

三倍体マガキの産卵誘発試験

植木 範行

Induced Spawning of Triploid Pacific Oyster *Crassostrea gigas*

Noriyuki Ueki

キーワード：三倍体マガキ，産卵誘発率，放卵放精量

三倍体マガキ *Crassostrea gigas* は配偶子形成と産卵の抑制により産卵期でも身入りした状態が維持され食用も可能で，特に通常のカキ養殖における出荷初期の10月に高品質のカキを生産できることなどの有益な特性が認められている^{1,2)}。しかし，三倍体マガキの配偶子形成の抑制は不完全であり，一部の個体は成熟した卵や精子を形成し，それらは切開による交配で受精発生することが知られている³⁾。このことは，三倍体マガキをカキ養殖漁場に導入する上で大きな障害となっている。

そこで，三倍体マガキの産卵誘発により放卵放精する量を明らかにし，これが，三倍体マガキをカキ漁場に導入した場合の漁場環境，とりわけカキの天然採苗に与える影響について検討するため本研究を行った。

材料と方法

産卵誘発試験は1992年と'93年の2年にわたって行った。

'92年の試験では，'90年7月にサイトカラシンB処理により作出した三倍体カキ2年貝を用いた。これらは個

体別に体液を取り出し，スライドガラスに塗抹しメタノールで固定した後，DAPI染色を施して顕微蛍光測光法により核DNA量の相対値を測定し，三倍体であることを確認した。これらを20個体ずつ真珠養殖用のポケット籠に収容して'92年3月31日から岡山県牛窓町の岡山県水産試験場地先の筏で垂下養成を始めた。

養成開始時と誘発時の供試母貝を表1に示した。対照として用いた通常の二倍体マガキは'90年の夏に邑久町地先で天然採苗されたものを三倍体マガキと同様に養成した2年貝である。

産卵誘発は5月から9月まで毎月1回，計5回行った。産卵誘発は，1mMのセロトニン海水を平滑筋に1個体当り0.3ml注射した後，2l容量のガラス製ビーカーに個体別に収容して約5℃加温する刺激により行った。その後，3時間観察し，放卵放精を確認した後，その量を計数した。雌雄の判定は切開して卵や精子を取り出して確認した。

'93年の試験では三倍体カキの年齢と産卵誘発について検討した。用いた三倍体カキはいずれもサイトカラシン

表1 供試母貝 (1992年)

種類	No.	開始時 (20個体/区)		月日	殻高 (mm)	取り上げ誘発時				
		殻高 (mm)	全重量 (g)			全重量 (g)	生残数	♀	♂	不明
2n	1	70.5±4.60	32.5±5.74*	5.19	71.2±4.58	40.0±6.03	20	11	9	0
	2	69.8±5.45	33.3±5.25	6.10	71.1±6.33	45.0±9.15	15	6	7	2
	3	72.3±5.40	34.3±4.45	7.15	73.8±7.51	51.2±10.82	12	8	4	0
	4	69.4±4.94	32.2±4.77	8.18	76.7±8.88	52.6±8.75	8	7	1	0
	5	70.7±3.24	32.8±4.69	9.17	77.5±11.38	51.1±9.36	5	1	4	0
3n	1	91.0±4.96	65.8±8.40	5.19	91.5±4.77	79.1±9.07	20	6	11	3
	2	90.3±6.24	69.4±11.70	6.10	94.2±6.48	97.3±16.51	15	5	4	6
	3	88.7±4.51	65.0±7.98	7.15	94.2±4.62	102.4±11.78	17	9	0	8
	4	85.9±5.22	62.1±10.34	8.18	91.1±6.17	103.8±15.84	17	13	1	3
	5	86.3±5.22	60.5±8.56	9.17	96.7±7.07	117.7±19.08	19	13	1	5

*平均値の95%信頼区間

表2 産卵誘発に用いた母貝の大きさ (1993年)

