

## 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)

川原逸朗・広瀬 茂・伊藤史郎・北村 等\*

アカウニ *Pseudocentrotus depressus* の幼生は、孵化後数週間の浮遊生活を経て稚ウニへ変態し、底棲生活に入る。形態的および生理的に大きな変化を示すこの変態は、ヒジキ、ウミトラノオ、石灰藻など数種類の海藻や付着珪藻などと接触することによって引き起こされる<sup>1-4)</sup>。また、付着珪藻は、それ単独でも変態を誘起するが、ヒジキと併用することで変態誘起効果が增大することが報告されている<sup>5)</sup>。

西日本のアカウニ種苗生産現場では、これらの現象を利用し、浮遊幼生から稚ウニへの変態を人為的に誘起する技術、いわゆる“採苗”を行っている。すなわち、波板に繁殖させた付着珪藻を用いて幼生の変態を誘起し、合わせて付着基盤として利用している。佐賀県栽培漁業センターでは、このとき波板を入れた採苗水槽内にヒジキを投入して、変態誘起の効率化を図っている<sup>6)</sup>。しかし、10月中旬頃に行われるアカウニの採苗時期とヒジキの繁殖期がずれているため、ヒジキの活用には限界がある。また、ヒジキを併用した場合でも、採苗率にバラツキが生ずることがあり、その誘起効果にやや不安定な要素も認められている。これらのことから、必要なときに使用できて、一定の誘起効果を発揮する変態誘起物質を検索することが望まれてきた。

一方、巻貝類の *Crepidula fornicata* は、15~20 mM 程度の塩化カリウムを添加した海水中にさらされることによって変態が誘起されることが知られている<sup>7)</sup>。また、巻貝類の *Strombus gigas* については、15mM の塩化カリウムを用いることによって大量生産における変態誘起が可能であることが報告されている<sup>8)</sup>。塩化カリウムを用いるこ

とにより、アカウニの変態が誘起される可能性があるが、本種に対する変態誘起効果について検討した例はみあたらない。巻貝類と同様な変態活性が認められれば、アカウニの種苗生産に活用できるものと考ええる。

そこで、本報では、塩化カリウムのアカウニ幼生に対する変態誘起効果について調べ、変態活性を確認することができ、その結果からアカウニの採苗に活用することによって、採苗率の安定と向上が図れる可能性が得られたので以下に報告する。

## 材料及び方法

塩化カリウムを用いた変態実験には、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30 l の円形ポリカーボネート水槽で19~21日間飼育したものである。飼育水の換水は、孵化幼生を水槽に収容後4日目から全水量の40~50%を目安に毎日行い、餌料には、60 l のスチロール水槽で培養した *Chaetoceros gracilis* を用いた。

変態実験の容器には、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)を用い、これに通常海水(対照実験)および10, 18, 32, 56, 100mM の塩化カリウム添加海水を各々9 ml分注した後、幼生を10個体ずつ収容した。これらの実験は、各々3例ずつ行った。容器は収容後、20°Cのインキュベーター内に静置し、10, 60分、6, 24, 48時間後に実体顕微鏡を用いて、処理することなく継続的に変態状況を観察した。各実験での変態状況は、Kitamura *et al.*<sup>3)</sup>の報告に従って次の式によって求めた反応率の3例の平均値により表現した。

反応率(%) = 部分変態率 + 稚ウニ率

\* 長崎大学水産学部

部分変態率(%)=(変態途中個体数/10)×100

稚ウニ率 (%)=(変態完了個体数/10)×100

ここで、変態途中とは管足や棘を体外に出しているが幼生の体を持つもの、変態完了とは幼生の体が完全に吸収され、変態が終了したものを示す。なお、使用した海水は、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)で濾過したものである。また、通常の海水には約10mMの塩化カリウムが含まれているため、実際の濃度は、各々10mMのプラスとなる。

