

北 水 試 研 報
Sci. Rep.
Hokkaido Fish.Exp.Stn.

CODEN:HSSHEE
ISSN : 0914-6830

北海道立水産試験場研究報告

第 48 号

SCIENTIFIC REPORTS
OF
HOKKAIDO FISHERIES EXPERIMENTAL STATION
No. 48

北海道立中央水産試験場

北海道余市町

1996年3月

Hokkaido Central Fisheries
Experimental Station

Yoichi, Hokkaido, Japan

March, 1996

北海道立水産試験場は、次の機関をもって構成されており、北海道立水産試験場研究報告は、これらの機関における研究業績を登載したものである。

北海道立水産試験場

北海道立中央水産試験場 (Hokkaido Central Fisheries Experimental Station)	046 余市郡余市町浜中町238 (Yoichi, Hokkaido 046, Japan)
北海道立函館水産試験場 (Hokkaido Hakodate Fisheries Experimental Station)	042 函館市湯川町1-2-66 (Yunokawa, Hakodate, Hokkaido 042, Japan)
北海道立函館水産試験場室蘭支場 (Muroran Branch, Hokkaido Hakodate Fisheries Experimental Station)	051 室蘭市舟見町1-133-31 (Funami-cho, Muroran, Hokkaido 051, Japan)
北海道立釧路水産試験場 (Hokkaido Kushiro Fisheries Experimental Station)	085 釧路市浜町2-6 (Hama-cho, Kushiro, Hokkaido 085, Japan)
北海道立網走水産試験場 (Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station)	099-31 網走市鱒浦31 (Masuura, Abashiri, Hokkaido 099-31, Japan)
北海道立網走水産試験場紋別支場 (Monbetsu Branch, Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station)	094 紋別市港町7 (Minato-machi, Monbetsu, Hokkaido 094, Japan)
北海道立稚内水産試験場 (Hokkaido Wakkanai Fisheries Experimental Station)	097 稚内市宝来4-5-4 (Horai, Wakkanai, Hokkaido 097, Japan)
北海道立栽培漁業総合センター (Hokkaido Institute of Mariculture)	041-14 茅部郡鹿部町字本別539-112 (Shikabe, Hokkaido 041-14, Japan)

北海道立水産試験場研究報告

第 48 号

目 次

横山 信一, 田中 正幸

クロガシラガレイのふ化に及ぼす水温と塩分の影響..... 1 - 7

齊藤 節雄

ヒラメ・カレイ類精液の凍結保存

第1報 ペレット法とストロー法..... 9 - 17

飯田 訓之, 錦織 孝史, 高橋 玄夫

サケ肉糊の戻りに及ぼすシステインプロテアーゼインヒビター

(E-64) の影響..... 19 - 25

國廣 靖志

オホーツク海で獲れた産卵中のキチジ (短報) 27 - 29

SCIENTIFIC REPORTS
OF
HOKKAIDO FISHERIES EXPERIMENTAL STATION

No.48

CONTENTS

Shin-ichi YOKOYAMA and Masayuki TANAKA

Effect of temperature and salinity on the hatch
of crethead flounder *Pleuronectes schrenki*..... 1 - 7

Setsuo SAITOH

Cryopreservation of flatfish sperm
I. Pellet and straw methods..... 9 - 17

Toshiyuki IIDA, Takafumi NISHIKIORI and Haruo TAKAHASHI

Influence of cystein protease inhibitor (E-64) on *modori* (gel degradation)
in salted surimi paste of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) 19-25

Yasushi KUNIHIRO

A spawning kichiji rockfish, *Sebastolobus macrochir* Günther,
caught in the Sea of Okhotsk (Short Paper) 27-29

(March,1996)

クロガシラガレイのふ化に及ぼす水温と塩分の影響

横山 信一^{*1}, 田中正幸^{*2}

Effect of temperature and salinity on the hatch of cresthead flounder
Pleuronectes schrenki

Shin-ichi YOKOYAMA^{*1} and Masayuki TANAKA^{*2}

In 30 April, 1993 artificial fertilization of cresthead flounder was conducted in Notoro Lake. A total of 161×10^6 eggs were collected from adult fish and 68×10^6 were attached on hatching trays. Then these trays were suspended from ropes of scallops ranching. Once a week for a month a hatching tray was recovered. When the cumulative temperature was 100°CD (May 20), attached eggs of the recovered hatching tray reduced rapidly.

Hatching experiments with temperature of breeding water were made at $-1.0, 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.0, 15.0,$ and 20.0°C (constant salinity 31.5 psu). The hatching rates at $2.5, 5.0,$ and 7.5°C were high. Hatching experiments with salinity were made at $0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0,$ and 40.0 psu (constant temperature 5.0°C). The high hatching rates more than 60% at low salinity (10.0-25.0 psu) were shown. The relationship between the days required hatching (T) and water temperature (θ) is shown by the following equation; $T = 0.2663 \theta^2 - 6.5161 \theta + 47.9716$. The mean temperature in the suspended period of hatching trays was 5.2°C . The calculated birth date coincided with the date of the attached eggs reduced.

キーワード: クロガシラガレイ, ふ化率, 水温, 塩分, 能取湖

クロガシラガレイは北海道の沿岸漁業における重要なカレイ資源であり、資源増大に向け、人工受精卵によるふ化仔魚の放流が全道各地で取り組まれている。クロガシラガレイの卵は付着沈性卵であることから、この放流は人工受精卵をふ化盆に付着させ、それを養殖施設等に垂下した後、ふ化まで放置することによって行われる。粗放的な放流ではあるが、ふ化までの期間には捕食生物の防除等の人為的な管理も可能である。しかし、放流効果については不明な点が多く、人工受精卵のふ化率やふ化仔魚の漁業資源への加入量等解明しなければならない課題が多く残されている。そこで、著者らは1993年に能取湖で行われた人工受精の採卵数を推定するとともに、ふ化盆の垂下期間中の付着卵数の変化を追跡した。また、1993～1994年には人工受精卵のふ化実験により、水温と塩分がふ化率に与える影響を調査した。

材料および方法

1993年の能取湖における人工受精とふ化盆の垂下は、漁業者によって4月30日の10時に卵原内、同13時には能取の2カ所で行われた (Fig. 1)。人工受精および卵の付着は、乾導法によって受精された卵を海水タンクに流し込み、その中に縦34cm、横20cmの木枠に付着基質としてシュロの樹皮を張ったふ化盆を入れることによって行われた。著者らは採卵に使用された雌雄別の親魚の個体数とふ化盆数をそれぞれ計数するとともに、採卵重量を計量した。採卵重量は海水タンクに流し込む前の受精卵の重量とした。また、ふ化盆1枚あたりの付着卵数を計数するために、各地区10枚ずつのふ化盆を持ち帰った。これらを研究室で直ちに、ふ化盆の中心域から3cm幅で十字に切り取り (119cm²)、付着基質とともに10%ホルマリンで固定した。後日、

報文番号 A256 (1996年1月12日受理)

*1 北海道立網走水産試験場 (Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station, Masuura Abashiri, Hokkaido 099-31, Japan)

*2 網走市役所水産課 (Abashiri City Hall, Fisheries Section, Abashiri, Hokkaido 093, Japan)

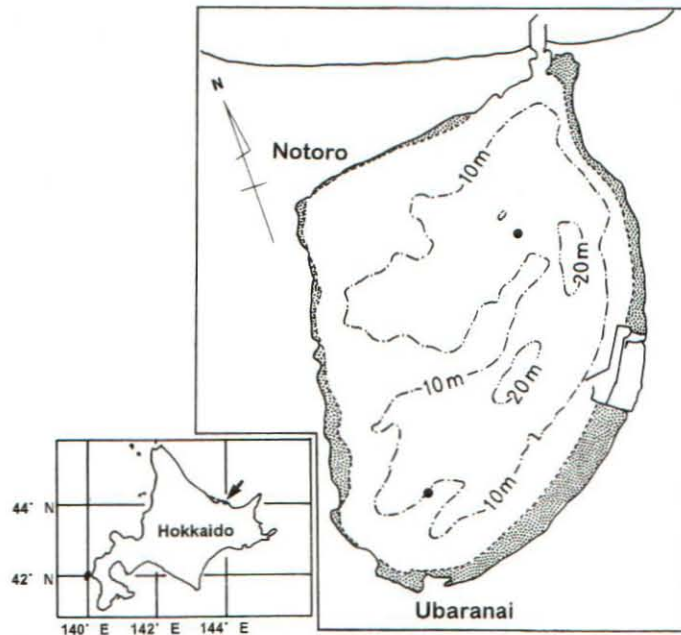


Fig. 1. Map showing suspended sites of hatching trays attached artificial fertilized eggs of cresthead flounders in Notoro Lake.

実体顕微鏡下で、付着卵数を計数した。また、クロガシラガレイの卵巣内卵数を計数するために、卵原内の雌親魚から無作為に7個体を持ち帰った。これらの体長、体重、卵巣重量を測定した後、有眼側と無眼側の卵巣から1gずつ卵を採取し、卵粒を計数した。

ふ化盆の垂下作業では、用意されたふ化盆を20枚1組に結束し、捕食生物の侵入を防ぐため、1組ごとに目合2mmの網で覆った後、ホタテガイ養殖施設の幹縄より水深2m層に垂下した(Fig. 1)。垂下海域の水温と塩分を連続測定するため、卵原内沖にメモリーバック式水温塩分計(アレック電子ACT-8000)を設置し、4月30日から5月26日までの約1カ月間の水温と塩分を1時間間隔で測定した。また、ふ化盆を1週間おきに1枚ずつ回収し、上記と同様の方法で付着卵数を計数した。

室内でのふ化実験の材料を得るために、1993年5月12日と1994年4月28日に能取湖内の刺網で漁獲された親魚の完熟卵を用いて乾導法により人工受精を行った。1993年のふ化実験では受精卵をスライドガラスに重なり合わないよう付着させ、これらを300ccのビーカーに収容した。実験区は6水温区と6塩分区の計12とした。水温区の飼育水は塩分31.5に調整した精密ろ過海水に紫外線を24時間照射して滅菌したものをを用いた。設定水温は-1.0, 5.0, 10.0, 12.0, 15.0, 20.0℃の6

段階とした。なお、-1.0, 5.0, 10.0℃の水温区についてはインキュベーター(サンヨーMIR252)を用い、12.0, 15.0, 20.0℃の水温区についてはヒートポンプ付きクーラー(レイシーRZ90)を設置したアクリル水槽(60×30×37cm)を用いて恒温を保った。

塩分区の実験については、蒸留水と人工海塩(千寿製薬マリンアートSF)で調整した塩分0, 10.0, 20.0, 25.0, 40.0の海水を水温区と同様に滅菌し、水温5.0℃に設定したインキュベーター内で行った。それぞれの実験に用いた飼育水は毎日1/5程度換水した。光周期については、9時から18時までを明状態、18時から翌日の9時までを暗状態とした。1994年も上記とほぼ同様の方法でふ化実験を行ったが、1実験区あたり3個の500ccビーカーを用いた。また、実験区は1993年より水温と塩分の範囲を狭くし、0, 2.5, 5.0, 7.5℃の4水温区と塩分10.0, 15.0, 20.0, 25.0の4塩分区とした。水温0℃, 5.0℃および塩分の実験にはインキュベーターを用い、水温2.5℃と7.5℃の実験にはヒートポンプ付きクーラーを設置した60cmアクリル水槽を用いた。

結 果

採卵数とふ化盆の付着卵数

Table 1には1993年の人工受精に用いた親魚の個体数

Table 1. Numbers of adult fish and weights of collected eggs.

