

汎用型飼料収穫機を用いた発酵TMR調製技術

渡邊 潤・佐々木 淳・佐藤 真樹・植村 鉄矢

要 約

機械の稼働効率を向上させるため、汎用型飼料収穫機による発酵TMR調製技術について検討した。その結果以下の点から、汎用型飼料収穫機により発酵TMR調製が可能であることを示した。

- 1 ミキサーからコンベアにより汎用型飼料収穫機までの送り込み、そして成形・排出は、非常にスムーズで、1個あたり約116.4秒であった。
- 2 成形室へのTMRの送り込みに偏りがあると、台形型のゆがんだバールとなる。
- 3 バールのサイズは、円柱状に置いた状態で、高さ87.9 cm 直径103.4 cmであった。梱包密度は、原物で759.7 kg/m³、乾物で348.0 kg/m³と非常に高い値を示した。

緒 言

自給粗飼料に立脚した地域資源循環型畜産を形成するためには、耕畜連携およびコントラクター組織の充実が必要である。しかしながら、自給粗飼料生産を担うコントラクター組織については、作業が非常に短期間に集中する問題がある一方で、農閑期の作業も少ないことから、雇用が不安定となっている。そのため、一年を通じて作業を行うには、粗飼料の種類も、飼料用イネ、牧草、飼料用トウモロコシをバランスよく生産利用しなければならない。

自給粗飼料生産を行うに当たっては、それぞれの作物品種の専用収穫機が存在する。そのため、飼料作物の作目別に、機械装備を整えることは、維持管理の面からみても、多額の費用を要すると共に、それぞれの作業期間が短いため、機械の稼働効率も決して良いとは言えない。そこで、この問題に対応するため、汎用型飼料収穫機械が開発され、2009年から生産販売されるようになった。汎用型飼料収穫機は、①収穫・細断・梱包の機能を持つ、②収穫部アタッチメントの交換により、多様な飼料作物に対応できる、③自走式で、クローラ式走行部によりトラクター作業が困難な軟弱圃場でも作業できるという特徴をもち、細断型ロー

ルベラーと同様のバール成形機構を搭載している。この収穫機械の登場により、飼料用イネ、牧草、飼料用トウモロコシへは機械1台で対応することが可能となり、従来に比べて機械の稼働率は向上すると考えられる。しかしながら、依然、飼料収穫作業の無い冬期間などの農閑期においては、機械は稼働しないことから、酪農現場において、日常的に行われている飼料調製作業への応用が考えられる。

植村ら(2008)は、細断型ロールベラーによる発酵TMR調製技術について報告しており、TMRの様な細かな形状のものを、高密度に成形、梱包できることから、安定的にかつ優れた発酵品質の、発酵TMRを調製できるとしている。この技術を汎用型飼料収穫機にも応用することにより、一年を通じての作業体系を創造できると考えられる。しかしながら、汎用型飼料収穫機は、細断型ロールベラーと同様に、本来、TMRをバール形成する機械ではないことから、そのバール形成能力は、不明である。そこで、本研究では、汎用型飼料収穫機による発酵TMR調製技術について検討する。

材料および方法

汎用型飼料収穫機：2009年9月に導入された汎用型飼料収穫機（SMR1000，タカキタ）を用いた。尚，本機は，メーカー製造第7号機である。

発酵TMR調製の機械体系：TMRの調製，梱包・ラッピングと一連の機械作業体系で実施するために，TMRミキサーと汎用型飼料収穫機をコンベアによる連結とし，汎用型飼料収穫機より排出されたペールは，グラブによりラッピングマシンへ移動して，ラップフィルムによる密閉処理を行っ

た（写真1-1, 1-2）。この体系で用いた作業機械については表1に示した。

TMRの原料構成：地域未利用飼料資源として，ウドン・ソバ製造製粉過程残渣，トウモロコシ粕，醤油粕，リンゴジュース粕などを用い，配合飼料量を削減し，かつ粗飼料割合の高い飼料構成内容とした（表2）。

調査項目：汎用型飼料収穫機を用いた発酵TMR調製における，作業性およびペールサイズ，重量，密度を計測した。

表1 発酵TMR調製に用いたトラクター以外の専門機械

作業機械名	メーカー	型番	用途
汎用型飼料収穫機	タカキタ	SMR 1000	TMRをペール成形する
TMRミキサー	Van Lengerich社	V-Mix10	TMRを混合調製する
コンベア1	澁谷鉄工所	FCT60-530G	ミキサーに飼料原料を投入する
コンベア2	澁谷鉄工所	FC95-630G	汎用型飼料収穫機にTMRを投入する
グラブ	スター農機	MBG1031	ペールを掴み移動する
ラッピングマシン	タカキタ	MW1051AW	ペールを密封処理する

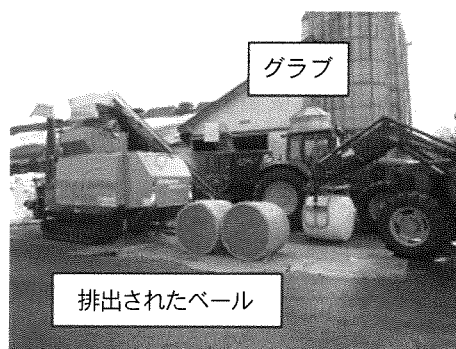
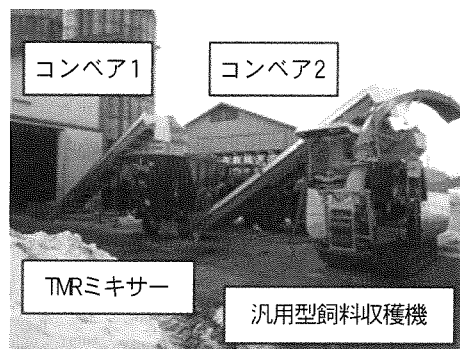


写真1-1. ミキサーと汎用型飼料収穫機の連結 写真1-2. 排出されたペールの扱い

表2 発酵TMRの原料と乾物割合

飼料名	原物 kg/頭/日	乾物 %
○自給粗飼料		
コーンサイレージ	18.0	21.5
ヘイレージ	7.0	21.4
イネ発酵粗飼料	2.0	3.9
○購入飼料		
配合飼料	5.0	18.8
ビートパルプ	2.0	7.6
大豆粕	1.0	3.9
○食品製造副産物		
トウフ粕	3.0	2.7
ソバ製粉過程副産物	2.0	7.6
うどん製造過程副産物	1.5	5.8
醤油粕	1.5	4.8
リンゴジュース粕	3.0	2.0
	46.0	100.0

結果および考察

1 ベール成形速度

ミキサーからコンベアにより汎用型飼料収穫機までの送り込み、そして成形・排出は、非常にスムーズで、1個あたり116.4±5.5秒（平均値±標準誤差）であった。尚、ミキサーからの送り出し量を増やし、より短時間での成形を狙った結果、74秒/個も可能であった。しかし、牧草の切断長が長め、水分が高めなどのわずかな要因、また供給停止のタイミングのズレなどによりホッパでの詰まりが発生した。原料の投入から考えたTMR調製全体の時間では、3000kg（60頭分）のTMRをベールまで調製するのに40分程度要した。うち粗飼料の切断が15～20分を占めた。したがって、農用裁断機により牧草を切断した場合、牧草ロールで90分/個と比べると、作業時間は格段に向上したと言える。

2 ベール成形状態

汎用型飼料収穫機のホッパは非常に小さく106

cm×122cmであり、また成形室へのTMRの送り込みは、機械的に送り込まれることから、コンベアからのTMRの落とし込みが、ホッパの中心部分へ均等に行われなければ、台形型のゆがんだベールが作られ排出される現象が認められた（写真2左）。そのため、作業当初はコンベアからの落とし込み部分に作業員を配置し、スコップにより偏りが出ないようにしていた。しかしながらこれでは、作業員が足場不安定な場所で、飛散したTMRを浴びながら作業を続けねばならず改善が求められた。そこで、コンクリートパネルの板を加工し、写真3にあるような三角柱を作り、コンベア落とし込み部と汎用型飼料収穫機ホッパ上部の間に設置した。これにより、ホッパ内へのTMRの落ち方をコントロールしたところ、均等に成形室への原料供給が可能となった。その結果、写真2右にあるように、きれいな円柱形のベールが、安定的に成形できるようになった。

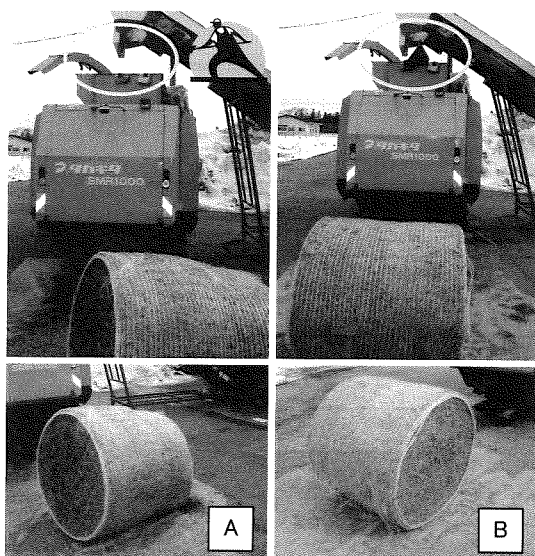


写真2 成形状態 (A ; ゆがみ, B ; 改善)

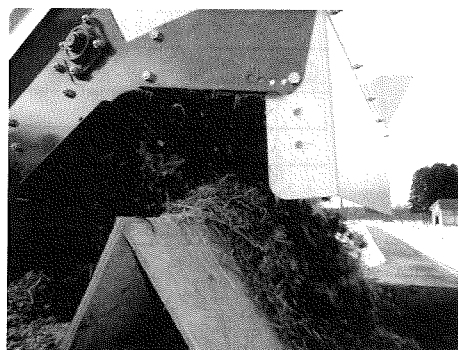


写真3 落としこみを均等にする工夫

表3 発酵TMRべールの重量, 寸法, 密度

原物重量(kg)	560.2±8.6
高さ(cm)	87.9±1.1
直径(cm)	103.4±0.6
原物密度(kg/m ³)	759.7±10.3
乾物密度(kg/m ³)	348.0±4.7

値は平均値±標準誤差

n=4

3 梱包密度

汎用型飼料収穫機で成形されたべールは、原物重量560.2±8.6 kg/個で、べール個々の誤差もわずかであった。トウモロコシサイレージ調製時のべール重量参考値では、含水率71%で約490 kgと示されている。今回調製した発酵TMRは水分50%に調製しているにも係らず、原物重量で560 kgであり、非常に高密度であることを示している。この密度の高さについては、食品製造過程副産物などの、粒度の小さい原料が影響しているものと考えられる。べールのサイズは、円柱状に置いた状態で、高さ87.9±1.1 cm、直径103.4±0.6 cmであった。梱包密度は、原物で759.7±10 kg/

m³、乾物で348.0±4.7 kg/m³と非常に高い値を示した。平均的なサイレージ密度は、タワーサイレージで原物 672 kg/m³、乾物 182 kg/m³、バンカーサイロで原物 647 kg/m³、乾物 192 kg/m³、スタックサイロで原物 600 kg/m³、乾物 159 kg/m³ (北海道農政部運営HP) と、いずれのサイロ形式に比べても格段に高い密度であった。

文 献

- 北海道農政部. 北の農業情報広場. サイレージ調製と貯蔵のポイント. <http://www.agri.pref.hokkaido.jp/fukyu/kuh/siori/shiori15/page25.html>
- 植村鉄矢, 加藤真姫子, 渡邊 潤, 佐藤寛子. 2008. 細断型ロールベラーによる地域資源を活用した保存性の高い発酵TMR生産技術の開発と搾乳牛への給与試験 (第1報). 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 22, 1-7.

汎用型飼料収穫機現地実証試験（第1報）

植村 鉄矢・佐藤 寛子・渡邊 潤・加藤真姫子

要 約

水田フル活用と耕畜連携の下に粗飼料の生産拡大を図るためには、コントラクターの育成が急務である。コントラクター設立により新たに収穫機械を装備する場合、水田での作業性や導入コスト、作業効率および保管専有面積などを考慮すると、水田を中心に多様な飼料作物の収穫に対応した汎用型飼料収穫機の導入が有効と考える。

そこで、汎用型飼料収穫機について、飼料用とうもろこしおよびホールクロップサイレージ用飼料用稲（以下、WCS用稲）の収穫作業を県内の農家圃場において実施した結果、作業面積や単位当たり収量などの条件は異なるが、劣悪な条件を除けば、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術支援センター（以下、生研センター）の成績とほぼ同等の作業能率が得られた。

作業能率には、圃場条件や倒伏および雑草の有無などが影響する。さらに能率を上げるためには、中割作業など今後の課題も明らかになった。

緒 言

本県では、水田フル活用により粗飼料自給率100%を目指しているが、水田で粗飼料生産拡大を図る場合はその多くを耕種農家が担うことになる。しかし、耕種農家は粗飼料の生産技術や機械の装備がないことから、効率よく粗飼料生産を行うためにはそれらを持ち合わせたコントラクターを育成することが急務である。

これまでの粗飼料の作付は、牧草や飼料用とうもろこし、飼料用稲など多様であり、それぞれの作物に対応した専用収穫機を必要としていた。

県内には、WCS用稲の作付が耕畜連携により行われており、専用収穫機を持ったコントラクターが約10組織ある。しかし、ほとんどがWCS用飼料用稲だけの短期的な活動に止まっている。

粗飼料の生産拡大を図るためには、コントラクターやTMRセンターなど、周年活動できる飼料生産供給組織の設立や、汎用性のある高性能機械の導入による機械経費の節減、保存性が高くハンドリングに優れた製品の調製が求められる。

生研センターと株式会社タカキタ（以下、タカ

キタ）およびヤンマー農機株式会社（以下、ヤンマー）が、アタッチメントを交換するだけで多様な作物に対応する汎用型飼料収穫機を共同開発し、平成21年から市販されている。

本機は、自走式で、クローラ式走行部により、トラクター作業が困難な軟弱圃場でも作業ができる。さらに、収穫・細断・梱包の機能を持ち、梱包された製品は密度が高く、ラップすることにより長期保管が可能であることから流通にも適する。

このような特徴から、今後、コントラクターなどへの普及が見込まれることから、その性能などを明らかにして、県内農家に導入された場合円滑な運用が図られるよう、農家圃場において実証調査を行った。

材料および方法

1 作物への適応性および導入経費の比較など

汎用型飼料収穫機一式と、牧草、飼料用とうもろこし、WCS用稲それぞれの専用収穫機について、収穫作物への適応性や一括導入した場合の費

用について比較した。

1) 供試機械

(1) 汎用型飼料収穫機 (SMR1000)

汎用型飼料収穫機は、自走式で走行部はクローラ式である。構造は、アタッチ方式の収穫部とハーベスター部および成形室からなり、収穫部はロークロップアタッチ、リールヘッダアタッチ、ピックアップアタッチの3種類がある。それぞれ交換することにより、飼料用とうもろこし、WCS用稲、牧草などに対応している。ハーベスター部のカッターはシリンダー式で、10～30mmで切断長を変えることができる。切断された作物は、ハーベスターからホッパーを經由してチェーン方式の成形室に送られ、高密度に円柱状に成形され、ネットで梱包されて排出される。また、梱包中は材料の流れが停止しても成形室の前にあるホッパーに蓄えることができることから、これらの工程はすべてノンストップで自動的に行われる。

本機は、タカキタとヤンマーが共同で製造し、タカキタよりSMR 1000として市販されている(図1, 表1)。

(2) 比較機種を選定

タカキタから販売されている機種を選定し、汎用型飼料収穫機と比較した(タカキタカタログ)。

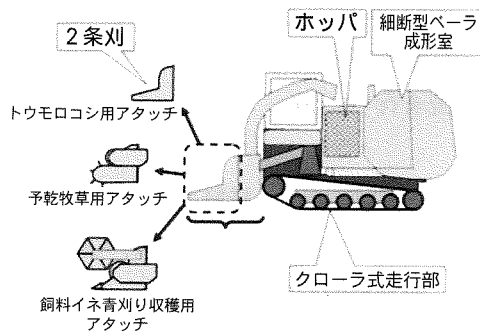


図1 汎用型飼料収穫機のご概念図

a コーンハーベスター

MC923:1条刈り サイドマウント
リバース仕様

コーンハーベスターは、同社の最小能力のものであるが、その能力(40 a/h)は細断型ローラーベラーの能力(30 a/h)によってさらに制限される。

b 細断型ローラーベラー

MR1000:牽引 梱包サイズ $\phi 100 \times 85$

汎用型飼料収穫機と同じ梱包サイズの機種を選定した。

c ホールクロップ用稲専用収穫機

WB1020:自走 5条刈り 細断型
梱包サイズ $\phi 100 \times 85$

汎用型飼料収穫機と同様の細断型を選定した。

d ローラーベラー

CR1070:牽引 梱包サイズ $\phi 100 \times 100$
カッティング機能付き

細断型飼料収穫機に準じてカッティング機構を有した機種を選定した。

2 汎用型飼料収穫機による収穫調査

1) 供試機械

(1) 汎用型飼料収穫機 (SMR1000)

2) 試験に供した材料

表1 開発機の主要諸元

アタッチ種類	トウモロコシ	予乾牧草	飼料イネ
機体全長 (mm)	6,495	6,170	6,850
機体全幅 (mm)	2,000	2,000	2,340
機体全高 (mm)	3,460	3,460	3,460
機体質量 (kg)	4,920	4,960	5,220
接地圧 (kPa)	28.4	28.6	30.1
作業幅 (m)	1.5 (2条)	1.6	2.0 (6条)
切断長 (mm)	10	30	30
機関出力 (kW)		72	
ホッパ容量 (m ³)		1.0	
成形室寸法 (m)		$\phi 1.0 \times 0.85$	

*各アタッチ装着時の作業状態での値

供試材料は、農家が栽培した飼料用とうもろこしおよび飼料用稲を本機により収穫し、収穫に要した時間、トラブルの内容などについて調査した。

結果および考察

1 作物への適応性および導入経費などの比較

汎用型飼料収穫機と各作物の専用収穫機の価格と作業能率を比較した結果は、表2のとおりである。

1) 作物などに対する適応性

従来の粗飼料収穫作業体系は、作物毎に専用収穫機械が必要である。

コーンハーベスターは、飼料用とうもろこしやソルガムなどの長大作物専用機械で、飼料用稲や牧草には対応していない。コーンアタッチとロークroppアタッチを備えたハーベスターもあるが、大型で価格も高い。また、牽引式なので、別途トラクターが必要であり旋回スペースなどの枕地処理も必要である。なお、収穫物をラップサイレージにする場合は、細断型ロールベラーが縦列または並列あるいは定置式で組作業をする必要がある。

WCS用稲収穫機は専用機械であり、他の作物には対応していない。クローラタイプの自走式で

あることから軟弱な地盤にも対応し、枕地も処理できる。刈り取り・細断・成形・梱包・排出の工程でできるが、梱包の際は一時刈り取り作業が中断される。

ロールベラーは、ピックアップ機能を有した牧草梱包用機械であるが、牧草の他にあらかじめ刈り倒した飼料用稲を梱包することも可能である。なお、牽引式なので、別途トラクターが必要で、旋回スペースなども必要であるほか、刈り倒した稲が踏みつけによる埋没や土壌混入の恐れがある。

一方、汎用型収穫機は、アタッチメントの交換により1台で飼料用トウモロコシなどの長大作物やWCS用稲および牧草などに対応する。牧草は予乾牧草に対応したピックアップアタッチによるもので、含有水分により処理能力は大きく左右されるようである。クローラタイプの自走式であることから軟弱な地盤にも対応し、枕地も処理できる。いずれの作物も刈り取り・細断・成形・梱包まで自動で行われ、梱包の際もノンストップで運転可能である。

2) 作業能率

汎用型飼料収穫機の作業能率は、生研センターの説明資料によると飼料用とうもろこしが42 a/

表2 汎用型飼料収穫機と各作物の専用収穫機の価格と作業能率等

(適応性 ○:適 △:可 ×:不可)

種類	走行方式	牧草	飼料用 とうもろこし	飼料用稲	価格(千円)	専有面積	備考
汎用型 飼料収穫機	自走	△ 48	○ 42	○ 29	19,929	19	
飼料用稲 専用収穫機	自走	×	×	○ 27	11,025	11	
ヘイベラー (ロール)	牽引	○	×	△	3,574	7	専用機合計金額 21,852
コーンハーベスター +細断型ロールベラー	牽引	×	○ 30	×	1,635 5,618	9 11	専用機合計面積 38

注1:作業能率:汎用型飼料収穫機は、生研センターのホームページ掲載資料より抜粋。その他はタカキタのカタログより抜粋

注2:下段の数字は、作業能率(a/h:カタログ値) 注3:牽引式の場合は、牽引用のトラクターが別途必要である。

注3:コーンハーベスターの作業能率は細断型ロールベラーの能力に制限されることから、細断型ロールベラーの能力を記載した。

h, WCS用稲は 29 a/h, 牧草が 48 a/hである。それに対して専用機の作業能率(カタログ値)は、飼料用とうもろこしにおいてコーンハーベスターの能力(40 a/h: 単位当たり収量 5 t/10 aの場合)は細断型ロールベラーの能力(30 a/h: 単位当たり収量 5 t/10 a, ロール重量 500 kg/個の場合)に制限されて 30 a/h, WCS用稲は 27 a/hであった。牧草については、ロールベラーの作業能率の記載がなかった。

3) 価格など

対象機械の定価は表2にあるとおりで、汎用型飼料収穫機の価格はアタッチを含めたフルセットの価格が 19,929 千円と個別の専用収穫機と比べるとかなり高い。しかし、汎用型飼料収穫機は、文字通り汎用性があることから、掲げた専用機すべてと同等に対象の作物に対応すると仮定した場合、作物毎の専用機械導の合計価格は 21,851 千円となり、導入費用を約 2,000 千円節減可能である。さらに、牽引作業にはトラクターが必要であ

り、10,000 千円近い節減になる。

また、保管に要する機体専有面積は、汎用型飼料収穫機の 19 m²に対して専用機械全部合わせると 38 m²になる。

以上のように、新たに機械を装備する場合には、水田での作業性や導入コスト、作業能率および専有面積などを考慮すると、汎用型飼料収穫機の導入には大きな有利性があると思われる。

2 汎用型飼料収穫機による収穫調査

汎用型飼料収穫機について、飼料用とうもろこし 3 カ所、WCS用稲 2 カ所、計 5 カ所の農家圃場で収穫実証調査を行なった。結果は、表3に示したとおりである。

1) 飼料用とうもろこし

A圃場は、100 a区画の基盤整備済みで、一つのコーナーを送電用鉄塔が専有している圃場である。天候は晴れで泥濘などはなかった。収量は 4.1 t/10 a (水分61.6%) で倒伏はなかった。

表3 汎用型飼料収穫機の農家実証結果

作物名	圃場	面積(a)	圃場の条件	収量(t/10a)	所要時間(時間)	作業能率(a/h)	トラブルの回数	トラブルの主な内容
飼料用とうもろこし	A	100	天候: 晴れ 地盤: 良好 倒伏: なし 地形: 成形(一部凹凸)	4.1	2.4	41.7	2	ネットの絡まり ハーベスターの詰まり
	B	150	天候: 曇り 路盤: 良好 倒伏: 一部(雑草多い) 地形: 不成形	4.2	4.1	36.6	11	雑草の詰まり 倒伏したトウモロコシの引きずり
	C	60	天候: 曇り 路盤: 良好 倒伏: なし 地形: 成形	5.4	1.4	42.9	0	
WCS用稲	D	30	天候: 前日から雨 路盤: 泥濘 作物: 一部倒伏 地形: 成形	-	2.3	13.0	7	刈り取り部が目視できないため土の拾い上げでハーベスターが詰まる 負荷によりPTOクラッチが焼き付く
	E	30	天候: 前日から雨 路盤: 泥濘 作物: 一部倒伏 地形: 成形	1.9	1.0	31.6	1	

作業中にネットの絡まりとハーベスターの詰まりがそれぞれ一回あり、13分ほどのロスがあったが、作業能率は41.7 a/hであった。中央で中割をする作業をしたが、汎用型飼料収穫機のほかラッピングマシンの作業効率を考えるとさらに効率的な中割作業について検討する必要がある。

B圃場は、数枚の転作田の畦畔を除いた不整形な150 aの水田である。作業前まで小雨が降っていたものの、作業時には作物も地盤もその影響はなかった。収量は4.2 t/10 a（水分63.6%）で、ヒエなどの雑草（収量には含まず）が多く、一部に作物の倒伏があった。不整形ながらも長辺の長い圃場であったので中割作業は行わなかったが、ロークロップアタッチで雑草の引きずりや詰まりのトラブルが数回と梱包用のネットの補充などロスが約1時間ほどあり、作業能率は、36.6 a/hであった。雑草が多いことや不整形圃場であることが作業効率を下げている要因と考えられる。

C圃場は、区画整備済みの60 aで、若干柔らかい地盤であったが天気は晴れで滞水はなかったが、作業速度は倒伏のないところで、0.52 m/s、倒伏のあるところで0.34 m/sで、生研センターのデータ0.83 m/sの約半分であった。雑草や作物の倒伏もなく、収量は5.4 kg/10 a（水分59.7%）であった。特にトラブルはなく作業能率は42.9 a

/hであった。

2) WCS用稲

D圃場は、区画整理された30 aの水田で、前日から作業直前まで雨が降り、圃場は泥濘状態であった。作物は、2割程度が倒伏しており水滴が残っていた。泥濘でも走行には問題なかった。また、倒伏稲は、リールにより起こして刈ることができた。しかし、運転席から刈り取り部分が見えないことから、泥の拾い上げが数回あった。刈り取り部の高さは自動制御されるようになっているが、倒伏した稲を刈り取るなどには高さを手動調整するので、刈り取り部が見えるように改良が望まれる。作業能率は13 a/hであった。

E場は、30 aの区画整理田、作業日の天候は晴れで田面も良好な状態で、収量は1.9 t/10 aであった。作業能率は31.6 a/hであった。

作業能率を生研センターの成績と比べると、作業面積や単位当たり収量などの条件は異なるが、飼料用とうもろこしについては雑草が多かったB地区を除いてほぼ同等の成績が得られた。WCS用稲も降雨直後で泥濘と倒伏が重なったD地区を除いて同等以上の成績が得られた。

作業能率には、圃場条件や倒伏および雑草の有無が影響するが、中割作業などの工夫によってさらに能率を上げることが可能であると考えられ

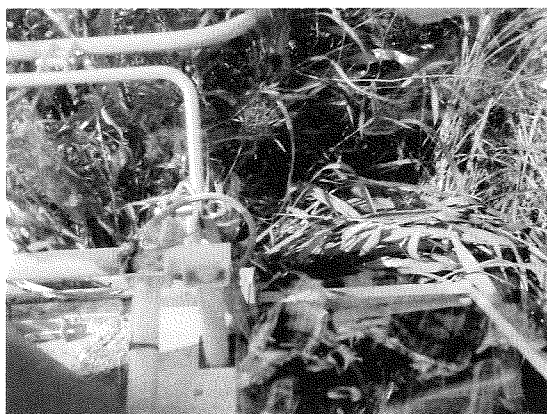


写真1 雑草の絡まり



写真2 カッターバーの突き刺し及び土拾い上げ



写真3 倒伏した稲の刈り取り

る。

なお、イネ科牧草の3番草についてピックアップアタッチを装着して作業を試みたが、ハーベスターが詰まりを繰り返した。時期的に牧草を予乾することができなかったため、高水分であったことが原因と思われる。

今年度は、飼料用とうもろこしとWCS用稲の作業能率について検討したが、今後は牧草や稲わら、飼料用麦、ソルガムなど調査対象作物を増やすとともに、中割作業のなど効率のよい圃場内での動きについても検討する。

文 献

志藤博克, 橘保宏, 川出哲生, 澁谷幸憲, 高橋仁康, 道宗直昭, 山名伸樹, (株)タカキタ, ヤンマー農機(株). 2008. 汎用型飼料収穫機. 畜草草地研究成果情報 主な成果7号 (2008. 10.)

