

原 著

## 家兎の子宮頸管經由による受精卵の移植に関する研究

### Ⅱ 人工妊娠の成功例

登 内 徳 一 郎

信州大学農学部家畜育種繁殖学教室 (主任: 吉田重雄教授)

## STUDIES ON THE TRANSFER OF FERTILIZED OVA THROUGH THE CERVIX IN THE RABBIT II. THE SUCCESSFUL EXAMPLES OF ARTIFICIAL PREGNANCY

Tokuichiro TONOUCI

Department of Animal Breeding, Faculty of Agriculture,  
Shinshu University  
(Director: Prof. Shigeo YOSHIDA)

Key words: 卵移植 (ova transfer), 受精卵 (fertilized ova), 家兎卵 (rabbit ova),  
人工妊娠 (artificial pregnancy)

### Abstract

The fertilized ova were recovered from the rabbit donors by the intervals of one day, 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after normal mating. The recipients were synchronized in the donors by the intervals of one day, 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after the injection of HCG. The results were as follows:

1. The fertilized ova of donor rabbits were recovered in the fallopian tubes within 71 hours after mating, and it were transported in the uteri more than 76 hours after mating, and fertilized ova from 71 hours to 76 hours after mating were recovered in both the fallopian tubes and the uteri.

2. The average number of ovulation points of donor rabbits was  $9.6 \pm 1.8$ , and the average number of recovered ova was  $7.7 \pm 2.4$ , and the percentage of recovered ova was 80.7%.

3. One hundred and two fertilized ova were transferred in the synchronous recipients, either into the fallopian tubes by insertion through fimbriae or into the uteri by injection through uterine walls without insertion through cervixes. Nine of the sixteen recipients were produced twenty seven normal youngs.

4. One hundred and fourteen fertilized ova were transferred into the uteri of synchronous recipients by insertion through cervixes. Three of the fifteen recipients were produced eleven normal youngs.

5. In percentage of transferred ova to youngs on the intervals of one day, 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after the ovulatory treatment, the average of recipients was 7.1%, 11.8%, 16.7%, 10.5% and 41.9%, respectively, and the recipients of transfer ova without insertion through

cervix was 15.8%, 23.0%, 30.0%, 22.2% and 42.1%, respectively, and the recipients of transfer ova through cervixes was 0%, 0%, 4.5%, 0% and 41.7%, respectively:

6. The transfer of ova 5 days after the ovulatory treatment increased remarkably in number of young.

Above results discussed that, for the transfer of fertilized ova through the uterine cervix in the rabbit, the best result can be got 5 days after the ovulatory treatment.

## I 緒言

著者は前報<sup>1)</sup>において、交尾あるいは HCG 注射によって排卵を誘起させた家兎に、子宮頸管經由あるいは子宮壁から直接子宮に <sup>32</sup>P 標識人工卵を注入して、家兎における子宮頸管經由による受精卵移植の検討を行なった。その結果、交尾後48時間に子宮頸管經由でリンゲル液を子宮に注入すれば、蠕動運動は急激に増加し、その後12時間前後で注入前の状態に復した。また、交尾後48時間にリンゲル液に浮遊させた <sup>32</sup>P 標識人工卵を子宮頸管經由で注入すれば、注入後数時間で多数の人工卵を子宮外に排出した。更に HCG 注射後2~5日に同様な人工卵を子宮壁をとおして直接子宮に注入すれば、人工卵の子宮への残存は、HCG 注射後2, 3日は少なく、4日では多く、5日が最も多かった。HCG 注射後2~5日に同様な人工卵を子宮頸管經由で注入すれば、人工卵の子宮への残存は子宮壁をとおして直接子宮に注入した場合とほぼ同様な傾向にあったが、直接子宮に注入した方が子宮頸管を経由して注入した方より人工卵の子宮への残存は多かった。したがって、家兎における子宮頸管經由の受精卵移植は排卵処置後4~5日とくに5日以後に行なうのが適当なことを推定した。

本実験はこの推定を確かめるために実施した。実験は、家兎の Donor の交尾後1~5日に受精卵を採取し、試験区として Recipient の排卵処置後1~5日に、Donor と排卵を同期化した Recipient に受精卵を子宮頸管經由で子宮に移植し、さらに、対照区は同様な Recipient に受精卵を卵管あるいは子宮に直接移植した。その結果人工妊娠の成功例を得たので、その概要と、あわせて Donor からの採卵の成績も報告する。

