

[経済同友会賞]

ウナギの完全養殖への挑戦 その2

愛知県立三谷水産高等学校 海洋資源科3年

沓名 駿介・関 祐輝・東 出 滉 大
三 矢 龍 志・金 田 美波渡

1 はじめに

本校海洋資源科(従前の増殖科)は、昭和58年頃に、シラスウナギから出荷サイズの大きさになるまでの養殖技術を学ぶことを始めた。しかしながら、現在のシラスウナギ(図1)の漁獲量は世界的にも極端に減少している。

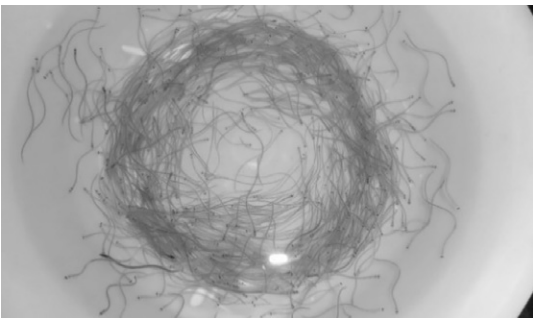


図1 天然のシラスウナギ

平成22年に世界で初めてウナギの完全養殖に成功したが、それから今日まで、ウナギの完全養殖は施設・設備や研究者の整った専門機関のみの成功であり、事業的には成功していなかった。そこで、私たちも学校の実習施設(図2、3)でウナギの完全養殖ができないかと思い、本研究を始めた。しかし、実際に、研究を始めてみると、ウナギの完全養殖までの道のりは遠く、4つの大きな壁が



図2 本校のウナギ養殖場 図3 シラスウナギ水槽

あることが分かった。昨年度までの研究では、第2の壁までは成功していたので、今年度は第3の壁以降の研究を続けている。過去の研究成果を紹介するとともに、現在の研究成果を述べる。

本研究は、文部科学省が認定する「スーパー・プロフェッショナル・ハイスクール(SPH)」(平成28年度指定)事業の一環として実施している。また、平成30年度には、株式会社ニデックからも研究支援を受けている。

2 ウナギの「完全養殖」とは

簡単に言えば、ウナギの一生のサイクルを人の管理下で完結させることを意味する。すなわち、受精卵を人工的にふ化させ、仔魚から稚魚のシラスウナギを経て、成魚のウナギに育てる。次に、成熟した雄と雌から精子と卵を採取して人工授精させ、ふたたび受精卵を人工的にふ化させることである(図4)。

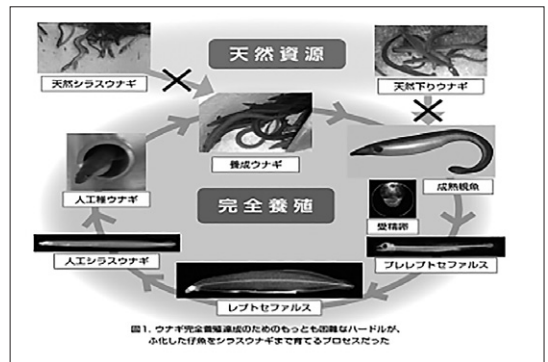


図4 完全養殖とは

(FRANEWS, vol.23, 2010.7より引用)

3 ウナギの完全養殖：第1の壁

第1の壁として、養殖ウナギの約90%以上が雄である事実であった。現在のウナギ養殖方式は加温式養殖(ハウス養殖)が多く、この促成栽培的な養殖により性比が偏りがちと考えられるが、昭和45年以前の大規模な露地池による養殖ウナギにおいても性比が雄に偏っていたようである(表1)。

表1 養殖ウナギの雌雄の割合
(うなぎを増やす(二訂版)、成山堂書店、平成26年より引用)

	調査尾数	雄(♂)	雌(♀)
水産講習所 吉田実習場	3507	99.5%	0.5%
吉田実習場 付近の養鰻地	5016	99.4%	0.6%
神奈川県 小田原養魚場	34	91.4%	8.6%

