

8℃の湧水に於けるサケ (*Oncorhynchus keta*)
卵の発生について (予報)

広井 修*, 安川 雅夫*, 末武 敏夫*
佐々木 正三*, 富田 竹雄*, 佐藤 幸男*

A Preliminary Report on the Development of Chum Salmon
(*Oncorhynchus keta*) Egg kept in the Spring Water of 8°C

Osamu HIROI*, Masao YASUKAWA*, Toshio SUETAKE*
Shozo SASAKI*, Takeo TOMITA*, and Yukio SATO*

The egg of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) taken from a female captured on 21st of November, 1972 in the Chitose River was inseminated and reared in the spring water of 8°C and then their development was examined.

A first cleavage furrow appeared vertically 10 hours after insemination. Eggs of 2 cell stage, 4 cell stage, 8 cell stage and of 16 cell stage were obtained during the periods of 10 to 15 hours, 15 to 19 hours, 19 to 24 hours and 25 to 28 hours, respectively. The blastoderm of these eggs was composed of monolayered blastomeres. Fifth cleavage furrow appeared horizontally 29 or 30 hours after insemination, dividing the blastomeres into two layers of the upper and the lower. The eggs of 32 cell stage, 64 cell stage and of morula stage were observed during the periods from 29 to 33 hours, 34 to 38 hours and from 38 to 48 hours, respectively. In the morula stage, the blastoderm came to form multilayered blastomeres as the result of cleavages of many times in vertical or horizontal planes.

Eggs of 3 days after insemination showed early blastula. During the periods ranging from 4 to 7 days after insemination, the blastoderm gradually enveloped their yolk mass by the downward movement and became flattening, initiating the formation of germ ring. In two weeks, the blastoderm covered a half of the egg sphere and the embryonic body of 3 mm in length had formed already the optic vesicle in the head. In three weeks, the embryonic body measured about 7 mm in length, having undergone already the closure of blastopore. In four weeks, a pair of black eyes was clearly observed through the egg membrane, entering in the eyeing stage. The embryonic body was 11 mm in length. In 4 weeks, 4 days, the body begun to move. The almost of embryo hatched out 60 days after insemination. They were 22 mm in body length.

The estimation of fertilization rates can be carried out most easily and most exactly during the period of 17 to 24 hours after insemination, at that time eggs are developed to 4 cell stage or 8

cell stage.

まえがき

さけ・ますの人工ふ化事業をより一層向上させるためには、再生産親魚の確保が重要な要素であるが、その後の種卵確保、適切な卵管理、稚幼魚の育成、適正な稚幼魚の放流などもまた重要な課題であり、それと共にサケ・マス[・]の生理・生態を究明しつつ、増殖技術の向上に努めなければならない。この意味において卵の発生（初期発生）および稚魚期の諸器官の発達（後期発生）を熟知することは基本的に重要なことからのひとつと考えられる。

サケ (*Oncorhynchus keta*) の初期発生は Saito (1950)、岡田 (1954a, b)、Mahon & Hoar (1956) および Okada (1960) 等により詳細な形態学的研究がなされているが、一定水温を用いて、発生の進行過程を詳しく追跡した報告はみられない。

著者らはサケの同腹卵を用いて 8℃ の湧水における発生の進行過程を調べた。今回は特に発生初期の結果について簡単に報告する。

本文に入るに先立ち、本研究について懇篤なる御指導と御助言を賜わった北海道大学水産学部、山本喜一郎教授に厚く御礼申し上げます。また、本研究に用いたサケ卵および精子の採取に多大の便宜を賜わった北海道さけ・ます増殖事業協会、三原健夫会長、同西越捕獲場、布施智常氏および同捕獲場の皆様に深甚の謝意を表します。

材料および方法

本研究に用いたサケ (*Oncorhynchus keta*) の成熟卵は 1972 年 11 月 21 日に石狩川水系千歳川の北海道さけ・ます増殖事業協会西越捕獲場で捕獲した 3 年魚（フオーク・レンジス 66.4 cm, 体重 3,240 g）を開腹して採取した。卵数は 3,052 粒で、その生卵の卵重は平均 0.18 g、卵径は平均 7.3 mm であった。

