沖縄水海研セ事報 70，70—72（2009）

生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRHa）によるヤイトハタ早期産卵の誘導（大型ハタ類の性転換・性成熟研究*1）

狩俣洋文*2，木村基文，中村將*3

Inducement for the Advanced spawning of Malabar Grouper, *Epinephelus marabaricus* by GnRHa

Hirofumi KARIMATA*2, Motofumi KIMURA and Masaru NAKAMURA*3

2008年12月に，成熟サイズに達したヤイトハタ親魚を屋内八角形60kL水槽に収容し，ボイラーによる加温飼育を開始した．燃費の節減を目的とし，2009年1月末からは地下浸透海水（水温25度程度）を用い，支障なく試験魚を飼育できた．2009年3月13日にカニュレーションによる成熟度調査を行った結果，5個体中3個体は成熟した卵巣卵を有していることが分かった．そこで，2009年3月17日,24日にGnRHa50μg/kgを処理した．二度のGnRHa処理により最終成熟に達したと観られる雌親魚3個体を用いて人工授精を行った．そのうち1個体から2,205gの卵を搾取したが，卵発生は観られなかった．ほかの2個体の採卵量は僅か，または搾取できなかったが，卵割が確認できたため雄親魚の精子は機能的であることが確認できた．

ヤイトハタは当支所内における飼育条件下では4月下旬頃から産卵を開始するため，養殖漁業者に対して 7～8 月に全長約60mm種苗を配布している．本種を養殖する上で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．その対策として，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（中村ほか，2005，2006）を用いた養殖方法の検討が行われてきた．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）．

ヤイトハタ親魚を1月から飼育水加温と長日処理を行い，3月にGnRHaおよびHCG処理を行うことで，3月には卵巣卵が最終成熟に達することは確認されたが，自然産卵の無いことを確認した後に人工受精を行ったことから，受精率は低く種苗生産に結びつかなかった（狩俣ほか，2008）．今年度は，早期産卵の再現性を実証するとともに，人工受精による種苗生産を試みる．

材料及び方法

試験魚の管理　ヤイトハタの雌親魚 3 個体（平均体重22.1kg）とメチルテストステロン（MT）処理歴のある 2 個体（平均体重21.9kg）を，2008年12月17日に，飼育水の加温が可能な屋内八角形60kL水槽に収容した．2008年12月26日からボイラーによる加温を開始し，実測水温が 26℃に達するまで 0.1℃/日ずつ設定温度を上昇させた（図1）．前年度の実験では長日処理にハロゲンライトを用いたが，観察時に試験魚の逃避行動がみられたこと，また環境制御を行わない試験区においても通常産卵期の 1～2 ヶ月早い3月に成熟途中の卵巣卵を有したことから長日処理は行わなかった（狩俣ほか，2008）．また前年度実験では，加温水槽から飛び出して雌1個体が斃死した．そこで，今年度は実験開始当初から水槽上面にネットを設置して，試験魚の飛び出しを防止した．

注水量はボイラー燃油費節減のため1.0回転/日程度に抑えた．また，2009年1月30日から飼育水を砂濾過海水から地下浸透海水に切り替えた．当支所内の地下 28m から汲み上げられる地下浸透海水の水温は24～26℃であり，冬季自然水温より高水温であるため，燃油費節減に有効である．溶存酸素は無いため飼育水の通気量を強めて対応した．

試験期間中の餌は，冷凍魚類（グルクマ，ヤマトミズンなど）を1~2回/週飽食量与えた．餌の表面には栄養添加剤（ヘルシーミックスⅡ：ビタミックスE：乾燥胆末を20：1：1に混合したもの）を付着させた．

成熟度調査　ホルモン処理に先立ち成熟度を調べるために，3月13日にカニュレーションを行った．方法は狩俣ほか（2008）に準じた．カニュレーションに際し，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

---

*1　新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業
*2　Email: karimahr@pref.okinwa.lg.jp，石垣支所，現所属：沖縄県水産課
*3　琉球大学熱帯生物圏研究センター

