原著論文

人工授精作業におけるサケ親魚や精子・卵の放置時間が仔魚の浮上率に与える影響

高橋　悟[*1]・戸叶　恒[*2]・高橋史久[*1]・伴　真俊[*1]

Influence of Handling Time of Broodstock, Sperm and Eggs during Artificial Insemination of Chum Salmon *Oncorhynchus keta* on the Emergence Rate of Fry

Satoru TAKAHASHI, Kou TOKANO, Humihisa TAKAHASHI, and Masatoshi BAN

We examined the influence of handling time and temperature of broodstock, sperm and eggs during artificial insemination of chum salmon, on the emergence rate of fry. We set 0-240 minutes for the handling time, with two different temperature conditions (room temperature and ice cold water). In the case of room temperature, the handling time that resulted in an emergence rate of fry that was less than 90% was 135 minutes for female broodstock, more than 240 minutes for sperm, 39 minutes for eggs, 39 minutes for inseminated eggs, and more than 240 minutes for washed inseminated eggs. When the initial temperature of the internal genitalia of the male broodstock was more than 11℃, the handling time became shorter for the low emergence rate of fry (≦ 90%). In addition, cooling treatments of these processes (except for sperm) could delay the decrease in the emergence rate of fry.

2009 年 10 月 15 日受付，2010 年 1 月 21 日受理

サケマス類は北日本の重要な水産資源である。農林水産省が公表している 2006 ～ 2008 年の漁業・養殖業生産統計によると，北海道における 3 ヶ年のサケマス類の平均水揚げ量（17.3 万トン）は，魚類では 2 番目の水揚げ量となっている。かつては 1.9 万トンにも満たなかったサケマス漁業が 1980 年代に入ると 7.5 万トンに達し，現在では 17.3 万トンにまで上っている背景には，サケマス増殖事業の発展が寄与している[1)]。

この増殖事業は親魚捕獲，蓄養，人工授精，種卵管理，稚魚飼育，放流の工程があり，これらのうち人工授精作業はさらに採卵，媒精，攪拌，洗浄，吸水，収容の工程に分けられる。通常は，親魚を捕獲場や蓄養池から取り上げた後の各工程を速やかに行うことが人工授精作業の原則である。しかし，地域によっては人員不足，捕獲場の施設構造等の問題で，親魚を取り上げてから授精までに時間を費やしたり，魚体外に卵，精子を取り出した状態で輸送し，時間を経てから授精させているふ化場もある。また，卵の洗浄，吸水用の水に塩分を含んでいるなど適切な用水が確保できない場所では，卵に精子を媒精した状態，あるいは取り上げた魚を魚体ごと時間をかけて運搬し授精させるといった実態もある[2)]。

過去のサケ（*Oncorhynchus keta*）の人工授精に関する報告によると，精子は取り上げた親魚の体内に放置された場合，体温 11 ～ 19℃の場合は約 30 分～約 90 分で受

[*1] 独立行政法人水産総合研究センター　さけますセンター　さけます研究部
〒 062-0922　北海道札幌市豊平区中の島 2 条 2 丁目 4-1
Research Division, National Salmon Resources Center, FRA 4-1 Nakanosima, Toyohira, Sapporo, Hokkaido, 062-0922 Japan.
satoruta@fra.affrc.go.jp.
[*2] 現所属：独立行政法人水産総合研究センター　日本海区水産研究所　業務推進部調査普及課

精率が約 90% から著しく低下することが確認されている[3]。また，精子が魚体外に出され空気にさらされた状態では，放置温度 3.5 ～ 33℃で 4 時間～ 11 日までその活性（運動能）を保つことが可能である[4, 5]。卵については，取り上げた親魚の体内で放置した場合，魚体温が 11 ～ 19℃では約 1.5 時間～約 8 時間を過ぎると 90% 台を保っていた受精率が著しく低下する[3]。魚体外に取り出して放置した場合，卵温度が 19℃では 1 日後には受精能力が 0% に低下するが，8℃では 2 日まで 90% 台の受精率を保つことができる[6]。媒精した卵の場合，卵温度 10 ～ 11℃，あるいは冷却し卵温度 4.0 ～ 8.7℃で 23 時間放置した場合も，いずれも受精率は 93 ～ 98% と高かった[7]。また，媒精した卵を卵温度 7.6 ～ 9.1℃で 23 時間放置した場合も受精率は 98 ～ 100% となったが，稚魚の浮上率は 1 時間以上放置した群では浮上率が 93.4% に低下し放置時間のない対照群の浮上率 98.2% と 5% 水準で有意差が認められたため，30 分以内の接水により良好な種苗生産が期待できる[7]。

このように，蓄養池から取り上げた親魚ならびに採取した卵と精子の放置時間が卵や仔稚魚に与える影響は，古くから興味深い問題として注目され研究されてきたが，多くの場合，影響評価の判定を受精率で行っている。しかし，上記の最後の事例[7]のように受精率が高くても稚魚の浮上率が極端に低下する場合があるうえ，実際の増殖事業においても発眼後に死亡する卵も多く認められたり，ふ化後に多くの減耗がおきたり形態異常が発生したりする場合もある。そのため，親魚や卵・精子の放置時間が生残に与える影響の実験結果を今日の増殖事業の現場に生かすためには，受精から浮上までの生残率を総合的に把握する必要がある。また増殖事業者からも，授精作業における各工程の経過時間が浮上までの生残率に与える影響を明らかにすることに対する要望は高い。

