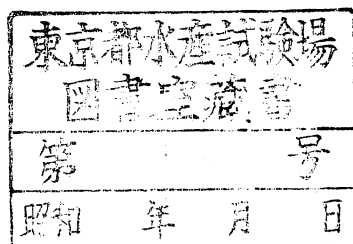


にじます卵の人工受精の改善試験について

第 1 報

(東水試出版物通刊 No.95)



昭和31年10月

東京都水産試験場

序

わが国のにじます養殖は官公立の事業場が主体となつて、民間における養成事業の発達を促した結果、今日のように河川増殖や、養魚等の対象として全国的に普及するに至つたが、種苗生産や育成等の技術については、まだまだ研究すべき点が多いように考えられる。殊に種苗生産源としての卵に關する問題、とりわけ人工採卵、ふ化の改善については、各事業場とも全精力を傾注し、日夜努力を払つてはいるが、遺憾ながらまだ不安定な成績を示しており、当事者に大きな悩みを与えている。

當場興多摩分場においても、以前から事業成績の安定を図るため、それらの問題についていろいろと検討、追究を行つて来たが、ふ化成績を左右する大きな要因の一つとして、すでに先覚者が指摘したように受精過程における「壞卵の混入」を挙げ得ることを確認した。そこで昭和29年から壞卵と受精率との關係をいろいろと追究すると同時に、受精率の低下防止についても攻究を進めて来たが、関係各位の御批判を仰ぐためこゝに本研究の第1報としてそれらの成果の一部を報告した次第である。

本研究は、東京水産大学稻葉教授の御指導のもとに、大内分場長以下分場職員が施行したものであるが、ここに同教授の特別なるご厚情に対し深甚の謝意を表する次第である。

昭和31年10月

東京都水産試験場長

鈴木 順

にします卵の人工受精の改善試験について

(第1報)

担当者

主

興多摩分場長	大内	茂
技師	田中	米
技師	青木	武
技師	吉田	敏
技師	山峯	達
技師補	川島	義
技師補	清水	進
技師補	三河	平
作業員	川名	俊

目次

序

I. 緒言

- (1) 乾導法
- (2) 体こう液媒精法
- (3) 等調法
- (4) 精液き釈法

II. 実験方法及び結果

- (1) 壞卵と受精率の関係について
- (2) 採卵時における壞卵数と発眼率との関係
- (3) 壞卵の精子に対する影響について
- (4) 壞卵が何故に精子の活動を停止させるかについての考察
- (5) 壞卵による受精率の低下を防ぐ手段としての等調液による洗
卵の効果
- (6) 体こう液媒精法と乾導法との比較
- (7) 精液き釈法

III. 結言

(2)

にじます卵の人工受精の改善試験について

I. 緒言

さけ、ます親の人工受精は1420年仏人 Don pinchon によつて創始されて以来、内外の多くの人々により研究され今日におよんでいる。その結果人工受精についていろいろと重要な事柄が判明してきたが、主なものを挙げれば次のようである。

- 1) 卵は水に接すると吸水し受精能力を失う。従つて採卵の際、水に接することを避けなければならない。
- 2) 卵は乾燥、日光、高温、低温を避ければ相当時間受精力を持つ。従つて採卵にあつての作業時間の長短は殆んど影響がない。
- 3) 精液は水に接すると精子が充分活動した後、活動を停止し受精力を失う。
- 4) 精液は乾燥、日光、高温を受けなければ長時間活動力(すなわち受精力)を保持する。
- 5) 体こう液中においては卵は長時間受精力を保つ。又等調液中においても同様である。
- 6) 精子は体こう液中では、水に接したばあいより遙かに長時間精子が活動する。また等調液のばあいも同様である。
- 7) 体こう液または等調食塩水中で受精させたばあい、卵の発生を促すためには淡水に移す必要がある。
- 8) 等調液として最良と考えられているものは次のようなものである。

1 M NaCl	100	} これを8倍とし NaHCO ₃ にて PH7.0 とする。
1 M KCl	28	
$\frac{2}{3}$ M CaCl ₂ · 2H ₂ O	34	

以上掲げた諸点を満す方法として従来行われて来たものに次の4つの方法がある。

- (1) 乾導法 Vrasaki (1859) によつて始められたもので水の存在が精子、卵の受精力を短かくし卵と精子の受精の機会を少くするので容器に卵のみを採りこれに精子をかけてから注水して、精を活動させて受精させると同時に卵の発生を促す。(卵をしぼるばあいガーゼ上にしぼり体こう液を除去する。)

- (2) 体こう液媒精法 Scheuring (1923) による精子の活力に關する試験、より考えられたもので体こう液の中に卵を入れ(体こう液を除去しないで)これに嚮をかけ少量の水を加えて後、淡水に移す。
- (3) 等調法 (この語の意味が現在混同されている) 等調液中に卵をとつてこれに精液をかけてから、水を注いで淡水に移す方法で1939年に山本時男¹¹⁾によつて始められた。
- (4) 精液き釈法 精液を等調液でき釈して卵にかけてから水を注ぎ淡水に移す方法で奥多摩分場⁹⁾(1951) で始められたもので、受精率の向上より精子の節約を目的としたものである。

