

マナマコの人工大量生産技術の開発に関する研究*

伊藤 史郎

Studies on the Technological Development of the Mass Production for Sea Cucumber Juvenile, *Stichopus japonicus*

Shiro ITO

目 次

第1章 序論	3
マナマコの水産的重要性	
マナマコの増殖および種苗生産の研究史	
マナマコの分類上の問題点	
マナマコの生活史	
本研究に用いた用語および材料と方法の説明	
本研究の課題と概要	
第2章 親ナマコの養成と採卵	8
第1節 佐賀県北部沿岸域のマナマコの産卵期	8
第2節 養成飼育餌料	20
第3節 陸上水槽での養成と採卵法	22
第4節 水温制御による成熟・産卵促進	26
第5節 媒精時の精子濃度の検討	31
第3章 浮遊幼生の飼育と稚ナマコへの変態促進	34
第1節 浮遊幼生の採苗ステージの検討	34
第2節 浮遊幼生の飼育餌料	40
第3節 Doliolaria 幼生から稚ナマコへの変態促進	49
第4章 採苗方式による稚ナマコの大量生産	56
第1節 トリクロルホンによるコペポードの駆除と稚ナマコに対する毒性	56
第2節 付着板による稚ナマコの一次飼育	58
第3節 人工餌料による稚ナマコの二次飼育	63
第5章 海上筏での他の水産動物との混養飼育	66
第6章 築堤式育成場でのマナマコ人工種苗の成長と移動	71
第7章 マナマコ種苗の大量生産への実用化試験	76
第8章 総合考察	81
種苗生産工程の残された問題点	
アオナマコとアカナマコの種苗生産上の相違点	
謝辞	83
引用文献	83
Summary	86

* 本論文は、長崎大学に提出した学位論文である。

第1章 序 論

マナマコの水産的重要性

マナマコ *Stichopus japonicus* は千島・樺太から北海道、本州、四国、九州の沿岸域にかけて広く分布する。我が国では古くから食用として利用し、一般にマナマコの体壁の筋肉部を生で食べる。「延喜式」(905)にすでにその記載がみられるが、マナマコの内臓、特に腸管を塩漬けにした「コノワタ」は、我が国固有の珍味として賞味されてきた。また、生殖巣を干した「コノコ」も珍味として珍重され、さらに、筋肉部を乾燥させた「イリコ」は、古くから中国への重要な輸出品であった。

このように、マナマコはウニ、アワビなどとともに、我が国の水産上重要な磯根資源である。しかし、全国のマナマコ漁獲量(一部、キンコ *Cucumaria japonica*, オキナマコ *Parastichopus nigripunctatus* などを含むと思われる)は、Fig. 1-1 に示したように、1966~1978年までは1万トン台を維持していたが、その後はしだいに減少し、1990年には6千トンにまで減少している(農林水産省統計情報部 1981, 1991)。また、佐賀県でも、1971

年の196トン进行ピークに1990年は8トンに激減している(九州農政局佐賀統計情報事務所 1973, 1991)。これらのことから、全国的にも、また、佐賀県でもマナマコ資源量の回復が望まれている。

マナマコの増殖および種苗生産の研究史

マナマコの増殖法としては、江戸時代から禁漁区、禁漁期の設定や輪採などの方策がとられてきた。明治以降では、親ナマコや稚ナマコの移植、放流や漁場への投石などが試みられ、好結果が得られている(田内・松本 1954)。また、佐賀県でも東松浦郡切木で1934年に漁場への投石と、さらに2年間の禁漁を行った結果、1935年12月に行った4日間の操業で1932年の漁獲量の9倍に当る量が漁獲され、村では、これを記念するため「ナマコ増殖記念碑」を建て、この事業をたたえたとされている(稲葉 1942)。このように、古くからマナマコの増殖についてはさまざまな方策がとられてきた。また、近年では長崎県大村湾で酒井ら(1980)がカキ殻などを使った天然採苗を試み、稚ナマコの採苗に成功し、稚ナマコの放流技術の一技法として実用化されている。

一方、マナマコの種苗生産に関する研究は、稲葉(1937)が切開法により受精卵を得て初期発生に関する研究を行

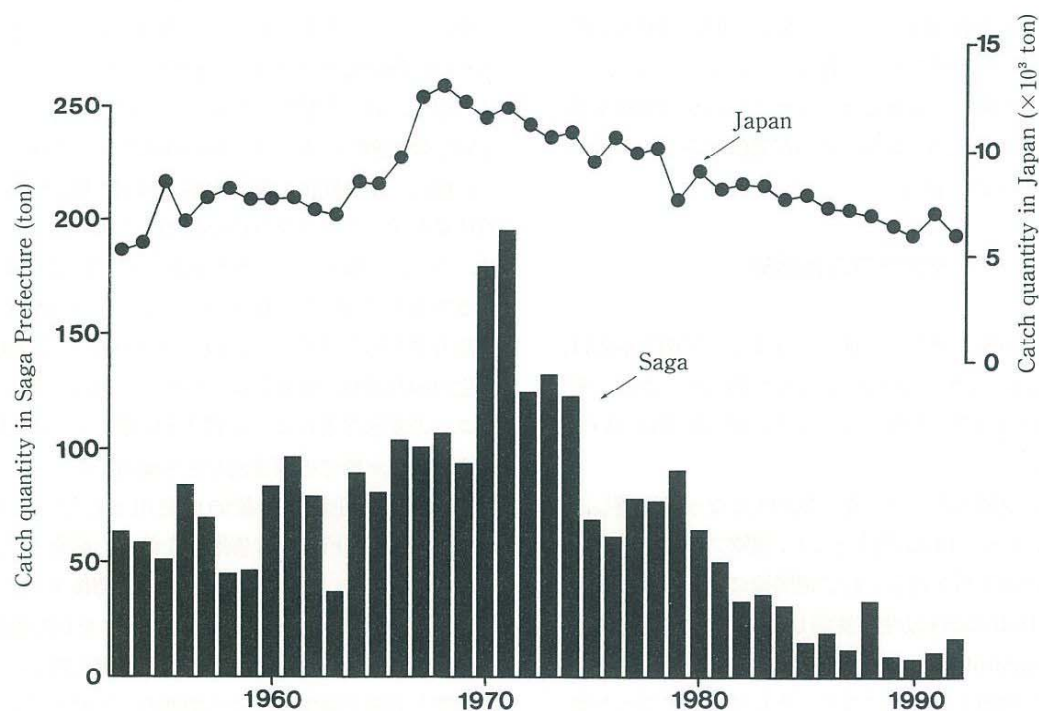


Fig. 1-1. The annual catch quantity of sea cucumber in Saga Prefecture and Japan.

い、さらに、今井ら (1950) は *Monas* sp. を餌料として稚ナマコまでの飼育に成功した。その後、石田 (1979) は、温度刺激法により大量の完熟卵を得ることに成功し、浮遊幼生の餌料として、*Pavlova lutheri* や *Chaetoceros gracilis* を用いて、浮遊幼生から着底初期の稚ナマコまで飼育する種苗生産方式を開発した。それ以降、石田の生産方式を基本としたさまざまな方法により稚ナマコの生産が試みられてきた (柳橋ら 1984, 池田・片山 1986, 真崎ら 1987, 野口ら 1990, 畑中ら 1992, 小川ら 1992, 大橋ら 1992, 柳澤ら 1992)。しかし、漁場改善や資源管理によるマナコの増殖法に比べ種苗生産の研究は新しく、陸上水槽で大型種苗を大量にしかも安定的に生産するには、採卵技術や稚ナマコの飼育方法などまだ改善の余地が多分に残されている。

マナコの分類上の問題点

マナコは、主に体色から青緑色のアオナマコ、赤褐色のアカナマコ、黒色のクロナマコの3タイプに大別することができる。このうち市場価値が高く、水産上有用なものはアオナマコとアカナマコである。体色の違いについて Mitsukuri (1903) は生息場所の相違によって生じたものであると報告した。一方、崔・大島 (1961), 崔 (1963) は、アオナマコとアカナマコはそれぞれ形態や生息域など生態的特性が異なり、分類学的には異なる群集体とすることが望ましいと報告している。その後、アイソザイムを使った分類も試みられているが (愛知水試 1987), 現在のところ、両者の違いが遺伝的のものか否か明らかにされていない。

マナコの生活史

マナコの卵の発生から稚ナマコまでの初期生活史は、稲葉 (1937), 今井ら (1950) によって明らかにされ、その後、石田 (1979) も稚ナマコまでの発生経過について報告している。

発生は、受精後約1日で囊胚期幼生となって浮遊し、翌日には、*Auricularia* 幼生となり、植物プランクトンを摂餌して浮遊生活を送る。約2週間後には、5本の繊毛環を持つ *Doliolaria* 幼生に変態し、さらに底棲性へ移行して *Pentacutula* 幼生となり、デトリタスなどの有機性の堆積物を摂餌するようになる。そして稚ナマコへと変態する (稲葉 1937, 今井ら 1950, 石田 1979)。

本論文では、稲葉 (1937), 今井ら (1950), 石田 (1979)

の報告を参考にして、ふ化から稚ナマコまでの発生・変態ステージを以下のように定義した。すなわち、受精後約24時間の囊胚期幼生から *Auricularia* 幼生が最大体長 (約 900 μm) に達し、5対の球状体が出現するまでを *Auricularia* 前期幼生、その後縮小期に入り、体長が約 500 μm に縮小するまでを *Auricularia* 後期幼生とした。さらに、変態が進み、5本の繊毛環が完成した幼生を *Doliolaria* 幼生、その後、口部から第一次触手を出すようになったものを *Pentacutula* 幼生、管足が形成されたものを稚ナマコとした (Fig. 1-2)。

本研究に用いた用語および材料と方法の説明

本論文で使用した用語は種苗生産の現場で一般に使用されているものではあるが、用語の意味と用語の略語について Table 1-1 に列記し説明した。本研究に用いた水槽やその他の実験材料については、必要に応じ本文中に記載したが記述の煩雑さをさけるため、ここにまとめて大きさ、形状および材質を Table 1-2 に示した。

本研究の課題と概要

本研究では市場価値のあるアオナマコとアカナマコについて、体長 10 mm 以上の放流用種苗を量産する技術の確立を目的とした。従来の浮遊幼生から着底初期またはそれ以降の稚ナマコまでの飼育を一貫して行う生産方式 (以下、同一水槽方式と記す) とは異なり、マナコと同じ棘皮動物であるウニ類の種苗生産 (伊東ら 1985) と同様に、浮遊幼生の飼育水槽とは別水槽で培養した付着珪藻を使ってマナコの浮遊幼生を稚ナマコへ変態させ、さらに、稚ナマコの初期餌料として付着珪藻を利用する生産方式 (以下、採苗方式と記す) の開発を行った。採苗方式を確立するため、親ナマコの養成と採卵、浮遊幼生の飼育餌料、付着珪藻を利用した浮遊幼生から稚ナマコへの変態促進および付着珪藻を稚ナマコの初期餌料とする陸上水槽での飼育法などを検討した。その結果、ウニ類の種苗生産で一般的に使用されている付着板 (Table 1-1, Fig. 1-3 参照) を使った飼育方式によって、アオナマコ、アカナマコともに採卵後4~5か月間の飼育で体長 10 mm 以上の稚ナマコを10万個体単位で生産する技術を確立した。さらに、海上筏での他の水産動物との混養飼育による大型種苗の生産手法についても検討した。また、築堤式育成場を使って、採苗方式によって生産した人工種苗の放流用としての種苗性につい

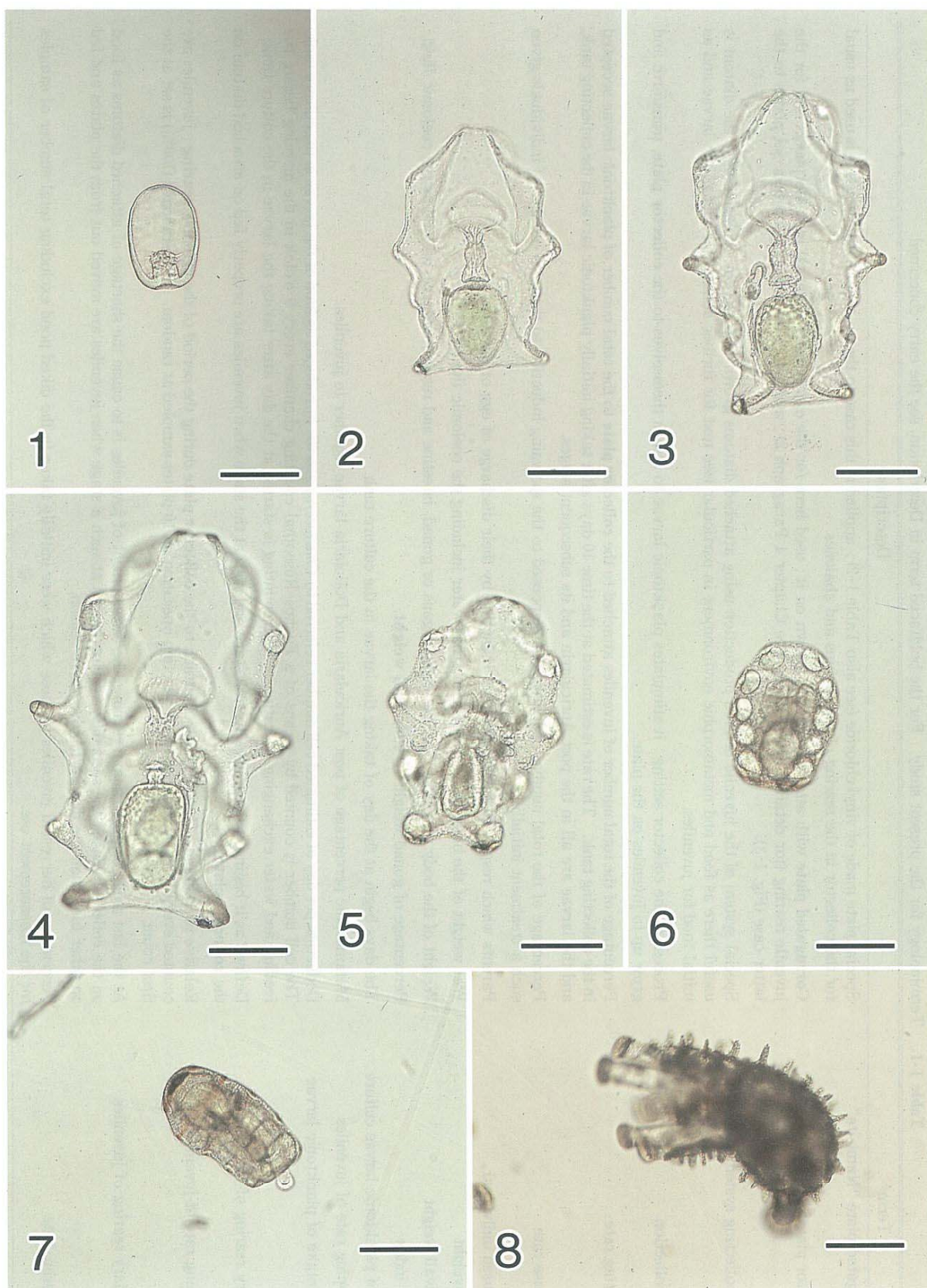


Fig. 1-2. Larval development of the sea cucumber *Stichopus japonicus*. 1-4, Pre Auricularia larvae; 5, Post Auricularia larvae; 6, Doliolaria larvae; 7, Pentacutula larvae; 8, Juvenile. Each bar indicates 200 μ m.

Table 1-1. Terminology for the present study. For the boldfaced term in Description, see the entry concerned

Term	Description
Corrugated plate "Nami-ita"	Special plate made of vinyl chloride (see also Table 1-2) ; applied in this case to the juvenile rearing while it is used as usual for the collector in the rearing of sea urchins and abalones.
Collector plate	Corrugated plate with attached diatoms grown on it ; used here for the experiment on larval metamorphosis and for the juvenile rearing (for detailed methodology, see Chapter 4 Paragraph 2) ; applied as the cassette ten-in-a-set plates to the latter case (Fig. 1-3).
Seed collecting system	Special system of the juvenile or seed production using attached diatoms grown in tanks for exclusive use ; the diatom is useful there as food and metamorphic environment in particular (see text for further details) for planktonic larvae and as initial food for juveniles.
Seed collection	Process of the collector setting ; it stimulates planktonic larvae to attach themselves to the collector plate , transform and grow up to juveniles on the plate.
Collecting rate	Percentage of the total number of juveniles attached to the collector plate to the total number of planktonic larvae accepted in the collecting tank. The rate is estimated at the time 10 days after taking initially planktonic larvae in the collecting tank, and the larvae are all in the post <i>Auricularia</i> and its subsequent stages.
Response rate	Percentage of the total number of individuals responded to the spawning induction to the total number of individuals given such a treatment initially.
Responded individual	Parents which responded to the spawning induction by their discharge of egg or sperm.
Body weight	Wet weight of the body in all with the internal water including the coelomic fluid.
Body wall weight	Weight of the body part taken out the inner organs or gonad, intestine and respiratory tree, as well as the coelomic fluid.
Gonad index	Percentage of gonad weight to body wall weight .
Days of planktonic larvae culture	The days begin at the day of taking the larvae in the culture tank.
Developing rate of juveniles	Metamorphic percentage of post <i>Auricularia</i> and <i>Doliolaria</i> larvae together to juveniles.
Food intake of planktonic larvae	Deduction per day of estimated cell number referred to <i>Chaetoceros gracilis</i> introduced as food of the larvae in the culture tank. The cell number is counted by means of a Fuchus-Rosenthal counting chamber every 9 o'clock in the morning before the feeding and water exchanging operations. The counting is started at the day after taking the larvae in the culture tank.
Primary rearing of juveniles	Defined as it begins at the seed collection stage and ends at the stage when juveniles are properly fed on attached diatom on the collector plate .
Attaching rate of juveniles	Relative percentage of juveniles which attach to the collector plate during the period of the primary rearing ; juveniles are counted every 10 days after the seed collecting operation on 10 plates sampled at random. The standard (100%) is set at the first count.
Secondary rearing of juveniles	At the last stage of the primary rearing , the development of juveniles is to cause the shortage of attached diatoms as food on the collector plate ; the secondary rearing begins at such a stage when juveniles are moved out from the plates and fed on other food than the diatom for the above reason.
Harvesting rate	Percentage of harvested juveniles to those which were initially taken in the diked pond excluding total number of samples for the measurement use.

Table 1-2. List of experimental tools: their form and size or specification (F/S: SP), material (M) and use. Forms: R, round shape; S, square shape. dm (in the second column), diameter. Materials: CC, concrete; CE, chloroethylene; CV, canvas; FRP, Fiber reinforced plastic; GL, glass; NNH, 100-mesh nipping net; NNT, 30-mesh nipping net; NZ, netron; Z₁; PC, polycarbonate; PE, polyethylene; PP, polypropylene; STY, styrene (styrol); VL, nylon.

Name	F/S: SP	M	Used for
Tank of 1.6 m ³ size	S/1.8×1.8×0.5 m	CV	Rearing of parents
Tank of 2 m ³ size	S/1.0×4.0×0.5 m	CV	Rearing of parents
FRP tank of 2 m ³ size	S/1.0×2.4×1.0 m	FRP	Rearing of parents
FRP tank of 4 m ³ size	S/2.8×1.8×0.8 m	FRP	Rearing of parents
Styrol tank of 20 l size	S/350×200×245 mm	STY	Spawning induction on parents
Panelite tank of 30 l size	R/445 mm in dm	PC	Culture of planktonic larvae
Panelite tank of 100 l size	R/680 mm in dm	PC	Hatching
Panelite tank of 500 l size	R/117 cm in dm	PC	Spawning induction on parents; Culture of planktonic larvae
Panelite tank of 1 kl size	R/154 cm in dm	PC	Culture of planktonic larvae
Black panelite tank of 1 kl size	R/154 cm in dm	PE	Rearing of parents
Tank of 100 l size	S/0.6×0.4×0.4 m	PP	Seed collecting experiments
Tank of 15 m ³ size	S/ 9×1.5×1 m	CC	Development of attached diatoms; Rearing of juveniles
Tank of 18 m ³ size	S/ 10×1.8×1 m	CC	Rearing of juveniles
Air pipe	Pipe of 13 mm in the inside diameter with pores of 1 mm diameter at 3 cm intervals	CE	Seed collecting experiments; Primary and secondary rearing of juveniles
Petri dish	R/5.5 cm in dm; 2.2 cm in depth	GL	Metamorphosis experiments
Corrugated plate "Nami-ita"	S/ 40×32 cm	CE	Rearing of juveniles
Net for separation	S/ 2× 1 ×0.5 m	NNH	Separation of juveniles
Cage for the primary rearing	S/ 2×1.5×0.5 m	NNH	Primary rearing of juveniles
Cage for the primary rearing	S/ 9×1.5×0.5 m	NNH	Primary rearing of juveniles
Cage for the primary rearing	S/ 10×1.8×0.5 m	NNH	Primary rearing of juveniles
Cage for the secondary rearing	S/ 2×1.5×0.5 m	NNT	Secondary rearing of juveniles
Small basket	S/ 31× 48×25 cm	PP	Raft type rearing of juveniles
Net cage for enclosure	S/1.5×1.5×1.5 m	NZ	Raft type rearing of juveniles
Collector basket	S/ 32× 49×30 cm	PE	Collecting device in the net cage
Water pipe	Pipe of 100 mm in the inside diameter with supply openings of 10 mm diameter at 1 m intervals	CE	Rearing in the diked pond
Plate	S/82×61×3 cm	PP	Collector at the artificial reef
Artificial sea weed "kinran"	150 cm in total length; with "thalli" of 20 cm long	VL	Collector at the artificial reef



Fig. 1-3. Collector plate used for the primary rearing of juvenile sea cucumber. Cf. Table 1-1,2.

て検討するとともに、天然海域での放流モデル実験を行った。その結果、採苗方式によって生産した体長10~20 mm の稚ナマコは放流用種苗として十分に有効であることが明らかとなった。

第2章 親ナマコの養成と採卵

マナマコの安定した種苗生産を行うには、第一に大量の卵と精子を得ることが重要である。そのためには、まず、天然海域のマナマコの産卵期を把握し、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ナマコを養成する必要がある。

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、種々な刺激を与えて採卵しているが、この方法では刺激に対する反応率 (Table 1-1 参照) が低く、多数の個体を必要とする (畑中ら 1992, 大橋ら 1992, 柳澤ら 1992)。近年では、採捕後1か月程度の水温制御や給餌飼育など、親ナマコの養成技術の検討も行われはじめているが (小川ら 1992)、計画的に大量の受精卵を得る安定した技術とするには至っていない。

そこで、マナマコの採卵技術を確立するため、まず佐賀県北部沿岸域のマナマコの産卵期を調査した。次に、採卵に使用する親ナマコを養成するための餌料について検討するとともに、種苗生産に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推定する指標について検討した。また、親ナマコの飼育水温を制御することによって、成熟・産卵の促進を試み、早期採卵技術の確立も試みた。さらに、得られた成熟卵と精子を用いて、採卵後の適正な媒精濃度を明らかにするた

め、精子濃度と受精率およびふ化率との関係について検討した。

第1節 佐賀県北部沿岸域のマナマコの産卵期 (伊藤ら 1994a)

マナマコの産卵期は地域によって大きく異なっている (Mitsukuri 1903, 徳久 1915, 稲葉 1937, 木下・渋谷 1939, 今井ら 1950, Tanaka 1958a, 酒井ら 1980, 小林ら 1984)。九州海域では、酒井ら (1980) が、長崎県大村湾における産卵期を浮遊幼生の出現状況から検討しており、その時期は3月下旬から5月下旬、盛期は4月と推察している。また、小林ら (1984) は、産卵誘発実験の結果から福岡県の豊前湾における産卵期は4月上旬から6月下旬であると報告している。

本節では、佐賀県内の3か所で定期的にマナマコを採捕し、その生殖巣の成熟過程を調査し、佐賀県北部沿岸域のマナマコの産卵期を明らかにした。

方 法

調査域は Fig. 2-1-1 に示した。アオナマコは内湾性の砂泥域である肥前町高串地先の水深約 10 m の海域でナマコ桁網漁業により、アカナマコは岩礁域で外海に面した唐津市神集島および呼子町加部島地先の水深約 10 m 以浅の海域で素潜り漁業によってそれぞれ採捕した。なお、アオナマコの採捕を目的として行ったナマコ桁網漁業で、若干のアカナマコが混獲されたので、このアカナマコについても同様の調査を行った。

高串では1992年2月から1993年5月、神集島では1992

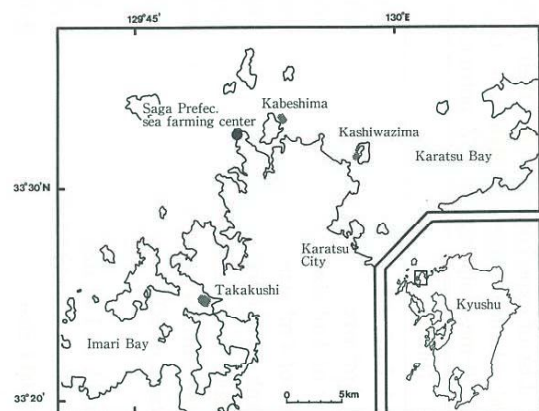


Fig. 2-1-1. Map of the northern part of Saga Prefecture. Shaded areas show sampling localities.

