

5) 人工精漿を利用したニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の 性転換雄精巢内精子の冷蔵保存

亀甲武志

【目的】 遺伝的に優れた雄を育種に用いるうえで、精子の冷蔵保存は重要であり、とくに精液が作出できない性転換個体を活用するには不可欠な技術である。そこで、本研究では人工精漿を利用したアマゴ精巢内精子の冷蔵保存方法（桑田 2001）が、ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄精巢内精子にも応用できるか明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】 平成 14 年 11 月 7 に抽出した親魚 No.1~5 および同年 11 月 26 日に抽出した親魚 No.6~15 のニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄精巢内精子を用いた（前章参照）。人工精漿（NaCl 7.31g/l, KCl 2.98g/l, CaCl₂ 0.37g/l, MgCl₂ 0.31g/l, NaHCO₃ 0.21g/l, TAPS 2.43g/l, pH8.2）で 2 倍希釈した抽出精子をさらに、人工精漿で 25 倍希釈し、50 倍希釈の抽出精子とした。No.1~5、No.6~15 から得た抽出精子をまとめて攪拌したものをそれぞれ lot.1 と lot.2 とした。各 lot に抗生物質（ゲンタマイシン）50mg/l を加え、上清を 100ml ずつに小分けしてビニール袋（28 × 48 cm）に入れ、酸素注入し、輪ゴムで口を縛り、冷蔵保存（4℃）した。lot.1 は処理した当日、冷蔵保存 6,18,25 日目に、lot.2 は処理した当日、冷蔵保存 7,14,17,20,31 日目に精子の運動活性および最長運動時間の測定（2 回測定の平均値）を行った。さらに、普通ニジマス、アルビノニジマスから得た卵を用いて、等調液（NaCl 7.5g/l, KCl 0.2g/l, CaCl₂·2H₂O 0.2g/l, NaHCO₃ 0.02g/l）：精液の量 = 20 : 1 で媒精し、発眼率、孵化率、浮上率を測定した（lot.2 の処理当日の交配は行っていない）。

【結果および考察】 精子の運動活性、最長運動時間の冷蔵保存による変化および授精成績をそれぞれ表 1,2 に示す。lot.1 は処理した当日から冷蔵保存 25 日目まで、特に精子の性状の変化は見られなかった。lot.2 は冷蔵保存 20 日目以降に精子の運動率が低下し、運動最長時間が短くなった。lot.1 の授精成績に関しては、処理当日の発眼率は 30.4 %、正常魚獲得率は 15.7 %だが、冷蔵保存 7 日目は 97.7 %の高い正常魚獲得率が得られた。しかし、冷蔵保存 18 日目には発眼率が 7.1 %、正常魚獲得率が 5.2 %と減少した。冷蔵保存 25 日目には、発眼率 62.6 %と比較的高い発眼率を示した。lot.2 の授精成績は冷蔵保存 14 日目と 20 日目ではほとんど正常魚が得られなかった。しかし、冷蔵保存 20 日目と 31 日目では 73.3、85.6 %と高い正常魚獲得率が得られた。

以上の結果から、作出成績の悪かった試験区（lot.1 の冷蔵保存 18 日目、lot.2 の冷蔵保存 14、20 日目）は、冷蔵精子の運動活性が問題なかったこと、並びに冷蔵保存 31 日目で高い正常魚獲得率から判断して、交配に用いた卵の卵質が悪かったため、作出成績が悪かったと考えられる。したがって、アマゴ精子の冷蔵保存方法が、ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄抽出精子保存にも応用できることがわかった。

表1 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄保存精子の性状

冷蔵精子	調査日	運動活性	精子最長運動時間
lot.1	2002/11/7	+++	1分28秒
lot.1	2002/11/13	+++	1分18秒
lot.1	2002/11/25	+++	1分59秒
lot.1	2002/12/3	+++	1分56秒
lot.2	2002/11/26	+++	4分
lot.2	2002/12/3	+++	3分56秒
lot.2	2002/12/10	++	4分12秒
lot.2	2002/12/13	+++	3分14秒
lot.2	2002/12/16	++	2分53秒
lot.2	2002/12/27	++	2分10秒

運動活性: 運動精子の割合が50%以上(+++), 20%~50%(++)

表2 ニジマス第一卵割阻止型雌性発生魚の性転換雄保存精子と普通ニジマス、アルビノニジマスとの交配の作出成績

試験日	保存精子親魚	供試卵数	発眼期		孵化期		浮上期			備考
			生存率(%)	生存魚	孵化率(%)	正常魚	奇形魚	浮上率	正常魚獲得率(%)	
2002/11/7	lot.1 普通ニジマス	470	30.4	95	20.2	74	—	—	15.7	
2002/11/13	lot.1 普通ニジマス	265	92.6	262	98.9	259	—	—	97.7	
2002/11/25	lot.1 アルビノニジマス	325	7.1	21	6.5	17	—	—	5.2	
2002/12/3	lot.1 普通ニジマス	310	62.6	—	—	—	—	—	—	排水口が倒れて全滅
2002/12/3	lot.2 普通ニジマス	276	49.2	—	—	—	—	—	—	排水口が倒れて全滅
2002/12/10	lot.2 普通ニジマス	213	0	—	—	0	0	0	0	
2002/12/13	lot.2 普通ニジマス	465	92.5	—	—	341	5	74.4	73.3	
2002/12/16	lot.2 普通ニジマス	571	0.9	—	—	4	0	0.7	0.7	
2002/12/27	lot.2 普通ニジマス	381	91.7	—	—	326	3	86.4	85.6	
	平均		47.4						39.7	

孵化率、正常魚獲得率は供試卵に対する頻度を示す。