以上の方法のうち全国主要にじますふ化場において現在行われているものは(1)の乾導法と(2)の体こう液媒精法である。この両者はそれぞれ特徴をもつが、体こう液中において精子の活動時間が長い点より理論的には、体こう液媒精法が優れており、またこれを実験的に証明した報告(田中林藏¹⁰⁾)もある。しかし反対に体こう液を除去した方がよい結果を得たという報告もあるが、それら二つの方法が現在まで各地で行われて来た。(3)の等調法は当奥多摩分場と岡徹(1950)⁸⁾が実験的に行った外ほとんど発表されていない。これは精子の濃度が問題であると思われる。(4)の精液き釈法は1951~1955年にわたり当奥多摩分場⁹⁾で行つたもので精液の節約には寄与するが、親魚の雌雄の早期判別に難があるため実用化の域に達していない。結局一般に用いられている乾導法と体こう液媒精法による受精方法はあまり良好な成績を示さない。その理由としてまず卵または精の不良が考えられたが、それだけでは説明のつかない点がどこのふ化場でも指摘された。すなわち少量ずつ搾つたばあいの受精率の差がはなはだしい点である。

こゝで注目されたのが採卵の際に混入する壞卵の問題である。このことについては茂木⁵⁾ Davis¹³⁾ 谷崎¹²⁾も壞卵が受精に影響のあることを述べている。Davis は壞卵の影響のあることのみしか述べていないが、茂木は食塩水で洗卵した後に行えば受精率を高められると報告し谷崎も同様な処置により卵の影響を防止できると述べているが詳細なデータは発表されていない。

当場は東京水産大学の稲葉教授のご指導の下にこの壞卵の問題を中心に受精に關する研究を進めたのでその結果をこゝに報告する。本稿を草するに当り同教授に深甚の謝意を表する次第である。(米……未発表)

II. 実験方法及び結果

(1) 環卵と受精率の関係について

環卵がないかに受精率に影響するかを知るため次のような実験を行った。

(一般に採卵を行うはあい環卵が混入することは殆んど避けられないができるだけ環卵のないように採卵した。また環卵の有無は養液でないがその際の体この液を水中に注いで台漻するか、しないかで判定した。)

卵は同一年令のものを同一環境において飼育した親魚より採卵し、容量により環卵の生じないように丁寧にかくはんして均一にし200粒前後に分け、これに環卵を0個(対象とする)、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個の割合に混入かくはんして同一精液を同量ずつ加えて受精させた。

かくして発眼期に発眼卵数を調査して発眼率を求め受精率にかえた。(実際には発眼率と受精率は違ふが、受精率を数多い実験中に求めることは困難なので、発眼率と受精率と比例するものと考えた。) 実際採卵担当者の観察によれば発眼率はほとんどのばあい受精率に左右されるようである。この意味もあつてまた実験に当つてはすべて健康卵と思われるものを使用した。

その結果は次のとおりである。

No. 1

	供試卵数	混入環卵数	卵1000粒に対する環卵数	未受精数	発眼卵数	発眼率	対照区の発眼率を100とした場合の比
対照	183粒	0粒	0	12	171	93.4%	100%
試験区	182	1	5.5	114	68	37.4	40
2区	179	2	11.0	159	20	11.2	12
3区	180	3	16.5	166	14	7.8	8.3
4区	180	4	22.0	172	8	4.4	4.8
5区	200	5	25.0	196	4	2.0	2.1
6区	173	6	34.0	161	12	6.9	7.4
7区	220	7	32.0	220	0	0	0
8区	171	8	47.0	171	0	0	0
9区	187	9	48.0	187	0	0	0
参考	1,040		0	238	802	77.1	82.5

No.2

	供試卵数	混入 壊卵 数	卵/1000粒に 対する 壊卵数	未受精 卵 数	発眼卵数	発眼率	対照区の発眼率を 100とした場合の比
対照	262	0	0	50	212	80.9	100
試験区	218	1	4.5	166	52	23.8	29.4
2区	208	2	9.5	178	30	14.4	17.8
3区	244	3	12.5	227	17	7.0	8.7
4区	195	4	20.5	189	6	3.1	3.7
5区	161	5	31.0	161	0	0	0
6区	211	6	28.5	211	0	0	0
7区	182	7	38.5	182	0	0	0
8区	174	8	46.0	174	0	0	0
9区	189	9	47.5	189	0	0	0
参考	1,169	0	0	68	1,101	94.2	116.3

No.3

	供試卵数	混入 壊卵 数	卵/1000粒に 対する 壊卵数	発眼卵数	未受精 卵 数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	210	0	0	28	182	13.3	100
試験区	204	1	5.0	20	184	9.8	73.5
2区	198	2	10.0	9	189	4.6	34.1
3区	250	3	12.0	10	240	4.0	30.0
4区	214	4	18.5	0	214	0	0
5区	184	5	27.0	0	184	0	0
6区	192	6	31.5	0	192	0	0
7区	204	7	34.5	1	203	0.5	3.7
8区	206	8	39.0	0	206	0	0
9区	196	9	46.0	0	196	0	0

No.4

	供試卵数	混入 壊卵 数	卵/1000粒に 対する 壊卵数	未受精 卵 数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	105	0	0	82	23	21.9	100

試験区	73	1	13.5	72	1	1.4	63
2区	87	2	23.0	87	0	0	0
3区	110	3	27.0	109	1	0.9	4.1
4区	80	4	50.0	80	0	0	0
5区	100	5	50.0	100	0	0	0
6区	55	6	109.0	55	0	0	0
7区	45	7	155.5	45	0	0	0
8区	75	8	106.5	75	0	0	0
9区	58	9	155.0	58	0	0	0

