

## 人工授精におけるサケ卵の受精水の適水温— 1 . 高水温の影響試験

広井 修\*<sup>1</sup>・浦和 茂彦\*<sup>1</sup>・倉本 勉\*<sup>2</sup>

### Optimum Water Temperature of Fertilized Water of Chum Salmon Eggs in the Artificial Fertilization - 1. An Influence of High Water Temperature

Osamu HIROI\*<sup>1</sup>, Shigehiko URAWA\*<sup>1</sup>, and Tsutomu KURAMOTO\*<sup>2</sup>

#### Abstract

Optimum water temperature of fertilized water, especially on the influence of high water temperature, at the artificial fertilization was investigated, 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*.

Eggs and sperms were obtained from 5 female and 6 male fish run up the Yurappu River, on 15th of December, 1987. Each of the gametes was shut tight in a vinyl sack full of air gass, stored at about 5°C of temperature in a keeping cool box, and transported 6 hours by car up to Sapporo satellite Hatchery of Hokkaido Salmon Hatchery.

Each of eggs inseminated by a dry method at 10°C of room temperature, was washed two hours by each of the fertilized water with various water temperatures, *i. e.*, 10°, 14°, 16°, 18° and 20°C. The fertilized eggs after washing treats were put in Atkins tray full of running spring water of 10°C in water temperature. 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 hatch - out of eggs.

Fertilized eggs treated by two - hour washing in each of the fertilized water with various high water temperatures (14°—20°C) soon after their insemination, died more or less, mainly as a great number of dead eggs in early egg - developing stage, 0° to 200°C in daily cumulative water temperature after insemination.

Occurrences of embryonic malformation in the treated eggs resulted in, mainly, twin malformation

---

北海道さけ・ますふ化場研究業績第313号

\*<sup>1</sup>水産庁北海道さけ・ますふ化場(Hokkaido Salmon Hatchery, Fisheries Agency of Japan, 2-2 Nakanoshima, Toyohira, Sapporo 062 JAPAN)

\*<sup>2</sup>北海道石狩南高等学校(Hokkaido Ishikari South High School, 143-1 Hanakawa, Ishikari-cho, Hokkaido 061-32 JAPAN)

embryo in 14° and 16°C treated groups and spiral malformation embryo in 18° and 20°C treated groups, such malformations of which were not observed in control group (10°C).

From the result of the present observations, it was emphasized that chum salmon eggs needed to use the fertilized water under 13°C in water temperature.

## まえがき

サケ受精卵は接水付活して卵門閉鎖後、速やかに囲卵腔を形成し、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)。前報(倉本他 1988)において報告したように、接水から初期発生の初期に比較的高い水温のふ化用水で発生させると双体奇形を中心とする異常胚が多発する。双体奇形の発生については受精初期に吸水途上卵を一時的に断水させた場合にも観察される(広井 1980)。

一方、近年秋サケの優良系群である銀毛来遊魚の造成が盛んになるにつれて、前期群が著しく増加し、早期には河川水温も極めて高く、これらを受精水として用いざるを得ない場所も多く見られるようになった。このため、高水温の河川水を受精用水として用い得るかどうかについての検討が是非とも必要となった。これらの受精用水の水温によるサケ受精卵の影響については未だ明らかな研究がされていない。尚、熟卵を腹腔にもった完熟雌親魚が河川そ上の途中で高水温環境に曝されると大量の体内死卵(広井 1980, 1988)が発生することが観察されている(広井 未発表)。

これらの観点からサケ卵の人工受精時における高水温の受精用水の影響について調べ、受精卵の適水温と減耗要素について検討した。

稿を進めるに先だち、本研究に用いたサケ卵および精子の採取に多大の御協力を戴いた水産庁北海道さけ・ますふ化場渡島支場の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 材料および方法

サケの精液および熟卵は1987年12月15日に遊楽部川捕獲場で得られた遊楽部川の溯上親魚(即日採卵)から午前10時に採取した。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、一尾毎5尾分の同腹卵をビニール袋に無接水条件で収容した。精液は搾出法により2尾毎6尾分をビニール袋に無接水条件で採取し、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り除き、可能な限り、純粋なもののみを用いた。熟卵と精液はいずれもビニール袋に空気を詰めて封入し、遮光と保冷(5°C以下)の状態約6時間自動車運搬して、水産庁北海道さけ・ますふ化場本場の隔離ふ化室に運び実験に供した。運搬後の卵温は3.9°Cであった。

熟卵と精液は無接水媒精により室温(10°C)で攪拌混合した。精液は6尾分を混合して用いた。媒精後の熟卵は予めヒーターにより水温を、14°C、16°C、18°C及び20°Cに一定に調整しておいた水槽に、夫々プラスチック籠を置き、その中に浸漬して、接水・洗浄・吸水を2時間実施した。実験用水はエアレーションにより曝気した。対照区として、増収型ふ化槽に浸漬したプラスチック籠を用いて、10°Cのふ化用水(湧水)の湧昇流の中で接水・洗浄・吸水させた。受精卵はいずれも2時間、温水で吸水させた後、アトキンスふ化盆に1盆当1,500~2,000粒の割合で発眼期まで収容し、10°C(10.5~10.7)のふ化用水で発生させた。

