

完熟期収穫籾米サイレージの破碎処理が第一胃内消化性に与える影響

渡邊 潤・佐藤寛子・加藤真姫子・酒出淳一・植村鉄矢

要 約

飼料自給率向上を図るため、国産濃厚飼料として飼料用米の生産利用が強く推進されている。これまで飼料用米については黄熟期でのサイレージ調製が主であるが、食用米と同様に、完熟期収穫したものの栄養収量が高いとされている。完熟期籾米で問題となるのが、原料水分の低下による発酵困難と、未消化粉の増加であり、破碎処理は必要不可欠となる。そこで、完熟期籾米を利用したサイレージの発酵品質と破碎程度が第一胃内消化率に与える影響を明らかにした。フレコン貯蔵された完熟期収穫籾米は、貯蔵後2ヶ月後の開封でpH 5.7、サイレージ臭を示した。乾物消失率は、第一胃内72時間滞留で無破碎：5%、ローラー間隙設定 1.0 mm；40%、0.5 mm；70%、0.2 mm；80%であった。未消化な粉の割合は、0.2 mmにおいても10%残存していた。

緒 言

飼料自給率向上を図るため、国産濃厚飼料として飼料用米の生産利用が強く推進されている。秋田県でも、戸別所得補償制度の開始と併せて、栽培面積はH20に25 ha、H21は127 haであったものが、H22は747 haと急増しており、これに伴い家畜への飼料用米給与事例も、増加しているものと考えられる。

これまで飼料用米については、完熟期収穫米を乾燥貯蔵したものを、圧ベン、粗挽き、挽き割りなどの加工処理をして給与するものと、黄熟期収穫米を、前述の加工処理をした後密閉貯蔵してサイレージ化した、ソフトグレインサイレージ調製技術がある。乾燥処理を行うことは、乾燥費用の増加や、長期保存する場合に食用米と別扱いできる貯蔵保管施設が必要となることから、戸別で取り組むことは難しいと考えられる。一方、ソフトグレインサイレージは、黄熟期の水分30~35%の籾米は、すぐに好気的変敗が始まるとされる(農研機構2011)ことから、サイレージ調製に際して、収穫と同時または1~2日以内に処理することが薦められているが、水田での米の収穫作業速度に比べて、破碎処理速度が劣ることから、

作業効率が破碎処理に制限されるという問題もある。また、完熟期籾米は、原料水分の低下による発酵困難と、未消化粉が増加するとして、黄熟期籾米にくらべて劣るとされてきたものの、食用米と同様に、完熟期収穫したものの栄養収量が高いとされており、国産濃厚飼料の位置付けとされる飼料用米を利用するに当たっては最大収量を期待したい。以上の様な背景から、低コスト、高栄養な、飼料用米利用を考えた場合に、完熟期籾米を未処理のままソフトグレインサイレージに調製する技術が必要となる。ただし、完熟期籾米を利用する場合に、先に示した発酵が不安定という点と、破碎処理が施されなければ、ほとんど消化しないという問題がある。そこで本研究では、完熟期籾米を利用したサイレージの発酵品質と破碎程度が第一胃内消化率に与える影響を明らかにする。

材料および方法

1. ソフトグレインサイレージの調製：耕種農家において栽培(秋田県大仙市神宮寺)された食用米品種「あきたこまち」を用いた。食用米の収穫時期と同様の完熟期に、コンバインにより収穫後、直ちに水田圃場から持ち出された生籾

米 500 kgを、ナイロン製内袋を入れた、フレコンバック（1立方メートル）に封入し、その 2 g の乳酸菌（畜草 1 号、雪印種苗株式会社）を 20 リットルの水に溶かしたものを添加、密閉した。

2. 飼料成分：「三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック」（日本草地畜産種子協会）の飼料分析手法に従って、一般飼料成分の他、pHなど発酵品質を測定した。
3. 破碎処理：フレコンバックに密閉貯蔵したソフトグレインサイレージを、飼料用米粉砕機（デリカ・DHC-4000M）を用いて、ローラー間隙幅を 1.0 mm, 0.5 mm, 0.2 mmの3パターンで調整し、破碎処理を行った。
4. 第一胃内消化率：ルーメンカニューレ装着牛（ホルスタイン種乾乳牛）を用い、ナイロンバック法（自給飼料利用研究会 2011）により乾物消失率および成分消失率を算出した。また、

未消化物として、ナイロンバック内に残った試料について、籾米の形状が残っているものの重量割合を計測した。

結 果

1. 飼料成分値

完熟期籾米ソフトグレインサイレージの水分は26.8%、粗蛋白質含量7.1%、粗脂肪2.2%、NFE76.7%、粗灰分5.0%、粗繊維9.0%であった。デタージェント繊維分析値では、ADF11.4%、NDF37.0%、酵素分析法では、OCW16.4%、Ob1.5%であった（表1）。

2. 発酵品質

完熟期籾米ソフトグレインサイレージのPHは 5.73 で、サイレージ臭を示した。VBNは0、T-N0.82であった。VFA含量（現物中%）は、乳酸 0.14、酢酸 0.05、酪酸 0.00 であった。V-スコアは 100「良」であった（表2）。

表1 飼料成分

乾物中%				
水分(%)	粗タンパク質	粗脂肪	NFE	粗灰分
26.8	7.1	2.2	76.7	5.0
乾物中%				
粗繊維	ADF	NDF	OCW	Ob
9.0	11.4	37.0	16.4	15.5

表2 発酵品質

pH	乳酸	酢酸	酪酸	VBN	T-N
5.73	0.14	0.05	0.00	0.00	0.82

3. 破碎処理設定と粒度分布

2.0 mmメッシュより大きい粒度の割合は、無処理では、99.8%とほぼすべてであった。破碎条件別では、ローラー間隙 0.2 mmで 63.6%、0.5 mmで 76.2%、1.0 mmで 89.4%となり、1.0 mm~2.0 mmのサイズは、ローラー間隙 0.2 mmで23.8%、0.5 mmで 15.6%であった。いずれの破碎処理条件でも約 90%が 1.0 mmメッシュ以上のサイズであった (図1)。

4. 破碎条件と乾物消失率

無破碎では、72 時間でも 5.1%の消失率であった。ローラー間隙 1.0 mmでは、25.8%・33.4%・38.8%・41.8% (12・24・48・72時間; 以後同様に表記)、0.5 mmでは、49.1%・52.5%・

70.6%・62.6%、0.2 mmでは、53.9%・66.6%・80.4%・74.9%であった (図 2)。

72 時間滞留したナイロンバック内残渣における未消化粉の消化試験前サンプル重に対する割合は、無破碎で 97.1%、ローラー間隙 1.0 mmで 42.2% 0.5 mmで22.4%、0.2 mmで10.8%であった (表3)。

5. 破碎条件と蛋白消失率

無破碎では、15.2%、2.7%、1.4%、3.0% (12・24・48・72 時間; 以後同様に表記) であった。ローラー間隙 1.0 mmでは、27.9%・37.5%・38.6%・49.1%、0.5 mmでは、35.6%・49.0%・71.3%・57.7%、0.2 mmでは、60.9%・72.8%・86.5%・83.1%であった (図 3)。

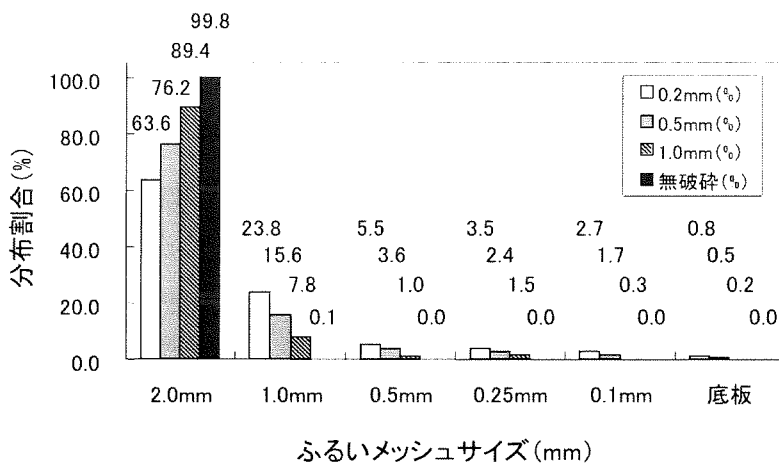


図1 破碎処理設定と粒度分布

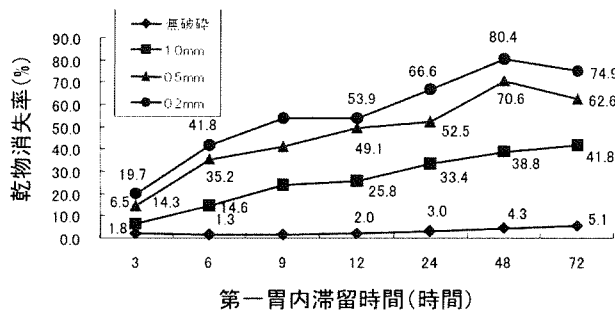


図2 破碎処理条件と乾物消失率

表3 破碎処理設定と粒度分布

処理条件	消化前サンプル重 あたりの割合(%)
無破碎	97.1
1.0mm	42.2
0.5mm	22.4
0.2mm	10.8

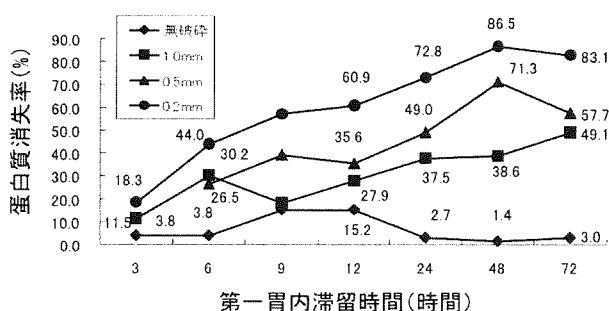


図3 破碎処理条件と蛋白質消失率

まとめおよび考察

1. 原料の収穫から乳酸発酵保存

本研究において、従来のソフトグレインサイレージとしての飼料用米利用と異なる点は、黄熟期ではなく完熟期の籾米であることと、圃場で収穫された生籾米を、破碎処理を行わず封入・密閉してサイレージ化を試みたところである。この2点を採用することによるメリットとして、完熟期籾米を用いることにより、耕種農家は、そのほかの食用米収穫圃場と同時期における収穫作業計画を策定でき、破碎処理を行わないことにより、圃場から収穫発生する生籾を調製までの間放置しておく時間が無くなる事である。飼料用米のサイレージ利用に際して、圃場での収穫作業の方が早く、破碎までの保管期間に変質が発生する事例が報告されている(土井 2011)。西山ら(2010)は、完熟期籾米を用いたソフトグレインサイレージを調製する際

に、収穫1日、破碎1日、封入密閉1日と収穫から調製まで3日の行程で行っている。これらの報告に加えて、完熟期籾米では、原料水分の低下による発酵困難であるとされている(農研機構 2010)ことから、未破碎では一層難しいと推測される。本研究では、pH 5.7と、やはり十分な乳酸発酵は得られていないと考えられるものの、臭気はサイレージ臭を示し、フレコン開封後の好気的変敗も一定時間抑制されているようであった。上垣ら(2010)は、無破碎籾米で水分30-40%に調整し乳酸菌添加することにより、pH 4.2程度まで低下することを示しており、同条件でより良い発酵品質を得る可能性もある。本サイレージ調製に併せて、破碎処理を行ったのち、フレコンバック封入したソフトグレインサイレージも調製したが、それは、pH 4程度の良好な乳酸発酵を示していた。このことから、完熟期籾米を用いても、ソフト

グレインサイレージ調製は十分に可能であることが推測され、今後、圃場からの収穫作業速度に対応した破碎処理機械およびシステムを組み合わせる事により、より高品質な完熟期籾米ソフトグレインサイレージ調製が可能となると考えられる。

2. 破碎処理条件と第一胃内消化率

牛へ飼料用米を給与する場合、そのまま給与しても消化性が悪く、物理的処理を施さなければ、ソフトグレインサイレージでは4.8%しか消失しないとされている（農研機構 2010）。破碎処理を行う手段として、デリカ社の飼料用米破碎機を利用したが、破碎機には、粒度の設定として、ローラー間隙を0.2、0.5、1.0の3段階に調整できる機能があり、間隙幅が狭ければ粒度は小さくなるが、破碎処理速度は低下する。そこで、破碎機の設定と破碎程度との関係を把握するために、粒度分布を明らかにした。その結果、無破碎ではほとんどが2.0 mmメッシュ以上のサイズであり、ローラー間隙が狭くなるに従って、2.0 mmメッシュ以上の粒度のものはなくなるものの、最も狭い0.2 mmでは63.6%であった。しかしながら、その内容は、破碎の衝撃で外れた籾殻も多く存在していた。

乾物消失率は、ローラー間隙0.2 mmでは、第一胃内滞留時間48時間が80.4%と最大であり、間隙0.5 mmでは、滞留時間48時間70.6%が最大であった。最大の消失率に差があること

から、破碎処理条件の違いによって、未消化な籾米の割合が影響を受けていると推測される。無破碎では、72時間消失率5.1%と、先の報告（農研機構 2010）と同様の数値であった。ローラー間隙0.2 mm、0.5 mmの滞留72時間で、消失率が低下した理由として、破碎条件が強まるほど、萎縮と色調が黒ずむ変化が認められ（写真1）、繊維状の物質が籾殻に付着している状況が確認された。これは、ルーメン由来のものと考えられ、ナイロンバック内残渣重量を増加させたものと考えられる。

破碎処理設定によって、消化率の最大値が変化することから、どのような状態で未消化となっているかを確認したところ、まったく破碎処理を受けていない、籾米の形状をそのまま保持しているものが、未消化であることがわかった。そこで、滞留72時間残渣中の未消化籾米割合を確認したところ、最も狭いローラー間隙0.2 mmでも10%であった。破碎処理したソフトグレインサイレージが、10%未消化な状態で排出されるとすれば、その値が大きいものであるか小さいものであるか解釈が分かれる事も考えられるが、「飼料用米の生産・給与技術マニュアル2010」（2010）では、破碎率100%のイネソフトグレインサイレージの、乾乳牛における子実排泄率は12.8%と推定されており、本研究で用いた破碎機のローラー間隙0.2 mmで十分な破碎効果を得られたとも言える。

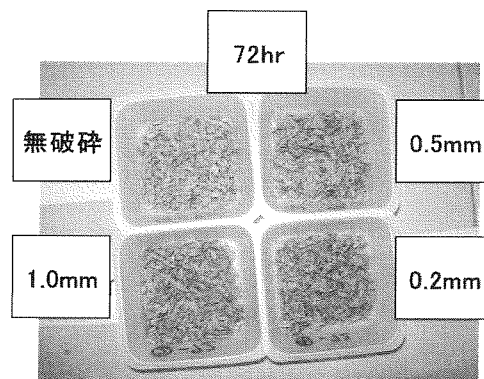


写真1 72時間滞留残渣

ローラー間隙 0.2mmで約 10%の未消化粉が糞中排泄されるとすると、実粒数としては、相当数の未消化粉が糞中に含まれると推測される。飼料用米の栽培において、しばしば落下種子が翌春に発芽し、成熟期まで生育する漏生イネの問題があるが、未消化粉が含まれる堆肥の水田圃場還元が、問題無いかは不明である。そこで、ルーメンカニューレから、無破碎ソフトグレインサイレージを、第一胃に投入し、消化管を通過してきた未消化粉を糞中から取り出し、発芽試験を行った。その結果、任意の 1083 粒のうち 2 粒、0.18%の発芽が確認された。食用米品種「あきたこまち」の 10 aあたりの粒数は、30,000 千粒であることから、そこから得られた飼料用米利用で、54 千粒発芽する計算となるが、一般的に堆肥化課程で、60℃・2 日間の加温を経ることにより雑草種子を死滅させることができる（畜産環境整備機構 2003）ことから、適正な堆肥化を行うことで未消化粉の発芽問題は解決するものと考えられる。

文 献

- 上垣隆一, 重田一人, 小川増弘, 小林寿美, 遠野雅徳, 蔡義民. 2010. 飼料米の調整貯蔵時の処理がソフトグレインサイレージの発酵品質に及ぼす要因の解析. 日本畜産学会報 81(3), 353-362.
- 財団法人畜産環境整備機構. 2003. 畜産環境アドバイザー養成研修会資料. pp.1-26.
- 土井真也. 2011. コントラクターを核とした水田農業に立脚した肉牛生産モデルの洪畜. 平成23年度飼料イネの研究と普及に関する情報交換会資料. pp.51-60.
- 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構. 2011. 飼料用米の生産・給与技術マニュアル (2010年度版) pp.P86-95. pp.99-103.
- 西山厚志, 石崎重信. 2010. 泌乳牛への米ソフトグレインサイレージ給与の影響. 千葉県畜産総合研究センター研究報告 10, 1-5.

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 —

佐藤 寛子・渡邊 潤・加藤 真姫子・植村 鉄矢

要 約

牧草生産における家畜ふん堆肥の適正な利用方法の提示を目的に、牛ふん堆肥と化成肥料の組み合わせが、牧草の収量や飼料成分に与える影響について検討を行った。

その結果、牛ふん堆肥を施肥窒素の50%まで代替して施肥しても収量や栄養成分は低下させず、且つ自家生産堆肥を利用すれば低コストに牧草の生産が出来ることが示された。

緒 言

平成16年に家畜排せつ物法が完全施行されたこと、近年の化成肥料原料価格の高騰などにより、これまで以上に堆肥の利用促進が求められている。畜産経営内における堆肥利用の主体は飼料作物であり、環境負荷低減および資源循環に配慮した適正な堆肥の利用方法の提示が必要である。

本報告では、牧草の持続的生産技術を確立するために、堆肥と化学肥料の組み合わせ利用が生産牧草の収量、飼料成分に与える影響について明らかにすることを目的とする。

材料および方法

1. 供試草地：2005年9月造成のオーチャードグラス単播草地
2. 供試牧草：2009, 2010年に生産された一番草
3. 施肥条件：年間施肥量N 20 kg (配分は早春10 kg, 一番草後6 kg, 二番草後4 kg)
4. 試験区分：
 - 1) 化成肥料区
(化学肥料100%, 化学肥料由来窒素10kg)
化成肥料は、複合肥料(N:20%, P₂O₅:10%, K₂O:20%)を施用
 - 2) 堆肥代替区
試験区1:30%完熟堆肥代替区
(化成肥料由来窒素7 kg, 堆肥由来窒素3 kg)

試験区2:50%完熟堆肥代替区

(化成肥料由来窒素5 kg, 堆肥由来窒素5 kg)

試験区3:30%中熟堆肥代替区

(化成肥料由来窒素7 kg, 堆肥由来窒素3 kg)

試験区4:50%中熟堆肥代替区

(化成肥料由来窒素5 kg, 堆肥由来窒素5 kg)

5 用いた堆肥および化成肥料

1) 完熟牛ふん堆肥

酸素消費量1 μg/g/min, 市町村等にある堆肥センターで生産された堆肥

水分63%, 全窒素0.8%, P₂O₅0.9%, K₂O1.3%, CaO1.1%, MgO0.4%

2) 中熟牛ふん堆肥

(中熟堆肥は仮称。完熟に対して中熟と表現。)

酸素消費量1.3 μg/g/min, 農家の堆肥舎で生産された堆肥

水分72%, 全窒素0.5%, P₂O₅0.5%, K₂O0.6%, CaO0.5%, MgO0.3%

3) 堆肥と併用して施肥した化成肥料

チッソ単体肥料(N21%)

6. 調査項目：収量、飼料成分として粗蛋白質、カリウム、カルシウム、マグネシウムを常法(自給飼料品質評価研究会編2009)により測定し、K/(Ca+Mg)当量比は計算により求めた。TDN含量はオーチャード単播草地であるため

ADF含量からの推定式により算出した (津留崎ら 1992).

7. 統計解析: 一元配置分散分析の後, Tukeyの方法で検定

結 果

表1に乾物収量について示した. 2009, 2010年ともに各区に有意な差は認められなかったものの, 化成肥料区が2009年は59.4 kg/a, 2010年は72.1 kg/aであったのに対して, 試験区は, 2009年が61.1~71.7 kg/a, 2010年が67.8~91.6 kg/aと同等またはそれよりも多い値を示した.

表2には粗蛋白質とTDN含量について示した. 粗蛋白質含量については, 2009, 2010年ともに各区に有意な差は認められず, 2009年は化成肥料区が12.3%に対して試験区は11.3~12.1%と同等の値を示し, 2010年は化成肥料区が10.2%に対して中熟堆肥を30%代替した試験区3は8.6%

と低かったが, それ以外の試験区は10.0~11.7%と同等の値を示した. TDN含量についても有意な差は認められず, 2009年は化成肥料区が57.4%であったのに対して試験区は57.6~57.9%と同等であり, 2010年は化成肥料区が59.7%に対して試験区は58.2~59.9%と同等であった.

表3にはミネラルバランスを示した. カリウムは, 2009年が化成肥料区においては3.5%, 試験区は2.8~3.1%と低く, 2010年の結果も化成肥料区が3.1%, 試験区は2.6~2.9%と低かった. カルシウムとマグネシウムは2009, 2010年ともに化成肥料区が0.1%であったのに対して試験区は0.1~0.2と同等であった. K/(Ca+Mg)当量比は, 2009年は化成肥料区が4.7%に対して完熟堆肥を施用した試験区1と2は3.3と3.1%と有意に低かった. 2010年は化成肥料区が4.8%であったのに対し, 有意な差では無いが試験区は3.2~3.9%と低い値を示していた.

表1 乾物収量 (kg/a)

	化成肥料区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4
2009	59.4±3.3	69.3±0.7	61.1±4.1	71.7±3.6	65.5±3.8
2010	72.1±9.7	73.6±1.9	67.8±7.1	69.3±6.5	91.6±6.9

値は平均値±標準誤差

表2 粗蛋白質とTDN含量 (乾物%)

		化成肥料区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4
2009	粗蛋白質	12.3±0.7	11.7±0.7	11.3±0.5	12.1±0.8	12.1±0.5
	TDN	57.4±0.2	57.6±0.5	57.7±0.7	57.9±0.3	57.7±0.2
2010	粗蛋白質	10.2±0.2	11.0±0.1	10.0±0.1	8.6±1.3	11.7±0.9
	TDN	59.7±0.2	59.9±0.4	58.2±0.2	59.8±0.7	59.7±0.7

表3 ミネラルバランス (乾物%)

		化成肥料区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4
2009	K	3.5±0.1	2.8±0.1	2.8±0.2	3.1±0.2	3.0±0.1
	Ca	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	Mg	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	K/(Ca+Mg) 当量比	4.7±0.2a	3.3±0.3b	3.1±0.4b	3.5±0.5ab	3.8±0.3ab
2010	K	3.1±0.1	2.8±0.1	2.6±0.0	3.0±0.2	2.9±0.2
	Ca	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	Mg	0.1±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
	K/(Ca+Mg) 当量比	4.8±0.6a	3.2±0.1b	3.4±0.3b	3.6±0.5ab	3.9±0.3ab

値は平均値±標準誤差

P<0.05: 異符号間に有意差あり

表4 コスト計算

化学肥料区	7,555 円/10a
30%中熟堆肥代替区	4,375 円/10a
50%中熟堆肥代替区	3,905 円/10a
以下の数値を参考に試算	
散布料金 (M県T市の農作業標準料金より)	
化成肥料散布	730 円/10a
堆肥散布	2,000 円/10a
化成肥料費 草地化成212	2,730 円/10a
硫安	987 円/10a
堆肥 自家生産のため	0 円/10a

表4には、コスト計算の結果を示した。化成肥料区が10a当たり7,555円であるのに対し、自家生産した堆肥を利用することによって30%代替では4,375円、50%代替では3,905円と生産コストは低くなった。

まとめと考察

オーチャードグラス単播草地においては、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含量などを化成肥料のみで施肥を行った場合と同等であることがわかった。また、農家の堆肥舎で生産された中熟牛ふん堆肥においても同様の結果が得られた。

ミネラルバランスについては、堆肥と併用して複合肥料ではなくチッソ単体肥料を施用すること

が、カリウムの上昇を抑え、慣行区よりもK/(Ca+Mg)当量比を低くすることが出来た(渡邊ら2011)。この結果は、完熟牛ふん堆肥だけではなく農家の堆肥舎で生産された中熟牛ふん堆肥においても同様であった。

牧草の生産コストについては、自家生産堆肥を利用することにより化成肥料費を削減できるため、化成肥料のみで生産した場合よりも低くなることが示唆された。

文 献

- 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.
- 津留崎正信, 棟加登きみ子, 阿部亮. 1990. 牧乾草と牧草サイレージに共通したTDN含量の推定. 日草誌36(別), 139-140.
- 渡邊潤, 佐藤寛子, 加藤真姫子, 植村鉄矢. 2011. 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4報)ー連用4年目ー. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告25, 11-16.

黒毛和種育成期における飼料用米ソフトグレインサイズ 給与技術の開発 (第1報)

酒出淳一・植村鉄矢・佐藤寛子・渡邊潤・関屋万里生*・伊藤隆

* 秋田県由利地域振興局

要 約

黒毛和種育成期における飼料用米ソフトグレインサイズ (以下、飼料用米 SGS) 給与技術を開発するため、7ヵ月齢の去勢育成牛に 80 日間濃厚飼料の代替として30%の飼料用米 SGS を給与した。発育について、慣行飼養方法と遜色ない増体を示した。また、試験期間中において、飼料用米 SGS 給与による下痢は認められなかった。

緒 言

近年、肉用牛への飼料用米給与試験については、籾米、玄米、ソフトグレインサイズ (以下 SGS) などを用いて実施され、様々な知見が報告されているが、黒毛和種育成牛を用いた試験成績の報告はなく、濃厚飼料代替としてどの程度育成牛へ給与が可能か明らかにされていない。そこで本試験では、黒毛和種育成牛を用い、濃厚飼料の代替として飼料用米 SGS を 30%給与し、発育や飼料摂取量、健康状態などを調査し、飼料用米 SGS による濃厚飼料の 30%代替が可能かどうか検討した。

材料および方法

1. 供試牛

当场繁養の黒毛和種去勢育成牛 7 頭 (7ヵ月

齢) を用いた。試験牛の血統は表 1 のとおりである。

2. 試験期間 80日間

3. 試験区分

育成牛への濃厚飼料給与量について、当場の慣行飼養を実施する区(対照区)と濃厚飼料の 30%を飼料用米 SGS で代替する区(試験区)の 2 区を設置し、対照区に 3 頭、試験区に 4 頭を配置した。

4. 給与飼料用米 SGS の調製

給与した飼料用米 SGS には、22 年 10 月に秋田県大仙市の農家圃場で生産された食用品種(あきたこまち)を用い、収穫後直ちに 1 t 用のフレコンバックに生粉状態で詰め込み (500 kg)、乳酸菌(畜草 1 号) 2 g を 20 L の水に溶か

表 1 供試牛の概要

区分	生年月日	性別	父	母方祖父	母方祖母の父
試験区	H22.4.3	去勢	篤隼福	義安福	北国7の8
	H22.4.7	去勢	篤隼福	義安福	糸安福
	H22.4.29	去勢	篤隼福	安平照	平茂勝
	H22.5.11	去勢	菊安165	義安福	糸勝
対照区	H22.4.7	去勢	菊安165	龍平	平茂勝
	H22.4.19	去勢	篤隼福	義安福	茂勝
	H22.5.10	去勢	篤隼福	義安福	紋次郎

表 2 給与 SGS 成分分析結果

処理	容器	添加剤	水分	乾物中成分(%)								
				粗タンパク質	粗脂肪	NFE	粗繊維	ADF	NDF	OCW	Ob	粗灰分
未粉碎	フレコン バック	乳酸菌	26.8	7.1	2.2	76.7	9.0	11.4	37.0	16.4	15.5	5.0

表 3 給与 SGS の発酵品質

pH	VBN	T-N	VFA(現物中%)			
			乳酸	ギ酸	酢酸	酪酸
5.7	0.00	0.82	0.14	0.00	0.05	0.00

して添加し、密封し調製した。

5. 飼料給与方法

対照区は、濃厚飼料および粗飼料をそれぞれ朝夕 2 回に分けて給与した。

試験区は、濃厚飼料と飼料用米 SGS を給与前に混合し、対照区と同様に実施した。なお、飼料用米 SGS は混合前に飼料米破砕機(デリカ製 DHC-2000)を用い、破砕粒度 2.0 mm 以下になるよう 2 回の破砕作業を実施した。

6. 管理方法

試験牛は単房で飼養し、給与時間は敷料の交換は 1 週間ごととした。

7. 調査項目

1) 飼料用米 SGS の成分分析と発酵品質

飼料用米 SGS は開封時に採材し、成分分析と発酵品質を調査した。

(1) 飼料摂取量

毎日、朝の飼料給与前に残食を採取し、計量して飼養摂取量を算出した。

(2) 体測(体重・体高・胸囲・腹囲)

体測は開始時から 2 週間隔で、毎回午後 1 時に測定した。

結果および考察

表 2 に給与した飼料用米 SGS の成分分析結果を、表 3 に、飼料用米 SGS の発酵品質を示した。水分含量は 26.8% と低水分であり、粗蛋白質や粗脂肪などは粳米の成分値とほぼ同様であった。水

分含量が低かったことから、発酵品質は pH 5.7 とサイレージとしては高く、良好な発酵をしたとはいえなかったが、不良な発酵は見られず、カビの発生もなかった。

試験牛 1 頭当たりの期間別飼料給与は、表 4 のとおり実施した。80 日間の 1 頭当たりの飼料摂取量(原物)を比較すると、試験区で濃厚飼料(配合飼料+SGS+大豆粕) 379.4 kg、粗飼料(乾草) 277.5 kg、対照区で濃厚飼料(配合飼料+大豆粕) 330.1 kg、粗飼料(乾草) 273.6 kg と、濃厚飼料と粗飼料の摂取量に両区の差は認められなかった(表 5)。

試験期間中の体重の推移は両区とも順調に推移した(図 1)。

試験期間(80 日間)中の増体量は、試験区が 80.5 kg、対照区が 76.3 kg と、わずかに試験区が対照区を上回ったが、有意な差は認められず、日増体量については、試験区が 1.0 kg、対照区が 1.0 kg と同じであった(表 6)。

また、体高、胸囲、腹囲の体測値について、試験開始時と試験終了時の増加幅を比較すると、それぞれ試験区が 7.7 cm、14.5 cm、19.5 cm、対照区は 7.6 cm、12.6 cm、17.0 cm とほぼ同様の増加であった(表 7)。

また、濃厚飼料の代替として 30% の飼料用米 SGS を給与しても、試験牛に下痢や食欲不振などは認められなかった。

表4 試験牛1頭当たりの期間別飼料給与方法

期間	原物kg/頭・日						
	対照区			試験区			
	濃厚飼料	大豆粕	乾草	濃厚飼料	SGS	大豆粕	乾草
1-7日	4.0	0.3	4.0	3.0	1.3	0.3	4.0
8-14	4.0	0.3	4.0	3.0	1.3	0.3	4.0
15-21	4.1	0.3	4.0	3.2	1.3	0.3	4.0
22-28	4.1	0.3	4.0	3.2	1.3	0.3	4.0
29-35	4.2	0.3	4.0	3.2	1.4	0.3	4.0
36-42	4.2	0.3	4.0	3.2	1.4	0.3	4.0
43-49	4.4	0.3	4.0	3.3	1.4	0.3	4.0
50-56	4.4	0.3	4.0	3.3	1.4	0.3	4.0
57-63	4.5	0.3	4.0	3.5	1.5	0.3	4.0
64-70	4.5	0.3	4.0	3.5	1.5	0.3	4.0
71-80	5.0	0.3	4.0	3.6	1.7	0.3	4.0

