

# ホタテガイ卵質評価法開発試験－ I

篠原 由香・小坂 善信・吉田 達・鹿内 満春

## 1. 目的

ホタテガイ種苗は全て天然採苗に依存しており、養殖漁業者からは採苗の早期予測と安定的な天然採苗が強く望まれている。これまでも、生殖巣指数のモニタリングにより産卵時期の推定は可能であったが、種苗の質的・量的評価や採苗不振の原因についての解明は難しい状況にあった。このようなことから、ホタテガイ卵巣卵の成熟度や卵質を現場で簡易に評価する手法を開発し、より高精度な早期の採苗予報技術を確立する必要がある。

そこで本試験では、①生殖巣指数調査、②卵巣卵の成熟及び崩壊を組織学的に評価するための「卵巣組織観察」、③卵巣卵の成熟に伴う生殖巣の生化学物質の動態を明らかにするための「ELISA法による卵黄タンパク質（ビテリン）の測定」を行なったので、その結果を報告する。

## 2. 材料及び方法

### (1) 生殖巣指数調査

平成16年12月～平成17年5月まで、久栗坂実験漁場及び川内実験漁場（図1）で垂下養殖した2年貝を2週間毎に採取した。採取したホタテガイは殻長、全重量、軟体部重量、生殖巣重量をそれぞれ30個体測定し、生殖巣指数を生殖巣重量÷軟体部重量×100として求めた。

水温のデータは、自動観測ブイ（青森ブイ、東湾ブイ、図1）で観測した水深15m層の水温を使用した。

### (2) 卵巣組織観察

生殖巣指数調査で用いたホタテガイ20個体の生殖巣の中央部を切り出したものをブアン氏液で固定し、パラフィンで包埋した。これから厚さ7 $\mu$ mの横断組織切片を作成しエオシン・ヘマトキシリン二重染色法により染色し、そのうち2.2mm<sup>2</sup>をデジタルカメラで撮影した。このようにして写された卵巣卵については、総卵数・正常成熟卵・正常未熟卵・異常卵の計数を行った。卵数については1mm<sup>2</sup>当りの卵数として算出し、異常卵については未熟・成熟を問わず計数し、総卵数については濾胞上に並ぶ卵母細胞・未熟卵・成熟卵・異常卵の全てについて計数した合計の値で示した。また、これらのデータから、正常卵抱卵数を（生殖巣重量×正常卵率÷密度）÷ $4/3\pi$ （卵径/2）<sup>3</sup>として求めた。卵の密度は1.8982とした。

### (3) ELISA法による卵黄タンパク質（ビテリン）の測定

生殖巣指数調査及び組織観察で用いたホタテガイのうち、久栗坂実験漁場の母貝の雌10個体の閉殻筋からそれぞれ1.5mlずつ採血し、4℃、3000rpmで15分間遠心分離し血リンパだけを採取した。血リンパはTBSで50倍に希釈し、これから連続2倍希釈系列を作ってELISA法（酵素免疫定量法）の直接法で分析した。なお、コントロールとして卵巣抽出液を、ネガティブコントロールとしては雄の血リンパを用いた。

### 3. 結 果

#### (1) 生殖巣指数調査

久栗坂実験漁場及び川内実験漁場の生殖巣指数の変化と水温の関係について、図2、図3に示した。久栗坂実験漁場においては、生殖巣指数は3月上旬にピークに達し、その後減少したため、産卵の盛期は3月上旬に起こったものと推定された(図2)。また川内実験漁場においては、生殖巣指数は4月上旬まで高めに推移し、4月中旬から一気に減少した(図3)。このため、川内実験漁場においては産卵の盛期が例年よりも1ヶ月以上遅い4月中旬に起こったものと推定された。平成17年は、1月以降、水温が低めに停滞したために水温上昇も遅れ、産卵も遅れる傾向にあった。

