

## 鮭受精卵に於ける窒息死の様相 (第1報)

委嘱 岡 田 雋  
(北海道大学農学部)

### The Death from Suffocation in the Developing Eggs of Dog-salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum) By

Shun S. OKADA  
(Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

It has been accepted customarily by the personnel of hatcheries that the developing eggs of salmonoid fish turn always white or opaque when they died. However, sometimes dead eggs maintain normal translucent appearance and do not turn white or opaque for a long time. The present study is to make clear why and in which stage of development they do not turn white or opaque.

In this experiment, the eggs of dog-salmon, 30 minutes after fertilization, were kept in the water of low oxygen content (0.3 c.c./l.) for 3 days and then reared in running water.

The blastodiscs of eggs examined on 4 days after fertilization show the tendency of degenerating, looking almost the same with the blastodisc of an unfertilized egg immersed in water for same days (Fig. 2a, 5a), though the control has developed to blastula stage (Fig. 1a, 1b).

After about 7 days, the blastodiscs continue to disintegrate gradually, oil drops invading from underlying yolk, until their protoplasm disperses thinly and widely over the animal pole of the egg (Fig. 3a, 3b; 8 days, Fig. 4a, 4b; 16 days).

All eggs except a few of them, nevertheless, maintained normal translucent appearance and did not turn white or opaque for more than 4 weeks.

As Gray (1932) has mentioned, the translucent condition of eggs is maintained by the impermeability of the vitelline membrane of egg to water and salts. When this property of the membrane is lost, globulins precipitate owing to the lowering of salts concentration in yolk and then the egg turns white or opaque.

It is difficult to explain definitely at present why the translucent condition of the egg is still maintained while the blastodisc which is closely related with the membrane morphologically and perhaps physiologically has already disintegrated.

But as well known, unfertilized eggs maintain also translucent condition for a long time, when allowed to retain undisturbed in water. In this case, the disintegration of blastodisc occurs after about 7 days in the same manner with the suffocated eggs (Fig. 5; 5 days, Fig. 6; 7 days, Fig. 7; 10 days, Fig. 8; 26 days).

From this fact, it seems probable that the translucent condition of the dead eggs may be maintained by such mechanism as in the case of unfertilized eggs.

## 1. 結 言

さけ・ます類の人工孵化に際し、発眼期の前後に至つて突然続々と白濁不透明な所謂死卵が発生し、然もその死卵には明瞭な胚の存在が認められなくて、恰も之等の死卵が不受精卵であつたかの如き観を呈することがある。

千歳孵化場に於て茲数年以上に亘り、或る時期の採卵鮭卵に発生している原因不明の著しい異常死卵も上述の如き特徴を具へている。

又昭和13年(1938)石狩河口採卵の鮭卵を千歳孵化場に収容した時にも、同じような著しい死卵の発生を見たことがあつた。当時著者は之を調査研究し、卵子処置上の或る缺陷に依り発生初期に胚が窒息死したことに起因するものと推論した(岡田・三浦, 1939)。

最近 Affleck (1953) も同様な現象の存在を指摘し、或る原因で胚が発生初期に死すると、卵黄の白濁不透明化を伴はないで胚が次第に崩壊し、後に卵子が白濁不透明な所謂死卵に変化した時に恰も不受精卵の如く見えると述べている。

著者は今茲に千歳孵化場に於ける死卵発生の原因が、発生初期に於ける胚の死であると断定するものではないが、その原因探究の一助として、胚の死が卵黄の白濁不透明化を直ちに伴はないことがあり得るか、あればそれは如何なる機構に依るものであるかを明かにする目的を以て、卵子を酸素含有量の少い水中に密閉し窒息死させて見た。本報に於ては取敢へず受精直後の卵子に就て行つた実験の経過を報告する。

