

キンメダイの冷蔵保存精液及び未受精卵のリンガー液保存の実用性

石田孝行^{*1}・吉川康夫^{*2}・倉石 祐^{*3}

新たに開発されたキンメダイの冷蔵精子保存液及び未受精卵のリンガー液冷蔵保存を実際の種苗生産試験に導入し、その実用性を検討した。

2023年6~10月に伊豆半島沖で採捕したキンメダイのうち、計10尾の雄から精液を採取し、8ロット分の冷蔵保存精液を調製した。冷蔵保存中の精液は1ロットあたり18~33日間は運動率50%以上を保持した。種苗生産試験の期間中(7~10月)は、いずれかの冷蔵保存精液が運動率50%以上を保持し、人工授精が可能な状態を維持できた。

2023年の種苗生産試験を同日採捕群の雄だけで人工授精した場合、人工授精の回数は7回、ふ化仔魚が得られた回数は4回であったが、冷蔵保存精液を併用することで人工授精の回数は17回、ふ化仔魚が得られた回数は8回と人工授精の回数及びふ化仔魚が得られた回数がそれぞれ増加した。

船上で釣獲時に雌が放卵した場合、その未受精卵をカレイ用リンガー液で冷蔵保存したところ、最長6時間後に人工授精してもふ化仔魚を得ることができた。

冷蔵保存精液及びリンガー液の活用により、人工授精の機会を逸することなく、ふ化仔魚が得られる機会が広がり、種苗生産試験への実用性を示すことができた。

キーワード：キンメダイ、冷蔵保存精液、リンガー液、人工授精

キンメダイ *Beryx splendens* は、水深約200~800mの海山や海底付近に生息する深海魚で、伊豆半島沖から伊豆諸島周辺海域や御前崎沖などが好漁場となっており、静岡県にとって重要な漁業資源である。特に伊豆地域では、漁業だけでなく観光業も含めて地域経済を支える存在である。

県内の漁獲量は最盛期の1984年以降減少傾向にあり、漁業者からは漁獲量減少等への対策が求められている。その状況の中、伊豆分場では2015年からキンメダイの漁獲量の維持、増大に向けた種苗生産研究に取り組んでいる。

キンメダイの種苗生産に関しては、大西が1965年に初めて人工ふ化に成功^{1, 2)}以降、いくつかの種苗生産の試み^{3, 4)}が行われ、2016年に県研究機関で18日間の飼育を記録する⁵⁾など種苗生産技術開発が続けられ、各段階の技術やノウハウの進展がある⁶⁾。2021年には未受精卵をリンガー液で洗浄することによりふ化率等の向上が確認され⁷⁾、2023年には伊豆分場と筑波大学臨海実験センターの共同研究により、キンメダイの冷蔵精子保存液が開発され、人工卵巣腔液中に冷蔵保存した搾出卵と人工授精し、受精48時間後まで観察している⁸⁾。

2025年2月7日受理

静岡県水産・海洋技術研究所伊豆分場業績第190号

*1 静岡県水産・海洋技術研究所伊豆分場、現経済産業部水産振興課

*2 静岡県水産・海洋技術研究所伊豆分場

*3 静岡県水産・海洋技術研究所深層水科、現経済産業部水産資源課

そこで今回、この冷蔵精子保存液及びリンガー液を実際の種苗生産試験の人工授精に活用し、実用性を検討した。

材料および方法

キンメダイ採捕及び供試状況

人工授精に用いた供試魚は、2023年6月～10月に立て縄により釣獲したキンメダイを用いた。立て縄による釣獲は、南伊豆町手石港又は東伊豆町稻取漁港から出船し、伊豆半島沖で釣獲後、船上で速やかにp-アミノ安息香酸エチル50mg/Lと15mg/Lの二段階の濃度で麻酔処理^{6, 7)}し、水温12～14°Cを維持しながら活魚の状態で伊豆分場に搬入した。搬入後は循環ろ過で水温12°Cに設定した円形パンライト水槽(容量2m³)に収容し、魚の状態を観察しながら、翌日以降に生存又は死亡直後の個体から採精及び採卵を試みた。ただし、衰弱が進み、ひん死状態になった場合は、速やかにとりあげて採精及び採卵に供したほか、採精及び採卵後に生存した個体は、水槽に再収容して飼育を継続し、再度、採精及び採卵を試みた。

