

ウナギの種苗生産について その9

水産科2年 大金貴宏、大島 丈、大嶋康夫、安田篤弘、渡邊聖士

1. はじめに

現在ウナギが不漁になった原因は乱獲と、河川環境の悪化、海洋環境が変化したことで、日本にやってくるシラスウナギが減少しました。このままでは、日本のウナギがいなくなってしまうのではないかと思います。そこで私たちはシラスウナギの種苗生産する技術を、先輩方の研究から引き継ぎ馬頭高校で完全養殖を目指したいと思いこの研究を始めました。

2. これまでの研究の経緯

- ・2003年 雄に生殖腺刺激ホルモン剤を、週1回体重1gあたり1単位、腹腔内注射することにより3~4週間後に排精させることに成功
- ・2004年 雌に20週、脳下垂体を注射することにより成熟させることに成功
- ・2006年 開腹手術にて生殖腺を観察することにより雌雄の判別に成功
- ・2007年 胸鰭の形状により雌雄の判別を試みたが確実ではなかった
- ・2008.9年 成熟した雌に排卵促進剤を注射したところ20時間後、採卵に成功
- ・2010年 ゴナトロピン注射により確実な雌雄判別に成功
- ・2011年 成熟した雌に排卵促進剤を注射したところ18時間後、採卵及び受精し、孵化に成功した

3. 研究の目的

- ・人工孵化の成功
- ・良い成熟卵得て孵化率の向上
- ・仔魚の飼育技術の模索

4. 親魚の雌雄判別試験

- ・親魚候補とし、4月に3尾、9月に5尾の下りウナギを入手。
- ・個体識別のためクリップを加工して焼印を行った。
- ・雌雄の判別には生殖腺刺激ホルモン(ゴナトロピン)を週1回腹腔内注射を行い、精子の確認できたものを雄、できなかったものを雌とした。
- ・結果、4月の下りウナギの内2尾、9月の下りウナギは5尾すべてが雌と判別できた。
- ・採卵時の雄を確保するため、養成ウナギ数尾を雌雄判別試験した。

5. 親魚の成熟試験

- ・今年度は6月8日～9月1日に2尾、10月9日～1月14日に2尾の下りウナギを使用。
- ・試験方法は週1回、雌のウナギにサケの脳下垂体を魚体重1kgあたり100mgを目安に生理食塩水中に溶解し、腹腔内に注射し、魚体重の測定を行う。(表1.2)
- ・外見的に腹部が膨れてきたら体重の増加に注意する。10%程度の増加がみられたらカニューレションで卵を採取し成熟を確認する。(図1)
- ・20%程度の増加がみられたら、魚体重の増加、卵の状態を観察し最後の脳下垂体を投与します。最終成熟を見極め排卵誘発剤を注射し採卵の準備をする。
- ・雄はホルモン注射の効果が早めに見られてしまうので、雌の成熟状態に合うような時期にゴナトロピンを体重1gあたり1単位を目安に生理的食塩水に溶解し腹腔内に注射をし、成熟させる。
- ・試験用水槽はFRP循環ろ過水槽3,5%人工海水使用、低温期には水温を20℃に保てるようヒーターを設置した。また、今年度は夏の高温期でも成熟試験が行えるよう海水クーラー(図2)を使用した。



図1 成熟の確認



図2 海水クーラー

月日	注射回数	クローバー	☆
6/8	1	1.100	650
6/15	2	1.140	630
6/22	3	1.100	650
6/29	4	1.050	630
7/6	5	1.050	640
7/13	6	1.070	610
7/20	7	1.050	600
7/27	8	1.050	630
8/3	9	1.080	650
8/10	10	1.100	600
8/17	11	1.180	600
8/20		1.200	
8/24	12	1.140	590
8/27		1.290	
8/30	13	1.210	
8/31	DHP投与	1.250	
9/1	採卵	1.310	

表1 魚体重の変化(6月8日～9月1日)

月日	注射回数	クローバー	□
11/9	1	1.090	990
11/16	2	1.070	960
11/23	3	1.080	980
11/30	4	1.100	1.020
12/7	5	1.150	1.060
12/14	6	1.200	1.190
12/18		1.220	1.310
12/21	7	1.260	死亡
12/24		1.370	
12/28	8	1.270	
1/4	9	1.250	
1/11	10	1.220	
1/12	DHP投	1.220	
1/13	採卵	1.200	

表2 魚体重の変化(11月9日～1月13日)

6. 排卵促進について

- ・17 α -Hydroxyprogesterone10mg を 2.5ml のエチルアルコールで溶解した。(DHP 溶解液)
- ・魚体重 1000kg に対し DHP 溶解液 0.5ml を 0.5ml のリンゲル液で希釈し 1.0ml 液を注射液とした。
- ・魚体重が 20%以上で卵径が 800 μ m を超えた時点で最後の脳下垂体を投与し最終成熟とした。(前半試験では 8 月 29 日、後半試験では 1 月 11 日の時点で最終投与と判断した。)
- ・最後の脳下垂体投与 24 時間後、DHP 投与を行い 18 時間後に排卵の確認を行った。(前半試験では 8 月 31 日、後半試験は 1 月 13 日で両試験とも 17:30 に投与した。)

