

肉牛生産における受精卵移植の利用

鈴木 修

(東北農業試験場)

Production of Beef Cattle by Embryo Transfer

Osamu SUZUKI

(Tohoku National Agricultural Experiment Station)

1. はじめに

我が国では、昭和39年に受精卵移植による子牛が生まれて以来、受精卵移植技術研究についての関心が急速に高まり、ここ数年における受精卵の凍結保存、分割、性判別、双子生産、体外受精など関連する技術開発には目覚ましいものがある。また受精卵移植技術の実用化に向けては、昭和57年に牛の受精卵移植技術利用促進事業の開始に伴い、農林水産省畜産局、県の試験研究機関を中心に全国的な取り組みが行われるようになった。

ちなみに、全国における受精卵移植実施機関数と移植従事者数の推移³⁾を表-1、表-2に

示した。促進事業が始まった昭和57年以降、実施機関数、移植従事者数とも急増し、昭和59～60年にはほぼすべての都道府県で本格的な取り組みが行われるようになった。東北地域の受精卵移植従事者数もここ3、4年間に於ける増加が著しく(表-3)、受精卵移植による肉牛生産に重点が置かれてきている。特に牛肉自由化を2年後に控えて、我が国肉牛生産の主要な拠点である当地域での受精卵移植技術の進展には、肉牛の改良増殖と肥育素牛の低コスト生産を可能にする重要な技術の一つとして大きな期待が寄せられている。

表-1 牛受精卵移植実施機関数の推移

	45年度	50	55	56	57	58	59	60	61	62
国， 都道府県	2	6	12	19	34	50	63	65	66	69
大学， その他	0	0	7	11	15	21	32	41	60	73
計	2	6	19	30	49	71	95	106	126	142

(単位：か所)

表-2 家畜受精卵移植従事者数の推移

	45年度	50	55	56	57	58	59	60	61	62
国	0	3	10	11	21	55	71	71	78	72
都 道 府 県	10	13	26	46	129	220	268	466	528	564
そ の 他	0	0	32	48	86	140	133	182	296	390
計	10	16	68	105	236	415	472	719	902	1,026

(単位：人)

表-3 東北地域における受精卵移植技術者数の推移

年 度		5 7	5 8	5 9	6 0	6 1	6 2	6 3
技術者数	総 数	27	38	39	51	95	144	176
	う ち 獣 医 師	13	24	25	31	45	76	80
	うち人工授精師	14	14	14	20	50	68	96

(東北農政局畜産課，昭63)

技術開発研究の面では，地域バイオ研究「牛の双子生産における産子の能力発現技術の開発」(岩手畜試，東北農試)，一般別枠研究「体外受精による多子生産を基軸とした肥育もと牛の新生産技術の開発」(東北農試，家畜試東北支場)，緊急技術開発「双子の生産率・連続性向上等による肥育もと牛の低コスト生産技術の開発」(青森畜試，秋田畜試，東北農試)の中で全国分担をしている。このような情勢の中で，表-4に示したように，受精卵移植による産子数は年ごとに倍増しているものの，まだ生産産子数，双子生産数とも極めて低い数値にとどまっている。この主な原因として，①過剰排卵処置にばらつきが大きく不安定，②受精卵移植による受胎率が低い，③双胎妊娠牛における早流産事故の多発，④移植技術者の養成が遅れている，などが挙げられる。

ここでは上記問題点を中心に，東北地域の肉牛生産における受精卵移植技術研究の現状を概

表4 牛受精卵移植による産子数等の推移

	排卵頭数	受精卵頭数	産子数	うち双子
50年度	32	10	1	—
55	317	498	73	—
56	415	617	170	—
57	806	1,205	207	—
58	1,267	1,932	325	—
59	2,093	3,207	422	—
60	2,724	5,034	887	(47組) 94
61	3,589	6,850	1,382	(110組) 220
62	4,078	8,559	2,291	(216組) 432

(単位：頭)

観し，今後の技術開発方向について考えてみる。

2. 過剰排卵誘起処置法

(1) 安定化

受精卵移植による牛改良・増殖と子牛生産費

の低減は、正常受精卵の安定多数確保技術の確立に大きく左右される。東北地域における63年度の過剰排卵処置牛1頭当たりの平均回収卵数は10.2個、移植可能な平均正常卵数は6.3個で

