

## 徐放性黄体ホルモン製剤単独と性腺刺激ホルモン放出ホルモンとの併用が、乳牛の採卵後の発情回帰に及ぼす影響

小鴨 睦\*・篠倉和己\*・廣崎里麻\*\*

### 要 約

徐放性黄体ホルモン (CIDR) 製剤単独、或いは性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 製剤との併用が、乳牛の採卵後の発情回帰に与える影響を検討した。

採卵後、27頭の泌乳或いは乾乳牛にプロスタグランジン  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) を投与し、ヨード剤又は抗生剤 (生理食塩水又はリンゲル氏液に希釈) を採卵当日又は1~2日後に子宮に注入した。採卵7~9日後にCIDRを挿入し、その8~10日後に除去した。除去時に黄体を確認した例には併せて  $PGF_{2\alpha}$  を投与した。CIDR除去2日後、14頭にGnRHを投与 (併用区)、他の13頭は無投与 (単独区) とし、CIDR除去から排卵までの日数を調査した。

- (1) 併用区では、CIDR除去6日後までに9頭が排卵したが、5頭は6日以内に排卵しなかった。
- (2) 単独区では、同じく10頭が排卵したが、3頭は6日以内に排卵しなかった。
- (3) CIDR除去4日後及び6日後までの排卵率は、併用区で50.0% (7/14頭) 及び64.3% (9/14頭)、単独区で69.2% (9/13頭) 及び76.9% (10/13頭) と両区間に有意差はみられなかった。
- (4) CIDR除去時に黄体が確認され  $PGF_{2\alpha}$  を投与された例は、併用区5頭、単独区5頭で、CIDR除去6日後までの排卵率は各々60.0% (3/5頭) 及び80.0% (4/5頭) であった。黄体を持たなかった例の排卵率は、各々66.7% (6/9頭) と75.0% (6/8頭) で、有意差は認められなかった。

CIDR除去後6日以内に約7割の牛に排卵が認められたことから、CIDR除去2日後のGnRH投与に関わらず、採卵7日後から9日間CIDRを挿入し、CIDR除去時に黄体を確認した例には併せて  $PGF_{2\alpha}$  を投与する方法は、乳牛の採卵後の発情回帰に利用可能と考えられた。

### Initiation of the estrus cycle after embryo recovery using CIDR with or without GnRH in Holstein cows

Mutsumu KOKAMO, Kazumi SASAKURA, and Rima HIROSAKI

### Summary

We investigated the effect of CIDR with or without GnRH on the initiation of the estrus cycle after embryo recovery (ER) in Holstein cows. On the day of ER the total number of 27 lactating and non-lactating cows (real number 18) were administered  $PGF_{2\alpha}$  (PG) i. m. Iodine preparation or antibiotics (diluted in saline or Ringer's solution) were injected in the uterus on the day of or one or two days after ER. From 7-9 days after ER all cows had CIDR inserted in the vagina for 8-10 days. On the day of CIDR removal, cows having corpus luteum (CL) were administered PG. Two days after CIDR removal, the cows were divided into two groups 1) administered GnRH (GN+) and 2) no further treatment (GN-). Ovulation was checked from 2 days after to 6 days after CIDR removal by rectal palpation and/or ultrasonography.

- (1) In GN+, 9 cows ovulated within 6 days after CIDR removal and 5 cows didn't ovulate within 6 days.
- (2) In GN-, 10 cows ovulated and 3 cows didn't ovulate within 6 days.
- (3) The ovulation rates within 4 and 6 days were 50.0 and 64.3% in GN+ and 69.2 and 79.9% in GN- respectively. There was no significant difference between the two groups.

2002年8月30日受理

\* 農林水産技術総合センター淡路農業技術センター

\*\* 元淡路農業技術センター

(4) The cows having CL at CIDR removal and treated with PG were 5 in GN+ and 5 in GN-, and ovulation rates within 6 days from CIDR removal were 60.0% and 80.0% respectively. The ovulation rates of cows having no CL in GN+ and GN- were 66.7% and 75.0% respectively. There was no significant difference among them.

Since, about 70% of cows ovulated within 6 days after CIDR removal, it was thought that using CIDR for 9 days from 7 days after ER was a feasible method for the initiation of the estrus cycle after ER. GnRH treatment 2 days after CIDR removal was not necessary because there was no significant difference between the treated and non-treated groups.

