

## 水産業分野

(成果情報名) タマカイの人工採卵における初回排卵時間、搾出時間と受精率およびふ化率の関係							
(要約) タマカイの人工採卵では、ホルモン投与から 51 時間後までに、“hCG+GnRHa 混合注射”では 94.4%、“GnRHa コレステロールペレット”では 61.5%の個体で初回排卵が起こる。また、初回排卵から時間が経過すると、2手法ともに受精率とふ化率が減少する。							
(担当機関) 水産海洋技術センター石垣支所					連絡先	0980-88-2255	
部会	水産業	専門	種苗生産	対象	タマカイ	分類	実用化研究

### [背景・ねらい]

タマカイは飼育下で自然産卵しないことから、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)を用いた人工採卵を行ってきた。また、種苗生産時の減耗が課題であり、一定数の種苗を得るためには大量の卵が必要である。タマカイはホルモンを投与すると 48 時間後に排卵が起こるとされているが、ホルモン投与後から搾出により排卵を確認するまでの時間(初回排卵時間)は個体差が大きく、さらに、長時間にわたって何度も排卵が起こっている可能性があるため、これまで同日に何回も搾出を行っていた。タマカイ親魚は平均体重 63.8kg と大型であり、ハンドリングは容易ではなく、搾出回数が増えると、人的経費が増加する。そこで、2種類の排卵誘導手法(①hCG+合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRHa)混合注射、②GnRHa コレステロールペレット)における初回排卵時間を確認するとともに、効率的な搾出回数の検討に向けて、搾出時間と卵質の関係を調査する。

### [成果の内容・特徴]

1. “hCG+GnRHa 混合注射”では、ホルモン投与から 49 時間後までに 50.0%、51 時間後までに 94.4%の個体で初回排卵が起こる。“GnRHa コレステロールペレット”では 49 時間後までに 46.2%、51 時間後までに 61.5%の個体で初回排卵が起こり、初回排卵時間が長くなる傾向がある(図 1)。
2. 体重あたりの搾出量は搾出 1 回目で平均 17.7g/kg、2 回目で平均 18.7g/kg であり、2 回以上あるいは徐々に排卵する可能性がある(図 2)。
3. 初回排卵時の受精率が 10%未満の時(個体 E、G)を除くと、2手法ともに、初回排卵確認からの経過時間に対し、受精率が減少する(図 3)。相対受精率は初回排卵確認からの経過時間に対し、“hCG+GnRHa 混合注射”、“GnRHa コレステロールペレット”ともに、負の相関を示す( $r = -0.9464$ 、 $r = -0.4355$ )(図 4)。
4. 2手法ともに、初回排卵確認からの経過時間に対し、ふ化率が減少する(図 3)。相対ふ化率は“hCG+GnRHa 混合注射”、“GnRHa コレステロールペレット”ともに、初回排卵からの経過時間に対して、負の相関を示す( $r = -0.9793$ 、 $r = -0.9406$ )(図 4)。

### [成果の活用面・留意点]

1. 初回排卵以降では、受精率、ふ化率が低下することから、受精卵が十分ある場合は、搾出は初回のみでよい。ただし、卵巣腔内に残された卵は体内で腐敗し、親魚への悪影響が大きいと考えられることから、採卵の翌日以降に残卵を体内から出し切ることが必要である。
2. 受精卵量を確保するために 2 回以上搾出する場合は、死卵が多くなる可能性があり、水質の悪化を防ぐために、初回の搾出卵とは水槽を分けて収容するなどの対策が必要である。
3. 2020 年 6~8 月、2021 年 5~9 月(水温 27.9~29.8°C)に実施した人工採卵の結果である。

### [残された問題点]

特になし

[具体的データ]

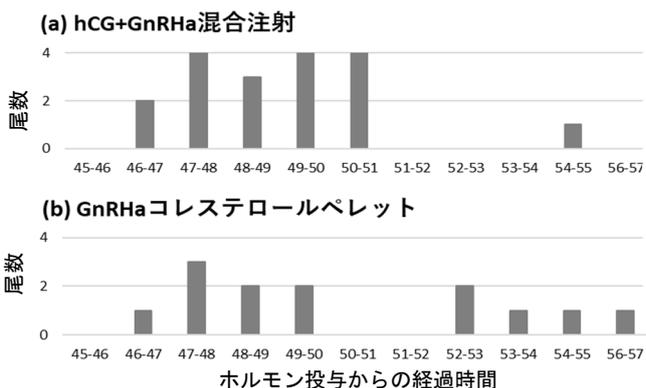


図1. 初回排卵時間

1) ホルモン投与から 42.3~57.1 時間後までの間に搾出を行った。搾出回数は1~5回で、個体により異なる。浮上卵が1g以上とれた場合を初回排卵時間とした。

