

Bulletin of the
Akita Prefectural Livestock Experiment Station

NO.29 March 2015

秋 田 県 畜 産 試 験 場 研 究 報 告

第 29 号
平成27年3月

Akita Prefectural Livestock Experiment Station
Daisen, Akita, Japan

秋田県畜産試験場
秋 田 県 大 仙 市

秋田県畜産試験場研究報告 第29号(平成27年3月)

目 次

- 1 秋田県における茎葉タイプ飼料用稲専用品種の収量および飼料成分の経時的変化 渡邊 潤 1～9
佐藤 寛子
- 2 家畜ふん堆肥と化成肥料の組合せで牧草栽培した現地実証試験 佐藤 寛子 10～13
由利奈美江
渡邊 潤
加藤真姫子
- 3 初産乳牛の移行期に適した飼料の段階的増給法及び繋留条件の検討(第3報) 加藤真姫子 14～22
渡邊 潤
佐藤 寛子
- 4 牛の暑熱ストレス軽減対策による繁殖機能改善の検討(第1報) 高橋 利清 23～27
西宮 弘
千田 惣浩
伊賀 浩輔
酒出 淳一
- 5 アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第3報) 鈴木 人志 28～34
由利奈美江
- 6 アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第4報) 鈴木 人志 35～42
由利奈美江
- 7 始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立(第2報)
ー生殖系列キメラニワトリからの純粋な比内鶏産仔の再生ー 力丸 宗弘 43～55
中村 隼明
高橋 大希
小松 恵
伊藤なつき
松原 和衛
田上 貴寛

8	比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証(第3報)		
	ーコレシストキニンA受容体遺伝子の一塩基多型が		
	比内鶏の発育形質に及ぼす影響ー	力丸 宗弘	56~62
		小松 恵	
		武田 尚人	
		上本 吉伸	
		鈴木 啓一	
		高橋 秀彰	
9	飼料作物奨励品種選定試験		
	ー飼料用トウモロコシ(平成25年度)ー	佐藤 寛子	63~66
		渡邊 潤	
		加藤真姫子	
10	秋田県畜産試験場 学術論文掲載一覧		67

秋田県における茎葉タイプ飼料用稲専用品種の 収量および飼料成分の経時的变化

渡邊 潤・佐藤寛子

要 約

慢性的な粗飼料不足の実態があると共に、近年の大雪や猛暑により牧草の生産量が低下している。水田で安定的に生産されるイネを、牧草代替粗飼料として利用する事が解決策の一つであると考えられる。そこで本研究では、飼料用稲専用品種の収量および飼料成分の経時的变化を明らかにし、適性について検討したところ、以下の結果が得られた。

- ① 「たちはやて」、「たちすがた」、「クサノホシ」、「タチアオバ」の4品種における飼料成分、繊維成分、収量、葉緑素値の経時的变化を明らかにした。
- ② 「たちはやて」は、出穂が早く、9月上旬に最大収量レベルに達し、栄養収量も高い。灰分、ADFが他品種に比べて低い値を示した。
- ③ 「たちすがた」は、9月上旬から高い収量レベルに達し、10月上旬までも増加する。4品種で最も高い乾物収量およびTDN収量を示した。葉緑素値が、9月中旬以降急激に低下する。
- ④ 「クサノホシ」、「タチアオバ」は、出穂が遅く収量・栄養価の時期的変動が少ない。しかしながら、出穂の早い品種に比べて、成分、収量が大きく劣るわけではない。

緒 言

近年、牧草生産において、猛暑や大雪等の異常気象とそれによる生育障害により、牧草生産力が減退している。また、秋田県では、秋季に降雨が断続的に発生する気象条件であることから、従来より、良質な稲わら収集が困難であった。そのため、秋田県では、冬季に晴天が続き、稲わら生産が行われる太平洋側地域からの購入に依存していた。しかしながら、東日本大震災による原発事故後は、稲わらの購入が困難になった。これらの状況から、酪農・肉用牛経営においては、慢性的な粗飼料不足が問題となっている。

近年、ホールクロップサイレージ用イネの専用品種として、子実割合の少ない茎葉タイプと呼ばれる品種が多く育成されてきている。その背景としては、イネホールクロップサイレージは、牧草の代替としての位置づけであること、子実部分の

消化率は、収穫機の種類等によりばらつきがあり(石田 2011)、濃厚飼料の代替としての利用が困難なことなどが挙げられる。この茎葉タイプ飼料用イネ専用品種を、イネ科牧草や稲わらの代替として活用することが、安定的な粗飼料確保につながるものと考えられる。

しかし、茎葉タイプ飼料用イネ専用品種の中にも早晚生や収量性等、品種毎に異なる特性を有しており、利用の仕向け先が、牧草代替か稲わら代替か、乾燥・予乾の有無、必要収量等により、品種の選択が異なってくると考えられる。

そこで本研究では、茎葉タイプ飼料用イネ専用品種の収量・飼料成分の経時的变化から品種特性を明らかにすることを目的とした。

材料および方法

1) 飼料用イネ専用品種：「たちはやて」, 「たちすがた」, 「タチアオバ」, 「クサノホシ」

2) 水田圃場：①位置；大仙市神宮寺金葛，②1区画；120.96 m² (4.8×25.2 m)，③栽植密度；15.1 株/m² (50 株/坪)，④播種日2013年4月29日，移植日；5月27日，⑤施肥(10 aあたり)；基肥(窒素8 kg, リン酸8 kg, 加里8 kg)，追肥なし。

3) 調査月日：早生品種出穂後に，約1週間間隔で9ポイント。実調査月日は，2013年①8月19日，②8月26日，③9月2日，④9月9日，⑤9月16日，⑥9月23日，⑦9月30日，⑧10月10日，⑨10月23日

4) 調査項目：

①飼料成分：一般飼料成分(水分，粗蛋白質，粗脂肪，粗灰分)，繊維成分(粗繊維，デタージェント繊維(NDF, ADF))，可消化養分総量(TDN)を測定した。尚，分析は，飼料成分分析の常法に従って行った(粗飼料の品質評価ガイドブック，自給飼料利用研究会2009)。TDNについては，OCW(細胞壁物質)，Oa(高消化性繊維)およびOb(低消化性繊維)を測定し，次の推定式によった(服部ら2005)。

$$TDN=54.297+1.205\times Oa-$$

$$0.109\times Ob-0.462\times \text{粗灰分}$$

②収量および養分収量：各品種区画より，無作為に5株採取した。重量を測定し生収量を，70℃，48時間の通風乾燥により乾物収量を測定した。また，飼料中粗蛋白質およびTDN含量を踏まえて養分収量を算出した。

③葉緑素：無作為に20ポイント稲体を選択し，上位第3葉の中心部を，葉緑素計(SPAD502,

コニカミノルタ)によりSPAD値(葉緑素計による指示値)を測定した。

結 果

1. 出穂：各品種の出穂日は，「たちはやて」(8月10日)，「たちすがた」(8月17日)，「タチアオバ」(9月9日)，「クサノホシ」(9月13日)であった。

2. 飼料成分

2-1) 一般飼料成分(図1)：水分は，調査開始時の8月下旬が最も高く73%~79%であるが，その後水分の低下が認められた。最も水分低下が早いのが「たちはやて」で，9/2に67.9%，9/30には59.3%となり，10/10では54.4%と最も低い値を示した。次に「たちすがた」の水分低下が，「たちはやて」の7~10日程度の遅れで，同等の低下程度および水分含量を示した。他2品種については，「クサノホシ」が，「タチアオバ」に対し，3~5%程度低い値を示すものの，同様の低下変動を示し，9/16~10/10まで，水分低下が約65%で停滞し，その後10/23に再び低下が認められた。

粗蛋白質は，各品種とも調査開始時の8/19が最も高く，「クサノホシ」および「タチアオバ」で約7.5%，「たちはやて」および「たちすがた」で約6.5%であった。その後，各品種とも一様に低下し，9/9には4.1~4.5%に低下し，この含量を維持した。

粗脂肪含量は，調査期間中大きな変動は認められず，約2%で推移していたものの，「たちはやて」，「たちすがた」で9/9~9/23に向け増加しその後低下が認められ，逆に，「クサノホシ」，「タチアオバ」で，同期間に向けて低下しその後増加が認められた。

粗灰分は，「たちはやて」で特徴的な変動

を示し、9/2に7.4%に低下し、その後も約8%以下で推移していた。他3品種については、9/9にわずかに低下が認められるものの

概ね9~10%の間で推移した。

2-2) 繊維成分(図2): 粗繊維含量は、調査開始時の8/19では、各品種とも30~34%で

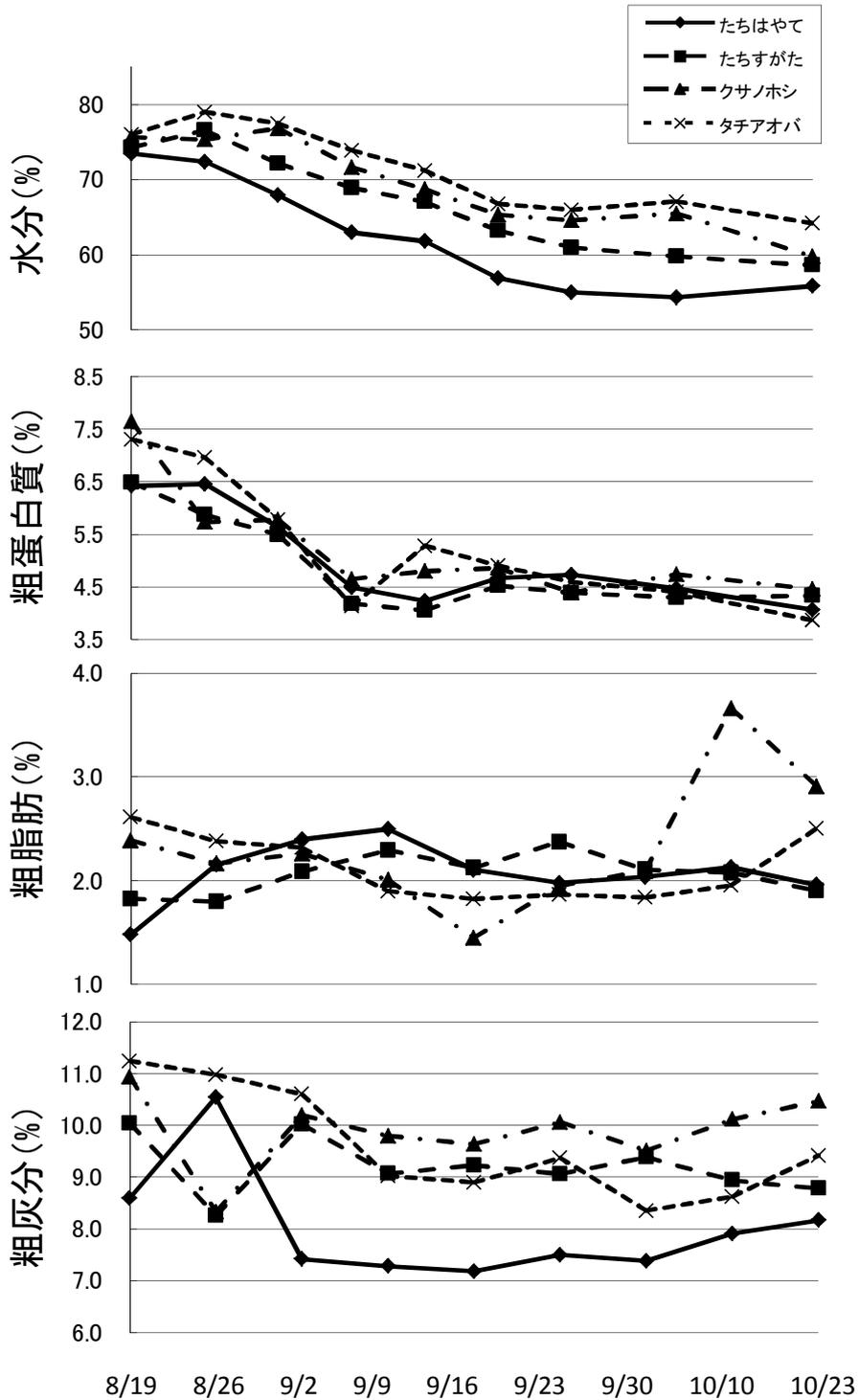


図1. 一般飼料成分の変動

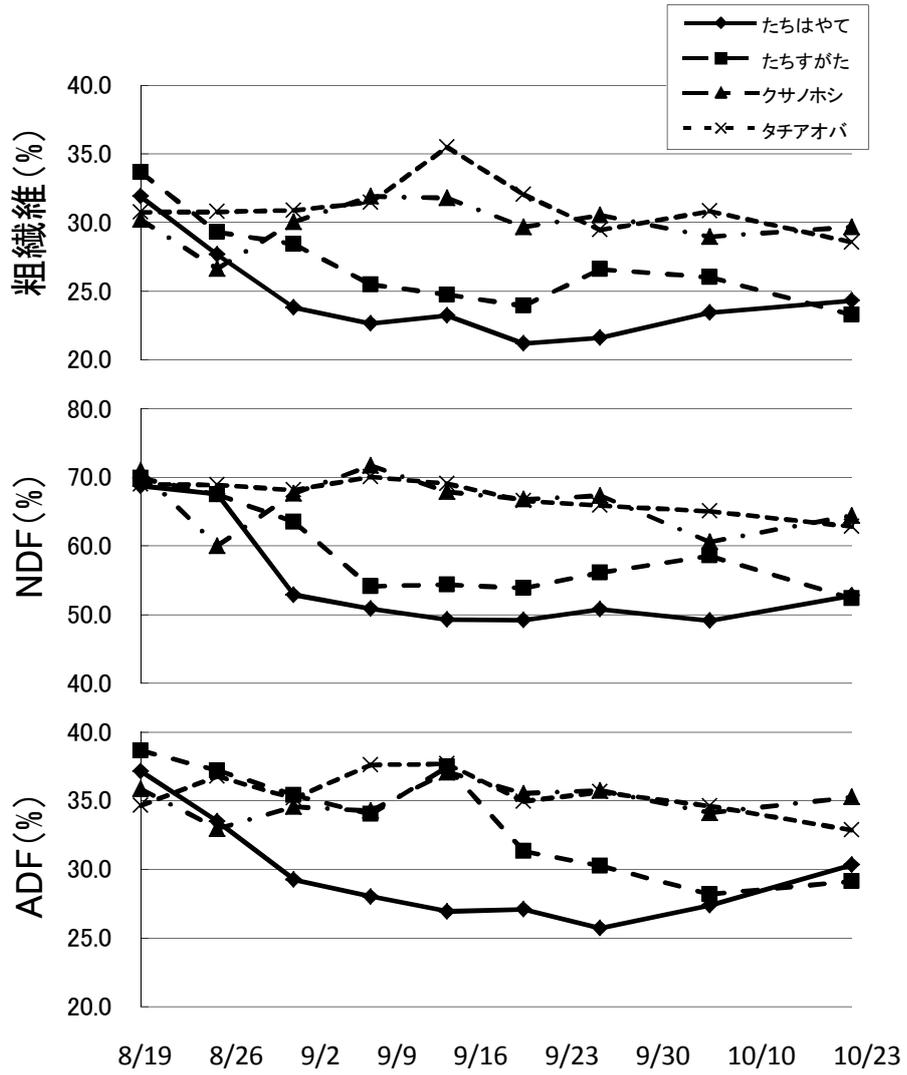


図 2. 繊維成分の変動

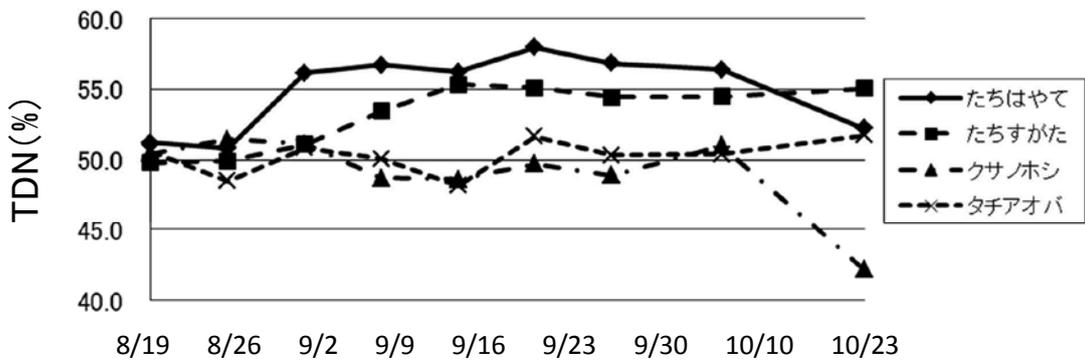


図 3. TDN含量の変動

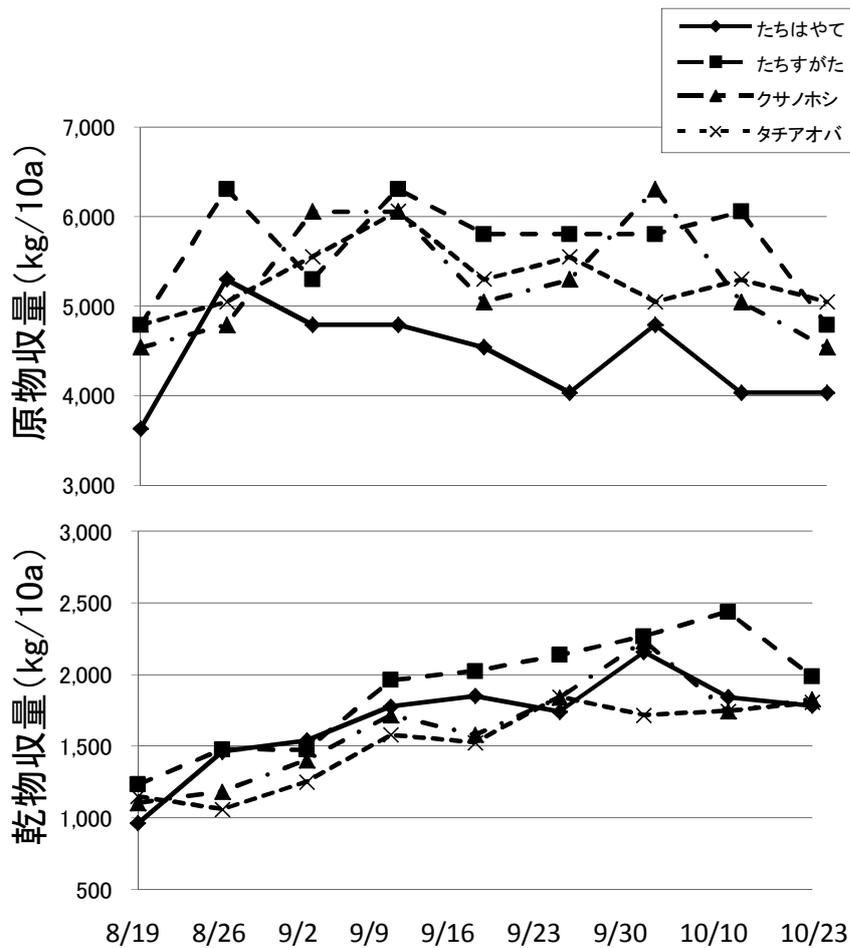


図4. 収量の推移

あった。「たちはやて」および「たちすがた」では、その後含量が低下し、9/9に、「たちはやて」で22.6%、「たちすがた」で25.5%となり、概ねその含量での推移が認められた。一方「クサノホシ」,「タチアオバ」では、調査期間中大きな変動は認められず、30%程度で推移した。

NDFは、粗繊維と同様の変動を示し、調査開始時では各品種とも約70%であったものの、「たちはやて」,「たちすがた」では、9/9に向け急激に減少し、各々50.8%、54.1%となり、その後、そのレベルで推移した。「クサノホシ」および「タチアオバ」でも、9/9以降緩やかな低下を示し、10/23では約63

%に達した。

ADFは、「たちはやて」で他品種に比べて、低下する傾向を示した。8/19にすべての品種で35～40%にあったものの、9/16には、他品種にくらべて、10%程度も低い27%であった。9/23からは「たちすがた」も低下が認められ、10/23には約30%に達した。「クサノホシ」および「タチアオバ」では、低下は認められなかった。

2-3) TDN含量(図3)：調査開始時の8/19ではすべての品種で約50%の同等の値であった。「クサノホシ」および「タチアオバ」では、調査期間中同様の含量レベルで推移し、変動は認められなかった。「たちはやて」では、9/2

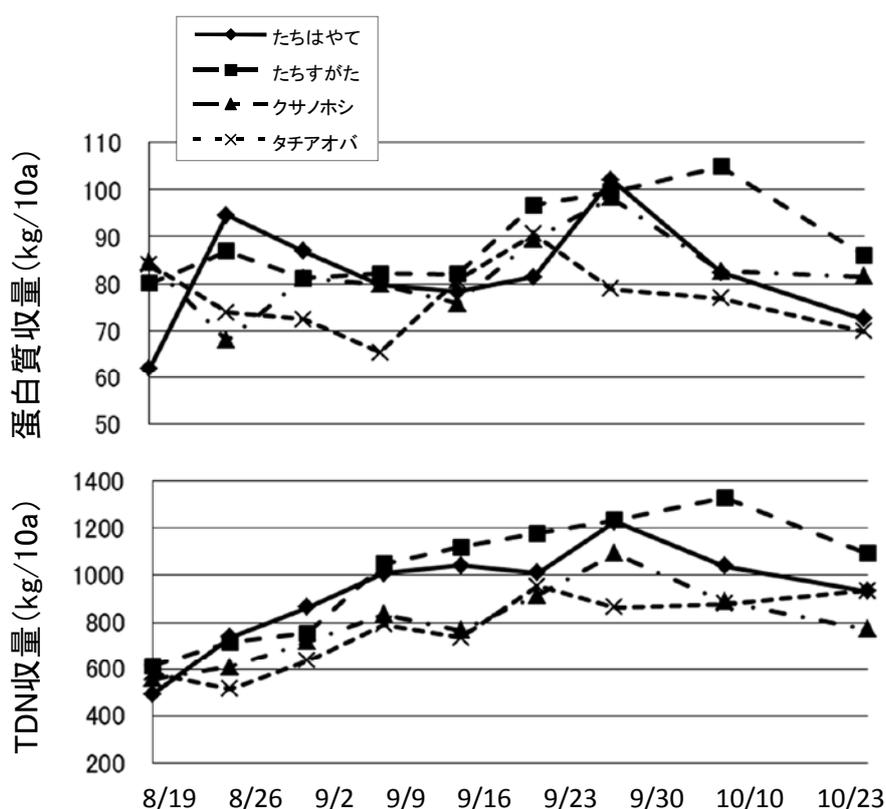


図5. 粗蛋白質収量およびTDN収量の推移

に56.1%に増加, 「たちすがた」では, 9/16に55.3%に増加し, 両品種ともその後, 含量レベルを維持推移した。

3. 収量および養分収量

3-1) 収量(図4): 原物収量では, 「たちすがた」, 「クサノホシ」, 「タチアオバ」で, 8/26以降5,000~6,000 kg/10 aで推移し, 「たちはやて」では, 水分の低下に伴って, 8/26以降徐々に低下し, 9/25移行は4,000 kg/10 aであった。

乾物収量では, 調査開始時から経時的に増加した。8/19に各品種とも概ね1,000~1,200 kg/10 aであったが, 「たちすがた」では, 10/10に最も収量が高く2,438 kg/10 aを示した。また, 他3品種については, 同様の値で, 10/10で約1,800 kg/10 aであった。

3-2) 養分収量(図5): 粗蛋白質収量は, 「たちはやて」, 「たちすがた」, 「クサノホシ」で, 一時的に100 kg/10 a (9/30)に達する変動もあったが, 概ね各品種とも80 kg/10 aで推移した。

TDN収量は, 9/9に「たちはやて」, 「たちすがた」で, 約1,000 kg/10 a, 「クサノホシ」, 「タチアオバ」で約800 kgと, 登熟の早い品種で200 kg高かった。最大収量は, 「たちすがた」(10/10; 1,328 kg/10 a), 「たちはやて」(9/30; 1,226 kg/10 a), 「クサノホシ」(9/30; 1,094 kg/10 a), 「タチアオバ」(9/23; 953 kg/10 a)であったが, 前後の変動から, 最大収量到達を推測すると, 「たちはやて」が9/9で約1,000 kg/10 a, 「たちすがた」が9/23で約1,200 kg/10 a, 「クサノホシ」, 「タチアオバ」が9/23で約900 kg/10 aであった。

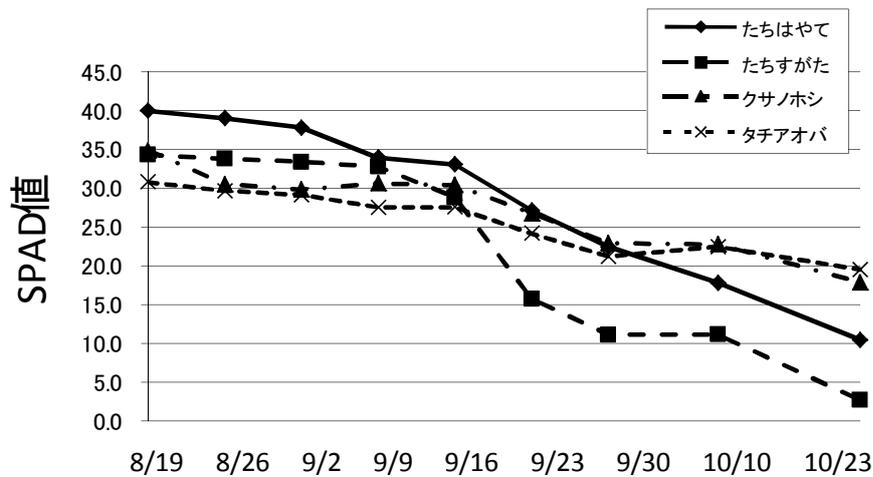


図6. SPADの推移

4. 葉緑素(図6)：SPAD値で、「たちはやて」は、調査開始時から8/19(40.0)、9/23(27.2)、10/23(10.5)と断続的に低下した。「たちすがた」は、9/16(28.9)以降急激な値の低下が認められ、約1週間で半減(9/23で15.8)した。「クサノホシ」・「タチアオバ」は、調査開始時約30から終了時約20と期間中緩やかに減少した。

