

鮭孵化行程上に於ける低温(0°C以下)の 影響に就ての考察

山 本 喜 一 郎

- I. 結 言
- II. 卵の水点降下度
- III. 卵の冷却速度と凍結状況
- IV. 卵の低温に對する抵抗力
 - A. 流動パラフィン中に於ける低温處理試験
 - B. 空中に於ける低温處理試験
- V. 低温處理の受精力に及ぼす影響
- VI. 親魚體温と外温との關係
 - A. 棲息水温と體温との關係
 - B. 屍體の温度下降速度
- VII. 外氣温と輸送器温度との關係
- VIII. 綜 合 考 察
- IX. 摘 要
- X. 文 獻

I. 結 言

鮭 (*Oncorhynchus keta* walb.) の人工孵化は北海道及東北地方の寒冷の地で行はれ、普通10月初めより1月下旬の間の嚴冬時に於ける作業が主であり、其の間著しい低温に遭遇する機会が多く、之が孵化上に及ぼす影響も亦十分考慮せねばならない。北海道廳水産課より出版されて居る「人工孵化事業要綱」に低温の影響に就て注意を喚起して居る項は、

第三節 採卵 五項。採卵作業中は勿論採卵後と雖も卵子には直射光線、氷結を來す寒氣に觸れしめざることを要す。

第四節 卵子運搬 四項。卵子運搬の際は烈しき動搖を避くべし、殊に卵粒個々の動搖は嚴重に防ぎ、且卵子に光線の直射すること、寒氣の透達することを防がざる可からず。

の2項が擧げられてあるが此の外に、採卵の際親魚を活洲より取出し採卵作業を開始する迄の間に於ける低温の影響、が考慮せられねばならないと思ふ。尙孵化用水の異状に低い場合の影響も考へられるが今回は主として以上3項目の0°C以下の著しい低温の影響に就て室内實驗と野外實驗を併用し考察を試みた。

報告に先だち、本研究に際し種々助言を賜つた場長野田信俊技師並に北大教授犬飼哲夫先生に對し感謝の意を表す。尙室内實驗は北大低温科學研究所青木廉先生の御好意に依り、同研

究所の一室を使用し、先生の御懇篤なる御指導を仰ぐ事が出来た、亦野外試験に際しては千歳事業場の各位並に佐野誠三技官の御好意に依る所が多い、記して深謝する次第である。

II. 卵の氷點降下

卵に対する低温の影響を知る爲に第一に考察して置かねばならないのは卵の結氷點である。鮭卵の氷點降下に就ては高田('32)の發生各時期の卵に就て測定した報告があるが、水に接しない未受精卵に就ては未だ何等の報告も見ない。筆者は未受精卵及受精吸水卵の兩者に就て其の氷點降下(△)を測定した。

材料 千歳町西越採卵場に於て捕獲せる鮭親魚より腹部切解により採卵し、之を魔法瓶に入れて實驗室に持参し、乾燥せぬ様に蓋附のコップに入れ 10°C の水道水中に保存し、採卵の日より3日目迄のものを實驗に使用した。此の操作によると3日目迄の卵は略々 Nonnal の状態に在る事は青木('39)によつて報ぜられて居り、筆者も亦受精試験により此の事實を確め得た。

方法 卵膠液の調整は高田の其れに略々準じたが麻布で濾過する操作は行はず、油球は濾紙で出來得るだけ完全に拭ひ取つた。此の膠液15~20ccを取り Beckman 氏の氷點降下測定装置により測定した。

結果 水に接しない未受精卵及受精吸水卵に就て各3回測定した。其の結果を表示すると第一表の如くである。

第一表 未受精卵及受精吸水卵の氷點降下(△)

供試卵	試験月日	26. I. 1946	1. II. 1946	1. II. 1946	平均
水に接しない未受精卵		-0.63°C	-0.61°C	-0.61°C	-0.62°C
供試卵	試験月日	27. I. 1946	29. I. 1946	4. II. 1946	平均
受精後2日目の卵		-0.47°C	-0.48°C	-0.46°C	-0.47°C

受精吸水卵は高田が本種の受精後24時間の卵より得た△-0.432°Cより幾分低い。本試験には受精後2日目のものを用ひたが鮭の卵では受精注水後約1時間で吸水が飽和に達し、其れ以後約1週間の間では其の△に殆ど變化の見られないことは高田の測定結果よりしても察知せられる。亦 Svetlov('29)は同様の結果を *Salmo fario* に於て得て居る。従つて本試験の結果と高田の結果との相違は受精吸水後の時間的差異に依るものでない事は明かである。高田は其の試験材料採集の時期を報じて居らない故、比較出來ず確言し得ないが本試験に於ても材料の相違により 0.02°C の△の差違が見られて居り、筆者と高田の結果との差異 0.03°C は材料の時間的差異、亦は個體的差異に基づく相違と考へるのが妥當と思はれる。次に未受精卵の△は平均 -0.62°C で受精吸水卵に比し 0.15°C 低い。受精吸水卵の△は水に接しない未受精卵の△より低い事は既に他の研究者により明かにされて居り、之は主として吸水に依る圍卵液の増加によるとされて居る (Runnstrom, '20; Svetlov, '29; Bouguchi, '30)。次に鮭科の魚の受精吸水卵と水に接しない未受精卵の△に就ての既往の報告を挙げると第二表の如くである。

第二表 水に接しない未受精卵と受精吸水卵の△

研究者	種類	水に接しない未受精卵の△	受精吸水卵の△	兩者の△の差
Runnstom	<i>Salmo salvelinus</i>	-0.645°C	-0.599°C	0.046°C
Svetlov	<i>S. fario</i>	-0.497°C	-0.468°C	0.028°C
Logucki	<i>S. fontinalis</i>	-0.644°C	-0.437°C	0.207°C
	<i>O. keta</i>	-0.62°C	-0.47°C	0.15°C

