

68年度事業報告

1 クロチョウガイの種苗生産に関する研究

田中 弥太郎
伊野波 盛仁
嘉 教 清

1967年4月から1968年12月まで首題の研究を行った。その結果大量の種苗生産が実現できる見通しが得られた。その結果の概要をとりまとめて報告する。

結果

1 採卵方法について

人工採卵をおこなう際、如何にしてよい卵を得るかということが問題である。このためには従来クロチョウガイの採卵に採用された切出し法にくらべ温度刺激法による産卵誘発は種苗生産上はるかにすぐれていることが認められた。

第1表 温度刺激法による産卵誘発例

誘発年月日	母貝数	反応個数	刺激温度範囲℃	刺激回数	放卵時の水温	受精率	備考
1967. 4. 8	11	5	25 ~ 32	5		95%以上	
4. 28	11	3	24.5 ~ 31	2	24.6		
4. 29	13	9	25 ~ 31	7	28	95%以上	刺激は前日から引続く
5. 8						"	
6. 15						"	
7. 18						90%以上	
8. 13						95%	
9. 24				3		100%	
10. 18						95%以上	
11. 10						"	
1968. 10. 16	15	5	23 ~ 31	5	30	"	
11. 5	25	4	23 ~ 31	9	28	"	刺激は前日に引続く
11. 21	50	7	23.5 ~ 30	10	29	"	刺激続行3日目

- ① 温度刺激法による産卵誘発の可能な時期は4月から11月の8ヶ月間であった。
- ② 刺激に反応する母貝の指標はまだ充分把握されていないが生殖がより充実している母貝程刺激に応じやすいことが認められた。したがって現段階ではこの点を進定基準にしている。
- ③ 1回の産卵誘発に必要な母貝数は普通1個の雌が放卵した場合には数百万単位の卵が得られるから、この意味からは1個の雌に放卵させれば充分であるができるだけ少い刺激に応じる雌に放卵させる意味から、同時に複数個体の放卵が望ましく、50個以上の母貝は少くとも必要であると認められた。
- ④ 放卵放精の行動は加温時にみられ多くの場合28~30℃においてであった。
- ⑤ 産卵誘発にある放卵直後の卵形は一般に不定形多角形状であるが次第に卵核胞も消失し直円に

近くなり、受精率は90%以上であった。

- ⑥ 自然産卵は9~11月においては、暴風時の1~12日後におこなわれることがみられた。したがって採卵は気象状況を考慮して実施することが必要である。

2 初期幼生の適正餌料

この実験は1967年4月から1968年11月まで6回にわたって行なわれた。実験に供した餌料は12種である。

その結果餌料の摂取と幼生の成長は必ずしも相関しないことが明らかとなった。すなわち、初期幼生の餌料としては

- ① 摂取されても消化されないものがある。Cmicroalgal 他
- ② 摂取可能な大きさは5~7 μ 以上のものである。
- ③ クロチョウガイ初期幼生の安定した餌料生物はM. lutheriのみである。

第1表 クロチョウガイ初期幼生に対する餌料テストの結果

餌料生物の種類	形状	大きさ(μ)	結果		備考
			摂取	成長	
<i>Nitzschia closterium</i>	剣状	2.5×24	—	—	東海区水研から導入
<i>Monochrysis lutheri</i>	楕円状	5~7	+	+	
<i>Cyclotella nana</i>			—	—	
<i>Onaetoceros simplex</i>	円盤状	2.5×4.5	+	+	
<i>Platymonas</i> sp	球状	2~3	+	—	
<i>Skeletonema costatum</i>	連鎖状		—	—	
<i>Nanocloris</i> sp	球状	2~3	+	—	琉球水研から導入
Microalgae (<i>Chlorella</i> sp)	"	2~3	+	—	
<i>Chlamydomonas</i> sp	"	2~3	+	—	東海水研から導入
<i>Phaeodactylum tricorunatum</i>	三叉状	9×18	—	—	
MK ₁	円柱状	2×6	—	—	川平湾から分離
MK ₂	球状	2~3	+	—	

十；餌料摂取および成長がみられたもの、—；全く摂取されずまた成長がみられない。

3 幼生の低塩分に対する抵抗性

低塩分海水は初期浮遊幼生に対してどのような影響をおよぼすかをみるため、海水濃度別の幼生の浮遊状況および摂餌状況について観察した。その結果次のことがわかった。

- (1) 比重2.0 (σ_{15}) までは全く低塩分海水の影響がみられなかった。
- (2) 比重1.7以下においてはその影響がみられた。しかしながら比重1.2の低塩分海水に対してもかなり高い抵抗性を有することが認められた。
- (3) 低塩分海水の影響は比重1.0以下で始めて顕著にみられた。
- (4) 以上の結果はクロチョウガイ成員の鰓片繊毛運動と比重の関係の結果とよく一致していた。

