

黒毛和種繁殖牛へのビタミンAD3E,ミネラル投与と市販精液ストローの半量授精による受胎率

誌名	畜産の研究 = Animal-husbandry
ISSN	00093874
著者名	鈴木,達行
発行元	養賢堂
巻/号	62巻10号
掲載ページ	p. 1065-1068
発行年月	2008年10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



黒毛和種繁殖牛へのビタミンAD₃E, ミネラル投与と 市販精液ストローの半量授精による受胎率

鈴木達行*

要旨

実験対象牛では平成17年初頭から18年後半にかけて、人工授精による再発率が高い傾向にあった。このため18年後半からビタミンAD₃Eとミネラルを1頭当たり約50g投与し、投与飼料の欠乏部分を補った。また、濃厚飼料価格の高騰からくる収益減に対処して、1頭当たり牛精液凍結ストローの1/2量を人工授精に供した。その結果、18年度の人工授精による受胎率は初回、2回、3回、4回と5回別に、それぞれ51, 23, 11, 6.4, 6.4%となり、2回目までの受胎率が74%であった。これに対し、19年度の受胎率は初回、2回、3回別に、それぞれ72, 24と2.4%となり、初回と2回目までの受胎率が96%と向上した。初回受胎率では19年度が18年度に比べて有意($P < 0.05$)に高い成績となった。また、19年度には4回目に人工授精を処した牛はいなかった。18年度に初回の人工授精で受胎した牛の24頭では、19年度の人工授精で初回に受胎したものが20頭(83%)、2回目が3頭(12.5%)、3回目が1頭(4%)の割合となった。また、18年度に人工授精の2回目で受胎した11頭では19年度の人工授精で初回と2回目受胎が、それぞれ10頭(91%)と1頭(9%)となり、初回受胎への回帰率が高かった。18年度の人工授精で3回、4回と5回目に受胎した牛は、19年度の人工授精では初回よりも2回目での受胎例が多い傾向にあったが、いずれも3回目までの人工授精で受胎した。

これらの結果からビタミンAD₃Eとミネラル投与が牛の繁殖機能に有効に働いたことが明らかにできた。また、牛凍結ストローを半分に切断し、1頭当たり1/2量を人工授精に供した実験では、受精率に差異が無く有効な方法と思われた。

材料と方法

1. 実験対象牛

対象牛は広島県安芸高田市の黒毛和種牛繁殖農家で飼育されている未経産牛15ヶ月から5歳までの経産牛の47頭である。これらの牛を対象にビタミンAD₃Eとミネラル投与の効果について人工授精による受胎率で比較検討した。

2. 給餌

粗飼料はイタリアンヤリードカナリのフオールブロックサイレージで、1頭当たり1日5~7kgと濃厚飼料3kgを給餌している。

3. ビタミンAD₃Eとミネラルの投与

17~18年後半にかけて人工授精による再発率が高い傾向にあったため、受胎率の向上を目的に18年後半から19年にかけて、ビタミンAD₃Eとミネラル(川崎三鷹製薬製)を1頭当たり50gずつ全頭に投与した。

4. 人工授精用凍結精液

精液は家畜改良事業団や北海道ジェネテック社販売の凍結保存されたもので、短期で1年未満、長期で5年間液体窒素タンク中に保存されたものである。

5. 凍結精液の融解と授精

凍結保存されたストローを液体窒素容器の入り口まで持ち上げてストローの中央からアルコールで消毒した鉋で切断した。次いで外部に取り出した1/2のストローを手の平に包んで温め融解した。氷が解けたことを確認したのち、ストローの外部をアルコール綿花で良く消毒して人工授精用シースに収め、卵胞側子宮角深部まで誘導して放出した。残りの1/2ストローは液体窒素中に保存し、人工授精時に取り出し、掌中で温めて融解したのち滅菌後1/2に切断した0.5ml容量のストローへ吸入して用いた。

