

高泌乳牛における受胎性と繁殖管理

Fertility and Reproductive Management in High Producing Dairy Cows

ルーベン・ジョン・メイプルトフト
Reuben John Mapletoft, Ph. D.

カナダ・サスカチュワン大学 獣医学部
Western College of Veterinary Medicine,
University of Saskatchewan

2005年2月16日(水) 13:00~17:00

札幌市教育文化会館 3階 札幌市中央区北1条西13丁目

主催／北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 後援／酪農学園大学エクステンションセンター

プログラム

12:30 受付

13:00 開会 開会あいさつ：

北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 会長 平尾 和義

13:05 セミナー 高泌乳牛における受胎性と繁殖管理：

ルーベン・ジョン・メイプルトフト 氏

通訳：加藤和代 氏

16:20 休憩

16:30 質疑応答

17:00 閉会 閉会あいさつ：

北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 常任理事 松中照夫

司会進行：北海道アルバータ酪農科学技術交流協会 事務局長 堂地修

講師紹介



ルーベン・ジョン・メイプルトフト **Reuben J. Mapleton Ph. D.**

サスカチュワン大学 獣医学部 大動物臨床学科長

Professor & Head, Large Animal Clinical Sciences, WCVM, University of Saskatchewan

1967年にゲルフ大学獣医学部を卒業後、新設されたサスカチュワン大学獣医学部(WCVM)にて最初の小動物科インターンを務める。2年後の69年、WCVMの第一期卒業生となる。69年から約1年間、バーナビー動物病院勤務。69年秋、サスカトゥーンで薬剤師をしていたヨークトン出身のジャネット・コープと結婚。70年秋、夫婦で南アフリカへ渡り、オンドーステップポート獣医学研究所の繁殖科に3年間勤務。

73年8月、ウィスコンシン大学に入学し、内分泌学(生殖生理学プログラム)の分野で修士号および博士号を取得。77年、臨床研究科長としてサスカチュワン大学獣医学部に戻る。動物繁殖科に数年間所属した後、98年、群医療・動物繁殖学科長に就任(現・大動物臨床学)。02年7月、長期休暇を取りバイオニッチ・アニマル・ヘルス社(Bioniche Animal Health)の顧問を務める。04年1月、サスカチュワン大学とバイオニッチ社の仕事を半々の割合で行う。

メイプルトフト氏は25年以上にわたり、繁殖生物学および牛の繁殖技術の応用の研究を行ってきた。国際受精卵移植学会(IETS)元会長、カナダ受精卵移植協会(CETA)初代会長であり、IETSの輸入・輸出委員会の委員長を10年間務めた。現在はCETAの審査委員会および幾つかのIETS委員会の委員を務める。動物繁殖学会の雄畜繁殖能力評価委員会の元委員長。最近の研究の中心は、牛の過剰排卵処理、発情同期化、定時人工授精のための卵胞ウェーブの調節である。また、卵子の受精能、精子の形態が受精に及ぼす影響、受精卵の発育に関する評価に体外受精技術を利用した活発な研究プログラムに従事している。また研究チームでは、卵子および胚の培養における非生物添加物質の利用、精子、卵子および胚の超低温保存に関する研究も行っている。獣医学の生涯教育や技術移転にも非常に熱心に取り組む。これまで25ヶ国以上の国で講演を行い、世界各国からの大学院生を指導している。03年、サスカチュワン大学より優秀研究者賞(Distinguished Researcher Award)を受賞。

～高泌乳牛における受胎性と繁殖管理～

◇ はじめに

乳牛の繁殖能力は、牛群における収益性の重要な決定因子である。しかし、カナダ国内の乳牛群の繁殖能力低下に歯止めがかかるないことを示すデータが増え続けている。1993～02 年に、カナダの乳牛群では分娩間隔が年約 2 日ずつ延長しており（引用文献 13 に総説されている）、米国南東部地域の空胎日数は、70 年代後期には 126 日であったが 90 年代後期には 172 日に延長している（99）。米国では 20 年間で初回人工授精の受胎率が年 0.45%ずつ低下し（6, 16）、受胎に要する授精回数が 1.75 回から 3 回以上に増加した（52）。英国では（77, 78）、過去 10 年間の受胎率低下が年 1%になっている。ケベック州では、過去 10 年間の乳牛の受胎率低下は約 5%で、1 泌乳期当たりの授精回数が 0.48 回増加している（12）。

◇ 何が変化したのだろうか？

泌乳牛における繁殖効率の変動は、主として繁殖と乳量増加との競合によるものであるが、牛群サイズ、労務管理、牛舎、牛組み換え成長ホルモンの使用、遺伝的選抜および分娩後の人工授精開始までの期間の決定（ボランタリーウェイティングピリオド、VWP）など、そのほか多くの要因も重要な役割を果たす。60 年以降の米国でのホルスタイン牛の遺伝的能力（育種価）と実際の平均産乳量の変化は、育種改良によって産乳量が約 3,500 kg 増加し、栄養と管理の向上によってさらに 2,000 kg 増加したことを見ている（52, 99）。ケベック州の牛群に関する研究では（12）、産乳量は 90 年の 6,800 kg から 01 年の 8,800 kg に増加したが、初回授精の受胎率は 44% から 39% に低下している。産乳量が 7,500～1 万 kg や 1 万 kg 以上の牛では、7,500 kg 未満の牛に比べて、初回授精の受胎率がそれぞれ 7.8% や 15% 低くなっている。

栄養、ボディーコンディション、代謝性疾患、子宮疾患および施設設計が繁殖効率に影響するが、繁殖管理の成功に最も影響するのは発情発見である（48）。従って、人工授精を行う乳牛群での平均空胎日数の増加は、明りような発情行動の発見能力の低下によるところが大きいと考えられる。Washburn ら（99）は、米国南東部でのホルスタイン牛群の発情発見効率が 80 年代後期の 51% から 90 年代後期の 42% に低下したことを認めており、おそらくこの傾向はカナダの牛群でも同様の傾向が見られる。Lopez ら（50）も、産乳量の増加に伴って発情の長さと強さが低下することを示している。高泌乳牛の肝臓での血流量の増加とエストロジエン代謝の増大が正常な発情行動の発現を阻害すると考えられるが（79）、コンクリート床の閉鎖型牛舎の増加も重要な要因となっている（52）。

◇ 繁殖機能の評価

繁殖の評価では、繁殖成績と受胎性の考え方を区別することが重要である。繁殖成績は、雌牛の受胎性、胚死滅と胎子の死亡、分娩間隔、子牛の生存率、発情発見やそのほかの牛群管理上の要因、ボランタリーウェイティングピリオド（分娩後人工授精開始までの期間）などの影響を受ける。雌牛の受胎性は、一般に受胎率（人工授精後に妊娠と判定される雌牛の比率）によって評価される。これは受胎1回当たりの人工授精回数と反比例する。

より重要なパラメータは妊娠率（21日妊娠率あるいは有効妊娠率と呼ばれることが多い）で、繁殖成績のモニタリングに利用される。妊娠率は、空胎牛が21日間で妊娠する確率と定義されている。妊娠率は雌牛が妊娠する率を示し、発情発見率×受胎率とほぼ等しい。これは、牛群における現在の繁殖成績では最も「リアルタイム」な測定値である。なぜなら、直近の繁殖の成功を示しており、発情発見測定値（もっと正確に言うと人工授精実施率）と受胎率が分かりやすい一つのパラメータに組み入れているためである。分娩間隔の変動値の79%は、初回授精の受胎率に起因することが示されている（29）。

