

トリガイの産卵行動と自家受精の可能性

藤原正夢

天然におけるトリガイの配偶子の放出パターンは放精→放卵→放精の順で行われ、放精と放卵とに2～6分間の時間差があると推定される。放卵した個体の周辺に別個体が存在する場合は、放卵の刺激により他個体が20秒から5分以内に放精するので自家受精の可能性は少ないと考えられる。一方、放卵個体の周辺に別個体が存在しない場合は、放出後数分～10分程度では精子と卵の受精能力はそれほど大きく低下しないので、2回目の放精により自家受精する可能性が高いと推測される。

マルスダレガイ目ザルガイ科のトリガイ *Fulvia mutica* は二枚貝類では比較的珍しい雌雄同体性の貝である。雌雄同体の生物は、配偶相手との遭遇機会の少ない固着性・低移動性の生物で多く見られるが、自家受精は遺伝的な変異を小さくする欠点があるので、雌雄同体の生物の間では避けられている（ヴィックラー・ザイプト，1983）。

そこで、トリガイの産卵期（春季および秋季）に本種の配偶子放出パターン、放卵刺激による放精誘発機序、卵・精子の受精能力の経時変化を明らかにするための実験を行い、これらの結果から天然トリガイが自家受精をしているかどうかを検討した。

材料と方法

実験1 1996年10月25日にトリガイの配偶子放出パターンを明らかにするための実験を行った。本実験には1996年9月13日に宮津湾で採捕後養成した殻長74 mmの天然貝2個体と、1996年5月に種苗生産後養成した殻長56～62 mmの人工貝5個体を用いた。実験中の水温は21°Cであった。

本実験では7試験区を設定し、各試験区については1 lビーカーに海水を注水して、それぞれ供試トリガイ1個体を収容した。各試験区とも紫外線照射海水を静かに注水（1 l/分）して個別に産卵誘発を行い、産卵誘発開始から供試貝が放精、放卵するまでの時間およびそれらの終了する時間を、約150分にわたって観察、測定した。観察にあたっては、放出直後の配偶子を出水管直上でパスツールピペットを用いて順次サンプリングしホールスライドガラスに入れ、位相差顕微鏡により精子または卵であることを確認した。なお、放出した卵については微量な精子混入の有無を確認するため、ホールスライドガラスに入れたものを数十分後再度検鏡し、卵膜周辺に集まった精子または受精卵の有無を調べた。

実験2 1997年5月2日に放卵刺激が放精を誘発する機序を明らかにするための実験を行った。本実験には1996年



5月に種苗生産後養成した殻長73-83mmの人工具を用いた。供試貝は前処理として、産卵誘発と同様な方法で紫外線照射海水を掛け流した水槽中に約1時間収容し、放精が始まるまでに取り上げて本実験に用いた。実験中の水温は14.7-15.0°Cであった。

本実験では、産卵誘発によって得られた卵懸濁海水(系列I)と同卵懸濁海水から卵を除去した海水(系列II)を用い、2系列で放精誘発実験を行った。系列Iでは10試験区、系列IIでは8試験区を設定し、この系列以外に放精誘発を行わない対照区を2区設けた。各区については1lビーカーに海水を注水して、それぞれ供試トリガイ1個体を収容した。

系列Iの実験では各試験区のビーカーに、産卵誘発によって得られた卵懸濁海水を2ml添加し、供試貝の放精の有無および卵懸濁海水添加から放精までの時間を観察、測定した。なお、卵懸濁海水添加後のビーカー中の卵濃度は約2個/mlとなった。

系列IIの実験では各試験区のビーカーに、系列Iと同じ卵懸濁海水から卵を除去した海水を2ml添加し、供試貝の放精の有無および卵除去海水添加から放精までの時間を観察、測定した。なお、卵除去海水の作製にあたってはオープニング20μmのネットによって卵懸濁海水を濾過する方法を用いた。

