福岡水技研報　第13号　2003年３月
Bull.Fukuoka.Fisheries.Mar.Technol.Res.Cent.No13. March 2003

ＬＨＲＨ－ａコレステロールペレットを用いたトラフグ天然親魚からの採卵

宮内　正幸・佐野　二郎・的場　達人
（研究部）

Collection of Fertilized Eggs from the Tiger Puffer, *Takifugu rubripes*, treated with LHRH Analogue

Masayuki MIYAUCHI, Jiro SANO and TATSUHITO MATOBA
(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。そのため，これまでに各研究機関では様々なホルモン処理による採卵が試みられ，[1－3] 現在では合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ－ａ）を徐々に放出するコレステロールペレットを養成親魚に埋め込むことで，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。[4－6]

しかし，養成親魚から採卵する場合では，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] しかも本県の場合は，放流用の種苗確保が主な目的であるため，種苗生産には，遺伝的な影響を考慮して放流海域に生息する天然親魚を用いることが望ましいと考えている。[7]

そこで，2001年に地元近海で獲れた天然魚を用いてＬＨＲＨ－ａコレステロールペレット投与による採卵試験を行った結果，天然魚からの安定かつ計画的な採卵の可能性が示唆された。[8] 一方で，再現性の問題や運搬等のストレスに起因すると思われる採卵の不安定性が示唆されたため，今回はその再現性の確認とストレスが採卵に及ぼす影響について検討したので報告する。

方　法

採卵試験用の親魚には，福岡県玄海町鐘崎漁業協同組合所属の漁業者が，玄界灘においてふぐ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'02年３月27日に雌６尾と雄４尾を，また４月４日に雌２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。

購入後は直ちに自動車に積んだ200ℓ活魚タンクに収容し，酸素通気をしながら約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。

今回の採卵試験では，雌に２つの試験区を設けた。試験区１は'01年と同様，親魚を収容した翌日に，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。試験区２は市場からの購入を想定して，親魚を購入した翌日に，15分間空中露出させ，更に自動車に積んだ200ℓ活魚タンクに収容して，酸素通気をしながら２時間の運搬を経験させた。そして，これらのストレスを与えた後に，試験区１と同様のホルモン処理を施した。なお，各試験に供した親魚数は，試験区１が３尾，試験区２は１回目が３尾，更に追加試験として２回目が２尾の計５尾とした。使用したＬＨＲＨ－ａは，des-Gly^{10} [D-Ala^{6}] -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, 9] 一方，雄に対しては，収容翌日にＨＣＧを500IU/kgの割合で背筋部に注射した。

ＬＨＲＨ－ａペレットを投与した翌日から毎日２～３回（9:00，17:00若しくは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た個体には，カニュレーションを行って卵の成熟状況を確認した。

成熟卵は，一部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。[10] なお受精卵の一部は，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海水を入れ，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時間後に卵が２～４分割した時点で，無作為に100粒検鏡して算出した。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。また，ホルモン投与による採卵試験結果については，既に報告した'01年度実施分も併せて検討した。[8)]

結　果

今回実施した採卵試験結果を'01年の試験結果と併せて表１に示した。[8)]試験区１では，雌３個体（B-1, 2, 3）の魚体重は2.49～4.92kg（平均体重3.78kg）で，ホルモン投与時の卵径は1,034～1,043μm（平均1,039μm）であった。この３個体全てからホルモン投与４～６日後に受精卵を得ることができ，採卵時の卵径は1,148～1,185μm（平均1,169μm），採卵量は768～1,346g（平均1,082g），受精率は58.0～94.0％（平均80.0％），孵化率は39.9～97.2％（平均71.2％）であった。

試験区２では，５個体中２個体（B-7, 8）からはホルモン投与４日後に受精率の高い良質卵が得られたが，残りの３個体（B-4, 5, 6）からは採卵できないか，できても受精率が非常に低かった。良質卵が得られなかったB-4, 5, 6は，１回目の採卵試験用に３月27日に購入した親魚で，その体重は2.30～2.91kg（平均体重2.53kg），ホルモン投与時の卵径は934～957μm（平均943μm），採卵時の卵径は1,026～1,034μm（平均1,030μm），採卵量は253～497g（平均375g），受精率は0～1％（平均0.3％），孵化率は0～1.5％（平均0.5％）であった。

