

## 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体ヒラメに関する試験 性分化期における水温の性比への影響

高山 敬介

Experiment of the Gynogenetic Diploids  
Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*  
Induced by Retention of the Second Polar Body  
Effect of Water Temperature on the Sex Ratio  
during the Sex Differentiation

Keisuke TAKAYAMA

### はじめに

ヒラメは雄に比べ、雌の方が成長のよいことが知られている。<sup>1,2)</sup>従って、養殖をするうえで、雌だけを種苗とした方が経営上有利なため、雌性発生による種苗の全雌化技術の開発が行われている。

しかし、第2極体放出阻止による雌性発生2倍体ヒラメにも、雄が出現することが知られており、これまでの研究から、性分化期とされる時期<sup>3,4)</sup>に高水温で飼育することが、雄化の主な要因と考えられている。<sup>5,6)</sup>

そこで今回の試験では、性分化期にヒラメの成長に適すと考えられる水温帯<sup>7)</sup>で、異なる水温の3区を設けて飼育し、各水温が性比に及ぼす影響について検討し、若干の知見を得たので報告する。

### 材料と方法

#### 1. 供試魚

供試魚には、当試験場で生産、養成した通常発生の雌ヒラメ(3才、全長45.5cm、体重1.15kg)と雄マダイ(尾叉長51.2cm、体重1.8kg)から搾出法で得た卵および精子を用いて、1994年5月26日に雌性発生させたものを用いた。

雌性発生の方法は、以下の方法で行った。マダイから得た精液10mlは、淡水産硬骨魚用生理食塩水(NaCl 0.75, KCl 0.02, CaCl<sub>2</sub> 0.02, NaHCO<sub>3</sub> 0.002重量%)で20倍に希釈した。精子の遺伝子の不活化は、希釈精液をφ90mmのシャーレに20mlづつ分注し、0.583mW/

cm<sup>2</sup>の紫外線を60秒間照射して行った。これを湿重69.35gの卵(2,110個/g、卵径1.00±0.08mm)に媒精した。第2極体放出阻止は、媒精100秒後に0.3~0.6℃に調温したろ過海中に移し、45分間の低温処理により行った。低温処理後の卵は、微注水、微通気したポリカーボネート製の500ℓ円形水槽に收容し、翌日別の500ℓ円形水槽に浮上卵を8,700個移しふ化させ、ふ化後40日まで継続飼育した。

#### 2. 試験設定と飼育方法

ふ化後40日に、ポリカーボネート製の200ℓ円形水槽4基に各220尾收容し、ふ化後90日までそれぞれ異なる水温設定条件下で飼育した。

設定条件は、水温18℃、20℃、22℃の3区および水温コントロールを行わない対照区の計4区とした。

水温のコントロールには、ヒートポンプと海水用クーラーを用いた。90日目以降ろ過海水の水温(26.4℃)まで上昇させ、その後も112日まで同水槽で継続して飼育した。

飼育水は、各区ともろ過海水を毎分4ℓ注水し、換水率では28.8回転/日となった。

水温測定は、連続水温測定装置を用い、1時間ごとに記録した。

ふ化後112日から性判定までの飼育水槽は、飼育密度によるストレスを防ぐため、200日まで500ℓ水槽4基、240日まで1t水槽4基、それ以降は5t水槽2基、3t水槽、4t水槽各1基を使用した。なお、ふ化後240日までは屋内、それ以後は屋外で飼育した。

餌料は、シオミズツボワムシをふ化後4日から24日

まで3~30個体/ml・日、アルテミア幼生をふ化後14日から57日まで0.2~8個体/ml・日、魚肉ミンチ、モイスト用配合飼料およびビタミン等を含んだ増粘剤を混合したモイストペレットをふ化後40日から性判定まで与えた。

性の判定は、ふ化後291~307日目に各区100尾を開腹し、生殖腺を肉眼で観察し雌雄を判定した。

また、試験設定開始時のふ化後40日に50個体、性判定時に各区100個体について、全長、体重を測定した。

## 結 果

### 1. 水温

飼育期間中の水温は、図1のとおりであった。また、試験期間の平均水温は表1に示したように、18℃区は $18.2 \pm 0.3$ ℃、20℃区は $19.9 \pm 0.6$ ℃、22℃区は $22.0 \pm 0.1$ ℃、対照区は $25.2 \pm 1.3$ ℃であり、水温はほぼ設定どおりであった。しかし、20℃区では試験開始から5~6日目にヒートポンプの不調から、約8時間ろ過海水の水温( $24.8 \sim 24.9$ ℃)まで上昇した。