#### (2) 卵巣組織観察

各漁場の生殖巣重量と卵数との関係を図4、5に示した。生殖巣重量は、久栗坂においては3月上旬にピークに達し、川内においては4月上旬にピークに達したが、正常未熟卵数はいずれの漁場においても12月～1月にかけて減少したが、2月上旬に一端上昇し、その後減少していった。異常卵数は、久栗坂においては産卵期前1月～2月に最も多く、川内においては、4月上旬に最も多かった。これは、久栗坂では産卵期前に卵数調整としての卵の崩壊が起り、川内においては低水温が続いたことにより過熟となった卵が崩壊したためと考えられた。

両漁場における平成15年～17年の生殖巣重量、正常卵率等のデータから正常抱卵数、産卵数を推定し、その変化を図7、8に示した。過去3ヶ年の最大正常卵抱卵数、数推定産卵数は、いずれの漁場においても平成17年に最も少なく、平成16年が最も多かった。平成16年の久栗坂漁場においては、最大正常卵抱卵数は606万個と川内漁場よりも少なかったが、2月上旬と3月中旬に2回の大きな産卵があり、その間にも新たな正常卵の形成があり、推定産卵数は最も多い980万個に達した。

#### (3) ELISA法による卵黄タンパク質の測定

久栗坂実験漁場の血リンパ中の相対ビテリン濃度と卵数の変化を、図6に示した。相対ビテリン濃度は、コントロールの最大値に対する割合で表した。相対ビテリン濃度は、産卵期前の異常卵数が最大になったあとに相対ビテリン濃度も高い値を示し(図6)、産卵後期にもビテリンが高くなるという傾向を示した。同様な傾向は、平成15年度においても見られた<sup>1)</sup>。

### 4. 考 察

これまで、卵細胞の崩壊は低水温の影響で産卵が遅れ、過熟となって崩壊すると考えられていた。しかし、平成15～17年の試験結果から、卵崩壊の指標となる血リンパ中のビテリン濃度は、いずれの年も低水温期に入る前、しかも卵細胞が十分に成熟していない産卵期前と、産卵後期にあたる3月以降に高い値を示した。また、組織観察の結果、産卵期前でも未熟卵の崩壊が見られ、産卵後期にも未熟卵数が一気に減少することが観察された。このことから、卵細胞の崩壊は過熟によるものだけでなく、産卵期前に卵数を調節するためにも起こることと、産卵後期にも未熟卵は成熟することなく崩壊して吸収されることがわかった。このように組織学的に未熟卵及び成熟後の卵崩壊を量的に判断することは難しいが、血リンパ中のビテリンが卵崩壊の量的指標として使えることがわかった。

未熟卵及び成熟後の卵崩壊がどのような要因で起こるのかを検討するために、過去3ヶ年の調査結果と水温との関係について調べた結果を表1に示した。未熟卵の卵崩壊は主に12月中旬～1月下旬にかけて起り、この時期に卵巣内の卵数が調整されていると考えられるが、その時期後半には正常卵の抱卵数

も最大となる。各年での最大正常卵抱卵数を比較すると、平成17年、平成15年、平成16年の順に多かった。一方、この年の12月と1月の平均水温を比較すると、平成17年、平成15年、平成16年の順に平均水温の差が小さかった。このことは卵形成の段階で水温の急激な低下は総産卵数を減少させる傾向があることを示唆している。さらに、産卵数調整後の2月上旬～3月下旬に産卵が起こるが、各年の平均卵巣重量を比較すると平成16年、平成15年、平成17年の順に大きかった。しかし、推定産卵数はこれとは逆に平成17年、平成15年、平成16年の順に多かった。各年の母貝の全重量、軟体部重量と卵巣重量、正常卵抱卵数、推定産卵数の間には明瞭な関係は見出されなかったが、各年の2月～3月の平均水温を比較すると平成17年、平成15年、平成16年の順に平均水温が高かった。正常卵が少なくなるのは、この時期に水温が低いために産卵の誘発の時期が遅くなり崩壊していく卵が多くなるためと考えられた。また、この推定産卵数とその年の陸奥湾における採苗器1個当りの平均付着数を比較すると、平均付着数は推定産卵数と同様に平成17年、平成15年、平成16年の順に多かった。

