

ワンショット過剰排卵処置法の確立と繁殖成績向上試験

[平成 22~24 年度]

寺崎敏明・太田久由*

(畜産技術科)・*現農業振興課

【要 約】牛のワンショット過剰排卵処置法は従来法と比較して卵胞発育、採卵成績ともに同等の成績であり、牛の採卵を行う際に従来法と比べ労力の軽減、時間の短縮という点で優れ、牛に対してもストレスのかからないホルモン処置手法として応用が可能である。

【目的】

牛生体採卵を実施する上で過剰排卵処置は欠かせないが、定時に複数回（通常4回）のホルモン注射処置を要するため、煩雑性や動物への負荷という問題点が残る。これまでにも単回投与法（ワンショット法）については報告があるが、確立されたものはない。今回、尾椎硬膜外腔への1回注射処置法の有効性を明らかにするため、乳用種に対するホルモン処置後の卵胞発育および採卵成績を、通常処置法（複数回処置：SOV法）と比較検討する。また、牛過剰排卵処置の効果は、卵巣に存在する小卵胞数に影響を受けることが知られており、小卵胞の出現、成長を妨げる大卵胞を退行させ採卵成績を向上させる目的から過剰排卵処置前にエストラジオール（E2）を投与し、卵巣機能に与える影響ならびに採卵成績について検討する。さらに肉用種に対する過剰排卵処置への応用についても検討する。

【成果の概要】

1. ワンショット法における乳牛の卵胞動態の解明と採卵成績の検討

分娩後100日以上経過したホルスタイン種経産牛（延べ14頭）に対し、SOV法もしくはワンショット法による過剰排卵処置および発情誘起を行い（表1），その後人工授精を実施し7日後に非外科的な胚の回収を行う。ワンショット法は卵胞刺激ホルモン（FSH）40アーマー単位（AU）を5mLの生理食塩水に溶解し、尾椎硬膜外腔へ注射し（図1），SOV法は朝夕の1日2回定時に、腰部筋肉内へ4日間漸減投与（1回あたり6AU～3AU）を行う。回収した胚は数と品質を調査する。処置を行う牛のうち、各区4頭について超音波画像診断装置により過剰排卵処置4日前、過剰排卵処置開始時および人工授精実施時の卵巣所見を確認する（図2）。両法による成績の比較では、過剰排卵処置4日前、過剰排卵処置開始時および人工授精実施時いずれの時点においても両区の卵胞数に差はみられず同様に推移（図3）し、採卵成績においても同等の成績が得られる（表2）。人工授精時における卵胞数と採卵数との比較からいずれの方法においても排卵せずに卵巣内に遺残あるいは退行する卵胞が同等に存在することが明らかとなる。

2. 乳牛におけるE2投与区と対照区との卵胞数の推移

分娩後100日以上経過したホルスタイン種経産牛を供試牛とし、過剰排卵処置4日前にE2 1mLを筋肉内投与する区（8頭）と対照区（無投与区6頭）とに分け、その後SOV法もしくはワンショット法による過剰排卵処置、発情誘起および人工授精を実施し、7日後に非外科的な胚の回収を行う。回収した胚は数と品質を調査する。処置を行った牛のうち、各区4頭について超音波画像診断装置により過剰排卵処置4日前、過剰排卵処

置開始時および人工授精実施時の卵巣所見を確認する。E2 前投与区と対照区との卵胞数の推移において過剰排卵処置 4 日前、過剰排卵処置開始時および人工授精実施時いずれの時点においても両区の卵胞数に差はみられない（図 4）。回収卵数および正常卵数の平均値はともに差が見られなかったものの、回収後の胚の品質において正常胚の占める割合が対照区に比べ若干上回る傾向が見られる。（表 3）。