外観によるウナギの雄・雌の見分け方について、松井魁博士によれば、目の大きさ、頭の大きさ、胸鰭の長さ・形などで明瞭な雌雄差があるとしているが、私たち素人には外観から明確には雌雄を区別することは非常に難しいと思った。そこで、私たちは腹部の一部切開により雌雄の生殖腺の違いから雌雄を判別した。雄の生殖腺(精巢)は白色の半円状の小葉で、のれん状をしている(図5)。雌の生殖腺(卵巢)はピンク色のやや幅広の、カーテン状をしている(図6)。ウナギの生殖腺の形態により、肉眼的に容易に雌雄判別ができた。

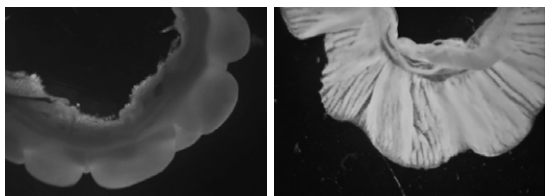


図5 雄の生殖腺(精巢) 図6 雌の生殖腺(卵巢)

本校で養殖したウナギの雌雄割合(表2)を調べてみると、平成27～30年度の4か年の生殖腺の肉眼的調査から、平均値で雄が85.2%、雌が7.5%、不明が7.3%である。本校においても、雄の割合が圧倒的に多く、他の研究結果と同じ傾向が見られた。

表2 本校養殖ウナギの雌雄割合
(平成27年度、平成28年度、平成29年度、平成30年度の4か年)

	尾数	尾数	尾数	尾数	総尾数	平均割合
雄(♂)	173	82	116	129	500	85.2%
雌(♀)	12	10	14	8	44	7.5%
不明	28	10	0	5	43	7.3%
合計	213	102	130	142	587	100.0%

一方、天然ウナギの性比については、日本水産資源保護協会の調査結果によれば(表3)、捕獲された天然ウナギの全国調査の結果から、全国平均では雄の割合は20%と少なく、雄は4歳以上になると海に下って、数が減少していくようである。雌は80%で多く、歳をとっても河川に生息し続けており、養殖ウナギとは全く逆の結果となっている。

表3 河川のウナギの雌雄割合
(うなぎ・謎の生物、築地書館、2012年より引用)

	雄(♂)	雌(♀)
加江田川(宮崎県)	50%	50%
利根川(千葉県)	5%	95%
物部川(高知県)	18%	82%
川内川(鹿児島県)	20%	80%
全国平均	20%	80%

そこで、私たちはウナギの雌雄を簡単に見分ける方法がないかと考え、次の3つの方法を試みた。

1つ目は、ウナギ親魚の海水飼育と低温飼育の併用により、親魚の精液を搾出して確認した。その結果、淡水飼育中の親ウナギを1週間、海水化と低温化を図り、精液の搾出を試みたが、当初は白色の糞を精子と間違えていて、失敗に終わった。

2つ目は、ウナギ腹部の一部切開(図7)により雌雄の生殖腺を確認した。この方法ではほぼ確実に判別できたが、ウナギに与えるストレスや切開・縫合など、作業量の多さとそれらの技術の熟練さなどから、多数のウナギに適用するには課題が残った。

3つ目は、ウナギ親魚に生殖腺刺激ホルモンを数週間投与して雄親魚の精液を搾出して(図8)、確認する方法である。この方法は、一般的に行われており、ほぼ確実な雌雄判別方法として最も有効と考えられるが、多数の親ウナギに適用することはホルモンの購入費用や判別できるまでの期間

が長いことから課題が残った。

4つ目の方法として、愛知県水産試験場内水面漁業研究所で開発された、シラスウナギに女性ホルモンを与えることにより雌化したウナギを作出し、それを雌親魚ウナギとして使用する方法である。最も確実に有効な方法であるが、親魚にするまでに2～3年飼育する必要があると思われるが、現在この方法で研究を進めている。



