

授精課通信



～えつ!? ホルスタイン? それとも F1? ~

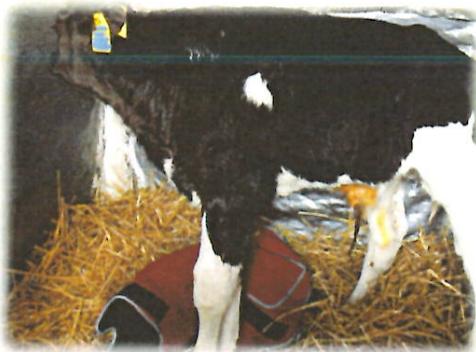
先日少し興味深い事例がありましたので、紹介させて頂きます。

昨今、性別別精液の利用が増えたことにより、後継牛の確保がよりスムーズになりました。それに伴い、通常ホル精液の使用割合が減り、和牛受精卵移植や和牛精液の授精がとても多くなってきています。ということは、農場で生まれる子牛もホルスタインだけではなく、和牛や和牛とホルの交雑種(以下、F1)も増加しています。今回はそのF1の出産で起きた出来事です。

今、助産をしたらホルとF1の双子が出てきたよ!
どういう事だろ?



*ある日のお昼時に農家さんからこんな↑電話が来ました。



A

B

※AとBは双子の写真です。

ホル柄のF1はよく聞きますが、双子で別々というのは初めて耳にしました。

牛も見させてもらったのですが、ホルスタインと言われてもあまり違和感のないような斑紋で、若干顔が茶色っぽい様な…気のせいの様な…という感じでした。この様な問

い合わせは授精をしている側としては、とても不思議かつ冷や汗もので、まずは様々な可能性を考え、検証してみました。

① 分娩時の取り違え？

→農家さんが分娩の介助をして2頭とも確実に取り上げている

② 2日間に渡り授精し、1日目と2日目でホルと和牛の精液の2種類を使用？

③ ホル授精の後、和牛受精卵の移植をした？

→②・③ともに、授精台帳や人工ノートを確認したが1日分の授精歴しかない

→同日に対象牛の AI しかなかったので、牛のつけ間違いはない

④ どこかで違う精液と謎の接触？

→確認はできないが、考えにくい

検証してみるといずれも可能性は考えにくいという結果になりました。

ただいくら可能性が低くても、「この双子は柄が違うだけなのか？」という疑問がどうしても気になり、農家さんに無理を承知でお願いをして、親子判定検査を行いました。

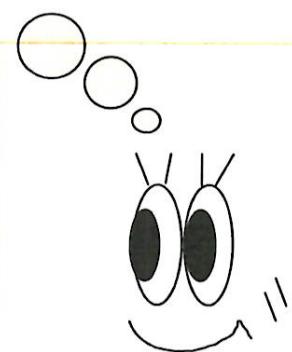
気になる結果は、、、「親子に相違なし！！」

柄の違うF1の双子で間違いありませんでした。以前に比べて、ホルそっくりのF1が多くなってきており農家さんからの問い合わせも増えましたが、この様な問い合わせは初めてでとても面白い機会になりました。

授精時のミスでもないことを再確認でき、ホッとしました。

また気になることと遭遇した際は、紹介させて頂きます。

気付けば授精師に向けてスタートしてから3年半が経ちました。その間に頼もしい後輩たちが増え、ひたすら大先輩の背中を追っかけているだけではいけなくなり、ワタワタと毎日を過ごしています。今年は日常業務をこなしながらも少し余裕を作り、農家さんに何かしら発信できればと思いますので、また何かとよろしくお願ひ致します。



Nakanishi

授精課通信

こんにちは！授精課の大原です！最近日中暑い日が増えてきて受胎率の心配をしている方も多いと思います。ということで今回は乳牛の夏の受胎率についてお話ししたいと思います。