種 類			'93. 6. 4	'93. 7. 7	'93. 8. 3	'93. 9. 2	'93. 10. 5
殻 高 (mm)	二倍体 (3n)	2年	113.7±13.8*	125.0±13.6	105.8±18.5	(96.9±6.9)	106.0±0.8
		3年	120.9±18.7	112.8±12.1	119.9±12.7	113.3±18.1	126.5±11.4
	三倍体 (3n)	2年	91.6±6.0	88.5±8.5	102.9±6.5	107.7±8.3	114.7±8.0
		1年	70.4±10.0	78.4±12.0	87.4±9.9	102.6±8.6	104.0±13.4
全重量 (g)	二倍体 (2n)	2年	89.3±18.1	128.6±39.9	93.7±16.1	(74.0±13)	78.6±21.9
		3年	189.3±29.3	214.1±27.3	204.0±27.0	214.1±71.2	307.2±30.9
	三倍体 (3n)	2年	78.5±17.0	68.4±16.9	112.3±11.8	131.2±20.4	152.0±11.4
		1年	26.8±8.0	36.5±11.6	61.0±16.1	101.3±24.7	104.3±27.7

二倍体は宮城産二年貝, ただし, ()は広島産二年貝

*: 標準偏差

ンB処理で作出した1・2・3年貝である。これらを'92年と同様に牛窓町の水産試験場地先の筏で垂下養成し, 産卵誘発時にコレクターから取り外して個体別に三倍体であることを確認して試験に供した。

産卵誘発は6月から10月まで毎月1回, 計5回行った。産卵誘発時の母貝の大きさを表2に示した。対照として用いた二倍体カキは同じ場所で垂下養成した宮城産及び広島産2年貝を用いた。三倍体の確認, 産卵誘発刺激及び雌雄の判定は'92年と同様である。

結 果

岡山県水産試験場地先の'92年と'93年の旬平均水温と換算比重の変化を図1に示した。いずれも冷夏の年であったが, 特に'93年は長雨の影響で低水温, 低比重の状態が長く続いた。

'92年の産卵誘発の結果を表3に示した。当初12個体ずつを誘発したが二倍体カキの生残数が少なくなった8月以降は三倍体カキを多くした。

5月から9月までの5回の産卵誘発の結果, 三倍体雌は合計38個体中5個体(13%)が放卵し, 雄は合計11個体中3個体(27%)が放精した。また, 切開により卵や精子の確認できない個体が三倍体では22個体も見られ, それらも合わせた全誘発個体に対する放卵放精個体の割合は11%(71個体中8個体)であった。これに対し, 二倍体では, 雌が28個体中7個体(25%), 雄は20個体中14個体(70%)となり, 三倍体に比べて雄の誘発率が高かった。また, 雌雄の判別の出来ない個体は6月に1個体見られたのみであった。

三倍体カキは産卵前期(5月)に雄のみ放精し, 産卵後期(8・9月)には雌のみ放卵したのに対し, 二倍体カキは全期間を通して雌雄とも誘発個体がみられた。

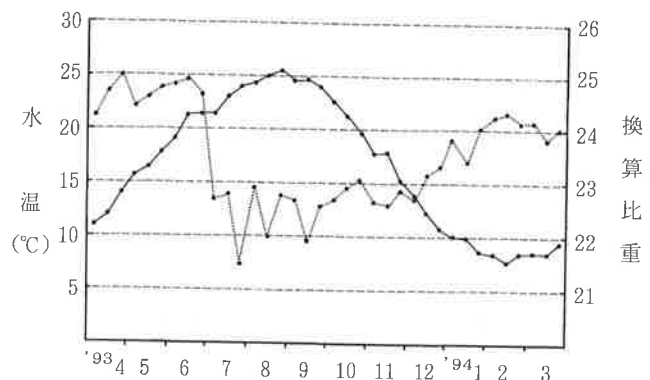
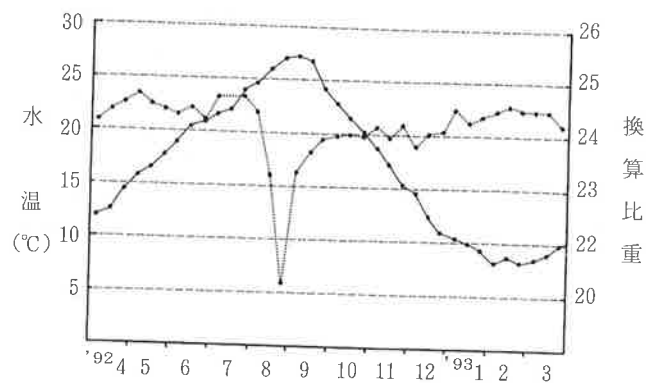