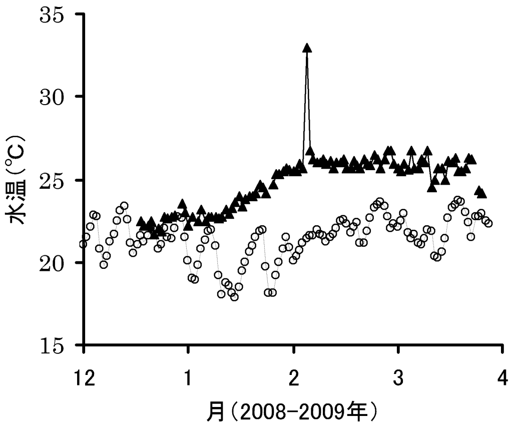

図1. 試験期間中の水温推移
▲は試験区加温水温，○は陸上200kL水槽自然水温を示す.（試験区において，2月5日にボイラーの設定ミスによって一時的に水温の急上昇がみられた.）

採取は中止した．採取した卵巣卵は万能投影機（倍率 50 倍）を用いて卵径（n=40）を測定した.

GnRHa 処理による早期産卵誘導　前年度の実験では GnRHa と HCG を同時投与した（狩俣ほか，2008）．しかし，卵の搾取後も成熟促進は止まらず，結果，雌 1 個体が斃死した. そこで, 今年度は HCG の使用を中止し, GnRHa のみによる成熟促進を試みた．溶媒は生理食塩水として，濃度は GnRHa1mg/ml とした．2009 年 3 月 17 日に，加温飼育した 5 個体と同日途中追加した雄親魚に対し GnRHa50 μ g/kg を腹腔注射した．3 月 24 日に，触診により成熟の進んでいないとみられる雌 1 個体（体重 23.3kg）を除く全ての個体に，GnRHa50 μ g/kg を再処理した.

2 度の GnRHa 処理により，最終成熟に達したとみられる個体に対し, 3 月 26 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 5 ㎜×外径 7 ㎜）を生殖孔に挿入して卵を絞った．いったん卵を搾取し始めると，ビニール管は不要であり，腹部を軽く圧迫することで容易に卵を搾取できた．得られた卵は計量後に媒精し，個体により採卵量の少ないものについては 500mL ビーカーで受精の有無を確認し，採卵量の多かったものは 60kL 八角形種苗生産水槽に収容し経過を観察した.

結果及び考察

試験魚の管理　試験期間中に斃死する個体は無かった. 2009年1月上旬に，摂餌量の低下と水槽に体を擦りつける行動が観察された為，銅イオン発生装置を用いて，銅イオン濃度約50ppbを2週間継続した．その結果，擦り行動は観られなくなり摂餌状態も改善した．石垣支所では2007年頃から陸上飼育のヤイトハタ親魚にカリグス類の寄生が観られ，摂餌量の低下やひいては産卵量低下の一因となっていると考えられる．銅イオン添加により一時的に状況の改善は観られるものの再発を繰り返す状況である．今後，ヤイトハタの早期産卵や通常産卵を計画的に行うには，換水率の上昇や泡沫分離装置の導入など飼育環境改善が必要であろう.

