

PGF2 α -エストロゲン投与による発情誘起とヨード剤同時注入の検討

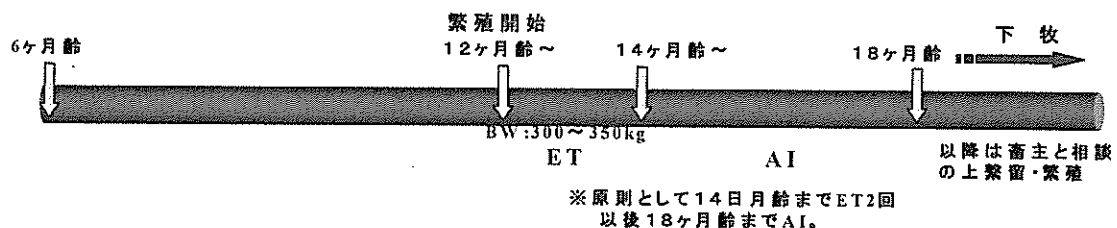
清水 悟・朝倉 康夫

要 約

- 1) 発情誘起時間はPG単独投与の場合、スタンディング発情の平均開始時間は投与後60時間で73時間後に終了、E2併用投与ではそれぞれ41時間と54時間であり、誘起時間が早く、発情も明瞭で、検出率も高い。
- 2) 受胎率は、自然発情がAIで54.3%、ETで41.8%に対し、PG単独投与はそれぞれ50.0%、54.5%、PG-E2投与は46.2%、43.5%、ヨード剤同時注入では受胎しにくかったものや、子宮内膜炎を疑うものに実施したがそれぞれ42.9%、40.0%であった。
- 3) IN VITROにおいては通常子宮内薬液注入に用いるヨード剤濃度(2%)の4倍希釈液と等量混和では瞬時に凍結融解精子は死滅したが、8倍希釈液では融解後5分までは生存するものが認められ、16倍希釈液では生理食塩水コントロールとほぼ同様の傾向を示した。
- 4) ET用のノズルを改良し、子宮内薬液注入器を作成したが、未經産牛にも容易に挿入でき、注入作業全体の効率化が図れた。

緒 言

現在みつえ高原牧場において乳牛育成預託事業を展開し、年間80~100頭受け入れ胚移植(以下ET)あるいは人工授精(以下AI)により受胎させ、農家に返還している。繁殖方法は下図に示すとおりであるが、預託期間を考慮しできるだけ早期に受胎させることが課題となっている。



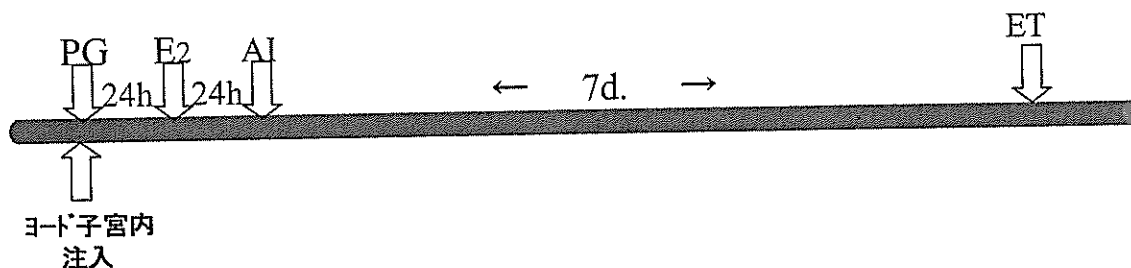
受胎までの繁殖回数が多いものには、子宮内膜炎等により子宮環境が汚染されていると疑われるものがかなりあり、子宮内環境改善のため繁殖前後に抗生剤やヨード剤の子宮内薬液注入処置を試みてきた。抗生剤では人工授精後に注入しても受胎可能であるが、子宮内において耐性菌の出現や抗菌スペクトル範囲等により完全な効果をあげることができない。一方ヨード剤は抗生剤の乳汁中への残留問題や、殺菌効果、子宮内膜更新という点では優れているが、一般的には注入後より次回発情まで期間をおいてAI等を実施され、受胎まである程度の期間を要する。西村ら⁽¹⁾は過排卵処置前の発情時にヨード剤を注入した結果、正常胚率の向上を認めたと報告したが、授精の前回発情であり処置から2週以上経過しており、また金子⁽²⁾らは授精後24時間後に注入し、受胎率には影響はなかったと報告した。