第1表 海水濃度と幼生の浮遊および摂餌状況

飼育水 比重 (σ_{15})	1日後		4日後		5日後		備 考
	浮遊状況	摂餌	浮遊状況	摂餌	浮遊状況	摂餌	
25	+++	FF	++	FF	++	FF	
20	+++	FF	++	FF	++	FF	
17	++	F	++	F	—		
15	++	F	+	F	—		
12	+++	N	+	F	—		
※ 10	++		—				※厳密には上らんのも のと同時に行われた ものではない

浮遊状況 +++; 濃密に浮遊 ++; よく浮遊している, +; 浮遊幼生少ない, —; 浮遊幼生なし,
摂餌状況 FF; 胃内一杯みられる, F; 餌は少しみられる, N; 餌は全くなし

4 初期D状幼生におよぼす飼育水攪拌の影響

初期D状幼生は飼育容器の一部に蟻集する傾向が強い。これを容器内全面に一樣に分散させることが必要である。この意味からも飼育水を攪拌することが要求されるが、その影響を検討すべく実験をおこなった。

2~5 lの飼育容器を用い、送気および低速攪拌機による連続的攪拌と全く攪拌を行わなかった場合について幼生の浮遊期間、摂餌状況およびその間の成長を観察した。

結果は次の通りであった。

- (1) 攪拌した場合は全く攪拌しない場合に比べいずれの方法も劣る結果を示した。
- (2) 攪拌の程度が大きければ大きい程、幼生に対する阻害作用が強いことがみられた。
- (3) 1秒間に1気泡 (送気量 $\rightarrow 10 \text{ ml/min}$) のごく弱い送気攪拌静置飼育に優る好結果はみられなかった。
- (4) 以上の点から少なくとも初期D状幼生においては連続的攪拌は効果的ではないと結論された。
- (5) しかしながら幼生の沈下は一種の生態運動として理解されることから断続的攪拌方式についてさらに検討する必要がある。

第1表 攪拌の影響

飼育 水温	攪拌の有無および方法	飼育経過日数									
		2			6			13			
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	
23 / 25°C	静置	22	87	++	11	101	++	0			
	"	38	88	++	8	100	+++	0			
	弱い送気	40	86	++	5	96	++	0			
	強い送気	5	84	+	2	89	—	0			
	"	10	84	++	0						
	低速攪拌機による攪拌	17	87	+	0						

飼育 水温	攪拌の有無および方法	飼育経過日数									備考	
		2			6			15				
		a	b	c	a	b	c	a	b	c		
27 }	28°C {	静置	24	89	+++	18	104	++	8	116	+++	
		ごく弱い送気	32	89	++	21	102	++	14	111	++	
		強い送気	10	85	+	0						

静置：一切の攪拌なし

a：飼育水10ml当りの浮遊幼生数

強い送気：気泡は殆んど連続的72ml/min

b：平均殻長

弱い送気：2気泡/sec 23ml/min

c：摂餌状況

ごく弱い送気：0.7気泡/sec 6ml/min

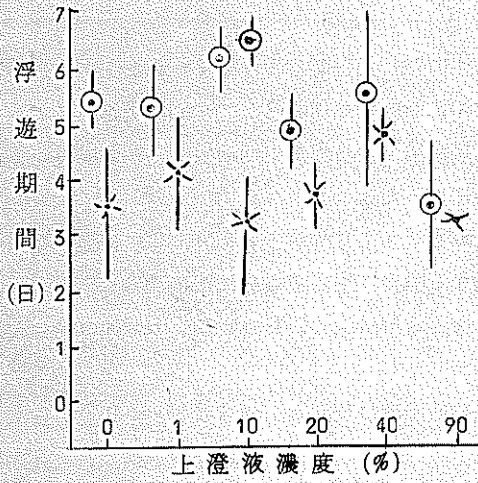
低速攪拌機：佐藤製作所制

+++：殆んどの浮遊幼生はよく摂餌している。
++：せつじしてないものが多少みられる。
+：せつじしているものは少数
-：全くせつじしてない

5 M. lutheri 増殖培養液のクロチヨウガイ幼生におよぼす影響

Monocrysis lutheri 増殖培養液の初期幼生に対する阻害作用の有無を検討するため、この実験をおこなった。増殖培養液の濃度を0%から90%の範囲にした場合の幼生の浮遊状況、生貝出現度および正状幼生の出現度を観察した。この結果次のことが明らかになった。

