

## 第1章 イタヤガイ母貝の成熟促進に関する研究

イタヤガイ漁業は、天然海域において突発的に大量発生した群を漁獲し尽くす形で行われるため、イタヤガイは資源管理が困難な種類であった。島根県では本種の天然採苗が可能であることが分かったことから、1979年から養殖対象種となり、天然採苗によって養殖用稚貝の供給が行われてきた。しかし、1983年以降は天然採苗数が減少に転じたことから、生産者などの要請により、島根県で人工種苗生産が試みられた<sup>11)</sup>。本種の人工種苗生産にあたっては、(1) 稚貝を量産するための母貝の成熟促進による早期採卵技術の開発、(2) 生産効率を高めるための浮遊幼生の安定的な飼育技術の開発、が大きな課題であると認識された。また、減少した天然採苗数を人為的に増加させるための技術開発も生産者などから要請があり、取り組みを行った<sup>11)</sup>。

本章では、そのうちイタヤガイ母貝の成熟促進についての調査研究結果を述べる。

二枚貝類の生殖周期は温度、餌料、塩分、光といった環境要因によって大きな影響を受け、生殖活動は、これらの環境要因と生体の内部要因との相互作用によって発現するとされている。イタヤガイ科の数種については、生殖周期と環境要因との関わりが明らかにされつつあるが<sup>29,30)</sup>、イタヤガイに関しては研究されていない。

そこで、まず人為的に供給可能な植物プランクトンのうち最も成熟促進に適した種を選択する目的で、母貝に数種の植物プランクトンを投与し、消化率や同化速度を測定した。そして、消化率や同化速度の高い種を数種選び、母貝に投与して成熟状況を観察した。また、水温制御による母貝の成熟促進を目的に、水温を自然水温より下げて給餌飼育し、成熟状況を観察した。

### 1 イタヤガイ成貝における餌料プランクトンの種および濃度と濾水速度、消化率、同化速度との関係

本節では、イタヤガイ母貝の成熟と餌料の質および量との関係を観察する際の基礎的な知見とするため、植物プランクトン4種を与えた場合の母貝の濾水速度と消化率を測定し、若干の知見を得た。

### 1.1 材料および方法

#### 1.1.1 供試母貝と餌料種類および設定条件

実験に用いた母貝は、平均殻長 8.4cm (8.3 ~ 8.7 cm)、軟体部平均湿重量 27.3g (25.5 ~ 29.9g)、軟体部平均乾重量 4.7g (4.4 ~ 5.1g) の個体であり、一連の実験には同一の母貝を用いた。母貝は一連の実験を開始する1週間前に海中に垂下した養殖籠から室内に搬入し、径 100 $\mu$ m 以上の粒子を除去した海水で飼育した。それぞれの実験開始の前2日間は径 0.4 $\mu$ m 以上の粒子を除去した海水で飼育した。

使用した植物プランクトンの種類は、珪藻類の *Chaetoceros gracilis* (以下 *Chaetoceros* と略す)、ハプト藻類の *Pavlova lutheri* (以下 *Pavlova* と略す)、プランノ藻類の *Tetraselmis tetrathele* (以下 *Tetraselmis* と略す)、真正眼点藻類の *Nannochloropsis oculata* (以下 *Nannochloropsis* と略す) の4種類で、Provasoli の ES 培養液を添加して 19 ~ 24°C の恒温室で 5L の三角フラスコを用いて通気培養し、対数増殖期末から定常期に入った細胞を実験に用いた。

実験は 1993 年 7 ~ 8 月に行い、実験中の水温は 21 ~ 23°C であった。

#### 1.1.2 濾水速度の測定

濾水速度の測定は、直接計量法<sup>31)</sup>を用い以下の手順で行った。すなわち、20L 円型黒色水槽に、精密濾過器 (日本濾水機、P-81 型) により 0.4 $\mu$ m 以上の粒子を除去した海水を 20 L 注入し、エアーストーンで穏やかに通気した。そこへ殻表面の付着物を取り除いた母貝を 1 個体収容して 30 分以上放置し、環境に順化させた。1 回の実験には 6 ~ 8 水槽を用い、2 水槽を 1 組として、各餌料濃度に 2 個体を供試し、投与する餌料濃度を 3 ~ 4 段階に設定した。その後、培養した植物プランクトンを投与し、通気を一時的に強くして均一に攪拌した。設定した餌料濃度は、予備実験により得られた、擬糞を排出する以前の濃度を最高値とし、最低値は、Bricelj & Shumway<sup>32)</sup> によるイタヤガイ科の他種の濾水速度と餌料濃度の関係を参考にして設定した。各々の植物プランクトンについて設定した餌料濃度は、*Chaetoceros* が  $7.4 \times 10^{-8}$ ,  $14.8 \times 10^{-8}$ ,  $22.2 \times 10^{-8}$ ,  $29.6 \times 10^{-8}$  g/ml, *Pavlova* が  $3.5 \times 10^{-8}$ ,  $7.0 \times 10^{-8}$ ,

$10.5 \times 10^8$ ,  $14.0 \times 10^8$ ,  $46.6 \times 10^8$ ,  $93.2 \times 10^8$ ,  $186.4 \times 10^8$  g/ml, *Nannochloropsis* が  $1.0 \times 10^8$ ,  $2.0 \times 10^8$ ,  $4.0 \times 10^8$ ,  $8.0 \times 10^8$  g/ml, *Tetraselmis* が  $33.0 \times 10^8$ ,  $66.0 \times 10^8$ ,  $99.0 \times 10^8$ ,  $165.0 \times 10^8$  g/ml であったが、実際の餌料濃度は設定濃度に対して *Chaetoceros* が - 13.1 ~ 37.2 %, *Pavlova* が - 20.4 ~ 37.1 %, *Nannochloropsis* が - 20.0 ~ 60.0 %, *Tetraselmis* が - 25.8 ~ 10.3% の誤差が生じた。なお、*Pavlova* の最高餌料濃度を投与した水槽のうち1水槽については、実験終了後蝶番がはずれているのがわかったので、データから除外した。

植物プランクトン濃度は、攪拌直後と、それから30分ないし1時間後に水槽水を採取して計数した。採取した水槽水は、5%の濃度になるよう中性ホルマリン液を混合して固定し、容量5~10mlの沈殿計数筒に入れて3日間放置した後、倍率100~200倍の倒立顕微鏡下でUtermohl法<sup>33)</sup>により計数した。なお、実験中の植物プランクトンの増殖はないものとした。

濾水速度 (F: l/個体/時間) は、大森ら<sup>31)</sup>に従って算出した。すなわち、植物プランクトンの増殖がない場合は

$$F = V(\ln C_0 - \ln C_{tf}) / (N \cdot t)$$

ここで、Vは実験水槽の水の容量、Nはその中に収容した動物の個体数、 $C_0$  ははじめに与えた植物プランクトンの濃度、 $C_{tf}$  はt時間後の植物プランクトンの濃度である。

また、摂食速度 (I: g/個体/時) は、

$$I = (V(C_0 - C_{tf}) / (N \cdot t)) \cdot W$$

ここで、Wは植物プランクトン1細胞あたりの乾燥重量である。

同化速度は、摂食速度 (I) に、以下で述べる方法で得た消化率と植物プランクトンの有機物含量を乗じて求めた。

### 1.1.3 消化率の測定

消化率の測定は、比率法<sup>34)</sup>によった。糞の回収は、濾水速度測定後3~5時間母貝を水槽中に放置し、排出された糞のうち、明らかに投与した植物プランクトン由来と考えられるものに限った。排糞が少量であった個体については、再び実験時と同量の餌料を投与し、排泄された糞を駒込ピペットで回収した。糞は、あらかじめ450°Cで3時間焼いて有機物を除いたフィルター(ミリポア社, AP25 プレフィルター)上に載せ、脱水、脱塩(3%のアンモニウムホーメ

イトで除去)後60°Cで恒量になるまで乾燥し、乾燥重量を測定した。次いで、450°Cで3時間焼き、燃焼前後の重量差より有機物量を求めた。

餌料とした植物プランクトンについても、細胞数を計数後、培養液ごと50mlを、あらかじめ450°Cで3時間焼いて有機物を除いたワットマンGF/Cフィルター上に20cmHG以下の圧力で濾過、回収し、糞と同様に有機物含量を求めた。

