

原著論文

# 陸上養成期間の給餌量がタイラギの成熟、 栄養状態、産卵、幼生サイズに及ぼす影響

小島大輔<sup>\*1,\*4</sup>・前田 雪<sup>\*1</sup>・井上俊介<sup>\*1</sup>・兼松正衛<sup>\*1,\*5</sup>・伊藤 篤<sup>\*1</sup>・  
山崎英樹<sup>\*1,\*6</sup>・淡路雅彦<sup>\*2</sup>・橋本和正<sup>\*3</sup>・西本篤史<sup>\*1,\*7</sup>

The effects of different feed rations on maturation, nutritional status, spawning and  
larval size of the pen shell *Atrina pectinata* for broodstock conditioning  
in land-based tanks

Daisuke OJIMA, Yuki Hirano-MAEDA, Shunsuke B. INOUE, Masaei KANEMATSU, Atsushi ITO,  
Hideki YAMAZAKI, Masahiko AWAJI, Kazumasa HASHIMOTO and Atsushi NISHIMOTO

We aimed to determine the optimal feed ration for broodstock conditioning of the pen shell *Atrina pectinata* in a land-based tank during the spawning season. To this end, we compared gonadal development, nutritional status, spawning situation and hatched larval size among three different feeding groups reared for a month (50, 100 and 200 million cells of *Chaetoceros neogracile*/g soft body weight/day). Female viscera index (maturity indicator) in the 100- and 200-million-cell groups were significantly higher than the initial group. Histological gonadal development in females were classified as ripe, partial spent and early regression stages and the frequency of partial spent stage in the 200-million-cell group was the highest among the groups. The number of spawned eggs/total body weight was the highest in the 200-million group, which spawned approximately 11 times more eggs than that in the 50- and 100-million-cell groups. Shell length of D-shaped larvae on the first day after fertilization in the 100- and 200-million-cell groups were significantly greater than that in the 50-million group. The adductor muscle index and adductor glycogen content did not differ significantly among the groups. These results suggest that 200-million-cell group is a suitable feed ration for the broodstock conditioning of the pen shell in the land-based tank.

キーワード：タイラギ, 給餌量, 採卵, 親貝養成  
2021年4月27日受付 2022年2月3日受理

\*1 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所百島庁舎  
〒722-0061 広島県尾道市百島町 1760

\*2 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所南勢庁舎

\*3 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所長崎庁舎

\*4 現所属 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所宮古庁舎

\*5 現所属 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所八重山庁舎

\*6 現所属 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所五島庁舎

\*7 現所属 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所横浜庁舎

Momoshima Field Station, Fisheries Technology Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency (FRA), Onomichi, Hiroshima 722-0061, Japan

Email: ojima\_daisuke54@fra.go.jp

タイラギ *Atrina pectinata* は東アジアの砂泥底に生息し、殻長 30cm 以上に達するハボウキガイ科の二枚貝類である (奥谷 1997)。成熟は 11～4 月 (水温 15°C 以下) に始まり、産卵期は 6～9 月 (水温 20～25°C) である (Qiu *et al.* 2014)。日本、韓国、中国では古くから食用とされてきたが、近年 3 か国とも漁獲量の減少が問題になっており (兼松 2016, Lee *et al.* 2015, Wang *et al.* 2017)、特に日本では 2012 年から準絶滅危惧種に指定されている (環境省レッドデータブック・レッドリスト 2012-2020)。日本では種苗生産の技術開発が 1960 年代から行われ (穂山・前川 1963, 濱本・大林 1984)、1995 年に田崎真珠 (株) が数十個体の着底稚貝を生産して以降 (明楽 1998)、佐賀県、長崎県、(国研) 水産研究・教育機構 (水産機構)、(株) 二枚貝養殖研究所で成功し (川原ら 2004, 大橋ら 2008, 兼松 2016)、10 万から 100 万個体規模の稚貝生産が可能になりつつある。しかし、毎年安定して大量生産できている機関は水産機構のみであり、実用化には解決すべき課題が未だ残されている。

タイラギは、マガキ *Crassostrea gigas* (Song *et al.* 2009) やアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* (Ohta *et al.* 2010) とは異なり、生殖巣を切開して得た卵と精子を混合しただけでは受精しないため、水温変化等の刺激を与えて放卵放精を誘発する必要がある (濱本・大林 1984)。この方法 (産卵誘発法) による採卵の成功率は 5～68% と安定しないことから (濱本・大林 1984, 伊東ら 1986, 松田・藤井 2000)、種苗生産の現場では産卵誘発法を何度も繰り返すことで必要な卵数を得ている。このような背景の下、筆者らは 2018 年にレチノイン酸によるタイラギの人工受精技術を開発した (Awaji *et al.* 2018)。高確率で安定的に採卵できる画期的な技術であるが、産卵誘発法と比べて作業工程が多く、一雌あたりの採卵数が少ないという難点がある。したがって、現状では産卵誘発法による採卵が主流であり、その成功率を高めるためには、産卵誘発刺激に反応する状態のタイラギの確保とその状態の維持が重要になる。

未成熟のタイラギを水槽内で成熟させた報告は見当たらない。アサリ *Ruditapes philippinarum* の場合、藻類餌料の給餌と飼育水温の調節により、2 か月程度で未成熟から産卵するまで成熟が進むが (鳥羽・深山 1991)、タイラギでも同様に成熟するかどうかは不明である。それが可能だとしても、大型種であるタイラギを長期間飼育するには、大量の藻類餌料が必要になることから餌料経費の問題が生じる。したがって、タイラギの親貝養成は、餌料プランクトンが豊富な海域に垂下することが一般的である。しかし、この方法では養成海域の一時的な環境変化が刺激となり海中で一斉に産卵する危険がある。これを防ぐために、明楽 (1998) はタイラギに不要な刺激を与えないように、採卵予定日の約 1 か月前から陸上水槽で養成する方法を報告している。この方法であれば、1 か月程度の給餌飼育で済むため餌料経費を抑えることができ、さらに飼育水温を下げることで一斉産卵の発生も抑制できる。しかし、タイラギを陸上養成する際の