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、不受精卵、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(広井 1980, 1988参照)、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1,500~2,000粒の割合で収容し、以後ふ出直後(積算水温約500°C)まで観察を続けた。

## 結 果

## 1. 処理水温と無精卵の発現割合

媒精後、接水から洗浄・吸水まで2時間処理した試験区の水温は運搬時の卵温が3.9℃、媒精時の室温が10.0℃と低かったため、いずれも開始直後に約1℃程低下するが、5分後にはほぼ安定し、14℃区では13.6~13.7℃、16℃の区では16.1~16.2℃、18℃区では18.1~18.2℃そして20℃区では19.8~19.9℃の範囲に保たれた。尚、対照区(10℃)は10.6~10.7℃の水温範囲であった。

実験に用いたサケ同腹卵における無精卵の発現割合はいずれもかなり高く、5~25%にも達していた(表1)。対照区と同腹卵における無精卵の混合割合が7.90%であったのに対して、16℃区と同腹卵で最も混合

表1 処理水温と無精卵の発現割合

試験区	受精水の水温範囲(℃)	供試卵数(粒)	無精卵の割合			受精卵の割合(%)
			体内死卵(%)	不受精卵(%)	計(%)	
対照区 10℃	10.6~10.7	2,533	3.47	4.43	7.90	92.10
14℃	13.6~13.7	2,656	7.68	12.84	20.52	79.84
16℃	16.1~16.2	3,794	9.28	15.68	24.96	75.04
18℃	18.1~18.2	2,898	2.48	7.84	10.32	89.68
20℃	19.8~19.9	3,852	1.40	3.25	4.65	95.35

割合が24.96%と多く、次いで14℃区の20.52%、18℃区の10.32%そして20℃区が4.65%と最も混合割合が少なかった。これらの無精卵の混合割合の変動は河川水温の低下する後期(12月中旬)に河川溯上する親魚には多く見られ、実験処理とは直接的関連がないと考えられる。しかし、高水温処理(18℃区と20℃区)により、体内死卵および不受精卵の様相が若干異なることが観察された。18℃区と20℃区の体内死卵および不受精卵は長円形の卵型の卵が多く認められ、囲卵腔形成が卵全体に均一に進まずに、表層胞の消失および卵膜分離も動物極に集合するように一部分で生じる傾向が見られた。

## 2. 高水温受精による受精卵の減耗

10℃のふ化用水で受精、吸水させた対照区におけるふ出期までの受精卵の減耗率は2.23%と極めて少なく、その中でも受精前期死卵では1.33%、受精後期死卵で0.47%そしてふ出異常稚魚で0.43%の減耗であった(表2)。さらに双体奇形は対照区では全く認められず、受精卵のふ出率は97.8%となった。

表2 受精卵の減耗

試験区	受精卵数(粒)	受精前期死卵(%) (粒)	受精後期死卵(%) (粒)	ふ出異常稚魚(%) (粒)	ふ出期迄の受精卵の減耗率(%)	ふ出率(%)
対照区 10℃	2,333	1.33 (31)	0.47 (11)	0.43 (10)	2.23	97.8
14℃	2,111	23.31 (492)	4.22 (89)	0.90 (19)	28.43	71.6
16℃	2,847	25.47 (725)	3.16 (90)	1.16 (33)	29.79	70.2
18℃	2,599	7.50 (195)	1.54 (40)	0.42 (11)	9.46	90.5
20℃	3,673	13.72 (504)	7.46 (274)	0.93 (34)	22.11	77.9

温水処理群では全般にふ出期までの減耗率はいずれも対照区よりもはるかに高くなり、14℃区で28.43% (対照区の約13倍)、16℃区で29.79% (同約13倍)、18℃区で9.46% (同約4倍)そして20℃区では22.11% (同約10倍)となった(表2)。特に受精前期死卵の割合が温水処理区で極めて多く、14℃区で23.31(対照区の約18倍)、16℃区で25.47% (同約19倍)、18℃区で7.50% (同約6倍)そして20℃区で13.72% (同約10倍)となった。受精後期死卵では20℃区で7.46% (対照区の約16倍)と最も多かった。

温水処理区の受精前期死卵の様相は対照区、14℃区および16℃区のそれらと18℃区および20℃区のそれらの間にかなり違いが見られた。前者は卵の形も球形で、胚体はほぼ卵全体に均一に伸長発達して、発生停止に至るが、後者の18℃区および20℃区ではいずれも卵が長円形の卵型で、胚体は卵の動物極側の一部分で伸長屈曲して、発生停止に至るものが極めて多かった。これらの様相は高水温区では不受精卵に見られた様に、囲卵腔形成が卵全体に均一に進んでいないことによるものと考えられた。20℃区では受精後期死卵でも同様の様相をとる死卵が多く見られた。

