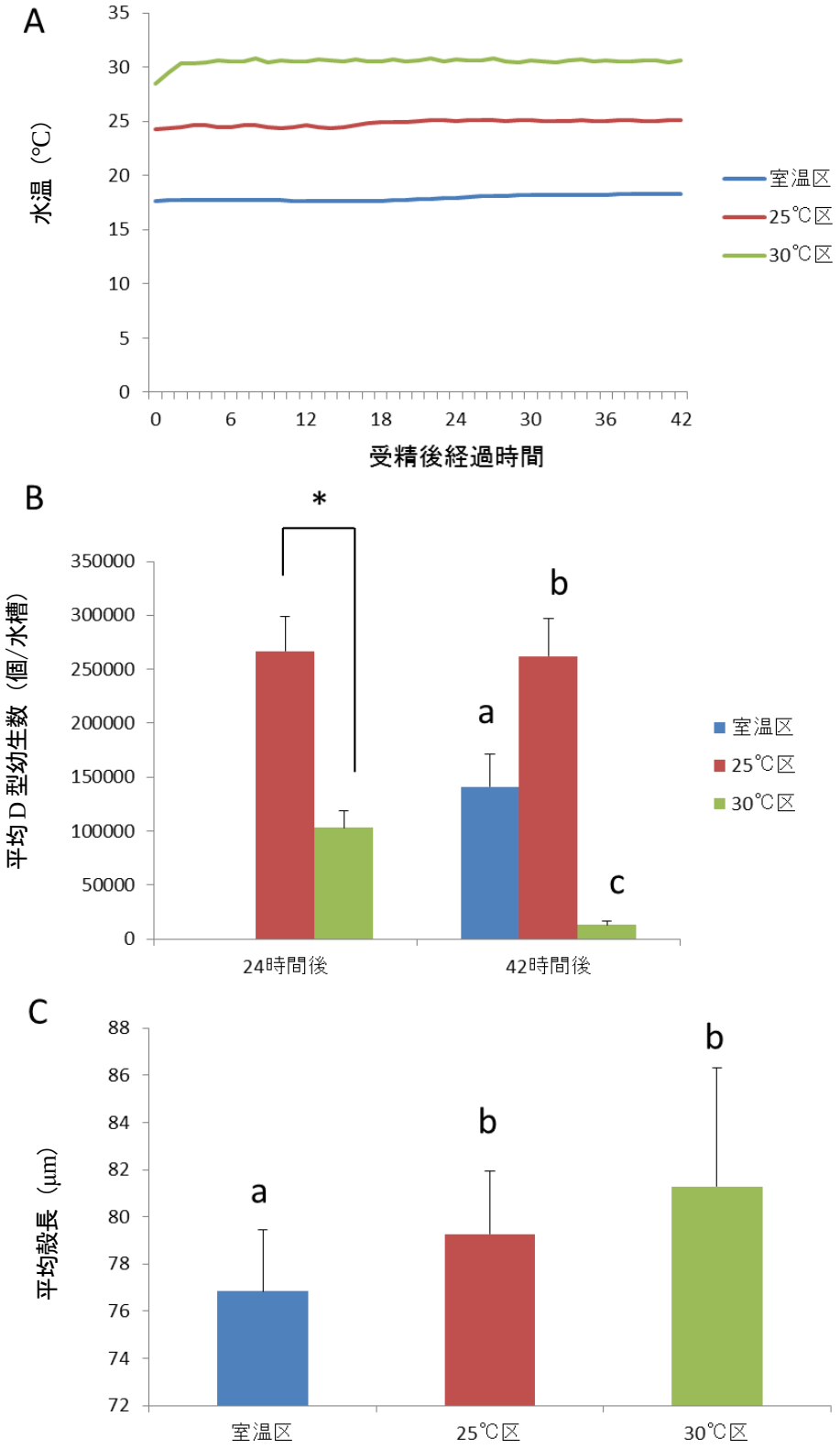


図 IV-14　イワガキ受精卵を異なる水温で 42 時間培養した際の

A：水温変化　B：卵又は D 型幼生の平均数　C：42 時間後の各群の平均殻長。

＊は群間に有意差があることを示す（ステューデントの t 検定　p<0.01）。

異なるアルファベットは群間に有意差があることを示す（Tukey-Kramer 法　P<0.05）。

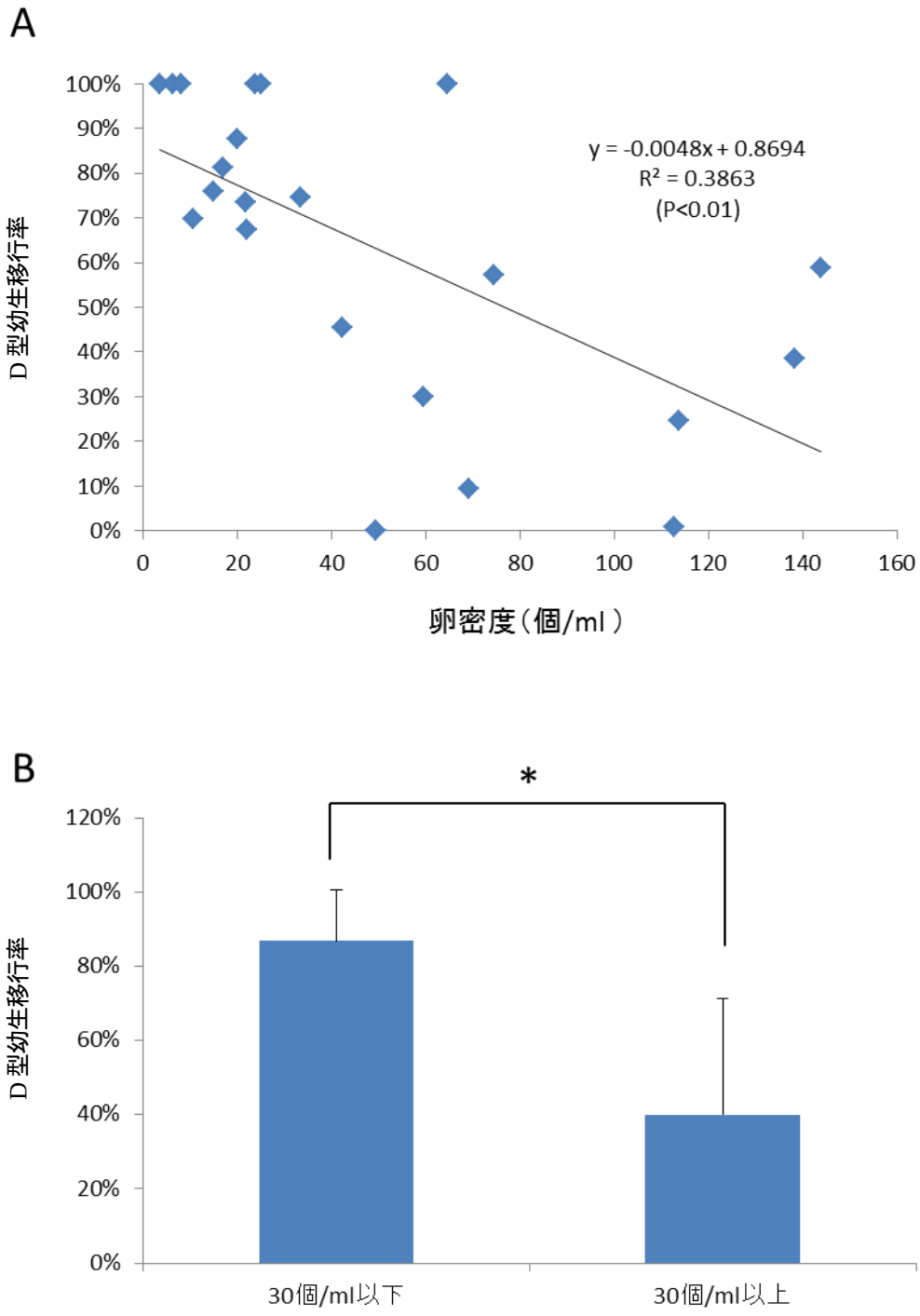


図 IV-15　イワガキ受精卵を様々な密度で培養した際の卵密度と D 型幼生移行率の関係（A）および卵収容密度が 30 個/mL 以下と 30 個/mL 以上の群での D 型幼生移行率の比較（B）。

＊は群間に有意差があることを示す（ウェルチの t 検定　$p<0.01$）。

4. 浮遊幼生飼育条件

4-1. 浮遊幼生飼育時の水温の影響

イワガキの D 型幼生を様々な水温で飼育した結果、各群の平均水温は、室温区で 19.0℃、25℃ 区で 24.2℃、30℃ 区で 29.1℃ であった。水槽内の浮遊幼生数は全ての群で期間中通じて減少傾向にあり、特に 30℃ 区で飼育開始後 2 日目から激減した。各群の飼育開始後 5 日目の平均殻長は、室温区では全く成長が見られず、飼育水温が高くなるにつれて有意に大きくなった（図 IV-16）。

4-2. 浮遊幼生飼育における飼育密度の影響

イワガキの D 型幼生を様々な密度で飼育した結果、幼生収容数が 10 個/mL では飼育開始直後から 10 日にかけて速やかに浮遊幼生数が低下した。また、飼育密度 5 個/mL の群では飼育期間を通じて徐々に飼育密度が低下した。20 日後の浮遊幼生数は、1 個/mL の群で平均 0.25 個/mL（水槽当たり約 5 万個）、5 個/mL 群で平均 0.45 個/mL（水槽当たり約 9 万個）、10 個/mL の群で 0 個/mL であった。これら各群の浮遊幼生の殻長の変化を調べた結果、収容数の少ない 1 個/mL の群で最も成長が良く、20 日目で平均 188 μm であった。これに比べ、他の 2 群は試験期間を通じて平均殻長が小さかった（図 IV-17）。

4-3. 浮遊幼生飼育における初期餌料の影響

イワガキの D 型幼生の初期餌料として 3 種の微細藻類を検討した結果、10 日間の飼育により、パブロバ・ルセリを給餌した群でのみ、良好な生残が得られた。また、育成期間中の殻長変化は、パブロバ・ルセリを給餌した群で平均殻長 100 μm 以上まで成長したが、イソクリシス・タヒチ株およびキートセラス・カルキトランスを給餌した群では、パブロバ・ルセリを給餌した群に比べ有意に殻長が小さかった（図 IV-18）。

5. 着底期の飼育条件

5-1. 着底基質の種類検討

着底基質として様々な種類の基質を用い、それぞれの基質へのイワガキ稚貝の着底数を調べた結果、ホタテガイ貝殻では 1 枚当たりの平均付着数が 9.8 個と最も多く、他に用いた樹脂製の 5 種類の着底基質では、いずれも 1 枚当たり平均付着数が 1 個以下であった。各基質 100 cm^2 当たりの付着数でも、付着数の傾向は同様であった（表 IV-8）。基質の種類による付着稚貝の形態的特徴の違いなどは特に見られなかった（図 IV-19）。

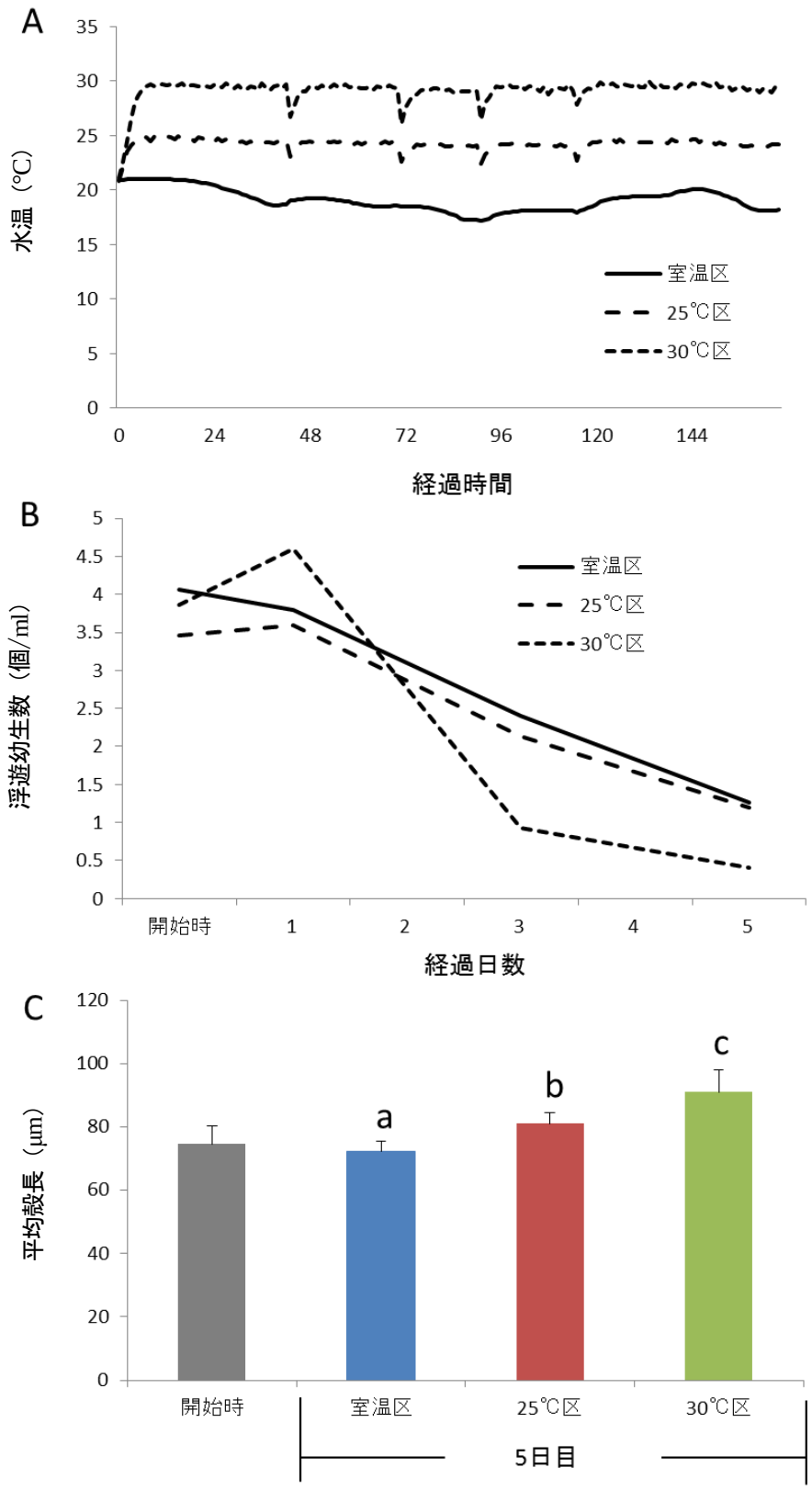


図 IV-16　イワガキ D 型幼生を様々な水温で飼育した際の水温変化（A）、浮遊幼生数（B）および平均殻長（C）。
異なるアルファベットは群間に有意差があることを示す。
（Steel-Dwass 法　$p<0.01$）。