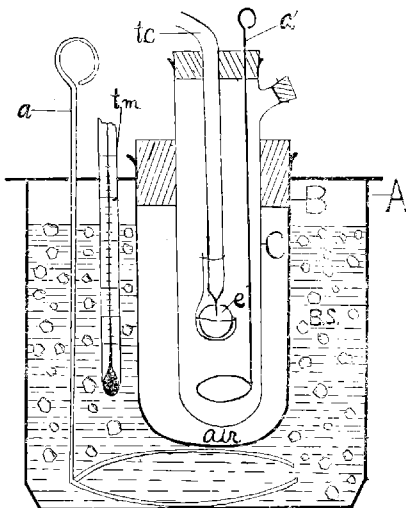
表より明かな如く同じ鮭科の種類に於ても兩卵の△の差は相當種類により相違がある。之に就て Bogucki は此等種類による相違は主として其の卵の吸水量の差異によるものであるし、*S. salvelinus* では受精吸水卵は水を吸はない未受精卵に比し10.8%の重量増加があり、其れに依り約6%の△の變化が見られるが、*S. fontinalis* では吸水に依り始めの卵の20%の増加が見られ、△に於ては30~40%の變化が見られると報じて居る。鮭卵に於ても吸水に依り重量増加のある事は既に青木(39)に依り報告されて居り、其の増加は始めの卵の13~18%とされて居る。今兩卵の△の差を見ると 0.15°C であり其の變化は約20%となつて居り、吸水及氷點降下の點のみより見れば *O. keta* の卵は *S. salvelinus* と *S. fontinalis* の中間に位して居る事が知られる。

III. 卵の冷却速度と凍結狀況

次に外圍の温度と卵温度の低下速度とは如何なる關係にあるか、亦上記の如き氷點降下を有する鮭卵は實際上何度で凍結するかを調べた。此の目的の爲 -4.3°、-5.1°、-5.3°、-10.3°C の各温度に於ける凍結曲線を書き之等の關係を考察した。

材料 材料は前項と同一場所より、上記と同様な操作により採卵し保存した未受精卵を用ひ

第一圖



a. a' 攪拌器、B. S 寒劑、e. 卵
t. c. 熱電帶、t. m. 寒暖計

た。

方法 装置は恒温器、熱電對、スイッチ、檢流計(ダルソンプール型 $\times 10^{-10}$ A理研製)から成る。恒温器は第一圖の如く一定温度の寒劑を(B. S)入れた容器に攪拌器(a)と寒暖計(t. m)を挿入し、更に之を大型の試験管(B)に收容した。此の大型試験管中に攪拌器(a')と卵(e)を收容した小試験管(c)を挿入し、此の兩試験管の間は空氣の層とする。熱電對は銅線とConstantan線より成り各接觸部並に中途に於ける漏電を完全に防ぐ様に十分注意を拂つた。實驗に用ひた熱電對では温度差1°Cに對して目盛板の讀みが平均35mmの偏りを示した。(※卵温度の測定に際し熱電對の一端を卵に突刺したが此の際、卵其れ自體では此の端に止り得ないの

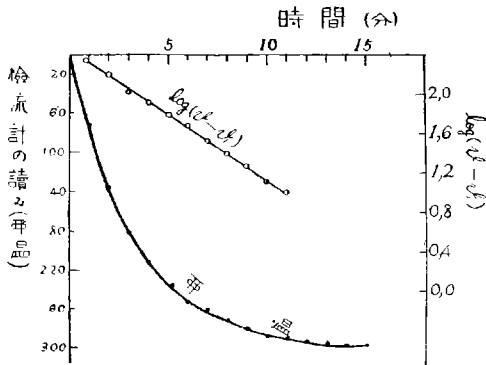
で補助装置として完全に絶縁された細い銅線で作った圖の如き懸垂籠を用ひた。温度の読みは毎15秒とし、其の結果をグラフして曲線を書いた。(第二圖)

結果 第二圖のa. b. は -10.3° で冷却した場合の冷却曲線で、aは何等 inoculate せず過冷却の状態が自然に破れて凍結を始めた場合であり b. は目盛りの読み190に於て inoculate した場合の凍結曲線である。亦c. d. は -5.5° 、 -5.1° で冷却した場合の凍結曲線で各々170、180に於て inoculate して居る。*脚註 本装置の詳細な構造並に配列に就ては近く發表になる低温科學第三輯の青木廉博士の論文を参照せられたい。

e は -4.3° で冷却し inoculate しない場合の冷却曲線であるが此の際には卵温が -4° 以下になり外周温が殆ど等しくなつても凍結を起さなかつた。圖より容易に知り得る様に低い温度で冷却した場合(即ち卵温との温度差の大なる場合)程冷却速度が大である。即ち -10.3° で冷却したaの場合には 0° より -8.1° に達するに4分30秒を要し、 -4.3° で冷却した場合には 0° より -4° に達するに約10を要す

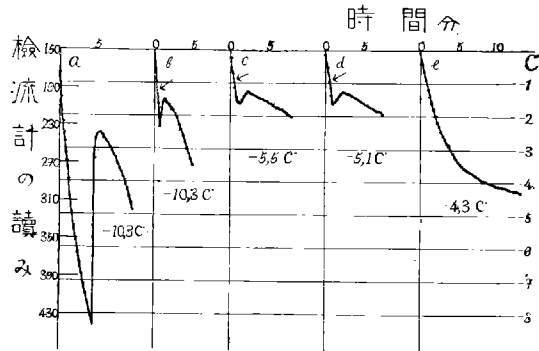
る。今第二圖のe場合卵の冷却が Newton の冷却方式に従ふか否かを見ると第三圖の如く $\log(U_1 - U_2) \times t$ が直線となり明かに Newton 式が適用される事が解る。従つて卵が單位時間に傳導、輻射に依つて失ふ熱量は卵と周囲の温度差に比例する。次に其の凍結状況を見ると卵温が

第三圖 卵温下降速度
検流計の読みは150が $0^{\circ}C$ に當る



が -4.1° となり外圍の温度と殆ど平衡に近くなつても尙凍結しない之等の凍結曲線より知り得る今一つの事實は卵の過冷却の度が大なる場合程見掛けの氷點が低いと云ふ事である。 -8.3° の過冷却に達したaの場合には見掛けの氷點は -2.2° であり、 -2.3° の過冷却に達したbの際には -1.5° を示し、亦 -1.7° で過冷却の状態が破れ凍結を起したdの場合には氷點は -1.3° を示す。

