黒毛和種育成牛の採胚技術の確立および成牛「1年1産1採胚」技術における採胚成績の改善

誌名	岡山県総合畜産センター研究報告 = Bulletin of the Okayama Prefectural Center for Animal Husbandry & Research
ISSN	09154728
著者名	小田,亘 澤井,紀子 木曾田,繁 小田,頼政
発行元	岡山県総合畜産センター
巻/号	17号
掲載ページ	p. 21-25
発行年月	2008年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

黒毛和種育成牛の採胚技術の確立および成牛「１年１産１採胚」技術における採胚成績の改善

小田　亘*・澤井紀子**・木曾田　繁・小田頼政

Technical establishment of flashing in promotion Japanese Black Cattle and Inprovement of technology which carries out delivery and flashing one year in mature Japanese Black Cattle

Wataru ODA, Noriko SAWAI, Sigeru KISODA and Yorimasa ODA

要　　約

黒毛和種において、育成牛の採胚に関する報告は少ない。現在育成牛の初回人工授精月齢は14～16カ月齢であるが、特にこの月齢における採胚に関する報告は少ない。そこで、14カ月齢及び16カ月齢より２回連続採胚を行い、16～18カ月齢に受胎させることをめざした。

また、有安ら[1)]が行った成牛の「１年１産１採胚」技術の確立をめざした試験において、回収胚の正常胚率に課題を残したので、採胚成績の改善をめざした。

1　育成牛14カ月齢での採胚成績は、14頭で正常胚が平均2.6個と低い成績であった。２回目の成績は採胚間隔にかかわらず、ほぼ全頭が０個であった。受胎月齢は平均16.5カ月齢であった。

2　16カ月齢で採胚したところ、５頭で平均11.0個の正常胚が得られた。２回目は全頭が０個であった。受胎月齢は平均18.5カ月齢であった。

3　成牛において、分娩後30日処理区を対照区とし、その成績は平均正常胚数4.0個、平均分娩間隔374日であった。

4　β-カロチン投与区の成績は平均正常胚数4.8個、平均分娩間隔373日であった。

5　ｴｽﾄﾗｼﾞｵｰﾙ17β（以下E2）2mg投与区の成績は平均正常胚数0.5個、平均分娩間隔381日であった。

6　E2 1mg投与区は平均正常胚数3.2個、平均分娩間隔418日であった。

7　CIDR前処理区は平均正常胚数7.0個、平均分娩間隔385日であった。

以上のことから黒毛和種において、育成牛の採胚は16カ月齢で行い１回のみにすると採胚成績が良好で、17カ月齢までの受胎の可能性が示唆された。

また、成牛において分娩間隔はやや延長するものの、CIDRを用いた前処理により採胚成績は改善した。

キーワード：牛、黒毛和種、育成牛採胚、成牛、１年１産１採胚

緒　　言

和牛繁殖農家において、１年１産の達成は最も重要な課題である。またそれと並んで後継牛の作出も重要な課題である。しかし肉用牛では繁殖雌牛の成績の判明が遅いこともあり、優良繁殖雌の後継牛作出は遅れがちで、その機会を逸してしまうことも多い。

そこで、高い能力を期待されている育成牛から胚を採取し、移植することで、成績算出用の肥育素牛と後継牛を得ることが出来る。胚は凍結保存により半永久的に保存できるので、成績判明後、本牛が淘汰されていても、後継牛の作出が可能である。これにより遅れがちな肉用牛の成牛の更新を早めることが出来る。

しかし、採胚することにより、初産月齢が遅れることは、繁殖農家にとって経済的損失であるので、一般的に初回人工授精が行われる16～18カ月齢に受胎させることが出来るよう留意した。

