HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サケ脳下垂体投与によるウナギ(Anguilla japonica)雌の成熟誘導と成熟卵の油球の状態について
Author(s)	杉本, 良郎; 武内, 良雄; 山内, 晧平; 高橋, 裕哉
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 27(3-4), 107-120
Issue Date	1976-12
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23589
Type	bulletin (article)
File Information	27(3_4)_P107-120.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
27(3·4), 107-120. 1976.

サケ脳下垂体投与によるウナギ (*Anguilla japonica*) 雌の成熟誘導と成熟卵の油球の状態について*

杉本　良郎**・武内　良雄**・山内　晧平**・高橋　裕哉**

Induced Maturation of Female Japanese Eels (*Anguilla japonica*) by Administration of Salmon Pituitaries, with Notes on Changes of Oil Droplets in Eggs of Matured Eels*

Yoshio SUGIMOTO**, Yoshio TAKEUCHI**, Kouhei YAMAUCHI** and Hiroya TAKAHASHI**

Abstract

Silver forms of female Japanese eels, 42 fish in total, were induced to be matured through weekly injections of one or two acetone-dried, chum salmon pituitaries beginning in October 1975. About 80% of the 27 fish that survived more than 8 injections revealed a distinct ovarian maturation and a marked increase in their body weight. The gonadosomatic indices (GSI) of these matured eels ranged from about 40 to 70. Among them, 5 specimens could spontaneously spawn their eggs after 9 to 12 injections. But the eggs appeared to be overripe except those of a specimen which could develop normally, following artificial fertilization, to hatch and to yield pre-leptocephalus larvae.

Changes in the weight of the body, ovary and liver of the fish during the course of induced maturation were analysed. As a result, it was presumed that the artificial induction of ovarian maturation and ovulation might be expected to gain a good result in cases where the treated fish did not show any notable increase or decrease in body weight before they displayed a rapid and marked increase in body weight during a period of one or two weeks prior to the expected ovulation. The eggs of the fish which could not ovulate in spite of the increase in body weight were seen to enter rather promptly into the condition of progressive overripeness followed by a loss of their fertilizing and developing capabilities. A necessity for the application of some effective ovulation stimulators to these fish at the appropriate stage of maturation was considered.

The behaviour of intraooplasmic oil droplets was examined in relation to the induced maturation of the eel eggs. The oil droplets in the eggs just prior to the final maturation were small and relatively even in size, and were dispersed through the ooplasm. Shortly after fertilization, they were observed to form an aggregation, shifting slightly to the vegetable pole of the egg. As the cleavage began and progressed, the oil droplets came to fuse together to form a large globule with closely associated small droplets up to the morula stage at latest. They were eventually changed into a large, prominent globule located near the vegetable pole at the stage of embryonic body formation. In the eggs

* 本研究の一部は文部省科学研究費補助金によってなされた。
** 北海道大学水産学部淡水増殖学講座
(*Laboratory of Fresh-Water Fish-Culture, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

that were retained unovulated in the ovaries after their full maturation, and in those that were spawned successfully but did not succeed in continuing normal development as well, the oil droplets had already been in the process of their fusion toward the appearance of a large oil globule. Such a fusion of oil droplets was regarded as a sign of the occurrence of egg overripeness which was responsible for the failure of the achievement of normal fertilization and development. It was suggested that the state of intraooplasmic oil droplets might reflect the degree of physiological maturation of the eel eggs, and that the examination of the spawned eggs and biopsied ovarian eggs in terms of the state of their oil droplets might be useful in evaluating the efficiency of artificial induction of maturation in the eel.

ホルモン投与によるニホンウナギ (*Anguilla japonica*) 雌の人為的成熟促進は以前から試みられてきている。大上・飯塚[1)2)], 石田・石井[3)], 岡ら[4)], 岡・元信[5)], および落合ら[6)] は下りウナギに哺乳類起源の生殖腺刺激ホルモン，ないしそれと性ホルモンおよびビタミン類との組合せを用いて催熟をはかっており，特に落合ら[7)] はシナホリンと合成雌性ホルモンとを併用して相当な成果をあげているが，いずれも排卵可能な成熟個体を得るには至らなかった。一方，山本ら[8)-11)] はサケ類の脳下垂体磨砕物の反復投与により，1974 年に完熟卵を得て，さらに人工受精によりふ化仔魚を得ることに成功した。その後千葉県内水面水産試験場[12)] および静岡県水産試験場浜名湖分場[13)] も同様な処理により若干の放卵個体を得たと報じており，同処置の雌ウナギの催熟における有効性を確めている。

しかし，サケ類脳下垂体の投与により成熟を促されたウナギも，そのごく少数が排卵をみせるにすぎず，また排卵された卵にも，正常な受精・発生を行い得ないものが高率に生ずる。これらは成熟促進処理のありかた，例えば投与すべき物質の種類，量，投与間隔や，処理によるウナギの生理的状態の変化にかかわるものと考えられるが，これらの解析は充分にはなされておらず，ウナギの人工種苗生産技法を確立するには，未だ多くの基礎的課題が残されている。

著者らも前記の山本ら[8)-11)] の研究に引続いてウナギの人為的成熟誘導に関する諸問題の研究を行ってきているが，1975 年から 1976 年にかけて再び催熟個体の放卵を観察し，人工受精，ふ化に成功したほか，正常発生をみせた卵における油球の動き，および正常発生能をもたぬ卵の油球の状態について若干の知見を得た。

稿をすすめるに先立ち，本研究に対し種々御助言を賜った北海道大学名誉教授山本喜一郎氏に謹んで感謝する。本研究の成果は北海道大学水産学部淡水増殖学教室の高野和則助教授をはじめ大学院生，四年目学生諸氏の多方面にわたる協力に負うところが大きい。また本研究に用いたウナギの入手に際しては青森県上北郡六ケ所村橋本勝治郎氏の御厚意を得た。これらの諸氏に深甚なる謝意を表する。

材料と方法

本研究に用いたウナギ (*Anguilla japonica*) は青森県上北郡六ケ所村字平沼を流れる河川で，1975 年の 9 月から 10 月にかけて採捕した下りウナギである。42 個体の雌を北大水産学部構内の飼育室において 1/2 海水に馴致したのち，個体毎に標識を附して，塩化ビニール製の円管を沈めたコンクリート製循環濾過式水槽内の天然海水に移し，同年 10 月下旬より 11 月上旬の間に催熟処理を開始した。処理期間を通じて自然光条件下で，水温を 18±1°C に保ち，餌は与えなかった。処理開始時の雌ウナギの体長は 54.7～82.5cm (平均 68.8cm)，体重は 350～1065g (平均 560g) であった。これらの雌ウナギには採卵ないし採精後のシロサケの脳下垂体のアセトン乾燥品を，体重 500g 毎に 1 個の割合で 0.6% 食塩水 1cc 中で磨りつぶし，週 1 回，MS-222 により軽く麻酔したウナギの背筋内に注射した。毎注射時には体重を測定して，その変化の推移を個体毎に記録した。処理開始後 8 週以上生残し

Table 1. *Induction of maturation in female Japanese eels through injections of salmon pituitaries.*

