

雄日本ウズラ (*Coturnix coturnix japonica*) の排泄腔腺由来泡沫様物質の受精に及ぼす影響

著者	小川 清彦, 中西 喜彦, 東條 英昭, 今西 雅典
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	24
ページ	35-40
別言語のタイトル	Effect of Frothy Fluid from Cloacal Gland on Fertility in the Japanese Quail (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)
URL	http://hdl.handle.net/10232/2346

雄日本ウズラ (*Coturnix coturnix japonica*) の 排泄腔腺由来泡沫様物質の受精に及ぼす影響

小川清彦・中西喜彦
東條英昭・今西雅典*

(1973年8月31日受理)

Effect of Frothy Fluid from Cloacal Gland on Fertility in the Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*)

Kiyohiko OGAWA, Yoshihiko NAKANISHI,
Hideaki TOJO, and Masanori IMANISHI
(Laboratory of Animal Reproduction)

緒言

日本ウズラ (*Coturnix coturnix japonica*) は、その飼育の容易さや繁殖力の旺盛などの点で最近欧米などでも注目され、家禽とくに鶏の Pilot animal として用いられ、種々の研究論文も発表されるようになった。しかしその繁殖生理については未知の面が多い。

ウズラは、鶏と異なり頭部に肉冠を欠くが成熟雄では尾部に鶏にはみられない暗赤色の排泄腔腺 (Cloacal gland) と称する膨起物があり、この部位より泡沫様物質 (以下、泡沫液と称す) を分泌している。この物質は交尾時に射出精液とともに雌の排泄腔内に射出される。また交尾以外の時でも糞などととも1日約3回程度排泄されている¹⁾。この泡沫液の分泌部分については COIL and WETHERBEE²⁾ は、雄ウズラの排泄腔を形態学的に研究してこの膨起部に腺組織を認め、これを排泄腔腺 (Cloacal gland) と名付けている。NAGRA³⁾ らは、発生学的ならびに内分泌学的に追究し一種の副生殖腺と同様な消長を示す器官であることを明らかにしている。また COIL and WETHERBEE²⁾、田村・藤井⁴⁾ らは、排泄腔腺組織の組織学的所見から、分泌物は酸性粘液多糖類であると述べており、さらに本間⁵⁾ は、泡沫液の水様性部分をデンプンゲル電気泳動で分析した結果、血清以外の蛋白質は見い出されなかったと報告している。しかし排泄腔腺の機能について検討された報告は極めて少ない。

すなわち、受精との関係については COIL and WETHERBEE²⁾ が、泡沫液が交尾時に射出精液とと

* 大鵬薬品工業株式会社 技術研究部 (鳴門市)

もに雌の排泄腔内に注がれるので、何らかの意味で受精機構に関係があるのであろうと推測しているのに対し、小林ら⁶⁾ は、排泄腔腺除去雄から精液を採取し人工授精を行ない、泡沫液は受精機構に対して直接関与しているとは考え難いと述べている。

この様に泡沫液の受精に対する作用については関係、無関係の両推論があり明確でない。本研究は、この点を明らかにする目的で排泄腔腺除去の雄ウズラを用い自然交尾と人工授精の両方法により受精状態をしらべ泡沫液と受精機構との関係を追究したものである。

実験材料および方法

供試ウズラは、日本ウズラ K. K. (豊橋市) より初生ビナを購入し、鹿児島大学農学部家畜繁殖学教室でふ化後3週令まで保温育雛し、以後14時間点灯の条件下で飼育管理したものである。