年1月から1993年5月、加部島では1992年2月から1993年5月にかけてそれぞれ毎月1～2回、1回当たり20～30個体を採捕した。

各海域の産卵期の推定は、次の2つの方法によって行った。その1つは、採捕したマナマコの生殖巣を取り出し、その重量から崔(1963)の方法に準じて生殖巣指数(生殖巣重量 $\times 100$ /殻重, Table 1-1 参照)を求め指標とするものである。同時に、顕微鏡観察によって雌雄の判別を行い、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。測定は、雌の生殖巣をピンセットで軽く押え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い、1個体当たり30個ずつ測定した。また、長径約 $60\text{ }\mu\text{m}$ 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。

もう1つの方法は、組織学的手法により生殖巣の熟度を判定する方法である。生殖巣指数を求めた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 μm 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。

なお、これら生殖巣の調査はアオナマコ、アカナマコともに体重 100 g 以上の個体について行った。体重 (Table 1-1 参照)、殻重 (Table 1-1 参照) は 0.1 g 単位で、生殖巣は 0.001 g 単位で秤量した。

調査期間中の調査海域の水温は、佐賀県栽培漁業センター地先の午前9時の観測値を用いた。

結 果

各調査海域において毎月採捕を試みたが、高串では1992年7月から11月、神集島では1992年8月から10月、加部島では1992年8月から11月は試料を採捕することができなかった。なお、神集島での1992年7月の採捕は、それまでの地点(水深 10 m 以浅)で採捕できず、沖合の水深約 20 m の転石の下で採捕した。この採捕個体の消化管は発達し、消化管内には多量の内容物が含まれていた。

調査個体数は、高串ではアオナマコ155個体、アカナマコ65個体、神集島ではアカナマコ268個体、加部島ではアカナマコ271個体であった。

1992年1月から1993年5月の旬別平均水温を Fig. 2-1-2 に示した。

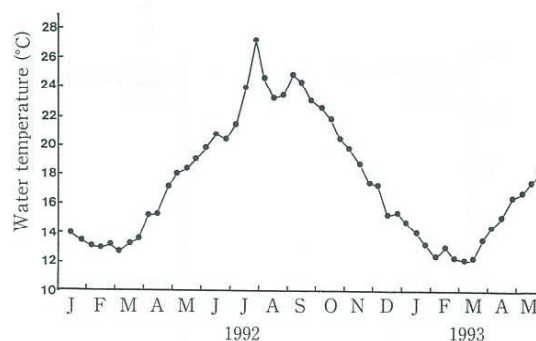


Fig. 2-1-2. Water temperatures from January 1992 to May 1993 at the seashore of Saga Prefectural sea farming center.

1. 生殖巣指数および卵母細胞の長径の推移

1) 高串(アオナマコ、アカナマコ)。アオナマコ、アカナマコの雌雄を含めた生殖巣指数および卵母細胞の長径の推移を Fig. 2-1-3 に、アオナマコ、アカナマコの観察日ごとの生殖巣が観察された個体の体重と生殖巣指数との関係を Fig. 2-1-4, 5 に示した。

アオナマコの生殖巣指数のピークは、1992年は3月下旬から4月中旬、1993年は4月下旬で、年によりピークの時期が若干異なっていた。生殖巣指数は1992年、1993

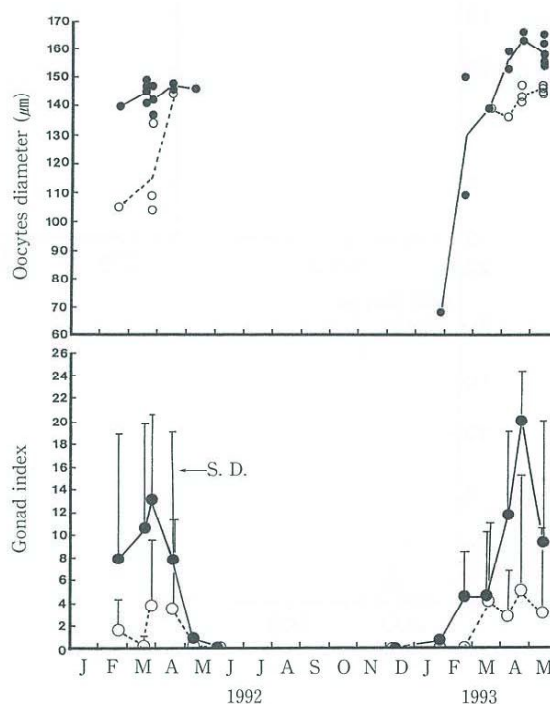


Fig. 2-1-3. Seasonal changes in gonad index and oocytes diameter of the green (○) and red (●) sea cucumbers collected from Takakushi, Saga Prefecture.

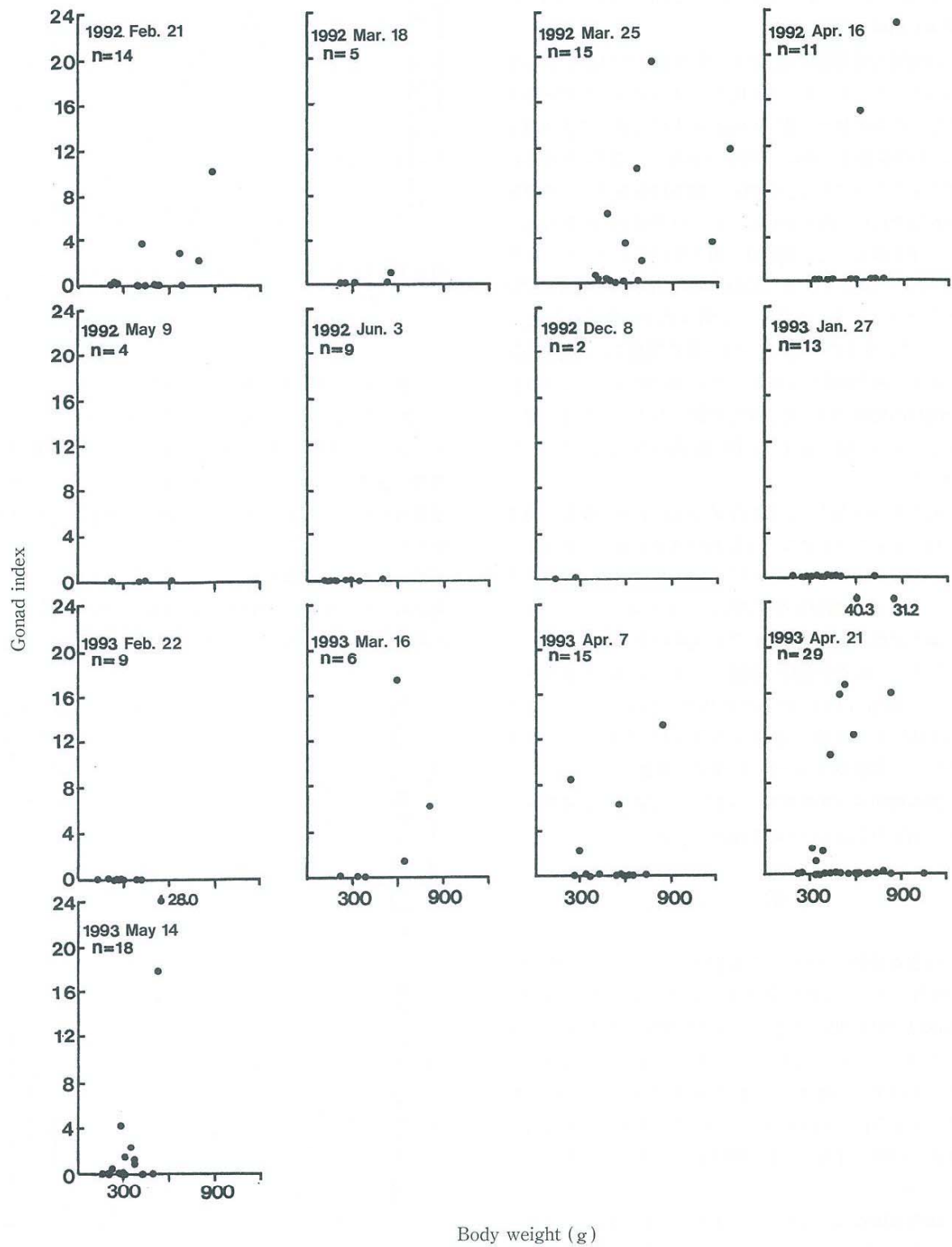


Fig. 2-1-4. Relationship between body weights and gonad indices of the green sea cucumbers collected from Takakushi, Saga Prefecture.

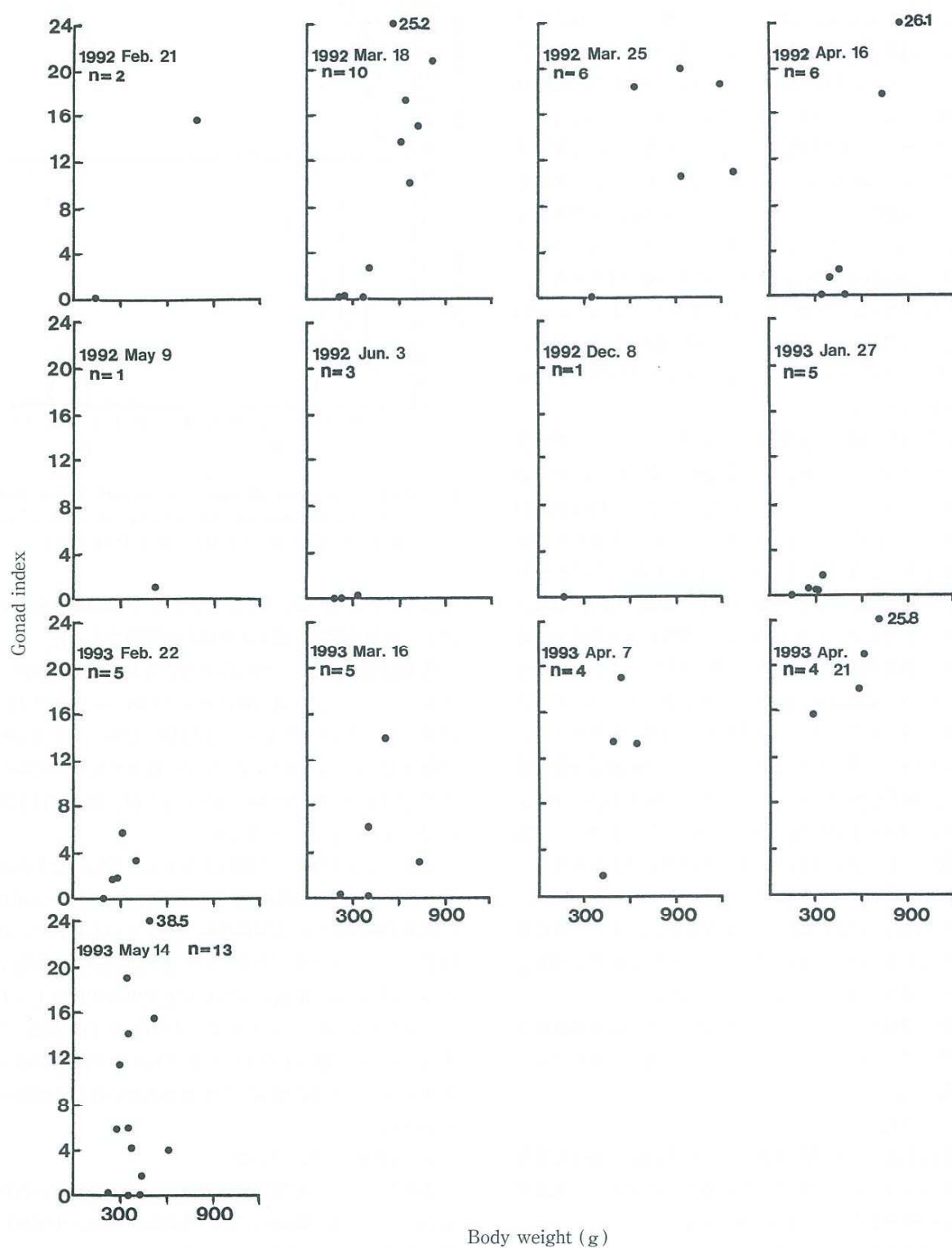


Fig. 2-1-5. Relationship between body weights and gonad indices of the red sea cucumbers collected from Takakushi, Saga Prefecture.

年ともに4月中～下旬から5月にかけて減少し、特に1992年は4月16日の 3.5 ± 7.8 (標準偏差) に比べ、5月9日では0.02と著しく減少した。アカナマコではアオナマコと同様な増減傾向がみられたが、ピーク時の値はアオナマコの値に比べ著しく大きく、1992年3月25日は 13.2 ± 7.6 、1993年4月21日は 20.1 ± 4.4 であった。

アオナマコの卵母細胞の長径の平均値は、1992年は2月下旬から4月中旬にかけて大きくなり、4月16日は 144 ± 5 (標準偏差) μm であった。1993年は4月21日で $144 \pm 7 \mu\text{m}$ 、5月14日で $146 \pm 6 \mu\text{m}$ と大きかった。アカナマコの値は全般的にアオナマコの値に比べ大きく、1992年3月18日にはすでに $145 \pm 9 \mu\text{m}$ であった。1993年は1月下旬から4月下旬にかけて急激に大きくなり、4月21日では $164 \pm 5 \mu\text{m}$ で、アオナマコのピーク時に比べ約20 μm 大きかった。

各個体の体重と生殖巣指数との関係を見ると、アオナマコでは、1992年2月21日は体重約200～900 g のものが採捕され、この内400 g 以上のもので生殖巣指数が高かった。3月25日には400～1,300 g の大型のものが採捕され、生殖巣指数も雌雄で10以上のものがみられた。生殖巣指数が10より高いものは体重600 g 以上のものにみられた。4月16日では、採捕された個体の大きさや生殖巣指数の平均値は3月25日とさほど変わらなかったが、生殖巣指数のバラツキが著しかった。6月3日では3、4月に比べ採捕された個体が小型であった。1993年は、3月16日では600 g 以上で生殖巣指数が高く、生殖巣指数のピークがみられた4月21日では400 g 以上の個体で生殖巣指数が高かった。このように、体重の違いにより生殖巣指数の高まる時期に差がみられた。アカナマコはアオナマコに比べ採捕数は少なかったが、300～400 g 以上の個体がほとんどで、アオナマコに比べ大型であった。生殖巣指数はアオナマコと同様に400 g 以上の個体で高くなる傾向がみられた。

調査期間中のアオナマコとアカナマコの採集割合はそれぞれ70.5% (アオナマコ) と29.5% (アカナマコ) であった。

2) 神集島 (アカナマコ)

雌雄を含めた生殖巣指数および卵母細胞の長径の推移をFig. 2-1-6に、観察日ごとの各個体の体重と生殖巣指数との関係をFig. 2-1-7に示した。

生殖巣指数は1992年は2月から4月にかけて高くなり、そのピークは4月4日の 3.3 ± 5.8 であった。その後は減少し、5月14日では0.01以下であった。1993年のピークは3月17日の 3.6 ± 3.7 で1992年の値と大きな差

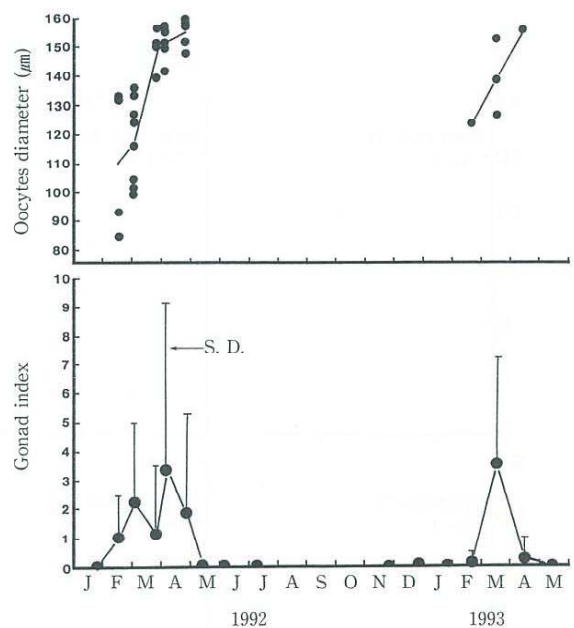


Fig. 2-1-6. Seasonal changes in gonad index and oocytes diameter of the red sea cucumbers collected from Kashiwazima, Saga Prefecture.

はみられなかったが、2月と4月の値が1992年に比べて低く、生殖巣指数の高まる時期も短期間であった。

卵母細胞の長径は、1992年では2月から4月にかけて大きくなった。生殖巣指数のピークがみられた4月4日には $152 \pm 9 \mu\text{m}$ となり、4月28日では $155 \pm 6 \mu\text{m}$ で最大であった。1993年はサンプル数が少なく1992年のような明らかな傾向はみられなかったが、最大値は4月15日の $155 \pm 4 \mu\text{m}$ であった。

体重と生殖巣指数との関係を見ると、1992年は2月から4月にかけて、1993年は3月にそれぞれ200～400 g の個体で雌雄ともに生殖巣指数の高まりがみられた。高串産のアオナマコやアカナマコに比べ採捕個体は小型であったが、200 g 前後のものでも生殖巣指数10以上のものもみられた。また、1992年では3月は400 g 前後、4月は200 g 前後のもので、それぞれ生殖巣指数の高まりがみられ、大型の個体ほど生殖巣指数の高まる時期が早かった。

3) 加部島 (アカナマコ)

雌雄を含めた生殖巣指数および卵母細胞の長径の推移をFig. 2-1-8に、観察日ごとの各個体の体重と生殖巣指数との関係をFig. 2-1-9に示した。

生殖巣指数のピークは、1992年は3月にみられ、その値は3月6日の 3.3 ± 2.9 、3月24日の 2.6 ± 3.9 であった。その後は急激に低下した。1993年は3月から高まり

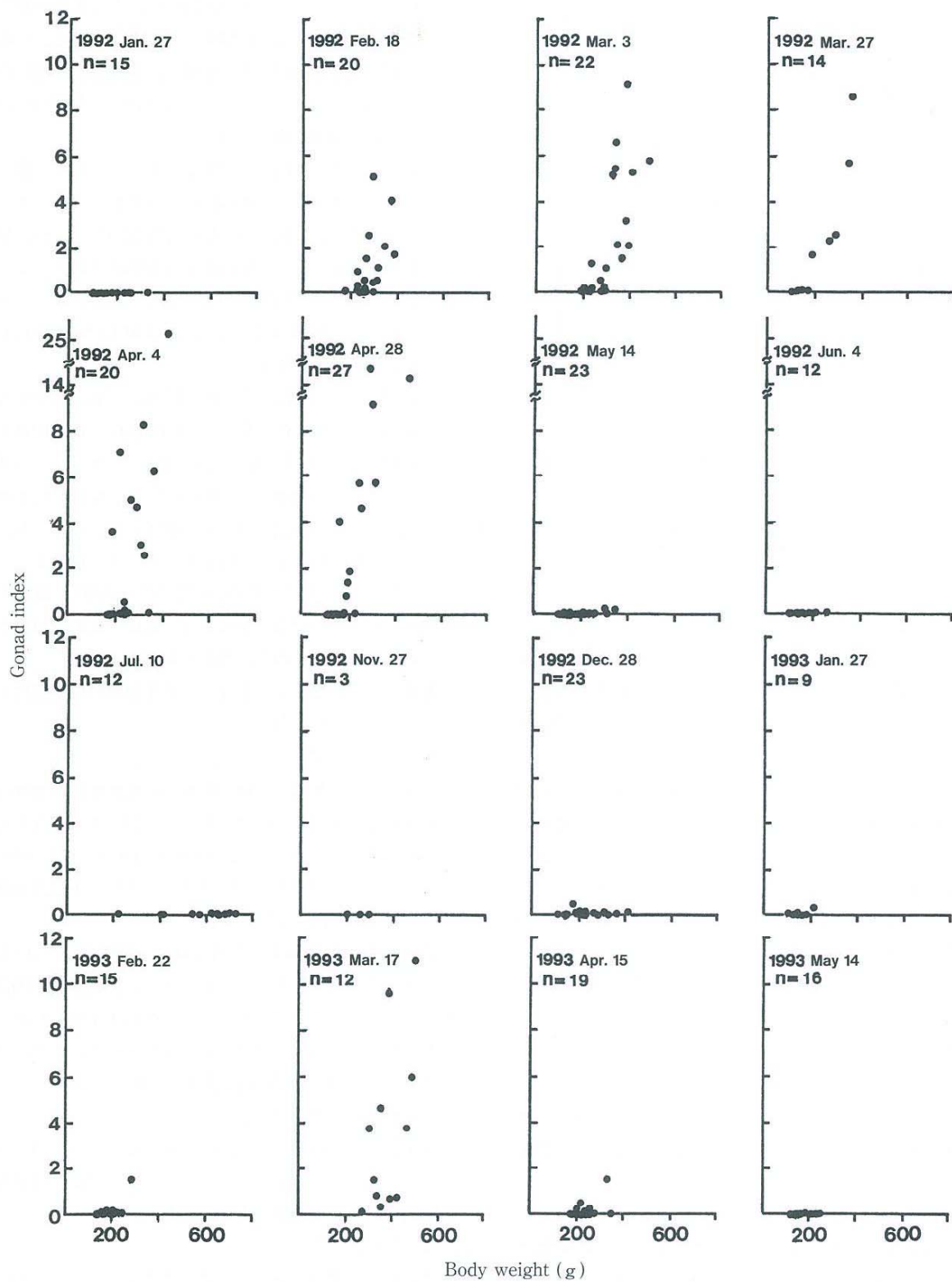


Fig. 2-1-7. Relationship between body weights and gonad indices of the red sea cucumber collected from Kashiwazima, Saga Prefecture.