今回我々は繁殖期間の短縮を図ることを目的とし、子宮環境改善と作業性の向上のため、発情誘起処置と同時に注入しその受胎性について検討した。

材料と方法

- 1) 調査対象牛：未経産ホルスタイン種預託牛延べ231頭
- 2) 調査項目：発情検出器によるスタンディング発情記録
繁殖成績
- 3) 調査区分：自然発情、PGF_{2α}（以下PG）単独投与、PG-E₂とラジオール（以下E₂）、CIDR（黄体ホルモン膈内挿入剤）、PG-E₂+ヨード剤注入法
- 4) 使用薬剤：PG-クロプロステノール製剤day7～day14の黄体期に筋肉内投与
E₂製剤はPG投与後24h後に筋肉内投与
CIDR（黄体ホルモン膈内挿入剤）は発情期以外の時期に膈内に挿入
ヨード剤はPG投与と同時に2%ポピドンヨードを後述の改良した注入器により子宮内注入

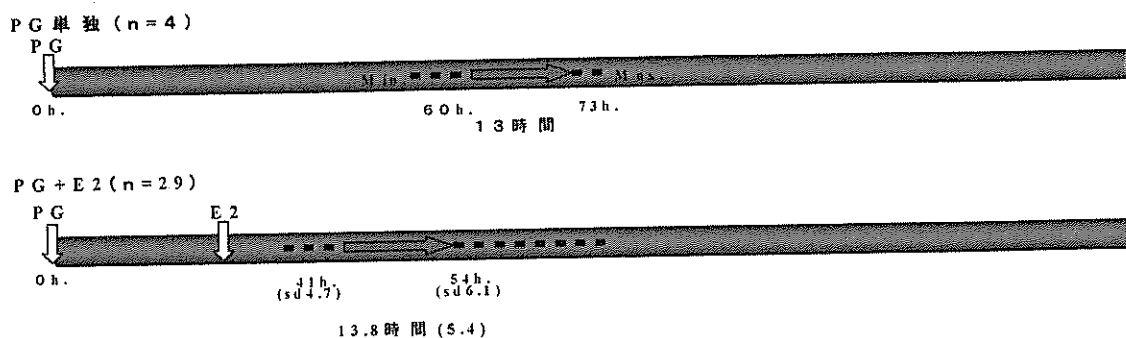
なおPG-E₂+ヨード剤注入は下図のとおりの方法で、受胎性が劣り繁殖回数が多いものや、粘液混濁等子宮内膜炎を疑われるものに実施。



結果及び考察

1. 発情誘起処置において、従来のPG単独投与では図1に示すとおり、スタンディング発情開始時間は投与後60時間後で、終了は73時間後であったが、E₂を投与することによりそれぞれ平均で41時間後で54時間後と早くなり、PG投与後ほぼ2日目に発情が集中した。またスタンディング回数の増加や外陰部等の発情兆候が顕著になり発見が容易になるので、フィールドにおける発情誘起処置に十分利用できるものと思われる。

図1 処置による発情誘起状況
(スタンディング発情)



2. 表1は各誘起法の受胎率の比較を示した。例数が少ないため各処置間には有意差は認められなかったが、PG-E₂投与ではAIの受胎率は46.2%, ETは43.5%で、PG単独投与より

低かったが、AI実施は2日～3日後の範囲であり、PG単独投与の2～5日後と比較して集中的に行え、作業的にも簡易化を図れる。また受胎牛を3日前に本処置することにより、受胎率のよいday7～day8に発情誘起できる。PG単独投与では同期化予定日より2日以上長くなるものがあり、ETを実施できなかったものが2例含まれ、より確実に同期化するにはPG-E2投与の方がより有効であると思われる。