実験3 1997年5月1日に精子の受精能力について、その経時変化を明らかにするための実験を行った。本実験に用いた精子と卵については、1996年5月に種苗生産後養成した殻長約75mmの人工具が放精、放卵したものをを用いた。実験中の水温は約15.0°Cであった。

産卵誘発によって放精された精子については、100lパナライト水槽に約1万個/mlの密度で入れ、水温15.0°Cで保存し、放精40分後および70分後に媒精に用いた。また、卵については放精40分後および70分後に相当する時間直前に、産卵誘発によって放卵されたものを媒精に用いた。

放精40分後および70分後の媒精に当たっては、それぞれ1lビーカーに放卵直後の卵を20個/mlの濃度に収容し、保存しておいた精子を500個/mlの濃度になるように添加した。媒精後直ちに、予め15.0°Cに設定したインキュベーターにこれらのビーカーを収容した。媒精5時間後に1ビーカー当たり500個以上の卵を検鏡し、4細胞から桑実胚のステージ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。なお、各媒精には対照として精子を添加しない区をそれぞれ設けた。

実験4 1998年4月30日には卵の受精能力について、その経時変化を明らかにするための実験を行った。本実験に

用いた精子と卵については、1997年5月に種苗生産後養成した殻長約75mmの人工具が放精、放卵したものをを用いた。実験中の水温は約15.0°Cであった。

産卵誘発によって放卵された卵については100mlビーカー7個に20個/mlの密度で収容し、あらかじめ15.0°Cに設定したインキュベーター(サンヨーMIR-552)に保存した。精子については放卵15分後、30分後、1時間後、1時間半後、2時間後および3時間後に相当する時間直前に、産卵誘発によって放精された新鮮なものを媒精に用いた。7個のビーカーのうち、6個については放卵15分後、30分後、1時間後、1時間半後、2時間後および3時間後に媒精し、1個については精子を添加せず対照区とした。

媒精に当たっては、それぞれ卵を入れた100mlビーカーに精子を500個/mlの密度になるように添加した。媒精3-6時間後に1ビーカー当たり500個以上の卵を検鏡し、4細胞から桑実胚のステージ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。

以上の4実験とも産卵誘発および採卵作業等は常法(藤原・西広, 1988)に準じて行われた。

結果

実験1 紫外線照射海水法により産卵誘発を行い、産卵誘発開始から供試貝が放精、放卵するまでの時間およびそれらの終了する時間を測定した結果をFig. 1に示した。

本実験では、誘発を開始してから10-18分後に全ての個体が放精を開始し、数秒間隔で5-28分間出水管から精子密度の濃い塊を放出した。さらに、その2-6分後には全ての試験区で放卵が開始され、各供試貝は数秒から数十秒の間隔で3-8分間出水管から卵を放出した。試験区7を除く全ての試験区では放卵が終了してから3-6分後に再度放精が開始され、供試貝による放精は14-43分間継続した。試験区7の場合は、放卵の終了を待たずに途中から放精も開始され、放卵終了後も放精が継続した。以上のように、供試貝の由来が天然貝、人工具に関わらず、配偶子は全ての試験区で放精→放卵→放精の順序で放出された。

実験2 卵懸濁海水(系列I)および卵除去海水(系列II)を添加した後の累積放精率の経時変化をFig. 2に示した。系列Iの試験区では添加23秒後に、また系列IIの場合は20秒後に、それぞれ最初に放精が確認された。系列I、IIとも添加後2分以内に試験区の約70%で放精が認められ、5分以内に全ての試験区で放精が確認された。一方、対照区では実験終了までの期間に放精は確認されなかった。以上のように、系列I、IIとも供試貝の放精の状況に大きな差は認められなかった。

