

鶏卵における受精の有無の 早期検別に関する研究

第 I 報 酸素及び炭酸ガスの卵殻透過日変化
について (外界温度30°Cの場合)

加藤 正信 (畜産学研究室)

Masanobu KATO

Studies on the differentiation of fertile
and infertile eggs fresh laid.

I. On daily changes in O₂ and CO₂ gas permeated through
the egg shell. (When the egg is held at 30°C)

I 緒 言

孵卵中の鶏胚の呼吸ないし卵殻を通してのガスの出入については、古くから多くの研究がなされているが、孵卵前とくに産卵後10日以内の卵についてのガスの出入に関する研究は少く、Sharp, Romanoff⁽⁷⁾らが鶏卵貯蔵の面からこれを研究しているに過ぎない。

有精卵では、産卵時すでに胚盤は原腸胚完成段階に達しており、産卵後外界温度が低い場合は、胚分裂が一時休止した状態であることは周知の事実である。一方無精卵では胚分裂は起らず、この点により、破卵して肉眼的にも胚の形態的差異によつて有精卵と無精卵とを区別することが可能である。

現在の孵卵状況は、入卵した種卵の15~20%が無精卵であり、さらに10~15%の中止卵があつて、孵化率65~75%というかなり非能率的な孵化がなされている。

入卵前の新鮮卵から、破卵することなしに有精卵のみを選別する簡便な方法が発見できれば、孵化率の向上のみならず種雄の授精能力検定などにも益するところ大なるものがあると思われる。筆者は産出卵の卵殻を透過するガスの量は受精の有無によつて差異があるのではないかと考え、まずこの点について検討する目的で本研究を行つた。なお本報告は今後の試験の方針を定めるための予備的な実験であり、供試材料及び外的条件その他について詳細な考慮を払わなかつたが、それらの点については今後詳細に検討する。

II 試験方法

1. 供試材料：京都府立種鶏場産の White Leghorn
種有精卵及び無精卵各10個で、その試験開始前並びに終了後における卵重は第1表の如くである。

Table 1. Egg weight before and after experiment.

	Egg No.	Egg weight (g)		
		13th Dec.	23rd Dec.	Decrease
Fertile eggs	F 1	49.40	49.04	0.36
	F 2	57.86	57.35	0.51
	F 3	63.95	63.46	0.49
	F 4	60.10	59.68	0.42
	F 5	62.72	62.23	0.49
	F 6	50.65	50.31	0.34
	F 7	61.86	61.41	0.45
	F 8	55.60	55.25	0.35
	F 9	58.75	58.35	0.40
	F 10	60.75	60.22	0.53
	Total	581.64	577.30	4.34
	Average	58.16	57.73	0.43
Infertile eggs	I 1	58.90	58.60	0.30
	I 2	61.87	61.53	0.34
	I 3	59.10	58.75	0.35
	I 4	49.72	49.39	0.33
	I 5	58.04	57.70	0.34
	I 6	62.68	62.29	0.39
	I 7	56.95	56.52	0.43
	I 8	60.89	60.40	0.49
	I 9	57.27	56.80	0.47
	I 10	57.23	57.02	0.21
	Total	582.65	579.00	3.65
	Average	58.27	57.90	0.37

※種鶏場で確実に有精卵と思われるものを選んだのであり、中には無精卵も含まれていると思われるが、試験終了後孵卵器に入れこの点を確かめて測定値を補正した。

有精卵・無精卵とも1956年12月13日午前中に産出されたもので、外見上ならん異常を認めなかつた。なお各10個の全容積を試験終了後測定したところ、有精卵561cc、無精卵532ccであつた。