表1 両漁場における卵巣重量、産卵数と平均水温、付着数の平均

	平成15年	平成16年	平成17年
平均最大卵巣重量(g)	16.8	16.2	19.6
最大正常卵抱卵数(万個)	447	745	388
平均推定産卵数(万個)	451	932	311
12月と1月の平均水温の差(°C)	3.45	3.30	4.35
2～3月の平均水温(°C)	4.40	4.87	4.05
陸奥湾における平均付着数(個/袋)	161,256	278,825	45,696

以上のように、その年の付着数を左右する正常卵の産卵数は12月～1月にかけての産卵期前の卵数調整の時期の水温変化とその後の産卵期における水温によって大きく左右されることがわかった。ついては、この時期の水温と母貝数によってその年の付着数が予想できるものと考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) 篠原由香ら (2004) : ホタテガイ卵質評価法開発試験. 青森県水産総合研究センター増養殖研究所事業報告書, 34,221 - 227

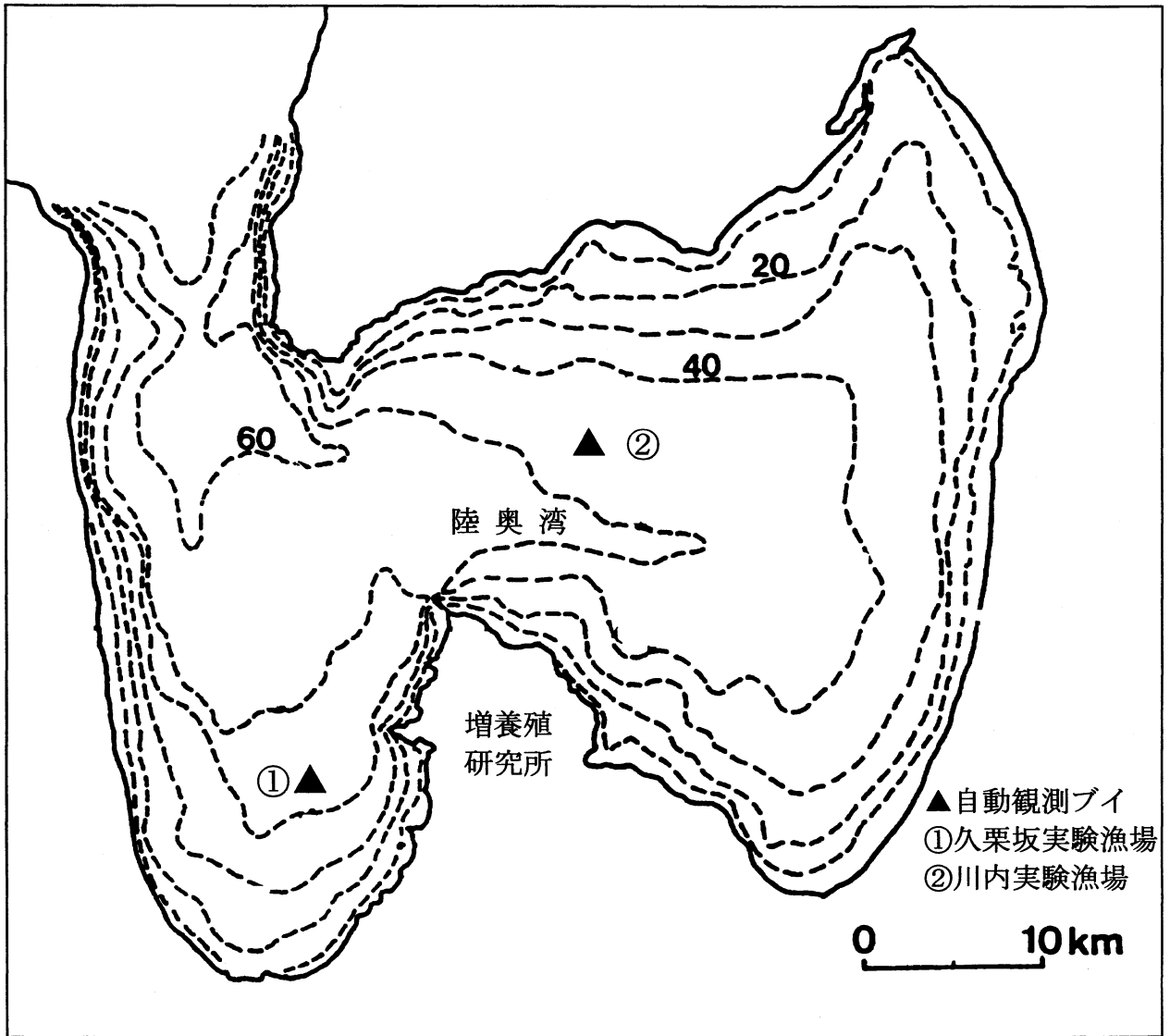


