性成熟前の雌豚における発情・排卵の誘起 ならびにその受精成績について

花 田 章・岩本雅幸*・浅井孝康*

(農林省畜産試験場・*鳥取県中小家畜試験場)

雌豚の発情同期化は、合理的な省力管理と斉一な肉豚生産を可能にするなどの点で、養豚経営上の重要技術と目されている。

とくに性成熟前の雌豚における発情・排卵の誘起は、その後の性周期同期化および早期繁殖供用のために重要と考えられるほかに、豚の排卵前後から受精と胚の早期発育に至る過程を基礎的に解明するための研究材料を任意な時期に安価に入手できる利点をもっている。

従来の報告では、性成熟前の雌豚は約 110 日令以降に PMSG に反応して排卵が誘起されるといわれるが¹⁾、約 140 日令以内のものでは雄を許容するまでの反応 (standing reflex, 以下許容性発情と記載) を示す例はほとんどなく、受精しても妊娠は約 25 日で停止するといわれる^{2,3)}。

約 5 カ月令以降に処置した場合は分娩までの妊娠継続が可能になるとの報告⁴⁾があるが、処置法によって多少成績が異なるようである。すなわち、PMSG 投与後 48～72 時間で HCG を投与した場合、ほとんど許容性発情が認められず、人工授精後の雌生殖器道内での精子の進行が不調な個体もあり、卵の受精率にバラツキがあるといわれる^{1,5)}。一方、低単位の PMSG と HCG (400 iu/200 iu) を混合して一回投与を行うと、許容性発情を示す豚が多く、処置後の次回、次々回発情の周期性も比較的順調で、卵の受精率にはバラツキがあるが、比較的良好な受胎成績が期待できるという^{4,6-8)}。これらの報告から、混合一回投与法が分離投与法よりも勝れているかに見受けられるが、これまで同一条件下で両法を比較した成績が見当たらないため、直ちに結論はでないと思われる。

Induction of estrus and ovulation in prepuberal gilts and subsequent fertilization after insemination.

HANADA, Akira, Masayuki IWAMOTO* & Takayasu ASAI* (National Institute of Animal Industry, Chiba-shi, 280, *Tottori Swine & Poultry Experiment Station, Yonago-shi, 683)

Jap. J. Animal Reprod. 22 (4), 1977.

る。そのほか、PMSG と合成黄体形成ホルモン放出ホルモン (LHRH) またはその類縁物質 (LHRH-A) を分離投与した場合も、性成熟前の雌豚で効果的に排卵を誘起できるとの知見が最近報告されている⁹⁻¹¹⁾が、この方法と上記 2 法との比較はまだ十分検討されていない。

本研究は、生後日令と飼養管理条件の揃った性成熟前の雌豚 (180 日令) を供試動物として、上記 3 法による発情と排卵の誘起を試み、処置後一定時間での同時人工授精 (1 回注入) と同時と殺後の卵の受精率ならびに受精卵の発育ステージを調査して、効果の比較を行ったものである。また、処置後の発情徴候の微弱な一部の豚にエストリオールを投与して、その発情徴候、精液注入の難易度、排卵および受精に与える影響についてもあわせて調査した。

実験材料ならびに方法

供試豚は鳥取県中小家畜試験場にけい養中の母豚 5 頭からほぼ同時期に生産されたランドレース×大ヨークシャーまたは (ランドレース×大ヨークシャー) ×ハンブシャー間の交雑種雌豚計 27 頭である。これらの実験開始時の生後日令は 177～180 日、平均 179.7 日で、と殺時体重は 85～121 kg、平均 104.7 kg であった。いずれも DCP 12.3%、TDN 72.6% の配合飼料を不断給与し、自由飲水下で 8～10 頭ずつ 5.4 m×3 m の豚房に群飼されていたものである。

実験処置区は計 6 区を設けた: A 区; PMSG (セロトピン, 帝国臓器) と HCG (ゴナトロピン, 帝国臓器) の分離投与区, B 区; PMSG と HCG の混合一回投与区, C 区; PMSG と LHRH-A (des-gly¹⁰-LH-RH-ethylamide, 武田薬品) の分離投与区、ならびにこれら 3 区での微弱発情例と思われる豚に対しエストリオール (以下 ET と記載, ホーリン, 帝国臓器) を投与した区 (A', B', C') である。

供試豚は同腹子を異なる処置区になるべく均等に配置して A, B, C 区に 6 頭ずつ, A', B', C' 区に 3 頭ずつ

Fig. 1. Time of each treatment for the induction of estrus, ovulation and fertilization experiment in prepuberal gilts.

