

ドジョウの放卵促進に及ぼす同種ドジョウ の脳下垂体の影響

小林 弘・山林 勇

(北海道学芸大学旭川分校生物学教室)

On the acceleration of spawning in a loach, *Misgurnus anguillicaudatus*
(CANTOR), by injection of the hypophyses of the same species

Hiromu KOBAYASHI and Isamu YAMABAYASHI

(Biol. Lab., Hokkaido Gakugei Univ., Asahigawa)

緒 言

ドジョウの人工放卵促進に関する実験は、既に川村(1944)が繁殖期にある雌ドジョウにトノサマガエルの脳下垂体前葉を注射する事によつて極めて良好な成績をあげ得ると報告して居り、渡部・小堀(1948)も鮠及び食用ガエルの脳下垂体並びにヒポリンを用いてドジョウ放卵促進の研究をなし、鮠及び食用ガエル等の脳下垂体が放卵促進作用を有するのに反し、ヒポリンに於てはこれを認め得ないと報告している。更に川村、本永(1950)はトノサマガエルの脳下垂体注入後排卵をなすに至るまでの卵巣の変化をシマドジョウ及びスジシマドジョウを使用し、細胞学的に追及している。元来ドジョウの放卵及び受精行動は極めて複雑なもので、実験室内で飼育中に受精卵を得る事は困難な事とされていた。然し上述の如き、川村の人工放卵促進法が報告された後、この方法を使用して人工的に受精卵を得る事が容易となり、ドジョウ卵を使用した各種の研究がなされる様になつて来た。然し乍ら北海道に於ては放卵促進用の脳下垂体を得るトノサマガエルは勿論、他の両棲類をも多数採集する事は極めて困難であつた。筆者達は 1952 年の夏ドジョウの放卵促進をなす目的で最も入手の容易な同種ドジョウの脳下垂体を用い、放卵促進を試みた処、トノサマガエルの脳下垂体前葉を使用された場合と殆んど同様の効果を得る事が出来た。その後更に 1953 年より、1955 年に至る 3 ケ年間、ドジョウを用いた各種の交雑実験を行うに当り、実際にこの方法を応用した結果より、放卵促進に及ぼす効果の極めて確実なる事に対し、更に一層の確信を得たので、本実験方法及び 4 年間の実験より得た放卵成績に基き 1 個体に注入する脳下垂体の適量並びに注射後放卵迄の時間を考察した結果を以下に報告する。

稿を進めるにあたり、本報告の御校閲を賜つた北海道大学理学部教授内田 享博士に厚く感謝の意を表す。

材料及び実験方法

脳下垂体剔出材料 脳下垂体の剔出材料として用いるドジョウは普通の野棲ドジョウを用い、特に雌雄の区別或は生殖時期との関係を問題にする必要はない。また多量に脳下垂体を必要とする場合は、ドジョウ料理専門店に於て、調理の残査として切除される頭部を譲受すると便利である。この様にすれば簡単に多数の材料が得られるばかりでなく、比較的大形なものが使用されているために脳下垂体の剔出をなすにも容易である。この場合、出来るだけ新鮮なものを選ぶ事は勿論であるが、切除された頭部が湿潤な日影に保存されてあれば切除後 4~5 時間を経したのもの

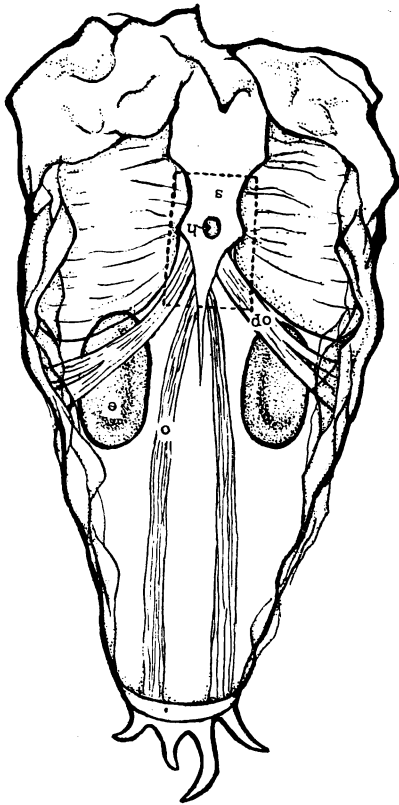


Fig. 1. Position of hypophysis
h. hypophysis e. eye s. sphenoid bone
o. olfactory nerve op. optic nerve

