

# ウナギの種苗生産に関する研究その5

水産科2年 飯塚英伸 手塚雄児 深沢具視 山口卓 山本悠介

## 1, はじめに

近年、日本産シラスウナギの漁獲量が激減している。ウナギ蒲焼きのおもな輸入先である中国においても、ヨーロッパ産シラスウナギの採捕について、ワシントン条約により漁獲制限されるため、中国からの輸入量も今後減少することが予想される。

また、中国からの安価な輸入ウナギには、検出されてはならない薬品が含まれていたことも発覚し、国民の信用を失っており、今後私たちの食生活になじみの深かったウナギの蒲焼きが、簡単に食べられなくなる時代もくるのではないかと心配される。

これらの課題を解決するためには、シラスウナギを種苗生産する技術の開発が、とても重要であると思われる。

そのために私たちは先輩方の研究を引き継ぎ、馬頭高校で人工種苗生産技術を開発したいと思い、この研究に取り組むことにした。

## 2, これまでの研究の経緯

### (1) 2003年度

雄ウナギに生殖腺刺激ホルモン剤を、週1回体重1gあたり10単位、10週、腹腔内注射することにより排精が確認された。

シラスウナギに雌化ホルモン剤を、餌10gに対して0.1ml溶解を、週2回餌に添加し4ヶ月飼育することにより、雌ウナギが作出された。

### (2) 2004年度

前年度雌化したウナギ2尾に、産卵期のヒメマスの脳下垂体を1尾あたり30mg、週1回18週注射することにより1尾が成熟した。

### (3) 2006年度

ウナギの雌雄判別は外見からは不可能であるので、開腹手術による判別法を確立した。

### (4) 2007年度

ウナギの雌雄判別について外見の特徴から仮説を立てたが、開腹により確認を行った結果立証されず外見からの雌雄判別は不可能であった。

雌ウナギに20週ハクレン脳下垂体を注射したところ、体重の10%増加がみられたため、排卵促進のDHP0.45mlを腹腔内5カ所に注射したところ、20時間後に排卵を確認できたので、人工採卵を行い、卵と人工精しょう液を3:1の割合でよく混ぜ、人工精漿(NaCl KCl CaCl<sub>2</sub> MgCl<sub>2</sub> NaHCO<sub>3</sub>)の倍の人工海水を加え受

