

## マナマコの精子濃度と受精率及びふ化率との関係 (予報)

伊藤 史郎・川原 逸朗・青戸 泉・江口 泰蔵

磯根資源として重要な種苗生産対象種である、ウニ類やエゾアワビ *Haliotis discus hannai* などでは採卵後の媒精の際、加える精子の濃度があまり高すぎると卵割が異常となつて正常な発生をみることができないことが報告<sup>1,2)</sup>され、また、逆に精子濃度が低すぎると未受精卵の割合が高まり、受精率の低下につながることを懸念されている。これらのことから、エゾアワビでは精子濃度と受精率との関係から媒精時の好適な精子濃度の基準が明らかにされている<sup>3)</sup>。同様に、マナマコについても、媒精時の適正な精子濃度を明らかにすることは、安定した種苗生産を行う上で重要な検討課題である。

現在、佐賀県栽培漁業センターでは既報<sup>3)</sup>で報告したように、アオナマコについては計画的に雌雄それぞれ個別に放卵、放精をさせることができ、また、アカナマコについても比較的容易に成熟卵や精子を得ることができるようになり<sup>4)</sup>、媒精時の精子濃度を任意に調整することが可能となった。そこで、アオナマコ及びアカナマコにおける採卵後の適正な媒精濃度を明らかにするため精子濃度と受精率及びふ化率との関係について検討を行ったので、その結果について報告する。

### 材料及び方法

実験は、アオナマコでは1993年4月9日から10日にかけて、アカナマコでは1992年5月18日から19日にかけて行った。使用したアオナマコは、1993年1月30日に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、アカナマコは1992年1月28日に長崎県松浦市の青島地先で素潜り漁業によってそれぞれ漁獲されたもので、入手後、陸上水槽で餌料として冷凍ワカメの細片を与え、自然水温下で流水飼育を行ったものである。

産卵誘発方法は、そのときの飼育水温より5°C程度昇温した海水中へ入れるもので、1尾ずつを昇温海水の入った20ℓ角型スチロール水槽へ収容し、ただちに、昇温した海水を約0.5ℓ/分の流量で流し込んだ。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。

実験は、それぞれの精子濃度に設定した200mlガラスビーカーに放卵直後の成熟卵を収容し媒精させる方法で行った。すなわち、放精直後の精子懸濁液を、卵収容後に海水容量が200mlとなり所定の精子濃度となるようにガラスビーカーに分注し、この中に卵1×10<sup>4</sup>個ずつを容積法で計数し収容した。精子濃度は海水1ml当り、それぞれ5×10、5×10<sup>2</sup>、5×10<sup>3</sup>、2.5×10<sup>4</sup>、5×10<sup>4</sup>、10×10<sup>4</sup>、50×10<sup>4</sup>個の7段階とした。また、これは卵1個当りの精子数で示すと、1、10、1×10<sup>2</sup>、5×10<sup>2</sup>、1×10<sup>3</sup>、2×10<sup>3</sup>、1×10<sup>4</sup>個に相当する。各精子濃度とも2組ずつのガラスビーカーを設置し、1つは受精させた4時間後に受精率を、他の1つは24時間後にふ化率とふ化幼生中の形態異常個体の出現率をそれぞれ調べた。

媒精時の水温は20°Cで、その後は各ガラスビーカーを恒温ボックス内に設置し水温を20°Cに保った。ふ化率観察用のガラスビーカーは、受精後約2時間毎に2回、上澄み液を捨て新たに調温した海水を加えて洗卵を行った。また、各ガラスビーカーには海水の蒸発を防ぐためアルミホイルでふたをした。なお、受精率やふ化率及びふ化幼生中の形態異常個体の出現率の計測は、各精子濃度につき3回、1回当たり2ml中の卵やふ化幼生、約100個を採取して行った。アオナマコ及びアカナマコともに水温20°Cの条件下で受精が行われ、その後正常な発生が進めば、受精して約24時間後には、体長が約250μm程度の左右相称の囊胚期幼生とな

