

## 暗視野ビデオ観察および産出卵の発生段階観察によるヒラメの産卵時刻の推定

水田 章・田畠和男・

(1996年3月21日受付)

### Inference of Spawning Time of Hirame *Paralichthys olivaceus* Due to Night Viewer and Cleavage Stage Observation

Akira MIZUTA \* and Kazuo TABATA \*

In order to clearly assess the spawning time of hirame, *Paralichthys olivaceus*, the spawning behavior of fish was observed using a night viewer in a 10 kL tank at the Hyogo Prefectural Fisheries Experimental Station, Akashi. Further, the spawning time was inferred from the cleavage stage of the eggs. Spawning behavior was frequently observed between 4:00 and 6:00, but became active between 23:00 to 24:00 and 13:00 to 15:00. Further, in observations of the cleavage of egg, it seemed that hirame spawned all day. From these results, the spawning time of hirame was found not to specifically occur at any one time but the majority of the spawning behavior occurred in the early morning.

魚類の卵質は排卵後の経過時間とともに変化し、<sup>1)</sup>またヒラメでも排卵後2日経過した卵の受精率は0%になることが報告されている。<sup>2)</sup>ヒラメ雌性発生2倍体、特に第1卵割阻止型雌性発生2倍体を作出する場合には排卵後間もない良質の卵を使用することが重要である。魚類では排卵時に卵巣腔内に放出されるフェロモンが雄の産卵行動を、輸卵管に放出されるプロスタグランдинが雌の産卵行動を誘導することが知られている。<sup>3)</sup>このことから、排卵が認められるときに産卵行動が起こっていると考えられ、その時間帯に採卵することで、より良質の卵が得られると考えられる。そこで、本研究では暗視野ビデオカメラを用いて昼夜のヒラメの産卵行動を直接観察するとともに、産出卵を採取してその発生段階から逆算することにより、排卵および産卵時刻の推定をおこなった。

### 材料と方法

供試魚 供試魚は6月が産卵期となる北海道産の天然ヒ

ラメを用いた。供試魚は1991年に当場に導入し、その後、飼料にイカナゴを用いて養成してきたものである。本試験時には屋外の屋根付き10kL水槽に雄5尾、雌19尾の割合で放養されていた。

**産卵行動観察** 1994年6月1日19:00から6月2日17:00まで22時間連続して暗視野ビデオカメラ（ナイトビュアC3100、HAMAMATSU）で水槽底面の約1/4が写るように約1.5mの高さから撮影した（Fig. 1）。観察は再生画によりおこない、雄が雌を顕著に追尾する行動をA型、雄が雌に重なるが追尾はしない行動をB型として、撮影範囲内で観察された時間あたりの行動回数を計数した（Fig. 2）。なお、雌雄の区別は魚体の大きさから推定した。

**産出卵の回収** 1994年6月15日から24日まで、供試魚の飼育水槽の排水の一部を常時集卵器に回収した。この期間中の平均水温は21.1°Cであった。産出卵は9:30～10:00、11:55～13:10、および16:00～17:00にすべ

収し、発生段階を観察した。産卵時刻の推定は、16~20°Cでヒラメの卵発生を観察した石田・田中<sup>3)</sup>の報告を参考にして、受精卵の発生に要する時間2~32細胞期ま

でを3時間、Morula期までを7時間、Gastrula期までを24時間、Embryo期までを48時間とし、産卵時刻を逆算した。

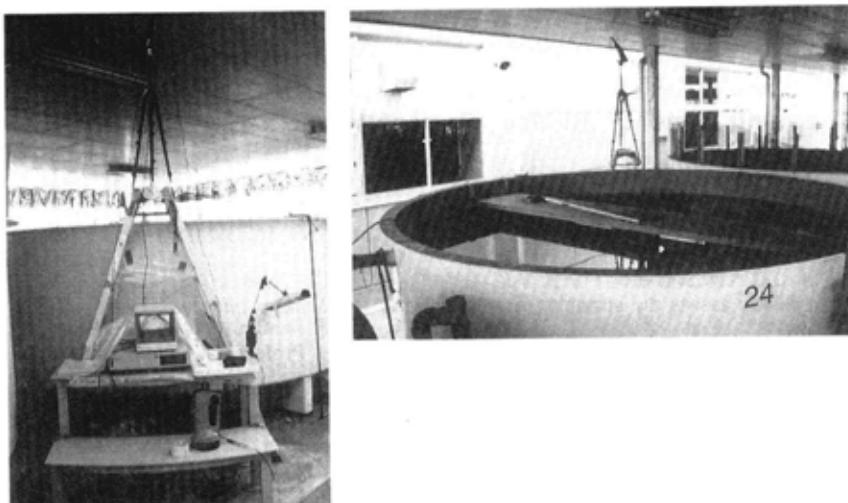


Fig. 1. Setting of night viewer on this study.