第二圖 未受精卵の凍結曲線
矢印は inoculate した場所を示す



その氷點以下に達した際之を inoculate すると凍結を始める。第二圖 b. c. d. は其の例で何れも卵温が -1° 附近に達した際 inoculate した場合である。然し卵温が其の氷點以下に達しても inoculate しないと卵は著しい過冷却の状態になる。aの際には -8° に於ても尙凍結が起らず -8.3° に於て始めて過冷却の状態が破れて凍結して居る。亦 -4.3° で冷却したeの場合には卵温

脚註 (1) U_1 は恒温器の温度、 U_2 はt時間後の温卵

IV. 卵の低温に対する抵抗力

上述の様に卵の温度が其の水点以下になつた場合 inoculate されると卵は凍結を始むるが亦等 inoculate されない場合は容易には凍結せず著しい過冷却の状態に止まつてゐる。冷却温度の低い場合は此の過冷却の破れ易いことは勿論である。従つて次に問題となるのは之等過冷却の状態及凍結が卵に如何なる影響を與へるかと云ふことである。之を解明する爲に次の2種類の實驗を行つた。

A. 流動パラフィン中に於ける低温處理試験

材料及方法 前試験に用いた卵と同腹の未受精卵を用ひ、 -2° -4° Cの温度で處理した。恒温器は前試験に用ひたと同一装置のものを用ひ流動パラフィンを收容した小試験管を直接寒剤中に挿入し、之に試験卵を投入し肉眼で其の變化を觀察した。兩温度の場合共卵は2個づつ投入し各6回宛行つた。

結果 -2° に於ては5~7分で卵が試験管に接して居る部分が一部白變するのが見られ、14~16分後に於ては卵全體が白變し油球は一ヶ處に凝集して居るのが認められた。亦 -4° に於ては3分間で此の部分的白變が見られ、6分後には全卵の白變するのが認められた。次に之等の低温處理した卵を 10° Cの水道水中に入れると白變した卵は一時透明となるが漸次白濁する。此の際低温處理に依り全卵白變したものは卵全體白濁するが、局部的に僅かに白變したものは卵全體が白濁するとは限らず、局部のみ白濁したのもあつた。鮭卵を淡水中に投じた際白變するのは卵黄中の Globulin の凝固に依るもので、之は卵の死亡により原形質膜の不透過性が喪失された際に起る現象である事は既によく知られて居る。亦流動パラフィン中に於ける處理は卵に何等害作用を無く、本液中に於て低温處理した際卵の白變するのは卵の氷結に依るものである事は酒井(44)の既に認めて居る處である。従つて本實驗の結果より卵全體の凍結は卵の致死原因であることは確信し得る。然し局部のみ凍結した卵は全部直ぐ白濁するとは限らず局部のみ白濁したまゝで數日は生存を續けて居つた。此の局部凍結卵は次のBの試験に於ても見られ同様の結果を得て居る。酒井は流動パラフィン中で卵を低温處理し、凍結した白變卵、又は一部凍結した卵はすべて流水に入れた後白變した、と報じて居る。部分的障害に就ては Svetleev (29) は鱒の卵で、直接胚の近くでなく卵黄の白濁した卵が2週間正常に發生する事を見て居り、亦刺突障害を與へ實驗より、部分損傷は其れが胚に影響を與へぬ限り卵は正常に發生すると結論して居る。 -4° 以下の低温で10分間處理し、之を水道水中で5日間飼育した酒井の結果では一部凍結した卵は飼育期間中に全部死んで居り、之より高い温度で處理し、3日間飼育した筆者の場合でも一部白濁卵は其の間に大部分死亡し僅か數ヶを残すのみであつた。従つて低温處理の際の部分的凍結は多くの場合胚に影響することが多く其の大部分は數日間に死亡すると考へられるが、然し此の局部凍結卵は全て正常發生をなし得ず早晚死ぬか否かに就ては更に研究を要する。亦同じく流動パラフィン中で低温處理する際卵を試験管に觸れしめことなく、液中に懸垂すると -2° で15分處理しても卵は凍結せず之を 10° の流水に入れた場合も

白濁しない。同様な低温処理の影響に就て酒井(44)が發生各時期の卵に就て詳細な試験をして居る。其の受精當日の卵を -4° 、 -5° 、 -6° 、 -9° Cの各種温度で10分間処理した結果は次表の如くである。(第三表)。彼は此の生き残つた卵はすべて凍結せず過冷却の状態にあつたものであると述べ、過冷却自身は fatal でないと結論して居る。

第三表 流動パラフィン中に於ける低温処理に對する卵の抵抗(酒井による)

處理温度($^{\circ}$ C)	-4	-5	-6	-9
試験卵10個中の生存個體數	9	7	5	4

B. 空中に於ける低温處理試験

Aの試験に於て低温影響に依つて卵が死亡する原因は卵の凍結に依るものであり、過冷却自身は致死原因とはならない事を知つた。■項に於て知つた様に卵の冷却速度は Newton の冷却法則に従ひ、卵温と周囲の温度差に支配されるが、其の外にも種々の影響を受ける。殊に影響の大なるものは環境の熱傳導度であり、之が大きい場合は小さい時より冷却速度が大きい。實際孵化上卵が低温の影響を受くる環境は空気の場が多く、空気中に於ける冷却速度に就ては■項に於て略々知る事が出来たが更に此の際過冷却と凍結が如何なる關係に在り、實際卵に如何に被害を及ぼすかを知る爲に次の試験を行つた。

材料 試験卵は未受精卵と受精卵の兩者を用ひた。採卵其の他は上記の通りであり、受精卵は實驗室に於て乾導法で受精し、後 10° Cの水道水中に放置した受精後1~3時間のものを用ひた。精子の採取、保存其の他に就ては次のVの受精試験の項に於て詳述する。