まとめと考察

1. まとめ

秋田県における茎葉タイプ飼料用イネ専用品種として、「たちはやて」、「たちすがた」、「クサノホシ」、「タチアオバ」の飼料特性について明らかにした。その結果、「たちすがた」が原物収量および乾物収量において優れるだけでなく、TDN収量でも高い値を示した。また、比較的熟期も早く、気温が高く水分調整が容易な時期に収穫可能であると推測された。そのほか、葉緑素値が、9月下旬から急激に低下し、稲わら代替としての利用も考えられる。そのほかの品種についても、「たちはやて」では、原物収量が低めではあるものの、登熟時期が早いことから、稲体水分の低下が早

く、高いTDN収量が得られた。また、「クサノホシ」と「タチアオバ」については、熟期が遅いことから、長い期間に渡って収量と飼料栄養価の変動が少く、収穫作業の分散化が可能と考えられた。

2. 一般飼料成分

稲体中の水分は、「たちはやて」、「たちすがた」、「クサノホシ」、「タチアオバ」の順で水分の低下が認められた。これは、出穂の早晩によるもので、出穂後水分は低下し、約30日後に黄熟期に達し、約65%になるとされており(秋田畜試, 2004)、それぞれの品種の出穂日が、「たちはやて」は8/10、「たちすがた」は8/17、「クサノホシ」は9/9、そして「タチアオバ」が9/13であったことが関係していると考えられる。粗蛋白質含量については、各品種とも同様の変動を示し、調査開始から9/9に向け低下が認められた。飼料用稲の粗蛋白質含量は、熟期が進むにつれ低下することが明らかになっており(水沢ら 2003)、出穂期が高い。各品種の出穂期は前出のとおりであり、「たちはやて」と「たちすがた」については、この植物体の成熟による現象と考えられる。しかしながら、出穂前にも関わらず、含量が同様に低下した「クサノホシ」と「タチアオバ」については、要因

がわからない。すべての品種が非常に相同的な変動を示していることを考慮すると、日長、気温等の環境条件または、落水のタイミングや肥培管理が関与しているとも推測されるが、今後の再確認事項としたい。粗灰分については、「たちはやて」が他3品種に比べて、低い値を示した。澤口ら(2011)は、「たちはやて」の系統品種名関東飼糶243号を用いた品種比較試験を実施しており、その中で、「たちすがた」等11品種との成分比較がなされており、灰分については、同等の含量(約6%)であることを示している。圃場条件が異なるので、単純な比較は出来ないが、本試験で得られた数値は、それよりも高い値を示しており、この灰分構成については、より詳細な組成解析が必要である。

3. 繊維成分

粗繊維およびNDFは、「たちはやて」と「たちすがた」の低下が認められるが、これは、早晚生の違いにより、穂部の登熟が早く、穂重割合が増加したため、稲体全体としての繊維含量としては低下したものと考えられる。また、「たちはやて」において、10月中旬以降に数値が増加するのは、完熟に達し、稲体自体が枯死してきたためと推測された。ADFは、「たちはやて」が他3品種に比較し低下する変動が認められた。山口ら(2014)も、「たちはやて」が「タチアオバ」に比較して有意にADFが低い事を示している(黄熟期刈り)。これは、「たちはやて」の低リグニン性の特性がでたと考えられる(作物研究所 2013)。ただし、このADFの経時的推移は、粗灰分と類似し、またADF中にも粗灰分の値は含まれることから、この要因については、より細かな解析が必要である。TDNは、出穂の早い「たちはやて」と「たちすがた」が高い値を示した。特に「たちはやて」では、9月の上旬には、最大含量に達したことから、気温も高く、天候条件もよい時期に、収穫調製が

可能と考えられる。また、「クサノホシ」、「タチアオバ」については、調査期間一定のTDN含量を示し、収穫作業の分散化に対応可能であると思われる。

4. 収量および養分収量、葉緑素

原物収量では、「たちすがた」、「クサノホシ」、「タチアオバ」の3品種に比べると、「たちはやて」では1,000 kg/10 a近く低い値を示すものの、乾物収量では、各品種とも同程度で、経時的に同様の増加を示し、また、これに養分収量を重ね合わせてみると、TDN収量では、「たちはやて」、「たちすがた」が9月上旬から1,000 TDN kg/10 aに達するなど他2品種に比べ優れていた。本研究では、茎葉タイプの飼料用稲専用品種を対象としているが、それでも、籾に由来する養分収量への影響は大きかった。

葉緑素では、「たちすがた」で、9月下旬に急激な低下が認められた。他品種では、漸減的な減少を示していたことから、「たちすがた」の特徴とも考えられる。SPAD値は、飼料用イネのβ-カロチン含量の簡易測定にも用いられ(日本草地畜産種子協会 2012)、SPAD値が30以下になれば、β-カロチンは、原物中含量で15 mg/kg以下、乾物中含量で40 mg/kg以下であるとされ(千葉県 2012)、黒毛和種肥育向けの、稲わら代替として活用できる事が示唆された。

以上の様な飼料成分値および収量等の経時的特徴から、各品種の活用方法について考察してみると、9月初旬に最大収量、栄養価となる「たちはやて」は、気温が高い時期での、予乾体系を含めた収穫作業体系も組むことができる。「たちすがた」は、比較的早い時期から高い収量レベルに達するものの、10月上旬までも増加することから、長い収穫適期期間が得られる。また、稲わら代替の可能性もある。「クサノホシ」、「タチアオバ」については、出穂が遅く、収量・栄養価の変動が

少ない事から、他作目収穫作業との時期的調整が容易であることなど、品種特性を活かすことにより、畜種、用途のニーズに適した、高品質な粗飼料を水田で生産できると考えられる。

引用文献

- 秋田県畜産試験場. 2004. 上手なイネWCS調製のポイント. 畜産秋田. No205. 1-2.
- 石田聡一. 2011. 稲ホールクroppサイレージ, 飼料用米の特徴と給与上の注意点. 牧草と園芸, 第59巻, 第4号. 13-16.
- 澤口和宏, 山本善太, 水野一郎, 武内徹郎. 2011. 飼料用米栽培・調製試験(第1報)ー品種と窒素施肥量の違いが飼料用米の収量および飼料成分に及ぼす影響ー. 徳島県立農林水産総合技術支援センター研究報告. 第10号. 66-70.
- 自給飼料利用研究会. 2009. 三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック. 6-25, 67-68. 東京.
- 社団法人日本草地畜産種子協会. 2012. 葉緑素計を用いたβ-カロテン含量の簡易推定法. 稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル. 67. 東京.
- 千葉県農業改良普及情報ネットワーク. 2012. 飼料イネにおける葉緑素計を用いたβ-カロテン含量の簡易判定.
<http://www.pref.chiba.lg.jp/ninaite/network/field-h24/chiku1206.html>
- 農研機構作物研究所. 2013. 稲発酵粗飼料用水稲新品種「[たちはやて]」.
http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/press/laboratory/nics/049600.html
- 服部育男, 佐藤健次, 小林良次, 石田元彦, 吉田宣夫, 安藤貞. 2005. 飼料イネサイレージの可消化養分総量の推定. 日本草地学会誌. 第51巻, 第3号. 269-273.
- 水沢誠一, 森山則男, 安藤義昭, 小柳涉, 関誠, 今井明夫. 2003. 稲発酵粗飼料の飼料成分組成と栄養価. 新潟県農業総合研究所畜産研究センター研究報告. 第14号. 12-15.
- 山口弘道, 石崎摩美, 石川哲也, 加藤浩, 平林秀介. 2014. 関東地方の周年粗飼料生産体系における稲発酵粗飼料向け早生品種「[たちはやて]」の生育特性. 日本作物学会紀事. 83巻, 4号. 352-355.

家畜ふん堆肥と化成肥料の組合せで牧草栽培した現地実証試験

佐藤寛子・由利奈美江・渡邊 潤・加藤真姫子

要 約

実際に利用されている採草地において家畜ふん堆肥を施肥窒素の50%まで代替した牧草栽培を2年間実施した結果、次のような傾向が認められた。

- ・収量および粗蛋白質含量は化成肥料のみで栽培した慣行区に比べて、家畜ふん堆肥を施用した試験区の方が低かった。
- ・TDN含量はどちらの区も同等であり、K/Ca+Mg当量比(以下、ミネラルバランス)は試験区の方が低かった。

緒 言

牧草(オーチャードグラス)栽培において、完熟牛ふん堆肥を施肥窒素の50%まで代替して施肥を行っても収量やTDN含量など化成肥料のみで施肥を行った場合と同等であることが明らかとなっている(佐藤ら 2012)。化学肥料価格は、依然として高値基調にあるため、栽培に係るコストも低減出来る家畜ふん堆肥の有効且つ適正な利用方法の提示は重要である。

そこで、本試験は、実際に利用されている採草地において家畜ふん堆肥を施肥窒素の50%まで代替して牧草栽培を行うことが、収量や栄養成分などにどのような影響を与えるのかを検討した。

材料および方法

1. 供試草地 オーチャードグラス主体の採草地
2. 供試牧草 平成24, 25年に生産された牧草
3. 施肥条件 年間窒素施肥量14 kg/10 a(配分: 早春10 kg, 1番草後4 kg)

4. 試験区分

- 1) 慣行区(面積2.2 ha)
化成肥料100% (窒素20%, リン酸10%, カリ10%)
- 2) 試験区(面積2.2 ha)
化成肥料由来窒素50% (尿素: 窒素46%)
堆肥由来窒素50%
(牛ふん: 豚ふん: 戻し堆肥: モミガラ = 4: 3: 2: 1, 容量比)
堆肥の肥料成分(現物%)
窒素1.0%, リン酸1.5%, カリ1.3%, 石灰1.5%, 苦土0.6%

5. 調査項目

- 1) 牧草収量
慣行区は3カ所、試験区は5カ所から草丈および収量を調査した。
- 2) 牧草の飼料成分
項目は水分, 粗蛋白質, TDN, 粗灰分, P, K, Ca, Mg, ミネラルバランスとした。
水分, 粗蛋白質, 粗灰分, P, K, Ca, Mgは常法(自給飼料利用研究会 2009)に従って分析した。TDNは、ObとOCWを酵素法により分析し、推定式 $TDN=0.674 \times (OCC+Oa) +$

0.127×Ob+18.53(大槻ら 2001)を用いて求めた。ミネラルバランスは、計算により求めた。

3) 土壌成分

土壌の収去は、慣行区は3カ所、試験区は5カ所から実施し、牧草の調査地点と同地点とした。

項目はpH, 有効態リン酸, リン酸吸収係数, 置換性塩基(CaO, MgO, K₂O)とし、分析は常法(日本土壌協会 2001)に従って行った。

結 果

表1には、堆肥施用1年目(平成24年)の草丈および収量調査の結果を示した。1番草は、草丈が試験区の方が有意に高く、生収量も試験区の方が多かったが、乾物収量は同等であった。2番草と

3番草は草丈、収量ともに同等であった。表2には、堆肥施用2年目(平成25年)の草丈と収量調査の結果を示した。1番草は、草丈は同等であったが、収量は試験区の方が少なかった。2番草は、草丈、収量とも試験区が低い傾向を示した。

表3には、堆肥施用1年目(平成24年)の飼料分析結果を示した。1番草では、粗蛋白質とTDNは試験区の方が低く、粗灰分とKは試験区の方が高く、P, Ca, Mgは同等、K/(Ca+Mg)当量比は試験区の方が高かった。2番草では、TDNと粗灰分は試験区の方が高く、それ以外の成分は、ほぼ同等であった。3番草では、粗蛋白質とKは試験区の方が低く、TDN, Ca, Mgは同等、粗灰分とPは試験区の方が有意に高かった。K/(Ca+Mg)当量比は試験区の方が低かった。表4には、堆肥施

表1 草丈、収量調査結果 (H24 堆肥施用1年目)

		慣行区	試験区
1番草	草丈 (cm)	88.7±7.2a	98.4±4.0b
	生収量 (kg/a)	146.7±2.9	152.0±41.3
	乾物収量 (kg/a)	32.7±3.9	32.6±5.3
2番草	草丈 (cm)	75.5±8.0	73.2±9.1
	生収量 (kg/a)	106.7±32.6	100.0±25.0
	乾物収量 (kg/a)	24.7±8.0	23.2±4.8
3番草	草丈 (cm)	32.7±1.0	34.5±3.6
	生収量 (kg/a)	23.3±2.9	23.0±4.5
	乾物収量 (kg/a)	6.1±1.2	6.0±1.0

値は、平均値±標準偏差
P < 0.05 : 異符号間に有意差有り

表2 草丈、収量調査結果 (H25 堆肥施用2年目)

		慣行区	試験区
1番草	草丈 (cm)	99.4±8.5	100.0±5.1
	生収量 (kg/a)	176.7±50.1	141.0±29.7
	乾物収量 (kg/a)	42.6±6.6	36.1±6.1
2番草	草丈 (cm)	83.2±5.1	75.7±6.4
	生収量 (kg/a)	78.3±12.6	61.0±20.7
	乾物収量 (kg/a)	17.4±3.3	13.4±4.2

値は、平均値±標準偏差
※H25年は、天候等の影響により、3番草の収穫は実施しなかった。

表3 飼料分析結果 (H24 堆肥施用1年目)

	1番草		2番草		3番草	
	慣行区	試験区	慣行区	試験区	慣行区	試験区
水分	77.6±2.3	78.1±2.6	74.5±1.1	76.6±1.7	73.9±2.4	73.6±3.2
粗蛋白質	14.6±1.7	11.6±1.8	12.7±0.9	12.8±0.9	20.0±2.2	18.7±1.9
TDN	64.1±5.7	55.8±6.2	55.1±2.1	60.5±3.8	56.4±6.0	55.9±4.8
粗灰分	6.6±0.7	8.0±1.5	8.7±0.7a	11.1±0.3b	11.1±0.6a	12.3±0.2b
P	0.3±0.0	0.3±0.1	0.4±0.1	0.4±0.0	0.4±0.1a	0.6±0.1b
K	2.5±0.4	3.1±0.7	3.3±0.5	3.8±0.5	4.1±0.3	3.8±0.6
Ca	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.2	0.2±0.0	0.2±0.1
Mg	0.2±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.4±0.0
K/(Ca+Mg)	2.6±0.5a	4.3±1.1b	2.9±0.4	2.8±0.8	3.1±0.3	2.5±0.6

値は、平均値±標準偏差

値は、乾物%

$p < 0.05$: 異符号間に有意差有り

表4 飼料分析結果 (H25 堆肥施用2年目)

	1番草		2番草	
	慣行区	試験区	慣行区	試験区
水分	75.1±4.4	74.3±1.1	77.9±0.8	77.8±0.7
粗蛋白質	13.7±0.8a	10.1±1.5b	13.0±1.2	11.9±1.4
TDN	52.5±0.8	51.5±0.4	50.5±1.9	50.7±1.3
粗灰分	6.2±0.7	6.7±0.6	7.4±0.3a	8.5±0.4b
P	0.2±0.1	0.3±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0
K	1.8±0.3	1.8±0.3	2.3±0.3	2.4±0.2
Ca	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.3±0.0
Mg	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
K/(Ca+Mg)	2.1±0.1	1.9±0.4	2.5±0.5	2.1±0.2

値は、平均値±標準偏差

値は、乾物%

$p < 0.05$: 異符号間に有意差有り

用2年目(平成25年)の飼料分析結果を示した。1番草では、粗蛋白質が試験区で有意に低かった。TDN, 粗灰分, P, K, Ca, Mgは同等であった。K/(Ca+Mg)当量比は試験区の方が低い傾向が認められた。2番草では、試験区で粗蛋白質が低く、TDNは同等であった。粗灰分は試験区の方が有意に高く、P, K, Ca, Mgは同等であった。K/(Ca+Mg)当量比は試験区の方が低い傾向が認められた。

表5には、堆肥を施用する前の平成24年4月に採取した土壌および堆肥を1年間施用した翌年平成25年4月に採取した土壌の分析結果を示した。pHについては、慣行区では平成24年採取土壌は4.9, 平成25年採取土壌は4.7と低い値であった。試験区では堆肥施用前の平成24年採取土壌は5.6, 堆肥を施用した翌年の平成25年採取土壌は5.0と何れも低い値であった。有効態リン酸は、慣行区においては、平成24年採取土壌は27.1 mg / 100 g,

表5 土壌分析結果

	慣行区		試験区	
	H24	H25	H24	H25
pH	4.9	4.7	5.6	5.0
有効態リン酸 (mg/100g)	27.1	54.6	13.6	40.8
リン酸吸収係数	593.3	526.1	455.5	280.6
置換性塩基 (mg/100g)	CaO	144.6	188.1	136.4
	MgO	57.3	60.6	41.3
	K ₂ O	23.4	35.3	9.4

H24 堆肥施用前の土壌分析値

H25 堆肥を1年間施用後の土壌分析値

平成25年採取土壌は54.6 mg/100 gと高くなっていた。試験区においても、平成24年採取土壌は13.6 mg/100 g、平成25年採取土壌は40.8 mg/100 gと高くなっていた。

まとめと考察

家畜ふん堆肥を施用して1年目および2年目の草丈と収量は、化学肥料のみで栽培した慣行区に比べて、施肥窒素の50%を家畜ふん堆肥で代替した試験区の方が同等または低い傾向が認められた。これは、この家畜ふん堆肥の原料として窒素の肥効が施用当年には発現しにくい牛ふんが含まれていることが要因と考えられる。

飼料分析結果の粗蛋白質についても、堆肥施用1年目および2年目では試験区の方が低い傾向が認められている。これも家畜ふん堆肥の原料として牛ふんが含まれていることが要因であると考えられ、TDNについても同様の傾向が認められている。

本試験において家畜ふん堆肥を施用したことにより牧草中の粗灰分およびP含量の値が高くなる傾向が示された。これは、慣行区の窒素量に合わせて堆肥の施肥量を計算することにより、リン酸、カリ、石灰、苦土が慣行区よりも多く施用されることが要因と考えられる。pHの低い土壌に対しては、石灰と苦土が家畜ふん堆肥から供給されることは利点であると考えられる。

ミネラルバランスは、堆肥施用1年目の1番草では試験区の方が高くなっていたが、堆肥施用1年目の2、3番草および堆肥施用2年目の1、2番草においては、同等または試験区の方が低かった。これは、前述したように家畜ふん堆肥を施用することによって石灰と苦土が供給されたことが利点となって作用したと考えられる。

家畜ふん堆肥を2年間施用した結果、収量および粗蛋白質含量は慣行区に比べて低くなる傾向が示されているが、TDNは同等であり、ミネラルバランスも改善されるという利点も示された。今後も実際の採草地における堆肥施用試験を継続し、堆肥を連用することによる効果と改善点について検討を行う。

文 献

- 佐藤寛子, 渡邊潤, 加藤真姫子, 植村鉄矢. 2012. 地域内有機質資源を活用した持続的農業生産技術の確立(第5報)－牧草生産における堆肥と化学肥料の組み合わせ利用技術の検討－. 秋田県畜産試験場研究報告 第26号, 7-9.
- 自給飼料品質評価研究会編. 2009. 粗飼料の品質評価ガイドブック. 三訂版.
- 大槻和夫(2001)飼料のTDNの推定. 改訂粗飼料の品質ガイドブック(自給飼料研究会編), 日本草地畜産種子協会, 東京, 77-83.
- 日本土壌協会. 2001. 土壌, 水質及び植物体分析法.

初産乳牛の移行期に適した飼料の段階的増給法及び繫留条件の検討 (第3報)

加藤真姫子・渡邊 潤・佐藤寛子

要 約

初妊牛4頭に対し、分娩予定3週前から濃厚飼料の段階的増給を行い、うち2頭には生菌製剤を分娩前4週から分娩後4週まで飼料添加した。乾物摂取量(DMI)、ボディコンディションスコア(BCS)、乳生産や栄養代謝への影響を比較するとともに、ルーメン内留置型・無線伝送式pHセンサー(ルーメンpHセンサー)を投入し、ルーメン内pHの経時的変化を調査し、移行期に適した飼料給与について検討した。結果を以下に示す。

- 1 分娩前後1週に乾物摂取量(DMI)が最も低下し、その影響を受けて変動したと思われる血液成分は、総コレステロール(TCHO)、カルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)であった。
- 2 供試牛のルーメンpHセンサーは、第二胃に定着した。分娩前4~2週までのpHの日内変動パターンは、早朝給餌前のpHが最も高く、給餌後2~3時間かけて低下し、夕方給餌後のpHが最低になるパターンを示した。また、分娩を境にルーメン内pHの日内変動パターンが大きく乱れ、亜急性第一胃アシドーシス(SARA)閾値とされる6.3を下回る時間帯が増加した。
- 3 生菌製剤を添加した2頭のpHは、分娩後2週間で分娩前の日内変動パターンに戻り、その後安定して推移した。

以上の結果から、分娩に付随する乾物摂取量の減少により分娩後のルーメン内pHが不安定となり、この期間の配合飼料の増量はアシドーシスへのリスクを助長する可能性が示唆された。また、分娩前からの生菌製剤の飼料添加は、比較的早く日内変動パターンに戻ったため、ルーメン内環境を改善する効果が期待できる。

緒 言

近年、酪農生産基盤の弱体化が進み、国内の需要に対して生乳生産が追いつかない状況が続いている。乳牛自体の供用期間も短縮傾向にあり、生涯生産性を向上させるためには、最初のハードルとなる初産次のステージを上手に超える必要がある。県内では初妊牛の県外導入頭数が増加し、牛群に占める初産牛の割合は3割を超えているが、前報(加藤ら 2012)の調査において、県内における初産牛の疾病・事故が多いことを報告しており、初産牛のリスクを意識した飼養管理が求められる。

乳牛の分娩前後3週間の移行期は栄養管理と健康管理が最も難しい時期である。特に母体と胎児の成長を両立しなければならない初産牛では、ストレスに対する感受性も強く、また、近年の初産牛の泌乳能力は高いため、以前とは異なる飼養管理が必要と思われる。本研究では、初産牛に対して濃厚飼料の段階的増給を行い、第一胃内液pHの長期間連続測定による経時的変化を測定した。その際、第一胃内pHの急激な変動を吸収することを目的に、生菌製剤の飼料添加による第一胃内環境の負荷軽減の可能性を調査した。これらの測定データより、濃厚飼料の段階的増給における第

一胃内pHを制御し、初産牛の第一胃に適した移行期の飼養管理技術について検討した。

乳牛において、分娩前後の3週間を移行期と呼び、分娩に伴う変化により、体内における代謝がダイナミックに変動する。特に、母体と胎児の成長を両立しなければならない初産牛では、新規環境に対するストレスに弱く、経産牛とは異なる飼養管理が必要となる。また、分娩前は、泌乳期飼料に馴致させるための期間であるが、初産牛のルーメンpHは、経産牛に比べて酸性になりやすく、ルーメン内にエンドトキシン(以下ET)が生成されやすい。ETは、分娩後の代謝性疾患の要因とされ、著しく生産性を阻害する物質であるため、この研究では、初産牛の移行期のストレスを検証しながら、初産牛の第一胃に適した飼養管理技術を検討する。

材料および方法

1. 供試牛、飼養管理および供試飼料

1) 供試牛および試験区分

当場で繋養しているホルスタイン種初産

牛4頭を供試した。分娩予定日に基づいて馴致期間を設定し、タイストール牛舎へは7週以上前に移動し、繋留を開始した。また、初産牛をひとまとめに繋留し経産牛の隣にならないように配置した。4頭には、分娩前3週目から濃厚飼料の段階的増給を行い、うち2頭については生菌製剤(東亜薬品工業株式会社)を最初の4日間は200 g/日/頭を強制経口投与し、その後は40 g/日/頭を飼料添加した。他2頭は無添加とした。

2) 飼養管理状況

供試牛は、育成管理牛舎(フリーバーン)から搾乳牛舎(ニューヨークタイストール)に繋留した。分娩後の搾乳は、朝7:30および夕方16:00に行い、飼料は朝夕の搾乳時および13:00に残飼が十分に出る量を自由採食させた。水および鉱塩(ZENOAC)は自由摂取させた。

3) 供試飼料

TMRの飼料構成割合および養分含量を表2に示した。TMR原料をミキサーで混合した

表1 試験牛の概要

管理No.	生菌製剤 添加	生年月日	血統：父	分娩月日	初産分娩 月 齢	分娩子牛 体重 (kg)
シロ-50	添加	H24.1.24	デルタ キャンバス	H26.3.12	25.6	43.3
キ-2	添加	H24.4.4	デルタ キャンバス	H26.3.27	23.8	36.8
シロ-49	無添加	H23.12.11	デルタ キャンバス	H26.3.12	27.0	46.2
キ-1	無添加	H24.2.16	デルタ キャンバス	H26.3.20	25.1	43.1

表2 給与TMRの原料構成比率および飼料成分

構成比率 (DM%)					飼料成分			
トウモロコシ サイレージ (DM28%)	牧草ロー ルサイ レージ	配合飼料 (TDN75, CP18)	ビート パルプ	おから	TDN (%)	CP (%)	NDF (%)	乾物率 (%)
38.7	14.9	25.4	9.2	8.5	69.2	14.0	35.8	41.3

後、細断型ロールペーラーにより成型・梱包後にラッピングを行い、3週間以上静置したものを発酵TMRとして給与した。また、搾乳牛舎への繋留開始後は、発酵TMRへの馴致を1週間かけて行った。発酵TMRは、8:00、13:00、16:00の3回に分けて給与した。配合飼料は分娩3週前から1 kg/週で増飼しさらに、分娩予定日の1週間前には、配合飼料1 kgを増給し、分娩後は1 kg/3日(最高11 kgまで)とし、8:00、16:00にトップドレスで給与した。

