

トリガイにおける第一極体あるいは第二極体放出阻止による人為三倍体の作出について (短報)

岩 尾 敦 志
藤 原 正 夢
西 広 富 夫
京都市水産事務所



筆者らは、1987年より不妊化にともなう大型化と産卵後のへい死の防止を目的として、三倍体トリガイ、*Fulvia mutica*の作出をおこなってきた(岩尾ら、1989)。作出の方法は、魚類等で一般に用いられている低温処理による第二極体放出阻止である。二枚貝類の場合、魚類とは異なり第一極体の放出は受精後におこなわれる。そのため、筆者らはこれまで第二極体放出阻止のための低温処理を、第一極体が放出されるのを顕微鏡下で確認した後に開始してきた(岩尾ら、1989)。しかし、大量の卵を処理する場合、極くわずかな受精時間のずれ等により、各卵の間で第一極体の放出に差が生じてくる。そのため、第一極体放出を確認した直後の処理群の中には第二極体放出阻止型のものに混じって第一極体放出阻止型のもが生じてくる可能性がある。そこで、媒精後処理開始までの時間を変える事により第一極体放出阻止型の三倍体と第二極体放出阻止型の三倍体とを分離して作出することが可能であるか否かを検討した。

1988年秋生まれの人工種苗を親貝とし、1990年6月に試験をおこなった。親貝の産卵誘発は紫外線照射海水法でおこない、処理は低温処理でおこなった。処理時間はこれまでの知見より40分間とした。試験区は、媒精後からの処理開始時間を、10、15、20、25、30、35、45、55分の8段階に分け、これに对照区を加えた計9区とした。低温処理は、同一卵群をほぼ均等に9区に分配し、あらかじめ氷、食塩、海水を入れたクーラーボックスの中で十分に冷却しておいた5lビーカー内の海水中に入れる事によっておこなった。低温処理中の水温は、 $-0.3\sim 3.5^{\circ}\text{C}$ であった。処理後の卵は、常温(20.2°C)の海水を掛け流してある30l透明ポリカーボネイト製水槽内に浮かべた $20\mu\text{m}$ のネット内に移す事により、直ちに常温に戻した。その後は従来の種苗生産時と同様に洗卵し、飼育槽に收容した。对照区のものも低温処理以外は同様な処理をおこなった。浮遊幼生の飼育には30l黒色ポリエチレン製水槽を用い、收容卵数は各区とも14.4万粒とした。稚貝までの飼育は、藤原ほか(1988)の方法に準じた。

三倍体の判定は、顕微蛍光測光法(KOMARU et al., 1988)を用いて以下のように求めた。判定に用いた幼生は採卵翌日のD型幼生である。まず、あらかじめカルノア液(酢酸:エチルアルコール=1:3)にて固定しておいた数十から数百個体の幼生を、2~3mlの50%酢酸と共にホモジナイズし、細胞浮遊液を作る。同一スライドガラス上に低温処理区と对照区の細胞浮遊液を塗抹し、約 40°C のホットプレート上で乾燥させ標本とした。次に、顕微蛍光測光装置により对照区のトリガイ($2n$)の体細胞30~40個の蛍光値と低温処理を施した浮遊幼生の細胞100~130個の

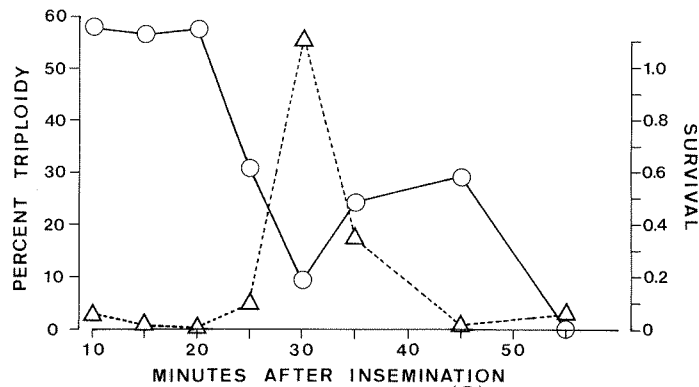


Fig. 1. Percentage of triploidy at 24 hours (○) and survival at 21 days (△) of different groups of larvae and young cockles. Groups of eggs were exposed to a 40 min cold shock at different times after insemination. Triploidy was estimated by microfluorometry of larvae cells. Survival was the ratio of young cockles at 21 days to total number of eggs tested.

