

乳用牛における性選別精液を利用した体内受精卵生産の高度化

青木亜紀子¹⁾、久利生正邦、稲葉浩子²⁾、大島藤太²⁾、川野辺章夫²⁾

1)現 農業大学校、2)現 県北家畜保健衛生所

要 約

ホルスタイン種乳用経産牛の雌性選別精液（選別精液）を用いた体内胚採取における採胚成績向上を目的として、過剰排卵処理（SOV）プログラムにおける卵胞波の調節方法及び授精に用いる精液に関する検討を行った。試験 1 では膈内留置型徐放性黄体ホルモン製剤による発情同期化（CIDR-Sync）を基本とした SOV プログラムにおいて、主席卵胞の吸引除去（DFR）とエストラジオール製剤（EB）の投与の 2 つの方法による卵胞波の調節を比較した。総採卵数・正常胚数・正常胚率のいずれにおいても両区に有意な差は認められず、胚の品質や発育も同等で、卵胞も同様の動態を示した。

試験 2 では、試験 1 で DFR と同等の卵胞波調節機能を有することが明らかとなった EB の投与による卵胞波調節を行い、人工授精（AI）に用いる精液の本数（精子数）に着目して採胚を行った。通常精液 1 本、選別精液 4 本分、選別精液 2 本分の AI による採胚成績を検討したところ、選別精液 4 本分の AI での正常胚の作出数・率が最も良かったが、選別精液 2 本による授精でも通常精液と同等の良質胚数を得ることが可能であった。

以上により、乳用経産牛の体内胚の採取において、CIDR-Sync に卵胞刺激ホルモン投与を組み合わせた SOV プログラムに、EB 投与による卵胞波調節を併用し、選別精液 2 本を授精することで、効率的に雌産子が期待される胚の作出が可能であることが明らかとなった。

目 的

酪農経営において、肉用子牛の販売収入は経営の安定に欠かせない手段となっている。一方、乳用牛の人工授精における受胎率の低下は世界的な懸案事項であり¹⁾、このような状況において、安定的に乳用後継牛を確保しつつ、販売用の子牛も得るためには効率よく雌産子を生産する必要がある。また、昨今の環境変化により夏季の繁殖成績の低下は更に深刻さを増しており²⁾、夏季の受胎性を高め、経営を安定させる目的での受精卵移植技術の活用も普及しつつある³⁾。

これまで、ウシにおける雌雄産み分け技術は、性判別と呼ばれる、採取された胚の一部を取り出して PCR 法または LAMP 法により細胞の遺伝子を検査、性別を判定する方法がとられてきた。しかし、性判別には特殊な機材や試薬、高度な技術と時間を要し、切断後の胚の耐凍性の点からも野外で広く普及するには困難があり、凍結手法の改善を試行⁴⁾して長い。一方、希望する性の産子が 90% の確率で得られる性選別精液（メーカーによっては性判別精液と称する）の製造技術が確立されると、国内でも 2003 年から市販が開始され⁵⁾、特に乳用種においては雌の選別精液の普及が進んでいる。しかし、選別精液ではストローに封入される精子数が約 300 万と、通常精液の 2,000～3,000 万に

比べると著しく少ないことの影響⁶⁾、また選別処理の過程で受ける精子自体へのダメージも否定できないとされている。このため、未経産牛でも通常精液の 75% 程度の受胎率にとどまり、特に経産牛での受胎率低下が指摘され⁷⁾、供給元も経産牛の AI への使用は奨励していない。また、受精卵の生産における適用においても同様に精子数や活力の問題から、正常な授精や胚の発生への影響が懸念され、正常胚が少なく未受精卵が多いことが指摘されている⁸⁾⁻¹⁰⁾。しかし、酪農家においては、産乳成績や体型得点が高い、自農場の飼養管理に適している等の理由で、経産牛からの採卵～受精卵移植による確実な後継牛の作出を希望する事例が少なくない。そこで、選別精液の受胎率向上の目的で検討されている膈内留置型徐放性黄体ホルモン製剤による発情同期化（CIDR-Sync）を SOV に応用し、試験 1 では採胚成績の向上が期待される卵胞波の調節方法、試験 2 では精液の種別及び授精する精子数に着目し、経産牛における雌産子が期待される胚の効率的な生産手法について検討を行った。