株式会社タカキタ. <http://www.takakita-net.co.jp/index.html>.

株式会社タカキタ. 希望小売価格表. 2009年1月1日～2009年12月31日.

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）

—連用4年目—

渡邊 潤・佐藤 寛子・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有効且つ適正な利用法の提示を目的に、家畜ふん堆肥と化学肥料の組合せ条件の違いが、牧草の生産性、飼料成分および牧草中の硝酸態窒素濃度に与える影響について検討を行った（連用4年目）。

- 1 施肥条件によって収量に差は認められないものの、80%堆肥代替区では草丈が高い値を示した。
- 2 堆肥代替率および腐熟度の違いによる一般飼料成分値の変動は認められなかった。
- 3 堆肥代替区では、化学肥料を窒素単体肥料に変えることにより、カリウムの上昇を抑え、慣行区に比べてもK/Ca+Mg当量比を低くすることが可能であった。
- 4 堆肥代替区では、牧草中の硝酸態窒素濃度は、危険水準とされる0.2%以下で、かつ非常に低濃度であった。

目 的

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が求められるものの、堆肥施用が粗飼料の生産性や飼料成分へ与える影響、特にミネラル成分以外の飼料成分については未だ不明な点が多い。また、農家が家畜ふん堆肥を粗飼料生産に利用する場合の的確な情報は未だに少ない。

そこで、本試験は、牧草生産における家畜ふん堆肥の有効且つ適正な利用方法の提示を目的に、家畜ふん堆肥と化学肥料の組合せ技術及び生産した牧草の収量および飼料成分値について検討を行い、連用4年目における影響について明らかにする。

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（1区画3m×3m、3区画×6試験区=18区画）を供試し、年間施肥量N 20 kg/10 a、施肥配分は早春10 kg、一番草後6 kg、二番草後4 kgとした。

2 《実験1》堆肥と化学肥料施用割合の異なる牧草生産試験

慣行区（化学肥料100%；化学肥料由来窒素10 kg）、試験区1（30%代替区；化学肥料由来窒素7 kg、堆肥由来窒素3 kg）、試験区2（50%代替区；化学肥料由来窒素5 kg、堆肥由来窒素5 kg）、試験区3（80%代替区；化学肥料由来窒素2 kg、堆肥由来窒素8 kg）の計4区を設定した。施肥は2009年4月24日に実施し、化学肥料（硫安N21%）と堆肥（乳牛ふんを主原料とする完熟堆肥；酸素消費量1）を用いた。一番草（出穂期；2009年5月13日時）について草丈および収量を調査し、飼料成分として水分、粗蛋白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、ミネラル（カルシウム：Ca、マグネシウム：Mg、リン：P、カリウム：K）を常法（自給飼料品質評価研究会編2001）により測定した。また、牧草中のデタージェント繊維分画（NDF、ADF）と高消化性繊維、硝酸態窒素濃度およびTDN含量を求めた。尚、高消化性繊維含量（ヘミセルロース含量）は、NDF値よりADF値を差し引くことにより（出口

2006), TDNはADF含量から「粗飼料の品質評価ガイドブック; 自給飼料品質評価研究会 2001」の推定式により算出した。硝酸態窒素は高速液体クロマトグラフィを用いて, 飼料成分分析基準法に沿って測定した(飼料分析基準研究会 2004)。

3 《実験2》堆肥腐熟度の異なる牧草生産試験

試験区4 (30%代替区; 化学肥料由来窒素7 kg 堆肥由来窒素 3 kg), 試験区5 (50%代替区; 化学肥料由来窒素 5 kg, 堆肥由来窒素 5 kg) とした。施肥日および施用した化学肥料は実験1と同じであり, 堆肥は, 一般農家で生産された中熟相当の堆肥(酸素消費量2)を用いた。また, 一番草について草丈, 収量および飼料成分について調査した。方法は実験1と同様である。

4 統計処理

一元配置分散分析を行った後, Tukeyの方法で検定を行った(吉田 1975)。

結 果

1 実験1および実験2

1) 草丈(表2)

試験区3が118.1 cmと最も高く, 他の試験区は, 約110~114 cmであった(最も低い値を示したのは, 試験区1の110.3±2.1 cm)。試験区間に有意

な差は認められなかった。

2) 乾物収量(表2)

試験区4が最も乾物収量が多く, 1 aあたり81.8 ± 3.4 kgであった。慣行区と試験区2では低値を示し, それぞれ69.6 kg, 70.5 kgであった。試験区間に有意な差は認められなかった。

3) 飼料成分

(1) 粗蛋白質(表3)

慣行区で最も高い値を示し12.3%であった。続いて中熟堆肥を利用した試験区4, 5が高く, 約12%であった。試験区3が最も低く10.3%であった。試験区間に有意な差は認められなかった。

(2) 粗脂肪(表3)

慣行区, 試験区1, 5で3.5%と高い値を示し, 試験区3が3.1%と最も低い値であった。

(3) 粗繊維(表3)

試験区3で36.8%と高い値を示し, 慣行区が35.3%と最も低い値であった。

(4) 粗灰分(表3)

試験区3が10.2%と非常に高い値を示し(標準飼料成分表を参照), 慣行区が7.1%で最も低い値であった。堆肥の熟度による違いは認められなかったものの, 堆肥代替率の上昇に伴って高い値を示した。

(5) ミネラル成分(表3)

表1 試験区分と施肥内容

実験区分	試験区名	施肥内容
実験1	慣行区	化学肥料100%(化学肥料由来窒素 10 kg)
	試験区1	30%代替区(化学肥料由来窒素 7 kg, 堆肥由来窒素 3 kg)
	試験区2	50%代替区(化学肥料由来窒素 5 kg, 堆肥由来窒素 5 kg)
	試験区3	80%代替区(化学肥料由来窒素 2 kg, 堆肥由来窒素 8 kg)
実験2	試験区4	30%代替区(化学肥料由来窒素 7 kg, 堆肥由来窒素 3 kg)
	試験区5	50%代替区(化学肥料由来窒素 5 kg, 堆肥由来窒素 5 kg)

試験区3においてCaとMgが、それぞれ0.15%、0.16%と他区に比べて低値を示した。Pは、試験区3が0.48%と他区にくらべて0.1%以上高い値を示し、試験区2が最も低い値を示した(0.32%)。Kは慣行区が3.82%と、堆肥利用区に比べて明らかに高い値を示し、試験区1、2では約3.1%で低い値を示した。飼料中ミネラルバランスの指標となるK/Ca+Mg当量比は、慣行区が最も高く4.74であり、続いて、試験区3が、4.49と高い値であった。試験区2は3.1と最も低い値であった。ミネラル成分各項目および当量比について試験区間に有意な差は認められなかった。

(6) デタージェント繊維分画および高消化性繊維（表4）

NDF, ADF, 高消化性繊維は各区同程度の値を示し、NDF約70%、ADF約40%、高消化性繊維約30%であった。

(7) TDN（表4）

慣行区、堆肥施用区で差は認められず、57.4~57.9%であった。

(8) 硝酸態窒素（表5）

最も高い値を示した試験区2でも0.03%と非常に低濃度であり、各区とも危険水準である0.2%を大きく下まわっていた。

表2 草丈および収量

	慣行区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4	試験区5
草丈(cm)	113.4±0.6	110.3±2.1 b	112.2±2.6	118.1±1.1 a	111.0±0.4 b	114.4±0.8
乾物収量(kg/a)	69.6±3.4	78.7±0.8	70.5±4.2	73.0±0.7	81.8±3.4	75.3±3.8

値は平均値±標準誤差

P<0.05: 異符号間に有意差あり

表3 一般飼料成分およびミネラルバランス（乾物%）

	慣行区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4	試験区5
水分	77.0±0.5	78.9±0.4	78.8±0.5	78.5±0.5	77.1±0.6	77.8±0.2
粗蛋白質	12.3±0.7	11.7±0.7	11.3±0.5	10.3±0.9	12.1±0.8	12.0±0.5
粗脂肪	3.5±0.2	3.5±0.3	3.2±0.1	3.1±0.1	3.2±0.1	3.5±0.2
粗繊維	35.3±0.6	36.1±0.5	35.8±0.5	36.8±1.4	36.4±0.6	36.2±0.4
粗灰分	7.1±0.2 a	9.1±0.2 bd	9.6±0.4 b	10.2±0.4 b	7.5±0.1 ac	8.1±0.2acd
Ca	0.16±0.00	0.21±0.01	0.20±0.02	0.15±0.02	0.21±0.02	0.17±0.01
Mg	0.16±0.00	0.17±0.01	0.19±0.01	0.16±0.00	0.18±0.01	0.17±0.01
P	0.36±0.02 b	0.36±0.03 b	0.32±0.01 b	0.48±0.01 a	0.35±0.02 b	0.33±0.00 b
K	3.82±0.08 a	3.08±0.13 b	3.07±0.21 b	3.54±0.10 ab	3.41±0.22 ab	3.27±0.05 ab
K/Ca+Mg当量比	4.74±0.20 a	3.29±0.32 ab	3.10±0.36 b	4.49±0.42 ab	3.55±0.45 ab	3.77±0.33 ab

値は平均値±標準誤差

P<0.05: 異符号間に有意差あり

表4 デタージェント繊維分画およびTDN (乾物%)

	慣行区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4	試験区5
NDF	70.1±0.8	70.5±0.9	70.5±0.2	70.2±0.5	70.3±1.2	71.2±0.4
ADF	40.9±0.2	40.7±0.7	40.6±1.0	41.0±0.5	40.3±0.4	40.6±0.2
高消化性繊維	29.2±1.0	29.8±0.3	29.9±1.1	29.2±0.4	30.1±0.8	30.6±0.5
TDN	57.4±0.2	57.6±0.5	57.7±0.7	57.4±0.3	57.9±0.3	57.7±0.1

値は平均値±標準誤差

表5 硝酸態窒素濃度 (%)

	慣行区	試験区1	試験区2	試験区3	試験区4	試験区5
硝酸態窒素	0.00±0.00	0.00±0.00	0.03±0.01	0.01±0.00	0.02±0.02	0.01±0.01

値は平均値±標準誤差

まとめおよび考察

本試験の結果をまとめると、連用4年目において①施肥条件によって収量に差は認められないものの、80%堆肥代替区では草丈が高い値を示した。②堆肥代替率および腐熟度の違いによる一般飼料成分値の変動は認められなかった。③堆肥代替区では、化学肥料を窒素単体肥料に変えることにより、カリウムの上昇を抑え、慣行区に比べてもK/Ca+Mg当量比を低くすることが可能であった。④堆肥による化学肥料の代替利用においても、牧草中の硝酸態窒素濃度は、危険水準とされる0.2%以下で、かつ非常に低濃度であった。

草丈と収量の関係について、1,2年目では、堆肥代替率の高い試験区ほど草丈が高く、収量が低下する傾向を示し、連用3年目では、堆肥代替率の高い試験区において草丈、収量の両方が高い値を示していた。そして、4年目では、慣行区と堆肥施用区との差も傾向として認められなくなった。これも、連用による影響と緩やかとされる牛ふん堆肥の肥効特性を示しているものと考えられる。

そのような中でも、1~3年目までの結果との相同性を示すと、80%堆肥代替区の草丈が高く、粗蛋白質含量が低いことが注目される。原田(1975)は、施肥量の相違と草丈の関係について、リン施用量の増加とともに草丈が増加することを示しており、一般成分の値からも、80%代替区のリン含量が突出していることで、これを裏付ける結果となっている。

一般飼料成分について、連用2年目では、化学肥料のみの慣行区と堆肥代替80%の試験区3がそれぞれ最大値または最小値を示し、堆肥施用量と比例的に成分含量の変動を示していた(渡邊ら2009)。そして、連用3年目では、調査飼料成分項目において、有意な成分含量の違いは認められなくなっていた(渡邊ら2010)。このことは、やはり、緩やかであるとされた肥効が、連用3年目から、安定的に放出されるようになり、4年目も同様の傾向を示したものと推測される。

分析項目ごとでは、粗蛋白質含量は、前年までと同様に、中熟堆肥を利用した試験区4,5でやや高い傾向を示した。これは、第1報(渡邊ら

2008)でも述べたように尿由来の即効性窒素の影響が考えられる。しかし、連用の効果からか、最も低い値を示した80%堆肥代替区でも、3年目の最も高い値と同程度であり、その肥効特性を考えると、今後より一層その差は小さくなるものと考えられる。粗繊維含量は、80%堆肥代替区において高く、慣行区で低い値を示した。化学肥料のみの慣行施肥では、高カロリー・低蛋白となり、家畜糞尿の施用では、低カロリー・高蛋白な牧草となり、飼料価値としては、低下するとされている(近藤ら1979)が、今回、80%堆肥代替区では、蛋白含量も低下した点で異なる。粗蛋白の低下と粗繊維の増加という成分の変化は、牧草が生殖生長、つまり出穂したあとに起きる成分変化と同じであることから(独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編2010)、堆肥施用により出穂が早まっている可能性があり、次年度以降調査する必要があると考えられる。粗灰分含量は、前年までと同様に化学肥料区で最も小さな値を示し、堆肥代替率が上昇するにしたがって、その含量が有意に上昇していた。その灰分含量の増加の要因であるが、4年目は堆肥施用区を窒素単体肥料に変えたこともあり、カリウムは慣行区が高かった。前報(渡邊ら2010)でも示した様に、つまり灰分含量を押し上げている要因は、牧草中に含まれる他のミネラル成分である可能性が強い。また、慣行区においてカリウムが高値を示した要因としては、本試験設計の窒素20kg/10a/年という窒素ベースでの施肥設計が考えられる。つまり、窒素を基準とした場合にリン、カリウムが過剰になっている可能性がある。これまで、この点に留意して、化学肥料のカリウム20%から10%へ変更するなど施肥条件の調整を行ってきたが、実際の農家牧草生産現場でも、慣行施用条件におけるリン、カリウムの過剰も懸念される。そのため、前年施用成分の圃場内収支、残効について科学的知見を加えると共に、施肥成分内容をコントロー

ルする必要があると考えられるが、堆肥施用区の方が収量のみならず、成分含量まで適正值に収束するという結果は興味深い。

ミネラルバランスについては、化学肥料の変更によりこれまでとは全く異なる結果となり、カリウムが高値を示した慣行区において最も高くなった。また、カリウムは、それに比べて低いものの、80%堆肥代替区では、CaとMgの低値により、バランスとしては上昇した。しかし、完熟堆肥30、50%代替では、3年目にくらべ当量比の低下が認められ、カリウム低減によるCa、Mgの吸収阻害の回避を実現できたものと推測される。ただし、試験区全体として、当量比については、高い傾向が認められることから、これ以上堆肥由来のカリウム以外が入らないようにすること、継続的に窒素単体肥料を利用することにより、ミネラルバランスが適正化することを期待したい。

硝酸態窒素濃度については、すべての試験区において0.03%以下の非常に低い値であった。連用2、3年目に続いて、中熟堆肥50%代替区において最も高い値を示すという傾向は同じものの、慣行区、80%堆肥代替区では検出されなかったほか、各区3年目の半分以下の値であった。連用4年目において硝酸態窒素濃度が上昇することなく、逆に低下したことについて、5年目の結果も踏まえて、堆肥代替量および適正な腐熟度について示すことにより、現場により対応した情報として提供することが出来ると考えられる。

これまでの連年施用の結果をまとめると、明らかに堆肥代替率によって異なっていた連用2年目までの飼料成分値の結果が、3年目には化学肥料区と堆肥代替区の間でその差が認められなくなり、4年目は3年目と同様の傾向を示し安定してきた。これは牛ふん堆肥の肥効特性によるものとした前報の考察を支持する結果となり、一定の成果として畜産現場に提示し得る有用な指標と考えられる。ただし、80%堆肥代替区では、4年目に

においてもミネラル成分への影響が残ることから、施肥量の一つのポイントとして留意する必要がある。

田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告
第24号, 11-17.

文 献

- 近藤熙, 石井和夫, 杉原進. 1979. 混播草地に対する牛ふん厩肥の連年多量施用. 東北農業試験場研究報告 第60号, 41-62頁.
- 自給飼料品質評価研究会編. 2001. 改訂粗飼料の品質評価ガイドブック. 5-33, 77-83. (社)日本草地畜産種子協会. 東京.
- 飼料分析基準研究会. 2004. 飼料分析法・解説. 4-61, 62. 芝光社. 東京.
- 出口健三郎. 2006. フォレージ・マネジメント: 乳牛にとって“良質な粗飼料”とは何か? ~上手に良質粗飼料を確保・調達・利用するためには~. 79-83. デーリィ・ジャパン社.
- 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編. 2010. 日本標準飼料成分表 (2009年版). 23-76. 中央畜産会. 東京.
- 原田勇. 1985. 牧草の栄養と施肥. 52-61, 151-157. 養賢堂. 東京.
- 吉田実. 1975. 畜産を中心とする実験計画法. 1版, 68-124. 養賢堂. 東京.
- 渡邊潤, 佐藤寛子, 加藤真姫子, 植村鉄矢. 2008. 良質牧草生産における環境負荷低減型堆肥生産技術の確立ー堆肥と化学肥料の組合せ技術の検討ー. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 第22号, 34-40.
- 渡邊潤, 佐藤寛子, 加藤真姫子, 植村鉄矢. 2009. 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2報)ー連用2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 第23号, 16-22.
- 渡邊潤, 佐藤寛子, 加藤真姫子, 植村鉄矢. 2010. 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3報)ー連用3年目ー. 秋

黒毛和種の育成から肥育までの稲発酵粗飼料給与技術の確立（第2報）

— 収穫調整方法の異なる稲発酵粗飼料の給与に関する試験 —

酒出淳一・植村鉄矢・関屋万里生・佐々木浩一・伊藤隆・八規三千代

要 約

稲発酵粗飼料（以下、稲WCS）給与によるビタミンA制御型肥育体系を確立するため、育成期における調製方法の異なる稲WCS（予乾処理・無予乾処理）の給与が育成牛の飼料摂取量および発育への影響について検討するとともに、肥育期において、肥育中期に予乾処理した稲WCS或いは稲ワラ給与が、肥育牛の発育および枝肉成績に与える影響を比較し、ビタミンA制御型肥育体系を考慮した稲WCS給与技術について検討した。

- 1 黒毛和種育成去勢牛 8 頭を用い、90 日間予乾処理稲WCSを給与する区と無予乾処理稲WCSを給与する区を設け、その飼料摂取量および発育を比較した。飼料摂取量に両区の差は認められず、増体は両区とも良好な成績を示し、日増体量 1.0 kg以上を確保した。
- 2 黒毛和種育成牛（9 ヶ月齢）の 5 頭を用い、肥育前・後期に無予乾処理稲WCSを給与する際、肥育中期に予乾処理稲WCSを給与する区と稲ワラを給与する区を設け、その飼料摂取量および発育を比較したところ、予乾区に比べ稲ワラ区の飼料摂取量が多く、期間増体量も多かった。枝肉成績について稲ワラ区の枝肉重量が予乾区に比較し大きい傾向が見られたが、両区の上物率は同程度であった。
- 3 本試験により生産された両区の牛肉の胸最長筋を用い、脂肪酸組成について分析した結果、両区の牛肉に脂肪酸組成の差は認められなかった。
- 4 肥育中期に予乾処理した稲WCS或いは稲ワラ給与することにより、ビタミンA制御型肥育は可能であることが判明した。

緒 言

筆者ら（2008）は、先に黒毛和種育成牛への稲発酵粗飼料（以下、稲WCS）の給与量について、無予乾処理の稲WCSは原物 5~6 kg給与で良好な発育を確保できること、肥育開始時に望ましいとされる血漿中ビタミンA濃度である 100 IU/dl以上を確保できることを報告した。また、予乾した稲WCSを肥育全期間給与しても、ビタミンA制御型肥育方法で推奨されている肥育中期の 19~24 ヶ月齢における血漿中のビタミンA濃度を適正な範囲（50 IU/dl以下）に制御できること

を報告した。

今回は、育成期における調製方法の異なる稲WCS（予乾処理・無予乾処理）の給与が育成牛の飼料摂取量および発育への影響について検討した。また、肥育前期・後期に稲WCSを給与する場合、中期に対して予乾処理した稲WCS或いは稲ワラ給与が、肥育牛の発育および枝肉成績に与える影響を比較し、ビタミンA制御型肥育体系を考慮した稲WCS給与技術について検討した。また、両飼養方法で生産された牛肉の脂肪酸組成分析を実施した。

材料および方法

1 試験1 育成期における調製方法の異なる稲WCS給与試験

- 1) 試験期間平成20年1月～平成20年9月
- 2) 供試牛

当該繋用の黒毛和種育成去勢牛8頭を用い、予乾区（予乾した稲WCSを給与する区）に5頭、無予乾区（予乾しない稲WCSを給与する区）に3頭を配置した。開始時の月齢、体重および血統は表1のとおりである。

3) 給与飼料

試験期間は両区とも90日間で、期間中の目標DGを1.0 kg、TDN充足率を105%程度とした。

濃厚飼料は、市販配合飼料（現物中CP13.5%、TDN68.5%）を用い、両区とも日量3.0 kg/頭から給与を開始し、漸増しながら終了時は4.5 kg/頭を給与した。乾草は場内生産のオーチャードグラス1番草（出穂期）を用い、両区とも1.5 kg～2.0 kgの給与とした。

給与した稲WCSの品種・熟期は、予乾区は「ふくひびき・黄熟期」、無予乾区は「あきたこまち・黄熟期」で、いずれも平成19年9月に大仙市で収穫され、細断型ロールペーラーで調製後、ラッピングしたのものを使用した。試験に供した稲WCSの栄養価を表2に、試験の期間別飼料給与量を表3に示した。

表1 供試牛の概要（試験1）

区分	試験牛 No.	父	母の父	母方祖父	開始時	
					月齢	体重
予乾区	1	篤桜	糸勝	紋次郎	6.4	238.0
	2	篤桜	義安福	紋次郎	5.6	187.0
	3	篤桜	義安福	宮桜	5.6	224.0
	4	篤桜	北国7の8	神高福	6.5	165.0
	5	篤桜	北国7の8	神高福	6.0	163.0
平均±標準偏差					6.0±0.4	195.4±34.2
無予乾区	6	篤桜	福金	北国7の8	5.8	205.0
	7	篤桜	安平照	平茂勝	5.6	200.0
	8	篤桜	安平	神高福	5.1	217.0
平均±標準偏差					5.5±0.4	207.3±8.7

表2 育成期の供試稲WCSの栄養価

	品種・熟期	成分 (DM%)		
		DM	CP	TDN
予乾処理稲WCS	ふくひびき・黄熟期	61.8	5.4	52.6
無予乾処理稲WCS	あきたこまち・黄熟期	52.8	5.4	49.8

TDN推定式: $TND = 8.094 + 0.462 \cdot OM + 1.205 \cdot Oa - 0.109 \cdot Ob$

表3 育成牛1頭当たりの期間別飼料給与方法（試験1）

期間	原物kg/頭・日					
	予乾区			無予乾区		
	濃厚飼料	乾草	稲WCS	濃厚飼料	乾草	稲WCS
1-10	3	1.5	3	3	1.5	4
11-20	3	1.5	3	3	1.5	4
21-30	3	1.5	4	3	1.5	4
31-40	3.5	2	4	3.5	2	5
41-50	3.5	2	4	3.5	2	5
51-60	4	2	5	4	2	5
61-70	4	2	5	4	2	6
71-80	4.5	2	5	4.5	2	6
81-90	4.5	2	5	4.5	2	6

