

## 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

中田 久, 原 洋一, 宮木廉夫, 松山倫也\*

Development of Methods for the Induction of Gonadal Maturation and Effective Insemination in the Cultured Tiger puffer *Takifugu rubripes*

Hisashi Chuda, Youichi Hara, Kadoo miyaki, and Michiya Matsuyama

In order to develop an effective methods for the induction of gonadal maturation and obtaining high quality fertilized eggs in the cultured tiger puffer *Takifugu rubripes*, the study was conducted.

Single implantation of cholesterol pellet containing LHRHa (luteinizing hormone-releasing hormone analogue, 400  $\mu$ g/kg body weight) successfully induced oocyte maturation and subsequent ovulation for three- and four-year-old females which had oocytes over 900  $\mu$ m in diameter. Ovulation generally occurred between 12 and 36 hours after ovarian hydration which could be confirmed by hardening of abdomen during periodical palpation. In case of male, spermiation was easily induced one or two days after single injection using HCG (500 IU/kg) combined with chum salmon pituitary homogenate (7 mg/kg) in three-year-old fish with fully grown testis. The fertilization rate in artificially inseminated eggs clearly showed a inverse relation with the post-ovulation time; the mean fertilization rates of eggs collected within four hours after ovulation exceeded 70%, while those collected at 24 hours after ovulation were nearly close to zero. Therefore, improvement of fertilization rate in artificial insemination of tiger puffer depends on the confirmation of ovulation as early as possible. These methods mentioned above were tested repeatedly, and their effectiveness and reproducibility were confirmed.

これまで、トラフグの種苗生産用受精卵は、排卵された成熟卵を持つ天然親魚から搾出するか、まだ成熟卵を持たない天然魚に哺乳類の生殖腺刺激ホルモン (HCG) などを投与することにより得られてきた。<sup>1)</sup>しかし、近年における漁獲量の減少に伴い天然親魚からの受精卵確保が困難となり、そのため養成親魚からの採卵技術の開発が急務となってきた。

筆者らは、1992年に宮木ら<sup>1)</sup>が行った天然魚に対

する採卵実験にひきつづき、1993年に養成親魚からの採卵技術の開発研究に着手し、合成黄体形成ホルモン放出ホルモン (LHRHa) のコレステロールペレットを投与することにより、養成親魚から成熟卵を得る方法を開発した。<sup>2-6)</sup>ここでは、親魚養成、LHRHaコレステロールペレットを用いた成熟誘導、人工授精時の排卵確認と媒精適期、媒精用精子等について、これまでの研究結果をとりまとめて紹介す

\* 九州大学農学部水産学第一講座

る。

## I. 親魚養成について

### ① 親魚用餌料と飼育管理

使用した餌料と飼育の方法は以下の通りである。

餌料は、サバ：オキアミ：イカ：配合飼料を1:1:1:3の割合で調整したモイストペレットを週3回飽食量給餌し、加えて1月からは、サバ・イカの切り身を週2回給餌した。このようにして、ホルモン処理を行う時期までに肥満度 ( $k = (BW/TL^3) \times 10^3$ ) が37以上の親魚を確保することができた。

前年度の採卵が終了した4月以降、親魚は30t屋外円形水槽2面に2kgサイズのをそれぞれ50尾程度収容して飼育し、1月初めからは、室内の20t角形水槽2面に移して水温、日長条件を調整した。周年にわたって、陸上水槽で飼育することにより、十分な飼育管理が可能となり、また、定期的な薬浴と水槽替えにより、白点虫症およびヘテロボツリウム症の予防を行った。加えて、年1回春季に歯切りを行うと共に、飼育水槽中では一定方向の水流をつくり、トラフグ特有の噛み合いを軽減した。

採卵用親魚として使用できたのは、雌は3歳魚から、雄は2歳魚からであった。しかし、採卵量等を考慮すると雌は4歳魚以上(2.5kg以上)が望ましいと思われる。

### ② 加温および長日処理による成熟促進

飼育水温は、1月初めから長日処理(14L,10D)を施すと共に徐々に昇温し(0.5°C/day)、17°Cになってからはこの温度を採卵まで維持した。加温および長日処理により、親魚の生殖腺の発達を個体間で同調させ、3月までにホルモン投与が可能な卵巣卵を持つ個体を多数確保することができた。

## II. LHRHaコレステロールペレット投与による成熟誘導について

### ① 使用ホルモン剤と投与方法

親魚の成熟および排卵誘導用ホルモン剤として用いたLHRHaは、des-Gly<sup>10</sup>, [D-Ala<sup>6</sup>]-LHRH ethylamide (Sigma)である。投与方法はLHRHaを含むコレステロールペレットを作製し、トラフグの背筋部に内径3mmのステンレス製骨髄生検針を用いて埋め込んだ(写真1)。