そこで，本研究では人工授精作業の各工程における経過時間が浮上までの生残率（浮上率）に与える影響を明らかにした。ならびに，技術が確立されたといわれているサケの増殖事業でも，さけますセンターで実施している増殖実態モニタリング調査によると，北海道内において地域ごとの浮上率は 2005 ～ 2007 年の近年においても 85 ～ 90% と地域差や年変動があり，さらに各ふ化場単位で確認した場合には低いものでは 59% になることもあった。本研究では過去の状況から浮上率の高位水準（90%）を達成するための技術開発を目指した。また，過去の知見から卵や精子の放置温度が低いほど高い受精能力を維持できる時間が長くなる傾向が認められることから，親魚，卵，精子を低温に保つことが浮上率に与える影響も検証した。

材料と方法

試験区の設定と試験結果の評価　本試験は北海道のさけますセンター千歳事業所，十勝事業所，虹別事業所と岩手県の津軽石川さけふ化場，織笠川さけ人工孵化場，新潟県の三面川鮭産漁業協同組合で捕獲もしくは蓄養したサケ親魚，および採取した卵と精子を用いて，2005 ～ 2008 年の 9 月～ 11 月に実施した。

試験区として，捕獲場あるいは蓄養池から取り上げた雌雄の親魚，親魚から採取した精子と卵，卵と精子を混ぜ合わせた卵（媒精卵），および媒精卵を洗浄した洗浄卵の 6 区を設け，各試験区における放置時間が卵と仔魚の生残率に与える影響を調べた。人工授精作業の各工程における放置時間は一般的に長くても 30 分程度と言われている[2]が，本実験では卵と仔魚の生残率に影響する放置時間を把握するために各々 0 分，15 分，30 分，60 分，120 分，240 分の放置時間を設けた。さらに放置される温度の影響を把握するため各試験区に，通常の人工授精作業時を模した「室温区」と，サンプルを冷却する「氷冷区」の温度条件も設けた。なお，室温区と氷冷区のサンプルの温度変化を把握するため，実験に供試する親魚，精子，卵の温度を計測した。それぞれの温度は，親魚の生殖腔内，もしくはプラスチック製ボールに採取した精子や卵に棒状温度計を差し込んで計測した。放置時間と温度が浮上までの生残率に与える影響を評価するために，供試卵がふ化するまでの卵期での減耗数（卵期減耗数）とふ化後から浮上するまでの仔魚期での減耗数（仔魚期減耗数）を計数し，浮上率（(供試卵数 −（卵期減耗数＋仔魚期減耗数)）× 100/ 供試卵数；%）を算出した。そして，北海道における近年（2005 ～ 2007 年）の浮上率の状況から高位水準（90%）を達成するために，放置時間に伴う浮上率の折れ線グラフと浮上率 90% ラインとの交点からその放置時間を求めた。なお，どの時点で室温区と氷冷区の浮上率に差が生じたかを把握するため *t* 検定により統計学的な有意差を確かめた。また，卵期での減耗数から求められたふ化率（(供試卵数 − 卵期減耗数）× 100/ 供試卵数；%）と浮上率を比較した。放置時間と温度が奇形魚の発生に与える影響を把握するために，形態異常率（形態異常魚の数× 100/ 供試卵数；%）を算出した。なお取り上げ後の作業は全て屋内で行うとともに，媒精の際には血液等の不純物が多い精子，および体内死卵や変色した卵，血液等が混入している卵の使用を避けた。媒精後は，十分な攪拌と洗浄，吸水を経て速やかに試験槽へ移した。4 年間に行った実験の試験区と放置条件を表 1 にまとめた。

捕獲場あるいは蓄養池から取り上げた雄親魚の放置時間と放置温度の影響　試験は 2005 年に千歳事業所で，2006 年に津軽石川さけふ化場で，2007 年に千歳事業所，十勝事業所，三面川鮭産漁業協同組合でそれぞれ実施し

表 1. 放置時間と温度が浮上率に与える影響を把握するために行った実験の試験区，放置条件及び実験回数

試験区	雄親魚				雌親魚		精子		卵		媒精卵		洗浄卵
放置条件	河川	湧水	室温	氷冷	室温	氷冷	室温	氷冷	室温	氷冷	室温	氷冷	室温
2005	1	1											
2006			1	1	1	1					1		
2007			3	3	1	1	1	1	1	1			
2008					2	2					2	1	1

た。排精を確認した 6 ～ 10 尾の雄親魚を捕獲場あるいは蓄養池から取り上げた後に個体識別し，室温で放置する試験区（室温区）と砕氷を敷き詰めたプラスチック製の箱に魚体を放置する試験区（氷冷区）を設けた。上記の放置時間毎にそれぞれの雄から精子を約 4 mℓ採取し，その都度取り上げた 6 ～ 10 尾の雌親魚からそれぞれ採取した卵約 200 粒に雄：雌 =1：1 で媒精した。ふ化用水として 8.5 ～ 13.0℃の地下水もしくは湧水を用いた。

