

機関番号：15401
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20580353
 研究課題名(和文) 乳牛の分娩後生殖機能回復モニタリングに基づく繁殖効率向上プログラムの開発
 研究課題名(英文) Development of Fertility Improvement Program in Dairy Cows based on Postpartum Reproductive Monitoring System
 研究代表者
 磯部 直樹 (ISOBE NAOKI)
 広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授
 研究者番号：80284230

研究成果の概要(和文)：200字程度

乳牛の繁殖効率を向上させる新しい繁殖管理プログラムの開発を目的に、牛乳中のホルモン測定等の応用による分娩後の生殖機能回復モニタリングを実施し、その有用性を検討した。その結果、モニタリングに基づいて繁殖管理を行うことは、乳牛の繁殖成績の向上に有効であることが明らかにされた。特に、分娩後生殖機能回復正常例を選択して初回の繁殖にETを応用することは、有効な繁殖技術となりうることが示唆された。また、さらに、分娩生殖機能を促進するためには、栄養・繁殖モニタリングが有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：

This study was aimed to develop a novel reproductive management program based on postpartum reproductive monitoring using milk progesterone analysis. A series of experiments on the reproductive monitoring were carried out on several commercial dairy herds in Japan and Germany. The results showed that the monitoring-based reproductive management was useful to improve reproductive efficiency. Use of embryo transfer, in particular, for the first postpartum breeding in lactating cows with normal recovery of reproductive activities was likely to improve fertility. For the further improvement nutritional monitoring in addition to reproductive monitoring is suggested to be promising.

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：臨床獣医学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：乳牛、分娩後生殖機能回復、乳汁中 progesterone, AI, ET

1. 研究開始当初の背景

近年、世界的に問題となっている乳牛の人工授精による受胎率の低下の主な原因は、分娩後の栄養摂取量の不足による卵胞内卵子の受精・発育能の低下にあると考えられる。したがって、このような場合は、人工授精(AI)ではなく、むしろ、正常な胚を子宮内に移植することに

よって、受胎率の低下を防ぐことができるものと考えられる。しかし、移植胚が子宮内に着床するためには、レシビエントの分娩後の卵巣機能が正常に回復し、なおかつ、子宮も受胎可能な状態に回復していることが重要である。したがって、分娩後の生殖機能回復のモニタリングを行い、回復異常例と正常回復例を早期

に診断する必要がある。また、この方法の応用・普及のためには、生殖機能回復異常の発生をできるだけ減少させることも重要である。しかしながら、分娩後の生殖機能回復状況の実態や、これに影響する要因などは、これまで十分には明らかにされていない。また、実際に、生殖機能回復モニタリングを行い、胚移植による受胎率との関係を明らかにした研究もほとんど見当たらない。

2. 研究の目的

本研究の主な目的は、高泌乳牛において、(1) 分娩後生殖機能回復のモニタリングを行い、生殖機能回復異常の発生状況とその病態生理を明らかにすること、(2) 分娩後初回繁殖において無作為にAIまたはETを行った場合、ET実施例で繁殖性の向上がみられるかどうか、また、ETによる受胎率に影響する要因は何かを明らかにすること、(3) 生殖機能モニタリングによって生殖機能回復正常と判定された例のみにETを行った場合の繁殖成績を明らかにすること、(4) 分娩後生殖機能回復の異常を減らすための栄養・繁殖管理プログラムを開発することである。

3. 研究の方法

(1) 分娩後生殖機能回復のモニタリング

1) 卵巣機能回復

分娩後2週目から受胎が確認されるまでの期間、週2回の間隔で乳汁採取を行い、乳汁中progesterone濃度をELISAにより測定した。Progesterone濃度の変動から分娩後卵巣機能回復状況のモニタリングを行った。そして、卵巣機能回復異常発生の実態とその後の繁殖成績に及ぼす影響を追跡調査した。

2) 子宮回復

分娩後1カ月間隔で生殖器の臨床的検査(膣鏡検査および直腸壁を介しての触診)を行い子宮の回復状況の追跡を行った。さらに、子宮内膜炎を伴う子宮回復異常の発生率とその後の繁殖成績への影響について調査を行った。

(2) 分娩後の初回繁殖に無作為にAIまたはETを行った場合の繁殖成績の比較とETによる受胎率に影響する要因の解析

山口県内の一般酪農家の2牛群において2006年から2009年に分娩した63頭と52頭の内分娩後の初回交配がETであった牛33頭と32頭、および初回交配がAIであった30頭と20頭について、その後の受胎成績を追跡するとともに、受胎成績に影響する要因の解析を行った。