表5 育成牛の1頭当たり飼料摂取量(原物)

試験区分	頭数(n)	試験期間(日)	濃厚飼料(kg)	粗飼料(kg)
試験区	4	80	379.4 ± 42.8	277.5 ± 11.4
対照区	3	80	330.1 ± 12.3	273.6 ± 10.8

平均値±標準偏差

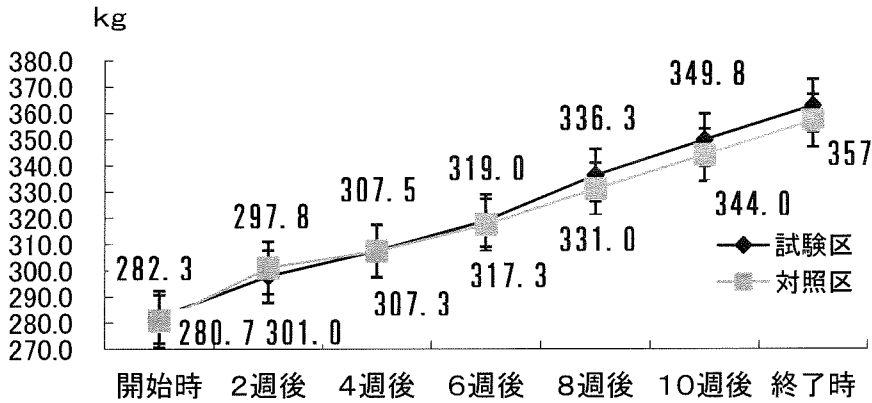


図1 試験牛の体重推移

表6 試験期間中の増体成績

	頭数(n)	開始時月齢	終了時月齢	開始時体重(kg)	終了時体重(kg)	期間増体量(kg)	日増体量(kg)
試験区	4	7.3±0.3	10.0±0.3	282.3±16.0	362.8±21.4	80.5±12.2	1.0±0.2
対照区	3	7.1±0.3	9.8±0.3	280.3±23.8	357.0±30.1	76.3±9.0	1.0±0.1

平均値±標準偏差

表7 試験期間中の体測値

試験区分	単位:cm					
	体高		胸囲		腹囲	
	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時
試験区	115.3 ±4.4	123.0 ±2.9	147.8 ±3.8	162.3 ±2.1	182.8 ±3.9	202.3 ±6.7
対照区	111.7 ±2.5	119.3 ±3.5	149.7 ±3.2	162.3 ±4.9	180.7 ±9.6	197.7 ±8.1
平均値±標準偏差						

謝 辞

本研究は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構の委託プロジェクト「自給飼料多給による高付加価値牛肉・牛肉生産技術の開発」として実施した。

低耐凍性ウシ精子に対するリノール酸アルブミンと長期平衡の効果

高橋利清・西宮 弘・加藤真姫子・伊藤 隆

要 約

健康状態や乗駕欲および凍結前の精液性状は異常ないが、凍結後の精子運動性が極端に低下する種雄牛が存在する。本研究では、低耐凍性精子に対する凍結希釈液へのリノール酸アルブミン (LAA) 添加と長期間平衡の効果を検討した。低耐凍性を示す種雄牛Aの精液を採取し、1次希釈液時に1 mg/mlのLAAを添加して処理した。そして、4℃での平衡時間を30時間にするこゝで、有意に高い運動率が得られた。この精液を用いて体外受精および人工授精を行い、正常な受精能を確認し、産子も得られた。以上より、凍結用希釈液にLAAを添加し、30時間低温平衡することで、低耐凍性を示す凍結融解後のウシ精子運動性を改善する可能性が示唆された。また、この精子は正常な受精能力と個体発生能力を有し、凍結精液の生産性向上に有効であると考えられる。

緒 言

家畜としての多くの牛は、凍結精液を使った人工授精で産まれている (Iritani 1980)。ウシ精子の凍結保存に関しては、Polgeら(1949)が、凍害保護剤としてグリセリンの有効性を見出したことで、現在までにニワトリ卵黄やスキムミルクを含むリン酸緩衝液に、耐凍剤としてグリセリンを添加した凍結液を用いる凍結方法が広く普及し、多くの種雄牛の人工授精用凍結精液が生産されている (Bunge と Sherman 1953; Fiser と Fairfull 1990; Siら 2004; Bergeron と Manjunath 2006)。

しかし、種雄牛の中には、健康状態や乗駕欲および採取直後の精液性状に問題はないものの、凍結保存を行うと極端に精子の運動性が劣る「耐凍性が低いウシ」が存在する。これは、人工授精用凍結精液の生産効率を損なう大きな問題となるほか、供給量不足などから子牛生産現場へ与える影響も大きい。近年、ウシ体外受精胚の発生培地へ、不飽和脂肪酸であるリノール酸にアルブミンを付与したりノール酸アルブミン(LAA)を添加することで、耐凍性が向上する (Hochiら 1999; Tominaga 2004; Laowtammathronら 2005)

という報告がある。

我々は、低耐凍性を示す種雄牛の凍結精液の生産性向上を目的に、凍結液へのLAA添加と長期間平衡が精子に与える効果について検討した。

材料および方法

1. 精液採取と検査

当場(秋田県農林水産技術センター畜産試験場)で繋養している黒毛和種種雄牛で、耐凍性が低いA牛と、耐凍性に問題がないB、CおよびD牛を用いた。精液は、当該牛を擬牝台に乗駕させ、ウシ用人工膣(富士平工業株式会社、東京)を用いて横取り法で採取した。採取した精液の量、色、臭気、精子数および運動性を検査し、正常と判定したものを供試した。

2. 精液の希釈

1次希釈：供試精液に等量の30℃に加温した18% (v/v) ニワトリ卵黄を含む卵黄クエン酸緩衝液を加えて希釈した(1次希釈)。1次希釈後直ちに30℃の温湯入りビーカーに入れた50 mlメスシリンダーに移し、これを4℃の恒温室中に静置して緩慢冷却を行った。冷却後、最終希釈量の1/2量になるように1次希釈液を加

えて静置した。

2次希釈：5時間以上冷却した後，2次希釈を行った。すなわち4℃恒温室中で最終希釈量の1/2量の14% (v/v) グリセリンを含む卵黄クエン酸ソーダ液を滴下しながら2時間の平衡を行った(最終グリセロール濃度7% (v/v))。

3. ストロー充填および凍結

2次希釈平衡後，ストローマシン(INT-705型,富士平工業株式会社)を用いて，ウシ人工授精用0.5 mlプラスチックストロー(富士平工業株式会社)に充填・封入した後，プログラムフリーザー(Forma Scientific 1010 Controlled Rate Freezing System, Artisan Scientific Corporation, Illinois, USA)を用いて-160℃まで冷却した後，直ちに液体窒素中に投入した。

4. 凍結精液の融解

凍結保存していた精液ストローを，38.5℃の温湯に15秒以上浸漬して融解した。

5. 試験区分

試験1. 平衡時間およびLAA処理がウシ精子の運動性に及ぼす影響

1次希釈後の緩衝冷却(平衡)時間を5時間とする當場慣行法を対照区とした。平衡時間を30時間に延ばしたLT区および，対照区の1次希釈液にリノール酸アルブミン(Sigma-Aldrich Chemicals, Missouri, USA)を1 mg/ml添加，平衡時間を30時間に延ばしたLT+LAA区を設定し，低耐凍性を示すA牛および通常の耐凍性を示すB, C牛の精子運動性を比較した。

精子運動性は，精液検査盤(富士平工業株式会社)を用い，38.5℃のホットプレート上，顕微鏡下で観察した。精子の運動性は次の5つに分類して判定した。+++:運動が激烈で最活発な前進運動，++:活発な前進運動，+:微弱な前進運動，±:振り子運動，-:運動なし。本研究では，+++の割合を運動率として検討

した。

試験2. 長期平衡およびLAA処理したウシ凍結精液が体外受精に及ぼす影響

試験1の対照区およびLT+LAA区で得られた，凍結融解後の運動性が良好なAおよびB牛の凍結精液を用いてTakahashiら(2009)の方法に従って体外受精を行った。すなわち，屠畜場にて採取した卵巣から吸引法にて未成熟卵子を採取し，これを20時間の成熟培養した後，媒精処理した精子により受精を行った。発生培養にはウシ血清アルブミン加SOFaaを用い，5%CO₂，5% O₂，90%N₂，38.5℃，飽和湿度の条件で培養した。受精48時間後に胚の分割率(%)，8日後に胚盤胞発生率(%)を調べた。

試験3. 長期平衡およびLAA処理したウシ凍結精液が人工授精に及ぼす影響

A牛および通常の耐凍性を示すD牛の凍結精液を用いて，ホルスタイン種雌牛に人工授精(AI)を行い，体内での受精能力を調査した。すなわち，D牛についてLT+LAA処理にて作製した凍結精液を5頭にAIし，A牛については，通常処理(対照区)にて作製した凍結精液を10頭に，LT+LAA処理にて作製した凍結精液を8頭にAIした。受胎確認は，人工授精60日後に直腸検査により行い，各区の受胎率を比較した。

6. 統計処理

Stat Viewプログラム(SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)を用い，すべてのパーセントデータをアークサイン変換後ANOVA法およびFisher's PLSD(ANOVA)法にて統計処理を行った。

結 果

試験1. 平衡時間およびLAA処理がウシ精子の運動性に及ぼす影響

A牛の精子の凍結・融解直後の運動率は、対照区と比較してLT区で有意差に高く(10.0% vs 38.8%; $P < 0.05$), LT+LAA区では対照区およびLT区と比較して有意に高かった(50.0%; $P < 0.05$). また、凍結直前の運動率は、LT+LAA区が他の区と比較して有意な低下抑制が認められた(82.5% vs 53.5%および55.0%; $P < 0.05$). BおよびC牛の精子では、凍結直前および凍結・融解直後の運動率に各区間で有意な差は認められなかった(表1).

試験2. 長期平衡およびLAA処理したウシ凍

結精液が体外受精に及ぼす影響

A牛の凍結精液を用いた体外受精において、対照区と比較してLT+LAA区の分割率(71.7% vs 83.3%)および胚盤胞発生率(26.7% vs 33.3%)に有意な差は認められず、通常の精子と同等の受精および発生率が得られた(表2).

また、B牛の凍結精液を用いた場合でも、分割率(73.3% vs 75.0%)と胚盤胞発生率(21.7% vs 31.7%)に有意差は認められず、体外での胚発生にLT+LAAの悪影響は認められなかった.

表1 平衡時間およびリノール酸アルブミンがウシ凍結精液の運動性に及ぼす影響

種雄牛	区分	試験回数	精液量 (ml)	精子数 (億/ml)	採取直後の 運動性(+++)	凍結直前の 運動性(+++)	凍結・融解直後 の運動性(+++)
A牛	対照区	4	7.8±1.7	13.9±4.3	86.3±4.1	53.8±6.5 ^a	10.0±0.0 ^a
	LT区					55.0±5.0 ^a	38.8±3.5 ^b
	LT+LAA区					82.5±4.3 ^b	50.0±3.5 ^c
B牛	対照区	4	5.6±1.1	14.5±1.8	87.5±4.3	83.8±4.1	48.8±6.5
	LT区					82.5±4.3	50.0±3.5
	LT+LAA区					87.5±4.3	57.5±4.3
C牛	対照区	4	6.9±0.7	14.6±1.2	87.5±2.2	77.5±4.3	36.3±15.2
	LT区					80.0±0.0	42.5±7.5
	LT+LAA区					80.0±0.0	47.5±4.3

種雄牛A: 精子が低耐凍性を示す牛、種雄牛B,C: 通常の耐凍性を示す牛

LT: 1次希釈の長時間(30時間)平衡、LAA: リノール酸アルブミン(1希釈時に1 mg/ml 添加)

+++ : 最活発な前進運動を行う精子の割合

異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

平均±標準偏差

表2 長期平衡およびリノール酸アルブミン処理したウシ凍結精液が体外受精に及ぼす影響

種雄牛	区分	供試卵数	発育段階別胚発生数(%)	
			分割	胚盤胞
A牛	対照区	60	43 (71.7)	16 (26.7)
	LT+LAA区	60	50 (83.3)	20 (33.3)
B牛	対照区	60	44 (73.3)	13 (21.7)
	LT+LAA区	60	45 (75.0)	19 (31.7)

種雄牛A: 精子が低耐凍性を示す牛、種雄牛B: 通常の耐凍性を示す牛

LT: 1次希釈の長時間(30時間)平衡、LAA: リノール酸アルブミン(1希釈時に1 mg/ml 添加)

発生検査 分割: 媒精後48時間、胚盤胞: 媒精後8日

表3 長期平衡およびリノール酸アルブミン処理したウシ凍結精液が人工授精に及ぼす影響

種雄牛	区分	人工授精頭数	受胎頭数(%)	不受胎頭数(%)
A牛	対照区	10	5 (50.0)	5 (50.0)
	LT+LAA区	8	5 (62.5)	3 (37.5)
D牛	LT+LAA区	5	3 (60.0)	2 (40.0)

種雄牛A: 精子が低耐凍性を示す牛、種雄牛D: 通常の耐凍性を示す牛

LT: 1次希釈の長時間(30時間)平衡、LAA: リノール酸アルブミン(1希釈時に1 mg/ml 添加)

試験3. 長期平衡およびLAA処理したウシ凍結精液が人工授精に及ぼす影響

A牛について、対照区では10頭にAIし、5頭が受胎(50.0%)した。LT+LAA区では8頭中5頭が受胎した(62.5%)。通常の耐凍性を示すD牛では、LT+LAA区で5頭中3頭が受胎した(60.0%)。なお、分娩後の産子の外貌はすべて正常であり、出生後の発育にも、特に異常は認められなかった(表3)。

考 察

ウシ精子の頭部表面は細胞膜で覆われているが、GrahamとFoote(1987)は、寒冷ショックからウシ精子を保護するリン脂質(ホスファチジルセリン、ホスファチジルコリンなど)の重要な作用は、細胞膜の流動性を高める点にあるとしている。また、ウシ精子の凍結用希釈液に、還元オリゴ糖の1種であるシクロデキストリンを添加すると、濃度依存的に精子膜のコレステロール濃度が上昇し、冷却後の生存性が向上したとの報告もある(PurdyとGraham 2004)。リン脂質やコレステロールは細胞膜の構成要素であり、精子凍結用希釈液への添加剤が、精子の耐凍性に影響を及ぼす可能性が考えられる。イネにおいては、低温耐性が強い品種ほど、原形質膜や液胞膜のリン脂質を構成する、リノール酸やリノレイン酸などの不飽和脂肪酸の割合が高く、逆に低温耐性が弱い品種では不飽和脂肪酸が低いが、低温暴露によっ

て高くなるとの報告がある(Kasamoら1992)。これらのことは、低温下では、細胞膜の不飽和脂肪酸が増加することによって、相転移温度が低下し、細胞膜の流動性が確保されていることを示唆している。

リノール酸アルブミン(LAA)は、ウシの体外発生胚の耐凍性を向上させる効果が確認されており(Hochiら1999; Tominaga 2004; Laowtammathronら2005)、Imaiら(1997)は、ウシ体外由来胚において、LAAは長時間培養の際に効果が大きいと報告している。本研究において、ウシ精子の凍結用希釈液にLAAを添加し、かつ4℃平衡を30時間行った場合(LT+LAA区)、耐凍性が低いウシの精子において、凍結直前および凍結・融解直後の運動性が向上することを確認できた。これは、長期間の平衡により、細胞膜の脂質二重層にリノール酸の取り込みが増加し、膜の流動性が維持された可能性が示唆される。また、Martinsら(2009)は、ウシ精巣上体精子を用いた場合、5℃で48時間までの保存では精子の生存性や体外受精胚の作出に問題はないものの、72時間保存した場合には生存性が低下したことを報告し、ブタの場合でも、精液採取後0-1日目より0-2日保存の精子では、受胎率が低下するとの報告がある(Johnsonら1982)。本研究においては、通常の耐凍性を示すウシの精子は、4℃で30時間平衡しても、運動性や体外受精胚の発生能、および人工授精時の受胎率に異常が認められなかったことか

ら、通常のウシ精子では、精液採取後 30 時間までの低温保存は、受精能に悪影響はないものと考えられた。一方、低耐凍性を示すウシ精子では、5 時間低温に暴露するだけで運動性が低下した。しかし、この様な精子でも、平衡時間を 30 時間まで延長することで、凍結・融解直後の運動性が改善された。これは、長期平衡により細胞膜に何らかの変化が起こり、2 次希釈の平衡時に、耐凍剤であるグリセリンの浸透が起こりやすくなったことが考えられる。また、LAA の作用は 5 時間平衡時には認められなかったことから、LAA の効果が発揮されるには、一定時間の低温暴露が必要であり、通常の精子と比較して、温度耐性に関わる細胞膜の脂質構成などが異なることも考えられる。長期平衡と LAA の組み合わせでは、長期平衡で、耐凍剤の浸透が促進され、LAA の作用により長期の低温平衡でも運動性の低下が抑制されることにより、凍結・融解後の運動性が改善されたと考えられるが、今後、作用機序に関する詳細な検討が待たれる。

以上より、ウシの精子凍結希釈液へ LAA を添加し、30 時間低温平衡することで、耐凍性が低いウシ精子の凍結・融解後の運動性が改善されることが示唆された。また、この精子は正常な受精能や個体発生能を有し、通常の凍結精液として流通可能な品質を有し、生産性の向上に有効であると考えられる。しかしながら、本研究のデータでは、低耐凍性を示した種雄牛 1 頭のデータであるため、LT+LAA 処理の効果を実証するためには、複数の低耐凍性を示す個体のデータで検討する必要がある。

謝 辞

本研究の実施にあたり、ウシ卵巣の採材に協力いただいた、秋田市食肉衛生検査所および秋田県食肉流通公社の職員諸氏に深謝します。

引 献

- Bergeron A, Manjunath P. 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Mol Reprod Dev* 73, 1338-1344.
- Bunge RG, Sherman JK. 1953. Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa. *Nature* 172, 767-768.
- Fiser PS, Fairfull RW. 1990. Combined effect of glycerol concentration and cooling velocity on motility and acrosomal integrity of boar spermatozoa frozen in 0.5-ml straws. *Mol Reprod Dev* 25, 123-129.
- Graham JK, Foote RH. 1987. Effect of several lipids, fatty acyl chain length, and degree of unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock and freezing. *Cryobiology* 24, 42-52.
- Hochi S, Kimura K, Hanada A. 1999. Effect of linoleic acid-albumin in the culture medium on freezing sensitivity of *in vitro*-produced bovine morulae. *Theriogenology* 52, 497-504.
- Imai K, Kobayashi S, Goto Y, Dochi O, Shimohira I. 1997. Cryopreservation of bovine embryos obtained by *in vitro* culture of IVM-IVF oocytes in the presence of linoleic acid albumin. *Theriogenology* 47, 347 (abst).
- Iritani A. 1980. Problems of freezing spermatozoa of different species. *Proc. 9th Int Cong Anim Reprod* 1, 115-132.
- Johnson LA, Aalbers JG, Willems CM, Rademaker JH, Rexroad CE Jr. 1982. Use of boar spermatozoa for artificial insemination: III. Fecundity of boar spermatozoa stored in Beltsville liquid and Kiev extenders for three days at 18 °C. *J Anim Sci* 54, 132-136.
- Kasamo K, Kagita F, Yamanishi H, Sakaki T.

1992. Low temperature-induced changes in the thermotropic properties and fatty acid composition of the plasma membrane and tonoplast of cultured rice (*Oryza sativa* L.) cells. *Plant Cell Physiol* 33, 609-616.
- Laowtammathron C, Lorthongpanich C, Ketudat-Cairns M, Hochi S, Parnpai R. 2005. Factors affecting cryosurvival of nuclear transferred bovine and swamp buffalo blastocysts: Effects of hatching stage, linoleic acid-albumin in IVC medium and Ficoll supplementation to vitrification solution. *Theriogenology* 64, 1185-1196.
- Martins CF, Driessen K, Costa PM, Carvalho-Neto JO, Sousa RV, Rumpf R, Dode MN. 2009. Recovery, cryopreservation and fertilization potential of bovine spermatozoa obtained from epididymides stored at 5 degrees C by different periods of time. *Anim Reprod Sci* 116, 50-57.
- Polge C, Smith AU, Parkes AS. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164, 666.
- Purdy PH, Graham JK. 2004. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm. *Cryobiology* 48, 36-45.
- Si W, Zheng P, Li Y, Dinnyes A, Ji W. 2004. Effect of glycerol and dimethyl sulfoxide on cryopreservation of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) sperm. *Am J Primatol* 62, 301-306.
- Takahashi T, Itoh R, Nagai, T. 2009. Effects of N, N-dimethylglycine on the development of *in vitro* produced bovine embryos. *J Reprod Dev* 55, 339-342.
- Tominaga K. 2004. Cryopreservation and sexing of *in vivo* and *in vitro*-produced bovine embryos for their practical use. *J Reprod Dev* 50, 29-38.

アマニ給与が豚の発育及び肉質に与える効果 (第2報)

鈴木人志・佐々木浩一

要 約

人の健康に良いとされる脂肪酸である α -リノレン酸(C18:3)を多く含む健康志向に対応した高品質な豚肉生産技術を確認するため、群飼下の肥育後期豚にアマニを給与する場合の配合飼料へのアマニ添加率を検討した。なお、当場で生産技術を確認したアマニ給与豚肉の特徴である脂肪酸組成中 α -リノレン酸割合が通常の3倍以上をアマニ給与効果の目標とした。

配合飼料のみを給与した区(対照区)と、配合飼料に粉碎したアマニを重量比で2%添加した区(2%後期区)および2.5%添加した区(2.5%後期区)に三元交雑豚(LWD)を6頭ずつ配置し、群飼下で体重約70 kgから105 kgを超えるまで飼養し、屠畜後、枝肉成績、肉質および食味などを調査した。

その結果、背脂肪内層の脂肪酸組成では、対照区に比べて、2%後期区および2.5%後期区の α -リノレン酸割合が有意に増加した($P<0.05$)。2%後期区および2.5%後期区の α -リノレン酸割合は3.7%および4.3%であり、対照区の1.2%に対して3倍以上に増加した(2%区:約3.1倍, 2.5%区:約3.6倍)。また、脂肪酸組成のうちパルミチン酸(C16:0)はアマニ給与により有意に低下し($P<0.05$)、多価不飽和脂肪酸は有意に増加した($P<0.05$)。脂肪酸の比率であるn-6/n-3比は有意に低下し($P<0.05$)、対照区、2%後期区および2.5%区で9.8, 3.5 および 2.9であった。脂肪融点は、アマニ給与によって有意に低下し($P<0.05$)、アマニを給与した区は対照区に比べて約2°C低くなった(対照区:42.4°C, 2%後期区:40.2°C, 2.5%後期区:40.4°C)。一日増体量、飼料要求率および枝肉成績、ならびに、肉質のうち肉色、脂肪色、筋肉内脂肪量、ドリップロス、クッキングロスおよび破断荷重には区間で有意な差はみられなかった。

対照区と2.5%後期区の胸最長筋を加熱して官能評価を行った結果、2.5%後期区をおいしいと回答した人の割合は61%であった。対照区をおいしいと回答した人の割合は22%であり、過半数を超える6割の人がアマニを給与した豚肉をおいしいと評価した。

以上より、配合飼料にアマニを2%、あるいは2.5%添加し、群飼した肥育後期の豚に給与することで、 α -リノレン酸を通常の3倍以上含む高品質な豚肉生産が可能であると示唆された。

緒 言

消費者の健康志向ニーズの高まりに対応できる高品質銘柄豚の産地作りを行うため、当場ではアマニ5%を屠畜前3週間に給与し α -リノレン酸割合を高める技術を既に確立している(佐々木ら2006)。この方法は需要に応じて短期間に生産量を切り替えることが可能であるというメリットがある反面、肥育後期の途中でアマニを含む飼料に切り替える必要があることから、自動給餌・大

量生産には不向きである。

そこで第1報(鈴木ら2011)では、農家への技術導入を一層促進するため、機械化された現場の飼料給与実態に適應できる「アマニの長期低濃度給与技術」での実用化試験を単飼で実施したところ、アマニ2~3%を屠畜前約6週間給与(アマニの長期低濃度給与)することで、既に確立した技術(アマニ5%を屠畜前3週間給与(アマニの短期高濃度給与))と同等の α -リノレン酸割

合を有することが確認できた。

これらをふまえ、第2報では、生産現場の実態により近い群飼での「アマニの長期低濃度給与技術」の実証試験を行った。試験区は対照区、2%後期区に加え、新たに2.5%後期区を設け試験を行った。

材料および方法

1. 試験区

試験区は表1のとおりとし、アマニを給与しない「対照区」、アマニを長期に低濃度で給与する区として「2%後期区」と「2.5%後期区」を設けた。

また、肥育豚の体重ごと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、当場で飼養しているLW種雌豚に、同じく当場で飼養しているD種雄豚を交配し、平成21年7月2日から同年7月5日に分娩した計4腹の三元交雑豚（LWD）より、去勢9頭、雌9頭、計18頭を抽出し、各区6頭（去勢3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	アマニ給与方法
対照区	配合飼料 ¹⁾ のみ
2%後期区	配合飼料 ¹⁾ に重量比で2%の粉砕アマニを添加し、平均体重70 kgから給与
2.5%後期区	配合飼料 ¹⁾ に重量比で2.5%の粉砕アマニを添加し、平均体重70 kgから給与

1)配合飼料は、3. に示す飼料を使用

表2 飼料給与設計

試験区	肥育前期	肥育後期
	体重30～70 kg	体重70～105 kg
対照区		配合飼料 ¹⁾
2%後期区	配合飼料 ¹⁾	配合飼料 ¹⁾ +アマニ2%
2.5%後期区		配合飼料 ¹⁾ +アマニ2.5%

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、当場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、TDN 78.0%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）および「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、TDN 77.0%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 105 kgまでは後期飼料を用いた。

4. アマニ

アマニは、予め粉砕機で粉砕したのち、配合飼料に添加した。なお、アマニは油脂割合が多いため、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ため、重量比で配合飼料 2 に対しアマニを 1 の割合で混合し、配合飼料がアマニの油脂分を吸着するようにしながら粉砕した。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

試験期間は肥育後期（体重 70 kg～105 kg）とし、平成 21 年11月9日から 12 月 28 日までであった。

2) 肥育開始～試験開始

供試豚は、18 頭の平均体重が 30 kgに到達する前に、当場離乳豚房（群飼育）から当場肥育豚舎（群飼育）に移動し、子豚用飼料を給与した。供試豚の平均体重が 30 kgを超えた時点で肥育を開始し前期飼料を給与した。各区の供試豚の平均体重が 70 kgに到達する

前に当场繁殖 I 豚舎（群飼育）に移動し継続して前期飼料を給与した。

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）、体重 105 kgを超えた時点（試験終了時期）、各時点において週一回体重測定を行った。

4) 試験開始

各区の供試豚の平均体重が 70 kgを超えた時点で試験飼料を給与した。以降、試験終了まで同一場所で群飼育した。なお各区とも 9 m²の豚房に最大で 6 頭を飼育した。（試験期間の 1 頭当たり飼育密度は 1.5 m²以下）また、供試豚は、肥育開始から終了まで、すべて不断給餌および自由飲水とした。

5) 試験終了

週一回、曜日を決めて体重測定を行い、体重が 105 kgを超えた個体から、順次屠畜、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) 飼料摂取量および飼料要求率

試験期間中に給与した飼料量を記録し、飼

料摂取量を算出した。

また、上記の飼料摂取量および上記 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、ロース内脂肪割合、ドリップロス、クッキングロス、肉色および脂肪色（明度 (L*)、赤色度 (a*)、黄色度 (b*)）、破断荷重、脂肪酸組成、脂肪融点について分析を行った。

10) 官能検査

官能検査は、18 名を対象に 2 点比較法により実施した。サンプルはいずれもロース（第 6～第 11 胸椎）の同一部位を用い、ホットプレートで焼いて検査に供した。検査は、どちらがアマニを給与した豚肉か明らかにせざるに実施した。

11) 統計処理

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

結 果

1. 体重の推移 (表 4)

肥育後期開始体重は、70.1～71.0 kgであった。出荷時体重は、108.5～109.2 kgであった。

表 3 肉質分析項目および方法

項 目	方 法
ロース内脂肪割合	ソックスレー抽出法
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。
脂肪酸組成	ガスクロマトグラフ (GC17A Ver3, SHIMADZU) により測定。
脂肪融点	上昇融点法

表 4 体重の推移

	肥育後期開始	出荷時 (kg)
	(kg)	
対照区	71.0 ± 2.4	109.0 ± 3.3
2%後期区	70.6 ± 5.2	109.2 ± 3.3
2.5%後期区	70.1 ± 3.9	108.5 ± 3.5

平均値 ± 標準偏差, n=6

出荷時体重は、と畜日の 2 日前に測定。

2. 肥育期間および日増体重 (DG) (表5, 表6)

出生から肥育後期開始までの日齢は 128.0 日～128.3 日, 屠畜時日齢は 168.7 日～173.2 日, 試験期間である肥育後期の期間は 37.3～42.0 日でアマニ給与区の方が期間がやや短い傾向がみられた。DGは, 0.90～1.04 kg/日で, 対照区 (0.90 ± 0.07 kg/日) と 2%後期区 (1.04 ± 0.09 kg/日) の間に有意差がみられた ($P<0.05$)。対照区と 2.5%後期区 (0.98 ± 0.08 kg/日) の間に

は有意差はみられなかったが, 2.5%後期区の方の数値がやや高い傾向にあった。

3. 飼料摂取量および飼料要求率 (表7)

肥育後期の飼料摂取量 (各区6頭の平均) は対照区 147.9 kg, 2%後期区 138.0 kg, 2.5%後期区 142.6 kgであった。飼料要求率は対照区 3.89, 2%後期区 3.57, 2.5%後期区 3.71 で, いずれもアマニ給与区において, 飼料摂取量が少なく飼料要求率が低い傾向がみられた (群飼のため有意検定は不可.)。

4. アマニ摂取期間およびアマニ摂取量 (表7)

試験期間は体重 70 kg～105 kgまでの肥育後期とし, 対照区は 42.0 日, 2%後期区は 37.3 日, 2.5%後期区は 39.7 日であった。うち2%後期区と2.5%後期区において試験期間中アマニを給与した。アマニ総摂取量 (6頭平均) は, 2%後期区で 2.71 kg, 2.5%後期区で 3.48 kgであった。アマニ 1 日当たり摂取量 (6頭平均) は, 2%後期区で 73 g/日, 2.5%後期区で 88 g/日であった。

5. 枝肉調査結果 (表8)

枝肉重量は, 70.0～70.5 kgであった。肉質等級は 1.0～1.2であった。背脂肪厚は 1.75～2.00 cmであった。ロース長は 55.6～57.5 cmであった。ロース芯面積は, 5-6胸椎間で 19.2～20.3 cm², 11-12胸椎間で 38.2～39.6 cm²であった。いずれもアマニ給与による差はみられなかった。