## II 実験材料および実験方法

### A 受精卵の採取

Donor として用いた雌家兎は日本白色種31頭、着色種 (Chinchilla 種) 33頭、計64頭 (うち、30頭は経産、34頭は未經産) で、その月令は8~27ヶ月、体重

は2.5~4.25kgであった。このうち、9頭は初回の採卵のための交尾から16日以後に再び交尾を行なわせ再度採卵した。即ち採卵は総計73例であった。これらの家兎は過剰排卵などの処置を行なわず、排卵処置は雌に同種の雄を交配した自然交尾のみによった。

受精卵の採取は生殖器官を生体灌流する方法によった。まず家兎を保定し、ネンブタール (Abbott 製) で麻酔後、正中線の恥骨結合の約3横指頭側を7~8cm 切開し、切開口より両側卵巣の排卵数を確認した。卵管からの採卵は Chang<sup>2)</sup>の方法を用い、子宮上端から卵管采に向けて1~2mlの灌流液で灌流する上向性灌流法によった。子宮からの採卵は子宮上端から子宮頸に向けて灌流する下向性灌流法により約10mlの灌流液を灌流した。それぞれ尖底試験管に左右別々に回収した。次いで、灌流液を鏡検して受精卵の数、分割状態を算定した後、Recipient に移植するまで38°CのCO<sub>2</sub>細胞培養器内に保存した。なお、採卵後腹膜、腹筋および皮膚を別々に縫合し創傷にペニシリンを塗布しておいた。灌流液は家兎血清とリンゲル液の等量混合液に1,000単位/mlのペニシリンを加えたものを使用した。家兎血清はゼイツ濾過器で濾過滅菌したものをを用いた。これらの方法によって受精卵の分割速度、子宮への輸送速度および採卵率をしらべた。

### B 受精卵の移植

Recipient は日本白色種17頭および着色種 (Chinchilla 種) 14頭、計31頭 (18頭は経産、13頭は未經産) の雌家兎で、その月令は7~32ヶ月、体重は2.5~4.4kgのものを使用した。

Recipient の家兎はすべて交尾を行なわず、原則として、Donor の交尾前約30分に HCG の50~75IU を静脈注射することによって排卵<sup>3)</sup>させ、Donor の交尾による排卵と同期化して使用した。また、Donor と Recipient は原則として白色種と有色種を相互に用い、産子の毛色により移植した卵子が正確に識別できるよう配慮した。Recipient への受精卵の移植部位は対照区では Donor の採卵部位が卵管のものには卵管采から卵管に、採卵部位が子宮のものでは直接子宮壁

から子宮に移植した。試験区である子宮頸管經由による移植は採卵部位に関係なく、すべて子宮頸管經由で導管を挿入して子宮に行なった。

受精卵の移植の操作は、Recipient の排卵処置後 1～5 日の間にネブタールで麻酔し、腹部の正中線に切開を加え、排卵を確かめた後、あらかじめ Donor から採取し分割程度の観察された受精卵を 0.1～0.2ml の灌流液とともに卵管および子宮に注入移植した。対照区の卵管への移植はガラスピペット (内径 1mm) を用いて卵管に移植し、子宮への移植は小さい受精卵の場合、輸血針を装着した注射器で、大きな場合はガラスピペット (内径 3mm) で直接子宮壁をとおして子宮上部へ移植した。試験区の子宮頸管經由で移植する場合は、開腹して膈前庭に近く膈に約 5mm の小切開を加え、この切開口より子宮頸管を經由して子宮に移植した。排卵処置後 1～3 日では前報<sup>1)</sup>によるポリエチレン管を、4, 5 日ではガラスチューブ (内径 3mm) を挿入し、受精卵を移植した。終了後は注射器、ピペットなどに残存する受精卵の有無を鏡検して移植卵数を決定した。なお、対照区と試験区をそれぞれ排卵処置後の日数に分けて、移植した受精卵の妊娠、分娩状況、受精卵移植の操作の時間的關係などについて検討した。