Fish no.	Date of measurements	No. of pituitaries*	No. of injections	Body weight (g) at start	Body weight (g) at end	Liver weight (HSI)** (g)	Gonad weight (GSI)*** (g)	Remarks
Initial	'75, X 20	-	-	555	-	5.4(0.98)	9.1(1.6)	Sampled
〃	〃	-	-	650	-	6.2(0.95)	12.2(1.9)	〃
6-BY	XI 11	1	3	415	430	5.6(1.29)	11.2(2.6)	Dead
3-RW	XI 12	1	3	480	510	5.7(1.12)	21.7(4.3)	〃
3-RB	XI 13	2	3	665	615	9.1(1.47)	36.9(6.0)	〃
4-YR	XI 15	1	3	380	375	4.2(1.10)	24.3(6.5)	〃
6-W	XI 17	1	3	450	485	6.4(1.32)	18.8(3.9)	〃
10-RB	XI 18	2	2	910	850	11.7(1.38)	18.9(2.2)	〃
9-W	XI 20	2	2	715	630	9.2(1.45)	21.2(3.4)	〃
10-YR	XI 24	2	2	995	915	14.1(1.54)	55.1(6.0)	〃
9-WW	XI 27	2	3	715	655	14.0(2.13)	29.4(4.5)	〃
9-BR	XI 29	2	3	1065	1050	18.2(1.73)	43.6(4.2)	Sampled
2-RY	XII 2	1	6	570	510	7.7(1.50)	48.9(9.6)	Dead
9-WY	XII 9	2	5	545	470	9.2(1.95)	25.8(5.5)	〃
9-BB	XII 10	1	5	490	520	7.5(1.44)	58.4(11.2)	〃
9-WB	XII 14	2	5	535	460	11.5(2.50)	49.3(10.7)	〃
10-WBW	〃	2	5	920	830	20.8(2.50)	64.7(7.8)	〃
4-WW	XII 27	1	9	455	-	-(-)	-(-)	Spawned
6-BB	XII 30	1	10	500	490	-(-)	62.6(12.8)	Dead
6-R	'76, I 5	1	10	465	445	10.2(2.30)	-(-)	Spawned
10-WR	I 7	2	9	610	1035	10.9(1.05)	700 (67.6)	Sampled
3-Y	I 9	1	11	525	605	21.8(3.60)	-(-)	Spawned
4-YW	〃	1	8	465	785	13.0(1.65)	516 (65.7)	Sampled
4-RW	I 13	2	12	850	1210	18.4(1.51)	770 (63.6)	〃
2-WY	I 18	1	12	465	-	7.2(-)	-(-)	Spawned
2-BR	I 20	1	13	490	730	16.0(2.19)	460 (63.0)	Sampled
2-WB	〃	1	13	480	710	13.0(1.83)	460 (64.8)	Dead
9-R	I 22	2	11	635	-	-(-)	-(-)	Spawned
2-WW	I 25	1	13	490	770	6.3(0.81)	455 (59.1)	Dead
3-BB	I 28	1	14	455	700	18.2(2.60)	345 (49.3)	〃
6-RW	II 2	2	12	655	995	17.4(1.74)	610 (61.3)	〃
6-Y	〃	1	14	350	570	5.5(0.96)	410 (72.0)	〃
4-BW	〃	1	14	490	760	-(-)	-(-)	〃
4-YB	II 3	1	15	450	515	14.9(2.89)	240 (46.6)	〃
3-RR	II 10	1	16	505	865	7.6(0.87)	750 (86.7)	〃
10-YB	II 14	2	14	560	985	15.5(1.57)	620 (62.9)	Sampled
2-YY	II 21	1	16	435	-	-(-)	-(-)	Dead
3-R	II 23	1	16	510	860	6.3(0.72)	860 (71.5)	Sampled
9-RY	〃	2	12	520	595	14.8(2.48)	240 (40.3)	〃
10-BW	〃	2	13	535	650	7.8(1.20)	290 (44.6)	〃
10-RRR	III 22	1	11	515	530	7.7(1.44)	125 (23.6)	〃
6-YY	IV 19	1	24	350	280	2.8(1.00)	6.1(2.2)	〃
3-W	〃	1	16	540	520	14.3(2.75)	110 (21.2)	〃
9-BY	〃	1	15	520	485	6.9(1.43)	135 (27.1)	〃

* Number of pituitary glands given intramuscularly to the respective fish at each of the weekly injections.

** HSI, hepatosomatic index (liver weight/body weight ×100).

*** GSI, gonadosomatic index (gonad weight/body weight ×100).

た27個体中12個体を，種々の時期に断頭屠殺し，体重，体長，肝臓重量，生殖腺重量等の計測および所定の観察を行ったのち，卵巣卵の一部をとり出して淡水硬骨魚用生理食塩水中に入れ，主としてその油球の状態を観察した。また排卵をみせた個体については，卵を搾出して，シナホリン投与[14]により成熟させた雄ウナギ3～4尾分の精液を用い，乾導法によって受精させ，その後23°Cの海水に卵を移して，その後の卵内の油球の状態の変化を観察した。

結　　果

催熟処理に伴う体重，生殖腺重量，および肝臓重量の変化

シロサケ脳下垂体の投与をうけた総計42個体および処理開始時の2個体の雌ウナギについての資料を表1に示した。これらのうち，14個体は週1回の投与6回以内に死亡した。8回以上の処理をうけた27個体は，大部分が腹部の軟化・膨脹など生殖腺の成熟の進行の兆をみせたので，うち12個体を適時屠殺して生殖腺その他の臓器の計重を行い，それらの変化の組織学的検討の材料に供した。また10個体は10～15回の投与後死亡したので，前記の死亡14個体とともに，死後経過時間の長いものを除き，所定の計測を行って資料に加えた。今回の催熟処理の結果，水槽内放卵ないし搾出によって確実な排卵をみせたものは5個体であった。すなわち個体4-WWは9回目注射の5日後，個体6-Rは10回目注射の7日後，個体9-Rおよび3-Yは11回目注射のそれぞれ3および4日後に，また個体2-WYは12回目注射の6日後に排・放卵をみせた。これらのうち，はじめの4個体の卵は後述する過熟卵の特徴をみせるものを主体としており，人工受精後正常な発生をみせたものはほとんどなかったが，他の1個体(2-WY)の卵は健全な完熟卵が多く，人工受精により正常な発生の継続およびふ化をみせ，その仔魚の一部はふ化後14日まで生存し得た[16]。また，これらの排卵個体は個体9-Rを除き，毎週脳下垂体1個の投与をうけたものであった。

排・放卵をみせた5個体の処理期間中の体重変化を図1のBに示したが，この体重変化は2つの型に分けられる。すなわち(1)体重の増加が排卵の約3週前までは初期体重の2,19,23%とほとんどなく，約2週間前に8,30,33%とやや増加率がまし，排卵に先立つ処理時に36,71,59%と著増をみせた例(それぞれ個体9-R,3-Y,4-WW)，および(2)投与回数の増加に伴う体重の増加が終始きわめて軽度であり，初期体重に対する増加率が排卵に先立つ処理時にも23,18%であった例(それぞれ個体2-WY, 6-R)である。これらのうち(1)型の全個体と(2)型の1個体の排出した卵はおおむね過熟型であり，(2)型の排卵前の処理中の体重増加が最も軽微であった個体からのみ良質の卵が得られたことは興味深く思われる。排卵に先立ち，卵巣卵の急激な吸水があり，体重の顕著な増加を伴うことはよく知られている事実であり[16)-18)]，この(2)型の個体も，排卵直前に著しい体重増加をみせたのであろうことは，(1)型の体重変化からも推測される。

