

豊前海で採苗したマガキの成育特性及びマイクロサテライトDNAマーカーを用いた系群解析

中川 浩一¹・浜口 昌巳²・佐々木 美穂²・俵積田 貴彦^{1a}・中村 優太¹

(¹豊前海研究所・²瀬戸内海区水産研究所)

豊前海でのマガキ (*Crassostrea gigas*) の養殖は、漁場環境が良好なために成長が早く、1年養殖が主体であるが、近年では身入りの遅れやへい死が度々発生している。その対応策として、従来から用いられてきた宮城県産種苗に代わり、豊前海の海域特性に最も適応していると思われる豊前海産種苗の新たな導入が考えられる。そこで本研究では豊前海産種苗の実用性を検討するため、宮城県産種苗や広島県産種苗との成長比較試験や、マイクロサテライトDNAマーカーを用いた系群解析を実施した。その結果、各種苗はほぼ同様に成長し、宮城県産種苗の殻高が若干大きく、軟体部重量が軽い (Fisher の最小有意差法: $p < 0.05$) ほかは有意差は認められず、12月にはすべての種苗が出荷サイズに達した。また、へい死率は宮城県産種苗が他の2種苗より高く、豊前海産種苗と広島県産種苗はほぼ同じ値であった。これらの結果から、豊前海産種苗は広島県産種苗と類似した成育特性を持つと考えられた。一方、マイクロサテライトDNAマーカーにより得られた結果は、アサイメントテストを行うことによって各々が独立した系群として認識され、種苗間での遺伝的距離に差はなかった。今回の結果から、成育特性の面からも遺伝的多様性維持の観点からも豊前海産種苗導入の優位性が示された。

キーワード：マガキ、採苗、マイクロサテライトDNA、系群解析、アサイメントテスト

福岡県豊前海区のかき養殖は、1983年に恒見漁協（現豊前海北部漁協恒見支所）で試験養殖が開始されて以来急速に発展し、現在では「豊前海一粒かき」というブランド名で年間1,000トンを超える生産を揚げ、冬季の主幹漁業に成長している。

当海区での養殖マガキの成育は、良好な漁場環境に支えられて4月に垂下した種苗は11月頃には出荷サイズにまで成長する。^{1,2)} そのため、ほとんどのかき生産者は極めて効率の良い1年サイクルの養殖のみを実施している。しかしながら、近年では秋季水温が高めに推移する傾向があるため、カキの成育に影響が生じ始め、ここ10年で約1ヶ月も収穫開始時期が遅れ、へい死被害も度々発生している。³⁾ 身入りの遅れやへい死は、品質の低下や収穫量の減少に直結し、ブランド力の低下につながる致命的な問題となるため、これらを防止する技術の開発が急務となっている。その解決策の1つとしては、従来から用いられてきた宮城県産種苗（以下、宮城種苗とする）に代わり、現在の当海区の海域特性に最も適応していると思われる豊前海産種苗（以下、豊前種苗とする）の新たな活用が考えられるが、豊前種苗に関する知見は

殆どなく、成長・生残・成熟特性など不明な点が多い。

そこで本研究は、成育特性からみた豊前種苗の実用性を把握するため、一般的に流通している宮城種苗及び広島県産種苗（以下広島種苗とする）との成長比較試験を実施した。更に、マイクロサテライトDNAマーカー（以下MSマーカーとする）を用いた系群解析を実施し、種苗間の遺伝的距離を把握するとともに、成育特性との関連性について考察を試みた。

方 法

1. 成長比較試験

試験は、2007年夏季に採苗された抑制種苗を用いて、2008年4月～12月にかけて中部漁場内の当研究所が開発した耐波性・高生産性かき養殖筏⁴⁾に垂下して行った(図1)。試験区は、人工島周辺漁場内で当研究所が採苗した豊前種苗、宮城県海域で生産業者（東松島市鳴瀬）が採苗した宮城種苗及び広島県海域で生産業者（廿日市市地御前）が採苗した広島種苗の計3区とした。成育状況の調査は毎月中旬頃に実施し、1回の測定個数は各試区

