

# 人工授精におけるサケ卵の吸水所要時間について\*

広 井 修\*\*

## On the Water-Washing Time of Chum Salmon Eggs soon after the Artificial Fertilization\*

Osamu HIROI\*\*

### Abstract

Optimum water-washing time of fertilized eggs soon after the artificial fertilization, in order to be progressed a restraint of early mortality and a technical development of mass production in the artificial propagation of chum salmon, *Oncorhynchus keta*, was investigated in the Chitose Hatchery and the Nijibetsu Hatchery. Eggs and sperm used in the Chitose Hatchery were obtained from 10 female and 6 male mature fish run up the Chitose River on 7th of December, 1977. The gametes used in the Nijibetsu Hatchery were taken out from 12 female and 6 male fish run up the Nishibetsu River on 15th of December, 1977, which were holded over 7 days up to full maturation in the holding pond of the Hatchery. Each of fertilized eggs was treated by two-hour suspension of water supply, respectively, from 5 minutes till 45 minutes at intervals of every 5 minutes after being inseminated and washed into Atkins trough full of running spring waters of 8°C (Chitose) and 9°C (Nijibetsu) with a current of 10 liters per a minute. Mortality of fertilized eggs as well as occurrence of non-sperm eggs, a stillborn egg and an unfertilized egg, was observed autoptically and histo-anatomically till non-fed liberation period of fry.

There was a significant difference in occurrence of stillborn egg among the non-sperm eggs between broods from mature fish soon after the catch in the Chitose (1.6%) and those from holded fish over 7 days after the catch in the Nijibetsu (4.5%). High stillborn egg contents of the broods in the Nijibetsu resulted in not only the increase in mortality of fertilized eggs but also the decrease in fry-liberation rates, suggesting possible influences due to the artificial holding of fish up to full maturation.

Fertilized eggs treated by two-hour suspension of water supply at 5 to 45 minutes after the fertilization died more or less, mainly in early egg-developing stage, 0 to 200°C in daily cumulative water temperature after the fertilization. The eggs treated by the suspension after 5 minutes of water-washing in both the Chitose and Nijibetsu Hatchery showed mortality over 8% in early egg-developing stage, which were higher than those of control eggs, 0.09% in the Chitose and 0.56% in

北海道さけ・ますふ化場研究業績 第267号

\* 本研究は農林水産省「溯河性さけ・ますの大量培養技術の開発に関する総合研究」の一部である。(This report is a part of "Synthetic studies on a technical development of mass production in the anadromous salmonid fishes" in the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan).

\*\* 水産庁北海道さけ・ますふ化場調査課

(Hokkaido Salmon Hatchery, Fishery Agency, 2-2 Nakknoshima, Toyohiraku, Sapporo, Hokkaido, Japan 062)

the Nijibetsu, immersed successively into waters without the suspension. Over 10 minutes before the treatment, the mortality of the eggs washed into running waters, declined gradually, and became stable to 0.13-0.34% over 25 minutes in the Chitose and to 0.93-1.53% over 30 minutes in the Nijibetsu. Liberated chum salmon fry from every lot of treated eggs were not different from the control fish in growth, body color and feeding activity.

From the result of the present observation, it was shown that chum salmon eggs soon after the artificial fertilization needed to wash over 30 minutes into running waters with adequate current, for transporting them with suspension of water supply.

### ま え が き

サケ受精卵は接水付活後、速やかに卵腔を形成し、その後胚盤形成期(受精後8時間まで)を経て卵分割を開始し、初期発生が進行する(広井他, 1973)。この間に受精卵に生じる重要な生理的变化は卵への水の取込み、いわゆる吸水という現象である。勿論、天然産卵の条件では、受精卵の吸水は水中で徐々に連続して進行する。一方、人工ふ化放流事業の場合では、吸水途上の受精直後卵を一時断水して運搬し、ふ化器に収容して再吸水させる方法が一般に用いられている。従って、人工管理の中では受精卵は吸水途上でかなり長い時間断水されることになる。これら吸水途上サケ受精卵の一時的断水による影響については未だ明らかな研究がなされていない。

