

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

委嘱 岡田 雋 委嘱 伊藤 哲司
(北海道大学農学部)

On the Activity and Fertilizing Capacity of Sperm in Dog-salmon (*Oncorhynchus keta*)

By

Shun OKADA and Tetsushi ITO

(Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

The spermatozoon of dog-salmon has a long tail measuring more than ten times of head length, showing about 36 microns in total length (see Fig. 1.). It remains immovable in the sperm.

When the sperm is diluted by tap water, the active movement of the spermatozoa appears within about 30 seconds and then the activity decreases gradually until it becomes immovable after about 60 seconds.

The preservable period of the activity of the sperm after stripping out of the fish body differs much with the temperature. For instance, it is about 4 hours at 33°C and about 7 days at 5°C. Within the range of these temperatures, there seems to exist a certain correlation between the grade of the temperature (x) and the preservable period of the activity of the sperm (y), being represented by an equation $x(y+a)=k$, provisionally $x(y+1.1)=45$. The rule, however, is inapplicable to the temperature below about 5°C. (see Fig. 2. Abscissa; storage temperature [°C] of sperm. Ordinate; preservable period [day] of activity of sperm.)

The stored sperm exhibits good fertilizing capacity even just before the lost of activity. For instance, the sperm stored at 0°C for 7 days could inseminate about 90 per cent of eggs.

When the sperm is stored in the condition of air interception, the preservable period shortens remarkably, e. g. the activity is extinguished after the storage for 40 minutes at 20°C, for 60 minutes at 11°C and for 180 minutes at 0°C.

The activity of the sperm is recovered gradually when the sperm is exposed to the fresh air. If the period of air interception lasts the longer and the storage temperature is the higher, the recovery of the activity of the sperm takes the longer, and more exhibits almost a linear relation between the period of air interception and the duration of recovery at each temperature. Beyond certain limit of the period of air interception, the recovery of the activity occurs no longer. (see Fig. 3. Abscissa; period [minute] of air interception. Ordinate; period [minute] of recovery of the sperm activity)

The above tendency was observed also in the sperm in a killed fish body. The sperm in the

* 本研究は北海道科学研究費補助金の一部を使用して行はれた。記して謝意を表する。

body loses the activity after 60—90 minutes at 15°C of body temperature. When this sperm exposed to the air, the activity of the sperm is recovered gradually unless the sperm is kept in the body excessively long.

The sperm which has recovered its activity shows good fertilizing capacity just like the fresh one (96 per cent). Strange to say, the sperm which does not yet recover and shows any activity retains also the fertilizing capacity though naturally it shows very low per centage (46 per cent).

1. 緒 言

ここ十年内外に亘り千歳の鮭鱒孵化場において初期(9月中旬~10月中旬)の採卵鮭卵に著しい異常死卵が発生しているが、その原因は今なお不明で毎年相当の被害を出している。その状況は人工受精を施した卵子を同場孵化室に収容してから約1ヵ月経過後、恰も発眼期の前後に至つて続々と卵子が白濁不透明となり所謂死卵として出現するのであつて、これは該期間中の採卵卵子に連日発生するとは限らず、時には突発的に発生し最悪の場合には某日の採卵卵子が全滅に瀕することもあり、同期間を通じての死卵発生率が50%あるいはそれ以上に達したこともあつた。この死卵を観察すると大部分は胚の存在を認め難く、恰も不受精卵であるかの如き観を呈している。

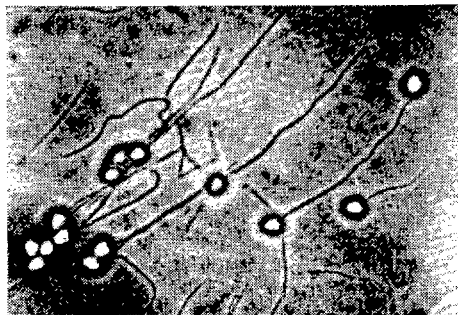
この原因については(1)精子あるいは卵子の一方、または両者共が受精能力を喪失している場合(2)精子及び卵子は健全で受精能力を有するが、媒精に際して受精現象の進行しない場合(3)受精現象は完遂されるが発生初期に斃死して不受精の如き様相を呈する場合の3段階に分けて考えることが出来る。第2の場合については山本('49)が受精媒液の性質について貴重な研究成果を挙げており、第3の場合について岡田('39,'54)が窒息等により発生初期に胚が斃死すると不受精卵と非常によく似た様相を呈することを明かにした。

本研究は主として第1の場合について追究せんとするものであるが、従来兎角卵子側の原因探究に偏したのを精子の面からも追求することとし、今回は主として精子の諸性質に関する基礎的研究を行い、これより人工孵化において雄親魚の取扱による不受精現象の惹起し得べき可能性について考察した。

本文に先だち、有益な示唆により本研究の端緒を与えられた北大犬飼哲夫教授、同低温科学研究所青木廉教授及び研究上種々の便宜を供与された北海道さけ・ます孵化場本場及び千歳支場の関係官各位に深く感謝の意を表する。