図7 切開による卵巣 図8 精子の抽出

第1の壁では養殖ウナギが雄ばかりであることから、いかにして雌の親ウナギを探すか、または作出するか、が重要であることが分かった。

4 ウナギの完全養殖：第2の壁

ウナギの性はどのように決まるのか、疑問に思い調査した。一般に、哺乳類(人間)の性決定は、雄の精子に性の決定権がある(図9)。

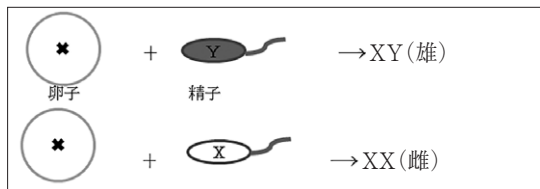


図9 哺乳類の性決定

性決定遺伝子が存在するY染色体を有する精子が受精すると、XY型となって雄になる。一方、X染色体を有する精子が常にX染色体しかない卵子と受精すると、XX型となり雌になることが分かっている。なお、魚類の性決定として、もう1つ、ZW型があり、こちらは卵に性の決定権がある。ウナギの性決定は卵子のほうにあると言われているが定かではない。卵はZ卵とW卵が作られ、精子はZ精子のみで、ZZが雄、ZWが雌になる。

また、魚類(メダカ)の場合では、人間と同様、Y染色体上に性決定遺伝子が存在する。しかし、

多くの魚類はその進化の過程でメダカとは異なる性の決定方法や繁殖戦略を編み出しているようで、高水温、高密度飼育、高餌量、ホルモン、ストレスなどの環境要因により、性が決定されると言われている。

人工的にウナギを性転換するには、性の分化が起こる前の稚魚期のシラスウナギに、雄にしたければ男性ホルモンを、雌にしたければ女性ホルモンを投与すれば比較的簡単に作出できる。愛知県水産試験場の研究成果によれば、実際に、市販のエストラジオールという女性ホルモンをごく少量、ウナギの餌に混ぜて全長20cm位まで給餌すれば、ほとんど100%、雌にすることができる。

本校でシラスウナギの雌化実験を行い、同様に雌化することが確認できた(表4、図10、11)。

表4 シラスウナギの雌化率
(調査個体の全長(cm)：平均26.7、最大29.4、最小24.3、
体重(g)：平均32.5、最大46.9、最小20.8)

	調査尾数	割合(%)
雄(♂)	0尾	0%
雌(♀)	10尾	83%
不明	2尾	17%
合計	12尾	100%



図10 ホルモン処理後の解剖

エストラジオール-17β (15mg/1kg餌)という女性ホルモンを混ぜた餌をシラスウナギ(250尾)に75日間給餌した後、顕微鏡下での生殖腺(12尾中、雄は0尾、雌が10尾、他2尾は不明)を確認したところ、雌化率83%の結果を得た。このウナギを養成して、雌親ウナギとして使用している。

今までに、雌親魚として人工催熟した個体は全て雌であったことから、ほぼ100%が雌化したと考える。また、最近の愛知県水産試験場の結果か

ら、出荷サイズのニホンウナギでは相対成長率が1日当たり2.5%より高いと全て雄で、0.45%より低いと50%が雌になると、推察している。緩やかな成長をしている個体が雌になっていることを確認している。

比較検討するため、ホルモン投与をしていないシラスウナギの性比(図12、13、表5)は12尾中、雄が6尾で、雌が4尾であった。雄と雌の割合は6対4となり、やや雄のほうが多い結果となった。

