

## シラヒゲウニの種苗生産

仲盛 淳・大城信弘

### 1. はじめに

シラヒゲウニ *Tripneustes gratilla* (LINNE) は昭和63年度から種苗量産技術開発を行い、平成7年度より放流技術開発事業の中で適正種苗開発として種苗生産を当栽培センターが行う。シラヒゲウニ種苗(平均殻径3mm)を10万個、中間育成により放流種苗(平均殻径10mm)を5万個生産することを目標とし種苗生産を行った。

今年度は昨年度種苗生産した当才ウニを日本配合飼料株式会社製ウニ用配合飼料を用いて種苗生産用親ウニを養成した。浮遊幼生飼育には回転飼育装置付1㎡水槽を使用し、採苗率向上を目的とした変態誘因物質チロキシン及びアカウニに対して100%の変態誘因効果の得られている(川原ら, 1995) KClを使用した変態誘因試験を行った。

### 2. 方法及び結果

#### ①種苗生産

##### (1)採卵と孵化

今年度の採卵方法はKc1刺激法と懸濁刺激法を用いて行った。Kc1刺激法は昨年度同様に行い懸濁刺激法では親ウニ収容水槽内に割り出した精巣部を懸濁添加し採卵誘発を行った。これら採卵にはトーセルハウジング5連結ワルター(5µm)を通し紫外線滅菌装置で処理した海水を使用し受精、孵化、浮遊幼生飼育にもこの海水を使用した。

第1回次採卵には当栽培センターで1994年5月11日に採卵、種苗生産し、8月2日からホンダワラ類を主な餌料として与え養成した1才ウニ25個体を使用した。親ウニは1t円形ポリカーボネート水槽に20cm四方トリカルネット製ケージに1個体ずつ分離して収容し、懸濁刺激法により産卵誘発を行った。懸濁刺激に対し最初に雄が反応を始め、それら放精個体を微通気で止水にした30ℓポリカーボネート水槽に移した。産卵の活発な個体は多精になるのを防ぐため30ℓポリカーボネート水槽に収容し流水とした。収容後なお産卵の活発な個体を取り出し海水を満たした200mlヒーカーに生殖孔を下向きにして置き放卵終了まで静置し1個体より2280万粒を採卵した。

その後卵を1000mlヒーカーに移し入れ沈殿法により30分間隔で3回洗卵を行い、洗卵終了後、20ℓポリエチレンバット(50×30×15cm)にて媒精を行った。媒精には精子が活発に遊泳している2個体分の精液を混合して使用し、媒精後の受精卵は50µmネットで濾し取りポリカーボネート水槽(100ℓ×1、400ℓ×3)に収容し弱通気で孵化させた。孵化時の平均水温は29.0℃で採卵翌日には平均82.8%の孵化率でプリズム幼生が出現した。

第2回次採卵に使用した親ウニは1994年11月16日に採卵、種苗生産し、翌年2月2日から6月12日までホンダワラ類やヒジキを餌料とし、その後、色上げ用ウニ用配合飼料と苦味成分除去ウニ用配合飼料のそれぞれで養成した1才ウニをKc1刺激法を用いて行った。雌ウニは3個体ずつを昨年度同様に採卵し、沈殿法による30分間隔の洗卵を行った。色上げ用ウニ用配合飼料、苦味成分除去ウニ用配合飼料により養成された親ウニより2650万粒と1610万粒を得た。媒精は第1回次と同様に行い、雄ウニはそれぞれ2個体ずつ媒精に使用した。また採卵に使用しなかったウニを用い懸濁刺激法による採卵及び媒精を第1回次と同様に行い色上げ用配合飼料給餌で養成した親ウニ1個体より60万粒の卵を得た。媒精後の受精卵は50µmネットを用いそれぞれを1t円形ポリカーボネート水槽7面へ収容し微通気で孵化させた。孵化時の水温は平均25.5℃で採卵翌日には殆ど孵化していたため孵化率は求めなかった。

