

アカウニ種苗の活力判定指標に関する研究 — 水温低下に対する管足の応答

浜野龍夫^{*1}・池田博明^{*1}・藤 博^{*2*3}・伊東義信^{*2*3}・青戸 泉^{*2*4}

Study of the vitality indicator of the red sea urchin *Pseudocentrotus depressus* seedlings – Response of the tube foot to a decrease of water temperature

Tatsuo Hamano^{*1}, Hiroaki Ikeda^{*1}, Hiroshi Fujisaki^{*2*3},
Yoshinobu Itou^{*2*3}, and Izumi Aoto^{*2*4}

As a morphological indicator to judge the vitality of *Pseudocentrotus depressus* seedlings, the response of the tube foot to a decrease water temperature was investigated. Study animals (7.1mm on average test diameter) were reared under decreased temperature condition of 6 °C, reduced from 21 °C, for a period of 30 days and the density of chromatophores of the tube feet, attaching ability and number of extended tube feet were daily observed. Finally, an available vitality indicator was selected in both measuring effort and change tendency of values. As a result, the ratio of extended tube foot was selected as a candidate of a practical vitality index. Its monitoring method was proposed as follows: first, a photograph was taken with a digital camera of the dorsal view, second, number of tube feet which extended more than 0.5 times the test diameter/number of all tube feet was calculated, and last, a moving average over the three days was used as the index value.

Key words : Echinoderm fisheries, Indicators, Response analysis, Water temperature

1 はじめに

アカウニ *Pseudocentrotus depressus* (A. Agassiz) は陸奥湾～九州に分布し、潮間帯から潮下帯に生息する暖海性の大型種である。本種は生殖巣が生食用として高価に取引されるため、箱眼鏡を用いる水視漁業や素潜りなどで漁獲されており、種苗放流による資源の増大が期待されている。しかし、西日本を中心に行われている種苗生産の過程で、病気による大量斃死が発生し、大きな問題となっている^{1,2)}。

この疾病は、症状および発症時期から大きく2種類に分けられる¹⁾。ひとつは「棘抜け症」と称される病気³⁾、

主に稚ウニを対象に水温がおよそ15℃以下に低下する時期に発症し、脱棘、殻皮表面への黒点の出現、付着力の低下などの症状がみられる^{1,2,4)}。もう一方は、棘抜け症よりも高水温で親ウニにも発症し、付着側の表皮の剝離、周口部の白化様変色などの症状を呈する病気である⁵⁾。これらの疾病は、原因菌の特定はされていないものの、感染試験が成立することから、細菌感染によるものであると考えられている^{1,3,5,6,7)}。

棘抜け症の原因菌を用いた感染実験で、水温18℃では3日後の生残率は100%だが、水温14℃では50%に減少し、12℃では15%にまで落ち込むという⁶⁾。そのため、棘抜け

2005年12月9日受付。Received December 9, 2005.

*1 水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, Shimonoseki, Yamaguchi 759-6595, Japan)

*2 佐賀県玄海水産振興センター (Saga Prefectural Genkai Fisheries Research and Development Center, Karatsu, Saga 847-0122, Japan)

*3 現所属：佐賀県有明水産振興センター (Present address : Saga Prefectural Ariake Fisheries Research and Development Center, Ogi, Saga 849-0313, Japan)

*4 現所属：佐賀県水産課 (Present address : Fishery Division, Saga Prefectural Government, Saga, Saga 840-8570, Japan)

＝ 別刷り請求先 (Corresponding author : Phone, +81-832-86-5111 ; Email, hamano @ fish-u.ac.jp)

症の予防対策として、加温飼育が導入されており、これによって発症後でも斃死が止まる傾向が認められている⁷⁾。しかし、生産コストを下げるためには、光熱費を節減する必要があるため、佐賀県玄海水産振興センターでは、できるだけ自然水温下に近い状態で飼育を続け、最低限の加温を行うことで生産コストの抑制を行うことを検討している。発症に先立っては、水温の低下など飼育環境の悪化により活力低下が起きると考えられていることから^{2,4)}、ウニの活力低下をモニタリングし、その低下が認められた時点で加温を導入することが有効ではないかと考える。このため、種苗生産の現場においてウニの管足をモニタリングすることによって種苗の活力を判定することができないかと考え、実験を行った。

種苗生産中には、棘抜け症が発症していない場合でも、水温低下に伴い、稚ウニの付着力が低下し、体表が退色し白っぽくなることが確認されている（佐賀県玄海水産振興センター、私信）。基質に付着する際に、ウニは管足を使うが、これは伸縮する細管であり、先端は吸盤状になっている。管足は、摂餌、呼吸などにも使われており、色素胞も存在する。そこで本研究では、水温低下に対する管足の色、付着力、伸縮性の変化を観察し、これらが活力指標となる可能性を探るために3つの実験を行った。

2 材料および方法

水温を段階的に低下させながら、管足の色素胞の密度と面積率（実験1）、管足の付着強度（実験2）、管足の伸長度（実験3）の経日変化を観察し、さらにその簡便性と作業時間を比較して、現場で活力の指標値として使うことが可能かどうかを総合的に判断した。

実験は2004年12月11日から2005年1月9日までの30日間行った。実験には、佐賀県玄海水産振興センターにおいて2004年に生産された種苗（Fig. 1）のうち、殻径5.3～9.1mm、平均7.1mmの個体を用いた。15lのポリタンクに入れて飼育海水とともに固形酸素で爆気しながら水産大学校に運び、運搬日から7日間、エアレーションをかけた水槽内で、餌としてアナアオサを与え、室温で蓄養した。その後、個体をランダムに抽出し、実験に用いた。

水温設定として、稚ウニの成長、生残に最適と考えられている21℃²⁾の常温区、21℃から5日ごとに3℃の低下を2時間以内に行って最終的に6℃まで下降させる低温区の2区を設けた。つまり、常温区では、実験開始後から実験終了時である30日目まで21℃、低温区では、実験開始後

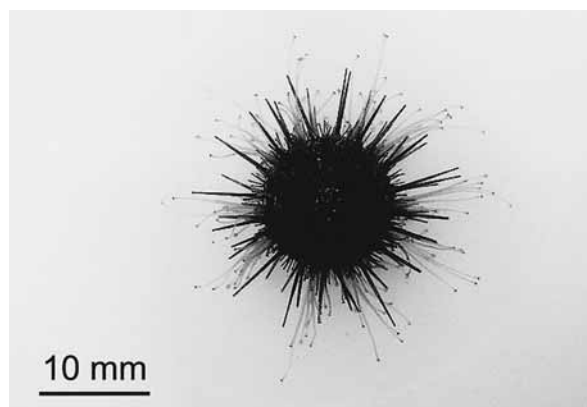


Fig. 1. Dorsal view of a seedling of the red sea urchin *Pseudocentrotus depressus*.

