

サルボウの産卵誘発と初期発生について

池田善平・片山勝介

The Induced Spawning and Early Development of Ark-shell *Scapharca subcrenata*

Zenpei IKEDA and Katsusuke KATAYAMA

サルボウ *Scapharca subcrenata* の養殖においては夏季の産卵後の大量へい死が大きな障害となっている。一方、三倍体は一般に不妊であるため、成熟や産卵に伴う生理的活性の低下が少ないとされている¹⁾。そこで、サルボウの三倍体を作出すれば産卵に伴うへい死が回避でき、かつ高成長が期待できると考えられる。その予備試験として、産卵誘発の方法、初期発生経過の観察や染色体の倍化処理の温度などについて二、三検討した。

材料と方法

産卵誘発方法の検討 親貝には佐賀県有明海産サルボウの1、2年貝をもちいた。1年貝は1985年4月16日に有明海より岡山県寄島町地先に移植し、同年7月22日、8月6日及び12日に採取し、その後は当场前の海底でかごにより養成した。また、2年貝は同じ有明海で採取したものを当场前で同様の方法により養成した。平均殻長は7月22日採取の1年貝で、30.2mm、8月6日採取のもので31.2mm、8月12日採取のもので36.8mm、2年貝で43.9mmであった。

産卵誘発は、親貝を陸上水槽で1日間飼育した後、2lビーカー（水量1.5l）に個別に収容し、加温、紫外線照射海水及び精子液等による刺激を加える方法により行った。加温刺激法では40～50分かけて飼育水温を25℃前後から約5℃高くなるようにした。飼育水温が26℃以上の高水温期には約25℃の海水中で1日間飼育したものをビーカーに入れ加温した。紫外線照射海水刺激法では紫外線水殺菌装置（ウシオ電機K.K製、USP-2、15W）を通した海水を飼育水に注水する方法によった。精子液刺激法では、雄貝の生殖巣を切開して得た精子を海水に希釈した精子液あるいは放精により得たものを用いた。精子液は0.5～1.0lを-20℃で1日間凍結し、使用前に25～30℃の海水で解凍（以後冷凍精子と称す。）後、ビーカー1個当たり20～40ml加えた。なお、すべて、2～5個体の雄貝から採取した精子を混合して用いた。

また、あらかじめ冷凍精子は受精能力のないことを確認した。

初期発生経過の観察 産卵誘発で得られた未受精卵を水温25℃と29℃前後の海水中で媒精後、2分毎に一部の卵をホルマリンで固定し、それを検鏡して発生経過を観察した。

倍化処理温度の検討 媒精5ないし10分後の受精卵を0、5、10及び15℃前後の海水に3分間浸漬し、25℃前後の海水に移した。対照は媒精5分後に30℃前後から直接25℃前後の海水に移した。ともに、約26時間後の浮上幼生の多寡と奇形率を調べた。各温度への浸漬処理は、底に24μmのプランクトンネットを張った直径5cm、高さ10cmの塩ビ管の中に卵を収容して行った。

結果と考察

産卵誘発方法の検討 結果を表1に示した。最初に紫外線照射海水刺激を加えた。注水量を1時間当たり400、1,200及び4,900mlと3段階に変えて試みたが全く、放精、放卵しなかった。次に、加温刺激を加えたが紫外線照射海水刺激と同様に全く放精、放卵しなかった。生殖巣が未熟なため、刺激に反応しないことも考えられたので、親貝を切開して生殖巣の状態を調べた。生殖巣は1、2年貝とも量的にはかなり多かったが、刺激に反応するほど熟してなかったとも考えられる。

次に、加温刺激や加温と紫外線照射海水あるいは冷凍精子刺激の併用による誘発効果を調べた。この場合には加温刺激だけでも雄1個体が放精した。しかし、加温と紫外線照射海水刺激の併用では全く反応が見られなかった。これに対し、加温と冷凍精子やそれに紫外線照射海水刺激を加えた併用刺激では前者で雄4個体、雌1個体、後者で雄3個体、雌2個体が放精、放卵した。また、加温と冷凍精子刺激の併用では放精、放卵が見られたが、冷凍精子刺激単独では刺激に全く反応しなかった。