これらの変態実験のうち、60分間の実験については、以下に述べるような処理を行う実験も実施した。すなわち、5段階の濃度の塩化カリウム添加海水に幼生を60分間収容した後、通常海水のみを9mlずつ分注したマルチウェルプレートに幼生を各々移し替え、その24時間後に変態状況を観察した。また、100mMについては5~60分間の3段階の処理を行った後、通常海水に移し替え、24時間後の変態状況を観察した。さらに、処理時間5分間、添加濃度100mMの実験については、14、17、20、23および26°Cで幼生を処理後、各温度の通常海水に移し替え、24時間後の変態状況を観察した。

## 結 果

10、18、32、56、100mMの塩化カリウム添加海水に八腕後期幼生を収容し、継続的に10、60分、6、24、48時間後に観察した変態状況を図1に示した。対照の通常海水中での幼生の反応率は、48時間後においても0%であった。これに対し、通常海水に10mMの塩化カリウムを添加した場合の反応率は、10分で20.0%、60分で33.3%と時間の経過とともに高くなり、24時間後に約80%を示してその後プラトーとなった。18mMでは幼生収容後60分で、32~100mMでは10分ですべての幼生が棘を体外に出しており、反応率100%となった。稚ウニ率は、10~100mMのいずれの濃度でも収容から60分後の値がその後大きく変化することはない、その値は10mMで0%、18mMで

10.0%、32mMで50.0%、56mMで53.3%、100mMで100.0%を示し、塩化カリウムの添加量が多くなるほど高くなる傾向を示した。変態途中の個体および稚ウニの付着力は、添加量が18mMまでは強かったが、32mMでは極端に弱くなり、56mM以上では全く認められなくなった。

10、18、32、56、100mMの塩化カリウム添加海水に60分間収容した幼生を通常海水に戻し、さらに24時間経過後の変態状況を図2に示した。変態途中の個体および稚ウニの付着力は、先に述べた24時間継続的に収容した場合とは異なり各濃度とも正常であった。稚ウニ率は先の実験の60分後とほぼ同様の10および18mMでは0%、32mMで33.3%、56mMで53.3%、100mMで100%となり、海水に添加する塩化カリウムの量が多くなるほど高くなった。また、100mMの塩化カリウム添加海水で幼生を5、10および60分間の3段階の処理を行った後、通常海水に戻した結果、各処理時間終了後の幼生は、付着力のない変態途中(5および10分)または稚ウニ(60分)で、いずれも付着力のない状態であったが、通常海水に戻して24

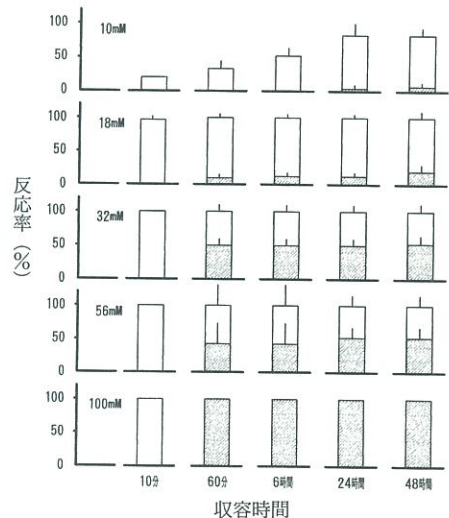


図1 各濃度の塩化カリウム添加海水中における反応率の経時変化

Bar, 標準偏差; □, 部分変態率(%);

▨, 稚ウニ率(%).

実験は各々3例ずつ行った。

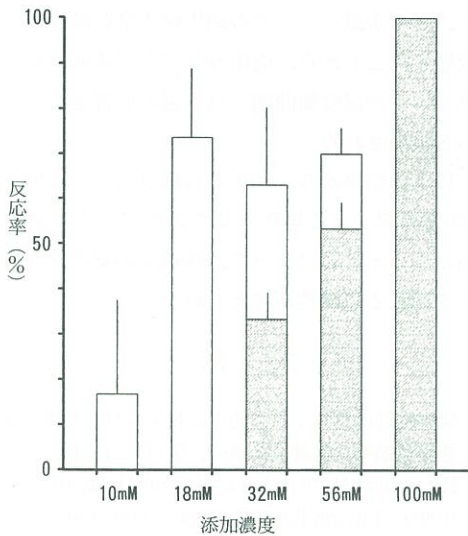


図2 幼生を各濃度の塩化カリウムに60分間収容後、通常海水に戻してから24時間後の反応率  
Bar, 標準偏差; □, 部分変態率(%);  
▨, 稚ウニ率(%).  
実験は各々3例ずつ行った。