	Adult fish		Eggs (g)
	Male	Female	
Ubaranai	76	212	11,500
Notoro	76	305	17,900
Total	151	517	29,400

と採卵重量を示した。親魚の個体数は卵原内よりも能取の方がやや多かったが、性比は両方とも雄1個体に対して雌3～4個体の割合であった。2カ所を合わせた総採卵重量は29,400gであった。Table 2には雌親魚の卵巣内卵1gあたりの卵数を示した。有眼側と無眼側の1gあたりの卵数はほぼ等しく、雌親魚7個体の1gあたりの平均卵数は5,702粒であった。これらから1993年4月30日に実施された人工受精における総採卵数は約1億6,800万粒と推定された。

人工受精卵の付着に使用されたふ化盆数は、卵原内で1,460枚、能取で1,480枚であった。それぞれ10枚ずつ持ち帰ったふ化盆から計数した付着卵数をTable 3に示した。1枚あたりの付着卵数にはかなりのバラツキがあり、少ないものでは2,389粒、多いものではこの約21倍にあたる49,871粒が付着しており、平均すると卵原内では18,431粒、能取では27,629粒であった。ふ化盆数と平均付着卵数から、卵原内と能取においてふ化

盆に付着された卵数は、それぞれ約2,700万粒と約4,100万粒と見積もることができ、2カ所を合計すると、総採卵数の約1/3にあたる約6,800万粒であった。

垂下期間中の付着卵数の変化

Fig. 2にはふ化盆の垂下海域から約1週間おきに回収したふ化盆の付着卵数の変化を示した。5月6日に回収したふ化盆には、約50,000粒の付着卵がみられたが、そのうち51%は死卵であった。5月12日に回収したふ化盆にも約50,000粒の付着卵がみられたが、死卵の割合は29%であった。5月18日の付着卵数は約3,000粒と急激に減少し、付着卵のほとんどはふ化直前の状態であったので、以後2日連続してふ化盆を回収した。5月19日と5月20日の付着卵数も少なく、いずれもふ化直前の状態であった。5月26日にもふ化盆を回収したが、付着卵は皆無であった。

垂下海域の水温と塩分の変化

ふ化盆の垂下海域に設置したACT-8000による水温と塩分の変化をFig. 3に示した。ふ化盆の垂下水深は約2mと浅いこともあり、流水や日射の影響により水温の日変化が大きく、最大4℃の日変化（5月8日）がみられた。ふ化盆の垂下期間中の水温は、日平均で4.3℃から8.0℃に上昇し、平均水温は5.2℃であった。塩分についても融氷水や河川水などの影響により、日変化が大きく、最大1.20の日変化（5月8日）を伴いながら、日平均塩分で30.38から31.88に上昇した。ふ化盆の垂下期間中の平均塩分は31.09であった。

水温、塩分とふ化率との関係

Fig. 4 (A)には塩分31.5における各水温区のふ化率を示した。1993年の実験では、5.0、10.0、12.0℃でふ化がみられ、最も高いふ化率は5.0℃の49%であった。1994年の低温区を中心とした実験では、0℃でもわずかにふ化がみられたが（4%）、2.5～7.5℃のふ化率が比較的高かった。2.5℃と5.0℃のふ化率はほぼ等し

Table 2. Fecundities of cresthead flounder in Notoro Lake.

BL (mm)	BW (g)	Number of eggs (N/g)	
		Eyed side	Blind side
195	170	4,632	4,618
196	168	5,530	5,492
211	172	5,686	5,715
240	361	6,288	5,970
250	425	6,974	7,438
260	435	5,116	5,108
267	555	5,981	5,284

Table 3. Numbers of attached eggs on a hatching tray.

	Min.	Max.	Mean	SD	N
Ubaranai	2,739	34,887	18,431	9,257	10
Notoro	2,389	49,871	27,629	18,187	10

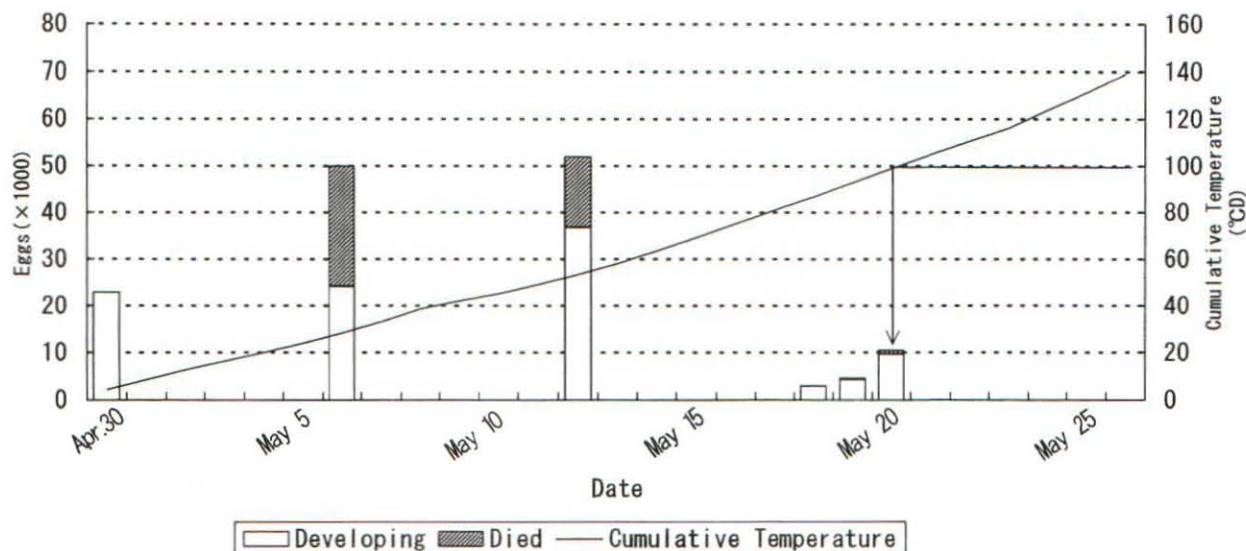


Fig. 2. Change of attached eggs on the recovered hatching trays and the cumulative temperature between 30 April and 26 May, 1993.

く、それぞれ52%と48%であった。

Fig. 4 (B) には水温 5.0°C における各塩分区のふ化率を示した。これには水温 5.0°C における水温区の実験結果も塩分 31.5 のふ化率として示した。1993 年には塩分 0~40.0 の間でふ化実験を行ったところ、塩分 0 と塩分 40.0 ではふ化がみられなかったが、塩分 10.0 では 78%、塩分 20.0 では 82% のふ化率であり、低塩分でふ化率が高くなる傾向がみられた。1993 年の塩分 25.0 のふ化率は極端に低くなったが (13%)、1994 年ではこの前後の塩分区のふ化率に大きな差異がみられないことから、塩分 25.0 の実験には何らかの誤操作があったと思われる。1994 年には塩分 10.0~31.5 に 5 塩分区を設定してふ化実験を行ったところ、塩分 31.5 のふ化率はやや低かったのに対し、他の塩分区では 60% 以上の高いふ化率であった。

Table 4 には塩分 31.5 におけるふ化日数と水温との関係を多項式回帰から求めた場合の次数の増減による AIC と自由度調整済み重相関係数の変化を示した。これによれば、AIC が最も小さく、自由度調整済み重相関係数が最も大きいのは 2 次の多項式であることがわかる。そこで、Fig. 5 にはふ化日数 (T) と水温 (θ) との関係を 2 次多項式による回帰曲線で示した。回帰は有意であり ($P < 0.01$)、回帰式は次のとおりである。

$$T = 0.2663 \theta^2 - 6.5161 \theta + 47.9716$$

この関係式より、ふ化盆の垂下海域の平均水温 (5.2°C) のふ化日数を求めると、21 日であり、4 月 30 日に人工受精された卵のふ化日は 5 月 20 日と推定される。また、

ふ化盆の垂下海域における平均水温と平均塩分に最も近い、水温 5.0°C、塩分 31.5 の実験区からふ化積算水温 (0°C 以上の積算値) を求めると、1993 年には 105°C 日、1994 年には 100°C 日となった。

考 察

クロガシラガレイのふ化実験を行った山本¹⁾と正田²⁾によって示された飼育データからふ化積算水温 (0°C 以上の積算値) を求めると 90~110°C 日となり、これは本実験とほぼ一致した。ふ化実験より求めたふ化積算水温を、ふ化盆の垂下海域の日平均水温の積算値にあてはめると (Fig. 2)、積算水温が 100°C 日になるのは 5 月 20 日であった。これはふ化日数と水温との回帰式から推定されたふ化日と一致する。このことから、5 月 18 日~5 月 20 日における付着卵数の減少はふ化によるものが多いと考えられるが、ふ化盆 1 枚あたりの付着卵数にはかなりのバラツキがあり (Table 3)、波浪等の影響でふ化盆からの脱落による付着卵の減少も予想される。本研究では回収したふ化盆は 1 枚だけであったため、今後は回収ふ化盆を増やして、さらに検討を進めるとともに付着卵の脱落数とその生残についても調査する必要がある。

ふ化盆の垂下海域の環境に最も近い水温 5.0°C、塩分 31.5 の実験区では、約 50% とやや低いふ化率であったが、塩分区によるふ化実験では塩分 10.0~25.0 の低塩分水で高いふ化率がみられた (Fig. 4)。海産魚の卵は

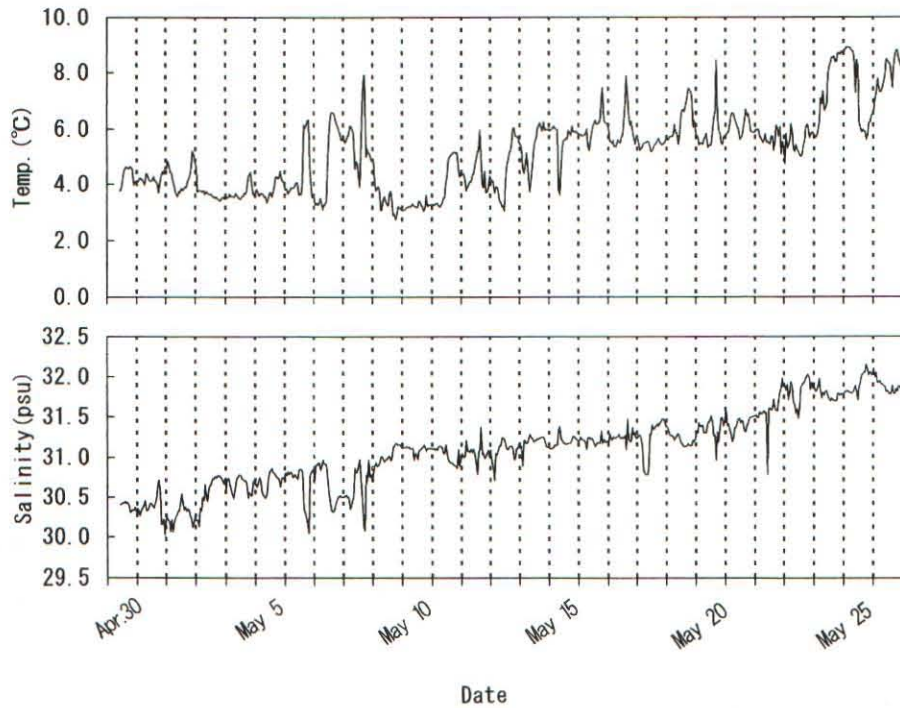


Fig. 3. Changes of temperature and salinity every an hour between 30 April and 26 May, 1993 off Noto.

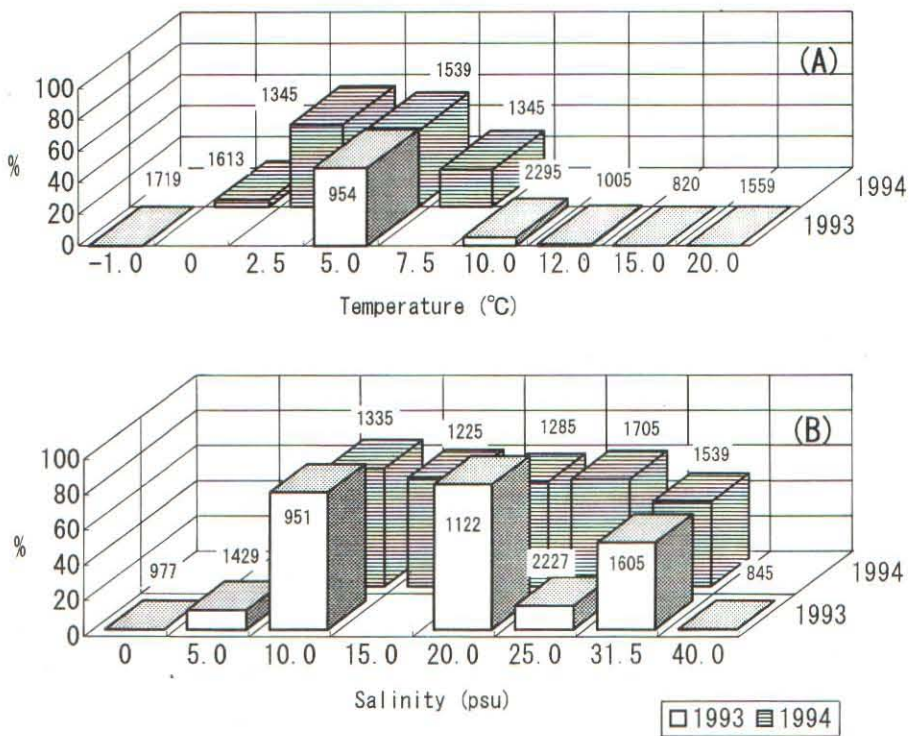


Fig. 4. Hatching rates of artificial fertilized eggs in nine temperature with constant salinity 31.5 psu (A) and eight salinity with constant temperature 5.0°C (B) in 1993 and 1994. Figures with bars indicate number of eggs in a experimental beaker.

Table 4. Akaike's information criterion (AIC) and multiple correlation coefficient adjusted for the degrees of freedom (Adjusted R Square) in polynomial regression between water temperature and time in days required for hatching.