ある（表－5）。この数値は年ごとに徐々に増加してきており、全国的な平均値と比べて同程度である。

表－5 東北地域における牛受精卵の採卵実績

項 目	年 度				
	開始年度	60	61	62	63
採 卵 実 施 頭 数	64	153	210	269	141
採 卵 成 功 頭 数 A	59	141	183	238	127
採 取 受 精 卵 数 B	38.8	1,027	1,357	1,874	1,297
移 植 可 能 卵 数 C	22.3	584	794	1,237	795
1 頭 当 た り 採 卵 数 B / A	6.6	7.3	7.4	7.9	10.2
正 常 卵 率 (%) C / B	57.5	56.9	58.5	66.0	61.3

注. 63年度は上半期の数字である。

（東北農政局畜産課，昭63）

回収卵数の増加は採卵技術の向上や採卵器具等の改良によるところが大きい。しかし、過剰排卵誘起処置しても全く卵を回収できない牛が約10%に達することや正常卵率が60%前後と低いこと、更に採卵成績は個体によるばらつきが非常に大きいことは過剰排卵誘起処置法における重要な問題点として残されている。

回収卵数、正常卵数あるいは正常卵率に影響を及ぼす要因としては牛の年齢、FSH（卵胞刺激ホルモン）投与量、反復処置回数や反復期間、性周期中の処置開始日数、ホルモンの種類、季節、牛の状態などが挙げられる。季節の影響では春、冬で良く、夏で劣化するとの報告が多い。一方、寒い地域では季節の影響はないとする報告があり、表－6 に示したように東北地域でも季節による差異は小さいようである³⁾。また牛の品種では東北地域に特有の日本短角種が他の品種に比べて過剰排卵処置に対する反応性の乏

しいことが指摘されており、日本短角種に適した過剰排卵誘起法が検討されている（表－7）。今後、採卵効率の向上と安定化には、供卵牛の選定基準を確立する必要がある。供卵牛の選定に当たっては、当然ながら優良な遺伝形質を持っていることが第一義的に重要となるが、過剰排卵処置に対する反応性が優れていることも重要である。この点、過剰排卵処置によって発育する卵胞数は処置開始前の小卵胞数に強く影響されることから、超音波診断によって卵巢反応の予測が可能である¹⁰⁾。更に、血中コレステロール値が100mg／dl以上の牛で採卵成績が良好であること（岩手畜試）、及び牛の状態、特にボディコンディションによっても採卵性が異なることから¹⁰⁾、供卵牛の適正な飼養管理法を明らかにしていかなければならない。

表-6 季節別採卵成績

季 節	例 数	総採卵数	正常卵数	変性卵数	未受精数
春 (3~5月)	32	213	131	67	15
	$\bar{X}$	6.66	4.09	2.09	0.47
夏 (6~8月)	29	243	134	60	49
	$\bar{X}$	8.38	4.62	2.07	1.69
秋 (9~11月)	25	190	121	41	28
	$\bar{X}$	7.60	4.84	1.64	1.12
冬 (12~2月)	21	173	102	36	35
	$\bar{X}$	8.24	4.86	1.71	1.67

(秋田畜試, 昭62)

表-7 日本短角種における採卵成績

	処理頭数	回収頭数	回収卵数	正常卵数	正常卵率
FSH	23	17	145	86	59%
PMSG	7	6	61	17	28%

注. FSH: 末経産牛24-40A.U. 経産牛36-48A.U.

PMSG: 経産牛4000I.U.

(青森畜試, 平成元年)

(2) 簡 易 化

過剰排卵誘起処置は, 現在, 総量24~30A.U. のFSHを朝夕2回, 4日間にわたって注射する減量投与法が主に用いられている。この方法ではPMSG(妊馬血清性腺刺激ホルモン)に比べて卵巢反応が比較的安定しており採卵成績に優れるといった利点がある一方, 多労であるため, 処置法の簡易化が求められる。

岩手畜試では, 1日1回3日間のFSH投与を検討している(表-8)。その結果, 1日1回投与は1日2回投与に比べて発情発現率が低下するが, 発情が発現した供卵牛では黄体形成数, 回収卵数, 正常卵率に顕著な低下は認められず, 簡易化が可能であるとしている。同様に東北農試でもFSH処置の簡易化を検討し, 15A.U.の1日1回2日間投与が有望なことを示した(表-9)。ただし, この方法ではばらつきが大きく, 引き続き安定化のための検討を要する。