2. ガスの採取並びに分析方法：

供試した有精卵・無精卵それぞれ10個を、内容積4,281cc及び4,660ccの2個のDesiccator内に、産卵当日の午

後3時に収容し直ちに密封した。なおDesiccatorにはガス採取に便利のように第1図の如く、採気管及び置換水注入管をとりつけた。

両Desiccatorは密封のまま京都大学条件制御温室(室温30±1°C,湿度70~75%)の暗室内に静置した。今回は外界の温度が高い場合について検討するため30°Cの室温としたのである。

翌日より毎日午後3時に、温室内で卵を濡らさぬようW管より水を注入しながら、S管よりSample bottle内にガスを採取した。採気完了後、S管をSample bottleより外してDesiccator底部の水を極力排除し、Desiccator内の空気を完全に新鮮空気と入れかえた後密封した。以上を10日間繰り返した。

Sample bottle内のガスは常法により分析しO₂%とCO₂%を出し、温室内のガス組成(分析結果O₂ 20.99%, CO₂ 0.03%, N₂ 78.98%)と各Desiccator内の卵を囲む空気の量とから、24時間におけるO₂の消費量(cc)及びCO₂生産量(cc)を算出した。

III 試験結果及び考察

1. Desiccator中のO₂消費量及びCO₂生産量

試験の結果を一括表示すれば、第2表の如くである。

Fig 1. Eggs in desiccator.

- E : Eggs (set with the blunt end toward the cover)
- S : Sampling tube and its pinch-cock
- W : Tube to substitute water for gas sample, and its pinch-cock

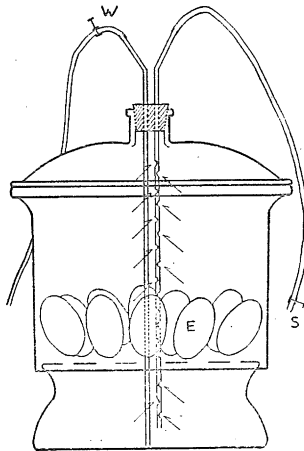


Table 2. O₂ consumed and CO₂ produced by fertile and infertile eggs.

	Date	O ₂ % in analysed gas (%)	O ₂ decrement (%)	O ₂ cons. per 10 eggs (cc)	O ₂ cons. per 60g-egg (cc)	CO ₂ % in analysed gas (%)	CO ₂ increment (%)	CO ₂ prod. per 10 eggs (cc)	CO ₂ prod. per 60g-egg (cc)
Fertile eggs	1936.12.14	20.78	0.21	7.812	0.806	0.62	0.59	21.948	2.264
	15	20.79	0.20	7.440	0.767	0.70	0.67	24.924	2.571
	16	20.80	0.19	7.068	0.729	0.47	0.44	16.368	1.688
	17	20.92	0.07	2.604	0.269	0.38	0.35	13.020	1.343
	18	20.87	0.12	4.464	0.460	0.28	0.25	9.300	0.959
	19	20.84	0.15	5.580	0.576	0.19	0.16	5.952	0.615
	20	20.81	0.18	6.696	0.691	0.12	0.09	3.348	0.346
	21	20.79	0.20	7.440	0.767	0.19	0.16	5.952	0.614
	22	20.80	0.19	7.068	0.729	0.12	0.09	3.348	0.346
	23	20.86	0.13	4.836	0.499	0.19	0.16	5.952	0.614
Infertile eggs	1936.12.14	20.71	0.28	11.558	1.190	1.27	1.24	51.187	5.271
	15	20.71	0.28	11.558	1.190	0.78	0.75	30.960	3.188
	16	20.89	0.10	4.128	0.425	0.38	0.35	14.448	1.488
	17	20.96	0.03	1.238	0.127	0.30	0.27	11.146	1.148
	18	20.93	0.06	2.477	0.255	0.32	0.29	11.971	1.233
	19	20.88	0.11	4.541	0.468	0.20	0.17	7.018	0.723
	20	20.89	0.10	4.128	0.425	0.09	0.06	2.477	0.255
	21	20.81	0.18	7.430	0.765	0.24	0.21	8.669	0.893
	22	20.77	0.22	9.082	0.935	0.10	0.07	2.890	0.298
	23	20.77	0.22	9.082	0.935	0.28	0.25	10.320	1.063