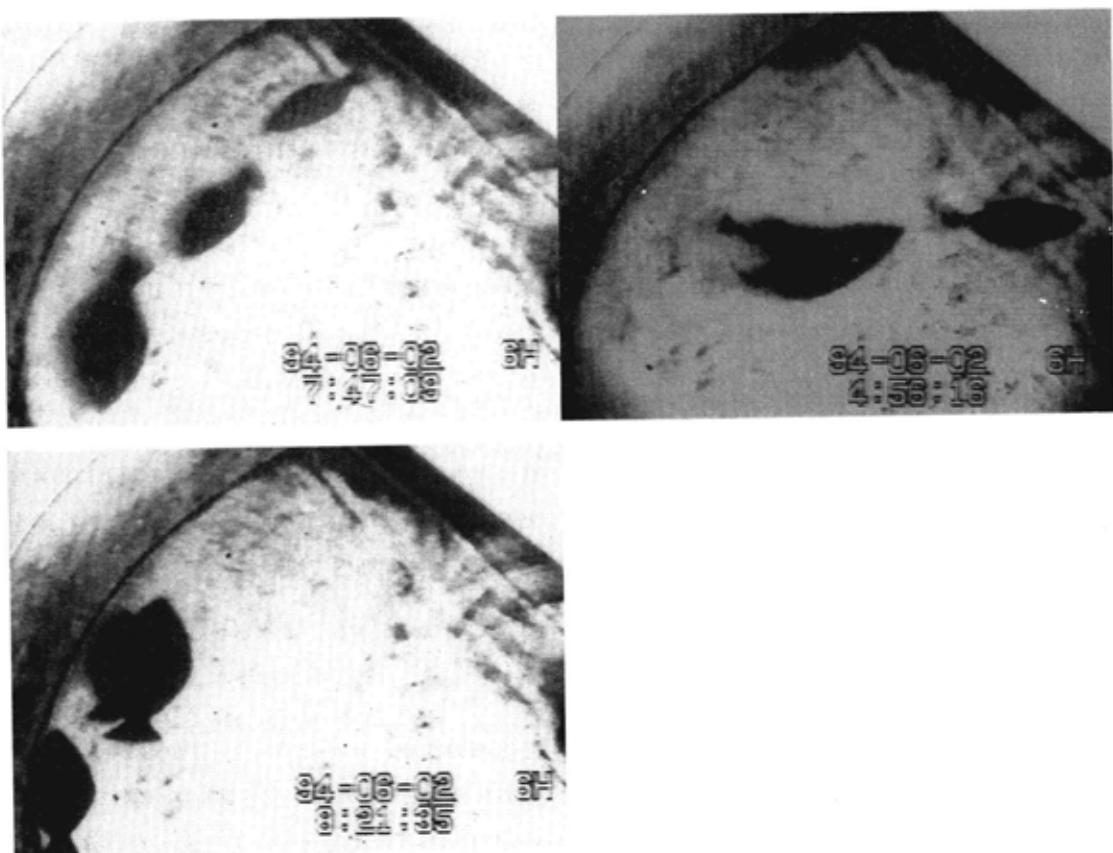


Fig. 2. Two types of fish behavior on night viewer observation.  
Type A ; chasing behavior (show above), type B ; wrapping behavior(show below)