第3回次には第1回採卵時に懸濁刺激に対して放精反応を示した個体と放卵及び無反応の個体とを別にして色上げ用ウニ用配合飼料を与え養成した親ウニを使用し、Kc1刺激法と懸濁刺激法による採卵を行った。Kc1刺激法により5個体より合計4960万粒採卵し、採卵後20ℓポリエチレンバットに収容し1、2回次と同様に媒精を行い、受精卵は40µmネットで濾し取り1t円形ポリカーボネート水槽5面に個別に収容し弱通気で孵化させた。懸濁刺激により放卵を開始した雌ウニ3個体

は0.5 t円形ポリカーボネート水槽1面に収容し放卵終了まで弱通気とした。採卵数は2000万粒で採卵終了確認後親ウニを取り出し、放精個体を収容していた30ℓポリカーボネート水槽中の精子を添加し媒精を行った。

2000万粒の受精卵中400万粒を1 t円形ポリカーボネート水槽1面に収容し微通気で孵化を行った。孵化時の水温は平均20.6℃で約15時間後に平均孵化率84.7%でプリズム幼生が出現した。

表1 平成7年度親ウニと採卵・孵化状況

採卵回数	採卵月日	使用親ウニ数(個)		平均殻径(mm)	採卵数(万粒)	平均孵化率(%)
		♀	♂			
1	7/10	1	2	66.10	2280	82.81
2	8/21	7	4	66.30	4320	—
3	12/5	8	2	84.90	6960	83.43
合計と平均		16	8	72.4	13560	83.19

## (2) 浮遊幼生飼育

幼生飼育にはエアーストーンによる通気と回転飼育装置とを組み合わせ幼生の攪拌を行いながら飼育した。餌料は *Chaetoceros gracilis* を1μmフィルターで0.2~3億細胞/㎡程度に濃縮洗浄後給餌した。飼育水温は1回次は常温、2回次及び3回次は25~27℃になるよう飼育室内を17-コンディショナで調整した。給餌密度は0.1万細胞/㎡から開始し、8腕中期幼生頃から1万細胞/㎡とし最高1.5万細胞/㎡までに留めた。換水及び底掃除は給餌開始翌日からストレーナーを用いてサイフォンによる方法で行い、1回次のみ2日及び3日に1回換水、2、3回次は毎日行った。換水率は1回次では飼育水の程度により50~100%の間で2回次と3回次は20%から開始し日令7以降40%とした。

第1回次浮遊幼生飼育は遮光を施していない室内(晴天時5万lx程度)で行い、採卵翌日孵化槽内で集積して活発に浮遊している幼生を飼育水槽に収容した。飼育水槽には回転装置付き黒色500ℓ×2及び1 t円形ポリカーボネート水槽の3水槽を使用し、日令9までに幼生密度を調整し、1 t水槽に22万個体、0.5 tに21万個体と136万個体とし幼生飼育を行った。飼育開始17日に全ての飼育水槽内で *Eucampia* spと思われる珪藻の大量発生によりストレーナーが目詰りを起こした為、100μmネットで幼生だけを濾し取る方法で、80~100%の換水を行った。以後、水槽内で前述した珪藻の増殖が見られる毎に同様の方法で換水を行った。136万個の幼

生を収容した0.5 t水槽では日令14、4腕後期幼生から成長が見られず、日令24に幼生の殆どが全滅したため飼育を中止した。その他の飼育水槽では日令32に1 t水槽から3.8万個体、0.5 t水槽から0.6万個体の8腕後期幼生を得た。なお1 t水槽の底面には既に着底した約2万個体の稚ウニが確認された。

