

ウシの胚移植における受胎率に及ぼす要因の検討

前原 智 岡崎尚之 高仁敏光 白石忠昭

要 約 ウシの胚移植における受胎率に及ぼす要因について検討した。移植候補牛446 頭を調査し、移植実施された295頭 について品種、産歴、月齢(未経産)、移植前の発情確認方法、移植時の黄体の大きさ、黄体突起の形状、共存卵胞の有無、子宮所見、移植者の過去移植実施頭数、移植部位、移植時のシ - ス管先端の血液の付着(出血)の有無、胚の凍結方法および移植所要時間について調査した。

未経産牛と経産牛の受胎率の比較では、未経産牛が高い傾向が認められ、さらに、未経産牛では月齢が増加するにつれて、受胎率が向上する傾向が認められた。発情確認の方法別の受胎率は、スタンディング確認が他よりも高率であった。黄体の大きさ別の受胎率では、大きさが小でも黄体突起が明瞭なものは、良好な受胎率が得られた。共存卵胞の有無別および子宮所見別の受胎率に差はみられなかった。移植者を過去移植実施頭数別に区分した場合の受胎率は、10頭以下がそれ以上より低率であった。移植部位別の受胎率は深部移植が中部および浅部よりも高い傾向が認められたが、いずれの部位においても出血を認めた場合に受胎率は著しく低下し、深部移植で出血有りよりも、浅部移植で出血無しの方が、より高率な受胎率が得られた。凍結方法別では、ワステップ法とダイルク法との間に受胎率の差はみられなかったが、ダイルク法では移植所要時間が6分を超えると受胎率が低下する傾向が認められた。

以上のことから、移植前の卵巣所見で黄体が小さくても、他の卵巣および子宮所見と併せて受胎牛を選定することにより、受胎率を維持しつつ選定率を向上させることができ、さらに、ダイルク法による移植が普及した現在、移植技術者は無理に子宮角深部へ移植を行い、子宮内部を損傷させるよりも、凍結融解後5分以内で無理なく浅部に移植することに重点をおくことが、受胎率向上につながるものと考えられた。

Key words:

島根県立畜産試験場研究報告第33号,1-4, 2000

近年、ウシの胚移植技術の進歩・普及はめざましく、県内では広く農家段階に実用化されてきている。しかし、より一層普及定着化を図るためには解決すべき多くの課題が残されている。特に、受胎率の向上が最も重要であると考えられる。そこで、受胎率向上対策の一助とするため、受胎率に影響を及ぼすと考えられる要因について検討した。

材料および方法

平成5~7年の3年間に移植候補牛とされた延べ446頭(黒毛和種201頭、ホルスタイン種56頭、交雑種189頭)を調査対象とした。移植候補牛のうち、移植を実施された受胎牛について、品種、産歴、未経産牛については、月齢、移植前の発情確認方法(スタンディング、直腸検査、その他)、移植時の卵巣所見として、黄体の大きさ(大:直径20mm以上、中:11~19mm、小:10mm以下、囊

腫様)、黄体突起の形状(明瞭、不明)および共存卵胞の有無、子宮所見(柔軟性あり・収縮なし、柔軟性あり・収縮ややあり、柔軟性なし・収縮強い)、移植者の過去における移植実施頭数(10頭以下、11~30頭、31~50頭、51頭以上)、移植部位(子宮角を大きく3分割し、卵管側より深部、中部、浅部)ならびに移植後のシース管先端部の血液の付着(出血)の有無、胚の凍結方法(ダイルク法、ワステップ法)および移植所要時間(5分以内、6分以上)について調査した。統計処理は²検定を行った。

結 果

移植候補牛446頭のうち移植されたものは、黒毛和種131頭、ホルスタイン種38頭、交雑種126頭の合計295頭で、移植実施率は66.1%であった。

受胎牛の品種別では、交雑種が最も高率であったが、品種間の差は認められなかった。また、産歴別の受胎

率は、いずれの品種においても未経産牛が経産牛より高い傾向が認められたが、それぞれの品種毎および品種間において、未経産牛と経産牛との間に差は認められなかった(表1)。

