

黒毛和種繁殖雌牛における栄養水準の増減が過剰排卵処置時の卵胞数および採胚成績に及ぼす影響

林 武司*, 上田修二¹⁾, 磯崎良寛

本研究は、体内胚を採取するために過剰排卵処置を施す黒毛和種雌牛に対し、配合飼料の給与量を変更することで栄養状態の切替え（配合飼料減量→増量）を行い、小中卵胞数、過剰排卵処置の反応性や採胚成績に及ぼす影響について検討を行った。試験は黒毛和種雌牛 9 頭を用い、試験区は、配合飼料を減量給与（TDN:90%, CP:100%）で 2 週間維持し、増量給与（TDN:115%, CP:140%）に切り替えたのち、1 週間後に CIDR を挿入し過剰排卵処置および採胚を実施した。対照区は基準量（TDN:106%, CP:110%）を試験区と同等の期間給与した。試験期間中の体重変動は、試験区、対照区との間に差はなかった。試験期間中の小中卵胞数について、試験区では、減量給与中、大きな変動はなかったが、増量給与に切り替わると小中卵胞数は増量給与前と比べて増加した（ $P<0.05$ ）。しかしながら、その後実施した過剰排卵処置時の大卵胞数は、両区で差は認められなかった。採胚成績では総回収卵数は両区で差は認められなかったが、試験区では対照区と比べ、正常受精胚数が有意に多くなり（ $P<0.05$ ）、AB ランク胚数は多い傾向がみられた（ $P=0.069$ ）。また、未受精卵数は試験区が有意に少なくなった（ $P<0.05$ ）。これらの結果から、過剰排卵処置前の黒毛和種雌牛において、配合飼料の給与量を減量から増量し、栄養水準を切り上げると小中卵胞数が増加するものの、過剰排卵処置後の大卵胞発育への反応性には影響しないと考えられた。一方で正常受精卵数が向上し、未受精卵数が減少する等、採胚成績を向上させる可能性があることが示唆された。

[キーワード：栄養、過剰排卵処置、黒毛和種雌牛、採胚成績、卵胞数]

Effect of Nutrition Change on Superovulation Follicles Response and the Quality of Recovered Embryos in Japanese Black Cow. HAYASHI Takeshi · Shuji UEDA and Yoshihiro ISOZAKI, (Fukuoka Agriculture and Forestry Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. For. Res. Cent.* 10 : 25 - 31 (2024)

The aim of this study was to examine the effect of controlling nutritional status (i.e., low to high nutrition) on the following outcomes in Japanese Black cows: 1) the number of small and medium follicles in the ovaries, 2) the response to superovulation, and 3) the number of normal fertilized oocytes. Specifically, nine Japanese Black cows were fed a low nutritional diet for two weeks (TDN:90%, CP:100%) and then they were subjected to a high nutritional diet (TDN:115%, CP:140%). Finally, after one week, CIDR was inserted. In addition, superovulation treatment, periodic artificial insemination, and uterus flashes were performed. Moreover, the control group was fed the standard nutrients (TDN:106%, CP:110%) for the same period as the test group. Throughout the study, the test and control groups did not differ in terms of their body weight. Although the number of small and medium follicles did not change during the low-nutrition period, this number significantly increased when a high-nutrition diet was implemented. However, the number of large follicles (i.e., as driven by superovulation) was not different between the two groups. Regarding the uterus flash results, there was no difference in the number of oocytes obtained during embryo collection, but the number of normal fertilized embryos was significantly higher in test group ($P<0.05$). We also found that the number of non-fertilized oocytes was significantly lower in the test group. Overall, we found that pre-superovulatory nutritional control in Japanese Black cows contributes toward the small-medium follicle, but this approach does not affect follicular development responsiveness after superovulation. We also found that pre-superovulatory nutritional control may reduce the rate of non-fertilization and increase the number of normal fertilized embryos.