消化率 (A) は、次式により求めた。

$$A(\%) = (F' - E') / ((1 - E') \cdot F') \times 100$$

ここで、

$F'$  = 餌料の灰分を除いた乾燥重量 / 餌料の全乾燥重量

$E'$  = 糞の灰分を除いた乾燥重量 / 糞の全乾燥重量

## 1.2 結果

### 1.2.1 餌料とした植物プランクトンの乾重量および有機物含量

餌料とした植物プランクトンの乾重量および有機物含量をTable I-1-1に示す。4種類の餌料プランクトンの乾重量は、 $5.00 \times 10^8 \sim 6.59 \times 10^6$  g/10<sup>4</sup>細胞の範囲で、最も少なかった種は*Nannochloropsis*であり、最も多かった種は*Tetraselmis*であった。有機物含量は64.2~86.5%で、最も少なかった種は*Chaetoceros*であり、最も多かった種は*Nannochloropsis*であった。有機物量は、 $4.33 \times 10^8 \sim 5.04 \times 10^6$  g/10<sup>4</sup>細胞の範囲で、最も少なかった種は*Nannochloropsis*であり、最も多かった種は*Tetraselmis*であった。

### 1.2.2 餌料濃度と濾水速度の関係

餌料濃度と濾水速度の関係をFig. I-1-1に示す。*Chaetoceros*では、餌料濃度が $6.6 \times 10^8 \sim 36.0 \times 10^8$  g/mlの範囲で、濾水速度は、9.8~58.9L/個/時であり、餌料濃度が $19.3 \times 10^8$  g/mlの時に最も高かった。*Pavlova*では、餌料濃度が $4.3 \times 10^8 \sim 170.3 \times 10^8$  g/mlの範囲で、濾水速度は、6.7~31.3L/個/時であり、餌料濃度が $13.6 \times 10^8$  g/mlの時に最も高かった。*Nannochloropsis*では、餌料濃度が $1.2 \times 10^8 \sim 12.8 \times 10^8$  g/mlの範囲で、濾水速度は、4.9~21.0L/個/時であり、餌料濃度が $12.8 \times 10^8$  g/mlの時に最も高かった。*Tetraselmis*では、餌料濃度が $31.2 \times 10^8 \sim 181.9 \times 10^8$  g/mlの範囲で、濾水速度は、5.5~46.5L/個/時であり、餌料濃度が $49.2 \times 10^8$  g/mlの時に最も高かった。

以上のように、濾水速度は餌料濃度が  $19.3 \times 10^{-8}$  ~  $49.2 \times 10^{-8}$  g/ml の範囲で高くなることが明らかとなり、餌料濃度がそれ以下、またはそれ以上の濃度では低くなる傾向が示された。また、餌料種類では、*Chaetoceros* が最も高く、次いで *Tetraselmis*, *Pavlova* の順で、*Nannochloropsis* は最も低かった。

### 1.2.3 餌料濃度と摂食速度との関係

餌料濃度と摂食速度との関係を Fig. I-1-2 に示す。摂食速度は、*Chaetoceros* では  $7.0 \times 10^{-4}$  ~  $59.6 \times 10^{-4}$  g/個/時、*Pavlova* では  $5.8 \times 10^{-4}$  ~  $138.0 \times 10^{-4}$  g/個/時、*Nannochloropsis* では  $0.8 \times 10^{-4}$  ~  $16.7 \times 10^{-4}$  g/個/時、*Tetraselmis* では  $15.7 \times 10^{-4}$  ~  $203.1 \times 10^{-4}$  g/個/時であり、*Nannochloropsis* を投与した場合の摂食速度が最も低かった。

いずれの餌料種類でも、餌料濃度の増加に従って摂食速度は高くなる傾向があったが、餌料濃度が  $50 \times 10^{-8}$  g/ml 以上になると、速度の伸び率が低くなる傾向があった。

### 1.2.4 餌料濃度と消化率との関係

餌料濃度と消化率との関係を Fig. I-1-3 に示す。*Chaetoceros* を投与した場合の消化率は、餌料濃度が  $19.3 \times 10^{-8}$  g/ml までは 50% 以上であったが、 $32.6 \times 10^{-8}$  g/ml では 8.1% と急激に低下した。*Pavlova* を投与した場合の消化率は、餌料濃度が  $17.8 \times 10^{-8}$  g/ml までは 83.0 ~ 94.1% の範囲であったが、それ以上では低下した。*Nannochloropsis* を投与した場合の消化率は、餌料濃度が  $6.4 \times 10^{-8}$  g/ml までは 83.2 ~ 89.8% の範囲であったが、それ以上では低下した。*Tetraselmis* を投与した場合の消化率は、餌料濃度が  $103.1 \times 10^{-8}$  g/ml までは 71.1 ~ 84.8% の範囲であったが、それ以上では低下した。

以上のように、*Chaetoceros* を投与した場合には、消化率がその他の種類に比べて低く、かつ少ない餌料濃度で消化率が著しく低下することが明らかとなった。その他の種類でも餌料濃度の増加に従って消化率は低下したが、その割合は *Chaetoceros* ほどではなかった。

### 1.2.5 餌料濃度と同化速度との関係

餌料濃度と同化速度との関係を Fig. I-1-4 に示す。高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における同化速度は、*Chaetoceros* では  $24.1 \sim 201.0 \times 10^{-5}$  g/個/時、*Pavlova* では  $46.3 \sim 247.7 \times 10^{-5}$  g/

個/時、*Nannochloropsis* では  $6.0 \sim 23.3 \times 10^{-5}$  g/個/時、*Tetraselmis* では  $101.7 \sim 720.2 \times 10^{-5}$  g/個/時の範囲であった。

高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における同化速度は、餌料濃度の増加に従って速くなったが、*Nannochloropsis* が最も遅く、*Chaetoceros* および *Pavlova* がほぼ同様の値であり、*Tetraselmis* が最も速かった。

なお、同化速度の比較を、高い消化率が維持される餌料濃度の範囲での餌料濃度についての値に限った理由は、それ以上の餌料濃度では、餌料が摂取される前に擬糞により排出され始めるので、正確な同化速度が推定できないと考えられたためである。

## 1.3 考察

イタヤガイの濾水速度、消化率、および同化速度は、投与した餌料種類および濃度によって異なった。すなわち、餌料として *Chaetoceros* を投与した場合には、濾水速度は他種より速くなる傾向があるが、消化率は最も低く、餌料濃度の増加に伴い、顕著に減少した。*Pavlova* を投与した場合には、濾水速度は *Chaetoceros* に次いで速かった。また、消化率は最も高く、餌料濃度の増加による消化率の低下は緩やかであった。*Tetraselmis* を投与した場合には、濾水速度は *Pavlova* に次いで速く、消化率も *Chaetoceros* より高かった。餌料濃度の増加による消化率の低下は *Pavlova* と同様緩やかであった。*Nannochloropsis* を投与した場合には、濾水速度は 4 種中最も遅く、消化率は *Tetraselmis* と *Pavlova* の中間の値であったが、少ない餌料濃度で消化率が低下する傾向があった。また、高い消化率が維持される餌料濃度の範囲における最大の同化速度は、*Pavlova* と *Chaetoceros* がほぼ同様な値であり、*Tetraselmis* はそれらの約 2 倍の値で最も速く、*Nannochloropsis* はそれらの約 10 分の 1 の値で、最も遅かった。

濾水速度が餌料プランクトンの種および量により異なった一因として、餌料プランクトンの大きさと、イタヤガイの鰓で保持できる粒子の大きさとの関係が考えられる。ホタテガイ類が鰓で効率よく保持できる粒子の大きさは、 $5 \sim 7 \mu\text{m}$  が限界とされている<sup>32)</sup>。本実験に用いた餌料プランクトンの大きさは、*Nannochloropsis* が細胞長径約  $2.9 \mu\text{m}$  と最も小型で、*Pavlova* (細胞長径約  $5.2 \mu\text{m}$ )、*Chaetoceros* (細胞長径約  $6.5 \mu\text{m}$ )、*Tetraselmis* (細胞長径約  $13.3 \mu\text{m}$ ) の

