

ウナギの種苗生産についてその 8

水産科 3 年 石田侑哉, 大島康嵩, 岡島将太, 塚原涼太

1. はじめに

近年、日本産ウナギの漁獲量が激減している。ウナギ蒲焼きの主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かば焼きが、簡単に食べられなくなる時代も来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。

なお、本研究に際して親魚を提供していただいた、矢沢の梁の皆様に深く感謝の意を表したい。

2. これまでの研究の経緯

- (1) 雄に生殖腺刺激ホルモン剤を、週 1 回体重 1 g 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ができた。(2003 年)
- (2) 雌に 20 週ヒメマスなどの脳下垂体を注射することにより成熟させることができた。(2004 年)
- (3) 開腹手術により生殖腺を観察して雌雄の判別を行うことができた。(2006 年)
- (4) 胸鰭の形状(先端が尖っているか、丸みを帯びているか)の差異により雌雄の判別を行ったが、確実に判別することができなかった。(2007 年)
- (5) 成熟したメスに、排卵促進剤の DHP0.45mℓ を腹腔内に注射したところ、20 時間後に排卵させ、採卵することができた。(2008 年、2009 年)
- (6) ギナトロピン注射により、雌雄の判別を確実に行うことができた。(2010 年)

3. 研究の目的

- (1) 採卵に必要な雌親魚を複数確保し、成熟卵を得て採卵を行うこと。
- (2) 人工孵化を目指すこと。

4. 採卵用親魚の選定

2003 年の研究開始以来採卵用親魚は、シラスウナギからの養成を行ってきた本校の親魚を用いてきた。そのため、性比が雄に偏っており、その中から雌を複数選び出す事が難しく、少ない雌を用いてサケなどの魚類脳下垂体を用いて成熟を行っていた。しかし、すべての個体が成熟することがなく、個体により、感受性が異なり、採卵できる年とできない年があった。そこで、自然界においてある程度成熟の始まっていると考えられる下りウナギを矢沢の築から提供していただき、今回親魚候補として用いた。

5. 親魚の雌雄判別に関する試験

(1) 材料および方法

- 1) 親魚は築から入手した下りウナギ 3 尾を用いた
- 2) 親魚の標識は 4 月 15 日にクリップを加工して焼印を行い、個体の識別を行った。
- 3) 親魚の体重は標識◎：1000g 標識M：1200g 標識☆：1190g であった。
- 4) 雌雄の判別は下りウナギ 3 尾に、生殖腺刺激ホルモン（ゴナトロピン）を週 1 回 体重 1g あたり 1 単位、腹腔内注射を 4 回行い、生殖腺の発達を確認した。
- 5) 試験は 5 月 6 日～5 月 27 日に行った。

(2) 結果

下りウナギ 3 尾からは精液が確認できなかったのですべて雌であった。（表 1）

表 1 試験に用いた親魚

試験項目	月 日	湿重量 (g)			備 考
		◎	M	☆	
	4.15	1000	1200	1190	
判別試験	5.6	990	1100	1150	ゴナトロピン1回目
判別試験	5.13	1000	1190	1180	ゴナトロピン2回目
判別試験	5.2	1000	1180	1180	ゴナトロピン2回目
判別試験	5.27	990	1180	1180	ゴナトロピン2回目
結果		♀	♀	♀	すべて排精なし

6. 親魚の成熟に関する試験

(1) 方法

- 1) 親魚 雌 4 尾（3 尾は下りウナギ◎ M ☆、1 尾は前年度からの成熟試験継続雌ウナギ△）雄 4 尾（雄は前年度からの親魚）
- 2) 雌にはサケの脳下垂体を体重 1 kg あたり 100mg を目安に生理的食塩水中に溶解し、雌の腹腔中に週 1 回注射し魚体重の測定を行う。週 1 回で 15 回程度の注射で外見的に腹部が膨れてきたら体重の増加に注意する。1 週で急激な体重の増加(10%程度)がみられたら排卵誘発剤を注射し採卵の準備をする。
- 3) 雄はホルモン注射の効果が早めにみられてしまうので、雌の成熟状態に合うような時期にゴナトロピンを体重 1 kg あたり 1000 単位を目安に生理的食塩水中に溶解し腹腔中に注射をし、成熟させる。
- 4) 試験用水槽は FRP2tB 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。