試験 1 卵胞波の調節方法による採胚成績の検討

材料及び方法

1 供試牛

栃木県畜産酪農研究センター（以下、センター）で飼養するホルスタイン種経産牛5頭を供試、各区とも搾乳牛3頭、乾乳牛2頭とし、実施の順が偏らないよう、採胚と採胚の間隔は60日以上あけて反転試験を行った（n=10）。供試牛の概要は表1のとおりで、採胚時の年齢は2～7歳、産次は1～3産、分娩後の経過日数は145～441日であった。

表1 供試牛の概要（試験1）

	年齢	産次	分娩後日数
DFR区	4.8±1.0	2.2±0.4	291.8±37.3
EB区	5.0±1.1	2.2±0.4	324.2±53.3
総平均	4.9±0.2	2.2±0.2	308.0±31.1

平均値±標準誤差

2 SOVプログラム

いずれの区においても発情の直前直後を避けた任意の時期の夕方にCIDR（シダー1900：ファイザー株式会社、東京）を膣内に挿入、day0とした。

DFR区ではday5に径8mm以上の大卵胞を超音波画像診断装置（SSD-1600：富士平工業株式会社、東京）のガイド下で、動物用ディスプレイ穿刺針（COVA Needle：ミサワ医科工業株式会社、茨城）による吸引除去を行った。過剰排卵処理（SOV）は、day6の夕方から4日間8回に分けてブタ由来精製卵胞刺激ホルモン製剤（FSH、アントリン・R10：共立製薬株式会社、東京）30AUを漸減投与、day9の夕方にクロボロステノール製剤（PG、ダルマジン：共立製薬株式会社）3mLを筋肉内投与して黄体の退行を促し、day10の朝にCIDRを抜去、day11の朝に酢酸フェルチレリン製剤（GnRH、スポルネン：共立製薬株式会社）4mLを筋肉内投与して排卵を促進、day12の朝にAIを行い、day18の午前中に子宮灌流の定法により胚の回収を行った（図1）。

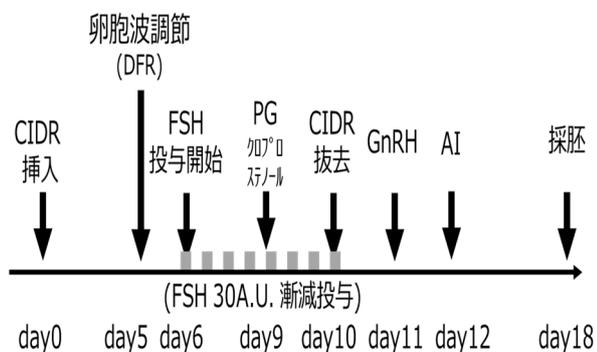


図1 DFR区の卵胞波調節と過剰排卵プログラム

EB区ではday0のCIDR挿入と同時にエストラジオールベンゾエイト20mg（EB、オバホルモン：共立製薬株式会社、製剤として1mL）を筋肉内に投与した。その後のホルモン処理はDFR区と同様に行った（図2）。

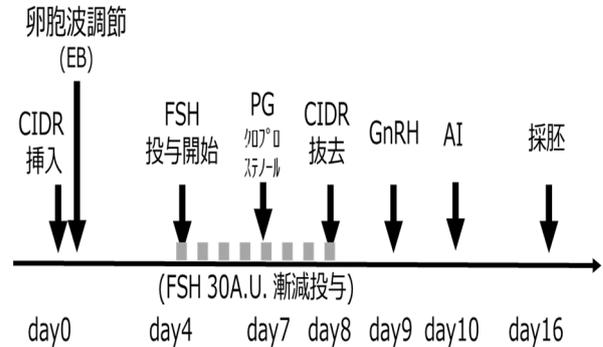


図2 EB区の卵胞波調節と過剰排卵プログラム

なお、両区とも同一個体には（一社）家畜改良事業団（LIAJ）で作成した同一種雄牛、同一ロットの採卵用選別精液（精子数1,200万/本）を用い、左右の子宮角浅部に2本ずつ計4本を、0.5mL用精液注入器（A-1：富士平工業株式会社）を用いて注入した。複数本を注入する際のストローの融解も注入ごとに1本ずつ行い、シースカバーで保護し注入の直前まで体温で保温した。