※ 有精卵の方は 4,281cc - 561cc = 3,720cc

無精卵の方は 4,660cc - 532cc = 4,128cc

最後のガス採取終了後、直ちに有精卵は孵卵器に収容し、果して有精卵であつたかどうかを調べるため、入卵第6日目に検卵したところ、F1, F2, F6の3個が無精卵であることが判明したので、この3個の無精卵に対して有精卵区の測定値の補正を行った。すなわち第1表より有精卵区中の無精卵重=49.40g+57.86g+50.65g=157.91g

無精卵区中の全卵重 = 582.65g
 故に $\frac{\text{有精卵区中の無精卵重}}{\text{無精卵区中の全卵重}} = \frac{157.91}{582.65} \div 0.271$

すなわち、無精卵区中の測定値×0.271を以て有精卵区中の無精卵3個の測定値と考え、この値を有精卵区中の測定値より減じて、真の有精卵7個の測定値と見なすと、それぞれ第3表の如くなる。

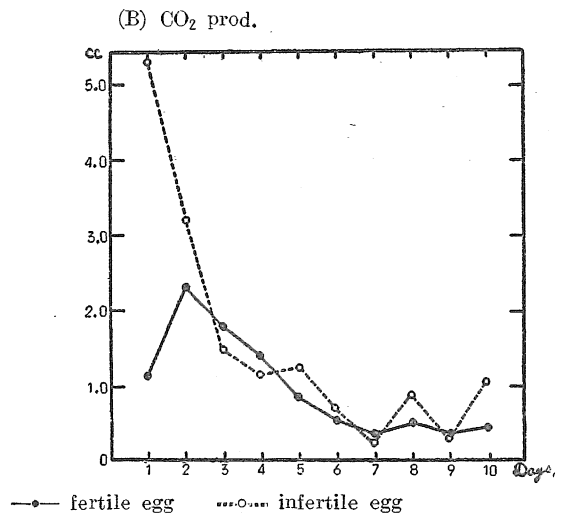
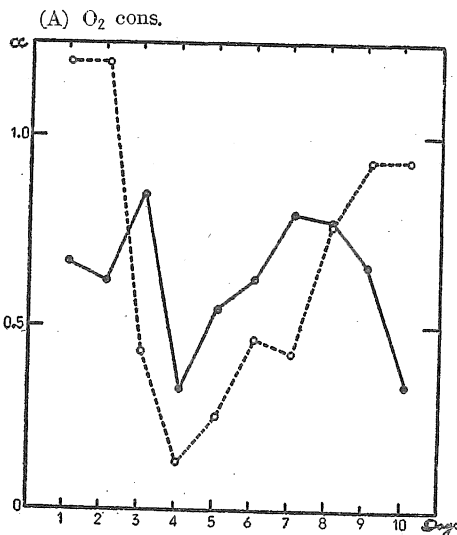
Table 3. Correction according to 3 infertile eggs found in the fertile lot.

Date	O ₂ consumed				CO ₂ produced			
	per 10 eggs in fertile lot (cc)	per 3 infertile eggs (cc)	per 7 true fertile eggs (cc)	per 60g-fertile egg (cc)	per 10 eggs in fertile lot (cc)	per 3 infertile eggs (cc)	per 7 true fertile eggs (cc)	per 60g-fertile egg (cc)
1956. 12. 14	7.812	3.132	4.680	0.663	21.948	13.872	8.076	1.144
15	7.440	3.132	4.308	0.610	24.924	8.390	16.534	2.341
16	7.068	1.119	5.949	0.842	16.368	3.915	12.453	1.763
17	2.604	0.335	2.269	0.321	13.020	3.021	9.999	1.416
18	4.464	0.671	3.793	0.537	9.300	3.244	6.056	0.858
19	5.580	1.231	4.349	0.616	5.952	1.902	4.050	0.573
20	6.696	1.119	5.577	0.790	3.348	0.671	2.677	0.379
21	7.440	2.014	5.426	0.768	5.952	2.349	3.603	0.510
22	7.068	2.461	4.607	0.652	3.348	0.783	2.565	0.363
23	4.836	2.461	2.375	0.336	5.952	2.797	3.155	0.447