### III 実験成績および考察

#### A 受精卵の採取

本実験において Donor の生殖器から受精卵を採取した部位は、交尾後 70 時間までは卵管から、70～82 時

間では卵管および子宮から、82 時間以後は子宮からとした。交尾後 70～82 時間において採取された受精卵は図 1 のごとく、約 30% (受精卵数 25) が卵管から、約 70% (受精卵数 60) が子宮から採取された。すなわち、交尾後 70～82 時間に採卵した Donor は計 11 頭で、そのうち交尾後 71.5 時間以前に採卵したものは全て卵管内から受精卵が採取された。交尾後 72.4 時間 (家兎番号 268), 74.0 時間 (家兎番号 319), 74.8 時間 (家兎番号 263) および 75.4 時間 (家兎番号 424) では子宮への受精卵の移行がみられ、卵管と子宮から卵が採取された。交尾後 76.3 時間 (家兎番号 287) 以後に採卵した Donor の受精卵はすべて子宮から採取された。したがって、受精卵が卵管から子宮へ輸送される時間は交尾後 71～76 時間の範囲内と推定される。

受精卵が子宮へ輸送される時間について Boyd<sup>4)</sup> は交尾後 70 時間、武石ら<sup>5)</sup> は交尾後 75 時間、石島ら<sup>6)</sup> は 72～84 時間であるとし、また Harper ら<sup>7)</sup> は LH を注射して排卵させた家兎の卵管に放射性同位元素で標識した樹脂球を人工卵として送入し、この樹脂球が排卵後 56～64 時間で子宮に入ったとしている、中村ら<sup>8)</sup> もこの Harper らとほぼ同様な実験を行ない、排卵処置後 10～11 時間に人工卵を卵管に送入し、送入後 56 時間には子宮内に人工卵が入ったと報告した。本実験の結果は、これらの多くの報告の結果とほぼ一致している。人工卵を用いた Harper, 中村らの報告に排卵処置から排卵までの推定時間<sup>9)</sup>を加えても受精卵の子宮への輸送時間は本実験よりやや早い、これは排卵処置が交尾排卵でないこと<sup>9)</sup>、人工卵が樹脂球であって

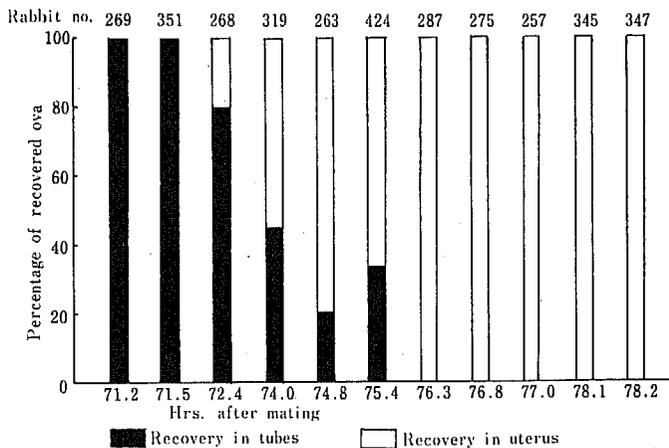


Fig. 1. Recovery of fertilized ova in the donor rabbits, between 70～82 hrs. after mating.

受精卵に比べて比重、硬度などの物理的性状を異にすることによるものと考えられる。

採卵した受精卵の分割程度は本実験においては Mono cell の最終発見は交尾後26時間であり、2 cell の最初の発見は交尾後21時間、最終の発見は交尾後28時間であった。したがって、交尾後21時間から26時間までは多くの個体で Mono cell と 2-cell が混在した。また、交尾後28時間から30時間までは 4 cell、29時間から50時間までは 8 cell、47時間から62時間までは 16 cell、58時間から96時間までは Morula がみられた。また76時間から124時間までは Blastocyst がみられ、胚のつまり卵管から子宮へ卵が輸送される交尾後71~76時間の時期はすべて Morula であって、96時間以後は退行卵子とみられる一部を除いてほとんど Blastocyst であった。そして、卵分割の速度は交尾後の時間とともに76時間以後個体的に大きな差があるものと認められた。これらの結果は武石<sup>9)</sup>、石島<sup>6)</sup>らの報告とほぼ一致した。

この実験において Donor からの採卵率は排卵数に対する採卵数の割合で表わした。排卵数は排卵出血点のある卵胞数とし、不確実な個体では屠殺剖検して出

血卵胞を確認し、排卵数の決定を確実にした。

採卵は総計73例で、交尾から採卵までの時間は14時間から124時間までであった。合計の排卵数は698、採卵数は563、採卵率80.7%であり、個体別の平均排卵数は $9.6 \pm 1.81$ 、採卵数は $7.7 \pm 2.42$ 、採卵率は $81.5 \pm 23.98\%$ であった。また、これらを、1. 交尾後の時間別、2. 受精卵の分割段階別、3. 末経産と経産、4. 初回採卵と再度採卵のそれぞれに区分した採卵率の結果についてしらべたが、これらの間には有意な差が認められなかった (t検定)。

