

バラクダイ業者繁殖改善計画
総合報告書I

昭和59年12月

国際協力事業団

● ● ●
● ● ●
15-1

RY

JICA LIBRARY



1034710[2]

パラグアイ家畜繁殖改善計画 総合報告書 I

昭和59年12月

国際協力事業団

国際協力事業団	
受入 月日 '85. 9.24	708
	873
登録No. 11987	ADL

は　じ　め　に

我が国は、パラグアイにおける牧畜業の振興に寄与する為、昭和57年12月から5年間の協力期間で、「パラグアイ家畜繁殖改善計画」（プロジェクト方式技術協力事業）を実施している。本計画は、アスンシオン大学獣医学部を拠点として、人工授精（家畜繁殖）、家畜衛生および家畜栄養の3分野の協力を通じて家畜繁殖技術改善を計るものであり、協力開始後2年を経た現在、派遣された専門家は長期8名、短期7名、受け入れた研修員数7名である。

繁殖分野では、本年8月にパラグアイ国で受精卵移植による最初の産仔が誕生し、衛生分野では、繁殖疾病に関する伝染病対策の指針が示されつつある。また栄養分野は、前記2分野の基礎となり、調査、試験に長期間を要するが、施設整備とともに、本格的活動に入った。本報告書は、3分野の帰国専門家の総合報告をとりまとめたものである。執筆にあられた各専門家に謝意を表するとともに、本報告が、関係者に活用され、本計画の推進に役立つことを希望するものである。

昭和59年12月

国際協力事業団
農業開発協力部長

田　内　堯

目 次

人工授精 1

^抄井上忠恕 専門家

家畜微生物病 42

^抄伊佐山康郎 専門家

家畜栄養 93

^抄松岡栄 専門家

担当分野 人工授精
氏名 井上忠恕
派遣期間 昭和58年10月9日から昭和59年3月30日まで

目 次

I 発情発見法の改善	1
II 試験的牛受精卵移植	8
第1章 パラグアイ国家畜繁殖改善計画における牛受精卵移植技術の位置づけ	8
第2章 パラグアイ国家畜繁殖改善計画における牛受精卵移植技術試験計画方針	12
第3章 パラグアイ国家畜繁殖改善計画における牛受精卵移植基礎試験の概要	15
第4章 パラグアイ国における牛受精卵移植の今後の課題	21
附表 受精卵移植スケジュール表	29
講演要旨	36

I 発情発見法の改善 発情発見牛 (Teaser Bull) の作出

1. 目的

本家畜繁殖改善計画のなかで、家畜繁殖部門中、1.人工授精、2.試験的受精卵移植、3.試験的性周期同期化の試験協力が挙げられている。これらのいずれを実施するにも雌牛の適切な発情発見なくして成り立たないと言っても過言でない。

本計画打合せ調査団報告書に述べられているよう 当国の実際の繁殖率は40%程度であると考えられている。分娩後、哺乳牛は、その年は交配対象としない管理方法や劣悪な飼養条件はあるとしても、発情発見の改善は急がれる一つである。しかも1,000~2,000頭が群単位になり、さらに人が監視し得ない夜間にも実施可能な方法が要求される。そこで、発情雌牛が雄牛を許容する自然の仕組を応用し、しかもその雄牛は交配できないように陰茎を腹壁に癒着固定させる。この雄牛の下顎に、乗駕とともに雌牛へ塗料が塗布されるチンボールを装着させることにより、夜間など監視者がいない時の発情でも雄牛による塗料によるマーキングにより発情牛を抽出できる。当国において、このTeaser Bullの簡易な作出法とその利用が普及されていない。そこで、手術方法の技術移転とその応用を普及発展させる目的で2カ所の演習牧場において発情発見牛の作出手術を試みた。

2. 方法

発情発見用雄牛 (Teaser Bull) の作出手術は井上忠恕ら(畜産の研究, 33, 9, 1979)の方法に従って実施した(以下、井上方式を略称する)。供試した雄牛はセブ系雑種でいずれも成牛である。雄牛はコラルール(粹場)を用いセボ(圧迫保定棒)で保定し、ロンパン2~3mlを筋肉内注射する。鎮静した後に予め角に投げ縄を付け野外の牧草上に誘導し、前後肢に皮縄を掛けて倒臥する。右下横臥保定により実施する(写真1)。腹部乳房前方包皮周囲を携帯用発電機から電源を得て、電動バリカンで剔毛後、型の如く術野を消毒する。

乳房前方で包皮と腹壁の接する部分を約10cm切皮し、陰茎体を引き出す。陰茎先端が包皮口から突出しない位置を定め、タオル鉗子で目印を付ける。癒着させる陰茎背部と腹壁白線部に介在する皮下および脂肪組織を取り除き新鮮創を作る(写真2)。陰茎体と腹壁を2cm間隔でステンレス鋼線24SWG(φ0.55mm)で結紮する。ステンレス鋼線の結紮切断はニッパー、ペンチ使用する。内壁および皮膚をDEXON 2号にて縫合する(写真3)。約10日後、創面の浮腫、感染の有無と癒着部位を確認する。陰茎が包皮より突出しないことを確めた後に、塗料を注入したチンボールを装着し雌牛群に入れる。雌牛に刺駕する時に再度陰茎の包皮口からの突出がないか確認する。

井上方式と比較するため、従来から行なわれている陰茎を白線上から約30°の位置に新たな包皮を造り勃起時斜め横に出させる陰茎側方変位法も実施した。

3. 結果

発情発見牛 (Teaser Bull) を陰茎固定法(井上方式)16頭および陰茎側方変位法3頭、合計19頭作出した(第1表)。

第1表 発情発見牛の作出

年 月 日	術 式		再 手 術	実 施 牧 場
	井 上 方 式	陰 茎 側 方 変 位 法		
83-X-14	5 頭	3 頭		バレリート国立種畜牧場 (学生実習を兼ねる)
83-XI-5			2 頭*	"
83-XII-5	5 頭			ブエナビスタ牧場
83-XII-16	5 頭			"
83-XII-26	1 頭		1 頭*	"

※ 再手術実施はいずれも井上方式

いずれの雄牛も野性化しており狂暴であるが、コラールの利用、ロンパンによる鎮静と牧童の保定技術の功さにより同時に2組に分れて2頭の手術実施が可能であった。83-X-14実施の8頭はアスンシオン大学獣医学部4年次学生実習を兼ねて実施されたため、時間を要し、しかも後日2頭再手術しなければならなかった。しかし、カウンターパートの教官も同行し体得し、後日の手術に参考となった。

手術回数を経るにつれて保定助手、術者、助手いずれも要領を会得し約20分で終了するようになった。再手術3頭を経験したため却って細い手術要領が全員に理解された。再手術を要した3頭は、いずれも包皮口から5~10cm以上陰茎の突出が明瞭に確認された例である(写真4)。これらは、改めて原因を確かめ再手術された。再手術例は第2表に示す。

第2表 再手術例

再手術例		
No. 1	ステンレス鋼線の結紮固定位置が後方過ぎ陰茎勃起時の突出を阻止できない。	結紮位置からさらに前方10cmに新たに結紮固定した。
No. 2	陰茎体側のステンレス鋼線刺入位置が浅く、一部癒着しているものの勃起可動する。	元のステンレス鋼線の除去後、再固定
No. 3	腹壁側に刺入したステンレス鋼線が3本とも離脱している。	腹壁側の皮下、脂肪組織を充分に除去、新鮮創を作り固定

これらの再手術例は、いずれも1回の再手術で完全に固定され支障がなかった。また、いずれの雄牛もステンレス鋼線や本手術による排尿困難、疼痛、乗駕忌避などは今日まで見られてない。術後7~10日で浮腫の残るものはわずかであった。

83-X-14には陰茎側変位法と井上方式を比較して実施した。陰茎側方変位法は主に当学部臨床教官の指導のもとで行なわれた(図5)。井上方式と陰茎側方変位法の両者を比較した(表3)。チンボールの装着は保定棒(セボ)で容易にでき、塗料の交換も簡単である。チンボール装着の発情

表3 発情発見牛の作出法の比較

	井上方式	陰茎側方変位法
術野の広さ	創面約10cm	広範囲
出血量	少量	大量
浮腫	わずか	術後7～10日でも広範囲
手術所要時間	約20分	約60分
再手術	可能	困難
交配の可能性	無	時に有
供与開始	術後10日	術後3週以上

発見牛が乗駕した発情牛は背中から腰部にかけてよく塗られ、特に馬上からの発情牛発見に好都合であった。チンボールの塗料は10日に1回の補給が必要であった(写真6)。チンボールも破損したのももなく有効に活用されている。

ウシの発情発見方法として、これまで各種方法が取られてきた。

LANDERDALE (1974) と FOOTE (1975) は、それぞれの方法を比較している(表4)。

表4 ウシの発情発見法による検出率の差

発情発見方法	発 情 検 出 率	
	Landerdale (1974)	Foote (1975)
24時間連続監視	98～100%	89%
1日3回観察	81～91%	—
1日2回観察	81～91%	72%
日常作業時の観察	56%	56%
Teaser Bull	98～100%	80～87%
ヒートマウントディテクター	—	98%

多頭数を対象とする当国において経費、労力からみても24時間監視やヒートマウントディテクターの利用は考えられない。そこで Teaser Bull 発情発見牛の作出利用が考えられた。この発情発見牛にも各種作出法があり、それぞれに長所、短所がある。1) 精管結紮法、2) 精巣上部尾切除法、3) 精巣上部尾部への硬化性薬剤注入法、4) 陰茎切断法、5) 陰茎側方変位法、6) 包皮手術法さらに、7) 陰茎固定法がある。1)～3) はいずれも精液の射精は妨げられるが、陰茎の腔への挿入を許し、その雄牛を介してのトリコモナスなどの伝播が発生率の高い当国では特に予測される。4)、5) はともに大量の出血があり術後の回復が遅く、創口からの牛蠅幼虫などの迷入の多い当国の事情から推奨されない。また外科侵襲が大きく雄牛の性欲の減退も招く。6) は包皮炎と外部寄生虫の寄生も

招くおそれもある。そこで井上ら（1979）の方法を用いて陰茎固定法を採用した。本術式は癒着位置を正しく決めること、癒着部位の搔爬、ステンレス鋼線による確実な結紮により陰茎体が腹壁に確実に癒着され、陰茎の包皮口からの突出を完全に阻止される。

3頭の再手術例があったが、これは術者がよく術式を習熟していなかったためのものであった。セブウ系雄牛の特長として陰茎の付着が緩く前方に下垂しており、陰茎と腹壁の間に皮下、脂肪組織が介在することを考慮しなければならない。本術式は再手術も何等支障もなく行える。従来から行われてきた陰茎側方変位法と本術式を比較検討してみたが、術野の広さ、出血量、浮腫、所要時間、再手術の可能性、交配の可能性、供与開始時期など、すべての点で本術式が優れており推奨される。施術から2カ月から4カ月経ているいずれの雄牛も本手術による障害は見あらず、乗駕欲にも大きな変化は見られない。

この発情発見牛を供与した結果による発情発見の検出率が、どれだけ改善されたか否かについては、現在供与中であり正確な数値は提出されていない。小池和明専門家により、1979年度以降の繁殖成績が取りまとめられており、順次本牛投入後の成績と比較しながら公表されるものとみられる。

チンボールを装着した発情発見牛を使用しはじめた2牧場ともに、これまでの朝夕2回約1時間ずつの馬上からの発情監視も続けられており、発情発見牛だけに頼られていない。セブウ系牛は特に発情を明瞭に示さない牛が多いとされており、しかも夜間に発情を示すものが多い。これらの牛がチンボールでマーキングされており、さらに日中人による1日2回の監視による発情牛が加えられるので全体の繁殖成績も改善されつつあるものと期待したい。井上らの成績によればホルスタインで発情発見牛を投入して約10%の受胎率が向上している。

当国では1牧場当りの飼育頭数が多いので、例えば受胎率が5%向上したとしても膨大な頭数になる。

今後は1牧区当りの発情発見牛の投入数、更新時期などの検討が必要であろう。当国では繁殖季節に限られており、頻繁に更新の必要もないと思われ、しかも雄牛は安価であり供給も容易であるので、例えば毎年更新してもさほど問題はないと思われる。