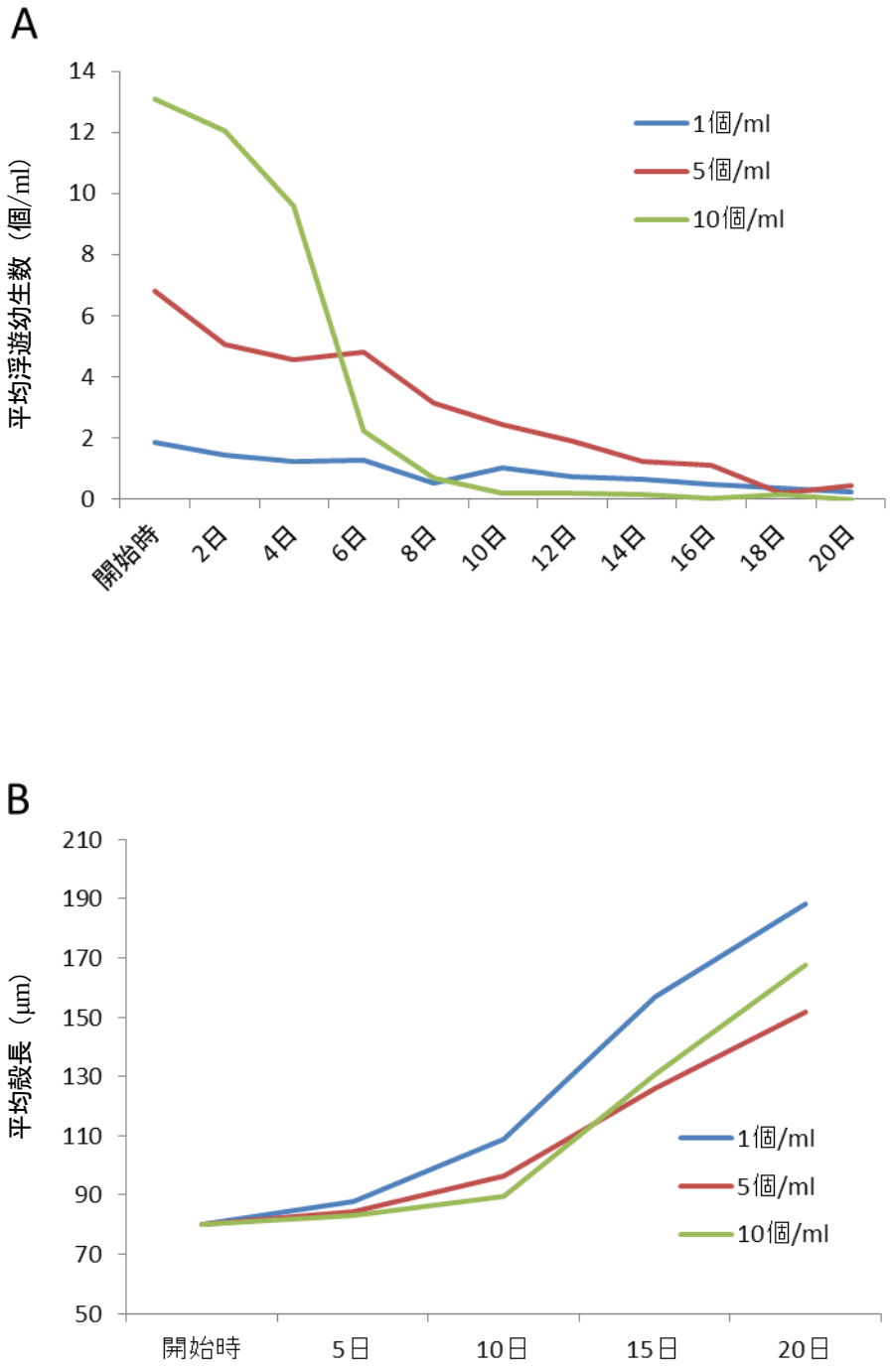


図 IV-17　イワガキ浮遊幼生の密度別飼育試験における浮遊幼生数の変化（A）および幼生の殻長の変化（B）。

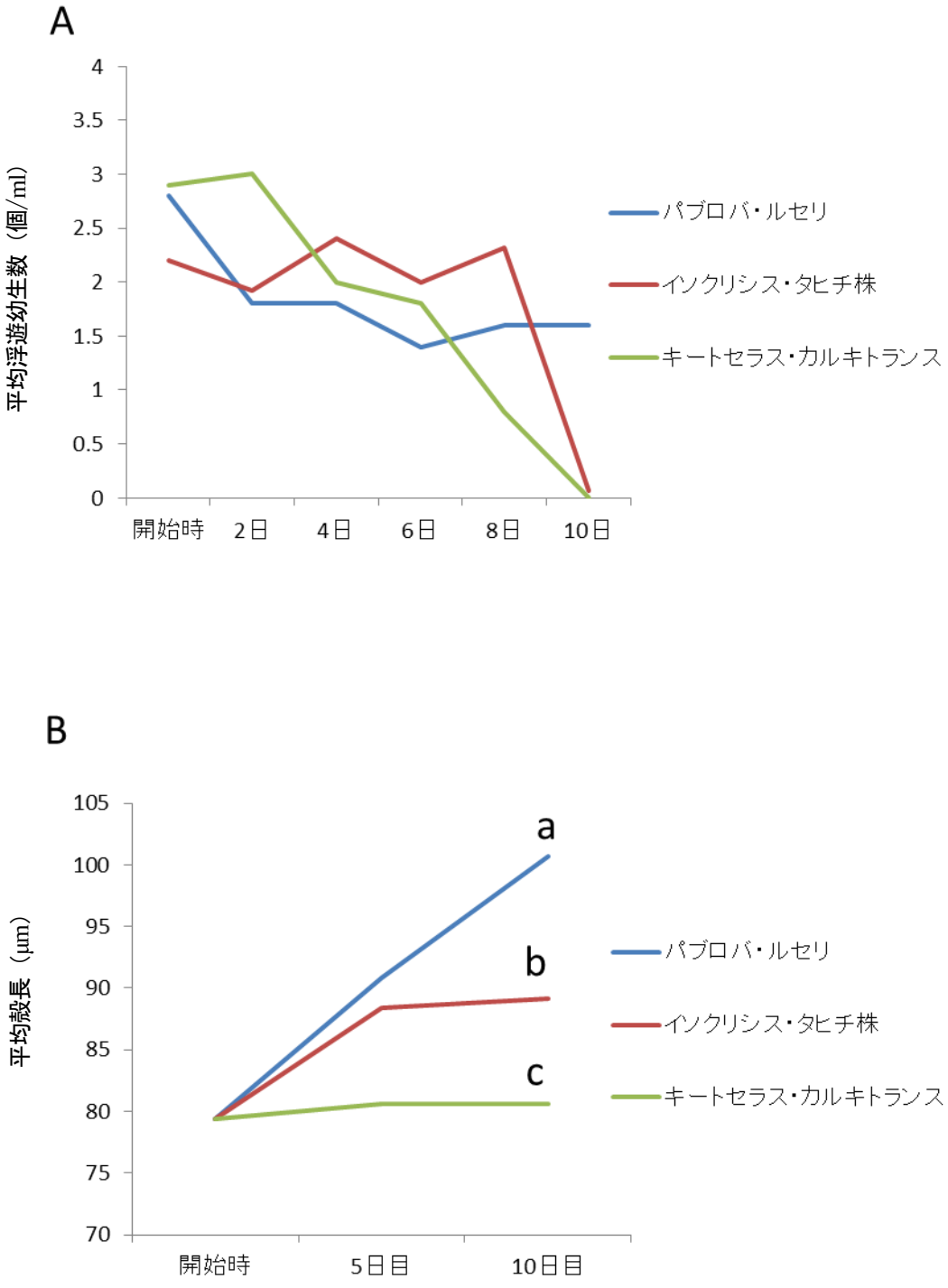


図 IV-18　イワガキ浮遊幼生の初期餌料試験における浮遊幼生数の変化（A）および幼生の殻長の変化（B）。
異なるアルファベットは群間に有意な差があることを示す。
（Steel-Dwass 法　$p<0.01$）。

表 IV-8　様々な着底基質へのイワガキ稚貝の付着数

着底基質	1枚（片面）の面積（cm2）	使用枚数（枚）	総面積（両面）（cm2）	終了時付着総数（個）	1枚当りの平均付着数（個）	100cm2当りの平均付着数(個)
ホタテガイ貝殻	150	133	39900	1301	9.8	3.3
クペル	150	133	39900	88	0.7	0.2
透明プラスチック	400	50	40000	18	0.4	0.0
白色プラスチック	400	50	40000	15	0.3	0.0
灰色プラスチック	400	50	40000	9	0.2	0.0
穴あきプラスチック	400	50	40000	0	0.0	0.0

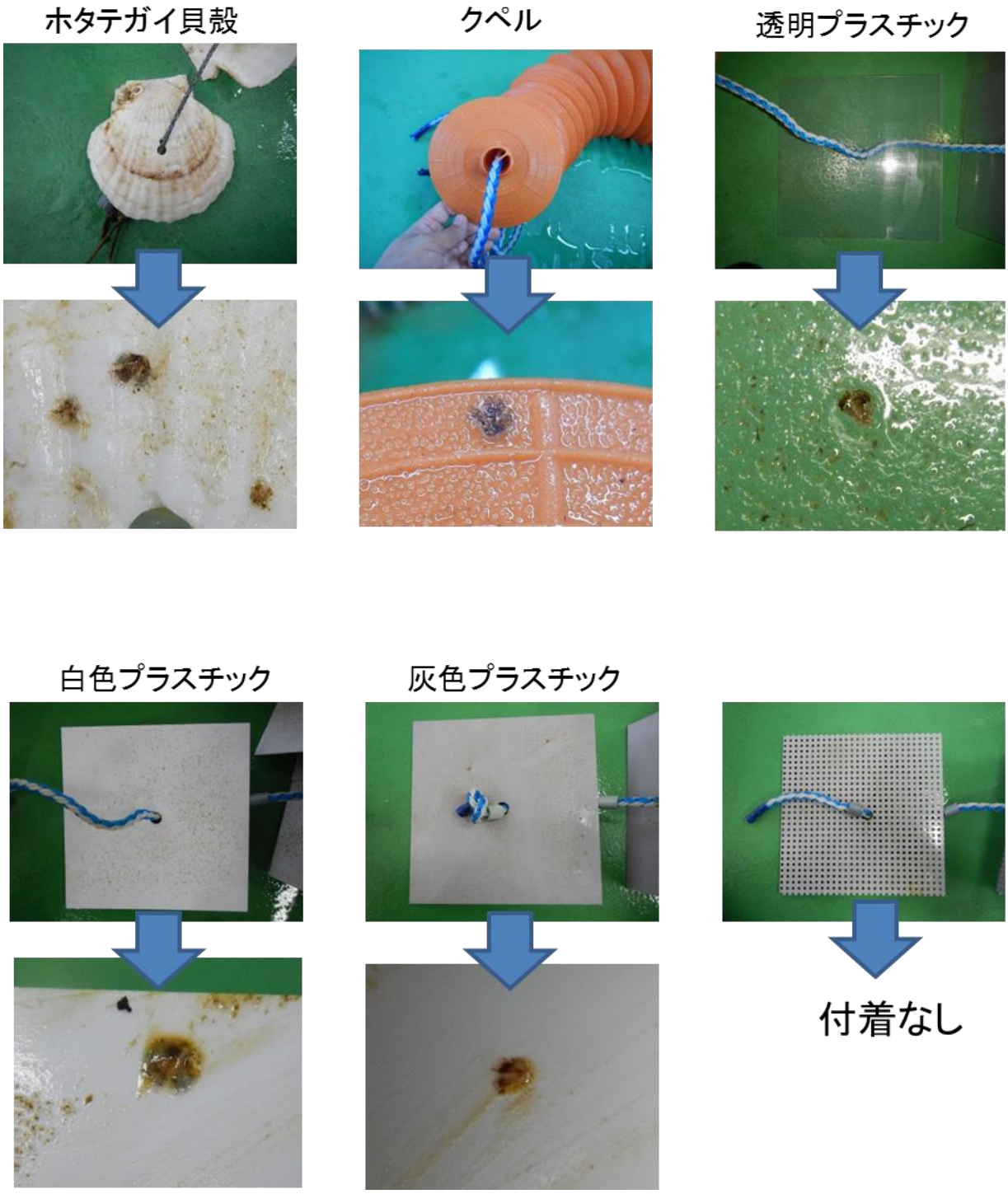


図 IV-19　様々な着底基質へのイワガキ稚貝の付着の様子。

5-2. 着底期の水温の影響

イワガキの着底期幼生の温度別飼育試験を行なった結果、試験中の水温は室温区で約 22℃、24℃ 区で約 23.5℃、28℃ 区で約 27.6℃ であった。各試験区のイワガキ稚貝の総稚貝数は、28℃ 区で最も多く 1754 個であった。他の 2 区では、飼育水温が低いほど総稚貝数が少なくなる傾向が見られた。一方、ホタテガイ貝殻 1 枚当たりの平均付着数はばらつきが大きく、各群で差が見られなかった。着底稚貝の殻高にも各群に明瞭な差は見られなかった（表 IV-9）

5-3. 着底期の明るさの影響

異なる明るさの水槽でイワガキ着底期幼生の飼育試験を行った結果、晴天の日の朝の光量（直射日光 1200 LUX）は明水槽で 350 LUX、暗水槽で 2 LUX であった。晴天の日の昼の光量（直射日光 2400 LUX）は明水槽で 1024 LUX、暗水槽で 4 LUX であった（図 IV-20）。各群の飼育水温は平均 24.9±1.0℃ であった。各水槽の着底稚貝数を調べた結果、総稚貝数は明水槽で 4170 個と暗水槽に比べて多かった。ホタテガイ貝殻 1 枚当たりの平均付着数は、明水槽で暗水槽に比べ多い傾向にあったが、ばらつきが大きく各群に有意差は見られなかった。また、着底稚貝の殻高にも群間に有意差は見られなかった（表 IV-10）。



図 IV-20　イワガキ着底期幼生の異なる明るさでの飼育の様子。
写真右：明水槽　写真左：暗水槽

表 IV-10　イワガキ着底期幼生の異なる明るさでの着底結果

	総稚貝数（個）	平均付着数（個/枚）	稚貝の平均殻高（mm）
明水槽	4170	16.7±6.9	4.5±0.8
暗水槽	3440	13.7±4.1	4.5±1.2

考　察

イワガキの受精卵を得るために、産卵誘発法と切出法を試みた結果、どちらの方法でも種苗生産に十分な量の卵を得られることが明らかになった。産卵誘発法では、反応しない場合や産卵・放精までに長い時間がかかることがデメリットである一方、親貝を殺すことなく採卵できるメリットがあると考えられた。それに対して切出法では、作業時間が非常に短く、確実に卵を得られることがメリットであるが、貝を殺す必要があることがデメリットであった。イワガキは長期に渡り複数回産卵する（野村　1995）ことから、親貝の確保数が少なく貴重な場合には産卵誘発法が適していると考えられた。一方で、親貝が十分な数確保でき、大量種苗生産のように作業の効率化が必要な場合には切出法が適していると考えられた。

切出法により得られた卵と精子を用いて、人工授精を行なう際の卵と精子の混合割合について比較した結果、卵数に対して 10 倍～1 万倍量の範囲の精子を混合した場合に 60-80％程度の高い割合で D 型幼生が得られた。卵数に対して等量の精子では D 型幼生へ移行する卵が非常に少なく 10％程度になったことから、受精に十分な量の精子がまかなえていないことが考えられた。一方、同じく D 型幼生数が少なくなった 10 万倍量の精子では、D 型幼生の殻長が小さく、多くの奇形が見られた。マガキでは卵母細胞の外膜が精子によって溶解されて受精に至るが、このとき卵側では多精防除機構として、1）受精直後の脱分極による過剰精子の侵入防止、2）受精後の先体反応の阻止、3）精子と卵原形質膜との融合阻止などの機構を備えているとされている（森　2005）。しかし、本研究では受精卵や幼生の核相の解析は行なっていないため、過剰な精子を投入したことによる多精がその後の卵発生に異常を生じさせた可能性についてはより詳細な研究が必要と考えられる。このような多精を防ぐ簡易な方法として、受精卵管理水槽に入れる精子数を調整する方法が考えられるが、血球計算盤等を用いた直接計数法は作業が煩雑である。そこで、豚精子（旦野ら　1965）や羊精子（杉本・河部　1968）で用いられている吸光度を指標とした精子懸濁海水中の精子数推定を試みた結果、約 200 万～6000 万個/mL の範囲で、精子数と 470 nm の吸光度の間で直線的な比例関係を見出すことができた。本測定に用いた吸光度計は乾電池で稼働する手のひらサイズであることから、どのような現場でも手軽に導入が可能である。この簡易精子計数法を活用し、卵数に対して 10 倍～1 万倍の範囲に収まる程度に精子添加量を調整することで、種苗生産に適したイワガキ D 型幼生を効率的に得ることができると考えられる。

イワガキの受精卵を試験的に育成した結果、水温 25℃ 程度で受精後約 30 日間の浮遊生活を行った後着底期に至り、着底後 2 週間程度飼育することで肉眼観察可能な稚貝に成長した。着底稚貝はその後約

30 日で殻高 10-20 mm 程度まで水槽で育成できることが明らかになった。佐々木・常盤（2014）は、イワガキの浮遊幼生が着底サイズである殻長 300 μm 程度に達するまで、水温が 25-26℃ で 14 日程度、22-24℃ では 21 日以上必要であることを示し、飼育水温により成長速度が異なることを報告している。本研究では、25℃ 程度で飼育を行なっていたものの、外気温が低く換水の際に 18℃ の海水しか使えなかったことが、着底までに長時間を要した原因と考えられた。着底後の稚貝についても、培養した微細藻類で 2 cm 度までは育てることが可能であることが明らかになったが、生産コストを考えると、可能な限り早く沖出しして育成することが望ましい。本州では、沖出し後にヒラムシなどによる食害が懸念されているが、同様の影響が北海道でも起こるかについては、今後現場での調査が必要である。

イワガキ受精卵の効率的な培養技術を検討するため、18℃、25℃ および 30℃ の水温で飼育を試みた結果、水温 25℃ で最も D 型幼生へ移行する個体が多かった。水温 30℃ では、42 時間後の D 型幼生の殻長が最も大きかったが、得られた D 型幼生数が少ないため実用には向かないと考えられた。また、18℃ では D 型幼生にはなるものの、殻長が小さく発達に時間がかかると予測された。さらに、D 型幼生に発達した後の飼育でも、水温 25℃ 以上でなければ初期の成長が見られなかったため、受精卵管理から幼生飼育に関して概ね 25℃ 以上 30℃ 以下で飼育することが望ましい。

受精卵の収容密度について検討した結果、海水 1 mL 当たり 30 個以下であれば D 型幼生への移行率を概ね 80%以上に維持できることが明らかになった。ただし、D 型幼生の飼育密度の検討の結果から、1 mL 当たり 1 個以上ではその後の生残があまり良く無いため、大量に受精卵を得ても D 型幼生飼育の段階で余してしまう可能性がある。従って、幼生飼育に利用できる水槽数を把握した上で、卵の管理数を調整する必要がある。

カキ類の D 型幼生は、殻長 80 μm 程度と小さいため、2 枚貝の飼育に良く用いられるキートセラス・ネオグラシーレは初期の餌料としては大きすぎると考えられている。そのため、島根県などでは珪藻類であるキートセラス・カルキトランスやハプト藻類であるパブロバ・ルセリおよびイソクリシス・タヒチ株などが検討され、珪藻単独給餌よりもハプト藻類の混合給餌が斃死を防ぐと報告されている（石原・常盤　2013）。本研究では、これらの培養餌料を用いて各種の単独給餌を試みた結果、パブロバ・ルセリを給餌することで高い生残と成長が得られた。経験的に、2 枚貝の浮遊幼生は殻長 100 μm を超えると、キートセラス・ネオグラシーレも食べられるようになることから、そこに至るまでの初期餌料としては、パブロバ・ルセリを用いることが有望と考えられた。

イワガキの着底期幼生を効率的に着底させる方法を検討した結果、着底基質としてはホタテガイの貝殻が、樹脂製の着底基質に比べて非常に有用であることが示された。ヨーロッパでカキ類のコレクター

として用いられているクペルや、本州でシングルシード化を見据えて用いられる樹脂板では、筆者の所属施設が持つ飼育技術で着底させるには極めて効率が悪く、現状ではこの理由は不明である。着底期の飼育水温について、22℃、24℃、28℃ で着底数を検討したところ、いずれでも着底稚貝が得られたものの、水温が高いほど着底数は多かったことから、浮遊幼生飼育と同様に着底期飼育についても 25℃ 以上での飼育が適していると考えられた。その他の条件として着底期の水槽の明るさは着底数には明確な影響が無かったが、着底後に沖出しするまでには数週間を要し、その間明るい環境で飼育すると、飼育水槽に様々な付着藻類が発生して管理がしづらくなるため、適度に遮光する方法が望ましい。

以上、本研究によりイワガキの採卵から着底までの様々な基本的飼育条件について明らかにすることができた。本研究により得られた情報を下に、実用的な飼育方法を開発し、実際に現場にて生産を行なった事例については、次節において述べる。

第 3 節　イワガキ種苗生産技術の奥尻町への普及および現地での取り組み状況

北海道におけるイワガキ養殖をめざした取り組みは、平成 23 年（2011 年）に奥尻町が島根県隠岐郡の事例の視察を行ったことから始まり、平成 24 年（2012 年）に奥尻町に自生するカキからイワガキが見つかったことで、養殖試験を実施するに至った。そのため、平成 29 年（2017 年）現在で取り組みを開始して 5 年目を迎える。5 年という期間は 1 つの研究事業としては長く、発展又は見直しが迫られる期間に当たる。一方、事業としてのイワガキ養殖の例を見ると、島根県隠岐では 1992 年に初めて人工種苗生産に成功し、本格的な出荷が始まったのは 6 年後の 1998 年からである。その後、現在でも技術改良を進めながら 20 年以上に渡り試行錯誤は継続されており、2012 年時点での出荷が 62 万個（約 1 億 3 千万円）に達している（坂本　2013）。先進地での時間的感覚で考えると、奥尻町での事例は新規漁業の黎明期に当たる段階である。本節では、実際に新規漁業に取り組む現場の動きと、連動して補助を行なう行政および試験研究機関の活動について取りまとめる。

方　法

1. 現地への種苗生産技術指導状況

2012 年から 2017 年までのイワガキ種苗生産技術開発の発展に伴う、技術指導内容の推移を取りまとめた。

2. 実践的な種苗生産による生産成績

平成 23 年（2012 年）から平成 28 年（2016 年）までの奥尻町と栽培水産試験場でのイワガキ人工種苗の生産実績を記録した。

3. 生産コスト試算

平成 28 年（2016 年）度時点の種苗生産技術を基本として、1 年間に稚貝 1 万個（ホタテガイ貝殻 1000 枚）の生産を目標とした場合の消耗品費および飼育作業人件費について試算を行なった。実施場所として、全道にすでに整備されているウニやアワビの育成施設を想定し、飼育に必要な海水の取水、エア供給設備、電気代、ウォーターバス用平水槽などは試算には含めなかった。また、実際の養殖生産のコストを試算するため、奥尻町の離島漁業再生支援交付金事業活動報告書（イワガキ増養殖活動）より、養

