ムラサキイガイの放卵放精

第5報 切り出した外套膜片から成熟卵を得る方法*

岩 田 清 二

(東海区水産研究所)

Spawning of *Mytilus edulis*

(5) A Method to obtain Mature Eggs from Mantle Piece

Kiyotugu Seizi IWATA

It has not been ever obtained artificially the mature and fertilizable eggs by any predecessors from the ovary of *Mytilus edulis*. It was successful in obtaining the numerous fertilizable eggs in my experiment, in which the mantle piece was either stimulated by alternative electric current or by bathing it in M/2 KCl solution for longer than 1 minute. At first numerous immature eggs were oozed out of the cut end of genital ducts of mantle by its contraction together with the small, cytolysed eggs, follicular epithelium and many granules. The relaxation of mantle began as its contraction ceased, and thus the exudation was stopped gradually. And then the mantle piece began to ooze out numerous maturing and matured eggs after about 30 minutes of stimulation without mingling any other things. The eggs thus obtained were well fertilizable and developed to swimming larvae. Therefore, it is suggested that KCl solution or electric current act as a stimulant to ovary so as to induce eggs to mature.

緒 言

ムラサキイガイが自然に産み出した卵はよく受精する。然し平靜個体の外套膜や内臓嚢を傷けて生殖巣からしみ出して来た卵を用いたのでは、如何に活潑な精子をかけても殆んど受精しない^{1,4,6,7)}。これは平靜個体が持っている卵はいつも殆んど全部が未成熟卵であり、貝が産卵するような刺激を受けてから始めて未成熟卵の胞胚がこわれて成熟し、そして成熟した卵は殆んど全部が産み盡されてしまうことに原因している⁴⁾。

外套膜を切り出すとその切り口から卵が出されてくるが、この卵も外套膜や内臓嚢を傷けた時に出てくる卵同様未成熟卵で受精しない。然しこうして作った外套膜片に更に刺激を与えたならば中の未成熟卵が成熟するのではあるまいかという予想の下に本実験を行つた。これは又卵に成熟を起させる物質が生殖巣自身の中に出来るのか、或は体の他の部分で出来てそれが生殖巣まで運ばれて卵に伝うのかを決定する意味合を持つた実験でもあつた。前に報告したようにこの貝は 20 ボルト以上の交流で 5 秒以上刺激すると約 1 時間の後に成熟卵を産み始める³⁾。それで先ず外套膜片を交流で刺激することを試みた。

電気刺激による方法

方 法 実験材料のムラサキイガイは千葉県浦安地先のもので、実験は 2 月下旬から 3 月下旬までの間に行つた。

* 東海区水産研究所業績 B 才 38 号

昭和 26 年 1 月 20 日受理 (印刷費著者所属機関負担)

Preparation の作り方：一 貝柱を片方の殻からはがして殻をあけ、外套膜を傷つけぬように注意しながら殻からはがし鰓の上縁の所で切り離す。筋肉質の外套膜縁には生殖巣が入り込んでいないので取り去る。他側の外套膜も同様にして切り出す。この二枚の外套膜の各々を更に4乃至8小片に切つて各小片について実験を行つた。

電気刺激を与える時には長さ36 mm、巾12 mm、深さ1 mmの小硝子水槽に海水を少量入れ、この中に外套膜片を浸して40ボルトの交流で15秒間刺激した。刺激終了後直ちに海水を2 cc程入れた時計皿に外套膜片を移し、5分或は10分後に更に別の時計皿に移した。この操作を繰り返して5分或は10分の間に出された卵の総数と胚胞のこわれた成熟卵の数とを測定し、放出卵数と成熟卵率の時間的変化を求めた。刺激中及びその後暫くの間は小形な卵や細胞崩壊した卵なども沢山に出されるが、時計皿を水平に円を描いて動かし、中央に集つた大形な重い卵を残して残りはピペットで吸つて捨て、所謂選別操作を数回繰り返して大形な卵のみについて測定を行つた。

刺激してから卵が成熟するまでは、前の実験結果³⁾から1時間前後は要するであろうと予測されたので、実験は1時間乃至2時間に亘り行つた。

結 果 外套膜片に電気刺激を与えると暫くの間切り口から卵が陸續として出される²⁾。然しこの間に出されるものは大形な卵のみならず小形な卵や、細胞崩壊した卵、卵胞上皮、顆粒などがすこぶる多い。大形な卵でも胚胞のこわれた成熟卵は全然なく全部未成熟卵である。切り口からの卵の出方はやがて次々と弱まつてくる。然し又20分乃至60分たつと再び盛に卵が輸卵小管の切り口から出されてくる。この放出卵数の急激な増加と前後して胚胞のこわれた卵或はこわれかけの卵が急激に多くなり、やがて出される卵の殆んど全部が胚胞のこわれた成熟卵のみになってしまう (Fig. 1)。