No. of Variable	AIC	Adjusted R Square
1	39.593	0.903
2	27.132	0.988
3	28.749	0.984

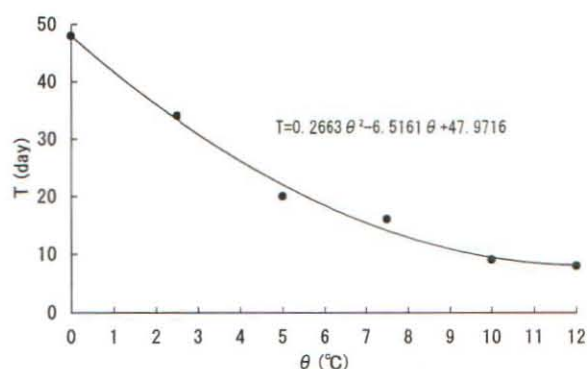


Fig. 5. Relation between water temperature (θ) and time in days required for hatching (T).

一般に、ふ化可能塩分範囲が広く、高濃度側のふ化限界塩分が高いが³⁾、カレイ科の *Eopsetta jordani* や *Parophrys vetulus* のふ化最適塩分は低く、27.9と25.9と報告されている^{4, 5)}。山本⁶⁾によれば、人工受精によるマコガレイ *Pleuronectes yokohamae* 卵のふ化率は、14.34%の低塩分水でも87%であった。異体類の多くは成魚の通常の分布域より、沿岸浅海域に産卵場を形成するため⁷⁾、産卵場は河川水等の影響を受けやすい。低塩分での高いふ化率は、こうした塩分変化に対する適応と考えることもできる。

疋田²⁾によれば、能取湖産のクロガシラガレイから人工受精した卵をふ化器に付着させて、湖内に沈めておいたところ、ほぼ100%がふ化したと報告している。当時の能取湖には現在のような永久湖口がなく、4～5月には融雪水などにより湖は著しく増水したことが知られており、1955～1957年に湖内の環境調査を実施した大東・内山⁸⁾によれば、湖内北西部の5月の底層の塩分は23.4～23.9‰(Cl換算)と低かった。湖内北西部は産卵期におけるクロガシラガレイの漁場分布から産卵場と推定された海域であり⁸⁾、疋田²⁾の報告し

た高いふ化率は、このような低塩分の環境下で得られたものと推定される。これらのことは、ふ化盆の垂下海域の選定には水温だけでなく、塩分も重要な要素となることを示唆している。ふ化に及ぼす塩分の影響は、卵の浸透圧調節能力の備わる時期によるが³⁾、クロガシラガレイ卵はカレイ類の中では希な付着沈性卵であり、産卵場は水深が浅く^{8, 9)}、融雪水や海水の影響を受けやすいことから、卵の浸透圧調節能力と発生との関係を今後検討する必要がある。

要 約

1. 1993年4月30日の能取湖において実施されたクロガシラガレイの人工受精では、約1億6,800万粒を採卵し、そのうちふ化盆に付着した卵は約6,800万粒と推定された。
2. ふ化盆の垂下期間中の水温と塩分(水深2 m)の平均値は、それぞれ5.2℃と31.09であり、ふ化盆の付着卵数は、垂下後約20日で急激に減少した。
3. -1.0～20.0℃までの9水温区で行ったふ化実験では、0～12.0℃までふ化がみられ、そのうち2.5～7.5℃のふ化率が高かった。一方、塩分0～40.0までの8塩分区で行ったふ化実験では、塩分10.0～25.0の低塩分でふ化率が高くなる傾向がみられた。このことから、ふ化盆の垂下海域の選定には水温だけでなく塩分も重要な要素となることが考えられた。
4. ふ化日数と水温との関係式から、4月30日に人工受精された卵のふ化日は5月20日と推定され、これはふ化盆の付着卵数の減少がみられた日と一致した。

謝 辞

試料の収集および実験施設の提供等にご協力頂いた西網走漁業協同組合川尻敏文氏、網走市水産科学センター坂崎繁樹氏、同千田耕平氏に衷心より感謝する。また、有益なご助言とご校閲を賜った網走水産試験場資源管理部長水島敏博氏に謝意を表する。

文 献

- 1) 山本喜一郎: 北海道産クロガシラカレイの卵及仔魚の形態とマコガレイとのSynonym問題に就ての一考察. 水産報告. 6, 173-179 (1951)
- 2) 正田豊治: 黒頭鰈の発生に就いて. 水産報告. 7, 133-144 (1952)
- 3) 柏木正章: "孵化管理". 水族繁殖学. 隆島史夫, 羽生功編. 東京, 緑書房, 1989, 211-237.
- 4) Alderdice, D. F. and Forrester, C. R. : Some effects of salinity and temperature on early development and survival of the English sole (*Parophrys vetulus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 25, 495-521 (1968)
- 5) Alderdice, D. F. and Forrester, C. R. : Effects of salinity and temperature on embryonic development of the Petrale sole (*Eopsetta jordani*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 28, 727-744. (1971)
- 6) 山本孝治: マコガレイ卵の発生に及ぼす水温及塩分の影響に就て. 日水誌. 8, 102-106 (1939)
- 7) 南 卓志: 異体類の初期生活史 成育場(1). 海洋と生物. 53, 408-414 (1987)
- 8) 大東信一, 内山正昭: 能取湖の環境調査結果. 水産報告. 14, 145-167 (1959)
- 9) 金丸信一: "根室湾海域のクロガシラガレイとクロガレイについて". 昭和56年度根室湾海域総合開発事業調査報告書. 釧路, 北海道区水産研究所, 1982, 79-86.

ヒラメ・カレイ類精液の凍結保存

第1報 ペレット法とストロー法

齊藤節雄*

Cryopreservation of flatfish sperm

I. Pellet and straw methods

Setsuo SAITOH*

Cryopreservation techniques for flatfish semen were examined. More than 70% frozen-thawed sperm using both pellet and straw methods moved in japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and pacific halibut *Hippoglossus stenolepis*. Pellet method using ringer's solution as extender was suitable for the cryopreservation of crested flounder *Pleuronectes schrenki* sperm. From 5 to 30% of sperm using pellet method showed the motility in small-mouthed flounder *Pleuronectes herzensteini*, marbled flounder *Limanda yokohamae*, barfin flounder *Verasper moseri* and slime flounder *Microstomus achne* after freeze-thaw. The recommended freezing speed range for post-thaw motility of sperm in japanese flounder and pacific halibut was between 2 and 4 cm of the distance from the surface of liquid nitrogen. Only one pellet of frozen semen of japanese flounder might be sufficient to fertilize 20% and to be hatched 15% of a batch of 4,500 eggs.

キーワード：凍結保存, 異体類, 精子, ペレット法, ストロー法, 精子活性, 受精能

Key words: Cryopreservation, Flatfish sperm, Pellet method, Straw method, Motility, Fertility

緒言

ヒラメを始めとする多くの海産魚で、染色体操作による育種研究が盛んに行われている。この中で全雌化及び不妊化技術はほぼ完成し、実用化されつつある魚種もある¹⁾。本道においてもヒラメの養殖が近年盛んになり、日本海側の各地で積極的な取り組みがなされている。しかし本道のように、冬期間の低水温期の長い地域においてヒラメ養殖を行う事は、決定的に不利である。そこで、本道の自然環境、特に低水温に適した養殖用種苗を生産するために、ヒラメ・カレイ類の間で交雑を行い、低水温下でも高成長を示す新品種を作出する必要がある。

ヒラメ・カレイ類においては、産卵期のずれている種類が多いので、異種間交雑に必要な精子を、一定期

間受精可能な状態に保つ必要がある。比較的短期間の保存であれば、適当な希釈液で精液を希釈後、0℃近くの低温に保つことにより可能である²⁾。しかし、数ヵ月から年単位の長期保存となると、凍結保存が必要になる。そこで本研究では、畜産分野などで既に実用化されている^{3, 4)}液体窒素(-196℃)を用いた凍結保存法の検討を行った。

魚類精液の凍結保存法については、サケマス類を中心に数種の淡水魚で試みられ⁵⁾、一部海産魚についても^{6, 7)}報告があるが、ヒラメ・カレイ類に関しては、plaice⁷⁾を除いて未だその報告例はない。本研究では主にサケマス類で行われているペレット法(錠剤化凍結法)及び家畜などで使用されているストロー法による凍結保存法の検討を行い、若干の成果が得られたので報告する。

材料及び方法

(ア) 供試魚

ヒラメ、カレイ類のなかで、以下の7魚種の精子を使用した。ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*)、マツカワ (*Verasper moseri*)、マガレイ (*Pleuronectes herzensteini*)、マコガレイ (*Limanda yokohamae*)、ババガレイ (*Microstomus achne*)、クロガシラガレイ (*Pleuronectes schrenki*)、オヒョウ (*Hippoglossus stenolepis*)である。このうち、ヒラメ、マツカワについては、道立栽培漁業総合センター産の人工養成親魚を用い、マガレイ、マコガレイについては、同センターで蓄養中の天然親魚を使用した。また、オヒョウは日本栽培漁業協会厚岸事業場で、ババガレイは広尾海洋水族科学館で、クロガシラガレイは小平漁業協同組合でそれぞれ蓄養、養成中の天然親魚を使用した。

(イ) 採精

雄親魚の体表、特に腹部をウェスで良く拭いてから、腹部を圧迫してφ90mmのプラスチック製滅菌シャーレに精液を採取した。この時、尿、糞などの異物の混入をできるだけ避けて、個体毎に採取した。更にシャーレをペーパーアイス上に置き冷やした。

(ウ) 希釈

希釈液の組成をTable 1に示した。希釈による温度ショックを避けるため、希釈液を氷水で冷やした。抗凍結剤として、ジメチルスルホキシド (DMSO) 又はグリセリンを用い、濃度は5, 10, 15%の3段階とした。平衡時間 (希釈後凍結操作に移るまでの時間) は特に設定せず、希釈後直ちに凍結操作に移った。

(エ) 凍結 (Fig. 1)

1. ペレット法---ドライアイスに小さな穴を開け、希釈した精液をこの穴に滴下し、ペレット状にする方法。本実験では6倍に希釈した精液を0.1mlずつ滴下した。

2. ストロー法---希釈した精液を牛精液保存用のポリエチレン製ストロー管 (0.5ml容) に封入し、それを液体窒素に浸らない状態で、液体窒素液面上の適当な位置に保ち、液体窒素の蒸気によって凍結する方法。本実験では、希釈精液を0.3mlずつ封入し、液面から0 cm, 2 cm, 4 cm, 6 cmの位置で凍結した。但し0 cmは、封入後直接液体窒素に浸して、凍結したことを意味する。

(オ) 保存

精液凍結後、直ちに液体窒素タンク (36 l 容) に移した。

(カ) 解凍

解凍液として120mM NaHCO_3 液を用いた。凍結ペレットの場合、氷冷した1 ml NaHCO_3 液に入れ、直ちにミキサーで攪拌し解凍した。ストロー内に凍結封入されたものは、ストローを試験管に入れ、20℃の温水に浸して解凍し、シャーベット状になってから NaHCO_3 液を加え、ミキサーで攪拌し溶解した。

(キ) 媒精

解凍した精液を、乾導法により未受精卵に媒精した。

(ク) 精子活性

希釈操作に移る前に、採取精液を1滴スライドグラスに取り、濾過海水と接水させて顕微鏡下で運動性を確認した。一視野中に占める運動精子の割合が100%のものを凍結保存に使用した。一方、凍結融解後の精子活性も同様に、海水と接水させた後、顕微鏡下で運動

Table 1. Component and concentration of extenders

Extender	Component and concentration	
Glucose	5 ~ 15%	
Sodium citrate	40 ~ 100mM	
Ringer's solution for flounder	NaCl	8.22g/l
	KCl	0.39
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.72
	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.23
	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.28
	NaHCO_3	0.20
	Glucose	1.00
	pH	6.0 ~ 7.0