給餌量について調べた研究は過去に無く、適正な給餌量は不明である。アサリ (鳥羽 1989)、ホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* (小坂ら 1994)、シジミ *Corbicula japonica* (佐々木 2011) では、陸上養成期間の給餌量が成熟や採卵成績に影響を及ぼすことが報告されており、タイラギについても同様の影響が想定される。

そこで本研究では、陸上養成期間のタイラギへの適正な給餌量を明らかにするため、異なる給餌量で陸上養成した給餌 3 区と海中垂下し続けた区 (垂下区) を設定し、タイラギの成熟と栄養状態、産卵状況、幼生サイズを比較した (試験 1)。続いて、最も成績が高かった給餌区の条件を基に、実際の種苗生産で用いられている方法で親貝養成および採卵を行い、産卵の再現性を確認した (試験 2)。

## 材料と方法

### 試験 1

**供試個体の由来と海中垂下** 2015 年 2～4 月に香川県高松市沖で漁獲されたタイラギを高松市東部漁協から購入した。タイラギは個別別にポリエチレンメッシュ (MS80 目、(株) 田中三次郎商店) で作った袋に包み、タイラギ用の垂下網 (段ネット、(株) 西海養殖技研) に 15 個体前後収容し、香川県屋島湾内の沖筏から垂下した。沖筏下の水深は約 5m で垂下網は水深約 3m に垂下した。その後 2015 年 6 月から 7 月まで約 1 か月間陸上で養成する区 (給餌区) と 7 月まで海中垂下を継続する区 (垂下区) を設定した。屋島湾の水温は、香川県水産試験場の観測ブイ水深 1.5m 地点における午前 9 時の水温 (香川県水産試験場 2012-2021) を利用した。

**輸送と雌雄・遺伝子型の判別** 給餌区は、2015 年 6 月 11 日に屋島湾内の沖筏から 164 個体 (260±126g, 平均全重量±SD) を陸揚げし、広島県尾道市にある水産機構百島庁舎まで酸素を添加しながら輸送した。到着後は、自然水温の砂濾過海水 (換水率 1 回転/日、後述) で無給餌飼育した。翌日、タイラギを 7°C 前後の冷蔵庫内に置き、30 分以上空冷することで貝殻を開かせ、開いた貝殻を開口器で固定して生殖巣の色を目視観察した。生殖巣が朱色の個体を雌、乳白色の個体を雄と判別した。後述する遺伝子型判別のために、綿棒で外套膜表面を擦って粘液試料を採取し、その綿棒を -20°C で凍結保存した。粘液試料からの DNA 抽出は、QIAGEN 社の DNeasy Blood & Tissue Kit を用いた。個体識別用にエンボステープ (DM0603, DYMO 社) を瞬間接着剤で貝殻表面に張り付け、6 月 23 日の給餌開始まで百島庁舎の海水池 (13×8×水深 2m) に垂下した。この海水池は水路を介して海と繋がっており、潮の干満によって餌料プランクトンを含む海水の出入りがある。上述の砂濾過海水はこの海水を砂濾過したものである。海水池の午前 9 時から 10 時の水温を百島庁舎の水温とした。

垂下区は、7月14日に38個体(443±283g)を陸揚げして雌雄判別および粘液採取後に沖筏に戻し、7月23日に再び陸揚げして給餌区と同様の方法で百島庁舎まで輸送した。到着後は、21°Cに冷却した砂濾過海水(換水率1回転/日)で7月27日の採卵日まで無給餌で飼育した。

日本国内のタイラギは貝殻表面の棘の有無から有鱗型と無鱗型に区別され、両型は遺伝的に著しく分化していることから別種の可能性が指摘されている(横川1996)。ただし、香川県高松市沖では有鱗型が多いものの無鱗型も漁獲され、さらに中間型の特徴を有する個体も存在するため、外部形態から両型を判別することは難しい。ミトコンドリアDNAシトクロームオキシダーゼサブユニットI(mtDNA COI)領域の多型分析によると、タイラギは6つの型(Lineage(L)1~6)に分けられる(Liu *et al.* 2011)。日本に分布する有鱗型の多くはL2型に判別されることから(Hashimoto *et al.* 2018)、本研究ではL2型と判別された個体のみを試験に用いた。遺伝子型の判別は、Hashimoto *et al.*(2018)の方法に準じ、mtDNA COI領域の多型をLAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification)法で分析した。

**陸上養成** 陸上養成は2015年6月23日から開始し、雌雄各10個体を1000Lアルテミア水槽3基にそれぞれ収容し、自然水温の砂濾過海水(換水率1回転/日)で採卵日まで飼育した。餌料は二枚貝類用の藻類餌料として一般的な*Chaetoceros neogracile*を与えた。各給餌区への給餌量は、アサリの陸上養成の給餌量(鳥羽・深山1991, 1993)を参考に、*C. neogracile*を軟体部重量gあたり0.5億細胞、1億細胞、2億細胞/日とした。培養した*C. neogracile*(21~72万細胞/mL、平均50万細胞/mL)に市販の濃縮藻類餌料(グラクン、(株)二枚貝養殖研究所)を加えて細胞密度を75万細胞/mLに調整し、定量ポンプ(EHN-C21VC1R、(株)イワキ)で連続的に送水した。各給餌区への1日の送水量は148~629Lであった。各給餌区のタイラギの軟体部重量は、全重量に0.446を乗じて求めた。この0.446は、給餌開始日(6月23日)に解剖した10個体の全重量に対する軟体部重量の比の平均値である。糞や残餌は水槽底面から毎日約100Lを排水して除去した。

**成熟評価** 給餌開始日(6月23日)に10個体、開始から約1か月後の給餌3区(7月24日)から各8~9個体、垂下区(7月30日)から4個体を用いて、成熟および栄養状態を評価した。垂下区については、L2型の雄が少なかったことから雌のみを用いた。

タイラギの生殖巣は消化器官と入り組んで発達し独立して切り出せないため、塚本ら(2005)は成熟指標として内臓指数、すなわち殻長に対する内臓(生殖巣、消化盲囊、胃腸を含む塊)の重量比(g内臓湿重量/cm殻長<sup>3</sup>×10<sup>4</sup>)を用いている。しかし、本研究の供試個体には、殻の後縁が割れて殻長が短くなった個体が含まれていたため、殻長が計算式に入った指標は適さないと考えた。そこで古丸・

