

令和4年度

さけ・ます等栽培対象資源対策事業
新規栽培対象種技術開発（魚類・甲殻類）

調査報告書

さけ・ます等栽培対象資源対策共同研究機関
新規栽培対象種技術開発（魚類・甲殻類）グループ

令和5年3月

目 次

ア 親魚養成技術の開発

- | | |
|-------------------------|----|
| ① キンメダイの親魚養成及び人工授精技術の開発 | 1 |
| ② アマダイ類の親魚養成技術の開発 - 1 | 15 |
| - 2 | 18 |
| - 3 | 23 |
| ③ アカムツの親魚養成技術の開発 | 27 |

イ 種苗生産・中間育成技術の開発

- | | |
|-----------------------|----|
| ① キンメダイの種苗生産技術の開発 | 31 |
| ② アマダイ類の種苗生産技術の開発 - 1 | 46 |
| - 2 | 50 |
| ③ アカムツの種苗生産技術の開発 | 63 |

ウ 効果の高い放流手法の開発

- | | |
|----------------------------------|----|
| ① アマダイ類の放流技術の開発 - 1 | 68 |
| - 2 | 71 |
| ② バイオテレメトリーおよびデータロガーによるキジハタの生態解明 | 74 |
| ③ 甲殻類用標識（トラモアタグ）を利用した放流適条件の把握 | 78 |

エ 検討会の開催

- | | |
|-------------|----|
| ① 研究推進会議の開催 | 87 |
| ② 現地検討会の開催 | 91 |

ア 親魚養成技術の開発

① キンメダイの親魚養成及び人工授精技術の開発

静岡県水産・海洋技術研究所

石田 孝行・倉石 祐

【目的】

静岡県におけるキンメダイの年間水揚量は、最盛期の7千トンから近年は2千トン未満に減少している。関東近海のキンメダイ資源は低位・横ばい傾向と評価され、漁業者による自主的な資源管理に加えて資源回復のために漁獲圧削減などが提案されている。本県の漁業者からは資源を回復させる方法の一つとして、栽培漁業の実現による種苗放流が求められている。これまでのキンメダイ親魚採捕及び人工授精に関する研究では、本県において船上で人工授精を行い、ふ化仔魚を8日間飼育した事例があり、受精卵及びふ化仔魚の形態及び行動について詳細な観察がされている¹⁾。また、日本栽培漁業協会（現、国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所）は、船上授精では質、量共に十分な受精卵の確保は困難と判断し、漁獲したキンメダイを船の生け簀で活魚運搬し、ホルモン打注による水槽内での自然産卵及びふ化仔魚の飼育を行っているが、ホルモンの効果は検討していない²⁾。また、受精率及びふ化率が低いことから卵質の問題を指摘している²⁾。高知県では、釣獲後のキンメダイを低温輸送しているが、生残状況が悪いため活魚運搬を断念し、船上授精による種苗生産研究を実施している³⁾。本県における近年の研究では、船上人工授精及び活魚輸送により研究所で親魚にホルモン投与し、自然産卵によりふ化仔魚を得ている⁴⁾。本委託事業においても船上人工授精及び飼育魚からの自然産卵により受精卵を得るべく研究を行ってきた。しかし、キンメダイの更なる不漁を受けて親魚の確保がより困難になっている。そこで、昨年度は船上人工授精から研究所内での人工授精に切り替えて研究を実施した。これは、捕獲した親魚を研究室内で飼育し、成熟卵ができた段階で授精することにより、捕獲魚中の採卵魚の割合を増やすことを主たる目的としている。そこで、捕獲したキンメダイに麻酔をかけ、生かしたまま研究室に運搬し、排卵を確認した個体から採卵する技術確立した。さらに、死亡魚の卵巣から成熟した卵を選別してふ化仔魚を得ることに成功した。また、精液の冷蔵及び冷凍保存技術確立し、成熟した雌親魚が確保できれば人工授精が行えるようになった。残された課題として、種苗生産実験を行うための採卵親魚数及び採卵割合の増加、捕獲親魚の生残日数の長期化及び卵質の向上が挙げられ、今年度はこれらを目標として研究を実施した。

【研究方法】

1) 人工授精技術の開発

① 採卵用親魚の捕獲及び生存状況

キンメダイの人工授精方法について、今年度も船上授精は行わず、捕獲魚を生かしたまま研究所に持ち帰って人工授精することとした。静岡県賀茂郡南伊豆町及び東伊

豆町から出船し、伊豆半島南東沖～新島沖付近でキンメダイを釣獲した。南伊豆町から出船した場合は、釣獲後すぐに船上で 50mg/L の *p*-アミノ安息香酸エチルを入れた 50L の海水で麻酔をかけた後、15mg/L の *p*-アミノ安息香酸エチルを入れた 100L の海水で麻酔を持続させて港まで運搬した。東伊豆町から出船した場合は、釣獲魚を水温約 12℃に調整した 2,000L 海水に入れて港まで運搬した。帰港後、冷海水に入れて水産・海洋技術研究所伊豆分場までトラックで運搬し、生存状況を確認した。

② 採卵時期の検討

捕獲して持ち帰ったキンメダイ親魚について、2021 年は速やかに麻酔をかけ、採卵、採精を試みたが、採卵できた個体は雌 42 個体中 26 尾だけであり、採卵重量も少なかった。そこで、今年度は死亡又はひん死状態にならない限り採卵を行わず、捕獲から採卵までの時間を長くとるように水槽内で蓄養し、捕獲から採卵までの経過時間と採卵成績について検討した。なお、人工授精方法は以下のとおりとした。雌親魚に 50mg/L の *p*-アミノ安息香酸エチルで麻酔をかけ、腹部を圧迫して未受精卵を搾出し、カレイ用リンガー液中に保存した。その後、雌親魚を開腹して卵巣を摘出し、カレイ用リンガー液で洗浄後、ステンレスボウルに入れた新しいリンガー液中で卵巣を切り開き、攪拌して透明卵を取り出した。さらに、リンガー液の上澄みを取り替えて洗浄し、未受精卵を得た。雄親魚に 50mg/L の *p*-アミノ安息香酸エチルで麻酔をかけ、魚体の水分をパーパートオルで拭き取った後、腹部を軽く押して出てくる精液をマイクロピペットで吸い取り、1.5mL 容のマイクロチューブに入れて 4℃で冷蔵保存した。少量のカレイ用リンガー液中に未受精卵を入れ、精液を入れた後、水温約 12℃の海水を入れ人工授精を行った。吸水後に水温 12℃の海水を入れたビーカーに収容し、水温を 15℃に設定したウォーターバス中に静置した。1 日後に水温約 20℃のウォーターバス中に静置し、管理した。この間、無通気とした。

③ 捕獲時ひん死魚の麻酔冷蔵による活用

2022 年 10 月 4 日に南伊豆町から出船し、親魚の捕獲を行った。その際ライントラブルにより表層海水中に長時間置かれたキンメダイ親魚が 1 次麻酔をかけた時点でひん死状態となったため、約 10℃の海水を少量入れたクーラーボックスに入れ、総排泄口が海水に浸からないように伊豆分場まで運搬し、採卵、採精及び人工授精を行った。

2) 短期催熟技術の開発

① ホルモン処理による催熟促進効果の検討

ア サケ脳下垂体接種による効果の検討

2022 年 7 月 12 日に捕獲した親魚のうち、触診で排卵、排精のみられなかった 6 個体について、7 月 13～14 日に 3 尾はサケ脳下垂体 70 μ g を磨砕し、生理食塩水 0.5mL に懸濁したものを筋肉注射し、3 尾は無処理とした。水温 12℃で飼育し、排卵及び排精状況を確認した。

イ ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン及びサケ脳下垂体接種による効果の検討

2022年8月20日に捕獲した親魚のうち、8月22日に触診で排卵、排精のみられなかった7個体について、3尾はヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（以下、hCGとする）500IUを、4尾はサケ脳下垂体70 μ gを磨砕し、生理食塩水0.5mLに懸濁したものを筋肉注射した。その後、水温12℃で飼育し、排卵及び排精状況を確認した。

ウ ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン接種による効果の検討

2022年9月17日に捕獲した親魚のうち46尾について、伊豆分場に運搬後の収容時に19尾はhCG500IUを筋肉注射し、27尾は無処理とした。水温12℃で飼育し、排卵及び排精状況を確認した。

3) 親魚養成技術の開発

① 長期催熟技術の開発

ア 親魚の生残率向上

長期にかけてキンメダイを飼育し、多くの魚を親魚として養成するためには、捕獲時における生残率向上が不可欠である。特にキンメダイは立縄漁法で深海から釣り上げられるため、深海と表層の水温差によるストレスや釣り針のダメージなどを負う。そこで、採捕時における生残率向上を目的に、捕獲時におけるダメージについて検討を行った。

昨年度は1つの仕掛けにつき漁師が1人で巻き上げを行い、釣れた魚を船艙に入れていた。今年度は、1つの仕掛けに2人の漁師で巻き上げを行い、釣り上げるまでの時間短縮を目指した。生残率は捕獲回次ごとに、捕獲日から毎日死亡個体を確認し、捕獲尾数により除することで生残率を算出した。



図1 キンメダイ親魚の捕獲作業

(左) R3年度 1人が糸を手繰り、もう1人はタモで補助

(右) R4年度 2人で1つの仕掛けを手繰る

イ 成熟要因の解明

キンメダイが成熟する要因を明らかにするために、飼育環境下における水温の影響を検討した。水産・海洋技術研究所深層水利用施設において、半年以上飼育しているキンメダイ（体重約600g以上）を選別し、試験に供した。コンクリート製20t水槽2

面に水深 24m 及び 397m から汲み上げた海水を掛け流しにし、親魚 4 尾（雄 2 尾、雌 2 尾）ずつ入れて飼育した。給餌はホタルイカを週に 2～3 回飽食量与えた。水温について、水深 397m から汲み上げた海水を使って水温 11～12℃で飼育した区を対照区とし、水深 24m と 397m から汲み上げた海水を混合して水温を 11℃から 15℃まで上昇させた区を試験区とした。2022 年 6 月 17 日から試験を開始し、2022 年 8 月 17 日に試験を終了した。開始と終了時にサンプリングを行い、尾叉長、体重、生殖腺重量、血中のホルモン（テストステロン (T)、11-ケトテストステロン (11-KT)、エストラジオール-17 β (E2)) 濃度について分析を行った。また比較対象として、産卵期に獲れた天然魚を用いた。

