

# EDTA 処理によるトリガイの自家受精防止について (短報)

藤原正夢



トリガイは雌雄同体であり、精子と卵が同時に成熟するが、産卵誘発時においては、放精と放卵との間には数分の時間差が通常認められる(西広, 1981)。しかし、放精と放卵が同時に行われる事例もまれに観察され、さらに個別に産卵誘発して、検鏡結果から放卵のみと判断された卵を別ビーカーに入れ観察したところ、自家受精卵が認められた事例がしばしば見られた\*。したがって、完全に自家受精が起こらないような採卵技術の開発が必要であった(藤原, 1995)。

多くの海産無脊椎動物では海水中のCa濃度が低くなると受精が起こらなくなる事が知られている(団, 1983)。そこで、海水中のCaイオンと安定な水溶性のキレートを形成するEDTA-2Na(以下EDTA)が、トリガイの自家受精防止に利用可能かどうかを検討した。

**EDTA濃度の検討** 1997年4月16日、EDTAを50 mg/l, 100 mg/l, 200 mg/l, 300 mg/l, 400 mg/l および500 mg/l 含む濾過海水を満した6個の200 ml ビーカーに、常法(藤原・西広, 1988)により産卵誘発した別個体から得た卵または精子の懸濁した海水1 ml を同時に入れ媒精した。媒精後直ちにこのビーカーを、予め15°Cに設定したインキュベーター(サンヨー MIR-552)に収容した。媒精約6時間後(桑実胚のステージ)1ビーカー当たり500個以上検鏡し、正常に発生が進んでいるものの割合を調べ、これを受精率とした。また同時に、卵の外側に受精膜様の薄い膜が認められ、さらに通常の卵割と異なる形態を示しているものを異常卵とし(Fig. 1)、その割合を調べて異常卵率とした。

EDTA濃度とトリガイの受精率および異常卵率との関係をFig. 2に示した。受精率はEDTA濃度が50 mg/l, 100 mg/lではほぼ100%であるが、200 mg/l以上では0%になった。異常卵率はEDTA濃度が300 mg/lまではほぼ0%であるが、400 mg/l以上では100%になった。

二枚貝類の卵では卵黄膜と原形質膜との間隔は受精後多少広がるが、棘皮動物などのように卵黄膜の性質が受精直後急激に変化し受精膜になるようなことはない(団, 1983)。トリガイでも卵黄膜は、極体放出時に特に極体の外側にその存在を確認できる程度であり、通常はあまり目立たない。今回認められた異常卵の受精膜様の薄い膜は、おそらくEDTAの影響で原形質膜から著しく分離した卵黄膜ではないかと考えられる。したがって受精防止の最適EDTA濃度は、受精率および異常卵率が0%でEDTA濃度がより低い200 mg/lであると考えられる。

**EDTA処理時間の検討** EDTA-2Naを200 mg/l含む

\* 藤原, 未発表

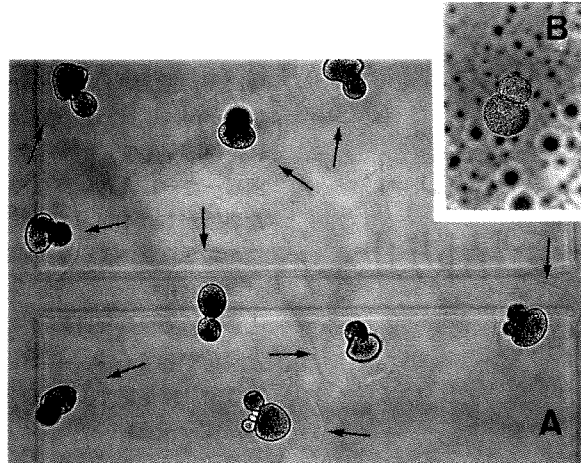


Fig. 1. Micrograph of anomalous eggs (A) and normal 2-cell stage egg (B) of *Fulvia mutica*. Anomalous eggs are frequently obtained from the eggs treated with EDTA-2Na. Arrows indicate unknown membrane. Normal 2-cell stage egg doesn't have unknown membrane.