表5 各期開始時の日齢

	肥育後期開始 と畜時(日)	
	(日)	
対照区	128.0±1.1	172.0±4.9
2%後期区	128.2±1.0	167.5±7.2
2.5%後期区	128.3±1.4	170.0±8.9

平均値±標準偏差, n=6

表6 肥育期間及び日増体重 (DG)

	肥育後期	
	期間(日)	DG(kg/日)
対照区	42.0±4.4	0.90±0.07 a
2%後期区	37.3±7.2	1.04±0.09 b
2.5%後期区	39.7±8.5	0.98±0.08 ab

平均値±標準偏差, n=6

区間で異符号間に有意差あり($P<0.05$)

表7 1頭当たりの飼料摂取量, 飼料要求率およびアマニ摂取量

	肥育後期			
	飼料摂取量(kg)	飼料要求率	アマニ総摂取量(kg)	アマニ日摂取量(g/日)
対照区	147.9	3.89	—	—
2%後期区	138.0	3.57	2.71	72.5
2.5%後期区	142.6	3.71	3.48	87.6

平均値, n=6

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	
					5-6胸椎間 (cm ²)	11-12胸椎間 (cm ²)
対照区	70.5±1.4	1.2±0.4	1.95±0.35	55.7±2.6	19.2±1.7	39.3±3.1
2%後期区	70.4±3.2	1.0±0.0	1.75±0.21	57.5±1.8	19.4±2.7	39.6±2.7
2.5%後期区	70.0±2.8	1.2±0.4	2.00±0.37	55.6±1.7	20.3±4.6	38.2±3.4

平均値±標準偏差, n=6

肉質等級は, 上=1, 中=2, 並=3として数値化

表9 肉質分析結果

	対照区	2%後期区	2.5%後期区
ロース内脂肪割合(%)	2.3±0.9	1.9±0.9	1.9±0.6
ドリップロス(3日後、%)	3.8±0.5	3.7±0.7	3.7±0.8
クッキングロス(%)	27.3±1.3	28.2±2.0	27.8±1.9
破断荷重(N)	13.0±2.6	12.0±2.4	13.1±1.9
肉色			
L*	48.6±1.9	49.4±1.7	48.6±1.5
a*	12.9±1.1	12.3±1.2	12.4±1.4
b*	10.1±1.5	10.2±1.2	9.5±0.6
脂肪色(背脂肪内層)			
L*	74.9±1.1	74.9±1.6	74.9±1.7
a*	5.1±0.3	4.9±0.8	4.4±0.8
b*	7.0±0.4	7.5±1.3	7.1±0.6
脂肪融点(背脂肪内層)	42.4±0.8 a	40.2±1.6 b	40.0±2.2 b

L* = 明度, a* = 赤色度, b* = 黄色度

平均値±標準偏差, n=6

区間で異符号間に有意差あり(P<0.05)

6. 肉質分析結果 (表9)

ロース内脂肪割合は、1.9~2.3%であった。ロースのドリップロス (3日後) は、3.7~3.8%であった。ロースのクッキングロスは、27.3~28.2%であった。ロースの破断荷重は、12.0~13.1 Nであった。ロースの肉色は、L*で48.6~49.4, a*で12.3~12.9, b*で9.5~10.2であった。背脂肪内層の色は、L*で各区とも74.9, a*で4.4~5.1, b*で7.0~7.5であった。

7. 脂肪酸組成分析結果 (表10, 図1, 図2)

背脂肪内層の脂肪酸組成において、 α -リノ

レン酸の割合が対照区 1.2%に対し、2%後期区では 3.7%、2.5%後期区では 4.3%と、アマニを給与した区において有意に割合が多くなった ($P<0.05$: 対照区の 3.1 倍~3.5 倍)。また、表7に示すアマニ総摂取量・アマニ日摂取量が多くなるほど、 α -リノレン酸の割合が多くなる傾向がみられた。

また、 α -リノレン酸割合が増加した影響で、n-6/n-3比は有意に低下し ($P<0.05$: 対照区 9.8 に対し、アマニ給与区 2.9~3.5)、多価不飽和脂肪酸割合は有意に増加した ($P<0.05$)。

表10 脂肪酸組成分析結果 (単位: %)

	背脂肪内層		
	対照区	2%後期区	2.5%後期区
C14-0(ミリスチン酸)	1.3±0.1	1.2±0.0	1.2±0.1
C16-0(パルミチン酸)	22.9±0.8 a	21.6±0.6 b	21.8±0.6 b
C16-1(パルミトレイン酸)	1.5±0.2	1.4±0.2	1.4±0.2
C18-0(ステアリン酸)	17.9±0.7	17.2±1.5	16.7±1.2
C18-1(オレイン酸)	43.4±0.9	41.9±1.4	42.1±1.3
C18-2(リノール酸)	11.9±0.7	13.1±1.0	12.4±0.8
C18-3(α -リノレン酸)	1.2±0.1 a	3.7±0.5 b	4.3±0.4 b
総飽和	42.0±0.9	40.0±2.1	39.7±1.7
総不飽和	58.0±0.9	60.0±2.1	60.3±1.7
一価不飽和	44.9±0.9	43.2±1.6	43.6±1.5
多価不飽和	13.1±0.8 a	16.8±1.3 b	16.7±1.0 b
n-6/n-3比	9.8±0.5 a	3.5±0.4 b	2.9±0.3 c

平均値±標準偏差, n=6

区間で異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

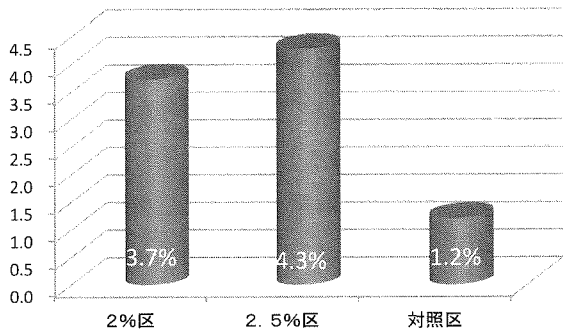


図1 脂肪酸組成中のα-リノレン酸割合 (背脂肪内層)

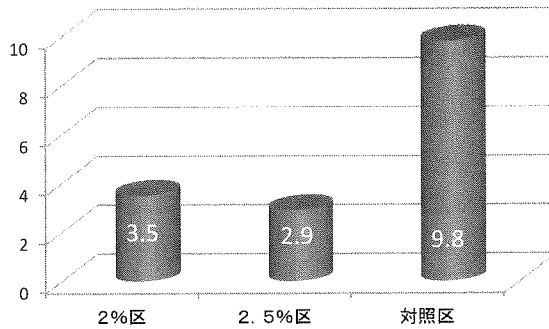


図2 N-6/N-3比 (背脂肪内層)

表11 官能検査結果 (対象: 18名)

	おいしい	脂の口溶けがよい	脂の質がさっぱりしている	香りがよい	やわらかい	ジューシーである
対照区	22%	28%	44%	28%	11%	17%
2.5%後期区	61%	44%	28%	44%	50%	56%
差がない	17%	28%	28%	28%	39%	28%

検査は2点比較法により、区を明示せずに実施。

サンプルは同一部位のロース(第6胸椎～第11胸椎)をホットプレートで焼いて検査に供した。

9. 考察

前報告(佐々木ら 2006)において、屠畜前の3週間にアマニ5%を給与(アマニの高濃度短期給与)することで豚肉脂肪中のα-リノレン酸割合を高め、ヒトの健康に望ましいとされる高品質な豚肉生産技術を確立した。しかし、この技術は肥育後期の飼料給与を細分化する必要があるため、機械化された農場への技術導入には労力的な障壁となった。その課題を解決するため、第1報(鈴木ら 2011)の試験に取り組んだ結果、添加割合を少なくしたものを肥育後期への飼料と一っしょに切り替えても、DG、飼料要求率、枝肉成績および肉質に有意な影響を与えることなく、脂肪酸組成のみを有意に変化させることが可能であることが示された。

今回の群飼試験においては、2%後期区でも既に確立した技術と同等程度のα-リノレン酸

割合を有していたが、①第1報(鈴木ら 2011)の単房試験においては2%後期区のα-リノレン酸割合が既に確立した技術よりもやや低かったこと、②個体によりα-リノレン酸割合に多少のバラツキがみられること、③試験を実施した季節が異なることなども勘案し、通常飼料を給与した豚肉の3倍以上のα-リノレン酸を含む一定水準以上のアマニ給与豚肉を生産するためには、長期低濃度給与技術では、2.5%屠畜前約6週間(体重70kg～105kg)給与、短期高濃度給与技術では、5%屠畜前3週間(体重90kg～105kg)のアマニ給与方法を現場に普及させることが望ましいと考える。

これまでの取組により、肥育後期の全期間に渡るアマニ給与(長期低濃度技術)で、従来の短期高濃度技術と同等以上のα-リノレン酸を有する豚肉生産が可能であることが実証できた

こと、また農家での飼育形態を想定した群飼でのアマニ給与に関しても問題なく同様の結果が得られたこと、さらには既に確立した技術である短期高濃度技術でアマニを給与する方法も含めると、多様な飼育形態の農場に適合できるアマニ給与方法が確立されたと考えている。

また官能検査により、アマニを給与した豚肉の食味の良さについても実証することができた。

一方、アマニの添加コストについては、現在アマニはkg当たり 400 円程度の価格で流通しており、肥育豚1頭当たり約 3 kgのアマニを給与することから、約 1,200 円のコストがかかり増しになるが、アマニは脂肪分が多く高カロリーであるため、実際は、アマニと同量以上の配合飼料節減が図られると考える。表-7 に示すとおりアマニを給与した区の飼料要求率に低い傾向がみられたのはアマニを給与した影響が大きな要因の一つと考える。この飼料要求率で体重35 kg増体させるための飼料必要量を計算す

ると、アマニを約 3 kg給与した場合、配合飼料を最低でも同量の 3 kg、最大では 10 kg程度まで節減する効果が期待できることから、配合飼料単価を 50 円/kgとして試算すると、実際のアマニ添加コストは、肥育豚1頭仕上げで、700 ~1,050 円程度 (1,200 円-50 円/kg× 3 ~ 10 kg) まで低下すると推察される。

今後は、アマニ給与豚のブランド化を一層推進するため、「食・農・観」一体となった多面的な検討を行いたいと考えている。

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およ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．

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—

力丸宗弘・伊藤なつき*・中村隼明†・小野愛美*・
高橋大希・小松 恵・石塚条次・松原和衛*

* 岩手大学大学院農学研究科

† 信州大学大学院総合工学研究科

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。生殖系列キメラニワトリの判別は、検定交雑によるドナーと宿主の羽色の違いを利用した方法が主流であるが、この方法では判別に長期間を要するうえ、労力を費やす。そのため、より簡便でかつ精度の高い分子学的手法を利用したキメラニワトリの判別法の開発が求められている。本研究では、以前開発した比内鶏の DNA 識別マーカー (Rikimaru と Takahashi 2007) が、生殖系列キメラニワトリの判別に応用可能かどうか検証することを目的とした。比内鶏の DNA 識別マーカーの一つである ABR0633 を用いて、比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能であったため、これらをそれぞれドナーならびに宿主として用いた。比内鶏の初期胚生殖巣より採取した PGCs を白色レグホーン胚の胚盤下腔あるいは血流中へ移植することにより、生殖系列キメラニワトリの作出を試みた。生殖系列キメラニワトリの判別が可能かどうか検証するため、雄の操作個体より両方の精巣の一部を採取し、DNA 解析をおこなった。続いて、性成熟した雄の操作個体より精液を採取し、DNA 解析をおこない、同時に雌の比内鶏へ人工授精し、後代検定をおこなった。DNA 解析の結果、いずれの操作個体においても精巣組織からドナー由来の対立遺伝子は検出されなかった。しかし、PGCs を初期胚血流中へ移植した雄の操作個体 (2/2) の精液中からドナーに用いた比内鶏の対立遺伝子が検出された。また、後代検定の結果、上記の操作個体 2 羽からそれぞれドナー PGCs に由来する後代が得られた。さらに、羽色から比内鶏であると判断された後代の DNA 解析をおこなった結果、ドナー由来の対立遺伝子のみが検出されたことから、形態学的ならびに分子学的に比内鶏であることが確認された。以上の結果から、比内鶏 DNA 識別マーカーは生殖系列キメラニワトリの判別に有効であり、本手法によって後代検定に要する時間や労力を削減できることが示唆された。

緒 言

近年、国内においても高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) の発生が確認されており、その流行によるへい死やそれに伴う淘汰によって、これまで維持してきた産業用の品種や系統のみならず、日本鶏などの貴重な品種の消滅が危惧されている。東北地方においては、平成 20 年に十和田湖畔で

HPAI に感染した野鳥が確認されている。また、平成 22 年以降、野鳥に限らず、家禽以外の鳥類でも HPAI の感染が日本各地で確認されている。家禽においては、島根県を皮切りに全 9 県 24 農場で HPAI の発生が確認されており、約 183 万羽もの家禽が処分されている。HPAI に一度感染すれば、どんな貴重な原種鶏でもすべて処分しな

ければならない。本県の貴重な遺伝資源である比内鶏が HPAI に感染し、すべて処分された場合には、特産鶏である比内地鶏の生産自体も不可能となる。このような背景からも HPAI の感染前に貴重な原種鶏の遺伝資源を細胞レベルで保存し、復元できる技術を確認しておくことが必要とされている。しかし、ニワトリでは、精液の凍結保存は確立されているものの、現在の細胞凍結技術では卵や胚を凍結保存することは不可能である。

近年、鳥類生殖工学研究の発展に伴い、ニワトリを中心に、精子あるいは卵の前駆細胞である始原生殖細胞 (PGCs) を利用した生殖系列キメラニワトリの作出技術が確立された (Petitte ら 1990; Tajima ら 1993)。また、Naito ら (1994a) は、凍結保存した 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り、細胞レベルで保存した遺伝資源から個体を復元することに初めて成功した。この技術は、産業用品種のみならず、貴重な品種の保存と復元に応用された。Kuwana ら (2006) は、凍結保存した PGCs を移植して作出した雌の生殖系列キメラニワトリを戻し交配することにより、熊本県の天然記念物に指定されている九連子鶏を誕生させることに成功した。また、Nakamura ら (2010a) は、生殖系列キメラニワトリ同士を交配することにより、凍結保存した PGCs から国の天然記念物に指定されている岐阜地鶏を復元することに成功した。一方で、これらの研究では、生殖系列キメラニワトリから得られるドナー PGCs に由来する後代の割合が低いという問題があった。Nakamura ら (2010b) は、宿主胚が内在的に保有する PGCs をほぼ完全に除去することにより、生殖系列キメラニワトリにおけるドナー PGCs 由来の後代産出効率を飛躍的に向上させることに成功した (99.5%)。また、この方法によりドナー由来の細胞に完全に置換され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、ドナーに由来する後代のみを誕生させるこ

とに成功した。これらのことから、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・復元に応用可能であり、実用化が期待されている。

現在、生殖系列キメラニワトリの判別に用いられる方法は、後代検定が主流である。一般的に、後代検定による生殖系列キメラニワトリの判別には、ドナーと宿主の羽色の違いが用いられる。白色レグホーンに特徴的な Dominant white (優性白色 (I)) は、羽色へ影響を与える主要な遺伝子座の一つであり、有色 (i) のニワトリ品種を識別するための主要なマーカーとして生殖系列キメラニワトリの判別に利用されている。(Han ら 2002; Park ら 2003; Naito と Kuwana 2004; Kuwana ら 2006; Mozdziac ら 2006; Nakamura ら 2010a, b)。しかし、従来の後代検定による生殖系列キメラニワトリの判別には、長期間を要するうえ労力を費やすことから、より簡便かつ精度の高い分子学的手法を用いた生殖系列キメラニワトリの判別法の開発が求められている。

近年、分子学的手法を利用し、生殖系列キメラニワトリの判別を試みる研究が精力的におこなわれている。Naito ら (2004) は、ニワトリのミトコンドリア DNA の D-loop に存在する一塩基多型 (SNPs) を識別するマーカー (Harumi ら 2004) を利用し、初期胚における生殖系列キメラニワトリを分子学的に解析した。また、Hu ら (2005) は、AFLP マーカーを用いて生殖系列キメラニワトリの判別をおこなった。Choi ら (2007) は、メラノソーム合成に重要な役割を担い Pre-Melanosomal Protein (PMEL17) 遺伝子について、エクソン10 領域における3つのアミノ酸挿入を伴う9塩基挿入の有無を利用し、生殖系列キメラニワトリの精液からドナー由来の DNA を検出した。このように、様々な分子学的手法を用いて生殖系列キメラニワトリの判別が可能であることが示された。

比内鶏は秋田県に生息する地鶏であり、国の天

然記念物に指定されている。秋田県農林水産技術センター畜産試験場（以下、「秋田畜試」）において維持されている比内鶏は、Z染色体上に一つに固定された遺伝子型を示すマイクロサテライト DNA マーカーが複数存在し、他の品種との識別が可能である (Rikimaru と Takahashi 2007)。また、これらのマーカーを利用することによって、比内鶏の雄とロードアイランドレッド種の雌との一代交雑種である比内地鶏とその他の肉用鶏、あるいは鶏卵を識別することが可能である (Rikimaru と Takahashi 2009; 力丸と高橋 2010)。そこで、本研究では、比内鶏 DNA 識別マーカーの有効性を検証し、生殖系列キメラニワトリ判別への応用について検討することを目的とした。

材料および方法

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」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. 比内鶏 DNA 識別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、Z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 DNA マーカーが複数存在する (Rikimaru と Takahashi 2007)。そのマーカーの一つである ABR0633 (Forward primer; AGTATGTTATTGCCTGTGGC, Reverse primer; TTTGGGAGAAGGAATGTTGT) (Takahashi ら 2005) は、比内鶏と秋田畜試において以前維持していた白色レグホーンを識別することが可能である。そこで、本研究では、マイクロサテライト DNA マーカー ABR0633 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。

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 System 9700; Applied Biosystems, フォスターシティー, 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 $^{\circ}$ C にて 2 分間の熱変性後、熱変性 (94 $^{\circ}$ C, 15 秒間), アニールリング (58 $^{\circ}$ C, 30 秒間), 伸長反応 (68 $^{\circ}$ C, 30 秒間) のサイクルを 40 回繰り返す。最後に 68 $^{\circ}$ 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, フォスターシティー, 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、GeneMapper 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

1) 初期胚生殖巣の採取とドナー生殖隆起由来 PGC (gPGCs) の準備

比内鶏胚の孵卵は、孵卵器 (P-008 (B) 型; 昭和フランキ, 埼玉) 内において 37.8 $^{\circ}$ C, 相対湿度 55~60%, 転卵 1 時間あたり 1 回 (転卵角度 90 $^{\circ}$) の環境にておこなった。ステージ 29 (Hamburger と Hamilton 1951) の胚を用いるため、新鮮な比内鶏の受精卵を 6 日間孵卵した。卵殻を 70% アルコールで消毒し

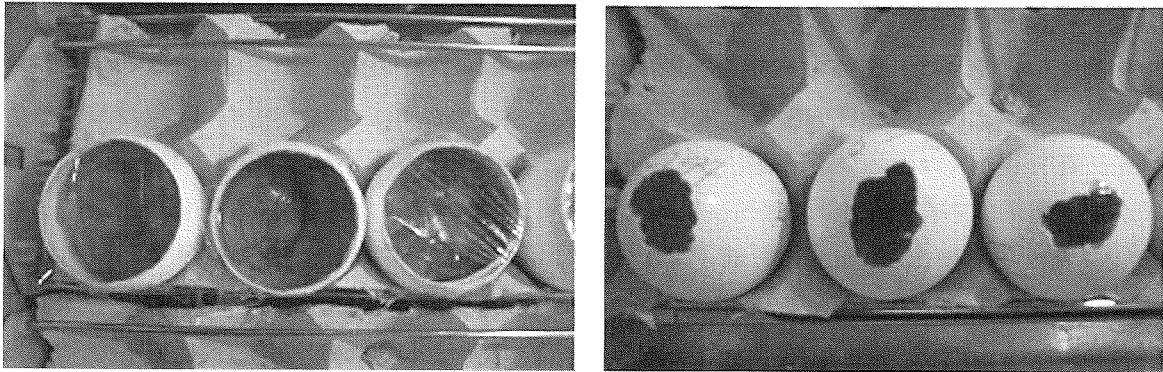


写真1. 胚盤移植法による体外培養法および血管移植法による窓開け法

左：胚盤移植法による体外培養法
右：血管移植法による窓開け法

た後、割卵して内容物をプラスチックシャーレ (90 mm) へ移した。クリーンベンチ内において、胚を採取し、プラスチックシャーレ内に用意した Ca^{2+} と Mg^{2+} を含有しないリン酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffered saline (-) = PBS (-); Wako, 大阪) 中にて洗浄した後、胚の頸部を切断した。実体顕微鏡下 (SZK12: OLYMPUS, 東京) にて開腹し、ピンセットと 1 mL シリンジ (TERUMO, 東京) に接続した 27 G 注射針 (3/4 インチ; TERUMO) を用いて、心臓、胃、腸などの臓器を取り除いた後、中腎と併に生殖巣を取り出した。実体顕微鏡下にて、1 mL シリンジに接続した 27 G 注射針 2 セットを用いて、生殖巣を中腎から分離した。生殖巣を 1.5 ml チューブ (BM Equipment, 東京) 内に準備した PBS (-) 100 μL 中へ回収し、室温にて 4 分間 (2,000 g) 遠沈した後、PBS (-) を除去した。Trypsin-EDTA (0.25% Trypsin, 1 mmol/L EDTA \cdot 4Na; GIBCO, Invitrogen, カールスバッド, カリフォルニア, アメリカ) を 100 μL 加え、37°C にて 2 分間反応させた。生殖巣細胞をピペティングにより解離し、ニワトリ雛血清 (濃度: 10%) ならびにペニシリン・ストレプトマイシン (ペニシリン濃度:

10,000 IU/mL, ストレプトマイシン濃度: 100 mg/mL; Sigma-aldrich, セントルイス, ミズーリ, アメリカ) 培地中濃度を含むダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium = DMEM; Sigma-Aaldrich, セントルイス, ミズーリ, アメリカ) を 1 mL 加えて反応を停止させた。室温にて 4 分間遠沈 (2,000 g) した後、上清を取り除き、上記の培地にて 2 回洗浄することにより、Trypsin-EDTA を除去した。

2) 宿主胚の準備と gPGCs の移植

本研究では、gPGCs を放卵直後 (ステージ X: Eyal-Giladi と Kochav 1976) において胚盤下腔に移植する方法、あるいはステージ 12~13 において血流中に移植する方法により、生殖系列キメラニワトリの作出を試みた。ステージ X において胚盤下腔へ移植する方法では、宿主胚をニワトリ体外培養法 (Perry 1988; Naito ら 1990) により培養した (写真1)。

白色レグホーン胚 (ステージ X) は卵黄ごと、鋭端部を切断した代理卵殻 (直径 33 mm) へ移した後、水様性卵白で満たした。なお、宿主胚の内在性 PGCs を除去するため、あらかじめ白色レグホーン胚に 1 cm の距離から 1600 mW/cm² の強度にて紫外線 (波長 365

nm) を 60 秒間照射した (UV-400: Keyence, 大阪). gPGCs は, 倒立顕微鏡下 (TS1B: Nikon, 東京) にて形態学的特徴により体細胞と識別した (Tajima ら 1998). gPGCs を 50-100 個ずつ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., ブルーモール, ペンシルバニア, アメリカ) を用いて回収し (総量 1~2 μ L 程度), 宿主胚の胚盤下腔へ移植した. 続いて, 代理卵殻の切断面にラップを被せ, プラスチックリングとゴムバンドを用いて保定した. 操作胚は, 39.0°C, 相対湿度 55~60%, 転卵 1 時間あたり 16 回 (転卵角度 90°) の条件にて, 48~52 時間孵卵した (システム II). 操作胚がステージ 16-17 に達した時点で, 胚を卵黄ごと, 二黄卵の鈍端部を切断して作製した孵化用の代理卵殻 (直径 38 mm) へ移し, 卵白を 3~5 mL 除去した後, 切断面をラップで覆い, 38.5°C, 相対湿度 50~60%, 転卵 1 時間あたり 2 回 (転卵角度 30°) の条件にて約 18 日間培養した. 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. 操作胚が呼吸できるようラップに極小の穴を開け, 乾燥を防止するためにラップの上からシャーレを被せた. 孵化直前に, ラッ

プを外してシャーレのみを被せ, 孵卵 21 日頃, 雛が自力で殻から出てきた時点で孵化とした.

一方で, ステージ 12-13 に達した胚の血流中に移植する方法では, 宿主胚を窓開け法にて孵卵した. 新鮮な白色レグホーン胚を 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 48-52 時間孵卵した. 卵殻の鈍端部に極小の穴を開け, 続いて鋭端部に直径 1.0-1.5 cm 程度の窓を開けた. これにより, 鋭端部の気室が潰れて胚の位置が下がるため, 胚操作が容易になる. 採血 (3.5~6 μ L) は, Naito ら (1994b) の方法に従って宿主胚の背側大動脈より行った. 顕微鏡下にて, gPGCs を 50~100 個ずつ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.) を用いて回収し (総量約 1 μ L), 実体顕微鏡下にて宿主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 (写真 2)

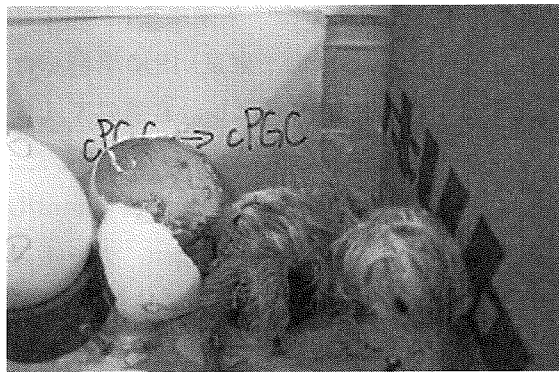


写真 2. 胚盤移植法および血管移植法によって生まれたヒナ

左: 胚盤移植法

右: 血管移植法

4. 部分摘出した精巣ならびに精液の DNA の準備

1) 5 週齢の宿主より部分摘出した精巣からの DNA 抽出

Rikimaru ら (2011) の外科手術法に従って、5 週齢に達した雄の操作個体から両側の精巣の一部を摘出した。簡潔に説明すると、操作個体を保定台に固定し、第 6 肋骨と第 7 肋骨の間をメスで切開した後、鶏去勢用鉗子 (K-2; Natsume Seisakusho, 東京) を用いて精巣の約 1/3 を摘出した。反対側の精巣も同様の方法にて約 1/3 を摘出した。手術後、切開部分を 70%アルコールにて消毒した。

操作個体より部分摘出した精巣組織を DNase Free の 2 mL マイクロチューブ (BM Equipment) 内に回収し、10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 1 mmol/L EDTA (pH 8.0), 150 mmol/L NaCl, 1% SDS を含む溶液 750 μ L と proteinase K (Wako) 5 μ L を加えて十分に混合した後、50°Cにて加温した。加温中に適宜攪拌し、精巣組織が完全に溶解した後、4°Cにて保存した。続いて、核酸水溶液と等量の平衡化中性フェノールを加えて混合した後、2,000 gで 5 分間遠心分離した。水層を新しいマイクロチューブに移し、中間層がなくなるまで上記の操作を繰り返した。中間層がなくなった後、核酸水溶液と等量の PCI (フェノール:クロロフォルム:イソアミルアルコール=25:24:1; Wako) を加えて混合し、2,000 gにて 5 分間遠心分離した後、水層を回収した。この操作を中間層がなくなるまで繰り返した後、核酸水溶液の 1/10 量の 3 mol/L 酢酸ナトリウムを混合した。続いて、核酸水溶液の 2.5 倍量の 100%イソプロピルアルコールを添加し、均一になるまで転倒攪拌した。4°C, 14,000 gにて 20 分間遠心分離し、核酸のペレットが残るよう丁寧に上清を除去した。70%エタノールを 1 mL 加えて攪

拌し、4°C, 14,000 gにて 20 分間遠心分離し、再び上清を除去した。ペレットを完全に乾燥させ、滅菌水に溶かしたものを DNA 溶液として用いた。

2) 精液からの DNA 抽出

精巣の一部を摘出した雄の操作個体を性成熟に達するまで飼養し、マッサージ法により精液を採取した。採取した精液を FTA クラシックカード (WB120205; GE Healthcare UK, バッキンガムシャー, イギリス) に滴下し、室温にて一晩風乾させた。乾燥した部位から、専用の直径 1.2 mm のハリスマイクロパンチ (WB100028; GE Healthcare UK) を用いて、ディスクを 5 枚打ち抜き、0.2 mL チューブに移した。FTA 精製試薬 (WB120204; GE Healthcare UK) を 100 μ L 加え、ピペティングで攪拌した後、20 分間静置した。上清を除去し、DNAzol BD 溶液 (10974-020; Invitrogen) を 100 μ L 加え、ピペティングで攪拌した後、20 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、90°Cにて 10 分間熱処理した後、回収した上清を DNA 溶液として用いた。

5. 比内鶏 DNA 識別マーカーによる部分摘出した精巣および精液の DNA 多型解析

本研究では、白色レグホーンに導入された比内鶏の生殖細胞を検出するために、比内鶏の Z 染色体上において固定されているマイクロサテライト DNA マーカーのうち、白色レグホーンが比内鶏の遺伝子型を保持しておらず、比内鶏と白色レグホーンとの識別が可能な ABR0633 を使用した。反応液の調整、PCR、遺伝子型の判定は、前述と同様の手順にておこなった。

6. 雄の操作個体と雌の比内鶏の交配による後代検定

性成熟した雄の操作個体と雌の比内鶏を交配

表1 比内鶏および白色レグホンにおける ABR0633 の対立遺伝子頻度

	サイズ (bp)	対立遺伝子頻度 (%)	
		比内鶏	白色レグホン
	261	100	0
ABR0633	271	0	78.9
	273	0	21.1

し、後代検定をおこなった。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。後代検定の結果、羽色から比内鶏と判断された雛から血液を採取し、前述と同様の手順により比内鶏に固定した Z 染色体上のマーカー ABR0633 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、比内鶏および白色レグホン由来の遺伝子型が検出された場合、「比内鶏ではない」と判定した。

7. 統計処理

生殖系列キメラニワトリの検定交雑に関するデータは最小二乗平均 ± 標準誤差にて表記し、SASの統計プログラム (version 9.1.3; SAS Institute Inc., キャリー, ノースカロライナ, アメリカ) を用いて一元分散分析により解析を行った。ふ化率ならびに育成率はカイ二乗検定により解析を行い、有意水準は $P < 0.05$ に設定した。

結 果

1. 比内鶏および白色レグホンの DNA 多型解析

ABR0633 を用いて比内鶏の DNA を解析した

結果、比内鶏の対立遺伝子 (263 bp) は一つに固定されていた。一方で、岡崎牧場より導入した白色レグホンは比内鶏と異なる対立遺伝子 (271, 273 bp) を保有しており、各対立遺伝子の遺伝子頻度はそれぞれ 78.9, 21.1%であった (表1)。そこで、本研究では、比内鶏と岡崎牧場より導入した白色レグホンをそれぞれドナーと宿主に用いて生殖系列キメラニワトリを作成し、ABR0633 を用いて生殖系列キメラニワトリの判別を試みた。