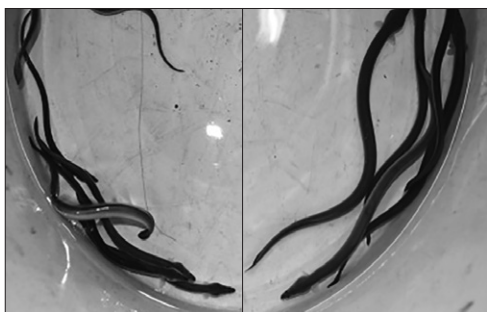


図12 無処理のシラスウナギ

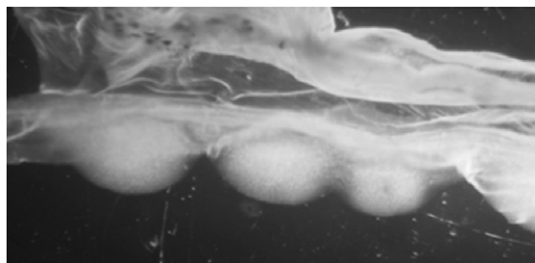


図13 無処理の雄の生殖腺(精巣)

表5 シラスウナギの性比①
(調査個体の全長(cm):平均27.4、最大33.5、最小23.5、
体重(g):平均23.4、最大43.2、最小13.7)

	調査尾数	割合(%)
雄(♂)	6尾	50%
雌(♀)	4尾	33%
不明	2尾	17%
合計	12尾	100%

しかし、表6に示したように、昨年2月にシラスウナギを購入し、本校実習棟の飼育池で1年5か月飼育した出荷サイズのウナギ48尾の生殖腺を調べた結果では、雌が69%、雄が27%、不明個体が4%であった。表2の結果とは全く逆の結果となった。

表6 シラスウナギの性比②
(平成29年2月~平成30年6月の1年5か月飼育、出荷サイズ)

	調査尾数	割合(%)
雄(♂)	13尾	27%
雌(♀)	33尾	69%
不明	2尾	4%
合計	48尾	100%

高水温飼育、高密度飼育、高餌量飼育等の飼育条件では、養殖ウナギのほとんどが雄になっているが、本校育ちの、これらのウナギはどうして雌が多いのか、今後の検討課題にしていきたい。

メダカ生殖細胞の性が決まる仕組みを基礎生物研究所の研究グループが初めて発見した。メダカの生殖細胞の中で「精子になるか、卵になるか、すなわち、生殖細胞の性がどのように決まるか」のスイッチ遺伝子を脊椎動物で初めて突き止めた。一般的に脊椎動物では、体細胞の性が決まった後に、その体細胞の影響を受けて、「精子になるか、卵になるか」という生殖細胞の性が決まると考えられている。メダカでは、Y染色体上の性決定遺伝子DMYの働きにより、体細胞は雄となり、その影響を受けて、生殖細胞も精子になる。一方、DMYを持たないと体細胞は雌となり、生殖細胞は卵になる。メダカの生殖細胞の性が決まる仕組みは(図14)、(A)雌では卵が作られる過程で、foxl 3により精子形成が抑制される。(B)雄ではDMYの働きで、雄化した体細胞により生殖細胞内のfoxl 3の働きが抑制され、精子形成が進む。(C)雌のfoxl 3の機能が欠損すると、体細胞が雌であるため卵巣を形成するが、その中では精子が作られると考えられている。

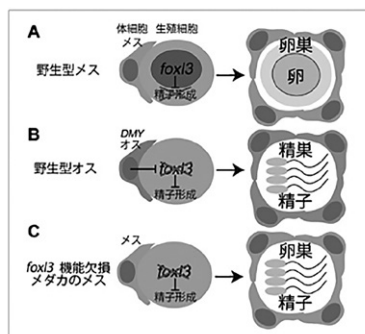


図14 メダカの生殖細胞で性が決まる仕組み
(基礎生物研究所、2015年、プレスリリースより引用)