2. 精子の形態及び運動

鮭 (*Oncorhynchus keta*) の精子は、第1図に示す如く全長約 36μ 、頭長約 3μ で甚だ長い尾部を具えている。頭部は略心臓形あるいは長楕円形で、生時尾部はほとんど観察出来ないがこれの波状運動により前進するものと考えられる。



第1図 サケの精子 ×750

鮭の精子は精液そのままの中では運動を現さないが、水で稀釈すると活潑に運動する。しかしその運動時間は極めて短かく一般に活潑な運動は30秒内外で止み、60秒後にはほとんど全く不動となり、最も長い場合でも90秒を越えることがない。これは Scheuring ('23)、藤田 ('27)、山本 ('49) の観察とよく一致する。従つて精子の活力検査は最も迅速な操作を要するもので、均等な精子の懸濁液を作つてから観察するのは機を逸する。故に顕微鏡下に予め焦点を合したスライドの上に、針先で精液の微滴を採りこれに水を一滴加へると同時にカバー・ガラスをかけ低倍率で直ちに検鏡する。この時精液塊の中央部は稀釈されないが、周辺部は稀釈されるので一般にこの部分に活潑な精子の運動が観察され

る。更に新たに精液の微滴を採り同様に検鏡し、これを数回繰返してその精液の活力を認定した。

精子の運動は前進運動、旋回運動及び揺動の3種に大別することが出来る。前進運動は新鮮な精液中に見られるもので、活潑に前方に推進するが次第にその運動は緩慢になる。次で殆んど一定の円周で運動する活潑な旋回運動が多く見られ、やがてこれは次第に緩慢となる。遂には位置を殆ど変えることなく、頭部を振り様に揺動している固着運動に変じ、最後には不動となる。新鮮な精液でも、全精子が一様に活潑な前進運動を現す訳ではなく、寧ろ活潑な旋回運動をするものが大半を占めている。精液が保存によつて古くなるに従い前進運動は勿論、旋回運動をするものも減少して、反対に不動精子が次第に増加して来る。遂には多数の試料について検鏡しても全く運動するものが見られなくなる。

以上述べた所により精液の活力の段階を次の4種に大別標示することにした。活力段階の低下は同時に不動精子の増加を意味している。

- 卅 前進運動をなす精子の存在する精液
- 卅 活潑な旋回運動をなす精子の存在する精液（前進運動をするものなし）
- 十 緩慢な旋回運動あるいは揺動をする精子の存在する精液（前進運動、活潑な旋回運動をするものなし）
- 一 運動する精子の全然存在しない精液

3. 精子の体外活力と保存温度との関係

先づ体外に取出した精液の活力保有時間（即ち水を以つて稀釈した場合に最早運動する精子の見られなくなるまでの時間）が保存温度と如何なる関係を有するかを知るため次の実験を行った。

実験に用いた精液は、千歳採卵場において撲殺直後の成熟雄から、搾出法によつて硝子管に採取、これを氷を入れた魔法瓶内に收容して札幌の実験室に持ち帰り直ちに各温度に配置した。この間約2時間半を要した。なお魚体温は常に水温と略等しく、従つて採取精液を直ちに0°Cの魔法瓶内に收容することについては、家畜の場合に屢々報告されている、温度衝撃の影響が懸念されるが、採取後魚体温と同温（約10°C）で運搬したものと間に顕著な差異が認められなかつたので、大部分の実験は0°C運搬で行つた。

実験方法は精液2cc宛を各試験管に收容、かるく栓を施して各管を夫々所定温度の恒温装置に静置し、一定時間毎に各管から試料を採取し、すでに述べた方法により活力を検定して、活力が(-)となる時間を求めた。温度範囲は0°Cから35°Cに亘り、大体5°C間隔で8実験区について行い、各温度の変動は±1°C以内に止めた。

4個体の精液について行つた実験結果は第1表の如くである。

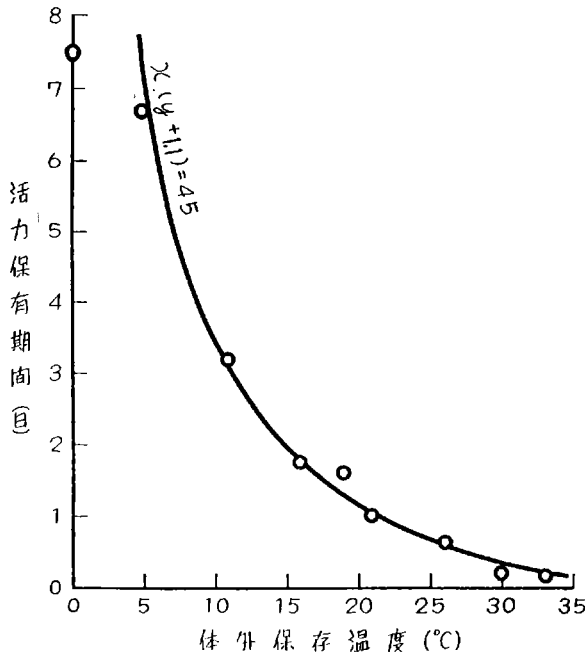
第1表 各温度における体外精子の活力保有時間

個体 \ °C	0	5	11	16	19	21	26	30	33
A	178	178	80	43		26	14		
B	180	150	75	40		22	16	4.5	4
C	170		72		38				
D	192	156	83						
平均	180	161.3	77.5	41.5	38	24	15	4.5	4

