

れぞれ3個体、14個体、および、20個体の計37個体であった。このうち1週間以内に死亡した個体は0個体、1個体、および、2個体の計3個体で、死亡率は0.0%、7.1%、および、10.0%で全ての供試個体の死亡率は8.1%であった。特に対照区を設定して比較はしなかったが、干出刺激や生殖腺懸濁法などの非致命的な放卵放精手法による採卵に供した場合とKCl打注による採卵を供した親ウニの死亡率を比べても特に死亡率が高いという印象はない。また、KCl打注によって得られた受精卵を用いた浮遊幼生飼育にも特に問題はなかったので、親ウニの再利用を目的とする非致命的な放卵放精の誘発手法として十分に利用できることが確認できた。また、干出刺激や生殖腺懸濁法と比較して採卵、媒精、洗卵、および、孵化槽への収容作業が計画的に行うことができるなどのメリットもあることが確認できた。

残された問題点

本年度はKCl打注法による採卵の可能性とその後の死亡率について確認できたが、採卵に供した親ウニを養成して再度、採卵に使用することが可能であるかの確認はまだできていない。また、親ウニを養成する期間中に要するコストについても検討する必要がある。その一方で、同じ親ウニを繰り返し採卵に供することは、種苗放流海域のシラヒゲウニ集団の遺伝的多様性を維持するための配慮が必要となる。しかし、後述する浮遊幼生飼育時における減耗対策が確立されれば親ウニを恒常的に確保しておく必要性がなくなる。また、種苗生産コストの削減や放流する種の遺伝的多様性の問題を考慮すると種苗生産の回次毎に天然海域から親ウニを採集し、採卵に供した後に再び採集海域に放流することも考えられる。

2) 浮遊幼生飼育技術開発

目 的

これまでの種苗生産施設における浮遊幼生飼育では幼生の生残率が0~50%と不安定かつ低く推移してきた。その要因として、幼生の沈殿が大きな要因と考えられてきた。このことを基に回転数可変式アジテータ（以下、アジテータとする）を備えた1.0t浮遊幼生飼育水槽（図2：以下、幼生飼育水槽とする）20基を配置した浮遊幼生飼育室（以下、幼生飼育室とする）と海水精密濾過装置を備えたシラヒゲウニ種苗生産施設を新規に整備した。本年度の浮遊幼生飼育技術開発はこの新規に整備された種苗生産施設における種苗量産の実証と浮遊幼生の飼育密度と給餌する浮遊珪藻 *Chaetoceros gracilis* の適切な添加量を検討した。

方 法

浮遊幼生飼育および浮遊珪藻培養施設

シラヒゲウニ受精卵の孵化および浮遊幼生飼育は 20~500lx程度に遮光され、エアコンで室温を25~27℃程度に管理できる専用の幼生飼育室で行った。幼生飼育室には孵化および浮遊幼生飼育用の浮遊幼生飼育水槽20基が設置されている。幼生飼育室には海水精密濾過装置（処理能力12t/hr；粒径0.02 μ m以上粒子 $10^3 \sim 10^4$ 個/mL以下；紫外線殺菌装置付き）から精密濾過海水が供給され、受精卵の孵化および浮遊幼生の飼育水に用いた。浮遊珪藻培養室はコンタミを防止する目的で、浮遊珪藻・付着珪藻の培養を別室で行っている。浮遊珪藻培養室は主に *C. gracilis* を培養しており、5Lフラスコが132個、30Lパンライト9個、200Lアルテミア孵化槽11個を同時に培養可能で、種苗生産初期では3~5Lフラスコで培養を行い、投餌量に合わせ順次培養規模を大きくしている。浮遊珪藻培養室には蛍光灯と自然光による光の照射が可能で、培養温度は大型クーラーを使用して室温を管理することによって19~30℃の間で調整可能であ

