TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo University of Marine Science and Technology (東京海洋大学)

選抜育種によるエゾアワビ有用系統の作出に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-12-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小林, 俊将 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1629

博士学位論文

選抜育種によるエゾアワビ有用系統の作出に関する研究

平成 30 年度

（2018 年 9 月）

岩手県内水面水産技術センター

小林　俊将

博士学位論文

選抜育種によるエゾアワビ有用系統の作出に関する研究

平成 30 年度

（2018 年 9 月）

岩手県内水面水産技術センター

小林　俊将

目　　次

第１章　序論　・・・

結果・・・

第１章　序　論

腹足類前鰓亜綱原始腹足目ミミガイ科に属する貝を広くアワビ類 *Haliotis spp.*とすると、世界中には約 70 種類が生息する（浮ら 1995）。アワビ類は高価な水産物として世界中で古くから利用されており、日本でも暖流系のマダカアワビ *H. madaka* 、メガイアワビ *H. gigantea*、クロアワビ *H. discus discus* とその寒流系のエゾアワビ *H. discus hannai*、および小型のトコブシ *H. aquatilis* とフクトコブシ *H. diversicolor* の 6 種が漁獲対象となっている。アワビ類は高値であるうえに漁獲が容易な水深の浅い磯根に定着して生息することから、日本では人工種苗放流を利用した栽培漁業の有望な対象種として早くから種苗生産技術の開発が取り組まれてきた。1980 年代にエゾアワビにおいて種苗生産の基本的な技術、すなわち催熟技術、産卵誘発技術、幼生飼育技術、採苗技術、珪藻餌料飼育技術、配合飼料飼育技術が日本で確立したことにより（浮ら 1995）、その技術を応用して多くの国で多種のアワビ養殖が行われるようになった（Hahn 1989）。アワビ類の天然個体の漁獲量が減少する一方で、世界の養殖アワビ生産量は増加し、2008 年の統計では中国、韓国を中心に世界で 3 万トンをこえていると推定されている（原 2010）。

日本国内においてもアワビ類の天然個体の漁獲量は 1970 年代の 3,000 トン代から近年は 1,000 トン代まで減少してきており、養殖生産への期待は大きい。国内では 1980 年代から天然個体の増殖を目的としたアワビ種苗の放流事業が全国各地で取り組まれており、同時にその種苗生産技術を利用した養殖が広く行われている。養殖手法としては大きく陸上養殖と海面養殖に分けられる。陸上養殖では巡流式水槽や多段式水槽等を設置した陸上施設に海水を掛け流して飼育する方法が、海面養殖ではプラスチック製のカゴやトリカルネット製のカゴを延縄や筏施設から垂下する海面カゴ養殖が主流となっている。

しかし、全国のアワビ類の養殖生産量は、天然個体の漁獲量の 5%に満たないとされており（山川・池田 2014）、数十トン規模と推察される。日本国内でのアワビ類の漁獲量及び種苗生産放流量が最も多い岩手県でのエゾアワビ養殖の事例を見ると、養殖個体の単価は

天然個体と同等の 7,000 円/kg 前後であり、水産の他の養殖対象種と比較しても高値で取引されている。しかし、同県でのアワビ類の養殖生産量も全国と同様に天然個体の漁獲量の 5%に満たない値で推移している。

日本国内でのアワビの養殖生産量が伸びない背景として、成長が遅いことが問題点として指摘されている（原 2008)。岩手県内でのエゾアワビ養殖の事例では、育種が行われていない天然個体を親として生産した種苗で養殖を行うと、商品価値のある殻長 7 cm 以上に成長するのに、種苗生産期間も含めて通常 4 年の飼育を要する。また、成長の個体差が大きいことも効率的な養殖生産の妨げになっている。岩手県ではエゾアワビの天然個体の漁獲規制サイズが殻長 9 cm 以上であり、主に干鮑への加工や刺身商材として流通している。これに対して、小型のサイズで出荷する養殖個体は流通先の宿泊施設等において消費者に 1 個ずつ提供されることが多く、天然個体よりも規格をそろえることが要求されている。そのために、養殖生産での成長の個体差が大きいと規格外として出荷できない個体が多数出現することになる。岩手県の事例では、養殖個体の出荷サイズの目安は平均殻長 70 mm であるが、出荷ロットの幅は上下に 5 mm 程度とっており、最低の出荷サイズは殻長 65 mm となる。しかし、アワビ養殖の現場では何年飼育しても殻長 65 mm に達しない成長不良個体が一定割合出現して経営上の問題となっている。

これらの問題を解決する手法として、育種による成長改善が挙げられる。エゾアワビは完全養殖が実施されている数少ない貝類であり、遺伝的に改良する手法として、選抜育種が試みられてきた。選抜育種を行うには対象生物に十分な遺伝的変異が存在することが必要であるが、水産業で漁獲あるいは養殖の対照となる生物は、多くの農業や畜産業の対象生物と異なり野生集団が存在している。これらの野生集団は人為的な選択を受けていないことから遺伝的に多様であり、育種による改良に対して多くの可能性を含んでいる。エゾアワビも天然集団の遺伝的変異が大きいことが報告されており（藤尾ら 1986, 藤尾ら 1989, 原・藤尾 1992, 木島ら 1993, 古殿ら 1995, 木島ら 1995)、育種による優良な養殖品種の開発が期待されている。

実際に、河原ら（1997）は 5 ヶ所の種苗生産施設で生産している量産種苗の中から種苗時期の高成長を指標として 1～3 代選抜した集団及び天然集団を集めて同時に人工種苗を作成し、3 年 9 ヶ月間にわたって成長を比較した。その結果、2 代選抜をした系統、3 代選抜をした系統、1 代選抜をした系統、天然集団の順に子集団の成長が良かったことから、種苗生産施設での選抜がエゾアワビの成長の遺伝的改良に有効であることを示した。選抜によりエゾアワビの成長が実験的に改善された報告例は多く（原 1989, 原 1990, Hara and Kikuchi 1992, Hara and Sekino 2007, 杉田ら 2009a, 杉田ら 2009b）、エゾアワビの成長に関しては大サイズへの選抜により、選抜効果が期待できることが明らかとなっている。一方で、実験的に作出された系統を継続的に利用する為に必要な事業規模での検証事例は少なく、特に国内で多く取り組まれている海面カゴ養殖における検証事例は見当たらない。

そこで、本研究では第 2 章でエゾアワビの成長に関する遺伝的改良に取り組むこととし、既に成長に関して選抜が進められている成長優良系統について海面カゴ養殖での事業規模での検証を行い、その実用化にあたっての手法や問題点を検証した。

遺伝的改良を目的として閉鎖的な集団内で継代を行った場合、集団内の近交度が高まり、劣性有害遺伝子がホモ化することにより有害な形質が顕在化する近交弱勢が現われる可能性が高まる。したがって、養殖品種の作出過程において近交弱勢は最も注意すべき現象の一つとなる。水生生物における近交弱勢は魚類で多くの報告があり、生存率の低下、成長不良、繁殖力の低下、奇形率の増加などが知られている（Kincaid 1976, Markovcic and Haley 1979, Winemiller and Taylor 1982, Su *et al.* 1996）。貝類で近交弱勢を検証した例としては、バージニアガキ *Crassostrea virginica* で受精率の低下と正常な初期発生率の低下が（Longwell and Stiles 1973）、アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* で増重量と生存率の低下が（Wada and Komaru 1994）、リンゴガイ *Pomacea canaliculata* でふ化率の低下、増重量および生残率の低下が（藤尾ら 1992, Fujio *et al.* 1997）報告されている。

アワビ類については実験的に近交弱勢を検証した例は少なかったが、Deng *et al.*（2005）はエゾアワビにおいて近親交配が幼生の成長と変態の成功率の低下を引き起こすことを報

告している。また、Pack *et al*（2006）は、エゾアワビの兄妹交配家系での約 1 年間の飼育実験でベリジャー幼生の奇形率の増加や稚貝の生残率の低下が生じたことを報告しており、初期発生から稚貝期に近交弱勢が現れることが指摘されている。これらの報告はいずれも 1 年以内の飼育実験による検証にとどまっており、アワビ養殖への影響を知るにはより長期間の検証が必要となっている。

そこで、本研究では選抜育種で作出された系統の実用化に取り組むにあたり、エゾアワビにおいてどのような形質に近交弱勢が影響するのか長期間にわたって検証することとした。第 3 章ではエゾアワビで発現する近交弱勢形質を、成熟可能な時期まで、成長段階にそって明らかにすることを目的とし、総当り交配で作出したエゾアワビの兄妹交配家系と非兄妹交配家系での近親交配の影響を約 3 年 4 ヶ月間にわたって比較した。

また、有用な養殖系統の実用化を目指す場合、天然個体や近年増加している輸入個体との差別化を図ることが重要になってくる。水産物の養殖において生産物の価値に影響を与える要素として、大きさや味などに加え色などの外観は重要な要素である。貝類では多くの種で遺伝的な殻色変異があることが知られている（難波 1973, Cole 1975, Innes and Haley 1977, Newkirk 1980, Palmer 1984, Palmer 1985, Adamkewicz and Castagna 1988, 和田・古丸 1990, 藤原 1995, 藤原 2004, 藤原ら 2005, 岸岡ら 1997, Winkler *et al.* 2001, Luttikhuizen and Drent 2008）。ヒオウギガイ *Chlamys nobilis* の貝殻は通常褐色であるが、稀に紫・緋・黄・橙などの美しい色彩のものがあり、それらは遺伝性があることが指摘されており、観賞用としても利用されている（難波 1973）。養殖における付加価値の向上を目的として、遺伝的な殻色変異体を選抜する試みもいくつか報告されている（Wada and Komaru 1994, Evans *et al.* 2009）。アコヤガイでは養殖真珠の色彩を改善する目的で白色の殻を持つ殻色変異体を選抜した事例が報告されている（Wada and Komaru 1994）。マガキ *Crassostrea gigas* ではハーフシェル市場での価値向上のために殻の着色量の選抜が試みられている（Evans *et al.* 2009）。貝類の殻色変異を産業的に応用しようとする試みはまだ多くないが、貝類の殻色の遺伝的な改良は、将来的に貝類養殖における付加価値向上に寄

与するものと期待される。

アワビ類の殻色にも変異が存在するが、その多くが環境要因の一つである餌料の違いに起因し（猪野 1952, Leighton 1961, 酒井 1962, 荻野・太田 1963, Leighton and Boolootian 1963, Olsen1968, 渋井 1971, 田島ら 1980a, 田島ら 1980b, 堀口ら 1987, 堀口ら 1994, 河原・大森 2000, Wenresti *et al.* 2003, Gallardo 2003)、 これらの変異を利用して殻にマーキングをする手法なども試みられている（河原ら 1999, Wenresti *et al* 2003)。エゾアワビは普通、ワカメ *Undaria pinnatifida* などの褐藻類や配合飼料を与えると緑または青緑色の殻を、アカバギンナンソウ *Rhodoglossum pulcherum* などの紅藻類を与えると褐色の殻を形成することが報告されている（猪野 1952, 酒井 1962, 河原・大森 2000)。

本研究において著者らはエゾアワビの継代集団内に通常は緑色の殻を形成する配合飼料を与えているにもかかわらず、青色あるいは白色系の殻を形成する殻色変異体を発見した。これらの変異体は食用を目的とした養殖における天然個体や輸入個体との差別化に利用できるだけでなく、殻を装飾品として利用するといった方面での付加価値も期待できる。

そこで、本研究の第 3 章では殻色変異体である青色型と白色型及び通常の緑色型の遺伝的支配関係を、計画的な交配試験における殻色型の分離比から明らかにした。また、これらの殻色変異体を利用するために必要な情報として、殻色変異体の殻色が餌料により変化するか確認した。

第 5 章では選抜育種によるエゾアワビ養殖に有用な系統の作出と、その実用化に向けて総合的に考察した。

第２章　エゾアワビの成長に関する遺伝的改良

緒　　言

エゾアワビは経済価値が高く、種苗の大量生産技術が確立していることから、各地で養殖が試みられているが、エゾアワビは成長が遅いうえに成長の個体差が大きいことが効率的な養殖の妨げとなっている。一方で、本種は成長に対する選抜効果が高いと考えられており（原1989, 原 1990, 原 1992, Hara and Kikuchi 1992, 河原ら1997, 河原ら1999 ）、選抜育種による優良養殖品種の開発が期待されている。

河原ら（1997）は5ヶ所の種苗生産施設で1～3世代選抜されたエゾアワビの集団を集め、その成長を3年9ヶ月間にわたり評価したところ、選抜をしていない集団と比較し、1世代選抜した集団の成長が良く、2～3 世代選抜した集団の成長が最も良かったことを報告している。しかし、河原ら（1997）の実験は各系統の検体が 100 個体以下の小規模なものであった。岩手県水産技術センターではこれらの系統を保持していたことから、その事業規模での実用性について検証を行うこととした。河原ら（1997）が評価した集団のうち最も成長が良かった系統Aは天然個体から作出した対象群と比較して増殻長で 26%、増重量で93%増の高成長を示した。そこで第2章第1節では系統Aについて、一般的なアワビ養殖の手法である海面カゴ養殖での成長特性を事業規模で評価した。

また、河原ら（1997）が評価した5系統のうち2番目に成長が良かった系統Kは岩手県内の気仙町漁業協同組合（合併後広田湾漁業協同組合に改名、以後気仙町漁協と記載）が管理する種苗生産施設で実用化され、系統Kの種苗を用いた海面カゴ養殖が行われている。気仙町漁協では系統Kを保持する為に、生後 14 ヵ月の殻長を基準に、約 90 万個の種苗の中から上位1%以内の個体を選抜することを継続している。気仙町漁協のみでなく、すでに幾つかの種苗生産施設では、種苗生産段階での成長を基準に選抜した親貝を用いた種苗生産が試みられている。しかし、これらの種苗生産施設の多くでは、放流を前提として高い

採捕率の期待できる大型の種苗を効率よく生産することを目的とし、稚貝期の高成長を育種目標としており、養殖における出荷までの成長を基準にした選抜は行われていない。これらの人工種苗を養殖に用いる場合、通常は殻長の揃った種苗が養殖業者に配布されることから、種苗の供給を受ける養殖業者にとっては、種苗生産段階での成長ではなく、種苗として配布されてから肥育し出荷までの成長が重要となる。したがって、選抜した種苗を実用化する際には、種苗生産段階での成長と、その後の養殖段階での成長との関連を確認しておく必要がある。特に種苗生産段階と養殖段階で飼育環境が異なる場合は、養殖が行われている現場での検証作業が必要と考えられる。しかし、エゾアワビの選抜種苗の養殖現場での成長を評価した例は少ない。

そこで、第 2 章第 2 節では、種苗生産施設での成長を基準に選抜・継代を繰り返したエゾアワビ集団である系統Kから作出した種苗について、一般的に行われている海面カゴ養殖の種苗として用いた場合の成長を評価し、種苗生産段階での成長評価との対比から、種苗生産施設で行われている選抜育種の有効性について検討した。なお、成貝の特に出荷時までの成長の改善を育種目標にする場合、選抜基準をその時点の殻長において親貝の選別を行うのが当然であるが、今回の研究では稚貝殻長を形質として選抜育種された集団が、親貝の成長の改善にどの程度有効か見ることを目的とした。

第１節　系統Ａを用いた高成長系統の成長特性の把握

材料と方法

種苗の準備

選抜系統 A は青森県栽培漁公社のアワビ種苗生産施設において通常の種苗生産の過程で出現した大型個体を抽出する手法で、2 世代にわたって選抜を繰り返した継代選抜集団で、選抜の母集団の大きさは 120 万個体、選抜強度は 0.3%、選抜時期は 3 ヶ月令である（河原ら 1997）。本研究では 1997 年 7 月 14 日に（社）岩手県栽培漁業協会で系統 A 及び天然貝を用いて、通常の種苗生産と同じ手法で種苗を作出し、それぞれを選抜群、非選抜群とした。この際、使用した系統 A の親個体は河原ら（1997）が実施した成長比較試験の生残個体から無作為に抽出したものである。各群の飼育には 5 m の巡流水槽を用いた。13 ヵ月令の 1998 年 8 月 25 日にそれぞれの種苗を殻幅別にふるいで選別した。選抜群及び非選抜群の種苗生産個数（生残数）はそれぞれ、30,629 個体及び 21,713 個体であった。その際の選抜群及び非選抜群の殻長組成を Fig. 1 に示した。そのうち、一般的な養殖用種苗のサイズ（30～40 mm）に近い殻幅の大きいロット（上位 18.0%）から各 3,000 個体を選んで試験個体とした。選抜群及び非選抜群の平均殻長はそれぞれ、19.9 ± 4.0 mm 及び 18.2 ± 4.6 mm だった。

養殖試験

試験個体は 1998 年 10 月 30 日に岩手県釜石湾平田地先海面の延縄施設に垂下したトリカルネット製の養殖カゴ（カゴサイズ：72×60×35 cm、シェルター面積：101.2 cm^2）に収容した。垂下水深は 3 m、収容個数は 250 個/カゴとした。収容時の殻長は選抜群 29.6 ± 1.8 mm、非選抜群が 26.3 ± 1.4 mm であった。給餌は周年 10 日に 1 回とし、3 月～10 月は生コンブ、11 月～2 月はボイル塩蔵コンブあるいは配合飼料を飽食量与えた。なお、1999 年 5 月 12

日に分散作業を行い 125 個/カゴに調整した。試験期間を通し 4～7 ヶ月に一度、全個体の殻長及び飼育カゴ毎の総重量計測を実施し、2002 年 2 月 13 日までの 3 年 4 ヶ月にわたって成長比較を行った。

結　果

試験海域の月間平均水温の推移を Fig. 2 に示した。試験期間中の水温は平均 12.6℃（最高 21.4℃、最低 4.4℃）だった。

選抜群と非選抜群の生残率の推移を Fig. 3 に示した。試験開始後初めの 1 年間は選抜群が非戦抜群よりも生残率が低い傾向が見られたが、最終的な生残率は非選抜群が 73.7%、選抜群が 72.1％とほぼ同じ水準となり、両群に差は認められなかった。

次に平均殻長及び平均重量の推移をみてみると（Fig. 4）、試験期間を通して平均殻長、平均重量とも選抜群が非選抜群を上回った。試験終了時の選抜群及び非選抜群の平均殻長はそれぞれ 80.2 ± 7.2 mm 及び 69.9 ± 8.6 mm であり、選抜群が有意に大きかった（t 検定 : $P < 0.01$）。また、選抜群及び非選抜群の平均重量は 75.9 g 及び 51.9 g であり、試験期間中の平均増殻長及び平均増重量を比較すると、選抜群が 50.6 mm、72.3 g、非選抜群が 43.6 mm、49.4 g であり選抜群が平均増殻長で 16%、平均増重量で 46%の高成長を示した。

試験終了時の選抜群及び非選抜群の殻長組成を Fig. 5 に示した。非選抜群と比較して選抜群は殻長の小さいロット部分の立ち上がりが少なく、成長の悪い個体の出現が少ない傾向が認められた。

考　察

（社）岩手県栽培漁業協会における事業規模での種苗生産では、選抜群（30,629 個体）が非選抜群（21,713 個体）よりも種苗生産数が多かった。本試験では採苗槽への幼生の投

入数が同数になるように採苗作業を行ったため、生残数から勘案される種苗生産効率は非選抜群より選抜群が高かったと考えられる。更に密度効果により選抜群の成長が非選抜群と比較して抑制された可能性があるにもかかわらず、選抜群の平均殻長は非選抜群より大きい値を示した。系統Aは種苗生産効率が良い系統であることが示唆された。

作成した種苗を用いた養殖試験の結果は、系統 A が事業規模の養殖現場でも選抜効果を発現することを示している。国内のエゾアワビ養殖では概ね殻長 7 cm 以上が出荷サイズであり、養殖用種苗として実用化するには殻長 7 cm に達するまでの成長が良いことが重要である。養殖試験において両群の平均殻長が約 7 cm に達するまでに要した期間は非選抜群が 3 年 4 ヶ月であったのに対し、選抜群は 2 年であり、約 1 年 4 ヶ月間短縮された。また、生残に関しても大きな問題は認められず、本試験において系統 A が実用的であることが示唆された。

更に、もう一つの問題点であった成長の個体差に関しては、選抜群では成長の悪い個体の出現が少ない傾向が認められた。岩手県における養殖アワビの最低出荷サイズである殻長 65 mm を基準にしてみると、殻長 65 mm 以下の個体の出現割合は、非選抜群の 24.0%に対して選抜群は 4.1%と大幅に減少しており、系統 A を用いることにより成長の個体差の問題が事業規模で解消できることが期待される。

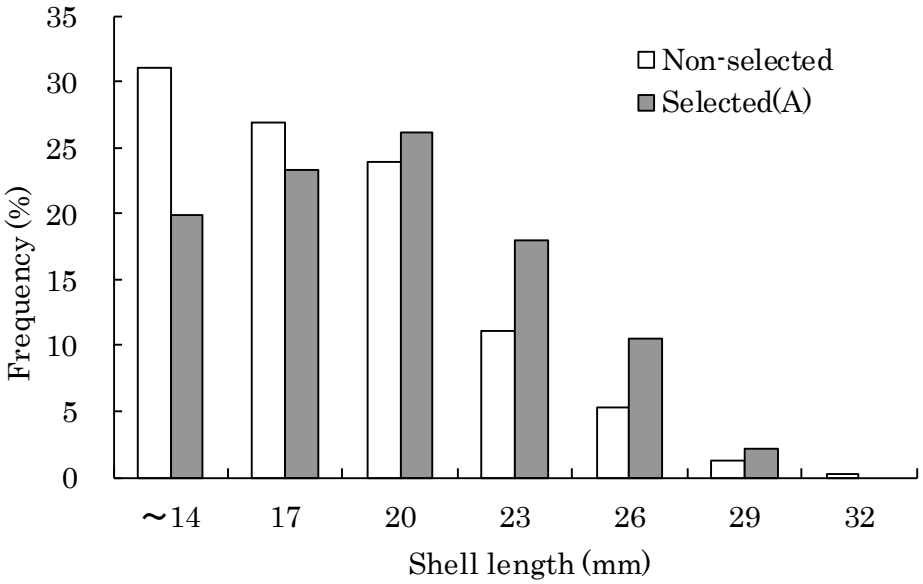

Fig. 1. Frequency distribution of shell length for Non-selected and selected(A) abalone seed at 13-month-old.

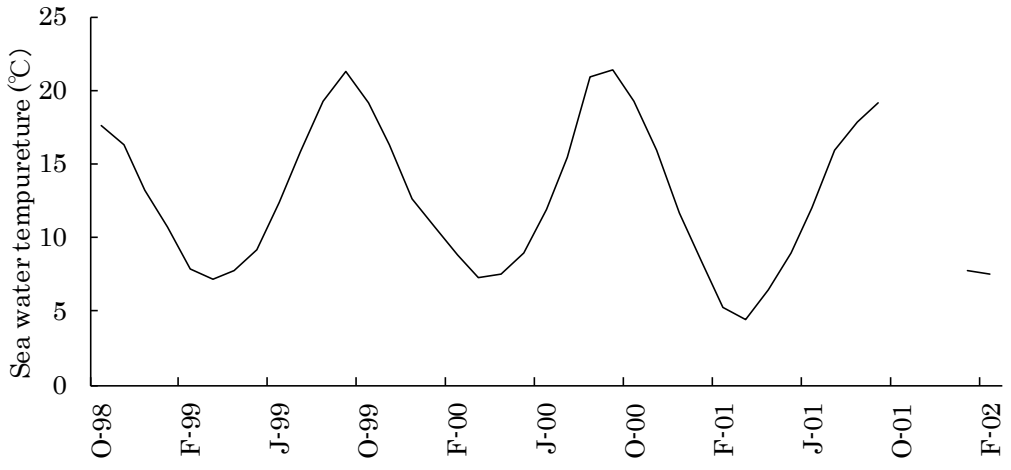

Fig. 2. Monthly tempurature of sea water at the experimental area.