順に大型となる。従って、鰓で効率よく保持できる種類は *Tetraselmis* のみであり、保持効率の最も低い *Nannochloropsis* では濾過効率が低いため、*Nannochloropsis* を投与したときの濾水速度が他種を投与したときより遅くなったと考えられる。また、ほぼ同様な細胞長径で、保持効率がほぼ同様と考えられる *Chaetoceros* と *Pavlova* で、*Chaetoceros* の方が濾水速度が速い傾向があったが、Ward *et al.*<sup>35)</sup> は *Placopecten megellanicus* の濾水量および消化率が珪藻類の *Chaetoceros muelleri* の代謝産物で高まると報告しており、本実験に用いた同属の *Chaetoceros gracilis* も、同様な代謝産物を排出したためと考えられる。

Palmer<sup>36)</sup> は、*Argopecten irradians concentricus* の濾水速度が  $2 \times 10^{-6}$  g wet wt./ml を越える餌料濃度では遅くなったことを報告し、この値は富栄養化した沿岸域の POC レベルとしては低いと考えられることから、野外での本種の成長阻害要因として、高濃度の餌料による摂餌、消化能力の阻害の可能性を示唆したが、イタヤガイも同様に高い餌料濃度より低い餌料濃度に適応していると考えられる。

また、本実験では、実際に投与した餌料濃度は、あらかじめ設定した餌料濃度に対して誤差が大きく、同一濃度区を 2 水槽設定した意味が薄くなった。さらに本実験で得られた濾水速度は個体差が大きかった。Palmer<sup>36)</sup> は、本実験と同様な方法で *Argopecten irradians concentricus* の濾水速度を測定し、実際の投与餌料濃度が設定値から 5～25% の誤差が生じたこと、および濾水速度は個体差が大きかったことを報告した。従って、濾水速度に関してより精度の高い値を得るには、迅速に餌料濃度を計測できる装置を用い、同一個体について反復して餌料濃度と濾水速度の関係を測定する作業を繰り返す必要があると考えられる。

消化率について、Peirson<sup>37)</sup> は、<sup>14</sup>C で標識した 8 種の植物プランクトンを用いて、 $2\text{mm}^3/\text{L}$  の密度で浮遊させ、合計  $10\text{mm}^3$  を与えて *Argopecten irradians concentricus* 成体の消化率を測定した結果、*Chlorella autotrophica* を投与した場合の消化率が 17.4% であった以外は、78.1～89.9% であったと報告した。本実験で測定された値は、測定手法が異なるため、直接の比較は困難であるが、消化率は *Chaetoceros* を投与した場合に、52.6～69.3% と低かったが、他の種類では Peirson<sup>37)</sup> とほぼ同様な値が測定された。

ホタテガイ類では、消化率は餌料濃度の上昇に伴い、減少するとされているが<sup>32)</sup>、本実験でも、同様な現象が観察された。また、*Chaetoceros* を投与した場合には、餌料濃度の上昇に伴う消化率の低下が著しかったが、本種を高濃度で投与した場合には、他の種類に比べて擬糞の排出が著しかったことから、糞とともに擬糞の一部を回収、分析したため、消化率が実際より低く算出された可能性がある。

消化率の高低は、必ずしも貝の成長の良否と相関せず、それだけでは餌料の価値は判断できないとされている<sup>32)</sup>。Langdon & Waldock<sup>38)</sup> は、*Crassostrea gigas* 稚貝の成長には、 $\omega$  3 不飽和脂肪酸のうち、20:5 n-3 や 22:6 n-3 が必要であると報告している。従って、貝の成長や成熟には、摂餌量や消化率のみではなく、餌料プランクトンの脂肪酸等の成分も考慮する必要があると考えられる。

今後は、消化率が減少しない程度の餌料濃度で各種餌料プランクトンを実際に与えて飼育し、イタヤガイの成熟状況を観察する必要がある。また、より餌料価値の高い植物プランクトンを探索する必要もあると考えられる。

## 2 投与餌料種による母貝の成熟過程の差異

母貝の成熟を人為的に制御する場合、どの餌料が適しているか知るために、1 節では餌料種類ごとの摂餌量や消化率を測定した。しかし、消化率の高低は必ずしも貝の成長の良否と相関せず、それだけでは餌料の価値は判断できないとされている<sup>32)</sup>。そこで本節では、1 節の実験で有機物摂取量が多いと推定された順に、*Tetraselmis tetrathele* (以下 *Tetraselmis* と略す)、*Chaetoceros gracilis* (以下 *Chaetoceros* と略す)、*Pavlova lutheri* (以下 *Pavlova* と略す) の 3 種類を選び、餌料とするプランクトンの質的差を観察するため、単位時間あたりの有機物摂取量がほぼ同様となるような濃度でプランクトンを投与して母貝の生殖巣が未熟期の段階から成熟期に達するまで飼育を行い、成熟状況と卵巣の脂肪酸組成、貝柱のグリコーゲン含有量の差を観察した。

### 2.1 材料および方法

*Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Pavlova* を単独に投与する水槽を 1 水槽ずつ、計 3 水槽を島根県水産技術センター浅海グループ庁舎の実験室内に設置し、そ

それぞれ *Tetraselmis* 区, *Chaetoceros* 区, *Pavlova* 区とした。母貝は島根県隠岐島の島根県水産技術センター栽培漁業部の棧橋の水深 5m で垂下養成された個体を 1994 年 9 月 8 日に試験場まで保冷して運搬し、貝殻表面の付着物を除去した後、実験に供した。実験に使用した海水は、砂濾過海水をさらに孔径 1 $\mu$ m の簡易カートリッジ・フィルター（東洋濾紙製）で濾過した海水を用いた。海水は 100L 円型黒色水槽に 100L 注水し、中央にエア・ストーンを 1 個設置して海水が緩やかに攪拌されるよう通気を調整した。水温調整は室温調節により行った。1 投与区について母貝 10 個体を 100L 水槽に収容し、定量ポンプ（TACMINA CORP., N-FEEDER）により *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Pavlova* をそれぞれ、前節の測定結果から同化速度が 1,400 ~ 1,600  $\times$  10<sup>-6</sup>g/個/時となると推定される濃度である 33  $\times$  10<sup>-8</sup>g  $\cdot$  dry wt./ml (500 cells/ml), 18.6  $\times$  10<sup>-8</sup>g  $\cdot$  dry wt./ml (2,500 cells/ml), 14.0  $\times$  10<sup>-8</sup>g  $\cdot$  dry wt./ml (6,000 cells/ml) として、収容されている貝が飼育水をほぼ全量濾過すると推定される、30 分毎に投与した。母貝の軟体部乾燥重量を 1.1 節の実験結果から軟体部湿重量 27.3g の 17% の 4.7g と仮定すると、母貝 1 個あたりの乾燥重量に対して 1 日に投与した餌料プランクトンの乾燥重量は、それぞれ 2.9%, 1.7%, 1.2% である。換水は、毎日、前日から海水を入れて飼育槽と同じ場所に設置していた水槽に貝を入れ替えて行った。なお、餌料の投与と換水は、休日は中止した。投与した植物プランクトンは、Provasoli の ES 培養液を添加して 19 ~ 24 $^{\circ}$ C の恒温室で 5L のフラスコを用いて通気培養し、対数増殖期末期から定常期に入った細胞を用いた。飼育期間は、1994 年 9 月 9 日から 12 月 9 日までのおよそ 3 ヶ月間とした。母貝の蝶番が外れたり斃死が確認された場合にはただちに除外したが、新たな母貝は追加せず、餌料の投与量も調整しなかった。なお、比較のため実験に供した母貝と同一の母貝群から無作為に採取した母貝を水産技術センター浅海グループで 9 月 16 日と 12 月 28 日に 10 個体ずつ測定し、海中垂下区とした。

実験に用いた母貝は天然採苗後 1 年以上垂下養殖された、いわゆる 1 齢貝を用いた。実験開始時の平均殻長と平均全重量は、*Tetraselmis* 区で 8.5cm (7.2 ~ 8.8cm) と 74.2g (60.0 ~ 82.6g), *Chaetoceros* 区で 8.2cm (8.1 ~ 8.7cm) と 72.3g (61.7 ~ 88.1g), *Pavlova* 区で 8.0cm (7.5 ~ 8.6cm) と 68.7g (55.2