殖管理作業に要した日数と人数を抽出し、コストの試算を行なった。

4. 天然貝および養殖貝の直販による製品評価

奥尻町で毎年 7 月に開催される室津祭り会場にて、平成 24 年（2012 年）に天然カキの蓄養品の試験販売が、平成 28 年（2016 年）に養殖イワガキの試験販売が行われた。焼き牡蠣として提供される試験販売会場において、檜山振興局主導で購入者に対する製品アンケート調査が実施され、アンケート結果からイワガキの知名度、味、価格等に関する情報を取りまとめた。また、自由コメント欄の記載情報についてとりまとめた。さらに、平成 28 年（2016 年）に養殖イワガキが初めて販売された際に、現地にて試験販売の状況を調べた。

5. 養殖貝の料理人による品質評価

平成 28 年（2016 年）に実施した、札幌市内の 20 軒のレストランのシェフによる養殖イワガキの試食および評価結果について取りまとめた。

6. 生産地での取り組みの経緯

平成 23 年（2011 年）から平成 28 年（2016 年）にかけて奥尻町及び現地漁業共同組合、檜山振興局ならびに水産試験場が実施したイワガキ関連事業について、関係機関毎の取組を聞き取り、一覧に取りまとめた。さらに、研究事業実施期間中のイワガキ試験販売実績について取りまとめた。

結　果

1. 現地への種苗生産技術の指導状況

平成 24 年（2012 年）に開始し、現在に至るまでの奥尻町への栽培水産試験場のイワガキ人工種苗生産に関する技術指導の状況を図 IV-21 に示した。平成 25 年（2013 年）までは、先進地（島根県や京都府）の事例を基に、現地で可能な範囲での生産技術指導を行なったため、採卵は切出法（親貝の種判別は試験場で実施）、幼生飼育は恒温室内で可能な範囲で行ない、餌料は市販の濃縮微細藻類とした。着底に関しても幼生飼育の延長として同様の水槽で飼育を継続し、ホタテガイの貝殻を基質として用いて着底稚貝を得た。平成 26-27 年（2014-2015 年）にかけては、栽培水産試験場で得られた飼育条件を随時情報提供し、現地で実施可能な範囲の見極めと実践を行なった。採卵については、受精に関する基本条件の設定と精子の簡易計数法の提案を行なった。幼生飼育については、恒温室外に飼育範囲を広げるためのウォーターバス式飼育法と、餌料用微細藻類を現地で生産可能なビニールバッグ式簡易培養法を提案し、幼生飼育時の密度、水温等の基本条件も情報共有を行なった。着底については、現地ではシングルシード化の要望があったが、種苗生産技術自体が安定するまでは最も採苗効率が良いホタテガイの貝殻への着底で進めるよう指導した。これらの経緯を踏まえ、平成 28 年（2016 年）にはイワガキの人工種苗生産の基本的な方法を定型化した（図 IV-22）上で、現地および試験場で随時工夫を継続するという段階に至った。

2. 実践的な種苗生産による生産成績

平成 24-28 年（2012-2016 年）にかけて、栽培水産試験場および奥尻町にてイワガキの人工種苗生産を実施し、得られた稚貝の数を表 IV-11 に示した。平成 24 年（2012 年）に栽培水産試験場にて試験的に種苗生産を開始したのち、技術指導を行ないながら平成 25 年（2013 年）に初めて奥尻町でも人工種苗生産に成功した。その後、平成 26 年（2014 年）には試験場、奥尻町共に採苗不良となる年があったものの、平成 27 年（2015）以降は順調に稚貝の生産数を増やし、平成 28 年（2016 年）時点で現地養殖試験施設の収容量を全て満たす状況となった。平成 29 年（2017 年）は、現地での施設拡大もあり、イワガキの稚貝の生産数は約 10 万個まで拡大した。沖出しした稚貝は、海面で 3 年程度育成することで出荷目標サイズである 200 g を超え、試験販売などに活用された（図 IV-23）。

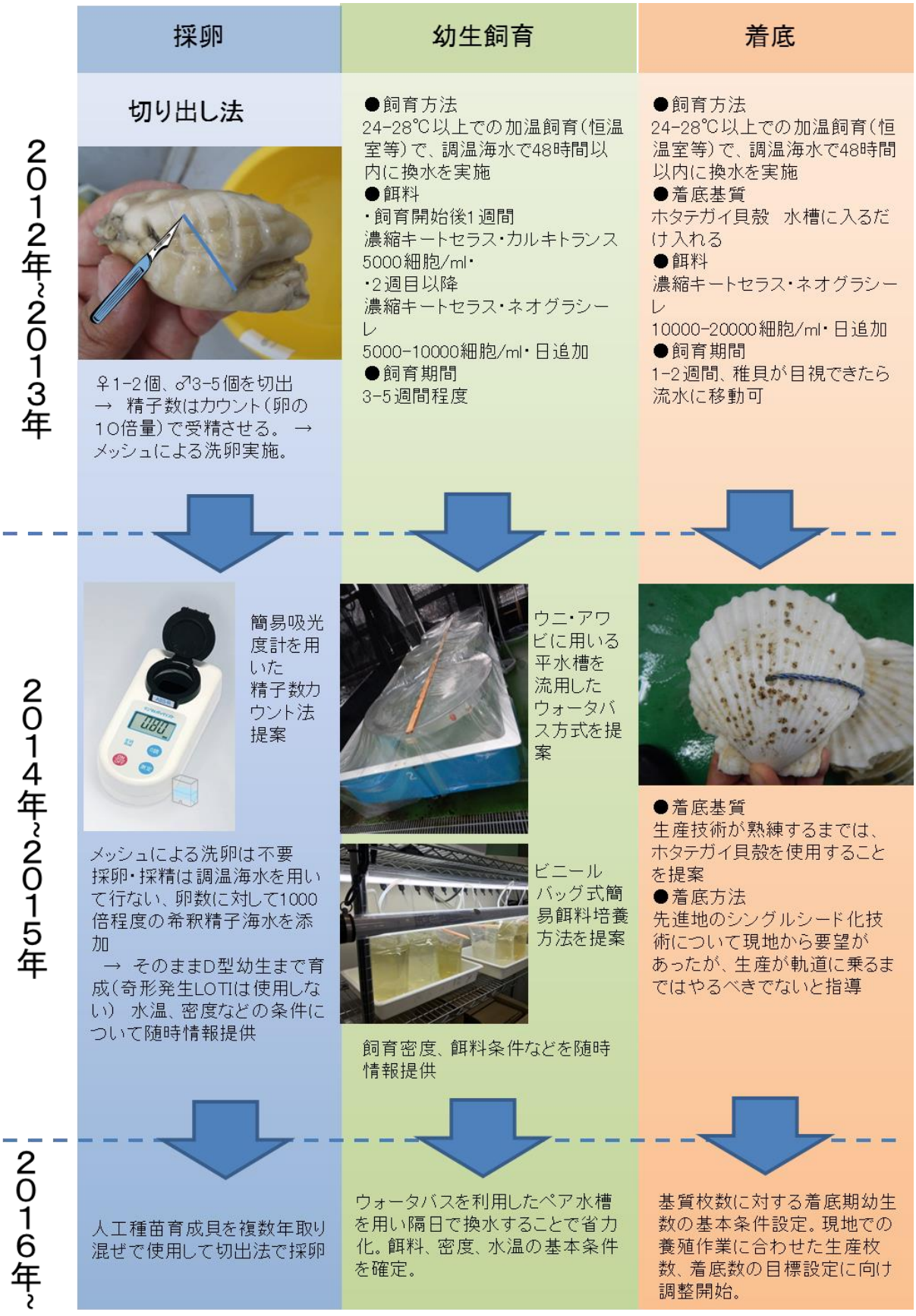
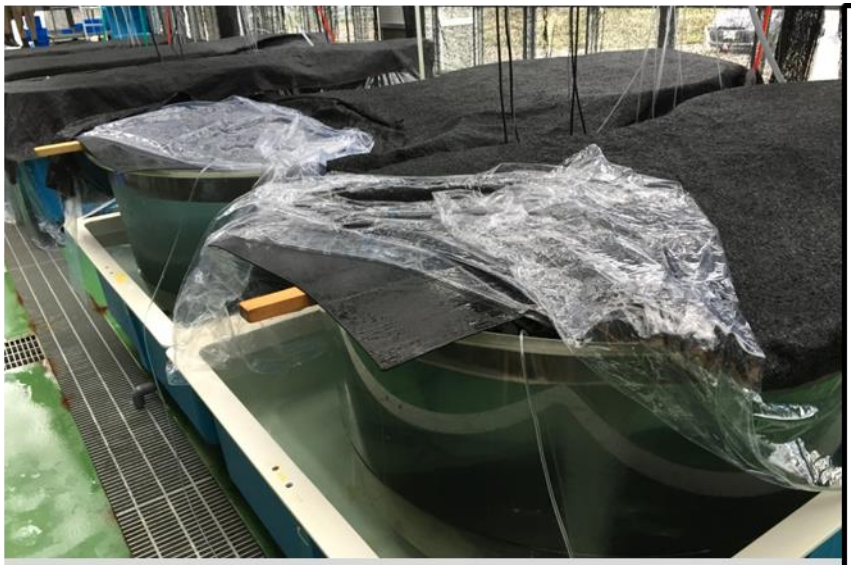


図 IV-21　イワガキ人工種苗生産技術開発に伴う、現地奥尻島技術者への情報提供と技術指導内容の推移。



ウォーターバス+温室型ペア水槽を使用

水温設定：26度
飼育密度：1-2個/ml
換水：2日に一度全数を水槽換えで換水
給餌：D型幼生~殻長90um（5～7日程度）
・・・パブロバのみ1000個/ml・日
殻長90um以降　着底まで（20日程度）
・・・パブロバ　1000-2000個/ml・日
・・・グラシリス　1000-3000個/ml・日
※カキ卵巣摩砕物は水換え後に一本投入
採苗・・・1トン水槽に100万の着底期種苗を入れ、ホタテ原盤を上限500枚までで投入
給餌：濃縮キートセラスグラシリス　50～100ml/日
換水：2～3日毎に1/3程度の部分換水

図 IV-22　2016 年度に栽培水産試験場と奥尻町とで共有した基本的な種苗生産の条件。

表 IV-11　2012 年から 2016 年までに実施した、イワガキ人工種苗生産による稚貝の生産数

	イワガキ稚貝数（個）	
年度	栽培水産試験場	奥尻町
2012	約3000	生産未実施
2013	約40000	約5000
2014	約4500	0
2015	約20000	約12000
2016	約22000	約19000
2017	約90000	約20000



図 IV-23　人工種苗生産により得られたイワガキ稚貝の沖出しおよび養殖後の様子。
写真左：沖出し時　写真中央：海面で 3 年間養殖したイワガキ
写真右：養殖イワガキを試験販売にて焼きガキに活用した様子

3. 生産コスト試算

イワガキ養殖用稚貝の生産費用として、消耗品費および飼育管理費用を試算した結果、初年度の消耗品準備費用として約 50 万円、飼育作業費用として 18 万円と想定された。初年度に水槽等を揃えた後は、飼育作業費用が主な支出となり、消耗品費は大幅に縮減される見通しとなった（表 IV-12）。イワガキ人工種苗を用いた奥尻町での養殖試験を実施した作業日数および参加人数を取りまとめた結果、イワガキ養殖に関わる作業日数は、平成 23-28 年（2012-2016 年）の 6 年間の平均でおよそ 9.2 日/年であった。作業従事者は年および日程毎に作業量・内容が大きく異なる為、平均作業人員として 5 名を試算に用いたところ、年間平均作業コストが約 45 万円と試算された（表 IV-13）。

4. 天然貝および養殖貝の直販による製品評価

平成 24 年度に実施した天然カキ畜養品の試験販売と、平成 28 年に実施した養殖イワガキの試験販売のアンケート結果についてとりまとめた結果、イワガキの知名度は平成 24 年には知っていると回答した割合が 42%であったのに対し、平成 28 年度は 55%と高かった。イワガキを食べた経験について調べた結果、平成 24 年度は食べた経験がある人の割合が 25%であったのに対し、平成 28 年度には 49%と高かった。試験販売された天然カキまたはイワガキを食べた際の味について調べた結果、両年ともに 90%以上の人が美味しいと回答し、非常に美味しいと評価してくれた人の割合は、天然カキに比べ養殖イワガキで 10%程度高くなった（図 IV-24）。試験販売されたカキの身入りの印象について調べた結果、非常に満足又は満足という回答が天然カキで 76%、養殖イワガキで 81%とわずかに養殖イワガキで高かった。試験販売の価格（大サイズ￥600／個、中サイズ￥400／個）の適正について調べた結果、非常に高いまたは高いと回答した人の割合は平成 24 年の天然カキの際で 38%、平成 28 年の養殖イワガキの場合で 50%と養殖イワガキの試験販売時に多かった。再度イワガキを食べたいかという質問に関しては、両年ともに 90%以上の人がぜひ食べたいまたはどちらかと言えば食べたいと回答した（図IV-２５）。各年のアンケートの自由コメント欄を整理した結果、両年ともに味に対する高評価、焼きカキ以外での食べ方の希望、奥尻の新名物としての期待などについては共通していた。一方、天然カキを販売した平成 24 年でのみ、塩味の強さに関するコメントが 6 件見られた（表 IV-14）。平成 27 年度の室津祭りでの養殖イワガキの初販売の様子を調べた結果、販売ブースでは養殖イワガキの独自性や初物である点などを非常に大きく広告していた。販売ブースの客足も好調で、用意した約 400 個の養殖イワガキは完売し、製品の評価も上々な様子であった（図 IV-24）。

表 IV-12　イワガキ種苗生産コストの試算

消耗品細目	必要個数	単価	金額
PE製1トン水槽	4	¥47,000	¥188,000
エアチューブ（4×6mm 100m巻）	1	¥4,150	¥4,150
エアストーン(イワキNR-B50）	8	¥610	¥4,880
保温用ビニールシート（0.15厚　3×6m）	2	¥5,800	¥11,600
チタンヒーター（レイシー　SHI型　1KW）	2	¥28,000	¥56,000
サーモスタット（レイシー　TC-101）	2	¥16,800	¥33,600
パレット（水槽の台）	4	¥4,000	¥16,000
微細藻類種配布依頼（水研センター）	2	¥6,000	¥12,000
培養ラック（5L用）	4	¥15,000	¥60,000
培養ラック（1L用）	2	¥10,000	¥20,000
培養袋（ラミジップ　LZ-30L）　300枚	1	¥36,000	¥36,000
培養袋（ラミジップ　LZ-18）700枚	1	¥30,800	¥30,800
ストロー　100本入り	2	¥120	¥240
エニーロックハンドルタイプ　3号	20	¥360	¥7,200
エニーロックハンドルタイプ　1号	20	¥480	¥9,600
培養液KW　10L	1	¥8,000	¥8,000
ケイ酸ナトリウム　500g	4	¥2,000	¥8,000
次亜塩素酸ナトリウム溶液　20L	1	¥2,100	¥2,100
ハイポール　1kg	1	¥600	¥600
消耗品計			¥508,770
飼育作業時間（時間/年）	180	¥1,000	¥180,000
		合計	¥688,770

表 IV-13　イワガキ養殖コストの試算

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	平均
作業日数（日）	8	10	9	10	8	10	9.2
1日の平均作業従事者数（人）	5	5	5	5	5	5	5.0
年間作業コスト（円）	400000	500000	450000	500000	400000	500000	458333.3

