

## サケ媒精卵の断水時間と初期胚発生

熊野 芳明\*1・三枝 美穂\*1・及川 浩人\*2・及川 慶一\*3

### Hours before the Water-supply of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Eggs in Semination and Early Embryogenesis

Yoshiaki KUMANO\*1, Miho SAIGUSA\*1, Hiroto OIKAWA\*2 and Keiichi OIKAWA\*3

キーワード：サケ, 人工受精, 断水時間, 発生, 卵割

サケ (*Oncorhynchus keta*) 増殖事業において, 人工受精の良否は増殖効率を高める上で極めて重要である。受精卵の生残率を高めるためには, 良質卵の見極め, 複数雄親魚の使用, 雌雄とも撲殺後短時間での処理, 媒精直後の接水, 余剰精子の洗浄と十分な吸水及び速やかなふ化槽への収容等が基本とされている<sup>1) 2)</sup>。従って, 捕獲・採卵場とふ化場が離れている場合には, 親魚を活魚輸送してふ化場で受精作業を行うか, あるいは採卵場で受精後に吸水してふ化場まで受精卵運搬するか, 上記基本に準じた工程を採用するのが一般的である。しかし, 捕獲・採卵場がふ化場と離れているばかりでなく, さらにその周辺に適切な用水を確保できない場合には親魚輸送せざるを得ないが, この方法には活魚車や労力の面でコスト高になるという欠点がある。

宮城県内では近年, 捕獲・採卵場周辺に適切な用水がない複数のふ化場において, 採卵作業の進捗に合わせて媒精から一定時間経過後に一括してふ化場に搬入して接水・受精するという媒精卵輸送が行われている。多くの場合, 媒精から接水まで30分以内を目標に作業を完了し, 発眼率やふ化率の低下, あるいは奇形魚の増加などの悪影響は認められないという。しかし, 媒精から接水までの時間や卵温と, 受精率等との関連についてはデータがない。これらのデータが整備され, 本技術が適切に扱わ

れれば, その恩恵を受けるふ化場は複数に上るとみられる。

本研究では, 乾導法における媒精から接水までの経過時間(断水時間)が受精・発生に及ぼす影響について実験的に検討した。

### 材料と方法

#### 実験1 八幡川遡上サケを用いた実験

2007年12月11日に南三陸町八幡川のサケ捕獲場で採捕されたサケを撲殺後直ちにふ化場に搬入し, 雌1個体分の良質卵に雄1個体から搾出した良質精液を媒精した。ここで, 良質卵とは一腹中に未熟卵・過熟卵・吸水卵を含まない卵を言い, 良質精液は後述する4段階評価の+++評価の精液を言う。かくはん後直ちに総卵重の1/10程度をステンレス製網かごに分取し, ふ化槽内の流水中で接水・洗浄・吸水させてそのまま静置し, これを対照区とした。接水直前に卵表面に付着した精液の活力を顕微鏡下で観察するとともに, 卵温と水温を測定した。

残りの媒精卵を二分し, それぞれを卵温測定用の棒状水銀温度計とともにポリエチレン製袋に入れ, 一方は発泡スチロール容器に密封保存し常温区とし, 他方をタオルに包んだ保冷剤とともに発泡スチロール容器に密封保

\*1水産技術総合センター気仙沼水産試験場, \*2南三陸町海浜高度利用施設, \*3小泉川鮭増殖組合

存し冷却区とした(図1)。

媒精から0.5, 1, 2, 4時間後及び23時間後に常温区と冷却区のそれぞれから1/5量程度の媒精卵を分取し, 対照区と同様の処理をし, ふ化槽内に個別に静置した(図2)。媒精卵の分取時には毎回, 卵温と用水温を測定した。また, 各実験区の接水の直前と直後に卵表面に付着した精液を顕微鏡下で観察し活力を判定した。

岡田<sup>3)</sup>の実験によれば, 卵割の進行は時間積算水温135~192°C・hで4~8割球となり, 卵割の判定が容易になるという。そこで, 供試卵をそれぞれの接水から15時間後(時間積算水温: 約165°C・h)に全数採取しブアン固定した。一昼夜以上ブアン固定した試料から各区100粒を抽出し, 顕微鏡下で卵割の有無を観察した。受精の有無を卵割の有無で判定し<sup>4) 5)</sup>, 受精率を算出した。また, 確認できるものについては割球数を記録した。得られた受精率は, z検定を用いて対照区との有意差を検定した。

なお, 供試親魚については魚体測定とウロコの輪紋観察による年齢査定を実施した。精液の活力は+++, ++, +, -の4段階評価とし, 判定基準は岡田<sup>6)</sup>に従い以下のとおりとした。