本文に先ち本研究上種々の御示教、御配慮を賜つた北大農学部大飼哲夫教授、尚低温科学研究所青木廉教授、北海道水産孵化場江口弘課長に深謝の意を表する。

## 2. 実験材料及び実験方法

実験材料 鮭 *Oncorhynchus keta* (Walbaum) の受精卵

(1954年秋千歳孵化場西越採卵場で捕獲された成熟せる鮭の雌雄から採卵採精、直ちに当実験室に持ち帰り乾燥法に依り人口受精を行い、9~12°Cの流水中に飼育せるもの)

実験方法 所定の発生段階にある受精卵を 300cc 容広口瓶に約半容入れ(卵子の厚さ約7層5cm内外)低酸素含有水を満して密栓し、一定時間前述の流水中に浸漬して遮光静置し、然る後流水中に移して常法の如く飼育、白濁死卵の発生を観察すると共に随時若干粒を Bouin 氏液で固定し、胚の観察並に切片作成の用に供した。

低酸素含有水は飼育用流水を採つて煮沸し、酸素吸尿管(アルカリ性没食子酸)を連結して冷却したものを使用した。

## 3. 第 1 実験

- (1) 供試卵の発生段階 受精後30分(未分割卵)
- (2) 窒息実験用容器 10×12×18cm(高さ)の硝子槽
- (3) 窒息実験用水 飼育用水を煮沸後放冷せるもの(但し酸素吸尿管連結せず)。
- (4) 実験方法 本実験は予備実験として行つた。即ち実験用容器に実験用水を満し、供試卵を3層2cm内外収容、硝子板で容器の上面に蓋を施し密閉した。実験開始後1時間毎に固定の目的で若干粒宛卵子を採り出した為、実験の経過に伴い容器中蓋下に若干の空隙を生じた。
- (5) 実験用水中密閉時間 24時間
- (6) 実験用水の酸素含有量 実験開始時 1.85 c.c./l 飽和度23.3% (10°C)  
" 終了時 1.68 " " 21.2% (" " )
- (7) 実験結果の概要 発眼期までの各日白濁死卵発生数は第1表の通り。対照として飼育中の受精卵は受精後26日間て明瞭に発眼した。

第1表に示す如く、窒息処理後異常なく経過したが2週間頃から次第に白濁死卵が出現し、発眼期までに60%近くが所謂死卵に変化した。対照卵に於ける白濁死卵の発生は極めて軽微であるから、之が受精直後に実施され

た窒息処理に起因することは明かである。尙最後に残存した外観上生卵と見へる 247 粒を固定して調査の結果

第1表 第1実験死卵発生数

受精後 日数	実験卵	対照卵
0	窒息處理 実	0
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	1	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	3	0
15	7	0
16	22	1
17	32	0
18	110	1
19		
20	108	1
21		
22	35	1
23	19	1
24		
25	3	0
26	2	0
死卵合計	342	5
残存卵数	247	—
総卵数	589	約600

正常に發育している発眼卵 143粒  
 發育稍遅延の未発眼卵 16粒  
 胚体の矮小畸形な卵子 26粒  
 胚の明瞭に認められない卵子 60粒

が混在することを知つたが、発眼卵を除いた之等の發育異常卵は所謂淘汰検卵に際して、白濁死卵に変化することは推測に難くない。之等の予測死卵をも合算すると死卵率は75%余に達する。

(8) 窒息卵の様相 実験卵は受精後30分から24時間低酸素含有水中に密閉され、然る後流水中に移されたが、密閉中の發生状況を見ると、表層の卵子は殆ど対照卵と平行して發生しているが、下層の卵子は24時間後に於て最も進んだもので4細胞期に達しているに過ぎない(対照卵では32細胞期)。然もその形態は極めて扁平で分割溝が非常に淡く不鮮明である。之は表層の卵子は比較的容器内上部の水中から酸素の補給に恵まれるが、下層の卵子は之に恵まれずに窒息に瀕しているものと考へられる。