[Keywords: Japanese Black Cow, normal fertilized embryo, nutrition, superovulation, the number of follicles]

結 言

黒毛和種牛繁殖農家の生産性を向上させ、収益を改善するためには、母牛能力の継続的な改良が必要である。その改良方法として、人工授精および胚移植を用いたものが一般的であるが、なかでも優良雌牛の過剰排卵処置 (SOV) による採胚とその胚移植による改良方法 (MOET) は、農家内の優良遺伝子を効率よく活用でき、牛群改良速度を飛躍的に高めることが可能となる。しかしながら、

ホルモン剤に対する反応性や、人工授精に使用する種雄牛精液の差により、採取される移植可能な胚数や品質に安定を欠くのが現状である。ホルモン剤の種類や投与量による採胚成績を検討した報告では、回収された胚は最小 5 個、最大 26 個とあり、個体差によるものであるとしている (余谷ら 1991)。また岡田ら (1998) は、複数の種雄牛を用いて体外受精を行い、胚盤胞発生率などを調査したところ、種雄牛によって受精率や発生率に差が認められたことを報告している。さらに SOV 採胚は経費が高

*連絡責任者 (畜産部 : hayashi-t4389@pref.fukuoka.lg.jp)

1) 前 畜産部

いため、利用可能な高品質胚が少数しか採取されない場合は農家の利益が乏しくなるのが現状である。このことは、SOVによる採胚技術の活用の幅広い普及を妨げる要因になっている。

SOVにおける採胚成績の不安定要因として、投与されるホルモン製剤に対する卵胞の反応性や、正常胚率の差があげられる(余谷ら1991)。SOVにおける卵胞の反応性向上および正常胚率の向上は、優良雌牛を活用した母牛能力の改良に役立つ。SOVと卵胞の反応との関係性について、福田ら(2008)は処置前の小卵胞数と処置後の大卵胞数に正の相関があることを報告している。Nolan *et al.* (1998)はSOV前の短期的な栄養水準低下が卵胞数を増加させることを報告している。また、飼料給与量を増加させることで卵胞数が増加したという報告もある(Freret *et al.* 2006)。他にも、給与飼料の変更により、血中尿素窒素(BUN)/血糖(Glu)比が低下すると、採胚時の正常胚率が向上するという報告もある(細川ら2008)。これらの報告は、牛の栄養状態を変化させることで、SOVに反応する小中卵胞数の増加や正常胚率向上等により採胚成績を改善できる可能性があることを示唆している。

そこで本試験では、黒毛和種繁殖雌牛の飼料給与量の増減により、一定期間の低栄養状態から、高栄養状態に切替え、その後にSOVを行った場合の採胚成績を調査した。

材料および方法

1 供試牛および体重測定・血液検査

供試牛については、黒毛和種雌牛9頭、体重は502kg～662kgの経産雌牛(産次数1～4産)を供試した。個体ごとに試験区と対照区を反転させて試験を行い、人工授精は供試牛ごとに試験区と対照区で同じ種雄牛精液を用いた。またSOV後の卵巣回復のため、反転まで2カ月以上の休止期間を設けた。

体重測定および採血は、試験開始から1週間ごと、および採胚日に実施し(第1図)、総コレステロール(T-cho)、アルブミン(Alb)、尿素窒素(BUN)、血糖(Glu)およびBUN/Glu比について調査した。採血は飼料給与から2時間後に実施し、血液は富士ドライケム(NX500V:富士フィルム、東京)を用いて分析した。体重については個体差の影響を除外するために、試験開始時を起点とする増減(kg)を調査した。

2 飼料給与と栄養量と試験開始のタイミング

飼料給与と栄養量と試験開始のタイミングを第1表、第2表および第1図に示した。試験開始前の試験牛の体重から必要養分量(日本飼養標準肉用牛(2008年版))を計算し、配合飼料給与量を変更することで試験牛の基準量(可消

第1表 飼料給与と栄養量と給与期間

区	給与栄養量	給与期間
対照区:	基準量(TDN:106%, CP:110%)	全期間
試験区:	減量(TDN:90%, CP:100%)	CIDR挿入3週間前～CIDR挿入1週間前まで
	増量(TDN:115%, CP:140%)	CIDR挿入1週間前～採胚まで

- 1) 馴致期間として両区とも試験開始まで1週間基準栄養量を給与
- 2) 減量、増量は配合飼料給与量で制御した

第2表 飼料給与と内容および配合飼料内訳

給与飼料内容		供試牛配合飼料内訳		供試牛配合飼料成分	
飼料名	給与量(現物kg)	飼料名	/kg(現物)	成分 ²⁾	DM含(%)
クレイングラス	3	ヘイキューブ	0.1	DM	88.9
オーツヘイ	3	圧ペントウモロコシ	0.1	CP	19.9
ヘイキューブ	0.8	大麦圧ペン	0.05	TDN	75.0
供試牛配合飼料	0.6～1.2 ¹⁾	大豆粕	0.1	EE	3.7
		ふすま	0.65	NFC	43.9
				CF	10.9
				ADF	14.2
				NDF	30.9