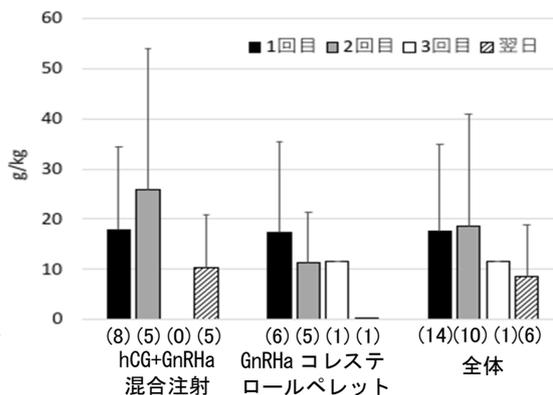
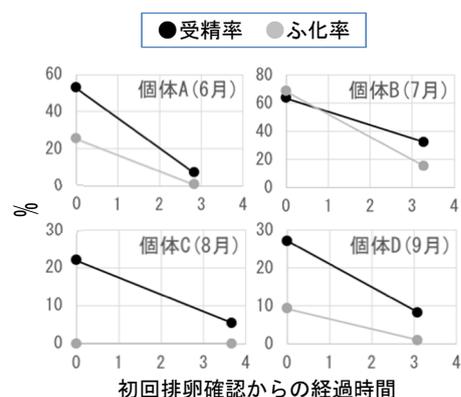


図2. 搾卵回数と体重あたり搾出量

1) 搾出した回数ごとの体重あたり搾出量の平均。バーは標準偏差。( )内は個体数。  
2) 腹部を圧迫して搾出した後、卵巣腔内に人工卵巣腔液(雌の卵巣腔液を模した緩衝液)を注入し、卵巣腔内に残った卵を液ごと搾出した。

(a) hCG+GnRHa 混合注射



(b) GnRHa コレステロールペレット

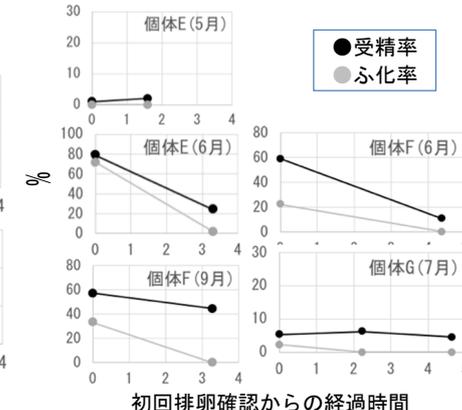
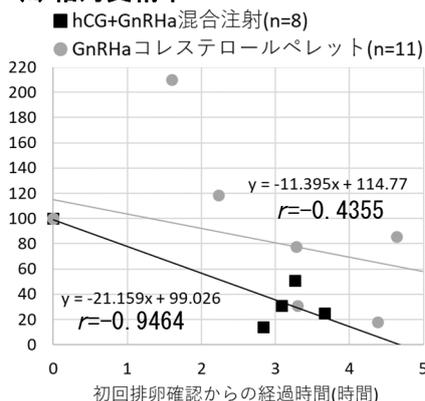


図3. 初回排卵確認からの経過時間と受精率、ふ化率の関係

1) 海水を入れた 500ml ビーカーに受精卵約 100 個を入れ、約 1 時間 20~30 分後に8~16 細胞期に発生が進んだ卵の割合を受精率とした。  
2) 海水を入れた 1000ml ビーカーに受精卵約 100 個を入れ、20~24 時間後にふ化した卵の割合をふ化率とした。

(a) 相対受精率



(b) 相対ふ化率

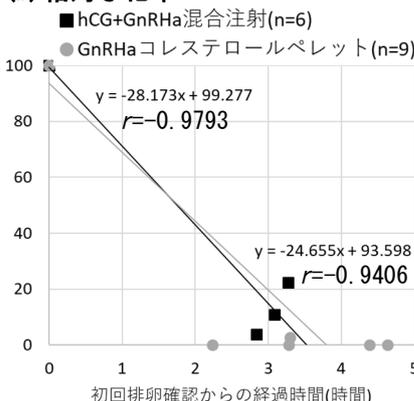


図4. 初回排卵確認からの経過時間と相対受精率、相対ふ化率の相関

1) 初回排卵確認時を 100 とする。  
2)  $r$ : ピアソンの積率相関係数

[研究情報]

