

## マナマコの成熟と採卵適期\*<sup>1</sup>(予報)

伊藤史郎・川原逸朗・平山和次\*<sup>2</sup>

マナマコ *Stichopus japonicus* 種苗の安定した計画生産を行うには、第一に種苗生産に必要な大量の卵や精子を安定して得ることが不可欠である。そのためには、使用する親ナマコの産卵盛期や効率的に受精卵を得るための採卵適期をあらかじめ把握することが重要である。

現在、マナマコの種苗生産に使用されている親ナマコは、産卵期と思われる時期に天然海域から採捕し採卵に使用しているが、この方法では刺激に対する反応率も低く、多数の個体を必要としている状況である<sup>1)</sup>。また、近年では、親ナマコの採捕後1か月程度、水温制御による飼育や餌料を与えて飼育するなどの親の養成技術の検討も行われはじめているが、計画的に安定して大量の受精卵を得る技術とするには、まだ改善の余地が残されている<sup>1)</sup>。

そこで、本研究では長崎県大村湾から産卵期<sup>2)</sup>前の1、2月に採取したアオナマコを、陸上水槽で飼育し定期的に産卵誘発を行うことによって、アオナマコの陸上水槽での産卵盛期を検討した。また、その際、採卵適期を推定するための指標について若干の検討を行った。その結果、1月下旬から2月中旬に天然海域から採取した個体を陸上水槽で2か月程度養成することによって、3月下旬から4月中旬にかけて安定して大量の受精卵を得ることが可能となり、さらに、産卵誘発時期を決定する指標について若干の知見が得られたので報告する。

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 産卵盛期及び採卵適期の推定に関する試験

実験は、1990年2月から4月にかけてと1991年2月から5月にかけての2回行った。供試したアオナマコは、長崎県大村湾の琴海町村松地先でナマコ桁網漁業によって漁獲されたものである。1990年は2月14日に、1991年は2月4日にそれぞれ入手した。

飼育は、1990年では1.6m<sup>3</sup>キャンバス水槽(1.8×1.8×0.5m)2水槽に1水槽当り55尾(平均体重304g)、1991年では1.6m<sup>3</sup>水槽の2水槽に1水槽当り56尾(平均体重273g)をそれぞれ収容して行った。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を行った。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。飼育水槽の照度調節は常時遮光幕(遮光率95%)によって行い、日長調節は行わなかった。

飼育餌料は、ワカメ *Undaria pinnatifida* を既報<sup>3)</sup>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オナマコ総体重の約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。

産卵盛期の把握は次の2つの方法によって行った。その1つは、産卵誘発を行って放卵、放精を調べ、産卵した場合その産卵数を調べる方法である。飼育水槽から任意に取り出した親ナマコに産卵誘発を行い、雌雄の反応率及び放卵した雌1尾当りの平均産卵数を求めた。なお、誘発により放卵あるいは放精をみた個体を反応個体と表現し、

\*<sup>1</sup> 本報告の概要は1993年10月、日本水産学会秋季大会(長崎市)において口頭発表した。

\*<sup>2</sup> 長崎大学大学院海洋生産科学研究科

その割合を反応率として示した。産卵誘発方法は昇温刺激法を用いた。これは、石田の方法<sup>4)</sup>を改変したもので、そのときの親の飼育水温より5°C程度昇温した海水中へ入れるものである。すなわち、1尾ずつを昇温海水の入った20角型スチロール水槽（以下、20水槽とする）へ収容し、ただちに昇温した海水を約0.5/分の流量で流し込む方法である。産卵誘発は午前9時頃から約3時間行った。刺激中は室内を暗くし、さらに各水槽を黒色のビニールシートで覆った。これらの実験は、1990年では3月から4月にかけて、1991年では2月から5月にかけてそれぞれ6回行い、1回当たり無作為に9~18尾ずつを使用した。なお、1991年の実験では昇温刺激に対し反応しなかった個体は切開し、生殖巣を取り出して雌雄の判別を行った。

もう1つの方法は、組織学的手法により熟度を判定する方法である。産卵誘発に使用した個体とは別に、無作為に採取した個体の生殖巣を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 $\mu$ 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の度を判定した。組織切片の作成は1991年のサンプルについてのみ行い、2月の入手時から5月にかけて7回、1回当たり9尾について観察した。

