

牛受精卵の凍結融解の一手法について

緒方喜代子・後藤孝一・平山忠一・中嶋達彦・木場俊太郎・*山下秀憲・*大倉昭信・
*高橋繁一郎・*佐藤敬明・*坂本徹朗・**荒木武紀・***松岡清孝 (熊本県農業研究センター・
*中央・城北・阿蘇・天草・城南家畜保健衛生所・**開業獣医・***熊本県畜産開発公社)

Kiyoko OGATA, Kouichi GOTO, Tadakazu HIRAYAMA, Tatsuhiko NAKASHIMA,
Shuntarou Koba, Hidenori YAMASHITA, Akinobu OKURA, Shigeichiro TAKAHASHI,
Keimei SATO, Tetsuro SAKAMOTO, Takenori ARAKI and Kiyotaka MATSUOKA :
One Method of Freezing and Thawing on Bovine Embryos

1. 目的

牛の受精卵移植を広く普及実用化させるためには凍結保存技術の確立が不可欠であり、その技術確立のために国内外において多くの報告がなされている。そこで我々は凍結融解の一手法としての4ステップ法を実施する上で、ストロー縦置き、横置きによる凍結融解後の受精卵の損傷率を比較するとともに、本方法による凍結、融解、移植を民間2か所のETセンターで行い、フィールドにおける操作性、受胎率等について検討するため本試験を実施した。

2. 方法

過剰排卵処置を行い受精後7～8日目に回収した桑葉期から胚盤胞期の受精卵を用いた。耐凍剤の添加は5%、10%の2段階で行った。凍結は同一機種でストローセット法が縦置き、横置きの2タイプの凍結機を用い、常法により凍結した。融解後の受精卵は基本培地に修正PBSを用い、0.3Mシュウクロスを添加した6%、3%グリセリン、修正PBSの順に4段階で耐凍剤の除去を行った。

3. 結果

凍結前と融解後の受精卵のランク変化、生存性を見ると、凍結前Aランクで融解後Aランクとなった割合は縦置き33.6%、横置き70.3%であり、横置きにセットした場合に受精卵の損傷が少なかった。また、フィールドでの移植試験を実施したところ、縦置きでは移植134頭のうち受胎65頭、不受胎69頭で受胎率は48.5%、横置きでは移植254頭のうち受胎121頭、不受胎105頭、妊否不明28頭で受胎率は53.5%であった。

第1表 凍結融解後のランクの変化(アルコール式縦置き)

凍結前	融解後のランク				計
	A~A'	B	C	D	
A~A'	43(33.6%)	54(42.2%)	18(14.1%)	13(10.2%)	128
B	—	10(52.6%)	7(36.8%)	2(10.5%)	19
C	—	—	2(33.3%)	4(66.7%)	6

第2表 凍結融解後のランクの変化(アルコール式横置き)

凍結前	融解後のランク				計
	A~A'	B	C	D	
A~A'	83(70.3%)	23(19.5%)	7(5.9%)	5(4.2%)	118
B	—	17(65.4%)	7(26.9%)	2(7.7%)	26
C	—	—	3(37.5%)	5(62.5%)	8

第3表 移植成績 (単位:頭)

	移植	受胎	不受胎	不明	受胎率(%)
アルコール式	134	65	69	—	48.5
アルコール式	254	121	105	28	53.5
合計	388	186	174	28	51.6

4. 考察

横置きにストローをセットした場合、植氷の過程を観察できるため確実な凍結ができること、卵のストロー中の移動が少なく空気層との接触あるいは空気層への脱出が少ないこと等の原因により、縦にセットした場合と比較すると卵の損傷が少ないものと推察された。また、両タイプとも移植試験で損傷率ほどの差がなかったのは融解後、良質な卵を選択して移植に供したためと考えられた。

以上の結果より、4ステップ法による凍結融解法は民間におけるフィールドでの凍結、融解、移植試験においても高い受胎率が得られたことから、普及性のある手法であることが示唆された。

引用文献

- 緒方喜代子・後藤孝一・平山忠一・木場俊太郎・山下秀憲・中嶋達彦・高橋繁一郎・守永正秀・佐藤敬明：牛受精卵の凍結融解方法と現場移植について—短報—西日本畜産学会報，31，51-53，1988。
- 武田哲男：ウシ受精卵の凍結保存技術の現状と今後の課題 (全農) ETニューズレター，4，1-13，1988。