2. 調査の項目と方法

1) 飼料摂取状況

1日分の給与量を前日に計量し残飼量は、翌朝給餌前に計量した。分娩前3週から分娩後3週までの採食量調査については、TMRと配合飼料の乾物摂取量を合計し、各個体の週毎の平均値として比較した。

2) 産乳成績

乳量は、毎日朝夕2回の搾乳時にミルクメーター(ミルコン、オリオン機械)で計測し、分娩後16週まで、1週間毎の日乳量を各区の平均値として比較した。

3) ボディコンディションスコア(BCS)

Ferguson J. DらのUVシステム法により、

BCSを評価した。

4) 血液性状

分娩前4週～分娩後5週まで1週間毎に、ヘパリン入り採血管で採血後、1時間以内に遠心し、血糖(GLU)、アルブミン(ALB)、尿素窒素(BUN)、総コレステロール(TCHO)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、ガンマグルトミルトランスペプチターゼ(GGT)、カルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)、リン(IP)、アンモニア(NH₃)を乾式血液自動分析装置(ドライケム7000V、富士フィルム)で測定した。

5) ルーメン内pH

供試牛4頭にルーメンpHセンサー(家畜生体用無線伝送式pHメーター、岩手大学・山形東亜DKK)を投入し、センサーの位置については金属探知機により確認した。各個体の胃液pHは10分間隔で連続測定し、実際に分娩した日の4週前から4週後までの0時～23時に受信したデータの1時間毎の平均値をグラフ化し、日内変動の波形として比較した。SARAの閾値についてはSATOら(2012)の文献に基づき、第一胃にある場合は5.6、第二胃にある場合は6.3とし、この状態が3時間以上継続する状態をSARAと判断した。

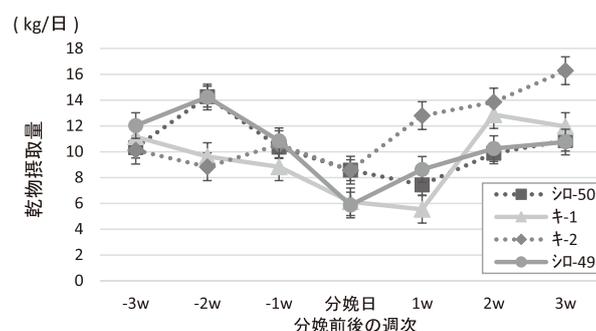


図1 乾物摂取量の推移

結果および考察

1. 飼料摂取状況

分娩前繋留期間別の分娩3週前～分娩3週後の乾物摂取量を図1に示す。

移行期の乾物摂取量は、分娩日が底となり、分娩前後の1週間は移行期において、最も乾物摂取量が低下し、かつ栄養エネルギー不足のピークでもある。供試牛4頭のうち、生菌製剤を添加していないシロ49およびキ1については、分娩前1週間および分娩後1週間の計2週に渡ってDMIが10 kg以下で推移しており、この2頭におけるDMI低下によるエネルギー不足の負荷は大きかったと推察された。シロ49については食欲の減退を繰り返し、治療が必要であった。分娩前後のDMIの変動が少なかったキ2は、その後順調にDMIが回復し、増加した。

2. 乳量

分娩後の各区における週間毎の平均乳量を図2に示した。

シロ49においては分娩後3週目の早い時期にピークに達し、乳量が35 kgを超えた。しかし、高乳量を保持できずに5週目と9週目に平均乳量が5 kg以上減少する等、不安定な泌乳曲線となった。また、キ1についても、分娩後に水様性の下痢を発症し、分娩後4週までの乳量が伸びず、その後泌乳ピークに追いつくのに8週間を要した。シロ

49およびキ1はとび出し乳量も高く、DMIが回復しないまま乳量が急激に増加したことで、DMIの不足により、負のエネルギーバランスによる影響がより大きかったと推察される。分娩前後のDMIやエネルギーが不足していても、高能力ゆえに乳量が高くなってしまふこのことは、経産牛の高泌乳牛における移行期の問題点と同じである。

3. BCS

経産牛、初産牛ともに、移行期の乾物摂取量は、著しく低下し、分娩後8～10週程度でようやく養分要求量が充足するようになり、それ以降からボディコンディションスコアの回復が始まることが報告されている。分娩前後のDMIが低く、泌乳量の高かったシロ49およびキ1は、分娩前からBCSが減少し、分娩後5週次においても、BCS3.0未満のスコアであった。このことは、供試牛4頭のDMIと泌乳量の結果からも想定できる結果であった。これに対し、生菌製剤を添加した2頭については、BCSの減少幅が小さく、3.0付近で推移した(図3)。

4. 血液性状

測定した10項目のうち、分娩を境に変動している傾向が認められるTCHO, BUN, NH3, AST, Ca, Mgの6項目について図4に示した。

TCHO(図4-1), Ca(図4-5), Mg(図4-6)の3項目については、DMIと同じように分娩後1

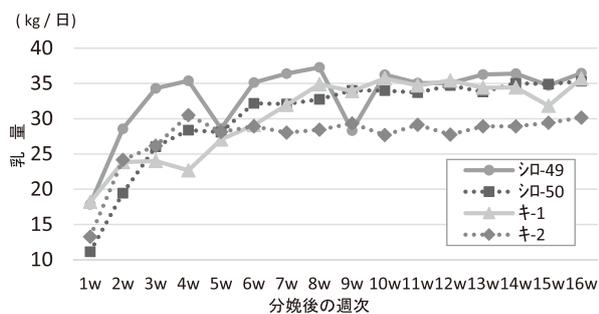


図2 日乳量の推移

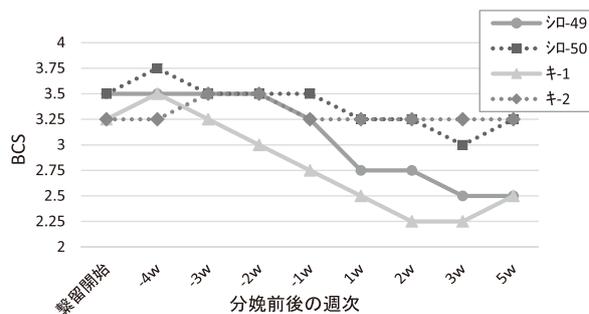


図3 BCSの推移

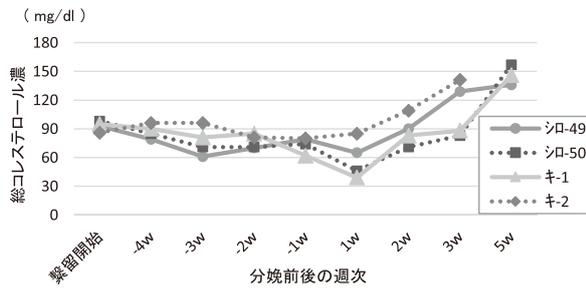


図 4-1 血中コレステロール濃度

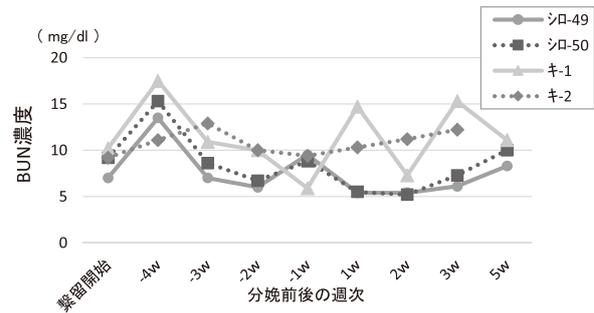


図 4-2 血中尿素態窒素の推移

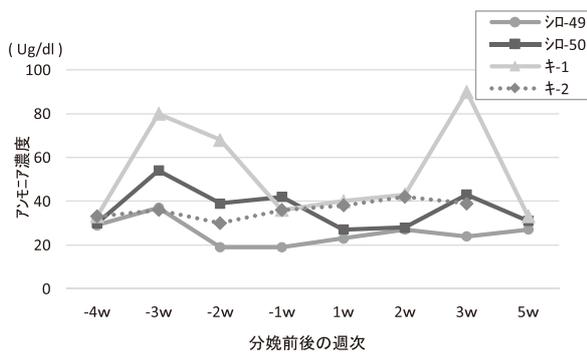


図 4-3 血中アンモニア濃度の推移

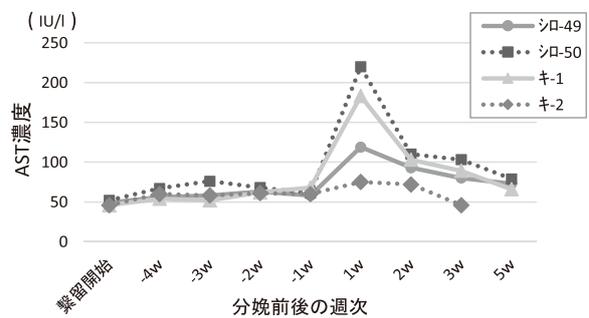


図 4-4 血中AST濃度の推移

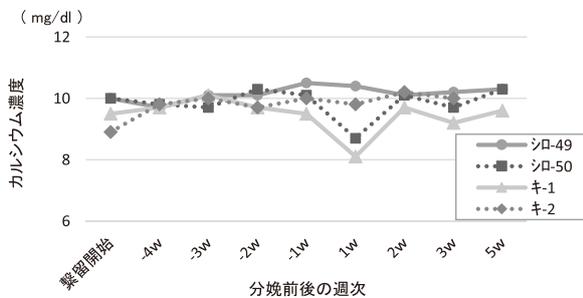


図 4-5 血中カルシウム濃度の推移

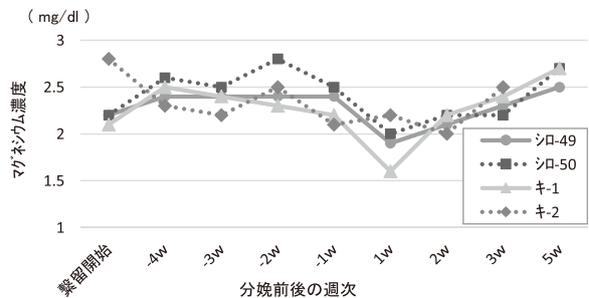


図 4-6 血中マグネシウム濃度の推移

週次が底となり、その後増加するパターンで推移した。キ2では、DMIを反映して変動が小さかった。BUNの低下(図4-2)については、タンパク不足とエネルギー不足が想定されるが、シロ49、シロ50は、エネルギー不足でありながら、標準値よりも低値で推移した。NH₃(図4-3)では、キ1が高値、シロ49が低値で推移した。キ1の低値はルーメン機能低下および下痢に起因すると考

えられ、シロ49の低値は、低栄養に起因すると考えられる。AST(図4-4)は、肝機能の代表的な指標であるが、肝臓以外の骨格筋にも多く存在するため、肝臓への負担のみならず、分娩時の骨格筋損傷の影響が考えられる。

5. 胃液pH

供試牛のルーメンpHセンサーは、投与後に金

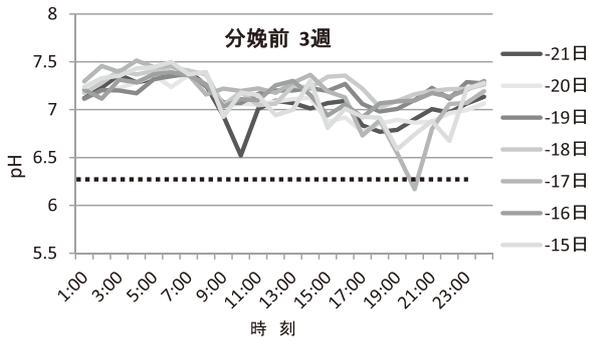


図 5 - 1 シロ50第二胃液（分娩前3週次）
pHの日内変動

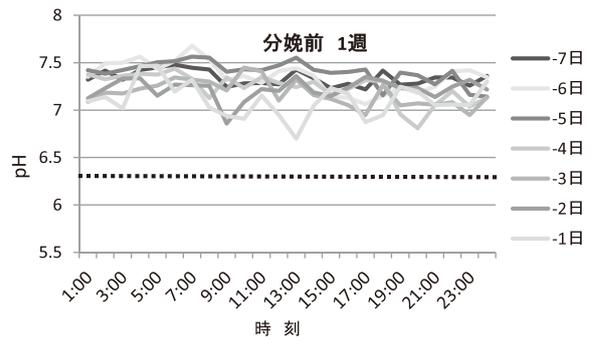


図 5 - 2 シロ50第二胃液（分娩前1週次）
pHの日内変動

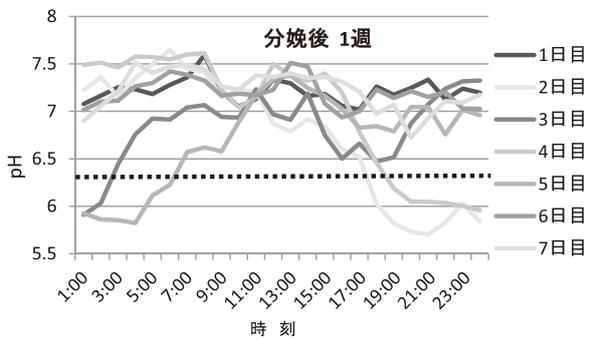


図 5 - 3 シロ50第二胃液（分娩後1週次）
pHの日内変動

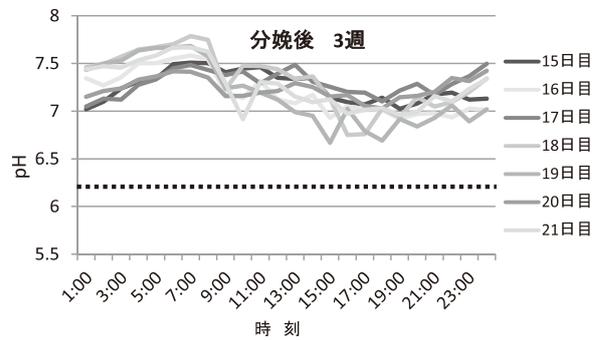


図 5 - 4 シロ50第二胃液（分娩後3週次）
pHの日内変動

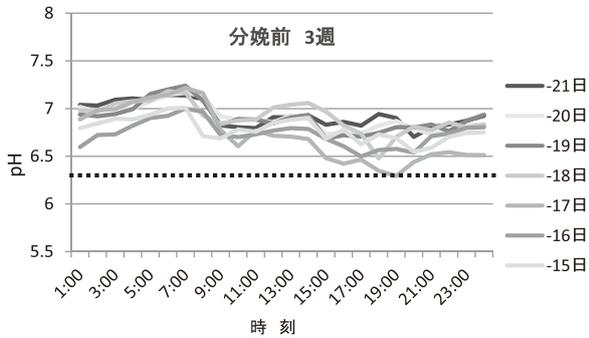


図 6 - 1 キ2第二胃液（分娩前3週次）
pHの日内変動

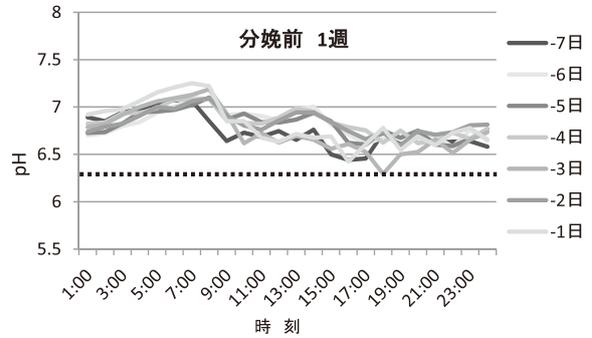


図 6 - 2 キ2第二胃液（分娩前1週次）
pHの日内変動

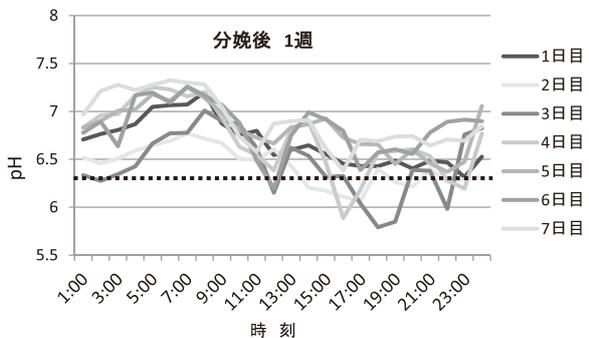


図 6 - 3 キ2第二胃液（分娩後1週次）
pHの日内変動

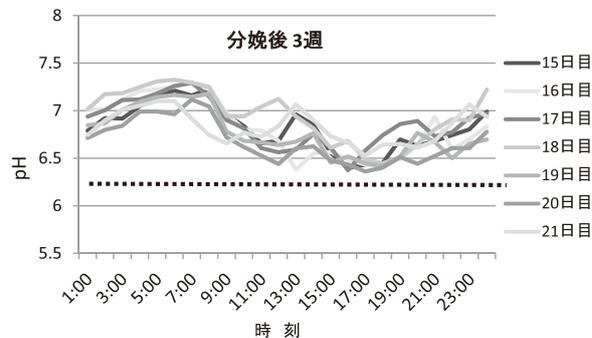


図 6 - 4 キ2第二胃液（分娩後3週次）
pHの日内変動

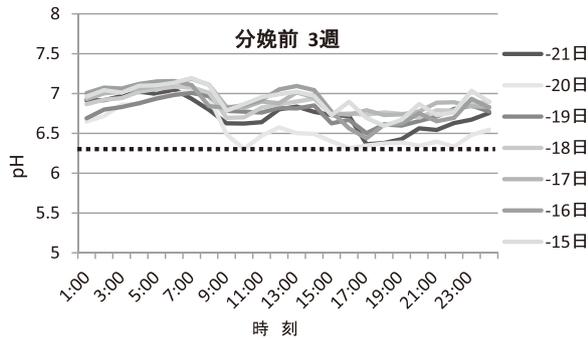


図 7-1 シロ49第二胃液（分娩前3週次）
pHの日内変動

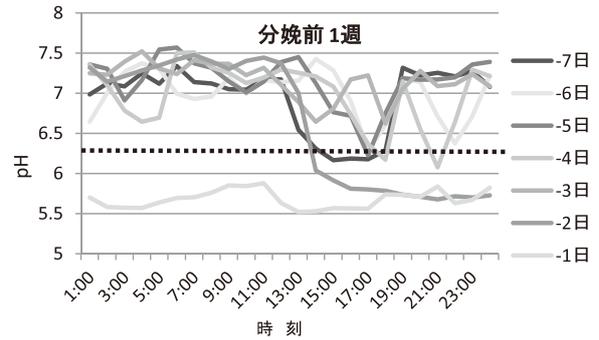


図 7-2 シロ49第二胃液（分娩前1週次）
pHの日内変動

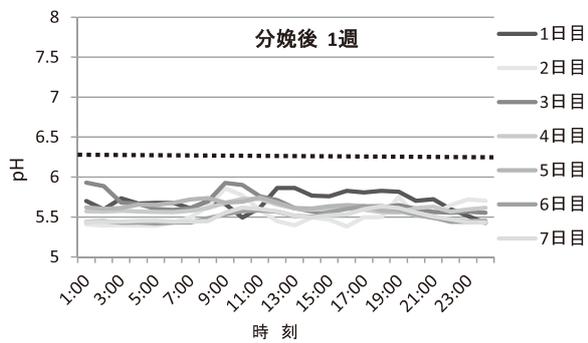


図 7-3 シロ49第二胃液（分娩後1週次）
pHの日内変動

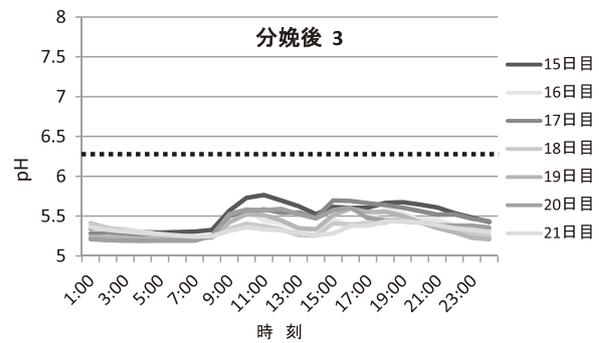


図 7-4 シロ49第二胃液（分娩後3週次）
pHの日内変動

属探知機で位置を特定し、第二胃に定着していることを確認した。供試牛の第二胃内pHの日内変動をグラフ化したところ、分娩前4～2週までのpHの日内変動パターンは、早朝給餌前のpHが最も高く、給餌後2～3時間かけて低下し、夕方給餌後のpHが最低になるパターンを示した(図5, 6, 7, 8-1, 2)。しかし、分娩を境にルーメン内pHの日内変動パターンが大きく乱れ、第二胃におけるSARAの閾値である6.3 (Satoら 2012, 木村 2013)を下回る時間帯が増加した。生菌製剤を添加した2頭のpHは、分娩後2週間で分娩前の日内変動パターンに復帰し、その後安定して推移した(図5, 6-2)。田端ら(2013)は、生菌製剤投与がルーメンアシドーシスおよび継発しておこる疾病を予防する可能性を報告しており、DMIの減少したルーメンに対して、何らかの良い効果があったと推測される。

分娩前後のDMIが最も減少し、日乳量が多かったシロ49のpHは分娩2日前～分娩後3週までpH 6以下で推移した。起立時間が長く、食欲廃絶による治療を繰り返し、アシドーシスによる臨床症状と思われた(図7-2, 3, 4)。キ1は、分娩後1か月ほど下痢が治癒せず、pHの乱調は1カ月以上継続した(図8)。

近年では、初産乳量が9,000 kgを超える個体も増えており、高い栄養要求量に対して低い乾物摂取量を改善できなければ、高泌乳牛と同様の周産期病のリスクを抱えていることを意識しなくてはならない。今回4頭の供試牛のルーメンpHを連続モニタリングしたが、分娩を底としたDMIの低下という共通の現象に対し、同じTMRを摂取しながらも個体における反応は分娩を機に大きく異なった。大場(2014)は、元々のルーメン液pHには個体差があり、アシドーシスになりやすい牛となりに

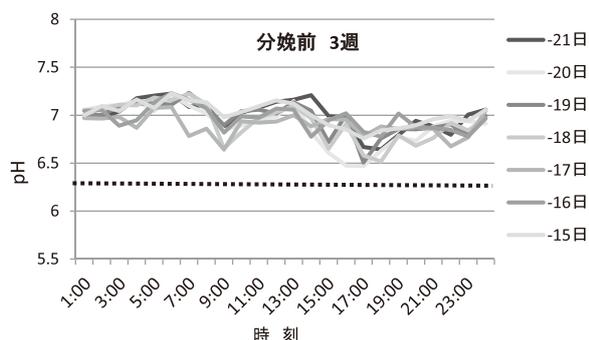


図 8-1 キ 1 第二胃液（分娩前 3 週次）
pH の日内変動

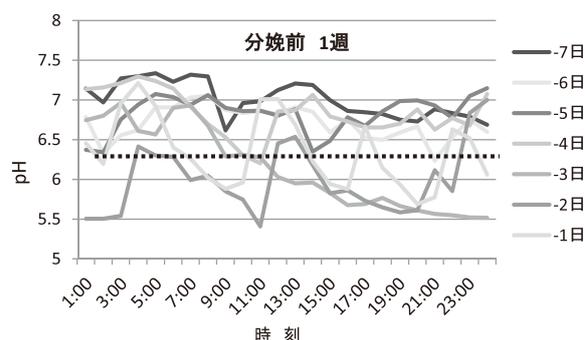


図 8-2 キ 1 第二胃液（分娩後 1 週次）
pH の日内変動

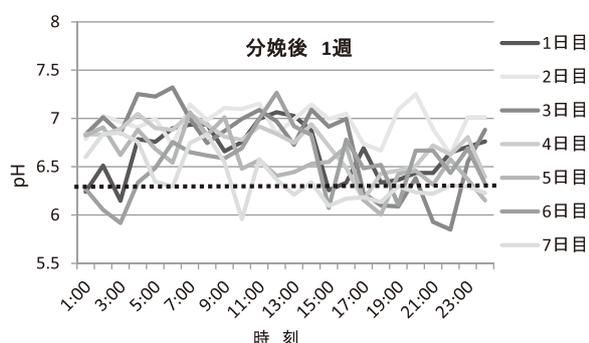


図 8-3 キ 1 第二胃液（分娩後 1 週次）
pH の日内変動

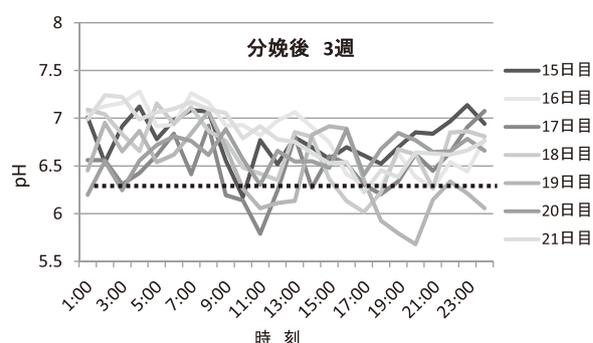


図 8-4 キ 1 第二胃液（分娩後 3 週次）
pH の日内変動

くい牛がある。それを見分ける指標として、アシドーシスになりやすい個体は乳中尿素態窒素 (MUN) が低いことを報告している。実際に、本試験でアシドーシスと思われたシロ49のBUNは、低値で推移していた。また、DMIが低下すると、ルーメン壁の様々な機能が低下し、同時に透過率も高まることにより微生物や毒素がルーメン壁を通過し、牛の体全体にダメージが及ぶことが報告されている (ZhangS ら 2013)。DMI低下の度合いと期間を最小限に抑えるためには移行期の個体のDMIをモニターすることが重要になる。分娩に付随する乾物摂取量の減少による初産牛への負荷は大きく、分娩後1～2週間のルーメン内pHは共通して不安定であった。この期間、DMIを把握せずに配合飼料を増量することは、アシドーシスへのリスクを助長する可能性が示唆される。また、分娩前からの生菌製剤の飼料添加を行った2頭は、

比較的早く日内変動パターンが戻ったことから、ルーメン内環境を改善する効果が期待できる。

初産牛の能力が引き出せない管理は、個体の生涯生産性のみならず農場全体の生産性に重大な影響を与える。今後もルーメンpHセンサー等によるモニタリングデータの蓄積が必要であり、成長過程にある初産牛のルーメンにおけるリスクコントロールを意識した飼養管理技術が望まれる。

文 献

- 生田健太郎, 佐藤繁, 岡田啓司, 水口人史, 伊俊也藤和紀, 星川俊也. 2012. 乳牛における分娩前の乾物摂取量と分娩後の濃厚飼料増給速度が乳生産, 血液成分および第1胃液性状に及ぼす影響. 産業動物臨床医誌 3 (2), 68-69.
- 泉賢一, 吉原慶子, 田代ゆうこ, 野英二. 2001. 高栄養濃度の混合飼料(TMR)給与が低泌乳初産

- 牛の採食量, 産乳成績およびルーメン内発酵様相に及ぼす影響. *J. Rakuno Gakuen Univ.* 26 (1), 63-70.
- 江口里香, 山岸則夫, 李仁納, 大星健治, 高木光博, 中川昭. 2005. 乳牛の移行期における臨床検査成績とその後の繁殖成績との関係. *家畜臨床誌*28(2), 34-41.
- 大場真人. 2014. 牛群中の個体差に合わせた飼料設計をルーメンアシドーシスへの新たな視点から. *デイリーマン*3, 42-43.
- 加藤真姫子, 渡邊潤, 佐藤寛子. 2013. 初産乳牛の移行期に適した飼料の段階的増給法及び繋留条件の検討(第1報)ー乳用牛の県内フィールド調査からー. *秋田畜試研究報告*27, 11-16.
- 加藤真姫子, 渡邊潤, 佐藤寛子. 2014. 初産乳牛の移行期に適した飼料の段階的増給法及び繋留条件の検討(第2報)ー乳用牛の県内フィールド調査からー. *秋田畜試研究報告*28, 6-12.
- 木村淳. 2013. 無線伝送式pHセンサーを用いた乳牛の亜急性第一胃アシドーシスの診断と制御に関する研究. *産業動物臨床医誌*4(2), 51-58.
- Sato S, et al. 2012. Diagnosis of subacute ruminal acidosis (SARA) by continuous reticular pH measurements in cows. *Vet. Res. Commun* 36, 201-205.
- 田端義巖, 木村淳, 宇賀聡, 小川徹三. 2013. 生菌製剤投与による乳牛のルーメンアシドーシス予防効果. *岩獣会報*39, 29-32.
- DeVries, T. J, K. A. Beauchemin, F. Dohme, K. S. Schwartzkopf-Genswein. 2009. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feeding, ruminating and lying behavior. *J. Dairy Sci*92, 5067-5078.
- Zhang S, R. I. Albornoz, J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013. Short-term feed restriction impairs the absorptive function of the reticulo-rumen total tract barrier function in beef cattle. *J. Anim. Sci*91, 1685-1695.
- Zhang S, J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013. Recovery of absorptive function of the reticulo-rumen and total tract barrier function in beef cattle after short-term feed restriction. *J. anim. Sci*91, 1696-1706.

