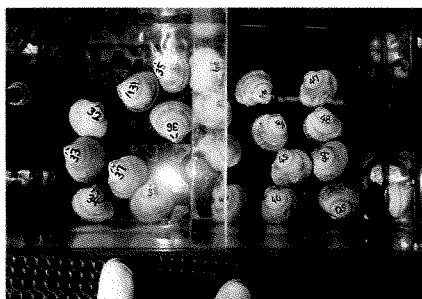


三倍体トリガイの放出卵および二倍体放出精子との交雑幼生の倍数性について(短報)

岩尾 敦 志
 藤原 正 夢
 西 広 富 夫
 京都府水産事務所



1989年7月に低温処理により作出された三倍体トリガイ, *Fulvia mutica* (9個体) を用いて常法(藤原・西広, 1988)で産卵誘発をおこなったところ, その全てで放精は認められなかったものの, 8個体で放卵が認められた。二倍体トリガイを用いた通常の産卵誘発では, 放精のみをおこなう事はよく認められるが, 放卵のみをおこなう事は観察されていない。そこで, この三倍体トリガイ放出卵の特性について調べたところ若干の知見を得る事ができたのでここに報告する。

産卵誘発に用いた三倍体トリガイは, 顕微蛍光測光法(KOMARU et al., 1988)による体細胞核 DNA 量の相対的比較により三倍体である事を確認した, 第二極体放出阻止型のものである。

今回, 検討した項目は, 三倍体放出卵の倍数性およびこの卵に二倍体の放出精子を交配する事によって得られた幼生(交雑幼生)の倍数性の判定である。これら倍数性の判定も顕微蛍光測光法によりおこなった。

DNA 量を比較するための標本の作成には, 放卵直後および採卵翌日にカルノア液(酢酸:エチルアルコール=1:3)で固定後, -27°C の冷凍庫中にて保存しておいた卵およびD型幼生を用いた。卵は細胞を破壊する事無くそのままスライドガラス上に塗抹し, 幼生は数十から数百個体を2~3 ml の50%酢酸と共にホモジナイズした後, 細胞浮遊液を塗抹した。卵の場合は二倍体放出卵を, 幼生の場合は通常(二倍体)幼生の細胞と二倍体の放出精子とを, 対照

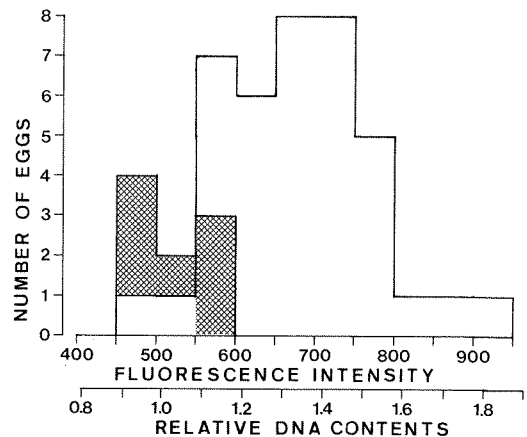


Fig. 1. Fluorescence intensity and relative DNA value of eggs from diploid (shaded bars) and triploid (open bars) cockles. Fluorescence intensity was measured by microfluorometry using the stain DAPI. Relative DNA value was determined by setting the mean value of diploid eggs to 1.0.

細胞とし同一スライドガラス上に重なる事のないよう塗沫した。そして、同一スライドガラス上の細胞の蛍光値を比較した。

三倍体放出卵の倍数性の比較結果は以下のとおりであった (Fig. 1)。二倍体放出卵 9 個の蛍光値は 450~600 でその平均値 (標準偏差) は 511 (± 44.4) であった。また、三倍体放出卵 (39 個) の蛍光値は 450~950 にわたって広く分布した。Fig. 1 には二倍体放出卵の平均値を 1.0 とした相対値をスケールにして同時に示したが、これを見ると三倍体放出卵の値は 1.3~1.5 付近にモードがあるようである。放出された二枚貝卵の核 DNA 量を今回用いたような方法で測定した報告はこれまでになく、測定方法や精度に改良の余地はあるものの、今回得られたデータを見る限り、三倍体が放出した卵の DNA 量は六倍性のものが多いと考えられる。

次に、交雑幼生の倍数性の比較結果を示す (Fig. 2)。精子細胞 98 個の蛍光値は比較的まとまって分布し、その平均蛍光値 (標準偏差) は 115 (± 9.8) であった。また、対照の二倍体幼生の蛍光値も単一のモードを示し精子の値の約 2 倍のところに分布した。一方、交雑幼生から得た細胞の蛍光値は精子の約 2.0~5.6 倍の範囲に分布したが、そのほとんどは 2.4~3.4 倍の範囲に分布していた。

顕微蛍光測光法によると細胞の DNA 複製期 (分裂周期の G1 期) にあたるものはそれ以外の時期の細胞の DNA 量の 2 倍の値を示す事になる。そこで、四倍体以上の値を示したものの全てが二倍体、三倍体、あるいは異数体の細