なお，2005 年に千歳事業所で行った試験では，水温 20℃の河川水にさらしながら放置した試験区を室温区，水温 8℃の湧水にさらしながら放置した試験区を氷冷区として扱い同様の実験を行った。また，2005 年の千歳では放置 240 分の実験，2006 年の津軽石，2007 年の三面では放置 120 分，240 分の実験を行わなかった。

捕獲場あるいは蓄養池から取り上げた雌親魚の放置時間と放置温度の影響

試験は 2006 年に千歳事業所で，2007 年に織笠川さけ人工孵化場で，2008 年に十勝事業所と三面川鮭産漁業協同組合で実施した。成熟を確認した 6 ～ 10 尾の雌親魚を捕獲場あるいは蓄養池から取り上げた後に個体識別し，室温で放置する試験区（室温区）と砕氷を敷き詰めたプラスチック製の箱に魚体を放置する試験区（氷冷区）を設けた。上記の放置時間毎にそれぞれの雌から約 200 粒の卵を搾り出し，その都度取り上げた 6 ～ 10 尾の雄親魚から採取した精子と雌：雄 =1：1 で媒精させた。ふ化用水として 8.8 ～ 14.0℃の地下水もしくは湧水を用いた。

魚体外に取り出した精子の放置時間と放置温度の影響

試験は 2007 年に虹別事業所で実施した。排精した 8 尾の雄親魚から採取した精子を別々のプラスチック製ボールに入れ，室温と氷上の条件下に放置した。

放置時間経過毎にその都度取り上げた 8 尾の雌親魚から採取した約 200 粒の卵と雄：雌 =1：1 で媒精させた。ふ化用水として 9.4℃の湧水を用いた。魚体外に取り出した卵の放置時間と放置温度の影響

試験は 2007 年に虹別事業所で実施した。成熟を確認した 8 尾の雌親魚から採取した卵約 200 粒を別々のプラスチック製ボールに入れ，室温と氷上の条件下に放置した。放置時間経過毎にその都度取り上げた 8 尾の雄親魚から採取した精子と雌：雄 =1：1 で媒精させた。ふ化用水として 9.4℃の湧水を用いた。媒精した卵の放置時間と放置温度の影響

試験は 2006 年に津軽石川さけふ化場で，2008 年に虹別事業所と織笠川さけ人工孵化場で実施した。成熟を確認した 6 ～ 8 尾の雌親魚と雄親魚から採取した約 200 粒の卵と精子を雌：雄 =1：1 で媒精し，十分に攪拌した後，室温と氷上の条件下に放置した。放置時間経過毎に室温区と氷冷区における媒精卵の温度を測定した。予定した放置時間が経過した媒精卵は，十分に吸水させて，速やかに試験槽へ移した。ふ化用水として 9.4 ～ 13.0℃の地下水もしくは湧水を用いた。

媒精後に洗浄した卵の放置時間と放置温度の影響

試験は 2008 年に虹別事業所で実施した。成熟を確認した 8 尾の雌親魚と雄親魚から採取した約 200 粒の卵と精子を雌：雄 =1：1 で媒精し，十分に攪拌し体腔液と精子を洗浄した後，水を切った状態で室温に放置した。なお，本試験は同年に虹別事業所で行われた媒精卵の放置試験の室温区に対する比較試験として行ったため，氷冷区は設けなかった。予定した放置時間が経過した洗浄卵は，十分に吸水させ，速やかに試験槽へ移した。ふ化用水として 9.4℃の湧水を用いた。

結　　果

雄親魚の放置時間と放置温度が浮上率に与える影響

雄親魚の室温区および氷冷区における放置時間にともなう浮上率の変化を図 1 に示した。室温区も氷冷区も放置 120 分後には浮上率がほぼ 0% にまで低下してしまう場合と，放置 240 分後で 40% 以上の浮上率を示してい

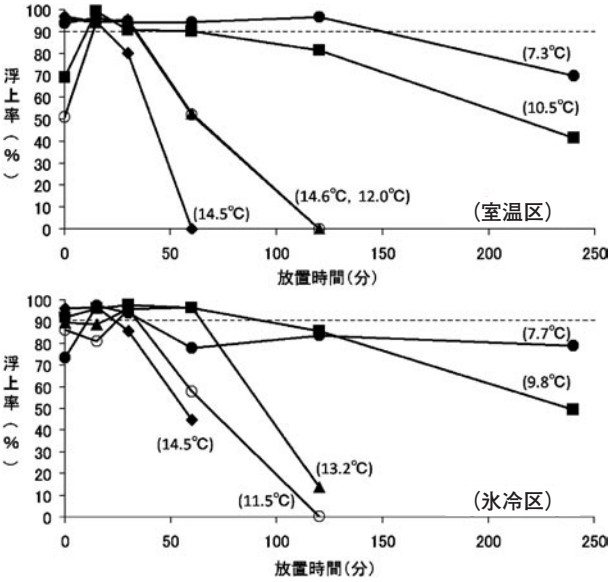

図 1. 雄親魚の室温区・氷冷区による浮上率の経時変化
（括弧内の数値は 0 分時のサンプル温度を示す）
室温区：2005 年千歳（河川水冷），2006 年津軽石，2007 年十勝，2007 年千歳，2007 年三面
氷冷区：2005 年千歳（湧水冷），2006 年津軽石，2007 年十勝，2007 年千歳，2007 年三面