➤ 体温調節について

泌乳牛は、代謝、ルーメン発酵、乳生産によるエネルギーで熱が発生します。通常は発汗や呼吸の増加によって熱を体外に放出し体温を下げます。しかし、暑すぎる場合(25°C以上)にはその熱がうまく体外に放出できず体内に熱がこもり、ヒートストレス(HS)状態になってしまうのです。いわゆる人間でいう夏バテ状態です。では、HS状態がどのようにして繁殖に影響を与えるのでしょうか。

➤ HS の影響

HSがあるとこのようなことが起こります。ルーメン発酵が必要な粗飼料を避け、食欲が減退し飼料摂取量が低下します。また素早くエネルギー補給したいがためにエネルギーの高い濃厚飼料を選び食いすることもあり、アシドーシスなどの栄養障害にもつながる可能性があります。もちろん乳量、乳質も悪くなり、生産性が落ちます。それに伴って栄養が足りていない状態になるので、繁殖機能を保つための性ホルモン分泌が乱れてしまうのです。それが発情兆候を微弱にさせ、発情発見の見逃しや、無発情排卵など授精適期の判断が難しくなるのです。排卵停滞、卵胞囊腫などを引き起こす原因にもなります。そのため排卵する卵子の質も悪くなり、授精できても発生しない受精の不成立や、暑熱の影響を受けやすい受精1~2日目の受精卵の早期死滅につながります。この一連の流れで夏の受胎率は下がりやすくなるのです。

➤ 夏をうまく乗り越えたい！

暑熱対策は皆さんしっかりと取り組んでいらっしゃると思います。まずは体温上昇を防ぐこと。扇風機の使用(皆さんが思っている以上に必要!!)、放牧地に日陰のある場所を作る、水槽をこまめに洗うなど、一般的な方法です。

次に栄養管理です。飼料摂取を増加させるため頻回給与は行いましょう。夏場の二次発酵を防ぐために給与回数を増やすことも有効です。また、夏は飲水量の増加からミネラル、ビタミン類のバランスが崩れます。ミネラルでは特にCa、Na、Zn、Seが、ビタミン類では特にV.A、V.Eの不足が飼料摂取量低下や繁殖障害を招きます。鉱塩などの飼料添加剤による改善をすることも必要です。

発情兆候が弱くなってしまった場合は発情発見の補助をする定時人工授精のプログラムを組むことも有効です。しかし上記で申し上げた通り、排卵停滞や受精の不成立、早期胚死滅などが受胎率の足を引っ張ります。そこで、受精や発生の過程をバイパスした受精卵移植

も有効なのです。

受精卵は受精7日目の卵で桑実胚や胚盤胞になっており、卵子や受精後1~2日の受精卵より暑熱ストレスを受けにくいのです。受精卵移植の受胎率は一年を通して季節に関係なく一定に近いです。最低でも約30%以上の受胎率確保できます（表1）。人工授精で受胎率を落としがちな気温の暑い時期にうまく受精卵移植で受胎率をカバーすることも夏の受胎率を下げる工夫といえます。

表1 凍結胚における移植日の季節別受胎率別受胎率（小林ら（2013））

季節	移植頭数	受胎頭数	受胎率
夏季（7月～9月）	356	132	37.1
夏季以外	1044	405	38.8

➤ 夏が終わっても…

そろそろ涼しくなってきたな～、もう暑熱はないし、受胎率は落ちないだろう、と思っても油断をしてはいけません。牛の卵巣内の原始卵胞が卵子に発育し排卵するまで2か月～3か月かかります。なので、気温が下がっても原始卵胞のHSによる影響は続くのです。こうして受胎率に伸び悩む…こともあります。牛によっても耐性というのは違いますから、これはすべての個体でこのような現象が起こるわけではありませんが、HSによる繁殖への影響は大きいので、暑熱対策はしっかり行った方がいいですね！