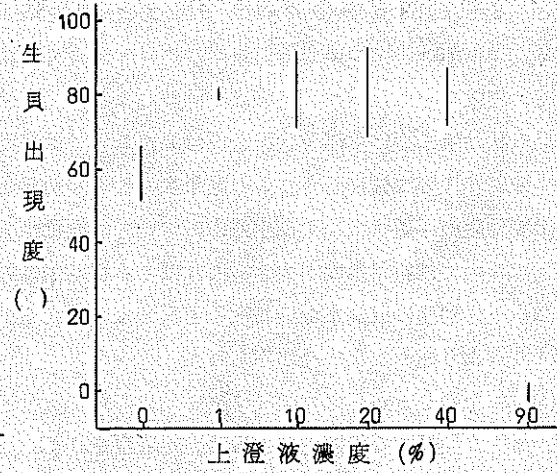
- (1) 初期幼生は無給餌で最長12日間浮遊することがこの実験でもみられた。このように無給餌の場合の幼生の浮遊期間の長短は採卵、受精処理の差異にもとづくものとみられ、飼育開始前における幼生の健全性を指標するものと考えられた。
- (2) 幼生の大量に浮遊していた期間と生貝出現度の間には相関々係はみられなかった。
- (3) このことから幼生の沈下する意義は直接的には生活力が減退した結果もたらされるのではなく、多様なまた軽度の影響下においても生態運動の一つの防禦行動として発現するのではないかと考察した。このことから幼生の浮遊状況は幼生の飼育管理上、重要な指標であると考えられた。
- (4) 2回目の実験では異状殻幼生の出現が多くみられたが、これはこの実験に用いた幼生の不健全性を示すものと解された。すなわち不健全な幼生においては多様なまた子細な外的要因の作用によっても異状発生をもたらされると考えられた。
- (5) 異状殻の出現は外的要因の持続的な作用によって連続的に起こるのではなく、この実験の結果は外的要因の急激な変化あるいは要因と遭遇するその時点において起こることを示唆していると解された。
- (6) 幼生の浮遊期間、生貝出現度および正状幼生出現度のいずれの場合においても M. lutheri 増殖培養液による阻害作用は認められなかった。
- (7) したがって L-D 培地を用い低温において培地 1ml 当り 2×10^6 細胞に増殖した M. lutheri の増殖培養液は飼育水に対して 4.0% まで何らの阻害作用もないことが認められ、またそれ以上の濃度においてその影響があるとしても、それは実際の飼育管理上無視できることが明らかになった。またこの実験は培養瓶 2 瓶の餌料を用いたのであるが有害細菌の培地汚染もなかったものと解された。