これらの観点から、サケ卵の人工授精時における断水の影響について調べ、適正な吸水所要時間を検討した。

### 材料および方法

サケの精液および熟卵は1977年の12月7日に北海道さけ・ます増殖事業協会西越捕獲場で得られた石狩川水系千歳川の溯上親魚(即日採卵)並びに1977年の12月15日に同協会14線捕獲場で得られた西別川サケ親魚を活魚運搬し、水産庁北海道さけ・ますふ化場虹別事業場の蓄養池で7日間蓄養後の催熟親魚から採取した。熟卵は親魚撲殺後、切開法にて採取し、体腔液は余剰の分を流し、卵に付着しているものみの湿式保存法で、千歳川の親魚については1尾毎10尾分(同腹卵)を、そして虹別蓄養親魚では6尾毎12尾分(混合卵)をビニール袋に収容した。精液は両者共、搾出法により2尾毎6尾分をビニール袋に採取し、尿又は血液等の混入精液は搾出時に注意深く観察しながら取除き、可能な限り、純粋なもののみを用いた。熟卵と精液は千歳の群ではいずれもビニール袋に酸素を詰めて封入し、遮光条件で約20分間自動車運搬して、水産庁北海道さけ・ますふ化場千歳支場のふ化室に運び、又、虹別の群では空気封入して、遮光条件で同事業場の第一ふ化室まで3分間運搬して、夫々8°C(千歳)並びに9°C(虹別)の湧水で授精させた。

受精卵は増収型ふ化槽に浸漬したプラスチック籠に静置し、毎分10lの流量で、8°C(千歳)並びに9°C(虹別)の湧水の湧昇流の中で、洗滌、吸水させた。受精・接水させた実験卵は5分から45分まで5分間隔で夫々の時間、吸水させた後、水から取り揚げて湿った晒に入れ、運搬時間を考慮して2時間室温(10~14°C)放置の方法により断水処理を与え、その後再吸水させた。対照卵は断水処理せずに連続して同じ条件で吸水させた。卵はいずれも2時間再吸水させた後、アトキンス式ふ化器に1盆当1,500~2,500粒の割合で収容した。

白濁死卵は淘汰検卵時(積算水温約400°C)とふ出直後(同約500°C)に摘出し、ブアン液で1~2日間固定、70%アルコール液に置換、保存した後、肉眼又は解剖顕微鏡下で体内死卵(Stillborn egg)、不受精卵(Unfertilized egg)、受精前期死卵(積算水温約200°Cまでの発眼期以前の死卵)および受精後期死卵(発眼期以後の死卵)に分別、計数した。淘汰検卵後、生卵は計数し、改良型ふ化籠に1籠当1,500~2,500粒の割合で収容し、以後無給餌放流期(積算水温約960°C)まで観察を続けた。畸形魚、発育不全魚および臍のう異常魚等の異常稚魚は主として浮上期(同約850°C)および無給餌放流期(同960°C)に摘出計数した。

結 果

1. 断水処理卵の稚魚産生率と無精子の発現割合

千歳川産サケ親魚の即日採卵群では、対照卵の稚魚産生率（無給餌放流率；無給餌放流稚魚数/採卵数×100）は97.2%であった（表1）。断水処理卵の稚魚産生率は対照卵のそれに比べるといずれも悪いが、吸水5分卵で

Table 1 Mortality of fertilized egg and fry-liberation rates in the Chitose Hatchery