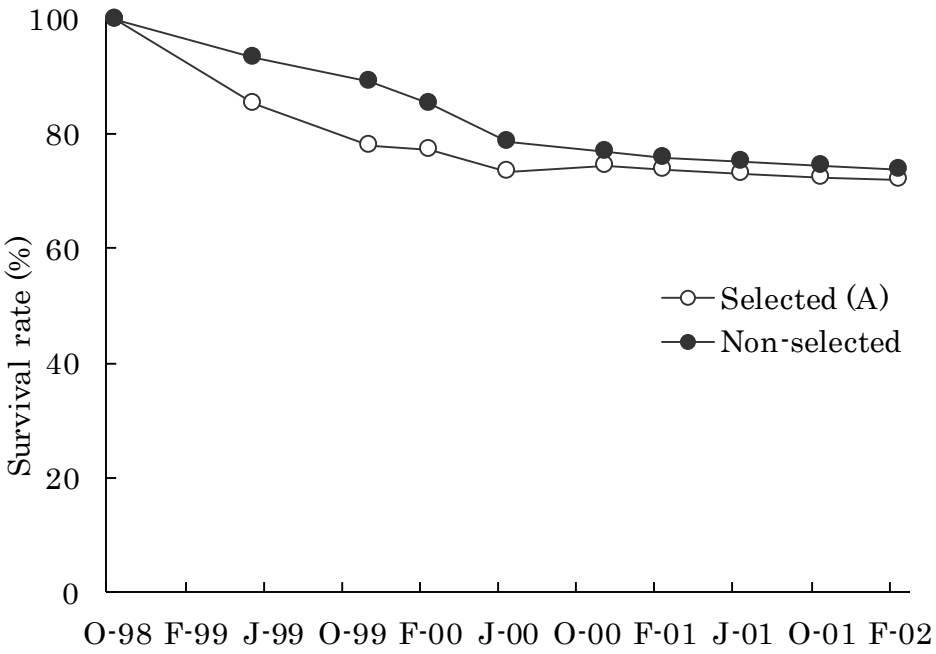

Fig. 3. Survival rate of non-selected and selected(A) seed during the cultivate experiment.

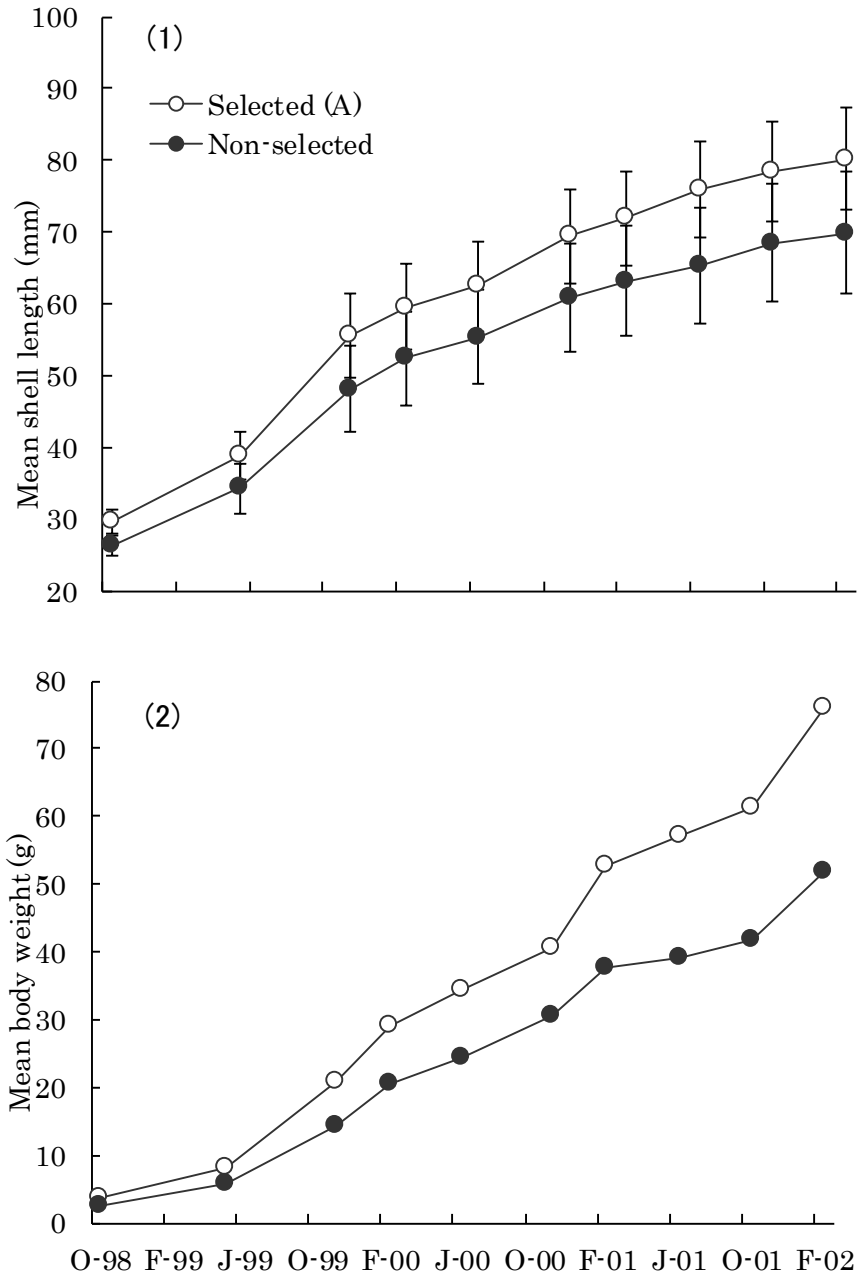

Fig. 4. Growth of non-selected and selected(A) seed for 3 years 4 months. (1) Mean shell length (2)Mean body weight

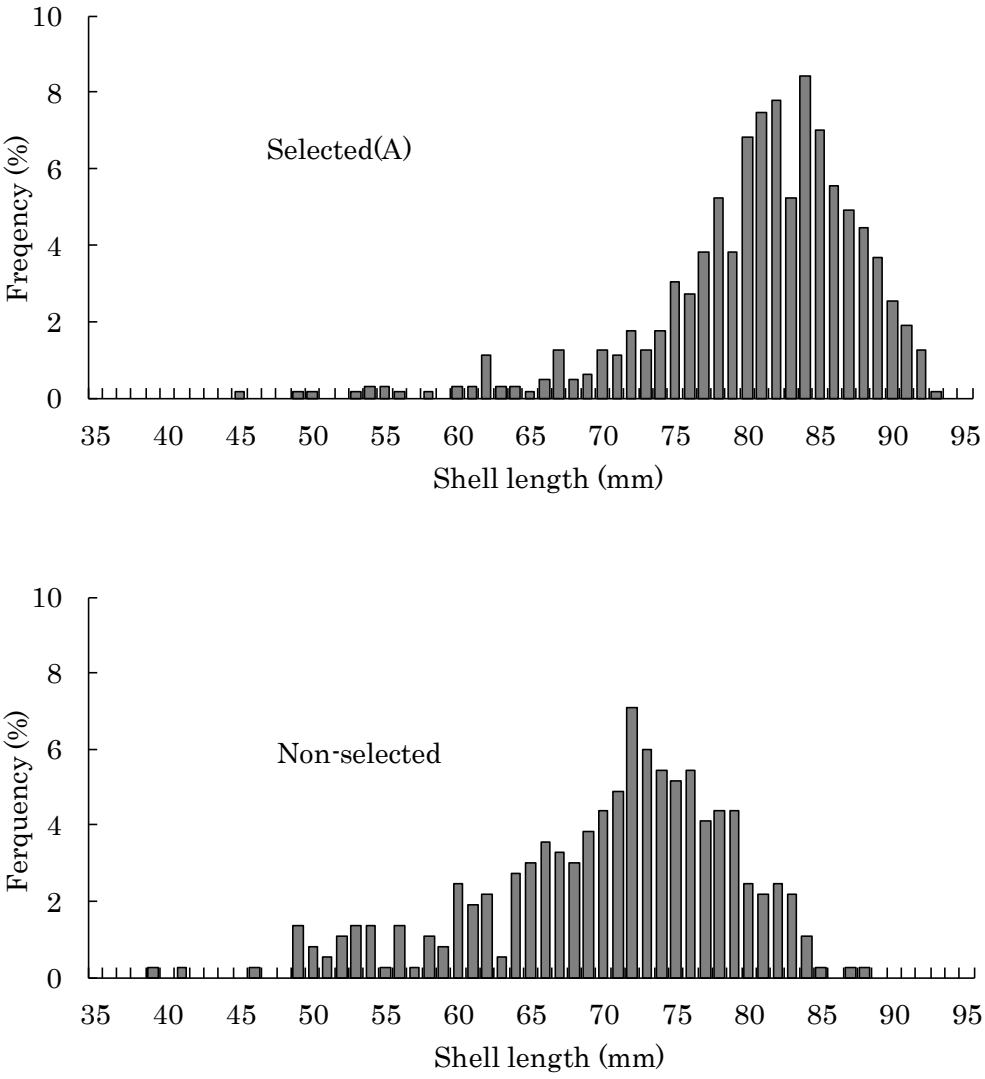

Fig. 5. A comparison of the shell length distribution of non-selected (bottom) and selected(A) (top) abalone at the end of the experiment.

第２節　系統Ｋを用いた高成長系統の成長特性の把握

材料と方法

種苗生産試験

選抜系統 K については河原ら（1997）は 3 世代選抜した世代の成長を評価したが、本試験では同系統を保持する気仙町漁協のアワビ種苗生産施設で更に 2～3 世代継代したエゾアワビ集団、つまり、生後 14 ヵ月の殻長を基準に、約 90 万個の種苗の中から上位１％以内の個体を選抜することを 4 世代以上繰り返した集団を用いた。なお、気仙町漁協では選抜代数の異なる親貝を複数年にわたり混合して使用しているため、3 世代以降の正確な継代数は特定できない。

天然貝および選抜集団の親貝を岩手県水産技術センターに搬入し、2004 年 4 月に天然貝の♀3 個体、♂3 個体、選抜集団の♀1 個体、♂2 個体を用いて雌雄一対交配を行い、♀天然×♂天然を 9 家系、♀選抜×♂選抜を 2 家系作出した。交配 4 日後に、家系ごとに 20L 水槽（1～2 槽／家系）に幼生を採苗し（1500 個体／槽）、♀天然×♂天然の９家系を非選抜群（17 水槽）、♀選抜×♂選抜の 2 家系を選抜群（3 水槽）とした（Table 1）。

採苗した日から 119 日目までを飼育第 1 期とし、各家系の収容個数の調整を行わずに飼育した。その後、家系ごとに 1 水槽ずつ残して収容個数を 30 個体/槽に調整し、採苗後 120 日目から 228 日目まで飼育して第 2 期とした。第 2 期では、第 1 期で生存数が少なかった 2 家系（No.1 および 10）を除外し、外部標識を付けて個体識別できるようにした非選抜群 8 家系および選抜群 1 家系を飼育した（Table 1）。

第 1 期の初期では、採苗板およびコンテナの内面に自然に繁茂してきた珪藻を摂餌させ、その後、珪藻と併せて配合飼料（コスモ開発株式会社（現コスモ海洋牧場株式会社、以後コスモ開発株式会社と記載）製：スタンダードタイプ）を飽食量与えた。第 2 期では、主に配合餌料を飽食量与えた。全試験期間を通じて、20℃前後に調整したろ過海水を、換水

率が 2 回転/時以上になるように掛け流して飼育した。

第 1 期および第 2 期終了時に全個体の殻長計測を行い、殻長を基準に種苗生産段階での成長を評価した。

養殖試験

海面カゴ養殖試験には、前述の選抜集団を用いて実際に種苗生産施設で生産された約 90 万個の種苗から抽出した 2 群と、主に天然貝を用いて別の種苗生産施設で生産された約 300 万個の種苗から抽出した 1 群の計 3 群を用いた。2002 年 4 月に選抜集団を用いて生産された種苗のうち、生後 14 ヵ月の時点で殻長の大きい個体（平均殻長 40.7 ± 2.4 mm，平均重量 10.3 ± 2.0 g）を選抜大型群、殻長の小さい個体（平均殻長 30.0 ± 1.8 mm 平均重量 3.9 ± 0.7 g）を選抜小型群とした。また選抜群と同じ 2002 年 4 月に主に天然貝を交配させて生産された種苗から、生後 14 ヵ月の時点で平均的な殻長の個体（平均殻長 28.3 ± 1.4 mm，平均重量 3.4 ± 0.6 g）を抽出して非選抜群とした。養殖試験での非選抜群の生産に用いた親貝の多くは天然貝であるが、一部、人工種苗を養成したものも用いている。使用した人工種苗の割合等は不明であるが、人工種苗同士の交配は行っていない。試験個体抽出時の母集団における各群の抽出範囲を Fig. 6 に示した。

選抜大型群、選抜小型群および非選抜群の種苗各 45 個体ずつ計 135 個体に標識し、同一の養殖カゴ（トリカルネット製：72×60×35 cm）に入れたものを 2 カゴ用意した。各養殖カゴには表面積約 1 m^2 のシェルターをいれ、岩手県広田湾沿岸海域に設置した延縄式養殖施設から 4 m 水深に垂下した。試験期間は、生後 14 ヵ月の 2003 年 6 月から生後 38 ヵ月の 2005 年 6 月までの 2 年間とし、生コンブをほぼ飽食量与えて飼育した。生後 18 ヵ月、29 ヵ月および 38 ヵ月に全個体の殻長計測を行い、殻長を基準に養殖段階での成長を評価した。

結　果

種苗生産試験

第１期および第２期での水槽ごとの生存数、平均殻長、および平均日間増殻長の値をTable 1 に示した。第 1 期終了時の非選抜群および選抜群の各水槽での生存数の平均値はそれぞれ 437 個/槽および 334 個/槽であり、統計的な有意差はないものの非選抜群と比較して選抜群の生存数が少ない値となった。一方、第２期においては、各水槽でのへい死は 1 個体以下であり、両群の生存数に違いは見られなかった。

次に両群の成長を比較すると、第 1 期終了時の非選抜群および選抜群の各水槽での平均日間増殻長の平均値はそれぞれ 69.2 µm/日および 107.7 µm/日で、非選抜群と比較して選抜群が高い値を示した。ここで、第１期終了時の各水槽の生存個数と平均日間増殻長の関係を Fig. 7 に整理すると、非選抜群および選抜群のいずれにおいても対数曲線に近似する負の相関が認められた。このことから、生存個数の違い、すなわち飼育密度の違いが成長に影響を及ぼしていると考えられた。そこで飼育密度の違いによる影響を排除して両群の成長を比較するために、平均日間増殻長の対数値を変数、生存数の対数値を共変数として、共分散分析によって非選抜群と選抜群の平均日間増殻長の差を検定したところ、有意な差が認められた（df = 1, SS = 0.327, F = 10.299 ; P < 0.01）。このことから、飼育密度が異なる場合でも、この時期の選抜群の成長は非選抜群と比較して相対的に優れていたと言うことができる。第１期の生存数の平均値である 422 個/槽のレベルにおける、非選抜群と選抜群の日間増殻長を対数回帰式から推定すると、それぞれ 66.3 µm/日および 93.5 µm/日となり、非選抜群と比較して選抜群の値が 41%上回った。

続いて第 2 期の成長をみてみると、第 2 期終了時の非選抜群および選抜群の日間増殻長の平均値はそれぞれ 134.2 µm/日および 176.8 µm/日であり、非選抜群と比較して選抜群が 32%高い値を示した（Table 1）。ただし、非選抜群と選抜群では飼育試験開始時の殻長が異なっており、両群の成長を比較するためには、飼育開始時の殻長差がその後の成長に与え

る影響を調べる必要がある。そこで、各個体の飼育開始時の殻長と期間中の日間増殻長の関係を図示してみると（Fig. 8)、いずれの群においても飼育開始時の殻長と期間中の日間増殻長の間に明確な相関関係は認められなかった。このことは、第 2 期における両群の日間増殻長は、飼育開始時の殻長を考慮せずに比較できることを示している。第 2 期における非選抜群と選抜群の日間増殻長の平均値を t 検定により比較したところ、有意な差が認められた（$P < 0.01$)。すなわち第 1 期と同様、第 2 期における選抜群の成長は、非選抜群よりも優れていたと考えることができる。

第 2 期における各家系の日間増殻長の平均値と変異係数の関係を Fig. 9 に示す。なお、選抜群で極端に成長が悪かった 1 個体は第 2 期終了直後に斃死したことから、この個体は選抜群における正常な成長のバラツキを反映していないと考え、外れ値としてデータから除外した。各家系の日間増殻長の平均値が大きくなるに従って変異係数は減少し、有意な負の相関が認められたことから、選抜群などの成長の良い家系は家系内の成長のバラツキが小さい傾向にあることが示された。また、Fig. 8 に示した第 2 期における両群の日間増殻長の分布を見てみると、非選抜群は 18～202 μm/日の範囲に幅広く分布しているのに対して、選抜群は 1 個体を除き 153～214 μm/日の範囲に集中して分布しており、分布の上限が非選抜群と選抜群であまり変わらないのに対し、分布の下限に大きな差異があることが分かる。すなわち、選抜群では特別成長の良い個体が多かったわけではなく、日間増殻長が 153 μm/日以下の成長の悪い個体が少なかったことが選抜群の増殻長の平均値を上げたものと考えられる。第 1 期および第 2 期を通じて、選抜群の平均日間増殻長は、非選抜群よりも 30～40%高かったことから、選抜集団から作出した選抜群の稚貝は、通常エゾアワビの種苗生産で生産される殻長 30～40 mm 程度までの成長において、天然貝から作出した稚貝よりも成長が良いことが示された。

養殖試験

各群の生残率の推移を Fig. 10 に示した。試験期間終了時、非選抜群（85.6%)、選抜大型

群（83.3%）、および選抜小型群（70.0%）の順で高く、特に選抜小型群で低かった。

各群の平均殻長の推移は Fig. 11 に示したように、非選抜群と選抜大型群の平均殻長の差は縮小し、選抜大型群と選抜小型群の平均殻長の差は拡大した。また試験開始時の選抜小型群の平均殻長は非選抜群よりもわずかに大きかったが、4 ヵ月後の計測では非選抜群が選抜小型群を上回り、その後継続して平均殻長の差は拡大した。非選抜群と選抜小型群の 2 群について、試験終了時の殻長の平均値を t 検定により比較したところ、有意な差が認められた（$P < 0.01$）。平均日間増殻長は、非選抜群（49.4 μm/日）、選抜大型群（46.2 μm/日）、選抜小型群（39.5 μm/日）の順であった。これらの結果から、選抜集団から作出した種苗の、海面養殖期（殻長約 30～40 mm 以上）における成長率は、非選抜種苗と比較して必ずしも高いものではないということが示された。ここで、各群の日間増殻長の分布を Fig. 12 に示す。非選抜群と比較して、選抜大型群、選抜小型群ともに日間増殻長が 55 μm/日以上の成長の良い個体が少ない傾向にあり、そのことが両群の日間増殻長の平均値を下げていた。また、選抜大型群と選抜小型群を比較すると、大型選抜群では日間増殻長が 27 μm/日以下の成長の悪い個体が少ない傾向にあり、そのことが同群の平均値を上げていた。また、非選抜群、選抜大型群および選抜小型群の日間増殻長の変異係数はそれぞれ、26.4%、16.2%および 30.0%であり、非選抜群および選抜小型群と比較して選抜大型群でバラツキが少ない傾向にあった。

考　　察

河原ら（1999） は 10 組のエゾアワビ全兄弟群の成長から、10～25mm 程度の稚貝期の日間増殻長に対する広義の遺伝率を 0.5 以上と推定し、成長に関与する遺伝的変異を選択する手法として、種苗生産施設で行われている選抜育種の有効性を指摘している。今回の研究で明らかになった選抜集団の種苗生産段階での高成長は、種苗生産施設において選抜を繰り返したことにより、選抜集団の種苗生産段階での成長が遺伝的に改良された結果と推

察される。

一方、本研究における養殖段階での試験では、種苗生産段階での成長に見られるような選抜集団での高成長性は認められなかった。Nakajima and Fujio（1993）は、雄のグッピーにおいて成長が頭打ちになる体長に明確な系統差がみられることから、成長に関与する遺伝子が成長段階で異なることを推察している。仮に、エゾアワビにおいて、種苗生産段階での成長に関与する遺伝子群とその後の養殖段階での成長に関与する遺伝子群に異なる遺伝子が含まれる場合、選抜育種により種苗生産段階での成長が遺伝的に改良されたとしても、養殖段階での成長が遺伝的に改良されるとは限らないことになる。本研究で用いた選抜集団は、生後 14 ヵ月までの成長が選抜の基準になっていたことから、選抜により種苗生産段階での成長は改良されたものの、養殖段階での成長には異なる遺伝子が関与していたために改良されなかった可能性がある。このような発育段階による形質関与遺伝子群の不一致とともに、養殖試験での海面養殖の環境が、選抜を行った種苗生産施設や種苗生産試験での閉鎖的水槽飼育の環境と異なることも、成長に関する遺伝子の発現に影響しているかもしれない。いずれにせよ、本研究の結果は、選抜育種により実現した種苗生産段階での高成長が、必ずしもその後の発育段階で維持されるわけではないことを示しており、選抜育種により種苗生産段階での成長が遺伝的に改良されたとしても、それが養殖段階での成長の改良に繋がらない可能性がある。種苗生産施設においては、種苗生産の効率が向上する初期成長に注目して選抜が行われることが多いが、選抜育種によってエゾアワビの成長の遺伝的改良を試みる場合は、発育段階や飼育環境の違いを考慮して選抜を行うことが必要と考えられる。種苗生産施設にとっては初期成長の改良は重要であるが、養殖用種苗として出荷する場合は、その後の成長が重要となるため、育種目標の設定する際にはこの点を考慮する必要があろう。

エゾアワビの種苗生産段階での成長に関して、門間（1980）は、殻長 16～17 mm までの成長が良い個体を選抜した F 群と成長の悪い個体を選抜した b 群の 116 日間の成長を比較し、b 群の日間増殻長が 0～150 μm/日と変動が著しかったのに対し、F 群はほぼ 90～140

μm/日の範囲内で一様かつ速く成長したことを報告している。このＦ群の成長の分布と、今回の種苗生産試験の第 2 期において示した選抜群の成長の分布を比べてみると、成長の良い個体を選抜した群とそうでない群の日間増殻長の上限があまり変わらない点、成長の良い個体を選抜した群では成長の悪い個体が少ない点で類似している。また原(1990)は、親の異なる種苗群での生後 7 ヶ月目から 180 日間の成長比較において、成長の遅かった群では、殻長の伸びの悪い個体の存在が日間成長速度のばらつきを他の群に比べて大きくし、群全体の成長を低下させたことを示し、成長に対して不利な遺伝子が存在する可能性を指摘している。前述の門間（1980）が報告している F 群や、今回の研究の選抜群で認められた種苗生産段階での高成長性の主要因は、群内で成長の悪い個体が少なかったことであるため、これらの群においては、種苗生産段階での成長に対して不利な遺伝子あるいは遺伝子群の一部が選抜により排除された可能性がある。更に、本研究の種苗生産試験の第 2 期で、成長が良い家系で成長のバラツキが小さい傾向が認められたことを考慮すると、初期成長においては成長のバラツキを大きくする要因、つまり成長に対して不利な遺伝子がどの程度存在するかということが家系ごとの成長に大きな影響を及ぼしていると考えることができる。