図1 水試前の試験符海面の水温と比重の月旬平均値の変化

放卵放精が認められたマガキの個体別の放卵放精量を表4に示した。三倍体カキの放精数は $0.9 \sim 35 \times 10^7$ 個/個体, 放卵数は100~200,000個/個体で, 個体によるばらつきは大きく, 二倍体に比べると平均放卵量は $1/32$, 平均放精量は $1/62$ の量であった。

養成期間中に, 二倍体と三倍体で明らかに成長差が認められ, 表1に示したように養成期間の後半になるほどその差が大きくなった。また, 二倍体では, 期間中に死亡する個体も多かった。さらに, 三倍体カキは雌雄比に

表3 三倍体カキの産卵誘発結果 (1992年)

誘発年月日	3 N								2 N							
	誘発数/供試員				誘発率%				誘発数/供試員				誘発率%			
	♀	♂	不明	計	♀	♂	計	♀	♂	不明	計	♀	♂	計		
'92. 5. 19	0/4	3/6	0/2	3/12	0	50	25	1/7	5/5	0/0	6/12	14	100	50		
'92. 6. 10	0/3	0/3	0/6	0/12	0	0	0	0/5	0/5	0/1	0/12	0	0	0		
'92. 7. 15	0/6	0/0	0/6	0/12	0	0	0	4/8	4/4	0/0	8/12	50	100	67		
'92. 8. 18	2/12	0/1	0/3	2/16	17	0	13	1/7	1/1	0/0	2/8	14	100	25		
'92. 9. 17	3/13	0/1	0/5	3/19	23	0	16	1/1	4/4	0/0	5/5	100	100	100		
計	5/38	3/11	0/22	8/71	13	27	11	7/28	14/20	0/1	21/49	25	70	43		

♀♂: 切開により卵や精子を確認できた個体
 不明: 切開により卵や精子が確認できない個体

表4 産卵誘発による放卵放精量 (1992年)

誘発年月日	3 N					2 N				
	No.	TW (g)	♀ ($\times 10^4$ 個)	TW (g)	♂ ($\times 10^7$ 個)	No.	TW (g)	♀ ($\times 10^4$ 個)	TW (g)	♂ ($\times 10^7$ 個)
'92. 5. 19	1			82	40	1	56	157.7	39	2,080
	2			86	8	2			36	940
	3			81	1	3			42	50
	4					4			57	90
	5					5			48	210
'92. 7. 15	1					1	53	396	72	1,370
	2					2	59	544	51	2,280
	3					3	43	96	30	590
	4					4	74	120	40	1,420
'92. 8. 18	1	107	<1			1	50	<1	55	—
	2	76	<1							
'92. 9. 17	1	112	0.01			1	52	1.4	62	—
	2	71	20			2			55	—
	3	75	0.6			3			45	—
	4					4			41	—
計			20.61		49			1,314.9		9,035
平均			6.87		16.3			219.2		1,003.9

大きな偏りが認められ、特に産卵後期は雌の割合が非常に高くなった。

'93年の産卵誘発結果を表5に示した。6月から10月までの5回の産卵誘発において、三倍体カキは供試した員の年齢に関係なく同様の放卵放精状況であった。誘発に反応した個体の累計では、三倍体雌は85個体中7個体(8.2%)、雄は13個体中わずか1個体(7.7%)であった。また、切開により卵や精子の確認できない個体が三倍体では35個体も見られ、それらも合わせた全誘発個体に対する放卵、放精個体の割合は二倍体カキに比べて明らかに低く、6.0%(133個体中8個体)であった。なお、同時に誘発した二倍体では、雌は33個体中11個体(33.3