+++ : 前進運動をする精子の存在する精液



図1 媒精卵の保存状況

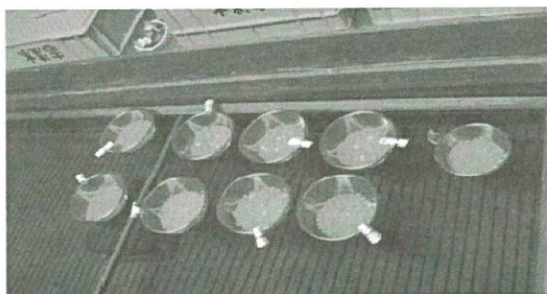


図2 実験区の配置

- ++ : 活発な旋回運動をする精子の存在する精液(前進運動するものなし)
- + : 緩慢な旋回運動或いは揺動する精子の存在する精液(前進運動, 活発な旋回運動するものなし)
- : 運動する精子の全然存在しない精液

## 実験2 小泉川遡上サケを用いた実験

2008年1月15日に本吉町小泉川のサケ捕獲場で採捕されたサケを撲殺後直ちにふ化場に搬入し, 雌1個体分の良質卵に雄1個体から搾出した良質精液を媒精した。かくはん後直ちに総卵重の1/5程度を分取・接水し余剰精液を洗浄した後アトキンス式ふ化盆に収容し, ふ化槽内の流水中で吸水させてそのまま静置し, これを対照区とした(図3)。接水直前に卵表面に付着した精液の活力を顕微鏡下で観察するとともに, 卵温と用水温を測定した。

残りの媒精卵は卵温測定用の棒状水銀温度計とともにポリエチレン製袋に入れ, 発泡スチロール容器に密封保存した。実験時期が寒冷期であることから冷却区は設定しなかった。媒精から0.5, 1, 2, 4時間後及び23時間後に, 保存媒精卵の1/5量程度を分取し, 対照区と同様の処理をし, ふ化槽内に個別に静置した。媒精卵の分取時には毎回, 卵温と用水温を測定した。また, 各実験区の接水の直前と直後に卵表面に付着した精液を顕微鏡下で観察し活力を判定した。

対照区及び5実験区の供試卵を, それぞれの接水から17時間後(時間積算水温: 約170°C・h)に140~180粒採取しブアン固定した。一昼夜以上ブアン固定した試料から各区100粒を抽出し顕微鏡下で観察し, 卵割の有無で受精の有無を判定し, 受精率を算出した。また, 確認できるも

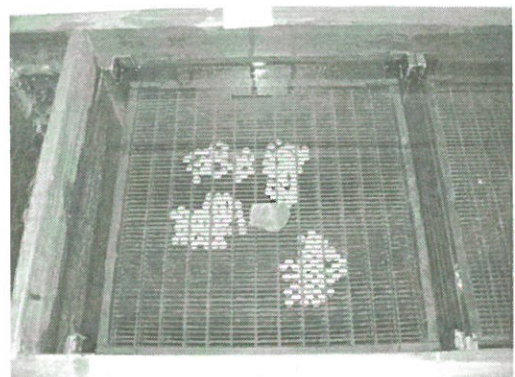


図3 アトキンスふ化盆上の実験卵

のについては割球数を記録した。

さらに、各実験区のふ化盆に残した卵については、継続飼育とし、発眼率（発眼卵数／供試卵数×100）、ふ出率（ふ出仔魚数／供試卵数×100）、浮上率（浮上稚魚数／供試卵数×100）を求めた。

得られた受精率、発眼率、ふ出率及び浮上率についてはz検定を用いて対照区との有意差を検定した。

なお、供試親魚の測定及び精液の活力判定は実験1と同一の方法による。

結 果

実験1 八幡川遡上サケを用いた実験

供試雌は5年魚で、1粒卵重約0.26g、孕卵数2,925粒であった（表1）。雄は4年魚で、精液活力は+++で良好であった。供試親魚の撲殺から媒精までに要した時間は25分であった。

実験区の接水時の卵温は、常温区が10.0～11.0℃、冷却区では4.0～8.7℃で推移した（表2）。また、接水時の水温は10.9～11.0℃で安定していた。水温と卵温との差は

表1 受精実験に用いたサケ親魚

供試親魚	FL(cm)	BW(kg)	卵重(g)	1粒卵重(g)	卵数	精子活力	年齢
雌	74	4.1	762	0.26	2925		5
雄	65	2.5	-	-	-	+++	4