a 現所属：漁業管理課

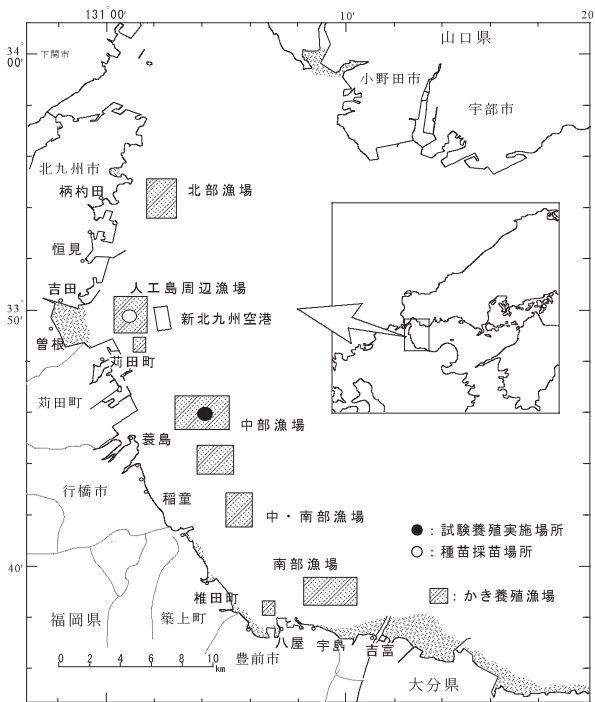


図1 試験養殖及び豊前種苗の採苗場所

30個体（12月は100個体）ずつ、測定項目はマガキの成長に応じて殻高、殻付重量（5月から測定）、軟体部重量（8月から測定）及び累積へい死率（7月から測定）とした。

2. MSマーカーによる解析

上記試験で12月に測定した豊前、宮城及び広島種苗のそれぞれ32個体ずつの閉殻筋から QIAGEN DNeasy Blood & Tissue kit を用いて DNA を抽出した。これを templeteDNA として Ha ら⁵⁾の4つの MS マーカー (kaki6, kaki12, kaki18, kakicgi2) によって解析した。解析にはこれらの MS マーカーからそれぞれ 6-FAM, VIC, NED, PET の蛍光色素を用いてテイルプライマーを作成し, Ha ら⁵⁾の報告にある条件で PCR を行い, 得られた PCR 産物をそれぞれ適正な濃度となるように混合し, ABI 社の PRISM3130XL genetic Analyzer で分析し, フラグメントサイズを決定した。得られた結果から遺伝子解析プログラム GeneAlex6.2, GENEPOP3.4, ARLEQUIN 2.001 を用いて解析を行った。

結 果

1. 成長比較試験

(1) 殻高の推移

各種苗の平均殻高の推移を図2に示した。各種苗の平均殻高±標準偏差は、豊前、宮城及び広島種苗で4月は17.9±4.3, 14.8±3.6及び25.7±7.3mm, 8月は59.4±6.9, 61.0±9.5及び56.2±9.1mm, 12月は86.7±10.1, 89.8±9.7及び86.7±10.0mmであった。どの種苗も概ね同様に成長したが、8月以降は宮城種苗の平均殻高が若干大きくなり、豊前種苗と広島種苗はほとんど同じ大きさで推移した。また、12月の測定結果について多重比較検定を行ったところ、表1に示すように宮城種苗>豊前種苗=広島種苗の順に差がみられた (Fisher の最小有意差法: $p < 0.05$)。

(2) 殻付重量の推移

各種苗の平均殻付重量の推移を図3に示した。各種苗の平均殻付重量±標準偏差は豊前、宮城及び広島種苗で5月は4.1±1.9, 2.1±0.9及び6.2±3.5g, 8月は18.2±4.7, 18.3±5.8及び19.0±6.9g, 12月は55.7±15.1, 54.5±13.9及び53.3±14.1gであった。種苗間の殻付重量の育成状況を比較すると、初期の育成格差が解消された8月以降はほとんど育成差がみられずに推移した。また、12月の測定結果について多重比較検定を行ったところ、表2に示すように種苗間での成長差はみられなかった (Fisher の最小有意差法: $p > 0.05$)。