3. 肉用種の過剰排卵処置に対するワンショット法の応用と経腔採卵（OPU）成績

黒毛和種の経産牛 4 頭（ラテン方格法により 4 回使用、延べ 16 頭）に対し、表 4 に示すホルモン処置プログラムにより卵胞の発育同調後、過剰排卵処置を行い天然型プロゲステロン腔内留置製剤（CIDR）抜去後に超音波画像診断装置により卵巣反応について確認後、OPU を実施し採卵成績を比較する。ワンショット法（8 頭）および SOV 法（8 頭）による採卵時の発育卵胞数は表 5 に示すとおりであり、両法において差は認められない。OPU による採卵成績は表 6 に示すとおりであり、ワンショット法（8 頭）および SOV 法（8 頭）の 1 頭当たりの平均採卵数において同等の成績が得られる。

【成果の活用・留意点】

1. ワンショット法は卵巣卵胞の発育、採卵成績いずれも SOV 法と同等の成績を示すことが明らかとなり作業労力を軽減し時間を短縮させ牛のストレスを軽減するより簡便な過剰排卵処置法として応用可能である。
2. 過剰排卵処置 4 日前の E2 投与処置で採卵成績に変化が見られなかったことから、E2 投与時期や発情誘起のタイミングにさらなる検討を要する。
3. 黒毛和種における OPU の採卵成績において、高い卵回収率が得られたことから今後 OPU における過剰排卵処置の簡易化への応用が期待される。

【具体的データ】

表 1 ホルモン投与プログラム（ホルスタイン種）

	1 日目	5 日目	6 日目	7 日目	8 日目	9 日目
ワンショット法	CIDR ^a 挿入	FSH4 ^c 0AU×1 回		PG ^d		CIDR 抜去
SOV 法	(E2 ^b 投与)	FSH6AU×2 回	FSH5AU×2 回	PG/ FSH4AU×2 回	FSH3AU×2 回	

a) CIDR（天然型プロゲステロン腔内留置製剤）イージーブリード， b) E2（エストラジオール）エストラジオール注

c) FSH（卵胞刺激ホルモン）アントリシン R10， d) PG（プロスタグランジン）プロナルゴン F



図 1 注射箇所（○印）



図 2 超音波診断装置による卵巣画像

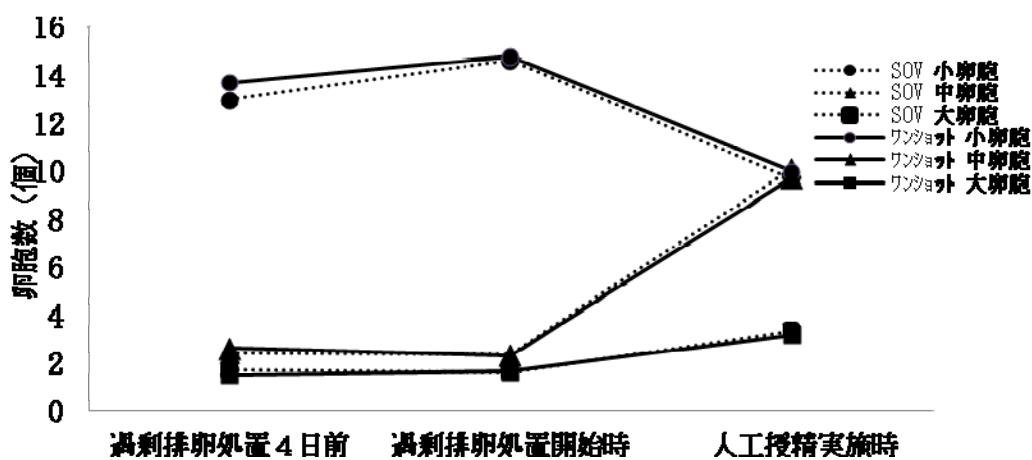


図3 過剰排卵処置法における卵胞数の推移 (SOV区 n=4, ワンショット区 n=4)
小卵胞直径 5mm 未満, 中卵胞直径 5mm 以上 10mm 未満, 大卵胞直径 10mm 以上