%)、雄は16個体中10個体(62.5%)が反応し、'92年と同様に三倍体に比べて誘発率は高く、雌よりも雄の誘発率が高かった。また、雌雄の判別の出来ない個体は10月に1個体見られたのみであった。

三倍体カキ雌の誘発による放卵は'92年と同様に産卵期の後半に多かったが、二倍体カキは全期間を通して雌雄とも誘発個体がみられた。

放卵が認められたマガキの個体別の放卵量を表6に示した。三倍体カキの放卵数は1,850~14,900個/個体、平均4,830個体で、二倍体カキの平均放卵数の674,800個/個体の140分の1であった。二倍体、三倍体共に放卵数は'92年の結果より少なかった。

表5 三倍体カキの産卵誘発結果 (1993年)

月/日	3 N 誘発数/供試員									計	誘発率%	2 N 誘発数/供試員				計	誘発率%
	3年カキ			2年カキ			1年カキ					2年カキ					
	♀	♂	不明	♀	♂	不明	♀	♂	不明			♀	♂	不明			
6/4	0/4	0/1 (0/9)	0/4	0/4	0/0 (0/7)	0/3	0/4	0/2 (0/8)	0/2	0/24	0	0/4	3/8	0/0	3/12	25	
7/7	1/7	0/1 (1/9)	0/1	1/3	0/2 (1/8)	0/3	0/5	0/1 (0/7)	0/1	2/24	8.3	3/10	1/2	0/0	4/12	33	
8/3	0/7	0/0 (0/9)	0/2	0/5	0/3 (1/9)	0/1	1/10	0/0 (1/10)	0/0	1/28	3.6	5/8	0/0	0/0	5/8	62.5	
9/2	1/7	1/1 (2/10)	0/2	0/5	0/0 (0/9)	0/4	0/8	0/0 (0/10)	0/2	2/29	6.9	2/4	3/3	0/0	5/7	71.4	
10/5	1/6	0/0 (1/9)	0/3	1/5	0/1 (1/9)	0/3				3/28	10.7	1/4	3/3	0/1	4/8	50	
計	3/31	1/3	0/12	2/22	0/6	0/14	2/32	0/4	0/9	8/133		11/30	10/16	0/1	21/47		
誘発率	8.7% (4/46)			4.8% (2/42)			4.4% (2/45)			6.0%			44.7%				

() は、全供試個体中の誘発個体

表6 三倍体カキと二倍体カキの産卵数の比較(1993年)

月日	No.	3 N	2 N
'93. 7. 7	1	14,900(2 y)*	38,500
	2		153,000
	3		8,800
'93. 8. 3	1	2,600(1 y)	108,500
	2		402,500
'93. 9. 2	1		90,000
	2		4,350,000
'93. 10. 5	1	2,700(3 y)	247,000
	2	2,100(2 y)	
	3	1,850(1 y)	
計		24,150	5,398,300
平均産卵数		4,830	674,800

*: 1 y, 2 y, 3 y,それぞれ1年カキ, 2年カキ, 3年カキ

考 察

三倍体カキは昇温とセロトニンの刺激による誘発で放卵放精することが確かめられた。しかし、その量は二倍体カキに比べてきわめて少なく、肉眼で確認できるほどの放卵は、2年間の試験において123個体中僅かに2個体であった。しかし、僅かではあるが産卵誘発で三倍体カキが放卵放精することから、三倍体カキの実用化にあたって、これらの生態系に与える影響について慎重に検討する必要があるものと考え。特に三倍体カキの放卵が二倍体カキの精子と受精した場合の、その後の生残率や生残したカキの特性について調査する必要がある。また、今回の試験ではセロトニンにより、いわば強制的に産卵を促しており、自然の状態とはかなり異なる。昇温と精子添加や、二倍体カキが放卵放精する中に三倍