LHRHaコレステロールペレット(以下LHRHaペレット)の作製はLee et al<sup>7)</sup>に準拠して、ペレット1個につきLHRHa 200 μgを含む長さ6mm、直径2mmの円柱状のものを調整した。<sup>8)</sup> LHRHaコレステロールペレットは、ホルモンの放出持続効果があり、成熟促進だけでなく、卵黄形成にも有効であるため、<sup>9,10)</sup> 卵黄形成が終了していない個体であっても1回の投与で成熟および排卵を誘導することができた。<sup>2)</sup> ただし、排卵が遅い個体については、HCG(胎盤性生殖腺刺激ホルモン、500IU/kg)とSP(シロザケ脳下垂体、7mg/kg)の混合液(以下HCG・SP)の注射により、排卵を誘導した。

**実施上の留意点** LHRHaペレットを投与する際には、親魚に与えるストレスを少なくするため、投与作業を短時間に行うことが望ましい。LHRHaペレットは親魚を2-フェノキシエタノール(約200ppm)で麻酔した後、生検針を用いて背筋中に埋め込むが、その際、メスで背筋部表皮に5mm程度の切れ込みを入れた。トラフグは表皮が厚いため生検針が入りにくく、事前に表皮に切れ込みを入れることで埋め込み作業の時間が短縮され、親魚へのストレスを軽減することができる。

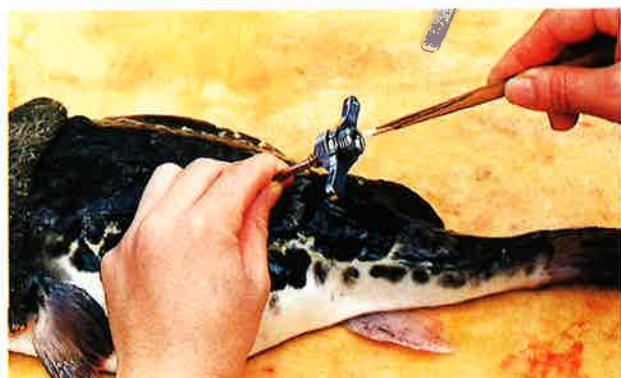


写真1. LHRHaコレステロールペレットの埋め込み状況  
Intramuscular implantation of LHRHa cholesterol pellet using a 3mm troacher.

②LHRHaコレステロールペレット投与時の卵径

ホルモンの投与効果を個体間で同調させるためには、LHRHaペレット投与時の卵巣卵径の大きさを把握しておくことが大切である。これまでの研究<sup>9)</sup>から、卵径800 $\mu$ m以上であれば採卵可能なことが分かっている。受精率等の比較では、LHRHaペレット投与時の卵径は、800 $\mu$ mでも900 $\mu$ mでも大差はなかつ

たが、排卵の同調性は900 $\mu$ mの方が高いことが分かった(表1, 図1)。

養成3, 4歳魚は、天然親魚に比べて小さく、1尾あたりの採卵量が少ないので、大量に種苗を生産する際には複数個体の排卵を同調させ、同日に採卵する必要がある。この点を考慮すると、LHRHaペレット投与を行う親魚の選定にあたっては、900 $\mu$ m以上の個体を使用することが望ましい。

今回、上述した実験で全個体の成熟および排卵を誘導することができたが、得られた卵の受精率が安定していないことが課題として残された。これは、人工授精を行う際の媒精タイミングが影響していると考えられ、この点については後述する。

**実施上の留意点** ホルモンの投与時期を決めるための卵径の把握は、タイゴン製チューブを卵巣内へ挿入するカニューレーション法により、容易にしかも安全に行うことができる(写真2)。

表1. LHRHaコレステロールペレット投与時の卵径とその投与効果 (1995年)

Table 1. Effects of oocyte diameter of cultured tiger puffer implanted with LHRHa cholesterol pellet (LHRHa 400  $\mu$ g/kg) on ovarian maturation, ovulation, and fertilization in 1995