- 1) 試験区分によって変動
- 2) DM: 乾物, CP: 粗蛋白, TDN: 可消化養分総量, EE: 粗脂肪, NFC: 非繊維性炭水化物, CF: 粗繊維, ADF: 酸性デタージェント繊維, NDF: 中性デタージェント繊維

化養分総量 (TDN) :106%, 粗蛋白質 (CP) :110%), 減量給与量 (TDN:90%, CP:100%), 増量給与量 (TDN:115%, CP:140%) を設定した (第1表, 第2表)。給与量を切り替える区を試験区とし, 対照区は全期間を通して基準量を給与した。栄養量の変化は配合飼料給与量を増減させることで行い, 粗飼料は両区とも一定量を給与した。すべての区において試験開始の1週間前から基準量の飼料を給与し, 試験牛を適応させる馴致期間を設けた。試験区では試験開始から2週間減量給与量を与えた後, 増量給与量に変更した。変更から1週間後に膈内留置型プロジェステロン製剤 (CIDR:Zoetis Japan, 東京) を挿入し, 採胚による試験終了まで増量給与を維持した (第1表, 第1図)。発情周期をそろえるために試験区, 対照区ともに黄体が確認された試験牛に対し, 試験開始 (D0) の2週間前にプロスタグランジン F2 α (PGF2 α) (ダルマジン: 共立製薬株式会社, 東京) を 4mL 投与し, 試験を実施した。

3 過剰排卵処置および採胚および採取胚の処理

SOV のホルモン剤投与プログラムについて第1図に示した。試験開始を D0 として, D21 に CIDR を挿入し, 6日目 (D27) から卵胞刺激ホルモン (FSH) (アントリン: 共立製薬株式会社, 東京) を 18AU, 3日間朝夕漸減投与し, CIDR 挿入後8日目 (D29) の朝に PGF2 α を 3mL 筋肉注射し, 同日の夕方に CIDR を抜去した。PGF2 α から 48 時間後 (D31) に性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) (エストマール: MSD アニマルヘルス株式会社, 東京) を 4mL 投与し, 同日の夕方に人工授精 (AI) を行った。AI から7日目 (D38) の朝, 子宮内にバルーンカテーテルを挿入して非外科的に子宮内を生理食塩水で灌流し, 胚を回収した。回収した胚は実体顕微鏡下で International Embryo Technology Society (IETS) マニュアルにしたがってランク付けし, excellent と good の胚を A ランクとし, fair を B ランク, excellent から poor を正常受精胚とした。また, 著しく発育の遅れている胚はランク外

とし, 分割していない胚を未受精卵とし, 採胚成績とした。

4 卵胞数の観察

卵胞数の観察時期について第1図に US (UltraSonic) として示した。卵巣の観察は超音波画像診断装置 (My Labone Vet; Esaote, イタリア) を用い, 小中卵胞数, 大卵胞数等の卵胞数の変化について調査した。試験開始から CIDR 挿入までの4週間は1週間ごと (Day (D) 0, D7, D14, D21), CIDR 挿入後は FSH 投与前 (SOV 前) (D27), AI 時 (D31), AI 翌日の排卵確認日 (D32), 採胚時 (D38) に超音波画像診断装置を用いて観察し, 卵胞数を調べた。卵胞の分類については, 直径 2~4mm を小卵胞, 5~8mm 中卵胞, 9~19mm を大卵胞, 20mm 以上を巨卵胞とした。(第3図, 第3表)。また小中卵胞数の変化率として, 試験開始の D0 から D14, D14 から D27 までの小中卵胞数の変化を調査した (第1図)。さらに, D31 の AI 時の大卵胞数を SOV 前の小中卵胞数で割ることで SOV 反応率を求めた (第3表)。