方法 試験卵(未受精卵は表面に附着せる體腔液を、受精卵は其の表面の水を拭はず)を小型シャーレに入れ、之を低温室内に備へた恒温器に收容して所要の温度處理を行つた。低温室は普通 -23° を示し、恒温器の温度變化は其の扉の開閉を行はなない際は $\pm 0.5^{\circ}$ Cの範圍内であつた。試験した温度は 0° 、 -2° 、 -4° Cの3種で各温度に於て15、30、60分の3段階の時間で處理した。恒温器に收容する前に卵は前述せる如く 10° Cの水道水に保存されて居つたものであり、實驗室の温度も $11\sim 13^{\circ}$ Cで略水温に近い温度である。處理に際しては卵をシャーレに收容し、之に蓋をして低温室に入り、恒温器には蓋を取つて入れて居いた。此の際諸動作を速にし低温室の著しい低温の影響出來得るべく少くすることに努めた。亦恒温器より取出す際には前と反對の行程で行ひ、實驗室に戻した卵は其のまま蓋を取らず20分間放置、其の後 10° Cの水道水中に入れ3日間飼育し其の結果を調べた。

結果 被害の判定は死卵數を以てした。其の結果を第四表、第四、五圖に示した。表及圖より知り得る様に、未受精卵に於ては 0° で30分以内處理した際には始ど被害が無いと云ひ得る程度であるが、1時間處理した場合には平均33%の死卵が認められ、第1回の試験では10%、第2回に於ては56%で實驗に依る不同が甚だしい。 -2° の際には15分に於ても12%の死卵が見られ15分以上の處理に於ては大體被害があるものと考へられる。亦 -4° に於ては15分で23%、30分で55%、60分で84%で何れの處理に於ても被害があり、殊に30分以上に於ては約半数以上の

第四表 低温處理に依る被害

A. 未受精卵の死卵率

處理時間		死卵率		0°±0.5° C				-2°±0.5° C				-4°±0.5° C			
		實驗番號	總卵數	死 卵		死卵平均 %	總卵數	死 卵		死卵平均 %	總卵數	死 卵		死卵平均 %	
				個體數	%			個體數	%			個體數	%		
15分	1 *	65	0	0	0.5	44	1	2	12.0	49	9	18	23.5		
	2 *	89	1	1		76	17	22		64	19	29			
30分	1	61	2	3	2.5	60	5	8	7.5	43	39	91	55.0		
	2	91	2	2		82	5	6		63	12	19			
60分	1	61	6	10	33.0	49	10	11	27.0	45	45	100	83.5		
	2	82	47	56		78	33	42		64	41	67			
對 稱	1	57	0	0	0	47	0	0	0	39	0	0	0		
	2	47	0	0		84	0	0		84	0	0			

* 1. 27/Ⅳ, '45 施行 (*2. 25/Ⅰ, '46 施行

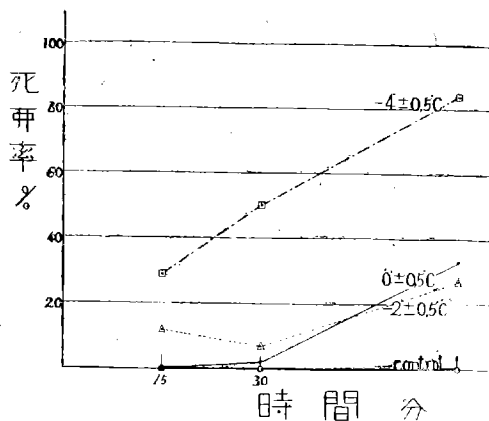
B. 受精卵の死卵率

處理時間		死卵率		0°±0.5° C				-2°±0.5° C				-4°±0.5° C			
		實驗番號	總卵數	死 卵		死卵平均 %	總卵數	死 卵		死卵平均 %	總卵數	死 卵		死卵平均 %	
				個體數	%			個體數	%			個體數	%		
15分	3 *	40	0	0	0	30	1	3	5.5	10	1	10	17.0		
	4 *	50	0	0		50	4	8		50	12	24			
30分	3	40	1	2	1.0	30	9	30	43.0	10	9	90	63.0		
	4	50	0	0		50	28	56		50	18	36			
60分	3	40	3	7	4.5	30	17	56	55.0	10	10	100	84.0		
	4	50	1	2		50	22	44		50	34	68			
對 稱	3	0	0	0	0	57	0	0	0	57	0	0	0		
	4	0	0	0		50	0	0		50	0	0			

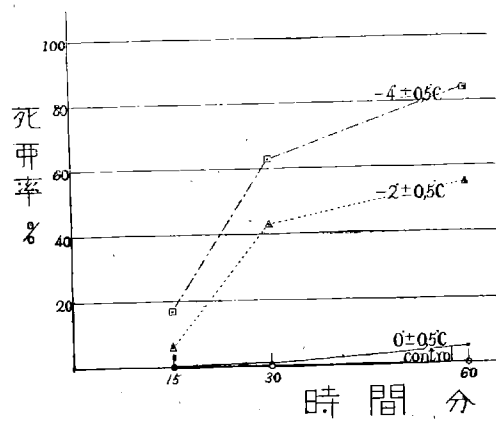
(* 3. 5/Ⅶ, '45 施行 (*4. 2/Ⅱ, '46 施行

同一系列の實驗には同一腹の卵を用ひた。但し3に於ける0°のみは-2°、-4°とは別腹の卵である。

第四圖 未受精卵の低温處理に依る死卵率



第五圖 受精卵の低温處理に依る死卵率



死卵が見られた。受精卵に於ても0°處理の際は30分以内に於ては殆ど被害が認められないが1

時間処理の場合は4.5%の死卵が見られた^o -2°では15分で6%、30分で43%、60分で55%を示し30分以上では相當顯著な被害が觀察された。亦-4°の場合を見ると30分以上では50%以上、15分に於ても17%の死卵が認められた。以上の結果を要約すると次の3つに歸着される。