図1 サンプル採取地点と自動観測ブイの位置

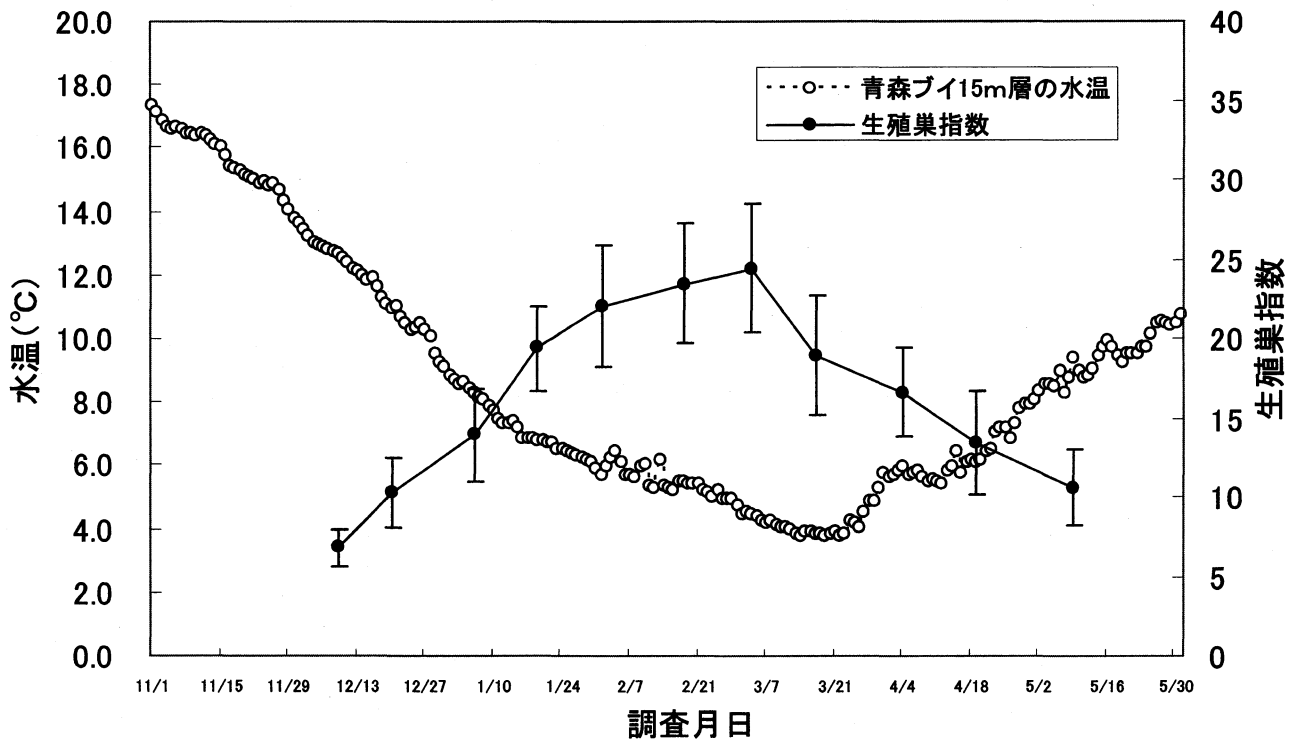


図2 久栗坂実験漁場における生殖巣指数の変化と水温の関係

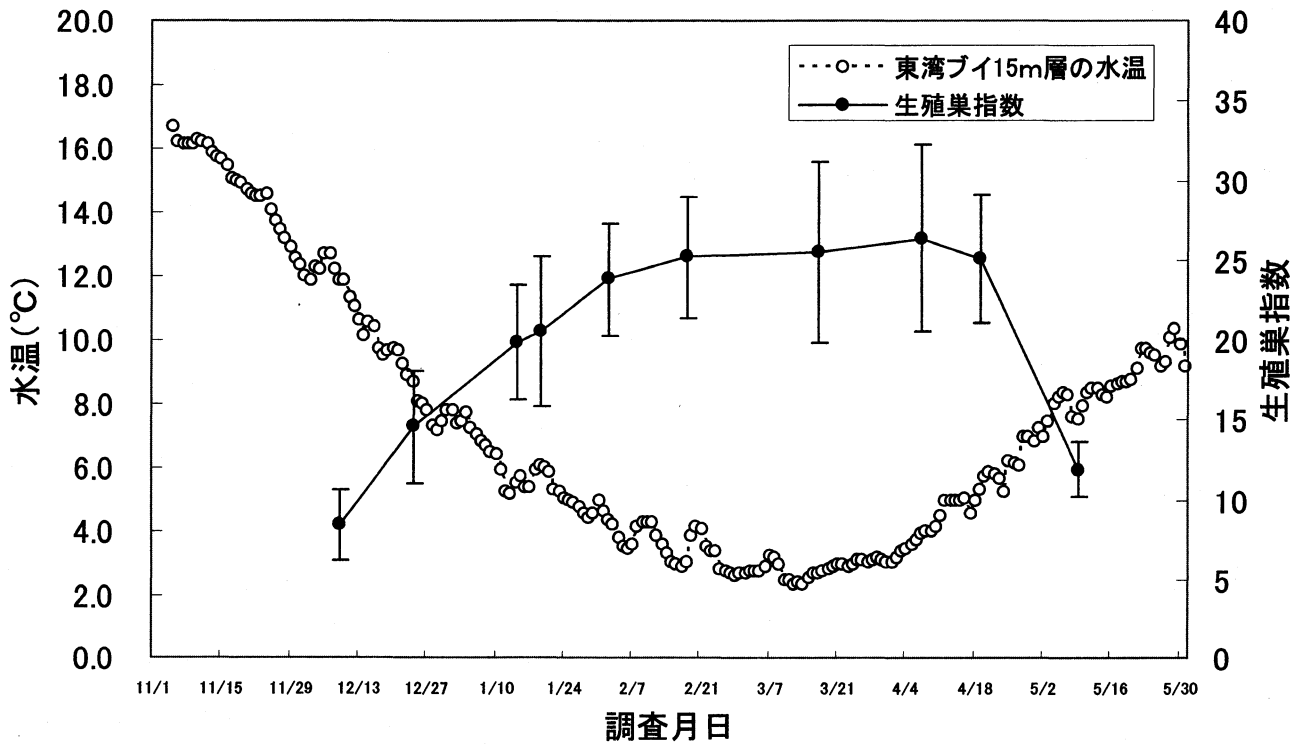


図3 川内実験漁場における生殖巣指数の変化と水温の関係

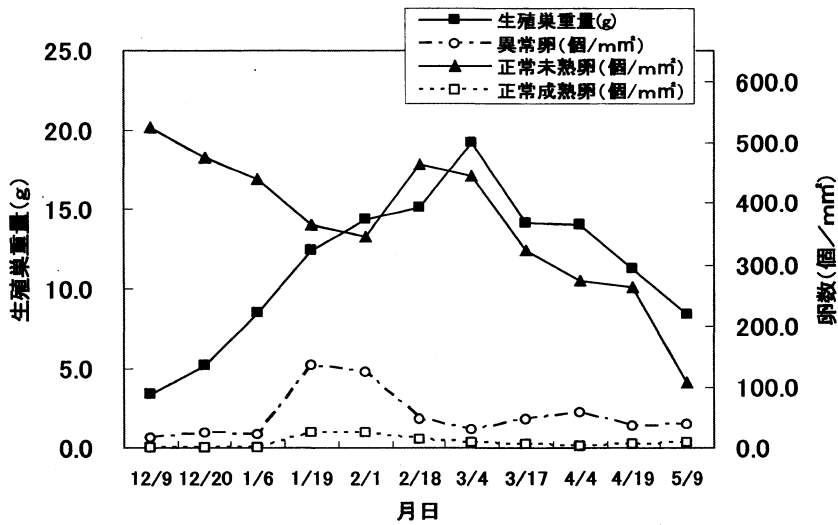