採卵率についての既往の報告では、屠殺後灌流する方法で Shah<sup>10)</sup>は72.5%と74.4%、Chang<sup>11)</sup>は75~100%、石島<sup>6)</sup>は75~100%であったことを報告しているが、本実験の結果も80.7%であり、生体内灌流による本実験の採卵方法は、上記の屠殺後灌流する方法に匹敵するものと考えられる。

#### B. 受精卵の移植

Recipient に受精卵を移植した結果を対照 (表1)、試験 (表2) の両区に分けて表示した。受精卵の採卵部位である卵管あるいは子宮に移植した対照区の産子数は子宮頸管經由移植である試験区より全般的に多か

Table 1. Transfer of fertilized ova without insertion through cervix

Days after ovulatory treatment	Part of transfer	No. of recipient	No. of delivered recipient	No. of transferred ovum	No. of young	Percent of young to transferred ovum
1	fallopian tube	3	1	19	3	15.8
2	fallopian tube	3	2	26	6	23.1
3	f. tube or uteri	4	2	20	6	30.0
4	uteri	3	2	18	4	22.2
5	uteri	3	2	19	8	42.1
Total		16	9	102	27	26.5

Table 2. Transfer of fertilized ova through cervix

Days after ovulatory treatment	Part of transfer	No. of recipient	No. of delivered recipient	No. of transferred ovum	No. of young	Percent of young to transferred ovum
1	uteri	3	0	23	0	0
2	uteri	3	0	25	0	0
3	uteri	3	1	22	1	4.5
4	uteri	3	0	20	0	0
5	uteri	3	2	24	10	41.7
Total		15	3	114	11	9.7

った。排卵処置後の日数は排卵処置から24時間前後を1日とし、以後24時間毎に1日を加えた。日数と産子数との関係は対照区(表1)においては処置後5日が最も多く、次いで、2日、3日、4日、1日の順に少なくなり、試験区(表2)では5日が最も多く、1~4日ではほとんど分娩していない。したがって、試験区は対照区に比べて非常に少ない産子数であった。



Fig. 2. Recipient japanese white doe with three chinchilla youngs. (Recipient doe no. 462)

受精卵移植の成績を個体別に示すと表3のとおりである。本実験のRecipientにおいてHCGの注射から移植までの時間は22時間10分から、123時間45分までの範囲であって、このうち分娩した個体(表中+印のもの)は22時間10分から123時間16分であり、分娩しなかった個体(表中-印のもの)は22時間21分から123時間45分であった。

Donorから採卵された受精卵がRecipientに移植されるまでの時間は59分から2時間24分であった。このうち、妊娠分娩した例(+印)は1時間13分から2時間9分で、平均1時間32分であり、分娩しない例(-印)の平均1時間40分より短かかった。

またDonorの交尾から移植までの時間とRecipientのHCG注射から移植までの時間との差は絶対値で3分から2時間43分であったが、分娩したものでは3分から35分(平均20分)であり、分娩しないものでは4分から2時間43分(平均33分)で、分娩したものの方が短かかった。

またRecipientの移植時の手術時間は7分から45分であって分娩したものの平均は23分、分娩しないものは平均21分で、分娩例と不妊例とに差はなかった。

Hafez<sup>12)</sup>によれば、DonorとRecipientの状態を同期化した実験で排卵処置後1~2日に卵管に移植した家兎の交尾後9日の開腹によってしらべた着床率は47~89%であり、交尾後29日に屠殺した結果、胎児の残存率は38~79%であったという。またMorulaを子宮に移植したものでは交尾後9日の開腹調査による着床率は54~60%、交尾後15日の屠殺調査による胎児の残存率は57~83%であったとしている。

