



Title	鮭卵受精率の早期判定について
Author(s)	岡田, 雋; OKADA, Shun
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 2(2), 200-203
Issue Date	1954-10-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11582
Type	departmental bulletin paper
File Information	2(2)_p200-203.pdf



鮭卵受精率の早期判定について

岡田 雋

(北海道大學農學部動物學教室)

On the early estimation of the fertilization percentage of eggs in the dog-salmon, *Oncorhynchus keta* (WALBAUM)

By

SHUN S. OKADA

(Institute of Zoology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

1. 早期判定の意義

我が國の鮭鱒人工孵化事業は北海道に於て特に著しい發達を遂げ、その孵化成績は 90~95 % に達し死卵の發生は全採卵數の 10~5 % に過ぎない。之は多年に亘る理論的技術的研究の成果であつて、時に異常な死卵の發生が起つても、多くは早急に原因が究明されて被害を最少限度に止めている。

然るに茲數年以上に亘り、千歳の鮭鱒孵化場に於て、或る時期の採卵鮭卵に著しい異常死卵が發生しているが、その原因は今尙不明で毎年相當の被害を出している。今同場に於ける死卵發生の狀況を聴取するに、人工受精を施した鮭卵を同場孵化室に收容してから約 1 箇月、恰も發眼期の前後に於て續々と卵子が白濁不透明となり所謂死卵として出現する。その發生率は年によつて多少の變動はあるが、該期採卵數の 50% 或はそれ以上にも達する。而して此の死卵を觀察しても多くは胚の存在を認め難いのであつて、之が爲に恰も之等の死卵が不受精卵であつたかの如き感を抱かしむると云う。

事實不受精卵であつても、之を靜かに水中に放置すれば、生卵と同様長く黄赤色半透明な外觀を保持するものであるが、唯この期間に於て振動衝撃等の機械的刺戟、或はその他の原因に依つて容易に白濁不透明となり所謂死卵に變化し易い。之は卵黄膜 (Vitelline membrane) が損傷、或

は變質し、その結果本來の水、鹽類に對する不透過性が失われ、卵黄内の鹽類が外部に擴散して、之が爲に溶解していた Globulin 蛋白質が凝固沈澱し白變することに依るものである。(GRAY 1932, 青木 1937)。

然し發生の途中で胚の斃死した受精卵に於ても、靜かに放置されると不受精卵の場合と同様長く黄赤色半透明な状態を保持するもので、胚の斃死が發生の初期に起つた場合には、時日の経過につれて胚の形は崩壊し、恰も不受精卵であるかの如き感を與える(岡田・三浦 1939, AFFLECK 1953)。

千歳孵化場に於ける發生死卵が、不受精卵であるかは、死卵の觀察では決定が困難である。然もその何れであるかを決定することは、死卵發生原因の探索範圍を狭めることであり、合理的な解決への第一歩であると考え。之が爲には毎年異常死卵を發生する或る時期の採卵鮭卵について、早期にその受精率を調査し、爾後の経過と照合するより外に現在適當な方法が見當らない。

筆者はこの意圖の下に、先ず鮭卵の受精率が早期に判定出来るかどうかを研究したが、その結果極めて早期に之が可能であることを知つた。孵化場に於て之を定常的に實施すれば、單に異常死卵發生の場合にその原因探索に好都合であるのみならず、受精結果の良不良が極めて早期に明らかにされる爲に、從來孵化過程に對する周到な科學的管理に比し、稍々等閑に附され氣味である採卵

過程に対しても之が可能となり、兩者相俟つて孵化成績の安定向上をもたらすことにならう。

2. 早期判定の方法

(1) 胚の観察方法

鮭卵は卵膜 (Chorion) が殆んど不透明な爲、生卵のまま胚を観察することは、發生初期に於ては殊に困難である。AFFLECK (1952) は Australia 産の虹鱒 *Salmo gairdnerii* に於て、受精後 24 時間の受精卵は、その胚盤 (Blastoderm) が少々半透明で、割球 (Blastomeres) の存在の爲に輪廓が不規則であるが、之に對し不受受精卵の胚盤 (Blastodisc) は不透明且つ輪廓が滑かであつて、之が爲に生卵のまま兩者を判別出来ると述べている。然し鮭卵の場合には斯様な判別は極めて困難なことに屬する。

最も普通な細胞組織の固定液 BOUIN'S fluid の中に生卵を浸漬すると、數分後に或る程度卵膜の上から胚を観察出来る様になるが、尙充分とは云えない。同液で固定した後卵膜を除去すれば極めて明瞭に胚を観察出来るが (大飼 1949)、受精率判定の如き場合には成るべく手軽に迅速に實施出来ることが望ましい。

RUTTER (1902), MORTON, (1948), AFFLECK (1952, 53) 等は Quinnsat salmon や Rainbow trout の卵子について、氷醋酸或はその稀釋液 (5~10%) を使用して、その胚を観察しているが、殊に RUTTER は受精後 15 時間の胚を観察出来ると述べている。

