

天然雌親魚と比較したウナギ雌化養成親魚の催熟成績

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-06-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 増田, 賢嗣, 今泉, 均, 小田, 憲太郎, 橋本, 博, 足立, 純一, 加治, 俊二, 照屋, 和久 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014813

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



天然雌親魚と比較したウナギ雌化養成親魚の催熟成績

増田賢嗣^{*1}・今泉 均^{*1}・小田憲太朗^{*1}・橋本 博^{*1}・足立純一^{*2}・加治俊二^{*3}・照屋和久^{*4}

(*1 志布志栽培漁業センター, *2 本部経営企画部広報室,

*3 南伊豆栽培漁業センター, *4 西海区水産研究所石垣支所)

水産総合研究センター養殖研究所は、2002年に初めて人工シラスウナギの生産に成功した¹⁾。その後はシラスウナギの安定した大量生産に向けて多くの研究が進められている²⁻⁴⁾。ウナギ仔稚魚の量産には大量の良質な受精卵の確保が前提となるが、飼育下では雄のウナギが多いことが知られている⁵⁾。雄親魚については養鰻業者から容易に入手できるが、雌親魚についてはかつては天然の漁獲物から確保するか、養鰻場に時折現れる雌ウナギを用いる他なかった。近年は稚魚期にエストラジオール17 β を与えることにより雌化養成する技術が確立され⁶⁾、雌の確保は比較的容易になった。しかし、この技術を用いても、ウナギが飼育下で自発的に成熟することは稀であり⁷⁾、受精卵を得るには数ヶ月に及ぶホルモン投与を中心とする催熟操作が必要である⁸⁻¹¹⁾。このため、催熟期間中の環境管理や催熟の手法が卵質に影響を及ぼすことは明白である⁸⁻¹¹⁾が、良質な受精卵を効率よく得るためには、催熟操作を開始する前の養成期間中の飼育条件についても検討する必要がある。

雌化養成ウナギが利用できるようになって、雌親魚の確保は格段に至便になったが、雌化した養成親魚では、催熟成績が天然雌親魚よりも劣ることが報告されている¹²⁾。これは、養成期の飼育条件が催熟成績に影響することの傍証であり、これら条件の最適化によって、催熟成績を向上させることができる可能性を示唆している。例えば、催熟操作の開始に先立つ海水馴致の後、しばらく養成したもののほうが、すぐに催熟操作を開始するよりもホルモンの平均投与回数が少なく済むことがこれまでに明らかとなっている¹³⁾。したがって、天然雌親魚と雌化養成親魚の催熟成績を比較することによって、養成手法を最適化するための情報を得ることが可能であると考えられる。

そこで本研究では、雌親魚について、宍道湖で漁獲された天然雌親魚と志布志栽培漁業センターで雌化養成した親魚との間で、採卵成績および卵質を比較した。その結果、雌化養成親魚は産卵量が天然雌親魚よりも劣るものの、十分な確率で受精卵を得ることができ、卵質についても天然雌親魚とほぼ遜色ないことが明らかになったので報告する。

材料と方法

親魚 親魚には、2008年10月に宍道湖で漁獲された天然雌ウナギ(天然群)と、雌化養成親魚を用いた。雌化養成親魚は、2005年2月(2005年度群)と2006年12月(2007年度群)にシラスウナギとして購入し、それぞれ、エストラジオール17 β (シグマアルドリッチジャパン)による雌化处理⁶⁾を行った。雌ウナギは、各群30尾ずつを試験に供した。雄ウナギは、養鰻業者から購入した(総数420尾)。

催熟および採卵 雌ウナギの催熟は、サケ脳下垂体抽出物(SPE;シンコー水産製サケ脳下垂体から抽出)を毎週注射し¹⁴⁾、体重が催熟開始時体重の110%を越え、卵径が750 μ m以上になった個体を成熟期に達したと判断し、以下の様な卵成熟・排卵誘導処置を行った。

