

マナマコの水溫制御による成熟・産卵促進 (予報)

伊藤史郎・川原逸朗

マナマコ *Stichopus japonicus* の安定した種苗生産を行うには、第一に大量の卵や精子を安定して得ることが重要である。そのためには、使用する親マナマコの採卵盛期を把握し、効果的な産卵誘発刺激を行うとともにその刺激に対して容易に反応するような親マナマコを養成する必要がある。

佐賀県では、アオナマコは3月下旬から4月中旬にかけて安定した採卵が可能¹⁾で、その後の付着珪藻板飼育によって、7月には体長10mmサイズの稚マナマコを10万尾単位で生産している^{2,3)}。一方、アカナマコは1992年では4月下旬から5月中旬にかけて採卵が可能であったが、アオナマコに比べ産卵誘発に対する反応率は低く、安定性に欠けていた。また、1992年のアカナマコの飼育例では、アオナマコに比べ採卵時期が遅かったため、体長10mmサイズの稚マナマコに達する時期が高水温時期の8月であった。このため、高水温の影響と思われる稚マナマコの付着力の低下がみられた²⁾。これらのことから、アカナマコについてもアオナマコと同様に3月下旬から4月中旬に安定して採卵できる親マナマコの養成法や採卵技術を開発することが望ましい。

ウニ類では水温制御によって成熟、産卵の促進が可能となっている⁴⁻⁶⁾が、マナマコについても既報¹⁾でみられたように、飼育水温によって産卵盛期の時期が若干異なっている。このことから、マナマコについても、水温制御によって成熟、産卵の制御が可能と思われる。

そこで今回、5月中旬に産卵盛期がみられた長崎県青島産のアカナマコを使って、3月から加温飼育し成熟、産卵の促進を試みた。その結果、4月下旬に採卵でき種苗生産を開始できたので、その実験結果の概要について報告する。

本文に先立ち、組織切片作成及び資料の取りま

とめを行うにあたり御教示いただいた長崎大学水産学部教授吉越一馬博士に厚く御礼を申し上げる。

材料及び方法

実験1 加温飼育による成熟促進試験

実験は、1992年1月から6月の間に行った。供試したマナマコは、長崎県松浦市の青島地先で素潜り漁法で採取した平均体重279gのアカナマコである。

実験は、1月28日に入手したアカナマコを、以後自然水温下で飼育した常温飼育群と3月16日に常温飼育群から取り出し、それ以後、加温して飼育を行った加温飼育群の2つの飼育群で成熟状況を比較した。

常温飼育群の飼育は1.6m³キャンパス製水槽(1.8×1.8×0.5m)3水槽に1水槽当り122尾を収容し、常時遮光幕(遮光率95%)をかけて行った。飼育水は簡易ろ過した海水を使用し、自然水温下で流水で飼育した。通気は直径13mmの塩化ビニール製(孔径1mm, 間隔3cm)の通気管(長さ1.5m)を通して水槽底面から行った。飼育は上屋のある屋外で行った。

加温飼育群は、常温飼育群の60尾を3月16日から水温約16~18°Cで飼育した。飼育は室内に設置した2m³FRP製水槽(1×2.4×1m)を使用し、流水で行った。通気は常温飼育群と同様の方法で行った。室内は暗くし、日長調節などは行わなかった。

各飼育群の餌料はワカメ *Undaria pinnatifida* を既報⁷⁾に準じて週3回与えた。1回当りの投餌量は飼育開始時のアカナマコ総体重の約5%量とした。なお、投餌はサイフォンで糞や残餌を取り除いた後に行った。

成熟状況の観察は次の方法によって行った。す

なわち、定期的各飼育群からアカナマコを取り出し、その生殖巣の量的、質的観察を行った。各個体の生殖巣重量を測定し、崔の方法⁸⁾に準じて生殖巣指数(生殖巣重量×100/殻重量)を求めた。その際、雌の個体については生殖巣内の卵母細胞の長径を測定した。卵母細胞の測定は、雌の生殖巣をピンセットで軽く絞って海水中に卵母細胞を取り出し、顕微鏡下で接眼マイクロメーターを使って1尾当り30個ずつ測定した。なお、長径約60 μ m以上の卵母細胞では、卵母細胞の表面と濾胞細胞との間にゼリー層が存在し、これは卵母細胞の発達に伴って次第に明瞭となるが、長径の測定はこのゼリー層を含まない卵母細胞のみの部分について行った。