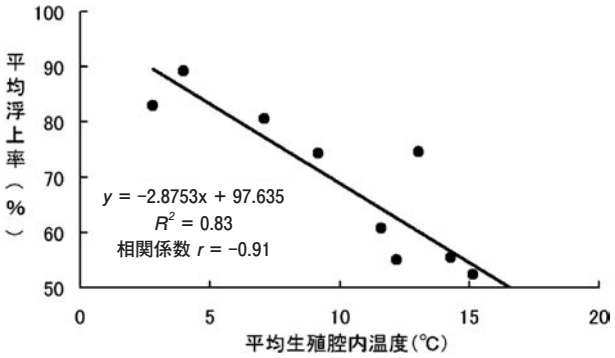

図 2. 雄親魚の体腔内温度と浮上率との関係

る場合に分かれた。この違いを雄親魚の生殖腔内の温度で比較したところ，浮上率が早期に低下した個体は室温区と氷冷区ともに放置 0 分の温度が 11℃を越えている傾向を示した。また，放置時間毎の各ふ化場で用いた魚の平均生殖腔内温度と平均浮上率の間には，強い負の相関が認められた（$r = -0.91$）（図 2）。そのため，放置 0 分時の生殖腔内温度が 11℃以上だった個体を高温群，11℃未満だった個体を低温群に分類し平均浮上率の経時変化を求めた結果，高温群は放置 30 分以降に平均浮上率が著しく低下し，放置 60 分後には平均浮上率が 50.6% になった（図 3）。低温群は高温群ほど急激な浮上率の低下は示さなかったものの，放置 60 分後には平均浮上率が 90% 以下となり，放置 240 分には平均浮上率が 60.0% になった。平均浮上率 90% 以上を維持できる放置時間は，高温群では 31 分，低温群では約 2 倍の 58 分であった（表 2）。放置時間 30 分では高温区と低温区の浮上率に統計学的な有意差は認められなかったが，放置時間 60 分にかけて有意差が認められた（$p<0.05$）。

放置時間にともなう雄親魚の生殖腔内の平均温度は，高温群が 13.4℃から 12.9℃，低温群は 8.8℃から 6.0℃に低下した。実験中の室温は高温群が 17.5℃から 18.1℃，低温群が 9.0℃から 10.4℃の範囲であった。

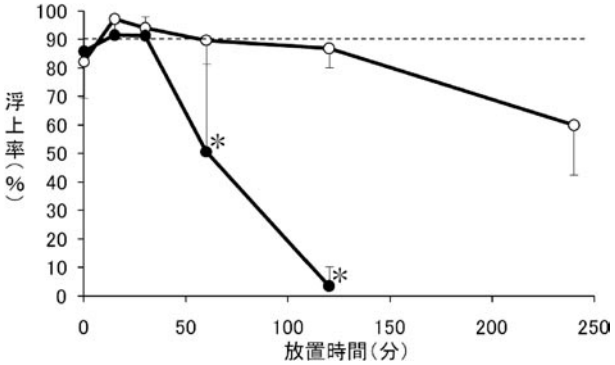

図 3. 雄親魚の放置時間による浮上率変化
（高温区　●，低温区　○）
縦棒線は標準偏差を示す
各放置時間の高温区と低温区において有意差が認められた箇所に＊の記号を付した（$p<0.05$）

表 2. 浮上率が 90% 以上を示した雄親魚の放置時間と，生殖腔内の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率90%以上の時間	生殖腔内温度 開始	生殖腔内温度 終了	室温
雄親魚	高温	31分	13.4℃	12.9℃	17.5～18.1℃
	低温	58分	8.8℃	6.0℃	9.0～10.4℃

雌親魚の放置時間と放置温度が浮上率に与える影響

雌親魚の室温区および氷冷区における放置時間にともなう浮上率の変化を図 4 に示した。浮上率は実験を行った各ふ化場の平均値で表した。その結果，室温区は放置 60 分で一度平均浮上率が 87.7% を示したものの，放置 120 分では 91.0% を示し，その後放置 240 分には 83.1% にまで低下した。氷冷区は放置 120 分まで平均浮上率が 95% 前後で推移し，放置 240 分では若干低下し 91.7% であった。平均浮上率 90% 以上を維持できる放置時間は，室温区では 135 分までだったのに対し，氷冷区では 240 分後で平均浮上率が 91.7% であった（表 3）。ただし，放置時間に伴う室温区と氷冷区の浮上率には統計学的な有意差は認められなかった。なお，雄で認められたような放置 0 分の生殖腔内温度と浮上率の関係は認められなかった。

放置時間にともなう各ふ化場で用いた雌親魚の生殖腔内の平均温度は，室温区が 11.9℃から 13.6℃，氷冷区が 11.7℃から 4.0℃に推移した。実験中の室温は室温区が 14.4℃から 18.0℃，氷冷区が 15.1℃から 17.3℃の範囲であった。

