

[成果情報名] ワカサギの採卵における希釈精液の使用

[要 約] ワカサギの採卵では、人工精しょうで精液を 250 倍に希釈することで良好な受精率が得られ、希釈精液は冷蔵保存することで 4 日間使用可能である。

[部 署] 山形県内水面水産研究所・内水面水産振興部

[連絡先] TEL 0238-38-3214

[成果区分] 指

[キーワード] ワカサギ、採卵、受精率、人工精しょう

[背景・ねらい]

山形県では湖への卵放流によりワカサギの資源造成が図られているが、放流卵は全て他道県産に頼っており供給量と卵質が不安定であるため、内水面漁業協同組合より山形県産ワカサギ卵の確保について強い要望がある。ワカサギの採卵は搾出法で行い、1 尾のオスから得られる精液は 10 μ L 程度と非常に僅かなため多くのオスを用いる必要があるが、生産現場では作業時間との兼ね合いから使用するオスの尾数が不足し、受精率が不安定になる一因となっている。そこで、人工精しょうを用いた希釈精液の有効性について検証した。

[成果の内容・特徴]

- 1 令和 6 年 5 月 9 日に横川ダム（小国町）に流入する横川（尾崎橋付近）で投網を用いてワカサギ親魚を採捕し、活魚で内水面水産研究所に運搬後に外見で雌雄判別を行い、雌雄を分けて水槽に収容し、水温約 11℃の井戸水をかけ流して無給餌で管理した。
- 2 採卵試験は 5 月 10 日と 12 日の 2 回実施した。精液の希釈には森沢（1984）の人工精しょう（表 1）を使用した。
- 3 5 月 10 日、オス 8 尾から計 56 μ L の精液を搾取し、250 倍、500 倍、1,000 倍希釈の希釈精液を調製した。メス 30 尾から卵 20.1g を搾り、滅菌シャーレ 4 枚を用いて対照区 4.0g、250 倍区 6.1g、500 倍区 4.9g、1,000 倍区 5.1g に分けた。対照区はオス 10 尾から 1 尾ずつ精液を搾りながら直接媒精し、試験区は希釈精液を卵が浸る程度（0.3mL）を使用した。媒精後は水中に静置したシュロブラシにまぶし、5 月 12 日に受精率を確認した。
- 4 5 月 12 日、オス 4 尾から計 39 μ L の精液を搾取し、250 倍、500 倍、1,000 倍希釈の希釈精液を調製した。メス 5 尾から卵 7.0g を搾り、滅菌シャーレ 4 枚に各区 1.2g ずつ分けた。対照区はオス 3 尾を 1 尾ずつ搾りながら直接媒精し、試験区は希釈精液を卵が浸る程度（0.2mL）を使用した。媒精後は水中に静置したシュロブラシにまぶし、5 月 14 日に受精率を確認した。
- 5 3、4 の試験の結果を表 2 に示す。5 月 10 日は 250 倍区及び 500 倍区の受精率が高く、1,000 倍区と有意差があり、対照区とは有意差がなかった。5 月 12 日は対照区と 250 倍区の受精率が高く、500 倍区と 1,000 倍区に対し有意差があった。この結果から、ワカサギの精液を人工精しょうで 250 倍に希釈することで良好な受精率が得られることが分かった。
- 6 5 月 12 日に調整した希釈精液を 4℃で保存し、保存可能な日数について検証した。顕微鏡による観察で、水を滴下後に運動した精子の割合別に 0~3 の 4 段階で評価した。250 倍希釈で 5 日目まで十分な活力が確認され、6 日目以降急激に活力が低下した（表 3）。このことから、5 日目以降は精子の活力が急激に低下するリスクがあることも考慮し、250 倍希釈精液は冷蔵することで調製から 4 日間使用可能である。

[成果の活用面・留意点]

- 1 内水面漁業協同組合がワカサギの採卵を行う際の指導資料とする。
- 2 遺伝的多様性確保の観点から、採卵の際は多数のオス親魚を使用することが重要である。
- 3 希釈精液を用いることで、採卵時の媒精作業に掛かる時間の短縮により採卵作業の効率化が図られる。

[具体的なデータ]

表1 試験に用いた人工精しょうの組成 (森沢 1984)

| 成分 | g/L |
|---------------------------------------|-------|
| NaCl | 7.60 |
| KCl | 2.98 |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 0.368 |
| MgCl ₂ · 6H ₂ O | 0.305 |
| NaHCO ₃ | 0.21 |

表2 無希釈及び希釈精液を用いた採卵試験の受精率

| | 5月10日 | | | 5月12日 | | |
|--------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|
| | 受精卵数(粒) | 観察卵数(粒) | 受精率 | 受精卵数(粒) | 観察卵数(粒) | 受精率 |
| 対照区 | 146 | 198 | 73.7% ab | 269 | 276 | 97.5% a |
| 250倍 | 212 | 275 | 77.1% a | 208 | 211 | 98.6% a |
| 500倍 | 276 | 357 | 77.3% a | 207 | 227 | 91.2% b |
| 1,000倍 | 236 | 356 | 66.3% b | 281 | 315 | 89.2% b |

※ a-b: 異なる符号間で有意差あり (Fisher's exact test, p<0.05 with Benjamini-Hochberg multiple testing correction)

表3 希釈倍率別、精子の活力の推移

| | 250倍 | 500倍 | 1,000倍 | 活力の階級 |
|-----|------|------|--------|--------------|
| 1日目 | 3 | 3 | 3 | 3...70%以上が運動 |
| 2日目 | 3 | 3 | 3 | 2...30~70% |
| 3日目 | 2 | 3 | 2 | 1...5~30% |
| 4日目 | 3 | 2 | 2 | 0...5%未満 |
| 5日目 | 3 | 2 | 1 | |
| 6日目 | 1 | 0 | 0 | |
| 7日目 | 1 | 0 | 0 | |

[その他]

研究課題名: 県産ワカサギの採卵及び放流技術開発

予算区分: 県単

研究期間: 令和6年度 (令和6年度)

研究担当者: 齋藤 哲

発表論文等: なし