卵は受精せずに体腔液と共に保温ジャーに收容した（A M 11:30）。同時に 6 尾の成熟雄サケから精液を氷冷した瓶に搾出した。採卵時の室温は 9.0℃ であった。採取した未受精卵および精液は車で約 20 分間さけ・ますふ化場千歳支場ふ化室に運搬した。

媒精はふ化室で 12 時 15 分に行なった。媒精時の室温は 9.0℃ であった。卵はアトキンス式ふ化器に入れ、水温 8.0℃ のふ化用水（湧水）に浸漬した。

ふ化器に收容した卵は発生状態を調べるため、媒精後 48 時間まで 1 時間間隔で、2～7 日までは 1 日間間隔で各々 20 粒 Bouin 液で固定し、卵膜を除去して光学顕微鏡下で調べた。また媒精後 2, 3, 4 週間の卵も同じく固定した。

結 果

媒精直後に 4 粒、媒精後 16 時間までにさらに 6 粒の死卵が認められた。しかし、その後 4 週間（発眼期）まで死卵はみられなかった。媒精後 4 週間までに固定観察した 1,250 粒中で未受精卵は僅かに 2 粒であった。発眼後卵に強い振動を与えて淘汰検卵を行なったところ、12 粒の未受精死卵および 2 粒の受精後死卵が得られた。従って受精率は 99.2% となった。

胚盤形成期 (Blastodisc formation stage)

受精から第 1 分割の開始直前までの卵を胚盤形成期とした。この期間に卵は胚盤形成を行なうが、胚盤は平坦であった。この時期の卵は媒精後 10 時間までを占めた（図—1）。

2 細胞期 (2 cell stage)

第 1 分割の開始から第 2 分割開始直前までの卵で、外観上明らかに 2 割球が認められるものおよび 2 割球を形成中のものを 2 細胞期とした。この時期の卵は媒精後 10 時間から 15 時間まで出現した（図—1）。媒精後 10 時間では 85%、11～14 時間では 100%、そして 15 時間では 55% の卵がこの時期を示し、45% の卵は 4 細胞期に入っていた。媒精後 10 時間で分割溝は平坦な胚盤の中央部に浅く部分的に生じ、その後分割溝は深く延びると共に胚盤も隆起する。13, 14 時間の卵では 2 つの明瞭な割球がみられた。

8℃の湧水に於けるサケ (*Oncorhynchus keta*) 卵の発生について (予報)

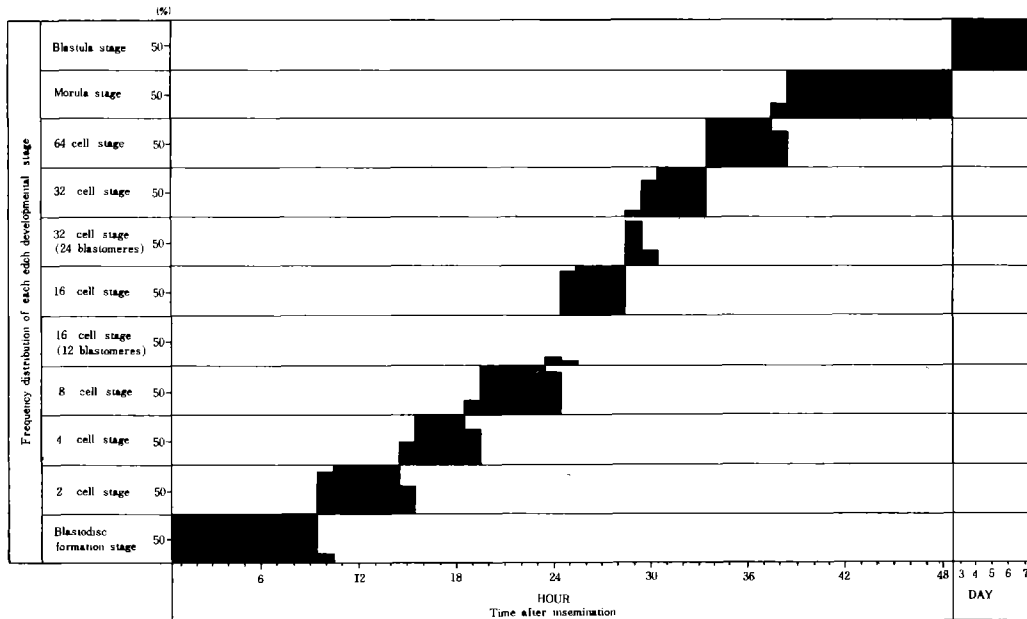


図 1. 8℃の水温におけるサケ卵の発生黒柱は各発生時期の卵の出現頻度 (%) を示す

Text-fig. 1. Development of chum salmon eggs at the water temperature of 8℃

The shaded portion represents a percentage of ova in each developmental stage.