表4 供試牛の概要（試験2）

区分	試験牛 No.	父	母の父	祖母の父	単位: 月, kg	
					開始時	
					月齢	体重
予乾区	1	篤桜	義安福	糸安福	9.6	205
	2	篤桜	高栄	宮桜	8.7	261
	平均				9.2	233.0
稲ワラ区	3	篤桜	糸勝	紋次郎	9.5	319
	4	篤桜	義安福	紋次郎	8.7	268
	5	篤桜	義安福	宮桜	8.7	330
	平均				8.9	305.7

表5 試験区分と稲WCS・稲ワラの給与時期

区分	頭数	肥育前期	肥育中期	肥育後期
予乾区	2	無予乾稲WCS	予乾稲WCS	無予乾稲WCS
稲ワラ区	3	無予乾稲WCS	稲ワラ	予乾稲WCS

4) 管理

両区とも群飼育とし、給与時間は市販配合飼料は午前8時30分、午後3時30分の2回で半量ずつ、稲WCSを含む粗飼料は午前9時、午後4時の2回ずつに分けて給与し、残飼量は毎日測定した。

給水は、ウォーターカップによる自由飲水で、敷料はおが屑を用い適宜交換した。

5) 調査項目

(1) 飼料摂取量

毎日、朝の飼料給与前に残食を採取し、計量して飼料摂取量を算出した。

(2) 体重

体重は試験開始後4週間隔で、毎回午後1時

に測定した。

2 試験2 肥育中期に予乾稲WCSを給与する肥育試験

- 1) 試験期間 平成20年1月～平成21年12月
- 2) 供試牛

当场繫用の黒毛和種去勢牛を肥育素牛とし、予乾区（肥育中期に1日予乾処理した後収穫調製した稲WCSを給与する区）と稲ワラ区（肥育中期に稲ワラを給与する区）を設置し、黒毛和種去勢牛をそれぞれ2頭、3頭配置して群飼で行った。開始時の月齢、体重および血統は表4、試験区分と稲WCSと稲ワラの給与時期は表5のとおりである。

3) 給与飼料

粗飼料は、予乾区は無予乾処理稲WCSを肥育前期 6.0 kg、後期 2.0 kg、予乾処理稲WCSを中期 2.0～3.0 kg、乾草を前期 2.0 kgそれぞれ定量給与した。稲ワラ区は前期に無予乾処理稲WCSを 6.0 kg、後期に予乾処理稲WCSを 4.0 kg 給与し、中期には稲ワラ 2.0～3.0 kg 給与し、乾草は前期 2.0 kg の定量給与とした (表6)。

供試した稲WCSの品種・熟期は、両区とも「あきたこまち・黄熟期」で、いずれも平成 19 年 9 月に大仙市で収穫され、細断型ロールペーラーで調製後、ラッピングしたものを供試した。試験に供試した稲WCSの栄養価を表7に示した。

濃厚飼料は市販の配合飼料 (前期飼料CP15.5%, TDN68.0%; 後期飼料CP12.5%, TDN70.5%) を用い、両区とも 9～13 ヶ月齢までは前期飼料 3.0 kg～6.0 kg/頭・日の制限給与、14～28 ヶ月齢までは後期飼料 7.0 kg～10.0 kg/頭・日の制限給与とし、切り替え期間を 1 ヶ月間とした。

4) 管理 試験1と同じとした。

4) 調査項目

(1) 飼料摂取量

試験1と同様。

(2) 体重

試験1と同様

(3) 枝肉成績

(社)日本格付協会による牛枝肉取引規格で評価した。

(4) 脂肪酸組成分析

枝肉を部分肉に分割する際、左半丸の胸最長筋 (6～7 胸椎から 2 cm 程度) を採取し、分析まで凍結保存した。分析時に凍結保存したロース芯組織から脂肪を抽出し、分析に供した。脂肪をナトリウムメチレートでメチルエステル化し、ガスクロマトグラフで分析した。

脂肪の測定は、飽和脂肪酸 3 種 (ミリスチン酸、パルミチン酸およびステアリン酸) と不飽和脂肪酸 5 種 (ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、オレイン酸、リノール酸およびリノレン酸) の計 8 種について行った。

表6 粗飼料給与方法 (試験2)

肥育期間 (月齢めやす)	単位: 月, kg																				
	1 (9)	2 (10)	3 (11)	4 (12)	5 (13)	6 (14)	7 (15)	8 (16)	9 (17)	10 (18)	11 (19)	12 (20)	13 (21)	14 (22)	15 (23)	16 (24)	17 (25)	18 (26)	19 (27)	20 (28)	
予乾区	無予乾稲WCS	6	6	6	6	6											2	2	2	2	2
	予乾稲WCS						3	2	2	2	2	2	2	2	2						
	乾草	2	2	2	2	2															
	稲ワラ																				
稲ワラ区	無予乾稲WCS	6	6	6	6	6															
	予乾稲WCS																4	4	4	4	4
	乾草	2	2	2	2	2															
	稲ワラ						3	2	2	2	2	2	2	2	2						

表7 飼育期の供試稲WCSの栄養価

	品種・熟期	成分 (DM%)		
		DM	CP	TDN
予乾処理稲WCS	ふくひびき・黄熟期	61.8	5.0	61.4
無予乾処理稲WCS	ふくひびき・黄熟期	52.3	6.5	57.4

TDN推定式: $TDN = 8.094 + 0.462 * OM + 1.205 * Oa - 0.109 * Ob$

結果および考察

1 試験1

1) 飼料摂取量および発育状況

飼料摂取量を表8（原物）、表9（乾物）に示した。試験期間中1頭あたりの濃厚飼料摂取量は、乾物で予乾区 247.2 kg、無予乾区 277.4 kgと無予乾区が30.2 kg多く摂取した。稲WCSの摂取量は乾物で予乾区 222.5 kg、無予乾区 219.8 kgとわずかに予乾区が多く摂取したが、乾草を加えた粗飼料の合計では、予乾区と無予乾区の摂取量は315.3 kg、320.5 kgとわずかに無予乾区が多かった。

増体成績を表10に示した。試験開始時体重は、予乾区で195.4±34.2 kg、終了時体重 285.4±

37.0 kgと試験期間中に平均で1頭当たり90 kgの増体を示し、日増体量で1.0±0.2 kgと良好な発育を確保することができた。

一方、無予乾区は試験開始時体重207.3±8.7 kg、終了時体重320.7±6.7 kgと試験期間中113 kg増体し、日増体量で1.3±0.1 kgと高い発育を示した。

予乾区と無予乾区の発育の差は、無予乾区が予乾区に比較して、開始時月齢が若いこと、開始時体重が大きいことが試験終了時の増体差になって出たものと考えられる。

このことから、黒毛和種育成期（6ヵ月以降）の給与飼料として、稲WCSは無予乾処理或いは予乾処理どちらの調製方法であっても、日増体量1.0 kg/日以上を確保できると考えられた。

表8 育成期の1頭当たり飼料摂取量（原物）

区分	頭数 (n)	濃厚飼料	粗飼料	
			乾草	稲WCS
予乾区	5	290.8	110.9	360.0
無予乾区	3	326.3	120.3	416.3

表9 育成期の1頭当たり飼料摂取量（乾物）

区分	頭数 (n)	濃厚飼料	粗飼料	
			乾草	稲WCS
予乾区	5	247.2	92.8	222.5
無予乾区	3	277.4	100.7	219.8

表10 育成期の増体成績

区分	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)
予乾区	5	6.0±0.4	9.0±0.4	195.4±34.2	285.4±37.0	90.0±12.9	1.0±0.2
無予乾区	3	5.5±0.3	8.5±0.3	207.3±8.7	320.7±6.7	113.3±4.9	1.3±0.1

平均値±標準偏差

2 試験2

1) 飼料摂取量

肥育期間中の1頭当たりの飼料摂取量(原物)を表11に、肥育期間別の飼料摂取量を表12に、また肥育期間別の粗飼料の乾物摂取量を表13に示した。

濃厚飼料の摂取量は、肥育全期間中原物で予乾区4,497.0 kg、稲ワラ区4,772.2 kgと稲ワラ区が275.2 kg多く摂取していた。肥育期間別の摂取量で比較すると、前期は予乾区が稲ワラ区に比較し60.4 kg多かったが、肥育中期・後期は稲ワラ

区が予乾区よりもそれぞれ145.1 kg、190.5 kg多く摂取した。

粗飼料について肥育全期間の粗飼料摂取量を乾物で比較すると、予乾区は1188.1 kg、稲ワラ区は1232.3 kgと稲ワラ区が予乾区より44.2 kg多く摂取していた。肥育期間別の粗飼料摂取量は肥育前期では予乾区が582.8 kg、稲ワラ区が357.5 kgと225.3 kg予乾区が多く摂取していたが、中期では予乾区447.3 kg、稲ワラ区585.2 kg、後期では予乾区157.9 kg稲ワラ区289.6 kgと稲ワラ区が予乾区に比較し多く摂取していた。

表11 肥育期間中の飼料摂取量(原物)

区分	kg	
	予乾区	稲ワラ区
濃厚飼料摂取量	4,497.0	4,772.2
乾草	377.8	223.6
稲WCS(無予乾)	962.6	287.3
稲WCS(予乾)	596.3	468.6
稲ワラ	—	689.4

表12 肥育期間別飼料摂取量(原物)

区分	飼料名	単位:kg/頭		
		前期	中期	後期
予乾区	濃厚飼料	881.5	2472.9	1142.6
	乾草	283.6	94.2	—
	無予乾稲WCS	660.6	—	302.0
	予乾稲WCS	—	596.3	—
	稲ワラ	—	—	—
稲ワラ区	濃厚飼料	821.1	2618.0	1333.1
	乾草	159.3	64.3	—
	無予乾稲WCS	287.3	—	—
	予乾稲WCS	—	—	468.6
	稲ワラ	84.1	605.3	—

表13 肥育期間別粗飼料摂取量(乾物)

区分	飼料名	単位:kg/頭			
		前期	中期	後期	計
予乾区	粗飼料合計	582.9	447.3	157.9	1188.1
	乾草	237.4	78.8	—	316.2
	無予乾稲WCS	345.5	—	157.9	503.4
	予乾稲WCS	—	368.5	—	368.5
	稲ワラ	—	—	—	—
稲ワラ区	粗飼料合計	357.5	585.2	289.6	1232.3
	乾草	133.3	53.8	—	187.1
	無予乾稲WCS	150.3	—	—	150.3
	予乾稲WCS	—	—	289.6	289.6
	稲ワラ	73.9	531.4	—	605.3

2) 体重の推移

各肥育期の開始時体重と肥育終了時体重を表14に、日増体量を表15に示した。

終了時体重は、予乾区 750.0 kg, 稲ワラ区836.7 kgと両区とも目標体重の 740 kgを上回ったが、特に稲ワラ区は目標体重を 96.7 kgも上回った。両区の体重を比較すると、前期開始体重で予乾区 233.0 kg, 稲ワラ区 305.7 kgとその差は 72.7 kgあり、中期開始時はそれぞれ 400.0 kg, 457.7 kgとこの差が 57.7 kgに縮小したが、後期開始時体重はそれぞれ 646.5 kg, 743.3 kgとその差が 96.8 kgと再び大きくなり、終了時体重で 750 kg, 836.7 kgと最終の差は 86.7 kgであった。

日増体量は通算で予乾区 0.86 kg/日, 稲ワラ区 0.89 kg/日と両区とも目標の 0.86 kg/日を達成した。

特に、予乾区, 稲ワラ区の肥育前期の日増体量は、それぞれ 1.11 kg/日, 1.00 kg/日となり、良好な発育を示した。

3) 枝肉成績

枝肉成績を表16に示した。

枝肉格付は予乾区でA-5が1頭, B-4が1頭, 稲ワラ区でA-4が2頭, A-3が1頭だった。

枝肉重量は、平均で予乾区 468.5 kg, 稲ワラ区 547.2 kgと予乾区に比較し、稲ワラ区が著しく大きかった。これは終了時体重の差であると考えられる。胸最長筋面積（ロース芯面積）も平均で予乾区 57 cm², 稲ワラ区 62 cm²と稲ワラ区が大きかった。ばらの厚さも平均で予乾区 8.2 cm, 稲ワラ区 8.5 cmと稲ワラ区が大きかった。

肉質に関する項目については、平均BMSNo.が予乾区7.0に対し稲ワラ区6.3であった。また、肉の色を表すBCSは予乾区3.5, 稲ワラ区3.3であった。

西ら（2005）, 福田ら（2006）は黒毛和種を用い、稲ワラの代替飼料として稲WCSを肥育全期間給与する区, 肥育前期のみ給与する区, 本試験と同様に肥育中期を除く前・後期に稲WCSを給与する区を設置し、稲WCSの給与効果を検討した結果、肥育中期に稲WCSを給与しなかった前・後期区が枝肉重量を除くすべての枝肉形質が優れており、肥育中期に稲WCS給与を控えることを

表14 各肥育期の開始体重と終了時体重

試験区分	試験牛No	前期開始時 体重	中期開始時 体重	後期開始時 体重	終了時 体重
予乾区	1	205	375	607	735
	2	261	425	686	765
	平均	233.0	400.0	646.5	750.0
稲ワラ区	3	319	468	730	808
	4	268	416	710	812
	平均	305.7	454.7	743.3	836.7

表15 各肥育期の日増体重

試験区分	試験牛No	前期	中期	後期	肥育全期間
予乾区	1	1.13	0.77	0.85	0.88
	2	1.09	0.87	0.53	0.84
	平均	1.11	0.82	0.69	0.86
稲ワラ区	3	1.00	0.87	0.52	0.82
	4	0.99	0.98	0.68	0.91
	平均	1.00	0.96	0.62	0.89

推奨している。

本試験においては、この肥育中期に予乾処理した稲WCSを給与し、稲ワラを給与した区との比較肥育試験を実施したが、枝肉成績の結果、黒毛和種の肥育方法において無予乾稲WCSを肥育前・後期に給与する場合は、肥育中期に無予乾稲WCS給与或いは稲ワラ給与両方の体系であっても、肉質などに影響はなく、どちらの給与体系を採用してもビタミンA制御型肥育は可能と考えられた。

3 牛肉の脂肪酸組成

表17に試験牛（予乾区、稲ワラ区）の牛肉の最長筋（ロース）の脂肪酸組成（%）および最長

筋脂肪融点（℃）を示した。

脂肪酸組成について両区を比較すると、オレイン酸含量が予乾区平均57.2%、稲ワラ区平均54.6%とわずかに予乾区が大きい数値を示した。また、一価不飽和脂肪酸組成も予乾区が61.0%、稲ワラ区58.9%と予乾区が大きい数値を示した。脂肪融点は予乾区の平均が33.2℃、稲ワラ区のそれが36.5℃と予乾区が稲ワラ区に比較し低い値を示した。

オレイン酸含量、一価不飽和脂肪酸組成、脂肪融点について両区に差があるように考えられるが、両区の分析頭数が少ないため有意差検定はできなかった。

表16 枝肉成績

試験区分	試験牛 No	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	バラ厚 (cm)	皮下脂肪厚 (cm)	BNS NO.	BMS NO.	枝肉等級
予乾区	1	468.0	67	8.1	2.5	9	3	A-5
	2	469.0	47	8.2	4.5	5	4	B-4
	平均	468.5	57.0	8.2	3.5	7.0	3.5	
稲ワラ区	3	532.0	59	8.3	2.4	4	4	A-3
	4	533.5	66	8.0	2.4	7	3	A-4
	5	576.0	61	9.2	1.7	8	3	A-4
	平均	547.2	62.0	8.5	2.2	6.3	3.3	

表17 各試験牛の最長筋（ロース）の脂肪酸組成（%）及び最長筋脂肪融点（℃）

脂肪酸	予乾区			稲ワラ区			
	No. 1	No. 2	平均	No. 3	No. 4	No. 5	平均
C14:0 (ミリスチン酸)	1.9	2.3	2.1	2.5	2.4	2.8	2.5
C14:1 (ミristolレイン酸)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
C16:0 (パルミチン酸)	21.9	23.4	22.7	22.1	21.3	24.9	22.8
C16:1 (パルミトレイン酸)	3.7	3.8	3.8	4.9	4.4	3.5	4.3
C18:0 (ステアリン酸)	10.4	9.7	10.0	9.9	11.5	12.6	11.3
C18:1 (オレイン酸)	58.2	56.2	57.2	55.7	56.6	51.6	54.6
C18:2 (リノール酸)	3.1	3.7	3.4	3.9	3.0	3.8	3.6
C18:3 (リノレン酸)	0.8	0.9	0.8	1.0	0.8	0.8	0.9
n-6/n-3	4.1	4.4	4.2	3.9	4.0	4.7	4.2
総飽和	34.2	35.4	34.8	34.5	35.2	40.3	36.6
総不飽和	65.8	64.6	65.2	65.5	64.8	59.7	63.4
一価不飽和	61.9	60.0	61.0	60.6	61.0	55.1	58.9
多価不飽和	3.9	4.6	4.2	4.9	3.8	4.6	4.5
脂肪融点	32.8	33.5	33.2	35.6	34.6	39.4	36.5

文 献

- 酒出淳一，植村鉄矢，関屋万里生，水平忠昭.
2009. 黒毛和種の育成から肥育までの稲発酵粗飼料給与技術の確立（第1報）. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 23, 32-43.
- 西博巳，坂下邦仁，別府成，田原則雄. 2005. 肉用牛肥育における飼料イネホールクロップサイレージ給与が増体および肉質に及ぼす影響. 鹿児島県畜産試験場研究報告 39, 35-39.
- 福田孝彦，森本一隆，塩崎達也. 2006. 黒毛和種去勢肥育牛への稲ホールクロップサイレージ給与試験. 鳥取県畜産試験場研究報告 34, 19-24.

謝 辞

本研究は農林水産省委託プロジェクト「粗飼料多給による日本型家畜飼養技術の開発（えさプロ）」の委託研究によるものです。

黒毛和種肥育牛におけるビタミンC 給与効果の実証試験 (第1報)

関屋万里生・酒出淳一・西宮 弘・伊藤 隆

要 約

我々は、これまでに黒毛和種肥育牛へのビタミンC (VC) 剤給与と試験を行い、肥育中期 (14~19 ヶ月齢) でのVC剤給与が肉質改善に有効であると報告してきた。現在、この技術を生産現場へ速やかに普及するため、当场での基礎試験、フィールドでの実証試験を行いデータを蓄積している。

今回は、基礎試験 (試験1) として、VC剤給与による血漿中VC濃度の経時的变化を調査した。また実証試験1 (試験2) として、県内の肥育農家 5 軒の協力を得て、黒毛和種肥育牛 142 頭を対象に、VC剤給与による血漿中VC濃度の変化および枝肉成績への効果を調査した。

結果、①試験1において、VC剤給与に伴う血漿中VC濃度は、給与 6 時間後から値が上昇し、12 時間後まで高い値で推移した。②試験2において、試験牛の血漿中VC濃度は、VC剤給与区 (VC区) では給与前と同程度の値で推移し、無給与区 (対照区) では月齢経過に伴い値が低下した。③試験2において、各農家のVC区における血漿中VC濃度は、飼養形態によりその変動に特徴が見られた。④試験2において、産肉成績は、枝肉重量、バラの厚さ ($P < 0.05$) をはじめ、ほぼ全項目でVC区が対照区より優れていた。⑤試験2において、肉質成績は、VC区が対照区より脂肪交雑等級が高く ($P < 0.05$)、BMSNo.と肉の色沢等級も高い傾向だった。上物率では、VC区が82.0%、対照区が68.5%と大きな効果が認められた。これらの結果より、VC剤給与の有効性を再確認できた。

緒 言

ビタミンC (VC) は、牛の脂肪前駆細胞への分化を促進することが培養細胞レベルで実証され (鳥居ら 1995)、VCを適切に調節することで脂肪交雑を含めた体脂肪の発達をコントロールできる可能性が示唆されている。当场では、これまでに黒毛和種肥育牛におけるVC剤給与時期の検討 (関屋ら 2006)、稲ホールクロップサイレージを給与した肥育牛へのVC剤給与効果の検討 (関屋 2007)、および肥育中期におけるVC剤給与量の検討 (関屋ら 2009) を行っており、肥育中期 (14~19 ヶ月齢) に血漿中ビタミンA (VA) 濃度を低値にコントロールしたうえでVC剤を1日 40 g 給与すると、肉質改善効果が期待でき、高品質な牛肉を安定して生産可能であるという成果を報告している。しかしながら、これらは、肥育環境が比較的整ったステーションレベルでの成果にとど

まることから、この技術を広く普及し、定着を図るためには、さらなる基礎的試験と、多頭数による実証試験を行い、実際の肥育農家において想定される様々な条件においてもVC剤給与の効果が得られるかどうかの検討を行う必要がある。そこで我々は、基礎試験として、VC剤給与による血漿中VC濃度の経時的变化の調査、ならびに、実証試験として、県内の肥育農家 5 軒の協力を得て、VC剤給与による血漿中VC濃度の変化および枝肉成績への効果を調査した。

材料および方法

試験1: VC剤給与による血漿中VC濃度の経時的变化の調査

実証試験に使用するVC剤を肥育牛へ給与したときの血漿中VC濃度の経時的变化を調査した。

1 供試牛

当場で繋用している黒毛和種肥育雌牛（経産）3頭を供試した。

2 供試VC剤と給与方法

VC剤は、植物性油脂皮膜L-アスコルビン酸（ビタミンC30%パイパス：ワイピーテック社）を使用した。プラスチックボトル内で、水250ccにVC剤40g混ぜた後、供試牛へ強制的に経口投与した。

3 調査項目

1) 血漿中VC濃度の経時的变化

採血は、VC剤給与時を基点とした給与12時間後までの1時間毎および24時間後の計14回行った。調査前日に供試牛の頸静脈内にカテーテルを装着しておき、採取時はシリンジで血液を10ml吸引し、直ちにヘパリン加採血管に移したのち氷冷した。血液を遠心分離（3,000 rpm, 30 min）後、血漿を測定に供した。血漿はLin et al. (2003) の手法に準じ、抗酸化処理を行い、高速液体クロマトグラフ（Waters社）にカラム（ODS-120 T：TOSOH）を装着し、VC濃度を測定した。

試験2：実証試験1

これまでに報告してきたVC剤の給与効果が、実際の生産現場においても得られるかどうかを調査するため、県内の農家の協力を得て、実証試験を行った。

1 実施農家

黒毛和種飼養農家5軒を選定し、試験を行った。農家の概要を表1に示す。すべて一貫経営形態であるが、肥育形態は一頭ずつの繋ぎから1群6頭の群飼まで様々である。給与飼料の種類や給与量をはじめ、と畜出荷までのすべての飼養管理は、各農家での慣行法とした。

2 試験期間

肥育素牛導入やと畜出荷の都合上、各農家で数ヵ月のずれはあるが、概ね平成20年9月から平成21年7月までの期間で行った。

3 供試牛と試験区分

黒毛和種肥育牛142頭を対象に行った。生後14ヵ月齢から19ヵ月齢までの6ヵ月間に、VC剤を1頭につき1日40gを給与する区（VC区）およびVC剤を給与しない区（対照区）の2区を設定し、農家毎にそれぞれの区を配置した（VC区50頭、対照区92頭）。

4 VC剤

VC剤は試験1と同じものを使用し、濃厚飼料給与時に飼料の上にふりかける方法で給与した。

5 調査項目

1) 血漿中VC濃度

供試牛のうち農家から了承を得た42頭（VC区34頭、対照区8頭）について、14, 17, 20および23ヵ月齢時の計4点で採血を行い、血漿中VC濃度を測定した。血液はヘパリン加真空採血管を用いて頸静脈より採取した。VC濃度は試験1と同じ方法で測定した。

2) 枝肉成績

供試牛全142頭について日本食肉格付協会の格付員による格付評価を実施し、同協会が交付する枝肉格付明細書に記載されている数値を枝肉成績として用いた。

6 統計処理

統計プログラムRを用いて、一元配置分散分析で差の検定を行った後、Tukeyの方法で区間の検定を行った。

結果および考察

試験1：VC剤給与による血漿中VC濃度の経時的变化の調査

血漿中VC濃度の測定結果を図1に示す。我々はこれまでの試験結果から、血漿中VC濃度は個体差が大きく、単純な測定値の比較はできないと判断している。ここでは各測定時の濃度をVC剤給与前の値を1としたときの比（対給与前比）で示した。VC剤給与に伴う血漿中VC濃度は、給与

表1 実証試験実施農家の概要

農家名	地域	経営形態	肥育形態	個別給餌	試験期間	供試頭数(頭)	
						VC区	対照区
農家A	県央	一貫	繋ぎ	可(繋ぎ)	H20.9.3~H21.7.1	5	4
農家B	県央	一貫	群飼(5~6頭)	可(スタンション)	H20.8.5~H21.6.17	11	6
農家C	県南	一貫	群飼(2頭)	不可	H20.9.2~H21.6.30	7	19
農家D	県南	一貫	群飼(5頭)	不可	H20.6.17~H21.6.16	15	30
農家E	県央	一貫	群飼(6頭)	不可	H20.6.24~H21.5.12	12	33