表-8 FSH 減量投与における投与回数が採卵成績に及ぼす影響

処 理 区 分	例 数	発情発現率	黄 体 数	回収卵数	正常卵数	正常卵率
1日2回	17	15(88.2)	9.3±5.4	6.7±5.5	4.5±3.8	67.9%
1日1回	12	8(66.7)	10.3±5.1	5.8±2.8	3.4±1.7	66.7%

(岩手畜試, 平成元年)

表-9 FSH 簡易化処置における卵巢反応及び回収成績

区 分 項 目	試 験 区		対 照 区
	I	II	
例数	13	10	8
发育卵泡数	20.6±13.4	12.9±5.9	16.4±8.7
推定黄体数	16.9±12.3	11.4±5.6	14.7±8.3
回収卵数	10.3±9.8	5.7±2.1	8.8±4.0
正常卵数	5.5±5.3	3.4±2.5	5.5±1.8
正常卵率(%)	53.0	60.8	62.3

注. 1) FSHの投与は皮下注射とし, 試験区(簡易投与)Iは, FSH(アントリン)15AU24時間間隔2回, IIは10AU 同間隔3回, 対照区は, 朝夕5・5, 4・4, 3・3AUとした。

2) PGF_{2α}は, FSH投与開始から48と72時間に各15mg(プロナルゴン)筋肉内注射した。

(東北農試, 平成元年)

なお、FSH 減量投与法では3日間投与と4日間投与の間で採卵成績にほとんど差がないとする報告が多く⁴⁾、労力の面から3日間投与が推奨される。また簡易化とは逆行するが、発情周期の3、4日目に少量のFSHを前処置することによって採卵成績が向上するとの報告⁶⁾がみられるので、採卵効率の向上という点から検討する余地はある。

3. 受胎率の向上

(1) 移植方法

受精卵移植における受胎率は年々向上している。昭和62年度の全国平均では新鮮卵移植で50%、凍結卵移植で34%であり、両者とも1卵移植より2卵移植での受胎率が若干高い(表-10)。東北地域についてみると、表-11に示したように、全体の受胎率は全国並であるが、県間で大きな違いがみられる。県の受胎成績は年度、受卵牛頭数によって異なるため簡単に比較はできないが、県間の受胎率の差は主として受精卵移植技術への取り組みの早遅によると考えられる。つまり移植は比較的高度な技術であるため、移植技術者の習熟が受胎率に大きく関与する。

表-10 受精卵の状態別受胎率(昭和62年度)

		受 胎 率 (%)	
		61年度	62年度
新鮮卵	1卵移植	32	48
	2卵移植	51	52
	計	35	49
凍結卵	1卵移植	27	31
	2卵移植	44	43
	計	28	34
分割卵	計	29	42

表-11 東北各県における受精卵移植の受胎率 (昭和62年度)

県	卵の状態	移植頭数	受胎率(%)
A	新鮮卵	13	7.7
	凍結卵	7	14.3
B	新鮮卵	32	66.7
	凍結卵	138	36.5
C	新鮮卵	56	53.6
	凍結卵	59	51.7
D	新鮮卵	35	68.6
	凍結卵	42	23.8
E	新鮮卵	12	58.3
	凍結卵	71	22.5
F	新鮮卵	13	46.1
	凍結卵	64	40.6
全体	新鮮卵	161	55.3
	凍結卵	381	35.2

図-1に示したように、移植技術者による受胎率の違いはよく知られており、移植回数が多く熟練した移植技術者での受胎率が高い³⁾。当然ながら受卵牛の飼養管理、品種、選定方法、供卵牛との発情日差¹⁾といった牛側の要因も受胎率の変動に関連する。

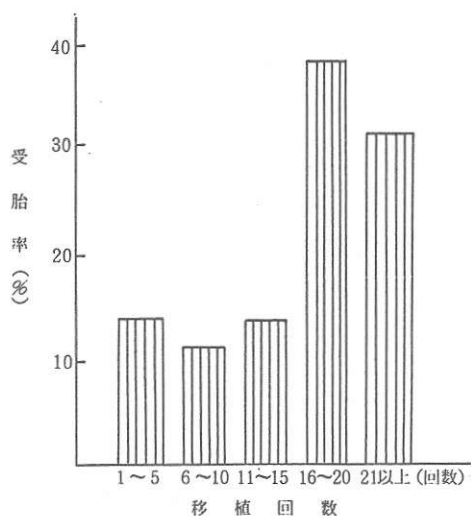


図-1 移植技術者の移植回数別受胎成績 (秋田畜試, 昭62)

