

エツの人工授精に関する検討

中本 崇・福永 剛・濱崎 稔洋・恵崎 撰
(内水面研究所)

Examination about Artificial insemination of Engraulid Fish (*Coilia nasus*)

Takashi NAKAMOTO, Takeshi FUKUNAGA^{*1}, Toshihiro HAMASAKI^{*2}, Osamu EZAKI
(Freshwater Fisheries Laboratory)

エツ (*Coilia nasus*) は、筑後川が流入する有明海湾奥部に生息しているカタクチイワシ科の魚である。親魚は5月から8月にかけて、筑後川の感潮域に遡上し、産卵する。この時期の遡上群は流しさし網で漁獲され、重要な漁業資源となっている。エツの漁獲量は昭和50年代には100t前後であったが、その後徐々に減少し、近年では数十tで推移している(図1)。下筑後川漁業協同組合ではエツ資源の増殖を図るため、受精卵放流や種苗生産に取り組んでいる。エツの漁獲は5~7月の漁期の前半は雄が、逆に後半は雌が多く漁獲される¹⁾。また、漁獲されたエツは非常に弱く、すぐに死亡するため、漁期後期に十分に成熟した卵がとれても生きた雄が少なく、受精卵放流に支障をきたしている。また、十分に成熟した卵と生きた雄の精子を用いて人工授精した場合でもふ化率に大きなばらつきがある。そこで、本研究では精子の活力及び保存方法と人工授精方法について検討し、いくつかの知見を得たので報告する。

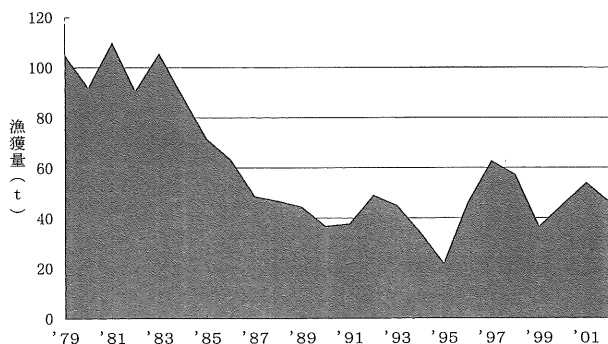


図1 福岡県におけるエツ漁獲量の推移

方 法

1. 精子の活力と保存

(1) 精子の活力

供試魚には夕方から夜間にかけて筑後川の干潮域で流しさし網で漁獲されたエツを用いた。漁獲後すぐに生きている雄3尾を無作為に抽出し、1尾毎に生きている時、死後15、30分にスライドガラス上に少量の精液を取り、顕微鏡下で河川水を加えて精子の活力を観察した。抽出した雄について1回目は常温(気温24.8℃)で、2回目は河川水(水温29℃)を入れたバケツに浸けておいた。精子の活力の判定は以下の基準により行った。なお、判断が難しい場合は中間値を入れた。

- 1: 動く精子はない。
- 2: 数個の精子が弱く動く。
- 3: 1割程度の精子が動く。
- 4: 5割程度の精子が活発に動く。
- 5: ほとんどすべての精子が活発に動く。

(2) 精子の液状保存

精子の保存法については凍結保存と液状保存があるが、前者は液体窒素を用い、研究室等での長期保存に、後者はリンゲル液を用い、現場での短期保存に適している。エツの受精卵放流は船上で行なわれるため、後者の液状保存について検討した。供試魚は(1)と同様に漁獲されたエツを用いた。1回目は1尾の雄から精液を搾出し、メダカ用、海産硬骨魚類用、サケ科魚類用の各リンゲル液20mlに精液1~2滴を希釈した。2回目は3尾の雄から精液を搾取し、メダカ用、海産硬骨魚類用のリンゲル液20mlにそれぞれ1個体ずつ希釈した。希釈液はクーラーで冷蔵保存し、研究所に持ち帰り、家庭用冷