採卵適期を推定するための指標として次の2つの値について検討した。1つは任意に取り出した個体の生殖巣重量から、崔の方法<sup>5)</sup>に準じて生殖巣指数（生殖巣重量 $\times$ 100/殻重量）を求め指標とするものである。なお、殻重は体を切開して生殖巣、消化管、呼吸樹及び体腔水を除去した殻の重量である。

他の1つは生殖巣重量を測定した際、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、その平均値を指標とするものである。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尾当たり30個ずつ測定した。なお、長径約60 $\mu$ 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。これらの調査は、1990年では2月から4月にかけて5回、1991年では2月から5月にかけて7回行い、1回当たり無作為に5~20尾ずつ使用した。体重及び殻重は0.1g単位で、生殖巣は0.001g単位で秤量した。

なお、昇温刺激に対する反応率は、放卵、放精した個体を産卵誘発に使用した個体に対する割合で示した。

## 実験2 大量生産への実用化試験

安定して大量の受精卵を得るための実用化試験として、雌雄の生殖巣指数や卵母細胞の長径及び親の飼育水温を指標とした採卵実験を行った。

実験は、1992年2月7日から4月27日と1993年1月30日から4月14日にかけての2回行った。アオナマコは実験1と同様に長崎県大村湾産のものを使用した。採捕方法や入手後の飼育方法は実験1に準じて行った。ただ、親ナマコの飼育水槽は2m<sup>3</sup>キャンバス水槽（1.0 $\times$ 4.0 $\times$ 0.5m）と4m<sup>3</sup>FRP水槽（2.8 $\times$ 1.8 $\times$ 0.8m）を使用した。

入手後は、親ナマコの飼育水温の観察とともに、定期的に、1992年は15尾、1993年は10尾ずつ生殖巣指数と卵母細胞の長径を測定し、種苗生産のための採卵時期を検討した。

## 結 果

### 実験1 産卵盛期及び採卵適期の推定に関する試験

実験期間中、ワカメの摂餌は非常に活発であったが、1991年は4月中旬以降摂餌量の減少がみられた。

#### 1) 反応率及び平均産卵数

1990年：雌雄を含めた反応率、平均産卵数及び親の飼育水温の推移を図1に示した。3月1日及び16日ではいずれも反応個体はみられなかったが、3月23日に61.1%（18尾中雌5尾、雄6尾）、3月29日にも61.1%（18尾中雌2尾、雄9尾）の反応がみられ、4月2日には88.9%（9尾中雌4尾、雄4尾）と反応率が高まった。4月17日には22.2%（9尾中雌1尾、雄1尾）に低下した。雌1尾当たりの平均産卵数は、3月23日の825.0 $\times$ 10<sup>4</sup>粒が



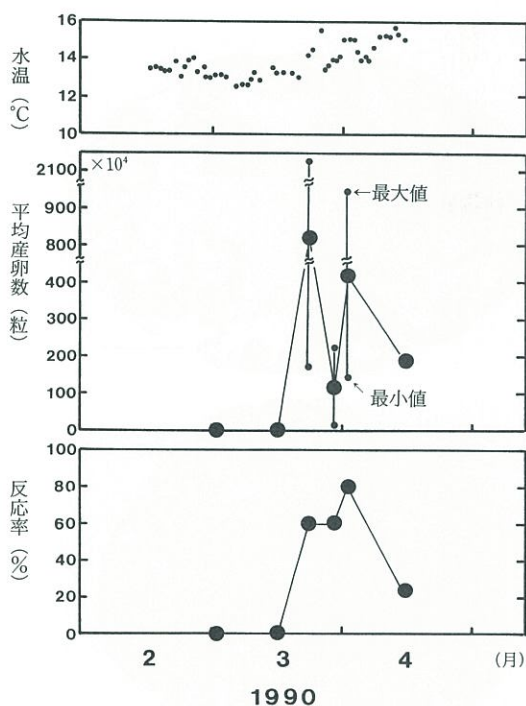


図1 飼育経過に伴う反応率及び平均産卵数の推移

最も多く、最大は1尾当り $2124.8 \times 10^4$ 粒であった。4月2日では3月23日に比べ減少したが $412.2 \times 10^4$ 粒の産卵がみられた。4月17日では1尾のみ産卵がみられ、その数は $190.1 \times 10^4$ 粒であった。