キーワード：乳牛，採卵，発情回帰，CIDR，GnRH

緒言

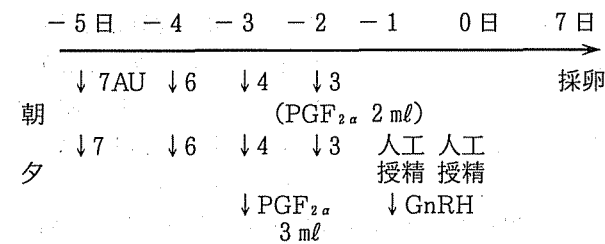
受精卵移植は、酪農家にとって牛群の能力向上を図る一つの有効な手段である。しかしながら、ホルモン処理・採卵による乳房炎の発症や繁殖障害を恐れ、採卵をためらう農家もある。採卵後に発情を人為的に回帰させる方法が確立されれば、畜主も採卵に取り組みやすくなる。

最近、OvSynch<sup>3,6)</sup> や徐放性黄体ホルモン（以下CIDRと呼ぶ）製剤を単独或いは、プロスタグランジンF<sub>2α</sub>（以下PGF<sub>2α</sub>と呼ぶ）・性腺刺激ホルモン放出ホルモン（以下GnRHと呼ぶ）製剤等と併用して用いることによって<sup>9,10)</sup> 特定の日に発情・排卵を誘起し、定時授精する方法が開発されている。今回、乳牛においてCIDR単独或いはGnRHと併用し、採卵後特定された日に発情を回帰させる方法を検討した。

材料及び方法

1 供試牛

当センター飼養のホルスタイン経産牛27頭（実頭数18



発情9～12日後から開始 卵胞刺激ホルモン総量40AU

図1 過剰排卵処理スケジュール

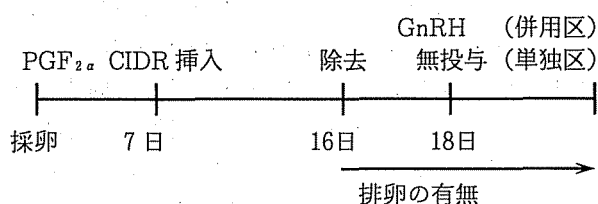


図2 ホルモン処理の日程

頭)を用いた。採卵時の年齢は3.3～11.7歳で平均6.6±2.7歳であった。採卵時泌乳期であった例は10頭で分娩後平均日数は268±148日であった。

2 試験期間

2001年5～7月及び10～12月であった。

3 処理方法及び試験区

当センターの定法（図1）により過剰排卵処理後採卵し、採卵当日にPGF<sub>2α</sub> 3ml（クロプロステノール0.75mg）を筋肉内投与、ヨード剤又は抗生剤（生理食塩水又はリンゲル氏液に溶解）を、採卵当日或いは1～2日後に子宮内に注入した。採卵7～9日後にCIDRを挿入し、8～10日間放置しその後除去した。CIDR除去2日後

表1 CIDR除去後の排卵に及ぼすGnRH投与の影響

頭数	排卵までの日数					無排卵	排卵率(%)		
	3	4	5	6	平均		～4日	～6日	
併用区	14頭	2	5	1	1	4.1日	5頭	50.0	64.3
単独区	13	6	3	0	1	3.6	3	69.2	76.9
計	27	8	8	1	2	3.8	8	59.3	70.4

表2 CIDR除後の排卵に及ぼす黄体の影響

頭数	排卵までの日数					無排卵	排卵率(%)		
	3	4	5	6	平均		～4日	～6日	
併用区									
CL+ <sup>*1</sup>	5頭	0	2	1	0	4.3日	2頭	40.0	60.0
CL- <sup>*2</sup>	9	2	3	0	1	4.0	3	55.6	66.7
単独区									
CL+	5	2	1	0	1	4.0	1	60.0	80.0
CL-	8	4	2	0	0	3.3	2	75.0	75.0
CL+計	10	2	3	1	1	4.1	3	50.0	70.0
CL-計	17	6	5	0	1	3.7	5	64.7	70.6