## 結果

暗視野ビデオ観察からA型の追尾行動は4:00～6:00までの間で最も活発化した(Fig. 3)。また、23:00～24:00まで、および13:00～14:00までの間でも活発な追尾行動が観察された。いっぽう、B型の重なり行動は19:00～24:00まで、1:00～2:00まで、7:00～10:00まで、および13:00～15:00までに認められたが、A型のように顕著に活発化することはなかった(Fig. 4)。産出卵の発生段階を観察した結果、0～32細胞期の卵は6月16, 20、および23日では9:30～10:00に、6月22および23日では11:55～13:10に、6月18と24日では16:00～17:00に認められた(Table 1)。Morula期の卵は6月16と18日では9:30～10:00に、6月16, 19, 20, 21, 22、および23日では16:00～17:00に認められた。Gastrula期の卵は6月19と23日では9:30～10:00に、6月18, 20, 22, 23、および24日では16:00～17:00に認められた。さらにEmbryo期の卵は6月16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23、および24日では9:30～10:00に、6月20日では16:00～17:00に認められた。この結果から逆算して産卵時刻を推定すると、早朝(5:00～8:00)に産卵したと推定されるのが6月16と23日、朝(8:00～12:00)に産卵したと推定されるのが6月14, 15, 16, 17, 18, 20, 22、および23日、昼(12:00～16:00)に産卵したと推定されるのが6月18, 23、および24日、夕方(16:00～20:00)に産卵したと推定されるのが6月17, 18, 19, 21, 22, 23、および24日、夜(20:00～0:00)に産卵したと推定されるのが6月19日、深夜(0:00～5:00)に産卵したと推定されるのが6月15と17日であった。

## 考察

排卵は、受精能を獲得した卵母細胞が卵巣薄板から卵巣腔または体腔中に離脱する現象である。排卵後の卵質について酒井は<sup>13</sup>、卵が産出されずにいると過熟化が進

み、卵質の低下が起こることをニジマス、アユ、ソウギョ、およびハクレンで示している。いっぽう、Stacey<sup>4)</sup>およびHonda<sup>5-7)</sup>は、雌の排卵時に卵巣腔内に分泌されるフェロモンが雄の嗅索に働き、追尾などの産卵行動を誘導することをキンギョ、アユ、ニジマス、およびドジョウで示し、また排卵時に雌の輸卵管に分泌されるプロスタグランдинが脳の中枢に働き、雌の産卵行動を誘導するとしている。これらのことから、産卵行動が確認される少し前に排卵が起こっていると考えられる。

暗視野ビデオ観察の結果、A型の追尾行動は産卵行動と考えられ、4:00～6:00までの間に最も活発化していた。これはヒラメの産卵行動が0:00～6:00におこなわれているとする報告<sup>8)</sup>を支持するものとなった。また、雄が雌に重なるB型の行動は、A型の行動が活発化する前に増加することから、A型の行動の前兆であると考えられる。しかし、A型の行動の活発化は13:00と23:00にも観察されていることから、ヒラメの産卵および排卵は0:00～6:00に限定されず、昼や夜にも起こっていることが推定された。ビデオ観察からの産卵時刻の推定をより明確にするために、産出卵の発生段階観察をおこなった。卵割の速度は水温に強く影響されるため、発生段階観察からはおおよその時間帯を推定するにとどめた。その結果、ヒラメの産卵は早朝から深夜の広い時間帯におこなわれていることが推定され、ビデオ観察からの推察と同様であった。

以上のことから、ヒラメの排卵および産卵は主に早朝から朝にかけて、また一部は日中や夜間にもおこなわれていると推定された。このことから、ヒラメの人工受精、特に良質の卵が要求される第一卵割阻止型雌性発生2倍体を誘起する加圧処理をおこなうときには、少なくとも午前中に採卵をおこなう必要があると考えられる。また、産出されない卵が卵巣腔にたまらないよう雄の追尾、産卵行動を常に活発化させるなどの適正な産卵環境を整える必要があると考えられる。

