
2. 大量採卵技術の開発

(井戸本純一・橋本佳樹)

目 的

セタシジミの資源増大をはかるには、数十億単位の大量種苗生産が必要と思われる。しかし、セタシジミの放卵量は、1 個体について10万～25万程度と少なく、大量の卵を得るためには多くの親目を使って効率的に採卵する技術を確立する必要がある。昨年度までの経験から、池中での産卵は2～3日間続くことがわかったので、本年度は、このことを利用して十分に成熟した親目を大量に池から取上げ、室内の施設で集約的、効率的に採卵することを試みた。同時に、

浮遊期間を持たないセタシジミは、卵（沈性）での収容期間が長くなり、その間の占用面積や歩留りが種苗生産の効率を大きく左右することから、卵の効率的で適正な収容方法を検討するための試験を行った。また、計画的な採卵を可能とするため、産卵誘発についても試験を行った。

方 法

1) 集約的採卵

i) 小型コンテナによる採卵

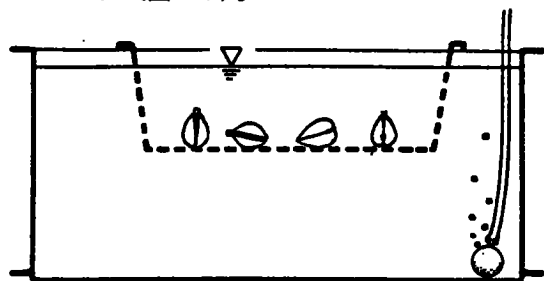
産卵のみられた池から翌日親貝を取上げ、湖水を入れた小型コンテナ 287 mm × 327 mm × 160 mm に各30～50個体収容し、エアレーションを軽く行った（図19A）。

ii) 1 t FRP 水槽による採卵

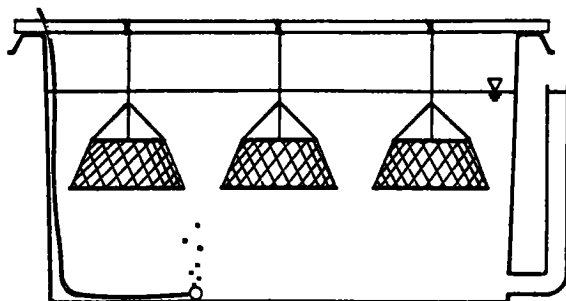
真珠母貝用網かごまたはプラスチック製ウナギかごに200個体前後の親貝を入れ、それを湖水を入れた1 t FRP 水槽に2～3個垂下した（図19B）。

iii) アルテミア孵化槽による採卵

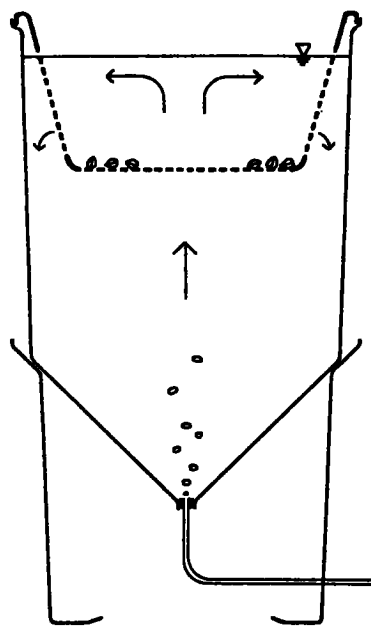
200～250個体の親貝を大型のプラスチック製ザルに入れ、卵が強制的に浮遊させられるように底部から通気を行ったアルテミア孵化槽（100 ℓ）に設置した。水は湖水を用いた（図19C）。



A 小型コンテナ
(30～50個体収容)



B 1 t FRP 水槽
(300～600個体収容)



C アルテミア孵化槽
(200～250個体収容)

図19 集約的採卵に用いた装置

2) 卵の動揺が生残におよぼす影響

アルテミア孵化槽で採卵した場合に、水流による卵の動揺がその後の生残にどのような影響をおよぼすかについて知るために、次のような試験を行った。アルテミア孵化槽で採卵した卵の一部を1ℓのポリプロピレン製イルリガートル（点滴用容器）に収容し、その漏斗部から約450 ml/minの通気を行って卵を浮遊させた。収容卵数は約170,000で、収容時の発生段階はおおむね原腸期にあたり、1割程度の胚は纖毛による回転運動を始めていた。その後、適宜10mlをイルリガートルから抽出し、その時点での生残率を計測するとともに、それをシャーレに収容して静置し、その後の生残率を調べた。試験は、1989年7月26日から8月1日にかけて行った。また、小型コンテナで採卵し、膜内でD型幼生の段階にまで発生した卵（以下D型胚）について、102,000個体を同様のイルリガートルに1週間収容し、シャーレに収容した場合（67個体/cm²）と生残率を比較した。試験期間は、1989年7月10日から7月17日であった。いずれの試験にも、水は汲置き水道水（以下脱塩素水道水）を用いた。