\* Fry-liberation rate: a percentage of non-fed liberated fry to taken eggs

表1 受精卵の減耗と稚魚産生率（千歳）

\* 稚魚産生率：無給餌放流数/採卵数×100

吸水時間 (分)	採卵数 Number of taken egg	無精子の割合 Percentage of non-sperm eggs		受精卵数 Number of fertilized egg	受精卵の減耗率 Mortality of fertilized egg				稚魚産生率* Fry-liberation rate*
		体内死卵 Still-born egg	不受精卵 Unfertilized egg		前期死卵 Early egg stage	後期死卵 Late egg stage	稚魚 Fry stage	計 Total	
5	5,154	1.51	0.78	5,036	8.18	1.05	0.24	9.47 (477)	88.5 (4,559)
10	3,796	1.42	1.05	3,702	3.38	0.43	0.32	4.13 (153)	93.5 (3,549)
15	4,191	1.48	1.05	4,085	1.49	0.96	0.32	2.77 (113)	94.8 (3,972)
20	3,852	1.48	1.09	3,753	1.12	0.37	0.64	2.13 (80)	95.4 (3,673)
25	4,193	1.26	0.60	4,115	0.34	0.46	0.39	1.19 (49)	97.0 (4,066)
30	4,466	1.59	0.81	4,359	0.25	0.53	0.28	1.06 (46)	96.6 (4,313)
35	3,800	1.47	0.74	3,716	0.13	0.49	0.24	0.86 (32)	96.9 (3,684)
40	3,889	1.77	0.72	3,792	0.34	0.24	0.29	0.87 (33)	96.7 (3,759)
45	3,255	2.46	0.77	3,150	0.16	0.44	0.16	0.76 (24)	96.0 (3,126)
Control	4,678	1.37	0.79	4,577	0.09	0.33	0.22	0.63 (29)	97.2 (4,548)

Table 2 Mortality of fertilized egg and fry-liberation rates in the Nijibetsu Hatchery

\* Fry-liberation rate: a percentage of non-fed liberated fry to taken eggs

表2 受精卵の減耗と稚魚産生率（虹別）

\* 稚魚産生率：無給餌放流数/採卵数×100

吸水時間 (分)	採卵数 Number of taken egg	無精子の割合 Percentage of non-sperm eggs		受精卵数 Number of fertilized egg	受精卵の減耗率 Mortality of fertilized egg				稚魚産生率* Fry-liberation rate*
		体内死卵 Still-born egg	不受精卵 Unfertilized egg		前期死卵 Early egg stage	後期死卵 Late egg stage	稚魚 Fry stage	計 Total	
5	1,610	4.66	1.24	1,515	8.32	1.45	1.98	11.75 (178)	83.0 (1,337)
15	1,829	4.70	1.26	1,720	5.70	1.63	2.50	9.83 (169)	84.8 (1,551)
20	1,966	3.51	1.12	1,875	3.04	1.07	1.65	5.76 (108)	89.9 (1,767)
25	2,243	6.11	1.25	2,078	2.84	0.58	1.30	4.72 (98)	88.3 (1,980)
30	2,332	4.67	1.24	2,194	1.00	1.32	1.05	3.37 (74)	90.9 (2,120)
35	1,666	4.68	1.26	1,567	1.53	0.96	1.15	3.64 (57)	90.6 (1,510)
40	2,174	4.69	1.24	2,045	0.93	0.64	0.73	2.30 (47)	91.9 (1,998)
45	1,932	4.66	1.24	1,818	1.04	1.60	1.43	4.07 (74)	90.3 (1,744)
Control	16,295	4.35	1.01	15,420	0.56	0.78	1.58	2.92 (451)	91.9(14,969)

88.5%, 10分卵で93.5%, 15分卵で94.8%, 20分卵で95.4%と徐々に増加し、以後25分から45分卵までで96.0~97.0%の範囲となり、明らかに吸水時間が延びるにつれて対照卵の値近くまで上昇した。一方西別川産虹別の蓄養親魚の7日間蓄養採卵群では、対照卵の稚魚産生率は91.9%(表2)となり、千歳川産即日採卵群のそれと比べると極めて低い値を示した(図1)。虹別の断水処理卵の産生率は千歳の場合と同じく対照卵のそれに比べて悪く、吸水時間の延長に伴って対照卵の値に近づくが、千歳の場合に比べるとその上昇傾向は弱く、15分卵でも84.4%で、5分卵の83.0%から僅かな上昇がみられるのみであり、対照卵の1%前後の違いとなるのは30分卵以降であった(表2, 図1)。

