

牛の受精卵移植技術簡易化試験

(6)水酸化アルミニウムゲルを溶媒とした FSH 1 回投与による過剰排卵誘起方法

山城存 比嘉直志 千葉好夫

I 要 約

供胚牛への過剰排卵誘起の簡易法を確立するため、水酸化アルミニウムゲル(アルミニウムゲル)を溶媒とした卵胞刺激ホルモン (FSH) の 1 回投与による処置方法について検討した。

その結果、採卵総数、正常胚数、変性卵子数および未受精卵子数の平均は、アルミニウムゲルを溶媒とした FSH の 1 回投与区で 6.5 ± 1.9 個、 4.0 ± 1.1 個、 0.8 ± 0.9 個および 1.8 ± 1.0 個、ポリビニルピロリドン(PVP)を溶媒とした 3 回投与の PVP 区で 7.9 ± 3.6 個、 5.4 ± 2.7 個、 1.6 ± 1.8 個および 0.9 ± 1.4 個であり両区に有意な差は認められなかった。

以上の結果より、アルミニウムゲルを溶媒とした FSH の 1 回投与による過剰排卵誘起方法は、PVP を溶媒とした 3 回投与の過剰排卵誘起方法とほぼ同様な成績が得られること、また投与回数を減らすことで牛の過剰排卵処誘起にかかる労力を低減させることが示唆された。

II 緒 言

供卵牛への過剰排卵誘起は、FSH を 1 日に朝夕 2 回、3 日から 4 日間漸減多回投与しているのが一般的であるが、投薬にかかる労力や家畜へのストレスが大きい。

著者ら¹⁾は、PVP を溶媒として用い 1 日に 1 回、3 日間(計 3 回)投与する簡易化法を確立し実用化しているが、さらに簡易化方法が求められている。

最近、木村ら²⁾はアルミニウムゲルが FSH を効率的に吸着すること、吸着した FSH を体内で徐々に放出すること、さらにアルミニウムゲルを溶媒とした FSH の 1 回投与による過剰排卵誘起は、従来の漸減投与方法と同じ採卵成績が得られることを報告した。しかし、アルミニウムゲルを用いた処置方法についての報告数は少なく、多くの実証が必要とされている。

そこで、牛の過剰排卵処誘起にかかる労力を低減させるため、最近開発されたアルミニウムゲルを溶媒とした FSH の 1 回投与による処置方法について検討したので報告する。

III 材料および方法

1. 試験期間および試験場所

試験は、2004 年 12 月から 2005 年 1 月に沖縄県畜産試験場で実施した。

2. 試験方法

1) 供試牛

供試牛は、当場で飼養している黒毛和種繁殖雌牛 8 頭を用いた。

供試牛の飼養管理は試験期間中同一とし、分娩・離乳後発情回帰を確認してから試験を開始した。

2) 供試牛の試験区分

試験は、反転実験法により実施した。

アルミニウムゲルを溶媒として過剰排卵誘起する区を 1 回投与区、PVP を溶媒として処置する区を PVP 区とした。

上記処置から約 1 カ月後に、試験区分を反転して過剰排卵誘起を実施した。

3) 供試牛の採血

供試牛の栄養状態を把握するため、採卵時血液を午後 2 時に頸静脈より採取した。

4) 過剰排卵誘起方法

過剰排卵誘起は、供試牛の卵巣状態を確認後、膈内挿入除放性黄体ホルモン製剤を挿着し 4 日目から開始した。

1 回投与区では、アルミニウム 3.2mg/ml を含む水酸化アルミニウムゲル 5ml に、FSH 30mg を溶解後 1 回皮下投与した。

PVP 区では、25% PVP(分子量 10000)溶液 20ml に FSH 20mg を溶解して初日 10ml, 2 日目 6 ml, 3 日目 4ml 計 3 回皮下投与した。

両区とも投与開始から 48 時間後に PGF2 α 誘導体を 0.5mg 筋肉内投与し発情を誘起した。

発情発見から約 12 時間後に凍結精液を用いて人工授精を行い、人工授精後約 6 日目に採卵を実施した。

3. 調査項目および方法

血漿中 β -カロテンを石油エーテル抽出による簡易測定法³⁾により測定した。また、総コレステロール(T-Cho) および尿素窒素(BUN)については、自動生化学分析装置(SPOTCHEM SP-4410: 京都第一科学)を用いて測定した。