1991年：雌雄の反応率、平均産卵数及び親の飼育水温の推移を図2に示した。はじめて反応がみられたのは、雄は3月14日、雌は4月8日であった。反応率は雄40%（5尾中2尾）と雌42.9%（7尾中3尾）であった。反応率のピークは、雌雄ともに4月11日で、雌が75%（4尾中3尾）雄が100%（5尾中5尾）を示した。5月7日では雌雄それぞれ33.3%（3尾中1尾）と66.7%（6尾中4尾）で4月11日に比べ減少した。雌1尾当たりの平均産卵数は、反応率のピークがみられた4月11日が最も多く、 $278.5 \times 10^4$ 粒で、最大 $572.6 \times 10^4$ 粒であった。5月7日では $13.6 \times 10^4$ 粒と4月11日に比べ減少した。

アオナマコ飼育水槽での飼育水温は全般的に1991年のほうが1990年に比べて低かった。特に、2月下旬と4月上旬では1991年のほうが1990年に

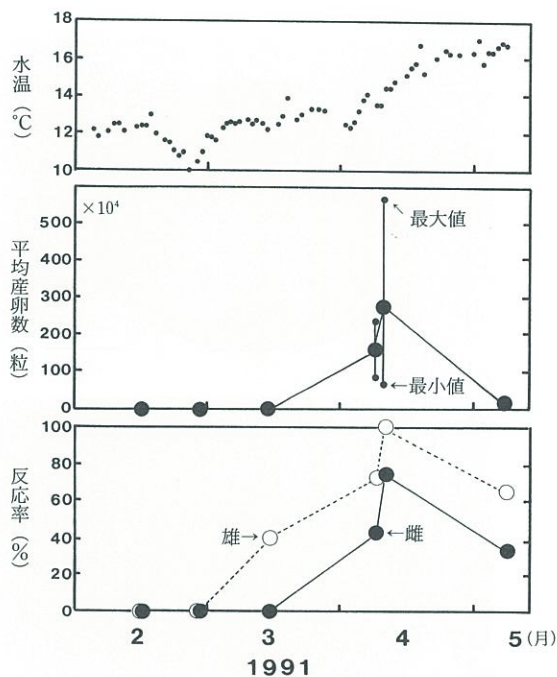


図2 飼育経過に伴う反応率及び平均産卵数の推移

比べて $3 \sim 4^\circ\text{C}$ 程度低かった。また、1990年及び1991年ともに雌の反応率が高まったのは飼育水温が $14^\circ\text{C}$ 程度のときであった。

## 2) 生殖細胞の発育過程

生殖巣の発育過程別の組織像は、Tanaka<sup>6)</sup>が定めた区分を参考にし、既報<sup>7)</sup>に準じて図3に示した。また、1991年における飼育群の生殖巣の飼育経過に伴う発育過程の推移を図4に示した。

2月4日の飼育開始時での成熟状況は、9尾中、雄が3尾でこれらはすべて成熟前期、雌が6尾中2尾で成長期、4尾で成熟前期であった。2月16日では雄で成長期がみられた。3月14日では成熟が進み、成熟前期と成熟後期であり、雄5尾中3尾が成熟前期、2尾が成熟後期で、雌4尾中3尾が成熟前期、1尾が成熟後期であった。4月8日では雌雄ともに成熟後期の割合が高まるとともに放出期の出現がみられた。5月7日では雌はすべて放出期であったが、雄で4尾中1尾が成熟後期であった。

