

胚のランクおよびステージの違いによる雌雄判別胚の受胎状況調査

大坪利豪・詫摩哲也・黒川洋介
(佐賀県畜産試験場)

Toshitake Otsubo, Tetsuya Takuma and Yousuke Kurokawa :

Effect of Original Quality and Developmental Stage of Bovine Embryos on the Conception Rates after Sexing

近年、ウシ胚の雌雄判別技術は、高能力泌乳牛や高付加価値肉用牛の増産、繁殖基盤強化のための優良繁殖雌牛や種雄牛の造成への適用などに応用されている技術である。この技術を用いることで、効率的な子牛生産が可能となり、結果として収益性の向上が図れることから、受精卵移植における雌雄判別胚の普及が望まれている。

そこで、雌雄判別胚の普及を図る上での問題点、改善点を把握検討するために、農家繋養受胎牛への移植試験を実施し、採胚時の発育ステージおよびランクと受胎状況との関連性などを調査した。

1. 材料および方法

当場繋養の黒毛和種7頭およびホルスタイン種5頭を用いて、延べ26回の採胚を実施し、得られた体内胚のうち、発育ステージが後期桑実胚～拡張期胚盤胞の良質胚(A, A', Bランク)を雌雄判別し供試胚とした。

胚からのサンプル採取は、マイクロブレードを装着したマイクロマニピュレーター装置を用い、胚の10～20%を垂直方向から押切する方法により行った。また胚の雌雄判別は市販のキット(XYセレクター、伊藤ハム社製)を用い、PCR法にて行った。

サンプル採取後の胚は、20% FCS + 0.1mM 2-Mercaptoethanol + TCM199溶液で数回洗浄した後、同溶液ドロップ中に入れ、38.5℃、5% CO₂ in Airの気相条件下で2～3時間培養した。生存の認められた胚は1.8M Ethyleneglycol + 0.1M Sucrose + 20% CS + mPBSにて凍結保存した。凍結胚は、発情後7日目の農家繋養受胎牛に移植した(移植期間:2002年4月～2003年3月)。

妊娠鑑定は35～40日目に超音波診断装置を用い、受胎状況および分娩状況を調査した。また採胚時の発育ステージ及びランク別の受胎状況や農家別の受胎状況を比較検討した。

2. 結果および考察

本試験では体内胚113個の雌雄判別を実施し、判別成功率は85.0%(96/113)であった。雌雄判別した胚の農家における移植頭数は50頭(ホルスタイン種41頭、交雑種もしくは黒毛和種9頭)であった。移植した50頭のうち13頭が受胎(以下13/50)し、26.0%の受胎率が得られた。

この移植成績を、採胚時における発育ステージで分類したところ、後期桑実胚で27.3%(3/11)、初期胚盤胞で17.6%(3/17)、胚盤胞で16.7%(2/12)、拡張期胚盤胞で50.0%(5/10)となり、拡張期胚盤胞で他の発育ステージより高い受胎率が得られる傾向が認められた(第1図)。

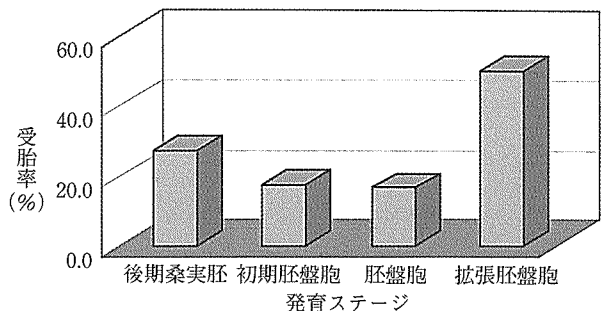
一方、採胚時のランク別の受胎率は、Aランク胚で26.9%(7/26)、A'ランク胚で31.3%(5/16)、Bランク胚で12.5%(1/8)であり、Bランク胚で受胎率

が低下する傾向が認められた(第2図)。

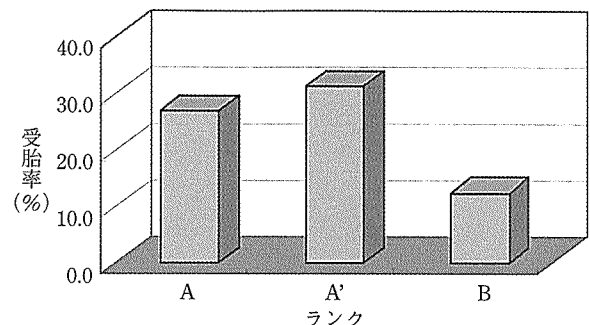
また、農家別の受胎状況をみたところ、3名の移植師(T氏, S氏, O氏)が移植を行った3戸の農家(A農家8頭, B農家6頭, C農家4頭)において、それぞれ37.5%(3/8), 50.0%(3/6), 50.0%(2/4)の受胎率が得られたのに対し、同じ移植師が移植を行った別の3戸の農家(H農家7頭, K農家7頭, I農家3頭)では受胎が得られなかった(第1表)。

2003年9月末現在、受胎した13頭中8頭が分娩し、3頭が流産、2頭が受胎中である。分娩した8頭の性別は胚移植前の雌雄判定結果と全て一致していた。流産した3頭の胚の発育ステージ及びランクは、後期桑実胚のAランク2個と拡張期胚盤胞のA'ランク1個であった。

今回の結果より、雌雄判別技術において受胎率の向上を図れる可能性がある拡張期胚盤胞での胚の利用を検討していく必要があると考えられた。また、農家により受胎状況に違いが認められたことから、雌雄判別胚移植をフィールドに普及させるためには、受胎牛の飼養管理や繁殖管理などを追加調査し、分析する必要があると考えられた。



第1図 雌雄判別胚の発育ステージ別受胎率



第2図 雌雄判別胚のランク別受胎率

第1表 農家別の受胎状況

農家名	移植師	受胎率 (%)
A農家	T氏	37.5 (3/8)
H農家	T氏	0.0 (0/7)
B農家	S氏	50.0 (3/6)
K農家	S氏	0.0 (0/7)
C農家	O氏	50.0 (2/4)
I農家	O氏	0.0 (0/3)