

# 稚ナマコの摂餌珪藻観察手法の検討

近田靖子\*, 酒井勇一\*

An experimental study to observe the gut contents of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus*

Yasuko KONDA\* and Yuichi SAKAI\*

In this study, we developed a new method to observe the gut content of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. We applied Bleaching Method to observe diatoms taken in by the juvenile sea cucumber and compared with Dissecting Method. By Bleaching Method, we could handle large number of sea cucumbers without any loss or destruction of diatom frustule. From the observation of juvenile sea cucumbers (size range : 288–791  $\mu\text{m}$  body length), reared with natural benthic diatoms cultivated in Shikabe, southeastern Hokkaido, it revealed that juvenile sea cucumbers were able to take in 8  $\mu\text{m}$  to 128  $\mu\text{m}$  length benthic diatoms.

キーワード：マナマコ, 消化管内容物, 漂白法, 摂餌珪藻サイズ

## まえがき

マナマコ *Apostichopus japonicus* は、北海道から九州に広く分布し、主に浅海の転石帯に生息している。北海道のマナマコ漁業は19世紀初頭に始まり、乾物の「いりこ」を中国へ輸出することで発展した<sup>1)</sup>。しかし、近年の単価上昇に伴い漁獲圧が増加しているため、資源量の減少が危惧されていて、漁獲調整とともに、放流実施に向けた人工種苗生産技術の開発が急がれている。

現在、マナマコの種苗生産を行っているほとんどの施設では、変態期幼生の着底基質として、天然珪藻が繁茂した付着板を用いて採苗を行っている<sup>2)</sup>。また、稚ナマコの飼育では、天然の珪藻<sup>3)</sup>や単種培養した小型付着珪藻 (*Navicula ulvacea* 殻長15 $\mu\text{m}$ )<sup>4)</sup>、市販されている海産クロレラ濃縮液のマリンオメガ (日清ファインケミカル社)<sup>5)</sup>や海藻粉末のリビックBW (理研ビタミン社)<sup>6)</sup>等が餌料として与えられている。しかし、生残率が低く成長のばらつきが大きいことなど、多くの課題が残されおり、好適な餌料は明らかになってはいない。

着底後の稚ナマコの生残率低下を防ぎ、成長を促進するためには、着底後の初期餌料を把握する必要があるが、その手法は確立されていなく、稚ナマコが摂餌している珪藻の種類や大きさ等は明らかではない。そこで、本研

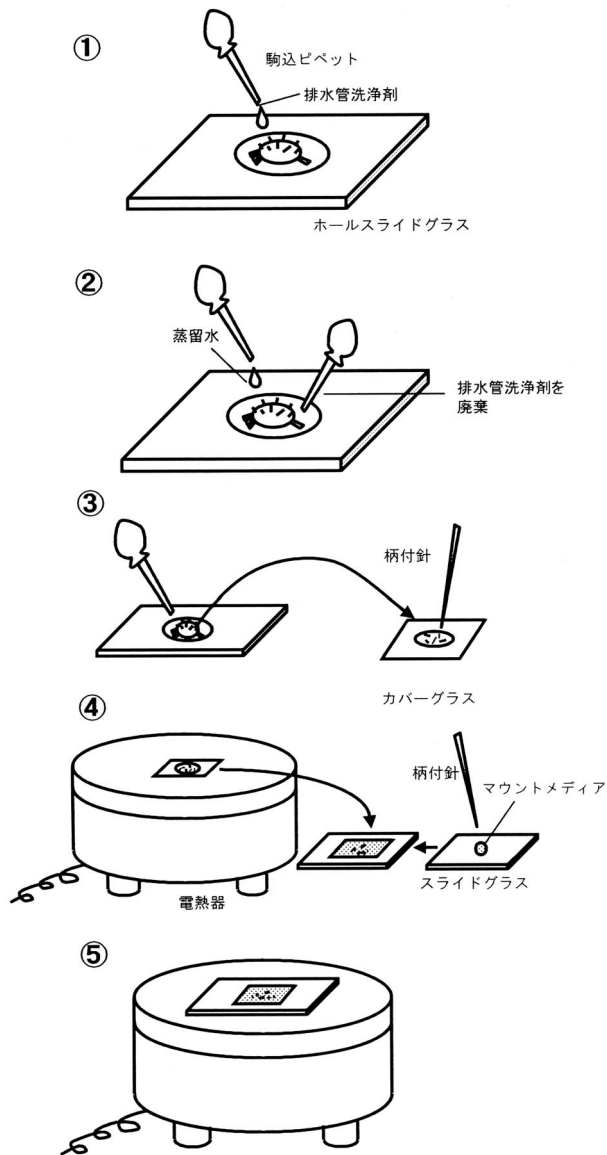
究では、着底後の好適な初期餌料を検索するために、消化管内のすべての珪藻を観察する手法を検討したので報告する。