## 3) 生殖巣指数及び卵母細胞の長径

1990年及び1991年の飼育経過に伴う生殖巣指数

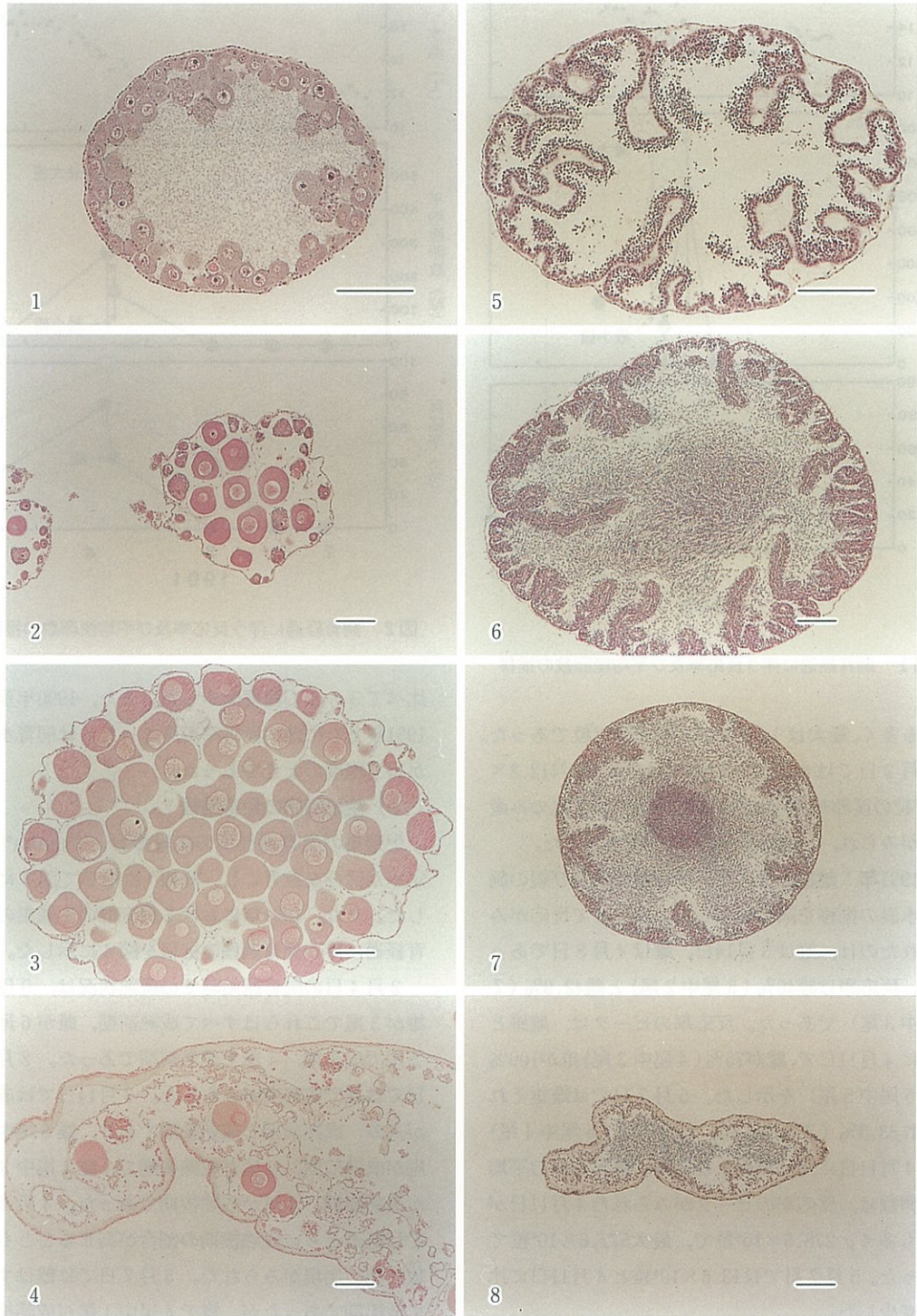


図3 生殖巣の發育過程  
 1, 成長期(雌); 2, 成熟前期(雌); 3, 成熟後期(雌); 4, 放出期(雌);  
 5, 成長期(雄); 6, 成熟前期(雄); 7, 成熟後期(雄); 8, 放出期(雄).  
 Scale bars=100  $\mu$ m