ま と め

パラグアイ国家畜繁殖改善計画において発情発見法の改善を目的として発情発見牛の作出を試みた。陰茎を腹壁に癒着固定させる井上らの術式を用いて16頭に施術したところ、3頭は再手術しなければならなかったものの当国における発情発見牛作出法として優れている。更にチンボールを装着し、雌牛群に投入することにより、発情発見率の改善、向上につながるものと期待したい。

最後に、本試験遂行に全面的な協力援助をいただいたアスンシオン大学獣医学部長 Prof. Dr. Eduardo Ruiz ALMADA に感謝するとともに、実地に御支援、御協力をいただいた次の皆様方ならびに2牧場の関係各位に対し深甚の謝意を表します。

協力者：チームリーダー：海老名 六郎

専門家：小池和明

青年海外協力隊：山本 修

Prof. Dr. Juse Vicente NUNEZ

Prof. Dr. Hideo Alberto OKA

Prof. Dr. Oscar Anrbal Acosta Arrechea

Dr. Cever Cevero Baez Romos

Dr. Joel Guotavo Sanabria Gimenez

Dr. Cayetano Gimenez

Dr. Gaona

Dr. Franco

協力牧場：農牧省バレリート種畜牧場

ブエナビスタ（個人）牧場



▶ 写真 1
鎮静麻酔後の倒臥保定

写真 2 ◀
陰茎体背部の搔爬による
新鮮創作出



▶ 写真 3
ステンレス鋼線に
よる結紮固定

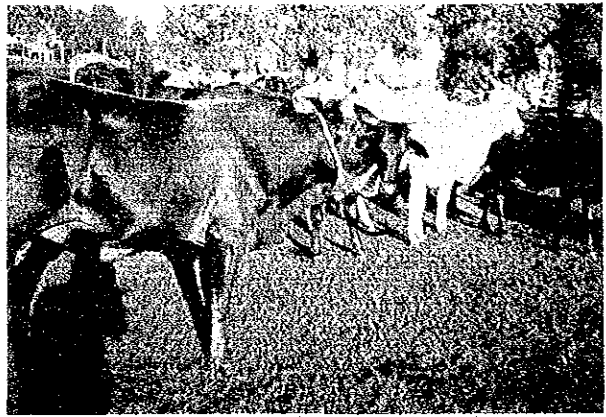
写真 4 ◀
再手術例No.1
完全に陰茎が包皮口から
露出している。





▶ 写真 5
陰茎側方変位法の一例

写真 6 ◀
チンボール（矢印）を
装着した発情発見牛を
雌牛群に投入し発情牛
を発見させる。



▶ 写真 7
チンボールを付けた発情発見牛に
乗駕されマーキングされた発情牛は
（矢印）選別され人工授精される。

II 試験的牛受精卵移植

第1章 パラグアイ国家畜繁殖改善計画における牛受精卵移植技術の位置づけ

1-1 はじめに

牛の受精卵移植技術 (Embryo Transplant 以下 ET と略す) は米国、カナダで1970年代に入り商業的に実用化された技術で、今日では日本、ヨーロッパ、オーストラリア、ニュージーランドなどの国々でも試験的段階から実用化されるにいたっている。さらに凍結受精卵技術の成功により長期保存が可能になり国際間の売買まで行われるようになってきている。

しかし、これらのETを実施している先進国の活発な動きに比べて、その他の国々は試験段階またはそれまでにいたらない国が多く、開発途上国では、ほとんどの国でETを実施するまでにいたっていない。パラグアイ国家畜繁殖改善計画においてETを実施計画に組入れることに関して、これまで時期尚早論から各種の消極的意見も述べられてきた。開発途上国であるパラグアイ国において牛受精卵移植技術の位置づけについてここに論じる。

1-2 パラグアイ国において牛受精卵移植を要望される畜産事情

当国の牧畜の中心は肉牛であり、その飼養形態は主に粗放的放牧が行なわれている。その詳細は1982年のプロジェクトファインデング調査報告書に記されている。

春期(10~12月)の栄養回復とともに発情が発来し、初期には一部の牧場では人工授精(AI)を行なう(写真1)。しかし、大半は巻牛による交配により妊娠、分娩が期待される。その結果3才で初産、隔年分娩で7~8才までに平均3産した後に食用に供される。したがって繁殖学的見地からみれば、きわめて遅々として家畜の改良は進展せず、AIを実施しているほんの一部の牛を除いてむしろ雑種化を助長し、気候条件の劣悪な冬期間の栄養不足と重なり、矮小化の傾向さえ急愼される。

AIは雄側からの育種改良を主目的として行なわれるものであるが、当国での普及は限られた地域あるいは一部の牧場でしか実施されていない。前節I発情発見法の改善でも述べたように発情発見の技術的不完全さや半野性化した牛への授精の困難さなどがあり、AIの普及は低い。しかし、AIの普及の低下の要因として優良種雄牛の絶対数の少ないことも否めない事実である。飼養頭数600万頭に対してAIに用いられる種雄牛は100頭と極端に少ない。これらの原因として国内では優良種雄牛の供給はほとんど望めない(写真2)。限られた外貨枠のなかでブラジル、アルゼンチンあるいは米国から輸入されている。しかし購入された種雄牛もパラグアイの気候条件に適するようになるまで相当の時日を要し、さらにブルセラ、結核などの伝染病に感染する可能性やアナプラズマ、外部寄生虫などに侵される例もあり供用されるまでに至らない雄牛もいる。

凍結精液の各国からの売り込みは激しく、世界中の人工授精センターの名前を見聞きできる国であるが、外貨事情が好転しない限り本格的なコマーシャルベースにすぐには乗れないとみられている。

一方、雌牛側からの育種改良促進効果は大きく、優良雌牛の導入が強く望まれている。しかし、せっかく導入された優良、純粋種雌牛も耐病性、耐暑性の点で問題が起き、実用に供されるまでの時日を要したり、繁殖用に供される前に斃死、処分する場合もある。

飼養力の低い広大な牧区に多頭数の牛群の粗放的放牧が当国の飼養状態の改善、養分摂取量の増加による増体量は望めない。繁殖学上の見地からしても発情発来が遅延と2年に1回程度の出産しか得られないという非常に不経済な悪循環を繰り返すことになる。栄養上の改善のために適切な頭数の設定と牛群の資質を高めることが飼養条件を好転させることになると考えられる。

1983年の大洪水による大量の牛の溺死などによる損失は甚大であった。これは当国に限らず周辺のアルゼンチン、ブラジルも同じ事情であった。残された当国の牛も経済力が当国よりも強いアルゼンチン、ブラジルへ一部は流出しており、600万頭から相当数が減少したとも言われている。やがて繁殖牛の絶対数の減少から出生仔牛の減少による牛肉資源の不足、空白期間さえ予想されている。

パラグアイ国は活用される鉱物資源も乏しく、内陸という交通的に不利な条件下で牧畜がこれまで当国の経済を主に支えてきており、今後も基幹産業としての地位は揺ぎないものと考えられる。しかし牧畜の伝統的な飼養形態を引き継いできた今日では、技術の立ち遅れによる低生産性や国際競争力を失いつつある。

この国の畜産業に対して指導者育成、新技術の導入、普及、家畜防疫など諸々の政策や海外からの資金、技術面の援助を受けながら、独自の活路を見出すべき努力が払われつつある。その中の一つとして本家畜改善計画の実施は位置づけられており、それだけにその成果に大きく期待が寄せられている。しかも、アスンシオン大学獣医学部を中心に本実施計画が組まれているが、バ国では当学部はオピニオンリーダー的存在であり、その影響は直接政策はもとより実践現場へも及ぶ力をも備えている。そのような条件下で期待とともに責任も重いものがある(写真3)。

家畜繁殖改善計画の家畜衛生、家畜栄養、家畜人工授精のいずれも主要事項であり、全体が有機的に連携を持ちながらそれぞれの事項が実地に達成されてこそ実り多きものとなると考えられる。

1-3 パラグアイ国における牛受精卵移植の効果

ETを実施することにより良質牛の短期間の増数は言うまでもない。パラグアイ国において7~8年で1頭の牛が3頭程度しか生産しないのに比べて、ETによる生産では諸々の条件が予想通りに行われれば、これまで1頭の雌牛が一生かかって出産していた3頭余りを1回の処置で1年以内に生ますことができることになる。しかも、これまではAIにより雄牛側からの改良から、雌牛側からの改良も進められ、国全体として牛群のレベルアップに役立つことになる。

海外から導入された良質牛が厳しい気候条件に順応し、耐暑性、耐病性を得るまでも長時日を要している。さらに受精、妊娠、出産までの諸々の困難と管理が要求される。しかし供卵牛(Donor)から得られた受精卵を在来牛群に移植することにより、その受卵牛(Recipient)の耐暑性、耐病性については何等問題はない。

また、最近のETの研究の中で受精卵を介しての伝染病伝播の有無に関する報告が次々に出されている。そのなかで疾病陽性牛をDonorとしても陰性牛をRecipientとする場合必ずしも受精卵を経由して伝播されていない。ウィルスの性質や量により異なることも考えられ、今後の研究に期待するところであるが、各種伝染病が存在するとされる当国において、その応用研究が望まれる。

ETを実施することにより能力および血統的にも良質の基礎牛群を作る系統繁殖に適している。これまでの系統繁殖には長時間に亘る辛抱強い交配の組合せと莫大な費用をかけて特定の基礎牛群

を作り出している。これまでの方法をバ国で踏襲してゆくとすれば、これまで実施した各国に比して、さらに数倍の期間を必要すると予想される。

ETを組み入れることにより急速に質の向上を図るしか今のところ適切な方法はみあたらない。外貨事情の慢性的悪化により、これまでも数年に1~2頭の種雄牛しか購入されておらず、ここ数年来は種雄牛の導入は行なわれておらず、また今後も見通しはついていない。次期種雄牛の補充購入の時期が間近かになっているにもかかわらず、現有種雄牛は次第に老令化してゆき、空白期間の出現さえ予想される。現時点でわずかばかり残されている優良牛の中からETにより早急に種雄牛候補の作出が望まれておりETによる方法以外に対策は見当らないし、輸入牛に比べて経済的メリットも大きい。

1-4 畜産学、獣医学分野に対する貢献と国際性

ET技術に関しては1970年代には一部の研究者や専門研究所、会社、団体でしか行なえないような技術上のノウハウが多くあった。それは商業化が早く進み、多くの未知の部分が解明されないまま実用化されるという畜産界の要求と、ETを事業とする会社、団体の利益を守るために秘密にされる面が多々あった点に起因していた。しかし各種の技術の進歩により Donor の手術的回収方法から非手術的方法へ、Recipient への手術的移植から非手術的方法へと移行するにつれて実施者や研究者が増えてくるきっかけを作った。研究情報の交換が容易かつ栄えある今日、誰もが情報を得られるようになってきているし、世界各地でいろいろな形でETの研修の場が提供されるようになった。

一方ETによる産仔が出生するまでの一連の段階を追ってみると、それぞれに多くの問題と経験を必要とする所が多数あり、しかもETを成功させるには、そのいずれをも蔑ろにできない。ET産仔の出生までの各段階を追うと表1のようになる。

表1. ET産仔の出生までの段階

1. DONOR の血統、個体能力調査
2. DONOR の健康診断、伝染病の有無、繁殖能力調査
3. DONOR の性周期の確認
4. DONOR への過剰排卵誘起処置
5. DONOR の処置後の発情発見と人工授精
6. RECIPIENT の選択、健康診断、性周期確認、体格検査
7. RECIPIENT の発情同期化
8. 回収液調整、回収器具の準備消毒
9. 移植器具の準備
10. DONOR からの卵回収
11. 回収液の検卵、取り扱い、保存
12. RECIPIENT に移植
13. RECIPIENT の妊娠診断
14. RECIPIENT の妊娠中の飼養、管理、分娩、管理

このような主な段階だけを挙げても多くあり、家畜繁殖学の知識のみならず、畜産、獣医学の全ての知識と経験を必要とされる。これらのいずれの段階の一つでも不完全のまま次へ進めばその成功を望めない。