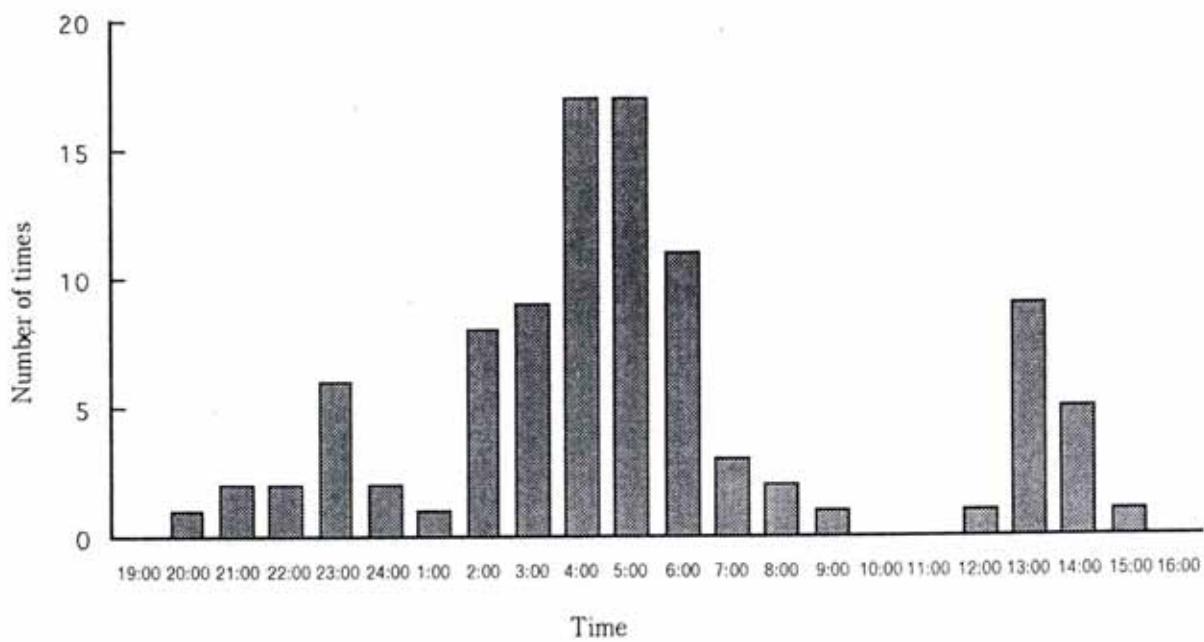


Fig. 3. Frequency of chasing behavior (type A) of male hirame on nightviewer observation.

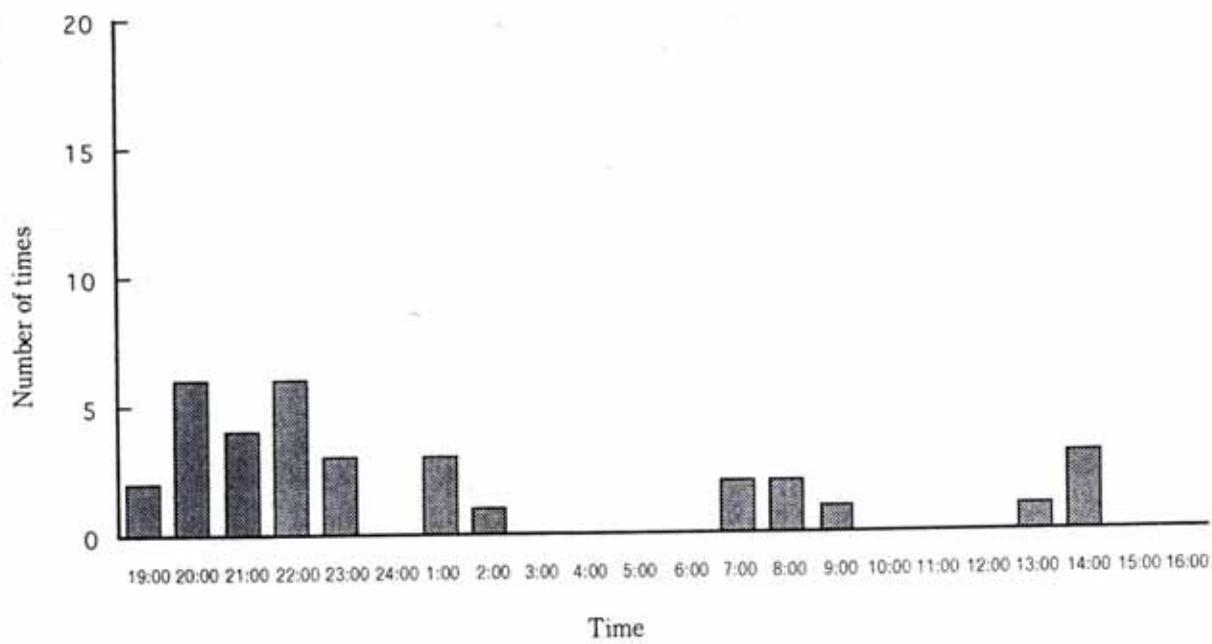


Fig. 4. Frequency of wrapping behavior (type B) of male hirame on nightviewer observation.

