

## 2020年のヤイトハタ親魚養成と採卵および変性卵塊の摘出 (栽培漁業センター生産事業)

山内 岬\*1, 木村基文\*2, 岩井憲司, 島袋誠菜, 立津政吉

ヤイトハタの人工種苗生産に必要な産卵親魚群の安定確保と受精卵の供給を行うため、海面小割生簀及び陸上大型水槽を用いた親魚養成と採卵および正常な放卵を阻害する変性卵塊(堀田ほか, 2003; 木村ほか, 2009)の摘出を行う。また、全長100mm以上の大型種苗の配付要望に対応するため、生産時期を早期に実施する必要があることから、飼育環境の人為的制御による自発的な産卵誘発とホルモン剤投与による排卵誘導および人工授精を行う。

### 材料と方法

#### (1) 養成方法と産卵確認・卵塊摘出

親魚の養成は、平成31(2019)年度に引き続き、栽培漁業センター地先に設置された海面小割生簀(ポリエチレン製網:縦5m×横5m×丈5m・容量125kL)3面および屋内RC水槽(八角形:幅9.4m×高3.1m・容量200kL)2面を用いて行った。給餌は週2回の頻度で冷凍鮮魚(ムロアジ・ミズン・メアジ・マイワシ・グルクマ等)を中心に飽食量を目安として与え、栄養強化剤の投与は実施しなかった。

生簀養成群は、3~4ヵ月毎の網替え作業により通水性を確保しつつ、体表に寄生するハダムシ類の寄生強度に応じて、駆虫が必要な場合は淡水浸漬(原田1965)を適宜実施した。陸上養成群は、主に砂ろ過後の表層海水(以下、ろ過海水)による掛流飼育(換水率:0.6~1.0回転/日)または生物ろ過槽(容量20kL)を用いた半閉鎖循環飼育(換水率:0.1~0.2回転/日、ろ過循環率:2.1回転/日)による水質管理を行い、必要に応じて銅イオン発生装置(吊り下げ型・和光技研社製)を使った海水殺菌処理(使用電極:リン脱酸銅管銅濃度目標値:30~80 $\mu\text{g}/\text{L}$ )を行った。なお、本種の産卵は月齢に同調して行われることから(金城ほか1997)、各月の下弦から新月(以下、産卵周期)にかけ

ては銅イオン発生装置を撤去し、銅による受精卵への影響を低減した。

屋内水槽における産卵確認は、大群と小群でそれぞれ行い、各槽の水位調整槽内に設置した採卵ネット(ナイロンメッシュ・目合335 $\mu\text{m}$ )への集卵状況から産卵の有無を判断した。本種は分離浮性卵を産出する他の多くの真骨魚類と同様に非同期型の多回産卵魚であり一産卵期に同一個体が繰り返し産卵を行う。採卵トラップには、水面付近に浮上する卵を効率的に採集するため各飼育槽の水面下5~10cm程度に開口するように設置したサイフォン管(外径38mm・3~5本)を使用した。産卵が確認された場合は、ろ過海水を注水した200Lアルテミアふ化槽に全卵を收容し、止水無通気環境下で15分間ほど静置した後、浮上または沈下した卵の湿重量をそれぞれ記録した。また、得られた浮上卵のうち正常な胚胎形成が認められた卵について、無作為に選出した30粒の長径をデジタルノギスで測定し、卵径とした。重量1gあたりの単位卵数は、電子天秤で計量した浮上卵0.4~0.6gを50mLのろ過海水に收容し、十分に攪拌しながら採水した計数サンプル25mLに含まれる卵を万能投影機下で計数し、容積法により求めた。

各群の体サイズ測定は、産卵が収束した8月に一斉実施し、背部筋肉に埋め込んだPITタグ(Biomark社製)によって識別した個体ID別の全長と体重をそれぞれ記録した。また、測定時の腹部触診によって卵巣内に変性卵塊が確認された個体は、堀田ほか(2003)に従い腹部開腹による摘出手術を実施した。なお、術後早期の産卵群加入を図るため、自然水温の異なる時期に手術を実施し、適正な摘出時期を検討した。

#### (2) 人為的操作による排卵誘導・水槽内産卵

##### ①環境制御による水槽内産卵誘導

屋内RC水槽に收容した大群について、2020年2~4

月採卵を目標とした水温操作と人工照明による長日処理を1月21日から開始し、それぞれ132日間と72日間にわたって連続操作した。水槽上部は、気化熱による水面からの放熱や外気の低下による冷却防止を目的に農業用透明ビニル(厚さ0.1mm)で被覆した。

長日処理は、保温用ビニルの直上に吊り下げた屋外用投光器(500W白熱レフ球)計4灯を用いて行った。期間中は、午後17~21時にかけて点灯するように自動タイマーを設定し、自然日長と合わせて14L:10Dの明暗周期に調整した。

マダイやイシガキダイの産卵促進(原田, 1974)や同様の水槽規模における本種の産卵誘導に関する知見(濱本ほか, 1986; 木村・岸本, 2011)から、排卵とその後の産卵開始が環境水温の急変により誘起されると仮定し、各月の産卵周期に合わせて人為的な昇温または降温による温度刺激を与えた。なお、昇温は、ボイラー温水(設定水温65℃)を熱媒体として水槽底面に設置したチタンフレキシブルチューブの投げ込み式熱交換器(幅250mm×長2,370mm×高270mm・外径25.4mm)を用いて行い、降温は一時的な排水操作による水位降下後のろ過海水注水または換水率の増加により行った。

また、これまでに本種で実施されてきた早期採卵における昇温や降温に関する温度刺激の有効性については、産卵成功に関する考察以外に検討されたことがなく、目標水温の設定根拠やその定義についても合理的な説明はない。そこで、水温操作を行った大群の飼育水温と取水井戸水温の実測値について、それぞれの7日間平均値を求め、日毎の平均水温の差を算出し、その変動に関する傾向を比較検討した。

## ②ホルモン剤投与による排卵誘導と人工授精

2020年3月23日に実施した陸上養成群のカニューレ(ポリエチレン細管No.7・内径1.3mm×外径2.3mm)による熟度判定において選別した平均卵径0.3mm以上の卵黄球期卵を有する雌計5尾(体重22.0~37.0kg)に対し、魚体重1kgあたり550~750IUのヒト絨毛生生殖腺刺激ホルモン(以下、hCG:動物用ゴナトロピン・あすかアニマルヘルス社製)を背部筋肉へ注射して排卵誘導を行った。また、生簀養成魚のうち、2020年