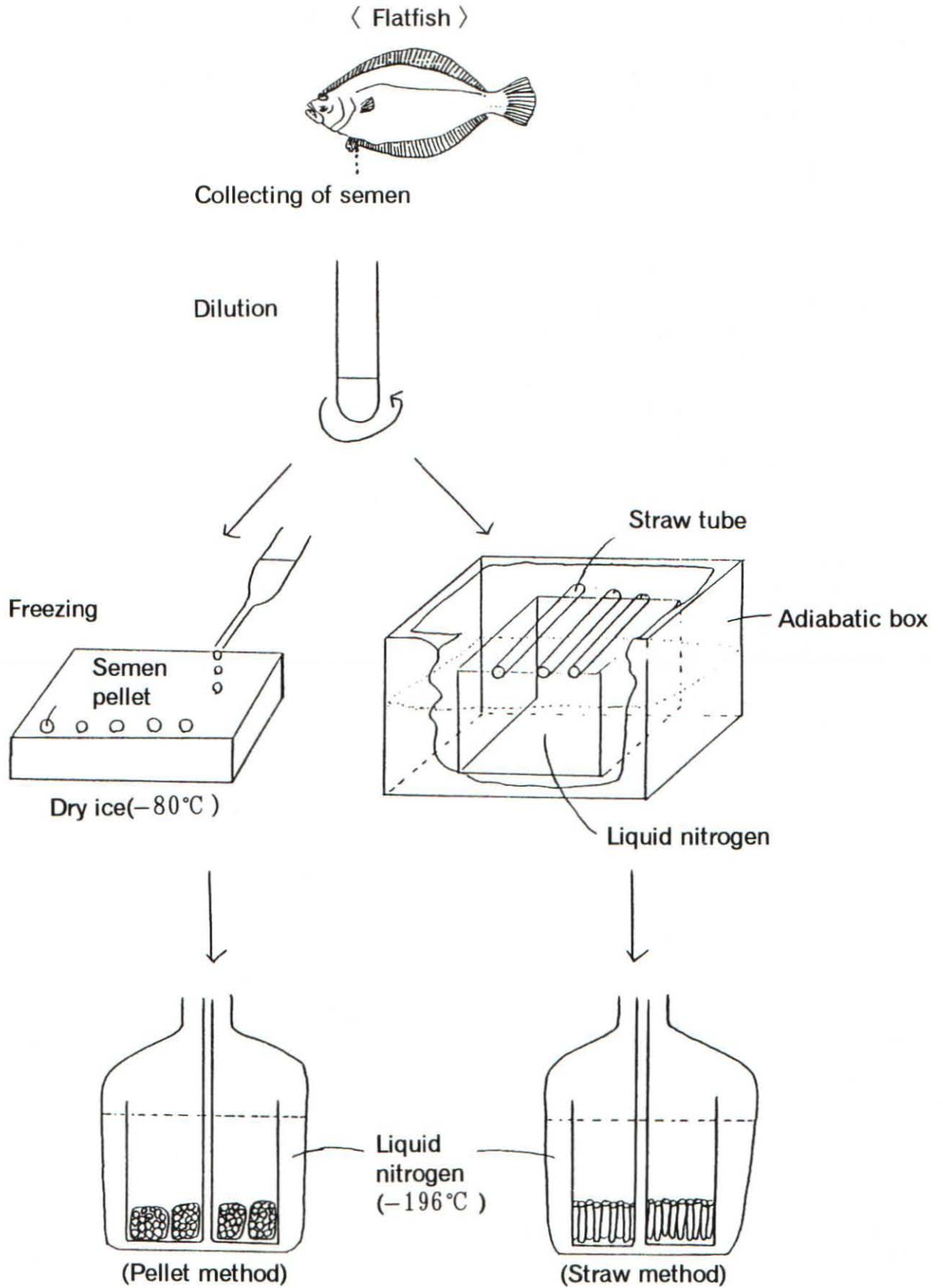


Fig. 1 Freezing procedures of flatfish sperm.

精子の比率から求めた。

(ケ)受精能

凍結精子ペレット 1 個分の精液を、様々な量の未受精卵に媒精した時の受精率及び孵化率で表した。

結 果

1. ペレット法

ペレット法で凍結したヒラメ、マガレイ、マコガレイ、マツカワ、ババガレイ精液及びオヒョウ、クロガシラガレイ精液の融解後の精子活性を Table 2 と Table 3 にそれぞれ示した。ヒラメの場合、5%グルコースで DMSO の濃度 5% 又は 10% の時並びにリンゲル液 (pH6.0) で 15% DMSO の時最も高い精子活性を示した。マガレイの場合、全体的に精子活性が低かったが、クエン酸ナトリウムで 5% DMSO の時及び 15% DMSO でグルコースを使用した時、5~30% の精子に運動性が認められた。マコガレイの場合、DMSO 濃度 15% で、15% グルコースの使用した時のみ 5~30% の精子活性が認められた。マツカワの場合は、DMSO 濃度 10% で 5% 又は 10% グルコース又はリンゲル液 (pH6.0) の時 5~30% の活性を示した。ババガレイの場合、10% DMSO、10% グルコースの時のみ活性が認められた。オヒョウの場合、抗凍結剤として DMSO 及びグリセリンのいずれを使用した時も、30~50% 及び 70% 以上の活性を示した。特に 10% グリセリンで 10% グルコースの時最も高い活性が認められた。クロガシラガレイの場合、5% DMSO でリンゲル液 pH6.0 又は 7.0 の時高い活性が認められた。

2. ストロー法

ストロー法で凍結したヒラメ、クロガシラガレイ、オヒョウ精液の融解後の精子活性を Table 4 に示した。ヒラメの場合、いずれの希釈液を使用した場合も、液体窒素液面からの距離 2 cm 及び 4 cm で最も高い精子活性を示した。pH6.0 のリンゲル液の場合、例外的に 6 cm の距離でも 70% 以上の活性が認められた。クロガシラガレイの場合、DMSO 濃度 5% 及び 10% とともに、いずれの希釈液を使用した時も、全体的に活性が低かった。しかし、液体窒素液面からの距離 2 cm 及び 4 cm の時、若干活性が認められた。オヒョウの場合、抗凍結剤としてグリセリンよりも DMSO を使用した場合の方が高い活性を示した。液体窒素液面からの距離 2 cm 及

び 4 cm の時 70% 以上の精子活性を示した希釈液は 70mM クエン酸ナトリウム、5% グルコース、100mM クエン酸ナトリウムそしてリンゲル液 (pH6.5) であった。

3. 凍結精子の受精能

Table 5 にペレット法で凍結保存したヒラメ精子を、融解後ヒラメの未受精卵に媒精した時の受精率 (胚体形成率) 及び孵化率並びに孵化仔魚の奇形率を示した。卵量が増えても、750粒から 4,500粒まで受精率は、20.8~27.2%，また孵化率も 15.6~18.1% とほぼ一定の値を維持していた。一方、奇形率は卵量 450 粒の時のみ 31.3% と比較的高い値であったが、他の場合はすべて 10% 前後と低率であった。

考 察

魚類の精子凍結保存は、Blaxter⁸⁾ が春ニシンの精子を凍結して秋ニシンの卵に受精させたのが最初である。その後数種の淡水魚及び海産魚の精子で試みられている。

魚類の精子の長期保存を行う利点として、異種間交雑に供する他に以下のものが考えられる。イ) 優良精子 (成長が極めて良い雄や、全雌魚生産用の性転換雄など) の有効利用が可能となる。ロ) 時空間的に隔たった魚種間での交配が可能となる。ハ) 雌雄親魚間の成熟期の違いによる精液の不足が解消される。ニ) 品種、系統、形質の保存が容易となり、遺伝育種研究の向上につながる。

凍結解凍後の精子活性に影響を及ぼす要因として、希釈液の種類と組成、抗凍結剤の種類と濃度、平衡時間の設定、凍結速度と解凍速度等がある。本研究で使用する希釈液は、これまでの魚類の精液保存で用いられたもの⁵⁾を参考に、クエン酸ナトリウム、グルコース、カレイ用リンゲル液の 3 種類で、それぞれ濃度、pH 等を変えて試験した。ペレット法ではクロガシラガレイを除いて、希釈液の違いによる精子活性への影響は特に認められなかった。またストロー法においてもほぼ同様であった。したがって、グルコース等の単純な組成の希釈液でも十分使用可能であると考えられる。抗凍結剤として DMSO と一部グリセリンを用いたが、近年 DMSO が一般的に用いられている⁶⁾。一般に抗凍結剤としてグリセリンを用いた場合には、平衡時間を長くし、DMSO を用いた時は、極力短くした方が、解

Table 2. Effects of extender and cryoprotectant concentration on the sperm activities of flatfish after freezing(pellet method) and thawing.

Species	Extender		Concentration of DMSO		
			5 %	10 %	15 %
<i>Paralichthys olivaceus</i>	Sodium	100mM	+	++	++
	Citrate				
	Glucose	5%	+++	+++	+
		10%	++	++	+
		15%	+	++	+
	Ringer's Solution	pH 6.0	++	++	+++
<i>Pleuronectes herzensteini</i>	Sodium	100mM	+	±	±
	Citrate				
	Glucose	5%	—	±	+
		10%	±	+	+
		15%	±	±	+
	Ringer's Solution	pH 6.0	±	±	±
<i>Limanda yokohamae</i>	Sodium	100mM	—	—	—
	Citrate				
	Glucose	5%	—	—	—
		10%	—	—	—
		15%	—	—	+
	Ringer's Solution	pH 6.0	—	—	—
<i>Verasper moseri</i>	Sodium	100mM	±	±	±
	Citrate				
	Glucose	5%	±	+	±
		10%	±	+	±
		15%	±	±	±
	Ringer's Solution	pH 6.0	—	+	±
<i>Microstomus achne</i>	Sodium	100mM	—	±	—
	Citrate				
	Glucose	5%	—	—	—
		10%	±	+	—
		15%	±	±	—
	Ringer's Solution	pH 6.0	—	—	—

+++ : more than 70% sperm moved, ++ : 30~50% sperm moved, + : 5~30% sperm moved, ± : little-moved, — : non-moved

Table 3. Effects of extender and cryoprotectant concentration on the sperm activities of flatfish after freezing (pellet method) and thawing.

Species	Extender		Concentration of DMSO		Glycerol
			5 %	10 %	10 %
<i>Hippoglossus stenolepis</i>	Sodium	100mM	+	+	±
	Citrate	70mM	+	+	±
		40mM	+	±	+
	Glucose	5%	+	+	+
		10%	+	++	+++
		15%	++	+	++
	Ringer's solution	pH 6.0	+	±	++
		6.5	++	+	++
		7.0	++	±	++
<i>Pleuronectes schrenki</i>	Sodium	100mM	-	-	
	Citrate	70mM	±	-	
		40mM	±	-	
	Glucose	5%	±	-	
		10%	±	-	
		15%	+	-	
	Ringer's solution	pH 6.0	+++	±	
		6.5	±	-	
		7.0	++	+	

+++ : more than 70% sperm moved, ++ : 30~50% sperm moved, + : 5~30% sperm moved, ± : little-moved, - : non-moved

Table 4. Effects of extender and freezing speed on the sperm activities of flatfish after freezing(straw method) and thawing.

Species	Extender		Distance from the surface of liquid nitrogen			
			0 cm	2 cm	4 cm	6 cm
<i>Paralichthys olivaceus</i> (10% DMSO)	Sodium Citrate	100mM	—	+++	+++	±
		70mM	+	+++	++	±
		40mM	—	+++	++	+
	Glucose	5%	+	+++	+++	±
		10%	±	+++	+++	—
		15%	±	++	+++	+
	Ringer's solution	pH6.0	—	+++	+++	+++
		6.5	—	+++	++	±
		7.0	±	+++	+++	±
<i>Pleuronectes schrenki</i> (5 % DMSO)	Sodium Citrate	100mM	—	±	—	—
		70mM	—	—	±	—
		40mM	—	±	—	±
	Glucose	5%	—	±	—	—
		10%	±	±	±	—
		15%	—	—	—	—
	Ringer's solution	pH6.0	—	—	—	—
		6.5	—	±	—	—
		7.0	—	±	±	—
<i>Pleuronectes schrenki</i> (10% DMSO)	Sodium Citrate	100mM	—	—	—	—
		70mM	—	—	—	—
		40mM	—	±	—	—
	Glucose	5%	—	—	±	—
		10%	±	±	±	—
		15%	—	—	—	—
	Ringer's solution	pH6.0	—	±	±	—
		6.5	—	—	—	—
		7.0	—	—	—	—
<i>Hippoglossus stenolepis</i> (5 % DMSO)	Sodium Citrate	100mM	—	—	—	—
		70mM	—	+++	++	+
		40mM	±	+	+	+
	Glucose	5%	—	+++	++	±
		10%	—	++	+	—
		15%	±	±	±	±
	Ringer's solution	pH6.0	—	—	—	—
		6.5	—	±	±	—
		7.0	+	++	++	—
<i>Hippoglossus stenolepis</i> (10% DMSO)	Sodium Citrate	100mM	—	+++	+++	+++
		70mM	—	+++	++	+
		40mM	—	—	—	—
	Glucose	5%	—	+++	+++	±
		10%	±	±	—	—
		15%	±	++	++	—
	Ringer's solution	pH6.0	—	++	+	—
		6.5	+	+++	++	—
		7.0	—	—	—	—
<i>Hippoglossus stenolepis</i> (10% Glycerol)	Sodium Citrate	100mM	—	—	—	—
		70mM	—	+	—	—
		40mM	—	—	—	—
	Glucose	5%	—	—	—	—
		10%	—	—	—	—
		15%	±	±	±	—
	Ringer's solution	pH6.0	—	—	—	—
		6.5	—	—	—	—
		7.0	—	—	—	—

+++ : more than 70% sperm moved, ++ : 30~50% sperm moved, + : 5~30% sperm moved, ± : little-moved, — : non-moved

Table 5. Effects of extender used for the cryopreservation (pellet method) on the fertility and further development of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*).