鮭の精液の体外活力保有時間については、森脇(12)が8°Cで66時間、山本(49)が13~16°Cで5時間を報告しているが、それ以上あるいは以下の温度については報告されたものが見当らない。本実験でも11°Cで3.2日間前後の活力を保有しており、上記の各報告と略一致した結果を示している。しかし温度が高くなるに従つてその時間は短縮し、33°Cでは約4時間で活力(-)となる。生存を許す高温限界は今回の実験では確認出来なかつたが、家畜では50°C内外で殆ど瞬間的に不動になることが知られており、鮭ではこれより若干低いものと推定される。低温では活力保有時間は著しく延長し、5°Cで6.7日前後、0°Cで7.5日前後を示す。低温限界は現在不明であるが、0°C以下では当然悪影響が推定されるが、0°Cにおいてすでに若干の悪影響があるようで、推定される活力保有期間より大分短い。家畜では2~5°Cで最も活力が長く保有されるという報告が多く、鮭の場合

も略これに類するものと考へられる。

第2図は第1表の平均値を図示したもので、33°Cから5°Cまでの各値は滑かな曲線の上に略載っているが、



第2図 サケ精液の体外保存温度と精子の活力保有期間との関係

0°Cの値はこの曲線から甚しく外れる。この曲線は $x(y+a)=k$ で表され、 x =保存温度、 y =活力保有期間(あるいは生存日数)である。 a 及び k の値はなほ多数の実験結果の集積を俟つて確定さるべきものであるが暫定的に $a=1.1$ 、 $k=45$ を算出した。即ち5°C内外より高い温度では、保存温度(x)と生存日数(y)+1.1との積が常に一定であるという関係が存在する。Hatzios (32) は牛の精液の各温度における活力保有期間を見ているが、5°Cから50°Cに亘る温度範囲内でこの曲線に非常に似た傾向を示している。

これを要するに鮭の体外精液は高温では早く活力を失い、低温では活力の保有が長い。家畜類では古くからこの事実は知られており、高温では運動が激しく、精子の中片部(middle piece)及中心体(central body)に存在するglycogenが速やかに消費され、低温においては運動が抑制されるために活力が長く保存されると考えられている(Marza 30)。鮭の精液の場合は保存中温度によつて運動の状態に変化は見られないが、矢張り高温になる程呼吸代謝物質代謝が迅速となり、速やかに活力を消耗するものと考えられる。

4. 体外保存精液の受精力

前実験で各温度における精子の活力保有期間を明らかにしたが、0°C、5°C、11°Cで保存された体外精液が実際の程度まで受精力を有するか、また活力の程度即ち精子の運動状態と受精力との間に関係が存在するか等を明かにするために本実験を行った。

実験材料の精液は前実験同様0°Cで運搬直ちに試験管に2cc宛収容、各温度に数本宛を配置し、毎回各区1本を活力検定及び受精実験に使用した。受精実験に使用する卵子は毎回千歳採卵場から新鮮な卵子を運搬して、その300粒内外に各温度の保存精液を媒精し、またこの使用卵子に異常なきことを確認するため、同時に新鮮な精液を運搬して媒精し対照区とした。人工受精後10°Cの流水中に飼育し、20~24時間後胚盤が8~32細胞期を示す時期にBouin液で固定し卵膜を除去して受精率を査定した。

実験結果は第2表の通りである。

第2表 体外保存精液の受精力

保存温度		保存日数									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
対 照	活 力	卅	卅	卅	卅	卅		卅	卅	卅	
	受 精 率	99	92	100	92	100		100	90	96	
0°C	活 力		卅	卅	卅	卅		卅	卅	卅	
	受 精 率		99	99	95	100		87	86	91	

保存温度		保存日数								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
5°C	活 力		卅	卅	卅	卅		+	-	
	受 精 率		99	100	96	97		69	17	
11°C	活 力		卅	卅	卅	-				
	受 精 率		99	100	97	6				

同表で明かな如く本実験では0°C保存精液は8.0日間で活力を喪失したが、その数時間前なお活力(卅)の状態にあり、良好な受精率 91%を示した。5°C保存精液は6.5日目で活力を喪失したが、その数時間前において活力は(+)の状態にあり、受精率 69%で稍不良の傾向が見られる。なお活力(-)と判定した後10時間を経過したものにおいても17%の受精率を示したことは注目に値する。11°C保存精液は3.5日目で活力(-)と判定されたが、その12時間後においても6%の受精率を示し、5°Cの場合と同様な奇異な現象が現われた。3日間保存では活力(卅)で97%の良好な受精率を示す。

