雌鶏における膣部注精後の放卵が受精率におよぼす影響

田中, 耕作
九州大学農学部

岡野, 香
九州大学農学部

https://doi.org/10.15017/23046

出版情報：九州大學農學部學藝雑誌. 25 (2), pp.97-102, 1971-01. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

第25巻 第2号　　九州大学農学部学芸雑誌　　昭和46年1月

雌鶏における膣部注精後の放卵が受精率におよぼす影響

田中耕作・岡野　香

The influence of time of oviposition in relation to intravaginal insemination on fertility of chicken hens

Kousaku Tanaka and Kaoru Okano

鶏精液の注入時刻が，その後産出した卵の受精率に影響をおよぼすことは古くから知られている．Moore and Byerly (1942) は，雌鶏の卵殻腺部に硬卵が存在する時期に人工授精を行なうと，放卵直後に注精した区に比較してその受精率は明らかに低くなることを見出し，この原因は，硬卵の存在が膣部注入精子の上昇を妨げた結果であろうと推論した．Malmstrom (1943) もこのような現象を確認し，卵殻腺部に軟卵の存在する時期に注精した方が，他のいずれの時期におけるよりも高い受精率が得られると報告した．

Gracewski and Scott (1943) は，硬卵を保持している鶏の割合は，その日の午前が午後よりも高いことから，雌鶏群を午前と午後の2区に分けて交尾を行なわせたところ，前者は後者に比較して受精率は低くなることを見出した．また，Parker (1945) もこのような現象を認めると同時に，ふ化率は午後に注精した区が，午前および正午の区に比べて高い値を示したと報告した．一方，午後3時半ならびに大部分の雌鶏が卵殻腺部に硬卵をもつている午後9時に注精を行なつた実験で，両区の受精率は共に高くその間に差のないことが明らかにされた (Parker and Arscott, 1965)．このことは，注精時卵殻腺部に硬卵が存在すること自体が受精率の低下を誘起するのではなくて，卵管の生理的現象，とくに放卵が受精率に影響しうることを示唆している．最近，Johnston and Parker (1970) は注精後1～28時間までに放卵した鶏を時間ごとにまとめ，各受精率について比較検討した結果，注精後4時間以内の放卵現象はその後産出した卵の受精率に悪影響をおよぼすことを認めた．

本研究は，注精後第1卵の放卵までの時間とその後産出した卵の受精率との関係を追求するため，1968年12月より1969年8月までに行なつた実験をまとめたものである．

実験方法

〔**実験 I**〕 供試鶏は白色レグホーン系コマーシャルを用い，16羽の雄鶏から採取した混合精液は，テラマイシン (0.4 g/*l*) および硫酸ジヒドロストレプトマイシン (2 g/*l*) を含むりん酸緩衝液で1.5倍に希釈した．この精液をあらかじめ当日の推定放卵時刻別に区分（1区あたり6～11羽）した雌鶏1羽あたり 0.05 ml を膣部に注入し，注精直後，1，2，および3時間後に下垂体後葉ホルモン注射液（アトニン，帝国臓器製薬株式会社）を1羽あたり5オキシトシン単位を筋注して放卵させた．なお，対照としては卵殻腺部に卵が存在しないものを用い，注精直後およびその3時間後にホルモン投与を行なつた2区をもうけた．処理の翌日から15日間にわたつて産卵した卵をふ卵器に入れ，4～5日後割卵して受精の有無ならびに胚の状態を観察した．

〔**実験 II**〕 卵殻腺部に軟卵が存在する時期について実験Iと同様な試験を行なつた．ただし，1区あたり7～12羽を用い，各区の雌鶏群には，ホルモン投与のおよそ1時間前に軟卵が卵殻腺部へ到達しているものを選定して用いた．受精の有無および胚の観察にあたつては，注精の2日目から14日間にわたつて産卵した卵をふ卵器に入れて行なつた．

〔**実験 III**〕 注精後自然放卵までの時間とその後産卵した卵の受精率との関係を追求するため，73羽の雌鶏に対して，午前8時に注精し，その直後から3時間までは20分ごとに，それ以降は午後6時まで1時間おきに産卵時刻を記録した．注精の翌日から8日間

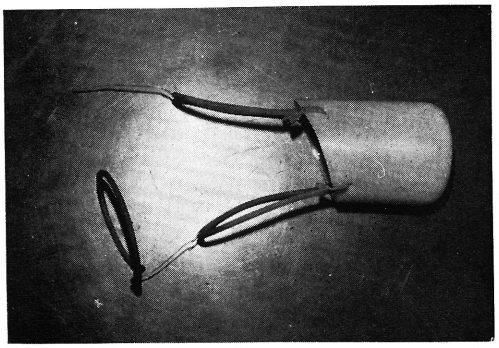

Fig. 1. The collection vessel, 7.5 cm in diameter, with rubber straps.