### 2. 性比、全長・体重および生残率

性比、全長・体重および生残率を表1に示した。

性比は、全区とも雄が100% (各n=100)で、1尾の雌も確認されなかった。

全長、体重は、試験設定時のふ化後40日で、全区平均 $8.9 \pm 1.9$ mm,  $7.5 \pm 4.3$ g (n=50)、性判定時で、18℃区が $277.6 \pm 27.4$ mm,  $241.9 \pm 62.9$ g, 20℃区が $281.1 \pm 26.6$ mm,  $245.0 \pm 62.3$ g, 22℃区が $286.5 \pm 25.5$ mm,  $257.9 \pm 68.5$ g, 対照区が $282.6 \pm 24.9$ mm,  $246.2 \pm 65.3$ g (各n=100)であった。

性判定時までの生残率は、18℃区92%、20℃区81%、22℃区72%、対照区79%であり、死亡原因のほとんどはふ化後55日から性判定まで20回以上も発生したエドワジエラ症によるものであった。

## 考 察

今回設定した3試験区の水温は、これまで雌への性分化が正常に行われると報告されている水温帯にあった。<sup>5,6)</sup>しかし、対照区を含めた全区で雄が100%であったことは、水温以外の雌化を阻害する要因が大きく影響したと考えられる。

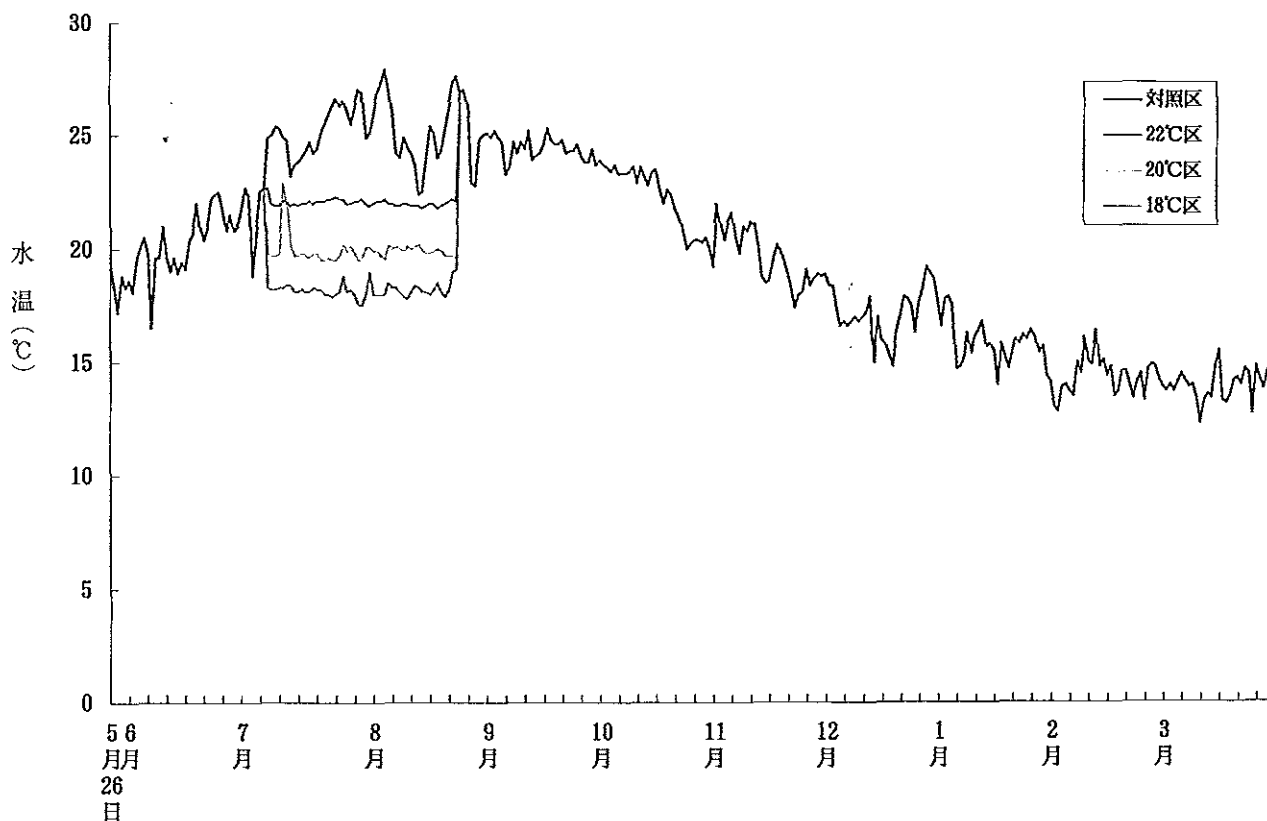


図1 飼育期間中の水温変動

表1 飼育結果

試験区名	18℃区	20℃区	22℃区	対照区
飼育水温 (℃)	18.2±0.3	19.9±0.6	22.0±0.1	25.2±1.3
雌の割合 (%)	0	0	0	0
ふ化後40日 全長 (mm) 体重 (g)	8.9±1.9 7.5±4.3			
性判定時 全長 (mm) 体重 (g)	277.6±27.4 241.9±62.9	281.1±26.6 245.0±62.3	286.5±25.5 257.9±68.5	282.6±24.9 246.2±65.3
生残率 (%)	91.8	80.9	72.3	78.6

今回の試験結果に影響したと考えられる要因としては、まず稚魚期の餌料が考えられる。これまでも通常発生ヒラメを用いた試験で、配合飼料をふ化後36日から給餌したものと、配合飼料無給餌のものとは、無給餌のもの雌の出現率が有意に低くなったと報告されている。<sup>8)</sup>また、通常発生および雌性発生ヒラメにおいて、特定の配合飼料をふ化後22~103日の稚魚期に与えると雌の率が100%になったという報告もある。<sup>9)</sup>これらのことから、今回の試験でも餌料によって、雄が100%という結果になった可能性もある。