牛の暑熱ストレス軽減対策による繁殖機能改善の検討（第1報）

高橋利清・西宮 弘*・千田惣浩・伊賀浩輔**・酒出淳一

*現：秋田県北部家畜保健衛生所

**（独）農研機構東北農業研究センター

要 約

暑熱ストレスと密接な関係にある酸化ストレスを軽減するため、抗酸化作用を有するメラトニンについて着目し、暑熱ストレスの軽減効果や体内由来卵子の影響について検討を行った。その結果、ストレス指標となるコルチゾールの経時的変化では、対照区において、暑熱の影響が大きいと考えられる日中で増加が観察された。しかし、メラトニン投与区では、コルチゾールの増加が抑制され、小規模な変動を示した。また、夜間においても投与区で変化が小さく、メラトニンの投与によるストレス軽減効果が示唆された。さらに、経膈採卵した体内由来卵子で体外受精を行った結果、正常受精率や胚盤胞発生の向上が図られた。以上の結果から、ウシに対する暑熱時のメラトニン経口投与は、ストレスの軽減が図られ、生体由来卵子の品質向上に関与することが示唆された。

緒 言

近年、地球温暖化などの影響により、地球規模での気温上昇が問題視されている。この温度変化は、東北地方においても表面化しており、暑熱によるウシに対するストレスは増加していることが懸念される。一般に、肉用牛の上限臨界温度は26～30℃とされるが(日本飼養標準 2000)、牛舎内環境がこの温度域に達する場合もある。

暑熱期のストレス増加は、ウシの受胎率や産子生産性に影響を及ぼし、繁殖性の低下を招くことが知られている(Kobayashi et al 2013, Watanabe et al 2014)。また、暑熱ストレス下では、ウシの生体内において還元性成分であるスルフヒドリル基やアスコルビン酸濃度が低下することから、酸化ストレスの亢進が示唆されており(Tanaka et al 2008)、暑熱と酸化ストレスは密接な関係を持つことが示唆される。

メラトニンは、脳の松果体から分泌されるホルモンであり、生体内において日中は低値で推移し、

夜間に増加することから、睡眠との関連性が指摘(Ralph et al 1971)されているほか、抗酸化作用も有することが確認されている(Rodriguez et al 2004, Sugino 2006)。生殖に関わる作用として、ヒトにおいてはメラトニンの服用により、受精率や胚の利用率向上が報告されている(Nishihara et al 2014)。しかしながら、暑熱時にウシ繁殖機能に対するメラトニンの効果についての報告は少ない。

そこで本研究では、暑熱ストレス下でのウシ繁殖機能改善を目的とし、抗酸化作用を有するメラトニンの投与による、生体や卵子の品質に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

1 暑熱時におけるメラトニン投与が生体に及ぼす影響

(1) 供試牛

5頭の黒毛和種繁殖雌牛を供試し、99.5

%エタノール(和光純薬, 特級)を含む蒸留水で12 mg/日/頭に調整したメラトニン(Sigma-Aldrich, M5250)溶解液を, 20 mlシリンジを用いて3頭に経口投与した(メラトニン投与区). 残り2頭は投与せず試験に用いた(対照区). 試験は, 暑熱時である8月に実施し, メラトニンは10:00に投与, 唾液の採取は9:00から翌日の8:00まで約2時間おきに採取した.

(2) メラトニン投与前後のストレス指標評価

採取した唾液は, 遠心分離後に夾雑物を除去し, -30°C で冷凍保存した. ストレス評価は, ストレスホルモンとも呼ばれるコルチゾールを指標とし, 市販のEIAキット(EA65, Oxford Biomedical Research, USA)を用いて測定した.

2 暑熱時におけるメラトニン投与が生体内卵子に与える影響

(1) 供試牛

黒毛和種繁殖雌牛6頭を供試し, 3頭は経膈採卵前にメラトニン溶解液を1日1回, 3日間経口投与し(メラトニン投与区), 残り3頭は投与せずに(対照区)試験に用いた. なお, 試験時期は暑熱時である8月とした.

(2) 経膈採卵

メラトニン投与区および対照区の黒毛和種雌牛を1頭毎に柵場に保定し, 膈内に超音波画像診断装置(日立メディコ, ECHOPAL II)の深触子(日立メディコ, EUP-F531)を挿入し, 17 Gの採卵針(ミサワ医科工業, COVA Needle)を用いて卵胞液ごと未成熟卵子を回収した.

回収液は, 5 IU/mlヘパリンを添加したエンブリオテック(全薬工業)を使用し, 実体顕微鏡下で検卵した. 卵丘細胞が1層以上附着している卵丘細胞-卵子複合体(COCs)を成熟

培養に用いた.

(3) 体外成熟および体外受精

採取したCOCsは, 5% (v/v)ウシ胎児血清, システアミン(100 μM), ゴナドトロピン(0.05 IU/ml, Serono Japan)を添加した25 mM HEPES緩衝TCM-199 (Gibco)で20時間成熟培養した. 体外受精は, 凍結精液を 38°C の温湯で融解後, IVF100 (機能性ペプチド研究所)により処理し, 成熟培養後のCOCsと6時間媒精した. 媒精終了後, ガラスピペットで卵丘細胞を除去し, IVD101 (機能性ペプチド研究所)で7日間発生培養した. なお, 体外成熟および体外受精は 38.5°C , 5% CO_2 , 95% 空気, 飽和湿度で, 体外発生は5% CO_2 , 5% O_2 , 90% N_2 , 飽和湿度の気相条件下で培養した. 媒精日を0日とし, 2日後に胚の分割率(%), 7日目に胚盤胞発生率(%)を調べた.

(4) 受精検査

媒精後10から12時間のCOCsを0.1%ヒアルロニダーゼで処理後, パスツールピペットによるピペッティングで卵丘細胞を除去した. その後, 酢酸エタノールで固定後, 1%酢酸オルセインで染色し, 位相差顕微鏡下で精子侵入の状態を観察した. 精子の侵入が認められた卵子を受精とし, そのうち単一の精子頭部および尾部を確認したものを正常受精とし, 侵入精子が認められない物を未受精とした. 複数の精子確認は多精子侵入とした.

3 統計処理

Stat Viewプログラム(SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)を用い, パーセントデータは, アークサイン変換後一元配置分散分析及びFisher's PLSD testを行った.

結果

1 暑熱時におけるメラトニン投与が生体に及ぼす影響

メラトニン投与区では、9:00～18:00の cortisol 平均値が 2.95 ± 0.97 ng/ml であり、対照区の 5.21 ± 2.25 ng/ml より低値となった。夜間においても、投与区で 3.08 ± 1.91 ng/ml、対照区で 4.06 ± 2.83 ng/ml となり、試験区において変動が小さかった(図1)。また、対照区では日中の cortisol 濃度が上昇したが、投与区では減少が認められた。

2 暑熱時におけるメラトニン投与が生体由来卵に与える影響

(1) メラトニン投与の有無にかかわらず、80.0%以上の高い受精率が得られた。しかしながら、メラトニン投与区の正常受精率は、対照区と比較して高く、また、多精子侵入率は低い値となった(図2)。一方、体外受精後の胚発生については、分割率ではメラトニン投与区および対照区で、それぞれ76.9および79.2%となり差は認められなかった。しかし、メラトニン投与区での胚盤胞への発生率(%)

は、対照区(%)と比較して高い傾向($P=0.06$)が認められた(表1)。

考察

本試験では、暑熱ストレスと密接な関係にある酸化ストレスを軽減するため、抗酸化作用を有するメラトニンについて着目し、メラトニンを生体に経口投与して、暑熱ストレスの軽減効果や体内由来卵子の影響について検討を行った。その結果、ストレス指標となる cortisol の経時的変化では、対照区において、暑熱の影響が大きいと考えられる日中で増加が観察された。しかし、メラトニン投与区では、cortisol の増加が抑制され、小規模な変動を示した。また、夜間においても投与区で変化が小さく推移し、メラトニンの投与によるストレス軽減効果が示唆された。

メラトニンは、日周リズムを有する中枢神経系ホルモンで、生体の繁殖性などに影響を及ぼすことや(Tamura et al 2008)、活性酸素に対してもラジカルスカベンジャーとして機能し、抗酸化作用を有することが知られている(Rodriguez et al 2004, Sugino 2006)。また、ヒトにおいて、卵胞液中に存在し卵胞の発育に応じて増加することや

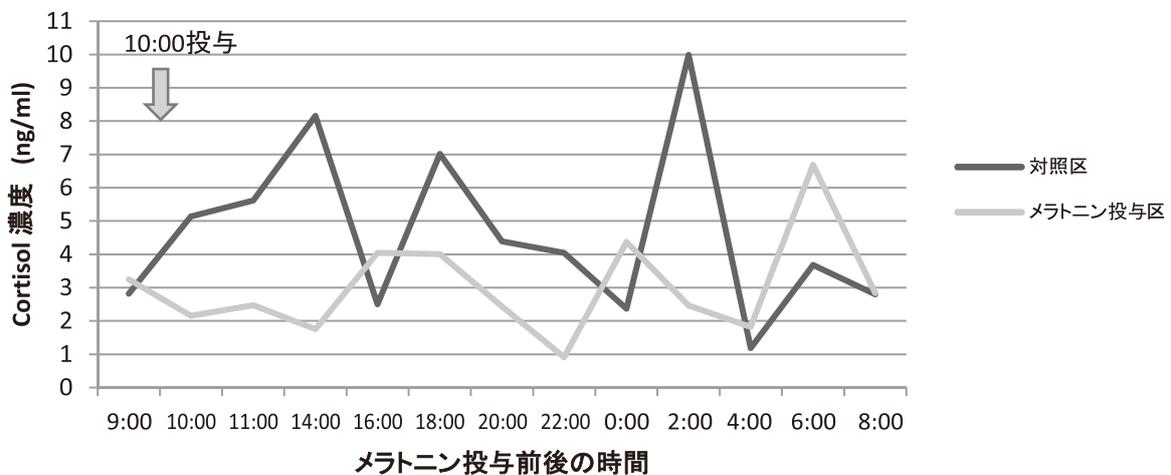


図1 暑熱時のメラトニン投与が雌牛のストレス指標に与える影響

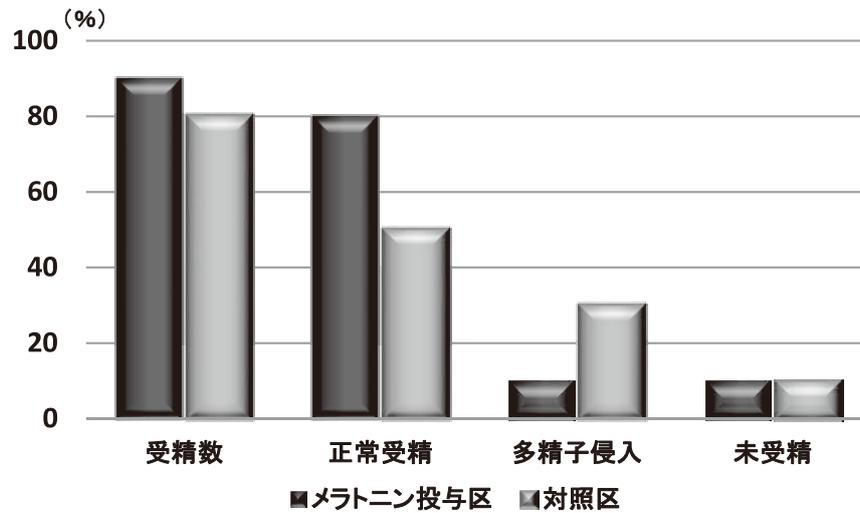


図2 暑熱時のメラトニン投与が生体内卵子の受精に与える影響

表1 暑熱時のメラトニン投与が生体内卵子の体外発生に与える影響

区分	供試数	分割数(%)	発生数(%)
メラトニン投与区	26	20 (76.9)	8 (30.8)
対照区	24	19 (79.2)	5 (20.8)

IVM : 5 %FCS加TCM-199
 IVF : IVF101
 IVC 0.4%BSA加mSOFaa
 分割 : day 2
 発生 : day 7

(Brzezinski et al 1987), 卵子への酸化ストレスは、体外での成熟を阻害するものの、メラトニンの培地添加で改善するとの報告がある(Tamura et al 2008). 田邊ら(2012)は、マウス卵子周辺の顆粒膜細胞に対し、活性酸素がDNA損傷を引き起こすことや、メラトニンが損傷を軽減し、アポトーシスを抑制することを報告している。ウシにおいても、体外成熟培地へのメラトニン添加が成熟率を向上するとの報告がある(El-Raey et al 2011). 今回の研究においても、ウシ体外生産胚に対し、正常受精率や胚盤胞発生の向上が図られ、これらの報告を支持する結果となった。また、暑熱時の受精に関し、多精子侵入が起こりやすく、その後の胚発生に影響を及ぼすことも示唆された。

以上より、暑熱時におけるメラトニンの経口投与は、ストレス指標であるコルチゾールの上昇抑制や、生体由来卵子の品質向上に関与することが示唆された。

文献

- Brzezinski A, Seibel MM, Lynch HJ, Deng MH, Wurtman RJ. 1987. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. J Clin Endocrinol Metab 64, 865-867.
- El-Raey M, Geshi M, Somfai T, Kaneda M, Hirako M, Abdel-Ghaffar AE, Sosa GA, El-Roos ME, Nagai T. 2011. Evidence of melatonin synthesis in the cumulus oocyte complexes and its role in

- enhancing oocyte maturation in vitro in cattle. *Mol Reprod Dev* 78, 250-262.
- Kobayashi Y, Wakamiya K, Kohka M, Yamamoto Y, Okuda K. 2013. Summer heat stress affects prostaglandin synthesis in the bovine oviduct. *Reproduction* 146, 103-110.
- 日本飼養標準(肉用牛). 2000年版, 82-84.
- Nishihara T, Hashimoto S, Ito K, Nakaoka Y, Matsumoto K, Hosoi Y, Morimoto Y. 2014. Oral melatonin supplementation improves oocyte and embryo quality in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol* 30, 359-62.
- Ralph CL, Mull D, Lynch HJ, Hedlund L. 1971. A melatonin rhythm persists in rat pineals in darkness. *Endocrinology* 89, 1361-1316.
- Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, Reiter RJ. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 36, 1-9.
- Sugino N. 2006. Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum. *Anim Sci J* 77, 556-565.
- 田邊学, 田村博史, 李理華, 田村功, 浅田裕美, 山縣芳明, 杉野法広. 2012. メラトニンは活性酸素による顆粒膜細胞のDNA損傷を軽減する. 第57回日本生殖医学会学術講演会要旨 177.
- Tanaka M, Kamiya Y, Suzuki T, Kamiya M, Nakai Y. 2008. Relationship between milk production and plasma concentrations of oxidative stress markers during hot season in primiparous cows. *Anim Sci J* 79, 481-486.
- Tamura H, Takayama H, Nakamura Y, Reiter RJ, Sugino N. 2008. Fetal/placental regulation of maternal melatonin in rats. *J Pineal Res* 44, 335-340.
- Tamura H, Takasaki A, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, Taketani T, Matsuoka A, Yamagata Y, Shimamura K, Morioka H, Ishikawa H, Reiter RJ, Sugino N. 2008. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate. *J Pineal Res* 44, 280-287.
- Watanabe U, Takagi M, Yamato O, Otoi T, Okamoto K. 2014. Retrospective surveillance of metabolic parameters affecting reproductive performance of Japanese Black breeding cows. *J Vet Sci* 15, 283-288.

アマニ及び飼料用米給与が 豚の発育及び肉質に与える効果 (第3報)

鈴木人志^{*1}・由利奈美江

^{*1}秋田県北部家畜保健衛生所

要 約

飼料自給率を向上させながら、低コストかつ高付加価値のアマニ給与豚肉生産を実現する目的で本研究を実施している。

第3報では、養豚生産現場での機械化作業体系に合致した肥育後期全期間での給与技術確立を図るため、アマニおよび飼料用米の低添加率長期給与技術の試験を実施したので、その概要を報告する。

配合飼料のみを給与した区(以下、対照区)、配合飼料をベースに飼料用米10%、アマニ2.4%を給与した区(以下、米アマニ区)、配合飼料をベースにアマニ2.4%給与した区(以下、アマニ区)の計3区を設け試験を行ったところ、背脂肪内層中の脂肪酸組成のうち α -リノレン酸は、対照区0.48%に対し、米アマニ区で1.44%、アマニ区で1.42%といずれも約3倍高くなり、有意な差が認められた。

緒 言

平成17年度、肥育豚にと畜前3週間5%のアマニを給与することにより、消費者の健康志向ニーズに対応した α -リノレン酸を豊富に含む豚肉生産技術(アマニの短期高添加率給与技術)を確立した。また、機械化された農家への技術導入を促進するため、平成20~21年度にかけて肥育後期全期間2.4%のアマニを給与する「アマニの長期低添加率給与技術」を開発した。

これらの研究成果をふまえ、平成24~25年度、飼料自給率を向上させながら、低コストかつ高付加価値のアマニ給与豚肉生産を実現する目的で、アマニに加え県内産の飼料用米やアマニ粕を併せて給与する新たな飼料給与技術を開発する研究に取り組んでいる。

具体的には、平成24年度から25年度にかけてアマニに飼料用米を組み合わせた給与試験を実施し、平成25年度にアマニ及び飼料用米にアマニ粕を組み合わせた給与試験を計画している。なお本報告は25年度のアマニに飼料用米を組み合わせた

給与試験に該当する。

材料及び方法

1. 試験区

試験区は表-1のとおりとし、配合飼料のみを給与する「対照区」、配合飼料に、飼料用米、アマニを添加した「米アマニ区」、配合飼料に、アマニを添加した「アマニ区」を設けた。

また、肥育豚の飼料給与設計は表-2のとおりとした。

2. 供試豚

供試豚は、当场飼養のLW種雌豚に、同じく当场飼養のD種雄豚を交配し、平成24年12月22日から同年12月28日に分娩した計4腹の三元交雑豚(LWD)より、去勢6頭、雌9頭、計15頭を抽出し、各区5頭(去勢2頭、雌3頭)ずつ、計3区に分けて試験に供した。

表－1 試験区

試験区名	給与飼料
対照区	配合飼料 ¹⁾ のみ
米アマニ区	配合飼料 ¹⁾ 、飼料用米、アマニ
アマニ区	配合飼料 ¹⁾ 、アマニ

1) 配合飼料は、3. に示す飼料を使用

表－2 飼料給与設計

区	肥育期 (体重)	肥育後期 70kg～105kg
	対照区	配合飼料 ¹⁾ のみ
米アマニ区	配合飼料 ¹⁾ 87.6%、飼料用米10%、アマニ2.4%	
アマニ区	配合飼料 ¹⁾ 97.6%、アマニ2.4%	

1) 配合飼料は、3. に示す飼料を使用

3. 配合飼料

肥育期間中に給与した配合飼料は、当該において慣行給与している「肉豚肥育前期用配合飼料(以下、前期飼料という.)」(子豚育成用配合飼料, TDN78.0%以上, 粗たん白質16.0%以上, 粗脂肪2.5%以上, 粗繊維4.0%以下, 粗灰分7.0%以下, カルシウム0.50%以上, りん0.40%以上)及び「肉豚肥育後期用配合飼料(以下、後期飼料という.)」(肉豚肥育用配合飼料, TDN77.0%以上, 粗たん白質14.0%以上, 粗脂肪2.5%以上, 粗繊維5.0%以下, 粗灰分7.0%以下, カルシウム0.50%以上, りん0.40%以上)を用いた。

なお配合飼料は体重が30 kgから70 kgまでは前期飼料を、体重70 kgから出荷までは後期飼料を用いた。

4. アマニ及び飼料用米の粉砕

アマニ及び飼料用米は、予め粉砕機で粉砕したのち、配合飼料に添加した。また、粉砕粒度がアマニで1 mm程度、飼料用米で3 mm程度となるよう粉砕機を調整し粉砕を行った。

なお、アマニについては、油脂割合が多く、アマニ単体で粉砕すると粉砕機内にアマニの油脂分が付着し粉砕困難となることから、重量比で配合飼料2に対しアマニを1の割合であらかじめ混合した後、配合飼料でアマニの油脂分を吸着させながら粉砕した。粉砕後は、すみやかに配合飼料に添加し、試験に供した。

5. 飼養管理

1) 試験期間

試験期間は、体重70 kg～105 kg程度まで、平成25年4月22日から6月24日までであった。

2) 肥育開始～試験開始

供試豚の平均体重が30 kgに到達する前に、当场離乳豚房(群飼育)から当场肥育豚舎(群飼育)に移動し、子豚用飼料を給与した。供試豚の体重が30 kgを超えた時点で肥育を開始し前期飼料を給与した。また供試豚の体重が70 kgを超えた時点で後期飼料を含む試験飼料を給与した。

3) 体重測定

体重30 kgを超えた時点(子豚用飼料から前期飼料への切替時期)、体重70 kgを超えた時点(前期飼料から試験飼料への切替時期)、試験終了時点の各時点において体重測定を行った。

4) 試験開始

供試豚の体重が70 kgを超えた時点で試験飼料を給与した。以降、試験終了まで同一豚房で群飼した。また、供試豚は、肥育開始か

ら終了まで、全て不断給餌及び自由飲水とした。

5) 試験終了

試験終了した個体は随時と畜、枝肉調査を行い、肉質分析用サンプルを採取した。

6) 日増体重(DG)

3)の体重測定に基づいてDGを算出した。

7) 飼料摂取量及び飼料要求率

試験期間中に給与(あるいは除去)した飼料量を記録し、飼料摂取量を算出した。

また、上記の飼料摂取量及び上記3)の体重測定に基づいて飼料要求率を算出した。

8) 枝肉調査

枝肉重量、肉質等級、背脂肪厚、ロース長、ロース芯面積について調査を行った。

9) 肉質分析

肉質については、表-3に示すとおり、ドリップロス、クッキングロス、肉色及び脂肪色(L*(明度)、a*(赤色度)、b*(黄色度))、破断荷重、脂肪融点、脂肪酸組成について分析を行った。

表-3 肉質分析項目及び方法

項 目	方 法
ドリップロス	5℃条件下で3日後の重量を測定し水分損失率を算出。
クッキングロス	70℃条件下で60分処理、30分放冷後の重量を測定し水分損失率を算出。
肉色、脂肪色	色差計(Z-1001DP、日本電色工業社)によりL*(明度)、a*(赤色度)、b*(黄色度)を測定。
破断荷重	クリープメータ(山電)により測定。
脂肪融点	上昇融点法により測定。
脂肪酸組成	ガスクロマトグラフィーにより測定。

表-4 体重の推移

	試験開始時 (kg)	出荷時 (kg)
対照区	71.9±2.4	106.4±3.7
米アマニ区	72.4±2.1	104.1±1.8
アマニ区	72.7±2.6	104.3±2.1

平均値±標準偏差、n = 5

表-5 各期開始時の日令

	試験開始時 (日)	出荷時 (日)
対照区	130.4±12.3	171.0±8.4
米アマニ区	132.2±8.1	170.0±6.0
アマニ区	134.8±6.5	174.0±7.0