表2 実験区の接水時卵温と水温（℃）

接水までの時間	対照(0)	0.5	1	2	4	23
卵温	常温区 10.8	10.8	10.9	10.6	10.0	11.0
	冷却区 -	8.7	7.6	5.4	4.0	5.9
水温	11.0	11.0	11.0	11.0	10.9	10.9

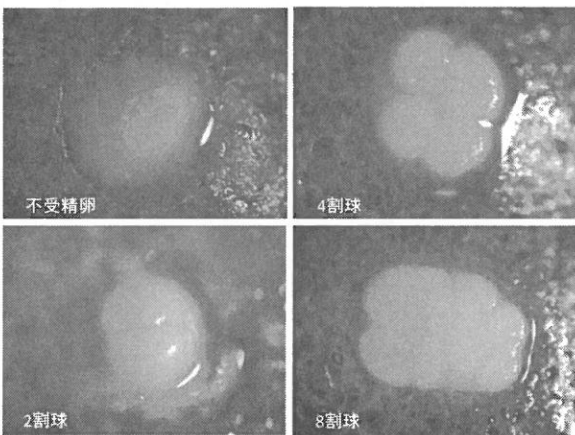


図4 接水から15時間経過時の胚

常温区では0.1～0.9℃の範囲であったが、冷却区では媒精4時間後に最大の6.9℃に達した。

媒精精液の活性は、対照区では接水前が+++であったが、接水直後には++になった。これに対して、媒精から0.5時間以上経過した実験区では接水の前後にかかわらず、卵表面に付着した精液の活性はいずれにおいても-評価となった。

接水から15時間経過時の卵の発生状況は、卵割が確認されたものでは2割球から8割球までが観察された（図4）。

これら卵割卵を受精卵として受精率を算出すると、対照区の97%に対して実験区では93～98%となり、対照区と各実験区との間に5%水準で有意差は認められなかった（図5、6）。すなわち、媒精から23時間後の接水でも対照区と差のない受精率が得られた。

一方、接水15時間後の発生の進行状況は、通常行われている媒精直後の接水（対照区）では一部が8割球まで卵割が進行していたのに対し、多くは4割球の段階にあった。卵割が確認された全卵数に占める各段階の割合は、4割球が約81%、8割球が約19%であった（図7）。これに対して常温実験区では、媒精から接水までの時間の延長に伴い