次に、各個体の生殖巣の成熟度を組織学的手法により判定した。取り出した生殖巣は、ただちにブアン氏液で固定した後、パラフィン包埋法により厚さ3～5 μ mの組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン染色の後、顕微鏡観察により成熟度を判定した。

各飼育群の生殖巣の観察は、常温飼育群では1～6月にかけて10回、1回当り13～24尾、加温飼育群は4～6月にかけて5回、1回当り10尾について、それぞれ行った。

実験2 大量生産への実用化試験

加温飼育を行うことによって、生殖巣の成熟を促進させ4月に大量の種苗生産用受精卵を得る実用化試験を行った。

供試したマナマコは実験1と同様に長崎県松浦市青島地先で採取した平均体重302gのアカナマコで、1993年1月29日に入手し実験に使用した。

実験は、1月29日に入手したアカナマコを、以後自然水温下で飼育した常温飼育群と3月1日に常温飼育群から取り出し、以後加温飼育を行った加温飼育群の2つの飼育群で成熟状況を観察し、産卵誘発実験を行った。各飼育群の飼育水槽及び飼育条件は実験1と同様である。飼育水温の制御は1993年3月1日から約16～18°Cで飼育する方法で行った。

既報¹⁾で、生殖巣指数の高まりと卵母細胞の長

径の平均値が最大に達したときに昇温刺激に対して反応が高まることが明らかになっている。これらのことから、今回の産卵誘発の時期の決定は、各飼育群の生殖巣を定期的に取り出し、実験1と同様の方法で生殖巣指数と卵母細胞の長径の推移を観察して行った。生殖巣の観察は、常温飼育群は1～6月にかけて9回、1回当り10～15尾、加温飼育群は3～6月にかけて6回、1回当り10尾について、それぞれ行った。

産卵誘発方法は、石田の方法¹¹⁾を改変したもので、産卵誘発時の親の飼育水温より4～5°C程度昇温した海水中へ入れるものである。既報¹⁾のアカナマコを個別に産卵誘発する方法とは異なり、それぞれの昇温海水の入った500 ℓ 円形ポリカーボネイト水槽(以下、500 ℓ 水槽とする)に常温飼育群では20尾、加温飼育群では15尾をそれぞれ収容し産卵誘発を行った。産卵誘発中は止水とし、水槽底面より直径5cmのエアーストンを弱通気を施した。また、室内は暗くし、さらに各水槽を黒色ビニールシートで覆った。産卵を開始した個体は、ただちに昇温海水の入った20 ℓ 角型スチロール水槽へ収容し、この中で産卵を行わせた後、産卵数を計数した。雄は切開し生殖巣を取り出して滅菌海水の入った200mlガラスビーカーへ入れて懸濁させ、ただちに媒精を行った。産卵誘発は午前9時頃から開始し、午後4時頃に終了した。この際、反応がみられなかった場合は、昇温海水からアカナマコを取り出し、新しく常温海水を入れた500 ℓ 水槽へ収容し、翌日、再び昇温刺激を行った。昇温刺激を行わなかった場合は、アカナマコを1日1回新しく常温海水を入れた500 ℓ 水槽へ移し替えた。

結 果

実験1 加温飼育による成熟促進試験

各飼育群の飼育経過に伴う生殖巣指数、卵母細胞の長径及び飼育水温の推移を図1に示した。

加温飼育群の飼育水温は、加温飼育を開始した3月16日から4月中旬では16～17°Cで、常温飼育群より1～3°C高く推移した。4月下旬は常温飼

育群より2°C程度高めであったが、5月以降は海水温の上昇に伴い常温飼育群との水温の大きな差はみられなかった。

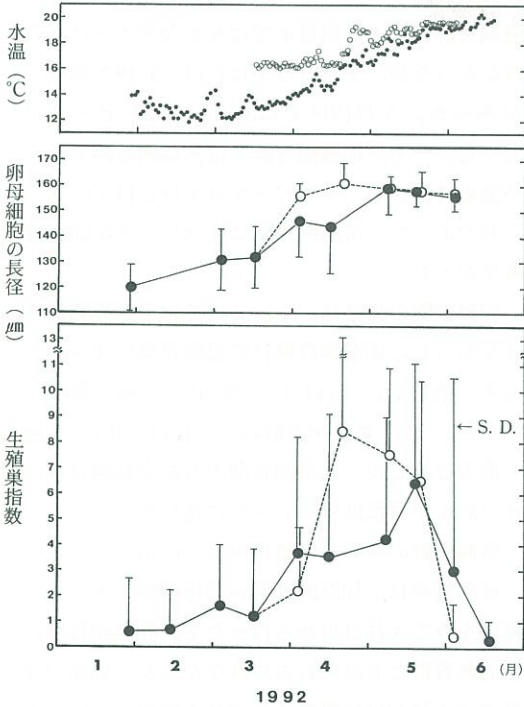


図1 アカナマコ常温飼育、加温飼育群の生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移
●, 常温飼育群; ○, 加温飼育群.

