

環境調和型真珠養殖システム構築事業

令和元年、2年に発生したアコヤガイへい死対策試験

栗山 功・矢野央樹・畑 直亜・小林智彦・田中真二

目的

令和元年夏季に初めて発生した、原因不明のアコヤガイ稚貝の大量へい死と2年貝以上で確認された外套膜萎縮症状については、令和2年にも発生が確認された。本事業では、その原因の究明やへい死の被害軽減に向けた飼育方法の検討を行った。なお、試験は多岐に及んでおり、ここでは代表的な実験の概要を報告する。

試験の概要

1 稚貝飼育条件の検討

原因不明の稚貝の大量へい死の軽減につながる飼育方法を提示する目的で、種々の飼育条件について検討した。

1) 深吊り飼育試験

夏季の高水温によるアコヤガイの衰弱を低減するために、通常飼育している水深に近い2m及びより深い5mに垂下する試験区を設定し、生残率を比較した。試験は英虞湾内で実施し、1回目の7月6日から8月19日では2m、5m各4カゴ、2回目の8月24日から10月29日では2m、5m各2カゴを設けた。1回目の供試貝には英虞湾の漁場でへい死発生後に生残した平均蝶番線長9.4mmの稚貝を用いた。2回目には尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無い平均蝶番線長22.8mmの稚貝を用いた。

1回目の試験期間中の平均水温は、2m26.5°C、5m24.5°Cで、2m水温と5m水温の差の平均は1.97°Cで5m層の水温が低く推移していた。2回目の試験期間中の水温は、2m25.8°C、5m26.1°Cで2mと5mの水温差の平均は-0.29°Cで、水温差はほとんど見られなかった。へい死率は1回目で2m51.5%、5m54.0%、2回目で2m51.0%、5m50.0%であった。2度の試験結果ともに深吊りによる明確な斃死削減効果は確認できなかった。

2) 給餌試験

近年、英虞湾や五ヶ所湾では、冬季から春にかけて餌となる植物プランクトンが少なく推移しており、大量へい死の原因もしくは被害を助長する一因と考えられることから、アコヤガイ稚貝に給餌してへい死を低減する目的で試験を実施した。試験は陸上水槽と海面

漁場で実施した。

①陸上水槽試験

試験は2回実施し、1回目が7月8日から31日、2回目が8月25日から9月2日であった。試験水槽には30ℓパンライト水槽を用い、流水で飼育した。試験区は珪藻区(*Chaetoceros gracilis* 商品名「グラくん」：(株)二枚貝養殖研究所)、配合飼料区(二枚貝用配合飼料M1：日本農産工業株式会社)及び無給餌区を設けた。給餌は1日1回珪藻区では50,000cells/ml、配合飼料区では4~7µmの粒子が、50,000粒/mlとなるよう行った。1回目では各試験区4水槽の計12試験区設定して各水槽に40個収容し、2回目では各試験区3水槽の計9試験区設定して各水槽に50個収容した。供試貝は、1回目には英虞湾の漁場でへい死発生後に生残した平均蝶番線長7.7mmの稚貝を、2回目には尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無い平均蝶番線長16.0mmの稚貝を用いた。

試験の結果、1回目のへい死率は珪藻区で44.4%、配合飼料区で30.6%及び無給餌区で38.1%であった。2回目のへい死率は珪藻区で6.0%、配合飼料区で2.0%及び無給餌区で3.0%であった。1回目の試験では各試験区でへい死が発生したが2回目の試験ではへい死がほとんど発生しなかった。1回目では、漁場で大量へい死した群の生残貝を供試貝に用いたことから、貝の状態が十分に回復していない状態での試験となった可能性がある。2回目の試験ではすべての試験区でへい死が少なく、無給餌区であってもへい死には至らなかった。

②海面試験

試験は英虞湾内で2回実施し、1回目が令和2年7月6日から8月10日まで、2回目が8月4日から9月7日まで実施した。試験区はそれぞれ給餌区1~4区と対照区1~4区を設けた。供試貝は提灯カゴに収容し、各カゴには試験貝を50個収容した。供試貝には、1回目では海面漁場でへい死発生後に生残していた平均蝶番線長14.8mmの稚貝を用い、2回目では陸上飼育していたへい死履歴の無い平均蝶番線長8.8mmの稚貝を用いた。給餌区では毎日1回提灯カゴを取り上げて水槽に収容し、4~7µmの粒子が、50,000粒/mlとなる