2. 操作胚のふ化率ならびに操作個体の育成率

本研究では、比内鶏の初期胚生殖巣より採取した gPGCs を白色レグホン胚の胚盤下腔あるいは血流中へ移植することにより、生殖系列キメラニワトリの作出を試みた。その結果、胚盤下腔へ移植する方法における孵化率 (12.5%; 4/32) は、血流中へ移植する方法 (80.0%; 4/5) と比較して有意に低かった。胚盤下腔へ移植する方法によって孵化した雛の 75% (3/4) が性成熟し、それらの性別は、雄が 2 羽、雌が 1 羽であった。また、血流中へ移植する方法によって孵化した雛はすべて性成熟に達し (4/4)、それらの性別は、雌雄それぞれ 2 羽ずつであった (表 2)。

3. 部分摘出した精巣および精液の DNA 解析

5 週齢に達した雄の操作個体 4 羽から両側の

精巣の一部を採取し、DNA を解析した結果、いずれのサンプルからも宿主である白色レグホン由来の対立遺伝子のみが検出され、ドナーである比内鶏由来の対立遺伝子は検出されなかった(表3)。続いて、性成熟達した操作個体から精液を採取し、DNA 解析をおこなった。その結果、gPGCs を胚盤下腔へ移植した雄の操

作個体2羽については、いずれも宿主由来の対立遺伝子のみが検出され、ドナー由来の対立遺伝子は検出されなかった。対照的に、gPGCs を血流中へ移植した雄の操作個体2羽については、いずれもドナーに由来する比内鶏の対立遺伝子が検出された(表3, 図1)。

表2 操作胚の孵化率ならびに操作個体の育成率

移植場所	操作胚数	孵化羽数 (%)	成熟羽数 (%)	性別	
				雄	雌
胚盤下腔	32	4 (12.5 ^b)	3 (9.4 ^b)	2	1
背側大動脈	5	4 (80.0 ^a)	4 (80.0 ^a)	2	2

^{a, b} 異符号間に有意差あり ($P < 0.01$)

表3 雄の操作個体における部分摘出した精巣および精液のDNA解析

移植場所/個体番号	精巣		精液	
	比内鶏由来 対立遺伝子	白色レグホン由来 対立遺伝子	比内鶏由来 対立遺伝子	白色レグホン由来 対立遺伝子
胚盤下腔				
D934	—	+	—	+
D935	—	+	—	+
背側大動脈				
C963	—	+	+	+
C974	—	+	+	+

精巣；5週齢に約1/3を部分摘出。+，対立遺伝子検出；—，対立遺伝子不検出。

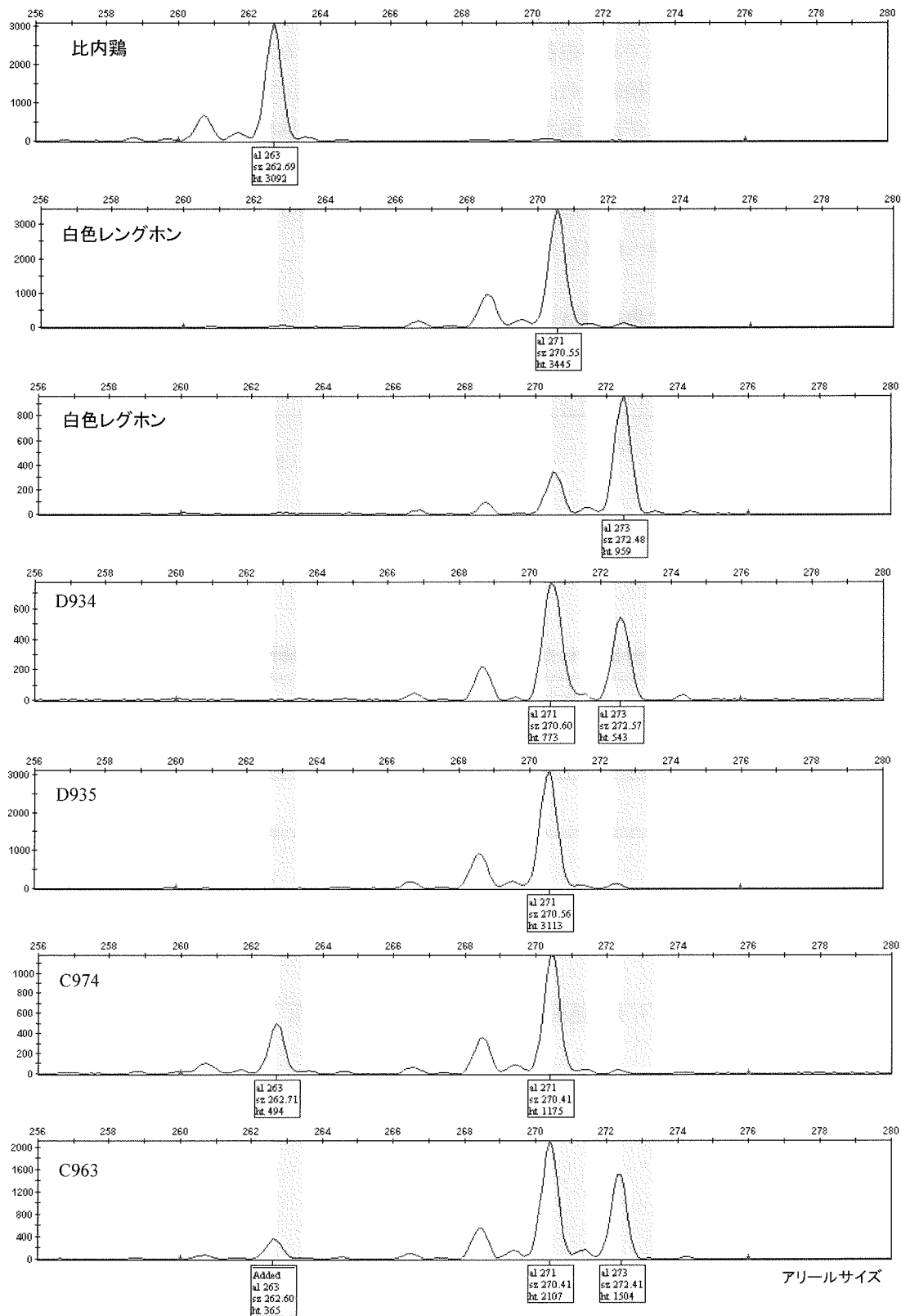


図1. 比内鶏DNA識別マーカーによる雄の操作個体における精液のDNA解析
 D934, D935 : 胚盤下腔へPGCsを移植した雄の操作個体
 C974, C963 : 血中へPGCsを移植した雄の操作個体
 263bp : 比内鶏由来対立遺伝子 271, 273bp : 白色レグホン由来対立遺伝子

表4 雄の操作個体と雌の比内鶏の交配による後代検定

移植場所/個体番号	ふ化羽数	比内鶏由来 個体数	比内鶏由来 個体割合(%)	後代のDNA解析	
				比内鶏由来 対立遺伝子	白色レグホン由来 対立遺伝子
胚盤下腔					
D934	110	0	0	NA	NA
D935	69	0	0	NA	NA
LSM ± SEM			0		
背側大動脈					
C963	108	2	1.9	+	-
C974*	7	1	14.3	+	-
LSM ± SEM			8.1 ± 6.2		

*、C974 後代検定中へい死。NA、解析不可；+、対立遺伝子検出；-、対立遺伝子不検出。

4. 雄の操作個体と雌の比内鶏の交配による後代検定

ドナーである比内鶏の PGCs の次世代への伝達を確認するため、性成熟した雄の操作個体と雌の比内鶏を交配し、得られた後代の羽色ならびに遺伝子型を調べた。胚盤下腔へ移植した雄の操作個体2羽からは、いずれもドナーに由来する比内鶏の後代を得ることはできなかった。対照的に、gPGCs を血流中へ移植した雄の操作個体2羽からは、いずれもドナーに由来する比内鶏の後代が得られた(4.4%；表4、写真3)。この結果より、gPGCs を血流中へ移植する方法により作出された2羽の操作個体は表現型と遺伝子型いずれにおいても生殖系列キメラニワトリであることが確認された。

また、羽色から比内鶏と判定された後代の DNA 解析をおこなった結果、ドナーに由来する比内鶏の対立遺伝子型のみが検出された(図2)。以上の結果より、羽色から比内鶏であると判定された後代は分子生物学的に生殖系列キメラニワトリであることが確認された。



写真3. 生殖系列キメラニワトリから生まれた後代
矢印：茶色い羽色のヒヨコは比内鶏 PGCs 由来の後代；白い羽色に小さな黒い斑点を持つヒヨコは白色レグホン PGCs 由来の後代

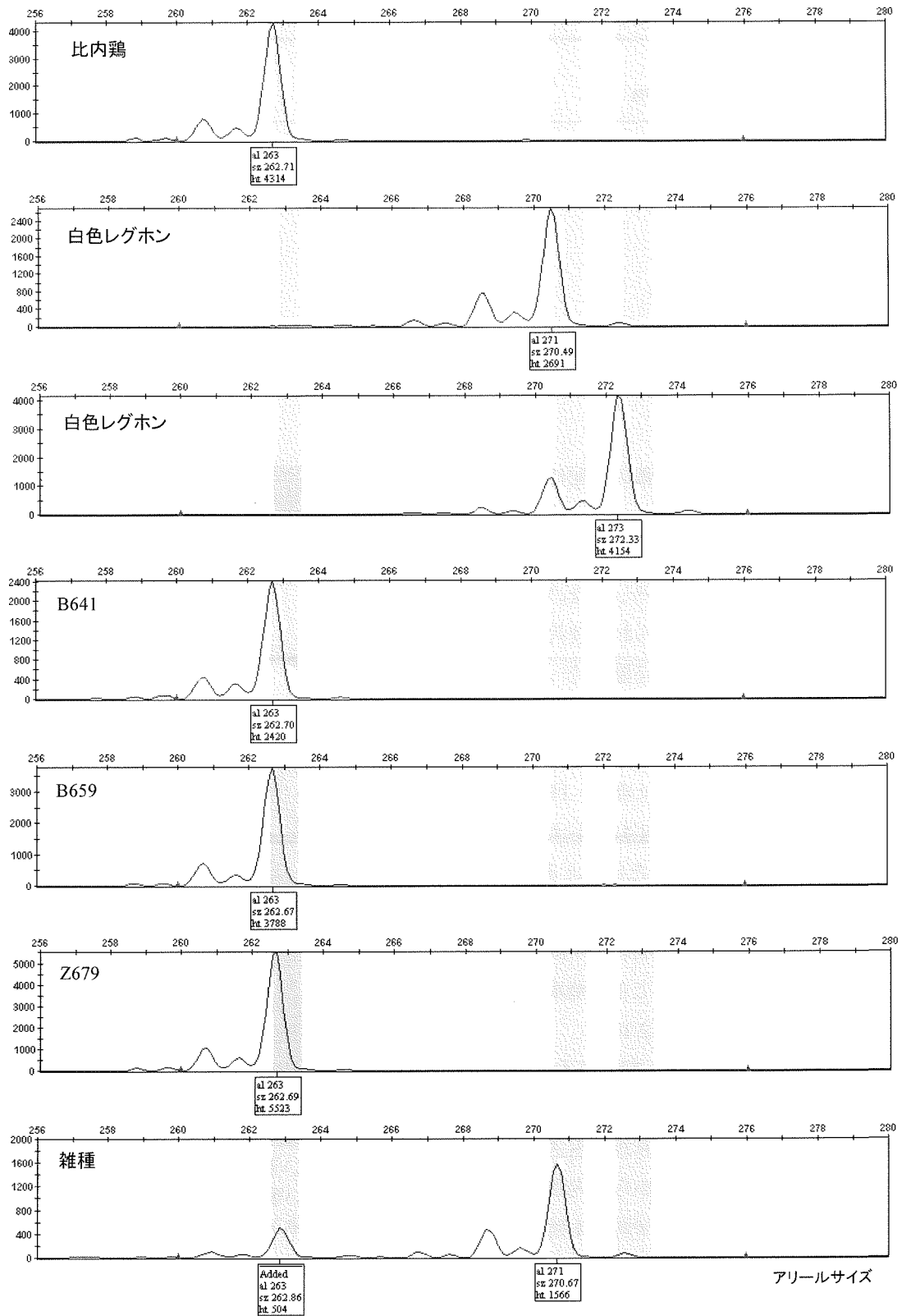


図2. 比内鶏DNA識別マーカーによる後代のDNA解析

B641, B659, Z679: 比内鶏と判定された後代

263bp: 比内鶏由来対立遺伝子

271, 273bp: 白色レグホン由来対立遺伝子

考 察

鳥類では、胚の凍結保存や卵への核移植が非常に困難であるため、PGCsの移植による生殖系列キメラ作出技術を中心とした独自の生殖工学的研究が発展してきた(Kagami 2002; Tajima 2002; Naito と Kuwana 2004; 中村ら 2009)。現在、生殖系列キメラニワトリの判別に用いられている主流な方法は、白色レグホーンに特徴的な優性白色(I)を利用した羽色の違いによる後代検定である。しかし、後代検定による生殖系列キメラニワトリの判別には、長期間を要するうえ労力を費やす。そこで、本研究では、以前に開発した比内鶏のDNA識別マーカー(Rikimaru と Takahashi 2007)を用いて、比内鶏の初期胚生殖巣より採取したgPGCsを導入した操作個体について生殖系列キメラニワトリの判別が可能かどうか検討した。

比内鶏の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の可否を明らかにするためには、分子生物学的手法および後代検定による結果が一致する必要がある。比内鶏の羽色は有色であり、優性白色を劣性ホモで保有する(ii)ため、優性白色を優性ホモ(II)で保有する白色レグホーンを宿主に用いることにより、後代の羽色の違いによって生殖系列キメラニワトリの判別が可能である。そこで、まず初めに比内鶏のDNA識別マーカーを用いて比内鶏と白色レグホーンの識別が可能かどうか検証する必要がある。Rikimaru と Takahashi (2007)の結果では、比内鶏のDNA識別マーカーの一つであるABR0633を用いて、比内鶏と秋田畜試で以前維持していた白色レグホーンを識別することができた。しかし、現在、秋田畜試では、上記の白色レグホーンは維持しておらず、代わりに岡崎牧場より導入した白色レグホーンを飼養している。そのため、ABR0633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かどうか検証した。その結果、比内鶏では263 bpの対立遺伝子に固定していた

が、一方で、白色レグホーンでは271 bpと273 bpの異なる対立遺伝子を保有していた。この結果は、Rikimaru と Takahashi (2007)の結果と一致しており、本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の識別が可能であることが示された。そこで、本研究では、比内鶏と岡崎牧場より導入した白色レグホーンをそれぞれドナーと宿主に用いた。

初期胚生殖巣に分布するgPGCsは、胚1個あたりから採取できる細胞数が多いことから、生殖系列キメラニワトリの作出において広く利用されている(Tajima ら 1998; Park ら 2003; Mozdziac ら 2006)。そこで、本研究では、比内鶏の初期胚生殖巣より採取したgPGCsを白色レグホーン初期胚の胚盤下腔あるいは血流中へ移植することにより、生殖系列キメラニワトリの作出を試みた。ドナーPGCsを移植する前に宿主胚が内在的に保有するPGCsを取り除くことは、ドナーPGCsを相対的に増やすことができるので、生殖系列キメリズムを向上させるために有効な方法である。よって、宿主胚が内在的に保有するPGCsを除去するために、胚盤下腔へ移植する方法では予め胚盤葉へUVを照射し、一方で、血流中へ移植する方法では予め血液の一部を除去した。それぞれの宿主胚へgPGCsを移植した結果、胚盤下腔へ移植する方法における孵化率はわずか12.5%であったのに対し、血流中へ移植する方法では80.0%であり、胚盤下腔へ移植する方法と比較して有意に高かった。これは、胚盤下腔へ移植する方法では、ニワトリ体外培養法(Perry 1988; Naito ら 1990)を用いたのに対し、血流中へ移植する方法では、窓開け法を用いたことによるものと考察される。体外培養法では、胚を卵黄ごと代理卵殻へ移行して孵化まで培養するため、さらに宿主胚へダメージを与える。それゆえ、体外培養法は宿主自身の卵殻に小さな穴を開けて孵化まで孵卵する窓開け法と比較して孵化率が低いことが

知られている。また、培養方法の違いに加え、UV照射は組織に対して大きなダメージを与えることから (Reynaud 1976)、胚発生に対して悪影響が及んだことも一因であると考えられる。

本研究では、6日間孵卵した比内鶏胚の生殖巣より採取した gPGCs を 50-100 個ずつ白色レグホーンの胚盤下腔あるいは血流中へ移植した。後代検定の結果、ステージ 12-13 において血流中にドナー PGCs を移植した操作個体におけるドナー PGCs の次世代への伝達が示された。一方で、胚盤下腔へ移植する方法ではドナー由来の後代は得られなかった。Mozdziac ら (2006) は大量の gPGCs (560-2,000) を胚盤下腔へ移植することにより、平均で 5.3%と低頻度ながらもドナー PGCs に由来する後代を得ることに成功している。ニワトリ PGCs の移住にはいくつかのステップがある：PGCs は胚盤葉の中央部から生殖三日月環領域へ受動的に移動し、続いて、血管内へ取り込まれ、一時的に血流中を循環した後、生殖巣予定領域へと走化的に移動する (Nakamura ら 2007)。これらのことから、胚盤下腔へ移植する方法では、血流中へ移植する方法と比較して、移植されたドナー PGCs の移動経路が長く、生殖巣への移住効率が非常に低かったため、結果としてドナー由来の後代が得られなかったものと推察される。それゆえ、血流中へ移植する方法が移植可能な方法の中で生殖巣へ移住するまでの距離と時間が最も短いことから、生殖系列キメラニワトリを効率的に生産するための方法として推奨される。

本研究では、血流中へ移植する方法において、ドナーに由来する比内鶏の後代が得られたものの、その頻度は 1.9~14.3%と低かった。そのため、PGC を通して比内鶏の遺伝資源の保存をより良くするためには、今後、生殖系列キメラニワトリより得られるドナー由来の後代産出効率を向上させる必要がある。本研究におけるドナー由来の後代が得られた頻度が低かったのは、内在的に保有

する PGCs の不完全な除去や混性 PGCs による無能力な雌 PGCs の精子発生によるものと考えられる。本研究では、内在的に保有する PGCs を取り除くために、シンプルな方法として血液の一部を除去した。しかしながら、本手法を用いた操作個体と血液の一部を除去していない操作個体と比較してドナー由来の後代の割合に目立った向上は得られていない (23%, 14%; Naito ら 1994b)。近年、生殖系列キメラニワトリ生産の割合をさらに高める可能性のある新たな生殖系列置換技術が開発されている。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 (Nakamura ら 2008) することによって、初期発育段階に内在的に保有する PGCs を減少させ、外因性の PGCs を再移住させることが可能となった (Nakamura ら 2009)。次に、これらの進歩によって、宿主胚の生殖系列が 99.5%ドナー細胞に取り替えられた生殖系列キメラニワトリの生産に利用された (Nakamura ら 2010b)。このような手法を用いることによって、生殖系列キメラニワトリからドナー由来の後代を得る頻度が向上するであろう。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。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。

比内鶏 DNA 識別マーカーを用いて解析した結果、後代において形態学的ならびに分子学的解析から生殖系列キメラニワトリであると確認された操作個体の精液よりドナーである比内鶏由来の対

立遺伝子が検出された。しかし、一方で、これらの生殖系列キメラニワトリより5週齢において部分採取した精巣からは、ドナー由来の対立遺伝子は検出されなかった。これは、生殖巣細胞における生殖細胞の割合が体細胞と比較して圧倒的に低いうえ、生殖系列キメラニワトリの精巣を構成する体細胞はすべて宿主由来であることから、ドナー由来の DNA 量が検出限界以下であったことによるものと推察される。本研究では、5週齢において操作個体から精巣組織を採取したが、今後、孵化直後のようなより未熟な時期において精巣組織を採取することにより、ドナー由来の対立遺伝子が検出されるかもしれない。これらの結果から、5週齢において部分採取した精巣については生殖系列キメラニワトリの判別は困難であるが、性成熟後において採取した精液については比内鶏 DNA 識別マーカー *ABR0633* を用いて生殖系列キメラニワトリの判別が可能であることが示唆された。

近年、分子学的手法を用いた生殖系列キメラニワトリの判別法が開発されている。Naito ら (2004) は、白色レグホーン、横斑プリマスロックならびにロードアイランドレッド種におけるミトコンドリア DNA の D-loop に存在する SNP (Harumi ら 2004) を利用した生殖系列キメラニワトリの判別法について検証した。彼らの研究では、横斑プリマスロックの初期胚血液中より採取したドナー PGCs をステージXの白色レグホーン胚の胚盤下腔へ移植し、培養 17 日目において採取した生殖巣からドナーに由来する横斑プリマスロックの DNA を検出することに成功している。また、特定のニワトリ品種において、メラノソーム合成に重要な役割を担う *PMEL17* 遺伝子の塩基配列中に 56 個の SNP と 8 個の挿入/欠損配列が存在することが報告されている (Kerje ら 2004)。Choi ら (2007) は *PMEL17* 遺伝子のエクソン 10 領域における 9 塩基挿入の有無を利用し、生殖系

列キメラニワトリの精液からドナー由来の DNA を検出した。しかしながら、ミトコンドリア DNA の D-loop に存在する SNP による解析法は、一部の個体群間の識別にしか利用できないことから、生殖系列キメラニワトリを作出する際、あらかじめドナーと宿主の SNP を解析し、識別が可能な個体を選択する必要がある。また、*PMEL17* 遺伝子を利用した解析法では、その利用がドナーあるいは宿主のいずれかに優性白色を有する品種に制限される。

一方で、本研究で用いた比内鶏 DNA 識別マーカーは、比内鶏ではすべての個体において遺伝子型が固定されており、優性白色を優性ホモで保有する白色レグホーンのみならず、他の品種とも識別することが可能である (Rikimaru と Takahashi 2007)。このことから、本識別マーカーを用いた生殖系列キメラニワトリの判別法は、他の分子的手法による判別法のように、宿主に用いる品種が制限されることはない。最近の研究により、PGCs が持つ生殖巣への移行能や分裂能といった機能性は品種間において差があり (Nakamura ら 2011)、ドナーと宿主に用いる品種あるいは系統の組み合わせの違いが、生殖系列キメラニワトリにおけるドナー PGCs の寄与率へ大きな影響を及ぼすことが明らかにされている (Naito ら 1994b ; Nakamura ら 2010a)。我々の手法は、比内鶏 DNA 識別マーカーによって、比内鶏と他の鶏種を識別することができる (Rikimaru と Takahashi 2007) ことから、この点においても、宿主として用いる品種や系統が制限されないことは、生殖系列キメラニワトリを作出するうえで大きな利点になり得る。

本研究では、分子生物学的により生殖系列キメラニワトリと確認された個体より採取した精液から比内鶏の DNA 識別マーカー *ABR0633* を用いてドナーに由来する比内鶏の遺伝子型を検出することができた。以上より、本手法は、比内鶏をド

ナーに用いた場合、生殖系列キメラニワトリの判別に有効であり、従来の後代検定による判別法と比較して、判別に要する時間や費やす労力を削減できることが期待される。

文 献

- 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.
- 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン. 2006. 日本学会会議. 東京.
- Eyal-Giladi H and Kochav S. 1976. From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and anew look at the first stages of the development of the chicken. I. General Morphology. *Developmental Biology* 49, 321-337.
- 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.
- Han JY, Park TS, Hong YH, Jeong DK, Kim JN, Kim KD and Lim JM. 2002. Production of germline chimeras by transfer of chicken gonadal primordial germ cells maintained in vitro for an extended period. *Theriogenology* 58, 1531-1539.
- Harumi T, Sano A, Kagami H, Tagami T, Matsubara Y and Naito M. 2004. Polymerase chain reaction detection of single nucleotide polymorphisms in the chicken mitochondrial D-loop region. *Animal Science Journal* 75, 503-507.
- 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.
- Kagami H. 2002. Developmental genetic analysis of the avian primordial germ cells and the applications for production of chimeric chickens. *Journal of Poultry Science* 39, 131-139.
- Kerje S, Sharma P, Gunnarsson U, Kim H, Bagchi S, Fredriksson R, Schütz K, Jensen P, Heijne GV, Okimoto R and Andersson A. 2004. The Dominant white, Dun and Smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the *PMEL17* gene. *Genetics* 168, 1507-1518.
- 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.
- 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 and Kuwana T. 2004. Production of chimeric chickens. *Methods in Molecular Biology* 254, 245-253. Humana Press Inc., New Jersey.
- Naito M, Matsubara Y, Harumi T, Tagami T, Kagami H, Sakurai M and Kuwana T. 1999. Differentiation of donor primordial germ cells into functional gametes in the gonads of mixed-sex germline chimaeric chickens produced by transfer of primordial germ cells isolated from embryonic blood. *Journal of*

- Reproduction and Fertility* 117, 291-298.
- Naito M, Nirasawa K and Oishi T. 1990. Development in culture of the chick embryo from fertilized ovum to hatching. *Journal of Experimental Zoology* 254, 322-326.
- 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 chimaerism by PCR. *British Poultry Science* 45, 762-768.
- Naito M, Tajima A, Tagami A, Yasuda Y and Kuwana T. 1994a. 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, Tajima A, Yasuda Y and Kuwana T. 1994b. 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.
- 中村隼明, 鏡味裕, 田上貴寛. 2009. 生殖細胞による動物遺伝資源資源の保存と個体への再生. *動物遺伝育種研究* 37, 41-58.
- Nakamura Y, Usui F, Atsumi Y, Otomo A, Teshima A, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2009. Effects of busulfan sustained-release emulsion on depletion and repopulation of primordial germ cells in early chicken embryos. *Journal of Poultry Science* 46, 127-135.
- Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010a. 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, Watanabe H, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2011. Viability and functionality of primordial germ cells after freeze-thaw in chickens. *The Journal of Poultry science* 48, 57-63.
- Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010b. Germline reproduction by transfer of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken. *Biology of Reproduction* 83, 130-137.
- Nakamura Y, Yamamoto Y, Usui F, Atsumi Y, Ito Y, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2008. Increased production of donor primordial germ cells in chimeric gonads by sterilization of recipient embryos using busulfan sustained-release emulsion in chicken. *Reproduction, Fertility and Development* 20, 900-907.
- Nakamura Y, Yamamoto Y, Usui F, Mushika T, Ono T, Setioko AR, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2007. Migration and proliferation of primordial germ cells in the early chicken embryo. *Poultry Science* 86, 2182-2193.
- Park TS, Jeong DK, Kim JN, Song GH, Hong YH, Lim JM and Han JY. 2003. Improved germline transmission in chicken chimeras produced by transplantation of gonadal primordial germ cells into recipient embryos. *Biology of Reproduction* 68, 1657-1662.

- Perry MM. 1988. A complete culture system for the chick embryo. *Nature* 331, 70-72.
- Petitte JN, 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.
- Raynaud, G. 1976. The localization of primordial germ cells in Japanese quail embryos using a technic of ultraviolet irradiation. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Science* 282, 1195-1198.
- 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.
- Rikimaru K and Takahashi H. 2009. A simple and efficient method for extraction of PCR-amplifiable DNA from chicken eggshells. *Animal Science Journal* 80, 220-223.
- 力丸宗弘, 高橋秀彰. 2010. 市場流通形態の検体を用いた比内地鶏のDNA識別手法の有効性の検証. *日本家禽学会誌* 47, 1-7.
- Rikimaru K, Takahashi H and Nichols MA. 2011. An efficient method of early caponization in slow-growing meat-type chickens. *Poultry Science* 90, 1852-1857.
- Tagami T, Kagami H, Matsubara Y, Harumi T, Naito M, Takeda K, Hanada H and Nirasawa K. 2007. Differentiation of female primordial germ cells in the male testes of chicken (*Gallus gallus domesticus*). *Molecular Reproduction and Development* 74, 68-75.
- Tajima A. 2002. Production of germ-line chimeras and their application in domestic chicken. *Avian and Poultry Biology Review* 13, 15-30.
- Tajima A, Naito M, Yasuda Y and Kuwana T. 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. *The Journal of Experimental Zoology* 280, 265-267.
- Takahashi H, Tsudzuki M, Sasaki O, Niikura J, Inoue-Murayama M and Minezawa M. 2005. A chicken linkage map based on microsatellite markers in an intercross of Japanese intercross of Japanese Large Game and White Leghorn. *Animal Genetics* 36, 463-467.