常温飼育群の生殖巣指数は、入手時は0.65±1.92と低くその後3月16日までは大きな高まりはみられなかった。その後、次第に高まりがみられ5月18日に6.42±4.63で最大となった。一方、加温飼育群は、4月3日の値は常温飼育群に比べ若干低かったが、その後急激に高くなり、4月20日にピークがみられ、その値は8.48±4.61であった。このように加温飼育群の生殖巣指数のピークは常温飼育群のピークに比べ約1か月程度早かった。

卵母細胞の長径の平均値は、常温飼育群では飼育経過に伴い大きくなり、5月7日では159±10μmで最大であった。加温飼育群では4月20日に161±8μmで最大となり、常温飼育群に比べ約半月ほど早く最大となった。

各飼育群の生殖巣の組織学的観察結果を、Tanaka⁹⁾が定めた区分を参考にし既報¹⁰⁾に準じて表1に示した。

常温飼育群では、3月中旬から、放卵、放精直前の成熟状況を示す成熟後期の個体が出現し、5月7日でその割合が最も高かった。一方、加温飼育群では4月20日が成熟後期の割合が最も高く、常温飼育群に比べその割合のピークは約半月ほど早く出現した。

表1 常温及び加温飼育群生殖巣の发育個体別尾数

採集年月日	休止期	常温飼育群					加温飼育群						
		成長期		成熟前期		成熟後期	放出期	成長期		成熟前期		成熟後期	放出期
		♂	♀	♂	♀			♂	♀	♂	♀		
1992. 1.28	12	1	1		1								
2.14	9	3	2										
3. 3	11	6	2		5								
3.16	2	2	4	1	3	1							
4. 3	3			2	3	4	1	2			2	2	2
4.15	3		1	3	3	3	1						
4.20											7	3	
5. 7	4				4	5	1						
5. 8								2			2	5	1
5.18	4				7	5	1	1					
5.20											6	3	1
6. 3	1				4	1	8	5	8				1
6.17	9						3	3					

実験2 大量生産への実用化試験

各飼育群の生殖巣指数、卵母細胞の長径及び飼育水温の推移を図2に示した。

加温飼育群の飼育水温は、16~20°Cの範囲であった。常温飼育群に比べ、3~4月中旬では3

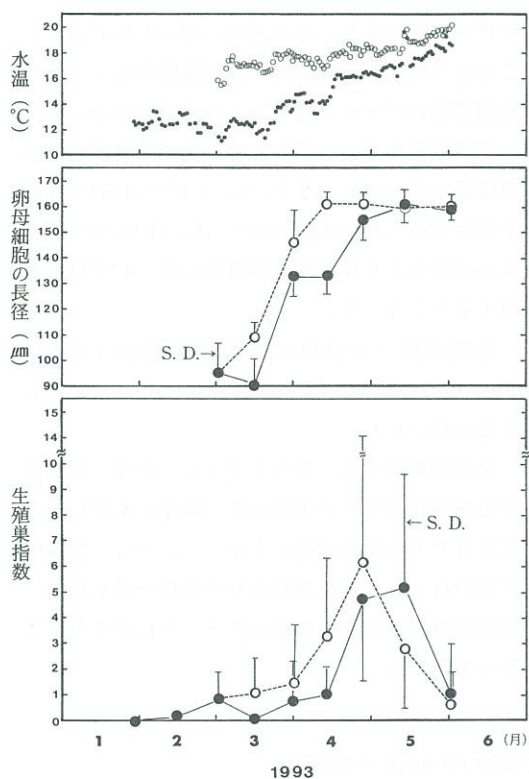


図2 アカナマコ常温飼育、加温飼育群の生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移
●, 常温飼育群; ○, 加温飼育群。

~5°C程度、4月中旬以降は1~3°C程度高く推移した。

生殖巣指数は、1月29日の入手時では0.04±0.06と1992年の入手時に比べ低い値であった。常温飼育群では4月13日までは大きな高まりはみられなかったが、4月27日では4.71±3.19と高まりがみられ、5月13日では5.22±4.42とピークであった。一方、加温飼育群では常温飼育群よりやや高めに推移し、そのピークは4月27日で6.16±7.93であった。常温飼育群に比べピークが20日程度早かった。

