

サザエ卵の受精条件

鳥羽光晴

はじめに

サザエの種苗生産については多くの報告があり^{1, 2, 3, 4, 5)}その大筋としては同じ原始腹足類に属するアワビの種苗生産技術を改変し応用できる見通しがある。しかし、計画的に安定して大量種苗生産を行うためには、親貝養成、産卵誘発、浮遊幼生および付着稚貝の飼育管理等に関して、さらに細部にわたる知見が必要である。特に採卵・採苗については、アワビの場合のようにシステム化された技術^{6, 7)}の開発が望まれており、そのためには基礎的要素の一つとしてサザエの初期発生に関する生物学的知見の把握が不可欠である。著者はそれらの中から受精条件について、特に、1 受精時の精子濃度、2 水温と放卵後の経過時間による受精率の変化、について検討したので報告する。

今回の実験を行うにあたり、終始精力的な協力を惜しまなかった東京水産大学大学院生山崎明人君と江見漁協鈴木淳一君に深謝いたします。

1 受精時の精子濃度と受精率

材料および方法

親貝は1982年8月6日千葉県千倉町白子地先で潜水漁獲された殻高76~106mm, 体重107~260g のサザエ60個体(雌30個体, 雄30個体)を用いた。親貝は産卵誘発までの間、砂浜過海水を流水にしたコンクリート水槽(2.5×1.0×0.9m)中で、アラメおよびカジメを与えて飼育した。飼育期間中の水温は18.5℃~28.4℃であった。産卵誘発に前もって、8月9日にKClによる雌雄の判別を行った。

産卵誘発は、8月11日に干出刺激後紫外線照射海水を用いて温度刺激を加える方法により行った。誘発経

過は図1.に示したとおりである。約1時間の干出の後(飼育水温18.5℃, 気温29.0℃), 紫外線照射量0.26 Wh/ℓ^{*}の砂浜過海水流水中(19.4℃)に雌雄別々に収容し、約30分間流水を保ち、その後50分間止水とした。そして25.2℃に加温した紫外線照射海水を用いて流水にし、30分後に水槽の水温を24.1℃とした。誘発刺激に反応して放精、放卵した個体は雄10個体、雌5個体であったが、そのうち雌雄それぞれ3個体は放精、放卵量がわずかであったため実験材料から除外した。

濃厚な精子海水を得るため、放精を始めた個体のうち7個体を別の容器に移し、受精時まで精子を放出させた。放出された卵はすみやかにサイフォンで別の容器に分取した。その際親貝2個体分の卵を混合した。

上記の精子海水を紫外線照射海水で、表1に示すように5倍段階希釈し、直径50mm×高さ85mmのスチロ

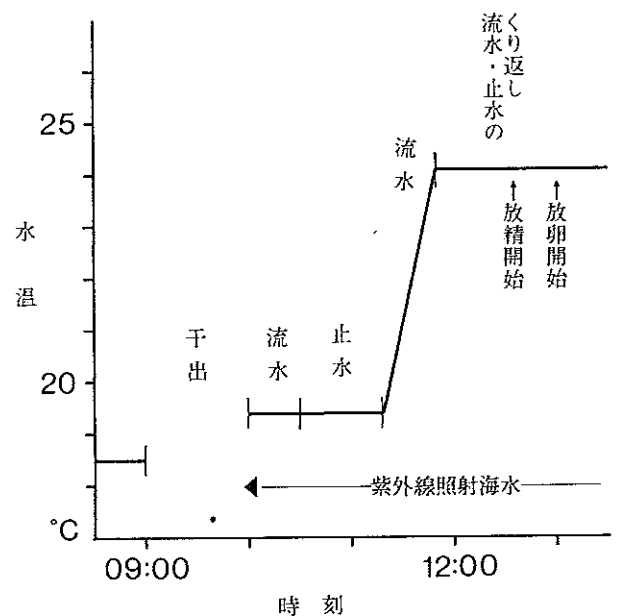


図1 産卵誘発経過 1

* 紫外線照射量の算出は菊地ら⁸⁾によった。

$$\text{紫外線照射量 (Wh/ℓ)} = \frac{W(w) \times C(m/h)}{A(ℓ/h)}$$

W: 殺菌灯の定格出力。

C: 公称殺菌能力。枯草菌を99.9%以上殺菌できる流量。

A: 流水量。

ール製管ピンに100mlずつ分注して精子海水希釈列を2列用意した。この希釈列中に、卵をそれぞれ約1,800~2,000粒投入し、そのまま3分間静置して受精させた。受精後、ミューラーガーゼ（オープニング64 μ m \times 64 μ m, NXX 25）を用い紫外線照射海水で静かに洗卵して、約21 $^{\circ}$ Cの室温に放置しふ卵した。

