

# イワガキ種苗生産における生殖腺漏出液を用いた産卵誘発法

田中雅幸, 今西 裕一, 藤原正夢

Method for Inducing Spawning Using Gonadal Transudate of Iwagaki Oyster, *Crassostrea nippona*, in Seed Production

Masayuki Tanaka, Yuichi Imanishi and Masamu Fujiwara

The induction of the spawning of Iwagaki oyster, *Crassostrea nippona*, in seed production was investigated using the gonadal transudate of the species. In the test for gonadal transudate of both sexes and female oysters, the percentage occurrence of spawned and ejaculated transudate during 6 hours after induction was 37% and 43%, respectively. In the test for male gonadal transudate, spawning was not observed. The maximum number of spawned eggs within the first 15 minutes of spawning was 98 million. The occurrence of anormogenesis eggs and malformed larvae were lower than 5% in cases of spawning with more than 11 million eggs, and higher than 25% in cases of less than 1.9 million eggs. In the induction method for spawning using female gonadal transudate, the quality of spawned eggs can be assessed by examining the egg number during first 15 minutes after spawning. It was clear that this induction method was effective in order to obtain many eggs and use one female for spawning several times.

キーワード: イワガキ, 生殖腺漏出液, 産卵誘発, 放卵, 放精

イワガキ *Crassostrea nippona* は、生殖腺を切開して得られる卵と精子を用いた人為的受精が容易である(和田, 荒川, 1983) ことから、本種の種苗生産の採卵工程で切開法が利用されている(勢村ら, 2001; 岡部ら, 2004)。切開法によるイワガキの採卵では、殻内から取り出した軟体部の表面をメスで切開し、滲み出てきた卵または精子を採集して受精させるため、親貝は1回しか利用できない。また、採卵数を増やすために切開時の切り込みを深くしたり、卵を強制的に振り出すと、未成熟卵が多く放出されて正常な幼生の発生率が低下する(岡部ら, 2004)。イワガキの種苗生産では、成熟した良質な卵をできるだけ数多く確保する必要があるが、外見からは雌雄や成熟状況が判断できないため、多数の親貝が必要とされている。

京都府立海洋センターでは、京都府栗田湾で育成したイワガキを用いて種苗生産を行っており、その過程で、採卵準備のため水槽に収容していた多数の親貝が放卵放精し、水槽内が卵や精子で白濁する事例がしばしば観察されている。トリガイ *Fulvia mutica* の種苗生産では、産卵誘発中に、ある個体の放卵により海水が懸濁すると、その刺激によって他の個体が一斉に放精を開始する(藤原, 2001)。これらのことから、イワガキについても卵または精子が他個体の産卵誘発刺激となり、放卵放精するのではないかと考えられた。そこで、親貝を繰り返し種苗生産に使用することが可能な採卵手法として、本種の卵または精子を産卵誘発刺激に用いた採卵誘発法の有効

性を検討した。

## 材料と方法

**産卵誘発試験** イワガキの生殖腺を切開して漏出する卵または精子液(以下、生殖腺漏出液とする)による産卵誘発効果の有無を調べるため、2回の試験を行った。1回目の試験は、京都府立海洋センターの室内水槽で、2008年5月28日に実施した。試験に用いた貝は、当センターの海面養殖施設の水深6 m層で、1~3年間丸カゴ(直径70 cm×高さ20 cm, 網目3 cm)で育成した個体である。試験7日前から室内の長円形FRP水槽(幅150 cm×長さ199 cm×深さ89 cm, 有効水量2,000 l)に収容し、試験当日まで加温海水(平均水温 $24.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$ )を掛け流して飼育した(田中ら, 2009)。採卵誘発試験にはポリプロピレン製容器(縦123 cm×横77 cm×深さ21 cm, 以下、コンテナとする)を用い、平均殻高(標準偏差)  $136 \pm 13$  mm, 平均全重量  $472 \pm 120$  gのイワガキ51個体を収容し、 $25^\circ\text{C}$ に保った加温海水を約36 l/hの流量でコンテナ内に掛け流した。産卵誘発刺激には殻高139 mm, 全重量504 gの雌および殻高131 mm, 全重量428 gの雄の生殖腺を用いた。殻内から取り出した両個体の軟体部表面中央部の5箇所を、メスで約7 mm間隔に切開(深さ約5 mm, 長さ約30 mm)し、卵および精子が漏出した状態でコンテナ内に入れて産卵誘発刺激とした(以下、雌雄区とする)。試験開始6時間後および24時間後に放卵放精した個体を計数し、供試貝総数に占める割