まず、卵径が850 μ m前後に達した個体に、SPEを注射(プライミング)、24時間後に17 α -ヒドロキシprogesterone(OHP;シグマアルドリッチジャパン)を注射(ファイナルショット)して、成熟・排卵を誘導した⁹⁾。OHPの投与は、産卵予定前日の9~10時に行った。第1回目のSPE投与時の体重を催熟開始時体重とした。雄ウナギでは、ヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン(あすか製薬)を6週目まではオスモティックポンプを用いて^{10, 11)}、以降は毎週注射により投与し⁸⁾、排精を確認できた個体を使用した。OHPの投与後、1水槽に雌1尾と雄3尾を収容して「誘発産卵」¹⁵⁾させ、飼育水のオーバーフローによって受精卵を回収した。回収した受精卵は7~8時に取り上げ、直ちに万能投影機(V-12B;Nikon)で卵径を測定するとともに、一部を48穴マイクロプレートに収容し、その後の測定、観察等に供した。体重当たり産卵数は、オーバーフローにより回収できた卵数と、水槽内に残った卵数の合計を、催熟開始時体重で除して求めた。なお、17週目までに体重・卵径が基準に満たなかった雌ウナギは、未成熟個体として催熟作業を打ち切った。80%の個体が成熟に至る週数は、プロビット法¹⁶⁾により算出した。

試験に供した雌親魚のうち、全項目のデータを得ることができなかった個体については、以下に記述する要領によって処理した。

催熟期間中に死亡または逃走した個体(天然群 1尾, 2005年度群 2尾, 2007年度群 1尾) および成熟しなかった個体(天然群 2尾, 2005年度群 2尾, 2007年度群 6尾)は, 催熟開始時の体重・卵径, 成熟個体率の算出にのみ用いた。

産卵前日の水温が20℃であるべきところが15℃となっていた個体(2007年度群 1尾)は, 受精卵卵径の結果のみを用いた。

OHP 投与後の未産卵個体(2005年度群 1尾, 2007年度群 1尾)は, 成熟個体率, 体重当たり産卵数のみを用いた。

ウナギの精子の質に関する明確な基準はないが, 誘発産卵の際には目視により排精量が比較的多く, かつ運動活性が良好な精子を排出する雄を選定した。この基準を満たす雄が必要数得られなかった場合は, 排精量が十分でない雄も使用した(天然群 3例, 2007年度群 1例)。このデータは, 体重当たり産卵数からは除外したが, 受精卵卵径の結果には含めた。また, 基準を満たした雄 2尾のみで行った誘発産卵が天然群で 1回あり, これについては, すべての結果に含めた。

催熟開始時卵径の測定 催熟開始時に雌ウナギの生殖腺を摘出し, 5%ホルマリン-生理食塩水で固定した。万能投影機を用いて, 各個体につき200粒の卵の長径と短径を測定し, 各卵の長径と短径の中間値を卵径とした。また, 卵径の大きい方から30粒の平均値を平均上位卵径とした。

卵質の評価 得られた受精卵の卵質の評価基準として, 受精率, 正常卵割率, 孵化率, 受精後 7 日目の生残率(7日後生残率)および受精後 7 日目に形態異常が認められなかった個体の生残率(7日後正常仔魚生残率)を求めた。これらの評価基準は Unuma *et al.*¹⁷⁾の方法に準じた。

統計処理 得られた数値は, Dunnett の多重範囲検定を行い, p -値が0.05以下のとき, 統計的に有意な差があると見なした。

結 果

催熟開始時の体重および卵径 催熟開始時の平均体重(±標準誤差)は, 天然群, 2005年度群, 2007年度群の順に483±16g, 470±10g および503±13gであり, 3区の間で有意な差は認められなかった(図1)。雄ウナギは316±2.9gであった。催熟開始時の平均卵径は, 2005年度群で有意に小さかった(図1)。また, 催熟開始時の平均上位卵径は, 2005年度群が2007年度群に対して有意に小さかった(図1)。

産卵成績 成熟個体数および80%の個体が成熟するのに要した期間は, 天然群が30尾中28尾(93.3%)で

15.1週, 2005年度群が28尾中25尾(89.3%)で15.9週, 2007年度群が30尾中24尾(80.0%)で15.4週であった(図2)。また, 産卵個体は天然群が30尾中27尾(90.0%), 2005年度群が28尾中23尾(82.1%), 2007年度群では29尾中22尾(75.9%)であった。全産卵量のうち, オーバーフローにより回収できた卵量は, 天然群, 2005年度群, 2007年度群の順に88.6±4.4%, 88.8±3.0%および82.8±5.9%であり, 3区の間で有意な差は認められなかった。

体重当たり産卵数は, 天然群, 2005年度群, 2007年度群の順に1,163.1±91.1千粒/kg, 695.2±81.3千粒/kg および828.8±114.9千粒/kgで, 天然群と2005年度群との間, 天然群と2007年度群との間で有意差が認められた(図3)。ただし, 生殖孔から生殖腺の一部がはみだした(プラグ)が確認された個体を除くと, 天然群, 2005年度群, 2007年度群の順に1,163.1±91.1千粒/kg, 732.8±86.8千粒/kg および1,025.2±93.9千粒/kg(標本数はそれぞれ24, 20, 15個体)であり, 天然群と2005年度群との間では有意差が認められたが, 天然群と2007年度群の間では有意差は認められなかった。