◇ 受胎性に影響を与える要因

受胎性のデータは、産歴の増加に伴い繁殖能成績が低下することを明確に実証している。93年～02年にケベック州における農場2,000カ所の乳牛6万頭を対象に行われた研究では、未経産牛の受胎率は低下していないが、初産牛では5～6%、2産以上では6～7%の低下がみられた（12）。同様の傾向が各地で示されている（32）。しかし、ホルスタイン種での近親交配が80年以降急増し、繁殖成績の低下に強く関与している可能性がある（52）。Hasler（私信）も、2産以上のホルスタイン種のドナー牛の過剰排卵処置での、受精卵の生産、特に受精率と正常受精卵率が低下していると述べている。

分娩後の無発情は、最近の乳牛で最も多く認められる所見の一つである。分娩後の初回排卵までの平均日数は、30年前の報告より少なくとも10日以上長くなっている。Lucyら（53）は、分娩後60日目までに発情を示さない牛が初産牛で28%、2産以上の牛で15%存在することを明らかにしている。これには年齢、栄養、発情発見率および遺伝が影響している。また、分娩後のある時点で正常発情周期を示す牛の割合がボディーコンディションと相関し、牛群内の繁殖の正常性の指標として妥当であることも示されている（76）。現実に授精後、妊娠していないにもかかわらず発情を示さない牛の「ファンтом牛」という存在性が認められ（53）、暑熱ストレスを受けた牛では長い黄体期が観察されている（52）。全国的には初回受精後、妊娠しなかった牛のうち、正常周期で次回の発情が発見される割合は半分以下である（19）。

栄養は、高泌乳牛の産乳と繁殖の両方に顕著に影響する。高泌乳牛は、発情周期が再開する時期と同時期に負のエネルギーバランスの時期に入る。牛が負のエネルギーバランスになると、インスリン放出の低下、インスリン様成長因子（IGF-1）低下と肝臓の成長ホルモン受容体の減少（36, 101）、LH

パルス頻度の減少が起こり、LH 依存性の卵胞発育に悪影響を与える (36, 64)。これは次に、エストロジエンの産生、発情の発現、LH サージおよび排卵に悪影響を与える (15)。しかし、乾物摂取量を増やすことで負のエネルギーバランスの影響を克服できる牛もいる (52)。負のエネルギーバランスが最下点に達すると、IGF-1 レベルと LH パルス頻度が増加し、その後すぐに最初の排卵が起こる (15)。ただし、分娩後の早い時期に排卵された卵子の発生能に対する負のエネルギーバランスの影響は明らかではない。

現在、幾つかの研究から、生殖器系との関連の有無に関わらず、疾病は産乳よりも受胎性に大きな影響を与えることが示されている (27, 37, 49, 52)。初回授精での受胎率は、子宮炎で8.0%、難産で6.0%、すべてのタイプの跛行で4.3%、乳房炎で2.8%、後産停滞で2.5%、それぞれ低下することが示されている (12)。また、後産停滞の発生により分娩後の正常な卵胞発育波の再開が10日間遅延することが示されている (Bo、私信)。

◇ 繁殖損失の発生率と発生時期

分娩率は、受精率と胚および胎子の死亡損耗率から決定される。受精率は、精液の品質、母牛の年齢および産次数に影響される。受胎性の高い雄牛と低い雄牛を生産する種雄牛の受精率は、それぞれ平均 98% および 74% と報告されている (7, 43)。Sreenan と Diskin (86) は、受精率が未経産牛では平均 88% (75~97% の範囲)、経産牛では 90% (83~100% の範囲) と報告している。しかし、最近のデータは、高泌乳牛の受精率、特に暑熱ストレスを受けている間の受精率は、以前の報告よりもやや低下したことが示されている (80)。受精率と分娩率の差は、胚死滅率および胎子の損耗率を表す。

胚死滅は、定義によると 42 日目（胚というステージの終了時期）までに起き、一般に妊娠初期の 3 週間に起こることが知られている。しかし、胚死滅が起こる正確な時期については多少議論が分かれれる。胚死滅率は 14~17 日目に最大になるようである (86)。乳牛では、授精後 5~6 日目までに生存可能な受精卵の割合は 65% 未満になると考えられている。これは、胚まで成長する割合が 50% 未満であることを意味する（引用文献 80 を参照）。牛では、妊娠の約 5~8% で胎子の損耗が起きる (14)。

◇ 胚死滅の内因的原因

染色体異常は、発育を阻害して胚死滅および胎子の死亡を引き起こす (45)。牛には染色体異常が多く存在すると思われるが、その大部分は十分に理解されていない。正常な（あるいは正常と推定される）核型の牛において、核型を調べた 683 の胚のうち 10.4% が異常であった (44)。約 4 分の 1 は減数分裂の異常が原因であり、残りの 4 分の 3 は受精時前後に起こった異常が原因である。牛で最初に発見された染色体異常は 1/29 の転座である (45)。この異常のホモ接合は致死的であるが、これをヘチロ接合である雄牛の精液を使用すると受胎性が 8~12% 低下する (45, 60, 82)。ホモ接合の雌でも受胎性が 3~8% 低下し、妊娠するまでに 18~30 日間の延長が見られた (60)。

胚と子宮の非同調性が胚死滅の原因となる場合がある。子宮では、発育段階のずれた胚をほとんど許容せず、毒性さえ持つことが示されている（74）。発育遅延の胚では、母体の妊娠認識にかかわる物質の合成が遅れ、黄体が退行して発情が回帰すると考えられる。また、正常胚が回収された牛の子宮洗浄液中の無機イオン濃度は、異常胚が回収された牛のそれとは異なることが示されている（5, 102）。胚移植の初回受胎率は、リピート・ブリーダーに移植した場合に比べて高いことも報告されており（4, 91）、リピート・ブリーダー牛の子宮内環境が受胎率に影響する一つの因子となることが示されている。

リピート・ブリーダーの未経産牛では、正常な未経産牛よりも発情の発現から排卵前の LH ピークまでの間隔が長く、末梢 LH 濃度が低いことが示されている（38）。妊娠しなかった牛では妊娠した牛に比べて、排卵前の LH ピークが同様の遅れを示すことが報告されている（28, 59）。GnRH をベースにした発情同期化処置における未成熟な主席卵胞の排卵誘発も受胎率の低下を招き、胚死滅率の増加につながると考えられる。その理由は黄体機能の低下と、おそらく子宮と卵管へのエストロジエン感作が不十分なためである（Day、私信；97）。プロジェスチンとエストラジオールを併用した定時人工授精では、排卵卵胞の大きさと受胎率が影響されるという証拠は認められていない（18）。

黄体機能不全も胚死滅を引き起こすことが報告されている。黄体機能不全は、短命または寿命が不規則な黄体あるいは寿命は正常であるがプロジェステロンの分泌量が異常に低い黄体と定義される（41）。牛で最も一般的な黄体機能不全は、プロジェステロン分泌は正常であるが寿命が短いタイプの黄体である（41）。その原因是十分に解明されていないが、PGF の早期放出に関係していると思われる。春機発動期の初回排卵および分娩後の初回排卵直後に黄体の寿命が短くなるが（22）、それ以外の胚死滅の原因是明らかになっていない。

◇ 胚死滅の環境要因

栄養は、胚死滅の発生も含めた繁殖機能に影響する。幾つかの研究から、体重増加中に交配した牛は体重減少中に交配した牛より受胎率が高くなることが示されている（61, 104）。飼料エネルギーを制限すると受精率の低下（40）、または胚死滅率が高まる（85）。血漿プロジェステロン濃度は栄養不足によって低下する（40）、上昇する（103）、影響ない（85）など、研究によってまちまちである。制限飼料で 8 週間以上飼育した牛は、腺の変形や線維症を含めて、子宮内膜が重度に変化する（21）。Santos ら（80）も、分娩から分娩後 56 日目までの間にボディーコンディションスコア（5 点システム）が 1 下がると、受胎の損失割合が 2.5～3.2 上昇することを示している。

体温上昇を引き起こすほどの暑熱ストレスは繁殖効率を低下させる（90）。しかし、繁殖成績に対する暑熱ストレスの影響は産乳とも関連する。牛群内で高泌乳の牛ほど影響を受けやすいと思われる（51）。暑熱ストレスが排卵直前に起こると卵子が異常な成熟を遂げる場合があり（71）、暑熱ストレスを受けた卵子が受精すると胚の発育が重度に損なわれる可能性がある（39, 72）。Santos ら（80）は、人工授精前に暑熱ストレスに曝された牛では受胎の可能性が 31～33% 低下することを示している。

ある研究では、未経産牛 23 頭に交配した直後に気温を上げたところ、受胎率が 0% となっている (26)。暑熱ストレスは明らかに胚の発育を遅延させ、胚死滅を増加させる。胚の発育の 1 週目が、暑熱ストレスに対して最も感受性が高いと思われる (72)。そのため、排卵同期化と定時受精卵移植を行い、暑熱ストレス期の泌乳牛の受胎率を高めている (95)。

◇ 何ができるだろうか?