1. 自然交尾法による受精試験

下記の3区を設定し自然交尾を行ない泡沫液の受精に対する役割を検討した。

排泄腔腺除去区：泡沫液分泌部位を除去手術した雄 (交尾時、泡沫液の混入のない精液を射出する雄) を正常雌に交尾させる。

泡沫液排除区：偽手術を行なった雄を用い、交尾直前に泡沫液をしぼり出して正常雌に交尾させる (ほぼ泡沫液の混入のない精液を射出する雄)。

対照区：偽手術を行なった雄を正常雌と交尾させる。

この3区について自然交尾後産卵状態を観察し受精率や、その受精力持続期間について検討した。排泄腔

腺の除去手術は、性成熟に達した正常な雄ウズラに対して8週令時に行なった。

手術方法は、エーテルで麻酔後、排泄腔の背側を正中線に沿って1～2cm切開し縦走筋に達する深さで、前陰茎後引筋や後陰茎後引筋を傷つけない様に、分泌細胞のすべてを切除した。手術後3～4日間手術部位の炎症を防止するため、腹腔内にペニシリンを6000単位注射した。体重測定は毎日行なったが、これらの雄は術後7日目には手術前の状態に回復している。そこで14日目から交尾練習を行ない14羽の手術雄のうち、交尾動作良好な9羽を実験に供用した。泡沫液排除区および対照区の雄は何れも排泄腔の背側を正中線に沿って切開する偽手術を行なったものを用いた。この泡沫液排除区では泡沫液を交尾前に圧出したが、そのしぼり出し方は予備実験で検討して好結果を得た次の如き方法で行なった。すなわち先づ第1回目に十分泡沫液を排出し、約20秒後に2回目のしぼり出しを行ない、その後更に3回目の圧出を行なった。

実験各区の供用雄は9羽とし、各群18羽の雌に自然交尾させ、受精率ならびに受精卵の産卵持続期間の観察を行なった。自然交尾は3日間連続行なったが採卵は交尾2日目から10日間行ない孵卵した。受精卵の確認は、孵卵開始後4日目に割卵し、肉眼的所見によった。一方受精率に影響する要因として、射出精子数および交尾動作等が考えられるので、これらについても同時に検討を行なった。射出精子数はSemen collectorを雌側に装着して交尾させ、これに付着した精液(泡沫液を含む)を試料として採取し算定した。排泄腔腺除去区の雄は泡沫液の混入がないので、常法に従って血球計算板上で行なった。しかし対照区および泡沫液除去区(極く少量の泡沫液が混入する)では、ウズラ特有の泡沫液の混入があったので、そのままでは正確な精子数判定は不可能であった。そこで射出精液(泡沫液を含む)を試験管に移し、サッカーによる減圧法で泡沫を破壊した。すなわちPhosphate bufferを採取精液に0.15ml添加し減圧により膨張させ、急に常圧に戻すことを繰返し泡沫を破壊した。泡沫の破壊後、管壁に付着している精子を洗い落とすために、さらに0.05mlのPhosphate bufferを管壁に沿って添加し充分攪拌して、これを精子数算定用試料とした。赤血球用メランジュールを用いての精液の希釈には二重修酸塩を使用した。

交尾動作については、乗駕回数と交尾所要時間を観察し、さらに交尾後雌排泄腔内と雄の退化交尾器基部のスミアをガラス棒で取り塗抹標本をつくり精子の有

無を検鏡した。なお染色はカルボール・フクシン染色とした。この検査により3回の交尾のうち、2回精子が確認出来なかった雌は受精率計算用試料から除外した。この自然交尾による実験は確実性を期すため時期を変え2回繰返し行なった。

2. 人工授精法による受精試験

つぎに泡沫液の受精への影響を見るために人工授精により、前実験と同条件で飼育管理をしたウズラを使用して次の実験を行なった。すなわち、精液のみを授精する区と泡沫液を注入後直ちに精液を授精する区の2区(各区8羽)に分け受精率の推移を比較した。使用精液は排泄腔腺除去雄から交配法により採取したものである。出来る限り自然状態の精液で人工授精を行なうため、無希釈精液(精液溝より噴出した精液)を雌1羽当たり20 μ l、腔深部の約1cmの位置にツベルクリン注射筒により注入した。人工授精の時期はLEPORE and MARKS⁷⁾の、産卵3～4時間前に最良の受精率を得た報告を参考にして、すべて午前10～11時に行なった。人工授精の回数は各雌当たり1回とし、授精後7日間に産卵された卵について受精状況をしらべ泡沫液の影響を追究した。受精卵の確認は、前実験と同様に行なった。

