

ワカサギの人工種苗生産技術の開発に 関する研究 - III

GPC-5 精巢懸濁液による人工受精について

岡本成司・河崎 正・高野 誠

魚類の人工受精には、サケ・マス類のように産卵期に容易に放精する魚種では搾出精液、また産卵期でも搾出できないドジョウでは精巢を摘出し、その懸濁液を用いている。

ワカサギの人工受精は普通サケ・マス類と同じように搾出精液による湿導法または乾導法によって行われている。しかし、ワカサギの1尾から得られる搾出精液の量はサケ・マス類に比べて比常に少なく人工受精の際、雄親魚を1尾ずつ用いるため作業に多くの人手と時間を費さねばならない。さらに内水面水産試験場では養成親魚から人工採卵を行っているために産卵盛期から終期にかけて雄親魚が大量に斃死し、精液の不足がたびたび経験される。

そこで著者らは久保田¹⁾²⁾がドジョウの人工受精で良い成果をあげている家畜精液保存液のGPC-5液により作製した精巢懸濁液によるワカサギの人工受精について検討を行った。

材料および方法

実験は1982年2月24日から3月11日にかけて本水産試験場で行った。

供試魚は冷凍イサザミおよびツノナシオキアミの給餌によって養成した1年魚で体重が6~12gのものである。雌は腹部を圧すると容易に卵が搾出できかつ透明である個体、雄は実験1および3では放精する個体、実験2では放精および成熟しているが放精しない個体を使用した。

精液は20~30尾の雄から搾出し1ccツベルクリン用注射器で採取した。精巢懸濁液の作製には5尾の雄から採取した精巢を細かく潰しクリーム状にして供試した。両供試液とも時計皿に入れ氷水上で冷却し直ちに実験に用いた。

実験で使用した精液および精巢懸濁液の希釈保存液であるGPC-5液およびリンゲル氏液の成分は、つぎのとおりである。

GPC-5液

第1液……… $\text{H}_2\text{O} 1000 \text{ g} + \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 57.0 \text{ g} + \text{KH}_2\text{PO}_4 2.8 \text{ g}$

第2液……… $\text{H}_2\text{O} 1000 \text{ g} + \text{NaPO}_3 30.3 \text{ g} + \text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} 0.1 \text{ g} + \text{Na}_2\text{SO}_4 1.7 \text{ g}$
 $+ \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 0.1 \text{ g}$

リンゲル氏液

H_2O 1000 g + NaCl 7.5 g + KCl 0.2 g + CaCl_2 0.35 g

G P C - 5 液の第 1 液と第 2 液は使用直前に等量ずつ混合し使用する。

採卵作業は実験 1 および 2 では、あらかじめ内壁にワセリンを薄く塗った直径 6 cm の時計皿に個体別に卵を搾出し、その中から別に用意した時計皿に約 0.1 g の卵を採取した。実験 3 では生かした雌親魚から経過時間ごとに排泄孔付近の卵を搾出した後に約 0.1 g の卵を時計皿に採取し供試した。予備実験によれば本実験の時間内では雌の経過時間と発眼率との間には、有意な差は認められなかった。そして直ちに卵の半量以上の雄の供試液を卵に注ぎ水鳥の羽根でよくかき混ぜ受精させ直ちに水中で 2 cm × 5 cm の 24 メッシュのナイロン製網地に個体別に卵を付着させた。さらに卵の付着した網地は実験別に網目が 10 メッシュで直径 25 cm、深さ 6.5 cm の金網ざるに入れ発眼まで内径が 61 cm × 41 cm × 31 cm のコンテナ水槽に収容した。卵の発眼に用いた水は井戸水と湖水の混合水で、水温は約 12 °C であった。注水量はコンテナ水槽からわずかにオーバーフローする程度であった。

卵の消毒は週に 2 回注水を止め、用水をマラカイトグリーン溶液で 4 ppm に調整し卵を 1 時間収容した後、再び注水する方法で行った。

人工受精の成果の判定は発眼率を調べる方法によって行った。

〔実験 1〕 精液および精巣懸濁液の濃度と発眼率との関係：

本実験は放精する雄から得られた精液およびクリーム状にした精巣を原液とし、それを氷水中で冷却した G P C - 5 液で希釈することによって 1/1, 1/10, 1/50, 1/100 および 1/1000 濃度の溶液を作製し、両者とも 5 尾の雌を用いて個体別に人工受精を行った。