図4 久栗坂実験漁場における生殖巣重量と1mm<sup>2</sup>当りの卵数関係

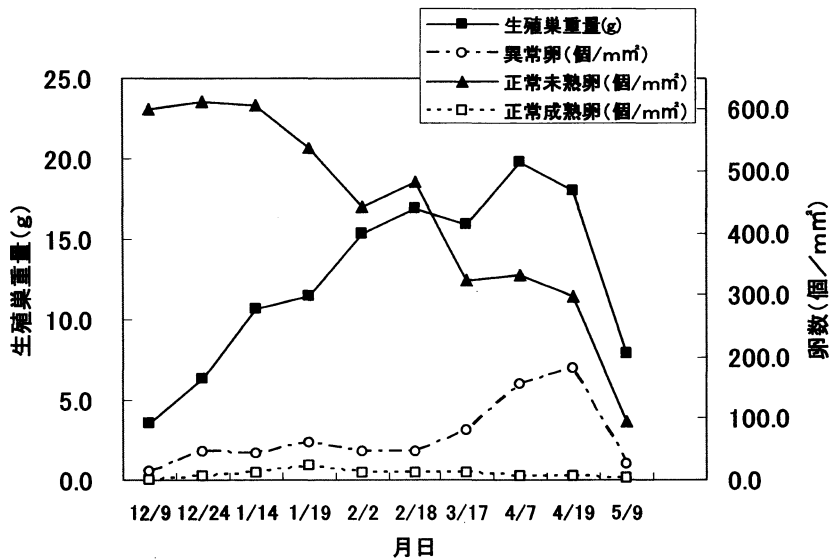


図5 川内実験漁場における生殖巣重量と1mm<sup>2</sup>当りの卵数関係

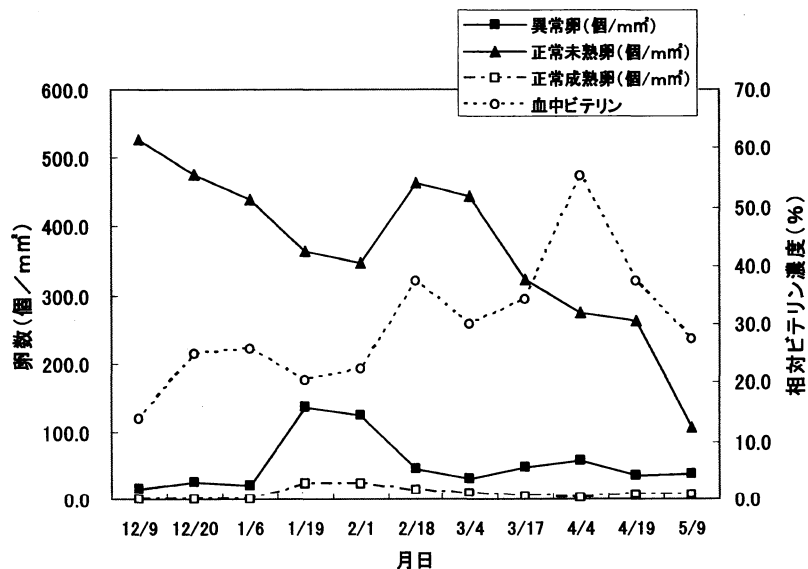


図6 久栗坂実験漁場における1mm<sup>2</sup>当りの卵数と相対ビテリン濃度の関係

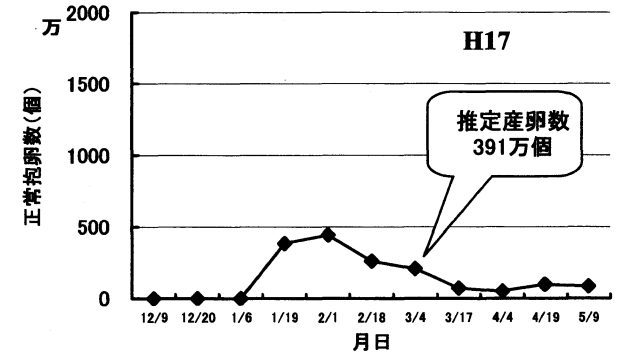