平均値±標準偏差、n = 5

表-6 試験期間及び日増体重 (DG)

	試験期間 (日)	DG (kg/日)
対照区	40.6±5.9	0.85±0.12
米アマニ区	37.8±3.8	0.84±0.06
アマニ区	39.2±3.8	0.80±0.06

平均値±標準偏差、n = 5

10) 統計処理

得られたデータは、一元配置分散分析によって有意差の検定を行い、区間の検定にはTukeyの方法を用いた。

結果及び考察

1. 体重の推移(表-4)

試験開始時体重は71.9～72.7 kgであった。出荷時体重は104.1～106.4 kgであった。

2. 肥育期間及び日増体重(DG)(表-5, 表-6)

出生から試験開始までの日令は130.4日～134.8日、出荷時日令は170.0日～174.0日、試験期間は37.8～40.6日であった。DGは0.80～0.85 kg/日であった。

3. 飼料摂取量及び飼料要求率(表-7)

試験期間の飼料摂取量(各区5頭の平均)は116.3 kg～131.8 kgであった。飼料要求率は3.69～3.83

表-7 1頭当たりの飼料摂取量、飼料要求率等

	飼料摂取量 (kg)	飼料要求率	アマニ総摂取量 (kg)	米総摂取量 (kg)
対照区	131.8	3.83	—	—
米アマニ区	118.6	3.75	2.89	11.9
アマニ区	116.3	3.69	2.84	—

平均値、n = 5

表-8 枝肉調査結果

	枝肉重量 (kg)	肉質等級	背脂肪厚 (cm)	ロース長 (cm)	ロース芯面積	
					4-5胸椎間 (cm ²)	11-12胸椎間 (cm ²)
対照区	69.1±3.1	1.6±0.9	2.0±0.5	55.5±2.0	17.1±2.9	35.6±4.8
米アマニ区	66.5±1.1	1.4±0.5	1.6±0.2	55.6±1.6	19.6±2.8	37.9±2.2
アマニ区	67.0±1.9	1.4±0.5	1.8±0.2	55.8±1.3	18.2±2.0	37.3±0.9

平均値±標準偏差、n = 5

肉質等級は、上=1、中=2、並=3として数値化

で、アマニを給与している区でやや低い傾向がみられた。

4. アマニ及び米摂取量(表-7)

アマニ総摂取量(5頭平均)はアマニを給与している両区において2.84～2.89 kg、米総摂取量は米アマニ区11.9 kgで、米給与がアマニ摂取量へ及ぼす影響はみられなかった。

5. 枝肉調査結果(表-8)

枝肉重量は、66.5～69.1 kgであった。肉質等級は1.4～1.6であった。背脂肪厚は1.6～2.0 cmであった。ロース長は55.5～55.8 cmであった。ロース芯面積は、4-5胸椎間で17.1～19.6 cm²、11-12胸椎間で35.6～37.9 cm²であった。

上記の各項目について有意な差は認められなかった。

6. 肉質分析結果(表-9)

ロースのドリップロス(3日後)は、4.2～4.7%であった。ロースのクッキングロス、23.5～25.4%であった。ロースの破断荷重は、12.8～13.6 Nであった。ロースの肉色は、L*で48.6～50.3、a*で11.4～11.6、b*で7.4～7.7であった。背脂肪内層の色は、L*で75.1～75.7、a*で5.0～5.2、b*で6.8～7.4であった。背脂肪内層の融点は、35.1～37.9℃であった。

上記の各項目について有意な差はみられなかった。

7. 背脂肪内層中の脂肪酸組成分析結果(表10)

α-リノレン酸において、対照区0.48%に対し、米アマニ区1.44%、アマニ区1.42%とアマニを給与した両区とも約3倍まで有意に増加した。その影響によって、多価不飽和脂肪酸は、対照区

表-9 肉質分析結果

	対照区	米アマニ区	アマニ区
ドリップロス(3日後、%)	4.7±0.8	4.6±0.7	4.2±0.5
クッキングロス (%)	25.4±1.3	23.5±1.8	24.7±1.8
破断荷重 (N)	13.5±1.0	13.6±0.7	12.8±1.1
肉色			
L *	50.3±2.7	48.6±1.7	49.7±2.1
a *	11.6±1.4	11.4±1.1	11.5±0.5
b *	7.7±0.3	7.4±0.2	7.5±0.5
脂肪色 (背脂肪内層)			
L *	75.7±1.5	75.1±1.1	75.3±0.7
a *	5.2±1.2	5.2±1.0	5.0±0.9
b *	7.4±0.6	7.4±0.3	6.8±0.6
融点 (°C 背脂肪内層)	36.5±3.0	35.1±0.9	37.9±3.2

平均値±標準偏差、n = 5

L * = 明度、a * = 赤色度、b * = 黄色度

10.9%に対し、米アマニ区、アマニ区ともに12.7%で有意に増加した。またn-6/n-3比は、対照区18.5に対し、米アマニ区、アマニ区ともに7.3と1/2以下まで有意に低下した。

考 察

本試験を通じ、アマニ2.4%に県内産の飼料用米10%を併せて給与することにより飼料自給率を向上させながら、群飼で肥育後期全期間(体重70kg～と畜までの約5～6週間)給与しても、DGや飼料要求率、枝肉成績、肉質の各項目において遜色のない良質の豚肉生産が可能であることが確認できた。

また、脂肪酸組成分析の結果、アマニに米を併給することにより飼料自給率を向上させながら、従来のアマニ給与技術と同様に、対照区の約3倍の α -リノレン酸を含む豚肉生産が可能であるこ

とが実証できた。さらに、多価不飽和脂肪酸の有意な増加、不飽和脂肪酸の栄養バランス指標であるn-6/n-3比の有意な低下についても実証できた。これらのことより飼料自給率を向上させながら、かつ健康に配慮した高機能性豚肉として差別化・高付加価値化できる豚肉生産技術が確立できたものと考えている。

加えて、本技術は肥育後期の途中で飼料を切り替える必要がないことから、機械化された養豚の生産現場において容易に取り組みやすい技術が確立したものと考えている。

今後は、県内産の飼料用米に加え、輸入に依存しているアマニの一部を県内産の「アマニ粕」で代替することにより、さらに飼料自給率を高めながら、 α -リノレン酸を多く含む高機能性豚肉の生産に向けた実証試験を行う予定にしている。

表-10 背脂肪内層中の脂肪酸組成分析結果 (単位: %)

	対照区	米アマニ区	アマニ区
C14-0 (ミリスチン酸)	1.3±0.2	1.3±0.2	1.4±0.2
C16-0 (パルミチン酸)	25.7±1.6	25.2±2.0	25.3±1.1
C16-1 (パルミトレイン酸)	1.2±0.2	1.3±0.2	1.1±0.2
C18-0 (ステアリン酸)	16.7±0.6	15.7±0.6	16.9±1.3
C18-1 (オレイン酸)	39.9±1.7	39.6±2.3	38.5±2.1
C18-2 (リノール酸)	9.7±0.9	10.4±0.6	10.4±0.8
C18-3 (α -リノレン酸)	0.48±0.04 a	1.44±0.11 b	1.42±0.13 b
総飽和	44.7±1.7	43.1±2.5	44.5±2.0
総不飽和	54.8±1.8	56.4±2.4	55.1±2.0
一価不飽和	43.9±1.6	43.7±2.2	42.4±2.5
多価不飽和	10.9±1.0 a	12.7±0.5 b	12.7±0.9 b
n-6/n-3比	18.5±0.7 a	7.3±0.8 b	7.3±0.7 b

平均値±標準偏差、n=5
区間で異符号間に有意差あり (P<0.05)

文 献

佐々木浩一, 千田惣浩, 嵯峨久光. 2006. 高品質豚肉の生産技術の開発～飼養管理技術の検討(肥育試験)～肥育豚への粉碎アマニ種実の給与が産肉性及び肉質の品質向上に及ぼす効果について-. 秋田畜試研報. 21:42-49.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2011. アマニ給与が豚の発育および肉質に与える効果(第1報). 秋田畜試研報. 25:56-62.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2012. アマニ給与が豚の発育および肉質に与える効果(第2報). 秋田畜試研報. 26:20-27.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2013. 飼料用米及び籾殻炭給与が肥育豚に与える影響(第1報). 秋田畜試研報. 27:17-22.

鈴木人志, 由利奈美江. 2014. アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第1

報). 秋田畜試研報. 28:39-44.

鈴木人志, 由利奈美江. 2014. アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第2報). 秋田畜試研報. 28:45-50.

アマニ及び飼料用米給与が 豚の発育及び肉質に与える効果（第4報）

鈴木人志^{*1}・由利奈美江

^{*1}秋田県北部家畜保健衛生所

要 約

飼料自給率を向上させながら、低コストかつ高付加価値のアマニ給与豚肉生産を実現する目的で本研究を実施している。

第4報では、アマニと飼料用米に加え、アマニの一部を県内産アマニ粕で代替することにより、より飼料自給率を高めながら、低コストで、かつ α -リノレン酸を豊富に含む新たなアマニ給与豚肉生産技術の確立を図る目的で本試験を実施した。

配合飼料のみを給与した区(以下、対照区)、配合飼料をベースに、飼料用米20%、アマニ3.2%、アマニ粕2.2%を給与した区(以下、米アマニ粕区)、配合飼料をベースに、飼料用米20%、アマニ4.8%給与した区(以下、米アマニ区)の計3区を設け試験を行ったところ、背脂肪内層中の脂肪酸組成のうち α -リノレン酸は、対照区0.58%に対し、米アマニ粕区1.74%、米アマニ区1.48%と2.5～3.0倍高くなり、有意な差が認められた。

緒 言

平成17年度、肥育豚にと畜前3週間4.8%のアマニを給与することにより、消費者の健康志向ニーズに対応した α -リノレン酸を豊富に含む豚肉生産技術「アマニの短期高添加率給与技術」を確立した。また、機械化された農家への技術導入を促進するため、平成20～21年度にかけて肥育後期全期間2.4%のアマニを給与する「アマニの長期低添加率給与技術」を開発した。

これらの研究成果をふまえ、平成24～25年度、飼料自給率を向上させながら、低コストかつ高付加価値のアマニ給与豚肉生産を実現する目的で、アマニに加え県内産の飼料用米やアマニ粕を併せて給与する新たな飼料給与技術を開発する研究に取り組んでいる。

具体的には、平成24年度から25年度にかけてアマニに飼料用米を組み合わせた給与試験を実施した。また同25年度にアマニ及び飼料用米にア

マニ粕を組み合わせた給与試験を実施した。本報告は25年度のアマニ及び飼料用米にアマニ粕を組み合わせた給与試験に該当する。

材料及び方法

1. 試験区

試験区は表-1のとおりとし、配合飼料のみを給与する「対照区」、配合飼料に、飼料用米、アマニ、アマニ粕を添加した「米アマニ粕区」、配合飼料に、飼料用米、アマニを添加した「米アマニ区」を設けた。

また、肥育豚の飼料給与設計は表-2のとおりとした。

2. 供試豚

供試豚は、当场飼養のLW種雌豚に、同じく当场飼養のD種雄豚を交配し、平成25年5月9日から同年5月20日に分娩した計4腹の三元交雑

表-1 試験区

試験区名	給与飼料
対照区	配合飼料 ¹⁾ のみ
米アマニ粕区	配合飼料 ¹⁾ 、飼料用米、アマニ、アマニ粕
米アマニ区	配合飼料 ¹⁾ 、飼料用米、アマニ

1) 配合飼料は、3. に示す飼料を使用

表-2 飼料給与設計

区	肥育期 (体重)	
	70kg~90kg	肥育後期 90kgからと畜まで3週間
対照区	配合飼料 ¹⁾ のみ	
米アマニ粕区	配合飼料 ¹⁾ のみ	配合飼料 ¹⁾ 74.6%、飼料用米20%、 アマニ3.2%、アマニ粕 ²⁾ 2.2%
米アマニ区	配合飼料 ¹⁾ のみ	配合飼料 ¹⁾ 75.2%、飼料用米20%、 アマニ4.8%

1) 配合飼料は、3. に示す飼料を使用

2) アマニ1.6%=アマニ粕2.2%として設計 (表-4 参照)

豚(LWD)より、去勢9頭、雌6頭、計15頭を抽出し、各区5頭(去勢3頭、雌3頭)ずつ、計3区に分けて試験に供した。

3. 配合飼料

肥育期間中に給与した配合飼料は、当該において慣行給与している「肉豚肥育前期用配合飼料(以下、前期飼料という。)」(子豚育成用配合飼料、TDN78.0%以上、粗たん白質16.0%以上、粗脂肪2.5%以上、粗繊維4.0%以下、粗灰分7.0%以下、カルシウム0.50%以上、りん0.40%以上)及び「肉豚肥育後期用配合飼料(以下、後期飼料という。)」(肉豚肥育用配合飼料、TDN77.0%以上、粗たん白質14.0%以上、粗脂肪2.5%以上、粗繊維5.0%以下、粗灰分7.0%以下、カルシウム0.50%以上、りん0.40%以上)を用いた。

なお配合飼料は体重が30 kgから70 kgまでは前

期飼料を、体重70 kgから90 kgまでは後期飼料を、90 kgから試験終了までは後期飼料を含む試験飼料を用いた。

4. アマニ、飼料用米、アマニ粕の処理

アマニ及び飼料用米は、予め粉砕機で粉砕したのち、配合飼料に添加した。また、粉砕粒度がアマニで1 mm程度、飼料用米で3 mm程度となるよう粉砕機を調整し粉砕を行った。

なお、アマニについては、油脂割合が多く、アマニ単体で粉砕すると粉砕機内にアマニの油脂分が付着し粉砕困難となることから、重量比で配合飼料2に対しアマニを1の割合であらかじめ混合した後、配合飼料でアマニの油脂分を吸着させながら粉砕した。粉砕後は、すみやかに配合飼料に添加し、試験に供した。

また、アマニ粕は、搾油後速やかにポリ袋に密

封, -30℃で冷凍保管し, 解凍は給与の数日前に行った. アマニ粕の形状は, 搾油機によって種子が破碎された形状となっているため, アマニのように粉碎せずそのまま給与した.

5. アマニ粕の成分分析

アマニの一部をアマニ粕で代替するにあたり飼料設計を行うための基礎データを得るため, アマニ及びアマニ粕の脂肪割合及び α -リノレン酸割合の脂肪酸組成分析を行った.

6. 飼養管理

1) 試験期間

試験期間は, 体重90 kg~105 kg程度まで(各頭とも3週間に固定), 平成25年10月7日から11月4日までの期間に実施した.

2) 肥育開始~試験開始

供試豚の平均体重が30 kgに到達する前に, 当场離乳豚房(群飼育)から当场肥育豚舎(群飼育)に移動し, 子豚用飼料を給与した. 供試豚の体重が30 kgを超えた時点で肥育を開始し前期飼料を給与した. また供試豚の体重が70 kgを超えた時点で後期飼料を給与し, 各頭とも体重が90 kgを超えた時点から3週間試験飼料を給与した.

3) 体重測定

体重30 kgを超えた時点(子豚用飼料から前期飼料への切替時期), 体重70 kgを超えた時点(前期飼料から後期飼料への切替時期), 体重90 kgを超えた時点(後期飼料から試験飼料への切替時期), 試験終了時点の各時点において体重測定を行った.

4) 試験開始

供試豚の体重が90 kg程度となった時点で試験飼料を給与した. 以降, 試験終了まで同一豚房で群飼育した. また, 供試豚は, 肥育開始から終了まで, 全て不断給餌及び自由飲水

とした.

5) 試験終了

試験終了した個体は随時と畜, 枝肉調査を行い, 肉質分析用サンプルを採取した.

6) 日増体重(DG)

3)の体重測定に基づいてDGを算出した.

7) 飼料摂取量及び飼料要求率

試験期間中に給与(あるいは除去)した飼料量を記録し, 飼料摂取量を算出した.

また, 上記の飼料摂取量及び上記3)の体重測定に基づいて飼料要求率を算出した.

8) 枝肉調査

枝肉重量, 肉質等級, 背脂肪厚, ロース長, ロース芯面積について調査を行った.

9) 肉質分析

表-3に示すとおり, ドリップロス, クッキングロス, 肉色及び脂肪色(L*(明度), a*(赤色度), b*(黄色度)), 破断荷重, 脂肪融点, 脂肪酸組成について分析を行った.

10) 統計処理

得られたデータは, 一元配置分散分析によって有意差の検定を行い, 区間の検定にはTukeyの方法を用いた.

結果及び考察

1. アマニ粕の成分分析(表-4)

現物中の脂肪割合は, アマニ37.5%, アマニ粕30.8%であった. また, 脂肪酸組成中の α -リノレン酸割合は, アマニ60.9%, アマニ粕53.8%であった. これらの数値を乗じて得られる現物中の α -リノレン酸割合は, アマニ22.8%(37.5% \times 60.9%), アマニ粕16.6%(30.8% \times 53.8%)であったことから, アマニ1 kgと同等の α -リノレン酸を含むアマニ粕の重量は1.38 kg (22.8% \div 16.6%)相当として, アマニ粕代替の飼料給与設計(表-2)を行った.

表-3 肉質分析項目及び方法

項目	方法
ドリップロス	5°C条件下で3日後の重量を測定し水分損失率を算出。
クッキングロス	70°C条件下で60分処理、30分放冷後の重量を測定し水分損失率を算出。
肉色、脂肪色	色差計(Z-1001DP、日本電色工業社)によりL*(明度)、a*(赤色度)、b*(黄色度)を測定。
破断荷重	クリープメータ(山電)により測定。
脂肪融点	上昇融点法により測定。
脂肪酸組成	ガスクロマトグラフィーにより測定。

表-4 アマニ粕の成分分析

	現物中の 脂肪割合 (%)	脂肪酸組成中の α -リノレン酸割合 (%)	現物中の α -リノレン酸割合 (%)	アマニ相当量 (kg)
アマニ	37.5	60.9	22.8	1.00
アマニ粕	30.8	53.8	16.6	1.38

アマニ相当量：アマニ 1 kgと同量の α -リノレン酸が含まれる重量

表-5 体重の推移

	試験開始時 (kg)	出荷時 (kg)
対照区	94.2±2.2	113.0±3.0
米アマニ粕区	91.6±1.3	109.6±1.6
米アマニ区	92.1±1.9	110.2±4.3

平均値±標準偏差、n = 5

2. 体重の推移(表-5)

試験開始時体重は91.6 ~ 94.2 kgであった。出荷時体重は109.6 ~ 113.0 kgであった。

3. 肥育期間及び日増体重(DG)(表-6, 表-7)

試験開始までの日令は159.6日 ~ 163.8日、出荷時日令は180.6日 ~ 184.8日、試験期間は21日で固定した。DGは0.86 ~ 0.90 kg/日であった。

表-6 各期開始時の日令

	試験開始時 (日)	出荷時 (日)
対照区	163.8±12.4	184.8±12.4
米アマニ粕区	162.0±4.6	183.0±4.6
米アマニ区	159.6±13.7	180.6±13.7

平均値±標準偏差、n = 5

表-7 試験期間及び日増体重 (DG)

	試験期間(日)	DG(kg/日)
対照区		0.90±0.12
米アマニ粕区	21	0.86±0.04
米アマニ区		0.86±0.21

平均値±標準偏差、n = 5

表-8 1頭当たりの飼料摂取量、飼料要求率等

	飼料摂取量(kg)	飼料要求率	アマニ 摂取 量(kg)	アマニ粕 摂取量(kg) (アマニ相当量)	米 摂取量(kg)
対照区	84.0	4.47	-	-	-
米アマニ粕区	80.2	4.47	2.57	1.76 (1.28)	16.0
米アマニ区	79.8	4.42	3.83	-	16.0

平均値±標準偏差、n = 5、アマニ相当量：アマニ1kg=アマニ粕1.38kgとして計算

4. 飼料摂取量及び飼料要求率等(表-8)

試験期間の飼料摂取量(各区5頭の平均)は79.8kg~84.0kgであった。飼料要求率は4.42~4.47であった。

5. アマニ及び米摂取量(表-8)

アマニ摂取量は、アマニ粕をアマニ相当量として換算すると、米アマニ粕区は3.85kg(アマニ2.57kg+アマニ粕(アマニ相当量)1.28kg)、米アマニ区は3.83kg(アマニ3.83kg)であった。米摂取量は、米アマニ粕区、米アマニ区ともに16.0kg

であった。アマニ粕給与による飼料摂取量の違いはみられなかった。

6. 枝肉調査結果(表-9)

枝肉重量は、70.9~73.3kgであった。肉質等級は1.0~1.2であった。背脂肪厚は1.9~2.1cmであった。ロース長はいずれも55.9cmであった。ロース芯面積は、4-5胸椎間で17.7~21.9cm²、11-12胸椎間で37.2~42.3cm²であった。

上記の各項目について有意な差は認められなかった。

表-9 枝肉調査結果

	枝肉重量 (kg)	肉質等級	背脂肪厚 (cm)	ロース長 (cm)	ロース芯面積	
					4-5胸椎間 (cm ²)	11-12胸椎間 (cm ²)
対照区	73.3±2.8	1.2±0.4	2.14±0.26	55.9±1.5	21.9±3.9	42.3±4.0
米アマニ粕区	70.9±0.7	1.2±0.4	1.94±0.34	55.9±1.4	17.7±1.4	37.2±3.0
米アマニ区	71.8±3.1	1.0±0.0	1.96±0.27	55.9±2.2	21.4±2.5	42.3±6.4

平均値±標準偏差、n = 5

肉質等級は、上=1、中=2、並=3として数値化

表-10 肉質分析結果

	対照区	米アマニ粕区	米アマニ区
ドリップロス(3日後、%)	4.7±0.5	4.4±0.3	4.6±0.7
クッキングロス(%)	26.1±1.0	25.1±1.4	25.3±2.5
破断荷重(N)	13.2±1.7	13.0±0.4	13.8±0.7
肉色			
L*	49.5±2.9	49.3±1.4	49.3±1.3
a*	11.0±1.7	11.2±0.5	11.7±1.3
b*	8.1±0.5	8.0±0.2	8.9±1.1
脂肪色(背脂肪内層)			
L*	74.9±1.5	74.2±1.6	74.5±1.1
a*	5.0±0.9	5.0±0.7	5.9±0.6
b*	7.5±0.8	7.2±0.4	7.7±0.6
融点(°C 背脂肪内層)	37.3±2.0	36.2±2.2	36.6±4.2

平均値±標準偏差、n = 5

L* = 明度、a* = 赤色度、b* = 黄色度

7. 肉質分析結果(表-10)

ロースのドリップロス(3日後)は、4.4~4.7%であった。ロースのクッキングロスは、25.1~26.1%であった。ロースの破断荷重は、13.0~13.8Nであった。ロースの肉色は、L*で49.3~49.5、a*で11.0~11.7、b*で8.0~8.9であった。背脂肪内層の色は、L*で74.2~74.9、a*で5.0~5.9、b*で

7.2~7.7であった。背脂肪内層の融点は、36.2~37.3°Cであった。

上記の各項目について有意な差は認められなかった。

8. 背脂肪内層の脂肪酸組成分析結果(表-11)

α-リノレン酸において、対照区0.58%に対し、

米アマニ粕区1.74%、米アマニ区1.48%と両区とも約2.5～3倍まで有意に増加した。その影響によって、n-6/n-3比は、対照区17.1に対し、米アマニ粕区で5.8、米アマニ区で7.2と、いずれも1/2以下まで有意に低下した。

9. アマニ給与豚肉の飼料コスト試算(表-12)

前提条件より試算した結果、1頭当たりのアマニ給与豚肉の飼料コストは、通常豚肉よりも1,216円かかり増しになっており、飼料用米を20%配合することにより923円までコストダウン、本報告で実証した技術である飼料用米に加えアマニの1/3をアマニ粕で代替することにより478円までコストダウン、全量アマニ粕で代替した場合には、通常飼料給与豚肉よりも低コストで生産可能であることが試算で判明した。

考 察

本試験を通じ、アマニ3.2%に、県内産のアマニ粕2.2%、飼料用米20%を併せて給与することにより、飼料自給率を向上させても、DGや飼料要求率、枝肉成績、肉質の各項目に問題がないことが確認できた。

また、脂肪酸組成分析の結果、アマニ粕を給与しても、 α -リノレン酸を低下させることなく、対照区の約3倍の α -リノレン酸を含む豚肉生産が可能であることが実証できた。さらに、不飽和脂肪酸の栄養バランス指標であるn-6/n-3比の有意な低下がみられるなど、健康に配慮した高機能性豚肉として差別化・高付加価値化できる豚肉生産技術を確認できたものと考えている。

これらの結果より、県内産飼料用米、県内産アマニ粕の給与により、飼料自給率を高めながら、

表-11 脂肪酸組成分析結果(部位:背脂肪内層、単位:%)

	対照区	米アマニ粕区	米アマニ区
C14-0(ミリスチン酸)	1.2±0.1	1.2±0.2	1.4±0.2
C16-0(パルミチン酸)	24.1±0.7	24.5±1.1	25.3±1.9
C16-1(パルミトレイン酸)	1.1±0.1	1.4±0.2	1.5±0.3
C18-0(ステアリン酸)	15.9±0.8	14.5±1.4	14.6±1.5
C18-1(オレイン酸)	41.0±0.7	41.3±0.7	40.1±1.6
C18-2(リノール酸)	10.9±0.7	10.1±1.2	10.6±0.8
C18-3(α -リノレン酸)	0.58±0.08 a	1.74±0.15 b	1.48±0.04 c
総 飽 和	42.0±0.6	41.1±1.6	42.0±2.5
総 不 飽 和	55.1±5.0	58.4±1.5	57.4±2.5
一価不飽和	45.2±0.8	45.7±0.7	44.6±1.7
多価不飽和	12.2±0.8	12.7±1.4	12.9±0.8
n-6/n-3比	17.1±1.2 a	5.8±0.4 b	7.2±0.7 c

平均値±標準偏差、n=5
区間で異符号間に有意差あり(P<0.05)

表-12 アマニ給与豚1頭当たりの飼料コスト試算 (と畜前3週間分、単位:円)

	配合飼料	アマニ	飼料用米	アマニ粕	合計 (差額)
通常飼料 (配合飼料 100%)	4,043				4,043 (-)
アマニ (配合飼料 95.2%、アマニ 4.8%)	3,848	1,411			5,259 (+1,216)
アマニ+米 (配合飼料 75.2%、アマニ 4.8%、飼料用米 20.0%)	3,040	1,411	515		4,966 (+923)
アマニ+米+アマニ粕 (配合飼料 74.6%、アマニ 3.2%、飼料用米 20.0%、アマニ粕 2.2%)	3,016	941	515	49	4,521 (+478)
米+アマニ粕 (配合飼料 73.4%、飼料用米 20.0%、アマニ粕 6.6%)	2,967		515	146	3,628 (△415)

前提条件：①kg単価を配合飼料55円、アマニ400円、飼料用米35円、アマニ粕30円とした。②豚1頭当たりの飼料給与量を73.5kgとした。

かつ α -リノレン酸を豊富に含む新たな高機能性豚肉の生産技術が確立したものと考えている。

文 献

佐々木浩一, 千田惣浩, 嵯峨久光. 2006. 高品質豚肉の生産技術の開発～飼養管理技術の検討(肥育試験)～肥育豚への粉碎アマニ種実の給与が産肉性及び肉質の品質向上に及ぼす効果について-. 秋田畜試研報. 21: 42-49.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2011. アマニ給与が豚の発育および肉質に与える効果(第1報). 秋田畜試研報. 25: 56-62.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2012. アマニ給与が豚の発育および肉質に与える効果(第2報). 秋田畜試研報. 26: 20-27.