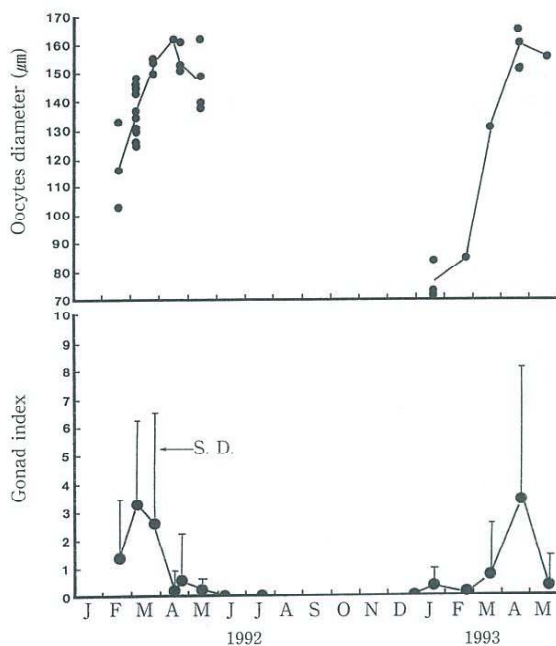


Fig. 2-1-8. Seasonal changes in gonad index and oocytes diameter of the red sea cucumbers collected from Kabeshima, Saga Prefecture.

がみられ、そのピークは4月19日で 3.4 ± 4.7 であった。その後は1992年と同様に低下した。また、ピークの出現時期は1993年のほうが1992年に比べ1か月程度遅かった。ピーク時の値は、神集島産のアカナマコや高串産のアオナマコのピーク時の値と大きな差はみられなかった。

卵母細胞の長径は1992年、1993年ともに2月から4月にかけて急激に大きくなり、その平均値は1992年では4月22日に $162 \pm 4 \mu\text{m}$ 、1993年では4月19日に $159 \pm 7 \mu\text{m}$ で最大であった。

体重と生殖巣指数との関係をみると、1992年は2月から3月にかけて、1993年は3月から4月にかけて、300 g以上のもので雌雄ともに生殖巣指数が高まった。また、この間、神集島の調査と異なり400 g以上の個体が多く採捕された。

2. 生殖細胞の発育過程

個体ごとの生殖巣の発育過程は、Tanaka (1958a) の報告を参考にして次のように区分し、その組織切片像をFig. 2-1-10a, bに示した。

- (1) 休止期：生殖巣が、肉眼では確認できない場合、または認められても痕跡程度で組織学的に雌雄の判別が困難である場合を休止期とした。認められた生殖巣の色調は、透明な白色または赤褐色を呈している。
- (2) 成長期：生殖巣の発育に伴い分岐化がみられ、雌は淡肌色を、雄は白色を呈する。濾胞壁は卵原細胞

や精原細胞の増殖によって生殖巣内へひだ状に突出してくる。そして、その表面には、卵母細胞や精原細胞が形成されるのが観察されるようになる。一部の卵母細胞は卵巣腔内に遊離し、濾胞細胞に覆われる。なお、このステージの卵巣は長径の平均値が $60 \mu\text{m}$ 以下の卵母細胞を含む。

- (3) 成熟前期：生殖巣の分岐化がさらにすすみ、雌は肌色から淡橙色を、雄は白色から乳白色を呈する。雌は卵巣腔内に比較的大型の卵母細胞がみられ、卵巣の壁には小型の卵母細胞が多数認められる。このステージの卵巣は長径の平均値が $60 \mu\text{m}$ 以上 $140 \mu\text{m}$ 未満の卵母細胞を含む。雄は精子の形成が行われるが量的には少ない。

- (4) 成熟後期：生殖巣は大きく発育し、雌は鮮やかな橙色、雄は乳白色を呈する。卵巣腔内には、成熟した卵母細胞が多数存在している。このステージの卵巣は長径の平均値が $140 \mu\text{m}$ 以上の卵母細胞を含む。雄は成熟前期よりさらに精子の数が増え、中央部には濃密な精子塊がみられるようになる。

- (5) 放出期：生殖巣は放卵、放精に伴い退縮し、雌雄ともに肌色または褐色を呈する。雌は少量の卵母細胞が、雄は少量の精子が観察される。

各調査海域における調査日ごとの生殖巣の発育過程をTable 2-1-1, 2, 3, 4に示した。

1) 高串（アオナマコ、アカナマコ）

アオナマコ：放卵、放精直前を示す成熟後期の個体は、1992年は3～4月に、1993年は4～5月にそれぞれみられ、1993年は1992年に比べ若干成熟が遅れた。また、1992年は2、6および12月、1993年は1、2月に生殖巣が観察されない休止期が出現した。

アカナマコ：成熟後期の個体は、1992年は3～4月、1993年は2～5月にそれぞれみられた。成熟後期の個体の出現は、同海域のアオナマコに比べ若干早かったが、両者の成熟期には大きな差はみられなかった。また、アオナマコと同様な時期に休止期の出現がみられた。

2) 神集島（アカナマコ）

成熟後期の出現は、1992、1993年ともに3～4月にみられた。高串産のアオナマコ、アカナマコに比べ休止期の期間も長く、出現割合も高かった。

3) 加部島（アカナマコ）

成熟後期の個体の出現は、神集島産のアカナマコと同様に、1992、1993年ともに3～5月にみられ、両海域の間では大きな差はみられなかった。また、休止期の出現状況も神集島産と同様であった。

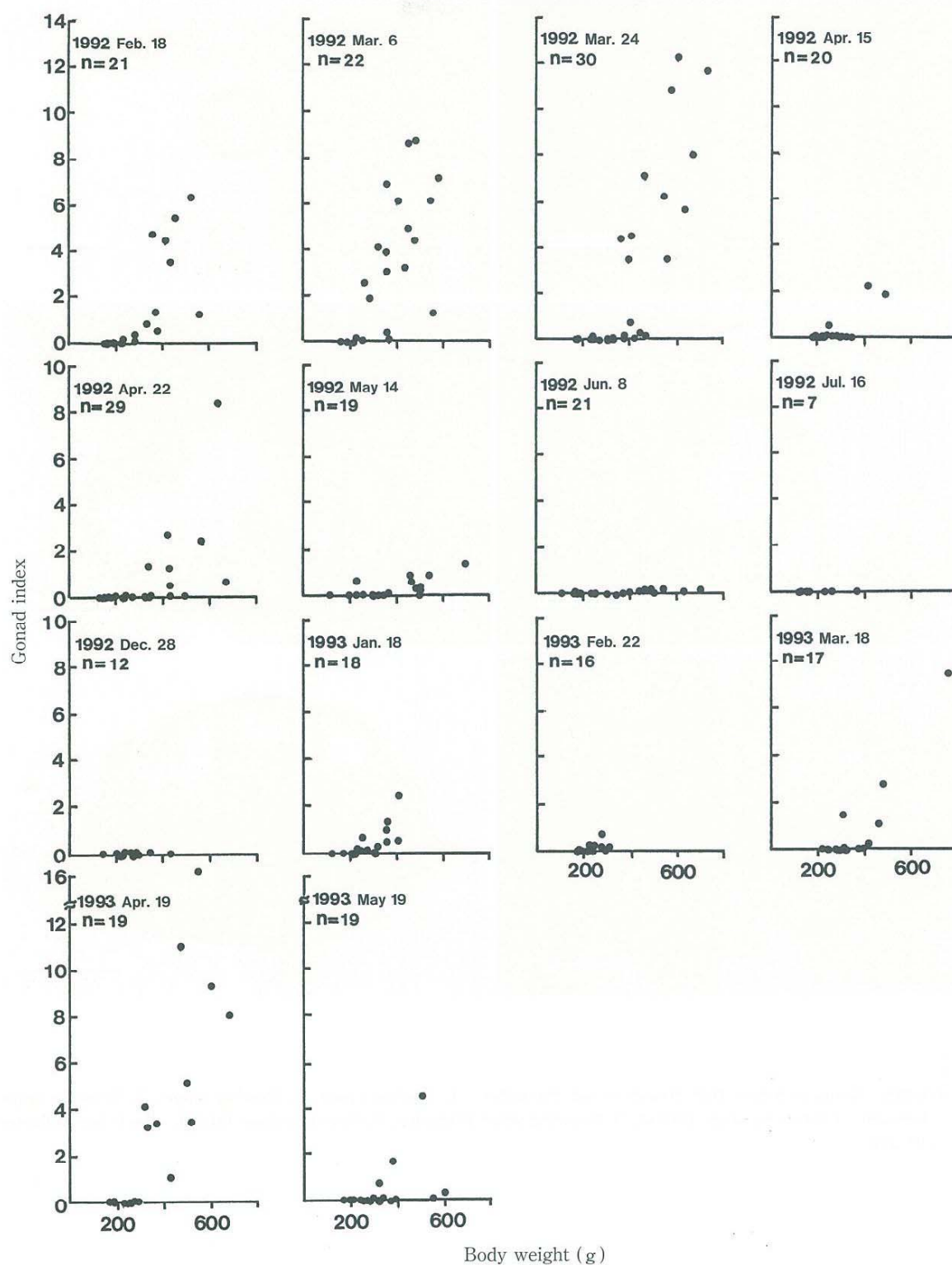


Fig. 2-1-9. Relationship between body weights and gonad indices of the red sea cucumber collected from Kabeshima, Saga Prefecture.

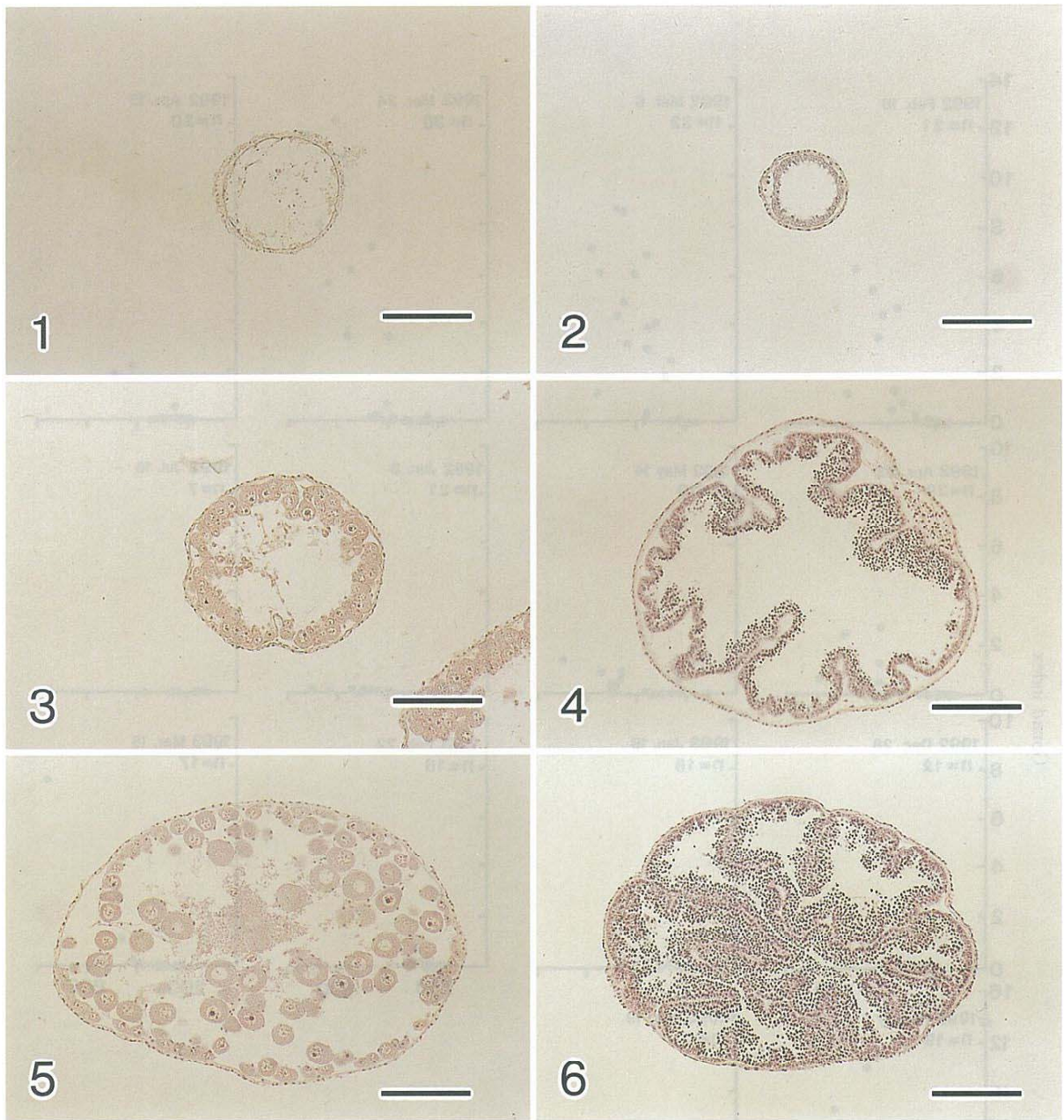


Fig. 2-1-10a. Gonadal maturation stages in sea cucumber. 1, Resting stage; 2, Resting stage; 3, Growing stage (Female); 4, Growing stage (Male); 5, Growing stage (Female); 6, Growing stage (Male). Each bar indicates 100 μm .

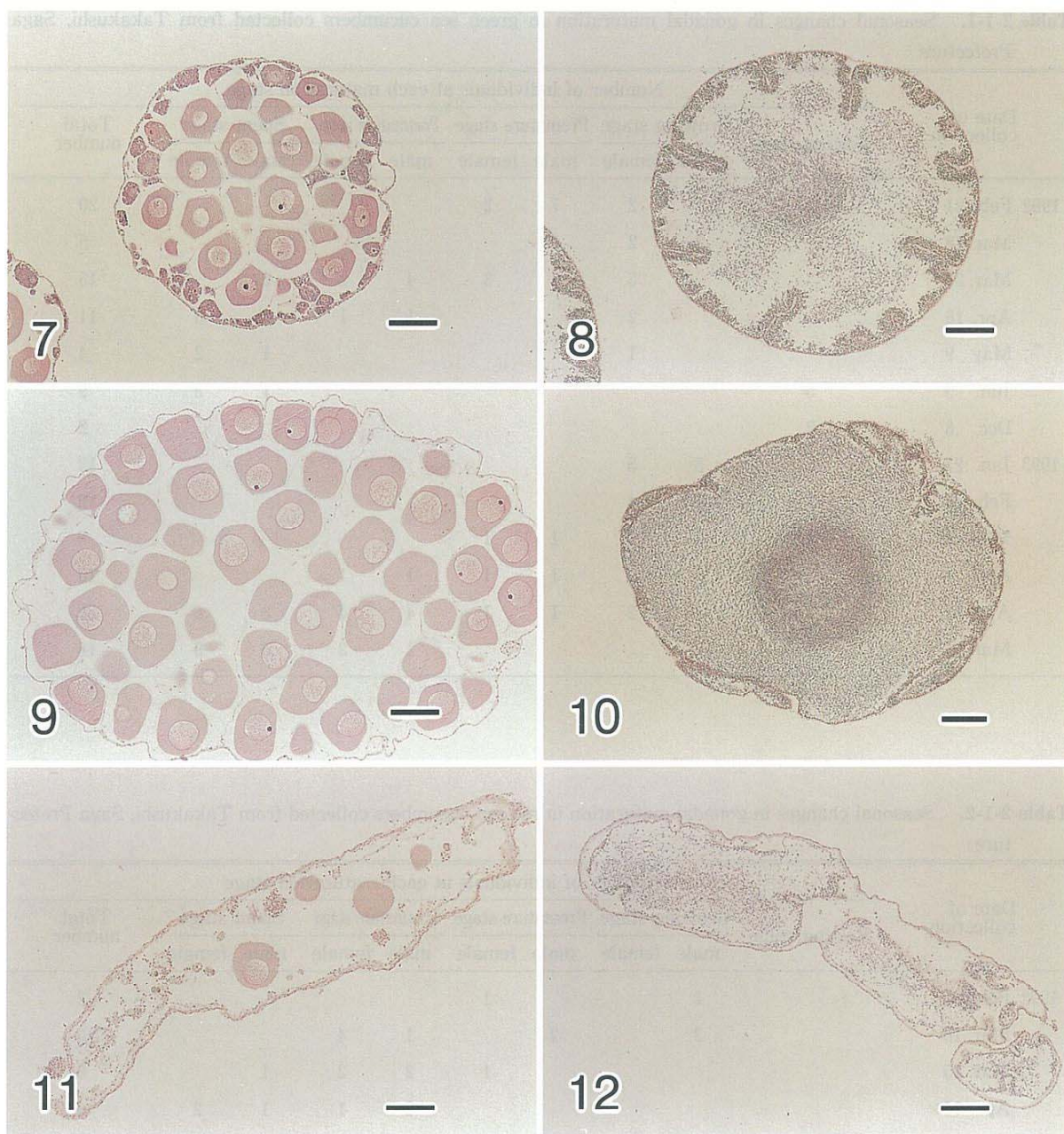


Fig. 2-1-10b. Gonadal maturation stages in sea cucumber. 7, Premature stage (Female) ; 8, Premature stage (Male); 9, Postmature stage (Female) ; 10, Postmature stage (Male) ; 11, Spent stage (Female) ; 12, Spent stage (Male). Each bar indicates 100 μ m.

Table 2-1-1. Seasonal changes in gonadal maturation in green sea cucumbers collected from Takakushi, Saga Prefecture

Date of collection	Number of individuals at each maturation stage										Total number
	Resting stage	Growing stage		Premature stage		Postmature stage		Spent stage			
		male	female	male	female	male	female	male	female		
1992 Feb. 21	2	7	2	7	2						20
Mar. 18		2	2	1							5
Mar. 25			5		3	4	1	2			15
Apr. 16			2			1	1	4	3		11
May 9			1					1	2		4
Jun. 3	5							1	3		9
Dec. 8	2										2
1993 Jan. 27	3	5	5								13
Feb. 22	1	4	4								9
Mar. 16		2	2	1	1						6
Apr. 7		4	7	1	1	1	1				15
Apr. 21	1	1	2	1	1	4	4	8	6		28
Mar. 14						1	2	6	9		18

Table 2-1-2. Seasonal changes in gonadal maturation in red sea cucumbers collected from Takakushi, Saga Prefecture

Date of collection	Number of individuals at each maturation stage										Total number
	Resting stage	Growing stage		Premature stage		Postmature stage		Spent stage			
		male	female	male	female	male	female	male	female		
1992 Feb. 21		1			1						2
Mar. 18		3		2		1	4				10
Mar. 25					1	2	2	1			6
Apr. 16						2	1	1	2		6
May 9									1		1
Jun. 3	2								1		3
Dec. 8	1										1
1993 Jan. 27	1	1	2		1						5
Feb. 22		1	1	1	1		1				5
Mar. 16		1	1	2			1				5
Apr. 7				1		1	2				4
Apr. 21						2	2				4
Mar. 14						3	5	1	4		13

Table 2-1-3. Seasonal changes in gonadal maturation in red sea cucumbers collected from Kashiwazima, Saga Prefecture

Date of collection	Number of individuals at each maturation stage										Total number
	Resting stage	Growing stage		Premature stage		Postmature stage		Spent stage			
		male	female	male	female	male	female	male	female		
1992 Jan. 27	15										15
Feb. 18	1	8	6	1	4						20
Mar. 3		8	3	3	8						22
Mar 27	7	3	2		1	1	4				18
Apr. 4	4		4			3	7	1	1		20
Apr. 28	16					3	5	2	1		27
May 14	15		1					7	1		24
Jun. 4	11							1			12
Jul. 10	12										12
Nov. 27	3										3
Dec. 28	6	8	9								23
1993 Jan. 27	7	1	2								10
Feb. 22	7	4	3		1						15
Mar. 17		4		2	2	3	1				12
Apr. 15	7		1			2	1	5	3		19
May 14	15							1			16

Table 2-1-4. Seasonal changes in gonadal maturation in red sea cucumbers collected from Kabeshima, Saga Prefecture

Date of collection	Number of individuals at each maturation stage										Total number
	Resting stage	Growing stage		Premature stage		Postmature stage		Spent stage			
		male	female	male	female	male	female	male	female		
1992 Feb. 18	10	2	1	4	4						21
Mar. 6	3	3	2	1	7	2	4				22
Mar. 24	7		2	3	1	6	3	4	4		30
Apr. 15	8						1	7	3		19
Apr. 22	10			1		3	2	6	7		29
May 14	7					1		4	7		19
Jun. 8	14							5	2		21
Jul. 16	4								3		7
Dec. 28	3	6	3								12
1993 Jan. 18	4	7	5		3						19
Feb. 22	3	3	9		1						16
Mar. 18	1	6	6	2	1	1					17
Apr. 19			1			6	3	3	1		14
May 19	7					1	1	5	5		19

考 察

佐賀県北部沿岸域のマナマコの産卵期は、生殖巣指数のピークの出現や、その後の減少時期、卵母細胞の大きさの推移、放卵、放精直前の成熟状況を示す成熟後期や放卵、放精後を示す放出期の組織像の出現頻度などから、アオナマコ、アカナマコともに水温が 12~18°C の 3 月から 5 月であろうと推察された。しかし、その盛期は佐賀県内でも地域によって、また年によっても若干の差があった。これは、ウニ類やアワビ類の成熟が餌料や水温などの外部環境要因に大きく影響されることが報告 (Cochran and Engelman 1975, Uki and Kikuchi 1984, Pearse *et al.* 1986, Yamamoto *et al.* 1988, Sakairi *et al.* 1989) されているように、調査海域の餌料条件や水温の年変動などに起因しているものと推察された。崔・大島 (1961) は愛知、三重県沿岸のアオナマコの産卵期は 4 月上旬から 8 月上旬に及ぶが、アカナマコの産卵期は 3 月上旬から 5 月上旬で、一般にアカナマコの産卵期が早く、期間も短いことを報告している。しかし、今回の調査結果からは、同一海域で採捕されたアオナマコとアカナマコの産卵期には大きな差はみられなかった。

Tanaka (1958a) は北海道のマナマコについて、生殖巣の組織学的観察から産卵期を推定している。この調査では、北海道のマナマコでは周年、生殖巣が確認されているが、今回の調査では、生殖巣指数の低い 11~1 月や放卵、放精後の 6~7 月には生殖巣の認められない個体がマナマコの大きさにかかわらず出現した。この点については、崔 (1963) も同様のことを報告し、北海道海域では水温が夏期でも高水温にならないため、生殖巣が周年観察されるのであろうと推察している。

今回の観察口ごとの体重と生殖巣指数との関係から、個体の大きさによって産卵盛期に若干の差がみられ、より大型のもののほど成熟時期が早い傾向がみられた。また、時期によって採捕される個体の大きさが異なることや、各調査海域で 8~11 月には採捕できなかったこと、さらに神集島では 7 月に通常の採捕地点より深い所で採捕されたことなどを考慮すると、マナマコは成熟に伴い、沖合から浅所へ移動するものと推察された。

今回得られた結果をもとに、今後、マナマコの安定した採卵を行うためには、佐賀県内の親ナマコを使用する場合、体重と生殖巣指数との関係から高串、加部島産では体重 400 g 以上、神集島産では 200 g 以上の個体を

2~3 月頃入手する必要がある。また、年により産卵盛期に若干の違いがあることを考慮すると 2 月中に入手することが望ましい。さらに、個体間で成熟度のバラツキが大きいことから、入手後は、餌料や水温条件を考慮し、養成によって成熟度を高める必要がある。また、生殖巣指数の高まりと卵母細胞の大きさの推移には相関がみられた。すなわち、産卵盛期の卵母細胞の長径の平均値は、高串産のアオナマコは約 145 μm 、アカナマコは約 160 μm 、神集島産のアカナマコは約 155 μm 、加部島産のアカナマコは約 160 μm であった。これらのことから、今後、卵母細胞の大きさを生殖巣の成熟状況を簡易に把握する指標として利用することが可能ではないかと考えられた。

第 2 節 養成飼育餌料

(伊藤ら 1994b)

本章第 1 節でのマナマコの産卵期調査の結果から、同じ佐賀県内であっても、産卵盛期の成熟度に地域差がみられ、さらに個体間の成熟度の差も著しいことがわかった。これらのことから採卵に使用する親ナマコは、あらかじめ餌料条件などを考慮して養成し、成熟度の高いものを揃える必要がある。