〔実験 2〕 放精および未放精雄の精巣懸濁液による発眼率の比較：

本実験は放精および未放精の雄をそれぞれ 5 尾についてクリーム状にした精巣を氷水中で冷却した G P C - 5 液で 1/10 濃度の精巣懸濁液を作製し、雌 3 尾を用いて個体別に人工受精を行った。

〔実験 3〕 濃度および保存液の異なる精巣懸濁液を作製してから媒精までの経過時間と発眼率との関係：

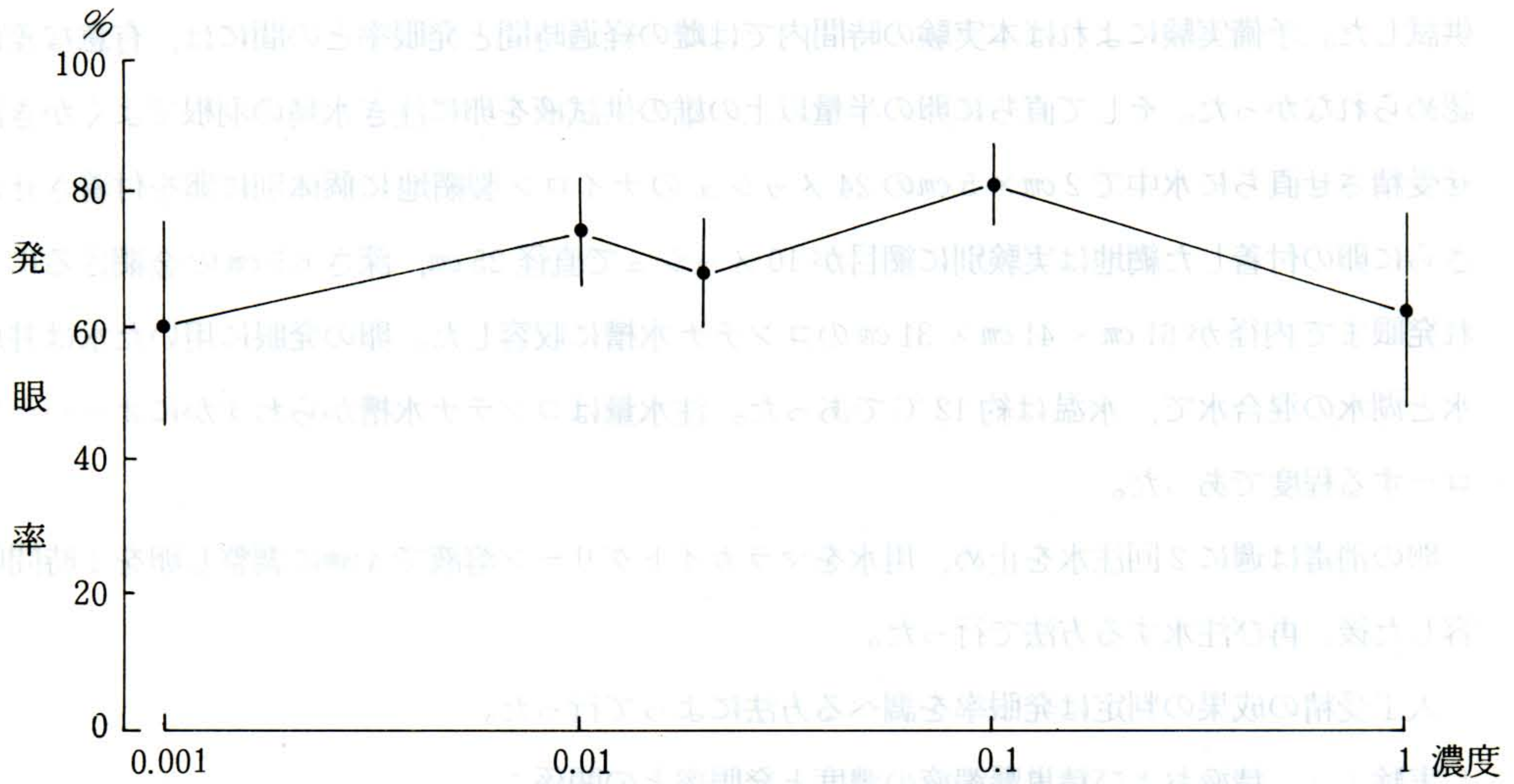
本実験は氷水中で冷却した G P C - 5 液およびリンゲル氏液で 1/10 および 1/50 濃度の精巣懸濁液を作製し、作製後 0, 1, 2 および 3 時間後に 4 尾の生きた雌を用いて個体別に人工受精を行った。実験中、精巣懸濁液は直径 2.5 cm × 深さ 1.5 cm のガラス製シャーレに入れ氷水中に保存した。氷水の水温は 0.6 °C であった。