第2表及び第3表における有精・無精各鶏卵について、卵重60gの鶏卵1個につき24時間当りのO₂消費量・CO₂

排出量を図示すれば、第2図(A)・(B)の如くである。

Fig 2. O₂ consumed and CO₂ produced per 60g-egg during 10 days after laying.



(a) 有精卵の場合：第2図(A)に示すように、O₂消費量は産出後3日目までかなり多く、4日目には急に少くなり、その後次第に大となつて7~8日には元の高い値に戻り、其後次第に再び減少する傾向がみられる。

鶏胚の発育開始温度に関しては、29°Cとするもの (Prevost and Dumas), 28°Cとするもの (Darest, Kaestner), 20°~21°Cとするもの (Edwards) などがあり、21°Cあるいは 24.5°Cでも胚が大きくなれないというもの (Funk

and Biellier)もあつて一定しないが、80°F (約26.5°C) 以上では肉眼的にも胚の発育が明らかで、85°F (約29.5°C) 以上では急速に発育することが確かめられている。本実験では外界温度は30°±1°Cであるから当然胚の発育は始まつている。

胚が発育し始めると必然的にエネルギーの消費が盛んとなり、エネルギー源として卵内養分の酸化が起り、O₂が必要となる。このO₂の給源として次の方法が考えられる。すなわち、胚発育の初期には、胚の呼吸は肺呼吸ではないから、必要とされるO₂は分解酵素の働きによつて卵黄から得られるといわれている⁽⁸⁾。外気から、さかんにO₂をとつて胚が呼吸を始めるのは、孵卵した場合でも17日目頃であるので、この場合外気からのO₂消費は微々たるものであらうと考えられる。孵卵初期でさえ Romanoff によると、この量は0.51cc/hour/60g-eggといわれているから24時間では約12ccである。

本実験結果では外界からのO₂消費量は24時間でも0.3~0.8cc/day/60g-eggで、孵化の場合の約 $\frac{1}{20}$ に過ぎないので、この変化の様相を説明することは難しいが、有精卵の場合、胚発育開始による若干のO₂消費量及びCO₂排出量の増大と、30°±1°Cの温度による胚の活力低下のための両者の減少、あるいは胚の死なないし発育停止による諸変化、ならびに卵内容の組成やpHなどの変化による卵殻を通じたガスの透過など各種要因により、O₂消費量が第2図の如き特異な日変化を示したものである。

しかもこれは7個の有精卵の総合的な測定値であり、必ずしもどの有精卵も同じ状態であつたかどうかは不明で、胚発育を休止したものと、まだ発育を続けているものとO₂消費量とが合計されて出て来ている日もあることと思われる。とくに第4日目の急激な減少とその後の増加については、無精卵でも同様な傾向が平行して現われているので、この点に関しては胚の発育以外の原因があるものと想像され、今後、胚発育を伴わない低温の場合を検討してこの現象を考察することとしたい。

なお90°F (約32°C) のもとでは、4日までならば孵化率に全々悪影響はないが、5日以上おくと急に孵化率が低下することを Talmadge が報告している⁽⁸⁾。あるいはこれが第4日目の急激な減少の原因であるかも知れない。いずれにせよこのO₂消費量の特異的な日変化については今後の検討にまつこととする。

有精卵のCO₂排出量に関しては、一時的な胚の発育と其後の胚の活力低下とから、第2図Bの曲線は説明がつくように思われる。しかもCO₂の排出量が、O₂消費量と比べて著しく多いことは卵内における組織呼吸によるCO₂の生産があり、一方卵殻を透過する力はCO₂ガスの場合