参考資料

- 川田智弘（2017）特集 牛を猛暑から守ろう！暑熱期における繁殖管理の問題と対策 養牛の友6月号
- 小林大誠・久保田尚・千葉耕司・山下秀幸（2013）牛胚移植における受胎率向上に関する要因解析 千葉県畜産総合研究センター研究報告第13号
- 濱野晴三（2015）暑熱期の繁殖改善に受精卵移植は有効か？畜産経営情報305
- 阪谷美樹（2014）暑熱ストレスが産業動物の生産性に与える影響 農研機構 九州沖縄農業研究センター 畜産草地研究領域

最後に

授精課に入社してから三か月目…。毎日たくさんの農家さんに直腸検査や注入器の挿入の練習をさせていただいております。「この牛見ていいよ！」「大原さん用に練習する牛用意しといたから！」と牛を用意してくださったり…本当にいつもご協力ありがとうございます。皆様のおかげでメキメキと成長しています。しかしながら未熟であり「いつから独り立ちするの？」と声をかけられることもあります。今できること、勉強しなければならないことにしっかりと取り組み、私としても一日でも早く独り立ちできるように、これからも努力していきます。そしてすぐに、皆様に恩返しできるように頑張ってまいりますのでよろしくお願ひいたします。

大原 珠丘

受精卵課通信 NO.3

最近やけに施設内クモ発生しているな、と困って調べているとクモは夏の季語だそうですね。暦上6月22日には夏至を迎える、夏の気配を感じ始めた今日此の頃。気温が暖かくなつて発育良くなるのは動植物だけでなく、受精卵にも大事なファクターです。「今日は受精卵の活力を保つとは」についてお話しします。

私達が普段生活している環境というのは酸素濃度約20%、二酸化炭素濃度約0.04%、更に外気温は季節天候朝夜で一定では無く、子宮環境に少しでも近づけてストレスを減らす事が体外培養や移植時の受精卵を活力に保つ方法になります。

表1は採卵後の受精卵に家庭用蛍光灯(30W)を2M離して30分当て、受精卵の影響を調べた表です。表記によると生存性には問題ないようですが、発育性が暗所と比較して3/4に減少している事から子宮内に自然光は入らないので受精卵がストレスを感じた結果です。自然光、蛍光灯に含まれる紫外線が受精卵に良くないのでLED照明を使いますが、蛍光灯とLEDの紫外線量を比較すると、表面接触時に計測した場合、蛍光灯では約113~159μw/cm²なのに対し、LED照明では約0.5~0.8μw/cm²となり、約200分の1というだけでゼロでは無いのです。

表1. 受精卵への光の影響

区 区 明所 暗所	供試数 (個)	24時間後		48時間後		暗所と比較して 3/4になっている
		生存卵数(%)	発育卵数(%)	生存卵数(%)	発育卵数(%)	
明所	35	33(94.3)	10(28.6)	33(94.3)	13(37.1)	
暗所	34	34(100)	13(38.2)	34(100)	20(58.8)	

富山県農林畜産総合技術センター 畜産研究所

表2は採卵後の受精卵を室温(25°C)に30分晒した、受精卵の影響を調べた結果です。表記によると温度についても発育性が38.5°Cと比較して1/3に減少している事から子宮内温度38.5度より低い室温に受精卵がストレスを感じた結果です。冬期間の現場になると更に子宮内との温度差が開き温度感作を受けやすくなる冬場の授精師さんは非常に繊細に扱って移植/授精しているのですね。

表2. 受精卵への保存温度の影響

供試数 (個)	生存卵数 (%)	24時間後		48時間後		38.5°Cと比較して 1/3になっている
		発育卵数 (%)	生存卵数(%)	発育卵数(%)	生存卵数(%)	
室温	39	39(100)	2(5.1)	35(89.7)	11(28.2)A	
38.5°C	39	37(94.9)	6(15.4)	33(84.6)	19(48.7)B	