アワビ類の成熟には、餌料条件が大きく影響することが報告 (Uki and Kikuchi 1984) されている。マナマコについても、親ナマコを養成する際の餌料条件が成熟に影響することが考えられる。そこで、親ナマコの適正な養成飼育餌料を明らかにするため、3 種類の餌料を用いて各種餌料の単独投与による飼育実験を行い、餌料と成熟との関係について検討した。

方 法

実験は、1992 年 1 月 30 日から 6 月 3 日にかけて行った。供試したマナマコは、佐賀県唐津市神集島地先で、素潜り漁業で漁獲されたアカナマコである。

各種餌料をそれぞれ単独投与してアカナマコの飼育を行い、各餌料の摂餌状況と飼育経過に伴う生殖巣の量的変化などを観察した。

実験区は、海藻類としてワカメ *Undaria pinnatifida*、アラメ *Eisenia bicyclis*、それにワカメの乾燥粉末である市販のリビック W (理研ビタミン社製)、対照として無投餌区の合計 4 区とした。アカナマコの飼育は 1 k l 黒色パンライト水槽 8 区を用いて行った。これらの水槽には、アカナマコの総体重がほぼ等しくなるように 1 水槽

当り30個体ずつ合計60個体を収容した。この8水槽を各実験区に、無作為に2水槽ずつわりあてて飼育実験を行った。アカナマコの1水槽当りの収容時の総体重は約7 kgであった。

各餌料区の成熟度の調査は、無作為に10個体（各実験区の1つの水槽から5個体）ずつ取り出して腹部を切開し、その生殖巣重量から生殖巣指数を求めることによって行った。なお、各実験区の飼育開始時の生殖巣指数は、1月30日に15個体を用いて調査した値を使用した。

飼育水槽は屋内に設置し、簡易ろ過海水を約10 l/分の量で注水した。通気は径5 cmのエアー石を用いて水槽底面から行った。水温は自然水温とした。

ワカメ、アラメは、あらかじめ海藻切断機（フジマック社製）で幅2～3 mmに切断し、 -20°C で冷凍保存したものを、投餌前に解凍して使用した。各餌料は、飼育水中への拡散を防ぐため、鉍物性の粉末であるベントナイト（豊順洋行社製）と混合して投与した。ベントナイトと各餌料の混合した割合は、ベントナイトとワカメ、アラメとは1:10、リビク Wとは1:1の重量比とした。ベントナイトと各餌料は海水を適量加えて、ジュースャーを使って混合した。各餌料の混合物は、作製後2～3時間放置して、沈殿物を投与した。ワカメ、アラメは実験開始時のアカナマコ総体重の約10%量を、リビク Wはその1/5量を週3回投与した。各餌料は直径30 mmの塩化ビニール製のパイプを用いて水槽底面に緩やかに散布した。投餌から約1時間は止水、無通気として各餌料の散逸を防いだ。

なお、投餌は残餌や糞を取り除いた後に行った。

結 果

毎日の残餌量を目視によって観察した結果、アカナマコが最も良く摂餌したものはワカメで、次にリビク W、アラメの順であった。ワカメ区では、アカナマコは投餌すると直ちにワカメに蠕集し摂餌を行い、投餌翌日には残餌はみられなかった。そこで、ワカメ区のみ、飼育開始30日目から1回当りの投餌量を当初の2倍量とした。リビク Wは、ワカメのような投餌直後の蠕集はみられなかったが摂餌は良好であった。ただ若干残餌がみられた。アラメも摂餌はみられ、多くの糞がみられたが、残餌量は3種類の餌料のなかで最も多かった。無投餌区では、実験期間中、若干量の糞がみられた。これは、海水中の浮泥や水槽内に発生した付着珪藻などを摂餌したものと考えられた。

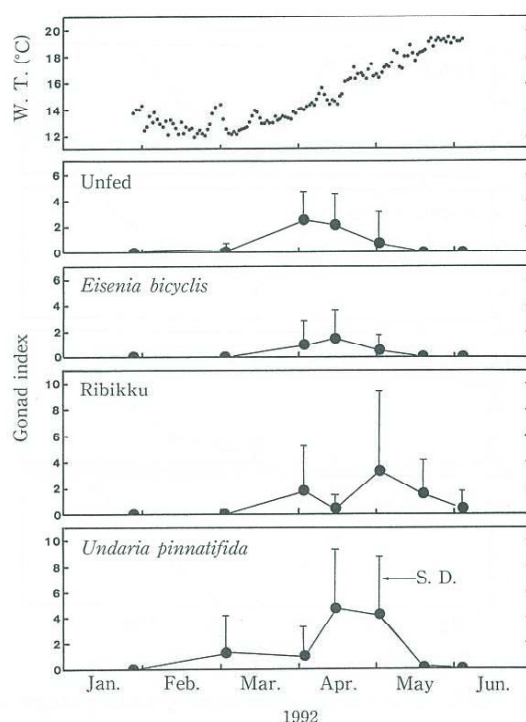


Fig. 2-2-1. Changes in gonad index of sea cucumbers reared under three kinds of foods.

各種餌料別の飼育経過に伴う生殖巣指数および飼育水温の推移を Fig. 2-2-1 に示した。1月30日の飼育開始時にはいずれの個体でも生殖巣はみられなかった。その後の生殖巣指数の高まりは、ワカメ区が最も高く、そのピークは4月14日と5月1日で 4.8 ± 4.5 と 4.3 ± 4.5 であった。リビク W 区のピークは5月1日にみられ、その値は 3.5 ± 6.0 であった。アラメ区は全般的に低く推移し、そのピークは4月14日の 1.6 ± 2.1 であった。一方、無投餌区でも生殖巣指数の若干の高まりがみられ、そのピークは4月2日、14日の 2.6 ± 2.2 と 2.2 ± 3.4 で、アラメ区に比べ若干高かった。また、アラメ区、無投餌区ともに、そのピークの出現時期はワカメ区、リビク W 区に比べ若干早かった。

各餌料区で生殖巣が確認できなかった個体（休止期）の出現割合の推移を Fig. 2-2-2 に示した。生殖巣は、各餌料区で生殖巣指数の高まりに対応して、休止期の個体の割合が減少し、さらに、生殖巣指数の減少に伴い、その割合が増加した。各種餌料区間の比較では、3～5月は、ワカメ区が最も低く、リビク W、アラメ区の順であった。アラメ区は、無投餌区と類似の増減傾向を示した。

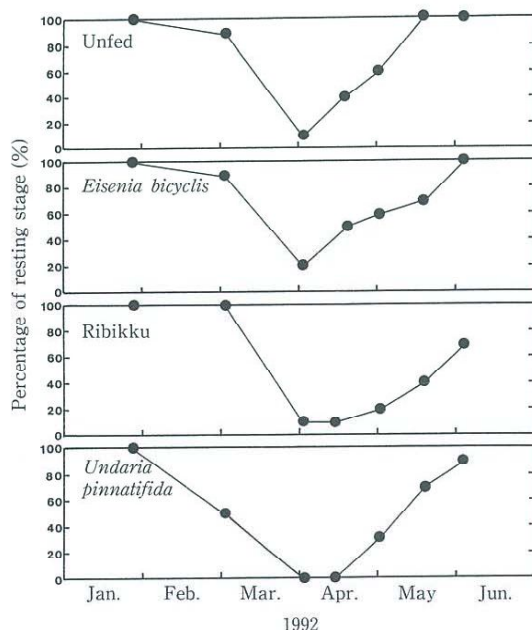


Fig. 2-2-2. Changes in percentage of resting stage of sea cucumbers reared under three kinds of foods.

考 察

種苗生産技術がほぼ確立されているアワビ類では、親貝養成時の餌料と生殖巣の成熟との関係について検討され、餌料の質と量が生殖巣の成熟に大きく作用することが明らかにされている (Uki and Kikuchi 1984)。

マナマコでも、海藻類のワカメ、アラメ、それにワカメの乾燥粉末であるリビック W を使った今回の飼育実験では、餌料によって摂餌量に差がみられた。さらに、飼育経過に伴う生殖巣の発達をみると、ワカメ区が最も良く、次にリビック W 区であった。アラメ区では、摂餌がみられたものの、無投餌区と大きな差はみられず、アラメの餌料としての有効性は認められなかった。

リビック W はワカメの乾燥粉末であるが、マナマコの餌料への蠕集性や生殖巣の発達にワカメと差がみられたことから、両者の餌料としての有効性には差があるように思われた。この点については、今後、親ナマコ養成用の人工餌料を開発する上で解明すべき点であろう。

以上の結果、親ナマコ養成時の飼育餌料として、ワカメが有効であることが明らかとなり、今後、親ナマコの短期または周年飼育が可能であると考えられた。

第 3 節 陸上水槽での養成と採卵法

(伊藤ら 1994c)

酒井ら (1980) は、長崎県大村湾のマナマコの産卵盛期は 4 月としている。そこで、その産卵盛期前の 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、飼育下でのアオナマコの産卵盛期を詳細に検討した。また、その際、採卵適期を推定するための指標について検討を行った。

方 法

1. 産卵盛期およ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 日に入手した。

飼育は、1.6 m³ 水槽 2 水槽に、1990 年は 1 水槽当り 55 個体 (平均体重 304 g)、1991 年は 1 水槽当り 56 個体 (平均体重 273 g) を収容して行った。飼育水は簡易ろ過海水を使用し、自然水温下で流水で飼育を行った。通気は長さ 1.5 m の通気管 (Table 1-2 参照) を通して水槽底面から行った。飼育水槽は上屋のある屋外に設置し、常時遮光幕 (遮光率 95%) によって照度調節を行った。

飼育餌料は、ワカメを本章第 2 節の方法に準じて週 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。

1) 産卵盛期の把握

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を使って産卵誘発を行い、雌雄の反応率 (Table 1-1 参照) および放卵した雌 1 個体当りの平均産卵数を求めた。産卵誘発方法は昇温刺激法を用いた。これは、石田 (1979) の方法を改変したもので、産卵誘発時の親ナマコの飼育水温より 5°C ほど昇温した海水中へ入れるものである。すなわち、1 個体ずつを昇温海水の入った 20 l 水槽へ収容し、ただちに昇温した海水を約 0.5 l / 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 年は 3 月から 4 月にかけて、1991 年は 2 月から 5 月にかけてそれぞれ 6 回行い、1 回当り

無作為に9～18個体を使用した。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本章第1節で示した方法により組織切片を作成し、顕微鏡観察により成熟度を判定した。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個体について観察した。

2) 採卵適期の推定

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生殖巣指数を求め、それを指標とするものである。

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、本章第1節の方法に準じて行った。これらの調査は、1990年は2月から4月にかけて5回、1991年は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個体を使用した。

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、親ナマコの飼育水温を参考にし、雌雄の生殖巣指数や卵母細胞の長径を指標として採卵実験を行った。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2回行った。アオナマコは長崎県大村湾産のものをを使用した。採捕方法や入手後の飼育方法は前述した方法に準じて行った。なお、親ナマコの飼育水槽は2 m³水槽と4 m³FRP水槽を使用した。また、1993

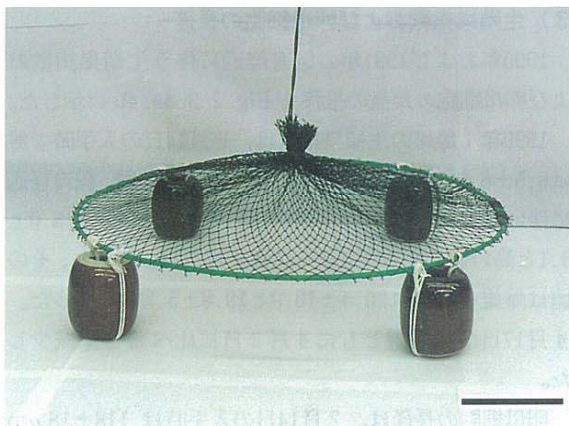


Fig. 2-3-1. Feeding net for adult sea cucumbers. Scale bar indicates 10 cm.

年のワカメの投餌は、投餌作業の省力化を図るため、ベントナイトとの混合は行わず冷凍保存したワカメをブロック状態(1 kg 単位)のまま飼育水槽へ投与した。この際、ワカメには、浮き上がるのを防ぐため直径 45 cm のネット (Fig. 2-3-1) をかぶせた。

結 果

1. 産卵盛期および採卵適期の推定に関する試験

実験期間中、アオナマコのワカメに対する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) 反応率および平均産卵数

1990年：親ナマコの飼育水温、平均産卵数および雌雄を含めた反応率の推移を Fig. 2-3-2a に示した。3月1日および16日ではいずれも反応個体 (Table 1-1 参照) はみられなかったが、3月23日に 61.1% (18個体中雌5個体、雄6個体)、3月29日に 61.1% (18個体中雌2個体、雄9個体)の反応率が得られ、4月2日には 88.9% (9個体中雌4個体、雄4個体)と反応率が高まった。しかし、4月17日には 22.2% (9個体中雌1個体、雄1個体)に低下した。放卵した雌1個体当りの平均産卵数は、3月23日の 825.0×10^4 粒が最も多く、1個体の最大産卵数は $2,124.8 \times 10^4$ 粒であった。4月2日の1個体当りの平均産卵数は3月23日に比べ減少したが、 412.2×10^4 粒の産卵がみられた。4月17日は1個体のみ産卵がみられ、その数は 190.1×10^4 粒であった。

1991年：親ナマコの飼育水温、平均産卵数および雌雄の反応率の推移を Fig. 2-3-2b に示した。はじめて反応がみられたのは、雄では3月14日、雌では4月8日であった。反応率は雄 40% (5個体中2個体)と雌 42.9% (7個体中3個体)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個体中3個体)雄が 100% (5個体中5個体)を示した。5月7日は雌雄それぞれ 33.3% (3個体中1個体)と 66.7% (6個体中4個体)で4月11日に比べ減少した。1個体当りの平均産卵数は、反応率のピークがみられた4月11日が最も多く、 278.5×10^4 粒であった。5月7日は 13.6×10^4 粒と4月11日に比べ減少した。

飼育水槽の水温は全般的に1991年が1990年に比べて低かった。特に、2月下旬と4月上旬は、1991年が1990年に比べて3～4℃低かった。また、1990年および1991年ともに雌の反応率が高まったのは飼育水温が約14℃のときであった。

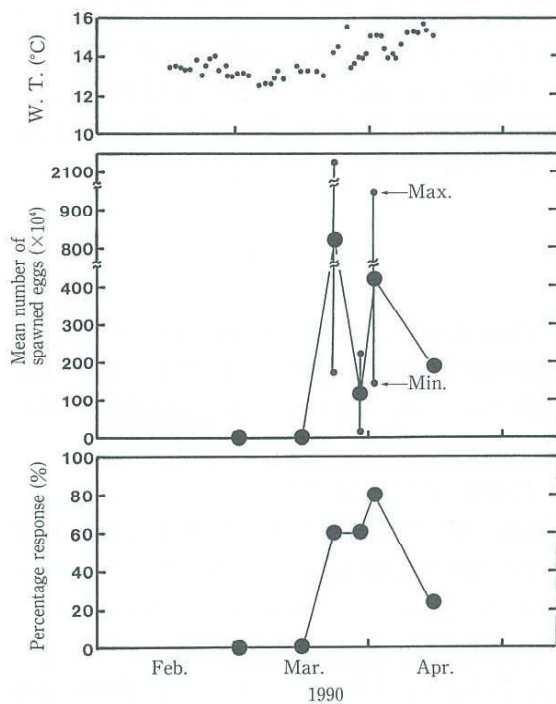


Fig. 2-3-2a. Percentage response and mean number of spawned eggs per female of green sea cucumber reared under natural water temperature.

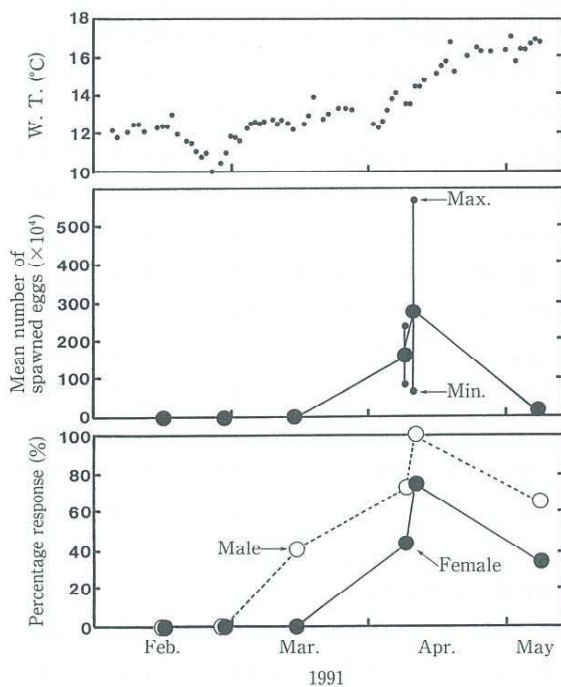


Fig. 2-3-2b. Percentage response and mean number of spawned eggs per female of green sea cucumber reared under natural water temperature.

2) 生殖細胞の發育過程

1991年の飼育経過に伴う生殖巣發育過程の推移を Fig. 2-3-3 に示した。

2月4日の飼育開始時の成熟状況は、9個体中、雌は6個体で、これらは2個体が成長期、4個体が成熟前期であった。雄は3個体で、これらはすべて成熟前期であった。2月16日には雄で成長期の個体がみられた。3月14日には成熟が進み、雌4個体中3個体が成熟前期、1個体が成熟後期で、雄5個体中3個体が成熟前期、2個体が成熟後期であった。4月8日に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日には雌はすべて放出期であったが、雄は4個体中1個体が成熟後期であった。

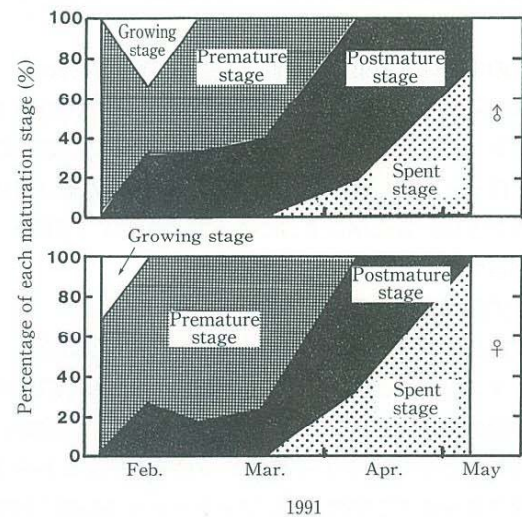


Fig. 2-3-3. Changes in gonadal maturation in green sea cucumber reared under natural water temperature.

3) 生殖巣指数および卵母細胞の長径

1990年および1991年の飼育経過に伴う生殖巣指数および卵母細胞の長径の推移を Fig. 2-3-4a, 4b に示した。

1990年：雌雄の生殖巣指数は、2月14日の入手時で雌は 8.5 ± 6.2 、雄は 10.2 ± 6.9 であった。その後、飼育経過に伴い高くなり、3月16日には雌 17.9 ± 12.5 、雄 15.0 ± 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 ± 10.0 と 19.8 ± 5.8 で高かった。4月17日には雌雄ともに4月2日に比べ著しく減少した。

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

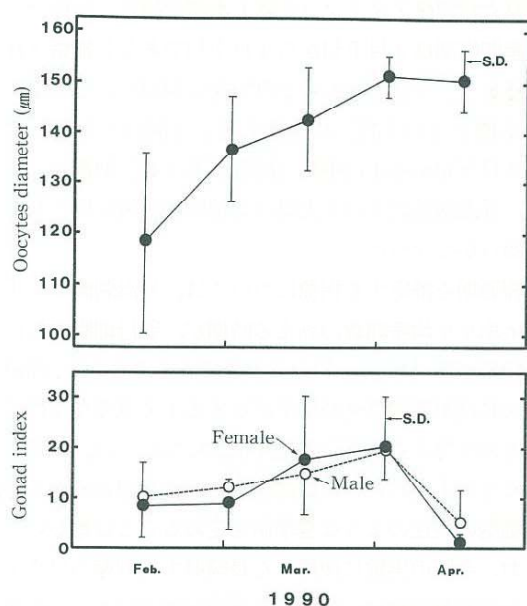


Fig. 2-3-4a. Changes in gonad index and oocytes diameter of green sea cucumber reared under natural water temperature.

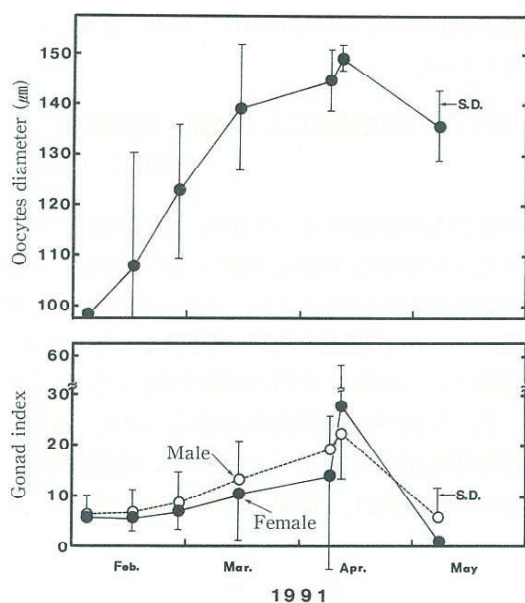


Fig. 2-3-4b. Changes in gonad index and oocytes diameter of green sea cucumber reared under natural water temperature.

μm と最大であった。

1991年：2月4日の入手時の雌雄の生殖巣指数は雌雄とも1990年の入手時に比べ若干低く、雌 5.7 ± 1.0 、雄 6.2 ± 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 $145 \pm 6 \mu\text{m}$ 、さらに雌の反応率がもっとも高かった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も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。

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、卵母細胞の長径および親ナマコの飼育水温の推移を Fig. 2-3-5a, 5b に示した。

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 ± 11.8 と高い値であった。一方、雌は3月26日では 12.7 ± 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日には $146 \pm 9 \mu\text{m}$ 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。

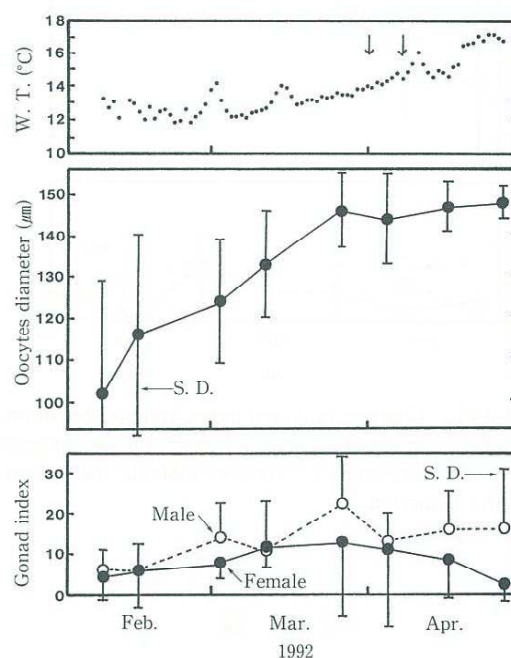


Fig. 2-3-5a. Changes in gonad index and oocytes diameter of green sea cucumber reared under natural water temperature. Arrows indicate the spawning induction.

