

サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 卵の発生に
およぼす塩水処理の影響—Ⅱ

死卵の発生ならびに異常ふ化現象について

橋 本 進

The Effect of Treatment with Salt Water on the Development
of Chum Salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum), Eggs …… II.
The Appearance of Dead Eggs and Unusual
Phenomena of Incubation

Susumu HASHIMOTO

The present investigation was undertaken in order to elucidate the relationship between the impediment of development caused by the concentration of salt water and the period of treatment.

1. The incubation rate in eggs treated with a salt solution was lowered by the occurrence of dead eggs and abnormal hatching. Moreover, the period from fertilization to the beginning of hatching was reduced, and the number of days from the first hatching until the last hatching increased.

2. The salt which is absorbed on the surface of the eggs should be removed within eight minutes in order that the incubation rate in removing with salt water will not decrease.

3. The removing of the worthless eggs with salt water should be carried out using a solution below a concentration of 12%, and the salt absorbed on the surface of the eggs should be removed within 5 minutes, so that the incubation period will not increase.

4. It is considered that the relationship between the decrease of the period until the eggs first began to hatch and the increase of the period from the time when the first eggs hatched until the time the last eggs hatched is a compensatory relationship existing in the treatment within a fixed period.

5. The above-mentioned shortening of the hatching period was considered to occur for the reason that the chorion is digested by the hatching enzyme according to a phenomena described later. Namely, the moisture of the perivitelline liquid is dehydrated and the chorion press and destroy the enzyme gland, and enzyme dissolves in perivitelline. Abnormal hatching is considered to take place due to the partial digestion with the enzyme on the chorion.

6. The part where the abnormal incubation began was confined to around the head of the embryo in relation to the location of the enzyme gland on the embryo.

7. The hastening of incubation, degree of occurrence of dead eggs, and abnormal hatching were considered to be closely related to the time of appearance of the enzyme gland and the degree of development of the embryo.

ま え が き

前報⁵⁾では発眼期のさけ卵に含まれる死卵やその他の発生不良卵は、食塩水に浸漬することにより容易に正常卵から分離されることが知られた。しかしながら、食塩水による検卵法を実際の作業に用いるためには、塩水処理が卵のその後の発生に対してどのように影響するかを知る必要がある。

さけ卵に対する塩水処理の影響については、斎藤・佐野(1933)³⁾らにより抵抗力が発眼時(受精後30~38日)に最大となり、その後の処理にあっては、死卵が生じ易くなって著しくふ化率を低下させること、またふ化前5日頃の処理にあっては、ふ化時期が促進されることなどが知られている。

そこで本報では、検卵用食塩水の実用濃度と考えられる12~13%溶液を主体にして死卵の出現やその他のふ化現象における異常の有無について調べたところ、斎藤らの結果に較べて低濃度の溶液で、また短時間の処理においても死卵が多く生じ、またあたかも卵膜軟化症(1934)⁴⁾にかかった卵がふ化するような状態のものが観察された。そして、この異常ふ化現象はふ化時期の促進に関係することが推察された。ここにこれらの結果を報告し、今後の人工ふ化事業への参考に供したい。

I. 材料および方法

1. 供試卵：当ふ化場根室支場管内西別川14線採卵場で、1961年12月10日に採卵された受精卵を、同じく千歳支場ふ化槽に収容し、水温8℃の湧水で発育させた発眼卵を各実験区とも100粒あて用いた。
2. 食塩水の濃度：重量パーセントでそれぞれ11.0%, 12.0%, 12.9%および14.0%になるよう粗塩を溶かしたものを用いた。しかしこれらの食塩水は、前報での記載方法に準じてそれぞれ11.4%, 12.4%, 13.5%および14.6%の濃度とし、それぞれA, B, CおよびD区とした。
3. 方法：アトキンスふ化槽に収容されていた受精後53日目の卵を、第1表に示した区分にしたがって食塩水に浸漬し、その後出現する死卵数、異常ふ化数、ふ化日数の短縮ならびに異常ふ化の様態などを観察した。

第1表 実験区分

濃 度	浸漬時間 (分)					
	5	8	10	15	20	25
11.4 %	A-5	A-8	A-10	A-15	A-20	A-25
12.4 %	B-5	B-8	B-10	B-15	B-20	—
13.5 %	C-5	C-8	C-10	C-15	—	—
14.6 %	D-5	D-8	—	—	—	—