*1 現有明海研究所, *2 現福岡県水産林務部漁政課

蔵庫で4℃保存した。なお、各リング液は表1のとおり作製した。精子の活力の判定は(1)と同様にし、3尾の活力を平均値で比較した。

(3) 保存精子の受精能

夕方から夜間にかけて筑後川で流しさし網によって漁獲された雌から十分に成熟したと思われる卵を少量プラスチック製の容器に入れ、冷蔵保存した精子を加えた。採卵直後、30分、1時間後に河川水を加えて受精させた。保存精子は雄5尾の精子を個別にメダカ用リング液で冷蔵保存し、上記の活力判定で4.5であった2尾の物を1時間後に使用した。対照区は同じ雌から同様に卵を取り、生きた雄3尾の精子を用いて乾導法で受精させた。それぞれ受精卵は研究所に持ち帰り、翌日に実体顕微鏡下で受精の有無を調べた。

表1 各リング液の組成

	NaCl	KCl	CaCl ²	MgCl ²	NaHCO ³
メダカ用 (g/l)	7.50	0.20	0.20		
海産硬骨魚類用 (g/l)	13.50	0.60	0.25	0.35	
サケ科魚類用 (g/l)	7.60	3.00	0.28	0.14	0.20

2. 受精方法の検討

(1) 塩分濃度別受精液

夕方から夜間にかけて筑後川で流しさし網によって漁獲された雌から十分に成熟したと思われる卵を少量プラスチック製の容器に入れ、雄5尾の精子を加え、両者をよくかき混ぜた。これらを河川水及び0.5, 1.0, 1.5, 3.0, 6.0, 15.0の濃度に調整した人工海水の中に少量入れ受精させた後、洗卵し1ℓサンプル瓶に収容した。受精卵は研究所に持ち帰り、翌日にふ化仔魚、生卵及び死卵を計数し、受精率を算出した。

(2) 受精方法の比較

1回目は乾導法と等調法を比較した。十分に成熟したと思われる卵を少量何も入れない容器とメダカ用リング液を入れた容器にそれぞれ入れ、5尾の生きた雄の精子をそれぞれに1滴ずつ入れ十分に攪拌した。攪拌した卵を少量ずつ別の容器に取り、採卵直後、5分、15分後に河川水で受精させた。

2回目は乾導法、等調法及び湿導法を比較した。十分に成熟したと思われる卵少量を何も入れない容器、メダカ用リング液を入れた容器及び河川水を入れた容器にそれぞれ入れた。乾導法では生きた雄3尾の精子を1滴ずつ直接容器に入れ、等調法、湿導法では同じ雄の精子をリング液で希釈して用いた。それぞれの受精法とも、採卵直後、15分、30分後に河川水で受精させた。等調法、湿導法では河川水を入れる直前に希釈精子を入れた。1回目、2回目とも受精卵は先卵後に1ℓサンプル瓶に収容した。研究所に持ち帰り、翌日に生卵及び死卵

を計数し、受精率を算出した。

結 果

1. 精子の活力と保存

(1) 精子の活力

精子の活力と時間の推移を図2に示した。1回目は活魚時ではA及びBが活力4.5でCが活力2.5であった。15分後にはA及びBが活力3でCの活力は1となった。30分後にはA, Bともに活力1となった。2回目は活魚時ではa及びbが活力4.5でcが活力3.5であった。15分後にはすべての活力は1となった。1回目、2回目ともに3個体の内2個体は活力が4以上であった。雄エツの保存時の温度が低い方が活力を長く維持した。