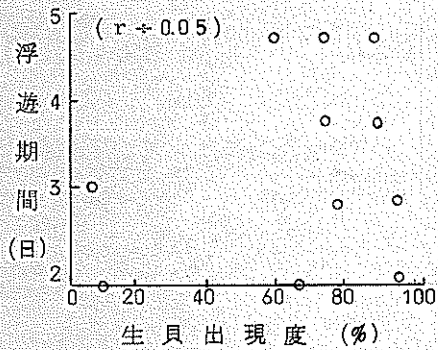
第1図 上澄液濃度と幼生の浮遊期間

○: 浮遊幼生がみられた期間

×: 浮遊幼生がよく浮遊していた期間

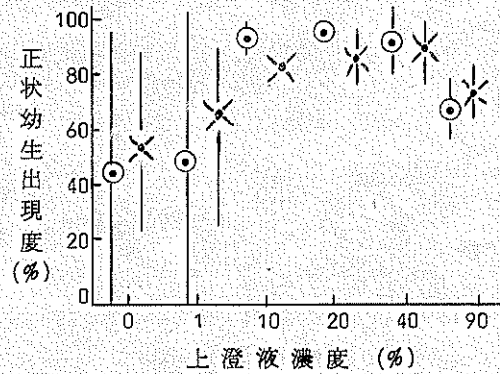


第2図 上澄液濃度と生員出現度



第3図 幼生がよく浮遊していた期間と生員出現度の相関図

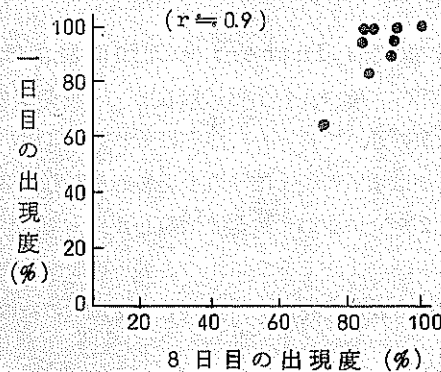
浮遊期間は第2表ではサと表示されている。



第4図 上澄液濃度と正状幼生の出現度の関係

○: 1日目の出現度

×: 8日目の出現度

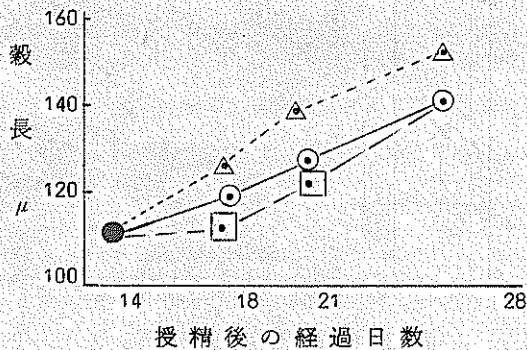


第5図 飼育1日目と8日目における正状幼生出現度の相関図

6 給餌濃度のクロチヨウガイ幼生におよぼす影響

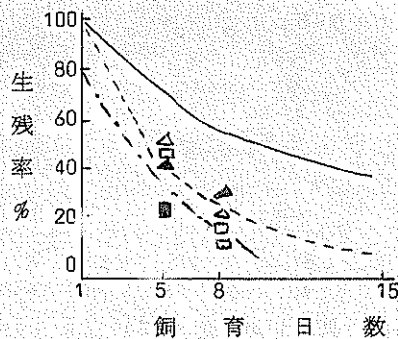
M. lutheri について給餌濃度はクロチヨウガイ幼生に対してどのような影響をおよぼすかをみるため実験をおこなった。実験は2回おこなわれ、実験(1)においては切開滲出アンモニア処理による初期D状幼生について浮遊状況を実験(2)においては温度刺激法で得られた中期幼生について成長および生残率について観察した。この結果次のことが明らかになった。

- (1) 幼生の浮遊状況および生残率については飼育水1ml当り 2×10^3 から 20×10^4 細胞の範囲においては餌料濃度が大きくなればなる程幼生に対する阻害作用が認められた。
- (2) 一方幼生の成長についてみると飼育水1ml当り 1×10^4 細胞の餌料濃度において他の場合より、より速やかな成長がみられた。
- (3) 以上のことからクロチヨウガイ幼生に対する至適給餌濃度は飼育水1ml当り 2×10^3 から 1×10^4 細胞の範囲内にあることが考察された。
- (4) 給餌濃度が大きくなるにつれみられる阻害要因は比較的低温 (20°C) で培養された *M. lutheri* が高温 ($27 \sim 29^\circ\text{C}$) に急激に滲されることによる生活力の低下ひいては死滅分解による水質の悪化等の言わば二次的な影響であることが考察された。
- (5) この実験においても *M. lutheri* の増殖培養液の阻害作用はみられなかった。



第1図 給餌濃度と成長

- △: 飼育水1ml当り 1×10^4 細胞の給餌
 ○: " " 2×10^3 " "
 □: " " 5×10^4 " "



