

## 紫外線照射ニジマス精液の精子濃度と受精率

米沢純爾・長谷川敦子

米沢ら<sup>1)</sup>は紫外線によるヤマメ精子の遺伝的不活化実験において、紫外線照射は精子の運動機能に障害を与えるため、照射線量が多い場合には運動精子の不足により受精率が低下する可能性があることを指摘している。そこで今回、雌性発生誘起実験で汎用されるアルピノニジマスの精子について、紫外線照射精子の媒精濃度と受精率の関係を明らかにするための実験を行った。また供試精液により精子密度が異なり、それが受精率に影響をおよぼすと考えられることから、精子密度の個体差を測定するとともに、精液中の精子密度を簡便に推定する方法について検討した。

### 材料と方法

**供試魚** 東京都水産試験場奥多摩分場産のアルピノニジマス雄1+年魚11尾と、通常タイプのニジマス雌1+年魚1尾より採取した精液と卵とを用い、1988年3月に実験を行った。

**精子の紫外線照射** 1尾から採取した精液を森沢<sup>2)</sup>の人工精漿で100倍希釈した後、内径90mmのガラスシャーレに3mlずつ分注して殺菌灯による紫外線照射を行い、3,600erg/mm<sup>2</sup>照射精液（以下、3,600erg区と略記）を12mlと7,200erg/mm<sup>2</sup>照射精液（以下、7,200erg区と略記）を21ml作成した。100倍希釈精液の一部は紫外線を照射せずに対照区として使用した。

**媒精時の精液濃度** 媒精には底面が7×7cmの角形容器15個を使用し、それぞれに50mlの等張液と80個の卵を収容した。これに100倍希釈精液を0.01, 0.1, 1, 3, 6, 10mlの各量を注入することにより、媒精時の精液希釈倍率を約600倍, 900倍, 1,800倍, 5,000倍, 50,000倍, 500,000倍の6段階に設定した。精子希釈倍率は下式に示すとおり、供試精液の原液に対する希釈倍率として算出した。

$$\text{精液希釈倍率} = \frac{\text{等張液量} + \text{人工精漿量} + \text{精液量}}{\text{精液量}}$$

なお、対照区と3,600erg区に関しては600倍希釈について、7,200erg区に関しては500,000倍希釈についての実験を省略した。精液の注入にはメスピペットを使用し、注入後ただちに容器内の精子を攪拌した。

**受精率** 各実験区について供試卵50粒を無作為に抽出し、2~4細胞期における卵割の有無から受精率を算出した。

**精子密度** 雄魚10尾から個体別に採取した精液を、森沢<sup>2)</sup>の人工精漿でそれぞれ1,000倍希釈した後、トーマの血球算定盤を用いて精子密度を計算した。1尾につき3検体の精子密度を計数し、平均値を各個体の精子密度とした。一方、精液をヘマトリック管に吸入し、10,000r.p.mで15分間遠心分離した後、下式で精子容積率を算出した。1尾につき2検体の計量を行い、平均値を各個体の精子容積率とした。