II. 結果および考察

1. 死卵、異常ふ化ならびに正常ふ化の出現率と塩水処理との関係

塩水処理による死卵の出現と塩分濃度ならびに浸漬時間との関係を第1図に示した。

なお、浸漬時間8分でA区およびB区に出現した死卵は、これより濃度の高い食塩水で出現しないため、特別な事故によるものと考えられる。

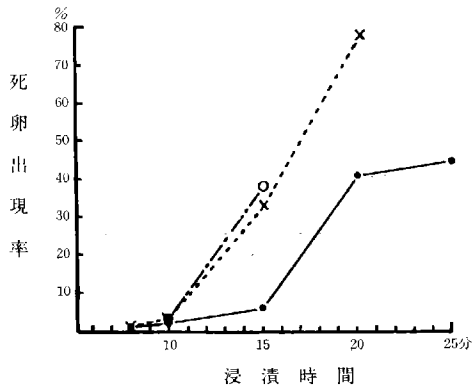
これらの結果から、浸漬時間8分では塩水処理に起因する死卵は出現しないものと考えられる。しかしながら、浸漬時間10分以上では、時間の経過にともなって著しく死卵が出現し、その傾向はA区ではS字的に、また

B区およびC区の食塩水では直線的であった。

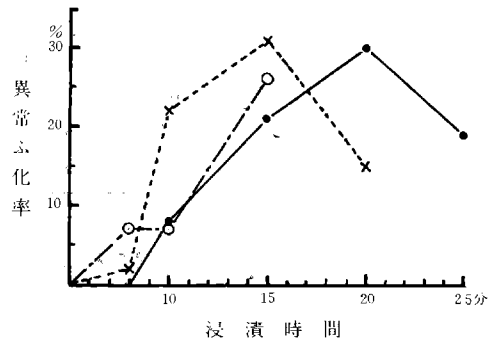
次に塩水処理した卵では、後に述べるように正規のふ化時期前に卵膜が穿孔状に破れ、ふ化の途中、あるいはふ化後に斃死することが観察された。したがって、このような異常ふ化によって斃死する卵の出現率と塩分濃度および浸漬時間との関係を調べ、第2図に示した。

すなわち、異常ふ化にもとづく斃死はA区では浸漬時間10分、BおよびC区では同じく8分から発生し、これは時間の経過につれて著しく増加した。しかしながら、浸漬時間5分では各濃度区とも異常ふ化は認められなかった。

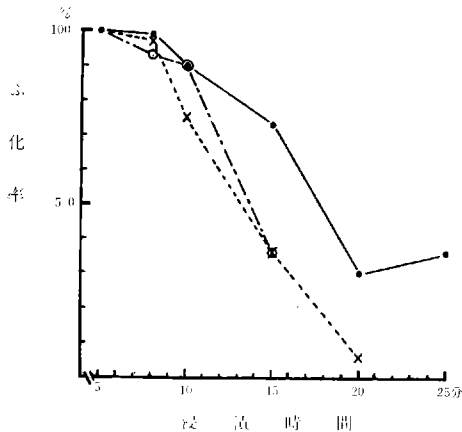
また、ふ化率と塩水処理との関係については、第3図に示したように各濃度区とも浸漬時間5分では全ての卵が正常にふ化した。また浸漬時間8分の場合も、C区でいくらかふ化率が低下した以外各区ともほぼ正常にふ化した。しかしながら浸漬時間10分以上では、ふ化率が時間に対して直線的に急速に減少し、これは高濃度の場合に顕著であった。



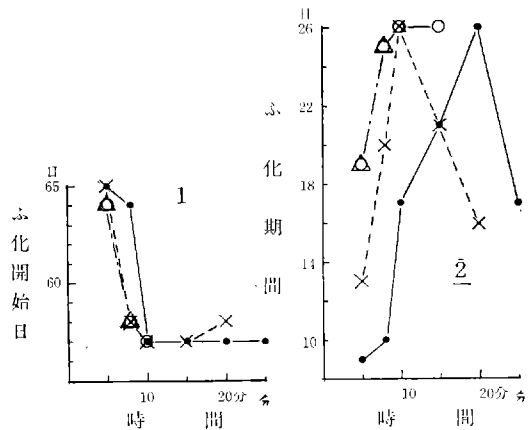
第1図 死卵の出現と塩水処理との関係
●——11.4%区；×——12.4%区；
○——13.5%区