はO₂ガスに比べて著しく大であり、Romijnによると20°Cの場合、O₂の22~27倍のCO₂が透過するという⁽²⁾。これらの点から考えて、O₂消費量に比してCO₂の生産量は著しく大きいと思われる。

(b) 無精卵の場合：第2図から明らかな如く、無精卵では卵の産出直後O₂消費量、CO₂排出量が有精卵よりも著しく大きいこと、及び8日目以後はO₂消費量が、有精卵では減少の傾向があるのに無精卵では逆に増加の傾向があることが有精卵の場合と比べて大きい差異であり他の時期には両者間に大した差は認められないようである。

産卵直後1~2日間無精卵では有精卵の約2倍のO₂消費量があるが、無精卵では胚の発育が考えられないのでこれは卵の内部的な何等かの相違があつて、例えばpHとかその他の物理化学的な要因が、この様な結果をもたらしたものと思われ、8日目以後の増加とともに、今後検討するつもりである。

次にCO₂の排出量の受精の有無による差については、無精卵は産出後1~2日間は著しく大で、第1日目では有精卵の5倍以上であり、本実験結果では約5.3cc/day/60g-eggを示している。産出直後の卵は遊離のCO₂を内部に含有しており、このCO₂は直ちに卵殻を透過して逸散し、1~2日間でこのCO₂はほとんど放出されて、以後CO₂の排出はごく微量となることはBohr, Hasselbalch らが報告しており⁽⁸⁾、Romanoffは無精卵は呼吸を殆んど行わないが卵白中のCO₂の放出が盛んであり、卵白のpHとCO₂分圧間に負の相関々係があると報告している⁽⁶⁾。

本実験の無精卵におけるCO₂排出量が、有精卵と比べて著しく大であることは、上述のことが原因しているものと思われ、測定値からいつても、この産卵後1~2日間におけるCO₂放出量の著しい差異は卵の受精の有無による大きな差異の一つであらうと思われる。

なおSharpは卵の貯蔵法として、このCO₂の放出を抑えるため産卵直後の新鮮卵をCO₂ガス内に貯蔵する方法を提唱しているが⁽⁷⁾、本試験におけるCO₂放出状況と関連して興味深いものがある。

2. 有精卵の孵化

12月23日、第10日目のガス採取後直ちに有精卵区の鶏卵を平面孵卵器に收容し、6日目に第1回の検卵を行い、F1, F2, F6が無精卵であつたことが判つたので、これを除去し、破卵して全然胚が発育していないことを確認した。残りの7個は有精卵であることを認めたので12日目までおいて第2回の検卵を行つたところ、F3, F8, F9, F10が中止卵であることを確認し除去した。残余F4, F5, F7は中止卵であるかどうかの判定がなし得なかつたので17日目までおき、第3回の検卵を行つたところ確実な中止卵F5

を発見除去し、F4, F7 を孵化日まで残したが結局孵化せず、いずれも死籠りであつた。従つて結局有精卵7個は全然孵化しなかつたことになる。

孵化しなかつた原因としては孵卵器及び孵卵装作に異常はなかつたので、入卵前高温(30°±1°C)に10日置いたことが主原因と思われる。80°F(約27°C)に14日間おいた受精卵では孵化率は0% (Philips)であり、80°F以上の温度では明らかに胚の発育が始り、一週間の平均気温が80°F以上である場合は孵化率が15~20%に低下する(Funk)ともいわれており、90°F(32°C)に4~7日おくと殆ど孵化しない(Talmadge)などの多くの報告がある⁽⁸⁾。孵化させるためには、温度はせいぜい15°C(59°F)までで、試験を行うべきであり、本実験はガスの出入の受精の有無による差異を明瞭に捉えようとする予備試験であつたため高温を選んだのであるが、試験後の受精卵を孵化するという実用的の面を加味すれば、種卵貯蔵の適温である55°F~60°F(約12.5°C~15.5°C)において今後試験することが望ましいと思われる。