\* 1 : CIDR除去時黄体が確認されPGF<sub>2α</sub>投与した例

\* 2 : CIDR除去時黄体が確認されなかった例

に、27頭中14頭にはGnRH(酢酸フェルチレリン100 $\mu$ g)を投与(併用区)し、他の13頭は無処理(単独区)とした。また、CIDR除去時に超音波診断装置により黄体を確認した例にはPGF<sub>2 $\alpha$</sub>  2ml(クロプロステノール0.5mg)を投与した(併用区5頭、単独区5頭)(図2)。

#### 4 CIDR除去から排卵までの日数及び排卵率

CIDR除去2～6日後まで排卵の有無を、超音波診断装置又は直腸検査により調査した。6日以内に排卵しなかった例は無排卵とした。各区の内、4日後、6日後までに排卵した例の割合を、各々の排卵率とした。

#### 5 統計処理

CIDR除去後の平均排卵日数は $\chi^2$ 検定、排卵率の検定はフィッシャーマンの直接確率法により行った。

### 結 果

両区のCIDR除去から排卵までの日数及び排卵率を表1に示す。

併用区14頭のうち、CIDR除去3日目に2頭、4日目に5頭、5日目に1頭、6日目に1頭の排卵を確認し、排卵までの平均日数は4.1日であった。残りの5頭は、6日以内に排卵が確認できなかった。4日目までの排卵率は50.0% (7/14頭)、6日までは64.3% (9/14頭)であった。

単独区13頭のうち、3日目に6頭、4日目に3頭、6日目に1頭の排卵を確認し、平均3.6日であった。残りの3頭は、6日以内に排卵を確認できなかった。4日目までの排卵率は69.2% (9/13頭)、6日までは76.9% (10/13頭)であった。

併用区・単独区ともに、2日後に排卵を確認した例はなかった。

CIDR除去後の平均排卵日数に、区による有意差は認められなかった。

4日目・6日目の排卵率にも区による有意差は認められなかった。

CIDR除去時の黄体有無別の排卵までの日数及び排卵率を表2に示す。

併用区の内、CIDR除去時に黄体が確認されPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与した5頭の4日後・6日後までの排卵率は40.0% (2/5頭)・60.0% (3/5頭)、黄体が確認されなかった9頭のそれは、55.6% (5/9頭)・66.7% (6/9頭)であった。

単独区の内、CIDR除去時に黄体が確認されPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与した5頭の4日後・6日後までの排卵率は60.0% (3/5頭)・80.0% (4/5頭)、黄体が確認されなかった8頭のそれは、共に75.0% (6/8頭)であった。

両区を合計すると、CIDR除去時に黄体が確認されPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与した10頭の排卵までの平均日数は4.1日で、4日目までの排卵率は50.0% (5/10頭)、6日までは70.0% (7/10頭)であった。

黄体が確認されなかった17頭の排卵までの平均日数は3.7日で、4日目までの排卵率は64.7% (11/17頭)、6日までは70.6% (12/17頭)であった。

CIDR除去時の黄体の有無による排卵までの日数及び排卵率に有意差は認められなかった。

GnRH 或いはPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与により排卵率に有意差は無く、CIDR除去後4日以内に59.3% (16/27頭)、6日以内に70.4% (19/27頭)の例において、排卵が確認された。

### 考 察

CIDR除去時に黄体が確認された例は10頭と全体の37.0%で、採卵当日のPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与で排卵し黄体を形成する例は全体の4割に満たないと考えられた。黄体を形成しない6割の例では、発情回帰の時期の予測が難しい。このことが、採卵後の発情回帰を遅らせ、ばらつきを大きくする要因と考えられた。

著者らが以前実施した試験(未発表)では、採卵当日又は3日後のPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与のみの15頭の採卵後の黄体確認日は34.0 $\pm$ 14.1日と採卵後約1か月であり、ばらつきも大きいことが畜主の発情発見を難しくする一因と考えられた。

また、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与と合わせ採卵1週後にGnRH投与又は卵胞吸引を実施した12頭の黄体確認日は27.7 $\pm$ 8.2日と約1か月後で、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与のみと比較すると、ばらつきは少なくなっているものの、発情発見を容易にするためには発情日により狭い範囲で特定できることが必要と考えられた。併せて、供卵牛のすみやかな受胎を望む畜主にとっては、発情回帰までの期間を約1か月からできる限り短縮することが必要と考えられた。