第2回幼生飼育では50lx程度になるよう遮光を施した暗室内で回転飼育装置付き1 tポリカーボネート水槽10水槽を使用した。孵化水槽に使用した水槽には回転飼育装置を取り付け継続して幼生飼育水槽とした。飼育水槽は分槽および排水することで1水槽当たり81万個体で飼育を開始し6日後には30~40万個体になるよう密度調整を行った。幼生飼育は日令10頃から飼育槽10水槽中2水槽が他水槽に比べ成長の遅れが見られ活力低下とともに大量斃死が起こり日令16に廃棄処分とした。飼育水槽8水槽より平均生存残率51.6%で日令25~30の8腕後期幼生約158万個体を得た。

第3回幼生飼育には孵化水槽に使用した1 t水槽6面に1水槽当たり20~100万個体とし転飼育装置を取り付けて浮遊養成飼育を行った。飼育期間中の平均水温は22.9℃と低く日令20には大量斃死のため全水槽廃棄処分とした。

表2 平成7年度シラヒゲウニ浮遊幼生飼育結果

生産 回次	収容 <sup>1)</sup> 幼生数 (万)	飼育 日数 (日)	使用飼育水槽		採 苗 使 用 幼 生			生存率 <sup>3)</sup> (%)
			1 t	0.5 t	幼生 総数 (万)	沈着前期 幼生数 (万)	沈着前期 幼生割合 <sup>2)</sup> (%)	
1	179	23~31	1	2	10.2 <sup>4)</sup>	4.4	43.1	5.7
2	306	25~30	10	0	158	104.3	66.0	51.6
3	771	14~20	6	0	0	0	0	0
合計	1256				168.2	108.7	64.6	13.4

1) 密度調整後の幼生数

2) 沈着前期幼生×100/幼生総数

3) 幼生総数×100/収容幼生数

4) 2万個体は既に変態した稚ウニ

### (3) 採苗・稚ウニ飼育

採苗にはウニ原基が十分に発達し叉棘が体外部に3個観察される個体の割合が50~70%になるのを目処にあらかじめ付着珪藻 (*Navicula ramosissima*) を繁殖させた水槽に収容し稚ウニに変態させる方法で行った。付着珪藻の繁殖には透明塩化ビニル製波板(45×45cm)20枚を1組としたコレクターホルダー20組を入れた水槽を使用した。

第1回時は8腕後期幼生を100μmネットで濾し取り、0.1Mol塩化カリウム溶液に5~10分間浸漬した後、採苗用の4t水槽に収容し、収容翌日より流水で飼育を行った。採苗に使用した8腕後期幼生は0.5t幼生飼育水槽からの6千個体と1t水槽からの3.8万個体を1つにして採苗用4t水槽に収容した。なお、浮遊幼生飼育水槽の底面に着底した2万個体の稚ウニも、0.1Mol塩化カリウム溶液で剥離し合計6.4万個体を採苗水槽に収容した。28日後の9月8日にサンプル波板を抽出し付着稚ウニを計数した。算出した採苗数は約3.2万

個体(平均殻径2.2mm)で採苗率50.0%であった。その後、アオノリ類を餌料とし採苗水槽に添加した。アオノリは始め質重量1kg程を添加し稚ウニの成長及び摂餌状況を見ながら徐々に増加した。底面の堆積物はサイフォンを用いて排除した。アオノリ投餌開始から24日後に8920個体(平均殻径6.59mm)の稚ウニを取り上げた。

第2回次では前述の方法で採苗水槽5水槽に収容し、採苗から10~20日後に付着珪藻を繁殖させた別水槽の波板と1回から2回の組み替えを行う事で餌料の供給を行い計11水槽にて飼育を行った。また採苗水槽に収容する前に浮遊幼生の一部をシャーレ(直径86mm、高さ20mm)に移し24時間後に稚ウニの変態状況を観察し、幼生の変態率より稚ウニへの変態数を91.8万個体と算出した。52日~63日後に9水槽より81540個体(平均殻径3.33mm)を取り上げた。2水槽は10月30日よりホンダワラ類、アナアオサ類をそれぞれ給餌し採苗から中間育成を継続して行った。