なお、試験期間を通じて使用したFSH製剤の表示力価に対する含有量は104%～115%の範囲であり、いずれも承認事項の範囲内であった。

3 調査項目

CIDR挿入時、DFR時、FSH投与開始時、GnRH投与時、AI時（GnRH投与24時間後）、AI翌日（GnRH投与48時間後）及び採胚時に、超音波画像診断装置（USG、SSD-1600またはHS-101V）による卵胞の大きさ及び数の推移について観察を行った（DFR区においてはday0、5、6、11、12、13、18、EB区においてはday0、4、9、10、11、16）。卵胞は、径が8mm以上のものを大卵胞、4～8mm未満のものを中卵胞、4mm未満のものを小卵胞に分類し、正円でないものは長径と短径の平均をその径とした。

また、採胚成績については採卵総数、正常胚数を記録、正常胚については胚の質（ランク）及び発育の状態（ステージ）、変性胚の個数及び状態、未受精卵の個数について観察を行った。

なお、各区間の統計処理はt検定により行い、有意水準0.05未満を有意差有りとして判定した。

結果

1 採胚成績

胚の品質（ランク）及び発育段階（ステージ）の分類は、国際胚移植学会（IETS）の示す基準¹¹⁾に基づいて行った。

採卵総数・正常胚数・正常胚率・未受精卵率は、表2のとおりであり、両区に差は認められなかった。

表2 採胚成績（試験1）

	総採胚数 (個)	正常胚 数(個)	正常胚 率(%)	未受精 卵率(%)
DFR 区	7.0±1.8	5.4±1.4	78.0±14.6	6.9±4.3
EB 区	9.6±2.7	5.4±0.5	69.6±12.2	12.5±7.7
総 平均	8.3±5.0	5.4±0.7	73.8±6.7	9.7±4.3

平均値±標準誤差

回収胚におけるランクは図3、正常胚におけるステージは図4のとおりであり、両区に差は認められなかった。

なお、試験1において、胚盤胞より発育が進行した胚は回収されなかった。

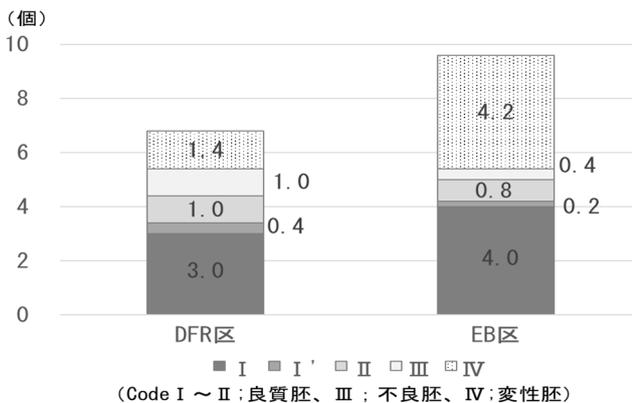


図3 回収された胚の品質（試験1）

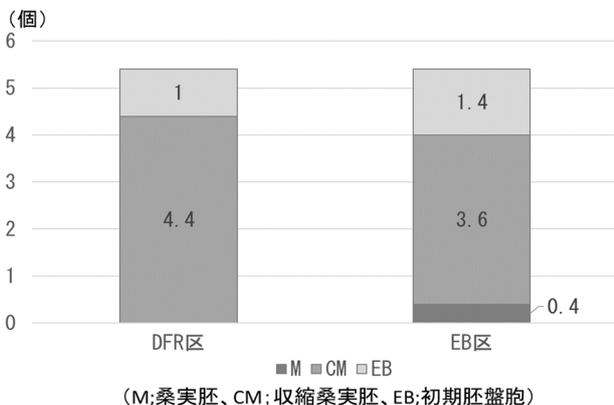


図4 正常胚の発育ステージ（試験1）

2 卵巣動態

各区における処理開始からの卵胞数の推移は図5のとおりであった。処置開始時及びSOV開始時には多数の小卵胞が認められたが、GnRH投与時及びAI時には著しく減少、大卵胞が増加し、GnRH投与48時間後には大卵胞が著しく減少していることから、その多くが排卵したと推定された。DFR区、EB区ともに同様の動態を示し、差は認められなかった。