反応率は3月31日が雌40%（5個体中2個体）、雄100%（3個体中3個体）、4月7日が雌20%（10個体中2個体）、雄71.4%（7個体中5個体）であった。平均産卵数は3月31日が 475.5×10^4 粒、4月7日が 909.7×10^4 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、その後、卵母細胞の長径は飼育経過に伴い大きくなり、3月16日には $143 \pm 15 \mu\text{m}$ 、さらに3月30日には $152 \pm 7 \mu\text{m}$ と大きくなった。生殖巣指数も3月30日には雌 14.5 ± 10.4 、雄 16.5 ± 5.3 と3月16日の雌 7.7 ± 3.0 、雄 8.4 ± 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日が雌33.3%（3個体中1個体）、雄100%（5個体中5個体）、4月5日が雌50%（8個体中4個体）、雄80%（5個体中4個体）であった。平均産卵数は、4月2日が 558×10^4 粒、4月5日が 419×10^4 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。

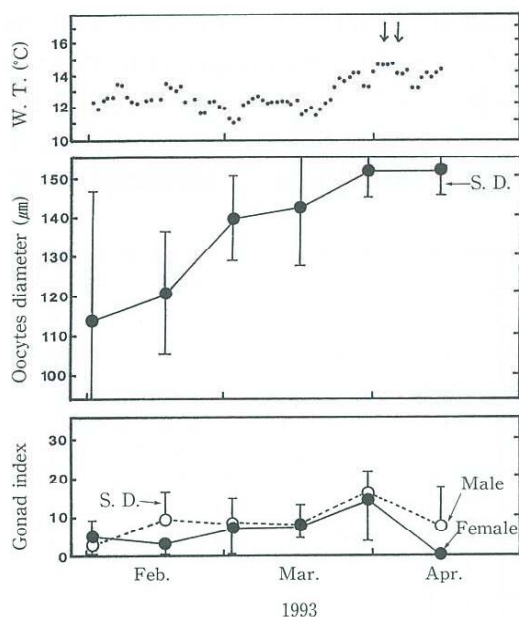


Fig. 2-3-5b. Changes in gonad index and oocytes diameter of green sea cucumber reared under natural water temperature. Arrows indicate the spawning induction.

考 察

昇温刺激による雌雄の反応率や平均産卵数の推移、さらに放卵、放精直前を示す成熟後期や放卵、放精後を示す放出期の組織像の出現頻度などの組織学的観察から、

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。そして、1月下旬から2月中旬に採取し、その後、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る時期が、卵母細胞の長径の平均値が約 $140 \mu\text{m}$ 以上のときであることから、卵母細胞の長径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めることは難しい。

なお、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、佐賀県北部沿岸域のマナマコの生殖巣指数の値に比べ全般的に高く、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る。

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。これは、2月から3月にかけての飼育水温が1991年に比べ1990年のほうが高く推移したためと考えられた。

第4節 水温制御による成熟、産卵促進

（伊藤ら 1994d）

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（伊東ら 1987a, 伊藤ら 1989, 川原ら 1994a）。本章第3節で述べたように、マナマコについても飼育水温によって産卵盛期の時期が若干異なっているため、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、5月中旬が産卵盛期（伊藤ら 1994i）と推定される長崎県青島産のアカナマコを使って、産卵盛期の2か月前から加温飼育し、成熟、産卵の促進を試みた。

方 法

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によって採取した平均体重 279 g 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、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 1.6 m³ 水槽 3 水槽に 1 水槽当たり 122 個体を収容し、本章第 2 節に準じて行った。

加温飼育群は、常温飼育群のうち 60 個体を 3 月 16 日から水温 16~18°C で飼育した。飼育は室内に設置した 2 m³ FRP 水槽を使用し、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、日長調節は行わなかった。

各飼育群の餌料はワカメを本章第 2 節に準じて週 3 回与えた。1 回当た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。

成熟状況の観察は次の方法によって行った。定期的に各飼育群からアカナマコを取り出し、本章第 3 節と同様に生殖巣指数と卵母細胞の長径の推移を観察し、さらに、各個体の生殖巣の成熟度を本章第 1 節の方法に準じた組織学的手法により判定した。

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 回当たり 13~24 個体、加温飼育群では 4~6 月にかけて 5 回、1 回当たり 10 個体について、それぞれ行った。

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ための実用化試験を行った。

供試したマナマコは、加温飼育による成熟促進試験と同様に長崎県松浦市青島地先で採取した平均体重 302 g 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、自然水温下で飼育した常温飼育群 (294 個体) と、3 月 1 日に常温飼育群から取り出し、加温飼育を行った加温飼育群 (80 個体) 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、餌料および加温飼育群の水温設定などの飼育条件は加温飼育による成熟促進試験と同様である。なお、ワカメの投餌方法は、本章第 3 節の 1993 年の方法と同様とした。

本章第 3 節で、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を明らかにした。これらのことから、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、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 回当たり 10~15 個体、加温飼育群は 3~6 月にかけて 6 回、1 回当たり 10 個体について、それぞれ行った。

産卵誘発は、昇温刺激によって行ったが、本章第 3 節

のアオ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 パンライト水槽に、常温飼育群では 20 個体、加温飼育群では 15 個体をそれぞれ収容し、産卵誘発を行った。産卵誘発中は止水とした。通気は直径 5 cm のエアーストンをういて水槽底面より行った。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 水槽へ収容し、この中で産卵を行わせたのち、媒精した。媒精に用いた精子は、放精がみられた雄から、切開により取り出した生殖巣を、滅菌海水の入った 200 ml ガラスピッカーへ入れて懸濁させたものである。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個体は昇温海水から取り出し、新しく常温海水を入れた 500 l パンライト水槽へ収容し、翌日、再び昇温刺激を行った。昇温刺激に供さなかった個体は、飼育水を交換するため、1 日 1 回、新しく常温海水を入れた 500 l パンライト水槽へ移し替えた。

結 果

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

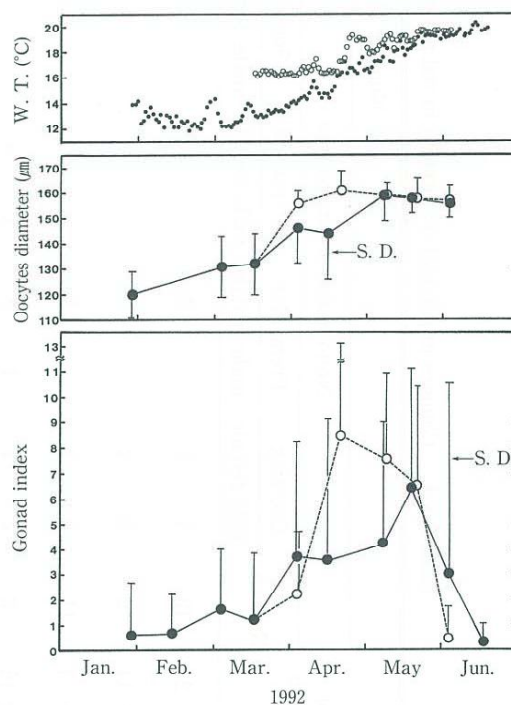


Fig. 2-4-1. Changes in gonad index and oocytes diameter of red sea cucumber reared under non-regulated (●) and elevated (○) water temperature.

Table 2-4-1. Changes in gonadal maturation in red sea cucumber reared under non-regulated and elevated water temperatures

Date of collection	Number of individuals at each maturation stage																	
	Non-regulated temperature						Elevated temperature											
	Resting	Growing		Premature		Postmature		Spent	Total number	Resting	Growing		Premature		Postmature		Spent	Total number
		male	female	male	female	male	female				male	female	male	female	male	female		
1992 Jan. 28	12	1	1	1														15
Feb. 14	9	3	2															14
Mar. 3	11	6	2	5														24
Mar. 16	2	2	4	1	3	1												13
Apr. 3	3			2	3	4	1			2								13
Apr. 15	3		1	3	3	3	1											14
Apr. 20																7	3	10
May 7	4				4	5		1	14									
May 8										2						2	5	1
May 18	4				7	5	1	1	18									
May 20																6	3	1
Jun. 3	1				4	1	8	5	19	8							1	1
Jun. 17	9						3	3	15									

径および飼育水温の推移を Fig. 2-4-1 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。

常温飼育群の生殖巣指数は、入手時は 0.65 ± 1.92 と低く、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日には 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日には $159 \pm 10 \mu\text{m}$ と最大に達した。加温飼育群では4月20日に $161 \pm 8 \mu\text{m}$ で最大となり、常温飼育群に比べ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、Tanaka (1958a) が定めた区分を参考にし本章第1節に準じて Table 2-4-1 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、成熟後期の割合は5月7日と18日が高かった。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半月ほど早く出現した。

2. 大量生産への実用化試験

各飼育群の生殖巣指数、卵母細胞の長径および飼育水温の推移を Fig. 2-4-2 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3~5°C、4月中旬以降は1~3°C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日には 4.71 ± 3.19 と高まりがみられ、5月13日には 5.22 ± 4.42 とピークをむかえた。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日の 6.16 ± 7.93 であった。常温飼育群に比べ生殖巣指数のピークが20日程度早かった。

卵母細胞の長径は、1、2月では $60 \mu\text{m}$ 以下であった。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日には $161 \pm 5 \mu\text{m}$ と最大であった。一方、常温飼育群では5月13日に $161 \pm 6 \mu\text{m}$ と最大に達した。加

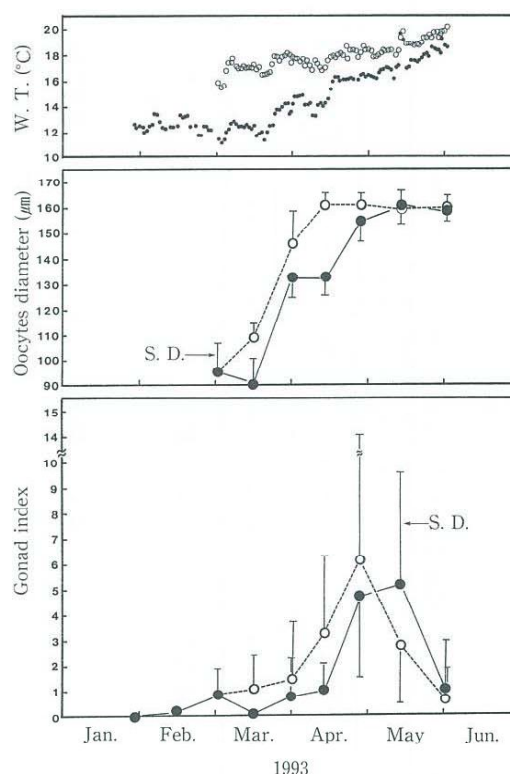


Fig. 2-4-2. Changes in gonad index and oocytes diameter of red sea cucumber reared under non-regulated (●) and elevated (○) water temperature.

温飼育群の方が常温飼育群に比べ約1か月早くピークに達した。

各飼育群の産卵誘発結果を Table 2-4-2 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、当日は加温飼育群、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個体ずつ反応がみられた。反応時間は、雄が誘発開始40分後、雌はその10分後であった。産卵数は 118×10^4 粒であった。一方、常温飼育群では反応はみられなかった。加温飼育群では4月22日に反応した2個体を除いた13個体を用いて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個体、雌1個体に反応がみられた。反応時間は、雄が誘発開始35分後、雌は1時間15分後であった。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個体、雌1個体が反応した。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。常温飼育群では、4月28日に反応がみられた3個体

Table 2-4-2. The records of spawning induction in red sea cucumber reared under non-regulated and elevated water temperatures

Date of spawning induction	Non-regulated temperature						Eleveted temperature					
	Number of parents (mean body weight, g)	Induction temperature (°C)		Number of responded individuals		Mean number of spawned eggs (Total) (×10 ⁴)	Induction temperature (°C)		Number of responded individuals		Mean number of spawned eggs (Total) (×10 ⁴)	
		before	after	male	female		before	after	male	female		
1993 Apr. 21	20(269)	16.2	20.2	0	0	0	15(314)	18.6	22.6	0	0	0
Apr. 22		19.2	23.2	0	0	0		19.2	23.2	1	1	118(118)
Apr. 26							13	18.2	22.8	2	1	174(174)
Apr. 27		16.8	21.0	0	0	0						
Apr. 28		19.2	24.0	2	1	33(33)						
May 6	17	19.0	24.0	1	0	0						
May 12	20(295)	17.3	22.3	0	0	0						
May 13		18.9	23.6	5	3	336.2(1,008.7)						

を除いた17個体について、5月6日に再び産卵誘発を行ったが、雄1個体の反応がみられただけであった。常温飼育群では、5月12日に新たに親ナマコの飼育水槽から20個体を取り出し産卵誘発を行った。5月12日には反応はみられなかったが、翌13日には誘発開始30～45分後に雄5個体が反応し、50分～1時間20分後に雌3個体が反応した。雌1個体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

1992年は、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などから、加温飼育群では常温飼育群に比べ成熟が促進され、4月に生殖巣指数や卵母細胞の長径のピークがみられた。さらに、1993年には3月上旬から16～18℃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(伊藤ら 1994)。このように、親ナマコの飼育水温を制御することによって成熟、産卵の促進が若干ではあるが可能であった。しかし、常温飼育群に比べ、1個体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開始する時期や設定温度などを明らかにする必要がある。

ウニ類の成熟は外部環境要因に大きく影響され(Cochran and Engelman 1975, Pearse *et al.* 1986, Yamamoto *et al.* 1988, Sakairi *et al.* 1989)、水温はその重要な要因の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天然群に比べ成熟と放卵、放精が促進され、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(伊東ら 1987a, 伊藤ら 1989, 川原ら 1994a)。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、水温制御によって親貝の成熟、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(Uki and Kikuchi 1984)。一方、マナマコの親ナマコ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。本章第2, 3節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(1992)は、採卵の約1か月前から乾燥ワカメを与えて、水温を18℃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、ようやく親ナマコの養成技術に関する知見が得られつつある。今後、知見が集積されることによって親ナマコの養成技術が確立されるものと思われる。

本章第3節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140～150 μm のときに昇温刺激に対して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 μm 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10～20 μm 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 μm のときに産卵誘発を行えば良いことが推察された。

産卵誘発率を高めるには、まず親ナマコの養成によって使用する個体の成熟度を高め、個体間の成熟度を揃える必要があるが、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本章第3節の1個体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法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(1979)やその他多くの報告(畑中ら 1991, 小川ら 1992, 柳澤ら 1992)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、成熟度が低い場合は、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(鳥羽・深山 1992)されている。このことから、本章第3節で示したように、長崎県大村湾産のアオナマコのような生殖巣指数の高い群を使って産卵誘発を行う場合は、1個体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生殖巣指数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。

第5節 媒精時の精子濃度の検討

(伊藤ら 1994e)

ウニ類やエゾアワビ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って正

常な発生ができないことが報告され(丸山 1988, 菊地・浮 1974), 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, エゾアワビでは精虫濃度と受精率との関係から媒精時の好適な精虫濃度の基準が明らかにされている(菊地・浮 1974)。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。

本章第3節で示したように, 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(伊藤ら 1994c), 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(伊藤ら 1994i), 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, 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, 精子濃度と受精率およびふ化率との関係について検討を行った。

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。産卵誘発方法は本章第3, 4節と同様の方法で行った。

実験は, それぞれの精子濃度に設定した 200 ml 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 200 ml 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 1×10^4 個ずつを容積法で計数し収容した。精子濃度は海水 1 ml 当り, それぞれ 5×10 , 5×10^2 , 5×10^3 , 2.5×10^4 , 5×10^4 , 10×10^4 , 50×10^4 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, 1×10^2 , 5×10^2 , 1×10^3 , 2×10^3 , 1×10^4 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つは媒精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幼生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時間ごとに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, 受精率やふ化率およびふ化幼生中の形態異常幼生の出現率の算出は, 各精子濃度につき3回, 1回当たり 2 ml 中の卵やふ化幼生, 約100個を採取して行った。アオナマコ, 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 $250 \mu\text{m}$ 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節では形態異常幼生とした。

結 果

アオナマコ, アカナマコの精子濃度と受精率との関係

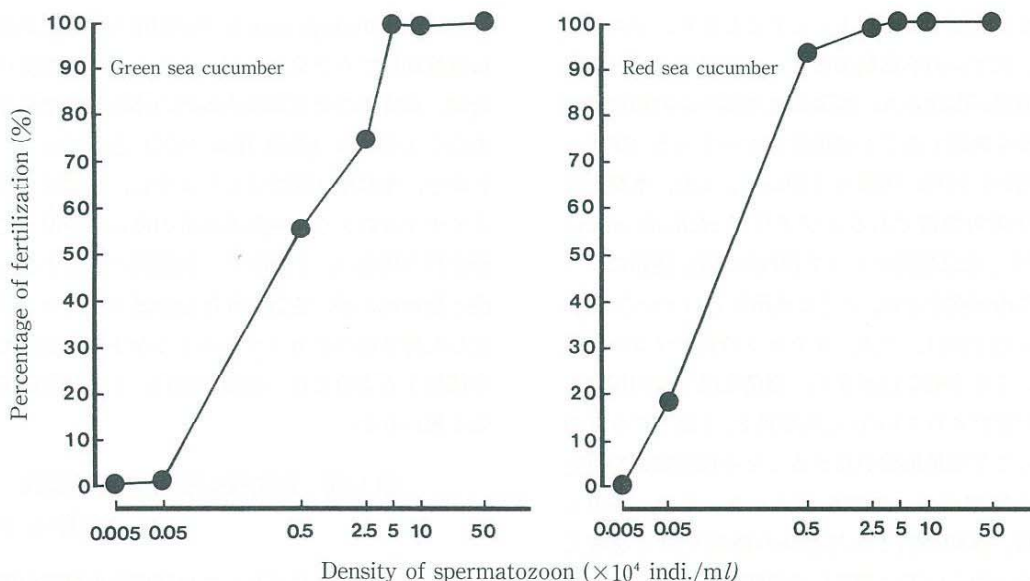


Fig. 2-5-1. Relationship between density of spermatozoon and percentage of fertilization.

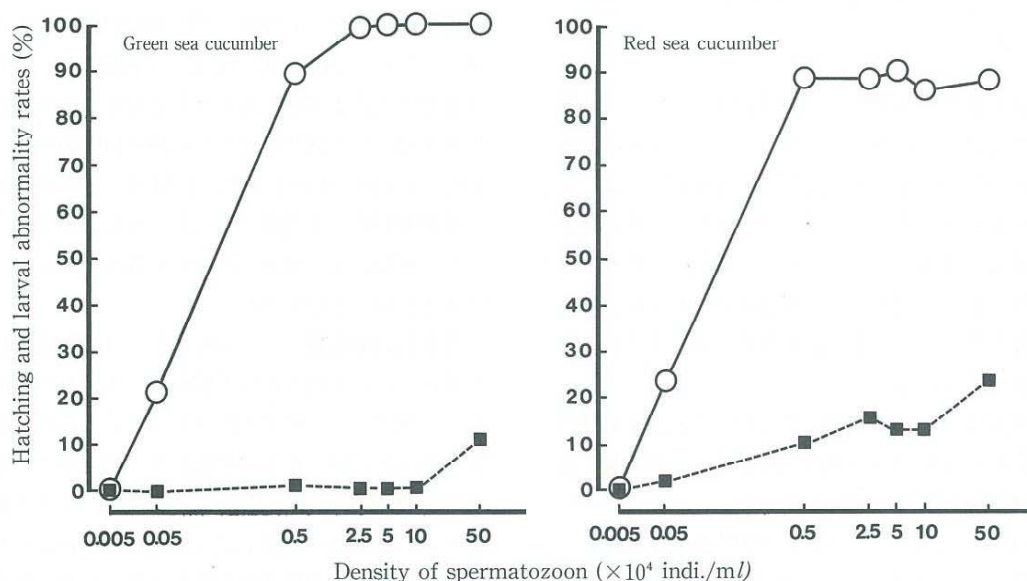


Fig. 2-5-2. Relationship between density of spermatozoon and hatching rate (○), larval abnormality rate (■).

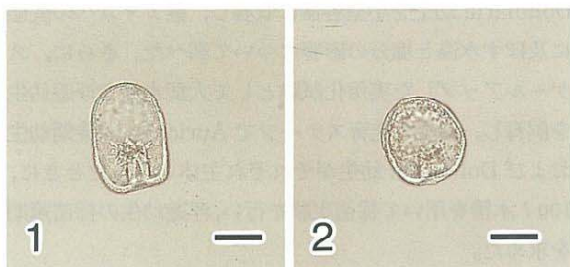


Fig. 2-5-3. Normal (1) and abnormal gastrula larvae (2) after 24h fertilization. Scale bars indicate $100\mu\text{m}$.

を Fig. 2-5-1 に示した。受精率は、アオナマコ、アカナマコともに精子濃度 5×10 個/ml では 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 5×10^4 個/ml で 99.1%, アカナマコでは 2.5×10^4 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 5×10^4 個/ml 以上で、アカナマコでは 2.5×10^4 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、アカナマコの精子濃度とふ化率および形態異常幼生の出現率との関係を Fig. 2-5-2 に示した。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 Fig. 2-5-3 に示した。ふ化率は、アオナマコ、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 5×10^3 個/ml で 89.6% と高くなり、 2.5×10^4 個/ml 以上ではほぼ 100% であった。アカナマコでは 5×10^3 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幼生の出現率との関係は、アオナマコでは $5 \times 10 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml の範囲で 0~1.3% の低い出現率であったが、 50×10^4 個/ml では 10.9% と 10×10^4 個/ml 以下の濃度区に比べ明らかに高い割合で形態異常幼生の出現がみられた。アカナマコでも、 50×10^4 個/ml では 23.2% と $5 \times 10 \sim 5 \times 10^2$ 個/ml の 0~2.2%, $5 \times 10^3 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml の 10.5~15.6% に比べ高い値であった。

考 察

菊地・浮 (1974) は、エゾアワビの場合、精虫濃度が 193×10^4 個/ml 以上で卵膜が溶解し異常卵割するものが現れ、精虫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 50×10^4 個/ml の実験では、卵膜の溶解などは観察されなかったが、形態異常幼生の出現率が高まる傾向にあることから、マナマコで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、アカナマコでの媒精時の精子濃度と受精率やふ化率および形態異常幼生の出現率との関係から、マナマコ種苗生産での適正な媒精濃度は、確実性や安全性を考慮して $5 \times 10^4 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml、卵 1 個に対して精子数 $1 \times 10^3 \sim 2 \times 10^3$ 個が好適であると考えられる。

第3章 浮遊幼生の飼育と稚ナマコへの変態促進

現在試みられているマナコの種苗生産方式は、大別すると2つのタイプに分けられる。1つは、同一水槽内で浮遊幼生から着底初期またはそれ以降の稚ナマコまでの飼育を一貫して行う同一水槽方式。他の1つは浮遊幼生の飼育水槽とは別水槽で培養した付着珪藻を使ってマナコの浮遊幼生を稚ナマコへ変態させ、さらに、稚ナマコの初期餌料として付着珪藻を利用する生産方式、いわゆる採苗方式である。

採苗方式で稚ナマコの種苗生産を行う場合、まず第一に浮遊幼生をすみやかに付着器へ付着させ、効率良く稚ナマコに変態させることが重要である。

採苗 (Table 1-1 参照) に供する浮遊幼生の好適ステージについては不明な点が多く、柳橋ら (1984) も採苗方式で稚ナマコの量産が可能であることを報告しているが、具体的な浮遊幼生の採苗時期については記載していない。

本章では、*Auricularia* 後期幼生と *Doliolaria* 幼生について、稚ナマコへの変態過程における水温や塩分の影響について検討した。さらに、規模を拡大した実験として、同一飼育群の浮遊幼生を用い、浮遊幼生の飼育過程で *Auricularia* 後期幼生の割合が高まったとき、さらに発育が進んで *Doliolaria* 幼生の割合が高まったときの2回採苗実験を行い浮遊幼生の採苗のための好適ステージについて明らかにした。また、このステージの浮遊幼生を効率良く飼育するための飼育餌料について検討した。次に、浮遊幼生から稚ナマコへの変態促進要因として、海藻、付着珪藻の種類やその密度について検討した。また、付着珪藻による変態促進効果が付着珪藻と *Doliolaria* 幼生との物理的接触によって発揮されるか否かを検討した。さらに、 K^+ の変態誘起効果や採苗の際の具体的な付着板の設置方法についても検討した。

第1節 浮遊幼生の採苗ステージの検討

(伊藤ら 1994f)