外短時間でこれを行う事が出来、1時間に30~40個の脳下垂体を一人で剔出する事が出来る様になった。

放卵用ドジョウの選定 ドジョウの繁殖期である6月より8月中旬迄に採集される雌ドジョウ中には顕著に腹部の膨出したものが認められる。これらのものを放卵用ドジョウとして使用する。尚これらのドジョウは採集後実験室の水槽内で実験に使用する迄数日間飼育したものをを使用した場合にも放卵に甚しい悪影響を受ける様な事はなかつた。

放卵補助法 放卵用ドジョウに脳下垂体を作用せしめるためには普通脳下垂体溶液の注射による。注射液は、剔出後生理食塩水で洗浄したものを直接或は保存しておいた脳下垂体を必要量取り出し、瑪瑙乳鉢にて充分粉碎し、脳下垂体1個に対し約0.07ccの割合でドジョウ用生理食塩水を加え良く混合し、これを実験用ドジョウの腹腔内に注入する。脳下垂体の注入の終つたドジョウは水槽に戻し、適当と思われる時期まで放置する。放卵に際しては、人工的に腹部に適当な圧迫を加える。圧迫は腹部前方より体正中線に沿つて徐々に後方に向つて押進める様にす。なお卵が十分に成熟している場合には腹部に僅な圧力を加えるのみで放卵を開始し、血液や他の活物を混ざる事なしに、一条の带状をなして卵は産出される。受精を行わしめる場合には、排泄孔より水中に落下しつつある成熟卵に向つて、速にピペットを用いて精子懸濁生理食塩水を添加する。

産出卵の状態 熟卵は鉛色にして透明度高く、未熟卵は白色を帯び不透明である。また過熟卵

であつても、放卵促進に及ぼす脳下垂体の作用には変化を生じる様な事はなかつた。

脳下垂体の剔出及び保存法 脳下垂体剔出に当つては、先づ頭部より下顎を切除し、続いて上顎の口蓋粘膜を剝離する。粘膜を剝離し去つた上顎口蓋には副蝶骨が現われる。この副蝶骨の中央部に骨を透して白色の小斑点状に脳下垂体を認める事が出来る。この状態は第1図に示せる如くで、脳下垂体を覆う副蝶骨は極めて硬く、これを切除するには鋭利な鋏を使用し、透視出来る脳下垂体底部を中心として第1図に点線で示した部分の副蝶骨を切断し、静かに副蝶骨の切断された部分を剥ぎ取る。うまく剥取る事が出来れば、脳下垂体は脳の底部に附着した位置に存在するが応々これが剝離時に副蝶骨と共に脳底部より離れる事があるので、剝離した骨片にも充分注意しなければならない。剔出された脳下垂体は乳白色のケン粒大の極めて小形のもので、これより前葉部を取り出す事は困難であるため、そのまま脳下垂体全体を実験に使用した。保存用の脳下垂体は、剔出後これを生理食塩水で充分洗浄し、アセトン中に投入し、其後アセトンを数回取替え、完全に脱水した後、アセトンより取出し、充分に乾燥し、暗く良く乾燥した場所に保存した。この様な方法により保存したものは6ヶ月以上その効果を存続せしめる事が出来た。以上の如き脳下垂体剔出操作も熟練すれば案

はその程度によつて異なるも、過熟が著しく進んだ場合には、放卵時既に卵崩潰をなしている。然し過熟が軽度な場合には、一見熟卵に類似し、両者を区別する事は困難であるが、放卵後暫く経過すれば、この様な卵は、胚盤或は卵黄の周辺より次第に卵崩潰を開始する。