時間後には、いずれの処理時間でもすべての幼生が付着力のある正常な稚ウニに変態していた。

14, 17, 20, 23, 26°Cの温度に調整した100mMの塩化カリウム添加海水で幼生を5分間処理後、各温度の通常海水に24時間戻した結果、幼生はどの温度区もすべてが付着力のある正常な稚ウニに変態しており、稚ウニ率100%を示した。

## 考 察

本実験で、10, 18, 32, 56, 100mMの5段階の塩化カリウム添加海水にウニ原基の十分に発達したアカウニの八腕後期幼生を収容し、継続的に48時間観察したところ、18mM以上の濃度ですべての供試幼生が変態を開始するのが認められた。18mMでは、60分以内にすべての幼生が変態を開始したが、その後変態はあまり進行せず、48時間後の稚ウニ率は20%程度であった。32mM以上の添加濃度となると、部分変態を含めた反応率が10分以内に100%を示し、稚ウニ率も次第に高くなり100mMで100%となった。しかし、これらの濃度では変態途中の個体や稚ウニの付着基盤であるマ

ルチウェルプレートへの付着力が弱く、また棘の動きも全くみられなかった。これらのことから、アカウニ幼生に対する最適添加濃度は、18mM前後にあるものと考えられる。以上のように塩化カリウム添加海水を用いることにより供試幼生のすべてを変態させることはできたが、付着力などが正常な稚ウニを誘起することはできなかった。この原因としては、カリウムイオンの働きでウニの管足を収縮させる作用を持つ<sup>9)</sup>塩化カリウムが、32mM以上の濃度では幼生の変態を誘起すると同時に、変態して体外に露出した管足を収縮させたことが考えられる。

一方、塩化カリウムによって付着力がみられなくなった稚ウニは、通常海水に戻すと速やかに付着力が回復することが報告されている<sup>9)</sup>。そこで、10, 18, 32, 56, 100mMの5段階の塩化カリウム添加海水に幼生を60分間収容し、さらに24時間通常海水に戻した結果、100mMでは、供試したすべての幼生が形態的にも正常な稚ウニとなるとともに、変態途中の個体および稚ウニの付着力は、いずれの濃度も良好であった。また、100mMの塩化カリウム添加海水で幼生を5, 10および60分間の3段階の処理を行った後、同様に通常海水に戻したところ、すべての幼生が付着力のある正常な形態の稚ウニに変態していた。このことから、100mMの塩化カリウム添加海水を用いれば、その処理時間は5分程度でも良いと考えられる。5分後の幼生の形態は、変態途中であったため、通常海水に移されてから稚ウニとなったものと思われる。

14~26°Cの水温に調整した100mMの塩化カリウム添加海水で幼生を5分間処理し、さらに24時間同じ温度の通常海水に戻したところ、どの水温の幼生もすべて付着力の強い正常な形態の稚ウニに変態した。このことから、塩化カリウムのアカウニ幼生に対する変態誘起効果は、この温度範囲内では水温の影響を受けないものと推察される。

ウニ類に対する塩化カリウムの変態誘起効果を検討した例としては、外国産のウニ *Strongylocentrotus purpuratus* についての報告がある<sup>10)</sup>。これによると、このウニは12mMおよび24mMの塩

化カリウム添加海水では変態が誘起されないとされており、同じウニ類でも変態のメカニズムが異なるようである。アカウニ以外の日本産ウニ類も、種類によって変態活性に差が認められることが考えられ、この点については今後検討を加えたい。