つそれぞれわりつけ、これらを3回に分けて反復実験を行った。各区でのホルモン剤投与量ならびに処置の時間的關係は Fig. 1 に示した。なお、皮下注射は耳根部に、筋肉注射は腰背部にそれぞれ行った。

実験開始日から殺までの間、朝夕2回(8 AM と 5 PM) 処置豚の発情状況を調査した。外陰部徴候はその色調と腫脹の程度を考慮し、相対的な強度で表した：強度0；全く無反応，強度1；ごく軽度の発赤腫脹を思わせるもの，強度2～3；発赤腫脹の度合により区別，強度4；極めて明瞭な発赤腫脹と腔粘液の漏出および背圧検査で静止するもの。また、人工授精時には供試豚を屋外に出し、試情用雄豚に対する挙動を約30分間観察して許容性発情の有無を判定した。実験開始後76時間までの観察で外陰部徴候が比較的微弱と思われる豚を選定し、精液注入の10時間前(実験開始後88時間)にETを投与した。

精液注入の5～6時間前に正常な受精能力をもつ雄豚(ランドレースまたはハンプシャー)2～3頭から濃厚部精液または全精液を採取し、精子生存率が75%以上のものを混合後、精子濃度を血球計算盤法によって測定した。ついで、1.3%重曹液20 ml + 6%ブドウ糖液80 ml + 脱脂乳100 ml + サルファメラジンナトリウム0.4 g からなる希釈液を精液量とほぼ等量程度加えて希釈し、最終生存精子濃度を1億または2億/mlとし、注入時まで15°Cに保存した。希釈精液の注入は雌1頭につき1回のみ行った。そのさい、雌を屋外に設置した棒式豚銜器(富士平)の枠内に保定し、ゴム製カテーテルを子宮頸管に挿入して、精液を雌1頭につき50 ml または60 ml ずつ分けて注入した。注入中に外陰部から精液が漏出する場合はピーカーにこれを受けて計量した。

供試豚の生殖器はと殺後1時間以内に摘出し、ポリ袋に入れてと場から持ち帰った。その後4時間以内に付着靱帯や頸管を除いて、子宮重量、卵巢重量、排卵黄体数、直径5 mm以上の残留卵胞数(血様卵胞を含む)を調べるとともに、卵管をそれぞれ生理食塩液20 mlで下行性に洗浄して卵を回収した。排卵数にくらべて回収卵数が少ない場合は、子宮角の上部約1/3を同様に生理食塩液50 mlで洗浄して卵回収を試みた。回収卵はワセリンスポットを付けたスライド上にのせ、カバーガラスをかけて軽く押し、位相差顕微鏡下で観察したのち、25%酢酸アルコールで1夜固定し、1%アセトオルセイン液で染色して再度その形態的観察を行った。卵の受精の判定は、雌雄前核形成の有無および卵割状態によって行った。結果は分散分析法、t検定法、 χ^2 検定法などによりその統計的有意性を検討した¹²⁾。

実験成績

発情徴候ならびに精液の注入

B区の供試豚の1頭は処置開始当日から発情徴候を示し、処置後の発情状態、と殺後の卵回収部位、受精卵の発育ステージ等の点で他の供試豚と明らかに異なるため例外として処理した。この豚を除く各処置区での外陰部徴候の経時的变化の平均を示すと、Fig. 2のとおりである。個体により処置後の外陰部徴候発現時刻とその後の反応強度の変化にはバラツキがみられたが、A, B, Cの3区では共に類似の経時的变化が示され、3区間での有意差は認められなかった。これら3区の総平均でみると、PMSG または PMSG/HCG の処置後28時間で強度1、44時間で強度2、76時間で強度3に達した。徴候のピークは92時間から110時間にかけて示され、

Fig. 2. Time-related change in the red colouring and swelling of vulva after the administration of various hormones to prepuberal gilts.