Lucy (52) は高泌乳牛での繁殖成績の低下に対応した幾つかの優れた提案を示している。彼は、繁殖効率を高めるための牛の選抜が有効であること示し、現在多くの遺伝的選抜モデルに繁殖性が組み入れられている。また、基本に戻って泌乳牛の繁殖管理を行う必要性を示した。牛群の良好な繁殖には、周産期の健康、乳房と生殖器の健康、とりわけ発情発見など細かな部分にまで細心の注意を払う必要がある。特に乾乳期と分娩後間もない時期において、飼料の設計に注意を払うと有効であることも指摘している。実際、Gong (36) もインスリン放出の増加（プロピオノ酸産生の増加など）をもたらす飼料により、分娩後早期に発生する繁殖上の問題の多くを克服できることを示している。Lopez-Gatius (51) も、ストレス低減の必要性、特に高泌乳牛における暑熱ストレスの低減を指摘している。最後に、Lucy (52) は分娩後の定期的なプロスタグランдин (PGF) 投与と定時人工授精が、初回人工授精の時期をコントロールする優れた方法であること示している。しかし、定時人工授精のプログラムによっては胚死が増加することも認めており（分娩率；定時人工授精30% VS 自然発情牛45%）。そのほかの妊娠率を高める方法を以下に述べる。

◇ プロジェステロン処置による胚死滅率の低減

プロジェステロンは、牛の妊娠成立と維持に不可欠である。妊娠牛の末梢プロジェステロン濃度は妊娠していない牛に比較した場合、その値が有意に上昇する時期は、報告によって排卵後早くても 8 日目、遅くても 15 日目と異なる (23, 46)。Wathes ら (100) も、交配後 4 および 5 日目のプロジェステロン濃度は、母体が妊娠を認識する時期と思われる 16 日目の子宮内腔のインターフェロン- τ (タウ) 濃度と相關することを示した。このことから、プロジェスチンや黄体刺激物質の投与により胚死滅率を低下させているが、結果は一定しておらず、議論の余地が残されている。

プロジェスチン製剤が数種類市販されている。スターチまたはトウモロコシ油のプロジェステロン製剤は末梢プロジェステロン濃度を急上昇させるが、生理的濃度を維持するためには毎日投与する必要がある。レポジトール製剤はプロジェステロン徐放するが、末梢濃度が生理的濃度を下回ることがある。膣内留置型プロジェステロン製剤 (PRID; 88 や CIDR; 55) を膣内に挿入すると、血中プロジェステロン濃度を上昇させることができる。

発情休止の早い時期にプロジェステロンを補給すると、母体の妊娠認識が向上し、胚の発育が増進（栄養膜の拡張）し、胚死滅率が低下する。受胎性が正常な牛群では通常、初回人工授精時にプロジェステロン処置を行っても妊娠率は上昇しないが、受胎性の低い牛群ではプロジェステロン処置によって受胎性が向上している (23, 75, 96)。しかし、ある研究では、無処置の牛の受胎性がかなり高い

時でも、プロジェステロン処置によって受胎率が向上している（55）。人工授精後 5～7 日目から 6 または 12 日間 CIDR を膣に挿入した牛では、無処置の牛に比べて受胎率が有意に上昇している（79%と 66%）。プロジェステロン処置はリピート・ブリーダーにも使用されている。個々の研究では受胎率の向上は見られないが、4 つの研究を合わせると処置した牛の受胎率（134 頭中 57 頭、42.5%）の方が無処置の牛（105 頭中 24 頭、22.8%）よりも向上している（23）。

◇ 内因性プロジェステロン濃度の増加処置

プロジェステロン補給の代わりとして、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（hCG）または性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）を投与し、副黄体の形成、血漿プロジェステロン濃度の上昇および発情周期の延長を誘起できる（98）。黄体期の初期または中期における hCG 処置も、一部の低受胎群で受胎性が有意に向上したことが報告されている（23）。初回人工授精時における 17 の研究報告では、人工授精時またはその直前の GnRH 投与により無処置の牛に比べて受胎率が 6% 上昇（59% と 53%）した。これは受胎性の 11% 増に相当する（63）。幾つかの研究では、初回人工授精時の GnRH 投与の効果があると報告されているが、結果はその利用の有効性を確定できるほど一定していない。しかし、リピート・ブリーダー牛に関する 9 つの研究では、授精時の GnRH 処置によって受胎率が 7% 上昇（49% と 42%）、受胎性が 18% 向上している（87）。従って、リピート・ブリーダー牛では人工授精時の GnRH 処置を検討する必要がある。

レシピエント牛の血中プロジェステロン濃度を高めるほかの方法として、同期化処置の中で eCG 投与による複数卵胞の排卵誘起法がある（9）。黄体退行の 2.5 日前に 1,000 または 800 IU の eCG を投与すると、胚移植に可能なレシピエント牛の数が増え、eCG 無投与で同様の処置を行った牛に比べて全体の受胎率が高くなっている。注目すべきは、eCG を投与した未経産牛は黄体が一つしか存在しなかつたにもかかわらず、eCG を投与していない牛に比べて血漿プロジェステロン濃度が高くなる傾向が見られたことである。これを追試した研究では（9）、400 IU の eCG 投与によって黄体が 2 個になった牛は 3/156 のみであったが、血漿プロジェステロン濃度と受胎率（48.7% と 33.9%）は無処置の牛よりも高くなっている。

最近の研究では（66）、レシピエント牛における 8 日間のプロジェスチン処置の 5 日目に eCG を投与すると血漿プロジェステロン濃度が上昇し、8 日目の eCG 投与（40.7%）と比較して受胎率が高まる傾向が見られている（47.0%）。処置方法の内容は、プロジェスチン製剤の挿入日（0 日）に 2 mg の EB を投与し、5 日目に PGF と 400 IU の eCG（卵胞発育ウェーブの出現後 1 日目）投与、8 日目にプロジェスチン挿入剤の抜去、9 日目に 1 mg の EB 投与および 17 日目の定時胚移植である（以下を参照）。処置方法は現在、南米の大規模レシピエント牛群の同期化に用いられており、処置したレシピエント牛の 85～90% が胚移植の実施が可能で、全体の受胎率（処置したレシピエント牛に対する妊娠したレシピエント牛の割合）は 40～50% である。

eCG 処置は、無発情の発生率が高い授乳中の肉牛での定時人工授精の受胎率を向上させることも示されている（10）。授乳中の肉牛 526 頭に関する最近の 3 つの研究では、8 日間のプロジェスチン処置の

8日目にeCGを投与した牛(51.9%)の方が無処置の対照(38.8%)よりも全体の受胎率が高かった。これは、主として処置開始時に黄体がなかった(発情周期が見られなかった)牛の受胎率上向上によるものである(10, 11)。

