HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	太平洋クロマグロ Thunnus orientalis の人為繁殖に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	遠藤, 琢
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第12212号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61612
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Taku_Endo_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：遠藤　琢

学 位 論 文 題 目

太平洋クロマグロ *Thunnus orientalis* の人為繁殖に関する研究

太平洋クロマグロ（*Thunnus orientalis*）、大西洋クロマグロ（*T. thynnus*）、およびミナミマグロ（*T. maccoyii*）は、その市場価値の高さから世界各地で盛んに養殖が行われている。しかし、マグロ養殖では、養殖原魚を天然採捕した魚に依存しており、天然資源への悪影響が大きな問題となっている。そのため、マグロ養殖産業の持続的な発展のためには、天然資源への依存を減らした養殖体制の構築、すなわち完全養殖サイクル下で生産された人工種苗の利用が必須である。養殖対象種となっているマグロは、種苗生産が難しく、生産性の低さが産業レベルでの人工種苗量産化の大きな障壁となっている。魚類の種苗生産には、卵質が大きな影響を与えることが良く知られており、良質卵を獲得することは極めて重要である。養殖マグロにおいても、良質卵を使用することで、難しいと言われる種苗生産の飼育成績向上に繋がることが期待される。しかし、これまでに、マグロ類の卵質に関する研究は少なく、知見が乏しい状況である。一方、完全養殖サイクルの中で、育種により有用形質の改良を進めることは、養殖産業の発展に重要な役割を担う。マグロ養殖産業においても育種が強く求められるが、今のところ養殖マグロの育種プログラムは実現していない。育種を進めていく上で、人為繁殖技術の役割は大きく、中でも人工授精は、計画交配を可能とする基盤技術である。しかし、現在、養殖マグロの人為繁殖は自然産卵に限られており、人工授精により次世代を作出する技術はない。従って、育種を行うためには、先ず、人工授精技術を開発する必要がある。以上のことから、本研究では、マグロ養殖産業の発展を目指し、太平洋クロマグロを対象に、良質卵獲得手法の検討、および人工授精技術の開発を行った。

先ずは、養殖太平洋クロマグロの長期間に及ぶ産卵期の中で、どのように卵質が変化するかを調べた。その結果、受精率、孵化率、および無給餌生残指数（SAI）を指標として定めた卵質が産卵期の経過に伴い低下していく傾向がみられ、孵化率と SAI に関しては、

その低下に有意性が認められた。また、これら受精卵を種苗生産に供したところ、産卵期前半に採取した受精卵の方が成長性に優れていた。さらに、卵サイズ、および卵中の高度不飽和脂肪酸（HUFA）組成に注目し、産卵期中の変化を調べた。その結果、産卵期経過に伴い、卵サイズが小型した。さらに、卵の中性脂質におけるドコサヘキサエン酸（DHA）の減少、および中性脂質と極性脂質中の DHA・エイコサペンタエン酸（EPA）比（DHA/EPA）の低下がみられ、これら変化が卵質に関与していることが示唆された。続いて、卵サイズに関して、更に詳細な解析を行うため、得られた受精卵をサイズに基づいて S、M、および L サイズに選別し、卵質を比較した。その結果、発生率、孵化率、および SAI にサイズ間の差はみられなかった。各サイズの卵群を用いた種苗生産においては、生残性に明確な差は確認できなかったが、大型卵の方が成長性に優れていた。さらに、各サイズの卵群の孵化仔魚において、卵黄嚢中の卵黄および油球量と成長の関係を調べたところ、大型卵由来の孵化仔魚の方が卵黄量多く、これが成長性の優れる要因と推察された。

次に、人工授精技術の開発を進めた。養殖対象種のマグロは、取扱いが難しく、人工授精に用いる精子および卵を採取するときのハンドリングによって不要な斃死が生じるリスクが非常に高い。そのため、本研究では、ハンドリングによる斃死が問題とならない、取り上げ直後に活〆される出荷魚を人工授精用配偶子採取の対象とした。先ずは、養殖環境下の太平洋クロマグロの成熟状態に関する情報を整備し、出荷のために取り上げられる魚から人工授精に適切な精子および卵を採取可能であるかを検討した。その結果、産卵時間帯に取り上げられた魚において、活発な精子形成や多量の精子が認められる成熟ステージの雄個体が高い割合で確認され、精子に関しては安定的に準備可能と思われた。一方、雌においては、低率ではあったが、排卵個体が確認され、人工授精に使用可能な卵も採取できることが考えられた。続いて、これら採取した精子および卵を用いて、実際に人工授精を試みた。7 回の人工授精を実施したところ、5 事例では、受精率 70%以上と良好な結果であり、180 万～303 万粒の受精卵を得ることができた。一方、2 事例では、受精率 40%以下であり、得られた受精卵は 100 万粒に達しなかった。これら受精卵からは 25 万～200 万尾の孵化仔魚が得られ、その一部は量産規模の種苗生産に供した。その結果、1630～4410 尾の稚魚が生産され、陸上水槽から海上生簀に移動することに成功した。

続いて、低い卵採取率の問題を解決するため、卵成熟期の透明化した卵母細胞（透明卵）が含まれる排卵前の卵巣において、生体外で排卵を誘導し、得られた卵を用いて人工授精を行う技術を検討した。生体外に摘出された卵巣において、適切に排卵させる条件を検討

したところ、摘出後の卵巣を卵巣片（約 1cm 角）に細切し、コートランド液中に浸漬する処理を施すことで、排卵が誘導されることが分かった。しかし、卵巣摘出後 1、2、および 3 時間経過してから処理を施した場合は、卵の形態が異常であり、正常な卵は、卵巣摘出後直ぐ（0 時間）にこの処理を施したときのみ得られた。そのため、この卵巣摘出後に直ぐ処理を施して得られた卵を人工授精に供したところ、受精卵および孵化仔魚を得ることができた。しかし、殆どの場合で受精率および孵化率は 50%を下回り、悪い場合は、受精率、孵化率共に 0%であった。従って、実用化のためには、卵質改善が必要と考えられ、太平洋クロマグロ血清のイオン組成を参考にした培養液（マグロ培養液）を作製し、この培養液による卵質改善を検討した。その結果、既存のコートランド液に比べて、マグロ培養液を使用すると、排卵の進行が遅くなったが、受精率および孵化率は高くなった。さらに、コートランド液使用の場合は孵化率が 0%の個体でも、マグロ培養液で培養することで孵化仔魚を得ることが可能であった。

以上のように、本研究では、太平洋クロマグロの卵質が産卵期経過に伴い低下し、産卵期前半の方が良質卵を獲得できることが示された。また、大型卵由来の仔魚の成長性が高く、大型卵の選択的使用により種苗生産の飼育成績向上に繋がることが考えられた。続いて、出荷魚から採取した精子および卵を用いた人工授精が可能となり、育種プログラムの計画交配において極めて重要な技術が開発された。また、この人工授精で得られた受精卵からは十分量の稚魚を生産可能なこと、すなわち、育種プログラムに求められる十分量の次世代を確保可能なことも証明された。さらに、生体内で排卵された卵のみではなく、透明卵の生体外排卵から得られた卵においても、人工授精によって受精卵および孵化仔魚を獲得できる技術を開発した。この成果により、卵採取効率が飛躍的に高まり、交配の計画性向上に大きく貢献できることが期待された。今後は、本技術を用いた養殖マグロの育種プログラムが実現し、マグロ養殖産業の更なる発展に繋がるであろう。