胞の染色体複製期にあたるものであると考え、交雑幼生の細胞中には二倍性から三倍性の種々の細胞が含まれていたことになる。しかし、今回のような顕微蛍光測光法では測定誤差を考慮すると、これらの細胞の倍数性をこれ以上論議することは難しい。三倍体放出卵および交雑幼生の蛍光値のいずれを見ても各倍数体間の明確な境界は認められ難い。そのため、交雑幼生の多くが三倍体であったと推察されるものの、異数体が作出された可能性も充分にある。これらを解明するにはより精度の高い DNA 量比較や染色体数の調査による精密な比較が必要であろう。

今回得られた幼生を 5 l ビーカー中にて室温約 20°C に保たれた所で飼育したところ、約一週間後には、ほぼ全てがへい死した。マガキでおこなわれた同様の交雑幼生 ($3n \text{♀} \times 2n \text{♂}$) でもふ化後 3~7 日後にかけて著しく減耗したとの報告 (宮城県水産試験場, 1991) があり、この場合死亡原因として飼育当初より奇形個体が多かった事をあげている。また、古丸・和田 (1992) は、アコヤ貝で同様の試験をおこない、 $3n \text{♀} \times 2n \text{♂}$ の交雑幼生から付着稚貝は得られたものの、幼生の生残率は低かったとしている。トリガイの場合、産卵翌日の D 型幼生を観察した限りでは、ほとんど奇形個体は認められなかった。そこで、上記倍数性の推定結果とも併せて考慮し、今回のへい死原因として、染色体レベルの異常 (異数体) が疑われた。実際、前述のアコヤ貝の実験での交雑稚貝の染色体調査では、付着稚貝には二倍体と三倍体しかみられないが、トロコフォウラでは多数の異数性の細胞が見られたと述べている。トリガイ

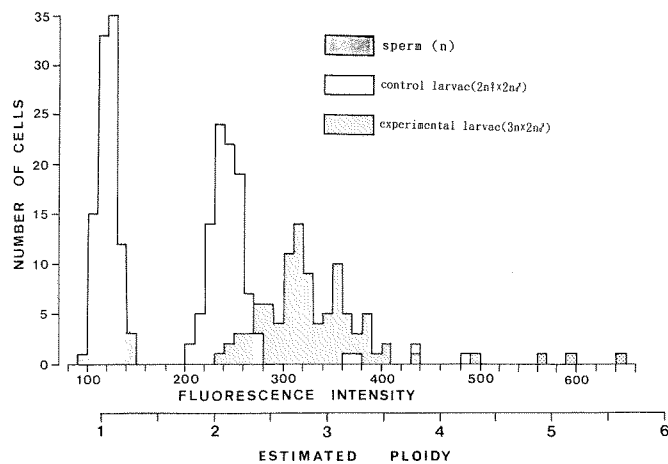


Fig. 2. Fluorescence intensity and estimated ploidy of cells from normal sperm (n), control larvae ($2n \text{♀} \times 2n \text{♂}$) and experimental larvae ($3n \text{♀} \times 2n \text{♂}$).

でより明確な事を述べるには再度より詳細な試験をおこなう必要がある。

ところで、本来、雌雄同体であるはずのトリガイが放精はせずに放卵のみをおこなったということは雌性化した、もしくはその性比が雌の方に傾いた可能性がある。供試個体数は9個体と少ないものの、そのうち8個体が放卵のみをおこなったという結果は充分注目に値するものと考えられる。実際に、三倍体化することにより性比が雌に傾く事例はマガキ (ALLEN & DOWNING, 1990; 東北大学農学部, 1991) やオオノガイ (ALLEN et al., 1986) で報告されている。特にオオノガイの事例では性比を調べた64個体のうち93%が雌であり、雄は確認できなかったと報告されている。

今回の場合、放精が認められなかったという結果だけで生殖巣組織の観察など詳細な調査はしていない。三倍体トリガイの特性については性的特徴も含めて今後さらに詳細な調査が必要であると思われる。

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

- ALLEN, S.K. and DOWING, S.L. 1990. Performance of Triploid Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*: Gametogenesis. *Canad. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**: 1213-1222.
- ALLEN, S.K., HIDU, H. and STANLEY, J.G. 1986. Abnormal gametogenesis and sex ratio in triploid softshell clam (*Mya arenaria*). *Biol. Bull.*, **170**: 198-210.
- 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.
- KOMARU, A., UCHIMURA, Y., IEYAMA, H. and WADA, K.T. 1988. Detection of Induced Triploid Scallop, *Chlamys nobilis*, by DNA Microfluorometry with DAPI Staining. *Aquaculture*, **69**: 201-209.
- 古丸 明・和田克彦. 1992. 平成4年度日本水産学会春期大会講演要旨集, 175.
- 宮城県水産試験場. 1991. 平成2年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書. 日本水産資源保護協会, 255-264.
- 東北大学農学部. 1991. 平成2年度水産バイオテック導入基盤整備事業報告書. 日本水産資源保護協会, 244-254.