から5日目までは21℃、6～10日目は18℃、11～15日目は15℃、16～20日目は12℃、21～25日目は9℃、26～30日目は6℃であった。アカウニは10℃から32℃の水温域で飼育しても異常は見られないが、8℃以下になると脱棘が始まり、やがて斃死に至ることが知られている⁸⁾。よって、本実験での最低水温6℃では、ウニの活力はかなり低下すると考えられる。両温度区の実験個体数は1実験あたり15個体とした。ただし実験1と2については、同じ個体について同時に観察を行うために、全3実験の使用個体は60個である。実験中、ウニは、1個体ずつ200mlの透明プラスチックピーカーに収容した。これをグローブキャビネット（三洋電機株式会社、MLR-350HT）にいれて温度を調節した。これより飼育水の温度は実験設定温度 ± 0.3 ℃の間に保たれた。エアレーションはしなかった。また、試験期間中は日周期に合わせて照明を点灯し、照度約80lxの下で飼育した。毎日の観察終了後に飼育水を同温度の新鮮な海水と全量換水し、同時に餌としてアナアオサを約0.1g与えた。

実験1. 管足の色素胞の密度および面積率

毎日1回、各個体から管足をランダムに1本採取し、顕微鏡で拡大した管足の写真を撮影し、画像編集ソフト（三谷商事株式会社、WinROOF）を用いて、色素胞の密度および面積率を測定した。なお管足は円筒状であることから、横から管足を観察すると、縁辺では色素胞が重なって見える。このため、先端の吸盤の後部で中軸に沿った付近に、ランダムに一辺100 μ mの正方形（0.01mm²）を設け、その内側を測定範囲とした（Fig. 2）。

実験2. 管足の付着強度

毎日1回、管足の付着強度を観察するためにピーカーの

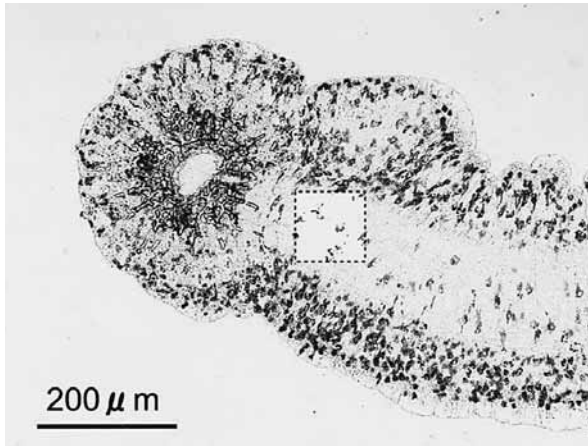


Fig. 2. Observed part in a tube foot of *Pseudocentrotus depressus*. The number of chromatophores and their area were measured in the dashed square (0.01mm^2).

飼育水を捨て、グロースキャビネットにビーカーを戻して逆さまに置き、60分間放置した後、落下の有無を確認した。

実験3. 管足の伸長度

毎日1回、ビーカーの外から、飼育水が入った状態で、デジタルカメラ（ソニー株式会社、DSC-F505V）で、ウニを反口側（背面）から撮影した（Fig. 1）。この画像から、ウニの殻の輪郭より外側に写っている管足を計数した。ウニは殻の一部をビーカーの壁面につけるため、壁面についていない側（殻の半円領域）から伸びている管足のみを計数し、その値の2倍を全管足数とした。また、管足の長さを殻径の0.25倍、0.50倍、0.75倍、1.00倍以上に分類して、伸長度別の管足数を計数した（Fig. 3）。

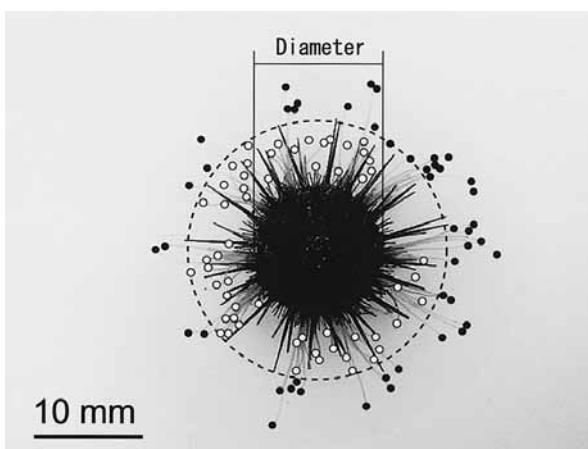


Fig. 3. Measurement example of extended tube feet. The broken circle indicates 0.5 times of the test diameter from the margin of sea urchin. Open and solid circles of the tip of tube foot are shorter and longer than test diameter $\times 0.5$, respectively.

移動平均と変動係数

ここで扱ったデータはばらつきが大きいため、傾向を把握するために平均値や標準偏差に加え、移動平均と変動係数を使用した。移動平均は3日、5日、7日の3パターンの区間で計算した。変動係数は、標準偏差を平均値で除した値で、両温度区の相対的なデータのばらつきを比較するのに使用した。

3 結果および考察

実験1および2において試験開始4日目（水温 21°C ）に低温区、試験開始13日目（水温 21°C ）に常温区で死亡個体が1個体ずつ観察された。棘抜け症の原因菌は、自然海水中に存在し、低水温期に感染、蔓延する性質をもつと考えられており⁷⁾、水温がおよそ 16°C 以下になると発症しやすい⁴⁾。このため、当初、水温低下により試験後半において棘抜け症が発症すると予想していたが、実際には発症は見られなかった。また、低水温でも斃死が見られなかったのはその期間が短かったことと、個別飼育を行い毎日換水することで、ウニの飼育環境が比較的良好に保たれていたことによるものと考えられる。