和田(1988)のイタヤガイ科の生殖巣指数の計算式(g生殖巣湿重量/g軟体部湿重量)の生殖巣湿重量を内臓湿重量に置き換えた式(g内臓湿重量/g軟体部湿重量×10<sup>2</sup>)を、本研究におけるタイラギの内臓指数とした。

生殖巣の発達段階を組織学的に観察するため、生殖巣の一部を採取して10倍量のデビッドソン液(エタノール:ホルマリン:氷酢酸:蒸留水=33:22:11.5:33.5)に浸して4°Cで一晩振盪し、その後70%エタノールに置換して4°Cで保存した。この固定標本をパラフィン包埋して厚さ5μmの組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色した。

試験1では、産卵可能な状態まで発達したものの放卵することなく退行過程に移行したと思われる組織像が観察された。この現象は陸上養成したアサリや垂下養殖のホタテガイで報告があり、放卵を促す刺激が少ない環境で起こるとされる(鳥羽・深山1991, 森・長内1977)。この状態の生殖巣の発達段階を鳥羽・深山(1991)は退行初期と定義した。そこで本研究では、タイラギ生殖巣を7段階に分類した塚本ら(2005)の方法を基本に、鳥羽・深山(1991)の退行初期を加えた8段階に分類した(未発達期、発達初期、成長期、成熟期、放出期、放出後期、退行初期、退行期)。全ての個体において1個体に複数の発達段階が確認されたため、1個体を1つの発達段階に評価するのではなく、出現した複数の発達段階を量的に評価した。各個体の組織切片を倍率100倍で無作為に10か所撮影し、各写真を上下左右に4分割し、1個体あたり合計40区画の発達段階を記録した。雌雄それぞれについて、各個体の発達段階の区画数を試験区別に合計して、各試験区の発達段階の出現割合を求めた。

**栄養評価** タイラギの主な栄養貯蔵組織は後閉殻筋であり、貯蔵形態は主にグリコーゲンであることから(塚本ら2005, Lee *et al.* 2015)、後閉殻筋の大きさその後閉殻筋中のグリコーゲン量から栄養状態を評価した。後閉殻筋の大きさについては、長澤ら(2016)のホタテガイの閉殻筋指数(g後閉殻筋湿重量/g生殖巣を除いた軟体部湿重量×10<sup>2</sup>)の生殖巣を内臓に置き換えた式(g後閉殻筋湿重量/g内臓を除いた軟体部湿重量×10<sup>2</sup>)をタイラギの後閉殻筋指数とした。グリコーゲンの分析試料は、後閉殻筋の中心付近を約5mm角に切り出して-80°Cで凍結保存し、市販の分析キット(K646-100, BioVision社)で試料中のグリコーゲン量を測定した。

**採卵と孵化管理** 採卵は7月27日と29日の2回行い、産卵誘発処理は以下の方法で行った。採卵前日、タイラギを21°Cの砂濾過海水(換水率1回転/日)で無給餌飼育した。採卵当日、タイラギを気温25~27°Cの空气中に1時間干出し、試験区別に10万細胞/mLに希釈した*Isochrysis sp.*(タヒチ株)200Lに浸漬した(自然水温25~27°C)。2.5時間後、各試験区の水槽に精巢懸濁液を500mLずつ加えた。この精巢懸濁液は、顕微鏡下で精子の運動が確認さ

れた12個体分の精巢（約150g）を海水2Lに懸濁して17 $\mu$ m目合いのポリエステル（PET）メッシュ（PET17、（株）田中三次郎商店）で濾して作製した。水槽内の海水が放卵により橙色を呈してきたら、タイラギによる卵の吸い込みを防ぐために、全てのタイラギを新しい海水200Lに移して、精巢懸濁液を含む前水槽の海水10Lを加えた。この作業を放卵状況に応じて1回あるいは2回行った。放卵放精の目視観察は、全個体の放卵放精が止まるまでに行い、採卵1回目は誘発刺激開始から7時間半後、2回目は5時間半後に終えた。

卵を含む海水は105 $\mu$ m目合いのPETメッシュ（PET105、（株）田中三次郎商店）を通して大型の夾雑物を除いてから、17 $\mu$ mのPETメッシュで卵を回収した。洗卵した後に海水10Lに再懸濁させて、1mL中の卵数を3回計数することで採卵数を推定した。全重量あたりの採卵数は、各試験区の採卵数を放卵が確認された個体の全重量の合計で除して算出した。2回目の採卵では全試験区で放卵放精が確認されたため、各試験区の洗卵後の卵懸濁海水10Lから100mLを採取して、100L水槽4基にそれぞれ収容した。各水槽の底面積あたりの収容卵数は900個/cm<sup>2</sup>以下で、上妻（1994）によるアサリの正常孵化の目安である4500個/cm<sup>2</sup>の2割以下であった。孵化水槽は水温25～27 $^{\circ}$ C、微通気で翌日まで維持した。翌日午後（受精から30～32時間後）には、殆どの個体がD型幼生に変態したため、D型幼生の殻長を測定した（n=40）。産卵誘発、洗卵、孵化管理に使用した海水は、砂濾過海水を0.2 $\mu$ m中空糸膜で濾過したものをを用いた。

**統計処理** 内臓指数、後閉殻筋指数、後閉殻筋グリコーゲン量、D型幼生の殻長は、Tukey-Kramer法により試験区間の多重比較検定を行った。放卵放精率は、Fisherの正確検定により各試験区の頻度分布を比較した。全重量および上記項目の数値は平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。統計解析ソフトウェアは、EZR version 1.52（Kanda 2013）を用いた。

## 試験2

**供試個体の由来と親貝養成** 2億給餌区の給餌条件を基に、百島庁舎の種苗生産で用いられている方法で親貝養成と採卵を行った。試験1との主な違いは、海中に1年以上垂下した、陸上養成を約1か月早い5月に開始した、市販餌料による濃度調整を行わずに自家培養餌料のみを給餌した、干出処理を除いた産卵誘発刺激を与えた、産卵誘発水槽を25 $^{\circ}$ Cに加温した、ことである。