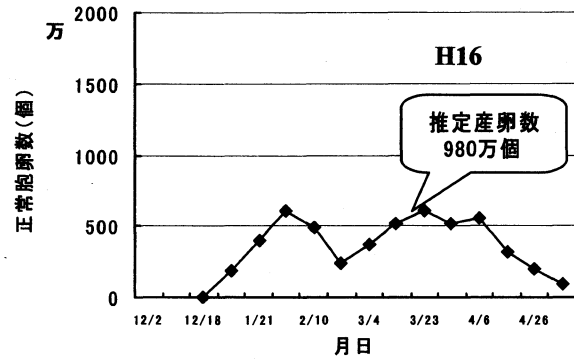
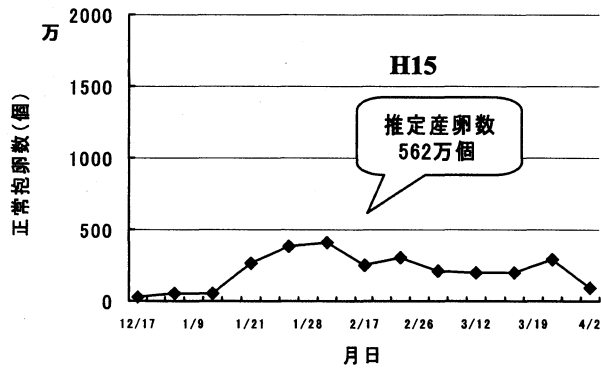


図7 久栗坂実験漁場における正常抱卵数、推定産卵数の推移

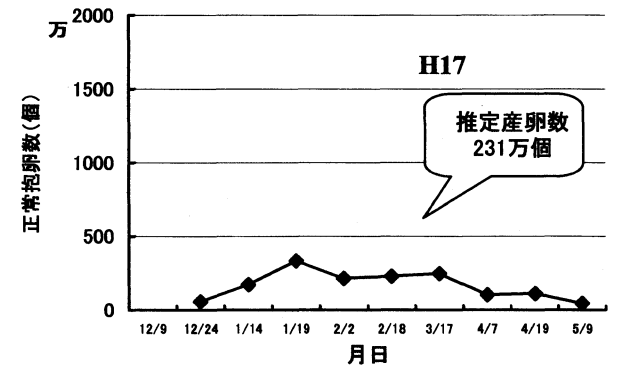
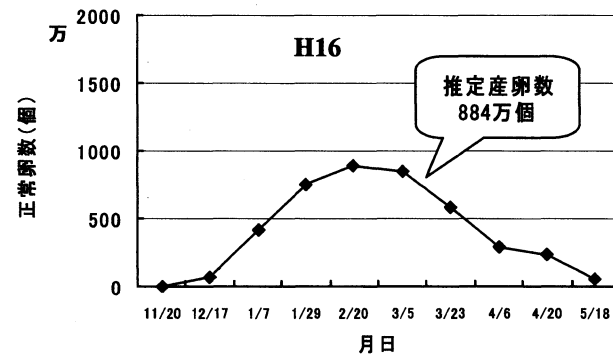
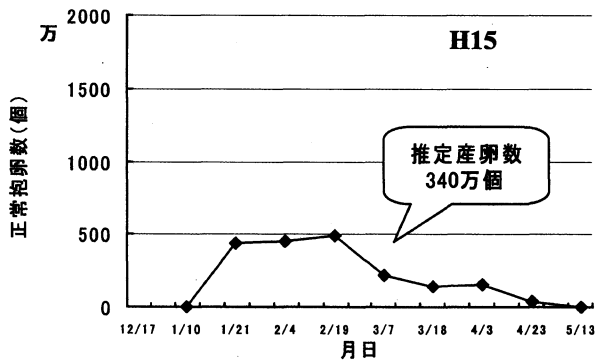


図8 川内実験漁場における正常抱卵数、推定産卵数の推移