## 材料および方法

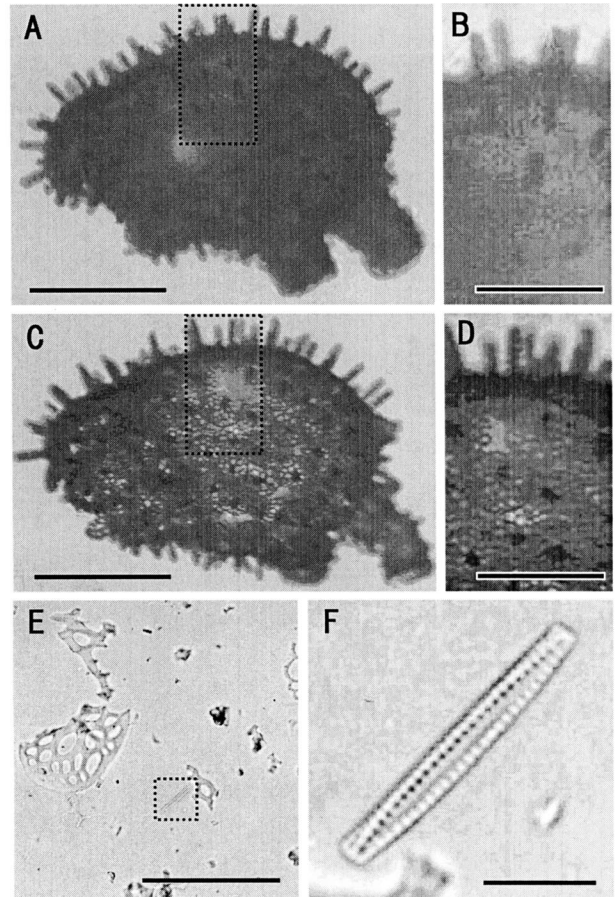
宗谷産マナマコの雌および鹿部産マナマコの雄を親に用いて産卵誘発を行い、得られた幼生を通常的手法<sup>7,8)</sup>で採苗した。この稚ナマコを、天然珪藻のみを餌料に用い、収容後から41日間育成した。このうち18個体を採取し、L-Menthol飽和溶液の80%海水希釈液による麻酔後体長を測定した上で<sup>9)</sup>、10%中性ホルマリンで固定した。この稚ナマコを蒸留水で洗浄し、珪藻洗浄法<sup>10-12)</sup>を応用して市販の排水管用洗浄剤 (商品名：パイプユニッシュ、主成分；次亜塩素酸ナトリウム、4%水酸化ナトリウム、界面活性剤、ジョンソン社製) を稚ナマコが浸るくらい数滴かけ、5分ほど放置した。次に、稚ナマコが崩れないように蒸留水で排水管用洗浄剤を洗い流した後、カバーグラスに移し、稚ナマコを柄付針で崩してから電熱器上で乾燥した。さらに、マウントメディアを1滴のせたスライドグラスに、先のカバーグラスをのせ、電熱器でマウントメディアを沸騰させて永久プレパラートを作成した (図1)。これを光学顕微鏡で観察し、全ての珪藻の殻長および殻幅を計測した。

報文番号A385 (2005年1月31日受理)