高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明 (第2報)

—アラキドン酸等油脂添加飼料が比内地鶏の肉の味に及ぼす影響—

力丸宗弘・清原玲子*・山口 進*・高橋大希・小松 恵・石塚条次・高橋秀彰†

*株式会社J-オイルミルズ 油脂基盤技術研究所

†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

我々は以前に、アラキドン酸 (AA) 高含有量が比内地鶏の肉の特徴であることを報告した。そこで、AA含量と比内地鶏のおいしさとの関係を解明するために、パーム油 (PO)、コーン油 (CO)、アラキドン酸高含有油 (AAO) の飼料添加がモモ肉の脂肪酸組成ならびに味覚に及ぼす影響について調査をおこなった。7:3の比率で混合した各油脂と珪酸の新鮮な混合物を仕上げ飼料に5%添加し、屠殺前の2週間、比内地鶏にこれらの飼料を給与した。AAO区のモモ肉は、PO区およびCO区よりAA含量が有意に高かった。他の遊離脂肪酸含量について、試験区間に有意な差は認められなかった。官能評価では、AAO区はチキンスープと蒸し肉の両方において全体的な味の強さ、旨味、こく味、後味がPO区およびCO区より有意に高い値を示した。以上の結果から、AAの飼料添加によって、鶏肉のおいしさが向上することが示唆された。

緒 言

比内地鶏は官能評価において、ブロイラーより嗜好性が良いと報告されている (嶋山 1983)。グルタミン酸 (Glu) やイノシン酸 (IMP) を含む遊離アミノ酸 (FAA) 含量は、鶏肉のうま味に関連していることがこれまでの研究で示唆されているが (Nishimura ら 1988 ; 唐澤ら 1989 ; Fujimura ら 1994)、これらの要因が本当に鶏肉の風味における役割を果たしているのかどうかはまだ解明されていない。我々は鶏肉のおいしさに関連する候補物質を特定するため、比内地鶏とブロイラーを同一飼養環境下で飼育し、モモ肉の肉質 (FAA, IMP含量, 脂肪酸組成) について比較を行った。その結果、アラキドン酸 (AA20:4n-6) を多く有することが比内地鶏の肉の特徴であることを明らかにした (力丸ら 2011)。しかしながら、比内地鶏のおいしさにおけるAAの直接的な関与はまだ解明されていない。

AAは動物脂質に存在する多価不飽和脂肪酸であり、特に炎症、免疫、中枢神経系を調節する細胞機能が並んだ20以上の異なるエイコサノイドの媒体となるシグナル伝達経路「アラキドン酸カスケード」の先端部分に存在する (Brash 2001)。最近の味覚に関する研究では、わずかな量の脂肪酸でも味蕾細胞によって検出されることが示されている (Mattes 2009)。最近、AAを含む多価不飽和脂肪酸 (PUFA) が食品の旨味 (L-グルタミン酸塩味) やこく味 (おいしさの継続性、広がり、厚み; Yamamoto ら 2009) の風味を高めることが報告されており、AAを含む植物油で炒飯、牛肉コロッケ、野菜スープなどの食品を調理すると、おいしさの数値が増加する (清原ら 2009)。これらの調査結果は、AAが鶏肉のおいしさに関連していることを示唆している。本研究では、比内地鶏肉のAA含量とおいしさとの関係を解明するため、比内地鶏へ3つの異なる油脂 (パーム油、コ

ーン油, AA 高含有油) を含む飼料を与え, 生化学ならびに官能検査による肉質評価をおこなった。

材料および方法

1. 供試鶏ならびに試験設計

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。

秋田県農林水産技術センター畜産試験場で同一日にふ化した比内地鶏の雌雛 30 羽を 4 段の育雛バタリーで 4 週齢まで飼育し, その後, 20 週齢まで運動場が付随したパイプハウスで飼育した。飼料は以下の 3 つの市販飼料を給与した: 1) 4 週齢まで幼雛用飼料 (CP 21%; ME 3,000 kcal/kg); 2) 10 週齢まで中雛用飼料 (CP 18%; ME 2,850 kcal/kg); 3) 20 週齢まで仕上げ用飼料 (CP16%; ME 2,900 kcal/kg) (北日本組合飼料株式会社, 仙台)。

パーム油 (ヨウ素価=60, 融点15°C, J-オイルミルズ, 東京), コーン油 (J-オイルミルズ), AA 高含有油 (SUNTGA 40S, 日本水産, 東京) の 3 つのタイプの油脂を珪酸塩 (TIXOSIL 38A, Rhodia Silica Korea Co., ソウル, 韓国) を 7:3 割合で混合した。混合物は扱いや

すい粉末状であり, これらを混合後仕上げ飼料に 5% 添加し, パーム油, コーン油, AA 高含有油を含む 3 つの試験飼料を準備した。飼料中の脂肪酸割合を表 1 に示した。AA 高含有油は 95% のトリグリセリドで構成されており, AA はこれらのトリグリセリドのうち 40% を占めている。

20 週齢に 30 羽の雌を個々のケージに移動し, 均等に 3 つの飼料区に分けた: (1) パーム油 (PO), (2) コーン油 (CO), (3) AA 高含有油 (AAO)。3 つの飼料は 21-22 週齢まで 1 羽当たり 100 g/日給与した。給与したすべての飼料を摂取させるため, 通常比内地鶏の飼料摂取量より少なく給与した。水は任意に給与した。

2. サンプルの準備および保存

22 週齢に試験鶏を 18 時間絶食させた後, 屠殺した。放血脱毛後, 屠体が 8°C に達するまですぐに氷水で冷却した。次に, 水を取り除き 30 分間水気を取った。屠体を解体し, モモ肉から骨を取り外した後, 片側のモモ肉をミートチョッパー (No.5-A, ベリタス, 東京) を用いてミンチした。ミンチした肉ならびにもう片方のモモ肉をポリ袋に入れ, 分析まで -30°C で保存した。

表 1 飼料中の脂肪酸割合

項目	仕上げ飼料		PO飼料		CO飼料		AAO飼料		
	(g/100g)	脂肪酸割合%	(g/100g)	脂肪酸割合%	(g/100g)	脂肪酸割合%	(g/100g)	脂肪酸割合%	
	粗脂肪	3.4	-	6.9	-	6.9	-	6.9	-
ミスチン酸	C14:0	0.01	0.3	0.04	0.6	0.01	0.1	0.02	0.3
パルミチン酸	C16:0	0.45	13.2	1.90	27.5	0.83	12.0	0.84	12.2
パルミトレイン酸	C16:1n-9	0.02	0.5	0.02	0.3	0.02	0.3	0.02	0.3
ステアリン酸	C18:0	0.11	3.1	0.26	3.7	0.16	2.4	0.34	4.9
オレイン酸	C18:1n-9	1.07	31.4	2.46	35.6	2.03	29.4	1.29	18.7
リノール酸	C18:2n-6	1.45	42.6	1.80	26.1	3.45	50.0	1.76	25.5
α-リノレン酸	C18:3n-3	0.00	0.0	0.02	0.3	0.03	0.4	0.01	0.2
γ-リノレン酸	C18:3n-6	0.07	1.9	0.07	1.0	0.07	1.0	0.15	2.2
エイコサトリエン酸	C20:3	0.00	0.0	0.00	0.0	0.00	0.0	0.12	1.7
アラキドン酸	C20:4n-6	0.00	0.0	0.00	0.0	0.00	0.0	1.54	22.4
	C24:0	0.02	0.7	0.03	0.4	0.03	0.4	0.32	4.7
未同定		0.23	6.90	0.34	4.9	0.31	4.4	0.80	11.5

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油

3. 水分、粗脂肪含量ならびに脂肪酸組成

水分含量は凍結乾燥器 (RL-B07, 共和真空技術株式会社, 東京) を用いて測定した。粗脂肪含量は、エーテル抽出方法 (960.39 (a)) (AOAC 1990) を用いて測定した。

脂肪酸分析は、Iverson ら (2001) の方法により、凍結肉 0.1 g にクロロホルム：メタノール (2:1 vol/vol) 3 ml を加え脂質を抽出した。抽出脂質を 1.5 ml ヘキサンに溶かし、2 mol/L KOH メタノール溶液 200 μ L を加え 30 秒間攪拌した。飽和食塩水 2 mL を加えた後、5 分遠心 (1000 g) し、上層を採取した。脂肪酸メチルエステルはガスクロマトグラフ (GC2010; 島津製作所, 東京) にて、0.25 mm \times 30 m \times 0.25 μ m のキャピラリーカラム DB-23 を用いて測定した。カラムは 80°C 2 分保持後、160°C まで 35°C / 分で加温し、続いて 185°C まで 2°C / 分で加温、続いて 230°C まで 10°C / 分で加温し、9 分間維持のプログラムで分析した。注入口と FID 検出口温度は 250°C とし、キャリアガスは He で流量 1.49 mL / 分、流速 35.4 cm / 秒とした。脂肪酸は Supelco 37 Component FAME Mix (Sigma-Aldrich Co., セントルイス, ミズーリ, アメリカ) とのリテンションタイムの比較によって同定した。また、ガスクロマトグラフィー法 (日本油化学会 2009) を用いて内部標準物質による各脂肪酸含量の定量を行った。

4. 官能分析

鶏肉の外見とテクスチャーの影響を取り除くために、蒸し肉とチキンスープを用いて官能評価を実施した。

1) 「蒸し肉」の準備

モモ肉を一晩 4°C で解凍し、皮を取り除いた後、ミートチョッパー (No.5-A, ベリタス) で 2 度挽きした。ひき肉を 20 g ずつふた付きの電子レンジ用 PP 容器 (1741, 8.1 ϕ \times 3.4H cm, イノマタ化学株式会社, 東京)

に入れ、500 W の電子レンジ (NE-P7, パナソニック株式会社, 大阪) で 40 秒加熱し、蒸したてを評価した。

2) 「スープ」の準備

チキンスープは蒸し肉に使用したのと同じ新鮮なミンチ肉を用いて調理した。ステンレスのスチールポットにひき肉 200 g と 600 g の水を混ぜ、室温で 20 分間放置した。混合物をガスコンロで 30 分間加熱後、スープの固形物を 4 重ガーゼでろ過し、6 g の食塩を加え、300 g になるように加水した。スープを 10 mL ずつプラカップ (EI-75D, 旭化成株式会社, 東京) に分注し、温かい状態 (60°C) で評価をおこなった。

スープにおける最終的な塩化ナトリウム濃度は、塩分計 (PAL-ES1, 株式会社アタゴ, 東京) を用いて調べ、各スープの塩分濃度が 0.8% になるように測定した。グルタミン酸濃度は、キット (L-Glu Assay Kit II, ヤマサ醤油株式会社, 銚子) を用いて測定をおこなった。IMP 濃度は、高速液体クロマトグラフィーを用いて測定をおこなった。

3) 官能評価

官能評価は株式会社 J-オイルミルズ油脂基盤技術研究所の訓練されたパネラーによって、分析型パネルによる五段階評点法 (清原ら 2009) により実施した。パネラーは 2 組の肉サンプル PO-AAO および CO-AAO について評価を行った。官能評価では、AAO に対する PO および CO をコントロールサンプルとして用いた。「蒸し肉」の評価では、7 項目 (全体の味の強さ、甘味の強さ、酸味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さ、油っぽさ) について評価をおこなった。「スープ」の評価では、油っぽさのかわりに塩味の強さについて評価をおこなった。パネラーはコントロールサンプル (評点=0)

に対してテストサンプル (AAO) が強い/良い (スコア=+2, +1) あるいは弱い/悪い (スコア=-2, -1) かどうか記載した。「蒸し肉」ならびに「スープ」はそれぞれ 22, 18人のパネラーによって評価をおこなった。

5. 統計処理

すべての統計処理はウィンドウズソフト SPSS15.0J を用いておこなった。官能評価データを除き、平均値の比較は Tukey HSD および Dunnett T3 テストを用いて比較し、*P*値が 0.05 未満の時に有意とした。官能評価の分析には、Wilcoxon の符号順位差検定を用い、

*P*値が 0.05 あるいは 0.01 未満の時に有意とした。

結 果

3つの試験区におけるモモ肉の水分ならびに粗脂肪含量を表2に示した。水分と粗脂肪含量に有意な差は認められなかった。モモ肉の脂肪酸含量を表3に示した。AAO 区の AA 含量は PO 区および CO 区より有意(2倍)に高かった。AAO 区の γ -リノレン酸およびエイコサトリエン酸含量は PO 区および CO 区より有意に高く、PO 区のドコサヘキサエン酸含量は CO 区および AAO 区より有意に高かった。

表2 モモ肉の水分ならびに粗脂肪含量

試験区	PO区	CO区	AAO区
n	10	10	10
水分 (%)	74.1 ± 2.9	71.0 ± 0.7	71.7 ± 0.4
粗脂肪 (%)	7.3 ± 0.6	7.5 ± 0.8	6.5 ± 0.5

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油

表3 モモ肉の脂肪酸含量 (mg/g)

試験区	PO区	CO区	AAO区
n	10	10	10
ミスチン酸	C14:0 0.36 ± 0.03	0.3 ± 0.04	0.32 ± 0.04
パルミチン酸	C16:0 13.1 ± 0.99	11.86 ± 1.6	11.68 ± 1.36
パルミトレイン酸	C16:1n-9 2.18 ± 0.26	2.18 ± 0.37	1.81 ± 0.26
ヘプタデカン酸	C17:0 0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01
ステアリン酸	C18:0 3.77 ± 0.22	3.60 ± 0.38	3.96 ± 0.36
オレイン酸	C18:1n-9 20.34 ± 1.65	20.06 ± 2.75	18.17 ± 2.03
リノール酸	C18:2n-6 9.57 ± 0.83	10.36 ± 1.1	9.88 ± 1.66
α -リノレン酸	C18:3n-3 0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.04	0.34 ± 0.04
γ -リノレン酸	C18:3n-6 0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.02 ^b	0.17 ± 0.02 ^a
エイコセン酸	C20:1n-9 0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.01
エイコサジエン酸	C20:2n-6 0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.1 ± 0.01
エイコサトリエン酸	C20:3 0.1 ± 0.01	0.08 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.02 ^a
アラキドン酸	C20:4n-6 0.92 ± 0.03	0.8 ± 0.05 ^b	2.16 ± 0.19 ^a
ドコサヘキサエン酸	C22:6n-3 0.25 ± 0.01	0.21 ± 0.02 ^b	0.21 ± 0.01 ^b
未同定	1.89 ± 0.19	1.95 ± 0.24	2.08 ± 0.18

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油
異符号間に有意差あり(*P* < 0.05)

「蒸し肉」の官能評価結果を表4に示した。PO区とAAO区の比較では、AAO区の全体の味の強さ、酸味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さがPO区より有意に高かった。CO区とAAO区の比較では、AAO区の全体の味の強さ、甘味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さがCO区より有意に高かった。

スープの官能試験結果を表5に示した。PO区

とAAO区の比較では、AAO区の全体的な味の強さ、甘味の強さ、酸味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さ、塩味の強さがPO区より有意に高かった。CO区とAAO区の比較では、AAO区の全体的な味の強さ、甘味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さ、塩味の強さがCO区より有意に高かった。

表4 蒸し肉の官能評価

	PO-AAO ¹	CO-AAO ²
全体的な味の強さ	0.72 **	0.56 **
甘味	-0.03	0.34 **
酸味	0.34 *	0.03
うま味	0.59 **	0.50 *
コク味	0.66 **	0.75 **
後味	0.69 **	0.50 *
油っぽさ	0.03	0.06

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油

¹PO区のスコアを0とした時のAAO区のスコアの平均値

²CO区のスコアを0とした時のAAO区のスコアの平均値

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

表5 チキンスープの官能評価

	PO-AAO ¹	CO-AAO ²
全体的な味の強さ	0.72 **	0.56 **
甘味	-0.03	0.34 **
酸味	0.34 *	0.03
うま味	0.59 **	0.50 *
コク味	0.66 **	0.75 **
後味	0.69 **	0.50 *
油っぽさ	0.03	0.06

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油

¹PO区のスコアを0とした時のAAO区のスコアの平均値

²CO区のスコアを0とした時のAAO区のスコアの平均値

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

表6 チキンスープ中のグルタミン酸ならびにイノシン酸含量

試験区	PO区		CO区		AAO区	
n	3		3		3	
グルタミン酸 (mg/100ml)	119	± 1.1	123	± 0.8	116	± 2.7
イノシン酸 (μ g/100ml)	547	± 3.9 ^b	546	± 2.0 ^b	560	± 2.1 ^a
うま味強度*	785		788		798	

PO = パーム油; CO = コーン油; AAO = アラキドン酸高含有油

異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

うま味強度 (y) = $u + Yv$

u = グルタミン酸含量 (mg/100ml), $Y = 1218$, $v =$ イノシン酸含量 (mg/100ml)

PO, CO, AAO 区のスープ中の Glu ならびに IMP 含量を表6に示した。PO, CO, AAO 区の Glu 含量に有意な差は認められなかった。AAO 区の IMP 含量は PO 区および CO 区より有意に高かった。Yamaguchi (1967) によって報告されている Glu と IMP の相乗効果を考慮し、それぞれのスープのうま味強度を測定した Glu と IMP 含量から算出した結果、3 区のうま味強度の差は 1%未満であった。Yamaguchi (1967) は、サンプル間のうま味弁別閾値は 21%であると報告しており、これらの結果から、うま味強度の区間差が Glu と IMP 含量によるものではないことが示唆された。

考 察

ヒトでは甘味, 酸味, 塩味, 苦味, そしてうま味の存在が広く認知されている。最近の研究では、油脂が味覚に関与していることが示唆されている (Chaudhari と Roper 2010)。飼料中の脂肪は、味覚刺激に影響しないトリグリセリドの形であるが、舌に存在するリパーゼは化学的な刺激となるのに十分な遊離脂肪酸をもたらす可能性がある。Kawai と Fushiki (2003) は、舌におけるリパーゼは休みなく分泌されており、舌の表面における脂肪センサーによって検出が可能となるのに十分な遊離脂肪酸を生成することを報告している。

ヒト, ネズミ, ラットにおける遊離脂肪酸の味

覚への変換メカニズムは、これまで多くの研究で報告されている。遊離脂肪酸の選択に敏感に反応する遅延整流性K⁺チャネルがラット茸状乳頭から遊離した味覚受容体細胞で特定されている (Gilbertson ら 1997)。CD36 ならびにGタンパク質共役受容体 (GPR120とGPR40) は、近年、遊離脂肪酸味受容体として特定されている (Laugerette ら 2005; Cartoni ら 2010)。Laugerette ら (2005) は、CD36はマウス味蕾におけるいくつかのタイプII (甘味, 苦味, うま味) 受容体細胞で発現すると報告している。Cartoni ら (2010) は、GPR120 と GPR40 は主にタイプIIおよびタイプI細胞で発現すると報告している。これらの結果は、味の受容体分布に基づき遊離脂肪酸が塩味, 甘味, 苦味, うま味の味覚感知に影響するかもしれないことを示唆している。しかしながら、Reckmeyer ら (2010) は、リノール酸 (C18:2n-6) やオレイン酸 (C18:1) はヒトにおいて甘味, 塩味, 酸味, うま味物質の強さを増加も減少もさせないことを報告している。Oike ら (2006) は、AAはタイプII受容体細胞中で甘味, 苦味, うま味の味覚伝導路に位置する TRPM5 陽イオンチャネルを活性化させることを報告している。これらの結果は、AA が TRPM5 チャネルを調節しながらタイプII受容体細胞中で直接、味覚感知に影響しているかもしれないことを示唆している。しかしながら、リノール酸 (C18:2n-

6) やオレイン酸 (C18:1n-9) による味覚受容体 (CD36, GPR120, GPR40) を通じた情報伝達は甘味, 塩味, 酸味, うま味の味覚感知に影響しないかもしれない。

我々の結果は, 飼料へ AAO を添加することによって, 比内地鶏のモモ肉の脂肪酸含量および脂肪酸組成において AA が有意に増加するかもしれないことを示している。PO 区および CO 区では, 一般的にパルミチン酸 (C16:0) あるいはリノール酸 (C18:2n-6) が増加した飼料を含んでいるが, パルミチン酸 (C16:0) およびリノール酸 (C18:2n-6) の有意な増加は観察されなかった。AA 含量以外に, PO, CO, AAO 区の肉とチキンスープの特性にほとんど有意な差は認められなかったため, 我々の官能評価結果は, 肉中の AA によって全体的な味の強さ, うま味の強さ, コク味の強さ, 後味の強さ, 塩味の強さへの味覚感知が向上するかもしれないことを示唆している。この結果は, AA が TRM5 チャンネルを通して直接, 甘味, 苦味, うま味の味覚感知に影響するかもしれないという上記の仮説とよく一致している。しかしながら, たとえ他の脂肪酸, 例えば, リノール酸 (C18:2n-6), オレイン酸 (C18:1n-9), パルミチン酸 (C16:0) という脂肪酸含量が3つのグループで有意に異なっていなくても, 味覚感知に影響する可能性を否定することはできない。したがって, チキンスープと肉のおいしさへのそれぞれの脂肪酸の効果を解明するためには, 更なる研究が必要である。

AAO 区の塩味が PO 区および CO 区より強かった理由は不明である。1つの可能性としては, タイプIII味覚受容体細胞中に一時的な受容体潜在的チャンネルパニロイドサブタイプ1 (TRPV1) と AA との相互作用があるかもしれないということである。アミロライド非感受性塩味覚受容体は, ヒトを含む哺乳類における有力な塩味覚変換器である (Lyll ら 2004)。上皮ナトリウムチャンネル

はアミロライド感受性塩味覚受容体として報告されている (Kretz ら 1999)。さらに, Lyll ら (2004) はアミロライド非感受性塩味覚受容体候補として TRPV1 異形 (TRPV1t) を提案している。Treesukosol ら (2007) は, TRPV1 ノックアウトマウスが塩味への味覚応答を減少させることを報告している。Hwang ら (2000) は, 12-(S)-HPETE, AA メタほう酸塩, 脂肪酸, 例えば, AA, リノール酸 (C18:2n-6), α -リノレン酸 (C18:3n-3) は TRPV1 チャンネルを活性化することを報告している。AAO 区の AA 含量は PO 区および CO 区より有意に高く, PO, CO, AAO 区間では, リノール酸 (C18:2n-6) および α -リノレン酸 (C18:3n-3) に有意な差は認められなかったため, AA はタイプIII受容体細胞の TRPV1 チャンネルを活性化し, その結果, 塩味を高めるのかもしれない。

以上の結果から, AA を飼料へ添加することによって, 肉中の AA 含量を調節することが可能であり, AA の飼料添加によって鶏肉のおいしさが向上することが示唆された。

謝 辞

本研究は, 株式会社J-オイルミルズの助成によるものです。

文 献

- Association of Official Analytical Chemists. 1990. *Fat "crude" or ether extract in meat*. pp. 931-932.
- Brash, AR. 2001. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *The Journal of Clinical Investigation* 107, 1339-1345.
- Cartoni, C, Yasumatsu, K, Ohkuri, T, Shigemura, N, Yoshida, R, Godinot, N, le Coutre, J, Ninomiya, Y, and Damak, S. 2010. Taste preference for fatty acids is mediated by GPR40

- and GPR120. *The Journal of Neuroscience* 30, 8376-8382.
- Chaudhari, N and Roper, SD. 2010. The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology* 190, 285-296.
- 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン. 2006. 日本学術会議. 東京.
- Fujimura, S, Muramoto T, Katsukawa M, Hatano, T, and Ishibashi, T. 1994. Chemical analysis and sensory evaluation of free amino acids and 5'-inosinic acid in meat of Hinai-dori, Japanese native chicken: Comparison with broilers and layer pullets. *Animal Science Technology* 65, 610-618.
- Gilbertson, TA, Fontenot, DT, Liu, L, Zhang, H, and Monroe, WT. 1997. Fatty acid modulation of K⁺ channels in taste receptor cells: gustatory cues for dietary fat. *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 272, C1203-C1210.
- 畠山義祝・赤川淳美・本郷直喜・八槻三千代. 1983. 比内交雑鶏の増体率向上試験 (第2報) -比内交雑鶏の性能調査-. 昭和56年度秋田県畜産試験場試験成績報告書. 67-79.
- Hwang, SW, Cho, H, Kwak, J, Lee, SY, Kang, CJ, Jung, J, Cho, S, Min, KH, Suh, YG, Kim, D, and Oh, U. 2000. Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: Endogenous capsaicin-like substances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 6155-6160.
- Iverson, SJ, Lang, SLC, and Cooper, MH. 2001. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. *Lipids* 36, 1283-1287.
- Japan Oil Chemists' Society. 2009. The JOCS standard methods for the analysis of fats, oils and related materials, 1st English ed. *Japan Oil Chemists' Society*, Tokyo, Japan.
- 唐澤豊, 青木邦之, 平方明男. 1989. 異なる種鶏の脚筋と胸筋の遊離アミノ酸とプリン化合物. *日本家禽学会誌* 26, 29-34.
- Kawai, T and Fushiki, T. 2003. Importance of lipolysis in oral cavity for orosensory detection of fat. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 285, R447-R454.
- 清原玲子, 山口進, 潮秀樹, 下村道子, 市川朝子. 2009. アラキドン酸の油脂調理食品への添加効果. *日本調理科学会誌* 42, 294-299.
- Kretz, O, Barbry, P, Bock, R, and Lindemann, B. 1999. Differential expression of RNA and protein of the three pore-forming subunits of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel in taste buds of the rat. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 47, 51-64.
- Laugerette, F, Passilly-Degrace, P, Patris, B, Niot, I, Febbraio, M, Montmayeur, JP, and Besnard, P. 2005. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *The Journal of Clinical Investigation* 115, 3177-3184.
- Lyall, V, Heck, GL, Vinnikova, AK, Ghosh, S, Phan, THT, Alam, RI, Russell, OF, Malik, SA, Bigbee, JW, and DeSimone, JA. 2004. The mammalian amiloride-insensitive non-specific salt taste receptor is a vanilloid receptor-1 variant. *The Journal of Physiology* 558, 147-159.
- Mattes, RD. 2009. Is There a Fatty Acid Taste? *Annual Review of Nutrition* 29, 305-327.

- Nishimura, T, Rhue, MR, Okitani, A, and Kato, H. 1988. Components contributing to the improvement of meat taste during storage. *Agricultural and Biological Chemistry* 52, 2323-2330.
- Oike, H, Wakamori, M, Mori, Y, Nakanishi, H, Taguchi, R, Misaka, T, Matsumoto, I, and Abe, K. 2006. Arachidonic acid can function as signaling modulator by activating the TRPM5 cation channel in taste receptor cell. *Biochimica et Biophysica Acta* 1761, 1078-1084.
- Reckmeyer, NM, Vickers, ZM, and Csallany, AS. 2010. Effect of free fatty acids on sweet, salty, sour and umami tastes. *Journal of Sensory Studies* 25, 751-760.
- 力丸宗弘, 高橋大希, 高橋大希, 小松恵, 石塚条次, 清原玲子, 山口進, 高橋秀彰. 高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明 (第2報) -比内地鶏とブロイラーの肉質評価-. 2011. 秋田農技七畜試研究報告 25, 75-83.
- Treesukosol, Y, Lyall, V, Heck, GL, DeSimone, JA, and Spector, AC. 2007. A psychophysical and electrophysiological analysis of salt taste in Trpv1 null mice. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 292, R1799-R1809.
- Yamaguchi, S. 1967. The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. *Journal of Food Science* 32, 473-478.
- Yamamoto, T, Watanabe, U, Fujimoto, M, and Sako, N. 2009. Taste preference and nerve response to 5'-inosine monophosphate are enhanced by glutathione in mice. *Chemical Senses* 34, 809-818.

比内地鶏の去勢に関する試験 (第3報)

— 早期日齢における比内地鶏の効率的な去勢技術の確立 —

力丸宗弘・小松 恵・高橋大希・石塚条次・Marc.A.Nichols*

* Wapsie produce inc.

要 約

本研究では、比内地鶏の雄びなの精巣を効率的に除去するため、新たに器具を開発し、早期日齢における去勢が去勢時間ならびに発育へ及ぼす影響について調査をおこなった。2週齢の比内地鶏の雄雛(20羽/区)を2-, 4-, 8-wk週齢去勢区、雄区に分け、26週齢まで飼育した。8-wk去勢区では、慣例器具を用いて両側から精巣を取り除いた。一方、2-wkおよび4-wk去勢区では、新たに改良した器具を用いてそれぞれ片側から精巣を取り除いた。その結果、慣例方法による8-wk去勢区では、去勢に326.4秒(5分24秒)要したのに対し、新たな方法を用いた2-wkおよび4-wk去勢区では、それぞれ35.9と28.4秒に短縮することができた。また、4-wk去勢区の10および18週齢体重において、8-wk去勢区より有意に体重が重かった。これらの結果は、早期日齢における去勢が遅い日齢における去勢よりも去勢後の増体の減少を抑制することを示唆している。以上の結果から、早期日齢に去勢を行うことによって、去勢時間が大幅に短縮され、去勢後の増体が改善されることが示唆された。また、本技術は早期日齢における効率的な比内地鶏の去勢鶏生産を可能にする。

緒 言

去勢鶏は精巣を外科的に取り除いた雄のニワトリである。雄性ホルモンの欠乏により、去勢鶏は性成熟した雄鶏に関連するとさかや肉垂を欠く。去勢鶏では、通常、闘争に費やすエネルギー、振舞い、テリトリーの防衛が大きく減少し、それによって、より効率的に飼料が発育や脂肪蓄積に変換され、肉質が改善される(JacobとMather 2000)。それゆえ、去勢鶏の肉は雄鶏の肉と比較してより柔らかく(Mastら1981)、よりジューシーでおいしくなる(YorkとMitchell 1969)ことが知られている。

去勢鶏生産では、Jersey Giants, Brahmas, Orpingtons, Cornish, Plymouth Rocks, Cochins,あるいは一般的にブロイラー産業で利用されているCornish×PlymouthRockの交雑鶏のような体重の大きい系統が利用されてきた(JacobとMather 2000)。しかし、体重が大きい系統の去勢

鶏では体重が5.6 kgにも達し、その重量は家庭での消費量を超えること、また、消費者の鶏肉に対する多様性、品質への需要の高まりから、近年、様々な国においてブロイラーより成長が遅く、体重が小さな地鶏について去勢がおこなわれている(Chenら2000; Rahmanら2004; Miguelら2008; Sirriら2009)。

一般的に体重が大きい系統では、2から4週齢に去勢され、去勢を行う際には約1ポンド(約453.6 g)の重さが必要とされている(JacobとMather 2000)。一方で、成長が遅い肉用鶏では、去勢の適性体重に達するまで日齢を要するため、その多くは6週齢以降に去勢がおこなわれている(Chenら2000; Miguelら2008; Sirriら2009)。我々は、これまで未利用である比内地鶏の雄雛の有効活用を図るため、去勢が比内地鶏の発育ならびに屠体成績に及ぼす影響について検討し、肉質が改善されることを報告した(力丸ら2010ab)。

しかし、去勢日齢が遅くなると精巢の外膜が硬くなり、精巢の除去が困難となる。その結果、去勢に時間を要し、去勢鶏は雄鶏より去勢後数週間体重が有意に劣る(力丸ら 2010b)。さらに、慣例方法では1日に去勢できる羽数も制限される。それゆえ、去勢鶏生産を実用化するためには、早期日齢において短時間で去勢できる効率的な方法を確立することが必要である。そこで、本研究では、早期日齢に適した形状に去勢器具を改良し、去勢日齢と去勢方法の違いが去勢時間ならびに発育に及ぼす影響について調査をおこなった。

材料および方法

1. 供試鶏ならびに飼育方法

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。

秋田県農林水産技術センター畜産試験場でふ化した比内地鶏の雄雛を4段の育雛バタリーで4週齢まで飼育し、その後、運動場が付随したパイプハウスで26週齢まで飼育した。2週齢に雄雛の体重を測定し、20羽ずつ2-wk区、4-wk区、8-wk区、雄区の4区に分けた。飼料は以下の4つの市販飼料を給与した：1) 4週齢まで幼雛用飼料(CP21%; ME2,900 kcal/kg); 2) 10週齢まで中雛用飼料(CP18%; ME2,850 kcal/kg); 3) 14週齢まで大雛用飼料(CP15%; ME2,800 kcal/kg); 4) 26週齢まで仕上げ用飼料(CP15%; ME2,900 kcal/kg)(北日本くみあい飼料株式会社, 仙台)。飼料は不断給餌とし、飲水は自由とした。

2. 去勢方法

本研究では、去勢方法が去勢時間や去勢後の体重にどのように影響するのかを科学的に検証するため、また、麻酔の使用によって実際の去勢鶏生産に適したデータが得られなくなるため、麻酔をおこなわずに去勢した。

2-wk区、4-wk区、8-wk区の雄びなは、それぞれ2、4、8週齢に去勢をおこなった。外科手術の間、過度の出血を避け、精巢を見えやすく、できる限り早く取り除くために、すべての雄雛について、去勢の16時間前に給餌を止めた。ただし、飲水は自由とした。本研究で用いた去勢器具(開腹器と鉗子)を写真1(慣例器具Aと改良器具B)に示した。8-wk区では、力丸ら(2010b)によって述べられているように慣例器具(器具A: FE30; 富士平工業, 東京)を用いて去勢をおこなった。器具Aは2週齢および4週齢の雄雛を去勢するには大きすぎるため、8-wk区の雛のみに用いた。それゆえ、若い雛を去勢するために新たに器具(器具B; 夏目製作所, 東京)を改良し、2-wk区および4-wk区の去勢に用いた。器具Aの鉗子の先端はスプーン状で19 mmの幅であるが、器具Bの先端はループ状で12 mmの幅であり、器具Aの先端よりも小さい(写真1)。また、器具Bは体の内部が見える構造となっているので、片側から両方の精巢の除去が可能である。開腹器については、器具Aは肋骨間の開腹部を広げるために両手を使う必要があり、幅を調節することができないが、器具Bは片手で幅を調節することが可能である。