第2図 異常ふ化と塩水処理との関係
図中の記号は第1図参照。



第3図 ふ化率と塩水処理との関係
図中の記号は第1図参照。



第4図 塩水処理とふ化開始日およびふ化期間との関係
1および2は、受精からふ化開始までの日数およびふ化期間におよぼす処理の影響を表わしたものである。図中の記号は第1図参照。

サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 卵の発生におよぼす塩水処理の影響—II

以上の結果、ふ化過程において塩水による検卵が行なわれる場合には、塩分濃度や浸漬時間との密接な関係のもとに死卵や異常ふ化が発生し、このためふ化率が著しく低下する恐れのあることが知られた。

異常ふ化は死卵の場合より低濃度ならびに短い浸漬時間で出現するため、卵に対する塩水処理の影響は、卵が斃死する前にまず異常ふ化と言う現象で現われることが推察される。なお、食塩水の濃度がこの実験で用いられた範囲内では、浸漬時間8分までふ化率に対する影響はないものと考えられる。

したがって、食塩水による検卵でふ化率を低下させないためには、塩水処理後に卵に附着する塩分を、少なくとも浸漬から8分以内に除去することが必要である。

2. ふ化開始日の促進と塩水処理との関係

塩水処理によって生じたふ化開始日の促進、ならびにふ化開始から終了までの日数(以下ふ化期間とする)の延び具合を調べ第2表および第3表に示した。

第2表 受精からふ化開始までの日数と塩水処理

濃度% (区)	浸 漬 時 間 (分)					
	5	8	10	15	20	25
11.4 (A)	65 (日)	64 (日)	57 (日)	57 (日)	57 (日)	57 (日)
12.4 (B)	65 (〃)	58 (〃)	57 (〃)	57 (〃)	58 (〃)	—
13.5 (C)	64 (〃)	58 (〃)	57 (〃)	57 (〃)	—	—
14.6 (D)	64 (〃)	58 (〃)	—	—	—	—

第3表 ふ化期間と塩水処理

濃度% (区)	浸 漬 時 間 (分)					
	5	8	10	15	20	25
11.4 (A)	9 (日)	10 (日)	17 (日)	21 (日)	26 (日)	17 (日)
12.4 (B)	13 (〃)	20 (〃)	26 (〃)	21 (〃)	16 (〃)	—
13.5 (C)	19 (〃)	25 (〃)	26 (〃)	26 (〃)	—	—
14.6 (D)	19 (〃)	25 (〃)	—	—	—	—

すなわち、第4図に示したように浸漬時間8分では、B区以上の濃度液においてふ化開始日が著しく促進(7日間)され、同じく10分以上の浸漬ではすべての濃度区とも同じ日数のふ化促進現象が生じた。この結果、ふ化開始日は、食塩水の濃度にはあまり関係なく、浸漬時間に著しく影響されることが推察される。

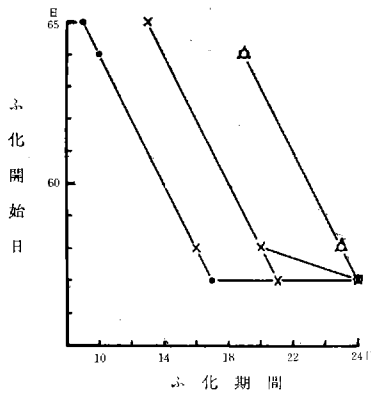
またふ化期間は、ある濃度および浸漬時間内では、それら濃度および時間の増加につれて直線的に急激に増加することが知られた。この場合、ふ化期間は、ふ化開始日に対する場合と異なり、短時間の浸漬で濃度の影響を著しく受けることが知られた(第2表、第3表)。なお、ふ化期間は、濃度によって異なるけれども、卵がある時間以上浸漬されると再度急激に減少することが観察された(第4図—2)。

