

学位論文題名

人為催熟ニホンウナギの卵質改善に関する研究

学位論文内容の要旨

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) は日本を含む東アジアにおける重要な水産資源である。しかし、種苗として用いられるシラスウナギの資源量は年々減少しており、資源の保全と養鰻業の安定化のために、ウナギの人工種苗生産技術の開発が強く望まれている。人工種苗生産のためには成熟した親魚を確保する必要があるが、ウナギは飼育環境下では性成熟せず、卵巢の発達は一卵黄形成期から卵黄形成初期で停止する。現在のウナギ催熟方法は、雌に対してはサケ脳下垂体抽出物 (SPE) を週1回連続注射することで卵巢のエストロゲン合成を促して卵黄形成を進行させ、2~3ヵ月後に、核移動期に達した個体にSPEのプライミングと卵成熟誘起ステロイドである $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) を注射することで卵成熟および排卵を誘導している。しかし、このような人為催熟法で得られる卵は、受精率や孵化率が低い場合が多く、大幅な卵質改善が望まれている。

最近、飼育環境下の雌化養成ウナギの卵巢発達度に周年変化があることが報告されたが、このような養成ウナギを催熟し、卵質の周年変化を詳細に調べた例はない。また、ウナギの人為催熟の際、ホルモン投与量が成熟率に影響することも報告されている。一方、天然ニホンウナギの産卵回遊過程における水温、光条件および水圧などの物理環境は不明であるが、これら環境要因がウナギの卵黄形成および卵成熟の進行に影響を及ぼすと考えられる。しかし、飼育水温が催熟前親魚の卵母細胞の発達および人為催熟によって得られる卵の卵質に及ぼす影響を調べた研究はない。飼育下での雌ウナギの卵巢発達は秋季の水温低下や短日化により促進されるが、その発達程度には大きな個体差がみられる。このような同じ環境条件下における個体ごとの反応性の相違は遺伝的形質である可能性がある。最近、水産総合研究センターにおいて完全養殖が初めて成し遂げられ、遂にウナギでも育種の道が拓かれた。従って、飼育環境下で生殖腺ができるだけ発達する個体を親魚として用い選抜育種することで、将来、人為催熟処理を施すことなしに成熟に至る個体を得られるかもしれない。しかし、卵の場合は凍結保存が難しく、代わりに採卵した個体を生かして複数回採卵できるようにすれば、雌魚の優良形質の保存に役立つ。

そこで、本研究では、人為催熟ニホンウナギの卵質改善を目的として、(1) 雌化養成ウナギを用い、秋、冬と翌年春にそれぞれ人為催熟を開始し、催熟開始時期、ならびに SPE

投与濃度が卵質に及ぼす影響を検討するとともに、(2) 低水温 (15℃) と高水温 (20℃) の催熟環境を設け、卵質に及ぼす催熟水温の影響を検討した。(1) の結果から、春季には卵母細胞の退行が多くみられ、人為催熟により得られた卵の卵質も悪いことが判明したため、(3) 春季の卵母細胞退行を抑止するため、2 月から 4 月にかけて、月 1 回の SPE 投与を行ない、これら雌親魚を人為催熟することで春季催熟技術の改善を試みた。また、(4) 採卵後の親魚を生残させ、淡水環境下で 1~2 年体力回復させた後に複数回採卵を試みた。

(1) 卵質に及ぼす催熟開始時期およびサケ脳下垂体抽出物 (SPE) 投与濃度の影響

飼育環境下では、10 月からの水温低下に伴い、ウナギは摂餌を停止した。催熟開始前の平均卵径およびステージは、9 月で約 170 μm の油球期、12 月は約 210 μm の卵黄形成初期に達したが、翌年の 4 月には、約 210 μm で変わらず、卵巣中の最大卵群の卵母細胞が退行した。この季節的な卵母細胞の発達変動は、秋季の水温の低下および短日化によって調節されていると考えられた。

春季催熟開始群においては、高濃度 (30 mg/kg-BW) SPE 処理においても 70 % の個体が最終成熟に達したにすぎず、かつ排卵された卵の受精率も極めて低かった。即ち、春季催熟開始の場合は卵質が極めて悪く、秋季催熟開始では比較的良質な卵が得られる傾向が認められた。