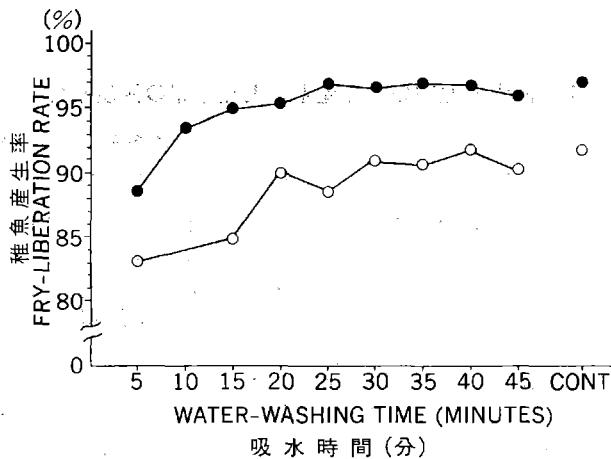
千歳の即日採卵群における無精卵の発現割合は対照卵と、断水処理卵群の夫々の同腹卵の間で有意な差はみられず、体内死卵で1.3~2.5%, 平均1.6%, 不受精卵で0.6~1.1%, 平均0.8%となり、千歳川産サケ卵における無精卵の一般的発現割合と略一致していた(表1)。虹別蓄養採卵群の無精卵の発現割合は、千歳の即日採卵群に比べるとはるかに大きく、体内死卵で3.5~6.1%, 平均4.5%, 不受精卵で1.0~1.3%, 平均1.1%となった(表2)。しかしながら、この虹別の蓄養採卵群における無精卵の発現割合は同じ西別川産サケ親魚の14線蓄養池並びに活魚運搬した伊茶仁蓄養池の同時期の事業採卵群(12月22日採卵)、14線蓄養採卵群で体内死卵9.2%, 不受精卵13.4%, そして伊茶仁蓄養採卵群で体内死卵14.3%, 不受精卵16.5%に比べるとはるかに少なかった。又、千歳の即日採卵群と虹別蓄養採卵群の無精卵、特に体内死卵の発現割合の違いは受精卵の減耗にも大きく影響し、その減耗率は千歳対照卵の0.63%に対して虹別の対照卵では2.92%とはるかに大きくなった(表1, 2)。

無精卵の吸水については、体内死卵と不受精卵の場合で本質的に異なっていた。体内死卵では卵の接水付活の機構が不完全なため、浸透圧調節ができず、卵内への水の浸込み通過による卵黄白濁が先行する。一方、不受精卵では受精卵と同様に接水付活、吸水、胚盤形成等の一連の初期発生過程を経るが、無精卵である故に、卵分割が進行せず、胚盤形成の段階で卵発生が停止する。しかしながら、不受精卵では接水付活に続く卵膜による浸透圧調節はそのまま保たれ、卵黄も白濁せずに生卵様相を維持する。

## 2. 断水処理による受精卵の減耗

連続して吸水させた対照区の受精卵の減耗率は、千歳即日採卵群および虹別蓄養採卵群で夫々、0.63%および2.92%と極めて少なく、その中でも受精前期死卵では0.09%および0.56%, 受精後期死卵で0.33%および0.78%, そして異常稚魚で0.22%および1.58%の減耗であった(表1, 2, 図2)。

断水処理卵群では千歳および虹別共に全般に減耗率は高くなり、吸水5分卵でその受精卵の減耗率は夫々、9.47%および11.75%と最大となり、特に受精前期死卵の割合が8.18%および8.32%と異常に高く、対照卵のその約90倍(千歳)および約15倍(虹別)となった。受精卵の減耗率は、吸水時間が長くなるにつれて徐々に減少(図2)し、対照群の値に近づくが、いずれの場合も、受精前期死卵の割合が対照群のそれよりも高かった。一方、断水処理群における受精後期死卵、および異常稚魚の割合は対照群のそれに比べると、それ程有意な差が認められないことから、受精前期死卵としての減耗が、吸水途上卵の断水による影響といえる。さらに断水処理

