

---

---

## 2. 大量採卵技術の開発

### (1) 1kℓ水槽を用いた採卵・孵化試験

(井戸本純一・橋本佳樹)

#### 目 的

セタシジミは、小型であるために1個体あたりの産卵量が少なく、種苗の大量生産を行うには大量の親貝を使った能率的な採卵方法を確立する必要がある。親貝の確保については、これまでの経験から、湖水流水による飼育と同一池での産卵の同調性を利用することによって、採卵可能な親貝を大量に準備することが可能であることが明らかになってきた。採卵方法についても、当初の粗放的な手法から、昨年度は水槽での集約的な採卵に実験的な規模ながら成功した。しかし、卵の取り扱いおよびインキュベーションの方法については、いくつかの問題点が提起された。1つは、採卵槽から孵化槽へ移し替える際の卵の物理的耐性の問題、そして、卵の適正な収容密度とそれに影響をおよぼす要因（水深など）との関係、さらには、作業の能率の問題などである。

そこで本年度は、事業化を想定したより実用的な技術の開発とそのための実践的な知見を得ることを目的として、採卵から孵化までを一貫して1つの水槽で行う省力的な方法について検討した。

#### 材料および方法

**親貝** 採卵に用いた親貝は、前掲の飼育試験において、産卵が認められた池からその日のうちに取り上げられたもので、同一池のものを同一群として扱った。

**採卵槽** 採卵および孵化までのインキュベーションには、1kℓ丸型FRP水槽（1,360mmφ×800mm規格：底面積=13,063cm<sup>2</sup>）、1kℓ角型FRP水槽（910mm×1,810mm×700mm規格：底面積=15,136cm<sup>2</sup>）、0.5kℓ丸型FRP水槽（1,000mmφ×750mm規格：底面積=7,235cm<sup>2</sup>）および1kℓポリカーボネート水槽（1,360mmφ×800mm規格：底面積=13,063cm<sup>2</sup>）を用いた。

**採卵方法** 死貝を注意深く取り除いてよく洗った親貝をかごに収容し、簡易濾過湖水（または地下水）を張った採卵槽に浸して一晩置き、翌朝に取り上げた。採卵槽の水深は60～70cmで、かごの位置は親貝が水面から15～20cmの深さにくるようにし、卵が均一に広がって底に沈むように、水槽の中心部、親貝の直上付近で、エアーストーンを使った通気に

よる攪拌を行った(図15)。1つの採卵槽に収容した親貝の量は、1～4kgのあいだで変化させたが、1kℓの水槽に1.5kg収容するのが主であった。

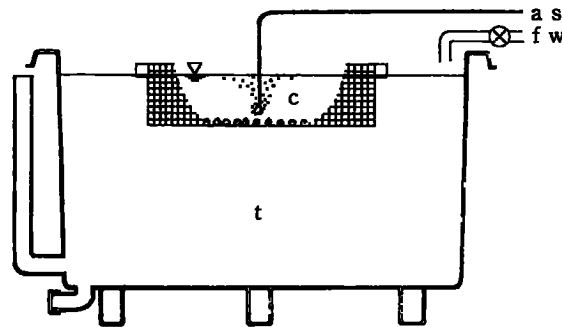


図15 採卵装置の概要。t,1kℓ FRP水槽; c, 親貝収容かご; as, 給気; fw, 濾過湖水。水深約60cm。

**採卵方法** 親貝とエアーストーンを取り除いた後、しばらくのあいだ卵が沈むのを待ち、オープニング95 $\mu$ mのミューラーガーゼを通した上部約3分の2の水を、細いサイフォンを使って静かに排出した。新しい簡易濾過湖水(または地下水)をもとの水位まで静かに注入し、水面下25～30cmのところにエアーストーンを投入して通気を行った。孵化までのあいだ、上記の要領もしくは連続注排水によって、1日あたり約3分の2の水を入れ換えた。