116 時間以降は徴候の消退が認められた。これらの供試豚 17 頭のうち強度 4 を示した豚は A 区 2 頭, B 区 4 頭, C 区 4 頭, 計 10 頭 (59%) であったが, 精液注入時に許容性発情を認めた豚は各区 2 頭, 計 6 頭 (35.3%) で少なかった (Table 1)。ET 投与区の場合も, 外陰部徴候は 92 時間後の検査でピークに達したが, その持続時間は ET を投与しない場合とくらべて長く, とくに B', C' 区ではと殺直前 (140 時間) まで続いた。投与した 9 頭中 7 頭 (78%) が強度 4 を示したが, 精液注入時に許容性発情を認めた豚は 2 頭 (22.2%) であった (Table 1)。

これらの外陰部徴候, 背圧反応あるいは他の雌豚への乗駕行動や試情用雄豚に対する挙動から判定した発情徴候の差は必ずしも精液注入の難易度と一致せず, 予定した 50 ml または 60 ml の精液量を全く漏らさずに注入できたのは 6 頭 (うち ET 投与例 4 頭) に過ぎなかった (Table 1)。他の 21 頭では 5~35 ml, 平均 20 ml の注入ロスが認められた。その結果, 実際に雌 1 頭に注入された精液量は 25~60 ml, 生存精子総数は 25~120 億であった。

子宮重量

子宮重量は 166~168 日令, 体重 82~106 kg の無処置豚 5 例で 46~112 g, 平均 74 g であったのに対し, A, B, C 区ではそれぞれ 165~275 g, 140~220 g,

150~245 g の範囲, 総平均 201 g で, 3 区とも同程度の重量増加を示した。ET を投与した A', B', C' 区では範囲 215~400 g, 平均 302 g で, より著しい子宮重量の増加が認められた。なお, B 区の例外的に発情を示した豚 1 頭の子宮重量は 360 g であった。

卵巢重量と排卵黄体数ならびに残留卵胞数

両側卵巢重量は各処置区間で有意差が認められず, 範囲 2.9~10.4 g, 平均 4.9 g であった。排卵黄体数と卵巢重量の間には明瞭な関係は認められなかったが, 直径 5 mm 以上の残留卵胞数と両側卵巢重量の間には有意の相関が認められた ($r=0.53$, $P<0.01$)。

B' 区の 2 頭を除いて, 他の豚はと殺時までには排卵を終了していた (Table 1)。これらの両側卵巢にみられる排卵数は個体により大きく変異し, 範囲 1~21 個, 平均 8.6 個で各処置区間に有意差は認められなかった。なお, 右側よりも左側卵巢からの排卵数が多いことが観察された (左 59.4%, 右 40.6%, $P<0.01$)。

直径 5 mm 以上の残留卵胞数は, B' 区の排卵の認められなかった 2 頭で 8~10 個と多かったが, これを除いた場合は 0~9 個, 平均 1.8 個と少なく, 各処置区間に有意差は認められなかった。また, 血様卵胞はほとんど認められなかった。

卵子の回収率ならびに受精成績

Table 1 にみられるとおり, 計 183 個 (排卵数の 88.4%) の卵が卵管から回収された。このほかに, B 区の例外的に発情を示した豚 1 頭では排卵数 14 個のうち 4 個の卵が子宮から回収された。この例外を除き, 各区における卵回収率は A, B, C, B' 区で 96.3~100% と高く, A', C' 区では 50~62.5% と低かった。

排卵例 25 頭中 5 頭では全く受精卵が得られなかった。とくに, そのうち 4 頭 (A, B, C, B' 区各 1 頭) の卵は未だ卵丘の細胞に包まれており, 他の豚では全て裸化卵であったことから, これら 4 頭では排卵時刻が他の豚よりも遅延したものと判断された。これらを含めた回収卵の受精率は全体で 64.5% で, 上記 4 頭を除いた場合は 77.6% であった。各区での卵の受精率は A 区で最も高く (82%, 排卵遅延豚を除くと 95.4%, $P<0.05$), B' 区で 0% (排卵の認められなかった 2 頭と排卵遅延豚 1 頭) であったほかは, 区間の差が認められなかった (範囲 50~65.5%, 排卵遅延豚を除くと 50~77.6%)。

