

生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH α) による早期産卵の誘導 (大型ハタ類の性転換・性成熟研究^{*1})

狩俣洋文^{*2}, 木村基文, 中村 将^{*3}

Advanced Spawning of Malabar Grouper, *Epinephelus marabaricus* by GnRH α

Hirofumi KARIMATA^{*2}, Motofumi KIMURA and Masaru NAKAMURA^{*3}

成熟したヤイトハタの雌親魚4個体と雄親魚1個体を、飼育水の加温が可能な60kL水槽に収容し2008年1月から加温および長日処理を開始した(水槽区)。一方、川平湾内に設置した海面生簀では、ヤイトハタ20個体(うち雄1個体)を飼育した(生簀区)。生簀区は自然水温、自然日長にもかかわらず、2008年3月に生殖腺組織切片を観察したところ卵黄周期の卵巣卵を有していた。2008年3月下旬から4月上旬にかけて、水槽区・生簀区に対して生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログ(GnRH α)を2回摂取(2回目はHCGと同時に摂取)した結果、水槽区の雌個体の腹部が張り出し最終成熟に達した。自然産卵は行われなかったため乾導法による人工授精を試み、わずかな受精卵・孵化仔魚を得たが稚魚の生産には結びつかなかった。卵の過熟が原因と考えられた。なお、生簀区の個体は採卵できなかった。

目的

ヤイトハタの養殖の疾病は、イリドウイルス症による被害が最も多く(仲盛ほか, 2007)、特に夏季の高水温期に大量斃死を起こしやすい。ヤイトハタ養殖の疾病対策の技術開発は急務であり、これまで銅イオン発生装置を用いた手法(金城, 屋比久, 2006; 金城, 吉里, 2007)や、免疫賦活剤としてビタミンEを用いる研究(中村ほか, 2005, 2006)がなされてきた。これらの技術に加え、養殖種苗の導入時期を早めることができれば、イリドウイルス症発生盛期までに種苗を成長させ、種苗の抵抗力を高め養殖初期の生残を高める事が期待できる(狩俣ほか, 2007; 仲盛ほか, 2007)。

昨年までの実験ではGnRH α 処理を1月に行い、飼育水の加温や長日処理の環境制御を行った。しかし3-4月中の早期産卵はなかった。そこで、今年度は先に環境制御によって成熟を促進した後に、ホルモン処理を行い早期産卵の誘導を図ることとした。

本文に先立ち、本研究を進めるにあたり有益な助言を頂いた宮崎大学の香川浩彦博士に厚く御礼申し上げる。

材料及び方法

試験魚の管理 ヤイトハタの雌親魚4個体(平均体重20.3kg)と雄親魚1個体(体重32.9kg)を、2007年12

月に、飼育水の加温が可能な屋内八角形60kL水槽に収容した(水槽区)。2008年1月22日からボイラーによる加温を開始し、実測水温が26°Cに達するまで0.1°C/日ずつ設定温度を上昇させた(図1)。また長日処理として、500wハロゲンライト2灯を17時から点灯させ、消灯時間は飼育期間に伴って延長した(図1)。注水量は燃費節減のため0.5~1.0回転/日程度におさえ、水質を観ながら必要に応じて2.0回転/日程度に上げた。

試験期間中の餌は、冷凍魚類(スマ, ヒラソウダ, ヤマトミズンなど)と冷凍イカ類(ソデイカの鱈, スルメイカ)を飽食量与えた。餌の表面には栄養添加剤(ヘルシーミツ