(2) 精子の液状保存

1回目のリング液別の精子の活力推移を図3に示し

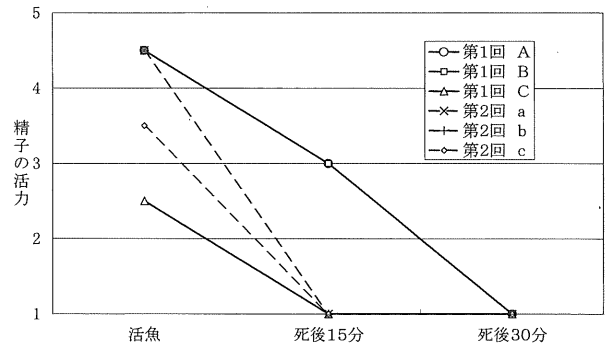


図2 精子の活力と時間

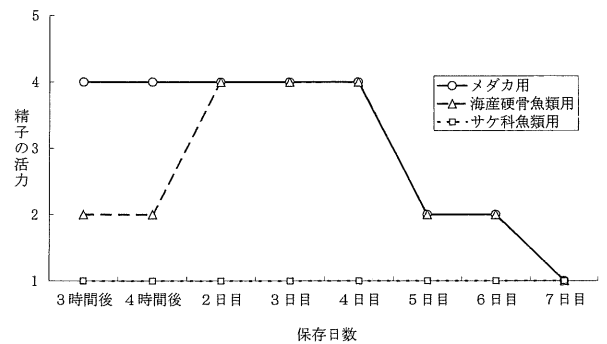


図3 1回目リング液別の精子活力の推移

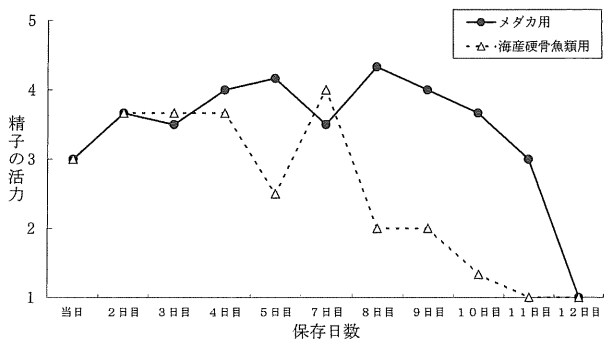


図4 2回目リング液別の精子活力の推移

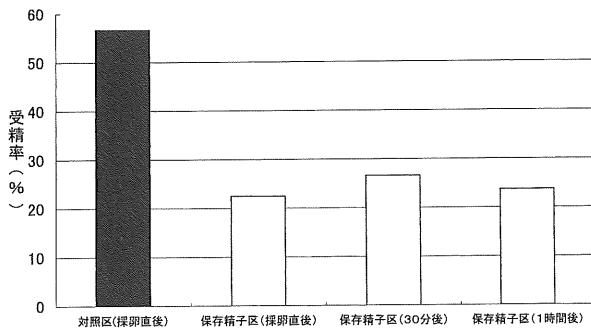


図5 保存精子の受精能比較試験

表2 塩分濃度別受精液のふ化率

受精液	0	0.5	1.0	1.5	3.0	6.0	15.0
'00年第1回	67.0	84.8	79.1	85.3	63.5	73.7	79.8
'00年第2回	67.6	60.5	41.0	33.9	0.0	39.4	93.2
'99年第1回	0.0	2.2	1.4	0.4	1.7	2.2	0.3
'99年第2回	4.0	9.0	6.0	0.0	4.0	49.0	4.0

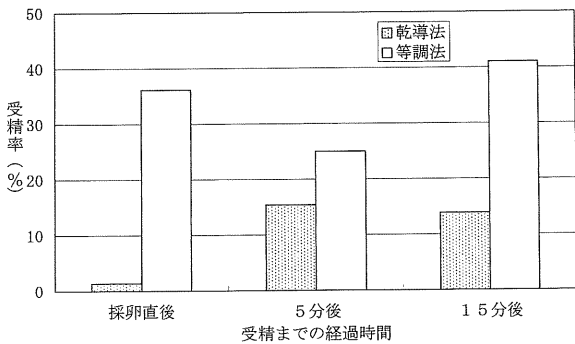


図6 受精方法別の受精率 (1回目)

