

塩化カリウムを用いたアカウニの採苗方法の検討 (予報)

川原 逸朗・広瀬 茂・伊藤 史郎・北村 等*

アカウニ *Pseudocentrotus depressus* の種苗生産工程の中で、浮遊幼生から稚ウニへの変態を人為的に誘起する技術を“採苗”と呼んでいる。この技術は、主に幼生の変態を誘起する付着珪藻¹⁾を波板に繁殖させ(付着珪藻板)、これを用いて幼生の着底と変態を促し、合わせて付着基盤とする方法で行われている。また、佐賀県栽培漁業センターでは採苗の際に付着珪藻の変態誘起効果を増大させる作用をもつヒジキを併用して採苗率の向上を図っている²⁾。この採苗を効率良く、計画的に行うことは、アカウニの種苗生産を安定させるための重要な要因となる。そのためには、幼生の採苗適期を把握し、幼生を効率よく付着珪藻板に付着・変態させることが重要である。

著者らは、前報³⁾において、塩化カリウムがアカウニ幼生に対して変態誘起効果を持つことを明らかにし、採苗に応用できる可能性を推察した。また、この物質でアカウニ幼生を人為的に稚ウニへ変態させる方法についても報告した。この方法を用いれば、幼生を適期に採苗できる可能性があり、また、それぞれが単独で幼生の変態誘起効果を有する塩化カリウムと付着珪藻を併用することによって、幼生を効率よく付着珪藻板に付着・変態させることも考えられる。

そこで本報では、まず100mMの塩化カリウム添加海水を用いて採苗期に近づいた八腕後期幼生の変態を定期的に誘起し、変態状況を観察することによって、幼生の採苗適期を把握できるかを調べた。また、塩化カリウムをアカウニの採苗工程の中に活用することを目的に、塩化カリウムで変態させた稚ウニの生残を調べるとともに、塩化カリウムと付着珪藻の併用効果を検討した。さらに、

これらの実験と前報³⁾から得られた知見を基に、塩化カリウムを採苗に使用する方法を1m²水槽による種苗生産レベルの採苗実験を行って検討したところ、88.4%と高い採苗率を示す方法が明らかとなったので、これらについて以下に報告する。

材料及び方法

実験には、ウニ原基が十分に発達した八腕後期幼生を用いた。幼生は30ℓあるいは500ℓの円形ポリカーボネート水槽で19~25日間飼育したものである。飼育の管理や投餌法は、前報³⁾と同様の方法で行った。実験の容器には、6穴のマルチウェルプレート(ファルコン社製、各内径35mm、深さ20mm)および1m²の角形FRP水槽(2×1×0.5m)を用いた。また、マルチウェルプレートを使った実験では、紫外線殺菌装置(岩城電気社製)で処理した後、1μmのカートリッジフィルター(トーセル:東洋濾紙社製)で濾過した海水を、1m²の角形FRP水槽を使った実験では、種苗生産に使用している砂濾過海水を使用した。

幼生の採苗適期を把握するための実験は、100mMの塩化カリウム添加海水に八腕後期になって2, 4, 6および8日目の幼生を5分間収容後、通常の海水を9ml入れたマルチウェルプレートに移し替えて、24時間後に変態状況を観察した。

生残をみる実験は、100mMの塩化カリウム添加海水に幼生を5, 10および60分間収容後、通常の海水に移し替える誘起方法で変態させた稚ウニを、底面に天然付着珪藻(小型の*Navicula*類、*Nitzschia*類が優占、以下天然珪藻と略す)が繁殖したマルチウェルプレートに30個体ずつ収容して、天然珪藻を餌料として1週間飼育した。飼育水は、

* 長崎大学水産学部

一日おきに通常の海水で全水量を交換した。対照には、天然珪藻で変態した稚ウニ45個体を用い、試験区と同様に飼育した。

天然珪藻と塩化カリウムの併用効果を見る実験は、あらかじめマルチウェルプレートの底面に天然珪藻を繁殖させ、この中に0, 2, 6, 10, 14および18mMの塩化カリウム添加海水を9mlずつ分注し、さらに幼生を10個体ずつを収容して、60分および24時間後に変態状況を観察した。なお、天然珪藻を併用しないで0~18mMの塩化カリウム添加海水だけで幼生の変態を誘起したものを対照とした。これらの実験は、生残をみる実験を除いて、変態状況を前報と同様に Kitamura *et al.*⁴⁾の報告に従って、次の式によって求めた稚ウニ率で表現した。また、実験は各々3例ずつ行った。