本研究の養殖試験において、同一の条件下で飼育した選抜大型群と選抜小型群に成長差がみられた。このことは、この選抜集団は選抜強度 1%以内という高い選抜強度で 4 世代以上の選抜を繰り返しているにもかかわらず、成長に関して遺伝的に十分固定された系統となっていない可能性を示している。なお、今回の養殖試験では開始時に選抜集団の大きいものと小さいものに分けた。もしこのようなことを行わずに、開始時に選抜集団から無作為に選びそれらの平均値とほぼ同じ大きさの非選抜集団を用いて比較養殖した場合、結果がどうなるか、あるいは評価法として成長率でなく出荷時の殻長などの値を比較すればどうなるか、などは今後さらに調査するべき課題であろう。しかしながら、Hara and Kikuch（1992）はエゾアワビにおける殻長約 30～70 mm の成長において、これまで報告されている成長速度を大きく上回る 240 μm/日の高成長を示す選抜事例を報告しているため、本研

究では示されなかったものの、種苗生産段階のみでなく、養殖段階の成貝期の成長に関しても選抜育種による遺伝的な改良が可能であろう。一方、本研究で用いた選抜集団は、種苗生産段階での成長において明らかな高成長性を有しており、今後、養殖段階での成長の良い集団との交雑を行うための育種素材として有用な集団と考えられる。

Table 1. The number of survivors, mean shell length, and mean growth rate (shell length) of non-selected and selected groups of abalone (1st- and 2nd-hatchery-reared stages)

Group	Full-sib family No.	1st stage (settlement－119days) Number/tank (larvea) Initial	Final	Shell length (mm) Final	Growth rate in shell length (μm/day)	2nd stage (120days－228days) Number/tank Initial	Final	Shell length(mm) Initial	Final	Growth rate in shell length (μm/day)
Non-selected	1	1500	28	12.5	104.8	-	-	-	-	-
		1500	80	7.4	62.4	-	-	-	-	-
	2	1500	176	9.3	77.9	30	30	15.3	25.9	97.8
		1500	484	7.3	61.7	-	-	-	-	-
	3	1500	576	6.7	56.7	-	-	-	-	-
		1500	322	6.5	54.6	30	30	12.3	26.6	132.3
	4	1500	638	6.8	57.0	-	-	-	-	-
		1500	576	7.7	64.5	30	30	14.3	25.7	106.0
	5	1500	271	7.0	58.8	30	29	13.0	26.7	127.8
		1500	526	7.4	61.8	-	-	-	-	-
	6	1500	759	5.5	46.4	-	-	-	-	-
		1500	825	7.5	63.4	30	30	13.0	27.9	137.2
	7	1500	165	12.4	104.0	30	30	17.4	35.0	163.2
		1500	97	9.7	81.8	-	-	-	-	-
	8	1500	755	8.9	74.8	-	-	-	-	-
		1500	517	10.7	89.6	30	29	16.8	31.0	133.2
	9	1500	637	6.7	56.6	30	29	14.2	33.1	176.3
	Mean	1500	437	8.2	69.2	30.0	29.6	14.5	29.0	134.2
Selected	10	1500	39	16.2	136.2	-	-	-	-	-
	11	1500	752	10.3	86.5	-	-	-	-	-
		1500	210	11.9	100.3	30	30	16.7	35.8	176.8
	Mean	1500	334	12.8	107.7	30.0	30.0	16.7	35.8	176.8

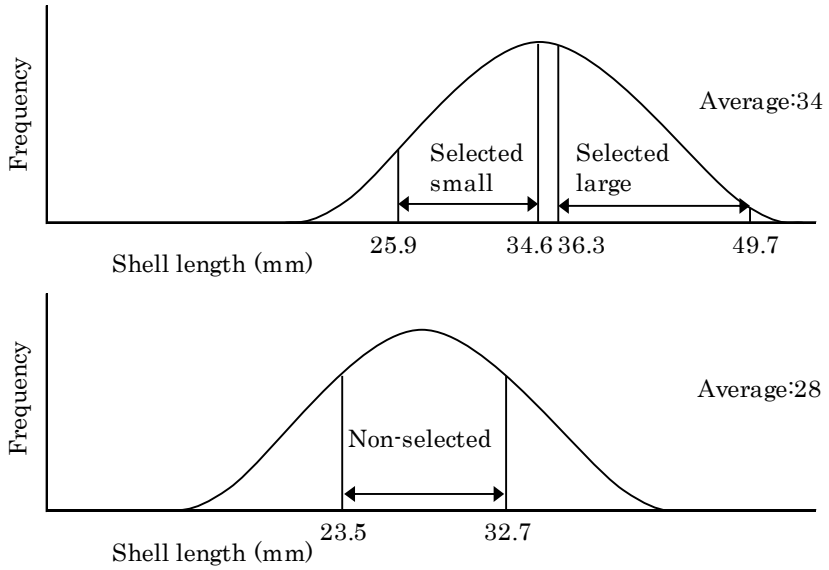

Fig. 6. Diagrammatic showing of the distribution of shell length in two populations, selected (upper) and non-selected (lower) from which the experimental animals were obtained. Average refer to the mean value of shell length of each population. The ranges with arrows show shell length of the groups used for the growth experiment.

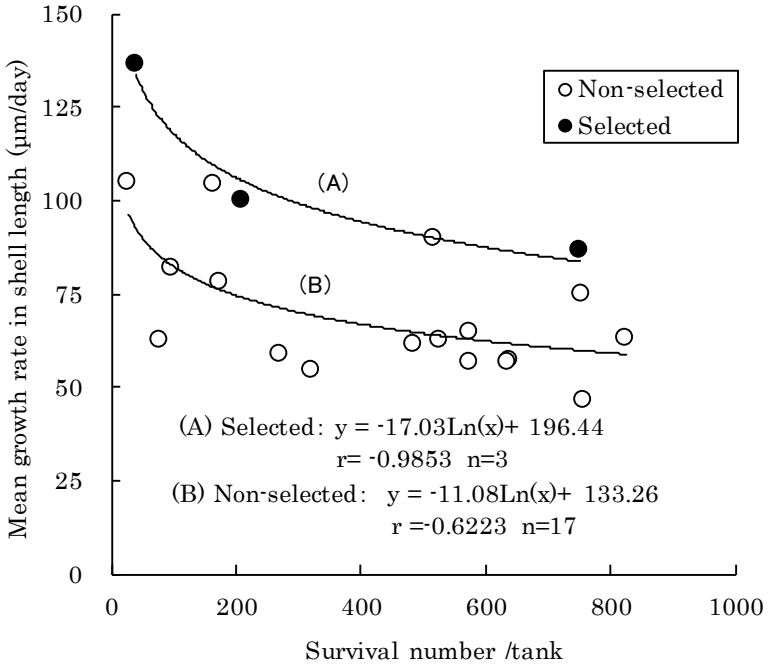

Fig. 7. Relationship between survival number and mean growth rate (shell length) in each tank (1st-hatchery-reared stage).

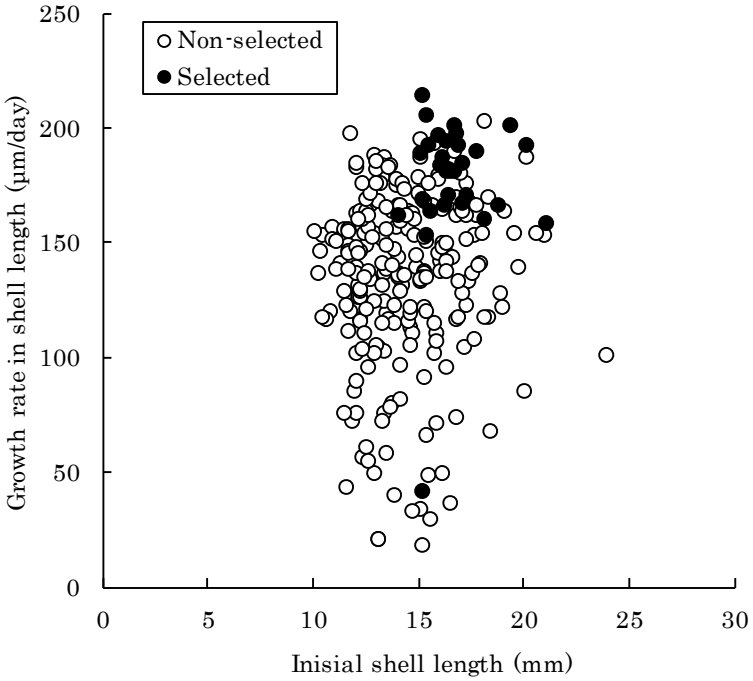

Fig. 8. Relationship between initial shell length and growth rate (shell length) estimated for non-selected and selected groups of abalone (2nd-hatchery-reared stage).

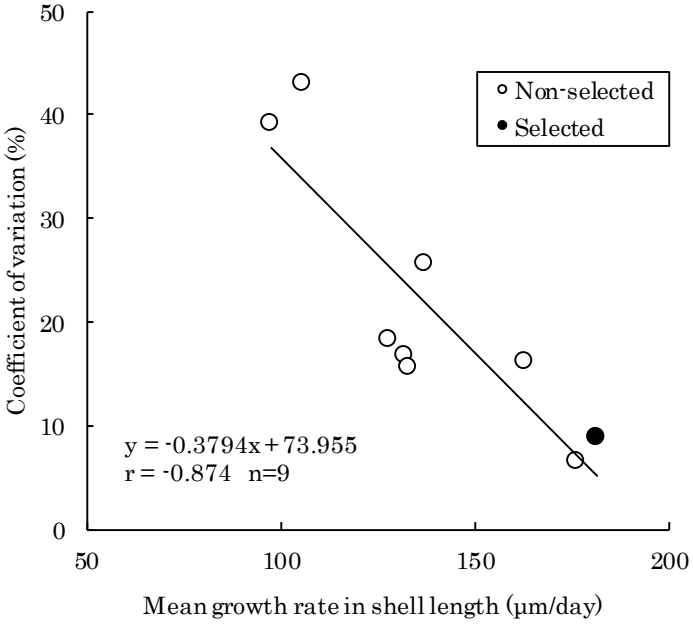

Fig. 9. Relationship between mean growth rate (shell length) and the coefficient of variation in growth rate estimated for each family from non-selected and selected groups of abalone (2nd-hatchery-reared stage). *One individual from selected group, which showed an outlier in shell length and died at the end of this experiment, was discarded from data.

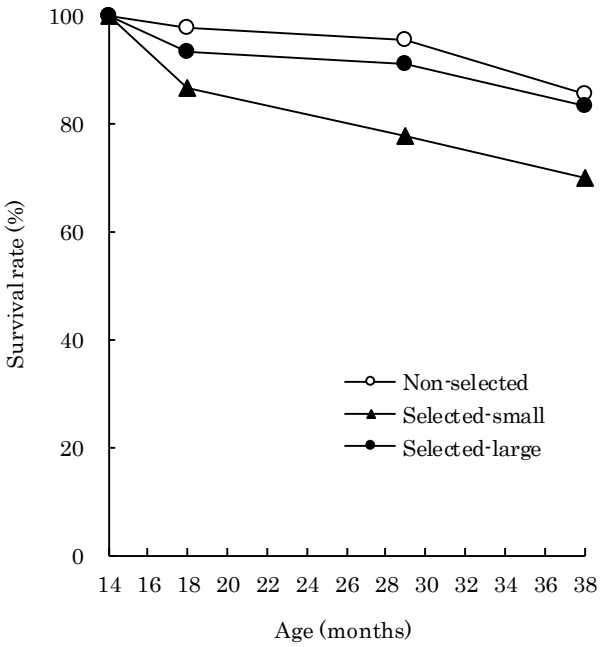

Fig. 10. Survival rates calculated for non-selected, selected-small and selected-large groups of abalone (aquaculture stage).

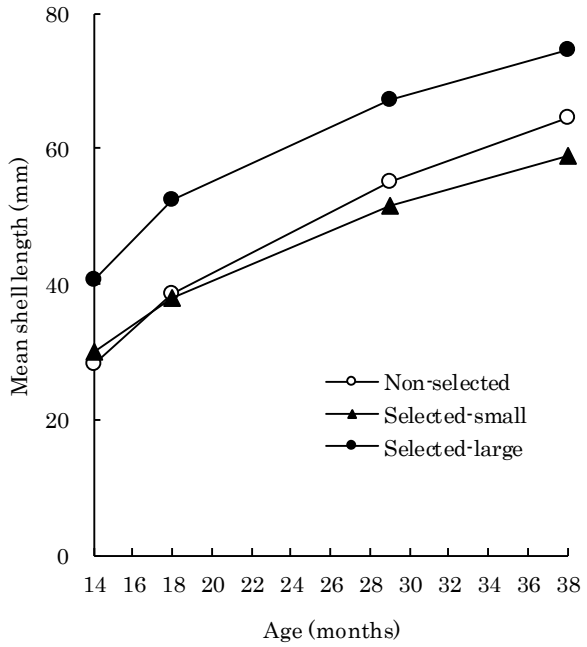

Fig. 11. Mean shell length of non-selected, selected-small and selected-large groups of abalone (aquaculture stage).

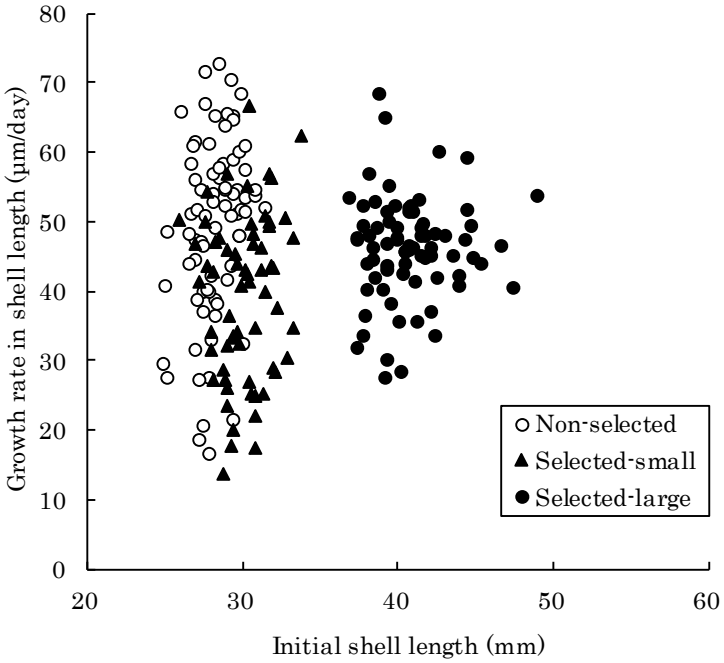

Fig. 12. Relationship between initial shell length and growth rate (shell length) estimated for non-selected, selected-small and selected-large groups (aquaculture stage).

第３章　エゾアワビにおける近親交配の影響

緒　　言

養殖用系統を作出、維持するには、育種目標とする形質を有する限られた集団内での交配が不可避であり、近交度の増加に伴う近交弱勢がどのような形で発現するのか把握することは重要である。アワビ類については実験的に近交弱勢を検証した例は少ないが、エゾアワビにおいては着底時の変態成功率の低下や 20 日令までの増殻長の低下（Deng *et al.* 2005）、兄妹交配家系での約１年間の飼育実験でベリジャー幼生の奇形率の増加や稚貝の生残率の低下（Pack *et al.* 2006）が報告されており、初期発生から稚貝期に近交弱勢が現れることが明らかになっている。本章ではエゾアワビで発現する近交弱勢を、成熟可能な時期まで、成長段階別に明らかにすることを目的とし交配試験を行った。

エゾアワビは多産であることから一組の交配実験の子供から形質の分離比が捉えられることや、同じ親を用いて複数の交配が同に行える利点を持っている（木島 2005）。この特性を生かし、Pack *et al.*（2006）は雌雄一対交配で作出した 2 つの家族の雌雄で総当り交配を行うことにより効率的に兄妹交配家系と非兄妹交配家系を同時的に交配させて近親交配の影響を確認した。本試験でもこの手法を取り入れ、2 組の家系での総当り交配を行い、エゾアワビの兄妹交配家系と非兄妹交配家系での近親交配の影響を約 3 年 4 ヶ月間にわたって比較した。

材料と方法

親貝の準備

本実験の親集団である完全同胞の家系 G 及び W の履歴を Fig. 13 に示した。家系 G の祖父母世代は岩手県沿岸の天然集団（雌雄各 30 個体）を用いて作出した。家系 G の親世代

は祖父母世代の雌 5 個体、雄 3 個体を用いて作出した。家系 G は 1997 年 10 月に親世代の雌雄一対交配で作出した。家系 W の親世代は岩手県沿岸の天然集団から数世代継代した集団から抽出した。家系 W は 2000 年 4 月に親世代の雌雄一対交配で作出した。

家系 G の祖父母世代および親世代は（社）岩手県栽培漁業協会で、家系 G は岩手県水産技術センターで、家系 W の系列は田老町漁業協同組合の種苗生産施設でそれぞれ作出した。なお、家系 W およびその親個体は次章で報告する白色型の殻色変異個体であり、家系 G は通常の緑色型の殻色個体である。履歴の上で家系 G と W の系列の遺伝的な交流は行われていない。

飼育試験

2002 年 5 月 20 日に家系 G の雌 2 個体、雄 3 個体及び家系 W の雌 3 個体、雄 2 個体を用いた総当り交配により 25 組の完全同胞の家系を作出した（Fig. 13）。25 組のうち 6 家系は家系 G 内の兄妹交配、6 家系は家系 W 内の兄妹交配、4 家系は家系 G の雌と家系 W の雄の非兄妹交配、9 家系は家系 W の雌と家系 G の雄の非兄妹交配であり、合計で 12 組の近親交配家系と 13 組の非近親交配家系を作出した。

総当り交配に用いた親貝の殻長は 61.0～78.7 mm であった。親貝はそれぞれ異なるコンテナに 1 個体ずつ収容し、紫外線照射海水により放卵、放精を誘発した。一つの雌親から得られた卵を 5 つの 20L コンテナに分け、それぞれに別の雄親から得られた精子を媒精した。媒精濃度は、40 万細胞/ml 以下に調整した。受精卵は 20℃のろ過海水によるデカンテーションを 5 回行って洗卵し、その後、トロコフォア幼生が浮上するまで 15～20℃の水温条件下で静置した。浮上幼生は家族ごとに直径 15 cm、深さ 20 cm の円筒型の幼生飼育水槽に約 1 万個体ずつ収容した。幼生飼育水槽の下面には 40 μm のミューラーガーゼが張ってあり、20℃のろ過海水を 2 回転/日前後の換水率でかけ流して幼生を飼育した。

受精 4 日後（2002 年 5 月 24 日）に、800 個体／家系の幼生を個別の飼育水槽（透明な 20L コンテナ）に投入して採苗した。採苗時の幼生数は奇形個体を除外した個体数とした。

各飼育水槽には *Ulvella lens* が占有した採苗板（32×20 cm の塩化ビニール製の透明な浪板）を入れておいた。幼生の投入後は 24 時間止水とし、その後は 20℃に調節したろ過海水をかけ流して飼育した。採苗 55 日後（2002 年 7 月 18 日）以降は調温しないろ過海水をかけ流して飼育した。採苗 55 日後から、飼育試験 I の終了時までの平均水温は 18.0℃（14.9～20.1℃）だった。換水率は 5 回転/時前後とした。水槽は直射日光があたる屋内に設置し、採苗した稚貝には初め採苗板および水槽の表面に繁茂した珪藻を摂餌させた。また、採苗 74 日後（2002 年 8 月 6 日）からは、市販のアワビ用配合飼料（コスモ開発株式会社：スタンダードタイプ）を適量与えた。試験期間は採苗後 158 日目の 2002 年 10 月 29 日までとした。

飼育試験Ⅱ

飼育試験 I の終了後に、25 組の家系のうち、家系 G の雌雄 2 個体ずつ（♀G9、♀G58、♂G18 、♂G56）と家系Wの雌雄 2 個体ずつ（♀W2、 ♀W3、 ♂W6、♂W7）の総当り交配からなる 16 家系（近親交配群 8 家系、非近親交配群 8 家系）を用いて飼育を継続し 飼育試験Ⅱとした（Fig.13）。試験個体として 16 家系から各 35 個体（計 560 個体）を抽出した。試験個体の抽出にあたっては外部標識が難しい殻長 14 mm 以下の個体は除外した。各交配区の試験開始時の平均殻長は 17.1～24.7 mm であった。全ての試験個体は外部標識により個体識別し、1 つの飼育カゴ（トリカルネット製：80×120×40 cm）に収容して混合飼育した。試験期間中の標識の脱落は無かった。飼育カゴは屋内の 1.2 トン水槽に設置し、表面積約 1.5 m^2 のシェルターを入れた。飼育期間中は市販のアワビ用配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を 2～3 日間隔で適量与え、ろ過海水を約 0.5 回転/時で掛け流した。

試験期間は交配約 6 ヶ月後の 2002 年 11 月 26 日から約 3 年 4 ヶ月後の 2005 年 9 月 6 日までの約 2 年 10 ヶ月間とし、2002 年 11 月 26 日から 2003 年 9 月 4 日までの 10 ヶ月間を第 1 期、2003 年 9 月 5 日から 2004 年 9 月 27 日の 1 年間を第 2 期、2004 年 9 月 28 日

から 2005 年 9 月 6 日までの 1 年間を第 3 期とした。第 1 期、第 2 期および第 3 期の平均水温はそれぞれ 10.5℃（6.1～17.6℃）、13.1℃（5.2～20.0℃）および 12.0℃（5.1～20.1℃）だった。

形質の測定

飼育実験Ⅰにおいて、受精率（卵割率）は媒精 4 時間後に各家系の一部を採取し、1%のホルマリンを加えて固定した後に計測して求めた。また、各家系の受精卵の一部を 100 ml のビーカーに収容して元のコンテナと同じ件下で放置し、幼生が充分浮上した後に 1 %のホルマリンを加えて固定し、各家系の受精卵数に対するふ化幼生数を計測してふ化率とした。交配 4 日後に各交配区のベリジャー幼生を 500 ml のビーカーに回収した。攪拌した状態で 30 ml をサンプリングし、サンプル中の幼生数から採苗時の幼生数を算出した。今回の試験ではベリジャー幼生の奇形が 2 タイプ観察された（Fig. 14）。一つは軟体部を幼殻の中に引き込むことが出来ないタイプ（Fig. 14-B）、もう一つのタイプは幼殻が小さい異常個体である（Fig. 14-C）。ベリジャー幼生の奇形率は受精後 4 日目にサンプリングして計数した。また、サンプル中に混入した死亡個体の幼殻数を計測し、各交配区でのベリジャー幼生期の生残率を推定した。更に、採苗後 109 日目（2002 年 9 月 10 日）までと、採苗後 110 日目から 158 日目（2002 年 10 月 29 日）までの各家族の生存率を計測した。また、試験終了時には全個体の殻長を計測した。