*フrendセル研究所(Tatsuyuki Suzuki)

表1 18, 19年度別人工授精成績

年度	授精頭数	初回受胎	2回受胎	3回受胎	4回受胎	5回受胎	不妊
18	47	24[51]a	11[23]	5[11]	3[6.4]	3[6.4]	1[2.1]
19	46	33[72]b	11[24]	2[4.3]	—	—	

a, b: $P < 0.05$

表2 18, 19年度における人工授精回数別受胎頭数の比較

18年度	1回:24(51)	2回:11(23)	3回:5(11)	4回:3(6.4)	5回:3(6.4)
19年度	1回:20(83)	1回:10(91)	1回:1(20)	1回:1(33)	1回:1(33)
	2回:3(12.5)	2回:1(9)	2回:3(60)	2回:2(67)	2回:2(67)
	3回:1(4)	3回:-	3回:1(20)	3回:-	3回:-
	4回:-	4回:-	4回:-	4回:-	4回:-
	5回:-	5回:-	5回:-	5回:-	5回:-

結果

18年度の人工授精による受胎率は初回, 2回, 3回, 4回と5回別に, それぞれ51, 23, 11, 6.4, 6.4%となり, 2回目までの受胎率は74%であった。これに対し, 19年度の受胎率は初回, 2回, 3回別に, それぞれ72, 24と2.4%となり, 初回と2回目までの受胎率が96%と向上した。初回受胎率では19年度が18年度に比べて有意($P < 0.05$)に高い成績となった。また, 19年度には4回目に人工授精を処した牛はいなかった。

18年度に初回で受胎した牛の24頭では, 19年度に初回に受胎した牛が20頭(83%), 2回目が3頭(12.5%), 3回目が1頭(4%)の割合となった。また, 18年度に2回目で受胎した11頭では, 19年度での初回と2回目受胎が, それぞれ10頭(91%)と1頭(9%)となり, 初回受胎への回帰率が高かった。18年度に3回, 4回と5回目に受胎した牛は, 初回よりも2回目での受胎例が多い傾向にあったが, いずれも3回目までの人工授精で受胎した。

考察

繁殖牛の受胎率を高めるためには良質の粗飼料を如何に効率よく与えるかに懸かっている。米国では, 牛胚移植の受胎率を高めるために, ホルスタイン未経産牛に良質の粗飼料(マメ科, イネ科)を1頭当たり7kg程度与えている。新鮮な牧草が得られる時期には濃厚飼料の給餌は行われぬ。これらの牛を対象のケン部開腹法による胚移植で80%を超える受胎率が得られている(Hasler, *et al.*, 1983)。我が国のように飼料の海外依存や放牧が採用でき

ない飼養管理体制にあつては, 粗飼料の品質の良否により慢性的なビタミンやミネラルの欠乏を招きかねない。本研究で用いた牛群はボディコンディションスコアが3で, 理想的な体型であり, 外見的には繁殖牛として申し分がなかった。しかし, 牛舎には運動場が敷設されておらず, 牛は太陽光線に当たるチャンスが無かった。このような飼育環境下の影響からか, 17年度には人工授精による再発率が高い傾向にあつたため, これを解消するためにビタミンAD₃Eとミネラル投与を試みた。その結果, 18年度の初回受胎率の51%が19年度には72%となり, 有意($P < 0.05$)に高い成績が得られた。これは本実験で用いたビタミンとミネラルが牛の受胎に有効に働いたことを示唆している。

ビタミンやミネラルは体内で合成できない有機化合物で, 天然の飼料や土壌から得られ, 微量で物質代謝や正常な生理機能を調節している。中でも脂溶性ビタミンであるAD₃Eの不足は運動障害や繁殖障害を誘発する。牧草に含まれるβカロチンは体内でビタミンAに転換されるので, 良質な牧草投与で賄われる。ビタミンAは免疫力強化, 活性酸素の除去, 成長促進に関与し, ビタミンDはカルシウムやリンの吸収促進に係り, 紫外線によって作られるので, 日光に当たらない牛には必要量を補給しなければならない。ビタミンEは女性ホルモンの代謝に係るため, 不足すると生殖機能が低下し, 不妊に陥る。これらの効果を有効に導き出すためにも, 牛の飼養環境の改善は必須と思われる。