対照区で全く観察されなかった双体奇形卵は高水温処理区(14℃~20℃区)で多かれ少なかれ出現した。しかし処理温度により双体奇形胚の様相は異なっていた。14℃区では双体奇形がほぼ同じ二つの胚体で発達する場合が極めて多く、16℃区から20℃区では片方の胚のみが胚体まで発達し、もう片方の胚は胚体形成まで至らず、早くに発生停止するものが多かった。

ふ出後、無給餌放流期までの減耗については供試卵群が通常よりも無精卵の割合が高かったため、明確にしえなかった。ふ出異常稚魚の中では高水温区(18℃と20℃)で、螺旋形の奇形魚が多く観察された。さらに、対照区では殆どが正常に発育したが、14℃、16℃区では若干発育の遅れが目立ち、18℃区及び20℃区ではかなり減耗が見られると共に、明らかに発育の遅れた稚魚が多くなり、健康な稚魚の割合が極めて少なかった。

これらの結果は媒精後のサケ卵を14℃以上の比較的高い水温の受精用水で、接水、洗浄、吸水させると、多かれ少なかれ受精卵の減耗が生じ、特に受精前期死卵としての発生停止で多く減耗し、さらに双体奇形(14~16℃)又は螺旋型奇形(18~20℃)としての後遺症が特徴であることを示している。

## 考 察

秋サケの双体奇形稚魚は通常の人工ふ化管理の中でも観察されるが、その出現頻度は極めて少なく、又、いずれも双体稚魚は一対が正常に発育して、卵黄を共有した正常双体稚魚となる。双体奇形の異常胚は媒精直後から第1分割を開始する受精後9~10時間(広井他 1973)までに、吸水途上卵の一時断水処理(広井 1980)および物理的衝撃処理(広井 未発表)によって多く発生し、卵分割が進む受精後11~12時間以降にいかなる条件を与えても発生しない。媒精後の影響による双体奇形胚は河川溯上期の完熟サケ親魚が高水温環境水(18~23℃)に曝される場合にも発生する(広井 未発表)。さらに媒精後無接水で長時間(2時間以上)置いてから接水させた場合にも双体異常胚が多く観察される(広井 未発表)。これらの双体異常胚が発生する場合にはいずれもさらに多くの前期死卵としての減耗が認められる。

さて、双体異常胚が前報(倉本他 1988)で報告した様に、受精後45時間まで15℃(14.2℃~16.0℃)で受精から洗浄、吸水、発生まで処理した場合に多く発生したが、本研究においても同様に14℃から20℃までの高水温処理(2時間)により多かれ少なかれ、双体異常胚が観察された。これらの結果は発生初期に高水温処理を与えると明らかに双体奇形胚が発生することを示しているが、本研究の結果では双体奇形胚の出現よりもむしろ、前期死卵としての減耗、さらにはより高水温(18~20℃)処理で観察された、囲卵腔形成不全に基因すると考えられる、後期死卵の高率出現および稚魚期まで影響する発生異常の方がより重大な減耗であることが知られた。

これらの高水温の受精水による異常胚の発生並びに生産稚魚の健苗性については供試卵群の無精卵の割合が通常よりもはるかに多かったことから、これらの影響も無視しえないため、さらに詳細の検討を行う予定

である。

## 要 約

サケ卵の人工授精時における受精用水の影響について試験・検討した。

1. 媒精後のサケ卵を14℃, 16℃, 18℃および20℃の恒水温槽で2時間, 接水・洗浄・吸水させた後, 対照区と同じ10℃のふ化用水でふ化させ, 受精卵の減耗と異常胚について観察したところ, 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℃までの卵の発生異常と発生停止)として減耗することが明らかとなった。

2. 高水温処理による異常胚の出現は14℃~16℃区では双体奇形, 18~20℃区では螺旋型奇形が特徴的であった。水温の違いによる異常胚の出現状況から, 受精初期の囲卵腔形成から表層胞の崩壊に至る過程で卵内の浸透圧調節機構が高水温条件で何らかの影響を受けることが暗示された。

3. これらの結果から, 人工授精時におけるサケ卵の受精用水は13℃以下の水温条件とする必要があることが示された。

## 文 献

- 広井 修 (1980) : 人工授精におけるサケ卵の吸水所要時間について. さけ・ますふ研報, (34), 115-120.
- 広井 修 (1981) : さけ資源の初期減耗-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-. 漁業資源研究会議報, (22), 53-66.
- 広井 修 (1988) : 卵発生と人工ふ化管理. 日本のさけます-その生物学と増殖事業(久保達郎編), p. 58-66, たくぎん総合研究所, 札幌.
- 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℃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.
- 倉本 勉・有馬健一・川上伸一・清水直人・中渡章夫・長谷川麻里・平間伸一・守山健一・世継一恵・安田 冬季・安田美智代・広井 修 (1988) : サケ卵の発生と双体奇形の出現. さけ・ますふ研報, (42), 59-73.