Extender	Number of Eggs	Fertility (%)	Hatching Rate (%)	Embryonic Larvae (%)
10% Glucose	150	48.7	22.7	11.8
	450	11.3	7.1	31.3
	750	21.7	15.6	9.4
	1500	24.5	18.1	12.9
	2250	27.2	18.1	13.3
	4500	20.8	15.7	10.2

凍後の精子活性が高いとされている⁶⁾。本研究では、平衡時間を特に設定せず、希釈後はただちに凍結操作に移った。グリセリンを抗凍結剤として使用し、オヒョウ精子を凍結保存した場合、ペレット法ではDMSOを使用した場合よりも若干精子活性が高かった。これに対してストロー法で行った場合は、グリセリンを用いた時、精子活性が極端に低かった。これには、両剤の細胞への浸透性の違いが反映しているものと思われる。

凍結方法として、ペレット法とストロー法の2通りの方法を試みたが、これは凍結速度に影響する。ペレット法の場合は、ペレットの大きさにより、ストロー法の場合は液体窒素液面からの距離により、それぞれ凍結速度を任意に変化させることができる。最近ではプログラムフリーザーという、凍結速度を自由に設定できる機器も作られているがかなり高価である。解凍する時は、ペレット法、ストロー法共に20℃（室温）で1 ccのNaHCO₃にペレット1個又はストロー1本を入れ、ミキサーで攪拌した。最適解凍温度は、10～40℃と魚種によりかなり幅があるとされている⁵⁾。本研究では、解凍速度については特に変化させなかった。ヒラメ、オヒョウについては、70%以上の精子活性が、ペレット法及びストロー法共に得られているが、その他の魚種については活性が比較的低率であった。今後凍結速度、解凍速度をさらに変化させて、試験する必要があると考えられる。

凍結ヒラメ精子をヒラメ未受精卵に媒精した場合、少なくとも卵量4,500粒までは、15～20%前後の孵化率が得られた。このままでは大量種苗生産の実用に供することは困難である。しかし、大量種苗を必要としない系統、品種の保存等遺伝育種の研究には十分適応できるものと考えられる。一方、凍結保存精子を用いた

ヒラメ、カレイ類の異種間交雑については、次回の報告としたい。

要 約

ヒラメ、カレイ類の精子を、長期間活性を保った状態で液体窒素中に凍結保存する方法について検討した。ペレット法及びストロー法で凍結し、魚種毎にその適否を調べた。

1. ヒラメ、オヒョウについてはペレット法、ストロー法共に70%以上の精子活性が認められた。
2. クロガシラガレイについては、リンゲル液を用いたペレット法でのみ、70%以上の精子活性を示した。
3. マガレイ、マコガレイ、マツカワ、ババガレイについてはペレット法で、5～30%程度の精子活性が認められた。
4. ヒラメ、オヒョウの場合、ストロー法については、凍結速度として液体窒素液面からの高さは2 cmから4 cmが最適の距離であることがわかった。また、希釈液として、クエン酸ナトリウム、グルコース、リンゲル液ともに有効であることもわかった。
5. ペレット法で凍結保存したヒラメ精子を、ヒラメ未受精卵に媒精した場合、少なくとも4,500粒の卵量までは受精率20%、孵化率15%が期待出来た。

謝 辞

カレイ類精液を採取するにあたりご協力いただいた、日本栽培漁業協会厚岸事業場及び広尾海洋水族科学館並びに小平漁業協同組合の職員の方々にお礼申し上げます。また、本調査に便宜を図って下さった、留萌南部

地区水産技術普及指導所に深く感謝する。

文 献

- 1) 水産庁研究部研究課：水産分野におけるバイオテクノロジー研究の現状. 1993.
- 2) 黒倉 寿：魚類精液の保存について. 水産・技術と経営. 2, (180), 76-83 (1980)
- 3) 田名部雄一：鶏の改良と繁殖. 養賢堂. 366-372 (1971)
- 4) 日本家畜人工受精協会：精液の液状保存及び凍結保存. 家畜人工受精講習会テキスト 1980, 408-420.
- 5) Scott, A. P., Baynes, S. M. :A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *J. Fish Biol.* 17, 707-739 (1980)
- 6) 黒倉 寿：魚類精液の凍結保存. 水産育種. 8, 42-53 (1983)
- 7) Pullin, R. S. V. : The storage of plaice (*Pleuronectes platessa*) sperm at low temperatures. *Aquaculture*. 1, 279-283 (1972)
- 8) Blaxter, J. H. S. : Sperm storage and cross-fertilization of spring and autumn spawning herring. *Nature* 172, 1189-1190 (1953)

サケ肉糊の戻りに及ぼすシステインプロテアーゼイン ヒビター (E-64) の影響

飯田訓之*, 錦織孝史*, 高橋玄夫*

Influence of cystein protease inhibitor(E-64) on *modori*(gel degradation)
in salted surimi paste of chum salmon (*Oncorhynchus keta*)

Toshiyuki IIDA*, Takafumi NISHIKIORI* and Haruo TAKAHASHI*

The salted surimi paste was prepared from chum salmon with 3% NaCl and with and without cystein protease inhibitor (E-64). Those were incubated at temperature of 10 to 60°C to prepare setting gel, followed by heated at 90 °C to prepare setting-heating gel. Changes in breaking strength and breaking strain of setting-heating gel, and in protein subunits composition in the gels during incubation were investigated.

Breaking strength and breaking strain of setting-heating gel without E-64 decreased notably at the incubation temperature of 30°C and 40°C along with decrease in myosin heavy chain (HC) in setting gel. On the other hand, with E-64, neither change in breaking strength and breaking strain of setting-heating gel, nor change in HC in setting gel, occurred at those incubation temperature. These results indicated that the gel degradation (*modori*) observed in the gel without E-64 was attributed to proteolysis of HC in myofibrillar protein by endogenous protease in muscle of chum salmon.

A discussion was made on a difference between gel formation properties of salted surimi paste from chum salmon and walleye pollock.

キーワード: サケ, ゲル形成性, 戻り, E-64, 坐り

まえがき

秋季、北海道沿岸に回帰するサケの漁獲量は、近年のふ化放流事業の進展により増大している。この中で性成熟が進み、体表に強い婚姻色が現れた通称ブナサケと呼ばれるサケは、脂肪含量が少なくサケ特有の肉色が失われるなどの理由から相対的に魚価が低迷している。このため新たな利用途が求められており、すでにすり身業界の一部ではブナサケを原料とした冷凍すり身が生産されている。しかし、サケは性成熟が進むほど筋肉中の自己消化活性が高く^{1, 2)}、自己消化活性の高い筋肉ではミオシンを含む主な筋肉構成タンパク質が貯蔵中に迅速に分解される³⁾ため、練り製品のゲル形成性に影響を与えることが示唆される。サケ筋肉の自己消化活性は主にシステインプロテアーゼに分類されるカテプシンL (EC 3.4.22.15) の関与が推定されており^{3, 4)}、この酵素活性はシステインプロテアーゼの阻害剤であるE-64やロイペプチンによって抑制で

きることが明らかにされている^{2, 3)}。本報告ではブナサケから優れたゲル形成性を有するすり身を製造することを目的として、E-64の添加の有無によるゲル形成性と筋肉タンパク成分の変化について、スケトウダラすり身と比較しながら検討した。

材料及び方法

1. 材料

1993年9月に釧路近海で漁獲(定置網)されたサケ(*Oncorhynchus keta*)の中から体表に強く婚姻色が現れた通称Bブナランクを材料とした。このサケから採肉した落とし身を4倍量の水道水で3回水晒し(3回目は0.3%食塩水)、脱水後、脱水肉重量に対して5%ショ糖と0.3%重合リン酸塩(ポリリン酸ナトリウム:ピロリン酸ナトリウム=1:1)を添加してすり身を製造した。スケトウダラ(*Theragra chalcogramma*)すり身は、1994年1月に製造された市販の洋上冷凍すり

報文番号 A258 (1996年2月1日受理)

* 北海道立釧路水産試験場 (Hokkaido Kushiro Fisheries Experimental Station, Hama-cho, Kushiro, Hokkaido 085, Japan)

身((株)浜屋水産 第5恵久丸製 FA級, ショ糖, ソルビトール, 重合リン酸塩添加)を使用した。すり身の水分とpHは, それぞれサケでは75.3%と6.95, スケトウダラでは75.0%と7.15であった。これらを -30°C で凍結保管し, 以下の実験に供した。E-64 ([L-3-*trans*-Carboxyoxiran-2-carbonyl]-L-leucyl-*agmatine*)は((株)ペプチド研究所製の精製標品を使用した。

2. 坐りゲルと坐りー加熱ゲルの調製

半解凍状態のすり身に0.4N HClあるいは0.4N NaOHを加えてpH7.0に調整し, 酵素阻害剤を加える場合には肉糊に対してE-64を終濃度 $32.33\mu\text{g/g}$ となるように添加した。それぞれのすり身中のタンパク質濃度を一定にするため, pH調整及びE-64水溶液添加による水の増量分を含めてすり身重量に対して10%の蒸留水を添加した。塩ずりは10%加水すり身に対して3%食塩を加え, スピードカッター((株)ナショナル製 MK-K75)により2分間攪潰した。これらの操作はすべて 5°C 以下で行った。得られた肉糊を内径30mmのプラスチック製円筒型容器に詰め, 蓋をして所定の温度($10\sim 60^{\circ}\text{C}$)の恒温水槽中で所定の時間加熱(このときに形成されるゲルを坐りゲルと呼ぶ)し, ひきつづき 90°C の恒温水槽中で30分間加熱した(これを坐りー加熱ゲルと呼ぶ)。

3. ゲルの物性測定

ゲルを直径30mm, 高さを25mmとし, レオメーター(不動工業製NRM-3005D)により直径5mm球形プランジャー, 押し込み速度 60mm/分 として破断強度(g)と凹み(mm)を測定した。

4. 坐りゲルのSDS-尿素溶液に対する可溶性

西本ら⁵⁾の方法に従った。すなわち, 細碎した坐りゲル0.4gを精秤し, 7.5mlの8M尿素, 2%SDS, 2%2-メルカプトエタノール, 20mM Tris-HCl(pH8.0)を加えて 100°C で2分間加熱後, 室温で20時間攪拌して可溶化させた。上記の溶液を遠心分離($10,000\times\text{g}$, 20分間)後, 上清中のタンパク質量を測定し, 遠心分離前のタンパク質量に対する割合を可溶化率(%)とした。なお, タンパク質量はビウレット法⁶⁾により定量した。

5. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)による坐りゲル中のタンパク質中の筋原線維タンパク質サブユニット組成の定量

SDS-PAGEはWeberと Osborn⁷⁾の方法にしたがって5%ポリアクリルアミドあるいは6M尿素を含む1.8%ポリアクリルアミドを用い, Coomassie Brilliant

Blue Rによって染色した。脱色は50%メタノール-7%酢酸で6~8時間行い, つぎに7%酢酸でゲルの背景が透明化するまで行った。泳動ゲルのタンパク質サブユニット組成は2波長クロマトスキャナー(島津製作所製 CS-930型)により640nmと700nmの吸光値の差を測定し, ゲルロッド上に検知される各成分の示す全染色強度の合計値に対する相対染色強度の百分率(%)として表した。

結 果

1. スケトウダラ肉糊の坐りゲル及び坐りー加熱ゲルの物性に与えるE-64添加の影響

スケトウダラすり身から調製した肉糊を 30°C と 60°C で加熱し, 坐りゲルと坐りー加熱ゲルの破断強度の経時的な変化を Fig.1(a, b)に示した。まず, 坐りゲルの結果(a)によると, 30°C 加熱ではE-64の有無にかかわらず, いずれも加熱後急速に増加し, その後も緩やかに増加し続けたが, その増加速度と増加量はE-64存在下の方がやや大きかった。同様に坐りー加熱ゲル(b)も加熱とともに破断強度が増加し, E-64の存在下ではE-64を含まないときよりもその増加速度と増加量は大きくなった。すなわち, E-64はいわゆる坐りの効果を増大させた。 60°C で加熱した坐りゲルは, E-64を含まない場合には加熱後急激に破断強度が増加し, その後徐々に低下していわゆる火戻りの現象が生じた。一方, E-64存在下では加熱初期の急激な増加の後, 破断強度はほぼ一定の値を保った。同様の傾向は坐りー加熱ゲルにおいても観察され, E-64は火戻りの現象を抑制した。また, 坐りゲルと坐りー加熱ゲルの凹みの経時的な変化を Fig.1(c, d)に示したが, 全体的に凹みの変化は破断強度の変化とよく似ていた。