実験結果及び考察

Table 1. Results of experiments in 1952

Exp. no.	Dat of injection	Number of treated fishes	Average dose of gland in one fish	Temp. from injection to spawning	Time from injection to spawning (hour)	Results			
						Number spawning mature eggs	Number spawning immature eggs	Number no spawning	
1	July	2	15	1	18°-21°C	22-50	2	3	10
2	"	31	4	3	21°-25°C	22	3	1	0
3	August	1	9	4	20°-26°C	24-49	5	3	1
4	"	8	3	4	21°-23°C	42	3	0	0
5	"	11	5	6	19°-23°C	31-49	2	2	1
6	"	14	4	4	20°-21°C	44	3	1	0

第1表に記した如く、1952年度の実験結果より、ドジョウの脳下垂体を使用した場合に於ても放卵を促進せしめ得る事は明である。然しこの実験に於ては放卵用個体の選出並びにその観察が不充分であり、注射後の水温も自然状態に放置したため高低が甚しく、1個体に使用すべき脳下垂体の量は勿論、注射後放卵を行わしめる迄の時間をも決定する事は出来なかつた。そこで、'37年度の実験より、放卵用個体の状態と脳下垂体の注射量並びに注射後放卵迄の時間との関係に就て観察し、なお注射後の水温は28°Cより30°Cの間に調節した。また第1表に於て熟卵と記したのも、その後の孵化率は案外低く、中には放卵された卵の殆んど総てが発生中に全滅した事もあつた。これは肉眼的には熟卵の如く観察されるものの中にも実際には稍熟度の不足したものや過熟となるものが含まれているためであろうと考え、以後の実験に於ては孵化率をも加えて卵質の状態を観察する事とした。

Table 2. Results of experiments in 1953

Indiv. no.	Date of injection	Mature condition of fish	Dose of gland	Temp. from injection to spawning (°C)	Time from injection to spawning (hour)	Results	Hatched eggs (%)
1	June 23	Fairly well	3	28	21	Immature eggs	0.3
2	" 23	Well	3	28	18	Mature eggs	40
3	" 28	"	4	28	16	Over-mature eggs	25
4	July 1	Fairly well	3	29	13	Mature eggs	80
5	" 1	Well	2	29	19	Over-mature eggs	10
6	" 1	No well	6	29	No spawning		
7	" 3	Well	3	30	12	Mature eggs	75
8	" 5	Fairly well	4	30	16	Over-mature eggs	0.5
9	" 11	"	5	28	17	Immature eggs	0
10	" 11	"	3	28	No spawning		
11	" 11	Well	3	28	9	Immature eggs	20
12	" 14	"	3	29	11	Mature eggs	35
10	" 14	Fairly well	2	29	13	Immature eggs	0

13	July	22	Fairly well	4	30	12	Mature eggs	70
14	"	22	"	4	30	18	Over-mature eggs	8
15	"	27	Well	3	30	20	Over-mature eggs	0
16	"	27	Fairly well	3	30	No spawning		
17	"	30	Well	5	30	12	Over-mature eggs	15
16	"	30	Fairly well	3	30	15	Mixture of immature and mature eggs	0.5
18	August	2	Well	3	30	13	Mature eggs	85
19	"	2	Fairly well	2	30	15	Mature eggs	65
20	"	4	"	5	28	13	Immature eggs	0
21	"	6	No well	5	29	No spawning		
22	"	6	Fairly well	4	29	15	Immature eggs	25
21	"	9	No well	3	29	No spawning		

Table 3. Results of experiments in 1954

Indiv. no.	Date of injection	Mature condition of fish	Dose of gland	Temp. from injection to spawning (°C)	Time from injection to spawning (hour)	Results	Hatched eggs (%)
1	July	7 Well	3	29	14	Over-mature eggs	25
2	"	7 "	2	29	11	Mature eggs	75
3	"	7 Fairly well	4	29	15	Mature eggs	65
4	"	8 "	4	29	16	Mixture of immature and mature eggs	5
5	"	8 "	4	29	18	Mixture of immature and mature eggs	0.3
6	"	10 Well	3	30	16	Mature eggs	80
7	"	10 Fairly well	3	30	17	Mature eggs	70
8	August	2 No well	4	30	17	Immature eggs	0
9	"	2 "	4	30	No spawning		
10	"	3 Well	3	29	14	Mature eggs	90
11	"	4 Fairly well	4	29	17	Over-mature eggs	20
9	"	4 No well	3	29	18	Immature eggs	3
12	"	12 Fairly well	3	29	14	Mature eggs	60
13	"	12 Well	4	29	16	Over-mature eggs	0