鈴木人志, 佐々木浩一. 2013. 飼料用米及び籾殻炭給与が肥育豚に与える影響(第1報). 秋田畜試研報. 27: 17-22.

鈴木人志, 由利奈美江. 2014. アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第1報). 秋田畜試研報. 28: 39-44.

鈴木人志, 由利奈美江. 2014. アマニ及び飼料用米給与が豚の発育及び肉質に与える効果(第2報). 秋田畜試研報. 28: 45-50.

始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた 比内鶏復元技術の確立 (第2報)

—生殖系列キメラニワトリからの純粋な比内鶏産仔の再生—

力丸宗弘・中村隼明*¹・高橋大希・小松 恵*²・伊藤なつき*³・松原和衛*³・田上貴寛*⁴

*¹大学共同利用機関法人自然科学研究機構 基礎生物学研究所

*²秋田県南部家畜保健衛生所

*³岩手大学大学院農学研究科

*⁴独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

要 約

始原生殖細胞(PGCs)を利用した生殖系列キメラニワトリの作出法は、ニワトリ遺伝資源の保存・復元のための有効な手法である。現在、生殖系列キメラニワトリや復元された産仔の判別には、ドナーと宿主の羽色の違いを利用した検定交雑が主流である。これに加えて、分子遺伝学的手法は、より判別の精度を高めることが可能である。今後、比内鶏を細胞レベルで保存するために、これらの技術を確認することは極めて重要である。そこで、本研究では、比内鶏のPGCsを移植した生殖系列キメラ同士を交配することにより比内鶏の再生を試みた。また、比内鶏特異的な常染色体上のマイクロサテライトマーカーを用いて、生殖系列キメラニワトリ同士の交配より得られた産仔判別への利用性について検討した。後代検定の結果、生殖系列キメラニワトリより得られた茶色の産仔全てから比内鶏に特異的な遺伝子型と同一の遺伝子型のみが検出された。続いて、生殖系列キメラニワトリ同士を交配した結果、105羽の産仔のうち茶色の産子雌1羽が得られた。

遺伝子解析の結果、この産仔の遺伝子型は比内鶏のものと完全に一致していた。これらの結果から、生殖系列キメラニワトリより得られた茶色の産仔は分子遺伝学的にも比内鶏であることが確認され、マイクロサテライトマーカーがより正確な個体判別に有効であることが示された。生殖系列キメラニワトリ同士の交配により得られた雌の比内鶏は通常の比内鶏と同等の繁殖能を有していた。本結果は、将来の比内鶏の遺伝資源の保存・復元に資すると考えられる。

緒 言

家禽由来の遺伝資源は、肉や卵の継続的な生産のための畜産や農学、医学、基礎生物学の基礎研究において非常に重要である。遺伝資源は一度損失した場合、再び取り戻すことができないことから、現存する家禽の遺伝資源を凍結保存することが急務である。現在、家禽の遺伝資源の保存は生体による保存が主流であるが、それら

を維持するためには特別な施設と多くの費用を必要とする。さらに、高病原性鳥インフルエンザ等の伝染病による脅威に常に曝されている。これを解決するための有効な手段の一つとして遺伝資源の細胞レベルによる凍結保存が挙げられる。細胞の凍結保存は、その細胞の遺伝的特性を変化させることなく、遺伝資源を半永久的に維持することができる。しかし、一部の哺乳類では凍結胚技術

(Dobrinsky 2002 ; Massip 2003) が広く利用されているものの、鳥類では卵は非常に巨大で多くの脂肪分を含有するため、その凍結保存技術は全く確立されていない。

始原生殖細胞(PGCs)は、配偶子の前駆細胞であり、PGCsの移植による生殖系列キメラニワトリの作出技術によって(Petitte ら 1990 ; Tajima ら 1993), 家禽の生殖工学研究に大きな進展をもたらした。異なる発育ステージから得られるPGCsは、移植後、機能的な配偶子を生じる(Vick ら 1993 ; Naito ら 1994a ; Mozdziac ら 2006 ; Nakamura ら 2010a 2012)。また、ニワトリのPGCsはシンプルなプロトコルを用いて液体窒素でその生殖能力を失うことなく、保存が可能である(Naito ら 1994b ; Tajima ら 1998 ; Kuwana ら 2006 ; Nakamura ら 2010b)。それゆえ、鳥類における雄と雌両方の遺伝資源の長期保存の代替法と成りうる。したがって、生殖系列キメラニワトリの作出は、凍結保存したPGCsから機能的な配偶子を生み出す手段となる。

一般的にドナー PGCsを移植された宿主個体が生殖系列キメラニワトリであるかどうか確認するために、ドナーと宿主の羽色の違いが用いられている。近年、ミトコンドリアのD-loopに存在する一塩基多型(SNP)、増幅断片長多型(AFLP)、ブレメラノソームタンパク質17遺伝子(*PMEL 17*)のエクソン10領域における品種特有のDNA多型のような遺伝子マーカーが生殖系列キメラニワトリを確認するために導入されている(Naito ら 2004 ; Hu ら 2005 ; Choi ら 2007)。検定交雑に加えて、これらの分子遺伝学的手法は、生殖細胞系キメラニワトリの判別の精度をより高めることが可能となる。今後、比内鶏を細胞レベルで保存するために、これらの技術を確立することは極めて重要である。

前報において、比内鶏に特異的なZ染色体上のマイクロサテライトマーカー (Rikimaru と

Takahashi 2007) が比内鶏のPGCsを白色レグホーン胚へ移植して作出した雄の生殖系列キメラニワトリの判別に有効であることを報告した(力丸 ら 2012)。しかしながら、このマイクロサテライトマーカーはW染色体のDNAを確認することができないため、雌の生殖系列キメラニワトリから得られた比内鶏のPGCs由来である雌の産仔を識別することができない。そこで、本研究では、比内鶏のPGCsを移植して生殖系列キメラニワトリを作出し、生殖系列キメラニワトリ同士を交配することにより比内鶏の産出を試みるとともに、比内鶏に特異的な常染色体上のマイクロサテライトマーカーを用いて、生殖系列キメラニワトリ同士の交配より得られた産仔判別への利用性について検討した。

材料と方法

1. 種卵および供試動物

秋田畜試において維持している比内鶏ならびに家畜改良センター岡崎牧場(以下、岡崎牧場という。)より導入した白色レグホーンの種卵を供試した。本研究における動物の取り扱いならびに飼養は、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(日本学術会議 2006)に則りおこなった。

2. マイクロサテライトマーカーによる比内鶏と白色レグホーンのDNA多型解析

比内鶏では、常染色体上において一つの対立遺伝子に固定した遺伝子型を示すマイクロサテライトマーカーが複数存在する。本研究に用いた常染色体上のマイクロサテライトマーカーのアリアルサイズを表1に示した。本研究では、これらのマイクロサテライトマーカーを用いて比内鶏と岡崎牧場より導入した白色レグホーンとの識別が可能であるかどうか検証した。

表 1. 常染色体上の比内鶏DNA識別マーカー

マーカー	染色体	フォワードプライマー (5' → 3')	リバースプライマー (5' → 3')	アレルサイズ (bp)
MCW0327	1	GTCCTTGCCATGTATTGACTG	CAGCACTAAGTGGCTGACATC	191
MCW0058	1	GGGCACACAGAGTGGACACCA	TAGCATTTTCTCCAATGACTCCGG	163
MCW0298	2	AACACTGACACGAATAAGGCC	GATCCAGCCTGTCCAAATCC	134
MCW0220	2	TTGAATGCCTCCACAGCAGCA	GAGGACTGCTGTAACAATTACC	256
ADL0300	2	TTCCATGCAAGGNTAGGTG	CTGAAGGCATTCTCAAGGAG	166
ADL0315	7	TCCTTGGGCAGTAGTTTCAA	CTCCCATGTTGCTTCTTTAG	246

比内鶏ならびに岡崎牧場より導入した白色レグホーンの成鶏より採取した血液からDNAを抽出した。反応液(6 μ L)は、各プライマー(2.5 pmol/L), 1 \times Buffer for KOD-Plus- (東洋紡, 東京), dNTPs (200 μ mol/L; 東洋紡), MgSO₄ (1.2 mmol/L; 東洋紡), 0.125 UのKOD-Plus- (KOD-201; 東洋紡) に上記の鋳型DNA溶液 2 μ Lを混合することにより調整した。ポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction = PCR)は、サーマルサイクラー (GeneAmpTM System9700; Applied Biosystems, フォスターシティ, カリフォルニア, アメリカ) を用いておこなった。PCRサイクルは、94°Cにて2分間の熱変性後、熱変性(94°C, 15秒間), アニール(58°C, 30秒間), 伸長反応(68°C, 30秒間)のサイクルを40回繰り返し、最後に68°Cにて9分30秒間伸長反応をおこなった。PCR産物は、サイズスタンダード(GENESCAN 400HD [ROX] Size Standard; Perkin-Elmer, フォスターシティ, カリフォルニア, アメリカ)を加えた後、DNA自動シーケンサー(モデル3130; Perkin-Elmer)を用いて電気泳動した。DNA断片の長さは、Gene Mapperソフトウェア (Version 4.0; Perkin-Elmer)を用いて推定し、マーカーのPCR増幅産物の長さに基づいて遺伝子型を判定した。

3. 生殖系列キメラニワトリの作出

生殖系列キメラニワトリを作出するために、血液循環期PGCs (cPGCs)あるいは生殖隆起PGCs

(gPGCs)を白色レグホーン胚へ移植した。ステージ14-15 (Hamburger と Hamilton 1951)に達した比内鶏胚を得るために、新鮮な比内鶏の受精卵を孵卵器(P-008 (B)型; 昭和フランキ, 埼玉)にて39.0°C, 相対湿度55 ~ 60%, 転卵1時間あたり1回(転卵角度90°)の条件にて52時間孵卵した。cPGCsを収集するために、実体顕微鏡(SZK12; オリンパス, 東京)下にてマイクロガラスピペット(内径0.69 mm; 外径1.19 mm; 先端角20°; Drummond Scientific Co.)を用いてステージ12-14に達した胚の背側大動脈より採血をおこなった。cPGCsはNycodenz 密度勾配遠心分離法(Zhao と Kuwan 2003)により血液から精製し、顕微鏡下にてマイクロガラスピペットを用いて回収した。次にステージ12-14に達した宿主である白色レグホーン胚を得るために、前述と同様の条件により孵卵器で7個の白色レグホーンの受精卵を52時間孵卵した。受精卵の鈍端に小さな穴を開けた後、鋭端に直径1.0-1.5 cmの窓を作成した。宿主胚のPGCs数を減らすために、白色レグホーン胚の背側大動脈より採血(3.5 ~ 6 μ L)をおこなった。顕微鏡下にて、比内鶏のcPGCsをおよそ100個ずつマイクロガラスピペットを用いて回収し、実体顕微鏡下にて白色レグホーン胚の背側動脈より血流中へ移植した。卵白を約2 ~ 3 mL除去した後、卵殻の窓をラップで覆い、38.5°C, 相対湿度50 ~ 60%, 転卵1時間あたり2回(転卵角度30°)の条件にて孵卵した。18 ~ 20日孵卵した後、転卵を停止し、

孵化用のトレーへ移した。孵卵21日頃、雛が自力で殻を割って出てきた時点で孵化とした。

4. 後代検定および比内鶏DNA識別マーカーによる生殖系列キメラニワトリの判定

性成熟した雌雄の操作個体を比内鶏と交配し、後代の羽色を調査した。交配は人工授精によっておこない、操作個体1羽につき100羽の後代の羽色を鑑別した。なお、後代検定中にへい死した操作個体については、へい死するまでに得られた後代のみ検定に用いた。優性白色を劣性ホモ(i/i)で保有する比内鶏の羽色は有色である。一方、優性白色を優性ホモ(I/I)で保有する白色レグホーンの羽色は白色である。したがって、茶色の羽色(i/i)を持つ後代はドナーである比内鶏PGCs由来であることを示し、白い羽色に小さな黒い斑点(I/i)を持つ後代は宿主である白色レグホーンPGCs由来であることを示す。

雌雄の操作個体と比内鶏を交配して得られた後代から血液を採取し、前述と同様の手順により比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能な常染色体上のマイクロサテライトマーカーADL0315(表2)を用いてDNA解析をおこなった。DNA解析の結果、比内鶏由来の遺伝子型のみが検出された後代が得られた場合、操作個体は生殖系列キメラニワトリであると判定した。全ての後代に白色レグホーンと比内鶏由来の遺伝子型が検出された場合、操作個体は生殖系列キメラニワトリでないと判定した。

本研究では、cPGCsを移植した雄の生殖系列キメラニワトリを得ることができなかったため、cPGCsを移植した雌の生殖系列キメラニワトリの他に前報で報告したgPGCsを移植して生産した雄の生殖系列キメラニワトリ(C963)1羽と雌の操作個体(C982とC983)2羽を用いた。雄の生殖系列キメラニワトリ(C963)のキメリズムは1.9%であった。

5. 生殖系列キメラニワトリ同士の交配による比内鶏の再生

比内鶏PGCs由来の比内鶏産仔を再生するために、2羽の雌の生殖系列キメラニワトリ(B892とB899)と雄の生殖系列キメラニワトリ(C963)を自然交配した。孵化したヒナは、茶色(比内鶏×比内鶏)と白色(比内鶏×白色レグホーン)あるいは白色に黒い斑点を持つ個体に(白色レグホーン×白色レグホーン)に分類した。

6. 生殖系列キメラニワトリ同士の交配から得られた産仔のDNA多型解析

生殖系列キメラニワトリ同士の交配から得られた産仔から血液を採取し、前述と同様の手順により比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能な常染色体上のマイクロサテライトマーカーADL0315(表2)を用いてDNA解析をおこなった。DNA解析の結果、比内鶏由来の遺伝子型のみが検出された場合、「比内鶏である」と判定し、比内鶏と白色レグホーン由来の遺伝子型あるいは白色レグホーン由来の遺伝子型のみが検出された場合、「比内鶏ではない」と判定した。

7. 比内鶏PGCs由来雌産仔の飼養管理

雄と雌の生殖系列キメラニワトリの交配から1羽の比内鶏雌産仔が得られた。雌産仔は4段式バッテリーケージ(78.5 cm×73.0 cm×48.3 cm)で4週齢まで飼育した。4週齢に育雛用ケージ(90.6 cm×60.5 cm×60.5 cm)に移動し、17週齢まで飼育した。その後、18週齢に採卵用ケージ(22.7 cm×39.5 cm×45.5 cm)に移動し、60週齢まで飼育した。

飼料は0～4週齢まで幼雛用(ME, 3,000 kcal/kg; CP, 24%), 5～10週齢まで中雛用(ME, 2,850 kcal/kg; CP, 18%), 11～17週齢まで大雛用(ME, 2,800 kcal/kg; CP, 15%), 18週齢以降成鶏用(ME, 2,850 kcal/kg; CP, 18%)を給与した。18～60週齢の間、明期は16時間とした。飼料と飲

水は試験期間を通して自由摂取とした。

8. 比内鶏PGCs由来雌産仔の繁殖能

雄と雌の生殖系列キメラニワトリの交配から得られた比内鶏雌産仔の産卵能力を評価するため、ヘンディ産卵率(21～60週齢)と4週間ごとの産卵率を算出した。また、ふ化成績を評価するために、43週齢時に人工授精によって雌産仔と通常の雄の比内鶏を交配した。受精率とふ化成績を調査するために、受精卵を孵卵器(M's Factory, 名古屋)でふ化した。

結 果

1. マイクロサテライトマーカーによる比内鶏お

よび白色レグホーンのDNA多型解析

表1に示したマイクロサテライトマーカーのうち、*ADL0315*を用いて比内鶏と白色レグホーンのDNAを解析した結果、比内鶏の対立遺伝子(246bp)は一つに固定されているのに対し、白色レグホーンは比内鶏と異なる対立遺伝子(248, 250bp)を保有しており、各対立遺伝子の遺伝子頻度はそれぞれ70, 30%であった(表2)。その他の5つのマイクロサテライトマーカーについては、白色レグホーンは比内鶏と同じ対立遺伝子を保有していた(データ非表示)。これらの結果から、比内鶏と白色レグホーンを識別するために*ADL0315*を用いた。

表2. 比内鶏および白色レグホーンにおける*ADL0315*の対立遺伝子頻度

	アリアルサイズ (bp)	対立遺伝子頻度 (%)	
		比内鶏	白色レグホーン
	246	100.0	0
<i>ADL0315</i>	248	0	70.0
	250	0	30.0

表3. 操作個体と比内鶏との交配による後代検定結果

ドナーPGCs キメラID	性別	後代数	茶色の羽色のヒナ (ドナー由来)	白い羽色に小さな黒い 斑点を持つヒナ (レシビエントー由来)	ドナー由来後代の割合 (%)
cPGCs					
B577	雄	116	0	116	0.0
B892	雌	106	40	66	37.7
B899	雌	106	76	30	71.7
gPGCs					
C963	雄	108	2	106	1.9
C974*	雄	7	1	6	14.3
C982	雌	105	0	105	0.0
C983	雌	102	0	102	0.0

*, C943は後代検定中にへい死

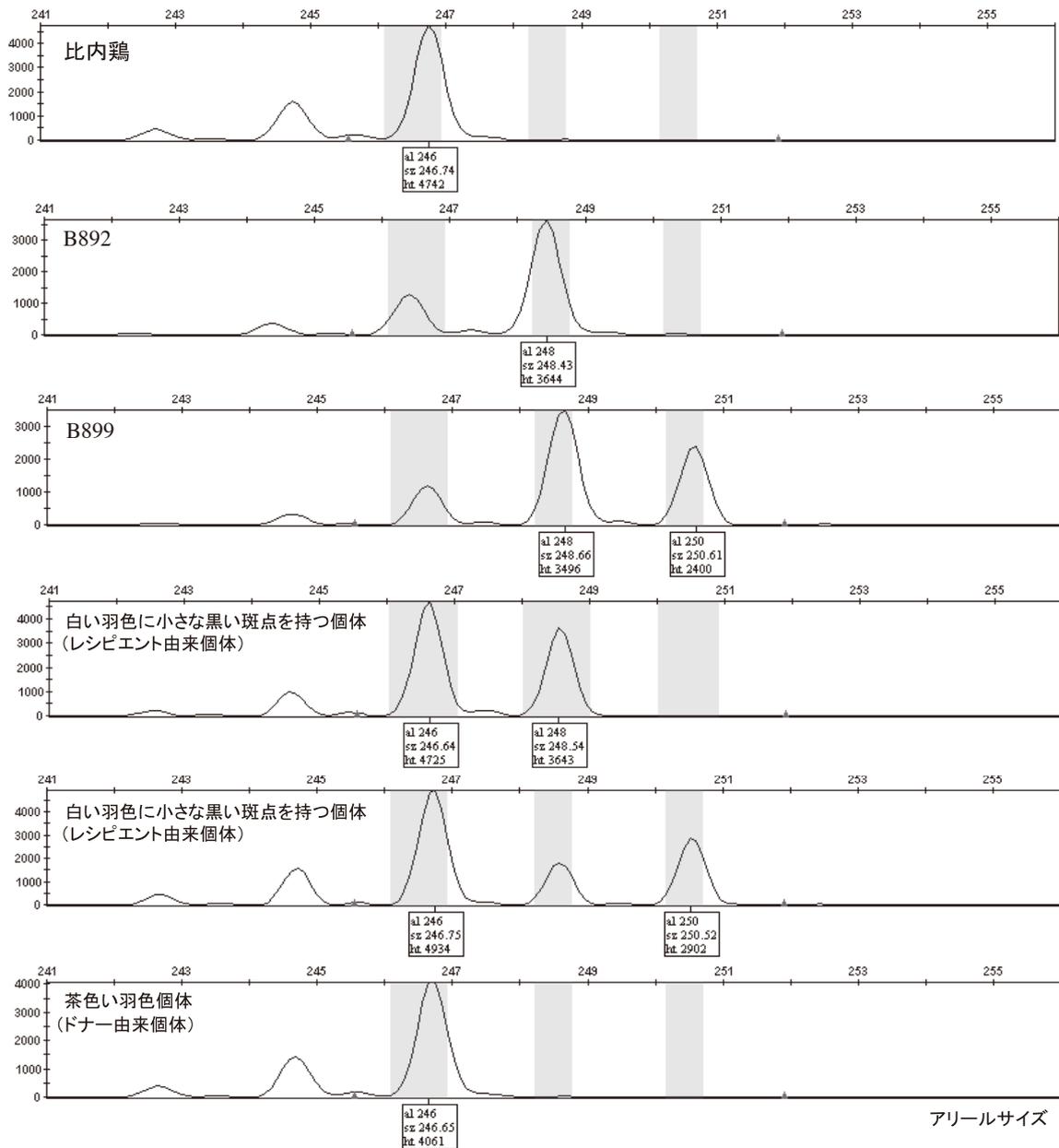


図1. 比内鶏DNA識別マーカー (ADL0315) による後代検定のDNA解析結果

B892, B899: 比内鶏のPGCsを白色レグホーンに移植して作出した雌の生殖系列キメラニワトリ

246bp: 比内鶏由来対立遺伝子 248, 250bp: 白色レグホーン由来対立遺伝子

2. 後代検定および比内鶏DNA識別マーカーによる生殖系列キメラニワトリの判定

比内鶏のcPGCsを7個の白色レグホーン胚の背側大動脈に移植した。その結果、6羽(2羽の雄、4羽の雌)がふ化し、そのうち3羽(1羽の雄、2羽の雌)が性成熟に達した。表3に示したように、cPGCsを移植した2羽の操作個体から茶色の後代

が得られた。この結果は、これらの後代が比内鶏のPGCsに由来する生殖細胞を有することを示している。これとは対照的に、gPGCsを移植した2羽の操作個体からは、いずれもドナー由来の後代を得ることができなかった。cPGCsを移植したグループにおけるドナー由来後代の平均割合は36.5±14.6%であった。

表 4. 生殖系列キメラニワトリ同士による交配結果

キメラID	後代数	後代の羽色	
		茶色(比内鶏)	白色に黒色の斑点(雑種) 白色(白色レグホーン)
C963(♂) × B892, B899(♀)	105	1	104



写真 1. 生殖系列キメラニワトリ同士の交配から生まれた産仔

矢印：茶色い羽色のヒヨコは比内鶏PGCs由来の産仔；
 白い羽色のヒヨコは白色レグホーンPGCs由来の産仔；
 白い羽色に小さな黒い斑点を持つヒヨコは雑種



写真 2. 生殖系列キメラニワトリと復元した比内鶏
 中央：比内鶏
 左右：生殖系列キメラニワトリ

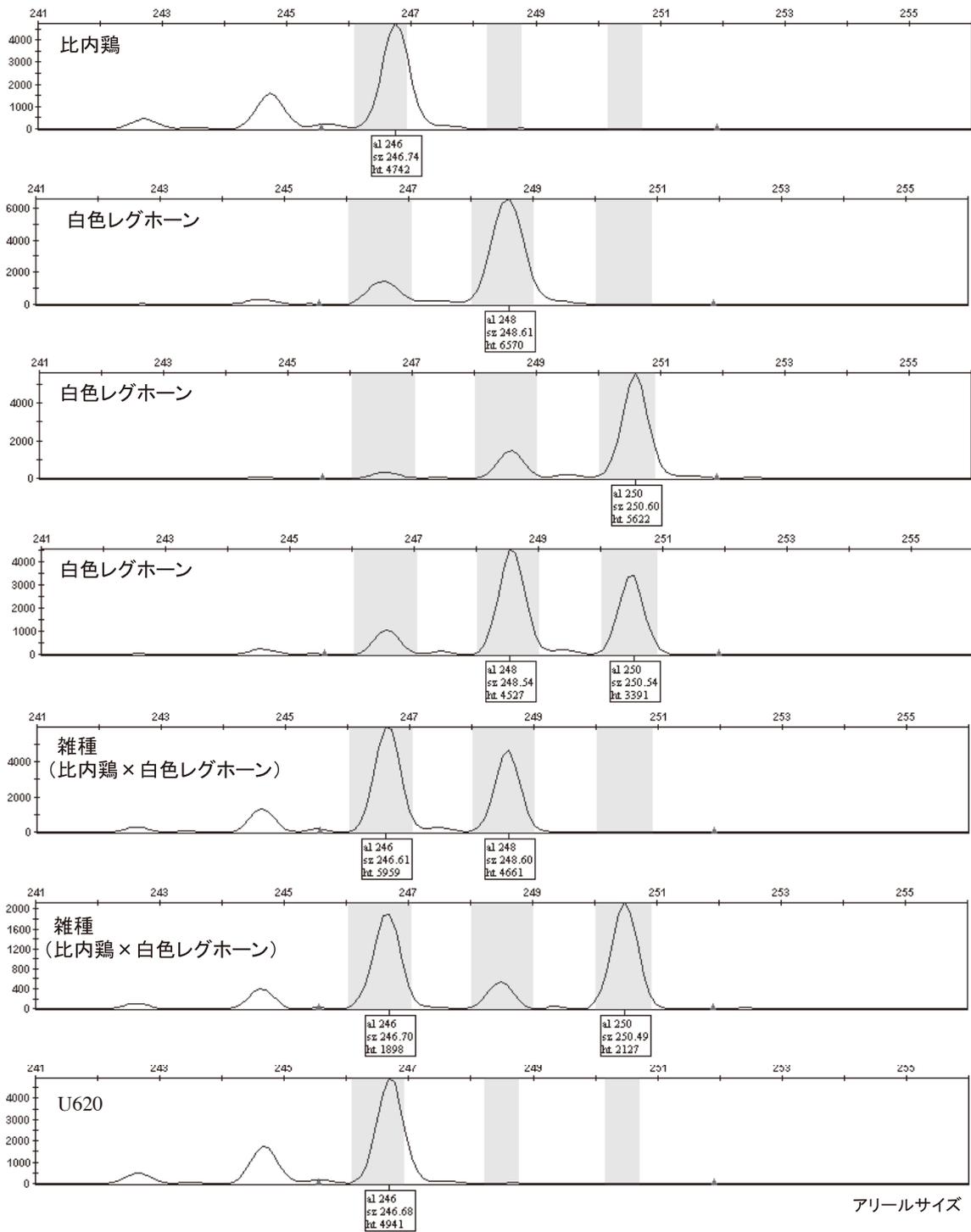


図2. 生殖系列キメラニトリ同士の交配によって得られた産仔のDNA解析結果
 U620 : 比内鶏と判定された産仔
 246bp : 比内鶏由来対立遺伝子 248, 250bp : 白色レグホーン由来対立遺伝子