No.5

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000粒に 対する壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	125	0	0	44	81	64.8	100
試験区	151	1	7.0	130	21	8.5	13.0
2区	134	3	22.5	128	6	4.5	6.9
3区	157	5	32.0	155	2	1.3	2.0
4区	182	7	38.5	174	8	4.4	6.8
5区	158	9	57.0	158	0	0	0

No.6

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000粒に 対する壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	431	0	0	22	409	94.9	100
試験区	404	1	2.5	187	217	53.7	56.6
2区	586	1	1.5	42	544	92.8	94.6
3区	889	1	1.0	80	809	91.0	95.6
4区	1,339	1	0.75	137	1,202	89.8	94.6
5区	1,486	1	0.67	77	1,409	94.8	99.9

No.7

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000粒に 対する壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	1,630		0	109	1,521	93.3	100

試験区	1,391		3.6	360	1,031	74.1	79.4
2区	1,397		7.2	1,214	181	13.1	13.9

NO. 8

	供試卵数	混入 環卵数	卵1000粒に 対する環卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	764		0	84	880	91.3	100
試験区	767		5.3	881	86	8.9	9.7
2区	898		24.2	895	3	0.3	0.3

NO. 9

	供試卵数	混入 環卵数	卵1000に 対する環卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	678		0	442	256	36.7	100
試験区	553		8.2	505	48	8.7	23.7
2区	412		42.6	390	22	5.3	14.4

NO. 10

	供試卵数	混入 環卵数	卵1000に 対する環卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	692		0	41	651	94.1	100
試験区	501		8.8	202	299	59.7	63.4
2区	452		37.8	452	0	0	0

NO. 11

	供試卵数	混入 環卵数	卵1000に 対する環卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	820		0	498	322	39.3	100
試験区	956		5.8	910	46	4.8	122.3
2区	833		23.2	828	5	0.6	15.3

NO. 12

	供試卵数	混入 環卵数	卵1000に 対する環卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	729		0	372	357	49.0	100
試験区	955		7.0	807	148	15.5	31.6

2区	728		28.8	727	1	0.1	2.4
----	-----	--	------	-----	---	-----	-----

NO.13

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000に 対する 壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	1,099		0	82	1,017	92.5	100
試験区	831		5.0	800	31	3.7	4.0
2区	1,012		21.8	1,012	0	0	0

NO.14

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000に 対する 壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	848		0	88	760	89.6	100
試験区	850		5.2	817	33	3.9	4.4
2区	875		23.3	870	5	0.6	0.7

NO.15

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000に 対する 壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	350		0	35	315	90.0	100
試験区	504		10.6	486	18	3.6	4.0
2区	312		55.1	296	16	5.1	5.7

NO.16

	供試卵数	混入 壊卵数	卵1000に 対する 壊卵数	未受精 卵数	発眼卵数	発眼率	対照の発眼率を 100とした場合の比
対照	673		0	72	601	89.3	100
試験区	689		5.8	118	571	82.9	94.2
2区	812		28.6	207	605	74.5	83.4

以上の結果、供試卵数の少いばあいの実験結果と、供試卵数の多いばあいの実験結果に差があるが、前者のばあいでは壊卵数が3粒/1,000粒でも明らかに発眼率の低下が見られ、さらに壊卵数が多くなると発眼率もさらに低下し20-30粒/1,000粒では全く受精(発眼)しない。後者のばあいも前者のばあいとほとんど同様であるが、あるばあいにおいて壊卵数が相当多いにもかかわらず発眼率(受精)が良いばあいがある。これは実験の際供試卵数が多いたため壊卵の内容物が充分かくは

んされずに壞卵の影響が部分的に現われたものと考えられる。

いずれにしても本実験により壞卵の存在が受精に極めて大きな影響を持つことが明瞭になった。

(2) 採卵時における壞卵数と発眼率との関係

通常採卵を行う際生じる壞卵数はどの位あるか調査した結果は次のとおりである。

♀親魚種別	調査個体数	壞卵数(1000粒に対し)		
		最高	最低	平均
6年魚	20	16.9	2.1	4.9
3年魚	20	5.9	0.4	2.4
6年魚	2	46.1	20.7	33.4
6年魚	9	7.3	0.3	2.9
6年魚	10	20.0	0.5	8.5

次にこの採卵時における壞卵混入率と発眼率との間にどのような関係があるか同一群の親魚により調査した。なお採卵の際除去する体腔液を清水に注いで白濁の有無を検した。その結果は次のとおりである。

採卵総数	壞卵数/1000粒当	体腔液を水に入れたばあいの白濁状況	不受精卵	発眼卵数	発眼率
4,792	16.9	卅	3,272	1,520	31.7
4,950	7.5	卅	910	4,040	81.6
4,902	6.9	卅	282	4,620	94.2
3,094	3.1	+	394	2,700	87.3
3,151	2.9	-	471	2,680	85.1
3,877	2.8	卅	237	3,640	93.9
3,938	2.7	-	208	3,730	94.7
6,045	2.6	+	245	5,800	96.0
5,021	2.2	-	201	4,820	96.0
5,170	2.1	-	500	4,670	90.3
3,055	5.9	+	305	2,750	90.0
2,973	4.6	-	133	2,240	94.4

2.781	2.5	—	51	2,730	98.2
2.515	2.3	—	235	2,280	90.7
2.871	2.1	—	191	2,680	93.3
2.710	1.8	—	130	2,580	95.2
2.614	1.5	—	144	2,470	94.5
2.740	1.5	—	200	2,540	92.7
3.230	0.9	—	100	3,130	96.9
2.802	0.4	—	242	2,560	91.4