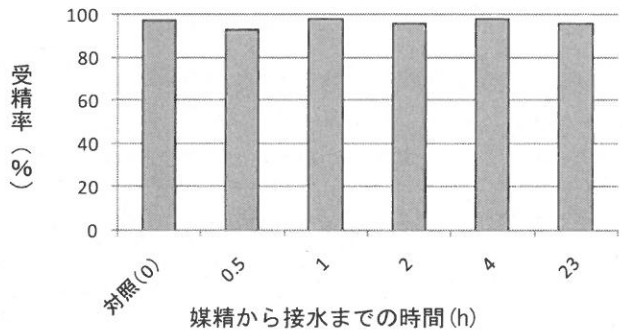


図5 常温区における受精率

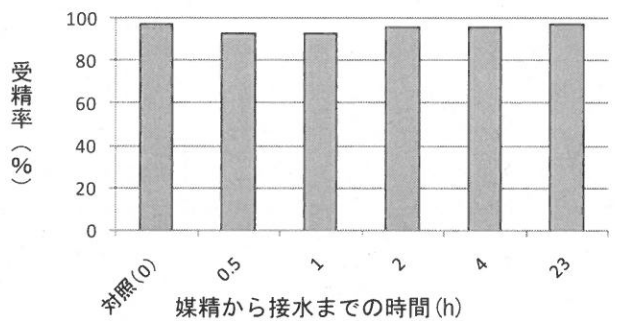


図6 冷却区における受精率



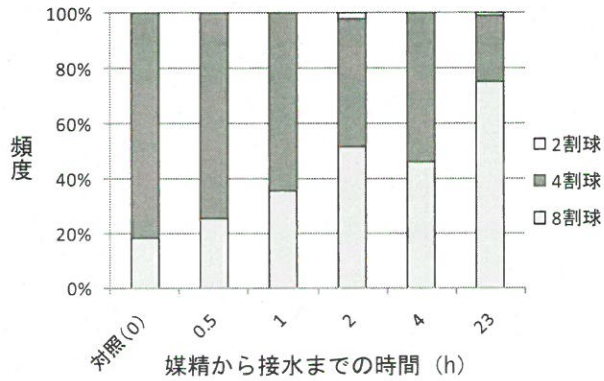


図7 常温区における接水15h後の卵発生状況

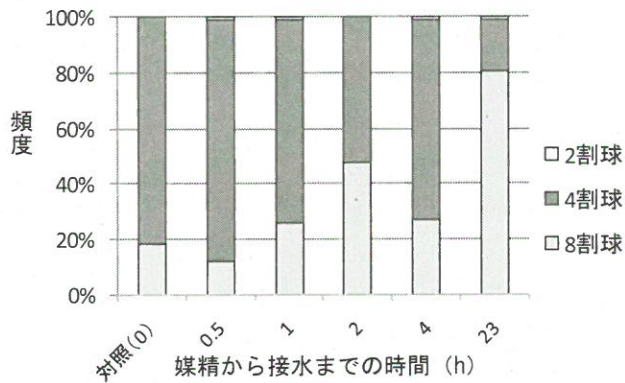


図8 冷却区における接水15h後の卵発生状況

発生進行が概ね促進される傾向がうかがわれ、23時間後の接水では8割球が74%に達した。しかし一部では発生の遅延も認められ、2及び23時間後の接水では2割球から8割球までが混在した。

冷却区においては、媒精から0.5時間後の接水で対照区よりも発生の進行が遅れた。しかし、1時間以上経過後の接水では発生の進行が概ね促進される傾向が認められ、常温区と類似した結果となった(図8)。一方で2時間後を除く0.5時間後から23時間後の接水まで2割球が確認され、発生の遅延も同時に認められた。

実験2 小泉川遡上サケを用いた実験

供試魚は雌雄ともに5年魚であった(表3)。1粒卵重は約0.27g、孕卵数2,619粒であり、精液活力は+++で良好であった。供試親魚の撲殺から媒精までに要した時間は13分であった。

実験区の接水時の卵温は7.6~9.1℃であった(表4)。用

表3 実験に用いたサケ親魚(小泉川)

供試親魚	FL(cm)	BW(kg)	卵重(g)	1粒卵重(g)	卵数	精子活力	年齢
産	74	4.2	700	0.267	2619		5
雄	75	4.2	-	-	-	+++	5

表4 実験区(小泉川)の接水時卵温と用水温(℃)

接水までの時間	対照(0)	0.5	1	2	4	23
卵温(℃)	8.9	9.0	9.1	8.7	7.6	8.2
用水温(℃)	9.9	9.9	9.9	9.9	9.9	9.8

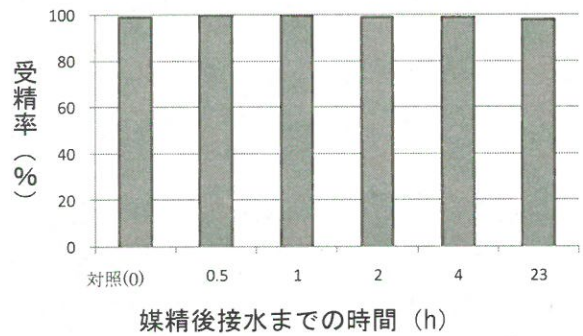


図9 小泉川実験区における受精率

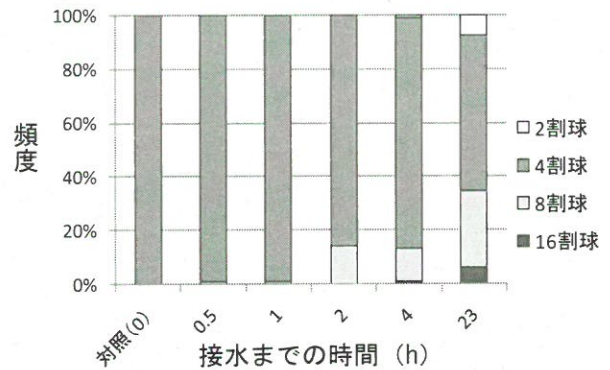


図10 接水後17時間における発生状況

水温は9.8~9.9℃で安定し、卵温との最大較差は2.3℃であった。

媒精精液の活性は、対照区では接水の前後ともに+++であったが、媒精から0.5時間以上経過した実験区では接水の前後にかかわらず、卵表面に付着した精液の活性はいずれにおいても-評価となった。

接水から17時間経過時の卵割の有無から受精率を算出すると、対照区で99%であったのに対して実験区では98~100%となり、対照区と各実験区との間に5%水準で有意差は認められなかった(図9)。