るが、このような形態を呈していない幼生を本報告では形態異常個体とした。

## 結 果

アオナマコ及びアカナマコにおける精子濃度と受精率との関係を図1, 2にそれぞれ示した。受

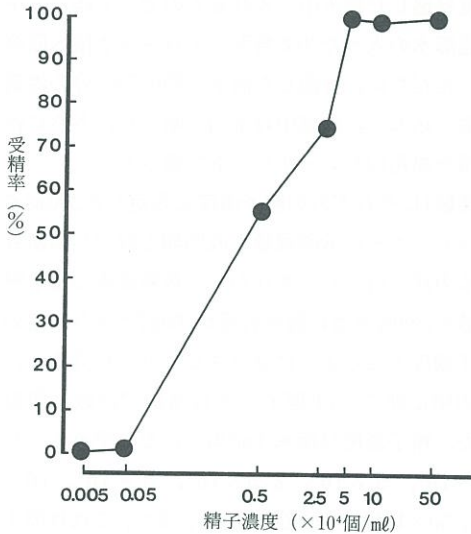


図1 アオナマコにおける精子濃度と受精率との関係

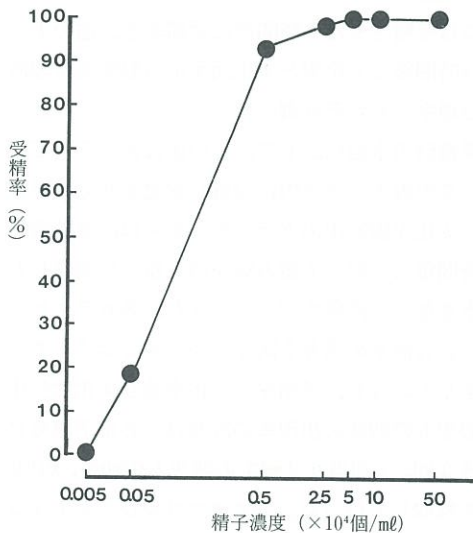


図2 アカナマコにおける精子濃度と受精率との関係

精率は、アオナマコ及びアカナマコともに精子濃度  $5 \times 10^4$  個/ml では 0.7, 0.4% であり、1% 以下であった。その後はともに精子濃度の増加に伴い受精率は高まり、アオナマコでは  $5 \times 10^4$  個/ml で 99.1%, アカナマコでは  $2.5 \times 10^4$  個/ml で 98.7% と高い受精率が得られた。このように、アオナマコでは  $5 \times 10^4$  個/ml 以上で、アカナマコでは  $2.5 \times 10^4$  個/ml 以上でそれぞれ 100% に近い受精率が得られることが明らかとなった。

アオナマコ及びアカナマコにおける精子濃度とふ化率及び形態異常個体の出現率との関係を図3, 4にそれぞれ示した。また、アオナマコでみられた正常なふ化幼生と形態異常の幼生の形態を図5に示した。ふ化率は、アオナマコ及びアカナマコともに受精率と同様な傾向を示した。アオナマコでは  $5 \times 10^3$  個/ml で 89.6% と高くなり、 $2.5 \times 10^4$  個/ml 以上ではほぼ 100% であった。アカナマコでは  $5 \times 10^3$  個/ml 以上で 85.9~90.1% と高かったが、アオナマコでの実験結果に比べ若干低い値であった。精子濃度と形態異常個体の出現率との関係は、アオナマコでは  $5 \times 10^3 \sim 10 \times 10^4$  個/ml の範囲で 0~1.3% の低い出現率であったが、 $50 \times 10^4$  個/ml で