P < 0.01

富山県農林畜産総合技術センター 畜産研究所

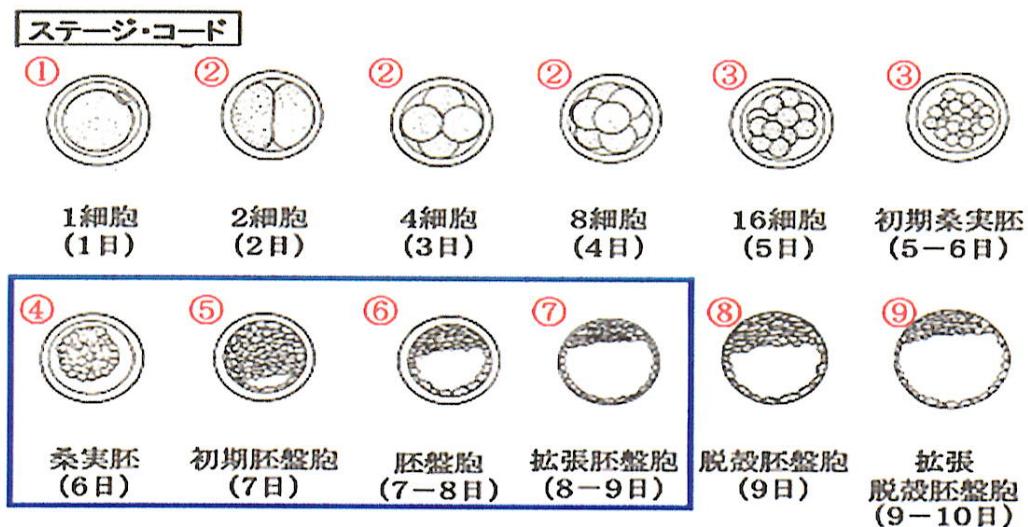