以上の結果、卵に対する塩水処理の影響については、まず食塩水の濃度に関連してふ化期間の増加現象が現われ、ついで浸漬時間に関係して、ふ化開始日の促進現象の現われることが推察される。この場合、濃度により異なるけれども、卵がある一定の時間内で塩水に浸漬されたときには、上に述べた塩水の2つの影響の相乗作用から、受精からふ化が完了するまでの日数は、第5図に示したようにふ化開始日が促進された日数だけふ化期間が増加して一定することが知られた。この現象は卵の塩水に対する発生上の一種の補償機能とも考えられる。

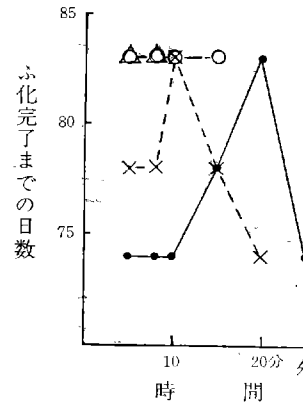
なお、上に述べたような補償現象を示した場合のふ化完了までの日数は、浸漬時間8分までは食塩水の濃度に対して正の相関関係を示した。したがって、塩水に浸漬された卵のふ化完了までの日数は、一定の浸漬時間内では塩水の濃度に著しく規制されることがうかがわれる。

しかしながらこのような現象は、食塩水の濃度により異なるけれども、浸漬時間の増加により消失した。した

がってその後のふ化完了までの日数と浸漬時間との関係については浸漬時間の経過ともなって日数の著しい増加と減少が観察された(第6図)。



第5図 ふ化開始までの日数とふ化期間との関係
図中の記号は第1図参照。



第6図 ふ化完了までの日数と塩水処理との関係
図中の記号は第1図参照。

このような現象については、浸漬時間がある範囲を越えると、発生上の補償機能を越えた影響が卵に生じることを示唆しているようにも考えられるが、その原因については明らかにすることが出来なかった。

3. 正常ふ化と異常ふ化の関係

異常ふ化の様態については次項に述べることにし、まず正常または異常な様態でふ化した仔魚の時間的な出現経過(以下ふ化速度として表わす)を第7図および第8図に示した。

すなわち、塩水処理が行なわれた卵から正常にふ化した仔魚の出現経過については、先に述べたふ化促進現象にみられた傾向と同様に、各濃度区とも浸漬時間5分の卵では短時日の間に急速にふ化し、浸漬後の日数との間に直線的な関係がみられた。なをA区では、浸漬時間8分の卵も浸漬時間5分の卵と同様なふ化の経過を示した。

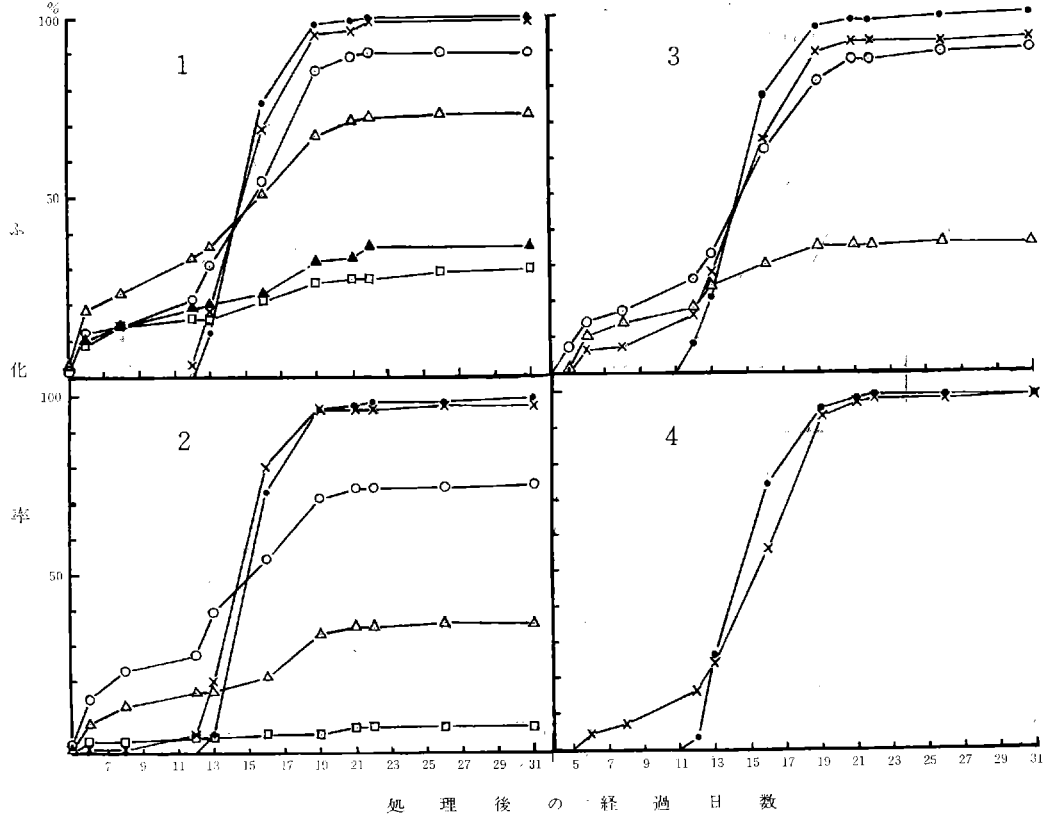
しかしながら、B区以上の濃度区で浸漬時間8分以上の卵では、またA区で同じく10分以上の卵では、前項に述べたとおりふ化時期が早められるため、ふ化仔魚の出現速度は一種のS字的な曲線を示した。またこのようなとき、A区およびC区で8分浸漬された場合を除くと、浸漬時間が短いほどふ化初期におけるふ化速度は著しく、またふ化率も高い傾向を示した(第7図)。