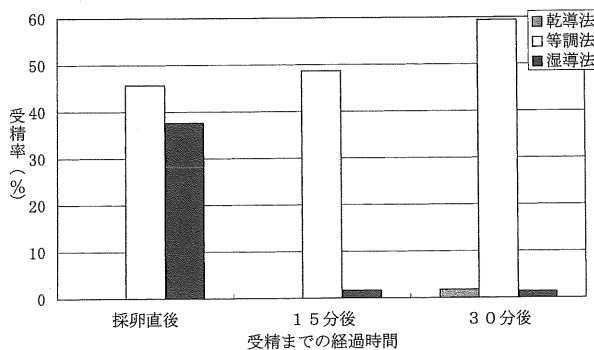


図7 受精方法別の受精率 (2回目)

た。メダカ用では4日目まで活力4で5, 6日目は活力2, 7日目には活力1となった。海産硬骨魚類用では研究所に持ち帰った当日の3及び4時間後の活力が2と弱かったが, 2日目以降はメダカ用と同様の保存傾向が見られた。サケ科魚類用は持ち帰った当日から精子の活力はなく保存できなかった。

次に2回目のリングル液別の活力の推移を図4に示した。メダカ用では11日目まで活力3以上で推移し、12日目に活力1となった。海産硬骨魚類用では7日目までは活力2.5~4.0で推移したが、その後活力の低下が見ら

れ、11日目に活力1となった。8日目以降はメダカ用の方が海産硬骨魚類用より高い活力を示した。また、10日目にはメダカ用、海産硬骨魚類用共に細菌の繁殖が見られた。

(3) 保存精子の受精能

保存精子の受精能比較試験の結果を図5に示した。対照区の乾導法の受精率が56.6%と高かったのに対し、保存精子区は採卵直後が22.5%と低く、30分、1時間後も25%前後であった。保存精子区は通常の精子に比べ約40%の受精率であった。

2. 受精方法の検討

(1) 塩分濃度別受精液

各塩分濃度別の受精液におけるふ化率を表2に示した。'00年第1回のふ化率は63.5~85.3%で最も高かったのは1.5, 最も低かったのは3.0であった。第2回のふ化率は0~93.2%で最も高かったのは15.0, 最も低かったのは3.0であった。'99年の第1回のふ化率は0~2.2%で最も高かったのは0.5及び6.0, 最も低かったのは0であった。第2回のふ化率は0~49.0%で最も高かったのは6.0, 最も低かったのは1.5であった。受精液の塩分濃度とふ化率には明確な関係は見られなかった。また、高塩分でも比較的高い受精率を示した。

(2) 受精方法の比較

受精方法別の受精率を図6, 7に示した。1回目の乾導法の採卵直後, 5分及び15分後の受精率はそれぞれ1.4, 15.4及び13.9%, 等調法はそれぞれ36.2, 25.0及び41.0%となった。2回目の乾導法はそれぞれ0, 0及び1.7%, 等調法は45.7, 48.6及び59.4%, 湿導法はそれぞれ37.6, 1.6及び1.3%であった。現在行っている乾導法の受精率は1回目2回目ともに低い値となった。等調法はともに30分後まで高い値となった。湿導法は採卵直後のみ高い値となった。

考 察

人工授精で重要な要素として卵質, 精子の活力, 受精方法が考えられる。エツの受精卵放流は船上で行うことから卵質の検鏡等は困難であるが, 外観からある程度の判断は付く。十分に成熟した卵は網にかかって船に上がってくる状態で触れなくても若しくは腹部を軽く押しただけで流れ出す。色は青緑色で透明, 水中に入れると1粒1粒がばらける。しかし, このような成熟した卵を持った個体は少ないこと²⁾や受精卵放流が資源添加を目的とすることから外観上十分に成熟した卵をすべて用いている。