(2) 結果

試験日 6 月 23 日～12 月 20 日今回の成熟試験は、良い熟卵を得るために下りウナギを 3 尾用いたが、残念ながら 2 尾が夏の高温期における麻酔の影響のためか途中で死亡してしまった。残り 1 尾のウナギで成熟試験を行った。夏の期間はウナギの状態を考え、計画を変更し、2 週間に 1 回のペースでサケ脳下垂体を投与した。12 月になると急速に腹部が柔らかく大きくなってきた。そして脳下垂体を 18 回投与し魚体重が 970 g と成熟前（760～800 g）に比べ 21.2～27.6%と増加し、最終成熟段階に達した。（図 1、表 2）

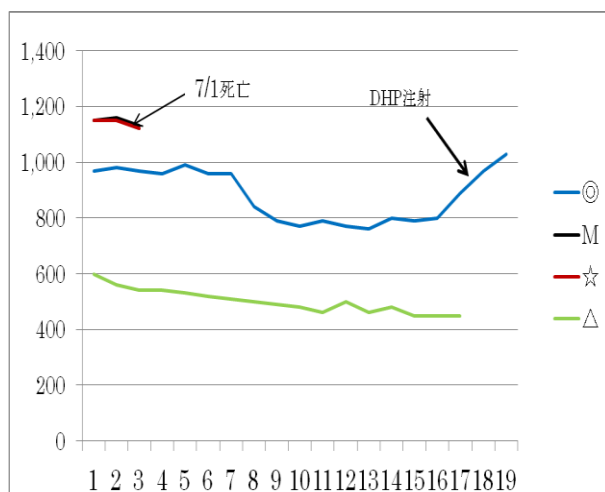


図1 ホルモン注射と魚体重の変化

表1 ホルモン注射と魚体重の変化

月 日	注射回数	◎	M	☆	△
6.1	1	970	1150	1150	600
6.17	2	980	1160	1150	560
6.24	3	970	1130	1120	540
7.1	4	960			540
7.8	5	990			530
7.25	6	960			520
8.12	7	960			510
8.26	8	840			500
9.9	9	790			490
9.3	10	770			480
10.14	11	790			460
10.28	12	770			500
11.11	13	760			460
11.18	14	800			480
11.25	15	790			450
12.2	16	800			450
12.9	17	890			450
12.14	18	970			
12.15		1030			

7. 排卵促進について

(1) DHP 注射液の作製と注射方法

- 1) 17 α -Hydroxyprogesterone 10 mg を 2.5m l のエチルアルコールで溶解した。
- 2) ウナギ 1000g に対して DHP 溶解液 0.5m l を 0.5m l のリンゲル液で希釈し 1.0m l 液を注射液とした。
- 3) ウナギの腹部に 6ヶ所に注射した。

(2) 排卵促進の方法

- 1) 魚体重が 10%増加した時点から魚体重の変化を毎日測定する。
- 2) 脳下垂体を注射し、更に体重が 10~20%増加したら最終の脳下垂体を注射した。
- 3) カニューレションで卵を取り出し、卵径が 800 μ m を超えた時点で DHP 注射し、18 時間後に排卵の確認を行った。

8. 採卵・受精・孵化について

(1) 精液の選定について

- 1) 週 1 回 4 週ゴナトロピン注射を行い採精可能になった精液を週 1~2 回 1m l 注射器を用いて採取し、※人工精漿で 100 倍に希釈し、マイクロチューブで 3~7 日間冷蔵保存したものの中から、顕微鏡により最も活性の高い精液を観察し選定した。

※人工精漿の作製法

塩化ナトリウム 6.691g、塩化カリウム 2.237g、炭酸水素ナトリウム 1.680g、塩化マグネシウム 0.325g、塩化カルシウム 0.191g を純水 1 l に溶解したものを 0.1 規定水酸化ナトリウムにより pH8.2 に調整した。

(2) 採卵方法

- 1) 排卵の確認された親魚を取り上げ、よく拭いて作出法により採卵した。
- 2) マイクロチューブに保存した最も活性の高い精液を卵に加え、媒精を行った。
- 3) 海水を加え受精を行う。静かによくかき混ぜて 1 分間ほど放置した。