然るに流水中に移されるや、この窒息状態にあつた卵子も再び發生を促がされ、対照卵や表層の卵子に較べると大分遅れるが兎も角發生を続けるものが多い。

即ち1日18時間では漸く桑実胚に達し(対照卵は胞胚初期)、然も非常に形の不整なものが多い。2日18時間では饅頭状胞胚期(対照卵は該期を経て平盤状胞胚の初期)、3日18時間では平盤状胞胚初期(対照卵は明瞭な円形輪廓を有する円盤状胞胚期)7日では円盤状胞胚期(対照卵は胚環期を経て胚楕形成期)と逐次發生が遅れて居り、然も胚盤の大きさが極めて小形である。

以上の如く遅れ馳せ乍ら兎も角も發生を続けているが、原腸陥入期の頃より大きな發生上の障害に直面するするらしく、陥入を起さないものや、陥入を起しても極めて不整形であつたり、引続いて胚体が形成されても矮小畸形となるものが多い。即ち窒息状態にあつた影響は卵割の遅延、胚盤の矮小、原腸胚形成の蹉跌となつて現はれて来る。

19日及び22日に發生した白濁死卵110粒及び35粒を固定した後検査して見ると、何れも明瞭な胚の存在が認められない。又22日外観上生卵の如く見えるもの50粒を検した結果は、対照卵と同一發生段階にあるもの27、稍發育の遅れたもの3、胚体の矮小畸形なもの9、胚の明瞭に認められない不受精卵様のもの11で、既に述べた残存卵中の組成とよく似ている。

之から考へて正常な發生を継続中であつた表層の卵子だけが残る、窒息状態にあつた下層の卵子は發育異常を起して斃死し之等が逐次白濁不透明となり、明瞭な胚の認められない死卵として現はれるものと思われる。このことは26日発眼期の調査で正常に發育している発眼卵が25%内外なること、窒息處理時の卵層が約3層であることから肯定出来る。

然しこの実験結果で明かな如く、窒息の程度に依り胚は直ちに斃死せず、流水中に移されることにより相当期間兎も角も發生を続けて居り、この為には卵子の白濁不透明化が窒息處理後比較的長期間現われないのではないかという疑問がある。依つて更に窒息効果を確實にして次の実験を行つた。

#### 4. 第 2 実 験

- (1) 供試卵の發生段階 受精後30分(未分割卵)
- (2) 実験方法 「2.実験材料及び実験方法」に依る。

第2表 第2実験死卵発生数

受精後 日数	実験卵	対照卵
0	窒息処理 実 施	0
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	1	0
14	0	0
15	5	0
16	15	0
17	32	0
18	37	0
19	36	0
20	29	0
21	7	0
22	5	0
23	6	0
24	9	0
25	5	0
死卵合計	187	0
残存卵数	79	—
総卵数	266	約 300

斯の如く本実験でも窒息処理に依り直ちに斃死することなく可成り長く生存して居り、之が為に卵黄の白濁不透明化が遅れて現はれる疑いがあるので、更に窒息効果を確実にして次の実験を行つた。

### 5. 第 3 実 験

- (1) 供試卵の発生段階 受精後30分(未分割卵)
- (2) 実験方法 「2.実験材料及び実験方法」に依る。
- (3) 実験用水密閉時間 72時間(3日間)
- (4) 実験用水の酸素含有量 実験開始前 0.31c.c./l. 飽和度3.9%(10°C)  
" 終了時 0.31 " " 3.9%(")

(5) 実験結果の概要 対照卵に発眼の認められた受精後25日までに、実験卵に発生した各日の白濁死卵数は第3表の通りである。本実験では窒息処理後殆ど白濁死卵の発生なく経過し、発眼期までの死卵率は5%に過ぎない。然し発眼期に於ける残存卵325中100粒

- (3) 実験用水中密閉時間 24時間
- (4) 実験用水の酸素含有量 実験開始時 0.94 c.c./l. 飽和度 11.9% (10°C)  
" 終了時 0.83 " " 10.5% (")
- (5) 実験結果の概要 発眼期(受精後25日間経過)までの各日白濁死卵発生数は第2表の通り。  
本実験に於ても前実験同様に窒息処理後比較的長く異常を認めなかつたが、2週間頃から次第に白濁死卵が出現し、発眼期までに70%が所謂死卵に変化した。  
発眼期に残存した外観上生卵の如く見えるものは79粒であるが、この中には  
正常に発育している発眼卵 23粒  
発育稍々遅延の未発眼卵 2粒  
胚体の矮小畸形な卵子 6粒  
胚の明瞭に認められない卵子 48粒