表5. 生殖系列キメラニワトリ同士の交配によって得られた比内鶏の産卵成績

項目	週 齢										平均
	21~24	25~28	29~32	33~36	37~40	41~44	45~48	49~52	53~56	57~60	
産卵数(個)	2	4	0	6	17	18	17	15	13	10	10.2
産卵率(%)	7.1	14.3	0	21.4	60.7	64.3	60.7	53.6	46.4	35.7	36.4

表6. 生殖系列キメラニワトリ同士の交配によって得られた比内鶏のふ化成績

項目	週 齢										合計
	43~44	45~47	48	49~50	51~52	53~54	55~56	57~58	59~60		
入卵個数(個)	2	4	0	6	17	18	17	15	13	62	
受精卵個数(個)	7.1	14.3	0	21.4	60.7	64.3	60.7	53.6	46.4	36	
受精率(%)	2	4	0	6	17	18	17	15	13	-	
ふ化羽数(羽)	7.1	14.3	0	21.4	60.7	64.3	60.7	53.6	46.4	33	
ふ化率(%)*	7.1	14.3	0	21.4	60.7	64.3	60.7	53.6	46.4	-	

*, ふ化羽数/入卵個数

cPGCsを移植した2羽の雌操作個体(B892とB899)と雄の比内鶏との交配から得られた後代についてADL0315を用いてDNA解析をおこなった結果、茶色の後代ではドナーに由来する比内鶏の遺伝子型のみが検出された。一方、gPGCsを移植した2羽の雌操作個体(C982とC983)と雄の比内鶏との交配から得られた白い羽色に黒い斑点を持つ後代では、ドナーに由来する比内鶏の遺伝子型と宿主に由来する白色レグホーンの遺伝子型が検出された(図1)。これらの結果から、cPGCsを移植した2羽の操作個体は生殖系列キメラニワトリであることが確認された。

3. 生殖キメラニワトリ同士の交配による比内鶏の再生

雄と雌の生殖系列キメラニワトリの交配から得られた茶色と白色に黒い斑点および白色の後代のふ化羽数を表4に示した。比内鶏のgPGCsを移植して作出した雄の生殖系列キメラニワトリ(C963)と比内鶏のcPGCsを移植して作出した2羽の雌の生殖系列キメラニワトリを交配することによって、羽色から比内鶏であると判定された1

羽の茶色の雌産仔が得られた(写真1)。茶色の産仔の割合は、およそ1% (1/105)であった。

4. 比内鶏PGCs由来雌産仔のDNA解析

雄と雌の生殖系列キメラニワトリの交配から得られた雌産仔についてADL0315を用いてDNA解析をおこなった結果、羽色から比内鶏と判定された茶色の産仔では、ドナーに由来する比内鶏の対立遺伝子(246 bp)のみが検出された。一方、白色および白色に黒い斑点を持つ産仔では、それぞれ宿主に由来する白色レグホーンの対立遺伝子(248, 250, 248と250 bp)、ドナーと宿主に由来する比内鶏と白色レグホーンの対立遺伝子(246と248 bp, 246と250 bp)が検出された(図2)。

5. 比内鶏PGCs由来雌産仔の繁殖能

表5に示したように、雄と雌の生殖系列キメラニワトリの交配から得られた比内鶏雌産仔の21~60週齢におけるヘンディ産卵率は36.4%であり、産卵率のピーク(41~44週齢)は64.3%であった(表5)。試験期間(43~60週齢)の平均受精率とふ化率は、それぞれ58.1%と53.2%であった(表6)。

考 察

本研究では、ドナーに由来する比内鶏のPGCsから再生した産仔を遺伝子レベルで判別するため、比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能な常染色体上のマイクロサテライトマーカー (*ADL0315*) を用いた。生殖系列キメラニワトリは白色レグホーン胚に比内鶏のPGCsを移植して作出した。生殖系列キメラニワトリ同士を交配することによって得られた産仔は2つの羽色グループ(茶色および白色)に分類した。続いて*ADL0315*マーカーを用いてDNA解析をおこなった結果、茶色の産仔からは比内鶏の遺伝子型のみが検出され、白色の産仔からは白色レグホーンの遺伝子型のみが、白色に黒点を持つ産仔からは比内鶏と白色レグホーンの両方の遺伝子型が検出された。これらの結果は生殖系列キメラニワトリ同士を交配して得られたドナーに由来する産仔をマイクロサテライトマーカーを用いることによって遺伝子レベルで判定することが可能であることを示している。

前報では、比内鶏のPGCsを白色レグホーン胚に移植して作出した雄の生殖系列キメラニワトリを判別するため、Z染色体上の比内鶏DNA識別マーカー (*ABR0633*) を用いた(力丸ら2012)。しかしながら、このDNA識別マーカーはW染色体のDNAを確認することができないため、雌の生殖系列キメラニワトリから得られた比内鶏PGCs由来の雌産仔を識別することができない。本研究では、比内鶏に固定されている常染色体上のマイクロサテライトマーカーを用いて比内鶏と白色レグホーンのDNA解析をおこなった結果、*ADL0315*では比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能であることが確認された。比内鶏のcPGCsを白色レグホーン胚に移植して作出した2羽の生殖系列キメラニワトリと比内鶏との交配による後代検定では、116羽の茶色の後代が得られた。*ADL0315*を用いてDNA解析をおこなった結果、茶色の後代ではドナーである比内鶏由来の遺伝子型のみが検

出され、白色に黒い斑点を持つ後代ではドナーである比内鶏と宿主である白色レグホーン由来の遺伝子型が検出された。さらに、雄と雌の生殖キメラニワトリを交配することによって、1羽の茶色の産仔を得ることができた。この産仔について*ADL0315*を用いてDNA解析をおこなった結果、比内鶏の遺伝子型とも一致しており、形態学的な判定に基づく結果と一致していた。これらの結果から、茶色の産仔が分子遺伝学的に比内鶏であると確認された。また、DNA解析の結果から、白い羽色の産仔は白色レグホーンであると確認された。これらの結果は、マイクロサテライトマーカーが、より正確な生殖系列キメラニワトリの判別およびPGCs由来の雄と雌の配偶子から再生した比内鶏産仔の判別に有効であることを示している。近年、ドナーPGCsの生殖系列への伝達効率は、ドナーと宿主の品種や系統の組合せによって影響を受けることが報告されている(Naitoら1994a; Nakamuraら2010b, 2013)。他の白色レグホーン系統においても同様に*ADL0315*によってDNA識別が可能であれば、異なる系統を宿主として用いた場合においても生殖系列キメラニワトリの判別やドナーPGCs由来産仔の判別に利用することが可能である。したがって、マイクロサテライトマーカーを用いた分子遺伝学的手法は、生殖系列キメラニワトリやドナーPGCs由来産仔の判別のための有効なツールとなる。

これまで生殖系列キメラニワトリ同士を交配することによって、ドナーPGCsに由来する産仔を再生できることが報告されている(Naitoら1994a; Nakamuraら2010ab, 2012)。本研究によって、この技術が比内鶏の再生にも応用できることが明らかとなった。しかしながら、本研究におけるドナーPGCs由来の比内鶏産仔の再生効率はわずか1%であった。本研究において、ドナー由来産仔の再生効率が低かった原因は、雄の生殖系列キメラニワトリの低いキメリズムによるものかもしれ

ない(1.9% ; C963). 本研究では, ドナー PGCsと宿主胚の性を考慮していない. 生殖系列キメラニワトリを作出する際, ドナー PGCsと宿主胚の性を一致させることにより, 性が異なる組み合わせと比較してドナー由来の後代産出効率が有意に高いことが報告されている(Naito ら 1999). Tagami ら(2007)は, 雄の性腺において雌のPGCsは, 雄の環境に慣れることによって, 第1および第2減数分裂を通過すると報告しているが, 精子形成段階で分化が強く抑制される. したがって, 今回の試験では性が混在している可能性があると考えられる. 生殖系列キメリズムを上げるためには, ドナー PGCsと宿主胚の性を一致させることも重要である. また, 宿主胚が内在的に保有するPGCsを除去することも重要である. 生殖系列キメリズムを改善するための1つの方法としては, ドナー PGCsを移植する前に宿主胚が内在的に保有するPGCsを除去することである. これまで宿主胚へのガンマ線またはX線による照射によって内在的に保有するPGCs数が減少し, ドナー PGCsのキメリズムが高まることが報告されている(Carsience ら 1993 ; Park ら 2010 ; Nakamura ら 2012). また, 生殖系列キメリズムをさらに高める方法として, ニワトリ生殖細胞に有害な影響を与えるアルキル化剤であるブスルファン(1, 4-butanediol dimethanesulfonate)を初期胚へ効率的に注入する方法が開発されている(Nakamura ら 2010a). 彼らは宿主胚の生殖系列が完全にドナー細胞に取り換えられた生殖系列キメラニワトリを作出し, これらの生殖系列キメラニワトリ同士の交配からドナー由来である産仔のみを得ることに成功している. この技術は, 種の保存のみでなく特定の品種や系統の拡大にも利用されるであろう.

雄と雌の生殖系列キメラニワトリを交配して得られたドナー PGCs由来の比内鶏雌産仔の繁殖能を調べるために, ヘンディ産卵率(21-60週齢)と受精率およびふ化成績(43-60週齢)を調査した. その

結果, 本研究で得られたドナー PGCs由来の比内鶏雌産仔の繁殖能は以前に報告されている通常の比内鶏と同様の成績を示した(小松 ら 2008 ; 高橋 ら 2013). 今回調査した羽数は1羽と少ないことから, ドナー PGC由来である比内鶏雌産仔の繁殖力を評価するためにはさらなる試験を必要とするが, 今回の調査結果では, ドナー PGC由来である比内鶏雌産仔に通常の繁殖力があることが確認された.

本研究では, 宿主である白色レグホーン胚に比内鶏のPGCsを移植して作出した生殖系列キメラニワトリから純粋な比内鶏の再生を試みるため, 比内鶏に特異的な常染色体上のマイクロサテライトマーカー *ADL0315*を用いて生殖系列キメラニワトリ同士の交配から得られた産仔の判別をおこなった. その結果, 生殖系列キメラニワトリ同士の交配からドナー PGCs由来である茶色の産仔雌1羽が得られ, その産仔の遺伝子型は比内鶏のものと完全に一致していた. これらの結果から, 生殖系列キメラニワトリより得られた茶色の産仔は分子遺伝学的にも比内鶏であることが確認され, マイクロサテライトマーカーがより正確な個体判別に有効であることが示された. また, 生殖系列キメラニワトリ同士の交配により得られた雌の比内鶏は通常の比内鶏と同等の繁殖能を有していた. 以上より, 分子遺伝学的手法を加えた生殖キメラニワトリの作出は, 比内鶏を含め将来のニワトリの品種や系統の遺伝子保存のための有効な手法となる.

引用文献

- Carsience RS, Clark ME, Verrinder Gibbins AM and Etches RJ. 1993. Germline chimeric chickens from dispersed donor blastodermal cells and compromised recipient embryos. *Development* 117, 669-675.
- Choi JW, Lee EU, Shin JH, Zheng Y, Cho BW, Kim

- J, Kim H and Han JY. 2007. Identification of breed-specific DNA Polymorphisms for A simple and unambiguous screening system in germline chimeric chickens. *Journal of Experimental Zoology* 307A, 241-248.
- Dobrinisky JR. 2002. Advancements in cryopreservation of domestic animal embryos. *Theriogenology* 57, 285-302.
- Fujimoto T, Ukeshima A and Kiyofuji R. 1976. The origin, migration and morphology of the primordial germ cells in the chick embryo. *The Anatomical Record* 185, 139-145.
- Hamburger V and Hamilton HL. 1951, A series of normal stages in the development of the chick embryo. *The Journal of Morphology* 88, 49-92.
- Hu XF, Xie B, Yu RS, Huang QZ, Zhang DF, Huang LS and Li Z. 2005. Generation of chicken germ-line chimeras by transferring PGCs and their identification by AFLP. *Yi Chuan* 27, 367-371. 2005.
- 小松恵, 力丸宗弘, 石塚条次. 2008. 比内鶏およびロードアイランドレッド種の性能調査. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 22, 75-80.
- Kuwana T, Kawashima T, Naito M, Yamashita H, Matsuzaki M and Takano T. 2006. Conservation of a threatened indigenous fowl (Kureko Dori) using the germline chimeras transplanted from primordial germ cells. *The Journal of Poultry Science* 43, 60-66.
- Massip A. 2003. Cryopreservation of bovine oocytes : Current status and recent developments. *Reproduction Nutrition Development* 43, 325-330.
- Mozdziak PE, Wysocki R, Angerman-Stewart J, Pardue SL and Petite JN. 2006. Production of chick germline chimeras from fluorescence-activated cell-sorted gonocytes. *Poultry Science* 85, 1764-1768.
- Naito M, Tajima A, Yasuda Y and Kuwana T. 1994a. Production of germline chimeric chickens, with high transmission rate of donor-derived gametes, produced by transfer of primordial germ cells. *Molecular Reproduction and Development* 39, 153-161.
- Naito M, Tajima A, Tagami T, Yasuda Y and Kuwana T. 1994b. Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. *Journal of Reproduction and Fertility* 102, 321-325.
- Naito M, Sano A, Harumi T, Matsubara Y and Kuwana T. 2004. Migration of primordial germ cells isolated from embryonic blood into the gonads after transfer to stage X blastoderms and detection of germline chimerism by PCR. *British Poultry Science* 45, 762-768.
- Nakamura Y, Usui F, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010a. Germline replacement by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken. *Biology of Reproduction* 83, 130-137.
- Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010b. Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken: concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori). *Reproduction, Fertility and Development* 22, 1237-1246.
- Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Ono T, Kagami H, Takeda K, Nirasawa K and Tagami T. 2012. X-irradiation removes endogenous primordial germ cells (PGCs) and

- increases germline transmission of donor PGCs in chimeric chickens. *Journal of Reproduction and Development* 58, 432-437.
- Nakamura Y, Kagami H and Tagami T. 2013. Development, differentiation and manipulation of chicken germ cells. *Development, Growth & Differentiation* 55, 20-40.
- Park KJ, Kang SJ, Kim TM, Lee YM, Lee HC, Song G and Han JY. 2010. Gamma-irradiation depletes endogenous germ cells and increases donor cell distribution in chimeric chickens. *In Vitro Cellular & Developmental Biology -Animal* 46, 828-833.
- Petitte J N, Clark ME, Liu G, Verrinder Gibbins AM and Etches RJ. 1990. Production of somatic and germline chimeras in the chicken by transfer of early blastodermal cells. *Development* 108, 185-189.
- Rikimaru K and Takahashi H. 2007. A method for discriminating a Japanese brand of chicken, the Hinai-jidori, using microsatellite markers. *Poultry Science* 86, 1881-1886.
- 力丸宗弘, 伊藤なつき, 中村隼明, 高橋大希, 小野愛美, 小松恵, 松原和衛. 始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立(第1報) - 比内鶏DNA識別マーカーを用いた生殖系列キメラニワトリの判別 - 秋田県畜産試験場研究報告26, 28-44.
- Tajima A, Naito M, Yasuda Y and Kuwana K. 1993. Production of germ line chimera by transfer of primordial germ cells in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Theriogenology* 40, 509-519.
- Tajima A, Naito M, Yasuda Y and Kuwana T. 1998. Production of germ-line chimeras by transfer of cryopreserved gonadal primordial germ cells (gPGCs) in chicken. *Journal of Experimental Zoology* 280, 265-267.
- 高橋大希, 小松恵, 佐藤正寛, 鈴木啓一, 力丸宗弘. 2013. 比内鶏の14週齢体重における選抜反応と遺伝率の推定. 日本家禽学会誌50, J1-J6. 2013.
- Vick L, Luke G and Simkiss K. 1993. Germ-line chimaeras can produce both strains of fowl with high efficiency after partial sterilization. *Journal of Reproduction and Fertility* 98, 637-641.
- Zhao DF and Kuwana T. 2003. Purification of avian circulating primordial germ cells by nycodenz density gradient centrifugation. *British Poultry Science* 44, 30-35.

比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証(第3報)

— コレシストキニンA受容体遺伝子の一塩基多型が比内鶏の発育形質に及ぼす影響 —

力丸宗弘・小松 恵^{*1}・武田尚人^{*2}・上本吉伸^{*3}・鈴木啓一^{*4}・高橋秀彰^{*2}

^{*1}秋田県南部家畜保健衛生所

^{*2}独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

^{*3}独立行政法人家畜改良センター

^{*4}東北大学大学院農学研究科

要 約

我々はこれまで発育が早い秋田県畜産試験場の比内鶏個体と発育が遅い保存会の比内鶏個体を交配し、作出したF₂家系集団において、コレシストキニンA受容体遺伝子(CCKAR)のハプロタイプとF₂個体の発育形質の間に有意な関連性があることを報告した。本研究では、同F₂家系集団においてCCKAR遺伝子の5'非翻訳領域に存在する一塩基多型(SNP, AB604331; g. 420 C > A)と発育形質との関連性について調査した。同SNPを効率的に検出するため、ミスマッチ増幅変異アッセイ法を開発し、F₂個体に出現する3つの遺伝子型(A/A, A/C, C/C)を識別した。各SNPアリルが持つ発育形質に対する効果の推定をおこなったところ、Aアリルは、10, 14週齢体重、4-10, 10-14, 0-14週齢増体重において、Cアリルよりも有意に優れていることがわかった。次に、2010年に飼育されていた秋田県畜産試験場と保存会系統のSNPアリル頻度を比較したところ、Aアリルの頻度はそれぞれ0.889と0.124であり、2系統間におけるアリル頻度の違いは、発育形質を目的とした長年の選抜によって生じたものであることが示唆された。これらの結果から、CCKAR遺伝子のg. 420 C > A SNPは、比内鶏の育種改良において発育向上のための有効な遺伝子マーカーになりうると思われる。

緒 言

肉用鶏において体重や増体は、育種改良の重要な経済形質である。発育形質に影響するDNA多型や責任遺伝子の同定は、マーカーアシスト選抜や遺伝子に基づいた選抜に必要な情報を与える(Georges 2007; Goddard と Hayes 2009)。このような分子遺伝情報は、選抜効率の向上や生産性のさらなる向上のために、従来の表型値から育種価を推定し、それに基づく選抜と組み合わせることで今後利用されると考えられる。

我々はこれまで発育が異なる比内鶏2系統を交配し、作出したF₂家系集団についてQTL解析を

行った結果、第1番染色体と第4番染色体上に体重と平均日増体重に影響を与えるQTLを検出した(力丸ら 2013)。次に、第4番染色体上に検出されたQTLの候補遺伝子として特定されたコレシストキニンA受容体遺伝子(CCKAR)のハプロタイプと発育形質との関連性について調査をおこなった結果、親個体に5つのハプロタイプが検出され、ハプロタイプと発育形質に有意な関連性が認められた(力丸ら 2014)。また、CCKAR遺伝子のハプロタイプの結果から、5'非翻訳領域(5' UTR)の推定YY1結合部位におけるSNP(AB604331: g. 420 C > A)が発育形質に関連していることが示

唆された。

コレシストキニン(CCK)は、食欲の調節に関与する消化管ペプチドである(Gibbs ら 1973)。哺乳類では、胃内容物の排出を抑制するとともに、胆嚢収縮を促進し、膵酵素と重炭酸塩の分泌を増加させる。また、胃酸の分泌を抑制し、空腹を遅らせ、食物摂取量を減少させる(Gibbs ら 1973; Kissileff ら 1981)。CCKの2つのGタンパク質共役受容体はコレシストキニンA受容体(CCKAR; Sankaran ら 1980)とコレシストキニンB受容体(CCKBR; Innis と Snyder 1980)として同定されている。CCKARは消化管、CCKBRは脳に主に分布するが、両方の受容体サブタイプは中枢神経系と腸に分布する。CCK, CCKAR, CCKBRの機能は鳥類や哺乳類で広く研究されている。例えば、CCKの静脈注射はニワトリの食物摂取量を抑制する(Savory と Gentle, 1980)。また、CCKはニワトリの腸運動(Rodriguez-Sinovas ら 1997; Martin ら 1995; Martinez ら 1995)、胆嚢の胆汁の分泌(Duke ら 1987)を調節する。さらに、CCKはニワトリとアヒルの膵臓からアミラーゼ分泌を刺激する(Satoh ら 1994; Xiao と Cui 2004)。これらの研究は、CCKが哺乳類と同様に鳥類の食欲調節に重要な役割を果たしていることを示唆している。しかしながら、鳥類におけるCCKARの機能に関する情報は不十分である。CCK作動薬を用いた競合結合試験では、CCKARがすい臓のCCKBRより優勢であることが示されている(Vigna ら 1986; Rodriguez-Sinovas ら 1995)。近年、Ohkubo ら(2007)は、CCKAR遺伝子のmRNAは、前胃と砂嚢を除き、主に消化管に分布するが、CCKBR遺伝子のmRNAは主に脳に存在することを報告している。

本研究では、比内鶏F₂家系集団においてCCKAR遺伝子の推定YY 1結合部位におけるg. 420 C > A SNPと発育形質との関連性について調査をおこなった。また、秋田県畜産試験場(秋田畜試)で飼育している保存会と秋田畜試の比内鶏種鶏集団にお

けるg. 420 C > A SNPアレルの頻度を調査し、g. 420 C > A SNP情報を用いた選抜の有効性について検証をおこなった。

材料と方法

1. F₂資源家系および表型値の測定

3羽の保存会の雄と9羽の秋田畜試の雌を用いて1~3羽の雌を無作為にそれぞれの雄に交配し、F₁集団を作出した。F₁集団の雄17羽と雌60羽を全兄弟交配し、206羽の雄と212羽の雌からなる合計418羽のF₂家系集団を作出した。F₂家系集団は同じ日にふ化した後、同一鶏舎で飼育し、試験期間を通して同一飼料を給与した。体重は4, 10, 14週齢に測定した。0-4, 4-10, 10-14週齢における平均日増体重は、各週齢における体重から算出した。

比内鶏種鶏群

秋田畜試507個体(雄124羽, 雌383羽の雌)および保存会178個体(雄85羽, 雌93羽の雌)をCCKAR遺伝子型判定に用いた。ひなの飼養管理は先に述べたとおりである。

2. CCKAR遺伝子型判定

ゲノムDNAはFTAクラシックカード(WB120205: GE ヘルスケア UK, バッキンガムシャー, イギリス)を用いて血液から抽出した。採取した血液をFTAクラシックカードに滴下し、室温にて風乾させた。直径1.2 mm のハリスマイクロパンチ(WB100028: GE ヘルスケア UK)を用いて、ディスクを1枚打ち抜き、96-wellプレートにそれぞれ移した。次にFTA精製試薬(WB120204: GE ヘルスケア UK)を100 μ L加え、1時間室温で静置した。上清を除去後、DNAzol BD 溶液(10974-020: インシトロジェン, カールスバッド, カリフォルニア, アメリカ)を100 μ L加え、30分間静置した。再び上清を除去した後、滅菌水100 μ Lで3回洗浄した。最後に滅菌水を100 μ L加え、

表1. ミスマッチ増幅変異アッセイによるCCKAR遺伝子のプライマーとターゲットポジション

プライマーセット	プライマー (5'→3')	サイズ (bp)	ターゲットポジション	遺伝子型	
				A	C
CCKAR-Hinai1	GAATGTGTGTCTGCGTGCTT GGATCCACAGGTTAGCTGC _{gAt}	225	g.420 C > A	+	-
CCKAR-Hinai2	GAATGTGTGTCTGCGTGCTT GGATCCACAGGTTAGCTGC _{gAg}	225	g.420 C > A	-	+

小文字のアンダーラインで示した箇所は、誘導されるミスマッチを表す。3'末端の小文字で示した部分は、目的とする一塩基多型を表す。それぞれのプライマーセットがPCRによって増幅可能、不可能なジェノタイプは、それぞれ「+」または「-」として示す。

90℃にて10分間熱処理し、DNA溶液を含む水溶液を回収した。

CCKAR遺伝子の5' UTRの推定YYI結合部位におけるg.420 C > Aの3つの遺伝子型(A/A, A/C, C/C)を識別するため、2つのPCRプライマーを設計した(表1)。