一方、接水から17時間経過時の発生状況は、対照区では卵割が確認された卵はすべてが4割球であった(図10)。

媒精後接水までの時間が0.5時間及び1時間の実験区においてもほとんどが4割球で、それぞれで1個体が8割球になっていたに過ぎなかった。接水まで2時間の実験区では8割球が14%に増加した。さらに遅延して接水した4時間区及び23時間区では、4割球が主体となっていたものの他実

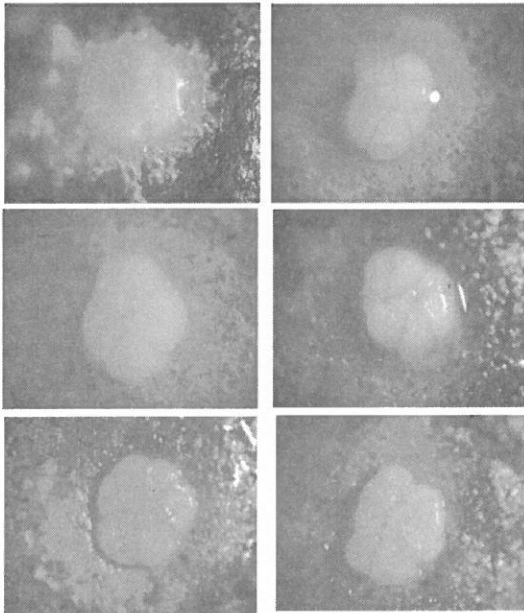


図 11 様々なタイプの異常胚

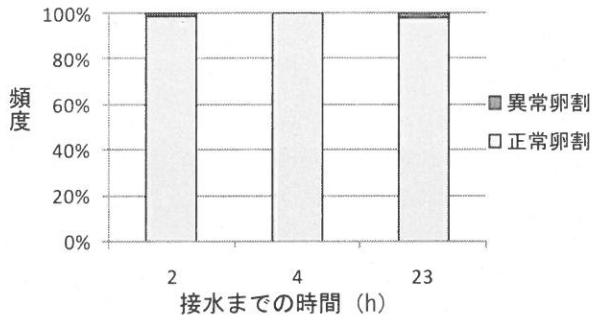


図 12 4割球の状況

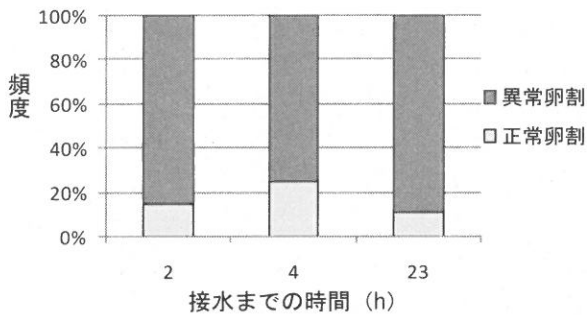


図 13 8割球の状況

験区とは様相を異にし、2割球から16割球までが混在した。

そこで、比較的多くの卵が8割球に達していた2, 4, 23時間区で、4割球と8割球の割球の状態を吟味した。左右対称に卵割溝が形成された等割卵を正常卵割、左右対称ではない不規則な卵割溝を示す卵を異常卵割とした (図11)。4割球の段階ではほぼすべてが左右対称の等割卵と見なされ正常卵割と判定された (図12)。一方、8割球では異常卵割が多く、正常卵割の割合は11~25%にとどまった (図13)。

次に、稚魚の浮上まで飼育を継続した群の発眼率、ふ出率及び浮上率は図14のとおりであった。

まず、発眼率は98.2~8.9%の間にあったが、対照区 (0時間) 及び接水までの時間が0.5~1時間までの2実験区では94.7~98.2%と高く、2~23時間までの3実験区では8.9~15.5%と低かった。