【研究成果の概要】

1) 人工授精技術の開発

① 採卵用親魚の捕獲及び生存状況

今年度のキンメダイ親魚の捕獲結果を表 1 に示した。6 月から 10 月まで合計 13 回出船し、266 尾を捕獲した。親魚に麻酔をかけ運搬した南伊豆では、最高で 40 尾、22,122g を運搬した。100L の運搬容器に対して捕獲魚の投入量が多くなったため、魚体を観察できなくなる加圧処理は取りやめ、水流を起こすことで魚体への酸素供給を促進した。その結果、最大で 1 回に 29 尾、総重量で 19,421g の魚を死亡させることなく運搬できた。

表 1 キンメダイ親魚の捕獲結果

出船場所	回次	捕獲日	麻酔時間	表層水温 (°C)	底層水温 (°C)	水温差 (°C)	捕獲尾数 (尾)	麻酔重量 (g)	船上死亡尾数 (尾)	分場到着時死亡尾数 (尾)	分場到着時生存尾数 (尾)	分場到着時生存率 (%)
南伊豆	1	6/16	1:35	23.3	7.5	15.8	3	1,705	0	2	1	33
	2	6/23	1:50	23.2	7.2	16.0	4	4,848	0	3	1	25
	3	7/15	2:20	27.3	9.5	17.8	4	2,373	0	0	4	100
	4	7/28	1:35	28.0	8.3	19.7	31	19,421	2	0	29	94
	5	8/3	2:30	28.1	9.5	18.6	12	7,271	1	0	11	92
	6	8/18	2:25	26.5	8	18.5	40	22,122	2	11	27	68
	7	8/24	2:40	29.0	10.6	18.4	16	8,547	1	0	15	94
	8	9/2	2:50	28.9	7.3	21.6	3	3,862	0	0	3	100
	9	10/4	2:20	26.6	7.5	19.1	13	6,356	3	0	10	77
	10	10/18	2:05	25.2	6.5	18.7	6	6,069	0	0	6	100
稲取	1	8/20	-	25.1	11.4	13.7	9	-	0	0	9	100
	2	7/12	-	27.5	欠測	-	68	-	0	0	68	100
	3	9/17	-	27.8	13.4	14.4	57	-	0	7	50	88
南伊豆計・平均	10	-	2:13	26.6	8.2	18.4	132	8,257	9	16	107	81
稲取計・平均	3	-	-	26.8	12.4	14.1	134	-	0	7	127	95
総合計・平均	13	-	-	26.7	8.9	17.7	266	-	9	23	234	88
(参考)R3実績	9	-	2:25	-	-	15.5	65	8,554	3	4	58	89

② 採卵のタイミングの検討

今年度のキンメダイ親魚について、人工授精を行った捕獲後の経過日数（捕獲日の午前 8 時を 0 時間とする）と搾出によって得られた採卵重量の関係を図 2 に示した。捕獲後の経過時間とともに親魚 1 尾当たりの魚体重に対する採卵重量は増加する傾向がみられた。

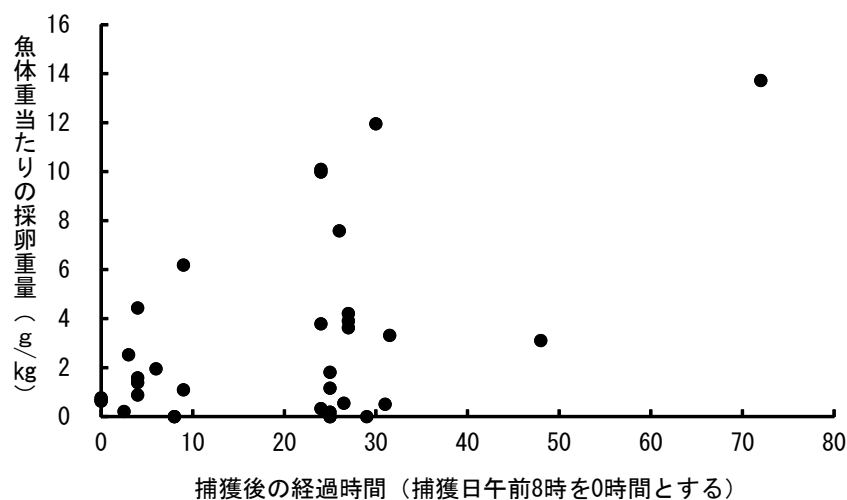


図2 キンメダイ親魚捕獲後の経過時間と魚体重 1kg 当たりの採卵重量

今年度のキンメダイ親魚について、人工授精を行った捕獲後の経過日数（基準時刻は上記と同じ）と得られたふ化仔魚のうち尾数がカウントできたものについて図3に示した。摘出した卵巣から得た卵巣卵による人工授精では捕獲当日、搾出した卵による人工授精では捕獲翌日に得られた卵でふ化仔魚が多く得られる傾向がみられた。このことから、死亡またはひん死状態で漁獲された親魚は捕獲当日に、生存個体は捕獲翌日以降に採卵を行うことが望ましいと考えられた。

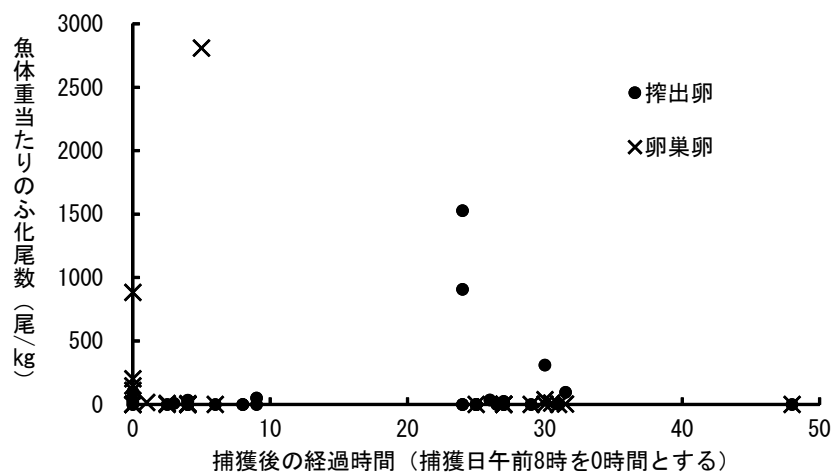


図3 キンメダイ親魚捕獲後の経過時間とふ化仔魚数

2) 短期催熟技術の開発

① ホルモン処理による催熟促進効果の検討

ア サケ脳下垂体接種による効果の検討

7月13日にホルモン処理をした3尾のうち、2尾は翌日に死亡した。これらは雌であったが排卵はみられなかった。1尾はホルモン処理4日後に死亡したが、生殖腺は発達しておらず、肉眼では雌雄判別できなかった。無処理区のうち、7月13日に測定した2尾は翌日に死亡した。これらのうち1尾はメスであったが排卵は確認できず、1尾は雌雄不明であった。7月14日に測定した1尾は翌日に死亡し、雄であったが排精は確認できなかった。

イ ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン及びサケ脳下垂体接種による効果の検討

hCGを注射した3尾のうち2尾は雌で、注射の翌日及び3日後に死亡したが、排卵は確認できなかった。1尾は雌雄不明で、注射2日後に死亡した。サケ脳下垂体を注射した4尾のうち2尾は雌で、注射の3日後及び10日後に死亡したが排卵は確認できなかった。1尾は雄で注射9日後に死亡したが、排精は確認できなかった。1尾は雌雄不明で注射2日後に死亡した。

ウ ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン接種による効果の検討

hCGの接種の有無とその後の排卵及び排精の有無について、雌雄別に個体数を示した(表2、表3)。ホルモン投与の有無により排卵及び排精状況に差はなく、ホルモン投与効果は明らかにできなかった。

表2 ホルモン接種の有無と排卵の有無

		排卵	
		有	無
ホル モ ン	有	3	9
	無	4	8

表3 ホルモン接種の有無と排精の有無

		排精	
		有	無
ホル モ ン	有	2	5
	無	2	13

今年度は3回にわたってホルモン投与試験を行ったが、試験区と対照区を比較検討できるほどの個体数の確保が難しいこと、捕獲後の親魚の生存期間が短く、ホルモンの投与効果が現れるまで生残しているかが分からないことなどから、当面はホルモン投与効果の比較を行うことは困難であると考え。しかし、昨年度の試験においてhCGを注射した個体から大量に採卵できた事例もあるため、当面は捕獲日に排卵しなかった個体についてhCGを接種し、受精卵数を増加させる方向で活用することが良いと考えられた。

3) 親魚養成技術の開発

① 長期催熟技術の開発

ア 親魚の生残率向上

今年度漁獲した魚の 30 日間の生残率を図 4 に示した。30 日後の生残率は昨年度の平均値約 53% から今年度は約 65% と向上した。これは 2 人で巻き上げを行ったことにより、魚が水中で暴れる時間が短縮され、魚へのダメージが低減されたためと考えられる。

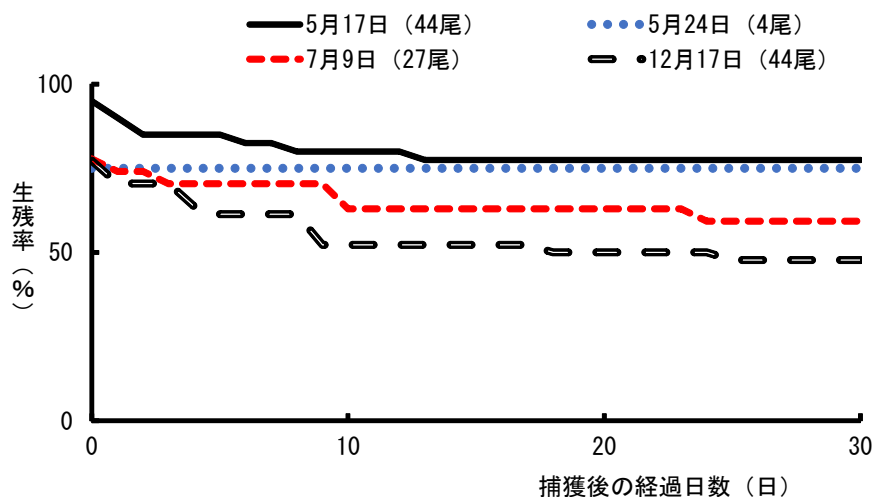


図 4 捕獲後の生残率の変化

イ 成熟要因の解明

試験開始時と 2 か月飼育後の雌雄それぞれの GSI を図 5 に示した。対照区に比べて、試験区の GSI は低かったことから、水温低下だけでは生殖腺の発達を引き起こすことはできないと考えられる。