筆者が鮭卵について實驗した所に依れば、10% 氷醋酸中に生卵を浸けると數分後に卵膜は透明となり、胚が白色不透明となる爲、極めて明瞭に卵膜上から胚を観察することが出来る (第 1 圖)。

醋酸處理を施した卵子では、2, 4, 8 細胞期等の如き發生初期の胚でも、卵膜を透して肉眼でも明瞭に観察することが出来る。桑實期 (Morula stage) の観察は少々困難であるが、之を更に純氷醋酸に移すと割球が明瞭に現われる。但しこの場合卵子が不規則な收縮を始め観察を妨げるから、手早く観察するを要する。胞胚期 (Blastula stage)

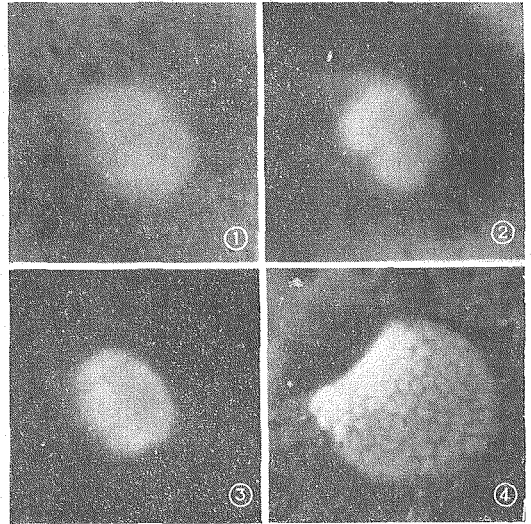


Fig. 1. Blastoderms of dog-salmon eggs treated by acetic acid.

1. Two-cells stage, 2. Four-cells stage,
3. Eight-cells stage, 4. Morula stage treated by glacial acetic acid, showing partial shrinkage of the blastoderm, (1, 2 and 3 ca. $\times 12$, 4 ca. $\times 20$.)

は少々未分割期の胚と識別し難いが、囊胚期 (Gastrula stage) は胚盤が油球群の上に擴がり、この頃から又非常に観察し易くなる。

(2) 未分割卵と不受受精卵の胚比較

未分割卵と不受受精卵の胚は、醋酸處理法では充分な比較觀察が困難な爲、BOUIN 氏液で固定後卵膜を除去して觀察した。

水中に浸漬されない未受精卵の胚盤は、薄く廣く動物極上に擴がつているが、水中に浸漬された受精卵では次第に胚盤の緊縮肥厚が起つて来る。即ち吸水後 1 時間で既にその徴候が現われ、4~5 時間では更に緊縮して可成り明瞭な輪廓を示し、7 時間では尙輪廓に多少凹凸を残すが更に緊縮して中央が肥厚している。この頃より第 1 分割が開始され、8 時間では大部分が 2 細胞卵となる (水温 13~14°C)。

受精させずして水中に浸漬された不受受精卵の胚盤も、吸水後次第に緊縮肥厚を起し、その経過は受精卵の分割開始時までの夫と殆んど變りがない (第 2 圖)。

之は不受受精卵でも水に接することにより、所謂賦活現象 (Activation) が起り、受精卵と同様な

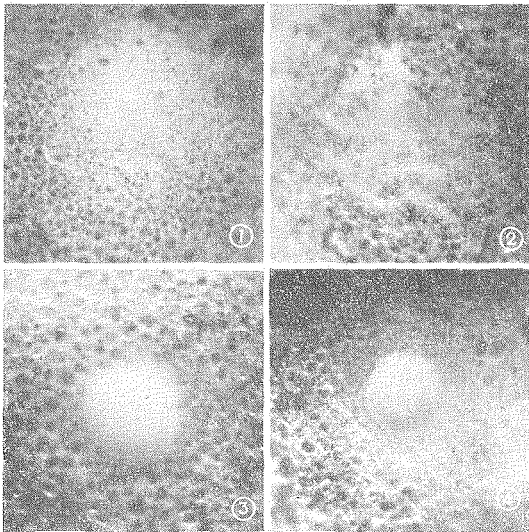


Fig. 2. Blastodiscs of unfertilized dog-salmon eggs fixed by BOUIN's fluid and removed the chorion.