2. サケ肉糊の坐りゲル及び坐りー加熱ゲルの物性に与えるE-64添加の影響

サケすり身から調製された肉糊を $10\sim 60^{\circ}\text{C}$ で加熱し, 坐りゲルと坐りー加熱ゲルの破断強度の経時的な変化を Fig.2に示した。まず, E-64を含まない坐りゲルの経時的変化(a)によると, 10°C と 30°C 加熱ではゲル化せず, 40°C 加熱では破断強度が徐々に増加したがその増加量は小さかった。 60°C 加熱では加熱後急激に破断強度が増加し, その後僅かに減少した。次にE-64存在下の坐りゲルの結果(c)によると, 10°C 加熱では全くゲル化しなかったが, 30°C 加熱では破断強度が僅かに増加した。 40°C と 60°C 加熱ではE-64を含まないゲルと比べて破断強度の増加量は明らかに大きくなり, 40°C 加熱では破断強度がほぼ最大となる加熱3時間後ではE-64を含ま

ないときの約2.6倍, 60℃では1時間後で約1.2倍となった。

E-64を含まない坐りー加熱ゲルの破断強度の経時的变化(b)によると, 10℃加温では加温後も直接加熱した坐りー加熱ゲル(0時間)とほぼ同じ値で推移したが, 30~60℃加温では破断強度はいずれも加温後減少した。このときの減少量の大きさは30℃加温(加温6時間後では加温前の41%)が最も大きく, 次いで40℃(同57%), 60℃(同70%)の順位であった。一方, E-64存在下の坐りー加熱ゲルの経時的变化(d)によると, 60℃加温では破断強度が若干減少したが, 40℃以下で加温

したゲルは加温後も直接加熱したゲル(0時間)の破断強度とほぼ同じ数値で推移した。なお, 図示しないが10℃では48時間まで継続して加温したが, 坐りゲルについてはE-64の有無に関係なくいずれもゲル化せず, 坐りー加熱ゲルの破断強度及び次に述べる凹みもほとんど変化がなかった。

サケ肉糊を10~60℃で加温し, 坐りゲルと坐りー加熱ゲルの凹みの変化をFig. 3に示した。これによると, 凹みの経時的变化は全体的に破断強度の変化とよく似ていたが, 坐りゲルでは30℃(E-64存在下)と40℃加温の増加量が破断強度の変化と比較して相対的に大き

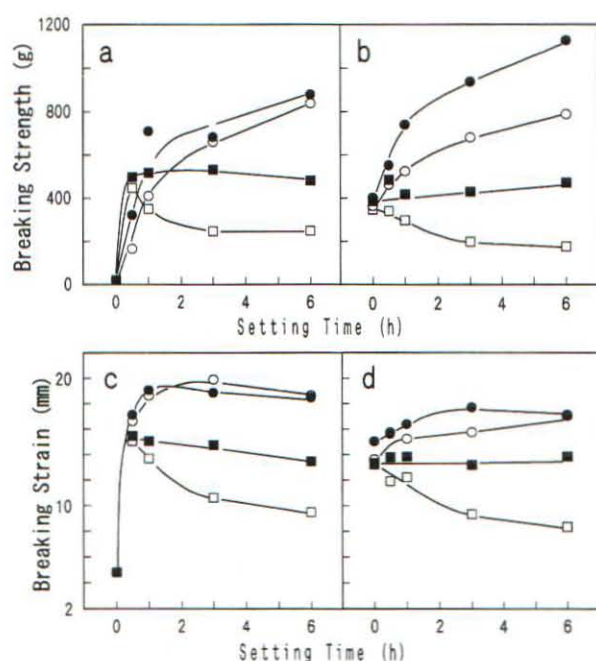


Fig.1. Changes in breaking strength and breaking strain of gels by setting and setting-heating from salted surimi paste of walleye pollock.

Surimi of walleye pollock was adjusted to pH 7.0, mixed with and without E-64, and with 10% distilled water. Content of E-64 added was 32.33 $\mu\text{g/g}$ salted surimi paste. The surimi thus prepared was chopped with 3% NaCl in a chilled speed cutter at 5 °C for 2min. The salted surimi paste was then stuffed into plastic vessel (ϕ 30mm) with a cover and incubated at 30 and 60 °C to prepare setting gel. It was subsequently heated at 90 °C for 30min to prepare setting-heating gel. The setting gel and setting-heating gel thus formed were sliced at 25mm thickness and measured breaking strength and breaking strain with a rheometer equipped with a ϕ 5mm spherical plunger. Breaking strength was evaluated as load value (g) from the breaking point and breaking strain was expressed as length of penetration (mm).

Temperatures for setting were (○, ●), 30 and (□, ■), 60 °C.

(a), (b); Breaking strength. (c), (d); Breaking strain.

(a), (c); Setting gel. (b), (d); Setting-heating gel.

(○), (□); Without E-64. (●), (■); With E-64.

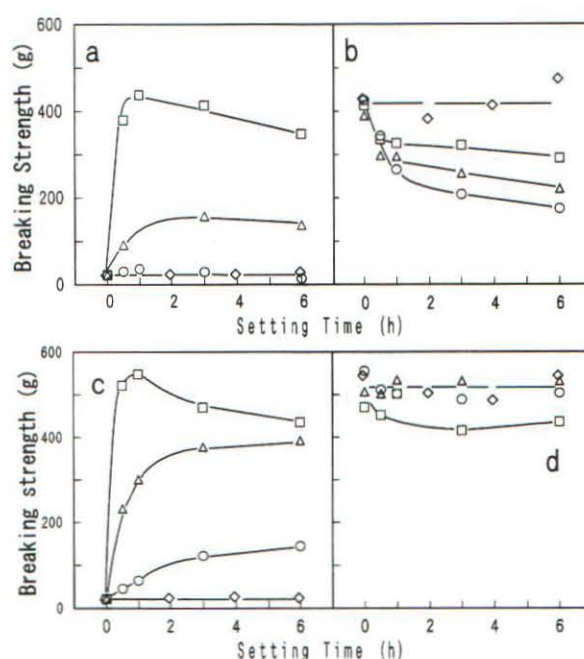


Fig.2. Changes in breaking strength of gels by setting and setting-heating from salted surimi paste of chum salmon.

The preparations of setting gel and setting-heating gel were conducted as in Fig.1.

Temperatures for setting were (◇) 10, (○) 30, (△) 40, and (□) 60 °C.

(a), (b); Without E-64. (c), (d); With E-64.

(a), (c); Setting gel. (b), (d); Setting-heating gel.

い点が異なっていた。

以上のサケ肉糊の結果から, 坐りゲルではE-64を含まないときには40℃以上で, E-64存在上では30℃以上でゲル化すること, 坐り一加熱ゲルでは特に30℃と40℃で加熱した場合にゲル劣化(戻り)が著しいが, E-64存在下ではこのゲル劣化をほぼ完全に抑制することが明らかとなった。ただし, 坐りの効果はE-64の存在下においてもまたいずれの加熱温度によっても認められなかった。

3. 坐りゲル中の筋原線維タンパク質サブユニット組成の経時変化

スケトウダラ肉糊については30℃と60℃, サケ肉糊

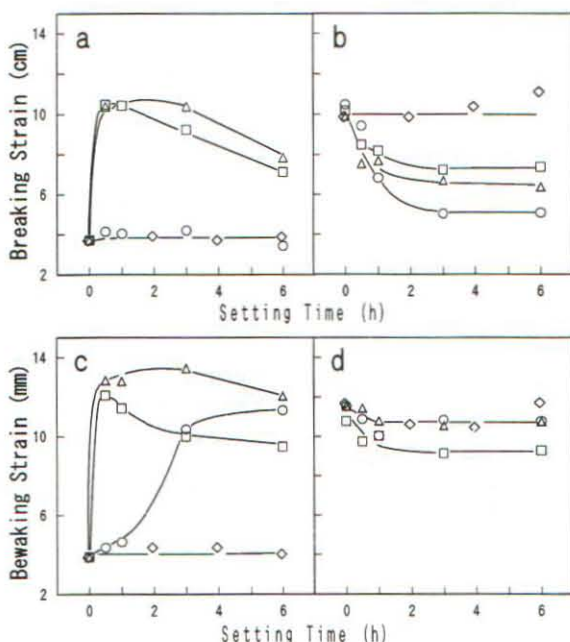


Fig.3. Changes in breaking strain of gels by setting and setting-heating from salted surimi paste of chum salmon.

The preparation of setting gel and setting-heating gel were conducted as in Fig.1.

(a), (b); Without E-64. (c), (d); With E-64.

(a), (c); Setting gel. (b), (d); Setting-heating gel.

Symbols are the same as in Fig.2.

については10℃~60℃で加熱し, 坐りゲルを経時的にSDS-尿素溶液に溶解したところ, いずれも可溶化率はほぼ100%であった。次に可溶化したタンパク質の成分組成の変化を1.8%と5%ポリアクリルアミドを用いて分析し, SDS-PAGE図をFig. 4に示した。まず, 1.8%ポリアクリルアミドを用いた場合, 30℃でスケトウダラ肉糊を加熱すると, E-64の有無に関係なくミオシン重鎖(HC)より移動度が小さくHCが多量化したと考えられる成分((HC)n)の生成が認められ, その生成量はE-64存在下の方がやや多かった(a)。一方, サケ(b)ではE-64を含まない場合にはHCが減少し, 6時間後にはほとんど消失した。このとき(HC)nの生成は観察されなかった。E-64存在下では加熱前後でHCを含めた各成分に大きな変化がなく, (HC)n成分の生成も認められなかった。また, 60℃加熱(c, d)ではスケトウダラ, サケともにまたE-64の有無に関係なく加熱前後で大きな変化はなかった。次にサケについて5%ポリアクリルアミドを用いて分析した結果を(e)に示した。E-64を含まない場合, 30℃と40℃加熱ではHCの減少と並行してHCとアクチンの間に泳動される未同定成分(X₁)の増加が明瞭に観察され, 10℃と60℃加熱ではいずれも加熱後僅かにX₁成分が増加していた。また, E-64存在下ではいずれの温度においても加熱前と大きな変化がなかった。

つづいて筋原線維タンパク質成分の組成変化を5%ポリアクリルアミドを使用したSDS-PAGE法により検討し, その結果をFig. 5とFig. 6に示した。まずスケトウダラの30℃で加熱した坐りゲル(Fig. 5. a, b)は, E-64の有無とは無関係にいずれもHCの急激な減少に伴って(HC)nの増加が認められ, E-64存在下の坐りゲルはE-64を含まないゲルと比べてHCの減少量が若干少なく, (HC)nの増加量がやや大きかった。また, E-64を含まない坐りゲルではX₁成分が僅かに増加した。60℃で加熱した坐りゲル(Fig. 5. c, d)は, E-64の存在と無関係にいずれもHCの減少が認められ, その減少量がE-64存在下のゲルの方が少ない点が30℃加熱と同じであるが, (HC)nに相当する成分の変化はほとんどなく, E-64を含まない坐りゲルではX₁成分が増加し, 最大値となる3時間後には加熱前の約2倍に増加した。一方, E-64を含む坐りゲルではX₁成分の増加量は僅かであった。

次にE-64を含まないサケ肉糊を10~60℃で加熱した坐りゲルの経時的タンパク質組成の変化(Fig. 6. a, c, e, g)を検討した。これによるといずれの加熱温度においても加熱後HCの減少に伴ってX₁成分の増加が観察され, (HC)n成分の新たな生成は認められなかった。さらに詳細に検討するとHCの減少量の大きさはほぼ30

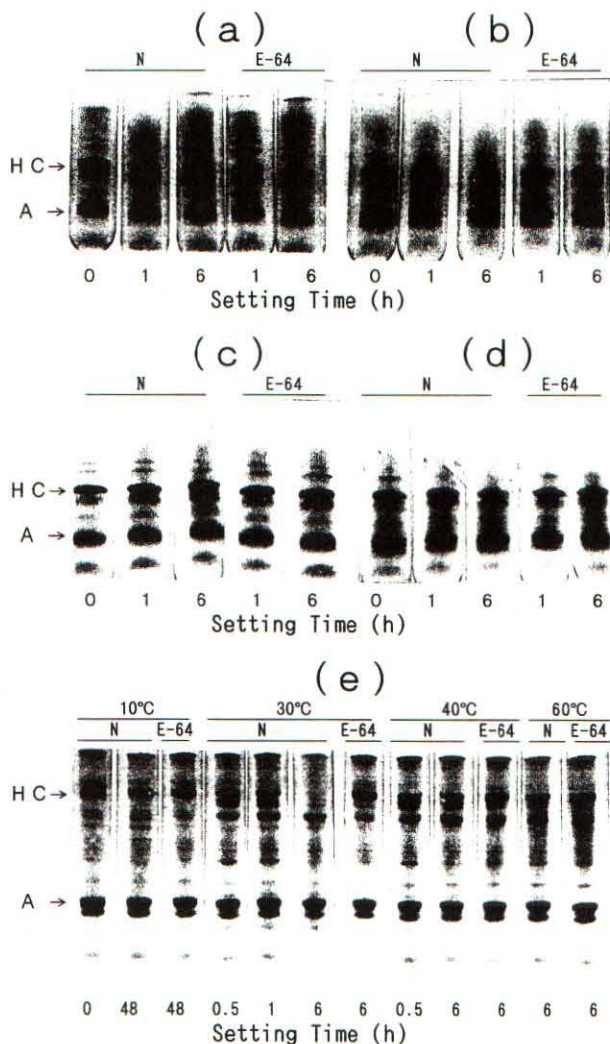


Fig.4. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of solubilized protein from the gels formed by setting from salted surimi paste of chum salmon and walleye pollock.