約2時間後、一部の卵を検鏡し、卵割卵と非卵割卵を計数して、卵割卵数 \times 100/総計数卵数を受精率とした。精子濃度は希釈前の精子海水を1%ホルマリンで固定後、Thomaの血球計数盤で算定した。

結果および考察

結果は表1 および図2 に示した。精子濃度の最も高い $3,800 \times 10^3$ 精子/mlの場合にはすべての卵が、また 760×10^3 精子/mlの場合には一部の卵が卵膜の剝離脱落あるいは極端な凹凸を見せ異常卵割していた。 152×10^3 精子/ml以下の濃度には異常卵割は認められなかった。外見的に正常な卵割をして、比較的受精率が高かったのは 152×10^3 精子/mlおよび 30.4×10^3 精子/mlの場合であり、その受精率は89~62%であった。 6.08×10^3 精子/ml以下の濃度では受精率は26%以下と急激に低下した。

アワビでは以前から言われているように、受精時の精子濃度が高い場合にはいわゆる多精現象を起して異常卵割するものが多く、逆に低い場合には未受精卵が多く満足する受精率が得られない。今回サザエにおいてもアワビと同様の現象が認められたことにより、受精に際してはアワビの場合のように精子濃度を考慮する必要があると考えられる。著者の実験からは、サザエ卵の受精時の精子濃度としては $30 \times 10^3 \sim 150 \times 10^3$ 精子/ml程度が好適であろうと思われる。

菊地ら⁹⁾によると、エゾアワビでは精子濃度193万個/ml以上では卵に対し有害な作用が現れるので190~10万個/ml程度の精子濃度が受精には望ましいと言われている。また神奈川水試¹⁰⁾によるとクロアワビでは精子濃度が1,730万個/ml以上では異常な卵割が認められ、173万個/ml以下では正常な発生が見られたとしている。これらの値は今回のサザエの場合と比べると、異常卵割が認められる濃度に2倍以上の差があり、また正常発生をもたらす濃度も高い。しかし、受精率には精子濃度の他に、水温、受精時間、その後の洗卵など受精操作上のちがいが微妙に影響すると思われ、これらの値の差が直ちに種のちがいによるものであるとはいにくい。

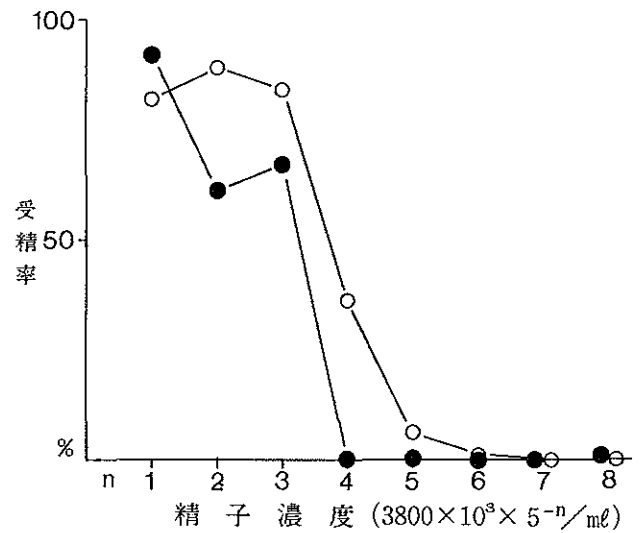


図2 精子濃度と受精率

●希釈列1 ○希釈列2

表1 精子濃度と受精率

希釈段階	希釈倍数	精子濃度 $\times 10^3$ 精子/ml	希釈列 1			希釈列 2		
			卵割卵数	非卵割卵数	受精率 %	卵割卵数	非卵割卵数	受精率 %
1	$\times 5^0$	3,800	—	—	—	—	—	
2	5^1	760	147	13	92	155	34	
3	5^2	152	108	70	61	126	16	
4	5^3	30.4	108	54	67	123	23	
5	5^4	6.08	0	175	0	38	106	
6	5^5	1.22	0	294	0	7	110	
7	5^6	0.24	0	149	0	1	148	
8	5^7	0.049	0	138	0	0	165	
9	5^8	0.009	1	155	1	0	340	