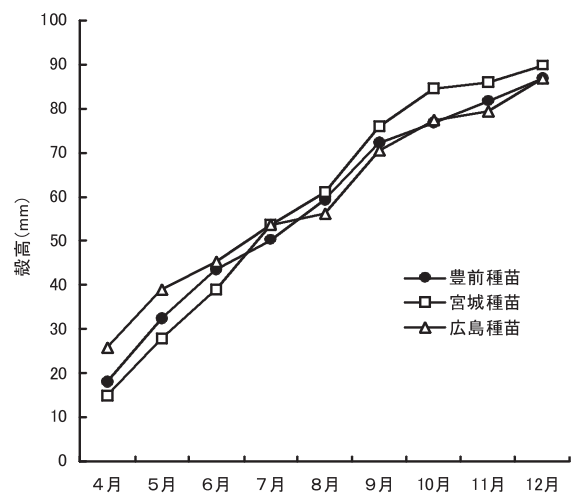


図2 各種苗の育成状況の推移(平均殻高)

表1 種苗間の成長差の比較(殻高)

**:1%有意 * :5%有意			
種苗1	種苗2	P値	判定
豊前	宮城	0.028	*
豊前	広島	0.991	
宮城	広島	0.027	*

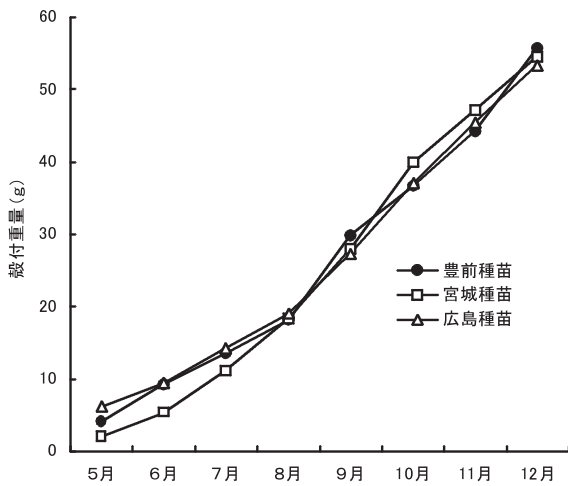


図3 各種苗の育成状況の推移(平均殻付重量)

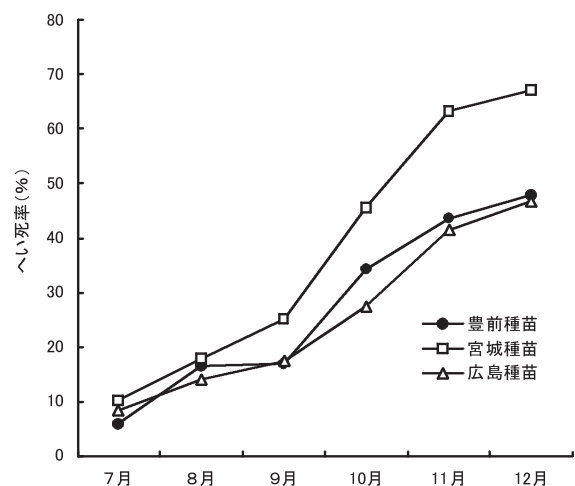


図5 各種苗の育成状況の推移(累積へい死率)

表2 種苗間の成長差の比較(殻付重量)

種苗1	種苗2	P値	判定
豊前	宮城	0.538	
豊前	広島	0.226	
宮城	広島	0.551	

**:1%有意 *:.5%有意

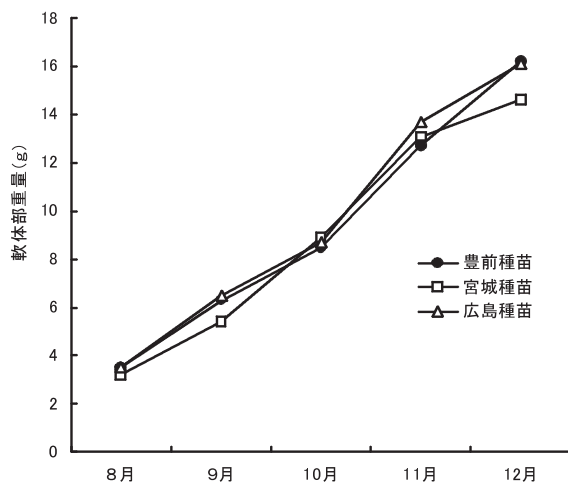


図4 各種苗の育成状況の推移(平均軟体部重量)