The gels (each 0.4g) formed by setting from salted surimi paste of chum salmon and walleye pollock were solubilized with 2% SDS-8M urea- 2% mercaptoethanol-20mM Tris-HCl buffer (pH8.0) by heating at 100 °C for 2min, followed by stirring at room temperature for 24 h. The identical aliquots (each 15 μ g protein) of the solubilized protein were applied to SDS-PAGE using 1.8% (a, b, c and d) and 5% (e) polyacrylamide gels.

The preparation of setting gel was conducted as in Fig.1.

Temperatures for the setting of salted surimi paste were (a and b), 30 °C, (c and d), 60 °C and (e), 10-60 °C.

(a), (c); Salted surimi paste of walleye pollock.

(b), (d); Salted surimi paste of chum salmon.

HC; Myosin heavy chain. A; Actin.

N; Without E-64. E-64; With E-64.

°C>40°C>60°C>10°Cとなり、X₁成分の増加量もこの順位で大きくなった。さらに30°C加温ではトロポミオシンより移動度の大きい未同定の成分(X₂)の増加も同時に観察された。一方、サケ肉糊にE-64存在下の坐りゲル中の経時的な変化(Fig. 6, b, d, f, h)を検討した結果、いずれの加温温度においてもE-64を含まないゲル特徴であったHCの減少とX₁成分の増加が抑制された。なお、坐り一加熱ゲルについても坐りゲルと同じ方法で可溶化し、SDS-PAGE法により検討したところ、坐りゲルとほぼ同じ結果が得られた。

考 察

性成熟が進んだサケの筋肉中には、強いプロテアーゼ作用を持つ自己消化酵素が存在し^{1, 2)}、このプロテアーゼ(主にカテプシンLと推定されている)は筋原線維タンパク質の主成分であるミオシンを含む筋肉構成タンパク質を速やかに分解することが報告されている^{3, 4)}。サケから調製した肉糊を30°C付近で加温すると、著しいHCの減少とX₁及びX₂成分の増加がみられ、システインプロテアーゼインヒビターであるE-64の存在下ではこの変化が強く抑制されることから、E-64を含まない肉糊のHCは、加温中に上に述べたプロテアーゼの作用を受けたものと推定される。また、サケ肉糊のHCの減少度合いは、坐り一加熱ゲルの破断強度あるいは凹みの減少度合いとよく対応していることから、坐り一加熱ゲルにみられるゲル劣化はサケ筋肉中に存在するプロテアーゼの作用と密接な関係があることが示唆された。

スケトウダラすり身の肉糊を低温で加温するとHC間に交差結合反応が起こり、HCの多量体が形成され、この反応は坐りに伴う破断強度の増加と良く対応することが知られている^{8, 9)}。さきに西本ら¹⁰⁾は、サケの落とし身とすり身から肉糊を調製し、25°Cと40°Cで加温したとき、いずれも坐り一加熱ゲルの物性は変化せず、またHCの多量体も生成せず、サケとスケトウダラとは異なる坐り反応を起こすことを示した。本実験の結果から、E-64の存在下においてもまた10~60°Cのいずれの温度においても多量体が生成しないことが上記と一致しているが、30°Cあるいは40°Cで加温した場合、その坐り一加熱ゲルは、いずれもゲルが劣化した点が異なっていた。サケ筋肉の自己消化活性は前述したようにその成熟度によって大きく異なることが知られているため、この相違はおそらく原料の成熟度の違いかあるいは個体差によるものと考えられる。

スケトウダラにみられる坐り工程中のHCの多量化反応は、肉中に存在するトランスグルタミナーゼ(TG-ase)

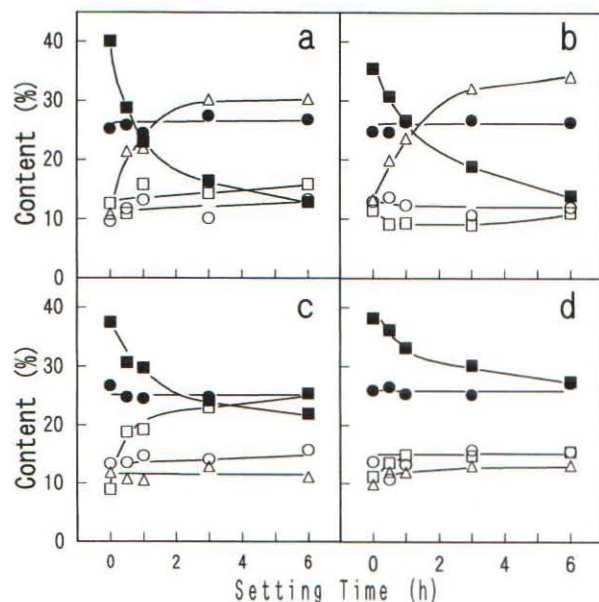


Fig.5. Changes in subunit composition of myofibrillar protein in setting gel at 30 and 60 °C from salted surimi paste of walleye pollock.

The identical aliquots (each 15 μ g protein) of the protein solubilized as showed in Fig.4 were applied to SDS-PAGE using 5% polyacrylamide gels, and stained by Coomassie Brilliant Blue R. The protein on gel rod was determined by measuring the difference of absorbances at 640 and 700nm with a densitometer, and the content of each component was expressed as a relative value (%), taking the total amount of protein supplied as 100%.

The preparation of setting gel was conducted as in Fig.1.

Temperatures for setting were (a and b), 30 °C and (c and d), 60 °C.

(a), (c); Without E-64. (b), (d); With E-64

(■); Myosin heavy chain, (HC).

(□); Components migrating between HC and actin, (HC>X>A).

(●); Actin + tropomyosin.

(○); Component migrating faster than tropomyosin, (TM>X).

(△); Cross-linked myosin heavy chain, migrating into 5% polyacrylamide gel rod, ((HC)n).

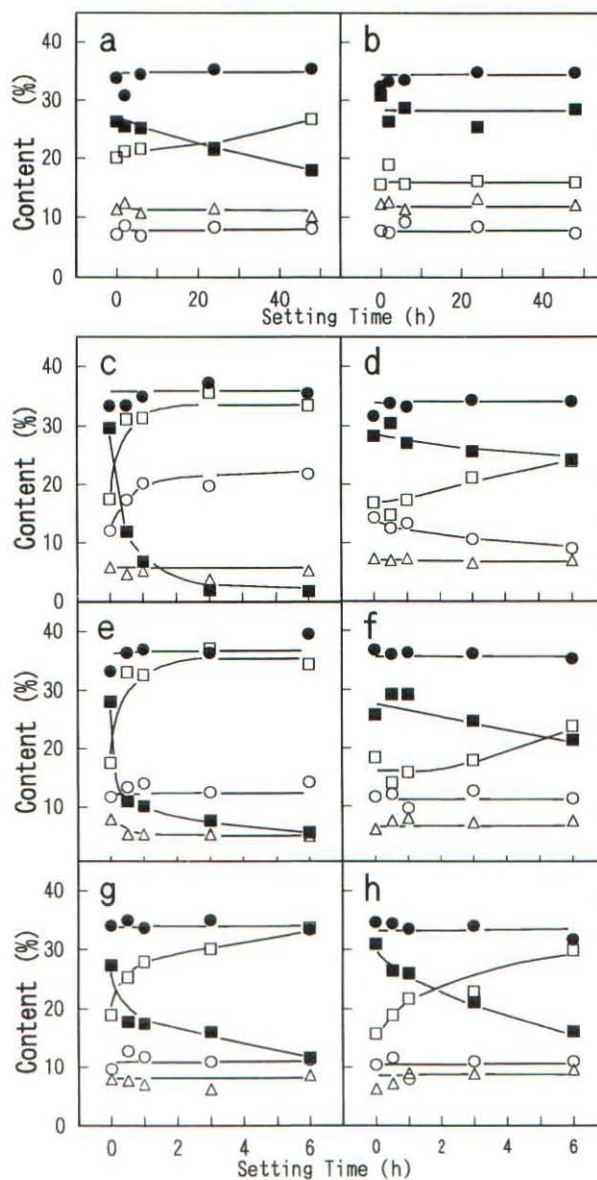


Fig.6. Changes in subunit composition of myofibrillar protein in setting gel at 10, 30, 40 and 60 °C from salted surimi paste of chum salmon.

The preparation of setting gel was conducted as in Fig.1.

The quantitative determination of subunit of myofibrillar protein was conducted as in Fig.5.

Temperatures for setting were (a and b), 10 °C, (c and d), 30 °C, (e and f), 40 °C and (g and h), 60 °C.

(a), (c), (e), (g); Without E-64. (b), (d), (f), (h); With E-64.

Symbols are the same as in Fig.5.

によって触媒されることが報告されている¹¹⁾。また、サケのアクトミオシンはTG-aseの基質として十分な交差結合能を保有し、その筋肉中(落とし身)にはスケトウダラに匹敵するほどのTG-ase活性が存在することが報告されている¹²⁾。さらに最近、サケが坐りにくい原因としてTG-aseの作用を阻害する因子がサケ筋肉中に存在する¹³⁾ことが報告された。

以上の結果から、サケすり身のゲル形成性を改善するためには、すり身への天然に存在するプロテアーゼインヒビターの添加¹⁴⁾や水晒しによるプロテアーゼの除去等によってゲル劣化を抑制することが必要であり、さらに坐りの効果を発現させるためにTG-aseを有効に作用させる方法(例えば水晒しによるTG-ase阻害因子の除去)を検討する必要がある。

要 約

サケすり身にE-64を添加した肉糊を調製し、加熱によるゲル形成性を検討した。

1. E-64を含まないサケ肉糊を10~60℃で加温後、90℃で加熱すると30℃と40℃加温後の加熱ゲルは、加温時間とともにゲル劣化(戻り)とミオシン重鎖(HC)の減少が認められた。
2. これらの現象はE-64の存在下で抑制されることから、ゲル劣化は筋肉内在性のプロテアーゼの作用によるHCの分解によるものと考えられた。
3. E-64存在下においても10~60℃の加温による坐りの効果は認められなかった。

文 献

- 1) Konagaya, S.: Enhanced protease activity in muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during spawning migration. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48 (10), 1503 (1982)
- 2) 錦織孝史, 高橋玄夫: 釧路沿岸で漁獲されるサケ筋肉中の自己消化. 北海道立水産試験場研究報告, 45, 57-64 (1994)
- 3) Yamashita, M. and Konagaya, S.: Participation of cathepsin L into extensive softening of the muscle of chum salmon caught during spawning migration. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 (8), 1271-1277 (1990)
- 4) Yamashita, M. and Konagaya, S.: Hydrolytic action of salmon cathepsins B and L to muscle structural proteins in respect of muscle softening. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (10), 1917-1922 (1991)
- 5) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: スケトウダラ肉糊の坐り中に起こるミオシン重鎖とゲル強度の変化に影響する要因. *日水誌*, 53 (11), 2011-2027 (1987)
- 6) Gornal, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M.: Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177, 751-766 (1949)
- 7) Weber, K. and Osborn, M.: The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412 (1969)
- 8) 沼倉忠弘, 関伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 坐りによる肉糊のゲル形成とミオシンの交差結合反応. *日水誌*, 51 (9), 1559-1565 (1985)
- 9) 沼倉忠弘, 関伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 坐りに伴う塩ずり肉たんばく質のSDS-ゲル濾過図の変化. *日水誌*, 53 (11), 2045-2049 (1987)
- 10) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関伸夫, 新井健一: 二種の魚の混合肉糊の坐りとミオシン重鎖の交差結合. *日水誌*, 54 (7), 1227-1235 (1988)
- 11) 関伸夫, 宇野秀樹, 季南赫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: スケトウダラ筋肉およびすり身中のトランスグルタミナーゼ活性とミオシンBとの反応. *日水誌*, 56 (1), 125-132 (1990)
- 12) Araki, H. and Seki, N.: Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosins. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (4), 711-716 (1993)
- 13) 万建榮, 木村郁夫, 佐竹幹男, 関伸夫: 平成6年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p279
- 14) 逸見光, 山下倫明, 西岡不二男, 小長谷史郎: 平成6年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p344

オホーツク海で獲れた産卵中のキチジ (短報)

國 廣 靖 志*

A spawning kichiji rockfish, *Sebastolobus macrochir* Günther, caught in the Sea of Okhotsk.