Fig. 1. Broken line shows time variation of number of eggs exuded from a mantle piece of *Mytilus edulis*; straight line shows percentage of mature eggs to the total, after giving an electrical stimulation to the piece for 15 seconds. The progress of maturation of exuded eggs is indicated by dotted lines. Numerals in () indicate the eggs exuded during corresponding time after stimulation.

この場合には大きな卵のみが揃つて出され、小形な卵や細胞崩壊した卵などは殆んど見当らない。

刺激直後に出された卵はいくら海水中に放置して置いてもいつまでも胚胞が明瞭なまゝであるが、刺激後暫くして出された卵の中には、出された時には胚胞が明瞭なものでも、海水中に放置するとひとりでに胚胞がこわれるものが出てくる。そして後に出された卵程、即ち長い間生殖巣の中に留まつていた卵程、胚胞がこわれる率が高い。然し胚胞がこわれ出す時間は早く出されたものでも遅く出されたものでも一致していて殆んど同時にこわれ出す (Fig. 1 細線)。即ち長時間生殖巣の中に留まつている程胚胞崩壊率は高くなるが、一度将来胚胞崩壊を起すような変化が卵に始まると後は生殖巣内に留まつていようと

も、或は又海水中に出されようと、それには関係なく同じ速さで胚胞崩壊まで進むものと考えられる。

電気刺激が卵に直接働いて胚胞崩壊を起させるのではないことは、刺激直後に出された卵は、後から出された卵と同様に刺激を受けているにも拘らず胚胞がこわれないことから明らかである。

KCl 溶液に浸す方法

ムラサキイガイはその内臓囊の中に KCl の溶液を注射しても成熟卵を産ませることが出来る⁹⁾ので、外套膜片を KCl 溶液の中に浸しても卵を成熟させ放出させることが出来るのではあるまいかと考えてこれを実験してみた。

方 法 海水と等張な M/2 KCl 溶液を入れた時計皿に外套膜片を入れ、5 分或は 10 分毎に KCl を入れた別の時計皿に移し、その間に出された大形な卵について総数と成熟卵の率を測定した。

結 果 結果は電気刺激の場合と全く同様で、KCl 溶液に入れてから間もなく放出されてくる未成熟卵はその後次第に数が減り、数 10 分後からは成熟した卵或は成熟する卵が殆んど雑り物なしに多量

Fig. 2. Broken line shows time variation of egg number exuded from a mantle piece of *Mytilus edulis* after bathing in M/2 KCl solution. Straight line shows percentage of mature eggs to total.

て出される卵の数が急激に増大すること、成熟卵が殆んど全部を占めることが挙げられる。この点から見ると 15 秒間 KCl で処理したのでは無効で、30 秒間の処理では有効だった場合もあり、無効だった場合もあり、1 分間処理すれば常に有効であった。オ 3 図に 1 分間処理した場合の 1 例を示した。要するに切り出した外套膜片を 1 分間 KCl 溶液に浸し、約 1 時間海水中に放置してから新しい海水に移して、その後に出てくる卵を集めれば成熟卵のみを得ることが出来るのである。

短時間外套膜片を KCl 溶液で処理した場合には、数 10 分後から得られる成熟卵は電気刺激の場合と同様に長楕円体のもので、KCl 溶液中に放置した場合に見られるような球形な成熟卵はない。

切り出して刺激を与えない外套膜片

以上は切り出した外套膜片に刺激を与えた

に得られた (Fig. 2), 只電気刺激によつて海水中に出された成熟卵は長楕円体のまゝでいるが、KCl 中に出されたものはまもなく球形になる点だけが異なる。

KCl 溶液で短時間処理する方法

KCl 溶液中に外套膜を浸して得られた成熟卵を更に 2 時間程 KCl 溶液中に放置したもので、海水で洗い精子をかけるとよく受精して翌日には多数の游泳幼虫が得られた。然し KCl は卵に相当の変化を与えていることは想像に難くない処なので、刺激として KCl を作用させる時間は出来るだけ短いことが望ましい。それで次にはどの位 KCl に浸して置けばよいのかを実験してみた。

刺激が有効であった場合には 1 時間前後し

Fig. 3. An example of time variation of egg number (broken line) exuded from a mantle piece of *Mytilus edulis* and percentage of mature eggs to total (straight line). Eggs exuded by immersing in M/2 KCl solution for 1 minute are shown by circles and those of which transferred to sea water without stimulation are shown by large dots.