また、ふ化後86~137日に雌性ホルモンを経口投与することによって雌化する報告<sup>8)</sup>があることから、ふ化後40~90日の設定では短すぎた可能性や、試験終了後の水温上昇が急激すぎたことが、雌化を阻害した可能性も考えられる。

さらに低成長個体にとって水槽底に定位できないことが、ストレスとなって、雌化が阻害されたという報告<sup>9)</sup>があり、今回の試験でも、ふ化後80日頃から240日まで、個体数に対して水槽が狭く、低成長個体に限らず定位できないものがいた。また、20回以上も発生したエドワジエラ症治療のために行った絶食、薬浴もストレスとなって、雌化を阻害した可能性もある。

今後、雌性発生によって全雌種苗生産を確実にを行うためには、上記の要因についてさらに検討を重ねる必要があると思われる。

### 要 約

1) 第2極体放出阻止型雌性発生2倍体ヒラメ稚魚に対して、性分化期と考えられるふ化後40~90日まで、成長に適した水温18, 20, 22℃の3区を設定し、性比に及ぼす影響を調べた。

2) その結果、試験3区、対照区とも雄の出現率が100%で、1尾の雌も確認されなかった。  
3) 以上の結果から、水温以外の雌化を阻害する要因が大きく影響したと考えられた。

### 文 献

- 1) 原田輝雄・村田 修・宮下 盛・小田誠二・清水清和 (1983): 養殖ヒラメの雌雄による成長度の相違について. 昭和58年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 125.
- 2) 中本幸一・小野山 弘 (1985): 飼育ヒラメにおける雌雄の成長差について. 兵庫水試研報, 23, 57-61.
- 3) K. Tabata (1991): Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 845-850.
- 4) 田中秀樹 (1987): ヒラメの生殖腺の性分化過程. 養殖研報, 11, 7-19.
- 5) 田畑和男 (1991): ヒラメの染色体操作に関する研究. 兵庫水試研報, 28, 1-134.
- 6) 山本栄一 (1992): ヒラメの雌性発生および倍数化を利用した育種. 水産育種, 18, 13-23.
- 7) (社)日本水産資源保護協会 (1981): 水産生物生態資料, 190-195.
- 8) 大野和憲 (1989): 性ホルモン処理によるヒラメの性分化誘導および餌料の違いによる性比の変動. 千葉水試研報, 47, 45-48.
- 9) 兵庫水試 (1994): バイテク利用によるヒラメ養殖システムの開発研究. 平成5年度バイテク利用魚類養殖システム開発事業報告書.