課題 ID: 2015 水 003  
研究課題名: おきなわ産ミーバイ養殖推進事業  
予算区分: 沖縄振興特別推進交付金  
研究期間(事業全体の期間): 2020、2021 年度(2015~2021 年度)  
研究担当者: 田村 裕、松崎遣大、松田誠司、鮫島翔太  
発表論文等: 沖縄県水産海洋技術センター事業報告書(予定)

(成果情報名) タマカイ精子の冷蔵保存後の性状変化と受精率							
(要約) タマカイの精子の平均精子運動時間は冷蔵3日後までは大きな変化はなく、5日後には減少する。平均スパマトクリット値は冷蔵5日後まで変化しない。採取後少なくとも2日間冷蔵保存(0℃)しても受精率に変化はなく、人工授精に使用できる。							
(担当機関) 水産海洋技術センター石垣支所					連絡先	0980-88-2255	
部会	水産業	専門	種苗生産	対象	タマカイ	分類	実用化研究

## [背景・ねらい]

タマカイは飼育下で自然産卵しないことから、これまでヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)を用いた排卵誘導と人工授精により受精卵を得ているが、受精率やふ化率が不安定である。人工授精に用いる精子は作業効率上の理由から事前に採取し、冷蔵保存しており、精子の品質の検証が必要である。そこで、精子運動時間とスパマトクリット値(精液中に占める精子の細胞容積の割合)の2つの指標を用いて、冷蔵保存による精子性状の変化を調査するとともに、受精率への影響を確認する。

## [成果の内容・特徴]

1. 採取当日と冷蔵保存(0℃)3日後、5日後の精子性状の経時変化を調べたところ、平均精子運動時間は3日後までは大きな変化がなく、5日後には減少する傾向がある。平均スパマトクリット値には変化が見られない(図1)。
2. 採取当日と冷蔵保存2日後の精子の受精率は同程度であり(対応のある2標本 T 検定  $t = 1.2639$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0.2749$ ) (図2)、精子採取後少なくとも2日間は冷蔵保存が可能で、人工授精に使用できる。

## [成果の活用面・留意点]

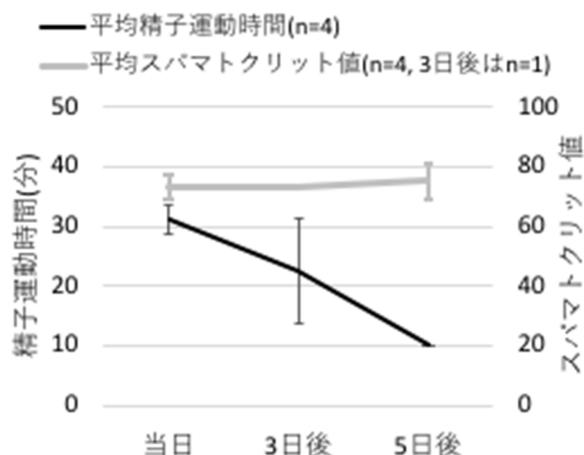
1. 精子運動時間は、海水を滴下してから10分おきに顕微鏡視野下で観察し、動いている精子が目測で10%以下になった時間の1つ前の観察時間までの時間であり、観察者による差が生じる可能性があることから、より定量的な指標として、精子運動率を検討中である。
2. 人工採卵の作業日程上の都合により、採取当日と冷蔵保存2日後のみに受精率を確認しているが、精子性状(平均精子運動時間、平均スパマトクリット値)の変化から3日後まで人工採卵に使用できる可能性がある。

## [残された問題点]

1. 冷蔵保存3日後以降の受精率について確認する必要がある。

[具体的データ]