未経産牛の月齢別の受胎率は、いずれの品種においても月齢が増加するに伴い、受胎率が高くなる傾向が認められたが、それぞれの品種内および品種間にお

いて、各月齢間の受胎率の差は認められなかった(表2)。

移植前の発情確認の方法別の受胎率は、スタンディング確認が、他よりも高率であったが、各方法間で受胎率の差は認められなかった(表3)。

黄体の大きさ別の受胎率では、各大きさ間に差は認められなかったが、小でも良好な受胎率が得られた。また、黄体突起の形状を組み合わせた場合

の受胎率では、大きさ大、小および嚢腫様黄体で、突起明瞭が不明より高い傾向が認められたが、各所見間に差は認められなかった(表4)。

移植時の子宮所見別および共存卵胞の有無別の受胎率では、両者とも各所見間に受胎率の差は認められなかった(表5、6)。

移植者を過去における移植実施頭数別に区分した受胎率は、10頭以下がそれ以上より低い傾向が認められたが、それぞれの実施頭数間に差は認められなかった(表7)。

移植部位別の受胎率は、深部移植が最も高率であったが、各移植部位間に差は認められなかった。さらに、出血の有無の所見を組み合わせた場合、中部移植で出血ありの場合と深部移植で出血無しの場合の受胎率に有意差($p < 0.05$)が認められたが、それ以外の各区間での有意差は認められなかった(表8)。

移植胚の凍結方法別の受胎率は、ダイレク法とワステップ法の間には差は認められなかった。さらに、それぞれの凍結方法において移植所要時間を区分した場合の受胎率についても、各区間における受胎率の差は認められなかったが、ダイレク法の場合、5分を超えると受胎率が低下する傾向が認められた(表9)。

考 察

ウシの胚移植で、黒毛和種を受胎牛とした場合、凍結胚移植では他の品種に比べて受胎率が低い傾向が見られ⁷⁾、さらにホルスタイン種よりも交雑種の方が受胎率が良好であるといわれている⁶⁾。今回の結

表1 品種および産歴別受胎率

品種	産歴	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
黒毛和種	未経産	113	35	31.0
	経産	18	5	27.8
小計		131	40	30.5
ホルスタイン種	未経産	24	12	50.0
	経産	14	3	21.4
小計		38	15	39.5
交雑種	未経産	87	38	43.7
	経産	39	14	35.9
小計		126	107	41.3
合計		295	107	36.3

表2 未経産牛月齢別受胎率

品種	月齢	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
黒毛和種	12~14	47	12	25.5
	15~17	57	20	35.1
	18~20	6	3	50.0
ホルスタイン種	12~14	7	3	42.9
	15~17	10	5	50.0
	18~20	6	4	66.7
交雑種	12~14	49	33	42.9
	15~17	33	15	45.5
	18~20	-	-	-

表3 発情確認の方法別受胎率

発情確認方法	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
スタンディング	218	78	35.8
直腸検査	51	15	29.4
その他	26	6	23.1

表4 黄体の大きさ及び形状別受胎率

大きさ	黄体突起	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
大	明瞭	103	38	36.9
	不明	3	0	0.0
計		106	38	35.8
中	明瞭	124	42	33.9
	不明	11	5	45.5
計		135	47	34.8
小	明瞭	35	17	48.6
	不明	4	1	25.0
計		39	18	46.2
嚢腫様	明瞭	12	4	33.3
	不明	3	0	0.0
計		15	4	26.7

果からも、交雑種を受胎牛とした場合の受胎率が最も高い傾向が認められ、また、分娩後も産子の発育に十分な哺育能力を有していることから⁴⁾、交雑種を受胎牛としての適性の高さが示唆された。

受胎牛を産歴別に区分した場合、未経産牛の方が受胎率が高いといわれているが¹²⁾、今回の調査においても同様の成績が得られた。このことは、未経産牛では

表5 子宮所見別受胎率

子宮所見	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
柔軟性がある 収縮なし	215	75	37.2
柔軟性がある 収縮ややあり	78	23	33.3
柔軟性がない 収縮が強い	2	1	50.0

表6 共存卵胞の有無別受胎率

共存卵胞	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
無し	103	33	35.9
有り	192	66	36.5

表7 移植者の移植経験頭数別受胎率

経験頭数	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
10頭以下	57	16	28.1
11～30頭	75	28	37.3
31～50頭	71	28	39.4
51頭以上	92	35	38.0

表8 移植部位および出血の有無別受胎率

移植部位	出血	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
浅部	無し	10	4	40.0
	有り	7	2	28.6
計		17	6	35.3
中部	無し	138	47	34.1
	有り	23	5	21.7 ^a
計		161	52	32.3
深部	無し	99	44	44.4 ^b
	有り	18	5	27.8
計		117	49	41.9

a, b : P < 0.05

表9 凍結方法および移植所用時間別受胎率

凍結方法	移植所用時間	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
ワステップ法	5分以内	41	15	36.6
	6分以上	14	7	50.0
計		55	22	40.0
タリケ法	5分以内	183	67	36.6
	6分以上	57	18	31.6
計		240	85	35.4

腹腔内の脂肪沈着が少なく、かつ、子宮が小さいため、移植時の子宮内操作が容易で、さらに、分娩や人工受精を介しての子宮内の汚染が無く、より受胎に適した子宮内環境であるためと推測される。