外科的移植では安定して70～80%の受胎率が得られていることからすると、非外科的移植において受胎率の向上を図るには、いかに①無菌的に行うか、②生殖器の出血・損傷を少なくするか、③適切な移植部位に注入するか、が重要となる。これらは移植技術の習熟あるいは移植技術者の養成と移植器具の改良によって解決される部分が多いと考えられるが、①に関しては移植方法の見直しも必要になる。岩手畜試では、子宮頸管外口部周囲から多数の細菌が分離されることを指摘している。そして、外口部のアルコール消毒後、二重鞘を頸管内に誘導したのち

ビニール鞘を破孔する方法で移植することによって、常法よりも20%高い受胎率を得ている（表－12）。東北農試でも、表－13のように、子宮頸管外口部の消毒によって、各移植法ともに消毒なしの場合に比べて約20%近く受胎率を改善できることを示している。

表－12 移植方法別凍結2卵移植成績

区 分	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
二重鞘	13	10	76.9
常 法	11	6	54.5

注. 両者間に5%水準有意差あり

(岩手畜試, 平成元年)

表－13 子宮頸管経由移植における頸管外口部消毒の有無による受胎性

手 法	移植卵数	消毒の有無	移植例数	受胎例数	受胎率(%)
両側1卵	2	有	11	8	73
		無	9	4	50
片側2卵	2	有	7	4	57
		無	7	3	43
両側2卵	4	有	9	7	78
		無	7	4	57
重ね移植 ¹⁾	1～2	有	21	13	62
		無	12	5	42

注. 1) : 移植者5名による成績。他は移植者1名による。

(東北農試, 平成元年)

(2) 凍結受精卵

プログラムフリーザーの整備が進んだことによって、凍結受精卵の移植頭数が増加している。しかし表－10、表－11から分かるように、凍結卵移植の受胎率は新鮮卵移植に比べて15%程度低いのが現状である。二、三の県では新鮮卵移植に比べて遜色ない受胎率を確保しているが、今後、凍結受精卵の受胎率の向上と凍結融解法の安定

化・簡易化は受精卵移植のより一層の実用化を推進するうえで重要な技術開発の一つとなる。

凍結方法では、エタノールを用いた液槽凍結法が液体窒素ガスによる気相凍結法に比較して融解後の生存率、受胎率が優れることが報告されている（表－14）。また融解後移植までの時間が受胎率に影響することも示唆されている（岩手畜試）。

表－14 凍結方法の違いが受胎率に及ぼす影響

LN ₂ ガ ス 気 相 凍 結 法			エ タ ノ ール 液 槽 凍 結 法		
移植頭数(A)	受胎頭数(B)	受胎率(B/A)	移植頭数(A)	受胎頭数(B)	受胎率(B/A)
12(4)	2(0)	16.7(0)%	18(10)	8(3)	44.4(30)%

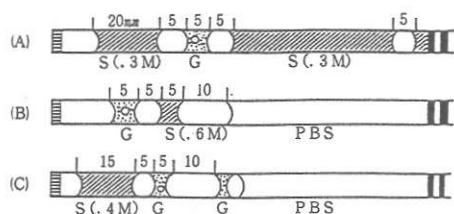
注. () 内数値は2卵移植頭数で内数である。

(秋田畜試, 平成元年)

凍結融解後の簡易化については農水省福島種
 畜牧場を中心に一連の技術開発が行われてきて
 おり、1段階ストロー法が広く試みられるよう
 になってきた。福島畜試では凍結受精卵の直接

移植法において、ストロー内液層構成が受胎率
 に及ぼす影響を検討し、図-2の(C)法で良
 好な受胎率を得ている。

ストロー充てん法



S : シュークロス+20%血清加m-PBS()内モル濃度

G : 10%グリセロール+ "

PBS : 20%血清加m-PBS

液層混和法

(A)受精卵を含むG層とシール側S層混和後、全層混和

(B)受精卵を含むG層とS層混和5分後、 "

(C) " " "

ストロー 充てん法	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
A	21	4	19.0 ^a
B	18	5	27.8
C	12	8	66.7 ^b

注. a, b間に有意差あり ($P < 0.05$, χ^2 検定)