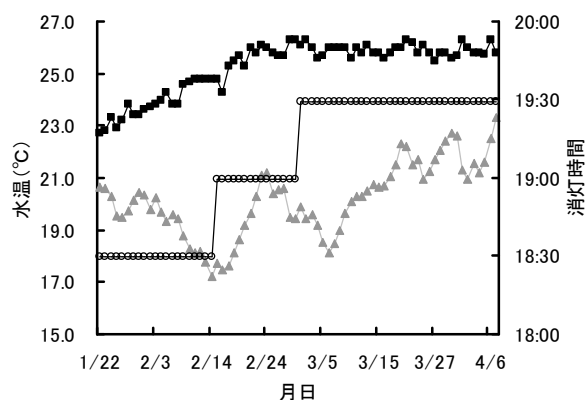


図1. 試験期間中の自然水温および水槽区水温と長日処理の消灯時間
▲は陸上水槽の自然水温, ■は水槽区水温, および○は消灯時間を示す。

*1 先端技術を活用した農林水産研究高度化事業

*2 Email: karimah@pref.okinawa.lg.jp

*3 琉球大学熱帯生物圏研究センター

クスII：ビタミンクスE：乾燥胆末を20：1：1に混合したものを付着させた。給餌頻度は1~3回/週とした。

成熟度調査 水槽区の成熟度を調べるために、3月24日にカニューレションを行った。麻酔は2-フェノキシエタノール(0.15mL/L)を用いた。カニューレ管は内径2mm×外径4mmのppチューブ(アラメック)を用い、陰圧をかけられるように注射器を取り付けた。生殖孔にカニューレ管を挿入しにくい場合は、やや硬性のあるポリエチレン管(外径2mm)を先に生殖孔に通した後、再度カニューレ管をさし込むと容易に挿入できた。しかし、成熟の進んでいないと思われる個体はポリエチレン管の挿入も難しく、生殖孔や輸卵管を傷つける恐れがあり生殖腺組織の採取は中止した。採取できた卵巣卵は万能投影機(倍率50倍)を用いて卵径(n=50)を測定し、一部はブアン液で固定した。雄親魚は、腹部から生殖孔に向けて手で圧迫して排精の状況を調べた。

一方、川平湾内に設置した海面生簀(5×5×5m)では、ヤイトハタ20個体(うち雄1個体)を飼育した(生簀区)。生簀区は自然水温、自然日長とした。2008年3月17日に、雌親魚の成熟度を把握するために、2個体の生殖腺を採取した。4月1日に雄1個体(体重未計測)と、雌6個体(平均体重14.6kg)を陸揚げし、自然水温で養成したヤイトハタの早期産卵が可能かどうか検討した。

GnRHaおよびHCG処理による早期産卵誘導 2008年3月31日に、水槽区の4個体に対しGnRHa50μg/kgを筋肉注射した。4月3日に同じ個体にGnRHa50μg/kgとHCG400IU/kgを再処理した。また、生簀区の全個体には、4月1日にGnRHa50μg/kgを注射し、4月4日にGnRHa50μg/kgとHCG400IU/kgを再処理した。ホルモン処理により、最終成熟が進んだとみられる個体に対し、4月7日に乾導法による人工受精を行った。このとき雌の生殖孔はやや張り出して柔らかくなっており、ビニール管(内径5mm×外径7mm)を生殖孔に挿入して卵を絞った。得られた卵は100Lパンライトに入れて、浮上卵と沈下卵を分離した。また、受精を確認後に浮上卵を孵化槽(透明1kLパンライト)に収容し孵化を待った。孵化槽は屋内八角形30kL水槽内に設置し、26℃まで加温した。孵化仔魚は30kL水槽(水量12kL)に収容し、飼育管理はヤイトハタ生産事業(木村ほか、2007)に従った。

結果及び考察

試験魚の管理 2008年1月4日に、水槽区のうち雌1個体の斃死を確認した。原因は水槽外への飛び出しで、喧嘩によって追いやられたと考えられた。また、水槽区で水槽に体をこすりつける行動が観察され、池替え時にカリグス類の寄生を確認した。そこで、銅イオン発生装置を用いて、銅イオン濃度約50ppbを2週間継続することで駆虫した。摂餌については魚類に強い嗜好性があり、カリグス類が寄生したときは摂餌量が減少した。

生簀区の水温は、水温データロガー(HOBO: Water temp pro.)の故障によりデータを得ることができなかった。参考として、期間中の陸上200kLコンクリート水槽の水温は17.1から23.2℃(平均20.1℃)で推移した(図1)。