結果および考察

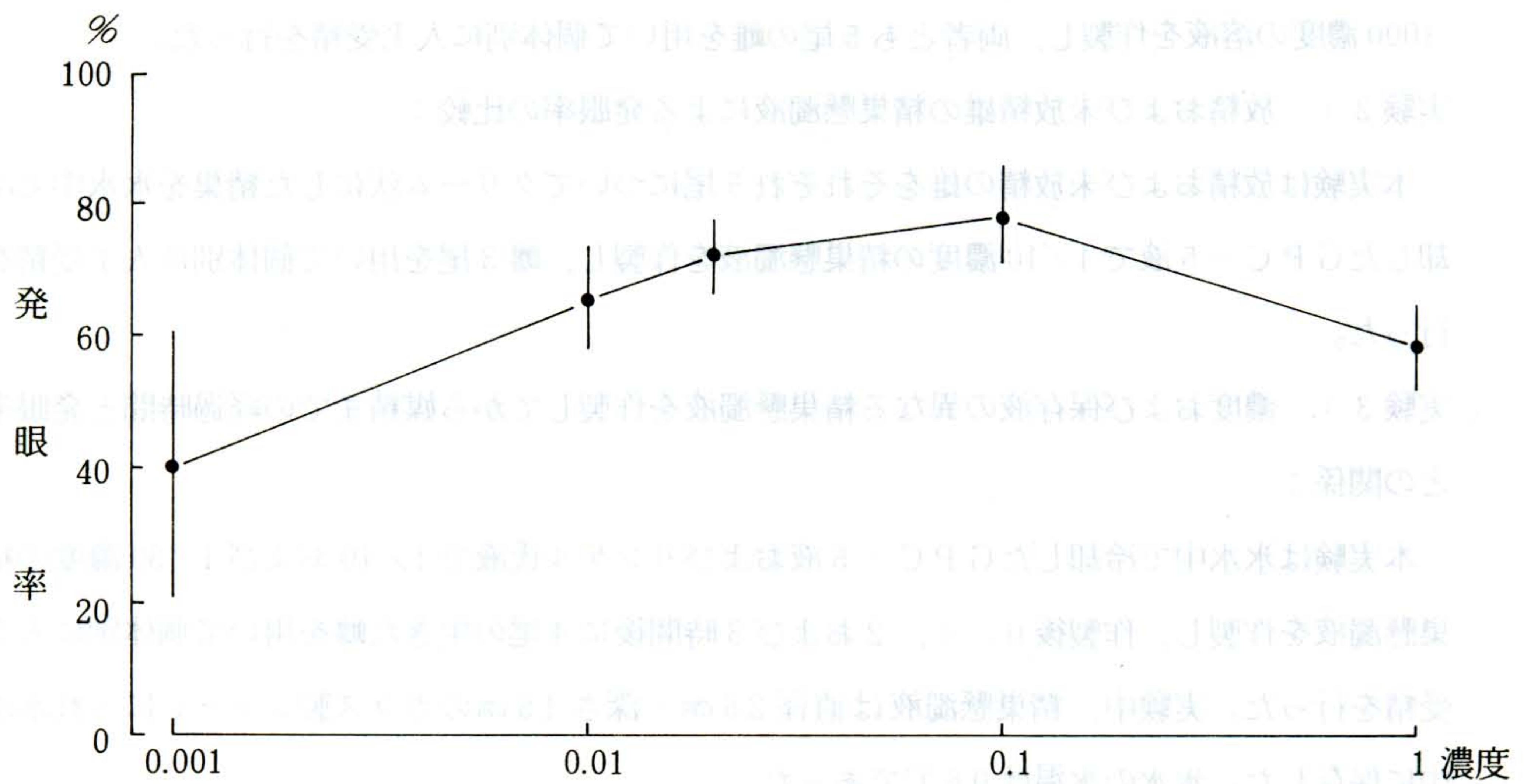
〔実験1〕 精液および精巢懸濁液の濃度と発眼率との関係：

実験結果は第1図および第2図に示したとおりである。

まず精液について見ると1/1濃度では発眼率が62.8%と低く、1/100~1/10濃度では68.0~81.2%とほぼ変わらず、1/1000濃度では若干低下し60.3%になった。