が混在する。この発育異常卵を漸て白濁死卵に変化するものと考へれば、死卵率は90%以上に達し、窒息処理の効果が前実験より大であつたことを示している。  
(6) 窒息卵の様相 流水に移してからの発生状況は、対照卵に較べると表層卵は稍々遅れ下層卵は可成り遅れて且胚盤の形も小さいが、兎に角発生を継続することは前実験同様である。然し10日以後の観察に依れば正常に発育しているものは表層卵中に極く僅か存在するだけで、其他は下層卵と共に全部矮小畸形或は胚の明瞭に認められないものであり、又発生した白濁死卵は凡て胚の明瞭に存在しないものであつた。之に依り前実験同様に原腸胚形成期の頃に発生上の蹉跌を起し之等が次第に白濁不透明な死卵に変化して行くものと考へられる。

第3表 第3実験死卵発生数

受精後 日数	実験卵	対照卵
0		0
1	窒息処理 実 施	0
2		0
3		0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	2	0
8	0	0
9	1	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	1	2
14	0	1
15	0	0
16	1	0
17	0	0
18	1	1
19	2	0
20	1	0
21	1	0
22	3	0
23	0	0
24	2	0
25	0	0
死卵合計	15	4
残存卵数	325	—
総卵数	340	約 300

を固定観察した結果に依れば、凡て未受精卵の当該日数を経過した胚盤の様相に類似して居り、胚盤原形質は油球の浸入に依つて薄く分散崩壊している。即ち之等は凡て孵化せざる卵子であつて、従つて本実験に於ける死卵率は100%である。尚引続き残存卵を飼育した所に依れば、受精後40日を経過しても尙白濁不透明卵に変化しないものが多いが、軽度の振動を与えることに依り全部白濁不透明な所謂死卵に変化した。

(6) 窒息卵の様相 窒息処理終了後流水中に移し、その翌日(受精後4日間経過)固定観察した所に依ると対照卵は扁平化胞胚初期である(Fig. 1a.)のに対し、実験卵の胚盤は多少表面に凹凸の存在を見るが、淡水中に浸漬され同日数経過した未受精卵の胚盤に極めてよく似ている(Fig. 2a, 5a.)。切片観察に依ると対照卵では被層(Periderm)内部に無数の細胞が充満して居り(Fig. 1b.)、未受精卵では胚盤原形質は均質を示して居る(Fig. 5b.)が、実験卵では細胞群が崩壊しつつある過程と思われる像が見られ(Fig. 2b.)或る程度発生した後窒息に依り退化しつつあるものと考へられる。

5日後(受精後8日間)の観察に依れば、胚盤中に油球が次第に侵入して来て原形質の分散崩壊の徴候を現わしている(Fig. 3a.)が、之は別に報告した如く(1954)未受精卵に於ても7日前後から胚盤崩壊の徴候が現われるのとよく一致している(Fig. 6, 7, 8)。その後未受精卵の胚盤は次第に崩壊を続け2~3週間後には原形質は薄く広く動物極上に分散してしまふが、実験卵に於ても殆ど同様の経過を辿つて崩壊し、その原形質も均質になつて薄く動物極上に分散する(Fig. 4a, 4b.)。

この実験によつて受精卵の胚盤が退化崩壊しても、卵子の白濁不透明化が之に伴はないことのあり得ることが証明された。

## 6. 考 察

以上の実験により、受精直後の卵子が完全な窒息処理を受けると、胚盤は退化崩壊するにも拘らず、卵子は長く白濁不透明とならず正常の外観を保持する。若し窒息処理が不完全であると、胚は不規則な発生を続けるが原腸胚形成期に著しい発生上の蹉跌を来し、之等は漸て斃死の運命にあるもので、受精後2週間頃から続々白濁不透明な死卵となつて現れることを知つた。