実験成績および考察

1. 自然交尾時の泡沫液混入の有無が受精率および受精卵産卵持続性に及ぼす影響

1) 交尾時の状況

本実験では各区とも3日間連続交尾させたが、腔部スミアの塗抹標本を検鏡して、精子の有無により、その都度授精の確認を行なった。その結果、不授精のものは少なく、区間の差は認められなかった。ただし精子が3回の交尾のうち2回発見出来なかった雌は実験結果から除外した。交尾回数なども有意の差は認め難く、これらから排泄腔腺除去や泡沫液圧出操作は交尾動作に影響を与えなかったものと判断した。

2) 供試雄ウズラの射出精子数と精液量

Semen collectorを用いて、各区雄ウズラの射出精液を採取し精液量、精子濃度および総精子数について検討した結果はTable 1.に示すとおりである。射出精液量は排泄腔腺除去区で10.9mg、泡沫液圧出区で17.6mgおよび対照区で27.5mgであったが、対照区と除去区との差は16.4(27.5-10.9)mgで、これは排泄腔を圧迫して泡沫液をしぼり出した量とほぼ同じ値である。このことから恐らく約16mgの泡沫液が1回の射

Table 1. Evaluation of ejaculated semen in the male Japanese quails.

Experimental groups	No. of samples	Volume (mg)	Concentrations ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	No. of total spermatozoa ($\times 10^4$)
Removal of cloacal gland	16	10.9 \pm 8.1*	357.3 \pm 191.0*	3267 \pm 1939*
Exclusion of frothy fluid	10	17.6 \pm 4.7	306.1 \pm 255.3	5065 \pm 4307
Control	6	27.5 \pm 9.8	238.0 \pm 109.3	5791 \pm 2308

* Mean \pm S. D.

Table 2. Effect of absence of the frothy fluid at the time of the natural copulation on fertility in the female Japanese quails.

Experimental groups	No. of birds used for copulation				Fertility for 10 days after copulation (%)		
	Males		Females		Trial 1	Trial 2	Average
	Trial 1	Trial 2	Trial 1	Trial 2			
Removal of cloacal gland	9	8	18	16	19.6 (30/153)	9.6 (15/156)	14.6 (45/309)
Exclusion of frothy fluid*	9	8	18	18	40.6 (52/154)	40.9 (63/154)	40.6 (125/308)
Control	9	8	18	15	53.1 (76/143)	59.6 (93/156)	56.5 (169/299)

* The frothy fluid was squeezed out of the cloacal gland immediately before copulation.

() : Fertilized eggs/Produced eggs.

精時に排出されているものと推定される。除去区雄の 10.9mg は WENTWORTH⁸⁾ の 10 μl および天野⁹⁾ の 7.3 μl のように泡沫液をしぼり出した後、マッサージ法で採取した精液量にほぼ近い値を示している。これらから判断して泡沫液圧出区の射精液量がやや多いのは極少量の泡沫液などの混入があったものと推定された。精子濃度は排泄腔腺除去区が高く ($357 \times 10^4/\text{mm}^3$)、泡沫液排除区、対照区と順次低くなっている。さらに射出総精子数を見ると、これとは逆に除去区が少なく対照区が最も多い値を示している。

本実験では 3 日間連続して交尾を行なっているので排泄腔腺除去でも 3 日間の合計総注入精子数は約 1 億となり他の 2 区では 1.5 億の精子が総排泄腔中に射出されたことになる。この 1 億の精子数は受精が正常に行なわれるのに十分な数と考えられるので、これら 3 区の精子数の相違は受精率に著しく差を与えるものとは考え難い。