2015年4月、試験1で購入したタイラギの一部を屋島湾内の地先筏に試験1と同じ方法で垂下した。地先筏下の水深は約3mで垂下網は約2mに垂下した。2016年5月26日に41個体（338 $\pm$ 66g）を陸揚げして百島庁舎に輸送して、1,000Lアルテミア水槽2基に20個体ずつ収容して砂濾過海水かけ流し（1回転/日）で飼育した。

陸上養成は、5月27日から6月23日まで行った。5月31日に試験1と同じ方法で雌雄判別と遺伝子型判別のための粘液試料採取を行い、L1型と判定された個体を除いた。給餌は、培養した*C. neogracile*（25～127万細胞/mL、平均79万細胞/mL）を定量ポンプで毎日約450L送水した。軟体部重量あたりの給餌量は、平均1.4億細胞/日（0.5～2.5億細胞/日）であった。海中垂下期間の水温は、試験1と同様に香川県水産試験場から取得した。陸上養成期間の百島庁舎の海水温は、温度データロガー（TR-52S、T&D社）で計測した。

**産卵誘発と採卵** 採卵は2016年6月23日に行い、前日は水温20 $^{\circ}$ Cの砂濾過海水（換水率1回/日）で無給餌飼育した。採卵当日、干出を行わずに10万細胞/mLに調整した*Isochrysis sp.*（タヒチ株）500L（水温23.1 $^{\circ}$ C）に浸漬して25 $^{\circ}$ Cまで加温した。浸漬1時間以内に放卵放精が確認されたため、精巢懸濁海水は添加しなかった。放卵により海水が橙色を呈してきたら、タイラギを新しい海水500Lに移し、この作業を2回行った。放卵放精の目視観察は、刺激開始から約7時間後に終えた。採卵数の計数は、試験1と同様に行った。

## 結果

### 試験1

**水温・雌雄比・遺伝子型・生残率** 2015年2～7月の屋島湾の水温は7.4～24.3 $^{\circ}$ Cで、陸上養成期間である6～7月の百島庁舎の水温は20.8～27.8 $^{\circ}$ Cであった（図1）。百島庁舎の水温は屋島湾の水温よりも常に高く、その差は平均2.3 $^{\circ}$ Cであった。給餌区の雌雄比は、雌が43.9%で雄が50.6%で不明が5.5%であった（n=164）。垂下区の雌雄比は、雌が57.9%で雄が39.5%で不明が2.6%であった（n=38）。給餌区の遺伝子型は、L2型が82.9%でL1型が14.6%で不明が2.4%であった（n=164）。垂下区の遺伝子型は、L2型が31.6%でL1型が65.8%で不明が2.6%であった（n=38）。陸揚げから給餌開始までの12日間の生残率は98.2%で、給餌開始から採卵までの約1か月の間の

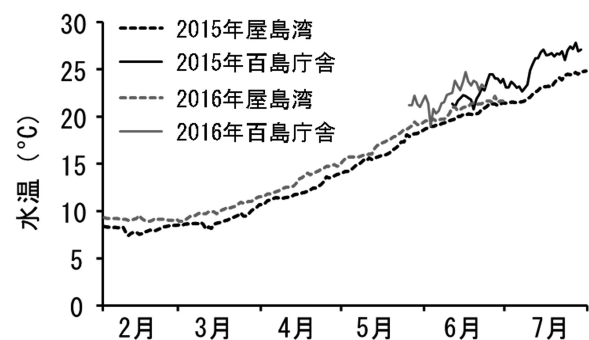


図1. 屋島湾と百島庁舎の水温

生残率は、0.5億と1億給餌区が各90.0%，2億給餌区が85.0%，その期間の垂下区の生残率は94.7%であった。

**成熟と栄養状態** 雌の内臓指数は、給餌開始時よりも1億給餌区、2億給餌区、垂下区で有意に増加したが ( $P < 0.05$ ，図2)，給餌区間に有意差は認められなかった ( $P \geq 0.46$ )。垂下区は0.5億給餌区と2億給餌区よりも有意に高かった ( $P < 0.05$ )。雄では試験区間に有意差は認められず ( $P \geq 0.17$ )，同一試験区の雌雄間に有意差は認められなかった ( $P \geq 0.74$ )。生殖巣組織の発達段階は、雌では成熟期，放出期，退行初期が観察され，雄では成熟期と放出期が観察された (図3)。各試験区の発達段階の出現割合は，雌の2億給餌区を除いて成熟期が最も高く，その割合は50.0～71.0%であった (図4)。放出期の出現割合が最も高かった試験区は，雌雄ともに2億給餌区で雌が59.0%で雄が47.5%であった。後閉殻筋指数と後閉殻筋グリコーゲン量は，雌雄ともに試験区間に有意差は認められなかった ( $P \geq 0.40$ ，図5，6)。

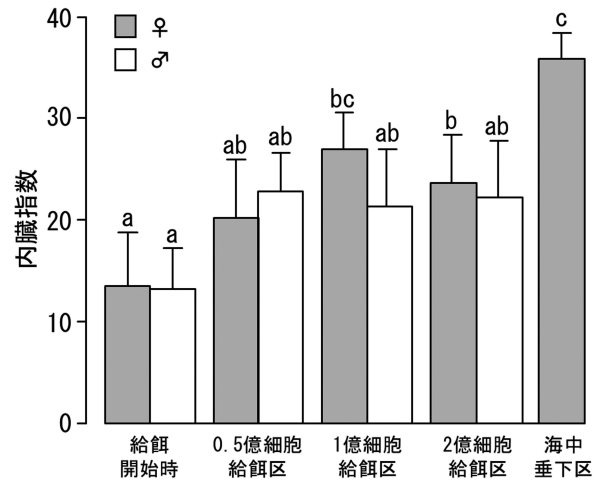


図2. 各試験区のタイラギの内臓指数  
棒グラフは平均値±標準偏差を示す ( $n=3 \sim 5$ )。  
異なるアルファベットは試験群間の統計的有意差を示す ( $P < 0.05$ , Tukey-Kramer法)