~ 88.5g), 海中垂下区で 8.2cm (7.8 ~ 9.2cm) と 69.8g (63.9 ~ 85.2g) であった。

成熟段階は、佐竹ほか<sup>39)</sup>に準拠し、肉眼で判定した。判断基準としては、「未熟期」生殖巣は半透明で精巣、卵巣の区別がつかない、「成長期」生殖巣で、精巣と卵巣の区別が付き、精巣は白濁~乳白色、卵巣はわずかに着色~橙色となるが、外部から消化管が認められる、「成熟期」精巣は乳白色、卵巣は橙色であり、生殖巣は肥大して外部から消化管は認められない、「放出期」生殖巣はやや軟弱で退色する、とした。

各種測定は、餌料プランクトンを投与した 3 区について 1994 年 9 月 9 日、10 月 20 日、12 月 9 日に行い、9 月 9 日と 10 月 20 日には殻長をノギスにより 0.1mm 単位まで、全重量を電子天秤により 0.1g 単位まで測定した後、生殖巣の成熟段階を佐竹ほか<sup>39)</sup>に従い、肉眼により判定した。また、12 月 9 日には殻長、全重量を前述の方法で測定し、メスで殻から軟体部を分離した後、軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量を電子天秤により 0.1g 単位まで測定し、成熟段階を肉眼により判定した。さらに、9 月 16 日と 12 月 28 日には海中垂下していた母貝を 10 個体ずつ、3 区と同様な方法で測定し、海中垂下区とした。

最後に、餌料プランクトンを投与した 3 区については 12 月 9 日の実験終了後、海中垂下区については 12 月 28 日の測定終了後に各実験区の供試貝の卵巣および貝柱を -80 $^{\circ}$ C で冷凍保存し、卵巣中の脂肪酸量および脂肪酸組成と貝柱中のグリコーゲン量を、財団法人日本冷凍食品検査協会に委託して測定した。脂肪酸量および脂肪酸組成の測定はガスクロマトグラフ法で、グリコーゲン量の測定はソモギー変法により行った。

## 2.2 結果

### 2.2.1 水温

実験期間中の飼育水温の推移を Fig. I-2-1 に示した。実験を開始した 9 月から 10 月中旬までは 23 $^{\circ}$ C 台であったが、それ以降水温が低下し、10 月下旬 ~ 11 月中旬にかけて 19 ~ 21 $^{\circ}$ C となり、12 月初めにかけては 17 ~ 20 $^{\circ}$ C の間で変動した。また、海中垂下区の母貝が養成されていた隠岐郡西ノ島町の島根県水産技術センター栽培漁業部の水深 10m の水温は、実験開始時には 27.7 $^{\circ}$ C であったが、以後下降し続け、10 月上旬には室内の飼育水温と同様の

23°C台となった。その傾向は11月末まで続いたが、その後室内の飼育水温より2~3°C低い水温で推移した。

## 2.2.2 母貝の成長と成熟

母貝の測定結果をTable I-2-1に示した。餌料を投与した3区では、供試貝の殻長、全重量は9月9日の実験開始時と12月9日の実験終了時でほとんど変わらなかった。また、12月9日の3区の軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量の平均値が等しいかどうかの検定を行った。その結果、それぞれの測定項目において3区間に有意な差が認められなかった(t検定,  $p > 0.01$ )。全重量に対して軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量の占める割合は、それぞれ28.7~31.2%、17%、14~15%であった。しかし、12月28日に測定した海中垂下区では、殻長および全重量が9月16日に比べて明らかに増加していた。また、全重量に対して各部位の占める割合は軟体部重量が36.8%を、貝柱重量が25%を占め、餌料を投与した3区より割合が高かったが、生殖巣重量の占める割合は15%と実験区とほぼ同様であった。

各区の成熟段階の推移をTable I-2-1に示した。9月9日の実験開始時には、すべての区の母貝の生殖巣は透明で、雌雄判別のつかない未熟期であった。10月20日には成熟が進み、成長期の個体が*Pavlova*区で12%、*Chaetoceros*区で40%を占めたが、*Tetraselmis*区では成長期の個体が86%と最も多く出現していた。12月9日には、*Pavlova*区、*Chaetoceros*区および海中垂下区ではすべての個体が成熟期であったが、*Tetraselmis*区では成熟期の個体の他に放出期と推定される個体が20%出現した。

生残率は開始約40日目の10月20日には*Pavlova*区で80%、*Chaetoceros*区で100%、*Tetraselmis*区で70%、3ヶ月後の実験終了時の12月9日には*Pavlova*区で60%、*Chaetoceros*区で70%、*Tetraselmis*区が50%で、*Tetraselmis*区が他の2区に比べてやや低かった。卵巣の脂肪酸量および組成をTable I-2-2に示した。脂肪酸の含有量は、*Pavlova*区が2,000mg/100gと最も少なかったが、その他の3区は2,600~2,800mg/100gとほぼ同様な値であった。脂肪酸組成のうち卵巣形成に必要<sup>37)</sup>とされるC20:5 n-3の含有割合は*Chaetoceros*区が15.9%と最も高く、その他の2区は14.5~14.7%であったが、海中垂下区では12.5%と最も少なかった。

た。卵巣の色調は、海中垂下区では鮮やかな橙色であったが、餌料投与区ではすべて白っぽい橙色であった。

貝柱のグリコーゲン量は、海中垂下区の母貝が1,100mg/100gであるのに対して、人為投与区の3区では、*Pavlova*区が200mg/100gと最も少なく、*Tetraselmis*区が220mg/100g、*Chaetoceros*区が240mg/100gであり、海中垂下区の母貝より一桁少なかった。

## 2.3 考察

餌料投与区での母貝の殻長、全重量は実験開始前後でほとんど変わらず、実験終了時の軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量の平均値には3区間に有意な差がなかったにも拘わらず、成熟段階の進行度合いは*Tetraselmis*区が*Pavlova*および*Chaetoceros*区より進んでいる傾向が観察された。また、海中垂下区の母貝の成熟段階はすべて成熟期であり、放卵・放精した個体は観察されなかったが、*Tetraselmis*区では放卵・放精したと推定される個体が20%出現しており、成熟段階は海中垂下区より進んでいる傾向が確認された。この原因として、*Tetraselmis*の含有成分が質的に母貝の成熟に適していた可能性、あるいは*Tetraselmis*区の母貝の生残率が他の2区より低かったことから、餌料投与量が他の2区より多くなり、有機物摂取量が増加したことで成熟が進行した可能性が考えられる。

質的な差違に関しては、*Tetraselmis*は他の植物プランクトンに比べて多くの総蛋白質や総脂質が含まれていることが知られており<sup>40)</sup>、これが反映されて*Tetraselmis*区の母貝の卵巣に含まれる脂肪酸含有量が他の3区に比べて多かったのではないかと考えられる。また、*Tetraselmis*はC20:5 n-3の含量が他の2種より少ないとされている<sup>40)</sup>ものの、卵巣の脂肪酸組成のうちC20:5 n-3の含量割合は海中垂下区を含む4区ともほぼ同様であった。Marty *et al.*<sup>41)</sup>によれば、*Pecten maximus*は、C20:5 n-3を選択的に卵巣に取り込むと報告しているの、イタヤガイも同様にC20:5 n-3を選択的に取り込んでいると考えられる。

次に餌料の投与量に関しては、本実験では母貝の斃死に伴う投与量の調整は行わなかったため、結果として生残率が他の2区よりやや低かった*Tetraselmis*区の母貝1個体あたりの有機物摂取量が途中から増加した。しかし、*Tetraselmis*区の母

貝は他の2区と同様、成長が認められず、生殖巣重量も他の2区とほぼ同様であったため、有機物摂取量の増加が成長や成熟に及ぼした影響は小さいと推定される。このことから、成熟を進行させた主な要因は、有機物摂取量の増加ではなく *Tetraselmis* の含有成分によるものと考えられる。

また、実験終了時の生残率は *Tetraselmis* 区が50%と最も低く、次いで *Pavlova* 区、*Chaetoceros* 区の順であった。Frias *et al.*<sup>43)</sup> は、閉鎖循環系におけるマガキの成熟促進実験中の斃死は、水槽への入れ替えなどの人為的なハンドリングが原因であると推定している。本実験においてもほぼ毎日水槽換えを行っており、そのたびに殻を開閉させて遊泳している個体が観察されたこと、除去した個体がすべて蝶番の外れた個体であったことから、マガキと同様、実験中の斃死はハンドリングが主な原因であると考えられる。