低濃度 (15 mg/kg-BW) SPE 処理と高濃度 (30 mg/kg-BW) SPE 処理が人為催熟に及ぼす影響を検討した結果、低濃度処理群に比べ、高濃度処理群では成熟率が高いことが示された。また、季節に関係なく、低濃度 SPE 処理群より高濃度 SPE 処理群の方が卵質が高い傾向にあった。しかし、逆に、低濃度 SPE 処理群の方が卵質が良い場合もあった。これは、催熟前の卵巣が発達していたために、高濃度 SPE 処理群では反応が早すぎ、プライミングや DHP 注射のタイミングが把握しにくくなった可能性がある。

(2) 卵質に及ぼす催熟水温の影響

卵母細胞が核移動期に達するまでの SPE 注射回数は高水温で少なく、低水温で多くなった。すなわち、卵母細胞が核移動期まで発達するためには、水温 20℃ で催熟すると 2 ヶ月程度、水温 15℃ で催熟すると 3 ヶ月程度要した。天然ウナギが産卵場に移動するのも 3 ヶ月以上要していると思われることから、催熟水温は 20℃ より 15℃ の方が天然状態に近いと考えられた。

また、いずれの催熟開始群においても、高水温群より低水温群の方が良質卵が多かった。その理由は、卵母細胞の発達スピードが適度に遅くなったため、プライミングや DHP 注射のタイミングが把握しやすく、過熟卵や濁卵になるのを防ぐことができたためと考えられた。

(3) 春季催熟技術の改善

飼育条件下で春季にみられる退行を防ぎ、春季でも良質卵を得るためには、外因性生殖

腺刺激ホルモン (GTH) 処理が有効と思われたため、淡水養成期の 2 月から 4 月にかけて、SPE 注射を行ない、これらの雌親魚を人為催熟することで春季催熟技術の改善を試みた。その結果、外因性 GTH 処理により、春季の卵巢退行は抑制でき、催熟処理による成熟率は向上したが、顕著な卵質改善はみられなかった。その主な原因としては、催熟開始前に、実験魚の体力が消耗したためと考えられた。

(4) 採卵後親魚を用いた複数回採卵の試み

採卵後の個体は催熟開始前に比べ体重が大幅に減少したが、1~2 年間の飼育により、体重は増加し、卵巢発達ステージも再び油球期に達し、再採卵が可能となる個体もみられた。採卵後 1 年の個体の多くは、卵巢中に退行卵由来と考えられるエオシン陽性のコロイド様物質を含む濾胞構造が観察され、卵母細胞の卵径は小さい傾向にあった。従って、採卵後の 1 年間の淡水飼育中に、排卵後卵巢中に存在する卵黄形成中の卵母細胞は退行し、新たに卵原細胞あるいは極めて初期の卵母細胞が成長してくると思われた。採卵後 2 年の個体では、卵巢中に退行卵由来の濾胞構造は観察されず、卵組成も初回の催熟開始前のように完全に回復し、人為催熟により採卵でき、受精卵および孵化仔魚も得られた。従って、少なくとも本研究の飼育条件では、採卵後の親魚の卵巢中に残留する卵母細胞が退行、消失するのに 1 年以上要すると思われた。また、残留卵の退行と並行して新たに卵母細胞の供給と成長が起こっていると考えられた。

以上、本研究では、ウナギの卵質に影響を及ぼす因子は非常に多く、催熟前の卵巢発達度、催熟のためのホルモン投与濃度、催熟水温、プライミングや排卵誘導のタイミング、ストレスや体力などがあることを示し、これら多くの因子を考慮し、飼育環境や催熟方法を調節することが、卵質改善に必要であることを提案した。さらに、採卵後の雌親魚を生存させ、複数回採卵し、受精卵および孵化仔魚を得られることを初めて明らかにした。これらのことを総合的に判断し、催熟方法の調節や選抜育種をすることで、さらに効率的なウナギ人工種苗生産技術の確立に繋がるであろう。

学位論文審査の要旨

主査	特任教授	原	彰彦
副査	教授	足立	伸次
副査	准教授	井尻	成保
副査	准教授	東藤	孝
副査	助教	平松	尚志

学位論文題名

人為催熟ニホンウナギの卵質改善に関する研究

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) は日本を含む東アジアにおける重要な水産資源である。しかし、種苗として用いられるシラスウナギの資源量は年々減少しており、資源の保全と養鰻業の安定化のために、ウナギの人工種苗生産技術の開発が強く望まれている。人工種苗生産のためには成熟した親魚を確保する必要があるが、ウナギは飼育環境下では性成熟せず、卵巢の発達は前卵黄形成期から卵黄形成初期で停止する。現在のウナギ催熟方法は、雌に対してはサケ脳下垂体抽出物 (SPE) を週1回連続注射することで卵巢のエストロゲン合成を促して卵黄形成を進行させ、2~3ヵ月後に、核移動期に達した個体にSPEのプライミングと卵成熟誘起ステロイドである $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) を注射することで卵成熟および排卵を誘導している。しかし、このような人為催熟法で得られる卵は、受精率や孵化率が低い場合が多く、大幅な卵質改善が望まれている。