◇ 発情周期の人為的コントロール

繁殖性に関するパラメータは比較的遺伝率が低いため、繁殖管理プログラムにおける計画的な交配プログラムの活用は、現在の乳牛における受胎性の低下傾向の歯止めにつながると思われる。同期化(あるいはコントロール)繁殖プログラムの利用に対する関心が高いことは、特に発情行動の発見率低下に起因すると思われる。一般にこのプログラムは、主として発情発見の必要性のある期間を制限あるいは発情発見の必要性を完全に排除することにより、泌乳初期の牛群における妊娠の成功を支援するよう計画されている。

効果的な同期化繁殖プログラムは、実用的かつ費用効果の高いプログラムである。これは外因性ホルモンを利用し、予定した時期に牛群の発情発現あるいは排卵を引き起こすことによって人工授精の実施を促進し、十分な受胎率を達成することである。この方法を用いた場合の発情発見の必要性がどの程度になるかはプログラムによって異なる。「体系的同期化交配プログラム」とは、計画的かつ体系的な繁殖プログラムに牛群を組み込むことを意味する。体系的同期化交配プログラムの最も簡単な方法は、発情発見後に全頭に授精を行い、空胎であることが判明した後、あるいは発情が観察されない一定の期間後に自動的にPGFベースのプログラムに切り替えることである。より集中的な同期化繁殖プログラムでは、分娩後人工授精開始までの期間が終了する前に牛を抽出し、初回発情時に全頭に人工授精を行う。人工授精後13日目あるいは早期妊娠診断時に空胎牛に対して再度同期化を開始すれば、発情発見の必要性をほぼ完全に排除できる。

現時点で非常に多くの同期化繁殖プログラムが乳牛群で利用されているが、発情周期の生理学、特に卵胞発育ウェーブの動態を十分に理解した上で発情周期を調節しなくてはならない。また、下記の薬剤すべてが泌乳牛への使用承認を受けているものではない点にも注意が必要である。

◇ 卵胞発育ウェーブ

牛の発情周期中には2回または3回の卵胞発育ウェーブがあり、卵胞発育ウェーブは直径4mm以上の発育胞状卵胞群で構成され、そこから1個の主席卵胞が選抜され、残りの卵胞は閉鎖・退行する(34, 35)。卵胞発育ウェーブが2回あるいは3回のいずれの発情周期においても、最初の卵胞発育ウェーブは排卵日(0日目)に出現し、2回目の卵胞発育ウェーブは、2回の卵胞発育ウェーブを持つ牛では9または10日目、3回の卵胞発育ウェーブを持つ牛では8または9日目に出現、そして3回目の卵胞発育ウェーブは15または16日目に出現する。発情周期の長さは、2回の卵胞発育ウェーブを持つ牛で約20日間、3回の卵胞発育ウェーブを持つ牛で23日間である。黄体退行時に存在している主席卵胞が排卵卵胞となり、次の卵胞発育ウェーブの出現は次回の排卵まで抑制される(42)。卵胞発育ウ

エーブが2回と3回の数はほぼ同数である。まだ体系的に研究されていないが、卵胞発育ウエーブパターンに対する品種あるいは年齢の特異性は存在せず、受胎性にも明確な差異はない。進化の過程で、2回または3回の卵胞発育ウエーブが現れた理由や卵胞発育ウエーブのパターンそのものが出来上がった理由は明らかではないが、卵胞発育ウエーブのパターン間の相異は明りようで、卵巣周期の同期化の理論において明確な意味を持つ。

卵胞発育ウエーブの動員と主席卵胞の選択は、卵胞刺激ホルモン (FSH) と黄体形成ホルモン (LH) に対する反応性の違いに基づいている (35)。血中 FSH のサージが卵胞発育ウエーブの出現を誘起する (1)、続いて発育卵胞の產生する物質によって FSH 分泌が抑制される。その結果、主席および次席卵胞の発育に差が生じ始めた時点、すなわち卵胞発育ウエーブの出現から約 2 日後に FSH 分泌の低下が始まる (35)。各卵胞発育ウエーブの中で、最初に LH 受容体を得た卵胞が主席卵胞となり、FSH をまだ必要とする次席卵胞は閉鎖・退行する (3)。主席卵胞は約 6 日間発育を継続してから静止期に入る。黄体 (CL) のプロジェステロン分泌の結果生じた LH の抑制により、2~3 日後に主席卵胞がその代謝的機能を停止して閉鎖・退行し始め、FSH サージが起こる (2)。この FSH サージは退行過程の主席卵胞には影響しないが、次の卵胞発育ウエーブの出現を誘起して、卵巣周期が繰り返される。黄体の退行によって LH のパルス状分泌の頻度が増加するようになり、主席卵胞が発育を継続して、高濃度のエストラジオールを分泌する。これが視床下部一下垂体系に正のフィードバック作用をかけることにより LH サージを誘起して排卵が起こる。

◇ プロスタグラニン

PGFは、牛の発情同期化処置に最も多く用いられている (47, 68)。しかし、発情後5~6日間はPGFの黄体退行作用はない。PGFによって黄体退行が誘起されると、その後6日以内に次の発情が起こる (83)。このばらつきは、処置時点での卵胞の状態が原因である (42)。主席卵胞が発育中か静止期の初期にある時には、黄体が退行して2~3日で発情と排卵が起こる。しかし、主席卵胞が静止期の後期か退行期にある時は、黄体の退行によって次の卵胞発育ウエーブの主席卵胞から排卵が起こるため、発情と排卵は5~6日間起こらない。

PGFは、1回または2回投与される。例えば、分娩後にPGF処置を一定間隔で行う。または直腸検査で黄体が確認されてからPGFを投与するターゲットブリーディングなどである。PGFを2回投与する同期化法では11日間隔で投与される。なぜなら、11日が発情周期の中間点に相当し、理論的には2回目の投与時に全頭がPGFに反応する黄体を持っていると考えられるためである (84)。しかし、発育中の主席卵胞は、1回目のPGF処置から14日後に存在している可能性が高く、14日間隔の投与において受胎率の向上が報告されている (30)。PGFでは、定時人工授精が可能なほど十分な発情の同期化と排卵を誘起できないことは明らかである。最近の方法は、黄体と卵胞の状態ともに制御するよう計画され、発情発見をしなくても人工授精が可能な、正確な同期化ができるという新たな可能性がでできている。PGFは、上記の処置方法で必要不可欠である。

◇ 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH)

GnRH は、70 年代に卵胞囊腫の治療薬として利用可能になった (25)。発育中の主席卵胞を持つ牛を GnRH で処置しても排卵が誘起され、約 2 日後には新しい卵胞発育ウエーブが出現すると報告されている (54)。7 日後に PGF を投与すると新しい主席卵胞が排卵し (94)、PGF から 36~48 時間後に 2 回目の GnRH 投与を行うとさらに確実なものとなる (105)。GnRH を利用した定時人工授精のための排卵同期化法は「Ovsynch (オブシンク)」と呼ばれ、Pursley ら (70) が考案した。1 回目の GnRH 投与から 7 日後に PGF を投与し、48 時間後に 2 回目の GnRH 投与を行う (図 1)。人工授精は、2 回目の GnRH 投与の 12~16 時間後 (オブシンク; 70) または同時に (コシンク; 33) 実施する。PGF を 11~14 日間隔で 2 回投与し、2 回目の PGF 投与後 12~14 日目に 1 回目の GnRH 投与を行うと (プレシンク)、GnRH 投与時に反応する主席卵胞を持つ牛の数が多くなる (95)。もう一つの方法は Heatsynch (ヒートシンク) である。これは、GnRH 投与の 7 日後に PGF を投与し、24 時間後にエストラジオールシピオネート (ECP) を投与し、発情が発見されてから人工授精または 36 時間後に定時人工授精を実施する (69)。