個体番号 Fish No.	魚体重 Body weight (kg)	ホルモン投与時卵径 Egg diameter( $\mu$ m)		採卵量 Weight of obtained eggs(g)	受精率 Fertilization rate(%)	孵化率 Hatching rate(%)
		Initial <sup>*1</sup>	Final <sup>*2</sup>			
A-1	1.98	960	1,127	205	37.5	0.0
A-2	1.60	949	—	—	—	—
A-3	1.67	941	1,149	470	46.7	34.8
A-4	1.82	931	1,127	360	50.0	36.0
A-5	1.98	923	1,141	470	62.3	42.1
A-6	1.28	922	—	—	—	—
A-7	1.58	917	1,178	258	70.0	53.7
A-8	1.61	912	1,070	225	64.2	30.9
B-1	1.70	895	1,099	320	43.6	18.3
B-2	1.80	893	1,188	410	91.0	75.5
B-3	1.97	885	1,168	445	89.2	61.5
B-4	1.32	882	—	—	—	—
B-5	1.40	876	—	—	—	—
B-6	1.59	860	1,142	240	55.3	31.3
B-7	1.86	846	1,185	410	69.8	43.0
B-8	1.94	829	1,132	300	30.1	0.0
B-9	1.42	829	1,107	160	16.7	0.0
B-10	1.63	803	1,091	167	33.1	0.0

\*<sup>1</sup> Diameter of ovarian oocytes just prior to hormonal treatment.

\*<sup>2</sup> Diameter of ovulated eggs.

この方法によって親魚選別を行うことで、より効率的で再現性のある採卵が可能になると考えられた。

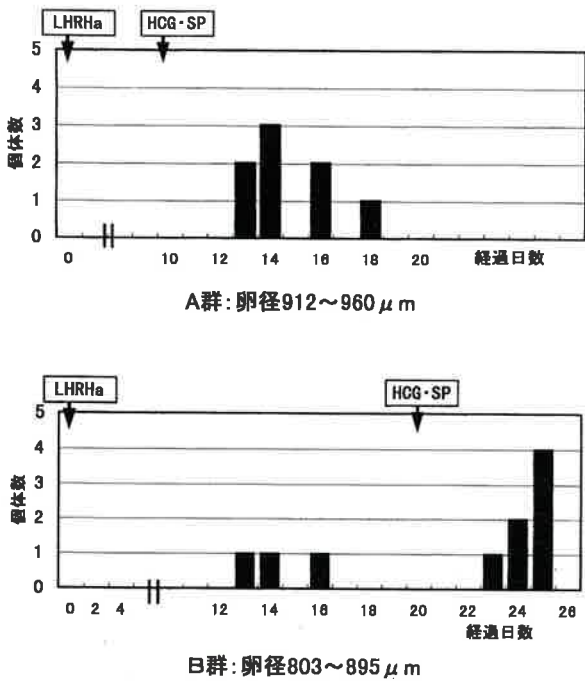


図1. LHRHaコレステロールペレット投与後の排卵個体の出現状況 (1995年)

Fig. 1. Ovulation success in cultured tiger puffer after implantation of cholesterol pellet (LHRHa 400 μg/kg) with different oocyte diameter in 1995.



写真2. タイゴン製チューブを用いた卵巣卵採取状況  
Egg sampling by using a flexible catheter.

### ③ LHRHa の投与量

LHRHaの投与量については、200 μg/kgと400 μg/kgで比較を行った。結論から言えば、400 μg/kgが成熟を同調させ、排卵を短時間に集中させる上で望ましいと考えられる。200 μg/kgと400 μg/kgの比

較試験は、表2に示すように卵径が970~1,076 μmの個体を用いて行った。両者ともLHRHa投与後4日目から排卵個体がみられ、採卵結果も200 μg/kg、400 μg/kgで大差は認められず、両者とも良質の受精卵を得ることができた(表3)。しかし、400 μg/kgの方がより短期間に集中して排卵が起こっており(図2)、短期間にまとまった量の受精卵を得る必要があることを考えると400 μg/kgの方が適当と考えられた。

また、本実験では後述の媒精適期把握試験の結果に基づき、排卵確認および人工授精を行った。このことが今回の採卵結果(表3)の向上につながったと考えられる。

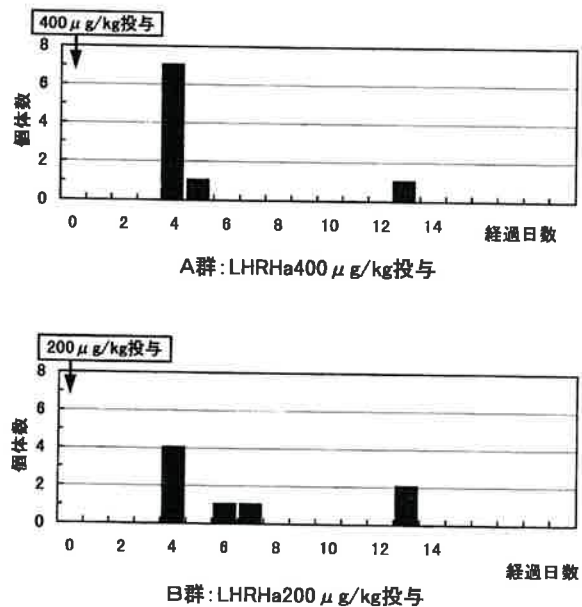


図2. LHRHaコレステロールペレット投与後の排卵個体の出現状況 (1996年)

Fig. 2. Ovulation success in cultured tiger puffer after implantation of cholesterol pellet with two different doses of LHRHa in 1996.