3) 卵の適正収容密度

i) 試験1

小型コンテナ内で産卵された卵（受精後数時間）を、上澄みを捨てて10ℓバケツに収容し、卵を計数して生卵率を求めた。卵の懸濁液を、1ℓビーカー（底面積78.5 cm²）に1 cm²あたり100、200、400および800個（死卵を含む卵数）となるように分注した。その際、フルイによる洗卵の影響をみるための区については、ステンレス製のフルイ（オープニング75 μm）で卵を濾しとり、数回水をかけて洗卵した。そのほかの区については、ビーカー内でデカンテーション（上澄みを取替えて洗浄する方法）を2回繰返した。水深を4 cmと12 cmに調整したのち、卵が均一に広がるようにもう一度攪拌し、湖水を常注したウォーターバス中でインキュベートした。水は脱塩素水道水を用いた。

ii) 試験2

アルテミア孵化槽内で産卵された卵を用い、フルイで洗卵してシャーレ（底面積58 cm²）に収容した。水深は約1.5 cmであった。そのほかの方法については試験1に準じた。

4) 産卵誘発

海産の数種貝類について有効であることが知られている紫外線照射水および過酸化水素水による処理について、^{6, 7, 8)} セタシジミに対する効果を検討した。また、数種イオンの影響、温度処理の効果についても検討した。供試した親貝は、おもに6-1号池のものをを用いた。試験は、1989年5月24日から7月1日にかけて行った。

結果および方法

1) 集約的採卵

i) 小型コンテナによる採卵

6月25日から26日にかけて比較的大規模な産卵がみられた6-1および5-6号池から、一部の親貝を取上げて室内の小型コンテナに収容したところ、6月26日の午後5時頃から約2時間にわたり、多くの親貝が放卵放精を開始した。このときの採卵量は、コンテナ1つあたり15,000から2,550,000粒で、平均1,060,000粒、性比を1とした場合、雌1個体あたり70,000粒であった。その後も池中で小規模な産卵がみられたたびに、同様の方法で

採卵を行ったが、池中での産卵規模の小ささに呼応して、採卵量は少なくなった。

ii) 1 t FRP 水槽による採卵

6月26日の採卵で、小型コンテナに収容しきれなかった親貝約300個体を、1 t FRP 水槽に垂下したところ、約6,400,000粒の卵を得ることができた。この採卵量は、雌1個体あたり40,000粒であった。この方法による採卵も、小型コンテナによるもの同様、池中での産卵規模の縮小に呼応して採卵量が少なくなり、7月7日の採卵では、親貝600個体で2,600,000粒、雌1個体あたり8,000粒の採卵量にとどまった。

iii) アルテミア孵化槽による採卵

7月3日に、200個体の親貝をアルテミア孵化槽に収容したところ、5,300,000粒（雌1個体あたり54,000粒）の卵を得ることができた。この採卵量は、同時期の親貝を使った小型コンテナやFRP水槽による採卵量も多く、その後も比較的コンスタントに採卵することが可能で、7月3日から7月7日にかけての延べ10回の採卵では、平均3,700,000粒（雌1個体あたり38,000粒）の卵を得ることができた。

以上の方法で得られた卵は、順次59.6cm×36.5cm×7.5cmの浅型コンテナに脱塩素水道水（水深約4cm）とともに収容し、孵化まで静置した。採卵方法による孵化率の違いをみると、小型コンテナおよびFRP水槽で採卵した場合の平均孵化率がそれぞれ26%と24%であったのに対して、アルテミア孵化槽の場合は14%と低く、また仔貝の奇形も多く見受けられた。これは、水流による卵の動揺が、正常な発生の妨げになったものと考えられるが、この点については次項の試験結果から詳述する。アルテミア孵化槽による採卵のねらいは、卵の収容効率の向上にあったが、この結果から、卵を強制的に浮遊させることは歩留りの低下を招き、かえって効率を悪くすることが判明した。しかしながら、採卵量の点ではほかにくらべて効率が良いことから、この方法が親貝にどのような影響を与えているかを検討すれば、採卵効率の向上に役立つ知見が得られるかも知れない。

アルテミア孵化槽以外の採卵方法の場合についても、昨年度の平均孵化率約50%に比べて大幅に孵化率が低くなったが、これは短期間のうち（おもに6月26日と7月3日）に大量の採卵が集中したために、卵の取扱いが時間的にも質的にも乱雑になったためと思われる。とくに受精卵を回収、洗浄するためにステンレス製のフルイ（オープニング75μm）を使用したこと、卵の収容の時期や密度が広範囲にわたったことなどが平均の生残率を低下させる大きな原因になったと思われるが、この詳細については後述の試験結果の中で触れていく。