第2図 給餌濃度と生残率

- 実線: 2×10^3
 点線: 1×10^4 △: ▲
 鎖線: 5×10^4 □: ■

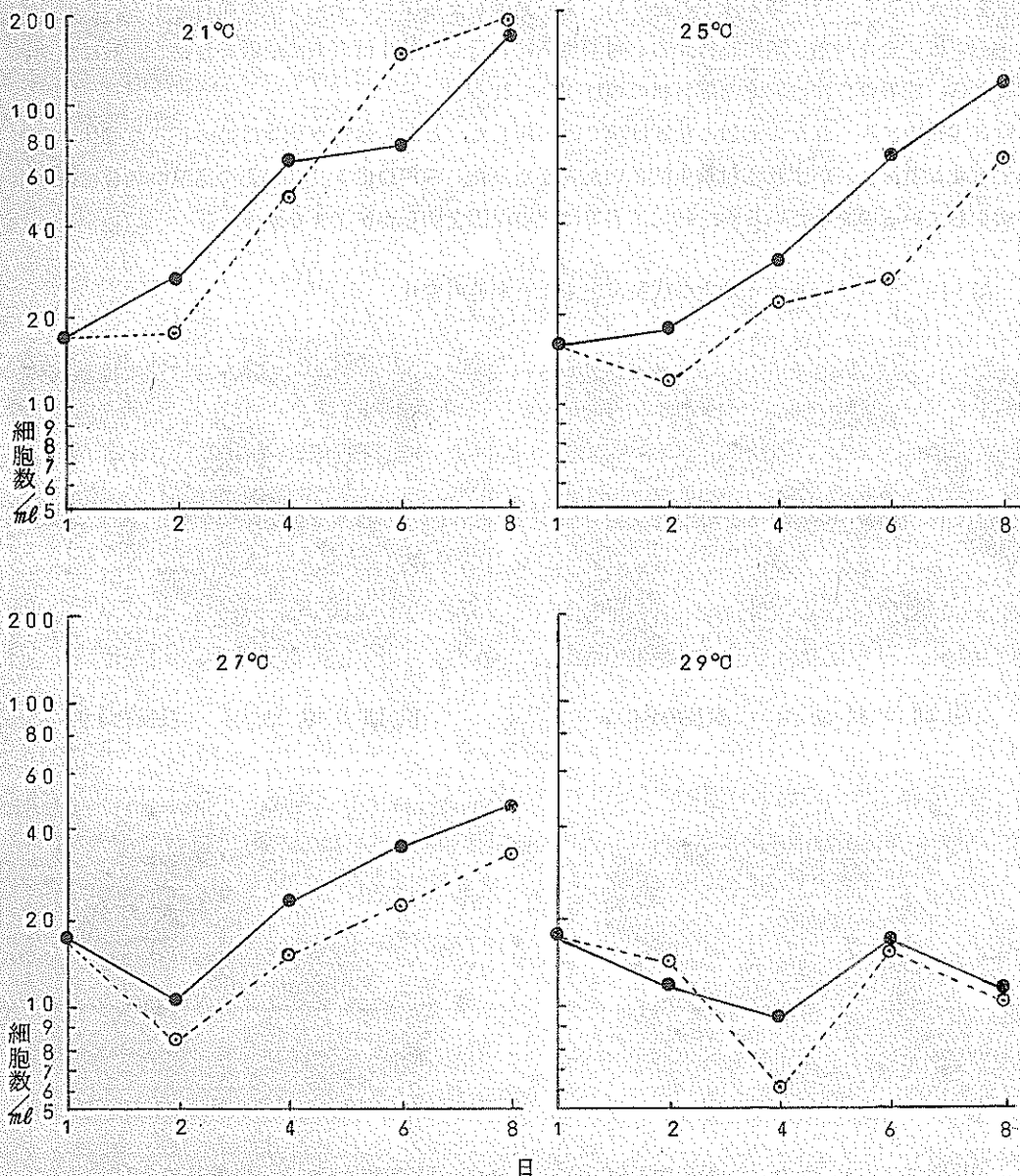
7 温度および海水比重の *M. lutheri* の増殖におよぼす影響

温度および培地海水の比重は *M. lutheri* の増殖に対して、どのような影響をおよぼすかをみた。培養法は静置培養である。結果は次の通りであった。照度は1000 luxである。

- (1) 温度については 25°C 以上では増殖におよぼす負の影響がみられ、 27°C 以上でその影響は顕著であり、8日間の培養では 29°C においては全く増殖しなかった。
- (2) 21°C で培養された *M. lutheri* が 25°C 以上の高温下におかれた場合には、多くの場合半数近くの細胞は頭初24時間内において死滅し、生残し得た細胞の高温馴化によって増殖する傾向がみられた。

(3) 比重については、好適温 (21°C) および異状高温 (29°C) 下においては、その有意な差はみられないが、高温 (25~27°C) 下では、*M. lutheri* の増殖に対して高比重海水 (2.6) は一層阻害的作用をすることが明らかになった。

以上の事実から、クロチョウガイ幼生の飼育において、比較的低温で培養された *M. lutheri* を給餌することによって、餌料効果の減退および飼育水量の悪化をもたらされ、クロチョウガイ幼生の成長および生殖率に阻害的影響を与えることが強調された。



第1図 *M. lutheri* の増殖速度と温度および培地海水濃度の関係

黒点—実線；70%海水培地 白点—点線；100%海水培地

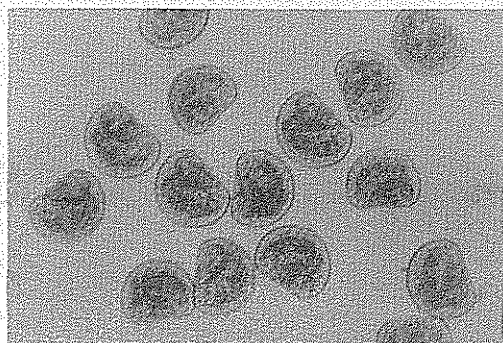
8 幼生の形態および奇形個体の観察

クロチョウガイの発生にともなう形態的变化についてはすでに瀬戸口 () によって明らかにされている。この観察も同様の結果を示した。こゝでは筆者等の観察の結果を奇形個体の殻の状態とあわせて簡単に述べる。

