

## ミフェプリストン(RU486)を経口投与した雌ウナギの卵質評価

岩田友三\*<sup>1</sup>・服部宏勇\*<sup>2</sup>・小林 亨\*<sup>3</sup>

(2016年11月4日受付, 2017年1月31日受理)

### The egg quality evaluation collected from female Japanese eels *Anguilla japonica* orally administered Mifepristone (RU486)

IWATA Yuzo\*<sup>1</sup>, HATTORI Hirotake\*<sup>2</sup>, and KOBAYASHI Tohru\*<sup>3</sup>

キーワード: ニホンウナギ, 雌化, 採卵, RU486, エストラジオール

近年, ニホンウナギ (以下ウナギ) *Anguilla japonica* の資源減少は極めて深刻な状況にあり, 2014年には国際自然保護連合 (IUCN) の絶滅危惧 I B 類に指定された。天然のウナギ資源に依存して生産している養鰻漁業者からは, 養殖種苗の安定確保への対策が求められ, ウナギ人工種苗生産の実用化が強く望まれている。

1973年に, Yamamoto and Yamauchi<sup>1)</sup> は人工種苗生産でウナギ仔魚を得ることに成功したが, 養殖ウナギはほとんどが雄<sup>2)</sup> のため, 人工種苗生産を行う場合, 天然下りウナギの雌を用いるしかなかった。その後1997年に, 立木ら<sup>3)</sup> が養殖ウナギに Estoradiol-17 $\beta$  (以下 E2) を投与して雌化し, これからウナギ仔魚を得る技術<sup>4)</sup> を開発した。また近年, 分子生物学的研究により, 養殖環境下で性比が雄に偏る原因は, 卵巣分化鍵遺伝子である Foxl2 のストレス応答による発現低下であることが示唆され, ストレス応答を阻害して雌化を誘導する物質としてミフェプリストン (以下 RU486) を添加した飼料をウナギに与えて飼育したところ, 約30%が雌になったとされている。<sup>5)</sup> これは, RU486による雌化は, ほとんどの個体が雌に分化する E2による雌化と異なり, 本来雌になる個体が養殖環境下で雄に分化することを抑制しているため, E2投与と比べて雌化率が低くなったものと思われる。

人工種苗生産においては, 採卵した卵は高い受精率, ふ化率であることが求められる。RU486による雌化は, 雄に分化する個体までも雌化する E2に比べて, 雌が雄に分化するのを抑制する自然な雌化に近いと考えられ, 得

られる卵は E2 を投与した雌から得られる卵よりも卵質が良い可能性が期待される。そこで, RU486及びE2を投与して雌化したウナギから得た卵の受精率, ふ化率を比較し, 両者の卵質の差を検証したのでここに報告する。

E2投与区はコンクリート池 (6.2m×2.8m×水深0.4m) に1,250尾, RU486投与区はコンクリート池 (4.3m×2.2m×水深0.4m) に500尾のシラスウナギ (平均体重0.2g) をそれぞれ放養した。飼育水は水温28℃とし, ウナギ用配合飼料 (ビクトリー, 伊藤忠飼料株式会社) に E2投与区は E2 (SIGMA 社) を添加量 15mg/kg-飼料, RU486投与区は RU486 (SIGMA 社) を添加量 30mg/kg-飼料として添加し, 2回/週の間隔で5カ月間飽食給餌した。なお, E2を添加した飼料は餌付け直後から摂餌するものの, RU486を添加した飼料では餌付け直後の給餌は摂餌不良になることから, 通常飼料で1カ月間飼育した後 RU486を添加した飼料を与えた。このため, RU486の投与時期は E2よりも1カ月間遅れ, 4カ月間の投与にとどまった。

体重約400g以上に養成した個体について, 催熟を行う前に, RU486投与区についてはバイオプシーを行い, 組織を検鏡して卵母細胞を確認して雌を選別した。E2投与区はほとんどが雌になるため, バイオプシーによる確認は行わなかった。人工授精は3回 (試験1~3) 実施した。催熟は田中らの方法に従い, 試験1では RU486投与区4尾 (平均体重588.0g) と E2投与区15尾 (平均体重529.3g) について2011年3月8日から, 試験2では RU486投与区3尾 (平均体重562.3g) と E2投与区14尾 (平均体重591.4g) について2012年2月13日から, 試験3では RU486

\*<sup>1</sup> 愛知県水産試験場内水面漁業研究所 (Freshwater Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Issiki, Nishio, Aichi 444-0425, Japan)

\*<sup>2</sup> 西三河農林水産事務所水産課 (Nisimikawa Agriculture, Forestry and Fisheries Office of Aichi Prefectural Government, Myoudaiji, Okazaki, Aichi 444-0860, Japan)

\*<sup>3</sup> 静岡県立大学 (University of Shizuoka, Yada, Shizuoka 422-8526, Japan)