以上の結果を見ると、(1)の実験で見られたように壞卵の混入率と発眼率の関係は明りようでない。この理由はこの実験に供した親魚では壞卵数が非常に少なかったためである。そこでさらに次の検討をするため次表のような観察を行った。

体水の量	体水のPH	壞卵数	1000個中の壞卵数	総卵数	不受精卵	発眼卵	発眼率
1400	6.4	17	7.3	2,318	925	1,393	60.1
17	6.4	8	5.7	1,415	97	1,318	93.1
16	6.4	4	3.0	1,345	296	1,049	78.0
22	5.8	39	2.6	1,476	1,207	269	18.2
16	7.0	6	2.2	2,749	106	2,643	96.2
18	5.8	38	2.2	1,752	1,750	2	0.1
16	5.8	20	2.0	1,018	965	53	5.2
17	7.0	1	1.1	939	15	924	98.4
24	6.8	1	0.3	3,033	219	2,814	94.8
10	5.8	40	46.1	868	854	14	1.6
21	6.4	43	20.7	2,170	2,027	143	6.6
6	5.8	34	20.0	1,703	1,274	429	25.2
0	測定不能	40	19.3	2,073	1,073	1,000	48.2
12	6.0	19	13.4	1,420	972	448	31.5
4	6.6	24	11.7	2,041	825	1,216	59.6
3	6.0	24	8.7	2,758	2,307	451	16.4

13	6.2	9	4.1	2,189	1,590	599	27.4
21	6.8	5	3.5	1,439	191	1,248	86.7
14	6.6	12	3.2	3,771	639	3,132	83.1
15	6.8	2	0.91	2,176	314	1,862	85.6
8	6.6	1	0.5	1,890	61	1,829	96.8

上記の成績から

- (1) 受精卵数 10粒/1000粒 以上のものは発眼率は極めて低く最高59.6%である。
- (2) 受精卵数 20粒/1000粒 以上のものはさらに低く最高25.2%である。
- (3) PHを見ると6.2~5.8のものはいずれも低率で、このことはPHそのものの影響の外、体こう液量と受精卵の数の割合が問題でないかと思われる。
PHとの関係は別に述べたい。

(3) 受精卵の精子に対する影響について

実験的に行つたばあい、受精卵が受精に大きな影響があることはすでに述べたとおりであるが、それでは精子に対してどのような影響があるかを検討した。

従来の研究ではさきにも述べたとおり精子への影響として報告されたものはほとんどなく、たゞ茂木(1938)が精子が凝固して不安定になるばあいをあげているのみである。

まず睡瓶魚より受精卵、血液、ふんの混入のない体こう液をとり(ガーゼ上に卵をとり体こう液を下の容器にとる)、この中で精子が通常の状態に活動することを確認した後、体こう液を1,2,3,4,5,6,7,8,9cc に分け、これに受精卵を混入する。このように処理した体こう液の中で精子がどのように活動するかを調査した。結果は次のとおりである。

NO. 1 室温 10°C 卵重 1000粒につき 88 gr

	体こう液量	体こう液に混入した受精卵数	体こう液/cc当り受精卵数	精子活動時間	別に活動中のものに試験体こう液を加えたばあい
対 照	2cc	0粒	0	780'(100%)	
試験1区	2	2	1	0(100%)	即時凝固
2区	2	1	0.5	0(100%)	"
3区	3	1	0.33	10(約1%)	"
4区	4	1	0.25	65(約10%)	きん少活動持続

5区	5	1	0.2	170	10%活動持続
6区	6	1	0.17	780	50% " "

試験1区~6区において精子が活動しないばかりおよび活動停止後等調液を加えたが変化がなかった。また等調液の代りに水を滴下したばかりも変化が認められなかった。

No.2 室温5°C 卵重1000粒につき90gr

	体こう液 容 量	体こう液中に混 入した環卵数	体こう液1cc 当り環卵数	精 子 活動時間	同右精子活動停止後 の精子の状態	別に活動中のものに試 験本こう液を加えた場合
対 照	2cc	0個	0	480"(100%)		
試験1区	2	2	1.00	0(100%)	膜状凝固	即時凝固
2区	2	1	0.50	0(100%)	"	"
3区	3	1	0.33	10~20(僅少)	"	"
4区	4	1	0.25	20(〃)	連結凝固	きん少活動持続
5区	5	1	0.20	30(〃)	"	"
6区	6	1	0.17	40(〃)	"	"
7区	7	1	0.14	53(〃)	"	"

No.3 室温8.5°C 卵重1000粒につき100gr

	体こう液 容 量	体こう液中に混 入した環卵数	体こう液1cc 当り環卵数	精 子 活動時間	同右精子活動停止後 の精子の状態	別に活動中のものに試 験本こう液を加えた場合
対 照	2cc	0	0	580"(100%)		
試験1区	2	2	1.00	0(100%)	膜状凝固	即時凝固
2区	2	1	0.50	0(100%)	"	"
3区	3	1	0.33	0(100%)	"	"
4区	4	1	0.25	0(100%)	連結凝固	きん少活動持続
5区	5	1	0.20	きん少微動	"	"
6区	6	1	0.17	36(僅少)	"	"
7区	7	1	0.14	50(〃)	"	"
8区	8	1	0.13	50(50%)	"	"
9区	9	1	0.11	44(80%)	"	"