真崎ら (1987) は、浮遊幼生の飼育において *Auricularia* 後期幼生から *Doliolaria* 幼生への変態過程で大きな減耗がみられることや、付着珪藻が *Auricularia* 後期幼生に対して稚ナマコへの変態を促進させる効果があることなどから、浮遊幼生の発育過程で生残率が高い *Auricularia* 後期幼生の段階で、採苗を行うことが実用的であると報告している。しかし、*Auricularia* 後期幼生を用いた採苗では、同様な採苗方式をとっているウニ類

に比べ採苗率 (Table 1-1 参照) が低く、技術的な改善が急がれていた。その後、採卵技術の検討結果から (伊藤ら 1994c)、良質な卵が安定して確保でき、活力のある大量のふ化幼生が得られるようになり、さらに浮遊幼生の飼育適水温や飼育餌料などの飼育技術の改良 (伊藤ら 1987, 伊藤ら 1994g) を行った結果、*Doliolaria* 幼生までの飼育が高い生残率で可能となった。そこで、再びマナコ浮遊幼生の採苗のための好適ステージについて検討する必要が生じてきた。

佐賀県栽培漁業センターのマナコ種苗生産は、3月下旬から4月上旬にかけて採卵し、水温を約 18°C に加温して浮遊幼生の飼育を行っている。このため採苗時期が水温 $12\sim 16^{\circ}\text{C}$ の4月中旬から下旬となり、浮遊幼生飼育時の水温との間に大きな差が生じ、この水温差が稚ナマコへの変態に影響を与えているのではないかと考えられた。また、採苗水槽が屋外にあるため、降雨時の塩分低下による変態への影響も懸念された。そこで、幼生の飼育水槽から選んだ *Auricularia* 後期幼生と *Doliolaria* 幼生を小型容器に収容し、稚ナマコへの変態に及ぼす水温と塩分の影響について調べた。さらに、スケールアップした実用化試験として大型水槽で浮遊幼生を飼育し、幼生の発育ステージで *Auricularia* 後期幼生および *Doliolaria* 幼生がそれぞれ主体となったときに、100 l 水槽を用いて採苗実験を行い、浮遊幼生の採苗適期を求めた。

方 法

本章第1節から3節の各実験に使用したアオナマコ、アカナマコ幼生飼育群の採卵月日を Table 3-1-1 に示した。

浮遊幼生の飼育は、500 l パンライト水槽を用い、ウォーターバス方式で水温を約 18°C に加温して行った。飼育水は簡易ろ過海水を紫外線照射によって滅菌し、さらに、 $1\ \mu\text{m}$ のカートリッジフィルターでろ過したものを使用した。照度は $100\ \text{lx}$ 以下とし、餌料以外の藻類の発生を防いだ。餌料は *Chaetoceros gracilis* を与えその培養は伊藤ら (1985) の方法によって行った。*C. gracilis* はふ化幼生を収容した日から毎日飼育水中の餌料濃度が $0.5\times 10^4\ \text{cells/ml}$ から $2.5\times 10^4\ \text{cells/ml}$ となるように投与した。飼育水の交換はふ化幼生収容後4日目から毎日行い、ニップ網製 (オープニング $114\ \mu\text{m}$) の換水ネットを用いて、1日当り飼育水量の40% 量を換水した。通気は径5 cm のエアーストンを用いて水槽底面か

Table 3-1-1. Groups of sea cucumber larvae used for each tests in chapter 3

Group	Date of artificial fertilization	Green sea cucumber						Red sea cucumber							
		tests for temp.		tests for sali.		seed collection	tests for food value	tests for metamorphosis	tests for temp.		tests for sali.		seed collection	tests for food value	tests for metamorphosis
		A	D	A	D				A	D	A	D			
I	1990 Mar.29							○							
II	1991 Apr.10		○					○							
III	1992 Mar.31	○		○	○	○	○								
IV	1992 Apr. 7							○							
V	1992 Apr.28									○			○	○	○
VI	1992 May12								○		○	○			○

A, post auricularia ; D, doliolaria ; ○, group used for each tests.

ら行った。なお、500 l パンライト水槽には、容積法で 45×10^4 個体のふ化幼生を収容して飼育を開始した。

1. マナマコ浮遊幼生の稚ナマコへの変態に及ぼす水温の影響

供試した Auricularia 後期幼生は、アオナマコでは飼育日数11日目、アカナマコでは12日目、Doliolaria 幼生はアオナマコ、アカナマコともに13日目の飼育幼生群から選んで実験に供した。このときの Auricularia 後期幼生の平均体長はアオナマコで 648.8 ± 64.8 (標準偏差) μm , アカナマコで $644.0 \pm 72.4 \mu\text{m}$, Doliolaria 幼生の平均体長はアオナマコで $388.0 \pm 14.5 \mu\text{m}$, アカナマコで $376.3 \pm 21.6 \mu\text{m}$ であった。なお、実験に使用したアオナマコ Auricularia 後期幼生の飼育水温は採卵以後の平均で 18.9°C ($17.6 \sim 19.6^\circ\text{C}$), Doliolaria 幼生では平均 18.2°C ($17.0 \sim 19.2^\circ\text{C}$), アカナマコの Auricularia 後期幼生では平均 19.8°C ($19.0 \sim 20.6^\circ\text{C}$), Doliolaria 幼生では平均 19.5°C ($19.0 \sim 20.5^\circ\text{C}$) であった。

アオナマコでは水温12, 14, 16, 18°C の4段階、アカナマコでは12, 14, 16, 18, 20°C の5段階について実験を行った。各温度に設定した多段式恒温ボックス内に、幼生収容1日前から 200 ml ガラスビーカーにオートクレープ処理海水 100 ml を入れ、この中に付着板 ($4 \times 4 \text{ cm}$, Table 1-1 参照)を設置した。通気はキャピラリーピペットを用いて行った。その際、海水の蒸発を防ぐため、ビーカーにアルミホイルでふたをした。幼生は20個体ずつ収容し、幼生収容1日目、3日目、6日目に幼生の変態進行状況を観察した。各実験区とも6組のビーカーを設置し、観察ごとに任意に2組ずつ取り出して幼生の発育ステージを観察した。また、各実験区へ収容したときの浮遊幼生の飼育水温は、アオナマコの Auricularia 後期幼生を使った実験では 18.6°C , Doliolaria 幼生では 18.7°C , アカナマコではそれぞれ 20.2°C と 19.8°C

であった。

変態を誘起させるために使用した付着板の付着珪藻密度は $73 \sim 98 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ の範囲であった。付着珪藻の種類は小型の *Navicula* 類および *Nitzschia* 類が優占していた。

なお、使用したオートクレープ処理海水の塩分は 34‰ であった。

2. マナマコ浮遊幼生の稚ナマコへの変態に及ぼす塩分の影響

供試した Auricularia 後期幼生は水温の影響を調べたものと同一群であり、アオナマコでは11日目、アカナマコでは12日目の飼育幼生群から選んで使用した。なお、Doliolaria 幼生は Auricularia 後期幼生を選んだ日に、同じ飼育群から選んだ。Doliolaria 幼生の平均体長はアオナマコが $399.3 \pm 23.1 \mu\text{m}$, アカナマコが $398.0 \pm 19.9 \mu\text{m}$ であった。

実験塩分は通常のオートクレープ処理海水の塩分 34 ‰ を基準に31, 28, 25, 22‰ の5段階に設定した。塩分の調整は水温 18°C に調温したオートクレープ処理海水に、同様に調温した蒸留水で希釈して行った。実験はそれぞれの濃度の海水 40 ml を入れたシャーレ (Table 1-2 参照)底面に付着板を設置し、これに各幼生を20個体ずつ収容し、2日目の全個体の変態進行状況を観察した。各シャーレにはガラス製のふたをして海水の蒸発を防いだ。各実験区とも2組ずつ設けて水温 18°C , 止水、無通気の状態とした。アオナマコで使用した付着板の付着珪藻の密度は $84 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$, アカナマコで使用した付着板の付着珪藻の密度は $88 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ であった。付着珪藻の種類は小型の *Navicula* 類および *Nitzschia* 類が優占していた。なお、浮遊幼生の飼育期間中の水温はアオナマコが平均 18.9°C ($17.6 \sim 19.6^\circ\text{C}$), アカナマコが平均 19.8°C ($19.0 \sim 20.6^\circ\text{C}$) であった。

3. マナマコ浮遊幼生の採苗実験

同一飼育群の浮遊幼生を用いて、Auricularia 後期幼生の割合が高まったとき、さらに発育が進み Doliolaria 幼生の割合が高まったときの2回採苗実験を行い、どちらの発育段階で採苗を行うのが実用的であるかを検討した。毎日、任意に幼生を採集して幼生の発育ステージの観察と、Fig. 3-1-1 に示す幼生の体長および胃長を測定し、採苗実験を行う日を決定した。また、浮遊幼生の飼育にあたっては幼生の摂餌量、生残率の推移を求めた。

摂餌量は、ふ化幼生を収容した翌日から毎朝9時頃、投餌および換水前の飼育水中の *C. gracilis* の細胞数をフックス・ローゼンタールの計算盤を用いて計数し、前日の投餌時点からの飼育水中の *C. gracilis* の減少量を求めた。なお、この減少量を摂餌量とした。

生残数の調査は、幼生収容直後と、アオナマコでは飼育日数5, 10, 11, 12, 13日目に、アカナマコでは飼育日数5, 7, 9, 10, 11, 12, 14日目にそれぞれ行った。計数方法は 50 ml ビーカーを用いて任意に10回サンプリングを行って計数し、全幼生数を算出した。生残率は幼生収容直後の計数値を 100% とし、各調査日の生残数を比率で表した。

幼生の体長および胃長の測定は、顕微鏡下で、接眼ミ

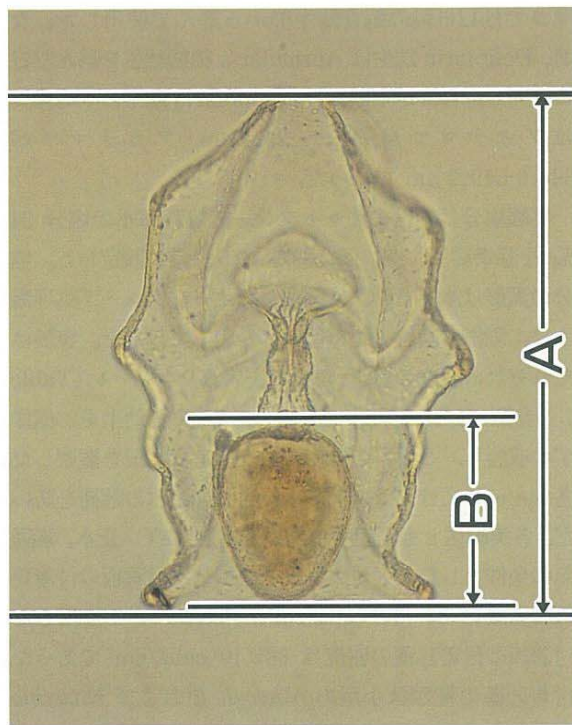


Fig. 3-1-1. Body length (A) and stomach length (B) of Auricularia larvae.

クロメーターを用いて行った。

採苗は、付着板10枚1セットを水槽底面に垂直に設置した 100 l 水槽に、1水槽当り浮遊幼生 1×10^4 個体を容積法で計数後収容した。通気は長さ 30 cm の通気管を用いて水槽底面から行った。幼生収容後7日間は止水とし、8日目から微流水とした。稚ナマコの付着状況の観察は、幼生収容後10日目に付着板に付着した稚ナマコを全数計数して行った。それぞれの採苗実験は、いずれも採苗水槽を2組ずつ設けて行った。また、各実験区での採苗期間中の水温コントロールは行わず、自然水温とした。使用した付着板の付着珪藻密度は、アオナマコでは 84×10^4 cells/cm²、アカナマコでは 98×10^4 cells/cm² であった。付着珪藻の種類は小型の *Navicula* 類および *Nitzschia* 類が優占していた。

結 果

マナマコ浮遊幼生の稚ナマコへの変態に及ぼす水温および塩分の影響に関する実験で、Auricularia 後期幼生および Doliolaria 幼生から稚ナマコへ変態した割合は、稚ナマコの出現率として2組の平均値で示した。

1. マナマコ浮遊幼生の稚ナマコへの変態に及ぼす水温の影響

アオナマコの Auricularia 後期幼生および Doliolaria 幼生を用いた各実験水温での稚ナマコの出現率を Fig. 3-1-2 に示した。Auricularia 後期幼生を用いた実験では、幼生収容後1日目の稚ナマコの出現はいずれの温度でもみられなかった。3日目は 0~12.8% といずれの水温でも低い値であったが飼育水温が高いほど、稚ナマコの出現が多くみられた。6日目は 12°C では 0% であったが、他の温度では 7.7~27.5% で飼育水温が高いほど高く、それらの値は3日目よりもそれぞれ高い値を示した。

一方、Doliolaria 幼生を用いた実験では、1日目の稚ナマコの出現率は、17.5~40% と飼育水温が高いほど高く、いずれの温度でも Auricularia 後期幼生を用いた場合に比べ高い値であった。3日目の稚ナマコの出現率は 50~57.5% となり、1日目よりも高い出現率を示したが、温度別の稚ナマコの出現率はいずれも 50% 台であった。6日目の稚ナマコの出現率も飼育水温が高いほど高く、18°C 区では最高値の 88% を示した。

アカナマコの Auricularia 後期幼生および Doliolaria 幼生を用いた各実験水温での稚ナマコの出現率を Fig. 3-1-3 に示した。Auricularia 後期幼生を用いた実験で

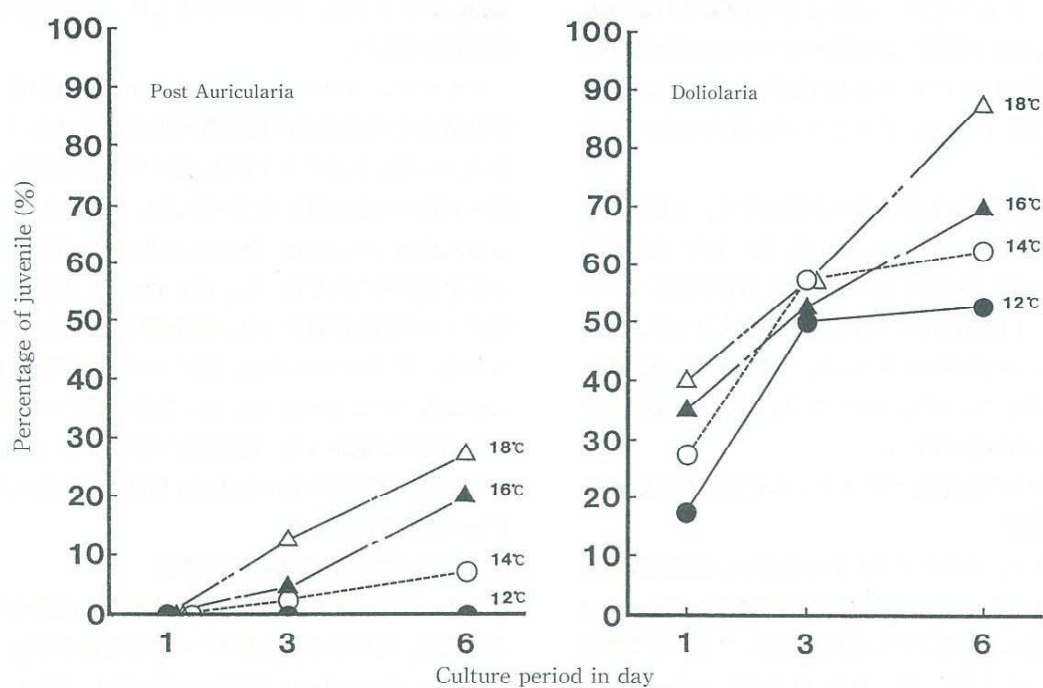


Fig. 3-1-2. Percentage of metamorphosed juvenile green sea cucumbers from post Auricularia and Doliolaria stage at different water temperatures.

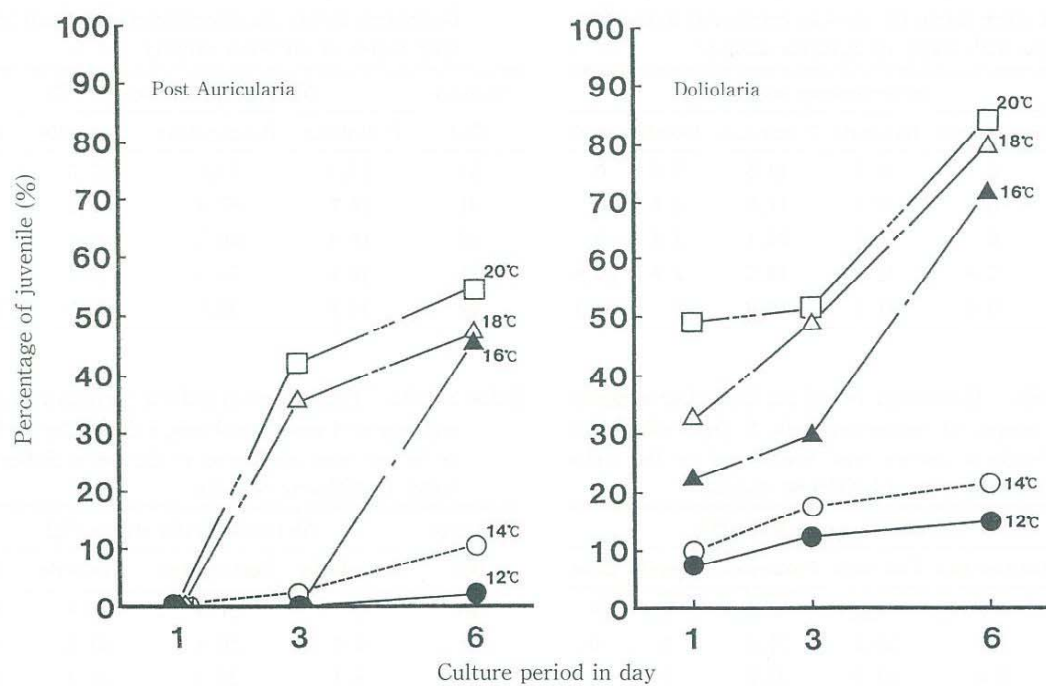


Fig. 3-1-3. Percentage of metamorphosed juvenile red sea cucumbers from post Auricularia and Doliolaria stage at different water temperatures.

は、1日目の稚ナマコの出現はアオナマコと同様に、いずれの温度でもみられなかった。3日目は12~16°Cで0~2.7%であったが、18および20°Cでは35.9と42.1%で、ほかの温度に比べ稚ナマコへの変態が早かった。6日目の稚ナマコの出現率は、16°C以上で45.9~54.3%となり、アオナマコの場合に比べて高かった。

一方、Doliolaria 幼生を用いた実験では、1日目の稚ナマコの出現率は7.5~48.8%で、12~18°Cの範囲ではアオナマコに比べ多少低かった。3日目の稚ナマコの出現率は、1日目に比べて各温度とも高くなった。6日目でもこの傾向はみられ、16~20°C区では71.8~84.2%で、12°C、14°Cの15.0%、21.6%に比べて著しく高い値であった。

2. マナマコ浮遊幼生の稚ナマコへの変態に及ぼす塩分の影響

アオナマコ、アカナマコの Auricularia 後期幼生を用いた各実験塩分での2日目の変態進行状況を Table 3-1-2a, 2b に示した。稚ナマコの出現率は、アオナマコでは塩分34‰が7.5%、25~31‰が2.6%であった。22‰では稚ナマコの出現はみられなかった。アカナマコではいずれの塩分でも稚ナマコの出現はみられなかったが、

Table 3-1-2a. Percentage of green sea cucumber at different stages of metamorphosis, 2 days after post Auricularia larvae was transferred to the petri dishes with water of different salinity

Salinity (‰)	Metamorphosis stages (%)				
	Post Auricularia	Doliolaria	Pentacutula	Juvenile	Dead
34	0	80.0	12.5	7.5	0
31	0	79.5	17.9	2.6	0
28	0	76.3	21.1	2.6	0
25	2.6	42.1	13.2	2.6	39.5
22	5.4	21.7	10.8	0	62.1

Table 3-1-2b. Percentage of red sea cucumber at different stages of metamorphosis, 2 days after post Auricularia larvae was transferred to the petri dishes with water of different salinity

Salinity (‰)	Metamorphosis stages (%)				
	Post Auricularia	Doliolaria	Pentacutula	Juvenile	Dead
34	0	18.2	81.8	0	0
31	7.7	20.5	71.8	0	0
28	2.6	52.6	44.8	0	0
25	5.6	44.4	44.4	0	5.6
22	2.6	44.7	39.5	0	13.2

Pentacutula 幼生の割合は34‰が81.8%、31‰が71.8%で22~28‰の39.5~44.8%に比べ高かった。また、アオナマコ、アカナマコともに22、25‰で斃死個体がみられた。

アオナマコ、アカナマコの Doliolaria 幼生を使った各実験塩分での2日目の変態進行状況を Table 3-1-3a, 3b に示した。アオナマコでは、稚ナマコの出現率は塩分25~34‰の範囲では16.2~22.5%と塩分による差はみられなかった。また、Pentacutula 幼生の出現率でも大きな差はみられなかった。Auricularia 幼生に比べて稚ナマコの割合は高かった。斃死個体は22‰のみでみられた。アカナマコでは、稚ナマコの出現率は塩分22~34‰で12.8~78.4%と、塩分が低いほど稚ナマコの出現率が低かった。斃死個体は22および25‰でみられたが、斃死率は Auricularia 後期幼生を使った場合に比べ約1/2であった。

3. マナマコ浮遊幼生の採苗実験

アオナマコ、アカナマコ浮遊幼生の飼育経過に伴う体長の変化、生残および発育ステージの推移を Fig. 3-1-4 に示した。Auricularia 前期幼生の体長は、アオナマコでは9日目に886.4±42.7 μm、アカナマコでは11日目に869.0±34.9 μm となり、それぞれ最大となった。その後

Table 3-1-3a. Percentage of green sea cucumber at different stages of metamorphosis, 2 days after Doliolaria larvae was transferred to the petri dishes with water of different salinity

Salinity (‰)	Metamorphosis stages (%)			
	Doliolaria	Pentacutula	Juvenile	Dead
34	17.5	60.0	22.5	0
31	16.2	67.6	16.2	0
28	18.4	60.5	21.1	0
25	10.8	73.0	16.2	0
22	13.9	36.1	13.9	36.1

Table 3-1-3b. Percentage of red sea cucumber at different stages of metamorphosis, 2 days after Doliolaria larvae was transferred to the petri dishes with water of different salinity

Salinity (‰)	Metamorphosis stages (%)			
	Doliolaria	Pentacutula	Juvenile	Dead
34	0	21.6	78.4	0
31	2.6	35.9	61.5	0
28	5.1	38.5	56.4	0
25	2.4	51.2	44.0	2.4
22	7.7	74.4	12.8	5.1

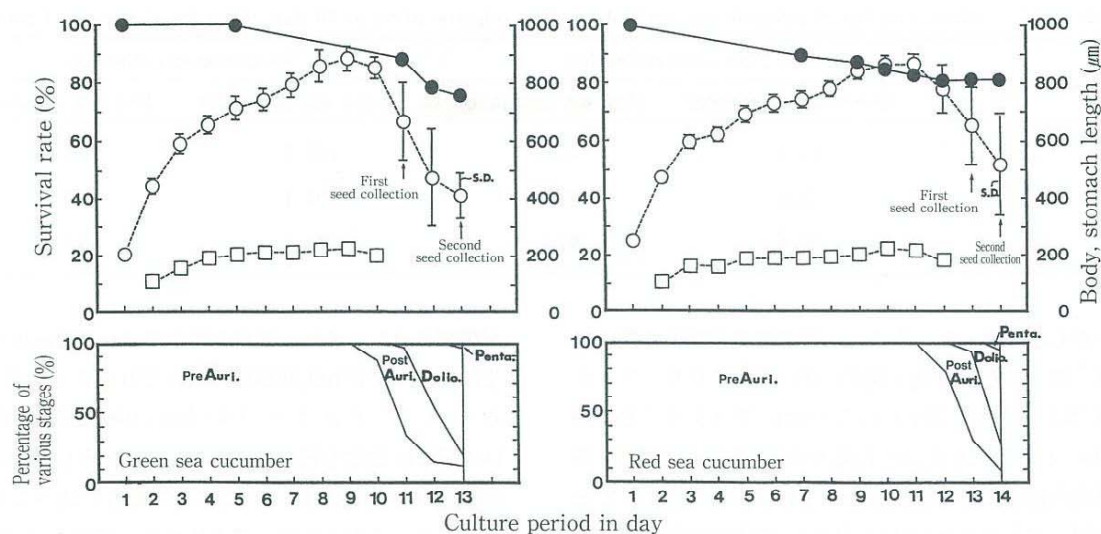


Fig. 3-1-4. Growth, survival rate and developmental stages of green and red sea cucumber larvae in 500 l tank. ●, survival rate; ○, body length; □, stomach length.