**Table 1** Test results on inducing spawning of *Crassostrea nippona*

Experiment	Group	Date	Number of individuals	Shell height (mm)	Weight of whole body (g)	Spawning rate (%)	
						6 h after <sup>※</sup>	24 h after <sup>※</sup>
1	Male and female	28 May, 2008	51	136±13	472±120	37	88
2	Female	23 Jun, 2008	35	130±27	485±267	43	-
	Male		31	141±21	600±291	0	-

※Elapsed time after induction.

合を求め、放卵放精率とした。

2回目の試験は、2008年6月23日に実施した。供試貝の履歴および試験の方法は1回目と同様で、産卵誘発刺激には雌の生殖腺を用いた区（以下、雌区とする）と、雄の生殖腺を用いた区（以下、雄区とする）を設定した。雌区および雄区の供試貝は、それぞれ平均殻高130±27mm、平均全重量485±267gの35個体、平均殻高141±21mm、平均全重量600±291gの31個体であった。産卵誘発刺激には雌区では、殻高137mm、全重量512g、雄区では殻高140mm、全重量556gの個体の生殖腺を用いた。試験開始6時間以内に放卵放精した個体を計数し、放卵放精率を求めた。また、雌区の試験において、産卵誘発開始から供試貝が放卵放精するまでの経過時間を記録し、30分経過ごとの雌雄別放卵放精個体数を調べた。なお、卵と精子の区別は、放出された配偶子の一部をピペットで採集し、検鏡によって行った。

**卵質評価** 産卵誘発法によって得られた卵の卵質評価のため、個体ごとの放卵数と媒精24時間後の卵の発生および幼生のふ化状況を調べた。雌雄区で放卵を開始した11個体を直ちにコンテナから取り上げ、海水を満たしたポリカーボネイト製30l水槽に1個体ずつ収容した。イワガキには、放卵開始から5～10分間で少数を放卵し、その後全く放卵しない個体と、放卵開始から30分以上継続して多数を放卵する個体が観察される（未発表）。両者は、放卵開始から約15分間の放卵数で識別することができる。そこで、水槽内で15分間放卵させた後、供試貝を水槽から取り出し、放卵数を計数した。放卵数は、水槽内の海水と卵を十分に攪拌して無作為に2mlを抽出し、顕微鏡下で卵数を計数した後、水槽内の水量を乗じて算出した。コンテナ内で放精を開始した雄のうち、放精量が多い5個体を前述と同規格の1l水槽に収容して放精させ、得られた精子を媒精に用いた。媒精後の卵は直ちに200mlビーカーに約1万粒ずつ収容し、約23℃に保ったインキュベーター（三洋電機製MIR-552）内で一昼夜静置してふ化させた。各ビーカー当たり204～372検体を用いて顕微鏡下で正常形態のD型幼生と異常卵および異常形態

の幼生を計数した。全体に占める異常卵および異常形態の幼生の割合を異常発生率とし、次式により求めた。なお、異常卵とは、未受精卵、発生停止卵および異常卵割であった。

$$\text{異常発生率} = (\text{異常卵数} + \text{異常形態の幼生数}) / (\text{異常卵数} + \text{異常形態の幼生数} + \text{正常形態のD型幼生数}) \times 100$$

