

## サケ精子の由来が卵の発生に与える影響について

岡部聖・清水勇一

### *Effect of sperm derivation on egg development in chum salmon*

Akira Okabe, Yuichi Shimizu

#### Abstract

Effects of the differences of sperm derivation, such as rivers or seasons at swimming upstream, on egg development in chum salmon (*Onchorhynchus keta*) were investigated by constructing fertilized eggs which had the same mother and different fathers. In order to fit the starting line of fertilization, sperms from different rivers or former seasons had been freezed by glucose-methanol extender method. Some eggs fertilized with cryopreserved sperm showed lower accumulative temperatures at the timings of hatching than control eggs which had been fertilized with raw sperm.

**Key words** : chum salmon, development, genetics, sperm cryopreservation

キーワード : サケ, 発生, 遺伝, 精子凍結保存

#### はじめに

我が国において、サケ (*Onchorhynchus keta*) は人工ふ化放流事業により資源造成がなされてきた魚種であり、北海道から本州北部・中部地域の定置網等の漁業において、重要な魚種の一つである。サケの人工ふ化放流にあたっては、各地のふ化場が重要な役割を果たしており、受精卵からふ化、放流サイズの稚魚に至るまでの飼育管理を担っている。サケ属魚類の卵発生の進行を示す尺度としては、卵の受精からふ化するまでの日数と水温との関係性を示す、積算温度がその目安としてよく用いられてきた。すなわち、サケの場合は水温 8℃では 60 日間、積算水温 480℃ (8℃×60 日) でふ化する、といった具合である。しかし、サケのふ化、ふ上のタイミングは地域やふ化場の立地条件、採卵時期により異なることが経験的に知られている。魚類の卵の発生速度と温度の関係には、様々な積算温度の法則が提案されてきたが、冷水種であるサケの場合、平均水温 X

(℃) に対するふ化までの時間 Y (日) を表す式として、 $Y(X-X_0)=a$  がよく当てはまる場合が多い<sup>1)</sup>。この式の  $X_0$  は、それ以下では発育が進行しない、生物学的零度、 $a$  は有効積算温度と呼ばれる値であり、北海道 29ヶ所のふ化場におけるサケ受精卵のふ化までの日数と水温の関係を当てはめた場合、生物学的零度は-1℃、有効積算温度は 576℃となる<sup>2)</sup>。一方、カナダのフレーザー川にそ上するベニザケの場合、生物学的零度は産卵床の水温、有効積算温度は卵サイズと直線関係を示し<sup>3)</sup>、種や発育段階の生物学的特性により、有効積算温度の法則が異なることが示されている。以上のように、サケ属魚類の発生速度と水温との関係性を求める試みは行われてきたものの、精子又は卵の由来が異なる受精卵について、ふ化のタイミングを直接比較した事例は少ない。本試験では、精子の凍結保存技術を活用することで、同一日に採取したサケ卵を用いて、雄の由来が異なる受精卵を作成し、そ上河川やそ上時期等の精子の由来の違いが卵発生に与える影響を調べた。

表 1. 試験に用いた卵及び精子

年級		採取年月日	採取河川	由来となる親魚の尾数
2022	卵	2023/1/10	甲子川	1
	精子	2023/11/28	砂鉄川	2
		2022/11/30	片岸川	2
2023	卵	2023/12/22	熊野川	2
	精子	2023/10/3	津軽石川	6
		2023/10/10	津軽石川	1
		2023/10/18	津軽石川	1
		2023/11/2	熊野川	1
		2023/11/7	熊野川	1
	2023/11/9	織笠川	1	
	2023/11/13	砂鉄川	1	

## 材料と方法

### サケ卵、精子の採取及び受精

試験に用いたサケ卵及び精子を表 1 に示す。採取した精子は冷暗所 (4℃) で保管し、1~2 日後に後述の方法で凍結保存した。凍結保存精子は、卵を採取した当日に 40℃ で 5~7 秒間の解凍処理を施し、媒精に用いた。また、卵採取と同日同河川にそ上した雄 1 尾から精子を採取し、即日媒精した受精卵を対照区とした。作成した試験区を表 2 に示す。