本実験では, 人工授精の際, 市販の凍結精液ストローを1頭当たり1/2を融解して用いた。液体素案ボンベの入り口までストローを持ち上げ, 中央から

鉄で切断し、直ちに掌中に包んで融解した。次いでアルコール綿花でストローを消毒し、授精に供した。この方法では無菌性と融解方法に課題がある。2頭を同時に人工授精する場合には、1本を融解してアルコール綿花で消毒し、半量を滅菌したストローへ詰め替えて授精できるが、1頭のみ的人工授精では凍結したままの状態ですぐにストローの中央を切断し、他の半分は液体窒素中に戻さなければならない。しかし、これらの幾つかのリスクを抱える手法での受胎率は凍結ストローの1本を授精した16年度の成績よりも高かったことから、通常の注意を払えば実用的に応用できる方法と考えられた。

トウモロコシなど家畜の飼料原料がバイオ燃料へ転化されていく中で、濃厚飼料価格の高騰が経営を圧迫している。また、種牡牛の評価が高まると精液料金は高騰し、裏取引で1本のストローが安くても7~8万円で売られるようになる。このような高価な精液を一本、そのまま使ってしまうには牛繁殖農家にとって耐え難い。そこで編出されたのが一本のストロー精液を分割して用いる方法である。この方法だと一般的な人工授精法では受胎率が低下する。そのため授精は卵胞側子宮角深部へ精液を挿入する必要がある。実際にPallearesら(1986)が乳牛対象に子宮頸管、子宮体、子宮角別に人工授精を行った実験では、卵胞側子宮角へ注入した例で授精率が有意($P < 0.05$)に高かったことから支持される。

精子数と妊娠率の関係をみると種牡牛によっては500万個の精子数で70%の妊娠率が得られている(Den Dass, *et al* 1992)。

しかし、種牡牛によっては1,500万個の精子数でも妊娠率が70%未満である。

種牡牛が一回に射出する精液量は平均7.04mlで約50万個を含む(佐々木凄彦, 1990, 家畜の繁殖と育種)。当然のことながら二回目以降に射出される精液量は減少する。また、年齢を重ねるごとに精液量も減少し、受精率が低下する。後代検定を終えた優良種牡牛の精液は凍結保存液と共に希釈され販売に供される。一般に市販されている0.5ml牛精液ストロー中には平均2,500万個の精子が含まれている。この精子量であれば、子宮外口付近で放出されても、受胎する可能性が高い。本実験では、この半量を用いたので、精液量は1,250万個である。この精子量ならば、卵胞側子宮角へ挿入、放出しな

ければ納得の行く受胎率が得られないかもしれない。しかし、種牡牛によっては500万個の精子数でも70%の妊娠率が得られる可能性があるので、2,500万個の凍結精液ストローの1/2量を授精に用いる方法は許容範囲と思われる。