Ovsynch は、未経産牛よりも泌乳牛の方が効果的である。この違いの原因は不明であるが、最初の GnRH 投与による排卵の誘起は経産牛では 85% で、未経産牛では 54% のみであった (70)。また、未経産牛の 19% では PGF 投与前に発情が回帰し、定時人工授精が不可能となった (105)。Stevenson ら (89) も、Ovsynch 計画中に経産牛の約 9% が自発的な発情を発現することを報告している。生産者はこの処置においては、定時人工授精の予定前に発情を示した牛に授精を実施できるよう準備する必要がある。一方、GnRH をベースにした方法による定時人工授精後の受胎率は、経産牛よりも初産牛の方が高い (93)。著者らの卵胞動態モデルと未経産牛での Ovsynch 法における卵胞動態の予想は明らかに異なるが、Ovsynch 法は乳牛で広く用いられている (84)。

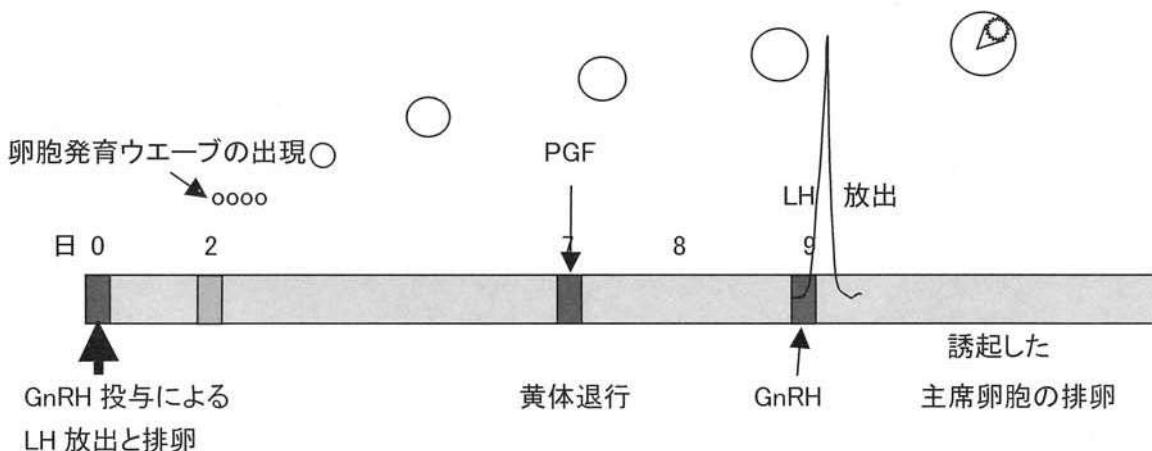


図 1. Ovsynch 処置方法。1 回目の GnRH 投与で排卵を誘起して卵胞発育ウエーブの出現を同期化し、7 日後に PGF を投与して黄体退行を誘起する。48 時間後の 2 回目の GnRH 投与で LH 放出を誘起して、あらたに出現した主席卵胞の排卵を同期化する。

著者らは未経産牛では1回目のGnRH投与により56%しか主席卵胞の排卵を誘起できず、新たな卵胞発育ウエーブを常に誘起させられるわけではないことを示した(56)。しかし、1回目のGnRH投与とPGF投与の間にCIDRを挿入すると、未経産牛における妊娠率が2倍近く上昇した。2つの異なる研究では、肉用未経産牛における7日間のGnRHベースの処置でCIDR(プロジェステロン)挿入を併用すると受胎率が39%から68%に上昇し、pLHベースの処置でCIDRを併用すると受胎率が38%から65%に上昇している(58)。

◇ プロジェステロンとプロジェスチン

プロジェステロンは、発情抑制とLH放出遮断により排卵を阻止することにより、牛の卵巣機能を変化させる(20)。プロジェステロンはLHパルスも抑制するが(81)、用量依存的に主席卵胞の発育が抑制される。しかしFSH分泌が抑制されることはない(2,3)。そのため、機能性黄体が存在しても卵胞発育ウエーブが出現し続ける。黄体の寿命よりも長期にわたって(14日間以上)プロジェスチンを投与すると、投与を中止すると同時に発情が同期化されるが受精能は低くなる。牛の発情周期を制御するためのプロジェスチンの使用は、黄体から分泌されるプロジェステロンよりもLHの分泌抑制が弱く、LHのパルス状分泌の増加により持続的に発育する卵胞(持続的発育卵胞;81)と受精不能な加齢卵子(73)を誘起する。

最近、膣内留置型プロジェステロン製剤(CIDR)がほとんどの国で承認されている。使用説明書(人工授精のため)には、製剤を膣内に7日間留置すると記載されている。PGFをCIDR抜去の24時間前に投与し、CIDR抜去から48時間後に発情観察を開始する。処置期間が短い(7日間)ため、持続的に発育する卵胞の発生率が低下する。CIDR製剤は、発情発見して人工授精を行う方法、または定時人工授精のための卵胞発育と排卵の同期化などの処置にもよく適している。また、プロジェスチン(CIDR)処置は、分娩後や性成熟期の未経産牛の発情周期を誘起できることが示されている(53)。

◇ プロジェステロンとエストラジオール

エストラジオールは、もともとプロジェスチン処置開始時に投与され、黄体退行を誘起してプロジェスチン処置期間を短縮するために用いられてきた(68)。そのため、持続的に発育する卵胞の発生の可能性が低下すると考えられる。受胎率は一定していないが、全体的な結果は供用可能なものである。低受胎率は、一般にボディーコンディションスコアや分娩後の期間の問題に関係している。

最近になって、著者らはエストラジオールには卵胞を退行させるもう一つの効果があることを示した(8)。このメカニズムには、FSHとおそらくLHの抑制が関係していると思われる。プロジェスチン剤を留置した牛に作用時間の短いエストラジオール(エストラジオール17 β)を使用すると、処置時の卵胞発育ステージに関係なく、約3~5日後に新たな卵胞発育ウエーブが出現する(8)。通常5mgのエストラジオール17 β または2mgの安息香酸エストラジオール(8,17)と50~100mgのプロジェステロンが、プロジェスチン製剤の留置と同時に投与される(57)。プロジェステロンは、機能性黄体の

ない牛における排卵前のようなエストロジエン誘導性の LH サージを防止する。エストラジオールとプロジェステロンの併用処置は現在、供胚牛の過剰排卵誘起処置のための卵胞発育ウエーブの同期化に多く用いられている（8, 9）。発情同期化プログラムでは、プロジェスチン製剤の抜去から 24 時間後に 2 回目のエストラジオール 1 mg を投与して、約 16~18 時間後に LH 放出を誘起して、定時人工授精ができるように排卵を同期化させる（図 2；58）。