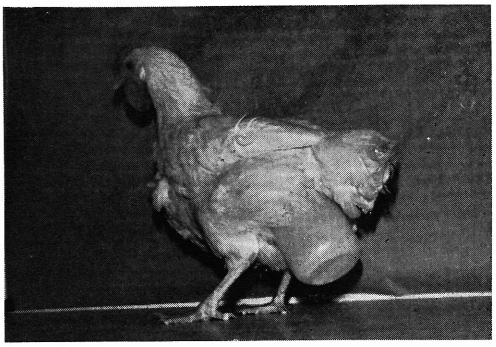

Fig. 2. A hen with attachment for collecting feces and egg.

にわたつて産卵した卵の受精率をその時刻別に算出し，上記の関係について検討を行なつた．

〔**実験 IV**〕 Allen and Grigg (1957) の方法に準じて ^{32}P でラベルした精子を用い，注精後放卵までの経過時間と精子の卵管内分布との関係について検討した．すなわち，精液 2 ml に約 1 mc の ^{32}P を含むタイロード氏液 1.2 ml を加え，30°C で 1 時間放置したのち，^{32}P を含まない同液で 5 回洗浄して全量を 1.5 ml とした．この精液 (0.05 ml/羽) を用い，実験 I と同様のデザインで注精後放卵誘起を行ない，注精の 3 時間20分後にと殺した．なお，実験中は Fig. 1 にみられるようなポリエチレン製容器 (直径 7.5cm) を総排出腔のところにゴムひもでしつかりと装着 (Fig. 2) し，卵および糞を回収した．と殺後，体外放出物 (糞または糞と卵) ならびに摘出卵管の各部位を硝酸-硫酸 (2:1) 液の適当量に入れて溶解した．この場合，多量の泡が生じたものには適当量の消泡剤を投入した．溶解後各最終液量を測定し，このうち一定量を GM-1206管 (液体用) に直接入れて放射能を測定した．

実 験 結 果

実験 I の結果をまとめたものが Table 1 である．すなわち，卵殻腺部に卵が存在する時期に注精し，その直後から 3 時間まで経時的にホルモン投与を行なつて放卵させた場合，処理の翌日産出した卵の受精率については，注精直後の区において，もつとも低かつたが，1 時間ならびに 2 時間の両区ではかなり高い値が得られ，3 時間の区では 100 %を示した．一方，処理の 2 日目より 1 週間にわたつて産卵された卵の受精率は，注精後から第 1 卵の放卵誘起までの時間が長くなるにしたがつて明らかに高くなり，3 時間の区では 100 %を示すに至つた．また，第 2 週の受精率についても第 1 週の場合と同様の傾向が観察された．Table 1 の値を Arcsin $\sqrt{\text{Percentage}}$ (Snedecor, 1956) に

Table 1. Fertility as related to time of induced oviposition following intravaginal A.I. to hens with a hard-shelled egg in the uterus.

Time after A.I. hard egg was expelled (hours)[1]	Percentage of fertility						
	On day after A.I.[2]	1st week (2-8 days after A.I.)[3]			2nd week (9-15 days after A.I.)[3]		
		Trial 1	Trial 2	Ave.	Trial 1	Trial 2	Ave.
0	27.3(11)	31.3	41.0	36.6	0.0	8.9	6.0
1	84.6(13)	75.8	62.3	65.9	36.4	22.6	27.3
2	80.0(15)	75.6	97.4	85.7	33.3	57.3	46.2
3	100.0(9)	100.0	100.0	100.0	79.5	78.5	78.5
Control I[4]	0.0(17)	75.0	94.8	87.9	39.3	52.5	48.3
Control II[4]	0.0(13)	92.3	100.0	94.3	42.2	52.0	45.7

1 0 represents eggs expelled (with the injection of posterior pituitary extract) up to 1/3 hour after A.I., 1 hour those expelled 1 to 1·1/3 hours after, etc.
2 Figures in parentheses show the numbers of eggs obtained from two trials.
3 Ave. of 39 eggs (range=22-59) per figure, except averages.
4 Control I represents hens (no egg in the uterus) treated with the injection of posterior pituitary extract immediately after A.I., control II those (no egg in the uterus) treated with the extract 3 hours after A.I.