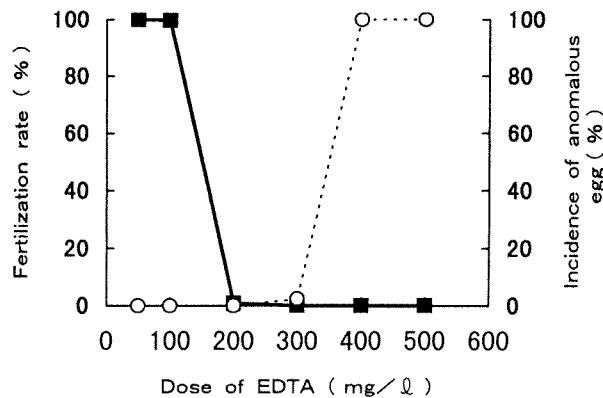


Fig. 2. Relationships between dose of EDTA-2Na and fertilization rate (■), incidence of anomalous egg (○) of *Fulvia mutica*.

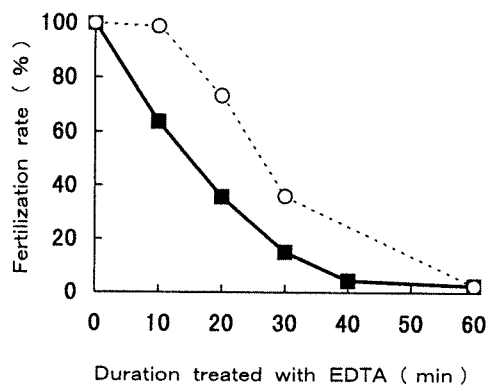


Fig. 3. Relationships between the duration treated with EDTA-2Na (200 mg/l) and fertilization rate of *Fulvia mutica*.

濾過海水を満たした5個の11ピーカーに、常法により産卵誘発して得た放卵直後卵の懸濁した海水1mlを入れた。各々10分、20分、30分、40分および60分間静置後、常法に準じて新鮮な濾過海水で卵をネット洗浄し、直ちに別個体から得た新鮮な精子を入れ媒精した。予め15°Cに設定したインキュベーターに、このピーカーを媒精後直ちに收容し、媒精約6時間後上記の方法で受精率等を調べた。なお、EDTA処理をしないで常法に準じてネット洗浄後、媒精した対照区も設け、受精率を調べた。この処理時間の検討は1997年4月17日と4月23日の2回実施した。

最適EDTA濃度と考えられる200 mg/lで処理時間と受精率との関係を調べた結果をFig. 3に示した。実験回次により受精率の値は若干異なるが、その傾向は一致した。すなわち、処理時間が長くなるほど受精率が低下し、

処理時間が60分で受精率はほぼ0%になった。また異常卵は、処理時間が10分の区では見られなかったが、20分以上の区では若干見られた（異常卵率数%）。したがって、200 mg/lでの最適処理時間は最も短い10分間であると考えられた。なお、媒精約6時間後に受精率を調べた残りの幼生を継続飼育し、2日後に観察したところ、受精率の高かった区ほどD型幼生が多く見られた。したがって、媒精約6時間後の観察時に正常に発生していたものはほぼ全てD型幼生になり、EDTAによるその後の発生障害はなかったと判断された。

以上のように、EDTAがトリガイの自家受精の防止に利用できることが分かった。

最後に、EDTAについて有益な助言を戴いた水産庁養

殖研究所遺伝育種部長 和田克彦博士に謝意を表します。

## 文 献

- 団 勝磨. 1983. 総説. 無脊椎動物の発生(上)(団 勝磨・関口晃一・安藤 裕・渡辺 浩編). 培風館, 1-49.
- 藤原正夢. 1995. トリガイ黄色個体の出現とその遺伝性について(短報). 日水誌, **61**(6): 927-928.
- 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.
- 西広富夫. 1981. トリガイの人工採苗と放流稚貝の成長について. 栽培技研, **10**(1): 1-12.