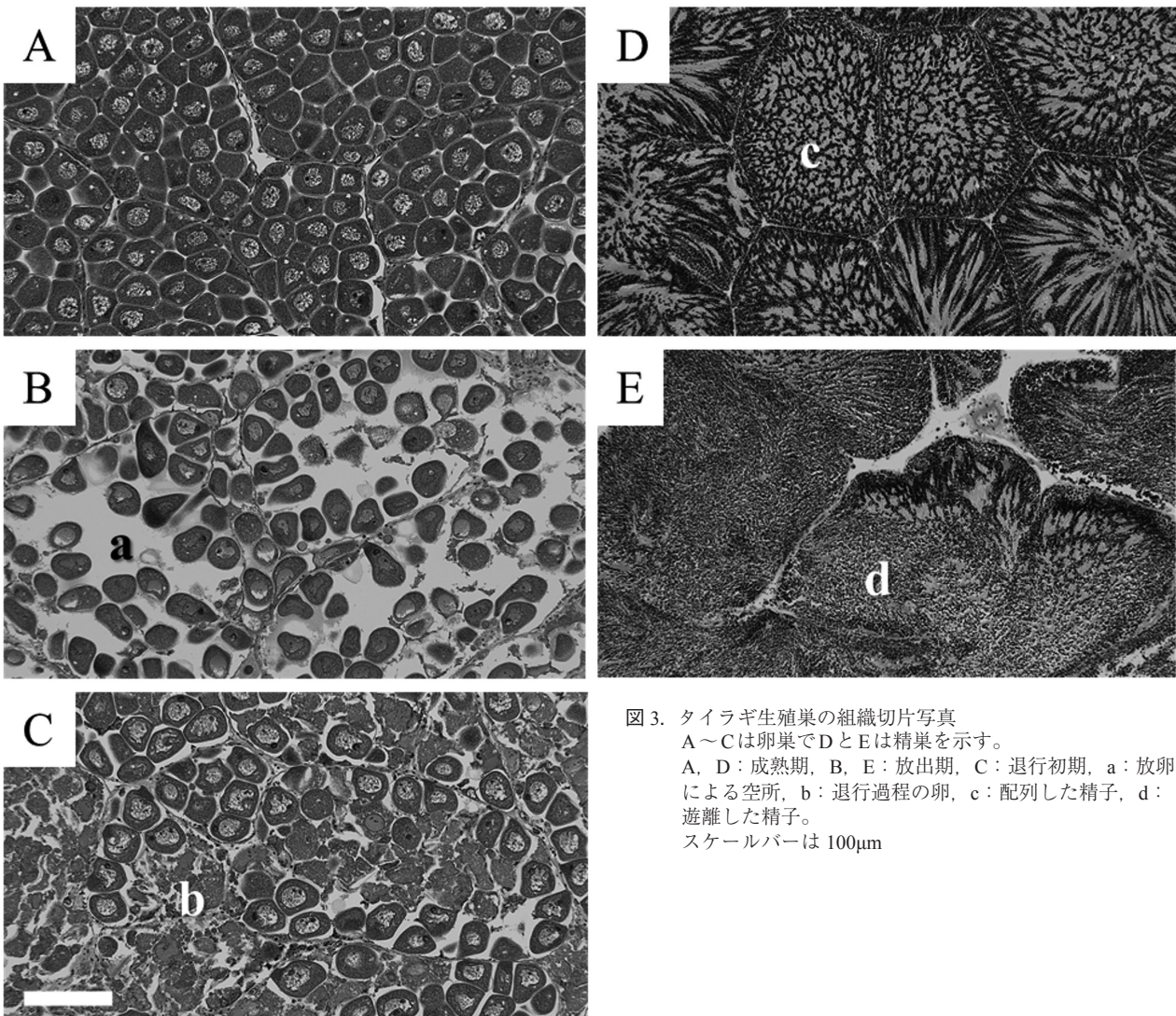


図3. タイラギ生殖巣の組織切片写真  
A～Cは卵巢でDとEは精巣を示す。  
A, D: 成熟期, B, E: 放出期, C: 退行初期, a: 放卵による空所, b: 退行過程の卵, c: 配列した精子, d: 遊離した精子。  
スケールバーは100 $\mu$ m

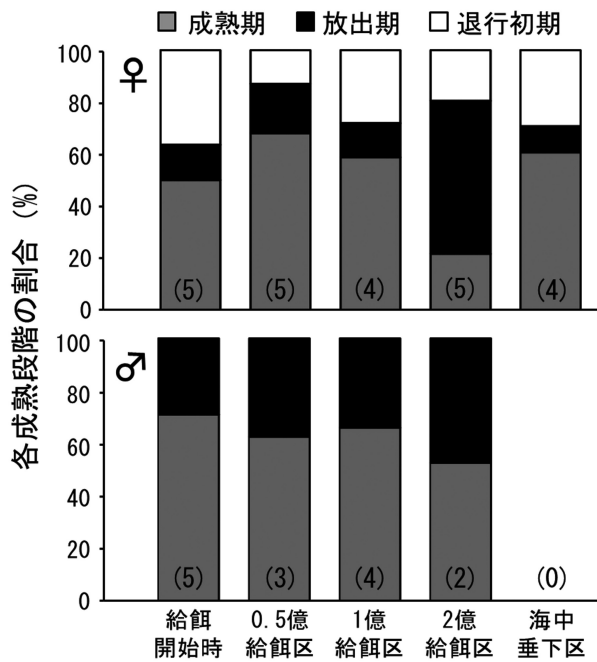


図4. タイラギ生殖巣の各発達段階の割合  
括弧内の数字は個体数を示す

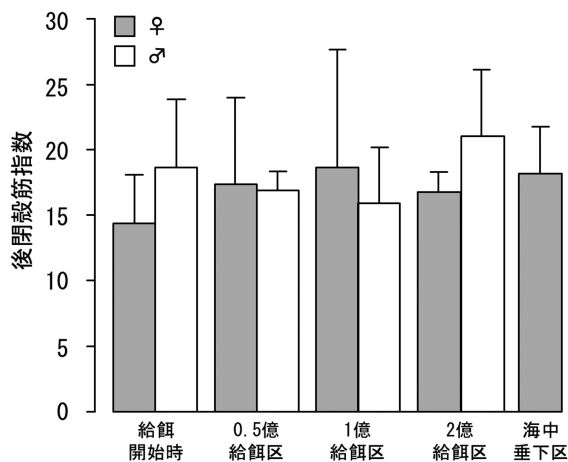


図5. 各試験区のタイラギの後閉殻筋指数  
棒グラフは平均値±標準偏差を示す (n=3~5)。  
試験群間に統計的有意差は認められなかった (P≥0.05, Tukey-Kramer法)