卵子の白濁不透明となる機構については、Gray (1932) が鱒(*Salmo fario*)の未受精卵で之を明かにしている。即ち卵黄の表層には之を被覆する卵黄膜(Vitelline membrane)或は表層細胞質(Cortical cytoplasm)があつて、之は正常の状態では水、塩類に対して不透過性(Impermeability)を有するが、損傷或はその他の原因で機能を喪失すると卵黄内の塩類が外部に拡散し、この塩類の一定濃度の下に溶解状態にあつたGlobulins蛋白質が沈澱凝固する為、卵子の白濁が起ると説明されている。

この説明で明かな如く、正常の外観を有する透明な卵子は、生理的形態的に健全な卵黄膜を具備しなければならない理である。事実斯様な卵子をBouin氏液で固定した後注意して卵膜(Chorion)を剝離すると、卵黄を完全に被覆している卵黄膜の存在が認められる。然し白濁不透明になつた卵子或はその過程にある卵子では、卵黄膜は破裂退化し卵黄が直接卵膜に接して露出している。

第3実験に於ては長く卵子の白濁不透明化が現われないのであるが、之等の卵子は何れも形態的に完全な卵黄膜を具へて居り、生理的にもその機能を果している為、正常卵の如き外観を維持しているものと考へられる。然るに卵黄膜は形態的に胚盤原形質に直接連なるものであるのに、胚盤が退化崩壊しても尙卵黄膜に異常を来さないのは如何に説明さるべきであらうか。

今未受精卵を静かに水中に放置すると、1月或はそれ以上白濁不透明とならず、長く正常卵の如き外観を保持することは周知の事実であるが、この場合に於てもその胚盤は7日頃から油球の侵入を受けて次第に崩壊を始め、2~3週間後では胚盤原形質は唯薄く広く動物極上に分散しているに過ぎない。第3実験に於ける胚盤の崩壊状態はこの未受精卵の場合と極めてよく似ている。

第3実験に於ける、胚盤の崩壊にも拘らず卵黄の白濁不透明化が之に伴はない事実は、現在明確な説明が困難で今後の研究に俟たねばならないが、それは未受精卵が長く白濁不透明とならない機構と軌を同じくするものであらうと推定される。

次に第1,2実験に於ては2週間頃より白濁不透明な死卵が続々と発生するが、この場合には既に述べた如く胚

は窒息処理後直ちに斃死せず、極めて abnormal ではあるが兎も角或る時期まで発生を継続している。

正常な発生では卵黄膜は胚の発育につれて次第に外胚葉性の胚盤皮膜に被覆され、受精後15日前後に原口 (Blastopore) の閉鎖と共に完全にこの皮膜下に没し、爾後両膜の水、塩類に対する不透過性によつて、卵子の透明が保持されると考へられるが、本実験に於ける異常発生卵は殆ど原口閉鎖期以前の状態にあつて、胚盤皮膜と共に尙卵黄膜の一部が露呈している。

白濁死卵を観察すると、胚盤皮膜、卵黄膜が破裂退行し卵黄が直接卵膜に接して露出して居り、胚は卵黄中に埋没して一部分を表面に現わすに過ぎない為、明瞭に胚の存在を認め難いものが多い。この観察に依れば胚の斃死と共に胚盤皮膜、卵黄膜の変質を来し、二次的に之が破裂して白濁不透明となつた様に思われるが、之は第3実験に於て胚の斃死が卵黄膜に異常を来さない事実と一致しない。然し対照卵に於ては白濁死卵の発生が殆ど皆無であるから、外的刺激によつて各膜の破裂が起つたものとは考へられない。結局胚の斃死が原因であると思われるが、如何なる発生段階に於て胚の斃死が卵黄の白濁不透明化を伴ふか、又それは如何なる機構によるものかについては今後の研究に俟たねばならない。

尙以上の考察から、発眼期の前後に続々と白濁死卵が発生し、然もその死卵には明瞭な胚の存在が認められなくて宛も未受精卵の如き様相を呈する現象は、単に窒息の場合に限らず、一般に受精直後の卵子が発生を阻害される様な各種の環境の下に置かれた場合にも充分起り得ることが想像される。