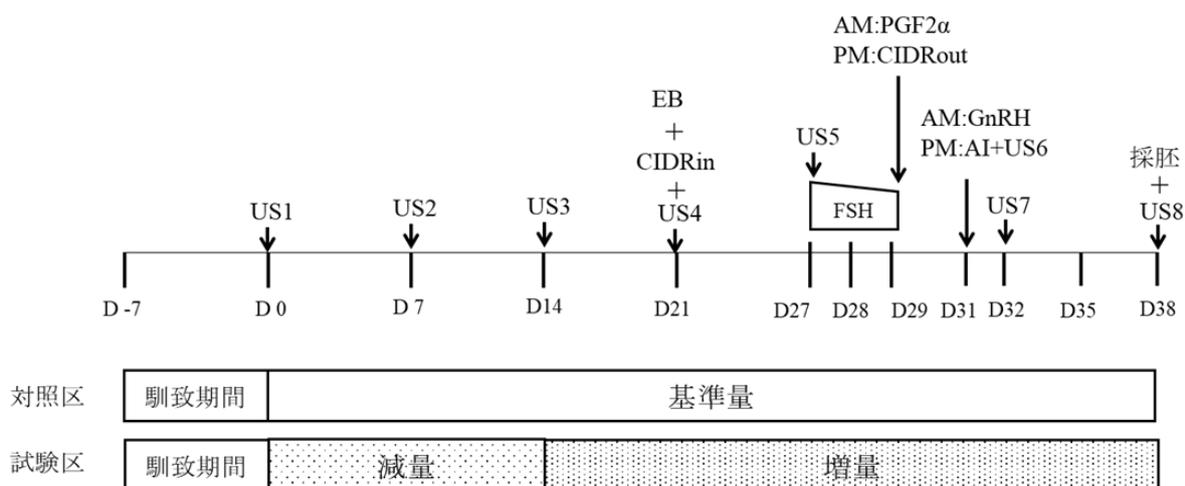
5 統計

統計処理は統計ソフト EZR (Ver1.6) を用い, 小中卵胞数の推移には反復測定分散分析を実施した (Kanda 2013)。体重変動, 血液成分値, 卵胞数, 卵胞変化率, SOV 反応率, 採胚成績についてはデータが正規分布の場合は対応のある t 検定を実施し, 正規分布を示さない場合は Wilcoxon の符号付順位和検定を実施した。

結果および考察

1 体重および血液性状の変化

試験期間中の体重変動および血液性状を第2図に示した。体重の変動について, 試験区で減量給与の開始2週間後の体重が減少したが, 増量給与に切り替えると増加に転じた。ただし対照区と試験区との間に有意な差は認められなかった。T-cho は両区に大きな差は認められなかった。Alb については試験期間中両区に差は認められなかった。