**卵およびD型仔貝の計数** 産卵量およびインキュベーション中の生残率を知るため、以下の方法によって採卵槽内の卵およびD型仔貝を計数した。換水のために水位が下がった採卵槽の底の数カ所に、輪切りにしたゴム管(内径18mm、肉厚3mm、高さ15mm)を押し当てて内側の円内の卵をすべてピペットで吸取り、200mlのメスシリンダーに移した。水量を50～100mlに調整してよく攪拌したのち、3枚の野線入りシャーレにこの卵の懸濁水を1mlずつとり、それぞれの卵数をすべて数えて平均した。この値からメスシリンダー内の卵数を算出し、採取面積から水槽内の全卵数を推定した。

**D型仔貝の取り上げ法** 孵化仔貝の取り上げは、仔貝を水ごとと排出し、オープニング95 $\mu$ mのミューラーガーゼで作った袋で濾過、回収する方法を用いた。

#### 結果および考察

**親貝重量あたりの採卵量** 採卵から孵化までを一貫して1つの水槽で行うためには、卵の収容密度を適正化するために、採卵量を調節する必要がある。そのためには、一定量の親貝からどれだけの卵が得られるのかを把握し、採卵槽に収容する親貝の量を決定しなければならない。セタジミにおいては、親貝を雌雄に選別することは事実上不可能であり、また非常に多くの個体数を扱う必要があることから、採卵にあたっては、親貝の量はすべて雌雄の混合した個体群の重量を規準に取り扱った。なお、今回飼育池から取り上げた親貝の性比は約1.17で、雄の比率が若干高かった。

図16は、各採卵槽における親貝重量あたりの採卵量を、各親貝群について採卵日別に示している。産卵の集中した6月14、15日に採卵した群では平均9,200～10,600粒/gの採卵量であったが、6月7日に採卵したⅦ(L)群では平均5,000粒/g、6月20日に

採卵したV (Lw) 群では平均6,000粒/gと、産卵日が前後に移動すると採卵量が減少する傾向が見られた。

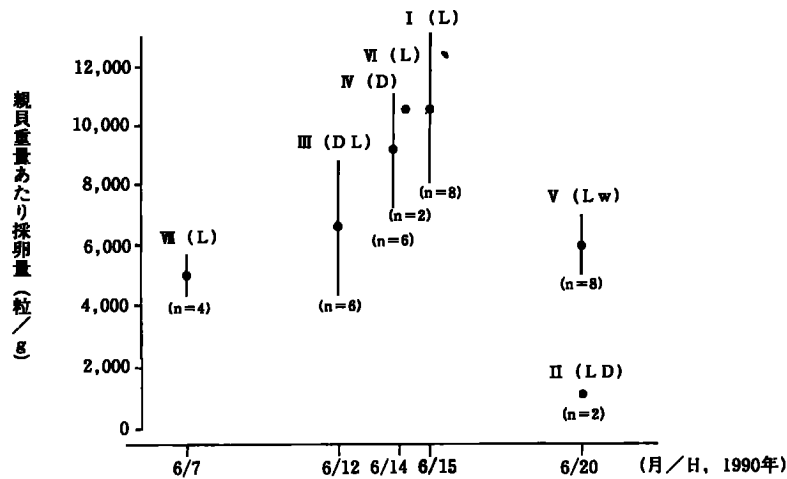


図16 各採卵槽における親貝(雌雄混合)重量あたり採卵量の親貝群別平均と標準偏差(n-1)。

早期に産卵したⅦ(L)群の採卵量が少なかったのは、水温が比較的低かったことに加えて、群成熟度がまだ低かったために産卵の同調性が悪く、産卵した個体が少なかったためと思われる。産卵が6月14日前後に集中し、しかも採卵量が多くなったのは、水温の上昇につれて熟度が高くなるとともに産卵の同調性も高くなっていったためであろう。しかし、水槽での採卵量については、各個体群の第1日目の飼育池における産卵量も考慮しなければならない。同調性が高くなることは、産卵個体の頻度が高くなることと同時に、産卵の第1日目に池中で産卵する個体の頻度が高くなり、採卵槽で産卵する個体が少なくなる危険性のあることを意味している。6月20日に産卵したⅡ(LD)群は、池中での産卵量が著しく多かったため、親貝重量あたりの採卵量は2つの採卵槽でそれぞれ1,000粒/gと1,200粒/gにとどまった。