次に異常な状態でふ化した仔魚の出現については、正常ふ化の場合とは反対に、浸漬時間が長いほどふ化初期における異常ふ化の速度は早く、また異常ふ化率も高い傾向を示した。また異常ふ化の出現経過については、正常ふ化の場合と異なり経過時間に対して直線的な傾向を示した(第8図)。

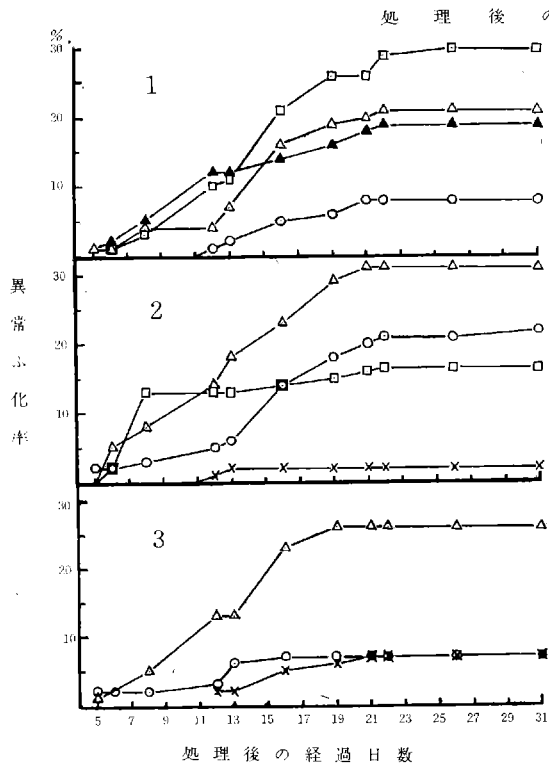
なお、正常ふ化の現象については、森脇(1910)、犬飼、国弘、相岡(1938)、田中(1943)らにより、ふ化酵素腺がふ化前12時間頃に成熟、崩壊し、これに含まれる酵素によって卵膜が消化され、仔魚の運動によって、ふ化の完成することが知られている。また、この酵素の作用力は極めて強いので、卵膜の透明化を肉眼で知ってから3時間以内にふ化が完了すると言われている。

これらの結果から、塩水処理によって生じたふ化の促進やその他の異常なふ化現象の成因については、次のことが考えられた。すなわち、塩水処理に起因するふ化の異常は、食塩水の濃度や浸漬時間などに規制され(第3図、第4図)、一種の化学反応の結果に類似している。したがって、塩水処理に起因する種々の異常現象は、上に述べたふ化酵素の作用に置換して考えることが出来る。

このため、塩水処理卵におけるふ化促進、異常ふ化現象は、次項に述べるような機構でふ化酵素の作用を受けたことに起因したものと推察される。そして異常ふ化の程度は、塩水の作用力に関係して酵素の作用力に強弱が生じるためと推察される。