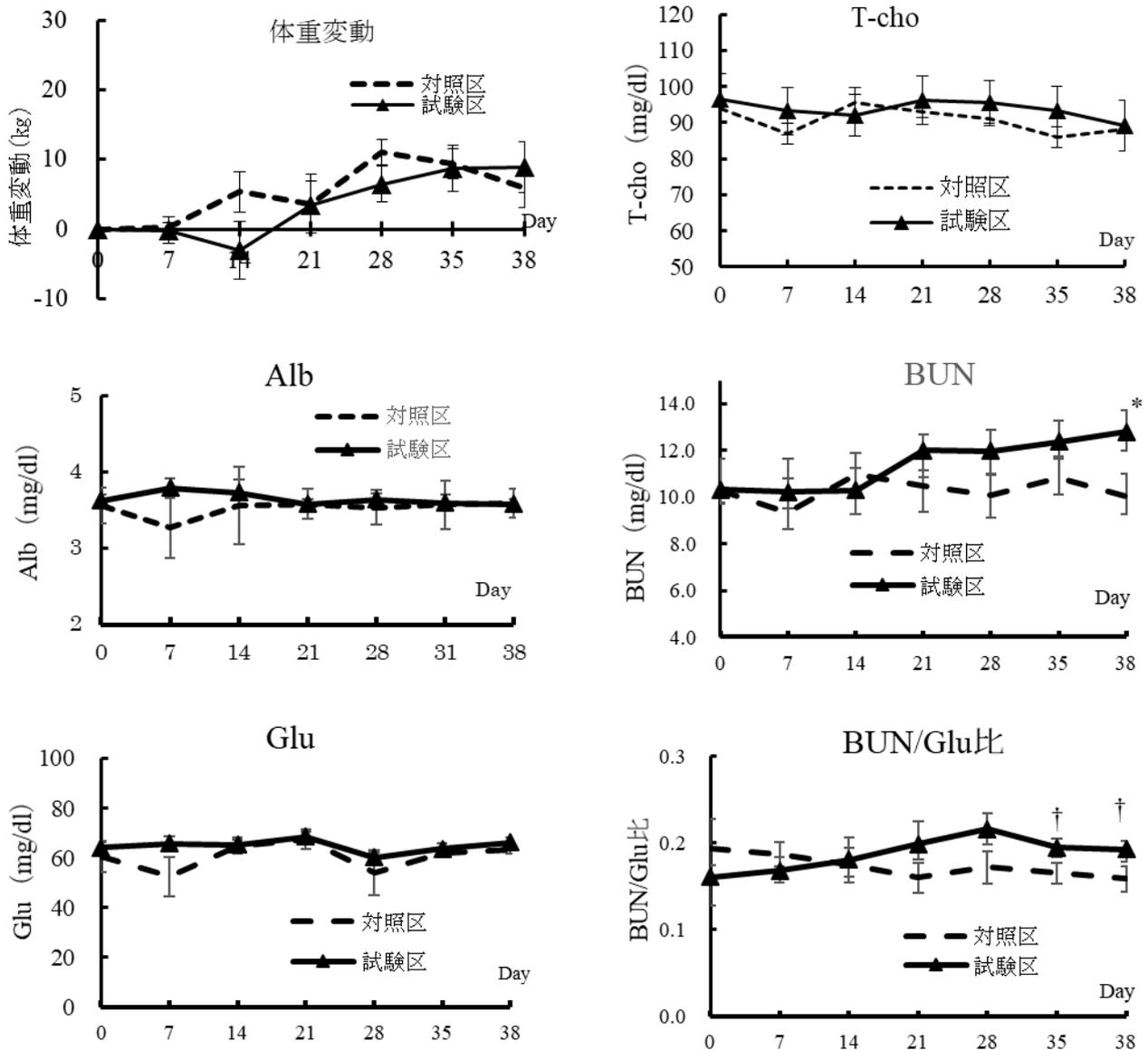


第1図 飼料給与水準およびホルモン投与プログラム

- 1) 基準量…TDN:106%, CP:110%, 減量…TDN:90%, CP:100%, 増量…TDN:115%, CP:140%
- 2) 馴致期間: 基準量を給与

BUN は試験開始後の D0~D14 (試験区における減量給与期) においては両区とも 10mg/dL 程度であったが, D14~D38 (試験区における増量給与期) に移行すると試験区が上昇し, 採胎時 (D38) には対照区に比べ有意に高くなった ($P<0.05$) (第 2 図)。一方で Glu については, 試験期間中 (D0~D38) に両区に有意な差は認められなかった。BUN/Glu 比では D35 から採胎時 (D38) までは試験区が対照区に比べ高い傾向が認められた ($P<0.10$) (第 2 図)。繁殖雌牛の栄養水準切替えによる体重増減について, Admaiak *et al.* (2005) は成牛に対し栄養水準を通常の 2 倍濃度とすることで, 約 40 日間で体重および BCS が増加したことを報告している。本試験では, 一度低栄養状態にすることで, 試験区の体重変動は一時的に減少している。また本試験における対照区と試験区の TDN 差は低栄養時 -16%, 高栄養時で 9% となっており, 試験期間内での体

重変動に差がでにくかったと考えられる。血液性状について, T-cho, Glu には差がでなかったものの, BUN は採卵時に有意に高くなった ($P<0.05$)。T-cho は体重の増減と同じく, 飼料給与量として有意差がでるには不十分な量であり, Glu については, 体内での恒常性が保たれたものと考えられる。福島ら (2018) は, 黒毛和種繁殖牛において栄養水準を切り替えた場合, 速やかに変化するのは BUN であると報告しており, 本研究と一致する。BUN は CP 給与量増減に短期的に変動する指標であり, 本研究と一致する。BUN は CP 給与量増減に短期的に変動する指標であり, 本試験でも BUN が上昇したと考えられる。Alb は長期的な CP 給与量を示す指標であり, 本試験の期間中 (38 日間) では比較的測定期間が短く, 差が生じにくかったと考えられる。