2 水温と放卵後の受精能力持続時間

材料および方法

親貝は1982年8月に千葉県千倉町白子地先で潜水漁獲された殻高74~106mm, 体重100~250g のサザエ108個体(雌72個体, 雄38個体)を用いた。水試に搬入後, 砂浜過海水流水中で実験までの間約6週間アラメおよびカジメを与えて飼育した。飼育中の水温は18.5℃~26.7℃であった。実験前にすべての個体についてKClによる雌雄の判別を行った。

産卵誘発は9月16日に, 干出, 紫外線照射海水, 温度の各刺激を併用して行った。産卵誘発経過は図3に示したとおりである。45分間の干出の後(飼育水温22.6℃), 紫外線照射量0.33Wh/lの海水に収容し, 30分間流水を保った。35分間の止水の後, 27.0℃の紫外線照射海水を流水にして, 約20分後に水温を25.5℃まで上昇させた。誘発刺激に反応して放精, 放卵したものは雄3個体, 雌10個体であった。

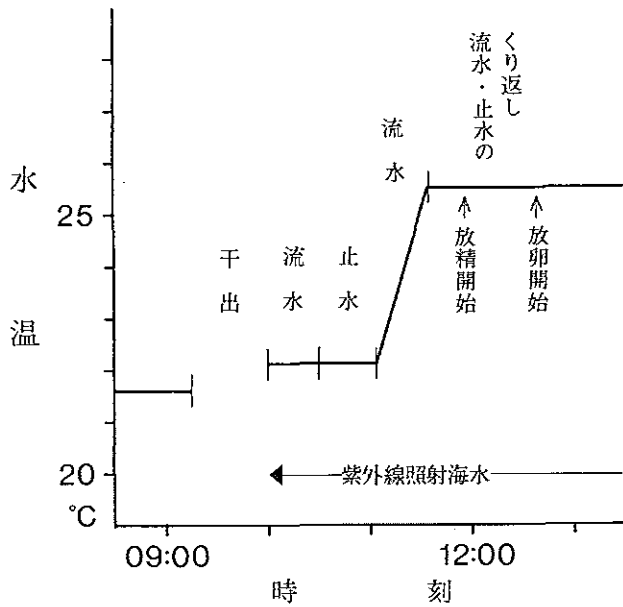


図3 産卵誘発経過2

設定温度は図4に示したように4段階を設け, それぞれ $14 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $16 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ とした。放出直後の精子海水を用いて, 100×10^3 精子/mlの受精用精子海水を調整し, それを150mlずつビーカーに分注した後, 直ちに上記の温度に設定した恒温槽中に保持し, すみやかに設定温度に達するようにした。卵は精子と同様に放出直後のものを海水約100mlとともに分取し, 恒温槽中に保持した。

受精は放卵後40分, 70分, 130分, 190分, 310分を経過した時点でそれぞれの設定温度で行った。受精には直径25mm×高さ50mmのスチロール製管ビンを用いた。恒温槽中の精子海水を約20ml管ビンに取り, それに同温度に保持した卵を投入し, 3分間静置して受精させた。そしてミューラーガーゼを用い, 同温度の紫外線照射海水で洗卵した。洗卵後はそれぞれの設定温度でふ卵し, 大部分の卵が第三卵割以上に達してから, 受精率を計測した。