以上の結果を総合すると、

- 1) 実験の結果は多少異なるが、壞卵により精子の活動が明りように影響されることを知った。
- 2) 1cc当り壞卵数0.25粒以上では精子は全く活動しない。
- 3) 1cc当り壞卵数0.1~0.25粒では、精子は多少活動するがその活動は壞卵の混入率の高い程影響をうけている。
- 4) 精子の全く活動しないもので通常膜状に凝固し、精子の活動するものでは活動停止後連結凝固した。(このことは茂木が人工受精の際精子不安定の状態として指摘しているものである。)
- 5) これらの凝固した精液に水あるいは等調液を加えてもなんらの変化を起さなかつた。(このことは壞卵の内容物が単に物理的に精子の活動を停止せしめたものでないことを暗示する)。
- 6) 逆に健全な体こう液に精液を入れ精子を活動させ、この活動中の精子に壞卵を混入した体こう液を滴下すると、その体こう液の壞卵数が1cc当り0.3個以上のばあいには即時凝固しこれより少いばあいはその壞卵混入率が高い程精子の活動は弱くなる。

以上 1), 2), 3) の実験成績から次のとおり結論できる。

採卵時の壞卵の混入は避けられないものと(親魚選択の向上により卵質の向上を許り壞卵のないようにしない限り)あつて、これにより受精率は低下する。受精率の低下するのは壞卵の内容物が精子の活動を直接停止させるからである。

なお精子の活動を停止(凝固)する現象の原因については明らかでない。

(4) 壞卵がなぜに精子の活動を停止させるかについての考察

さきに人為的に壞卵を混入して受精率の低下を知り、また壞卵による精子が凝固あるいは活動が弱くなることを知つたが、それでは壞卵がなぜこのように精子の活動を阻害するかを知るため次のように検討した。

(1) PH

PH 7.0 の食塩水に壞卵を混入して PH (B. T. B 比色による) を測定しこの液中における精子の活動を調査した。その結果を示せば次のようである。

PH 7.0 $\frac{1}{8}$ M 食塩水 2cc	1個の壞卵を入れると	PH 6.2 となり	精子活動せず
PH 8.2 $\frac{1}{8}$ M " 4cc	"	6.4	"
PH 8.2 $\frac{1}{8}$ M " 2cc	"	7.2	"
PH 8.2 $\frac{1}{8}$ M " 4cc	"	7.6	"

(PHの調整にはHCl又はNaHCO₃で調整した。)

一方食塩水をPH5.6~8.2の10段階に調整してこの中における精の活動を調査したところ(全て同一精による)次のような成績を得た。

PHについて

PH 5.6	精子は活動せず膜状凝固
5.8	"
6.0	精子活動時間 45"
6.4	" 36
6.6	" 42
7.0	" 58
7.2	" 54
7.6	" 68
7.8	" 50
8.2	" 62

PHはP.R及びP.T.Bによつたので眞のPHの数値を示さないと恐われるが、いずれも同じ方法によつたので比較には差支えないと考へた。

(PHと精子の活動については最近裕榮教授が調査したものと相当差異があるので多岐再検討したい。)

以上二つの結果を合せて壞卵の混入によりPHは酸性に傾くが、このためだけで精子の活動が阻害されるのではなく他に原因がある。

(ロ) 粘度、脂肪

壞卵の内容物の粘度、脂肪により物理的に精子の活動を阻害されるのではないかと推定のもとに別に脂肪の加つたもの、粘性の高い液を作つて精子の活動を調べたが壞卵の内容物の粘度、脂肪の含量程度では精子の活動を阻害されなかつた。

若し壞卵が精子の活動を阻害するのは他の要素が存在すると考へられ、このことは生化学的に今後攻究すべき問題として残される。

なお凝固した精子を電子顕微鏡で見ると破壊されるというようなことは認められない。

(5) 壞卵による受精率の低下を防ぐ手段としての等調液による洗卵の効果

壞卵によつて精子の活動が阻害され受精率が著しく低下するのを防ぐため洗卵して壞卵の内容物を除去して受精率の低下を防止する試験を行つた。

山本(喜)山本(時)等により等調液が卵ならびに精子の受精能力に害がなく、卵においては長時間受精力を保持し、また精子は等調液中において淡水におけるより長時間活動することが明らかにされているので、洗卵液として次の

等調液を作った。等調液は山本(春)によると次の配合のものである。(さきの精子における実験に使用した食塩水あるいは等調液と記したものは全てこの等調液である。)

配合割合 $1M NaCl$ 100 } の割合に混合して8倍にする。
 $1M KCl$ 28 }
 $\frac{2}{3}M CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 3.4 }

なお使用に際し $NaHCO_3$ にて $PH 7.0$ とする。

(1) オ一次試験(人為的に壞卵を混入したものとこれをリングル液で洗卵したものの比較)