表 2. LHRHa投与量比較試験に使用した親魚と投与LHRHa量 (1996年)

Table 2. Details of cultured tiger puffer used in the study on different doses of LHRHa implanted with cholesterol pellet in 1996

個体番号 Fish No.	全長 Total length (mm)	魚体重 Body weight (kg)	卵径 egg diameter ( $\mu$ m)	LHRH-a投与量 Dose of LHRHa ( $\mu$ g/kg)
A-1	441	2.24	1,076	400
A-2	445	2.06	1,043	400
A-3	461	2.02	1,016	400
A-4	490	2.38	1,007	400
A-5	473	2.30	991	400
A-6	455	1.87	990	400
A-7	456	2.28	984	400
A-8	448	1.99	974	400
A-9	477	2.68	973	400
B-1	480	2.11	1,066	200
B-2	480	2.27	1,021	200
B-3	477	1.97	1,013	200
B-4	480	2.31	992	200
B-5	487	2.41	991	200
B-6	430	1.97	988	200
B-7	458	2.21	979	200
B-8	480	2.14	974	200
B-9	470	1.89	970	200

表 3. LHRHa投与量比較試験の結果 (1996年)

Table 3. Effects of two different doses of LHRHa implanted with cholesterol pellet on ovarian maturation, ovulation, and fertilization in 1996

個体番号 Fish No.	採卵時卵径 egg diameter ( $\mu$ m)	採卵量 Weight of obtained eggs(g)	受精率 Fertilization rate(%)	生殖腺体重比 GSI (%)	孵化率 Hatching rate(%)
A-1 <sup>*1</sup>	1,305	715	95.3	33.8	84.9
A-2	1,249	540	57.7	28.3	42.9
A-3	1,328	530	76.0	29.6	58.3
A-4	1,295	655	96.6	29.8	86.1
A-5	1,251	375	98.2	24.0	62.4
A-6	1,307	515	85.5	31.2	78.0
A-7	1,283	720	100.0	33.7	86.7
A-8	1,263	440	63.5	25.4	53.7
A-9	1,251	860	100.0	33.9	87.2
B-1 <sup>*2</sup>	1,258	515	93.2	26.8	71.7
B-2	—	—	—	—	—
B-3	1,268	520	100.0	27.5	87.5
B-4	1,309	510	90.4	33.2	69.1
B-5	1,276	675	77.0	30.7	60.5
B-6	1,308	435	61.3	26.2	49.0
B-7	1,334	650	94.3	30.8	80.5
B-8	1,223	290	94.4	17.7	80.1
B-9	1,229	510	94.0	28.7	55.1

\*<sup>1</sup>A群：LHRHa400 $\mu$ g/kg投与

\*<sup>2</sup>B群：LHRHa200 $\mu$ g/kg投与

### Ⅲ. 排卵確認と媒精適期について

受精率のばらつきをなくし、高受精率の卵を得るためには、最適な卵搾出時期および媒精時期を把握しておくことが大切である。

人工授精による受精率は、排卵されてからの経過時間（卵巣腔内滞留時間）と密接に関係することが数種の魚種で知られている。<sup>11-14)</sup> また、ニジマス<sup>14-16)</sup> やコイ<sup>17)</sup> では、排卵された卵がそのまま卵巣腔に滞留すると、卵は過熟現象を起こすことが報告されている。従って、トラフグの人工授精においても、受精率のばらつきの要因として、排卵された成熟卵の媒精適期を逃している可能性が考えられた。<sup>18)</sup>

実験は、表4に示すように卵径800 $\mu$ m以上の親魚10個体を用い、LHRHaペレットを400 $\mu$ g/kgまたは200 $\mu$ g/kgを投与した。排卵後の経過時間と受精率との関係を調べるため、媒精は排卵後0,2,4,8時間、以下4時間毎にそれぞれ卵を搾出し、人工授精を行った。図3から明らかのように、受精率は排卵後4時間までが高く、排卵後8時間で減少を始め、排卵後24