3月24日に選別した雌2尾(体重10.6, 18.0kg)についても同様にhCGを注射した。

打注個体は、ろ過海水を注水した屋内RC水槽(円形:幅6.0m×高2.1m・容量50kL)へ一時的に收容し、設定水温25.5℃で加温しながら48~54時間後に腹部圧搾による採卵を試みた。成熟卵の放出が確認された場合、総湿重量を記録後、速やかに人工卵巣腔液で洗卵し、同日に陸上養成中の雄親魚から採取した精液を用いて乾導法による人工授精を行った。浮上卵が得られた場合は、紫外線殺菌海水を掛け流した洗卵槽内で余分な精子や粘液を洗い出し、湿重量を記録後、速やかに屋内RC水槽(容量50, 100kL)へ收容した。ふ化後は、各槽の收容密度に応じてピーカ採水(約2.5L/槽)または柱状管(採水量:約15L/槽)による容積法から仔魚の総收容尾数を求め、ふ化率を推定した。

## 結果と考察

### (1) 群組成と産卵状況および個体管理

親魚養成を行った計5群177尾の詳細を表1と図1に示す。大群については、引き続き成熟雄(放精確認済み)1尾と雌14尾によるハレム型の群組成を維持した結果、4月上旬以降、後述する水槽内産卵が確認された。小群は、過年度の観察結果から水槽内産卵が確認されていないことから、産卵盛期である6月上旬まで成熟雄2尾を追加收容し、雄3尾と雌14尾の組成で繁殖行動の活性化を試みたが、産卵の兆候につながる変化は観察されなかった。收容した雄親魚(ID:2461986・CEC24E6・CEBC6A6)は、人工採卵時(2020年3月23日)の腹部圧搾により、いずれの個体からも精液を採取できたことから、成熟した生殖機能を十分に有すると考えられる。しかしながら、本種に特有の体色変化や雌への誘いかけ行動(濱本ほか, 1986)は産卵終期まで一度も観察されなかったことから、9月28日に比較的小型の2尾(ID:CEC24E6・CEBC6A6)を海面生簀へ沖出した。小群における産卵不調の原因は不明であるが、隣接した同条件の水槽に收容する大群で産卵が確認されたことから、雄の性行動(求愛・放精)の発現を抑制する何らかの異常が生じているものと推察される。

生簀養成中の天然小群については、生殖突起の形状から雄性化が示唆された推定雄2尾を收容し、6月上旬

表1 親魚養成を実施したヤイトハタの群組成と体サイズ測定結果.

群名	収容先	収容尾数			体サイズ(平均値)		肥満度	卵塊摘出手術尾数	石垣支所 輸送尾数
		成熟雄	推定雄*	雌	全長mm	体重g			
大群	200-1	1	0	14	1,005	25.3	23.7	6	1
小群	200-2	1	0	14	975	22.2	22.7	4	1
天然小群	生簀網	1	2	29	861	13.5	20.8	-	1
人工生産大群	生簀網	1	0	27	802	11.2	21.0	-	1
人工生産小群	生簀網	0	0	83	667	6.4	21.2	-	12
死亡・処分	-	-	-	4	-	-	-	-	-
合計		4	2	171				10	16

\* : 生殖突起の有無により判別(排精未確認)

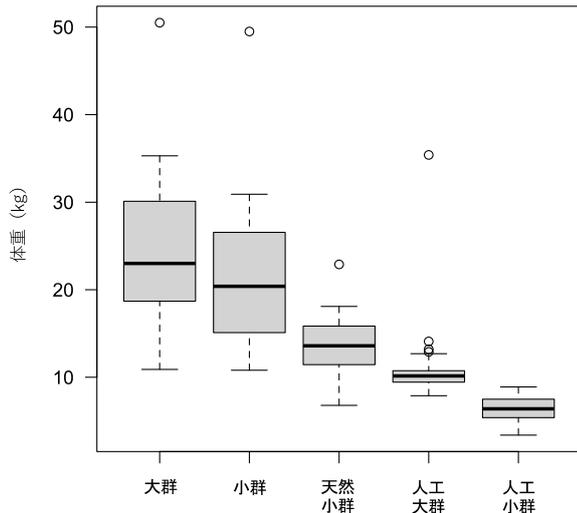


図1 親魚養成を実施したヤイトハタの体重組成. 箱ひげは各群の四分位数, 白点は外れ値を示す.

以降は上述の小群より移槽した成熟雄1尾を加えた結果, 8月14日の体サイズ測定時に雌1尾から透明化した熟卵の放出が初めて確認された. 生簀養成親魚の産卵確認は行っていないため, 産卵への加入個体数や産卵回数・量および卵質の詳細は不明である. また, 人工生産大群についても2021年2月に実施した成熟度判定において卵黄形成の進んだ卵巣卵が採取されたことから, 両生簀養成群はともに産卵可能な成熟個体が養成されつつあると考えられる. なお, 人工生産小群については, 成熟サイズに達していないと判断し, 熟度判定を実施しなかった.

今年度は, いずれの群においても自然性転換による雄性化個体は確認されず, 天然魚の新規導入もなかった. 既に雄性化が認められている雄親魚については前年度に引き続き体色変化や形態的特徴(生殖突起)または放精が確認された. 現状では性行動が安定し水槽内で性行動を行う機能的な成熟雄1尾(体重50.5kg)と放精のみを確認した成熟雄3尾(33.4~49.5kg)に加え, 形態的特徴により雄性化が示唆される

推定雄2尾(18.1・22.9kg)の計6尾を保有している(表1). 既に種苗量産に必要な個体数を十分確保できていることから, 新たな雄を加える必要性はないが, 正常な性行動による水槽内産卵の実績を有する個体はまだ少ないため, 引き続き, 陸上水槽や海面生簀を用いた養成によって体色変化や求愛および精子形成の有無および各群の産卵確認を行う必要がある.