今回これらの集約的採卵方法を用いることによって、77kg、約21,000個体の放養親貝（6月27日現在）から、約1億3千万の受精卵を得ることができた。これは、雌1個体あたり12,400粒の採卵量となり、すべて池中で産卵させた昨年度の実績（雌1個体あたり2,600粒）の約5倍の効率であった。しかし、今回池から取上げて採卵に供することができた親貝は、収容スペースの都合上、放養量の半分にも満たなかった。また、池中での産卵によって失われた卵もかなりの数にのぼると推測される。したがって、今後産卵誘発などの技術が確立され、計画的な採卵が可能となった場合には、放養親貝あたりの採卵効率はさらに向上するものと思われる。

2) 卵の動揺が生残におよぼす影響

イルリガートルでの収容時間と、その時点での生残率およびシャーレに収容したあとの生残率との関係を表12に示した。イルリガートルに収容され、トロコフォラ期に至るまでの5時間のあいだ対流によって攪拌されていた卵は、その時点での生残率は87%と高いものの、シャーレに移して静置したあとの生残率は31%と低く、トロコフォラ期以前の動揺が卵に強いダメージを与えていたことを示した。孵化するまでの46時間あまりのあいだ攪拌されていた卵は、その時点ではすでに生残率が15%にまで低下していたものの、シャーレに収容したあとの生残率は81%と高く、D型胚になってからの卵の動揺がその後の生残率にはあまり影響しなかったことを示した。

表12 イルリガートルで収容したのちシャーレに移した卵の生残

収容時間	抽出時の生残率(%)	抽出後の生残率(%)	抽出時の発生段階
0:10	100	58	原腸期（一部回転運動開始）
5:00	87	31	トロコフォラ期
22:40	28	46	ヴェリジャー期～D型胚
46:40	15	81	D型仔貝（孵化）
70:40	14	63	“（まだ足は出さない）

* 採卵から1週間後に計測

D型胚になってからイルリガートルに1週間収容された卵は、その74.5%がD型仔貝として回収された。この値は、シャーレに1週間収容されていた卵の生残率74.5%と変わらないものであった。

以上の結果から、アルテミア孵化槽で採卵した卵の生残率の低下は、おもに発生の初期の段階で卵に加えられた動揺が、その後の発生に障害をもたらしたものと考えられる。また、このことは、アルテミア孵化槽以外で採卵された卵についても、この時期に洗卵などによる衝撃が加えられた場合には、その後の生残率が著しく低下する可能性のあることを示唆している。

3) 卵の適正収容密度

i) 試験1

初期の生卵率は88%であった。収容してから1週間後の生残率を表13に示した。いずれの試験区においても収容密度が200個体/㎤のときに最も生残率が高く、最高93.9%の高率でD型仔貝が孵化した。しかし、密度が高くなるにつれて生残率は急激に低下し、400個体/㎤のときには200個体/㎤のときの半分以上の生残率となった。また、密度が低くなった場合にも生残率が低くなる傾向がみられた。

洗卵方法の違いについてみると、フルイを使って卵を洗卵した場合、デカンテーションによるものにくらべて20～30%生残率が低くなった。また、収容密度が高くなった場合の生残率の低下もほかにくらべて急激で、卵が受けるダメージはかなり強いものと推測された。

表13 異なった条件で収容したセタシジミ卵の1週間後の生残

水深 [cm]	洗卵方法	エアレーション	収容密度別生残率* (%)			
			100 個体/cm ²	200 個体/cm ²	400 個体/cm ²	800 個体/cm ²
4	フルイ	—	46.3	64.5	8.9	1.5
	沈降	—	67.4	93.9	38.0	4.1
12	沈降	—	42.4	89.3	38.5	11.1
	沈降	+	21.5	48.4	13.5	1.8

* 死卵を含む収容密度。初期生卵率 88%

水深についてみると、洗卵方法が同じ場合 4 cm と 12 cm とで大きな差はみられなかったが、収容密度が低い場合には 4 cm、高い場合には 12 cm のほうがそれぞれ若干生残率が高くなる傾向がうかがわれた。エアレーションを行った場合には、極めて弱い対流であっても卵が集まって塊になり、生残率はすべての区で悪かった。

ii) 試験2

初期の生卵率は 76.5 % であった。3 日後の生残率を表 14 に示した。生残率は 50 個体/cm² のときに最も高く、75.8 % に達した。しかし、100 個体/cm² 以上では急激に低下し、適正密度は試験 1 にくらべて著しく低かった。

表14 異なった密度で収容したセタシジミ卵の3日後の生残

収容密度 (個体/cm ²)	20	50	100	150	200	250	300	400	600
生 残 率 (%)	71.9	75.8	23.5	16.8	5.7	1.2	0.5	0.02	0