4細胞期 (4 cell stage)

第2分割の開始から第3分割開始直前までの卵で、外観上明らかに4割球が認められるものおよび4割球を形成中のものを4細胞期とした。この時期の卵は媒精後15時間から19時間に出現した(図-1)。媒精後15時間では45%、16~18時間では100%そして19時間では70%の卵がこの時期を示し、30%は8細胞期に該当していた。媒精後15、16時間では第2分割溝が部分的に浅くみられるのみで、肉眼では2割球にみえた。17~19時間ではその分割溝は深くなり、肉眼でも4割球と判別しえた。

8細胞期 (8 cell stage)

第3分割の開始から第4分割開始直前までの卵で、外観上明らかに8割球が認められるものおよび8割球を形成中のものを8細胞期とした。この時期の卵は媒精後19時間から24時間にみられた(図-1)。媒精後19時間では30%、20~30時間では100%、24時間では85%の卵がこの時期を示していた。媒精後19、20時間では第3分割溝が浅く、一見、4割球の様にみられたが、21~24時間では肉眼でも容易に8割球が認められ、胚盤は長方形又は長円形となった。

16細胞期 (16 cell stage)

第4分割の開始から第5分割の開始直前までの卵で、外観上明らかに16割球が認められるものおよび16割球を形成中のものを16細胞期とした。この時期の卵は媒精後24時間から28時間に出現した(図-1)。媒精後24時間の卵の15%がこの時期のもっとも初期のものであった。これらの卵では8割球のうちの中央部の4個の割球にのみ第3分割溝がみられ、両外側の各々2個の割球には注意深く観察しても、分割溝が認めえなかった。従って外観上、これらの胚盤は12割球にみられた。同形態の卵は媒精後25時間でも10%出現した(図-1)。媒精後25時間では残りの90%の卵は一見、12割球にみられたが、外側の4割球に浅い分割溝が生じていた。媒精後26時間から28時間の卵は明瞭に16割球が認められた。胚盤は低い階円丘陵状を呈していた。

32細胞期 (32 cell stage)

第5分割の開始から第6分割の開始直前までの卵で、外観上32割球が認められるものおよび32割球を形成中の

ものを32細胞期とした。この時期の卵は媒精後29時間から33時間にあらわれた(図-1)。媒精後29時間の90%および30時間の30%の卵がこの時期のもっとも初期のものであった。これらの卵では中央部に比較的小きな16割球と周囲に大きい8割球がみられ、外観上24割球が認められる。同じく、媒精後29時間の10%および30時間の70%の卵もまた一見、24割球にみられるが、外側の8割球には浅い分割溝が存在していた。媒精後31時間の卵は全て32割球の卵であった。胚盤は低い階円丘陵形で、割球は上層の16割球が卵黄に接した16割球の上に浮あがってみられる。従ってこの時期の第5分割は第4分割までの垂直面(vertical planes)とは異なり、水平面(horizontal planes)で生じ、結果として胚盤は単層から2層の割球配列となった。

64細胞期 (64 cell stage)

第6分割の開始から第7分割の開始直前までの卵で、外観上、64割球を形成しているかまたはその途上のものを64細胞期とした。この時期の卵は媒精後34時間から38時間を占めていた(図-1)。媒精後34、35時間の卵は第6分割の進行により、胚盤の上層に32割球が数えられるが、下層の割球は比較的大きく、数も少ないようにみえることから第6分割が下層までは進んでいないようにみられた。この正確な判定は組織学的観察によらねばならない。一方、36、37時間の全卵および38時間の70%の卵は上下層にほぼ似た大きさの割球がみられ、上層に32割球が確認された。胚盤はさらに盛あがり、半球形に近くなった。

桑実期 (Morula stage)