これと同様な事が成牛にもいえ、採胚と１年１

*現 津山家畜保健衛生所　**現 美作県民局

産を両立させる必要がある。そこで分娩後初回人工授精までの期間を利用して１年１産のサイクルを崩すことなく採胚を行う方法を確立することを有安ら[1]が試みた。しかし、得られた正常胚は平均４個であり、改善の余地があるため今回採胚成績の改善に取り組んだので、その概要を報告する。

材料及び方法

試験１

１　供試牛

当センター繋養の黒毛和種育成牛19頭を供試した。

２　試験区の設定

藪上ら[2]は、持続性黄体ホルモン製剤（以下CIDRと略、イージーブリード：家畜改良事業団）装着による過剰排卵処理法は、発情周期に関係なく採胚が可能であり、通常処理と変わらない採胚成績であったと報告している。本試験においてもこの方法を用いた。

ス14カ月齢採胚区は13カ月齢を過ぎたらCIDR装着し、14カ月齢に採胚を行う。採胚間隔を35～45日とし、２回目を同様の方法で行った（図１）。

16カ月齢採胚区は16カ月齢に採胚を行い、採胚間隔を35日前後とし、２回目の採胚を行った（図１）。

図1　育成牛採胚プログラム

３　過剰排卵処理と採胚方法

CIDRを使用した採胚プログラムの概要を図２に示した。過剰排卵処理はCIDR挿入後10日目前後から卵胞刺激ホルモン（以下FSHと略、アントリンR：デンカ製薬）の３日間漸減投与法（5,3,2AU朝夕2回）にて行い、プロスタグランジンF2α(以下PGF2αと略、エストラメート：住友製薬、武田シェリング・プラウアニマルヘルス)750μg筋肉内投与により発情を誘起した。人工授精は過剰排卵処置終了後48及び55時間後の２回行った。また、採胚は人工授精後７日目に多孔式バルーンカテーテルを用いた子宮洗浄法により行い、回収した胚は鈴木ら[2]の方法に準じて形態的に正常胚、未受精卵及び変性卵に区分した。胚回収後２％イソジン液(ネオヨジン：三鷹製薬)50mlを子宮内に注入し、PGF2αを750μg筋肉内に投与した。

４　採胚後の人工授精

採胚後の人工授精は、山田ら[3]が報告したオブシンク法を採胚後9～12日目から行った。妊娠鑑定は、授精後35～40日目に超音波診断装置を用いて行った。この人工授精で受胎しなかった牛については、それぞれの卵巣の状態を見ながら、自然発情または（PGF2α単独、ｵﾌﾞｼﾝｸ法、CIDR装着により）発情を誘起して再度人工授精した。

図2　CIDR使用採胚プログラム

試験２

１　供試牛

当センター繋養の黒毛和種経産牛（１～７産）35頭を供試した。

２　試験区の設定及び方法

試験１と同様に、持続性黄体ホルモン製剤（以下CIDRと略、イージーブリード：家畜改良事業団）装着による過剰排卵処理法を用いた。

分娩後30日目にCIDR装着し、過剰排卵処理を行うものを対照区した（図３）。

それに加えβ-カロチン製剤（ベタカロンＰ：日本全薬工業）を分娩後から採胚まで50g（β-カロチンとして200mg）投与するものをβ-カロチン投与区とした（図３）。