一方，良質卵が得られたB-7, 8は，４月４日に追加購入した親魚で，その体重はそれぞれ4.13kg, 3.88kg（平均体重4.00kg）で，ホルモン投与時の卵径は1,046μm, 1,075μm（平均1,061μm），採卵時の卵径は1,214μm, 1,242μm（平均1,228μm）と１回目の採卵試験時より明らかに大きく，採卵量は1,231g，1,153g（平均1,192g），受精率は99%，93%（平均96%），孵化率は92.6%，90.9%（平均91.7%）であった。

ホルモン投与後の各個体の体重変化を図１に示した。良質卵が得られたB-1, 2, 3, 7, 8は，ホルモン投与後に体重が急激に増え，排卵するまでに12.5～18.7％増加した。それに比べて良質卵が得られなかったB-4, 5, 6は，体重の増加率が小さく，特に採卵できなかったB-5はほとんど体重は増加せず，逆にホルモン投与８日後には体重が約10％減少して斃死した。

次に，ホルモン投与時の卵径と受精率との関係を図２に示した。ホルモン投与時の卵径が1,000μm以上あればストレスの有無にかかわらず安定した高い受精率を示したが，1,000μm未満の場合は，ストレスを与えると受精率が非常に低かった。

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)	採卵時卵径 (μm)	受精卵卵径 (μm)	採卵までに 要した日数	採卵量 (g)	受精率 (%)	孵化率 (%)
2001年	A-1	3.47	3/26	970	1,171	-	5	722	88.0	88.9
	A-2	2.40	〃	970	1,169	-	6	300	4.0	0.5
	A-3	2.70	〃	950	1,117	-	6	589	90.0	79.8
	A-4	2.82	〃	978	1,144	-	7	591	74.0	61.8
	A-5	2.67	〃	1,001	1,181	-	6	640	88.0	88.9
	A-6	3.78	4/6	1,017	1,203	-	5	1,095	72.0	44.3
	A-7	3.44	〃	1,044	1,207	-	5	784	73.0	53.8
	A-8	2.73	〃	975	1,194	-	5	499	92.0	82.9
	A-9	4.20	〃	1,034	1,171	-	4	1,071	93.0	95.3
	平均	3.13		993	1,173			699	77.2	64.8
2002年 試験区１	B-1	3.94	3/28	1,043	1,185	1.295	4	1,133	88.0	73.6
	B-2	2.49	〃	1,034	1,148	1.204	6	768	58.0	39.9
	B-3	4.92	〃	1,041	1,174	1.324	5	1,346	94.0	97.2
	平均	3.78		1,039	1,169			1,082	80.0	71.2
2002年 試験区２	B-4	2.30	3/28	957	1,034	1.148	6	253	1.0	1.5
	B-5	2.91	〃	939	—	—	—	—	—	—
	B-6	2.38	〃	934	1,026	1.097	6	497	0.0	0.0
	平均	2.53		943	1,030	1.123		375	0.3	0.5
	B-7	4.13	4/5	1,046	1,214	1.301	4	1,231	99.0	92.6
	B-8	3.88	〃	1,075	1,242	1.364	4	1,153	93.0	90.9
	平均	4.00		1,061	1,228	1.333		1,192	96.0	91.7