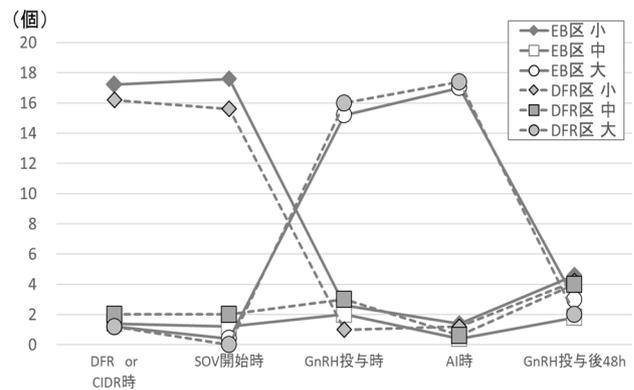


図5 卵胞数の推移（試験1）

採胚時における推定黄体数及び大卵胞数は表3のとおりであり、大卵胞数においてDFR区で有意に少ない結果であった。

表3 採胚時の卵胞及び推定黄体数（試験1）

	推定黄体数 (個)	大卵胞数 (個)	黄体形成率 (%)
DFR区 (day18)	10.6±2.1	2.0±0.8 ^a	73.0±8.2
EB区 (day16)	10.6±0.8	3.8±0.7 ^b	74.6±6.2
総平均	10.6±1.3	2.6±0.6	73.8±5.8

平均値±標準誤差、異符号間に有意差あり (p<0.05)

試験2 精液の種別及び精子数と採胚成績

材料及び方法

1 供試牛

センターで飼養する経産牛延べ38頭は原則として受精卵配布の供胚牛として供用しており、採胚成績が判明しているものもしくは母牛が供胚牛として供用されているものを供試し（搾乳牛6頭、乾乳牛32頭）、採胚と採胚の間隔は60日以上あけて行った。供試牛の概要は表4のとおりで、採胚時の年齢は2～11歳、

産次は1～6産、分娩後の経過日数は58～1,497日であった。

2 SOVプログラム

試験1のEB区に準じ、CIDR挿入をday0として同時にEB1mLを投与、day4の夕方から4日間、8回に分けてFSH30AUを漸減投与、day7の夕方にPG3mLにより黄体の退行を促し、day8の朝にCIDRを抜去、day9の朝にGnRH4mLにより排卵を促進、day10の朝にAI、day16に定法により胚の回収を行った(図2)。

ホルモン剤等の銘柄、製造元は全て試験1と同じものを使用した。

なお、試験期間を通じて使用したFSH製剤の表示力価に対する含有量は97.2%～119%の範囲であり、いずれも承認事項の範囲内であった。

表4 供試牛の概要(試験2)

	年齢	産次	分娩後日数
通常区 (n=14)	6.9±0.4	3.5±0.3	523.3±96.2
4本区 (n=10)	6.2±0.7	2.7±0.4	414.1±70.8
2本区 (n=14)	7.9±0.5	3.4±0.2	656.1±75.1
総平均	7.1±0.3	3.2±0.2	532.7±311.2

平均値±標準誤差

3 人工授精

人工授精については、全ての区において、day10の午前中、GnRH投与の24時間後に1回のみ行った。

LIAJの精液は採胚用、AI用ともに2層式のFCMax™を使用し、輸入精液においてはSexed ULTRA 4M™やSexcel™など、精子数や選別方法が異なるものは使用していない。

(1) 通常区 (n=14)

市販の通常精液1本(製造元及びロットを問わない、精子数1,000～2,000万/本)を、左右の子宮角浅部に1/2本ずつ注入した。

(2) 4本区 (n=10)

