

ホルモン処理によるトラフグ天然親魚からの採卵

宮内 正幸・濱田 弘之・佐野 二郎
(研究部)Collection of Fertilized Eggs from the Tiger Puffer, *Takifugu rubripes*,
by Hormonal TreatmentsMasayuki MIYAUCHI, Hiroyuki HAMADA*¹ and Jiro SANO
(Research Department)

トラフグ種苗生産用の受精卵は、これまで成熟した天然親魚から搾出することで入手していた。しかし、天然資源の減少に伴い、そうした天然親魚を得ることが難しくなり、受精卵を安定して入手することが困難になってきた。また、未成熟な天然親魚に哺乳類の胎盤性生殖腺刺激ホルモン(HCG)を注射し、成熟を促すことで受精卵を入手する方法も開発されてはいるものの、安定した採卵技術レベルには至っていない。^{1, 2)} さらに、長期間養成した親魚(以下単に、養成親魚という)からHCGを用いて採卵することも試みられたが、孵化率の低さが課題となっていた。³⁾ その後も採卵技術に係る技術改良が進められ、現在では合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(LHRH-a)を含むコレステロールペレットを養成親魚の背筋部に埋め込むことにより、計画的かつ安定的に良質な卵が得られるようになってきた。^{4, 5, 6, 7)} この方法は、HCGの筋肉注射に比べて、ホルモンがペレットから徐々に溶出するため、効果の持続性が高いと言われている。⁸⁾

しかし、養成親魚から採卵する場合は、給餌をはじめ日長管理などの飼育管理に多くの労力と費用がかかる。⁶⁾ また本県の場合、放流用の種苗確保が主な目的であるため、採卵用親魚には、遺伝的な影響を考慮して、できるだけ放流海域に生息する天然個体を用いることが望ましいと考えている。²⁾

そこで、コスト削減、遺伝的多様性の維持を目的に、養成親魚からの採卵技術をもとにして、地元近海で獲れた天然魚を用いた採卵試験を行った結果、良好な結果が得られたので報告する。

方 法

採卵試験用の親魚には、福岡県玄海町鐘崎漁協所属の漁業者が、玄界灘において浮延縄漁業で漁獲した天然魚を用いた。本漁業の漁期終盤にあたる2001年3月25日に雌5尾と雄4尾及び4月5日に雌4尾を水揚直後に購入した。なお、選別に当たっては、腹部の膨らみが顕著で活力のある個体を選んだ。また、1回目の購入時にはホルモン投与時期の検討を行うため、対照区として明らかに腹部の膨らみの小さい個体を1尾購入した。

購入後は直ちに200ℓ活魚タンクに収容し、酸素通気しながら約2時間かけて水産海洋技術センターまで運搬し、陸上の7tFRP水槽に収容した。試験期間中は給餌を行わず、水温を16℃に保った。

親魚を収容した翌日、雌に対してタイゴン製カニューラ(内径2.0mm)を用いて卵径測定用に卵巣組織の一部を採取し、その後、LHRH-aコレステロールペレットを背筋部に埋め込んだ。使用したLHRH-aは、des-Gly¹⁰, [D-Ala⁶]-LHRH ethylamide(Sigma)で、LHRH-aの投与量は養成親魚の例を参考に400μg/kgとした。^{6, 7)} 一方、雄に対しては、雌同様収容翌日にHCGを500IU/kgの割合で背筋部に注射した。以後、雄については性成熟技術が既に確立されているので、今回は、雌のみの検討を行った。

LHRH-aペレットを投与した2日目から毎日2~3回(9:00, 17:00もしくは9:00, 13:00, 17:00)腹部の触診を行うとともに、体重を測定した。さらに、排卵が近いと思われる個体には、カニューレーションを行って卵の成熟状況を確認した。

成熟卵は、排卵が確認された時点で直ちに搾出法で採卵し、さらに卵巣を摘出して卵巣内に残った成熟卵を直接絞り出して回収した。得られた卵は、速やかに1~2尾の雄を用いて乾導法により受精させた。⁸⁾ なお受精卵

*1 現水産振興課

の一部は、受精率・孵化率を計算するために1ℓのプラスチック容器にそれぞれ200粒ずつ収容し、水温を16℃に保った。受精率は、受精4～5時間後の卵発生が2～4分割した時点で、無作為に50粒検鏡して算出した。また、孵化率は、1日2回の水換え時に、孵化仔魚と死卵を計数して求めた。