る。

浮遊珪藻培養

浮遊幼生期の餌料として使用した *C. gracilis* の培養方法は、フラスコに精密濾過海水及びメタ珪酸ナトリウム 0.045g/L を入れ、高圧蒸気滅菌器で 120℃・20分 で滅菌し、KW2 1 (第一製網) 0.5mL/L で栄養添加し、100mL フラスコで静置培養した元種を入れ通気培養した。また大量培養用に 30L パンライト及び 200L アルテミア孵化槽を使用し、次亜塩素酸ナトリウム 0.1mL/L で滅菌し、チオ硫酸ナトリウム 0.025g/L で中和し、メタ珪酸ナトリウム 0.045g/L 及び KW2 1 0.5mL/L で栄養添加し通気培養を行った。植継は通気培養している 5L フラスコから行い、原生動物のコンタミが多く見られる場合は、新たに 100mL フラスコで静置培養した元種から拡大培養を行った。植継は 5万~30万 cell/mL で行った。また 200L アルテミア孵化槽では、コンタミの防止と培養日数の短縮のため、海水 150L で使用し、3 回次の生産では、200L アルテミア孵化槽 6 本を培養室外 (屋内、照度・温度コントロールなし) で培養した。培養条件は光量子 $180\sim 240 \mu \text{molS}^{-1}\text{m}^{-2}$ 、温度 25℃ で培養を行った。平成 12 年度の浮遊珪藻の培養は終始不調でその原因が元種として使用していた *C. gracilis* に原生動物のコンタミが疑われたことから、本年度は養殖研究所由来の同種耐高温株を導入した。

採卵、媒精および孵化

採卵に使用した親ウニは 2001 年 5 月 23 日に古宇利島地先で採集された天然個体 15 個体を用い、6 月 22 日に同じく古宇利島地先で採集された天然個体 14 個体を用い、そして、10 月 3 日に沖縄島宜野野村漢那地先から採集された天然個体 20 個体を用いた。採卵方法は、生殖腺懸濁刺激法、口器除去と KCl 刺激法 (以下、口器除去+KCl 法とする)、および、KCl 打注法を行った。生殖腺懸濁刺激法は 500L 水槽に親ウニを収容し、そこに雄ウニから割り出した精巢を 100 μm ミューラガーゼで濾しながら懸濁させて放卵放精が誘発されるのを待ち、放精を始めた雄ウニは随時、別水槽に移しながら適宜に水槽内の海水を排水しながら受精卵の回収を行った。媒精は採卵用の 500L 水槽内で行われていると判断し特に行わなかった。受精卵の回収は、500L 水槽の排水口に海水を満した 30L パンライトを受け、100 μm ミューラガーゼ製手網 (ゴミ除去用) を内に入れた 60 μm ミューラガーゼ手網 (受精卵回収用) で受けながら排水し、60 μm ミューラガーゼ手網に濾された受精卵を回収した。口器除去+KCl 法は、口器を除去し殻内を海水で溜いだ親ウニを精密濾過海水を満した 200mL ビーカーに口器部を上にした状態で置き除去した口器部分から 0.1mol/L KCl を注入して 200mL ビーカー内に放卵放精させる方法で行った。媒精は海水を満した 30L パンライトに 100 μm ミューラガーゼ製手網を内に入れた 60 μm ミューラガーゼ手網に少量ずつの精子を入れて数分間静致して行い、洗卵はそのままの状態に精密濾過海水を流水して行った。KCl 打注法でも前述のように放卵放精させ口器除去+KCl 法と同様に媒精、洗卵した。それぞれの手法で得られた受精卵は実体顕微鏡で観察しおおよそ 8 割以上の卵に受精膜が確認できる状態のものを、浮遊幼生飼育室内に設置した 1.0t パンライトに収容し微通気でふ化させた。孵化槽の海水は精密濾過海水を用い、卵数は容積法を用いて推定した。孵化した幼生は翌日に精密濾過海水を満した 200L パンライトに 60 μm ミューラガーゼ手網を受けながらサイホンで海水ごと吸い出して浮遊幼生飼育水槽に分槽した。