は、Auricularia 後期幼生の出現とともに縮小する傾向がみられた。発育ステージは Auricularia 後期幼生の出現率が、アオナマコでは11日目に 62.5% (平均体長 $668.8 \pm 134.2 \mu\text{m}$)、アカナマコでは13日目に 63.3% (平均体長 $651.3 \pm 131.7 \mu\text{m}$) と高くなり、それぞれ、第1回目の採苗実験を行った。Doliolaria 幼生の出現率はアオナマコでは13日目に 78.6% (平均体長 $410.8 \pm 80.5 \mu\text{m}$)、アカナマコでは14日目に 69.4% (平均体長 $518.7 \pm 178.8 \mu\text{m}$) と高くなり第2回目の採苗実験を行った。また、最大体長がみられた以降の発育ステージ

では、アカナマコのほうがアオナマコに比べ成長遅れの Auricularia 前期幼生の割合が多少多かった。飼育期間を通して浮遊幼生の大きな減耗はみられず、アオナマコでは13日目でその生残率は 76.4%、アカナマコでは14日目で 80.9% であった。

アオナマコ、アカナマコ浮遊幼生の飼育期間中の投餌量および1日当りの摂餌量を Fig. 3-1-5 に示した。浮遊幼生の1日当りの摂餌量は、アオナマコ、アカナマコともに3日目以降に多くなり、アオナマコでは平均体長が最大となった9日目に、アカナマコでは最大となった翌

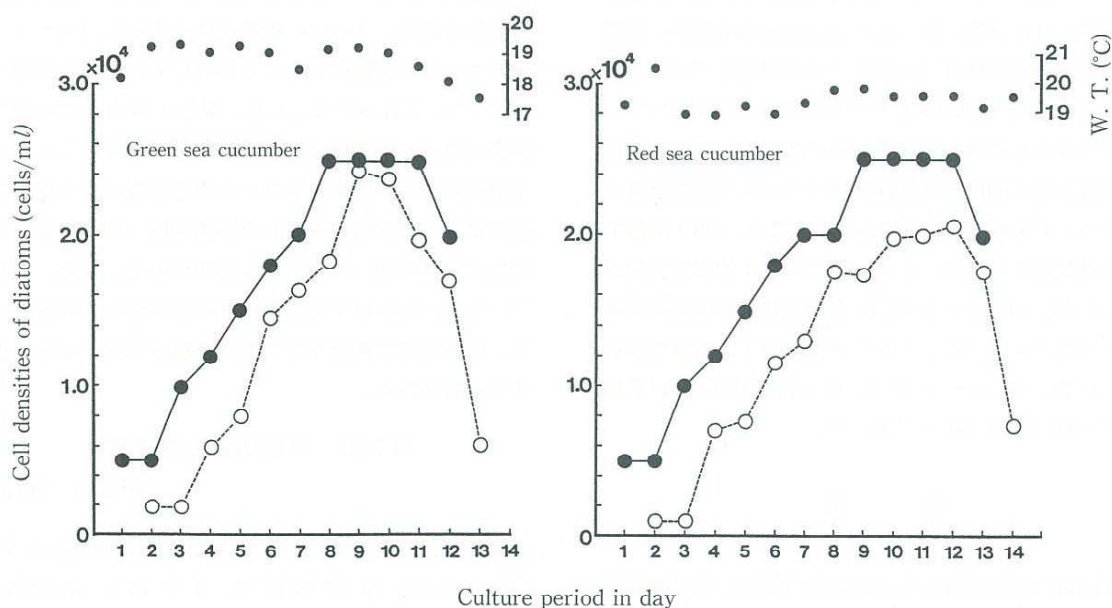


Fig. 3-1-5. Changes in cell densities of diatoms given and ingested by larvae of green and red sea cucumber in 500 l tank. ●, given; ○, ingested.

Table 3-1-4. Mean number of juvenile sea cucumbers per collector plate at 10 day culture under natural condition

Number of tank	First seed collection		Second seed collection	
	Green sea cucumber	Red sea cucumber	Green sea cucumber	Red sea cucumber
1	73.5	75.5	244.5	305.0
2	59.2	85.1	307.1	317.7
Mean	66.4	80.3	275.8	311.4

日に最も多くなった。その後は平均体長の縮小に伴い摂餌量も減少した。胃長も成長に伴い大きくなり、アオナマコでは9日目に $226.0 \pm 22.1 \mu\text{m}$ 、アカナマコでは10日目に $221.3 \pm 18.8 \mu\text{m}$ と最大であった。その後は、平均体長の縮小に伴い胃長も小さくなり、アオナマコでは11日目、アカナマコでは13日目に、多数の個体で胃が著しく縮小したため胃長の測定ができなかった。浮遊幼生飼育期間中の水温はアオナマコが平均 18.9°C ($17.6 \sim 19.6^\circ\text{C}$)、アカナマコが平均 19.5°C ($19.0 \sim 20.5^\circ\text{C}$) でアカナマコのほうが、アオナマコに比べ多少高く推移した。アオナマコ、アカナマコの浮遊幼生収容時の飼育水温と採苗水槽での水温はそれぞれ、アオナマコの第1回目が 18.6°C と 15.1°C 、第2回目が 18.7°C と 14.3°C 、アカナマコの第1回目が 19.8°C と 17.8°C 、第2回目が 19.6°C と 18.2°C でアオナマコでの採苗実験のほうがアカナマコでの実験に比べ水温差が大きかった。また、幼生収容時の採苗水槽での塩分は、アオナマコ、アカナマコのいずれも 33‰ であった。

アオナマコ、アカナマコの第1回(Auricularia 後期幼生卓越群) および第2回(Doliolaria 幼生卓越群) 採苗実験の幼生収容後10日目の稚ナマコ付着数を Table 3-1-4 に示した。付着板1枚当りの付着数は、アオナマコ、アカナマコともに第2回が第1回に比べ著しく多かった。第1回目と第2回目の付着数の差についてt検定を行ったところ、1%水準で有意であった。なお、100 l 水槽での実験期間中の水温は、アオナマコの第1回採苗実験が平均 15.1°C ($13.4 \sim 16.6^\circ\text{C}$)、第2回採苗実験が平均 15.8°C ($13.8 \sim 17.5^\circ\text{C}$)、アカナマコの第1回採苗実験が平均 19.1°C ($17.8 \sim 20.5^\circ\text{C}$)、第2回採苗実験が平均 19.5°C ($18.2 \sim 20.6^\circ\text{C}$) であった。

考 察

Auricularia 後期幼生、Doliolaria 幼生は、水温や塩分の条件が同じ場合、Doliolaria 幼生のほうが Auricularia 後期幼生に比べて、稚ナマコへすみやかに変態すること

が確認された。また、アオナマコの Auricularia 後期幼生は 12°C では幼生収容後6日目でも稚ナマコの出現はみられず、アカナマコの Auricularia 後期幼生、Doliolaria 幼生を用いた採苗では、どちらも 12°C 、 14°C の稚ナマコ出現率は $16 \sim 20^\circ\text{C}$ の場合に比べて著しく低かった。このように、アオナマコ、アカナマコの浮遊幼生はともに、採苗時の水温が浮遊幼生の飼育水温より低い場合、その水温差が少ないほど、換言すれば 20°C までの実験では水温が高いほど、稚ナマコの出現率が高まることが明らかとなった。また、塩分についても、水温と同様に Doliolaria 幼生のほうが Auricularia 後期幼生に比べ稚ナマコへの変態過程で低塩分の影響を受けにくいことがわかった。さらに、同一飼育群の浮遊幼生を用いた採苗実験の結果からも明らかのように、アオナマコ、アカナマコの浮遊幼生は、ともに飼育過程で最大体長に達したのち、体長や胃長の縮小とともに、摂餌量が減少し、着底期に入る前の Doliolaria 幼生の割合が高まったとき(平均体長約 $500 \mu\text{m}$ 前後)に採苗を行うのが実用的であることが示唆された。このように、採苗時の水温や塩分、さらに、採苗に供する幼生のステージが稚ナマコの出現割合に大きく影響していることが明らかとなった。これらのことから、採苗は Doliolaria 幼生の割合が高まった時点で行うことはもちろんのこと、採苗水槽において水温コントロールができないような水槽施設では、自然水温を考慮した採苗時期(採卵および浮遊幼生の飼育時期)を検討する必要がある。また、塩分についても、25‰ 以下で斃死などの弊害がみられることから、屋外水槽で採苗を行う場合は塩分の低下に十分注意する必要がある。

第2節 浮遊幼生の飼育餌料

(伊藤ら 1994g)

浮遊幼生の餌料としては *Chaetoceros gracilis* や *Chaetoceros* sp. が単独で、または *C. gracilis* や *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata* などが複合されて使用されている(池田・片山

1986, 畑中ら 1992, 小川ら 1992, 大橋ら 1992, 柳澤ら 1992)。また、これらの海産微細藻類とは別に、粉ミルクやマリンオメガ A などの人工餌料を単独で使った飼育実験も試みられている (瀧口 1988, 柳澤ら 1991)。

本章第 1 節で、採苗は浮遊幼生の発育が進み最大体長 (平均体長約 900 μm) に達した後、体長の縮小とともに摂餌量が減少し、Doliolaria 幼生の割合が高まったとき (平均体長約 500 μm 前後) に行うのが実用的であることを明らかにした。そこで、Doliolaria 幼生を効率良く生産できる飼育餌料を検索するため、浮遊幼生の飼育餌料として現在一般的に使用されている *C. gracilis*, *P. lutheri*, *I. galbana*, ウニ類の浮遊幼生の餌料として有効 (天神 1983, 野田・伊東 1987) と言われている *Chaetoceros calcitrans*, さらに人工餌料であるマリンオメガ A の 5 種類の餌料を用いて、各餌料の単独投与による飼育実験を行い、マナコ浮遊幼生に対する餌料価値について検討を行った。

各種餌料別の飼育実験は、Doliolaria 幼生の割合が高まった時点で終了し、その際の Doliolaria 幼生の割合や飼育期間中の生残率、発育ステージ別の出現割合の推移などを比較し、各餌料の有効性について検討した。さらに、各種餌料で飼育した幼生を用いて小型水槽での採苗実験も行った。

方 法

1. ふ化幼生 (囊胚期幼生) から Doliolaria 幼生までの飼育実験

実験は、珪藻類として *C. gracilis*, *C. calcitrans*, ハプト藻類として *P. lutheri*, *I. galbana*, それに市販の人工餌料であるマリンオメガ A (日清ファインケミカル社製) をそれぞれ単独投与して幼生飼育を行い、飼育経過に伴う浮遊幼生の発育ステージの割合や生残率の推移、幼生の大きさや摂餌量の変化などを観察し、実験終了時の Doliolaria 幼生または Doliolaria 以降の幼生の出現割合について比較を行った。なお、実験は各餌料区で Doliolaria 幼生の割合が高まり採苗適期 (本章第 1 節) と判断された日に終了した。

浮遊幼生の飼育は、30 l パンライト水槽を用い、この中に容積法で計数したふ化幼生 (囊胚期幼生) を 3×10^4 個体ずつ収容し、それぞれの餌料を、飼育水中の餌料濃度が 0.5×10^4 cells/ml から 2.5×10^4 cells/ml の濃度となるように投与した。各餌料はふ化幼生を収容した日から毎日与え、換水を行った日はその直後に投与した。

飼育水は本章第 1 節と同様の方法で処理したものを使用した。飼育水の交換は本章第 1 節の方法に準じて行った。通気は径 2 cm のエアーストンをういて水槽底面から行った。飼育水槽は暗条件下の恒温室内に設置し、水温を約 18°C に設定した。各餌料の飼育実験は、いずれも飼育水槽を 2 組ずつ設けて行った。

ふ化幼生を収容した翌日から毎日、各飼育水槽の摂餌量を本章第 1 節と同様の方法で求めた。飼育経過に伴う浮遊幼生の生残率の調査は、本章第 1 節と同様の方法で行った。生残数の調査は幼生を収容した日から 1 日ごとに行った。また、毎日任意に幼生のサンプリングを行い幼生の発育ステージの観察と体長および胃長を測定した。大きさの測定は、本章第 1 節と同様の方法で行った。発育ステージの観察および大きさの測定は、1 回当たり 15~30 個体について行った。

C. gracilis の培養は伊藤ら (1985) の方法によって行い、5 l 平底フラスコで通気培養したものを餌として使用した。*C. calcitrans*, *P. lutheri* および *I. galbana* は、200 ml 平底フラスコを用いて無通気で保存培養していたものを随時 5 l 平底フラスコで通気培養した。*P. lutheri* および *I. galbana* ではさらに 20 l 角型スチロール水槽で拡大培養したものを使用した。*C. calcitrans* の培養は *C. gracilis* の培養方法に準じて行った。*P. lutheri* および *I. galbana* は P-ES 培養液 (伊丹ら 1970) を用いて培養した。また、各餌料藻類は対数増殖期のものを投餌した。

なお、実験終了時の幼生の生残率のうち、Doliolaria 以降の幼生の割合は Doliolaria 幼生の生残率に含めて表した。

2. 小型水槽での採苗実験

各種餌料別の飼育終了時の幼生を用いて、小型水槽での採苗実験を行った。

採苗は、付着板 10 枚 1 セットを 100 l 水槽内に水槽底面に垂直に設置し、この中に容積法で計数した浮遊幼生 1×10^4 個体を収容した。通気は長さ 30 cm の通気管を通して行った。幼生収容後 7 日間は止水とし、8 日目から微流水とした。各種餌料別の稚ナマコ付着状況の観察は、幼生収容後 10 日目に付着板に付着した稚ナマコを全数計数して行った。それぞれの採苗実験では、水温コントロールは行わず自然水温とした。使用した付着板の付着珪藻密度は、アオナマコでは 84×10^4 cells/cm², アカナマコでは 98×10^4 cells/cm² であった。また、その種類は小型の *Navicula* 類, *Nitzschia* 類が優占していた。なお、採苗に使用した幼生は、各餌料の 2 つの飼育例のう

ち *Doliolaria* 幼生の生残率が高いものを使用した。

結 果

1. ふ化幼生から *Doliolaria* 幼生までの飼育実験

飼育実験期間中の各餌料藻類の培養は順調で、投餌しの際の各餌料藻類の培養密度は *C. gracilis* $380 \sim 584 \times 10^4$ cells/ml, *C. calcitrans* $832 \sim 1,584 \times 10^4$ cells/ml, *P. lutheri* $264 \sim 476 \times 10^4$ cells/ml, *I. galbana* $304 \sim 540 \times 10^4$ cells/ml であった。

なお、実験期間中、飼育水槽内での餌料藻類以外の藻類などの発生はみられなかった。

1) アオナマコ浮遊幼生の飼育実験

実験終了時の生残率、発育ステージの組成および *Doliolaria* 幼生の生残率を Table 3-2-1 に示した。

各種餌料別のアオナマコ浮遊幼生の飼育経過に伴う成長、生残および発育ステージの推移を Fig. 3-2-1 に、飼育期間中の投餌量および摂餌量の推移を Fig. 3-2-2 に示した。

C. gracilis では2水槽ともほぼ同様な成長、生残の推移がみられた。体長は8日目と9日目に最大 ($882 \pm 37 \mu\text{m}$, $879 \pm 46 \mu\text{m}$) となり、*Auricularia* 後期幼生の出現とともに縮小する傾向がみられ、11日目には $457 \pm 136 \mu\text{m}$ と $450 \pm 143 \mu\text{m}$ になった。胃長は2水槽とも8日目に最大となり、それぞれ $233 \pm 17 \mu\text{m}$, $237 \pm 19 \mu\text{m}$ であった。発育ステージについては、9日目に *Auricularia* 後期幼生が、10日目に *Doliolaria* 幼生がそれぞれ出現した。11日目には *Doliolaria* 幼生の割合がそれぞれ75.9, 71.3% となり、実験を終了した。生残では、2水槽とも大きな減耗はみられず、終了時 (11日目) の生残率は

86.9% と 77.6%, 平均 82.3% であった。また、実験開始時の幼生数に対して生残していた *Doliolaria* 幼生の割合は平均 60.6% であった。

C. calcitrans では、8日目と9日目にそれぞれ最大体長 ($882 \pm 42 \mu\text{m}$, $873 \pm 43 \mu\text{m}$) となり、*C. gracilis* と同様な成長がみられた。その後は *C. gracilis* に比べ縮小する傾向が若干緩やかであった。胃長は8日目と9日目にそれぞれ $222 \pm 14 \mu\text{m}$ と $212 \pm 20 \mu\text{m}$ で最大になった。発育ステージについては、9日目に *Auricularia* 後期幼生が出現したが、*Doliolaria* 幼生の出現がみられたのは11日目で *C. gracilis* に比べ1日遅かった。13日目に *Doliolaria* 幼生の割合が81.3, 66.9% となり、実験を終了した。幼生数は1水槽で9日目から11日目にかけて若干減少したが、特に大きな減耗はみられなかった。終了時 (13日目) の生残率は 73.9と79.6%, 平均 76.8% であった。また、*Doliolaria* 幼生の生残率は平均 56.7% であった。

I. galbana では、9日目にそれぞれ最大体長 ($910 \pm 52 \mu\text{m}$, $876 \pm 64 \mu\text{m}$) となり、*C. gracilis* や *C. calcitrans* と同様な成長がみられた。その後は *C. calcitrans* と同様に緩やかに縮小する傾向がみられた。胃長は9日目にそれぞれ $214 \pm 30 \mu\text{m}$ と $196 \pm 28 \mu\text{m}$ で最大であった。10日目に *Auricularia* 後期幼生が、11日目に *Doliolaria* 幼生がそれぞれ出現した。13日目に *Doliolaria* 幼生の割合が91.0, 56.8% となり、実験を終了した。生残では1水槽で大きな減耗がみられ、実験終了時の生残率は 46.7% と 85.3%, 平均 65.5% であった。また、*Doliolaria* 幼生の生残率は平均 45.5% であった。

P. lutheri では、2水槽とも9日目に最大体長 ($854 \pm 50 \mu\text{m}$, $827 \pm 45 \mu\text{m}$) となったが球状体の出現はみられ

Table 3-2-1. Survival rate and metamorphosis stages of green sea cucumber larvae cultured under five kinds of foods

Species		Survival rate (%)	Culture period in day	Metamorphosis stages (%)			Survival rate of <i>Doliolaria</i> larvae (%)
				Pre-Auri.	Post-Auri.	Dolio.	
<i>C. gracilis</i>	-1	86.9	11	16.7	7.4	75.9	65.9
	-2	77.6	11	19.4	9.3	71.3	55.3
<i>C. calcitrans</i>	-1	73.9	13	14.7	4.0	81.3	60.1
	-2	79.6	13	22.5	10.6	66.9	53.3
<i>I. galbana</i>	-1	46.7	13	5.1	3.8	91.1	42.5
	-2	85.3	13	35.6	7.6	56.8	48.5
<i>P. lutheri</i>	-1	35.2	15	100	0	0	0
	-2	76.5	15	100	0	0	0
MarineΩ A	-1	79.6	15	100	0	0	0
	-2	68.6	15	100	0	0	0

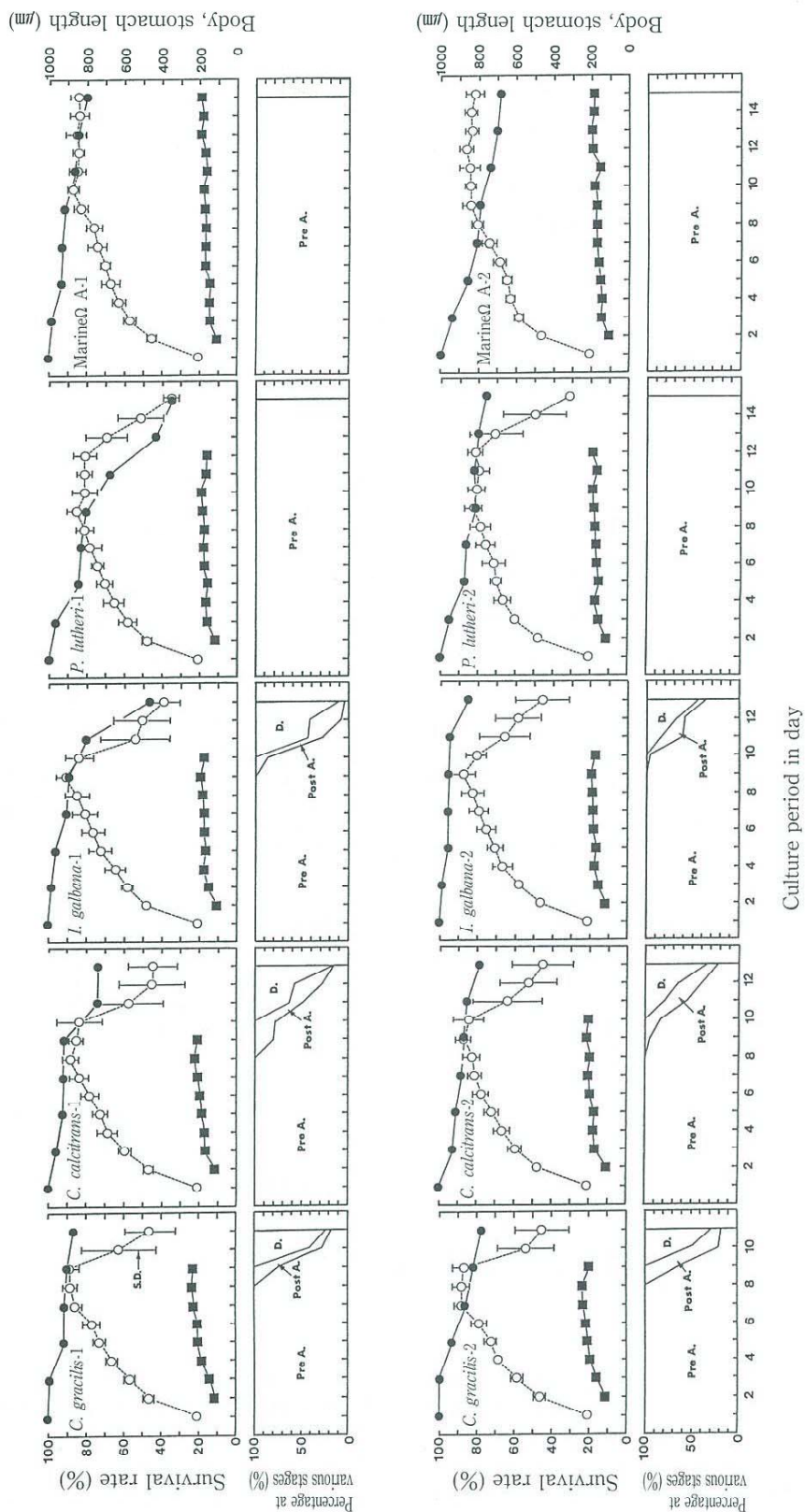


Fig. 3-2-1. Growth, survival rate and developmental stages of green sea cucumber larvae cultured under five kinds of foods. ●, survival rate; ○, body length; ■, stomach length.