卵母細胞の長径は、1, 2月では小さく測定できなかった。加温飼育群は常温飼育群に比べやや大きく推移し、4月13日では161±5 μmと最大であった。一方、常温飼育群は5月13日に161±6 μmと最大に達した。加温飼育群の方が常温飼育群に比べ約1か月程度早くピークに達した。

各飼育群の産卵誘発結果を表2に示した。

産卵誘発は、加温飼育群の卵母細胞の大きさの推移をみて4月21日から行ったが、加温飼育群、常温飼育群とも反応はみられなかった。加温飼育群では4月22日に雌雄それぞれ1尾ずつ反応がみられた。反応時間は、誘発開始40分後に雄が反応し、その10分後に雌が反応し、産卵数は118×10⁴粒であった。一方、常温飼育群では反応はみられなかった。加温飼育群は4月22日に反応した2尾を除いた13尾を用いて4月26日に、常温飼育群は4月27日に再び産卵誘発を行った。加温飼育群は、4月26日の産卵誘発では雄2尾、雌1尾の反応が

表2 常温及び加温飼育群の産卵誘発結果

誘発月日	誘発供試数 (平均体重g)	常温飼育群				加温飼育群					
		誘発水温(°C)		反応尾数		誘発供試数 (平均体重g)	誘発水温(°C)		反応尾数		平均産卵数 (総産卵数) ×10 ⁴
		昇温前	昇温後	雄	雌		昇温前	昇温後	雄	雌	
1993. 4.21	20(269)	16.2	20.2	0	0	15(314)	18.6	22.6	0	0	0
4.22		19.2	23.2	0	0		19.2	23.2	1	1	118(118)
4.26						13	18.2	22.8	2	1	174(174)
4.27		16.8	21.0	0	0						
4.28		19.2	24.0	2	1	33(33)					
5. 6	17	19.0	24.0	1	0						
5.12	20(295)	17.3	22.3	0	0						
5.13		18.9	23.6	5	3	336.2(1008.7)					

みられた。反応時間は、雄が誘発開始35分後に、雌は1時間15分後にそれぞれ反応し、産卵数は 174×10^4 粒で4月22日に比べ若干多かった。常温飼育群は、4月27日には反応がみられなかったが、翌日の産卵誘発では雄2尾、雌1尾が反応した。ただ、産卵数は 33×10^4 粒と少なかった。反応時間は雌雄ともに誘発開始45分後で、雄のほうが若干早かった。常温飼育群は、4月28日に反応がみられた3尾を除いた17尾について、5月6日に再び産卵誘発を行ったが、雄1尾の反応がみられただけであった。常温飼育群は、5月12日に新たに親ナマコの飼育水槽から20尾を取り出し産卵誘発を行った。5月12日では反応はみられなかったが、翌13日では誘発開始30~45分後に雄5尾が反応し、50分~1時間20分後に雌3尾が反応した。雌1尾当りの平均産卵数は 336.2×10^4 粒で、4月22、26日の加温飼育群の産卵数に比べ多かった。

考 察

実験1において、生殖巣指数、卵母細胞の長径の推移や生殖巣の組織学的観察結果から加温飼育群では常温飼育群に比べ成熟が促進され、4月に、そのピークがみられた。さらに、1993年では3月上旬から $16 \sim 18^\circ\text{C}$ で加温飼育を行う温度処理によって、常温飼育群に比べ約20日ほど早く採卵が可能で、4月に受精卵を得ることができた。また、この受精卵を使った浮遊幼生の飼育も順調であった¹²⁾。

採卵適期について、既報¹⁾で長崎県大村湾産のアオナマコを産卵期前の1、2月から陸上水槽でワカメを与え自然水温下で飼育を行った場合、卵母細胞の長径の平均値が約 $140 \sim 150 \mu\text{m}$ のときに昇温刺激に対する反応率が高まることを明らかにしたが、今回の実験結果から青島産のアカナマコを陸上水槽で養成した場合、産卵盛期の卵母細胞の長径の平均値は約 $160 \mu\text{m}$ 程度であることが明らかになった。この値は大村湾産のアオナマコのものに比べ約 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ 程度大きかった。また、加温飼育群と常温飼育群の卵母細胞の長径の平均値の推移と昇温刺激に対する反応の高まりとの間には相