一方，排卵をみせることなく死亡したもの，ないし屠殺されたもので卵巣成熟促進の確認された例のうち，代表的な3例の体重変化を図1のAに示した。これらのうち1個体(個体3-RR)は11回の投与後体重の進行的な増加をみせたが14回投与後は初期体重の62～71%増にとどまり死亡した。残り2例(個体10-YB, 9-RY)は7回投与頃から明らかな体重増加を続け，11,13回投与後にそれぞれ初期体重の84,71%増を示したのち体重減少をみせたので屠殺されたものである。これらの例に共通してみられる点は，排卵をみせた個体における如き体重の急激な増加がおこらなかった点である。すなわち，自然排卵がみられるべき個体では，排卵に先立つ1～2週の範囲内に体重の急激な増加がみられるものと推測してよいように思われる。

死亡直後の個体及び屠殺個体の生殖腺重量は脳下垂体の投与回数に関連して顕著な変化をみせた(表1および図2)。処理開始時の個体の体重100g当りの生殖腺重量(gonadosomatic index, GSI)は1.6および1.9であったが，投与回数5回後には最大11.2に達した。8回以上の投与により，排・

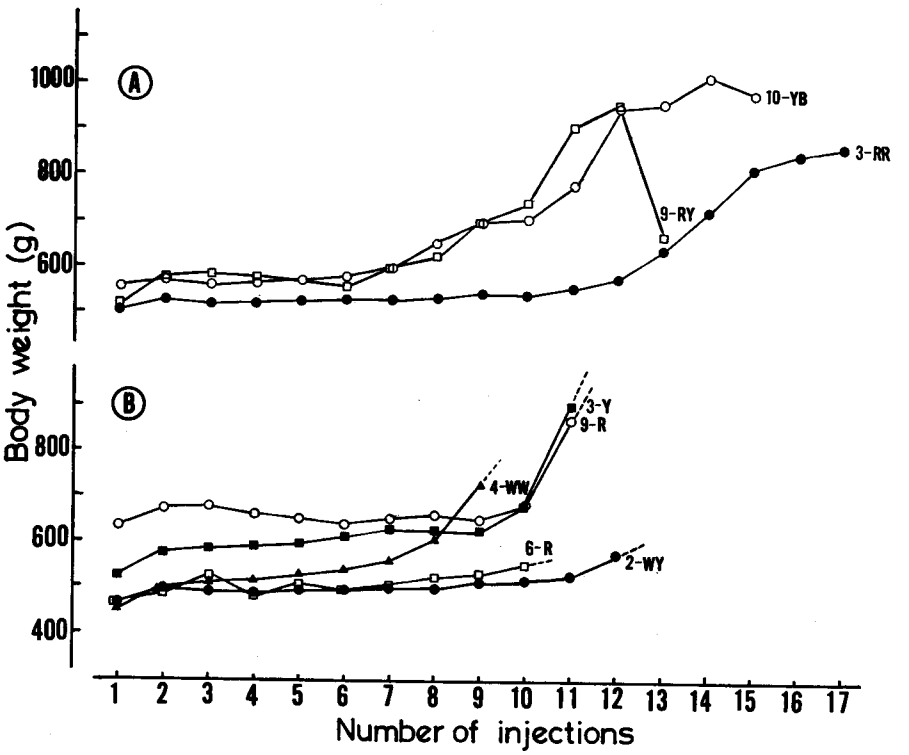


Fig. 1. Changes in body weight in the female Japanese eels during the course of maturation induced by weekly injections of salmon pituitaries. A) specimens showing no ovulation before being sampled or before death; B) specimens displaying spontaneous ovulation and spawning. Numerals with alphabetical symbols affixed to each line represent the specimen numbers. The specimen 2-WY spawned normal fertile eggs and yielded larvae.

放卵個体を含めて 27 個体の 81.5% にあたる 22 個体で，剖検時の GSI が 40% 以上に達していた。また 8 回以上の投与を受けたのち屠殺された 12 個体中 4 個体の GSI は 27.1 以下であったが，残り 8 個体では最小 40.3，最大 71.5 で，うち 5 個体（注射回数 8～14 回）では 62.9～67.6 の範囲にあった。同様な傾向が 8 回投与以後に死亡した個体にも認められた。また GSI 40 を越えた個体では，腹部が異常なほどに膨大し，卵巣の一部が泌尿生殖孔より体外に脱出している例が多かった。上記の，GSI が 60～70 であった 5 個体の屠殺時の体重は初期体重の 42～76% 増，また GSI が 40.3，44.6% であった 2 個体のそれはそれぞれ 14.4，21.5% 増であって，これと前述の体重変化の結果とを併せて排卵個体の GSI の変化を推定すると，排卵の約 1 週前にほぼ 40 程度となるまでは体重の大きな増加がなく，以後 GSI の 60～70 程度への急速な増加に伴って体重の著増をみせて排卵に至るもののようである。なお，このような生殖腺重量の増加には，1 回の脳下垂体投与量による差は特に認められなかった。

催熟処置を受けたウナギの肝臓重量も興味ある変化を示した。体重 100g あたりの肝臓重量 (hepatosomatic index, HSI) は未処理個体では 1.0 に満たなかったが，投与回数がますにつれて上昇する傾向をみせた（図 3）。しかし 11 ないし 12 回投与後には HSI の減少をみせる個体が多く出現したが，