第1図 精液濃度と発眼率との関係



第2図 精巢懸濁液濃度と発眼率との関係

つぎに精巢懸濁液についてみると1/1濃度では精液と同じように発眼率は低く58.5%であった。そして1/10濃度では78.1%の最高値を示したが、濃度が低下すると共に発眼率もわずかずつ低下し1/100濃度では65.9%になった。1/1000では精液の場合と異なり発眼率は急激に低下し40.4%を示した。以上のことから1/1濃度では両区とも受精に何らかの悪影響があると思われるが、人工受精に精巢懸濁液を用いても精液とほぼ同様な受精能力を示し、その使用可能な濃度は1/1000～1/10であると考えられる。

〔実験2〕 放精および未放精雄の精巢懸濁液による発眼率の比較：

実験結果は第1表に示したとおりである。放精区の発眼率は62.8～69.3%，未放精区では52.8～63.8%で両区の間には、有意な差は認められなかった。このことはドジョウと同じように精巢中に存在する精子も受精能力があることを示している。したがって未放精の雄であっても人工受精に十分使用できるものと考えられる。

〔実験3〕 濃度および保存液の異なる精巢懸濁液を作製してから媒精までの経過時間と発眼率との関係：

実験結果は第3図に示したとおりである。

まず、1/10濃度について見るとGPC-5液では作製してから3時間までの発眼率は77.0～85.0%の高率で安定していた。一方、リンゲル氏液では作製直後76.0%であったが1時間後には65.5%，その後急激に低下し3時間後には13.5%になった。

つぎに、1/50濃度について見るとGPC-5液では作製直後の発眼率は79.0%で1/10濃度とほぼ同様な値を示したが、時間の経過に伴い発眼率はしだいに低下し、3時間後には47.0%を示した。一方、リンゲル氏液では作製直後でも発眼率は53.0%と低く、時間の経過とともに発眼率は急激に低下し3時間後には2.5%になった。以上のことから希釈保存液としてはGPC-5液の方がリンゲル氏液よりもすぐれていること、また高濃度で精巢懸濁液を保存した方