成熟度調査 水槽区を3月24日にカニューレションした結果、雌3個体中2個体で卵径158~580μm(平均374μm)の卵巣卵が採取された(図2)。周辺仁期、油球期および卵黄球期の卵母細胞が観察され、成熟途中であることが推察された。腹部圧迫による雄親魚の排精は確認できなかった。3月17日に生簀区の2個体の卵巣を摘出した結果、生殖腺重量は272, 1,058g(GSI【生殖腺指数：生殖腺重量÷体重×100】:1.6, 6.9)で、成熟途中の卵巣卵を有していた(図3)。自然水温および自然日長でも、3月中には卵巣の成熟が進行していることが分かった。陸揚げした個体は、生殖孔が狭くカニューレ管の挿入が難しかったため、卵巣卵の採取は出来なかった。

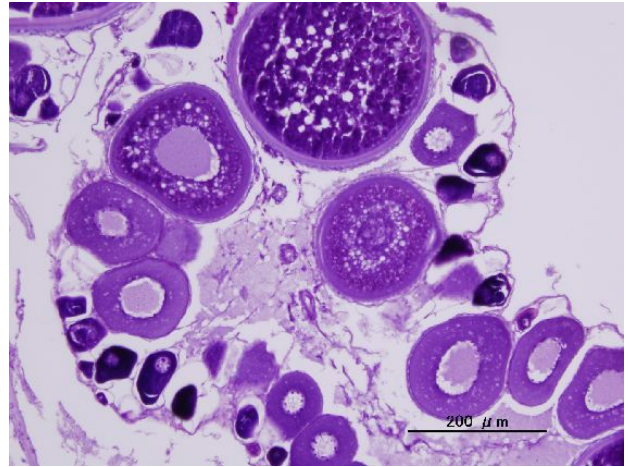


図2. 水槽区の雌個体から採取した卵巣卵

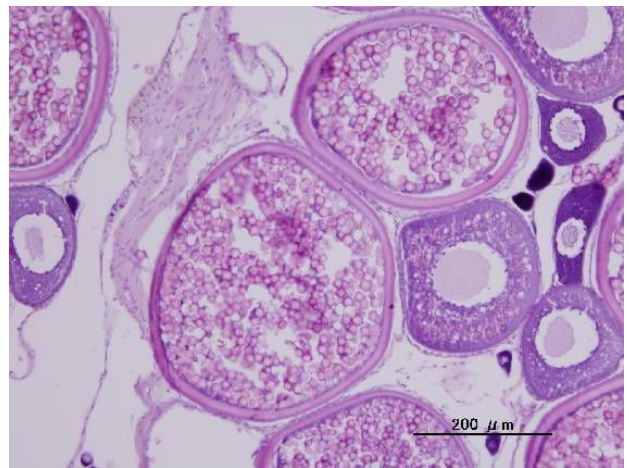


図3. 生簀区の雌個体から採取した卵巣卵

GnRHaおよびHCG処理による早期産卵 水槽区、生簀ともに、1回目のGnRHa処理では産卵がなく、腹部が張り出す雌個体も無かった。そこで、両試験区とも1回目の処理から3日後にGnRHaの再処理に加えHCGも合わせて投与した。ホルモン再処理から2日後に、水槽区の雌2個体の腹

部が張り出した。カニキュレーションで卵巣卵が取れなかった雌1個体は反応しなかった。つまり、環境制御により成熟が促進した個体に対して、GnRH α およびHCGが作用したと考えられた。しかし体色変化や追尾行動などの産卵行動は観察されなかった。一方、生簀区はいずれの個体も腹部が張り出すなどの反応が見られなかった。

水槽区の自然産卵が行われなかったので、ホルモン再処理から4日後に乾導法による人工受精を行った。成熟したと見られる雌2個体中1個体は、わずしか卵を搾取できなかったが、もう一個体からは1,318gを搾取した。雄個体からは白濁した精液は放出されず、透明で粘度のない液体を搾取し卵と混ぜた。その結果、種苗生産に使用可能な浮上卵は80gで、平均卵径は873~892 μ mであった。卵径は通常産卵された卵と変わらなかった(大嶋ほか, 2002)。