以上の結果から、加温、紫外線照射海水及び冷凍精子

表1 産卵誘発結果 - 1

誘発刺激	条件	親 貝		誘発個体数		試験月日
		個体数	年 令	雄	雌	
紫外線照射海水	注水量 (ml / 分) 4900	20	2	0	0	7. 19
	1200	"	"	0	0	" 22
	400	10	1			" 27
加 温	水温変化 (°C) 26. 1→29. 4	10	1	0	0	7. 27
	26. 8→30. 7	30	2	0	0	" 29
	26. 4→30. 0	"	"	0	0	" 30
加 温	水温変化 (°C) 25. 2→30. 4	10	2	0	1	7. 31
加温 + 紫外線*	25. 1→30. 2	"	"	0	0	"
" + 冷凍精子	25. 2→30. 6	"	"	4	1	"
" + 紫外線* + 冷凍精子	25. 1→30. 4	"	"	3	2	"
" + 冷凍精子 (放精)	水温変化 (°C) 25. 2→30. 6	"	"	2	2	8. 2
" + " (切開)	25. 2→30. 5	"	"	2	1	"
冷 凍 精 子	水温変化 (°C)	20	1. 2	0	0	8. 9
	25. 0→24. 8					
加温 + 冷凍精子	25. 2→30. 6	"	"	4	2	"

* 注水量は400ml / 分

刺激単独では誘発効果が低い場合が多く、産卵誘発には加温と冷凍精子刺激の併用が良いと考えられた。

以上の産卵誘発に用いた冷凍精子はすべて切開法により得たものであることから、放精により得た冷凍精子との違いを調べた。加温と放精あるいは切開により得た冷凍精子刺激との組合せでは、放精した精子で雄2個体、雌2個体、切開した精子で雄2個体雌1個体が放精、放卵した。両者の放精、放卵個体数がほぼ同じであったことや後述する誘発結果から、切開により得たものでも誘発効果に差はないものと考えられる。

表2に8月12日以後の加温と冷凍精子刺激の併用による産卵誘発結果を示した。8月12日～30日の間は放精、放卵個体数が少なかったり、刺激に全く反応しないことが多かったが、9月10日以後はよく反応するようになった。8月までは冷凍精子添加前の加温中に放精、放卵するものは全く見られなかったが、9月10日以後は加温中に一部の雄貝が放精することが多く、生殖巣の熟度の違いにより刺激への反応が異なることが推察された。

7月31日から8月上旬にかけて産卵誘発がみられたのに、その後、8月中、下旬に放精、放卵する個体が少なかった理由は判然としない。しかし、サルボウのような多回産卵種では1度、放精、放卵した親貝が再度放精、放卵可能となるためには、一定期間を要するためとも考えられる。

今回試みたサルボウの産卵誘発法の内では、加温と冷凍精子刺激の併用が効果的と思われるが、この方法でも刺激に反応する個体数には大差があり、また、全く反応しない個体も多かったことから、さらに効果的な誘発法の開発も必要と考えられる。

初期発生経過の観察 染色体の倍化は極体の放出や卵分割を阻止して行うため、処理開始時間等が正確なことが要求される。ここでは25℃台と28℃台で発生経過を追ってみた。観察結果を表3に、第1極体と第2極体を放出した卵を図版I、IIに示した。

水温が25.6～25.8℃の場合、第1極体の放出開始は媒精後8～10分、完了は12～14分の間であった。第2極体

表2 産卵誘発結果 - 2

誘発刺激	条件	親 貝		誘発個体数		試験月日	
		個体数	年 令	雄	雌		
加温 + 冷凍精子 (切開)	水温変化 (°C) 25.0→30.0	20	2	0	0	8.12	
〃	〃	25.0→30.6	19	1	0	〃 13	
〃	〃	25.2→30.0	10	〃	1	〃 14	
〃	〃	24.9→30.0	20	〃	1	〃 18	
〃	〃	24.2→30.0	〃	1, 2	2	〃 26	
〃	(放精)* ¹	24.7→30.0	40	〃	0	〃 29	
〃	(切開)	25.4→30.0	〃	〃	1	〃 30	
〃	〃	24.4→30.2	〃	2	1* ³	3	9.10
〃	(放精)	24.8→29.3	〃	〃	6* ³	3	〃 13
〃	〃	25.0→29.1	〃	1, 2	1	0	〃 18
〃	(切開)	25.1→29.8	〃	2	8* ³	5	〃 24
〃	(放精)* ²	25.2 →30.0	〃	1, 2	4	6	〃 25

*¹ 8月26日に放精したもの。*² 7月31日に放精したもの。*³ 精子添加前に放精した雄貝有り。

表3 サルボウの卵の初期発生経過

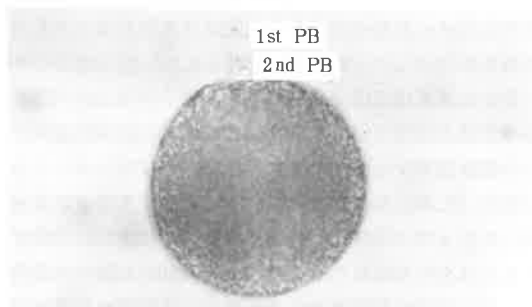
発生時期	観 察 1		観 察 1	
	時間 (媒精後・分)	水温 (°C)	時間 (媒精後・分)	水温 (°C)
第1極体放出開始	8~10	25.6	6~8	28.9
〃 完了	12~14	〃	8~10	28.8
第2極体放出開始	22~24	〃	16~18	28.6
〃 完了	24~26	〃	18~20	〃
極芽形式開始	44~46	25.7	32~34	〃
第1分割完了*	60~62	25.8	44~46	〃