なお、餌料を投与した3区の母貝と比較して、海中垂下区の母貝は実験期間中明らかに成長が認められ、軟体部重量や貝柱重量も3区より大きかった。この原因は、餌料を投与した区では餌料の質や量が限定されたのに対して、海中垂下区では多様な餌料種類を適量摂餌することが可能であったためと推定される。しかし、成熟の進行度合いはテトラセルミス区が12月の時点では海中垂下区より進んでいた傾向があったことから、今後 *Tetraselmis* を中心として、他の餌料との混合投与や投与量の調整により、イタヤガイ母貝の成熟促進を図ることができると考えられる。

### 3 飼育水温による成熟の差異

二枚貝の生殖周期は基本的には遺伝的に制御されているが、水温などの環境要因によっても大きな影響を受ける。生殖活動はこれらの環境要因と生体の内部要因との相互作用によって発現する。すなわち、ある一定の生理状態に達した母貝は、前提となる環境条件が与えられれば生殖巣の成長と配偶子形成を開始する<sup>29)</sup>。

人工種苗生産の母貝として使用するイタヤガイ1齢貝の産卵盛期は12月から翌年1月と比較的短く、自然条件下で養成した母貝を使用する場合には人工種苗生産回数が限られ、要望数量を生産できない可能性がある。そこで、できるだけ多数回の人工種苗生産を行うためには母貝の成熟促進により採卵可能

な期間をできるだけ長くする必要がある。

2節において、母貝に餌料を人工的に投与することにより生殖巣の成長と発達が起ることを確認したことから、さらに水温の制御を行うことにより母貝の成熟促進の可能性を検討した。

佐竹・森脇<sup>39)</sup>によれば8月に未熟期であった個体の生殖巣はその後質的に変化し、10月には濾胞期から成長期となったが、その時の海水温は21℃台であったと報告している。また、2節では水温が23℃から21℃へと低下した時期に成熟段階が進んでいたことから、本種の生殖原細胞が発達を開始する水温帯は21～23℃の間に存在し、その水温帯を通過しないと成熟が開始されないと考えられる。そこで、最高水温期以降に成長期の個体を、母貝が成熟期に達する17℃前後の水温で飼育し、成熟状況を観察した。

なお、2節の実験において、餌料を母貝の乾燥重量の1.2～2.9%投与したところ実験期間中の成長が認められなかったこと、海中垂下群の母貝は実験期間中明らかに成長が認められたことから、単一種の餌料投与より複数種の投与が適当であると考え、本試験では、餌料投与割合を母貝の軟体部乾燥重量の4%とし、餌料種類を *Tetraselmis tetrathele* と、*Pavlova lutheri* またはほぼ同様な細胞径をもつ *Isochrysis galbana* とし、混合投与した。

#### 3.1 材料および方法

母貝は島根県松江市美保関町野井地先の水深7～8mで垂下育成された個体を1997年9月30日に試験場に保冷して運搬し、貝殻表面の付着物を除去した後、実験に供した。10月1日から11月18日までの49日間母貝10個体を水温16.7～17.9℃の恒温室内の黒色蓋付き100L円型ポリエチレン水槽に収容し、餌料である *Tetraselmis tetrathele* と、*Pavlova lutheri* または *Isochrysis galbana* を餌料濃度がそれぞれ  $33.0 \times 10^8 \text{ g} \cdot \text{dry wt.} / \text{ml}$  (500 cells/ml)、 $4.66 \times 10^8 \text{ g} \cdot \text{dry wt.} / \text{ml}$  (2000 cells/ml) となるよう混合した後、定量ポンプを用いて30分毎に投与した。培養液を含んだ総投与量は、1日あたり総水量100の2%程度であった。植物プランクトンは、ProvasoliのES培養液を所定量添加して19～24℃の恒温室内で5Lの三角フラスコを用いて通気培養し、対数増殖期末期から定常期に入った細胞を給餌した。換水は砂濾過し、さらに目合い1μmの簡易カートリッジフィルター（東洋濾紙



製)で濾過した海水を飼育槽と同容量の水槽に入れ、恒温室に静置して飼育水温とほぼ同等な水温にした後、母貝を入れ替えることにより行なった。餌料の投与と換水は休日を除く毎日行った。なお、餌料プランクトンの投与量は乾燥重量で0.16g/日/個と計算され、母貝の軟体部乾燥重量を前節の実験結果から軟体部湿重量の17%と仮定すると本実験に供した母貝の平均軟体部乾重量は3.8gとなるので、1日母貝1個体あたりの餌料投与割合は母貝軟体部乾重量の約4%となった。

測定は実験開始前の10月1日に、実験に供した母貝と同一群で、供試貝の大きさとほぼ同様な大きさの貝を10個体選択し、殻長、全重量、軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量を測定すると同時に生殖巣の成熟段階の目視観察を行った。また、11月18日には実験終了後の恒温飼育した貝と野井地先に継続して垂下飼育していた同一群の貝10個体について、実験開始時と同様な測定と観察を行った。殻長をノギスを用いて0.1mm単位まで、全重量を電子天秤で0.1g単位まで測定した後、メスで殻から軟体部を切り離し、水分をキムタオルでよく除去した後生鮮状態で軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量を電子天秤で0.1g単位まで測定した。成熟度指数は、軟体部重量に対する生殖巣重量の割合で算出した。また、生殖巣の成熟段階は佐竹・森脇<sup>39)</sup>に従い、肉眼で判定した。なお、野井地先の水温の代替指標として、島根県水産技術センター浅海グループが休日を除く毎日10時に測定している、西に約15km離れた松江市鹿島町恵曇の水深12mの水温を用いた。

### 3.2 結果

水温の変化をFig. I-3-1に示す。自然水温は、10月には21℃台であったが、下旬には20℃台に低下し、11月には19℃台で推移した。一方、恒温室の水温は16.7～17.9℃の間に保たれ、自然水温とは2.7～5.3℃の差があった。

母貝の殻長と重量、成熟度の測定結果をTable I-3-1に示す。10月1日の実験開始時の母貝の平均殻長は7.6cm、平均全重量は58.3g、平均軟体部重量は22.6g、平均貝柱重量は7.4g、平均生殖巣重量は2.3gであり、成熟度指数は10.0で、成熟段階はすべての個体が成長期であった。11月18日の実験終了時では、恒温飼育区の平均殻長は8.1cm、平均全重量は69.1g、平均軟体部重量は24.7gであり実験開始時よりやや大きかったが、平均貝柱重量は6.1g

とやや小さかった。また、平均生殖巣重量は2.5g、平均成熟度指数は10.1であり、実験開始時とほとんど変わらなかったが、成熟段階は成熟期が5個体、一部放精放卵済みの個体が5個体と実験開始時に比べて進んでいた。なお、実験中に水槽内で3回の産卵、放精が観察された。

一方、海中垂下区の平均殻長は8.0cm、平均全重量は66.4g、平均軟体部重量は24.6g、平均貝柱重量は6.5gであり、恒温飼育区とほとんど差がなかった。また、平均生殖巣重量は2.8g、平均成熟度指数は12.1と、恒温飼育区よりやや大きかった。両群の生殖巣重量の平均値が等しいかどうかの検定を行ったところ、有意な差は認められなかった(t検定、 $p > 0.01$ )。成熟段階は成熟期が8個体、一部放精放卵済みの個体が2個体であった。

なお、検定(Fisherの正確確率検定)では有意な差があるとはいえなかったが、恒温飼育区において実験終了までに放卵、放精した個体の割合が50%と、海中垂下区で放卵、放精した個体の割合より多い傾向が見られた。実験期間中に斃死は確認されなかった。