図-2 凍結受精卵のストロー内液層構成と受胎率 (福島畜試, 平成元年)

4. 双子生産

(1) 双子生産率の向上

受精卵移植を利用した双子生産では、大別し
 て①黄体側子宮角への2卵移植、②両側子宮角
 への1卵ずつの移植、③人工授精後の非黄体側
 への移植(追い移植または重ね移植)の3通り
 の方法が行われており、昭和62年度の調査結果
 ではそれぞれ1039例、169例、74例と①の方法

が圧倒的に多い。このほか、例数は少ないが、
 多子生産を狙った両側子宮角への3~4卵移植
 が検討されている。移植される受精卵の状態は
 新鮮卵、凍結卵、分割卵、体外受精卵とさまざ
 まである。受精卵と受卵牛の組合せでは黒毛和
 種の受精卵をホルスタイン種に移植するケース
 が大部分を占め、次いで黒毛和種受精卵を同種
 子宮角に移植する例が多くみられる(表-15)。

表-15 受精卵-受卵牛別の2卵移植成績

移 植 受精卵	受卵牛	移 植 頭数(A)	受胎頭数 (B) (%)	流産頭数 (C) (%)	分娩雌牛頭数 (%)			産出子牛 頭数(E) (%)	事故子牛 頭数(F) (%)	生産子牛 頭数(G) (%)
					単 子	双 子	計(D)			
黒	ホ	948	372(39)	59(16)	170(54)	143(46)	313	457(146)	78(17)	379(121)
ホ	ホ	83	36(43)	6(17)	15(50)	15(50)	30	45(150)	10(22)	35(117)
黒	黒	177	79(45)	12(15)	46(69)	21(31)	67	88(131)	3(3)	85(127)
褐	褐	51	22(43)	3(14)	16(84)	3(16)	19	22(116)	2(9)	20(105)
褐	ホ	41	15(37)	1(7)	11(79)	3(21)	14	17(121)	0(0)	17(121)

(鈴木達行, 昭63)

全体的にみた2卵移植の受胎率は37～45%であり、受精卵と受卵牛の組合せによる差はないが、黒毛和種あるいはホルスタイン種の受精卵をホルスタイン種に移植した場合の双子分娩率が46%、50%と、他の組合せに比較して高率である。ホルスタイン種が受卵牛として用いられるケースが多いのは、このように双子分娩率が高いことや乳用種を利用した肉専用種の増殖といった要請を強く反映している。しかし、このケースでは子牛事故率が17%、22%と高い。一方、黒毛和種－黒毛和種の組合せでは双子分娩率は31%と前者の場合に比べて低い、子牛事故率も非常に低い結果が得られている。

移植角別に比較してみると(表-16)、受胎率は両角移植が黄体角移植よりも若干高く、逆に

双子分娩率は黄体角移植が若干高くなっているが、両者の間に大きな差はない。しかしながら、黄体角移植における流産率及び子牛事故率は17%ずつで、両角移植のそれぞれ9%、8%に比べて顕著に高い。この原因についてはまだ十分解明されていないが、一つには牛では受精卵の子宮内移送がほとんど起こらないため、片側子宮角での2胎子保持能力に限界があることが指摘されている。この点、まだ例数は少ないが、人工授精後に非黄体側子宮角に受精卵を移植する重ね移植によって、効率的な双子生産が可能であることが示唆されている。今後、双子生産ではこの重ね移植及び両側子宮角への移植が増加すると考えられるが、両側子宮角移植の場合、移植操作の簡便化・迅速化が必要になってくる。

表-16 移植角別の2卵移植成績(国産種)

移植角	移植卵	移植頭数(A)	受胎頭数(B)(%)	流産頭数(C)(%)	分娩雌牛頭数(%)			産出子牛頭数(E)(%)	事故子牛頭数(F)(%)	生産子牛頭数(G)(%)
					単子	双子	計(D)			
黄体角	新鮮	603	281(47)	52(19)	129(56)	100(44)	229	330(144)	56(17)	274(120)
	凍結	436	130(30)	18(14)	60(54)	52(46)	112	164(146)	27(16)	137(122)
	計	1,039	411(40)	70(17)	189(55)	152(45)	341	494(145)	83(17)	411(121)
両角	新鮮	64	35(55)	4(11)	18(58)	13(42)	31	44(142)	7(16)	37(119)
	凍結	105	41(39)	3(7)	24(63)	14(37)	38	52(137)	1(2)	51(134)
	計	169	76(45)	7(9)	42(61)	27(39)	69	96(139)	8(8.3)	88(128)