以上述べた如く0°C, 5°C, 11°Cに保存された体外精液は活力喪失の殆ど直前まで受精力を保有し、活力喪失と判定された後も暫くは若干の受精力が認められる。活力喪失後もなお受精力が存することは甚だ奇態といわなければならないが、これについては (1) 活力検定は少くも5回以上繰返して決定されたが、なお数尾の運動力を有する精子が検視を漏れて存在したとすれば、媒精々液中にはなお多数の運動力を有する精子が存在する筈で、これ等の精子によつて受精が行われたのではないか (2) 受精は乾導法によつて行われたため、予め精子は卵子の卵門(micropyle)付近にも多数付着している筈である。この時水を加えられると殆ど運動力を喪失したかに見える精子も、卵門内に進入することを得て受精能力を発揮するのではないか (3) なお水を加えた時生ずる所謂卵水(egg-water)の影響が考えられる。ウニ等の卵水がその精子の活動力を著しく強めることは F. R. Lillie 外多数の研究者によつて認められているが、鮭の場合にも同様な事実が存在しないとは断言出来ない。即ち不動となつた精子も、ある時間内では活力を恢復し得る仮死状態にあると考えられ、単なる水では賦活されない不動の精子も、卵水によつて強く作用されて若干活力を恢復し受精力を発揮するのではないか。以上の様な理由が考えられるが何れも現在これを明確に断定することは出来ない。

次に活力の程度即ち精子の運動状態と受精力との関係について考察すれば、前進運動をする精子(卅)は比較的早期に消滅するが、それによつて受精率は殆ど低下を現わさない。次いで活潑な旋回運動をなす時期(+)が非常に長く続きこの期間中良好な受精力を発揮している。漸て不動(-)の時期が現れる暫らく前に緩慢な旋回運動(+)続いて揺動(+)が現れるが、この場合(1例)には稍受精率の低下が見られた。

一般的には活潑な運動力を示すものは高い受精率を保証し、運動力の低下したものは受精力も弱いと考えられているが、運動力は受精力の判定規準として不確実とするものもいる(H.P.Davis et al '40)。本実験では以上述べた如く揺動の程度に運動力の低下したものでも可成りの受精率を示し、運動力と受精力との間の関係を明確に把握することが出来なかつた。

5. 精液の体外保存に於ける空気の影響

すでに述べた各実験において、精子の活力判定は保存精液の表層部から採取したものについて行われたが、その際空気に接触している表層部と接触していない内層部とで精子の活力に顕著な差のあることが注目された。一例をあげると第3表の如く、表層部は内層部に比して精子の活力大で活力保有期間もまた長い。

第 3 表 保存精液の表層部及び内層部の活力比較

保存温度		保存日数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0°C	表 層	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+
	内 層	卅	卅	卅	+	+	+	+	-

保存温度		保存日数		1	2	3	4	5	6	7	8
		表層	内層								
5°C	表層	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	内層	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
11°C	表層	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	内層	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍

以上の事実から、空気を全く遮断した場合における体外精液の活力を明かにする目的で次の実験を行った。

実験方法は既述の如くして運搬した新鮮精液を直ちに多数の1 c.c. 容アンプルに、空気泡を残すことなく充填して先端をワセリンで封緘し、3群に分つて各群を0°C、11°C、20°Cの恒温装置に収容し、一定時間毎に一個宛アンプルの頸部を切断し精液の活力の検定に供した。なお各群に对照としてアンプルの頸部を切断して精液を空気に接触せしめたものを用意した。実験結果は第4表の如くである。

第4表 空気遮断による保存精液の活力保有期間

遮断時間	保存温度		
	0°C	11°C	20°C
30分	卍	卍	+
60分	卍	-	-
120分	+		
180分	-		
対 照	7日3時間	3日間	1日6時間

同表に示す如く 0°C 保存では空気遮断後30分時には活力(卍)、60分時には(卍)、120分時には(+), 180分時には(-)となり、对照が7日余の活力を示したのに対し極めて短命で約3時間で活力を喪失する。11°C及び20°C保存では更に短命で約1時間に過ぎない。

精子の体外保存に空気の必要なことは森脇(12)がすでに報告しており、姫鱒 (*Oncorhynchus nerka*) の精子は空気に接触を許した場合は8°Cで96時間の活力保有を示す

が、空気遮断の場合は僅か3時間で活力保有を喪失し、本実験結果とよく一致する。

家畜の精液では空気との接触は著しく精子の生存能力を阻害するといわれ (Grecke '40, Tosic & Walton '46, Tosic '47), 人工受精用の精液保存には空気の完全な排除が推奨されていることと対比して極めて興味ある事実である。