雌親魚之尾より壞卵その他物の混入しないようもじ網上に卵をとり、よくかくはんして均一にする区分する。

オ1区分はそのまゝ

オ2区分は10粒の壞卵を加え均一にかくはんする。

オ3区分は40粒

それぞれこれをさらに2区分し一方は等調液で洗卵、一方はそのまゝとして合計6区分に分け、これを同一精により乾導法で受精させその結果を調査した。

洗卵法は卵をもじ網上でジョーロにて等調液100~150ccを注いで洗った。

洗卵しないもの						
	壞卵数	1000粒当りの壞卵数	供試卵数	発眼卵	発眼率	対照発眼率との比
オ	0	0	964	880	91.3	100
一	1869粒に対し 10	5.3	964	86	8.9	9.7
回	1654粒に対し 40	24.2	898	3	0.3	0.3
オ	0	0	698	256	36.7	100
二	1216粒に対し 10	8.2	553	48	8.7	23.7
回	940粒に対し 40	42.5	412	22	5.3	14.4
オ	0	0	692	651	94.1	100
三	1135粒に対し 10	8.8	501	299	59.7	63.4
回	1120粒に対し 40	35.7	452	0	0	0
オ	0	0	820	322	39.3	100
四	1717粒に対し 10	5.8	956	46	48.1	122.3
回	1726粒に対し 40	23.2	833	5	0.6	15.3

才	0	0	729	357	49.0	100
五	1669粒に封し 10	6	955	148	15.5	31.6
回	1191粒に封し 40	33.6	728	1	0.1	0.2
才	0	0	1,099	1,017	92.5	100
六	2018粒に封し 10	5.0	831	31	3.7	4.5
回	1842粒に封し 40	21.7	1,021	0	0	0
才	0	0	848	760	89.6	100
七	1911粒に封し 10	5.2	850	33	3.9	4.4
回	1720粒に封し 40	23.3	875	5	0.6	8.7
才	0	0	350	315	90.0	100
八	939粒に封し 10	10.6	504	18	3.6	4.0
回	726粒に封し 40	55.1	312	16	5.1	5.7
才	0	0	673	601	89.3	100
九	1724粒に封し 10	5.8	679	571	84.1	94.2
回	1398粒に封し 40	28.6	812	605	74.5	83.4

洗明したモノ

	黒卵数	1000粒中の黒卵数	供試卵数	発眼卵	発眼率	発眼率 との比	洗明しない モノとの比
才	0	0	1,078	1,024	95.0	100	3.7%
一	1869粒に封し 10	5.3	905	545	60.2	63.3	51.1
回	1654粒に封し 40	24.2	756	58	7.7	8.1	7.4
才	0	0	681	355	52.1	100	15.4
二	1216粒に封し 10	8.2	663	119	17.9	34.3	1.2
回	940粒に封し 40	42.5	528	44	8.3	15.9	3.0
才	0	0	742	691	93.1	100	1.0
三	1135粒に封し 10	8.8	634	606	95.6	102.7	35.9
回	1120粒に封し 40	35.7	668	124	20.4	74.8	20.4
才	0	0	652	505	77.7	100	38.2
四	1717粒に封し 10	5.8	761	441	58.0	74.8	9.9
回	1726粒に封し 40	23.2	893	12	1.3	18.1	0.8
才	0	0	693	526	75.9	100	26.4
五	1669粒に封し 10	6.0	714	486	68.1	90.3	52.6
回	1191粒に封し 40	33.6	463	35	7.6	10.0	7.5

オ	0	0	978	892	89.4	100	2.5
六	2018粒に対し10	5.0	1.187	1.049	88.4	98.9	84.7
回	1842粒に対し40	21.7	821	753	91.7	102.5	91.7
オ	0	0	978	781	79.9	100	0.8
七	1911粒に対し10	5.2	1.061	741	19.8	78.4	65.8
回	1720粒に対し40	23.3	845	107	12.7	14.3	7.7
オ	0	0	388	144	37.1	100	52.9
八	939粒に対し10	10.6	435	333	76.6	206.1	72.9
回	726粒に対し40	55.1	414	180	43.5	116.9	38.3
オ	0	0	787	731	92.9	100	3.6
九	1724粒に対し10	5.8	1.045	850	81.3	87.5	-2.5
回	1398粒に対し40	28.6	586	452	77.1	82.8	2.5

以上の結果を総合すると明らかに洗卵により目的を達し得ることが判った。その最も顕著なものは洗卵しないばあいには0%、3.7%、3.6%のものが洗卵すると91.7%、88.4%、76.6%に向上している。

一般に洗卵しないばあい極めて低い発眼率のものの洗卵を行ったばあいは洗卵の効果は認められるが発眼率そのものは高率の発眼率を示さなかつた。これは洗卵の度合が問題と思われるのでこの意味で次の実験を行った。

(10) オニ次試験(等調液で1回洗つたものと2回洗つたものゝ比較)
 方法は先のオ一次試験に準ずる。その成績は次表のようである。

	壊卵数 (人為的に混入したもの)	洗卵1回のもの		洗卵2回のもの		1回と2 回の比
		発眼卵	発眼率	発眼卵	発眼率	
同一群卵	0粒	797	72.1	691	70.4	97.6
	10	478	62.4	418	70.3	112.7
	40	206	29.3	358	56.1	191.5
同一群卵	0	1.302	81.3	1.372	90.6	111.4
	10	1.078	83.6	722	82.7	98.9
	40	1.913	86.7	1.805	92.5	106.7
	0	28,500	92.1	25,500	93.7	101.7

0	1.463	71.2	1.461	79.2	111.2
0	1.435	76.3	2.083	96.0	125.8
0	1.679	77.7	1.736	78.4	100.9
0	1.845	87.7	2.466	93.2	106.3
0	1.793	87.7	2.110	95.6	109.0
0	2.128	94.8	2.623	93.6	98.7
0	1.867	88.8	1.829	85.9	96.7
0	1.046	46.5	837	46.6	100.2
	7,510	65.6	14,720	85.5	概数

