

代用卵殻でのニワトリの孵化を目指して

生物資源科学部 アグリビジネス学科

1年 澁木 菜央

1年 瀧上 真菜

指導教員 生物資源科学部 アグリビジネス学科

准教授 横尾 正樹

助教 佐藤 勝祥

I. 研究背景

自然状況下では胚は卵殻に守られて成長していくが、卵殻内と類似な環境を人工的に作り出せば、割卵後でも胚は成長できるはずであると考えた。この実験により、卵殻内で起きている胚の成長の様子を連続的に観察することができる。また、実験を通し、代用卵殻での孵化の成功率を上げる要因を発見できれば、事故等で割れたり傷がついたりした有精卵が無駄になることが減ると考え、代用卵殻でのニワトリの孵化を目指す実験を開始した。

II. 材料と方法

1. 有精卵の保温

国産鶏種「はりま」の有精卵((株)イシイより購入)を、人工気象機を用いて、気温 38℃、湿度 60%の環境で 48 時間～56 時間温めた。

2. 培養容器の準備

450ml のプラスチックカップの、底から高さ 4 cm のところに直径約 1 cm の穴をあけた。後でそこから酸素ポンベのチューブを挿し込むので、チューブをある程度固定できるように、穴にコットンを詰めておいた。

3. 割卵と培養

プラスチックカップに濃度 0.01% の滅菌水 (塩化ベンザルコニウム溶液) を 40ml 入れた。プラスチックカップの上部に、卵型に引き伸ばしたラップフィルム (フォーラップ) をかけた。かけたラップフィルムの中に、250～300 mg の乳酸カルシウムと約 3ml の蒸留水を入れた。



図 1: 培養容器の試作

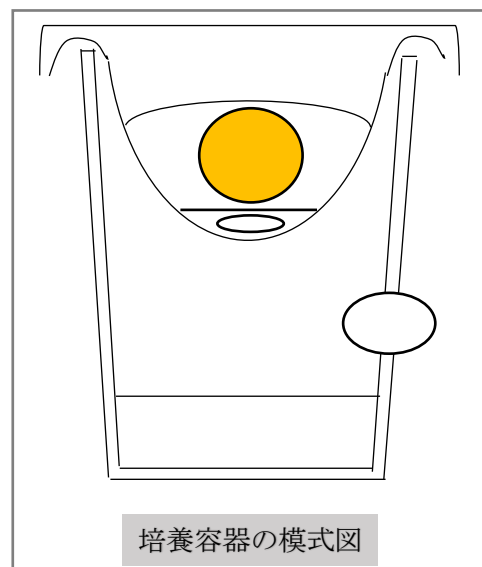
割卵の前に、濃度 70%のエタノールを用いて卵殻表面を消毒した。培養容器の引き延ばしたラップフィルムの中に卵を丁寧に割り入れた。卵の内容物はすべて入れた。卵殻の欠片等が入ってしまった場合はピンセットで慎重に取り除いた。

培養容器のプラスチックカップの最上部に再びラップをかけた。熱したガラス棒を用いて、5~8 mmの空気穴を 10 個ほど開けた。4 回目の実験から、さらにこの上にプラスチック製のフタをかぶせた。

この培養容器を、人工気象機を用いて、気温 38℃、湿度 80%の環境に置いた。1 日に 2 回、培養容器を傾けて 2 周ほど回転（転卵）させた。これを卵の保温期間を含めて 18 日目まで続けた。



図 2：培養容器内に割卵した様子



4. 酸素供給

保温開始から 18 日目に酸素供給を開始した。酸素を 0.25 L/min の流量で、コットンを詰めた穴から酸素ポンベのチューブを挿し込んで供給した。

III. 結果および考察

この実験は、1 回の実験につき 10 個の卵を使用し行った。5 回実験を行い、合計 50 個の卵を使用した。このうち、血管が見えたものが 29 個（保温開始から 3 日目で確認）であった。心臓の拍動を確認した個体が 8 個（4 日目で確認）であった。このうち、3 個は 6 日目、他の 3 個は 7 日目、また他の 1 個は 12 日目で、成長が停止した。そして酸素供給が必要になる 18 日目まで成長したものが 1 個であった。孵化したものはなかった。