投与区 5 尾 (平均体重 867.4g) と E2 投与区 15 尾 (平均体重 621.1g) を 2012 年 11 月 12 日から行った。

雄には加温ハウス養殖したウナギを用い、3 週間毎にヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (ゴナトロピン, あすか製薬株式会社) を 6IU/g-体重で注射し、水温 15°C で飼育して催熟した。採精した精液は人工精しょう<sup>7)</sup> で 100 倍に希釈し、4 日間 4°C 下で冷蔵保存して媒精に供した。<sup>6)</sup>

排卵が確認された個体から順次採卵し、冷蔵保存していた希釈精液と媒精した卵は、鵜沼・野村が示した個別飼育法<sup>8)</sup> に従い、48 穴マイクロプレート (旭テクノグラス株式会社) のウェル毎に 1 粒ずつ収容し、採卵した個体毎に約 2 枚のプレートを作成した。その後、インキュベーター (25°C) に収容し、4 時間後に受精を、3 日後にふ化を、ふ化後 7 日目に生残をそれぞれ確認した。

試験 1~3 における RU486 投与区及び E2 投与区の採卵率を表 1 に示した。RU486 投与区は供試個体が少なかったものの、採卵率は試験 2 を除き 60% 以上であり、RU486 投与個体の採卵率は、E2 のそれと比較して、概ね同等であると思われた。

RU486 投与区及び E2 投与区の受精率、ふ化率及び 7 日目生残率を表 2 に示した。平均受精率は RU486 投与区が 45.5~96.8%, E2 投与区が 7.7~56.5% であった。平均ふ化率は RU486 投与区が 16.6~78.9%, E2 投与区が 5.7~33.7% であり、RU486 投与区のふ化率は、有意差 (Mann-Whitney *U*-検定) はなかったものの、E2 投与区よりも高い値であった。ふ化後 7 日目の平均生残率は、RU486 投与区が 8.8~66.3%, E2 投与区が 2.9~25.9% であり、同様に前者が後者より高い値であった。

E2 投与区ではほぼ全てが雌になるため、雌個体の選別、確保は安定して行えるが、RU486 投与区では雌化率が E2 投与区に比べて低く、雌を選別するためにはバイオプシーによる雌雄判別が必要である。また、RU486 投与区では多くが雄であることから、採卵に必要とされる雌個体を確保するためには処理個体数を多く見積もることが求められ、飼育コストが大きくなることが想定される。受精率などから判断した卵質は、E2 投与区に比べ RU486 投与区はやや良好である傾向であった。しかし、種苗生産を行うには、採卵に至るまでの作業性、コストなども考慮する必要があり、今後 RU486 投与区での雌化率向上、バイオプシーに替わる簡便な雌個体選別法などの検討が必要である。

表 1 RU486 投与区及び E2 投与区の採卵率

	採卵率(採卵尾数/催熟尾数)(%)	
	RU486投与区	E2投与区
試験1	75.0% (3/4)	60.0% (9/15)
試験2	33.3% (1/3)	85.7% (12/14)
試験3	60.0% (3/5)	66.7% (10/15)

表 2 RU486 投与区及び E2 投与区の受精率、ふ化率及び 7 日目生残率

		RU486投与区		E2投与区
		受精率	45.5±0.4%	<
試験1	ふ化率	24.4±0.3%	>	12.0±0.2%
	7日目生残率	22.3±0.3%	>	9.9±0.1%
試験2	受精率	96.8%	>	7.7±0.2%
	ふ化率	78.9%	>	33.7±0.3%
試験3	7日目生残率	66.3%	>	25.9±0.2%
	受精率	60.5±0.2%	>	51.2±0.2%
試験3	ふ化率	16.6±0.2%	>	5.7±0.1%
	7日目生残率	8.8±0.1%	>	2.9±0.0%

平均値±標準偏差

## 文 献

- 1) Yamamoto, K. and Yamauchi, K. (1974) Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, 251, 220-222.
- 2) 鈴木貴志・岩田友三・富山 実 (2015) 優良放流ウナギ養成試験. 平成 26 年度愛知水試業務報告, 20-21.
- 3) 立木宏幸・中川武芳・田村憲二・廣瀬 慶 (1997) ニホンウナギにおける estradiol-17β 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(1), 61-66.
- 4) 立木宏幸・中川武芳 (1993) 雌化養殖ニホンウナギの産卵誘発. 愛知水試研報, 1, 79-80.
- 5) 農林水産技術会議事務局 (2014) 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. pp. 43-51.
- 6) 田中秀樹・太田博巳・香川浩彦 (2000) ウナギの人工催熟技術と仔魚の飼育技術の開発に関する研究. 日本水誌, 66(4), 623-626.
- 7) Ohta, H. and Izawa, T. (1996) Diluent for cool storage of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) spermatozoa. *Aquaculture*, 142, 107-118.
- 8) 鵜沼辰哉・野村和晴 (2006) 個別飼育法によるニホンウナギの卵質判定. 水研センター研報, 別冊 5, 51-55