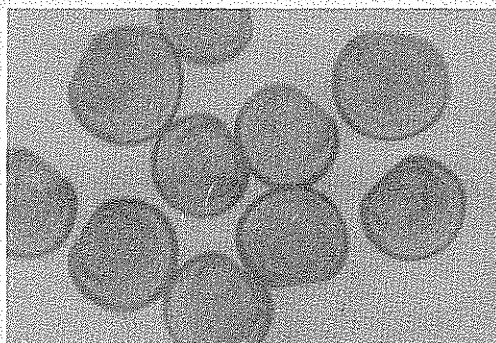
成長にともなう幼生殻の形態的变化を第1回に示した。幼生は殻長が90 μ をこえる頃から殻縁への着色がみられ、100 μ をこえる頃から殻頂の隆起が始まる。殻長190~200 μ になると左右一对の眼点があらわれる。240 μ 前後から匍行運動をおこなうようになる。この時の幼生は面盤で水中を遊泳すると同時に時々泳ぐのをやめ、よく発達した足でカタツムリ様の匍行をする。殻長250 μ 前後には完全な附着生活に移行する。附着生活に移行した幼生は直ちに成殻を分泌し、殻は急速に伸長する。成殻部分には明瞭な網目状の模様が見られる。

飼育実験中にみられた奇形殻の状態は第2図に示した。これらの奇形個体は他の正状の個体が附着してもなお遊泳し、いずれも附着生活にいたらなかった。瀬戸口は30 $^{\circ}$ C以上の高温の場合に奇形率が増加しているのを見て、結局筆者等はその原因を明らかにできなかった。