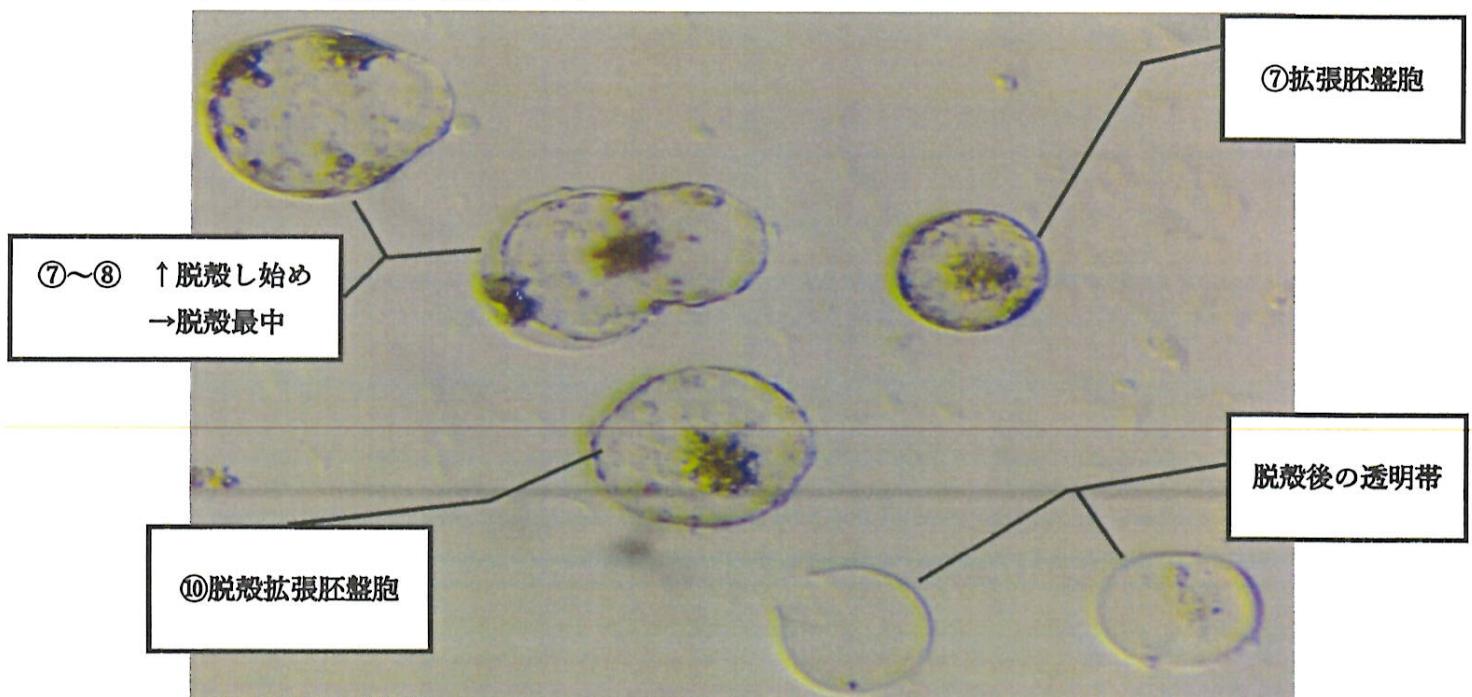
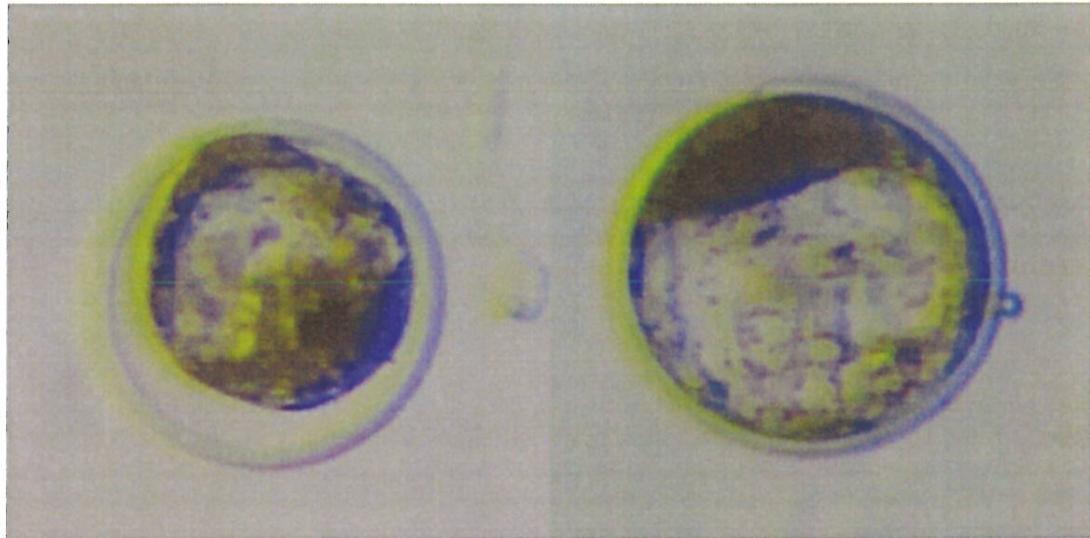