第 2 図 体重変動および血液成分

1) * : $P<0.05$ † : $P<0.10$

2) 対応のある t 検定または Wilcoxon の符号順位和検定

2 卵胞数の変動について

試験期間中の小中卵胞数の推移について第3図、栄養給与量切替えによる小中卵胞数変化とSOVに対する反応性について第3表に示した。試験期間中は両区の小中卵胞において差は認められなかった(第3図)。SOV前的小中卵胞数は、対照区 50.9 ± 7.8 、試験区 64.9 ± 9.6 と有意差は認められなかったが試験区が多かった($P=0.511$)。一方で、小中卵胞数の経時的変化は試験開始時から増量給与への切替えまで(D0~D14)変わらず、変化率に差は認められなかった。しかし、減量給与から増量給与へ切り替えた2週間後(D14~D27)では試験区の小中卵胞変化率は有意に高くなった(第3表)。(対照区:-3.1%, 試験区:30.9%; $P<0.05$)。Nolan *et al.* (1998)は、短期間低栄養状態にすることで卵胞数が増加することを報告している。また、連続経膈採卵(OPU)中に通常栄養量から栄養水準を増加させた場合、回収可能な卵胞数が増加したとの報告もある(Freret *et al.* 2006)。一方で肉用牛未経産牛の給与飼料内容をサイレージ+濃厚飼料、サイレージのみ、乾草飼料のみとして、栄養水準の異なる飼料給与を行い、卵胞数変動を比較したところ、卵胞数の変化に差は認められなかったという報告もある(Yakkub *et al.* 1999)。本試験では、SOV前(D27)の小中卵胞数とAI時(D31)の大卵胞数を比較したSOV反応率は試験区分間の差が認められなかった(対照区61.0%, 試験区48.0%, $P=0.316$) (第3表)。

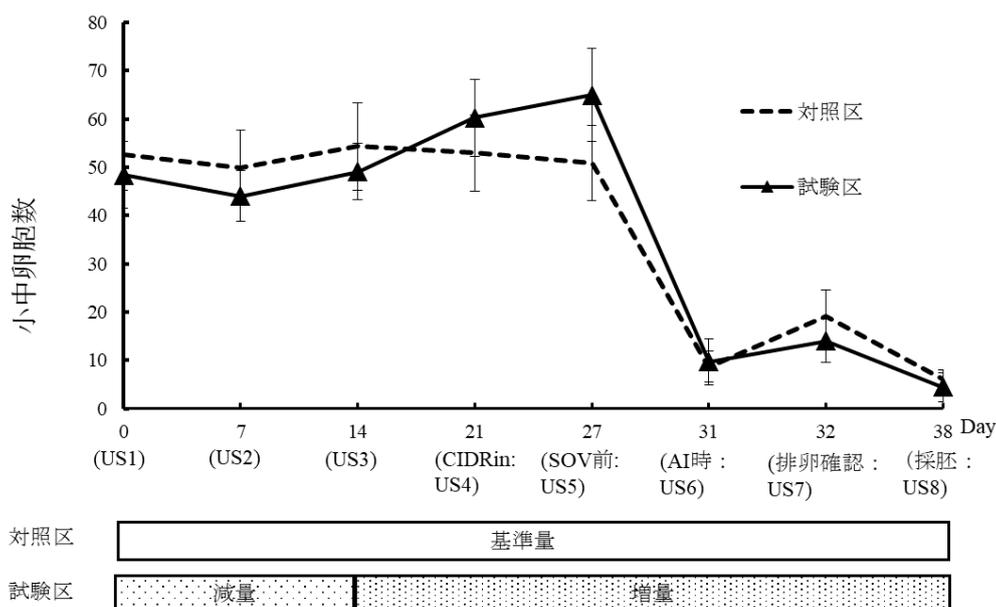
SOVと卵胞数の関係性について、SOV前的小中卵胞数と過剰排卵処置に反応する大卵胞数との間には高い相関があると報告がある(福田ら2008)。また、Kawamata (1994)は、SOV前的小卵胞(直径3~6mm)の数はSOV後の大卵胞数、回収卵数および正常受精胚数と強い相関関係にあり、SOV前的小卵胞数でSOV後の大卵胞数や採胚後の胚数ある程度予測可能であると報告している。しかしながら、今回の試験では減量給与から

増量給与への切替えに伴う小卵胞数の増加はSOV後の大卵胞数の増加にはつながらなかった。給与飼料とSOV時の卵胞の反応性についてMolle *et al.* (2017)は、SOV時に乾物飼料給与量を増加させると、血中インスリンが増加することで、SOV時のFSHへの反応性が低下し、大卵胞数が低下することを報告している。また、ヒトでは高インスリン状態では、卵巣莖膜細胞からのアンドロステロン分泌を促し、FSH誘導性の卵胞発育や排卵を妨げることが知られている(折坂2012)。本試験では試験区において、配合飼料の増量給与によりTDN、CPともに増加したため、このことが原因となりFSHの反応性が低下し、SOV前に小中卵胞数が増加したにもかかわらずSOV置後の大卵胞数増加につながらなかったと推察された。