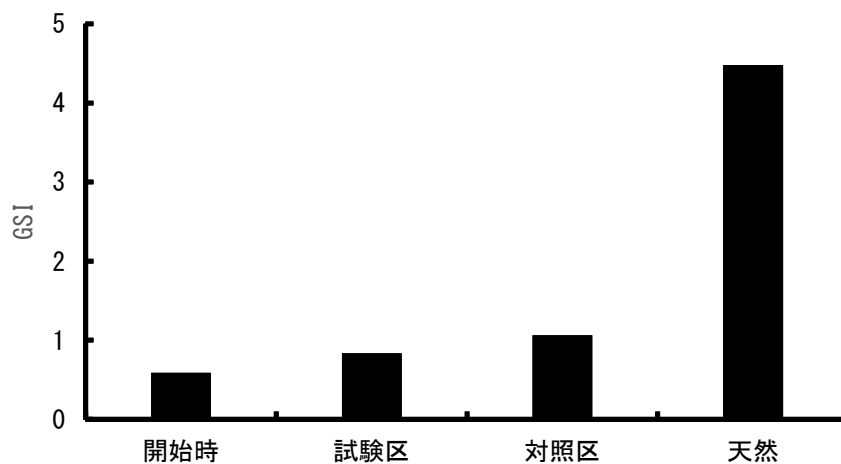


図 5 水温の変化による GSI の変化

次に、血中のホルモン濃度を分析した結果を図 6 に示した。T や 11-KT は天然魚と比較すると雌雄ともに半分以下であり、これらホルモンが低いことが原因で生殖腺が発達しなかった可能性が考えられる。

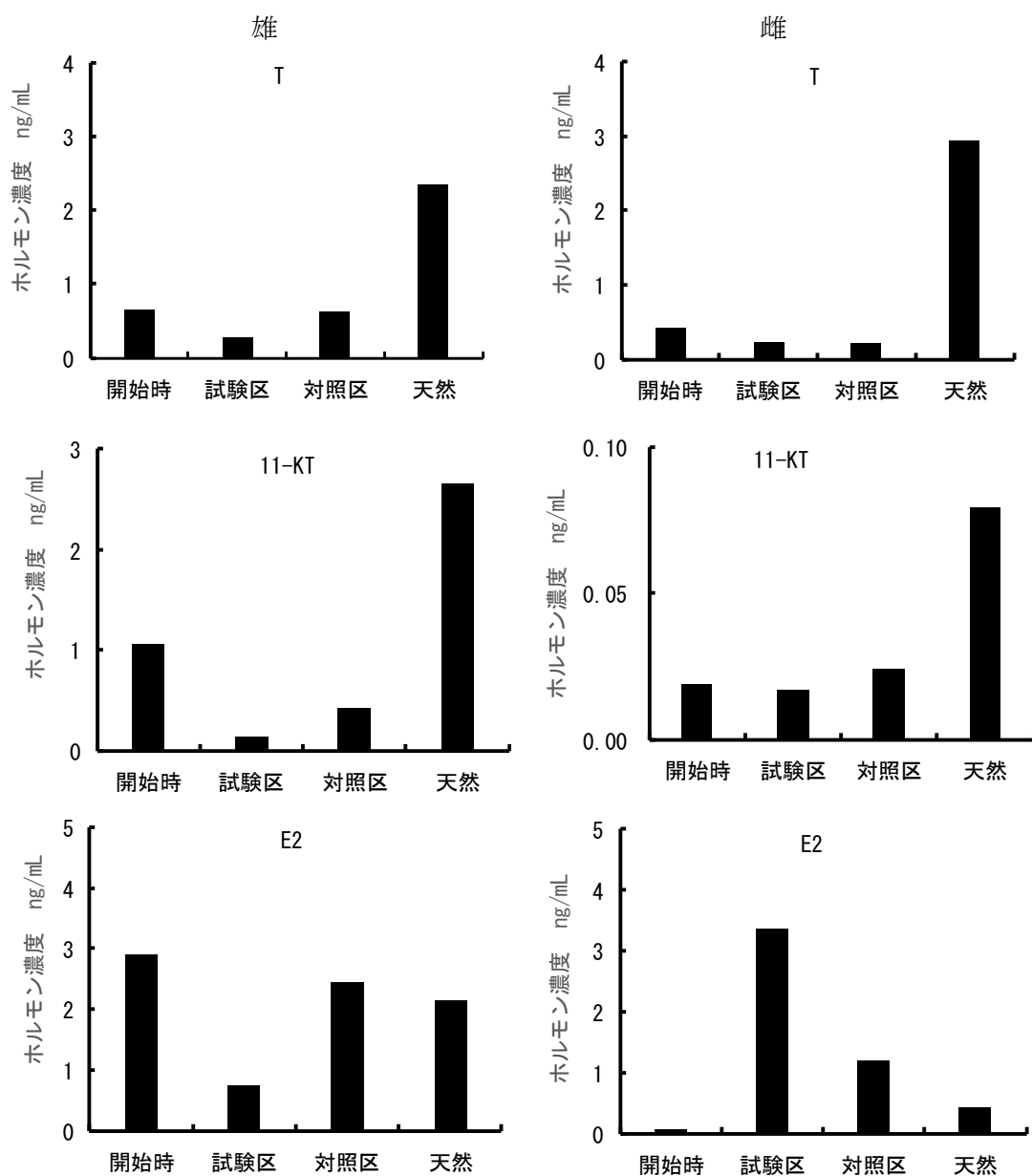


図6 血中のホルモン濃度

【次年度以降に向けた提言】

近年のキンメダイ漁獲量の減少に伴い、キンメダイ親魚の確保が困難となり、船上で人工授精を実施しようとした場合、年間に数回しか実施できない状態であった。そこで、親魚を生かしたまま研究所に持ち帰り、排卵した段階で人工授精を実施することにより人工授精の機会を増やすこととした。今年度は、大型親魚の漁場が不漁であったため、比較的小型の親魚を用いたが、昨年度と比べて4倍の親魚を生かしたまま研究所に持ち帰ることができた。

キンメダイは胸鰭を動かして前進することで酸素を取り入れようとするのが観察され、船上運搬、陸上運搬及び捕獲親魚の採卵までの飼育の祭に水流を起こすことで多くの個体を人工授精試験に使用できたと考えられる。

キンメダイの採卵のタイミングについては、捕獲直後よりも時間が経過した方が成熟卵が卵巣から卵巣腔へ排卵されるために採卵数が増加すると考え、夜間採卵を計画したが、捕獲数が多かったため翌日の朝以降に採卵するように変更した。その結果、捕獲日にひん死又は死亡して採卵を行った個体よりも、捕獲翌日以降に採卵した方が採卵量が多い傾向がみられた。一方で、ふ化仔魚数には顕著な差がみられなかった。これは、卵巣腔へ排卵されてからの採卵までのタイミングが遅くなり、過熟卵となってしまった可能性がある。キンメダイの排卵周期は明らかにされていないが、昨年度の反復採卵の結果から、少なくとも1日おきぐらいの頻度で排卵の有無を確認した方が良いと考えられる。

ホルモン剤を用いた成熟促進については、前述の日本栽培漁業協会において使用された事例はあるがその効果については明らかになっていない。今回もホルモン投与魚及び非投与魚で採卵状況に差はみられなかった。しかし、hCG については多くの魚種で活用されていること、これまでの研究で大量に採卵できた事例があることから、投与条件の検討については、種苗生産用親魚の生残状況が改善してから改めて検討することとしたい。

今後の課題については、受精卵の生残状況が不安定であり、かつ、ふ化仔魚の生残日数が短く摂餌状態が不安定なことを改善する必要がある（詳細はイ キンメダイの種苗生産技術の開発に記載）。ふ化仔魚の無給餌生残日数が短いことは、親魚及び卵の質が影響していることを示していると考えられる。日本栽培漁業協会や本県のこれまでの種苗生産研究において、キンメダイのふ化仔魚が比較的長期間（2 週間以上）生残した場合は、親魚を捕獲してから採卵までの期間が長い場合が多いことから、陸上飼育中に成熟し排卵した卵を用いて人工授精を行うことを可能にしたいと考えている。

これまでの親魚採捕から人工授精に至るまでの手順を以下に記載した。

<キンメダイの親魚捕獲及び人工授精手順>

1 漁船による親魚捕獲

- ・人工授精の機会を増やすこと、親魚の陸上飼育で未受精卵を成熟させ、卵質の向上を狙うことから、引き続き活魚運搬により研究室に親魚を持ち帰る手法を継続する。
- ・親魚の捕獲時期を7～9月を主体とし、尾叉長 35cm 以上の個体を捕獲できる漁場で行うことが望ましい。
- ・車両搬送用の活魚水槽に冷海水を積み、時間経過による水温の上昇に対応するため、クーラーボックスに海水氷を持って行く（図7）。