以上のとおり洗卵の意味は単に等調液をかけることによつて目的を果すのでなく、洗卵は完全な程よいことが判つた。

(い) 斗三次試験(体こう液除去の乾導法と洗卵法との比較)

同一親魚より採つた卵を二分して一方を通常の体こう液除去の乾導法によ

り一方を洗卵法により人工受精を行つた。その成績は次表のとおりである。

体こう液除去法		洗卵法	
供試卵数	発眼率	供試卵数	発眼率
1,121	0.4%	1,838	5.9%
1,649	12.9	1,663	56.9
4,976	85.8	4,167	87.4
4,389	81.2	4,908	81.8
4,068	91.2	4,605	91.1
4,477	90.9	4,423	93.5
4,318	83.7	4,206	85.5
4,601	89.4	4,440	90.9
2,457	85.8	2,613	89.1
受精卵	発眼率	受精卵	発眼率
25,400	92.7	28,500	92.1
580	43.3	1,463	71.2
2,165	85.3	1,435	76.3
893	50.9	1,679	77.7
1,568	87.6	1,845	87.7

×いずれもさらに洗卵したばあいは発眼率が向上している。

1.877	85.5	1.793	87.7
2.438	75.9	2.128	94.8
1.709	85.1	1.867	88.8
914	41.2	1.046	46.5
10.170	76.1	7.510	65.6

(イ) 才回次試験

実際に同年度に興多ア分場で得られた人工採卵成績表のうちより同一年令同一餌料の親魚で同日に採卵したもので発卵法と洗卵法を比較すると次のとおりである。(すなわち同一群の親魚なので個体は異なるが方法の優劣を対照比較しても差支えない。) その成績は次表のとおりである。

発 卵 法					洗 卵 法			
採卵月日	親魚区分	不受精卵	発眼卵	発眼率	親魚区分	不受精卵	発眼卵	発眼率
2.18	海3A	3,900	21,800	84.8	海3A	2,200	26,500	92.3
"	海3B	3,600	17,500	82.9	海3B	4,000	16,300	80.3
"	海6A	15,400	20,500	57.1	海6A	12,700	26,900	67.9
2.23	入3以上B	4,370	49,000	91.8	入3以上B	3,120	52,800	94.4
3.2	入3B	2,200	12,200	84.7	入3A	10,400	4,570	58.4
"	入3B	3,080	16,000	83.8	入3B	59.0	14,000	93.9
"	入6B	8,780	24,900	73.9	入6B	6,750	32,100	82.7
3.9	入3以上B	2,076	25,400	92.7	入3以上B	2,456	28,500	92.1
3.4	海3A	3,700	7,800	67.8	海3B	1,500	16,800	91.8
"	海3B	2,700	23,500	89.7	海3B	2,800	24,700	89.8
"	海6A	9,900	11,300	53.3	海6A	4,000	19,000	82.6
3.16	入3以上B	3,060	10,170	76.9	入3以上B	4,931	7,510	65.6
"	入6B	470	7,440	94.1	入6B	3,410	10,429	73.3

(卵数は重畳計算による概数) 親魚の区分の入は入川、海は海沢
 数字は年令 Aは { 小すま 20%
 こませ 40%
 仕上 20%
 米ぬか 10%
 とばかす粉 10%
 Bは { 小すま 40%
 こませ 50%
 小考粉 10%

以上の結果を総合してみると

1) 洗卵の効果は実験において極めて顕著である。

2) 洗卵は充分な程効果がある。

3) 実際に施行した場合は発眼率の向上は実験における程顕著でなかったが明らかに洗卵の効果が認められた。

(6) 体こう液媒精法と乾導法との比較

以上述べたように従来の受精法において受精率を左右するものは壞卵の有無であることが判明したので、体こう液媒精法と乾導法の優劣は壞卵の有無を考慮せずに考えることは無意味になったが、當場における両者の比較実験結果を示せば次のとおりである。

なおこの試験は同一卵を使用せず同一環境を飼育した同一年令の親魚で同一時期に採卵可能のものを二群に分け同じ日に一方を乾導法、一方を体こう液媒精法により処理して発眼率を比較したものである。(卵数は重量法による)

年 令	乾導法(体こう液除去法)		体こう液媒精法	
	供試卵数	発眼率	供試卵数	発眼率
入川3年A	38,050	91.5%	23,900	95.4
"	14,450	84.7	32,400	92.7
入川6年B	126,900	51.6	68,600	79.5
"	78,500	72.2	69,100	80.8
"	82,880	85.7	144,800	86.9
"	47,180	85.7	88,200	79.8
"	112,700	73.9		
"	37,300	85.8	24,330	88.4
入川3年B	19,100	93.2	6,600	87.9
"	19,080	83.8	23,680	87.3
入川3年以B	57,600	85.6	61,210	92.1
海沢3年A	49,900	72.9	57,400	92.3
"	25,700	84.8	63,600	91.8
海沢3年B	132,000	81.2	46,700	77.9
"	21,100	82.9	61,300	88.1
海沢3年A	131,900	78.0	94,600	83.2
"	405,400	62.2	167,600	85.7

海沢4年A	84,900	71.5	168,200	84.4
"	105,300	86.8	52,800	90.2
"	63,100	87.6	34,500	79.1
海沢6年B	76,400	50.5	108,000	64.3
"	35,900	57.1	86,300	70.1