本実験の結果、塩化カリウムを用いてアカウニ幼生を100%稚ウニへ変態させる方法が明らかになった。このことから、アカウニにおいても塩化カリウムを種苗生産工程の中の採苗技術に活用することで、採苗率の安定化と向上を図れる可能性が考えられる。しかし、この物質を採苗に用いるためには、人為的誘起後の生残性や付着珪藻との併用効果などを明らかにする必要がある。今後は、これらの問題点を解決して、量産規模の採苗に塩化カリウムを使用する方法を確立していきたい。

### 要 約

1. 10~100mMの5段階の塩化カリウム添加海水にウニ原基の十分に発達したアカウニの八腕後期幼生を収容すると、18mM以上の濃度で部分変態を含めた反応率が100%となった。32mM以上の濃度では変態途中の個体や稚ウニの付着力が弱かったことから、最適添加濃度は反応率100%、稚ウニ率20%を示した18mM前後にあるものと考えられた。
2. 10~100mMの5段階の塩化カリウム添加海水に幼生を60分間収容し、さらに24時間通常海水に戻したところ、変態途中の個体および稚ウニの付着力は、24時間継続的に収容した場合とは異なり各濃度とも正常であった。
3. 100mMの塩化カリウム添加海水で幼生を5、10および60分間の3段階の処理を行った後、同様に通常海水に戻したところ、すべての幼生が付着力のある正常な稚ウニに変態した。このように100mMの添加量では、その処理時間は5分程度でも良く、処理後通常海水に戻せば正常な稚ウニへ変態することがわかった。
4. 14~26°Cの5段階の水温に調整した100mMの塩化カリウム添加海水に幼生を5分間収容し、さらに24時間同じ水温の通常海水に戻したとこ

ろ、どの水温もすべての幼生が正常な稚ウニに変態したことから、塩化カリウムの変態誘起効果は、この温度範囲内では水温の影響を受けないと推察された。

5. 以上の結果から、幼生から稚ウニへの変態を100%誘起できる塩化カリウムをアカウニの採苗に用いることによって、採苗率の安定化と向上を図れる可能性が考えられた。

### 文 献

- 1) 伊東義信(1984):ウニ幼生に対する付着珪藻の変態促進効果。付着生物研究, 5 (1), 15-18.
- 2) Kitamura, H., Kitahara, S., and Hirayama, K. (1992): Lipophilic inducers extracted from *Corallina pilulifera* for larval settlement and metamorphosis of two sea urchins (*Pseudocentrotus depressus* and *Anthocidaris crassispina*). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (1), 75-78.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 伊藤史郎・小早川淳・谷 雄策・中村展男 (1991): パフンウニ、アカウニ幼生の変態促進に及ぼす付着珪藻とヒジキの併用効果。栽培技研, 19 (2), 61-66.
- 6) 佐賀県栽培漁業センター(1993): アカウニの種苗生産(平成元年~3年度)。佐裁漁セ事報(平成元~4年度), 20-27.
- 7) Pechenik, J. A. and Heyman, W. D. (1987): Using  $KCl$  to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 112, 27-38.
- 8) Davis, M., Heyman, W. D., Harvey, W., and Withstandley, C. A. (1990): A comparison of two inducers,  $KCl$  and *Laurencia* extracts, and techniques for the commercial scale induction of metamorphosis in queen conch *Strombus gigas* linnaeus, 1758 larvae. *J. Shellfish Res.*, 9 (1), 67-73.

- 9) 後藤政則・伊藤史郎・真崎邦彦 (1990) : 塩化カリウムによるアカウニ稚ウニの麻酔剥離。栽培技研, 19 (1), 9-14.
- 10) Rowley, R. J. (1989) : Settlement and recruit-

ment of sea urchin (*Strongylocentrotus* spp.) in a sea-urchin barren ground and a kelp bed : are populations regulated by settlement or post-settlement processes? *Mar. Biol.*, 100, 485-494.