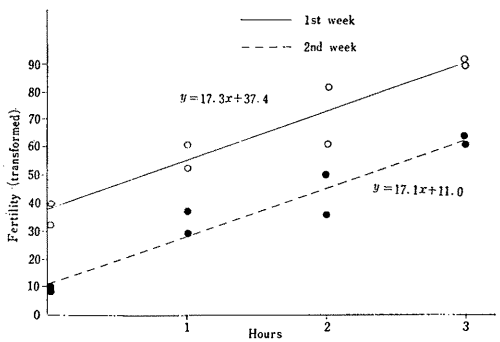

Fig. 3. Fertility (transformed by $\sin^{-1}\sqrt{P}$) plotted against time of induced oviposition in hens with a hard-shelled egg in the uterus at time of A.I.

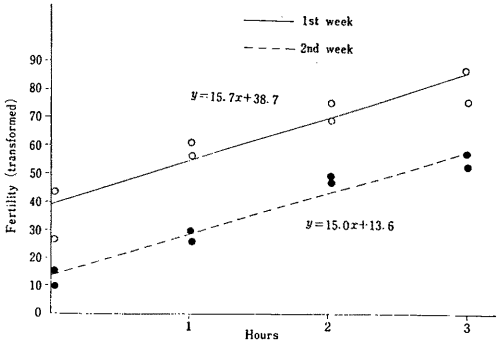

Fig. 4. Fertility (transformed by $\sin^{-1}\sqrt{P}$) plotted against time of induced oviposition in hens with a soft-shelled egg in the uterus at time of A.I.

変換し，週別に分散分析を行なつたところ，受精率と放卵時間との間には極めて高い有意差が認められ，その回帰直線からの偏差に有意差はなかつた．したがつて，両者の間に直線回帰の成立することが認められたので，これら直線を Fig. 3 に図示した．

実験 II としては，軟卵が卵殻腺部に存在する時期に注精し，実験 I と同様，注精後の経時的放卵誘起がその後産卵した卵の受精率におよぼす影響について検討した．その結果は Table 2 のとおりである．すなわち，注精直後放卵を誘起した区の第1週の受精率は著しく低いが，放卵時間が遅れるにしたがつてその値は高くなり，3時間の区では正常の受精率に達した．また，第2週の受精率についても同様の傾向が観察された．Fig. 4 は Table 2 の値を変換，統計処理したのち回帰直線を求めたものであるが，Fig. 3 の直線と非常によく類似していることがわかる．

一方，実験 I ならびに実験 II で得られた受精率について共分散分析を週別に行なつたところ，各直線の勾配と修正平均値は一致することが認められた．

つぎに，実験 I および実験 II において，注精の2日目から2週目にわたつて産出された卵の受精卵に対する胚の早期死亡率（ふ卵の4～5日以内に死亡）を算出したところ，Table 3 に示される結果が得られた．これからわかるように，卵殻腺部に硬卵および軟卵が存在する時期，あるいは卵が存在しない時期に注精を行なつても，胚の早期死亡率にはほとんど影響のないことが推測される．

以上は，注精後人工的に放卵を誘起することによつて得られた結果であるが，実験 III においては，注精後その日の自然放卵が雌鶏の受精率におよぼす影響について観察したもので，Table 4 はそれらの結果を時間単位にまとめたものである．すなわち，注精後1時

Table 2. Fertility as related to time of induced oviposition following intravaginal A.I. to hens with a soft-shelled egg in the uterus.

Time after A.I. soft egg was expelled (hours)[1]	Percentage of fertility					
	1st week (2-8 days after A.I.)[2]			2nd week (9-15 days after A.I.)[2]		
	Trial 1	Trial 2	Ave.	Trial 1	Trial 2	Ave.
0	20.0	47.4	34.2	2.8	7.1	5.1
1	76.5	68.5	71.6	22.9	18.4	20.5
2	94.3	88.2	91.3	57.9	56.7	57.4
3	100.0	93.5	96.4	71.4	62.2	67.6
Control I[3]	94.6	86.2	90.9	54.3	24.0	41.7
Control II[3]	98.0	97.7	97.9	68.8	92.2	79.5

1 0 represents eggs expelled (with the injection of posterior pituitary extract) up to 1/3 hour after AI., 1 hour those expelled 1 to 1·1/3 hours after etc.