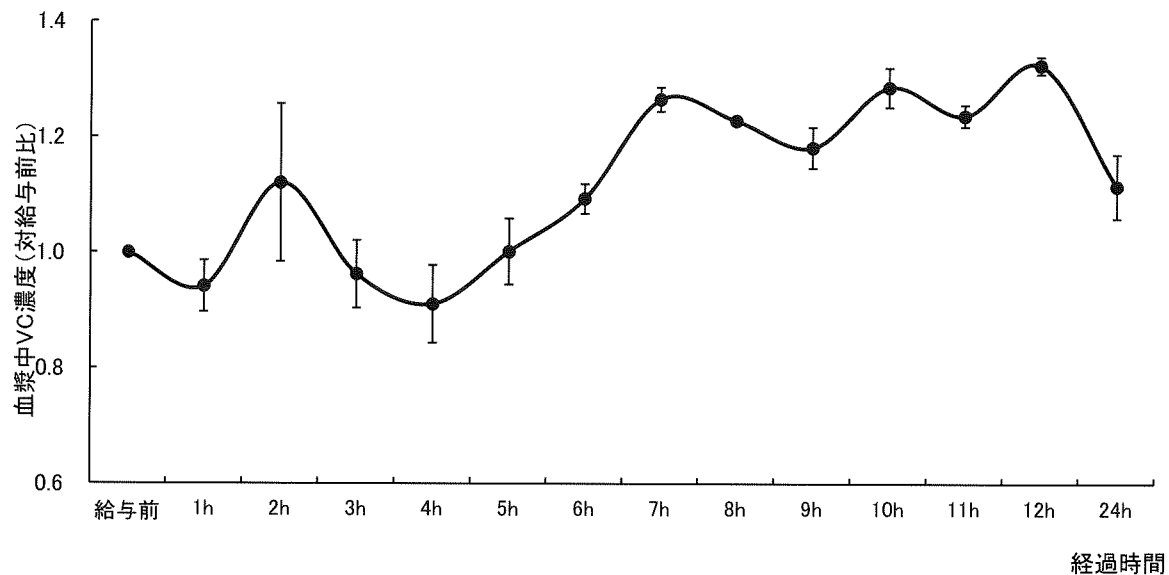


図1 VC剤給与に伴う血漿中のVC濃度の経時的変化

対給与前比: 給与前の濃度を1としたときの比
 平均値±標準誤差
 (n=3)

6時間後から値が徐々に上昇, 7時間から12時間後まで対給与前比1.1~1.3と高い値を維持し, 24時間後には給与前と同程度の濃度に戻っていた。

今回の経時的変化の調査から, 血漿中のVC濃度を高く保つためには, これまで我々が行ってきた1日1回のVC剤給与ではなく, 約6時間間隔

の給与が望ましいことがわかった。しかしながら, 生産現場において, この間隔でVC剤を給与することは非常に困難である。そのため, 濃厚飼料を1日数回に分けて給与している場合, VC剤も1日の給与量(40g)を等分して給与するという方法が, 現実的に普及しうる最良の方法であると考えられる。

試験2：実証試験1

1 血漿中VC濃度

まず、全体的な血漿中VC濃度の動向を捉えるため、全農家をひとまとめにしたVC区 34 頭および対照区 8 頭の血漿中VC濃度を比較した。結果は図2に示した。試験1と同様、各月齢の濃度は14ヵ月齢時の濃度を1としたときの比（対14ヵ月齢比）で示した。VC区では、VC剤給与中の20ヵ月齢時までわずかに上昇、給与終了後の23ヵ月齢時に低下していた。それに対し、対照区では月齢が経過するほど低下しており、肥育の進行に伴い血漿中VC濃度が低下する（甫立 2006）という報告と同様な結果であった。そして、23ヵ月齢時では両区間に明らかな差が見られた（ $P < 0.01$ ）。このことより、これまでのステーション試験と同様に、一般農家の飼養管理下にある肥育牛においても、VC剤給与による肥育中の血中VC濃度への効果が確認できた。

つぎに、各農家での血漿中VC濃度の動向を捉えるため、それぞれの農家内でのVC区の血漿中VC濃度を比較した。結果は図3に示した。ここでも、各月齢の濃度は対14ヵ月齢比で示した。

農家Aと農家BではVC剤添加期間に濃度が上昇し、特に農家Bでは20ヵ月齢時で14ヵ月齢時の1.5倍にまで上昇していた。また農家Cと農家Dでは、ほぼ横ばいで推移し、14ヵ月齢時と同程度の濃度を維持していた。しかし、農家Eでは月齢の経過に伴い濃度が低下し、20ヵ月齢時で14ヵ月齢時のおよそ半分にまで落ち込んでいた。これらの違いを表1に記載した各農家の飼養形態の違いで見ると、濃度の上昇が認められた農家Aと農家Bは繋ぎあるいは、群飼であるがスタンション設備があるため個別給餌が可能な形態であり、その他の農家は群飼かつ個別給餌ができない形態であった。VC剤の給与は、濃厚飼料給与時に飼料の上にふりかけるという方法で行ってもらったが、個別給餌設備が無い場合は、採食中も他の飼槽への移動が自由であることなどから、群内の全頭にVC剤のふりかかった飼料を均等に給餌させるのは難しいことが原因のひとつと考えられる。しかしながら、実際に個別給餌可能な農家はごくわずかであり、本技術を広く普及するためには、今後この問題を解決していく必要性が残されている。

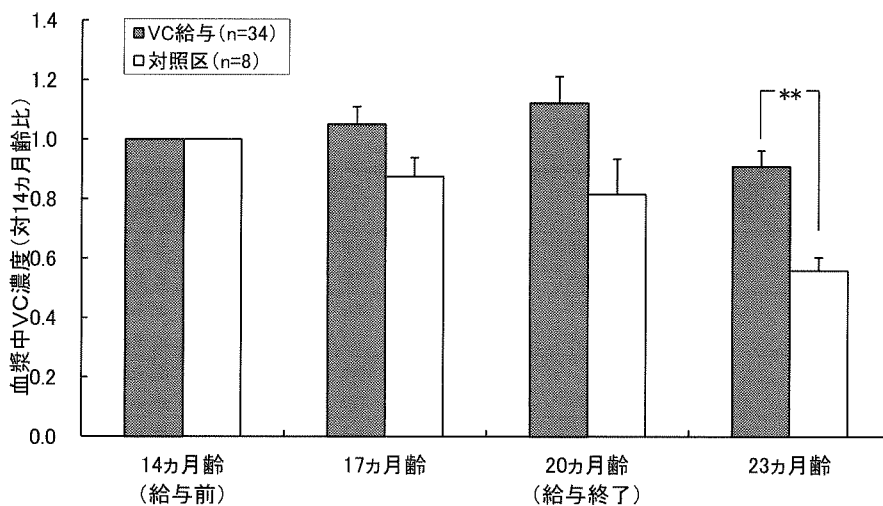


図2 VC区および対照区における血漿中のVC濃度（対14ヵ月齢比）

対14ヵ月齢比：14ヵ月齢時（給与前）の濃度を1としたときの比
 平均値±標準誤差
 **: 処理間で有意 ($P < 0.01$)

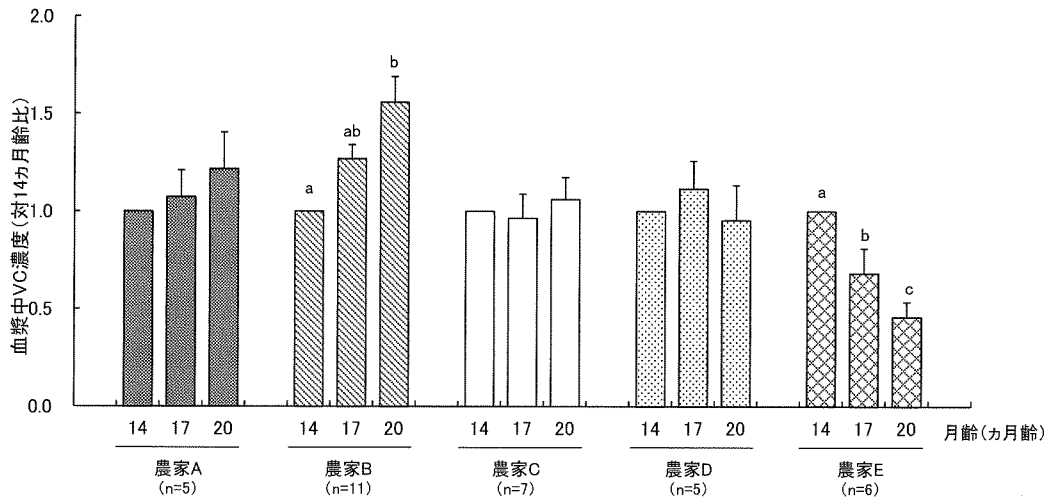


図3 各実証農家のVC区における血漿中のVC濃度 (対14ヵ月齢比)

対14ヵ月齢比：14ヵ月齢時（給与前）の濃度を1としたときの比
 平均値±標準誤差
 abc：各農家の異符号間で有意（ $P < 0.01$ ）

2 枝肉成績

まず、枝肉成績のうち、肉量に関する成績を表2に示した。枝肉重量とバラの厚さについては、すべての農家でVC区のほうが大きかったことを反映し、全体として、枝肉重量でVC区が489.3 kg、対照区が471.2 kg、バラの厚さでVC区が8.4 cm、対照区が8.1 cmと区間に差が見られた（ $P < 0.05$ ）。ロース芯面積、皮下脂肪の厚さ、歩留基準値については、区間に差が見られた農家もあるものの、全体として差は見られなかった。

つぎに、枝肉成績のうち、肉質に関する成績を表3に示した。BMSNo.、脂肪交雑等級および肉の色沢等級については、すべての農家でVC区のほうが高かったことを反映し、全体として、BMSNo.でVC区が7.1、対照区が6.4、肉の色沢等級でVC区が4.3、対照区が4.1とVC区が高い傾向が見られた。肉の締まりおよびきめ等級、脂肪の色沢と質の等級については区間に差は見られなかった。また肉質等級が4以上である確率を表す上物率は、全体として、VC区が82.0%、対照区

表2 実証試験における枝肉成績1

農家名	区分	頭数 (頭)	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	バラの厚さ (cm)	皮下脂肪の厚さ (cm)	歩留基準値
農家A (n=9)	VC区	5	460.3 ± 12.6 ^a	59.6 ± 5.0 ^a	7.8 ± 0.5	3.2 ± 0.4	73.7 ± 0.6
	対照区	4	389.4 ± 26.5 ^b	48.0 ± 1.3 ^b	7.0 ± 0.6	2.6 ± 0.3	73.1 ± 0.4
農家B (n=17)	VC区	11	519.8 ± 11.7 ^a	58.9 ± 2.1	8.5 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.2	74.1 ± 0.4
	対照区	6	451.7 ± 25.8 ^b	60.3 ± 5.7	7.7 ± 0.4 ^b	2.8 ± 0.3	74.3 ± 0.7
農家C (n=26)	VC区	7	487.7 ± 5.7	58.0 ± 2.8 ^a	8.5 ± 0.3 ^a	2.3 ± 0.2 ^a	74.5 ± 0.5 ^a
	対照区	19	478.2 ± 17.5	55.6 ± 2.3 ^b	8.0 ± 0.2 ^b	2.5 ± 0.1 ^b	73.8 ± 0.4 ^b
農家D (n=45)	VC区	15	473.4 ± 8.0	56.9 ± 2.2	8.1 ± 0.2	2.1 ± 0.1 ^a	74.5 ± 0.4
	対照区	30	473.3 ± 9.6	55.3 ± 1.9	7.9 ± 0.2	2.4 ± 0.1 ^b	73.8 ± 0.3
農家E (n=45)	VC区	12	492.8 ± 14.2	53.8 ± 2.0	8.6 ± 0.3	2.0 ± 0.1	74.2 ± 0.3
	対照区	33	478.7 ± 6.6	56.1 ± 1.4	8.4 ± 0.2	2.3 ± 0.1	74.3 ± 0.2
全体 (n=142)	VC区	50	489.3 ± 5.8 ^a	58.3 ± 1.3	8.4 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.1	74.3 ± 0.2
	対照区	92	471.2 ± 5.9 ^b	55.7 ± 1.0	8.1 ± 0.1 ^b	2.4 ± 0.1	74.0 ± 0.2

平均値±標準誤差

ab： $P < 0.05$ 、a' b'： $P < 0.1$

表3 実証試験における枝肉成績2

農家名	区分	頭数 (頭)	BMSNo.	脂肪交雑 等級	肉の色沢 等級	肉の締まり及び きめ等級	脂肪の色沢と質 等級	上物率 (%)
農家A (n=9)	VC区	5	5.8 ± 0.8	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.4	3.8 ± 0.4	4.8 ± 0.2	60.0
	対照区	4	5.3 ± 0.9	3.3 ± 0.8	3.8 ± 0.5	3.3 ± 0.8	5.0 ± 0.0	50.0
農家B (n=17)	VC区	11	7.2 ± 0.4	4.5 ± 0.2 ^a	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.2	5.0 ± 0.0	100.0
	対照区	6	6.7 ± 1.3	3.8 ± 0.5 ^b	4.0 ± 0.4	3.8 ± 0.5	4.8 ± 0.2	66.7
農家C (n=26)	VC区	7	6.8 ± 0.6	4.4 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.4 ± 0.2	5.0 ± 0.0	85.7
	対照区	19	5.9 ± 0.4	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.7 ± 0.2	4.9 ± 0.1	52.6
農家D (n=45)	VC区	15	7.3 ± 0.5	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.9 ± 0.1	86.7
	対照区	30	6.9 ± 0.4	4.1 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.9 ± 0.1	76.7
農家E (n=45)	VC区	12	7.3 ± 0.8	4.3 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.9 ± 0.1	66.7
	対照区	33	6.3 ± 0.4	3.9 ± 0.2	4.1 ± 0.1	4.0 ± 0.2	4.9 ± 0.1	72.7
全体 (n=142)	VC区	50	7.1 ± 0.3 ^a	4.3 ± 0.1 ^a	4.3 ± 0.1 ^a	4.2 ± 0.1	4.9 ± 0.0	82.0
	対照区	92	6.4 ± 0.2 ^b	4.0 ± 0.1 ^b	4.1 ± 0.1 ^b	3.9 ± 0.1	4.9 ± 0.0	68.5

平均値±標準誤差

ab; P<0.05, a' b'; P<0.1

が68.5%とVC区が対照区を大きく上回っていた。このことは、本技術の最重要目的として挙げている、高品質な牛肉を“安定的”に生産することに大きく寄与するものと考えられる。一方、個々の農家について見てみると、農家Eにおいてのみ上物率の向上が見られなかった。農家Eは、VC剤を給与していたにもかかわらず、血漿中VC濃度が減少していた農家である。このことは、肥育中の血漿中VC濃度の維持が肉質の安定に関与する可能性があることを示唆するものであり、VC剤給与の効果が期待できるものと考えられる。しかし、それと同時に、先にも述べた問題点である、群飼下で各個体に確実にVC剤を給与するということが、この技術のキーポイントであることを示唆していると考えられる。

本研究における実証試験は現在も実施中であり、今後は、さらにデータを追加することで、より多くの知見と考察を加え、報告を行っていく予定である。

文 献

Haiying L, Padilla L, Yoshimatsu K, Matsui T, Kitagawa M and Yano H. 2003. Determination

of plasma vitamin C concentration in fattening cattle. *Animal Science Journal* 74, 7-10.
 甫立京子. 2006. 牛のビタミンCと肥育. シンポジウム「高級牛肉の生産に関する研究—ビタミンCと肉質の関係Ⅱ」. 1-8.
 関屋万里生, 加藤真姫子, 水平忠昭. 2006. 黒毛和種における地域資源や未利用資源の利用とビタミンコントロールによる肥育方法に関する試験(Ⅱ). 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告21, 16-21.
 関屋万里生. 2008. 黒毛和種における地域資源や未利用資源の利用とビタミンコントロールによる肥育方法に関する試験(Ⅲ). 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 22, 14-19.
 関屋万里生, 加藤真姫子, 酒出淳一. 2009. 黒毛和種における地域資源や未利用資源の利用とビタミンコントロールによる肥育方法に関する試験(Ⅳ). 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 23, 23-31.
 鳥居伸一郎, 松田恭子, 大山路世, 松井徹, 矢野秀雄. 1995. 黒毛和種から単離した脂肪前駆細胞の脂肪細胞への分化におけるビタミンおよび脂肪酸の影響. *肉用牛研究会報* 60, 27-28.

ウシ過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの経膣投与効果と 定時授精に向けたプロスタグランジンF2 α 類縁体製剤および 性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁体製剤の応用

西宮 弘・高橋利清・伊藤 隆

要 約

牛の過剰排卵処理の計画的な実施および高品質胚の効率的な生産のため、牛用膣挿入プロゲステロン・安息香酸エストラジオール配合剤 (PRID)の応用を検討した。PRID挿入後の過剰排卵処理 (SOV) 開始時期を把握するため、挿入後の卵胞波の発現を調査した (予備試験)。挿入4日目から新たな卵胞波が発現したことから、以下の試験を実施した。

PRIDに装着されている安息香酸エストラジオール (EB) カプセルによるEB経膣投与効果を検討するため、EBカプセルの有無による採胚成績の比較を行った (試験1)。EBカプセル装着のPRID処理において黄体数、採卵総数および正常胚数で高い数値であったが、有意な差は認められなかった。

次に、PRIDを用いたSOV処理後の排卵を集中させる目的で性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁体製剤 (GnRH) の応用を試みた (試験2)。PRID除去31 hr後にGnRHを投与することで除去後55~72 hrにかけての大卵胞減少率 (排卵) が有意に高まり ($P < 0.01$)、GnRH投与の排卵集中効果が確認された。

また、発情開始の同期化のためプロスタグランジンF2 α 類縁体製剤 (PG) の投与時期の検討を行った (試験3)。SOV開始日の夕方の投与とPRID除去と同時投与を比較したが、発情開始時期、採胚成績に差はみられず、PG投与時期の調節によって発情同期化させることはできなかった。

緒 言

牛の過剰排卵処理 (SOV) の計画的な実施および高品質胚の効率的な生産のため、より効率的なSOV方法が望まれている。採胚スケジュールの効率化を目的に膣内留置型黄体ホルモン製剤 (CIDR) を使用し、新たな卵胞波出現を誘起させるために安息香酸エストラジオール (EB) の筋肉内投与を併用したSOVが報告され、EBの投与量および投与時期が検討されている (Cacciaら1998) (早坂ら2004)。また、EBの投与方法として筋肉内投与の他に、経皮的に投与を行って、CIDRとの併用によるSOVで採胚成績が向上したとする報告がある (坂上ら2008)。

本試験で使用した牛用膣挿入黄体ホルモン・EB配合剤 (PRID: progesterone releasing intravaginal device) は黄体ホルモン製剤に溶解性カプ

セル内に封入されたEBが添付されたもので、製剤を膣に挿入することで継続的な黄体ホルモン (P) 投与ならびに一過性のEB投与が同時に出来ることから、卵胞波制御と効率的な採胚スケジュールが期待される。

本試験では、PRIDを用いたSOVにおけるEBの経膣投与効果の検討 (試験1)、排卵時期を集中させるための性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁体製剤 (GnRH) 投与効果の検討 (試験2)、さらに発情開始時期の同期化を期待したプロスタグランジンF2 α 類縁体製剤 (PG) の投与時期の検討 (試験3) を実施し、採胚成績への効果を調査した。

材料および方法

予備試験: PRID挿入後のSOV開始時期の検討

黒毛和種経産牛1頭を用い、PRID (Pとして1.55

g, EBとして10 mg含有, あすか製薬, 東京) を膣内に挿入し, 挿入日を0日として9日目の朝9時にPRIDを除去すると共にPG (エストラメイト, ナガセ医薬品株式会社) をクロプロステノールとして750 μ g投与し, PRID挿入日から排卵までの卵胞数の推移を調査した。卵胞数の計数には超音波診断装置 (エコパルII EUB-405B, 指先探触子 EUP-F531: 中心周波数 6.5 MHz, 日立メディコ社製) を用いて1日1回午前9時に調査し, 卵胞の直径により大卵胞 (10 mm以上), 中卵胞 (5 mm以上~10 mm未満) および小卵胞 (5 mm未満) に区分した。

試験1: SOVにおけるEBの経膣投与効果の検討

- 1) 試験期間: 平成19年5月~平成20年1月
- 2) 供試牛: 黒毛和種4頭 (各々4回採胚, 延べ16頭)
- 3) SOVスケジュール: 発情日をさけてPRIDを膣内に挿入し, 挿入日を0日として4日目か

ら卵胞刺激ホルモン製剤 (FSH, アントリン, 共立製薬, 東京) 20 AUの漸減投与 (3日間朝, 夕の2回ずつ: 5/5, 3/3, 2/3 AU) を行った。6日目の朝9時にPRIDを除去すると共に, PGを750 μ g投与し, 発情確認後2回 (8日目の夕方4時, 9日目の朝9時) 人工授精を行い, 15日目の午前中に定法 (家畜人工授精講習会テキスト-家畜受精卵移植編-1997) により採胚および胚処理を行った。採胚後は, 子宮内へのイソジン注入およびPGを750 μ g投与した。

試験区はEBカプセルが装着された状態のPRIDを使用し, 対照区ではEBカプセルを除去したPRIDを使用した。

- 4) 採胚スケジュール: 採胚は63日間隔で2回実施し, これを1クールとし1頭当たり年間2クール計4回の採胚を実施した。1クール目と2クール目の間隔は63日以上任意とし, 暑熱時を避けて採胚を行った。1回目と4回目に

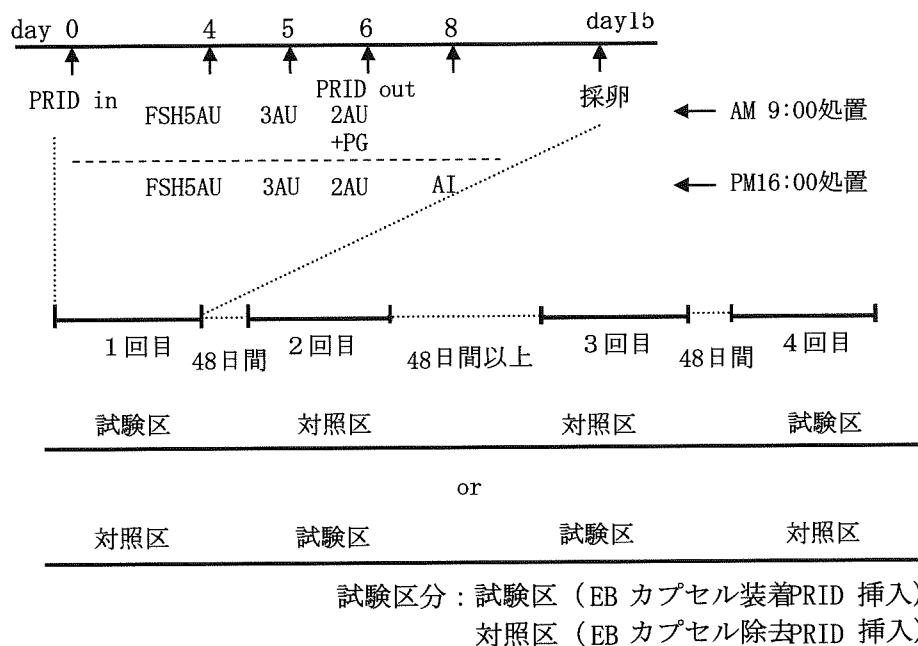


図1 過剰排卵処理スケジュール (試験1)

試験区, 2回目と3回目は対照区とし, 供試牛の半数は両区を反転して行った(図1)。

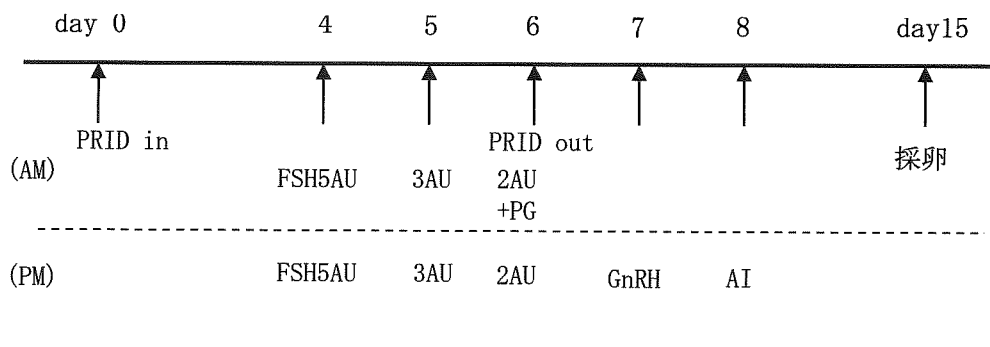
- 5) 調査項目: 採胚成績(黄体数, 遺残卵胞数, 採卵総数, 正常胚数, 変性卵数, 未受精卵数)および正常胚におけるランク別採胚成績について調査した。なお, 正常胚のランクは, Excellent (A), Good (A'), Fair (B) および Poor (C) に区分した(家畜人工授精講習会テキスト—家畜受精卵移植編—1997)。また, 卵胞数の計数には超音波診断装置を用い, PRID挿入後0, 1, 4, 8, 15日目の朝9時に調査し, 卵胞は大卵胞(10 mm以上), 中卵胞(5 mm以上~10 mm未満)および小卵胞(5 mm未満)に区分して各々計数した。

試験2: SOVにおけるGnRH投与の検討

- 1) 試験期間: 平成20年5月~平成21年1月
- 2) 供試牛: 黒毛和種5頭(各々4回採胚, 延べ20頭)
- 3) SOVスケジュール: 試験1と同様にPRID挿