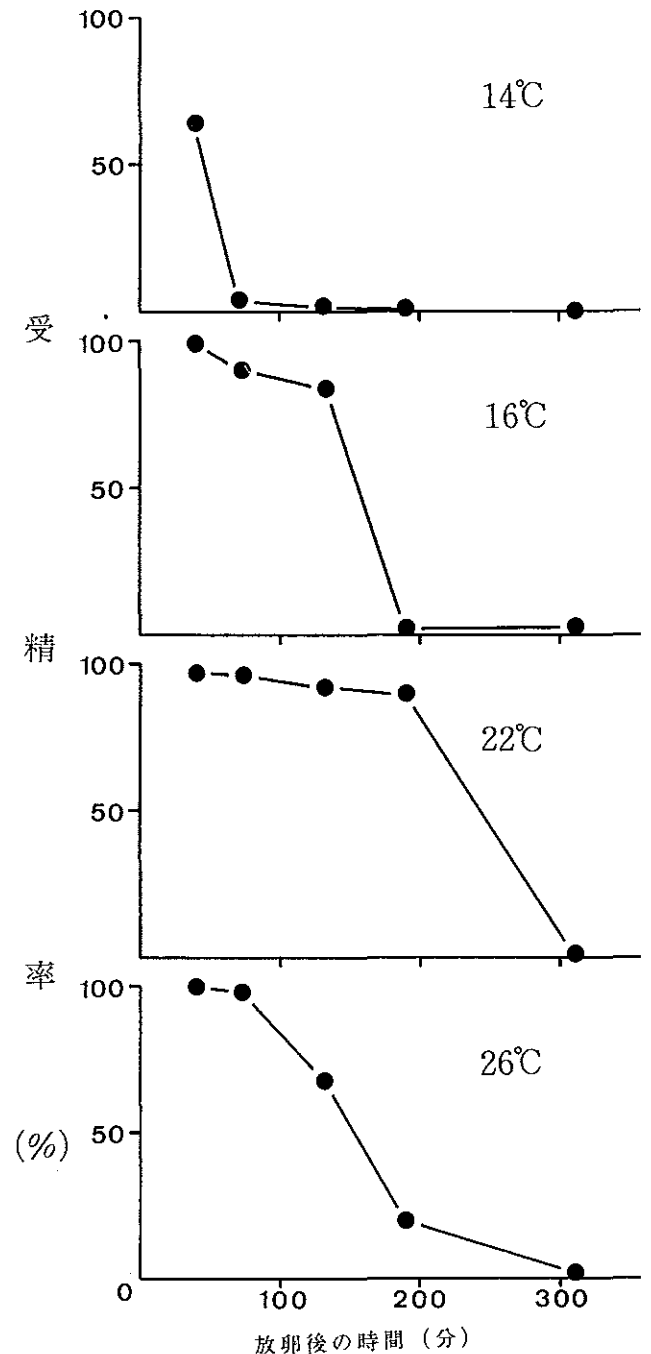


図4 4段階の設定温度における放卵後の経過時間と受精率

結果および考察

結果は図4に示した。14℃の場合には受精率は急激に低下し、放卵後70分で4%となり、その後は受精卵はほとんど見られなかった。26℃の場合は70分後まで90%以上の受精率を示したが、その後130分で68%、190分で20%と低下した。16℃の場合130分後まで80%以上の受精率を保ったものの、190分後には2%と急落した。22℃の場合190分後まで80%以上と最も長時間高い受精率を維持したが、310分後には受精した卵はほとんどなかった。なお、この他に放卵10分後に放卵時の水温(約25℃)で受精させたが、その時の受精率は99%であった。種苗生産の場合を考えると、受精率は100%であることが望ましいが、一応の目安を95%以上とすると、良好な受精率が得られるのは16℃の場合放卵後40分程度まで、22℃および26℃の場合は70分程度までということになる。

放精放卵後、時間の経過とともに受精率が低下する現象は、精子あるいは卵のいずれが受精能力を失った結果によるのかは不明である。東京都水試¹³⁾はサザエ精子の低温保存に関する実験を行い、放精直後のサザエ精子を5℃に保存したところ、約50時間後においても10~20%の受精率を示したとしており、著者の実験で最も低い設定温度である14℃の場合、最も急激に受精率が低下したことと対比させると興味深い。