体カキを置いた場合など、より自然に近い条件下での三倍体カキの反応も確認する必要がある。

一方、三倍体カキの放精量はきわめて少なく、運動性を持った精子を有する個体がきわめて少ないことなどから環境に与える影響は少ないと考えられる。

三倍体カキの産卵に関しては、Allen et al⁴⁾や赤繁ら⁵⁾の報告がある。赤繁らは、本報と同様の方法で産卵誘発を行い、三倍体の雌が28.6%、雄が14.3%と高い誘発率を得ている。この場合、セロトニンによる誘発を3日間連続してかけた結果であり、二倍体との産卵量の比較においては、その0.13%であったと報告していることから、今回の結果とほぼ同じ程度の産卵誘発率であったものと推測された。

三倍体カキの性比が雌に偏る現象が2年とも認められた。このような性比の偏りは今までの養成試験²⁾の中でも明らかにしてきたが、松宮ら⁶⁾も宮城県の方石浦での三倍体カキの養成試験において同様の現象を報告していることから、三倍体カキの特徴の一つと考えられた。

要 約

1. サイトカラシンBで作出した三倍体カキを用い、セロトニンと加温刺激による産卵誘発を'92年と'93年の2年間にわたって試みた。
2. '92年の結果では、2年目の三倍体カキは産卵前期(5月)に雄のみ誘発し、産卵後期(8・9月)には雌のみ誘発したのに対し、二倍体カキは全期間を通して雌雄とも誘発個体がみられた。
3. 産卵誘発率は、三倍体雌が13%、雄が27%であった。また、雌雄を合わせた誘発率は11%であった。一方、

二倍体では、雌が25%、雄は70%となり、雄の誘発率が高かった。

4. 三倍体カキの放精数は $0.9 \sim 35 \times 10^7$ 個/個体、放卵数は100~200,000個/個体で、個体によるばらつきは大きく、二倍体に比べると平均放卵量は $1/32$ 、平均放精量は $1/62$ の量であった。
5. '93年の産卵誘発では、1, 2, 3年目の三倍体カキを供試した結果、貝の年齢に関係なく同様の放卵放精状況であった。
6. 産卵誘発率は三倍体雌が8.2%、雄が7.7%であった。また、雌雄を合わせた誘発率は6.0%であった。一方、二倍体では雌が33.3%、雄は62.5%となり、'92年度と同様に雄の誘発率が高かった。
7. 三倍体カキの放卵数は1,850~14,900個/個体、平均4,830個体で、二倍体カキの平均放卵数の674,800粒/個体の140分の1であった。二倍体、三倍体共に放卵数は'92年の結果より少なかった。
8. 三倍体カキは、僅かではあるが産卵誘発で放卵放精することから、これらの生態系に与える影響について慎重に検討する必要があると考えられた。

文 献

- 1) 赤繁 悟・伏見 徹, 1992: 広島県海域における三倍体マガキの成長, 生残とグリコーゲン含量, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 1063-1071
- 2) 植木範行・池田善平, 1991: 三倍体マガキの成長と成熟について, *岡山水試報*, **6**, 72-75
- 3) S. Akashige, Growth and Reproduction of Triploid Japanese Oyster in Hiroshima Bay, in "Advance in Invertebrate Reproduction 5" (Proc. 5th Intnatl. Congress Invertebrate Reproduction July 23 - 28, 1989, Nagoya), *Elisvier Science Publisher B. V.*, Amsterdam, 461-468
- 4) S. K. Allen, Jr., and S. L. Downing, 1990: Performance of Triploid Pacific Oysters, *Crassostera gigas*: Gametogenesis, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 1213-1222
- 5) 赤繁 悟・村上恭祥, 1992: 三倍体マガキにおける性成熟の特徴, *水産育種*, **16**, 41-51
- 6) 松谷武成・尾定 誠・高橋計介・屋合想一・酒井敬一・小野寺毅・森 勝義, 1993: 宮城県における三倍体マガキの配偶子形成と放卵放精, 平成5年度日本水産学会春期大会講演要旨, pp. 42