## (2) 卵巣内に残留した変性卵塊の摘出

変性卵塊を有する個体は, 大・小群の雌親魚計10尾で認められ(表1), 2020年3月(3尾)と10~11月(7尾)にそれぞれ手術を実施した(表2, 図2). 1尾あたり92~759gの卵塊を摘出し(図2 d), 開腹部を5~7カ所ずつ縫合した(図2 a).

3月施術時(水温21~22℃)における卵巣は全ての個体で卵巣薄板がほぼ退行し, 卵巣膜はやや肥厚した状態であったが, 10~11月(23~25℃)には, 一部の個体でまだ発達した状態を維持しており, 卵巣膜も薄かった. 卵塊は, 正常な薄板上皮に埋没するような状態で残存し, 全て卵巣腔から輸卵管を塞ぐように形成されていた. 大きく発達した塊は, 左右の卵巣に二股にまたがるような形状で残存し, 生殖孔を完全に閉塞させた状態で, かつ正常な薄板上皮への癒着も認められたことから, 正常な放卵ができない状態であると考えられた.

術後28~43日目に実施した抜糸時における開腹部の治癒状況は概ね良好であり, 癒合した切開痕をわずかに視認できる程度であった(図2 b). ただし, 術後30日未滿に抜糸した個体の一部(ID:C65474D・C6A32EA)では, 麻酔処理時のハンドリングにより, 切開痕からわずかな出血が見られた(図2 e,f). 抜糸後60日以降の経過観察では, いずれの個体も施術時のアルコール消毒の結果生じたと考えられる擦過症様の

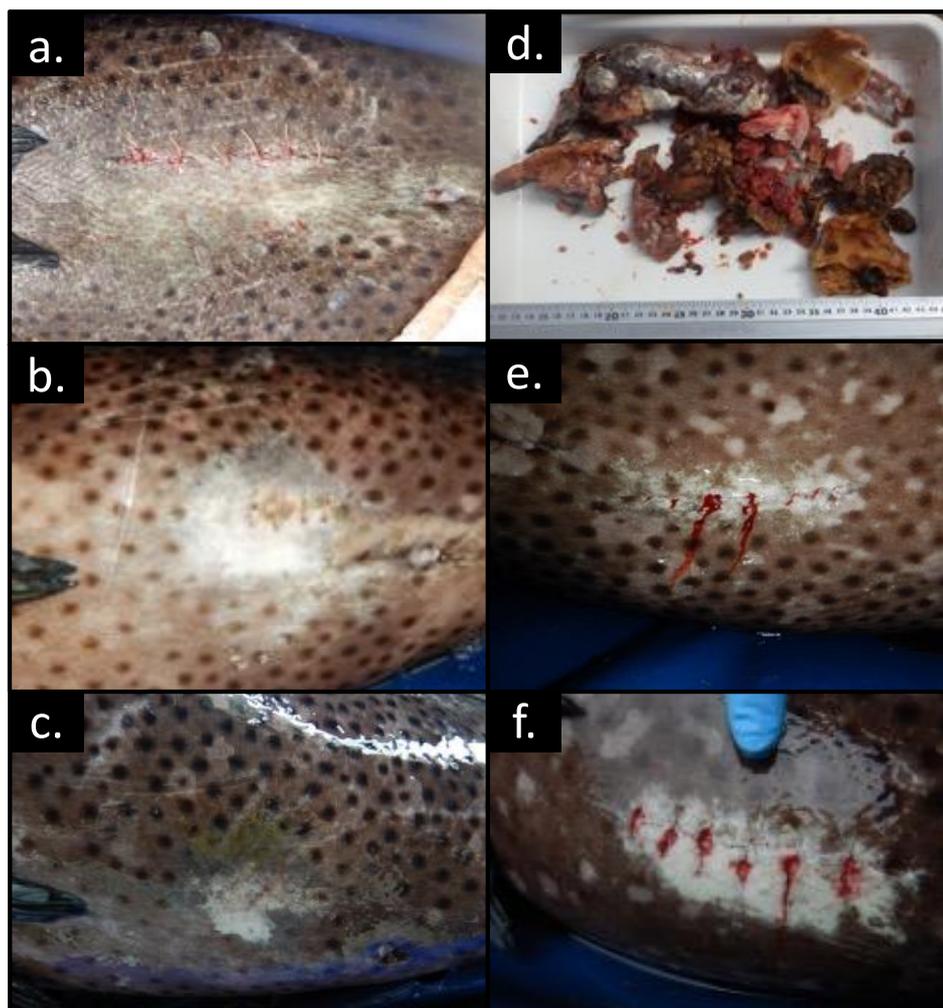


図2 ヤイトハタの変性卵塊摘出手術。a.: 縫合直後, b.: 抜糸時 (40日後), c.: 経過確認時 (69日後), d.: 摘出した変性卵塊, e.・f.: 抜糸時の出血個体 (e.: C6A32EA・25日目, f.: C65474D・29日目)。

表2 卵巣内の卵塊摘出手術を行ったヤイトハタ親魚と抜糸時の経過日数および卵塊重量。

個体番号	ID	郡名	体サイズ 測定日	全長 (mm)	体重 (kg)	肥満度	手術日	抜糸日	術後の 経過日数	卵塊重量 (g)
1	C65474D	大群	2020/3/11	1,043	30.1	26.6	2020/3/11	2020/4/9	29	759
2	C66A0FD	大群	2020/3/11	977	28.1	30.2	2020/3/11	2020/4/9	29	97
3	CEBC210	大群	2020/3/12	980	21.1	22.4	2020/3/12	2020/4/9	28	132
4	968FBCC	小群	2020/8/13	790	11.7	23.7	2020/10/19	2020/12/1	43	140
5	C65A110	大群	2020/8/13	946	21.1	24.9	2020/10/19	2020/12/1	43	105
6	96F0AC4	大群	2020/8/13	942	18.4	22.0	2020/10/22	2020/12/1	40	106
7	96F2024	小群	2020/8/12	1,025	22.8	21.2	2020/10/22	2020/12/1	40	160
8	968E6C5	小群	2020/8/13	890	15.1	21.4	2020/10/22	2020/12/1	40	120
9	CEBBB5E	小群	2020/8/12	996	21.7	22.0	2020/10/22	2020/12/1	40	216
10	C6A32EA	小群	2020/8/13	1,091	31.8	24.5	2020/11/6	2020/12/1	25	92

