

# 増養殖技術開発事業 (ヒラメの雌性発生)

藤川裕司・山田 正

本事業は、ヒラメ種苗の全雌化を目的として平成元年度より5カ年計画で行っている。本年度は、正常雌と偽雄の次世代の準種苗生産規模の生産および正常雌と偽雄の自然産卵による次世代の性比について試験を行った。

## 材 料 と 方 法

**実験1** 平成5年3月26日に全長520～580mmの雌の養成親魚4尾より採卵を行った。同時に、平成2年に作出した偽雄(G S 12)2尾より採精し、前述の卵と媒精して雌性発生2倍体を作成した(7-G S 12のグループ)。この偽雄(G S 12)は、平成3、4年度の試験で次世代の雌の割合が高いことが認められている。またこのとき、正常雌3尾とのかけ合わせによる正常発生2倍体も作出した(7-Nのグループ)。作出した雌性発生2倍体と正常発生2倍体は、それぞれ、無処理、βエストラジオール(雌性ホルモン)による孵化後40～98日の1日2時間の浸漬処理および水温20℃で孵化後40～98日を恒温飼育する飼育区(100ℓ円形水槽6基)へ分槽した。また、雌性発生2倍体は準種苗生産規模として、3トン円形水槽および1.5トン縦長水槽においても飼育した。これらは、孵化後40～98日は水温20℃の恒温飼育を行った。孵化後98日に、これらのうち平均全長80mmの個体950尾を民間業者への委託試験に供した。その後作出魚は孵化後約200日に開腹して、生殖腺の観察により雌雄の判定を行った。

**実験2** 平成5年4月16日に、平成元年に作出した偽雄(G S T)20尾と、5歳の正常雌5尾との間で、自然産卵により採卵を行った。これらは、孵化後50～93日にかけて、100ℓ円形水槽で水温20℃による恒温飼育を行った(8-G S T-20℃)。平成5年4月23日に同様の親魚より採卵を行った。孵化仔魚は、100ℓ円形水槽3基に分槽した。それぞれ、無処理、βエストラジオールによる孵化後51～86日の1日2時間の浸漬処理および水温20℃による孵化後40～98日の恒温飼育とした(9-G S Tのグループ)。孵化後約190日に開腹して生殖腺の観察により雌雄の判定を行った。

**飼育方法** 飼育は準種苗生産規模の実験を除くと、当初は100ℓ円形透明のポリカーボネイト水槽で行った。すべての作出魚は孵化後約100日に1トン水槽へ移し飼育を継続した。1トン水槽へ移す際、数種の異なる実験群を同一水槽に収容したが、それらの区別は魚体の無眼側に色の違うラテックス(入れ墨)を注射針で注入して行った。飼育水は、100ℓ円形透明ポリカーボネイト水槽での飼育では、孵化後約100日までは、60μmの濾過海水を紫外線照射装置を通して用いた。準種苗生産規模の実験の飼育水は、紫外線照射装置を通さなかった。孵化後3日までは止水としたが、孵化後5～10日は0.5～1回転/日、その後は1～3回転/日とし、さらに日齢30日以降は回転率を上げた。餌料系列はワムシーアルテミア配合餌料とした。ワムシはナンノクロロプシスのみで生産したものをを用いた。アルテミアは乳化オイル(1cc/100ℓ)で24時間2次培養したものをを用いた。また、有眼側色素異常(白化)個体の出現を抑えるために、ワムシ

はビタミンA、D<sub>3</sub>、Eで強化したものを与えた。ビタミン強化の方法は、ワムシの飼育水にビタミンA、D<sub>3</sub>、Eの可溶化液(商品名、デュファゾール)を投餌の2時間前に投与した。投与量はビタミンAは50000 IU/リットル、D<sub>3</sub>は25000 IU/リットル、Eは20 IU/リットルとなるようにした。ビタミン強化の期間は、孵化後11~30日とした。