3 採胚成績

採胚成績は第4表に示した。SOV後の子宮灌流により回収された総回収卵数は、試験区と対照区との間に差は認められなかった。ABランク胚は、対照区4.8個、試験区10.0個と試験区が多い傾向にあった($P=0.069$) (第4表)。正常受精胚は対照区5.4個、試験区11.1個と試験区が有意に多くなった($P<0.05$)。未受精卵数は対照区12.3個、試験区3.4個と試験区が有意に少なくなった($P<0.05$)。

東山ら(2018)は、TDN充足率を130%となる飼料をSOV開始から採胚日まで給与することにより正常受精胚AB胚数が向上することを報告している。また、SOV処置前の短期間に低栄養飼料を給与することで、採取胚の細胞数が有意に多くなるなど、胚の品質を向上させた報告がある(Nolan *et al.* 1998)。一方で、飼料給与水準を通常量の2倍給与した場合、OPU後の正常受精胚率が低下することが報告されている(Admaik *et al.* 2005)。このことは採卵牛のSOV前の適度な栄養水準の切り上げは受精卵品質向上に寄与するが、あまりに過度な栄養水準の増加



第3図 小中卵胞数推移

は胚の正常発生を阻害する可能性を示唆している。本試験では、TDNの増加は90%から115%であり、栄養水準の切り上げが比較的緩やかであったことが正常受精胚数の増加等、採胚成績向上に寄与した可能性がある。

血液性状とOPU処置時に得られる卵子について、血中BUNと体外受精時の胚盤胞発生率が高い良質卵子の割合には有意な正の相関があることが報告されている(鍋西・中2022)。一方で血中成分と受胎率の関係について、受胎率が高い個体の血中成分はBUN<11mg/dL, Glu≥50mg/dL, BUN/Glu<0.2であると報告がある(福島ら2016)。これらのことは良好な胚品質および繁殖能力に適する血中BUNにはある程度の制限された幅があることを示唆している。細川ら(2008)は採胚時に採血を行い、採胚成績により個体を分類したところ、正常受精胚率の高い個体のBUNは13mg/dL以下であり、BUN/Glu比は0.2以下となっていることや、給与飼料の非繊維炭水化物(NFC)/分解性蛋白質(DIP)比を5以下に変更し、採胚時のBUN/Glu比を0.2以下に抑えることで正常受精胚が増加することを報告している。本試験においてBUN/Glu比は試験区が対照区に比べ、SOV開始以降は高い傾向があるものの、試験区がSOV開始時においてBUN/Glu比0.2を超えた以外は、両区とも採胚時のBUN/Glu比は0.2

以下となっている(第2図)。また、採胚時において試験区のBUNは対照区よりも高い傾向にあった(第2図)。これらのことから、採胚時のBUN/Glu比が0.2以下である場合、血中のBUNがより高い方が正常受精胚の向上、未受精卵率の低下等の採胚成績向上につながる可能性が示唆された。血液成分と採胚によって得られる胚の品質は個体差もあり、より多くの試験牛による検証を重ねる必要がある。

これらの結果から、飼料給与量の増減による栄養水準の減少から増加への変更は小中卵胞数の増加につながる。一方でその後SOVを実施した場合、事前の小中卵胞数の増加はSOVに対する大卵胞数の増加につながらなかった。また採胚成績については、SOV前に飼料給与量を減量から増量へ変更することで、ABランク胚数、および正常受精胚数が増加し、未受精卵数が減少することが明らかになった。

謝 辞

本研究は、公益財団法人伊藤記念財団の研究助成事業による支援を受け遂行された。多大なご援助を賜りました公益財団法人伊藤記念財団に厚く御礼申し上げます。

第3表 過剰排卵処置に対する反応性

試験区配合	小中卵胞数			小中卵胞変化率	
	US1	US3	SOV前(US5)	(US1~US3)	(US3~US5)
	減量開始	減量から増量へ切替え	増量切替え後2週間	(B-A)/A	(C-B)/B
	A	B	C	(B-A)/A	(C-B)/B
対照区	51.8 ± 6.25	54.3 ± 9.03	50.9 ± 7.77	2.1%	-3.1%
試験区	48.4 ± 6.84	49.1 ± 5.79	64.9 ± 9.58	5.2%	30.9%
P値	0.555	0.176	0.511	0.770	0.015