実験3 放精後40分間と70分間保存した精子を放卵直後

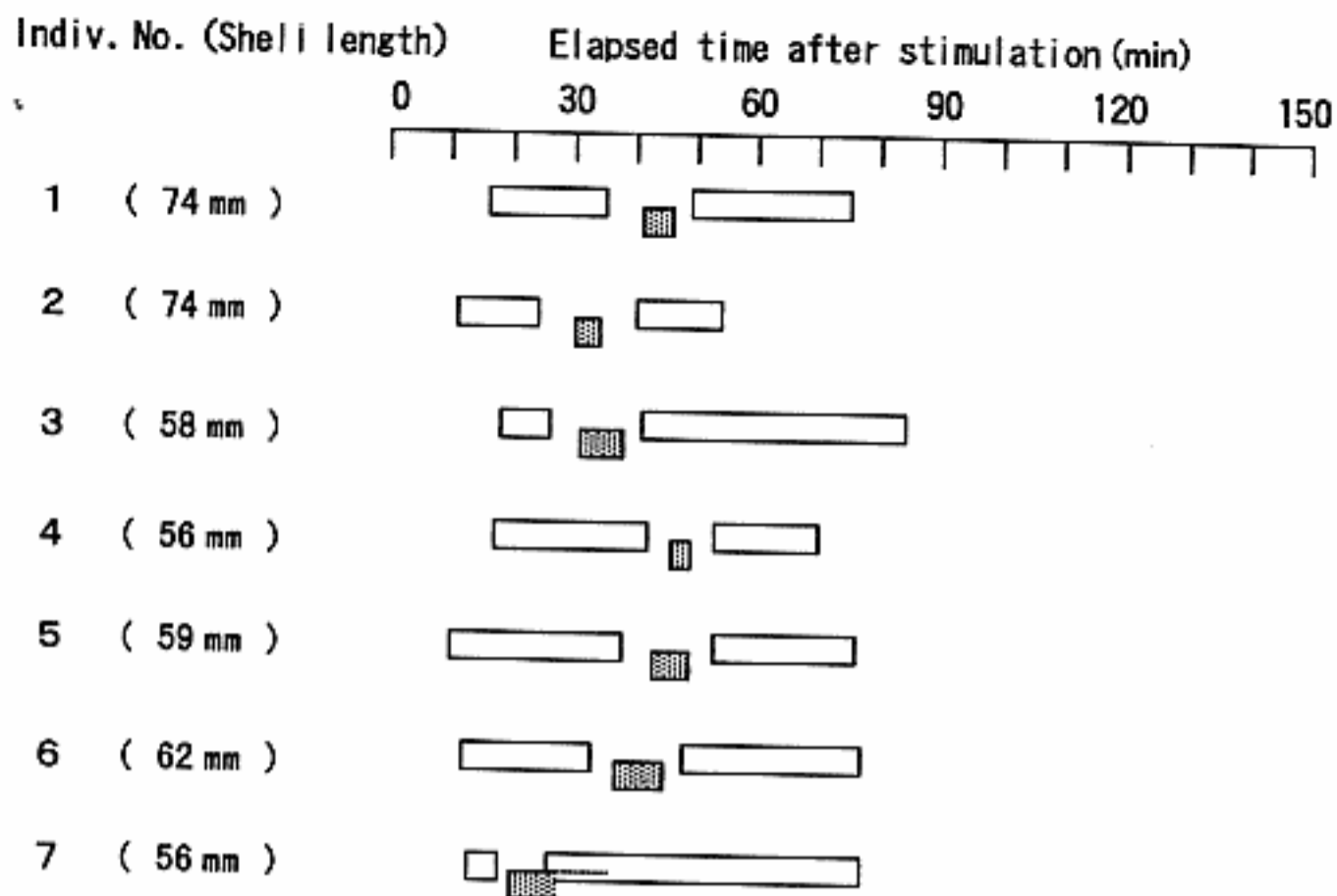


Fig. 1. Time of ejaculating and spawning after stimulation of the irradiated seawater by ultraviolet rays. Individual numbers 1 to 2 and 3 to 7 indicate wild and artificial hatched cockles *Fulvia mutica*, respectively. Unshaded and shaded columns indicate ejaculating and spawning time, respectively.