表3 種苗間の成長差の比較(軟体部重量)

種苗1	種苗2	P値	判定
豊前	宮城	0.013	*
豊前	広島	0.804	
宮城	広島	0.025	*

**:1%有意 *:.5%有意

(3) 軟体部重量の推移

各種苗の平均軟体部重量の推移を図4に示した。各種苗の平均軟体部重量±標準偏差は、豊前、宮城及び広島種苗で8月は 3.5 ± 1.1 、 3.2 ± 1.2 及び 3.5 ± 1.3 g、12月は 16.2 ± 4.6 、 14.6 ± 4.5 及び 16.1 ± 4.4 gであった。種苗間の軟体部重量の育成状況を比較すると、ほとんど成長差はみられずに推移したが、12月の測定結果について多重比較検定を行ったところ、表3に示すように豊前種苗＝広島種苗>宮城種苗の順に差が生じた(Fisherの最小有意差法： $p < 0.05$)。

(4) 累積へい死率の推移

各種苗のへい死率の推移を図5に示した。各種苗のへい死率は豊前、宮城及び広島種苗で7月は5.3、10.1及び8.3%、10月は34.3、45.5及び27.4%、12月は47.8、67.2及び46.8%であった。へい死率は常に宮城種苗が高く、豊前種苗と広島種苗はほぼ同じ値で推移した。また、宮城種苗は特に9月以降の水温下降期にへい死がより多くみられ、豊前及び広島種苗との間の差が拡大していった。12月の測定結果では、宮城種苗は他の種苗と比較してへい死率は約1.5倍となった。

2. MSマーカーによる解析

MSマーカーによる分析結果のうち、各種苗間のNeiの遺伝的距離は豊前種苗と広島種苗では0.307、豊前種苗と宮城種苗では0.261、宮城種苗と広島種苗では0.388となった。アサイメントテストの結果は図6に示す。豊前種苗は広島種苗、宮城種苗とも重なることはなく、それぞれの計算値を用いてone-way ANOVAとBonferroni補正法による多重比較検定を行ったところ、それぞれで有意差($p < 0.01$)が認められた。