7. 採卵、受精、孵化

- ・排卵の確認された親魚を取り上げ、良く拭いてから作出法により採卵した。(採卵は前半試験 9 月 1 日の 12:00、後半試験は 1 月 13 日の 12:30 に行った。)
- ・週 1 回ゴナトロピン注射を行い採精可能になった複数の雄から週 1~2 回採取し、人工精漿で 100 倍に希釈し 3~7 日間冷蔵保存したものから、顕微鏡で観察し最も活性の高い精子を選定し使用した。
- ・採卵した卵に活性の高かった精子を加え、媒精を行った。
- ・海水を加え静かにかき混ぜ 1 分間ほど放置し受精させた。
- ・ふ化水槽は 200 ℓ アルテミア孵化槽に人工海水 (比重 1.023) を 150 ℓ 入れ、水温を 23 $^{\circ}$ C に設定し準備した。
- ・合宿を行い孵化まで 3 時間毎に卵発生を観察した。(図 3. 4. 5、6)



図 3 卵発生観察



図 4 受精直後

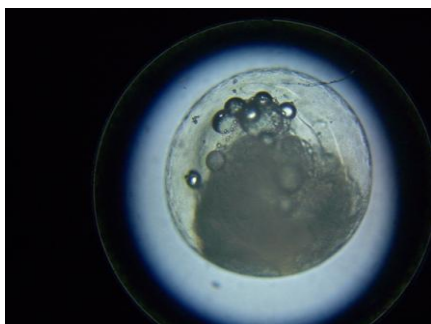


図 5 受精後 25 時間

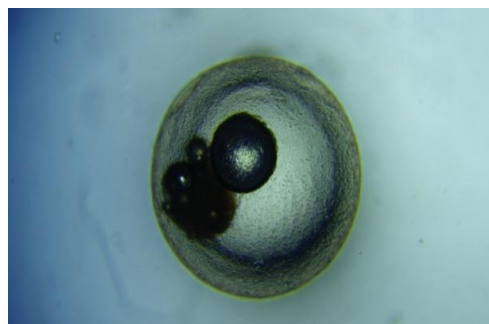


図 6 受精後 33 時間

8. 今年度の研究の考察とまとめ

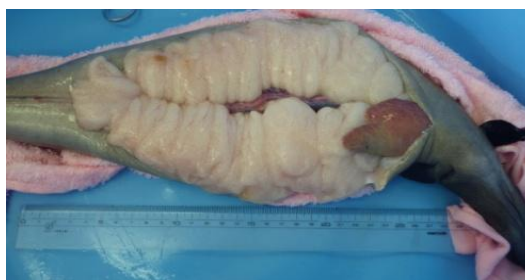
- ・下りウナギの使用、海水クーラーの使用により、順調な成熟試験が可能になった。また、卵の採取技術が向上し、多くの卵のサンプルが観察できた。
- ・2度の成熟試験では3尾の成熟ウナギを得ることができたが、残念ながら孵化には至らなかった。
- ・死卵が多く孵化槽の水質が悪化してしまった。
- ・前半の成熟試験では魚体重増加後に変化をみるため毎日、魚体重の確認を行ったがそれがストレスを与え、成熟に影響を及ぼしてしまったと考えられる。また、採卵した卵に未熟卵が多かったため排卵促進剤の投与のタイミングが早かったのではないと思われる。
- ・後半の試験では前半の反省をふまえ、ストレスの軽減と卵の成熟の見極めを重視したが、慎重な結果、1尾は採卵直前に死んでしまい、採卵できた親魚も排卵促進剤のタイミングが遅かったと思われる。
- ・今回の2度の成熟試験により、成熟の進行が個体、また成熟試験を行う季節や時期により差が出るものと考えられる。

9. 反省及び課題

- ・排卵促進剤の投与を適切なタイミングで行えるよう卵や成熟の見極める技術の向上に努めていきたい。
- ・孵化槽の水質を維持できる方法を考える。
- ・孵化したウナギが見たい！！
- ・孵化後の研究を進めるとともにシラスウナギの生産まで行える研究にしていきたい。



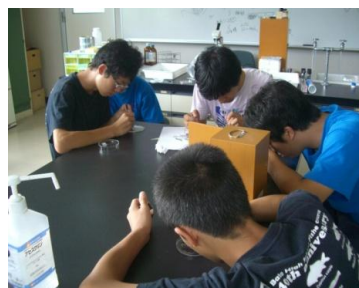
成熟した雌親魚



成熟した雌の卵巣



採卵



卵の観察、計測