採胚用選別精液(LIAJが作成、精子数600万/本、0.5mL)を各1本合計2本(精子数1,200万)、または市販のAI用選別精液(精子数200～300万/本、LIAJは0.5mL、輸入精液は0.25mL)を、左右の子宮角浅部に各2本、合計4本(精子数約800～1,200万)注入した。

(3) 2本区 (n=14)

市販のAI用選別精液を左右の子宮角浅部に各1

本、合計2本(精子数約400～600万)を注入した。

なお、精液の注入にはストロー容量に合わせ、0.25mL用(E-1, A-4またはA-5:いずれも富士平工業株式会社)または0.5mL用(A-1またはA-2:富士平工業株式会社)の精液注入器を使用した。

また、いずれの試験区においてもストローの融解方法は精液の供給元が指定する方法(温度及び時間)を厳守し、複数本を注入する際のストローの融解も注入ごとに1本ずつ行い、シースカバーで保護し注入の直前まで体温で保温した。

4 調査項目

卵胞の大きさ及び数の推移について、処置開始時(CIDR挿入及びEB投与)(day0)、FSH投与開始時(day4)、GnRH投与時(day9)またはAI時(day10)及び採胚時(day16)に、携帯型超音波画像診断装置(HS-101V:富士平工業株式会社)を用いて観察を行った。

採胚成績について、採卵総数、正常胚数、正常胚については胚の質(ランク)及び発育の状態(ステージ)、変性胚の個数及び状態、未受精卵の個数について観察を行った。

なお、各区間の統計処理は多重検定(Steel-Dwassの方法)により行い、有意水準0.05未満を有意差有りと判定した。

結果

それぞれの試験区における採胚成績は表5のとおりであった。通常区において総採胚数が低い傾向にあり、4本区においてcode I～IIIまでの正常胚数が多く正常胚率が高い傾向にあったが、有意差は認められなかった。

表5 採胚成績(試験2)

	総採胚数(個)	正常胚数(個)	正常胚率(%)	未受精卵率(%)
通常区	8.4 ±2.2	3.7 ±1.3	54.8 ±12.6	25.5 ±9.6
4本区	11.9 ±2.3	6.1 ±1.4	62.4 ±9.9	16.1 ±5.1
2本区	15.5 ±1.6	4.4 ±1.4	30.3 ±9.4	28.8 ±9.7
総平均	11.9 ±1.3	4.6 ±0.8	47.6 ±6.5	24.2 ±5.1

平均値±標準誤差

正常胚におけるランクは図5、ステージは図6のとおりであり、試験区間での有意差は認められなかった。

なお、正常胚のうち、code I 及び I' を良質な胚、code II までを凍結可能な胚とした場合の各区の割合（比率）は表 6 のとおりであり、2 本区で他の 2 区と比して低い傾向にあったが、有意差は認められなかった。

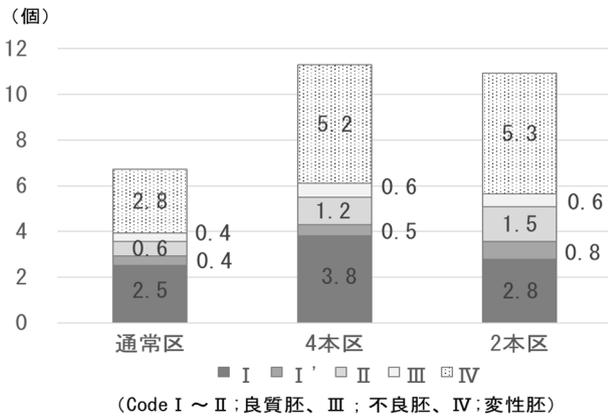


図 5 回収された胚の品質 (試験 2)

