



Title	ニホンウナギの催熟技術の高度化に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	田中, 寿臣
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第15122号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87549
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Toshiomi_Tanaka_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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： 田中 寿臣

学 位 論 文 題 目

ニホンウナギの催熟技術の高度化に関する研究

ニホンウナギは人工飼育下ではほとんど成熟せず、マダイやヒラメのように、同じ水槽に雌雄を同居させておけば、時期が来たら自然にペアリングし、受精卵を得られるというわけではない。そのため、まず必要なことは、雌親魚を催熟して卵を得ることである。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母細胞の卵黄形成を進行させ、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（MIS）である 17 α ,20 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン（DHP）を、雄に対してはヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモンを注射することで卵および精子を得ている。しかし、卵質はまだ不安定で、その多くの個体では非常に卵質が低い。そこで本研究では、ニホンウナギの催熟技術の高度化を目的とし、良質卵を得るための条件や手法について検討した。

まず、催熟試験に用いる雌親魚に適した年級について調べた。約1年間にわたって養成2年目、3年目、6年目の個体について卵巣の発達について調べた。卵径の周年変化では、養成2年目が夏頃まで低値を示し、11月以降は高値を示した。養成6年目は、9月以降、3年級群の中で最も低値を示した。次に生殖腺体指数（GSI）の周年変化では、養成2年目は夏頃まで低値を示したが、11月以降は高値を示した。養成6年目は、9月以降、常に低値を示した。血中の11-KT濃度の周年変化では、養成2年目が10月、11月および1月で養成6年目に対し有意に高値を示し、11月では養成3年目に対しても有意に高値を示した。卵母細胞の組織学的周年変化では、養成2年目は5月には油球形成後期に達した卵母細胞は観察されなかったが、10月以降は油球形成後期の卵母細胞が多く、卵黄形成初期に達したものもあった。しかし、養成3年目の5月になると、油球形成後期の卵母細胞は一部の個体を除き退行した。10月以降は油球形成後期の卵母細胞は観られたが、2年目ほど発達した個体は多くはなかった。さらに養成6年目になると、油球形成後期に達する卵母細胞はほとんど観られなかった。以上のことから、催熟実験を行なう際には、9月頃から始める秋季催熟試験では養成2年目を、4月頃から始める春季催熟試験では養成3年目をを用いるのが良いと考え

られた。

次に、春季催熟技術の改善を試みた。一般に春季の催熟試験では、秋季のそれに対し成績は良くないことが経験的に知られている。ニホンウナギは人工飼育下では性成熟しないが、卵母細胞のレベルで言えば卵黄形成初期に達する個体も存在する。もしこれが天然個体であるならば、銀化後産卵場に向かうかもしれないが、人工飼育下では春季になると卵母細胞が退行してしまう。この現象により春季催熟試験の成績が良くないと考えられる。そこで、卵母細胞の退行を防ぐため、冬季蓄養条件を変えて飼育し、春季催熟の成績向上を試みた。

12月1日までは水温 26~28℃、自然日長で淡水給餌飼育した。12月1日からは自然海水で催熟試験直前の3月下旬まで自然水温で飼育した12月海水化自然水温区、12月からは自然海水で飼育し、2月1日に水温 15℃の催熟水槽に移し、そのまま催熟試験まで飼育した12月海水化 15℃区、2月1日に淡水飼育から海水馴致を開始し、水温 15℃の催熟水槽でそのまま催熟試験まで飼育した2月海水化 15℃区、催熟試験直前まで淡水高水温で飼育した淡水高水温区（給餌あり）の計4群を設けた。催熟試験前にバイオプシーで卵母細胞を一部摘出し観察した結果、全群で卵母細胞径が 200μm 以上あり、催熟可能なサイズと確認された。前述のように4月頃から卵母細胞の一部が退行すると考えられたが、少なくとも養成2年目の秋から4月までは催熟に使用できると考えられた。催熟試験の結果では、12月海水化 15℃区の孵化率が約 60%と非常に高かった一方、同じような条件で飼育した12月海水化自然水温区は有意に低値を示した。これは、催熟試験直前までの飼育水温が 15℃よりも低かったことが悪影響を与えたのかもしれない。しかし、春季催熟前の冬期蓄養の水温低下と海水化が卵巣発達を促進すること、また、高水温かつ淡水環境が卵巣発達を抑制することが確認された。