場合の状況であるが、単に切り出した外套膜片を海水中に放置するだけで幾分これに似た現象が見られる。即ち切り出した直後に多量の雑物と共に未成熟卵が放出され、その後放卵数が次第に減少するのは電気刺激又は KCl 刺激の場合と全く同様である。然し切り出しただけであとは海水中に放置した場合には、一度減少して来た放卵数が再び著しく増大することは見られない。もつとも数 10 分後からは未成熟卵に混じて成熟卵が幾分得られるようになるが、両者共に数が少ないこともあつて両者の比率は変動が著しい (Fig. 3)。とに角外套膜を切断すること自身が強い刺激なので、ある程度卵に成熟を起させるような変化を生殖巣に与えるものと思われる。

切り出してから海水中に放置して上述のような変化をたどつて来た外套膜片を短時間 KCl 溶液に浸すなどの刺激を与えて、数 10 分後には多量の成熟卵のみを得ることが出来た。

考 察

切り出した外套膜片に電気刺激又は KCl 刺激を与えた場合出される卵には 2 つの別な原因によるものがあると考えられる。

オ 1 の種類は刺激直後から暫くの間出される卵で、外套膜片が刺激の結果強く収縮するので、これに伴い機械的に押し出されて来たと考えられるもので、従つて未成熟卵その儘であり、同時に小形な發育途中の卵も、細胞崩壊した卵も、その他の小胞内容物も共に出されるのであろう。この種の卵は外套膜の収縮が終り弛張し出すとやがて次第に出されなくなる。オ 2 は刺激してから数 10 分後から始まる成熟卵の放出で、これは刺激によつて卵巣内に卵の成熟、小胞壁からの離脱、排出という一連又は平行した産卵反応が誘起されて出されたと考えられるもの。従つてこの時に排出される卵は成熟卵のみであり、刺激から排出までは相当の時間を要するのであろう。

ムラサキイガイのように生殖巣から取り出した卵を使つたのでは人工受精が出来ない種類で人工受精するには、従来人工的に成熟卵を産み出させる方法と、生殖巣から取り出した未成熟卵そのものをアルカリその他の薬品で処理して成熟させる方法とが考えられて来た。ムラサキイガイに人工的に産卵させる方法としては干出又は温度上昇による方法、KCl の体腔内注射による方法⁵⁾、電気刺激による方法³⁾などがあるが、干出や温度上昇法は成功率が悪く、KCl 注射法や電気刺激法は殆んど確実に産卵させるが、反応時間が不揃いで 30 分位で産み始めるものも数時間後に始めて産み出すものもある。殊に KCl 注射法では 5 時間以上もたないと産み始めないものが多い。未成熟卵そのものを化学的に処理して成熟させる方法は未だムラサキイガイでは試みられていないが、外套膜又は内臓囊を傷つけて得られる卵は極めて不揃いで雑物が多く、その中から大形な卵を選別することは容易でなく、その上、大形な卵は得られてもせいぜい数百個に過ぎず、全然得られないことさえ往々にしてある。こういう点を考えると切り出した外套膜片に刺激を与えて成熟卵をとる今回の方法は、得られる卵の数は人工産卵法には及ばないが、それでも 1 個体から数千個乃至数万個の成熟卵を得ることは容易であり、然も刺激してから 1 時間後には確実に成熟卵のみを得ることが出来、殆んど選別操作も必要としない特長がある。外套膜片に電気刺激を与えるのには装置が必要であるが、数分間 KCl 溶液に浸して刺激する方法は至極簡単であり容易に行える。

文 献

- 1) Field, I. A., 1922, Bull. U. S. Bur. Fish., **38**, 127
- 2) 岩 田 清 二 : 1950, 日水誌, **15**, 439
- 3) ————— : 1950, 日水誌, **15**, 443
- 4) ————— : 1951, 日水誌, **16**, 388
- 5) ————— : 1951, 日水誌, **16**, 393
- 6) Nathews, A., 1913 J. Mar. Biol. Assoc. N. S., **9**, (4)
- 7) 宮 崎 一 老 1935, 水講研究報告, **31**, (1), 1