畜産、獣医学の包括した最新の技術の経験、知識を必要とする以上、その関連した分野に活性を与える結果になり、その貢献するところは畜産、獣医学の国際的水準から取り残されることなく畜産国としての進むべき方向を模索し得る国際性と実力を付与するものと考えられる。また本計画がアソンオン大学獣医学部を主たる対象としている以上、学究的環境作りに支援、協力を押しすすめるべきものと考えられる。

近隣諸国（アルゼンチン、ブラジル、ウルグァイ、チリ）でも米国、カナダ、日本、ドイツなどで研修した技術者達がETの試験的段階から実地へと向いつつある現状のなかで、今パラグァイで日本の技術協力で行なえば、これらの国々に比肩できるまでに短期間に達しうる実力を充分備えているとみることができる。しかし、各国の受精卵の売り込みも栄人になりはじめていたのでET先発国のET会社のTargetになる可能性も充分あり、今がET技術移転の最も効果的な時期であると考えられる。

1-5 パラグァイ国における牛受精卵移植実施における諸問題

1) DONOR 牛および RECIPIENT 牛について

ETを行なう Donor としての資質を持った牛は極めて限られており、純粋種もわずかしかない。従ってこれらの少数の牛を基礎にパラグァイに適した体格、能力、産肉性を持ち、しかも耐病性、耐暑性を持った良質牛群の拡大のために早期に ET による数の増加を計らなければならない。

RECIPIENT として使われる可能性のある牛は、栄養低下と雑種化により体格が貧弱で、繁殖機能も牧草の状態により一定していない、しかも特に、大型の産仔を移植されると難産の可能性があり、しかも半野性化した放牧牛では難産介助、特に帝王切開実施の困難さが予想される。

耐暑性の高いゼブウ系牛の特長として発情徴候の確認が難しく、I.発情発見法の改善に関する報告で述べた発情発見用雄牛を作出し活用することなどにより、確実な発情発見方法を確立する必要がある。

2) 技術移転について

JICA の短期および長期の日本国内での研修経験者は 17 名に達している。農林水産省福島種畜牧場での人工授精コースを研修した 5 名の中には ET を研修してきているカウンターパートも含まれている。

1981 年 8 月に 1 か月に亘り JICA 短期専門家として金川弘司教授が ET に関して実施指導を行っている。その後特記すべき試験は実施されていないが、人材の活用により実地指導を経て技術移転への困難性は少ないものと考えられる。

3) ET に使用する薬品、器材について

ET に使用する薬品、器材のなかには特殊なものも含まれ、日本国内でも輸入品に頼らざるを得ない資材もある。これらの薬品、器材を現状ではパラグァイ産に求めることはできない。いずれの開発途上国と同様に当国においても、ほとんどの工業、医薬品は輸入品に頼っており、畜産、獣医用品も例外ではない。当分の間は供与機材に頼らざるを得ないが、パラグァイに適した方法

を誘導することにより、また国内で調達への努力を払うことにより、国産品化（パラグアイ産）への道も開けるものと思われる。さらに、工業力のあるアルゼンチン、ブラジルに隣接しているのでこれらの国々からの調達可能なものもある。

4) 後代検定への ET の活用

AIによる改良、増殖を図り、良質牛の増加を望むとともに、輸出の増大を助長するためには正しく評価された後代検定済の種雄牛が望まれる。これまで限られた種雄牛の中で体型と風評のみで能力を余り重視しない種雄牛が評価されがちであった。後代検定を実施するには一朝一夕にはゆかないが、将来、後代検定がプログラムに載るべくパラグアイ国の牛の質の向上とほぼ同時期に複数の産仔を得られるように ET を活用したい。

5) パラグアイ国における ET の実践方法

ET実施にあたり家畜繁殖学のみならず畜産、獣医学の全ての手法を網羅しなければならない。それぞれの段階において、パラグアイ国なりの問題と解決法があると思われる。その一つ一つについて細心の注意を払いながら再点検し実践方法を検討する必要がある。

以上述べたように ET については短期間に行える良質牛の増殖技術法であり、パラグアイの畜産事情から特に望まれる一つの方法であるとともに ET を行なえる環境作りを実施するためにパラグアイ国家畜繁殖改善計画の大きな目標として位置づけられた。本計画の一つの目標として掲げ実施することは本計画の家畜衛生、家畜栄養、家畜人工授精のそれぞれの一つ一つの事項を再評価することにもなる。

1982年ペルー、リマで行なわれた中南米諸国の家畜繁殖学のセミナーのなかで ET に関して討論があった。その中で先発の中南米以外の国々の出席者が ET を行なうことは時期尚早であると意見が述べられたのに対して、中南米各国の出席者から獣医畜産界の国際的レベルから脱落しないためにも、今こそ ET を推進すべきとの意見が出された。先に述べたようにパラグアイの畜産が将来にわたって発展し、国際競争力を得るためにも ET を推進すべきであると結論する。

第2章 パラグアイ国家畜繁殖改善計画における牛受精卵移植技術試験計画方針（自83年10月 至 84年3月）

2-1 はじめに

いわゆる開発途上国と言われる国々でデモンストレーション的なものを除いて ET が本格的に行われている前例を知らない。欧米、日本等で実施されているそのままの方法を持ち込んでも必ずしも同じような成果が期待できないし、技術移転も容易ではない。社会環境、国民性、天候に加えて牧場の規模、業務体制、品種などの基本的な点を踏まえたうえで、初年度6カ月間に今後実行されてゆく計画の基礎づくりとなることを考慮した。

2-2 専門家の配置

日本人専門家の配置は次の通りとした。

チームリーダー 海老名 六 郎（長期）……………総括

小 池 和 明（ ）……………臨床部門、特に手術法の担当

山崎 大 輔 (長期) …… ET 全般実施専任者
 松岡 栄 (〃) …… Donor, Recipient の飼養指導
 調 整 員 早瀬 隆 昌 (〃) …… 卵の取扱い他, 凍結受精卵担当
 井上 忠 恕 (短期) …… ET 全般実施補佐

初めて組まれたチームであり技術経験もまちまちであるので, 一応それぞれが全体を経験しうるように作業を進めた。(写真4)。

2-3 カウンターパートの配置

JICA の人工授精研修を経験した2名を除き ET 実施の経験はないが, 全員がほぼ同じ臨床経験レベルとして特に配置上の区分は設けなかった。

Prof. Dr. Hideo Alberto OKA ※ JICA 個別 (畜大) 家衛試集団

Dr. Cever Cevero Baez Romos

Dr. Joel Gustavo Sanabria

Dr. Cayetano Gimenez ※※ JICA AI 集団コース

Dr. Franco ※ JICA AI 個別

Dr. Gaona ※※ JICA AI 集団コース

注※ JICA 研修経験者

※※ 農林水産省福島種畜牧場の人工授精コース研修

(ET 研修を含む) 経験者

尚, これらのカウンターパートは2~3の兼務があり, 終日大学に勤務しないので, その勤務体制を把握しないと午前から午後へと連続する業務はスムーズに行なわれないこともある。勤務時間は午前7:00~11:00, 午後2:00~6:00となっている。土曜日はほとんど勤務しない。

2-4 ETの基礎概念理解のための情報提供

カウンターパートおよび獣医学部関係者にETの基礎概念理解し, 本計画の推進協力を得るために以下の情報提供を行なった。主に, 山崎専門家着任(83.8)以来, 同氏を中心に行なわれた。

1) JICA 人工授精研修コース用テキスト Textbook for Group Training Course in AI for Cattle の ET 編のスペイン語訳の配布

2) 83-10-4 5年次学生 特別講義(山崎専門家)

83-10-11 モデル牛舎全従業員へのスライドによる説明会(山崎専門家)

83-10-21 獣医学部理事会主催, 教官, 学生合同ET説明会(山崎, 井上)(写真5)

カウンターパート向けET技術講習会が次の日程で3週間, 講義7回(1回3時間), 実習10回(1回3時間)の予定で行なわれた。(山崎)

第1週	午 前	午 後
月	教材準備	講義2. Donor 選定と多排卵
火	講義1. 総論, ET 技術概論	実習1. 屠材による卵回収
水	講義3. Medium 作製, 器材滅菌	実習2. 屠材による卵回収
木	講義4. 受精卵回収	
金	教材準備と実習(Donor 選定直検)	

土 教材準備と実習 (Donor への注射)

第2週

月 教材準備と実習

火 講義 5. 卵検査と記録

実習 3. 屠材から卵回収

水 講義 6. 非外科的移植

実習 4. 屠材から還流卵検査

木 講義 7. 外科的移植

実習 5. 試験牛の外科的移植手術

金 教材準備と実習

第3週

月 教材準備

火 実習 6. 回収器材準備

実習 8. 卵検査, 非外科的移植

水 実習 7. 試験牛より卵回収

実習 10. 外科的移植手術

木 実習 9. 試験牛より卵回収

金 総括討論

6) ポストグラデュエイト研修会 (83-2-1~83-3-16)

人工授精研修の他, ETに関する講義2回 (山崎, 井上)

ETに関する実習 (山崎, 早瀬) を行なう。

7) 84-3-23 獣医学部理事会主催

牛の受精卵移植講演会 (井上) (講演要旨 添付)

2-5 ET用実験室整備と器材

本計画が開始され, 既に各専門家が配置されやがて1年になろうとしているが, JICAから供与機材も到着していない現状の中で, しかも本計画の主題の繁殖に関しては季節的制限を受け83年10月から試験を開始しなければならなかった。

実験室は, 器材保管倉庫の提供を受け, 給水, 排水, 電気配線整備, カーテン, 器具棚, 机, 椅子, コンロなどの最低必要な整備を83年9月からプロジェクトチームの手で行なわれた(写真6)。

あらゆる供与機材未到着のため, これまで単独派遣の短期, 長期専門家による携行機材, 単独供与機材を実験室に集め, 使用可能なように調整後配置した。一部は現地調達した(写真7)。

消耗器材あるいは寄贈資材を用い, さらに一部は追加購送してもらい, 急場しのぎ形で試験は開始された。

表1 主要備品リスト

83. 3. 現在

主要備品リスト	台数
オートクレーブ (電気式)	1台
乾熱滅菌器 (電気式)	1台
恒 温 器	1台
電圧安定用トランス	1台
実体顕微鏡 (写真装置付) (ニコン)	1台
実体顕微鏡 (オリンパス)	1台

2-6 ET試験の基本方針

本計画においてET実施計画を組入れることに関して消極的意見が述べられる中に、ET以前の獣医畜産技術のレベルを先に上げるべきとの発言がある。たしかに、そのような考えもあり、そのように実施されてきたものもある。しかし、この考えでパ国でも繰り返し同じようなことが行なわれてきた結果、常に牛後を歩かされてきた。そこで、一足飛びに最先端技術の一つとされるET技術への道を開き、大きなゴール目標を目ざすことにより、それに付随する技術レベルの上昇を期待したい。従って、極論すれば1頭のETによる産仔が生れなくとも妊娠分娩に至らない諸問題を解決しゆく過程においてその貢献するところは大きなものであると考える。

そこで、できうる限り可能な最新の方法、設備、器具、薬品を用いながら試験を進める基本方針で行なってきた。しかし、それは初期の現段階でのやり方であり、次第に当国の現状に即した方法を模索してゆくのは当然である。

また、専門家側、カウンターパート側ともにET技術の習熟度を上げるべく研修しながら、当地における最良の方法を検討してゆきながら本格的なET業務を行なう際の今後の為の試験研修期間とした。

第3章 パラグアイにおける牛受精卵移植基礎試験の概要 (自83年10月 至84年3月)

3-1 はじめに

本計画の5年間に実施予定されている試験的受精卵移植の基礎づくりのための試験として実施された。同時に専門家カウンターパートとともに技術研修の期間としたため、初歩的ミスによる失敗や習熟不足による成績への影響は当然予想された。

3-2 使用器材および試験牛

1) 器材

(1) 器材準備

牛体、受精卵に触れる器材から調整に必要な器材など、ほとんどのものが洗滌し、さらに厳重に滅菌消毒しなければならない。また全ての器材の洗滌に用いられる蒸留水の自家製造ができないため、他からの流用と購入により蒸溜装置の供与機材到着までの対応策とした。