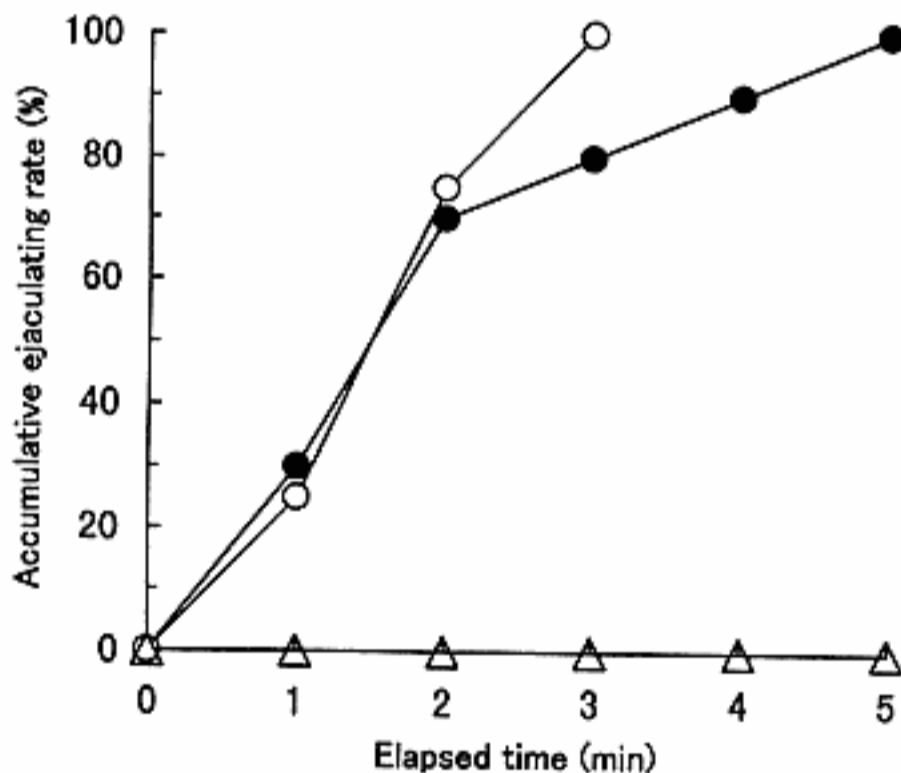


Fig. 2. Change in accumulative ejaculating rate of two groups of *Fulvia mutica* after addition of rearing seawater in that eggs had spawned. Open and closed circles indicate the group that added the rearing seawater without and with eggs, respectively. Triangles indicate the control group.