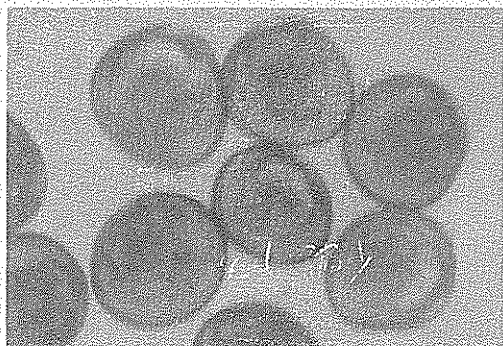
第1図 クロチョウガイ幼生の成長にともなう形態の変化



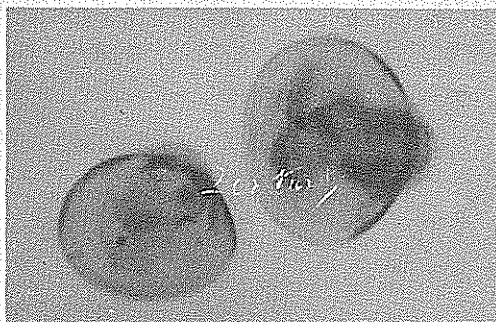
初期 D 状 幼 生 殻長約 80 μ



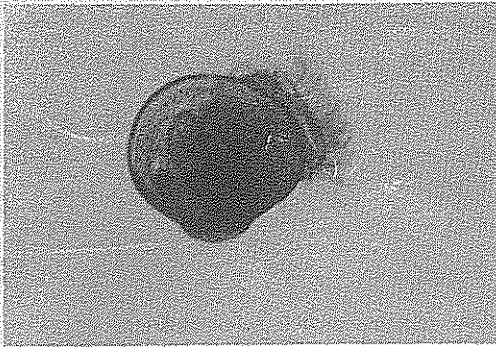
後期 D 状 幼 生 殻長約 100 μ



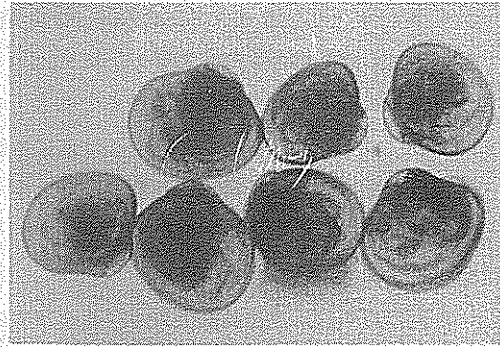
中期 アンボ 幼 生 殻長約 160 μ



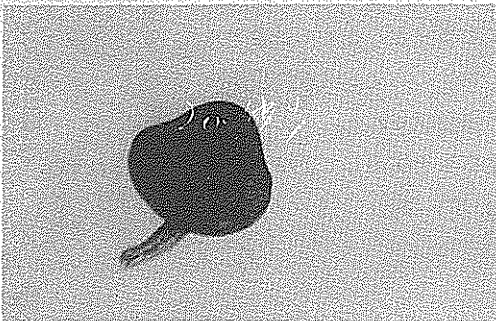
眼点現われる 殻長約 200 μ



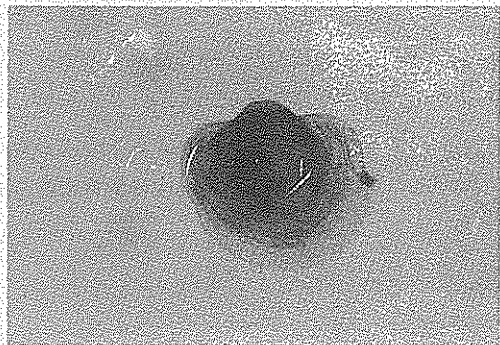
後期アンボ幼生 殻長240 μ



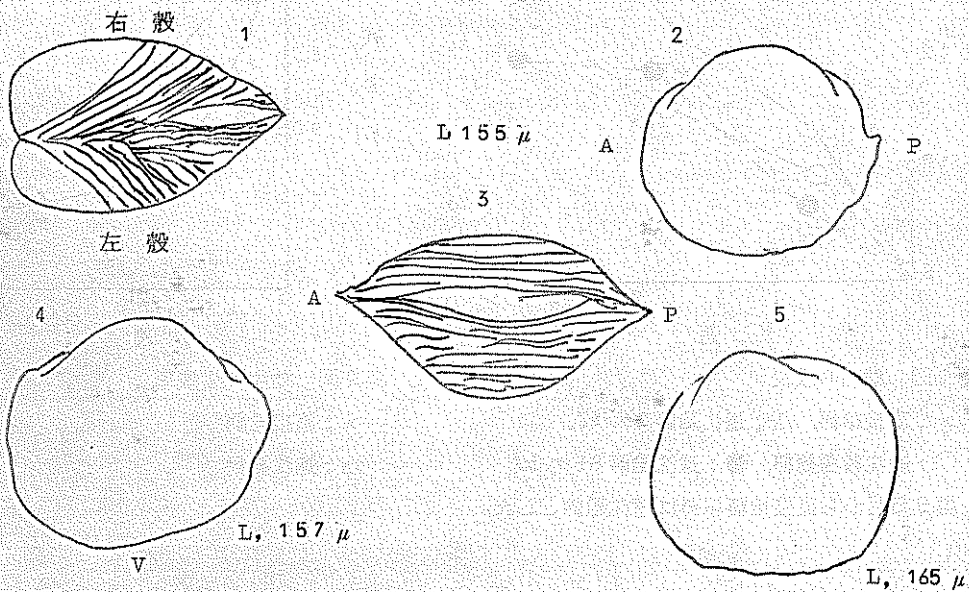
全上



時々足で匍行する Pediveliger幼生
付着直前の幼生 殻長250 μ



付着稚貝



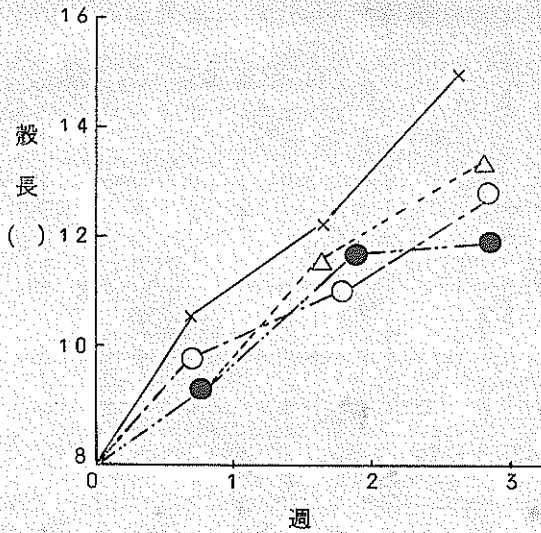
第2図 奇形殻の状態 1~3は同一個体

9 給餌方法とくに給餌前餌料処理方法の幼生に与える影響

給餌方法の幼生におよぼす影響とくに *M. lutheri* を給餌した場合における幼生におよぼす阻害作用が餌料細胞の死滅分解による結果であるとのこれまでの実験結果から得られた推察を確認すべくこの実験をおこなった。餌料処理方法は直接給餌、速沈給餌および速沈殺菌給餌の3通りである。幼生は過度刺激法によって得られた初期D状幼生である。収容密度は2~3ケ/ml 一部は8.5ケ/mlとし、摂食状況成長および生残率について観察した。