回収時点での受精卵の発生段階は, 桑実胚~胞胚初期にあり, 卵径は天然群, 2005年度群, 2007年度群の順に1,672.6±13.3μm, 1,636.3±18.4μm および1,611.9±20.3μmで, 天然群と2007年度群との間のみ有意差が認められた(図3)。

なお, 排精量が十分でない雄を使用したために結果から除外した天然群 3尾の平均の体重当たり産卵数は, 1,179.8千粒, 2007年度群の 1尾では1,311.7千粒であった。また, 温度処理が適切でなかったため結果から除外した2007年度群 1尾の体重当たり産卵数は, 854.3千粒であった。

催熟開始時の卵径と産卵成績の関係 催熟開始時の卵径と体重あたり産卵数の間には, 相関は認められず($R^2=0.1189$, 図4), 産卵の際にプラグが認められた個体を除いても, 同様の傾向を示した。催熟開始時の平均上位卵径と成熟に要した期間の間には, 弱い負の相関が認められた($R^2=0.2516$, 図4)。

卵質評価 天然群, 2005年度群および2007年度群の受精率は, それぞれ74.3±5.9%, 70.8±5.7%および68.5±6.2%, 正常卵割率は66.2±6.6%, 58.7±7.7%および53.6±7.6%, 孵化率は56.1±6.9%, 51.5±7.2%および39.7±6.7%, 7日後生残率は50.4±6.4%, 45.5±6.5%および33.9±5.9%, 7日後正常仔魚生残率は38.3±5.6%, 30.3±4.6%および22.0±4.2%であった(図5)。全ての項目で, 天然群の平均値が高かったが, 7日後正常仔魚生残率の天然群と2007年度群との間でのみ有意差が認められた。