図7 車両搬送用活魚水槽と運搬用水槽

- ・船に1次麻酔用(70L 容程度)、持続麻酔用(100L 程度)の容器、冷海水、海水氷、酸素ポンプ等を積み込む。
- ・漁場に到着したら、汲上げた表層海水に海水氷を投入し、冷海水(10～12℃)を作る。
- ・10%*p*-アミノ安息香酸エチル(エタノールで溶解)を入れ、1次麻酔(50ppm)、持続麻酔(15ppm)液を作成する。
- ・魚が釣れ上がる直前に、船上での捕獲魚運搬用に、幅40cmのバックカン(釣りのコマセを入れる四角いバケツ、細長いので船の通路を移動するのに便利)に1次麻酔液を5L程度入れる。
- ・魚が釣れたら、ハリスを持って魚を持ち上げ、魚が外れた時のために下からラバーネット(図8)でカバーする。
- ・ハリスを切って魚をバックカンに収容する。仕掛けを上げ終わったら、バックカンの魚を1次麻酔液の中に移す(図9)。針についた釣り餌は水質を悪化させるため、1次麻酔中に除去する。
- ・キンメダイの遊泳がかなり緩慢になった段階で、持続麻酔液に移す(図9)。酸素を通気しながら麻酔を維持する。通気による水温の上昇に気をつけ、海水氷を投入し、10～12℃を維持する。魚の収容量が多い場合は局所的な酸欠が起こる危険性があるため。麻酔液を渦状に攪拌、流れを作る。
- ・1次麻酔についても海水氷の投入、酸素通気を時々行い、低温、高酸素を維持する。
- ・船上でひん死になった個体は、10～12℃の冷海水を少量入れたクーラーボックスに入れ、排卵腔が海水に浸からないようにして持ち帰り、人工授精に使用する。
- ・親魚捕獲が終了したら、持続麻酔の状態のまま、港まで親魚を持ち帰る。

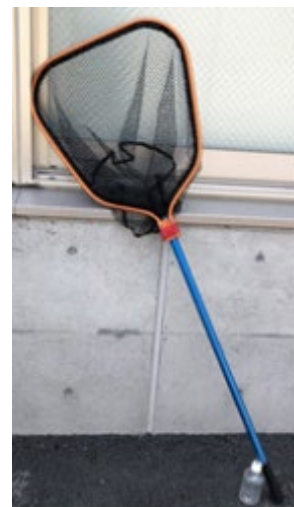


図8 ラバーネット



図9 1次麻酔(右)、持続麻酔(左)



図10 活魚水槽の水流用ポンプ

2 車両での親魚搬送、施設への収容

- ・帰港後、車両搬送用活魚水槽の温度を10～12℃程度に調整する。船での運搬中に水温が上がってしまった場合は少し高めでも良い。
- ・持続麻酔中の親魚をバックカンや樽等の容器を使って麻酔海水ごと車両まで運び、車両搬送用の活魚水槽に移す。麻酔液が少量なので、親魚を海水ごと活魚水槽に移す。

- ・トラックのシガーソケットから電源を取り、水中ポンプで活魚水槽内に流れを作る（図 10）。
- ・酸素を通気しながら運搬する。
- ・研究所に到着したら、アユの友釣り用の水だも（図 11）を使って海水ごとキンメダイを掬い、少量の海水を入れたバツカンに移す。
- ・キンメダイの生殖孔の上（卵巢腔がある辺りを想定）から生殖孔へ向けて腹部を軽くしごき、排卵、排精の有無を確認する。
- ・排卵、排精が確認された親魚は、冷却海水を入れた飼育水槽に収容する。飼育水槽は、注水の向きを工夫して、渦状の水流が起こる様にしておく（図 12）。
- ・排卵、排精が確認されなかった親魚は、hCGを魚体重約1kg未満の個体には500IU、約1kg以上の個体には1000IU筋肉注射し、排卵、排精の確認された個体とは別の水槽に収容する。遊泳できる状態であれば、親魚回復装置（図 13）による加圧及び高濃度酸素処理を行い、生存期間の長期化を目指す。

3 採卵・採精

- ・排卵、排精が確認された個体から、採卵、採精を行う。
- ・精液の保存液としてトラフグ用リンガー液⁵⁾、卵の洗浄用及び卵巢からの採卵用にカレイ用リンガー液⁶⁾を用意しておく（可能であれば10℃保存：表4、図14）。
- ・排卵、排精の確認された親魚のうち、死亡魚については体重、尾叉長の測定を行い、ペーパータオルで魚体の水分を拭き取ってから採卵、採精を行う。



図 11 アユ友釣り用の水だも

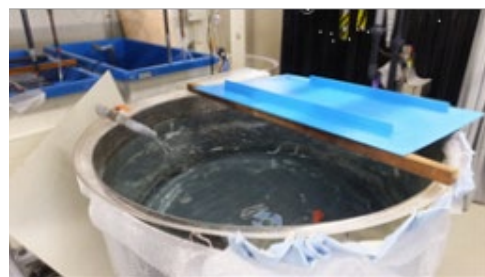


図 12 親魚飼育水槽（渦状の水流を作る）



図 13 試作した親魚回復装置



図 14 冷やしたリンガー液等

表4 トラフグ用リンガー液及びカレイ用リンガー液の組成

成分	トラフグ用リンガー液		カレイ用リンガー液	
	mM/L	g/L	mM/L	g/L
NaCl	150	8.78	141	8.25
KCl	2.5	0.19	5.23	0.39
CaCl ₂ ・2H ₂ O	3.5	0.51	4.90	0.72
MgCl ₂	1.0	0.10	1.13	0.05
NaH ₂ PO ₄	0.7	0.11	1.79	0.17
NaHCO ₃	7.0	0.59	11.90	1.00
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	2.8	0.50	5.55	1.00
pH	7.4		8.0(原著にはpHの記載なし)	

1) 採精

- ・先に採精から行う。魚体の腹を上に向けて、生殖孔の少し背中側から生殖孔へ向けて腹部を軽くしごき、生殖孔から出てきた精液を100～1000 μ Lのマイクロピペットで吸い取る。この時、糞や尿が出てきた場合はペーパータオルで拭き取り、吸い込まないようにする。
- ・ピペットチップの先端からスライドグラス上に精液を少し付け、海水と混合して運動性を確認する。
- ・運動性があった場合は、トラフグ用リンガー液で50～100倍に希釈し、1.5mLマイクロチューブに500 μ L程度ずつ分注し、マイクロチューブを横に寝かせて4℃で保存する。精子が酸欠にならないように毎日転倒攪拌することで、今のところ最長12日間の保存が可能である。保存精子を用いる場合、使用前に必ず運動性を確認する。
- ・精液が大量に取れた場合は、精液：DMSO：FBS＝1：1：8になるように懸濁し、液体窒素で保存する。

2) 死亡魚からの採卵

- ・死亡魚からの採卵は、まず、ステンレスボウルにカレイ用リンガー液を入れ、重量を0g合わせておく。
- ・ボウル上で、腹側を斜め下に向けて生殖孔の少し背中側から生殖孔へ向けて腹部を軽くしごき、生殖孔から出てきた未受精卵をボウルに受け、採卵重量を測定する。
- ・ボウルに更にリンガー液を加え、卵を攪拌し上澄みを捨てて洗浄する(2～3回繰り返す：図15)。



図15 未受精卵の洗浄



図16 卵巣の摘出

時間がかかる場合は、洗浄後にカレイ用リンガー液を入れたままにし、温度が上がらないよう保存する。

- ・別のボウルにリンガー液を入れ、重量を 0g 合わせしておく。キンメダイの腹部を切り開き、卵巢を摘出し、重量を測定する（図 16、17）。
- ・卵巢の外側をリンガー液中で洗い、リンガー液を入れる。
- ・液中で卵巢を切り開き、ピンセットで振り洗いし、成熟卵を取り出す。
- ・卵の洗浄を行う（上述と同様）。



図 17 切り開いた卵巢

3) ひん死魚からの採卵

- ・ひん死魚から採卵する場合は、生きたまま海中で鰓弁をハサミで切断して放血させる。卵巢中の血液が減り、きれいな卵を得られる。以後の手順は死亡魚と同様。



図 18 綿糸による標識

4) 生存魚からの採卵

- ・生存魚からの採卵は、50ppm の *p*-アミノ安息香酸エチルで麻酔をかけてから行う。
- ・採卵後の親魚への負担を減らすために体重等の測定は死亡後に実施する。
- ・採卵は搾出のみとし、親魚を回復させて、反復採卵を行う。
- ・個体識別を行うために、麻酔途中又は回復途中に色つき綿糸を背鰭に結び、標識にする（図 18）。
- ・採卵後は冷水をキンメダイの口から流し込み、胸鰭が動き出すまで回復してから、水槽へ戻す（図 19）。



図 19 麻酔からの回復

4 人工授精

- ・カレイ用リンガー液中では精子が動かないため、ボウルのリンガー液を極力捨てる。
- ・精子を冷蔵庫から取り出し、卵の入ったボウル中に 100~500 μ L 程度入れ、水温 10~12℃の海水を流し入れて攪拌、受精させる。
- ・5 分程度経ったら、浮上卵をスプーンで掬い取り、人工授精時と同じ水温で 10mg/L の塩酸オキシテトラサイクリンを加えた海水を入れたビーカーに収容する。卵収容数は、300mL ビーカーに対して浮上卵 100~200 粒程度が望ましい。



図 20 受精卵の収容

- ・ ビーカーを水温 15℃のウォーターバスに入れる（図 20）。

参考文献

- 1) 大西慶一(1966)キンメダイ人工ふ化についての試み、魚類学雑誌、14(1)、27-33.
- 2) 鴨志田正晃、成生正彦(1989-1998)種苗生産技術開発の概要、新しい栽培種として期待される魚類、キンメダイ、平成元年～平成 10 年度日本栽培漁業協会事業年報.
- 3) 渡辺貢(1997)キンメダイ釣獲魚を用いた人工授精について I、高知県海洋深層水研究所報、25-28.
- 4) 野田浩之ら(2016)キンメダイ種苗生産技術開発、静岡県水産技術研究所事業報告、113-115.
- 5) 古川聡史(2009)：トラフグの高成長に関する遺伝学的および分子生物学的研究. 東京大学大学院農学生命科学研究科博士論文.
- 6) Tetsuya Hirano, Donald W. Johnson, Howard A. Bern(1971) : Control of Water Movement in Flounder Urinary Bladder by Prolactin. NATURE, 230, 469-471

ア 親魚養成技術の開発

②アマダイ類の親魚養成技術の開発 - 1

山口県水産研究センター

阿武 遼吾

【目的】

シロアマダイは、アマダイ類の中でも希少性が高い高級魚である。山口県では、日本海と瀬戸内海に分布し、漁業者からの種苗放流の要望が強い魚種の1つである。

本研究では、シロアマダイの種苗生産に必要な受精卵を安定的に得るために、人工生産種苗を採卵親魚に養成する技術を開発することを目的とした。

【研究方法】

1) 親魚養成試験

令和2年7月17日から、平均全長50mmの令和2年度生産人工種苗を用いて親魚養成試験を開始した。3、4kL 青色FRP製円形水槽に各500尾ずつ収容し、表1の飼育条件で飼育した。また、令和4年9月16日から令和4年度生産人工種苗を用いて、表1の54週齢以降の飼育手法で飼育を開始した。