以上の結果を総合して見ると次のとおりで極めて明りよいな結果を得た。

親 魚 別	体こう液除去法		体こう液媒精法	
	発 眼 率	比	発 眼 率	比
入川3年A	88.1	100	94.1	106.8
入川6年B	75.8	100	83.1	109.6
入川3年B	88.5	100	87.6	98.9
入川3年以上B	85.6	100	92.1	107.6
海沢3年A	78.8	100	92.1	116.9
海沢4年A	77.2	100	84.5	169.5
海沢6年A	53.8	100	67.2	124.9
海沢3年B	82.1	100	83.0	101.1
平 均	78.7	100	85.5	108.6

A, Bとあるのは餌料の種類を示したものである。

	ふすま	こませ	仕上げか	米ぬか	そばかす粉	小麥粉
A	20	40	20	10	10	0
B	40	50	0	0	0	10

(7) 精液き殺法

本受精法についてはすでに報告済みなのでその大要のみを報告する。

方法：精液をリンゲル液（さきに記載のもの、 $\frac{M}{5}$ Nail 又は $\frac{M}{3}$ Nail に当るもの）にてき殺してこれを卵に加えて受精する（乾導法）

この結果の発眼率を比較する。

卵1年	対 照	2 倍	5 倍	10 倍	精液を $\frac{M}{5}$ リンゲル液でき殺したもの
	平均発眼率	100	107.1	79.7	67.2

最高発眼率	100	100.5	100.7	100.1	
最低発眼率	100	19.0	1.5	1.9	

オ2年

	対照	2倍	5倍	10倍	
4才魚	100	92	82	66	精液を $\frac{M}{5}$ リンゲル液で希釈したもの
5才魚	100	94	79	73	

オ3年

	対照	2倍	5倍	10倍	
4才魚	100	118	81	74	精液を $\frac{M}{5}$ リンゲル液で希釈したもの
5才魚	100	112	104	74	

オ4年

	対照	2倍	5倍	8倍	
5才魚	84.4	86.6	57.7	42.4	精液を $\frac{M}{5}$ リンゲル液で希釈したもの
6才魚	86.6	86.5	79.4	76.8	

対照の平均発眼率を100として表わす。

対照 80.6%

2倍 76.7% 精液を $\frac{M}{5}$ リンゲル液で希釈したもの

以上の結果精液の節約を親魚(♂)の節約と解すると本方法は意義があるが、ほとんどのばあい受精率の低下を免れ得ないので実用化に難がある。また、親魚の早期鑑別が技術的に困難であることを考えると本方法は無意味である。また、精液の節約については別の角度から研究すべきものと思われる。

Ⅲ. 結 言

以上の諸種の実験の結果を総合すると

- 1). 人工受精の採卵の際壞卵が混入することは現在の親魚管理状況ではほとんど避けられない。
- 2). 壞卵の混入によつて卵の受精が甚だしく阻害される。
- 3). 壞卵の混入によつて卵の受精が阻害されるのは精子の活動が阻害されるからである。
- 4). 実験的に壞卵を混入して卵の受精を行うと壞卵の混入率の高い程受精率が低くなり、混入率がある限度以上に高くなると全く受精しない。

- 5) これらの弊害より現在のじまます受精において完全な受精を期待できないのは、受精卵混入の弊害に起因している（卵精の健康なばあい）
- 6) 受精卵の影響を防ぐには、受精液により洗卵して受精させると効果が顕著である。
- 7) 体こう液媒精法は乾昇法より優れている。
- 8) 精き収法は精液の節約に役立つが受精率が低下する。
- 9) 以上の結果として現状では受精液により洗卵して受精させる方法（洗卵法）が最も優れたにじまますの人工受精方法といえる。

この外受精を阻害する体こう液、精液の存在が考えられるがそれらについては今後の研究にまたなければならない。

また体こう液の存在が卵の受精能力を安定させる働きを持つと考えられる体こう液媒精法において、体こう液と卵を共に排出してこれをかくはんしてから少時間放置後受精する方法が適当と思われる。またこの意味で洗卵法において洗卵後受精液を卵に少量入れて精を加える方法が考えられるが今後にゆづりたい。

参 考 文 献

- 1) 山本善一郎 1949. さけ及びますの卵の受精方法についての考察、北海道水産ふ化場試験報告、4巻2号
- 2) 山本善一郎 1950. さけ卵の発生誘致の要因について、生理生態 4巻1号
- 3) 日書 忠 1911. 養殖大成
- 4) 稻栗伝三郎 1951. さけ、ます類のふ化（謄写版）
- 5) 茂木善一郎 1935. 食塩水にて洗卵する受精について、水産研究誌、33巻11号
- 6) 山本善一郎 1947. 淡水に接したさけ卵の受精力減衰の機構について、北海道水産ふ化場試験報告 2巻1号
- 7) 中野京治、野沢 鑑 1925. さけの卵及精子の活力試験。水産講習所試験報告 2/ 巻2号
- 8) 川尻 徳 1927. ますの卵及精子の貯蔵試験。水産講習所試験報告 2/ 巻2号
- 9) 東京都水産試験場奥多摩分場 1951~1954 虹ます人工ふ化改善試験、東京都水産試験場年報（1951~1954）

- 10) 田中林蔵 1940. 体こう液の存在がさけ、虹ます卵の受精率に及ぼす影響
水産学雑誌 46巻 45号
- 11) 山本時男 1943 魚類の発生生理
- 12) 長野県水産指導所編 1955 米風における最近の養ます技術 (稲葉伝三郎
野村 愈着)
- 13) Davis, H.S. 1953 *Culture and Disease of Game
Fish.*