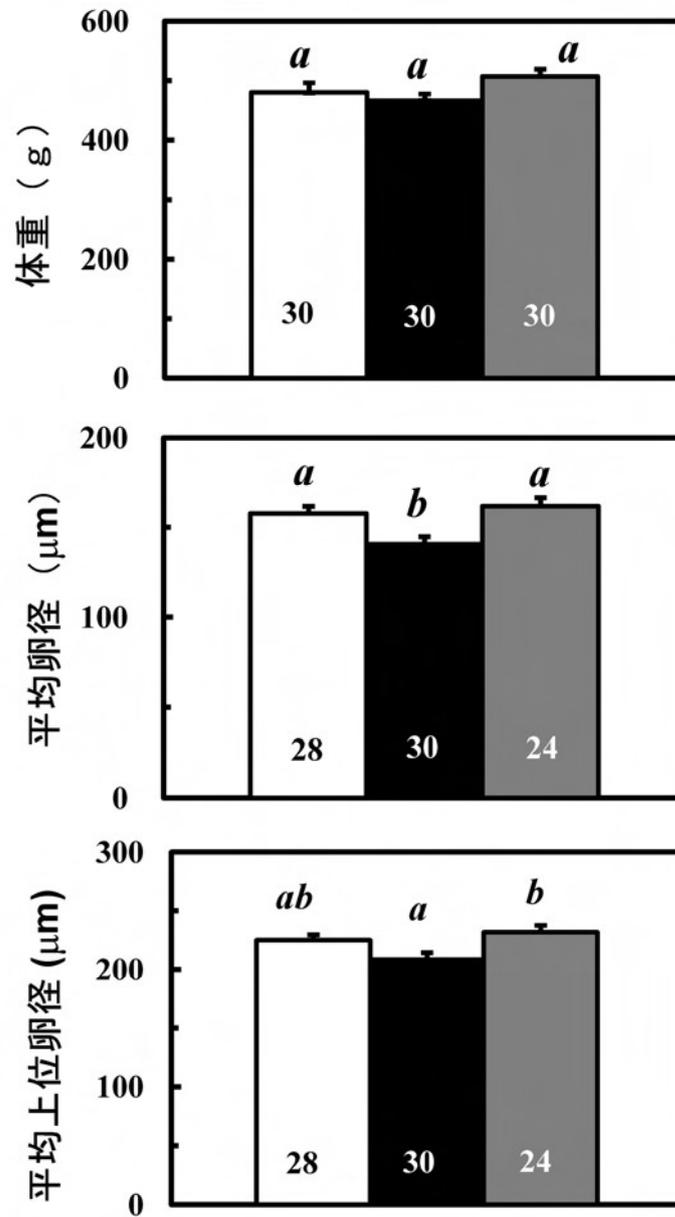


図1 催熟開始時の雌親魚および卵巣卵の状態
 図中の数字は標本数, 同じアルファベット間は有意差なし.
 □:天然群, ■:2005年度群, ▒:2007年度群

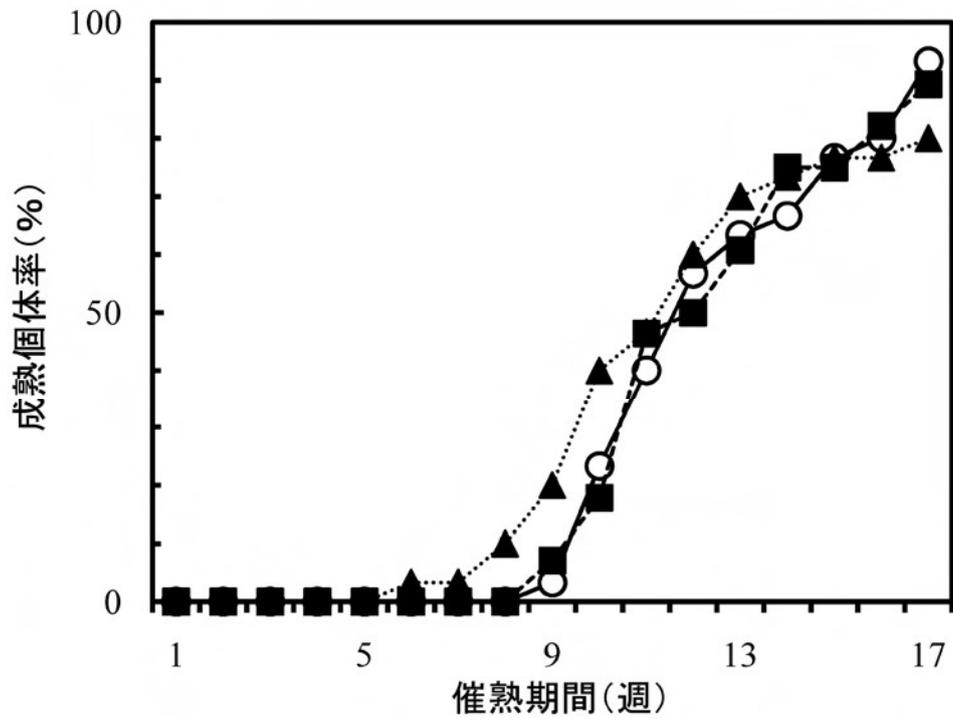


図2 OHP 投与まで至った個体の割合 (累積)
 標本数は天然群30個体, 2005年度群28個体, 2007年度群30個体

—○— 天然群 --■-- 2005年度群 ...▲... 2007年度群

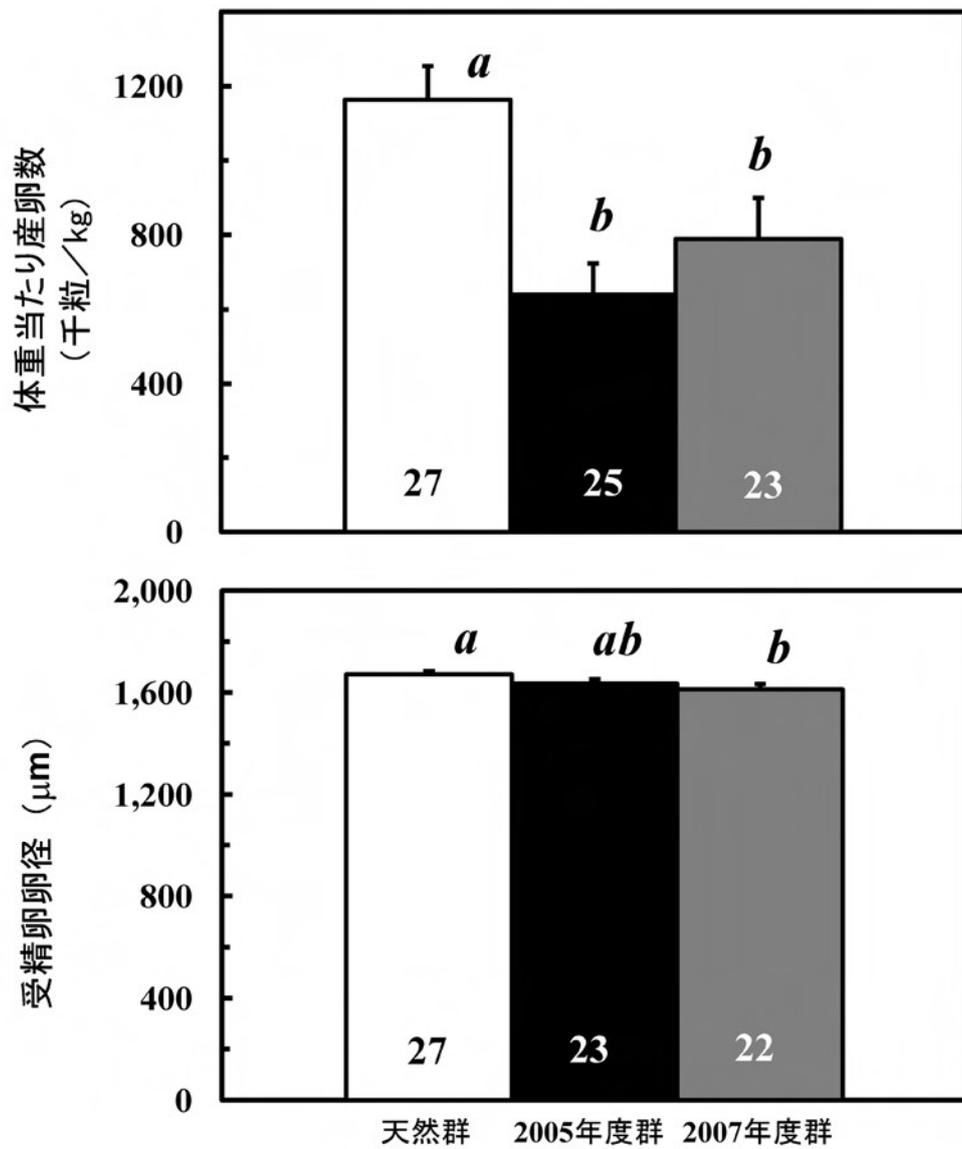