2 Ave. of 41 eggs (range=25-63) per figure, except averages.

3 Control I represents hens (no egg in the uterus) treated with the injection of posterior pituitary extract immediately after A.I., control II those (no egg in the uterus) treated with the extract 3 hours after A.I.

Table 3. Early embryonic mortality in eggs laid during two weeks after induced oviposition on day of A.I.

Kind of egg in uterus at A.I.[1]	Percentage of embryonic mortality[2]		
	1st week	2nd week	Ave.
No egg	3.9	8.5	6.3
Soft egg	5.9	7.6	6.5
Hard egg	4.8	9.8	6.5

1 Eggs in their uteri were expelled (with the injection of posterior pituitary extract) up to 3·1/3 hours after A.I.
2 Ave. of 202 fertile eggs (range=131-249) per figure, except averages.

Table 4. Fertility as related to time of normal oviposition following intravaginal A.I.

Time after A.I. first egg was laid (hours)[1]	No. of eggs (2-8 days after A.I.)	Percentage of fertility
1	32	31.3
2	53	56.6
3	10	50.0
4	13	92.3
5	74	93.2
Not laid[2]	94	88.3

1 1 hour represents eggs laid up to 1 hour after A.I., 2 hours those laid 1 to 2 hours after, etc.
2 A group that laid no egg on day of A.I.

間以内に放卵した雌鶏の受精率は 31.3%，2時間ならびに3時間以内に放卵したグループではそれぞれ 56.6%および 50.0%とやや低い値を示したが，3～4時間の間に放卵したグループの受精率は正常値を示し，その後はこの値が維持されていることが観察された．なお，実験 III で行なわれた受精率と Table 1 の第1週の受精率について変換後共分散分析を行なつたところ，両者の回帰直線は一致することが認められた (Fig. 5).

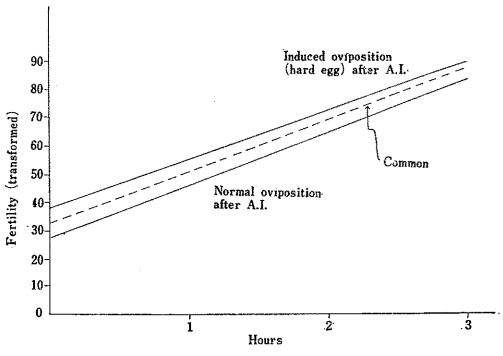

Fig. 5. Linear regressions of fertility (transformed by $\sin^{-1}\sqrt{P}$) on oviposition.

一方，^{32}P でラベルした精子を膣部注入し，実験 I と同様のデザインで放卵を誘起したのちと殺し，卵管各部位における精子の分布状態ならびに注入精子の体外への放出について検索したところ，Table 5 にみられる結果が得られた．これによると，No. 63 および No. 64 以外は，回収された総推定精子数 (放射能測定値より換算) の 90%以上が糞あるいは糞と卵に附着して体外に放出されていることがわかる．さらに，本実験条件においては，と殺時に硬卵 (No. 96) 以外の卵が卵管内に存在していた場合，その卵の位置より上部には有意な数の精子は認められなかつた．また，注精後の放卵誘起が卵管内における精子の分布に影響をおよぼすような傾向は観測されなかつた．しかし注精の3時間後放卵を誘起して，ただちにと殺した3羽のうち2羽の卵管ろ斗部には相当数の精子が貯留しているので，膣部注入精子は卵殻腺部に硬卵が存在していてもそれを容易に通過し，卵管を上昇するものと推定される．

考　　察

実験 I および実験 II において明らかなように，卵殻腺部に硬卵あるいは軟卵が存在する時期に注精し，2時間以内に放卵を誘起すると，その後の受精率に悪影響をおよぼすことが認められた．また，自然放卵の場合においても同様な傾向がみられ，共分散分析の結果，硬殻卵誘起の場合と一致することがしられた．したがつて，注精後早い時期に，硬卵，軟卵をとわず卵殻腺部から卵が放出されること自体が，その後の卵の受精率を低下させる要因であることが推察される．このような傾向は，Johnston and Parker (1970) の結果とかなりよく一致していた．

本実験で興味あることは，注精の1時間後に放卵誘起を行なつた区において，その翌日の卵は2日目から1週間にわたり産卵した卵の受精率よりかなり高い値を示したことである．一般に，交尾あるいは膣部注入では，注精の3～4日目に受精率はピークを示す (Moore and Byerly, 1942) といわれているので，上記現象の説明としてはつぎのようなことが考えられる．すなわち，膣部注精後約1時間くらいの間に，精子は卵殻腺部の硬卵と卵管壁の間を通過して，1個の卵子を受精するには十分の数が受精部位に到達するが，放卵誘起にともなつて卵管内の精子が異常に減少するため，その後排卵される幾多の卵子を受精するの

Table 5. Estimated distribution of spermatozoa in the oviduct 3·1/3 hours after intravaginal A.I.