## 結果と考察

**実験1** 正常雌と正常雄および偽雄との次世代の性比を表1に示した。また、そのときの飼育水温を図1~3に示した。作出魚の雌の割合は、水温20℃の恒温飼育では54%であった。E<sub>2</sub>処理、無処理は給水停止の事故により大部分がへい死した。

偽雄との次世代を、100ℓ円形水槽で水温20℃の恒温飼育したものでは雌の割合は91%と高率であった。一方、3トン円形水槽、1.5トン縦長水槽で飼育したものは、雌の割合はそれぞれ50%、41%であった。また、業者に飼育を委託したものでは雌の割合は56%であった。なお、業者に委託したものは、孵化後384日

表1 正常雌と偽雄の次世代の性比(実験1、平成5年3月26日採卵)

作出法	実験NO.	処理	雌:雄		測定時平均		備考	
					雌:雄(%)	全長(mm)		
正常発生	7-N	無処理	0	1	0	100	202	一部へい死
正常発生	7-N-E <sub>2</sub>	E <sub>2</sub>	4	0	100	0	194	一部へい死
正常発生	7-N-20℃	20℃	21	18	54	46	211	一部へい死
正常雌×偽雄	7-GS12	無処理						へい死
正常雌×偽雄	7-GS12-E <sub>2</sub>	E <sub>2</sub>	2	0	100	0	159	
正常雌×偽雄	7-GS12-20℃	20℃(100リットル)* <sup>1</sup>	21	2	91	9	193	
正常雌×偽雄	7-GS12-20℃	20℃(3トン)* <sup>2</sup>	17	17	50	50	194	
正常雌×偽雄	7-GS12-20℃	20℃(1.5トン)* <sup>3</sup>	11	16	41	59	183	
正常雌×偽雄	7-GS12-20℃	20℃(業者委託)* <sup>4</sup>	28	22	56	44	189	

E<sub>2</sub>: 孵化後40~98日のβエストラジオールによる1日2時間の浸漬処理。

20℃: 孵化後40~98日の水温20℃の恒温飼育。

\*1: 水試100リットル円形水槽で飼育; \*2: 水試3トン円形水槽で飼育; \*3: 水試1.5トン縦長水槽で飼育; \*4: 業者委託飼育。

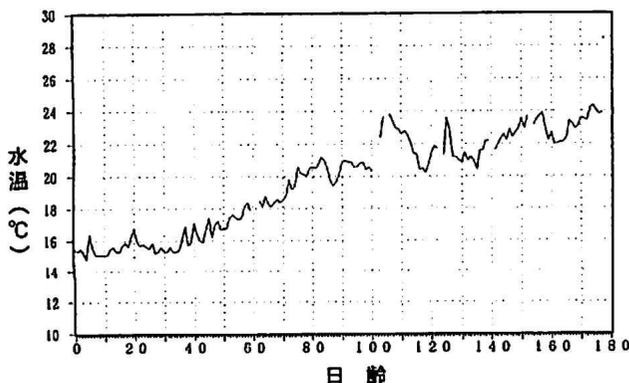


図1 飼育水温の経日変化(100ℓ円形水槽で常温飼育、無処理とE<sub>2</sub>処理)

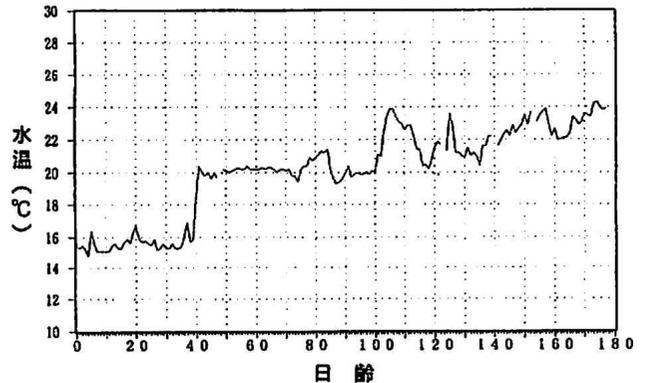


図2 飼育水温の経日変化(100ℓ円形水槽で水温20℃の恒温飼育)