2021年8月



2021年9月

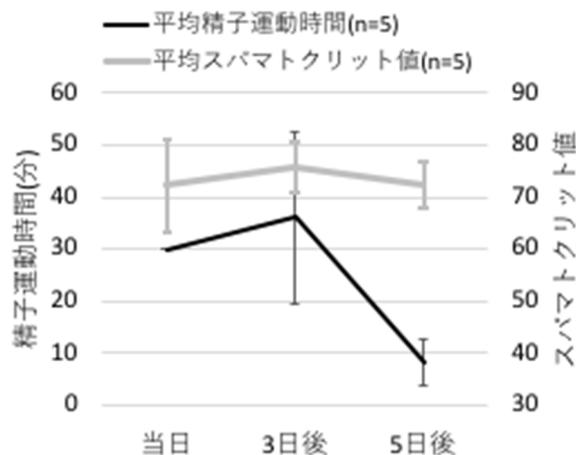


図1. 冷蔵保存による精子運動時間とスパマトクリット値への影響

- 1) 精子はポリプロピレン製遠沈管に採取し、クラッシュアイスを満たした容器に差し込んで、家庭用冷蔵庫(約 0°C)で保管した。
- 2) 精子 2 $\mu$ l をスライドグラス上に採り、海水 300 $\mu$ l を滴下してカバーグラスをかけ、約 10 分おきに顕微鏡視野下で精子の動きを観察した。海水を滴下してから動いている精子が目測で 10%以下になった時間の 1 つ前の観察時間までを精子運動時間とした。位置が移動せず、その場で震えているものは停止とした。
- 3) 反復測定一元配置分散分析を行ったところ、平均精子運動時間のみ、保存期間要因の効果が有意であったため、Holm 法による多重比較を行ったが、有意差は確認できなかった。

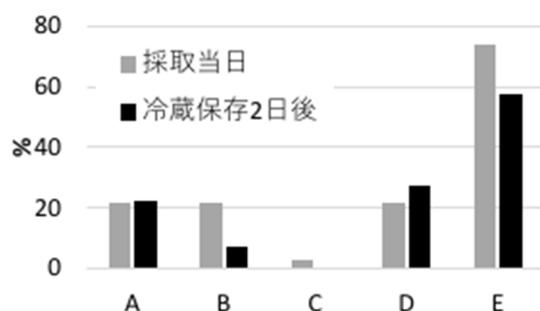


図2. 採取当日と冷蔵保存2日後の精子の受精率

- 1) 雄 1 個体の精子を人工授精 2 日前に採取して冷蔵保存したものと、その同一個体から人工授精当日に採取したものをを用いて、雌 5 個体から得られた未受精卵を人工授精させた。受精率は、海水を入れた 500ml ビーカーに受精卵約 100 個を入れ、室温で管理し、約 1 時間 20~30 分後に 8~16 細胞期に発生が進んだ卵の割合を計数した。
- 2) 対応のある 2 標本 T 検定  $t = 1.2639$ 、 $df = 4$ 、 $p = 0.2749$

[研究情報]

課題 ID : 2015 水 003

研究課題名 : おきなわ産ミーバイ養殖推進事業

予算区分 : 沖縄振興特別推進交付金

研究期間 (事業全体の期間) : 2021 年度 (2015~2021 年度)

研究担当者 : 田村 裕、鮫島翔太、松田誠司

発表論文等 : 沖縄県水産海洋技術センター事業報告書 (予定)

## 水産業分野

(成果情報名) ニジマス飼育における海水馴致時の適正サイズ							
(要約) 海洋深層水を用いてニジマス稚魚を海水馴致する場合、体重 20～25 g が最適馴致サイズである。							
(担当機関) 海洋深層水研究所					連絡先	098-896-8655	
部会	水産業	専門	養殖	対象	ニジマス	分類	基礎研究

### [背景・ねらい]

ニジマスを含むサケマス類は、国際的にも大きな市場があり、特に中国・東南アジアに高い需要がある。そのため全国各地で陸上養殖を含むサケマス類の養殖技術開発が進められている。サケマス類は、河川で生まれ大きくなると海へ降りる冷水性の降河回遊魚であり、一般に 18℃以下の淡水又は海水のどちらでも飼育できるが、海水で飼育する場合には海水への馴致が必要とされている。また、海水で飼育することにより成長が促進され、身の質が向上することが知られており、本州では海水馴致した体重 150～300g の種苗を用いて養殖が行われている。沖縄県では陸上施設において、海洋深層水を活用したサケマス類養殖の産業化に向けた研究を行っているが、卵から海水馴致までの淡水飼育期間中は、冷淡水の使用コストや濾過槽の維持管理などが課題となっており、海水馴致種苗の小型化により、淡水飼育期間の短縮を図る必要がある。

本研究では、ニジマス（富士養鱒場産 2 倍体 Donaldson 系統）を用いて、従来よりも小型サイズにおける海水馴致試験を行い、種苗育成にかかる作業効率と海水馴致による生残の観点から、適切な海水馴致サイズについて検討する。

### [成果の内容・特徴]

1. 各馴致種苗サイズ（体重 1～150g の 10 段階）の種苗を 5 日間かけて海水濃度 20% から 100% の飼育水により段階的に馴致させた後、120 日後の生残率を調べた結果、体重 20g 以上で生残率が 80% 以上となる（図 1）。
2. 孵化仔魚から馴致種苗サイズまでの養成期間中の作業時間は、サイズが大型になるほど長くなる。特に体重 50g 以上の養成期間中の作業時間は、体重 20～25g までの 1.53～1.88 倍となる（図 2）。
3. 以上のことから、種苗サイズ 20～25g が最適馴致サイズである。