更に上述の如く一定時間空気と遮断されて活力を喪失した精液も、これを空気に接触させて置く次第に活力を恢復してくる。

第5表は空気遮断時間と、その精液を空気に接触させた後、活力恢復に要する時間との関係を示す。同表に見る如く、0°C保存精液において180分空気との接触を遮断するとその活力は(-)になるが、これを再び空気に曝

第5表 保存精液の空気遮断時間と活力恢復所要時間

0°C 保存精液					
空気遮断時間	180分	300	450	480	
恢復所要時間	4分	10	30	1時間後恢復せず	
11°C 保存精液					
空気遮断時間	60分	120	180	240	360
恢復所要時間	4分以内	7	15	23	33
20°C 保存精液					
空気遮断時間	60分	120	180		
恢復所要時間	15分	43	2時間半後恢復せず		

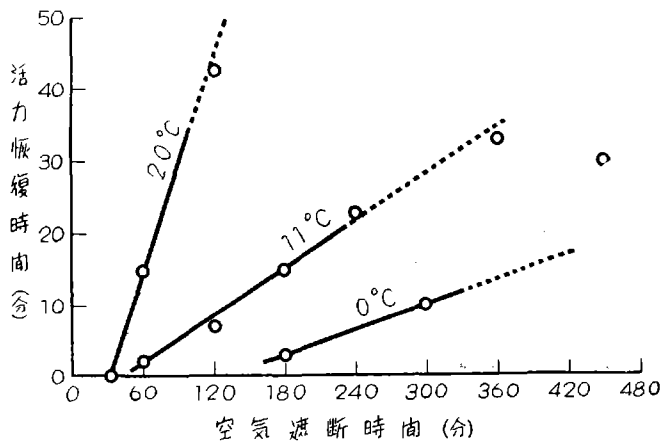
し一定時間毎に活力を検定すると次第に活力を恢復してきていることが解る。

即ち4分後の検定では(+), 15分後に(卍), 23分後に(卍)と恢復し、新鮮精液と識別し難い程に活力を恢復した。300分空気と遮断した場合には、恢復の徴候は10分後に漸く現れ、50分後に(卍)となつた。450分空気遮断の場合は恢復の徴候は更に遅れて30分を要し、しかもその後長く(+)の状態から恢復しなかつた。480分空気遮断の場合は1時間経過後も恢復の徴候が現れなかつた。以上から0°C保存の場合空気遮断300分(5時間)までは活力完全恢復の見込があるが、7時間

以上では恢復の見込がない。

次に 11°C 保存精液においては、空気遮断60分時には活力はすでに(一)であるが、空気に接触せしめて後4分の査定ですでに(卍)を示しており、更に短時間に恢復の徴候を示すことが解る。而して10分後に(卍)を示し完全に恢復した。120分空気遮断では7分後に恢復の徴候を示し10分後に(卍)、30分後に(卍)を示し完全に恢復した。180分空気遮断では13分後に恢復の徴候が見えなかつたが16分後(卍)、25分後(卍)に恢復した。240分空気遮断では17分後まだ不動で23分後恢復徴候現われ28分後(卍)その後長く(卍)には恢復しなかつた。360分空気遮断では30分後不動、33分後恢復の徴候を見せ45分後でも(+)の状態、その後長くこれ以上には恢復しなかつた。以上から11°C保存の場合は、180分(3時間)までは活力の完全恢復の見込があるが、240分(4時間)以上では見込がない。

最後に20°C保存精液においては、空気遮断30分後すでに活力は(一)に低下し、60分後には(一)となり、これを空気に接触放置すれば15分後に漸く恢復の徴候を現し、20分後(卍)、25分後(卍)となり完全に恢復した。空気遮断120分では37分後も不動で43分後漸く恢復の徴候を示したが、3時間後も(+)以上には恢復しなかつた。180分空気遮断では2時間後も恢復せず、240分、300分遮断の場合はいずれも全く恢復の徴候を見さなかつた。以上から20°C保存の場合は、60分までは活力の完全恢復が期待出来るが、120分以上は見込がない。



第3図 保存精液の空気遮断時間と精子の活力恢復の徴候出現時間との関係

い。

今空気遮断時間と曝気後活力恢復の徴候を現しはじめる時間との関係を示すと第3図の如くである。

図に見る如く活力を恢復し得る範囲内では、精子の活力恢復徴候が現れだすのは、空気遮断時間の長くなる程直線的関係を以つて遅くなることを示している。しかしてその程度は温度が高くなる程著しい。これは空気遮断により炭酸ガスの蓄積が高まり精子を麻痺状態に陥れていたものが、空気に曝されることによつて炭酸ガスの拡散と酸素の供給によつて、麻痺状態から解放されることを意味するものと考えられる。