得られた受精卵の孵化率は6.6%と低く、また孵化後5日目で孵化仔魚が大量減耗したため種苗生産を中止した。一般に、GnRH α またはHCGを短期間に作用させるハタ類の採卵では、ホルモン処理から48時間後を目処に自然産卵もしくは人工受精を行う(土橋ほか, 2007; 今泉ほか, 2005; Yuan-Shing Ho et al, 1997)。しかし、今実験では自然産卵の有無を確認した後に人工受精を行ったのでタイミングが遅くなった。そのために卵巣卵が過熟になったと考えられる。

水槽区の人工受精から3日後に、卵を多く搾取した雌1個体が斃死した。生殖腺重量は1,650g (GSI : 7.66) で、卵巣卵は給水して分離していた。すなわち、卵を十分に搾った後も卵巣卵の成熟が進んだと考えられた。今後、ホルモン処理を伴う人工受精を行う時にHCGの処理量を減らすなど注意が必要であろう。

なお、陸上四角形200kL水槽で飼育中のヤイトハタ(ホルモン未処理群)は、2008年4月30日から産卵開始した。

本実験により、加温および長日処理を行ったヤイトハタの、早期産卵が可能であることが一例ではあるが示すことが出来た。今後は安定した早期採卵技術の獲得、受精率の向上、卵質の改善などが課題となる。

文献

- 今泉 均, 堀田卓朗, 太田博巳, 2005 : クエの精子凍結保存法と凍結精子を用いた人工受精. 水産増殖, 53(4), 405-411.
- 金城清昭, 屋比久宏, 2006 : 銅イオン発生装置を用いたヤイトハタ海面養殖試験(養殖ヤイトハタ等ブランド化推進技術開発事業). 平成16年度沖縄県水産試験場事業報告書, 132-136.
- 金城清昭, 吉里文夫, 2007 : 銅イオン発生装置の利用試験(新養殖管理技術開発試験). 平成17年度沖縄県水産試験場事業報告書, 108-111.
- 狩俣洋文, 仲盛 淳, 中村 将, 仲本光男, 呉屋秀夫, 2007 : 大型ハタ類の性転換・性成熟研究. 平成17年度沖縄県水産試験場事業報告書, 194-195.
- 木村基文, 狩俣洋文, 仲本光男, 呉屋秀夫, 2007 : ヤイトハタの種苗生産・二次飼育・配布. 平成18年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書, 219-226.
- 仲盛 淳, 狩俣洋文, 仲本光男, 呉屋秀夫, 2007 : ヤイトハタ種苗生産の概要(ヤイトハタ種苗生産事業). 平成17年度沖縄県水産試験場事業報告書, 200-203.
- 中村博幸, 金城清昭, 吉里文夫, 2006 : 海面生簀でのヤイトハタ養殖試験(養殖ヤイトハタ等ブランド化推進技術開発事業). 平成16年度沖縄県水産試験場事業報告書, 121-123.
- 中村博幸, 金城清昭, 吉里文夫, 2005 : 養殖ヤイトハタ等ブランド化推進技術開発事業. 平成15年度沖縄県水産試験場事業報告書, 159-163.
- 大嶋洋行, 仲盛 淳, 勝俣亜生, 仲本光男, 2002 : ヤイトハタの親魚養成と採卵. 平成12年度沖縄県水産試験場事業報告書, 167-169.
- 土橋靖史, 高鳥暢子, 栗山 功, 羽生和宏, 辻 将治, 津本欣吾, 2007 : 水温および日長調節によるマハタの9月採卵. 水産増殖, 55(3), 395-402.
- Yuan-S.H., Wen-Y. C. and I C.L., 1997 : Experiments on artificial propagation of Giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *J. Taiwan Fish. Res.*5(2), 129-139.