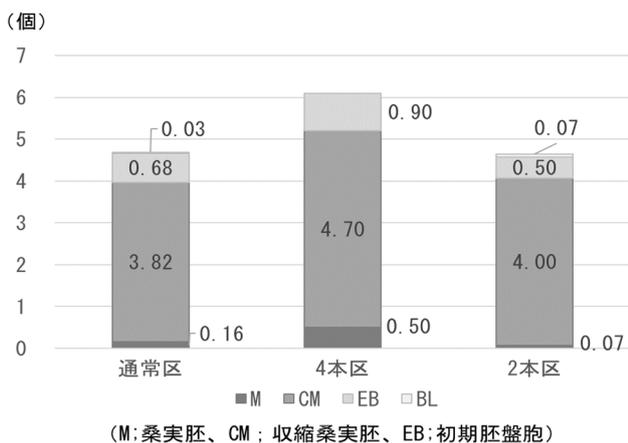


図 6 正常胚の発育ステージ (試験 2)

表 6 良質な胚の割合 (試験 2)

	良質胚率 (%)	凍結可能胚率 (%)
通常区	34.7±42.6	42.4±46.1
4本区	36.1±27.7	46.2±28.7
2本区	23.0±27.9	32.7±38.8
総平均	29.59±34.2	38.8±39.4

平均値±標準誤差

考察及びまとめ

牛受精卵移植技術は 1990 年代のダイレクト法の開発及び普及¹²⁾により、急速に国内の畜産現場に浸透した。特に全国第 2 位の生乳生産量を誇る本県では、獣医師と家畜人工授精師が協力し、豊富な乳用牛の“借り腹資源”を生かした黒毛和種子牛の生産が全国に先駆けて広まっており、畜産農家にとって受精卵移植は人工授精と同等の身近な技術である。近年は農場間の借り腹だけではなく、酪農家自らで生産した黒毛和種受精卵産子の家畜市場上場頭数も増え、肉用牛産地としての本県を支えている。一方、純粋に乳用牛の改良における受精卵移植技術の活用においては、平成 5 年の栃木県によるスーパーカウの輸入以降、ダイレクト法によるスーパーカウ (H24 からは高能力乳用牛) 受精卵配布を継続して行っており¹³⁾、県内の牛群の底上げに貢献してきた^{14) 15)}。本研究は、このようにフィールドの技術者や畜産農家にとって身近な体内受精卵による効率的な優良後継牛の確保から、“余剰借り腹資源”の活用による経済性確保を目的としたもので、“簡便”と“効率的”がキーワードとなる。

試験 1 では、卵胞波の調節方法を検討した。ウシでは 1 発情周期に 2 ないし 3 の卵胞波 (ウェーブ) が存在し、それぞれのウェーブにおいて発育した卵胞から分泌されるインヒビンは、他の小卵胞の発育を抑制することが明らかになっている。この機序を逆手にとって複数排卵を促す研究¹⁶⁾、過排卵処理における多数の小卵胞の発育を促すために、大型卵胞からのインヒビンを抑える研究は乳肉を問わず多数なされている¹⁷⁾。大卵胞の共存と採胚成績については、共存した場合に成績が良かったとの報告¹⁷⁾もあるが少数であり、径 8mm 以上の大卵胞は採胚成績に負、2~4mm の小卵胞は正の影響を及ぼすとするもの¹⁸⁾など、共存すると低下するという報告のほうが多い。特に直接、卵胞を吸引除去する DFR は、最も確実に大卵胞の影響を取り除くことができる方法とされ、DFR 後の初回 FSH 投与までの時間を検討した報告もある。しかし、DFR はある程度の高精細な描画とガイド付きプローブが取り付け可能な超音波画像診断装置が必要であり、原則として穿刺針は単回使用であること、体内採卵等と比しても極めて衛生的に実施する必要があること、ウシに与える苦痛が大きいこと、何よりも吸引除去の技術に習熟する必要があることから、決して“簡便”と言える技術ではなく、労力を考えると効率的ではないとする報告もある²⁰⁾。

また、DFR による卵胞発育抑制の解除に効果を認めつつも、穿刺という行為自体の卵巣への影響を懸念する報告もある²¹⁾。これらの課題を解決するために、内分泌学的に大型卵胞の活動を抑えることを目的とした

ものが EB の投与であり、本来は卵胞から分泌される EB を外因的に投与することで“既に成熟した卵胞”が存在すると誤認させ、下垂体からの FSH 放出を促すことにある。