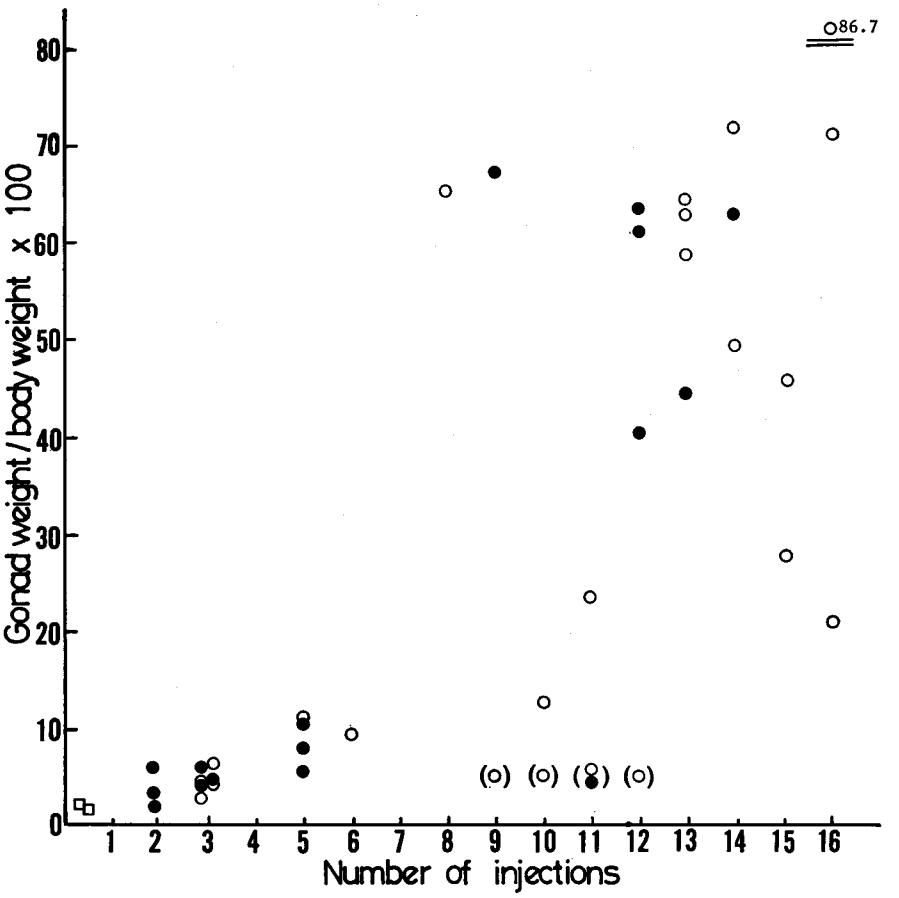


Fig. 2. Distribution of gonadosomatic indices (gonad weight/body weight ×100) of female Japanese eels in relation to the frequency of weekly injections of one (○) or two (●) salmon pituitaries. The mark □ indicates initial values, and the marks ○ and ● in parentheses, the specimens which spawned eggs after the respective number of injections.

これは前述の如き生殖腺の著しい肥大による体重増加と関連をもつものと解釈される。排卵個体のうち前述の (2) 型に属する体重変化をみせた2個体の HSI を，排卵前の最終投与時の体重に基づいてあらわすと，正常卵産出の個体 2-WY で 1.25，過熟卵産出の個体 6-R で 1.85 となる。一方，体重変化のほとんどない処理初期に死亡した個体の HSI は，図3にみられるように，脳下垂体2個投与のもので1個投与のものよりも大となる傾向が強く，前者では投与 3～5 回で既に 2.0 以上に達していた例がみられた。GSI と HSI との関連をみると，例数が不足のため明らかではないが，脳下垂体1個投与の例でのみ GSI 40～50 までの範囲で HSI との正の相関がうかがわれる（図4）。GSI 50 以上での HSI の減少は生殖腺重量の著増による体重増のためであろう。

卵の成熟および発生にともなう油球の変化

卵黄形成を終了した正常な卵では，油球はほぼ似た大きさの十数個に分れて卵細胞質の中心部に位

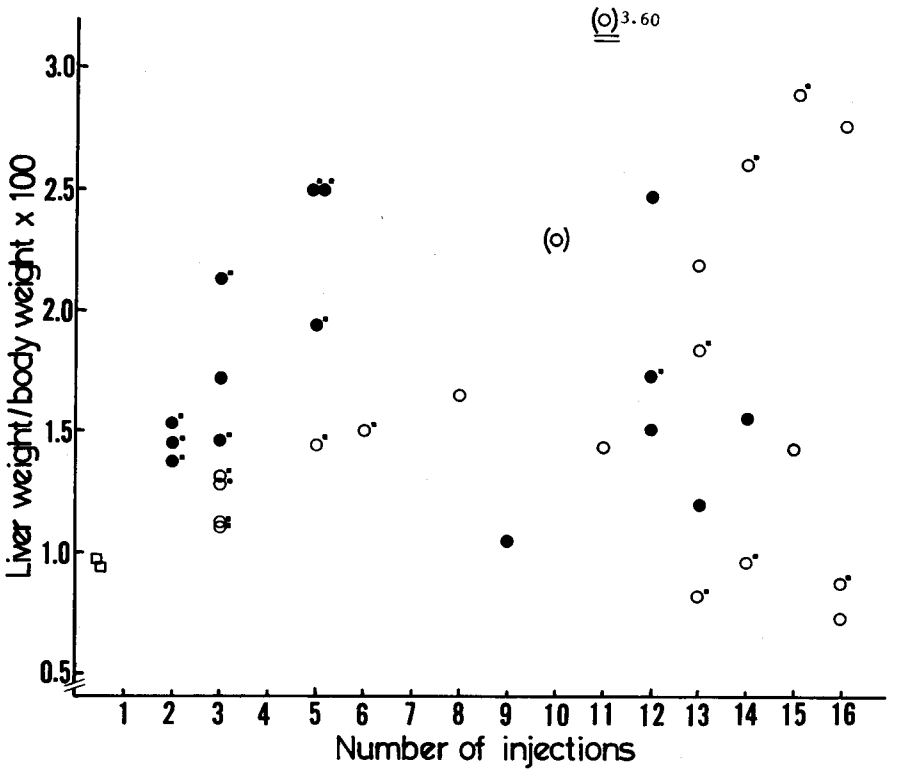


Fig. 3. Distribution of hepatosomatic indices (liver weight/body weight ×100) of female Japanese eels in relation to the frequency of weekly injections of one (○) or two (●) salmon pituitaries. The mark □ represents the values of initial controls, and the mark ○ in parentheses those of the specimens spawned. Black dots attached on the shoulder of the marks indicate the specimens examined shortly after their spontaneous death.

置しているが，胚胞崩壊に引き続いて生理的成熟が進むにつれて，油球は互いに融合して数を減じわずかに植物極側に移動して成熟を完了するようである。図5～7は人工受精後，卵発生にともなう油球の変化を同一卵で経時的に追ったものである。受精後約2時間の胚盤形成期の卵では，径150μ前後の数個の小型油球がやや植物極側に偏って集合しているのが観察される（図5）。その後も油球の融合は徐々に進行し（図6），受精後約4時間の4細胞期の初めには径300μ内外の大型油球1個とそれに密接する小油球とがみられるに至る（図7）。しかし，このような油球の融合の時間的経過は必ずしも一様ではなく，16細胞期においてもこのような1個の大型油球への融合がみられず，やや大型の油球とそれに密接する数個の中型油球との集団をもつ卵も観察された（図8, 9）。しかしながら，遅くとも桑実胚期迄には顕著な300μ内外の大型油球1個を主体とする油球群がみられるようになり，胚体形成に伴って完全に1個の大型油球の形にその融合を了えるのが一般であった（図10）。

前述したように，今回の人為催熟処置により排・放卵をみせた5個体のうち，4個体の卵は人工受精により正常な受精変化をみせないか，または異常な発生を示した。媒精直後にこれらの卵を観察すると，小型の油球が細胞質中に散在する未熟卵様の卵，桑実胚期頃にみられるような大型油球1個と数個の小油球をもつ卵，および胚体形成時に見られるような完全に1個の大型油球を有する卵など，