5 ウナギの完全養殖：第3の壁

第3の壁として、受精のタイミングが最も重要であると考えた。雄親ウナギの生殖腺を成熟促進するために、毎週ホルモンを背部に注射して、成熟を促した。ホルモンには、胎盤性生殖腺刺激ホルモン(ゴナトロピン)を使用した。投与量は体重1g当たり1国際単位で、8～12週続けて行う。投与を始めて5～6週経過して、腹部を軽く押さえると、生殖口から精液が流れ出るようになる。平成27年度から現在まで、多数の雄が比較的容易に成熟し、精子の活性を顕微鏡下で観察した。一方、雌親魚の成熟を進めるために、サケ脳下垂体の抽出液を腹腔内に15～20mg/尾/週の単位で、15週間ほど注射した。成熟速度に個体差があるものの、多くの雌個体が成熟した。卵巣の最終成熟を図り、排卵促進をさせるため、卵成熟誘起ステロイドのDHPの代わりに、OHPを2mg/kg体重で腹腔内注射をした。現在、ウナギの受精卵を得るための方法として、自然誘発産卵法と人工授精法の2種類がある。本校では両方の方法で行っているが、人工授精法により、今年11月27日に初めてふ化仔魚が誕生した(図15、16)。

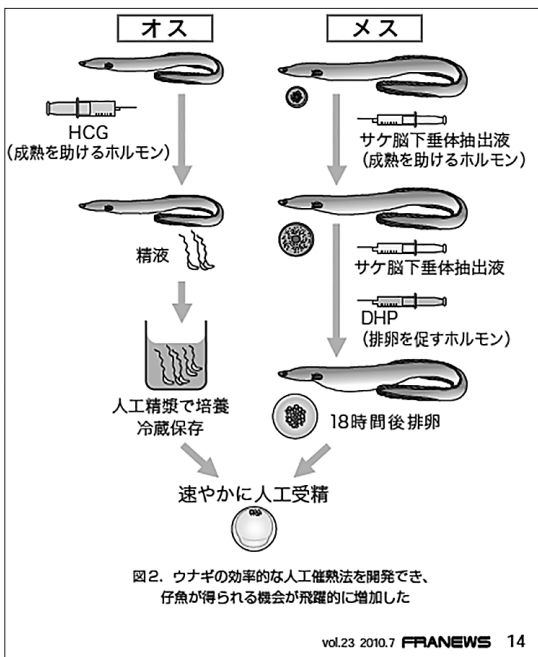


図15 ウナギの人工催熟法
(FRANEWS, vol.23, 2010.7 より引用)



図16 催熱のためのホルモン注射

図17のグラフは、本校で雌化した親魚にサケ脳下垂体抽出液を投与した雌親魚の比体重(ホルモン投与開始時の体重比)を示す。

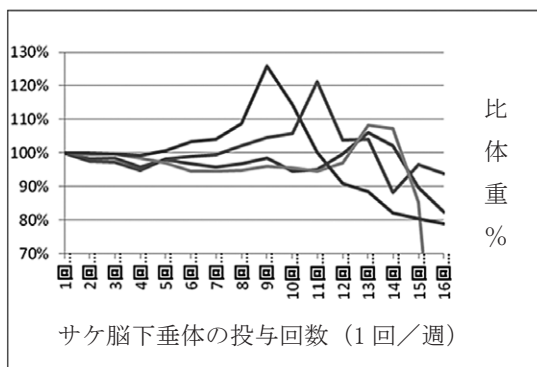


図17 サケ脳下垂体投与による雌化した親魚のホルモン投与開始時の体重比



図18 カニューレーションによる卵巣卵の採取

使用した雌親魚はシラスウナギから1年5か月間飼育した雌化処理親魚で、体重279～409gとやや小ぶりなウナギである。飼育条件は塩分35‰前後、温度20℃前後で循環ろ過により飼育した。

投与初期には、体重は減少または横ばい状態に移している。個体により差が見られるが、投与9回目にホルモン投与開始時である基本体重の最大126%の増加が見られたが、その後減少した。その他の親魚も110%以上でカニューレーションに