* 死卵を含む収容密度。初期生卵率 76.5 %。水深 1.5 cm。

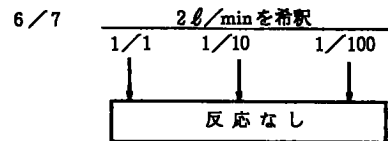
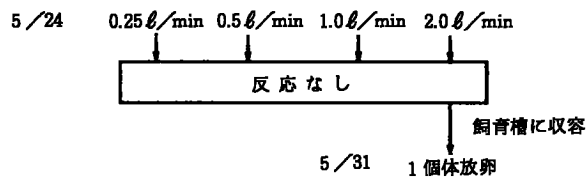
2 つの試験の結果から、卵の適正収容密度はかなり狭い範囲に限られることが推察される。また、その最適密度は単に底面積に対して規定されるのではなく、水の容積によっても影響を受けることが判明した。したがって、今後は水量と収容密度との関係についてさらに詳細に調査する必要がある。

4) 産卵誘発

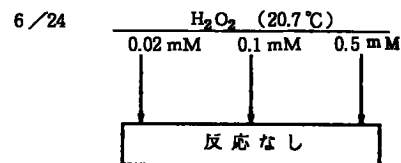
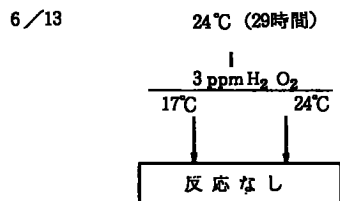
おもな処理条件と、その結果を図 20 に示した。

紫外線照射水による処理には、出力 110 W の紫外線ランプを備えたオゾン殺菌装置 (UZ-110、セン特殊光源株式会社) を使い、照射強度の調節は、装置を通過する水の速度を調節するか、または通過後の水を希釈することによって行った。5 月 24 日に処理し、飼育槽に戻したもののうち、1 個体が 1 週間後に放卵したが、これは紫外線照射水の作用機序から考えると、処理が直接の引き金になったとは考えにくい⁹⁾。それ以外では、反応する個体は全くみられなかった。

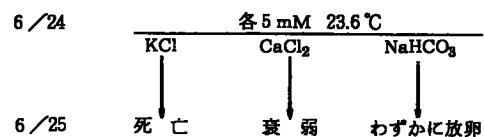
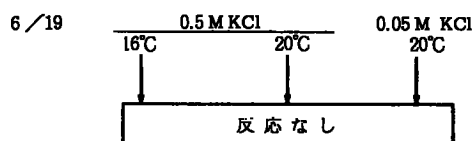
<紫外線照射水>



<過酸化水素水>



<カリウム：カルシウム：重炭酸>



<温度処理>

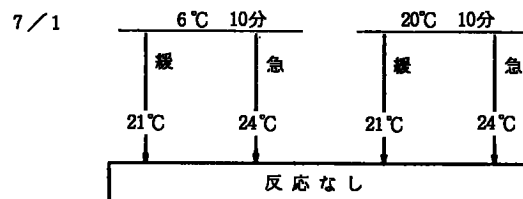
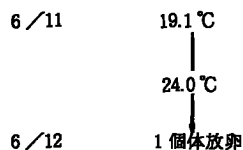


図20 1989年度のおもな産卵誘発試験結果

過酸化水素水による処理についても、池中での産卵直前の6月24日でさえ、反応する個体は全くみられなかった。

イオンについては、カリウム、カルシウム、重炭酸の3つを取上げた。6月24日に処理した例では、重炭酸ナトリウム区でわずかな放卵がみられたが、高めの水温の影響もあり、イオンの効果については明らかでない。

温度処理についてみると、単に昇温処理した場合に、池での産卵の2週間前に放卵したものが1個体あった。しかし、その後同じ処理を繰返しても、また低温処理を組合わせて行っても、反応する個体はなかった(図20)。

産卵誘発の効果は、貝の成熟度や摂餌水準によって大きく左右されることが知られている。^{10,11,12)}

セタシジミの場合、天然漁場からの標本によると、産卵盛期であっても成熟度は個体によってかなりばらつきのあることが認められている²⁾。また、試験池においては、湖水を常注しているだけで給餌を行っていないことから、そこで飼育された親貝は天然のものにくらべて栄養面で劣っていた可能性がある。これらのことが、産卵誘発の効果について確かな知見の得られなかった原因としてあげられるが、試験池での産卵の同調性はかなり高いことから、何らかの要因が引き金となって、成熟の最終段階が加速され、産卵に至ると考えられる。したがって、今後はその要因の把握が、採卵の計画性を向上させるうえで重要な課題となるだろう。