図3 産卵数と受精卵の卵径
 図中の数字は標本数, 同ジアルファベット間は有意差なし
 □ : 天然群, ■ : 2005年度群, □ : 2007年度群

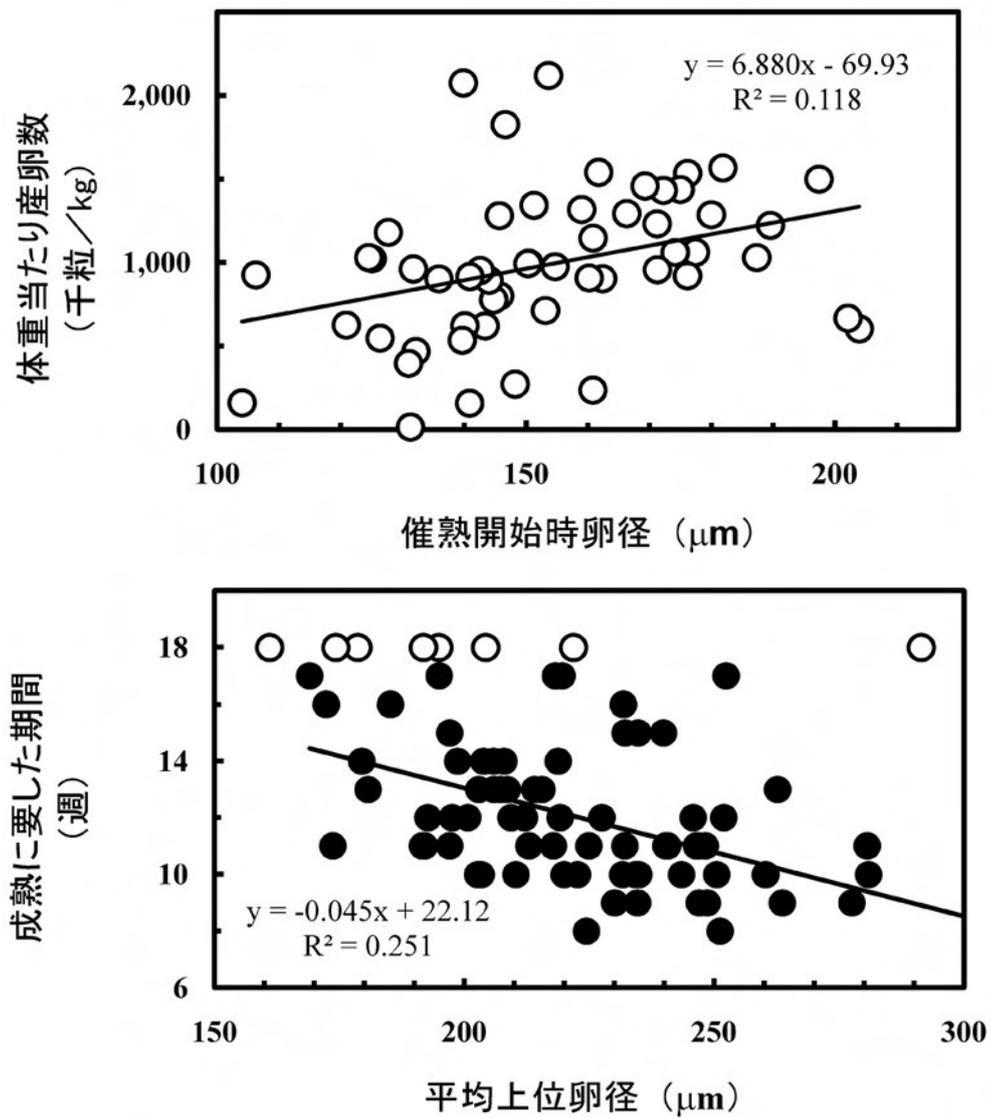


図4 催熟開始時の卵巣卵径と催熟成績の関係
 平均上位卵径は各個体で測定した200粒のうち上位30粒の平均値。下図中の白抜きは試験期間中に成熟しなかった個体の値で、回帰式の計算には含まれていない。

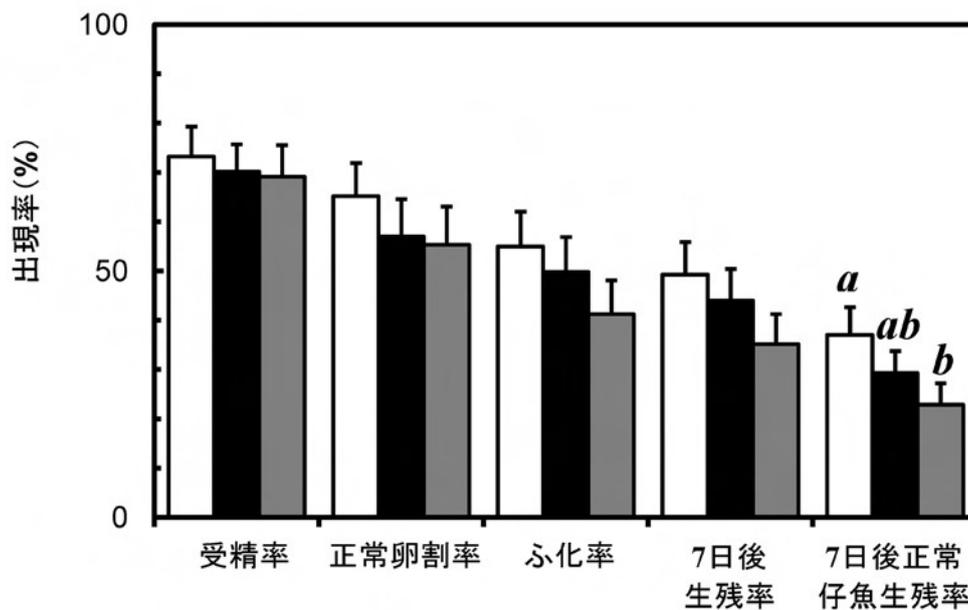


図5 得られた卵の受精率，正常卵割率，ふ化率および7日後の生残率と正常仔魚生残率
同じアルファベット間には有意差なし

□：天然群 (N=24)， ■：2005年度群 (N=23)， ▒：2007年度群 (N=20)

なお，排精量が十分でない雄を使用したために結果から除外した天然群3尾の平均の受精率，正常卵割率，孵化率，7日後生残率，7日後正常仔魚生残率は，それぞれ96.4%，92.7%，72.6%，67.8%および56.6%，2007年度群1尾では，75.0%，36.4%，32.1%，30.7%および15.7%であった。また，温度処理が規定通りでなかったために結果から除外した2007年度群の1尾では，受精率が15.4%で，他の項目は0%であった。