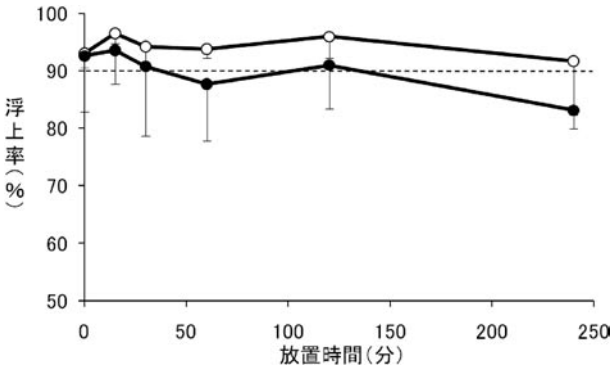

図 4. 雌親魚の放置時間による浮上率変化
（室温区　●，氷冷区　○）
縦棒線は標準偏差を示す

表 3. 浮上率が 90% 以上を示した雌親魚の放置時間と，生殖腔内の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率90%以上の時間	生殖腔内温度 開始	生殖腔内温度 終了	室温
雌親魚	室温	135分	11.9℃	13.6℃	14.4～18.0℃
	氷冷	240分以上	11.7℃	4.0℃	15.1～17.3℃

魚体外に取り出した精子の放置時間と放置温度が浮上率に与える影響　魚体外に取り出した精子の放置時間にともなう平均浮上率を図 5 に示した。室温区も氷冷区もほぼ同じ動向を示し，放置時間が 240 分後でも室温区は 99.3% の浮上率，氷冷区は 98.3% の浮上率を維持した（表 4）。放置時間 30 分に室温区と氷冷区との浮上率に有意な差が認められたものの（$p<0.05$），それ以外では有意差は認められなかった。

放置時間にともなう精子の温度は，室温区が 10.7℃から 11.1℃，氷冷区が 9.0℃から 5.6℃に推移した。実験中の室温は室温区が 11.1℃から 14.2℃，氷冷区が 9.8℃から 14.5℃の範囲であった。

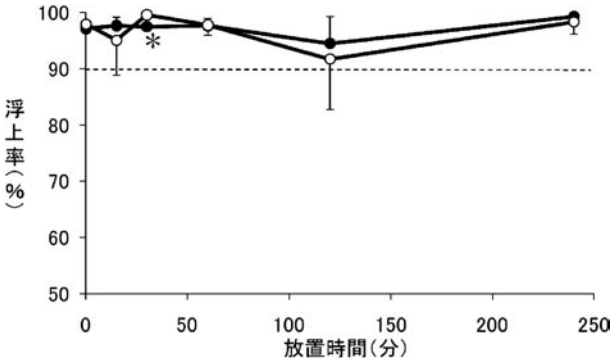

図 5. 精子の放置時間による浮上率変化（室温区●，氷冷区○）
縦棒線は標準偏差を示す
各放置時間の室温区と氷冷区において有意差が認められた箇所に＊の記号を付した（$p<0.05$）

表 4. 浮上率が 90% 以上を示した精子の放置時間と，精子の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率90%以上の時間	精子温度 開始	精子温度 終了	室温
精子	室温	240分以上	10.7℃	11.1℃	11.1～14.2℃
	氷冷	240分以上	9.0℃	5.6℃	9.8～14.5℃

魚体外に取り出した卵の放置時間と放置温度が浮上率に与える影響　魚体外に出された卵の放置時間にともなう浮上率を図 6 に示した。室温区では 60 分後に浮上率が 84.3% となり，120 分後には 38.5% まで低下した。氷冷区では浮上率の低下は室温区より緩やかであったが，120 分の放置で浮上率 90% を下回り 89.7% となった。浮上率を 90% 以上に維持できる放置時間は，室温区が 39 分，氷冷区が約 3 倍の 112 分であった（表 5）。放置時間 30 分から室温区と氷冷区との浮上率に有意な差が認められた（$p<0.05$）。

放置時間にともなう卵の温度は，室温区が 10.2℃から 10.1℃，氷冷区が 10.2℃から 1.5℃に推移した。実験中の室温は室温区と氷冷区とも 14.2℃から 14.7℃の範囲であった。

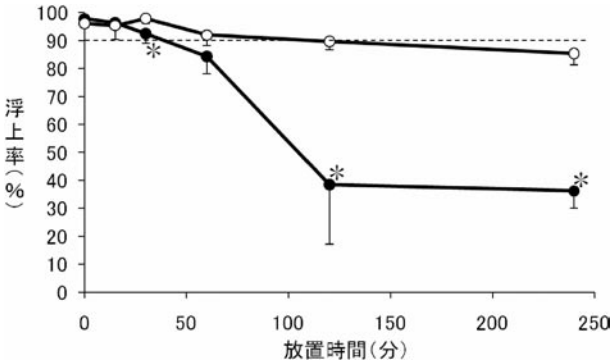

図 6. 卵の放置時間による浮上率変化（室温区●，氷冷区○）
縦棒線は標準偏差を示す
各放置時間の室温区と氷冷区において有意差が認められた箇所に＊の記号を付した（$p<0.05$）

表 5. 浮上率が 90% 以上を示した卵の放置時間と，卵の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率90%以上の時間	卵温度 開始	卵温度 終了	室温
卵	室温	39分	10.2℃	10.1℃	14.2～14.7℃
	氷冷	112分	10.2℃	1.5℃	14.2～14.7℃