(I) 0°で1時間以上處理した場合には見るべき被害があつた。

(II) -2°、-4°で15分以上處理した卵は常に被害があり、處理時間の長い程被害が大きく亦-4°の場合は-2°の場合よりも被害が大である。

(III) 受精卵の方は未受精卵よりも幾分被害が大きい。

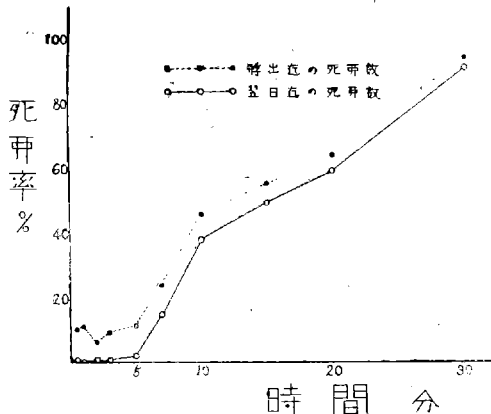
(I)の場合の被害に就て考察して見ると其の原因と考へられるのは第一に0°なる低温、第二に10°の水溫より0°の低温、0°の低温より11~13°の室溫に移動する際の溫度の激變、第三に恒温器の溫度變化及恒温器よりの出入の際に於ける低温室の甚だしい低温の影響の3つが挙げられる。先づ0°なる低温が卵に被害を及ぼすか否かを見る爲に大型シャーレに氷と水を入れて正確に0°を保たせ實驗室内に置き此れに本試験に用ひたと同腹の受精卵を入れて1時間及2時間の兩種の處理を行ひ、時間後は氷を取り除き漸次水溫を室溫迄上昇させた。其の結果に依ると試験卵50個中1個の死卵も見られなかつた。従つて0°なる低温は卵に被害を及ぼすもので無いと考へ得る。次に溫度の激變に依る被害に就て見ると、前の流動パラフィン中に於ける影響を見た際-2°で處理した卵を10°の水道水中に入れても死亡しなかつたし、亦酒井が-4°で處理したものを同溫度の水中に入れた場合にも10個中9個の生卵を見て居る。従つて此等の事實より鮭の未受精卵及受精當日の卵は溫度の突然の變化にも甚だ強く、-4°より+10°、+10°より-4°の如き變化に依つても死亡する事が甚だ少いと云ひ得る。従つて0°處理の際に於ける溫度の突然の變化は卵に全然被害は無いとは云はれないが此の際に於ける被害の主な原因では無いと考へてよいであらう。従つて0°處理の際に於ける被害は恒温器の溫度變化及恒温器より出入の際に於ける低温室の甚だしい低温の影響と考へられる。事實恒温器は正確に0°を保ちて居つたのでなく扉を開閉しない際に於ても±0.5°Cの變化を示して居つたし、卵の出し入れの爲扉を開閉した際には更に溫度が低下し暫し-1°以下を示して居る事さへあつた。従つて0°±0.5°の溫度で1時間以上處理した際に於ける卵の被害は氷點近くに冷却されて居る卵が恒温器より取出す際に受くる甚だしい低温の影響に依り氷結したものと考へられる。此の事は本被害が實驗により甚しい不同のある點よりも窺ひ得る。

次にIIの場合であるが-2°で15分以上處理する際には卵は當然すべて過冷却の狀態に達して居つた事は確かである。従つて長い時間處理したものの程被害が多いのは同一程度の過冷却でも長い時間續く時には、其の間に凍結する機会が多い爲と考へられ、亦溫度の低い程被害の度が大きいのは過冷却の度が大きなる程之が不安定で破れ易い爲と考へられる。

IIIの受精卵の方が未受精卵よりも幾分被害が大きい理由を考へて見やう。受精吸水卵に於ては其の圍卵腔を滿たす液は殆ど吸水に依り取入れた外圍の水より成り甚だ氷點降下度が小さく殆ど淡水の其れに近い事は Svetlov ('29)の研究により明かにされて居る。従つて此の圍卵液は未受精卵の卵液よりも氷結し易い事は當然で、其れにより卵の被害も大きいものと思はれる。

亦受精卵は其の表面に附着せる水が速かに氷結し、其れにより卵は inoculate されて凍結が早められた爲とも考へられる。尙 Kellicott ('16) は Fundulus の受精卵、日暮、中井 ('26) は鮭の卵の低温處理に依り畸形の生ずる事を報じて居るが、本試験に於ては3日以後の飼育試験を行はなかつた故凍結せず生残つた卵は其の後正常な發生を續けるか否か不明であるが、3日目

第六圖 受精吸水卵の低温處理に依る死卵率
處理溫度 17.5° (佐野の結果より筆者畫く)



の卵に於ては次のVに於て受精、不受精を確めるに用ひたと同一方法で檢鏡した範圍に於ては何等正常のものと特異な點を見出すことが出来なかつた。佐野 ('45) は受精翌日の卵を -17.5°、-20.5 C の外氣で低温處理し、之を孵化迄飼育した結果を報じて居るが其れによると死卵の大部分は處理の翌日迄に見られ其れ以後に於ける死卵率は無處理の場合よりもむしろ小さい(第六圖)。従つて凍結せず生残つた卵は孵化率に關する限り通常卵と殆ど變りないことが判る。

V. 低温處理の受精力に及ぼす影響

前項に於て凍結は卵の致死原因となるが過冷却は致死原因でないことを知つた。従つて此の低温處理に依り凍結せず生残つた卵は受精力の點で如何なる影響を受くるかを知る必要がある。此の目的の爲に次の實驗を行つた。

材料及方法 卵は前項Bに於て低温處理した未受精卵を室溫に戻して20分放置したものをを用ひ、精子は千歳町西越採卵場に於て捕獲せる親魚より腹部切解に依り全精囊を取出し、其れを魔法瓶に入れて實驗室に持參した。そして其の表面に附着せる血液を拭ひ取り、10° C の水道水中に乾燥せぬ様に保存し、採取の日より2日目迄實驗に使用した。此の様に保存した精子は之を薄めて檢鏡すると3日目迄は運動能力を有し且受精試験の結果も殆ど100%受精した。精子の低温處理は此の精囊の一部を約2cm立方の切片に切り取り、之を小型のシャーレに入れて卵の場合と同一操作に依り處理した。受精に際して此の切片に鉋で數ヶ處の傷を入れ浸み出した精液と卵をよく混ぜ、之に水道水を注いだ。處理した溫度は0°、-2°、-4° C の3種で時間は15、30、90分の3段階である。受精、不受精の確認は之等の卵を3日間飼育し、之を1M. H. SO₄に入れて卵膜を透明にし、之を外部より觀察し判定した。鮭卵を酸に入れると卵膜は透明となり胚は白く固定されて外部よりも容易に觀察される。然し Runnstrom ('20) が既に *Salmo salvelinus* に於て觀察して居る様に鮭の卵に於ても未受精卵を淡水に入れると、受精卵と同様に動物極の方向に原形質の流動が起り原形質の堆積を生ずる。10° C の水道水で3日間飼育した卵は大體 Blastula に達して居り一見外表面より見た時此の未受精卵の原形質堆積とまぎら