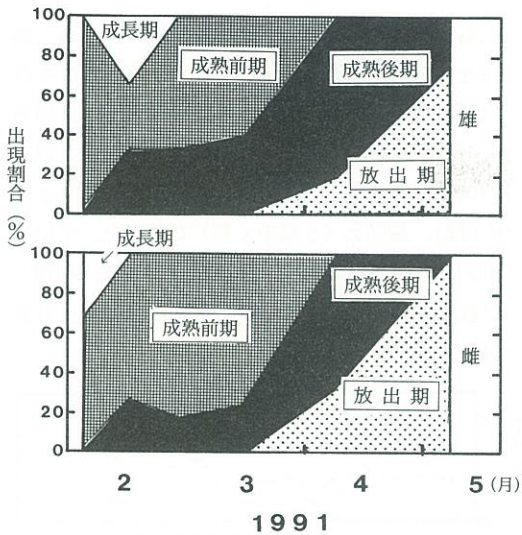


図4 飼育経過に伴う生殖巣の発育過程の推移

及び卵母細胞の長径の推移を図5、6にそれぞれ示した。

1990年：雌雄の生殖巣指数は、2月14日の入手時で雌は $8.5 \pm 6.2$ 、雄は $10.2 \pm 6.9$ であった。その後、飼育経過に伴い高くなり、3月16日では雌 $17.9 \pm 12.5$ 、雄 $15.0 \pm 8.1$ と高い値であった。ピークは4月2日にみられ、その値は雌雄それぞれ $20.4 \pm 10.0$ と $19.8 \pm 5.8$ で高かった。4月17日では雌雄ともに4月2日に比べ著しく減少した。

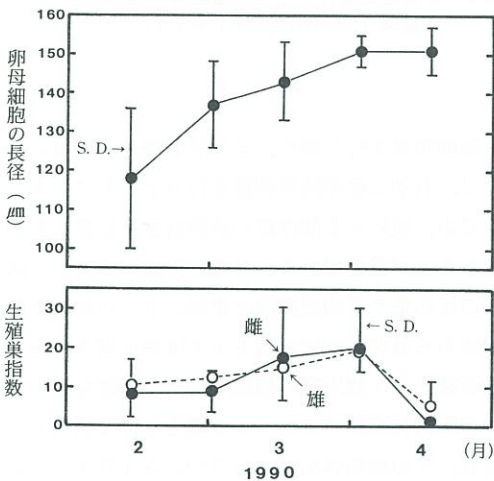


図5 飼育経過に伴う生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移

卵母細胞の長径は2月14日の入手時では $118 \pm 18 \mu\text{m}$ であったが、以後、飼育経過に伴い大きくなり3月16日では $143 \pm 10 \mu\text{m}$ であった。4月2日では $151 \pm 4 \mu\text{m}$ で最大であった。

1991年：2月4日入手時の雌雄の生殖巣指数はいずれも1990年の入手時に比べ若干低く、雌 $5.7 \pm 1.0$ 、雄 $6.2 \pm 4.0$ であった。その後、飼育経過に伴い高くなったが、それらのピークはいずれも1990年に比べ若干遅く4月11日にみられた。5月7日では、雌雄ともに4月11日の値に比べ減少し、特に、雌で著しく減少した。

卵母細胞の長径は2月4日の入手時では $99 \mu\text{m}$ であったが、1990年の観察結果と同様に飼育経過に伴い大きくなり3月14日には $139 \pm 13 \mu\text{m}$ であった。また雌で反応がみられた4月8日では $145 \pm 6 \mu\text{m}$ で、さらに雌の反応率ももっとも高かった4月11日では $149 \pm 3 \mu\text{m}$ であった。生殖巣指数と同様に卵母細胞の長径のピークは1990年に比べ若干遅かった。また、反応率や平均産卵数のピークがみられた4月11日では、生殖巣指数は雌雄ともに20以上の値であった。卵母細胞の長径も、1990年と同様に平均値で約 $140 \mu\text{m}$ 以上であった。