媒精した卵の放置時間と放置温度が浮上率に与える影響

媒精した卵の放置時間にともなう平均浮上率は，室温区が 30 分後に 93.1%，120 分後には 83.1% まで低下した（図 7）。氷冷区の浮上率は，240 分後まで 90% 以上の安定した値を維持した。平均浮上率が 90% 以上を示した放置時間は，室温区が 39 分であったのに対し，氷冷区では 240 分後も浮上率が 90% 以上であった（表 6）。ただし，放置時間に伴う室温区と氷冷区の浮上率には統計学的な有意差は認められなかった。

放置時間にともなう媒精卵の平均温度は，室温区では 10.5℃から 10.9℃，氷冷区では 6.0℃から 9.0℃で推移した。実験中の室温は室温区が 10.5℃から 11.8℃の範囲であり，氷冷区は欠測のため不明であった。

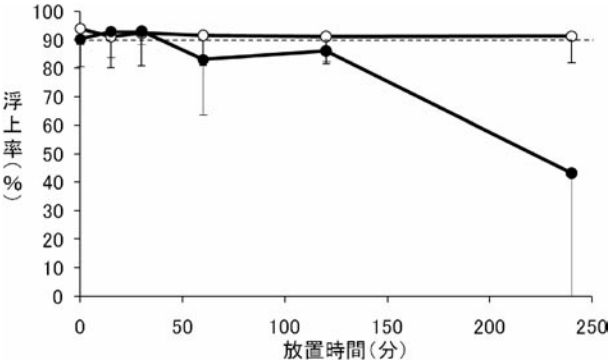

図 7. 媒精卵の放置時間による浮上率変化（室温区●，氷冷区○）
縦棒線は標準偏差を示す

表 6. 浮上率が 90% 以上を示した媒精卵の放置時間と，媒精卵の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率 90% 以上の時間	媒精卵温度 開始	終了	室温
媒精卵	室温	39 分	10.5℃	10.9℃	10.5 ～ 11.8℃
	氷冷	240 分以上	6.0℃	9.0℃	欠測

媒精卵を洗浄した状態での放置時間と放置温度が浮上率に与える影響　洗浄した卵の放置時間にともなう浮上率は，放置 0 分から実験終了の 240 分まで 90% 以上を維持した（表 7，図 8）。

放置時間にともなう洗浄卵の温度は 8.6℃から 7.9℃で推移した。実験中の室温は 5.0℃から 7.5℃の範囲であった。

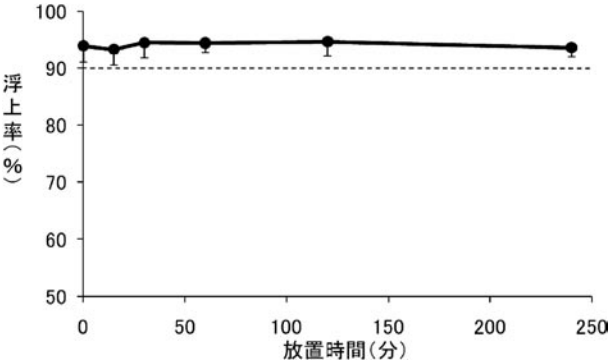

図 8. 洗浄卵の放置時間による浮上率変化（室温区●）
縦棒線は標準偏差を示す

表 7. 浮上率が 90% 以上を示した洗浄卵の放置時間と，洗浄卵の温度の変化と実験時の室温

試験区	放置条件	浮上率 90% 以上の時間	媒精卵温度 開始	終了	室温
洗浄卵	室温	240 分以上	8.6℃	7.9℃	5.0 ～ 7.5℃

放置時間と放置温度が死亡の起きる発育段階と形態異常魚の発生率に与える影響

放置時間にともなうふ化率と浮上率の変化を図 9 に示した。ふ化率と浮上率は全実験区の平均値で表した。放置時間の長短に関わらず，浮上までに生じる減耗のうち，卵期での減耗が 82.1 ～ 93.4% を占めていた。しかし，放置時間が長くなりふ化率が減少するにつれて，ふ化後の減耗が増加する傾向が認められた。例えば雄親魚を氷冷して 120 ～ 240 分間放置した区では，ふ化後に著しく減耗が起きたためふ化率と浮上率の差が 9.9 ～ 19.1% に達した（図 10）。