* 極葉を完全に吸収した時期

放出開始は22~24分, 完了は24~26分の間であった。その後, 44~46分間に極葉を形成し始め, 60~62分間に極葉を完全に吸収して第1分割を完了した。28.6~29.0°Cの場合には第1極体放出開始は媒精後6~8分, 完了は8~10分の間であった。その後は32~34分間に極葉を形成し始め, 44~46分間に第1分割を完了した。水温が約3°C高い後者の場合第1極体の放出開始時期で2分, 第2極体の放出開始時期で4分程度前者より早かった。



図版 I 第1極体を放出した卵



図版 II 第2極体を放出した卵

表4 温度処理結果

処理開始時間 (媒精後・分)	水 温 (°C)			1日後の浮上幼生	
	処理前	処理時	処理後	幼生の多寡	奇形率(%)
5	29.8	-0.6	25.0	僅 少	100
10	"	"	"	"	"
無処理	"	"	"	多 い	2
5	30.4	0.8	25.4	僅 少	100
10	"	"	"	"	"
無処理	"	-	"	多 い	3
5	30.0	5.2	25.0	多 い	20.4
"	"	10.4	"	"	14.4
"	"	15.2	"	"	10.7
無処理	"	-	"	"	14.3

川口ら²⁾は水温25~27°Cでサルボウの受精からD型幼生期までの初期発生経過について報告し、第1極体放出は媒精10分後、第2極体放出は20分後としているが、この発生時間は今回の25.6~25.8°Cのものとはほぼ同じであった。

染色体の倍化処理温度の検討 温度処理結果を表4に示した。処理前の水温が30°C付近であったので、処理開始時間は第1極体と第2極体放出前の媒精5及び10分後とし、処理時間は3分とした。受精卵を-0.6及び0.8°Cで処理した場合は、浮上幼生数は著しく少なく、しかもすべて奇形で、D型幼生は全くみられなかった。また、媒精5分後に5、10及び15°C前後で同様に処理した場合は浮上幼生数は多く、無処理のものと変らなかった。しかし、奇形率は5.2°C区の場合20.4%と他の温度処理より僅かに高かったものの、無処理のものでも14.3%と高く、卵に問題があったかもしれない。

クロアワビ³⁾では、2~3°Cで15分処理した場合、媒精42時間後の浮上幼生の倍化率は90.6%と最も高く、生残率30.0%、変態率70.0%、奇形率36.6%という結果を得ている。サルボウの場合0°C付近でふ化幼生数が少な

く、しかもすべて奇形となり、5°C付近で、幼生数が多く、奇形率も低かったことから、中間の3°C前後も含め、倍化率との関連の上で、処理温度について更に検討する必要がある。

なお、温度処理で得られた第1分割卵を用い、染色体の観察を試みたが、染色体中期像の明瞭なものを得ることはできなかった。

要 約

1. 三倍体作出のための予備実験として、サルボウの産卵誘発方法や初期発生経過の観察を行い、一部染色体倍化のための処理温度についても検討した。

2. 産卵誘発については加温、紫外線照射海水及び冷凍精子刺激を単独あるいは組合せて加える方法を比較した結果、加温と冷凍精子刺激を同時に加えると誘発効果が高かった。

3. 初期発生経過を観察し、第1極体と第2極体の放出開始は水温25.6~25.8°Cで媒精後8~10分と22~24分の間、28.6~29.0°Cでは6~8分と16~18分の間であった。

4. 染色体の倍化処理のための処理温度を検討したところ、0°C付近ではふ上幼生数が少なく、しかもすべて奇形となり、5°C付近では幼生数も多く、奇形率は低かった。

文 献

- 1) 小野里担, 1983: 魚類の人為増殖とその利用, 水産育種, 8, 17~29
- 2) 川口四郎・岩田清二・渡辺宗孝・福原 充, 1953: 藻貝の種苗育成とへい死原因調査報告, 岡山県経済部水産課, 1~28
- 3) 愛媛県水産試験場・愛媛県栽培漁業センター, 1961: クロアワビ三倍体誘起試験, 南西海区ブロック会議昭和61年度介類研究会資料, 8 pp