結 果

今回実施した2回の採卵試験結果を表1に示した。1回目の試験では、対照区を除く雌5個体の平均体重は2.81kgで、ホルモン投与時の卵径は950～1,001 μm (平均974 μm)であった。この5個体全てから受精卵を得ることができ、採卵時の卵径は1,117～1,181 μm (平均1,156 μm)、採卵量は300～722g (平均568g)、受精率は4.0～90.0% (平均68.8%)、孵化率は0.5～88.9% (平均64.0%)であった。このうち、特に卵質の悪かったA-2を除くと、採卵量は589～722g (平均636g)、受精率は74.0～90.0% (平均85.0%)、孵化率は61.8～88.9% (平均79.9%)であった。一方、対照区のA-6は、ホルモン投与時の卵径が756 μm と他個体に比べてかなり小さく、排卵までには至らなかつ

た。

2回目の試験では、雌4個体の平均体重は3.54kgで、ホルモン投与時の卵径は975～1,044 μm (平均1,018 μm)であった。受精卵は4個体全てから得ることができ、採卵時の卵径は1,171～1,207 μm (平均1,194 μm)、採卵量は499～1,095g (平均862g)、受精率は72.0～93.0% (平均82.5%)、孵化率は44.3～95.3% (平均69.1%)であった。

また、1回目の試験では、ホルモン投与後5日目に初めて排卵が確認され、7日目までの3日間に対照区を除く全ての個体で排卵が認められた。2回目の試験では、4日目に初めて排卵が確認され、翌日には全ての個体で排卵が認められた。

ホルモン投与後の各個体の体重変化を図1に示した。今回の試験結果では、排卵が認められなかった対照区のA-6を除く全ての個体(9個体)において、ホルモン投与後から排卵までの間に2～14%の体重が増加していた。しかし、対照区のA-6だけは、ホルモン投与後の1週間で、体重が約10%減少していた。

考 察

表1 LHRH-a投与による採卵試験結果

個体番号	魚体重 (kg)	LHRH-a 投与日	LHRH-a投与時 卵径(μm)	採卵までに 要した日数	採卵時卵径 (μm)	採卵量 (g)	受精率 (%)	孵化率 (%)
A-1	3.47	3/26	970	5	1,171	722	88.0	88.9
A-2	2.40	"	970	6	1,169	300	4.0	0.5
A-3	2.70	"	950	6	1,117	589	90.0	79.8
1回目 A-4	2.82	"	978	7	1,144	591	74.0	61.8
A-5	2.67	"	1,001	6	1,181	640	88.0	88.9
平均	2.81		974		1,156	568	68.8	64.0
A-6 (対照区)	2.28	"	756	—	—	—	—	—
B-1	3.78	4/6	1,017	5	1,203	1,095	72.0	44.3
B-2	3.44	"	1,044	5	1,207	784	73.0	53.8
2回目 B-3	2.73	"	975	5	1,194	499	92.0	82.9
B-4	4.20	"	1,034	4	1,171	1,071	93.0	95.3
平均	3.54		1,018		1,194	862	82.5	69.1

2回の採卵試験の結果では、対照区を除く9個体全てから採卵ができた。さらに、9個体中8個体からは受精率が70%以上の良質な卵を得ることができた。対照区として設定したA-6は、明らかに腹部の膨らみが小さく、卵径も756 μm と小型であった。この個体が成熟途中か退行過程にあったものかは未確認であるが、LHRH-aを投与するタイミングを失したものと考えられた。^{4, 5)} これらのことから、採卵用親魚には腹部の十分膨らんだ雌を選ぶことを前提としてLHRH-aコレステロールペレットを投与すれば、天然魚からであっても安定した採卵は可能であると考えられた。

また、1・2回目の試験結果を比較すると、試験の間隔は10日ほどしか開いていないが、2回目の方がホルモン処理前の卵径が大きく、採卵までに要した日数も短かった。しかも、体重当たりの採卵量も多く、採卵時の卵径も大きいなど、卵質面においても良好であった。このことから、天然親魚を採卵用親魚として用いる場合は、延縄漁業の漁期終盤の天然魚本来の産卵期に近いほど、より良質な卵を入手できる可能性が高いと考えられた。

受精率は、排卵後の時間経過に伴って、急速に低下することが分かっており、⁷⁾ 受精率の高い卵を安定して得るためには、排卵時期を的確に掴むことが重要となる。昨年実施したホルモン処理による養成親魚からの採卵試験では、9個体中6個体から採卵できたものの、うち1個体は受精率が極端に低かった。⁹⁾ これは、腹部の触診による熟度の診断技術が未熟で、採卵のタイミングを失したためと考えられた。また、採卵できなかった3個体

