

PRIDを用いた過剰排卵処理の応用について

林宏美・大石克己*・岸本雅人*・紀川将之

要 約

和牛の生産現場において優良な繁殖和牛を増加させること、および市場評価の高い子牛を生産目的に、①牛用膣挿入プロジェステロン・安息香酸エストラジオール配合剤 (PRID)を用いた過剰排卵処理 (SOV)における排卵時期の集中化に向けたGnRHの応用、②同じくPRIDを用いたSOVにおける定時受精に向けたクロプロステノール (PG) 及び性腺刺激放出ホルモン (GnRH)の応用として、発情を集中させ定時受精により採卵成績を向上するか検討、③生理食塩水を溶媒としたFSH製剤1回投与の可能性について検討した。その結果、PRID及びGnRHの併用により採卵総数、正常胚数は増加した。またPRID除去による発情時のGnRH投与効果については、正常卵率の向上は確認されなかった。さらに生理食塩水を溶媒としたFSH製剤1回投与については慣行法と同等の採卵成績が得られた。

目 的

当所では、優秀な遺伝形質を持った高能力牛を繋養し、それらから採取した受精卵を供給販売することにより、県内酪農家及び肉牛農家の牛群レベル向上に寄与している。しかし、県内の肥育素牛は不足しており、繁殖雌牛、肥育素牛の増産が課題となっている。一方、過剰排卵措置において、PRIDを使用することにより採卵成績が向上することが知られている^{1),2),3)}。そこで、これらの問題を解決するために、PRIDを用いたSOVの高度化を検討する。

調査概要

1) 供試牛および供試胚

I) PRIDを用いた過剰排卵技術の検討

①黒毛和種繁殖牛6頭

同一牛につき、試験区、対照区として各2回ずつ採卵。

②黒毛和種繁殖雌牛6頭

試験区、対照区とも各延べ10頭ずつ採卵

③黒毛和種繁殖雌牛4頭

同一牛につき、試験区、対照区として1回ずつ採卵。

2) 試験方法

I) PRIDを用いたSOVが採卵個数や正常卵率に及ぼす影響について検討した。

①発情日および発情直後を避けて、PRID挿入 (Day0)。PRID挿入後4日目からSOV開始 (FSH漸減法)。SOV開始48時間目 (Day6 9:00) にPRID抜去、同時にPG投与。試験区はPRID抜去後31時間目 (Day7 16:00) にGnRH投与、その後24時間目 (Day8 16:00)人工授精を1回実施。発情日を0日目として7日目に採卵実施。採卵間隔は63日間以上で暑熱を避けた。対照区はGnRH無投与とする。

	(AM)	(PM)
D0	← PRID挿入	
D4	← FSH5AU	FSH5AU
D5	← 3AU	3AU
D6	← PRID抜去/2AU/PG	2AU
D7	←	GnRH (試験区のみ)
D8	←	AI
D15	← 採卵	

② 発情日および発情直後を避けて、PRID挿入 (Day0)。PRID挿入後4日目からSOV開始 (FSH漸減法)。FSH投与開始日の夕方PG投与 (試験区)。SOV開始48時間目 (Day6 9:00) にPRID抜去、同時にPG投与 (対照区)。PRID抜去後31時間目 (Day7 16:00) にGnRH投与、その後24時間目 (Day8 16:00) 人工授精を1回実施。発情日を0日目として7日目に採卵実施。採卵間隔は63日間以上で暑熱を避けた。

	(AM)	(PM)
D0	← PRID挿入	
D4	← FSH5AU	FSH5AU/PG (試験区)
D5	← 3AU	3AU
D6	← PRID抜去/2AU/PG (対照区)	2AU
D7	←	GnRH
D8	←	AI
D15	←	採卵

③ 発情日および発情直後を避けて、PRID挿入 (Day0)。PRID挿入後4日目からSOV開始した。SOV開始時にPGを投与した。SOV開始48時間目 (Day6 9:00) にPRID抜去。PRID抜去後は①と同様の方法にて行った。採卵は63日以上あけて、各グループに1頭ずつ配置した。同一牛で3回採卵を実施した。試験区はFSH投与量20AUを皮下投与する。溶媒量は50ml区とした。対照区はFSH投与量20AUを筋肉内投与、減量投与とした。試験区、対照区ともにSOV開始時 (FSH) 初回投与時にPGを投与する。