## 7. 摘 要

(1) 受精直後の卵子を窒息状態に置いた場合、その程度が不充分であると流水中に移してから再び発生が継続されるが、発育は異常で胚盤が小さく、原腸胚形成期に蹉跌して陥入が起らなかつたり、陥入しても以後の発育が正常でなく胚体の倭小畸形であるものが多い。斯ういうものが2週間頃から逐次白濁死卵となつて現われる。白濁死卵では胚が大部分卵黄中に埋没してしまうことが多いので、明瞭な胚の存在が認められず、未受精卵であつたかの如き観を呈する。

(2) 窒息の程度が完全に近いと流水に移してから最も早や発生は進行せず却つて細胞は退化し、1週間頃より油球の侵入により胚盤は次第に崩壊を始め、2~3週間後には胚盤原形質が広く薄く動物極上に分散してしまう。斯る卵子では長く卵黄の白濁不透明化が現われない。

(3) 未受精卵は静かに水中に放置されると長く白濁不透明化が起らないが、胚盤は矢張り、7日頃から油球の侵入を受けて崩壊を始め、2~3週間後には動物極上に薄く広く分散してしまう。

(4) 受精卵の胚盤が窒息に依つて全く崩壊してしまつても尙且卵黄の白濁不透明化が之に伴はない事実は現在説明が困難であるが、それは未受精卵が長く白濁不透明とならない機構と軌を同じくするものであると推定される。

## 8. 文 献

- (1) Affleck, R. J. : The stability of the vitelline membrane and the requirements of developing trout ova. Aust. Jour. Mar. Freshw. Res. 4 (1), 1953.
- (2) Gray, J. : The osmotic properties of the eggs of the trout. Jour. Exp. Biol. 9 (3), 1932.
- (3) 岡田篤・三浦五郎 : 石狩河口採卵鮭卵の斃死原因に就いて 鮭鱒養報11 (39), 1939 (昭和14年)
- (4) \_\_\_\_\_ : 賦活された鮭未受精卵胚盤の形態変化に就て 北海道水産孵化場試験報告9 (1.2), 1954.

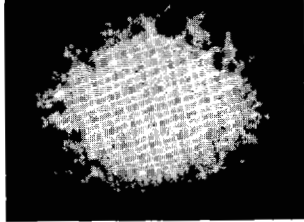


Fig. 1a.

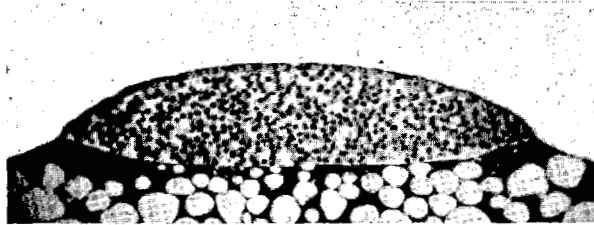


Fig. 1b.

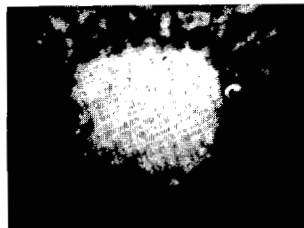


Fig. 2a.

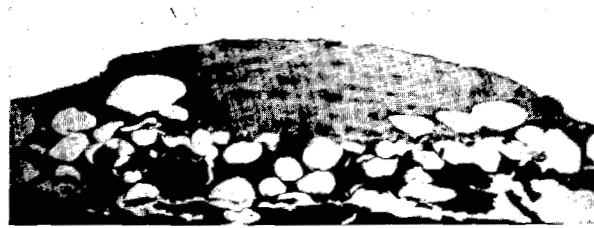


Fig. 2b.

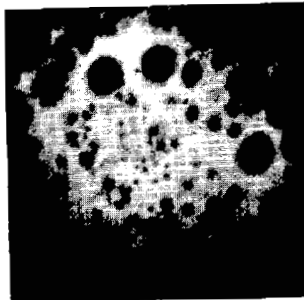


Fig. 3a.