今回CIDR除去時に黄体を確認した例には除去時にPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与することにより、CIDR挿入中の黄体の有無に関係なくCIDR除去後6日以内に、約7割の例に発情を誘起できた。CIDR除去時に黄体の確認された例へのPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与の効果については検討していないが、CIDRとPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与を組み合わせた発情誘起法が数多く提唱され、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与時期はCIDR除去と同時に良いとの報告もあることから<sup>9)</sup>、CIDR除去と同時にPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与した。今回は、超音波診断装置により黄体を確認した例にのみPGF<sub>2 $\alpha$</sub> を投与したが、野外での直腸検査のみの判断では全例への投与が実用的とも考え

られる。

CIDR 除去後の排卵率に GnRH 投与による有意差は認められなかった。このことは、2日後という GnRH の投与時期が不適当であったか、排卵できない原因が GnRH 投与によっても払拭できないものであったと考えられる。

今回は、CIDR 除去後の発情時に人工授精を実施していないが、発情回帰後は、Ovsynch 等により定時授精の実施等の選択肢がある。一般に Ovsynch では性周期に関わらず GnRH を投与するが、投与時期により効果に差がある。主席卵胞を持つ性周期の前半での投与が効果的<sup>5,7)</sup>、GnRH 投与前に PGF<sub>2α</sub> 投与による前同期化も提唱されている<sup>1,4)</sup>。今回の結果では CIDR 除去3～6日後に排卵が起こることから、除去約10日後からの Ovsynch 開始が適当と考えられる。つまり、CIDR 除去(黄体が確認された例には PGF<sub>2α</sub> 投与)を前同期化として、Ovsynch を実施すれば高い受胎率が得られると考えられる。

一般に、人工授精前の性周期における血中黄体ホルモン濃度が高い方が、その後の授精による受胎率が高い<sup>8)</sup>とされている。CIDR 除去後に人工授精する場合の問題点は、黄体が無く CIDR のみでの血中黄体ホルモン濃度は LH サージを抑えるほど高くなく、かつ CIDR によって排卵が遅延し、老化の進んだ卵子が CIDR 除去後に排卵されることから、受胎率が一般に低い<sup>2)</sup> ことにある。従って、CIDR 除去後の発情で人工授精を実施する場合には、CIDR 除去時に黄体を確認した例と確認できない例との受胎性の違いを考慮する必要があると考えられる。

今後は、CIDR 除去後の発情時での人工授精による受胎性の検討、また除去後の Ovsynch 等の適用等についての検討が必要である。

#### 引用文献

- (1) Cartmill, J. A., S. Z. Ei-Zarkouny, B. A. Hensley, G. C. Lamb, and J. S. Stevenson (2001) : Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols : *J. Dairy Sci.* 84, 1051-1059
- (2) Cooperative Regional Research Project, NE-161 (1996) : Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers : *J. Anim. Sci.* 74, 1943-1952
- (3) Momcilovic, D., L. F. Archbald, A. Walters, T. Tran, D. Kelbert, C. Risco, and W. W. Thatcher (1998) : Reproductive performance of lactating dairy cow treated with GnRH and/or PGF<sub>2α</sub> for synchronization of estrus and ovulation : *theriogenology* 50, 1131-1139
- (4) Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher (2001) : Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed AI protocol in lactating dairy cows : *J. Dairy Sci.* 84, 1646-1659
- (5) Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher (2000) : Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers : *J. Anim. Sci.* 78, 1568-1576
- (6) Pursley, J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank (1997) : Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation : *J. Dairy Sci.* 80, 301-306
- (7) Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley and M. C. Wiltbank (1999) : Synchronization rate of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows : *theriogenology* 52, 1067-1078
- (8) Werth, L. A., J. C. Whittier, S. M. Azzam, G. H. Deutscher, and J. E. Kinder (1996) : Relationship between circulating progesterone and conception at the first postpartum estrus in young primiparous beef cows : *J. Anim. Sci.* 74, 616-619
- (9) Xu, Z. Z., and L. J. Burton (2000) : Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesterone, and PGF<sub>2α</sub> : *J. Dairy Sci.* 83, 471-476
- (10) Xu, Z. Z., L. J. Burton, S. McDougal, and P. D. Jolly (2000) : Treatment of noncyclic lactating dairy cows with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, PGF<sub>2α</sub>, and estradiol : *J. Dairy Sci.* 83, 464-470