図1 受精卵の発生ステージ

ここで前回M情報からのおさらいです。図1は体外受精後発育ステージで枠線内④～⑦が凍結対象になる受精卵です。⑤～⑦で発育形成される受精卵を胚盤胞と言い、卵を覆っている透明帯という膜を脱殻して子宮着床します。因みに胚盤胞内の内部細胞塊（胎児の核になる細胞の集まり）を取り出し培養すると再生医療で使用されるES細胞になります。下記写真上が透明帯という膜を脱殻し始めで真ん中が最中です。下記写真下が脱殻後の拡張脱殻胚盤胞です。隣の発育が遅い受精卵と比べると大きさが一目瞭然ですね。一番下にある2つが脱殻後の透明帯です。





上記写真は受精後7日目観察時の受精卵です。上記左を観察後、上記右胚盤胞観察コンマ1秒後に左胚盤胞を観察すると上記左のような収縮した状態になっていました。上記左は元々右胚盤胞より上ランクの胚盤胞でしたが屋内の光と温度差に感作し収縮した受精卵です。上記右を拡張胚盤胞と言い、非常にデリケートなので少しの光、温度差、振動でも収縮してしまいますが、活力がある受精卵であれば移植後子宮内で、きちんと再拡張します。培養をやっていると「卵子の気持ちになって考えなさい」なんて聞きますが、確かに自分の子供を冷たい風呂に入れたり、頭揺らしたり、強い光に当たりなんてしませんよね。受胎率の高い授精師さんは母性／父性が強い方々なのかもしれませんね。

話は変わりますが、屠場卵巣からの体外受精卵作出と別に、ラボ隣にあるカーフサービスで飼養している黒毛和種にてOPU実施しています。5月3頭、3回実施し作出次第生移植を牧場さんで行っていて、近隣農家さんでも5～6月でOPU実施しています。まだスタートし始めて数は少ないですが受胎率も良い成果報告出来るよう邁進しますので、この機会に是非OPUをお試し下さい。宜しくお願ひ致します。

こんにちは、受精卵課筒井です。山下先生からもらったオランダせんべいにはまり、顔がオランダせんべいのように大きく丸くなってしましました。

さて、前回は受精卵が出来るまでの大まかな工程である【成熟培養】【体外受精】【発生培養】について書きました。今回からはそれぞれにスポットを当てて少し詳しく書かせてもらいたいと思います。

今回は、受精させるための準備【成熟培養】についてです。

牛卵巣にはそもそも約10万個もの卵母細胞（卵子のもと）が眠っています。

卵母細胞はとっても小さいです。（直径20~30μm；1μmは1/1000ミリ）

それらは成熟が進むと、約6倍の120~125μmにまで成長します。

しかし、10万個もの卵母細胞全てが成熟して卵子に成長するわけではありません。

卵母細胞が成長して、卵子として排卵される卵母細胞はなんと数百個！

成長せず排卵されない卵母細胞は、卵巣の中で消えていきます…。

ヒトも同じように卵子のもとは沢山あっても排卵されるのは1%ほどです。

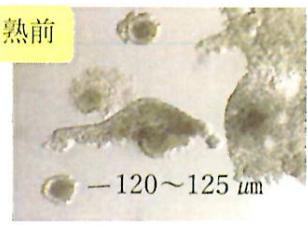
1の幅が1ミリ
卵母細胞はだいたい
この1/1000の大きさ！



牛は通常、成熟しきった卵子を1回の発情で1つ排卵します。

体外受精卵をつくるために、屠場の卵巣からの卵子吸引やOPUで生体内から卵子を吸引する場合は、卵胞から出でていない排卵前の状態の卵子を吸引します。つまり、成熟しきっていない卵子を吸引するわけです。右の写真の成熟前の状態です。

成熟前の卵子は受精能をもっていません。そこで、成熟させるために1日培養して受精能を獲得させます。これが、【成熟培養】です。成熟させると、右の写真の成熟後のように周りの細胞がブツッと膨れ上がります。



ちなみに、普段このように卵巣から卵子を吸引しています。色が少し違うボツボツがたくさんあります。これらは未熟な卵胞です。これらを全部吸います。

体内で受精する場合だと、この中から1個だけが成熟して大きくなり排卵されます。

残った他の卵胞はどこかの段階で消失していきます。



たまに刺しどころを間違えて卵胞液がビュッと出ると栗津さんは奇声を発します。



未成熟な卵胞

次回はこれらの成熟した卵子と精子による【体外受精】について書きたいと思います！

筒井