3) ETによって安定的に高い受胎率をあげるための条件設定

4) 生殖機能回復正常例におけるETおよびAIの実施

広島大学大学院生物圏科学研究科瀬戸内圏フィールド科学教育研究センターと新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センターにおいて、2008年から2010年に分娩した45頭と23頭について、分娩後生殖機能回復のモニタリングを実施した。卵巣周期回復が正常で、子宮にも異常がないものを2群に分け、1群にはAIを実施した。他の1群にはについては、2回目または3回目の周期の黄体期に、和牛胚の移植を行った。1~2回のETで不受胎の場合はAIに切り替えることにした。

5) 乾乳期から泌乳最盛期にかけての栄養状態と繁殖機能モニタリング

分娩後卵巣機能回復異常と子宮内膜炎の発生をできるだけ予防するための栄養・繁殖管理プログラムを作成し、その実用性の評価を行った。試験は、ドイツ・フンボルト財団の助成によるハノーバー獣医科大学との共同研究の一環として、ハノーバー近郊の8牛群の45頭の乳牛を用いて行われた。

4. 研究成果

(1) 乳牛の分娩後生殖機能回復状況と繁殖成績への影響

山口県内3牛群と北海道の1牛群の合計237頭において、分娩後卵巣機能の回復が正常であったのは34.2%に過ぎなかった。37.1%は卵巣静止による初回排卵の遅れ、16.9%は黄体期延長、そして、23.7%がその他の異常を示した。卵巣機能回復正常例では、100日以内および210日以内妊娠率が高く、平均空胎日数も83±5日と繁殖成績が良好であったが、卵巣機能回復異常例では、妊娠率が著しく低く、空胎期間も長かった。

次に、山口県内4牛群の201頭における分娩後60日以内における子宮内膜炎の発生率は16%であり、子宮回復正常例に比べ、分娩後100日以内および210日以内妊娠率は著しく低く(41.6% vs 14.3%, 79.7% vs 39.1%)、廃用淘汰率が高かった(6.1% vs 19.2%)。

このように、乳牛の分娩後における卵巣機能および子宮の回復の異常の発生率は高く、しかも、その後の繁殖成績に著しく悪影響を及ぼすことが明らかになった。

(2) 分娩後初回交配におけるETの繁殖成績向上効果

牛群Aでは、48頭中26頭に、VWP(50日間)後に和牛胚によるETが行われた。ETは1回のみとし、それ以降、不受胎例にはAIが実施された。他の22頭にはETは実施されず、AIだけが実施された。牛群Bでは、38頭中25頭にETが実施され、不受胎の場合は、2回目まで、ETが行われた。それ以降は、AIが実施された。他の13頭にはAIのみが実施された。牛群AのET-AI群26頭で

は、14頭(53.8%)がET後に受胎し、分娩後210日以内妊娠率88.5%、平均空胎日数98±44(SE)と、優れた繁殖成績が得られた。対照のAI群22頭における210日以内妊娠率は72.7%、平均空胎日数は144±72日であった。牛群Bにおいても、分娩後初回および2回目のETによる受胎率は、36.0%および72.7%と高く、空胎日数も137±57日と、対照群の176±79日に比べ、少なかった。

(3) 分娩後初回交配 ET の受胎率に影響する要因

分娩後のETによる受胎率に影響する要因の解析を行ったところ、分娩後の卵巣機能回復の有無と時期、発情後黄体形成までの日数、ET実施の季節、子宮内膜炎および尿膣の有無などの影響が認められた。レシビアントの産次数の影響は認められなかった。

(4) 分娩後のETによって安定した受胎率を上げるための条件

野外における分娩後ET/AI試験の成績から、ETによって十分な受胎率を上げるための条件として次のような事項が挙げられた。

- a. 分娩後卵巣機能回復が正常であること
- b. 黄体形成からETまでの日数が4日以上であること
- c. 子宮内膜炎が認められないこと
- d. 尿膣が認められないこと
- e. 暑熱期ではないこと

(5) 分娩後生殖機能回復モニタリングに基づく初回交配ETとAIの応用成績

1) 生殖機能回復モニタリングの成績

45頭中4頭は死亡や淘汰等の理由で、試験から除外した。41頭中23頭(56%)が正常な卵巣機能回復を示したが、その他の牛は卵巣静止(20%)、黄体期短縮(15%)等により卵巣機能の回復遅延が認められた。平均初回排卵は30±21日であった。最終的に受胎した牛は26頭(63.4%)であり、それらの平均空胎日数は152±69日であった。