飼育実験Ⅱにおいては、各期間での各家系の生存率と全個体の増殻長を計測した。また、試験終了時の 9 月上旬は飼育試験を行った岩手県沿岸域での成熟盛期にあたることから、全個体の生殖巣指数を調べた。生殖巣指数は菊地・浮（1974）の手法により、外観上の観察から 0～3 の 4 段階で評価した。すなわち、生殖巣の発達による膨らみがほとんどみられない状態を 0、生殖巣が貝殻の周辺を結ぶ面を超えて膨らんでいるものを 3 とし、これらの中間に 1 と 2 を設けた。

飼育実験ⅠおよびⅡは岩手県水産技術センターで行った。

結　果

飼育試験 I

近親交配群（12 家系）および非近親交配群（13 家系）の受精率、ふ化率、ベリジャー幼生の生残率、ベリジャー幼生の奇形率、採苗後の生存率および試験終了時の平均殻長を Table 2 に示した。

近親交配群および非近親交配群の受精率の平均値は、それぞれ 98.3 ± 2.7%および 96.9 ± 3.7%であり有意差はなかった。また、近親交配群および非近親交配群のふ化率の平均値は、それぞれ 91.3 ± 9.5%および 90.0 ± 9.3%であり有意差はなかった。この際、近親交配群、非近親交配群にかぎらず♀W3 の卵を用いた家系のふ化率（66.7～80.4%）が、その他の家系（85.7～98.9%）と比べて低い値を示し、♀W3 の卵質等に問題があった可能性が考えられた。しかし、♀W3 を含む家系を除いた場合でも、近親交配群および非近親交配群それぞれの平均値に有意差は認められなかった。更に近親交配群および非近親交配群のベリジャー幼生における生残率の平均値は、それぞれ 92.9 ± 8.1%および 93.4 ± 8.7%で有意差はなかった。

しかし、ベリジャー幼生の奇形率は、近親交配群および非近親交配群の平均値が、それぞれ 14.1 ± 11.7%および 5.2 ± 2.2%であり、近親交配群が非近親交配群より有意に高かった（*t*-検定； $P < 0.01$）。また、近親交配群のうち、家系 G 内で兄妹交配した家系と家系W内で兄妹交配した家系でのベリジャー幼生の奇形率の平均値は、それぞれ 22.1 ± 11.3%および 6.1 ± 4.6%であり、家系G内で兄妹交配した家系が家系W内で兄妹交配した家系より有意に高かった（$P < 0.05$）。また、幼殻が小さいタイプのベリジャー幼生の奇形（Fig. 14-C）は、家系 G 内で兄妹交配した家系（♀G9 × ♂G41（8.1%）および ♀G9 × ♂G56（10.7%））のみで観察された。次に、採苗後の生残率について比較すると、近親交配群および非近親交配群の採苗後 109 日目の生残率の平均値は、それぞれ 16.2 ± 10.6%、および 30.5 ± 17.0%であり、近親交配群が非近親交配群より有意に低かった（*t*-検定；$P < 0.01$）。また、近親交

配群のうち、家系 G 内で兄妹交配した家系と家系 W 内で兄妹交配した家系の生残率の平均値は、それぞれ 12.8 ± 6.9%および 19.7 ± 13.0%で、有意差はないものの、家系 G 内で兄妹交配した家系が家系 W 内で兄妹交配した家系よりも低かった。一方、採苗後 110 日目から 158 日目までの近親交配群および非近親交配群の生残率の平均値は、それぞれ 90.3 ± 6.9%、および 88.3 ± 14.3%で有意差はなかった。

次に、採苗後 158 日目の各家系の生存個数と平均殻長の関係を整理すると、近親交配群および非近親交配群のいずれにおいても負の相関が認められた。このことから、生存個数の違い、すなわち飼育密度の違いが成長に影響を及ぼしていると考えられた。そこで、飼育密度の違いによる影響を排除して成長を比較するために、各家系の平均殻長を変数、生存数を共変数として共分散分析を行い、近親交配群と非近親交配群の平均殻長の平均値の差を検定したところ有意な差は認められなかった（ANCOVA: $df = 1$, $SS = 3.316$, $F = 0.738$, $P = 0.201$）。

飼育試験 I において、各測定形質の変動係数（CV）を近親交配群と非近親交配群で比較してみると、両群間で有意差が認められた形質（ベリジャー幼生の奇形率、採苗後 109 日目までの生残率）において、近親交配群の変動係数が非近親交配群より高い傾向を示した（Table 2）。

飼育試験Ⅱ

近親交配群（8 家系）および非近親交配群（8 家系）の飼育開始時の平均殻長、各試験期間の平均増殻長および試験終了時の平均生殖巣指数を Table 3 に、各試験期間の生残率を Table 4 に示した。

近親交配群および非近親交配群の試験開始時の平均殻長は、それぞれ 23.1 ± 2.3 mm および 20.4 ± 2.5 mm だった。全飼育期間での近親交配群および非近親交配群の増殻長の平均値はそれぞれ 28.3 ± 6.9 mm および 29.5 ± 8.7 mm であり有意な差は認められなかった。また、第 1 期、第 2 期および第 3 期のいずれの期間においても、近親交配群および非近親

交配群の増殻長の平均値に有意な差は認められなかった。

試験終了時の近親交配群および非近親交配群の生殖巣指数の平均値はそれぞれ 0.84 ± 1.00 および 1.19 ± 1.19 で、近親交配群が非近親交配群より低くかった。ここで、試験終了時の全個体の生殖巣指数と殻長の関係を整理すると、近親交配群および非近親交配群のいずれにおいても正の相関が認められた（Fig. 15）。このことから、殻長の違いが生殖巣指数に影響を及ぼしていると考えられた。そこで、殻長の違いによる影響を排除して生殖巣指数を比較するために、生殖巣指数を変数、殻長を共変数として共分散分析を行い、近親交配群と非近親交配群の生殖巣指数の差を検定したところ有意な差が認められ（ANCOVA: $df = 1$, $SS = 13.141$, $F = 25.834$, $P < 0.01$）。一方、近親交配群のうち、家系G内で兄妹交配した家系と家系W内で兄妹交配した家系の平均生殖巣指数はそれぞれ 1.10 ± 1.30 、0.73 ± 0.84 で、有差差は認められなかったものの（ANCOVA: $df = 1$, $SS = 0.258$, $F = 0.613$, $P = 0.6132$）、家系 G 内で兄妹交配した家系が高い値を示した。

第 1 期の近親交配群および非近親交配群の生残率の平均値はそれぞれ 87.6 ± 15.8%および 86.4 ± 10.8%であり有意差はなかった。第 2 期の近親交配群および非近親交配群の生残率の平均値はそれぞれ 52.9 ± 21.2% および 73.3 ± 13.3%で、近親交配群が非近親交配群より有意に低くかった（*t*-検定：$P < 0.05$）。また、第 3 期の近親交配群および非近親交配群の生残率の平均値はそれぞれ 47.0 ± 19.5%および 64.5 ± 18.3%で、近親交配群が非近親交配群より有意に低くかった（*t*-検定：$P < 0.05$）。第 1 期から第 3 期終了時までの全期間の生残率の平均値は近親交配群および非近親交配群それぞれで 25.0 ± 21.4%および 42.5 ± 17.5%であり、近親交配群が非近親交配群より有意に低くかった（*t*-検定：$P < 0.05$）。また、近親交配群のうち、家系 G 内で兄妹交配した家系と家系 W 内で兄妹交配した家系での生残率の平均値は、第 2 期で 43.8 ± 8.8%および 62.1 ± 27.1%、第 3 期で 39.9 ± 13.3%および 54.1 ± 24.0%であり、いずれの場合も、家系 G 内で兄妹交配した家系が家系 W 内で兄妹交配した家系より有意に低くかった（*t*-検定：$P < 0.05$）。なお、何らかの疾病と思われる異常なへい死が第 2 期および第 3 期の春期から夏期にかけて発生したことが観察された。

飼育試験Ⅱにおいて、各測定形質の変動係数（CV）を近親交配群と非近親交配群で比較してみると、両群間で有意差が認められた形質（第 2 期および 3 期の生残率、生殖巣指数）において、近親交配群の変動係数非近親交配群より高い傾向を示した（Table 2, 3）。

考　察

本試験では近親交配群のベリジャー幼生の奇形率が非近親交配群より有意に高かった。また、採苗後 109 日目の生残率、第 2 期および第 3 期の生残率、第 3 期終了時の生殖巣指数において近親交配群が非近親交配群より有意に低かった。これらの結果は、これらの形質に近交弱勢が発現したことを示しており、エゾアワビにおいて 1 回の兄妹交配でも多くの形質で近親交配の影響が現れることを示している。同じような近親交配実験において、1 回の兄妹交配で近交弱勢が現れることは、バージニアガキ *Crassostrea virginica*（Longwell and Stiles 1973）、リンゴガイ *Pomacea canaliculated*（藤尾ら 1992, Fujio *et al.*1997）、エゾアワビ（Park *et al.* 2006）等、複数の貝類で報告されている。これらの研究は貝類に多くの劣勢有害遺伝子が存在していることを示唆している。

Park *et al.* (2006) はエゾアワビにおいて、受精翌日の幼生の奇形率で近交弱勢が観察され、その奇形は幼殻の異常と面盤の異常であったことを報告している。また、本試験では受精 4 日後のベリジャー幼生で、幼殻が小さい奇形や幼殻に軟体部を引き込むことが出来ない奇形が観察されたことから、エゾアワビでは近交弱勢により複数の奇形が生じることが明らかとなった。

また、本試験では採苗後 109 日の生残率で近交弱勢が観察されたが採苗後 110 日目～158 日目までの生残率に近交弱勢は認められなかった。このとからエゾアワビの初期生残に対する近交弱勢は採苗後 109 日以前には現れていたことが解る。Bierne *et al.* (1998) は *Ostrea edulis* での近親交配試験において幼生時期と採苗時期に強い選択が生じたことを報告している。更に、Deng *et al.* (2005) はエゾアワビにおいて近交係数 $F = 0.25$ の近親交

配により変態の成功率が有意に減少することを報告している。彼らは変態期に幼生が遊泳活動を停止して着底を始め、幼殻の外縁に新しい殻の形成が始まることから、変態期をエゾアワビの初期発生の鍵となる時期であることを指摘している。加えてこの時期は餌料要求が急激に変化する時期でもある。近親交配における初期減耗は着底と変態時期の近交弱勢の結果かもしれない。したがって、この時期はエゾアワビの近交弱勢を監視する上で注目すべきステージと考えられる。

本試験では第 3 期終了時の近親交配群の生殖巣指数が非近親交配群よりも低かった。しかし、第 3 期終了時の試験個体の平均殻長は 51.0 mm（25.9～74.9 mm）であり、これはエゾアワビが成熟する最小サイズに近い（Kobayashi *et al.* 2007）。したがって、第 3 期終了時の生殖巣指数はエゾアワビの再生産能力を十分に代表しているものではないが、少なくとも貝類の成熟関連形質に近交弱勢の影響が現れることを示している。

飼育試験Ⅱにおいて、第 1 期の生残率に近交弱勢は認められなかったが、第 2 期、第 3 期の生残率に近交弱勢が認められた。本試験において何らかの疾病と思われる異常なへい死が第 2 期および第 3 期の春季から夏期にかけて発生したことが観察されている。この異常へい死は近親交配群のみでなく非近親交配群でも観察されたが、近親交配群の方がよりへい死率が高かったことになる。したがって、この第 2 期および第 3 期の近親交配群での生残率の低下は、近親交配による適応力の低下の現れであり、生残に対する近交弱勢は正常な飼育環境であった第 1 期には発現せず、正常でない飼育環境であった第 2 期および第 3 期に顕在化したと考えられる。

成長に対する近交弱勢の発現は多くの貝類で報告されている（Fujio 1982, Beattie *et al.* 1987, Manzi *et al.* 1991, Wada & Komaru 1994, Evans *et al.* 2004）。エゾアワビでは近交係数 F= 0.25 の近親交配で幼生の成長に有意な影響があることが報告されている（Deng *et al.* 2005）。一方、Park *et al.* (2006) は採苗後 140 日と 1 年のエゾアワビの殻長を調べたが、成長は近交弱勢形質でなかったことを指摘している。本試験でも 3 年以上の間、近親交配群と非近親交配の成長に有意差は認められなかった。これらのことから、エゾアワビにお

いて成長形質はかならずしも近交弱勢が高頻度で発現する形質ではないのかも知れない。しかしながら、飼育実験Ⅱにおいて 14 mm 以下の個体を排除したことがこの結果に影響を及ぼしている可能性がある。

Fujio *et al.*（1997） はリンゴガイの近親交配集団の産卵数とふ化率が非近親交配集団より低かった一方で、ばらつきが増加したことを報告している。本試験でも近交弱勢が発現した形質において、近親交配群での変動係数の増加が観察されている。これは、同祖遺伝子のホモ化の増加、特に弱有害遺伝子の増加した結果かもしれない。

また、家系 G と W で近交弱勢の発現程度の違いが観察された。両家系での近交弱勢の発現程度の違いは両家系の交配履歴の違いに由来すると考えられる。

最近はマイクロサテライトマーカーのような遺伝標識が進歩し遺伝子地図作成の試みが報告されている（Li *et al.*2003, Park *et al.* 2003, Sekino *et al.* 2005, Sekino *et al.* 2006, Sekino and Hara 2007）。そのような遺伝標識は本研究で報告した近交弱勢形質を支配している有害遺伝子や有害遺伝子群の探索に有効であることが期待される。

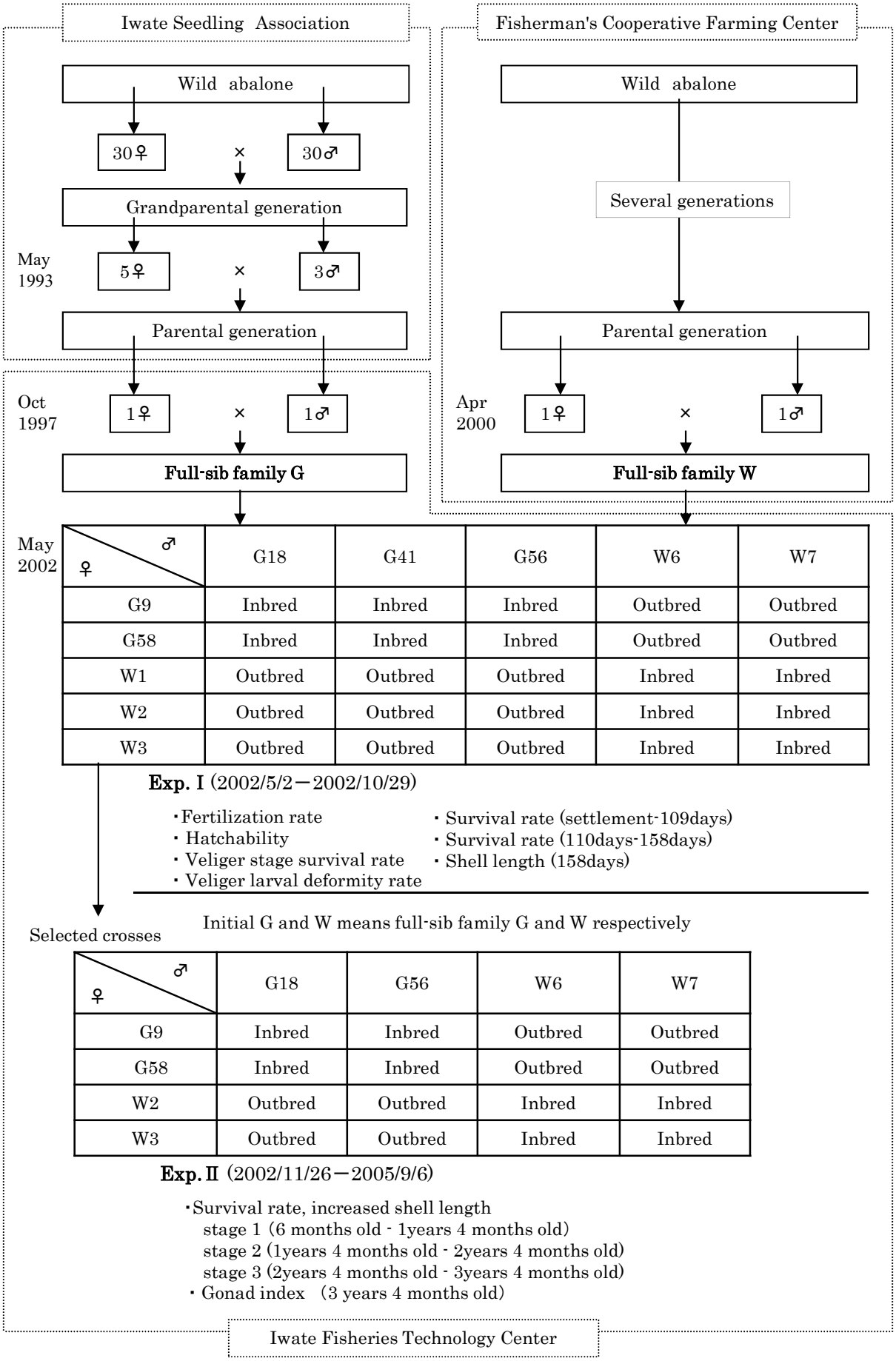

Fig. 13. Mating system and flow of experiments.

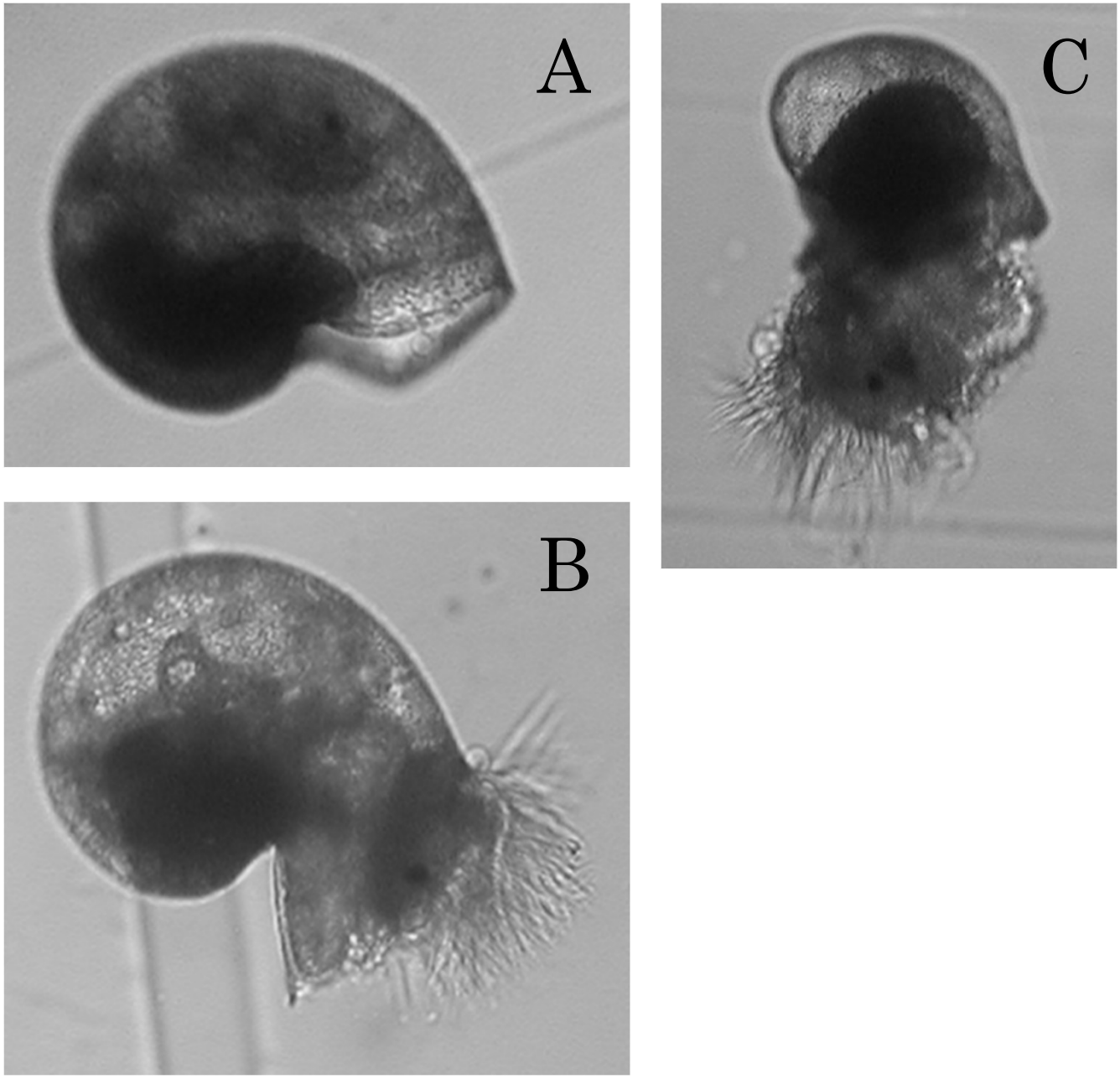

Fig. 14. Two types of veliger larva deformities in experiment 1.
A; normal veliger larva. B; deformity veliger larva.
C; deformity veliger larva.