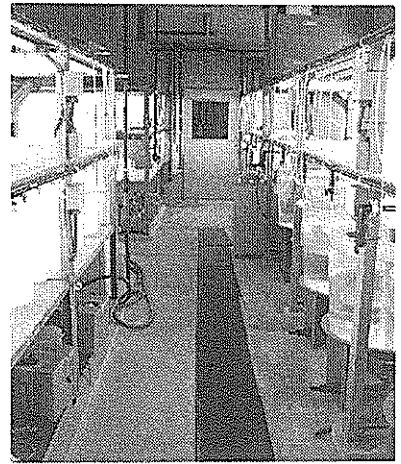


図1 浮遊珪藻培養室の状況

浮遊幼生飼育

幼生飼育には精密濾過海水を用い、アジテータは3rpm程度から開始し、幼生の発達が進み水槽の底に幼生の沈殿が確認されたら、暫時、回転数を上げ最大は15rpm程度に留めた。

収容した浮遊幼生は毎日、容積法で浮遊幼生数を推定して日令7日までに幼生の密度を調整した。第3回次目では、浮遊幼生の飼育密度(D)を高密度区 ($D \geq 0.7$ 個体/mL)、中密度区 (0.7 個体/mL $< D \leq 0.5$ 個体/mL) および低密度区 ($D < 0.5$ 個体/mL) に区分し、浮遊幼生の計数時に幼生の発達段階毎の計数も行い発達段階の同調状況も観察した。浮遊幼生の生残率は採苗時の浮遊幼生数(採苗日からさかのぼって1週間の浮遊幼生数の

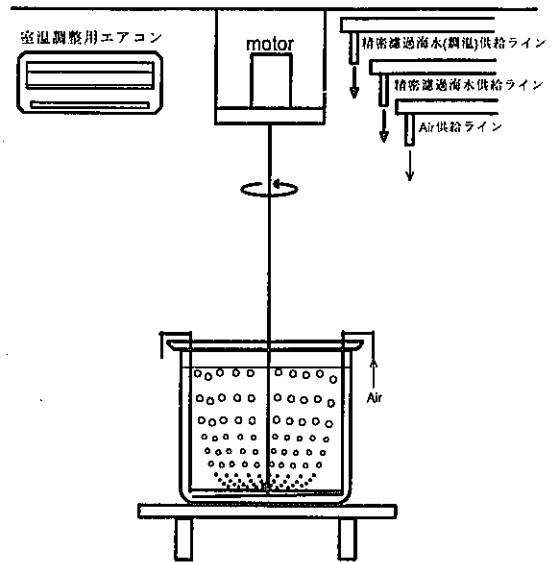


図2 回転数可変式アジテータ付き浮遊阿遊幼生飼育槽

平均値) を収容時の浮遊幼生数(日令7から1週間の浮遊幼生数の平均値) で除して求めた。

換水は、日令6日20%から開始し、暫時、増加させ最大50%とした。換水方法は、精密濾過海水を満たした200Lパンライトに100 μ mミューラーガーゼ手網に受けながらサイホンで飼育水を排出した。同時に吸い出さる浮遊幼生は100 μ mミューラーガーゼ手網内に滞留させて回収し幼生飼育水槽に戻した。

給餌は日令4日から培養した浮遊珪藻 *C. gracilis* を直接、浮遊幼生飼育水槽に投入した。投入量は日令10日5,000cell/mL、日令15日10,000cell/mL、日令20日35,000cell/mL、日令25日45,000cell/mLを目安にして当日の残餌量を参考にして増減させた。残餌量はプランクトン計数板(計数容積0.1mL)を用いて計数し、前日の換水後の残餌量(残餌量 \times 換水率)と投餌量の和から当日の残餌量を減じて推定摂餌量を求めた。

結果と考察

浮遊珪藻培養

培養規模は3 \cdot 5Lフラスコ、30Lパンライト、200Lアルテミア孵化槽を使用し、それぞれの投餌時における平均培養密度は326.4万cell/mL、336.8万cell/mL、253.7万cell/mLで、その密度に達するのにかかった平均日数は5.2日、4.3日、7.4日、であった。また、30Lパンライト、200Lアルテミア孵化槽培養中に原生動物のコンタミがあり、30Lでは30%、200Lでは6%を培養途中で廃棄した。