CIDRの同期化処置によるET受胎率が35.1%と低かった原因としては、卵巢機能不全等により繁殖開始される12～14ヶ月齢を過ぎても発情兆候のなかったもので、本牧場では最低ETは1回実施するという取り決めがあるため早く受胎させるため、同期化して初回発情で移植されたことによるものと考えられる。

ヨード剤同時注入法による受胎率は表2に示すとおりである。受胎率としてはAIで42.9%、40.0%と他の処理と比較して高くないが、繁殖回数が平均4.7回と多く、受胎しにくかったものや、粘液が混濁し子宮内膜炎を疑うものにも実施したことから、受胎率としては満足できるものと思われる。また処置後の繁殖で不受胎であったものでも、次の受胎率が50.0%で子宮環境の改善効果もあったものと思われる。

表1 発情誘起法による受胎率の差異

処置法		受胎	流産	不受胎	受胎率
自然発情	AI	44	3	34	54.3
	ET	23(10)	4	28(20)	41.8
PG単独	AI	2	2	4	50.0
	ET	6(0)	0	5(2)	54.5
PG-E ₂	AI	11	1	14	46.2
	ET	7(0)	3	13(3)	43.5
CIDR	AI	0	0	0	0.0
	ET	13(0)	3	24(0)	35.1
OVSYNCH	AI	0	0	2	0.0
	ET	0	0	0	0.0

()は凍結胚移植

表2 ヨード剤同時注入法の受胎率

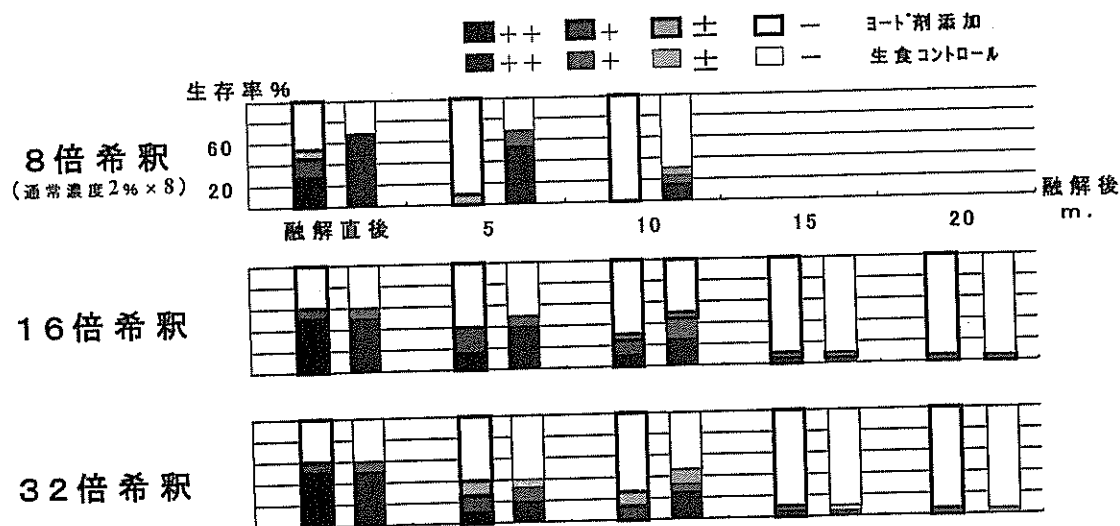
	処置までの繁殖回数	処置後			次回発情		
		受胎	不受胎	受胎率	受胎	不受胎	受胎率
AI	4.7	6	8	42.9	4	4	50.0
ET	※ 3.3	2(1)	3	40.0			