第7図 ふ化率の経時変化と塩水処理との関係
1, 2, 3および4はそれぞれ11.4%, 12.4%, 13.5%および14.6%の食塩水で処理された卵のふ化率の経時的な変化を示したものである。図中の記号は浸漬時間を表わす; ●5分; ×8分; ○10分; △15分; □20分; ▲25分。



第8図 異常ふ化率の経時変化と塩水処理との関係
1, 2および3はそれぞれ11.4%, 12.4%および13.5%の食塩水で処理された卵の異常ふ化率の経時的な変化を示したものである。図中の記号は第7図参照。

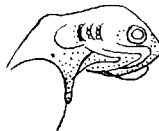


第 9 図 ふ化した卵膜，1 は異常ふ化した卵膜で，仔魚は大部分斃死する。2 は塩水処理の影響を受ける程度を受けたもので，仔魚は頭部からふ化する場合が多く生残率も高い。3 は正常にふ化した卵膜である。

4. 異常ふ化の様態について

異常ふ化では，第 9 図に示したように卵膜が穴状に破れるためふ化が容易に行なわれ難く，ふ化の途中やふ化後に大部分のものが斃死した。この原因については，前項に述べたようにふ化酵素の作用に起因することが推察されたため，ふ化酵素腺の存在位置と異常ふ化の様態との関係から考察した。

すなわち，石田 (1984)¹⁾によれば，ふ化酵素腺は第 10 図に示したように受精後 40 日頃（ふ化日数 52 日の場合）に，体の前半部，主に口腔内の口蓋，卵黄のうの頭部に接近した部分などの表皮細胞中に出現する乳白色粒状の単細胞腺として知られている。これは，発生が進むにつれ，数を増し，ふ化前 12 時間頃に成熟崩壊する。そして，酵素は囲卵腔液に溶出して卵殻の内面を消化する。このため卵膜は全体に亘って薄く軟化する。したがって仔魚は，第 11 図に示したように頭部および尾部のいずれよりも無事にふ化することが出来る。



第 10 図 ふ化酵素腺の主な位置
(石田壽老：ふ化酵素より模写)

しかし，異常ふ化は卵膜が穴状に破れるため，第 12 図に示したように頭部よりふ化するもの（第 12 図—I），比較的頭部に近い卵黄囊からふ化が始まるもの（第 12 図—II），頭部と卵黄囊とが同時に出てくるもの（第 12 図—III）および尾と卵黄囊が同時に出てくるもの（第 12 図—IV）などの 4 つに大別された。これらの異常ふ化の結果については，頭部よりふ化を開始するものは第 12 図—I に示した異常ふ化様式 3，4 の間に大半が斃死した。しかし，まれにはふ化を完了するものも認められたが，大部分のものは同じくふ化様式 5 および 6 に示すように卵黄囊が傷つき，蛋白質の白色凝固が起きて斃死した。なお，このような仔魚は卵黄囊表面からの部頭部の分離が不完全な場合が多いため，その発生度合については，

Н. Н. ДИСЛЕР (1957)²⁾により知られているように 72~73 体節期の胚体と同一段階のものと考えられる。したがってこのような状態での斃死は主に早期ふ化に起因することが推察される。また，卵黄部から異常ふ化を始めるものは殆んどふ化完了前に斃死した（第 12 図—II）。この場合には，卵黄囊が出てくる前に蛋白質様のものが突出凝固し，死卵となっているものが多数認められた（第 12 図—II，1~3）。このような死卵の発生原因については，発生の遅れた胚体では胚体を卵膜の外に出させることが出来るほどふ化酵素の作用力がなく，また未完成な胚体では卵黄膜が弱いため，これらが相対的に働いて極部的に消化された卵膜より卵黄が突出するためと考えられる。

以上のように異常ふ化の様態は，あたかも卵膜軟化症に罹った卵のふ化に似ているが，卵膜軟化症と異なり，主に頭部または頭に近い場所に限定されていた。したがって，これら異常ふ化現象は明らかにふ化酵素の作用に起因し，発生機構については，塩水浸漬により囲卵腔の水が脱水され，胚体の頭部近くに密集するふ化酵素腺に接触した卵膜が，酵素腺を破壊して局所的な酵素作用を受けたためと考えられる。このため，ふ化の促進やその他の異常ふ化現象と食塩水の濃度や浸漬時間との間にみられた関係は，濃度の高低にもなって生じるふ化酵素

サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 卵の発生におよぼす塩水処理の影響—II

の反応時間の長短ならびに作用力の強弱によるものと考えられる。

なお、死卵および異常ふ化は、浸漬時間の増加にともない0次反応的に発生している。このことから、ふ化前12日頃の胚体には、卵膜を溶解するに充分な量の酵素を内在していることが推察される。

したがって、塩水処理により検卵を行なうためには、酵素腺の出現にともなう酵素作用の発現時期ならびに消長などを究明しなければならないものと考えられる。

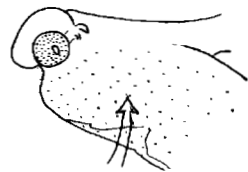
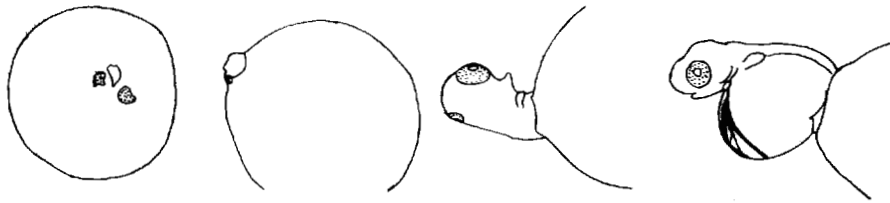
なお、浸漬時間の増加にともなうふ化期間の増加ならびにふ化完了までの日数の増加については、その原因を明らかにすることが出来なかった。

要 約

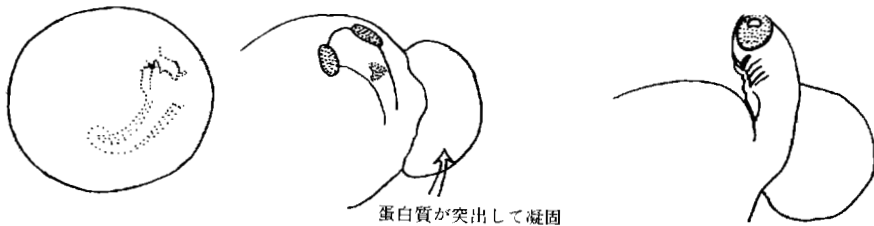
1. 塩水処理が行なわれた卵では、死卵や異常ふ化が発生してふ化率が低下し、またふ化開始時期の促進ならびにふ化期間の増加などが生じた。
2. 塩水処理による検卵でふ化率を低下させないためには、卵に附着する塩分を8分以内に除去しなければならない。
3. 塩水処理の影響がふ化期間を著しく増加させたものまで危険なものとするれば、食塩水による検卵では、塩分濃度が12.0%以下の溶液を用い、5分以内に卵に附着する塩分を除去しなければならない。
4. ふ化開始日の促進とふ化期間の増加との間には、塩水処理が一定の時間内に行なわれた場合、一種の補償関係にあることが推察された。
5. ふ化の促進現象は、塩水により卵腔液が脱水されて酵素腺が卵殻に圧迫破壊され、酵素が卵膜を消化して生じたものと推察される。また異常ふ化は、ふ化酵素による卵膜の局所的な消化に起因するものと推察される。
6. 異常ふ化の開始部位は、酵素腺の位置に起因して胚体の頭部附近に限定され、その様態には酵素作用の強さに起因して4つの型がみられた。
7. ふ化促進ならびに死卵や異常ふ化の発生程度は、ふ化酵素腺の出現時期および胚体の発生度合いと密接な関係にあるものと考えられる。