同じく対照区に加えE2 2mg、1mgをそれぞれCIDR装着24時間後に投与したものをE2 2mg投与区および1mg投与区とした（図３）。

さらに、分娩後30日目にCIDR装着し、１週間後に除去、その後更にCIDR装着し、過剰排卵処理を行ったものををCIDR前処理区とした（図３）。

過剰排卵処理と採胚方法及び採胚後の人工授精は共に試験１と同様に行った。

３　普及性の検討

県内２農家の黒毛和種経産牛計４頭を用いて、試験２のCIDR前処理区と同様の方法で実証試験を行い、採胚成績及び受胎成績について検討した。

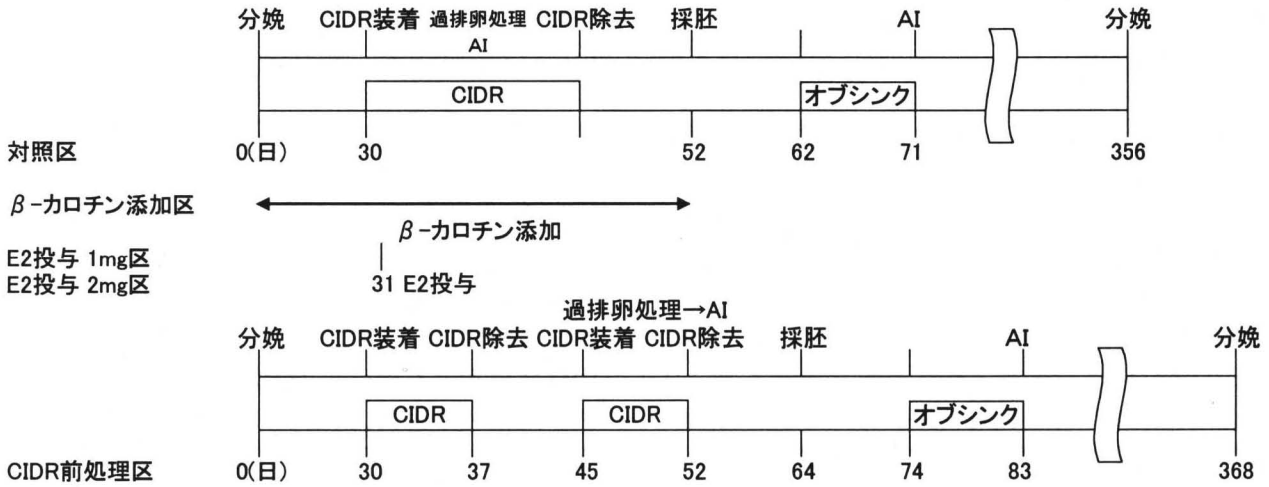

図３　成牛１年１産プログラム

結果及び考察

試験１

１　育成採胚成績

スタート月齢別採胚成績を表１に示した。データ数は14カ月齢採胚区14頭、16カ月齢採胚区５頭であった。体高及び体重ともに社団法人全国和牛登録協会の定める黒毛和種正常発育曲線に比較して、全頭が標準的な発育であった。

また発育と採胚成績には相関が見られなかったが、採胚操作が困難な牛が14カ月齢採胚区14頭中３頭存在した。14カ月齢採胚区において、推定黄体と比較して総採卵数が低い結果は、これに起因しているのかもしれない。16カ月齢スタートは正常胚は平均11.6個得ることができ、良好な成績であった。14、16カ月齢採胚区ともに２回目の採胚成績は非常に悪く、採胚間隔40日前後では育成牛の連続採胚の有効性は低いと考えられた。

２　育成受胎成績

採胚月齢別受胎成績を同じく表１に示した。受胎月齢は14、16カ月齢採胚区とも採胚開始2.5カ月後であった。プログラムでは２カ月後であるので、十分な成績であると思われた。14カ月齢スタート14頭の内１回目のオブシンク法で受胎したのは６頭、２回目のオブシンクで法で受胎したのは２頭であった。16カ月齢スタートにおいても５頭中３頭は１回目で受胎した。黒毛和種育成牛において卵胞ウエーブの関係でオブシンク法は向かないといわれている。しかし、このことから、黒毛和種育成牛においてもオブシンク法は有効であると考えられた。

３　まとめ

これらの結果から、黒毛和種育成牛の採胚は、16カ月齢から開始するのが良いと考えられた。１回のみ採胚は行っていないが、14カ月齢採胚区と16カ月齢採胚区間に受胎に必要な日数の差がないことから、１回採胚後にオブシンク法等を用いることで採胚後より早期に受胎の可能性が示唆された。