また、ふ出率は、対照区及び1時間までの2実験区では94.7~98.2%の範囲にあったが、2時間を超える3実験区では低下し、5.2~13.9%となった。

さらに、浮上率においても対照区及び1時間までの2実

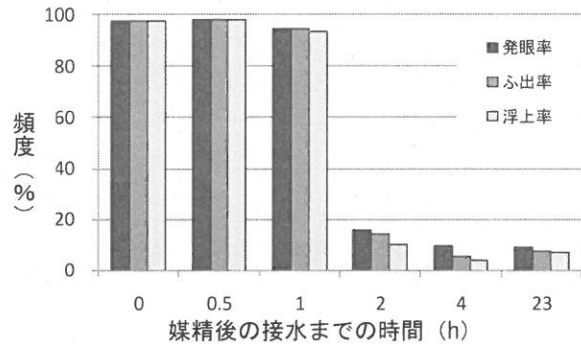


図 14 接水までの時間別の発眼率・ふ出率・浮上率

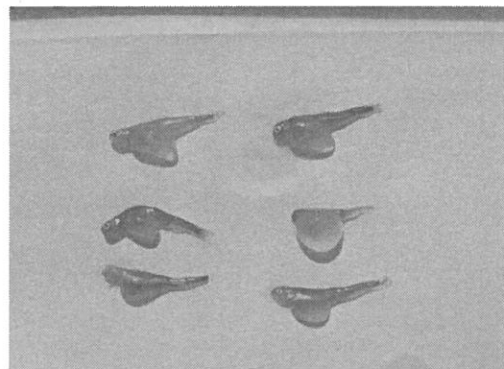


図 15 奇形魚，發育不全魚

験区では93.4~98.2%と高く、2時間を超える3実験区では3.9~10.2%と低い値であった。

媒精後0.5時間で接水した実験区では、発眼率、ふ出率及び浮上率ともに、対照区との間に5%水準で有意差が認められなかった。1時間区では、発眼率とふ出率は対照区と差がなかったものの、浮上率で5%水準で有意差が認められた。

一方、媒精後2時間以上経過して接水した3実験区では発眼率、ふ出率、浮上率ともに低い結果となったが、この3実験区には浮上時期になっても浮上できない奇形魚や発育不全魚が散見された(図15)。

## 考 察

八幡川遡上サケを用いた、媒精から接水までの断水時間が0.5時間から23時間までの実験では、接水から15時間後の卵割を指標とした受精率が93~98%と常温区と冷却区のいずれにおいても高く、対照区(乾導法)の97%と差のない結果となった。

また小泉川遡上サケを用いた実験は、寒冷期の1月に実施したことから冷却区を設定しなかったが、こちらも断水時間23時間までの実験で受精率98~100%となり、対照区の99%と差は認められなかった。

上記2例の実験結果より、媒精から23時間の断水後の接水でも受精が行われて発生が開始し、なおかつ媒精直後の接水と同等の受精率が得られることが示された。

サケ卵の人工受精方法としては、乾導法や等張法あるいは体腔液中での媒精などが知られ、いずれも高い受精率が得られることが分かっている<sup>7)</sup>。乾導法では媒精後の速やかな接水により精子が活動を始め、卵内に進入し受精が成立するとされている。今回の実験では媒精から接水まで最大23時間が経過しており、それでも対照区と差のない高い受精率が得られた。このことから、精子は媒精から接水までのいずれかの時点で卵内に進入し、受精した後卵割が開始・進行したものと考えることができる。一方、媒精から0.5時間以上経過後の卵膜表面に付着した精子が、接水によっても運動性を獲得しないことが本実験で確認されている。このことは、精子の卵内進入が媒精直後から0.5時間以内に行われたこと、すなわち接水に依存せずに行われたことを示している。

しかし、サケ・マスの精子は希釈しないそのままの精液中では運動性を示さず、実際本実験においても接水前の精子は不動であった。水で希釈すると運動を開始すると言われ、体腔液や等張液などにも同様の効果が知られている<sup>6) 7) 8)</sup>。本実験の供試卵は採卵台上で切開法により採卵し、体腔液を軽く切って受卵盆に受けており、卵の表面は体腔液で湿った状態であった。そのような状況下での媒精により、卵膜に近接した精子が卵膜表面の体腔液の影響を受けて運動性を獲得した可能性は高く、すべての卵内に精子が進入したと考えても不合理ではない。このように考えれば、媒精から23時間後の接水であっても、その時点で卵及び卵内の精子(核)が生存していれば、接水により卵が賦活化し発生が進行することが予想される<sup>3) 4)</sup>。

今回の2回の実験における接水までの媒精卵の保管温度は、4.0~11.0°Cの範囲にあった。岡田・伊藤<sup>6)</sup>は、0°Cと11°Cで体外保存した精液の受精力がそれぞれ4日間と3日間保持され、対照区と差がなかったことを報告している。また、岡田らは卵の体外保存について、10.5°Cで5日間保存した場合の受精率が96%程度であったとしている<sup>9)</sup>。従って、今回の実験の温度範囲であれば、卵と精子の双方が0.5時間をはるかに超えて生存し受精能力を有していたと考えられる。卵内に進入した精子(核)の、卵が賦活化する前の生存能力に関する知見は見あらず、この点は不明である。しかし、卵内の精子(核)の生存性が卵の生存性に依存すると考えれば、今回のすべての実験区で対照区と統計的に差がない受精率が得られたことを合理的に説明できる。