白化以外に大きな外観的異常はなく(図2 c), 切開痕は完全に癒合し, 活力は良好であった。

今回手術した全個体で開腹部からの二次感染は認められず, 死亡個体は生じなかったことから, 低水温期の卵退行を待たず, 産卵終期の水温帯でも卵塊摘出が可能であることが示された。一方, いずれの時期においても抜糸を早めに行った一部の個体でわずかな出血が見られたことから, 抜糸までの養成は飼育水温に関わら

ず30~40日間を目安とする必要がある。比較的水温の高い秋季の摘出手術によって, その後の摂餌活性や自然治癒力の向上にも有利に働く可能性があり, 次の産卵期に向けた養成日数もより長期化できることから, 産卵群への早期再加入が期待できる。

### (3) 水槽内産卵誘導

産卵確認を実施した大・小群の飼育水温と採卵量お

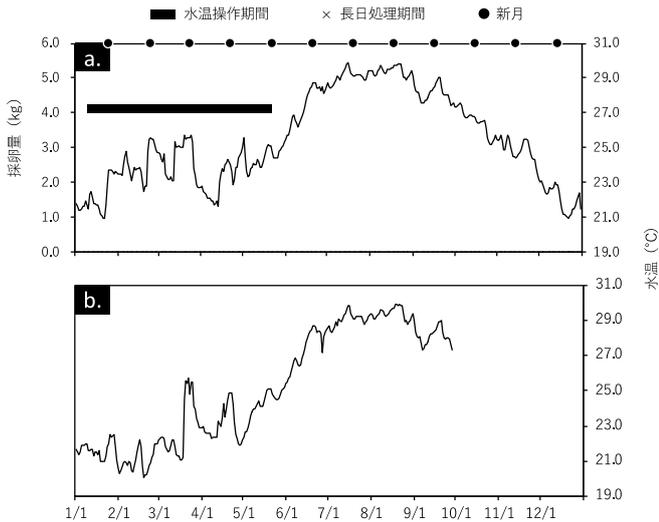


図3 ヤイトハタの採卵量と飼育水温および日長・水温制御期間. a.: ヤイトハタ大群 (循環飼育期間: 2020年1月10日~3月22日・他は全て掛流飼育管理), b.: ヤイトハタ小群 (全期間掛流飼育管理). 棒グラフは採卵量を示し, 折線は飼育水温を示す.

表3 過去3年間におけるヤイトハタ親魚の採卵実績.

	2018	2019	2020
収容数 (尾)	13	8	15
産卵日数	14	29	42
総採卵量 (g)	2,528	3,928	33,137
浮上卵	6	727	17,652
沈下卵	2,522	3,201	15,485
平均卵径 (mm)	-	0.90-0.93	0.85-0.93
単位卵数 (粒/g)	-	1,781-2,071	1,513-2,432

および月齢(新月)を図3に示す. 産卵は, 水温操作と長日処理による環境制御を実施した大群でのみ確認され, 初回産卵は2020年4月18日(水温24.0°C・旧暦3月26日)であった. 初回に得られた受精卵はほぼ全て沈下卵であり, 翌日以降に浮上卵が得られた(図4). 4月は計4回の産卵が確認され, その後は産卵周期を重ねるごとに卵量と日数が増加した. 平均卵径は, 初期から終期にかけてやや減少し, 単位卵数は増加する傾向を示した(図4). 総採卵量は, 計33.1kgに達し, そのうち種苗生産に供与可能な浮上卵は, 計17.7kg(約3,500万粒)であった. 今年度の産卵は, 大群における過去3年間の採卵実績の中では最も多量であり, 産卵日数の増加も顕著であったことから(表3), 産卵へ関与する雌親魚の増加が推察される. 一方, 浮上卵の割合は, 産卵日によって30.6~98.7%の範囲で増減しており, 月別産卵量も2.7~16.7kgと変動が大きかった. 今後は沈下卵の割合を減らす質的な改善が課題であるとともに, 大型種苗の生産に有利な2~4月の早期採卵

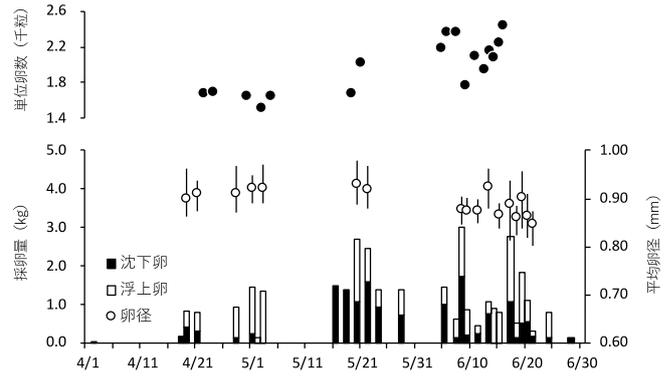


図4 ヤイトハタ大群の採卵量と浮上卵の卵径および単位卵数の変化. 上段は単位卵数, 下段は採卵量と平均卵径を示し, 誤差範囲は各卵群の最大値と最小値を示す.

においては, さらなる卵量増が必要不可欠である.

水温操作と長日処理による本種の産卵誘発は, 2009年以降, 水産海洋技術センター石垣支所の屋外RC水槽(容量250kL)で毎年実施されており, 一定の採卵実績をあげている(木村・岸本, 2011; 木村ほか, 2012, 2013, 2015; 今道ほか, 2015, 2017; 今道・近藤2017). 今回, 水温操作を行った1月11日から5月22日の飼育水温は, 平均23.7°C(範囲: 20.9~25.7°C)であり, 取水井戸水温の平均21.8°C(範囲: 20.0~25.1°C)に比べて1.8°C高い状態を維持できた(図5). 環境制御を行わずに自然日長下で養成した石垣島における本種の初回産卵は, 旧暦3月に行われることが多く, 水温は23.7~26.7°Cであることから(木村・岸本, 2011), 環境制御によって産卵に適した条件を最低限の範囲で維持できたと言える.