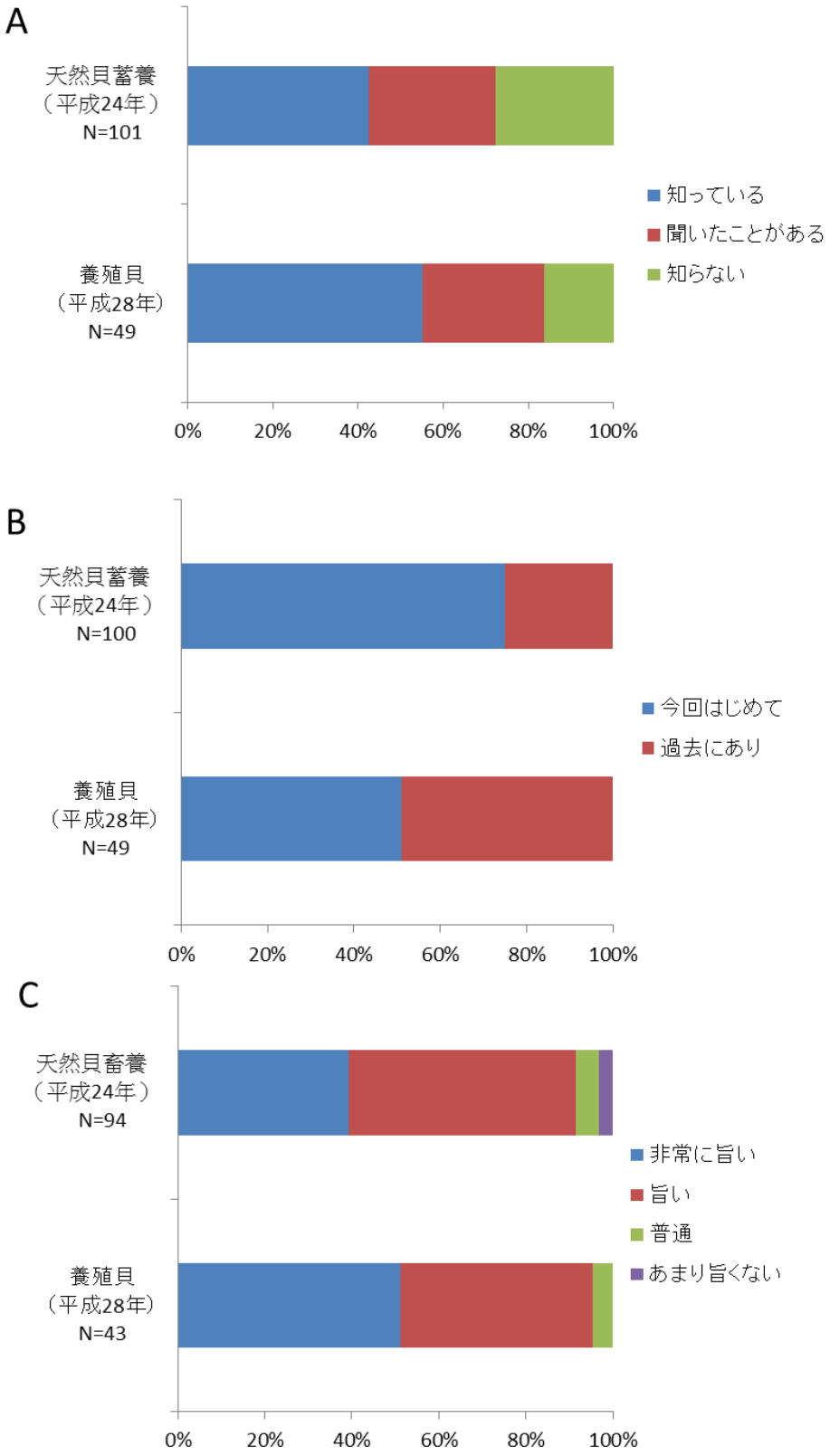


図 IV-24　奥尻町でのイワガキ直販の際のアンケート集計結果 1。

A：イワガキを知っているか

B：イワガキを食べたことがあるか

C：今回食べたイワガキの味について

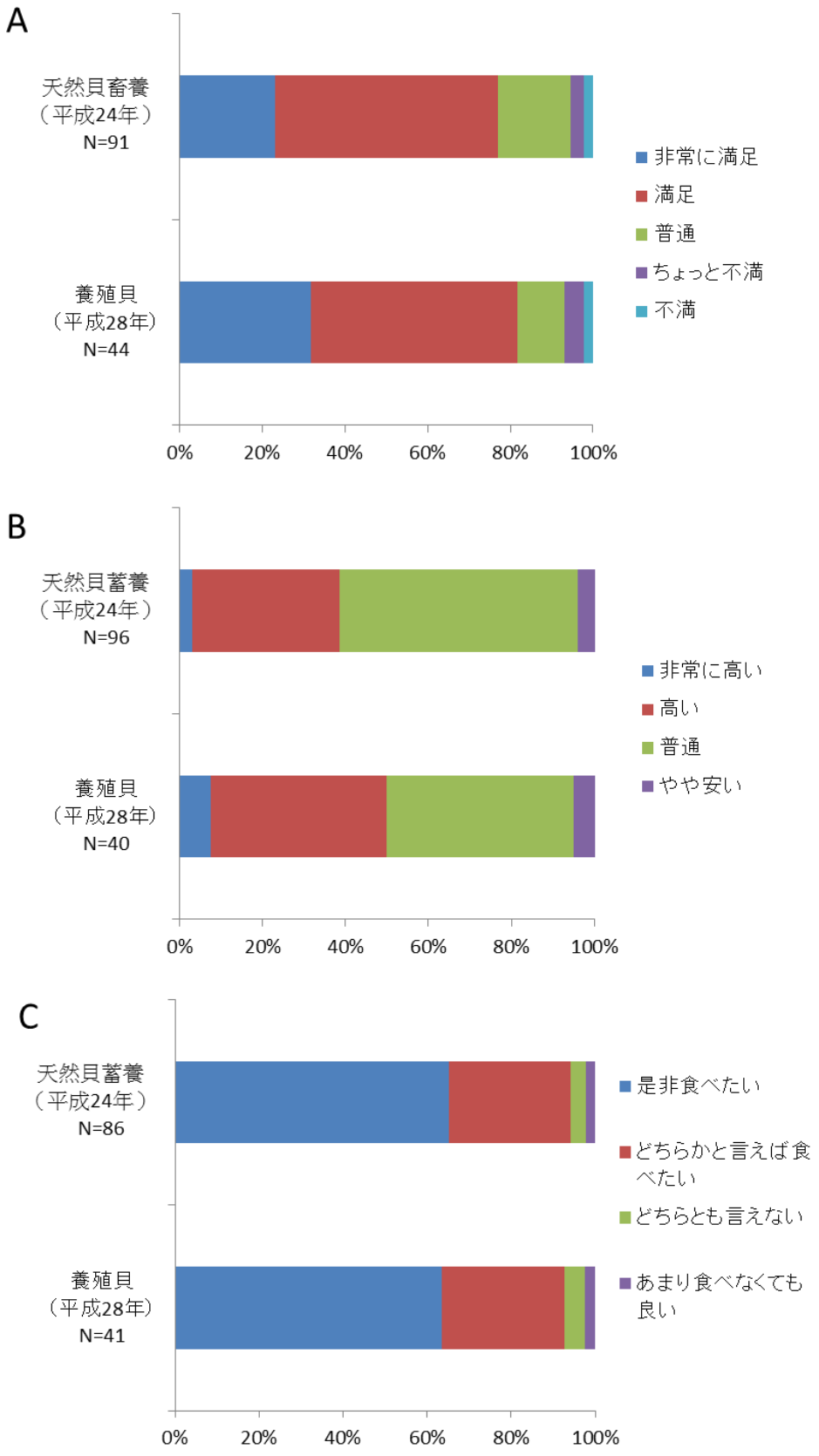


図 IV-25　奥尻町でのイワガキ直販の際のアンケート集計結果 2。

A：イワガキの身入りについて

B：イワガキの価格について

C：またイワガキを食べたいか

表 IV-14　奥尻町におけるイワガキ試験販売時のアンケート調査結果（自由コメント欄）

天然貝蓄用（平成24年）
・奥尻島と言えばウニ、アワビを想像します。今後はイワガキも想像できるかと思います。 ・焼いても生でも蒸してもよしのがカキ！フライもあった！奥尻の食の代表格になるよう応援しています。奥尻に来れば安くおなか一杯カキが食べられるようにして下さい。フェリー代をかけて来るかいがあるように。札幌で宣伝しておきます。 ・島外で販売しているところがあったら知りたいです。 ・奥尻は漁業と観光の島。これからもガンバッテ下さい。 ・やっぱり冬ガキの方が食べたいな～ぁ！ ・塩分が強い、しょっぱい（6件） ・1000円で3コ食べたい ・イワガキは貴重なので、その特色をどうアピールするかが課題。やはり認知度を上げることが第一かな？ ・非常に美味しかったです！（8件） ・レモンがほしい（3件） ・塩辛さの点以外は非常に美味しかったです。今後、スーパー等で流通させる見通しがあるのであれば、もう少し塩辛さを押さえるようなレシピ等の開発（ワイン蒸しなど）を考慮してみても良いかと思います。今後に期待大です。 ・飲食店を含む居酒屋以外では食べれない。なので安いと感じた。 ・サロマ湖でも洋食していますが、自然のものよりもやはり味と養殖による環境問題も出てきます。安価で食べられるのは魅力です。 ・今度は大が食べたいです（2件）。是非カキも奥尻のウリにして下さい。 ・生で食べてみたいです ・カキフライにして食べてみたい　お寿司はもちろんいいと思う。 1個というより何個か食べたくなりますが、そう考えると400円だとちょっとかんがえてします。 味はとてもおいしい。満足です。高級食材として認められると商売になると思います。 ・カキは非常に栄養があり沢山漁があれば色々な食べ方あり、もう少し安くなることを祈っている　懸命に育って下さい。 ・値段が適当であれば是非食べたい（3件）
養殖貝（平成28年）
・年々増やすと良い。大きいものも良いが小ぶりでも出荷して稼いだ方が良い。 ・東京でもカキ小屋が流行っています・若い人が自分の好きな味付けで何個でも食べるそうです。 カレー粉＋コーヒークリーム　ごはんですよ＋オリーブオイルなど ・好みとしてはやはり生が旨いと思いました　おいしいですよ ・イワガキは珍しいしとてもおいしい。また健康や美容に良いのでもっとがんばってほしい。（頑張れ　漁協青年部） ・島内でも定期的に購入できる機会があればと思います。 ・平均の値段が安くなればたくさん食べれて良いと思うのですが！ ・もっと食べられる場所が多くあれば良いです。 ・おいしかったです♡　　ごちそうさまでした！ ・非常に味も濃くておいしい、ブランド化出来れば良い食材になると思います。安定的に供給できるようになるといいですね。 ・「奥尻の水」があればよい ・価格の面で厳しい部分もありますが、「北海道ではここだけ！！」みたいな売り方で今後も頑張っていただきたいです。

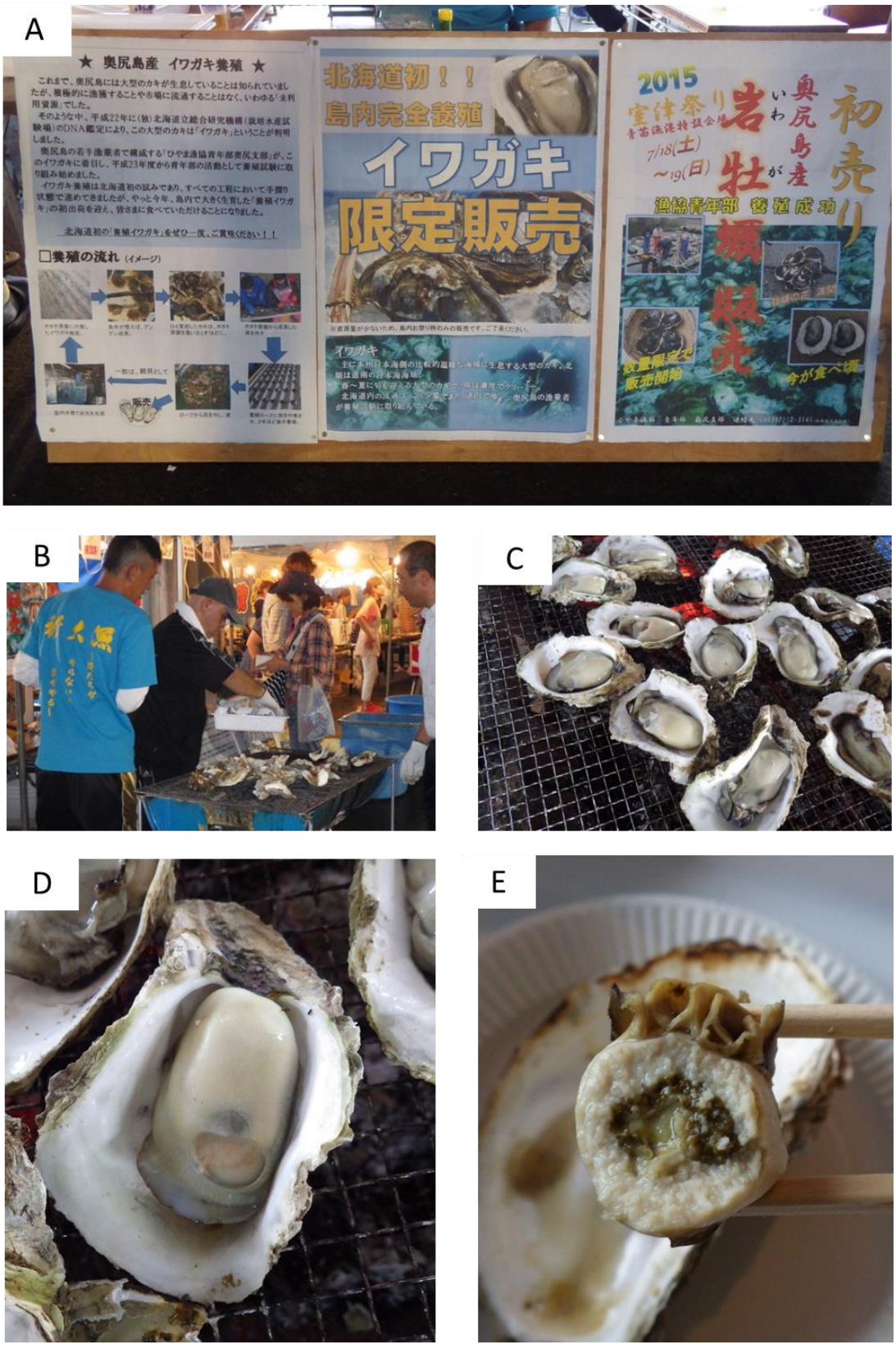


図 IV-26　平成 27 年の養殖イワガキの初販売の様子。

A：試験販売ブースに設置されたポスター　B：試験販売の様子

C：焼きガキの演示販売の様子　D：焼き牡蠣（大）の身入り

E：焼き牡蠣（大）の断面

5. 養殖貝の料理人による品質評価

レストランのシェフへのアンケートによるイワガキの食材としての使用経験は、経験があるとの回答が 36%に対し経験がないとの回答が 64%と多かった。使用経験があるシェフに、使用したイワガキの産地を記入してもらった結果、天然イワガキの産地である北陸から東北にかけての日本海側（秋田、新潟、富山、石川、福井の合計）で 70%と最も多かった。その他は茨城、和歌山、瀬戸内、長崎などの回答が少数で見られた。また、イワガキの仕入れ価格について調べた結果、1 個当たり￥500 以下が 37%、￥500-1000 が 25%、￥1000 以上が 37%であった（図 IV-27）。奥尻産イワガキの食材としての価値について調べた結果、試食に用いたカキ（約 300 g）のサイズは、大きいという回答は無かった。大きさが適当という回答が最も多く 57%、続いて小さいという回答は 36%であった。養殖イワガキの身入りについて加熱用と生食用で調べた結果、加熱用では大変身入りが良いという回答はゼロであった。身入りが良いという回答および普通という回答は共に 42%で残りの 16%は大変身入りが悪いという意見であった。生食用としては、身入りが大変良いという評価が 5%、良いが最も多く 45%、悪いが 35%で大変悪いという意見も 15%出ていた。養殖イワガキの味について調べた結果、加熱用としては大変味が良いという回答が 16%、良いが最も多く 42%、悪いが 26%で大変悪いという回答はゼロであった。生食用としての味の評価は、大変良いが 16%、良いが最も多く 63%、悪いが 16%で大変悪いという意見も 5%出ていた（図 IV-28）。奥尻産養殖イワガキの製品としての価値について調べた結果、養殖イワガキの品質は、加熱用としては品質が高品質という回答が 15%、普通が最も多く 55%、低品質が 30%であった。生食用としては、高品質という回答が 26%、普通が最も多く 47%、低品質が 26%であった。食材として店で使用したいかという質問には、使用したいという回答が 74%を占め、使用したくないという回答が 26%であった。使用したいという回答のうち、￥3000/kg 以上でも使用するという回答は 21%、￥3000/kg であれば使用するという回答が 53%と多かった（図 IV-29）。

奥尻産養殖イワガキのブランド化に向けて、シェフからの意見を取りまとめた結果、製品としての優位点としては、希少性・地域特性・品質（見た目）が評価されていた。しかし、改善すべき点の意見が圧倒的に多く、特に品質面で身入りそのものと、個体によるばらつきを改善すべきという意見が多数出ていた。その他、ブランド化するためには特徴付けが必要という意見も品質面に次いで多く出ていた。また、ブランド化には時間がかかることから、地道に継続すべきという意見もあった（表 IV-15）。シェフによる奥尻産養殖イワガキの品質評価にあたり、イワガキを用いた料理案の聞き取りを行なった結果、和食に比べ洋食で非常に多くの料理が提案された（表 IV-16）。実際に試作した料理についても多数事例の報告が得られ、和・洋ともにイワガキの殻も利用している例が多数見られた（図 IV-30）。