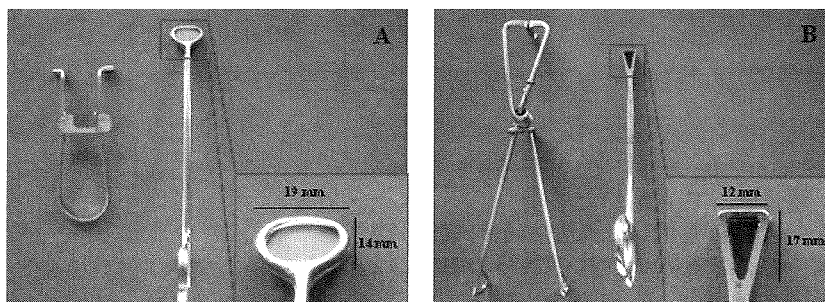


写真1. 去勢器具
器具A: 慣例型
器具B: 改良型

去勢を行う際、光が直接ヒナの体内に入るように角度を調節し、手術者が作業しやすいようにセットされたテーブルを準備した。最初に雛をきれいな木製の台に保定し、翼と脚を固定後、肋骨部分を見やすくするためにヒナをいっばいに引き延ばした。8-wk区のヒナについては、モモ肉の横部分の羽毛を取り除いた。ヒナの右側を上に向け、肋骨上の皮膚を70%エタノールで消毒後、皮膚を尻側へ引っ張り、利き手と反対の人差し指を第7肋骨の下側に位置する右側の尻の上部に置き、利き手にナイフを持ち、第6肋骨と第7肋骨の間を切開し、開腹器で開腹した。

8-wk区では、第6肋骨と第7肋骨の間を切開し、鉗子を用いて両側から精巢を取り除いた。精巢を鉗子の間に入れ、精巢の周辺の血管に傷つけないように鉗子をゆっくり一方向にねじった。次に、ヒナを左向きに裏返して左側を上に向け、もう片方の精巢も同じ方法で取り除いた。2-wk区および4-wk区では、片側から両方の精巢を取り除いた(写真2)。第6肋骨と第7肋骨の間を切開し、開腹器で開腹した。最初に下側に位置する左の精巢を鉗子の間に入れ、手術者の方へゆっくり引っ張りながら精巢を取り除いた。次に上側に位置する右側の精巢も同じ方法で取り除いた。

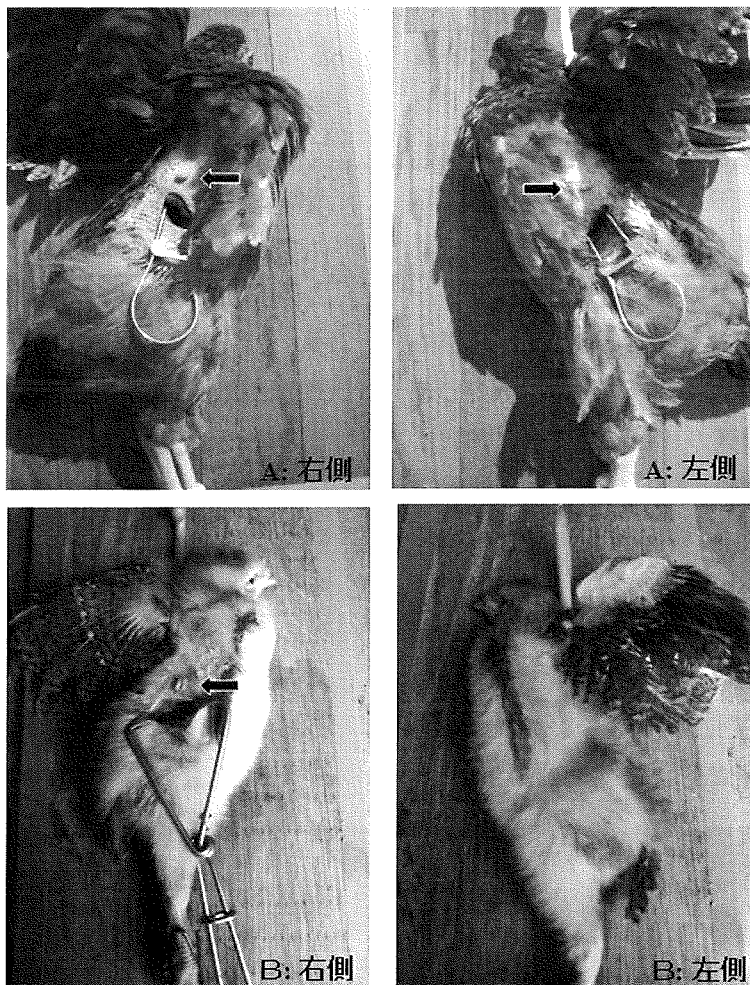


写真2. 器具A、Bを用いた去勢

A: 器具Aを用いた両側からの去勢 (8週齢)

B: 器具Bを用いた片側からの去勢 (2週齢)

矢印: 精巢

開腹器を取り除いた後、傷口を70%エタノールで消毒した。外科手術後、皮膚とモモ肉の筋肉が元の位置に戻ることによって、肋骨間の切開部分上において自然の包帯となるため、縫合はおこなわなかった。外科手術の後、ヒナへ飼料と水を与え、清潔なハウスで1週間飼育した。1週間後、メスで慎重に皮膚に穴を開け皮下に蓄積した空気を抜いた。

3. 去勢時間ならびに発育

2-wk区、4-wk区、8-wk区の雛について、個体ごとにメスの切り込みから精巢の除去までストップウォッチを用いて時間を計測した。

2, 4, 8, 10, 14, 18, 22, 26 週齢に生体重を測定し、生体重から日増体重を算出した。飼料効率は日増体重と飼料摂取量から算出した。Slip (不完全な去勢鶏)は26週齢に剖検によって確認した。

4. 統計処理

すべての統計処理はExcel-Statistics 2006 software (Excel, Microsoft Corp., Remond, WA; Socail Survey Research Information, 東京)を用いておこなった。平均値は Tukey's, Bonferroni's, Sheffe' sの比較テストを用いて比較し、すべての比較テストにおいてP値が0.05未満である時に有意とした。

結果および考察

2-wk区、4-wk区、8-wk区の去勢時間を表1に示した。器具Aを用いた8-wk区では、去勢に326.4秒(5分24秒)要したのに対し、器具Bを用いた2-wk区および4-wk区では、それぞれ35.9と28.4秒に短縮された。2-wk区および4-wk区の去勢時間は8-wk区より有意に去勢時間が短かった ($P < 0.01$)。2-wk区と4-wk区の去勢時間に有意な差は認められなかった。

2-wk区、4-wk区、8-wk区、雄区の発育成績を表2に示した。4-wk区におけるへい死羽数は、早期日齢による去勢にもかかわらずたった1羽であった。剖検の結果、2-wk区で4羽、4-wk区で3羽が不完全な去勢鶏 (slip) であり、一部精巢が再生していた。それゆえ、slipのデータは統計処理から除いた。4-wk区は10, 18週齢において8-wk区より有意に体重が重かった ($P < 0.05$)。2-wk区、4-wk区、雄区の体重は、すべての週齢において有意な差が認められなかった。また、22週齢以降、すべての区で体重に有意な差は認められなかった。4-wk区は2~10週齢まで最も増体が優れていた。一方で、8-wk区は最も増体が劣っていた。また、2-wk区および4-wk区は、試験期間(2~26週齢)を通して8-wk区より増体が優れていた。飼料摂取量と飼料効率は14~26週齢において、8-wk去勢区で飼料摂取量が減少傾向を示したのを除いてほとんど差は認められなかった。

表1 去勢日齢および器具が去勢時間に及ぼす影響

項目	去 勢 日 齢		
	2週齢去勢区 (20羽)	4週齢去勢区 (20羽)	8週齢去勢区 (20羽)
去勢器具	器具 B	器具 B	器具 A
去勢時の体重、g	114.9 ± 11.2 ^c	334.3 ± 28.6 ^b	985.2 ± 152.8 ^a
去勢時間、秒	35.9 ± 9.6 ^b	28.4 ± 6.7 ^b	324.6 ± 57.0 ^a

平均値 ± 標準偏差

^{abc} 異符号間に有意差あり ($P < 0.01$)

表2 去勢日齢および器具が発育に及ぼす影響

項目	去勢日齢							
	2週齢去勢区 (20羽)		4週齢去勢区 (20羽)		8週齢去勢区 (20羽)		雄区 (20羽)	
去勢器具	器具 B		器具 B		器具 A			
へい死、羽	0		1		0		0	
Slip、羽	4		3		0		-	
体重、g ¹								
2週齢	115 ± 11		115 ± 11		114 ± 11		116 ± 11	
4週齢	306 ± 34		336 ± 32		319 ± 31		329 ± 31	
8週齢	944 ± 127		1088 ± 181		985 ± 153		967 ± 138	
10週齢	1419 ± 144	ab	1547 ± 217	a	1342 ± 162	b	1444 ± 163	ab
14週齢	2299 ± 187		2455 ± 293		2229 ± 172		2346 ± 228	
18週齢	3052 ± 235	ab	3214 ± 244	a	2933 ± 258	b	3146 ± 239	ab
22週齢	3615 ± 344		3787 ± 282		3552 ± 285		3753 ± 279	
26週齢	4071 ± 279		4175 ± 363		3943 ± 338		4170 ± 291	
1日平均増体重/羽 ²								
2-14週齢	26.0 ± 2.1		27.9 ± 3.5		25.4 ± 1.7		26.5 ± 2.6	
14-26週齢	21.2 ± 3.8		20.5 ± 3.5		20.6 ± 2.9		22.0 ± 2.6	
1日平均飼料摂取量/羽 ³								
2-14週齢	82.8		84.2		82.0		86.7	
14-26週齢	165.6		165.1		152.4		165.9	
飼料効率 ⁴								
2-14週齢	3.2		3.0		3.2		3.3	
14-26週齢	7.8		8.1		7.4		7.5	

平均値 ± 標準偏差

^{ab} 異符号間に有意差あり ($P < 0.01$)

^{1,2} slipを除いた値

^{3,4} slipを含んだ値

去勢時間における差の大きな理由は、改良した器具を用いたことで、両方の精巢を片側から取り除くことが可能となったことである。発育では、2-wk区、4-wk区、雄区に有意な差は認められなかったことから、新たな器具を用いた早期日齢における去勢は、慣例器具を用いた遅い日齢における去勢よりも優れていることが示唆された。

これまで、外科による去勢が去勢鶏の増体に及ぼす影響について数多く報告されているが、その結果はまちまちである。去勢が体重に及ぼす影響は、Casonら(1988)が報告しているように去勢日齢、と殺時期、あるいは品種や系統の違いによるものかもしれない。Casonら(1988)は、3週齢

で去勢したブロイラーでの去勢鶏は、7週齢において、雄鶏より体重が劣ると報告している。特に彼らは、雄鶏は模擬去勢を行った雄鶏(Sham-operated controls)よりも有意に体重が重いので、外科手術のストレスが去勢において重要な考慮すべき点であると述べている。一方で、地鶏では、去勢に対する反応が異なるようである。60~64日齢に去勢したスペインのExtremaña Azul鶏の去勢鶏は、11週齢では雄鶏より体重が劣るが、20、25、30週齢では雄鶏より体重が重い(Muriel 2004)。また、10週齢で去勢した台湾鶏の去勢鶏は、14週齢以前では雄鶏より体重が劣るが、18週齢以降は雄鶏より体重が重い(LinとHsu 2002)。



写真3. 去勢鶏とslip
左：去勢鶏 右：slip

これらの結果は、去勢時の外科ストレスが手術後数週間増体に影響を与えるが、その後手術時のダメージを回復し、雄鶏よりも体重が重くなることを示唆している。

器具Bを用いて去勢した2-wk区および4-wk区は、去勢後、発育が急激に回復し、雄鶏と同等の発育を得た。一方で、器具Aを用いて去勢した8-wk区は、2-14週齢の間、他の試験区より増体が劣る傾向にあった。この結果は、去勢日齢がその後の発育に大きく影響することを示唆しており、早期における去勢の方が遅い日齢における去勢よりも適していることを示している。8-wk区がすぐに回復しなかった理由としては、1) 早期日齢の方が去勢後、発育の回復が早いこと、2) 去勢に要する長い時間によってストレスが生じたこと、が考えられる。Chenら(2007)は、早期去勢(3週齢)した去勢鶏は模擬去勢した雄鶏(sham-operated male)と比較して16週齢の体重が重いことを報告している。また、Shaoら(2009)は雄鶏、模擬去勢した鶏(sham-operated male)、去勢鶏の体重に有意な差は認められないので、外科によるストレスは去勢鶏の成長に不利な影響は与えないと報告している。また、彼らは外科によるストレスよりもむしろ性成熟の影響の方が発育へ与える影響が大きいと示唆している。これらの結果は、去勢日齢の影響の方が外科によるストレスよりも大きいことを示唆している。

本研究では、2-wk区および4-wk区において数羽のslipが確認された(写真3)。一般的に熟練した技術者でも5-20%のslipが発生する(Chenら2006)。slipは去勢鶏と比較し、著しい雄鶏の第2次性徴を示す(Mastら1981; Chenら2006)。また、slipの肉質は雄鶏と去勢鶏の中間の肉質になる(Mastら1981; Sirriら2009)。それゆえ、slipは消費者に去勢鶏として受け入れがたく、生産農家の収入において大きな損失となる(Chenら2006)。よって、slipの発生を減らすためには、さらなる去勢方法の検討が必要である。本研究では、新たに改良した器具を用いて早期日齢に去勢することによって、去勢時間が短縮され、去勢後の増体の減少を改善することができた。しかし、去勢の成功率を上げるためには、両方の精巣だけでなく、副睪丸、輸精管を囲む腹膜も取り除く必要があるかもしれない。

以上の結果から、去勢器具を改良することによって、去勢時間が短縮され、小さな雛に適応した去勢方法を確立することができた。また、本技術は早期日齢における効率的な比内地鶏の去勢鶏生産を可能にする。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、去勢技術を指導していただいたWapsie Produce Inc.の方々へ深甚の謝意を表します。

文 献

- Cason, JA, Fletcher, DL, and Burk, WH. 1988. Research note: Effect of caponization on broiler growth. *Poultry Science* 67, 979-981.
- Chen, KL, Chen, TT, Lin, KJ, and Chiou, PWS. 2007. The effects of caponization age on muscle characteristics in male chicken. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 20, 1684-1688.
- Chen, KL, Hsieh, TY, and Chiou, PWS. 2006. Caponization effects on growth performance and lipid metabolism in Taiwan country chicken cockerels. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 19, 438-443.
- Chen, KL, Wu, CP, and Hong, YM. 2000. Meat quality and carcass traits of capon in comparison with intact male and female Taiwan country chickens. *Journal of the Chinese Society of Animal Science* 29, 77-88.
- 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン. 2006. 日本学術会議. 東京.
- Jacob, CY and Mather FB. 2000. *Capons*. Factsheet PS-54. Department of Animal Science, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and agricultural Service, University of Florida, Gainesville.
- Lin, CY and Hsu, JC. 2002. Effects of surgical caponization on growth performance, fiber diameter and some physical properties of muscles in Taiwan country chicken cockerels. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 15, 401-405.
- Mast, MG, Johdan, HC, and Macneil JH. 1981. The effect of partial and complete caponization on growth rate, yield and selected physical and sensory attributes of cockerels. *Poultry Science* 60, 1827-1833.
- Miguel, JA, Ciria, J, Asenjo, B, and Calvo JL. 2008. Effect of caponization on growth and on carcass and meat characteristics in Castellana Negra native Spanish chickens. *Animal* 2, 305-311.
- Muriel, A. 2004. The effect of caponization on production indices and carcass and meat characteristics in free-range Extremeña Azul chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2, 211-216.
- Rahman, MM, Islam, MA, Ali, MY, Khondaker, MEA, Hossain, MM. 2004. Effect of caponization on body weight, hematological traits and blood cholesterol concentration of Nara chicken. *International Journal of Poultry Science* 3, 284-286.
- 力丸宗弘, 小松恵, 小川秀治, 石塚条次. 2010. 比内地鶏の去勢に関する試験 (第2報) - 比内地鶏の去勢が肉質に及ぼす影響 -. 秋田農技セ畜試研究報告24, 59-65.
- 力丸宗弘, 小松恵, 安田正明, 石塚条次. 2010. 比内地鶏の去勢に関する試験 (第1報) - 比内地鶏の去勢が発育およびと体成績に及ぼす影響 -. 秋田農技セ畜試研究報告24, 53-58.
- Shao, Y, Wu, C, Li, J, and Zhao, C. 2009. The effects of different caponization age on growth performance and blood parameters in male Tibetan chicken. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 4, 228-236.
- Sirri, F, Bianchi, M, Petracci, M, and Meluzzi, A. 2009. Influence of partial and complete caponization on chicken meat quality. *Poultry Science* 88, 1466-1473.
- York, LR and Mitchel JD. 1969. The effect of estradiol-17 β -monopalmitate and surgical caponization on production efficiencies, yields and organic characteristics of chicken broilers. *Poultry Science* 48, 1532-1536.

比内地鶏増体改善のためのロード種鶏群の改良

小松 恵・力丸宗弘・高橋大希・石塚条次

要 約

比内地鶏の増体性の改良を目的とし、比内地鶏の雌系であるロードの改良を検討した。試験1では増体性に優れる家畜改良センター兵庫牧場のロード86系統（兵庫R）を利用し、従来利用してきた当场保有のロード（秋田R）との二元交雑鶏（兵庫R×畜試R、畜試R×兵庫R）の能力を調査した。試験2では比内鶏と試験1の交雑鶏との交配による比内地鶏の生産性を調査した。その結果、二元交雑鶏を雌系として制限給餌による体重制限をした場合、従来の種鶏よりも産卵成績が優れ、なおかつ増体性の良い比内地鶏が生産できた。

緒 言

比内地鶏は比内鶏とロードアイランドレッドの交配（比内鶏×ロード）により作出される秋田県の特産鶏である。当场では比内鶏とロードの原種鶏群を維持し、比内地鶏の素雛生産を行う民間孵化場へ種鶏を供給している。比内地鶏は平均飼育日数が160日から170日と一般の地鶏よりも長く飼養経費がかさむことから生産者の負担となっており、増体性の改良による飼育日数の短縮、もしくは出荷体重の増加を望む声が聞かれるようになった。

そこで、独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場で改良が進められ、増体能力が高く、数多くの地鶏などの作出に利用されているロード86系統を導入し、雌系への利用を検討することにした。導入した平成20年に6週齢時体重を比較した際、86系統が997g、当场保有ロードが569gと1.7倍以上の差があった。雌系として86系統を供用すれば、種鶏自体の過大な体重増加が孵化場におい

て最も重要視される産卵性へ影響を及ぼすことや、従来の比内地鶏とかけ離れすぎることによる流通業者や消費者への悪影響などが危惧される。よって試験1では、当场保有のロードと86系統の二元交雑鶏を供試鶏とし、従来の種鶏との産卵性の比較を行った。次に試験2では、調査1の種鶏と比内鶏の交配により比内地鶏を作出し、雌系の利用系統の違いが比内地鶏の生産性に与える影響を検討した。

材料および方法

試験1：二元交雑鶏の能力調査

1. 供試鶏および試験区分

兵庫牧場のロード86系統（兵庫R）と当场保有のロード（秋田R）の系統間交配により作出した交雑鶏を供試した。1区（兵庫R♂×秋田R♀）および2区（秋田R♂×兵庫R♀）、対照区である3区（秋田R）を設けた。供試羽数は各区60羽とした（表1）。

表1 試験区分

区分	系統	性別	羽数
1区	兵庫R×秋田R	雌	60羽
2区	秋田R×兵庫R	雌	60羽
3区	秋田R	雌	60羽

2. 試験期間

調査期間は平成21年9月16日から22年7月28日(6~51週齢)までとした。

3. 飼養管理

餌付けから28日齢まではバタリー育雛器、28日齢から120日齢までは中大雛用ケージで育成した。120日齢以降は平飼い鶏舎において1区画が4.42×5.32mの部屋に60羽を収容し、調査終了まで飼養した。飼料は、餌付けから28日齢まで幼雛用(CP24%, ME3,000 kcal/kg)、28日齢から70日齢まで中雛用(CP18%, ME2,850 kcal/kg)、70日齢から120日齢まで大雛用(CP15%, ME2,800 kcal/kg)、120日齢以降は成鶏用(CP18%, ME2,850 kcal/kg)を給餌した。1区および2区は過肥による産卵成績の悪化が懸念されることから制限給餌を実施した。8週齢まで不断給餌、8週齢から120

日齢までは週齢ごとに定めた1日あたりの給餌量の2日分を1日おきに給与する隔日給餌を行った(表2)。120日齢以降は1日あたりの量を毎日給餌した。3区は、120日齢まで不断給餌、以降は自動給餌機により5時から9時および16時から20時の間に採食できるようにした。いずれも全期間を通じて自由飲水とした。点灯は182日齢から実施し、自然日照時間を含めて14時間となるように設定した。なお、デビークは132日齢に実施し、その他の管理は当場の慣行によった。

4. 調査項目

生存率、産卵率、卵重、体重とした。

生存率は調査開始時の羽数と51週齢の生存羽数から算出した。20週齢から51週齢の間、毎日回収できた卵の個数と目視で確認できる破卵の数を調査した。卵重は24週齢から44週齢まで隔週で調査日を1日設け、回収した卵の重量を測定した。体重は、6週齢から44週齢まで隔週で全個体の体重を測定した。

表2 制限給餌量(1区、2区)

週齢	飼料	1羽当たりの 給餌量(g/日)
1~4	幼雛用	飽食
5~7		飽食
8~9	中雛用	72
10		74
11		74
12~16	大雛用	80
17~21		80
22~24		100
25	成鶏用	105
26~27		110
28~29		120
30~		130

試験2: コマーシャル鶏(比内地鶏)の能力調査

1. 供試鶏および試験区分

比内鶏の雄と試験1の二元交雑ロードの交配により作出した比内地鶏を試験区とした。比内鶏と秋田Rの交配による従来の比内地鶏を対照区とした。供試羽数は各区30羽とした。

表3 試験区分

区分	交配様式	性別	羽数
4区	比内鶏♂×(兵庫R♂×秋田R♀)	雌	30羽
5区	比内鶏♂×(秋田♂×兵庫R♀)	雌	30羽
6区	比内鶏♂×秋田R♀	雌	30羽

2. 試験期間

平成 22 年 4 月 21 日から 9 月 21 日 (0~22 週齢) までとした。

3. 飼養管理

餌付けから 4 週齢まではバタリー育雛器で飼育, 4 週齢以降は運動場が隣接するパイプハウスで放し飼いとした。飼料は, 餌付けから 4 週齢までは幼雛用 (CP24%, ME 3,000 kcal/kg), 4 週齢から 10 週齢まではブロイラー肥育前後期用 (CP19%, ME2, 900 kcal/kg), 10 週齢以降はブロイラー肥育後期用 (CP16%, ME2, 900 kcal/kg) を給餌し, 全期間を通じて飽食, 自由飲水とした。その他の管理は当場の慣行によった。

4. 調査項目

発育, 飼料摂取量, 解体成績, モモ肉の粗脂肪含量とした。

0, 4, 10, 14, 18, 22 週齢に全羽の体重を測定した。飼料摂取量は体重測定時に飼料残量を測定し, 給与量から差し引いて求めた。22 週齢時に各区 5 羽を約 24 時間絶食させ, 放血によ

る屠殺後解体を行った。生体重, 屠体, 内蔵 (肝臓, 筋胃), 正肉 (モモ肉, ムネ肉, ササミ) の重量を測定し, 生体重に占める重量割合を算出した。

5. 統計処理

Tukey 法による多重比較検定により試験区間の比較を行った。危険率 5%未満で有意とした。

結 果

試験 1 : 二元交雑鶏の能力調査

生存率と産卵成績を表 4 に示した。生存率は 1 区, 2 区, 3 区の順に低くなった。20~51 週齢に回収できた卵個数は, 2 区が完全卵が最も多く, 破卵個数が少なかった。20~51 週齢の産卵率は 2 区, 3 区, 1 区の順に低くなった。30~51 週齢の産卵率は 2 区, 1 区, 3 区の順に低くなった。破卵率は 3 区が他区と比較して高かった。

産卵率の週齢ごとの推移を図 1 に示した。産卵率の上昇は 3 区が最も早かったが, 産卵ピー

表 4 生存率および産卵成績

区分	生存率	回収卵個数(20~51週齢)			産卵率		破卵率
	6~51週齢 %	完全卵 個	破卵 個	合計 個	20~51週齢 %	30~51週齢 %	20~51週齢 %
1区	95.0	6,041	465	6,506	51.3	67.3	7.1
2区	88.3	6,411	414	6,825	56.8	71.5	6.1
3区	71.7	5,064	757	5,821	54.4	63.8	13.0

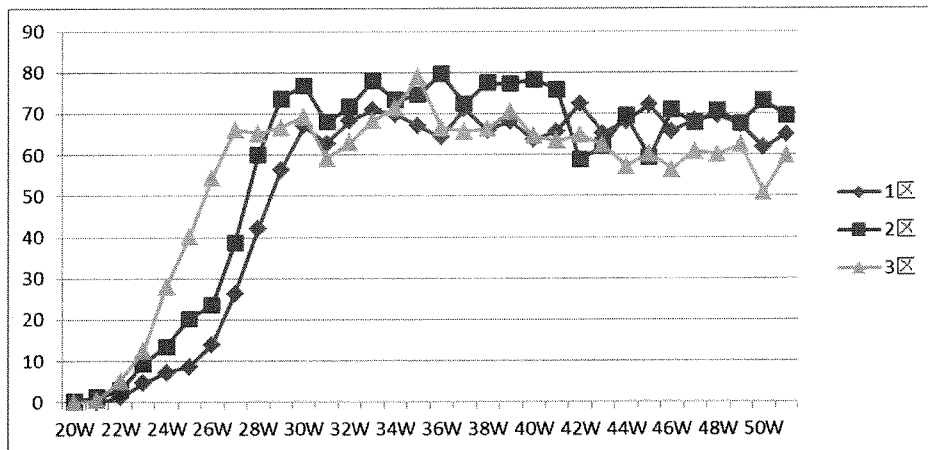


図 1 産卵率の推移

クやその後の持続性は2区より低かった。1区よりも2区のほうが産卵が早く、その後も高く推移した。

卵重の推移を表5に示した。当場では、通常30週齢を超えた種鶏から採取された卵重54g以上のものを種卵として利用している。1区および2区は30週齢、3区は26週齢には54gを

超えた。

体重の推移を図2に示した。1区および2区は3区よりも制限給餌開始前の体重が大きかったが、制限給餌開始後は3区を下回る値で推移した。また、2区と比較して1区の体重が上回る傾向がみられた。

飼料摂取量および飼料要求率を表7に示し

表5 卵重の推移

	24W	26W	28W	30W	32W	34W	36W	38W	40W	42W	44W
1区	47.1	49.4	52.1	55.2	58.1	59.1	59.9	60.1	58.9	59.5	60.7
2区	45.3	49.1	50.8	54.7	56.9	57.1	57.5	58.0	58.1	57.7	59.3
3区	50.5	54.5	56.4	59.3	60.7	59.5	61.4	62.0	61.1	62.7	62.0

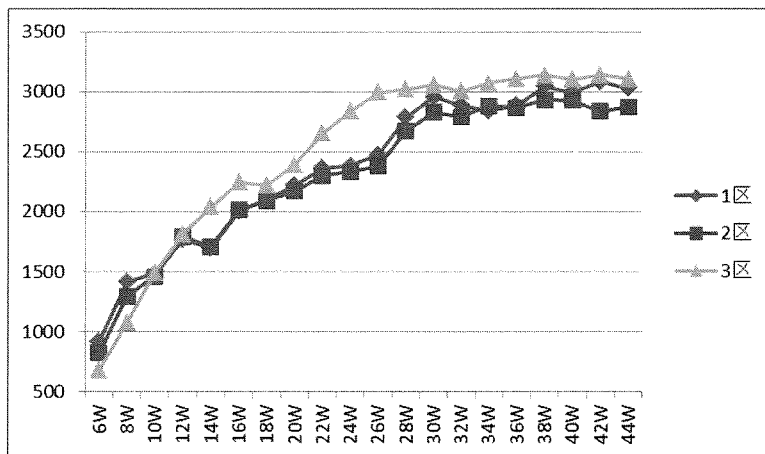


図2 体重の推移

表6 体重および増体量

		4区	5区	6区
体重				
0週齢	g	40.7±2.3	40.9±2.9	42.1±2.0
4週齢	g	433.6±41.5 ^a	406.2±45.4 ^a	368.3±33.8 ^b
10週齢	g	1459.8±134.1 ^a	1378.8±149.6 ^a	1214.6±143.5 ^b
14週齢	g	2081.7±154.9 ^a	1997.7±171.8 ^a	1825.6±163.8 ^b
18週齢	g	2515.7±210.7 ^a	2436.3±167.0 ^a	2210.1±186.8 ^b
22週齢	g	2998.0±278.9 ^a	2885.5±228.3 ^a	2557.5±253.3 ^b
1日当増体量				
0~4週	g/日	14.0±1.5 ^a	13.0±1.6 ^b	11.6±1.2 ^c
4~10週	g/日	24.4±2.7 ^a	23.2±3.3 ^a	20.2±3.2 ^b
10~14週	g/日	22.2±2.3	22.1±2.7	21.8±2.4
14~18週	g/日	15.5±3.2 ^{ab}	15.7±2.7 ^a	13.7±2.6 ^b
18~22週	g/日	17.2±4.3 ^a	16.0±3.9 ^a	12.4±3.1 ^b
全期	g/日	19.2±1.8 ^a	18.5±1.5 ^a	16.3±1.6 ^b

平均±標準偏差
異符号間に有意差あり(P<0.05)

た。4区、5区および6区の1日当たりの飼料摂取量はそれぞれ94.6 g、83.4 gおよび77.2 gであった。全期の飼料要求率は、4区>6区>5区の順に低くなった。

解体成績および粗脂肪含量について表8に示した。4区の屠体重量が5区および6区と比較して有意に高い値であった。筋胃は4区および5区と比較して6区が有意に高い値であった。腹腔内脂肪とモモ肉の粗脂肪含量は6区と比較して4区が高い値であった。肝臓および正肉では試験区間の有意な差は認められなかった。

考 察

本試験は、比内地鶏の増体性の改良を目的として実施した。試験1では、家畜改良センター兵庫

牧場のロード86系統の雌系利用を検討するため、当該保有のロードとの交雑鶏の産卵成績を従来の種鶏と比較した。対照区の3区は孵化場における通常の飼育下のデータを得るために不断給餌とした。

生存率は3区が71.7%と低かった。産卵初期から調査終了までの20~51週齢の産卵率が1区が3区を下回ったのは制限給餌による初産の遅れによるものである。肉用種鶏は、飼料を自由摂取させた場合生存率が低く、産卵成績は不良となるとされている(養鶏ハンドブック)。産卵成績は2区>1区>3区の順に優れていた。破卵率は1区、2区には顕著な差はなく、3区が他区より高かった。これは卵殻強度の差やストレスによるもの、同一ネストに複数羽が固まって産卵して破損した

表7 飼料摂取量および飼料要求率

		4区	5区	6区
飼料摂取量				
0~4週	g/日	26.9	26.6	23.2
4~10週	g/日	75.8	70.6	62.7
10~14週	g/日	108.3	101.5	99.6
14~18週	g/日	103.4	90.4	76.4
18~22週	g/日	119.4	100.6	96.7
全期	g/日	94.6	83.4	77.2
飼料要求率				
0~4週		1.92	2.04	1.99
4~10週		3.10	3.05	3.11
10~14週		4.88	4.59	4.56
14~18週		6.67	5.77	5.56
18~22週		6.93	6.27	7.79
全期		4.93	4.52	4.73

表8 解体成績

		4区	5区	6区
屠体	%	92.0 ^a	90.0 ^b	89.1 ^b
肝臓	%	1.5	1.4	1.4
筋胃	%	1.9 ^a	1.9 ^a	2.4 ^b
腹腔内脂肪	%	4.5 ^a	3.3 ^{ab}	1.9 ^b
モモ肉	%	21.7	21.5	21.4
ムネ肉	%	13.9	13.5	14.1
ササミ	%	3.8	4.0	3.8
粗脂肪含量(モモ肉)	%	5.8 ^a	5.0 ^{ab}	4.0 ^b

値は平均値, n=5

異符号間に有意差あり($P<0.05$)

などが考えられるが、卵殻強度は測定していないこと、また制限給餌をしなかった3区のほうがストレスは少ないと考えられ、今回その理由は明らかにできなかった。卵重は体重と同様に3区>1区>2区となったが、1区、2区ともに30週齢には種卵供用可能になる54gを超え、従来と同じ時期から種卵として利用できるという結果を得た。

試験2では比内地鶏と試験1の交雑鶏より作出された比内地鶏の生産性の調査を行った。22週齢時、6区と比較して4区は400g以上、5区は300g以上重くなった。増体量の多い区ほど飼料摂取量も多かったが、5区は14週齢以降の飼料要求率が4区ほど高くならず、全期では最も優れていた。肉用鶏において腹腔内脂肪の過剰な蓄積は一般的に好ましくないとされるが、試験区の解体成績において腹腔内脂肪は増加し、4区では6区と比較して有意に高い値であった。モモ肉中の粗脂肪含量も同様に増加したが、脂肪量の多い、ジューシーでやわらかな肉質を望む声が生産者や関係団体から多く聞かれることから、程度にもよるだろうが、脂肪蓄積についての今回の結果は良い傾向とも言える。

以上のことから、当场保有の従来のロードと兵庫牧場86系統の交配による二元交雑鶏を比内地鶏の雌系として制限給餌をした場合、従来の種鶏よりも産卵成績が優れ、なおかつ増体性の良い比内地鶏を生産できることが示唆された。ただし、種鶏性能は畜試R×兵庫Rが兵庫R×畜試Rを上回ったが、原種鶏場である当场での種雛の生産コストが増えてしまうため、雌系雌を産卵性の低い兵庫Rにすることは実用的ではないと判断している。平成20年に導入した制限給餌を行った兵庫Rの20~45週齢産卵率は45%であった。

また、制限給餌は不断給餌よりも労力がかかることから当场では実施してこなかったが、産卵成績の向上や飼料費削減など、種鶏場にとっての経済的なメリットは大きい。今後は、今回の二元交雑鶏の不断給餌による成績や種鶏の省力的な体重制限、さらに、他系統の利用についても検討することが必要と考えられる。

文 献

秋山正治, 吉田晶二, 田先威和夫. 1985. 新編養鶏ハンドブック. pp.577-606. 養賢堂. 東京.