時間で6個体が、32時間では全個体が受精率0%となった。このことから、卵の受精能は排卵直後に最も高く、その後時間の経過と共に低下し、32時間以上経過すると受精しないことが分かった。また、卵径の変化は図4に示すとおり、排卵直後に最も大きく時間の経過と共に小さくなり、排卵された卵は卵巣腔内滞留時間が長くなるに従って卵径が小さくなることがわかった。

これらのことから、卵の受精率は排卵されてからの経過時間、即ち、卵巣腔内滞留時間に影響されていることが明らかとなった。受精率は排卵後4時間以内に媒精を行えば平均70.5%以上の高い値を示すが、その後は急激に低下し、排卵後32時間の搾出卵は受精しなかった。また、卵径は排卵後の時間が経過すると共に小さくなり、卵膜も脆くなるといった過熟傾向が観察された。したがって、これまで天然、養成親魚を問わず人工授精において、良質卵が安定して得られなかった要因の一つに媒精適期を逃していた可能性が推察された。

表4. 媒精適期試験に使用した親魚と投与LHRHa量 (1996年)

Table 4. Details of cultured tiger puffer used in the study on the relationship between fertilization rate and post-ovulation time in 1996

個体番号 Fish No.	全長 Total length (mm)	魚体重 Body weight (kg)	卵径 egg diameter ( $\mu$ m)	LHRH-a投与量 Dose of LHRHa ( $\mu$ g/kg)	LHRH-a投与日 Date of pellet implantation
A-1	456	2.02	936	400	3/6
A-2	467	2.23	891	400	3/6
B-1	480	2.52	957	400	3/12
B-2	470	2.19	944	400	3/12
B-3	441	1.93	943	400	3/12
B-4	461	2.31	950	400	3/12
C-1	448	1.94	821	200	3/19
C-2	435	2.07	986	200	3/19
C-3	443	1.95	918	200	3/19
C-4	450	1.88	830	200	3/19

**実施上の留意点** 上述したように、人工授精を行う際の媒精適期は排卵直後であり、安定して高受精率の卵を得るためには、排卵時期を個体毎に予測することが大切である。

本実験において、トラフグでは最終成熟が完了すると、腹部の硬化現象がみられ、その後腹部は膨張したまま柔らかくなり、排卵に至ることを確認している。今回、この腹部の硬化現象は、LHRHaペレット投与後5,6日目に多くの個体で見られ、また、排卵は腹部の硬化から12~36時間後に起こった。トラフグは、鱗が無くかつ腹部の筋肉が薄いため直接卵巣の

状態を触診で測ることができるので、触診による腹部の硬化の確認は、排卵予測（腹部の硬化から12~36時間経過後）に有効かつ簡便な方法であると考えられた。

**IV.雄個体へのホルモン処理について**

人工授精により採卵を行う場合、その受精率は卵質のみでなく、精子の質にも依存すると考えられる。そこで、媒精時に最もよく運動する一定量の精子を雌の排卵時期に同調させるための採精技術を確立し、得られた精子の運動性および使用可能な期間等を把握しておくことが大切である。

これまでの研究から、<sup>19)</sup> HCG・SP (HCG 500IU/kg, SP 7mg/kg) 投与により雄個体は長期にわたって排精し、その精子は使用可能なことが分かっている。実験は、HCG・SP投与により排精促進された複数の雄親魚から精液を採取し、そのスパマトクリット値（精液にしめる精子の体積比）および運動時間を30日間調査した。

その結果、図5、6から明らかのように、スパマトクリット値はHCG・SP投与直後は比較的高かったが(62-81%)、続く約10日間は低い値(30-59%)を示し、粘度の低い精液が得られた。その後再び値は増加し、23日目には全個体が80%を越え粘度の高い精液となった。一方、精子の運動時間は、経過日数およびスパマトクリット値に関係なく、30日間にわたり60秒前後で安定していた。このことから、HCG・SPの1回投与により長期間精液を採取することができ、また、スパマトクリット値にかかわらずその運動性は維持されていることが明らかとなった。したがって、媒精用の精子はHCG・SP投与により長期にわたって採取可能であると考えられた。

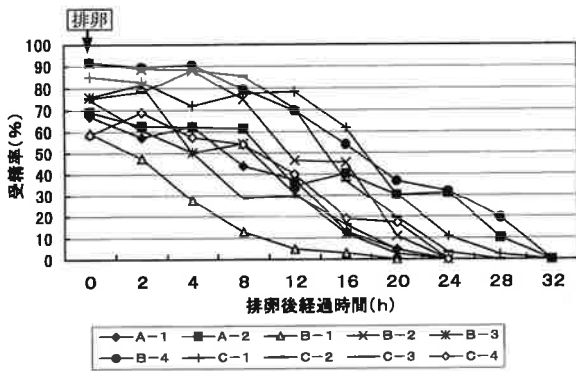


図3. 排卵後経過時間と受精率の関係(1996年)  
Fig. 3. Relationship between fertilization rate and post-ovulation time in artificially inseminated eggs of tiger puffer in 1996.