船上採卵による未受精卵の確保

船上で釣獲時に雌が放卵した場合は、腹部圧搾で採卵した未受精卵を冷却したカレイ用リンガー液(141mM NaCl, 5.23mM KCl, 4.9mM CaCl₂・2H₂O, 1.13mM MgCl₂, 1.79mM NaH₂PO₄, 11.9mM NaHCO₃, 5.55mM Glucose, pH8.0)⁶⁾を満たした300mL保冷ボトルに収容し、伊豆分場まで持ち帰った。

また、職員が乗船する採捕調査とは別に、立て縄を操業する漁業者に上記の船上採卵作業を依頼し、あらかじめ渡しておいたカレイ用リンガー液入り保冷ボトルに収容してもらった未受精卵を帰港した漁船から受け取った。

精子の冷蔵保存及び運動率

採取した精液は、長谷川ら⁸⁾の方法により調製したキンメダイ冷蔵精子保存液で約50倍に希釈した後、50mLチューブに入れて4°Cに設定した冷蔵庫に保存した。保存期間中は1～2日おきに蓋を開けて軽く振とうし、精子の鞭毛が絡まないよう分散させた。

冷蔵保存中は、概ね10日に1回の目安で精子の動きを顕微鏡(アズワン M-100FL-LED, 倍率100倍)で観察した。スライドグラスに0.5～1.0μLの精液を乗せ、海水約20μLを滴下した際に運動する精子の割合(以下、運動率という)を目視による4段階(8割以上、5割以上8割未満、2割以上5割未満、2割以下)で評価した。

人工授精への活用

伊豆分場に搬入した雌から腹部圧搾により採卵した未受精卵は、直径15cmのステンレスボウルに受け、カレイ用リンガー液で2回程度洗浄した後、100～500μLの冷蔵保存精液で媒精、攪拌し、滅菌海水を注いで授精させた^{6, 7)}。洗浄用のカレイ用リンガー液や受精用の滅菌海水はあらかじめ10～12°Cに保冷して使用した。

船上採卵により確保した未受精卵は、伊豆分場に持ち帰った後、10～12°Cのカレイ用リンガー液で再度洗浄した後、人工授精に供した。

受精後は1.3L又は15L容量のプラスティック水槽に100粒/Lの密度を目安に収容し、約6時間かけ

冷蔵保存精液とリンガ一液の実用

て徐々に室温に慣らしながら 23°C の止水で管理した。

飼育水には、水質悪化防止のためペニシリン G カリウム (6 μg/L) とストレプトマイシン (12 μg/L) を添加した滅菌海水を用い、1~2 日おきに約半量を交換した。

結果及び考察

キンメダイ採捕及び供試状況

キンメダイ採捕調査及び供試状況の結果を表 1-1 に示した。2023 年 6 月から 10 月の間に 12 回出船し、計 120 尾を釣獲した。このうち 90 尾(雄 34 尾、雌 56 尾)を伊豆分場へ活魚搬送し、計 68 尾(雄 28 尾、雌 40 尾)を飼育室内の水槽に収容した。搬入までの生存率は 76% であった。

このうち 8 回の採捕群の雄 10 尾から精液を採取し、8 ロットの冷蔵保存精液を調製した。また、8 回の採捕群の雌 13 尾から採卵し、人工授精に供することができた。

表 1-1 キンメダイ採捕及び供試状況(2023 年度)

