

## ウシ胚移植における受胎牛の血中アンモニア濃度と 流産発生率および分娩成績の関係

笹木教隆・田中 健・谷村英俊・朝倉利江<sup>1</sup>・福井幸昌<sup>2</sup>

### Relationship among Blood Ammonia Level, Abortion Rate and Childbirth Result following Embryo Transfer in Recipients

Kiyotaka SASAKI, Ken, TANAKA, Hidetoshi TANIMURA, Rie ASAKURA<sup>1</sup>  
and Yukimasa FUKUI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福井県家畜保健衛生所 <sup>2</sup>福井県嶺南牧場

#### 要 約

受胎牛の流産発生状況および分娩成績を調査し、受胎牛の血中アンモニア濃度との関係について検討した。その結果、受胎牛を血中アンモニア濃度別 ( $\leq 30 \mu\text{g/dl}$ 、 $31 \sim 40 \mu\text{g/dl}$ 、 $41 \mu\text{g/dl} \leq$ ) に分類したところ、血中アンモニア濃度が  $41 \mu\text{g/dl}$  の流産率は  $40 \mu\text{g/dl}$  の受胎牛に比べ流産率が高かった ( $p < 0.05$ )。

血中アンモニア濃度と移植胚数別流産率には一定の傾向はみられなかった。hCG 投与による流産予防効果はみられなかった。血中アンモニア濃度と早産、死産の発生状況には一定の傾向はみられなかった。以上のことから、受胎牛の血中アンモニア濃度は流産発生に関与しており、流産予防法としての血中アンモニア濃度の測定は有効であることが明らかとなった。

#### I 緒 言

牛の胚移植頭数は年々増加傾向にあり、胚移植技術は酪農家および繁殖農家に普及しつつあることが伺える。しかしながら、受胎しても胚移植による流産の発生は人工授精に比べ高い<sup>1)</sup><sup>15)</sup>ことが報告されており、農家の損失は大きく胚移植技術が普及するための障害の一つとなっている。

流産発生の原因については、染色体異常、内分泌異常、低栄養、ミネラル不足、感染症など様々である<sup>3)4)5)7)9)</sup>が、Jordan ら<sup>6)</sup>は過剰な

CP 給与が繁殖成績を低下させ、Ferguson ら<sup>2)</sup>は過剰な分解性摂取蛋白の給与はルーメン内のアンモニア産生を増加させ繁殖機能に悪影響を及ぼすことを報告しており、受胎牛への給与飼料が流産等の発生要因となる可能性も考えられる。

これまで受胎牛の給与飼料と血中アンモニア濃度の関係については、受胎牛へ給与する飼料の違いにより血中アンモニア濃度が変化する<sup>11) 12)</sup>ことが報告されているが、受胎牛における血中アンモニア濃度と流産、早産および死産の関係については未だ報告されていない。

そこで、これまで血中アンモニア濃度を測定

した受胎牛の分娩状況を調査し、血中アンモニア濃度と流産、早産および死産の関係について検討を行なった。

## II 材料および方法

### 1 調査対象牛

平成 12 年 5 月から平成 17 年 11 月まで胚移植を行ない受胎したホルスタイン種、交雑種の未経産牛、経産牛の受胎牛、186 頭について調査を行なった。

### 2 移植胚および移植方法

移植には、前田らの方法<sup>8)</sup>に準じて黒毛和種より回収された新鮮胚および凍結胚 1~2 個を用いた。凍結方法は富永ら<sup>14)</sup>の方法に準じて行ない、植氷後、胚の入った 10%グリセリン層に融解した 0.6M シュークロース層を重層させ、-30℃まで冷却し、液体窒素に浸漬し保存した。凍結胚の移植については、移植時に液体窒素から取り出し、ワンステップストロー法により黄体を確認した受胎牛に対し黄体測子宮に移植した。新鮮胚の移植は採卵後保温箱に入れ輸送後、翌日凍結胚と同様な方法により移植した。

### 3 移植前検査

移植前検査については、受胎牛は発情（発情日：0 日）後 3 日目から移植日前日に直腸検査を行ない、黄体発育不全と診断された受胎牛に対し hCG（未経産 1500IU、経産 3000IU）を投与し、機能的黄体が確認できた受胎牛に対し移植を行なった。