関がみられ、青島産のアカナマコについては卵母細胞の長径の平均値が約 $160 \mu\text{m}$ のときに産卵誘発を行えば良いことが推察された。

ウニ類の成熟は外部環境要因に大きく影響¹³⁻¹⁵⁾され、水温はその要因の重要な1つである。このことから、ウニ類については、親ウニの水温制御によって浮遊幼生や稚ウニの飼育適期に種苗生産を開始することが可能となっている⁴⁻⁶⁾。また、水産上有用な種苗生産対象種であるエゾアワビ *Haliotis discus hannai* でも、水温制御によって母貝の成熟、産卵のコントロール技術が確立され、すでに実用化されている¹⁶⁾。一方、マナコの親の養成技術については不明な点が多く、種苗生産工程の技術としてはまだ確立されていない。既報¹⁷⁾でワカメの投餌によって生殖巣指数が高まることや採卵適期を推定するための指標について明らかにした。また、小川ら¹⁷⁾は、採卵約1か月前から乾燥ワカメを与えて、水温を 18°C 以下に調整して産卵誘発を行い好結果を得ている。さらに、今回の水温制御による成熟、産卵の促進の試みなど、ようやく親の養成技術に関する知見が得られつつある。今後さらに研究を行い、知見の構築によって親の養成技術の確立がみられるものと思われる。

産卵誘発を高めるには、まず親ナマコの養成によって使用する親の成熟度を高め、個体間の成熟度を揃える必要があるが、このこととともに産卵誘発方法も重要な研究課題である。今回行った産卵誘発方法は既報¹⁾の1尾ずつ個別に誘発を行う昇温刺激法とは異なり、同一水槽内に多数の個体を入れ誘発を行う方法であった。さらに、反応がみられない場合は、翌日に再び昇温刺激をかける反復により採卵が可能であった。この方法では、最初に雄が反応し、その後雌の反応がみられた。これは石田¹¹⁾やその他多くの報告例¹⁷⁻²⁰⁾があるように、放精による飼育水中の精子濃度の高まりが放卵を誘起したものと考えられた。アサリ *Ruditapes philippinarum* では個体の成熟度が高い場合は温度刺激でも十分反応がみられるが、成熟度がやや低い場合などは、温度刺激と生殖巣内

容物の添加の併用法が有効であることが報告²¹⁾されている。このことから、既報¹⁾の長崎県大村湾産のアオナマコのように生殖巣指数の高い群を使って産卵誘発を行う場合は、1尾ずつを個別に誘発する方法が可能と思われるが、佐賀県北部沿岸域のマナマコや今回使用した青島産のアカナマコのような成熟度の低い群を使用する場合には、雌雄の混合による産卵誘発法が有効と思われる。

石田¹¹⁾が貝類で使用されていた温度刺激法を使って大量の受精卵を得ることに成功して以来、マナマコの産卵誘発は、石田の方法を基本とした様々な温度刺激法で行われてきた。しかし、近年、貝類が紫外線照射海水^{16,22)}、過酸化水素²³⁾やその他の活性物質^{24,25)}を使った産卵誘発法の開発によって、より計画的な採卵が可能になっているのに対し、マナマコの産卵誘発法は温度刺激の域を出ておらず、今後改善の余地が多分に残されている。

本研究の結果、マナマコの成熟を水温制御によって促進させ、常温飼育群より早期に採卵することができた。しかし、常温飼育群に比べ、1尾当りの産卵数は少なく、また雌雄の反応率も低かった。これらのことから、今後より安定した技術とするには水温制御を行う時期や設定温度などを明らかにする必要がある。

要 約

1. 長崎県青島産のアカナマコを使って3月から16~18°Cの加温飼育を行い、成熟、産卵の促進を試み、常温飼育群との比較を行った。
2. 加温飼育群の成熟促進の有無は、常温で飼育した群と生殖巣指数、卵母細胞の長径の推移、生殖巣の組織学的観察結果などを比較することによって行った。
3. 加温飼育群では、生殖巣指数や卵母細胞の長径のピークや放卵、放精直前の成熟状況を示す成熟後期の組織像の出現が常温飼育群に比べ約半月から1か月程度早かった。
4. 加温飼育群と常温飼育群を使って昇温刺激による産卵誘発を行ったところ、加温飼育群は常