各処置区の受精卵の発育ステージには明瞭な差が認められた ($P<0.01$)。ただし, ET 投与の卵の発育ステージに対する影響は, B' 区の全く受精しなかった 1 例を除いて有意な差としては認められなかった。B 区の例外

Table 1. Comparison of six methods for the induction of estrus and ovulation in prepuberal gilts at 180 days old and subsequent fertilization after artificial insemination

Method	A	A'	B	B'	C	C'	Total
Combination of hormones	PMSG 750 iu-HCG 500 iu PMSG/HCG (400 iu/200 iu) PMSG 750 iu-LHRH-A 0.1 mg						
Injection	at 72 h interval single at 72 h interval						
Estriol 10 mg, 10 h before insemin.	-	+	-	+	-	+	+
Gilts treated, no.	6	3	5	3	6	3	26
" showing standing estrus, no.	2	1	2	1	2	0	8
" inseminated without semen loss, no.	0	2	1	2	1	0	6
" ovulated, no.	6	3	5	1	6	3	24
Ovulations, total no.	50	28	47	7	59	16	207
" per ovulated gilt, mean	8.2	9.3	9.4	7	9.8	5.3	8.6
Eggs recovered, no (%)	50 (100)	14 (50)	44 (96.3)	7 (100)	58 (98.3)	10 (62.5)	183 (88.4)
" surrounded by cumulus cells, no. (judged as delayed ovulation)	7	-	9	7	8	0	31
" fertilized, no.	41	7	26	0	38	6	118
(% among recovered eggs)	(82)	(50)	(59.1)	(0)	(65.5)	(60)	(64.5)
(% among eggs without those of delayed ovulation)	(95.4)	(50)	(74.3)	(0)	(77.6)	(60)	(77.6)
" at late pronuclei, no. (%)	29 (70.7)	2 (28.6)	26 (100)	-	16 (42.1)	1 (16.7)	74 (62.7)
" at 1st cleavage to two-cell, no. (%)	12 (29.3)	5 (71.4)	-	-	21 (55.3)	5 (83.3)	43 (36.4)
" at 3- to 4-cell, no. (%)	-	-	-	-	1 (2.6)	-	1 (0.9)
" trinuclear or irregularly cleaved, no. (%)	3	1	-	-	1	-	5 (4.2)

的に発情を示した豚 1 頭の回収卵は 2 細胞期から 4 細胞期に发育していた。この 1 頭を除き、B 区の受精卵は前核期 (26 個中 25 個は前核融合期) にまもっていた。A と A' 区では受精卵 48 個中 31 個 (64.6%) が前核期で、17 個 (35.4%) が第 1 卵割後期から 2 細胞期の发育を示した。C と C' 区ではさらに发育が進み、受精卵 44 個中 17 個 (38.6%) が前核期、26 個 (59.1%) が第 1 卵割後期から 2 細胞期、1 個 (2.3%) が 4 細胞期にあった。なお、これら受精卵中 5 個は異常卵で、1 個の卵内に 3 個の前核を形成したもの (2 個) が不均等分割卵 (3 個) であり、A 区で 3 個、A' 区と C 区で各 1 個認められた。

考 察

雌豚の性成熟到達時期は、品種、系統、日令、体重、雄豚による性的刺激の有無、その他の諸因子によって影響を受けるので、厳密には供試豚に対照区を設けてその時期を検討する必要がある。今回の供試豚でこの点の調査は行われなかったが、供試豚の 1 頭で処置開始当日から発情徴候が観察されたことから、性成熟期に間近い時期の豚が供試されたと考えられる。