### 4 血中アンモニア濃度

血中アンモニア濃度は、移植前の検査時に受胎牛から濃厚飼料給与後 3 時間目以降に採血を行ない、直ちに氷温で保存後、1 時間以内に微量拡散法（アミチェックメーター：京都第一化学）により測定し、アンモニア性窒素濃度で表した。

受胎牛の血中アンモニア濃度は濃度別に 3 群（ $\leq 30 \mu\text{g/dl}$ 、 $31\sim 40 \mu\text{g/dl}$ 、 $41 \mu\text{g/dl} \leq$ ）に分類した。

### 5 妊娠鑑定および流産の確認

妊娠鑑定は胚移植後 30~50 日に行い、妊娠鑑定後発情回帰したもの、流産胎児を確認したもの、再度妊娠鑑定により不受胎を確認したものを流産とした。統計処理は  $\chi^2$  検定により行なった。

## III 結果

血中アンモニア濃度を測定した受胎牛の濃度別流産率は、 $\leq 30 \mu\text{g/dl}$  : 2.7%、 $31\sim 40 \mu\text{g/dl}$  : 8.6%、 $41 \mu\text{g/dl} \leq$  : 27.9%であり、血中アンモニア濃度が  $41 \mu\text{g/dl} \leq$  の受胎牛は  $40 \mu\text{g/dl}$  以下の受胎牛に比べ流産率が高かった ( $p < 0.05$ ) (図 1)。

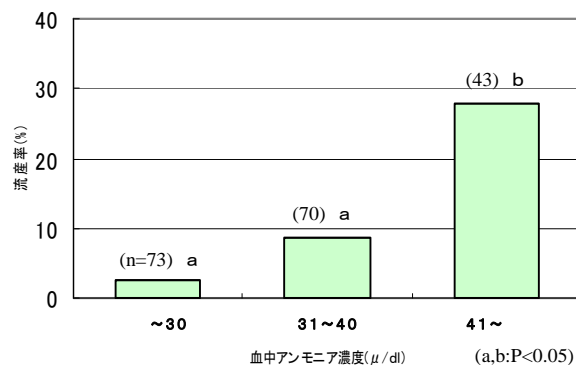


図1 受胎牛の血中アンモニア濃度別流産率

受胎牛を血中アンモニア濃度と移植胚および胚数別に分類したところ、各群とも血中アンモニア濃度が高くなるにしたがい流産率が上昇する傾向があったものの、新鮮胚、凍結胚、1 胚および 2 胚移植の間で流産率に一定の傾向はみられなかった (図 2)。

移植前の検査時に hCG を投与した群の流産率は 11.1%、未投与群は 10.0%で、流産率に差はみられなかった (図 3)。

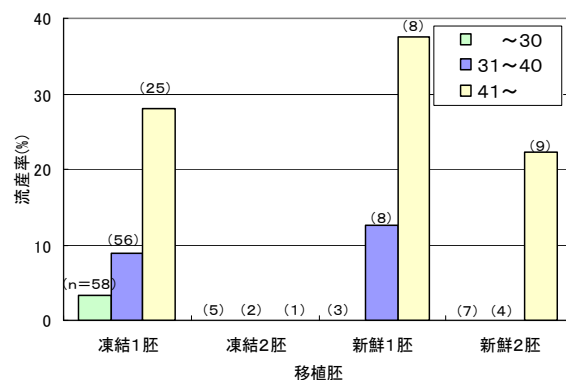


図2 受胎牛の血中アンモニア濃度と移植胚別流産率

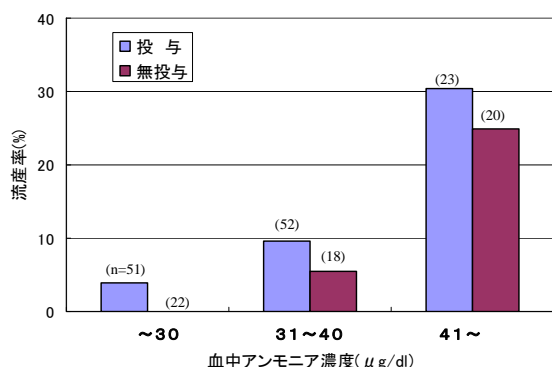


図3 受胎牛の血中アンモニア濃度とhCG投与別流産率

受胎牛を血中アンモニア濃度別に分類し、早産、死産の発生状況との関係を調査したところ、血中アンモニア濃度別の発生率に差は見られず、一定の傾向はみられなかった (図4)。