Egg in uterus	Time after A.I. hard egg was expelled (hours)[1]	Hen No.	Region of oviduct (No. sperm×10³)[2]				Faeces or faeces and egg (No. sperm ×10³)	Recovery (%)
			Vagina and uterus	Isthmus	Magnum	Infundibulum		
Hard egg	0	59	1558	1758	N.S.	N.S.	116806	59
		87	2004	N.S.	N.S.	607	37811	20
Hard egg	1	58	1181*	N.S.	N.S.	N.S.	142213	70
		96	2200*	N.S.	1426	691	125800	64
Hard egg	2	60	2287	N.S.	N.S.	N.S.	93078	46
		76	3930*	N.S.	N.S.	N.S.	109104	56
Hard egg	3	57	1068	N.S.	N.S.	636	75317	38
		89	1257	N.S.	N.S.	N.S.	168598	83
		3	5336	N.S.	N.S.	513*	102883	53
No. egg[3]	—	61	2448	927	1054*	N.S.	119682	61
		62	1477	1089	1651	648	133753	68
		63	1239	N.S.	N.S.	N.S.	605	1
		64	2478	1269	880	N.S.	5208	5

1 0 represents eggs expelled (with the injection of posterior pituitary extract) up to 1/3 hour after A.I., 1 hour those expelled 1 to 1·1/3 hours after, etc. All hens were killed 3·1/3 hours after A.I.

2 N.S., sample excess not significant.

3 No. 61 and No. 62 were subjected to the injection of posterior pituitary extract 3 hours after A.I. and No. 63 and No. 64 immediately after A. I.

* An egg was found in the region. Oviposition in No. 96 was not induced.

に十分の精子が補給されないという考えかたである．ただし，本実験のデザインでは，各試験区における雌鶏群の自然放卵時刻（推定）は，放卵誘起を行なう時刻よりも 1/2～2 時間遅れる鶏を，選定していることを考慮に入れる必要がある．

一方，注精後 3 時間以上経過すると，放卵が行なわれても，長時間にわたつて受精卵を産出しうるだけの精子が卵管内に保持されていることはおそらく明らかであり，Moore and Byerly (1942) のように，卵殻腺部における硬卵の存在は精子の上昇を妨げると共に受精率の低下をひきおこすという推察は誤りであると考えられる．

放卵が受精率の低下をひきおこす要因について，その解明を試みるため実験 IV を計画したが，本実験のデザインにおいては，^{32}P をラベルした精子の注入後，約 3 時間までに体外へ放出される精子数は，放卵の有無にかかわらず有意差は認められなかつた．また，卵管内における精子の分布にも処理の差は認められなかつた．しかし，^{32}P を用いたこの実験は，Allen and Grigg (1957) の結果と同様，放射性 ^{32}P の回収率も悪く，実験誤差もかなり大きかつたため，放卵によつてより多数の精子が体外に放出されるという仮説を支持する結果をえることは出来なかつた．したがつて，この点に関しては今後さらに追究の必要があろう．

一方，Parker (1945) は卵殻腺部に軟卵が存在する時期に膣部注精を行なつたグループは，硬卵あるいは卵をもたないグループに比較してふ化率が有意に高いことを認めたが，この原因についてはまつたく不明のままである．しかし，Table 3 でわかるように，膣部注精を行なうとき卵殻腺部における卵の種類，あるいはその有無にかかわらず，注入後 2 週間にわたつて産出された受精卵の胚の早期死亡率に関しては差が認められなかつた．したがつて，Parker (1945) が報告した結果が事実であると仮定すれば，このふ化率の低下は，ふ卵の中期から後期にかけての胚の死亡率の増加によるものと推察される．しかし，一般に胚の発達に関しては，微妙で複雑な機構が関与していると考えられているので，このような胚の死亡要因の追究については慎重な研究計画と観察が必要であろう．

要　　約

供試鶏は白色レグホーン系コマーシャルを用い，精液は16羽の雄からマッサージ法によつて採取し，抗生物質を含むりん酸緩衝液で 1.5 倍に希釈した．この精液 0.05 ml を，卵殻腺部に硬卵あるいは軟卵が存在する時期の雌鶏に注入したのち，下垂体後葉ホルモンの