$$\text{稚ウニ率}(\%) = (\text{変態完了個体数}/10) \times 100$$

塩化カリウムを用いた採苗実験は、100mMと4mMの2つの濃度について調べた。すなわち、『回収した幼生を100mMの塩化カリウム添加海水で5分間処理した後、採苗水槽に散布する方法』と『あらかじめ採苗水槽内に4mMの塩化カリウムを添加してから幼生を散布する方法』である。幼生の付着基盤には、量産飼育と同じように天然珪藻の十分繁殖した波板（以下、珪藻板と略す）を10枚ずつカセットに組んで用いた。これらのカセットは、水槽底面に対して水平、垂直および斜めの3方向に4セットずつ、合計12セットを1水槽に収容して珪藻板の設置方向による採苗率の差も検討した。幼生は、容積法によって計数後、1水槽に40600個体ずつ収容した。幼生収容後は、100mM処理区では翌日から、他の実験区では直ちに弱通気を行い、2日間止水とし、その後流水に切り替えた。付着数は採苗から5日後にすべてのカセットについて、1セット10枚の珪藻板のうち1枚おきに5枚ずつ、表、裏面別々に計数した。また、採苗率は次の式で求めた。

$$\text{採苗率}(\%) = \frac{\text{珪藻板1枚当たりの平均稚ウニ付着数}}{\text{珪藻板1枚当たりの収容幼生数}} \times 100$$

なお、対照として塩化カリウムを用いないで天然

珪藻だけの採苗も行った。

結 果

八腕後期になって2, 4, 6および8日目の幼生を、100mMの塩化カリウム添加海水に5分間収容し、さらに通常の海水に戻して24時間後に観察した変態状況を図1に示した。稚ウニ率は2日目が66.7%, 4日目が93.3%, 6および8日目が100%となった。また、変態した稚ウニを観察すると、2日目の稚ウニは、棘が未発達で殻径も小さいものが目立ったが、4日目以降に変態した稚ウニは、正常であった。

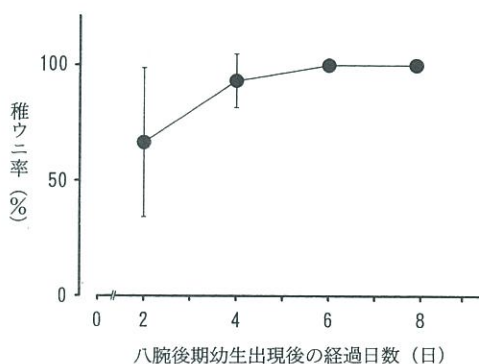


図1 八腕後期出現後に100mMの塩化カリウム添加海水で変態を誘起したときの稚ウニ率の経日変化
Barは標準偏差を示す。実験は3例ずつ行った。

100mMの塩化カリウム添加海水で、5, 10および60分間処理後、通常の海水に戻して変態させた稚ウニを天然珪藻を餌料として1週間飼育したときの生残率を表1に示した。対照の生残率は95.6%, 5, 10, 60分間処理の生残率は、それぞれ90, 100および86.7%であった。対照とこれらの生残率との間で χ^2 検定を行った結果、いずれの処

表1 100mMの塩化カリウム添加海水で変態した稚ウニの生残率

処理時間(分)	生残率%	個体数
対照*	95.6	45
5	90.0	30
10	100.0	30
60	86.7	30

* 天然付着珪藻で変態した稚ウニ

理時間も5%有意水準で差は認められなかった。

天然付着珪藻を繁殖させたマルチウェルプレートに0, 2, 6, 10, 14, 18mMの塩化カリウム添加海水を分注した後に幼生を収容し, 60分および24時間後に観察した変態状況を図2に示した。