Table 2. Fertilization rate, hatchability, veliger stage survival rate, veliger larval deformity rate, survival rate after settlement, mean shell length of each inbreeding and outbreeding crosses in experiment I

Group	Parents		Trait						
			Fertilization rate	Hatchability	Veliger stage survival rate	Veliger larval deformity rate	Survival rate (%)		Shell length at 158days
							Settlement -109days	110days -158days	Mean ± SD
	♀	♂	(%)	(%)	(%)	(%)			(mm)
Inbred	G9	G18	100.0	95.2	84.8	18.9	13.0	85.4	18.8 ±3.7
		G41	100.0	93.6	72.5	35.4	4.6	93.5	18.8 ±4.3
		G56	90.7	85.7	93.7	32.1	18.0	85.6	18.6 ±2.7
	G58	G18	100.0	91.7	98.7	8.4	17.1	90.6	17.0 ±4.2
		G41	100.0	97.1	98.4	10.7	4.1	100.0	17.2 ±2.8
		G56	98.0	95.7	95.8	8.2	19.9	74.9	18.6 ±4.2
	W1	W6	97.0	97.2	95.8	2.9	25.6	91.8	14.8 ±3.0
		W7	97.7	97.6	97.9	6.5	5.9	83.1	17.2 ±2.3
	W2	W6	97.3	96.2	99.7	2.8	18.8	96.3	17.2 ±2.7
		W7	100.0	98.9	97.7	1.9	5.5	92.7	16.0 ±2.9
	W3	W6	98.8	66.7	94.5	8.6	40.0	94.5	13.7 ±2.8
		W7	100.0	80.4	85.5	13.9	22.1	95.0	17.2 ±3.6
	Mean		98.3	91.3	92.9	14.1**	16.2**	90.3	17.1*
	SD		2.7	9.5	8.1	11.7	10.6	6.9	1.6
	CV (%)		2.7	10.4	8.7	83.1	65.2	7.6	9.4
Outbred	G9	W6	100.0	95.4	99.4	6.4	33.1	97.6	13.5± 2.8
		W7	98.3	91.6	94.8	9.4	25.9	91.1	18.3 ±2.8
	G58	W6	95.7	96.1	94.5	3.7	36.1	95.6	12.9 ±2.4
		W7	100.0	96.5	98.0	4.0	13.5	80.7	18.2 ±2.5
	W1	G18	99.0	97.0	96.4	1.3	8.3	90.4	16.9 ±2.5
		G41	91.1	97.8	87.6	5.4	57.0	91.1	8.3 ±2.0
		G56	97.2	91.7	95.2	3.6	25.5	94.1	17.6 ±2.2
	W2	G18	100.0	87.1	98.6	5.6	23.0	83.9	15.8 ±2.6
		G41	93.9	95.9	94.5	6.7	40.1	92.5	15.3 ±3.3
		G56	100.0	96.6	99.7	2.8	57.0	93.5	10.0 ±2.9
	W3	G18	96.9	73.1	92.6	6.2	19.3	98.4	17.4 ±2.4
		G41	88.3	73.3	66.4	7.6	50.4	43.5	12.5 ±2.3
		G56	99.2	77.6	97.1	4.2	7.9	94.9	17.2 ±2.5
	Mean		96.9	90.0	93.4	5.2**	30.5**	88.3	14.9*
	SD		3.7	9.3	8.7	2.2	17.0	14.3	3.2
	CV (%)		3.9	10.3	9.4	43.4	55.6	16.2	21.7

SD, standard deviation

CV, coefficient of variation

*P < 0.05, **P < 0.01(t-test: between mean of inbred and outbred)

Table 3. Mean initial shell length, mean increased shell length, mean gonad index of each inbreeding and outbreeding crosses in experiment II

Group	Parents		Mean initial shell length (mm)		Mean increased shell length (mm)								Mean gonad index
					Stage1		Stage2		Stage3		Stage1-3		
	♀	♂	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	N	Mean±SD	Mean±SD		Mean±SD
Inbred	G9	G18	35	24.7±1.5	31	7.5±3.0	10	12.5±4.1	4	4.4±2.2	28.1±7.1		0.75±0.96
		G56	35	22.7±1.4	35	9.1±3.6	18	10.3±6.4	5	5.3±2.8	34.2±8.5		2.20±1.30
	G58	G18	35	23.8±1.8	30	7.4±2.4	15	9.9±4.8	5	2.4±1.5	27.0±5.7		0.00±0.00
		G56	35	24.5±1.9	29	8.3±3.4	12	12.8±7.9	7	4.2±2.8	31.5±12.6		1.29±1.38
	W2	W6	35	22.4±1.6	35	8.0±2.0	24	10.9±3.0	12	4.3±1.7	26.6±4.2		0.75±0.87
		W7	35	22.2±2.4	17	4.5±1.5	4	9.5±6.2	1	2.7±0.0	19.1±0.0		0.00±0.00
	W3	W6	35	20.2±1.7	28	7.2±2.0	19	11.7±4.5	11	4.4±1.1	25.7±4.9		0.23±0.44
		W7	35	24.2±1.7	34	7.7±2.6	30	13.5±4.6	25	5.3±1.9	28.9±5.9		0.96±0.89
	Total		280	23.1±2.3	239	7.6±2.9	132	11.6±5.1	70	4.6±2.0	28.3±6.9		0.84*±1.00
	CV (%)			10.8		38.2		44		43.5	24.4		119
Outbred	G9	W6	35	19.7±1.6	35	10.8±2.2	28	13.8±6.8	19	4.1±2.7	32.2±7.8		1.72±1.32
		W7	35	22.7±1.2	31	10.5±2.8	26	9.8±6.0	13	2.8±2.7	25.7±8.5		0.93±1.14
	G58	W6	35	17.1±1.7	25	6.6±3.4	15	15.6±8.7	10	5.0±2.6	34.0±11.3		1.40±1.26
		W7	35	21.3±1.0	23	5.3±2.2	11	4.5±2.3	3	1.0±0.7	14.0±3.2		0.00±0.00
	W2	G18	35	21.8±1.8	35	8.5±3.2	31	14.4±5.1	21	4.3±2.4	29.1±6.1		1.10±1.09
		G56	35	17.6±2.0	30	11.2±1.8	22	17.3±5.0	16	4.4±2.6	33.1±6.8		1.13±1.09
	W3	G18	35	21.2±1.4	28	7.0±2.3	21	12.7±4.8	16	4.2±2.3	25.3±6.2		0.88±1.09
		G56	35	21.4±2.0	31	8.1±3.5	24	14.6±6.5	21	5.6±3.1	30.7±10.2		1.43±1.29
	Total		280	20.4±2.5	238	8.7±3.3	178	13.4±6.6	119	4.3±2.7	29.5±8.7		1.19*±1.19
	CV (%)			12.3		37.9		49.3		62.8	29.5		100

SD, standard deviation

CV, coefficient of variation

*P < 0.05 (t-test: between mean of inbred and outbred)

Stage1: 2002/11/26-2003/9/4, Stage2: 2003/9/5-2004/9/27, Stage3: 2004/9/28-2005/9/6

Gonad index: 2005/9/6

Table 4. Survival rate of each inbreeding and outbreeding crosses in experiment II

Group	Parents		Survival rate (%)			
	♀	♂	Stage1	Stage2	Stage3	Stage1-3
Inbred	G9	G18	88.6	32.3	40.0	11.4
		G56	100.0	51.4	27.8	14.3
	G58	G18	93.8	50.0	33.3	14.3
		G56	85.3	41.4	58.3	20.0
	W2	W6	100.0	68.6	50.0	34.3
		W7	51.5	23.5	25.0	2.9
	W3	W6	84.8	67.9	57.9	31.4
		W7	97.1	88.2	83.3	71.4
	Mean		87.6	52.9*	47.0*	25.0*
	SD		15.8	21.2	19.5	21.4
	CV (%)		18.1	40.1	41.5	85.6
Outbred	G9	W6	100.0	80.0	67.9	54.3
		W7	91.2	83.9	50.0	37.1
	G58	W6	73.5	60.0	66.7	28.6
		W7	71.9	47.8	27.3	8.6
	W2	G18	100.0	88.6	67.7	60.0
		G56	85.7	73.3	72.7	45.7
	W3	G18	80.0	75.0	76.2	45.7
		G56	88.6	77.4	87.5	60.0
	Mean		86.4	73.3*	64.5*	42.5*
	SD		10.8	13.3	18.3	17.5
	CV (%)		12.5	18.1	28.4	41.2

SD, standard deviation

CV, coefficient of variation

*P<0.05 (t-test: between mean of inbred and outbred)

Stage1: 2002/11/26-2003/9/4, Stage2: 2003/9/5-2004/9/27, Stage3: 2004/9/28-2005/9/6

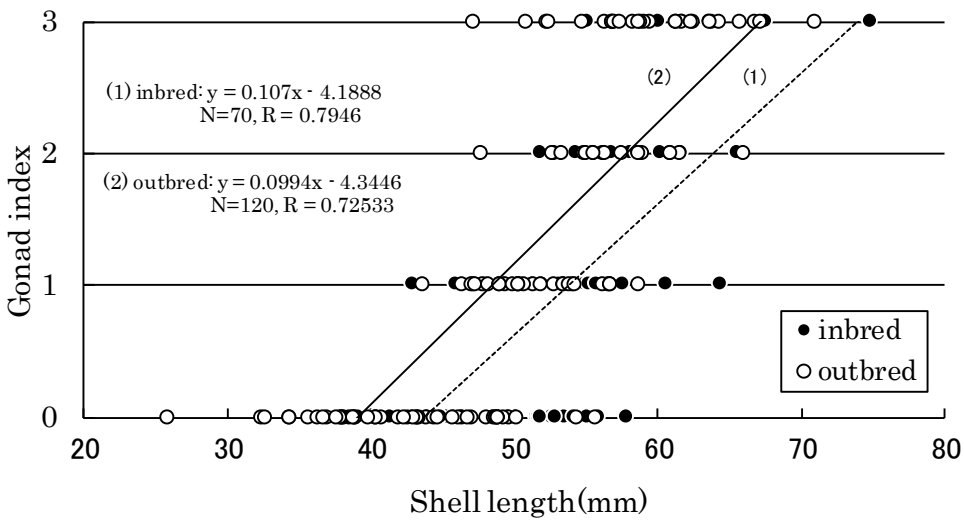

Fig. 15. Relationship between shell length and gonad index in each individuals of inbreeding and outbreeding full-sib family in experiment Ⅱ.

第４章　エゾアワビの殻色に関する遺伝的改良

緒　　言

エゾアワビは選抜による成長改善の効果が高いことが報告されており（Hara and Kikuchi 1992, 河原ら 1997, 河原ら 1999)、選抜育種により遺伝的に改良した養殖品種の開発が期待されている。もし、遺伝的に改良した養殖品種に、一見して他の種苗と区別できる外面的な特徴を発現させることが出来れば、それらを他の種苗と差別化でき、実用化するうえで有利である。

外面的特徴として利用できる変異の一つに、殻色の変異があげられる。特に美しい殻色の変異は、養殖品種として、それ自体の付加価値も期待できる。また、殻色の変異は可食部の変異と比較して商品価値への影響が少ないと考えられる。更に、一部地域では殻長を基準にした漁獲制限を持つ天然貝とそうでない養殖貝を簡便に区別する手法の開発が求められており、そうした手法の一つとしても殻色の変異は有望と考えられる。

アワビ類の殻色に変異が存在することは古くから知られているが、その多くが環境要因の一つである餌料の違いに起因することが報告されている（猪野 1952, Leighton 1961, 酒井 1962, 荻野・太田 1963, Leighton and Boolootian 1963, Olsen1968, 渋井 1971, 田島ら 1980a, 田島ら 1980b, 堀口ら 1987, 堀口ら 1994, 河原・大森 2000, Wenresti *et al.* 2003, Gallardo 2003)。しかし、我々は、エゾアワビでの交配実験及び種苗生産施設で生産された種苗の中から、通常は緑色型の殻を形成する餌料を与えているのもかかわらず、青色がかった殻を形成する殻色変異体（青色型）と白色がかった殻を形成する殻色変異個体（白色型）を発見した。この殻色変異が遺伝的要因によるものなら、新たな系統として養殖における付加価値向上に寄与するものと期待される。また、遺伝支配が明らかな殻色変異は可視的な遺伝マーカーとして遺伝学的に応用価値が高いと考えられる。

本研究において、すべての交配区は同じ餌料を与え、出来るだけ同じ飼育環境になるよ

うに飼育したことから、一部の交配区に明確な殻色の変異が出現したことは環境要因と考えることが難しく、遺伝要因による可能性が高いと考えられる。同じような殻色変異体は、これまでにも、いくつかの種苗生産施設で出現していたが、計画的な交配実験は行われず、その遺伝支配は明らかにされてこなかった。

そこで、本研究は、交配実験を行い、第 1 節では青色型、第 2 節では白色型の遺伝的な支配を明らかにすることとした。また、第 3 節では青色型と白色型の遺伝的支配の関係について調べた。更に殻色変異を養殖用系統として利用する場合、その殻色が餌料により変化するか確認する必要があることから、第 4 節では白色型及び青色型の殻色変異体に異なる餌料を与えた場合の殻色を調べた。

第１節　青色型の殻色型の殻色変異の遺伝的支配

材料と方法

殻色型の判別

本試験では、殻の色が通常の緑色系（緑色～青緑色）の場合を緑色型（通常型)、青色系（青色～青紫色）の場合を青色型（変異型）とした。Fig. 16 に示すように、両型の殻色は明確に異なることから、本試験では目視による判別で殻色型を決定した。また、アワビ殻色は餌料による異なることがあるため、本試験ではコスモ開発株式会社製のアワビ飼育用の配合飼料（スタンダードタイプ）を与えた時に成長した殻の色で判別した。

交配試験Ⅰ、Ⅱ及びⅢの殻色型は、それぞれ 229 日令、222 日令、245 日令の稚貝期に判別した。青色型は配合飼料が摂餌出来ない成長初期の段階では緑色型と同じ色の殻を形成し､殻色判別が出来ないことから､本試験では 17 mm 以下の個体はデータから除外した。

交配試験の設計

本試験での交配試験の設計を Fig. 17 に示した。2 つの創始集団（青森集団及び岩手集団）は青森県および岩手県沿岸の天然貝を起源とする。交配試験に用いる前に、青森集団は 2 世代、岩手集団は 3 世代にわたって継代された。まず、青森集団の緑色型の雌 1 個体（Pf）と岩手集団の雄の緑色型 1 個体（Pm）を用いて 1996 年に、試験の親世代（P1）を作出した。交配試験Ⅰでは、P1 世代の緑色型の雌 3 個体と緑色型の雄 3 個体を用いて 1999 年 9 月に 9 組の完全同胞家系（F1）を作出した。

次に交配試験Ⅱでは、F1 世代で緑色型と青色型が分離して出現した完全同胞の家系 A の雌 6 個体（青色型 3 個体と緑色型 3 個体）と雄 5 個体（青色型 3 個体と緑色型 2 個体）を用いて、2001 年 8 月に 15 組の完全同胞家系（F2）を作出した。交配の組み合わせは以下のとおりである：♀青色型×♂青色型（6 家系)、♀青色型×♂緑色型（4 家系)、♀緑色型×♂

青色型（2 家系）、♀緑色型×♂緑色型（3 家系）。

更にこの殻色変異の遺伝的支配の確証を得るために、交配試験Ⅲでは F2 世代のうち家系 A（青色型が出現した家系）と父親が同じ個体である家系 D と G の雌 5 個体、雄 3 個体を用いて 2000 年 11 月に家系内及び家系間の交配を行った。

交配と飼育

交配に用いる親個体を 1 個体ずつコンテナに入れ紫外線照射海水での刺激により放卵、放精を誘発した。得られた各個体の卵を必要な交配数に合わせて複数のコンテナに分け、それぞれ異なる個体の精子で受精させた。ふ化後、浮上した幼生を集め、底に網を張った容器で 4 日間飼育した。その後、採苗板として緑藻類の *Ulvella lens* を繁茂させた波板を設置した 20L の透明なコンテナに幼生を投入して採苗した。採苗後しばらくは採苗板及びコンテナ内面に自然に増殖した珪藻を摂餌させた。稚貝の殻長が約 10 mm になった時点からは配合飼料を与えた。試験期間中は約 20℃に調温したろ過海水を掛け流して飼育した。

統計処理

殻色型の分離の期待値は、青色型は 1 遺伝子座上にある劣勢遺伝子支配され、メンデル遺伝すると仮定して算出した。また、殻色型の分離の観察値と期待値の有意差はカイ二乗法で検定した。

結　　果

本試験において、通常の緑色型の個体は珪藻を摂餌している期間も、配合飼料を与えた後も緑色型の殻を形成したのに対し、青色型の個体は殻長が約 10～15 mm に達するまでは緑色型の殻を形成し、配合飼料を与えた後に青色の殻を形成した。したがって、青色型の個体の殻の螺頂部は緑色のままであった（Fig. 16）。交配試験Ⅰ、Ⅱ及びⅢで殻色型の判別

に供した個体の殻長は、それぞれ 17～36 mm、17～46 mm、17～37 mm だった。殻の青い色彩は殻皮側のみで観察され、真珠層の色彩の変化は観察されなかった。

交配実験Ⅰの結果を Table 5 に示した。作出した 9 家系のうち、家系 A のみで緑色型と青色型が分離して出現し、それ以外の 8 家系では緑色型のみが出現した。家系 A での緑色型と青色型の観察値とメンデル遺伝にしたがい 3 : 1 に分離したと仮定した場合の期待値と有意差は認められなかった。

交配実験Ⅱでは、家系 A から抽出した青色型の雌雄各 3 個体と緑色型の雌 3 個体と雄 2 個体を用いて、F2 世代の 15 組の完全同胞家系を作出した。交配実験Ⅱの結果を Table 6 に示した。緑色型の雌雄を交配した 3 家系（AA13, AA14, AA15）は全て緑色型だった。また、青色型の雌と緑色型の雄を交配した 4 家系（AA4, AA5, AA8, AA9）は全て緑色型だった。一方、青色型の雌雄を交配した 6 家系（AA1, AA2, AA3, AA6, AA7, AA10）は全て青色型になった。更に、緑色型の雌と青色型の雄を交配した 2 家系（AA11, AA12）では緑色型と青色型が分離して出現した。いずれの家系においても殻色型の分離の観察値はメンデル遺伝による期待値（1 : 1）と有意差は認められなかった。これらの結果から青色型と緑色型の殻色変異は 1 つの遺伝子座上に存在する青色型を発現する劣性遺伝子（*b*）と緑色型を発現する優性遺伝子（*G*）により支配されていると推察された。

続いて交配試験Ⅲの結果を Table 7 に示した。青色型が出現した家系 A と同じ父親（m1）をもつ家系 D 及び G の個体を用いて作出した 13 家系のうち、家系 DG3 及び GG3 の 2 家系で緑色型と青色型が分離して出現し、それ以外 11 家系は全て緑色型になった。青色型が出現した家系 DG3 及び GG32 での殻色の分離の観察値（緑色型 : 青色型）はメンデル遺伝による期待値（3 : 1）と有意差は認められなかった。

考　察

エゾアワビで報告されている殻色の変異は餌料等の環境要因によるものが多い。しかし、本研究の交配試験Ⅰでは、1つの水槽内で同じ餌料を与えほぼ同じ環境下で飼育されていた家系 A 内に青色型と緑色型の個体が混合して出現した。このことは、この殻色変異が環境要因によるものでなくい遺伝要因によるものであることを示している。更に、家系 A に出現した緑色型と青色型が 3 : 1 とみなせる比率で分離したことは 1 つの遺伝子座上に存在する優性遺伝子（*G*）と劣性遺伝子（*b*）の存在を示唆しており、家系 A の両親 f1（緑色型）と m1（緑色型）の遺伝子型は *G/b* と推察される。

この仮定を明らかにするために実施した交配試験Ⅱの結果は例外なくこの仮定で説明できる。例えば、この仮定にしたがえば、家系 A の緑色型の個体には殻色型 *G/G* と *G/b* が 1 : 1 の割合で含まれることになる。また、青色型の個体は全て *b/b* と仮定されることになるから、交配試験Ⅱで緑色型と青色型が分離して出現した家系 AA11 と AA12 の母親（緑色型：Af4, Af5）の遺伝子型は *G/b* と推察される。

同様に、前述の仮定に従えば、家系 A と半同胞の関係にある家系 B、C、D、G は殻色型 *G/G* と *G/b* が 1 : 1 の割合で含まれることになる。また、交配試験Ⅲの家系 DG3 と GG3 で緑色型と青色型が 3:1 に分離して出現し、それ以外の家系は全て緑色型だったことから、交配試験Ⅲに用いた 8 個体の親（家系 D、G から抽出した緑色型）のうち 3 個体（♀Df2, ♀Gf2, ♂Gm2）が殻色型 *G/b* のヘテロ、それ以外の 5 個体が殻色型 *G/G* ホモであると推察され、前述の仮定と矛盾しない。

これらのことから、青色型と緑色型の殻色変異は 1 つの遺伝子座上に存在する青色型を発現する劣性遺伝子（*b*）と緑色型を発現する優性遺伝子（*G*）により支配されていることが明らかとなった。本研究で発見された青色型の殻色変異が遺伝形質であり、その遺伝的支配が明らかになったことから、本形質はエゾアワビ養殖用系統作出のための有用な育種素材となり、エゾアワビの殻の色彩に着目した育種の可能性が示された。

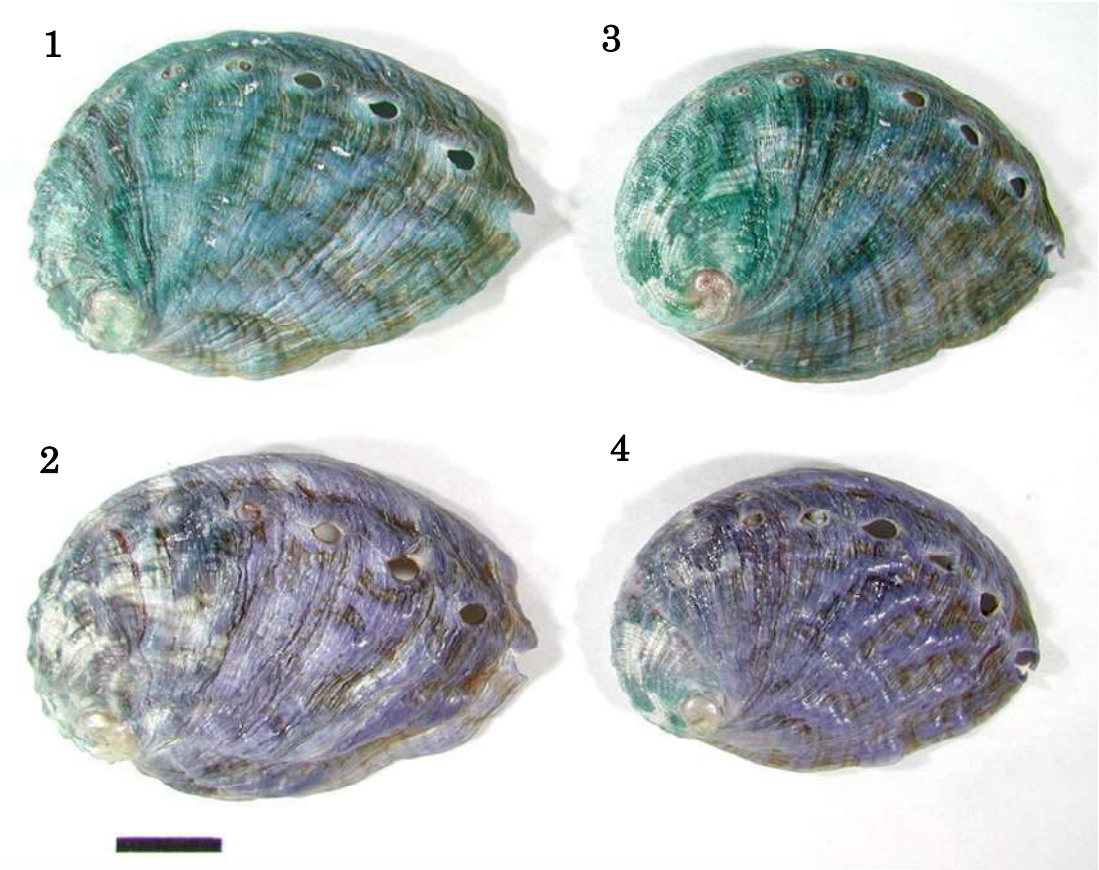

Fig. 16. Typical shell color variation of *H. discus hannai* of Mating Experiment Ⅰ and Ⅱ.1; green shell color type of family A of Mating Experiment Ⅰ. 2; blue shell color type of family A of Mating Experiment Ⅰ. 3; green shell color type of family AA12 of Mating Experiment Ⅱ. 4; blue shell color type of family AA12 of Mating Experiment Ⅱ. Individuals of 1 and 2 are approximately two years old. 3 and 4 are approximately 17 months old. Scale bar=10mm.

Generation

P_0 Pf × Pm (1996)

<Gr> <Gr>

P1 P1 :Parents of F1

Mating Experiment- I (1999)

F_1

♀ \ ♂	m1 <Gr>	m2 <Gr>	m3 <Gr>
f1 <Gr>	A	B	C
f2 <Gr>	D	E	F
f3 <Gr>	G	H	I

Mating Experiment- II (2001)

F_2

♀ \ ♂	Am1 <Bl>	Am2 <Bl>	Am3 <Bl>	Am4 <Gr>	Am5 <Gr>
Af1 <Bl>	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5
Af2 <Bl>		AA6	AA7	AA8	AA9
Af3 <Bl>			AA10		
Af4 <Gr>	AA11				
Af5 <Gr>		AA12		AA13	AA14
Af6 <Gr>				AA15	

Mating Experiment-III (2000)

♀ \ ♂	Dm1 <Gr>	Gm1 <Gr>	Gm2 <Gr>
Df1 <Gr>	DD1	DG1	
Df2 <Gr>	DD2	DG2	DG3
Df3 <Gr>	DD3	DG4	DG5
Gf1 <Gr>	GD1	GG1	GG2
Gf2 <Gr>	GD2		GG3

Fig. 17. Mating experiment system in the present study.
Gr and Bl represent phenotype of green-type and blue-type,respectively.