表１　スタート月齢別育成採胚／受胎成績

区分	頭数	推定黄体数	総採卵数	正常胚	未受精卵	変性卵	正常胚率	受胎月齢
14カ月齢								
1回目	14	10.5±3.9	3.4±2.9	2.6±2.6	0.1±0.3	0.6±1.2	55.6%	
2回目	14	1.9±2.3	0.3±1.1	0.1±0.5	0.0	0.1±0.5	10.7%	16.5±1.4
16カ月齢								
1回目	5	12.4±2.5	14.4±5.3	11.6±5.6	0.8±0.8	1.6±1.1	77.6%	
2回目	5	1.2±0.4	0.0	－	－	－	－	18.5±0.8

試験２

１　成牛採胚成績

前処理区分別採胚成績を表２に示した。対照区と比較して有意差はないものの、正常胚数及び正常胚率ともにCIDR前処理区が良い傾向にあった。しかしβ-カロチン投与区及びE2の両区は対象区と差がなく、特にE2 2mg投与区は、むしろ正常胚数の低下がみられた。

明田川[4]らは、黒毛和種に６週以上β-カロチン50mg/日投与すると採胚成績が改善したと報告している。しかし、吉永ら[5]は超早期離乳すると自然哺乳管理に比べると授乳によるビタミンＡの損耗が少ないことが考えられると報告している。本試験でも超早期離乳を行っているため、このことが今回の結果では採胚成績に改善がみられなかった一因と考えられる。

小西ら[6]や谷口[7]らは、採胚成績が悪い牛（正常胚10個未満）にE2とCIDRを用いた過剰排卵処理により採胚成績が向上したと報告している。しかし、千田ら[8)9)]は、CIDR挿入期間中E2投与は、大型卵胞の発育抑制および退行・消失には有効と考えられたが、採胚成績の向上にはいたらなかったと報告している。今回の試験での分娩後の早期採胚という条件においては、有効性は認められなかった。

川島ら[10]は、分娩後30日から８日間のCIDR装着による前処理を行い、その後同剤を併用する過剰排卵処理を行うと、安定的に移植可能胚を回収することができると報告している。その採胚成績は対照区平均5.5個に対し試験区9.8個、正常胚率は61.9%と79.9%と改善している。今回の試験でもそれに準じた結果が得られた。

２　成牛受胎成績

処理別受胎成績を同じく表２に示した。CIDR前処理区は対照区に比べ、約12日延長しているが、プログラム自体で採胚、人工授精自体が12日遅れているので、同等の受胎成績であった。ここではE2 1mg投与区において空胎日数が延長する傾向がみられた。

表2　区分別採胚/受胎成績

区分	頭数	推定黄体数	総採卵数	正常胚	未受精卵	変性卵	正常胚率	空胎日数	AI回数
対象区	6	9.2±5.8	6.2±7.8	4.0±4.7	0.0	2.0±3.5	64.5%	89.0±25.5	1.7±0.8
β-カロチン	12	12.8±5.8	6.9±7.8	4.8±4.9	0.3±0.5	1.9±3.3	79.9%	88.0±27.0	1.5±0.8
E2 1mg	5	13.8±3.3	4.8±2.9	3.2±2.7	0.2±0.4	1.4±1.7	68.9%	132.6±45.3	2.6±1.1
E2 2mg	6	17.3±3.8	5.8±5.3	0.5±0.8	2.0±2.4	3.3±3.1	7.2%	95.5±26.8	1.3±0.5
CIDR前処理	6	10.5±4.7	7.7±4.4	7.0±4.5	0.3±0.8	0.2±0.4	90.2%	100.6±16.0	1.8±0.8

３　実証試験成績

普及性の検討のための実証試験の成績を表３に示した。正常胚数、正常胚率共に試験２のCIDR２回装着区と差のない成績であったが、バラツキは更に大きかった。オブシンク法を用いずに、採胚後１週間前後での発情でAIを行い、受胎した牛が３頭存在したため受胎日数が試験２の結果よりも短かかった。