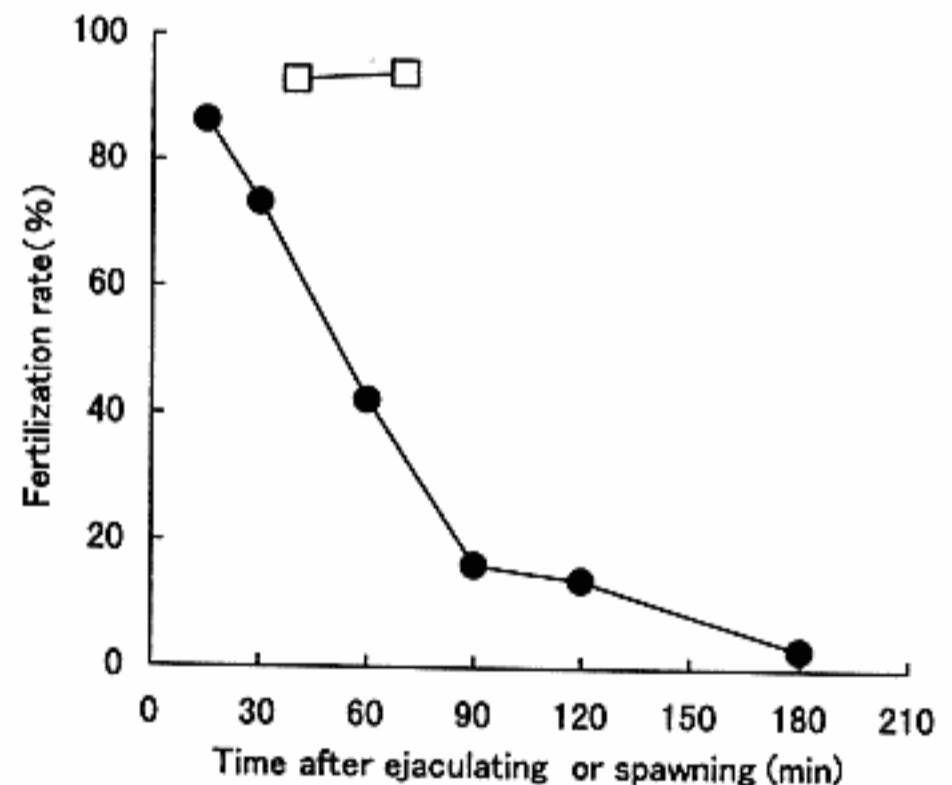


Fig. 3. Relationships between preservation time of sperms or unfertilized eggs and the fertilization rate of *Fulvia mutica*. Squares and circles indicate the preserved sperms and unfertilized eggs, respectively.

の卵に媒精し、受精率を調べた (Fig. 3)。受精率は40分間保存した精子を媒精した場合は93%、70分間保存した精子を媒精した場合は94%であり、両者で受精率に差は見られなかった。なお、両者の対照区の受精率は3%であった。

実験4 放卵15分後、30分後、1時間後、1時間半後、

2時間後および3時間後の卵に放精直後の精子を媒精し、その受精率を調べた (Fig. 3)。受精率は放卵15分後に86%、30分後に73%、1時間後に42%、1時間半後に16%、2時間後に14%および3時間後に3%になった。受精率は放卵15分後から1時間半後にかけて著しく低下し、1時間後には50%以下になった。なお、精子を添加していない対照区の受精率は0%であった。

実験1では Fig. 1 に示したように、供試貝の由来が天然貝、人工貝に関わらず、配偶子は全ての試験区で放精→放卵→放精の順序で放出された。一方、京都府沿岸域におけるトリガイの産卵期は春季と秋季の2回認められ、年により多少の変動はあるものの、秋季の産卵盛期は10~11月である(藤原ら, 1990)。本実験の実施時期は10月であり、これは天然トリガイの秋季の産卵盛期にあたる。このことから、秋季の産卵盛期の天然トリガイについても放精→放卵→放精というパターンで配偶子を放出しているものと推察される。

トリガイ種苗生産における産卵誘発時には、ある個体が放卵すると直ちに、水槽内の回りの他個体が一斉に放精することは普通に見られる現象である(藤原・岩尾, 1992)。実験2では Fig. 2 に示したように、卵懸濁海水(系列I)および卵除去海水(系列II)を添加した全ての試験区で放精が確認され、対照区では放精が確認されなかった。このことから、放精を誘発する作用機序の一端として、放卵時に卵と共に放出される何らかの物質の存在が強く示唆される。また、両系列とも各海水添加から放精開始までの時間は20秒から5分以内であり、両者に大きな差は認められなかった。天然海域においても、ある個体が放卵するとその刺激により他の個体は短時間に放精を開始するものと推察される。

実験3, 4で精子と卵について放精、放卵直後から経時的な受精率の変化を調べた。その結果、精子では放精後70分経過しても放卵直後の卵に対して94%と高い受精率を示した(Fig. 3)。一方、卵では放卵15分後には86%と比較的高い受精率を示したが、その後受精率は著しく低下し、1時間後にはその値は50%以下となった(Fig. 3)。以上の実験結果から、精子については放精後1時間以上経過しても高い受精能力を有するが、卵の場合は放卵後15分以上経過するとその受精能力は著しく低下するものと推察される。