わしいが、然し未受精卵の原形質堆積は全く Concentric でなく、低く、且輪廓が不明瞭であり注意深い観察によると卵膜を通して両者は區別され得るが、正確を期する爲之等の卵をフォルマリンで固定し卵膜を剥ぎ取つて観察した。

結果 低温處理に依り2日目迄に死んだ卵は受精試験の結果全然受精して居るものが無く、之等の卵は凍結に依り室温に戻した際には既に死んで居つたものと考へられる。鮭卵は不受精なるが故に数日間の飼育で死ぬ様な事なく、未受精卵も淡水中で少くとも1週間長いものは数週間も生きて居る故、受精率は此の生残つた卵の受精、不受精により決定すべきが妥當と考へ其の方法によつた。結果は第五表の如くである。

第五表 生存卵の受精率

處理時間	實驗 番號	處理溫度											
		0°±0.5° C				-2°±0.5° C				-4°±0.5° C			
		受精率	生存	受精率	平均	生存	受精率	平均	生存	受精率	平均		
	總卵數	個體數	%	%	總卵數	個體數	%	%	總卵數	個體數	%	%	
15分	1(*)	65	65	100	100	43	43	100	100	40	40	100	100
	2(*)	—	—	—	—	60	60	100	100	—	—	—	—
30	1	59	58	98	98	55	55	100	100	4	4	100	100
	2	—	—	—	—	52	52	100	100	—	—	—	—
60	1	55	55	100	100	39	39	100	100	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	36	36	100	100	—	—	—	—
對稱	1	57	57	100	100	47	46	98	99	39	38	97	97
	2	—	—	—	—	63	63	100	100	—	—	—	—

(*1. 27/Ⅴ, 145 施行

(*2. 3/Ⅶ, 145 施行

此の結果より知り得る如く生残つた卵は殆ど100%に受精して居り低温處理に依つて受精力は何等低下せしめられて居らない。亦低温處理した精子を水で薄めて檢鏡すると、-2°で30分以下處理したものでは無處理の場合と殆ど區別出來ず、1時間處理の場合は運動を停止せるものが幾分認められた。-4°で15分處理した場合運動を停止せる精子は-2°で1時間處理した際と同程度であり30分以上のものでは其の数が相當顯著に増加してゐた。そして此の-4°で30分以上處理したもので媒精し、注水すると卵表面が白膜で覆われる如き状況を呈した。之は精液中の蛋白の凝固によるものと考へられる。従つて此れより之等の溫度處理に依り精子の一部は被害を受けるが、他の部分のものは被害を受けずに居り、其の正當精子により受精が行はれるものと考へられる。

VI. 親魚體溫外溫との關係

以上室内實驗より卵及精子の低温に依る影響に就て考察したが、次に之等の卵及精子が親魚體內に在る間低温に依り如何なる影響を受けるかを知る必要がある。其の爲には親魚の棲息水溫と體溫との關係、屍體の溫度下降速度を明かにせねばならない。次に之等に就て調査試験を行つた。

A. 棲息水溫と體溫との關係

調査方法 千歲町西越採卵場に於て昭和21年1月23日、同年1月31日の兩日施行した。方法

は親魚を活洲より取出し、之を撲殺し、直ちに細状アルコール寒暖計を肛門より挿入して體温を測り、其れと同時に活洲の水温も測定した。體温測定に使用した寒暖計は 1°C 目盛りのものである。

結果 23/I '46 水温 2.8°C の際 體温 2.8°C
31/I '46 水温 3.0°C の際 體温 3.0°C

であり體温は棲息水温と全く一致した。魚類の體温は其の棲息する水温と全く等しいか、亦は僅かに高い事は種々の魚類に就て知られて居る。然し其の多くは水銀寒暖計を肛門亦は口腔より挿入して測定したものであるが、Rogers and Lewis ('16) は 1°C の $\frac{1}{100}$ 迄感知出来る熱電對を使用し金魚の胃中の温度に就て詳細な研究を施行して居る。其の結果に依ると水温 22.17°C の際、體温との差は $0.00^{\circ}\sim+0.0042^{\circ}$ 、水温 25.00° の際其の差は $-0.012^{\circ}\sim0.0672^{\circ}$ で極めて小さい。鮭の場合に於ても此の様な些細な差異は或は存在するかも知れないが然し普通の寒暖計では見出し得ない程度であらう。

B. 屍體の温度下降

冷血動物の體温下降がNewtonの冷却法則に従ひ、且屍體の方が生體より其の速度の大なる事はHall(小泉による)の龜に於ける試験に依り明かにされて居るが、鮭に於ては此の速度が大體どの程度であるかを知る爲に次の試験を行つた。

調査方法 千歳町西越採卵場に於て昭和21年1月23日、24日、30日、31日の4日に渡り施行した。方法としては撲殺した親魚を野外の床板上に置き肛門に前試験に用ひたと同一寒暖計を挿入し、此の温度と外気温を毎2分置に読み取り、之をグラフして其の關係を見た。

- 結果 (a) A. M. 7.30 23/I '46 曇 微風
气温 $-1.5^{\circ}\sim-1.0^{\circ}\text{C}$ (平均 -1.3°C)の際、體温が $+2.0^{\circ}$ より 1.0° に達するに21分、 0.2° に達するに60分を要した。
- (b) A. M. 7.00 24/I '46 小雪 微風
气温 $-1.0^{\circ}\sim-2.0^{\circ}\text{C}$ (平均 -1.7°C)の際、體温が $+2.8$ より 2.0° に達するに17分、 1.0° に達するに39分、 0.5° に達するに61分を要した。
- (c) P. M. 4.30 30/I '46 晴 微風
气温 $-5.2^{\circ}\sim-9.6^{\circ}\text{C}$ (平均 -7.7°C)の際、體温が $+3.0^{\circ}$ より 2.0° に達するに24分、 1° に達するに46分を要した。
- (d) A. M. 7.30 31/I '46 曇後小雪 微風
气温 $-10.6^{\circ}\sim-8.0^{\circ}\text{C}$ (平均 -9.7°C)の際、體温が $+1.8^{\circ}$ より 1° に達するに14分、 -0.2° に達するに56分を要した。