一方, 加温期間中の飼育水温の変動幅は, -1.5~2.2°C/日の範囲で著しく増減した. 7日間平均値における飼育水温の日変動傾向は, 取水井戸水温のそれとほぼ一致しており(図5), 外気や表層海水温の増減が飼育水温に直接影響したことが容易に推察される. 過去の早期採卵事例においては, 外気温の低下によって目標の水温帯(27°C)まで昇温できない場合が報告されており, 大規模な水槽設備を用いた人為的な水温操作を外部刺激として有効に機能させるためには保温性向上が課題とされる(木村・岸本, 2011). 石垣支所に比べて冬季の海水温が低い栽培漁業センターにおいては水槽の保温機能強化だけでは同水温帯への昇温は困難であることから, 飼育水の循環利用によって新たな注水を削減し, 排水への熱流出を防ぐことが, 特に費

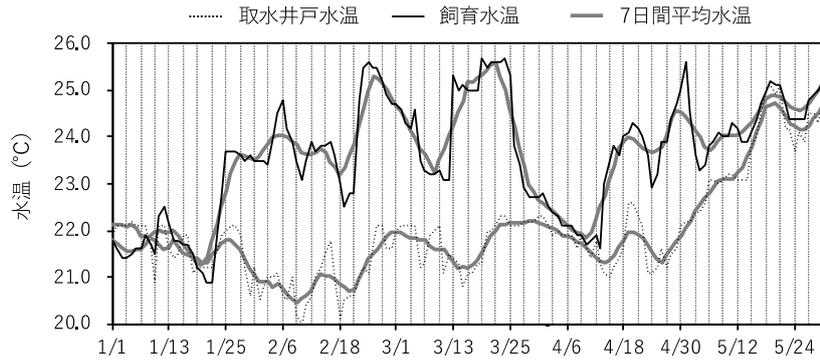


図5 水温操作を実施したヤイトハタ大群の取水井戸水温と飼育水温の変化。

用対効果の面において重要なポイントとなる。

今回、水温操作を実施した132日間の中で循環飼育を実施した日は、加温開始から72日目(54.5%)までであり、以後は掛流飼育への切り替えを行った。飼育方法変更の主な理由は、循環飼育中の銅イオン濃度が低下しなかったことによって、銅による産卵阻害や異常行動が生じることを懸念したためである。魚種による感受性の違いはあるものの魚類に対する銅の毒性は総じて高く、微量の銅を含む水塊の存在でも忌避行動を示すとされ、水温上昇に応じてその毒性も高まる(山本1979)。また、生体内に過剰に侵入した重金属は、各種生理活性の消失や機能低下を引き起こす可能性のある錯化合物を形成することが知られ、銅は水銀の次に錯体形成能が高い。一方、銅負荷を与えたドジョウの生物学的半減期は約5時間であったことから体内からの排泄速度は比較的大きいとされ、吸収と排泄が一定となる蓄積平衡に達する速度も他の重金属に比べて早いとされる(山本1979)。今回、循環飼育を行った期間中は、銅イオン発生装置を撤去していたにもかかわらず長期間にわたって19.9~38.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ の範囲で銅が検出された。循環飼育に移行する前には、1年以上の長期にわたり平均62.5  $\mu\text{g}/\text{L}$ 以上(範囲:0.2~210  $\mu\text{g}/\text{L}$ )の銅負荷を与えていたことから、体内に一定量の銅が蓄積され、平衡状態を保っていたことが推察される。循環飼育中に確認された銅の発生由来としては、このような生体から排泄された銅がシステム内で滞留した可能性も考えられることから、飼育方法の切り替え時に一定の排泄期間を設けることでその影響を軽減できるかもしれない。実際、72日目に行った掛流飼育(殺菌処理なし)への切り替えからわずか5日後には、銅濃度の急減(2.3  $\mu\text{g}/\text{L}$ )が確認された。

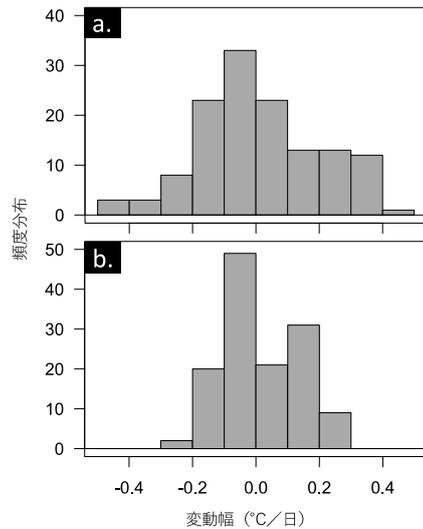


図6 水温操作時期におけるヤイトハタ大群の飼育水温と取水井戸水温(7日間平均値)の日変動分布。  
a.: 飼育水温, b.: 取水井戸水温。

飼育水と取水井戸水温の7日間平均値の日変動をもとに作成した頻度分布を見ると、 $\pm 0.3^\circ\text{C}/\text{日}$ を超える変動は飼育水のみで確認できた(図6)。水温操作時期だけでなく、取水井戸水温の7日間平均値には、周年を通して $\pm 0.3^\circ\text{C}/\text{日}$ を超える変動が確認されなかったことから、上述の変動幅を超える昇温と降温は人為的操作によって自然条件とは異なった急激な水温変化を与えたものとして解釈できる。実際に初回産卵までに記録された平均 $0.3^\circ\text{C}/\text{日}$ を超える昇温は1月22~26日、2月22~25日、3月16日、4月15~17日の計13日間、平均 $-0.3^\circ\text{C}/\text{日}$ を下回る降温は3月24~29日の計6日間で認められ、概ね飼育者による昇温または掛流飼育への切り替え操作を行った時期と一致した。2月下旬から3月上旬にかけての降温時には、加温操作を一時的に停止した以外に飼育条件の変更は行なっておらず、その変動幅は自然条件でも起こりうる範囲であったと考えられる。以上は、測定日を中心とした前後3日間の単純

相加平均から見た簡単な傾向分析であり、外気や表層水温の影響による自然変動を考慮した上で外部刺激として水温操作を行う場合の目標値を決定するための一助となるであろう。

