

トラフグ養成親魚からの採卵試験

鍋 島 浩

トラフグの種苗生産には従来、完熟した天然親魚からの採卵、人工授精による手法が用いられてきたが、近年完熟親魚の漁獲が減少し、また、天然親魚からの病原体感染を防止するため、養成親魚からの採卵の必要性が高まっている¹⁾。

近年養成親魚の成熟、排卵促進に黄体形成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の1回投与が効果的との報告がなされている²⁾。

そこで、研究所で種苗生産し、養成した満3才魚にLHRH-a及び通常使用されている哺乳類由来の生殖腺刺激ホルモン (HCG) を投与し、その有効性を検討した。

材料及び方法

親魚

採卵に使用した親魚は平成8年2月に研究所で天然親魚から採卵、種苗生産した養成魚43尾(雌雄不明)の内の大型魚である。この1年間6トン円形水槽1面、3トン円形水槽2面で飼育した。餌料は栄養剤を添加した冷凍イカナゴ、マサバを主体に、マルソウダ、マアジ、オアカムロを週5日飽食量与えた。水温は深層水と表層水を混合することにより、夏季は最高23℃以下、冬季は14℃以上になるように調整した。

平成10年12月末頃より腹部の膨満する個体が出現するようになった。平成11年1月6日、内径2.0mmのシリコンチューブで4尾の卵巢組織の採取を試み、内2尾から採取できた。その時の平均卵径は0.64mm、0.83mmであった。2月4日、同4尾から同様の方法で採取を試み、内3尾から採取でき、卵径は0.84mm、0.89mm、0.96mmと卵巢卵の発達が進んでいた。その後も腹部の膨満した個体から卵巢組織の採取を試みたが採取できなかったため、以下に記すホルモン処理を2月9日から行

い、採卵、種苗生産を試みた。

ホルモン処理

ホルモン剤LHRH-aはdes-Gly¹⁰, [D-Ala⁶] - LHRH ethylamide (SIGMA) を使用し、LHRH-a コレステロールペレット(以下ペレット)の調整はLee et al³⁾に準拠し、各成分の割合は藤野⁴⁾にしたがった。ペレットのサイズはLHRH-aのトラフグへの投与量が100 μ g/kg体重になるように調整した。

LHRHペレットの成分及び量

LHRH-a(mg)	12.5
エタノール(ml)	0.5
コレステロール(mg)	475
ココアバター(mg)	25

このペレット(ϕ 2mm)の体内への移植は、まず親魚背筋部の表皮を眼下用ハサミで針が入る程度の切れ込みを入れ、ステンレス製動物用移植針で背筋中に埋め込む方法をとった。

一方、哺乳類由来の生殖腺刺激ホルモン(HCG)は1kg体重当たり500単位を背筋部に注射した。

結果及び考察

採卵及び人工授精

LHRH-aコレステロールペレット投与後ほぼ1~2週間で確実に産卵するようになった。しかし、カニキュレーションによる卵巢卵の採取が困難なため、排卵日を正確に予想することができず、しばしば夜間から早朝にかけて水槽内で産卵し、全量人工授精が行えなかった。また、生殖腺刺激ホルモンの催熟でも同様の結果となった。

LHRH-aコレステロールペレット及び生殖腺刺激ホルモンによって人工授精した卵は200 ℓ ア

ルテミアふ化槽で表層水を流水にし、強通気で管理したが受精は確認できなかった。

未受精の原因として、2月採卵分は卵径が小さ

いこと、また3、4月採卵分は卵径がいびつであったことなど、初めての産卵のため卵質等に問題があったと考えられる。

表-1 トラフグでのホルモン投与及び採卵・人工受精結果

No.	体重 (kg)	ホルモン種類	ホルモン処理日	採卵日	採卵量(内人工授精分) (g)	平均卵径 (mm)	受精率 (%)	ふ化率 (%)
1	1.80	LHRH	2.9	2.22	280	1.07	—	—
2	1.65	HCG	2.9	2.23	272 (51)	1.09	0	0
3	1.71	LHRH	2.9	3.2	166 (82)	1.05	0	0
4	1.53	HCG	2.16	3.1	136	1.03	—	—
5	1.85	HCG	2.16	3.3	412 (32)	1.05	0	0
6	1.60	LHRH	3.6	3.15	456 (32)	1.10	0	0
7	1.72	LHRH	3.29	4.5	380 (51)	1.14	0	0
8	1.64	HCG	4.5	4.12	298	1.19	—	—
9	1.48	無処理	—	4.23	269 (35)	1.19	0	0