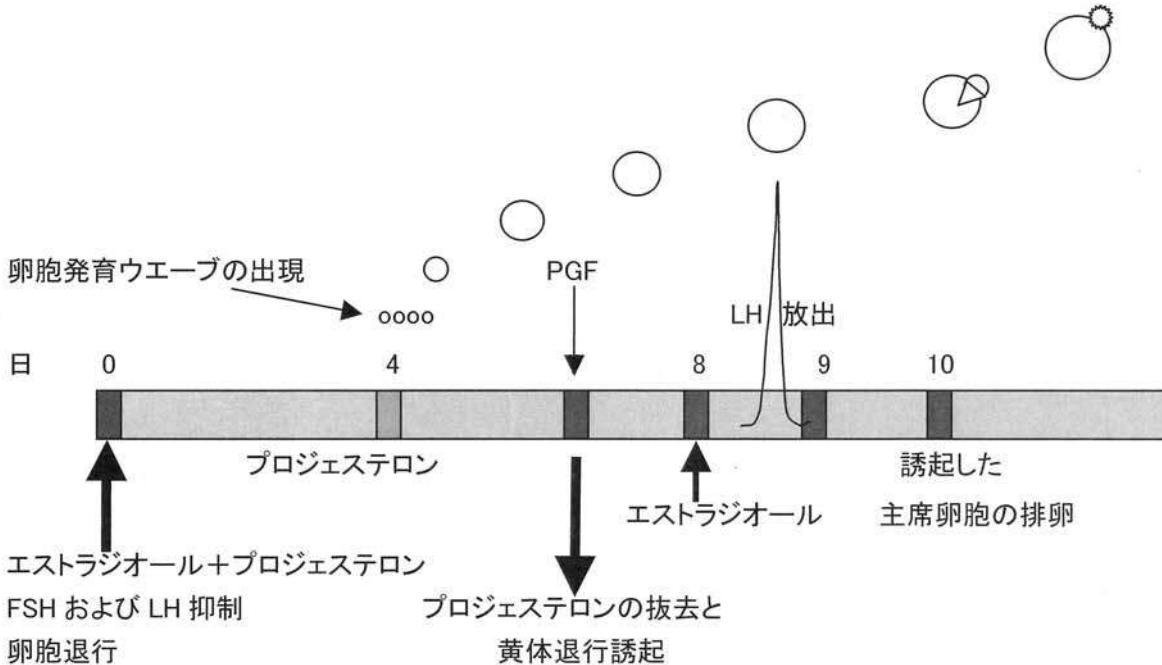


図 2. エストラジオールとプロジェステロンを用いた卵胞発育ウエーブの同期化法の図式。プロジェスチン製剤を 7 日間留置し、抜去時に PGF を投与して 24 時間後に 2 回目のエストラジオールを投与、LH 放出を誘起して主席卵胞の排卵を同期化する。

◇ 空胎牛の再同期化

過去に授精した牛で発情を再同期化する最も簡単な方法は、発情後 12 または 13 日目に新品または使用済みプロジェスチン製剤を挿入することである（9, 19）。20 日目にプロジェスチン製剤を抜去すると、22~25 日目に 60~70% の非妊娠牛で発情が発現する。発情が発現した牛には再び授精を行い、発情が発現しなかった牛は妊娠していると判断する。

Fricke (31) は、分娩後の泌乳牛に定時人工授精を実施し、その後の妊娠診断時に不受胎と判定された牛について、次回の授精までの期間を最小限にするための再同期化処置による定時人工授精の新しい方法を報告した。分娩後、人工授精開始までの期間（VWP）が終了するまでに、予備同期化を 14 日間隔で行い、その後、GnRH ベースの定時人工授精（初回）を実施した。再同期化処置は、初回の定時人工授精後 19、26 および 33 日目から GnRH 処置を開始する。妊娠診断は、GnRH 投与後 7 日目の 26、33 および 40 日目に超音波診断で行い、不受胎牛には PGF を投与し、さらに 48 時間後に 2 回目の GnRH を投与するとともに再度定時人工授精を実施している（Cosynch）。この研究では、初回の定時人工授精後 26 日目から開始した再同期化処置が最も有効であった。このことは、初回定時人工授精から

33 日目に妊娠診断を行うことになるため、妊娠診断が容易になるためと思われる。早期に再同期化処置を行った牛では、分娩から受胎までの期間が 22~23 日間短縮することが報告されている（53）。

◇ 発情周期の人為的制御の影響

ホルモンを用いた発情制御法の利用が増えている。乳牛の受胎性に対するその影響はマイナス（24, 65）、ゼロ（106）、プラス（62）などさまざまである。発情観察した上で人工授精を実施しても、受胎性に対する影響はほとんどなかった。発情観察を行わない定時人工授精では、受胎率が低下する場合があるものの、幾つかの利点がある（52）。受胎率について見ると、全頭に授精を行うという点で発情観察の非効率性が排除されるため、全体としてはプラスとなる。

受胎率を重視しがちなため、生産者は定時人工授精を行う同期化プログラムの長所を見落とすようになった。例えば、定時人工授精を一定期間内に該当する牛の 100%に適用した場合、受胎率は低くなるが、従来の発情観察に基づくプログラムに比べて早く妊娠するようになる。従来の発情観察に基づくプログラムでは、受胎率は高いが発情発見率が低い（89）。受胎率の概念は、獣医師が生産者の繁殖が成功したかどうかについて見直す際に役立つ。予想より妊娠率が低かった場合、生産者にとって牛群の繁殖に問題があることを示す警告となるが、獣医師にとっては牛群の成績に関与する要因とともに発情発見率と受胎率を個体レベルで調べる必要がある。

最近まで、カナダの牛群で同期化繁殖プログラムの利用率に関する客観データは存在しなかった。しかし、体系的利用は予想よりも少ないようである。カナダの乳牛群における同期化繁殖プログラムに関する第 1 回コンセンサスを 03 年に着手し、カナダでのプログラムの利用に関する情報不足に対応して、同プログラムの管理に対するガイドラインについて一定の合意事項を策定した。カナダの乳牛群では、群レベルでの同期化繁殖プログラムの体系的利用が驚くほど少ないことが明らかになった。同期化繁殖プログラムは多くの場合、獣医師の直腸検査後の勧めにより、個体レベルまたは問題のある牛に対して主に使用されていた。国内の乳牛群の繁殖成績は大幅に低下しているが、生産者（そしてその獣医師）の多くは現在の繁殖成績に満足しているようであった。

◇ 同期化繁殖計画の経済的側面

米国の牛群の収益性（乳牛 1 頭当たりの粗利益で計算）は、妊娠率が 30% を上回った時に最大となる（29）。一泌乳期当たりの収益の約 50% は、最初の 100 日間の泌乳期間中に得られる。この期間の収益率は、飼料経費 1 ドルに対して 3 対 1 の割合であるが、これ以降の泌乳期の収益率は 1 対 1 の割合となる（67）。従って、経済的意味を持たせるには、牛群内のほとんどの牛が泌乳初期になるように、分娩後人工授精開始までの期間が経過した後には、できるだけ早く多くの牛を妊娠させることである。

ヨーロッパでの研究では、発情発見率の低い牛群では GnRH をベースにした方法が有益であるが、発情発見率の高い牛群ではターゲットブリーディングプログラムの成績が良好であることを示している（92）。この所見は、さまざまな同期化繁殖プログラムの費用効果を検証した経済モデルと一致している。これらの経済モデルは異なる妊娠率による産乳量、分娩間隔、繁殖障害による淘汰および空胎日数の影響度合いに関する検証に基づいたものである（67）。このモデルにより妊娠率が一貫して28%を下回っている米国の牛群では、同期化繁殖プログラムの利用が有益となることが示された。北米の牛群の標準的な妊娠率は12～18%である。北米の牛群での発情発見率が50%未満であることが主たる原因であり、同期化繁殖プログラムの活用を普及させる必要がある。米国内で何らかの定時人工授精法を利用している乳牛群は10%程度と推定される（52）。

発情発見が望まれ、また発情発見ができる牛群は、比較的単純な同期化法が採用されることが多い。このような牛群は、牛の快適性に細心の注意が払われ、発情徵候を示す環境が与えられ（コンクリート床ではない）、移行期の牛の管理が優れ、コンピューター化された牛群管理記録が最大限利用されているのが普通である。言い換えると、発情発見の必要性を低減または排除する同期化繁殖プログラム（Ovsynch や Presynch など）の利用は、管理が良くない牛群の方が適している。ただし、生産者の管理状況を綿密に調べる必要がある。

獣医師は、牛群の収益性を高める手段として、同期化繁殖プログラムを広く利用するよう働きかける必要がある。経済のモデル化は、生産者の大多数には何らかの同期化繁殖プログラムの実施が有益となることを示している。特に、更新用の未経産牛では同期化繁殖プログラムを利用する機会を逸する場合がある。同期化繁殖プログラムをあらゆる繁殖問題に対する万能薬と見なすのではなく、より大規模な繁殖管理の手段と位置づけるべきである。ただし、牛群の繁殖成績に影響し得る諸要因（疾患、栄養および牛の快適性など）に対処した上で、同期化繁殖プログラムを勧める必要がある。