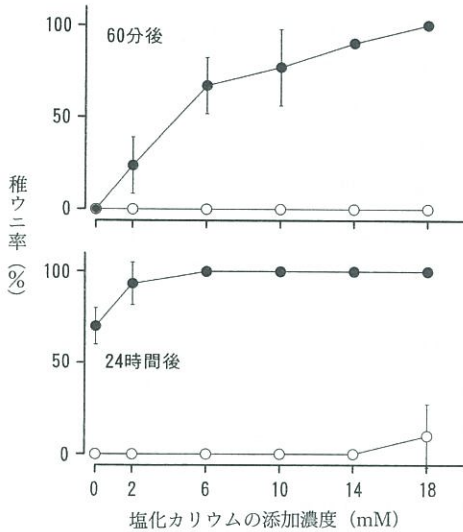


図2 塩化カリウムと天然付着珪藻の併用効果
Bar, 標準偏差; ●, 天然付着珪藻あり;
○, 天然付着珪藻なし。
実験は3例ずつ行った。

60分後の観察では, 各濃度の塩化カリウム単独と天然珪藻単独の稚ウニ率は0%であったが, 塩化カリウムと天然珪藻を併用した場合, 2 mMの添加量で23.3%, 6 mMで66.7%, 10mMで76.7%, 14mMで90.0%, 18mMで100%となり, 併用効果が認められた。稚ウニ率は, 24時間後の観察では高くなり, 2 mMが93.4%, 6 mM以上では100%を示し, 天然珪藻単独(塩化カリウム無

添加)の70%に比べて高い値となった。

塩化カリウムを用いた採苗実験の結果を表2に示した。採苗率についてみると, 対照では珪藻板を水平に設置したものが最も高く12.4%であった。これに対して100mM処理区では, 珪藻板を傾斜させて設置したものが, 4 mM処理区では水平に設置したものの採苗率が最も高く, それぞれ65.0%と88.4%であった。また, これらの区の珪藻板の上下面の付着数を比較すると, いずれも上面の付着数が極端に多い傾向が認められた。なお, 実験は1993年11月19~24日にかけて行ったが, 期間中の水温が7.5~19.0°Cとなり, 変化の幅が大きかった。

考 察

本実験で, 100mMの塩化カリウム添加海水を用い, 幼生が八腕後期になって2~8日目に変態誘起を行ったところ, 2日目では66.7%, 4日目では93.3%, 6日目以降に100%の稚ウニ率となった(図1)。また, 変態した稚ウニの形態は, 4日目以降のものは正常であった。この結果から, 本実験の飼育条件下で成長した幼生は, 八腕後期幼生になって4~6日目には正常な変態が可能となったと考えられる。伊東⁵⁾は, アカウニ幼生の採苗適期について検討し, 変態後の稚ウニの成長を考慮すると幼生が変態可能となった段階でできるだけ早く採苗した方が良いとしている。これらのことから, 100mMの塩化カリウム添加海水を用いて定期的に幼生の変態誘起を行えば幼生が変態可能となる時期を判断でき, 適期の採苗を行えると思われる。

表2 塩化カリウムを用いたアカウニ幼生の採苗結果

試験区	付着珪藻板への平均付着数と採苗率 (%)											
	付着珪藻板の設置方法											
	水槽底面に対して垂直に設置				水槽底面に対して水平に設置				水槽底面に対して斜めに設置			
	上面	下面	合計	採苗率	上面	下面	合計	採苗率	上面	下面	合計	採苗率
対照*	7 ± 5	9 ± 5	16	4.7	30 ± 18	12 ± 6	42	12.4	15 ± 6	9 ± 4	24	7.1
100mM 採苗前処理	16 ± 9	5 ± 3	21	6.2	112 ± 154	4 ± 5	116	34.3	216 ± 126	4 ± 4	220	65.0
4 mM 採苗水槽内処理	33 ± 20	28 ± 20	61	18.0	278 ± 172	21 ± 16	299	88.4	67 ± 19	8 ± 5	75	22.2

* 天然付着珪藻だけで採苗

塩化カリウムによって変態した稚ウニの生残を100mMの塩化カリウム添加海水を用いて5, 10, 60分の3段階の処理時間について調べたところ、5分が90%、10分が100%、60分が86.7%となり、いずれも高い生残率を示した(表1)。対照の生残率は95.6%であり、 χ^2 検定では試験区との間に5%有意水準で差が認められなかった。このことから、塩化カリウムは、これによって変態した稚ウニに対して生残への影響が少ないようであり、種苗生産の採苗に用いることが可能と考えられる。

塩化カリウム添加海水と天然珪藻の併用効果については、処理後60分で明瞭な効果が認められた。すなわち、60分後の稚ウニ率は、天然珪藻単独では0%であったが、塩化カリウム添加海水と併用した場合、添加量が多くなるほど稚ウニ率も高くなる傾向がみられ、18mMでは100%を示した。また、24時間後の稚ウニ率は2mMで93.4%、6mM以上では100%となり、70%を示した天然珪藻単独に比べて高い値となった(図2)。これらのことから、珪藻板を収容した採苗水槽内に2~6mMの塩化カリウムを添加して採苗を行えば、採苗率が従来より向上する可能性が推察される。

