

「新サーモン」生産体制強化事業

前田 穰、牛崎 圭輔

目 的

大型ニジマス「青い森 紅サーモン」の種卵生産技術の移転や飼育の平準化を図り、消費者のニーズに応えることができるよう生産体制を強化する。

材料と方法

1. 養殖場水温のモニタリング

虹鱒屋及び沼袋養魚場の青い森紅サーモン生産池に自記式温度計（Onset 社製 TidbiTv2）を設置し、生産池は排水の水温をモニタリングした。

2. 精液の冷凍保管方法検討

(1) 試験魚

内水面研究所で保有する海水耐性系ドナルドソンニジマス（満3歳）を採精に用いた。

(2) 試験方法

青い森紅サーモンの生産に用いる海水耐性系ドナルドソンニジマス精液の凍結方法として、ジメチルスルホキシド（以下DMSO）-エタノール凍結法¹⁾及びメタノール-液体窒素凍結法²⁾を検討した。放精が良好な満3歳雄3尾分の精液を混合し、50%以上の精子が運動することを確認し、試験に用いた。

DMSO-エタノール凍結法の検討では、精液6mlに耐凍剤としてDMSO1.5ml、改変モニー液（炭酸水素ナトリウム：100mM、還元型グルタチオン：6.5mM、ショ糖：125mM）12.5mlを加え混合し、ストロー精液管（富士平工業株式会社製 容量0.5ml）に混合液0.5mlを注入、ポリシーラー（富士インパルス株式会社製 PS-310E）で封入してから予備凍結を行った。耐凍剤添加から予備凍結開始までの平衡時間は3分間とした。混合液を封入したストロー精液管を冷却したエタノール（-55℃前後）に投入して、1分間、3分間、5分間予備凍結を行った。予備凍結後は直ちに液体窒素に投入した。

メタノール-液体窒素凍結法の検討では、精液に耐凍剤としてメタノール含希釈液（グルコース：0.18M、9%メタノール）を加え混合し、ストロー精液管に混合液0.5mlを注入、ヒートシーラーで封入してから予備凍結を行った。精液とメタノール含希釈液の混合比は、1：5、1：7、1：9、1：11、1：17とした。耐凍剤添加から予備凍結開始までの平衡時間は15分間とした。液体窒素液面に発泡スチロール製の枠（厚さ3cm）を浮かべ、枠上に混合液を封入したストロー精液管を並べ、液体窒素から発生する窒素蒸気内で5分間予備凍結を行った。予備凍結後は直ちに液体窒素に投入した。

液体窒素投入30分から1時間30分後に解凍し、100倍量程度の1.1%炭酸水素ナトリウム水を加え混合し、1分30秒後に顕微鏡で観察し精子の運動性を確認した。DMSO-エタノール凍結法の検討時には、30℃水に30秒間、凍結後のストロー精液管を投入して解凍したものを氷水中で5秒間冷却してから精子運動性の確認に用いた。メタノール-液体窒素凍結法の検討時には、40℃水に8秒間、凍結後のストロー精液管を投入して解凍したものを顕微鏡で観察し精子の運動性を確認した。

3. 「青い森 紅サーモン」安定生産に向けた支援

青い森 紅サーモンの生産方法について座学及び実習を行った。

結果と考察

1. 養殖場水温のモニタリング

2019年11月1日から2021年3月10日までの虹鱒屋の青い森紅サーモン養殖池の水温を図1に示した。最低水温は0.1℃、最高水温は16.0℃であり、12～3月にかけては、青い森紅サーモンの摂餌が鈍る水温4℃以下となることが多く、注意が必要なが分かった。

2020年10月1日から2021年3月10日までの沼袋養魚場の青い森紅サーモン養殖池の水温を図2に示した。最低水温は7.1℃、最高水温は14.5℃であり、冬期間であっても青い森紅サーモン養殖に適した水温であることが分かった。