各処置区での処置開始後の外陰部徴候は、ET 処置区を除いて類似の経過を示した。その徴候が明瞭となった時刻、約 44 時間 (強度 2)、はこれまでの報告^{2,5)}の約 48 時間とはほぼ一致する。処置開始後 76 時間から 116 時間にかけて外陰部徴候はより鮮明となった (強度 3, 4)。この時間的变化もこれまで観察されている発情徴候出現と持続日数 (処置開始後 4~5 日⁶⁾) にほぼ符合している。しかし、明瞭な外陰部徴候にもかかわらず、各区とも正常な発情と判定された例は少なかった。また、雄に対する許容状態も典型的なものでなく、精液の注入時には雌の保定が必要で、処置豚の 70% では注入時に外陰部からの精液の漏出が認められた。これらは A, B, C 区とも大差なく、発情徴候に関する限りこれまで考えられているように処置法 B が A より勝れた発情誘起法である⁹⁾とは断言できない。ET 投与区では精液の注入がやや容易になったが、その影響が長時間残り、B' 区では排卵の遅延が生じた。このように、外陰部徴候からみて発情はある程度同期的に誘起されたと考えられるが、その徴候によって精液の液入適期を選ぶことは困難であろう。

これまで、未經産豚の発情前期の終わり頃に HCG を投与すると排卵はその 40~46 時間後に誘起されることが知られている^{13~15)}。また、性成熟前雌豚における誘

起排卵時刻は、処置法 B による場合は 5 日後と推定されていたが⁹⁾、最近の報告で処置後 110 時間から 120 時間の間に大半の豚で排卵することが明らかにされ⁹⁾、処置法 C による場合は LHRH 投与後 48 時間以内に排卵が起こることが観察されている⁸⁾。これらの報告から、今回の各試験区の推定排卵時刻はいずれも処置開始後 110~120 時間の間と想定した。この想定は、処置開始後 98 時間で行った 1 回のみの人工授精による卵の受精成績が比較的良好であったことから、ある程度当を得たものと判断される。

例外的に卵丘の細胞付着により遅延した排卵と判定された 4 頭の豚がなぜ生じたかは不明である。豚卵子は排卵後 12 時間経過しても完全に裸化されないものがあることが観察されている¹⁶⁾ので、これらの豚ではと殺前 12 時間以内 (処置開始後 129 時間以降) に排卵したものと考えられる。これらは全て不受精卵子であったが、雌生殖器官内での豚精子の受精能保有時間が最大限 21~24 時間といわれている¹⁷⁾ことから、その不受精原因は精液の注入時刻と排卵時刻の大きなずれに求められよう。このような排卵遅延豚の外陰部徴候には他の豚と比較して明瞭な差が認められなかったことから、対策としては精液の注入回数を増す以外にないと考えられる。

受精卵の发育ステージは C 区で最も進み、ついで A 区、B 区の順であった。もし、排卵が個体内で一斉に誘起され、卵子への精子侵入が一斉に起こったと想定すれば、排卵時刻も C, A, B の順序で微妙な差が生じたとみることができるが、この点は推測の域を出ない。ただ、卵の受精率を一層向上させるためには今後注入適期の詳細な検討が必要と思われる。

排卵数はどの処置区でも少なく、5 mm 以上の残留卵細胞数も少なかったことから、各区とも卵胞发育刺激が比較的軽度であったと判断される。PMSG 投与量と排卵数には密接な関係があり、PMSG 750 iu で約 16 個の排卵が期待できるとの報告がある⁹⁾。この期待値より少なかったことの原因は不明であるが、PMSG 製品の違いか、供試豚の PMSG に対する反応性の違いによるものかも知れない。

卵回収率は ET 投与区を除いて非常に良好であった。このことは卵の卵管内下降が一斉に行われていることを示唆し、ET 投与による卵下降の乱れの可能性も示唆している。ET 投与の A', C' 区で受精卵の发育ステージは A, C 区と変わらなかったが、卵の受精率が低かったことの原因は不明である。また、ET 投与によって子宮重量が著しく増加したが、類似の知見はジエチルステルベ