回次	採捕日	釣獲	伊豆分場搬入		搬入後生存		供試魚		備考		
			雄	雌	雄	雌	採精	採卵			
1	6月14日	13	7	6	7	6	0	—	0	—	未成熟,採卵採精なし
2	6月27日	38	2	6	2	6	1	7月3日	1	7月3日	
3	7月6日	6	1	5	1	5	1	7月6日	1	7月6日	
4	7月19日	14	7	7	6	5	0	—	0	—	採精微量,採卵なし
5	7月27日	7	2	5	1	5	1	7月28日	3	7月27日	採卵翌日に採精
6	8月2日	3	1	2	1	2	1	8月3日	1	8月3日	
7	8月24日	9	3	6	2	0	1	8月25日	2	8月24日	採卵翌日に採精
8	8月30日	5	0	5	0	3	0	—	1	8月30日	雄不在 雌1尾が当日採卵 他1尾が翌日採卵
									1	8月31日	
9	9月6日	5	2	3	1	2	1	9月6日	2	9月6日	
							—	—	(1)	9月7日	※1
10	9月13日	7	3	4	3	3	2	9月13日	1	9月13日	
							1	9月28日	—	—	※2
11	9月21日	7	4	3	2	0	1	9月21日	0	—	※3
12	10月6日	6	2	4	2	3	0	—	0	—	採精・採卵なし
計		120	34	56	28	40	10		13		
					90	68					

※1 採卵翌日に同じ個体が水槽内で放卵した未受精卵を回収

※2 採捕後に飼育を継続し 15 日後に採精

※3 釣獲直後に船上放卵した雌から採卵、搬入後は死亡

船上採卵による未受精卵の確保

9 月 21 日及び 10 月 6 日に船上で採卵した計 3 尾の未受精卵を人工授精に供することができた。表 1-2 に示すとおり、保冷ボトル内は 4~14°C を維持し、採卵から人工授精までの時間は 4~6 時間であった。

表 1-2 船上採卵による未受精卵の確保

回次	採捕日	船上採卵の経緯	採卵 (尾)	未受精卵の搬送		雌の搬送
				保冷温度	搬送時間	
1	9月21日	採捕調査時に船上放卵雌を確認	1	12~14°C	4時間	活魚搬送、到着時死亡
2	10月6日	出漁する漁業者に船上採卵を依頼	2	4~6°C	6時間	船上で死亡、鮮魚搬送

精子の冷蔵保存及び運動率

調整した冷蔵保存精液 8 ロット分の保存期間中の運動率の推移を表 2 に示した。運動率 50%以上を保持していた日数は 1 ロットあたり 18~33 日間であった。また、月 2~4 回の頻度で新たな冷蔵保存精液が調製できることから、種苗生産試験を実施した 7~10 月にかけては、運動率 50%以上の冷蔵保存精液を常に保持している状態だった。

運動率 50%以上の精液は種苗生産に使用可能な目安とされており⁸⁾、7~10 月の期間中を通して常に確保できていたことは、成熟した雌又は所定の条件の未受精卵が入手できればいつでも人工授精が可能であることを意味している。

表 2 冷蔵保存精液の運動率の確認

No.	採精日	運動率を確認した日								運動率 5割以上 保持日数	
		7月		8月			9月				
		27日	3日	28日	30日	7日	19日	26日	2日		
1	7月3日	○	○							31日	
2	7月28日		○	○		△	△	×	×	33日	
3	8月3日		○	○						27日	
4	8月25日		○	○		○	○	△	×	32日	
5	9月6日			○	○	○	△	△	△	20日	
6	9月13日				◎	◎	◎	○	△	33日	
7	9月21日				◎	◎	◎	◎	△	25日	
8	9月28日				○	○	○	×		18日	