よって、保温開始から 18 日までの胚の成長の様子を観察することができた。（下図）

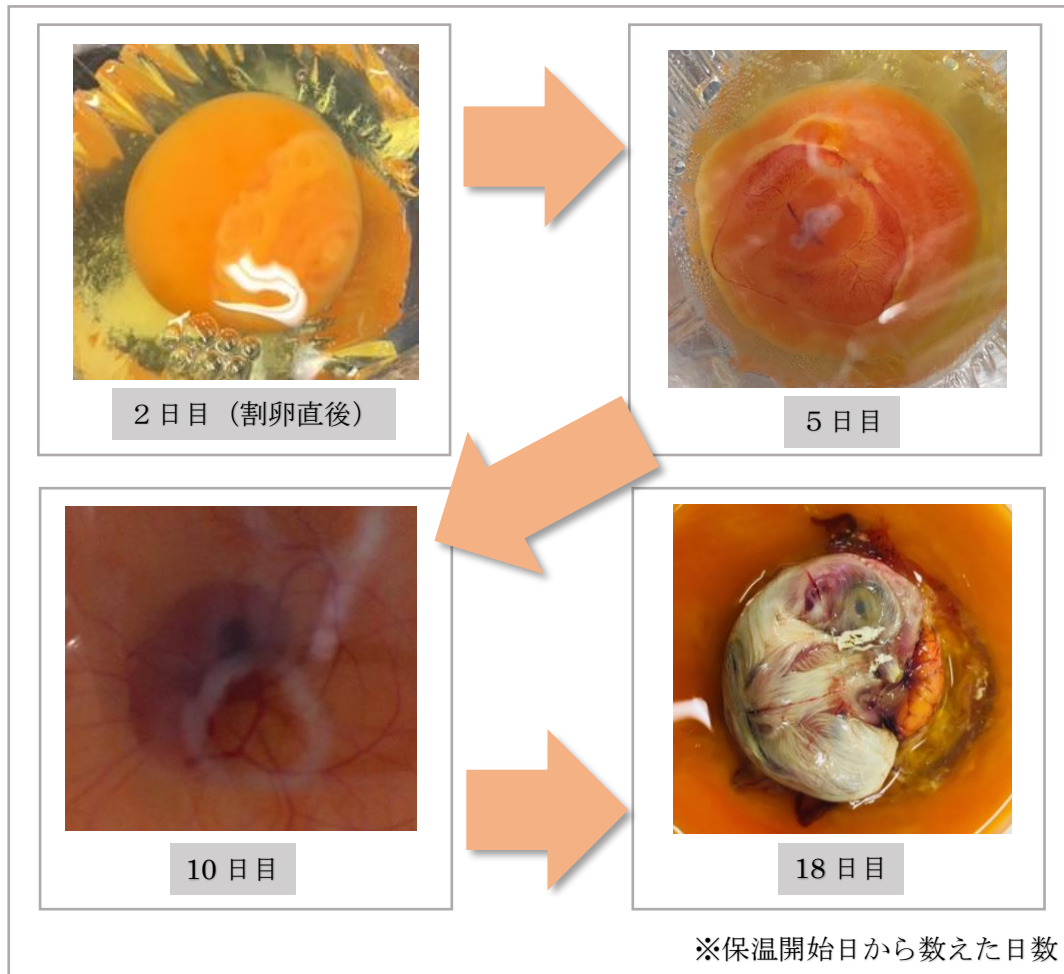
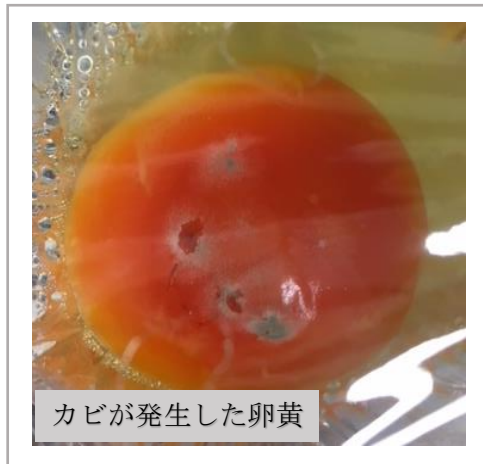


図 3：代用卵殻内での胚の成長の様子

成長が停止した要因としては、割卵前の保温時間不足（4回目の実験時）、割卵時についた卵黄の傷、卵黄表面の乾燥、カビの発生が考えられる。原因は不明だが、卵黄が白く濁ったものもあった。





卵黄表面の乾燥は、転卵の方法の理解不足や頻度が少なかったこと、人工気象機の湿度低下が原因だと思われる。カビの発生は、最上部のラップフィルムに開けた穴から、カビ菌が入ったことが原因だと思われる。これらを改善するために、転卵の頻度を上げ、人工気象機の水タンクが切れないようにこまめに水を補給した。また、3回目の実験から、クリーンベンチで作業を行うようにした。しかし、改善が見られなかったため、4回目の実験から培養容器にプラスチック製のフタをかぶせるようにした。これにより、卵黄表面の乾燥とカビの発生が改善された。

五回目の実験で、保温開始から18日目まで成長した個体1個を観察できた。この個体は、割卵前の保温時間不足、卵黄の傷、卵黄表面の乾燥、カビの発生という考えられる問題を回避することができた。ここで成長が停止した要因として、酸素の流量が多すぎたため、酸素ポンベの酸素が終わってしまい、酸素供給が止まってしまったことが考えられる。

IV. まとめ

今回、代用卵殻によるニワトリの孵化という結果は得られなかった。しかし、酸素供給前までは、環境を整えることで、代用卵殻でも胚が成長することが分かった。酸素の流量を少なく調整し、継続的に供給させることができれば、代用卵殻でもニワトリが孵化する可能性があると考えられる。

V. 参考文献

- Yutaka Tahara and Katsuya Obara. A Novel Shell-less Culture System for Chick Embryos Using a Plastic Film as Culture Vessels. J. Poult. Sci., 51: 307-312, 2014.
- 藤田悠記, 高橋俊介, 那須章人, 下井岳, 亀山祐一, 橋詰良一, 伊藤雅夫. 代用卵殻環境が培養ニワトリ胚の発生におよぼす影響. 東京農大農学集報, 52(2), 115-119, 2007.