本試験では、EB による卵胞波の調節は、DFR と比して正常胚率においてやや劣ったものの、正常胚数は同等であった。1mL と少量の EB を、投与経路としては最も簡便な筋肉内注射することで、大卵胞による負のフィードバックを解除できることは、アニマルウェルフェアの観点からも好ましいと考えられる。

試験 2 では、選別精液の弱点とも言える精子数や活力による採胚成績への影響について検討を行った。試験期間が長期に及び、試験 1 から継続して採胚を行っている供試牛もいれば、新たにドナー候補となった若齢牛もあったため条件にばらつきが大きく、採胚と採胚の間に分娩を挟むことができない供試牛もいたことから、結果もばらつきが大きいものであった。

また、一部、毎回多数の卵胞が形成されるものの、排卵できない遺残卵胞が多かったり、排卵はするものの回収された胚の質に問題があったりするなど良質胚を得ることができない個体もあり、ばらつきが大きい一因になっている。このような個体で、いかに良質な卵子を形成、確実に排卵させ、移植可能な胚を回収するかも今後の課題となるだろう。

選別精液の受胎率や体内胚の生産効率を高める手法としては、子宮角深部注入が有用とする報告²²⁾がある一方、改善しないという報告²³⁾もある。いずれにしろ深部注入には専用の器具が必要であり、安価とは言えない上に原則として使い捨てである。また、取扱いや授精手技（器具操作）にも多少の習熟が必要で、技術

者の体格によっては補助者の存在が望ましく、“簡便”とは言い難い側面がある。一方、本試験ではいずれも子宮角の浅部に、通常の AI で使用しているものと同等の器具及び手技で授精することで、雌が期待される胚の作出を行っており、器具・手技の両面から誰でも取り組める手法である。

なお、試験期間である平成 27～30 年度における価格をもとに雌産子の出生が期待される正常胚（雌期待胚）の作出コストについて試算を行った。通常精液では 50%、選別精液では 90%の確率で雌産子が得られるとした場合、1 胚あたりの作出コストは通常区で 12,368 円、4 本区は 10,465 円（採卵用精液 2 本では 9,128 円）、2 本区は 7,651 円となった。2 本区では採胚成績自体は劣るものの、コストメリットはもちろん、AI に伴う拘束時間や手間を考慮すれば、牛にも人にも優しい手法と考えられる。本プログラムでは SOV だけでなく CIDR-Sync にかかる各種のホルモン剤の費用や手間も必要となるが、簡便、確実かつ安価に雌期待胚の作出においては、十分実用性のある手法であることが確認された。

今後は後継牛としての雌産子が重要な乳用牛はもちろん、肉用牛においても選別精液の利用が進むと考えられる。本試験は経産牛での体内胚採取を目的としたものであったが、一部の個体では加齢の影響とは言い難い低い正常胚率であったことから、正常胚率の向上についての研究を進めるとともに、更なる改良速度の向上のためには、より優良な遺伝資源を有すると期待される、未経産牛での採胚や経膈採卵-体外受精（OPU-IVF）への選別精液の応用についても検討を行う必要がある。

参考文献

- 1) S.W.Walsh ら (2011)、A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows、Animal Reproduction Science、123:127-138
- 2) De Rensis ら (2017) Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season、Theriogenology、91:145-153.
- 3) 大川ら (2015)、ホルスタイン種乳牛への胚移植における受胎率に及ぼす要因の検討、産業動物臨床医誌、5 (増刊号) : 253-258
- 4) 小仲ら (2016)、ダイレクト移植法におけるウシ性判別胚の保存法の検討、宮崎県畜産試験場試験研究報告、28 : 30-32
- 5) 浜野晴三 (2010)、性判別精液を用いた人工授精技術、LIAJ News、122:8-15
- 6) Bodmer M ら、Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions、Theriogenology、64(7):1647-1655
- 7) Dejanette J.M. ら、Effects of 2.1 and 3.5 × 10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers、Journal of Dairy Science、93(9):4079-4085
- 8) J.G.Soares ら (2011)、Timing of insemination using sex-sorted sperm in embryo production with Bos indicus and Bos taurus superovulated donors、Animal Reproduction Science、127:148-153
- 9) Mikkola M, Taponen J (2017)、Quality and developmental rate of embryos produced with sex-sorted and