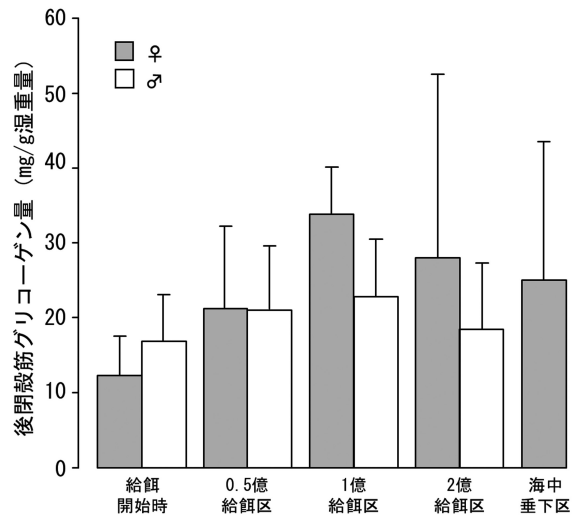


図6. 各試験区のタイラギの後閉殻筋グリコーゲン量  
棒グラフは平均値±標準偏差を示す (n=3~5)。  
試験群間に統計的有意差は認められなかった (P≥0.05, Tukey-Kramer法)

**産卵誘発反応率・採卵数・幼生の殻長** 1回目の産卵誘発では、刺激開始から約2時間後に垂下区の雄1個体が放精し、約5時間半後に1億給餌区の雌2個体が放卵した。放卵と放精の両方が確認された試験区はなかった。2回目の産卵誘発では、約1時間半後に全試験区の雄と1億給餌区、2億給餌区、垂下区の雌が反応した。0.5億給餌区の雌は約3時間半後に放卵した。

2回の産卵誘発における各試験区の雌雄別の反応率は50~80%で、各群間に有意差は認められなかった (P=0.99, 表1)。反応雌の全重量gあたりの採卵数は、0.5億給餌区と1億給餌区が約4万個で、垂下区はそれらの約3倍の12.8万個、2億給餌区は約11倍の45.3万個であった。D型幼生の平均殻長は2億給餌区が最も大きく、2億給餌区と1億給餌区は0.5億給餌区よりも有意に大きかった (P<0.05)。

## 試験2

**水温・雌雄比・遺伝子型・生残率** 2016年2~6月の屋島湾の水温は8.8~18.6°Cで、陸上養成期間である5~6月の百島庁舎の水温は19.0~24.7°Cであった (図1)。試験1と同じく、百島庁舎の水温は屋島湾よりも概ね高く、その差は平均2.0°Cであった。両水温ともに2015年の同時期よりも高く、その差は屋島湾で平均1.5°C、百島庁舎で平均1.0°Cであった。雌雄比は、雌が60.0%で雄が22.5%で不明が17.5%であった (n=41)。垂下区の遺伝子型は、L2型が90.2%でL1型が7.3%で不明が2.4%であった (n=41)。給餌開始から採卵まで約1か月間の生残率は62.5%であった。

表 1. 各試験区の産卵誘発に対する反応, 採卵数, 孵化幼生の殻長

試験	試験区	性	供試 個体数	全重量(g)	反応個体数			反応率 (%)	産卵雌の 合計採卵数	産卵雌の全重量 あたり採卵数	D型幼生 殻長( $\mu\text{m}$ )* <sup>3</sup>	
					1回次	2回次	合計					
1	0.5億 給餌	♀	5	286±134	0	3	3	60.0	26×10 <sup>6</sup>	39,572	96.6±3.8 <sup>a</sup>	
		♂	5	338±130	0	3	3	60.0				
	1億 給餌	♀	5	289±150	2	2	3* <sup>1</sup>	60.0	37×10 <sup>6</sup> (13×10 <sup>6</sup> )* <sup>2</sup>	38,503	98.8±3.4 <sup>b</sup>	
		♂	5	340±140	0	4	4	80.0				
	2億 給餌	♀	4	270±176	0	2	2	50.0	180×10 <sup>6</sup>	453,266	99.7±3.4 <sup>b</sup>	
		♂	5	321±47	0	3	3	60.0				
	海中 垂下区	♀	5	254±21	0	4	4	80.0	132×10 <sup>6</sup>	128,064	97.9±2.7 <sup>ab</sup>	
		♂	2	185±1	1	1	1* <sup>1</sup>	50.0				
	2	平均1.4 億給餌	♀	12	340±89	3	-	-	25.0	94×10 <sup>6</sup>	92,247	-
			♂	8	331±51	3	-	-	37.5			

\*<sup>1</sup>同一個体が2回とも反応した。\*<sup>2</sup>括弧内の数字は1回次の採卵数を示す。\*<sup>3</sup>異なるアルファベットは試験区の統計的有意差を示す ( $P<0.05$ , Tukey-kramer法)

**産卵誘発反応率・採卵数** 刺激開始から約1時間半後に雌1個体と雄2個体が反応した。5時間後に雌雄各1個体、6時間後に雌1個体が反応した。反応率は雌が20.5%で雄が37.5%であった(表1)。反応雌の合計採卵数と全重量あたり採卵数は、9400万個と9.2万個/gであった。

## 考 察

試験1では、陸上養成期間のタイラギへの給餌量を明らかにするため、給餌3区と垂下区の成熟、栄養状態、採卵成績を比較した。試験区間の栄養指標に差は認められなかったが、成熟と採卵成績に差が認められた。成熟指標については1億と2億給餌区、垂下区の内臓指数が、給餌開始時と比べて有意に上昇した。生殖巣の発達段階は、雌雄ともに2億給餌区において放出期の出現割合が最も高く、特に雌で顕著であった。採卵成績については全重量あたりの採卵数が2億給餌区で最も多く、0.5億や1億給餌区の約11倍と突出して多かった。受精翌日のD型幼生の平均殻長は、2億給餌区が最大で、2億と1億給餌区は0.5億給餌区よりも有意に大きかった。このように給餌量が多いほど成熟および採卵成績が高い傾向であった。アサリやホタテガイの数か月間の陸上養成では、給餌量が多いほど成熟が促進され、放卵放精率が上昇した(鳥羽1989, 小坂ら1994)。ヤマトシジミを給餌あるいは無給餌で2週間陸上養成した報告では、給餌区は生殖巣指数の減少が少なく、産卵数が増え、浮遊幼生の生残率が高かった(佐々木2011)。これらの二枚貝類の報告と同様に、タイラギの約1か月間の陸上養成においても、給餌量が成熟および採卵成績に影響を及ぼすことが示唆された。