上記の考察をもとに、今回行った温度刺激の有効性を検証すると、適水温を維持しながらも産卵を確認できなかった1～3月の昇温刺激は、その作用に疑問が残る結果であった。一方、4月18日に確認された初回産卵の直前の刺激(4月15～17日)については、最終的な卵成熟と排卵、その後の性行動を誘起する引き金となった可能性がある。加えて、3月下旬には後述する人工授精に必要な精液採取を目的に水槽水位を50cm程度まで低下させた上で雄を取り上げ、腹部圧搾を実施している。結果的に放精は確認できなかったことから、その時点における精子形成は不活発であったと推察されるが、その際に行った掛流飼育への切り替えと注水量の増加は、平均 $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{日}$ を上回る水温低下を引き起こしており、外部刺激として作用したかもしれない。上述の範囲を超えた変動を昇温・降温ともに合わせて実施したのは、初回産卵前の操作だけであったことは特筆に値し、一過的な水温操作だけでなく、刺激を与える前の飼育水温の影響や自然変動によって生じるであろう温度刺激への慣れを考慮した上で、刺激として作用するための下限(閾値)を超えた人為的操作が産卵を誘導した一例と言えるかもしれない。ただし、一般的に過度な水温ストレスは、魚類の産卵・成熟を抑制すると考えられ、本種と近縁のマハタでは、短期間に産卵適水温へ加温したことが受精卵数の減少に影響した可能性を指摘している(土橋ほか, 2007)。また、過去に石垣島で実施した本種の早期採卵においては、成熟雄を含む親魚群に対して昇温・降温刺激を実施し、その後雄の死亡が確認された(松崎・近藤, 未発表)。自然環境下の変動幅を超えるこのような急激な水温変化が引き起こす生理的影響については不明な点が多く、特に成熟とともなって種々の生体防御能が低下しやすい親魚へ実施する場合には、その必要性和効果を十分に検討した上で操作中の挙動には細心の注意を払わなければならない。

一方、サンゴ礁海域で産卵する魚類の中には、多くの種で報告される月周性産卵リズムと合わせて潮汐と同

調した産卵を行う種が報告されている(Takemura 2008)。満月に産卵するミツボシキウセンでは、水圧を付加することで生殖腺刺激ホルモンの放出を抑制するドーパミンの分泌が抑制され、その変動を介して成熟が制御される可能性が指摘されている(竹村ほか 2019)。今回行った水位降下と掛流飼育への切り替えが結果的に自然条件下における潮汐と同等のシグナルとして作用し、産卵に関わる内分泌調節に影響を及ぼした可能性は否定できないことから、水温や日長以外の環境要因についても外部刺激としての有効性を今後検討する必要がある。

魚類の脳内における外部環境情報の伝達とその制御機構には不明な点が多い。生殖周期の調節に関わる因子としては、上述のドーパミンの他、光周期と黄体形成ホルモンの分泌リズムを結ぶメラトニンや個体の成長-摂餌-生殖を結ぶ因子の一つであるニューロペプチドなど複数のホルモンが関与するとされ、魚類の成熟と産卵に最も直接的な影響を及ぼすであろう水温と日長に至っては、どのように内部生理情報と統合され、脳-脳下垂体-生殖腺による内分泌制御機構と結びつくか未解明のままである(松山, 2010)。

いずれにせよ、本種の産卵は、特別な環境制御を実施せずとも水槽内で自発的に継続されることが過去の飼育履歴から明らかであり、親魚に有害なストレス要因の排除が最も重要なポイントである。雌雄ともに健全な状態で配偶子を形成できる水槽環境を構築し、その上で、産卵に必要な外部刺激を人為的に付加しながら必要最小限の環境調節によって、より自然条件に近い産卵誘導を行うことが産卵成功実績のある親魚群を安定維持する上で有益であることは言うまでもない。

#### (4) 排卵誘導と人工授精

hCGによる排卵誘導の結果、打注した7尾中6尾から成熟卵の放出が確認された(表4)。圧搾したほとんどの個体で48時間後の採卵量が多い傾向が見られた一方、51時間後に増加した個体(ID:C6A32EA)や十分な量のhCGを打注したにも関わらず全く採卵できない個体(ID:96F1FE0)が確認された。3回目の圧搾(54時間後)ではいずれの個体からも卵は得られなかった。採卵量の合計は

表4 hCGを用いたヤイトハタの排卵誘導と人工授精による採卵結果.

個体ID	打注日 (個体数)	熟度判定 平均卵径 (mm ± SD)	hCG打注量 (IU/尾)	体重 (kg)	採卵量 (g)				浮上卵		ふ化率 (%)	打注履歴
					1回目 (48時間後) 浮上卵	1回目 (48時間後) 沈下卵	2回目 (51時間後) 浮上卵	2回目 (51時間後) 沈下卵	単位卵数 (粒/g)	平均卵径 (mm ± SD)		
2468700		0.41 ± 0.08	20,000	35.8	1,708	204	741	359	2,239	0.83 ± 0.03	45.5	初回
96F1FE0	2020/3/23 (n=5)	0.33 ± 0.07	15,000	26.5	0	0	0	0	-	-	-	2019/4/2
96F2024		0.40 ± 0.08	15,000	25.2	1,088	34	249	99	2,212	0.84 ± 0.03	1.6, 26.8	初回
C6A32EA		0.37 ± 0.07	20,000	33.0	66	3	170	26	2,033	0.87 ± 0.02	14.9	初回
CEBBB5E		0.51 ± 0.05	13,000	22.0	440	375	69	126	1,632	0.91 ± 0.04	6.5	2019/4/2
96F0AC4		NA	10,000	18.0	924	32	70	16	2,171	0.84 ± 0.03	48.8	初回
CE9ED0B	(n=2)	0.46 ± 0.05	8,000	10.6	1,104	5	42	1	1,941	0.84 ± 0.03	47.0	初回
合計 (平均値)		(0.41 ± 0.09)	-	-	5,330	653	1,341	627	(2,034)	(0.86 ± 0.04)	(20.5)	-

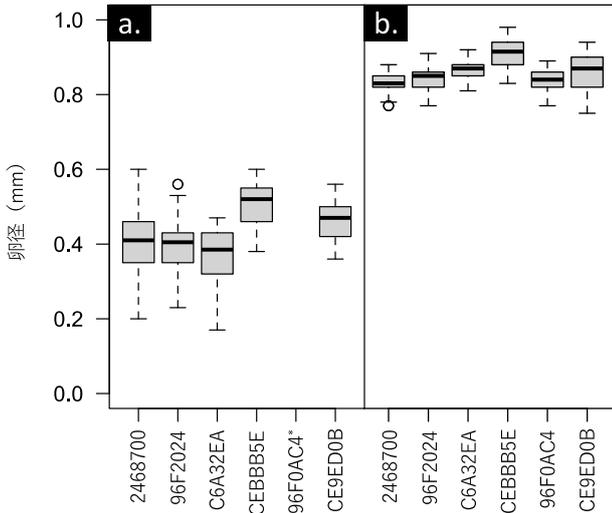


図7 hCG打注個体の卵巣卵径と打注48時間後の人工授精により得られた浮上卵の卵径分布. a.: 熟度判定時の卵巣卵 (5%海水ホルマリン固定), b.: 人工授精後の浮上卵 (固定なし). 箱ヒゲは各群の四分位数, 白点は外れ値を示す. \*: 欠損値.