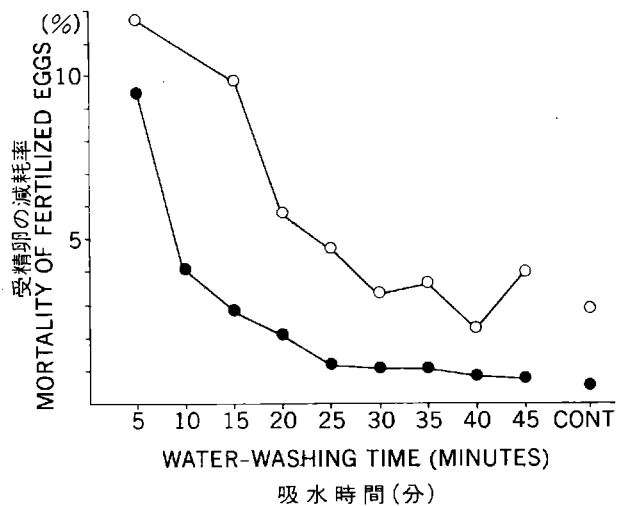


Text-fig. 1 Changes in fry-liberation rate of chum salmon eggs by two-hour suspension of water supply soon after the fertilization in the Chitose (●) and Nijibetsu (○) Hatchery

図1 吸水時間による稚魚産生率の変化(千歳●; 虹別○)

群は異常稚魚の中でも種々の移行型を示す双体畸型稚魚の出現が顕著であった。

千歳の即日採卵群と虹別の蓄養採卵群では、吸水時間の延長による受精卵の減耗率、特に受精前期死卵の減少傾向にかなりの差がみられ、虹別の方が断水の影響が強くでいた(表1, 2)。千歳における受精前期死卵としての減耗率は吸水5分卵の8.18%から10分卵で半分以下の3.38%、15分卵で1/4以下の1.49%、そして25分以降の卵で1/20以下の0.13~0.34%に安定した。一方、虹別における受精前期死卵としての減耗率は、吸水5分卵の8.32%から15分卵でも半分以上の5.70%、25分でも1/3以上の2.84%、そして30分以降の卵でも1/10以上の0.93~1.53%を示し、明らかに千歳の場合よりも断水の影響が強くで、対照卵に対する近似、安定時間も千歳の25分に対して虹別では30分と吸水所要時間が延びていた。この吸水所要時間の差は水温では千歳の8°Cに対して、9°Cと虹別の方が高く、その他の水量、方法は殆んど同じであることから、水温よりもむしろ無精卵、特に体内死卵の混合割合の差によるものと考えられる。



Text-fig. 2 Changes in mortality of fertilized chum salmon eggs by two-hour suspension of water supply soon after the fertilization in the Chitose (●) and Nijibetsu (○) Hatchery

図2 吸水時間による受精卵の減耗率の変化(千歳●; 虹別○)

これらの結果は吸水途上の受精卵が断水処理により、明らかに減耗が生じ、特に受精前期死卵としての発生停止並びに双体畸型としての後遺症が特徴であることを示している。

## 考 察

サケ卵における受精・接水後の受精卵の吸水の進行度合を知るために、千歳の即日採卵群について間接的に卵圧(耐圧力)を測定した結果では、受精前の熟卵で約4gであった平均卵圧は受精・接水後10分から30分まで急激に上昇し、約430g前後になった。受精後30分から40分までは卵圧は一時増加せず、45分以降からまた徐々に増加し、1時間後で約700g、そして8時間後で約2,500gの最初のピークに達した。卵割が始まると共に卵圧は変動しながらさらに徐々に増加し、2日後に3,500g前後の最大値となり、以後は多少の変動の中ではほぼ似た値で推移する(広井, 1979 a)。卵圧は不受精卵についても受精卵に類似した変化を示すが、体内死卵の場合では全く規則性が認められなかった。これらの卵圧の変化は卵の吸水が受精・接水後ほぼ2日間で最大となることを示唆しており、この間では受精卵はいずれも吸水途上にあると考えられる。