平成11年度

昨年の親魚（4年魚）を引き続き雌雄別に養成し、種苗生産を試みた。餌料は生餌からモイストペレットに代え、週5回飽食量与えた。

モイストペレットの組成 (g)

イカ	450
オキアミ	450
マアジ	450
イカナゴ	700
マッシュ	1200
総合ビタミン剤	150
ビタミンC	30
強肝剤	80
アナアオサ	70

平成12年1月31日に腹部の膨満した雌3尾をカニューレションし、内2尾から採卵できた。平均卵径はそれぞれ0.89、0.98mmであった。2月9日この2尾 (No. 1、No. 2) と雄3尾に1回目のホルモン処理 (LHRH-aコレステロールペレット)

を施した。その後雌からのカニューレションは不可であったので2月24日の2回目は雌雄とも腹部膨満個体を各々2尾 (雌: No. 3、No. 4) 選び同様のホルモン処理を施した。ホルモン処理後は雌雄別に2トン水槽で飼育した。

なお、LHRH-aコレステロールペレットの投与方法、量は前年と同様とした。

また、マリーントクノロジー研究所 (藤野氏) によると採卵のタイミングはホルモン投与後体重が急激に増加し、ピークをむかえるが、このピーク時かやや減少に転じた時から15~18時間後とのことであったので、研究所においてもこれに従い採卵を試みた。

採卵及び人工授精

昨年の採卵結果より体重測定はホルモン投与4日後からと判断した。しかし、2.24処理群は最初雄雌を取り間違えたため測定が5日後となり詳細な体重変化を把握することができなかった。No. 1はホルモン投与後120時間で体重が急増し、152時間後に採卵した。また、No. 3もほぼ同様の経過を

示した。採卵できた2尾はいずれも生殖孔が肥大発赤していた。一方、No. 2は体重が増加したにもかかわらず採卵できず、288時間後まで体重測定したが魚体が衰弱したため元の水槽の返した（その後衰弱死）。また、No. 4は体重がほとんど変化せず、168時間後元の水槽に返した。

雄は5尾に同ホルモンを投与したが1尾しか採精できなかった。

上記雌2尾と雄1尾で人工授精（乾導法）を行い、洗卵後卵は2001アルテミアふ化槽に収容し、強通気で管理した。

卵径はNo. 1、No. 3とも1.3mm程度で昨年と比べ0.2mmほど大きかったが、No. 1はふ化率が低く、体重変化からみて過熟と思われた。また、No. 1は表層水で管理したが当初の16℃から13℃まで水温が低下し、ふ化率測定のため18℃で管理していたものと比べさらに低かった。そのためNo. 3は深層水を加温し17℃前後で管理した。また、ふ化までの日数は7～11日と長期間にわたった。

得られたふ化仔魚はNo. 1が約1,000尾、No. 3が約60,000尾でこれらを用いて種苗生産を行った。

ホルモン処理後の体重(g)の変化

2.9 処理群

経過時間	0	96	104	120	128	144	152	166	192
No. 1	2125	2189	2209	2496	2305	2262	採卵	採卵	—
No. 2	2387	2474	2480	2480	2456	2471	2436	2444	2589

2.24 処理群

経過時間	0	120	128	144	148	152	168	176	192
No. 3	2301	2484	2476	2444	採卵	採卵	—	—	—
No. 4	2199	2204	2206	2202	2095	2188	2189	2195	2185

No. 1、No. 3の各々2回の採卵は以下No.1-144、

No. 1-152、No. 3-148、No. 3-152とする。

採卵・人工受精結果

No.	体重 (kg)	ホルモン 処理日	採卵日 (時間)	採卵量 (g)	均卵径 (mm)	ふ化率 (%)
No.1-144	2.125	2.9	2.15(PM5:00)	305	1.30	2.0
No.1-152			2.16(AM9:00)	162	1.28	5.8
No.3-148	2.301	2.24	3.2 (PM)	216	1.28	37.9
No.3-152			3.2 (AM)	181	1.29	29.8

参考文献

1) 松田宗之, 山内達也, 上口茂則, 平田八郎: トラフグ, *Takifugu rubripes* の完全養殖の試み. 水産増殖, 41, 367-371 (1993).
2) 松山倫也, 中田 久, 池田義弘, 田中宏幸, 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,

40, 159-165 (1992).
3) C. S. Lee, C. S. Tamaru, and C. D. Kelley. Technique for making chronic-release LHRH-a and 17 α -methyltestosterone pellet for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*, 59, 161-168 (1986).
4) 藤野 (マリーナテクノロジー研究所) 私信