ステロールを用いた成績でも認められている¹⁸⁾。

以上の成績から、180 日令の性成熟前の雌豚に対する 3 種 (A, B, C) の排卵誘起法はいずれも有効であり、精液の注入適期の選択によって高い受精率を期待できること、及び ET 投与の併用は必ずしも必要でなく、むしろ受精成績にはマイナス効果をもたらすことが示された。また、全体を通して誘起排卵数が少なく、豚の妊娠維持には受精卵数 5 個以上が必要といわれている¹⁹⁾が、そのような雌は 11 頭に止まったこと (1~4 個の受精卵保有雌は 9 頭)、および卵巢と子宮の重量からみて未だ発育が不十分であったことなどから、今回のような処置条件下で受胎と分娩を試みるのは時期尚早のおそれがあると考えられる。従って、この時期は性成熟前の雌豚の発情周期のスターターとして排卵を同期的に誘起し、その後の正常な発情周期を期待すべきであると思われるが、この点については目下検討中である。

要 約

約 180 日令の性成熟前の雌豚計 27 頭に、PMSG 750 iu と HCG 500 iu または合成黄体形成ホルモン放出ホルモンの類縁物質 (LHRH-A) 0.1 mg をそれぞれ 72 時間間隔で分離投与し (処置法 A または C)、あるいは PMSG 400 iu と HCG 200 iu を混合 1 回投与し (処置法 B)、発情と排卵の誘起を試みると共に、処置開始後 98 時間で人工授精した場合の受精成績を比較検討した。また、処置開始後 88 時間でエストリオール (ET) 10 mg を投与した場合の影響についてもあわせて調査した (処置法 A', B', C')。

処置豚は全て外陰部の色調と腫脹の状態に変化を示し、その反応のピークは処置開始後約 92 時間から 100 時間にかけて認められた。しかし、雄を許容する状態の発情の誘起例は少なく処置豚の 30% にとどまった。ET 注射後、外陰部徴候はやや増幅されその影響は長時間持続したが、雄を許容する状態の発情の誘起には顕著な効果は認められなかった。その結果、人工授精時に外陰部からの精液の漏出なく注入できたのは処置豚の 22.2% であった。

処置開始後 141 時間でと殺したところ、B' 区の 2 頭を除いて全て排卵が誘起された。排卵数は比較的少なく平均 8.6 個であったが、変異が大きく処置法間での差は認められなかった。卵回収率は処置法 A, B, C 区で 96~100% と極めて良好であったが、ET を投与した A', C' 区では 50~62.5% の低い成績であった。受精卵は排卵した雌の 80% から回収された。受精卵の全く認

められなかった個体での不受精原因は、用いた処置法によるものではなく、原因不明の排卵遅延に主として起因するものと推察された。回収卵の受精率は、A 区で有意に高かった (82%) はかは処置法による差を認めなかった (総平均 64.5%)。しかし、受精卵の発育ステージは用いた処置法によって異なった: C と C' 区で最も発育が進み (61.4% は分割卵)、ついで A と A' 区 (35.4% が分割卵) で、B 区では全て前核期卵であった。この卵の発育差からみて、用いる処置法により排卵時刻に微妙な差が生ずる可能性があり、人工授精のタイミングに注意する必要があることが示唆された。

以上のような誘起排卵後に正常な発情周期の反復が認められるか、また高い受胎率と正常範囲の産子数が得られるかどうかについては目下検討中である。

実験に用いた合成 LHRH-A を提供して頂いた武田薬品工業の小野浩臣氏に深謝いたします。

(1976. 7. 31 受付)