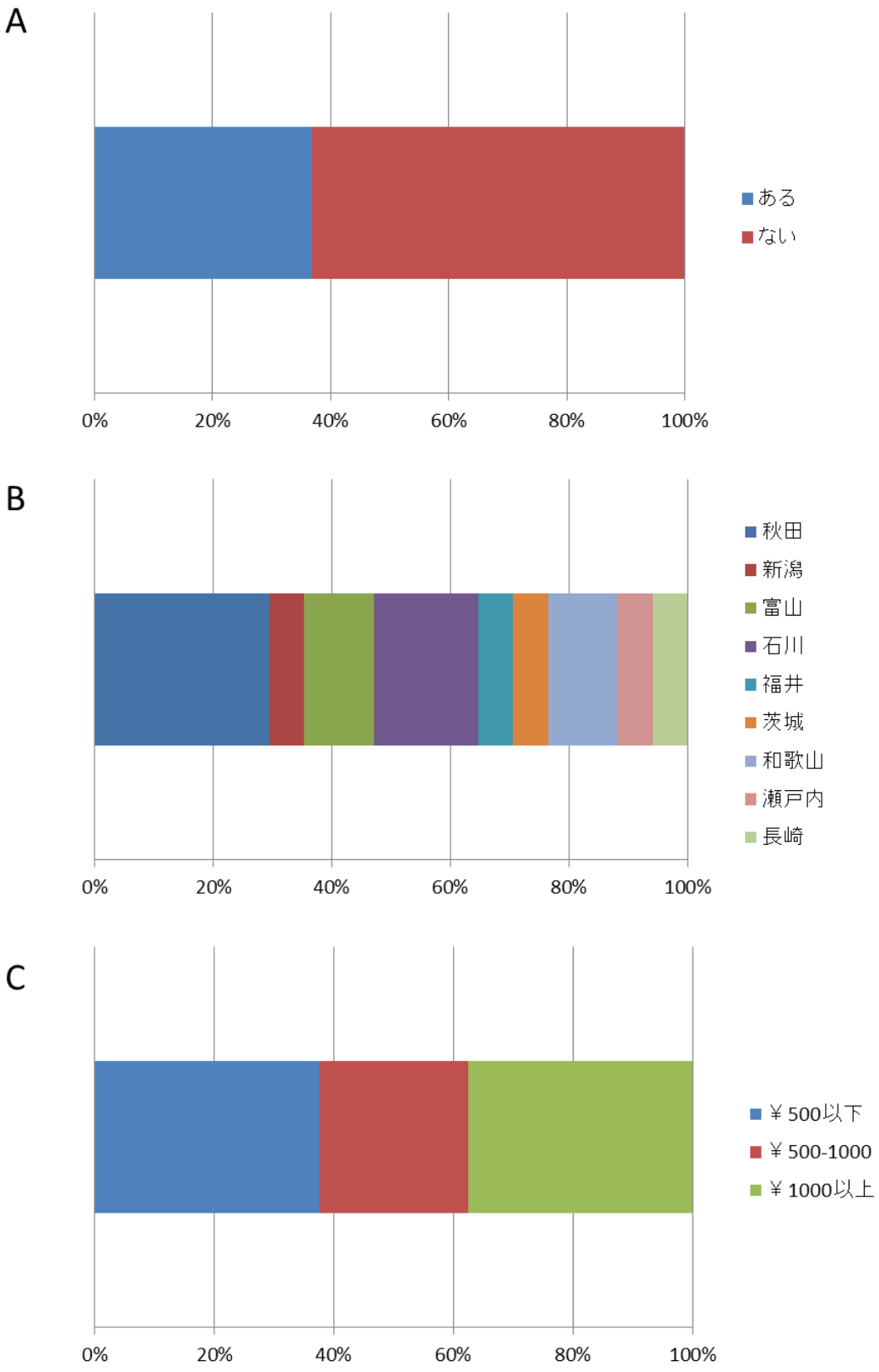


図 IV-27　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 1。

A：イワガキの使用経験

B：使用経験ありのうち、使ったことがある産地

C：使用経験ありのうち、仕入れ単価（円/個）

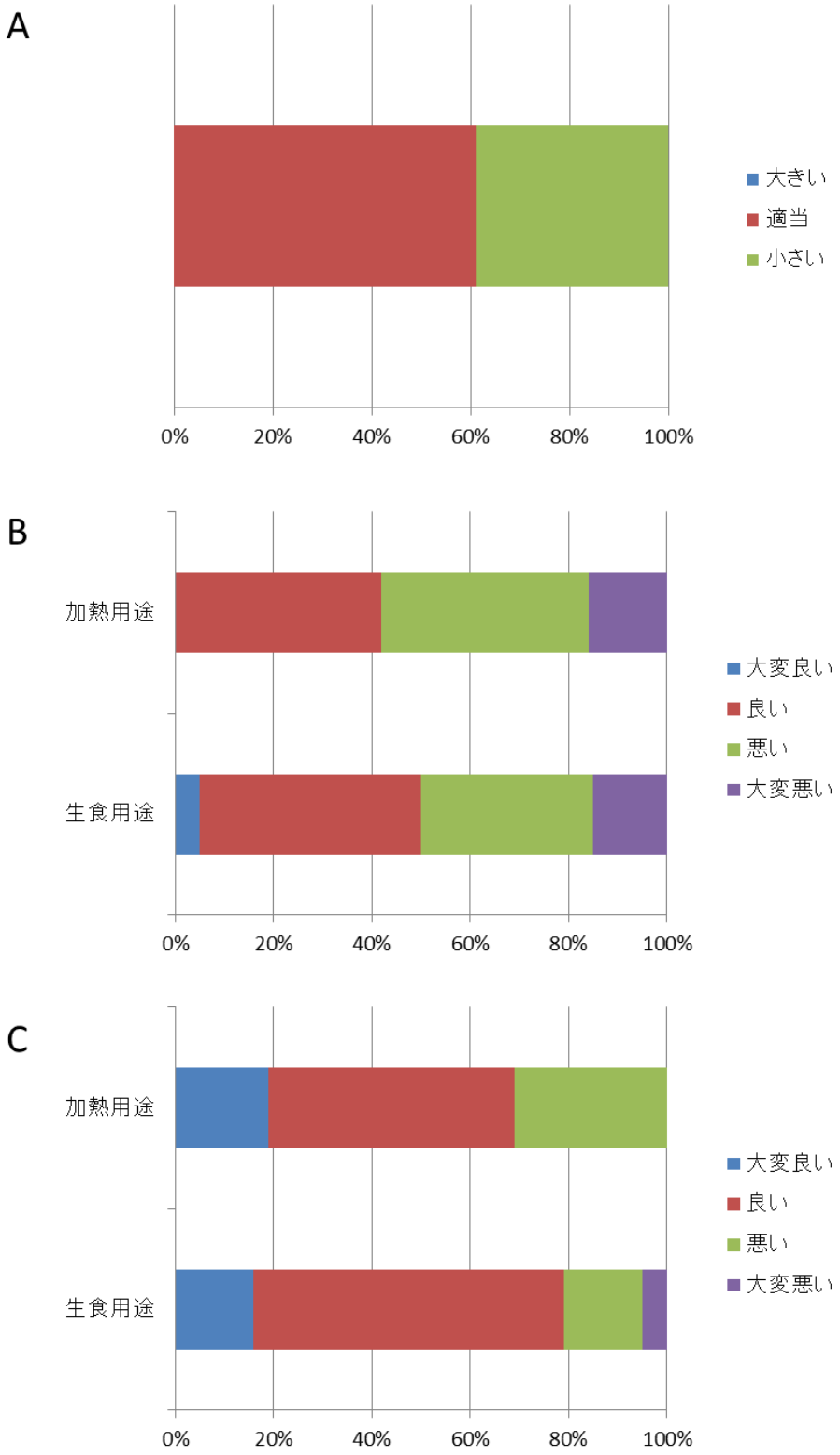


図 IV-28　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 2。

A：養殖イワガキの殻付きでのサイズ

B：養殖イワガキの身入り

C：養殖イワガキの味

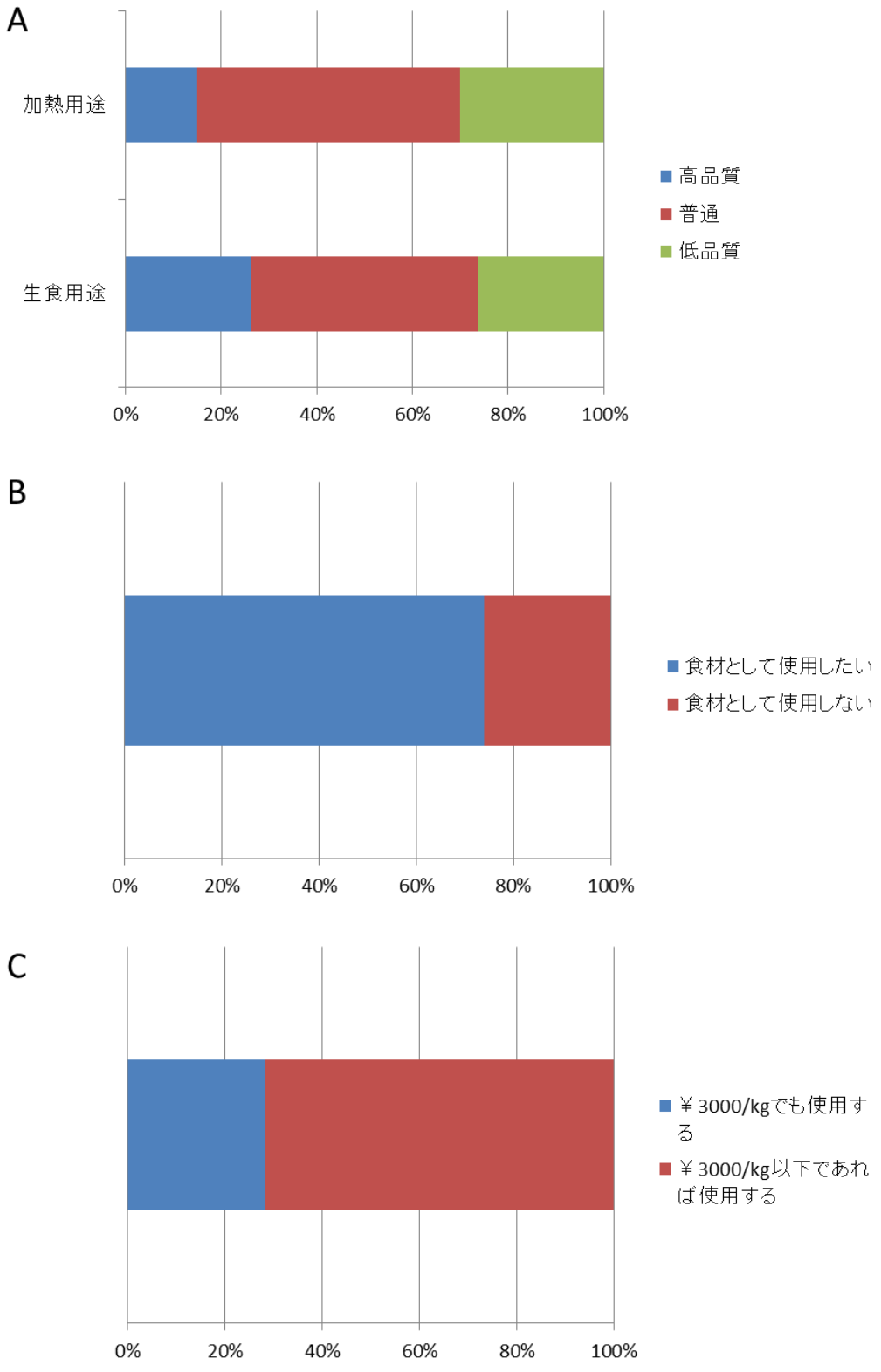


図 IV-29　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 3。

A：養殖イワガキの総合的な品質

B：養殖イワガキの食材としての魅力

C：養殖イワガキの食材としての価格帯

表 IV-15　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 4

イワガキのブランド化に向けた優位点と改善すべき点に関するコメント

現状の優位点	コメント
希少性	・イワガキの流通量がないので、カキ好きの人にはセールスしやすいと思う
地域性	・産地名としてはブランド力があると思うので、品質向上により大きな可能性があります。ワイン産地でもあるので、相乗効果も出ると思います。 ・「道産のイワガキ」としてのイメージは良い
品質	・殻が大変きれいに掃除してある点は評価できる。 ・会社では使用禁止なので具体的コメントはできないが、見た目はとても良いと思います。
改善点	**コメント**
品質	・塩分が強めの為か、舌がピリピリする感じがあった。 ・身の大きさは仙鳳趾などの大型サイズと差がないので、もっと大きな個体を出していった方が良い ・とにかく身入りが悪い、味が泥臭い、イワガキといわれる重量感がない、今のレベルでは無理 ・身入りが良くないのと、殻を開けると脱水する（保水性が悪い）。殻つき300g程度だが、開けて実質身の重さは30g程度。夏にはもともと需要が少ないので、ずば抜けた品質がないと（味を含め）安定した注文をいただくのは困難。 ・個体によるばらつきを極力なくしてほしい。水ガキは食味も劣りますし、火入れする調理では縮みますので。冬場の厚岸産などでも、はじいております。ただし水ガキは少ないです。 ・殻の割に見入りが良くない。加熱したときのうまみが薄く感じた。過加熱になった時の身が固すぎる（料理の幅が広がらない）。イワガキの特徴である身のボリューム感、味の迫力に欠けている。 ・身入りがもう少しあると良いと思う。以前食べたことのある能登産のものに比べると、口いっぱいに広がる海の香りの面で少し控えめのような気がするのは大きさによるものだろうか？ ・夏が旬なのにこの水っぽさはいただけない。クリーミーさが全くない。水っぽいので加熱したら縮みが激しい。うまみより塩味が勝っているというより、塩味しかしない。サロマのかきみたい。もっと大きくなるまで育てたほうがいい。食味にクリーミーさを持たせてほしい。 ・身入り改善。生食でも、お客様にお出しするとき、カットしても身が立つようなカキが良い。
特徴付け	・厚岸のカキエモンのような何かブランド名が必要 ・こだわりのポイント・セールストーク・キャッチフレーズなど、差別化を具体的に！ ・イワガキのクリーミーさと食感の良さを広く周知してもらえる広告が必要。 ・1個で十分満足できるほど大きい、あるいは小粒だが味が濃いなどの特徴を目指すべきかと。何個でも食べられるあっさりとした味で夏向き・・など特徴をはっきりして売り出した方が使いやすい。夕張メロンやアスパラのように夏の北海道イコール・・・・に知名度が欲しい。知名度が上がれば高くても店としては売りやすい。 ・北海道イワガキ1人1個で満足させる大きさが必要。理由はレストランの経営上の問題。お客さんが支払える価格で、かつ興味を引き、お店の利益をあげられる商品が望ましいです。
持続性	・北海道でイワガキというめずらしさも手伝ってコツコツやって少しづつ消費者の心をつかむのが最良だと考えます。どんな食材でもブランド化には時間がかかると思います。

表 IV-16　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 5

イワガキを用いた料理案一覧

フレンチ	イタリアン	和食
生イワガキ　エシャロットビネガーで	イワガキの白ワイン蒸し	イワガキの刺身
イワガキのシャンパン蒸	イワガキのパエリア	イワガキのフライ
イワガキのジュレ	イワガキのピザ	イワガキの酒蒸し
イワガキのムニエル	イワガキと生ウニのカペッリーニ	焼きイワガキ
イワガキのワイン蒸し	イワガキとフレッシュトマトのパスタ	
生イワガキレモン	イワガキと白身魚のカルパッチョ	
ポッシェ・カレー風味	イワガキのグラタン	
イワガキのショーフロワ	イワガキのワイン蒸し香味野菜ソース	
イワガキのリゾット	イワガキの磯ノリと白株ピューレの蒸し焼き	
イワガキの蒸し焼き香草トマトソース	イワガキのワイン蒸し塩水ジュレレモン風味	
イワガキのグラタンカレー風味		
イワガキ低温加熱青のり入りバターソース		
イワガキ低温加熱パセリバター焼き		



図 IV-30　札幌圏の料理店シェフによる奥尻産養殖イワガキの評価結果 3。
イワガキを用いた料理試作例。

6. 関係機関の取組の経緯

イワガキ養殖に関わる関係機関の取組について、各機関の事業実施状況を調べた結果、奥尻町および現地青年部は、平成 23 年度から離島漁業再生支援交付金事業を活用してイワガキ養殖に関する取組を開始した。同様の事業は現在でも継続されており、これと並行して町予算を利用し食材としてのイワガキの PR も行なった。道の行政機関である檜山振興局では、奥尻町の取組を支援する形で地域政策関連の補助金を利用したカキ類の種判別を行なっている他、試験事業であるイワガキ養殖の試験販売時の市場調査アンケートを継続的に実施している。試験研究機関である水産試験場は、現地の取組に追従する形で試験研究事業を実施し、奥尻島周辺のカキ類の生息状況調査、イワガキの人工種苗生産技術開発、イワガキ養殖の事業化に向けた生産安定化などを実施した（表 IV-17）。さらに、奥尻町および現地青年部では平成 29 年度に養殖イワガキを「カキまる」と命名して正式にブランド化する方針を決定した（図 IV-31）。研究事業を通じて生産された養殖イワガキは試験販売および品質評価に用いられ、天然カキの蓄養を実施していた平成 24-26 年は年間 13-15 万円程度が、養殖イワガキが製品になり始めた平成 27 年以降は 20 万円以上の売上に結びついた後、平成 29 年には販売数量が千個を超え、売上が 56 万円に達した。（表 IV-18）。

表 IV-17　イワガキ養殖に向けた現地、行政、試験場の取組

奥尻町および現地青年部		
年度	事業名	取組内容
平成23年度	離島漁業再生支援交付金事業活動報告書（イワガキ増養殖活動）	地場産天然カキの種判別依頼（イワガキ生息地把握）、他産地製品との品質比較、種苗生産用親貝採取
	イワガキ漁場調査（自主的取組）	潜水によるイワガキ生息場所の調査およびサンプル採取
平成24年度	離島漁業再生支援交付金事業活動報告書（イワガキ増養殖活動）	島周辺のイワガキ生息状況調査、人工種苗の養殖試験、種苗生産用親貝採取、地場での種苗生産検討
	奥尻島新食発見事業（町予算）開始	新規食材のPR
	イワガキ養殖試験許可取得	檜山振興局との共同手続き実施
	イワガキ漁場調査（自主的取組）	潜水によるイワガキ生息場所の調査およびサンプル採取
平成25年度 平成26年度 平成27年度 平成28年度	離島漁業再生支援交付金事業活動報告書（イワガキ増養殖活動）	イワガキ生息地調査および親貝採取、地場での種苗生産検討 人工種苗養殖方法改良、2次発生天然カキの種判別依頼 イワガキ養殖継続、種苗生産継続 イワガキ養殖継続、種苗生産継続
その他（不定期）	旅行サイト（じゃらん）でのイワガキ試験販売の広告掲載（町予算）	旅行サイトへの試験販売に関する広告掲載

檜山振興局		
年度	事業名	取組内容
平成23年度	檜山管内のイワガキ生息状況調査（地域政策課予算）	天然カキ類の採取および種判別依頼
平成24年度	イワガキ養殖試験許可取得	奥尻町および漁協との共同手続き
	試験販売による市場調査	蓄養した天然カキ類の試験販売アンケート調査
平成25年度	試験販売による市場調査	蓄養した天然カキ類の試験販売アンケート調査
平成26年度	試験販売による市場調査	蓄養した天然カキ類の試験販売アンケート調査
平成27年度	試験販売による市場調査	完全養殖イワガキの試験販売アンケート調査
平成28年度	試験販売による市場調査	完全養殖イワガキの試験販売アンケート調査

水産試験場		
年度	事業名	取組内容
平成23年度	カキ類の種判別（依頼試験）対応	DNA分析によりカキ類の種を確定する
平成24年度	奥尻島周辺のカキ類の生息状況調査（道総研奨励研究）	DNA分析によりカキ類の種を確定する
平成25年度 平成26年度 平成27年度	イワガキ養殖産業構築に向けた種苗生産技術開発（道総研　経常研究）	イワガキの人工種苗生産技術を開発する
平成28年度	日本海海域における漁港静穏域二枚貝養殖技術の開発と事業展開の最適化に関する研究（道総研　重点研究）	イワガキの種苗生産安定化と養殖生産の効率化を検討し、販売を含めたビジネスモデルを取りまとめる



図 IV-31　平成 29 年度に正式にブランド名が決定された
奥尻産養殖イワガキの島内広告。

表 IV-18　奥尻町におけるイワガキ試験販売数および販売金額の推移

		販売数量(個)	販売額(円)	販売額合計(円)	備考
平成24年	2012年	大:130　中:200	大:78000　中:80000	158000	天然カキ蓄養
平成25年	2013年	大:117　中:233	大:42120　中:93200	135320	天然カキ蓄養
平成26年	2014年	大:96　中:104	大:57600　中:41600	99200	天然カキ蓄養
平成27年	2015年	大:396	大:237600	237600	養殖イワガキ(200g以上)
平成28年	2016年	大:200　中:240	大:120000　中:96000	216000	養殖イワガキ(大:270g以上　中:170g以上)
平成29年	2017年	大:300　中:1120	大:180000　中:381000	561000	養殖イワガキ(大:270g以上　中:170g以上)

考　察

外洋の深水域などにも生息するイワガキは、沿岸の潮間帯に生息するマガキなどに比べ浮遊幼生期の斃死リスクが高く、飼育が難しい種類に当たる。このような技術的にハードルが高い種ではあるが、複数年をかけて共同で試行錯誤を繰り返すことで水産試験場だけではなく奥尻町でも生産が可能となった点は、将来のイワガキ養殖に向けて非常に有望な状況と考えられる。先進地である本州各県では、現在でもイワガキは種苗生産が不安定な種とされており、これと同様に奥尻町でも 2014 年には努力の甲斐なく生産ができなかった年も経験している。しかし、生産不良年を経験した後も挫けずに継続して取り組み、その後は安定して種苗を得られている点は、事業主体となる自治体として非常に有能であると言える。これまでイワガキの種苗生産技術について報告されている内容には断片的な条件検討が多く、まとまった技術資料は存在しない、もしくは秘匿扱いの文書として扱われている様子である。その上、北海道では気温・水温共に低く、イワガキの種苗生産のためには飼育水の加温が必要であった。この様な環境の下でも何とかイワガキの種苗生産が可能になり、その上で開発した技術が現場に普及・実用できた点は本研究の非常に大きな成果である。

イワガキ人工種苗生産のコストを試算した結果、現在の試験養殖規模（約 1 万個/年）の養殖用稚貝の供給で、初年度の消耗品費が約 50 万円と見積もられた。この試算は、北海道の各地に点在するウニやアワビの生産施設の再利用を想定しており、基本的な設備（海水の取水、電気・水道設備、既存の水槽など）は試算には加えていない。これらを試算に含まなかった理由としては、このような大型設備を新規に作ることを想定すると初期投資金額が莫大になり、事業への取り組み自体が非現実的なものになるためである。栽培漁業への取り組みが盛んであった 1970-80 年代には、北海道各地にエゾアワビやエゾバフンウニの種苗生産および中間育成施設が多数整備された。本研究で共同実施している奥尻町の施設も、エゾアワビの中間育成施設として整備された経緯がある。これらの施設の多くは、エゾアワビの価格低迷やエゾアワビの放流効果の不明瞭さから使用頻度が少なくなり、閉鎖へと追い込まれている。この様な有休施設をうまく利用し、時代毎のニーズに適した種へと利用用途を変更していくことで、新たな種の増養殖への取り組みコストは消耗品や人件費に絞ることができ、取り組み開始時の負担を大きく軽減できる。イワガキの場合、稚貝 1 万個を得るために約 70 万円は投資が必要と試算される。得られた種苗のうち 50%が販売サイズに至った場合、暫定金額である 1 個￥600 で販売すると売上が 300 万円となる。この売上に対し、沖出ししてから 3 年間養殖した際の養殖コストが、およそ 45 万×3 年＝135 万円となる。これに出荷時の貝毒検査費用（生食用で約 9 万円/週、加熱食用で約 5 万円/週）や梱包送料なども