よう配合飼料M1を給餌し、2時間静置した。一方、対照区では、給餌区と同様に毎日1回カゴを取り上げて海水のみの水槽に収容した。

試験の結果、1回目の試験のへい死率は給餌区17.0%無給餌区18.0%でへい死率に差は確認されなかった。第2回試験のへい死率は給餌区64.5%、無給餌区77.0%で、いずれの試験区でも開始2週間後(8月19日)のへい死確認時に40%前後のへい死が確認され、試験終了時に生残貝の貝殻を確認したところ、給餌区で94.4%、通常区で83.7%の貝で外套膜萎縮症状から回復した際に形成されると推測される貝殻の再生痕(貝殻内側の真珠層に、稜柱層やさらには真珠層を形成し、発達すると貝殻が二重に形成された状態になること。以後、貝殻再生痕とする)が確認されたことから、試験期間中に外套膜萎縮の状態が生じたと考えられた。以上のとおり、へい死を低減する効果は確認できなかった。本試験は、すでに不明病が発症している状況下での実施となったことから、へい死が発生するかなり前の段階で給餌を行うなど、さらに検討を行う余地がある。

3) 飼育密度試験

稚貝の飼育密度の違いがへい死率に与える影響を確認する試験を行った。試験は高密度区と低密度区の2試験区を設け、高密度区では稚貝が付着した状態の付着器3枚、低密度区では1枚をそれぞれ収容し、英虞湾の塩屋漁場に令和2年7月6日から8月19日まで垂下した。

試験の結果、へい死貝と生残貝数から求めた高密度区と低密度区の収容貝数はそれぞれ7,122個と2,520個であり高密度区は低密度区の約2.8倍の収容密度であった。へい死率は、高密度区で46%、低密度区で31%であり、高密度区のへい死率が1.48倍高かった。生残貝の平均殻番線長は高密度区12.8mm、低密度区15.2mmであり、高密度区の方が成長も悪かった。飼育密度を下げることで、へい死数の低減や成長の促進につながる可能性が示唆された。

4) 振動試験

アコヤガイ稚貝の入ったカゴを振動させる影響を確認する試験を行った。

試験は2回実施し、1回目は令和2年7月13日から8月3日、2回目は8月4日から8月24日であった。供試貝は1回目では陸上飼育の平均殻番線長10.2mmの稚貝、2回目では平均殻番線長16.0mmの尾鷲海域で飼育していたへい死履歴のない稚貝を用いた。1回目、2回目ともに提灯カゴに供試貝50個を収容し、振動区と静置区それぞれ4カゴ設定した。振動区の振動の方法は、提灯カゴを取り付けた枠を手で持ち、左右

に20cm/秒で揺らした。静置区には操作を加えなかった。試験は無給餌で行った。

試験の結果、1回目では振動区76.5%、静置区54.5%であった。静置区でも半数以上がへい死しており、供試貝の健康状態に問題があった可能性があるが、振動区のへい死率が高かったことから、カゴを揺らすことによる悪影響があったと考えられた。2回目においてもへい死率は振動区10.5%、静置区2.5%と振動区のへい死率がやや高かった。2回目では静置区のへい死も少なく、貝の健康状態は1回目よりも良かったと考えられ、その場合でも振動区のへい死率がやや高くなっており、カゴを揺らすことはアコヤガイにとってストレスになっていると考えられた。

2 大量へい死の発生条件の検討

稚貝大量へい死の発生条件について、漁場や水温に注目して試験を行った。

1) 真珠養殖漁場以外の海域での飼育試験

三重県の英虞湾や五ヶ所湾などの主要な真珠養殖漁場では、稚貝の大量へい死や外套膜萎縮症状が確認されている。そこで、真珠養殖がおこなわれていない海域に稚貝を収容した場合の、へい死の発生状況を調べた。

