

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

2年 澁木 菜央

2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

助教 伊藤 謙

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。昨年度の学生自主研究においても同様の実験を行ったが、保温開始から酸素供給が必要となる18日目まで成長したが、孵化には至らないという結果に留まった。その結果を踏まえ、今年度は実験方法を改良して実施した。

II. 材料と方法

1. 有精卵の保温

実験にはチャンキー種の有精卵を使用した。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4cmのところに直径約1cm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



図1：培養容器の試作

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。

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。培養容器の引き伸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。さらにこの上にプラスチック製のフタ、あるいはサランラップをかぶせた。

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。培養容器を傾けて毎日 2 周ほど回転（転卵）させた試験区と、転卵しない試験区を設けた。これを卵の保温期間を含めて 14 日目まで続けた。

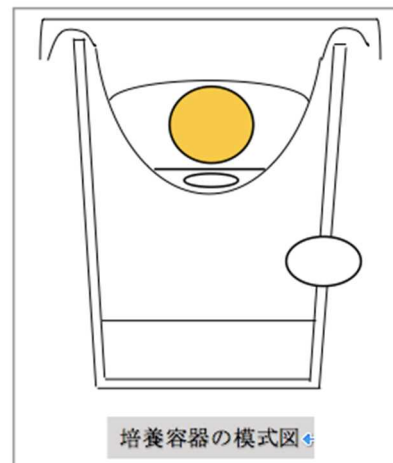
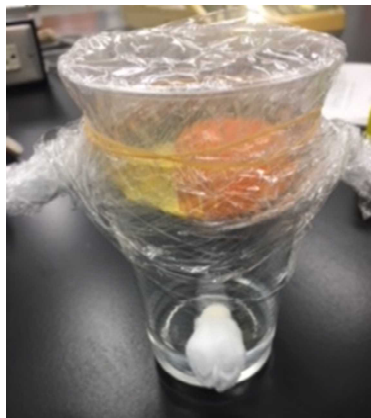


図 2：培養容器内に割卵した様子

4. 試験区

代用卵殻を用いた実験は 3 回行い、合計 95 個の卵を使用した。この中に 3 つの試験区を設けた。昨年度の実験と同様に、ラップフィルムにガス透過性の高いフォーラップを用いて転卵を行う試験区 A、ラップフィルムにフォーラップを用いて転卵を行わない試験区 B、ラップフィルムにガス透過性の低いサランラップを用いて転卵を行う試験区 C である。また、保温開始から 2 日目に割卵を行わず、卵のまま保温を続けた対照区も準備した。(表 1)

表 1：試験区とその条件

	条件1：ラップフィルムの種類	条件2：転卵の有無	使用した個数
試験区A	フォーラップ	有	45
試験区B	フォーラップ	無	25
試験区C	サランラップ	有	25
対照区A	割卵なし	有	25
対照区B	割卵なし	無	25

III. 結果

試験区 A のうち、血管が見えたものが 15 個（保温開始から 3 日目で確認）、心臓の拍動を確認した個体が 9 個（4 日目で確認）であった。最大 14 日目まで、成長が進行した胚があった。酸素供給が必要になる 18 日目まで成長したものと孵化したものは 1 個もなかった。よって、保温開始から 14 日までの胚の成長の様子を観察することができた。（図 3）

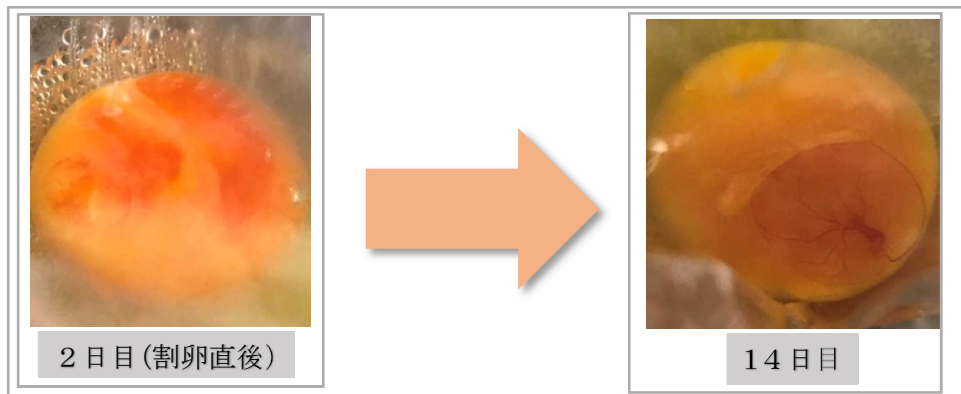


図 3：代用卵殻内での胚の成長の様子（試験区 A）

試験区 B では、血管が見えたものが 1 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 1 個（4 日目で確認）であった。最大 5 日目まで、成長が進行した胚があった。酸素供給が必要になる 18 日目まで成長したものと孵化したものは 1 個もなかった。よって、保温開始から 5 日までの胚の成長の様子を観察することができた。

試験区 C では、血管が見えたものが 0 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 0 個（4 日目で確認）であった。よって、胚の成長の様子を観察することはできなかった。

対照区では転卵する対照区 A と転卵しない対照区 B を設け、保温開始から 21 日目までの成長の具合を観察した。対照区 A では、25 個中 13 個は順調に成長し、12 個は途中で成長が停止していた。対照区 B では、25 個中 18 個は順調に成長し、7 個は途中で成長が停止していた。（図 4）



図 4：対照区での胚の成長の具合

IV. 考察

代用卵殻を使ったいずれの試験区でも、胚の成長は途中で停止してしまった。成長が停止した要因としては、試験区 A では、割卵時について卵黄の傷、フタの代用品としたサランラップで卵黄表面の乾燥を防げなかったこと、が考えられる。試験区 B では、試験区 A と同様の要因に加え、転卵を行わなかったことが考えられる。試験区 C では、サランラップのガス透過性が低いために、胚の呼吸が妨げられたことが考えられる。また、すべての試験区で、転卵作業に時間がかかり、人工気象機内の温度が下がったことで胚が弱った可能性も考えられる。

一方、卵割しなかった対照区では胚の成長が観察できたものの、孵化した卵は一つもなく、保温開始から 21 日目の段階にしては、成長が進むのが遅く感じられた。これは、転卵する際に人工気象機内の温度が下がってしまい、孵化に必要な積算温度が足りなくなった可能性が考えられる。転卵した対照区 A よりも転卵しなかった対照区 B の方での発生率が高かったことについては、通常、保温開始から 4 日目までは転卵を行わない方がよく、積極的に転卵を行ったことで胚にダメージが加わった可能性があるとして、実験後に判明した。

V. 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、保温開始から 14 日目までは、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。割卵しなかった対照区の結果も踏まえて考えると、代用卵殻でニワトリを孵化させるためには、転卵を開始するタイミングや、転卵の角度、人工気象機内の温度が下がらないように転卵作業を行うことも重要であることがわかった。

VI. 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.

VII. 謝辞

今回の実験で使用した有精卵はすべて(株)イシイから無償でご提供いただきました。深く感謝申し上げます。