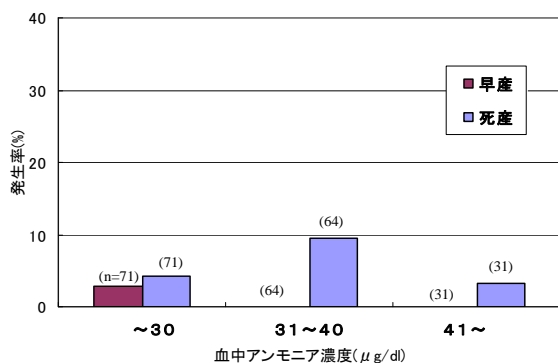


図4 受胎牛の血中アンモニア濃度と早産、死産発生率

#### IV 考 察

今回調査した凍結1胚移植後の流産率は10.1%であり、関沢ら<sup>13)</sup>の8.1%と発生率に差はみられなかったものの、堂地ら<sup>1)</sup>の5.1%に比べ発生率が高い傾向にあった。しかし、今回調査した受胎牛は90%以上が経産牛であり、堂地らが調査した未経産牛の流産率に比べ発生率が高くなったものと思われる。

流産発生と移植胚の関係については関沢ら<sup>13)</sup>は、新鮮胚、凍結胚移植、1胚、2胚移植で流産発生率に差は認められなかったと報告しており、堂地ら<sup>1)</sup>は、凍結2胚移植の流産率は他の移植に比べ高かったことを報告しているが、今回の調査で差は認められなかった。

浦川ら<sup>15)</sup>は、アンモニアを添加した培地で胚を培養したところ、胚の発育に悪影響を及ぼすことを報告している。このことから、受胎牛の血中アンモニア濃度が高くなると、子宮内のアンモニア濃度も高くなり、胚にダメージを与えていることが考えられることから、子宮内のアンモニアは同様に妊娠が確認された胎児に対しても影響を与える可能性が示唆された。

関沢ら<sup>13)</sup>は胚移植後の流産発生調査で、80日以内に47~60%が流産し、堂地ら<sup>1)</sup>は61~120日に50~68%が流産していることを報告している。このことから、今回調査した受胎牛の流産発生の日齢については、妊娠鑑定を行った50日以降に60~70%の流産が発生しているものと推察される。血中アンモニア濃度の測定については移植前に行なっており、受胎後の流産とは無関係と思われがちである。しかし、血中アンモニア濃度が高い農家では受胎牛に給与している飼料を胚移植後50~120日についても継続して給与する可能性が高いことから、受胎後も血中アンモニア濃度が高く推移することで、胎児にダメージを与え流産につながったものと推察される。

今回の調査において死産の発生率は6.0%であった。Randall<sup>10)</sup>は、分娩前後の損耗は5~15%程度と報告しており、差はみられず、血中アンモニア濃度との間で一定の関係はみられなかった。また、早産の発生率についても血中アンモニア濃度との間で一定の関係はみられなかった。

分娩成績についても、流産と同様受胎牛への給与飼料が影響を与えていると思われるが、今回調査した受胎牛はほとんど経産牛であり、分娩産子に影響を与えると思われる分娩前2ヶ月の給与飼料は、血中アンモニア濃度測定時の泌乳期の飼料とは異なり乾乳期用の飼料を給与している。そのため、血中アンモニア濃度は低く推移しており、測定時の血中アンモニア濃度とは異なった濃度になっていることから一定の傾向はみられなかったものと思われる。

以上のことから、受胎牛の血中アンモニア濃度は流産発生と関係がみられることが明らかになった。血中アンモニア濃度については受胎牛への給与飼料と関係があり<sup>11)</sup>、高濃度な血中アンモニア濃度の農家では、適正な飼料給与により受胎牛の血中アンモニア濃度を低下させるこ

とは、流産の発生予防に有効と思われる。

アンモニア濃度に及ぼす影響. 日本胚移植学雑誌, 24. 3:90-99. 2002.