試験は、令和2年6月1日に三重県栽培魚業センターで生産した稚貝を同センターの稚貝飼育水槽から直接、尾鷲湾に設置されている尾鷲水産研究室の試験筏に導入した。垂下水深は約2mであった。6月30日と7月31日にへい死状況を目視で確認したが、へい死はほとんど見られなかった。また、7月31日には、試験中の稚貝を提灯カゴに100個ずつ4カゴに収容して試験を再設定した。

7月31日から10月25日までの平均死亡率は9%であり、生残貝の貝殻にも貝殻の再生痕は全く確認されなかったことから、原因不明の大量死は発生しなかったと考えられた。

令和2年6月30日から10月15日までの尾鷲湾の環境は、期間中の平均水温は26.3°Cで英虞湾の立神27.9°C、塩屋27.6°Cよりも低く、1日の平均水温が30°Cを超えた日数は尾鷲2日、立神31日、塩屋23日であり、尾鷲では高水温に曝される日数が明らかに少なかった。また、飼育期間中に尾鷲湾で計10回、英虞湾で計15回、海水の顕鏡を行い、アコヤガイの餌となる珪藻の発生状況を確認したところ、尾鷲湾では平均583cells/ml、英虞湾立神では241cells/mlと尾鷲湾の方が多く、水温や餌量の点でアコヤガイにとっては英虞湾よりも適した環境であったと思われる。また、尾鷲湾は真珠養殖、母貝養殖がおこなわれておらず、不明

病が感染症であった場合、感染源となる貝がない環境であることも影響している可能性が考えられる。

2) 大量へい死未発症海域から発症海域にアコヤガイを移動したときのへい死発生状況について

尾鷲海域で飼育していたへい死履歴のない稚貝を、発症海域である英虞湾へ導入した5事例について報告する。

①8月4日開始飼育試験

尾鷲海域で飼育していたへい死履歴のない稚貝 200個を提灯カゴに4カゴに収容し、令和2年8月4日に発症海域である英虞湾に導入し、11月26日まで飼育した。導入から15日後の8月20日には11.5%から24.5%のへい死が確認され、約1か月後の9月2日時点の累積で31.5%から44.5%がへい死した。試験終了までの累積へい死率は52.2%から62.6%であった。また、生残貝の貝殻には貝殻の再生痕が70%から80%確認され、原因不明の大量死が発生したことが推測された。

②8月25日開始飼育試験

令和2年8月25日に尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無いアコヤガイ稚貝100個を提灯カゴ4カゴにそれぞれ収容し、英虞湾に導入して11月26日まで飼育試験を実施した。試験開始翌日の8月26日にサンプリングしたところ、平均60%が外套膜の萎縮の症状を示し、翌日の27日には平均90.5%が外套膜の萎縮の症状を示した。この時点でのへい死貝は全体で1個のみであった。8月30日には5.0%から22.0%へい死が確認され、9月2日のサンプリングの際には30.0%で外套膜萎縮がみられ、全ての個体の貝殻には、稜柱層様の物質の沈着がみられ、貝殻の再生が開始されていた。以降、9月9日、9月30日及び終了時に貝殻を確認したところ、それぞれ100%、100%及び97.4%で再生痕が確認され、原因不明のへい死が発生していたと考えられた。試験終了までの累積へい死率は23.8%から43.8%であり、へい死の多くは英虞湾導入から1か月の間であった。

③8月28日開始試験（陸上飼育との比較試験）

上記イ)の試験において、沖出し直後に外套膜萎縮が確認されたことから、発症漁場の海水を採集し、その海水で稚貝を飼育することにより外套膜萎縮が発症するのかを確認した。

試験は陸上飼育区として、30ℓパンライト水槽にへい死が発生している海域の海水を入れ、25℃と30℃の恒温水槽に設置した試験区をそれぞれ2水槽設けた。また、海面区として、へい死が発生している海域に提灯カゴを2カゴ垂下した。供試貝には、尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無い稚貝を用い、パンライト

水槽には各20個収容し、提灯籠には各50個収容した。試験期間は令和2年8月28日から9月10日13日間であった。期間中は週2回、サンプリングしてへい死や外套膜萎縮、貝殻再生痕を確認した。