４　まとめ

以上のことからから、分娩後30日齢から７日間程度CIDR挿入する前処理はその後の採胚成績に有効であり、正常胚を向上させることができた。また、オブシンク法を用いたプログラムを行うことで妊娠期間を285日とすると、分娩間隔は平均385日であった。

しかし、実証試験で行ったように、採胚後７日前後での発情でAIを行い、発情が明瞭でない場合、採胚後10日前後でオブシンク法を開始し、採胚後19日前後でAIを行うというようにすれば、分娩間隔が365日以内に短縮され、「１年１産１採胚」が達成できる可能性が示唆された。

表3 実証試験成績

区分	頭数	推定黄体数	総採卵数	正常卵	未受精卵	変性卵	正常胚率	空胎日数	AI回数
A農家	3	5.7±2.3	6.0±5.6	5.3±4.5	0.0	0.3±0.6	94.4%	86.0±28.6	1.3±0.6
B農家	1	3.0	25.0	19.0	0.0	6.0	76.0%	69	1.0
計	4	5.0±2.3	10.8±10.5	8.8±7.8	1.3±0.6	1.8±2.9	89.8%	81.8±24.8	1.3±0.5

謝　辞

本試験を実施するにあたり、現地実証試験ににご協力下さった農家の皆様及び岡山家畜保健衛生所の有安、森分両氏に深謝致します。

引用文献

1)有安亮代・小田頼政・小田亘・山本康廣・塚本章夫（2003）：胚移植技術を応用した「１年１産１採胚」技術の確立．岡山総畜セ研報，14，35-40

2)藪上剛・冨永敬一郎・有吉哲志（1999）：黄体ホルモン製剤を用いた過剰排卵処理が黒毛和種牛の採胚成績に及ぼす影響．兵庫農技研報（畜産），35，1-4

3)山田恭嗣・三原修正（1997）：GnRH-PGF2α-GnRH投与による乳牛の排卵の同期化と定時人工授精による受胎成績．家畜診療，409，23-27

4)明田川寛道・宮腰雄一・中川邦昭・木部文夫皆木里志・長谷川元（1994）：血中β-カロチン及びビタミンＡ等が採卵成績に及ぼす影響．新潟畜試研報，10，15-22

5)吉永直哉・宮島恒晴・長友邦夫（2001）：肉用繁殖牛の生産性向上に関する試験（第２報）－粗飼料中のβ-カロチンが繁殖性に及ぼす影響－．佐賀畜試研成，8，11-15

6)小西一之・堂地修・岡田真人・宮沢彰・橋谷田豊・後藤祐司・小林修司・今井敬（1997）：黒毛和種未経産牛におけるCIDRとFSHを用いた過剰排卵処理成績に及ぼすEstradiol-17βの効果．日畜会報，68（11），1075-1084

7)谷口岳・中武誠司・長友隆典（2004）：エストラジオールを用いた効率的過剰排卵処理法の検討Ⅱ．宮崎畜試研報，17，1-5

8)千田惣浩・相沢健一・西宮弘・沼田恵・小西純一（2000）：効率的過剰排卵処理の検討（第２報）－黄体ホルモン製剤を用いた連続採胚におけるE2の投与効果について－．秋田畜試研報，15，62-67

9)千田惣浩・相沢健一・西宮弘・沼田恵・小西純一（2001）：効率的過剰排卵処理の検討（第３報）－黄体ホルモン製剤を用いた連続採胚におけるE2の投与効果について－．秋田畜試研報，16，61-67

10)川島啓二・山田誠・須藤慶子・小渕祐子・砂川政弘・渋谷立人（2001）：分娩後の黒毛和種牛へのCIDR装着がその後の胚の生産性に及ぼす影響．群馬畜試研報，8，8-21