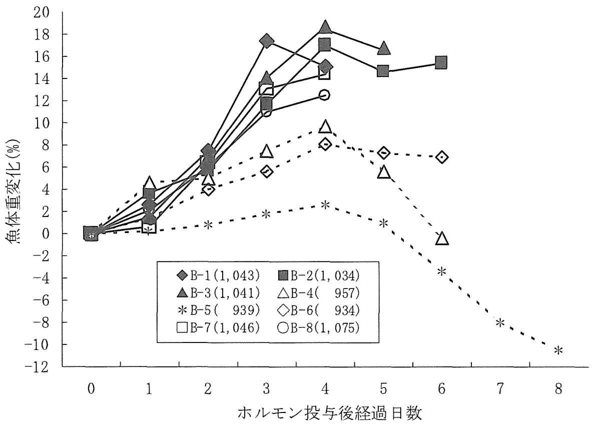

図１　ＬＨＲＨ－ａ投与後の魚体重変化（2002年）

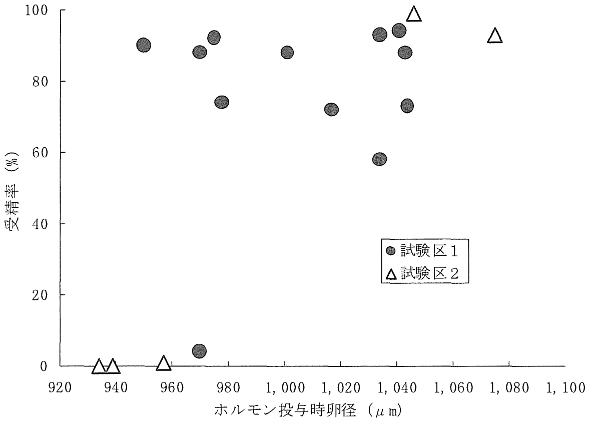

図２　ホルモン投与時の卵径と受精率の関係（2001, 2002年）

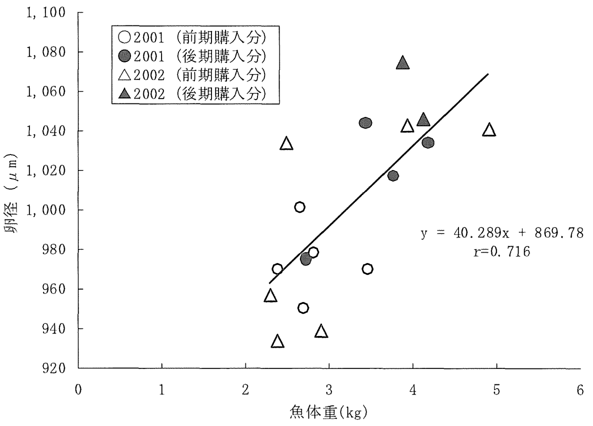

図３　魚体重とホルモン投与時の卵径の関係（2001, 2002年）

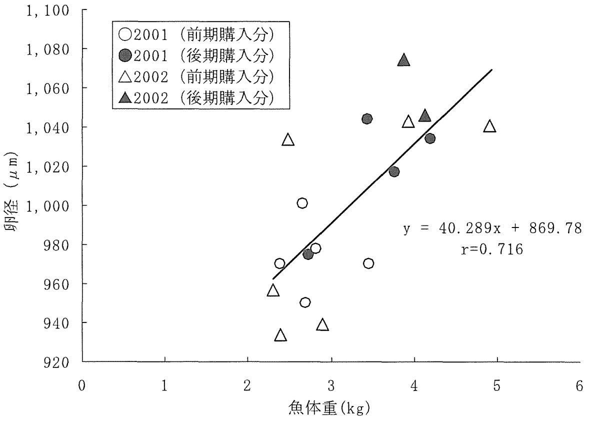

図４　ホルモン投与時の卵径と排卵までに要した時間の関係（2001, 2002年）

魚体重とホルモン投与時の卵径との関係を図３に示した。'01年，'02年とも購入は２回に分けて行っており，'01年は購入時期が11日異なるが，魚体重が2.40～4.20 kg，卵径が950～1,044μｍの範囲にあった。'02年は購入時期が８日異なるが，魚体重が2.30～4.92kg，卵径が934～1,075μｍの範囲にあった。購入時期が遅いほど卵径が大きい傾向があり，魚体重が大きい個体ほど大きな卵径の卵巣卵を持っている傾向が伺えた（$r=0.716$, $p<0.01$）。

ホルモン投与時の卵径と排卵までに要した時間を図４に示した。'01年はホルモン投与時の卵径が950～1,044μｍの範囲にあり，排卵までに92～164時間要した。'02年の試験区１では卵径が1,034～1,043μｍの範囲にあり，排卵までに101～137時間要し，試験区２では卵径が934～1,075μｍの範囲にあり，排卵までに98～145時間要した。全体的にホルモン投与時の卵径が大きいほど，排卵までに要する時間が短い傾向が見られた（$r=0.727$, $p<0.01$）。

考　　察

'01年の採卵試験では，９個体中８個体から平均受精率が83.3%で，平均孵化率が72.8%の良質卵を得ることができた。また，同じ方法で行った'02年の試験区１では，３個体全てから採卵でき，平均受精率が80.0%，平均孵化率が71.2%と２年続けて安定して良質な卵を得ることができた。これらの結果から，採卵用親魚に水揚げ直後の腹部の十分膨らんだ雌を選んでＬＨＲＨ－ａコレステロールペレットを投与すれば，天然魚からでも安定した採卵が可能であることが分かった。

また，ホルモン投与後の魚体重を調べたところ，'01年同様，体重の増加が確認された。[8] トラフグ天然養成親魚を用いた採卵試験では，排卵が体重増加のピークか，あるいはその翌日に起こるのが特徴的であるという報告があるが，[11] 今回の試験でも排卵は体重増加のピークから遅くても２日以内に起こることが確認された。この