※追い移植を含む

3. IN VITRO におけるヨード剤と精子の生存性については図2に示すとおりである。通常子宮内薬液注入に用いるために生理食塩水で2%に調整したポビドンヨード剤を、さらに下図のように8倍、16倍、32倍に生理食塩水で希釈したものと、生理食塩水をコントロールとして精子活力を比較した。また使用した精液は、同一LOTの黒毛和種凍結精液を使用し、35℃の温湯で融解したものを0.5mlの各溶液上に混和し直ちに鏡検し活力検査した。

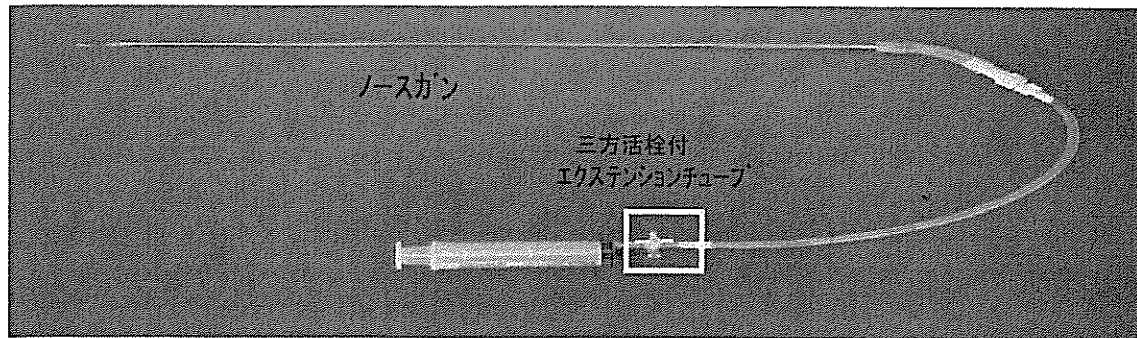
4倍希釈液では、融解・混和直後に全て運動性はなく死滅したと考えられるが、8倍希釈液と混和直後では50%以上が生存していたが、5分後にはほとんど活力はなくなり、10分後には全て死滅した。16倍以上の希釈液では、生理食塩水コントロールとほぼ同様の経過であり、この程度の希釈液になると精子にはほとんど影響はないものと考えられる。IN VIVO においては、注入されたヨード剤が授精前までに子宮壁より吸収されているか、発情時の粘液等によりヨード剤が希釈されているか、あるいは発情粘液と共に子宮外に排出され濃度がかかなり低下したということも考えられる。またIN VIVOにおいては精子に対して、IN VITROより濃度が高くても生存可能な環境にあることも考えられる。授精時の子宮内のヨード濃度を測定していないので不明であるが、これらの要因が相互に作用して精子の運動性や受精能に悪影響を与えなかったものと思われる。

図2 ヨードが精子に及ぼす影響 (IN VITRO)



4. ヨード剤注入には、従来子宮内薬液注入用の中原式注入器や、AI用のシース管式注入器を利用して実施してきたが、とくに未経産牛の場合、子宮頸管通過の際、口径が過ぎたり滑りが悪いため、子宮内に完全に注入できないものがあり下図のようにET用注入器のノック部に改良を加えた。注入器の外套にシリコンチューブを装着し、チューブコネクターで口径の細いチューブを約40~50cmと長めにとり、三方活栓付エクステンションチューブでシリッジと装着する。

このようにすると、保定なしで尻を振られても注入操作が可能で素早くでき、従来のものより確実に簡単に実施できるようになった。



今回はホースガン種未経産牛で実施したが、経産牛の空胎期間の短縮にも有効な技術と考えられ、また採胎時のPG処置と同時に本処置を行い、正常胚率の向上についても検討していきたい。

参考文献

- 1) 西村ら：多排卵誘起牛における排卵数、採卵数、移植可能卵数および子宮粘液量におよぼすヨード剤注入とビタミンAD3E剤経口投与の効果、家畜人工授精研究会誌 VOL. 8 NO. 1; PAGE 6-9 1986
- 5) 金子ら：低受胎牛に対する2%ポビドンヨード溶液の子宮内注入効果について、家畜診療 VOL. 307 PAGE 43-45 1989