Table 4. Results of experiments in 1955

Indiv. no.	Date of injection	Mature condition of fish	Dose of gland	Temp. from injection to spawning (°C)	Time from injection to spawning (hour)	Results	Hatched eggs (%)
1	July	26 No well	4	30	No spawning		
2	"	26 Fairly well	3	30	No spawning		
1	"	28 No well	3	28	16	Mature eggs	8
2	"	28 Fairly well	3	28	Natural spawning	Over-mature eggs	0
3	August	2 Well	3	28	14	Mature eggs	80
4	"	2 "	2	28	17	Over-mature eggs	15

5	August	4	Well	4	29	12	Mature eggs	85
6	"	4	"	3	29	11	Immature eggs	2
7	"	6	Fairly well	4	32	17	Over-mature eggs	25
8	"	6	No well	5	32	No spawning		
9	"	8	Well	3	30	13	Mature eggs	90
10	"	8	Fairly well	3	30	15	Mature eggs	65
8	"	10	No well	2	30	16	Mature eggs	15
11	"	12	Well	4	30	13	Over-mature eggs	30
12	"	12	"	4	30	14	Mature eggs	60
13	"	15	"	3	29	13	Mature eggs	70
14	"	15	"	3	29	15	Over-mature eggs	0
15	"	16	"	4	30	14	Mature eggs	80
16	"	17	"	3	30	15	Mature eggs	65

3年間の実験に於て、放卵促進を行つた雌ドジョウの成熟状態を、注射前に外観より判断して充分成熟したもの、少々成熟不十分なもの、及び成熟不十分なものの3種類に區別した。充分となしたものは、腹部の膨出甚しく而も軟かで、胸鰭及び排泄孔周囲に赤味を現わすものであり、稍不十分となしたものは、腹部前者と殆んど同様に膨出するも、圧迫時比較的硬い感じを受け、胸鰭及び排泄孔周囲に赤色変化を認める事の出来ないものであり、不十分となしたものは、普通程度或はそれより稍腹部の膨出する程度で、一見放卵をなさしめる事が困難と思われる様なものであつた。以上の区分に基づいて上表の各ドジョウの放卵成績を検討すれば、充分と推定したものは'53年の実験中9個体、'54年に5個体、'55年に11個体で計25個体であり、この内、熟卵を放出したものは14個体で、これらの1個体に使用した脳下垂体量は2—4個で、脳下垂体注射後放卵迄の時間は平均13、14時間であつたが'53年のNo. 12、'54年のNo. 2の如く11時間で熟卵を放出した個体も認められた。また熟卵を得られなかつたもの内、'53年のNo. 11、'55年のNo. 6以外の個体は何れも過熟卵を放出したもので、それらの多くは注射後放卵迄の間に14時間以上を経過したものであつたが、'53年のNo. 17の如く12時間で既に過熟となるものも現われた。然しこれらの外観により充分成熟すると考えたものの殆んどに就ては、注射後6—7時間頃に、一応腹部を圧迫し放卵の有無を検査した。この時期に放卵を行う個体は極く僅かで、放卵を行つた個体にあつても未熟卵或は未熟と熟卵の混合卵で、放卵は途中で止り全卵を放出する様な個体は一個体もなかつた。稍不十分と推定した状態にあるドジョウは'53年に12個体、'54年に9個体、'55年に3個体、計24個体であり、この内、熟卵を放出したものは7個体で、この場合も使用した脳下垂体量は1個体に就き2—4個で、注射後放卵迄の時間は平均14時間前後であつた。またこの様な状態のドジョウより5個体の過熟卵を放出するものが現われた。これらのものの実験経過を見ると、何れの場合も注射後放卵迄に17—18時間放置されたものであつた。以上の事実より考察するに、1個体に注射する脳下垂体の量は3、4個で充分その効果を發揮せしめ得るもので、それ以上多量に使用した場合特に放卵効果を増すものとは考えられなかつた。また注射後28°—30°Cの水温中に放置した場合、成熟充分と推定したものでは、その殆んどが熟卵を放出せしめ得るもので、これらに就てはむしろ卵の過熟となる事を警戒しなければならない。稍熟度不足と考えたものの中にも半数以上の個体が熟卵を放出し得るもので、この場合も過熟とならない様注意する事が必要である。卵の過熟を防ぐためには、脳下垂体注入後10時間前後に一応ドジョウの放卵状態及び卵質を検査して置く事が必要であらうと考えた。上表の結果より見れば両状態のドジョウとも、注射後13—14時間が熟卵を放出せしめるために最も適当した時期の如くであつた。不十分な状態となされたものは各年それぞれ2個体が存し、この内、第1回の注射により放卵をなしたものは'54年のNo. 8、1個体のみで、これ