そこで、取り上げた親貝の抱卵状況と採卵の効率を知る目安として、採卵前後の親貝の生殖腺の外観および内容物を肉眼で観察し、その状態を主観的に判定した例を表12に示した。

表12 肉眼による採卵前後の生殖腺観察結果

親貝群	解剖 個体数	完熟	残卵	未熟 または 過熟	放卵	雄	不明	抱卵*1 個体率 (%)	放卵*2 個体率 (%)	採卵*3 個体率 (%)
Ⅳ(D)	採卵前	33	13	1	0	18	0	40.9	1.5	36.2
	採卵後	53	4	6	17	26	0	13.2	37.7	
Ⅴ(Lw)	採卵前	55	16	5	1	31	0	33.6	6.4	32.6
	採卵後	41	2	2	15	21	1	7.3	39.0	
Ⅱ(LD)	採卵前	45	4	1	14	23	0	10.0	32.2	4.1
	採卵後	51	1	1	18	30	0	2.9	36.3	

\*1\*2「残卵」個体は0.5個体として加算し、「未熟または過熟」個体は含めなかった。

\*3 採卵個体率(%)=採卵後の放卵個体率(%) - 採卵前の放卵個体率(%)。

ここでいう抱卵個体率とは、雄を含む全個体数の中で、熟卵を未放卵の状態を持っていたと想定される個体の割合であり、放卵個体率とは、放卵を完了したと想定される個体の割合で

---

---

ある。また採卵個体率とは、同じく全個体数の中で、採卵槽内で未放卵の状態から放卵を完了したと想定される個体の割合である。

ここで、各親貝群の重量あたり採卵量を抱卵個体率で除することによって得られる、抱卵個体みの重量あたり採卵量の平均は、IV (D) 群では22,500粒/g、V (Lw) 群では17,900粒/g、そしてII (LD) 群では11,000粒/gとなる。また、各親貝群の重量あたり採卵量を採卵個体率で除することによって得られる、産卵個体みの重量あたり採卵量の平均は、IV (D) 群では25,400粒/g、V (Lw) 群では18,400粒/g、そしてII (LD) 群では26,800粒/gとなる。前者の値は採卵時における各抱卵個体の抱卵量、熟度、産卵の同調性などを複合的に反映したものであり、後者の値は各抱卵個体のその時点における産卵能力を表していると考えられる。これらの値から考えると、II (LD) 群の場合、採卵量と採卵個体率がともに著しく少なかったのは、同調性の高かった多くの個体が第1日目に産卵を完了してしまい、同調性の低い個体ばかりが残ったためであり、各個体の産卵量はIV (D) 群と変わらなかったことがわかる。これに対して、V (Lw) 群の場合、採卵個体率がIV (D) 群とあまり変わらなかったにもかかわらず採卵量が少なかったのは、おもに各個体の産卵量が少なかったためであると思われる。

以上のことから、採卵量減少の要因は、採卵個体率の低下と1個体の産卵量の減少の2つに大別することができ、前者はさらに産卵の同調性の低下と、逆に同調性の上昇による飼育池での産卵個体の増加の2つの要因に分けることができる。そして、それぞれの原因としては、1) 産卵の早まりにともなう水温および群成熟度の低下、2) 産卵の遅れにともなう水温および群成熟度の上昇、3) 地下水混入などの飼育環境の劣化による栄養状態の悪化などが考えられる。

このように、各個体群の重量あたりの採卵量は、飼育方法、産卵の時期や規模によって大きく変動することが明らかになった。したがって今後は、単位親貝あたりの採卵量を正確に予測するために、各個体群の抱卵状況を正確かつリアルタイムに把握する技術を確立するとともに、採卵時に水温上昇などの産卵誘発処理を併用することによって採卵個体率を高位に安定させることができるかどうかを検討する必要があるだろう。