移植前の発情は、スタンディングを基本にするのが一般的で¹⁴⁾、明瞭なスタンディング発情を示すものは、飼養管理が適切であれば、ほとんどのものが受胎牛として使用でき、かつ、高い受胎率が得られるといわれている³⁾。今回もスタンディング確認が、直腸検査などの方法よりも高い受胎率が得られた。しかし、舎飼いではスタンディングを確認できない場合が多い。このような場合でも、直腸検査による発情確認および移植前の生殖器 副生殖器の所見から受胎牛を選定し、高い受胎率が得られたという報告があるが^{2, 10)}、直腸検査のみで受胎牛を選定する場合、発情周期を農家の稟告や、繁殖記録簿等から確認した上で、外部所見もあわせて移植適否の判断を下す必要があると考えられた。

移植時の黄体の大きさは、20mm前後で高い受胎率が得られるといわれているが^{1, 15)}、今回、黄体の大きさ別の受胎率に差は認められず、黄体が小さくても、黄体突起が明瞭なものでは良好な受胎率が得られた。西貝は黄体の大きさは関係なくむしろ機能黄体が存在することが必要と述べている⁸⁾。また、佐伯も黄体の大きさのみで区分しても受胎率に差はないと報告している⁹⁾。したがって、移植時の黄体は、大きさより、きちんと排卵した機能黄体であることが重要で、その判断手段として黄体突起の状態が指標となり得るのではないかと考えられた。

移植部位は、なるべく深い方が高い受胎率が得られると一般的にいわれている¹⁶⁾。今回も、深部移植が浅部および中部よりも受胎率が高かった。しかし、出血の有無の所見と組み合わせると、出血有りの場合、いずれの移植部位においても受胎率は著しく低下した。このことは血液中の抗体や補体が移植胚に対して有害に作用したためと推測される⁵⁾。さらに、深部移植で出血有りよりも、浅部で出血無しの場合がより高率な受胎率が得られた。清家は子宮角内であれば深部を意識する必要はなく、術者が無理なく移植できる部位で良いと述べている¹⁾。さらに、移植者が無理に深部に移植しようとして子宮内部を損傷させる

よりも、浅部あるいは中部に無理なく移植の方が受胎率の向上につながるという報告が多い^{5,7,8,9)}。また、荒木は移植した胚の子宮内移行がかなり活発に起こっていると指摘している²⁾。これらの指摘および今回の成績から、今後移植者は、移植部位にこだわらず、無理なく移植することに重点をおくべきであると考えられる。

ダルク法で凍結した胚は、融解後なるべく早く移植し、子宮内で拡散により耐凍剤が細胞より除去される必要がある。今回の結果でも、ダルク法では移植所要時間が6分以上になると、受胎率が低下する傾向が認められ、田中¹³⁾および佐伯⁹⁾の報告と一致した。

以上のことから、移植前の卵巣所見で、黄体が小さくても、他の卵巣および子宮所見とあわせて受胎牛を選定することにより、受胎率を維持しつつ選定率を向上させることが可能であると判断された。さらに、ダルク法による移植が普及した現在、移植技術者は無理に子宮角深部へ移植し、子宮内部を損傷させるよりも、凍結融解後5分以内で無理なく浅部に移植することに重点をおくことが、受胎率向上につながるものと考えられた。

文 献

1. 安部茂樹ら、島根県立畜産試験場報告、27、10-14、

1992

2. 荒木武紀、Journal of Reproduction and Development、40、131-136、1994

3. 堂地修、家畜人工授精、163、1-9、1994

4. 長谷川清寿ら、島根県立畜産試験場研究報告、28、6-10、1993

5. 家畜人工授精講習会テキスト(家畜受精卵移植編)、家畜人工授精師協会、1996

6. 川平実ら、島根県立畜産試験場報告、27、6-9、1992

7. 松岡一仁、家畜人工授精、155、30-37、1993

8. 西貝正彦、家畜人工授精、155、37-43、1993

9. 佐伯拓三ら、愛媛県畜産試験場研究報告、14、9-14、1997

10. 斉藤康倫、Japanese Journal of Animal Reproduction、37、71-77、1991

11. 清家昇、家畜人工授精、163、10-17、1994

12. 関沢文夫、家畜人工授精、165、9-13、1994

13. 田中芳実、日本胚移植研究会誌1、18-23、1994

14. 谷之木精悟ら、宮崎県畜産試験場試験研究報告書、3、7-9、1989

15. 山田均ら、埼玉県畜産試験場研究報告28:1-9、1991

16. 山科秀也、家畜人工授精、108、51-55、1985