表3 採苗及び稚ウニ飼育結果

採苗 回次	月日	飼育 日数 (日)	収容数 (千)	使用 水槽 (4t)	採 苗		稚ウニ飼育				
					採苗数 (千)	平均 殻径 (mm)	平均 採苗率 (%)	飼育 日数 (日)	稚ウニ 剥離数 (千)	生残率 (%)	平均 殻径 (mm)
1	8/11	28	64	1	32	2.2	50	24	8.9	13.9	6.59
2	9/15~20	0	1580	9	* 841	0.9	58.3	52~63	81.5	7.46	3.33
				2	* 77	0.9	57.2	52~63	**24.2	31.4	-
合計			1644		950		57.8		114.6	9.5	3.4

\*変態率から算出した推定採苗数 \*\*推定数

表4 シラヒゲウニ中間育成結果

生産 回次	飼育形態	中間育成開始時				中間育成終了時			
		育成 面数	月日	収容 個体数 (千)	平均 殻径 (mm)	育成 日数 (日)	取上げ 個体数 (千)	平均 殻径 (mm)	生存率 (%)
1	陸上籠	1	10. 2	8. 9	6. 59	23	5. 1	16. 6	56. 6
2	陸上籠	24	11. 6~17	81. 5	3. 33	26~56	21. 0	10. 0	25. 8
	4t 水槽	2	11. 初旬	*24. 2	—	88~125	11. 5	9. 1	5. 0
合計				114. 6	3. 65	37. 5	11. 2	32. 7	

\*推定数 採苗水槽から継続中間育成

#### (4) 中間育成

第1回次で取り上げた8920個体(平均殻径6.59mm)を4個の飼育籠(1×1×0.5m)に移し、ホンダワラ類を飼料とし、籠底面より給水を籠の外側から通気を行い中間育成を行った。23日間の中間育成終了時の個体数は5052個体(平均殻径16.6mm)で生残率は56.6%であった。

第2回次は採苗水槽11水槽の中の2水槽はホンダワラ類を給餌し採苗から継続して中間育成を行い、残りの9水槽は取り上げて前述同様に籠に収容して中間育成を行った。残りの9水槽から合計81540個体(平均殻径3.33mm)の稚ウニを取り上げ、飼育籠に1籠当たり1000~4000個体を収容し、籠の中の水通し

を良くする為に籠底面より塩化ビニルパイプを格子状に組んだ通気管(90×90cm)より通気を行い合計24籠で中間育成を行った。中間育成に供した飼育籠の1つには不稔性アナアオサを飼料とし、残りの飼育籠にはホンダワラ類を給餌し飼育した。

飼育期間中、不稔性アナアオサを飼料としていた籠のウニは殆ど全滅した。また数日間雨が続いた後、稚ウニが斃死している飼育籠が見られた。最終的に26~56日の中間育成で飼育籠より21000個体(平均殻径10.0mm)、採苗から継続して中間育成を行った水槽より11500個体(平均殻径9.1mm)の稚ウニを生産した。

(5) 変態誘因試験

材料と方法：試験に供した幼生は2回時採卵の幼生でウニ原基の十分に発達した日令23の8腕後期幼生を用い天然海水、付着珪藻 (*Novicula ramosissima*)、チロキシン添加海水に収容し観察を行った。また収容前にkcl 1添加海水に5分間の浸漬し処理の有無による変態への影響を調べた。実験には時計皿(直径110mm、深さ10mm)に各々の添加海水を5cc分注しシャーレで上から蓋をし23時間後迄の変態状況を観察した。実験区分は以下の通りとした。

- ①チロキシン10nM添加海水へ収容
- ②チロキシン5nM添加海水へ収容
- ③付着珪藻添加海水へ収容
- ④天然海水へ収容
- ⑤Kcl 200mM処理 - 天然海水へ収容
- ⑥kcl 100mM処理 - 天然海水へ収容