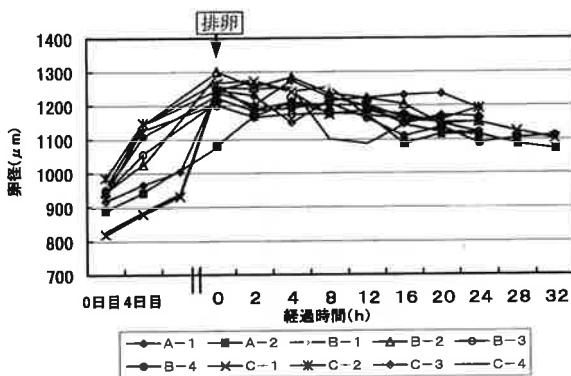


図4. LHRHaコレステロールペレット投与後の卵径の変化(1996年)  
Fig. 4. Changes of egg diameter in different tiger puffer females after implantation of LHRHa cholesterol pellet (LHRHa 400 μg/kg) in 1996.

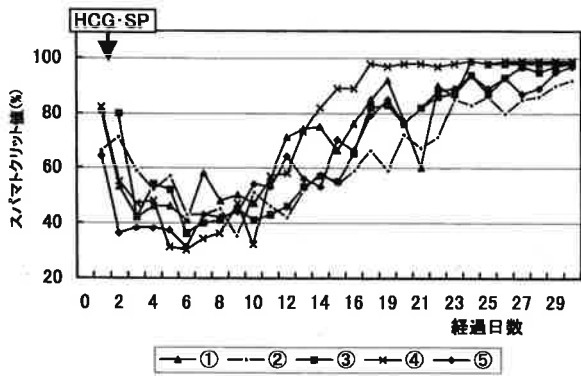


図5. HCG・SP投与後のスパマトクリット値の推移 (1996年)

Fig. 5. Changes of spermatocrit in milt collected daily from five different tiger puffer males after injection of HCG (human chorionic gonadotropin, 500IU/kg) combined with SP (salmon pituitary homogenate, 7mg/kg) in 1996.

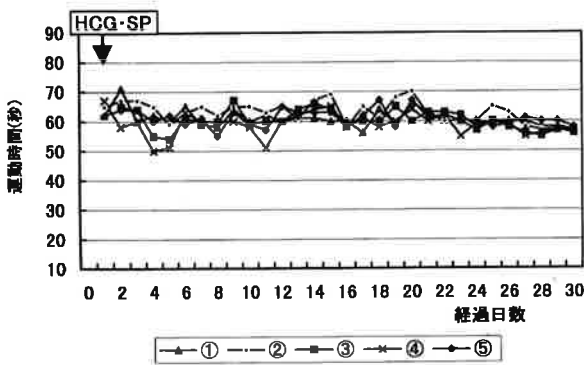


図6. HCG・SP投与後の精子運動時間の推移 (1996年)

Fig. 6. Changes of spermatozoan motility in milt collected daily from five different tiger puffer males after injection of HCG (500IU/kg) combined with SP (7mg/kg) in 1996.

V.平成9年度(1997)採卵試験結果について

これまでに述べた成熟誘導や採卵法の再現性を確認するために以下の試験を行った。

親魚は、養成4, 5歳魚を用い、採卵試験までの親魚養成や環境制御は前述のとおりである。雌供試魚には、LHRHaペレット投与直前にカニューレーションを行い、卵巣卵径が900 $\mu$ m以上のものを16個体使用した。また、LHRHaの投与量は400 $\mu$ g/kgで処理した。排卵の確認は、LHRHaペレット投与2日

後から1日2回9:00と16:00に触診を行い、まず最終成熟による腹部の硬化を確認した。排卵は腹部の硬化後12~36時間で起こるので、それを目安に確認し、排卵確認後は直ちに人工授精を行い、媒精適期を逃さないようにした。