(鈴木達行, 昭63)

また表-17に示したように、両側子宮角への移植後における胚死滅は妊娠のごく初期に多発し、双胎妊娠では非黄体側の胚死滅が多いことが明らかにされている。したがって双子生産率の向上を図るためには、今後、早期胚死滅発生要因の解明とその予防技術、更には妊娠期間を通した双胎妊娠監視技術、分娩事故防止技術の開発が急がれる。このほか、双子生産における

フリーマーチンの解消と受精卵の効率利用を目的とした分割卵移植による一卵性双子の作出も検討されている(福島種畜牧場, 岩手畜試, 秋田畜試, 山形畜試)。

表-17 両側子宮角2卵移植における受胎率と双胎率の推移

	妊 娠 日 数					
	27	37	47	57	67	77~107
受胎頭数/移植頭数	31/52	30/52	28/52	25/52	24/52	24/52
(受胎率)	59.6	57.7	53.8	48.1	46.2	46.2
胚生存率	53.8	51.9	44.2	37.5	36.5	35.6
双胎牛/妊娠牛	25/31	24/30	18/28	14/25	14/24	13/24
(双胎率)	80.6	80.0	64.3	56.0	58.3	54.2

(中国農試, 昭63)

(2) 双子の發育と双子分娩牛の繁殖機能回復
黒毛和種受精卵を黒毛和種に移植して生産された双子の平均生時体重は、表-18に示したように、雌23.5kg、雄25.6kgであり、単子に比べて

4~6kg小さい。ホルスタイン種から生産された黒毛和種双子はこれより重く、単子の生時体重とさほど変わらないことが報告されており、子牛生時体重に体する母体効果が現れている。

表-18 黒毛和種における多子分娩状況

区 分	牛 番 号	分娩時体重 (kg)			子牛生時体重 (kg)	妊娠期間(日)
		直前	直後	減少		
双 子 分 娩	6頭平均	558	491	67	23.5±2.4(雌6頭)	283.0
	標準偏差	41	38	8	25.6±2.3(雄6頭)	3.1
三つ子分娩	260	556	464	92	19.1, 20.7(雄), 22.1(雌)	277
流 死 産	180	618	547	70	19.9(雄), 17.3(雌)	243
	186	530	438	92	21.4(雄), 17.5, 16.5(雌)	276
	380	424	348	76	20.5(雌), 15.5(雄)*	268
	374	—	—	—	2胎子ともミイラ化**	219

注. * : 雄のみ生存している。380,374号は初産。

** : CRL (crown-rump length, 胎子体長) は35cmであった。

(中国農試, 平成元年)

十勝種畜牧場では例数は少ないが、ホルスタイン種及び日本短角種から生産された黒毛和種双子をそれぞれ自然哺育で飼養した結果、ホルスタイン種では標準發育をやや上回る發育をしたが、日本短角種では標準發育よりやや劣る成績を得ている⁸⁾。岩手畜試では、日本短角種から

生産された黒毛和種双子の1頭を自然哺乳で、もう1頭を代用乳で人工哺育している。その結果、どちらもほぼ標準的な發育を示したが、長期間代用乳給与で哺育した1頭では下痢の発生、發育の低下がみられている。ホルスタイン種を受卵牛として黒毛和種を生産した場合には、代

用乳あるいは全乳給与による人工哺育が行われるが、その給与量と給与期間等についてはまちまちであり、哺育法の早急な確立がまたれる。ただ、人工哺育期間中は高い発育を期待するよりはむしろ0.6～0.7kg/日程度の標準的な発育をさせ、下痢等の発生を極力避ける哺育法が望まれる。

表－18に示した黒毛和種双子の自然哺乳による発育は、哺乳期前半では単子に比べて劣るが、母牛の1日乳量が8kg程度であれば6か月離乳時には160～200kgの体重になり、単子の場合と大差ない発育をすることが確認されており（中国農試）、黒毛和種での双子生産が十分可能であることが示されている。この場合、哺乳期前半における子牛の発育は母牛の乳量に強く影響されるので、特に乳量のばらつきの大きい黒毛