オートクレーブと乾熱滅菌器の使用により滅菌消毒はほぼ目的を達しているが、加熱できないプラスチック製品、ゴム製品は薬浴あるいは紫外線、ランプ下照射を試みているがEOG(エチレンオキサイドガス)装置到着までは滅菌不完全なものが予想された。従って、滅菌済みディスポーザブル製品を多く用いる。

(2) 子宮還流液の調整

Eeagle MEM (Eeagle Minimum Essential Medium)を専ら子宮還流液として用いた。

Eeagle MEM は蒸留水 1,000 mlに 9.4 g を溶かし、バイアル瓶に入れて120°C 15分間オートクレーブで滅菌する。室温に戻した後に、紫外ランプ使用の簡易無菌箱内でゴム栓(滅菌済)をアルミシールで密栓する。予め準備した10%重曹水(NaHCO₃)を注射筒と針を用いてゴ

△栓を通して滴下して pH (6.8~7.0) を調整する。勿論手指は消毒し、さらに極力感染を避けるため火炎を用いて作業を進めた。

感染した MEM をチェックするため全ての調整済み MEM は瓶ごとふ卵器 (37°C) で培養試験を行ない MEM に入っているフェノールレッドの変化により検査した。さらに使用前 1% Antibiotic Antimycotic を加えて使用した。

(3) 受精卵保存液の調整

回収された受精卵は移植まで保存液に移し 3 回洗滌したのち同液とともに保存後移植される。保存液は既成の BMOC - 3 (Brinster's Medium) (LIFE TECHNOLOGIE, INC) あるいは Dulbecco PBS(+) に 15% Fetal Calf Serum (牛胎児血清) を加え、メンブランフィルター (0.45 μm ポア) を通して使用した。本液には 1% Antibiotic Antimycotic を加えた。(写真 9)

(4) 子宮還流用カテーテル

子宮還流用カテーテルは Foley のカテーテルを延長し、さらに先端部には金属製の小孔のあいたチップを付けた。子宮角まで誘導するには弾力性のある内針を用いた(写真 10)。

(5) 回収卵検索用器材

回収液は一旦 500 ml シリンダーに入れて 30 分以上静置するため滅菌したシリンダーを左右子宮用と上清用を準備した。

卵検索用大シャーレ (90%) と保存用小シャーレ (30%) を準備し、沈澱物の検索には注射針を用いた。卵の取扱いには 20 μm マイクロオートピペットを用いた。

2) 過剰排卵誘起処置用薬剤

パラグアイにおける ET に有効な薬剤および適切量を検討するために次の薬剤を用いた。

- (1) 妊馬血清性性腺刺激ホルモン (Pregnant Mare's Serum Gonadotropin - PMSG と略す)
- (2) 卵胞刺激ホルモン (Follicle Stimulating Hormone - FSH と略す)
- (3) プロスタグランジン (Prostaglandin F₂ α - PG と略す)

3) 記録用紙

全ての記録を記入しやすいように、a) Donor 記録票、b) Recipient 記録票、c) 回収卵記録票を作成し記録した。

4) Donor (供卵牛)

獣医学部附属牧場 (Tambo Modelo) 繋養のブラウンスイスおよび国立バレリート種畜牧場のネローレ、ブラーマン、サンタヘトローズなどを試験に用いた (表 2)。

獣医学部附属牧場のブラウンスイスはヨーロッパ種の一乳牛の Sample として、また今後 ET により短期間に頭数の増加を計りたいとの要望によるものである。

国立バレリート種畜牧場では、パラグアイ国の一般的放牧形態下の各種条件の検討およびパラグアイ国全体でも多く飼養されているゼブウ系牛の ET 実用化の可能性を検討するために計画された。

表2 供与 Donor の品種

84.3.1 現在

品 種	頭 数	繫 養 地
ブ ラ ウ ン ス イ ス	5	獣 医 学 部
ネ ロ ー レ	26	バ レ リ ー ト 牧 場
サ ン タ ヘ ト ロ ー ジ ス	5	〃
ブ ラ ー マ ン	6	〃
リ ム ジ ン	1	〃
計	43	

5) Recipient

Donor と同じ性周期の雌牛を選ぶことにより回収卵の発育ステージと一致することを予想して Donor の PG 投与後の発情の前後1日の発情牛を含めて Recipient とした。次の3カ所の牧場の発情牛を Recipient とした。

(1) SENACSA 隔離牧場

非妊娠牛から無差別に直腸検査により黄体の存在ならびに頸管、子宮の異常を検査し、しかも体格および性質が柔順な牛を選ぶ。直ちに Prostaglandin $F_2\alpha$ 15 mg を筋肉内投与し、2日後に発情発来を期待した。同牧場から獣医学部(距離150 km)にトラックにて輸送して Recipient として使用するよう計画した。

(2) ブエナビスタ牧場(民間牧場)

Donor の発情に合わせて1 Donor 当り最低10頭の発情牛を人工授精をせずに残してもらう。発情発見は朝夕馬上から牧童による観察により選出された。

(3) 国立バレリート牧場

繁殖シーズンの後半のため Donor の発情に合う発情牛のすべてを人工授精をせずに残し、発情発見牛(Teaser Bull)または牧童により発見された発情牛を選出した。

3-3 試験方法

1) ET スケジュールの作成の基本

発情確認後9~14日目に PMSG 投与または FSH 投与を開始する。その後2日目に PG を投与し、さらにその2日後頃に発来する発情に人工授精し、またさらに7日後に卵回収(移植する。このスケジュールをカレンダー上で誤りのないよう、また分娩予定日も含めて、各種日程を検討できるように予めスケジュール表を作成し、これに従って計画を作成した。土曜日、日曜日あるいは祭日は作業が予定どおり進まない、できるかぎり避けるような日程の組み方をした。国立バレリート牧場での試験ではカウンターパートの1名を1週間ずつ常駐させて実施した。

2) 過剰排卵誘起処置

(1) PMSG

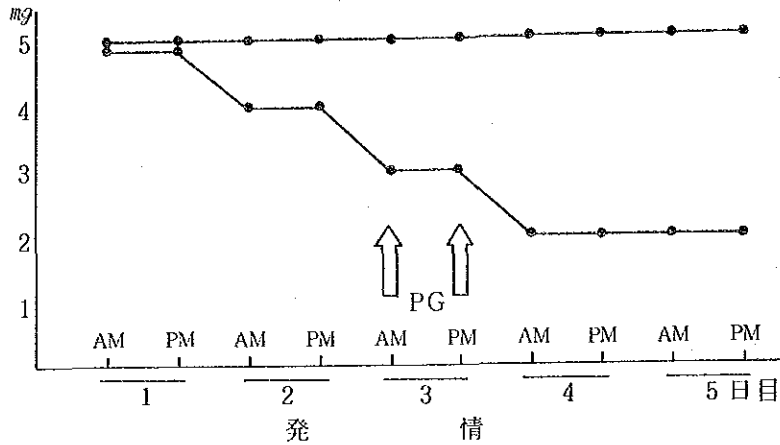
年齢および体重により増減させ1500 iu から3000iu をそれぞれに筋肉内注射した。

(2) FSH

FSH を8~10回に分けて1日2回朝夕(ほぼ12時間間隔)筋肉内注射した。各5 mg ずつ

投与方法と漸減する方法を比較検討した(表3)。

表3 FSH 投与方法



(3) PG

PGは1回または2回投与あるいは量を変えてPMSGまたはFSH投与開始2日目約40~48時間後に筋肉内注射した。

3) Donorの授精

発情開始から大体12時間間隔で2回錠剤凍結精液をピペットによる注入法で直腸腔法で行なった。一部、膈内からの感染予防のためにシーカバーを使用した。

発情開始時間を特定できなかった例では3回授精も実施した。

4) 卵回収手技

(1) Donorの保定

ブラウンスイスは簡易枠場内起立保定で5mlキシロカイン尾椎麻酔のみで行なった。

Donorは全てコラールに誘導し、シュート(セボ)で保定、Donorの性格により尾椎麻酔、鎮静麻酔剤投与、吊起帯、電気鞭をそれぞれの状況により使用した。

(2) 卵回収用カテーテルおよび還流液の準備

卵回収用カテーテルは、逆性石鹼に浸しておき、内針およびカテーテルともに生理食塩水およびMEM液で逆性石鹼を洗い流してバルーンの破損がないことを確認した後に使用した。

還流用MEMは外気温に戻した後に50mlディスプレイ注射筒に30~50mlバイアル瓶ゴム栓を通して吸引した。

(3) 卵回収要領

外陰部周囲を十分に洗いアルコール綿花で清拭したのちに拡張棒で頸管を拡張する。次にカテーテルを内針とともに挿入し、片方の子宮角まで静かに押しすすめる。バルーン16~18mlの空気を入れた後に内針を抜去する。還流用MEM液を20~50ml用い、子宮の大きさに応じてはじめは少な目にし、後半にしたがい量を増してゆく。1回の注入量の約半量までゆっくり注入し5~10ml吸入を試み、抵抗がなければ全量をさらに静かに注入する。子宮角先端を高くして再びその注射筒で還流液をゆっくり吸入する(写真11, 12, 13)。注入量に達したら注射筒を交換し還流をくり返す。左右子宮角それぞれ5~6回還流する。

5) 回収液の卵検索

回収液は500 mlシリンダーに入れ30分以上静置する。その後液面の先端部から注射筒に精液注入器用シースを用いて、ゆっくり吸引し別のシリンダーに移す(写真14)。残り約100 mlで一旦吸引を止める。更に25 mlを静かに吸引し、これは注射筒に入れたままにする。残りの液を大型シャーレ3~4枚に移す。回収液の入っていたシリンダーは注射筒に入れてある。25 ml回収液でもう一度洗い、これもシャーレに入れ鏡検する。必ず複数で実体顕微鏡で検索する。卵はオートマイクロピペットで保存液に移し、発育ステージ移植の可否を決める(写真15)。

6) 受精卵の移植

移植可能な受精卵はできるだけ採取後短時間に移植した。獣医学部附属牧場のブラウンスイス5頭をDonorとした例は1個を除き200 km車で運搬後移植した。非手術的移植および手術的移植の両方法を試みた。

(1) 非手術的移植

保存液 BMOC-3 または 15%胎児血清 Dulbecco PBS に保存された受精卵は0.25 ml ストロローに入れ人工授精用注入器または移植専用注入器を用い、黄体存在側の子宮角前端へ移植した。外陰部は十分に消毒し、さらに注入器はカバーで外子宮口まで被い。その後注入器を推進させた。頸管が緊縮しているRecipientは拡張棒で拡張後注入器を挿入した(写真16)。

(2) 手術的移植

黄体存在側の臍部を剪毛し、腰椎側神経麻酔および尾椎麻酔を使用し、臍部三角形の最後部を三角形の一辺に沿って腰角下よりまや斜め前方に向かって切皮する。

術者の手掌が入り充分ゆとりのある程度(15~20 cm)を外腹斜筋膜までメスで切開する。手刃型にした指で外腹斜筋および内腹斜筋を鈍性に左右に開き、最後に腹膜に指で穴をあける。子宮角を切開創までひきよせ鈍針で子宮角内腔まで刺入し小孔を開ける(写真17)。予め準備した受精卵を保存液とともにすばやく確実に受精卵を子宮内腔に注入する。

腹膜、筋層、皮膚をそれぞれに縫合し抗生剤を投与する。さらに蠅の防除剤を創面に散布した。

3-4 試験結果

PMSG および FSH 投与による過剰排卵処置した43頭中、35頭はPGF₂α投与後2日目以内に発情が見られ人工授精したが、同一日にFSH投与群8頭全例が発情徴候が確認されず人工授精されなかった。これは激しい降雨のため確認されなかったもので、後日直腸検査により、それぞれ数個ずつ過剰排卵による黄体が存在していた。発情後7日目あるいは8日目に非手術的に卵回収を実施した。その結果、表4に示す通り授精を中止した8頭を除く35頭中10頭が、それぞれの理由により卵回収が中止された。回収用カテーテルが頸管を通過させることができなかった5頭は子宮生殖器全体の発育が不十分で小型のもの他、極端に頸管が屈曲している例や頸管が完全に閉鎖している牛もいた。さらに興奮した後伏臥したり、少量の沈静剤投与により伏臥、転倒、逃走した牛もいた。