## 結果

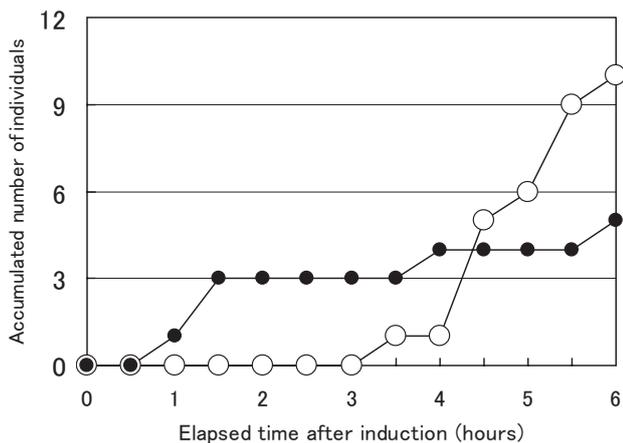
**産卵誘発試験** 雌雄区では、生殖腺漏出液の添加刺激により、産卵誘発開始から6時間後までに、51個体中19個体が放卵放精（放卵放精率37%）した（Table 1）。さらに、24時間後までに放卵放精した個体は合計45個体であり、放卵放精率は88%と高かった。雌区では、産卵誘発開始から6時間後までに、35個体中15個体が放卵放精（放卵放精率43%）したが、雄区ではいずれの個体も放卵放精しなかった（Table 1）。

**産卵誘発反応時間** 産卵誘発開始後に放卵放精した雌雄別の個体数の推移をFig.1に示した。雄では産卵誘発開始1時間後に1個体の放精が観察された。その後、1.5時間後に2個体、4時間後および6時間後にさらに1個体ずつが放精し、合計5個体で放精が観察された。雌は誘発開始後3時間は放卵しなかったが、3.5時間後に1個体が放卵した。その後、4.5時間後に4個体、5時間後1個体、5.5時間後に3個体、6時間後に1個体が放卵して、合計10個体が放卵した。

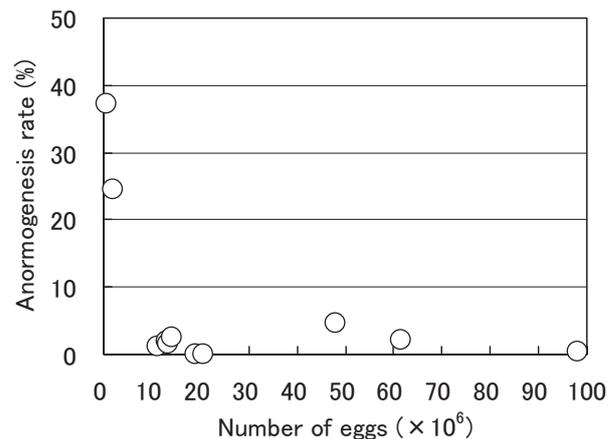
**卵質評価** 卵質評価に供した11個体の雌が15分間に放出した卵数は1個体当たり50～9,800万粒であり、個体による差が大きかった（Fig. 2）。11個体中9個体は1,100万粒以上の多数の卵を放出した。放卵数と異常発生率との関係をFig.2に示した。放卵数が50万および190万粒と少ない場合の異常発生率は、37および25%と高かった。一方、放卵数が1,100万粒以上の場合の異常発生率は0～5%と著しく低かった。

## 考察

二枚貝類の産卵誘発法として、今までに多くの方



**Fig. 1** Changes in number of individuals spawning and ejaculating for 6 hours after induction. Open and closed circles indicate females and males, respectively.