蛍光値を測定した。そして、低温処理を施した浮遊幼生の細胞中、対照区の細胞の蛍光値を平均したものの1.3~1.7倍の値を示したものを三倍体細胞であるとした。三倍体化率は、三倍体の細胞数/全測定細胞数×100で求めた。

処理翌日の浮遊幼生の三倍体化率は、媒精後10分より処理を開始した区（以後10分区、15分以後も同様に示す）で55.7%、15分区で56.6%、20分区で57.4%、25分区で30.8%、30分区で9.6%、35分区で24.2%、45分区で29.1%、55分区で0%であった。また、低温処理時から殻長約1mmの出し時までの生存率は、10分区で0.06%、15分区で0.02%、20分区で0.01%、25分区で0.10%、30分区で1.11%、35分区で0.35%、45分区で0.02%、55分区で0.06%であった（Fig. 1）。ちなみに、この時対照区の生残率は0.24%と低かったが、この原因については不明である。

媒精後30分に三倍体化率の谷（三倍体化率がその前後に処理を開始したもの比べて極端に低い所）が認められ、この時の生残率が極端に良い事からこの時処理した媒精卵はほとんど処理の効果がなかったと考えられる。この時、第一極体の放出は受精後30分から35分の間にはほぼ終了している事が観察されたことから、媒精後30分前後が第一極体放出終了時から第二極体放出開始時までの間に当たり、極体放出阻止がほとんどおこなわれなかったのではないかと推察された。したがって、三倍体化率の谷を境にそれ以前に処理を開始したものは第一極体放出阻止型、それ以降に処理を開始したものは第二極体放出阻止型であると推察され、処理開始時間を変える事により両型を分離して作出す

ることが可能であると考えられた。ただし、顕微蛍光測定法による幼生期での三倍体化率の推定における精度を考慮すると、稚貝での倍数性の確認を個別におこなう等して今回得られた結果を再確認する事が今後の課題として考えられる。

第一極体放出阻止型の三倍体と第二極体放出阻止型の三倍体とでは、その特性に差があるという報告がいくつかされている。たとえば、バージニアガキの場合は前者では明らかに二倍体より殻高の成長が良かったが後者では二倍体との有意差はなかったとされている（STANLEY et al., 1984）、またエゾアワビでは高水温耐性が前者の場合二倍体と比べて高く、後者の場合は二倍体よりも低かったとしている（FUJINO, 1987）。そして、このどちらかが第一極体放出阻止型の三倍体が優れている事の理由として異型接合度の差をあげている。

トリガイの場合も第一極体放出阻止型と第二極体放出阻止型とでその特性の違いがある可能性が予想される。今後は、さらに三倍体作出率の向上を目的とした作出条件の検討と共に、第一極体放出阻止型と第二極体放出阻止型との特性の違いについても検討したい。

最後に、本報告をまとめるにあたり、丁寧なご校閲を賜った水産庁養殖研究所遺伝育種部遺伝研究室室長 和田克彦氏に深謝の意を表す。

引用文献

藤原正夢・西広富夫. 1988. トリガイの種苗生産技術について. 養殖, 25(6): 109-113.

岩尾敦志・藤原正夢・西広富夫. 1989. 低温処理によるトリガイの三倍体作出 (短報). 京都海洋センター研報, **12**: 61-62.

FUJINO, K., OKUMURA, S. and INAYOSHI, H. 1987. Temperature Tolerance Differences among Normal Diploid and Triploid pacific Abalones. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53** (1): 15-21.

KOMARU, A., UCHIMURA, Y., IYAMA, H. and WADA, K.T.

1988. Detection of Induced Triploid Scallop, *Chlamys nobilis*, by DNA Microfluorometry with DAPI Staining. *Aquaculture*, **69**: 201-209.

STANLEY, J.G., HIDU, H. and ALLEN, S.K. JR. 1984. Growth of American Oysters Increased by Polyploidy Induced by Blocking Meiosis I but not Meiosis II. *Aquaculture*, **37**: 147-155.