$$\text{精子容積率} = \frac{\text{精子容積}}{\text{精子容積} + \text{精漿容積}} \times 100$$

### 結果

**媒精濃度と受精率** 精液希釈倍率の常用対数と受精率の関係を図1に示した。

対照区では精液希釈倍率5,000倍以下で受精率が

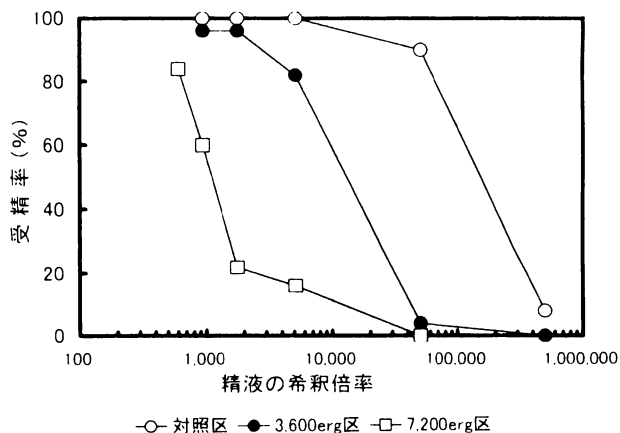


図1 精液希釈倍率と受精率

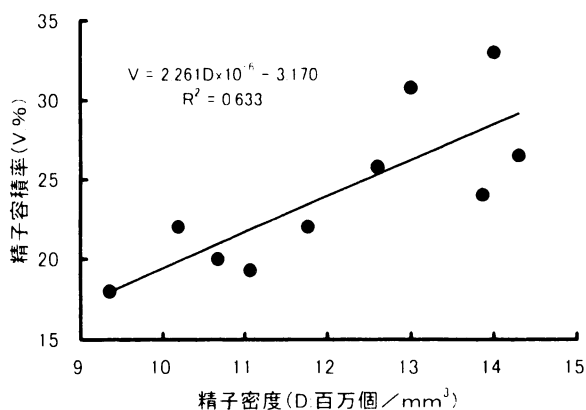


図2 精子密度と精子容積率

100%を示し、50,000倍でも90%の高い値が得られた。希釈倍率500,000倍では受精率が8%に低下した。

3,600erg区では、希釈倍率900~1,800倍で96%の高い受精率を示したが、5,000倍では82%とやや低くなり、50,000倍では4%にまで低下した。

7,200erg区では、希釈倍率600倍で受精率が84%であったが、900倍で60%、1,800倍では22%と、希釈倍率が増えるに従い、受精率が急激に低下する傾向がみられた。

**精子密度と精子容積率** 精子密度と精子容積率との関係を図2に示した。測定した10尾の精子密度は最小 $9.35 \times 10^6$ 個/mm<sup>3</sup>、最大 $14.3 \times 10^6$ 個/mm<sup>3</sup>、平均 $12.1 \times 10^6$ 個/mm<sup>3</sup>で、供試魚間の差は最大で約1.5倍であった。精子容積率(V%)と精子密度(D/mm<sup>3</sup>)の間には下記の直線回帰式が得られた。両者の相関係数は0.80で、この値は危険率1%水準で有意であった。

$$V = 2.261D \times 10^{-6} - 3.170$$

## 考 察

今回得られた媒精濃度と受精率の関係から、本実験

の供試精液を用いて高い受精率を得るには、紫外線を照射しない場合は精液希釈倍率を5,000倍以下に、3,600erg/mm<sup>2</sup>照射精液では1,800倍以下に、7,200erg/mm<sup>2</sup>照射精液では600倍以下になるよう、それぞれ媒精濃度を調整すればよいと考えられた。

米沢ら<sup>1)</sup>はヤマメ精子の遺伝的不活化実験において、同じ紫外線照射量でも精子密度が小さいほど運動機能が低下しやすいことを指摘している。今回の10尾の測定において供試精液の精子密度に1.5倍の差がみられたが、多くの供試魚について測定を行えばその差はさらに広がると推測される。精子濃度が薄い場合には、もともと精子数が少ないうえに、紫外線照射による運動機能の低下が生じやすいことから、適正媒精濃度は今回の実験よりもさらに高い値になることが予測される。

今後は、紫外線照射時の精子密度、紫外線照射量、媒精時における紫外線照射精子の密度の3要因を組み合わせた実験を行い、種々の条件下における適正媒精濃度を明らかにしていくことが望まれる。それによって将来、実用的な適正媒精濃度の基準表が作成される可能性があるが、実際の雌性発生誘起にあたっては、供試精液の精子密度をその都度測定する必要があるだろう。その際、今回の実験で行ったように精子密度と精子容積率の関係式を事前に算出しておくことにより、精子容積率から精子密度を簡易に推定することができるので、作業の効率化につながるとと思われる。

## 文 献

- 1) 米沢純爾・長谷川敦子(2000)紫外線によるヤマメ精子の遺伝的不活化。東京水試調査研報。(212):28-29.
- 2) 森沢正昭(1984)サケの精子の運動開始。遺伝, 38(1):18-33.