### 参考文献

- 1) 堂地 修・高倉宏輔・今井 敬・橋谷田 豊. 北海道受精卵移植研究会報, 9:25-28. 1990.
- 2) Fergauson.JD and Chalupa.W. 1989. Symposium :Interactions of Nutrition and reproduction impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows.J. Dairy. Sci, 72:746-766. 1989.
- 3) 石川 恒. 家畜繁殖学-最近の歩み- (山内亮編), 文永堂. 435-450. 1978.
- 4) 石川 潤ら. 主要症状を基礎にした牛の臨床 (前出吉光ほか編). デーリィマン社, 148-158. 2002.
- 5) 石川 潤ら. 主要症状を基礎にした牛の臨床 (前出吉光ほか編). デーリィ社. 664-665. 2002.
- 6) Jordan.E.R.and Swanson.L.V. Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein and albumin in the high-producingdairy.cow.J. Dairy. Sci, 62 :58. 1979.
- 7) 加藤征史郎ら. 家畜繁殖 (加藤征史郎編), 朝倉書店. 116-117 1994.
- 8) 前田淳一・小林修一・笹木教隆・野上高靖・松山 茂. 牛の人工妊娠技術の実用化に関する研究(1).福井県畜産試験場研究報告, 11: 20-29. 1989.
- 9) 大森常良. 牛の流行性異常産 (アカベ病). 家畜繁殖学-最近の歩み- (山内 亮編). 文永堂. 501-518. 1978.
- 10) Randill, G. C. B. Perinatal adaption. Proc. Int. Congr. Animal. Reprod. &AI, vol IV. -43. Urbana-Champaign, Illinois, USA, 198.
- 11) 笹木教隆・前田淳一・河合隆一郎. 牛胚移植成績別農家における給与飼料が受胎牛の血液生化学検査成績におよぼす影響. 東日本 E T 研報, 18:60-61. 2002.
- 12) 笹木教隆・河合隆一郎・前田淳一. 黒毛和種経産牛における給与飼料が胚回収成績と血中アンモニア濃度に及ぼす影響. 日本胚移植学雑誌, 24. 3:90-99. 2002.
- 13) 関沢文夫・斉藤光男・久利生正邦・飛田府宣・荒井 徹・中原達夫. 牛胚移植後の流産発生状況. J. Repro. Develop, 42 (5) : j25-j27 . 1996.
- 14) 富永敬一郎・道後泰治・猪八重悟・中井貞夫・小山秀一・内海恭三・藤井好孝・松山謙二. 牛の受精卵移植技術の実用化に関する研究. 兵庫畜試研報. , 22: 37-46. 1985.
- 15) 浦川真実・出田篤司・岩佐昇司・酒井伸一・武富敏郎・小西正人・青柳敬人. 家畜人工授精. , 234(5月):45-47. 2006.
- 16) 山下益雄・原口秀次・高野義雄. 家畜人工授精, 168(5月):47-49. 1995.

## Relationship among Blood Ammonia Level, Abortion Rate and Childbirth Result following Embryo Transfer in Recipients

Kiyotaka SASAKI, Ken TANAKA, Hidetoshi TANIMURA, Rie ASAKURA<sup>1</sup>  
and Yukimasa FUKUI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fukui Prefectural Health and Sanitation Center   <sup>2</sup>Fukui Prefectural  
Reinan Livestock Farm

The aim of this study was to examine the relationship among blood ammonia level, abortion rate and childbirth result in recipient. As recipients were divided into three groups according to the difference in the blood ammonia level ( $\leq 30 \mu\text{g/dl}$ ,  $31 \sim 40 \mu\text{g/dl}$ ,  $41 \mu\text{g/dl} \leq$ ), the abortion rate of recipients with blood ammonia level over  $41 \mu\text{g/dl}$  were higher than that of recipients with blood ammonia level under  $40 \mu\text{g/dl}$ . There was no relation among blood ammonia level, the abortion rate and the embryo transfer. There was no relation between abortion rate and injection of hCG in recipients. There was no relation among blood ammonia level, premature birth and still birth in recipient. These results show the examination of blood ammonia level in recipients is effective in decreasing abortion rate after embryo transfer.