供試魚の排卵は、図7から明らかなように、LHRHaペレット投与後2日で始まり6日までの間に全ての個体で確認された。

また、排卵時期の指標となる最終成熟に伴う腹部の硬化現象は、全ての個体で、排卵の12~36時間前に確認された。採卵結果は表5から明らかなように16個体全てから受精卵が得られ、受精率は50.5-100% (平均87.7%)、受精卵の卵径は1,157-1,380 $\mu$ m (平均1,284 $\mu$ m)、採卵量は475-1,024g (平均767g)と良好な結果が得られた。特に、受精率は16個体中12個体で90%以上であった。これらの個体から得られた卵は卵膜が厚く、卵径も平均1,284 $\mu$ mあり、人工授精時の卵搾出と媒精のタイミングが良かったものと考えられた。

今回、LHRHaペレット(400 $\mu$ g/kg)を卵巣卵径が900 $\mu$ m以上の個体に投与し、腹部の硬化を目安に排卵を確認して、排卵確認後は直ちに人工授精を行うという方法で、良質受精卵を効率的に採卵することができ、その再現性も確認できた。

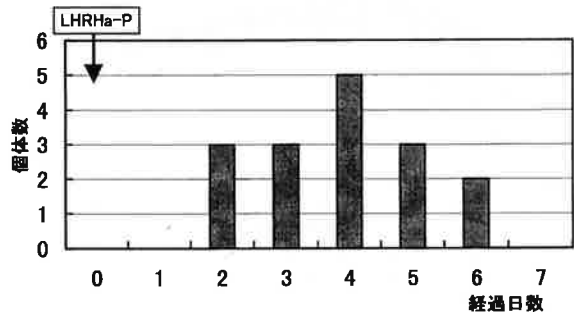


図7. LHRHaコレステロールペレット投与後の排卵個体の出現状況 (1997年)

Fig. 7. Ovulation success in cultured tiger puffer after implantation of LHRHa cholesterol pellet (400 $\mu$ g/kg) in 1997.



表5. LHRHaコレステロールペレットを用いた採卵試験結果 (1997年)

Table 5. Effects of LHRHa cholesterol pellet (LHRHa 400  $\mu$ g/kg) implantation on ovarian maturation, ovulation, and fertilization in cultured tiger puffer in 1997

個体番号 Fish No.	魚体重 Body weight (kg)	ホルモン投与時卵径		採卵量 Weight of obtained eggs(g)	受精率 Fertilization rate(%)
		Egg diameter( $\mu$ m)			
		Initial	Final		
1	2.50	948	1,178	605	57.9
2	2.32	963	1,157	475	54.0
3	2.78	966	1,239	672	93.3
4	2.74	982	1,300	627	97.0
5	2.56	987	1,234	697	76.0
6	2.70	993	1,265	640	96.4
7	2.72	1,002	1,251	940	97.4
8	2.54	1,053	1,293	664	100.0
9	2.84	1,035	1,316	840	97.3
10	2.80	1,036	1,304	975	96.8
11	2.60	1,041	1,362	864	97.4
12	2.72	1,048	1,310	969	95.5
13	2.38	1,057	1,331	789	99.0
14	2.08	1,065	1,277	736	50.5
15	3.06	1,082	1,380	1,024	99.0
16	2.28	1,091	1,343	749	95.0

また、今回、複数尾の排卵日を同日に集中させることができたので、100t水槽規模で行われる種苗量産事業においても養成親魚からの受精卵で、必要量は十分確保できるものと考えられた。

## VI.まとめ

**親魚養成** 良質卵を得るためには、まず栄養状態の良い親魚を育成することが重要である。親魚を陸上水槽で周年にわたって飼育することができれば、寄生虫もある程度落とすことができ、十分な飼育管理が可能となる。特に、産卵期前の栄養状態が卵質を左右すると考えられたので、1月からはモイストペレットとサバ・イカの切り身の併用給餌を行った。

また、冬季に長日(14L・10D)昇温(17°C)処理を施すことにより、親魚の成熟を個体間で同調させることができ、3月までにホルモン投与が可能な卵巣卵を

持つ個体を多数確保できた。

**ホルモン処理** LHRHaペレットの1回投与で、成熟と排卵が誘導できた。また、LHRHaペレット投与後、10日を過ぎても排卵が確認されない個体については、卵巣卵径1mmを目安にHCG・SP投与することによって排卵を誘導できた。

LHRHaの投与時卵径と投与量については、複数尾の排卵を集中させ、効率的に採卵するためには、卵巣卵径は900 $\mu$ m以上、投与量は400 $\mu$ g/kgの方がよいと考えられた。

**排卵の確認と媒精適期** 排卵は、最終成熟に伴う腹部の硬化後12~36時間に開始されるので、それを目安に排卵を確認する。実際の腹部触診による成熟診断手法としては、次の4段階に分けられる。①卵黄形成から最終成熟期までの期間(卵巣の形状は確認でき、まだ硬くない状態)、②最終成熟期(卵巣は卵の吸水