精を行ったが孵化にいたらなかった。

### 3, 本年の研究の目的

雌ウナギをハクレン脳下垂体、雄ウナギをゴナトロピンにより成熟させ、採卵、受精を行い、孵化を行うこと。

### 4, 親魚の選別

5月19日に親魚の候補として本校養成ウナギ3~5年魚10尾を選別した。

### 5, 選別親魚の標識

10尾の親魚の候補に腹部に焼き印を行い研究に用いる個体を識別した。

標識は A: クリスマスツリー型 B: △ C: ◎ D: sp E: ◇ F: p G: ☆

H: s I: ☆♡ J: △☆とした。

Bの△は昨年度採卵した個体である。

### 6, 開腹による雌雄の判別

6月23、30日標識魚を解剖し、生殖腺の形で雌雄を判別した。

Aは雌であることが判明

Bも昨年度採卵したので雌

C,D,E,Fはいずれも雄と判明

大きさからみて G,H,I,Jの個体は600g以下なので、雌の可能性は低いと思われるので開腹を止め研究対象から除外した。

### 7, ホルモン注射による親魚の成熟

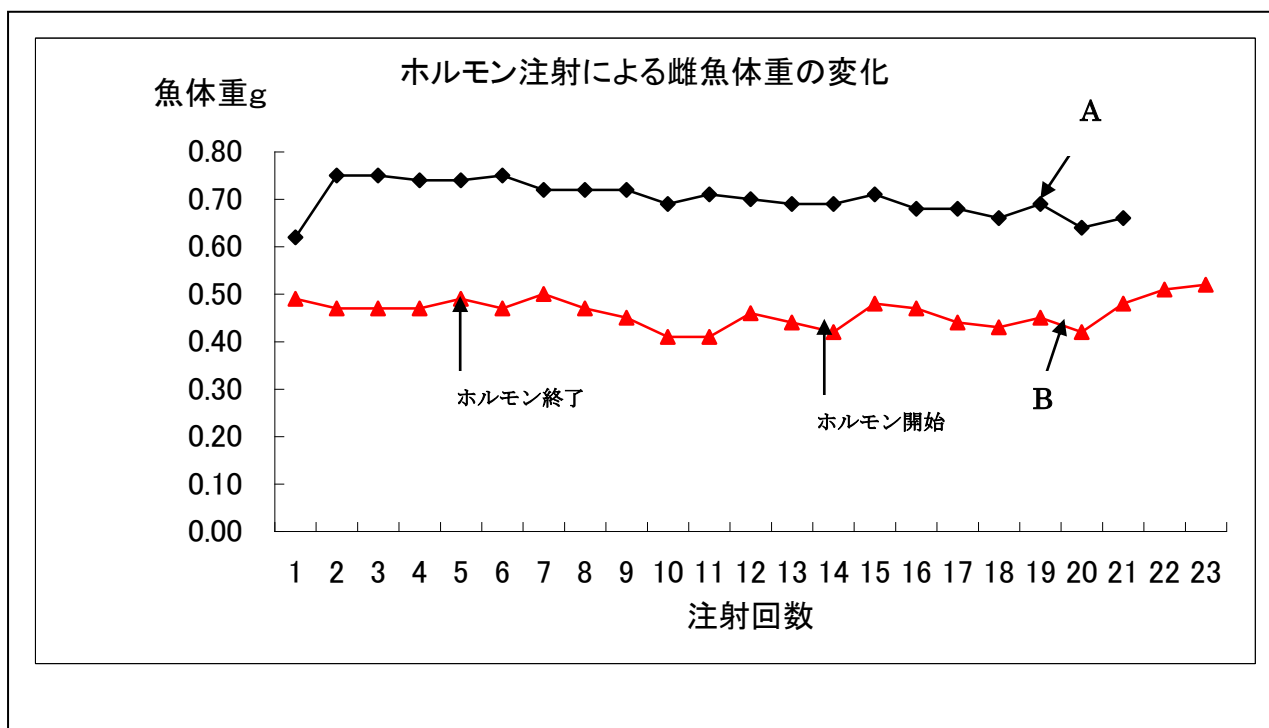
9月1日より、週1回体重測定を行い、A,Bにはハクレン脳下垂体を1尾あたり30mg注射を行った。C,D,E,Fには雌の成熟にあわせられるように10月20日から、それぞれ、1週間遅れになるようにずらして、ゴナトロピン注射を行った。

Bは、9月中注射をしたが、体重が500g以下なので成熟は不可能と考え、10月からの注射は中止した。Aは12月8日からハクレン脳下垂体を使い切ってしまったため、サケ脳下垂体に切り替え引き続き行った。

雄C,D,E,Fについては、ゴナトロピン注射後3回~4回においてすべて精液が確認された。さらにC,D,Eについては、精巣の成熟のため、それぞれ腹部の膨張がみられた。精液が確認された雄に対しては、雌の成熟にあわせるため、ゴナトロピン注射を中止した。その後1.5にBの腹部の膨れがわずかにみられたため、再びサケの脳下垂体を注射し、2.2からサケの脳下垂体を消費してしまったため、以前使用していたヒメマスの脳下垂体注射を引き続き行った結果、注射後7回目の3.16に腹部の膨満がみられ成熟が認められた。

(表) ホルモン注射による親魚の成熟 青物脳下垂体 緑ヒマス脳下垂体

注射回数	注射日	ハクシ脳下垂体注射 30mg/1尾		赤字 ゴナトロピン注射 体重 1g あたり 1 IU			
		A♀	B♀	C♂	D♂	E♂	F♂
1	9.1	0.62	0.49	0.68	0.69	0.53	0.47
2	9.8	0.75	0.47	0.69	0.66	0.49	0.47
3	9.16	0.75	0.47	0.71	0.56	0.48	0.45
4	9.22	0.74	0.47	0.58	0.55	0.49	0.42
5	9.29	0.74	0.49	0.58	0.50	0.48	0.40
6	10.6	0.75	0.47	0.59	0.54	0.49	0.42
7	10.20	0.72	0.50	0.61	0.57	0.5	0.42
8	11.6	0.72	0.47	0.64	0.52	0.5	0.40
9	11.10	0.72	0.45	0.65	0.52	0.45	0.37
10	12.1	0.69	0.41	0.64	0.56	0.47	0.38
11	12.8	0.71	0.41	0.65	0.52	0.41	0.35
12	12.15	0.70	0.46	0.63	0.57	0.51	0.42
13	12.25	0.69	0.44	0.57	0.55	0.51	0.38
14	1.5	0.69	0.42	0.55	0.53	0.54	0.39
15	1.13	0.71	0.48	0.53	0.55	0.54	0.41
16	1.26	0.68	0.47	0.56	0.55	0.53	0.38
17	2. 2	0.68	0.44	0.54	0.53	0.47	0.39
18	2.16	0.66	0.43	0.52	0.51	0.45	0.33
19	2.25	0.69	0.45	0.51	0.50	0.46	0.32
20	3.16	0.64	0.42	0.48	0.48	0.41	0.30
21	3.23	0.66	0.48	0.51	0.50	0.45	0.35
22	3.25		0.51				
23	3.26		0.52				