実験1. 管足の色素胞の密度および面積率

管足の色素胞は、形や大きさが不均等であり、その中には崩壊したものや複数個が連なったものが観察され、正確に密度を計測するのは不可能であった（Fig. 4）。一方、色素胞の面積率については、両温度区ともに傾向を読み取るのは難しく、また、標準偏差も非常に大きかった（Fig. 5）。5日間、7日間の移動平均では、低温区における経日的な減少傾向を認めることができたが、常温区との間に明瞭な差は見られなかった（Fig. 6）。また、この測定は作業に手間が掛かり、1個体当たり5～10分程度、1区15個体を測定するのに約2時間を要した。これらのことから、この形質を使って、活力の状態を判別するのは困難であり、現場への適応も難しいと考える。

実験2. 管足の付着強度

常温区の落下個体数は少なく、最多でも2個体であったのに対し、低温区は6個体であった。5日間、7日間の移動平均値では、傾向が良く読み取れ、常温区に大きな変動は見られず、低温区で水温が 12°C に低下した16日目から落下個体数の増加する傾向が明確に示された。しかし、水温低下に反応した増加傾向は見られず、最も水温が低下した

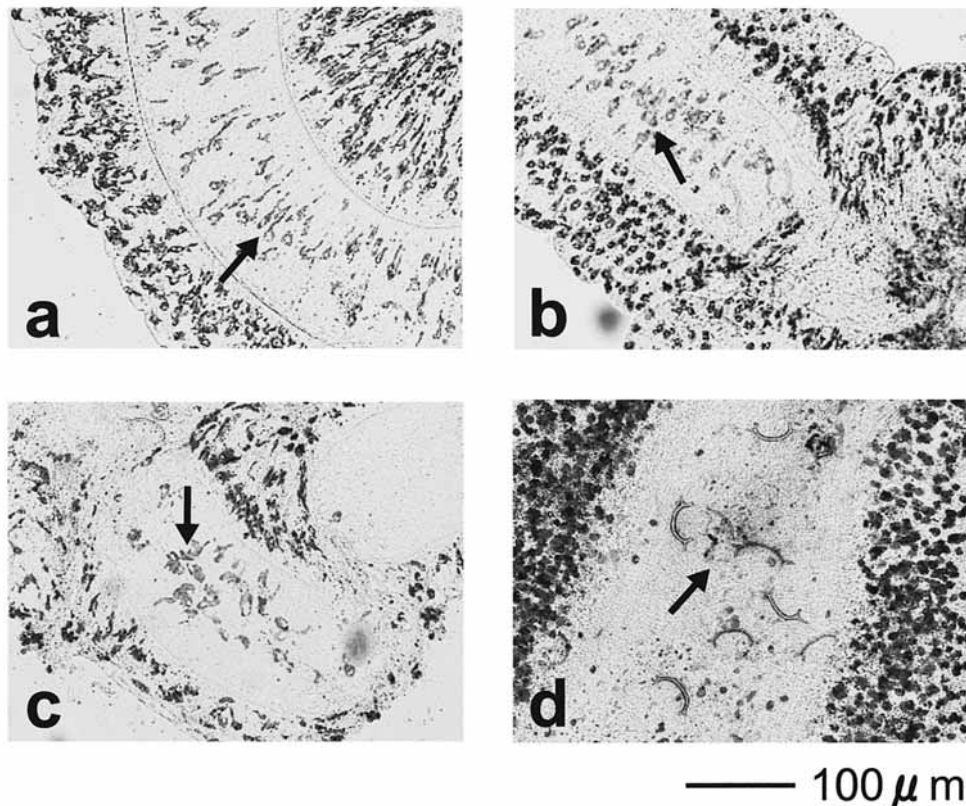


Fig. 4. Chromatophores in tube feet of *Pseudocentrotus depressus*. Arrows show elongate chromatophores (a), round ones (b), ones that occur in succession (c), and collapsed ones (d).

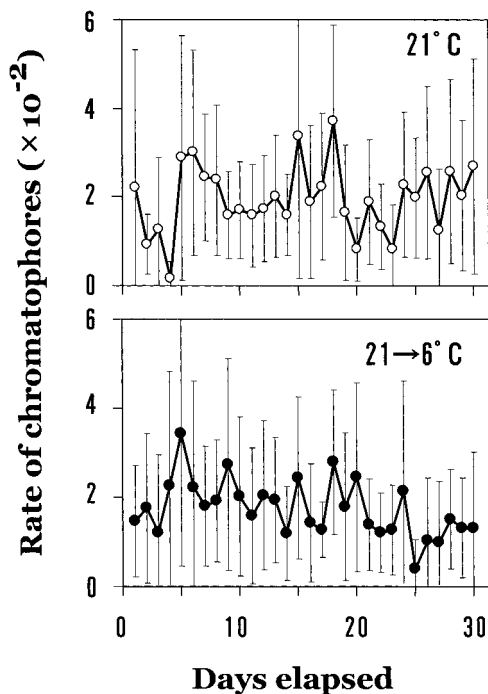


Fig. 5. Temporal change of the area rate of chromatophores in 0.01mm^2 of a tube foot of *Pseudocentrotus depressus* at constant temperature (21°C) and decreased temperature ($21 \rightarrow 6^\circ\text{C}$). Symbols and vertical bars indicate mean and standard deviation, respectively.

終盤には減少した (Fig. 7)。作業全体としてこの測定は、非常に簡便で作業時間もほとんどかからなかった。落下を待つ1時間の間も、その場にとどまって観察を続ける必要はない。

今回、低温区で見られた落下個体数の増加は、付着強度が弱まったことを示すことから、活力の指標と成る可能性はある。落下個体数が水温 12°C である16~20日目から急に増加し、また、25~30日目の水温 6°C の時には落下個体数が減少するなど、変動傾向に方向性が認められなかった。よって、落下試験を活力判定に使用するには、それが使える温度範囲などの環境条件を規定しておく必要があろう。

実験3. 管足の伸長度

管足数は、常温区では大きな変動もなく、およそ一定の値で推移した。一方、低温区では、全管足数には減少傾向は認められなかったが、殻径の0.25, 0.50, 0.75, 1.00倍以上伸長した管足数は、11~15日目の 15°C あたりから緩やかな減少傾向を認めることができた (Fig. 8)。これらに移動平均を用いたとき、常温区の安定した推移、低温区の減少傾向がより明確になった (Fig. 9)。特に5日間、7