	大卵胞数			SOV反応率	採胚時黄体数
	SOV前(US5)	AI時(US6)	OV確認時(US7)		
	D	E	F		
対照区	1.4 ± 0.41	30.7 ± 6.10	10.9 ± 3.50	61.0%	21.1 ± 5.52
試験区	0.9 ± 0.31	31.0 ± 7.94	15.6 ± 1.73	48.0%	14.4 ± 3.26
P値	0.219	0.847	0.539	0.316	0.104

- 1) 対応のあるt検定またはWilcoxonの符号順位和検定
- 2) 平均値±標準誤差

第4表 採卵成績

	総回収卵数	ABランク胚	正常受精胚	未受精卵
対照区	19.3 ± 5.5	4.8 ± 1.7 a	5.4 ± 2.2	12.3 ± 3.8
試験区	16.7 ± 3.8	10.0 ± 3.1 b	11.1 ± 3.3	3.4 ± 1.4
P値	0.470	0.069	0.044	0.034

- 1) 対応のあるt検定またはWilcoxonの符号順位和検定
- 2) 平均値±標準誤差

引用文献

- Adamiak SJ, Mackie K, Watt RG, Webb R, Sinclair KD (2005) Impact of nutrition on oocyte quality : cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biol Reprod.* 73 : 918-26.
- Freret S, Grimard B, Ponter AA, Joly C, Ponsart C, Humblot P (2006) Reduction of body-weight gain enhances in vitro embryo production in overfed superovulated dairy heifers. *Reproduction.* 131 : 783-94.
- 福田卓巳・大沢健司・打座美智子・鳶岡菜々恵・遠藤保・大井隆弘・荒屋幸一・下村紀夫・広沢悠子・居佐家義昭 (2008) CIDR を併用した過剰排卵処置に対するホルスタイン種未経産牛における卵巣の反応と回収胚の状態. *家畜臨床学会誌* 31 : 137-142.
- 福島成紀・木曾田繁・滝本英二 (2016) 黒毛和種における繁殖性向上を目指した飼料給与体系の検討. *岡山県農林総合センター畜産研究所研究報告* 6 : 55-59.
- 東山雅人・川田健太・吉岡正二・北田寛治・福見善之 (2018) 黒毛和種繁殖牛の栄養水準の違いが採胚成績に与える影響. *徳島県立農林水産総合技術支援センター畜産研究課研究報告* 17 : 4-8.
- 細川泰子・福成和博・吉川恵郷・佐藤洋一・菊池雄 (2008) 過剰排卵処理を施した黒毛和種牛における採胚成績と給与飼料および BUN/血糖値比の関係. *日獣会誌* 61 : 699-704.
- Kanda Y (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics *Bone Marrow Transplantation.* 48 : 452-453.
- Masakazu Kawamata (1994) Relationships between the number of small follicles prior to superovulatory treatment and superovulatory response in Holstein cow. *J.Vet.Med.Sci.* 56 : 965-967.
- Mollo MR, Monterio PLJ Jr, Surjus RS, Martin AC, Ramos AF, Mourao GB, Carrijo LHD, Lopes G Jr, Rumpf R, Wiltbank MC, Sartori R. (2017) Embryo production in heifers with low or high dry matter intake submitted to superovulation. *Theriogenology.* 92 : 30-35.
- 鍋西久・中美博 (2022) OPU (経膈採卵) で高品質卵子をより多く生産するためのドナー牛の栄養管理に関する研究. 令和4年度(一財)畜産ニューテック協会研究助成事業実施報告書 13 : 109 - 112.
- Nolan R, O' callaghan D, Duby RT, Lonergan P, Boland MP (1998) The influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. *Theriogenology* 50 : 1263 - 74.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局 (編) (2008) 日本飼養標準. 肉用牛 (2008 年版). 中央畜産会, 東京, p.148.
- 岡田綾子・森本一隆・栗原昭宏 (1998) 牛の体外受精技術 種雄牛による受精率および発生率の違い. *鳥取県畜産試験場研究報告* 27 : 1-4
- 折坂 誠 (2012) 高 LH 環境は FSH 誘導性の卵胞発育を抑制する. *日本内分泌生殖学会雑誌* 17 : 27-31.
- Yaakub H, O' callaghan D, Boland MP (1999) Effect of roughage type and concentrate supplementation on follicle number and in vitro fertilization and development of oocytes recovered from beef heifers. *Anim Reprod Sci.* 55 : 1-12.
- 余谷行義・浜口 勇・伊藤雄一・山田陽稔(1991) 受精卵の移植技術に関する研究 第1報 過剰排卵処理および凍結方法 : 三重県農業技術センター研究報告 18 : 27-37.