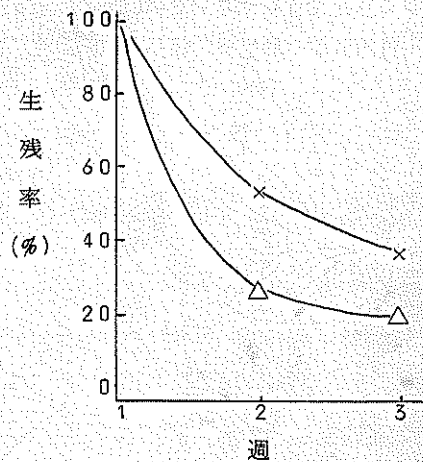
その結果は次の通りであった。

- (1) 直接給餌法、速沈給餌法および速沈殺菌給餌法の順に直接給餌法が最も良い結果を示した。
- (2) その原因は速沈給餌法および速沈殺菌給餌法においては、これらの餌料処理操作によって餌料細胞が生活力減退あるいは死滅させられる結果であると考えられた。
- (3) とくに速沈殺菌給餌法が最も悪い結果を示しているのは、これらの処理操作ずみの細胞を培養しても速沈殺菌処理の細胞は全く増殖せず死滅してしまったこともあわせて考えて、クロチョガイ幼生飼育における *M. lutheri* を給餌した場合の幼生に与える阻害作用が *M. lutheri* の生活力減退なく死滅によるものであることが一層強調された。
- (4) この実験の結果からも幼生の飼育に際して直接給餌法を採用して支障がないと考えられた。
- (5) なおこの実験の結果、650g—2.0分の処理では餌料細胞に対して何らかの阻害作用をおよぼすことが認められた。



第1図 幼生の成長

- x ; 直接給餌, Δ ; 速沈給餌 2ケ/ml
 ○ ; 速沈殺菌給餌, ● ; 速沈給餌 8.5ケ/ml
 第5日目から直接給餌以外は速沈給餌とした。



第2図 幼生の生残率

- x ; 直接給餌
 Δ ; 速沈給餌

第1表 給餌方法と摂じ状況

容器	セット後の経過日数				幼生の収容密度 (1ml)
	1	2	3	4	
A	++	—	+	—	3
B	++	—	+	+	85
C	+++	+++	+++	+++	3
D	++	+	++	++	2

A; 速沈殺菌給餌, B; 速沈給餌, C; 直接給餌, D; 速沈殺菌給餌 (2日目から速沈給餌)
+++; せつじ活発, ++; よくせつじしている, +; わずかにとっている, —; 全くとっていない

結論と今後の問題

以上の結果から次のことが結論される。

1. 採卵について

温度刺激法によることが有効でかつ必要である。またこの方法は4月から11月の期間内ではいつでも行なえる。ただし秋期には暴風直後の晴天の日にわりと一斉に自然放卵することがみられるので、採卵計画実施はこの点が考慮されなければならない。

なお実験7の結果から夏期高温時の幼生飼育はできるだけさけることが必要と思かれるので、早い時期3月頃の採卵は検討されなければならない。

2. 餌料について

初期幼生の安定した餌料は現在のところ *M. lutheri* のみである。幼生に摂取される餌料の大きさは5~7 μ 以下のものである。800~1000 lux 照度の下では *M. lutheri* の最高増殖濃度は 2×10^6 細胞/ml である。

- (1) *M. lutheri* の培養は L-0 培地を用い照度 3500 dux 下で行ない、高密度培養を計る必要がある。
- (2) 至適餌料の複数以上の確保を計る必要がある。
- (3) そのために差し当っては *Gaetoceros simplex* の初期幼生餌料としての不安定性を究明しなければならない。
- (4) 高温培養のもとでは *M. lutheri* は毒性代謝産物を生産すると言われているが、歴代培養による *M. lutheri* の高温 (25~27°C) 馳化をはかり餌料価値の検討を試みなければならない。
- (5) その際は70%海水培地を用いることが有効である。
- (6) 後期幼生および稚貝に対する至適餌料および混合餌料について検討する必要がある。

3. 給餌法について

直接給餌法で支障がない。毎日 $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{2}$ 換水し、飼育水 1ml 当り 5000~10000 細胞となるように少なくとも1日2回に分けて給餌することが必要である。

なお各發育段階における至適給餌量を検討する必要がある。