### 精子の凍結保存

精子の凍結保存には藤本 (2022) の手順を用いた<sup>4)</sup>。凍結防止バッファー (0.18M グルコース, 9%メタノール) を加えて 6 倍希釈した精子を 0.25mL のプラスチックストロー管 (富士平工業株式会社, 01128100) 内に充填し、ストローパウダー (富士平工業株式会社, 01128710) を用いて密閉した。同ストロー管を氷上で 15 分間静置した後、液体窒素上に浮かべた架台 (厚さ 3.0cm) の上に置いて 5 分間冷却した。その後、液体窒素中にストロー管を落とし

表 2. 作成した試験区とふ化時における積算温度 (灰色部は同日中に全てふ化した試験区を示す。)

年級	♀由来	♂由来	試験区名称	ふ化開始年月日	ふ化終了年月日	ふ化開始積算温度(℃)	ふ化終了積算温度(℃)
2022	甲子川 1/10	砂鉄川11/28	砂鉄区	2023/2/17	2023/2/18	467.1	478.8
		片岸川11/30	片岸区	2023/2/17	2023/2/18	467.1	478.8
		甲子川1/10	対照区	2023/2/18	2023/2/19	478.8	490.4
2023	熊野川 12/22	津軽石川10/3	津軽石区a	2024/1/27	2024/1/27	501.2	501.2
		津軽石川10/10	津軽石区b	2024/1/27	2024/1/27	501.2	501.2
		津軽石川10/18	津軽石区c	2024/1/27	2024/1/27	501.2	501.2
		熊野川11/2	熊野区a	2024/1/27	2024/1/28	501.2	528.1
		熊野川11/7	熊野区b	2024/1/26	2024/1/27	487.9	501.2
	織笠川11/9	織笠区	2024/1/27	2024/1/27	501.2	501.2	
	砂鉄川11/13	砂鉄区	2024/1/26	2024/1/27	487.9	501.2	
	熊野川12/22	対照区	2024/1/27	2024/1/28	501.2	528.1	

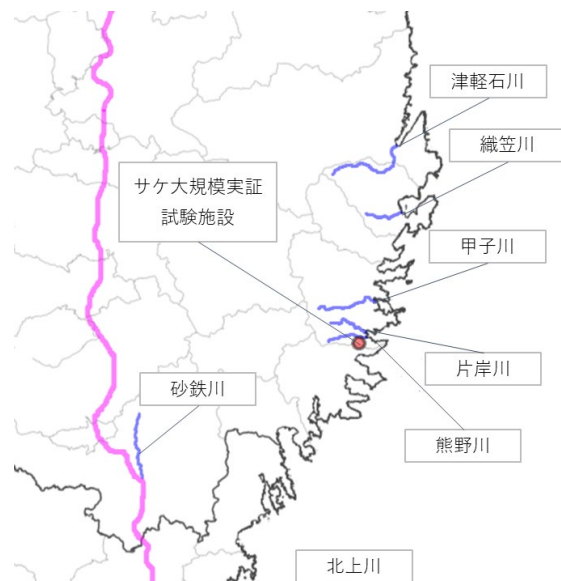


図 1. 卵、精子を採取した河川とサケ大規模実証試験施設の位置 (国土地理院白地図を加工して作成)

て凍結し、液体窒素保管容器内で保存した。

### 受精卵の管理及び発生を観察

受精卵はサケ大規模実証試験施設 (図 1) に収容し、屋内のプラスチック水槽 (30cm×50cm×40cm) を用いて、井戸水かけ流しで管理した。各試験区の受精からふ化までの様子を 1 日ごとに目視で観察し、ふ化開始時から終了時までの積算温度を求めた。なお、収容からふ化までの水温は、2022 年級では 11.6~12.7℃, 2023 年級では 13.2~14.4℃で推移した。