**発生率** 採卵の翌日に行った最初の卵の計数時に、発生卵と死卵(未発生卵)を別々に数え、発生率を求めた。全部で36の各採卵槽における発生率は、最高91%、最低77%、平均86%と高い値で安定していた(付表)。これは、この採卵方法によって得られた卵や精子が、十分な受精能を持っていたことを示し、また各配偶子の放出が、自然なプロセスにしたがって行われたことを示唆している。この点については、今後産卵誘発処理の併用などを検討していく際にはとくに注目していく必要があるであろう。

また、狭い水槽内での採卵に等量の雌雄を大量に用いることについて、受精時の精子濃度が高くなり過ぎ、正常な受精が行われなくなることが危惧されるが、今回の結果は、採卵槽内の精子の濃度が、正常な受精に支障をきたすほどに高くはならなかったことを示していると思われる。しかしながら、多精による発生異常が起きていた可能性は否定できないことから、詳細な調査を必要とする余地はあるであろう。

**卵の収容密度** 各採卵槽における採卵時の底面積あたりの卵密度と取り上げ時のD型仔貝

の歩どまりとの関係を、図17に示した。取り上げは放流にあわせて行ったため、採卵から取り上げまでの日数は4日ないし5日であったが、6月7日に採卵したⅦ(L)群の場合のみ7日であり、また地下水を使用していたことから、図17からは除外した。収容密度は、276粒/cml～2,135粒/cmlで、歩どまりの最高は525粒/cmlのときの75.1%、最低は2,135粒/cmlのときの0.7%であった。採卵槽によってかなりばらつきは大きいものの、明かに密度が高くなるにつれて歩どまりが低下する傾向が見られた。

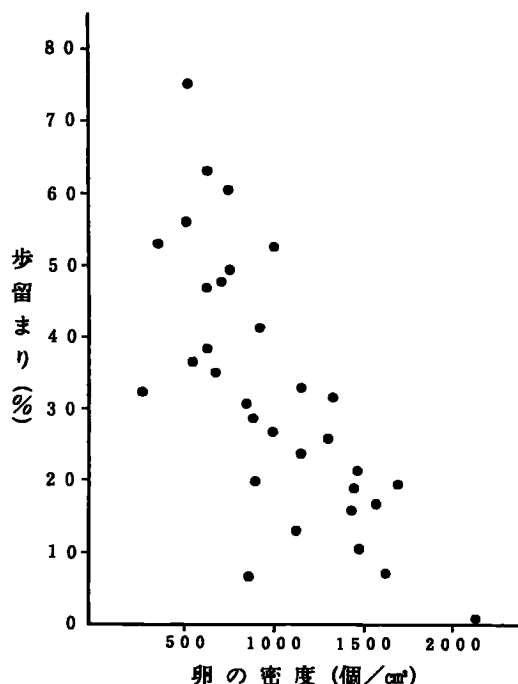


図17 各採卵槽における採卵時の卵の密度と取り上げ時のD型仔貝の歩留まりとの関係

昨年度のピーカーを用いた実験では、水深4cmの場合、生残率の最高は200粒/cmlのときの93.9%であったが、密度が高くなるにつれて生残率は急激に低下し、400粒/cmlのときには38.0%、800粒/cmlのときにはわずか4.1%であった。それにくらべると、今回の結果では、525粒/cmlのときに最高値を記録し、1,000粒/cml付近でも約30%と、歩どまりの低下は比較的緩やかであった。この原因としては、水槽の水深が60～70cmと深かったことと、1日に約3分の2の換水を行ったことから、水量あたりの卵の密度が低くなったためと考えられる。

図18には、1,000粒/cmlを境に収容密度がより高かった場合と、より低かった場合の採卵槽における、インキュベーション中の生残率の推移を示した。生残率は、採卵後2日目まではどちらも90%前後と高かったものの、3～4日目にかけて低下し、その割合は1,000粒/cml以上の場合のほうが大きかった。個々の採卵槽についての観察によると、ヴェリジャー幼生のヴェラムが退化して運動性がなくなった個体（以下、膜内D型仔貝）が現れる時期までの生残率は比較的安定しているが、その後、すべての個体が孵化し終わるまでの1～