◇ 結論

現在の乳牛は産乳量が増えており、それにともない栄養要求量の増加、分娩後の無発情の発生率上昇、発情発見率の低下、受胎および妊娠率の低下、胚死滅率の上昇が起こっている。遺伝的能力の高い乳牛では受精率の低下と胚／胎子の損耗が非常に起こりやすく、暑熱ストレス期間中に最も顕著である。しかし、牛群が大規模になると管理上の問題も発生し、これも繁殖効率の低下につながる。発情同期化と定時人工授精は、確かに大規模な牛群の繁殖管理における代替法となるが、小さく低品質の卵胞の排卵を誘発すると、黄体機能不全と短い周期も手伝って胚の生存率が低下する場合がある。インスリンの放出増（プロピオン酸産生の増大）をもたらす飼料給与により、分娩後早期に発生する繁殖問題の多くを克服する可能性が示されている。明らかに、現在の乳牛は以前より高度な管理が必要である。繁殖性が低下していることをやむを得ないことに理解する必要はないが、問題の解決には時間を要し、常に細部に至るまで注意する必要がある。

◇ 引用文献

1. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginther OJ. 1992. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*; 94:177.
2. Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ. 1992. The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. *J Reprod Fertil*; 95:627-640.
3. Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. 1993. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim Reprod Sci*; 30:259-271.
4. Almeida AP, Ayalon N, Faingold D, Marcus S, Lewis I. 1984. The relationship between uterine environment and early embryonic mortality (EEM) in normal (NB) and repeat-breeder (RB) Friesian cows. *Proceedings 10th International Congress of Reproduction and AI*, pp. 438.
5. Ayalon N. 1978. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fert*; 54:483-93.
6. Beam SW, Butler WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in post partum dairy cows. *J Reprod Fertil*; 54 (Suppl):411-424.
7. Bearden HJ, Hansel WM, Brafton RW. 1956. Fertilization and embryonic mortality rates of bulls with histories of either low or high fertility in artificial breeding. *J Anim Sci*; 34:312-317.
8. Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Mapleton RJ. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*; 43:31-40.
9. Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Mapleton RJ. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*; 57:53-72.
10. Bó GA, Baruselli PS, Martinez MF. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*; 78:307-326.
11. Bó GA, Cutaia L, Chesta P, Moreno D. 2004. The use of eCG to increase pregnancy rates in postpartum beef cows following treatment with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and fixed-time AI. *Reprod Fert Dev*; 16:127 abstr.
12. Bouchard E, Du Tremblay D. 2003. Portrait Québécois de la reproduction. Recueil des conférences du Symposium des Bovins laitiers, Saint-Hyacinthe, pp. 13-23.
13. Bousquet D, Bouchard E, Du Tremblay D. 2004. Decreasing fertility in dairy cows: Myth or reality? *Le Medecin Veterinaire du Quebec* 34:59-61.
14. Boyd H, Bacsich P, Young A, McCracken JA. 1969. Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. *Brit Vet J*; 125:87-97.
15. Butler WR. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*; 60-61:449-457.

16. Butler WR, Smith RD. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 72:767-783.
17. Caccia M, Bo GA. 1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*; 49:341.
18. Cavalieri J, Hepworth G, Macmillan KL. 2004. Ovarian follicular development in Holstein cows following synchronization of oestrus with oestradiol benzoate and an intravaginal progesterone releasing insert for 5-9 days and duration of the oestrous cycle and concentrations of progesterone following ovulation. *Anim Reprod Sci*; 81:177-193.
19. Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Meyer JA, Wood-Follis SL. 2003. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci*; 86:2039-2049.
20. Christian RE, Casida LE. 1948. The effects of progesterone in altering the oestrous cycle of the cow. *J Anim Sci*; 7: 540.
21. Coubrough RI, Berischinger HJ, Kuehne KJ. 1980. The practical implications of genital histopathological changes, enzyme and hormonal levels in the cow caused by malnutrition. *Proceedings 10th International Congress on Diseases of Cattle*, Tel-Aviv, pp. 867-872.
22. Dailey RA, Butcher RL, Inskeep EK, Lewis PE. 1992. Association of short luteal phases with follicular development in sheep and cows. *Bulletin 706T*, Agricultural and Forestry Experiment Station, West Virginia University, 16 pp.
23. Diskin MG, Sreenan JM. 1985. Progesterone and embryo survival in the cow. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Eds. J.M. Sreenan and M.G. Diskin. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands. pp. 142-158.
24. Donovan GA, Bennett FL, Springer FS. 2003. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein heifers. *Theriogenology*; 60:67-75.
25. Drost M, Thatcher WW. 1992. Application of gonadotrophin releasing hormone as a therapeutic agent in animal reproduction. *Anim Reprod Sci*; 28: 11-19.
26. Dunlap SE, Vincent CK. 1971. Influence of postbreeding thermal stress on conception rate in beef cattle. *J Anim Sci*; 32:1216 -1218.
27. Eicher SW, Gröhn YT, Hertl JA. 1996. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *J Dairy Sci*; 79:235-241.
28. Erb RE, Garverick HA, Randel RD, Brown BL, Callahan CJ. 1976. Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*; 5:227-242.
29. Ferguson JD, Galligan DT. 1999. Veterinary reproductive programs. *Proceedings of the 32nd Annual Convention of the AABP*, Nashville, pp131-137.
30. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci*; 73:2817.

31. Fricke PM, Caraviello DZ, Weigel KA, Welle ML. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals after first timed insemination. *J Dairy Sci*; 86:3941-3950.
32. Fricke P. 2002. Measuring reproductive levels, *Dairy*, Jan-Feb; 30-33.
33. Geary TW, Whittier JC, LeFever DG. 1998. Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the Ovsynch or Co-Synch protocol. *J Anim Sci*; 81 (Suppl 1):278.
34. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci*; 20:187-200.
35. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*; 55:1187-1194.
36. Gong JG. 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Dom Anim Endocrin*; 23:229-241.
37. Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ. 2000. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 60-61:605-614.
38. Gustafsson H, Larsson K, Kindahl H, Madej A. 1986. Sequential endocrine changes and behaviour during oestrus and metoestrus in repeat breeder and virgin heifers. *Anim Reprod Sci*; 10:261-273.
39. Hansen PJ. 2002. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *J Anim Sci*; 80 (E Suppl 2):E33-E44.
40. Hill JR Jr, Lamond DR, Henricks DM, Dickey JF, Niswender GD. 1970. The effects of undernutrition on ovarian function and fertility in beef heifers. *Biol Reprod*; 2:78-84.
41. Hunter MG. 1991. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fert*; Suppl. 43:91-99.
42. Kastelic JP, Knopf L, Ginther, OJ. 1990. Effect of day of prostaglandin treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci*; 23:169-180.
43. Kidder HE, Black WG, Wiltbank JN, Ulberg LC, Casida LE. 1954. Fertilization rates and embryonic death rates in cows bred to bulls of different levels of fertility. *J Dairy Sci*; 37:691-697.
44. King WA. 1990. Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Adv Vet Sci Comp Med*; 34:229-250.
45. King WA. 1991. Embryo-mediated pregnancy failure in cattle. *Can Vet J*; 32:99-103.
46. Lamming GE, Darwash A0, Back HL. 1989. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J Reprod Fert*; (Suppl) 37:245-252.
47. Larson LL, Ball PJH. 1992. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology*; 38: 255-267.
48. LeBlanc S. 2001. The Ovsynch breeding program for dairy cows – A review and economic perspective. *The Bovine Pract*; 35:13-22.