1. Blastodisc, not yet contacting with water,
2, 3 and 4. Blastodiscs, one hour, seven hours
and twenty hours after contacting with water
respectively. (Each ca. $\times 12$)

初期變化を行う爲である(狩野 1950, 山本 1951)。従つてこの時期の前後に於ては未分割卵か不受精卵かは判別が困難である。不受精卵ではこの後も胚盤の緊縮肥厚が續き、吸水後 20 時間頃には直径 0.9 mm 内外の滑かな輪廓を有する饅頭型になる。この状態は約 3 日間保持され、その後次第に輪廓が崩れ始め、吸水後 3 週間では胚盤は殆んど分解している。

(3) 受精率判定の時期

水温 10~15°C で飼育した結果に依ると、受精後 9 時間で 2 細胞卵が現われ始め、11 時間で殆んど全部第 1 分割を終える。この頃から 4 細胞卵が現われ始め、14 時間で殆んど全部第 2 分割を終える。この頃から 8 細胞卵が現われ始め、24 時間で桑實胚、4 日間で胞胚、6 日間で囊胚、10 日間で神経胚の卵が現われる。約 20 日間で發眼、約 40 日間で孵化が始まる。

受精率判定の時期は、肉眼で最も観察し易い

4 細胞期が最適である。孵化場により孵化水温が異なるから、各孵化場で發生に要する時間を實際に確め、全部第 1 分割を終えて 2 細胞卵となり、この中に 4 細胞卵が現われ始めた頃から、引き続き 8 細胞卵が現われ出す頃までを判定時期とする。2 細胞卵の中に未分割卵が混在する時期は、既に述べた通り後者が不受精卵と判別出来ないから避けるべきである。

判定試料は採卵卵子が孵化槽内で孵化盆に盛り分けられる時に採取する。この時卵子は槽内で自然によく混合されるから、そこから採取した試料はその卵群の受精率を略々代表すると考えられる。

最後に本稿の御校閲を賜つた犬飼哲夫教授並びに本問題を提供され種々便宜を供與された北海道鮭鱒孵化場佐野誠三課長、同千歳支場柴田幸一郎場長、同場廣重兼太郎氏に對し深謝の意を表する。

引用文献

- 1) AFFLECK, R. J.: The early esitimation of percentage fertilization in trout ova. *Aust. J. Mar. Freshw. RES.* 3 (2): 140-141. (1952).
- 2) —————: The stability of the vitelline membrane and the requirements fo developing trout ova. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 4 (1): 90-91. (1953).
- 3) 青木 隆: 鮭卵の吸水現象に關する 2, 3 の觀察, 鮭鱒彙報 9 (33): 1-10. (1937. 昭 12)
- 4) Gray, J.: The osmotic properties of the eggs of the trout. *J. Exp. Biol.* 9 (3): 277-299. (1932).
- 5) 犬飼哲夫: 動物發生學(脊椎動物) 第 7 版: 92-98. 岩波書店 (1949. 昭 24).
- 6) KANO, Y.: Ueber Wasseraufnahme und Aktivierung der Lachseier I. *Annot. Zool. Jap.* 24(1). (1950).
- 7) 岡田 雋・三浦五郎: 石狩河口採卵鮭卵の斃死原因に就いて, 鮭鱒彙報 11 (39): 6-12. (1939, 昭 14)
- 8) MORTON, K. E.: Glacial acetic acid and green egg mortality. *Progr. Fish-Cult.* 10 (1): 28. (1948).
- 9) Rutter, C.: Natural history of the quinnat salmon. *Bull. U. S. Fish. Comm.* 22: 67-141. (1902).
- 10) YAMAMOTO, K.: Activation of the egg of the dog-salmon by water and the associated phenomena. *Jour. Fac. Sci. Hokkiado Univ. Ser. VI. (Zool.)* 10 (3-4): 303-318. (1951).

Résumé

As eggs of dog-salmon are opaque, it is very difficult to determine whether eggs have been fertilized or not from the surface of the chorion, especially in early stages. The writer has tested the most simple method of the early determination of the fertilization percentage of eggs as follows.

(1) The acetic acid treatment reported by RUTTER (1902), MORTON (1948) and AFFLECK (1952) is also available for the eggs of dog-salmon, *Oncorhynchus keta* (WALBAUM). When immersed in 10% solution of glacial acetic acid, the chorion of the egg becomes transparent and the blastoderm turns opaque after a while. Then the inner can be observed easily from outside of the chorion even in the earliest stage. If transferred them in the glacial acetic acid, better result can be obtained, but the shrinkage of the egg takes place quickly and prevents satisfactory observation. (See Fig. 1.)

(2) Unfertilized eggs are activated by the water and the blastodiscs begin to condense gradually. (See Fig. 2.) As this change is entirely similar with that of fertilized eggs, it is difficult to distinguish unsegmented eggs from unfertilized ones in this stage.

Though the first segmentation takes place at about eight hours after fertilization at the temperature of 13-14 °C, the blastodisc of the unfertilized egg continues to condense and reaches to the shape finally shown in Fig. 2.(4) at about twenty hours after contacting with water. This shape is maintained for about three days and then disintegrates gradually,

(3) The most suitable stage for the estimation of the fertilization percentage of eggs is four cells-stage, as the blastoderm can be most easily observed from the surface of the chorion with the naked eye when treated with the acid. For the estimation of the fertilization percentage the early period in which the egg begins to divide should be avoided as it is hard to distinguish developing ones from unfertilized ones as mentioned above.