浮遊幼生飼育結果

本年度行った浮遊幼生飼育は、第1回次(1.0t \cdot パンライト1基; 飼育期間5/23 \sim 6/29; 飼育日数37日)、第2回次(1.0t \cdot パンライト20基; 飼育期間6/23 \sim 8/4; 飼育日数43日)、および、第3回次(1.0t

表2 H13年度シラヒゲウニ浮遊幼生飼育結果一覧

回次	水槽		採卵日	採苗日	飼育日数	幼生個体数(千個体; 千個体/t)				生残率
	基数	容積				収容時	採苗時	平均	密度	
1回次	1	1.0	2001/5/23	6/29	37	599	271	424	0.4	45.2%
2回次	20	1.0	2001/6/23	8/2-5	42-43	18,122	13,572	15,238	0.8	74.9%
3回次	20	1.0	2001/10/3	11/2-4	30-32	12,902	10,595	11,708	0.6	82.1%

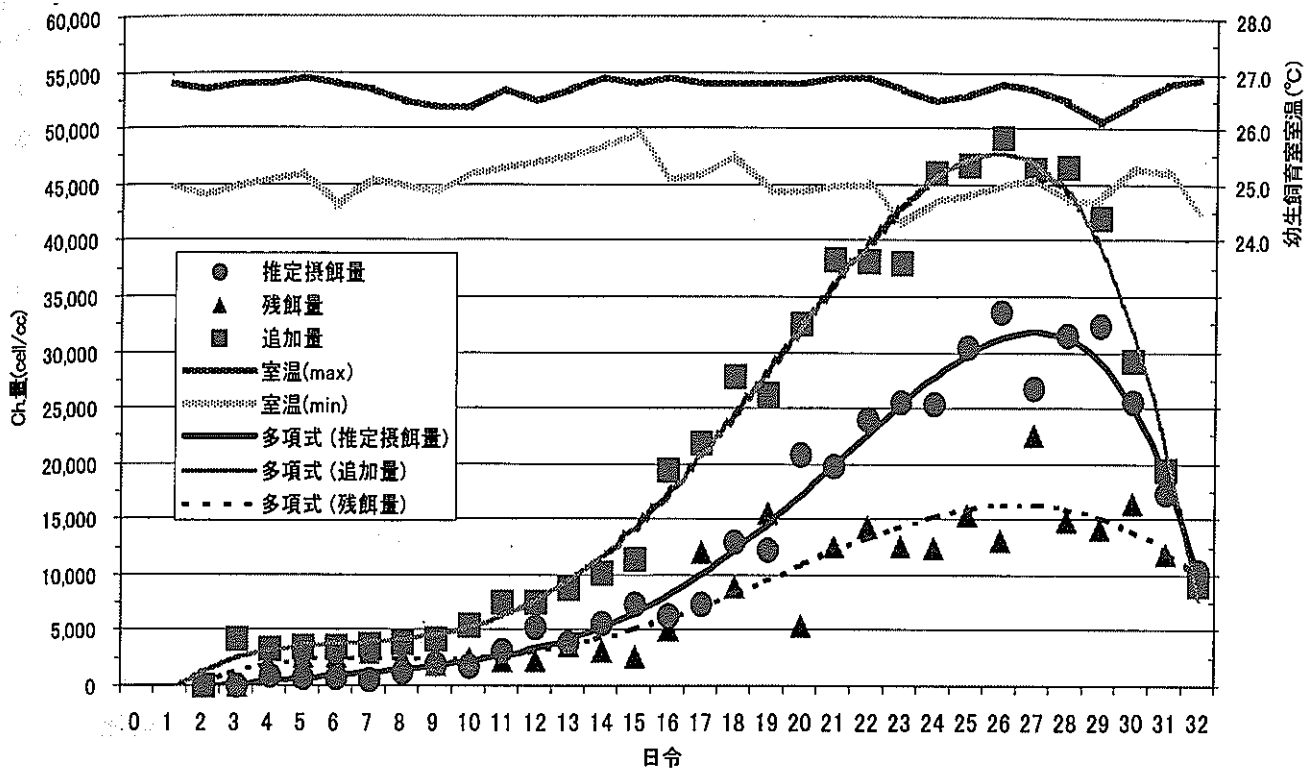


図3 シラヒゲウニ浮遊幼生推定摂餌量の推移 (第3回次)