表2 ワンショット法とSOV法による採卵数平均値 (SOV区 n=7, ワンショット区 n=7)

	回収卵 (個)	正常胚 (個)
ワンショット法	3.6 ± 3.4	2.0 ± 2.4
SOV 法	4.1 ± 4.5	1.7 ± 1.3

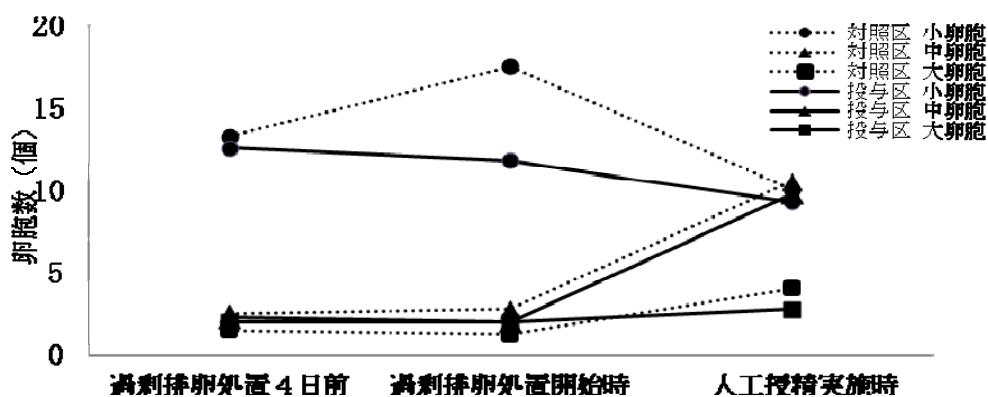


図4 過剰排卵処置 4 日前のエストラジオール投与下における卵胞数の推移
(対照区 n=4, 投与区 n=4)

表3 過剰排卵処置 4 日前のエストラジオール投与下における採卵数平均値

(投与区 n=8, 対照区 n=6)

	回収卵 (個)	正常胚 (個)
投与区	3.6 ± 3.1	2.3 ± 2.3
対照区	4.2 ± 4.8	1.3 ± 1.1

表4 ホルモン投与プログラム（黒毛和種）

	1日目	5日目	6日目	7日目	8日目	9日目
ワンショット法	CIDR ^a 挿入	FSH20AU×1回		PG ^d		CIDR抜去
SOV法	(E2 ^b 投与)	FSH ^c 4AU×2回	FSH3AU×2回	PG/FSH2AU×2回	FSH1AU×2回	OPU

a) CIDR (天然型プログステロン腔内留置製剤) イージーブリード, b) E2 (エストラジオール) エストラジオール注

c) FSH (卵胞刺激ホルモン) アントリン R10 , d) PG (プロスタグラジン) ダルマジン

表5 OPUによる黒毛和種における発育卵胞数(%)の比較

	大 (10mm以上)	中 (5mm~10mm未満)	小 (5mm未満)	総数	1頭あたり平均数
ワンショット法	12(7.1)	100(58.8)	58(34.1)	170	21.3±7.1
SOV法	10(5.5)	86(47.0)	87(47.5)	183	23.1±5.7

注) CIDR抜去後超音波診断装置により測定

表6 OPUによる黒毛和種における採卵成績の比較

	総数	回収卵数	回収率(%)	1頭あたり平均数
ワンショット法	170	111	65.3	13.9±7.5
SOV法	183	105	57.4	13.1±4.8

【発表資料】

1. 太田久由, 成田真弓, 梅田世奈, 岡田幸之助, 矢間 太, 坂田雅史, 牛島 仁(2012)
日本畜産学会第115回大会講演要旨: 128,
2. 牛島 仁, 岡田幸之助, 太田久由, 財団法人興農会研究助成報告 (2011)
3. 第28回 東日本家畜受精卵移植研究会講演要旨 (予定)