Table 5. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family of the Mating Experiment Ⅰ

♀ \ ♂	Observed (Expected)					
	m_1<Gr>		m_2<Gr>		m_3<Gr>	
	Gr	Bl	Gr	Bl	Gr	Bl
	A		B		C	
f_1 <Gr>	27	13	43	0	49	0
	(30.0)	(10.0)				
	χ^2=1.20					
	D		E		F	
f_2 <Gr>	107	0	34	0	64	0
	G		H		I	
f_3 <Gr>	39	0	37	0	95	0

Gr and Bl represent the phenotype of green-type and blue-type,respectively.

Table 6. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family of the Mating Experiment Ⅱ

Cross type	Observed (Expected)		
	Gr	Bl	
Gr×Gr			
AA_{13}	134	0	
AA_{14}	64	0	
AA_{15}	184	0	
Gr×Bl			
AA_{11}	40(36.0)	32(36.0)	χ^2=0.89
AA_{12}	71(73.5)	76(73.5)	χ^2=0.17
Bl×Gr			
AA_4	48	0	
AA_5	163	0	
AA_8	80	0	
AA_9	35	0	
Bl×Bl			
AA_1	0	29	
AA_2	0	205	
AA_3	0	69	
AA_6	0	93	
AA_7	0	100	
AA_{10}	0	102	

Gr and Bl represent the phenotype of green-type and blue-type,respectively.

Table 7. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family of the Mating Experiment Ⅲ

♀ \ ♂	Obserbed (Expected)					
	Dm_1<Gr>		$G\ m_1$<Gr>		Gm_2<Gr>	
	Gr	Bl	Gr	Bl	Gr	Bl
	DD1		DG1			
Df_1 <Gr>	190	0	227	0	—	—
	DD2		DG2		DG3	
Df_2 <Gr>	107	0	29	0	56	14
					(52.5)	(17.5)
					χ^2=0.93	
	DD3		DG4		DG5	
Df_3 <Gr>	188	0	136	0	133	0
	GD1		GG1		GG2	
Gf_1 <Gr>	113	0	106	0	84	0
	GD2				GG3	
Gf_2 <Gr>	79	0	—	—	85	24
					(81.7)	(27.3)
					χ^2=0.52	

Gr and Bl represent the phenotype of green-type and blue-type,respectively.

第２節 白色型の殻色変異の遺伝的支配

材料と方法

殻色型の判別

典型的な緑色型と白色型の個体の殻を Fig. 18 に示した。なお、白色型の個体は、多くの場合、部分的に淡紅色あるいは赤褐色の殻を形成するが、淡紅色あるいは赤褐色の殻の部分が多い個体も白色型とした。

個体の殻色の判別は、交配後 162 日目（交配実験Ⅰ）および 140 日目（交配実験Ⅱ）に行った。いずれの交配実験においても殻色を判別した時点の各個体の殻長は 5～25 mm であった。

交配実験Ⅰ

本研究で行った交配実験の概要を Fig. 19 に示した。

1997 年に岩手県田老町漁業協同組合のアワビ種苗生産施設で生産されたエゾアワビの種苗の中に、通常の緑色型に混ざって少数の白色型の個体が出現した。それらを飼育し、2000 年に同施設においてその白色型の雌雄 1 個体ずつを交配したところ、その子はすべて白色型となった。これらの子から抽出した白色型の個体を交配実験Ⅰの親貝（白色型）とした。また、1997 年に岩手県水産技術センターで、緑色型の雌雄 1 対交配により作出した子から抽出した緑色型の個体を交配実験Ⅰの親貝（緑色型）とした。

交配実験Ⅰは 2002 年 6 月に行い、♀5 個体（緑色型 2 個体, 白色型 3 個体）と♂5 個体（緑色型 3 個体, 白色型 2 個体）を総当り交配し、♀緑色型×♂緑色型（6 組）、♀白色型×♂白色型（6 組）、♀緑色型×♂白色型（4 組）、♀白色型×♂緑色型（9 組）からなる 25 組を作出した。交配に用いた親貝の殻長は 61.0～78.7 mm だった。

交配実験Ⅱ

白色型の遺伝的支配を明らかにするために、交配実験Ⅰで作出した緑色型と白色型の交雑個体の戻し交配を含む交配実験Ⅱを行った（Fig. 19）。

交配実験Ⅰで用いた白色型の親貝のうち 3 個体（♀W1, ♀W3, ♂W7）を交配実験Ⅱの親貝（白色型）とした。また、交配実験Ⅰでの緑色型と白色型の交雑により作出した子のうちの緑色型の 5 個体（♀10-1, ♀10-4, ♂11-6, ♂17-3, ♂17-4）を交配実験Ⅱの親貝（緑色型）とした。このうち、♀10-1 および♀10-4 は交配区 10 から、♂11-6 は交配区 11 から、♂17-3 および ♂17-4 は交配区 17 からそれぞれ抽出した。

交配実験Ⅱは 2003 年 10 月に行い、雌雄一対交配により、♀緑色型×♂緑色型（2 組）、♀白色型×♂白色型（2 組）、♀白色型×♂緑色型（3 組）からなる 7 組を作出した。♀白色型×♂緑色型の 3 組のうち、交配区 28 および 30 はいずれも交配実験Ⅰの♀白色型×♂緑色型の交雑により作出された子の雄と、その白色型の母親との戻し交配、交配区 29 は母親以外の白色型との戻し交配である。交配に用いた親貝の殻長は 50.0～81.5 mm だった。

交配と飼育

いずれの交配実験でも、交配および幼生の飼育は Kobayashi *et al*(2004)と同じ手法により岩手県水産技術センターで行なった。各交配区は個別の透明な 20L コンテナで採苗し、初めは採苗板およびコンテナの内面に繁茂する付着珪藻を摂餌させた。殻長が約 5 mm になった後は配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を与え、付着珪藻と併せて摂餌させた。実験期間中は、約 20℃に調温したろ過海水を掛け流して飼育した。

統計処理

各交配区での緑色型と白色型の出現数の期待値は、「白色型が緑色型に対して劣性であり、一つの遺伝子座上に存在する対立遺伝子で支配されていてメンデル遺伝する」と仮定して算出した。各交配区での観察値と期待値の有意差はカイ二乗法で検定した。

結　果

交配実験Ⅰの結果を Table 8 に示した。♀緑色型×♂緑色型、♀緑色型×♂白色型および♀白色型×♂緑色型の交配区（7～19）の子はすべて緑色型であった。これに対し、♀白色型×♂白色型の交配区では、すべての子が白色型であった。このことから、緑色型が優性、白色型が劣性形質であることが推察された。この仮定にしたがえば、緑色型の親個体は緑色の優性ホモ接合体、白色型の親個体は白色の劣性ホモ接合体、交配区 1～6 の子はすべて緑色型の優性ホモ接合体、交配区 7～19 の子は緑色型となるヘテロ接合体、交配区 20～25 の子は白色型の劣性ホモ接合体と考えられる。

緑色型が優性、白色型が劣性形質であるとの仮定を検証するために行った交配実験Ⅱの結果を Table 9 に示した。劣性ホモ同士の交配と推察される♀白色型×♂白色型の 2 組の交配区（26, 27）からは白色型のみが出現した。一方、劣性ホモとヘテロとの交配と推察される♀白色型×♂緑色型の交配区（28～30）では、緑色型と白色型が 1 : 1 の比で分離した（$\chi^2 = 0.077-0.091$: $P = 0.7815-0.7630$）。次に、ヘテロ同士の交配と予想される♀緑色型×♂緑色型の交配（31, 32）では、緑色型と白色型が 3 : 1 の比で分離した（$\chi^2 = 0.333-1.333$: $P = 0.2482-0.5637$）。

考　察

交配実験Ⅰにおいて、白色型同士の交配ではすべての交配区で白色型のみが、緑色型同士の交配ではすべての交配区で緑色型のみが、♀緑色型×♂白色型、および♀白色型×♂緑色型の交配ではすべての交配区で緑色型のみが出現したことから、本研究において発見された殻色変異は、緑色型が優性形質、白色型が劣性形質であり 1 遺伝子座における 2 対立遺伝子によって支配されていると仮定できる。また、その仮定の下に、交配実験Ⅱにおいて、♀白色型×♂緑色型の子（ヘテロ型の緑色型）とその♀親（ホモ型白色型）との戻し交配を 2

組、親とは別の♀白色型との戻し交配を 1 組行い、そのすべてにおいて緑色型と白色型が 1 : 1 に分離したことは、その仮定を確証したことになる。さらに、F2 となる緑色型同士の 2 つの交配区では期待されるとおり表現型が 3 : 1 に分離した。従って、今回発見された白色型の殻色変異は、「白色型が緑色型に対して劣性形質であり、1 つの遺伝子座上に存在する 2 対立遺伝子によって支配されている変異形質である」と結論づけられた。本研究で作出したすべての交配区での殻色型の観察結果はこの結論と矛盾しなかった。

白色型の殻を形成する変異は、その遺伝的支配が確認されたことから、可視的な遺伝的マーカーとして、遺伝学的に応用価値が高いと考えられる。近年、高感度 DNA マーカーのアワビへの応用が進んできており（Hara, M. and M.Sekino 2001, Li *et al.* 2003, Park *et al.* 2003 ）、同マーカーによる個体識別が可能になってきているが、大量の種苗を区別する場合には、殻色の変異を利用した識別の方が経済性および簡便性において有利と考えられる。

ただし、アワビの殻色は環境要因、特に餌料により異なることが知られている（猪野 1952, Leighton 1961, 酒井 1962, 荻野・太田 1963, Leighton and Boolootian 1963, Olsen 1968, 田島ら 1980a, 田島ら 1980b, 河原・大森 2000, Wenresti *et al.* 2003）本研究でも白色型の個体が主に珪藻を摂餌している時期に、淡紅色あるいは赤褐色の殻を形成することが観察されている。したがって、殻色の変異を遺伝標識として利用する場合は、それぞれの殻色型の変異個体がどのような餌料でどのような色の殻を形成するのかをあらかじめ確認し、整理しておく必要がある。また、今後、白色型の発現と Kobayashi *et al.*（2004）により報告した青色型（緑色型に対し劣性）の発現が異なる遺伝子座で支配されているか否か、また、それぞれの殻色型の遺伝的な優劣関係について明らかにすることができれば、2 つの殻色変異を複合的に利用することが可能となろう。

Fig. 18. Typical shell color variation of the juvenile of *H.discus hannai* in the present study.1; green type shell color individuals. 2; white type shell color individuals. 5; white type shell color individuals with reddish brown parts. All individuals are approximately 7 months old.
Scale bar=10mm.

		(2000)				(1997)
<Wh>	×	<Wh>		<Gr>	×	<Gr>
Parents of Mating Experiment Ⅰ	↓ <Wh>				↓ <Gr>	

Mating Experiment Ⅰ (2002)

♀ \ ♂	G18 <Gr>	G41 <Gr>	G56 <Gr>	W6 <Wh>	W7 <Wh>
G9 <Gr>	1	2	3	7	8
G58 <Gr>	4	5	6	9	10
W1 <Wh>	11	12	13	20	21
W2 <Wh>	14	15	16	22	23
W3 <Wh>	17	18	19	24	25

Mating Experiment Ⅱ (2003)

♀ \ ♂	W7 <Wh>	11-6 <Gr>	17-3 <Gr>	17-4 <Gr>
W1 <Wh>	26	28		29
W3 <Wh>	27			30
10-1<Gr>				32
10-4<Gr>			31	

The parents W1,W3 and W7 of Mating Experiment Ⅱ (2003) were the same individuals as those of Mating Experiment Ⅰ (2000).

Fig. 19. Mating experiment system in the present study. Gr and Wh represent the phenotype of greenish-type and whitish-type, respectively.

Table 8. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family of the Mating Experiment I

Cross No.	Cross type	Observed number	
		Gr	Wh
1	♀Gr×♂Gr	89	0
2		34	0
3		123	0
4		124	0
5		34	0
6		119	0
7	♀Gr×♂Wh	258	0
8		41	0
9		276	0
10		87	0
11	♀Wh×♂Gr	60	0
12		415	0
13		192	0
14		154	0
15		298	0
16		426	0
17		152	0
18		175	0
19		60	0
20	♀Wh×♂Wh	0	188
21		0	39
22		0	145
23		0	189
24		0	302
25		0	168

Gr and Wh represent the phenotype of green-type and white-type,respectively.
Cross No. of each full-sib family corresponds to that in Fig. 19.

Table 9. Segregation of phenotypies of offspring in each full-sib family of the Mating Experiment Ⅱ

Cross No.	Cross Type	Observed number		Expected number			
		Gr	Wh	Gr	Wh	χ^2	P
26	♀Wh×♂Wh	0	48	0	48	-	-
27		0	22	0	22	-	-
28	♀Wh×♂Gr	6	7	6.5	6.5	0.077	0.7815
29		14	19	16.5	16.5	0.758	0.3841
30		5	6	5.5	5.5	0.091	0.7630
31	♀Gr×♂Gr	11	5	12	4	0.333	0.5637
32		14	2	12	4	1.333	0.2482

Gr and Wh represent the phenotype of green-type and white-type,respectively.
Cross No. of each full-sib family corresponds to that in Fig. 19.

第３節 青色型および白色型の殻色変異の遺伝的関連性

材料と方法

殻色型の判別

緑色型、白色型および青色型の典型的な個体を Fig. 20 に示した。殻色型の判別は、通常は緑色の殻を形成する配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を与えた時の殻色で判別した。緑色型は緑色の殻を形成するのに対し、白色型はやや黄色みがかった白色の殻を形成し、部分的には赤褐色の殻も形成する。また、青色型は主に珪藻を摂餌している時期は緑色の殻を形成するが、配合飼料給餌した後は青色および青紫色の殻を形成する。白色型、青色型のいずれも殻色の変異は殻皮側のみで、真珠層側の色調は通常である。殻色型の判別は殻が十分に成長した採苗後 6～9 ヶ月後に行った（平均殻長 16.9～19.5 mm）。

交配実験

本研究で行った交配実験の流れを Fig. 21 に示した。すべての交配は雌雄一対で交配した。以下の 11 区の交配を行った（Table 15）。交配区 1：白色型×白色型。交配区 2 および 3：青色型×青色型。交配区 4：青色型（交配区 3 の子）×緑色型。交配区 5：白色型（交配区 1 の子）×緑色型。交配区 6：緑色型（交配区 4 の子）×青色型（交配区 2 の子）;青色型の殻色変異の遺伝的支配を確認する戻し交配。交配区 7：緑色型（交配区 5 の子）×白色型（交配区 1 の子）; 白色型の殻色変異の遺伝的支配を確認する戻し交配。交配区 8 および 9：青色型（交配区 3 の子）×白色型（交配区 1 の子）。交配区 10：緑色型（交配区 8 の子）×緑色型（交配区 9 の子）。交配区 11：緑色型（交配区 9 の子）×緑色型（交配区 9 の子）。交配区 8－11 では白色型と青色型の遺伝的な関係を調べた。青色型および白色型の遺伝的支配は既に報告しているが、本試験で用いた個体が既報と同じ遺伝的支配による殻色変異体

であることを確認するために交配区 6 および 7 を行った。なお、交配区 1 に用いた白色型の親個体（♀Y1, ♂Y2）は田老町漁協のアワビ種苗生産施設で継代された系統に由来している。また、交配区 2 および交配区 3 に用いた青色型の親個体（♀Af2, ♂Am2, ♀Af3, ♂Am3）および交配区 4 と交配区 5 に用いた緑色型の親個体（♂17-4, ♂G）は岩手県水産技術センターで継代された系統に由来し、試験に用いた異なる殻色型間に同祖関係はない。

交配および飼育は Kobayashi *et al*（2004）と同じ手法により岩手県水産技術センターで行った。各交配区は個別の透明な 20L コンテナで採苗し、初めは採苗板およびコンテナの内面に繁茂する付着珪藻を摂餌させた。殻長が 5～10 mm になった後は標準餌料を与えた。実験期間中は、約 20℃に調温したろ過海水を掛け流して飼育した。ただし、交配区 1 のみは田老町漁業協同組合のアワビ種苗生産施設で通常の手法で生産された。

結　果

交配実験の結果を Table 10 に示した。交配区 1 では白色型のみが、交配区 2 および 3 では青色型のみが、交配区 4 および 5 では緑色型のみが出現した。このことから、青色型および白色型はいずれも緑色型に対して劣性であることが確認された。更に、青色型の戻し交配をした交配区 6 では緑色型と青色型が 1 : 1 の比で分離して出現した（$\chi^2 = 0.5168$: $P = 0.4722$）。この結果は、青色型の殻色変異は一つの遺伝子座上に存在する青色型を発現する劣性の対立遺伝子と緑色型を発現する優性の対立遺伝子で支配されていることを示しており、Kobayashi *et al.*（2004） の報告と一致した。また、白色型の戻し交配をした交配区 7 では緑色型と白色型が 1 : 1 の比で分離して出現した（$\chi^2 = 0.0690$: $P = 0.7928$）。この結果は、白色型の殻色変異は一つの遺伝子座上に存在する白色型を発現する劣性の対立遺伝子と緑色型を発現する優性の対立遺伝子で支配されていることを示しており小林ら（2005）の報告と一致した。

白色型と青色型を交配した交配区 8 および 9 では、いずれも緑色型のみが出現した。

また、白色型と青色型の交配で出現した緑色型同士を交配した交配区 10 および交配区 11 では緑色型、白色型および青色型が分離して出現した。交配区 10 および交配区 11 での緑色型、白色型、青色型の出現数はそれぞれ 221 個、81 個、78 個および 425 個、181 個、162 個だった。ここで、以下ように仮定してみる。①白色型は白色型を発現する劣性の対立遺伝子 w と緑色型を発現する優性の対立遺伝子 G^w で支配されている。②青色型は青色型を発現する劣性の対立遺伝子 b と緑色型を発現する優性の対立遺伝子 G^b で支配されている。③白色型と青色型は、それぞれは異なる遺伝子座で支配されていてメンデル遺伝する。本研究では、交配区 1 に用いた白色型の親個体（♀Y1, ♂Y2）と、交配区 2 および交配区 3 に用いた青色型の親個体（♀Af2, ♂Am2, ♀Af3, ♂Am3）および交配区 4 と交配区 5 に用いた緑色型の親個体（♀17-4, ♂G）に同祖的な関係がない。したがって、交配区 1 に用いた白色型の親個体の遺伝子型は（w/w, G^b/G^b）、交配区 2 および交配区 3 に用いた青色型の親個体の遺伝子型は（G^w/G^w, b/b）、交配区 4 と交配区 5 に用いた緑色型の親個体の遺伝子型は（G^w/G^w, G^b/G^b）と推定され、各交配区での遺伝子型は Fig. 21 のとおり推定される。交配区 8 および交配区 9 の子（♀G-5, ♂G-6, ♀G-7, ♂G-8）の遺伝子型はいずれも（G^w/w, G^b/b）と推定され、観察結果からこれらの表現型は緑色型となる。交配区 10 および 11 は遺伝子型 G^w/w、G^b/b の個体同士の交配となるため、その子に出現する遺伝子型とその期待値は（G^w/G^w, G^b/G^b）= 1、（G^w/w, G^b/G^b）= 2、（G^w/G^w, G^b/b）= 2、（G^w/w, G^b/b）= 4、（w/w, G^b/G^b）= 1、（w/w, G^b/b）= 2、（G^w/G^w, b/b）= 1、（$G^w w/bb$）= 2、（w/w, b/b）= 1 となる。また、交配区 1～9 までの結果から、各遺伝子型の殻色は（G^w/G^w, G^b/G^b）、（G^w/w, G^b/G^b）、（G^w/G^w, G^b/b）、（G^w/w, G^b/b）が緑色型、（w/w, G^b/G^b）、（W/w, G^b/b）が白色型、（G^w/G^w, b/b）、（G^w/w, b/b）が青色型と推定される。しかし、白色型の対立遺伝子 w と青色型の対立遺伝子 b がいずれもホモになる遺伝子型（w/w, b/b）の殻色は推定できない。そこで、遺伝子型（w/w, b/b）の殻色型が白色型になる場合を仮定 A、青色型になる場合を仮定 B、緑色型になる場合を仮定 C としてみる。これらの仮定を基に交配区 10 および交配区 11 の殻色型の期待値（緑色型 : 白色型 : 青色型）を求めると、仮定 A、B、および C はそれぞれ 9 :

4 : 3、9 : 3 : 4、および 10 : 3 : 3 となる。更に、仮定 D として白色型と青色型が一つの遺伝子座上にある 3 つの対立遺伝子 *G*（緑色型）、*w*（白色型）、*b*（青色型）で支配されている場合を考えてみる。仮定 D では白色型と青色型の交配をした交配区 8 および交配区 9 の子（♀G-5, ♂G-6, ♀G-7, ♂G-8）の遺伝子型はいずれも *wb*（緑色型）と推定される。この場合、交配区 10 および 11 は遺伝子型 *w b* の個体同士の交配となるため、その子に出現する遺伝子型とその期待値は *ww* = 1、 *wb* = 2、*bb* = 1 となり、殻色型の期待値（緑色型：白色型：青色型）は 2 : 1 : 1 となる。

ここで、交配区 10 および交配区 11 での各殻色の観察値と仮定 A－D で求められた期待値の適合度をカイ自乗法で検定すると、交配区 10 （$\chi^2 = 2.9485$, $P = 0.2289$）でも交配区 11（$\chi^2 = 2.9936$, $P = 0.2238$）でも仮定 A がもっとも良く適合する。一方で、仮定 C－D は両方、あるいはいずれかの交配区で棄却された（$P < 0.01$）。このことから、遺伝子型 *w/w*、*b/b* の表現型は白色型と推定された。これらの結果から、青色型と白色型の殻色変異は異なる一つずつの遺伝子座で支配されており、白色型の遺伝子が青色型に対して上位にあることが示唆された。

考　　察

最近、エゾアワビの殻色変異として、緑色の殻を形成する天然型の G-type に対してオレンジ色の殻を形成する O-type と青色の殻を形成する B-type の殻色変異が Liu *et al.*(2009) により発見され、このうち O-type については戻し交配での殻色の分離から、G-type に対して劣性であり、一つの遺伝子座で支配されていることが報告された。過去には、その遺伝支配は不明であるが、明るい赤褐色の殻を持つ変異個体と通常の緑色の個体との交配により緑色、赤色、青紫色の殻をもつ 3 タイプの子が出現した事例がエゾアワビで報告されている(Hahn 1989)。Liu *et al.*（2009）の報告では、エゾアワビの O-type のホモ（o/o）と O-type と G-type のヘテロ（o/G）の一対交配において G-type（緑色）、O-type（オレンジ

色)、B-type（青紫色）が分離して出現した。かれらは、このうち B-type は Kobayashi *et al*（2004）の青色型と同じ変異であると推察している。そこで、私たちが報告したエゾアワビの緑色型、白色型、青色型の殻色変異と、Liu *et al.*(2009) が報告したエゾアワビの G-type、O-type、B-type の殻色変異が同じものである可能性について検討した。