IV 要 約

産卵当日のWhite Leghorn種の卵を用い、外界温度30°Cの場合に、卵殻を透過するO₂及びCO₂ガス量日変化の受精の有無による差異を10日間調べて次の結果を得た。

(1) O₂消費量・CO₂生産量ともに産卵後1~2日間は無精卵の方が有精卵より大であり、とくに第1日目のCO₂放出量は、無精卵では有精卵の約5倍で、5.27cc/day/60g-eggであつた。

(2) CO₂生産量はその後次第に減少し、第6日目以後は1.0cc/day/60g-egg以下となるが、受精の有無による差は第3日目以後は見られないようである。

(3) O₂消費量は第4日目に急減し、有精・無精卵ともに最も少く、その後いずれも次第に増加し、無精卵では9~10日目に産卵後第1日目の量に戻るが、有精卵では第7~8日目に元に戻り、その後再び減少する傾向がある。

(4) O₂消費量の有精卵における'n型'日変化及び無精卵における'v型'日変化は、鶏胚の発育による呼吸よりも、鶏卵内容の理化学的諸変化が原因しているものと思われる。

(5) 産卵後30°±1°Cで10日間保存した有精卵を孵卵しても中止卵が多くなり、ほとんど孵化しないようである。

文 献

(1) Pembrey, M.S., Gordon, M.H. and Warren, R.

J. Physiol. 17 ; 331, 1895.

(2) Romijn, C. Poultry Sci. 29(1) ; 42, 1950.

(3) Romijn, C. and Lokhorst, W. Poultry Sci. 34(3) ; 649, 1955.

(4) Romijn, C. and Rocs, J. J. Physiol. 94 ; 365, 1938.

(5) Rmanoff, A.L. Food Res. 8 ; 212, 1943.

(6) Romanoff, A.L. and Romanoff A.J. The Avian Egg, 1949.

(7) Sharp, P.F. Poultry Sci. 10(7);401, 1931.

(8) Taylor, L.W. Fertility and Hatchability of Chicken and Turkey Eggs. 2nd printing, July, 1956.

Summary

Studies were made on daily changes in O₂ and CO₂ gas diffused through the egg shell at a temperature of 30°C. Fertile and infertile eggs, fresh laid, of White Leghorn were used for the purpose during ten days.

The principal results were as follows;

(1) Both O₂ consumption and CO₂ production in infertile eggs were more than those in fertile ones during a day or two after they were laid. Especially the amount of CO₂ produced from infertile eggs on the 1st day was about 5 times as much as from fertile ones, and it was 5.27cc/day/60g-egg.

(2) From the 2nd or 3rd day on, there was a gradual decrease in the CO₂ output, and on the 6th day it decreased to less than 1.0cc/day/60g-egg. The difference in the decrement between fertile and infertile eggs was not appreciable after the 3rd day on.

(3) The decrement of O₂ consumption was most remarkable on the 4th day—the minimum volume during experimental period.

Then a gradual increase was seen both in O₂ consumption and CO₂ production, until, in infertile eggs, they recovered the 1st day volumes on the 9th or 10th day, and, in fertile eggs, on the 7th or 8th day. But in the case of fertile eggs, a second decrease followed for the remaining days.

In short, the changing curve of O₂ consumed in fertile eggs, is represented by the shape 'n', and that of infertile ones by the shape 'v'.

(4) Judging from these types of changing curves, some physical and chemical changes in the egg contents seems to be responsible for these changes,

and not the foetal respiration which is due to the growth of the blastdarm.

(5) The fertile eggs which were held at 30°C for

10 days for the purpose of these experiments seemed to have lost much of their hatching power, and the hatchability was reduced to zero.