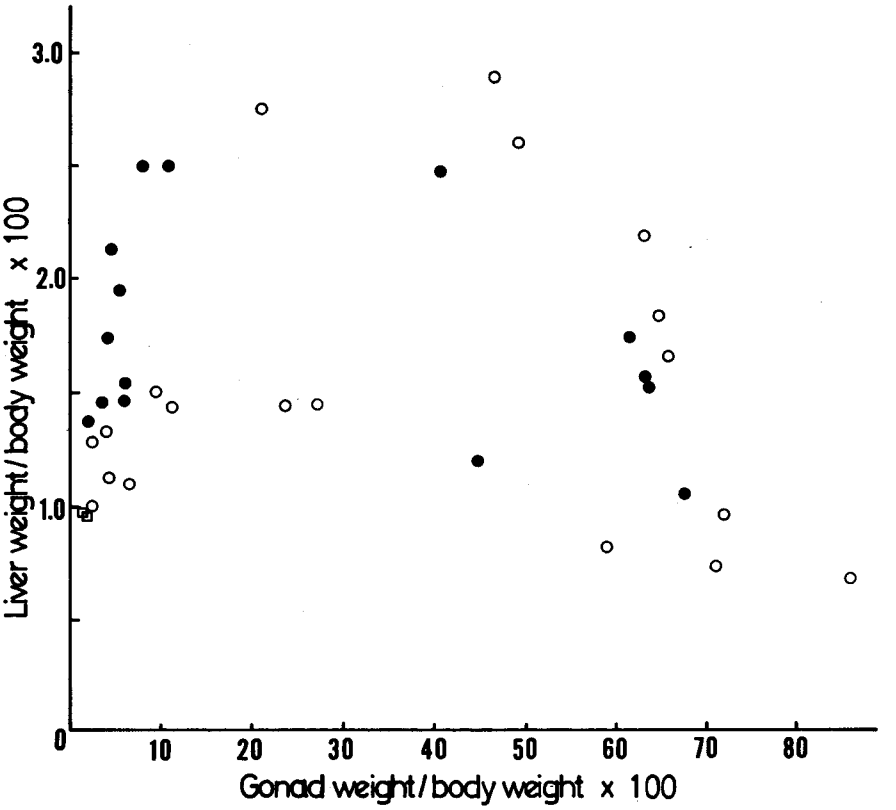
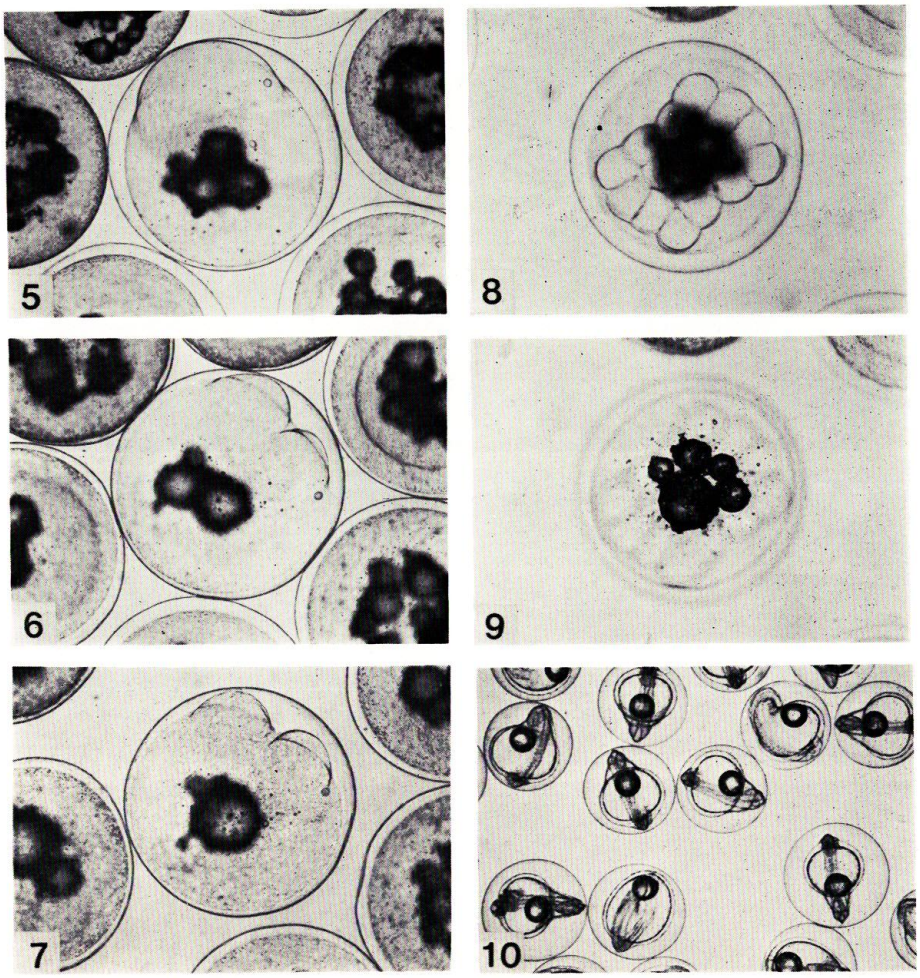


Fig. 4. Relation between gonadosomatic index and hepatosomatic index in female Japanese eels injected weekly with one (○) or two (●) salmon pituitaries. The mark □ reveals the values in initial controls.

さまざまな状態の卵が混在することがわかった（図11）。またその他に細胞質が凝集したり，細胞質の透明度の低い死卵ないし潰卵状のものも含まれていた。死卵ないし潰卵を除き，細胞質の透明度の高い卵は油球の状態にかかわりなく海水中で付活され囲卵腔形成および胚盤形成をみせた。また大型油球1個と数個の小油球をもつ卵においては人工受精後卵割の開始が観察されたが，これらの卵割は不規則であってまもなくその進行を停止し，数時間後これらの卵はすべて死亡した（図12）。

催熟処置にともない，図1のAに示したような，卵巣の著しい肥大による体重増加をみせた個体の屠殺時ないし死亡時の卵は，すでに油球の融合が進行して1個の大型油球と数個の小油球より成る状態に達したもの（図13），または完全に1個に融合を了えた大型油球を有するもの（図14）から構成されていた。またなかには油球の融合がかなり進み正常卵では排卵後にみられる状態にあるにもかかわらず，胚胞を依然として維持している卵も見られた（図15）。また卵細胞質の凝集などにより透明度の低下した卵が上述したような型の卵と混在している場合も多かった（図13）。

これらの観察の結果から，ウナギ卵の油球の状態はその卵の生理的成熟の進行の度合と密接な関連をもつものであることが示唆される。油球の融合は正常な排卵の起る以前から徐々に進行するものと思われるが，本研究での観察によると，それらがほぼ等しい大きさの十数個の群集の状態になった時