Fig. 3b.

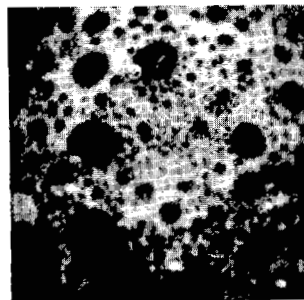


Fig. 4a.



Fig. 4b.

鮭の正常發生卵及び窒息卵の胚盤  
(各図の a は外觀×12, b は切片×43)

Fig. 1. 受精後4日経過の正常發育卵

Fig. 2. 受精後4日経過の窒息卵

Fig. 3. 受精後8日経過の窒息卵

Fig. 4. 受精後16日経過の窒息卵

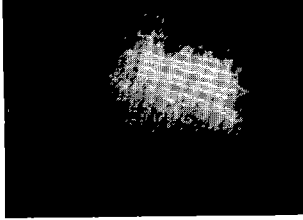


Fig. 5a.

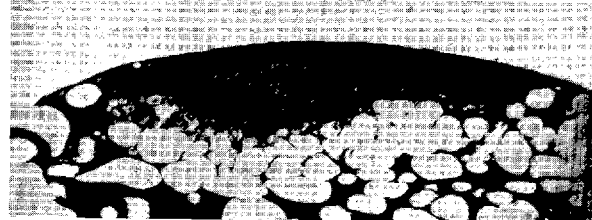


Fig. 5b.

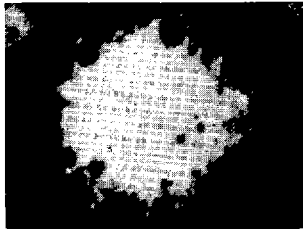


Fig. 6a.

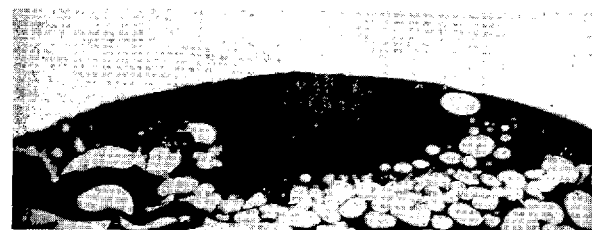


Fig. 6b.

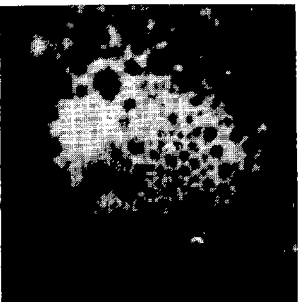


Fig. 7a.

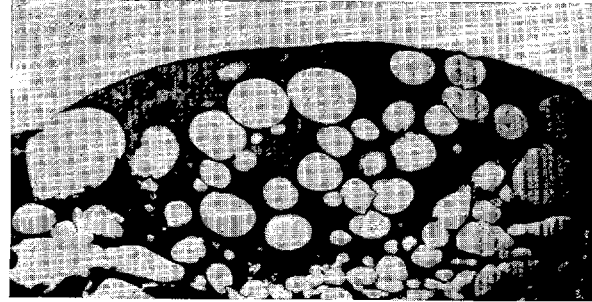


Fig. 7b.

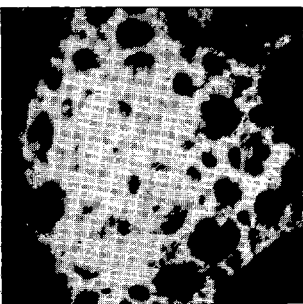


Fig. 8a.



Fig. 8b.

鮭の未受精卵の胚盤

(各図の a は外観×12, b は切片×43)

Fig. 5. 淡水浸漬後 5日経過の未受精卵

Fig. 6. 淡水浸漬後 7日経過の未受精卵

Fig. 7. 淡水浸漬後 10日経過の未受精卵

Fig. 8. 淡水浸漬後 26日経過の未受精卵