全て含めた管理コストを計算し、その総計に見合い、利益が上がる価格と生産数量目標を明確にすることが、本種の養殖業が漁業として成立するかどうかの判断基準になる。筆者らは、2012 年から 2015 年にかけて農林水産技術会議「地域特産化をめざした二枚貝垂下養殖システムの開発」に共同研究機関として参加し、新たな養殖対象 2 枚貝としてアサリを対象とした垂下養殖技術の開発に取り組んだ。この結果、アサリの養殖技術は完成したものの、それを漁業として成立させていくためには短期間で高価値（最低でも￥1500/kg）が見込まれる殻長 40 mm 以上の大型アサリを生産することが必要なことが示された（高木ら　2017）。本試験で用いた金額はあくまで試算であるため、現場での実際のコストは改めて計算し直すことが必要ではあるが、目の前の生産物を育てること自体にとらわれず、「どこに」「いくらで」「どれだけ」販売するのかを明確にして事業に取り組むことが、漁業としての成立に向けて必須の要素である。

奥尻産天然カキの蓄養品および養殖イワガキを奥尻町のイベントで直接販売し、製品評価アンケートを行なった結果、天然カキ類に比べ、養殖イワガキの方が味、身入りともに良い評価を得られた。天然カキの蓄養の際には、イワガキ以外のマガキやコケゴロモガキが混ざって販売されていた可能性があることから、人工種苗を用いた養殖イワガキでは旬が異なる他種が混入することがなく、味・身入り共に安定しことが養殖イワガキの高評価につながったものと推察される。奥尻町では平成 24 年からカキ類の試験的販売に着手したため、4 年目に当たる平成 28 年には、開始当初に比べて知名度の上昇、食べた経験がある人の割合が増えており、特産化に向け少しずつではあるが知名度を上げる事ができていると考えられる。また、現地イベントでの直接販売では、イワガキを再度食べたいという意見が大多数であったことからも、名物としての素養が高い製品であると期待できる。一方、大サイズ 1 個￥600、中サイズ 1 個￥400 という価格には「高い」という意見も半数近くあり、産地ならではの「お得感」に対して消費者からの強い要望があると考えられ、この点に関しては今後の検討が必要である。アンケートの自由コメントについてまとめた結果、大半が特産化の期待と味への高評価であった。一方、天然畜用貝を販売していた平成 24 年には「しょっぱい」という意見が点在していたが、これらは平成 28 年の養殖イワガキでは見られなくなった。この評価の原因も、夏が旬のイワガキ以外のカキ類の混入が原因と疑われており、この様なハズレを出さないことにも、人工種苗由来のイワガキの品質安定性が有益に働いているようである。

プロの料理人による奥尻産イワガキの評価を受けた結果、札幌圏のシェフにおいてはイワガキの使用経験があるシェフは 3 割程度、使ったことがあるイワガキの多くは東北又は甲信越地方の天然イワガキであることがわかり、仕入れ価格も 1 個￥500 以上が多数を占めたことから、奥尻産イワガキの現在の

想定価格である 1 個￥600 という価格は妥当もしくは安価な可能性がある。ただし、味や身入りの評価については現状ではプロの料理人を必ずしも満足させられるレベルには至っていないことから、品質面では改善の余地がある。このような厳しい評価を受けているにも関わらず、食材としての魅力は感じてもらえているようであり、品質の改善次第でレストラン食材としての市場開拓に至る可能性は非常に高い。一方、イワガキのブランド化については、可能性はあるが品質・知名度の両面で一層の努力が必要な様子であった。漁業者にとっては、新たな水産物を水揚げするところまでが仕事のように感じるが、実際には新しい水産物が販売された後に寄せられる消費者からの意見にも真摯に対応する必要がある。このように次々と現れる課題に負けない持続力こそが、ブランド化に向けて最も重要な要素である。本事業を継続する上で、今回のアンケートにあった「期待」の声を生産者に届けることが試験研究機関や行政側からできる事業継続支援になるであろう。

料理人から強く要望されているカキの身入りについては、先進地である本州では早くから様々な工夫がなされている。まず、イワガキ生産の先進地である島根県隠岐では、最も身入りの良い旬の時期にイワガキを冷凍して通年で販売する体制を構築している。一方、広島県では、「カキ小町」というブランドで、3 倍体マガキの生産による成熟抑制技術を用いて、軟体部が大きく卵抜けが無いユニークなカキの生産を行っている。カキ類の 3 倍体作製技術は確立されており、温度、サイトカラシン B およびカフェインによる処理により受精卵の第一極体放出阻止が可能であるとされる（赤繁・楠木 1996）。本方法はイワガキについても有効と推察されるが、広島県が 3 倍体および 4 倍体の生産方法に関する特許を取得しているため、事業目的の利用については注意が必要である。ただし、我々が対象としている北海道産のイワガキはほぼ周年で採卵できることから、低水温による産卵抑制が起こっていることが推察される。このため、養殖場所や水深を工夫することで、長期間身入りの良いカキを生産できる可能性を秘めている。

平成 23 年から始まった奥尻町でのイワガキ養殖事業は、現地の取組はもちろん、行政や試験場が連携して進めている事業である。本事業が継続できていることの根幹点は、研究側だけでなく現地が前向きに継続して事業を行っている点であり、このこと他の増養殖事業と比較して稀有な事例と言える。移り気な漁業者の気持ちを 1 つの事業に留めることは容易ではなく、町役場や現地水産指導所の努力の賜物である。この様な現場の努力を行政・研究の両面が途切れることなく支援できていることも本事業の幸運な点であり、研究側としては平成 28 年度から大型の連携事業へと発展し、日本海漁業対策の重要なモデル事業として位置づけられた。水産増養殖分野の研究において最大の成果は「水揚げ」という形で漁業収益につながることであり、奥尻町のイワガキの事例は試験販売という形態ではあるが実際に売上を

向上することができている。まだまだその規模は小さいものの、全く新たな養殖種を対象とした研究において、この様な現実の漁業収益をあげた事例は貴重であり、技術が利益につながった事例としてはもちろん、将来の漁業化をめざした場合の経営上の試算資料としても有効に活用できる。イワガキのような海面を専有する養殖漁業を実施するためには、海面を独占して利用する区画漁業権の取得が必要になる。この漁業権の許可申請を行なうにあたり、申請する漁業の経営見込みを精査されることから、試験事業を通じて得られた生産コストおよび販売事例は、実際の経営を試算する上での重要な資料になると考えられる。これらの事例は、水産振興を行なう行政、技術開発を行なう研究側双方にとって有益であり、連携した取組ならではの成果である。

以上、本研究により、冷涼な気候の北海道におけるイワガキ種苗生産技術の基本条件を設定し、奥尻町でのイワガキ養殖用種苗の生産を実現した。得られたイワガキ人工種苗は海面養殖に供され、約 3 年の養殖期間を経て水揚げされた後、奥尻町の新規特産物をとなるべく品質評価や市場調査に活用されている。この段階に至るまでにすでに 5 年の歳月を要しており、研究としてはその将来性を判断するなど１つの区切りを付けるべき時期を迎えている。一方、イワガキ養殖への取り組みを産業振興としてとらえると、先進地の島根県ではイワガキの生産安定化や品質改善について、20 年以上の経験の上でもさらなる改善を目指して努力を続けている。彼らは、国内市場の飽和を見越した上でイワガキを「国際流通生産物」として位置づけ、海外を視野に入れた広域流通への展開を進めている（乾　2016）。このような事例を鑑みると、奥尻島で実施している本事業は、産業振興上では始まりに過ぎないという事実がより鮮明なものとなる。新たな漁業を創出するには、莫大な労力とコストが必要であり、作り上げた新たな漁業を普及させるには、さらなるコストと時間が必要になる。大規模に発展した漁業は地場産業となり、地域の経済を支えるために生産安定化と販路拡大に進んでいく。この様な産業化に向けた取組には数十年という時間が必要であり、漁業従事者の意欲の維持はもちろん、それを支えるための行政・研究側のサポートを継続できる体制も今後の課題となるものと思われる。平成 29 年に、養殖イワガキのブランド名が「カキまる」と正式に決定された。現地による産業化に向けた主体的な取組の第 1 歩として非常に喜ばしいことであり、このブランドが奥尻の新たな名物となるよう、関係者全員が今後も協力し、漁業としての成立を目指すことが必要であろう。

第Ⅴ章　総　合　論　議

日本国内において、水産物の天然資源が非常に豊富な北海道ではあるが、過剰な漁獲により過去に幾つもの天然資源を壊滅に追いやった経験から、現在の漁業関係者は資源管理や資源増殖の取り組みに対する意識が高い状況にある。四方を環境の異なる海洋に囲まれた北海道では、多種多様な水産ニーズが日々生じており、実際の漁業に役立つ試験研究を行うことがますます重要になっている。そこで本研究では、地域やニーズ、対象生物などが異なる 3 つの水産増養殖研究事例について研究成果を取りまとめるとともに、研究成果の実際の漁業現場での活用にも踏み込んだ調査を行なった。得られた研究成果や調査結果から、本章では北海道における地域のニーズに対応してこうてき研究機関が行う研究の計画立案に必要な条件について考察する。

(1) 海産胎生魚クロソイの種苗生産安定化に関する研究

北海道では 1997 年からクロソイ人工種苗の放流事業が開始された。放流用種苗の生産数は 2005 年頃までは 60 万尾規模であったが、その後減少して 2015 年時点で 20 万尾程度まで減少している。このような放流数の減少は、放流効果の不明瞭さや魚価の低迷が原因と考えられるが、一方で継続的な事業として中間育成と放流を続ける地域も存在する。本研究では、このような時代の変化に合わせ、必要な種苗を必要な数だけ安定して生産するための 1 つの方法としてクロソイの人工授精について検討を行なった。まず、クロソイの人工繁殖技術を開発するため、実際に本種の人工授精を試みた。2012 年から 2014 年にかけて、成熟雄から得た精子を経産雌魚に注入する方法で人工授精を実施したところ、2012 年で約 3 割、2013 年と 2014 年で約 6 割の妊娠魚が得られた。これらの試験を通じて、精子の希釈液を検討した結果、雄の尿又は牛胎児血清が有効であることが、また精子の注入器具には、ゾンデが最も利用しやすいことが明らかになった。さらに、人工授精が有効な期間として、10 月から 12 月にかけて 2 ヶ月間の実施可能期間があることが示された。人工授精により生まれた仔魚数は、天然魚のよう卵数と比較しても遜色が無く、十分量の精子を注入できていると考えられた。また、人工授精により生まれた仔魚が、人為的に注入した精子に由来するかを調べるため、マイクロサテライト解析を行なったところ、2012 年および 2013 年に実施した人工授精で生まれてきた仔魚と親魚の親子関係は明確に証明された。開発した人工授精技術を用いて、現状のクロソイ放流用人工種苗生産にかかるコストの低減効果を調べた結果、特に親魚飼育尾数の削減によるコスト低減効果があると見積もられた。これらの結果から、本研究で開発したクロソイの人工授精技術を利用することで、クロソイ種苗生産の安定化やコスト削減ができる可

能性が示された。

本研究を通じて開発した人工授精方法は、クロソイ種苗の生産を行う北海道栽培漁業振興公社瀬棚事業所に技術移転を行ない、2015 年の春には産仔が確認されている。しかし、技術的に可能であるからといって、これまで自然交尾した親を用いて大量種苗生産を続けてきた施設にとって急に従来の手法を全面的に変えるのは不安であり、変化には時間が必要な様子である。北海道で放流用種苗の生産を担う栽培漁業振興公社は、施設の老朽化も進み、運営コストの低減や生産魚種の多様化による収入増が求められている。本研究により開発した人工授精技術を活用した場合でクロソイの仔魚確保に必要なコストの試算を行なうと、親魚飼育尾数を減らすことで餌料費および人件費の大幅な削減ができる可能性が見出されており、種苗生産施設の存続に貢献できる見込みである。さらに、近年では天然集団の遺伝的多様性に配慮した種苗放流事業が求められていることからも、人工授精技術の活用により遺伝的に多様な放流用種苗を作ることが、今後の放流事業継続に向け重要になってくると予想される。

本研究は、研究事業の成果が漁業に直結するものではなく、種苗生産技術の改善に相当するものであった。そのため、本研究によって漁獲量や漁業収入などの増加に寄与する成果は一切出ていない。このような状況にも関わらず、本研究を実施した道総研経常研究の事業評価では「計画以上の成果」に当たる最も良い評価を得ることができた。この評価理由として、以下のような内容が示された。

①革新的な基礎研究としての評価：冷水性の海産胎生魚類で初めて人工授精技術を開発した。

②遺伝的多様性への配慮：国が進める遺伝的多様性に配慮した放流に寄与する技術である。

③技術の普及：開発した人工授精技術が現場にすでに普及された。

このようにクロソイの事例では、近年の実用的な成果が求められる研究評価において、基礎研究が主体となる技術開発であっても、事業の新規性、社会情勢への対応および実利用者への普及などの結果を示すことで、十分に研究成果として評価を受けることが可能であることが示された。本事例から、基礎的要素を含む研究については、「基礎研究か実用研究かの判断」、「具体的な技術普及先の有無」、「基礎研究としての新規性」を明確に示すことが重要であることが明らかになった。

(2) 北海道産アカザラガイの種苗生産および採苗に関する研究

北海道函館市は、道内でホタテガイ養殖が盛んになる以前からアカザラガイを食材として利用する地域であった。このことから、現在でも季節的にアカザラガイが水揚げされているが、市内のレストランや宿泊施設からは、安定した生産があれば特産食材としての利用が可能との声が上がっており、本種の増養殖技術開発に関する要望が挙げられた。本研究ではこの要望を受け、アカザラガイの人工種苗生産

技術開発を行った。まず、アカザラガイの人工種苗生産を試みた結果、本種は人工的な産卵誘発により採卵が可能であることが示された。得られた浮遊幼生を市販の餌料で育成することで、着底稚貝まで生産することが可能であるが、過密飼育や高温による斃死が発生することも明らかになった。次に、天然採苗について検討を行なった結果、函館漁港において、水温が概ね 20℃ になる時期に本種の天然採苗が可能であった。人工種苗生産では着底基質としてロープ類が適していたのに対し、天然採苗ではネトロンネットが適していた。また、人工採苗では大量の小型種苗が、天然採苗では少量の大型種苗が得られるという特徴があることが示された。本研究により、アカザラガイの種苗生産について、人工種苗生産・天然採苗共に可能であることが示された。これらの研究成果は、並行して函館水産試験場にて実施された養殖試験により、人工種苗で 3 年、天然種苗で 2 年の養殖期間で出荷サイズに至ることが明らかになった。

以上の結果から、技術開発上はアカザラガイの採苗から養殖・出荷に至るまでの道筋が明確に示された。これらの研究成果は、報告会を通じて要望元である函館市、函館市漁業協同組合および沿岸漁業者に対して周知を行なった。しかし、実際には本成果は漁業に活用されることなく現在に至っている。函館市から研究ニーズが上がったにもかかわらず、開発された技術が活用されなかった背景には以下のような事情がある。

①要望者と漁業従事者の相違：アカザラガイの増養殖研究のニーズを上げたのは函館市であり、漁業従事者ではなかった。

②漁業従事者の豊かさ：関連漁業者はウニ・アワビ漁業を中心として豊かな水揚げを誇っており、アカザラガイの増養殖に取り組む時間を既存の漁業に当てた方が良い収益が得られる。

③漁業者が優先して希望する要望：密漁対策、港湾に隣接する漁港であることから漁場と航路の関係改善、部分的磯焼けへの対応方法、港湾工事による漁場の変化への対策などが優先である。

アカザラガイの事例からは研究ニーズによる課題解決が達成されても漁業に結びつかなかった場合の非常に明確な課題が浮かび上がった。すなわち、研究事業の計画に当たっては「漁業従事者の意欲」、「新規漁業への取り組みを行う時間的余裕」、「新規生産物の販売の目処」について事前に十分に検討する必要がある。

(3) 北海道におけるイワガキ養殖に関する研究

北海道の奥尻町では、島周辺に生息していることが明らかになったイワガキを将来の特産品として育てるべく、イワガキの養殖を目標として、技術開発を要望している。国内でのイワガキの養殖は島根県

隠岐の島町で始まり、現在でも全国一の生産を誇る。本種は温かい海の外洋性のカキ類であることから、これまで北海道で技術開発の対象とされることはなかった。本研究では、奥尻町からの要望を受け、冷涼な気候の北海道におけるイワガキ人工種苗生産技術の開発を行なった。まず、種苗生産用の親貝の確保のため、奥尻島周辺のカキ類の生息状況を調査するため、島周辺の様々な場所で採取された天然カキ類の遺伝子情報に基づいた種判別を行なった。その結果、奥尻島周辺にはイワガキを含む計 4 種のカキ類が混在していることが明らかになった。このうち、イワガキ、マガキおよびコケゴロモガキについては外観からの種判別が困難であり、遺伝子情報に基づく種判別が必要であることが示された。次に、イワガキの養殖用種苗を得るための人工種苗生産技術について検討した結果、本種は切出法により簡便に採卵が可能であり、水温 25℃ で複数種の微細藻類を餌料として用いることで着底期まで育成できることが明らかになった。着底期幼生は、ホタテガイ貝殻を基質として用いることで効率的に稚貝を得られることが示された。これらの結果から、北海道におけるイワガキ人工種苗生産の基本的な技術が確立された。

開発した種苗生産技術は奥尻町あわび育成センターに技術移転を行ない、2013 年に初めて奥尻産のイワガキ人工種苗の生産がなされた。試験場および現地で生産したイワガキ人工種苗は、ひやま漁業協同組合奥尻支所青年部の手で海面養殖に利用され、2015 年に初めて養殖イワガキの試験販売に至った。本事業は、平成 23-25 年に実施した道総研経常研究の研究評価の場において漁業現場に直接的に活用される成果を上げたものとして「計画以上の成果」に当たる最も良い評価を得ることができた。この評価理由として、以下のような結果が示された。