## 結 果

各試験区のふ化年月日及びふ化時の積算温度を表 2 に示した。2022 年級の卵は、収容 20 日目、積算水温 237.5°C で発眼した。発眼までの発生速度は、各試験区で差は見られなかった。また、砂鉄区 (図 2, A) 及び片岸区 (図 2, B) は、収容 39 日目、積算水温 467.1°C でふ化を開始し、同日時点でそれぞれ概ね 50% 及び 20% のふ化率を示した一方で、対照区 (図 2, C) ではふ化は見られなかった。翌日 (積算水温 478.8°C) には砂鉄区、片岸区で概ね 100% のふ化が認められた一方で、対照区では概ね 70% のふ化に留まった。さらにその翌日 (積算水温 490.4°C) には、各試験区ともふ化が完了した。その後、飼育を継続したが、いずれの稚魚も順調に生育した。

2023 年級の卵は、収容 18 日目、積算水温 242.6°C で発眼した。発眼までの発生速度は、各試験区で差は見られなかった。また、熊野区 b (図 3, E) 及び砂鉄区 (図 3, F) は、収容 36 日目、積算水温 487.9°C でふ化を開始し、同日時点でそれぞれ概ね 60% 及び 20% のふ化率を示した一方で、対照区 (図 3, G) ではふ化は見られなかった。翌日 (積算水温 501.2°C) には、熊野区 a (図 3, I) と対照区を除く各試験区で、概ね 100% のふ化が認められた。熊野区 a と対照区では、概ね 90% のふ化で、その 2 日後 (積算水温 528.1°C) においてほぼ完了した。

## 考 察

2022 年級は砂鉄区、片岸区、対照区 (甲子川由来) の順に早くふ化した。サケ大規模実証試験施設に移入された砂鉄川由来の受精卵は、片岸川由来の受精卵と比較して低い積算温度でふ化しており<sup>5)</sup>、本試験結果においては、砂鉄川由来の精子により、その性質が反映されたものと考えられる。サケ仔魚の発育は、河口から離れた上流域にふ化場を有する河川ほど速い傾向があることが報告されている<sup>6)</sup>。北上川の河口から離れた上流域に位置する、砂鉄川由来の精子を用いた砂鉄川区では、河口域に近い片岸区と比較して、卵発生段階においても、同様の発育特性を示しているものと考えられる。

2023 年級でも、砂鉄区は対照区 (熊野川由来) と比べ

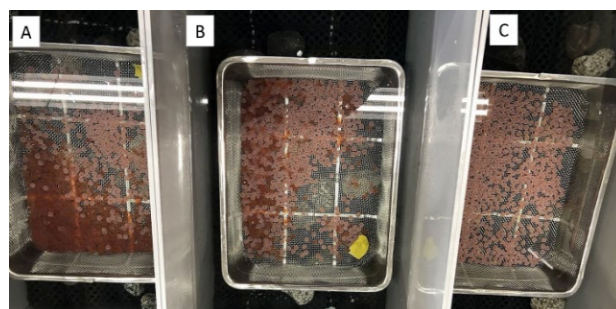


図 2. 2022 年級の積算水温 467.1°C におけるふ化の様子 (A: 砂鉄区, B: 片岸区, C: 対照区, 赤い部分がふ化した稚魚)