25頭の供卵牛は、卵回収はほぼ順調に行われ、注入した還流液もほとんど全量回収された。自家製カテーテルの使用により、また注射筒を用いて注入した還流液を吸引回収する方法により、外部

からの塵埃を混入させることなく、しかも多少の興奮、動揺によっても還流液を漏出させることなく完全に実施できた。回収された卵は表5に示す通り実体顕微鏡下で評価したA, B, C, Dの4段階に分類して示した。

表4 卵回収中止理由

回収中止理由	頭数
興奮伏臥	3
頸管通過困難	5
歩行不能(腱断裂)	1
卵胞囊腫	1
計	10

表5 回収卵の品質

卵の品質ランク	個数
A	30
B	18
C	10
D	53
計	111

回収卵総計111個中移植可能なAランク30個、Bランク18個に比べ、Cランク10個、Dランク50個と約60%が不良卵であった。特に未受精卵あるいは完全に変性しているDランクが多かった。

最終的な移植成績は判明していないが、手術法で移植した全例12頭はいずれも発情が回帰し受胎していないとみなされた。

3-5 考 察

パラグアイにおける肉牛の飼養形態は自然草地による年間放牧を主体としている。また概ね亜熱帯性の気候条件で7, 8, 9月の乾期には牧草は枯れ、低栄養のため、牛は1日当たり1kgずつ体重が減少しており、特にこの期間は繁殖能力は低下し、卵巣静止の状態である。乾期が終り春から夏にかけて牧草が十分に採食できるようになり発情発来があり、この時期が一般にも繁殖期に利用されている。改良牧草地であってもほぼ同じような状況下におかれており、特に受卵牛を選ぶとしてもほぼ同一条件であるので将来の本格的実用化を考慮しても、従来から実施されている繁殖時期の期間(10月~1月)に本試験を行ったのは妥当であろう。

受精卵移植を確実に成功させるためには、発情発見も主要な点である。発情発見方法は牧童による朝夕2回の馬上からの観察に加えて今回、発情発見用雄牛を用いることにより、供卵牛および受卵牛の発情発見が更に効率ようになった。しかし前年度までの発情発見率の詳しい記録がなく直接比

較できなかった。本試験中同一日からFSH投与を開始した8頭全例が、後日明瞭な黄体が確認されているにもかかわらず、発情徴候を確認できなかった。これはちょうど発情日当日の荒天によるもので、このような際の対策を検討しておくべきである。

授精できた供卵牛35頭中10頭もの供卵牛が卵回収できなかった。カテーテルを子宮まで挿入できなかった牛が5頭もあり、回収技術の習熟と供卵牛の選択の段階で十分に検査すべきである。また、野性化した牛を使う場合は順致等も考慮すべきである。また保定枠の構造にも改善工夫が必要である。

回収卵総計111個中48個が移植可能卵で不良卵が多かった。その原因をはっきりさせることはできなかったが、人工授精が鋭剤精液であり注入操作までの汚染、あるいは移植時の腔内細菌の子宮内への持ち込みなどが疑われるが、今後の検討課題である。

移植成績では、これまで多くの報告で手術法の受胎成績が非手術法に比べ高い。本試験で手術法の全例で発情回帰が見られたのは、手術室が不完全で、枠場に簡易の屋根のみの状態であること、術者と受精卵注入者とのタイミングなど習熟していなかったことなどから再考されなければならない。

以上、パラグアイにおける牛の受精卵移植の基礎試験を試みたところ一つ一つ解決しなければならない問題が残されているが実用化に向けて踏みきれる先駆けになったと思われる。

第4章 パラグアイ国における牛受精卵移植の今後の課題

4-1 はじめに

パラグアイ国に着任以来わずか5カ月余りで、しかも移植の成績が出ていない段階で結論的な事は言えない。しかし、これまでに経験した事から今後の課題について述べる。今後ともさらに継続される本計画であるので現在および後任の専門家により訂正あるいは新たに問題が提起されるであろうことは当然である。

4-2 ETデモンストレーション牧場

ETによる成功例の増加と啓蒙により、これまで以上に良質牛のET希望が増えることは予想される。場合によっては新たに輸入してETによる産仔を望む場合も考えられる。さらに発展してコマーシャルベースでのETを主とする牧場の出現までも十分に可能性がある。

このような状況の出現が当国においてETを発展させ良質牛によるETによる牛群の改良が促進されると考えられる。

そこで本計画の演習牧場の中で少数例でもET産仔の体格、発育曲線、産肉性あるいは乳量に関する成績を取りまとめられるように計画すべきであろう。また、それらと比較するために、これまでもあるいは今後の成績を取りまとめることが望まれる。これらを実現するためには、いろいろの困難もあり、また交配計画をどの程度立てられ実現できるかにかかっている。しかし、いずれにしても何等かの形で科学的にETによる改良結果を公表できるようにすることが期待される。

4-3 Recipient 牛群あるいは専用牧場

雑種牛が多数いるのに比して実際にRecipientとして使用する段階になるとそれに適する牛が少ない。その主な理由として a) 野性化した狂暴なセブウ系牛が多い、b) 小型すぎて非手術移植の

困難あるいは難産が予想される牛が多い、c)発情徴候が弱く、卵巣機能が明らかでない、d)自然牧草の放牧下の栄養低下により繁殖シーズンに限られ、しかも短期間である。しかも、既存の牧場の Recipient を使用すると次のような不都合な理由がある。e)繁殖シーズンが始まる10月頃から順次人工授精される。一方、ETに利用される Donor も同時期から発情の発来がみられる。一般に Donor は正常な発情を1回以上確認後 ET のスケジュールが組まれる。したがって繁殖シーズンが始まり同時に発情がみられても、Recipient に移植するまでには過剰排卵誘起処置等を含めて1カ月近くも差がつく。さらに移植が後半にずれれば繁殖シーズンは始まり、すぐに発情発来がみられるような順調な繁殖機能を持つ牛は少なくなり Recipient としては受胎性が低くなる可能性があり、しかも頭数も減少してゆく。f)多頭数で群単位の管理が行なわれる結果 Donor, Recipient, 一般の授精牛と繁雑な選別を行なわなければならない、能率よく管理しにくくなるとともに誤認の可能性もある。

以上のようなことからパラグアイにおいて ET 用の Recipient 牛群あるいは専用牧場の創設が課題となる。Recipient として在来牛をそのまま使うか、順致させる必要があるか、あるいは性質のおとなしい品種を選ぶかの検討が必要である。

4-4 ET 専用設備

パラグアイにおける牛の品種およびその牛の性格からして、さらには多頭数を能率的に行うにはコラール、シュートの使用は必須である。しかし、これまでのコラール、シュートは、牛の選別、投薬、臨床的処置、人工授精などを主体として設置されている。ET を実施するためにそれに適したコラール、シュートの改善が必要である。また同時に複数の牛を予め準備し、卵回収や Recipient への移植が望まれる。そのために複数のシュートを使えるようにコラール全体で再検討する必要がある。また、これに近接した ET 処置室あるいは ET 処置移動車を作り、シュートに横づけできるような設備に改善の必要がある。しかも天候の変化が激しく全天候型になる設備が望まれる。

4-5 ET 研究グループの創設

ET はまだ完全には確立されていない新しい技術であるがゆえにまさに日進月歩で世界中で実用化および研究面の新知見が得られている。それらの成果は次々と公表されている。数多くの情報の中からパラグアイに適した情報を交換するとともに、世界の趨勢に遅れないように ET に関する研究グループの創設を期待したい。しかも、これらの研究グループにより ET 技術の研修、ET に伴う規準の作成、一般牧場向けの ET の理解広報などに望みたい。

この研究グループが発展充実するなかで今後の課題とされている体外培養、性別の支配あるいは判定、人為的分割さらには体外受精などの研究の足掛りをつかめれば、その役目は十分に果たすことになる。

4-6 凍結受精卵の試みと今後の応用

予め Recipient を準備する必要のない凍結保存は、特にパラグアイにおいて必要と思われる。季節的および栄養的影響を受ける結果、繁殖シーズンが春期から夏期の短期間になる。その結果、せっかく良質卵が得られるようになった時には適した Recipient は少なくなり妊娠率に影響するようになる。Donor および Recipient のそれぞれが最も繁殖機能が良好な時期に処置できる受精卵の凍結保存の応用により、良好な時期を得てより高い妊娠率を得るように望まれる。

良質種雄牛の新たな導入が望まれている。伝染病および気候に対する適応性などを考慮すれば、今後凍結受精卵の応用が考えられる。その為にも今からその基礎的試験を実施しておく必要がある。そして品種改良のための原種牛の導入先として特に望まれているインド方面からの凍結受精卵の輸入も今後の課題として検討すべきであろう。

4-7 まとめ

パラグアイ国家畜繁殖改善計画における試験的受精卵移植を初年度6カ月間試みたところ、種々の課題は残されてはいるものの、今後の実施努力の中で一つ一つ問題を解決しながら、本計画に添った目的が達せられるものと思われる。パラグアイ国の家畜繁殖の改善に ET 試験が寄与し、しかも大学における研究、教育に新たな分野を提供し、獣医学のレベル向上に役立つものと思われる。

最後に、この ET 試験は特に数多くの人々の協力なしには成り立たない。直接、間接ご協力いただいた本計画専門家各位、パラグアイ側カウンターパート、各牧場関係各位に感謝申し上げます。

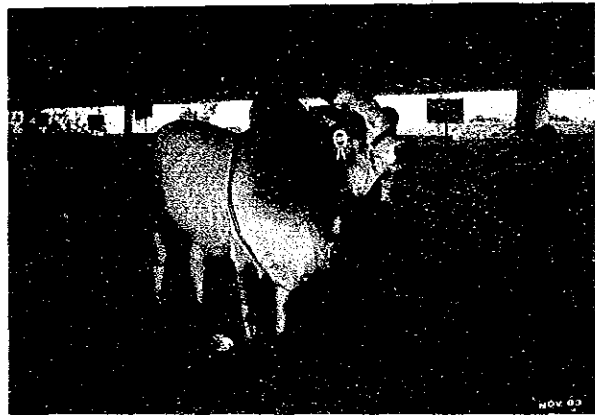


▶ 写真 1

国立バレリート種畜牧場の牛群
早春になりやっと発情の発来がみられ
はじめ人工授精による交配が始まる。
この頃は削瘦した牛が目立つ(83-10-14)。

写真 2 ◀

共進会優秀雄牛
一部の牧場にしかこの
ような優秀牛はいない。

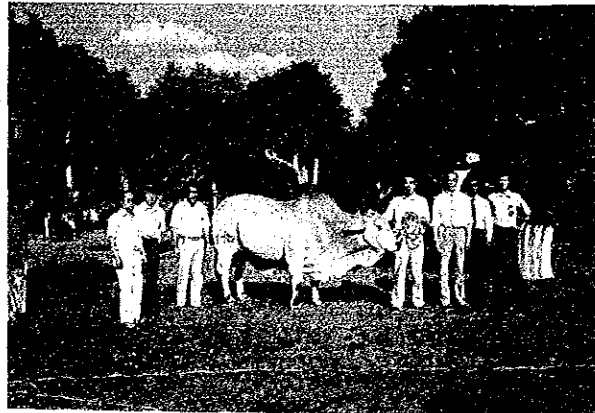


▶ 写真 3

アスンシオン大学獣医学部の実験棟、
中央の建物の右側に E T 研究室を置
いた。

写真 4 ◀

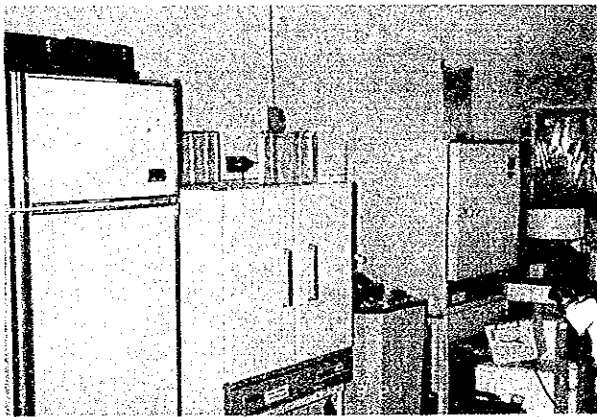
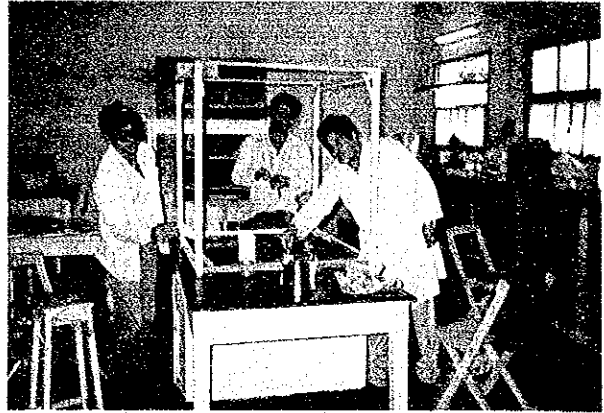
家畜繁殖改善計画の専門家
(83年12月)