- ⑦Kcl 50mM処理 - 天然海水へ収容
- ⑧kcl 100mM処理 - チロキシン10nM添加海水へ収容

結果：観察開始から16時間後までの間、天然海水、チロキシン5nM、10nM、付着珪藻添加区、kcl 50mM処理 - 天然海水収容区では何れも稚ウニへの変態は観察されなかった。23時間後にはkcl 50mM処理区で20%、付着珪藻添加区で16%の変態率で稚ウニへの変態が確認された。その他の区では1時間後より稚ウニへの変態が観察されkcl 200mM処理区で20%、kcl 100mM及びkcl 100mM処理 - チロキシン10nM添加海水収容区では約60%の変態率で、5時間後には各々40%、80%、69%の変態率となり16時間後まで大きな変化はなかった。23時間後にはkcl 200mMで46.7%、kcl 100mM処理区で80%、kcl100mM処理 - チロキシン10nM添加海水収容区では86.2%の変態率で稚ウニへの変態が確認された。

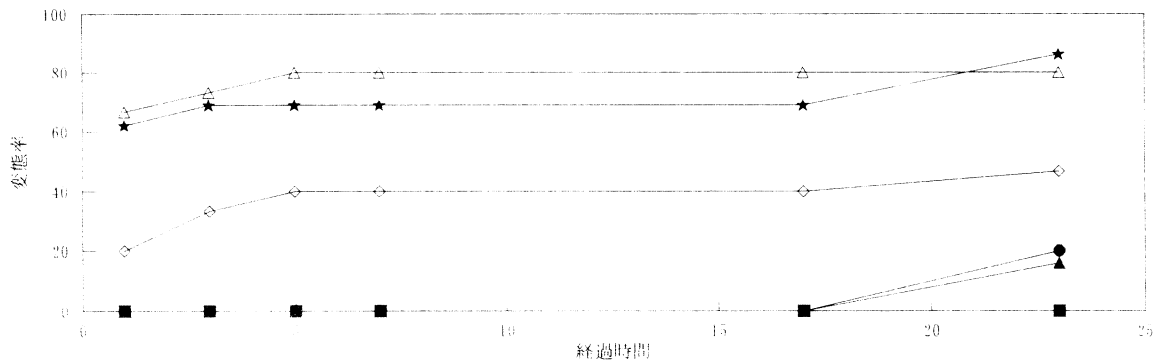


図1 変態誘因物質添加海中における変態率の経時変化

- 稚ウニ10nM添加海水に収容
- ◇ kcl 0.2M添加海水に5分間浸漬後、天然海水に収容
- 稚ウニ5nM添加海水に収容
- △ kcl 0.1M添加海水に5分間浸漬後、天然海水に収容
- ▲ *Novicula*添加海水に収容
- kcl 50mM添加海水に5分間浸漬後、天然海水に収容
- 天然海水に収容
- ★ kcl 0.1M海水に5分間浸漬後、稚ウニ10nM海水に収容

3. 考察

採卵と孵化：今年度の採卵に使用した親ウニは全て平成6年度に当センターで生産された稚ウニを親ウニに養成して使用した物であった。採卵を行った7月～12月ま

での期間、採卵できたことから天然の親ウニに比べ養成親ウニを使用した方が種苗生産の採卵期間が長くなり種苗生産期に適した時期を選定しやすい事が解った。受精卵の孵化率は80%以上で天然飼料、配合飼料での親ウ

ニ養成による差は観られなかった。

**浮遊幼生飼育：**1回次の結果から明条件下での浮遊幼生飼育は可能であるが、水槽内に雑藻類の繁殖も多くストレーナー目詰まりによる換水率の低下等により飼育水槽管理が出来なかった事が生残率に影響を与えたと推察される。3回次での幼生飼育水温は22℃と低水温であったが日令12迄に8腕期幼生が出現し、これまでの飼育結果と成長速度に差は認められなかった事から孵化水温が20℃で受精から孵化までに15時間を要した事が影響したと考えられた。