運動率 : 8割以上◎, 5割以上8割未満○, 2割以上5割未満△, 2割以下×

人工授精への活用

採卵及び人工授精の結果を表 3-1 及び 3-2 に示した。6~10 月の種苗生産試験において、伊豆分場搬入後の採卵で 14 回、船上採卵により確保した未受精卵で 3 回の計 17 回の人工授精を行った。このうち伊豆分場搬入後の採卵で 9 回、船上採卵により確保した未受精卵で 2 回の計 11 回に冷蔵保存精液を使用した。内訳は 7 月 27 日と 8 月 24 日は採卵時に雄から採精できなかったため、8 月 30 日は採捕時に雄が不在だったため、冷蔵保存精液を使用した。また、9 月 7 日は採卵後に再収容したの雌が翌日に水槽内で自然放卵し、直後の未受精卵をネットで回収できたため、冷蔵保存精液により速やかに人工授精することができた。さらに 10 月 6 日の採捕群は採卵も採精もできなかった(表 1-1)が、同日に漁業者が船上採卵した 2 尾分の未受精卵を入手できたため(表 1-2)、冷蔵保存精液を使って人工授精することができた。

冷蔵保存精液とリンガ一液の実用

きた。

ふ化仔魚が得られた回次は全体で計 8 回であり、人工授精に同日採捕群の精液を使った回次が 3 回、冷蔵保存精液を使った回次が 4 回、混合使用が 1 回であった。

また、伊豆分場搬入後の採卵では 14 回中 5 回の割合でふ化仔魚が得られた（表 3-1）が、船上採卵により確保した未受精卵では全 3 回ともふ化仔魚が得られた（表 3-2）。

表 3-1 採卵および人工授精の結果（伊豆分場搬入後の採卵）

採卵回次	採卵日	雌魚			人工授精		ふ化仔魚	
		体重(g)	GSI	卵重量	同日雄	冷蔵保存精液	(尾)	生存日数
1	7月3日	538	3.6	少量	○		0	—
2	7月6日	703	7.6	2.8g	○		2	—
3		752	5.2	0.1g		No.1	0	—
4	7月27日	833	4.3	少量		No.1	0	—
5		655	3.9	少量		No.1	0	—
6	8月3日	806	3.5	少量	○ ^{※1}	No.2 ^{※1}	10	2日
7	8月24日	917	9.3	少量		No.2,3混合	0	—
8		674	3.9	少量		No.2,3混合	0	—
9	8月30日	1,858	6.8	6.4g		No.2,3,4混合	未計数	10日
10	8月31日	1,923	7.9	少量		No.2,3,4混合	0	—
11	9月6日	1,387	7.9	3.5g	○		未計数	6日
12				9.1g	○		未計数	4日
13	9月7日	1,467	5.1	不明 ^{※2}		No.5	未計数	7日
14	9月13日	1,942	5.0	少量	○		0	—
計	10日	13尾			6回	9回	5回	

※1 同日採捕の雄精液と冷蔵保存精液を混合で使用

※2 前日採卵した雌が水槽内で自然放卵した未受精卵をネットで回収

表 3-2 採卵および人工授精の結果（船上採卵により確保した未受精卵）

採卵回次	採卵日	雌魚			人工授精		ふ化仔魚	
		体重(g)	GSI	卵重量	同日雄	冷蔵保存精液	(尾)	生存日数
1	9月21日	1,208	3.6	不明	○		未計数	7日
2	10月6日	1,177	2.1	0.9g		No.6,7混合	10	3日
3		1,020	2.2	5.3g		No.6,7混合	未計数	8日
計	2日	3尾			1回	2回	3回	

以上の結果、2023 年の種苗生産試験を同日採捕群の雄だけで人工授精した場合、人工授精の回数は 7 回、ふ化仔魚が得られた回数は 4 回であったが、冷蔵保存精液を併用することで人工授精の回数は 17 回、ふ化仔魚が得られた回数は 8 回と人工授精の回数及びふ化仔魚が得られた回数がそれぞれ増加した。冷蔵保存液を開発した長谷川らの報告⁸⁾は受精能及びふ化仔魚を得るまでを確認したが、今回の試験では冷蔵保存精液を用いた人工授精により 8 回のふ化仔魚飼育に至り、最長で 10 日齢の生存を確認できた。