試験2では、試験1の結果を基に陸上養成期間の給餌量の目標値を2億細胞/g軟体部重量/日として、実際の種

苗生産と同じ方法で親貝養成および採卵を行い、産卵の再現性を調べた。百鳥庁舎の陸上養成では高価な市販餌料を用いずに自家培養した餌料のみを給餌するため、日々の給餌量は培養状況によって0.5億細胞から2.5億細胞の間で変動し、平均給餌量は1.4億細胞であった。全重量あたりの採卵数は約9万個で、1億給餌区(約4万個)の約2倍であった。2億給餌区の約45万個との差は大きい。約1か月早い時期における1回の産卵誘発結果であることを考慮すれば、概ね試験1の結果に沿うものと言える。アサリでは貝殻容積あたりの産卵数が多いほど、受精率、孵化率、幼生正常率、幼生生残率が高い傾向を示す(鳥羽・深山1995)。本研究でも全重量あたりの採卵数が最も多い2億給餌区のD型幼生の平均殻長が最大であったことから、タイラギにおいても採卵数が多いほど卵や幼生の質が高い可能性がある。以上のことから、陸上養成期間のタイラギへの*C. neogracile*の給餌量は、2億細胞/g軟体部重量/日が目安となると考えられた。本研究では設定しなかった2億細胞以上の給餌量の効果については、今後の調査が必要である。

塚本ら(2005)によるタイラギ生殖巣の放出期は、生殖細管内に放卵放精による空所が認められるが成熟生殖細胞が残存する状態であり、放出後期は成熟生殖細胞が殆どなく生殖細管の多くが空の状態である。産卵が起こると卵巣は縮小するが、雌の2億給餌区の内臓指数は他給餌区と同程度であり、放出後期の状態は全く観察されなかった。佐々木ら(2008)はヤマトシジミを用いて、放出期が出現し始める時期と放出期が大半を占める時期に産卵誘発を行い、後者の産卵数が多いことを報告している。これらのことから、2億給餌区の採卵数が多かった理由は、多くが放出期と判定されたとはいえず、放出可能な成熟卵が十分に残存していたためかもしれない。

D型幼生の平均殻長は、2億給餌区が最も大きかった。試験1では卵径の計測を行っていないが、アコヤガイでは卵容積が大きいほどD型幼生の容積も大きい傾向を示すため(西村1982)、2億給餌区は卵自体が大きかった可能性がある。産卵誘発による放出卵の卵径は、アサリでは成熟期が多数を占める時期に大きくなり、最大に達した後は退行初期の個体が出現しても殆ど変化しない(鳥羽・深山1991)。2億給餌区以外の試験区は成熟期が約6割であったのに対して、2億給餌区は約2割と少なく、成熟期以降の発達段階である放出期と退行初期が約8割を占めた。したがって、2億給餌区は最大卵径に達した卵が多く、その結果としてD型幼生の殻長が大きかったのかもしれない。

屋島湾に垂下し続けたタイラギ親貝からの採卵は、試験1の2015年、そして2016年以降も成功しており(小島ら、未発表)、屋島湾はタイラギ親貝の養成場所として適した環境と考えられる。実際に垂下区の採卵数は、0.5億給餌区や1億給餌区の約4倍であった。この垂下区よりも2億給餌区の採卵数が多かったことから、陸上養成であっても給餌量によっては海中垂下以上の採卵成績が期待できることが示された。

タイラギの後閉殻筋の重量やグリコーゲン量は、産卵期前に最も高くなり産卵期は減少し続けて産卵期後に最低を示す(Lee et al. 2015, 坂本ら2005)。試験1の後閉殻筋指数と後閉殻筋グリコーゲン量は、いずれも試験区間に有意差は認められなかった。このことから、陸上養成期間の給餌量は、成熟や採卵成績に及ぼす影響は大きいものの、後閉殻筋のエネルギー蓄積に及ぼす影響は小さい可能性がある。

試験2の陸上養成期間の生残率は約6割で、試験1の約9割と比べて低かった。両試験は陸上養成の開始月が異なるが、試験2と同じく屋島湾で海中垂下した後に5月に陸上養成を行った2017年と2018年の事例では、陸上養成期間の生残率は9割以上であった(小島ら、未発表)。したがって、試験2の生残率の低さは、陸上養成の開始月が原因ではなく、試験2を実施した2016年特有の要因が原因かもしれない。例えば2012～2021年における屋島湾の2～6月の平均水温は2016年が最も高く、この10年間の平均水温よりも0.6°C高かった(香川県水産試験場2012-2021)。2016年は海中垂下期間だけでなく陸上養成期間の水温も例年と比べて高かったと予想され、これらの期間の水温が生残率に影響した可能性がある。

## 謝辞

水産機構南勢庁舎の松本才絵博士には、タイラギの雌雄判別や成熟評価について助言を頂いた。屋島庁舎の今井智氏(現宮古庁舎)、関谷幸生氏、山本義久博士(現水産大学校)には屋島湾内沖筏での親貝養成と輸送、香川県水産試験場の山本昌幸博士には屋島湾地先筏での親貝養成と輸送に協力頂いた。百島庁舎の山野恵祐博士(現長崎庁舎)と貝類グループの契約職員諸氏には試験実