考 察

本研究において，天然由来の雌親魚と雌化養成親魚について，催熟の成績と得られた卵の質を検討した結果，雌化養成親魚は天然雌親魚より体重あたり産卵数が劣るものの，卵質には顕著な差がなかった。成熟個体の出現率が最も低かった2007年度群においても，80%の個体が試験期間内に成熟した(図2)。Ijiri *et al.*¹²⁾は，雌化養成親魚では成熟個体率が低い傾向がみられることを指摘しているが，催熟技術が向上したためか，本研究の結果から判断すると，実用上は問題にならないレベルであると言える。平均上位卵径については，群間に若干の差が見受けられたが，成熟に至るまでの期間の長さには顕著な差は認められなかつ

た。上位卵径と成熟に至るまでの期間の長さには，弱い相関が見られた。

体重あたり産卵数は，天然群と2005年度群および2007年度群との間に有意差が認められた。しかし，催熟開始時の平均卵径は，天然群・2007年度群と2005年度群との間に有意差が認められたものの，天然群と2007年度群との間には有意差が認められず，天然親魚と雌化養成親魚との間で明確な差があるとはいえなかった。2007年度群については，試験期間内に成熟しなかった個体が6個体あったが，これらを含めた催熟開始時卵径と体重あたり産卵量との間に相関は認められなかった。

雌親魚の体重の増加が顕在化して，1週間以内の産卵が予想されるころになると，生殖腺の一部が生殖孔からはみ出してしまうプラグの形成が時折見られ，これが産卵に支障を来すことがある。このような雌親魚では，産卵後も腹腔内に排卵卵が留まっている。そこで，プラグが認められた個体(2005年度群3個体，2007年度群5個体，天然群は0個体)を除くと，2007年度群の体重あたり産卵数は，天然群に匹敵した。雌化養成親魚で天然雌親魚よりも体重あたり産卵数が劣ったことは，雌化養成親魚にプラグを形成する個体が多く現れたことにより，部分的には説明できる。しかし，排卵量が記録されていなかったため，催熟開始時

卵径と体重当たり排卵数の関係を明らかにすることはできなかった。雌化養成親魚にプラグ形成個体が多く出現する理由については、今後検討が必要である。プラグ形成以外に産卵成績に影響を与える要因としては、催熟開始時の生理的な条件の違いが考えられた。試験に供した天然雌親魚は、秋季に宍道湖で漁獲されたものであるが、三河湾における調査では、秋季にウナギの捕獲数が増えることが知られており¹⁸⁾、産卵回遊中のウナギは、GSIが高く、最大卵径群の卵径が大きいことが報告されている¹²⁾。しかし、雌化養成親魚においては、養成水槽内で500g程度に達したウナギを無作為に選別して催熟に供しているため、天然親魚では産卵に向けた生理的な変化が始まっているが、雌化養成親魚ではその変化が十分でない等の催熟開始時の卵巣卵径の解析だけではわからない生理的な違いが産卵成績に影響している可能性がある。

受精卵の卵径については、天然群と2007年度群との間に有意差が認められたが、卵径と体重あたり産卵数、7日後正常仔魚生残率との間に関連は認められず、卵径の差と発生への影響については、孵化仔魚の飢餓耐性や摂餌開始後の飼育成績との関連から今後明らかにしていく必要がある。

卵質評価については、7日後正常仔魚生残率において、天然群と2007年度群間で有意差が認められたが、両者の催熟開始後の処理は同じように行っているため、催熟開始前の養成段階に原因があったと考えられた。このことから、催熟開始前までの養成の良否が、産卵数だけでなく給餌開始期である受精後7日(孵化後6日)までの正常な発達にまで影響することがわかった。しかし、天然群と2005年度群との間には有意差が認められず、雌化養成親魚由来の卵質が必ずしも天然雌親魚由来のものより劣るとはいえなかった。他の指標についても、全て天然群で高い傾向がみられたが有意差は認められず、7日目までの卵質については、本試験では天然雌親魚と雌化養成親魚との間に明白な差は見いだせなかった。

本試験の結果、雌化養成親魚は8割以上の個体が成熟し、卵質の面では天然雌親魚と遜色ないと考えられた。しかし、産卵数は天然雌親魚より少なく、この一因として、雌化養成親魚にしばしば観察されるプラグが生殖孔を塞いでいたことが考えられるため、今後は、プラグの形成を防除する技術開発が必要である。