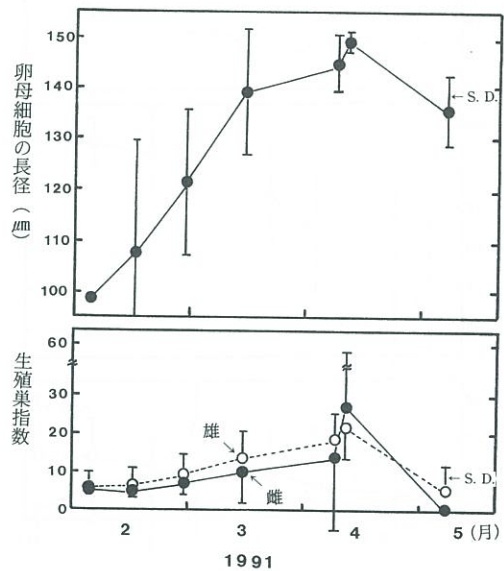


図6 飼育経過に伴う生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移

## 実験2 大量生産への実用化試験

1992年、1993年の飼育経過に伴う生殖巣指数、卵母細胞の長径及び親の飼育水温の推移を図7、8にそれぞれ示した。

1992年：2月7日の入手時の生殖巣指数や卵母細胞の長径は1991年と同様な値であった。飼育経過に伴い生殖巣指数は高まり、雄は3月26日で $22.1 \pm 11.8$ と高い値であった。一方、雌は3月26日では $12.7 \pm 18.4$ で雄に比べ低い値であった。卵母細胞の長径は3月26日で $146 \pm 9 \mu\text{m}$ と大きくなった。これらの測定結果から、3月31日と4月7日に昇温刺激による産卵誘発を行った。反応率は3月31日で雌40%（5尾中2尾）、雄100%（3尾中3尾）、4月7日で雌20%（10尾中2尾）、雄71.4%（7尾中5尾）であった。平均産卵数は3月31日が $475.5 \times 10^4$ 粒、4月7日が $909.7 \times 10^4$ 粒で、種苗生産に必要な十分量の卵が得られた。

1993年：1月30日に入手し、以後、卵母細胞の長径は飼育経過に伴い大きくなり、3月16日では $143 \pm 15 \mu\text{m}$ 、さらに3月30日では $152 \pm 7 \mu\text{m}$ と大きくなった。生殖巣指数も3月30日では雌 $14.5 \pm$

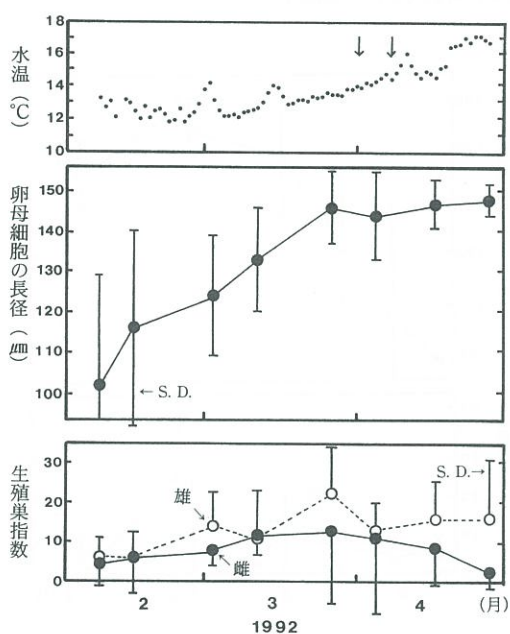


図7 飼育経過に伴う生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移（矢印は産卵誘発日を示す）

10.4、雄 $16.5 \pm 5.3$ と3月16日の雌 $7.7 \pm 3.0$ 、雄 $8.4 \pm 4.9$ に比べ高くなり、4月2日と5日にそれぞれ種苗生産のための産卵誘発を行った。その結果、反応率は4月2日で雌33.3%（3尾中1尾）、雄100%（5尾中5尾）、4月5日で雌50%（8尾中4尾）、雄80%（5尾中4尾）であった。平均産卵数は4月2日が $558 \times 10^4$ 粒、4月5日が $419 \times 10^4$ 粒で、1992年と同様に種苗生産に必要な十分量の卵が得られた。

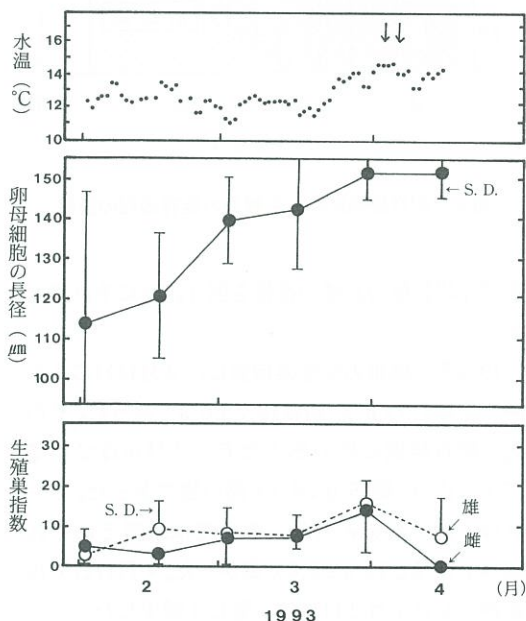


図8 飼育経過に伴う生殖巣指数及び卵母細胞の長径の推移（矢印は産卵誘発日を示す）

## 考 察

産卵誘発を行う場合、その誘発率を高めるためには、有効な産卵誘発刺激を行うとともに、あらかじめ、使用する個体群の成熟状況を正確に把握することが重要である。今回、昇温刺激による雌雄の反応率や平均産卵数の推移、さらに組織学的観察から放卵、放精直前を示す成熟後期や放卵、放精後を示す放卵期の組織像の出現頻度などから、長崎県大村湾産アオナマコを陸上水槽で飼育した場合、その産卵盛期は3月下旬から4月中旬であると推察された。すなわち、1月下旬から2月中旬に採取し、以後陸上水槽で $12 \sim 13^\circ\text{C}$ の自然水温