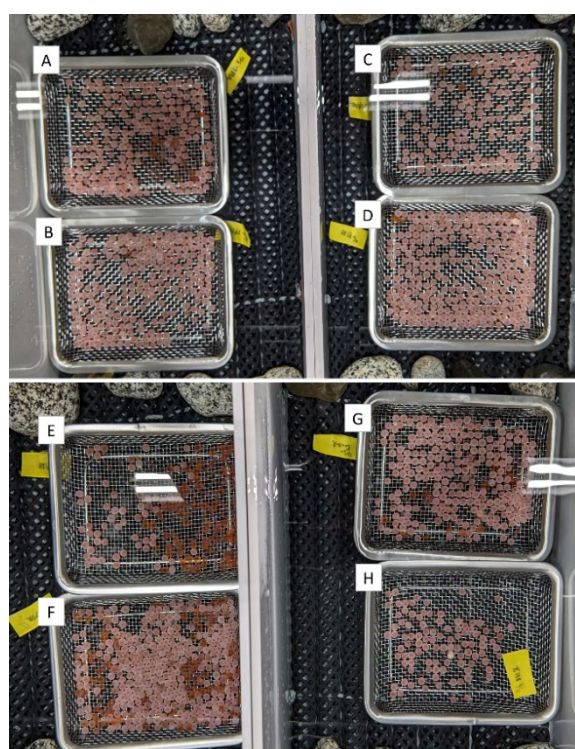


図 3. 2023 年級の積算水温 487.9°C におけるふ化の様子 (A: 津軽石区 a, B: 津軽石区 b, C: 津軽石区 c, D: 熊野区 a, E: 熊野区 b, F: 砂鉄区, G: 対照区, H: 織笠区, 赤い部分がふ化した稚魚)

て発生が速かったのは 2022 年級と同様の傾向であった。一方、熊野区 b が砂鉄区よりもふ化が速かった理由は不明であるが、津軽石区 (a, b, c)、熊野区 a、織笠区は、対照区と採取した精子の時期が異なるにも関わらず、ふ化のタイミングに大きな差は無かったことから、採取した精子の時期がふ化のタイミングへ与える影響は小さいと考えられる。

以上のことから、サケの卵発生、特にふ化は、そ上河川

や時期といった、雄親魚の精子の由来により影響を受けることが分かった。河口からふ化場までの距離が、卵の発生速度を定義付ける要素の一つと考えられるが、その要素に関わらず、さらに速くふ化する試験区も見られた。今後、親魚の個体差が卵の発生速度に与える影響についても、詳細に検討していく必要がある。

卵発生については、帰山 (1989) において導出された有効積算温度式があるが、本試験における受精からふ化までの日数の期待値は、2022 年級で 44 日、2023 年級で 39 日と、実際の 39~41 日及び 36~39 日と比較してやや大きい。当該式ではサケの受精からふ化における生物学的零度を  $-1.0^{\circ}\text{C}$  と定義しているが、受精卵の由来により、生物学的零度が変動する可能性がある。このことから、親魚の由来が卵の温度特性に与える影響についても興味深く、調べる価値があるものと言える。

近年、岩手県のサケ増殖事業では、そ上親魚の不足から他道県からの種卵移入を行っている。回帰が期待できる健康で大型の稚魚を放流するためには、卵管理・仔魚管理・稚魚飼育を適切に行う必要がある。そのためには、各地域における種卵の発生・成育・温度特性を詳細に把握することが重要であり、本研究がその一助となることを願う。

## 謝 辞

本研究を開始するにあたり、岩手県沿岸広域振興局宮古水産振興センターの長坂剛志 水産業普及指導員には、精子の凍結保存技術の導入において多くのご助言をいただき、感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 石田昭夫・石村豊：サケの卵発生時の生物学的零度について. 魚と卵. 北海道さけ・ますふ化場 149, 32-34 (1980).
- 2) 帰山雅秀：サケ属魚類の発育と成長 1. 発育と成長の概念. 魚と卵. 北海道さけ・ますふ化場 158, 22-28 (1989).
- 3) 帰山雅秀：サケ属魚類の発育と成長 5. 再び有効積算温度の法則について. 魚と卵. 北海道さけ・ますふ化場 162, 77-80 (1993).
- 4) T Fujimoto, T Kaneyasu, M Endoh, Y Kogame, J Nynca, A Ciereszko, E Takahashi, E Yamaha, K Naruse and K Arai : Cryopreservation of masu salmon sperm using glucose-methanol extender and seminal plasma biomarkers related to post-thaw sperm motility. *Aquaculture* 557, 738305 (2022).
- 5) 清水勇一・長坂剛志：秋サケ増殖に関する研究. 令和 2 年度岩手県水産技術センター年報, 36-66 (2021)
- 6) 大本謙一：サケ仔魚の発育と飼育開始時期の地域差について. SALMON 情報. 国立研究開発法人水産研究・教育機構 12, 16-19 (2018).