6. 死魚体内に於ける精子の活力

死魚体内における精液は、前実験の空気遮断の場合と同様な条件下に置かれると推定されるので、これを確かめるため千歳採卵場において本実験を行った。

実験方法は生魚を水揚撲殺後なるべく一定体温に保持し、一定時間毎に搾出法により少量宛の精液を採取して、その活力を検定すると共に活力(一)となつた後は、その精液を空気に曝して放置し活力恢復の有無を検した。なほ精液採取に当つては排泄孔付近を充分に清拭し、予め若干の精液を搾出棄棄した後採取し、体外に付着していた精液の混入を避けた。

〔第1実験〕 本実験は撲殺後なるべく生時の体温に等しき温度を保つて行つたが、実験中死魚体温の変化は

第6表 体温7.5°Cの死魚体内における精液の活力

死魚体内時間	0分	30分	60分	90分	120分
精子の活力	卍	卍	卍	卍	—

6.8~8.2°C、平均7.5°Cであつた。因に魚体の生時体温は略棲息水温と同じで、当時の水温は7.5°Cであつた。

実験結果は第6表の如くである。すなわち約120分(2時間)で、精液の活力は(一)

となる。150分、180分、210分、240分、270分後の検定は勿論同様活力(一)であつた。

しかるに、これらの精液も空気に曝して置く中に次第に活力を恢復してくる。活力恢復の徴候を現しはじめた時間及び完全恢復に要する時間は第7表に示す如くである。

第7表 活力喪失精液の曝気による恢復所要時間

死魚体内時間	120分	150分	180分	210分	240分	270分
活力+出現時間	2分	9分	18分	23分	22分	25分
活力 ^卅 出現時間	20分	24分	30分	50分	45分	60分後 ^卅

すなわち120分以上7°C内外の死魚体内に放置された精液は、体外に採り出した直後は不動で活力(一)であるが、これを空気に曝して置くとき次第に活力を恢復し、大体死魚体内にあつた時間が長い程略直線的關係を以つて恢復が遅くなる。また死魚体内に放置240分までは大体正常活力に恢復の見込があるが、270分以上放置の場合は正常活力に恢復しがたい。

〔第2実験〕本実験は体温15°C内外の場合における影響を見る為行つた。生時体温6°Cの雄個体を水揚撲殺後直ちに火気に近づけて体温の上昇を計つたが、30分後12°C、60分後15°Cとなり、爾後実験中15±2°Cに保持された。

実験結果は第8表の如くである。すなわち90分で精液の活力は(一)となり7.5°Cの場合より活力喪失が早くなる。120分、150分後採取の場合も勿論同様(一)であつた。

第8表 体温15°Cの死魚体内における精液活力

死魚体内時間	0分	30分	60分	90分
活力	卅	卅	卅	一

これらの精液を空気に曝して、活力の恢復し始める時間及び完全に恢復する時間を測定した結果は第9表の如くである。すなわち90

第9表 活力喪失精液の曝気による恢復所要時間

死魚体内時間	90分	120分	150分
活力+出現時間	7分	15分	35分
活力 ^卅 出現時間	25分	40分後 ^卅	60分 ^卅

分以上15°C内外の死魚体内に放置された精液は体外に採り出した直後は不動であるが、空気に触れるとやがて活力を恢復してくる。しかして前実験同様死魚体内に放置時間が長い程略直線的關係を以つて恢復が遅くなる。

以上兩実験の結果はすでに述べた空気遮断の実験の結果によく似ている。これは死魚体内においても、酸

素の供給途絶、炭酸ガスの増大が、精液の活力に対して大なる影響を及ぼす因子となつてゐることを示すものと思われる。

〔第3実験〕本実験は死魚体内に長く放置され体外採取時活力(一)を示す精液及びこれが空気に触れて活力を恢復した精液が、果して受精力を有するか否かを確かめるために行つた。

実験方法は生魚の同一雄個体から、媒精の都度搾出法により300粒内外の卵子を採り

- (A) 第2実験における雄の撲殺直前その精液を採つて媒精
- (B) 同上雄の撲殺後150分における活力(一)の精液をもつて直ちに媒精
- (C) 同上精液を60分間空気に曝して活力(卅)に恢復した精液をもつて媒精

第10表 活力喪失精液及活力恢復精液の受精力

実験区	A	B	C	D(対照)
雄個体(精子活力)	撲殺直前(卅)	撲殺後150分経過(一)	同前60分曝気精液(卅)	別個体(卅)
受精率	100%	46%	96%	100%

(D) 卵子側に異常なきことを確認するため別個体の雄の精液を採つて媒精

これらの媒精卵を20時間内外流水中に飼育後 Bouin 液で固定し、卵膜を除去して受精率を測定した。実験結果は第10表の如くである。

同表に見る如く、空気に接触して恢復した精液は、新鮮な精液と殆ど変りない受精力を發揮する。しかるに活力(一)で曝氣後 35 分間は活力恢復の徴候を見せない精液が、なお 46% の受精力を發揮した。かかる事實はすでに述べた体外精液の活力保有期間に関する実験においても見られたことであつて、その理由については同所で 2, 3 の考察を試みて置いた。