- conventional semen from superovulated dairy cattle, Theriogenology, 87(1) : 135-140
- 10) Peippo J ら (2009)、Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen, Animal Reproduction Science, 111(1):80-92
 - 11) 国際胚移植学会 (1998)、胚の衛生的取り扱いマニュアル (国際胚移植学会 IETS マニュアル)、106-107
 - 12) 堂地修ら (1999)、ウシ凍結胚の直接移植法、日本胚移植学雑誌、21:28-34
 - 13) 栃木県酪農試験場 (1989)、酪農試験場だより、69:2
 - 14) 久利生正邦ら (1993)、2種類のダイレクト法による牛胚移植の検討、栃木県酪農試験場研究報告、117:7-11
 - 15) 星一美ら (2012)、栃木県畜産酪農研究センター研究報告、1:4
 - 16) 竹ノ内直樹ら (2003)、インヒビン免疫を行った黒毛和種牛における追加免疫およびプロスタグランジン F2 α の併用が卵巣機能に及ぼす影響、東京農業大学農学集報、18(3):128-136
 - 17) 田谷一善ら (1996)、インヒビンワクチンによるウシの新しい過排卵誘起法 (インヒビンワクチン法) の開発、食肉に関する助成研究調査成果報告書、15 : 23-29
 - 18) 佐藤隆, 大久保吉啓 (2011)、黒毛和種繁殖雌牛の過剰排卵処理開始時に存在する大型卵胞及び誘起発情時の卵胞数と採卵成績、長野県畜産試験場研究報告、32:30-32
 - 19) 岡崎尚之ら (2001)、大型卵胞除去がウシの過剰排卵処理に与える影響 (第3報)、島根県畜産試験場研究報告、34:1-5
 - 20) 吉羽宜明, 高田新一郎 (1997)、牛の過剰排卵処理開始時の大型卵胞吸引除去が採卵成績に及ぼす影響、埼玉県畜産センター研究報告、1:7-10
 - 21) 赤塚裕人ら (1999)、生体卵子吸引後の過剰排卵処理成績の検討、宮崎県畜産試験場試験研究報告、12:20-27
 - 22) 加藤聡, 湯浅素子 (2017)、子宮角深部注入による雌選別精液を用いたホルスタイン種経産牛の採卵成績、群馬県畜産試験場研究報告、24:10-15
 - 23) 堀川明彦ら (2012) 雌雄選別精液の子宮角深部注入が過剰排卵処理したホルスタイン種経産牛の採卵成績に及ぼす影響、福井県畜産試験場研究報告、25 : 1-5

Consideration about efficiency of embryo production with follicle wave control in superovulated dairy cows after insemination with sex-sorted semen

Summary

The objective was to improve quality and quantity of embryo collection from dairy cows after insemination with sex-sorted semen.

All embryo collection were underwent 6days after insemination.

Experiment 1 (n=10), we compared control method of follicle wave, by remove of large follicles under observation under ultrasonography (DFR) or administration of estradiol benzoate (EB). Results of embryo collection (quantity and quality) and follicle dynamics were similar among both groups.

Experiment 2 (n=38), to estimate effect of sperm quantity, the test was concluded in 3 experimental groups. Compare between non-sexed semen (about 10-20 million sperm) and 4 or 2 thawed sexed-semen(4-6 or 8-12 million sperm), number of available embryo was 3.7 ± 4.8 , 6.1 ± 4.6 , 4.4 ± 5.1 , ratio of good embryo was $34.7 \pm 42.6\%$, $36.1 \pm 27.7\%$, $23.0 \pm 27.9\%$, insemination with 4 straws had a little good trend in embryo, but no significant difference was found between the groups.

In conclusion, administration of EB is good method of follicle wave control before superovulation, and insemination with 2 thawed sexed-semen is economical method of embryo collection with sex-sorted semen in dairy cows.