入4日目からFSH20AUの漸減投与を開始した。試験区では7日目の夕方4時にGnRH製剤(イトレリン, あすか製薬, 東京)を酢酸ブセレリンとして10 μ gを投与し, 対照区は無処置とした。人工授精は試験区で8日目の夕方4時の1回, 対照区は発情発現に合わせて1回実施とし, 15日目に定法により採胚を行った。(図2)

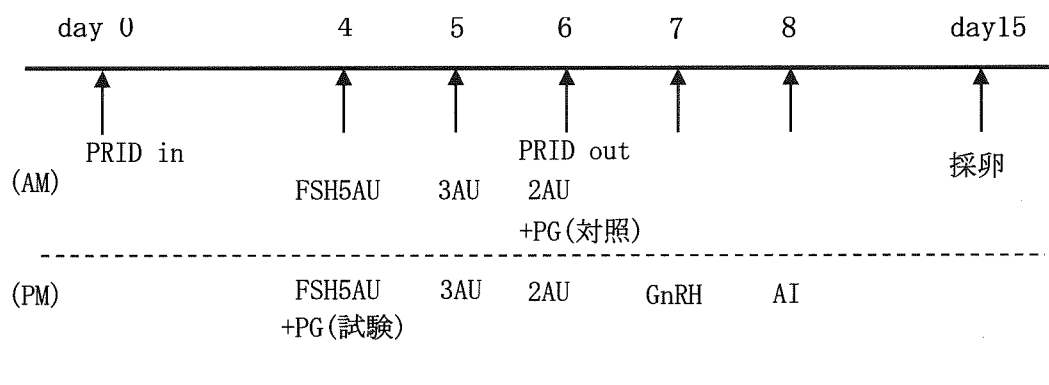
- 4) 採胚スケジュール: 試験1と同様に年間2クール計4回の採胚を実施し, 試験区と対照区の反転試験とした。
- 5) 調査項目: 採胚成績(黄体数, 遺残卵胞数, 採卵総数, 正常胚数, 変性卵数, 未受精卵数)および正常胚におけるランク別採胚成績について調査した。また, PRID除去後の卵胞数(PRID除去後48, 55, 72時間)を試験1と同様に超音波診断装置を用いて大, 中, 小卵胞に区分して計数し, 発情開始時間および持続時間を調査した。



※薬剤投与時間: AM9:00、PM16:00

試験区分: 試験区 (GnRH投与)
対照区 (GnRH投与無し)

図2 過剰排卵処理スケジュール(試験2)



※ 薬剤投与時間：AM9:00、PM16:00

試験区分：試験区（day4午後PG投与）
対照区（day6午前PG投与）

図3 過剰排卵処理スケジュール（試験3）

試験3：SOVにおけるPG投与時期の検討

- 1) 供試牛：黒毛和種6頭（各々4回採胚，延べ24頭）。
- 2) 試験期間：平成21年5月～平成22年1月に実施した。
- 3) SOVスケジュール：試験1と同様，PRID挿入4日目からFSH 20 AU漸減投与により行った。試験区はPRID挿入4日目の夕方4時にPGを投与し，対照区は6日目の朝9時に投与した。両区ともPRIDを6日目の朝9時に除去し，7日目夕方4時にGnRHを投与，8日目夕方4時にAIして，15日目に定法に従い採胚を実施した（図3）。
- 4) 採胚スケジュール：試験1と同様に年間2クール計4回とし，試験区と対照区の反転試験を行った。
- 5) 調査項目：採胚成績（黄体数，遺残卵胞数，採卵総数，正常胚数，変性卵数，未受精卵数）および正常胚におけるランク別採胚成績につい

て調査した。また，PRID除去後の卵胞数（PRID除去後48，55，72時間）を試験1と同様に計数し，発情開始時間および持続時間について比較した。

なお，統計処理は，試験1，2，3何れもStatviewプログラムによるANOVAおよびFisher's PLSD（ANOVA）により行った。

結 果

予備試験：PRID挿入後のSOV開始時期の検討

PRID挿入時に存在した1個の大卵胞は，PRID挿入日を0日目として3日目から径が縮小し始め，5日目には消退した。中卵胞数は3日目から増加して，7日目以降減少した。小卵胞数はPRID挿入後増加したが3日目に一時減少し，4日目に再び増加した後，6日目をピークに減少した。9日目のPRID除去後，10日目に再び大卵胞が1個出現して11～12日目に発情を示し，13日目に大卵胞の排卵を確認した（図4）。

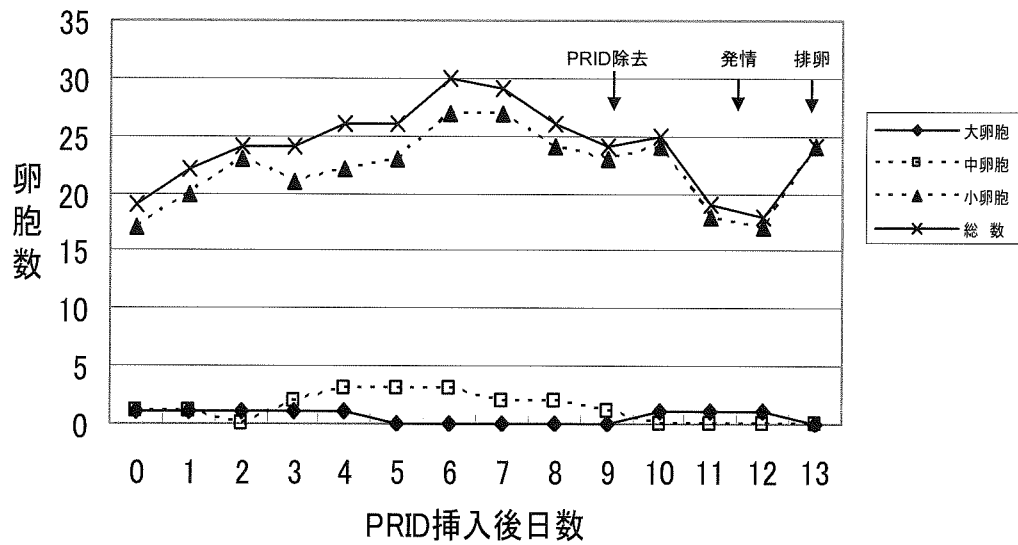


図4 PRID挿入後の卵胞数の推移 (予備試験)

表1 採胚成績 (試験1)

	黄体数	遺残卵胞数	採卵総数	正常胚数	変性卵数	未受精卵数
試験区(n=8)	9.9±3.3	2.3±0.6	9.4±3.5	9.0±3.4	0.4±0.3	0.0±0.0
対照区(n=8)	6.1±1.4	2.4±0.7	5.5±1.3	4.6±1.1	0.6±0.5	0.3±0.2

mean±SE

表2 胚のランク別採胚成績 (試験1)

	Aランク	A'ランク	Bランク	Cランク	正常胚率
試験区(n=8)	0.3±0.2	4.8±2.1	2.9±1.2	1.1±0.4	72.0±15.8%
対照区(n=8)	0.8±0.6	2.1±0.7	1.0±0.3	0.8±0.5	75.7±12.3%

mean±SE

正常胚率: 正常胚数/採卵総数 × 100

試験1: SOVにおけるEBの経膈投与効果の検討

採胚成績をみると (表1) 区間に有意差はみられなかったものの, EBカプセルを装着したPRIDを応用した試験区の黄体数, 採卵総数, 正常胚数がEBカプセルを取り去った対照区のそれを上まわった。また胚の品質においても (表2) 試験区のA'ランクおよびBランクが対照区を上まわった。しかし, 各項目において有意差は認められなかった。

卵胞数の推移では, PRID挿入後の卵胞の動態をみると (表3), 両区とも同じ傾向を示し, 中および小卵胞数がSOV開始日のPRID挿入後4日目まで増加し, PRID挿入後8日目に大および中卵胞数が著しく増加する動きをみせた。ただし, 挿入8日後の中卵胞数において試験区9.8±1.1, 対照区5.1±1.2 個とEB装着のPRID処理区が有意に多くなった ($P < 0.05$)。

表3 PRID挿入後の卵胞数の推移 (試験1)

PRID挿入後		0日目	1日目	4日目	8日目	15日目
大卵胞	試験区(n=8)	0.5±0.2	0.6±0.2	0.5±0.2	3.6±1.1	1.9±0.6
	対照区(n=8)	0.5±0.3	0.4±0.2	0.3±0.2	3.4±1.1	2.3±0.7
中卵胞	試験区(n=8)	1.3±0.3	1.8±0.4	2.1±0.3	9.8±1.1 ^{a)}	0.4±0.4
	対照区(n=8)	2.1±0.5	2.8±0.6	3.0±0.4	5.1±1.2 ^{b)}	0.1±0.1
小卵胞	試験区(n=8)	13.3±2.3	14.0±2.4	14.3±2.2	2.4±1.0	3.9±1.4
	対照区(n=8)	11.4±1.3	12.5±1.3	13.1±1.5	3.0±1.1	3.5±1.5

mean±SE、a)-b)間に有意差有り(P<0.05)

PRID挿入日: day0、SOV開始: day4、AI: day8、採卵: day15

表4 採胚成績 (試験2)

	黄体数	遺残卵胞数	採卵総数	正常胚数	変性卵数	未受精卵数
試験区(n=10)	6.7±1.4	2.9±0.6	5.3±1.4	4.3±1.2	0.8±0.5	0.2±0.1
対照区(n=10)	5.9±1.8	2.3±0.9	4.5±1.6	3.5±1.4	0.7±0.4	0.3±0.2

mean±SE

表5 胚のランク別採胚成績 (試験2)

	Aランク	A'ランク	Bランク	Cランク
試験区(n=10)	0.5±0.2	2.2±0.7	1.1±0.5	0.5±0.2
対照区(n=10)	0.6±0.3	1.6±0.5	1.2±0.7	0.1±0.1

mean±SE

試験2: SOVにおけるGnRH投与の検討

採胚成績(平均値±標準誤差)は、試験区、対照区それぞれ黄体数6.7±1.4、5.9±1.8個、遺残卵胞数2.9±0.6、2.3±0.9個、採卵総数5.3±1.4、4.5±1.6個、正常胚数4.3±1.2、3.5±1.4個、変性卵数0.8±0.5、0.7±0.4個、未受精卵数0.2±0.1、0.3±0.2個で各項目で有意差は認められなかった(表4)。また、採取された胚の品質(平均値±標準誤差)は、試験区、対照区それぞれAランク0.5±0.2、0.6±0.3個、A'ランク2.2±0.7、1.6±0.5個、Bランク1.1±0.5、1.2±0.7個、Cランク0.5±0.2、0.1±0.1個で、各項目で有意な差は認められなかった(表5)。

卵胞数は、両区ともPG投与後48時間から72時間にかけて同様の推移を示した(表6)。発情予定日の朝(PRID除去後48時間)から夕方(PRID

除去後55時間)にかけては各区の卵胞数に大きな変動は認められなかったが、PRID除去後55～72時間にかけて大卵胞数が減少し、概ねこの時間帯に排卵したことが推察された。

大卵胞数の排卵を示す減少数(平均値±標準誤差)は試験区、対照区各々ので2.9±0.4個、2.7±1.0個で有意な差は認められなかったが、大卵胞数の減少率をみると、試験区98.0±2.0%、対照区51.3±15.3%とGnRH投与により有意に高い減少率(P<0.01)を示した(表7)。なお、PRID除去後の平均発情開始時間は、試験区、対照区各々32.9±1.6時間、32.3±1.5時間で有意な差は認められなかった。また、PRID除去後の発情開始時間を個別にみると試験区で19時間の中、対照区で18時間の中が見られた。

表6 PRID除去後の卵胞数の推移 (試験2)

PRID除去後		48hr	55hr	72hr	採胚時
大卵胞	試験区 (n=10)	2.5±0.4	3.0±0.4	0.1±0.1 ^{a)}	2.9±0.6
	対照区 (n=10)	2.4±0.6	3.4±1.0	0.8±0.2 ^{b)}	2.3±0.9
中卵胞	試験区 (n=10)	9.5±2.7	10.1±2.6	7.7±1.5	3.6±0.8
	対照区 (n=10)	13.1±5.0	13.1±4.9	9.0±2.9	3.0±0.7
小卵胞	試験区 (n=10)	20.9±3.8	22.6±3.4	23.4±2.8	20.1±3.2
	対照区 (n=10)	19.7±3.8	20.3±3.0	24.3±4.3	22.4±3.0

mean±SE、a)-b)間に有意差有り(P<0.05)

※PRID除去31時間後にGnRH投与

表7 PRID除去後55~72時間にかけての大卵胞の減少数と減少率 (試験2)

	大卵胞減少数 (55~72hr)	大卵胞減少率 (55~72hr)
試験区 (n=10)	2.9±0.4	98.0±2.0% ^{a)}
対照区 (n=10)	2.7±1.0	51.3±15.3% ^{b)}

mean±SE、異符号間に有意差有り(P<0.05)

大卵胞減少数 (排卵数): 55hr大卵胞数 - 72hr大卵胞数

大卵胞数減少率: (55hr大卵胞数 - 72hr大卵胞数) / 55hr大卵胞数

表8 採胚成績 (試験3)

	黄体数	遺残卵胞数	採卵総数	正常胚数	変性卵数	未受精卵数
試験区 (n=12)	14.6±3.4	4.4±1.1	12.8±3.1	10.7±3.1	1.4±0.4	0.7±0.4
対照区 (n=12)	12.7±2.4	4.5±1.2	9.3±2.0	7.8±1.8	0.8±0.4	0.8±0.6

mean±SE

試験3: SOVにおけるPG投与時期の検討

採胚成績 (平均値±標準誤差) は、試験区 (n=12)、対照区 (n=12) 各々で黄体数は14.6±3.4, 12.7±2.4 個, 遺残卵胞数4.4±1.1, 4.5±1.2 個, 採卵総数12.8±3.1, 9.3±2.0 個, 正常胚数は10.7±3.1, 7.8±1.8 個, 変性卵数1.4±0.4, 0.8±0.4 個, 未受精卵数0.7±0.4, 0.8±0.6 個で各項目で有意差は認められなかった (表8)。

採取された胚の品質 (平均値±標準誤差) は、試験区 (n=12)、対照区 (n=12) 各々, Aランク2.4±0.9, 1.6±0.6 個, A'ランク4.9±1.6, 3.3±0.9 個, Bランク2.5±0.6, 2.7±0.6 個, Cランク0.8±0.3, 0.3±0.2 個で各項目で有意な差は認められなかつ

た (表9)。

卵胞数の推移は、両区とも同等の推移を示し、PRID除去後 55~72 時間にかけて大・中卵胞数が減少し、各測定時の卵胞数において両区間に有意な差は認められなかった (表10)。

PRID除去後の発情開始時間は試験区、対照区各々, 35.7±2.6 時間, 33.8±1.2 時間, 発情持続時間は 13.1±2.3 時間, 12.9±2.0 時間で両区間に有意な差は認められなかった (表11)。また、発情開始時間の中は試験区で 16 時間, 対照区で 14 時間であり、PG投与時間を早めて外因性のP支配下としても発情を同期できなかった。

表9 胚のランク別採胚成績 (試験3)

	Aランク	A'ランク	Bランク	Cランク
試験区(n=12)	2.4±0.9	4.9±1.6	2.5±0.6	0.8±0.3
対照区(n=12)	1.6±0.6	3.3±0.9	2.7±0.6	0.3±0.2

mean±SE

表10 PRID除去後の卵胞数推移 (試験3)

	PRID除去後	48hr	55hr	72hr	採胚時
大卵胞	試験区(n=12)	5.7±1.6	8.0±1.8	0.6±0.3	4.4±1.1
	対照区(n=12)	5.3±1.2	6.8±1.5	0.6±0.2	4.5±1.2
中卵胞	試験区(n=12)	17.7±2.7	20.4±3.4	10.3±1.6	3.1±0.7
	対照区(n=12)	20.9±4.8	24.3±6.0	13.0±1.7	2.7±0.5
小卵胞	試験区(n=12)	13.3±1.4	13.8±2.0	25.5±2.6	16.3±2.0
	対照区(n=12)	18.9±3.6	18.6±3.3	26.8±4.1	19.1±2.2

mean±SE

試験区:PG投与後41hr後にPRID除去、対照区:PG投与と同時にPRID除去
試験区、対照区ともにPRID除去31hr後にGnRH投与

表11 発情開始時間および発情持続時間の比較 (試験3)

	発情開始時間(hr)	発情持続時間(hr)
試験区(n=11)	35.7±2.6	13.1±2.3
対照区(n=10)	33.8±1.2	12.9±2.0

※発情時間は、スタンディングを示した時間(mean±SE)

考 察

Burkeら(2003)は、EBの投与は優性卵胞の閉鎖を引き起こし、P濃度が高い時期にEB 1 mgを投与したときに3.3日目に新たな卵胞波が出現したと報告している。また、石山ら(2002)は、CIDR挿入のSOVにおいて、注射によるEB 1 mg投与後2日目以降のE2低下時に中小卵胞数が増加することから、EB投与5日後からのSOV開始が採胚成績の向上に有効であったと報告している。今回、予備試験として実施したPRID挿入後の卵胞数の推移調査では、PRID挿入時に存在した大卵胞(優性卵胞)が閉鎖に向かい5日目には直径10 mm以下の中卵胞となったことは、EB投与により退行したものと推察された。また、本文中に記載しなかったが、黄体の急速な退行も認めてい

ることから経膣的なEB投与後の主席卵胞と黄体の変化に関してSawyerら(1995)の報告と一致するものであった。一方、卵胞数の増加においては、4日目に小卵胞数の増加を確認し、Burkeら、石山らの報告と概ね一致した。

以上の結果、4日目からの小卵胞数の増加を新たな卵胞波出現と捉え、SOV投与開始時期を決定した。

試験1:PRID製剤を用いた経膣的なEBの投与効果の検討において、PRID挿入後4日目の卵胞数では試験区と対照区に有意な差は認められなかったものの、人工授精日に当たる8日目において中卵胞数が試験区で有意に増加し、試験区で採卵総数や正常胚数が上回ったことから、FSHに感受性の高い新たな卵胞波が出現したことが推

察された。Sawyerら (1995) は、本試験と同様、PRID (挿入 12 日間、除去 3 日前からのSOV開始) におけるEBカプセルの有無の比較を行い、挿入後の卵巣内の動きについて、EBカプセル有りの方が主席卵胞や黄体を急速に退行させ、新たな卵胞波がPRID挿入後 6~8 日に発現していることを報告している。また、早坂ら (2008) は、延べ 108 頭を供試し、PRIDを用いたSOVにおいてEBカプセル製剤の前処置は、正常胚数を増加させる可能性があることを報告している。このことから今後、例数を重ねて検討する余地があるものと思われる。

試験2：試験区ではPRID除去後 31 時間後にGnRH投与し、PRID除去後 55 時間 (GnRH投与後 24 時間) 後に人工授精した。PRID除去後55 時間から 72 時間の間に大卵胞が減少し、概ねこの時間帯に排卵していることが判った。これは対照区についても同様であったが、55 時間から 72 時間にかけての大卵胞数の減少率を比較して、試験区が有意に高かったこと、PRID除去後 72 時間の大卵胞数に差があったことからPRIDを用いたSOVにおいてGnRH投与は排卵に対して高い効果があると考えられた。

Boら (2006) は、DIB (膣挿入型P製剤) を用いたSOVにおいて、DIB除去後 24 時間でのGnRH投与により、採卵総数と胚の品質に影響を与えずに排卵時間を同期化できると報告している。また、青木ら (1999) は低採胚牛におけるCIDR (膣挿入型P製剤) を用いたSOVに関する研究で、CIDR除去後 48 時間後のGnRH投与により胚品質の低下もなく、有効排卵割合 (採取胚数/推定黄体数) の向上が見られたとGnRHの有用性を報告している。本試験では、GnRH投与による有意な採胚成績の向上は認められなかったが、Boら (2006)、青木ら (1999) と同様に採卵総数や胚品質に影響を与えず定時受精が可能となることが示唆された。なお、これらの報告ではGnRH投与後の夕

方と翌朝に定時授精が行われている。膣挿入型P製剤除去後のGnRH投与時間の違いが採胚成績に影響との報告 (Chestaら 2007) がみられ、今後、人工授精のタイミングを検討する必要があると思われる。また、人工授精の回数についても比較検討を行うべきと思われた。

試験3：試験2において、PRID除去後の発情開始時間の中はGnRH投与区で 19 時間、無投与区で 18 時間と何れの区においても発情開始に時間差が有ったことから、事前にPGを投与することで黄体を退行させ、PRIDを除去する時期には外因性のP値のみで維持されている状態とし、PRID除去後の発情を集中化させることができるのではないかと考え、試験3を設定した。

Boら (2006) は、PG投与からDIB除去までの時間 12 hr、24 hrおよび 36 hrについて排卵成績や採胚成績を検討し、採卵成績に有意差が無かったことを示している。本試験では、PG投与 (day4夕) 41 時間後にPRID除去した場合と、PG投与 (day6朝) とPRID除去を同時に行った場合との比較を行ったが、Boら (2006) の報告と同様に採胚成績に有意な差は認められなかった。

また、発情開始時間およびPRID除去後 55~72 hrにおける大卵胞減少率にも試験区と対照区に有意な差は認められず、発情開始時期を同期化させGnRHの投与効果を高めるには至らなかった。しかし、FSH処理開始日のPG投与でも採卵成績の変動がないことから、FSH投与 3 日間のうち、いずれのタイミングでも投与が可能であることを示すものである。今後FSH 1 回投与技術が開発されれば、FSH投与時にPGを同時投与することで、さらなる省力化が図られると考えられた。

今回実施したPRIDを用いたSOV試験では、PRIDの挿入時期は発情周期中のランダムな時期としてきたが、挿入時期を発情後 7 日目と 14 日目を比較したところ採卵総数や胚品質において 7 日目の成績が有意に高かったという報告 (Sawyerら

1995) もあり, 今後, PRID挿入時期の検討も行う必要があるものと思われる。

なお, 本試験は, 当県を含めた 10 県の公設試験機関による共同試験として実施したものである。

文 献

- 青木義和, 藤田 耕, 富澤 泰, 関島忠人, 富家武男. 1999. 低採胚牛における大卵胞吸引除去とEstradiol 17β 投与後の過剰排卵誘起とその後の採胚成績に及ぼすGnRH製剤の投与効果. 日本胚移植学雑誌 21, 126-132.
- Burke CR, Mussard ML, Gasser CL, Grum DE, Day ML. 2003. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* 60, 647-658.
- Bo GA, Baruselli PS, Chesta PM, Martins CM. 2006. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 65, 89-101.
- Caccia M, Bo GA. 1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDRB implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 49, 341.
- Chesta P, Tribulo R, Tribulo H, Balla E, Baruselli PS, Bo GA. 2007. Effect of time of ovulation induction by gonadotropin-releasing hormone or pituitary luteinizing hormone on ova/embryo production in superstimulated beef cows inseminated at a fixed time. *Reproduction Fertility and Development* 19, 307.
- 早坂駿哉, 高田直和, 石山 治, 千田惣浩, 田中嘉洲, 三宅晃次, 億 正樹, 田頭明子, 山崎慎一郎, 梅木英伸, 赤塚裕人, 的場理子. 2004. ウシ過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの効果. 日本胚移植学雑誌 26, 99-106.
- 早坂駿哉, 植田郁恵, 平泉真吾, 西宮 弘, 坂上信忠, 佐野文彦, 西野 治, 市川恭子, 竹之内直樹, 吉岡 一, 小林修司. 2009. PRIDを用いたウシ過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの効果. 第24回東日本家畜受精卵移植技術研究会大会資料, 46-47.
- 石山 治, 田中敏彦, 平泉真吾, 竹之内直樹. 2002. 連続過剰排卵処理法において安息香酸エストラジオール製剤の投与が卵胞動態と採卵成績に及ぼす影響. 第15回東日本家畜受精卵移植技術研究会大会資料, 56-57.
- 家畜人工授精講習会テキスト (家畜受精卵移植編). 平成7年度改訂版. 158-176. 日本家畜人工授精師協会. 東京. 1997.
- 坂上信忠, 秋山 清, 仲澤慶紀, 橋村慎二, 濱野岳人, 久下 莊, 岩田尚孝, 門司恭典. 2008. 経皮吸収エストラジオール利用が黒毛和種経産牛の過剰排卵成績に及ぼす効果. 日本胚移植学雑誌 30, 109-117.
- Sawyer GJ, Broadbent PJ, Dolman DF. 1995. Ultrasound-monitored ovarian responses in normal and superovulated cattle given exogenous progesterone at different stages of the oestrous cycle. *Animal Reproduction Science* 38, 187-201.