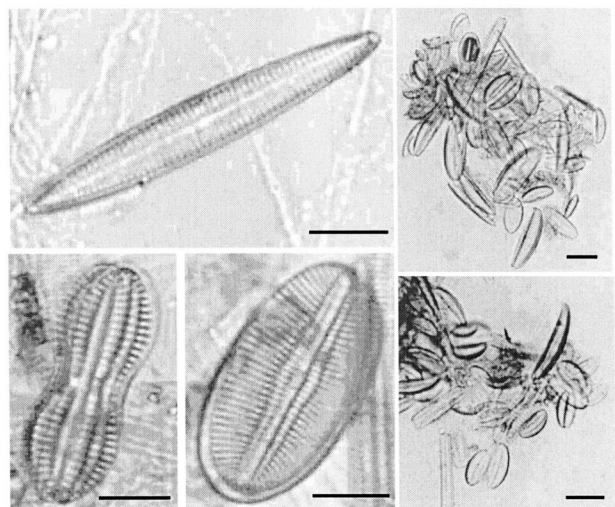
\* 北海道立栽培漁業総合センター (Hokkaido Institute of Mariculture, Honbetsu, Shikabe, Hokkaido, 041-1404, Japan)



**図1** 排水管洗浄剤を用いた稚ナマコ処理方法  
 ①. ホールスライドグラスに稚ナマコを置き、市販の排水管洗浄剤を数滴滴下  
 ②. 実体顕微鏡下で観察しながら5分程度放置し、表皮及び消化管が溶けたら、蒸留水で排水管洗浄剤を洗い流す  
 ③. 洗浄後、溶かした稚ナマコをカバーグラスに移し、柄付針で崩す  
 ④. カバーグラスを電熱器上で乾燥させ、マウントメディアを滴下したスライドグラスにかぶせる  
 ⑤. マウントメディアを電熱器で沸騰させ、永久プレパラートを作成する



**図2** 排水管洗浄剤処理前後の稚ナマコ  
 A. 処理前：骨片が軟体部で覆われている  
 B. Aの点線部拡大図  
 C. 5分間の処理後：軟体部が溶け、骨片のみになるが、スポイトで体を崩さずに移動させることができる  
 D. Cの点線部拡大図  
 E. 処理後にカバーグラス上で体を崩したものの  
 F. Eの点線部拡大図  
 (棒線=A,C,E: 100 $\mu$ m. B,D: 50 $\mu$ m. F: 10 $\mu$ m)