筋注によつて経時的に放卵誘起を行ない，その後産卵した卵をふ卵器に入れ（4～5日間）て受精の有無および胚の生死について観察を行なつた．また，注精後から第1卵の自然（正常）放卵が行なわれるまでの時間とその後の受精率との関係についても検討すると共に，^{32}P をラベルした精子を用いて注精後経時的に放卵誘起を行ない，3時間20分後における精子の分布についても検索を行なつた．その結果はつぎのごとくである．

1. 卵殻腺部に硬卵が存在する時期に注精し，その直後，1，2，および3時間後に放卵誘起を行なうと，その後産出された卵の受精率は，注精直後の区において著しく低い値を示したが，放卵時間が遅れるにしたがつて回復し，3時間の区では正常の受精率を示すに至つた．卵殻腺部に軟卵が存在する時期についても同様の実験を行なつた結果，硬卵の場合とほとんど一致する傾向がえられた．また，注精後から放卵までの時間（3時間）と受精率との間には直線回帰の成立することが認められた．一方，胚の早期死亡率に関しては，各処理区の間に有意差はなかつた．

2. 注精後その日の自然放卵が雌鶏の受精率におよぼす影響を検討した結果，注精後3時間以内の放卵は，その後の受精率の低下をひきおこすことが観察され，放卵誘起の場合とほぼ一致する結果がえられた．

3. 注精後の放卵誘起が卵管内における精子の分布に影響をおよぼすような傾向は観測されなかつた．一方，例外を除いて，約90％以上の精子が，膣部注精後約3時間以内に体外へ放出される傾向が示された．

文　　献

Allen, T. E. and Grigg, G. W. (1957). Sperm transport in the fowl. Aust. J. Agric. Res. 8: 788-799.

Gracewski, J. J. and Scott, H. M. (1943) The influence of time of mating on fertility. Poult. Sci. 22: 264-265.

Johnston, N. P. and Parker, J. E. (1970). The effect of time of oviposition in relation to insemination on fertility of chicken hens. Poult. Sci. 49: 325-327.

Malmstrom, M. V. (1943). Factors influencing fertility in the domestic fowl. Master's Thesis, Univ. Connecticut.

Moore, O. K. and Byerly, T. C. (1942). Relation of time of insemination to percent fertility. Poult. Sci. 21: 253-255.

Parker, J. E. (1945). Relation of time of day of artificial insemination to fertility and hatchability of hens' eggs. Poult. Sci. 24: 314-317.

Parker, J. E. and Arscott, G. H. (1965). The effect of time of insemination on fertility of hens' eggs. Poult. Sci. 44: 1405-1406.

Snedecor, G. W. (1965). Statistical methods. Fifth ed., The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.

Summary

Experiments were conducted to determine the effect of the interval of time between artificial insemination and subsequent oviposition upon fertility, early embryonic mortality, and the distribution of spermatozoa in the oviduct.

White Leghorns were used. Semen was collected by the massage method from 16 males and diluted 1 to 1.5 with a phosphate buffer containing antibiotics. Hens with or without an egg in the uterus were vaginally inseminated with 0.05 ml of the diluted semen. Eggs laid subsequently were incubated for 4 to 5 days and then examined for embryonic development. The results are summalized as follows:

1. When oviposition in hens with a hard-shelled egg in the uterus was induced by the injection of posterior pituitary extract immediately, 1, 2, and 3 hours after insemination, eggs laid during the first week (2-8 days) showed 36.6％, 65.9％, 85.7％, and 100％ fertility, respectively. An experiment conducted on hens with a soft-shelled egg in the uterus gave similar result.

The kind of egg in the uterus at time of insemination had no effect on early embryonic mortality.

2. Hens that laid normally during the first 3 hours following insemination gave lower fertility in eggs produced in the subsequent week than did those laying their first egg from 4 to 5 hours after insemination. Analysis of covaiance of fertility in relation to the interval of time between insemination and subsequent oviposition revealed that the two populations, normal oviposition group and induced oviposition group, may have the same regression lines.

3. The distribution of spermatozoa in the oviduct 3 hours and 20 minutes after insemination were determined by using spermatozoa labelled with ^{32}P. There was no effect associated with the time that oviposition had been indused. A high percentage of deposited spermatozoa was recovered from the feces and eggs expelled by the hens.

Faculty of Agriculture, Kyushu University