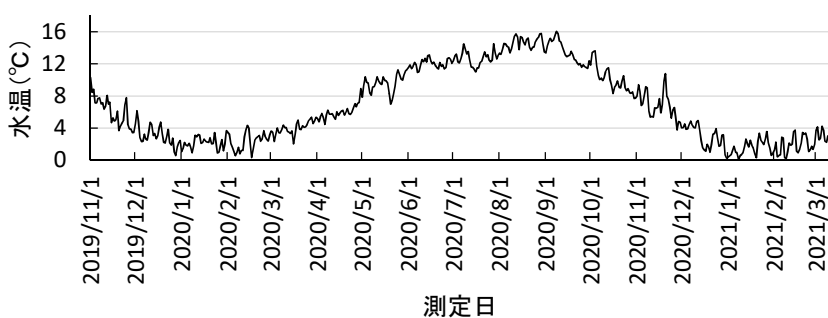


図1 虹鱒屋の水温測定結果

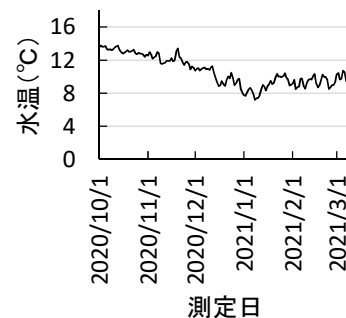


図2 沼袋養魚場水温測定結果

2. 精液の冷凍保管方法検討

DMSO-エタノール凍結法およびメタノール-液体窒素凍結法ではいずれも顕微鏡で目視したところ、凍結前よりも精子の運動性は低下することが確認された。

DMSO-エタノール凍結法は、顕微鏡の観察による精子運動率が10～20%とやや高い結果も出たが（DMSO-エタノール①）、同じ予備凍結時間で処理しても運動精子が無い結果もあり（DMSO-エタノール②、③）、信頼性が低かった（表1）。

メタノール-液体窒素凍結法は、すべての試験区で顕微鏡の観察による精子運動率が「運動精子1個～10%」となり、精液と希釈液の混合比による差は無かった（表2）。

DMSO-エタノール凍結法で凍結し解凍した精子の運動性は安定せず、結果に信頼性がなかった一方、メタノール-液体窒素凍結法で凍結し解凍した精子の運動性は一定の結果となった。そのため、内水面研究所で保有している海水耐性系ドナルドソンニジマスの精子凍結保管方法としてはメタノール-液体窒素凍結法の方が適していると考えられた。

また、メタノール-液体窒素凍結法により凍結した精子の運動率が「運動精子1個～10%」とDMSO-エタノール凍結法での最も判定の良かった試験区よりも低くなったのは、採精時期が2月以降と採精適期よりも遅く、運動性等が衰えた精子を使用したことが影響したと考えられた。

3. 「青い森 紅サーモン」安定生産に向けた支援

7月27日に、「青い森 紅サーモン」生産マニュアルを基に、養殖業者を5名対象とした座学を行った。また、12月25日に、養殖業者2名を対象とした採卵実習を当所で行い、採卵方法、卵消毒方法等について指導した。

表 1. DMSO-エタノール凍結法試験結果

サンプル名	凍結日	予備凍結時間	精子運動性の判定
DMSO-エタノール①	2021/1/26	1分間	A
DMSO-エタノール②	2021/1/27 (午前)	1分間	C
DMSO-エタノール③	2021/1/27 (午後)	1分間	C
DMSO-エタノール④	2021/1/26	2分間	A及びB
DMSO-エタノール⑤	2021/1/27 (午前)	2分間	B
DMSO-エタノール⑥	2021/1/27 (午後)	2分間	C
DMSO-エタノール⑦	2021/1/26	5分間	B
DMSO-エタノール⑧	2021/1/27 (午後)	5分間	C

判定基準

A : 精子運動率10~20% B : 運動精子1個~精子運動率10% C : 運動精子無し

表 2. メタノール-液体窒素凍結法試験結果

サンプル名	凍結日	混合比	精子運動性の判定
メタノール-液体窒素①	2021/2/18	精子1 : 希釈液5	B
メタノール-液体窒素②	2021/2/24	精子1 : 希釈液5	B
メタノール-液体窒素③	2021/3/4	精子1 : 希釈液5	B
メタノール-液体窒素④	2021/3/4	精子1 : 希釈液7	B
メタノール-液体窒素⑤	2021/3/4	精子1 : 希釈液9	B
メタノール-液体窒素⑥	2021/3/4	精子1 : 希釈液11	B
メタノール-液体窒素⑦	2021/3/5	精子1 : 希釈液11	B
メタノール-液体窒素⑧	2021/3/5	精子1 : 希釈液17	B

判定基準

A : 精子運動率10~20% B : 運動精子1個~精子運動率10% C : 運動精子無し

文献

- 1) 福田裕 (1992) 精子保存技術開発試験. 平成2年度青森県内水面水産試験場事業報告書, 36-40.
- 2) Ciereszko, A., Dietrich, G. J., Nynca, J., Dobosz, S., Zalewski, T. (2014) Cryopreservation of rainbow trout semen using a glucose-methanol extender. *Aquaculture*, 420-421, 275-281