2) 精子凍結試験

5月6日に本県瀬戸内海で漁獲された7尾の雄親魚から採取した精子を使用して凍結保存試験を行った。0.5mL ストロー管にDMSO 10%、FBS 80%、精子 10%の組成で収容し、液体窒素中に保存した。冷却は、液体窒素液面からの高さを3cmで5分間予備凍結し、その後、液体窒素に浸漬した。

3) 養成親魚を用いた人工授精

3月下旬から、カニューレーションを用いて1) 親魚養成試験で養成している雌の令和2年度生産人工種苗の成熟状況を把握した。成熟が確認できれば、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)を300IU/体重1kgを目安に打注し、その24~72時間後の搾卵を試みた。

【研究成果の概要】

1) 親魚養成試験

飼育水温と死亡尾数の関係を図1に示した。令和5年1月31日時点で令和2年度生産種苗8尾、令和4年度生産種苗25尾を飼育している。

2) 精子凍結保存

凍結から5ヶ月後の精子を解凍し顕鏡観察したところ、問題なく運動していることが確認された。

3) 養成親魚を用いた人工授精

3月下旬から実施予定。

【次年度に向けた提言】

今後、現在養成している人工種苗の成熟条件を把握し、人工種苗からの親魚養成技術の確立を目指す。

表1 親魚養成試験における飼育条件

		9 週齢～ (R2. 7. 17)	12 週齢～ (R2. 8. 6)	15 週齢～ (R2. 8. 24)	22 週齢～ (R2. 9. 29)	26 週齢～ (R2. 10. 24)	40 週齢～ (R3. 2. 1)	54 週齢～ (R3. 5. 14)
飼育水		砂ろ過海水						
収容尾数 (尾)		500	350	100	75	50	50	30
収容密度 (尾/㎡)		111	78	22	16	11	11	7
水温(℃)		11.5～30.9 (自然水温)						
給餌方法	回 数 (回 / 日)	6～12	12	1	2	2	1	1
	餌料	配合飼料	配合飼料	配合飼料	配合飼料 オキアミ	配合飼料 オキアミ	配合飼料 オキアミ、アジ、イカ	オキアミ、イカ
	給餌量	飽食量	飽食量	魚体重の 1%	魚体重の 4%	魚体重の 6%	魚体重の 0.5%	魚体重の 1%

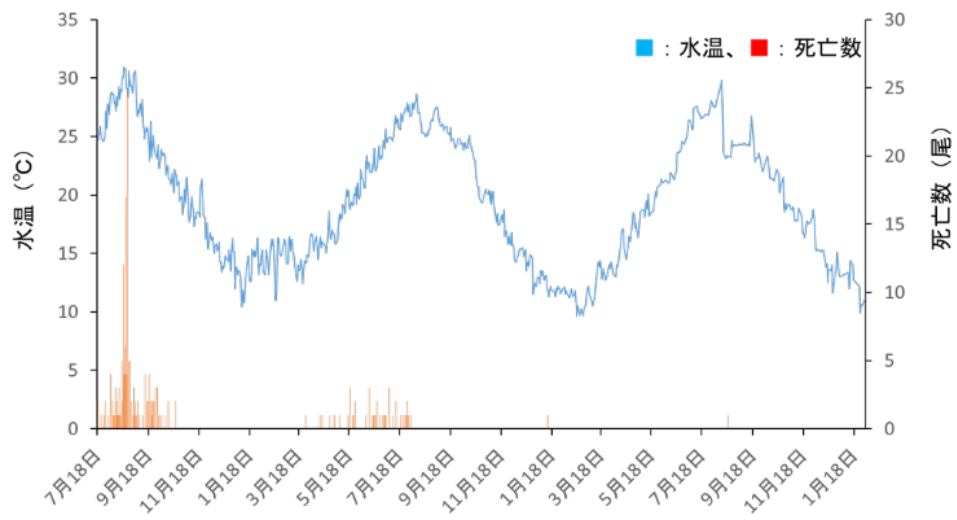


図1 飼育水温と死亡数

ア 親魚養成技術の開発

②アマダイ類の親魚養成技術の開発 - 2

宮崎県水産試験場

高木 ゆり

【目的】

アマダイ類の種苗生産に必要な受精卵を安定的に得るために、人工生産種苗および天然の未成熟個体を採卵親魚に養成する技術と凍結精子の保存と利用技術を開発する。

【研究方法】

1. 親魚養成のための比較飼育試験

人工アカアマダイ当歳魚を用い、令和3年度に実施した事前飼育試験の大型化及び水槽形状の違いによる比較飼育試験を行い、親魚養成のための稚魚期の育成方法を検討する。

2. 成熟試験

人工アカアマダイ3歳魚4尾を用い、2尾は自然水温（対照区）、2尾は夏場の水温を23℃に調整（試験区）し、養成を行った。飼料には両区ともモイストペレット（ダイニチ DMP-アマダイ SP）を用い、週5回、魚体重の1.5～2%量を給餌した。

3. 凍結精子試験

天然アカアマダイの雄鮮魚から VNN フリー個体の精子を用いて凍結精子を作製し、その後1ヶ月毎に精子の活性を確認した。

【研究成果の概要】

1. 親魚養成のための比較飼育試験

令和3年度の事前飼育試験¹⁾では、令和元年10月に生産されたアカアマダイ稚魚を用いて、令和2年7月から令和3年2月まで1kℓFRP水槽で流水飼育した。試験区は、対照区、対角線上に注水することによって水流を発生させた水流区、青色LEDライトを24時間照射したライト区、水流と青色LEDライト処理の両方施した水流+ライト区を設定した。その結果、水流+ライト区において生残率が最も高い結果となった。

これらの結果を元に、水槽を2kℓに大型化したことに加え、水槽形状を丸型にし、水流の違いによる比較飼育試験を実施した。供試魚は、令和3年度11月に生産されたアカアマダイ稚魚であり、各試験区に60尾を収容して令和4年6月15日から12月16日まで試験を行った。試験区は、2kℓ角型FRP水槽に令和3年度と同様に水流を発生させた試験区①、2kℓ丸型シート水槽を用いた試験区②、2kℓ丸型シート水槽に24時間青色LED照射を施した試験区③を設定した（図1）。また、すべての試験区において、寒冷紗による遮光処理を行った。



図1 親魚養成のための比較飼育試験の試験区（左から試験区①、試験区②、試験区③）

その結果、生残率においては、試験区②及び③が試験区①と比較して有意に高い結果となり、青色 LED 照射を施した試験区③と施さなかった試験区②では、有意な差はなかった（図2）。また、体重と体長においては、試験区②の丸型水槽で青色 LED 照射を施さなかった区が他の試験区と比較して有意に高い結果となった。

この比較飼育試験では、青色 LED 照射せずに丸型水槽で飼育することによって生残率及び成長が向上する結果となった。

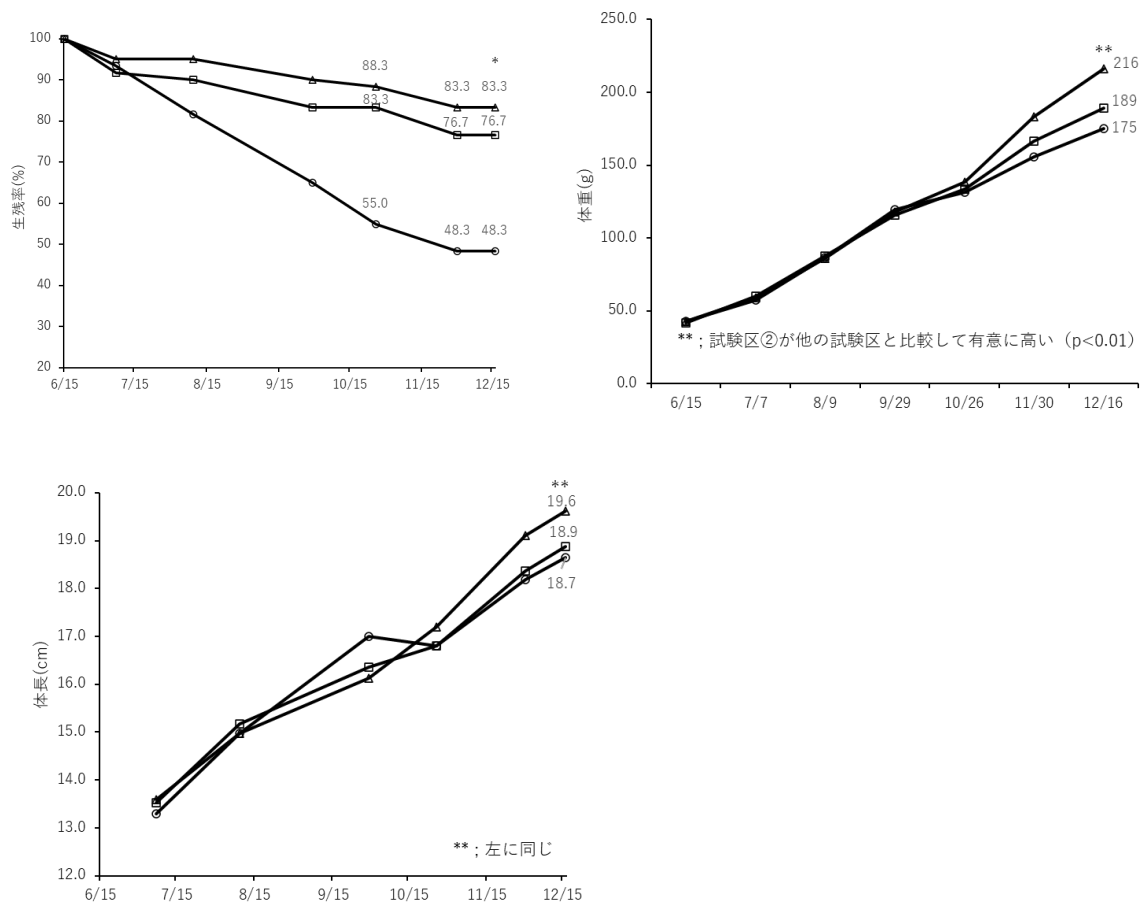


図2 親魚養成のための比較飼育試験の結果

○ 試験区① △ 試験区② □ 試験区③

2. 成熟試験

23℃水温制御は令和4年6月に開始し、自然水温が23℃を下回った12月に水温制御を終了した。試験期間中は、各試験区に水温ロガーを用いて水温を測定した(図3)。令和4年6月以前は、両区とも配合飼料(林兼産業製 トラフグEP5)を給餌しており、令和4年7月からモイストペレット給餌を開始した。成熟試験は、令和4年8月からアカアマダイの腹部が張っていたため腹部圧搾により採卵を試みた。その結果、対照区からは採卵できなかったが、23℃に水温制御を行った試験区では、11月上旬まで採卵することができた。採卵した卵は、卵重量を記録後、100個程度ランダムに顕微鏡下で測定し、平均を算出した(表1)。これらの結果は、本県で2012～2014年に調査した天然アカアマダイの成熟傾向と一致しており、少なくとも概ね23℃以下に夏場の水温を制御すれば自然環境下と同様に人工アカアマダイ3歳魚においても成熟することが示唆された。