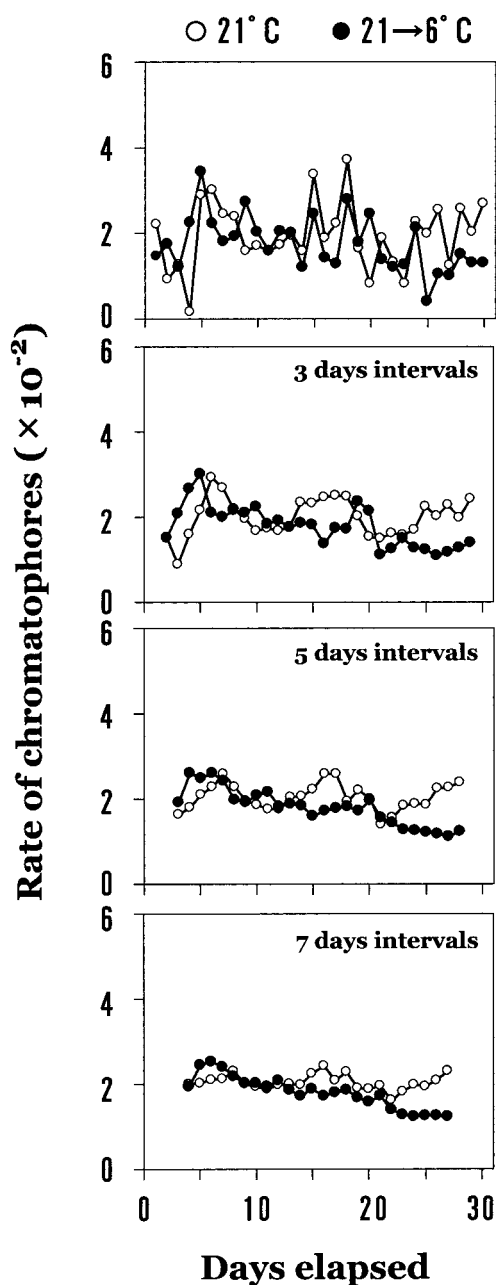


Fig. 6. Means and moving means over 3, 5, and 7 days intervals of the area rate of chromatophores of *Pseudocentrotus depressus*. Open circles, 21°C; solid circles, 21→6°C.

日間の移動平均値が滑らかな変動を示し、殻径の0.50, 0.75, 1.00倍以上の管足数では水温低下に伴った減少がみられた。なかでも0.50倍の減少幅が大きかった。また、5日間の移動平均を用いた両温度区の0.50倍以上の管足数を比較すると、20日目(水温12°Cの最終日)、30日目(水温6°Cの最終日)のいずれにおいても、低温区の管足数は有意に少なかった ($P_s < 0.05$, Jonckheereの検定)。以上から、管足数は活力の指標値となる可能性があると考えられる。

この管足数の経日変化で、全管足数は実験期間を通じて

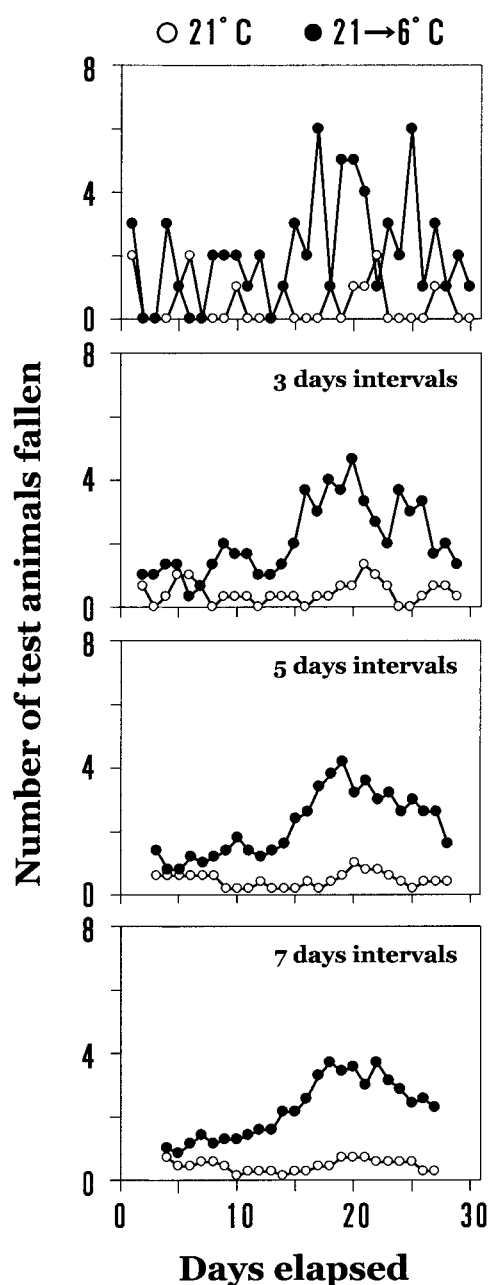


Fig. 7. Temporal change of the number of *Pseudocentrotus depressus* that fell from the bottom of a rearing beaker after the beaker was inverted and the sea urchin kept in air for one hour.

およそ一定であるのに、各伸長度の管足数は減少した (Figs.8,9)。このことは、水温低下に伴いウニの管足が短くなることを示唆している。管足数の変動係数は、常温区では値がほぼ一定だったのに対し、低温区での0.50, 0.75, 1.00倍以上の値で水温9°Cであった21~25日目に低下した21日目から増加が見られた (Fig.10)。これは、水温低下に対して管足が短く伸びる反応の個体差が、水温の低下に伴い大きくなることを示している。変動係数は、水温が9°Cになって始めて大きく傾向が出たことから、これを活