Table 1. Inference of spawning time due to observation of cleavage stage

Date	Time	Buoyant egg		Cleavage stage of buoyant egg (%)						Inference of spawning time *		
		Rate (%)	Amount (g)	0	2	4	8	16	32	Morula	Gastrula	Embryo
July 16	10:00	87.7	18.7	1.5	4.6			1.5			92.3	July 14 Morning
	16:30	97.6	8.8					100				July 16 Morning
July 17	9:30	96.4	0.6								100	July 15 Morning
July 18	9:30	64.4	3.3									
	17:00	87.1	6.0	22.2	40.7						48.1	July 16 Morning
July 19	10:00	61.4	6.0								37	July 17 Midnight
	16:30	90.2	13.9					100				July 17 Noon
July 20	9:20	83.8	8.6					32.9			61.1	July 17 Morning
	16:00	99.4	3.8					68.1				July 18 Morning
July 21	9:20	86.7	0.6							100	67.1	July 18 Night
	17:00	80.6	2.6								2.1	July 18 Evening
July 22	9:20	28.6	0.4									July 19 Morning
	11:55	96.6	3.7									July 19 Night
	16:45	85.3	5.0									July 19 Evening
												July 20 Morning
												July 20 Evening
July 23	9:10	17.4	0.4	33.3	33.3						100	July 21 Morning
	13:10	100	1.2	-100								July 21 Noon
	16:50	92	3.4									July 21 Evening
July 24	9:20	26.7	0.3								2.5	July 22 Morning
	16:20	95.2	5.1	15				82.5				July 22 Noon
												July 22 Evening

\* Early Morning : 5:00 to 8:00, Morning : 8:00 to 12:00, Noon : 12:00 to 16:00, Evening : 16:00 to 20:00, Night : 20:00 to 0:00, Midnight : 0:00 to 5:00

## 要約

ヒラメの産卵時刻を推定するために、暗視野ビデオカメラを用いて昼夜のヒラメの産卵行動を直接観察するとともに、産出卵の発生段階から逆算して排卵および産卵時刻の推定をおこなった。雄が雌を顕著に追尾する産卵行動は、4:00～6:00までの間で最も活発であった。しかし、23:00～24:00までおよび13:00～14:00までの間でも活発な追尾行動がみられた。また、産出卵の発生段階観察から、ヒラメの産卵は早朝から朝にもっとも頻繁におこなわれているが、昼、夕方および夜の広い時間帯でも産卵していると推定された。

## 文献

- 1) 酒井 清：魚類の成熟と産卵 水産学シリーズ6，  
(日比谷京・野村 稔・村上 豊・平野礼次郎編)  
恒星社厚生閣、東京、1982, pp. 100-112.
- 2) 田畠和男・五利江重昭・中村一彦 (1986) : ヒラメ  
の雌性発生のための人工受精技術の検討, 兵庫水試  
研報, (24), 19-27 (1986).
- 3) 石田 修・田中邦三 (1976) : ヒラメの資源生態  
調査-1, 卵発生と仔魚, 千葉水試研報, (35), 23-30  
(1976).
- 4) N. E. Stacey (1981): Role of prostaglandins in fish  
reproduction. *Jour. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 92-98 (1981).
- 5) Honda, H. : Female sex pheromone of rainbow trout,  
*Salmo gairdneri*, involved in courtship behavior. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46** (9), 1109-1112 (1980).
- 6) Honda, H. : Female sex pheromone of the Ayu,  
*Plecoglossus altivelis*, involved in courtship behavior.  
*Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45** (11), 1375-1380 (1979).
- 7) Honda, H. : Female sex pheromone of the Loach,  
*Misgurnus anguillicaudatus*, involved in courtship  
behavior. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46** (10),  
1223-1225(1979).
- 8) 平本義春・小林啓二 (1979) : ヒラメの種苗生産に  
関する研究-1, 室内水槽における自然産卵につい  
て, 水産増殖, **26** (4), 152-158 (1979).