本実験においては、対照区で移植受精卵数に対する産子数の率は15.8~42.1%と低かった。但し意図的に移植家兎の分娩を期待したため分娩前に開腹して観察したものは4頭(家兎番号315の排卵処置後14日、462の処置後21日、255、261の処置後11日)であった。このうち家兎番号462の個体は排卵処置後21日目の開腹検査において、子宮壁をとおして胎児が健全とみられるもの3個、不健全と考えられるもの3個、計6個が着床したものと観察されたが、分娩された子兎は1頭にすぎなかった。このように着床数すなわち分娩子数とならないことから直接Hafezの結果とを比較検討することは困難である。Chang<sup>13)14)</sup>は交尾後26時間に移植し、その移植卵数に対する産子数の率は10%、29時間では30%であったとし、さらに別の実験でも交尾後1日から5日を除く6日までの移植実験の結果、最初の1日では54%、2日、3日、4日および6日ではそれぞれ22%、31%、43%および42%であったとした。本実験の対照区では1日、4日が低いほぼ同様な数値を示し、またShah<sup>10)</sup>は6日令の卵をRecipientに頸管經由で子宮に移植して産子数の率が35.7%から37.5%であったと報告し、本実験の試験区の5日とほぼ同様な率であった。本実験における試験区である子宮頸管經由による受精卵移植は、排卵処置後1~4日ではほとんど分娩せず、5日が高く対照区とほぼ同率の産子数が得られた。排卵処置後1~3日の移植は移植部位が採卵部位と異なることによる受精卵の発育阻害とともに、子宮頸管經由による刺戟によって子宮の

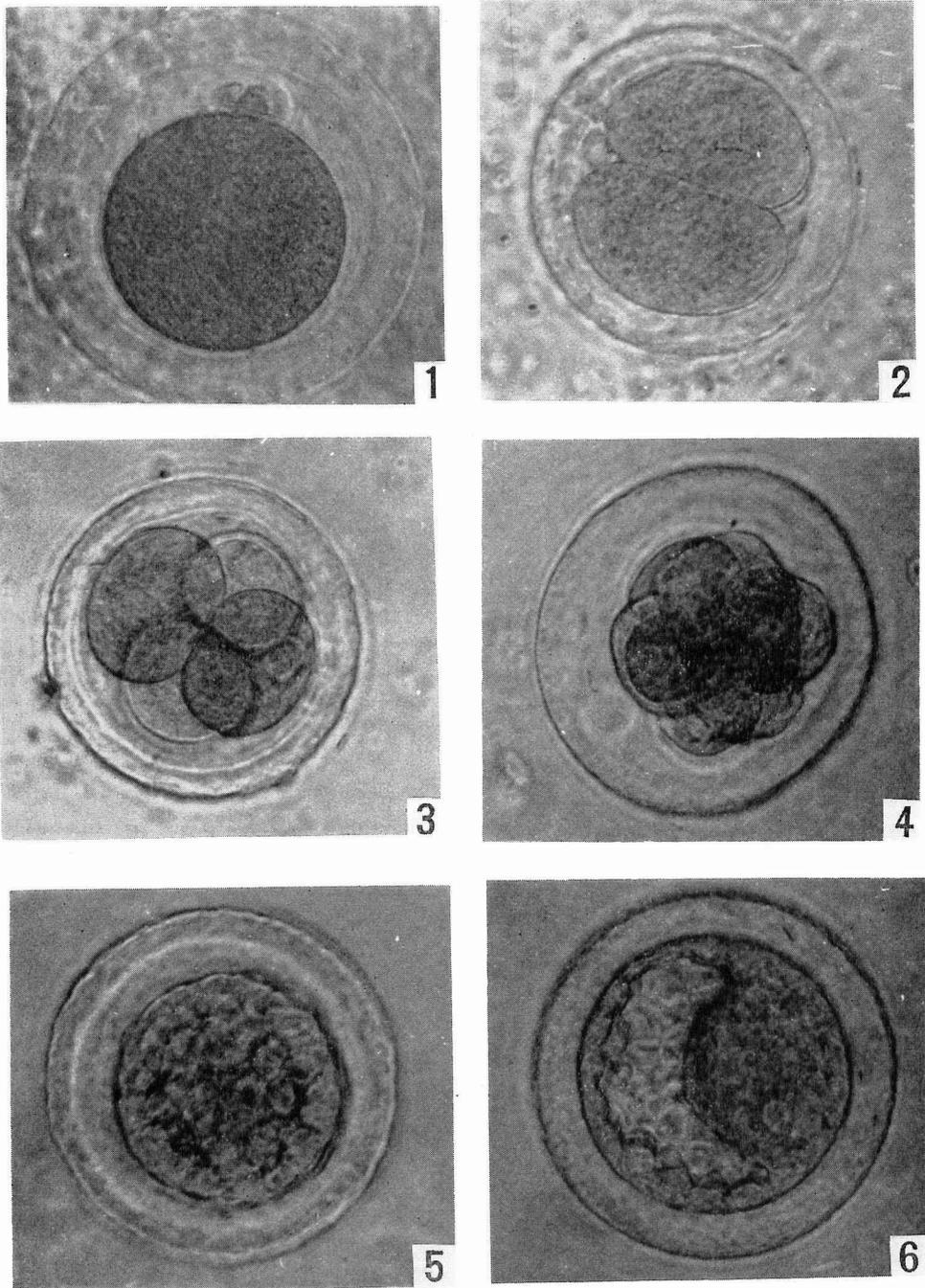
Table 3. Results of ova transfer in rabbits