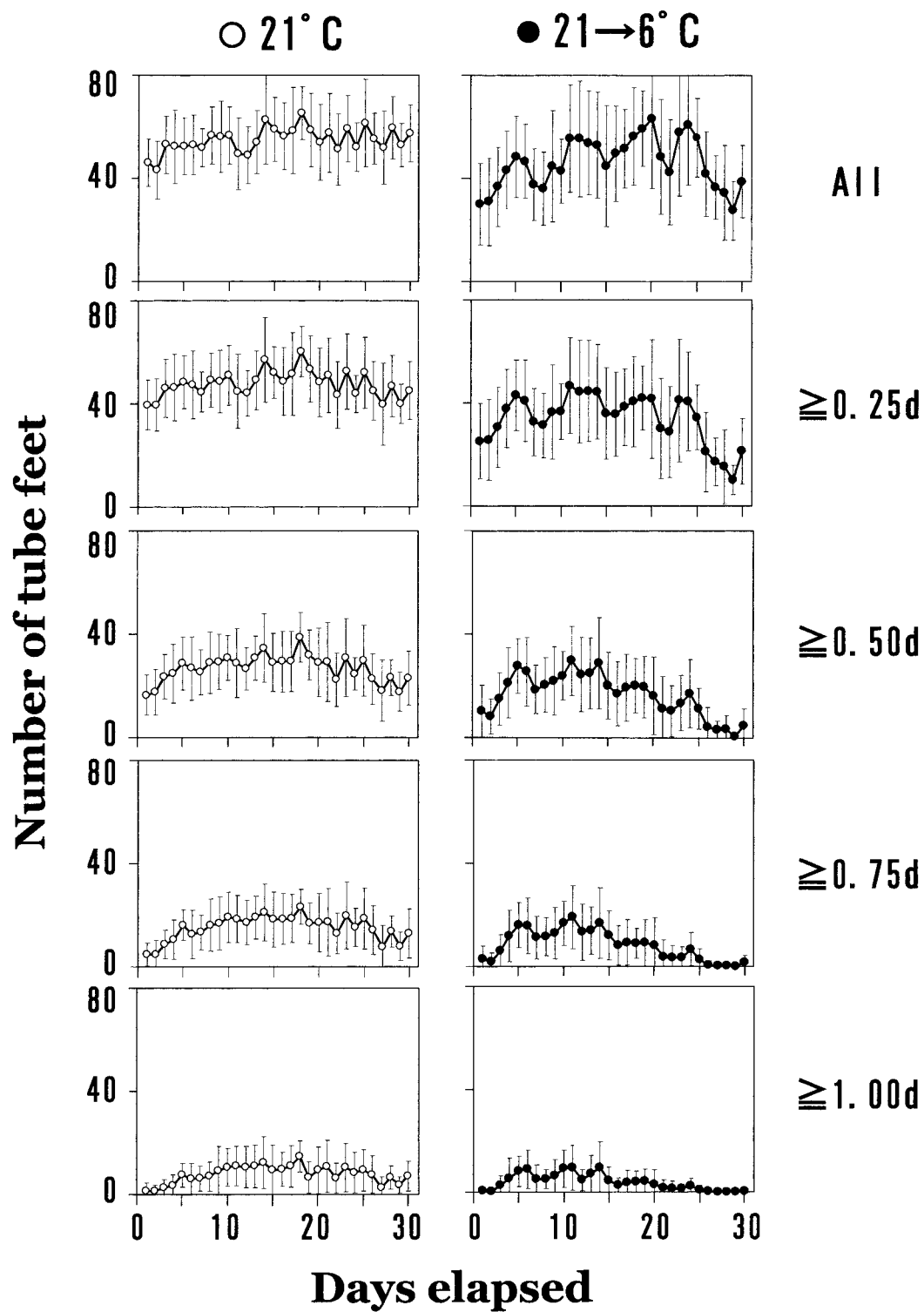


Fig. 8. Temporal change of the number of tube feet (all feet, feet longer than 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 \times test diameter) of *Pseudocentrotus depressus*. Symbols and vertical bars denote mean and standard deviation. Open circles, 21 °C ; solid circles, 21 \rightarrow 6 °C.

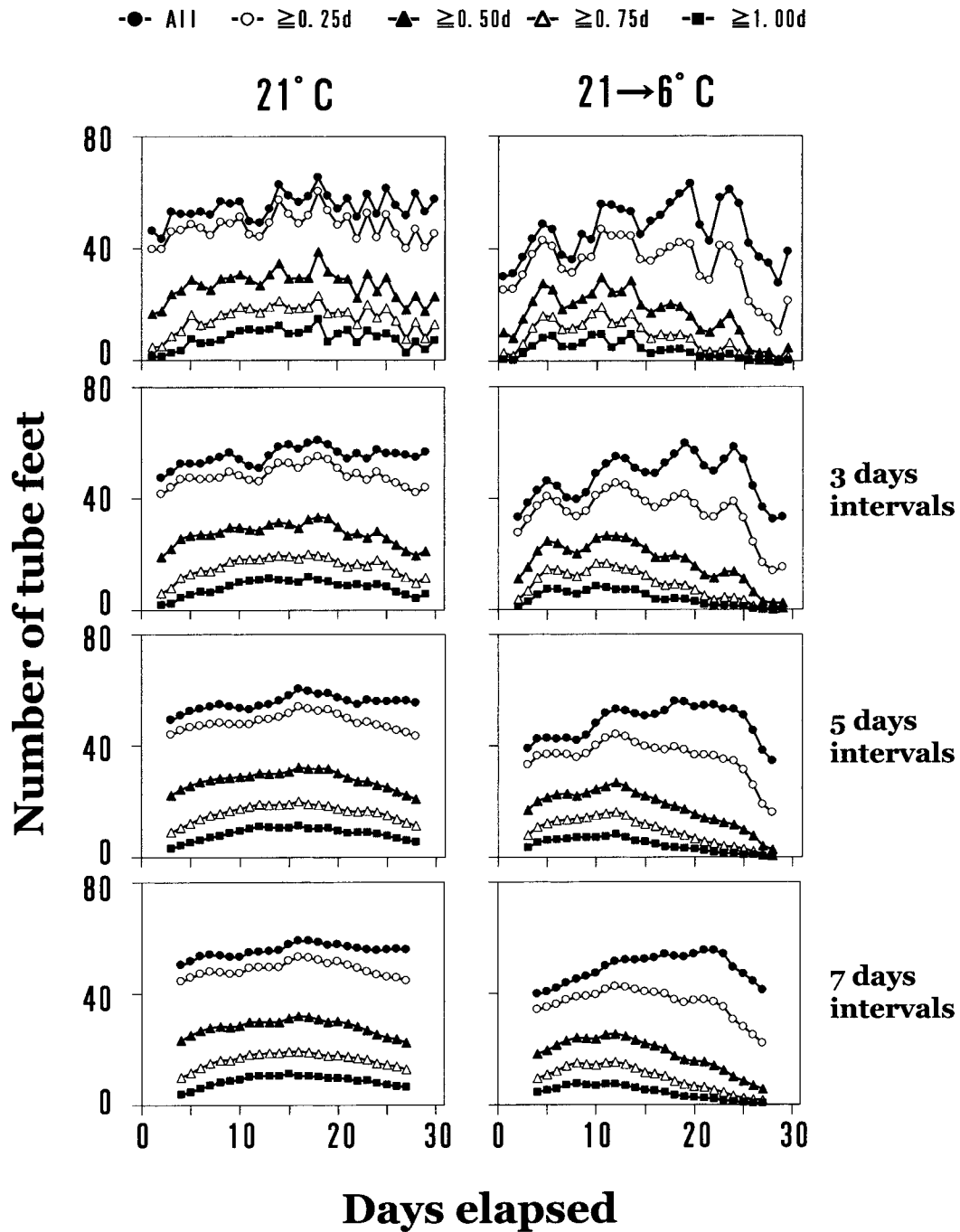


Fig. 9. Means and moving means over 3, 5, and 7 days intervals of the number of the tube feet (all feet, feet longer than 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 \times test diameter) of *Pseudocentrotus depressus*.