施にあたり協力頂いた。査読者の方々には原稿に対する貴重な助言を頂いた。ここに記して謝意を表する。

## 文献

- 明楽晴子(1998)タイラギの種苗生産の技術開発について。うみうし通信, 18, 8-9.
- Awaji M, Matsumoto T, Ojima D, Inoue S, Suzuki M, Kanematsu M (2018) Oocyte maturation and active motility of spermatozoa are triggered by retinoic acid in pen shell *Atrina pectinata*. *Fish. Sci.*, 84, 535-551.
- 濱本俊策・大林萬鋪(1984)タイラギの人工採卵と幼生飼育に関する問題点。栽培漁業技術開発研究, 13, 13-27.
- Hashimoto K, Yamada K, Nagae A, Matsuyama Y (2018) Lineage specific detection of the scaly form of the pen shell *Atrina* spp. by a loop-mediated isothermal amplification method. *Fish. Sci.*, 84, 837-848.
- 伊東義信・野田進治・伊藤史郎(1986)タイラギ種苗生産試験。昭和55-58年度佐賀県栽培センター事業報告, 28-41.
- 香川県水産試験場(2012-2021)過去の水温。香川県 <https://www.pref.kagawa.lg.jp/suisanshiken/joho/old-suion.html>, 2021年9月15日
- 穂山展志・前川兼佑(1963)タイラギ *Atrina pectinata japonica* (REEVE) その他二枚貝の人工採苗に関する予察的研究。山口県内海水産試験場研究業績, 13, 81-89.
- Kanda Y (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.*, 48, 452-458.
- 兼松正衛(2016)タイラギの種苗量産化技術開発に成功。豊かな海, 38, 3-7.
- 環境省(2012-2020)レッドデータブック・レッドリスト, 東京都, <https://ikilog.biodic.go.jp/Rdb/booklist>, 2020年3月16日
- 川原逸朗・山口忠則・大隈 齊・伊藤史郎(2004)タイラギ浮遊幼生の飼育と着底・変態。佐賀県有明水産振興センター研究報告, 22, 41-46.
- 古丸 明・和田克彦(1988)養殖ヒオウギガイ *Chlamys nobilis* の生殖巣の周年変化。養殖研究所研究報告, 14, 125-132.
- 小坂善信・田中俊介・永峰文洋・相坂幸二・鹿内満春(1994)ホタテガイ優良品種作出試験-1, 室内飼育によるホタテガイの成熟促進。青森県水産増殖事業報告書, 23, 182-199.
- 上妻智行(1994)アサリ種苗生産における採卵および幼生飼育技術。福岡県水産海洋技術センター研究報告, 67-77.
- Lee YJ, Choi KS, Lee, DS, Lee, WC, Park HJ, Choy E, Kim H, Kang CK (2015) The role of the adductor muscle as an energy storage organ in the pen shell *Atrina Japonica* (Reeve, 1858). *J. Molluscan Stud.* 2015, 81, 502-511.
- Liu J, Li Q, Kong L, Zheng X (2011) Cryptic diversity in the pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae): high divergence and hybridization revealed by molecular and morphological data. *Mol. Eco.*, 20, 4332-4345.



- Maeno Y, Suzuki K, Yurimoto T, Fuseya R, Kiyomoto S, Ohashi S, Oniki H (2009) Maturation process of broodstock of the Pen Shell *Atrina pectinata* (Linnaeus, 1767) in suspension culture. *J. Shellfish Res.*, **28**, 561-568.
- 松田正彦・藤井明彦 (2000) タイラギ, アカガイに対する産卵誘発方法としての止水と紫外線照射海水の効果. 長崎県水産試験場研究報告, **26**, 9-15.
- 長澤一衛・高橋大介・伊藤直樹・高橋計介・尾定 誠 (2016) 東日本大震災後の宮城県雄勝湾における垂下式養殖ホタテガイの水深による成育の違いと生産性の評価. 日本水産学会誌, **82**, 321-329.
- 西村守央 (1982) アコヤガイ種苗生産における卵質評価について. 水産増殖, **30**, 33-38.
- 大橋智志・藤井明彦・鬼木 浩・大迫一史・前野幸男・吉越一馬 (2008) タイラギ浮遊幼生および着底稚貝の飼育 (予報). 水産増殖, **56**, 181-191.
- Ohta H, Arita K, Isowa K, Ishikawa T, Aoki H (2010) Development of an artificial fertilization method for the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii* by using a microplate. *Aquacult. Sci.*, **58**, 517-523.
- 奥谷喬司 (1997) タイラギ. 「日本の希少な野生生物に関する基礎資料 4」, 日本水産資源保護協会, 東京, pp43-47.
- Qiu T, Zhang T, Bai Y, Xue D (2014) Pan Y. Gonad development of the pen shell *Atrina pectinata* from Shandong province, China. *J. Shellfish Res.*, **33**, 495-471.
- 佐々木義隆 (2011) ヤマトシジミの人工種苗生産に関する研究. 北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場研究報告, **1**, 1-47.
- 佐々木義隆・水野伸也・今田和史・吉田豊・守山義昭・足立伸次 (2008) 天塩川水系におけるヤマトシジミの人工産卵誘発条件と産卵適期の検討. 水産増殖, **56**, 211-219.
- Song YP, Suquet M, Quéau I, Lebrun L (2009) Setting of a procedure for experimental fertilization of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) oocytes. *Aquaculture*, **287**, 311-314.
- 鳥羽光晴 (1989) アサリの水槽飼育での性成熟過程における摂餌量の重要性. 水産増殖, **37**, 63-69.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1991) 飼育アサリの性成熟過程と産卵誘発. 日本水産学会誌, **57**, 1269-1275.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1993) 異なる量のパプロバ・ルテリを給餌したアサリ稚貝の総成長効率. 千葉県水産試験場研究報告, **51**, 29-36.
- 鳥羽光晴・深山義文 (1995) アサリ人工産卵における産卵量および卵径と, 卵・幼生の生き残りの関係. 水産増殖, **43**, 315-321.
- Wang C, Li Q, Xu C, Yu R (2017) Seasonal changes of reproductive activity and biochemical composition of pen shell *Atrina pectinata* Linnaeus, 1767 in Bohai Sea, China. *J. Ocean Univ. China*, **16**, 479-489.
- 横川浩治 (1996) タイラギ 2 型の遺伝的分化. 貝類学雑誌, **55**, 25-39.
- 塚本達也・前野幸男・松井繁明・吉岡直樹・渡辺康憲 (2005) タイラギの性成熟と各種組織におけるグリコーゲン量との関係. 水産増殖, **53**, 397-404.