### 3.3 考察

佐竹・森脇<sup>39)</sup>によれば、養殖イタヤガイ0齢貝の産卵期は1月下旬～5月上旬にかけてであり、7、8月には成熟度指数は最も低下し、内部は完全な空腔である未熟期となるが、9～10月中旬には精母細胞や卵母細胞が存在する濾胞期となる。また、11月から12月には成熟度指数はやや低い成熟期となることが報告されている。このように、本種は水温下降期に成熟に向かう。アメリカイタヤガイ *Argopecten irradians* の場合、生殖巣に体貯蔵物質が少しでも蓄積されていれば、水温20℃以上に上昇する5～6月に配偶子分化を開始する。すなわち、配偶子形成に関する最小閾値温度は20℃であり<sup>42)</sup>、休止期の貝は20℃以上で給餌飼育すれば直ちに配偶子形成が始まるが、それ以下の温度では成熟しないとされている。イタヤガイについてもアメリカイタヤガイと同様な生殖巣発達の閾値が存在すると考えられる。すなわち佐竹・森脇<sup>39)</sup>によれば8月に未熟期であった個体の生殖巣はその後質的に変化し、10月には濾胞期から成長期となったが、その時の海水温は21℃台であったと報告している。また、2節では水温が23℃から21℃へと低下した時期に成熟段階が進んでいたことから、本種の生殖原細胞が



発達を開始する水温帯は21～23°Cの間に存在し、その水温帯を通過しないと成熟が開始されないと考えられる。

本実験では、この閾値を海中で経過し生殖巣が成長期となった母貝を用い、10月から水温約17°Cで飼育を行ったところ、成熟に至り、さらに餌料種類を複数種とし投与量を母貝の乾燥軟体部重量の4%とすることで、人工飼育母貝が天然の垂下母貝と遜色のない成長および成熟を示した。マガキの場合も本試験結果と同様に、成熟促進のためには、1日貝1個体あたりの餌料の乾燥重量の割合が2%では不足するのではないかと考えられており、また、2種の餌料プランクトンを混合投与した場合のみ顕著な生殖細胞の容積増加が観察されたと報告している<sup>43)</sup>。また、本試験では恒温飼育区において実験終了までに放卵、放精した個体の割合が50%と、海中垂下区で放卵、放精した個体の割合より多い傾向が見られたことから、恒温飼育区の個体でやや成熟が進んでいる傾向があった。しかし、放卵、放精は水槽交換などのハンドリングによって引き起こされた可能性もあり、水温制御や餌料投与による明瞭な促進効果は見られなかった。

#### 4 まとめ

イタヤガイの成熟促進による早期採卵を目的として、イタヤガイ母貝の成熟と餌料の質および量との関係を観察する際の基礎的な知見を得るため、植物プランクトン4種を与えた場合の母貝の濾水速度と消化率を測定した。

イタヤガイの濾水速度、消化率は、投与した餌料種類および濃度によって異なった。すなわち、餌料として*Chaetoceros*を投与した場合には、濾水速度は他種より速い傾向があるが、消化率は最も低く、餌料濃度の増加に伴い、顕著に減少した。*Pavlova*を投与した場合には、濾水速度は*Chaetoceros*に次いで速かった。また、消化率は最も高く、餌料濃度の増加による消化率の低下は緩やかであった。*Tetraselmis*を投与した場合には、濾水速度は

*Pavlova*に次いで速く、消化率も*Chaetoceros*より高かった。餌料濃度の増加による消化率の低下は*Pavlova*と同様に緩やかであった。*Nannochloropsis*を投与した場合には、濾水速度は4種中最も遅く、消化率は*Tetraselmis*と*Pavlova*の中間の値であったが、少ない餌料濃度で消化率が低下する傾向があった。また、高い消化率が維持される餌料濃度の範囲での最大の同化速度は、*Pavlova*と*Chaetoceros*がほぼ同様な値であり、*Tetraselmis*はそれらの約2倍の値で最も速く、*Nannochloropsis*はそれらの約10分の1の値で、最も遅かった。

ただし、消化率の高低は、必ずしも貝の成長の良否と相関せず、それだけでは餌料の価値は判断できないとされている<sup>32)</sup>ことから、同化速度がほぼ同様となる濃度で*Chaetoceros*、*Pavlova*、*Tetraselmis*の3種のプランクトンを実際に与えて飼育し、イタヤガイの成熟状況を観察した。

その結果、人為的に餌料を投与した各区における母貝の殻長、全重量は実験開始前後でほとんど変化が観察されなかった。また、実験終了時の軟体部重量、貝柱重量、生殖巣重量の平均値には3区の間で有意な差はなかった。しかし、目視観察による成熟段階は*Tetraselmis*区が*Pavlova*区および*Chaetoceros*区よりやや進んでいる傾向が見られた。また、飼育水温を制御することによるイタヤガイ母貝の成熟促進を検討したところ、成長期から17°C前後で飼育を行うことにより卵巣の質的な発達が起り、さらに、投与する1日当たりの餌料量を母貝の軟体部乾燥重量の4%に増加し、餌料種類を複数種とすることにより実験室内における母貝の成長を天然の垂下個体とほぼ同様とすることができた。

以上のことから、テトラセルミスを含む複数種を1日当たり母貝の乾燥軟体部重量の4%投与し、母貝の成熟段階が成長期から水温17°C前後で飼育することで、海中垂下群と遜色のない成長、成熟を示すことが明らかになり、イタヤガイの成熟促進を行う前提となる人工飼育の条件が判明した。今後、水温や日照条件を検討することで実用的な母貝の成熟促進技術が開発できると考えられる。

Table I-1-1 Dry weight and weight of organic matter of algae.

| Species name                   | Dry weight (g/10 <sup>4</sup> cells) | Ash free dry wt/dry wt ratio(%) | Weight of organic matter (g/10 <sup>4</sup> cells) |
|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|--|
| <i>Pavlova lutheri</i>         | 2.33 × 10 <sup>-7</sup>              | 86.3                            | 2.01 × 10 <sup>-7</sup>                            |
| <i>Chaetoceros gracilis</i>    | 7.44 × 10 <sup>-7</sup>              | 64.2                            | 4.77 × 10 <sup>-7</sup>                            |
| <i>Tetraselmis tetraathele</i> | 6.59 × 10 <sup>-6</sup>              | 76.5                            | 5.04 × 10 <sup>-6</sup>                            |
| <i>Nannochloropsis oculata</i> | 5.00 × 10 <sup>-8</sup>              | 86.5                            | 4.33 × 10 <sup>-8</sup>                            |

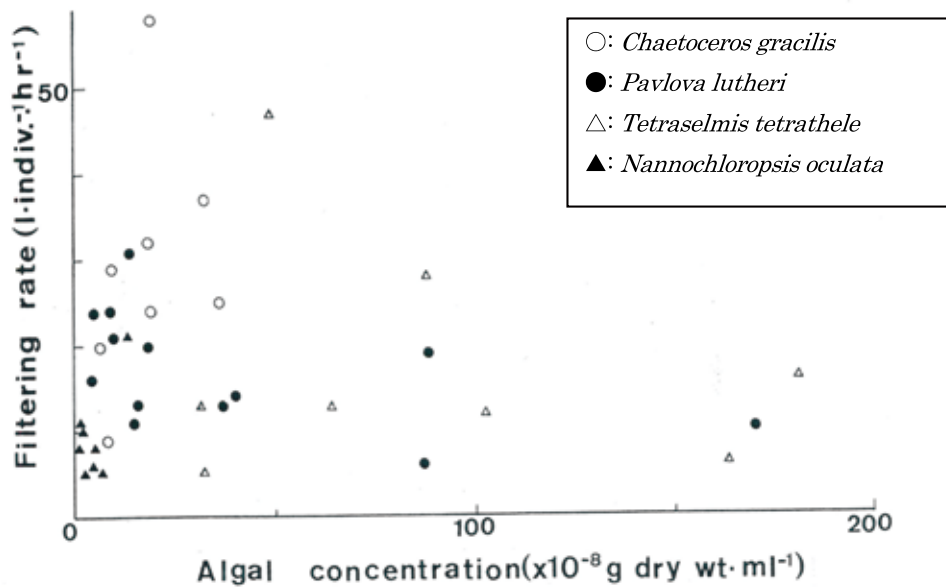


Fig. I-1-1 Relationship between algal concentration(× 10<sup>-8</sup> g-dry weight/ml) and filtering rate(× l/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