それでは、媒精から接水までの時間すなわち断水時間の長短によって発生の進行状況が異なるのはなぜであろうか。

受精卵であれ不受精卵であれ、卵は接水により賦活化し胚盤が形成され、それが受精卵であれば発生が開始し、卵割が進行するが、不受精卵であれば発生開始には至らない<sup>3) 4) 7) 10)</sup>。つまり、受精卵であってもそのままでは卵に何も変化は起こらず、接水によって初めて賦活化し発生が開始し卵割へと進む。今回の2回の実験では、実験区の卵割を指標とした受精率が93~100%と高い値を示し対照区と差がなく、すべての実験区で接水により卵が賦活化し発生が始まったと考えられる。同一の実験では



全実験区の発生が接水後の経過時間に依存して同程度に進行するはずである。しかし、接水から一定時間（実験1で15時間、実験2で17時間）経過後にブアン固定した供試卵の発生の進行状況には差があった。実験1では断水時間4時間区を例外として断水時間が長い実験区ほど発生段階がより進行した個体の出現頻度が高くなる傾向にあった。また実験2においても実験1と同様に、断水時間の長期化に伴い発生段階が進んだ個体の割合が多くなる傾向が認められた。接水からブアン固定までの用水温の変動は0.1°C程度であり、この間の時間積算水温にしても1.5～1.7°C・hである。従って、用水温の変動が発生進行の差異の原因とは言えない。広井は<sup>11)</sup>、サケ未受精卵の保存実験において、ビニール袋に保存した未受精卵の減耗について、ビニール袋内の結露現象に起因する未受精卵の賦活化による未受精卵の発現を指摘し、保存日数の伸長に伴い未受精卵の発現率が増加すると述べている。今回の実験においてもポリ袋内に結露が生じた可能性を否定できない。断水時間が長い実験区ほどより発生が進行した個体の割合が増加しており、結露現象の進行による水分量の増加に伴って受精卵の賦活化が促され、発生開始卵が漸増したことは十分に考えられる。すなわち結露水の生成が卵に対して接水と同様の効果をもたらしたと考えられる。ただし、断水4時間区がその前後の実験区と比べて、より発生が進行した個体の割合が低下したことについては現時点で説明できない。すべての実験系列で接水時の卵温が断水4時間区において最低を示したことが影響しているのかもしれない。

次に、卵割を指標とした受精の有無の判定によれば、媒精後23時間以内の接水では対照区と変わらない受精率を示したが、その質的な内容について考察してみる。サケ卵の胚盤を上方から観察した場合、8割球期までは左右対称の等割に卵割が進む<sup>3) 4) 12) 13)</sup>。実験2の断水2, 4, 23時間区の4割球期ではいずれの実験区でもほぼすべてが正常卵割と見なされたが、8割球期では75%以上が異常卵割であった。4割球期では卵割の異常が見極め難いのか、あるいは4割球から8割球へと卵割が進行する段階で異常が発現するのかが不明であるが、いずれにしても8割球期には発生異常の確認が容易であった。そして、稚魚の浮上期まで飼育して得られた発眼率、ふ出率、浮上率は、2時間以上の断水区ではいずれも20%を下回った。これに

対して、1時間までの断水区の発眼率、ふ出率、浮上率はいずれも90%以上であった。岡田や大久保は実験的に酸素欠乏状態に置いた接水後の受精卵の卵割異常を観察している<sup>10) 12)</sup>。さらに、岡田はこのような卵は途中まで発生が進行するがやがて死に至るとしている。今回の実験では接水後の供試卵を適切な用水で流水管理しており、この間の酸欠は考えられない。長時間に及ぶ断水区においては接水前に卵が酸欠状態に陥った可能性が高く、このことが卵割異常を惹起した要因と考えられる。2時間以上の断水区における8割球期の正常卵割率が20%程度であり、それらの発眼率が20%以下となっており、卵割異常胚が発眼期以前の発生途上で死に至った結果と考えることができる。

以上のように、水温4.0～11.0°Cの範囲内では、サケ卵は媒精から23時間の断水を経た接水によっても受精し、発生が開始する。しかし、断水時間が1時間以上になると正常な発生が阻害される個体が増加し、特に2時間以上の断水では発眼率、ふ出率、浮上率が極端に低下する。断水時間が30分以内であれば発生の進行に影響はなく、したがって、サケの増殖事業工程において捕獲場周辺に適切な用水がないなどの場合に、県内のいくつかのふ化場で行われている媒精から接水まで30分以内に完了する受精方法が、卵管理温度が4.0～11.0°Cの範囲であれば、種苗生産の障害にはならないことが分かった。また、8割球期の胚盤の観察により、その後の発生の良否をある程度推定できることが明らかになった。