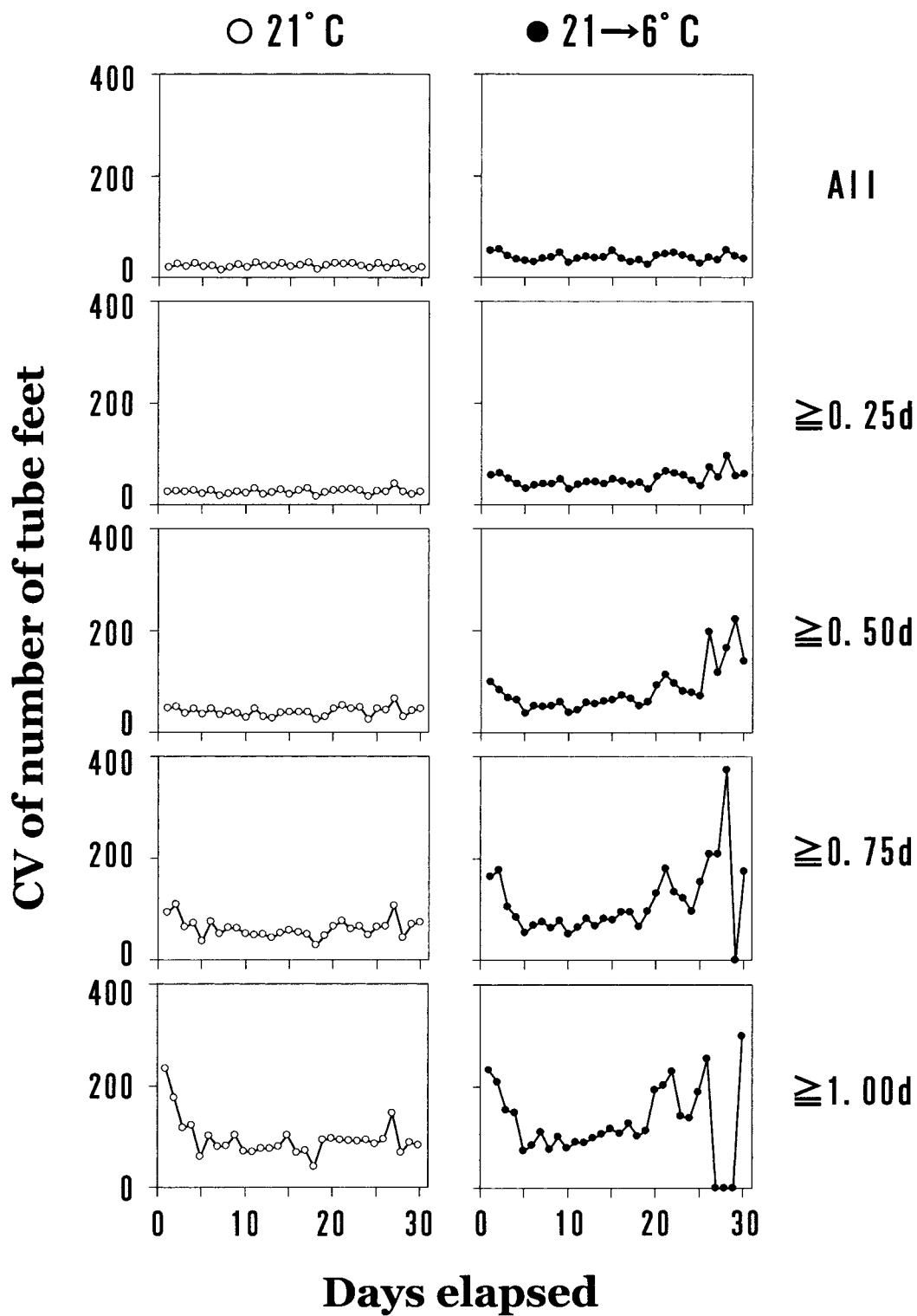


Fig.10. Temporal change of coefficient of variation of the number of *Pseudocentrotus depressus* tube feet. Others are the same in Fig. 8.

力指標とした場合には、管足数の変動と比べると、活力低下の傾向を読み取るのが遅くなる可能性がある。

ウニは成長に伴い外殻が大きくなり、それにつれ管足数も増加するため、管足数を指標とする場合には、体サイズに関係なく適応しうる指標値としなければならない。そこで全管足数に対する各伸長度の管足数が占める割合を求めた (Fig.11)。常温区では値がほぼ一定であったが、低温区は各伸長度とも水温18℃であった6~10日目から減少が確認された。特に殻径の0.25, 0.50倍以上伸長した管足数が占める割合の経日変化が大きかった。これは、移動平均

を使うことでより明確となり、3, 5, 7日間のどの移動平均値でも傾向は読み取りやすい (Fig.12)。ここで、3日間の移動平均を用いた両温度区間の差の有意性を検討するため、0.25倍以上の管足数/全管足数, 0.50倍以上の管足数/全管足数の値を、20日目 (水温12℃の最終日) と30日目 (水温6℃の最終日) の時点で比較したところ、いずれも低温区が常温区より有意に小さかった ($P_s < 0.001$, Jonckheereの検定)。棘抜け症の予防の場合、加温導入は活力低下を迅速に判断して実行したほうが良い。したがって、水温低下に対して早い段階から反応し、値の変化も明

