

# 平成29年度農学部特別研究費研究経過報告書

1. 研究者名 小林 靖尚

2. 研究課題名

魚類養殖における簡便な新規技術の開発と応用: 高温処理のみで魚の不妊化を誘導できるのか?

3. 研究目的・内容

個体の生殖細胞を欠損させ不妊化を誘導する技術は、魚類の養殖に非常に役立つ。しかし現在、魚類を不妊化させるには煩雑な染色体操作や薬剤が必要となる。そこで本研究では、魚類の不妊化を簡便に誘導する技術を新規に開発することを目的とした。具体的には魚類の生殖細胞が高温により崩壊する事実に基づいて、高水温飼育により魚類の不妊を誘導できるか調べた。

4. 研究の経過

本課題では、我々が魚類の性に関する基礎研究から偶然発見した「高温処理を長期間行う事のみで魚類(ティラピア)の不妊化が誘導される」事実が、実際の養殖現場で適応可能な新規技術になりえるのか?を明らかにするため下記の研究を行った。

① シロギスを不妊化させるため基礎実験: 実験モデル魚(メダカ、ゼブラフィッシュ、ティラピア等)以外で、高温による生殖細胞の崩壊、不妊化、成熟および成長を調べるには、飼育技術が確立しており、高温耐性があり、短期間で成熟する魚種を選択する必要がある。そこで本研究では、上記の条件を満たし、水産重要魚種であり、かつ近畿大学水産研究所白浜実験場にて完全養殖が可能となったシロギス(*Sillago japonica*)を対象として、本種の不妊化の誘導を目指した。しかしシロギスの生殖に関する基礎知見が圧倒的に不足していたので、最初にシロギスの生殖細胞の挙動を調べた。実際には孵化後30日から130日にかけてシロギスの生殖腺を経時的にサンプリングし組織学的観察を行った。その結果、本種の生殖細胞の増殖期である性分化期と初回成熟日齢が明らかとなった。次に、これらの基礎知見に基づいて孵化後77日のシロギスに高水温(32°C)の処理を行い、成長/致死率/生殖細胞へ与える影響を解析した。

② 高温処理が生殖腺へ与える影響の解析: これまでに脊椎動物全般において、高温刺激によって生殖細胞の消失が誘導される事実が明らかとなっている。しかし、その消失メカニズムの詳細については不明な点が多く残されている。そこで本課題では奈良県でサンプルを得ることが容易なオオクチバス(*Micropterus salmoides*)を用いて、本種の生殖腺の *in vitro* 培養系を構築し、高温が生殖腺へ与える影響を詳細に解析することを計画した。培養は無血清培地にて行い、様々な温度で48時間の培養を行う事に成功した。結果として、生殖細胞の消失過程をアポトーシスを指標として免疫組織学的手法で観察する事が可能となった。今後、本培養系をもちいて、温度が生殖腺へ与える影響を詳細に解析する予定である。また本培養実験によってオオクチバスの生殖腺の不妊化を誘導する最適温度が明らかになると期待される。そのためそれらの知見を併せて、将来、オオクチバスの成体においても不妊化が誘導出来るかを試みたいと考えている。最終的に本研究によって外来種オオクチバスの不妊化が、防除に有効であるかを明らかにしたいと考えている。

5. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究課題は、サンプルを取得/調整する研究基盤や、解析を行う実験設備が全く整っていない状態を出発点としている。現在、サンプルの調製、実験系、解析機材が整いつつある。今後、得られたサンプルの解析を順次行っていく予定である。またシロギスについては、これまでに高温処理により生殖腺発達の阻害が確認できたことから、本種の不妊化誘導に成功したと考えられる。今後、シロギスの飼育実験を続ける事によりこれらの高温処理サンプルの成長を追跡調査する。また飼育が容易な他の淡水魚(タナゴ、シグリッド)を用いて新たな実験系を構築することも計画している。