粳米の給与が比内地鶏の生産性に及ぼす影響

小松 恵・力丸宗弘・高橋大希・石塚条次

要 約

比内地鶏に粳米を給与し生産性に及ぼす影響を調査した。試験1では配合飼料の15%または30%を粳米に代替して比内地鶏へ給与した。その結果、30%までは生産性に影響を及ぼさずに給与することができた。試験2では9週齢以降配合飼料および粳米を別々に自由摂取させた結果、総摂取量のうち45%の粳米を摂取し、生産性への影響は認められなかった。

緒 言

秋田県の特産鶏である比内地鶏は、平成20年以降の経済不況などにより販売数が減少し生産調整を余儀なくされた上、依然として続く配合飼料価格の高止まりが生産農家の経営を圧迫している。このような状況下で、飼料用米は県内で安定的に生産できる作物であり、飼料自給率の向上が望めることから近年その利活用に注目が集まっている。

ここ数年、当場では比内地鶏に対する飼料用米給与試験に取り組んできた。20年度は仕上げ期の市販配合飼料の玄米による10~30%代替試験を行った。また21年度には仕上げ期に破碎玄米によるトウモロコシ代替給与を行い、発育成績などに影響はなく、モモ肉の脂肪酸組成を変化させるという結果を得ている(小松ら2011)。比内地鶏の生産現場においても、生産部会ごとに割合などは異なるものの、配合飼料へ玄米を5~20%程度上乘せ添加する飼料給与方法が普及しつつある。ニワトリは筋胃をもつため玄米と粳米両方の利用が可能とされ、コスト面や保管性、糶摺りの労力を考慮すると、玄米ではなく粳米を全粒のまま利用するのが望ましいが、比内地鶏への給与については未だに知見に乏しい。

そこで本試験では、全粒のままの粳米の給与について検討した。試験1では市販配合飼料の15%および30%を粳米で代替給与し、発育などに及

ぼす影響について調査した。また、試験2では農家段階での省力的な粳米利用を想定し、配合飼料と粳米を別々に給与し、鶏に自由に採食させた場合の摂取量と発育について調査を実施した。

【試験1】

材料および方法

1. 供試鶏

平成22年5月12日餌付けの比内地鶏の雌90羽を用いた。

2. 飼育管理

餌付けから4週齢まではバタリー式育雛器で飼育し、その後は運動場付きのパイプハウスで試験終了時まで放し飼いとした。飼料は、餌付けから4週齢まではブロイラー肥育前期用配合飼料(CP21.0%, ME3,100 kcal/kg)、4~10週齢はブロイラー肥育前後期用配合飼料(CP19.0%, ME2,900 kcal/kg)を給与した。飼育終了まで不断給餌、自由飲水とした。衛生管理は当場のプログラムにより行った。

3. 調査期間

10週齢から22週齢まで(平成22年7月21日~10月13日)とした。

4. 試験区分

試験区分を表1に示した。配合飼料のみ給与する慣行区、慣行区飼料に対して重量比で15%、30%を粳米で代替した15%粳米区、30%

粳米区の計3区を設けた。供試羽数は各区30羽とした。

5. 給与飼料

慣行区飼料には市販のブロイラー肥育後期用配合飼料 (CP16%, ME2,900 kcal/kg) を用いた。試験区飼料に配合する飼料用米は、平成21年に県内で収穫されたあきたこまちの粳米 (全粒) を用いた。試験区では配合飼料と粳米を攪拌機で混合した。

6. 調査項目

発育、飼料摂取量、解体成績、粗脂肪含量、肉色とした。

発育は10, 14, 18, 22週齢時に全羽の体重測定を行った。体重測定時に飼料残量を測定し、給与量から差し引いて飼料摂取量を求めた。22週齢時に各区5羽を約24時間絶食させ、放血によると殺後、解体を行った。屠体、筋胃、腹腔内脂肪、および正肉三品の重量を測定し、生体重

に占める重量割合を算出した。モモ肉は皮を取り除いてミンチにし、エーテル抽出法により粗脂肪の定量を行った。肉色は測色色差計 (Z-1001DP, 日本電色工業) により、モモ肉半腱様筋のL* (明度), a* (赤色度), b* (黄色度) を測定した。

7. 統計処理

Tukeyの多重比較検定により試験区の比較を行った。危険率5%未満で有意とした。

結 果

1. 発育成績

体重および1日当たりの増体量を表2に示した。体重はいずれの週齢においても試験区間に有意な差は認められなかった。10~14週齢の期間において、30%粳米区の1日当たり増体量が15%粳米区と比較して有意に低い値を示したが、慣行区とは差がなかった。その他の期間で

表1 試験区分

区分	給与飼料	供試羽数
慣行区	配合飼料のみ	30羽
15%粳米区	配合飼料の15%を粳米で代替	30羽
30%粳米区	配合飼料の30%を粳米で代替	30羽

表2 発育成績

		慣行区	15%粳米区	30%粳米区
体重				
10週齢	g	1232.7±95.1	1233.7±90.9	1233.2±89.9
14週齢	g	1770.1±88.7	1782.9±126.9	1727.3±114.8
18週齢	g	2241.2±106.8	2233.7±169.2	2205.3±154.4
22週齢	g	2593.9±173.0	2563.0±206.3	2554.0±186.5
増体量				
全期	g	1361.3±180.4	1329.3±167.8	1320.8±166.5
1日当増体量				
10~14週	g/日	19.2±1.8 ^{ab}	19.6±2.6 ^a	17.6±3.0 ^b
14~18週	g/日	16.8±2.8	16.1±2.3	17.1±2.7
18~22週	g/日	12.6±3.8	11.8±3.4	12.5±3.2
全期	g/日	16.2±2.1	15.8±2.0	15.7±2.0

平均±標準偏差

異符号間に有意差あり(P<0.05)

は各試験区間に有意な差は認められなかった。

2. 飼料摂取量

飼料摂取量および飼料要求率について表3に示した。飼料摂取量は全期間を通じ各試験区間に有意差は認められなかった。飼料要求率は慣行区が6.43、15%籾米区が6.51、30%籾米区が6.62であった。

3. 解体成績

解体成績について表4に示した。いずれの部位も各試験区間に有意差は認められなかった。

4. 肉色

肉色について表5に示した。L*, a*, b*いずれにおいても各試験区間に有意差は認められなかった。

表3 飼料摂取量および飼料要求率

		慣行区	15%籾米区	30%籾米区
飼料摂取量				
10～14週	g/日	92.7	91.9	91.7
14～18週	g/日	102.1	102.0	100.7
18～22週	g/日	118.1	115.5	119.4
全期	g/日	104.2	103.1	104.0
飼料要求率				
10～14週		4.83	4.69	5.20
14～18週		6.07	6.34	5.90
18～22週		9.37	9.82	9.59
全期		6.43	6.51	6.62

表4 解体成績

		慣行区	15%籾米区	30%籾米区
屠体	%	90.2	90.2	90.5
筋胃	%	2.2	2.2	2.3
腹腔内脂肪	%	2.5	3.7	3.8
モモ肉	%	22.1	22.0	21.9
ムネ肉	%	13.7	13.8	14.1
ササミ	%	3.8	3.7	3.7
粗脂肪含量(モモ肉)	%	5.5	5.0	4.9

値は平均値, n=5

表5 肉色

	慣行区	15%籾米区	30%籾米区
L*(明度)	44.1	45.3	44.9
a*(赤色度)	11.2	10.8	11.0
b*(黄色度)	8.7	9.3	8.1

値は平均値, n=5

【試験2】

材料および方法

1. 供試鶏

平成22年10月13日餌付けの比内地鶏の雌50羽を用いた。

2. 飼育管理

餌付けから4週齢まではバタリー式育雛器で飼育し、その後パイプハウスで試験終了時まで平飼いとした。飼料は餌付けから4週齢まではプロイラー肥育前期用配合飼料(CP21.0%, ME3, 100 kcal/kg), 4~9週齢はプロイラー肥育前後期用配合飼料(CP19.0%, ME2,900 kcal/kg)を給与した。飼育終了まで不断給餌, 自由飲水とした。衛生管理は当場のプログラムにより行った。

3. 調査期間

9週齢から22週齢まで(平成22年12月15日~23年3月16日)とした。

4. 試験区分

試験区分を表6に示した。配合飼料のみ給与する慣行区と、配合飼料と粳米をそれぞれ自由に摂取させる自由摂取区の計2区を設けた。供試羽数は各区25羽とした。

5. 給与飼料

慣行区飼料には市販のプロイラー肥育後期用配合飼料(CP16%, ME2,900 kcal/kg)を用いた。試験区飼料に配合する飼料用米は平成21, 18年産のあきたこまちと、一部16年産のはえぬきの粳米を用いた。

飼料給与にあたっては、慣行区では2個の給餌器を設置しどちらも配合飼料のみ、自由摂取区では配合飼料と粳米をそれぞれ2個の給餌器に入れて給与した。

6. 調査項目

発育, 飼料摂取量, 解体成績, 粗脂肪含量, 肉色とした。

発育は9, 14, 18, 22週齢時に全羽の体重測定を行った。体重測定時に配合飼料, 粳米ともに残量を測定し, 給与量から差し引いて飼料摂取量を求めた。解体調査や粗脂肪の定量は試験1と同様に行った。肉色も試験1と同様に測定したが, 半腱様筋の他にモモ肉から取り除いた皮の皮下脂肪についても調査した。

7. 統計処理

統計処理はt検定により行った。

結果

1. 発育成績

体重および1日当たり増体量について表7に示した。体重はいずれの週齢も試験区間の有意差は認められなかった。14~18週の自由摂取区の1日当たり増体量が対照区よりも有意に多くなったが, 他の期間や全期間では有意差は認められなかった。

2. 飼料摂取量

飼料摂取量および飼料要求率について表8に示した。飼料摂取量はいずれの期間においても試験区間に顕著な差はみられなかった。飼料要求率は9~14週齢に自由摂取区のほうが少し高かったが, その後は慣行区より低く, 全期では慣行区7.89, 自由摂取区7.55であった。また, 自由摂取区における期間ごとの粳米と配合飼料それぞれの摂取量を図1に示した。

3. 解体成績

解体成績について表9に示した。いずれの部位も各試験区間に有意差は認められなかった。

表6 試験区分

区分	給与飼料	供試羽数
慣行区	配合飼料のみ	25羽
自由摂取区	配合飼料と粳米を別給餌器で給与	25羽

4. 肉色

肉色について表10に示した。皮下脂肪の L* は慣行区と比較して自由摂取区で有意に高くな

った。モモ肉では逆に有意に低くなった。 a* および b* は試験区間に有意差は認められなかった。

表7 発育成績

試験区	体重				1日当たり増体量			
	9週齢	14週齢	18週齢	22週齢	9~14週	14~18週	18~22週	全期
慣行区	1190.3±25.9	1968.9±55.7	2342.6±104.1	2781.8±174.7	22.2±1.7	13.3±2.3 ^a	15.7±4.5	17.5±1.9
自由摂取区	1190.2±25.1	1967.1±78.0	2386.6±113.8	2850.7±193.2	22.2±2.0	15.0±2.7 ^b	16.6±5.3	18.2±2.1

平均±標準偏差
異符号間に有意差あり(P<0.05)

表8 飼料摂取量および飼料要求率

試験区	飼料摂取量				飼料要求率			
	9~14週	14~18週	18~22週	全期	9~14週	14~18週	18~22週	全期
慣行区	132.8	138.3	144.4	138.0	5.97	10.36	9.20	7.89
自由摂取区	135.1	136.9	141.8	137.7	6.09	9.14	8.55	7.55

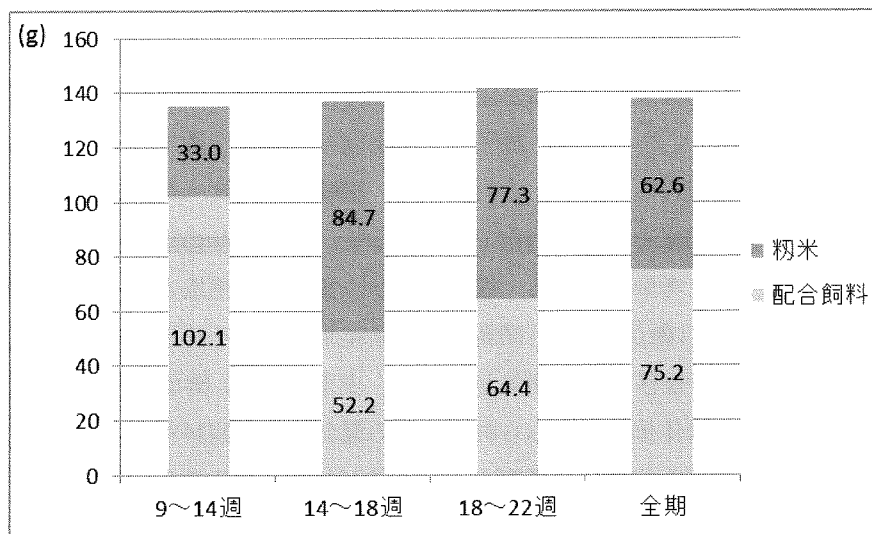


図1 自由摂取区の飼料摂取量

表9 解体成績

試験区	屠体	筋胃	腹腔内脂肪	モモ肉	ムネ肉	ササミ	粗脂肪含量
慣行区	91.8	1.8	2.8	19.1	12.2	3.2	7.3
自由摂取区	91.8	2.1	3.7	18.7	12.2	3.1	8.4

値は平均値, n=5

表10 肉色

試験区	皮下脂肪			モモ肉		
	L*(明度)	a*(赤色度)	b*(黄色度)	L*(明度)	a*(赤色度)	b*(黄色度)
慣行区	68.7 ^a	1.7	19.0	45.2 ^a	12.1	7.3
自由摂取区	70.8 ^b	0.9	17.9	42.7 ^b	13.1	7.0

値は平均値, n=5

異符号間に有意差あり(P<0.05)

考 察

本試験では籾米給与が比内地鶏の発育などに及ぼす影響を調査した。

試験1では配合飼料の15%または30%を籾米に代替して比内地鶏へ給与した。籾米を給与した両区ともに、各週齢における体重は慣行区と同等であった。30%籾米区では籾米給与開始直後である10~14週に有意ではないものの増体量が少ない傾向にあったが、全期ではその差はほぼ解消され、有意差はなかった。佐伯ら(2010)は、天草大王に5~15週齢まで籾米を飼料に外付け添加し、12週齢体重では30%および40%添加区で5%および10%添加区より有意に小さくなったが、終了時には有意差はなくなったと報告している。これについては与え初めの時期に籾米をうまく消化できず、増体量が少なくなったと考察している。松井ら(2011)はプロイラーに21日齢から27日間籾米を10~30%給与し、増体量の推移には区間差があったものの、試験終了時には体重に差がみられなかったと報告している。籾米を消化し栄養素を十分に取り込むためには与え初めてからある程度の日数が必要なのかもしれない。飼料要求率においてはわずかながら籾米区が増加する傾向がみられた。これは給与飼料中の代謝エネルギーの低下によるものと考えられる。前述の佐伯ら(2010)や松井ら(2011)の報告では、籾米割合が多くなるに従い筋胃や腹腔内脂肪の重量割合が増加したとされているが、本試験では有意差は認められなかった。試験1より、配合飼料に籾米を混合する場合、30%まで生産性に影響を及ぼさずに給与可

能であったが、限界量は明らかとなっていないのでさらに検討する必要がある。

試験2では配合飼料と籾米を別々に給与し、鶏に自由に選択摂取させた。増体量は14~18週に自由摂取区が有意に多くなったが、その他の期間や全期では有意差は認められなかった。飼料要求率は試験1とは逆に自由摂取区のほうが若干低くなった。籾米の嗜好性は良好で、与え初めから採食する様子が確認された(写真1)。自由摂取区における9~14週の籾米摂取量は配合飼料と籾米の合計摂取量に対する重量比で24.4%であった。14週以降は籾の摂取に慣れたためか配合飼料摂取量を上回り、試験全期ではトータルで45.5%摂取した。試験2で発育への影響がみられなかった点に関して、籾米給与の限界量がこれを超えるためなのか、鶏に自由摂取させたことが要因か、今回の試験結果からはその理由を推定することはできない。皮下脂肪のL値が有意に高くなったのは、籾米の混合により飼料中のトウモロコシに含まれる色素が減少し全体の色調が白っぽくなったと考えられるが、モモ肉のL値が低くなった理由は不明である。

以上のことから、比内地鶏における全粒籾米給与では、配合飼料の代替は30%まで可能であったほか、9週齢以降配合飼料と籾米を別々に摂取させると45%の籾米を摂取したが生産性に負の影響はほぼ認められなかった。しかし今回の試験では不明な点が残ったため、今後さらに給与割合や給与期間についてデータを蓄積し検討を重ねる必要がある。



写真1 粃米を食べる比内地鶏（64日齢）

謝 辞

本研究の一部は全国農業協同組合連合会秋田県本部の委託試験によるものです。

文 献

小松恵，力丸宗弘，石塚条次．2011．比内地鶏への玄米給与が発育および肉質に及ぼす影響．秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 25， 84-88．

佐伯祐里佳，大場憲子，大塚真史，家入誠二．2010．市販飼料への飼料用（粃）米の添加が肉用鶏の生産性に及ぼす影響，Ⅰ 飼料用（粃）米の限界添加量の検討．熊本県農業研究センター畜産研究所試験成績書 36-41．

松井繁幸，池谷守司．2011．配合飼料中への粃米の混合がブロイラーの成長および肉質に及ぼす影響．静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター研究報告 4， 29-34．

仕上げ期の飼料用米添加飼料給与による比内地鶏の生産性への影響

高橋 大希・力丸 宗弘・小松 恵・石塚 条次

要 約

配合飼料価格の高騰による生産コストの上昇への対策として、自給飼料である飼料用米の利用性について検討することを目的とし、仕上げ期に飼料用米を重量比 20%になるように添加した飼料を用いた比内地鶏への給与試験を行った。29 日間の給与の結果、飼料用米を給与した試験区において、慣行による飼育結果と同等の発育成績が得られた。生産物の品質については筋胃の割合が上昇する傾向が認められたほか、モモ肉中脂肪の脂肪酸組成が変化した。これらの結果から飼料用米の利用が比内地鶏の生産性を維持しながら生産コストを低下させるのに有効であることが示された。

緒 言

養鶏における生産コストのうち多くを占めているのが飼料費である。配合飼料の価格は、トウモロコシなど輸入穀物の価格の影響を受けやすく、昨今の世界的な穀物需要の急増により、平成 18 年秋以降急激に上昇し始め、現在も高止まりしている状況である。

一方、国内の穀物生産に関しては、米の生産調整に関わる水田利活用自給力向上事業が実施されており、米粉用米、飼料用米、バイオ燃料用米および稲発酵粗飼料 (WCS) 用稲など、新規需要米の作付けに対して交付金が交付されている。

このような背景から比内地鶏生産地域では、飼料費の削減を目的として積極的に飼料用米を比内地鶏生産へ導入していこうとする姿勢が見られ、また、既に飼料用米を利用している生産者団体も少なくない。また、当該においてはこれまで、飼料用米添加飼料を用いた給与試験や、トウモロコシを飼料用米で代替した仕上げ飼料の給与試験を行い、飼料用米の給与が比内地鶏の発育成績に影響を与えないことを確認している (小松ら 2011)。本試験では仕上げ期に飼料用米を利用している生産者団体 (以下「部会」とする) において、飼料用米添加量の増加が可能か否かを検討する目的で、部会で使用している飼料への飼料用米添加量

を現状の 10% (w/w) から 20%へ高め、比内地鶏の生産性および生産物の品質が改善ないし維持されるか調査した。

材料および方法

1. 試験区分

給与飼料の違いにより、対照区、飼料米区および畜試飼料区の 3 つの試験区を設定した。

2. 試験期間および供試鶏

試験期間は 2010 年 5 月 12 日~10 月 18 日とし、5 月 12 日に当場で生まれた比内地鶏の雌 90 羽を、各試験区にそれぞれ 30 羽ずつ供した。なお、対照区および飼料米区は 120 日齢における体重測定まで同一環境で飼育し、体重測定の結果により、両区の平均体重が均等になるように鶏を振り分けた。

3. 飼育管理

1) 飼育施設

供試鶏は初生から 28 日齢までバタリー式育雛器で飼育し、28 日齢で運動場が付随したパイプハウスへ移動し、160 日齢まで放し飼いとした。飼料は不断給餌、飲水は自由とした。

2) 給与飼料

対照区には、7 日齢まで餌付け (CP 24%、

ME 3,000 kcal /kg), 7~28 日齢まで幼雛 (CP 21%, ME 2,920 kcal /kg), 28~120 日齢まで中雛 (CP 17.5%, ME 2,840 kcal /kg), それ以降は仕上げ (CP 15%, ME 2,780 kcal /kg) の 4 種類からなる市販の配合飼料を給与した。この飼料は部会において現在用いられているものである。飼料米区は 120 日齢まで対照区と同じ飼料を給与し, 120 日齢以降は対照区における中雛用飼料に, 飼料用米として秋田 63号の玄米を重量比 4:1 で混合したものを給与した。畜試飼料区には 28 日齢まで餌付け (CP 21%, ME 3,100 kcal /kg), 28~61 日齢まで中雛 (CP 19%, ME 2,900 kcal /kg), それ以降は仕上げ (CP 16%, ME 2,900 kcal /kg) の 3 種類からなる市販の配合飼料を給与した。なお, 対照区および飼料米区の中雛以降の飼料には抗菌性飼料添加物が用いられていないものを使用した。

3) 衛生管理

当場の慣行により行った。

4. 調査項目

1) 育成率

育成率は試験開始時の羽数と終了時の羽数により算出した。

2) 体重および一日あたり増体量

体重は初生時, 7, 28, 61, 90, 120, 140 および 149 日齢に測定した。測定結果を基に, 各日齢間における一日あたり増体量を算出した。

3) 平均飼料摂取量および平均飼料要求率

体重測定と同じ日程で飼料残量を測定し, 給与量との差から各日齢間における一日あたりの平均飼料摂取量および平均飼料要求率を算出した。

4) 解体成績

試験鶏は 160 日齢で各区 5 羽を屠殺解体し, 生体重量および屠体重量ならびに部位別 (ムネ, モモ, ササミ, 心臓, 肝臓, 筋胃お

よび全骨)の重量を測定し, 屠体重に占める割合を算出した。

5) モモ肉の皮下脂肪量

モモ肉のうち一枚は皮と皮下脂肪を分離して重量を測定し, モモ肉全体の重量に占める割合を算出した。

6) 正肉の一般成分および肉色

モモ肉のもう一枚は手動ミンサーを用いてミンチにし, 水分, 粗脂肪および粗タンパク含量を測定した。それぞれの測定方法として水分については乾燥法, 粗脂肪についてはエーテル抽出法, 粗タンパクについてはケルダール法を用いた。肉色はL* a* b*表色系により評価した。

7) モモ肉中中性脂肪の脂肪酸組成

ミンチにしたモモ肉サンプルから中性脂肪を抽出し, 脂肪酸組成を分析した。分析は日本認証サービス株式会社に依頼した。

8) 食味性

部会員および関係者を一般パネラーとして食味検査を行った。検査にはムネ肉およびモモ肉をそれぞれローストおよびボイルしたものをを用いた。パネラーには①香り, ②味の強さ, ③うま味の強さ, ④コク味の強さおよび⑤総合評価の 5 つの項目を 5 段階の絶対評価により評点させ, 検査終了後に点数を順位に変換したものをを用いて食味性を評価した。

5. 統計処理

データは平均値±標準偏差で示した。有意差の検出には一元配置の分散分析および Tukey の多重比較検定を用いた。

結果および考察

発育成績について, 育成率 (表1), 体重 (表2), 一日あたり増体量 (表3), 平均飼料摂取量 (表4)および平均飼料要求率 (表5) の結果を表に示した。異符号間で有意差が認められた。育成率について,

事故による死亡鶏や斃死鶏はいなかった。61日齢体重および28-61日齢における一日あたり増体量において畜試飼料区が他の2区に比べて有意に優れた。このことについて以下の3つの要因が考えられる。

1. 中期用飼料への抗菌剤および抗コクシジウム剤の添加の有無

このことは対照区および飼料米区に比べ、畜試飼料区で飼料要求率が低かったことから推測される。抗菌剤などの添加されていない飼料を用いた対照区および飼料米区では、外部からの病原性生物に対して余分にエネルギーを消費した可能性がある。

2. 飼料の栄養性

このことも飼料要求率による。飼料間でMEには大きな差がなかったことからCP、もしくはタンパク質を構成するアミノ酸、あるいは微量元素やビタミンなどのなかに発育に影響する

物質があり、増体量がその量に依存した可能性がある。

3. 飼料の嗜好性

このことは平均飼料摂取量が対照区および飼料米区で少ないことから推測される。飼料の嗜好性に影響を与える要素としては飼料の形状、粒度、食味性および栄養性などが挙げられるが、いずれかが飼料摂取量に影響し、結果として増体を制限した可能性がある。61日齢時点における体重の差はその後の飼育期間で解消されているため、あまり重要ではないかもしれないが、飼料要求率は生産コストに直結する要素であり、改善していくべき項目の一つである。この問題を明らかにし、より効率のよい飼料を開発するためには飼料中の組成レベルでの成分分析や比内地鶏の成長に伴う要求成分の遷移といった栄養生理についての調査を行う必要がある。

本試験は群飼で行ったため個体別の飼料摂取

表1 育成率

	対照区	飼料米区	畜試飼料区
期首羽数	30	30	30
期末羽数	28	28	29
育成率 (%)	93.3	93.3	96.7
淘汰理由	生育不良2羽(7日齢)	生育不良1羽(7日齢) 嘴の奇形1羽(28日齢)	脊柱の奇形1羽(91日齢)

表2 各日齢における体重

	対照区	飼料米区	畜試飼料区
0	41.0 ± 2.7	41.4 ± 2.8	41.1 ± 3.1
7	67.1 ± 8.5	69.2 ± 7.1	66.2 ± 9.4
28	355.1 ± 37.5	366.2 ± 43.8	368.0 ± 47.1
61	989.1 ± 138.0 ^b	995.3 ± 147.6 ^b	1091.0 ± 151.0 ^a
90	1684.9 ± 153.9	1679.5 ± 164.3	1724.6 ± 200.2
120	2175.7 ± 185.9	2158.6 ± 181.7	2172.3 ± 276.4
140	2529.0 ± 247.0	2469.6 ± 206.4	2565.8 ± 213.6
149	2638.5 ± 262.6	2586.6 ± 213.8	2690.8 ± 233.8

^{a,b} 異符号間に有意差有り

表3 各日齢間における一日あたり増体重

期間	対照区	飼料米区	畜試飼料区
0 - 7	3.7 ± 1.1	3.9 ± 1.1	3.6 ± 1.3
7 - 28	13.7 ± 1.5	14.1 ± 1.9	14.4 ± 2.0
28 - 61	19.2 ± 3.5 ^b	19.0 ± 3.4 ^b	22.1 ± 3.3 ^a
61 - 90	23.9 ± 2.3 ^a	23.5 ± 2.6 ^a	21.7 ± 3.0 ^b
90 - 120	16.3 ± 3.6	15.9 ± 2.4	15.4 ± 2.4
120 - 140	17.0 ± 3.8	15.5 ± 3.3	17.6 ± 3.1
140 - 149	13.8 ± 5.1	12.6 ± 4.2	13.9 ± 5.0

^{a,b}異符号間に有意差有り

表4 各日齢間における一日あたり平均飼料摂取量(g) および全期間給与量(kg)並びに全期間および仕上げ期における飼料費

期間	日数	対照区	飼料米区	畜試飼料区
0 - 7	7	8.7	8.7	8.8
7 - 28	21	35.1	35.1	32.5
28 - 61	33	61.3	61.3	62.3
61 - 90	29	93.8	93.8	100.9
90 - 120	30	103.7	103.7	113.0
120 - 132	12	116.6	144.9	109.6
132 - 140	8	120.0	123.1	174.0
140 - 149	9	124.5	118.8	115.7
全期間(kg)		12.13	12.44	12.86
全期間飼料費(円)		641.53	635.60	1011.52
仕上げ期飼料費(円)		641.53	635.60	1011.52