アワビ類では餌料の違いにより殻色が変化することが知られており（猪野 1952, Leighton 1961, 酒井 1962, Leighton and Boolootian 1963, Olsen 1968, Hahn 1989, Gallardo *et al.* 2003)、はじめに、各殻色型と餌料の関係を考慮する必要がある。Liu *et al.*（2009）は G-type と O-type において餌料と殻色の関係を調べている。それらは、褐藻や緑藻あるいは市販の配合飼料を与えた場合は緑色と黄色の殻を形成するが、珪藻や紅藻を与えた場合は暗褐色とオレンジ色の殻を形成するとしている（Liu *et al.* 2009)。本研究で用いた白色型は、緑色型が緑色の殻を形成する餌料を与えたときに白色系の殻を形成する。その色は少し黄色く、部分的には赤褐色で（Fig.25)、O-type に市販の配合飼料を与えたときの殻色とよく似ている　(Fig.1 in Liu *et al.* 2009)。また、緑色型に与えると暗褐色の殻を形成する配合飼料（コスモ開発株式会社製：スペシャルタイプ）を白色型に与えると、O-type に珪藻や紅藻を与えた時と同じようなオレンジ色（赤褐色）の殻を形成する。更に、配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を与えたときの青色型の殻色は市販の餌料を与えた場合の B-type とよく似た色の殻を形成する。このように、餌料の違いによる殻色の変化を考慮すると、本研究の緑色型、白色型、青色型は、Liu *et al.*（2009）の G-type、O-type、B-type の殻色はよく対応している。なお、珪藻を摂餌した時、白色型が白色系の殻を形成するのに対し O-type はオレンジ色の殻を形成している。しかし、珪藻を摂餌した時は、緑色型は緑色、G-type は暗褐色と、異なる色の殻を形成することから、これは繁茂している珪藻の種類の違いに由来すると考えられる。

次に、殻色型の遺伝的支配について検討した。私たちの研究で、白色型は緑色型に対して劣性であり、一つの遺伝子座の 2 対立遺伝子で支配されていることが戻し交配で 1：1 に分離したことから明らかである。また、青色型も緑色型に対して劣性であり、一つの遺伝

子座の 2 対立遺伝子で支配されていることが本研究での戻し交配の結果から明らかである。Liu *et al*（2009）の報告によると B-type は O-type のホモ（o/o）と、O-type と G-type のヘテロ(o/G)の一対交配（Family F_2-15）での子において出現した。Liu *et al*（2009）は、B-type は G-type、O-type より劣性で、一つの遺伝子座の 3 対立遺伝子（*G,o,b*）で支配されていると仮定した。しかし、G-type : O-type : B-type の期待値（2 : 1 : 1）と観察値（146 : 239 : 65）が適合しないこと、B-type が出現したのはその 1 ペアのみであったことから、B-type の遺伝的支配の解明には更なる交配実験が必要であるとしている。しかし、Liu *et al.*（2009）の報告は本研究の仮説Dが成立しなかったことを示しているだけであり、ここでは、仮説 A での検証を試みる必要がある。そこで、G-type、O-type、B-type を本研究の緑色型、白色型（$G^w > w$）、青色型（$G^b > b$）に置き換え、2 遺伝子座で支配されていると仮定する。この仮定に基づき、Liu *et al.*（2009）の報告において B-type が出現した Family F_2-15 での殻色分離を検討してみる。Family F_2-15 の♀親（OO1-13）は O-type（ホモ）なので、遺伝子型は（w/w, G^b/G^b）、（w/w, G^b/b）、または（w/w, b/b）と推定される。また、Family F_2-15 の♂親（OG3-15）は G-type（O-type と G-type のヘテロ）なので、遺伝子型は（G^w/w, G^b/G^b）、（G^w/w, G^b/b）、または（G^w/w, b/b）となる。したがって、Family F_2-15 の遺伝子型は 9 通り考えられる。ここで、♀OO1-13 と♂OO3-15 の遺伝子型をそれぞれ（w/w, G^b/b）、（G^w/w, G^b/b）と仮定した場合、その子の遺伝子型は、（G^w/w, G^b/G^b ; G type）:（G^w/w, G^b/b ; G type）:（w/w, G^b/G^b ; O type）:（w/w, G^b/b ; O type）:（w/w, b/b ; O type）:（G^w/w, b/b ; B type） =1 : 2 : 1 : 2 : 1 : 1 となり、表現型の期待値は G-type : O-type : B-type＝3 : 4 : 1 と推定され、観察値と有意差がなくなる（$\chi^2 = 5.2926$, $P = 0.0707$; G : O : B = 146 : 239 : 65）。このように、本研究で報告した緑色型、白色型、青色型と Liu *et al.*（2009）が報告した G-type、O-type、B-type の殻色変異は餌料の影響を考慮すると殻色が類似しているうえ、同じ遺伝様式で説明がつく。したがって、これらは同じ遺伝子による殻色変異である可能性が高いと考えられる。

更に Hahn（1989）が報告しているエゾアワビの殻色変異について検討してみた。はじ

めに発見された変異体は褐藻類（*Laminaria sp*）を摂餌したとき明るい赤褐色の殻を形成するとされていることから、白色型や O-type と同じと考えることができる。また、その変異体と通常の緑色の個体との交配により緑色、赤色、青紫色の殻をもつ 3 タイプ子が出現した Hahn（1989）。このことは、前述の事例と同様に 2 つの遺伝子座で支配されている仮説で説明できる。Hahn（1989）の報告は十分な情報が記載されていないことから、詳細な検討はできないが、本研究で報告した 3 つの殻色型とよく対応している。現時点でこれらの殻色変異がすべて同じものであるかどうかを断定することはできないが、遺伝的に隔離された異なる施設で類似の殻色変異が出現したことは興味深い現象である。これらの劣性の殻色変異は、天然のエゾアワビ集団内にヘテロ個体として低頻度で広く存在しており、種苗生産施設での交配で近交度が高まることにより、まれに顕在化してくると考えられる。

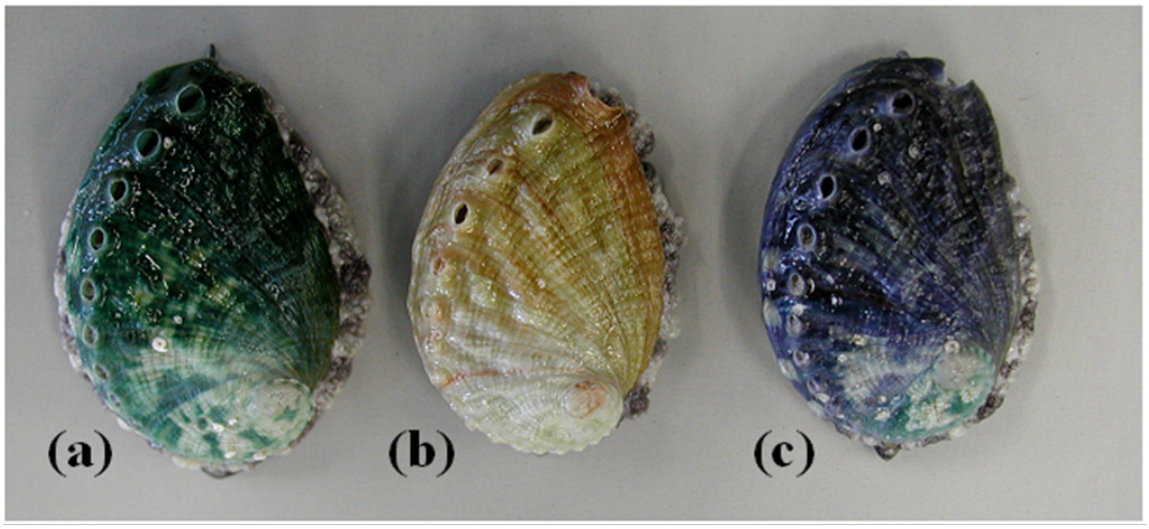

Fig. 20. Typical shell color variations in juvenile *H.discus hannai*. (a) Green-type individuals. (b) White-type individuals. (c) Blue-type individuals. All individuals are approximately 1 year of age with a shell length of 3 cm.

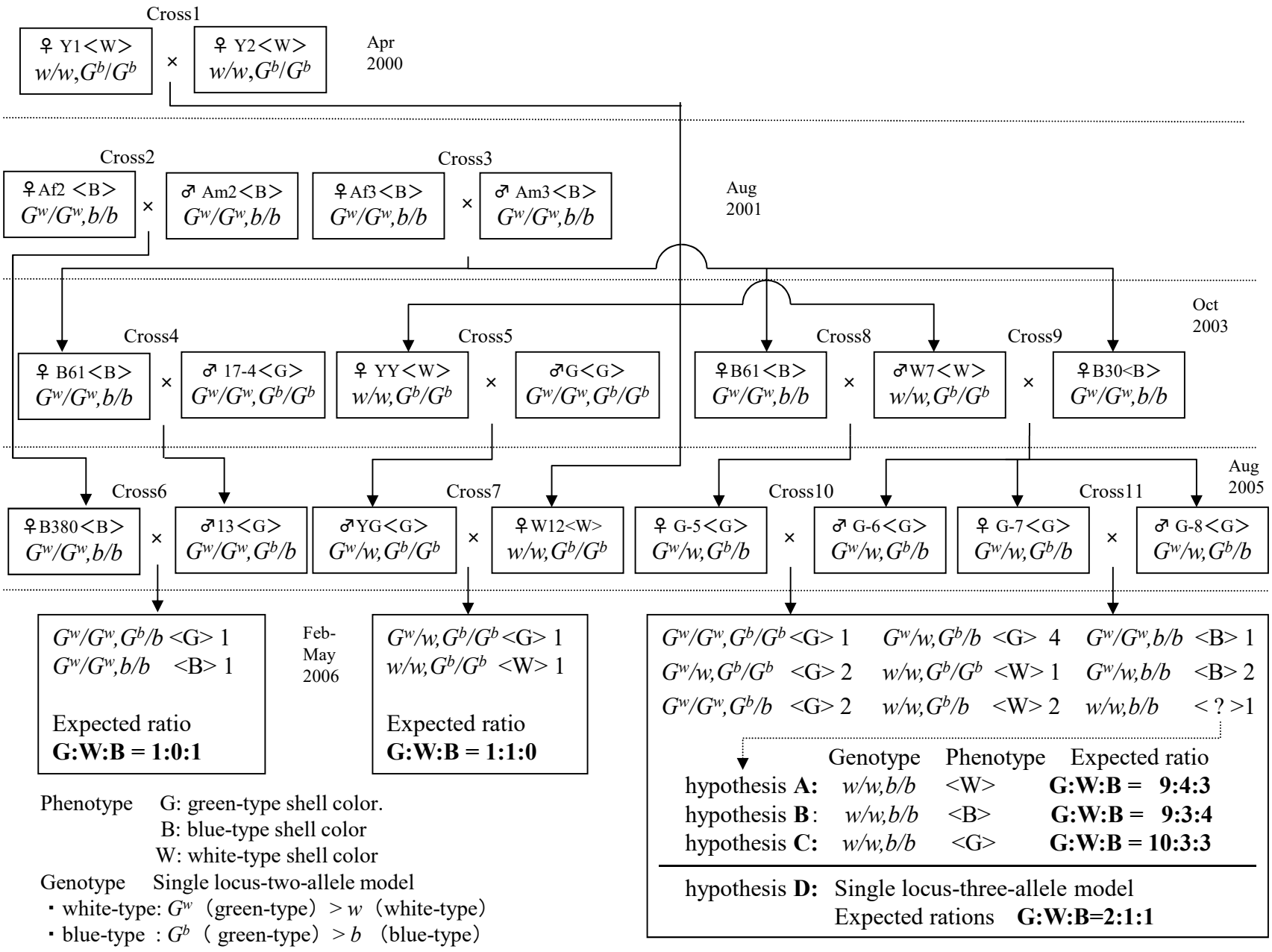

Fig. 21. Mating experiment system and estimated genotypes in the present study.

Table 10. Segregation of phenotypes of offspring in each full-sib family of pacific abalone

Cross No.	Parents		Observed number				Expected ratios				
	Female <Type>	Male <Type>	G	W	B		G	W	B	X^2	P
1	Y1 <W>	Y2 <W>	0	100>	0						
2	Af2 <B>	Am2 <B>	0	0	93						
3	Af3 <B>	Am3 <B>	0	0	102						
4	B61*[1] <B>	17-4 <G>	16	0	0						
5	YY*[2] <W>	G <G>	40	0	0						
6	B380*[3] <B>	13*[4] <G>	397	0	377		1	0	1	0.5168	0.4722
7	W12*[2] <W>	YG*[5] <G>	258	264	0		1	1	0	0.069	0.7928
8	B61*[1] <B>	W7*[2] <W>	12	0	0						
9	B30*[1] <B>	W7*[2] <W>	6	0	0						
10	G-5*[6] <G>	G-6*[7] <G>	221	81	78	A	214	95	71	2.9485	0.2289
						B	214	71	95	4.6222	0.0992
						C	238	71	71	3.3129	0.1908
						D	190	95	95	10.163	0.0062
11	G-7*[7] <G>	G-8*[7] <G>	425	181	162	A	432	192	144	2.9936	0.2238
						B	432	144	192	14.308	0.0008
						C	480	144	144	18.059	0.0001
						D	384	192	144	9.6953	0.0078

G: green-type shell color. B: blue-type shell color. W: white-type shel -color.

*1: Offspring of Cross3 *2: Offspring of Cross1 *3: Offspring of Cross2 *4: Offspring of Cross4

*5: Offspring of Cross5 *6: Offspring of Cross8 *7: Offspring of Cross9

Expected ratios assuming Mendelian inheritance of two alleles at a single locus.

Hypothesis of expected rations A – D are explained in Fig. 21.

第４節　餌料と殻色の関係

材料と方法

配合飼料が摂餌可能な殻長約 10 mm の緑色型、白色型、青色型の稚貝、各 10 個を 100 L 水槽に収容し混合飼育した。初めは緑色型が通常の緑色の殻を形成する配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を与え、殻長が 25～30 mm 前後の期間は、緑色型が赤褐色の殻を形成する配合飼料（コスモ開発株式会社製：スペシャルタイプ）を与えた。その後、再び緑色型が通常の緑色の殻を形成する配合飼料（コスモ開発株式会社製：スタンダードタイプ）を与えて殻長 45～50 mm 前後まで飼育し、殻色の変化を確認した。飼育期間中は水槽内に稚貝の餌料となる珪藻等が生えないように遮光し、約 20℃のろ過海水を掛け流した。

殻長 55～70 mm の緑色型、白色型と青色型の個体を成熟させ、紫外線照射海水刺激で放卵させた未受精卵の色彩を観察した。その後、同じ殻色型の雄と交配して得られた浮上 4 日後のベリジャー幼生の色彩を観察した。

結果と考察

飼育期間途中に異なる配合飼料を与えた緑色型、白色型、青色型の稚貝の典型的な殻色の個体を Fig.27 に示した。スタンダードタイプの配合飼料を与えた場合（Fig. 22 の A 部分）、緑色型は緑色系、白色型は白色系、青色型は青色系の殻を形成した。一方で、スペシャルタイプの配合飼料を与えた場合（Fig. 22 の B 部分）、緑色型は暗褐色、白色型は赤褐色、青色型は少し紫がかった暗褐色の殻を形成した。試験に用いた個体（各殻色型 10 個体）では全て同じ殻色の変化が観察された。このことから、本研究で発見された白色型と青色型の殻色変異は餌料により色彩が変化することが確認された。また、スペシャルタイ

プの配合飼料を与えた時の殻色でも白色型と青色型で違いが認められたことから、アワビの遺伝的な殻色変異を利用する場合は、変異ごとに餌料との関連を整理する必要があると考えられる。

なお、初めにスタンダードタイプを与えた時と比較し、2 回目にスタンダードタイプを与えた時の白色型の殻色は褐色がかっている。同様のことがスタンダードタイプを与え続けた場合にも観察されている（Fig. 20）ことから、この殻色の変化は餌料の影響によるものではない。白色型程は顕著ではないが、緑色型と青色型でも同様の傾向が観察されており、エゾアワビでは個体の成長とともに殻に褐色系の色調が現れやすくなるものと考えられる。

また、本研究で発見された殻色変異体は餌料を変えることで様々なパターンの殻を計画的に形成させることが出来ることから、装飾品としてのアワビの殻を生産する目的での養殖の可能性も期待される。本試験では、2種類の配合飼料のみを調査したが、天然海藻も含めてより多くの種類の餌料について調べることにより、より多くの殻色が発現されるかもしれない。将来的に遺伝要因と環境要因（餌料の違い）の組み合わせによりアワビの殻色をより多彩にコントロールすることが出来れば、養殖生残物の付加価値向上に寄与するものと期待される。

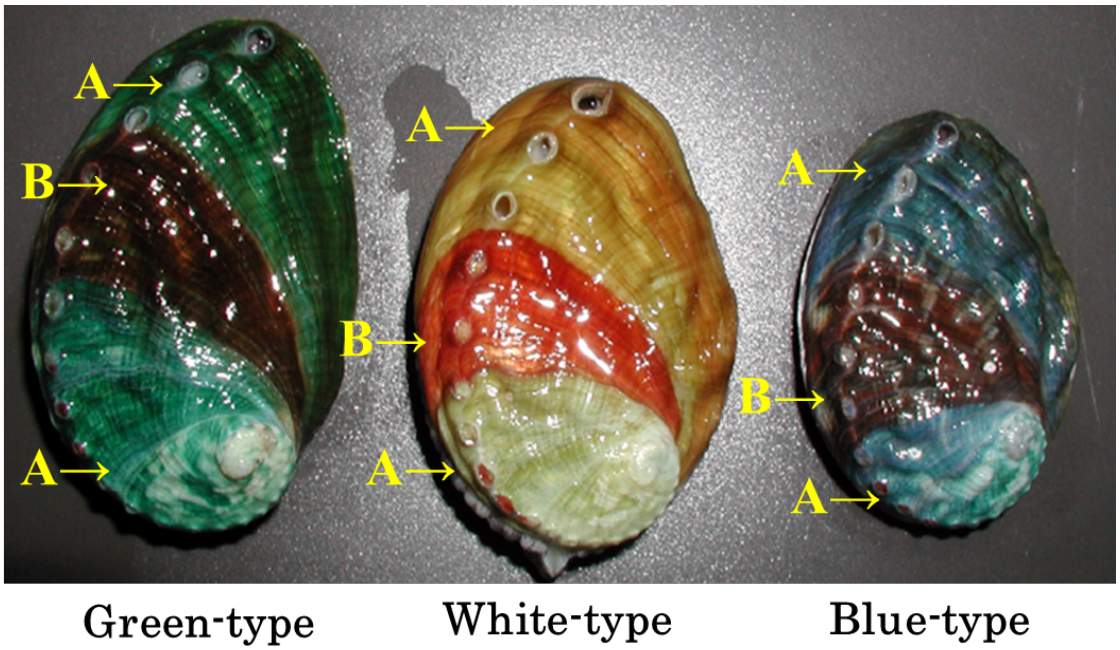

Fig.22. Shell color changes in juvenile abalone with three shell color fed with different artificial diets.

A: Standard type (CosmoKaihatu K.K)

B: Special type (CosmoKaihatu K.K)

第５章　総合考察

本研究ではエゾアワビ養殖に有用な系統を作出することを目的として、量的形質である成長、質的形質である殻色の変異に着目して遺伝的改良について検討するとともに近親交配の影響について調べた。本章ではこれらの結果に基づき、選抜育種によるエゾアワビ養殖に有用な系統の作出について総合的に考察する。

第2章第1節で海面カゴ養殖での成長特性を評価した系統Aは、天然貝を親貝とする対照区と比較して出荷サイズである平均殻長70 mmまでの養殖期間が1年4か月間短縮された。また、試験終了時の殻長組成では出荷サイズまで成長できない個体が減少する傾向が認められ、生残率も同等だった。これらのことから系統Ａは事業規模での実用化に十分な成長改善が認められたと考えられる。系統Ａはアワビ種苗生産施設において通常の種苗生産の過程で出現した大きい個体を抽出する手法で、2世代にわたって選抜を繰り返した継代選抜集団であり、選抜の母集団の大きさは120万個体、選抜強度は0.3%、選抜時期は3ヶ月令である。本研究の結果は、エゾアワビにおいて種苗生産施設で生産された大きな母集団から高い選択圧で少なくとも2世代選抜することにより海面カゴ養殖において実用的な成長改善が得られることを示している。

ただし、本研究では河原ら（1997）が報告した系統 A の親世代の成長から期待される水準の高成長性は示されていない。河原ら（1997）の報告では 3 年 9 ヶ月令での系統 A（本研究の親世代）及び対照群 I0（天然集団から作成）の平均殻長はそれぞれ 84.1 mm、66.5 mm であり殻長を基準とすると 26.5%の成長改善が示されたのに対し、本研究では養殖終了時の選抜群（系統 A）及び非選抜群（天然集団から作成）の平均殻長はそれぞれ 80.2 mm、69.9 mm であり、殻長を基準とする成長改善は 14.8%にとどまった。この原因としては、試験設定の違いによる環境要因の違いも考えられるが、おそらく、本研究で使用した系統 A の親貝が親世代の生残個体から無作為に抽出されたことが影響していると考えられる。系統 A は 2 世代の選抜で実用的なレベルでの成長改善が認められたが、本研究の結果は選抜

により獲得した成長優良形質は遺伝的に固定されたものではなく、次世代で無作為な選択を行うと成長優良形質が十分に維持されない可能性あることを示している。

一方で系統Kは 1%の強い選択圧による選抜を継続しており、選抜により獲得した成長優良形質が良く維持されていることが期待できる状況にあった。しかしながら、第 2 章第 2 節で報告したように、系統Kでは種苗生産段階のみ成長優良性を示し、養殖段階では成長優良性を維持できていなかった。これは、継代する際の選抜時期が沖出し時期の 14 ヶ月令で固定されていたことから種苗生産段階でのみ成長の良い個体が無作為に選抜された結果と推察された。このことは系統 A の場合と同様に系統 K の成長優良性も遺伝的には固定されていなかったことを示している。エゾアワビの成長優良形質が遺伝的に固定しがたい原因としては、エゾアワビ集団が持つ高い遺伝的変異性、多くの有害遺伝子あるいは弱有害遺伝子の存在、成長に関与する遺伝子の多さなどが推察される。

系統A及び系統Kでの研究結果は、これまでエゾアワビで数多く報告されている実験的な選抜育種により作出された成長優良系統が、その後、ほとんど維持されていない要因を示唆している。本研究の結果から、エゾアワビは大きな母集団から高い選択圧での選抜を行うことにより少ない選抜代数で実用的なレベルでの成長改善が実現できるが、遺伝的な固定は容易に進まないことから、選抜により獲得した成長優良形質を維持するためには継代にあたって選抜を継続する必要がある。その際に、種苗生産施設での成長の評価で選抜すると初期の成長のみが良い個体が選抜される可能性があり、育種目標となる出荷サイズまでの成長を評価して選抜、継代を継続する必要があると考えられる。

本研究の第 3 章ではエゾアワビにおける複数の形質で近交弱勢が発現することが明らかになった。選抜育種により作出したエゾアワビの成長優良系統を事業化して利用するのに選抜、継代の継続が必須だとすると、種苗生産された集団内での成長の良い個体は遺伝的に成長が良い少数の親貝の子集団である可能性があり、継代に伴い近交度が高まることが予想される。したがって、選抜で成長優良性を維持するには本研究で近親交配の影響が出ることが明らかになった、ベリジャー幼生の奇形率、採苗後の初期生残、疾病発生時の生