ただし、採卵期の初期に時折経験する気温の高い時期の接水までの卵管理については今後の検討課題である。

## 要 約

サケの乾導法による人工受精において、媒精から接水までの経過時間が受精及び発生に及ぼす影響について、実験的に検討した。

1. 媒精から接水までの断水時間を0.5時間から23時間までの5実験区を設定し、接水後15及び17時間（時間積算水温約165及び170°C・h）の卵割の有無を指標として受精率を算出した。八幡川遡上サケを用いた実験では、卵温4.0～11.0°Cで受精率93～98%となり、対照区の97%と差が認められなかった。小泉川遡上サケを用い

た実験では、卵温7.6~9.1℃で受精率98~100%となり  
こちらでも対照区の99%と差が認められなかった。

2. 小泉川遡上サケを用いた実験における受精率算出時点の卵発生状況は、媒精後1時間以内の接水ではほぼすべてが4割球期にあり発生進行の同調性が認められた。一方、2時間以上経過後の接水では2割球期から16割球期までが混在し、発生進行の同調性は認められず、また、8割球期では異常卵割が80%程度に達した。
3. 小泉川遡上サケを用いた実験では、供試卵の一部を浮上稚魚の段階まで飼育し、発眼率、ふ出率及び浮上率を算出した。発眼率、ふ出率及び浮上率ともに媒精後0.5時間以内の接水であれば対照区と統計的な差はなかったが、1時間後の接水の浮上率で対照区と有意差が認められた。2時間以上経過後の接水ではいずれの値も

極端に低下した。

4. サケの受精作業においては、現在一部ふ化場で行われている媒精から30分以内の接水により良好な種苗生産が期待できる。また、8割球期の胚盤観察によりその後の発生の良否を推定可能である。

## 謝 辞

本稿執筆に際して懇切な御校閲を賜った独立行政法人水産研究総合センター さけますセンター さけます研究部 伴真俊博士に深甚の謝意を表します。また、実験に当たって種々の便宜を供与された南三陸町営さけますふ化場及び本吉町小泉川ふ化場の関係各位に厚くお礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 水産庁 北海道さけ・ますふ化場監修 (1984) さけ・ます増殖事業の手引. 社団法人 本州鮭鱒増殖協会, 東京, 108pp.
- 2) 独立行政法人 さけ・ます資源管理センター監修 (2003) サケ人工ふ化放流事業百問百答 (改訂版). 社団法人 本州鮭鱒増殖振興会, 東京, 144pp.
- 3) 岡田雋 (1954) 賦活された鮭未受精卵胚盤の形態変化について. 水産孵化場試報, **9** (1/2), 127-129.
- 4) 山本喜一郎 (1947) 淡水に接した鮭卵の受精力減衰の機構に就て. 水産孵化場試報, **2** (1), 1-11.
- 5) 高野和則・広井修・安川雅夫・末武敏夫 (1973) サケ・マス魚類の卵および精子の保存に関する研究-1 サケ (*Oncorhynchus keta*) 未受精卵の保存について. 北海道さけ・ますふ化場研報, **27**, 31-37.
- 6) 岡田雋・伊藤哲司 (1955) 鮭人工孵化に於ける不受精現象の研究 第一報 精子の活力と受精力について. 水産孵化場試報, **10** (1/2), 21-31.
- 7) 山本喜一郎 (1949) サケ及マスの卵の受精方法に就ての考察. 水産孵化場試報, **4** (2), 33-46.
- 8) 太田博巳・西村明・畑山誠 (1989) ヒメマスの精子活性について. 北海道水産孵化場研報, **44**, 77-82.
- 9) 岡田雋・石川嘉郎・木村義一 (1956) 鮭人工孵化における不受精現象の研究 (第2報) 精子及び卵子の生存能力について. 水産孵化場試報, **11**, 7-17.
- 10) 岡田雋 (1954) 鮭受精卵に於ける窒息死の様相 (第1報). 水産孵化場試報, **9** (1/2), 87-93.
- 11) 広井修 (1978) サケ・マス類の卵および精子の保存に関する研究-3 サケ未受精卵および精子の無処理保存による稚魚産生率の変化. 北海道さけ・ますふ化場研報, **32**, 19-26.
- 12) 大久保正一 (1949) 鮭卵受精並に初期発生に對する溶存酸素不足の影響に就いて. 水産孵化場試報, **4** (1), 27-29.
- 13) 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). 北海道さけ・ますふ化場研報, **27**, 25-30.