本試験は野外実験であり、冷却速度を左右する動物体内と外圍との温度差及種々の外的條件、即ち湿度、風等の諸條件も一定に出来ず之等が複雑に働く爲冷却法則の恒數aの算出は出来ないが其の降下速度の概要は知り得るかと思ふ。

Ⅶ. 外気温と輸送器内の温度との関係

最後に輸送途上に於ける体温の響響を知る爲、輸送器内温度と外気温の関係を調査した。

調査方法 試験用輸送器として、現在千歳孵化場に於て使用して居る改良運搬器（菊地'30）を用ひ、之れに中央と一隅に各1本の寒暖計を挿入し、此の温度と外気温を5分置きに読み取り其の關係を考察した。調査は昭和21年1月23日千歳町西越採卵場と孵化場との間に於て施行した。

結果 試験実施日は晴天で風も殆ど無い日であつた。輸送に要した時間は90分で輸送開始時の外気温は -1°C で輸送間に次第に上昇し最高 $+4^{\circ}\text{C}$ に達した。輸送器内温度は出発時 $+2.5^{\circ}\text{C}$ で輸送間、殆ど変化が見られず僅かに 0.2°C 程度の變動を示すに過ぎなかつた。尙同年1月28日施行した大久保司氏の試験結果に依ると天候、晴。外気温 $-7^{\circ}\sim-5^{\circ}\text{C}$ の際上記と同様の方法で同區間を輸送した際の輸送器内温度變化は出発時 $+1.3^{\circ}\text{C}$ 、到着時 $+1.4^{\circ}\text{C}$ であり、殆ど變化を示して居らない。

Ⅷ. 綜合考察

以上の試験結果を基礎として前に考慮された3項目の低温の影響に就て考察を試みて見たいと思ふ。

I. 親魚を活洲より取出し採卵作業を開始する迄の間に於ける低温の影響。

先づ胎内に於ける卵が如何なる状態に達した時被害の恐れがあるかを吟味して見ると、未受精卵の氷點は -0.62°C であり卵温が此れ以下に達した時卵が凍結の危険に曝される。然しⅣ及Ⅴに於て知り得た如く卵は假令過冷却の状態に達しても凍結しない時は被害の恐れは甚だしく、亦受精力も減退する事が無いが親魚の運搬、採卵作業着手の際には諸衝撃に依り過冷却が破れて凍結する可能性が大である。従つて、卵が其の氷點以下に達した時は被害の恐れが多分にあると考へる。精子はⅤに於て知り得た如く、卵の氷點下に達しても部分的には被害が認められるが、全體として考へる際には被害の考慮は卵より遙かに少い故此の際は卵の場合のみ考慮してよいと思ふ。次に胎内の卵が被害の恐れのある氷點以下に達する温度及時間に就て見ると、試験した最も低い温度 $-10.6^{\circ}\sim-8.0^{\circ}\text{C}$ （平均 -9.7°C ）に於て体温 1.8°C より -0.2°C に達するに56分を要して居り、試験日は風が無かつた事、親魚處理場は板床であつた事を考慮に入れても、其の冷却速度は左程大きいものでない。従つて千歳の如く嚴冬時に於ても水温が $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ 、平均気温 -10.0°C 内外を示す地方に於ては、卵温も大體水温と等しく $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ と見る事が出来る故、卵が其の氷點 -0.62°C 以下に降るには相當長時間を要し、採卵迄の親魚体内に於ける被害の考慮は少いものと考へられる。

然し昭和19年十勝（中村'44）に於て試験した結果に依ると河水温 0°C 、気温 -6°C で親魚を氷上に25分、50分放置した際、其の運搬害死卵は對稱が14.5%なる時、25分で33.7%、50分で31.1%と報ぜられて居り、25分放置された場合でも既に19%の死卵の増加が認められて居

る。之は河水温が 0°C であり、従つて體温も殆ど之に近く、且氷は板床より遙かに熱傳導が大である爲、Ⅳの實驗の場合より體温下降が速かであり、卵が其の氷點下に達する時間は短い爲と考へられる。従つて河水温も 0°C 近く、氣温も -10°C 以下を示す地方に於ては、親魚處理場を完備し、風、氷等冷却速度を大ならしむる條件を極力排除し、採卵に供する迄の間に於ける親魚の取扱ひに於ても低温の影響を十分考慮する必要があるものと推察される。

Ⅱ. 採卵作業中に於ける低温影響

空氣中に於ける卵の冷却速度はⅢに於て知り得た如く、Newtonの冷却法則に従ふのであるが、卵の熱容積が極めて小さい故其の速度は甚だ大で -4°C に於て冷却した際 0° より -1°C に約1分で達する程である。然し實際は多數卵が接してあるので冷却速度は此れより幾分小さくはならうが採卵場の温度が低い際には卵が氷點以下に達し、採卵操作の諸衝撃に依り過冷却が破れ凍結する恐れが十分あるものと考へられる。特に水温も低く、且外氣温も極めて低い地方に於ては採卵作業を開始する前に卵は胎内に於て過冷却、亦は之に近い温度迄降下して居る故此の恐れが尙多いものと思はれる。十勝に於て施行した試験(中村'44)に依れば河水温 0°C 採卵室温 -3.0°C で採卵した際の運搬害死卵は49%、及21.7%と報ぜられて居るが此の結果は明らかに採卵時に於ける凍結を證明して居るものと考へられる。従つて採卵室の温度保持は極めて肝要で室温は常に 0°C 以上に保たしむる必要がある。