対照区および飼料米区

餌付け93円/kg, 幼雛64.64円/kg, 中雛51.04円/kg, 仕上げ53.84円/kg, 飼料用米35円/kg

飼料用米添加飼料47.832円/kg

畜試飼料区

餌付け93.45円/kg, 中雛82.95円/kg, 仕上げ76.65円/kgとして試算

なお, 飼料用米添加飼料は中雛用飼料および飼料用米の価格に重量%を乗じて合算したもの

表5 各日齢間及び全期間における平均飼料要求率

期間	日数	対照区	飼料米区	畜試飼料区
0 - 7	7	2.25	2.25	2.48
7 - 28	21	2.52	2.52	2.26
28 - 61	33	3.21	3.21	2.82
61 - 90	29	3.94	3.94	4.64
90 - 120	30	6.42	6.42	7.33
120 - 140	20	7.23	8.75	7.67
140 - 149	9	9.40	9.42	8.31
全期間	149	4.67	4.89	4.86

量について測定することはできなかったが、仕上げ期を通して飼料米区では対照区に比べてわずかに飼料摂取量が増加する傾向が見られた。この差は120日齢から132日齢までの間に生じたもので、餌の変化が摂取量を高めた可能性がある。なお飼料費の点では、29日間の仕上げ期間における各試験区の1羽あたりの飼料費は対照区187円、飼料米区181円、畜試飼料

区230円であった。対照区と飼料米区を比較した場合、1羽あたりの差はわずかであるが、複数のロットを飼育する上では数千円から数万円のコストダウンが見込まれる。本試験では29日間の仕上げ期間であったが、この期間が長くなればそれに伴い飼料米区でのコストダウンの幅は大きくなるものと思われる。また、本試験を実施するにあたり飼料用米の添加について、

一部の生産者では飼料摂取量の低下を懸念していたが、本試験においては予想とは逆の結果となった。このことから飼料への食いつきに対し、飼料用米の添加による悪影響はないことが示された。しかし、以前当場で行った、飼料用米によりトウモロコシを代替した飼料を用いた給与試験では、飼料用米による代替割合の増加に伴い、増体を維持しながら飼料摂取量が減少することがわかっており（小松ら 2011）、給与方法の違いによる飼料摂取量への影響については今後検討の余地がある。

解体成績について部位別重量(表6)、モモ肉の皮下脂肪割合(表7)、正肉の一般成分(表8)、モモ肉中中性脂肪の脂肪酸組成(表9)および食味性(表10)の結果を表に示した。飼料米区で筋胃割合が大きかった。これは飼料用米を給与したことで破碎のために筋胃の運動強度が増加したことによると考えられる。このことについては他の地鶏への飼料用米給与試験においても報告されている(森田ら 2011)。

モモ肉の皮下脂肪割合に関し、対照区が他の2区に比べて小さかったことについては仕上げ

表6 160日齢における解体成績

		生体重	屠体重	正肉			
				ムネ	モモ	ササミ	計
対照区	(g)	2614.8 ± 62.5	2380.0 ± 64.9	353.2 ± 14.5 ^a	547.6 ± 16.6	93.2 ± 4.4 ^a	994.0 ± 21.0 ^a
	(%)		91.0 ± 0.64	13.5 ± 0.57	20.9 ± 0.47	3.6 ± 0.11	38.0 ± 0.43
飼料米区	(g)	2598.8 ± 88.9	2354.4 ± 92.5	331.2 ± 17.2 ^{ab}	531.2 ± 18.8	90.4 ± 5.4 ^{ab}	952.8 ± 34.2 ^{ab}
	(%)		90.6 ± 0.53	12.8 ± 0.81	20.4 ± 0.55	3.5 ± 0.14	36.7 ± 1.31
畜試飼料区	(g)	2516.8 ± 19.1	2285.2 ± 9.5	324.4 ± 7.0 ^b	522.0 ± 15.6	85.6 ± 2.6 ^b	932.0 ± 20.9 ^b
	(%)		90.8 ± 0.75	12.9 ± 0.29	20.7 ± 0.74	3.4 ± 0.10	37.0 ± 0.99
		全骨重		可食内臓			
		腹腔内脂肪	心臓	肝臓	筋胃	計	
対照区	(g)	448.4 ± 29.0	9.2 ± 1.79	33.6 ± 1.67	62.4 ± 5.55 ^{ab}	105.2 ± 6.1 ^{ab}	
	(%)	17.1 ± 0.73	0.35 ± 0.06	1.28 ± 0.06	2.39 ± 0.24 ^{ab}	4.42 ± 0.28	
飼料米区	(g)	443.6 ± 25.6	9.6 ± 1.67	35.6 ± 5.18	67.2 ± 13.9 ^a	112.4 ± 13.81 ^a	
	(%)	17.1 ± 0.96	0.37 ± 0.07	1.37 ± 0.20	2.58 ± 0.45 ^a	4.77 ± 0.44	
畜試飼料区	(g)	443.2 ± 13.7	9.2 ± 1.10	33.2 ± 3.90	50.8 ± 4.15 ^b	93.2 ± 4.38 ^b	
	(%)	17.6 ± 0.55	0.37 ± 0.05	1.32 ± 0.15	2.02 ± 0.17 ^b	4.08 ± 0.19	

^{a,b}異符号間に有意差有り

屠体重については生体重に占める割合、その他については屠体重に占める割合を示した。

表7 モモ肉中脂肪量

		皮	皮下脂肪	皮+皮下脂肪
		対照区	(g) 37.5 ± 4.52	12.9 ± 1.58 ^b
	(%) 14.01 ± 1.45	4.83 ± 0.62 ^b	18.85 ± 1.8	
飼料米区	(g) 36.4 ± 4.53	15.5 ± 3.55 ^{ab}	51.9 ± 5.65	
	(%) 14.01 ± 1.74	5.93 ± 1.22 ^{ab}	19.95 ± 1.85	
畜試飼料区	(g) 38.7 ± 3.99	17.6 ± 2.47 ^a	56.3 ± 6.42	
	(%) 14.87 ± 1.08	6.77 ± 0.78 ^a	21.64 ± 1.85	

^{a,b}異符号間に有意差有り

表8 モモ肉(ミンチ)の一般成分及び肉色

	一般成分(%)			肉色		
	水分	粗脂肪	粗タンパク	L*	a*	b*
対照区	72.1 ± 0.22	8.0 ± 0.73	20.0 ± 0.66	49.9 ± 2.78	14.0 ± 0.79	15.5 ± 0.73
飼料米区	70.9 ± 1.28	8.4 ± 1.36	19.9 ± 0.55	51.5 ± 1.79	14.7 ± 0.80	15.1 ± 1.17
畜試飼料区	71.2 ± 0.99	8.6 ± 1.13	20.2 ± 0.39	49.7 ± 0.72	14.6 ± 1.30	14.8 ± 0.92

表9 モモ肉(ミンチ)に含まれる中性脂肪の脂肪酸組成 (%)

		対照区	飼料米区	畜試飼料区
ミリスチン酸	(C14:0)	0.6 ± 0.06	0.6 ± 0.00	0.6 ± 0.00
パルミチン酸	(C16:0)	22.4 ± 0.78 ^b	25.4 ± 0.40 ^a	23.9 ± 0.66 ^{ab}
ヘプタデカン酸	(C17:0)	0.2 ± 0.06	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00
ステアリン酸	(C18:0)	6.8 ± 0.15	7.0 ± 0.46	6.8 ± 0.25
エイコセン酸	(C20:0)	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00
飽和脂肪酸	total	30.1 ± 0.95 ^b	33.2 ± 0.76 ^a	31.6 ± 0.85 ^{ab}
ミリストレイン酸	(C14:1)	0.0 ± 0.06	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.06
パルミトレイン酸	(C16:1)	3.7 ± 0.12 ^b	5.3 ± 0.51 ^a	5.6 ± 0.69 ^a
オレイン酸	(C18:1 ω9)	34.3 ± 1.15 ^b	39.3 ± 2.13 ^a	39.9 ± 0.65 ^a
cis/バクセン酸	(C18:1 cis-11)	1.7 ± 0.10	2.1 ± 0.12	2.1 ± 0.26
イコセン酸	(C20:1)	0.2 ± 0.06	0.3 ± 0.00	0.3 ± 0.06
一価不飽和脂肪酸	total	40.0 ± 1.10 ^b	47.1 ± 2.45 ^a	47.6 ± 0.72 ^a
リノール酸	(C18:2)	25.3 ± 0.79 ^a	16.4 ± 1.70 ^b	17.3 ± 1.18 ^b
イコサジエン酸	(C20:2)	0.1 ± 0.06 ^a	0.0 ± 0.00 ^b	0.0 ± 0.00 ^b
アラキドン酸	(C20:4)	1.5 ± 0.15	1.4 ± 0.25	1.2 ± 0.12
ω6系多価不飽和脂肪酸	total	27.5 ± 0.40 ^a	17.7 ± 1.68 ^b	18.9 ± 1.62 ^b
リノレン酸	(C18:3)	1.6 ± 0.10 ^a	0.7 ± 0.10 ^b	0.7 ± 0.12 ^b
ドコサペンタエン酸	(C22:5)	0.1 ± 0.10	0.0 ± 0.06	0.0 ± 0.00
ドコサヘキサエン酸	(C22:6)	0.1 ± 0.10	0.0 ± 0.00	0.2 ± 0.10
ω3系多価不飽和脂肪酸	total	1.7 ± 0.15 ^a	0.8 ± 0.15 ^b	0.9 ± 0.17 ^b
不飽和脂肪酸	total	69.2 ± 0.98 ^a	65.6 ± 0.70 ^b	67.4 ± 1.75 ^{ab}
高度不飽和度		2.3 ± 0.10 ^a	2.0 ± 0.07 ^b	2.1 ± 0.11 ^{ab}

^{ab}異符号間に有意差有り

表10 一般パネラーを用いた食味検査

	対照区	飼料米区	畜試飼料区
ロースト			
香り	1.61 ± 0.77	1.63 ± 0.86	1.63 ± 0.83
味の強さ	1.90 ± 0.83	1.59 ± 0.81	1.61 ± 0.83
うま味の強さ	1.58 ± 0.78	1.85 ± 0.89	1.60 ± 0.78
コク味の強さ	1.64 ± 0.84	1.69 ± 0.83	1.51 ± 0.72
総合評価	1.78 ± 0.92	1.59 ± 0.83	1.51 ± 0.80
ポイル			
香り	1.56 ± 0.75	1.33 ± 0.62	1.56 ± 0.82
味の強さ	1.54 ± 0.77	1.46 ± 0.69	1.68 ± 0.85
うま味の強さ	1.61 ± 0.64	1.66 ± 0.85	1.71 ± 0.84
コク味の強さ	1.73 ± 0.69	1.54 ± 0.84	1.78 ± 0.92
総合評価	1.55 ± 0.71	1.67 ± 0.92	1.70 ± 0.88

パネラーによる評点を降べきで順位に変換した。
数値が大きいものほどより好ましい。

飼料のMEが他の2区に比べて小さいことおよび飼料摂取量が少なかったことから、摂取エネルギーの差によるものと思われる。

モモ肉中の一般成分および L* a* b* 表色系による肉色測定結果について試験区間で有意差は見られなかった。

本試験において対照区と飼料米区で顕著な差が見られたのはモモ肉中における中性脂肪の脂肪酸組成である。飼料中中性脂肪の脂肪酸組成が生産物の中性脂肪の脂肪酸組成に影響を与えることについてはこれまで多くの文献で報告されており (Crespo と Esteve-Garcia 2001 ;

Crespo と Esteve-Garcia 2002 ; Cortinas ら 2004), 本試験においても同様の結果が得られたと考えられる。試験飼料の脂肪酸組成は分析を行っていないが, 加熱大豆の添加されている対照区におけるモモ肉中で, トウモロコシおよび米に比べて大豆に多く含まれるリノール酸およびリノレン酸の含量が高くなったと推測される。

しかし, 脂肪酸組成には差が見られたものの, 食味検査の結果について差は認められなかった。

以上より, 仕上げ期における飼料用米による飼料の 20%代替は, 比内地鶏の生産性および品質を維持しながら生産コストの削減に寄与することが示された。しかし, 配合飼料はそれ単独で与えられることを前提として成分が調整されているため, 発展した課題として今後は飼料用米の添加を前提とし, MEおよびCPを調整した飼料の設計を検討していく必要がある。また, さらに飼料コストを削減する手段として, 飼料用米の給与開始時期を早めて給与期間を長期化することなどについても検討の余地がある。

文 献

- Cortinas L, Villaverde C, Galobart J, Baucells D M, Codony R and Barroeta C A. 2004. Fatty Acid Content in Chicken Thigh and Breast as Affected by Dietary Polyunsaturation Level. *Poultry Science* 83, 1155-1164.
- Crespo N and Esteve-Garcia E. 2001. Dietary Fatty Acid Profile Modifies Abdominal Fat Deposition in Broiler Chickens. *Poultry Science* 80, 71-78.
- Crespo N and Esteve-Garcia E. 2002. Nutrient and Fatty Acid Deposition in Broilers Fed Different Dietary Fatty Acid Profiles. *Poultry Science* 81, 1533-1542.
- 小松恵, 力丸宗弘, 石塚条次. 2011. 比内地鶏への玄米給与が発育および肉質に及ぼす影響. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 25, 84-88.
- 森田幹夫, 大窪敬子, 須藤正巳, 前田育子. 2011. 地鶏の飼料用米給与による生産技術の確立. 茨城県畜産技術センター研究報告 44, 23-27.

飼料作物奨励品種選定試験

—飼料用とうもろこし（平成22年度）—

佐藤寛子・植村鉄矢

要 約

種子が市販されている飼料用とうもろこしについて、県内に適する品種を選定するため、16品種について調査した。

平成22年に栽培した飼料用とうもろこしの特徴は、生育は早かったが、乾物収量は平年よりも少なかったことである。収量が少なかった要因としては、7、8月の高温による軟弱徒長が考えられる。品種を比較した結果は、北交72号が収量性が高く、奨励品種として有望であった。

緒 言

国内で種子が市販されている飼料用とうもろこしについて、その生育特性を調査し、本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「飼料用とうもろこしの品質評価に関する協定試験」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。

材料および方法

1. 試験期間 平成22年5月10日～10月1日
2. 試験場所 秋田県農林水産技術センター畜産試験場圃場
3. 試験圃場の構成
15 m² (3 m×5 m) 3反復/1品種
4. 栽培概要
 - 1) 栽培密度
相対熟度118日以下の品種 7,018本/10a

相対熟度119日以上の品種 6,061本/10a
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。
- 3) 播種日
平成22年5月10日
- 4) 供試品種
表2に示すとおり、県の奨励品種2品種を含む16品種について調査した。
- 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（改訂5版）.）。

結果および考察

播種は5月10日に行った。播種後、5月中旬の平均気温が平年よりも少なかったため、発芽に

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

	品種・系統	相対熟度 (カタログ値)	販売メーカー 育成場所
1	TH875	95~100	タキイ種苗
2	TH557	100	タキイ種苗
3	TH680	105	タキイ種苗
4	LG3490	105	雪印種苗
5	X7M657	105	パイオニア
6 奨励 標準	36B08	106	パイオニア
7	34N84	108	パイオニア
8	北交72号	110	北農研
9	KE9630	113	カネコ種苗
10 奨励 標準	セシリア	115	パイオニア
11	X7H287	115	パイオニア
12	X8K803	115	パイオニア
13	KH8007	115	カネコ種苗
14	SH9769	120	雪印種苗
15 標準	32F27	126	パイオニア
16	KE7750	127	カネコ種苗

要した日数は12日で平年よりも2日遅かった。

生育特性について表3に示した。

発芽後は、平均気温が平年並みかそれよりも高く推移し、日照時間も6月上旬は平年よりも多かったこともあり、播種後40日(6月21日)に調査した初期生育の草丈は平年並みであった。相対熟度が95~108日までの品種は、標準品種の36B08と比較すると何れの品種も初期生育、桿長、着雌穂高は36B08と同程度かそれを上回っていた。

絹糸の抽出は7月の平均気温が平年よりも高く降水量も多かったことから、平年よりも2から6日早かった。黄熟期に達するのは、8月の平均気温が平年よりもかなり高く、日照時間も平年並み

かそれよりも多かったため、平年よりも5日程早かった。

収量特性について表4に示した。

相対熟度が95~108日までの品種は、標準品種の36B08と比較すると、乾物収量およびTDN収量はLG3490が多く、TH680、X7M657、34N84は同等であった。相対熟度が110~120日の品種は標準品種のセシリアと比較すると、乾物収量とTDN収量は何れの品種も同等またはそれを上回っていた。相対熟度126日のKE7750は、標準品種の32F27と比較すると、乾物収量は上回っており、TDN収量は同等であった。

表3 生育特性

No	品種・系統名	相対熟度	初期生育草丈 (cm)	絹糸抽出日 (月日)	収穫月日 (月日)	収穫熟度	折損 (%)	稈長 (cm)	着雌穂高 (cm)
1	TH875	95~100	67.3	7/20	8/27	黄後	0.5	260	112
2	TH557	100	63.3	7/20	9/8	完初	0.7	260	121
3	TH680	105	68.2	7/20	9/8	完初	0.5	259	138
4	LG3490	105	62.6	7/20	9/8	完後	0.3	271	124
5	X7M657	105	60.0	7/20	9/8	完中	0.6	231	136
6	標準 36B08	106	60.6	7/20	9/8	完初	0.3	197	101
7	34N84	108	62.5	7/20	9/8	完初	0.5	221	117
8	北交72号	110	68.5	7/20	9/8	完初	0.7	228	132
9	KE9630	113	66.8	7/22	9/15	完初	0.4	265	117
10	標準 セシリア	115	70.9	7/21	9/15	黄後	0.4	260	138
11	X7H287	115	68.3	7/20	9/15	完初	0.6	261	119
12	X8K803	115	70.4	7/20	9/15	完初	0.5	278	130
13	KH8007	115	63.9	7/21	9/15	完初	0.5	272	125
14	SH9769	120	58.1	7/22	9/15	完初	0.5	257	125
15	標準 32F27	126	68.8	7/22	9/15	完初	0.6	272	133
16	KE7750	127	57.7	8/2	10/1	完初	0.6	281	149

表4 収量特性

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		標比
			(kg/10a)	標比 (%)	茎葉 (kg/10a)	雌穂 (kg/10a)	総重 (kg/10a)	標比 (%)		DCP (kg/10a)	TDN (kg/10a)	
1	TH875	95~100	4786	106	684	911	1595	78	57	94	1130	79
2	TH557	100	3724	83	748	869	1617	79	54	94	1132	79
3	TH680	105	5011	111	728	1274	2002	98	64	121	1453	102
4	LG3490	105	5101	113	1376	1160	2536	124	46	144	1722	121
5	X7M657	105	4820	107	999	1056	2055	100	51	119	1425	100
6	標準 36B08	106	4512	100	989	1061	2050	100	52	119	1424	100
7	34N84	108	5094	113	1090	1109	2199	107	50	127	1520	107
8	北交72号	110	5806	114	1229	1117	2345	126	48	134	1604	124
9	KE9630	113	5592	110	973	1047	2020	109	52	117	1404	109
10	標準 セシリア	115	5077	100	905	955	1860	100	51	107	1290	100
11	X7H287	115	4913	97	895	1202	2097	113	57	124	1487	115
12	X8K803	115	5194	102	890	1139	2029	109	56	119	1432	111
13	KH8007	115	5592	110	1033	1032	2065	111	50	119	1425	110
14	SH9769	120	5077	100	831	1021	1853	100	55	109	1303	101
15	標準 32F27	126	6551	100	1052	1361	2414	100	56	142	1706	100
16	KE7750	127	7393	113	1854	792	2646	110	30	141	1687	99

まとめ

平成22年の気象および生育の特徴は、8月の平均気温が平年よりもかなり高く、日照時間も平年並みまたは平年より多かったことから、黄熟期に達する日数は平年よりも5日程度早かったが、乾物収量は平年よりも少なかったことである。収量が少なかった要因は7、8月の軟弱徒長が考えられる。しかし、このような気象および生育特徴は、品種の比較には影響を与えていないと考えら

れ、乾物収量やTDN収量が標準品種を上回る北交72号など奨励品種として有望な品種もあった。

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(改訂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.

飼料作物奨励品種選定試験

－飼料用稲（平成22年度）－

佐藤寛子・植村鉄矢

要 約

飼料用稲について本県の環境に適応した能力の高い品種を秋田県飼料用稲奨励品種として選定するため、飼料用稲専用品種として育成された品種について、生育、収量、発酵品質および栄養成分について調査した。

関東以西向けに育成された品種である「たちすがた」、「ホシアオバ」、「リーフスター」、「クサノホシ」は、現行の奨励品種と比較して収量性が同等又はそれ以上であること、収穫時期の拡大が図られること、子実割合が5割以下であるため未消化物の排泄が少なくなるなど、生産現場からの要望にも応えられる有望な品種であることが示唆された。

緒 言

秋田県におけるWCS（ホールクロップサイレージ）用稲は、平成13年から作付が増え、平成22年度の作付面積は668.6 haと取り組みは拡大してきている（図1）。しかし、品種の構成割合をみると、「あきたこまち」などの食用米品種が約65%作付されているのに対し、WCS用稲専用品種の作付は約32%と少なく、今後、WCS用稲の定着を図るためには食用米品種に比べて多収性、耐病性、耐倒伏性に優れた専用品種の普及が必要である（図2）。

そこで本試験は、本県の環境に適応した能力の高い品種を奨励品種として選定するため、稲WCS専用品種として育成された品種について栽培、調査を行った。平成21年度からは、栽培適期の拡大、落下物が発芽することによる食用米などへの混入防止、未消化物の排泄が気になるため子実割合の少ない品種が欲しいなどといった、生産現場からの要望に応えるため、「リーフスター」、「クサノホシ」、「たちすがた」および「ホシアオバ」といった関東以西向けに育成された品種を含めた7品種について栽培試験を実施した。

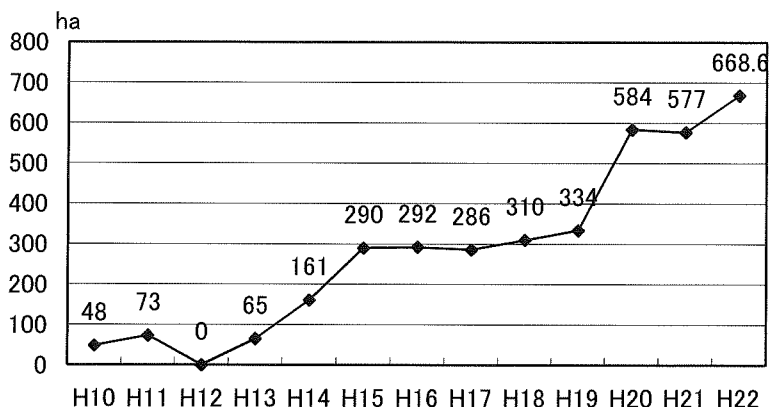


図1 秋田県におけるWCS用稲作付面積の推移

集計：H22. 11. 1 秋田県農畜産振興課

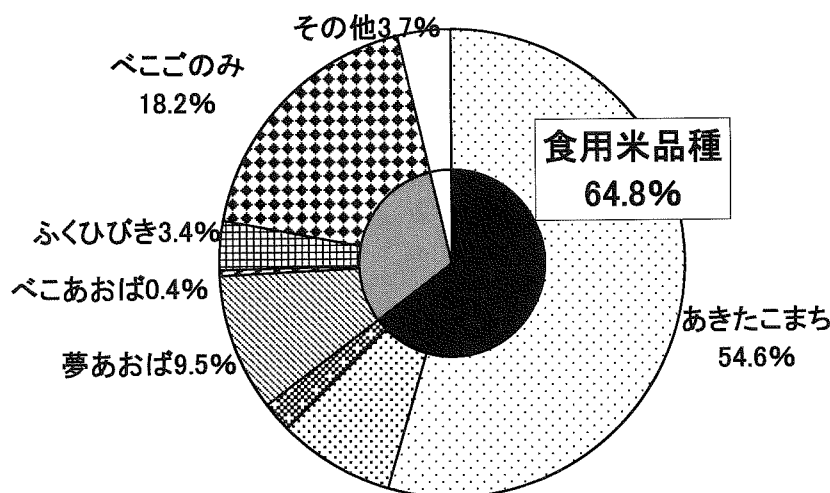


図2 平成22年度WCS用稲品種構成割合

集計：H22. 11. 1 農畜産振興課

材料および方法

1. 試験期間 平成22年4月22日～10月14日
(播種日：4月22日，移植日：5月25日)
2. 試験場所 大仙市神宮寺大巻
3. 試験圃場の構成
1区画 120.96 m² (4.8 × 25.2 m)
4. 栽培概要
 - 1) 栽植密度
15.2 株/m² (畦間 33.2 × 株間 19.8 cm)
 - 2) 施肥 (10a 当たり)
基肥 堆肥 4 t, 窒素 8 kg, リン酸 8 kg,
加里 8 kg
追肥 無し
5. 供試品種
夢あおば, べこあおば, べこごのみ (以上3品種は現行の奨励品種), たちすがた, ホシアオバ, リーフスター, クサノホシの7品種.
6. 調査項目
 - 1) 収量調査
調査項目：桿長, 穂長, 収量, 水分など.
調査時期：夢あおば, べこあおば, べこごのみ, たちすがた, ホシアオバは黄熟期に実施.

リーフスターとクサノホシは糊熟期を目安に実施.

2) 飼料特性

サイレージ用ドラム缶を用いて約1ヵ月貯蔵したWCSについて，発酵品質，飼料成分を分析.

発酵品質は約10 mmに細断した後，蒸留水による抽出を行い，pH，有機酸および総窒素に占める揮発性塩基態窒素の割合 (VBN/TN) について分析を行い，サイレージの発酵品質を化学的に評価する方法のひとつであるV-スコアにより評価した.

飼料成分の分析試料には，70℃ 48時間通風乾燥した後に粉碎したものをを用いた. 分析は，水分，粗蛋白質，粗灰分，OCW (細胞壁物質)，Oa (高消化性繊維) およびOb (低消化性繊維) について「粗飼料の品質評価ガイドブック」に準じて行った (自給飼料利用研究会，2009). TDNの推定は次式によった (服部ら，2005).

$$TDN = 54.297 + 1.205 \times Oa - 0.109 \times Ob - 0.462 \times \text{粗灰分}$$

結果および考察

1. 収量特性

「べこごのみ」は出穂が7月26日、黄熟期に達するのは8月27日と最も早かった。平成22年から栽培試験を始めた「たちすがた」と「ホシアオバ」は、8月中旬に出穂し9月24日には黄熟期に達していた。

「リーフスター」と「クサノホシ」は、9月6日に出穂し、収量調査を実施した10月21日には糊熟期に達していた。乾物穂割合は両品種とも4割以下で、「クサノホシ」の乾物収量は、1.5 t/10 aと高かった(表1)。

2. 飼料特性

「たちすがた」と「ホシアオバ」は、Vスコアが66.3点と85.3点であり、他の品種に比べ

て発酵品質は劣っていた(表2)。これは、刈り取り時の水分がそれぞれ72.4%、71.6%(表1)と高かったことが要因と考えられる。それ以外の品種はVスコアが80点以上と良好な発酵品質であった(表2)。

関東以西向けに育成された品種である「たちすがた」、「リーフスター」、「クサノホシ」は、東北向けに育成された品種である「べこごのみ」、「夢あおば」、「べこあおば」に比較して粗蛋白質含量が低く、粗繊維含量が高い傾向がみられた。しかし、TDNは同等またはそれよりも高い結果であった(表3)。

まとめ

関東以西向けに育成された品種である「たちす

表1 収量調査結果

品種名	出穂日	調査日	草丈 cm	稈長 cm	穂長 cm	穂数 本/m ²	収量(kg/10a)		水分 %	乾物穂 割合%
							現物	乾物		
べこごのみ	7月26日	8月27日	111.6	79.7	31.8	13.3	2279.5	825.1	63.8	62.5
夢あおば	8月4日	9月17日	121.4	86.3	22.1	13.9	2871.5	1054.1	63.3	55.4
べこあおば	8月4日	9月17日	101.6	73.8	21.0	17.0	2529.8	1133.6	55.2	62.9
たちすがた	8月15日	9月24日	137.9	100.9	24.3	11.1	4016.5	1108.2	72.4	42.3
ホシアオバ	8月12日	9月24日	139.1	104.6	22.7	13.6	4141.2	1174.0	71.6	46.8
リーフスター	9月6日	10月21日	138.0	106.7	23.7	11.6	3628.0	1187.7	67.3	32.9
クサノホシ	9月6日	10月21日	136.6	101.0	18.6	12.4	3927.3	1453.2	63.0	38.0

表2 イネWCS発酵品質

品種・系統名	水分 (%)	pH	乳酸 (%)	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)	VBN/TN	V-score	評価
べこごのみ	60.6	5.24	0.15	0.14	0.00	0.00	2.5	100.0	良
夢あおば	66.2	5.50	0.10	0.21	0.00	0.00	4.3	99.9	良
べこあおば	63.3	5.23	0.09	0.14	0.00	0.00	2.1	100.0	良
たちすがた	77.6	4.96	0.00	0.92	0.08	0.00	14.5	66.3	可
ホシアオバ	81.1	4.65	0.00	0.92	0.02	0.00	9.5	85.3	良
リーフスター	72.2	5.24	0.11	0.07	0.00	0.00	2.3	100.0	良
クサノホシ	70.2	4.69	0.11	0.06	0.00	0.00	2.8	100.0	良

表3 イネWCS飼料成分(乾物%)

品種名	水分	粗蛋白質	粗脂肪	粗繊維	粗灰分	可溶性 無窒素物	可消化養分 総量(TDN)
べこごのみ	60.6	7.3	2.7	21.4	7.6	61.0	52.5
夢あおば	66.2	6.9	2.7	27.3	8.8	54.3	49.5
べこあおば	63.3	6.6	2.4	21.9	7.6	61.5	43.4
たちすがた	77.6	5.8	2.5	31.0	10.1	50.6	49.5
ホシアオバ	81.1	6.2	2.5	27.7	9.8	53.8	51.3
リーフスター	72.2	5.6	2.3	29.3	9.5	53.3	53.6
クサノホシ	70.2	4.4	2.7	29.5	9.8	53.6	49.8

がた]，「ホシアオバ」，「リーフスター」，「クサノホシ」は，乾物収量が現行の奨励品種である「べごのみ」，「夢あおば」，「べこあおば」と同等またはそれよりも多いこと，黄熟期に達するのが9月下旬以降であるため収穫時期の拡大が図られること，子実割合が5割以下であるため未消化粉の排泄が少なくなるなど，生産現場からの要望にも応えられる有望な品種であることが示唆された。

文 献

- 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．日草誌 51，269-273．
- 自給飼料品質評価研究会編．2009．改訂粗飼料の品質評価ガイドブック三訂版．社団法人日本草地畜産種子協会．