また、船上採卵した未受精卵の持ち帰り方法として、長谷川らの報告⁸⁾ではアマダイの人工卵巣腔液

を用いたが、今回はキンメダイ未受精卵の洗浄効果⁸⁾が確認されたカレイ用リンガー液と保冷ボトルを用いたところ、最長6時間後に人工授精してもふ化仔魚を得ることができたほか、伊豆分場搬入後に搾出等で採卵した場合の人工授精よりもふ化仔魚が得られた割合が高かった。

以上のことから、採精と採卵のタイミングが合わない時の解決策として、採捕時に雄が不在又は採卵時に雄から採精できなかった場合は冷蔵保存精液の活用により、また、釣獲時等に突然放卵状態の雌から採卵できた場合はカレイ用リンガー液を用いた未受精卵の保存により、人工授精の機会を逸することなく、ふ化仔魚を得ることができ、両技術の種苗生産試験への実用性が示された。

謝辞

試験を実施するにあたり、キンメダイ親魚採捕に協力いただいた伊豆漁協所属の愛丸(佐野譲氏、南伊豆町)及び稻荷丸(内山直久氏、東伊豆町)，操業中に船上採卵した未受精卵を持ち帰って提供いただいた伊豆漁協所属の龍王丸(新井俊文氏、下田市)に感謝する。

文献

- 1) 大西慶一(1966)：キンメダイ人工孵化についての試み. 魚類学雑誌, 14(1/3), 27~35.
- 2) 大西慶一(1968)：キンメダイの初期生活史に関する研究—1 人工ふ化によって得られた卵、仔魚の形態および特性について. 静岡水試研究報告, (1), 17-26.
- 3) 鴨志田正晃・成生正彦：(1995)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7年度日本栽培漁業協会事業年報.
- 4) 渡辺貢(1999)：キンメダイふ化仔魚の飼育試験Ⅲ、高知県海洋深層水研究所報第5号、47-48.
- 5) 野田浩之・吉川康夫・長谷川雅俊・高木康次(2016)：キンメダイ種苗生産技術開発、平成28年度静岡県水産技術研究所事業報告、113-115.
- 6) 鈴木基生(2022)：キンメダイ種苗生産技術開発、2021年度静岡県水産・海洋技術研究所事業報告、89-96.
- 7) 石田孝行(2023)：キンメダイの親魚養成及び人工授精技術の開発、キンメダイの種苗生産技術の開発、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、11-16、45-47
- 8) 長谷川雅俊・稻葉一男・永倉靖大・野田浩之・川合範明(2023)：キンメダイ種苗生産のための冷蔵精子保存液の開発、日本水産学会誌、89(3), 236-243

Practical application of refrigerated semen and Ringer's solution for preserving unfertilized eggs in Splendid Alfonsino

Takayuki Ishida, Yasuo Yoshikawa and Yu Kuraishi

Abstract A new method for preserving refrigerated sperm and a Ringer's solution for preserving unfertilized eggs were tested for their feasibility in seed production trials of Splendid Alfonsino (*Beryx splendens*).

From June to October 2023, semen was collected from 10 males that were caught off the coast of the Izu Peninsula, and eight batches of refrigerated semen were prepared. During the trial period, more than half of the semen samples maintained good motility for 18 to 33 days, enabling consistent artificial insemination.

In the case of using only freshly collected semen, seven artificial inseminations were conducted, and it resulted in four successful hatching. When refrigerated semen was also used, the number of inseminations increased to 17, with eight successful hatchings. Additionally, unfertilized eggs stored in Ringer's solution for flounder remained viable and produced larvae for up to 6 hours after insemination.

These methods enhanced insemination opportunities, increased hatching success, and demonstrated practical applicability for seed production trials.

Key words: Splendid alfonsino, Refrigerated semen, Ringer's solution, Artificial insemination