**図3** 消化管内で観察された珪藻 (棒線=10 $\mu$ m)

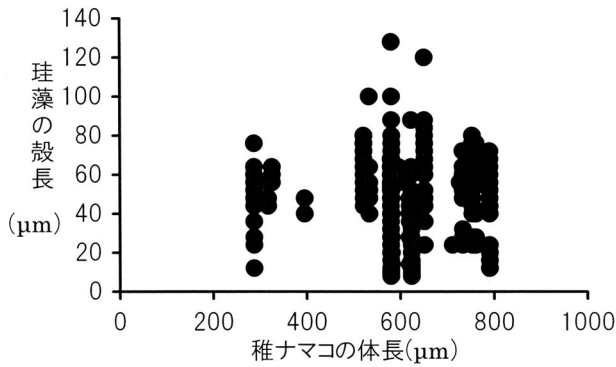


図4 稚ナマコの体長と摂餌珪藻の殻長

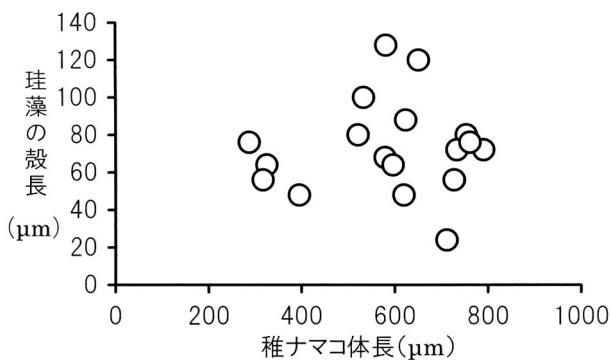


図5 稚ナマコの体長と摂餌珪藻の最大殻長との関係

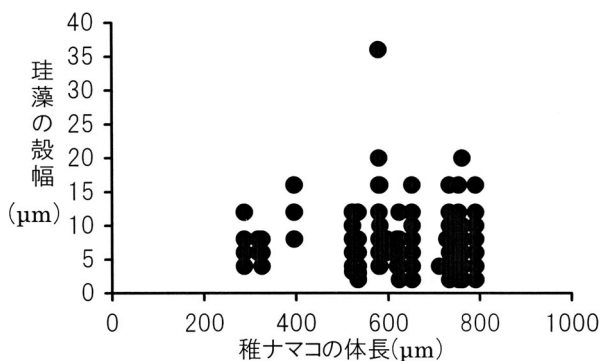


図6 稚ナマコの体長と珪藻の殻幅

## 結果

稚ナマコは、排水管洗浄剤に5分程度浸すことによって、囀周口殻、骨片および消化管内容物のみになり、崩壊しやすくなった。しかし、丁寧に扱えば体を崩すことなくカバーグラスに移すことができたので、消化管内のすべての珪藻が観察可能となった。また、この手法では、珪藻の蓋殻が崩れることはなく、珪藻の大きさや蓋殻表面の観察も可能となり、稚ナマコの摂餌したさまざまな珪藻が観察できた(図2, 図3)。

図4に実験に供した稚ナマコの体長と摂餌珪藻の殻長を示した。用いた個体の中で最も小さい体長288 $\mu\text{m}$ の稚ナマコが摂餌していた珪藻の殻長は、12 $\mu\text{m}$ から76 $\mu\text{m}$ だった。最も大きい体長791 $\mu\text{m}$ の稚ナマコが摂餌していた珪藻の殻長は、12 $\mu\text{m}$ から72 $\mu\text{m}$ だった。また、体長582 $\mu\text{m}$ の個体が、最大殻長128 $\mu\text{m}$ の珪藻を摂餌していた。図5に稚ナマコの体長と摂餌した珪藻の最大殻長との関係を示した。今回の供試個体では、体長と摂餌した珪藻の最大殻長に顕著な相関は認められなかった。図6に稚ナマコの体長と摂餌珪藻の殻幅を示した。体長580 $\mu\text{m}$ の稚ナマコが、最大殻幅36 $\mu\text{m}$ の珪藻を摂餌していた。

## 考察

これまで、稚ナマコの消化管内容物を観察するためには、柄付針等で解剖して直接消化管を取り出していた。この方法では、摘出した消化管から珪藻類を洗い出すなどの細かい作業が必要となり、多くの個体を処理することは難しかった。また、消化管から内容物を洗い出す際、内容物の流失や崩壊した消化管が混入するため、珪藻の観察が困難であった。一方、今回の手法では、消化管の摘出や珪藻類の洗い出しが不要であるため、大量の個体を処理することができる。また、内容物が流失することなく消化管壁等の軟体部を溶解するので、すべての珪藻を容易に観察できる。

今回試験に用いた排水管洗浄剤の成分は、次亜塩素酸ナトリウム、4%水酸化ナトリウムおよび界面活性剤である。このうち次亜塩素酸ナトリウムは、ホタテガイ幼生<sup>13)</sup>やエゾアワビ幼生<sup>14)</sup>の殻を観察するための、軟体部の溶解に使用されている。また、珪藻の種判別は、その蓋殻の形状や模様、縦溝の有無等により行われており<sup>15)</sup>、このような微細構造を観察するために、次亜塩素酸ナトリウムで珪藻表面の有機物を除去する方法が用いられている<sup>10-12)</sup>。

マナマコの場合、体内には囀周口殻および散在する骨片以外の硬組織はない。したがって、排水管洗浄剤の成分が、稚ナマコの表皮や消化管壁等の軟体部を溶かすことにより、稚ナマコを崩すことなく囀周口殻、骨片および蓋殻を持つ珪藻等の消化管内容物のみにすることができ、摂餌しているすべての珪藻を容易に観察できるようになった。

これまでの報告では、体長600 $\mu\text{m}$ の稚ナマコは殻長20 $\mu\text{m}$ 以上の珪藻を摂餌できないとされていたが<sup>16)</sup>、今回の試験により、さらに大きな珪藻も摂餌可能であることが明らかとなった。マナマコは囀周口殻の直径が体長の約10分の1であり<sup>17)</sup>、摂餌した珪藻の殻幅は推定される囀周口殻より小さかった。このことから、珪藻の殻長が