Ⅲ. 運搬の際に於ける低温の影響

普通卵の運搬は受精吸水後2時間より5時間迄の間に於て行はれ、卵は水より取上げ孵化盆に盛る方法で運搬箱に詰める爲卵表面は薄水層で覆われて居り、此の際の卵の條件はⅣに於て低温處理した受精吸水卵の場合と等しい。此の受精吸水卵の氷點は -0.47°C で水に接しない未受精卵より高く、凍結し易い事はⅣの試験より知る事が出来た。然も運搬途上に於ける振動は卵をinnoculateして凍結に導き易い。従つて輸送器内の温度が卵の氷點下に達すれば容易に卵への被害が起るものと考へられる。輸送器の防寒力に關してはⅦの試験に於て調査したが、其の結果よりすれば此の改良運搬器は相當防寒力があり、千歳地方の如き氣温 -10°C 内外、輸送時間1時間前後の地方では十分卵の凍結を防ぎ得るものと考へられるが、然し輸送時間が更に長く、氣温も甚だしく低い地方に於ては輸送器内の周邊に氷結を見る事は間々聞く處である。其の際には卵の被害も當然考へ得る故輸送器の防寒装置に就いては地方的に更に攻究、改良の要があるものと推察される。

而して低温に依り受くる卵の被害は殆ど凍結に依つてもたらされ、被害卵の大部分は翌日迄に死亡する事はⅣに於て知る事が出来た。従つて低温に依る被害の有無は其の運搬害死卵数を以て大體判定し得ると考へられる。今千歳孵化場の場合を例に取つて本年度の成績を考察してみると、本年の採卵は20年9月30日に始まり21年2月10日に終つて居る。其の間の運搬害死卵は平均3.0%であり、最も寒い12月24日より2月10日迄の平均氣温 -10.8° の期間に於ける運搬害死卵は、最高3.5%、最低1.0%、平均1.7%で全期間中の平均よりむしろ小さくなつて居る。従つて此の際には低温による特別の被害が認められず、千歳孵化場に於ては現在の設備、器

具、操作を以て十分低温による被害を防ぎ得たものと考へて宜しいであらう。

K. 摘 要

1. 鮭孵化行程上に於ける低温影響に就て考察した。
2. 卵の氷點降下は、水に接しない未受精卵は -0.62°C 、受精吸水卵は -0.46°C で兩者の差は約20%である。
3. 卵の冷却速度は略々 Newton の冷却法則に従ひ、卵は其の温度が氷點以下に達しても餘程其の温度が低くならなければそのままでは容易に凍結せず、過冷却の状態を呈する。
4. 凍結は卵に取つて致死の原因となるが、過冷却は致死の原因とはならない。
5. 過冷却の卵は凍結に依り被害を受くる機会が多く、 -2°C で15分處理した際も常に幾分の被害が見られ、温度が低い程亦處理する時間が長い程被害が大きい。
6. 受精吸水卵は水に接しない未受精卵より幾分被害が大きい傾向が認められる。
7. 過冷却の状態に一度達した卵も凍結しない場合は何等受精力が減退する事が無い。精囊の切片を -2°C で30分以上處理する時は被害を受けた精子が認められるが、 -4°C で1時間處理しても全精子が被害を被むる事はない。
8. 親魚の體温と棲息水温との關係は水温 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ の範圍では殆ど兩者の間に差異が認められない。亦屍體の温度下降は氣温平均 -9.7°C の際、體温 1.8C より -0.2°C に達するに56分を要する。
9. 現在千歳孵化場に於て使用して居る改良運搬器は外氣との温度差 $6\sim 7^{\circ}\text{C}$ 、使用時間1時内外では殆ど器内温度に影響が見られない。
10. 孵化上實際問題として、親魚を活洲より取出し採卵を開始する間に於ける影響、採卵作業中に於ける影響、運搬の際に於ける影響の3つの低温影響に就て考察した。
11. 低温に依る被害の有無は運搬害死卵數を調べる事により略々判別し得る。其の一例として千歳孵化場に於ける20年度の成績に就て考察を試みた。

文 献

1. 青 木 廉 1937; 鮭卵の吸水現象に關する 2.3 の觀察
鮭鱒彙報 第33號 1頁
2. 青 木 廉 1939; Ueber die Wasseraufnahme der Lachseier.
Jour. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Uni., Ser. vi. vol. 7. p. 27
3. 青 木 廉 1941; 鮭卵卵膜の膨潤
科 學 11卷
4. Bogucki. M. 1930; Recherches sur la perméabilité des membranes et la pression osmotique de oeufs des Salmonides.
Protoplasma, vol. 9. p. 345

5. Bonnet, D. D., 1939; Mortality of the cod egg in relation to temperature.
Biol. Bull. vol. 76 p. 428
6. 日暮 忠 1925' 鮭卵の孵化適温試験
水産講習所報告 21卷 129頁
7. 日暮忠・中井信隆 1926; 低温度の鮭卵の發育に及ぼす影響
水産講習所試験報告 21卷 219頁
8. 北海道廳水産課 人工孵化事業要綱
9. Kellicott, W. E. 1916; The effects of low temperature upon the development of *Fundulus*.
Amer. Jour. Anat., vol. 20 p. 447
10. 菊地 覺助 1930; 卵子運搬器に就て
鮭鱒彙報 56卷 11頁
11. 小泉 清明 1935; 體温生理學
東京
12. Marriman, D., 1935; The effect of temperature on the development of eggs and larva of the Cut-trout.
Jour. Exp Biol., vol. 12 p. 297
13. 中村 定一 1944; 鮭卵子不受精防止試験
水産孵化場復命書
14. Needham, J., 1931; Chemical embryology.
Cambridge
15. Rogers, C. G. and E. M. Lewis, 1916; The relation of the body temperature of certain cold-blooded animals to that of their environment.
Biol. Bull., vol. 31 p. 1
16. Rummstrom., J., 1920; Ueber den osmotischen Druck und Membranfunktion bei den Lachsfischen.
Anat. Zool., vol. 1 p. 321
17. 酒井 昭 1944; 鮭 (*O. keta*) 卵の低温 (零度以下) に對する抵抗性に就いて
未發表
18. 鮫島實三郎 1939; 物理化學實驗法
東京
19. 佐野 誠三 1945; 凍結の鮭卵子孵化に及ぼす影響
水産孵化場復命書

20. Syetlov, P. 1916; Entwicklungsphysiologische Beobachtungs
an Forelleneiern.
Arch. Ent. Mech., Bd. 114, s. 771
21. 高田 幸二 . 1931; 鮭卵の生化学及膠質學的研究 (I)
生化学の研究 3卷 417頁