により膨張し、腹部が硬化している状態) ③最終成熟期から排卵までの期間(硬い状態から少しずつ柔らかくなっていく状態) ④排卵完了時期(卵巣の形状が確認できない位、柔らかくなっている状態)。このことを念頭において腹部の触診を1日2回行うことにより排卵時期を予測することができる。媒精適期は排卵完了直後で、卵の受精能が高いこの時期に人工授精を行えば高い受精率が期待できる。

**媒精用精子** 腹部の膨出した雄親魚にHCG・SP投与(HCG:500IU/kg, SP:7mg/kg)を行えば、約30日間活発な運動性を示す媒精に適した精子を排精し続ける。

## VII.おわりに

筆者らの研究グループは、平成5年度から「養成トラフグの成熟促進と採卵技術の開発」事業に着手し、平成9年度の採卵試験(採卵マニュアルを用いた再現試験)結果から、養成親魚から安定して良質卵を得るための技術は確立したと考える。この採卵技術は、長崎県内の種苗生産業者を対象にトラフグの採卵技術研修会(平成7年に第1,2回、平成8年に第3回)を開催し、実際に利用され、成果を上げている。今後もこの養成親魚を用いたホルモン処理採卵技術の普及指導を行い、安定した種苗生産を目指したトラフグの完全養殖化を実現させていきたい。

## 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**, 439-442 (1992).
- 2) 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, **45**, 67-73 (1997).
- 3) 中田 久, 小島良治: 養成トラフグの成熟促進と採卵技術の開発. 長崎水試事報, 88-89 (1993).
- 4) 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. 長崎水試事報, 87-89 (1994).
- 5) 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. 長崎水試事報, 78-81 (1995).
- 6) 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**, 728-733 (1997).
- 7) C. - S. Lee, C. S. Tamaru, and C. D. Kelley: Technique for making chronic-release LHRH - a and 17  $\alpha$  -methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*, **59**, 161-168 (1986).
- 8) M. Matsuyama, H. Takeuchi, M. Kashiwagi, K. Hirose, and H. Kagawa: Induced gonadal development and spawning of immature red sea bream *Pagrus major* with LHRH-a administration in different ways during winter season. *Fisheries Science*, **61**, 472-477 (1995).
- 9) 廣瀬慶二, 新井 茂: LH-RHコレステロールペレットによるアユの成熟促進. 養殖研報, **13**, 11-16 (1988).
- 10) 松山倫也, 香川浩彦, 竹内宏行, 柏木正章, 岩井寿夫, 広瀬慶二: 冬季におけるLHRH-aコレステロールペレットのマダイに対する成熟・産卵促進効果. 水産増殖, **40**, 159-165 (1992).
- 11) K. Hirose, Y. Machida, and E. M. Donaldson: Induced ovulation of Japanese flounder (*Limanda yokohamae*) with human chorionic gonadotropin, with special reference to changes in quality of eggs related in the ovarian cavity after ovulation. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **45**, 31-36 (1979).

- 12) B.Norberg, V. Valkner, J. Huse, I. Karlsen, and G. L. Grung: Ovulatory rhythm and egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, **97**, 365-371 (1991) .
- 13) Y.Koya, T. Matsubara, and T. Nakagawa: Efficient artificial fertilization method based on the ovulation cycle in barfin flounder *Verasper moseri*. *Fisheries Science*, **60**, 537-540 (1994) .
- 14) O.Linhart, S. Kudo, R. Billard, V. Slechta, E. V. Mikodina: Morphology, composition and fertilization of carp eggs: a review. *Aquaculture*, **129**, 75-93 (1995) .
- 15) 野村 稔, 酒井 清, 隆島史夫: ニジマス卵の過熟現象について-I “過熟卵”の形態ならびに出現時期. 日水誌, **40**, 977-984 (1974) .
- 16) 野村 稔, 酒井 清, 隆島史夫: ニジマス卵の過熟現象について-II 過熟過程における発眼率, ふ化率および異常稚魚出現率の変化. 日水誌, **41**, 855-860 (1974) .
- 17) 鈴木 亮: コイの排卵後における卵巣腔内滞留時間と発生能力. 養殖研報, **1**, 1-6 (1975).
- 18) 中田 久, 松山倫也, 原 洋一, 矢田武義, 松浦修平: トラフグの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **64**, 993-998 (1998) .
- 19) 中田 久, 松山倫也, 原 洋一, 矢田武義, 松浦修平: ホルモン投与により排精されたトラフグ精子の運動能. 九大農芸誌, **53**, (1998) .