より卵巣卵を採取し(図18)、卵径や油球の状態を観察して、卵成熟誘起ステロイド(産卵誘発ホルモン)投与時期を決めている。雌化した親魚は全て卵成熟したので、産卵誘発を行っている。

ホルモン投与により成熟すると、雌雄ともに生殖腺が肥大化する(図19、20)。精子はそのままで運動せずに海水と混ざって初めて活動を始める。肥大化したときに解剖すると、簡単に雄雌を見分けることができる。採取した精子の活性度や卵子の大きさ、油球の状態を観察した(図21、22)。

成熟した雌親ウナギからカニューレション等により得た卵巣卵を、卵径、油球の大きさや数などから推察して、各ステージを判断した(表7の①、図23の②)。



図19 成熟した雄の生殖腺(精巣)



図20 成熟した雌の生殖腺(卵巣)

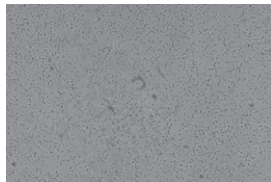


図21 顕微鏡で見た精子(黒点)

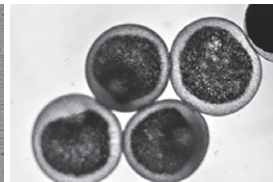


図22 顕微鏡で見た卵子

表7 成熟卵の油球融合過程のステージ分け①

(ウナギの種苗生産技術の開発、農林水産省、2014年より作成)

産卵ステージ	ステージ1	ステージ2	ステージ3	ステージ4	ステージ5	ステージ6	ステージ7	ステージ8	ステージ9	ステージ10
透明帯は卵径の	1/4未満	1/4以上								
平均油球径 μm		40-55	55-70	70-90	90-110	110-130	130以上	190未満	190-250	250以上
最大油球径 μm		630-700	690-1000	810-900	870-1000	910-1000	980-1100	1100以上		
卵径 μm	630-700	690-1000	810-900	870-1000	910-1000	980-1100	1100以上			
比体重110%			SPE追打ち	MIS投与	MIS投与					
15℃~20℃			20mg/kg体重	2mg/kg体重						
卵母細胞										
発達段階	VO	M-I	M-II	M-III	M-IV	OE				

図23は、油球のステージ1~10までを示した。ステージ4(上段の太枠)の状態、サケ脳下垂体抽出液の追い打ち投与を行い、続いてステージ6(下段の太枠)の状態、卵成熟誘起ステロイドを投与すると、排卵が行われ、受精可能な卵となる。

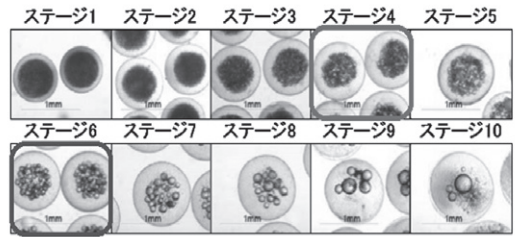


図23 成熟卵の油球融合過程のステージ分け②
(ウナギの安定生産につながるふ化率向上技術を開発、静岡県水産技術研究所浜名湖分場、2009~2012年)

しかしながら、今まで排卵間近であるステージ4の最終成熟状態の卵巣卵を確認できなかったが(図24、25、26)、今年11月24日に雌化した親魚(体重670g)に産卵誘発ホルモンを投与したところ、人工授精後、11月27日に本校で初めてウナギのふ化仔魚が誕生した(図27)。今後は、さらに最適な受精のタイミングをはかり、ふ化率の向上を高めたいと思う。

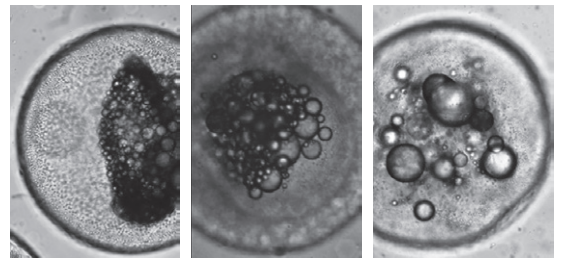


図24 ステージ2 図25 ステージ7 図26 ステージ9



図27 ふ化直後のウナギ仔魚(プレプトセファルス)