和種で双子生産を行うには、母牛の泌乳能力、栄養状態を十分考慮した受卵牛の選定が重要となる。この点、双子生産の受卵牛として、泌乳量の多いホルスタイン種と黒毛和種のF₁雌や東北地域では日本短角種の利用が期待される。

一方、双子分娩牛では頻繁な吸乳刺激と母体の損耗のため、分娩後の繁殖機能回復の遅延が懸念される。表－19は、自然哺乳形態で飼養した黒毛和種双子分娩牛と単子分娩牛の繁殖機能回復を比較したものである。双子分娩牛では分娩後の初回排卵、初回発情、子宮修復がやや遅れる傾向がみられるが、単子分娩牛とほとんど差はない。今後、双胎妊娠牛の分娩前後の適正栄養状態を明らかにしていくことが必要となるが、このときにボディコンディションが一つの有効な指標になると考えられる。

表－19 黒毛和種双子分娩牛の繁殖機能回復

区 分	頭 数	初 回 排 卵	第2回目 排 卵	初～第2回 目排卵間隔	初 回 発 情	子 宮 修 復
双子分娩牛	5	27.2	41.6	14.4	45.0	38.4
		14.3	12.0	5.0	21.6	7.4
単子分娩牛	10	24.7	39.8	15.1	41.1	34.8
		9.6	10.5	6.5	23.2	6.7

注. 平均（上段）±標準偏差（下段）（分娩後日数）

（中国農試、平成元年）

5. 体外受精

最近における体外受精技術の進展は急速である。発生培地や培養法の改良により、従来、体外受精後4～8細胞期に発育した胚を数日免卵管に移植して、牛に移植可能な桑実胚－胚盤胞まで発育させてきたが、最近では完全体外培養で胚盤胞まで発育させることができるようになっている。また精子の体外での受精能獲得にして

も、今までは精巢上体精子や射出新鮮精子が用いられてきており、この点で体外受精への取り組みが制限されてきた。しかし、今では凍結精液をヘパリン処理あるいはイオノフォア処理することによって、多くの精液で受精能を獲得させることができるようになっている。東北地域では、既に東北農試をはじめ数県で体外受精に取り組んでおり、末着手の県でも平成元年度か

らの取り組みが予定されている。

しかし、完全体外培養系における胚盤胞への発生率は10%前後と低い。牛受精卵の大量確保と安価生産を可能するためには、今後、発生率を向上させるための培養液組成や培養条件等の検討が不可欠である。東北農試では、発生培地への添加血清の種類が体外受精卵の発育に及ぼす影響を検討している（表-20）。その結果、発情8日目に採血した過排卵処置牛血清を添加した区で胚盤胞への発生率が29%と有意に高く、その有効性を示唆している。青森畜試では未成熟卵子の成熟培地へのFSH添加が成熟率の向上に効果があることを得ている。

表-20 発生培地への添加血清の種類が牛体外受精卵の発育に及ぼす影響

添 加 血 清	供卵数	体外受精卵の発育率%（発育卵数）			
		2細胞期以上*	4細胞期以上*	8細胞期以上*	胚盤胞**
牛 胎 子 血 清	177	74.6(132) ^b	54.2(96) ^{bd}	17.5(31) ^a	12.4(22) ^{abc}
子牛血清 (Lot 1)	471	57.3(270) ^a	37.2(175) ^{ac}	15.1(71) ^a	7.0(33) ^{abd}
(Lot 2)	71	64.8(46) ^{ab}	39.4(28) ^{acd}	14.1(10) ^a	4.2(3) ^{abcde}
(Lot 3)	217	57.6(125) ^a	36.4(79) ^{ac}	11.5(25) ^a	7.4(16) ^{abcd}
新 生 子 牛 血 清	86	61.6(53) ^a	50.0(43) ^{abd}	19.8(17) ^a	1.2(1) ^{ae}
過排卵処置牛血清	192	74.0(142) ^b	63.0(121) ^b	34.4(66)	29.2(56)

注. * : 媒精54時間目に観察 ** : 媒精後7～10日間に胚盤胞まで発育した数

a - e : 異符号間は5%水準で有意差あり (χ^2 検定) 血清はTCM-199に各10%添加

(東北農試, 平成元年)