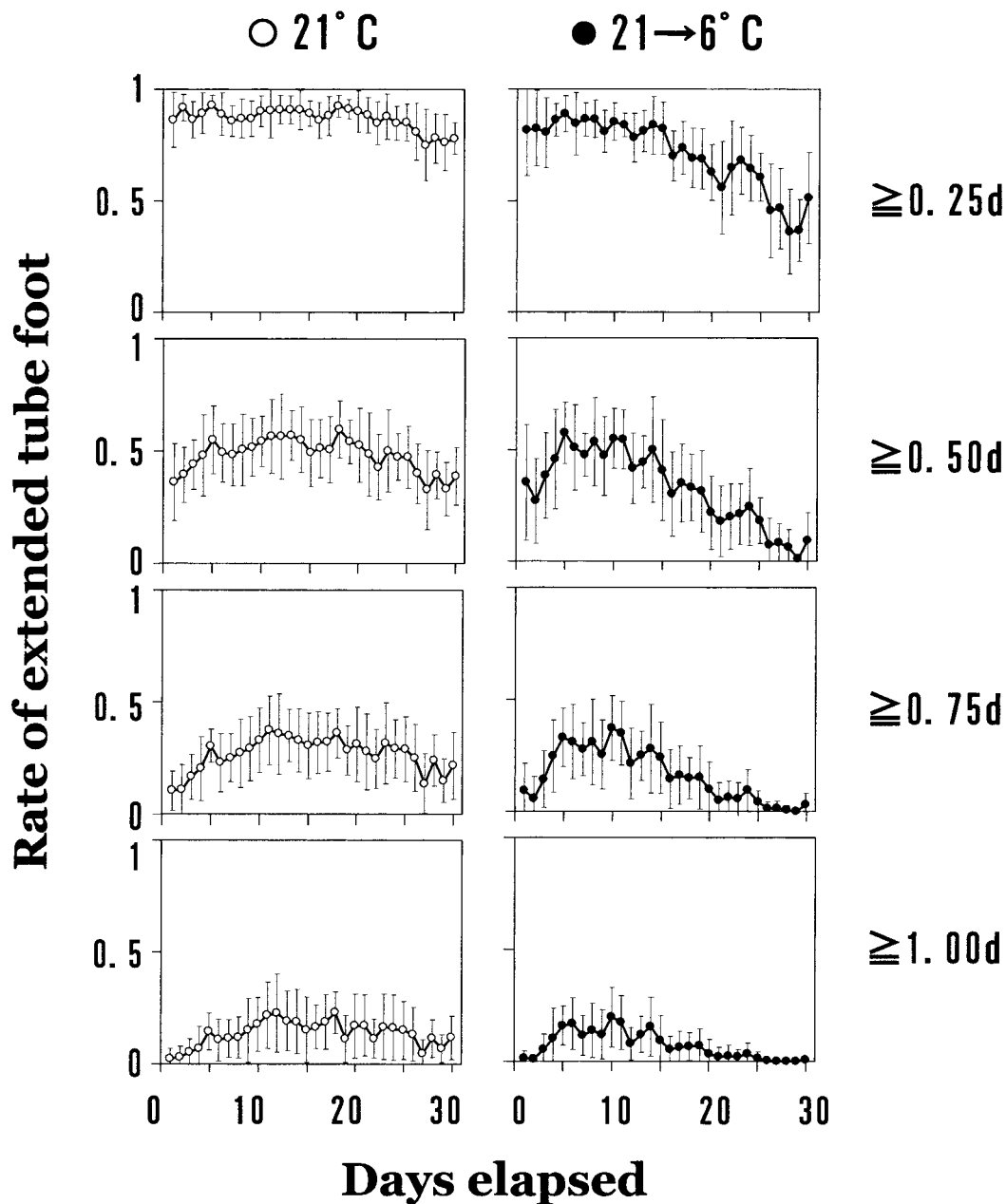


Fig.11. Temporal change of the ratio of extended tube foot to all tube feet of *Pseudocentrotus depressus*. Others are the same in Fig. 8.

確な指標を使うのが良い。また、これらの傾向を見る際に有効であった移動平均は、項数が多いほど変動傾向がわかりやすいが、項数が少ないほど傾向を早く察知できる。以上の事を考え合わせると、活力指標には、3日間の移動平均でも変動が滑らかで傾向が判りやすい0.25倍以上あるいは0.50倍以上の管足数/全管足数をモニタリングするのが最適と判断できる。

4 総合論議

管足数の色素胞の密度と面積率は、作業が煩雑で時間がかかることから、簡便な測定としての利用は不可能だった。管足の付着強度は、作業が簡便で活力指標として利用できると考えられたが、水温低下に対し一定の傾向が見られなかったことから、使用する条件を限定した上で、再検