8.0kg (浮上卵率: 83.9%) に及び, そのうち6.7kg (約1,360万粒) の浮上卵を種苗生産に供した. 各個体の浮上卵の単位卵数は平均2,034粒/g, 卵径は平均0.86mmであり, 概ね本種の水槽内産卵で得られる産卵盛期の受精卵と同程度であったが, 収容後のふ化率は個体によって差が生じ, 1.6~48.8%の範囲で大きく変動した (表4). 採取した卵巣卵は, 卵径0.17~0.60mmの範囲に含まれる卵黄球期卵であり, 卵黄蓄積中の複数の発達段階が含まれるものと推測された. 重量500g以上の浮上卵が得られた個体における卵巣卵の平均卵径は, いずれも0.4mm以上であり, 0.4mm未満の個体では全く排卵しないか, 少量しか得られないかのどちらかであった. これら各個体の卵巣卵の卵径は, 授精直後に得られた浮上卵の卵径と概ね連動した値を示しており, 卵巣卵の大きな個体からは卵径の大きな浮上卵が得られる傾向が確認された (図7). 最も卵巣卵の大きい個体 (ID: CEBBB5E) より得られた浮

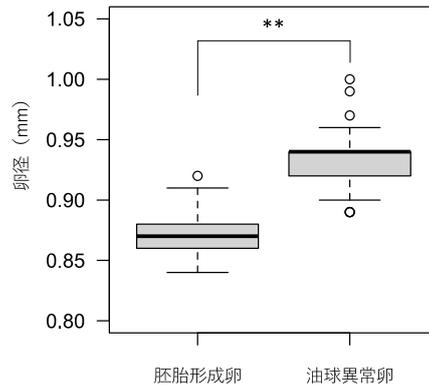


図8 人工授精後に1kLアルテミア水槽における流水管理 (18時間) を行った浮上卵の卵径分布. \*: p>0.01・対応のあるt検定.

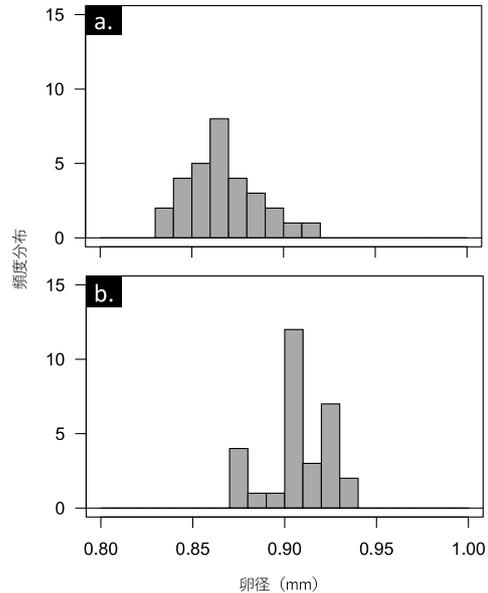


図9 人工授精および水槽内産卵で得られた胚胎形成期における浮上卵 (正常胚胎形成) の卵径組成. a.: 人工授精 (2020/3/26・1,692粒/g), b.: 水槽内産卵 (2020/4/21・単位卵数: 1,686粒/g). p>0.01・ウェルチのt検定.

上卵は, 他の卵群に比べて単位卵数が少なく, 平均卵径も大きかったことから, 比較的比重の大きい卵であったと考えられ, 発生途中の沈下現象によってふ化率が低下した可能性がある.

近年, 他の脊椎動物と同様に魚類においても2種の生殖腺刺激ホルモン, すなわち濾胞刺激ホルモン

と黄体形成ホルモン（以下、LH）の存在が明らかとなっており、卵の成熟については多くの魚種でLHの関与が推定されている。LHは、卵濾胞組織において卵成熟誘起ホルモンの合成を誘導し、排卵をともなう最終成熟を引き起こすことから、特に飼育下において正常に黄体形成が進行する魚種ではLH様作用のあるhCGの投与が有効であるとされる（松山，2010）。種苗生産機関においては、より安価で費用対効果の高い手法を優先するため、水槽内で黄体形成が確認された場合にはhCGによる排卵誘導を選択することが多い。しかし、ヤイトハタの種苗生産では、本手法による授精卵を用いた場合、水槽内産卵で得られたそれと異なり、同様の物理的環境条件や餌料系列で生産しても初期生残率が悪化すると報告され（山内・木村，2019，2020・山内ほか，2021），量産技術の確立にはまだ多くの課題が残されている。特に、ふ化率の変動は前述した親魚由来の卵径・比重の個体間差に加えて、ハタ類においても報告される発生途中の比重変化（川辺，2006）に起因するものと考えられ、雌親魚のそれぞれの卵質特性を把握し、発生段階に応じて沈下を防止するための通気手法の工夫によって適切な流場を調整するといった煩雑な管理が予想される。

今回得られた人工授精の浮上卵を1kLアルテミアふ化槽で18時間流水管理し、胚胎形成確認後に再度浮上卵の分離を行ったところ、浮上卵の割合は25.7%に急減しており、70%以上の卵が沈下または中層で浮上が停滞する中性卵であった。浮上卵の中には、単一油球の正常卵に混じって複数の油球を有した異常卵も含まれており、異常卵の卵径は正常卵と比べて著しく大型であった（図8；対応のあるt検定， $p<0.01$ ）。このような発生途中に生じる異常卵を量産水槽への収容後に分離することは極めて困難であり、収容する前に質を判断して除外しなければ、生産開始初期の水質悪化を招く恐れがある。同様の手法を用いた他魚種の採卵では、個体や圧搾するタイミングによって差異が生じやすいこのような人工授精卵の質的課題を、その後の種苗生産水槽に波及させないため、流水環境下における卵管理後正常な胚胎形成が認められた浮上卵のみを収容する