また精子の受精能獲得のためのイオノフォア処理について、宮城畜試では種雄牛別のイオノフォア至適濃度を検討し、青森畜試では日本短角種と黒毛和種でイオノフォア処理の有無が受精率に及ぼす影響を検討している。精子の受精能獲得については、イオノフォア処理は操作がやや煩雑なので、最近ではヘパリン処理による方法が多く用いられているが、受精率や発生率に及ぼすヘパリン添加効果は種雄牛間で異なることが明らかにされている。したがって、体外受精に用いる精液（種雄牛）については、予めヘパリン添加の影響をスクリーニングしておく必要がある。体外受精卵の移植による子牛は東北地域でも既に生まれており、その個体発生の正常性については実証されているが、今後、

体外受精卵の細菌・ウイルス汚染の調査と防止技術等衛生技術の開発が必要になる。

6. 今後の技術開発方向

以上、東北地域の肉牛生産における受精卵移植技術研究の現状と問題点について概観してきた。受精卵移植による肉牛生産のより一層の実用化を図るためには、移植技術者の養成や受精卵供給センターの整備が急がれる。同時に効率的（安定・安価）受精卵移植技術の確立へ向けて、今後、次のような技術開発が必要になると考えられる。

①正常受精卵の安定大量確保技術

供卵牛の選定基準の策定、卵巢反応予測技術、正常卵率向上技術、過剰排卵処置法の簡

易化, 体外受精卵の利用等。

②受胎率向上技術

受卵牛の選定基準の策定, 受精卵凍結融解法の安定・簡易化, 受精卵の低温保存法, 無菌的移植法等。

③双子(多子)生産技術

初期胚死減防止技術, 流産予防技術, 多胎監視技術, 多胎妊娠牛の分娩前後の適正栄養管理, 多子哺育管理技術, 多子生産に適した受卵牛の作出, 受精卵の分割等。

引用文献

- 1) Donaldson, L. E. 1985. Matching of embryo stages and grades with recipient oestrous synchrony in bovine embryo transfer. *Vet. Rec.* 117 : 489-491.
- 2) Izaïke, Y. ; Suzuki, O. ; Shimada, K. ; Fujita, K. ; Kosugiyama, M. 1988. Twin pregnancy diagnosis and early embryonic loss after bilateral egg transfer in beef cattle. *Jpn. J. Anim Reprod.* 34 : 236-242.
- 3) 加納睦雄, 嵯峨久光, 伊藤盛徳, 与齊俊雄, 酒出淳一, 千田惣浩, 斎藤昌昭, 中垣一成, 石田小十郎. 1987. 秋田県における牛受精卵利用促進事業の経過と技術検討. *秋田畜試研報* 2 : 35-53.
- 4) 小西一之, 菊地 工. 1988. 黒毛和種におけるFSHによる過剰排卵処置牛の採卵成績の検討. *畜産の研究* 42 : 1261-1265.
- 5) 農林水産省家畜生産課. 1988. 受精卵移植技術の現状と課題. *ET ニュースレター* 4 : 77-81.
- 6) Rajamahendran, R. ; Canseco, R. S. ; Denbow, C. J. ; Gwazdauskas, F. C. ; Vinson, W. E. 1987. Effect of low dose of FSH given at the beginning of the estrous cycle and subsequent superovulatory response in Holstein cows. *Theriogenology* 28 : 59-65.
- 7) Rowson, L. E. A. ; Lawson, R. A. S. ; Moor, R. M. 1971. Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fertil.* 25 : 517-523.
- 8) 泉名勝巳, 工藤 茂. 1988. 牛受精卵移植による双子生産と哺育・育成に関する調査. *種畜牧場調査実験成績報告書* 1 : 1-18.
- 9) Shea, B. F. ; Janzen, R. E. ; McDermand, D. P. 1984. Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology* 21 : 186-195.
- 10) 鈴木 修, 居在家義昭, 島田和宏, 荒木玄朗, 小杉山基昭. 1988. 受精卵移植による牛の双子生産技術の開発に関する研究. 第1報 過剰排卵誘起牛における卵胞発育, 排卵, 卵回収. *中国農試研報* 2 : 21-33.
- 11) 鈴木達行, 下平乙夫, 酒井 豊, 松田修一, 三浦秀夫, 伊藤一伸. 1986. 改良したウシ凍結受精卵の1段階ストロー法による野外での非手術的移植. *家畜繁殖誌* 32 : 118-123.
- 12) ———, 1988. ウシ双子生産に関するアンケート調査(昭和62年度)集計結果について. *ET ニュースレター* 4 : 23-27.