3) 受精率および受精卵産出持続期間

泡沫液の受精への影響を自然交尾で実験した成績は Table 2. のとおりである。10 日間の受精率において第 1 実験でも第 2 実験でも、ほぼ同じ傾向を示している。そこで両実験を総合した結果を見ると排泄腔腺除去区では 14.6% という著しく低い値で、泡沫液排除区で 40.6% でやはり低く、対照区で 56.5% であった。こ

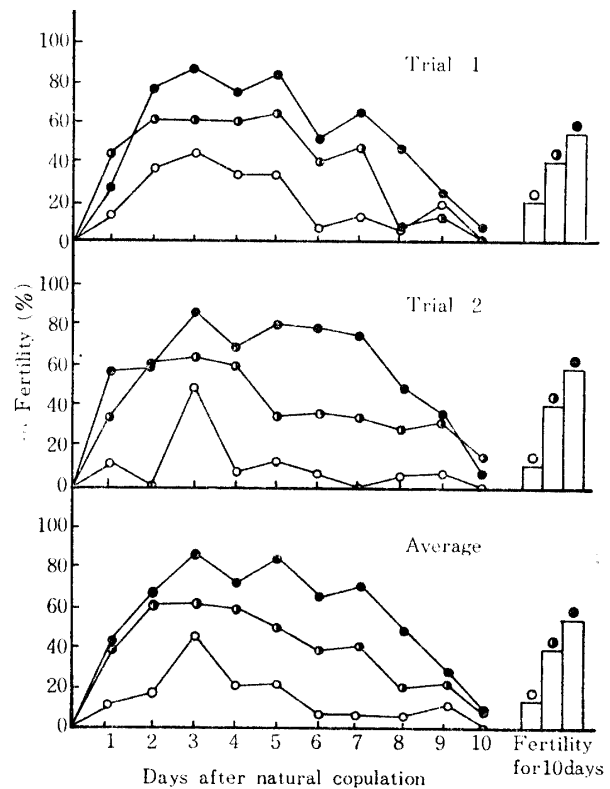


Fig. 1. Daily fertility after natural copulation.

- Removal of cloacal gland
- ◐ Exclusion of frothy fluid
- Control

れを図示したものが Fig. 1. である. この図(最下段)で10日間の受精率の変動を見ると対照区は8日目まで50%近い値を維持出来たのに対して, 泡沫液排除区では1~2日目まではほとんど対照区と差が無かったが5日目に約50%まで低下している. 一方排泄腔腺除去区は, すでに6日目には10%まで低下している. 以上のように対照区と除去区との間には明らかに受精率に差が認められ, 泡沫液排除区との間にも最高受精率で約25%の差が認められた. また受精卵産卵持続期間でも50%以上の受精率を維持した日数において対照区と泡沫液排除区の間で3日間の差を示している.

これらのことより, COIL and WETHERBEE が述べているように泡沫液は, 受精率に何らかのプラスの役割を果たしている様に思われる.

2. 人工授精時に泡沫液混入の有無が受精率および受精卵産卵期間に及ぼす影響

人工授精により精液のみを注入した場合(雌8羽)と泡沫液と精液を授精した場合(8羽)の受精率は Table 3. および Fig. 2. に示すとおりである. すなわち人工授精後7日間の受精率は精液区で35.6%, 泡

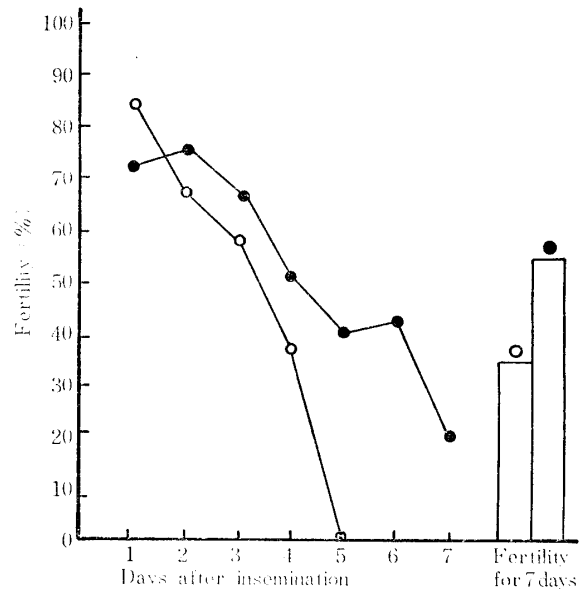


Fig. 2. Daily fertility after artificial insemination with and without frothy fluid