表3 第3回次シラヒゲウニ密度別浮遊幼生飼育結果

水槽No.	密度区分	幼生個体数(千個体)			飼育密度 (個体/cc)	生残率
		収容時	採苗時	平均		
# 1	低密度	496.7	405.0	438.9	0.4	81.5%
# 2	中密度	850.0	361.0	600.5	0.6	42.5%
# 3	低密度	331.8	291.0	310.9	0.3	87.7%
# 4	中密度	591.7	635.0	622.2	0.6	100.0%
# 5	低密度	427.3	360.0	389.2	0.4	84.2%
# 6	高密度	973.3	1,097.0	1,024.0	1.0	100.0%
# 7	高密度	1,006.7	670.0	850.8	0.9	66.6%
# 8	高密度	1,335.0	880.0	1,131.0	1.1	65.9%
# 9	低密度	186.7	255.0	234.1	0.2	100.0%
#10	中密度	762.7	663.0	726.5	0.7	86.9%
#11	中密度	416.7	462.0	437.5	0.4	100.0%
#12	中密度	650.8	466.0	550.9	0.6	71.6%
#13	中密度	673.0	704.0	684.3	0.7	100.0%
#14	低密度	520.0	320.0	409.5	0.4	61.5%
#15	中密度	536.7	588.0	559.4	0.6	100.0%
#16	中密度	592.0	560.0	558.1	0.6	94.6%
#17	中密度	666.7	638.0	630.8	0.6	95.7%
#18	中密度	780.7	450.0	605.1	0.6	57.6%
#19	中密度	636.7	550.0	584.1	0.6	86.4%
#20	低密度	467.0	240.0	360.5	0.4	51.4%
Total		12,902.0	10,595.0	11,708.1	0.6	82.1%
	高密度	3,315.0	2,647.0	3,005.7		79.8%
	中密度	7,157.5	6,077.0	6,559.3		84.9%
	低密度	2,429.5	1,871.0	2,143.1		77.0%
Avr.		645.1	529.8	585.4	0.6	82.1%