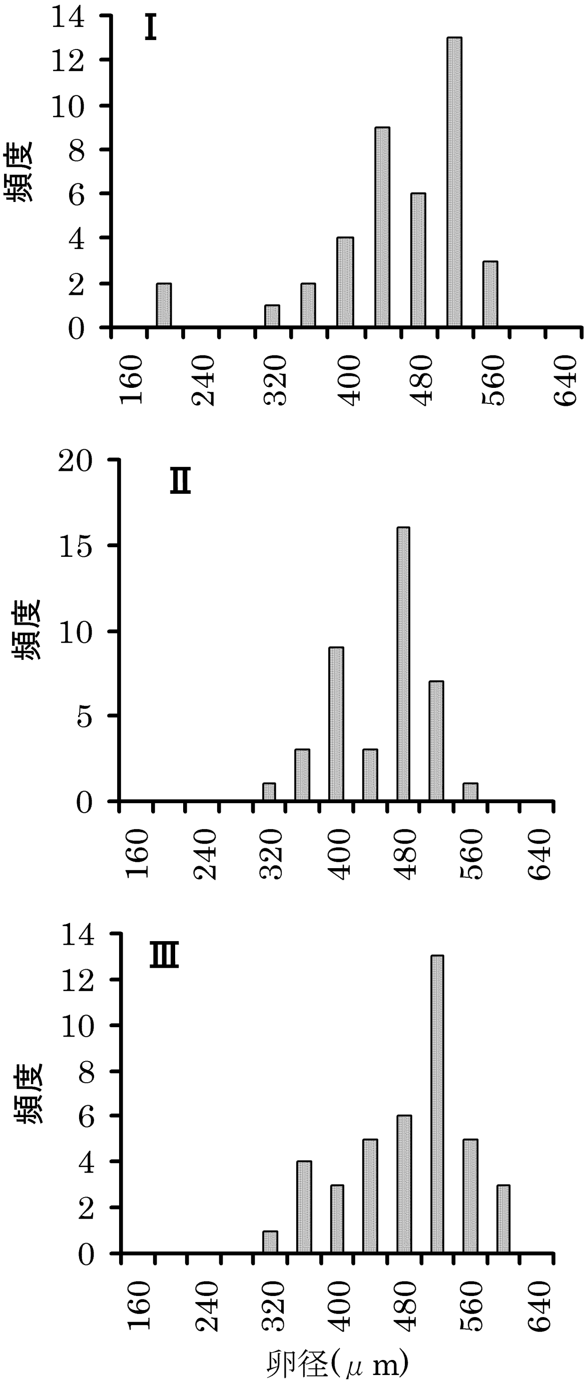

図2. カニュレーションで得られた卵巣卵径の個体別ヒストグラム
個体（全長(mm)，体重(kg)）はⅠ（975, 28.8），Ⅱ（962, 28.0），Ⅲ（986, 29.0）であった.

飼育に使用した地下浸透海水については，塩分濃度31～35‰, DO7.3～8.3に保たれた. 試験魚の飼育に支障はなく，今後，冬季の親魚養成を行うのに有効であると思われる. 2009年2月5日にボイラーの設定の誤操作（通常「自動」設定のスイッチが「入り」になっていた）により，一時的に飼育水温は33.0℃まで上昇した．24時程度をかけて設定水温（26℃）まで低下させた結果，試験魚の斃死は免れた.

成熟度調査　3月13日にカニュレーションした結果，全5個体中3個体の卵巣卵を採取し，残り2個体についても腹部の触診状態から雌であることが推察された．採取した卵巣卵径はそれぞれ439，435，465μmと成熟しており，最大卵径は558，542，579μm，および最小卵径は180，302，278μmであった（図2）．なお，MT処理歴のある個体は雄化しておらず雌であった為，3月17日に陸上200kL水槽（自然水温）で飼育した雄親魚（BW:25.0kg）を試験魚に追加した．

GnRHa処理による早期産卵　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観られなかった．2回目のGnRHa処理時に，途中追加した雄親魚の腹部を圧迫し排精を確認した．また得られた精子を光学顕微鏡で検鏡し精子の運動性も確認できた．GnRHaの再投与から2日後に雌3個体の腹部の張り出しを確認し，人工授精を行った．その結果，個体Ⅰからは2,205gを採卵し，即座に媒精を行い種苗生産水槽に収容した．しかし，卵発生は進まず廃棄処分とした．個体Ⅱの腹部は大きく張り出したが，腹部を押さえても血液の混ざる粘性の高い卵を若干量得るにとどまった．媒精したところ卵割を確認したことから，雄親魚の精子は機能的であることが確認できた．個体Ⅲについては，個体Ⅱ同様に腹部は張り出すものの，全く採卵できなかった．

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，2009年4月17日から産卵開始した．本実験により，ヤイトハタの早期産卵の再現性を示すことはできたが，採卵方法や媒精方法などは今後の課題としたい．

謝辞

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．

文　献

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・木村基文・中村 將，2008：性転換刺激ホルモン放出ホルモン(GnRHa)による早期産卵の誘導．平成19 年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書，69，126-128.

狩俣洋文・仲盛 淳・中村 將・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.

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.