**Fig. 2** Relationship between the number of eggs spawned in 15 minutes and anormogenesis rate in experiment 2.

法が検討されている。主な誘発刺激法としては、温度変化による刺激やアンモニア海水等の化学物質による刺激、紫外線照射海水による刺激、さらには生殖腺内容物による刺激等がある(浮, 菊池, 1982)。しかし、有効な産卵誘発法は種によって異なる(森, 1989)。本試験では、雌雄および雌の生殖腺漏出液で放卵放精が認められ、雄の生殖腺漏出液では放卵放精が認められなかったことから (Table 1)、産卵誘発刺激には雌の生殖腺漏出液が有効であることが明らかとなった。

また、本試験では、15分間で1,100万粒以上を放卵した個体が8割以上あり、その中には約1億粒を放卵した個体もあった (Fig. 2)。これらの個体は、その後も継続して30分以上放卵していたことから、最終的には1個体が数千万～数億粒を放卵するのではないかと考えられた。これまでの切開法では、親貝1個体当たり約350万粒(京都府立海洋センター, 2005)の採卵数であったが、今回の生殖腺漏出液による産卵誘発法を用いれば、親貝1個体当たりの採卵数は、切開法で得られる採卵数の十～数百倍となり、極めて効率的に採卵できることが明らかとなった。

供試貝の放卵数と異常発生率との関係から、多数放卵した個体では異常発生率は低く、放卵数が極端に少ない個体では異常発生率が高い現象が見られた (Fig. 2)。このことは、放卵数を指標として、卵質評価が可能であることを示している。イタヤガイ *Pecten albicans* の種苗生産では、卵のふ化率が低いのは、採卵に供した親貝の成熟度が低く、卵質に問題があることが原因と考えられている(西村, 1981)。本研究においても、放卵数が少なかった個体では、成熟卵が少なく、産卵誘発刺激により未成熟卵が放卵されたためではないかと推察される。採卵時の卵質に

ついては、その後の幼生の生残率を左右するため、卵質の評価は種苗生産上、極めて重要な技術である。本誘発法を用いると、15分間の放卵数から容易に卵質評価ができることも大きな利点である。

以上のことから、イワガキの雌の生殖腺漏出液を用いた産卵誘発法は種苗生産の採卵法として優れた方法であることがわかった。なお、産卵誘発刺激に対する雌雄の反応は、雄の放精が1～1.5時間後、雌の放卵が3.5時間後から開始し、4時間後以降に多くなったことから (Fig. 1)、計画的な種苗生産を行うには、雌雄の反応時間の違いを考慮して誘発開始時間を設定する必要がある。

## 文 献

- 藤原正夢. 2001. トリガイの産卵行動と自家受精の可能性. 京都海洋セ研報, **23**: 10-14.
- 京都府立海洋センター. 2005. 平成16年度養殖水産物ブランド化推進技術開発事業報告書(イワガキの種苗量産・養殖技術開発), 平成16年度報告および平成12～16年度総括報告. 1-28.
- 森 勝義. 1989. 二枚貝の成熟, 発生, 成長とその制御「水族繁殖学」(隆島史夫・羽生功編). 327-363. 緑書房, 東京.
- 西村守央. 1981. イタヤガイ幼生の飼育および摂餌に関するよび実験. 三重浜島水試年報, 昭和54年度: 121-126.
- 岡部三雄, 藤原正夢, 田中雅幸. 2004. イワガキ種苗生産における採卵方法の検討. 京都海洋セ研報, **26**: 30-33.
- 勢村 均, 石田健次, 中上光, 林育夫. 2001. 島根県隠岐島島前湾における垂下養殖イワガキの成長. VENUS, **60**, 93-102.
- 田中雅幸, 今西裕一, 藤原正夢. 2009. イワガキ早期種

- 苗生産のための親貝加温飼育の有効性(短報).  
京都海洋セ研報, **31**: 15-17.
- 浮 永久, 菊池省吾. 1982. 貝類. 「魚介類の成熟・産卵の制御」(日本水産学会編), 水産学シリーズ, **41**:64-79. 恒星社厚生閣, 東京.
- 和田清治, 荒川好満. 1983. 無脊椎動物の発生 上  
団勝麿・関口晃一・安藤裕・渡辺浩共編, 307-342. 培風館.