①環境変化に対応した研究事例：近年日本海南部で見られる海水温上昇により、漁業対象生物が変化しており、このような環境変化に対応した漁業を提案する重要な例である。

②種苗生産技術の普及：開発した種苗生産技術を現場に普及し、実際に現地で生産が行なわれた。

③成果物の販売実績：開発した種苗生産技術を通じて得られたイワガキ人工種苗を実際に養殖し、製品としての試験販売実績を得た。

④官民一体の取り組み：北海道、奥尻町、漁業者が連携して事業を実施しており、地域振興として強い期待が持たれている。

イワガキの事例では、研究評価項目に明確に合致した成果が上げられたことが、高い評価の理由となった。本事例から、水産増養殖研究が実利用されて成果を産み発展していくために「官民一体の連携体制の確立」、「研究機関以外での独自事業の連携」、「漁業従事者の意欲の維持」および「明確な成果物の提示」が重要であることが示された。

以上、本研究にて得られた知見から、様々なニーズに対し研究機関がどのように対応するべきであるかを考える上での基本的な条件について、段階的に精査するための調査票を立案した（図 V-1～3）。立案表は記載項目を簡素化し、事務書類にありがちな記載そのものへの負担を可能な限り軽減することに努めた。まず、図 V-1 に示した実務者（漁業者、漁協職員、種苗生産担当者　等）を対象者としたチェックシートでは、要望内容に対する意欲、既存業務における余暇時間および協力可否、新規事業への期待（具体的な収益やコスト削減）を項目として設け、要望者自身の成果利用に関する意識を明確にすることを目的とした。次に、図 V-2 に示した行政担当者向けのチェックシートでは、地域の実務者の意思確認、研究・行政の連携意欲、成果がもたらす地域振興への効果の見込みなどを具体的に記載する項目を設け、特定作業者への安易な依存を防ぎ、共同で事業を実施する意識の確認を行うことに重点を置いた。最後に図 V-3 の研究担当者向けのチェックシートでは、地域からの要望を冷静に判断し、研究要素の分析および分類、成果見込みの想定、具体的な予算獲得計画を盛り込むことで、研究事業実施に向けた準備状況を整理する内容とした。これらのチェックシートにて得られた情報から、図 V-4 に示したフローチャートで全体状況を整理することで、研究事業としての対応の見極めや不足している項目の把握に繋がる仕組みである。このような体系化した状況整理は、要望者側に対して研究対応を行うに当たり必要な要件をわかりやすく示すことにも役立つ。

最後に、本研究では 3 つの具体的な事例を通じ、Ⅱ章では既存事業のコストダウンを、Ⅲ章では新規取組の技術確立を、Ⅳ章では新規漁業の基盤の確立を研究成果として明示した。さらに、これらの事例から得られた知見から、今後の水産増養殖事業の実施に向けた情報整理基盤を提示した。特に、Ⅳ章で示したイワガキの養殖産業の確立に向けた取組は、将来の北海道の水産業の発展に向けた新たな漁業の創出のモデルとなる可能性を秘めている。これらの成果が将来の北海道の水産業の発展に寄与することを願い、稿を終える。

水産増養殖研究ニーズに関するチェックシート（実務者向け）

要望者（グループの場合代表者）
氏名： 職業：　漁業従事者　・　生産者グループ　・　その他（　　） （連絡先） 住所： 電話番号： FAX： E−mail:
要望内容
題名： 具体的内容：
要望内容に対する興味・意欲
課題解決に向けた協力の可否（調査協力　研究資金支出予定など）
既存業務の余暇時間見込み
新規取組に期待する漁業収益又はコスト削減

図 V-1　水産増養殖研究ニーズに対応するためのチェックシート（実務者向け）。

水産増養殖研究ニーズに関するチェックシート（行政関係者向け）

要望者（グループの場合代表者）
氏名： 職業：　市町村職員　・　その他（　　） （連絡先） 住所： 電話番号： FAX： E-mail:
要望内容
題名： 具体的内容：
要望課題達成時の実利用者との連携体制
課題解決に向けた協力の可否（調査協力など）
予算を伴う研究受託の有無および行政側で並行して実施する関連事業
受託研究依頼（有り　・　無し）　有りの場合の事業名： その他事業予定（有り　・　無し）　有りの場合の事業名：
新規取組に期待する地域振興成果

図 V-2　水産増養殖研究ニーズに対応するためのチェックシート（行政関係者向け）。

水産増養殖研究ニーズに関するチェックシート（研究担当者向け）

要望者（グループの場合代表者）
氏名： 職業：　大学教員　・　試験研究機関職員　・　その他（　　） （連絡先） 住所： 電話番号： FAX： E-mail:
対象とする要望内容
題名： 具体的内容：
研究要素（新規性・産業価値）
基礎研究　・　実用研究（いずれかに◯） 新規性： 産業価値：
具体的な成果活用の見込み
有り　・　無し 成果活用者：
具体的な成果物発生の見込み
有り　・　無し 成果物：
想定される研究事業立案先
競争的資金（外部予算）　・　競争的資金（内部予算）　・　その他（受託研究等） 事業実施期間：　　予算申請時期：

図 V-3　水産増養殖研究ニーズに対応するためのチェックシート（研究担当者向け）。

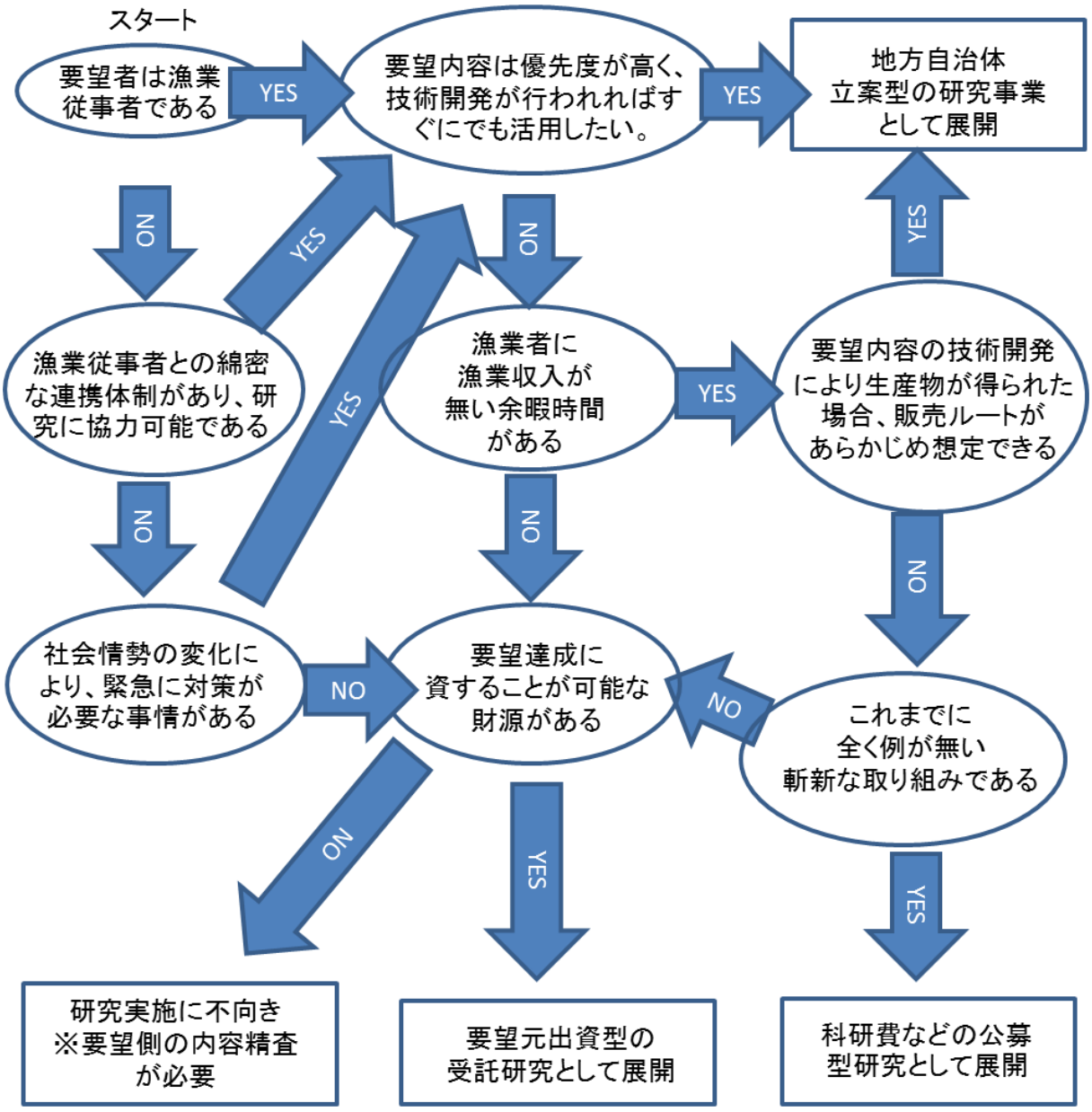


図 V-4　調査表の情報に基づく事業化検討用フローチャート。

謝　辞

稿を進めるにあたり、本研究に終始御懇切なる御指導と激励を頂いた北海道大学大学院水産科学研究院、足立伸次教授ならびに東藤孝准教授に心から感謝致します。また、ご多忙の中、御校閲を頂いた北海道大学大学院水産科学研究院、都木靖彰教授、井尻成保准教授、平松尚志准教授ならびに浦和寛助教に深く感謝致します。また、研究を進めるに当たり、実験にご協力頂くと共に多大なご支援を頂いた北海道立総合研究機構栽培水産試験場の西内修一前場長、蔵田護場長、齊藤節雄前部長、森立成部長、清水洋平博士（現中央水産試験場研究主幹）、函館水産試験場の金森誠氏をはじめ、研究職員、実験補助員の皆様には心から感謝致します。

第Ⅱ章の研究については、道総研経常研究「ソイ・メバル類の人工繁殖に向けた基礎研究」の一部として実施した。事業の推進に当たり、作業および分析技術についてご指導およびご協力を頂いた栽培水産試験場の森立成博士および清水洋平博士にこの場を借りてお礼を申し上げる。本研究を実施するに当たり、試験魚の確保にご協力頂いた北海道栽培公社せたな事業所、いぶり噴火湾漁協豊浦支所に深く感謝する。また、本研究の取りまとめに当たり、包括的な助言を頂いた北海道大学水産学部東藤孝准教授、平松尚志准教授、ニュージーランドオタゴ大学の Mark Lokman 博士に深くお礼を申し上げる。

第Ⅲ章の研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「地域特産化をめざした二枚貝垂下養殖システムの開発」の一部として実施した。本研究で用いたデータの一部は、函館水産試験場　金森　誠博士よりご提供頂いた。この場を借りてお礼を申し上げる。本研究を実施するに当たり、作業・取りまとめなどの様々な面でご協力頂いた共同実施機関（特に共同実施した函館水産試験場および渡島水産指導所）の皆様に深く感謝する。また、本研究の遂行にあたり函館市漁業共同組合青年部には供試貝の採取や調査にご協力頂いた。関係機関の方々に深くお礼を申し上げる。

第Ⅳ章の研究は、道総研経常研究「イワガキ養殖産業構築に向けた種苗生産技術開発」および道総研重点研究「日本海海域における漁港静穏域二枚貝養殖技術の開発と事業展開の最適化に関する研究」の一部として実施した。事業の推進に当たり、飼育作業および分析技術についてご指導およびご協力を頂いた栽培水産試験場の清水洋平博士にこの場を借りてお礼を申し上げる。本研究を実施するに当たり、親貝の確保にご協力頂いたひやま漁業共同組合奥尻支所青年部の皆様および奥尻町の横田稔様、道下一嗣様に深く感謝する。また、本研究の取りまとめに当たり、アンケート調査結果等のご提供を頂いた、中央水産試験場の宮園章博士、檜山水産普及所奥尻支所の歴代の普及員の皆様、北海道庁水産課の皆様にこの場を借りて感謝の意を表する。

第 VI 章　要　約

本研究では、北海道で実施された具体的な増養殖事業に関する研究事例として、クロソイ *Sebastes schlegelii* の人為繁殖および新規貝類の養殖に関する技術開発を行なった。まず、クロソイの人為繁殖技術を開発するため、人工授精技術の開発と、その有効性の検証を行なった（第Ⅱ章）。次に、新規貝類養殖事例として、アカザラガイ *Chlamys farreri akazara* の人工種苗生産技術を開発した（第Ⅲ章）。さらに、新たな地域特産物の創出をめざした、イワガキ *Crassostrea niponna* の生息状況調査、種苗生産技術開発および開発した技術の現場普及を行なった（第Ⅳ章）。以下に得られた知見について要約する。

1. 2012 年から 2014 年にかけて、クロソイ成熟雌魚への人為的な精子の注入による産仔の有無について調べた。その結果、2012 年で約 3 割、2013 年および 2014 年で約 6 割の雌が産仔した。これらの知見から、人工授精技術を用いることで、自然交尾での産仔に比べ親魚の飼育尾数を低減し、コスト削減に繋がる可能性が示された。

2. クロソイの人工授精の際、精子を注入する器具として、分注シリンジ＋チップ、ゾンデおよびカニューレを用いて実際に人工授精を行った。その結果、分注シリンジ＋チップおよびゾンデを用いた場合に妊娠魚が得られた。また、作業性においてゾンデが優れていた。以上の結果から、クロソイの人工授精においては、ゾンデを用いて精子を注入する方法が有効であると考えられた。

3. クロソイの精子は精漿成分が少なく粘性が高いことから、そのままでは人工授精の際に雌への精子の注入が困難である。そのため、雄の尿および牛胎児血清（FBS）を用いて、精子の注入を行う際の希釈液の検討を行なった。その結果、どちらを用いた場合でも妊娠魚が得られた。これらの知見から、尿が採取できた場合には尿を用い、万が一の場合に備えて市販品である FBS を希釈液として利用できることが明らかになった。

4. 2012 年から 2014 年の人工授精において、10 月から 12 月までの様々な時期に人工授精を実施した結果、これらの全ての時期において妊娠魚が見られた。人工授精を実施した時期の水温から、10 月から 12 月の水温が 15℃ から 6℃ 程度までの間で人工授精が可能であることが示された。これらの結果から、クロソイの人工授精では、およそ 2 ヶ月もの幅を持って実施できることが明らかにな

り、余裕をもって作業を実施できると考えられた。

5. クロソイの人工授精に、鮮魚又は活魚から採取した精子を用いた結果、これらのどちらでも妊娠魚が得られた。この結果から、精子の採取は活魚に限らず、新鮮な鮮魚から得たものでも人工授精に有効であることが示された。この知見から、種苗生産に用いる親魚のうち、雄は必ずしも飼育する必要が無いことが明らかになり、飼育コスト低減の可能性を示した。さらに、入手が容易な漁業で確保された天然魚から精子を得ることで、遺伝的多様性に配慮した種苗生産を行えると考えられた。

6. 人工授精により妊娠した親魚の産仔数を調べた結果、数万-最大 50 万尾と個体差が大きかった。しかし、この様な産仔数のばらつきは自然交尾魚と同様であり、問題無いと考えられた。これらのことから、本研究で実施した人工授精により、十分量の精子が注入できていたことが推察された。

7. クロソイの人工授精を行なった結果、実施した雌のうち 30-40%程度では腹部の膨満が見られなかった。卵巣の組織観察の結果、これらは、雌が人工授精実施年に成熟しなかった場合と、人工授精が失敗している場合の 2 通りがあることが推察された。これらの結果から、人工授精技術の成功率は 60%程度であることを理解して実施することが必要であると考えられた。

8. クロソイの親子鑑定に用いるマイクロサテライトマーカーの検討を行なった結果、検討に用いた 8 種のマイクロサテライトのうち、4 種で十分な多様性が見られ、これらの組み合わせにより 94.5%の精度で親子鑑定が可能であることが明らかになった。これらのマーカーを用い、2012 年および 2013 年に実施した人工授精で生まれてきた仔魚と親魚の親子関係は明確に証明された。2014 年に実施した人工授精により 19 尾の雌から生まれてきた仔魚のうち、3 尾の雌から産仔された仔魚は、親子関係が明確でないものが含まれていたが、これらは人為的なサンプルの取り違え等の作業ミスである可能性が考えられた。

9. 人工授精に用いる精子を、複数の雄から得られた精子を混合して雌に注入した結果、1 尾の雌の体内に、複数の雄に由来する仔魚を妊娠することが明らかになった。また、注入する精子の量を検討した結果、貯精嚢 1 g に対し希釈液 1 mL の割合で摩砕したものを雌 1 尾当たり 0.1 mL 注入することで、受精に必要な十分な量の精子が賄えていることが明らかになった。

10. 北海道内のクロソイの増養殖事例を調べた結果、放流を主体とする増殖の事例については、事業継続上の問題は見られなかった。一方、養殖を目的とする事業では、採算性が課題となり事業の終了をする事例が見られた。これらの結果から、特に養殖に当たる事業を行う場合は、実施コストに見合う販売計画の試算が非常に重要であると考えられた。

11. クロソイの種苗生産について、既存の方法と人工授精技術を用いた場合のコストを試算した結果、親魚飼育尾数削減について人工授精技術の導入によるコスト削減効果が見積もられた。この知見により、今後の種苗生産事業の継続に向けて本研究成果の有効性が示された。

12. アカザラガイの人工および天然採苗を試みた結果、どちらの方法でも養殖用の種苗が確保できることが明らかになった。これらの結果から、北海道において、アカザラガイの養殖を行なう場合の種苗の確保が可能であることが示された。

13. 産卵誘発法により、アカザラガイ母貝の産卵リズムについて調べた結果、アカザラガイは複数回産卵であり、概ね 2 週間に 1 度まとまった量が採卵できることが明らかになった。また、1 個の母貝から得られる卵数は最大 900 万粒にも及ぶことから、人工種苗生産に用いる為の十分な卵を得ることが可能であることが示された。

14. アカザラガイの人工種苗生産の効率化のため、受精卵の管理における密度、水温および光の強さの影響を調べた。管理密度の影響を調べた結果、海水 1 mL 当たり 60 個以上の密度で管理すると、D 型幼生への移行率が優位に低下することが示された。水温の影響について調べた結果、受精直後に 25℃ 以上の水温にさらされることで、D 型幼生の奇形が発生することが明らかになった。受精卵管理時の光の強さは、特に影響が見られなかった。以上の結果から、アカザラガイの受精卵管理において、高密度や高水温を避ける必要があることが明らかになった。

15. アカザラガイの D 型幼生の成長過程について調べた結果、中国で報告されている事例と概ね一致していた。また、着底期に大量減耗することが明らかになった。アカザラガイの浮遊幼生は、人工飼育下で育成が可能であることが示され、浮遊幼生期の生残向上に、カキ卵巣磨砕物が有効であることが明らかになった。

16. アカザラガイ着底期幼生の効率的な着底方法を調べるため、様々な着底基質を用いて着底生残数を調べた。人工飼育下での効率的な着底方法を調べた結果、麻ロープで最も着底数が多かった。また、特殊な着底方法として、ダウンウェリング水槽での着底成績も良かった。天然採苗で基質の検討を行った結果、麻ロープでは腐敗が見られ、樹脂性の基質の方が着底数が多かった。また、得られるアカザラガイ稚貝は、人工飼育に比べ天然採苗の方が大きな種苗が得られることが示された。