文 献

- 1) PHILLIPO, M.: *Advances in Reproductive Physiology*, 3, 147, 1968.
- 2) DZIUK, P. J. & G. D. GEHLBACH: *J. Anim. Sci.*, 25, 410, 1966.
- 3) SHAW, G. E., B. E. McDONALD & R. D. BAKER: *Can. J. Anim. Sci.*, 51, 233, 1971.
- 4) SCHILLING, E. & F. CERNE: *Vet. Rec.*, 71, 471, 1972.
- 5) BAKER, R. D. & E. G. COGGINS: *J. Anim. Sci.*, 27, 1607, 1968.
- 6) BAKER, R. D. & R. RAJAMAHENDRAN: *Can. J. Anim. Sci.*, 53, 693, 1973.
- 7) BAKER, R. D., G. A. SHAW & B. R. DOWNEY: *J. Anim. Sci.*, 39, 197, 1974.
- 8) BAKER, R. D. & B. R. DOWNEY: *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 15, 375, 1975.
- 9) BAKER, R. D., B. R. DOWNEY & H. J. BRINKLEY: *J. Anim. Sci.*, 39, 1376, 1973.
- 10) WEBEL, S. K. & R. H. RIPPEL: *J. Anim. Sci.*, 41, 385, 1975.
- 11) RAMPACEK, G. B., F. L. SCHWARTZ, R. E. FELLOWS, O. W. ROBISON & L. C. ULBERG: *J. Anim. Sci.*, 42, 881, 1976.
- 12) スネデカー: 統計的方法 [畑村 (又)・津村 (善)・奥野 (志)・田中 (祐) 訳], 岩波書店, 第 8 刷, 昭和 35 年.
- 13) DZIUK, P. J. & R. D. BAKER: *J. Anim. Sci.*, 21, 697, 1962.
- 14) HUNTER, R. H. F.: *Vet. Rec.*, 81, 21, 1967.
- 15) HUNTER, R. H. F.: *Res. in Vet. Sci.*, 13, 356, 1972.

- 16) BAKER, R. D., P. J. DZIUK & H. W. NORTON: *J. exp. Zool.*, **164**, 491, 1967.
- 17) BURLACENKO, L. V.: *Animal Breed. Abstr.*, **39**, 137, No. 807, 1971.
- 18) SEGAL, D. H. & R. D. Baker: *J. Anim. Sci.*, **37**, 762, 1973.
- 19) POLGE, C., L. E. A. ROWSON & M. C. CHANG: *J. Reprod. Fert.*, **12**, 395, 1966.

Summary

Prepuberal gilts about 180 days of age were injected with 750 iu pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and 500 iu human chorionic gonadotrophin (HCG) or 0.1 mg synthetic luteinizing hormone releasing hormone analog (LHRH-A) at 72 h interval (method A or C), or with mixed 400 iu PMSG and 200 iu HCG (method B) to compare the effect of methods for the induction of estrus, ovulation and subsequent fertilization after an artificial insemination at 98 h from the initiation of treatment. The effect of 10 mg estriol (ET) injection to each treatment above mentioned, given at 88 h from the initiation of treatment was also investigated (method A', B' and C').

All the treated gilts, 27 in total, showed red colouring and swelling of vulva which reached its maximum about 92 h to 100 h from the initiation of treatment. Standing reflex was not induced effectively, induced in only 30% of the gilts, and a pars of semen was frequently discharged from the vulva at the time of insemination. By ET injection the vulval reaction was augmented but retained longer and not so effective for the induction of standing reflex.

When the gilts were killed at 141 h from the initiation of treatment, ovulation was induced in all the gilts except for two gilts by method B' where the ovulation appeared to be delayed by ET injection. Number of follicles ovulated was comparatively moderate (mean no. 8.6) but variable and did not differ significantly by the methods.

Eggs were recovered quite efficiently from the oviducts of gilts treated by method A, B and C (96% to 100%), but less efficiently from the gilts after ET injection (50% to 62.5%). Fertilized eggs were recovered from 80% of gilts ovulated. The failure of fertilization in the others was considered not to be due to the methods used, but mainly attributable to the delayed ovulation from unknown reason. The fertilization rate of recovered eggs did not differ significantly by methods (overall mean 64.5%) except for those of method A where the rate was significantly higher (82%). However, the stage of development of fertilized eggs was significantly different by the methods used; the most advanced stage (61.4% were of cleaved) by method C and C', the middle stage (35.4% were of cleaved) by method A and A', and the delayed stage (all at pronuclear) by method B. This difference suggests that there may be subtle difference of ovulation time by induction methods used and careful choice of the timing of insemination may be necessary.

Whether normal estrus can be cycled after the induced ovulation and whether high conception rate and normal range of litter size can be obtained are now under investigation.