採卵時の黄体総数を直腸検査により測定した。また、総卵子数、正常胚数、変性卵子数および未受精卵子数については採卵後実体顕微鏡を用いて調査した。

4. 統計処理

血液検査結果値および採卵成績について、非独立データとして t 検定⁴⁾を用いて統計処理した。

IV 結果および考察

1. 供試牛の血液性状

採卵時血液の血液検査結果を表 1 に示した。

血液検査における β -カロテン、T-Cho および BUN の値は、1 回投与区では $118.8 \pm 53.0 \mu\text{g/dl}$, $73.0 \pm 16.9\text{mg/dl}$ および $6.4 \pm 1.5\text{mg/dl}$ であり、PVP 区では $93.8 \pm 17.7 \mu\text{g/dl}$, $61.1 \pm 15.8\text{mg/dl}$ および $7.0 \pm 3.2\text{mg/dl}$ であった。いずれの項目においても両区に有意な差は認められなかった。

野中ら⁵⁾は、正常胚が多く採取される供試牛は、 β -カロテン、T-Cho、エステル型コレステロールおよび BUN 値が高い傾向にあることを報告した。今回の試験において両区の血液性状値に有意な差はなかったことから、栄養状態は同等であったと考えられた。

表 1 供卵牛の血液検査結果 単位: $\mu\text{g/dl}$, mg/dl

区 分	供試頭数	β -カロテン	T-Cho	BUN
1 回投与区	8	118.8 ± 53.0	73.0 ± 16.9	6.4 ± 1.5
PVP 区	8	93.8 ± 17.7	61.1 ± 15.8	7.0 ± 3.2

注) T-Cho: 総コレステロール, BUN: 尿素窒素。

2. 供試牛の採卵成績

採卵成績を表 2 に示した。

採卵成績における黄体数、採卵総数、正常胚数、変性卵子数および未受精卵子数の平均値は、1 回投与区では 9.0 ± 3.3 個, 6.5 ± 1.9 個, 4.0 ± 1.1 個, 0.8 ± 0.9 個および 1.8 ± 1.0 個であり、PVP 区では 11.5 ± 4.3 個, 7.9 ± 3.6 個, 5.4 ± 2.7 個, 1.6 ± 1.8 個および 0.9 ± 1.4 個であった。いずれの項目においても両区に有意な差は認められなかった。

この結果は、木村ら²⁾のアルミニウムゲルを用いた 1 回投与法と漸減投与法を比較した報告と同じであったが、黄体数、採卵総数および正常胚数において 1 回投与区の成績が PVP 区に比べ低い傾向にあることから、今回の 1 回投与処置による FSH 感作はやや低かったと思われる。今後、採卵成績を向上させるためアルミニウムゲルへの FSH 溶解量について検討する必要があると思われる。

以上の結果より、アルミニウムゲルを溶媒とした 1 回投与による過剰排卵誘起処置方法は、PVP を溶媒として用いた FSH3 回投与処置方法と有意な差は認められないことから、投与回数を減少させ牛の過剰排卵誘起処置にかかる労力および家畜に与えるストレスを低減させることが示唆された。

表2 採卵成績 単位:個

区分	牛 NO.	黄体数	採卵総数	正常胚数	変性卵子数	未受精卵子
1 回投与区	1	9	8	6	0	2
	2	15	9	5	2	2
	3	7	5	3	1	1
	4	8	6	4	0	2
	5	5	4	3	0	1
	6	13	9	4	1	4
	7	8	6	3	2	1
	8	7	5	4	0	1
	平均±SD	9.0±3.3	6.5±1.9	4.0±1.1	0.8±0.9	1.8±1.0
PVP 区	1	13	9	9	0	0
	2	20	15	10	5	0
	3	13	10	5	2	3
	4	5	3	3	0	0
	5	9	6	4	2	0
	6	10	8	5	3	0
	7	11	6	4	1	1
	8	11	6	3	0	3
	平均±SD	11.5±4.3	7.9±3.6	5.4±2.7	1.6±1.8	0.9±1.4

注) 1 回投与区:アルミニウムゲルを溶媒とした処置区。

PVP 区:PVP を溶媒とした処置区。

謝 辞

本研究に多大な協力と本研究の材料であるアルミニウムゲルを提供していただいた畜産草地研究所・木村康二氏に感謝申し上げます。

V 引用文献

- 1)山城存・野中克治・渡久地政康(1993)牛の受精卵移植(6)PVP を溶媒とした FSH の 3 回投与による過剰排卵処置の検討, 沖縄畜試研報, 31, 1-3
- 2)木村康二・平子誠・岩田尚孝・川口擁・青木真理・高橋ひとみ(2004)水酸化アルミニウムゲルを用いたウシのワンショット過剰排卵誘起法, 畜産草地研究成果情報, 3, 13-14
- 3)農林水産省経済局(1987)家畜共済における臨床病理検査要領, 174, 全国農業共済協会
- 4)新城明久(2001), 新版生物統計学入門-計算マニュアル-, 35-39, 朝倉書店
- 5)野中克治・渡久地政康(1992)受精卵移植実証試験(1)胚回収成績と各種血液成分との関係, 沖縄県畜試研報, 30, 7-10

研究補助:小波津明彦, 下里安志