17. 人工飼育下での着底において、給餌量の検討を行なった結果、給餌量を増やした群で多くの着底稚貝が得られるが、稚貝は小さかったことから、着底後には必要とする餌料が急増し、成長は給餌量に依存する可能性があると考えられた。

18. 函館漁港にて、アカザラガイの天然採苗方法を検討した。その結果、採苗基質としてネトロンネットを用い、6-7 月頃の水温が 20℃ 程度に上がる時期に海面に垂下することで、効率良く稚貝が得られる可能性が見いだされた。ただし、早期に採苗器を投入すると大型の稚貝が少数得られ、遅い時期に採苗器を投入すると小型の稚貝が多数得られることから、必要な種苗の数や大きさに合わせて採苗時期を調整する必要がある。

19. 奥尻島周辺のカキ類の生息状況を調べるため、島周辺で得られたカキ類の DNA を抽出し、ミトコンドリア 16S リボゾーム RNA の部分配列解析を行った。その結果、奥尻島周辺には、マガキ *C. gigas*、イワガキ、コケゴロモガキ *Ostrea circumpicta* およびオハグロガキ属の 1 種 *Saccostrea* sp.の計 4 種が混在していることが明らかになった。このうち、マガキ、イワガキおよびコケゴロモガキの 3 種は外観からの種判別が困難であり、遺伝子解析による種判別が必要であると考えられた。

20. 本研究にてコケゴロモガキが見つかったことで、従来能登半島以南とされていた生息域の北限を更新する発見となった。また、オハグロガキ属の 1 種は殻の縁に円筒状の長棘構造を持つという形態的特徴を有しており、これはケガキの特徴と似ているが、遺伝的には明確に異なっており、未記名の新種と考えられた。

21. 天然カキ類の種判別結果と採取水深および殻高の関係から、イワガキについては、水深 5 m 以深で殻高 110 mm 以上のものがイワガキである可能性が高いと考えられた。

22. イワガキの採卵方法として、産卵誘発法と切出法を検討した。どちらの方法でも種苗生産に十分な量の卵が得られることが明らかになった。前者では、親貝を殺さず採卵できる点が後者では作業が簡便である点がメリットであり、親貝が貴重な場合に前者を、親貝が十分に確保できる場合には後者を用いるべきと考えられた。

23. 切出法により得られた卵と精子を用い、人工授精に用いる卵と精子の混合割合を検討した。その結果、卵数に対して 10 倍〜1 万倍量の精子を混合することで、比較的高い割合で D 型幼生が得られることが明らかになった。また、簡易な精子数計数法として、470 nm の吸光度から推定する方法を開発した。

24. イワガキの受精卵から稚貝までの試験的育成を行なった。その結果、D 型幼生は水温 25℃ で約 30 日の浮遊生活を行った後に着底期に至り、着底後 2 週間程度の飼育により肉眼で観察可能な 1 mm 程度に成長した。その後、約 1 か月で殻高 10-20 mm 程度まで水槽で育成できることが明らかになった。これらの知見から、北海道でもイワガキの人工種苗生産が可能であるが、本州に比べ育成期間が長くなる傾向があると考えられた。

25. イワガキ受精卵の管理水温の検討のため、18, 25 および 30℃ で 42 時間培養した。その結果、水温 25℃ で最も多くの D 型幼生が得られた。D 型幼生の殻長は水温が高いほど大きくなる傾向が見られたが、30℃ では生残が悪かった。以上の結果から、イワガキ受精卵の培養は 25℃ 以上 30℃ 以下が望ましいと考えられた。

26. イワガキ受精卵の管理密度の検討を行なった結果、海水 1 mL 当たり受精卵 30 個以下であれば D 型幼生への移行率が 80%以上になることが明らかになった。D 型幼生の飼育密度の検討結果から、海水 1 mL 当たり 1 個以下が適しているという結果から、卵管理密度を過剰に高くする必要性は低いと考えられた。

27. イワガキ D 型幼生は殻長 80 μm 程度と小さいため、初期餌料に用いる微細藻類として細胞が小さいキートセラス・カルキトランス、パブロバ・ルセリおよびイソクリシス・タヒチ株について有効性を検証した。その結果、パブロバ・ルセリで生残と成長が最も優れていたことから、初期餌料とし

て適していると考えられた。

28. イワガキの着底に用いる基質の検討を行なった結果、ホタテガイの貝殻が樹脂製の基質に比べて圧倒的に着底数が多いことが明らかになった。着底時の飼育水温について検討した結果、水温 25℃以上で着底させることが効率的と考えられた。以上の結果から、イワガキの着底にはホタテガイの貝殻を着底基質として用い、水温 25℃ 以上で飼育を行うことが望ましいと考えられた。

29. 本研究にて開発した、北海道でイワガキの種苗生産を行なう方法は、研究要望元である奥尻町の担当者に技術移転をした。その結果、生産不調年が 1 年だけ発生したものの、その後は概ね順調に種苗生産ができている。これらの結果から、本研究にて開発した北海道におけるイワガキ種苗生産技術は実用的な技術であると考えられた。

30. イワガキ養殖の事業化に向け、種苗生産コストおよび養殖管理コストを試算した結果、消耗品および人件費で年間約 200 万円程度が必要と試算された。必要経費としては、これ以外に衛生検査費用や流通にかかる費用が別途必要である。試験養殖規模で種苗の半分が製品化されたことを仮定して、1 個 600 円で 5000 個が売れた場合の収入は 300 万円であり、漁業収入を上げるためには生産規模の拡大が必要と考えられた。

31. 養殖イワガキを用いた一般向けの試験販売による製品評価アンケートを実施した結果、製品についての評価は高かったものの、1 個 600 円の価格設定に対しては高いという評価が多かった。天然カキの畜養に比べ、人工種苗から育成した養殖イワガキは品質の安定性が高い傾向が見られた。

32. プロの料理人による養殖イワガキの品質評価の結果、製品としての魅力は高い評価を得られたが、特に身入り品質の不安定さについて厳しい評価を受けた。価格については、品質の改善次第で高価値な製品にできる可能性が見いだされた。アンケート結果には、奥尻産イワガキのブランド力の高さについて多くの評価を得られ、調理用食材としての製品化の可能性は高いことが示された。

33. イワガキ養殖の産業化にはまだ時間を要するが、奥尻町では養殖イワガキのブランド名を「カキまる」と定め、新たな特産物創出に向けた事業推進体制が整いつつある。

第 VII 章. 参 考 文 献

小林牧人・大久保範聡・足立伸次 (2015). 増補改訂版　魚類生理学の基礎　第 7 章　生殖（会田勝美・金子豊二編）, 恒星社厚生閣, 東京, P1-264.

赤繁悟・楠木豊 (1996). 人為三倍体マガキの作出条件および三倍体幼生の生残. 広島県水産試験場研究報告 19: p1-20.

青木康博 (2002). DNA 鑑定による法医学的個人識別の確率・統計学的背景. 岩手医学雑誌 54: 81-89.

Dong, Q., Huang, C and Tiersch, T. R (2006). Post-thaw amendment of cryopreserved sperm for use in artificial insemination of a viviparous fish, the green swordtail *Xiphophorus helleri*. Aquaculture 259: 403–414.

Clark, E. (1950). A method for artificial insemination in viviparous fishes. Science, New Series 112: 722-723.

浜口昌巳 (2000). イワガキとマガキの識別方法について. 瀬戸内水研ニュース 4: 1-3.

北海道（1984）. 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（昭和 59 年度～昭和 62 年度）：1-5.

北海道（1988）. 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（昭和 63 年度～平成 5 年度）：1-5.

北海道（1994）. 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（平成 6 年度～平成 11 年度）：1-6.

北海道（2000）. 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（平成 12 年度～平成 16 年度）：1-8.

北海道 (2005). 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（第 5 次栽培漁業基本計画）（平成 17 年度～平成 21 年度）：1-11.

北海道 (2010). 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（第 6 次栽培漁業基本計画）（平成 22 年度～-平成 26 年度）：1-9.

北海道 (2015). 水産動物の種苗の生産及び放流並びに水産動物の育成に関する基本計画（第 7 次栽培漁業基本計画）（平成 27 年度～平成 31 年度）：1-9.

Holm-Hansen, O., Lorenzen, C. J., Holmes, R.W. and Strickland, J. D. H. (1965). Fluorometric determination of chlorophyll. ICES J. Mar. Sci. 30: 3-15.

Hyde, J. R. and Vetter, R. D. (2007). The origin, evolution, and diversification of rockfishes of the genus Sebastes (Cuvier). Mol. Phylogenet. Evol. 44: 790-811.

Hye, S., An, J., Youn, P., Mi-Jung, K., Eun, Y., Lee. and Kyung, K, K.(2009). Isolation and characterization of microsatellite markers for the heavily exploited rockfish *Sebastes schlegeli*, and cross-species amplification in four related Sebastes spp. Conserv. Genet. 10: 1969-1972.

飯塚祐輔・荒西太士 (2008). 九州に分布するイタボガキ科カキ類の DNA の鑑定. LAGUNA 15: 69-76.

石田健次・近藤徹郎・勢村均 (1995). 島根県栽培漁業センターにおけるイタヤガイ種苗生産の現状. 栽培技研 23: 135-139.

石原成嗣・常盤茂 (2013). イワガキ種苗生産における餌料藻類の検討. 島根水技セ研報 5: 7-11.

稲葉明彦 (2004). 世界のカキ（２）各論, 西宮市貝類館研究報告 No. 3: 1-63, pl.I-XIII, (1)-(9).

乾政秀 (2016). 牡蠣の王様、隠岐のいわがき. 豊かな海 38: 65-70.

Jia, J.S. and Chen, J.X. (2001). Sea farming and sea ranching in China. FAO Fish. Tech. Paper 2001 No. 418: 71.

Jie, X. Susan, E., F., Hongsheng, Y., Guofan, Z., Fusui, Z. and Ximing, G. (2005). Studies on mass summer mortality of cultured zhikong scallops (Chlamys farreri Jones et Preston) in China. Aquaculture 250: 602-615.

上妻智行 (1994). アサリ種苗生産における採卵および幼生飼育技術. 福岡水技研報 2: 67-77.

Kaminuma, E., Mashima, J., Kodama, Y., Gojobori, T., Ogasawara, O., Okubo, K., Takagi, T and Nakamura, Y(2010). DDBJ launches a new archive database with analytical tools for next-generation sequence data. Nucleic Acids Res. Vol. 38: Database issue D33-D38.

株式会社日本政策投資銀行 (2014). グローバル化する養殖産業と日本の状況. 今月のトピックス No.216-1, http://www.dbj.jp/ja/topics/report/2014/files/0000016843_file3.pdf

川上親孝 (1983). 学研生物図鑑 貝Ⅱ. 株式会社学習研究社, 東京: pp1-294.

北田修一 (2016). 種苗放流の効果と野生集団への影響. 日本水産学会誌 82: 241-250.

木下虎一郎 (1939). 奥尻島の貝類. 北海道水産試験場事業旬報 No. 412: 7-10.

木下虎一郎 (1940). ホタテガヒの採苗率に及ぼす産卵時期の水温の影響に就て. 日本水産学会誌 9: 30-32.

Kusakari, M. (1995). Studies on the reproductive biology and artificial juvenile production of kurosoi *Sebastes schlegeli* (Hilgendrof). Sci. reports of Hokkaido Fish. Exp. Station 47: 41-124.

Kessing, B., Croom, H., Martin, A., McIntosh, C., McMillian, W.O. and Palumbi, S.P. (1989). The simple fool's guide to PCR. University of Hawaii, Honolulu, USA.

Liu, J., Li, Q., Kong, L., Yu, H. and Zheng, X. (2011). Identifying the true oysters (Bivalvia: Ostreidae) with mitochondrial phylogeny and distance-based DNA barcoding. Mol. Ecol. Resour. 5: 820-830.

松浦裕幸・森勝義 (2005). イワガキとマガキ？「水産増養殖システム３ 貝類・甲殻類・ウニ類・藻類（森勝義編）」, 恒星社厚生閣, 東京:pp 269-278.

丸邦義 (1985). ホタテガイの種苗生産に関する生態学的研究. 北水試報 27: 1-53.

三浦宏紀・伊藤慎悟 (2003). クロソイに見られる「ゴマ」について. 北水試だより 61: 14-17.

水島敏博・鳥澤雅 監修 (2003). 新　北のさかなたち, 北海道新聞社: pp1-643.

宮内大・植原達也・地下洋一朗・水口秀樹 (2011). タケノコメバル種苗生産, 財団法人香川県水産振興基金栽培種苗センター平成 23 年度種苗生産事業報告書: 7-15.

村上倫哉・相田聡・吉岡考治・吉田晴美・Gonzalez, E. B.・西堀・正英・海野徹也 (2006). 放流メバルの識別標識としてのミトコンドリア DNA 塩基配列およびマイクロサテライト DNA 多型の有効性. 日本水産学会誌 72: 710‑716.

村山大樹(2017). クロソイとキツネメバルの天然妊娠魚における雄との交尾尾数の解析, 北海道大学大学院水産科学研究院海洋応用生命科学専攻　修士論文: 1-64.

森勝義 (2005). 貝類・甲殻類・ウニ類・藻類　第 10 章　マガキ（森勝義 編）, 恒星社厚生閣, 東京: pp1-395.

Mori, H., Nakagawa, M., Soyano, K. and Koya, Y (2003). Annual reproductive cycle of black rockfish *Sebastes schlegeli* in captivity. Fish. Sci. 69: 910–923.

内藤剛・後川龍男 (2016). 筑前海におけるマガキ天然採苗技術の開発に関する研究. 福岡水海技セ研報 26: 74-82.

野田勉・中川雅弘 (2010). クロソイの栽培漁業技術. 栽培漁業技術シリーズ 15: 1-59.

野村正 (1995). カキ・ホタテガイ・アワビ-生産技術と関連研究領域-, 恒星社厚生閣: pp1-267.

太田博巳 (2011). 魚介類の良質精子作出・保存法の開発に関する研究. 日本水産学会誌 77: 360-363.

O'Foighil, D., Gaffney, P.M. and Hilbish T.J. (1995). Difference in mitochondrial 16S ribosomal gene sequences allow discrimination among American [*Crassostrea virginica* (Gmelin)] and Asian [*C.gigas* (Thunberg), *C.ariakensis* Wakiya] oyster species. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 192: 211-220.

O'Foighil, D., Gaffney, P.M. Wilbur, A.E. and Hilbish T.J. (1998). Mitocondrial cytochrome oxidase Ⅰ gene sequence s support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. Mar. Biol. 131: 497-503.

坂本龍亮 (2013). イワガキの養殖について. 豊かな海 31: 60-62.

佐々木正・近藤徹郎・常盤茂 (2016). 半屋外 100 kL 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の大量生産における飼育条件の検討. 水産増殖 64: 295-307.

佐々木正・常盤茂 (2014). 半屋外 100 kL 水槽を用いたイワガキ *Crassostrea nippona* 付着期幼生の生産の試み. 水産増殖 62: 433-440.

Satoh, N., Nobuta, S., Wakasugi, M., Satoh, S and Takeuchi, T. (2013). A vailability of squid viscera meal with cadmium removal treatment as a feed ingredient for fingerling black rockfish *Sebastes schlegeli*. Fish. Sci. 79: 259-267.

清水洋平・高畠信一・川崎琢真 (2013). 栽培漁業対象種の遺伝資源保全に関する研究. 平成 23 年度道総研栽培水産試験場事業報告書, pp24-26.

社団法人日本水産資源保護協会 (1999). 水産生物の遺伝的多様性の評価および保存に関する技術マニュアル, pp1-256.

社団法人日本栽培漁業協会 (1983). 日本栽培漁業協会 20 年史, pp1-95.

杉本亘之・河部和雄 (1968). 分光光度計によるめん羊精液の精子数算定法について. Jap. Jour. Sheep Sci. 5: 18-22.

Sekino, M., Takagi, N., Hara, M. and Takahashi, H. (2000). Microsatellites in rockfish *Sebastes thompsoni* (Scorpaenidae). Mol. Ecol. 9: 634–636.

水産庁 (2017). 平成 28 年度 水産の動向, 水産庁 HP, http://www.jfa.maff.go.jp/j/kikaku/wpaper/H28/attach/pdf/index-1.pdf

鈴木英勝・松木駿・高橋和誉・石原慎士・李東勲 (2012). 女川湾における籠養殖によるアカザラガイの成長. 石巻専修大学研究紀要 23: 49-51.

高木儀昌・大山寿美・日向野純也 (2017). アサリ養殖経営の採算性評価に関する簡易自己診断シートの入力方法と解説. 水産技術 9: 159-170.

高野和則 (1989). 胎生魚,特にメバル類の生殖. 日本海ブロック試験研究収録 第 15 号: 61-69.

旦野勇吉・丹羽太左衛門・瑞穂当 (1965). 光電比色計による豚精液の精子数算定法について. 日豚研誌 2 巻 1 号: 11-16.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Mol. Biol. Evol. 24: 1596-1599.

田村義信 (2007). フランスがき類による新たな広島ブランドの開発に向けて.
広島県立総合技術研究所水産海洋技術センター研究発表会要旨集,
URL:http://www.pref.hiroshima.lg.jp/uploaded/attachment/41678.pdf

谷田専治・菅野尚 (1959). アカザラガイ *Chlamys farreri nipponensis* KURODA の増殖に関する研究(1). 東北海区水産研究所研究報告 15: 23-32.

陳炳善・野田勉 (2010). クロソイ：栽培漁業による資源増殖の現状と将来展望. 日本水産学会誌 76: 254-255.

鳥羽光晴・深山義文 (1993). 異なる量のパブロバ・ルテリを給餌したアサリ稚貝の総成長効率. 千葉水試研報 51: 29-36.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. (1997). "The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools". Nucleic Acids Res. 25: 4876-4882.

波部忠重・伊藤潔 (1965). 原色世界貝類図鑑（I）北太平洋編, 保育社, 大阪

Yanai, H (2013) 4steps Excel Toukei, OMS publisher, Saitama, pp.1-293.

Yang, H., Hazlewood, L., Heater, S. J., Guerrero, P. A., Walter, R. B. and Tiersch, T. R. (2007). Production of F1 interspecies hybrid offspring with cryopreserved sperm from a live-bearing fish, the swordtail *Xiphophorus helleri*. Biol. Reprod. 76: 401–6.

Yoshida, K., Nakagawa, M. and Wada, S. (2001). Pedigree tracing of a hatchery-reared stock used for aquaculture and Stock enhancement based on DNA markers, Jap. Soc. Fish Genet. Breed. Sci. 30: 27-35.

Yoshida, K., Nakagawa, M. and Wada, S. (2005）. Multiplex PCR system applied for analysing microsatellite loci of Schlegel's black rockfish, *Sebastes schlegeli*. Mol. Ecol. Notes 5: 416‐418.

Yuan, Y., Kanno, M. and Kijima, A. (2012). Genetic diversity of wild populations of *Chlamys farreri* in Japan and their genetic relationship with cultured stocks in China. Aquaculture 370–371: 109–122.

結城勝久 (1987). アカザラガイ人工種苗の量産化研究. 水産増殖 35: 175-18.