放置時間，放置の温度，浮上率と形態異常魚の発生率との関係を調べた結果，魚体外に取り出した精子の氷冷区，媒精卵の室温区，洗浄卵の室温区において相関が認

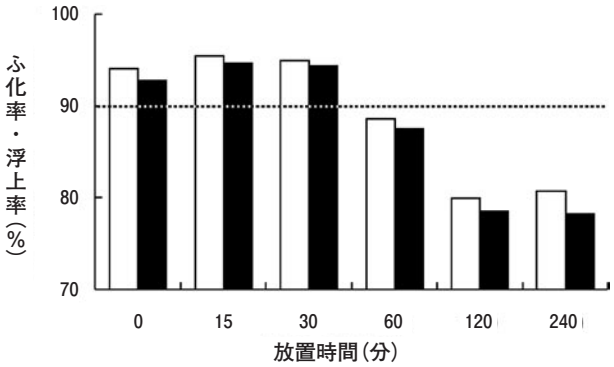

図 9. 放置時間経過にともなう全実験区の平均ふ化率と平均浮上率（ふ化率□，浮上率■）

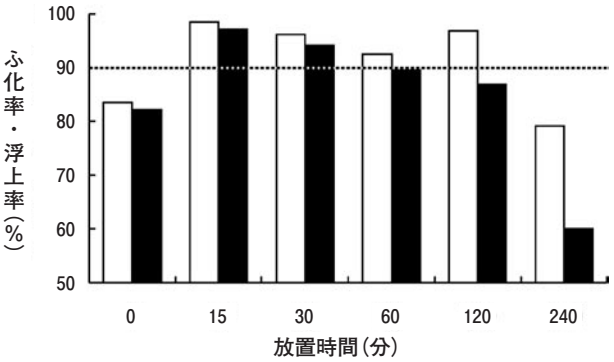

図 10. 雄親魚低温区のふ化率と浮上率（ふ化率□，浮上率■）

められた。魚体外に取り出した精子の氷冷区では放置時間と形態異常率に正の相関（n=6，r=0.66），浮上率と形態異常率に負の相関（n=6，r= −0.60）があり，形態異常魚の発生率は 0.0 ～ 0.7% の範囲であった。媒精卵の室温区では放置時間と形態異常率に正の相関（n=6，r=0.55），卵温度と形態異常率に正の相関（n=6，r=0.64），浮上率と形態異常率に負の相関（n=6，r= −0.43）があり，形態異常魚の発生率は 0.3 ～ 1.0% の範囲であった。洗浄卵の室温区では放置時間と形態異常率に正の相関（n=6，r=0.45），卵温度と形態異常率に正の相関（n=6，r=0.76），浮上率と形態異常率に負の相関（n=6，r= −0.76）があり，形態異常魚の発生率は 0.2 ～ 1.9% の範囲であった。

考　　察

サケを用い，授精作業の各工程における放置時間が浮上率に与える影響を調べた。その結果，精子を魚体内で放置した場合，卵を魚体外で室温下にて放置した場合，媒精した卵を室温下にて放置した場合に，それぞれ放置 60 分以内に浮上率が 90% を下回ることが分かった。この結果は，過去に行われた同様の放置実験[3-6]に比べて，概ね短い時間であったが，これまでの実験では結果の評価を受精率で行っているのに対し，今回は浮上率で行っ

たことが一因と考えられる。それについては，熊野らによって求められた媒精卵の放置時間による受精率と浮上率の結果で，受精率が高い場合でも放置時間の影響で発生がうまく進まず死亡が生じ，浮上率が極端に低下する場合があることということからも予想される[7]。

精子を魚体内に放置した実験では，放置0分時の生殖腔内温度がその後の減耗に強く影響することが分かった。すなわち，放置0分時の生殖腔内温度が11℃以上の場合は31分以上の放置で浮上率が90%以下に低下し，60分にかけて低温区と比べ浮上率が有意に低下するのに対し，11℃未満の場合は約2倍の58分以上で浮上率は90%以下に低下した。また，今回の実験では放置0分時の生殖腔内温度が11℃以上の個体を氷冷してもその効果は明瞭に現れなかった。それは，魚体の表面を冷しても生殖腔内，つまりは精子が冷えるまでに時間がかかるためであると考えられる。この結果は蓄養水温が高く魚体温あるいは生殖腔内の温度が高くなるふ化場では雄親魚を放置せず，速やかに精子を授精に使用する必要があることを示唆している。魚体内に放置された精子を用いた場合，他の全ての放置状態より浮上率が90%以上を維持できる時間が短かった。精子の酸素消費量は卵の約20倍であると言われていること[2]から，陸上に放置された親魚では酸素消費量の多い精子に十分な酸素を供給できず，精子の質が劣化したと予想される。しかし，精子を魚体外に出した状態であれば，室温区でも氷冷区でも240分間の放置を経ても浮上率を90%以上に保つことができ，放置時間30分を除いては両区に有意な差も認められなかった。これは，プラスチック製ボールに精子を薄く放置したため空気中から酸素を補給できたためかもしれない。いずれにせよ，速やかに授精作業を行えない環境では精子を魚体外に取り出して放置する方が効果的であるといえる。なお，精子を魚体外に出した氷冷区においては，放置時間と形態異常魚の発生率にやや強い相関が認められたことから，本実験の条件であれば精子を氷冷する必要はないと判断できた。

卵を魚体内に放置した場合，室温区と氷冷区に統計学的な有意差は認められず，浮上率が90%以下となる放置時間は室温区で135分であったが，氷冷区では240分後でも90%以上の浮上率を保っていた。しかし，卵を魚体外に出した場合は放置時間30分時点から室温区と氷冷区との浮上率に有意差が認められ，浮上率が90%以下となる放置時間は魚体内に放置した場合よりも室温区では1/3程度の39分，氷冷区では半分以下の112分にまで短くなり，いずれの場合も精子とは逆の結果となった。これは，卵にとって体腔液で守られている体内環境の方が，外気にさらされ乾燥が起き易い体外環境より好適であったことが考えられる。この結果は，卵を体内に放置せざるを得ない状況では，体温を低く保つことが良質な卵の確保にとって重要であることを示している。