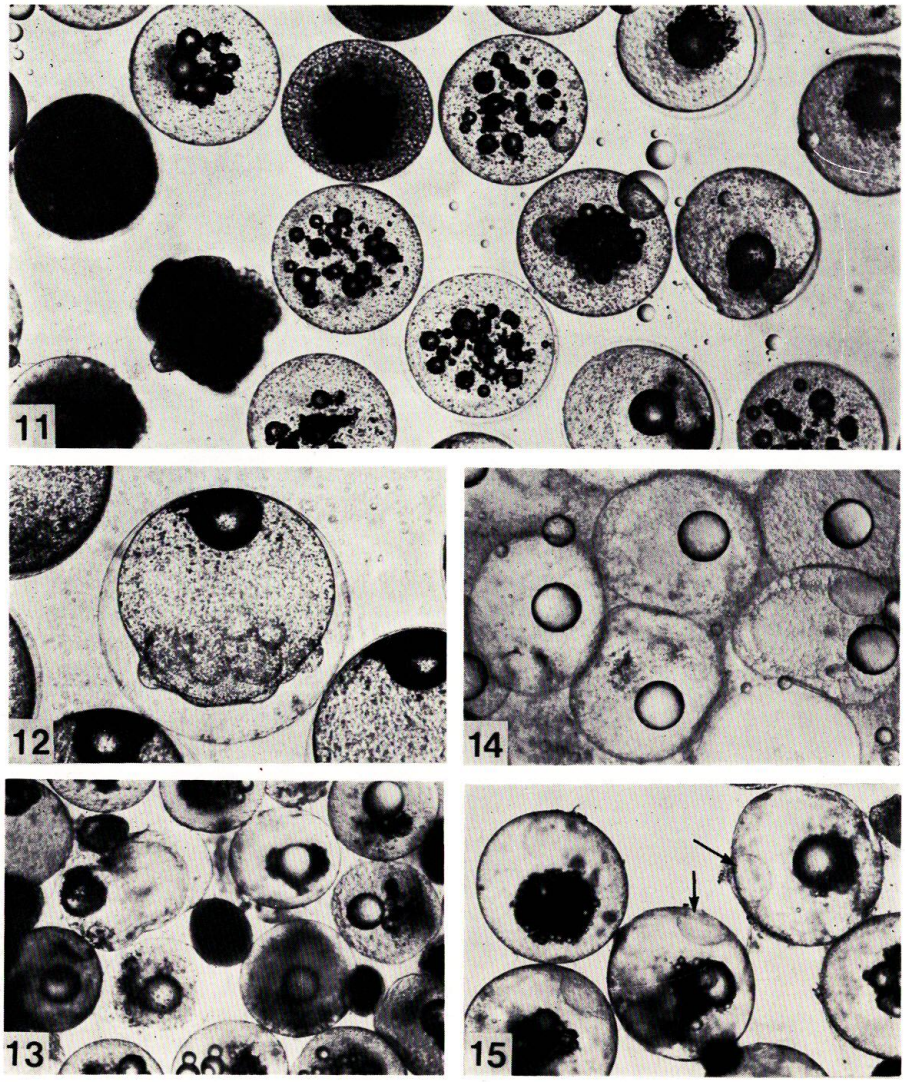


Figs. 5–10. Photomicrographs of normal developing eggs of the Japanese eels, showing progressive changes in oil droplets at the blastodisc (Fig. 5), 2-cell (Fig. 6), 4-cell (Fig. 7), 16-cell (Figs. 8 and 9) and embryonal stage (Fig. 10). Figs. 5–7 and Figs. 8–9 illustrate the same eggs, respectively. Diameter of eggs (chorion), about 1.15 mm.

点で排卵された場合，正常な受精・発生がなされるものと推測される。この状態でなお排卵されず卵巣内に留った卵では，油球の融合が進行し，顕著な1個の大型油球を生ずるに至るが，そのような卵は受精によっても卵割をみせないか，または発生を開始しても中途で死滅する。すなわち，これらの卵はその油球の状態からみて，過熟卵であるとみなしてよいように思われる。

考　　察

雌ウナギの人為的成熟促進の試みはかなり古くからなされてきており[8]，近年，山本ら[9)-11)]のニホンウナギにおける人工受精・ふ化の成功をはじめとして，いくつかの興味ある成果がみられるに至っ



Figs. 11–15. Photomicrographs of eggs of matured Japanese eels. Diameter of eggs (chorion), about 1.10 mm. Fig. 11, eggs spawned by an overripe eel shortly after insemination, revealing quite heterogeneous aspects in the state of oil droplets and ooplasm; Fig. 12, an overripe egg showing abnormal cleavage and nearly complete fusion of the oil droplets; Figs. 13–15, unovulated ovarian eggs of matured eels, with oil droplets characteristic of advanced overripeness. Arrows in Fig. 15 show germinal vesicles remaining unbroken in the overripe eggs.

ているが，ウナギの人工種苗生産技術として確立されるには解決すべき幾多の問題が残されている。その一つは催熟に最も有効な物質およびその投与量，投与間隔など，もっとも基礎的な事項である。

一般に魚類雌の成熟の促進には哺乳類起源の生殖腺刺激ホルモン (GTH) は無効とされている[19]。

ウナギの催熟に関しても，落合ら[7]はニホンウナギの下りの雌にシナホリン（胎盤性および脳下垂体性のGTHの混合製剤）とジプロピオン酸エストラジオールを反復投与して，9尾中6尾に卵巣の成熟を誘導し得た。しかし哺乳類起源の黄体形成ホルモン（LH）単独および人胎盤性生殖腺刺激ホルモン（HCG）単独の処理が雌の成熟の，特に後期過程の誘導に不適切であることもまた報ぜられている[20][21]。一方，Fontaineら[22]，山本ら[8]が示したように，コイ，シロサケなどの硬骨魚の脳下垂体磨砕物の反復投与は明らかに有効であって，Edel[20]はアメリカウナギ（*Anguilla rostrata*）で，Villaniと Lumare[21]はヨーロッパウナギ（*Anguilla anguilla*）でそれぞれコイの脳下垂体を単独またはHCGと副腎皮質ホルモンとを併用し，またニホンウナギについても千葉県内水面水産試験場[12]と静岡県水産試験場浜名湖分場[13]がサケの脳下垂体を用いて排・放卵の誘導に成功している。本研究の結果もまさしくこれをうらづけるものであって，1個体あたりシロサケ脳下垂体1～2個分，週1回，8回以上の反復投与によりおよそ80%の個体の卵巣の成熟を誘導し得た。ただ，処理された下りウナギのすべてが卵巣の充分な成熟をみせなかったことは，処理開始時の卵巣の状態にその原因を求め得るかもしれない。この点は現在組織学的資料にもとづいて検討中である。

しかしながら，これらの例のすべてにおいて排卵をみせた個体はきわめて少数にすぎず，また，山本ら[9][10]および本研究を除き，人工受精による卵発生の開始を観察し得たのは元信ら[23]と千葉県内水面水試[12]の各1例のみで，前者は1尾のふ化仔魚を得ただけであり，更に後者においては胚体形成初期での卵の死滅という結果に終っている。すなわち，卵巣の成熟を人為的に誘導することはおおむね可能であるが，正常発生の可能な卵を得ること，換言すれば卵成熟完了後の適切な時期に排卵を起させることが出来ないという点が共通した難点のように思われる。