そこで、前報³⁾を含めこれまでの実験結果を基に、塩化カリウムの採苗時の使用方法を100mMと4mMの2つの濃度について検討した(表2)ところ、『珪藻板を水平にして収容した採苗水槽内に4mMの塩化カリウムを添加した後に幼生を散布する方法』が88.4%の採苗率となり、最も高かった。また、『回収した幼生を100mMの塩化カリウム添加海水で5分間処理した後、珪藻板を傾斜させて収容した採苗水槽に散布する方法』も65.0%と比較的高い採苗率となった。これに対して、対照の採苗率は珪藻板のどの設置方向も低く4.7~12.4%であり、前者の方法の有効性が認められた。従来、当センターの種苗生産で行われている天然珪藻による採苗法では、約30~50%の採苗率が見込まれるが、今回の実験では低い採苗率となった。この原因は不明であるが、採苗した翌日の夜に気温が下がり、止水としていた採苗水槽内の水温が10°C以下となったことから、このことが

要因となった可能性も考えられる。このような条件下でも塩化カリウムを用いた場合には高い採苗率が得られたことは、塩化カリウムを用いることによって安定した採苗が行える可能性を示唆するものと思われる。また、本実験で珪藻板を水平や斜め方向に設置した場合、稚ウニは上面に多く付着する傾向がみられた。この現象は、現在当センターで行っている天然珪藻とヒジキを併用する採苗方法にも認められており、このような片面に多く付着した状態でも、その後の稚ウニ飼育にはそれほど大きな問題とはなっていない。

これらの結果から、100mMの塩化カリウム添加海水を用いて幼生の採苗適期を判断し、珪藻板を水平にして収容した採苗水槽内に4mMの塩化カリウムを添加した後に幼生を散布する方法で採苗を行うことで、これまでよりも効率の良い、安定した採苗ができると考えられる。

以上は、ピーカー内あるいは1m²水槽規模の実験から求められた結果であるため、今後は実際の種苗生産工程で実施することにより、その有効性とその後の生産性を確認する必要がある。

要 約

塩化カリウムをアカウニの採苗に活用する方法を検討し、つぎの結果を得た。

1. 100mMの塩化カリウム添加海水に5分間収容し、さらに通常の海水に24時間戻す変態誘起方法を八腕後期幼生になった幼生に定期的に行うことによって変態可能な時期を判断し、採苗適期を把握できると考えられた。
2. 100mMの塩化カリウム添加海水に5, 10および60分収容し、さらに通常海水に24時間戻して変態した稚ウニは、いずれの処理時間のものも天然珪藻だけで変態させた稚ウニと1週間後の生残率に差がないことから、塩化カリウムの稚ウニに対する影響は少ないと思われた。
3. 塩化カリウムと天然珪藻を併用した場合、2~6mMの添加濃度でも90%以上の稚ウニ率を示し、70%の稚ウニ率であった天然珪藻単独に比べて高い値となり、塩化カリウムの併用効

果が認められた。

4. 以上の結果を基に行った塩化カリウムを用いた採苗実験では、『珪藻板を水平にして収容した採苗水槽内に 4 mM の塩化カリウムを添加した後、幼生を散布する方法』が88.4%の採苗率となり、有効な方法と思われた。

文 献

- 1) 谷 雄策・伊東義信 (1979) : アカウニ幼生の付着および変態に及ぼす付着珪藻の影響について。水産増殖, 27 (3), 148-150.
- 2) 佐賀県栽培漁業センター(1993) : アカウニの種苗生産 (平成元~3年度), 佐裁セ事報 (平成元~4年度), 20-27.
- 3) 川原逸朗・広瀬 茂・伊藤史郎・北村 等 (1994) : アカウニ幼生に対する塩化カリウムの変態誘起効果 (予報)。佐裁セ研報, 3, 79-83.
- 4) Kitamura, H., Kitahara, S., and Koh, H. B. (1993) : The induction of larval settlement and metamorphosis of two sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocidaris crassispina*, by free fatty acids extracted from the coralline red alga *Corallina pilulifera*. *Mar. Biol.*, 115, 387-392.
- 5) 伊東義信(1987) : アカウニ幼生の採苗法-I, 幼生の発育および変態後の稚ウニの発育から検討した採苗適期。佐裁セ研報, 1, 13-17.