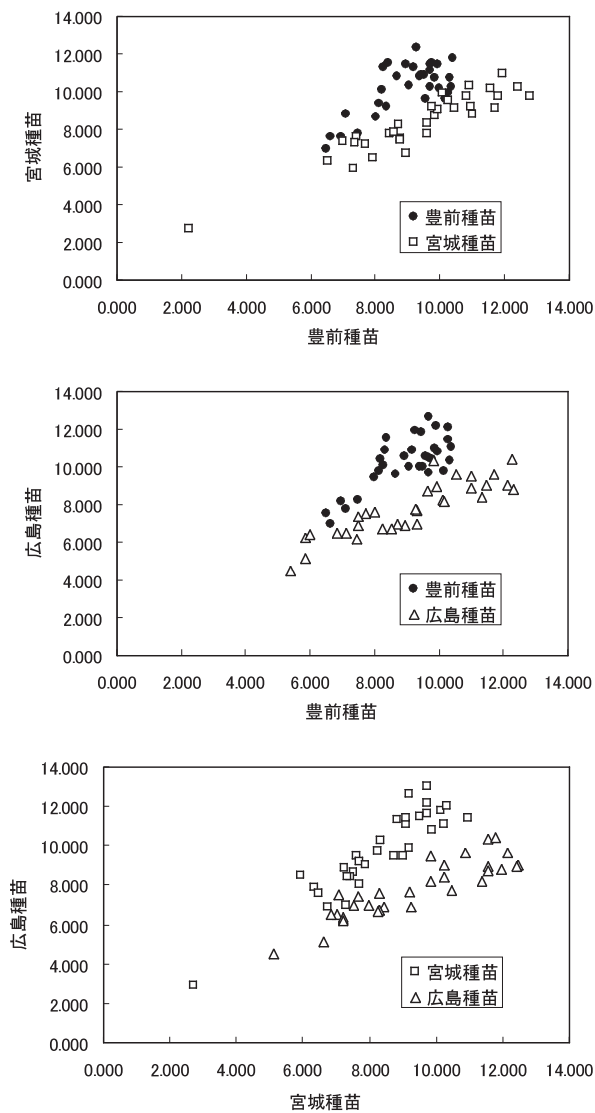


図6 豊前種苗、宮城種苗、広島種苗のそれぞれの比較によるアサイメントテストの結果

考 察

近年の当海区でのかき養殖の特徴として、身入りの遅れやへい死が度々発生しており、それらの要因の1つとして秋季水温が高めに推移していることが挙げられる。その傾向は将来的にも継続される可能性が高いことから、筆者らは新たな養殖管理技術の開発が必要であると報告³⁾してきた。現在、当海区では種苗を冷水系の宮城種苗に依存しているが、この種苗は成長が良好である一方、高水温域での養殖でへい死率が高いことが知られている。⁶⁾ 従って、宮城種苗と比べて当海域への適応度が高いと考えられる温暖系の当海区産種苗（豊前種苗）を新たに導入することで、身入りの遅れやへい死の防止を図ることが期待された。しかしながら、一般的に温暖系

の種苗はへい死が少ない反面、小粒であるといわれており⁶⁾、豊前種苗が宮城種苗のように大きく成長するのには不明であった。そこで、豊前種苗と既存の種苗（冷水系の宮城種苗及び温暖系の広島種苗）との成長比較試験を実施し、豊前種苗の実用性について判定を行った。

成長比較試験については、まず各種苗の月別成育状況をみると、殻高、殻付重量及び軟体部重量すべてでどの種苗もほぼ同様な成長を示したことから、垂下後の成長過程において差がないことが分かった。また、種苗間の成長差については、出荷盛期を迎えた12月の測定結果をみると、豊前種苗と広島種苗の間には有意差はみられなかったが、宮城種苗と他の種苗の間には有意差がみられ、宮城種苗は平均殻高が約3%大きく、軟体部重量が約10%軽かった。但し、殻高については差がごくわずかで、図7に示すように外見上から種苗間の成長差を区別することが困難であるため、実際の養殖では実感できないレベルであった。一方、へい死については比較的明らかな差がみられ、宮城種苗は豊前種苗や広島種苗と比較して1.5倍ほどへい死率が高かった。これらの結果から、成育特性からみた各種苗の実用性については以下のとおり総括された。すなわち、温暖系の豊前種苗と広島種苗の成長・生残はともに変わらない。当海区で使用される冷水系の宮城種苗は、他の2種苗と比較して殻の大きさはごくわずかに勝るが大差なく、身入りは劣っており、へい死が多い。従って、身入りの向上やへい死の防止を目的として、当海区に温暖系の豊前種苗や広島種苗を導入することは、有効である。

豊前種苗の導入にあたっては、当海区でかき養殖が開始されてから20年以上が経過するなかで、従来から生息していた天然マガキと宮城産の養殖マガキとの間に遺伝的交配が行われていることが想定された。そして、それが種苗の成育特性に何らかの影響を及ぼしている可能性



図7 種苗間の殻形状の比較
(上から宮城種苗、豊前種苗、広島種苗の順)

があるため、同時に豊前種苗と宮城種苗との遺伝的交配の程度を把握することが重要であると判断された。そこで、今回調べた各種苗について、それぞれが遺伝的にどの種苗に由来するのかを判定した結果（アサイメントテスト）、豊前、宮城、広島 of 3つの個体群は一部重なる部分はあるものの、それぞれが独立した個体群として認識された。また、個体群間の遺伝的距離はほぼ等しかった。このことは、当海区産天然マガキと宮城産養殖マガキとの遺伝的交配の程度は小さく、広島系群、宮城系群とは独立した豊前系群が今もなお維持されていることを示している。Sekino⁷⁾は、日本各地の天然マガキの遺伝的特徴を調査した結果、養殖マガキの遺伝的影響はそれほど大きくなく、地域の遺伝的特徴がよく保存していることを報告している。本研究に用いたMSマーカーは広島湾において養殖と天然マガキの遺伝的性状を調べるために開発されたものであるが、この報告⁹⁾においても広島と宮城種苗には差があるとしており、今回の結果もそれを支持している。

そのため、成育特性で広島種苗と類似した結果を示したのは、同一系群であるためではなく、共に瀬戸内海に属する海域で採苗された温暖系種苗であるためと解釈できよう。系群の違いは、漁場環境が今回の状況と異なれば、広島種苗にはない豊前種苗に特有の優れた成育特性がみられる可能性があることに繋がるであろう。