- Insemination of semen without frothy fluid
- Insemination of semen with frothy fluid

Table 3. Fertility by artificial insemination with and without frothy fluid in the female Japanese quails.

Experimental groups	No. of females	Fertility for 7 days (%)
Semen with frothy fluid	8	54.3 (25/46)
Semen without frothy fluid	8	35.6 (15/46)

(): Fertilized eggs/Produced eggs.

沫液混入区で54.3%である. 受精率の推移を見ると精液区では第1日目に83.3%で66.7%(2日目), 57.1%(3日目), 37.5%(4日目)と低下し, 5日目にはすでに0%となった. 一方, 泡沫液混入区では第1日目が71.8%, その後75.0%, 66.7%, そして4日目50%, 5日目40%, 6日目42.9%と6日目まで40%以上の受精率を維持した. 小林ら⁶⁾は排泄腔腺除去雌ウズラよりの精液を用い隔日に人工授精を行なった結果, その受精率に差がなかったと述べている. 本実験の結果でも Fig. 2. に示すように人工授精後2日目までは両区には差は認められない. 従って, この期間に限って見れば同じ傾向を示すので, 小林ら⁶⁾が隔日授精を続けて差がなかった報告も首肯できる. しかし本実験のように1回授精による効果を見た場合は Fig. 2.

に示すとおり4日目より差は明らかとなっている. これらのことから泡沫液は受精卵の産卵持続にかなりの影響を与えるものであるように推察される.

また泡沫液中の精子の状態について検鏡を行なったが, 射出精液に泡沫液を添加すると泡沫液の気泡周辺の精子は, 頭部を気泡に付着させ尾部を激しく運動させている. 泡沫液不添加の精液は精子が凝集して運動を停止するのが早い.

以上の両実験を通じて, 排泄腔腺産生の泡沫液は受精率の向上あるいは長期間の受精能力の維持に寄与していることが推測される. 従って排泄腔腺はウズラの繁殖機構に関与するものと考えられる.

要 約

ウズラは他の家禽類と異なり尾部に排泄腔腺と呼ばれる特殊な隆起物があり、交尾の際ここから泡沫状の液を排出し射出精液とともに雌性生殖器（総排泄腔）内に注入されている。しかしこの分泌腺の機能や泡沫液の役割については、ほとんど知られていない。

本研究は、この泡沫液が受精機構に関与しているか否かを追究する目的で行なったもので下記の実験を繰返した。

1) 自然交尾の際、雌性生殖器内への泡沫液混入の有無が、受精率ならびに受精力の持続性に及ぼす影響について、排泄腔腺除去雄、泡沫液排除雄および正常雄を供試雄とする3区に分けて2回の比較実験を行なった。

2) 人工受精により（精液のみ）を授精する区と（精液＋泡沫液）を注入する区の2区を設定し受精率ならびに受精能力の持続性を比較し泡沫液がこれに及ぼす影響をしらべた。

以上の実験の結果は次のとおりである。

1) 自然交尾実験より各区の受精率をみると対照区で56.5%、排泄腔腺除去区で14.6%、泡沫液排除区で40.6%であった。また受精率の10日間の推移は、対照区では8日目まで50%以上の受精率を維持した。これに対し泡沫液排除区では交尾後1～2日目まではほとんど対照区と差を認めなかったが5日目には、すでに50%近くまで低下し、対照区との間に3日間の