菊地ら¹²⁾はエゾアワビでは、13.6℃および17.3℃の場合、放卵後3時間10分までと最も長時間高い受精率を維持したが、22.7℃以上の場合は1時間10分までしか高い受精率は見られなかったと報告している。著者の実験では設定温度が4段階のみであったため、サザエ卵および精子の受精能力を最も長時間維持する水温について正確に述べることはできないが、上記の結果から見てもサザエはエゾアワビに比べいくぶん高い温度が好適かと思われる。サザエの産卵期はごく大まかに水温が20~25℃の間にある時期^{13, 14)}と考えられるのに対し、エゾアワビの産卵期は水温が20℃前後かあるいはそれ以下の時期に一致すると言われ^{15, 16, 17)}、それぞれの産卵期の水温に差があるように思われる。このような産卵期の水温の差が、サザエとエゾアワビの受精能力持続時間に影響する水温に反映しているとも考えられる。

今回の実験では、サザエの発生過程の中でも受精(=卵割)というごく初期の変化を指標として、放卵後受精までの時間がサザエに与える影響について考えたが、その後のふ化、変態などという一連の発生過程の

中で現れる影響についても今後考慮されるべきだろう。

要 約

- 1) 人為的に放出させたサザエの卵および精子を用い、種苗生産に応用すべく、その好適な受精条件を検討した。
- 2) サザエ卵の受精時の精子濃度としては、 $30 \times 10^3 \sim 150 \times 10^3$ 精子/μl程度が好適であろうと思われた。
- 3) 高い受精率を得るためには、16℃の場合放卵後約40分程度までに、22℃および26℃の場合には放卵後約130分程度までに受精操作を行うことが必要と思われた。

文 献

- 1) 松岡祐輔(1975): サザエの種苗生産研究(1) 産卵誘発と産卵期について. 京都府水産試験場報告, 132 - 139.
- 2) 遠山忠次(1980): サザエの種苗生産研究. OCEAN AGE, February, 59 - 66.
- 3) 吉田昭喜知・土屋文人・金山筆子・大久保久直(1969): サザエ人工採苗育成試験. 昭和43年度新潟県水産試験場事業報告, 469 - 480.
- 4) 翠川忠康(1982): サザエ種苗生産試験. 和歌山県水産増殖試験場報告, 13, 45 - 48.
- 5) ———(1983): サザエ種苗生産試験. 和歌山県水産増殖試験場報告, 14, 69 - 74.
- 6) 関 哲夫(1978): アワビ種苗生産の考え方. 増殖技術の基礎と理論, 水産学シリーズ, 23, 57 - 67.
- 7) ———(1982): エゾアワビ種苗生産技術の現状と問題点. さいばい, 24, 11 - 13.
- 8) 菊地省吾・浮 永久(1974a): アワビ属の採卵技術に関する研究, 第2報 紫外線照射海水の産卵誘発効果. 東北区水産研究所研究報告, 33, 79 - 86.
- 9) ———(1974b): 同上, 第3報 精虫濃度と受精率の関係. 東北区水産研究所研究報告, 34, 67 - 71.
- 10) 神奈川県水産試験場(1967): アワビ種苗生産試験. 昭和41年度神奈川県水産試験場業務概要, 資料(92), 36 - 39.
- 11) 東京都水産試験場(1975): 伊豆諸島における貝類増殖に関する研究, サザエ, 27 - 39.
- 12) 菊地省吾・浮 永久(1974c): アワビ属の採卵技術に関する研究, 第4報 生殖素の受精能力持続時間と温度との関係. 東北区水産研究所研究報告, 34, 73 - 75.

- 13) Yong GIL RHO (1976) : Studies on the seedlings production of the Topshell, *Turbo cornutus* Solander Bull. Fish. Res. Devel. Agen. , Pusan, 15, 21 - 38.
- 14) 坂井英世 (1981) : 佐渡真野湾産サザエの成熟期について, 新潟県栽培漁業センター業務・研究報告, 4, 135 - 138.
- 15) 八幡剛浩・高野和則 (1970) : エゾアワビの生殖巣成熟について, 第1報 松前・礼文両地における生殖巣成熟の比較. 北海道大学水産彙報, 21(3), 193 - 199.
- 16) 富田恭司 (1967) : 礼文島産エゾアワビの卵巣の成熟. 北海道立水産試験場報告, 7, 1 - 7.
- 17) Mugiya, Y., J. Kobayashi, N. Nishimura and S. Motoya (1980) : Gonadal Maturity on the Abalone, *Haliotis discus hannai* at Taisei, Hokkaido. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 31(4), 306 - 313.