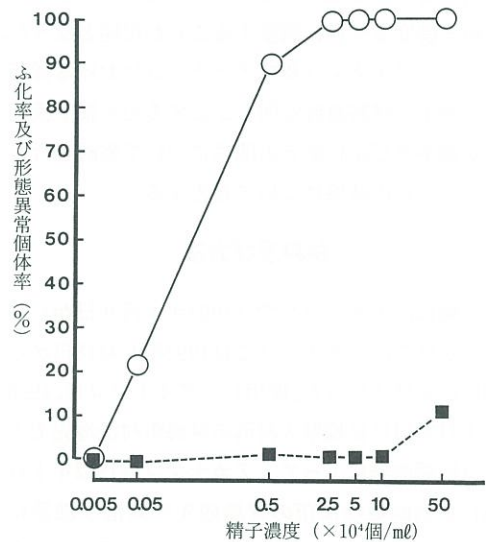


図3 アオナマコにおける精子濃度とふ化率及び形態異常個体率との関係  
○, ふ化率; ■, 形態異常個体率。

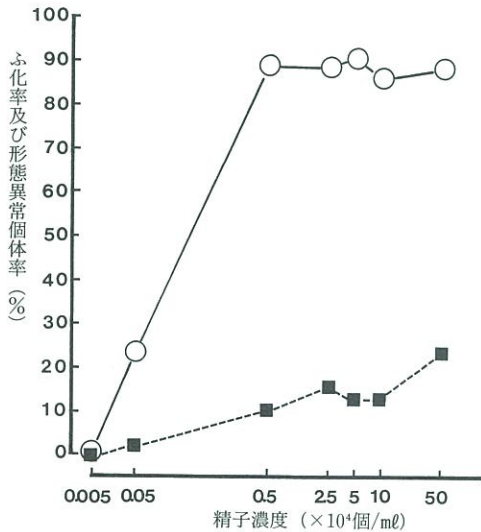


図4 アカナマコにおける精子濃度とふ化率及び形態異常個体率との関係  
○, ふ化率; ■, 形態異常個体率.

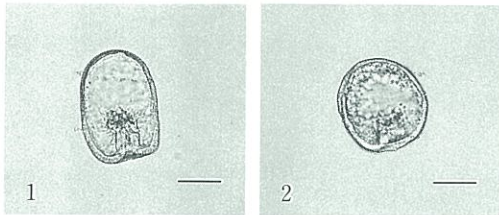


図5 受精後24時間の囊胚期幼生  
1, 正常な囊胚期幼生; 2, 形態異常の囊胚期幼生.  
Scale bars=100  $\mu$ m

は10.9%と $10 \times 10^4$ 個/ml以下の濃度区に比べ明らかに高い割合で異常個体の出現がみられた。アカナマコでも、 $50 \times 10^4$ 個/mlでは23.2%と $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ 個/mlでの0~2.2%,  $5 \times 10^3 \sim 10 \times 10^4$ 個/mlでの10.5~15.6%に比べ高い値であった。

### 考 察

菊地ら<sup>2)</sup>は、エゾアワビにおいて精子濃度が $193 \times 10^4$ 個/ml以上で卵膜が溶解し異常卵割するものが現れ、精子濃度が高いほどその出現率が大きくなることを報告している。今回、最も精子濃度が高かった $50 \times 10^4$ 個/mlでの実験では、卵膜の溶解などは観察されなかったが、形態異常個体の

出現率が高まる傾向にあることから、マナマコにおいても媒精時の過剰な精子は卵の正常な発生に悪影響を与えるものと考えられた。

以上のように、アオナマコ及びアカナマコでの媒精時の精子濃度と受精率やふ化率及び形態異常個体の出現率との関係から、マナマコ種苗生産における適正な媒精濃度は、確実性及び安全性を考慮して $5 \times 10^4 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml, 卵1個に対して精子数 $1 \times 10^3 \sim 2 \times 10^3$ 個程度が好適であると考えられる。

### 要 約

1. マナマコ (アオナマコ及びアカナマコ) の採卵後の適正な媒精濃度を明らかにするため精子濃度と受精率及びふ化率との関係について検討した。
2. 受精率は、アオナマコでは $5 \times 10^4$ 個/ml以上で、アカナマコでは $2.5 \times 10^4$ 個/ml以上でそれぞれ100%に近い値が得られた。
3. ふ化率は、アオナマコ及びアカナマコともに $5 \times 10^3$ 個/ml以上で高い値が得られた。
4. アオナマコ, アカナマコともに、精子濃度が $50 \times 10^4$ 個/mlで、ふ化幼生中の形態異常個体の割合が高かった。
5. マナマコ種苗生産における適正な媒精濃度は、確実性及び安全性を考慮して $5 \times 10^4 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml, 卵1個に対して精子数 $1 \times 10^3 \sim 2 \times 10^3$ 個程度が好適であることが示唆された。

### 文 献

- 1) 丸山好彦(1988): ナマコ類. 海産無脊椎動物の発生実験 (石川・沼宮内編). 培風館, 東京, 167-174.
- 2) 菊地省吾・浮 永久 (1974): アワビ属の採卵技術に関する研究. 第3報 精子濃度と受精率の関係. 東北区水産研究所研究報告, 34, 67-71.
- 3) 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.
- 4) 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.

