

## 豚凍結精液及び凍結胚に関する研究

誌名	鹿児島県畜産試験場研究報告
ISSN	0389357X
著者	安田, 研 福留, 憲浩 石原, 康弘 岩重, 秀一
巻/号	38号
掲載ページ	p. 64-66
発行年月	2004年12月

(豚凍結精液及び凍結胚に関する研究)

## 豚凍結精液及び凍結胚に関する研究

## 凍結胚の技術確立に関する研究 第4報

安田 研<sup>1</sup>・福留憲浩・石原康弘・岩重秀一<sup>2</sup>( <sup>1</sup>鹿兒島中央家畜保健衛生所大島支所瀬戸内町駐在, <sup>2</sup>南薩家畜保健衛生所)

## 要 約

豚の胚の回収において、回収率及び移植方法（外科的移植・非外科的移植）による比較を行った。

- 1 胚の回収は、11頭に対して行った。総黄体数128個に対して総回収胚数112個で回収率は87.5%であった。
- 2 移植試験では、新鮮胚の外科的移植を3頭、非外科的移植を2頭、新鮮胚と凍結胚の混合胚の外科的移植を3頭に行った。新鮮胚の外科的移植で1頭受胎し、3頭の産子が得られた。

## 緒 言

豚の胚移植技術は、種の保存やオーエスキー病等の汚染豚群清浄化及び優良種豚の廃用前有効利用などの目的で研究されてきている。しかし、胚の回収が開腹手術により行われ、また胚が低温に弱く凍結保存が難しいこと、移植も通常開腹手術により行われているため、手術設備を有していない場所では、この技術を利用することが困難である。

そこで、胚の凍結技術の開発と開腹手術により移植する方法（外科的移植<sup>1)</sup>）と開腹手術を行わずに移植する方法（非外科的移植<sup>1)</sup>）を比較検討した。

## 試験材料並びに方法

## 1 胚の回収方法

供試豚は当场で飼養しているバークシャー種を用い、自然発情時に2～3回の自然交配を行った。初回交配日を0日目として6日目にアザペロン (2mg/kg) を筋肉内注射し、さらにケタラル (10mg/kg) を耳静脈に注入し麻酔の導入を行った。その後、イソフルランの吸入麻酔による全身麻酔下で供胚豚の開腹手術を行い、左右卵巣の黄体数を確認し、露出した子宮角を左右それぞれ灌流液 (m-D. PBS) で灌流して胚の回収を行った。<sup>1)</sup> 回収した胚は、形態的な異常がないかを確認後、3～5回洗浄し、移植試験や凍結保存に供した。

## 2 移植方法

受胚豚は、供胚豚の発情より0～2日後に発情した豚を用いた。

供胚豚より午前中に胚を回収し、形態的な異常がないか確認後、3～5回洗浄し、移植まで5% CO<sub>2</sub>気相のインキュベーター (37℃) 内に保持し、午後移植を行った。

また、同日に移植出来なかった胚については、凍結後、移植を行った。受胚豚は、雄許容後4～5日目

のものを供した。

(1) 外科的移植<sup>1)</sup>

受胚豚は、移植24時間前から絶食し、アザペロンを筋肉内注射し、さらにケタラルを耳静脈へ注入して麻酔の導入を行った。その後、イソフルランによる吸入麻酔により麻酔を維持し、胚の回収時と同様に開腹手術を行い、子宮角を露出させ、PP (ポリプロピレン樹脂) カテーテルを用いて、片側の子宮腔内へ注入した。

移植後は、PPカテーテル内に胚が残留していないか実体顕微鏡下で確認した。

(2) 非外科的移植<sup>1)</sup>

受胚豚は、ケージに入れ、無麻酔で移植した。移植は、人工授精用のカテーテルを用い、カテーテル挿入後、子宮頸管に入っていることを確認し、カテーテルに三方活栓で胚を含んだ移植液を入れた5ml注射ポンプと胚を子宮内に押し込むための移植液を入れた50mlの注射ポンプを付け、最初に胚の入った移植液を注入後、5mlの注射ポンプを数回洗いながら移植液で胚を子宮内に送り込んだ。