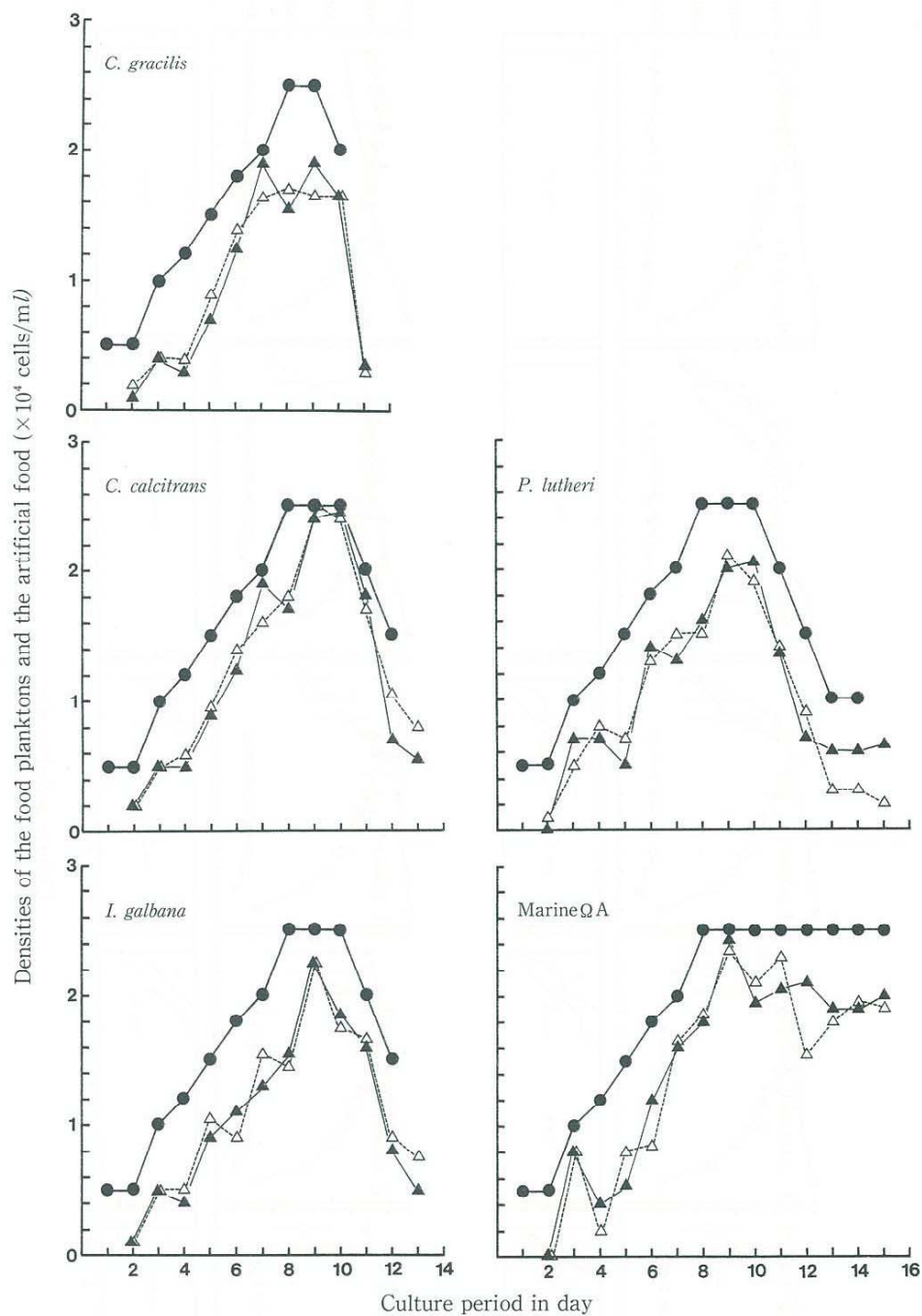


Fig. 3-2-2. Changes in cell densities of the four kinds of food planktons and the artificial food given and ingested by larvae of green sea cucumber. ●, given; △, ingested (No. 1 tank); ▲, ingested (No. 2 tank).

ず、さらに13日目以降 Auricularia 前期幼生は球状体の出現がみられないまま体が萎縮し、15日目には体長がそれぞれ $352 \pm 43 \mu\text{m}$, $313 \pm 20 \mu\text{m}$ となり、実験を終了した。また、このときの幼生の形態は、体表に繊毛環がみられ

たものの、*C. gracilis*, *C. calcitrans* および *I. galbana* でみられた正常な Doliolaria 幼生とは異なっていた。生残では1水槽で大きな減耗がみられた。実験終了時の生残率は 35.2% と 76.5%, 平均 55.9% であった。

マリンオメガ A では 2 水槽とも同様な成長, 生残の推移がみられた。体長は 9 日目と 12 日目に最大 ($872 \pm 31 \mu\text{m}$, $866 \pm 37 \mu\text{m}$) となったが, その後の変態進行はみられず, 幼生の縮小もみられなかった。また *P. lutheri* と同様に球状体の出現はみられなかった。実験は 15 日目に終了した。生残では 2 水槽とも大きな減耗はみられず, 実験終了時の生残率は 79.6% と 68.6%, 平均 74.1% であった。

浮遊幼生の 1 日当りの摂餌量は, *C. gracilis*, *C. calcitrans* および *I. galbana* では 4 日目以降, *P. lutheri* およびマリンオメガ A では 5 日目以降にそれぞれ多くなった。*C. gracilis* および *C. calcitrans* では 7~10 日にかけて増大し, Doliolaria 幼生の出現とともに減少した。*I. galbana* では 9 日目にもっとも多くなり, その後, *C. gracilis* および *C. calcitrans* と同様に減少した。*P. lutheri* では 9~10 日目で最も多くなり, 11 日目以降は体の縮小に伴い減少した。マリンオメガ A では 9 日目に最も多くなり, その後, 若干の減少はみられたが, 他のように著しい減少はみられなかった。

実験期間中の水温は, *C. gracilis* では平均 19.2°C ($18.0 \sim 20.2^{\circ}\text{C}$), *C. calcitrans* および *I. galbana* では平均 19.3°C ($18.0 \sim 20.2^{\circ}\text{C}$), *P. lutheri* およびマリンオメガ A では平均 19.3°C ($18.0 \sim 20.2^{\circ}\text{C}$) であった。

2) アカナマコ浮遊幼生の飼育実験

実験終了時の生残率, 发育ステージの組成および Doliolaria 幼生の生残率を Table 3-2-2 に示した。

各種餌料別のアカナマコ浮遊幼生の飼育経過に伴う成長, 生残および发育ステージの推移を Fig. 3-2-3 に, 飼育期間中の投餌量および摂餌量を Fig. 3-2-4 に示した。

各餌料区の 2 水槽の成長, 生残の推移を比較すると, *I. galbana* の 1 水槽を除いてほぼ同様に推移した。

C. gracilis では 2 水槽とも 11 日目に体長が最大 ($880 \pm 29 \mu\text{m}$, $897 \pm 28 \mu\text{m}$) となり, Auricularia 後期幼生の出現とともに縮小する傾向がみられ, 15 日目には $492 \pm 158 \mu\text{m}$ と $494 \pm 164 \mu\text{m}$ であった。胃長は 10 日目と 11 日目に最大となり, それぞれ $225 \pm 13 \mu\text{m}$ と $225 \pm 17 \mu\text{m}$ であった。发育ステージについては, 12 日目に Auricularia 後期幼生が, 13 日目に Doliolaria 幼生がそれぞれ出現した。15 日目には Doliolaria 幼生以降の割合が 70.2, 70.6% となり, 実験を終了した。生残では, 2 水槽とも大きな減耗はみられず, 終了時 (15 日目) の生残率は 83.5% と 84.9%, 平均 84.2% であった。また, Pentacutula 幼生も含めた Doliolaria 幼生の生残率は平均 59.3% であった。

C. calcitrans では, 11 日目にそれぞれ最大体長 ($898 \pm 40 \mu\text{m}$, $888 \pm 28 \mu\text{m}$) となり, その後は, *C. gracilis* と同様な成長がみられた。胃長は 11 日目にそれぞれ $241 \pm 11 \mu\text{m}$ と $242 \pm 15 \mu\text{m}$ で最大であった。发育ステージについては, *C. gracilis* と同様に 12 日目に Auricularia 後期幼生が, 13 日目に Doliolaria 幼生の出現がみられた。15 日目には Doliolaria 幼生以降の割合が 71.4, 70.0% となり, 実験を終了した。終了時 (15 日目) の生残率は 85.6% と 90.3%, 平均 88.0% であった。また, Pentacutula 幼生も含めた Doliolaria 幼生の生残率は平均 62.2% であった。

I. galbana では, 11 日目と 10 日目にそれぞれ最大体長 ($887 \pm 31 \mu\text{m}$, $874 \pm 48 \mu\text{m}$) となり, その後は, *C. gracilis* や *C. calcitrans* と同様な成長がみられた。胃長は 10 日

Table 3-2-2. Survival rate and metamorphosis stages of red sea cucumber larvae cultured under five kinds of foods

Species		Survival rate (%)	Culture period in day	Metamorphosis stages (%)				Survival rate of Doliolaria larvae* (%)
				Pre-Auri.	Post-Auri.	Dolio.	Penta.	
<i>C. gracilis</i>	-1	83.5	15	8.5	21.3	59.6	10.6	58.6
	-2	84.9	15	11.8	17.6	64.7	5.9	59.9
<i>C. calcitrans</i>	-1	85.6	15	14.3	14.3	61.2	10.2	60.1
	-2	90.3	15	18.0	12.0	62.0	8.0	63.2
<i>I. galbana</i>	-1	52.5	15	20.7	20.7	55.2	3.4	30.8
	-2	74.7	15	21.8	9.4	56.3	12.5	51.4
<i>P. lutheri</i>	-1	74.9	16	100	0	0	0	0
	-2	70.5	16	100	0	0	0	0
MarineΩ A	-1	85.0	16	100	0	0	0	0
	-2	84.8	16	100	0	0	0	0

* Including Pentacutula larvae.

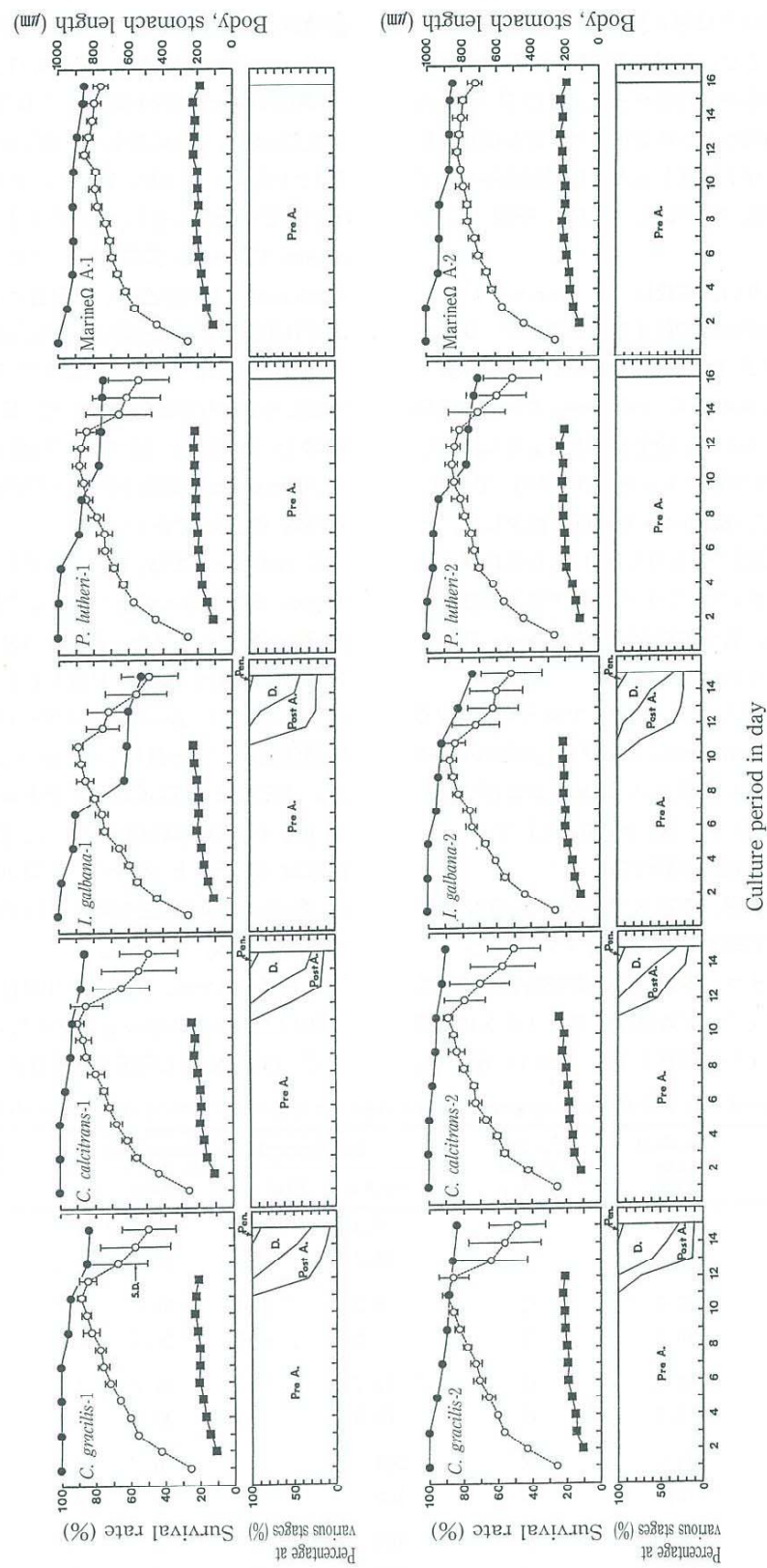


Fig. 3-2-3. Growth, survival rate and developmental stages of red sea cucumber larvae cultured under five kinds of foods. ●, survival rate; ○, body length; ■, stomach length.

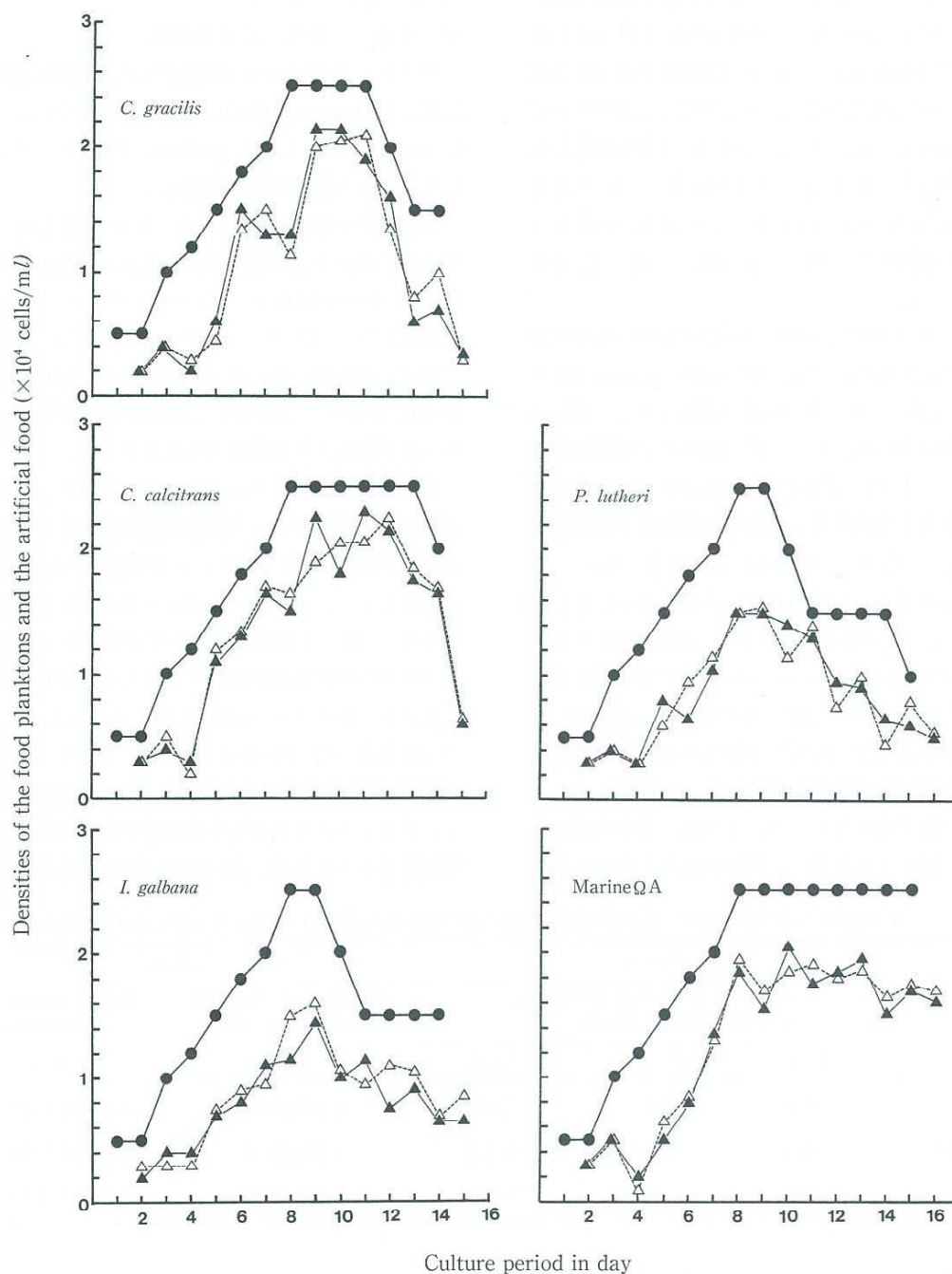


Fig. 3-2-4. Changes in cell densities of the four kinds of food planktons and the artificial food given and ingested by larvae of red sea cucumber. ●, given; △, ingested (No. 1 tank); ▲, ingested (No. 2 tank).

目にそれぞれ $223 \pm 21 \mu\text{m}$ と $214 \pm 23 \mu\text{m}$ で最大であった。12日目と11日目に *Auricularia* 後期幼生が、13日目と12日目に *Doliolaria* 幼生がそれぞれ出現した。15日目には *Doliolaria* 幼生以降の割合が 58.6, 68.8% と

なり、実験を終了した。生残では1水槽で7日目から9日目にかけて大きな減耗がみられた。実験終了時の生残率は 52.5% と 74.7%, 平均 63.6% であった。また、*Pentacutula* 幼生も含めた *Doliolaria* 幼生の生残率は

平均 41.1% であった。

P. lutheri では、2 水槽とも 11 日目に最大体長 ($883 \pm 33 \mu\text{m}$, $857 \pm 34 \mu\text{m}$) となったが球状体の出現はみられず、さらに 13 日目以降 *Auricularia* 前期幼生は球状体の出現がみられないまま体が萎縮し、16 日目には体長がそれぞれ $542 \pm 176 \mu\text{m}$, $505 \pm 168 \mu\text{m}$ となり、実験を終了した。またこのときの幼生の形態は *C. gracilis* や *C. calcitrans* でみられた正常な *Doliolaria* 幼生とは明らかに異なっていた。実験終了時の生残率は 74.9% と 70.5%, 平均 72.7% であった。

マリンオメガ A では 2 水槽とも同様な成長、生残の推移がみられた。体長は 12 日目に最大 ($848 \pm 26 \mu\text{m}$, $824 \pm 35 \mu\text{m}$) となったが、その後の変態の進行はなく、幼生の縮小はみられなかった。また、*P. lutheri* と同様に球状体の出現はみられず、実験は 16 日目に終了した。生残では 2 水槽とも大きな減耗はみられず、実験終了時の生残率は 85.0% と 84.8%, 平均 84.9% であった。

浮遊幼生の 1 日当りの摂餌量は、4 日目または 5 日目以降多くなり、*C. gracilis* および *C. calcitrans* では 9～12 日にかけて増大し、*Doliolaria* 幼生の出現とともに減少した。*I. galbana* では 9 日目にもっとも多くなり、その後は減少した。*P. lutheri* では 8～9 日目に最も多くなり、その後はゆるやかに減少した。マリンオメガ A では 8～13 日目に最も多くなり、その後、若干の減少はみられたが、他のように著しい減少はみられなかった。

実験期間中の水温は、各水槽とも $17.9 \sim 20.3^\circ\text{C}$ (平均 18.7°C) であった。

2. 小型水槽を用いた採苗実験

アオナマコ、アカナマコ浮遊幼生の各種餌料別の飼育実験で、*Doliolaria* 幼生の出現がみられたのは *C. gracilis*, *C. calcitrans* および *I. galbana* であった。そこで、これらの幼生を使って採苗実験を行った。

各種餌料別のアオナマコ、アカナマコ浮遊幼生の収容後 10 日目の稚ナマコ付着状況を Table 3-2-3a, 3b に示した。稚ナマコの付着総数は、アオナマコでは *C. gracilis* の場合が最も多く、次に *C. calcitrans* であった。*I. galbana* では *C. gracilis* および *C. calcitrans* に比べ若干少なかった。アカナマコでは *C. calcitrans* で付着数が最も多かったが他と大きな差はみられなかった。

また、*P. lutheri* でみられた縮小個体について、付着珪藻による稚ナマコへの変態が誘起されるか否かを観察した。すなわち、オートクレープで処理した滅菌海水 40 ml の入ったシャーレ (Table 1-2 参照) 底面に付着板 ($4 \times 4 \text{ cm}$) を設置し、この中に幼生を 20 個体収容し、毎日全個体の変態進行状況を観察した。使用した幼生の大きさは、アオナマコは体長 $313.1 \pm 20.4 \mu\text{m}$, アカナマコは体長 $352.3 \pm 43.4 \mu\text{m}$ であった。シャーレは水温 18°C の恒温ボックス内に設置した。その結果、アオナマコ、アカナマコともに幼生収容後 10 日間の観察で幼生の変態進行はみられず、*Pentacutula* 幼生や稚ナマコは出

Table 3-2-3a. Number of juvenile green sea cucumbers on the collector plate at 10 day culture under natural condition

experiment	Initial			Final	
	Number of larvae at various metamorphosis stages			Number of juveniles (collecting rate)	Water temperature (mean)
	Pre-Auri.	Post-Auri.	Dolio.	(%)	($^\circ\text{C}$)
<i>C. gracilis</i>	1,670	740	7,590	4,430 (53.2)	$13.4 \sim 16.6 (14.9)$
<i>C. calcitrans</i>	1,470	400	8,130	3,975 (46.6)	$13.8 \sim 17.6 (15.5)$
<i>I. galbana</i>	3,560	760	5,680	1,772 (27.5)	$13.8 \sim 17.6 (15.5)$

Table 3-2-3b. Number of juvenile red sea cucumbers on the collector plate at 10 day culture under natural condition

experiment	Initial				Final	
	Number of larvae at various metamorphosis stages				Number of juveniles (collecting rate)	Water temperature (mean)
	Pre-Auri.	Post-Auri.	Dolio.	Penta.	(%)	($^\circ\text{C}$)
<i>C. gracilis</i>	1,180	1,760	6,470	590	3,094 (35.1)	$18.4 \sim 22.5 (19.9)$
<i>C. calcitrans</i>	1,800	1,200	6,200	800	3,130 (38.2)	$18.4 \sim 22.5 (19.9)$
<i>I. galbana</i>	2,180	940	5,630	1,250	2,814 (36.0)	$18.4 \sim 22.5 (19.9)$