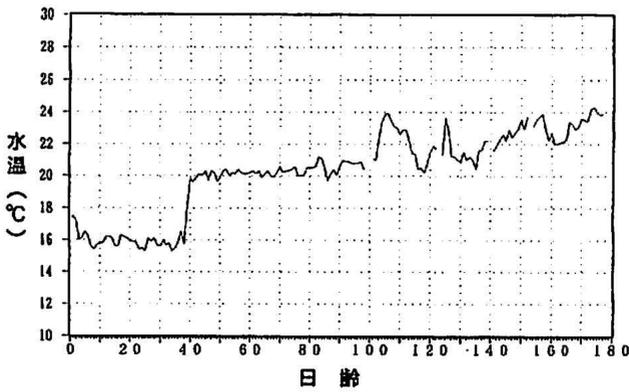


図3 飼育水温の経日変化（3トン円形水槽で水温20°Cの恒温飼育）

魚に与えることになった。山本ら<sup>1)</sup>は、水温20°Cの恒温飼育によって遺伝的雌の雄への転換を安定して阻止できる。また、その時期は全長50mm以下（平均全長28~39mm）の期間としている。今回、ヒラメ幼魚に大きなストレスを与えた孵化後48~64日はこの期間に一致する。また、平成4年度に行った実験結果でも、ストレスの影響が遺伝的雌の個体の正常な性分化を阻止する可能性が示唆された。<sup>2)</sup>

これらのことより、3トン円形水槽や、1.5トン縦長水槽で飼育した個体の雌の割合が低かったのは、遺伝的に雌の個体の雌への性分化が、ストレスの影響により正常に行われなかったためではないかと推察される。

今後もストレスが性分化に与える影響については取り組む必要がある。

実験2 平成5年4月7日から4月28日にかけての、正常雌と偽雄の自然産卵による産卵量の経日変化を図4に示した。これらの親魚は2月上旬より、17:00~24:00にかけての電照飼育を継続している。正常雌と偽雄の自然産卵による次世代の性比を表2に示した。また、そのときの飼育水温を図5~7に示した。作出魚の雌の割合は、無処理では85%、E<sub>2</sub>処理では100%であった。E<sub>2</sub>処理では、100%が雌であったことより、これら作出群が遺伝的に雌であることが確かめられた。水温20°Cの恒温飼育は2群を行ったが、それぞれ94%、100%と高率であった。この結果より、正常雌と偽雄の自然産卵により採卵した卵より生産した種苗も、必要な期間に水温20°Cの恒温飼育をしてやれば高率で雌の種苗が生産できることが認められた。この結果は、偽雄を用いることにより一般的な種苗生産においても、高率で雌の種苗が得られる可能性を示唆している。