## 8, 精液の観察

11月6日Cの個体より、精液を採取し、人工精漿中に1週間保存して、その活性を400倍の顕微鏡で観察した。淡水魚のような精子の活性はみられなかった。12月1日に、再び精液を採取し、そのまま生理食塩水で希釈し、顕微鏡で観察したが、活性はみられなかった。次に人工海水を注入し、観察したが、やはり活性はみられなかった。養殖研究所に尋ねると次のアドバイスをいただいた。ウナギの精子は、ドジョウ、キンギョ等の淡水魚と異なり、細胞外の浸透圧の上昇が運動開始の引き金となるが、浸透圧上昇に伴う運動開始能力が、カリウムイオンや重炭酸イオンを高くしないと起こらないこと。採精直後の精子は活性が低く、2時間程度人工精漿中で培養して活性を高めること。そこで12月25日に採精し、3時間ほど人工精漿中で培養し、観察したら一部の精子に淡水魚のような活性を確認することができた。

## 9, 排卵

3.23に体重の10%増加が、3.25には16%の増加がみられたため、3.26、16:00に排卵促進のホルモンDHPを0.25mlを生理食塩水0.25mlと希釈し、腹腔に5カ所注射を行った。飼育水温20°Cで注射後18時間後の3.27、10:00には、排卵がみられた。

## 10, 採精

精子の活性を得るために、採精前日に雄3尾にゴナトロピンを体重あたり1gを目安に注射し、精液の量を増加させ、採精を行った。採精は精液の量が最も多い雄から注射筒で1ml吸い取った。そして、50倍に人工精漿で希釈を行い、1日貯蔵を

し、活性を高めさせた。

#### 11, 採卵・受精

排卵を確認後、搾出法で採卵を行った。搾り出された卵は薄いクリーム色を呈していた。媒精は卵の1/3の量を目安に希釈精液を注ぎ、鳥の羽で静かにかき混ぜた。その後孵化用海水を注ぎ受精を行った。2分ほどそのままにしてから再び海水で注ぎ懸濁している精液を洗い流した。

#### 12, 孵化

60cm 水槽を用い水温 22.5℃に設定し、静かにエアレーションを行い、周囲を暗くし孵化槽とした。

### 考察

ウナギにおいて、雌雄の判別には手間と技術と危険が伴うが、現在のところ開腹が最も確実な方法であると思われる。

2003年度は、雌の成熟に成功し、2006年度は成熟できなかった。2007年度は再び成熟でき、2008年度は、雌2尾のうち1尾が成熟できたことからウナギにもホルモンの感受性に対する個体差があると思われる。

産卵期の魚の脳下垂体を注射することは、生殖腺を直接刺激することではなく生殖腺を刺激するホルモンの放出を促す、大切な役割があると思われる。

また、今回採卵できた雌は前回採卵した雌であり、一度産卵し、餌を食べなくなり、やせてしまったウナギが、脳下垂体を注射することにより、再び産卵を行うことがわかった。改めてその生命力のすごさに驚かされた。

このことは深海で産卵を終わったウナギは死亡することなく、翌年再び産卵行動を起こすことも考えられるのではないか。

ウナギの精子の活性については、淡水魚とは異なり、運動開始能力が、カリウムイオンや重炭酸イオンを高くしないと起こらないことがわかった。

#### 10, 反省および今後の課題

開腹手術後の縫合の際に、緩く縫ってしまい傷口が締まらず切開した部分から細菌が入り、1週間後に死亡してしまい研究に支障をきたしてしまった。今後はしっかりと縫合し、縫合した部分の確認を徹底し、このようなことをなくしたいと思う。

成熟途中に市販されているハクレン脳下垂体がなくなり、昨年使用したサケやヒメマスの脳下垂体を一時的に使用することになった。脳下垂体なくなることは、研究において大変な支障をきたすので今後は十分な量を確保していきたい。

雄の成熟が思った以上に早く、雌が成熟する前に精子がでてしまった。今後の課題としては、さらに雌の成熟に合うようにゴナトロピン注射を遅らせる必要があると思う。



親魚の選別 08.5.19



焼き印標識 08.5.19



雌雄判別手術 08.6.23



脳下垂体注射 08.9.8



体重測定 08.9.16



人工精漿の作製 09.1.5