文 献

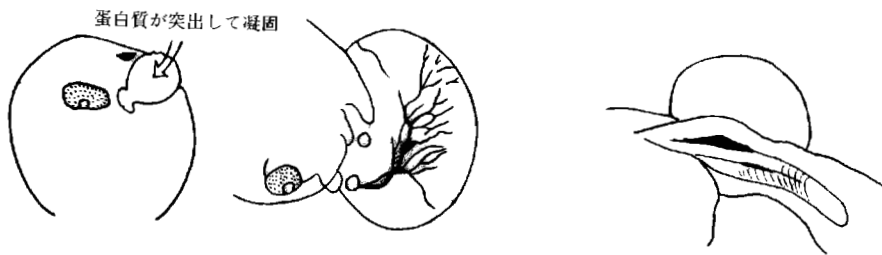
1. 石田壽老 1948. 孵化酵素, 日本生物学業績V. 139, 北隆館, 東京.
2. Дислер, Н. Н. 1957. Развитие Осенней кеты р. Амура *Oncorhynchus keta* (Walb.). Изд. А. Н. СССР. В.20, 3-70.
3. 斎藤光雄・佐野三誠 1933. ふ化槽に発生する水生菌と、食塩水に依り、鮭及び虹鱒卵の水生菌被害防止に就いて. 北海道庁千歳鮭鱒孵化場報告第一冊, 1-1.
4. 高安三次・武田麻之輔・大野磯吉 1934. 水産調査報告第37冊, 61-79.
5. 橋本進 1970. サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 卵の発生におよぼす塩水処理の影響-I. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, 25. 45-51.



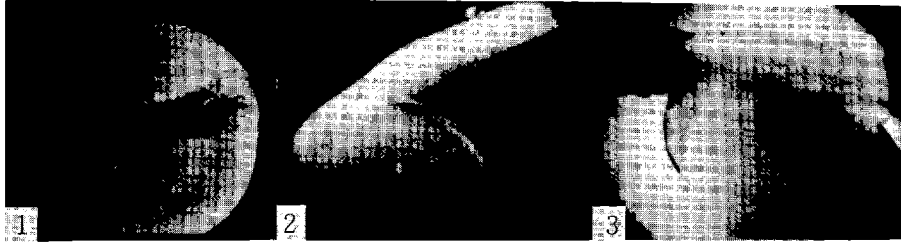
蛋白質凝固



蛋白質が突出して凝固

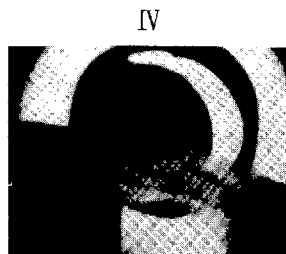
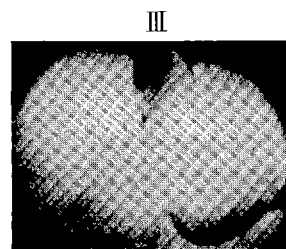
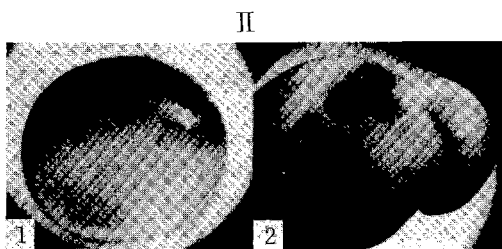
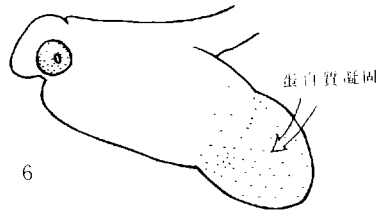
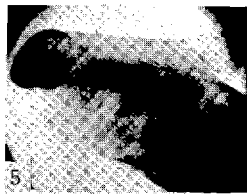
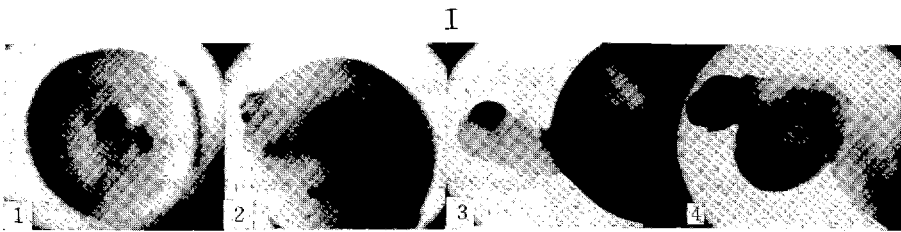


蛋白質が突出して凝固



第11図 正常なふ化の様態

1. ふ化を開始したところ；2. 尾の出たところ；3. 卵殻からまきに出ようとするところ。



第12図 異常なふ化の様態

ふ化の途中で斃死するものを示す；Ⅰは頭部からふ化を始めたもの；Ⅱは卵黄部からふ化を始めたもの；Ⅲは頭と卵黄嚢とが同時に卵殻から出たもの；Ⅳは同じく尾と卵黄嚢が出たもの。