下で飼育を行った場合、3月下旬から4月中旬(飼育水温14°C前後)にかけて、昇温刺激によって大量の受精卵が容易に得られことが明らかとなった。

採卵適期を推定する指標については、昇温刺激に対する反応率や平均産卵数の高まりがみられる時期が、卵母細胞の長径が平均値で約140 $\mu$ m以上のときであり、この値が産卵誘発時期を決定する上で重要な指標になるものと考えられる。生殖巣指数については、3月下旬から4月上旬にかけて雌雄ともに高まりがみられるが、卵母細胞の長径のような基準値を定量化することは難しい。また、既報<sup>7)</sup>で佐賀県北部沿岸域におけるマナマコの産卵期について言及したが、その際の生殖巣指数の値に比べ、今回の実験に使用した長崎県大村湾産のアオナマコの生殖巣指数は全般的に高く、種苗生産に使用する親ナマコとしては適していると思われた。

1990年の飼育群は1991年のものに比べ放卵、放精の盛期が若干早かったが、これは2月から3月にかけての飼育期間中の水温が1990年が1991年に比べ高く推移したためと考えられた。このことから、今後はウニ類で行われている<sup>8,9)</sup>水温制御による成熟や産卵の促進及び抑制技術について、マナマコでも可能となるものと考えられる。

本研究の結果、長崎県大村湾産のアオナマコについては、1月から2月に採取し、以後陸上水槽でワカメの細片を与えて飼育し、卵母細胞の大きさや飼育水温を観察することによって3月下旬から4月中旬に安定して大量の受精卵が得られることが明らかとなり、1992年及び1993年についても種苗生産に必要な大量の受精卵を容易に得ることが可能であった。このように、アオナマコについては採卵技術の一応の確立をみたが、採卵技術が確立されていないアカナマコについても、成熟と飼育餌料との関係や地域別の産卵期などを把握し、今回アオナマコで行ったような生殖巣の観察を行えば、より安定した採卵が行えるであろう。

## 要 約

1. 長崎県大村湾産のアオナマコを産卵期前の1、

2月から陸上水槽で飼育し、定期的に昇温刺激による産卵誘発を行うとともに、生殖巣の組織学的観察から産卵盛期を推定した。

2. 産卵盛期の把握とともに、採卵適期を推定するための指標について検討した。
3. 産卵盛期は、昇温刺激に対する雌雄の反応率や平均産卵数の推移、放卵、放精直前の組織像を示す成熟後期の出現頻度から3月下旬から4月中旬であると推察された。
4. 採卵適期の推定は、生殖巣指数の高まりとともに、卵母細胞の長径の推移を観察することによって可能であると思われた。
5. 卵母細胞の長径の平均値が約140 $\mu$ m以上となる3月下旬から4月中旬にかけて産卵誘発を行うことによって大量の受精卵が得られることが明らかになった。

## 文 献

- 1) 愛知県・大分県・福井県・山口県(1992):平成3年度地域特産種増殖技術開発事業報告書(棘皮類)。
- 2) 酒井克己・小川七郎・池田修二(1980):大村湾におけるナマコの天然採苗。栽培技研, 9 (1), 1-20.
- 3) 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.
- 4) 石田雅俊 (1979):マナマコの種苗生産。栽培技研, 8 (1), 63-75.
- 5) 崔 相(1963):なまこの研究。海文堂, 東京, 226 pp.
- 6) Tanaka, Y. (1958): Seasonal changes occurring the gonad of *Stichopus japonicus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 9 (1), 29-36.
- 7) 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.
- 8) 伊藤史郎・柴山雅洋・小早川 淳・谷 雄策 (1989):水温制御によるパフンウニ *Hemice-ntrotus pulcherrimus* の成熟, 産卵促進。日本誌, 55 (5), 757-763.
- 9) 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.