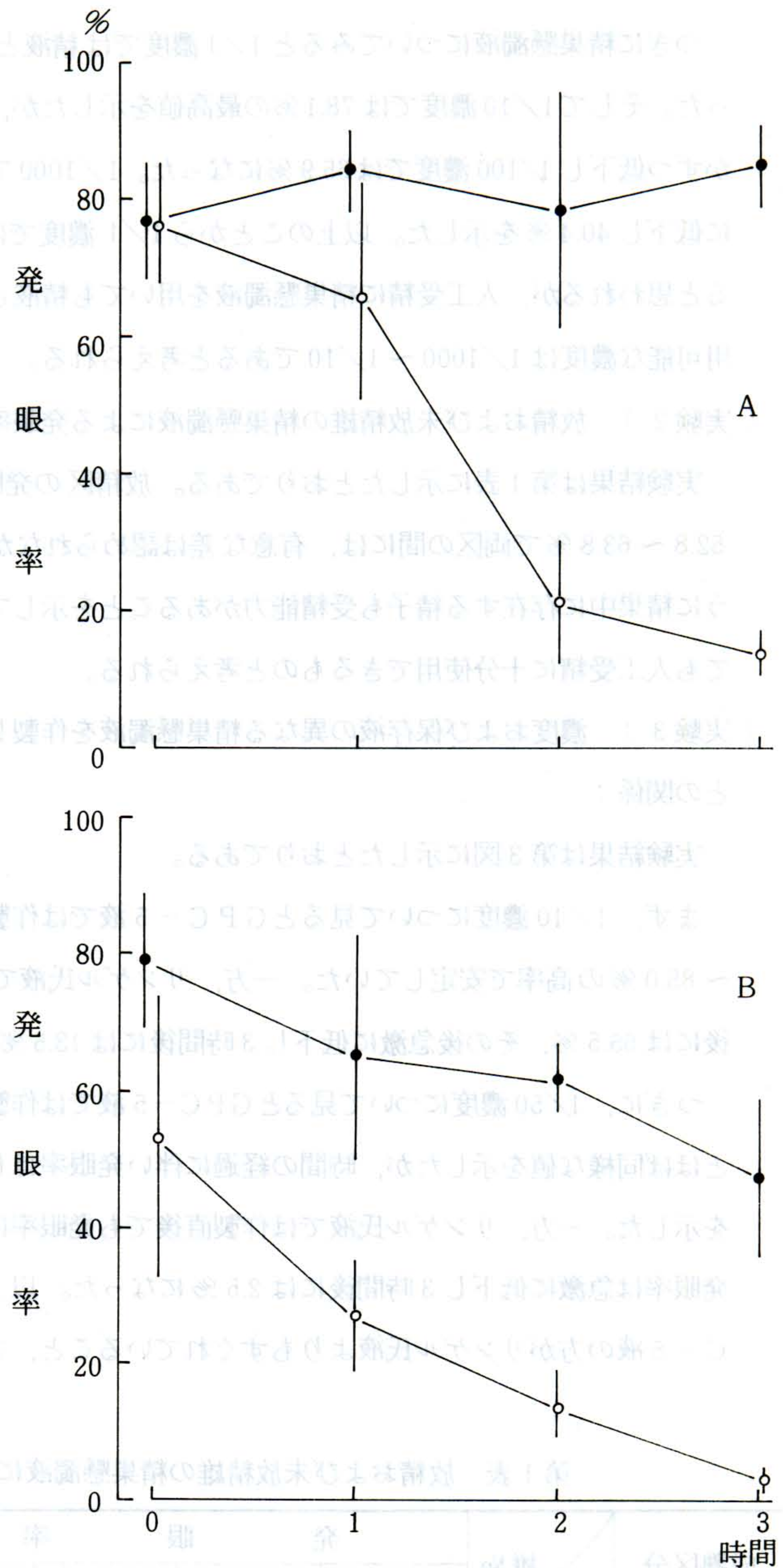
第1表 放精および未放精雄の精巢懸濁液による発眼率の比較

成熟区分	雄No. 雌No.	発 眼 率 %					平均発眼率%
		1	2	3	4	5	
放 精 区	1	72.1	82.8	78.1	56.3	57.0	69.3 ± 12.1
	2	67.2	73.1	65.8	57.6	50.4	62.8 ± 8.9
	3	78.3	69.6	70.7	58.3	59.6	66.8 ± 9.0
未放精区	1	66.1	61.3	50.5	68.6	72.5	63.8 ± 8.5
	2	60.9	66.3	44.6	55.1	47.1	54.8 ± 9.1
	3	40.3	62.5	51.9	59.5	48.1	52.8 ± 8.9

が精子の活力の持続時間が長いことがわかった。これらのことはすでに久保田¹⁾がドジョウについて指摘していることである。

白石³⁾は湿導法によってワカサギの人工受精を行っている諏訪湖では、雌3尾に対して雄1尾を使用していると述べている。ここで本法を用いた場合、雄1尾あたりの受精可能尾数を計算する。雌および雄の体重を10g、卵重および精巢の体重に対する割合をそれぞれ25%、3.5%、受精可能な精巢懸濁液の濃度を1/100そして受精に用いる懸濁液の量を卵重の半量とすると、雄1尾あたり雌14尾の卵の受精が可能である。また1/10濃度のGPC-5液精巢懸濁液は、3時間まで活力を保持していることから人工採卵の際、保存精巢懸濁液を用いることができる。

以上のことからGPC-5精巢懸濁液による人工受精は従来法に比べ雄親魚尾数の低減および作業能率の点できわめて有利と考えられる。



第3図 精巢懸濁液を作製してから媒精まで作製後の経過時間と発眼率との関係

A, 1/10濃度; B, 1/50濃度
●, GPC-5液; ○, リンゲル氏液

しかし、受精可能な精巢懸濁液濃度、卵重に対する精巢懸濁液の量および作製後時間が経過した精巢懸濁液の受精能力等については、まだ多くの問題があり今後検討を重ねより合理的な受精技術の確立をはかる必要がある。

要 約

GPC-5 精巢懸濁液によるワカサギの人工受精について検討した。

- 1) GPC-5 精巢懸濁液は搾出精液とほぼ同様な受精能力を有し、その有効濃度は本実験の範囲では 1/100 ~ 1/10 と考えられる。
- 2) 放精雄および未放精雄の精巢懸濁液による人工受精において両区の発眼率の間には、有意な差はなかった。
- 3) GPC-5 精巢懸濁液の方がリンゲル氏精巢懸濁液よりも活力所有時間が長かった。
- 4) 1/10 濃度の精巢懸濁液の方が 1/50 濃度の精巢懸濁液よりも活力所有時間が長かった。

文 献

- 1) 久保田善二郎 (1961) : ドジョウの増殖に関する研究—Ⅲ, 精子の保存について, 農水講研報, 11(1), 247—269。
- 2) 久保田善二郎・岡本成司 (1976) : ドジョウの人工孵化法に関する研究—I, 人工受精について, 日本水産学会昭和 50 年度秋季大会講演要旨, 319。
- 3) 白石芳一 (1972) : 湖の魚, 岩波書店。