Recipient rabbit no.	Hrs. from HCG injection to ova transfer		Hrs. from mating to ova transfer		Hrs. from ova recovery to ova transfer		Method of ova transfer	Results of delivered
	hr.	min.	hr.	min.	hr.	min.		
237	22.	10	21.	35	1.	33	f. tube	+
232	22.	21	22.	34	1.	18	through cervix	-
273	23.	23	22.	56	1.	23	through cervix	-
258	23.	24	23.	4	1.	34	f. tube	-
266	24.	3	23.	30	1.	41	through cervix	-
364	25.	53	27.	2	1.	26	f. tube	-
315	43.	34	43.	52	1.	20	f. tube	+
261	47.	1	46.	57		59	f. tube	-
274	47.	11	47.	32	1.	38	through cervix	-
313	47.	51	48.	3	1.	13	f. tube	+
332	48.	5	48.	13	1.	23	through cervix	-
317	50.	21	50.	5	1.	26	through cervix	-
240	71.	25	71.	10	1.	31	through cervix	+
271	71.	57	71.	29	2.	8	through cervix	-
324	72.	43	72.	24	1.	43	f. tube and uteri	+
325	73.	34	73.	58	1.	58	f. tube and uteri	-
363	77.	27	76.	47	1.	59	through cervix	-
267	78.	31	78.	8	1.	39	uteri	+
231	78.	47	78.	13	1.	54	uteri	-
326	95.	4	97.	47	1.	51	through cervix	-
246	96.	2	96.	24	1.	28	uteri	-
265	98.	0	97.	33	2.	23	through cervix	-
337	98.	3	98.	29	1.	24	through cervix	-
247	100.	17	99.	46	1.	38	uteri	+
333	100.	52	101.	19	2.	9	uteri	+
255	118.	3	117.	35	1.	17	uteri	+
321	118.	43	118.	56	1.	21	through cervix	+
260	120.	5	119.	46	1.	25	through cervix	-
276	122.	2	122.	13	1.	39	uteri	+
462	123.	16	123.	19	1.	25	through cervix	+
318	123.	45	124.	3	1.	15	uteri	-

Remarks : Method of ova transfer, f. tube indicates ones transferred into fallopian tube through fimbria, through cervix indicates ones transferred into uteri through cervix. uteri indicates ones injected into uteri through utrine wall. f. tube and uteri indicates ones transferred into fallopian tube through fimbria and into uteri through uterine wall.

蠕動運動の急激な増加を来し、受精卵を子宮外に排出させて着床しなかったものと思われる。前報<sup>1)</sup>において家兎における子宮頸管経由の受精卵移植は排卵処置後4、5日とくに5日以後に行なうのが適当であると推定したが、上記の結果はそれを裏付けたものと考え

Chang<sup>13)</sup>は排卵処置後4日の移植実験においてもMorulaが採卵後急速に変化すると報告した。本実験においてもそのような傾向がみられた。さらに人工卵の子宮内残存が5日より4日が少なかった<sup>1)</sup>。これらの点から受精卵移植の操作によって変化を受けつづあったMorulaが子宮運動によって子宮外に排出され、



**Fig. 3.** Fertilized rabbit ova. (1) Mono cell fertilized ovum recovered 23 hrs. after mating. (2) 2 cell ovum recovered 23 hrs. after mating. (3) 4 cell ovum recovered 28 hrs. after mating. (4) 8-12 cell ovum recovered 48 hrs. after mating. (5) Morula ovum recovered 78 hrs. after mating. (6) Blastocyst recovered 78 hrs. after mating.