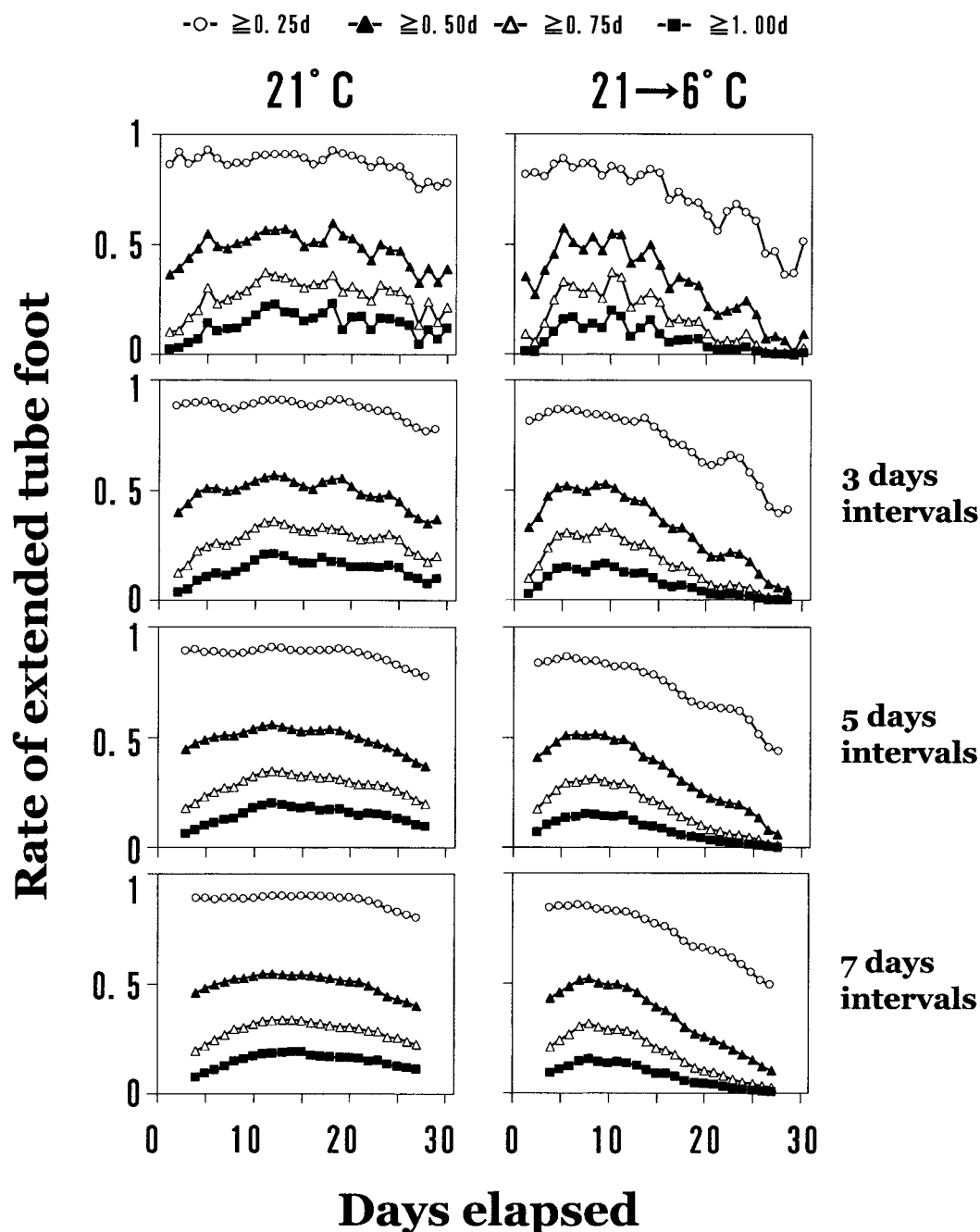


Fig.12. Means and moving means over 3, 5, and 7 days intervals of the ratio of extended tube foot to all tube feet (all feet, feet longer than 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 \times test diameter) of *Pseudocentrotus depressus*.

討する必要がある。一方で管足の伸長度は、早い段階から水温の低下に伴った反応を示し、作業が簡便で時間もかからないことから、簡便な活力判定法として即利用できる可能性があると考えた。なかでも、全管足数に対する各伸長度の管足数が占める割合は、変動傾向が最も明瞭で活力判定指標として使いやすいと考えられる。特に、殻径の0.25倍以上あるいは0.50倍以上の値は変化が大きく、これに3日間の移動平均を用いることで、傾向が滑らかな測定値が得られると考えられる。実際のモニタリング作業では、現場でデジタルカメラを使って、ウニを背面から撮影して、グレースケールでプリントアウトし、その上にコンパスで判断基準となる円を描いて、体の数えやすい側の管足を計数するのが速い。この作業において、コンパスで円を描くとき、殻径の0.50倍の場合には、ウニの写真に直接コンパスを当てて殻径（直径）を取り、そのまま、写真のウニの中心を軸として、半径が殻径の円を描けば良い。しかし、殻径の0.25倍の場合には一手間増えるので、作業性において0.50倍の方が優れる。この管足の計数は、ウニの体半分について行うと1個体につき1分以内に行うことができる。

ここで提案する活力指標を現場で用いるには、次の3点を理解しておく必要がある。まず、管足の伸長度において、背面からの写真では、斜め上や斜め下に伸びた管足を判別することができない。本研究で得られた値は、これらの管足を含むものであるが、水温低下に対する傾向は読み取れたことから、実用上は差し支えない。次に、大量種苗生産の現場では、ある現場に密集している種苗にのみ疾病が発症することがあり、モニタリングで個体抽出の方法を誤ると、傾向を見逃す可能性がある。最後に、ウニは変温動物であるので、水温の低下に伴って代謝速度も低下することから、今回見られた水温低下に対する反応は、生理活性の低下を総合的に反映していることが考えられる。このため、疾病予防の指標としてこれらを使うには、人為的に感染させて発症したウニと、その対照個体について、ここで提案した指標値をモニタリングして、指標値の特性を確かめる必要がある。

5 要 約

アカウニ種苗の活力を外見から簡便に判定するための形質として、管足に着目した。平均殻径7.1mmの種苗を使い、30日間の間に水温を21℃から6℃まで低下させ、色素胞の密度、付着強度、および伸長度の経時的変化を観察した。

そして、モニタリングに要する作業時間と観察値の変動傾向から、生産現場で利用可能な指標となるかどうかを総合的に判定した。その結果、管足の伸長度が実用的な活力指標となり得る可能性が示唆され、次のようにモニタリングする方法が提案された：背面からデジタルカメラで写真を撮り、体半分の管足を使って、殻径の0.5倍以上伸長した管足数/全管足数、を計算し、その3日間の移動平均値を指標値とする。

6 謝 辞

本研究を進めるに当たって、有益な助言をしてくださった愛媛県中予水産試験場の坂口秀雄博士に深く感謝する。また、研究に便宜をはかって下さった佐賀県玄海水産振興センターのみなさんに御礼申し上げる。

7 参考文献

- 1) 浜口昌巳：ウニ類の疾病について。南西水研ニュース、(48)、14-16 (1992)。
- 2) 伊東義信：栽培漁業と新養成技術 アカウニ種苗生産の現状と問題点（下）。水産の研究、6 (2)、44-50 (1987)。
- 3) 真崎邦彦：棘抜け症（仮称）に罹病したアカウニ稚ウニの病変部位から観察された細菌について。佐賀県栽培漁業センター研究報告、3、105-106 (1994)。
- 4) 真崎邦彦・野口弘三・金丸彦一郎：アカウニの種苗生産過程における稚ウニの大量斃死について。西海区ブロック浅海開発会議藻類・介類研究会報、5、45-59 (1988)。
- 5) 浜口昌巳・川原逸郎・薄 浩則：夏季に発生したアカウニの細菌感染症。水産増殖、41 (2)、189-193 (1993)。
- 6) 川原逸郎・後藤政則・真崎邦彦：種苗生産過程に見られるアカウニ稚ウニの大量斃死を防ぐ飼育方法の検討-I（予報）。佐賀県栽培漁業センター研究報告、2、45-50 (1993)。
- 7) 川原逸郎・後藤政則・真崎邦彦・野口弘三：種苗生産過程に見られるアカウニ稚ウニの大量斃死を防ぐ飼育方法の検討-II（予報）。佐賀県栽培漁業センター研究報告、2、51-55 (1993)。
- 8) 松井 魁・川上猛雄：ウニの積極的増殖に関する基礎的研究。宇部短期大学環境科学研究所報告、3、61-77 (1982)。