移植後は臀部を高くしたまましばらくの間放置し、移植液の漏出を防止した。

3 調査項目

結果及び考察

(1) 回収試験

黄体数, 回収胚数, 回収率

1 回収成績

延べ11頭から回収を行った。胚の回収成績は表1のとおりである。胚の回収は、総黄体数128個に対し、総回収胚数112個で回収率87.5%であった。

(2) 移植試験

移植頭数, 受胎頭数, 受胎率, 移植胚数, 産子数, 麻酔の有無, 頸管の抵抗感, 移植液の漏出の有無 (非外科的移植)

黄体数は、10~14個 (平均11.7個) とあまりバラツキが無かった。回収胚数は、5~13個 (平均10.2個) で個体によるバラツキが見られたが、No. 1の個体を除くと9~13個とバラツキが少なくなり、回収率でも、76.9~100% (平均92.2%) とバラツキは見られなかった。

表1 胚の回収成績

No	総黄体数 (個)	総回収胚数 (個)	正常胚数 (個)	回収率 (%)	発育ステージ	備考
1	12	5	3	41.7	桑実胚~拡張胚盤胞	
2	12	11	10	91.7	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
3	10	10	10	100.0	胚盤胞~拡張胚盤胞	
4	10	9	9	90.0	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
5	11	11	11	100.0	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
6	14	13	12	92.9	胚盤胞~脱出胚盤胞	
7	13	12	11	92.3	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
8	10	10	9	100.0	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
9	11	9	9	81.8	拡張胚盤胞~脱出胚盤胞	
10	13	12	10	92.3	胚盤胞~拡張胚盤胞	
11	13	10	10	76.9	胚盤胞~拡張胚盤胞	
合計	128	112	104	87.5		

2 移植成績

(1) 外科的移植

3頭に新鮮胚を用い、外科的移植を行った。受胚豚の黄体数は9~12個 (平均10.7個) で、胚を9~11個 (平均9.7個) 移植した。

また、新鮮胚と凍結胚の混合したものを3頭に外科的に移植を行った。受胚豚の黄体数は10~14個 (平均12.3個) で混合胚を17~22個 (平均20個) 移植した。

新鮮胚の外科的移植では3頭中2頭は不受胎であった。1頭は移植後の次回発情がこなかったため、妊娠診断を行った結果、受胎し、3頭の産子が得られた。

また、混合胚の移植では、3頭とも不受胎であった。

表2 外科的移植成績

No	黄体数 (個)	移植胚数 (個)	同期化	受胎	備考
1	12	9	+1.0日	-	新鮮胚
2	9	11	+0.5日	-	新鮮胚
3	11	9	+0.5日	+	新鮮胚, 産子3頭
4	14	17	+1.0日	-	混合胚
5	13	21	0.0日	-	混合胚
6	10	22	+0.5日	-	混合胚

\* 受胚豚が供胚豚より発情が遅い場合: +

(2) 非外科的移植

2頭に非外科的移植を行った。移植胚数は10~13

個で、ケージに入れ、カテーテルを用いて非外科的移植を行った。2頭とも子宮頸管の抵抗感が無く、カテーテルがスムーズに挿入できた。

移植後、しばらくの間、臀部を高くして放置し、移植液の漏出は見られなかったが、受胎には至らなかった。

表3 非外科的移植成績

No	移植胚数 (個)	麻酔	抵抗感	液の漏出	受胎	同期化	備 考
1	10	無し	無し	無し	—	+0.5日	新鮮胚
2	13	無し	無し	無し	—	+0.5日	新鮮胚

\* 受胚豚が供胚豚より発情が遅い場合：+

以上の結果より、胚は、黄体数に対して9割程度回収できるが、移植方法は、まだ改善する必要がある。

今後、移植については、新鮮胚を用いた非外科的移植技術を確立し、胚の凍結では、ガラス化凍結法による胚の生存性について試験をおこない、受胎率向上を検討する。

#### 参考文献

- 1) 農林水産省家畜改良センター・豚新技術開発研究会編、豚の胚移植マニュアル、1996
- 2) 最新バイオテクノロジー全書編集委員会編・家畜の繁殖と育種、113-137、農業図書株式会社、1990