(新潟大学) 23頭中2頭は淘汰され、試験から除外した。21頭中8頭(36%)が正常な卵巣機能回復を示した。その他の牛は、分娩後35~60日に初回排卵が遅延した例が7頭(33%)、分娩後61日以降の初回排卵遅延例が2頭(10%)、初回排卵後の黄体期延長例が4頭(19%)と、卵巣機能の回復遅延が認められた。平均初回排卵は32±19日であった。試験牛は全て受胎した。平均空胎日数は138±58日であった。

2) ETとAIの結果

分娩後60~100日の間に正常な排卵周期を示した牛12頭の2あるいは3周期目の排卵後5-12日目にOVSYNCHを開始した。12頭の内5頭はOVSYNCH開始後に子宮内膜炎、卵

巣嚢腫等を発症したため試験を中止した。OVSYNCHを完了した牛7頭の内、5頭にET、2頭にAIを実施した。ET実施例ではETによる受胎率は0%であったが、その後のAIで5頭が妊娠した。これら5頭の平均空胎期間は185±39日であった。AIを実施した2頭はいずれも受胎せず、1頭はそれ以降のAIで受胎し(空胎期間143日)、もう1頭は最終的に受胎しなかった。

(新潟大学) 分娩後60日以内に正常な排卵周期を示した牛8頭のうち、6頭の2回目の発情周期にETを実施した。そのうち3頭が受胎し、ETの受胎率は50%であった。ETで受胎した3頭の空胎日数は63±3日であった。その他の2頭は分娩後の3回目以降の発情周期にAIし、初回AIで受胎した。空胎日数は128±48日であった。ETで不受胎であった3頭は2ないし3回のAIの後に受胎した。これら3頭の受胎率は27%で、空胎日数は169±60日であった。

(6) 乾乳期から泌乳最盛期にかけての栄養状態と繁殖機能モニタリング成績

乾乳期においてエネルギー不足を示すものが21.1%、分娩後1か月以内に潜在性ケトosisを示すものが28.5%であった。繁殖モニタリングの結果、分娩後卵巣機能回復正常例は28.6に過ぎず、54.7%が卵巣静止による初回排卵の遅れ、9.5%が黄体期延長を示した。繁殖成績については追跡調査中であるが、乾乳期から泌乳最盛期にかけての栄養モニタリングと繁殖管理は繁殖成績向上に有用なアプローチになりうるものと考えられた。

以上のように、分娩後の生殖機能回復モニタリングに基づいて繁殖管理を行うことが明らかにされた。特に、分娩後生殖機能回復正常例を選択して初回の繁殖にETを応用することは、有効な繁殖技術となりうることを示唆された。また、さらに、分娩生殖機能を促進するためには、栄養・繁殖モニタリングが有用であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計15件)

1. Thinh NC, Yoshida C, Long ST, Yusuf M, Nakao T. Adrenocortical Response in Cows after Intramuscular Injection of Long-Acting Adrenocorticotrophic Hormone (Tetracosactide Acetate Zinc Suspension). *Reprod Domest Anim*. 査読有 (2011) 46(2):296-300.