稚ナマコの囲周口殻より大きくても、殻幅が小さければ摂餌可能であると考えられる。

排水管洗浄剤は、消化管内の珪藻の有機物も溶かしてしまうため、稚ナマコが摂餌した珪藻を実際に消化吸収しているのか、摂餌はしたものの吸収せずにそのまま排出しているのかは明らかではない。佐藤ら<sup>18)</sup>はエバンスブルーにより珪藻の生細胞と死細胞の判別が可能であることを報告している。今後、こうした染色法を用いて、稚ナマコが摂餌した珪藻の生死判別を行い、消化管内の珪藻が消化吸収されているかどうかを明らかにすることができると考えられる。また今回は、餌料として与えた天然珪藻および稚ナマコが摂餌した珪藻の種の査定を行ってはいないため、稚ナマコが摂餌する珪藻を選択しているのかどうか明らかではない。今回の手法は、珪藻の種の査定の際にクリーニング法として一般的に用いられている方法を応用しているため、稚ナマコが摂餌した珪藻種を直接査定できると考えられる。これらの手法を元にして、稚ナマコが摂餌した珪藻の中から、消化されやすい種が明らかとなれば、これを培養し給餌することにより、効果的な飼育技術開発を行うことができると考えられる。

## 文 献

- 1) 高橋和寛：“マナマコ *Apostichopus japonicus* (Selenka)”。漁業生物図鑑 新北のさかなたち。札幌、北海道新聞社、2003、408-409
- 2) 酒井勇一：マナマコの種苗生産技術の現状、問題点。平成15年度育てる漁業研究会講演要旨集-技術開発期にある栽培漁業対象種(マガレイ、マナマコ、ケガニ、ハナサキガニ)の現状。11-20 (2004)
- 3) 柳橋茂昭, 柳沢豊重, 河崎 憲：マナマコ種苗生産における浮遊幼生の着底および着底以後の幼若個体の餌料と飼育方法について。水産増殖。32(1), 6-14 (1984)
- 4) 畑中宏之：マナマコ種苗生産の省力化および飼育技術の開発。さいばい漁業技術開発研究。25(1), 7-10 (1996)
- 5) 高橋和寛, 干川 裕：貝類種苗生産技術開発試験-マナマコ。平成4年度北海道立栽培漁業総合センター事業報告書。19-23 (1993)
- 6) 有江靖章：粉末海藻で飼育した稚ナマコの成長と生残。福岡県水産海洋技術センター研究報告。1, 113-120 (1993)
- 7) 酒井勇一, 菊池和夫：マナマコ栽培漁業技術開発試験。平成11年度北海道立栽培漁業総合センター事業報告書。38-50 (2000)
- 8) Toyoshige Yanagisawa: "Aspects of the biology and culture of the sea cucumber". Tropical mariculture. San Diego, Academic Press, 1998, 291-308.
- 9) 畑中宏之, 谷村健一：稚ナマコの体長測定用麻醉薬としてのmentholの利用について。水産増殖。42(2), 221-225 (1994)
- 10) 南雲 保, 小林 弘：漂白法による単一珪藻被殻の緩やかな解離と洗浄。Diatom。5, 45-50 (1990)
- 11) 南雲 保：簡単に安全な珪藻被殻の洗浄法。Diatom。10, 88 (1995)
- 12) 長田敬五, 南雲 保：珪藻研究入門。日本歯科大学紀要。30, 132-141 (2001)
- 13) 丸 邦義：ホタテガイ幼生の形態について。北海道立水産試験場報告。14, 55-62 (1972)
- 14) 富田恭司, 田嶋健一郎, 工藤敬吾：礼文島におけるエゾアワビの浮遊幼生および底生初期の稚貝。北海道立水産試験場報告。19, 13-19 (1977)
- 15) 高野秀昭：日本産海洋プランクトン検索図説。東京、東海大学出版会、1997、169-260。
- 16) 池田善平, 草加耕司, 植木範行：マナマコの間育成方法の改良。岡山県水産試験場報告。4, 56-63 (1989)
- 17) 柳橋茂昭, 柳沢豊重：マナマコの種苗生産。さいばい。42, 27-30 (1987)
- 18) 佐藤博雄, 山口征矢：染色法による微細藻類の生細胞と死細胞の判別。藻類。36, 328-330 (1988)