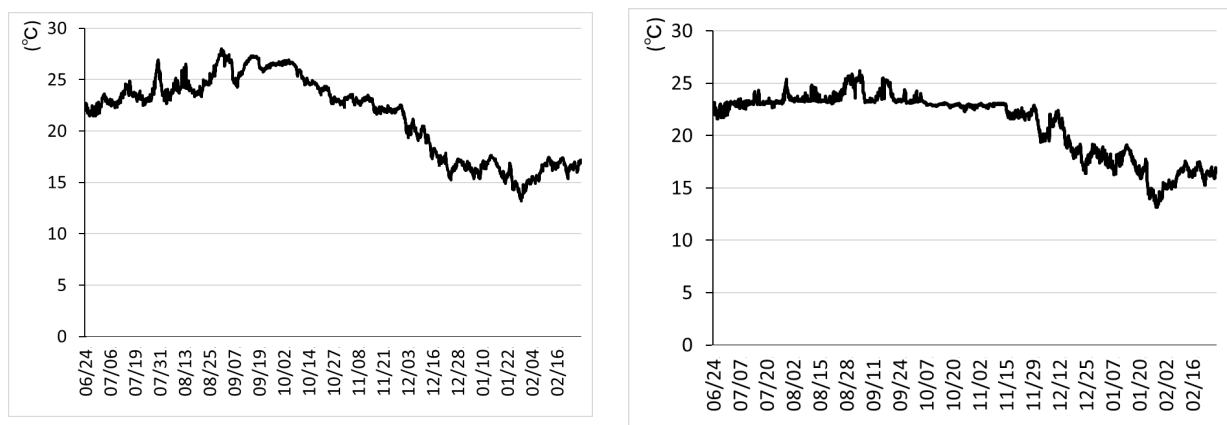


図3 各試験区の水温(左図:対照区、右図:試験区)

表1 試験区の採卵結果

	個体1		個体2	
	卵重量(g)	卵径平均(mm)	卵重量(g)	卵径平均(mm)
8月9日	-	0.57	-	-
9月29日	10.50	0.94	31.50	1.04
10月12日	11.00	0.95	9.00	1.01
10月24日	12.00	0.97	30.00	1.04
10月26日	10.50	0.90	25.50	0.89
11月4日	6.00	0.94	13.00	0.89
11月7日	1.00	-	3.00	-

3. 凍結精子試験

令和4年11月9日に買い上げた天然アカアマダイ雄鮮魚16尾の精巢を取り出し、メスで細かく切り刻んだ後、精巢重量×30倍の人工精しょう（表2）で濾過し、精液を作成した。人工精しょうは1ℓのDWに溶かした後、NaOHでpHを7.5～8.0に調整した。濾過した精液は個体毎に分け、一晩4℃で冷蔵保存した。翌日に全個体の網膜と脳を用いてVNN検査を行い、VNN陰性かつ精子の活性を確認できた11尾の精液を用いて凍結精子試験を実施した（表3）。凍結保護剤はDMSOを用い、精液9mlとDMSO1mlを混合し、0.5mlストロー管に収容した。その後、ドライアイス上で2分間予備凍結し、液体窒素中に凍結保存した。凍結保存1カ月後に解凍し顕微鏡観察したところ、精子の活性を確認できず、その後も確認できなかった。凍結精子の活性が確認できなかった原因としては、VNN検査のために鮮魚確保から一晩おいて凍結処理を行ったことや、凍結処理前の予備凍結時間が短かったことが考えられた。このことから来年度以降は、鮮魚を入手した後、早急に凍結処理を行うことで、精子の活性を維持させ、VNN検査結果が陰性の個体のみの凍結精子を使用することで再検討を行う。また、予備凍結については、ドライアイス上に静止させる時間を5分間に延長することや、液体窒素液面上3～5cmで5分間静止させる方法等を検討する。

表2 人工精しょうの組成

試薬名	添加量 (g/ℓ)
NaHCO ₃	1.68
NaCl	7.889
KCl	0.149
MgCl ₂ ・6H ₂ O	0.468
CaCl ₂ ・2H ₂ O	0.206
HEPES	4.766

表3 凍結精子試験に用いた雄親魚のデータ

個体 No.	全長 (cm)	体重 (g)	精巣重量 (g)
1	38.8	771	1.05
2	40.0	750	1.37
3	38.0	758	1.66
4	42.7	970	1.44
5	36.5	562	0.98
6	38.6	710	0.90
7	41.5	922	0.97
8	43.0	1025	0.33
9	41.5	982	2.21
10	35.0	543	1.32
11	37.4	712	1.28

【次年度以降に向けた提言】

1. 親魚養成のための比較飼育試験

今年度の比較飼育試験において、丸型水槽で飼育することで生残率・成長が向上したため、来年度以降人工アカアマダイを丸型水槽で継続飼育し、今後の受精卵確保のための親魚に養成する。

2. 成熟試験

天然親魚を用いて、23℃水温制御及びモイストペレット給餌による成熟試験を行い、再現性を検証する。

3. 凍結精子試験

買い上げから凍結処理までの時間を空けないことや、予備凍結の時間や方法の再検証を行う。

文献

- 1) 藤田裕也, 中神秀一, 南隆之, 水田篤, 井上海斗, 甲斐晴貴. アカアマダイ種苗生産技術開発Ⅱ—受精卵の量産化—. 令和3年度宮崎県水産試験場事業報告書.

ア 親魚養成技術の開発

② アマダイ類の親魚養成技術の開発 - 3

公益財団法人 海洋生物環境研究所

渡邊 裕介

【目的】

アマダイ類の種苗生産に必要な受精卵を安定的に得るために、人工生産種苗および天然の未成熟個体を飼育し、成熟した親魚を養成する技術を開発する。また、凍結精子を作製するとともに、人工授精に利用する。

【研究方法】。

1) アカアマダイ親魚養成技術の開発

これまでの親魚養成の結果、自然産卵によって受精卵を得ることができなかったことから、本年度は未成熟状態にあった個体を飼育により成熟させてから採卵親魚として用い人工授精を試行した。雌個体として、2018 年度天然採集個体(京都府伊根町沖)の雌 1 尾(1,037g)、2016 年度人工生産魚(水研機構宮津庁舎)の雌 7 尾(590 ± 120 [SD] g)および 2017 年度人工生産魚(山口県栽培公社)の雌 6 尾(504 ± 62 g)を使用した。上記雌個体については自然日長条件下において水温が 25℃を超えないように調整して飼育した(図 1)。飼育水の換水率は 0.5 回転/時とした。午前に冷凍オキアミ(ツノナシオキアキ)、午後にモイストペレットをそれぞれ体重の 1%を目安に給餌した。雄個体として 9 月 15 日および 16 日に新潟県柏崎市沖で漁獲された天然魚 4 尾(体重: $1,003 \pm 111$ g)を使用した。雄は漁獲された日に精巢を摘出し、精子抽出液を作製し、凍結保存した。凍結精子の作成・保存方法は水産研究・教育機構上浦庁舎にて行われた「精子凍結研修会」の内容に準じた。人工授精は、日本海区水産研究所宮津庁舎(現: 水産技術研究所宮津庁舎)が作成した試作マニュアル(未公開)を参考に実施した。雌個体にホルモン剤(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン、HCG、あすかアニマルヘルス㈱「動物用ゴナトロピン 3000」)を魚体重 1kg あたり 300IU 打注し、48 時間後に腹部を圧迫し、卵を絞り出した。採卵は 10 月 6 日、13 日、20 日、27 日および 11 月 3 日に実施し、同一個体から複数回採取した。人工授精は採卵日に実施した。人工授精を行った卵を 100L パンライト水槽(水温 21℃)に収容し、浮上卵数・沈下卵数を計数した後、正常ふ化率を確認した。

2) アカアマダイ人工生産魚の性分化の確認

2020 年度および 2021 年度にバイオプシー(生体組織採取検査)を実施した 2017 年生産(同上)の雌から雄への性転換有無について、腹部圧迫による採卵を行うことで確認した。

3) シロアマダイ人工生産魚の性分化の確認

2022 年 5 月に 1、2 および 3.5 ヶ月齢のシロアマダイ種苗それぞれ約 100 尾をホルマリンに固定後、山口県水産研究センターより海生研中央研究所に輸送した。後日、その一部について魚体測定後に生殖腺を含む躯体部を切り出し、70~100%のエタノール系列で脱

水した後、親水性樹脂（Technovit7100、Kulzer 社）に包埋し常法により厚さ $5\mu\text{m}$ の切片を作成した。これらの切片に Gill のヘマトキシリンとエオシンの 2 重染色を施し、光学顕微鏡を用いて生殖腺の組織学的観察を行った。