差を生じた。

排泄腔腺除去区においては、受精率および受精力の持続性は最も低い成績であり、とくに対照区との間には著しい差を示した。

2) 人工授精による（精液のみ）と（泡沫液＋精液）の2区による1回注入の比較実験では、7日間の受精率は精液区で35.6%（精液＋泡沫液）区で54.3%であった。また人工授精後1～2日目までは、受精率に差がなかったが4日目以後に明らかな差を生じ（精液＋泡沫液）区がすぐれていた。

以上の実験結果より排泄腔腺起源の泡沫液は受精率ならびに受精能力の持続性に有用なものであることが推定された。

文 献

- 1) IKEDA, K. and TAJI, K. : *Sci. Rep. Matsuyama Agr. Coll.*, **13**, 1~4 (1954)
- 2) COIL, W. H. and WETHERBEE, D. K. : *Ohio J. Sci.*, **59**, 267 (1959)
- 3) NAGRA, L., MEYER, R. K. and BILSTAND, N. : *Anat. Rec.*, **133**, 415 (1959)
- 4) 田村達堂・藤井俊作：日本家禽学会誌，**4**, 187~189(1967)
- 5) 本間運隆：日本家禽学会誌，**7**, 157~165 (1970)
- 6) 小林真・岡本悟・松尾昭雄：佐大農彙，**32**, 89~95 (1971)
- 7) LEPORE, P. D and MARKS, H. L. : *Poultry Sci.*, **45**, 388~391 (1966)
- 8) WENTWORTH, B. C. and MELLEN, W. J. : *J. Reprod. Fertil.*, **6**, 215~220 (1963)
- 9) 天野卓・渡辺誠喜：日本家禽学会春季大会講演要旨，38~39 (1967)

Summary

Male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) has a characteristic cloacal gland, which secretes frothy fluid. But the role of the frothy fluid on fertility in the Japanese quail has been left uncertain.

To investigate the effect of this frothy fluid on fertility, the authors have performed 2 experiments by insemination in various ways.

The first experiment was conducted to examine the influence of the frothy fluid on fertility by means of natural copulation. In this experiment, experimental females were divided into 3 groups and copulated by the males as follows: Group 1 (removal of cloacal gland); the male having no cloacal gland was used for copulation. Group 2 (exclusion of frothy fluid); the frothy fluid was squeezed, immediately before copulation, out of the male cloacal gland. So the male in this group was expected to ejaculate semen without frothy fluid. Control; the normal male was used for natural copulation. This experiment consisted of trial 1 and 2, both of which were of the same design and the sham operation was done for the male of Group 2 and Control.

The results obtained showed that the fertility during 10 days was 56.5% in Control, 14.6% in Group 1 and 40.6% in Group 2. After natural copulation, the fertility decreased with the lapse of time. The tendency of decrease in Group 1 (about 10% at 6th day) was remarkable in comparison with Control, in which the fertility was maintained to be more than 50% for 8 days after copulation. The fertility in Group 2 for 2 days after copulation was approximately the same as that in Control, but it decreased about 50% at the 5th day. In contrast, the fertility in Control could maintain the figure

of 80 % at the same day, and the difference between the two groups increased rapidly.

The second experiment was conducted to examine the influence of frothy fluid on fertility by means of artificial insemination. In this experiment, 16 females were divided into 2 groups and the females of each group were artificially inseminated with semen as follows: Group A (without frothy fluid); semen was collected from the male in which the cloacal gland was surgically removed. Semen for artificial insemination in this group was without frothy fluid. Group B (with frothy fluid); the above-mentioned semen was mixed with the frothy fluid and inseminated.

The fertility in Group A was similar to that in Group B for 2 days after insemination, but at 4 th day the fertility in Group B was higher than the other. Difference of fertility between the two groups increased with the lapse of time. The fertility during a 7-day period was 35.6 % in Group A and 54.3 % in Group B.

Judging from these results, it was assumed that the frothy fluid should be concerned to the mechanism of fertility in the Japanese quail.