第7分割以降の多くの分割により、分割途上および分割後の不定形の割球が桑実様形態を示す時期を桑実期とした。この時期の卵は媒精後38時間から48時間に亘って観察された。媒精後38時間の30%の卵がこの時期のもっとも初期のものであった。これらの卵は中央部にのみ、第7分割の進行により生じた比較的小形の割球がみられるが、割球の計数は極めて困難となっていた。この時期では時間を経るごとに割球は数度の垂直面又は水平面の分割のくりかえしにより数が増えると共に多層配列となった。割球はさらに小さくなり形は不定形であった。胚盤はさらに盛あがり、半階円球状を呈した。

胞胚期 (Blastula stage)

多くの分割によって生じた小割球がほぼ球形となって胚盤内に均一に分布する卵から胚盤が卵黄を包むように拡大し、胚環の一部が陥入する卵までを胞胚期とした。この時期は媒精後3日から7日間の卵に観察された(図-1)。媒精後3日の卵は饅頭状に盛あがった胚盤を有し、割球はほぼ球形で均一に分布していた。媒精後4日以降の卵の胚盤は徐々に卵黄表面に沿って拡大すると共に平坦になった。媒精後5日から7日にかけて胚盤の周辺は肥厚し、胚環(Germ ring)を形成するが、その形成過程は移行的で外観から明瞭に区別することは困難であった。また、胚環の陥入についても明瞭に判別しえなかった。胚環の形成およびその一部の陥入に関しても、詳細な組織学的観察によって判定する必要があるだろう。

胚体形成 (Embryonic body-formation)

媒精後14日で胚盤は卵の半分を包み、その一部の肥厚から胚体が既に生じていた。胚体には既に頭部に眼包(optic vesicle)が分化していた。胚体の長さは3mmであった。媒精後21日で胚体は7mm長になり、既に原口は閉鎖していた。媒精後25日に眼に薄く黒色素の沈着がみられ、その後28日までその沈着は濃く大きくなり、31日後では明瞭な黒い眼となった。28日後で胚体は11mm長となり、卵黄表面の血管には血液が流れていた。31日後では胚体は盛んに動いていた。媒精後60日で稚魚の殆んどがふ出した。稚魚は22mm長であった。

考 察

サケ卵では、2細胞期の卵は7.2℃で受精後18.5時間、8.2℃で14~15時間(Mahon & Hoar, 1956)、8~10℃、9~12℃および10~15℃で9~11時間(岡田, 1954a, b; Okada, 1960)、11~11.5℃で20時間(Saito, 1950)に出現すると報告されている。一方、本研究の8℃の場合では10~15時間で2細胞期を経過した。4細胞期の卵は7.2℃で受精後21時間(Mahon & Hoar, 1956)、8~10℃(Okada, 1960)および9~12℃(岡田, 1954a)の下では12~15時間、または10~15℃の下では11~14時間(岡田, 1954b)に現われると報告されている。本研究では媒精後15~19時間に同期の卵を確認した。8細胞期の卵は7.5℃で受精後28時間(Mahon & Hoar, 1956)、8~10℃および9~12℃で16~19時間(岡田, 1954a; Okada, 1960)で認められたという。しかし8℃の下ではこの期の卵

8℃の湧水に於けるサケ (*Oncorhynchus keta*) 卵の発生について (予報)

は19~24時間に観察されており、7.5℃と9~12℃の場合の中間にあらわれた。上記の様に水温が高い程、発生の速度がより速いことを示しているが、サケ卵の水温と発生速度の相関を論ずるには資料が乏しい。水温と発生速度の関係は卵の管理・取扱いに際して、極めて重要な問題であり、今後更に異なった多くの一定水温で卵発生の進行状態を調べた上で追求する必要がある。

2細胞期から16細胞期までの卵ではいずれも割球は単層に配列しているが、32細胞期で初めて割球は上層および下層の2層に配列するようになった。これは第1分割から第4分割までが垂直面に生じ、第5分割は水平面で生じることを示している。このことはワカサギ (*Hypomesus olidus* PALLAS) の卵発生の場合にも観察されている (Yamada, 1963)。