謝 辞

本研究を行うにあたり、作業に協力頂いた山元栄一さん、恒吉守一さん、津曲良子さん、湯地幸枝さん、上野裕幸さん、研究の遂行および論文の作製を補助し

てくださった桐原久子さんにお礼を申し上げます。また香川浩彦博士、田中秀樹博士、野村和晴博士の各氏に有用な助言をいただいたことに感謝する。

文 献

- 1) Tanaka, H., Kagawa, H., Ohta, H., Unuma, T., Nomura, K., 2003. The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 493-497.
- 2) Kurokawa, T., Okamoto, T., Gen, K., Uji, S., Murashita, K., Unuma, T., Nomura, K., Matsubara, H., Kim, S.-K., Ohta, H., Tanaka, H., 2008. Influence of water temperature on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. *J. World Aqua. Soc.*, **39**, 726-735.
- 3) Okamoto, T., Kurokawa, T., Gen, K., Murashita, K., Nomura, K., Kim, S.-K., Matsubara, H., Ohta, H., Tanaka, H., 2009. Influence of salinity on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. *Aquaculture*, **293**, 113-118.
- 4) Okamura, A., Yamada, Y., Mikawa, N., Horie, N., Utoh, T., Kaneko, T., Tanaka, S., Tsukamoto, K., 2009. Growth and survival of eel leptocephali (*Anguilla japonica*) in low salinity water. *Aquaculture*, **296**, 367-372.
- 5) 松井 魁 (1972) 内部形態とその構造. 鰻学 [生物学的研究編], 恒星社厚生閣, 東京, pp.148-184.
- 6) 立木宏幸, 中川武芳, 田村憲二, 廣瀬慶二 (1997) ニホンウナギにおける estradiol-17 β の経口投与による雌化効果, 成長および親魚養成. 水産増殖, **45**, 61-66.
- 7) Matsubara, H., Tanaka, H., Nomura, K., Kobayashi, T., Murashita, K., Kurokawa, T., Unuma, T., Kim, S.-K., Lokman, M. P., Matsubara, T., Kagawa, H., Ohta, H., 2008. Occurrence of spontaneously spermiating eels in captivity. *Cybiuim*, **32**, 174-175.
- 8) Ohta, H., Kagawa, H., Tanaka, H., Okuzawa, K., Hirose, K., 1996. Change in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-

- one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, **139**, 291-301.
- 9) Kagawa, H., Tanaka, H., Ohta, H., Okuzawa, K., Iinuma, N., 1997. Induced ovulation by injection of 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the artificially matured Japanese eel, with special reference to ovulation time. *Fish. Sci.*, **63**, 365-367.
 - 10) Kasuga, Y., Adachi, J., Nishi, A., Hashimoto, H., Kaji, S., Horiuchi, Y., Kagawa, H. 2008. Induction of sexual maturation of male Japanese eel (*Anguilla japonica*) by continuous administration of various hormones using osmotic pump. *Cybium*, **32**, 171.
 - 11) Kagawa, H., Kasuga, Y., Adachi, J., Nishi, A., Hashimoto, H., Imaizumi, H., Kaji, S. 2009. Effects of continuous administration of human chorionic gonadotropin, salmon pituitary extract, and gonadotropin-releasing hormone using osmotic pumps on induction of sexual maturation in male Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, **296**, 117-122.
 - 12) Ijiri, S., Kayaba, T., Takeda, N., Tachiki, H., Adachi, S., Yamauchi, K. 1998. Pretreatment reproductive stage and oocyte development induced by salmon pituitary homogenate in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.*, **64**, 531-537.
 - 13) Kagawa, H., Iinuma, N., Tanaka, H., Ohta, H., Okuzawa, K. 1998. Effect of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.*, **64**, 77-82.
 - 14) Yamamoto, K., Yamauchi, K. 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, **251**, 220-222.
 - 15) Satoh, H., Yamamori, K., Hibiya, T. 1992. Induced spawning of the Japanese eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 825-832.
 - 16) Goldstein, A. 1976. 生物検定法入門 (木村正康, 渡辺和夫, 木村郁子訳), 南江堂, 東京, pp. 140-155.
 - 17) Unuma, T., Kondo, S., Tanaka, H., Kagawa, H., Nomura, K., Ohta, H. 2004. Determination of the rates of fertilization, hatching and larval survival in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, using tissue culture microplates. *Aquaculture*, **241**, 345-356.
 - 18) Okamura, A., Yamada, Y., Tanaka, S., Horie, N., Utoh, T., Mikawa, N., Akazawa, A., Oka, H. P. 2002. Atmospheric depression as the final trigger for the seaward migration of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **234**, 281-288.