ことから魚体重変化の把握は，排卵予測の指標の一つとして利用できると考えられた。

以上のように，天然親魚にＬＨＲＨ－ａコレステロールペレットを投与することによる採卵の再現性が確認された。

しかし一方で，これまでに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たが，必ずしも安定した結果は得られていない。[12,13] 魚類では，一般に捕獲や空中露出などのハンドリング，輸送といった刺激に対しストレス反応を示すことが知られており，[14] これまでに行われた採卵試験で安定した結果が得られなかった原因の１つとして，市場でのセリや遠方からの購入に伴う運搬等による魚体へのストレスの影響が考えられた。そこで，'02年にストレスを負荷した場合の採卵試験を行った。ストレスを与えなかった場合は，ホルモン投与時の卵径が900μｍ以上あれば，概ね受精率・孵化率の高い良質卵が得られるが，ストレスを与えた場合は，卵径が1,000μｍ以上あれば良質卵を得ることができるものの，900～1,000μｍの場合は，採卵できても受精率・孵化率が非常に低いことが分かった。

養成親魚の場合は，ホルモン投与時の卵径が900μｍ以上あれば，ＬＨＲＨ－ａコレステロールペレットの投与により，安定的・効率的な採卵が可能と言われているが，[6] 天然親魚の場合は，900μｍ以上あれば採卵は可能だが，1,000μｍ以上の卵径を持った親魚を用いたほうが，より採卵の安定性が向上すると考えられた。また，900～1,000μｍの卵径を持った親魚を用いる場合は，ストレスをできるだけ与えないようにするか，ストレスを与えた場合はしばらく間をおいてホルモン処理する必要があると考えられた。

養成親魚では体重２kg以下の３歳魚でも採卵用親魚として十分に使用できることが報告されている[5]。天然親魚の場合は，３月下旬以降で体重が２kg以上あれば卵径900μｍ以上の卵巣卵を持っており，さらに魚体重が大きいほど大きな卵巣卵を持っている可能性が高いことから，採卵用親魚には，３月下旬以降の腹部の十分膨らんだ体重２kg以上の雌を使用した方が良いと考える。特に，採卵の安定性を目的に1,000μｍ以上の卵巣卵を持った雌を購入したい場合は，３kg以上の雌を選ぶことが望ましいと考える。さらに，卵径の大きな雌ほど排卵までに要する時間が短いことから，そのような雌を選べば採卵に要する労力も少なくて済み，コスト削減にも有効であると言える。

今回の結果から，天然魚へのＬＨＲＨ－ａコレステロールペレット投与による採卵の再現性が確認されたが，雌の成熟状態によっては運搬等のストレスが採卵の成否に大きな影響を及ぼすことが示唆された。

要　約

1) 玄界灘で漁獲された天然魚へのＬＨＲＨ－ａコレステロールペレット投与による安定した採卵の可能性が示された。
2) ホルモン投与時の卵径が900μｍ以上あれば天然魚からでも採卵は可能だが，1,000μｍ以上あれば，より採卵の安定性が増すと考えられた。
3) ３月下旬以降に魚体重２kg以上の腹部の大きな雌を選べば，卵径900μｍ以上の卵巣卵を持ち，魚体重３kg以上の雌を選べば，卵径1,000μｍ以上の卵巣卵を持っている可能性が高いと考えられた。
4) ホルモン投与時の卵径が大きいほど，排卵までに要する時間が短くて済み，それだけ採卵に要する労力も少なく，コスト削減に効果があると考えられた。

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) 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).
3) 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).
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：ＬＨＲＨａ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) 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.
8) 宮内正幸・濱田弘之・佐野二郎：ホルモン処理によ

るトラフグ天然親魚からの採卵．福岡県水産海洋技術センター研究報告，第12号，105-109(2002)．

9) 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)．

10) 隆島史夫，羽生功：水族繁殖学，第１版，緑書房，東京，1989，pp.166-193．

11) 山崎英樹・町田雅春・白木美聡・白井重行・廣瀬慶二：ＬＨＲＨａコレステロールペレットを用いた天然魚由来のトラフグ養成親魚からの採卵について．栽培技研，29(2),73-78(2002)．

12) 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)．

13) 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)．

14) 石岡宏子：ストレス,「活魚輸送」(日本水産学会編)，恒星社厚生閣，東京，1982，pp.52-69．