魚類の卵においては，排卵直前の生理的成熟の進行とともに卵含水量の急速な増加がおこり，結果として卵巣重量は排卵直前に著しく増加することが知られている[16]-[18]。処理中給餌されていないウナギの体重の著しい増加は，この卵ないし卵巣の成熟完了直前の顕著な吸水現象と密接な関連をもつものと考えられる。このことは，本研究において排卵をみせた個体の体重の推移からも充分にうかがえるし，また，体重著増の開始期が正常卵排卵の適期とみなしうることをも示唆する。この適期をこえて卵巣内に未排卵のままとどまった個体の卵は，本研究の結果が示すごとく，比較的急速に過熟状態に達し，正常な発生能力を失うものと考えられる。本研究での催熟処置ではGSI 40前後の状態がこの適期にあたり，この状態はおおむね9～12回の脳下垂体投与により得られるとみなしてよいようである。GSIが40～50を越えて体重の顕著な増加をみせながら排卵しなかった個体の卵はすべて過熟の過程に入ったものと考えてよい。

魚類の排卵の人為的誘導にGTHがきわめて有効であることは，増養殖の面でも"hypophysation"として広く実用化されている通りであるが，催熟ウナギの排卵に関しては脳下垂体の継続投与が排卵の誘導に有効に働くとは期待し得ない。このような結果は，近年次第に明らかにされつつある如く[24]，魚類の卵成熟と排卵に別個の機構が存在することの反映かもしれないが，本研究でなされたような催熟処置が排卵機構の正常な作動に何らかの阻害的な作用を及ぼしているとの推定も可能である。この点に関して，排卵誘導剤として，2,3の魚種でその有効性が認められている[25]視床下部性の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（LH/FSH-RH）がウナギの排卵誘発に用いられている例[12][13]は興味があるが，その有効性については判定を下し難い。著者らも，種々の物質による排卵誘導を試みたが，これまで成功をみていない。Villaniと Lumare[21]はヨーロッパウナギで，催熟に用いてきた量の5倍の脳下垂体と副腎皮質ホルモン（DOCA）の投与という"ショック処理"により放卵を惹起させたと記しているが，これも1例での観察にすぎない。いずれにせよ前述の成熟の適期になされるべき適切な人為排卵誘導処置の発見がウナギ種苗生産の今後の重要課題となろう。

他の重要課題の一つに，人為催熟により排・放卵された卵のうち正常な卵発生を経過してふ化に至るものが排卵量と比して少ないことがあげられる。事実，本研究の観察では，排卵された卵の油球の

状態は成熟未完了と思われるものから過熟と思われるものまできわめて区々であり，これらのうち，未熟卵はもちろん，過熟状態に入った卵も受精にともなう卵発生を完遂できない。自然環境で成熟したウナギの卵巣卵の状態は未知であって比較検討は不可能であるが，このことは卵巣成熟の人為的促進があくまでも自然成熟と異なる，なんらかの異常な状態を導く可能性を暗示する。これが処理の方法，とくに脳下垂体の投与量，投与間隔によって影響されるであろうことは当然予測される[26]が，少くとも本研究の結果からみると，週1回筋肉内注射の条件では，脳下垂体1個分を単位量とした方が2個分よりも好結果が得られるもののようである。実際，排・放卵をみせた5尾中4尾が前者の処置をうけたものであった。さらに脳下垂体2個分を単位量とした場合，卵黄蛋白前駆体の合成の主要な場である肝臓[27]の重量は早期に増加するが，これはGSIの上昇と並行せず，むしろ処理魚の早期過熟化，斃死，その他の異常の生起の原因となる可能性が大である。ウナギの人為催熟に伴うGSIの増加と肝臓重量の増加とが正の相関をみせることは，すでに落合ら[7]が指摘しているが，同様な相関関係は脳下垂体1個投与の場合に，より明らかに認められた。しかし，山本ら[10]の場合においては，雌の体重に応じて2, 4, 6, または8個の脳下垂体を投与しているが，4個投与のもので1尾，2個投与のもので3尾の排・放卵個体を得ており，またGSIとHSIとの増加の間にも2個投与の個体で正の相関があるようである（山本ら，未発表）。これらの結果をも含めて考察すると，脳下垂体の投与量の少ない個体において排・放卵がなされやすい傾向が認められるが，山本らの時のように脳下垂体2個投与の個体においても正常な卵発生を行いうる卵が得られていることなどから，投与量，投与間隔に関する問題は脳下垂体投与開始時の卵巣の状態，すなわち処理に対する卵巣の感受性をも併せて検討する必要があろう。

このような投与量，投与間隔の問題をふくめ催熟処置の適否は，卵巣卵の成熟の進行の度合や均一性についての検討によってのみ確実に判定され得よう。著者らは卵巣卵の生理的成熟の指標として，卵細胞質内にみられる油球の状態に着目した。卵成熟に伴う油球の変化についてはStevens[28]が*Roccus saxatilis*で，油球が卵成熟にともなって互いに融合して極在化し，その大きさを増加することを観察している。また卵発生に伴う油球の変化については遊佐[29]がサヨリ（*Hemiramphus sajori*）で，卵発生が進むにつれて散在する多数の小油球が次第に植物極付近へ移ることを報告した。本研究のウナギ卵での観察においても，細胞質内に散在している径150μ前後の小油球が卵成熟の進行とともにやや植物極よりに集合して融合を開始し，さらに卵発生に伴って融合をすすめ，遅くとも桑実胚期には1個の大型油球とそれに密接する数個の小油球になり，胚体形成に伴なって径300μ程度の1個の大型油球になることがわかった。またこのような油球の変化は，成熟後未排卵のままにとどまった卵にも認められた。元信ら[23]もニホンウナギ卵の発生にともなう油球の同様な変化を観察している。さらに野村ら[30]や酒井[31]は，ニジマス（*Salmo gairdneri*）やアユ（*Plecoglossus altivelis*）の卵が排卵後も母体内に長期間放置されると，排卵時に表層部に分布していた小油球が経時的に集合をみせて1～2個の大型油球に融合することを報告し，またこのような卵の発眼率が低下することも報告した。彼らはこれらの過程を過熟過程と称し，これらの卵を過熟卵と呼んでいる。

本実験においても，人為催熟により排卵されたウナギ卵の中に，桑実胚期に見られる状態と同様な1個の大型油球と数個の小油球とをもつ卵や胚体形成期に見られるような完全に1個となった大型油球をもつ卵が含まれ，これらの卵において不受精および卵割の異常が観察された。これらの卵は卵巣内ですでに過熟化し排卵された可能性が強い。今後，ウナギ卵の過熟化の証明をより確実にするため野村ら[30]がニジマスで，鈴木[32]がドジョウ（*Misgurnus anguillicaudatus*）で過熟卵の一指標としている部分的な表層胞の崩壊についての検討も必要であると考える。いずれにせよ，本研究での観察から，ニホンウナギの正常発生が可能な完熟卵は，卵細胞質のやや偏心した位置に十数個のほぼ均一な大きさの小油球の集合をみせるものであって，小油球が細胞質内に散在する状態は生理的に未成熟の状態を，また大型油球1個への融合の進行は過熟化の進行を反映するものとみなしてよい。このよ