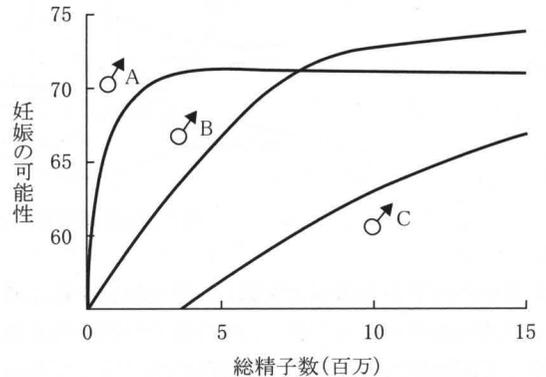


図1 受胎率は種牡牛と精子の投与量に関する

人工授精後精子の運動性、正常性は膣内、子宮内、輸卵管別にそれぞれ50, 60%, 90, 70%, 99, 85%となり、上行するに従って精子数は減少し、良質の精子が選別される(鈴木, 野生動物の家畜化と改良, 養賢堂, 1996)。膣で放出された精子は雌生殖器道内の各障壁を経て卵管狭部に至る。卵管狭部に到達した精子数は少ないが、運動性や正常性が高まる。このように雌生殖器道内では正常な精子が選別され、不良精子は篩いにかけられている。このことは、少ない精子量を子宮深部へ挿入した場合、これらの精子は雌生殖器道のうち、子宮頸管、子宮を越えていないので、卵管狭部での選別強度は通常授精よりも高まることを示唆している。精子の正常性、運動性が低いと、どんなに深部へ精子を挿入しても受精率の低下は免れない。

排卵は牛が発情を示してから29.5±3.5時間後に誘起される(Diopら, 1987)ので、本実験では午前中に発情が来た場合には、その日の夕方か翌朝の午前中早め、午後には発情が来た場合は翌朝の午前中または午後早めに人工授精を行うこととした。卵子は排卵後受精能が4~5時間と急激に落ちていくことから、精子の受精能保持時間(28~50時間)の長さに期待して、排卵前に人工授精に務めた。精子の受精能獲得は雌性器に入ってから5~6時間以内で、

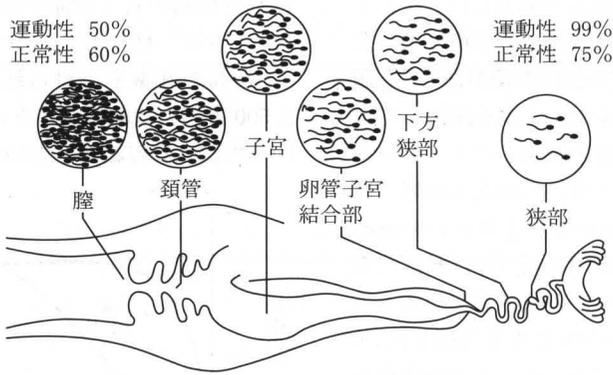


図2 雌生殖器道内での精子輸送の主要な障壁

大部分の精子が尖体反応を起し、卵丘細胞を経て卵子の透明帯内へ侵入する。1個の精子が透明帯を通過して囲卵腔内に入ると、表層粒が飛び出して多精子侵入を防止する。そのため、侵入できなかった多くの精子は透明帯内で死滅する。これらの補足精子のように受精の場では生贄が必要である。生贄は透明帯反応を誘起し、正常な受精に役立っている。このことは、精液量をむやみに減量して人工授精することに警告を発しているようにも思える。

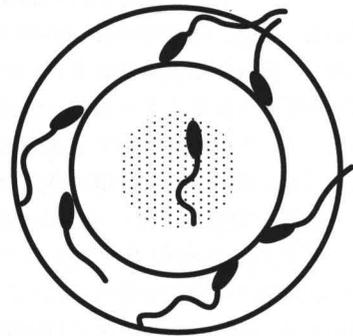


図3 卵子の透明帯へ侵入中の補足精子

主な引用論文

Hasler, JF., *et al.*: *Theriogenology*, 55, 649, 1982
 Palleares, *et al.*: *Theriogenology*, 6:785-795, 1986
 Den Dass N., *et al.*: *Anim.Reprod.Sci.*, 28:87-94, 1992
 佐々木彦, 家畜の繁殖と育種, p22-63, 1990
 Diop, PEH., *et al.*: *Theriogenology*, 27:233, 1987
 Saacke RG, *et al.*: *J.Anim.Sci.*, 14:385-394, 1992
 鈴木達行, 野生動物の家畜化と改良, p120-112, 1996