▶ 写真 5
教官、学生への E T 説明会
(83-10-21)

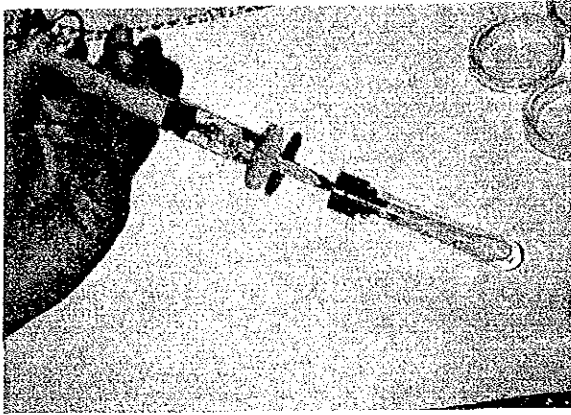
写真 6 ◀
E T 実験室の整備
簡易無菌箱の作成



▶ 写真 7
整備されはじめた E T 実験室

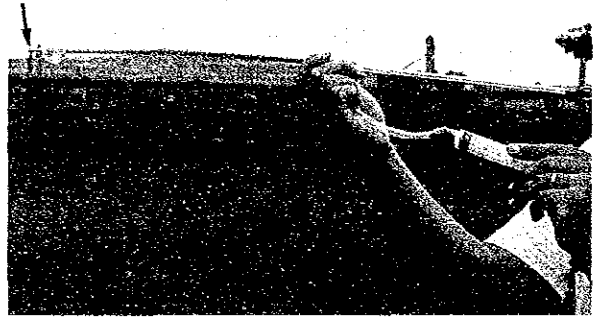
写真 8 ◀
還流液は極力感染を避けるべく、すべてバイアル瓶に封入し野外での使用を容易にした。





▶ 写真 9
 受精卵保存液は使用直前にメンブ
 ランフィルター（ 0.45μ ）を通し
 て使用した。

写真 10 - 1 ◀
 卵回収用カテーテル先端に
 小孔をあけた金属性チップ
 （矢印）を付けた。



▶ 写真 10 - 2
 卵回収用カテーテルの金属性チップ

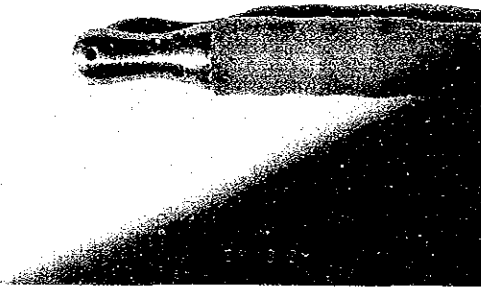
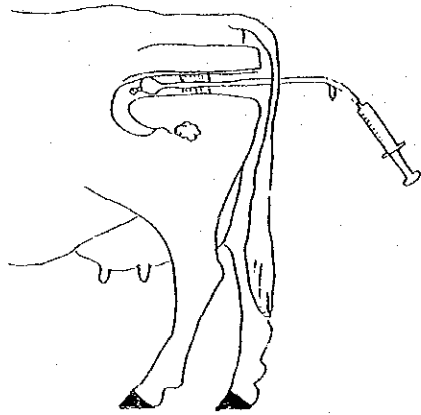


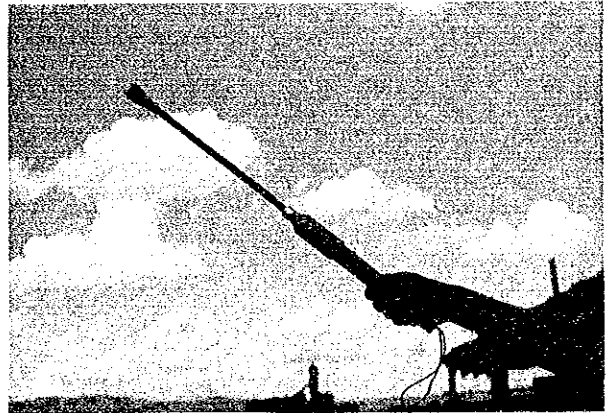
写真 11 ◀
 シュート（セボ）を使つての
 卵回収作業
 注射筒で還流液を注入し吸引
 する。





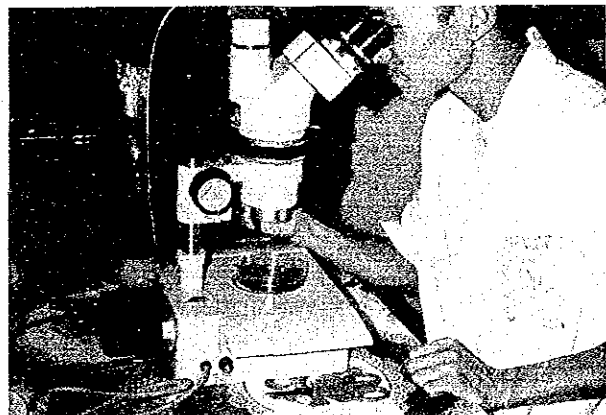
▶ 写真 12
卵回収は注射筒で注入し再びそれを吸引することで汚染防止, Donor 牛の騷擾に対応する。

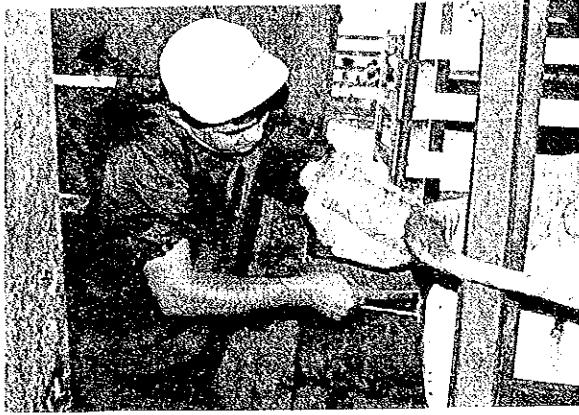
写真 13 ◀
棒場内で座りこむ牛には電気鞭は有効であった。



▶ 写真 14
回収液の卵検索

写真 15 ◀
検索された卵はオートマイクロピペットで吸入し保存液に移す。

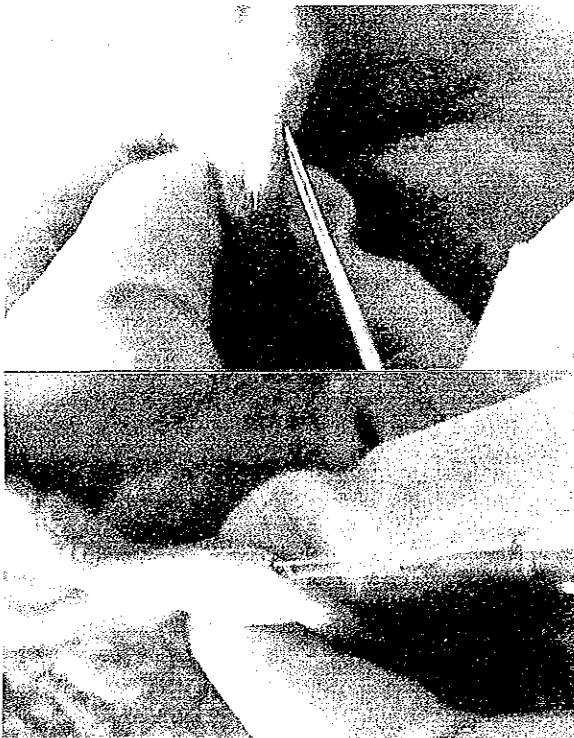
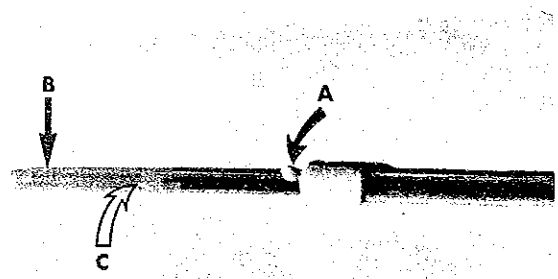




▶ 写真 16 - 1
非手術的移植

写真 16 - 2 ◀

非手術的移植方法，はじめにAの小さな蓋を閉じたままで子宮外口にあててBを推進させ蓋を開けて子宮頸管まで進める。子宮に達したらさらにCを黄体存在側の子宮角まで誘導しストロー内にある受精卵を保存液とともに押し出し注入する。



▶ 写真 17
臍部を開腹し子宮角先端に向って鈍針で小孔を開け，予め準備し吸引してある受精卵を注入する。

附表 受精卵移植スケジュール表

HEAT	PHSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
09.01-09.06	09.15	09.17	09.19	09.26	84.06.25
09.02-09.07	09.16	09.18	09.20	09.27	84.06.26
09.03-09.08	09.17	09.19	09.21	09.28	84.06.27
09.04-09.09	09.18	09.20	09.22	09.29	84.06.28
09.05-09.10	09.19	09.21	09.23	09.30	84.06.29
09.06-09.11	09.20	09.22	09.24	10.01	84.06.30
09.07-09.12	09.21	09.23	09.25	10.02	84.07.01
09.08-09.13	09.22	09.24	09.26	10.03	84.07.02
09.09-09.14	09.23	09.25	09.27	10.04	84.07.03
09.10-09.15	09.24	09.26	09.28	10.05	84.07.04
09.11-09.16	09.25	09.27	09.29	10.06	84.07.05
09.12-09.17	09.26	09.28	09.30	10.07	84.07.06
09.13-09.18	09.27	09.29	10.01	10.08	84.07.07
09.14-09.19	09.28	09.30	10.02	10.09	84.07.08
09.15-09.20	09.29	10.01	10.03	10.10	84.07.09
09.16-09.21	09.30	10.02	10.04	10.11	84.07.10
09.17-09.22	10.01	10.03	10.05	10.12	84.07.11
09.18-09.23	10.02	10.04	10.06	10.13	84.07.12
09.19-09.24	10.03	10.05	10.07	10.14	84.07.13
09.20-09.25	10.04	10.06	10.08	10.15	84.07.14
09.21-09.26	10.05	10.07	10.09	10.16	84.07.15
09.22-09.27	10.06	10.08	10.10	10.17	84.07.16
09.23-09.28	10.07	10.09	10.11	10.18	84.07.17
09.24-09.29	10.08	10.10	10.12	10.19	84.07.18
09.25-09.30	10.09	10.11	10.13	10.20	84.07.19
09.26-10.01	10.10	10.12	10.14	10.21	84.07.20
09.27-10.02	10.11	10.13	10.15	10.22	84.07.21
09.28-10.03	10.12	10.14	10.16	10.23	84.07.22
09.29-10.04	10.13	10.15	10.17	10.24	84.07.23
09.30-10.05	10.14	10.16	10.18	10.25	84.07.24