試験の結果、試験期間中にいずれの試験区においてもへい死は発生しなかった。陸上飼育区ではいずれの水温においても外套膜萎縮や貝殻の再生は確認されなかった。一方、海面区では、8月31日時点では外套膜萎縮症状や貝殻の再生痕は確認されなかったが、9月2日に10個中9個で外套膜の萎縮が確認され、9月8日にはかなり修復の進んだ再生痕が確認され、9月10日のサンプリング時には外套膜は萎縮から回復していた。

④9月16日開始飼育試験

令和2年9月16日から、尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無いアコヤガイ稚貝90個を提灯カゴに収容し、塩屋漁場に導入して11月26日まで飼育試験を実施した。

試験終了までの累積死亡率は17.7%であった。9月24日、9月30日、10月8日、10月14日及び11月26日にサンプリングを行い、外套膜萎縮や貝殻再生痕を確認したところ全ての個体で外套膜萎縮や再生痕は確認されなかったことから、本試験でのへい死の原因は外套膜萎縮を伴う不明病ではないと推測され、塩屋漁場では9月16日以降は、同症状の不明病の発生は収束していたと考えられた。

⑤英虞湾6漁場での飼育試験

10月21日から尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無いアコヤガイ稚貝50個を提灯カゴに収容し、英虞湾内の神明、立神、船越、片田、和具及び塩屋の6漁場に2カゴずつ垂下して12月1日まで飼育試験を実施した。試験終了までの累積へい死率は、神明0.0%、立神2.0%、船越5.0%、片田1.0%、和具4.0%及び塩屋0.0%とへい死は少なかった。一方で貝殻再生痕は、船越65.0%、和具25.0%で他の漁場はいずれも0.0%であった。10月20日以降では船越や和具の一部海域で外套膜の萎縮が発生していたと考えられるが、へい死率は数%とそれほど高くは無く、この時期の水温あるいは貝のサイズ（平均殻長36.4mm）などの条件によっては、原因不明のへい死につながる症状が出て、へい死に至る割合が低下する可能性が考えられる。

3 感染性確認試験

原因不明の外套膜萎縮症状や稚貝の大量死は令和元年夏季に三重県だけでなく愛媛県や長崎県など主要な真珠養殖県でほぼ同時に発生しており、感染症の可能性も考えられることから、感染性の有無を確認する試験を行った。

1) 同居感染試験

英虞湾内で大量へい死した生残貝を感染源として、試験区には生残貝 10 個と健常貝 30 個を 30ℓパンライト水槽に同居させ、対照区には健常貝 40 個を収容し、流水、無給餌の条件で令和 2 年 9 月 2 日から 10 月 9 日まで飼育した。

試験の結果、試験区の平均へい死率は 7.5%、対照区は 15.0%であり、試験区のへい死は少なく、また、貝殻再生痕はいずれの貝からも確認されなかった。以上のことから、本試験の条件での同居感染は成立しなかったと考えられた。

2) 浸漬感染試験

試験区と対照区を設定。各区につき 2 水槽設定した。水槽にはプラスチック製 100ℓ水槽を用い、各水槽に稚貝 20 個収容した。試験水槽は 25℃の恒温水槽内に設置し、止水で 3 日に 1 回飼育水の交換を行い、無給餌とした。供試貝には、尾鷲海域で飼育していたへい死履歴の無いアコヤガイ稚貝を用いた。

浸漬液の調製は、英虞湾で 8 月 20 日にへい死が確認された飼育群の生残個体 40 個体とへい死個体 5 個体の軟体部計 2g をホモジナイズし、ろ過海水で 200ml にメスアップした後に試験区の水槽にろ過海水 900ml を入れ、そこに浸漬液 100ml を加えて 1,000 倍希釈液とした。ここへ、供試貝を収容し、1 時間浸漬した後、さらに海水で 10L にメスアップして 24 時間 10,000 倍希釈液で浸漬した。攻撃終了後は換水してろ過海水で飼育した。対照区においても、攻撃液の代わりにろ過海水を用いて同様の処理を行った。飼育期間は 8 月 25 日から 9 月 10 日の 16 日間であった。