も腹部の変化を掴む前に斃死してしまい、排卵時期を的確に掴む方法が課題として残された。そこで、トラフグでは体重の変化が、ホルモン投与効果の指標の一つとして利用できるとの指摘もあったことから、¹⁰⁾ 今回の試験では腹部の触診と併せて体重の測定も行った。その結果、採卵できた全ての個体において体重の増加が認められ、ホルモン投与の効果が体重の増加として確認できることが分かった。また、より正確な採卵のタイミングを把握するため、体重測定に加えて適宜カニューレーションを実施し、卵の成熟度の目安となる透明度や分離度を視認した。今回の試験では、対照区を除く9個体中8個体からは高い受精率の卵を入手することができたことから、これら体重測定とカニューレーションの実施は熟度判別のための1つの手段として利用できることが示唆された。

養成親魚においては、ホルモン投与時の卵径が900 μm 以上であれば400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量で排卵は同調するとの報告があるが、^{6, 7)} 今回の天然親魚を用いた試験でも、採卵までに要する日数が、1回目の試験で5~7日、2回目の試験で4~5日とほぼ同調していた。今回の採卵方法を用いれば、親魚の飼育期間も1週間程度で済み、養成親魚を使用する場合と比べて、かなりの労力削減につながると考えられた。^{5, 6)} また、今回の試験結果から受精卵のkg単価を計算すると約8万円となり、近年の受精卵購入費が約20万円であることから、受精卵入手にかかる費用はおおよそ半減されると試算された。

また、卵質については、採卵のタイミングを失した1

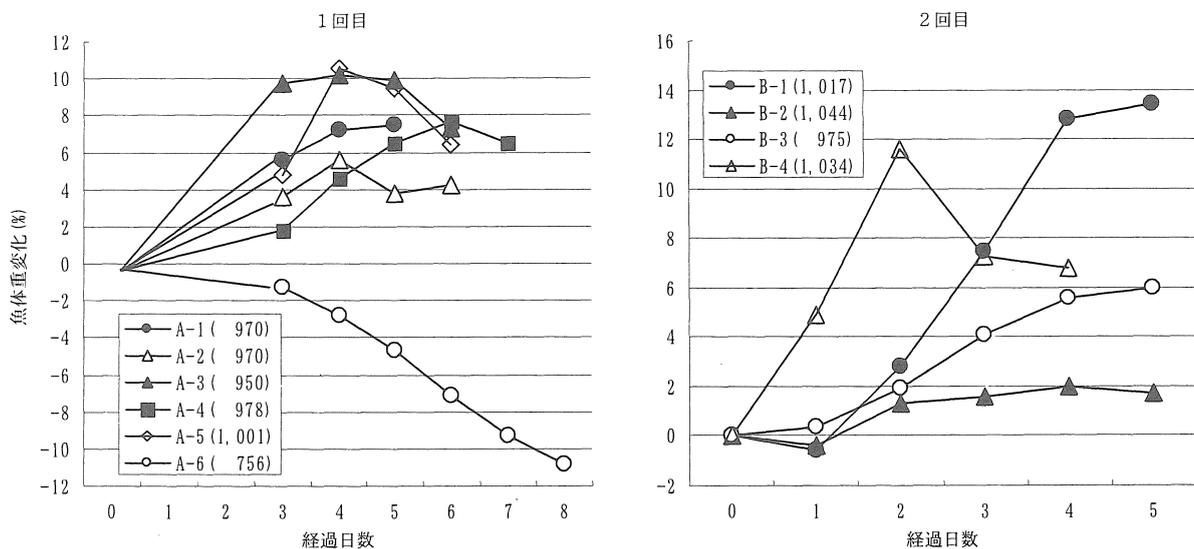


図1 LHRH-a投与後の魚体重変化

尾を除く8尾からは受精率が70%以上の良質な卵が得られたこと、また一部を実際に80mmサイズまで飼育してみたが、奇形魚等も出現しなかったことから、特に問題ないと思われた。