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
10.01-10.06	10.15	10.17	10.19	10.26	84.07.25
10.02-10.07	10.16	10.18	10.20	10.27	84.07.26
10.03-10.08	10.17	10.19	10.21	10.28	84.07.27
10.04-10.09	10.18	10.20	10.22	10.29	84.07.28
10.05-10.10	10.19	10.21	10.23	10.30	84.07.29
10.06-10.11	10.20	10.22	10.24	10.31	84.07.30
10.07-10.12	10.21	10.23	10.25	11.01	84.07.31
10.08-10.13	10.22	10.24	10.26	11.02	84.08.01
10.09-10.14	10.23	10.25	10.27	11.03	84.08.02
10.10-10.15	10.24	10.26	10.28	11.04	84.08.03
10.11-10.16	10.25	10.27	10.29	11.05	84.08.04
10.12-10.17	10.26	10.28	10.30	11.06	84.08.05
10.13-10.18	10.27	10.29	10.31	11.07	84.08.06
10.14-10.19	10.28	10.30	11.01	11.08	84.08.07
10.15-10.20	10.29	10.31	11.02	11.09	84.08.08
10.16-10.21	10.30	11.01	11.03	11.10	84.08.09
10.17-10.22	10.31	11.02	11.04	11.11	84.08.10
10.18-10.23	11.01	11.03	11.05	11.12	84.08.11
10.19-10.24	11.02	11.04	11.06	11.13	84.08.12
10.20-10.25	11.03	11.05	11.07	11.14	84.08.13
10.21-10.26	11.04	11.06	11.08	11.15	84.08.14
10.22-10.27	11.05	11.07	11.09	11.16	84.08.15
10.23-10.28	11.06	11.08	11.10	11.17	84.08.16
10.24-10.29	11.07	11.09	11.11	11.18	84.08.17
10.25-10.30	11.08	11.10	11.12	11.19	84.08.18
10.26-10.31	11.09	11.11	11.13	11.20	84.08.19
10.27-11.01	11.10	11.12	11.14	11.21	84.08.20
10.28-11.02	11.11	11.13	11.15	11.22	84.08.21
10.29-11.03	11.12	11.14	11.16	11.23	84.08.22
10.30-11.04	11.13	11.15	11.17	11.24	84.08.23
10.31-11.05	11.14	11.16	11.18	11.25	84.08.24

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
11.01-11.06	11.15	11.17	11.19	11.26	84.08.25
11.02-11.07	11.16	11.18	11.20	11.27	84.08.26
11.03-11.08	11.17	11.19	11.21	11.28	84.08.27
11.04-11.09	11.18	11.20	11.22	11.29	84.08.28
11.05-11.10	11.19	11.21	11.23	11.30	84.08.29
11.06-11.11	11.20	11.22	11.24	12.01	84.08.30
11.07-11.12	11.21	11.23	11.25	12.02	84.08.31
11.08-11.13	11.22	11.24	11.26	12.03	84.09.01
11.09-11.14	11.23	11.25	11.27	12.04	84.09.02
11.10-11.15	11.24	11.26	11.28	12.05	84.09.03
11.11-11.16	11.25	11.27	11.29	12.06	84.09.04
11.12-11.17	11.26	11.28	11.30	12.07	84.09.05
11.13-11.18	11.27	11.29	12.01	12.08	84.09.06
11.14-11.19	11.28	11.30	12.02	12.09	84.09.07
11.15-11.20	11.29	12.01	12.03	12.10	84.09.08
11.16-11.21	11.30	12.02	12.04	12.11	84.09.09
11.17-11.22	12.01	12.03	12.05	12.12	84.09.10
11.18-11.23	12.02	12.04	12.06	12.13	84.09.11
11.19-11.24	12.03	12.05	12.07	12.14	84.09.12
11.20-11.25	12.04	12.06	12.08	12.15	84.09.13
11.21-11.26	12.05	12.07	12.09	12.16	84.09.14
11.22-11.27	12.06	12.08	12.10	12.17	84.09.15
11.23-11.28	12.07	12.09	12.11	12.18	84.09.16
11.24-11.29	12.08	12.10	12.12	12.19	84.09.17
11.25-11.30	12.09	12.11	12.13	12.20	84.09.18
11.26-12.01	12.10	12.12	12.14	12.21	84.09.19
11.27-12.02	12.11	12.13	12.15	12.22	84.09.20
11.28-12.03	12.12	12.14	12.16	12.23	84.09.21
11.29-12.04	12.13	12.15	12.17	12.24	84.09.22
11.30-12.05	12.14	12.16	12.18	12.25	84.09.23

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
12.01-12.06	12.15	12.17	12.19	12.26	84.09.24
12.02-12.07	12.16	12.18	12.20	12.27	84.09.25
12.03-12.08	12.17	12.19	12.21	12.28	84.09.26
12.04-12.09	12.18	12.20	12.22	12.29	84.09.27
12.05-12.10	12.19	12.21	12.23	12.30	84.09.28
12.06-12.11	12.20	12.22	12.24	12.31	84.09.29
12.07-12.12	12.21	12.23	12.25	01.01	84.09.30
12.08-12.13	12.22	12.24	12.26	01.02	84.10.01
12.09-12.14	12.23	12.25	12.27	01.03	84.10.02
12.10-12.15	12.24	12.26	12.28	01.04	84.10.03
12.11-12.16	12.25	12.27	12.29	01.05	84.10.04
12.12-12.17	12.26	12.28	12.30	01.06	84.10.05
12.13-12.18	12.27	12.29	12.31	01.07	84.10.06
12.14-12.19	12.28	12.30	01.01	01.08	84.10.07
12.15-12.20	12.29	12.31	01.02	01.09	84.10.08
12.16-12.21	12.30	01.01	01.03	01.10	84.10.09
12.17-12.22	12.31	01.02	01.04	01.11	84.10.10
12.18-12.23	01.01	01.03	01.05	01.12	84.10.11
12.19-12.24	01.02	01.04	01.06	01.13	84.10.12
12.20-12.25	01.03	01.05	01.07	01.14	84.10.13
12.21-12.26	01.04	01.06	01.08	01.15	84.10.14
12.22-12.27	01.05	01.07	01.09	01.16	84.10.15
12.23-12.28	01.06	01.08	01.10	01.17	84.10.16
12.24-12.29	01.07	01.09	01.11	01.18	84.10.17
12.25-12.30	01.08	01.10	01.12	01.19	84.10.18
12.26-12.31	01.09	01.11	01.13	01.20	84.10.19
12.27-01.01	01.10	01.12	01.14	01.21	84.10.20
12.28-01.02	01.11	01.13	01.15	01.22	84.10.21
12.29-01.03	01.12	01.14	01.16	01.23	84.10.22
12.30-01.04	01.13	01.15	01.17	01.24	84.10.23
12.31-01.05	01.14	01.16	01.18	01.25	84.10.24

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
01.01-01.06	01.15	01.17	01.19	01.26	84.10.25
01.02-01.07	01.16	01.18	01.20	01.27	84.10.26
01.03-01.08	01.17	01.19	01.21	01.28	84.10.27
01.04-01.09	01.18	01.20	01.22	01.29	84.10.28
01.05-01.10	01.19	01.21	01.23	01.30	84.10.29
01.06-01.11	01.20	01.22	01.24	01.31	84.10.30
01.07-01.12	01.21	01.23	01.25	02.01	84.10.31
01.08-01.13	01.22	01.24	01.26	02.02	84.11.01
01.09-01.14	01.23	01.25	01.27	02.03	84.11.02
01.10-01.15	01.24	01.26	01.28	02.04	84.11.03
01.11-01.16	01.25	01.27	01.29	02.05	84.11.04
01.12-01.17	01.26	01.28	01.30	02.06	84.11.05
01.13-01.18	01.27	01.29	01.31	02.07	84.11.06
01.14-01.19	01.28	01.30	02.01	02.08	84.11.07
01.15-01.20	01.29	01.31	02.02	02.09	84.11.08
01.16-01.21	01.30	02.01	02.03	02.10	84.11.09
01.17-01.22	01.31	02.02	02.04	02.11	84.11.10
01.18-01.23	02.01	02.03	02.05	02.12	84.11.11
01.19-01.24	02.02	02.04	02.06	02.13	84.11.12
01.20-01.25	02.03	02.05	02.07	02.14	84.11.13
01.21-01.26	02.04	02.06	02.08	02.15	84.11.14
01.22-01.27	02.05	02.07	02.09	02.16	84.11.15
01.23-01.28	02.06	02.08	02.10	02.17	84.11.16
01.24-01.29	02.07	02.09	02.11	02.18	84.11.17
01.25-01.30	02.08	02.10	02.12	02.19	84.11.18
01.26-01.31	02.09	02.11	02.13	02.20	84.11.19
01.27-02.01	02.10	02.12	02.14	02.21	84.11.20
01.28-02.02	02.11	02.13	02.15	02.22	84.11.21
01.29-02.03	02.12	02.14	02.16	02.23	84.11.22
01.30-02.04	02.13	02.15	02.17	02.24	84.11.23
01.31-02.05	02.14	02.16	02.18	02.25	84.11.24

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
02.01-01.06	02.15	02.17	02.19	02.26	84.11.25
02.02-02.07	02.16	02.18	02.20	02.27	84.11.26
02.03-02.08	02.17	02.19	02.21	02.28	84.11.27
02.04-02.09	02.18	02.20	02.22	02.29	84.11.28
02.05-02.10	02.19	02.21	02.23	03.01	84.11.29
02.06-02.11	02.20	02.22	02.24	03.02	84.11.30
02.07-02.12	02.21	02.23	02.25	03.03	84.12.01
02.08-02.13	02.22	02.24	02.26	03.04	84.12.02
02.09-02.14	02.23	02.25	02.27	03.05	84.12.03
02.10-02.15	02.24	02.26	02.28	03.06	84.12.04
02.11-02.16	02.25	02.27	02.29	03.07	84.12.05
02.12-02.17	02.26	02.28	03.01	03.08	84.12.06
02.13-02.18	02.27	02.29	03.02	03.09	84.12.07
02.14-02.19	02.28	03.01	03.03	03.10	84.12.08
02.15-02.20	02.29	03.02	03.04	03.11	84.12.09
02.16-02.21	03.01	03.03	03.05	03.12	84.12.10
02.17-02.22	03.02	03.04	03.06	03.13	84.12.11
02.18-02.23	03.03	03.05	03.07	03.14	84.12.12
02.19-02.24	03.04	03.06	03.08	03.15	84.12.13
02.20-02.25	03.05	03.07	03.09	03.16	84.12.14
02.21-02.26	03.06	03.08	03.10	03.17	84.12.15
02.22-02.27	03.07	03.09	03.11	03.18	84.12.16
02.23-02.28	03.08	03.10	03.12	03.19	84.12.17
02.24-02.29	03.09	03.11	03.13	03.20	84.12.18
02.25-03.01	03.10	03.12	03.14	03.21	84.12.19
02.26-03.02	03.11	03.13	03.15	03.22	84.12.20
02.27-03.03	03.12	03.14	03.16	03.23	84.12.21
02.28-03.04	03.13	03.15	03.17	03.24	84.12.22
02.29-03.05	03.14	03.16	03.18	03.25	84.12.23

HEAT	PMSG/FSH	PG	AI	RECOV	PARTURITION
03.01-03.06	03.15	03.17	03.19	03.26	84.12.24
03.02-03.07	03.16	03.18	03.20	03.27	84.12.25
03.03-03.08	03.17	03.19	03.21	03.28	84.12.26
03.04-03.09	03.18	03.20	03.22	03.29	84.12.27
03.05-03.10	03.19	03.21	03.23	03.30	84.12.28
03.06-03.11	03.20	03.22	03.24	03.31	84.12.29
03.07-03.12	03.21	03.23	03.25	04.01	84.12.30
03.08-03.13	03.22	03.24	03.26	04.02	84.12.31
03.09-03.14	03.23	03.25	03.27	04.03	85.01.01
03.10-03.15	03.24	03.26	03.28	04.04	85.01.02
03.11-03.16	03.25	03.27	03.29	04.05	85.01.03
03.12-03.17	03.26	03.28	03.30	04.06	85.01.04
03.13-03.18	03.27	03.29	03.31	04.07	85.01.05
03.14-03.19	03.28	03.30	04.01	04.08	85.01.06
03.15-03.20	03.29	03.31	04.02	04.09	85.01.07
03.16-03.21	03.30	04.01	04.03	04.10	85.01.08
03.17-03.22	03.31	04.02	04.04	04.11	85.01.09
03.18-03.23	04.01	04.03	04.05	04.12	85.01.10
03.19-03.24	04.02	04.04	04.06	04.13	85.01.11
03.20-03.25	04.03	04.05	04.07	04.14	85.01.12
03.21-03.26	04.04	04.06	04.08	04.15	85.01.13
03.22-03.27	04.05	04.07	04.09	04.16	85.01.14
03.23-03.28	04.06	04.08	04.10	04.17	85.01.15
03.24-03.29	04.07	04.09	04.11	04.18	85.01.16
03.25-03.30	04.08	04.10	04.12	04.19	85.01.17
03.26-03.31	04.09	04.11	04.13	04.20	85.01.18
03.27-04.01	04.10	04.12	04.14	04.21	85.01.19
03.28-04.02	04.11	04.13	04.15	04.22	85.01.20
03.29-04.03	04.12	04.14	04.16	04.23	85.01.21
03.30-04.04	04.13	04.15	04.17	04.24	85.01.22
03.31-04.05	04.14	04.16	04.18	04.25	85.01.23
04.01-04.06	04.15	04.17	04.19	04.26	85.01.24

INTRODUCCION A LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS

Al igual que la inseminación artificial la transferencia de embriones en bovino es una técnica de manipulación genética. Su principal ventaja es la ampliación de la capacidad reproductiva de la vaca o vaquilla de alto valor genético. En otras palabras, incrementando el número de crías de una hembra seleccionada es posible disminuir el intervalo entre generaciones mediante la selección de pasos, dando un alto porcentaje de progenie de una joven donante. De cualquier modo la transferencia de embriones, no es una poderosa y elaborada técnica como es la inseminación artificial.