グループA:50ml区→対照区

グループB:対照区→50ml区

(試験区スケジュール)

	(AM)	(PM)
D0	← PRID挿入	

D4	←	FSH20AU/PG	
D5			
D6	←	PRID除去	
D7	←		GnRH
D8	←		AI
D15	←	採卵	

(対照区スケジュール)

	(AM)	(PM)
D0	← PRID挿入	
D4	← FSH5AU/PG	FSH5AU
D5	← 3AU	3AU
D6	← 2AU	2AU
D7	←	GnRH
D8	←	AI
D15	←	採卵

3) 調査項目

①②③共通

i) 採卵成績：回収胚数、正常胚数 (A, A', B, C), 変性胚数、未受精卵数

ii) SOV後の発情開始時間および持続時間

結果及び考察

①PRIDを用いたSOVにおける排卵時期の集中化に向けたGnRHの応用

平成19年度に実施した試験成績から過剰排卵措置において、PRIDを用いることで、人為的に卵胞WAVEを制御し、採卵成績の改善にある一定の効果が示唆された。そこで更なる採卵成績の向上を目的にPRIDを用いた過剰排卵処理後、排卵時期を集中させるためにGnRHを投与し、その効果を検討した結果、GnRHを用いなかった対照区

と比較し、その効果は確認されなかった。

総採卵数は、試験区13.3±8.9個、対照区9.8±8.0個と試験区が高かったが、正常卵数、変性胚数、未受精卵数とも有意な差ではなかった(表1)。

また、回収胚のランクにおいて、正常胚率は試験区:64.9±8.9%、対照区:60.8±21.4%と試験区が高かったが、有意な差ではなかった(表2)。

PG投与後の発情開始時間は試験区:33:03±3:59時間、対照区:37:08±7:31時間、発情持続時間は、試験区:14:40±3:54時間、対照区:15:45±3:33時間と差は認められなかった(表3)。

回収胚のステージ別割合は、試験区はM2%、CM25.0%、EB36.0%、EX3%、対照区はM6.9%、CM49.4%、EB28.7%、BL14.9%と試験区、対照区ともステージにバラツキが見られ、GnRHによる排卵時期の集中化の効果は確認されなかった(表4)。

表1 採卵成績

(単位:個)

区分	総採卵数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数
試験区	13.3±8.9	9.0±8.7	0.8±1.6	2.8±4.1
対照区	9.8±8.0	7.3±6.0	0.8±1.2	1.3±2.0

SE, n=6(各区)

表2 回収胚ランク

(単位:個, %)

区分	A	A'	B	C	A+A'	正常胚率
試験区	4.8±6.5	2.6±2.9	1.3±1.1	0.3±0.7	7.3±8.6	64.9±40.9
対照区	3.4±1.0	1.6±0.6	1.6±0.6	0.7±0.4	5.0±1.2	60.8±21.4

SE, n=6(各区)

表3 発情開始, 持続時間

区分	PG投与後発情開始時間	発情持続時間
試験区	33:03±3:59	14:40±3:54
対照区	37:08±7:31	15:45±3:33

SE, n=6(各区)

表4 ステージ別割合

(単位:%)

区分	M	CM	EB	BL	EX
試験区	2.0	25.0	36.0	34.0	3.0
対照区	6.9	49.4	28.7	14.9	0.0

n=6(各区)

②PRIDを用いたSOVにおける定時授精に向けたPGの検討

採卵成績は、試験区、対照区において、総採卵数、正常卵数、変性胚数、未受精卵数とも有意な差は認められなかった(表5)。

また、回収胚のランクにおいて、正常胚率は試験区:58.2±25.2%、対照区:59.6±31.3%と差は認められなかった(表6)。

PG投与後の発情開始時間は試験区:69:11±2:14時間、対照区:37:13±5:54時間と差が見られたが、発情持続時間は、試験区:18:15±3:34時間、対照区:14:30±4:51時間と差は認められなかった(表7)。

回収胚のステージ別割合は、試験区は、CM36.8%、EB42.1%、BL17.5%、EX3.5%、対照区はM3.2%、CM27.4%、EB45.2%、BL24.2%と試験区、対照区ともステージにバラツキが見られ、排卵時期の集中化の効果は確認されなかった(表8)。