以上のように、今回の一連の実験によって、天然のトリガイは①放精→放卵→放精というパターンで配偶子を放出する、②放精を終了してからその個体が放卵を開始するまでに2~6分間の時間差を生じる、③ある個体が放卵するとその刺激により他の個体はその20秒から5分以内に放精を開始する、④精子は放精後1時間以上にわたって高い受精能力を維持するが、卵は放卵後15分以上経過するとその受精能力は著しく減ること、が明らかとなった。そこで、これらの結果から、天然海域でトリガイが自家受精をしている可能性について、以下に検討した。

最初の放精とそれに続く放卵との間に2~6分間の時間差が認められたが、こうした放精と放卵との間に短い時間差を作る現象は、同じ雌雄同体性二枚貝のアメリカイタヤガイ *Argopecten irradians* でも報告されている(SASTRY, 1963)。したがって、このような現象は雌雄同体性二枚貝が自家受精の機会を減少させるための一般的な産卵行動であるのかもしれない。さらに、天然のトリガイでは放卵した個体の周辺に他個体が存在している場合が多いと考えられ、放卵の刺激により他個体が20秒から5分以内に放精するので自家受精の可能性は非常に少ないと推測される。

一方、放卵個体の周辺に他個体がない場合は、放出後数分~10分程度では精子と卵の受精能力はそれほど大きく低下しないので、2回目の放精により自家受精する可能性が高い。天然トリガイの詳細な生息状況についての資料は見当たらないが、トリガイの産卵期直前(9月)に、宮津湾で実施した貝桁網(間口1.6m)による10分間(約1km)曳きの調査結果によると*、トリガイ採捕個体数が1個体/定線以下の調査定線が多く見られる年もあり、宮津湾においては単独分布しているトリガイの存在が推測される。したがって、天然海域に生息するトリガイにとって、自家受精は周辺に他個体がない場合、未受精の危険性を避ける最後の手段ではないかと考えられる。なお、人為的に自家受精させて発生した個体の飼育観察によると、発生は正常に進み、現在までのところ成長生残についても問題は認められていない(未発表)。

文献

- ヴィックラー, W.・ザイプト, U.. 1983. (福井康雄・中嶋康裕訳, 1986) 男と女一性の進化史一. 243 pp. 産業図書, 東京.
- 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.
- 藤原正夢・岩尾敦志・西広富夫. 1990. トリガイ種苗生産における採卵用親貝について(短報). 京都海洋セ研報, 13: 65-67.
- 藤原正夢・岩尾敦志. 1992. トリガイ種苗生産における奇形幼生の出現とその原因. 京都海洋セ研報, 15: 14-17.
- SASTRY, A.N.. 1963. Reproduction of bay scallop *Argopecten irradians* Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. *Biol. Bull.*, 125: 146-153.

* 京都府. 平成5~8年度地域特産種量産放流技術開発事業(二枚貝グループ)報告書

Synopsis

Spawning Behaviors and Possibility of Self-fertilization of Cockle *Fulvia mutica*

Masamu FUJIWARA

Spawning behaviors of Cockle *Fulvia mutica*, hermaphroditic species, was investigated under a laboratory condition. The releasing pattern of a gamete is in order of ejaculating, spawning and ejaculating with two to six minute interval. The pattern is estimated natural for the cockles as under a field condition. Sperms kept a high activity for fertilization after equal to or more than one hour from releasing. Though eggs also kept a high activity for fertilization within 15 minutes from releasing, the eggs conspicuously reduced the activities after that. As a conclusion, in the case of the existence of other cockles under a field condition, a spawning cockle seems to have few opportunities for self-fertilization because of a quick response of ejaculating by other cockles to the spawning. However, in the situation where there are not other cockles nearby, a spawning cockle seems to have more opportunities for self-fertilization because of it's following ejaculation.