※生残率が100%を越えた水槽については便宜的に100%とした。

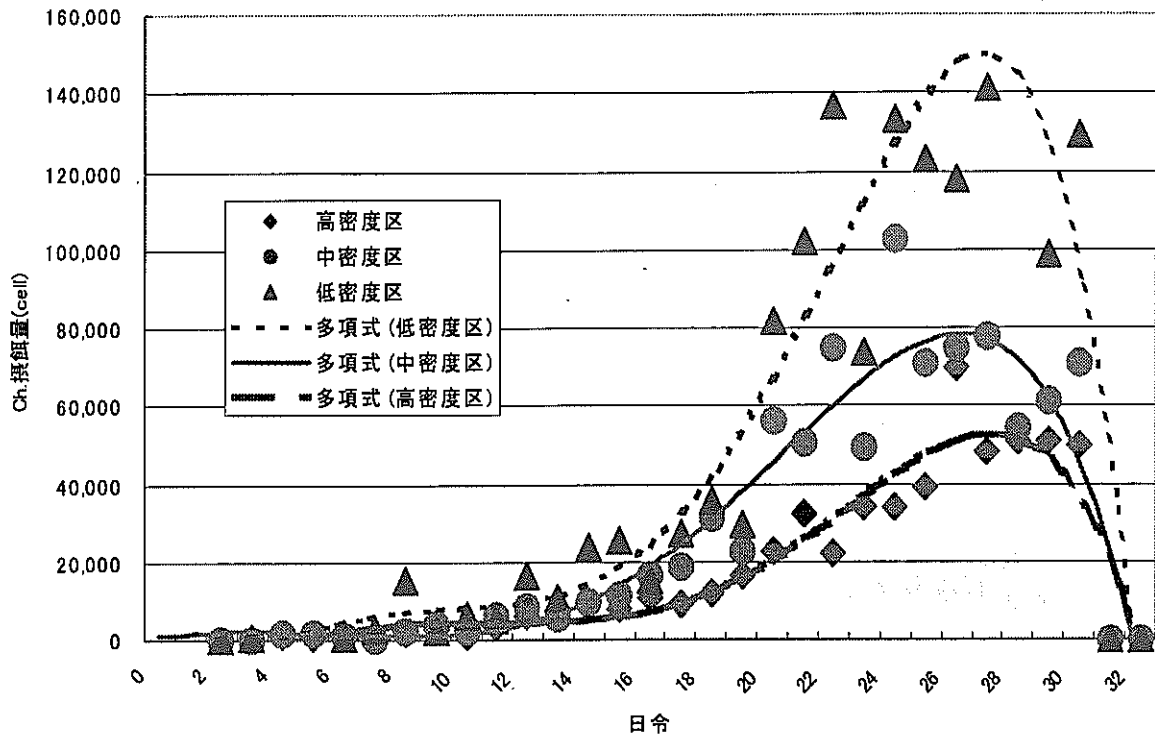


図4 シラヒゲウニ浮遊幼生の飼育密度別の1個体当たり摂餌量(第3回次)