2. Ranasinghe RM, Nakao T, Yamada K, Koike K, Hayashi A, Dematawewa CM. Characteristics of prolonged luteal phase identified by milk progesterone concentrations and its effects on reproductive performance in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 査読有(2011);94(1):116-127.
 3. Long ST, Think NC, Yusuf M, Nakao T. Plasma cortisol concentrations after CIDR insertion in beef cows. *Reprod Domest Anim.* 査読有(2011) 46(1):181-184.
 4. Yusuf M, Nakao T, Long ST, Gautam G. Analysis of some factors affecting fertility levels in a high-producing dairy herd in south-western Japan. *Anim Sci J.* 査読有(2010) 81(4):467-474.
 5. Yusuf M, Nakao T, Ranasinghe RB, Gautam G, Long ST, Yoshida C, Koike K, Hayashi A. Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology.* 査読有(2010) 73(9):1220-1229.
 6. Yusuf M, Nakao T, Yoshida C, Long ST, Fujita S, Inayoshi Y, Furuya T. Comparison in effect of Heatsynch with heat detection aids and CIDR-Heatsynch in dairy heifers. *Reprod Domest Anim.* 査読有(2010) 45(3):500-504.
 7. Long ST, Nakao T, Wakatake S, Okakoi M. Effect of CIDR 12 to 19 days after AI on detection of returning estrus and conception rate in dairy cows. *J Reprod Dev.* 査読有 2010 56(2):251-255.
 8. Gautam G, Nakao T, Koike K, Long ST, Yusuf M, Ranasinghe RM, Hayashi A. Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology.* 査読有(2010) 73(2):168-179.
 9. Ranasinghe RM, Nakao T, Yamada K, Koike K. Silent ovulation, based on walking activity and milk progesterone concentrations, in Holstein cows housed in a free-stall barn. *Theriogenology.* 査読有(2010);73(7):942-949
 10. Gautam G, Nakao T, Yamada K, Yoshida C. Defining delayed resumption of ovarian activity postpartum and its impact on subsequent reproductive performance in Holstein cows. *Theriogenology.* 査読有(2010) 73(2):180-189.
 11. Sah SK, Nakao T. A clinical study of anestrus buffaloes in southern Nepal. *J Reprod Dev.* 査読有(2010) 56(2):208-211.
 12. Yoshida C, Yusuf M, Nakao T. Duration of estrus induced after GnRH-PGF2alpha protocol in dairy heifer. *Anim Sci J.* 査読有(2009) 80(6):649-654.
 13. RMSBK Ranasinghe, Nakao T, Kobayashi A. "Incidence of error in oestrus detection based on secondary oestrus signs in a 24-h tie-stalled dairy herd with low fertility" *Reproduction in Domestic Animals* 査読有 44(4):643-646. (2009)
 14. G Gautam, Nakao T, Yusuf M, Koike K: "Prevalence of postpartum uterine infection and its impact on subsequent reproductive performance of dairy cows" *Animal Reproduction Science* 査読有 116:175-187. (2009).
 15. G Gautam, Nakao T: "Prevalence of urovagina and its effects on reproductive performance in Holstein Cows" *Theriogenology* 査読有 71. 1451-1461 (2009)
- [学会発表] (計 8 件)
1. 吉田(智): "同一地域の異なる 2 牛群における卵巣機能の状態が繁殖成績に及ぼす影響" 第 110 回日本畜産学会大会. (20090329). 藤沢
 2. M Yusuf: "Days in milk at first AI in cows ; Its effect on reproductive performance and some factors influencing" 第 110 回日本畜産学会大会. (20090329). 藤沢
 3. 青沼(光): "長野県の中規模乳牛群における分娩後卵巣周期の回復とそれに及ぼす飼養管理の影響" 第 110 回日本畜産学会大会 2009 年 3 月 29 日. (20090329). 藤沢
 4. 中尾(敏): "乳牛の分娩後交配開始時期における和牛胚移植とその後の人工授精の組み合わせによる繁殖効率向上の可能性" 平成 20 年度日本獣医師会学会年次大会. (20090123). 盛岡
 5. M Yusuf: "Characteristics of reproductive performance in a high-producing dairy herd during

three years monitoring period” 第101
回日本繁殖生物学会大会。(20080920).
福岡

6. T Nakao: “An insight into declining fertility in high-producing dairy herds” 15th International Conference on Biotechnology in Animal Reproduction. (20080806). Mymensingh, Bangladesh
7. T Nakao: “The incidence of repeat breeding and subsequent reproductive performance in high-producing dairy cows” 25 World Buiatrics Congress. (20080710). Budapest, Hungary
8. T Nakao: “Declining fertility in dairy cows in Japan and efforts to improve the fertility” 25th World Buiatrics Congress. (20080707). Budapest, Hungary

[図書] (計 2件)

1. T Nakao: “Declining fertility in dairy cows in Japan. In : Factors affecting reproductive performance in the cow. O. Szence and A. Cs. Bajcsy (Eds.)” Hungarian Association for Buiatrics, Budapest. 229 (2008)
2. 中尾敏彦: “第1章総論, 第2章第1節 繁殖障害の現状, 生産獣医療における乳牛の繁殖管理マニュアル, 中尾敏彦、他7名(編)” (社)全国家畜畜産物衛生指導協会、東京. 124 (2008)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

磯部 直樹 (ISOBE NAOKI)
広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授

研究者番号 : 80284230

[H20→H21 : 研究分担者]

(2) 研究分担者

吉田 智佳子 (YOSHIDA CHIKAKO)
新潟大学・自然科学系・助教
研究者番号 : 50432092

(3) 連携研究者

中尾敏彦 (NAKAO TOSHIHIKO)

研究者番号 : 30094824

[H20→H21 : 研究代表者]