## 文 献

着床しなかったものと考えられ、受精卵は人工卵より子宮内において子宮運動によって移動しやすいものと考ええる。

本実験の結果から、排卵処置後4日の子宮頸管經由移植は、この時期の受精卵が採卵後外界の影響を受けて変化しやすいことと、受精卵が子宮運動によって子宮外に排出されやすいことから不相当であること、および家兎における受精卵の子宮頸管經由移植は排卵処置後5日以後が相当であることが確かめられたと思う。

## IV 摘 要

家兎において交尾後2～5日の Donor から受精卵を採取し、Donor と排卵を同期化した Recipient に受精卵を直接卵管あるいは子宮に移植した対照区と、受精卵を子宮頸管經由で子宮に移植した試験区との比較研究を行ない、次のごとき結果を得た。

1) 受精卵が卵管から子宮へ輸送される時間は交尾後71～76時間の範囲と推定され、受精卵は71時間以前は卵管に、76時間以降は子宮に存在した。なお、交尾後の時間による受精卵の分割状態を明らかにした。

2) 受精卵の排卵数に対する採卵率は80.7%であり、個体別の平均排卵数は $9.6 \pm 1.8$ 、採卵数は $7.7 \pm 2.4$ であった。また未経産、経産および左右生殖器官の採卵率には差がなかった。

3) 受精卵の移植実験において、対照区では102個の受精卵を16頭の Recipient に移植し、9頭の Recipient から27頭の産子をうることに成功した。

4) 試験区においては114個の受精卵を15頭の Recipient に移植して3頭の Recipient から11頭の産子をうることに成功した。

5) 受精卵移植時における排卵処理後の日数と産子数との関係は両区とも排卵処置後5日の移植が産子数が最も多かった。対照区の移植では3日、2日、4日、1日の順に少ない産子数であり、試験区の移植では1～4日ではほとんど産子が得られなかった。すなわち、子宮頸管經由移植は排卵処置後5日以後が相当であると考ええる。

終りに、御校閲を賜った医学部岩井正二教授、農学部兼松満造教授ならびに農学部吉田重雄教授に深謝する。

- 1) 登内徳一郎：家兎の子宮頸管經由による受精卵の移植に関する研究 I, 信州医誌, 21:47-57, 1973
- 2) Chang, M. C.: Effects of heterologous sera on fertilized rabbit ova, J. Gen. Physiol., 32: 291-300, 1949
- 3) 登内徳一郎：家兎の排卵に関する研究, 信大農紀要, 5: 135-143, 1968
- 4) Boyd, J. D. & Hamilton, W. J.: Marshall's physiology of reproduction Vol. II (3rd ed.), p. 37, Longmans & Green Co., London, 1952
- 5) 武石昌敬, 亀水弘英, 須川章夫：家兎受精卵子着床前期における経時的形態変化の観察, 日大農獣報, 16: 19-27, 1963
- 6) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林 忠, 佐久間勇次：家兎の過排卵誘起における Estrogen 前処置の効果, 家畜繁殖誌, 13: 71-75, 1967
- 7) Harper, M. J. K., Bennett, J. P., Bournsnel, J. C. & Rowson, L. E. A.: An autoradiographic method for the study of egg transport in the rabbit fallopian tube, J. Reprod. Fert., 1: 249-267, 1960
- 8) 中村義孝, 宮井哲郎：家兎卵管における放射性人工卵の移動について, 日不妊会誌, 12: 167-170, 1967
- 9) 登内徳一郎：家兎の子宮運動に関する研究 II, 信大農紀要, 5: 115-122, 1968
- 10) Shah, M. K.: Reciprocal egg transplantations to study the embryo-uterine relationship in heatinduced failure of pregnancy in rabbits, Nature, 177: 1134-1135, 1956
- 11) Chang, M. C.: Development and fate of transferred rabbit ova or blastocyst in relation to the ovulation time of recipients, J. Exp. Zool., 114: 197-226, 1950
- 12) Hafez, E. S. E.: Effect of progestational stage of the endometrium on implantation, J. Exp. Zool., 151: 217-226, 1962
- 13) Chang, M. C.: Fertilizability of rabbit ova and the effects of temperature *in vitro* on the subsequent fertilization and activation *in vivo*, J. Exp. Zool., 121: 351-382 1952
- 14) Chang, M. C. & Marden, W. G. R.: The aerial transport of fertilized mammalian ova, J. Herd., 45: 75-78, 1954

(1973. 2. 6 受稿)