### [成果の活用面・留意点]

1. 深層水を利用したニジマス養殖の海水馴致に活用できる。
2. 海水馴致期間中は、濾過槽内の硝化細菌が死滅し、遊離アンモニアの上昇が危惧されるため、馴致尾数や使用水槽、水量に留意する必要がある。

### [残された問題点]

本試験で示した、最適馴致サイズは、海水馴致後 120 日までの結果であり、出荷サイズまでの生残を確認する必要がある。

## [具体的データ]

ニジマスの海水馴致試験結果

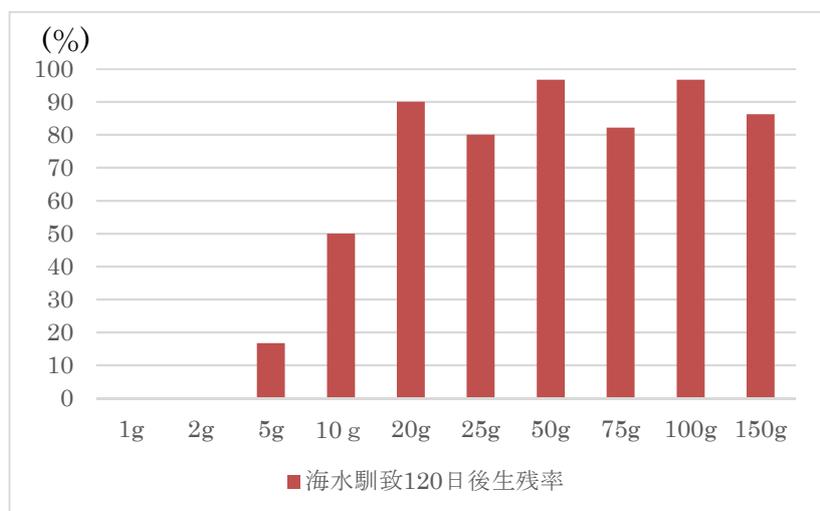


図 1. 海水馴致 120 日後の生残率

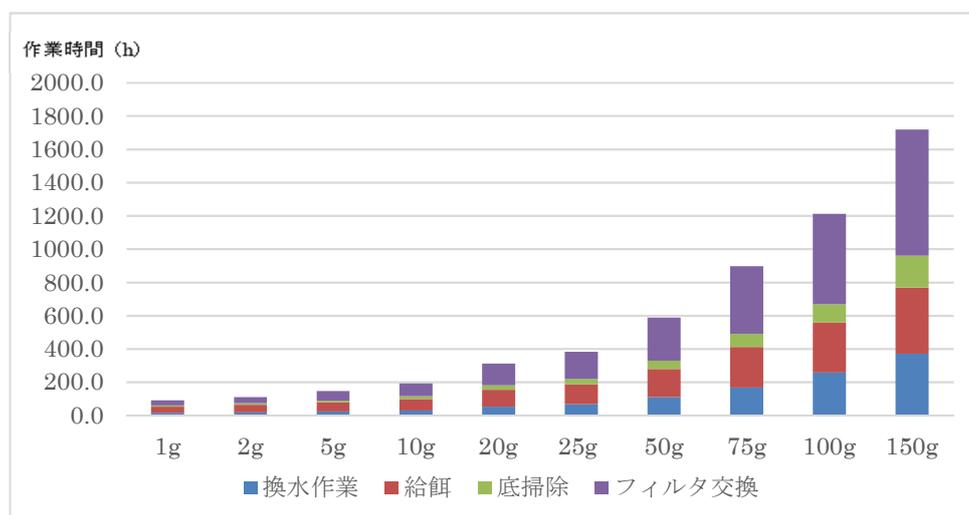


図 2. 馴致サイズまでの作業時間

## [研究情報]

課題 ID : 2020 深 001

研究課題名 : 海洋深層水を利用したサケマス類養殖のための海水馴致試験

予算区分 : 県単 (海洋深層水研究費)

研究期間 (事業全体の期間) : 2019~2022 年度

研究担当者 : 與那城由尚、照屋清之介、白木麻菜美 (エスペックミック株式会社)、遠藤雅人 (東京海洋大学)

発表論文等 : 1) 2020、2022 年度 (令和 2、4 年度) ジャパンインターナショナルシーフードショー東京、大阪  
 2) 2022 年度農水産業支援技術展、2022 年度海洋深層水学会、2022 年度久米島海洋深層水フォーラム