初期の卵管理が一般的に行われている。さらに、今回の流水管理の試みでは、正常卵の卵径が同等の単位卵数が記録された水槽内産卵の正常卵（2020年4月21日）と比べて小型であることも確認された（図9；ウェルチのt検定， $p<0.01$ ）。上記は産卵時期や親魚が異なる卵群のため、一概に比較はできないが、hCGによる人為的な排卵誘導が卵黄蓄積の完了していない卵群に対しても作用することで引き起こされたものと推察され（中田ほか，2005）仔魚の初期生残に重要な内部栄養の不足やその後の活力低下への影響が懸念される。

今後、本手法による安定採卵方法と種苗生産技術を確立するためには、打注個体の選別基準の明確化による熟度判定法の確立とともに、使用する性ホルモン剤の種類や投与方法の違いによる卵質への影響を詳細に把握し、それに続く種苗生産分野の技術開発へと展開する必要がある。

## 文献

- 今道智也，岸本和雄，山内岬，仲本光男：2015，ヤイトハタ種苗生産事業（ヤイトハタの採卵・卵輸送），沖縄県水産海洋技術センター事業報告書，75，20.
- 今道智也，南洋一，山内岬：2017，栽培漁業センター生産事業（2014年度のヤイトハタ早期採卵と卵輸送），沖縄県水産海洋技術センター事業報告書，76，11.
- 今道智也，近藤忍：2017，沖縄県栽培漁業センター生産事業（2015年度のヤイトハタ早期採卵），沖縄県水産海洋技術センター事業報告書，77，13.
- 川辺勝俊：2006，アカハタ卵の発生に伴う比重の変化，水産増殖，54(1)，51-56.
- 木村基文，狩俣洋文，仲本光男，呉屋秀夫：2009，2008年度のヤイトハタの親魚養成・採卵と種苗生産の餌料培養結果，沖縄県水産海洋研究センター事業報告書，平成20年度，169-173.
- 木村基文，岸本和雄：2011，飼育環境制御によるヤイトハタ産卵開始時期の早期化，沖縄県水産海洋研究センター事業報告書，72，48-52.
- 木村基文，岸本和雄，山内岬：2012，大型ハタ類の採卵・種苗生産技術開発，沖縄県水産海洋研究セン

- ター事業報告書, 73, 11.
- 木村基文, 岸本和雄, 山内岬:2013, 大型ハタ類の採卵・種苗生産技術開発・ヤイトハタ種苗生産事業(ヤイトハタの早期採卵・循環式種苗生産・タマカイの人工授精・種苗生産・養殖試験), 沖縄県水産海洋技術センター事業報告書, 74, 30.
- 木村基文, 狩俣洋文, 山内岬:2015, ヤイトハタの人工種苗生産技術開発と養殖技術開発, 海洋と生物, 37(2), 136-144.
- 金城清昭, 中村博幸, 大嶋洋行, 仲本光男:1997, ヤイトハタの親魚養成と採卵(海産魚類増養殖試験), 沖縄県水産試験場事業報告書, 平成7年度, 135-138.
- 金城清昭, 中村博幸, 大嶋洋行, 仲本光男:1999, ヤイトハタの親魚養成と採卵, 沖縄県水産試験場事業報告書, 平成9年度, 135-138.
- 小林牧人, 大久保範聡, 足立伸次, 2013:第7章 生殖(会田勝美, 金子豊二編), 魚類生理学の基礎, 恒星社厚生閣, 東京, pp.149-183.
- Takemura *et. al.*:2008, Role of the tidal cycle in the gonadal development and spawning of the Tropical Wrasse *Halichoeres trimaculatus*, *Zoological Science*, 25, 572-579.
- 竹村明洋, 2019:魚類の産卵周期に見られる月を利用した時刻合わせ, 時間生物学, 25(1), 29-35.
- 土橋靖史, 高鳥暢子, 栗山功, 羽生和宏, 辻将治, 津本欣吾:2007, 水温および日長調整によるマハタの9月採卵, 水産増殖, 55(3), 395-402.
- 中田久, 中尾貴尋, 荒川敏久, 松山倫也:2005, プリの成熟・排卵誘導におけるHCG投与時の卵径と排卵時間, 卵量および卵質との関係, 日本水産学会誌, 71(6), 942-946.
- 原田輝雄.:1965, プリの増殖に関する研究—特にいけす網養殖における餌料と成長との関係—, 近畿大学農学部紀要, No.3, 1-275.
- 濱本俊策, 眞鍋三郎, 春日公, 野坂克己:1986, ヤイトハタ *Epinephelus salmonoides*(LACÉPÈDE) の水槽内産卵と生活史, 栽培技研, 15(2), 143-155.
- 原田輝雄:1974, 海産魚, 魚類の成熟と産卵「—その基礎と応用—」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.66-75.
- 堀田卓朗, 今泉均, 河野一利, 山崎哲男:2003, クエ卵巣内に残留した卵塊の摘出と成熟への影響, 栽培技研, 31(1), 1-4.
- 松山倫也:2010, 魚類の生殖周期の内分泌制御機構, 水産海洋研究, 74(特集号), 66-83.
- 山内岬, 木村基文:2020, 2018年のヤイトハタ種苗生産と二次飼育(栽培漁業センター生産事業), 沖縄県栽培漁業センター事業報告書, 29, 23-27.
- 山内岬, 木村基文:2021, 2019年のヤイトハタ種苗生産と二次飼育(栽培漁業センター生産事業費), 沖縄県栽培漁業センター事業報告書, 30, 29-32.
- 山内岬, 木村基文, 大瀧庸平, 2022:2020年のヤイトハタ種苗生産と二次飼育(栽培漁業センター生産事業費), 沖縄県栽培漁業センター事業報告書, 31, 35-37.
- 山本義和:1979, 水生生物と重金属[1]銅編(尾崎久雄 監), 株式会社サイエンティスト社, 東京, 207pp.