また，ふ化場のなかには立地条件や洗浄吸水のための適切な用水が十分に確保できない等の要因により，卵に精子を媒精した状態，あるいは媒精した卵を洗浄した状態で輸送せざるを得ない所がある[2]。本実験で示された媒精卵の放置による結果は，熊野ら[7]により示された媒精から洗浄まで30分以内に完了する授精方法が卵温度が4.0～11.0℃の範囲であれば種苗生産の障害にならないという結果と同様となった。そして，媒精卵を室温で放置した場合，媒精卵を洗浄した後に室温で放置した場合よりも浮上率の低下が著しく早く39分程度であった。しかし，媒精卵を氷冷することにより洗浄卵と同じく放置時間240分でも浮上率が90%以上に保たせることができた。これらの結果から，卵の輸送が必要なふ化場では，媒精卵を洗浄後に輸送するのが効果的であるといえる。しかし，媒精卵を洗浄するだけの用水すら確保できないような所では，媒精卵を冷却して輸送することでもその後の減耗を少なくできることが分かった。なお，室温下に置かれた媒精卵や洗浄卵は卵温度の上昇にともない形態異常魚の発生率が上昇する傾向があったため，そのような観点からも卵温度を低く保つことがより望ましいと考えられた。

放置時間が減耗の起きる発育段階に与える影響を調べたところ，浮上までの減耗のうち卵期での減耗が大半を占めることが把握された。それに加えて，放置時間が長くなるにつれて，仔魚期での減耗が増加する傾向があることも認められた。この結果は，放置の影響が仔魚にまでおよぶ可能性を示している。増殖現場で起きている仔魚期の慢性的な減耗要因は不明であるが，今回の結果を応用し作業の効率化を図るとともに授精時の放置時間を短くすることで，減耗を軽減することに寄与できるかもしれない。また，以上の結果は授精の効果を正確に評価するために従来から用いられてきた受精率やふ化率だけでなく，浮上率も併せて調べることが望ましいことを示唆している。

今回の実験では様々な放置条件下で放置時間が浮上率に与える影響を明らかにしてきたが，いずれの場合も経過時間にともなって浮上率が低下していくのは明らかであった。より健全な種苗を育成するためには速やかに作業を終えることが重要である。そこで，今回の実験結果に基づいて以下の対処法が提示できる。

1）雄親魚は31分以内には使用する。それが出来ない場合には，精子を取り出しておき240分以内には授精させるか，受精後の洗浄卵で240分以内に吸水させる。
2）雌親魚は135分以内には使用する。それが出来ない場合には，雌親魚の魚体を氷冷し240分以内に採卵し授精させるか，受精後の洗浄卵で240分以内に吸水させる。
3）精子は240分以内には授精させる。
4）卵（未受精）は39分以内には授精させる。それが出来ない場合には，卵を氷冷し112分以内には授精させるか，受精後の洗浄卵で240分以内に吸水させる。

5）媒精卵は 39 分以内には使用する。それが出来ない場合には，媒精卵を氷冷し 240 分以内に洗浄するか，受精後の洗浄卵で 240 分以内に吸水させる。
6）洗浄卵は 240 分以内には吸水させる。

本実験で用いた冷却方法は砕氷の上に魚体を置いたり，卵や精子を入れたプラスチック製ボールを砕氷の上に置く方法であったため，さらに効果的に冷却し得る方法を検討してみる価値がある。特に雄親魚の生殖腔内の温度を効果的に下げる方法が得られれば，河川水温や蓄用水温が高く生殖腔内の温度が 11℃以上の状態で放置せざるを得ないふ化場にとって有効な方法となると考えられる。また，地域によっては媒精卵で放置するのに加えて車で輸送する場合もあるため，輸送時の振動の影響を加味した放置実験も行うことが今後の課題として残された。

謝　辞

独立行政法人水産総合研究センターさけますセンター千歳事業所，十勝事業所，虹別事業所，東北水研調査普及課，日水研調査普及課，津軽石川さけふ化場，織笠川さけ人工孵化場，三面川鮭産漁業協同組合の職員の皆様にはデータの収集に多大なるご尽力をいただきました。ここに記して感謝の意を表します。

文　献

1） 木村義一（1989）北海道におけるさけ・ますふ化事業の方向．北海道さけ・ますふ化場研究報告，158，1-4.
2） 宮本幸太・平澤勝秋・宮内康行・戸叶　恒（2009）サケ人工増殖における親魚捕獲，蓄養および受精作業の現状と問題点．水産技術，**1（2）**，29-38.
3） 岡田　雋・石川嘉郎・木村義一（1956）鮭人工孵化に於ける不受精現象の研究（第 2 報）精子及び卵子の生存能力について．孵化場試験報告，**11**，7-17.
4） 岡田　雋・伊藤哲司（1955）鮭人工孵化に於ける不受精現象の研究　第一報　精子の活力と受精力について．孵化場試験報告，**10（1/2）**，21-31.
5） 広井　修・安川雅夫・末武敏夫（1973）サケ・マス類の卵および精子の保存に関する研究－ 2．サケ（*Oncorhynchus keta*）精子の保存について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**27**，39-44.
6） 高野和則・広井　修・安川雅夫・末武敏夫（1973）サケ・マス類の卵および精子の保存に関する研究－ 1．サケ（*Oncorhynchus keta*）未受精卵の保存について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，**27**，31-37.
7） 熊野芳明・三枝美穂・及川浩人・及川慶一．（2009）サケ媒精卵の断水時間と初期胚発生．宮城県水産研究報告，**9**，1-8