温飼育群に比べ約半月ほど早く受精卵が得られた。

文 献

- 1) 伊藤史郎・川原逸朗・平山和次 (1994) : マナマコの成熟と採卵適期 (予報). 佐賀県栽培漁業センター研究報告, 3, 19-25.
- 2) 伊藤史郎・川原逸朗 (1993) : マナマコの付着珪藻板飼育による大量生産 (予報). 佐賀県栽培漁業センター研究報告, 2, 1-11.
- 3) 伊藤史郎・川原逸朗・青戸 泉・真崎邦彦 (1993) : マナマコの種苗生産. 佐賀県栽培漁業センター事業報告書 (平成元~4年度), 34-40.
- 4) 伊東義信・真崎邦彦・金丸彦一郎・伊藤史郎 (1987) : アカウニの生殖巣成熟促進に対する飼育水温コントロールの効果. 佐賀県栽培漁業センター研究報告, 1, 1-4.
- 5) 伊藤史郎・柴山雅洋・小早川 淳・谷 雄策 (1989) : 水温制御によるバフンウニ *Hemice-ntrotus pulcherrimus* の成熟, 産卵促進. 日本水産学会誌, 55 (5), 757-763.
- 6) 川原逸朗・広瀬 茂・伊藤史郎 (1994) : アカウニの種苗生産. 佐賀県栽培漁業センター事業報告書 (平成4~5年度), 10-17.
- 7) 伊藤史郎・川原逸朗 (1994) : マナマコの養成餌料に関する研究. 佐賀県栽培漁業センター研究報告, 3, 15-17.
- 8) 崔 相 (1963) : なまこの研究. 海文堂, 東京, 226 pp.
- 9) Tanaka, Y. (1958) : Seasonal changes occurring the gonad of *Stichopus japonicus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 9 (1), 29-36.
- 10) 伊藤史郎・川原逸朗・森勇一郎・江口泰蔵 (1994) : 佐賀県北部沿岸域におけるマナマコの産卵期 (予報). 佐賀県栽培漁業センター研究報告, 3, 1-13.
- 11) 石田雅俊 (1979) : マナマコの種苗生産. 栽培技研, 8 (1), 63-75.
- 12) 伊藤史郎・川原逸朗・江口泰蔵 (1994) : マナマコの種苗生産. 佐賀県栽培漁業センター事業報告書 (平成4~5年度), 32-46.
- 13) Cochran, R. C. and Engelman, F. (1975) : Environmental regulation of the annual reproductive season of *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). *Biol. Bull.*, 148, 393-401.
- 14) Pearse, J. S., Pearse, V. B. and Davis, K. K. (1986) : Photoperiodic regulation of gametogenesis and growth in the sea urchin *Stron-*

- gyllocentrotus purpuratus*. *J. Exp. Zool.*, 237, 107-118.
- 15) Kazuhiro Sakairi, Masamichi Yamamoto, Kozo Ohtsu and Masao Yoshida (1989): Environmental control of gonadal maturation in laboratory-reared sea urchin, *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Zool. Sci.*, 6 (4), 721-730.
 - 16) Uki, N. and Kikuchi, S. (1984): Regulation of Maturation and Spawning of the Abalone *Haliotis* (Gastropoda) by external environmental factors. *Aquaculture*, 39, 247-261.
 - 17) 小川 浩・高野 傑・稗田賢治 (1991): 平成2年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (棘皮類) 大分県.
 - 18) 柳澤豊重・田中健二・本田是人 (1991): 平成2年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (棘皮類) 愛知県.
 - 19) 畑中宏之・中島輝彦・嶋田雅弘 (1991): 平成2年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (棘皮類) 福井県.
 - 20) 大橋 裕・山本 翠・藤村治夫・今井 厚 (1991): 平成2年度地域特産種増殖技術開発事業報告書 (棘皮類) 山口県.
 - 21) 鳥羽光晴・深山義文 (1992): アサリ産卵誘発方法の比較. 水産増殖, 40 (3), 303-311.
 - 22) 西広富夫 (1980): トリガイの人工採苗に関する研究 - I. 産卵誘発と初期発生. 京都府海洋センター研究報告, 4, 13-17.
 - 23) Morse, D. E. (1984): Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable molluscs. *Aquaculture*, 39, 263-282.
 - 24) Matsutani, T. and T. Nomura (1982): Induction of spawning by serotonin in the scallop *Patinopecten yessoensis* (JAY), *Mar. Biol. Lett.*, 3, 353-358.
 - 25) 田中弥太郎・村越正慶 (1985): セロトニン注射によるイタヤガイの放精・放卵誘起. 養殖研究報告, 7, 9-12.