残率、生殖巣の発達を中心にその影響について注意する必要がある。

本研究の結果から近親交配の影響を把握する手法の一つとして、ベリジャー幼生の奇形率をモニタリングすることが有効と考えられる。本研究で報告した軟体部を幼殻の中に引き込むことが出来ないタイプのベリジャー幼生の奇形は、採苗前の幼生数を計数する際のサンプルを1%のホルマリン海水で遊泳を停止させることにより容易に観察でき、近親交配の影響をモニタリング手法としての利用が期待される。実際に岩手県内のエゾアワビの種苗生産施設では採苗前の幼生数を計数する際には軟体部を幼殻の中に引き込むことが出来ないタイプのベリジャー幼生奇形を観察して計数から外している事例がある。だだし、本研究でのベリジャー幼生の奇形率の平均値を親の全兄弟別に整理すると、非近親交配区の5.1 ± 2.2%に対して近親交配区のうち全兄弟Gの子集団は19.0 ± 12.0%と有意に高かったのに対し（*t*-検定：$P < 0.05$）、全兄弟Wの子集団は6.1 ± 4.1%で有意差は認められなかった。また、Pack *et al.*（2006）はエゾアワビの近親交配において幼殻と面盤の奇形が増加したことを報告している。したがって、ベリジャー幼生の奇形率については近親交配により増加する傾向が認められるものの、その程度には個体差があり、奇形のタイプも複数存在することから、モニタリングの指標として一般化するには更なる検証が必要と思われる。

エゾアワビで養殖用系統を作出して利用していくにあたり、近交弱勢には注意する必要がある一方で、その利用についても検討してみる必要がある。兄妹交配を繰り返したグッピー*Poecilia reticulata*の集団の誕生時死亡率や産仔数が一旦減少した後回復したことから、近交をかけることにより有害遺伝子を顕在化させその都度除去してゆくことにより、劣性有害遺伝子を除去できることが指摘されている（Nakajima and Fujio1993，藤尾・木島1999）。もし、エゾアワビにおいても近親交配により致死性の劣性有害形質を顕在化させ、それを排除することができれば、育種により優良な養殖品種を作出する際の手法として利用できるかもしれない。本研究では、近親交配区で採苗後の初期生残率と疾病発生時の生残率が低く致死性の近交弱勢が発現したが、全ての個体が死亡したわけではない。この際に生残した個体群では、採苗後の初期生残や疾病発生時の生残に影響を与える有害遺伝子

が死亡により淘汰されて減少している可能性がある。将来的には試験的に近交度を高めた集団の生残個体を選抜することを数世代繰り返すことで、近親交配に強い系統を作出できるかもしれない。

また、本研究の結果から青色型と白色型の殻色を発現する遺伝子は劣性であり、ほとんどの場合、自然界では優性の緑色型とのヘテロで存在していると考えられる。その際、ヘテロ個体の表現型が緑色型であることから青色型や白色型を発現する劣性遺伝子の存在を可視的に見分けることはできない。本研究で発見された殻色変異のような天然集団では見られない形質は、多くの場合、劣性形質として存在していると考えられる。青色型が兄妹交配をした家系で発見されたことからも分かるように、低頻度で存在する劣性形質は近親交配により近交度を高めることでホモ化して顕在化する確率が高まることが期待される。白色型も意図的な近親交配は行っていないものの継代した親貝を使用している種苗生産施設で顕在化しており、近交度が高まった集団で顕在化したものと推察される。エゾアワビは遺伝的な変異が多く、試験的に近交度を高めることは、劣性形質を顕在化させるのに有効であり、それは殻色などの可視的な形質のみでなく、非可視的な形質についてもいえることから、育種素材の探索手法として活用することが期待される。

本研究では2つの殻色変異体を発見し、その遺伝的支配を明らかにした。アワビ類において遺伝的支配が明らかな変異が選抜された事例は同様の変異を選抜したLiu *et al.*（2009）以外になく、本件は貴重な事例といえる。質的形質のうち殻色の様な可視的な形質は成長の様な量的形質と異なり、変異体同士を交配することによって形質の固定と継代が比較的容易に行える。ただし、本研究で発見した白色型と青色型は何れもごく少数の親集団から継代されており、殻色型の違いによる成長、生残の違いは無いものの、集団としては近親交配の影響が懸念される状態にある。しかし、これらの殻色変異体と遺伝的に類縁関係がない緑色型の集団を交雑し、そのヘテロ型の子供（緑色型）同士を交配することによって、遺伝的には多様な白色型あるいは青色型の個体群が分離して得られることになる。また、同様の手法を使えば他の優良形質と組み合わせることも可能であり、特徴のある養殖用種

苗を作成するなど新たな付加価値向上にも寄与することが期待される。

最後に本研究の結果から、エゾアワビ養殖に有用な系統の作出と利用の手法についてフロー図にまとめた（Fig. 23）。エゾアワビは成長が遅く、成長の個体差が大きいことが養殖生産をするうえでの大きな問題となっていることから、選抜育種により成長改善を図る必要がある。そこで、まず、種苗生産施設の大きな母集団から高い選択圧で2世代選抜を行うことにより実用的なレベルでの成長改善を実現した系統を作出できることが期待できる。それらの系統の成長優良形質は遺伝的に固定されていない可能性が高いので、選抜を繰り返して成長優良性を維持しながら継代しながら養殖用系統として利用していく必要があるが、その際には育種目標である出荷サイズまでの成長を確認しながら選抜を行う必要がある。

成長優良系統を選抜、継代しながら利用するにあたっては、ベリジャー幼生の奇形率、採苗後の初期生残、疾病発生時の生残、生殖巣の発達等の形質で近親交配の影響がでる可能性があるので注意が必要となる。この際に、ベリジャー幼生の奇形率をモニタリングすることで近親交配の影響を初期の段階で簡易的にとらえられることが期待される。

また、近親交配を行うことにより、殻色変異体等の劣性遺伝子で支配されている養殖用として有用な形質を顕在化することが出来る。本研究で発見した青色型と白色型の殻色変異体は食用を目的とした養殖系統の付加価値向上にも寄与するが、殻自体にも装飾品としての利用拡大が期待できる。

将来的には選抜育種により作出された成長優良系統と殻色変異体との交配により、一目で天然貝や輸入貝と区別がつき、差別化を図れるような養殖用系統が作出されることが期待される。

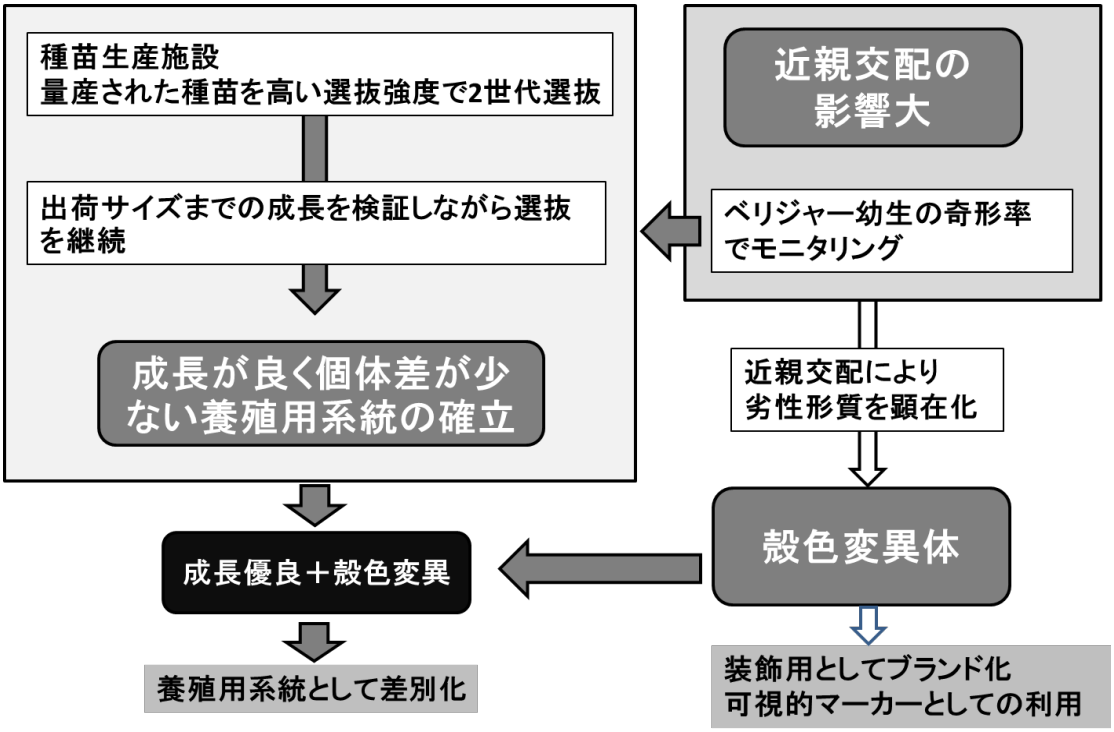

Fig. 23. Flow about a production of strains for aquaculture of *H.diacus hannai*.

謝　　辞

本論文を作成するにあたり、多くの御助言と熱心な御指導をいただいた東京海洋大学の吉崎悟朗教授、坂本　崇教授、矢澤　良輔准教授に感謝申し上げるとともに、厚く御礼申し上げます。また、長年にわたり御指導をいただきました元東北大学教授の木島明博氏の多大なご協力なくして本研究の遂行はなしえませんでした。東日本大震災での被災を乗り越えて本研究をまとめることができたのもひとえに木島先生のお陰であり、深く感謝申し上げます。

また、本研究のきっかけを作っていただいた河原郁恵氏をはじめとした岩手県水産技術センター職員の皆様、有意義なご助言をいただいた元増養殖研究所の原　素之博士をはじめとする独立行政法人水産総合研究センターの研究員の皆様、研究にご協力いただいた（一社）岩手県栽培漁協協会や岩手県内の漁業協同組合関係者の皆様にも深く感謝申し上げます。

最後に、博士号取得を陰で支えてくれた家族に感謝いたします。

文　　献

Adamkewicz, L., Castagna, M. (1988). Genetics of shell color and pattern in the bay scallop *Argopecten irradians*. *J. Hered.*, **79**, 14-17.

Beattie, J. H., Perdue, J., Hershberger, W.H., Chew, K. (1987). Effect of inbreeding on growth in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Shellfish Res.*, **6**, 25-28.

Bierne, N., Launey, S., Naciri-Graven, Y., Bonhomme, F. (1998). Early effect of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on Ostrea edulis larvae. *Genetics,* **148**, 1893-1906.

Cole, T. J., (1975). Inheritance of juvenile shell colour of the oyster drill *Urosalpinx cinerea*. *Nature*, **257**, 794-795.

Deng, Y., Liu, X., Zhang, G., Guo, X. (2005). Inbreeding depression and maternal effects on early performance of Pacific abalone. *N. Am. J. Aquacult.*, **67**, 231-236.

Evans, F., Matson, S., Brake, J., Langdon, C. (2004). The effects of inbreeding on performance traits of adult Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, **230**, 89-98.

Evans, S., Camara, M. D., Langdon, C. J. (2009). Heritability of shell pigmentation in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, **286**, 211-216.

藤尾芳久・湯沢麻美・菊地省吾・小金沢昭光（1986）天然アワビの集団構造に関する遺伝的研究. 東北区水研報, **48**, 59-65.

藤尾芳久・尾庭きよ子・湯沢麻美・高橋寛爾（1989）「アワビ類の遺伝的変異と集団構造」アイソザイムによる魚介類の集団解析. 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 459-476.

藤尾芳久・小林正裕・中嶋正道（1992）リンゴガイにおける近交弱勢. 水産育種, **17**, 31-38.

Fujio, Y, Nakajima, M., Showa, H. (1997). Selection and inbreeding depression in Maintenance of a Stock Population of the Apple Snail *Pomacea canaliculata*. *Fish. Sci.*, **63**, 368-371.

Fujio, Y. (1982). A correlation of heterozygosity with growth rate in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agric. Res.*, **33**, 66-75.

藤尾芳久・木島明博（1999）集団の育種管理 : 水族における遺伝資源の存在様式と保全, 財団法人かき研究所, 仙台, pp. 150-159.

藤原正夢（1995）トリガイ黄色個体の出現とその遺伝性について. 日水誌. **61**, 927-928.

藤原正夢（2004）トリガイの養殖について. うみうし通信. **44**, 2-3.

藤原正夢・田中雅幸・岡部三雄（2005）トリガイ近交系間交雑に見られた雑種強勢. 京都府立海洋センター研究報告. **27**, 25-30.

Gallardo, W. G., Bautista-Teruel, M. N., Fermin, A.C., Marte, C. L. (2003). Shell marking by artificial feeling of the tropical abalone *Haliotis asinine* Linne juveniles for sea ranching and stock enhancement. *Aquacult. Res.* **34**, 839-842.

原　素之・藤尾芳久（1992）　天然アワビにおけるアイソザイムからみたエゾアワビ人工種苗の遺伝的特徴. 水産育種, **18**,　53-64.

原　素之（1989）エゾアワビ人工種苗の親貝による成長の差異. 水産育種, **14**, 39-38.

原　素之（1990）エゾアワビ人工種苗の成長に及ぼす遺伝的要因. 東北水研研報, **52**, 73-77.

原　素之（1992）アワビの育種—アワビにおける選抜・交雑育種—. 水産育種, **18,** 1-12.

Hara, M., Kikuchi, S. (1992). Increasing the growth rate of abalone, *Haliotis discus hannai*, using selection techniques.　*NOAA Technical Report NMFS.* **106,** 21-26.

Hara, M., Sekino, M. (2001). Genetic and breeding science of abalone and their application to aquaculture techniques. *SUISANZOSHOKU*, **49**, 123-126.

Hara, M., Sekino, M. (2007). Parentage testing for hatchery-produced abalone *Haliotis discus hannai* based on microsatellite markers, preliminary evaluation of early growth of selected strains in mixed family farming. *Fish. Sci.*, **73**, 831-836.

原　素之（2008）アワビの遺伝・育種研究の現状, 水産育種, **38**, 31-39.

原　素之（2010）日本に輸入される養殖水産物ーアワビー,「養殖（臨時増刊号）」, 緑書房, 東京, pp. 55-59.

堀口吉重・木村昭一・上野隆二（1987）天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色, 三重大水産研報, **14**, 101-111.

堀口吉重・木村昭一・岩城健一・上野隆二（1994）天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色Ⅱ, 三重大生物資源紀要, **12**, 209-216.

Hahn K.O. (1989) CRC Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press Inc., Florida, pp, 1- 348.

猪野　峻（1952）邦産アワビ属の増殖に関する生物学的研究, 東海区水研報, **5**, 1-102.

Innes, D. J., Haley, L. E. (1977). Inheritance of a shell-color polymorphism in the mussel. *J. Hered.*, **68**, 203-204.

岸岡正伸・立石　健・酒井治己・鬼頭　鈞・井手尾　寛・松野　進（1997）帯紋型青色アサリの選抜試験とその遺伝様式の推定. 水産育種. **25**, 91-97.

河原郁恵・野呂忠勝・大森正明・支倉理・木島明博（1997）種苗生産施設で選抜されたエゾアワビの成長に対する選択効果. 水産育種, **25**, 81-90.

河原郁恵・野呂忠勝・大森正明・木島明博（1999）エゾアワビ稚貝期の成長に関する遺伝率の推定. 水産育種, **28**, 95-103.

河原郁恵・大森正明（2000）エゾアワビ外套膜の構造と殻形成について. 岩手県水産技術センター研究報告, **2**, 29-34.

Kobayashi, T., Kawahara, I., Hasekura, O., Kijima, A. (2004). Genetic control of bluish shell color variation in the pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *J. Shellfish Res.*, **23**, 1153-1156.

小林俊将・原　素之・菊地省吾・坂本　晋・木島明博（2005）エゾアワビに出現した白色型の殻色の遺伝的支配について. 水産育種, **34**, 143-147.

小林俊将・武蔵達也・遠藤敬・原素之（2007）天然漁場におけるエゾアワビの産卵量の推定. 水産増殖, **55**, 285-286.

Kincaid, H. L. (1976). Inbreeding in rainbow trout (*Salmo gairderi*). *J. Fish. Res. Board Can.*, **33,** 2420-2426.

木島明博・池田　実・藤尾芳久（1993）アイソザイムからみたエゾアワビ人工種苗の遺伝的特徴. 水産育種, **18**, 53-64.

木島明博・古殿太郎・藤尾芳久（1995）エゾアワビ天然集団における身入りの変異性と遺伝的変異性. 水産育種, **22**, 39-44.

木島明博（2005）アワビ類の育種の現状と将来. 動物育種学会誌, **32**, 101-112.

古殿太郎・木島明博・藤尾芳久（1995）エゾアワビ天然集団と人工種苗の量的形質と質的形質における遺伝的差異. 水産育種, **22**, 31-37.

Li, Q., Park, C., Kobayashi, T., Kijima, A. (2003). Inheritance of microsatellite DNA markers in the Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Mar. Biotechnol*, **5**, 331-338.

Liu, X., Wu, F., Zhao, H., Zhang, G., Guo, X. (2009). A novel shell color variant of the Pacific abalone Haliotis discus hannai Ino subject to genetic control and dietary influence. *J. Shellfish Res.*, **28**, 419-424.

Leighton, D. L. (1961). Observations of the effect of diet on shell coloration in the red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *Veliger*, **4**, 29-32.

Leighton, D., Boolootian, R. A. (1963). Diet and growth in the black abalone, *Haliotis cracherodii*. *Ecology*, **44**, 227-238.

Longwell, A. C., Stiles, S. S. (1973). Gamete cross incompatibility and inbreeding in the commercial American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Cytologia*, **38**, 521-533.

Luttikhuizen, P. C., Drent, J. (2008). Inheritance of predominantly hidden shell colours in *Macoma balthica* (L.) (Bivalvia, tellinidae). *J. Mollusc. Stud.*, **74**, 363-371.

門間春博（1980）エゾアワビの変異性に関する研究—Ｉ．日令の異なる幼貝の成長. 水産増殖, **28**, 142-146.

Markovcic, M., Haley, L. E. (1979). Inbreeding depression in the Zebra fish *Brachydanio reio* (Hamilton Buchanan). *J. Fish Biol.*, **15**, 323-327.

Manzi, J. J., Hadley, N. H, Dillon, R.T. (1991). Hard clam, *Mercenaria mercenaria*, broodstocks: growth of selected hatchery stocks and their reciprocal crosses. *Aquaculture*, **94**, 17-26.

Nakajima, M., Fujio, Y. (1993). genetic determination of the growth of the guppy. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 461-464.

Newkirk, G. F. (1980). Genetics of shell color in *Mytilus edulis* L. and the association of growth rate with shell color. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **47**, 89-94.

難波武雄（1973）ヒオウギの種苗生産に関する研究. 栽培技研, **2**, 11-17.

荻野珍吉・太田頴亮（1963）アワビの栄養に関する研究－Ⅰ. 人工餌料によるクロの飼育. 日水誌., 29, 691-694.

Olsen, D. A. (1968). Banding Patterns in Haliotis. Ⅱ. Some behavioral considerations and the effect of diet on shell coloration for *Haliotis rufescens*, *Haliotis corrugata*, *Haliotis sorenseni*, and *Haliotis assimilis*. *Veliger*, **11**, 135-139.

Park, C., Li, Q., Kobayashi, T., Kijima, A. (2003). Characterization of novel microsatellite DNA markers in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Fish Gen. Breed. Sci.*, **33**, 19-24.

Park, C., Li, Q., Kobayashi, T., Kijima, A. (2006). Inbreeding depression traits in Pacific abalone *Haliotis discus hannai* by factorial mating experiments. *Fish. Sci.*, **72**, 774-780.

Palmer, A. R. (1984). Species cohesiveness and genetic control of shell color and form in *Thais emarginata* (Prosobranchia, Muricacea): preliminary results. *Malacologica*, **25**, 477-491.

Palmer, A.R. (1985). Genetic basis of shell variation in *Thais emarginata* (Prosobranchia, Muricacea). I. Banding in populations from Vancouver Island. *Biol. Bull.*, **169**, 638-651.

渋井正（1971）米国産アワビの移植と発生および成長について．日水誌., **37**, 97-99.

酒井誠一（1962）エゾアワビの生物学的研究—Ｉ．食性に関する実験的研究．日水誌, **28**, 766-779.

Sekino, M., Saido, T., Fujita, T., Kobayashi, T., Takami, T. (2005). Microsatellite DNA markers of Ezo abalone (*Haliotis discus hannai*)：a preliminary assessment of natural populations sampled from heavily stocked areas. *Aquaculture* **243**, 33-47.

Sekino, M., Kobayashi, T., Hara, M. (2006). Segregation and linkage analysis of 75 novel Microsatellite DNA markers in pair crosses of Japanese abalone (*Haliotis discus hannai*) using the 5'-tailed primer method. *Mar. Biotechnol.*, **8**, 453-466.

Sekino, M., Hara, M. (2007). Linkage maps for the Pacific abalone (Genus *Haliotis*) based on microsatellite DNA markers. *Genetics*, **175**, 945-958.

Su G. S., Lilijedahl, L. E., Gall, G. A. E. (1996). Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **142**, 139-148.

杉田大輔・松浦　良・須田善治・菊地亮輔・鈴木金一（2009a）選抜育種によるエゾアワビ成長優良系統の作出. 宮城水産研報, **9**, 33-39.

杉田大輔・伊藤　博（2009b）選抜育種によるエゾアワビ成長優良系統の作出. 平成20年度宮城県水産試験研究成果要旨集, 宮城県水産技術総合センター, 74-75.

田島迪生・池森雅彦・新崎盛敏（1980a）アワビに含まれる餌料藻起源の色素—Ⅰ. 緑藻類を餌料としたアワビ貝殻に含まれる色素の分析. 日水誌., **46**, 445-550.

田島迪生・池森雅彦・新崎盛敏（1980b）アワビに含まれる餌料藻起源の色素—Ⅱ. アワビの各器官に含まれる色素の特性. 日本水産学会誌, **46**, 517-522.

浮　永久・大森正明・河原郁恵・石田享一・柳澤豊重（1995）アワビ類の種苗生産技術. 栽培漁業技術シリーズNo.2. (社)日本栽培漁業協会, 東京, pp.1-175.

和田克彦・古丸　明（1990）アコヤガイ白色個体の遺伝とその貝殻特性.日水誌., **56**, 1787-1790.

Wada, T.K., Komaru, A. (1994). Effect of selection for shell coloration on growth rate and mortality in Japanese peal oyster *Pincada fucata martensii*. *Aquaculture*, **125**, 59-65.

Wenresti, G.G., Bautista-Teruel, M. N., Fermin, A. C., Marte, C. L. (2003). Shell marking by artificial feeding of the tropical abalone *Haliotis asinine* Linne juveniles for sea ranching and stock enhancement. *Aquacult. Res.*, **34**, 839-842.

Winemiller, K. O., Taylor, D. H. (1982). Inbreeding depression in the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Baird and Girard). *J. Fish Biol.* **21**, 399-402.

Winkler, F.M., Estevez, B.F., Jollan, L.B., Garrido, J.P. (2001). Inheritance of the general shell color in the scallop *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae). *J. Hered.*, **92**, 521-525.

山川　紘・池田吉用（2014）日本と海外におけるアワビ養殖産業. 月間養殖ビジネス, 緑書房, 東京, **8**, pp. 3-8.