これまでも天然親魚を用いたLHRH-a コレステロールペレットの投与による採卵試験が行われてきたが、^{11, 12)} 養成親魚を用いた方が採卵量は多く、卵質も良好で効率的であると言われてきた。しかし、今回の試験では、近海で漁獲された天然親魚を短時間の内にホルモン処理することで良好な結果が得られた。その理由の一つとして、魚の輸送やハンドリングによるストレス、特に、漁獲されてからホルモンを投与されるまでの間に受けるストレスが大きく関与しているのではないかと考えられた。これまでの試験結果を見ると、採卵できなかった個体は遠方から購入した場合が多いのに対し、今回の試験では県内の延縄船から帰港直後に親魚を購入したため、ホルモンを投与するまでに受けたストレスは遠方で購入した場合に比べて少ないと思われる。また、ホルモン投与後のストレスについては、ホルモンの繰り返し投与や度重なる熟度判定等が親魚に大きなストレスを与えするという指摘もあるが、^{4, 13)} 今回の試験では、ホルモン投与後に腹部の触診や体重測定並びにカニューレーションを適宜行ったが、良質な卵を効率的に得ることができたことから、活力のある個体であれば、ホルモン投与後はある程度のストレスを受けてもその影響は小さいと考えられた。

今後は、今回用いた方法で天然親魚から良質卵を安定して得るために、ホルモン処理のタイミングを再検討するとともに、漁獲からホルモン処理までに受けるストレスが採卵に及ぼす影響についても検討する必要がある。

要 約

- 1) 3月26日と4月6日に玄界灘で漁獲された天然魚を用いて採卵試験を行った。
- 2) LHRH-a コレステロールペレットの投与により対照区を除く計9尾中8尾から受精率が70%以上の良質卵を得ることができ、天然魚からの安定した採卵の可能性が示唆された。
- 3) より天然の産卵期に近い延縄漁期終盤に漁獲された個体を親魚として用いた方が、採卵時の卵径が大きいなど卵質的に優れ、しかも採卵量も多かった。
- 4) 腹部の触診に加えて体重測定やカニューレーションを実施することで、排卵時期を的確に把握することが

できた。

- 5) 親魚の購入から採卵までに要した期間は1週間程度で、養成親魚を用いた場合に比べて飼育に要する労力が削減され、受精卵入手に要する費用も従来に比べ半減されると試算された。
- 6) ホルモン投与前に受けるストレスが、採卵に悪影響を及ぼすことが示唆された。

文 献

- 1) 宮木廉夫・立原一憲・蛭子亮制・塚島康生・松村靖治・藤田矢郎・林田豪介・多部田修：ホルモン処理によるトラフグ天然親魚の成熟促進．水産増殖，40(4)，439-442(1992)．
- 2) 岩本昭雄・藤本宏：種苗生産技術の現状，「トラフグの漁業と資源管理」(多部田修編)，恒星社厚生閣，東京，1997，pp.97-109．
- 3) 松田宗之・山内達也・上口茂則・平田八郎：トラフグ，*Takifugu rubripes*の完全養殖化の試み．水産増殖，41(3)，367-371(1993)．
- 4) 松山倫也・中田久・池田義弘・田中宏之・松浦修平：各種ホルモン投与方法により誘起された養成トラフグの成熟，排卵過程．水産増殖，45(1)，67-73(1997)．
- 5) 中田久・松山倫也・池田義弘・松浦修平：トラフグ養成親魚からの採卵技法の開発．日水誌，63(5)，728-733(1997)．
- 6) 中田久・原洋一・宮木廉夫・松山倫也：LHRH a コレステロールペレットを用いた養成トラフグからの採卵について．長崎県水産試験場研究報告，第24号，15-25(1998)．
- 7) 中田久・松山倫也・原洋一・矢田武義・松浦修平：トラフグの人工受精における排卵後経過時間と受精率との関係．日水誌，64(6)，993-998(1998)．
- 8) 隆島史夫，羽生功：水族繁殖学，第1版，緑書房，東京，1989，pp.166-193．
- 9) 福岡県他：平成12年度資源増大技術開発事業報告書回帰型回遊性種(トラフグ)．福岡1-10(2001)．
- 10) 鈴木康仁・竹村明：トラフグ天然親魚における成熟促進のためのホルモン投与方法の比較．水産増殖，44(1)，85-90(1996)．
- 11) 中田久・原洋一：養成トラフグの成熟促進と採卵技術の開発．平成6年度長崎県水産試験場事業報告，87-89(1995)．

- 12) 金子敏行：親魚の養成と管理．平成10年度長崎県
漁業公社事業報告書，182-184(2000)．
トラフグ養成親魚からの採卵．栽培技研，23(1)，
31-35(1994)．
- 13) 長尾成人・大沢博：LH-RHアナログを使用した