49. Loeffler SH, de Vries MJ, Schukken YH. 1999. The effects of time of disease occurrence, milk yield and body condition score on fertility of dairy cows. *J Dairy Sci*; 82:2589-2604.
50. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. 2004. Relationship between milk production and estrous behaviour of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 81:209-223.
51. Lopez-Gatius F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology*; 60:89-99.
52. Lucy MC. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*; 84:1277-1293.
53. Lucy MC, McDougall S, Nation DP. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim Reprod Sci*; 82-83:495-512.
54. Macmillan KL, Thatcher WW. 1991. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*; 45:883-889.
55. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM, Peterson AJ. 1991. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *J Reprod Fert*; (Suppl) 43: 304.
56. MARTINEZ MF, ADAMS GP, BERGFELT D, KASTELIC JP AND MAPLETOFT RJ. 1999. EFFECT OF LH OR GnRH ON THE DOMINANT FOLLICLE OF THE FIRST FOLLICULAR WAVE IN HEIFERS *ANIM REPROD SCI*; 57:23-33.
57. Martinez MF, Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Mapletoft RJ. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*; 54: 757-769.
58. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook RB, Olson WO, Mapletoft RJ. 2002. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*; 57:1049-1059.
59. Maurer RR, Echternkamp SE. 1982. Hormonal asynchrony and embryonic development – *Theriogenology*; 17:11-22.
60. Maurer RR, Vogt DW. 1988. Decreased fertility in related females heterozygous for the 1/29 chromosome translocation. *Theriogenology*; 30:1149-1157.
61. McClure TJ. 1970. An experimental study of the causes of a nutritional and lactational stress infertility of pasture-fed cows, associated with loss of bodyweight at about the time of mating. *Res Vet Sci*; 2:247-254.
62. McIntosh DAD, Lewis JA, Hammond D. 1984. Conception rates in dairy cattle treated with cloprostenol and inseminated at observed oestrus. *Vet Rec*; 115:129-130.
63. Mee MO, Stevenson JS, Scoby RK, Folman Y. 1990. Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *J Dairy Sci*; 73:1500-1507.
64. Monget P, Froment P, Moreau C, Grimard B, Dupont J. 2004. Metabolism and bovine reproduction. *Le Medecin Veterinaire du Quebec*. 34:69-71.

65. Morel JM, Noakes DE, Zintzaras E, Dresser DW. 1991. Apparent decline in fertility in heifers after repeated oestrus synchronization with cloprostrenol. *Vet Rec*; 128:404-407.
66. Nasser LF, Reis EL, Oliveira MA, Bo GA, Baruselli PS. 2004. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* X *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*; 62:1577-1584
67. Nebel RL, McGilliard ML, French PD, Saltman RL. 2003. Economic impact of systematic breeding programs and factors to consider in program selection for the reproductive management of dairy cattle. Proceed Society for Theriogenology Annual Conference and Symposium, Columbus OH, pp 371-9
68. Odde KG. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci*; 68: 817-830.
69. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronizationtimed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*; 85:122-131.
70. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*; 44: 915-923.
71. Putney DJ, Mullins S, Thatcher WW, Drost M, Gross TS. 1989. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. *Anim Reprod Sci*; 19:37-51.
72. Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. 1988. Embryonic development in dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 postinsemination. *Theriogenology*; 30:195-209.
73. Revah I, Butler WR. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fertil*; 106: 39-47.
74. Roberts RM, Schalue-Francis T, Francis H, Keisler D. 1990. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology*; 33:175-183.
75. Robinson NA, Leslie KE, Walton JS. 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J Dairy Sci*; 72:202-207.
76. Rhodes FM, McDougall S, Burke CR, Verkerk GA, Macmillan KL. 2003. Invited review: treatment of cows with an extended postpartum anoestrous interval. *J Dairy Sci*; 86:1876-1894.
77. Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woolliams JA, Lamming, GE. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim Sci*; 70:487-501.
78. Royal M, Mann GE, Flint APE. 2000. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet J*; 160:53-60.

79. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano L, Wiltbank MC. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and 17 α -estradiol in dairy cows. *J Dairy Sci*; 85:2831-2842.
80. Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvao KN. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci*; 82-83:513-535.
81. Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, Mattiacci MR. 1993. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil*; 98: 77-84.
82. Schmutz SM, Moker JS, Barth AD, Mapleton RJ. 1991. Embryonic loss in superovulated cattle caused by the 1;29 Robertsonian translocation. *Theriogenology*; 35:705-714.
83. Seguin B. 1987. Control of the reproductive cycle in dairy cattle. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology; pp. 300-308.
84. Seguin B. 1997. Strategies for estrus control to improve dairy reproductive performance. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology; pp. 320-331.
85. Spitzer JC, Niswender GD, Seidel GE, Wiltbank JN. 1978. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. *J Anim Sci*; 46:1071-1077.
86. Sreenan JM, Diskin MG. 1985. The extent and timing of embryonic mortality in the cow. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Eds. J.M. Sreenan and M.G. Diskin. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands. pp. 1-11.
87. Stevenson JS, Call EP, Scoby RK, Phatak AP. 1990. Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *J Dairy Sci*; 73:1766-1772.
88. Stevenson JS, Mee MO. 1991. Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *J Dairy Sci*; 74:3849-3856.
89. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of GnRH and prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci*; 82:506-515.
90. Stott GH, Williams RJ. 1962. Causes of low breeding efficiency in dairy cattle associated with seasonal high temperature. *J Dairy Sci*; 45:1369-1375.
91. Tanabe TY, Hawk HW, Hasler JF. 1985. Comparative fertility of normal and repeat-breeding cows as embryo recipients. *Theriogenology*; 23:687-696.
92. Tenhagen BA, Drillich M, Surholt R, Heuwieser W. 2003. Comparison of timed AI after synchronized ovulation to AI at estrus: reproductive and economic considerations. *J Dairy Sci*; 87:85-94.
93. Tenhage B-A, Surholt R, Wittke M, Vogel C, Drillich M, Heuwieser W. 2004. Use of ovsynch in dairy herds – differences between primiparous and multiparous cows. *Anim Reprod Sci*; 81:1-11.

94. Thatcher WW, Drost M, Savio JD, Macmillan KL, Schmitt EJ, Entwistle KW, De la Sota RL, Morris GR. 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim Reprod Sci*; 33: 27-49.
95. Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP, Mattos RC, Lopez FL, Pancarci SM, Risco CA. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*; 55:75-90.
96. Van Cleeff J, Drost M, Thatcher WW. 1991. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology*; 36:795-807.
97. Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*; 56:307-314.
98. Walton JS, Halbert GW, Robinson NA, Leslie KE. 1990. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can J Vet Res*; 54:305-508.
99. Washburn SP, Silvia WJ, Brown CH, McDaniel BT, McAllister AJ. 2002. Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J Dairy Sci*; 85:244-251.
100. Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z, Mann GE. 2003. Follicle growth, corpus luteum function, and their effect on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod*; 61:219-237.
101. Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Robinson RS, Wathes DC. 1999. Consequences for reproductive function of metabolic adaptation to load. British Society of Animal Science, Occasional Publication. No. 24:99-112.
102. Wiebold JL. 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first service lactating dairy cows. *J Reprod Fert*; 84:393-399.
103. Williams AH, Cumming IA. 1982. Inverse relationship between concentration of progesterone and nutrition in ewes. *J Agric. Sci, Camb.* 98:517-522.
104. Wiltbank JN, Rowden WW, Ingalls JE, Zimmerman DR. 1964. Influence of postpartum energy level on reproductive performance of Hereford cows restricted in energy intake prior to calving. *J Anim Sci*; 23:1049-1053.
105. Wiltbank MC. 1997. How information of hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology; pp. 83-97.
106. Xu ZZ, Burton LJ. 1998. Synchronization with PGF2 alpha administered 18 days after a progesterone treatment in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 50:905-91.

MEMO

MEMO

北海道アルバータ酪農科学技術交流協会

〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582番地

TEL. 011-386-1292, FAX. 011-387-2805

E-mail. office@alt-rakuno.net

www.alt-rakuno.net