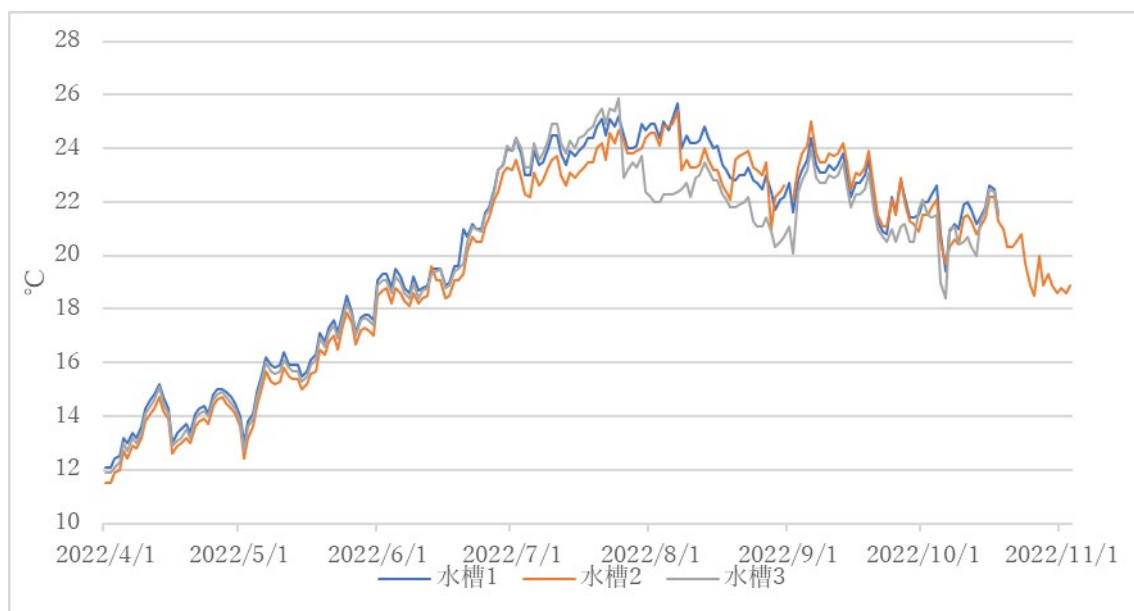


図 1 アカアマダイ親魚養成中の飼育水温

水槽 1：2018 年度天然採集個体(京都府伊根町沖)、2016 年度人工生産魚(水研機構宮津庁舎)

水槽 2：2016 年度人工生産魚(水研機構宮津庁舎)

水槽 3：2017 年度人工生産魚(山口県栽培公社)

【研究成果の概要】

1) アカアマダイ親魚養成技術の開発

表 1 に各雌個体の採卵量を示す。10 月 6 日、13 日、20 日、27 日および 11 月 3 日と一週間毎に採卵を行い同一個体から複数回の採卵が可能であったが、回数を重ねるごとに採卵量は減少した。表 2 に人工授精の結果を示す。5 回中 2 回の人工授精で受精卵が得られたが、浮上卵率およびふ化率は低かった。10 月 6 日の人工授精では、採卵量に対して使用した凍結精子の量が不足していた可能性が考えられたため、それ以降の人工授精では凍結精子の量を増やした。採卵量および卵質ともに採卵を重ねるたびに低下する傾向がみられたことから、一週間毎の採卵に伴うストレスの影響が懸念された。また 10 月中旬以降は、産卵期の終期に至ったため、産卵量が減少した可能性も考えられた。

2) アカアマダイ人工生産魚の性分化の確認

10 月 4 日に腹部触診および採卵を実施した。その結果すべて雌であり、雄への性転換個体がないことを確認した。一部の個体を 1) の人工授精に用いた（表 2、C-1～C-6）。

3) シロアマダイ人工生産魚の性分化の確認

1 ヶ月齢のシロアマダイ種苗(平均体長 1.2cm)の生殖腺に始原生殖細胞が観察された。2 ヶ月齢(平均体長 3.1cm)では生殖細胞の分裂像が観察され、個体によって分裂像の活性に差がみられるように見受けられた(図 2)。3 ヶ月齢以降(平均体長 6.9cm)では卵母細胞が出現し、昨年度と同様の観察結果が得られた。今回観察した試料は、それぞれ 1 ヶ月齢 10 尾、2 ヶ月齢 10 尾であり、今後、入手したすべての試料の組織切片を作成し詳細観察を行うことにより、1～2 ヶ月齢での性分化の兆候をより明確にすることができると考えられる。

【次年度以降に向けた提言】

アカアマダイ親魚養成技術の開発については、採卵間隔や採卵頻度を試行し、産卵盛期とされる 8 月から 10 月までの期間(渡辺・鈴木, 1996)に人工授精を実施する。それに伴い、天然雄の凍結精子を確保する。また、人工授精に使用する凍結精子の適正量を検討する。天然親魚の入手を試み、親魚養成を実施する。安定的に受精卵が得られた場合は小規模な種苗生産を実施し、人工生産魚における雄の出現条件を検討する。

シロアマダイ人工生産魚の性分化の確認については、本年度に入手したすべての試料の組織切片を作成し詳細観察を行うことにより、1～2 ヶ月齢での性分化の兆候を明確にする。飼育を継続し 36 ヶ月齢以降において生殖腺組織観察を実施し、性分化・性成熟の状態を確認する。

表 1 アカアマダイの採卵日時と各個体の採卵量(g)

個体番号 (系群)	採卵日				
	10/6	10/13	10/20	10/27	11/3
A-1	32	44	0	微量	7
B-1	26	64	0	0	0
B-2	11	9	2	1	0
B-3	24	10	0	0	0
B-4	33	41	11	5	0
B-5	27	26	0	0	0
B-6	12	33	4	0	0
B-7	7	11	0	0	0
C-1	0	0	微量	*	7
C-2	0	0	0	5	0
C-3	3	0	3	0	1
C-4	0	3	4	0	4
C-5	0	0	0	0	2
C-6	9	11	7	0	0

A 群 : 2018 年度(伊根採集)、B 群 : 2016 年度(水研機構宮津庁舎人工生産魚)、C 群 : 2017 年度(山口県栽培公社人工生産魚)

* : 採卵時に卵漏出

表 2 アカアマダイ人工授精の結果

実施日	個体番号 (系群)	総卵数 (粒)	浮上卵 (粒)	沈下卵 (粒)	浮上卵率 (%)	仔魚数 (尾)	ふ化率*2 (%)
10/6*1	A-1	45,500	8,300	37,200	18.2	1,348	16.2
	B-5						
10/13*1	B-1	66,700	23,600	43,100	35.4	8,069	34.2
	B-4						
	B-6						
10/20	A-1	33,000	400	32,600	1.2	244	61
	B-1						
	B-5						
10/27	B-5	34,500	200	34,300	0.6	0	0
	B-6						
	B-6						
10/20	B-4	2,000	0	2,000	0	0	0
10/27	B-2	900	100	800	11.1	0	0
	C-1	500	400	100	80	0	0
11/3	C-1	—	—	—	—	—	—

—：正常卵なしのため計数を省略

*1: 2 個体から採卵し、混合して人工授精に使用

*2: ふ化率=ふ化仔魚数/浮上卵数/100

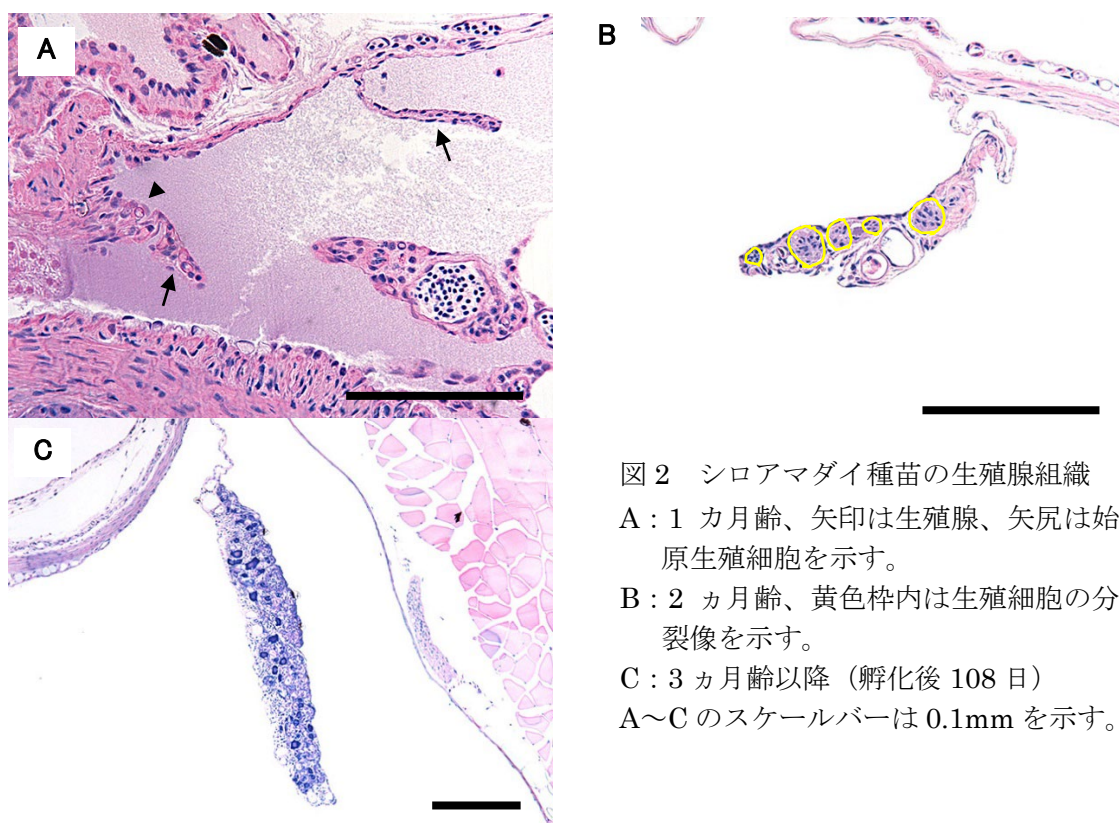


図 2 シロアマダイ種苗の生殖腺組織

A：1 ヲ月齡、矢印は生殖腺、矢尻は始原生殖細胞を示す。

B：2 ヲ月齡、黄色枠内は生殖細胞の分裂像を示す。

C：3 ヲ月齡以降（孵化後 108 日）

A～C のスケールバーは 0.1mm を示す。

【引用文献】

渡辺健一，鈴木信洋（1996）徳島県太平洋沿岸のアカアマダイの性分化，成熟および産卵期．日本水産学会誌，62(3),406-413.