7. 不受精現象に対する一考察

以上述べてきた各実験結果から、千歳孵化場に発生している鮭卵の異常死卵の発生原因について一考察を試みてみたい。

同場における異常死卵発生には次の如き著しい特徴が存在する。

(1) 異常死卵発生は特に初期の採卵鮭卵(すなわち 9 月中旬から 10 月中旬にかけて採卵した鮭卵)に出現する。その後の採卵卵には発生したことを聞かない。

(2) この期間中連日の採卵々に発生するとは限らず、断続的に発生する傾向が見られる。

(3) 最悪の状況では、某日の採卵々が全滅に瀕することもあり、この期間を通じての死卵発生率は年によつて多少の変動はあるが、50%あるいはそれ以上に達している。

(4) 異常死卵発生は、採卵々子を同場孵化室に收容してから約 1 カ月後の、恰度発眼期の前後に至つて急に現れてくる。すなわち始め收容卵子は正常卵と識別しがたい外観を維持しているが、この時期になつて続々と白濁して所謂死卵となる。

(5) この死卵には胚体の存在が認められなくて、一見恰も不受精卵の如き様相を呈する。

これがため採卵親魚あるいは採卵過程に不受精現象を惹起するような原因が伏在するのではないかと考えられている。しかし斯様な死卵の様相は受精卵が発生初期に窒息等によつて斃死した場合にも現れるのであつて、従つてこれが不受精卵であると速断することは現在許されないが、今仮りにこれを不受精卵と仮定し、不受精現象を惹起する如き原因が採卵親魚あるいは採卵過程に存在しないかどうかを、本実験の結果から検討してみよう。

半田(32)は鮭の精液は親魚の死後 3 時間で 81%, 6 時間で 25% の受精率を示すが、12 時間後は全く受精力を失うことを報告している。現在採卵過程において、雄親魚を水揚撲殺後 5~6 時間放置して使用する如きことは勿論絶対にないが、精子の活力は温度によつて著しい影響を受けることは本実験の結果を見ても明かである。上記の報告では死魚体温を詳かにしないが、冬期の実験とすればその体温は可成り低いと推定され、若し体温が 10~15°C の場合には以上の受精率は著しく低下するものと考えられる。事実本実験では、7°C 内外の体温の死魚体内に放置された精液は 2 時間、15°C 内外では 1 時間半で活力を喪失する。しかも後者の実験では正味 15°C 内外に置かれた時間は 30 分余であるから、この時間は厳密に 15°C の影響を示すものとはいえない。アンブルによる空気遮断実験では 11°C においても 60 分以内で活力を喪失している。

今本年(昭和 30 年) 9 月初旬~10 月中旬の千歳採卵場における気温及び同地先千歳川の水温を示すと第 11 表の如く、10 月初旬においても水温が 14~15°C を示すことが屢々見られる。すでに述べた如く鮭の体温は棲息水温と略々同温を示すから、水揚撲殺時に 14~15°C の体温を有する場合は容易にうなずけるであろう。事実著者らは同年 10 月 6 日 8 時 30 分で 13.8°C を実測している。なお水揚撲殺後の魚体温は気温によつて変化するが、気温が水温より可成り高い場合も記録されている。

第 11 表 千歳採卵場における気温及び水温

1955 年(昭和 30 年)		9 月 21 日~30 日	10 月 1 日~10 日	10 月 11 日~20 日
水 温	午前 6 時	12.0~14.5°C	10.0~14.5°C	8.5~11.0°C
	正 午	14.0~16.0	11.0~14.5	10.0~12.0
気 温	午前 6 時	5.0~18.5	0.2~19.5	0.2~14.0
	正 午	14.0~22.5	10.0~19.5	9.5~18.0

斯様な水温及び気温の比較的高い条件下において、水揚撲殺後の雄親魚が使用前 1 時間以上放置されることはないであろうか。若し斯様な場合があるとすれば、その個体の精液はすでにその活力を喪失していると考えられ、斯る精液はすでに述べた現在不明のある理由からなお

多少の受精力を保有しているとはいえ、多量の不受受精卵を発生する原因となることが予想される。

しかしこの精液も完全に死んだのではなく、魚体の死後2～3時間以内ならば、空気に曝して置く中にやがて正常な活力を恢復してくる。乾導受精法においては、まづ卵子に精液を配して攪拌混合した後直ちに水を注加して媒精を完遂させるが、寒冷の時期あるいは撲殺後短時間の雄を使用する場合には、現行の措置で殆ど支障を来すことはない。しかし比較的高温の時期に、撲殺後少々時間を経過したと懸念される雄を使用する場合には、卵精攪拌後、注水の前に精液が空気と接触して十分に活力を恢復する時間的余裕を与えることが安全な措置であろうと考えられる。

以上本実験の結果から、採卵過程において不受精現象を惹起し得べき可能性について考察したが、勿論これが現在発生している異常死卵発生の原因のすべてであるかどうかは、現在なお明言出来るまでに至っていない。