2日のあいだに急激に減耗する場合が多かった。

この原因としては、つぎの2つがあげられる。まず1つは、卵膜によって保護されていた胚が、孵化することによって卵や精子の死骸、親目の排泄物、浮泥などによって汚染された環境にさらされるために死亡することが考えられること。そしてもう1つは、孵化にともなう胚の負荷の増大である。セタジミの場合、運動性のない膜内D型仔貝の段階で、卵膜が

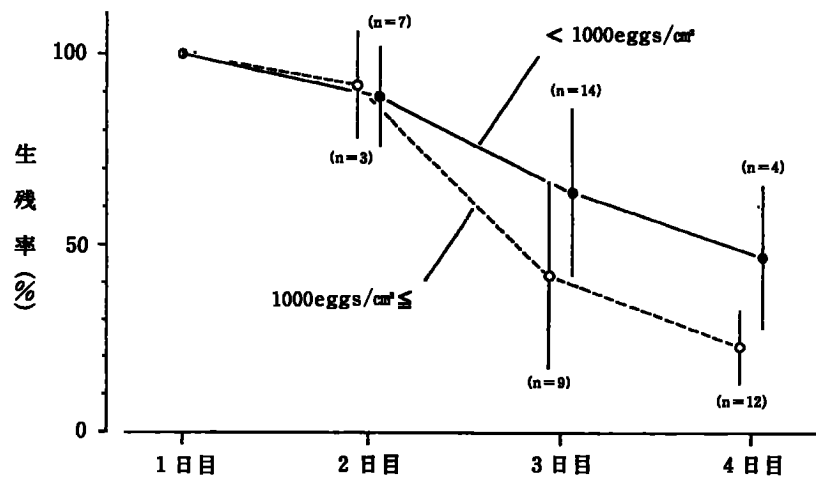


図18 孵卵中の生残率の推移。収容密度別全採卵槽における測定された全値の平均と標準偏差 (n-1) を示す。

消失することによって孵化が完了する。したがって、ある種の孵化酵素の合成、分泌がこの時期に始まるものと思われるが、胚がその運動によって孵化を促進することはない。しかしながら、天然水域においては、水流や波浪による卵の動きや、砂粒の機械的な作用によって孵化が促進されることがあるであろう。それに対して採卵槽内では、卵はほとんど動くことがないため、孵化に要する時間が異常に長くなり、胚に過剰な負荷がかかった可能性がある。

これらの原因を取り除き、孵化率の改善と収容密度の向上を図るためには、用水の清浄化、親目排泄物の除去、換水方法の改良などのインキュベーションの技術を向上させるとともに、仔貝の孵化に何らかの人為的な介助を与えることを検討する必要があるかもしれない。

**1水槽あたりの生産量** 本年度は、飼育池での産卵が例年になく分散したこととあいまって、延べ36基の採卵槽（うち3基は0.5kℓ水槽）を用い、取り上げた親貝の総量約8.6kgの74.4%にあたる6.4kgの親貝から、約4億5千万粒の卵（発生率86%）を採卵し、平均29.5%の歩どまりで約1億1千万個体のD型仔貝を生産した。その結果、1つの採卵槽の生産量は平均3,190,000個体となったが、今回のインキュベーションの条件では、水槽底面積あたりの卵収容量が1,000粒/cm<sup>2</sup>以下の場合にはほぼ30%以上の歩どまりでのD型仔貝の生産が期待できることから、卵収容密度が500～1,000粒/cm<sup>2</sup>であった採卵槽に限ってみると、単位面積あたりの生産量は平均248個体/cm<sup>2</sup>となり、1水槽あたり約3,500,000個体の生産量となる。これらのことから、1水槽に収容する親貝の量は1～1.5kgが適当であったが、採卵量の予測が可能となり、卵の密度を最適に保ち、歩どまりを向上させ

---

---

ることができるようになれば、生産性はさらに向上すると思われる。

なお採卵槽は、底面積の広さ、作業性の良さなどから、丸型よりも角型で、底面に排水口を備えたFRP水槽が適していた。