ここで、豊前系群が独立性を維持している要因としては、宮城種苗の母集団としての影響の少なさが考えられたため、影響度の試算を行った。試算においては、本来は天然マガキと養殖マガキの現存量を比較することが望ましいが、天然マガキの現存量は推定が困難なため、養殖マガキの垂下面積と天然マガキの主生息範囲とを比較した。養殖マガキの垂下面積についてはマガキの付着したホタテ盤の総使用個数から、天然マガキの主生息範囲については潮間帯と干潟面積との和として算出した結果、表4に示すように各々約4.5ha及び約1,568haと推定され、天然マガキの主生息範囲の方が遙かに大きかった。もちろん、主生息範囲のすべてにマガキが生息している訳ではないが、干潟や潮間帯では頻りにマガキの生息が確認されることから、豊前系群が独立性を維持している結果を踏まえれば、天然マガキの母集団が宮城種苗と比較して十分に大きいために、遺伝的影響が僅かであるとの解釈は可能であろう。また、当海区では1年サイクルの養殖のみを実施していることから、筏に垂下された宮城種苗は主産卵期である夏季にはすべて1個体あたりの重さが10g程度と小ぶりの当歳貝であるため、産卵母集団として十分に機能していない可能性がある。

今回の結果から、成育特性からみた豊前種苗の実用性

表4 宮城種苗の影響度の推定

区分	範囲	数値
宮城産 (養殖)	ホタテ盤の表面積(cm ²)*	157
	ホタテ盤の総使用数(万枚)**	285
	養殖マガキ垂下面積(ha) a×b	4.5
豊前海産 (天然)	干潟面積(ha)***	1,520
	潮間帯面積(ha)****	48
	天然マガキ主生息面積(ha) c+d	1,568

* 直径10cmの円として算出

** 1筏あたり使用数(15,000枚)×筏数(190台)より算出

*** 国土地理院1/25,000地図より測定

**** 海岸線長さ(119km:含人工島)×最大干満差(4m)より算出

が示されたが、導入にあたっては種苗を安定して供給する技術を開発することが重要である。そのためには、当海区のマガキ浮遊幼生について、時期別や場所別の出現動向を把握するための更なる調査や、採苗適地に関する調査を継続して実施することが必要であろう。

謝 辞

本研究の一部である、MSマーカーによる解析は(独)水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所の「平成21年度研究開発基盤強化費」によって行った。研究の推進にあたってご指導、ご協力頂いた瀬戸内海区水産研究所長を始め、関係各位に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 徳田真孝・濱田弘之・神菌真人・江藤拓也：豊前海における養殖カキの特性と環境要因との関係。福岡県水産海洋技術センター研究報告，第1号，155-163(1993)。
- 2) 上妻智行・江崎恭志・長本篤・片山幸恵・中川清：豊前海における養殖カキの成長格差と環境要因。福岡県水産海洋技術センター研究報告，第13号，31-34(2003)。
- 3) 中川浩一・俵積田貴彦・中村優太：近年の「豊前海一粒かき」の成育状況と漁場環境との関係。福岡県水産海洋技術センター研究報告，第19号，109-114(2009)。
- 4) 中川浩一・上妻智行・佐藤利幸・江藤拓也・俵積田貴彦：波浪による振動を低減した耐波性かき養殖筏の開発とそれを用いた養殖マガキの生産。福岡県水産海洋技術センター研究報告，第18号，11-20(2008)。

- 5) T.T.T.Ha,K.Morishima,T.Murakami,S.Akashige,T. Kaji-hara,T.Umino,M.Nishibori,I.Nakayama and M.Takaba : Genetic characteristics of cultured and wild Japanese oyster *Crassostrea gigas* in Hiroshima Bay as inferred by microsatellite DNA markers. 水産育種, 35号, 43-47 (2006).
- 6) 今井丈夫 : カキの生物学的研究. 浅海完全養殖, 改訂版, 恒星社厚生閣, 東京都, 1976, pp. 92-99.
- 7) M.Sekino,M.Hamaguchi,F.Aranishi and K.Okoshi : Development of novel microsatellite DNA markers from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*.Marine biotechnorogy, 5, 227-233 (2003).