反応液(9-μL)は、各プライマー(2 pmol)、4 μL × PCR mix (EmeraldAmp: タカラ, 大津, 日本), 上記のDNA 1 μLを混合することにより調整した。PCR反応はサーマルサイクラー(iCyclerサーマルサイクラー: バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社)を用いて行った。PCRは、サーマルサイクラー(GeneAmp™ PCR System 9700: パーキンエルマーアプライドバイオシステムズ)を用いておこなった。PCRサイクルは、熱変性(98℃, 10秒間), アニーリング(65℃, 30秒間), 伸長反応(72℃, 30秒間)のサイクルを30回繰り返した。2 μLのPCR産物をTris-acetate-EDTA (TAE)バッファー中で2.0%アガロースゲルにより150 Vで30分間電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで30分染色した。

3. 統計解析

F₂家系集団

F₂家系集団では、発育形質に対するg.420 C > A SNPの効果を評価するために混合遺伝モデルを用いた。Qxpakソフトウェア(Pérez-Enciso と Misztal 2004)の snp_ad オプションによる遺伝子

解析をおこなった。各形質のモデル式は以下の通りである。

$$y_i = sex_{ij} + C_a a + C_d d + u_i + e_i \quad (1)$$

ここで、y_iは各形質について個体iの表型値、Sex_{ij}は性ijの母数効果(雄および雌)、u_iは変量効果として共分散行列 $\mathbf{A}\sigma_u^2$ に従うポリジーン効果(Aは分子血縁行列)、e_iは誤差の効果である。aとdは共変量であり、aは相加的遺伝子効果、dが優性効果、C_aとC_dはそれぞれの回帰係数である。本研究では、分子血縁係数行列を作成するために基礎集団の血統までさかのぼり、合計520羽を解析に用いた。

相加的遺伝子型効果と優性的遺伝子型効果を含むモデル式 およびそれらの効果を除いたモデル式のそれぞれから求めた尤度により尤度比を用いて尤度比検定を行い、 χ^2 分布を仮定することによってP-値を求めた。

モデル式(1)によって説明される全分散に占める相加的遺伝分散の割合は以下の式となる。

$$variance\ percentage = [2pq(a+d(q-p))^2] / V_A$$

ここで、pとqはそれぞれAとCアレルの頻度であり、V_Aはg.420 C > A SNPの効果を除いたモデルでの相加的遺伝分散を示す(Falconer と Mackay 1996)。

比内鶏種鶏群

秋田畜試種鶏群の14週齢体重については性の効

表 2. 比内鶏F₂家系集団における発育形質の表型値およびコレシトキニンA受容体遺伝子g. 420 C > A SNPの効果

形質	個体数	表型値				相加的效果		優勢的效果			SNP分散/	
		平均値±標準誤差	LRT	P 値		平均値±標準誤差	平均値±標準誤差	遺伝分散	snp分散	遺伝率	遺伝分散 (%)	SNP 効果 (%)
4週齢体重 (g)	417*	231.1 ± 38.3	1.5	n.s.	—	—	—	—	—	—	—	—
10週齢体重 (g)	418	960.6 ± 163.5	36.7	1 × 10 ⁻⁸	49.1 ± 8.1	-3.4 ± 10.8	9231	1209.6	0.56	13.1	7.3	
14週齢体重 (g)	418	1,466.9 ± 260.7	55.2	1 × 10 ⁻¹²	83.0 ± 11	-2.6 ± 14.6	18138	3427	0.57	18.9	10.8	
0-4週齢平均日増体重 (g/日)	417*	5.2 ± 1.0	1.3	n.s.	—	—	—	—	—	—	—	
4-10週齢平均日増体重 (g/日)	417*	17.4 ± 3.3	46.2	9 × 10 ⁻¹¹	1.1 ± 0.2	0 ± 0.2	3.7	0.63	0.54	17.2	9.3	
10-14週齢平均日増体重 (g/日)	418	18.1 ± 4.4	45.0	2 × 10 ⁻¹⁰	1.2 ± 0.2	0 ± 0.2	1.8	0.74	0.25	42.0	10.4	
0-14週齢平均日増体重 (g/日)	418	14.6 ± 2.7	55.0	1 × 10 ⁻¹²	0.8 ± 0.1	0 ± 0.1	1.9	0.35	0.57	18.9	10.7	

LRT: 対数尤度比, n.s. 有意差なし

相加的效果: g. 420 C > A における (AA - CC) / 2 の遺伝子型値 優勢的效果: g. 420 C > A における AC - (AA + CC) / 2 の遺伝子型値

* 4 週齢体重と 0- 4, 4-10週齢平均日増体重 (g/日) は、1 個体データ不足による。

果を補正し、保存会種鶏群の14週齢体重については性とふ化の効果を補正した。性とふ化の効果はBLUEを用いて推定した。BLUEの推定モデルは以下のとおりである。

$$\text{秋田畜試種鶏群: } y = \text{sex} + \text{additive} + \text{dominance} + \text{polygene} + e$$

$$\text{保存会種鶏群: } y = \text{sex} + \text{hatch} + \text{additive} + \text{dominance} + e$$

g. 420 C > A の遺伝子型および対立遺伝子頻度は、観察された遺伝子型から算出した。秋田畜試種鶏群と保存会種鶏群の有効な集団の大きさ (Ne) の算出は、(Falconer と Mackay 1996) に従った。

結果および考察

F₂家系集団におけるg. 420 C > A SNP と発育形質との関連性を表 2 に示した。g.420 C > A SNPと発育形質(10, 14週齢体重, 4-10, 10-14, 0-14週齢平均日増体重)に有意な関連性が認められ、AアリルはCアリルより有意に優れていた。これらの形質においてSNPが全表型分散に占める割合は7.3%から10.8%であった。また、遺伝分散に占める割合は13.1%から42.0%であった。本研究で認められた関連性は、このg. 420 C > A SNPとこれらの発育形質の調節に直接関与する別の連鎖したDNA多型間との連鎖不均衡によって生じる可能性も否定できないが、これらの結果はCCKAR遺伝子が発育形質に関連しており、比内鶏

においてAアリルはCアリルより優れていることを示唆している。

CCKAR遺伝子のg. 420 C > A SNPと発育形質との関連性を説明する1つの仮説としては、g. 420 AがCCKAR遺伝子の転写活性の抑制をもたらし、その結果、満腹効果が弱まり、食欲と体重の増加につながるのかもしれないということが考えられる。ブタでは、Houston ら(2006)がCCKAR遺伝子の5' UTRのYY 1 結合部位において、YY 1 との低親和性結合が発育と関連しているかもしれないことを報告している。この結果は、CCKAR 遺伝子発現の調節において、YY 1 が重要な役割を果たすことを示唆している。しかしながら、g. 420 C > A SNP が発育形質に及ぼす分子機構を明らかにするためには、遺伝子型間のmRNAやタンパク質発現の比較を含めた試験が必要である。また、CCKAR遺伝子はヒトでは、肥満の候補遺伝子として知られている(Arya ら 2004)。一方、家畜では、発育形質との関連性が示唆されているが、体重の増加が筋肉等のタンパク質の増加に関与しているのか、脂肪の蓄積に関与しているのか明らかにはなっていない。そのため、飼料摂取量、飼料要求率、解体成績等の比較を含めた追加試験が必要である。

次に、比内鶏の発育形質のさらなる改良のため、g. 420 C > A SNP情報の利用が有効かどうか検討を行った。比内鶏種鶏群におけるg. 420 C > A アリルの遺伝子型および対立遺伝子頻度を表 3 に示

表 3. 比内鶏種鶏群におけるコレシストキニンA受容体遺伝子g.420 C > A SNP の遺伝子型と対立遺伝子頻度

系統	個体数	14週齢体重, g		g.420 A > C ジェノタイプ			対立遺伝子	
		平均値	標準偏差	A/A	A/C	C/C	A	C
秋田県畜産試験場	507	2023.9	± 284.5	0.781	0.215	0.004	0.889	0.111
保存会	178	1199.4	± 211.4	0.017	0.213	0.770	0.124	0.876

した。秋田畜試種鶏群では、A/A型の遺伝子型頻度が最も高かったが(0.781)、保存会種鶏群では、C/C型の遺伝子型頻度が最も高かった(0.770)。秋田畜試および保存会種鶏群におけるAアレルの頻度はそれぞれ0.889、0.124と大きく異なった。

秋田畜試の比内鶏集団は、1973年に保存会集団と分離し、以後両集団はそれぞれ小さな閉鎖群で維持されてきた。本研究の結果から、秋田畜試種鶏群と保存会種鶏群のg. 420 C > A の遺伝子頻度には、0.77という大きな差が存在した。これは、秋田畜試種鶏群において増体を図るために長年選抜されてきた結果によるものと考えられる。発育形質におけるg. 420 C > A SNP の遺伝分散および表型分散に占める割合は比較的高いことから、Aアレルを有する個体は間接的に選抜されたものと考えられる。

本研究の結果から、CCKAR遺伝子のg. 420 C > A SNPは発育形質に大きな効果を持つことが示唆された。また、発育のステージが進むにつれ、表型分散あるいは遺伝分散に占める割合が大きくなり、特に10-14週齢の平均日増体重におけるg. 420 C > A SNPの遺伝分散に占める割合は42%と非常に高い値を示した。この結果は、g. 420 C > A SNPが10-14週齢の成長期にかけて重要な役割を果たしていることを示唆している。比内鶏の選抜は14週齢体重を選抜指標としていることから、このSNP情報は選抜を行う際の有効な情報になると考えられる。しかしながら、g. 420 C > A SNPの遺伝分散に占める割合はそれでも40%程度であり、他のマイナー遺伝子が多数関与していると考えられる。比内鶏F₂家系集団を用いたQTL解析において、4番染色体上のCCKAR遺伝子以外に同

じ発育形質(10, 14週齢体重, 4-10, 10-14, 0-14週齢平均日増体重)に影響するQTLが1番染色体上にhighly significant QTLが検出されており、候補遺伝子としてモチリン受容体遺伝子(MTR)が特定されている(Takahashi ら 2013)。秋田畜試種鶏群のg. 420 C > A SNPのA/A型は0.781であり、集団の大部分がA/A型に固定されていたため、g. 420 C > A SNPによる選抜効果はあまり期待できない。今後、発育形質をさらに改良するためには、CCKAR遺伝子だけでなくMTR遺伝子の情報やポリジーン効果を取り入れた選抜が必要であると考えられる。しかしながら、近交度の上昇あるいは高病原性鳥インフルエンザのような伝染病による淘汰により、体重の小さな系統から個体を選抜する際には、g. 420 C > A SNPは育種選抜において非常に有効な遺伝子マーカーになると考えられる。比内鶏F₂家系集団の14週齢体重におけるg.420 C > A SNP の相対的効果は83.0 gであることから、Aアレルを選抜することで83.0 gの重量増加の効果が期待でき、C/C型からA/A型へアレル置換することによって166 gの増加が期待される。一般的に体重の選抜に伴い産卵率や卵重等他形質への間接選抜反応の影響が報告されている(Siegel と Wolford, 2003)が、比内鶏では過去5年に渡る選抜の結果、他形質への影響はほとんど認められていないことから(高橋 ら 2013)、このg. 420 C > A SNPを発育形質のための候補マーカーとして用いれば、比較的短期間で効率的に改良量を増加させることが期待できると考えられる。また、表型値を測定する前にg. 420 C > A SNPをマーカーとして用いることによって、育雛段階において体重選抜前に余分なニワトリを淘汰するこ

とが可能となるだけでなく、飼育スペース等の関係から飼育羽数が制限される雄の羽数を多数維持し、マーカー情報に基づいた選抜により飼育羽数を削減することが可能となることから、g. 420 C > A SNPは発育の向上と生産コストの削減のための簡易的な遺伝子検査として、比内鶏の育種改良において非常に有効な遺伝子マーカーになりうると思われる。

謝 辞

本研究は「動物ゲノムを活用した新市場創出のための技術開発(動物ゲノム情報を活用した新市場創造のための研究)」委託事業によるものです。

引用文献

- Arya R, Duggirala R, Jenkinson CP, Almasy L, Blangero J, O'Connell P and Stern MP. 2004. Evidence of a novel quantitative-trait locus for obesity on chromosome 4p in Mexican Americans. *The American Journal of Human Genetics* 74, 272–282.
- Duke GE, Larntz K and Hunter H. 1987. The influence of cholecystokinin, vasoactive intestinal peptide and secretin on pancreatic and biliary secretion in laying hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Pharmacology* 86, 97–102.
- Falconer DS and Mackay TFC. 1996. Introduction to Quantitative Genetics, 4th edition. Harlow, Longman Scientific & Technical.
- Gibbs J, Young RC and Smith GP. 1973. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 84, 488–495.
- Georges M. Mapping, fine mapping and molecular dissection of quantitative trait loci in domestic animals. 2007. *Genomics and Human Genetics* 8, 131–162.
- Goddard ME and Hayes BJ. 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics* 10, 381–391.
- Houston RD, Haley CS and Archibald AL, 2006. Cameron ND, Plastow GS, Rance KA. A polymorphism in the 50-untranslated region of the porcine cholecystokinin type A receptor gene affects feed intake and growth. *Genetics* 174, 1555–1563.
- Innis RB and Snyder SH. 1980. Distinct cholecystokinin receptors in brain and pancreas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 77, 6917–6921.
- Kissileff HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J and Smith GP. 1981. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *The American Journal of Clinical Nutrition* 34, 154–160.
- Martín MT, Fernández E, Rodríguez-Sinovas A and Goñalons E. 1995. Effects of cholecystokinin on chicken cecal motility: mechanisms involved. *Life Sciences* 56, 601–610.
- Martínez V, Jiménez M, Goñalons E and Vergara P. 1995. Modulation of the migrating myoelectric complexes by cholecystokinin and gastrin in the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science* 74, 563–576.
- Ohkubo T, Shamoto K and Ogino T. 2007. Structure and tissue distribution of cholecystokinin-1 receptor in chicken. *Journal of Poultry Science* 44, 98–104.
- Pérez-Enciso M and Misztal. I. 2004. Qxpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics* 20, 2792–2798.

- 力丸宗弘, 佐々木修, 小出水規行, 小松恵, 鈴木啓一, 高橋秀彰. 2013. 比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証(第1報) - 比内鶏の発育形質に関するQTL解析 -. 秋田県畜産試験場研究報告27, 27-33.
- 力丸宗弘, 小松恵, 上本吉伸, 武田尚人, 鈴木啓一, 高橋秀彰. 2014. 比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証(第2報) - 比内鶏F₂家系集団におけるコレシストキニンA受容体遺伝子のハプロタイプと発育形質との関連性 -. 秋田県畜産試験場研究報告28, 27-33.
- Rodriguez-Sinovas A, Fernandez E, Manteca X, Fernández AG and Goñalons E. 1997. CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 272, R334-340.
- Rodriguez-Sinovas A, Fernandez AG and Gonalons E. 1995. Central and peripheral cholecystokinin receptors in chickens differ from those in mammals. *Regulatory Peptides* 60, 47-54.
- Sankaran H, Goldfine ID, Deveney CW, Wong KY and Williams JA. 1980. Binding of cholecystokinin to high affinity receptors on isolated rat pancreatic acini. *The Journal of Biological Chemistry* 255, 1849-1853.
- Satoh S, Furuse M, Choi YH and Okumura J. 1994. Cholecystokinin is not a major regulator in the digestive system in the chicken. *Cellular and Molecular Life Sciences* 50, 812-814.
- Savory CJ and Gentle MJ. 1980. Intravenous injections of cholecystokinin and caerulein suppress food intake in domestic fowls. *Experientia* 36, 1191-1192.
- Siegel, P.B. and J. H. Wolford. 2003. A review of some results of selection for juvenile body weight in chickens. *The Journal of Poultry Science* 40, 81-91.
- 高橋大希, 小松 恵, 佐藤正寛, 鈴木啓一, 力丸宗弘. 2013. 比内鶏の14週齢体重における選抜反応と遺伝率の推定. 日本家禽学会誌 50, J16-J21.
- Takahashi H, Rikimaru K, Komatsu M, Uemoto Y and Suzuki K. 2013. Association between Motilin Receptor Gene Haplotypes and Growth Traits in Japanese Hinai-dori Crossbred Chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27, 316-323.
- Vigna SR, Thorndyke MC and Williams JA. 1986. Evidence for a common evolutionary origin of brain and pancreas cholecystokinin receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83, 4355-4359.
- Xiao R and Cui ZJ. 2004. Mutual dependence of VIP/PACAP and CCK receptor signaling for a physiological role in duck exocrine pancreatic secretion. *The American Journal of Physiology -Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 286, R189-198.

飼料作物奨励品種選定試験

—飼料用トウモロコシ(平成25年度)—

佐藤寛子・渡邊 潤・加藤真姫子

要 約

国内で種子が市販されている飼料用トウモロコシについて、県内に適する品種を選定するため、17品種について調査した。

平成25年の飼料用トウモロコシの生育は、黄熟期に達する日数はほぼ平年並みであったが、乾物収量は平年よりも少なかった。

KE9601およびSM8490は、収量性が優れていることが認められたため、奨励品種として有望であることが示唆された。

緒 言

国内で種子が市販されている飼料用トウモロコシについて、その生育特性を調査し、秋田県の環境に適応した能力の高い品種を奨励品種として補完するため、品種選定試験を実施した。

なお、本試験は東北6県による「東北地域飼料用トウモロコシ品種選定ネットワーク」として実施しており、本報の標準品種は東北6県の比較基準となる品種である。

3) 播種日

平成25年5月15日

4) 供試品種

表2に示すとおりである。

5) 調査方法

牧草・飼料作物系統適応性試験実施要領に準じた(独立行政法人畜産草地研究所 2001. 飼料作物系統適応性検定試験実施要領(改定5版).)

材料および方法

1. 試験期間 平成25年5月15日～10月4日
2. 試験場所 秋田県畜産試験場内試験圃場
3. 試験圃場の構成 15 m²(3×5 m) 3反復/1品種
4. 栽培概要
 - 1) 栽培概要

相対熟度118日以下の品種 7,018本/10 a
相対熟度119日以上の子種 6,061本/10 a
1区当たり5畦, 畦間75 cmとして2粒点播1本仕立てとした。
 - 2) 施肥

表1に示すとおりである。

結果および考察

播種は5月15日に行った。播種後の平均気温が平年並みに推移したため、発芽までに要した日数は8日と平年並みであった。出芽が確認された5月下旬から6月中旬までは、気温が平年よりも高く推移し、日照時間も多かったため、6月中旬に実施した播種後40日の草丈は平年よりも高かった。

絹糸の抽出時期は、平年並みの7月中旬～下旬であった。

黄熟期に達する日数は、ほぼ平年並みであったが、桿長は平年よりも短く、乾物収量も平年よりも少なかった。その要因のひとつとしては、7月上旬～9月上旬までの日照時間が、平年並みまたはそれ以下に推移したことが考えられる。

表1 施肥量

区分	(kg/10a)					
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	堆肥	苦土石灰	熔燐
基肥	12	24	12	4,000	100	60
追肥	0	0	0	0	0	0

表2 供試した飼料用トウモロコシ品種・系統

No.	品種・系統	相対熟度 (カタログ値)	販売メーカー
			育成場所
1	TH1809	100	タキイ種苗
2	P9400	100~105	パイオニア
3	KE8500A	105	カネコ種苗
4	奨励 標準 36B08	106	パイオニア
5	KE1581	108	カネコ種苗
6	KE0604	110	カネコ種苗
7	TX1241	110	タキイ種苗
8	KE9601	115	カネコ種苗
9	B308	115	パイオニア
10	奨励 標準 セシリア	115	パイオニア
11	A636	118	パイオニア
12	B703	120	パイオニア
13	SM8490	122	雪印種苗
14	KE97300	123	カネコ種苗
15	SH2821	125	雪印種苗
16	SH2822	125	雪印種苗
17	標準 32F27	126	パイオニア

KE1581(相対熟度108日), KE0604 (相対熟度110日), TX1241 (相対熟度110日)およびKE9601 (相対熟度115日)は, 播種後40日に測定した初期生育草丈が標準品種であるセシリア(相対熟度115日)と比較して高かった(表3). TX1241とKE9601は生総重量, 乾物収量(総重量)および栄養収量(TDN収量)についても標準品種のセシリアと同等またはそれを上回っており, 初期生育と収量性ともに優れていることが認められた(表4).

KE9601は検定3年目の品種であり, 平成23年の栽培結果(佐藤ら 2013)からも収量性が優れていることが認められているため, 奨励品種として有望であることが示唆された.

SM8490(相対熟度122日), KE97300(相対熟度123日)およびSH2821(相対熟度125日)は, 播種後40日に測定した初期生育草丈が標準品種である32F27(相対熟度126日)と同等であり(表3), 生総重量, 乾物収量(総重量)および栄養収量(TDN

表3 生育特性

No	品種・系統名	相対熟度	初期生育草丈 (cm)	収穫 月日 (月日)	収穫 熟度	倒伏 (%)	折損 (%)	稈長 (cm)	着雌 穂高 (cm)
1	TH1809	100	110.8	9/5	黄中	0.0	0.2	246.3	112.1
2	P9400	100~105	113.2	9/5	完初	0.0	0.1	233.8	118.4
3	KE8500A	105	113.6	9/5	黄後	0.0	0.1	244.4	125.9
4	標準 36B08	106	118.3	9/17	完初	0.0	0.2	229.3	115.0
5	KE1581	108	110.9	9/17	黄中	0.0	0.1	252.6	117.6
6	KE0604	110	107.7	9/17	黄中	0.0	0.3	273.5	124.5
7	TX1241	110	105.1	9/17	黄後	0.0	0.3	269.6	121.4
8	KE9601	115	101.0	9/24	完初	0.0	0.1	257.0	118.7
9	B308	115	96.9	9/24	完中	0.0	0.2	239.1	111.2
10	標準 セシリア	115	100.9	9/24	黄後	0.0	0.3	233.1	120.0
11	A636	118	100.8	9/24	黄中	0.0	0.3	269.5	113.4
12	B703	120	100.0	9/26	黄後	0.0	0.3	251.9	103.0
13	SM8490	122	99.5	10/1	完初	0.0	0.6	275.7	130.5
14	KE97300	123	100.7	10/1	完初	0.0	0.3	283.6	134.6
15	SH2821	125	100.4	10/1	完初	0.0	0.2	304.1	141.9
16	SH2822	125	94.6	10/4	完初	0.0	0.3	286.0	132.0
17	標準 32F27	126	103.7	10/4	完中	0.0	0.4	283.5	125.5

表4 生育特性

No	品種・系統名	相対熟度	生総重量		乾物収量				乾雌穂 重割合 (%)	栄養収量		
			(kg/10a)	標比 (%)	茎葉 (kg/10a)	雌穂 (kg/10a)	総重 (kg/10a)	標比 (%)		DCP (kg/10a)	TDN (kg/10a)	標比 (%)
1	TH1089	100	5,437	116	737	996	1,733	79	57	102	1,230	81
2	P9400	100~105	5,685	121	838	1,137	1,975	90	58	117	1,402	92
3	KE8500A	105	6,539	139	962	887	1,848	84	48	105	1,266	83
4	標準 36B08	106	4,690	100	1,099	1,099	2,198	100	50	126	1,517	100
5	KE1581	108	4,703	103	808	910	1,719	90	53	100	1,199	89
6	KE0604	110	4,781	105	790	1,001	1,791	94	56	105	1,263	94
7	TX1241	110	4,696	103	727	1,136	1,864	98	61	111	1,339	100
8	KE9601	115	5,423	119	977	1,283	2,260	119	57	133	1,599	119
9	B308	115	4,987	110	977	1,335	2,313	121	58	137	1,642	122
10	標準 セシリア	115	4,552	100	834	1,070	1,904	100	56	112	1,344	100
11	A636	118	4,263	94	965	627	1,592	84	39	88	1,055	78
12	B703	120	5,432	88	912	1,261	2,173	84	58	129	1,545	84
13	SM8490	122	6,282	102	1,641	1,177	2,818	109	42	157	1,884	103
14	KE97300	123	6,945	113	1,349	1,297	2,645	103	49	152	1,819	99
15	SH2821	125	6,843	111	1,376	1,139	2,515	98	45	142	1,704	93
16	SH2822	125	6,408	104	1,216	1,077	2,294	89	47	130	1,565	85
17	標準 32F27	126	6,163	100	1,083	1,494	2,577	100	58	152	1,831	100

収量)も同等または高いことが認められた(表4)。

SM8490は検定3年目の品種であり、平成23、24年の栽培結果(佐藤ら2013、2014)においても収量性が優れていることが認められているため、奨励品種として有望であることが示唆された。

文 献

- 独立行政法人畜産草地研究所. 2001. 飼料作物系統適応性検定試験実施要領(改定5版). 畜産草地研究所平成13-1資料. 農林水産技術会議事務局
- 佐藤寛子, 鈴木盛栄, 渡邊潤, 加藤真姫子. 2013. 飼料作物奨励品種選定試験－飼料用とうもろこ

し(平成23年度)－. 秋田県畜産試験場研究報告
第27号, 34-36

佐藤寛子, 渡邊潤, 加藤真姫子. 2014. 飼料作物奨
励品種選定試験－飼料用とうもろこし(平成24
年度)－. 秋田県畜産試験場研究報告 第28号,
96-98

秋田県畜産試験場研究報告

平成27年3月24日発行

編集兼発行 秋田県畜産試験場

代表者 **伊 藤 盛 徳**

〒019-1701

秋田県大仙市神宮寺字海草沼谷地13-3

電 話 総務企画室 0187(72)2511

飼料・家畜研究部 3814, 3871

比内地鶏研究部 3813

F A X 総務企画室 0187(72)4371

研 究 部 2807

印 刷 所 株式会社 **三森印刷**

〒014-0021

秋田県大仙市福田町12-29

電 話 0187(62)0433

F A X 0187(62)0426

「この印刷物は、315部印刷して、単価は380円です。」