8細胞期から32細胞期までの間で分割途上の移行像がみられた。即ち、外観上12割球又は24割球をもつ卵であり、これらは夫々第4分割および第5分割の初期に生じていた。これらの場合で分割は胚盤の中央部に近い割球群から進行していた。同じく、第6分割の場合にも似た様相を呈する。この場合には割球は32細胞期で既に2層配列となっており、まず上層の16割球に分割が生じ、続いて下層の16割球が分割するようにみられた。従って、第6分割の初期には外観上48割球の胚盤が生じる。しかしながら、2層配列となっているため、下層についての詳細は判定し難い。Mahon & Hoar (1956) は後期分割期 (late segmentation stage) で下層の分割が上層のそれよりもゆっくり生じると述べている。

本研究における8℃の場合の発生の各時期の卵の出現頻度 (図-1) から64細胞期までの各々の時期の滞留時間を推定すると次のようになる: 胚盤形成期は9.15時間、2細胞期は4.5時間、4細胞期は4.15時間、8細胞期は5.15時間、16細胞期は4.15時間、32細胞期は5.0時間および64細胞期は4.7時間である。2細胞期の滞留期間は胚盤形成期を除く、他の時期に比して長く、又4細胞期および16細胞期のそれらは約1時間短いことが判る。この相違は各々の分割に要する時間の差、又は休止期の時間の差によるものと考えられるが、詳細は更に組織学的研究結果を待たねばならない。

サケ卵の受精率の早期判定の方法および時期については既に岡田 (1954a) により詳細に述べられている。彼らは4細胞卵の出現する時期、10~15℃では11~14時間を受精率の判定時期としている。我々の観察では、4細胞期の後期から8細胞期までの卵は胚盤の隆起も明瞭であり、又形も長方形状になり、肉眼でもっとも容易に判定しうる。しかもこれらの時期で他のより進んだ又はより遅れた時期の卵はまったくみられなかった (図-1)。従って、8℃の場合ではこれらの時期の卵が出現する媒精後17~24時間にもっとも確実に、もっとも容易に受精率の判定を行ないうる。

要 約

石狩川水系千歳川で捕獲されたサケ (*Oncorhynchus keta*) の3年魚から同腹卵を採取し、8℃のふ化用水 (湧水) に浸漬して発生の進行状態を調べた。

1. 胚盤形成期の卵は媒精後10時間まで、2細胞期は媒精後10~15時間、4細胞期は15~19時間、8細胞期は19~24時間、16細胞期は25~28時間、32細胞期は29~33時間、64細胞期は34~38時間、桑実期は38~48時間に夫々みられた。
2. 第1分割から第4分割までおよび第6分割は胚盤の垂直面で生じ、一方、第5分割は水平面で行なわれた。この水平面の分割により32細胞期の卵は2層の割球配列となった。
3. 8℃では4細胞期の後期から8細胞期までの卵が17~24時間に出現する。この時期はもっとも容易に、もっとも確実に受精率の判定ができる。
4. 媒精後3日で卵は胞胚期に入り、4~7日で胚盤は徐々に卵黄に沿って伸張し、扁平となると共に、その周囲には胚環が形成された。2週間後の卵では胚盤は卵の半分を包み、頭部に眼胞の発達した3mm長の胚体が生じていた。3週間後では胚体は7mmまで発達し、原口は既に閉鎖していた。4週間後では肉眼で黒色素の沈着した眼がみられ、胚体は11mm長であった。卵黄表面の血管には血流がみられた。31日後で胚体は動き始めた。60日後で稚魚はふ出し、体長22mmに達した。

文 献

- Mahon, E. F. & W. S. Hoar 1956. The early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta* (WALBAUM). J. Morph. 98, 1-47
- 岡田 簡 1954 a. 賦活された未受精卵胚盤の形態変化について, 水産報告 9, 127~132
- 岡田 簡 1954 b. 鱈卵受精率の早期判定について, 北大農学部邦文紀要 2, 17~20
- Okada, S. 1960. Studies on the critical period of susceptibility of the developing fish eggs to mechanical disturbances. Jour. Facul. Agr. Hokkaido Univ. 51, 343-379
- Saito, S. 1950. The embryological study of fishes. I. General observation on the early development of the dog-salmon, *Oncorhynchus keta* WALBAUM. Jour. Facul. Agr. Hokkaido Univ. 48, 267-289
- Yamada, J. 1963. The normal developmental stages of the pond smelt, *Hypomesus olidus* (PALLAS). Bull. Fac. Fish, Hokkaido Univ. 14, 121-126