**採苗・稚ウニ飼育：**今年度の採苗にはすべて100mM塩化カリウム浸漬処理を行った結果、1回次では50%、2回次では58.3%と平成6年度の採苗率2.1%よりも向上した。川原ら(1995)も塩化カリウムがアカウニに対し100%に近い変態誘因効果があることを確認しており、シラヒゲウニに対しても同様に効果があると思われる。しかしアカウニのように100%に近い効果は得られていない為、山中ら(1995)により確認されているチロキシンとの併用する事でさらに採苗率の向上が得る事が出来るかどうか今後検討する価値があると思われる。

**中間育成：**これまで中間育成時の通気は一本のエアーストライプにより行っており育成籠の中に海水の流れにムラがありホンダワラが籠内で腐敗したり、ウニの排泄物が籠から抜けていかず籠の底に沈殿したりしていた。これらの腐敗や沈殿は籠内の水質の悪化を起し、腐敗した海藻を取り除くための籠替えを行ったり、取り上げ時にそれらを選り分けるために作業時間を費やしていた。そこで今年度は飼育籠の底全面からエアーストライプが出るようにし籠内の海水交流を良くしてやった。この通気のおかげで今年度は海藻の腐敗や排泄物の沈殿は中間育成終了までほとんど見られなかった。しかしこの通気の場合、ホンダワラ類は水面から浮き出し、降雨後に大量斃死が確認された。この原因については海藻押さえを付けた飼育籠では大量斃死は現れなかった事、大量斃死の現れた飼育籠についても全滅に近い斃死は無い事、これまでに夜になると海藻の下に隠れていた稚ウニが上の方に上がって行くことが観察されている事から海藻干出部近くにいた稚ウニが低塩分水にさらされた事で起こった斃死ではないかと思われた。

**変態誘因試験：**塩化カリウム0.1M以上を使用した区では

実験開始から5時間後には40~80%の幼生が変態していた。この結果は、これまでの採苗が付着珪藻を繁殖させた水槽に収容し着底まで2~3日止水飼育とする事で11月以降に採卵を行った場合、12~1月の採苗時には水温が14℃近く下るのを半日~1日で流水飼育にする事で水温低下による幼生への影響を避けられる可能性を表している。これは付着珪藻添加海水へ収容した幼生が17時間後まで変態個体が出現していない事からもこれまでの採苗より短時間で変態を促進する効果があるものと思われる。

塩化カリウム溶液濃度差による変態促進効果の差は明らかに100mMの方が200mM濃度で処理するより効果が大きかった。川原ら(1995)によるアカウニ幼生に対する塩化カリウムの変態誘因効果は濃度によって異なり100mM塩化カリウム溶液に5分間浸漬処理を行った場合に収容から1時間で100%の変態が観察されそれ以下の濃度では24時間後でも100%の変態率は得られていない。またチロキシン添加区では23時間後まで効果は現れなかったが、塩化カリウム処理後に収容した区では塩化カリウム処理のみを行ったものより効果が現れ統計的にも有意差を生じていた。チロキシンでは短時間で変態誘因効果は現れないが、長時間又は塩化カリウムと併用する事でさらに採苗率を向上させる事が可能ではないかと考えられる。今後、塩化カリウムの適正な濃度および処理時間、チロキシンの適正使用方法の解明が必要であると思われる。

#### 4. 参考文献

- 山中邦洋、他(1996)；平成6年度地域特産種増殖技術開発事業報告書(亜熱帯磯根グループ)、シラヒゲウニ、鹿8-9
- 川原逸朗、他(1995)；アカウニ幼生に対する塩化カリウムの変態誘因効果、水産増殖、42(2)、237-241.
- 與那嶺盛次、他(1994)；シラヒゲウニ種苗生産、平成6年度沖縄県栽培漁業センター事業報告書、15-21
- 與那嶺盛次、他(1993)；シラヒゲウニ種苗量産技術開発試験、平成5年度沖縄県栽培漁業センター事業報告書、21-31