Yasushi KUNIHIO*

キーワード: キチジ

北海道太平洋側のキチジは、多回産卵であり1つの産卵期に2回の産卵を行うことが知られている¹⁾。オホーツク海側においても、産卵中の多回産卵を示すめずらしいキチジが漁獲されたので、その観察結果を報告する。

このキチジは、1995年6月5日に、網走のキチジ延縄船、第18勝喜丸(中村漁業)により北見大和堆の水深850m付近で漁獲され、水試に搬入されたものである。

搬入時の外観は、透明なゼラチン状卵塊が泌尿生殖口からやや突出した状態であった。このため、この個体は産卵中あるいは産卵直前であると判断された²⁻⁴⁾。その後、標本を移動させたため卵塊の一部が体外に約25cm流出した(図1)。このゼラチン状卵塊の中には、排卵期¹⁾と思われる卵径約1.30mmの透明卵が貯留されていた(図2)。また、腹腔内には、体外に流出したゼラチン状卵塊の中に淡黄色の不透明な卵塊が確認された(図3)。この卵塊中の卵は、卵径が約0.63mmの不透明卵で占められ、肉眼によっても明瞭に卵粒が確認できた(図4)。この卵は卵黄形成がかなり進んだ状態で、卵黄球後期¹⁾に相当すると思われた。但し、透明卵は認められなかった。

従って、この個体は発生段階の異なる2種類の卵塊をもち、さらにゼラチン状卵塊は容易に体外に流出または摘出できることから、これらの卵塊は分離した状態であると思われた(図5)。このことから、この個体は少なくとも2回続けて産卵を行い、1回目の産卵中あるいは産卵直前の個体であることが示唆された。また、産出後のゼラチン状卵塊は中が空洞状となり、

産卵後の腹腔内には卵黄球後期以降の不透明卵塊が残ることも観察された。

オホーツク海において、1回目の産卵中と推定されるキチジが確認されたのは初めてである。

対照例として、2回目の産卵の直前と思われる卵塊を図6に示した。これは北見大和堆で先述の標本と同時期(1995年5月22日)に漁獲されたものである。この卵塊は、透明卵を貯留したゼラチン状であるが、この卵塊の中には不透明な卵塊はみられていない。この対照例のような完熟状態の個体も、その数量は極めて少ない。

最後に、この標本を提供して頂いた第18勝喜丸の方々に厚くお礼申し上げる。

文 献

- 1) 古屋康則, 濱津友紀: 道東太平洋海域におけるキチジの生殖腺の発達. GSK北日本底魚部会報, 27, 59-76(1994)
- 2) 北水研, 北水試: (4)産卵期の推定, Bキチジ. 北海道区資源調査要報, 9, 52-54(1954)
- 3) 三河政男: キチジの成熟と産卵について. GSK北日本底魚部会報, 16, 42-52(1981)
- 4) 杉本 匡: 深海性魚類の飼育I, キチジ. マリンスノー, 12, 1-2(1990)

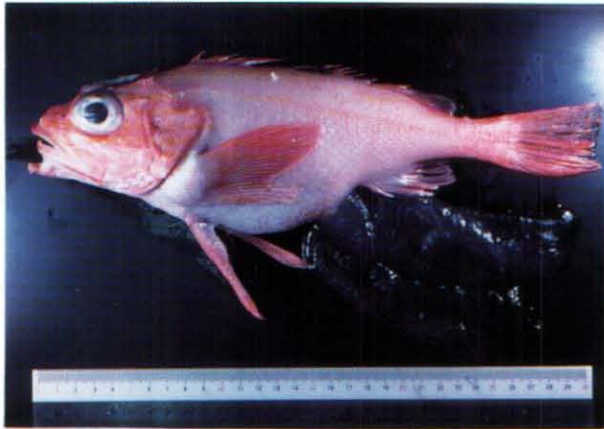


図1 オホーツク海で獲れた産卵中のキチジ

(Fig.1. Spawning kitiji rockfish, *Sebastolobus macrochir* Günter, caught in the Sea of Okhotsk.)

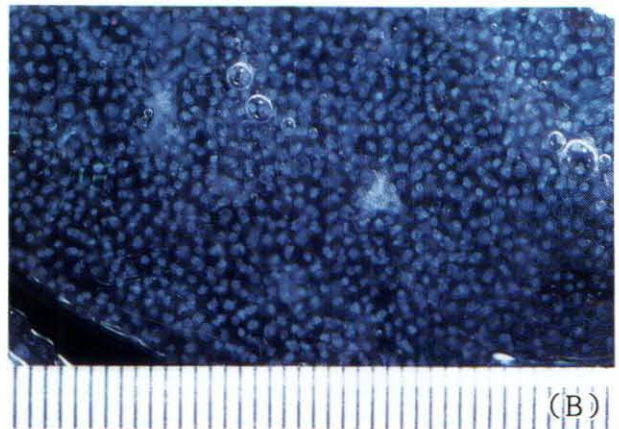


図2 体外に突出（流出）したゼラチン状卵塊（A）と卵塊中の透明卵（B）

(Fig.2. Gelatinized ovary protruded outside a baby (A) and transparent eggs enbeded in the ovary (B).)

→← 1 mm

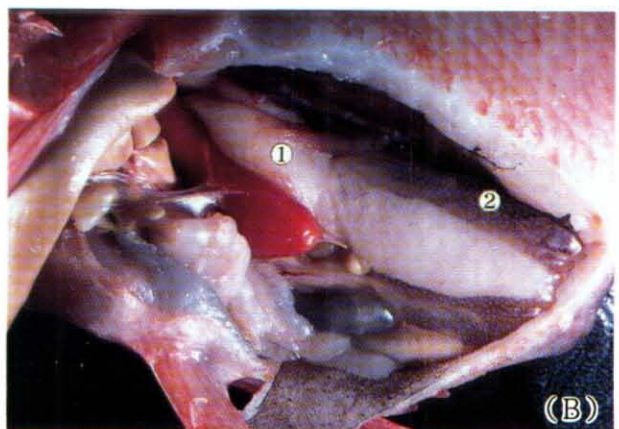
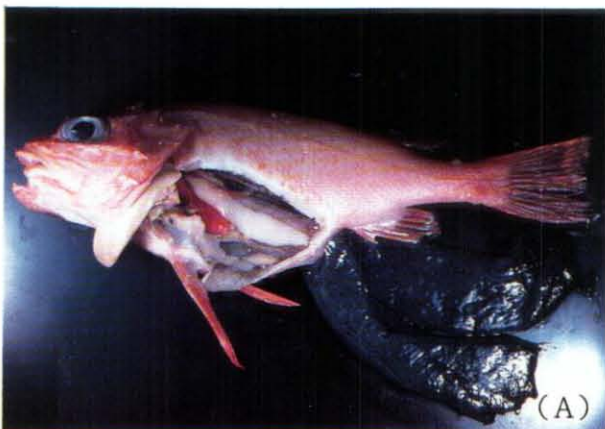
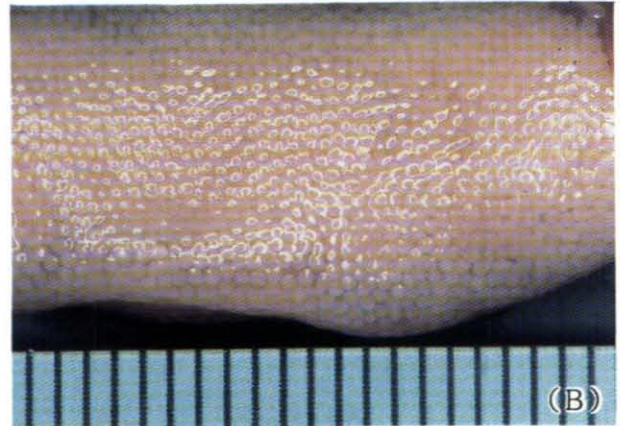


図3 開腹状態（A）と腹腔中の不透明卵塊およびゼラチン状卵塊（B）

①：不透明卵塊 ②：ゼラチン状卵塊

(Fig.3. Laparotomy view (A) and opaque ovary and gelatinous ovary inside a body.
①: opaque ovary ②: gelatinous ovary.)



→ | ← 1 mm

図4 不透明卵塊 (A) と卵塊中の卵 (B)
(Fig.4. Opaque ovary (A) and eggs enbeded in the ovary (B).)



図5 不透明卵塊およびゼラチン状卵塊の分離状況
①: 不透明卵塊 ②: ゼラチン状卵塊
(Fig.5. Separation View of opaque ovary and gelatinous ovary.
①: opaque ovary ②: gelatinous ovary.)

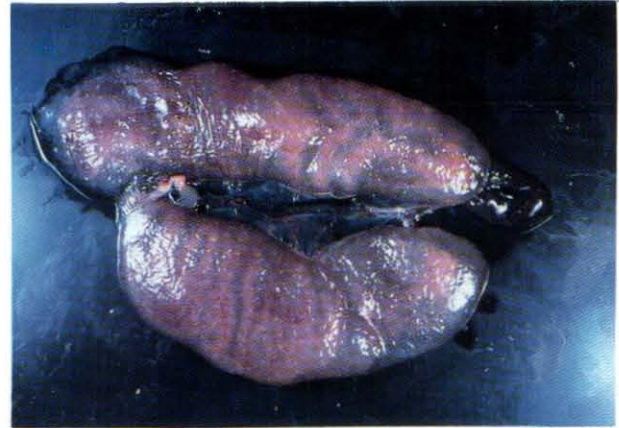


図6 ゼラチン状卵塊 (不透明卵塊なし)
(Fig.6. Gelatinized ovary without a opaque ovary.)

クロガシラガレイのふ化に及ぼす水温と塩分の影響

横山 信一, 田中正幸

1993年4月30日に能取湖で行ったクロガシラガレイの人工受精では約1億6,800万粒が採卵され, そのうちふ化盆に付着した卵は約6,800万粒と推定された。1週毎のふ化盆の観察によれば, 積算水温が100℃日となった5月20日前後に急激な付着卵の減少がみられた。

-1.0~20.0℃までの9水温区で行ったふ化実験では, 0~12.0℃までふ化がみられ, そのうち, 2.5~7.5℃でのふ化率が高かった。塩分0~40.0までの8塩分区分で行ったふ化実験では, 塩分10.0~25.0の低塩分でふ化率が高い傾向がみられた。

A256 北水試研報48 1-7 1996

サケ肉糊の戻りに及ぼす
システインプロテアーゼインヒビター(E-64)の影響

飯田 訓之, 錦 織 孝 史, 高 橋 玄 夫

サケすり身にE-64を添加した肉糊を調製し, 加熱によるゲル形成性を検討した。E-64を含まないサケ肉糊を10~60℃で加温後, 90℃で加熱すると30℃と40℃加温後の加熱ゲルは加温時間とともにゲル劣化(戻り)とミオシン重鎖(HC)の減少が認められ, E-64の存在下で抑制されることから, ゲル劣化は筋肉内在性のプロテアーゼの作用によるHCの分解によるものと考えられた。また, E-64存在下においても10~60℃の加温による坐りの効果は認められなかった。

A258 北水試研報48 19-25 1996

ヒラメ・カレイ類精液の凍結保存

齊藤 節雄

ヒラメ, カレイ類の精子を, 長期間活性を保った状態で液体窒素中に凍結保存する方法について検討した。ペレット法及びストロー法で凍結し, 魚種毎にその適否を調べた。ヒラメ, オヒョウについてはペレット法, ストロー法共に70%以上の精子活性が認められた。クロガシラガレイについては, リンゲル液を用いたペレット法でのみ, 70%以上の精子活性を示した。マガレイ, マコガレイ, マツカワ, ババガレイについてはペレット法で, 5~30%程度の精子活性が認められた。ヒラメ, オヒョウの場合, ストロー法については, 凍結速度として液体窒素液面からの高さは2 cmから4 cmが最適の距離であることがわかった。また, 希釈液として, クエン酸ナトリウム, グルコース, リンゲル液ともに有効であることもわかった。ペレット法で凍結保存したヒラメ精子を, ヒラメ未受精卵に媒精した場合, 少なくとも4,500粒の卵量までは受精率20%, 孵化率15%が期待出来た。

A257 北水試研報48 9-17 1996

オホーツク海で獲れた産卵中のキチジ(短報)

國 廣 靖 志

オホーツク海で産卵中の多回産卵を示すキチジが初めて観察された。この個体は, 透明なゼラチン状卵塊が泌尿生殖口からやや突出した状態であり, 産卵中あるいは産卵直前であると判断された。これとは別に腹腔内には, ゼラチン状卵塊の中に, 卵黄形成が進んだ不透明な卵塊が確認された。この結果, この個体は少なくとも2回続けて産卵を行い, 1回目の産卵中あるいは産卵直前の個体であると思われた。

A259 北水試研報48 27-29 1996

北海道立水産試験場研究報告 第48号

1996年3月25日 発行

編集兼 北海道立中央水産試験場

発行者 〒046 北海道余市郡余市町浜中町238

電 話 総合案内 0135(23)7451(総務課)
図書案内 0135(23)8705(企画情報室)

F A X 0135(23)3141

Hamanaka-cho 238, Yoichi-cho, Hokkaido 046, Japan

印刷所 毛 利 印 刷 株 式 会 社

余市町大川町1丁目26

電話 (0135) 22-5640