ウシ低ランク胚および体外操作胚の有効活用による 高品質肉用牛生産技術の検討 (第1報)

—低品質および体外操作したウシ胚への超急速ガラス化保存の影響—

高橋 利清・西宮 弘・伊藤 隆

要 約

ウシ低ランク胚および体外操作胚における、超急速ガラス化保存のダイレクト移植可能な融解技術確立のため、体外生産胚を用いてガラス化保存液の耐凍剤濃度および血清代替物質について検討した。ガラス化保存液にEthyleneGlycol (EG) およびDMSOを各15%混合し、耐凍剤の合計を30%とした区、同じく20%混合・耐凍剤の合計を40%とした区の融解48時間後の胚生存率は、それぞれ92.5, 91.1%で、緩慢凍結法の60.0%と比較して有意に高い生存性が得られた ($P < 0.05$)。また、ガラス化保存液に含まれる血清を、BSAおよびPVPに代替したところ、0.4% BSA添加区 (48時間後生存率: 94.6%) において、血清添加区と同等 (同: 91.9%) で、PVP添加区 (同: 84.2%) より生存性が高い傾向にあった ($P = 0.06$)。なお、低ランク胚および体外操作胚の超低温保存に対して、耐凍剤濃度30%、BSAを血清の代替としたガラス化保存液を応用したところ、それぞれ91.3%, 100%と高い生存性が得られた。これらのことから、15% EG+15% DMSO+0.5 MSucroseに0.4% BSAを添加したガラス化保存液を用いることにより、低耐凍性を示す胚でも、高い生存性が得られることが示唆された。

緒 言

ウシ胚移植は、優良遺伝形質を有する個体を増産する技術として利用されている。過剰排卵処理を行い非外科的に採取したウシ胚は、変性細胞の割合などで品質評価される。変性細胞が少ないほど高品質となるが、採取胚の中には変性細胞が50%以上の低ランク胚が含まれる。低ランク胚は、採取後速やかに新鮮胚として移植することで受胎が可能であるが、新鮮胚の移植には移植可能な受胎牛を準備する必要があり、受胎牛の確保が出来ない場合には利用が難しい。また、低ランク胚は耐凍性が低く、現在の手法では長期保存が難しいとされている。この様なことから、低ランク胚の多くは廃棄される可能性が高い。また近年、胚のバイオプシー細胞由来DNAを材料にして、胚段階で性別判別が可能となっている (Hirayamaら 2004)。さらに、遺伝性疾患についても診断が可能となっており (伊藤ら 2011)、産子生産前に

有用情報を得ることが可能となっている。しかし、これらの遺伝子診断には、胚細胞の一部を切断採取する必要があり、胚へのダメージ増加や細胞数の減少などに起因する、耐凍性の低下が問題となっている。

そこで、低ランク胚および体外操作胚の有効利用を図るため、既存の緩慢凍結法と比較して、融解後に高い生存性が得られる超急速ガラス化保存法の直接移植を最終目的に試験を行い、今回は、ガラス化保存液の耐凍剤濃度および血清代替物質について検討した。

材料および方法

供試胚

体内由来胚は、卵胞刺激ホルモン製剤 (FSH, アントリンR・10®, 共立製薬株式会社, 東京) を3日間減量投与 (総量20 AU) し、FSH処理開始48時間後にプロスタグランジンF2 α 製剤

(エストラメイト®, ナガセ医薬品株式会社, 兵庫) を投与して過排卵処理を施した黒毛和種雌牛に, 人工授精 (AI) して作出した。AI後7日目にエンブリオテック (日本全薬工業株式会社, 福島) を回収液として非外科的に胚を採取した。採取胚は顕微鏡下 (IMT-2; オリンパス株式会社, 東京) で品質評価し, 変性部分が50%以上のものを低ランク胚として試験に用いた。

体外由来胚は, 当場の常法に従って体外受精を行い作出した (Takahashiら 2009)。即ち, 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。受精後7日目に胚盤胞に発生した胚を試験に用いた。

体外操作胚は, 体内由来胚のうち高品質と判定したものをを用い, バイオプシーを行った (Leoniら 2000)。マイクロマニピュレーターシステム (ICSI/IMSI; オリンパス株式会社) にセットした, 外径約100-120 μm のホールディングピペットと, 針状に加工したカッピングピペットを用いて, 胚の透明帯部分を一部切開した。なお, 操作液は胚の回収液とし, ピペットの加工はPC-10, MF-900 (株式会社ナリシゲ, 東京) で行い, 透明帯切開後は, TCM-199 (Gibco Inc, Grand Island, NY, USA) を基礎培地として, Bovine serum albumin (BSA; 4 mg/ml, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), Linoleic acid albumin (LAA; 2.5 μl /ml, Sigma-Aldrich), Insulin-Transferrin-Selenium (ITS; 10 μl /ml, Gibco), Antibiotic-Antimycotic (1 μl /ml, Gibco) を添加した培養液で20-24時間の体外培養を行った (38.5°C, 5% O₂, 5% CO₂, 90% N₂, 飽和湿度)。培養後, 透明帯から胚細胞が一部脱出していることを確認し, 38.5°Cに加温したリン酸緩衝液に移した。突出した胚の一部を, マイクロマニピュレーターシステムに取り付けたマイクロフェザーブレイド (K-715; フェザー安全剃刀株式会社, 大阪) により

切除した。バイオプシーした胚は透明帯切開後の培養と同条件で3時間の修復培養を行い供試した。なお, 切除した一部の胚細胞は, 遺伝子診断に用いた (伊藤ら 2011)。

ウシ胚の超急速ガラス化保存

ガラス化液として, Ethylene glycol (EG, Wako co.Tokyo, Japan), Dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich), Sucrose (Sigma-Aldrich) を添加した修正199 (199A, Hepes加TCM-199) を用いた。また, ガラス化液を199Aで等量希釈したものを平衡液とした。

超急速ガラス化保存はSolid Surface Vitrification法 (Dinnyesら 2000) の変法で行った。即ち, 胚を, 平衡液で5分間処理した後, ガラス化液に移し, 30秒以内にマイクロピペットを用いて0.8 μl のガラス化液と共に, 液体窒素で冷却したアルミ板上に滴下してガラス化保存した。その後, マイクロチューブに入れ, 液体窒素中にて保存した。

ガラス化保存胚の融解および培養

融解は, 液体窒素中のマイクロチューブをアルミプレート上に取り出し, 保存胚を37°Cに加温した0.2 M Sucroseを添加したTCM-199に移し融解した。5分間静置後に, BSA (4 mg/ml, Sigma-Aldrich), Cysteamine (100 μM , Sigma-Aldrich), ITS (10 μl /ml, Gibco) を添加したTCM-199に移し, 38.5°C, 5% CO₂, 95%空気, 飽和湿度の気相条件下で培養した。

培養後3時間, 24時間および48時間後の生存性を調査した。なお, 胚の生存性は胞胚腔の再形成により判別した。

試験1: ウシ胚に対するガラス化保存液への添加剤濃度の影響

体外由来胚を用いて, ガラス化保存液の添加剤である, EGおよびDMSOの濃度について検討し

た。ガラス化液を15% EG, 15% DMSO, 0.5 M Sucrose, 20%ウシ胎児血清 (FBS) 加199Aとした30%区, および30%区のEGとDMSOの濃度を, それぞれ20%とした40%区を試験区とした。なお, 当場の常法である緩慢凍結法のダイレクト法 (1.5 MEG+0.1 M Sucrose+0.4% BSA加PBS) を対照区とした。

試験2: ウシ胚に対するガラス化保存液への血清代替物質の検討

体外由来胚を用いて, 15% EG, 15% DMSO, 0.5 M Sucrose加199Aをガラス化保存液として, FBS (20%), BSA (4 mg/ml) およびPolyvinyl pyrrolidone (4 mg/ml) が融解後の生存性に与える影響を検討した。

試験3: 低ランクおよび体外操作胚への超急速ガラス化保存法の影響

体内由来の低ランクおよび体外操作胚を用いて, 15% EG, 15% DMSO, 0.5 M Sucrose, 0.4% BSA加199Aをガラス化液とした, 超急速ガラス

化保存法による超低温保存を行い, 融解後の生存性を検討した。なお, 試験1と同様にダイレクト法を対照区とした。

統計処理

StatViewプログラム (SASInstitute, Cary, NC, 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'sPLSD (ANOVA) 法にて統計処理を行った。

結果

試験1: ウシ胚に対するガラス化保存液への添加剤濃度の影響

融解3時間, 24時間および48時間後の生存率は, 対照区で75.0% (30/40), 67.5% (27/40), 60.0% (24/40), 30%区で95.0% (38/40), 92.5% (37/40), 92.5% (37/40), 40%区は95.6% (43/45), 91.1% (41/45), 91.1% (41/45) であった。なお, 3, 24および48時間後の30%区および40%区において, 対照区と比較して有意に高い生存性が見られた ($P < 0.05$)。

表1 凍害保護剤濃度が体外生産胚の超急速ガラス化保存に及ぼす影響

区分	供試数	生存胚数(生存率%)		
		融解3時間後	融解24時間後	融解48時間後
対照区	40	30 (75.0 ± 6.7 ^a)	27 (67.5 ± 5.0 ^a)	24 (60.0 ± 4.4 ^a)
30%区	40	38 (95.0 ± 3.4 ^b)	37 (92.5 ± 2.9 ^b)	37 (92.5 ± 2.9 ^b)
40%区	45	43 (95.6 ± 1.9 ^b)	41 (91.1 ± 3.8 ^b)	41 (91.1 ± 3.8 ^b)

対照区: 緩慢凍結: 1.5M EG+0.5M Suc+0.4%BSA in PBS

30%区: 超急速ガラス化保存: 15%EG+15%DMSO+0.5M Suc+20%FBS in 199A

40%区: 超急速ガラス化保存: 20%EG+20%DMSO+0.5M Suc+20%FBS in 199A

異符号間に有意差あり($p < 0.05$)

平均値±標準誤差

試験2：ウシ胚に対するガラス化保存液への血清代替物質の検討

融解3時間、24時間および48時間後の生存胚率は、FBS区で91.9% (34/37), 91.9% (34/37), 91.9% (34/37), BSA区で97.3% (36/37), 94.6% (35/37), 94.6% (35/37), PVP区は92.1% (35/38), 89.5% (34/38), 84.2% (32/38)であった。なお、48時間後のBSA区では、PVP区と比較して生存性が高い傾向が見られた ($P=0.06$)。

試験3：低ランクおよび体外操作胚への超急速ガラス化保存法の影響

体内由来の低ランク胚における、融解3, 24, 48時間後の生存胚率および脱出胚率は、緩慢凍結のDI区で76.9% (10/13), 76.9% (10/13), 61.5% (8/13), 46.2% (6/13), 超急速ガラス化保存のVit区では93.5% (43/46), 93.5% (43/46), 91.3% (42/46), 84.8% (39/46)であり、体外操作胚では、融解48時間後まで、すべての胚で生存が確認できた。

表2 血清代替物質が体外生産胚の超急速ガラス化保存に及ぼす影響

区分	供試数	生存胚数(生存率%)		
		融解3時間後	融解24時間後	融解48時間後
FBS	37	34 (91.9 ± 3.3)	34 (91.9 ± 3.0)	34 (91.9 ± 3.0)
BAS	37	36 (97.3 ± 0.9)	35 (94.6 ± 0.9)	35 (94.6 ± 0.9)
PVP	38	35 (92.1 ± 4.2)	34 (89.5 ± 2.1)	32 (84.2 ± 1.9)

FBS: ガラス化基本液に20%のFetal bovine serum (FBS)を添加
 BAS: ガラス化基本液に0.4%のBovine serum albumin (BSA)を添加
 PVP: ガラス化基本液に0.4%のPolyvinylpyrrolidone (PVP)を添加
 ガラス化基本液: 15%EG+15%DMSO+0.5 M Suc 加 199A
 平均値±標準誤差

表3 超急速ガラス化保存が低ランクおよび体外操作胚における融解後の生存性へ与える影響

区分	保存方法	供試数	生存胚数(生存率%)			
			融解3時間後	融解24時間後	融解48時間後	脱出
低ランク	DI	13	10 (76.9 ± 2.5)	10 (76.9 ± 2.5)	8 (61.5 ± 15.0)	6 (46.2 ± 27.5)
低ランク	Vit	46	43 (93.5 ± 1.7)	43 (93.5 ± 1.7)	42 (91.3 ± 1.9)	39 (84.8 ± 3.4)
体外操作	Vit	4	4 (100.0 ± 0.0)	4 (100.0 ± 0.0)	4 (100.0 ± 0.0)	—

低ランク: 変性部分が50%以上の体内由来胚
 体外操作: バイオプシー後の体内由来胚
 DI : 緩慢凍結(1.5M EG+0.5M Suc+0.4%BSA in PBS)
 Vit : 超急速ガラス化保存(15%EG+15%DMSO+0.5M Suc+0.4%BSA in 199A)
 平均値±標準誤差

考 察

超急速ガラス化保存法は、ウシ胚の長期保存に関して、従来の緩慢凍結法より融解後の生存性が高い方法として、様々な方法が開発されている (Vajtaら 1997; Kuwayama and Kato 2000; Tominaga and Hamada 2001)。また、低ランク胚や体外操作胚においても、生存性が有意に高まったとする報告がみられる (木下ら 2001; 富永 2005)。しかし、ガラス化保存法は非常に高濃度の耐凍剤を利用しているため、細胞毒性による胚生存性への影響が懸念される。本試験の最終目標は超急速ガラス化保存胚の直接移植であるため、用いる耐凍剤は、より低濃度であることが望ましい。今回、ガラス化保存液の耐凍剤濃度について検討した結果、濃度を30%にした場合でも40%と同等で、緩慢凍結法より有意に高い ($P < 0.05$) 生存性が得られた。このことから、受胎率や早期胚死滅に影響する恐れがある細胞毒性を軽減できる可能性が示唆された。

また、ウシ血清アルブミン (BSA) は、ウシ血清よりも成分の安定性が高いとして、緩慢凍結やガラス化保存においても利用されている (大下ら 2003; 引田ら 2009)。本試験においても、ウシ胎児血清とBSAでは融解後の生存性に差は無く、BSAでの代替が可能なが示唆された。しかし、高分子化合物で動物性タンパクを含まないPVPでは、BSA添加区と比較して、生存性が低い傾向にあった ($P=0.06$)。このため、BSAとPVPではガラス化時の浸透圧緩衝作用に違いがあり、ウシ体外生産胚においてはBSAが適していることが考えられた。

また、試験の結果を基に、15% EG+15% DMSO+0.5 M Sucrose+0.4% BSA+m199Aをガラス化液とし、体内由来低ランク胚および体外操作胚を超低温保存した結果、どちらの胚においても高い生存性が得られた。今後は直接移植可能な融解方法や、直接移植による受胎率などについて検討す

る予定である。

文 献

- Dinnyés A, Dai Y, Jiang S, Yang X. 2000. High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer. *Biol Reprod* 63, 513-518.
- 引田久美子・藤井陽一, 竹下和久, 稲吉洋裕. 2009. ガラス化保存したウシ性判別胚のストロー内希釈法による移植試験. *山口畜試研報* 24, 11-14.
- Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Takahashi Y, Katagiri S, Toen K, Watanabe K, Notomi T, Yamashina H, Matsuzaki S, Minamihashi A. 2004. Rapid sexing of bovine preimplantation embryos using loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 62, 887-896.
- 伊藤隆, 高橋利清, 西宮弘. 2011. ウシ低ランク胚および体外操作胚の有効活用による高品質肉用牛生産技術の検討 (第2報). *秋田農技セ畜試研報*, (inpress) .
- 木下政健, 渡部正哉, 綱崎誠. 2001. 血清添加培地により短期培養した牛生体由来低ランク培養胚の凍結保存技術に関する検討. *愛媛畜試研報* 18, 14-17.
- Kuwayama M, Kato O. 2000. All-round vitrification method for human oocytes and embryos. *J Assist Reprod Genet* 17, 477 (abstract).
- Leoni G, Ledda S, Bogliolo L, Naitana S. 2000. Novel approach to cell sampling from preimplantation ovine embryos and its potential use in embryonic genome analysis. *J Reprod Fertil* 119, 309-314.
- 大下雄三, 妻由道明, 米村功. 2004. ウシ胚の受胎率向上のための凍結・融解・移植方法の検討.

鳥取畜試研報 32, 1-4.

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, Hamada Y. 2001. Gel-Loading Tip As Container for Vitrification of In Vitro-Produced Bovine Embryos. J Reprod Dev 47, 267-273.

富永敬一郎. 2005. ウシ顕微操作胚の超低温保存. 日本胚移植学雑誌27, 27-35.

Vajta G, Booth PG, Holm P, Greve T, Callesen H. 1997. Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the open pulled straw (OPS) method. Cryo-Letters 18, 191-195.

ウシ低ランク胚および体外操作胚の有効活用による 高品質肉用牛生産技術の検討 (第2報)

—移植前胚における複数項目の遺伝子診断—

伊藤 隆・高橋 利清・西宮 弘・平野 貴*

(* 畜産技術協会附属動物遺伝研究所)

要 約

遺伝病フリーの高能力種牛を効率的に生産することを目的として、移植前ウシ胚を用いた遺伝子診断の検討を行った。クローディン16タイプ1欠損症 (CL-16)、メラニン細胞刺激ホルモン受容体遺伝子型 (MSHR)、ウシ第13因子欠損症、チェディアックヒガシ症候群の4種類の遺伝性疾患検査について、ホットスタートPCRを応用した反応系の改良を試み、検出感度を10 pg以下に高めることに成功した。この検出感度の上昇は、400~1,000倍であった。

このPCR反応系を用い、ヘルニア法によって採取した胚細胞を材料に、6ロット56胚について、性別判別、CL-16およびMSHRの3種類の移植前胚の遺伝子検査を行った。すべての胚で、3項目とも遺伝子検査が可能であった。性別判別では雄 vs 雌が24 vs 32 (42.9% vs 57.1%)、CL-16では正常 vs 保因が28 vs 28 (50% vs 50%)、MSHRではE/E vs E/eが20 vs 36 (35.7% vs 64.3%) の判定結果であった。

緒 言

妊娠期間が長く、単胎動物であるウシにおいて、産子の性別は畜産経営の収益を左右するものであり、分娩前の性別コントロールは畜産経営上有利である。また、遺伝性疾患保因の種牛を交配する場合、生産される牛の遺伝病保因状況を事前に知る事は、産子の種牛としての利用を考える上で有意義である。こうしたことから、移植前の胚段階での遺伝子診断が有効な手段と考えられている。

しかし、遺伝子診断に用いる採取可能な胚細胞数は少ないため、診断項目に制約が生じている。そこで我々は、胚へのダメージが少なく比較的多くの細胞採取が可能なヘルニア法 (青柳ら, 2004) を応用した。また、1細胞あたりのDNA量はウシゲノムサイズから約3 pgとされ (佐々木 2000)、採取可能細胞数から考えるとpgレベルの遺伝子診断の検出感度が必要である。しかし、遺伝性疾患診断に関する報告はDNAサンプルの採取が容易な牛体を対象としているため、その感

度はngレベルである。我々はホットスタートPCRを応用したPCR反応系の改良によって、遺伝子診断の検出感度向上を試み、胚段階での複数項目の遺伝子診断を行った。

材料および方法

1 遺伝子診断の検出感度改善

1) オリジナル法による遺伝子診断の感度測定

クローディン16タイプ1欠損症 (CL-16)、メラニン細胞刺激ホルモン受容体遺伝子型 (MSHR)、ウシ第13因子欠損症 (F13)、チェディアックヒガシ症候群 (CHS)、4種類の遺伝性疾患検査について、検出感度を調べた。遺伝子増幅は、CL-16についてはHirano et al. (2000)、MSHRについてはSasazaki et al. (2002)、F13については小川 (2000)、CHSについてはYamakuchi et al. (2000) の報告によって行った。増幅産物は3% Nusieve-Agarose GTG (Lonza Rockland Inc) を用いて電気泳動を行い、エチジウムブロマイドに

よる染色の後、紫外線照射下で観察を行った。

陽性コントロールは、それぞれの遺伝性疾患保因牛の血液をサンプルとし、DNA抽出キット（セパジーン、三光純薬）を用いて抽出した。

2) CL-16アレルの検出へのホットスタートPCRの応用

遺伝子増幅はMultiplex PCR Kit (Quiagen Inc) を用いて行った。このキットはホットスタートPCR法による遺伝子増幅キットである。プライマーはHirano et al. (2000) のデザインを用い、原法ではMultiplex法によって増幅を行っているが、WildおよびMutantアレルをそれぞれ別の反応系で増幅を行った。

反応は全量 10 μ lで行い、反応液に 5 倍濃度 Q-solution 1 μ lと各プライマー（最終濃度 1 μ M）を加えた。鋳型DNAサンプルは1 μ lとした。PCRサイクルは、95°C 15 分のDNA重合酵素の活性化後、97°C 30 秒の熱変性、56°C 1 分 30 秒のアニーリングおよび72°C 30 秒の伸長反応のサイクルを45 回行い、72°C 10 分の最終伸長反応を行った。この反応によって、WildおよびMutantアレルはそれぞれ 375 bp, 722 bpの遺伝子断片として検出される。

3) MSHRアレルの検出へのホットスタートPCRの応用

Sasazaki et al. (2002) が報告したプライマーセットの内、Eおよびeアレルを検出できるプライマーセットを用いた。反応に用いたPCRキットおよび反応系は、プライマーの最終濃度を0.6 μ Mとした他は、CL-16アレル検出に用いたものと同じである。また、PCRサイクルも同じである。この反応によって増幅されるEおよびeアレルは、それぞれ219および218 bpである。

Eおよびeアレルの判別のため、PCR反応の後 *Msp*Iによる消化を行った。この消化によってEアレルは138および81 bpの断片に分かれるが、eアレルは消化されないため 218 bpの断片として検

出される。

4) F13およびCHSの検査へのホットスタートPCRの応用

Hot Star Taq Plus Master Mix Kit (Quiagen Inc) を用いて、プロトコールに従って行った。このキットもホットスタートPCR法による遺伝子増幅キットである。プライマーはF13については小川 (2000)、CHSについてはYamakuchi et al. (2000) の報告したセットを用い、それぞれ最終濃度を 0.8 μ M, 0.6 μ Mとした。

双方とも 10 μ lの反応系とし、95°C 5 分のDNA重合酵素の活性化の後、それぞれの報告のPCR反応を 45 サイクルとして行った。この反応でF13については 147 bp, CHSについては 165 bpの増幅断片が得られる。

2 移植前胚の遺伝子診断

1) 供試胚

発情 8~14 日後の黒毛和種雌牛にFSH（アントリンR10、共立製薬）を総量 20 AU, 3 日間漸減投与を行い、FSH投与 3 日後にプロスタグランジンF2 α 類縁体制剤（クロプロステノールとして 0.75 mg）を投与した。発情確認後人工授精を実施し、人工授精 6.5 日後に胚を回収した。

人工授精を行った種雄牛は「義安福」黒原3380で、CL-16を保因し、MSHRにおいてE/eのアレルを持つ種雄牛である。なお、交配雌牛はすべて2つの遺伝性疾患について正常な個体である。

2) ヘルニア法による遺伝子診断サンプルの作出

透明帯のスリット形成操作は、倒立顕微鏡に装着したマイクロマニピュレーター（Micro Manipulator System, オリンパスICSI/IMSI）を用いて行った。スリット形成は、外径1 mmのガラス管（SUTTER, No.94949, Sutter Instrument Co, USA）を先端の径 100~120 μ mに加工したホールディングピペットで胚を保持した上で針状に加工したカッピングピペットによって、栄養膜細

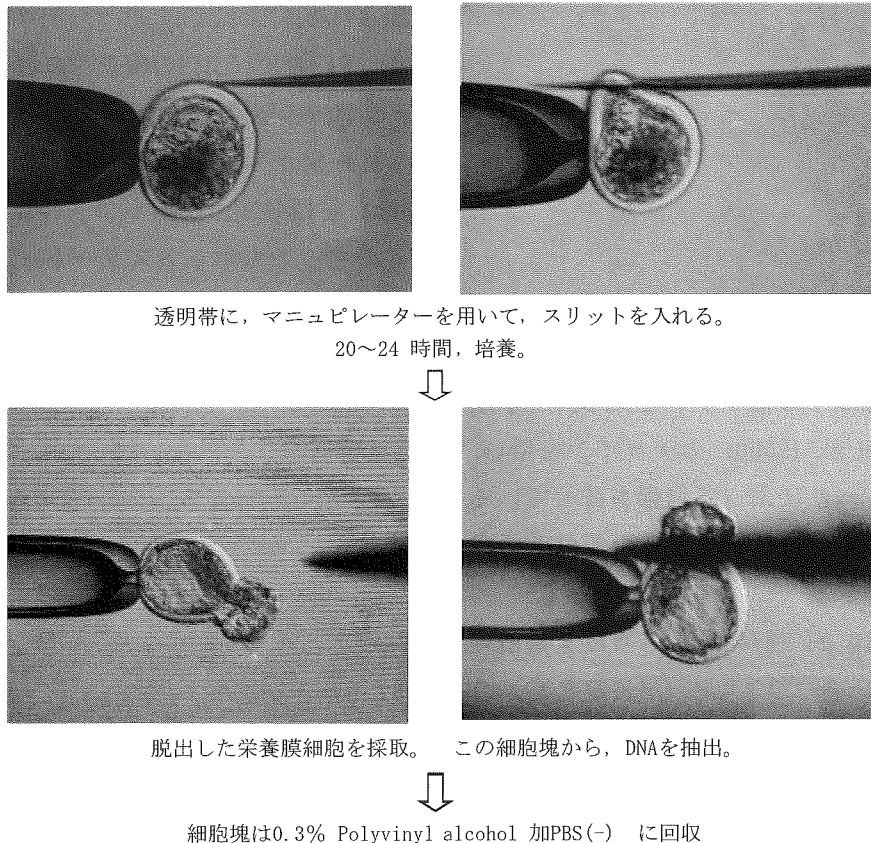


図1 ヘルニア法による 細胞サンプル（栄養膜細胞）の回収

胞側に行った（図1）。

透明帯スリット形成を行った胚は、38.5℃、5% O₂、5% CO₂、90% N₂、飽和湿度条件下で20～24時間培養を行った。培養液の組成は、m199 (Gibco) を基本液にBovine serum albumin (Sigma) 4 mg/ml, Linoleic acid albumin (Sigma) 2.5 μl/ml, Insulin-Transferrin-Selenium (Gibco) 10 μl/ml, Antibiotic-Antimycotic (Gibco) 1 μl/ml を添加したものである。