6 ウナギの完全養殖：第4の壁

最後に、第4の壁として、ふ化初期の餌についても研究した。養殖研究所は1996年(平成8年)に、ウナギ仔魚がアブラツノザメの卵を食べることを発見し、これが世界で初めて人工シラスウナギの

誕生につながった。しかし、このサメは絶滅の恐れが危惧されているので、これに代わる餌の探索が必要である。各研究機関で、必死になって初期餌料の開発研究が進められている。現在、本校では水質が悪化しにくい微粒子配合飼料を試作している(図28)。



図28 試作したウナギ仔魚用微粒子配合飼料

一般に、魚類のふ化仔稚魚に与える初期餌料の条件として、①口径に合った大きさ、②単純で壊れやすい、③消化吸収されやすい、④培養や入手が容易なこと、などがあげられる。海産稚仔魚の初期餌料に多く使用されているシオミズツボワムシは、ウナギの仔魚には不適なようなので、4つの条件を満たす以上の餌の発見・開発が急務である。また、現在の初期餌料研究では、海洋でマリンスノーのもととなる有機物やオタマボヤの包菓なども食べているとされている。

7 おわりに

私たちのウナギの完全養殖への挑戦について、4つの壁を打破するための取組を紹介した。やっと第3の壁を乗り越えたが、ますます私たちの研究意欲をかき立てている。今後の目標として、試作した配合飼料を使って、ふ化仔魚の長期飼育を目指している。また、日本人の食文化を守るためにも、ウナギの完全養殖を目指して研究を進めていく決意である。

最後に、多くのご助言・ご指導をいただいた愛知県水産試験場及び日本大学塚本勝巳教授ならびに配合飼料の試作にご協力いただいたイチビキ株式会社に感謝します。

<参考文献>

- ・ウナギの初期生活史と種苗生産の展望、多部田修編、恒星社厚生閣、1996
- ・ウナギ人工種苗生産技術開発調査委託事業報告書、愛知水試研究業績c-29、1996
- ・うなぎレプトセファルス育成事業マニュアル修正版、養殖研究所、2008
- ・ウナギの安定生産につながるふ化率向上技術を開発、静岡県水産技術研究所浜名湖分場、2009～2012
- ・ウナギの卵成熟・排卵および卵質に及ぼす要因の解明、香川浩彦、平成15年度ウナギ資源増大対策委託事業報告書、日本水産保護協会、39-44、2005
- ・特集：ウナギ完全養殖達成、FRANEWS、VOL.23、水産総合研究センター、2010
- ・うなぎ・謎の生物、虫明敬一編、築地書館、2012
- ・ウナギの種苗生産技術の開発、研究成果第507集、農林水産省、2014
- ・ウナギを増やす(二訂版)、広瀬慶二著、成山堂書店、2014
- ・ウナギ仔魚はマリンスノーの起源物質を摂取する、友田努・黒木洋明・岡内正典・鴨志田正晃・今泉均・神保忠雄・野村和晴・古板博文・田中秀樹、日本水産学会誌、81(4)、715-721、2015
- ・大洋に一粒の卵を求めて・東大研究船、ウナギ一億年の謎に挑む、塚本勝巳著、新潮社、2015
- ・プレリリース(「精子になるか、卵になるか」を決めるしくみの発見～生殖細胞で働く性のスイッチ遺伝子を同定～)、基礎生物研究所、2015
- ・養殖場から出荷されたニホンウナギの成長と性比から構想した放流用ウナギ集団の作出モデル、服部克也・岩田友三・鈴木貴志、愛知水試研報、22、1-8、2017