次に、卵母細胞の最終成熟（卵成熟）および排卵誘導のためのバイオマーカーとして、油球の融合状態に着目した。今まで用いられてきたのは、比体重や卵母細胞径である。油球を用いるメリットとしては、最終成熟において変化が大きく、確認しやすいことにある。しかし、油球の誘導状態は、比体重や卵母細胞径と異なり数値化するのが難しい。そこで、卵母細胞に透明帯が出来てから油球がほぼ1つになるまで融合した状態までを10段階にステージ化し、孵化率の高い卵が得られた過去の事例から、SPE 追い打ち時、MIS（またはその前駆体）投与時、排卵時の油球ステージを調べた。その結果、SPE 追い打ち時はステージ3から4、MIS 投与時はステージ6、排卵時はステージ7であった。もちろん、これは必要条件であって十分条件ではないが、それぞれの処理時に目的のステージに誘導できれば、各処理のタイミングを逸脱したことによる卵質低下は避けられ、質の高い卵が得られる可能性が高くなると考えられた。しかし、最終成熟に近づいても、24時間卵

母細胞をモニタリングできるわけではない。そこで次は、催熟時に使用する水温 15℃と 20℃の水槽を用い、卵母細胞の成熟進行の加減速が可能かどうかを調べた。具体的には、SPE 投与開始から体重が 10%増加した（比体重 110%）週の月曜日と、従来からの水曜日（SPE 追い打ち時）の 2 回カニューレーションにより卵母細胞の一部を摘出して油球ステージを判定し、その後、水温 15℃と 20℃で飼育し、卵成熟進行の加減速が出来るかどうか調べた。その結果、水温 15℃ではゆっくりと油球ステージが進行し、20℃では速く油球ステージが進行した。このことから、この 2 種類の水温を使用すれば、MIS 投与時に、目的の油球ステージ 6 へ誘導できる可能性が見出せた。

最後に、油球ステージ法の完成をめざし、比体重 110%に達した後、そこから 1 週間経過したらどこまで油球ステージが進行するかを調べた。前回の実験では初回カニューレーション時の油球ステージは、ほとんどの個体で 2 だったが、もう一度確認し、月曜日のカニューレーションの必要性などを検討した。その結果、今回の実験では、比体重 110%に達した月曜日の油球ステージは 3 が最も多かった。そこで、油球ステージ 2 または 3 の個体を、水温 15℃と 20℃で飼育した場合の油球ステージの変化を調べた。その結果、水曜日の SPE 追い打ち時に最もステージが進んだ場合でも、ステージ 5 であることがわかった。そして、それを MIS 投与時まで 20℃で飼育した場合、ステージは最大 8 まで進み、15℃で飼育した場合ではステージ 5 のままであった。油球ステージ 5 以上の場合、SPE 追い打ち時から MIS 投与時まで水温 15℃と 20℃で飼育し、採卵、人工授精した結果、水温 15℃の方が、平均で 2.5 倍孵化率が高かった。この結果から、SPE 追加投与から MIS 投与までを 15℃で飼育したことにより過熟を防ぎ、卵質向上につながったと考えられた。これらの結果から、カニューレーションは従来どおり水曜日の 1 回のみで、油球ステージが 2 以下の場合は翌週へ見送り、3～4 の場合は SPE 追加投与後 20℃で、油球ステージが 5 以上の場合は SPE 追加投与後 15℃で MIS 投与時まで飼育して採卵すれば、従来よりも良質な卵が得られる可能性が高いと考えられた。

以上、本研究では、催熟試験に使用する雌化親魚の最適な年級、春季催熟試験の成績向上のための冬季蓄養条件の検討、油球ステージ法の確立による催熟技術の高度化について検討した。催熟試験に使用する雌親魚は、秋季催熟ではシラスウナギから養成 2 年目を、春季催熟では養成 3 年目を用い、冬季蓄養条件も考慮に入れ催熟を行なうことで高い確率で良質卵が得られることを示した。また、油球ステージ法の導入は、カニューレーション後、卵径を測定することなく、その場で検鏡すればステージ判定でき、作業が効率化することも提案できた。これらの知見は、ニホンウナギの孵化率向上に必ず貢献できるであろう。