本研究の結果、吸水途上の受精直後卵を2時間断水処理することによって、受精卵が多かれ少なかれ減耗し、特に積算水温約200°Cまでの発生初期での発生停止(受精前期死卵, 広井, 1979 b 参照)としての減耗が著しいことが明らかとなった。従って、吸水途上の受精直後卵は出来得る限り、連続して吸水できる管理方法をとることが望ましいといえる。しかしながら、現在、本邦における人工ふ化放流事業の中の採卵からふ化器までの卵の収容行程では、捕獲・採卵場とふ化場の位置関係等から吸水途上の受精直後卵を断水、梱包後、採卵場からふ化室まで運搬して収容せねばならない条件となっている。又、卵発生初期の受精卵の人為取扱い可能限界時間はそれらの衝撃等に対する抵抗性から第一分割直前の8時間以内であることが知られている(広井, 1979 c)、従って、受精直後卵の運搬・収容に際しては、この8時間以内の条件で、出来得る限り、長く吸水させた方が良いが、運搬する時間(距離)並びに大量卵の扱い等との関係から、吸水だけにそれ程長く時間をとることは望めない

い。それ故、減耗を最小限に抑えうる吸水所要時間を考えねばならないことになる。

本研究の結果から、断水処理までに千歳の即日採卵群では25分以上、そして虹別の蓄養採卵群では30分以上吸水すると対照群の連続吸水卵の減耗率と1%以内の差の範囲で安定し、又、無精卵、特に体内死卵の混合割合が高い場合には吸水所要時間が長くなることが示唆された。体内死卵の吸水に対する影響としては、吸水洗滌槽における直接的不均一水流の発生要因並びに潰卵として、体腔液および精液を吸着・凝縮させるため、卵と卵の間に粘着浮遊懸濁物質が付着して、卵表への水流を妨害することによるものと考えられる。これら断水処理までの吸水時間と減耗率の安定との関係、又、卵圧の変化では30分から40分まではそれ程増加がみられなく、吸水の初動変化が30分までで一時静止時期を迎えること、さらに入の手による触感では20分以降から卵の緊張を感じる(広井, 1979 a) ようになることから、吸水途上の受精直後卵を断水運搬するための最低の吸水所要時間は、十分な湧昇流の条件で30分であるといえる。

## 要 約

石狩川水系千歳川産サケ親魚の即日採卵群、並びに西別川産サケ親魚の蓄養採卵群における受精直後卵の断水処理の影響と吸水所要時間について試験、検討した。

1. 人工授精したサケの5分から45分までの吸水途上卵に夫々、2時間の断水処理後、再吸水させ、放流期まで観察したところ、受精卵は多かれ少なかれ減耗し、特に受精前期死卵(積算水温 200°C までの卵の発生異常、停止)並びに双体畸型として減耗することが明らかとなった。
2. 即日採卵群(千歳)に比べ、蓄養採卵群(虹別)では無精卵、特に体内死卵が極めて多く発生し、相乗的に受精卵の減耗も大きくなると共に、吸水所要時間も長くなった。
3. 受精直後卵を断水、梱包して運搬する場合の吸水所要時間は十分な湧昇流の条件で、最低限、30分必要である。

## 文 献

- 広井 修・安川雅夫・末武敏夫・佐々木正三、富田竹雄・佐藤幸男 1973. 8°C の湧水に於けるサケ (*Oncorhynchus keta*) 卵の発生について(予報). さけ・ますふ研報, (27): 25-30.
- 広井 修 1979 a. サケ卵の初期発生時の卵圧の変化. 昭和53年度別枠研究「湖河性さけ・ますの大量培養技術の開発に関する総合研究」推進会議資料(B), 12-19. 農林技術会議, 昭和54年2月, 東京.
- 広井 修 1979 b. 減耗卵の成因. 同上 12-19.
- 広井 修 1979 c. サケ資源の初期減耗—特に人工ふ化放流における卵から稚魚放流までの減耗要因について—, 第17回漁業資源研究会議シンポジウム, 漁業資源の初期減耗をめぐる諸問題—卵から加入までの減耗機構について—講演要旨, 漁業資源研究会議, 15~27, 昭和54年11月, 広島.