(3) 孵化方法

- 1) 事前に 200l アルテミア孵化槽に人工海水(比重 1.023)を 100 l 入れ、水温を 23℃ に設定した。

- 2) 受精卵を收容し、浮遊卵が軽く動く程度にエアレーションを行い、黒ビニールを用いて遮蔽した。

(4) 結果

平成 23 年 12 月 14 日 17 時 30 分最終成熟に達した親魚に DHP を投与した。その後 18 時間後に排卵が見られたため 12 月 15 日 11 時 30 分に採卵を行った。

採卵は 9g(約 18,000 粒)を搾り、乾導法で媒性し、海水を入れ受精させた。受精卵は黒ビニールで遮蔽をした孵化槽に移した。卵は浮遊し、死卵は底に沈んだ。受精直後と受精後 29 時間後の卵の一部を顕微鏡で観察し、発生の過程を確認した。

2 日後の 12 月 18 日に水槽を確認したところ、約 20 匹の孵化が確認できた。孵化仔魚は縦になり浮遊していて時々活発に泳ぎ出すのが観察された。2 日の午前中には体側がやや広くなった個体が 1 尾確認できた。しかし、午後にはすべてが死亡してしまった。このとき 23℃に設定した水温がサーモスタットの不具合のため 28℃に上昇していた。

9. これまでの研究の考察とまとめ

- ・ 個体識別の方法は、焼き印による方法が最も適していると思われる。
- ・ 雌雄の判別には従来の解剖による方法よりも 4 週ゴナトロピン注射による方法が最も安全で、容易であると思われる。
- ・ 2003 年度、2007 年度、2009 年度は、雌の成熟に成功したが 2006 年度、2010 年度は失敗に終わった。このことは同じ条件で成熟試験を行ってもホルモンの感受性に対する個体差によるものであると思われる。
- ・ 今回は使用する精液について最も活性の高い状態を選び受精に用いることができた。
- ・ ウナギの精子の活性については、淡水魚とは異なり、カリウムイオンや重炭酸イオンを高くしないと活性化しない事がわかった。
- ・ 2008 年度については、採卵、受精を行うことが出来たが、孵化に至らなかった原因として、DHP を注射するタイミングが遅く卵が過熟気味であったことが考えられる。
- ・ 天然の下りウナギを親魚に使用することにより、養成魚よりも自然に近い状態で成熟させることができるとと思われる。
- ・ 今回は過熟にならないように、慎重に毎日の体重変化を観察し、排卵促進剤を適切なタイミングを見極めることができた。

10. 反省及び今後の課題

- ・ 複数の下りウナギを入手し、最も卵質の良いものを選び孵化率の向上に努めていきたい。
- ・ 魚体重の増加がみられたとき、温度を調整し成熟の調整ができるようにしていきたい。
- ・ 卵の成熟状態については、今回は排卵の途中の段階で採卵してしまったと思われるので排卵が完了したものを採卵し、孵化率の向上に努めていきたい。
- ・ 仔魚の餌付けについての研究をすすめるとともに、大量に飼育できる水質の管理方法を開発し、シラスウナギの生産まで行っていきたい。

【参考文献】 廣瀬慶二著 うなぎを増やす 日本水産学会監修ベルソープックス 010
栃木県立馬頭高等学校生徒研究集録№14.15.17.18.19.20.21



下りウナギ◎ 養成ウナギ△



吻頂と胸鰭が黒色化した下りウナギM



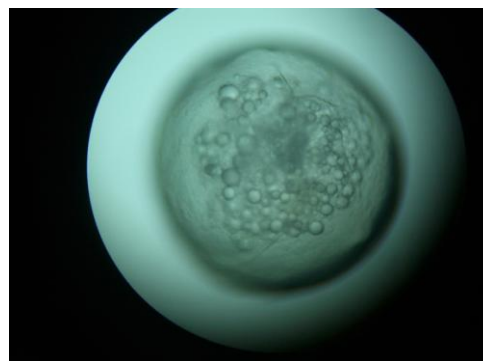
死亡した下りウナギMの卵巣



最終成熟ウナギ



採卵



受精直後



受精後 29 時間



孵化仔魚(48 時間)