うな規準によって，人為催熟により排・放卵された卵や生検 (biopsy) により剔出された卵巣卵の卵質を評価することが可能であると考える。

要　　約

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) の下りウナギ雌にシロサケ脳下垂体を週1回1ないし2個投与して成熟促進をはかった。8回以上の投与をうけた27個体の約80%がGSI 40～70に達し，明らかな卵巣の発達をみせたが，うち5尾が排・放卵をみせ，その1尾の卵は人工受精後正常に発生，ふ化に至った。これらの個体の処理に伴う体重，生殖腺重量，肝臓重量の変化を解析した結果，投与10回前後にGSIが40程度に達するまでは体重の顕著な増加や減少がなく，卵が排卵可能となる1～2週間前から体重の急激な増加をみせる場合がもっとも良好な結果を生ずると推定された。このような体重増加後も排卵に至らない個体の卵は急速に過熟状態に入り発生能力を失うことが知られた。

成熟を完了していない卵の油球は小型で細胞質内に散在していたが，正常な発生能を有する受精直後の卵の油球は，ほぼ均一な大きさで卵細胞質の中心近くに十数個が集合してみられた。卵発生の開始にともない，これらの小油球はやや植物極側に偏って融合を開始し，桑実胚期頃までには1個の大型油球とそれに密接する数個の小油球となり，また胚体形成にともない顕著な1個の大型油球へと融合を了えるのが観察された。卵巣成熟後排卵をみせない個体の卵，ないし排卵受精されても正常な発生をなし得ない卵では，明らかな未熟卵を除き多かれ少かれ大型油球への融合の進行が認められ，これらが卵巣内で過熟の状態に入ったものであることを示唆した。これらの結果から，卵油球の状態がウナギ卵の生理的成熟の度合を反映するものとして，それを卵質評価の規準に用いうる可能性が示唆された。

文　　献

1) 大上皓久・飯塚三哉 (1963). ウナギにおける数種の性腺刺激ホルモン投与による性腺成熟促進効果の比較. 静岡水試報告 (昭38), 73～76.
2) 大上皓久・飯塚三哉 (1964). 性腺刺激ホルモンによるウナギの成熟促進効果 (III). 同誌 (昭39), 88～89.
3) 石田　修・石井俊雄 (1970). ウナギの成熟促進試験. 水産増殖 **17**, 263～271.
4) 岡　英夫・長谷川仁・元信　堯 (1973). ウナギ種苗の安定的供給に関する試験研究報告書. 静岡水試浜名湖分場　通刊 **164**, 1～21.
5) 岡　英夫・元信　堯 (1973). 同上. 同誌　通刊 **164**, 23～54.
6) 落合　明・楳田　晋・太田久夫 (1972). 下りウナギの卵とホルモンによる成熟促進について. 魚類学雑誌 **19**, 312～316.
7) 落合　明・楳田　晋・小川　学 (1974). ホルモン投与による雌ウナギの成熟促進と成熟中の肝臓および血液性状の変化について. 日本水産学会誌 **40**, 43～50.
8) 山本喜一郎・森岡孝朗・広井　修・大森正明 (1974). サケ・マス類脳下垂体投与による雌ウナギの催熟. 同誌 **40**, 1～7.
9) Yamamoto, K. and Yamauchi, K. (1974). Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature* **251**, 220–222.
10) 山本喜一郎・山内晧平・春日清一 (1975). ウナギの初期発生について. 日本水産学会誌 **41**, 21～28.
11) 山本喜一郎・山内晧平・森岡孝朗 (1975). ウナギの前レプトケファルス期の仔魚について. 同誌 **41**, 29～34.
12) 千葉県内水面水産試験場 (1976). ウナギの人工種苗生産試験. 千葉県内水面水試昭和50年度指定調査研究種苗生産報告書 1～22.
13) 静岡県水産試験場浜名湖分場 (1976). ウナギ種苗の安定的供給に関する試験研究報告 (中間報告). 同分場通刊 **183**, 1～11.

14) 山本喜一郎・広井 修・平野 忠・森岡孝朗 (1972). シナホリン投与による養殖ウナギの精巣催熟について. 日本水産学会誌 **38**, 1083～1090.
15) Yamauchi, K., Nakamura, M., Takahashi, H. and Takano, K. (1976). Cultivation of larvae of Japanese eel. *Nature* **263**, 412.
16) Shehadeh, Z.H. and Ellis, J.N. (1970). Induced spawning of the striped mullet *Mugil cephalus* L. *J. Fish Biol.* **2**, 355–360.
17) Hirose, K., Hirano, T. and Ishida, R. (1974). Effects of salmon gonadotropin on ovulation in the Ayu, *Plecoglossus altivelis*, with special reference to water balance. *Comp. Biochem. Physiol.* **47A**, 283–289.
18) 山内晧平 (1974). メダカ卵の胚胞崩壊に対する濾胞細胞層の効果. 北大水産彙報 **24**, 145～149.
19) 山崎文雄 (1969). 魚類の生殖腺刺激ホルモン. 日本水産学会誌 **35**, 695～709.
20) Edel, R.K. (1975). The induction of maturation of female American eels through hormone injections. *Helgoländer Wiss. Meersunters.* **27**, 131–138.
21) Villani, P. and Lumare, F. (1975). Nota sull'accrescimento ovarico indotto in *Anguilla anguilla* (L.) *Invest. Pesq.* **39**, 187–198.
22) Fontaine, M., Bertrand, E., Lopez, E. and Callamand, O. (1964). Sur la maturation des organes génitaux de l'Anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'émission spontanée des oeufs en aquarium. *C.R. Acad. Sc. Paris* **259**, 2907–2910.
23) 元信 堯・山下一臣・岡 英夫 (1976). 催熟ニホンウナギより得たふ化仔魚について. 静岡県水産試験場研究報告 **10**, 87～90.
24) Jalabert, B. (1976). *In vitro* oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*), and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* **33**, 974–988.
25) Hirose, K. and Ishida, R. (1974). Induction of ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*, with LH-releasing hormone (LH-RH). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **40**, 1235–1240.
26) Pickford, G.E. and Atz, J.W. (1957). *The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes.* 613p. N.Y. Zool. Soc., New York.
27) Chester Jones, I., Bellamy, D., Chan, D.K.O., Follett, B.K., Henderson, I.W., Phillips, J.G. and Snart, R.S. (1972). Biological actions of steroid hormones in nonmammalian vertebrates. p. 414–480. In Idler, D.R. (ed.), *Steroids in Nonmammalian Vertebrates.* 504p. Academic Press, New York and London.
28) Stevens, R.E. (1966). Hormone-induced spawning of striped bass for reservoir stocking. *Progr. Fish-Cult.* **28**, 19–28.
29) 遊佐多津雄 (1958). サンマとサヨリの魚卵と稚魚の主な相違点について. 北水試月報 **15**, 249～256.
30) 野村 稔・酒井 清・隆島史夫 (1974). ニジマス卵の過熟現象について–I. "過熟卵" の形態ならびに出現時期. 日本水産学会誌 **40**, 977～984.
31) 酒井 清 (1974). 産出卵の評価 (淡水魚). p. 100～112. 日本水産学会編, 魚類の成熟と産卵. 127 p. 恒星社厚生閣, 東京.
32) 鈴木 亮 (1976). ドジョウ卵の排卵後における母体内滞留時間と発生能力. 水産増殖 **23**, 93～99.