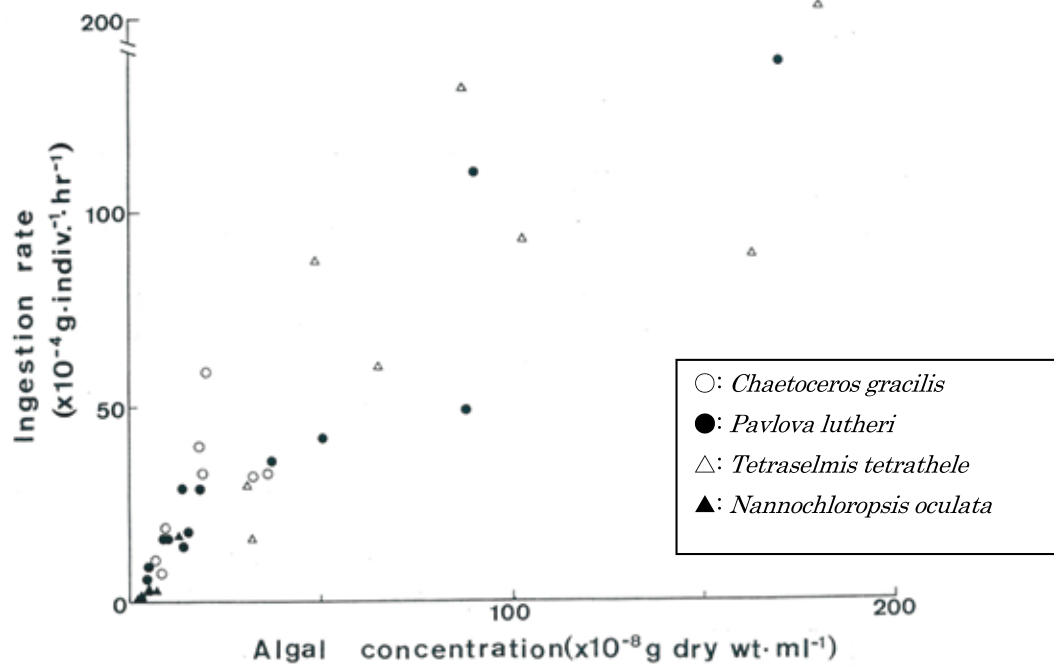


Fig. I-1-2 Relationship between algal concentration ( $\times 10^{-8}$  g-dry weight/ml) and ingestion rate ( $\times 10^{-4}$  g/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

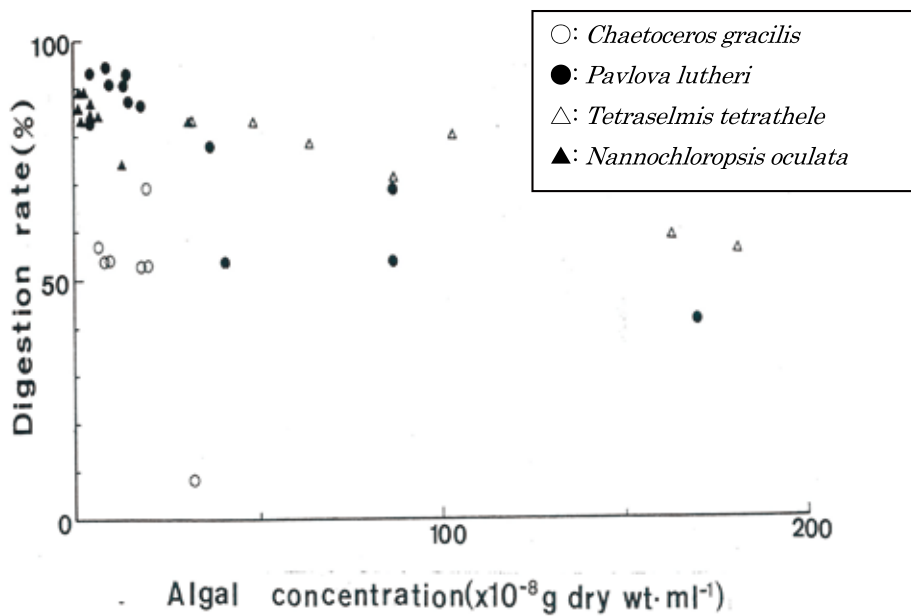


Fig. I-1-3 Relationship between algal concentration ( $\times 10^{-8}$  g-dry weight/ml) and digestion rate (%) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

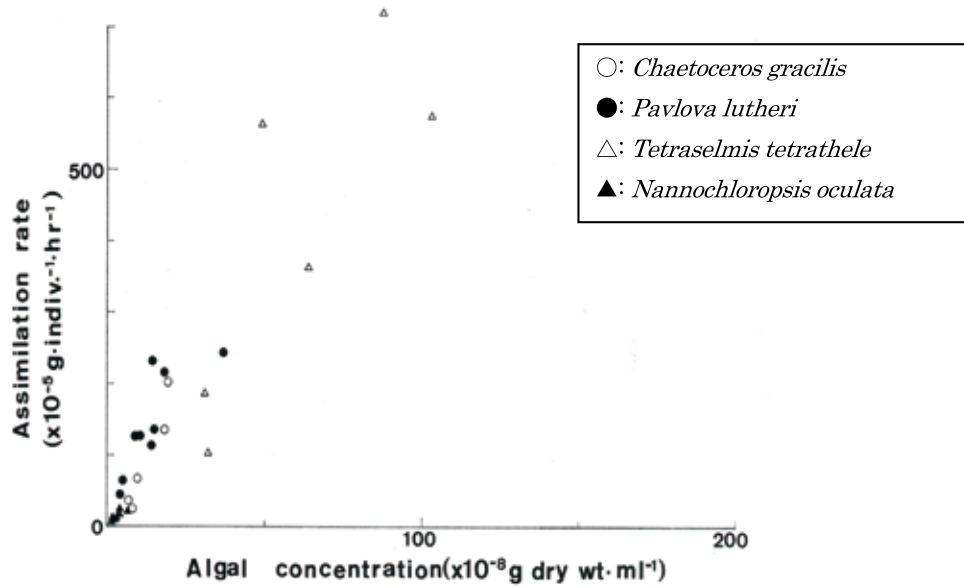


Fig. I-1-4 Relationship between algal concentration( $\times 10^{-8}$  g-dry weight/ml) and assimilation rate( $\times 10^{-5}$  g/ind./h) for bay scallop *Pecten albicans* (mean dry weight=4.7g/ind.).

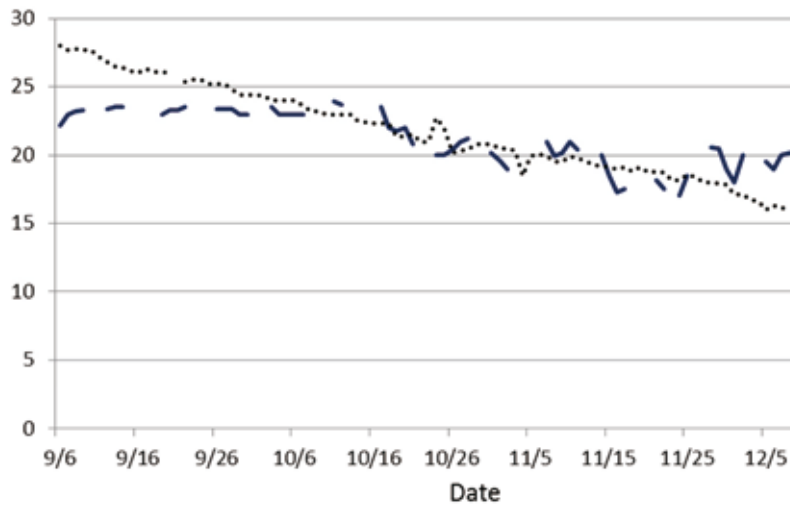


Fig. I-2-1 Changes in water temperature.  
 — : water temperature in 100 L tank reared bay scallop *Pecten albicans* at the laboratory  
 ..... : water temperature on 10 m depth at the site of Sea Farming Division, Shimane Prefectural Fisheries Technology Center

Table I-2-1 Changes of shell length, total weight, tissue weight, adductor muscle weight, gonad weight, gonad condition and survival number of bay scallop *Pecten albicans* reared with 3 different species of microalgae.