精子の活力試験で精子の活力は親魚の個体差や親魚の死亡後に急速に失われることから受精率を高めるためには生きた雄数尾を用いる必要があると考えられる。精子の保存についてはメダカ用リングル液での冷蔵保存で数日間の活力維持が可能であることが分かった。さらに保存日数を延ばすには塩類組成の詳細な検討と抗生物質等の薬品を添加し、細菌の繁殖を抑える必要があると考えられた。保存精子の受精能が通常の精子より低かった原因については少量の卵に冷蔵した保存精子がかかったことによる急激な温度差の影響が考えられたが、これについては等調法を用いることにより等調液が緩衝液となりふ化率が改善されると考えられた。雄の漁獲が少なく、生きた雄の精子が十分に手に入らない時には精子の液状保存が有効であると考えられた。

受精液についてはエツの産卵が感潮域で行われる³⁾ことからエツの受精に最も適した塩分濃度を検討したが、一定の傾向は得られなかった。しかし、6、15の高塩分の受精液で比較的高い受精率となったことは受精液が、メダカ用及び海産硬骨魚類用リングル液と同様の役目をし、精子の活力を押さえ、河川水での先卵作業中に精子が運動し、受精したと推察された。これは後述する等調法と同様の効果があったと考えられた。また、'00年と'99年のふ化率の差は卵質によるものと考えられた。

受精方法については乾導法は広く魚類の人工授精に用いられている方法である。湿導法は天然域と同様の受精方法となり、環境水中での卵の受精能は急速に失われる⁴⁾。等調法は等調液洗卵法としてサケ・マス類に用いられている。ニジマスでは潰卵由来の卵蛋白が精子の活動を阻害するため、等調液で卵を洗浄し、受精させることでふ化率を向上させている⁵⁾。受精方法の比較試験ではエツの卵は乾導法で受精させると受精率は低いが、同様に乾導法で行った受精液の試験や保存精子の受精能の試験では高い受精率を示すこともあり、大きな差が出ている。これがニジマスのように潰卵由来の卵蛋白によるものなのかは今後、詳細に検討する必要がある。湿導法は採卵直後では受精率は高いが、15、30分後の受精率は低く、これは卵の受精能が環境水中で失われたためと思われた。このため湿導法を用いる場合は素早く受精させる必要がある。等調法は30分後でも安定して高い受精率が得られるため、実際の船上の作業では最も適していると思われた。

要 約

- 1) 精子の活力及び液状保存の方法と乾導法、等調法、湿導法の人工受精方法について検討した。
- 2) 精子の活力は死後急速に失われ、温度が高いほど早い。また、活力は個体差があるため、人工授精には数尾の雄を用いる必要がある。
- 3) 精子の液状保存についてはメダカ用リングル液の方が海産魚用リングル液よりも長く、冷蔵保存で数日間の保存は可能であることが示唆された。
- 4) 保存精子の受精率は通常の精子より低かったが、生きた雄の精子が入手不可能なときには十分使用が可能であると思われた。
- 5) 受精液の塩分濃度とふ化率には明確な関係は見られなかった。また、高塩分でも比較的高い受精率を示した。
- 6) 受精方法は乾導法では受精率に大きく差があり安定していないが、等調法では安定して高い受精率が得られ、エツの受精卵放流には最も適していると思われた。

文 献

- 1) 松井誠一：エツ *Colilia nasus Temminck et Schlegel* 生態的研究。九大農芸誌，第40巻，221-228 (1986)
- 2) 田北徹：有明海産エツについて。長崎大学水研報，第22巻，45-56(1967)
- 3) 田北徹：エツ *Colilia nasus* の産卵域。長崎大学水研報，第46巻，7-10(1979)
- 4) 長浜嘉孝：魚類生理学（板沢靖男，羽生功編），恒星社厚生閣，東京，1991。pp. 278-279
- 5) 田代文男：養鱒の研究（全国湖沼河川養殖研究会養鱒部会編）緑書房，東京，1978。pp. 14