試験の結果、各試験区においてへい死は発生せず、試験終了時に各区 5 個体を確認したところ、外套膜の萎縮症状や貝殻の再生痕は確認されなかったことから、浸漬感染による感染は成立しなかったと考えられた。

3) 注射感染試験

試験区には、英虞湾でへい死が発生した稚貝の生残貝の磨砕濾液を注射し、水温を調整して注射 16℃区、注射 20℃区及び注射 25℃区を設け、健常貝の磨砕濾液を注射した対照区、ろ過海水を注射した SW 区を設けた。対照区と SW 区の水温は 25℃に設定した。試験期間は令和 2 年 10 月 17 日から 11 月 19 日の 33 日間であった。供試貝は、尾鷲水産研究室飼育のへい死履歴の無い三浦産アコヤガイ 2 年貝（平均総重量 28g、平均殻高 60 mm）を各区 10 個体用いた。攻撃液の調製に用いた発症貝は英虞湾で 10 月 11 日にへい死発生が確認された稚貝の生残貝であった。攻撃液、対照液の調製方法は、まず、発症貝と供試貝の軟体部（約 0.75g）をそれぞれ採取し、1.5ml マイクロチューブに入れ、

はさみで裁断したのちに少量の滅菌海水を加えてホモジナイズし、1ml ピペットで 15ml 遠心管に取り、滅菌海水を入れて 12ml として 2,000rpm (g) で遠心分離した。次に、得られた上澄みを 20 μm 濾紙でろ過し、濾液を 6,000rpm (g) で再度遠心分離し、上澄みを 0.45 μm のシリンジフィルターでろ過し、濾液に滅菌海水を加えて 26ml とすることで調整した。注射攻撃は、試験開始日に、供試貝の閉殻筋に攻撃液を 0.1ml 注射して行った。試験水槽には 30ℓパンライト水槽を用い、換水は 2 日に 1 回実施した。

試験の結果、注射 25℃試験区のみでへい死が 3 個体（瀕死 1 個体含む）発生した。また、へい死個体は外套膜が萎縮していた。貝殻の再生痕は、SW 区と対照区では確認されず注射 25℃区と注射 20℃区では 10 個全てで確認され、注射 16℃区では 1 個体で確認された。

発症貝の貝肉抽出濾液を注射することにより注射 20℃区と注射 25℃区で貝殻再生痕を再現することができ、感染性を示唆する結果が得られた。また、注射 16℃区では貝殻再生痕も確認されなかったことから、16℃以下の水温では発症しにくい可能性も示唆された。注射 25℃区でのみへい死が発生しており、20℃では発症するもののへい死には至らず回復するが、25℃ではそのままへい死する貝が発生すると推測された。

稚貝で調整した攻撃液で外套膜萎縮症状や貝殻再生痕が再現されており、稚貝の大量へい死と 2 年貝等母貝の外套膜萎縮が同じ原因の可能性も示唆された。

4 まとめ

本事業では、令和元年に発生した原因不明のアコヤガイの外套膜萎縮症状や稚貝のへい死について種々の飼育試験を実施した。三重県水産研究所では、漁場環境に関する調査や真珠養殖業者に向けた情報発信も実施しており、様々な知見が蓄積されつつある。三重県では黒潮大蛇行を主要因とする高水温、餌となるプランクトンの減少、感染症の可能性など様々な要因による複合的な原因により生じたとしているが、へい死に至る経緯は不明であり、今後も原因究明や対策に係る試験を実施していく必要がある。

本事業の結果から、カゴの揺れがアコヤガイのへい死につながるストレスとなる可能性が示され、筏を揺らさないように速度を落とした波を立てない航行がへい死の低減に有効かもしれない。また、真珠養殖漁場ではない海域ではへい死が発生しなかったことから、ここ数年間の真珠養殖履歴が無い海域に、新たな稚貝飼育漁場を設けて、種苗生産場から直接稚貝飼育漁場に収容することで、稚貝の大量へい死を回避できる可能性も考えられる。