遺伝子診断用のサンプルは、透明帯からヘルニア状に突出した細胞塊とした。サンプル採取は、顕微鏡下でマイクロフェザーブレード (K-715, フェザー安全剃刀株式会社, 大阪) を用いて、突出細胞塊の直径約 100 μm をめやすに透明帯からの切り離しによって行った。採取した細胞サンプルは、0.3% Polyvinyl alcohol加PBS (+) に回収した（図1）。

サンプルからのDNA抽出はNaOH処理によって行った (Hirayama et al., 2004)。この方法はウシ胚細胞から短時間且つ安定的にDNA抽出できる方法で、細胞サンプルをPBS (+) 10 μlに投入し、等量の 0.06 M NaOHを加えて室温 5分感作後、12,000 rpm 5分の遠沈上清をDNAサンプルとした。

遺伝子診断サンプルを採取した後の胚は、スリット形成後の培養と同じ条件で培養を3時間行い、ガラス化凍結保存 (高橋ら, 2011) を行った。

3) 遺伝子診断

移植前胚の遺伝子診断は、性判別、CL-16およびMSHRの3項目について実施した。性判別はLoopamp牛胚性判別試薬キット (栄研化学) によって行った。CL-16およびMSHRについては、1の2) および3) に記載した方法で実施した。

結果および考察

1 遺伝子診断検出感度の改善

1) オリジナル法での検出感度

クローディン16タイプ1欠損症 (CL-16), メラニン細胞刺激ホルモン受容体遺伝子型 (MSHR), ウシ第13因子欠損症 (F13), チェディアックヒガシ症候群 (CHS), の検出感度を図2, 3, 4, 5に示した。それぞれの検出限界は, 4 ng, 4 ng, 10 ng, 10 ngであった。

ウシのゲノムサイズは 3,000 Mbpで, ウシ細胞1個あたりのDNA量は約 3 pgである事から (佐々木, 2000), オリジナル法による検出には1反応あたり, CL-16およびMSHRはおよそ 1,300 個, F13およびCHSではおよそ 3,300 個の細胞が必要となる。胚盤胞期胚の総細胞数は約 100 個であり (Tominaga et al. 2001), オリジナル法での胚遺伝子診断には1反応あたり 10 個以上の胚が必要となる。

2) 検出感度の改善

CL-16, MSHR, F13, CHSの以上4種類の遺伝性疾患検査の検出感度を高めるため, ホットスタートPCRを応用し, さらにPCRサイクルに変更を加えた。結果を図6, 7, 8, 9に示した。検出限界はCL-16で 10 pg, MSHRで 8 pg, F13およびCHSで 10 pgであった。それぞれの検出感度上昇はCL-16で 400 倍, MSHRで 500 倍, F13およびCHSでは 1,000 倍であった。PCR反応系を改良することで得られた検出感度 10 pgは, ウシゲノムサイズから, 細胞 4 個程度での検査が可能な数値であった。

移植前胚での複数項目の遺伝子診断を行うため, Primer extension preamplification (Chrenek et al. 2001; Garcia, 2001), あるいは胚からの採取細胞の培養 (Saito et al. 2004) を行ってDNA量を増やした後に複数項目の遺伝子診断を行った例が報告されているが, 前者では増幅操作にお

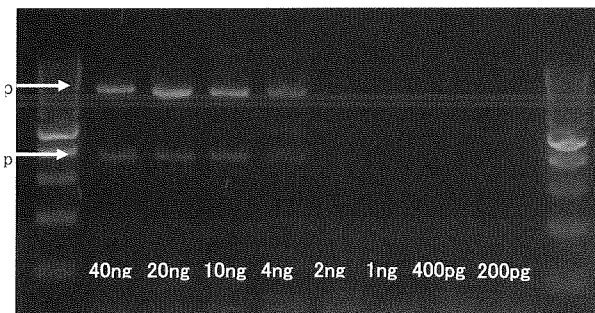


図2 オリジナル法によるクローディン16タイプ1欠損症の検出感度

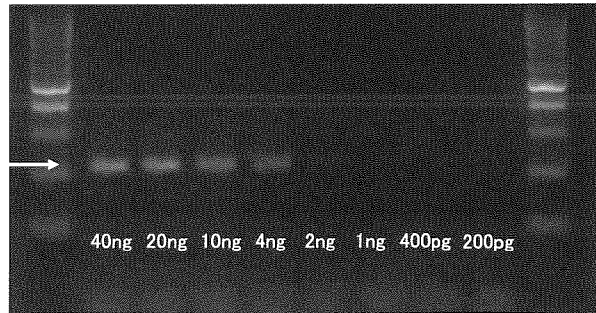


図3 オリジナル法によるメラニン細胞刺激ホルモン受容体遺伝子型の検出感度

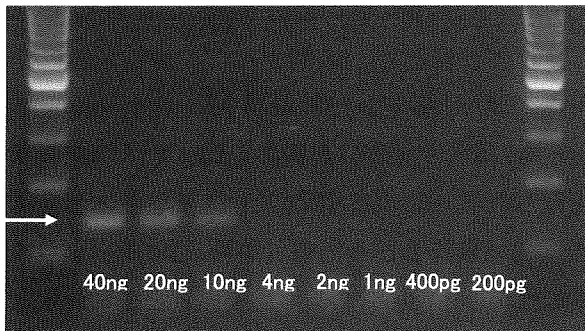


図4 オリジナル法によるウシ第13因子欠損症の検出感度

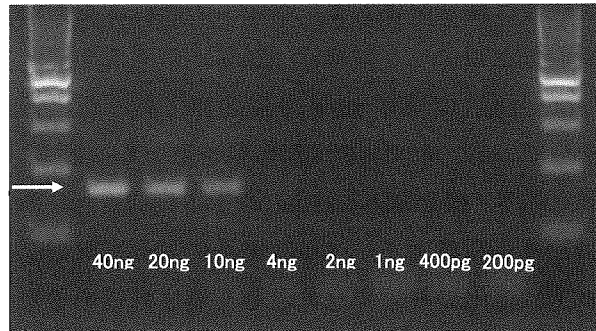


図5 オリジナル法によるチェディアックヒガシ症候群の検出感度

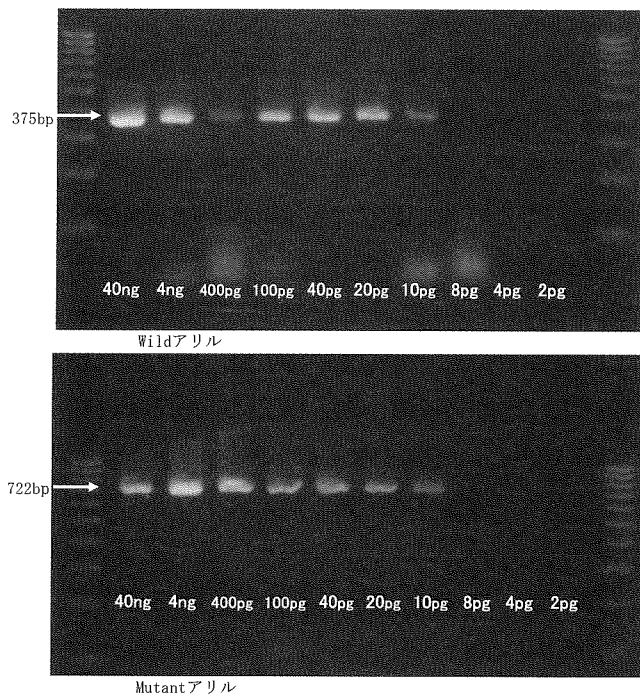


図6 ホットスタートPCRによるクローディン16タイプ1欠損症の検出感度

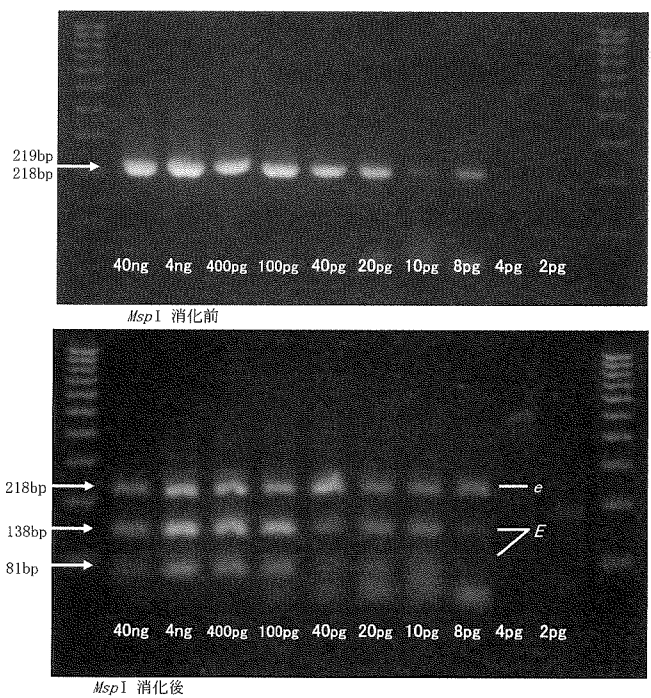


図7 ホットスタートPCRによるメラニン細胞刺激ホルモン受容体遺伝子型の検出感度

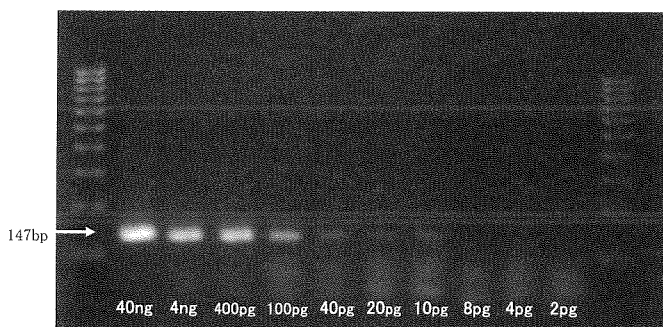


図8 ホットスタートPCRによるウシ第13因子欠損症の検出感度

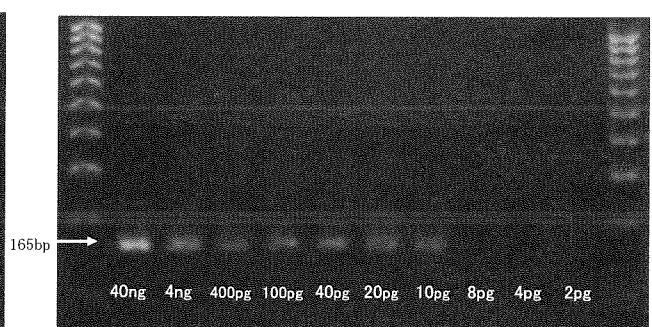


図9 ホットスタートPCRによるチェディアックヒガン症候群の検出感度

けるDNAコンタミの危険性が指摘され、後者では培養に数日を要する。ヘルニア法による採取細胞数について、青柳ら(2006)が平均39個、Leoni et al. (2000)が平均20.8個であったと報告している。我々のPCR反応系を用いることで、検出感度、採取細胞数およびウシ1細胞当たりのDNA量から考えて、ヘルニア法による採取細胞のDNA抽出のみで少なくとも6項目の遺伝子型検査が可能と考えられた。

2 移植前胚の遺伝子診断

1) 遺伝子診断結果

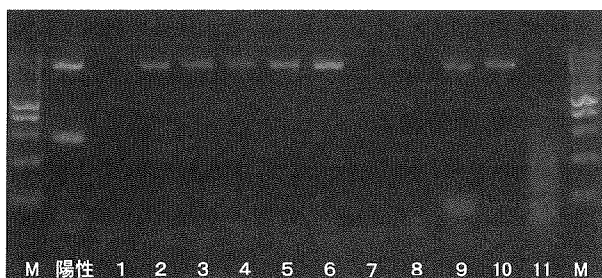
6ロット56個の胚の遺伝子診断結果を表1に示した。各項目とも、56個すべての遺伝子診断が可能であった。CL-16では保因(wild/mutant) vs 正常(wild/wild)が同数となった。今回診断を行ったCL-16、MSHRはともに常染色体単純劣性遺伝の形式をとるため(小林, 1999)、2つの遺伝性疾患保因牛である「義安福」と正常雌牛との交配では保因牛の出現は理論的には半数となるが、MSHRでの保因(E/e) vs 正常(E/E)の

表1 診断項目別の遺伝子診断結果

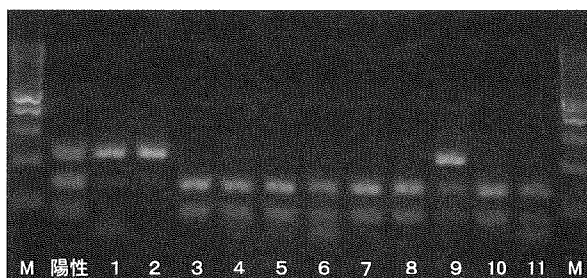
胚数	項目	判定	割合(%)
56	性	♂	24/56 (42.9)
		♀	32/56 (57.1)
	CL-16	wild/wild	28/56 (50.0)
		wild/mutant	28/56 (50.0)
	MSHR	E/E	20/56 (35.7)
		E/e	36/56 (64.3)

表2 診断項目の判定別遺伝子診断結果

性	診断項目		胚数 (%)
	CL-16	MSHR	
♂	wild/wild	E/E	7 (12.5)
		E/e	4 (7.1)
	wild/mutant	E/E	3 (5.4)
		E/e	10 (17.9)
♀	wild/wild	E/E	5 (8.9)
		E/e	12 (21.4)
	wild/mutant	E/E	5 (8.9)
		E/e	10 (17.9)



CL-16の結果
(Mutantアリの結果だけを表示。Wild アリは全検体で検出)



MSHRの結果

遺伝子診断検査結果

胚No.	性	CL-16	MSHR
1	♀	wild/wild	E/e
2	♂	wild/mutant	E/e
3	♂	wild/mutant	E/E
4	♂	wild/mutant	E/E
5	♂	wild/mutant	E/E
6	♀	wild/mutant	E/E
7	♂	wild/wild	E/E
8	♀	wild/wild	E/E
9	♂	wild/mutant	E/e
10	♀	wild/mutant	E/E
11	♀	wild/wild	E/E

※ 血統は義安福×安平×福桜



胚No. 7を移植して得られた種雄牛候補
CL-16, MSHRともに正常

図10 移植前胚の遺伝子診断及び胚移植産子の1例

割合にやや偏りがみられた。また、性別についても偏りがみられた。

この結果を性別にまとめたものが表2である。雄と判別されCL-16, MSHRともに正常と診断された胚は7個, 12.5%で, 理論値と一致した。しかし, CL-16, MSHRともに正常な雌判定胚は5個, 8.9%に留まった。

2) 移植前胚の遺伝子診断および移植胚の一例

表1および2に示した6ロットの内, ロット21C 076の結果を図10に示した。このロットは11個の胚について遺伝子診断を実施したが, 雄でCL-16, MSHRともに正常のものは1個のみ, 雌と判別されCL-16, MSHRともに正常と判定された胚は2個であった。

胚No.7を移植して得られた雄産子が写真に示す「源氏70」（平成22年8月30日生まれ，撮影時73日齢）で，妊娠期間中および分娩に伴う異常はみられず，発育良好で体型異常などは一切観察されていない。毛根を材料としたCL-16, MSHR検査の結果は双方とも正常で，移植前胚の遺伝子診断と一致した。なお，この個体は種雄牛候補として産肉能力検定（直接法）実施中である。

ウシの遺伝性疾患の多くは常染色体単純劣性遺伝の形式をとるため（小林，1999），保因牛と正常牛の交配では1/2の確率で産子に保因牛が出現する（鈴木，1999）。今回交配を行った「義安福」のように2種類の遺伝性疾患を保因する種雄牛の交配では，遺伝性疾患2種とも正常な個体は1/4の確率でしか得られない。遺伝性疾患を保因する種牛からの遺伝性疾患フリーの後継種牛生産では，性を考慮してさらに1/2を乗じた確率となるため，人工授精による生産は効率が低い。今回行った移植前胚の遺伝子診断結果はこのことを裏付けるものであり，遺伝性疾患フリー種牛の生産，遺伝性疾患保因状況の把握および産子の性別コントロールに対する遺伝子診断済み胚の移植の有用性が確認された。

今後は遺伝子診断胚の移植例数を増やし，受胎性の確認および遺伝子診断の整合性を検証していく予定である。

文 献

- 青柳和重，齋藤朗子，菅和寛，齋藤真希，小林正人，新関博夫．2004．新規法を用いたバイオブシー凍結胚による子牛の生産．平成15年度東北農業研究成果情報，360-361．
- 青柳和重，菅和寛，中嶋宏明，佐々木整輝，千代豊，星宏良．2006．多項目遺伝子診断胚からの子牛の生産．東日本家畜受精卵移植技術研究会報 22, 24-25．
- Chrenek P, Boulanger L, Heyman Y, Uhrin P, Laurincik J, Bulla J, Renard JP. 2001. Sexing and multiple genotype analysis from a single cell of bovine embryo. *Theriogenology* 55, 1071-1081.
- Garcia JF. 2001. Practical considerations of embryo manipulation : preimplantation genetic typing. *Theriogenology* 56, 1393-1399.
- Hirano T, Kobayashi N, Itoh T, Takasuga A, Nakamura T, Hirotsune S, Sugimoto Y. 2000. Nullmutation of PCLN-1/Claudin-16 results in bovine chronic interstitial nephritis. *Genome Res* 10, 659-663.
- Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Takahashi Y, Katagiri S, Toen K, Watanabe K, Notomi T, Yamashina H, Matsuzaki S, Minamihashi A. 2004. Rapid sexing of bovine preimplantation embryos using loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 62, 887-896.
- 小林正人. 1999. 黒毛和種の遺伝性疾患とその対応. *獣医臨床遺伝研究会誌* 7, 3-25.
- Leoni G, Ledda S, Bogliolo L, Naitana S. 2000. Novel approach to cell sampling from preimplantation ovine embryos and its potential use in embryonic genome analysis. *J. Reprod. Fertil* 119, 309-314.
- 小川博之. 2000. 血液に異常をきたすウシ第XIII因子欠損症. *家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略* 第1版, 169-171, シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京.
- Saito A, Aoyagi K, Sendai Y, Saito M, Kan K, Kobayashi M, Hoshi H. 2004. Efficient production of high quality biopsied, cryopreserved bovine blastocysts in a serum free medium. *Tiss. Cult. Res. Communi* 23, 139-147.
- 佐々木義之, 杉本喜憲. 2000. 予備的な知識. *家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略* 第1版, 3-5,

シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京.

Sasazaki S, Usui M, Mannen H, Hiura C, Tsuji S. 2002. Allele frequencies of the extension locus encoding the melanocortin-1 receptor in Japanese and Korean cattle. *Anim Sci J* 76, 129-132.

鈴木勝士. 1999. 集団遺伝学的手法による遺伝様式の解析と雄牛の遺伝型の判定. 獣医臨床遺伝研究会誌 3, 4-8.

高橋利清, 伊藤 隆, 西宮 弘. 2011. ウシ低ランク胚および体外操作胚の有効活用による高品質肉用牛生産技術の検討 (第1報) - 低耐凍性ウシ胚に対する超急速ガラス化保存の有効性 -. 秋田県農林水産技術センター畜産試験場研究報告 25, 42-47.

Tominaga K, Hamada Y. 2001. Gel-loading tip as container for vitrification of in vitro-produced bovine embryos. *J Reprod Dev* 47, 267-273.

Yamakuchi H, Agaba M, Hirano T, Hara K, Todoroki J, Mizoshita K, Kubota C, Tabara N, Sugimoto Y. 2000. Chediak-Higashi syndrome mutation and genetic testing in Japanese black cattle (Wagyu). *Animal Genetics* 31, 13-19.

アマニ給与が豚の発育および肉質に与える効果 (第1報)

鈴木 人志・佐々木浩一

要 約

佐々木ら (2006) はアマニを給与することにより消費者の健康志向ニーズに対応できる豚肉生産技術を確立した。本技術を生かしながら、機械化された農場での技術導入を促進する目的で、低濃度肥育後期給与技術の開発に取り組んだ。

その結果、背脂肪内層の脂肪酸組成において、既に確立した技術である5% 3W区に比較して、2%後期区の α -リノレン酸割合はやや少なく、3%後期区ではやや多いという結果が出たことから、肥育後期に給与するアマニの添加率については2%から3%の間で、前報告とほぼ同等の α -リノレン酸割合を有する豚肉生産が可能となることが示唆された。

今回の試験結果により、肥育後期への飼料切替時期に配合割合を少なくしたアマニを含む飼料に切り替えても、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。したがって、本試験結果でのアマニの給与法は機械化された農場への技術導入の上で有効な方法と考えられる。

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、佐々木ら (2006) によってアマニ5%をと畜前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。

この技術と同等の α -リノレン酸割合を保ちながら、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応できる肥育後期低濃度給与体系での実用化試験を実施した。

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」、既に確立している短期高濃度給与技術である「5% 3W区」に加え、肥育後期の全期間に渡りアマニを低濃度で給与する「2%後期区」と「3%後期区」を設けた。

また、肥育豚体重毎の飼料給与設計は表2のとおりとした。

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	重量比で配合飼料 ¹⁾ に2%の粉砕アマニを添加し、体重70 kgから給与
3%後期区	重量比で配合飼料 ¹⁾ に3%の粉砕アマニを添加し、体重70 kgから給与
5%3W区	重量比で配合飼料 ¹⁾ に5%の粉砕アマニを添加し、体重90 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

区	肥育期	肥育後期	
	(体重)	30~70 kg	70~90 kg
対照区	配合飼料 ¹⁾	配合飼料 ¹⁾	
2%後期区		アマニ2%	
3%後期区		アマニ3%	
5%3W区		配合飼料 ¹⁾	アマニ5%

1)配合飼料は、3. に示す飼料を使用

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20年2月22日から同年3月4日に分娩した計4腹の三元交雑豚（LWD）より、去勢12頭、雌12頭、計24頭を抽出し、各区6頭（去勢3頭、雌3頭）ずつ、計4区に分けて試験に供した。

3 配合飼料

肥育期間中に給与した配合飼料は、当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、TDN78.0%以上、粗たん白質16.0%以上、粗脂肪2.5%以上、粗繊維4.0%以下、粗灰分7.0%以下、カルシウム0.50%以上、りん0.40%以上）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、TDN77.0%以上、粗たん白質14.0%以上、粗脂肪2.5%以上、粗繊維5.0%以下、粗灰分7.0%以下、カルシウム0.50%以上、りん0.40%以上）を用いた。

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が付着し粉砕が困難となるため、重量比で配合飼料2に対しアマニを1の割合で混合してから粉砕した。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) 肥育および試験期間

平成20年4月23日から8月20日までとした。

2) 肥育開始

供試豚は、体重が30 kgに到達する前に、当場離乳豚房（群飼育）から検定豚舎（単房飼育）に移動させ、試験終了まで同一場所で単房飼育した。肥育開始体重は、体重が30 kgに達した時点とし、飼料は前期飼料を給与した。肥育開始から終了まで、供試豚は、すべて不断給餌および自由飲水と

した。

3) 体重測定

肥育期間中は、体重30 kgを超えた時点で子豚用飼料から前期飼料への切替時期、体重70 kgを超えた時点で前期飼料から後期飼料もしくはアマニ添加飼料への切替時期、5% 3W区においては体重90 kgを超えた時点で後期飼料からアマニ添加飼料への切替時期、各時期において週一回体重測定を行った。

4) 試験開始

体重が70 kgを超えた時点で前期飼料から後期飼料もしくはアマニ添加飼料に切替えて試験を開始した。なお5% 3W区においては体重が90 kgを超えた時点で後期飼料からアマニ添加飼料に飼料の切替えを行った。

5) 試験終了

5% 3W区ではアマニ添加飼料の給与開始から3週間後に、その他の区では体重が105 kgを超えた時点で、順次と畜、枝肉調査を行い、肉質分析用サンプルを採取した。

6) 日増体重（DG）

3) の体重測定に基づいてDGを算出した。

7) 飼料摂取量および飼料要求率

肥育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、ロース内脂肪含量、ドリップロス、肉色（L*(明度)、a*(赤色度)、b*(黄色度)、脂肪融点、脂肪酸組成について分析を行った。

表3 分析項目及び方法

項 目	方 法
ロース内脂肪含量	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。
肉色 L*、a*、b*	色差計(Z-1001DP、日本電色工業社)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 各期開始時の体重

	肥育前期開始 (kg)	肥育後期開始 (kg)	5%3W区アマニ 給与開始(kg)	出荷時(kg)
対照区	32.0±1.6	72.6±2.6	—	107.3±3.4
2%後期区	32.7±1.2	73.6±2.4	—	106.8±3.3
3%後期区	32.9±1.0	71.7±1.5	—	107.8±3.2
5%3W区	32.6±2.0	72.7±1.5	91.8±1.7	105.3±1.4

平均値±標準偏差, n=6

2%及び3%後期区は、肥育後期開始時にアマニ給与を開始

出荷時体重は、と畜日の2日前に測定

結果および考察

1 各期開始時の体重 (表4)

肥育前期開始時体重は、32.0~32.9 kgであった。肥育後期開始体重は、71.7~73.6 kgであった。またアマニ給与開始体重は、2%後期区では73.6 kg, 3%後期区では71.7 kg, 5% 3W区では91.8 kgであった。出荷時体重は、105.3~107.8

kgであった。

2 肥育期間および日増体重 (DG) (表5)