ア 親魚養成技術の開発

③アカムツの親魚養成技術の開発

新潟市水族館マリニピア日本海

新田 誠

【目的】

アカムツの種苗生産において最も大きな課題は受精卵の確保であり、成熟年齢や採卵が可能な時期を明らかにすることが必要である。採卵・採精用親魚を安定的に確保するため、人工生産魚および捕獲した天然魚を飼育し、飼育下で採卵・採精するための技術開発に取り組む。

【方法】

1) 人工生産魚の水温別飼育試験

アカムツは 13℃前後の低水温飼育が適しているが、雄が成熟するまでに 3 年を要する。そのため、親魚養成までにエネルギーコスト、冷房設備の設置等に負担が生じる。高水温飼育で成熟までの期間を短縮できるかを検証するため、11 ヶ月齢の人工生産魚を 13℃、16℃、18℃の水温で飼育し、5 か月後の生残率の算出、全長、体長、体重の測定、目視による生殖腺の確認を行った。

2) 天然魚の人工採卵

生産に用いる受精卵を得るため、新潟県長岡市寺泊での人工採卵を 9 月に計 4 回実施した。刺し網で漁獲された天然魚を用い、船上で完熟卵を採卵し乾導法による人工授精を行った。成熟個体を活魚輸送し、性腺刺激ホルモン製剤（動物用ゴナトロピン 3000）を 500IU/kgを目安に筋注し、水量 2m³ の FRP 製断熱水槽に収容し、時間を置いて搾出法により採卵を行った。

3) 成熟サイズの天然雌個体の採集

人工生産魚から雌個体が得られないため、親魚養成試験に用いる天然魚の採集を実施した。天然親魚の採集は、佐渡海峡で 5～6 月に 3 回実施した。採集方法は釣りで、採集魚のハンドリングには魚体への接触を減少させるため自作の水ダモを用いた。船上では 250L 水量の活魚水槽に水温 12～13℃に調温した海水を満たし、採集された個体を速やかに収容した。港から水族館までは水量 2.5 t の断熱水槽を搭載した活魚輸送車を使用した。輸送時の水温は 13℃を保った。採集から輸送まで一貫して低水温で実施した。

4) 天然雌個体の水槽馴致および飼育

漁獲した天然魚は、水族館の丸型水槽（FRP 製、水量 2m³）で飼育試験を開始した。飼育環境は、生息環境に合わせるため水槽周囲を遮光して照度を下げ、水温は、ストレス

を軽減させるために輸送時と同じ 13℃とした。水温の管理にはユニット式クーラーを用い、水温の変動を軽減させるために半閉鎖式ろ過循環で飼育を開始した。

【研究成果の概要】

1) 人工生産魚の水温別飼育試験

11 ヲ月齡魚（全長：76.2±4.4 mm、体長：61.4±4.0 mm、体重：6.7±1.5g、n=10）を 13℃（水量 2.5m³、収容尾数 500 個体）、16℃（水量 1m³、収容尾数 200 個体）18℃（水量 1 m³、収容尾数 200 個体）の 3 区で飼育した。5 ヲ月後（1 歳 4 ヲ月齡）の生残率は、高水温の試験区で低下した。5 個体を計測した結果、成長は高水温の試験区で良好であった（表 3）。生殖腺は紐状ですべての試験区で成熟は確認されなかった。

表 3. 5 ヲ月後の水温飼育試験結果

	13℃	16℃	18℃
水温（2022年9月～2023年2月）	13.2±0.2℃	16.0±0.4℃	18.0±0.2℃
生残率	76%	66%	45%
全長（n=5）	93.7±3.7mm	109.9±8.4mm	116.8±4.8mm
体長（n=5）	75.0±5.0mm	89.9±7.8mm	95.7±5.6mm
体重（n=5）	11.3±1.8g	21.1±5.6g	26.8±5.6g

2) 天然魚の人工採卵

天然魚の雄と雌を用いた人工授精は、9 月 4 日、9 月 11 日、9 月 15 日、9 月 28 日の計 4 回行った。

完熟卵を抱卵した雌は 9 月 11 日と 9 月 28 日に、各日 1 個体ずつ得られた。9 月 11 日は雄が漁獲されたため、船上で人工授精を行なった。9 月 28 日は雄が漁獲されず、活魚輸送後に 5 歳齡の人工生産雄から採精した精子で受精させた（表 1）。

ゴナトロピンを用いた採卵は、完熟卵を持っていない成熟雌 13 個体に対して行った。ゴナトロピンは 500IU/kgを目安に筋注した。個体ごとのゴナトロピンの投与量は、個体の全長を測定した後、2017～2021 年の 9～10 月に新潟県で漁獲された成熟雌 57 個体から求めた全長と体重の関係式 $y = 0.0164x^{2.9934}$ から体重を推定し算出した。完熟卵は、ゴナトロピン投与後 18 時間生存した 1 個体から得られた。条件は、水温 12.7℃、塩分 34、ゴナトロピン投与量 662IU であった。採卵前日に底引き網漁で漁獲された天然雄の鮮魚（全長 231 mm、体重 189g、生殖腺重量指数 2.1）から採精し、人工精漿で希釈後、2℃で 28 時間冷蔵保存した精子を用いて人工授精を行い、受精卵を得た（表 2）。ふ化直前に対してのふ化率は 57%であった。

表 1. 完熟個体による人工授精結果

2022年9月4日 天然雌と天然雄による人工授精													
授精時刻	全長 (mm)		受精水温	搬入時				収容直前 発生卵数	発生卵数 /総卵数	発生卵数 /浮上卵数	ふ化 仔魚数	ふ化率	
	♀	♂		総卵数	沈下卵数	浮上卵数	浮上 卵率					ふ化直前 に対して	浮上卵 に対して
19:55	387	257	26.8	89,200	43,200	46,000	52%	12,000	13%	26%	400	3%	1%

2022年9月28日 天然雌と人工生産雄による人工授精													
授精時刻	全長 (mm)		受精水温	搬入時				収容直前 発生卵数	発生卵数 /総卵数	発生卵数 /浮上卵数	ふ化 仔魚数	ふ化率	
	♀	♂		総卵数	沈下卵数	浮上卵数	浮上 卵率					ふ化直前 に対して	浮上卵 に対して
22:25	421	207	23.7	135,600	25,200	110,400	81%	47,200	35%	43%	22400	47%	20%

表 2. ゴナトロピンを用いた個体による人工授精結果

2022年9月16日													
授精時刻	全長 (mm)		受精水温	搬入時				収容直前 発生卵数	発生卵数 /総卵数	発生卵数 /浮上卵数	ふ化 仔魚数	ふ化率	
	♀	♂		総卵数	沈下卵数	浮上卵数	浮上 卵率					ふ化直前 に対して	浮上卵 に対して
17:30	280	231	26.9	68,800	7,600	61,200	89%	29,600	43%	48%	16800	57%	27%

3) 成熟サイズの天然雌個体の採集

天然魚の採集は、5月11日、5月26日、6月7日に計3回行い、5個体（全長 338～424 mm、体長 278～343 mm、体重 600～1,110g）を採集した。3回とも、佐渡海峡の水深 200 m等深線付近で採集された。5個体のうち2個体が採集時には死亡していた。採集時の表層水温は 15.1～18.2℃であった。水温別飼育試験において 18℃での生存が確認されているため、表層水温が死因である可能性は低く、急減圧による衰弱が死因と推測された。

4) 天然メス個体の水槽馴致および飼育

捕獲した成魚 5 個体のうち 3 個体（全長 206～264mm、体長 171～224mm、体重 123～281g）を 13℃で輸送し、水族館の施設内で飼育試験を開始した。最長の生存日数は 72 日間で、飼育期間中の摂餌は見られなかった。死因は採集時の擦れ傷の悪化と急減圧による衰弱と考えられた。どちらも飼育開始時には認められず、飼育日数が増えるにつれて現れた。死亡個体はすべて雌であったが、成熟は確認されなかった（表 4）。

表 4. 成熟サイズの天然雌個体の飼育結果

釣獲 月日	死亡 月日	飼育水温 (℃)	飼育照度 (Lux)	生存 日数	性別	全長 (mm)	体長 (mm)	体重 (g)	生殖腺 重量指数 (死亡日に測定)	死因
5月11日	6月6日	13.2±0.3	0.02	26日	メス	338	278	600	1.4	釣り糸の擦れ傷
5月26日	7月11日	12.9±0.2	0.02	46日	メス	342	286	671	1.6	減圧症状
6月7日	8月18日	12.6±0.3	2	72日	メス	408	356	1,008	1.5	減圧症状

【次年度以降に向けた提言】

本年度は13～18℃で人工生産魚の親魚養成試験を実施したが、いずれの区でも成熟は確認されなかった。人工生産雄から採取した精子を用いた人工授精で受精卵が得られ、ふ化仔魚は稚魚期まで育成できた。人工生産雄の精子に十分な活性があることが確認されたため、船上採卵前に人工精漿で希釈して冷蔵保存した人工生産雄の精子を持参すれば、船上での受精に使用して問題ないと考えられ、受精卵の安定した確保への成果が得られた。ゴナトロピンを投与した成熟個体から、投与18時間後に完熟卵が得られたが、刺し網で捕獲された個体の18時間後生残率が低く、捕獲後の生残率に課題が残った。生残率を向上させる方法が困難なため、ゴナトロピン投与量を変更することで完熟卵の得られるまでの時間を短縮させられるかの検証を試みる必要がある。

生産魚の雄化により試験に用いる人工生産雌の確保が困難なため、成熟条件試験に用いるために天然成熟個体の確保を試みたが、入手後に減圧によると思われる後遺症が出て試験前の衰弱が激しく、長期飼育ができなかった。入手個体から卵巣の発達が認められなかったために産卵条件を解明するに至らなかった。今年度は天然成魚の捕獲方法や時期は把握できたため、減圧方法について検討を進め、次年度再度入手を試みる。