最近、飼育環境下の雌化養成ウナギの卵巢発達度に周年変化があることが報告されたが、このような養成ウナギを催熟し、卵質の周年変化を詳細に調べた例はない。また、ウナギの人為催熟の際、ホルモン投与量や水温が卵質に及ぼす影響を調べた研究はない。飼育下での雌ウナギの卵巢発達は秋季の水温低下や短日化により促進されるが、その発達程度には大きな個体差がみられる。このような同じ環境条件下における個体ごとの反応性の相違は遺伝的形質である可能性がある。従って、飼育環境下で生殖腺ができるだけ発達する個体を親魚として用い選抜育種することで、将来、人為催熟処理を施すことなしに成熟に至る個体が得られるかもしれない。しかし、卵の場合は凍結保存が難しく、代わりに採卵した個体を生かして複数回採卵できるようにすれば、雌魚の優良形質の保存に役立つ。

そこで本研究では、人為催熟ニホンウナギの卵質改善を目的として、(1) 雌化養成ウナ

ギを用い、秋、冬と翌年春にそれぞれ人為催熟を開始し、催熟開始時期、ならびに SPE 投与濃度が卵質に及ぼす影響を検討するとともに、(2) 低水温 (15℃) と高水温 (20℃) の催熟環境を設け、卵質に及ぼす催熟水温の影響を検討した。(1) の結果から、春季には卵母細胞の退行が多くみられ、人為催熟により得られた卵の卵質も悪いことが判明したため、(3) 春季の卵母細胞退行を抑止するため、2 月から 4 月にかけて、月 1 回の SPE 投与を行ない、これら雌親魚を人為催熟することで春季催熟技術の改善を試みた。また、(4) 採卵後の親魚を生残させ、淡水環境下で 1~2 年体力回復させた後に複数回採卵を試みた。

(1) 卵質に及ぼす催熟開始時期およびサケ脳下垂体抽出物 (SPE) 投与濃度の影響

春季催熟開始の場合は卵質が極めて悪く、秋季催熟開始では比較的良質な卵が得られる傾向が認められた。低濃度 (15 mg/kg-BW) SPE 処理と高濃度 (30 mg/kg-BW) SPE 処理が人為催熟に及ぼす影響を検討した結果、低濃度処理群に比べ、高濃度処理群では成熟率が高いことが示された。

(2) 卵質に及ぼす催熟水温の影響

催熟水温は 20℃より 15℃の方が良質卵が多かった。その理由は、卵母細胞の発達スピードが適度に遅くなったため、プライミングや卵成熟誘起ステロイド注射のタイミングが把握しやすく、過熟卵や濁卵になるのを防ぐことができたためと考えられた。

(3) 春季催熟技術の改善

SPE 処理により、春季の卵巣退行は抑制でき、催熟処理による成熟率は向上したが、顕著な卵質改善はみられなかった。その主な原因としては、催熟開始前に、実験魚の体力が消耗したためと考えられた。

(4) 採卵後親魚を用いた複数回採卵の試み

採卵後の個体は催熟開始前に比べ体重が大幅に減少したが、1~2 年間の飼育により、体重は増加し、再採卵が可能となる個体もみられ、受精卵および孵化仔魚も得られた。

以上、本研究では、ウナギの卵質に影響を及ぼす因子は、催熟前の卵巣発達度、催熟のためのホルモン投与濃度、催熟水温、プライミングや排卵誘導のタイミングなどがあることを示し、これら多くの因子を考慮することが、卵質改善に必要であることを提案した。さらに、採卵後の雌親魚を生存させ、複数回採卵し、受精卵および孵化仔魚を得られることを初めて明らかにした。これらの結果はニホンウナギの人為催熟法の改善のための重要な基礎的知見を提供したものと評価され、審査員一同は申請者が博士 (水産科学) の学位を授与される資格のあるものと判定した。