Como resultado de la transferencia de embriones es también posible en algunos casos para vacas infértiles y vaquillas, tener cría, particularmente cuando la infertilidad es debida a enfermedades, daños o envejecimiento. En el futuro se espera que técnicas más seguras serán desarrolladas, que permitirán a las terneras servir como donantes de embriones.

La transferencia de embriones envuelve muchos riesgos tanto para el dueño como para el animal, y para la transferencia de los embriones en sí misma. El riesgo más grande es que el mercado del producto es impredecible. Otro riesgo incluye el fracaso para obtener la preñez, obtener una preñez de lo que el dueño pueda soportar, abortos, pérdidas de terneros, aún la performance reproductiva de la vaca donante es probablemente descartable.

Las pérdidas pueden ser minimizadas mediante el ejercicio de meticulosos cuidados en todos los aspectos de la transferencia de embriones. El desarrollo de simples y menos complicadas técnicas han reducido muchos de los riesgos previamente mencionados.

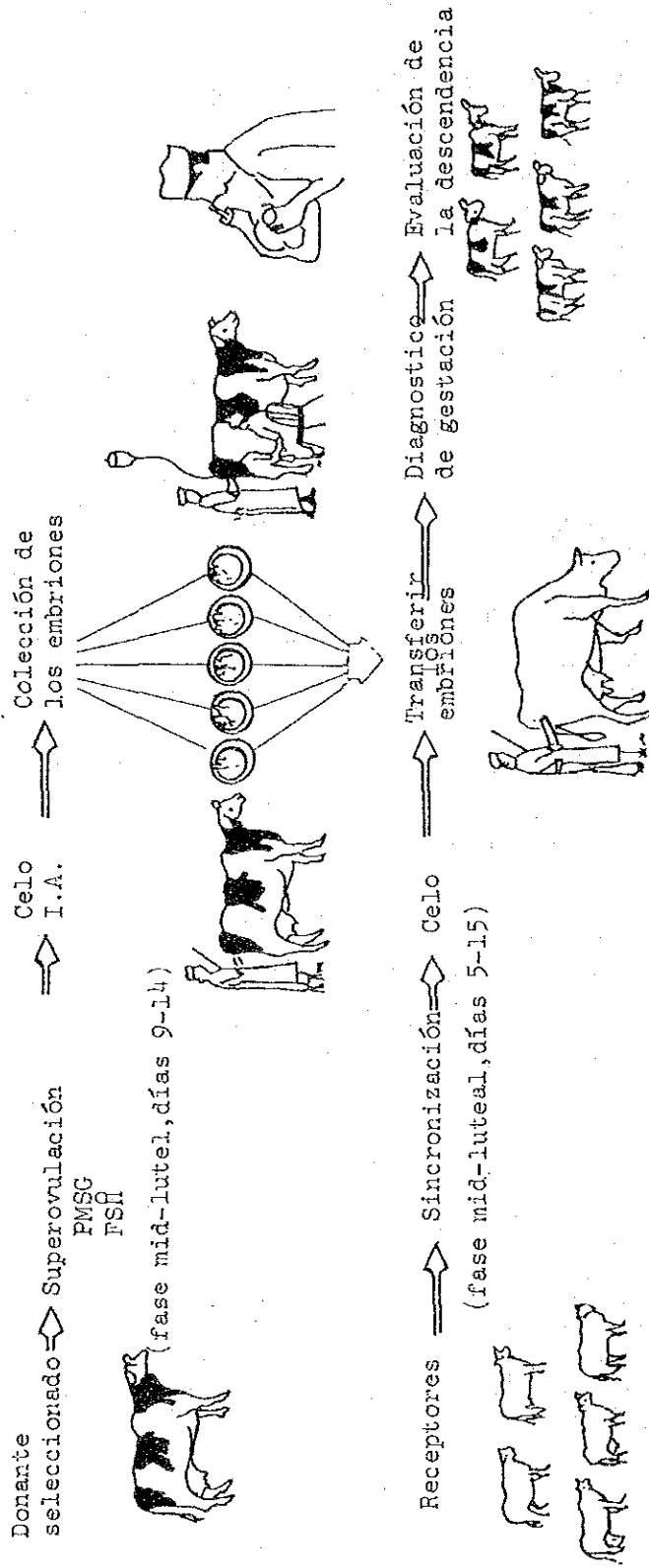
El procedimiento standar de la transferencia de embriones consiste en el tratamiento de una vaca donante con hormonas, las cuales inducen la maduración y ovulación de un anormalmente gran número de huevos. Estos huevos después de ser fertilizados son recogidos de las donantes y transferidos a las vacas recipientes para llegar a término la preñez. La técnica envuelve una cantidad de pasos, los cuales en sí mismos son sencillos, pero los cuales requiere personal bien entrenado y una concienzuda atención de los detalles. Las facilidades, animales, materiales, y el personal requerido, envuelve una gran inversión de capital.

Muchas de las técnicas usadas en la transferencia de embriones en bovino no están basadas en el resultado de investigaciones con pequeños animales de laboratorio. Algunas de esas técnicas serán probablemente subóptimas para los embriones bovinos. Consecuentemente, dedicadas investigaciones para mejorar todos los aspectos de la transferencia de embriones en bovinos es necesaria. Es necesario enfatizar que el procedimiento arriba descripto representa los trabajos realizados en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción. Algunos de esos procedimientos serán cambiados o reemplazados por métodos más efectivos en un futuro cercano.

TECNICA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

1. Selección de donantes y recipientes.
2. Revisión del tracto genital de la donante y recipiente.
3. Control del ciclo de las donantes y recipientes.
4. Aplicación de hormonas para la superovulación de las donantes.
5. Para que las donantes entren en celo se les aplican prostaglandina.
6. Aplicación de prostaglandina para sincronización del celo.
7. Control del celo de las donantes y recipientes.
8. Inseminación artificial a las donantes.
9. Preparación para el lavado uterino de las donantes (hacer tacto rectal y dejar en ayunas desde el día anterior).
10. Preparación de los recipientes.
11. Lavado uterino de las donantes.
12. Examen del líquido recuperado del lavado uterino para buscar los embriones, separar y conservar.
13. Implantación de los embriones en las recipientes por método quirúrgico y no quirúrgico.
14. Control de las donantes para que vuelvan a su ciclo normal a fin de ser utilizadas nuevamente como donantes.
15. Control post-operatorio de las recipientes en el caso de que sea por el método quirúrgico el transplante.
16. Diagnóstico de preñez de las recipientes.
17. Control de la salud de las recipientes para que no se enfermen y no se presente aborto.
18. Recipientes que no quedaron preñadas se decide si se eliminan o se quedan nuevamente como recipientes.
19. Controlar para que tenga parto normal las recipientes.
20. Control de la salud del ternero, su registro y la identificación del hijo con el padre.

Fig. 1. Esquema en la transferencia de embriones.



Congelado de embriones:

El medio para congelar es el de Dulbecco modificado PBS al que se le agrega 20 - 30% de suero bovino tratado por el calor. Al agregar el suero se consiguen buenos resultados luego del descongelado.

Son necesarios también crioprotectores al congelar los embriones, ej. glicerina, DMSO, PVP, sucrosa, etc. En nuestro laboratorio, el glicerol es usado como crioprotector. El método para equilibrar el glicerol a la temperatura ambiente se hace en 5 etapas: 0,18; 0,33; 0,57; 0,88; 1,00 M (10 minutos cada uno). Entonces recién en 0,1 M de glicerol el embrión es aspirado en la cánula de 0,25 ml. El extremo abierto se cierra con alcohol polivinílico en polvo o con calor.

El congelado se realiza entonces:

- a. Enfriando a $-4,5$ o -5° C (1° C/min.).
- b. Luego mantener a esta temperatura por 10 min.; el procedimiento se realiza, tomando la cánula con una pinza y enfriandola en N líquido.
- c. Descenso de $0,3^{\circ}$ C/min. hasta -35° C y a $0,1^{\circ}$ C/min. hasta 30° C.
- d. Descenso a -100° C (rápidamente y mantener durante 10 minutos).
- e. Entonces colocar las cánulas directamente en N líquido (Fig. 7).

El descongelado se realiza:

- a. Las cánulas que contienen los embriones son descongeladas rápidamente agitandolas en un baño con agua a 37° C.
 - b. El crioprotector es retirado en 5 pasos a la temperatura ambiente en intervalos de 5 minutos.
 - c. Luego el embrión es cultivado a 37° C, dos horas antes de transferirlo.
- La sobrevivencia in vitro es determinada por la expansión o reexpansión luego de 2-24 hs. de cultivo.

Con este método de congelado, aprox. 50% de los embriones congelados y descongelados se desarrollan tanto in vivo como in vitro. Actualmente se está investigando sobre nuevos métodos de congelado de embriones.

Conclusión:

La técnica, especialmente la de congelado de embriones será simplificada en el futuro. Es probable que lleve algunas décadas antes de que la técnica de transferencia de embriones sea usada en igual escala como la I.A..

Con las técnicas de producción de gemelos idénticos y de sexado(en semen) será posible incrementar la producción de carne, contribuyendo así

en la crianza del ganado en el futuro y disminuyendo los costos finales.

OBJETIVOS DEL CONGELADO DE EMBRIONES.

1. No es necesario la sincronización del celo entre donante y recipiente.
2. Facilidad para elegir recipientes.
3. Hacer un buen plan de reproducción mediante el control genético; ejemplo Test de progenie.
4. Facilidad de transporte en largas distancias. Ejemplo en el mercado Internacional.
5. El primer éxito de transferencia de embriones se logra en ratones de laboratorio en el año 1972 por Whittingham y en ganado Bovino en el año 1973, pero con muy bajo porcentaje de preñez. La causa de este bajo porcentaje de preñez fue debido a los daños causados en las células de los embriones por la cristalización. Para obviar estos problemas es necesario elegir en los mejores crioprotectores, como por ejemplo: glicerol, D.M.S.O.; PVP.
6. Otro problema es la velocidad de congelado y superconfinamiento.
7. Finalmente usamos 1 mol de glicerol adhesionando al embrión y luego enfriando mediante el uso de una máquina controlada por microcomputadora (P.S.P.).
8. La mayor dificultad de esta técnica es la velocidad de enfriamiento y los daños causados por el super enfriamiento causando choques de temperaturas. Con este aparato se previene los cambios bruscos de temperatura, que produce el super enfriamiento, dentro de los 1°C. Ordinariamente el super enfriamiento baja bruscamente - 6°C.
9. Se debe conservar en Nitrógeno líquido - 196° por largo tiempo, como se hace para conservar semen congelado.

Fig. 7.