8. 結論及摘要

干歳孵化場における鮭卵の異常死卵発生原因を、精子の側から検討するために先づ精子に関する基礎的実験を行い、その結果から採卵過程における不受精現象を惹起し得べき可能性の有無について考察した。

(1) 体外保存の精液は温度によつて著しい影響を受ける。33°Cでは4時間、5°Cでは7日間に近い活力保有期間を示し、この温度範囲内では保存温度(x)と活力保有期間(y)との間には $x(y+a) = k$ 、暫定的には $x(y+1.1) = 45$ なる関係が存在する。しかし0°Cでは約8日間であつて、5°C内外より低温においてはこの法則の適用から外れることを示している。

(2) 体外保存において、精液の活力は空気接触の有無により大きな影響を受ける。空気接触を遮断すると、20°Cで60分以内、11°Cで60分、0°Cで180分以内で活力を喪失する。

(3) しかし空気遮断によつて活力を喪失した精液も、これを空気に曝して置くと次第に活力を恢復してくる。恢復に要する時間は、空気遮断の時間が長い程略直線的関係を以つて延長し、ある限界時間を越えた空気遮断では遂に恢復することが出来ない。しかしてその程度は温度の高い程著しい。

(4) 死魚体内に放置された精液も略同様の結果を示す。すなわち7.5°C内外の体温に保持された死魚体内の精液は2時間で活力不動となるが、これを空気に曝すと2時間放置で2分、3時間放置で18分後に活力を恢復し始める。15°C内外の体内精液は1時間半内に活力を失うが、空気に曝せば1時間半放置で7分、2時間半放置で35分後に活力を恢復し始める。

(5) 上の実験において、活力を恢復した精液は新鮮なものほとんど変りない受精力を発揮する。また活力を喪失して、精子が不動の状態にあるものでも約50%の受精力を示した。同様な事実は体外保存実験において、遂に活力を喪失した精液においても認められた。この理由については本文中に2, 3の考察を試みてある。

(6) 採卵過程において、水温ならびに気温が15°C内外を越えることのある採卵初期には、水揚撲殺後の雄を使用前1時間以上放置する時は精液の活力喪失をきたす危険がある。斯る精液の使用は不受受精卵の発生を惹起する可能性が多い。

(7) 精液の活力は肉眼では判定出来ないから、以上の如き危険があると考えた場合は卵精攪拌後、精子が空気に触れて活力を十分に恢復する余裕を与えてから、注水することが安全な措置であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) Cohn, E. J. (1918) Studies in the physiology of spermatozoa. Biol. Bull. 34.
- 2) Barrett, I. (1951) Fertility of salmonoid eggs and sperm after storage. Jour. Fish. Res. Bd. Canada. 8 (3).
- 3) Davis, H. P., G. K. L. Underjerg & N. Y. Williams. (1940) The effect of storage temperature upon certain characteristics of bovine semen. J. Dairy. Sci. 23 (11).
- 4) 江口 弘・大屋善延 (1954) 卵管理における技術的着眼点と死卵の統計的処理について 北・水・孵
- 5) 藤田経信 (1933) 水産蕃殖学.

- 6) 半田芳男 (1932) 鮭鱒人工蕃殖論.
- 7) Hatzios, B. (1937) Untersuchungen über Konservierung von Bullensperma zum Zwecke der künstlichen Besamung. Z. Tierz Biol. 38.
- 8) 川尻 稔 (1927) 鱒卵精子貯蔵試験. 水講報 23 (2).
- 9) Lillie, F. R. (1919) Problem of fertilization.
- 10) 森脇幾茂 (1912) 鮭鱒精虫活力保続時間 北・水・試・第 3 回事業報告.
- 11) 中野宗治・野沢金鑑 (1925) 鱒の卵及び精虫活力試験 水・講・報 21 (2).
- 12) 西川義正 (1952) 家畜人工受精法.
- 13) 西川義正・杉江 信 (1949) 馬精虫の抵抗力に関する研究 (III 報) 馬精虫の生存に及ぼす温度の影響. 日・畜・報 20 (4).
- 14) 岡田 雋・三浦五郎 (1939) 石狩河口採卵鮭卵の斃死原因について 鮭鱒彙報 11 (39).
- 15) 岡田 雋 (1954) 鮭受精卵における窒息死の様相 (第 1 報) 北・水・解・試・報 9 (1, 2).
- 16) 梶山正雄 (1940) 受精生理学.
- 17) 武田 晃 (1954) 家雞精子の体外生存期間ならびに保存液について 九大農・学芸誌 14 (4).
- 18) 田中林蔵 (1942) 鯉受精素に関する研究 日・水・誌 11 (1).
- 19) 山本喜一郎 (1946) 鮭孵化行程上における低温の影響 北・水・解・試・報 1 (1).
- 20) 山本喜一郎 (1949) 鮭及鱒卵の受精方法についての考察 北・水・解・試・報 4 (2).