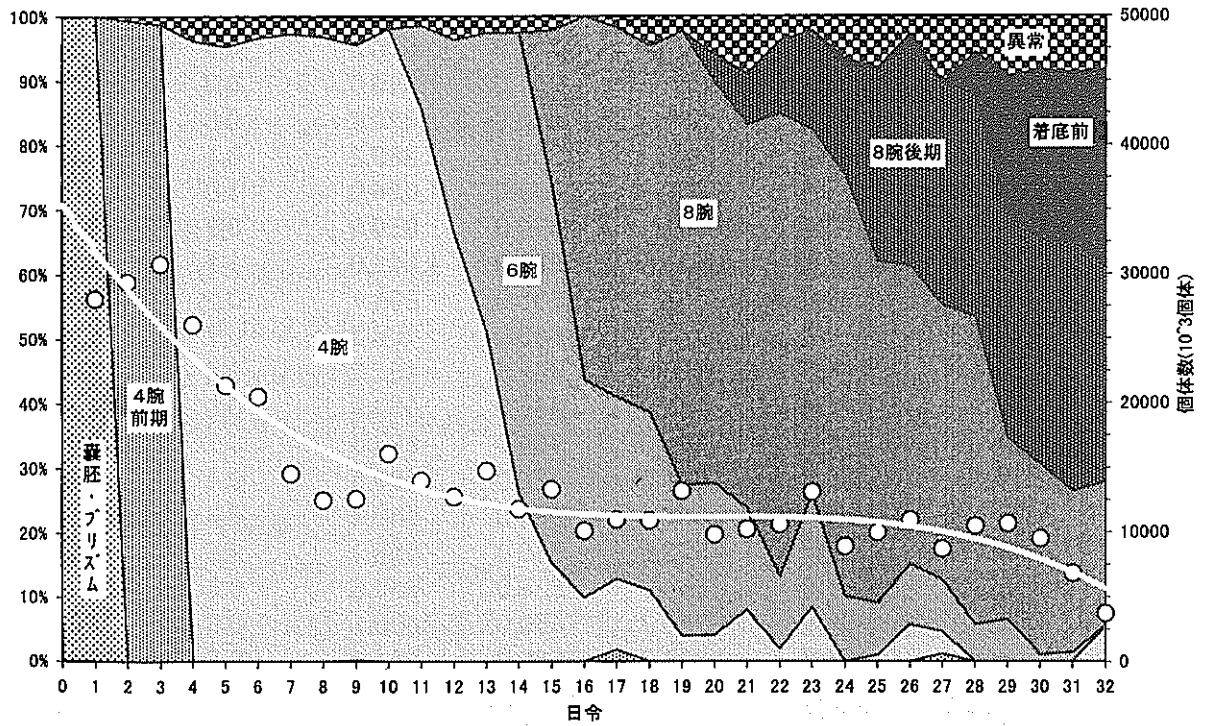


図5 シラヒゲウニ浮遊幼生の発達段階の推移

パソライト20基；飼育期間10/3～11/4；飼育日数30日)を行った。第1回次および第2回次の飼育日数が37日および43日間に及んだ要因については今のところ不明だが、餌料の不足および飼育水温の上昇が考えられる。

生残率はそれぞれ、45.2%、74.9%および82.1%であった。第1回次が他の回次に比べて低い生残率であったのは、浮遊幼生飼育に使用する各種の装置の作成や調整を行いながらの飼育であったので十分な管理が行き届かなかった事が原因と考えられる。残りの2回次については過去の種苗生産と比較しても高く、第3回次では八腕後期と着底直前幼生が浮遊幼生全体の64%に達した。本年度から浮遊幼生飼育に精密濾過海水を使用したがこのことが浮遊幼生の生残率を高めたと考えられるが、その詳細については明らかでない。また、生産回次が少ないので今後も生産回次を重ねて検証する必要がある。第3回次に行った飼育密度毎の浮遊幼生飼育の生残率には特に差は見られなかった(表3)。

第2回次および第3回次の浮遊幼生飼育における各回次毎の平均推定摂餌量は、第2回次では、日令7日2,500cell/mL、日令14日5,000cell/mL、日令21日7,000cell/mL、日令28日14,000cell/mLと暫時増加し、日令36日24,000cell/mLまで増加した。第3回次においては日令7日2,000cell/mL、日令14日5,000cell/mL、日令21日20,000cell/mLと暫時増加し、日令27日32,500cell/mLまで増加した(図3)。両回次の残餌量を比較すると第2回次は終始低い水準で推移しているのに対して、第3回次は推定摂餌量と同調するように増加している。本年度の結果を見る限りでは、第2回次の浮遊幼生飼育は全体に餌不足であった可能性があり、浮遊幼生の飼育期間が長期化した要因となった可能性もある。

残された問題点

浮遊珪藻培養

平成13年度の3回次の浮遊幼生の飼育結果から、高密度飼育区での餌料不足の可能性があり、今後の餌料安定供給の面からも浮遊珪藻の増産が必要である。現在最大1兆cell/dayの生産を行っているが、現行の施設ではほぼ限界となっており、培養規模の拡大、投餌時の濃度を増加、別種餌料等の検討が必要である。

本年度は培養規模の拡大として本年度は、培養室外での培養を行った。培養室内に比べ増殖速度は落ちるものの、濃度は同程度の結果(200万cell/mL)が得られた。

培養濃度の増加としては、200Lアルテミア孵化槽の培養濃度は光量によって限定されており、高濃度時における照度量の検討が必要である。

別種餌料としては、現在*Paedactylum tricornutum*を平良市栽培漁業センターより導入し培養している。*P. tricornutum*は*C. gracilis*よりも増殖速度が速く、濃度も*C. gracilis*に比べ最大約3倍(25°C、180～240 μ molS⁻¹m⁻²)までなり、次年度以降の導入を検討する。

浮遊幼生飼育

本年度から開始した新規に整備された浮遊幼生飼育室および海水精密濾過機を用いた浮遊幼生飼育では浮遊幼生の生残率について良い成果を収めた。また、浮遊幼生の飼育期間中の推定摂餌量の推移を知ることができた。しかし、過去の浮遊幼生飼育では本年度第3回次の浮遊幼生飼育より少ない投餌量で良い結果を出した事例もあるので、浮遊幼生飼育における適切な摂餌量についてはさらに検討を加える必要がある。

高密度飼育の対策

本年度の浮遊幼生飼育における飼育密度毎の生残の差は見られなかった。しかし、適切な密