しかし、PGはFSH処理開始日の投与でも採卵成績に差がないことから、FSH1回投与による省力化の可能性が示唆された。

表5 採卵成績

(単位:個)

区分	総採卵数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数
試験区	11.2±5.6	5.7±3.1	1.7±0.9	3.9±6.0
対照区	11.0±9.26	6.2±1.13	2.1±10.1	2.8±6.2

SE, n=6(各区)

表6 回収胚ランク

(単位:個, %)

区分	A	A'	B	C	A+A'	正常胚率
試験区	3.0±1.8	0.8±1.3	1.3±1.4	0.6±0.7	3.8±2.5	58.2±25.2
対照区	3.8±20.3	1.0±5.6	0.9±6.5	0.5±1.6	4.8±10.0	59.6±31.3

SE, n=6(各区)

表7 発情開始, 持続時間

区分	PG投与後発情開始時間	発情持続時間
試験区	69:11±2:14**	18:15±3:34
対照区	37:13±5:54	14:30±4:51

SE, n=6(各区)
** : p<0.01

表8 ステージ別割合

(単位：%)					
区分	M	CM	EB	BL	EX
試験区	0.0	36.8	42.1	17.5	3.5
対照区	3.2	27.4	45.2	24.2	0.0

n=6(各区)

③生理食塩水を溶媒としたFSH製剤1回投与の検討

総採卵数は、試験区9.5±1.3個、対照区13.5±7.3個と試験区が高かったが、正常卵数、変性胚数、未受精卵数とも有意な差ではなかった(表9)。

また、回収胚のランクにおいて、正常胚率は試験区：80.0±19.2%、対照区：64.3±24.0%と差は認められなかった(表10)。

PG投与後の発情開始時間は試験区：79:05±6:03時間、対照区：88:27±13:42時間、発情持続時間は、試験区：10:37±7:09時間、対照区：14:14±9:34時間と差は認められなかった(表11)。

回収胚のステージ別割合は、試験区は、CM31.0%、EB41.4%、BL27.6%、対照区はCM25.8%、EB48.4%、BL25.8%と試験区、対照区ともEBが最も多くなったが、排卵時期の集中化の効果は確認されなかった(表12)。

PRID挿入後4日目のPG投与は、事前に黄体を退化させておき、PRID除去により発情の集中化を狙ったものであるが、発情開始時間は70~90時間となり、これまでの定法と比べ、2倍以上に延長するとともに、バラツキも大きく、発情集中化の効果は確認されなかった。

しかし、生理食塩水溶媒によるFSH製剤1回投与は、これまでの定法と比較し、同等の採卵成績が得られることから、ホルモン注射の軽減等につながり、作業の省力化が可能と考えられる。

表9 採卵成績

(単位：個)				
区分	総採卵数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数
試験区	9.5±1.3	7.5±1.7	1.8±2.2	0.3±0.5
対照区	13.5±7.3	7.8±3.4	2.3±2.6	4.5±3.7

SE, n=4(各区)

表10 回収胚ランク

(単位：個, %)						
区分	A	A'	B	C	A+A'	正常胚率
試験区	4.3±2.6	1.0±1.2	1.8±1.7	0.5±0.6	5.0±1.7	80.0±19.2
対照区	4.0±2.2	2.5±2.4	1.5±1.9	0.0±0.0	6.7±2.9	64.3±24.0

SE, n=4(各区)

表11 発情開始, 持続時間

区分	PG投与後発情開始時間	発情持続時間
試験区	79:05±6:03	10:37±7:09
対照区	88:27±13:42	14:14±9:34

SE, n=4(各区)

表12 ステージ別割合

(単位：%)				
区分	CM	EB	BL	EX
試験区	31.0	41.4	27.6	0.0
対照区	25.8	48.4	25.8	0.0

n=4(各区)

文 献

- 1) 石川県(2008). 膣内留置型黄体ホルモン製剤による採胚成績の改善 40,13-16
- 2) 宮崎県(2008). PRIDを用いた牛過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの効果 31, 57-60
- 3) 京都府(2009). ウシ用膣内挿入プロゲステロン・安息香酸エストラジオール配合剤(PRID)を用いた過剰排卵処理におけるGnRHの応用 6,28-31