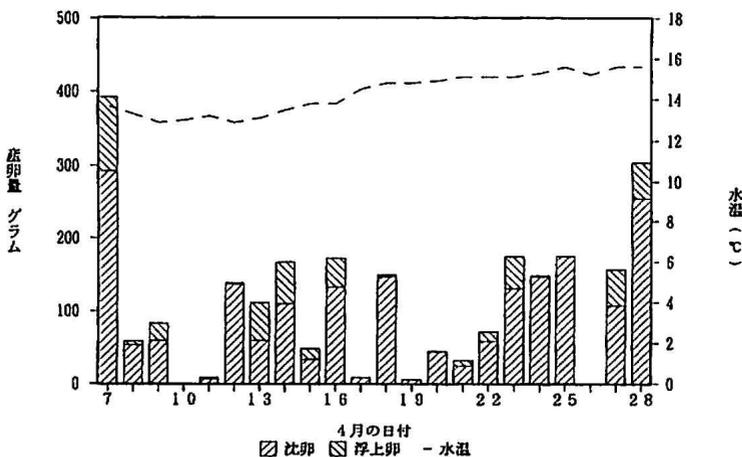


図4 平成5年4月7日~28日の正常雌と偽雄の産卵量と飼育水温の経日変化

表2 正常雌と偽雄の自然産卵による次世代の性比（実験2、平成5年4月16日、23日産卵）

作出法	実験NO.	処理	雌：雄		測定時平均		全長(mm)
					雌：雄(%)		
正常雌×偽雄	9-GST	無処理	11	2	85	15	184
正常雌×偽雄	9-GST-E <sub>2</sub>	E <sub>2</sub>	40	0	100	0	190
正常雌×偽雄	8-GST-20℃	20℃	32	2	94	6	188
正常雌×偽雄	9-GST-20℃	20℃	42	0	100	0	195

8-GST-20℃：平成5年4月16日採卵；9-GST：平成5年4月23日採卵。

E<sub>2</sub>：孵化後51～86日のβエストラジオールによる1日2時間の浸漬処理。

20℃：20℃の恒温飼育（8-GSTは孵化後50～93日、9-GSTは43～86日）

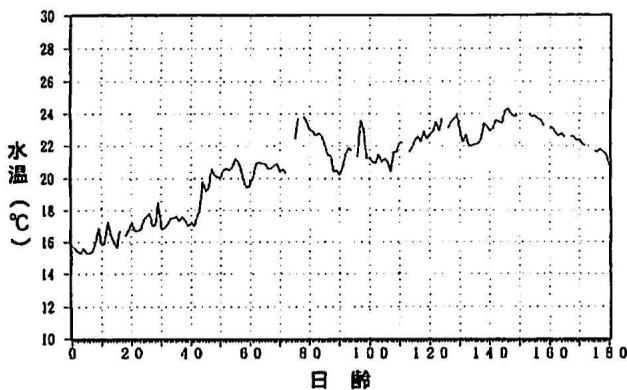


図5 飼育水温の経日変化（平成5年4月23日採卵、常温飼育）

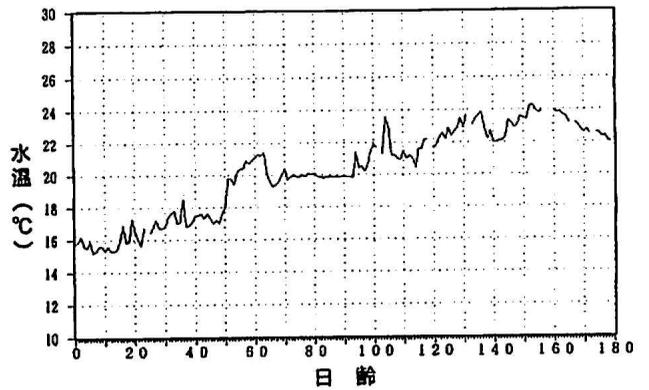


図6 飼育水温の経日変化（平成5年4月16日採卵、水温20℃の恒温飼育）

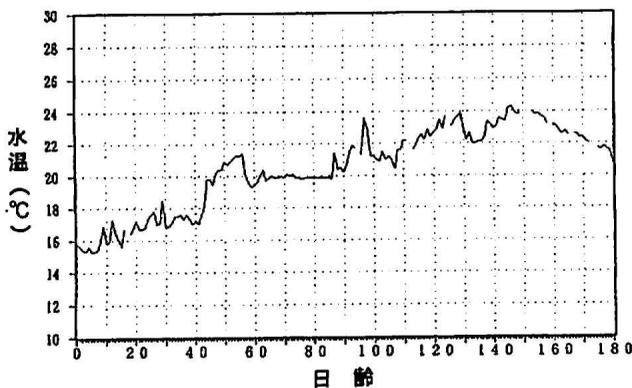


図7 飼育水温の経日変化（平成5年4月23日採卵、水温20℃の恒温飼育）

### 引用文献

- 1) 鳥取県水産試験場：ヒラメの染色体操作技術を応用した優良種苗生産に関する研究。平成2年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書。
- 2) 島根県水産試験場：増養殖技術開発事業（ヒラメの雌性発生）。平成4年度島根県水産試験場事業報告。