| Food                        | Date measured | Shell length (cm) | Total weight (g) | Tissue weight (g)    | Adductor muscle weight (g) | Gonad weight (g)   | Gonad condition                        | Survival number |
|-----------------------------|---------------|-------------------|------------------|----------------------|----------------------------|--------------------|--|-----------------|
| <i>Pavlova lutheri</i>      | 9/9           | 8.0±0.42          | 68.7±8.67        |                      |                            |                    | Immature stage 100%                    | 10              |
|                             | 10/20         | 8.2±0.46          | 70.8±8.39        |                      |                            |                    | Immature stage 88%<br>Growth stage 12% | 8               |
|                             | 12/9          | 8.3±0.46          | 68.3±9.65        | 21.3±4.89<br>(31.2%) | 3.7±0.28<br>(17%)          | 3.0±1.40<br>(14%)  | Mature stage 100%                      | 6               |
| <i>Chaetoceros gracilis</i> | 9/9           | 8.2±0.29          | 72.3±8.66        |                      |                            |                    | Immature stage 100%                    | 10              |
|                             | 10/20         | 8.4±0.39          | 76.3±9.36        |                      |                            |                    | Immature stage 60%<br>Growth stage 40% | 10              |
|                             | 12/9          | 8.3±0.33          | 75.4±10.44       | 22.3±4.33<br>(29.6%) | 3.9±1.00<br>(17%)          | 3.25±0.87<br>(14%) | Mature stage 100%                      | 7               |
| <i>Tetraselmis tetraele</i> | 9/9           | 8.5±1.35          | 74.2±7.64        |                      |                            |                    | Immature stage 100%                    | 10              |
|                             | 10/20         | 8.3±0.20          | 74.2±7.64        |                      |                            |                    | Immature stage 14%<br>Growth stage 86% | 7               |
|                             | 12/9          | 8.2±0.26          | 71.1±3.37        | 20.4±5.34<br>(28.7%) | 3.4±1.37<br>(17%)          | 3.17±1.58<br>(15%) | Mature stage 80%<br>Spawning stage 20% | 5               |
| Control (Hanging-culture)   | 9/16          | 8.2±0.42          | 69.8±6.10        |                      |                            |                    | Immature stage 100%                    | —               |
|                             | 12/28         | 9.2±0.59          | 92.2±17.32       | 33.9±8.35<br>(36.7%) | 8.5±2.85<br>(25%)          | 5.1±2.46<br>(15%)  | Mature stage 100%                      | —               |

Table I-2-2 Contents and composition of fatty acid in ovary of bay scallop *Pecten albicans* reared with 3 different species of microalgae.

|                              | Ovary of shells<br>rearing with<br><i>Pavlova lutheri</i> | Ovary of shells<br>rearing with<br><i>Tetraselmis<br/>tetrathele</i> | Ovary of shells<br>rearing with<br><i>Chaetoceros<br/>gracilis</i> | Ovary of shells by<br>hanging culture |
|------------------------------|---|--|--|---------------------------------------|
| Fatty acid(mg/100g)          | 2000  | 2800   | 2700   | 2600                                  |
| Composition of fatty acid(%) |   |  |  |                                       |
| C12:0                        | 0.4   | 0.2  | 0.3  | 0.3                                   |
| C14:0                        | 2.5   | 1.4  | 1.5  | 2.9                                   |
| C14:1                        | 0.1   | 0.1  | 0.1  | 0.1                                   |
| C15:0                        | 0.5   | 0.6  | 0.5  | 0.7                                   |
| C16:0                        | 16.4  | 17.8   | 20.5   | 17.9                                  |
| C16:1                        | 6.1   | 4.7  | 14   | 5                                     |
| C17:0                        | 1.2   | 1.3  | 1  | 1.3                                   |
| C17:1                        | 0.4   | 0.2  | 0.2  | 0.5                                   |
| C18:0 iso                    | 2.5   | 2.4  | 2.5  | 2.3                                   |
| C18:0                        | 6.6   | 6  | 6.4  | 5.2                                   |
| C18:1 n-9                    | 4   | 8.5  | 2.9  | 3.9                                   |
| C18:1 n-7                    | 5.6   | 3.6  | 4.4  | 3.4                                   |
| C18:2 n-6                    | 1.3   | 2.2  | 1.1  | 1.8                                   |
| C18:3 n-3                    | 1   | 3.3  | 0.5  | 2.2                                   |
| C18:4 n-3                    | 2.9   | 2.4  | 1.2  | 6.3                                   |
| C20:0                        | 0.6   | 0.6  | 0.4  | 0.6                                   |
| C20:1 n-11                   | 0.4   | 0.4  | 0.3  | 0.6                                   |
| C20:1 n-9                    | 1.1   | 1.7  | 0.7  | 1.1                                   |
| C20:2 n-6                    | 0.5   | 0.5  | 0.3  | 0.7                                   |
| C20:3 n-6                    | 0.4   | 0.4  | 0.3  | 0.4                                   |
| C20:3 n-3                    |   | 0.1  |  | 0.2                                   |
| C20:4 n-6                    | 2.5   | 3  | 3  | 1.6                                   |
| C20:4 n-3                    | 0.3   | 0.4  | 0.2  | 0.8                                   |
| C20:5 n-3                    | 14.7  | 14.5   | 15.9   | 12.5                                  |
| C21:5 n-3                    | 0.5   | 0.7  | 0.4  | 1                                     |
| C22:5 n-3                    | 0.3   | 0.4  | 0.2  | 0.8                                   |
| C22:6 n-3                    | 18.2  | 12.8   | 12.5   | 16.2                                  |
| Others                       | 9   | 9.8  | 8.7  | 9.7                                   |

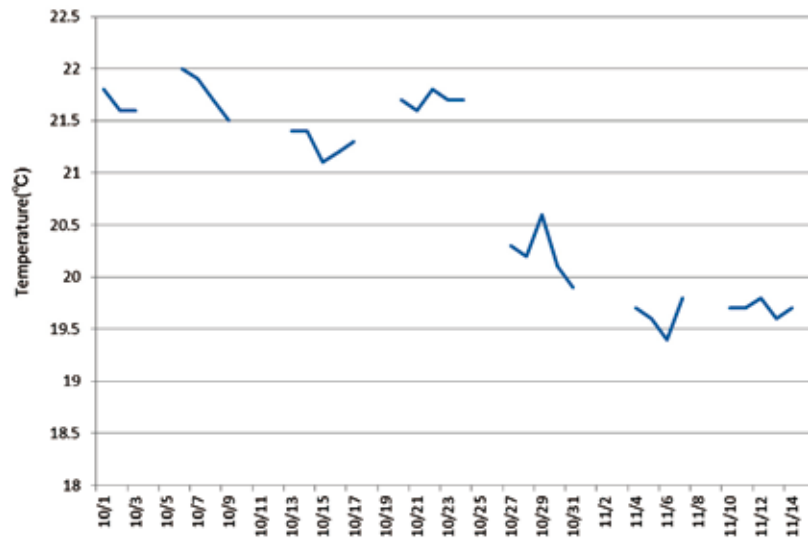


Fig. I-3-1 Changes in water temperature measured on 12 m depth at Etomo, Matsue.

Table I-3-1 Changes of shell length, total weight, tissue weight, adductor muscle weight, gonad weight, maturity index, and gonad condition of bay scallop *Pecten albicans* reared with two different temperatures.

| Date sampled | Rearing temperature | Shell length (cm) | Total weight (g) | Tissue weight (g) | Adductor muscle weight (g) | Gonad weight (g) | Maturity index | Gonad condition                        |
|--------------|---------------------|-------------------|------------------|-------------------|----------------------------|------------------|----------------|--|
| 1997/10/1    | Natural temp.       | 7.6±0.45          | 58.3±9.44        | 22.6±3.40         | 7.4±1.30                   | 2.3±0.70         | 10.0±2.75      | Growth stage 100%                      |
| 1997/11/18   | Constant temp.      | 8.1±0.37          | 69.1±8.77        | 24.7±5.14         | 6.1±1.51                   | 2.5±1.08         | 10.1±2.51      | Mature stage 50%<br>Spawning stage 50% |
| 1997/11/18   | Natural temp.       | 8.0±0.50          | 66.4±12.38       | 24.6±5.60         | 6.51±2.20                  | 2.8±0.98         | 12.1±3.70      | Mature stage 80%<br>Spawning stage 20% |