も未熟卵を放出したに過なかつた。然し、これらの未放卵個体、並びに稍不充分とされたものの中の未放卵個体に2, 3日後、再び2, 3個の脳下垂体を注射すれば、これによりそれらの殆んどを放卵せしめる事が出来た。然しこの様にして放卵せしめた卵は未熟卵或は未熟及び熟卵の混合卵で、'55年のNo. 1及びNo. 8の如く放卵時熟卵の如く思われた卵も一般に小型で、発生が進むに従つて奇型化し、頭部の発育の悪いもの或は尾部の卵黄より離れる事のないもの等多数の奇型及び死卵が現われ、特に孵化直前に多数が斃死し、最も多数個体が孵化した'55年のNo. 8に於ても孵化率は15%であつた。この結果は多分未発達卵を急激に熟さしめたため卵黄其他胚の発育に必要なものを充分蓄積する前に熟卵となつた事に原因するのではないかと考えた。

この実験の結果は実際に他実験の過程として行つたものであるため、各種の成熟状態のドジョウが使用された結果、一見ドジョウ脳下垂体の効力が弱いかの如き感を受けるが、外観上充分成熟したと思われるもののみより得た結果を川村(1945)のトノサマガエルの脳下垂体前葉を使用した場合と比較すれば、脳下垂体の使用量、注射後放卵迄の時間、及び放卵率等に就て殆んど両者の結果は一致し、更に第1回目の注射に於て未放卵に終つたものを第2回目の注射によつて放卵せしめ得た点に就ても、トノサマガエル脳下垂体前葉を使用した場合と一致した結果を得た。

摘 要

1. この研究により、ドジョウの脳下垂体が同種ドジョウの放卵促進に極めて良好な効果を現わすものである事を明にした。
2. 放卵に使用した雌ドジョウ中、腹部が十分に膨出し、而も軟かく、胸鰭及び排泄孔の周囲に赤味を有するものが熟卵を得るために最も適当していた。
3. 1個体のドジョウに注入される脳下垂体の量は3個より4個が適当であり、注射後28°Cより30°C迄の水温中で飼育された場合、良好な放卵成績を取めたものは、13—14時間後に放卵せしめたもの達であつた。
4. 外観より、必ずしも放卵に使用する事が適当と思われぬ様なドジョウも2回の脳下垂体注射により熟卵を放出せしめる事が出来た。然し、これらの卵は発生中に奇型を生ずるものが多く孵化率も極めて悪かつた。

文 献

- 川村智治郎 1944 : 鱈の採卵法と稲田放養. 広島.
 川村智治郎・本永妙子 1950 : シマドジョウに於ける人工排卵について. 魚雑, i, 1—7.
 塚原 博 1948 : ドジョウの二次性徴と産卵習性との関係について. 生物, iii, 63—69.
 渡辺正雄・小堀伸治 1948 : 各種脳下垂体前葉ホルモンによる鱈の排卵促進効果 1. 資源科学短報, no. 11, 11—12.

Résumé

- 1) In this research it has been confirmed that the ovulation of female loaches was accelerated by injection of the hypophyses.
- 2) The female loaches most adequated for the purpose are those with softly swelled abdomen and pectoral fins and the anus around which were congested.
- 3) After the implantation of 3—4 pieces of hypophyses in each female, the recipients were kept in water from 28°C to 30°C.

4) The loaches artificially spawned in 14—15 hours after the injection produced mature eggs.

5) The ovaries of immature loaches were accelerated to develop by twice injections. Some of them spawned mature eggs, but most of them developed abnormally and were died before hatching.