肥育前期では、肥育期間が43.2~47.8日、DGが0.86~0.93 kg/日であった。肥育後期では、肥育期間が41.2~43.5日、DGが0.77~0.85 kg/日で、アマニ給与による差はみられなかった。

表5 肥育期間および日増体重 (DG)

	肥育前期		肥育後期	
	期間(日)	DG(kg/日)	期間(日)	DG(kg/日)
対照区	47.8±4.8	0.86±0.10	43.5±7.8	0.81±0.08
2%後期区	44.3±3.3	0.93±0.06	43.5±6.7	0.79±0.17
3%後期区	43.2±2.6	0.90±0.06	43.5±6.7	0.85±0.17
5%3W区	46.7±3.3	0.86±0.06	41.2±4.8	0.77±0.14

平均値±標準偏差, n=6

表6 飼料摂取量及び肥料要求率

	肥育前期		肥育後期	
	飼料摂取量(kg)	飼料要求率	飼料摂取量(kg)	飼料要求率
対照区	101±7	2.51±0.32	120±11	3.45±0.29
2%後期区	105±14	2.55±0.22	121±13	3.64±0.53
3%後期区	96±11	2.47±0.18	120±16	3.25±0.36
5%3W区	103±12	2.57±0.28	116±8	3.47±0.30

平均値±標準偏差, n=6

表7 アマニ摂取期間及び摂取量

	アマニ摂取	アマニ総摂取	アマニ日摂取
	期間(日)	量(kg)	量(g/日)
対照区	—	—	—
2%後期区	44.5±7.3	2.37±0.25	54±8
3%後期区	44.5±7.3	3.49±0.45	80±11
5%3W区	20.0±0.0	2.57±0.27	128±14

平均値±標準偏差, n=6

3 飼料摂取量および飼料要求率 (表6)

肥育前期では、飼料摂取量が96~105 kg、飼料要求率が2.47~2.57であった。肥育後期では、飼料摂取量が116~121 kg、飼料要求率が3.25~3.64で、アマニ給与による差はみられなかった。

4 アマニ摂取期間およびアマニ摂取量 (表7)

アマニ摂取期間は、2%後期区と3%後期区で、44.5日、5%3W区では20日であった。アマニ総摂取量は、2%後期区で2.37 kg、3%後期区で3.49 kg、5%3W区で2.57 kgであった。アマニ1日摂取量は、2%後期区で54 g/日、3%後期区で80 g/日、5%3W区で128 g/日であった。

枝肉重量は、69.6～70.3 kgであった。肉質等級は1.0～1.3であった。背脂肪厚は2.0～2.2 cmであった。ロース長は56.9～57.6 cmであった。ロース芯面積は、5-6 胸椎間で19.8～22.1 cm²、11-12 胸椎間で40.1～44.9 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。

6 肉質分析結果 (表9)

ロース内脂肪含量は、1.7～2.3%であった。ドリップロス (3日後) は、3.8～4.4%であった。肉色は、L*で49.1～50.7, a*で12.1～12.2, b*で8.8～9.5であった。脂肪融点 (背脂肪内層) は、41.1～43.5℃であった。

いずれの結果においても、有意な差はみられなかったが、脂肪融点においてはアマニを給与した区において対照区よりも温度が低い傾向がみられた。これは脂肪酸組成が変化したことと関連があるものと考えられる。

7 脂肪酸組成分析結果 (表10, 図1, 図2)

背脂肪内層では、 α -リノレン酸の割合が対照区1.3%に対し、2%後期区では3.3%、3%後期区では4.4%、5% 3W区では3.7%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2.6倍～3.4倍)。また、表7に示しているアマニ総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。

バラ脂肪においても、 α -リノレン酸の割合が対照区に比較して、アマニを給与した区において有意に多くなった ($P < 0.05$)。

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 ($P < 0.05$: 背脂肪内層: 対照区8.7に対し、アマニ給与区2.7～3.5, バラ脂肪: 対照区8.5に対し、アマニ給与区2.8～3.7)、多価不飽和脂肪酸割合は有意に増加した ($P < 0.05$)。

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	70.3±2.0	1.3±0.5	2.2±0.2	57.3±2.4	22.0±2.8	41.5±6.2
2%後期区	69.8±1.6	1.3±0.5	2.1±0.2	56.9±2.5	19.8±2.3	42.1±5.0
3%後期区	70.1±1.9	1.0±0.0	2.0±0.3	57.6±2.2	20.2±3.6	40.1±3.6
5%3W区	69.6±2.0	1.2±0.4	2.0±0.2	57.0±1.1	22.1±2.8	44.9±5.0

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

	ロース内脂肪	ドリップロス	肉色			脂肪融点
	含量 (%)	3日後 (%)	L*	a*	b*	背脂肪内層 (°C)
対照区	2.2±0.8	4.4±0.9	50.5±2.3	12.2±0.5	9.5±1.2	43.5±2.0
2%後期区	1.7±0.4	4.1±0.5	50.7±2.1	12.1±0.8	9.3±0.8	42.0±1.4
3%後期区	2.3±1.3	3.8±0.9	49.1±1.7	12.1±0.8	8.8±1.1	41.1±1.2
5%3W区	1.7±0.5	3.9±0.4	50.2±0.5	12.1±0.8	9.0±0.5	42.1±1.2

平均値±標準偏差, n=6

L*: 明度, a*: 赤色度, b*: 黄色度

表10 脂肪酸組成分析結果 (単位: %)

	背脂肪内層				バラ脂肪			
	対照区	2%後期区	3%後期区	5%3W区	対照区	2%後期区	3%後期区	5%3W区
C14-0(ミリスチン酸)	1.3±0.1	1.2±0.2	1.2±0.2	1.3±0.2	1.3±0.1	1.2±0.2	1.3±0.1	1.3±0.2
C16-0(パルミチン酸)	22.6±1.0	22.0±1.7	21.7±1.5	21.6±1.0	22.5±0.6	21.9±1.5	21.7±1.1	21.8±0.9
C16-1(パルミトレイン酸)	1.4±0.3	1.2±0.2	1.1±0.3	1.2±0.2	1.6±0.3	1.4±0.3	1.6±0.3	1.5±0.2
C18-0(ステアリン酸)	19.2±1.7	19.0±1.0	18.3±1.2	18.9±0.9	16.9±1.1	17.0±0.5	16.0±1.0	16.6±0.5
C18-1(オレイン酸)	43.3±1.1	41.8±1.3	41.7±1.4	41.4±1.8	46.3±1.1	45.0±1.4	45.2±0.8	45.2±1.1
C18-2(リノール酸)	11.0±1.1	11.4±1.3	11.7±1.2	11.9±0.9	10.3±0.8	10.5±1.1	10.5±0.9	10.8±0.6
C18-3(α -リノレン酸)	1.3±0.1 c	3.3±0.3 ad	4.4±0.6 b	3.7±0.5 bd	1.2±0.1 c	2.9±0.3 a	3.7±0.4 b	2.9±0.2 a
総飽和	43.0±1.6	42.2±2.6	41.2±2.4	41.8±1.8	40.6±1.3	40.1±2.1	39.0±1.7	39.7±0.9
総不飽和	57.0±1.6	57.8±2.6	58.8±2.4	58.2±1.8	59.4±1.3	59.9±2.1	61.0±1.7	60.3±0.9
一価不飽和	44.7±1.1	43.0±1.2	42.8±1.2	42.6±1.7	47.9±1.0	46.5±1.2	46.8±0.8	46.7±1.0
多価不飽和	12.3±1.2 b	14.7±1.6 a	16.0±1.7 a	15.6±0.8 a	11.5±0.9 b	13.4±1.3 a	14.2±1.2 a	13.7±0.6 a
n-6/n-3比	8.7±0.8 c	3.5±0.1 a	2.7±0.2 b	3.2±0.5 a	8.5±0.3 c	3.6±0.1 a	2.8±0.1 b	3.7±0.4 a

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)

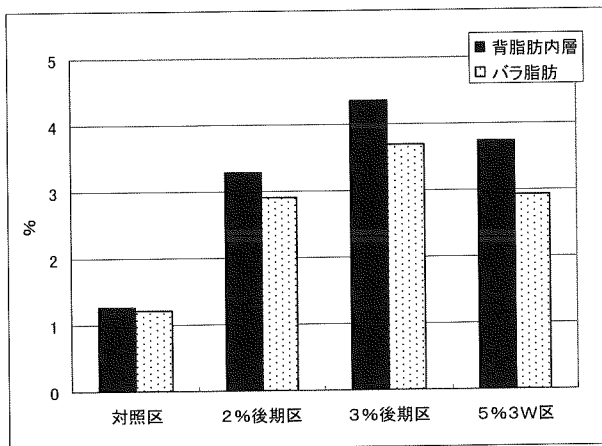


図1 α -リノレン酸割合

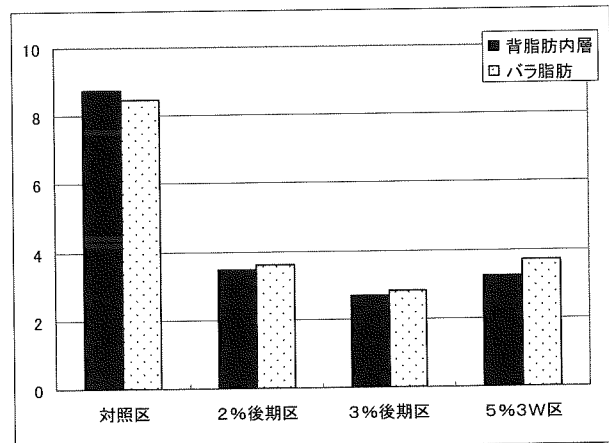


図2 n-6 / n-3比

8 考察

佐々木らは(2006)は、と畜前の3週間アマニ5%を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豚肉生産技術を確認した。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のための障壁となっ

た。今回の試験結果により、肥育後期への飼料切替時期に配合割合を少なくしたアマニを含む飼料に切り替えても、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。したがって、本試験結果でのアマニの給与法は機械化された農場への技術導入の上

で有効な方法と考えられる。

今後は、2～3%の間での詳細な添加割合に関する検討，農家導入する前段として群飼でのアマニ給与に関する詳細な検討が必要と考えている。

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.

秋田比内地鶏の出荷体重を添加物によって150g大きくする (第2報)

石塚 条次・力丸 宗弘・小松 恵

要 約

当場で種鶏群を維持している比内地鶏の雄とロードアイランドレッド種の雌を交配して比内地鶏の雌を生産し、飼料添加物によって出荷体重を150g大きくする試験を行ったところ、

- 1 市販の一般飼料を給与して、え付けから70日齢までグルコン酸ナトリウム (以下「GNA」という。)を毎日給与した試験区の発育は、添加量を変えても差はなく、対照区と同等で終了体重は2.4~2.5kgであり、GNAの発育増加効果は見られなかった。
- 2 全期間同じ飼料を給与して、出荷までの仕上げの8週間にアミノ酸を給与した区は、給与しない区と比べて発育は同等だったが、飼育費用の面で有利性はなかった。

緒 言

県内の比内地鶏の生産規模は拡大傾向が続いてきたが、品質面では出荷体重の改善についての要望が多いことから、飼料添加物を給与して腸内細菌叢の動向を調査して発育促進効果を確認し、速やかな実用化を図るとともに、仕上げ期の飼料については、筋肉中の蛋白質合成に関与するアミノ酸を添加すると生産性の向上が期待できるので、その適正な給与方法について引き続き検討した。

材料および方法

1 試験鶏および飼育期間

表1のとおり。

4月22日ふ化の鶏を用いた。

2 飼育方法および給与飼料

ふ化後、場内の第1育すう舎に移動して4段式幼すう育成器で飼育し、28日齢で廃温したあと、平飼いの試験施設に移動した。

試験区、対照区とも市販飼料を給与して、試験区にのみグルコン酸ナトリウムを0.1%または、0.2%添加した。

後期と仕上げ期にはすべての区に同一の栄養水準の飼料を給与し、アミノ酸区には98日齢から試験終了までリジンとメチオニンを標準量の1.5倍となるように添加した。

給与した飼料とその成分は表2のとおり。

3 試験区分および飼料給与法

試験区分ごとの飼料給与法は表3のとおり。

表1 試験鶏及び飼育期間

区 分	実施内容	飼育方法
鶏のふ化日	2009年4月22日	27日齢までは、バタリー
ひなの生産方式	父：比内地鶏 母：ロードアイランドレッド種	28日齢以降は、ハウスへ移動 すべて不断給餌、自由飲水 敷料はウッドシェーブ
開始羽数	各区 雌 30羽、または29羽	
試験期間	え付けから9月24日まで 155日間	

表2 給与飼料成分

給与飼料		飼料の成分	
飼料名	抗生物質	CP (%)	ME (kcal/kg)
幼すう用	有	24.0 以上	3,000 以上
中すう用	有	18.0 以上	2,850 以上
仕上用	無	16.0 以上	2,900 以上

CP：粗蛋白質，ME：代謝エネルギー

表3 試験区分及び試験飼料給与法

区分	羽数	0~27 日	羽数	28~69 日	70~97 日	98~154 日
試験区 (特別飼料添加)	雌 29	市販幼すう用	26	市販中すう用	市販仕上用	市販仕上用
試験区 (特別飼料添加)	雌 30	GNA0.1%添加	26	GNA0.1%添加		市販仕上用+アミノ酸
試験区 (特別飼料添加)	雌 30	市販幼すう用	29	市販中すう用	市販仕上用	市販別仕上用
試験区 (特別飼料添加)	雌 30	GNA0.2%添加	30	GNA0.2%添加		市販仕上用+アミノ酸
対照区	雌 30	市販幼すう用	28	市販中すう用	市販仕上用	市販仕上用
対照区	雌 30		30			市販仕上用+アミノ酸
対照区	雌 30		29			市販仕上用
対照区	雌 30		28			市販仕上用+アミノ酸

4 飼養管理

28日齢で第1育すう舎の4段式幼すう育成器から平飼いのためのパイプハウス式試験施設に移動した後、試験終了までそのまま飼育した。デビューはしていない。

飼育したパイプハウスの平面図は図のとおりで、1区画の面積は32.40㎡とし、1㎡当たりの飼育密度は1.0羽以下となった。

床面はコンクリート面の上に、直にウッドシェーブを敷いた。飼料は不断給与、水は自由飲水とした。

5 衛生管理

ワクチネーションは、次のとおり実施した。

病名

時期

M D

初生時

N D

4日齢

I B D

14日齢

N B

21日齢

F P

平飼いハウスへの移動時

6 調査項目

1) 体重

体重は、ふ化時、16日齢、28日齢、71日齢、98日齢、126日齢、155日齢に測定した。

2) 育成率

育成率は羽数確認期間の終了時点の期末羽数を、開始時点の期首羽数から期間中に解体調査お

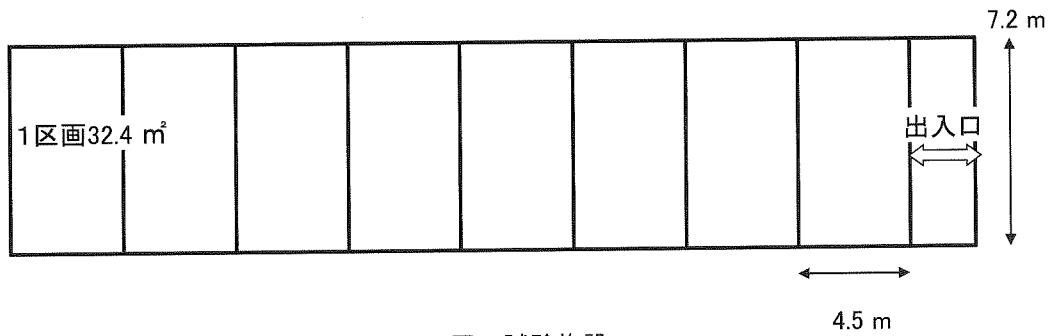


図 試験施設

表4 育成率及び発育成績

	生存羽数			(羽)	育成率%	日齢別体重 (g)										一日平均増体重 g/日						
	0日 ^a	28日	71日解体 ^b			126日	155日 ^c	c/(a-b)	0日	16日	28日	71日	98日	126日	155日							
0.1試験区※ 0.1%	29	26	26	5	21	21	87.5	40.7	3.2	139.8	14.5	324.9	29.2	1189.8	150.2	1751.4	140.9	2180.3	171.3	2486.6	217.2	15.8
0.1試験区 +アミノ酸	30	26	26	0	26	25	83.3	39.7	2.9	143.0	19.0	333.0	35.3	1206.2	179.5	1803.4	220.0	2206.7	239.1	2581.0	178.7	16.4
0.2試験区 0.2%	30	29	29	0	29	29	96.7	40.2	3.1	153.7	19.6	333.5	33.2	1219.8	115.1	1823.9	138.2	2186.0	140.4	2502.7	178.4	15.9
0.2試験区※ +アミノ酸	30	30	30	5	25	24	96.0	40.0	2.6	146.6	17.9	323.3	35.2	1216.5	147.4	1882.2	208.2	2260.7	144.2	2607.7	182.3	16.6
対照区	30	28	27	0	27	27	90.0	39.7	2.6	139.8	16.3	328.6	30.6	1211.7	127.8	1805.8	158.4	2200.5	160.9	2499.9	226.7	15.9
対照区 +アミノ酸	30	30	30	0	30	30	100.0	40.1	2.3	146.3	14.6	340.0	27.5	1198.7	153.5	1778.6	169.6	2155.5	177.9	2627.6	208.7	16.0
対照区	30	29	29	0	29	29	96.7	39.8	4.2	146.8	14.1	321.3	23.0	1240.0	100.3	1794.9	123.2	2214.4	138.1	2530.7	182.4	16.1
対照区※ +アミノ酸	30	28	28	5	23	23	92.0	40.8	3.8	147.5	15.4	328.4	27.1	1200.3	115.9	1764.1	112.4	2143.8	107.2	2445.0	127.8	15.5

注) 1. 日齢別体重は、平均値 (左側) と標準偏差 (右側)
 2. ※印の区は、71日齢で5羽解体調査した

よび事故により試験から除外した羽数を差し引いた羽数で除して算出した。

育成率＝

$$\text{育成率} = \frac{\text{期末羽数}}{\text{期首羽数} - \text{試験除外羽数}} \times 100$$

3) 飼料消費量

体重測定日に残量を測定し、給与量から差し引いて求め、途中へい死などの試験除外羽数の消費量を差し引いて消費量とした。

なお、試験除外した鶏の消費量は区内の平均値をこれに当てた。

4) 解体調査

解体調査は156日齢で、各区4羽を放血後温湯で毛抜きして解体し、各部位の重量を測定した。

5) 成分分析

試験区から2羽、対照区から1羽のもも肉を

均一に破碎して凍結し、財団法人日本冷凍食品検査協会仙台検査所に送付して一般成分、イノシン酸、遊離アミノ酸について分析を依頼した。

結果および考察

1 育成率および体重

育成率、日齢別体重および一日平均増体重は、表4のとおり。

対照区に比較して、各試験区の試験区の終了体重、一日平均増体重はおおよそ同等の成績であった。

GNAを0.2%添加した区は終了体重が2.6 kgだったが、全体として終了体重に差はなかった。

2 飼料摂取量および飼料要求率

1羽当たりの1日飼料摂取量および飼料要求率

表5 一日平均飼料摂取量及び飼料要求率

区 分	飼 育 期 間									
	0~27 日		28~70 日		71~97 日		98~155 日		通 算	
0.1試験区※ 0.1%	21.7 g	2.2	73.1 g	2.4	105.8 g	5.3	109.8 g	7.6	83.5 g	4.5
0.1試験区 +アミノ酸	21.7 g	2.2	82.5 g	4.0	100.9 g	4.6	109.6 g	7.8	85.0 g	5.2
0.2試験区 0.2%	21.4 g	2.1	83.5 g	3.0	101.6 g	4.5	102.3 g	7.7	82.1 g	4.5
0.2試験区※ +アミノ酸	21.4 g	2.1	78.9 g	3.7	109.4 g	4.6	107.5 g	8.7	82.2 g	5.0
対照区	22.2 g	2.1	87.3 g	3.2	101.1 g	4.6	105.8 g	8.2	84.7 g	4.7
対照区 +アミノ酸	22.2 g	2.1	74.1 g	3.6	98.6 g	4.6	105.2 g	8.4	80.2 g	5.0
対照区	20.9 g	2.1	82.8 g	3.9	100.5 g	4.9	104.7 g	7.8	83.3 g	5.2
対照区※ +アミノ酸	20.9 g	2.1	76.5 g	2.8	104.3 g	5.0	105.8 g	8.4	80.8 g	4.6

注) 左側が一日平均飼料摂取量(g), 右側が飼料要求率

表6 1kg増体に要した飼料及び添加物の費用

区分	1 羽当たり 飼料費 円	1 羽当たり 増体量 g	GNA		アミノ酸		1 羽当たり 費用計 円	1 kg増体 費用計 円	対照区と の比較
			添加率	費用 円	添加率	費用 円			
2 0.1試験区※ 0.1%	756.13	2446	0.1%	11.50		0.00	767.63	313.85	0.92
3 0.1試験区 +アミノ酸	888.79	2541	0.1%	12.74	0.72%	31.55	933.09	367.17	1.12
6 0.2試験区 0.2%	863.90	2462	0.2%	25.68		0.00	889.58	361.25	1.07
7 0.2試験区※ +アミノ酸	888.92	2568	0.2%	24.46	0.72%	30.95	944.33	367.78	1.14
4 対照区	888.05	2460		0.00		0.00	888.05	360.98	1.07
5 対照区 +アミノ酸	848.79	2488		0.00	0.72%	30.29	879.09	353.39	1.06
1 対照区	830.99	2491		0.00		0.00	830.99	333.62	—
8 対照区※ +アミノ酸	865.58	2404		0.00	0.72%	30.45	896.03	372.69	1.08

表7 解体部位別体重比

区 分	と体重	全骨重	正 肉 量				腹腔内脂肪	可食内臓
			うち	もも肉	むね肉	ささみ		
0.1試験区※ 0.1%	91.7 ± 1.2	17.5 ± 0.6	41.9 ± 1.3	21.6 ± 0.7	16.3 ± 1.6	4.0 ± 0.3	1.10 ± 0.75	4.17 ± 0.25
0.1試験区 +アミノ酸	91.6 ± 0.8	16.7 ± 1.1	40.1 ± 2.9	20.7 ± 1.5	15.9 ± 1.3	3.5 ± 0.2	2.46 ± 0.52	3.83 ± 0.14
0.2試験区 0.2%	93.0 ± 0.6	15.6 ± 0.4	39.8 ± 2.2	21.0 ± 1.2	15.3 ± 1.0	3.5 ± 0.3	2.82 ± 1.04	4.47 ± 0.36
0.2試験区※ +アミノ酸	92.1 ± 1.6	16.0 ± 0.7	40.3 ± 0.8	21.2 ± 0.6	15.5 ± 0.1	3.5 ± 0.3	3.00 ± 1.60	4.37 ± 0.49
対照区	93.8 ± 1.0	17.6 ± 0.1	43.2 ± 1.8	21.8 ± 0.9	17.1 ± 0.6	4.2 ± 0.3	1.17 ± 0.76	4.13 ± 0.19
対照区 +アミノ酸	93.7 ± 0.7	17.3 ± 0.8	41.5 ± 0.7	21.6 ± 0.8	16.1 ± 0.4	3.8 ± 0.4	2.56 ± 0.52	4.03 ± 0.14
対照区	92.4 ± 1.2	16.6 ± 1.3	41.1 ± 2.1	22.2 ± 0.9	15.2 ± 1.2	3.7 ± 0.3	2.70 ± 1.01	4.12 ± 0.26
対照区※ +アミノ酸	92.8 ± 1.1	16.8 ± 0.3	41.1 ± 1.3	21.2 ± 1.1	16.1 ± 0.4	3.8 ± 0.3	2.18 ± 0.82	4.39 ± 0.57

注) 数値は、平均値 (左側) と標準偏差 (右側)

は、表5のとおり。

試験区と対照区間の差は小さかった。

3 1 kg増体に要した飼料費

1羽当たりの1kg増体に要した飼料費は、表6のとおり。

GNAまたはアミノ酸を添加すると費用が掛か

り増しになる傾向があった。

4 部位別解体成績

各区の解体成績は、表7のとおり。

試験区と対照区間の差は小さかった。

5 成分分析成績

各区の成分分析成績は、表8のとおり。

表8 成分分析結果

時期	春生まれ	春生まれ	春生まれ	春生まれ
性	♀	♀	♀	♀
区分	試験	試験	試験	対照
一般成分				
水分	74.2	74.3	75.6	74.0
蛋白質	20.3	21.1	20.7	20.2
脂質	4.5	3.5	2.7	4.8
灰分	1.0	1.0	1.0	1.0
核酸関連物質				
イノシン酸	140	100	140	120
遊離アミノ酸				
イソロイシン	0	0	0	0
ロイシン	7	6	7	9
リジン	10	9	10	9
メチオニン	0	0	0	0
フェニルアラニン	0	0	0	0
チロシン	0	0	0	5
スレオニン	7	7	7	9
バリン	6	5	6	7
ヒスチジン	0	0	0	0
アルギニン	10	10	9	11
アラニン	27	23	25	23
アスパラギン酸	24	26	27	24
グルタミン酸	29	27	32	33
グリシン	13	12	12	15
プロリン	7	7	7	9
セリン	15	13	14	19

注) 単位：水分、蛋白質、脂質および灰分はg/100g, その他はmg/100g

全体として、試験区の成分は対照区の成分と比べて大きな差は見られなかった。

6 まとめ

これまで場で実施した比内地鶏の飼育試験における発育成績と比較すると、慣行飼育と同等の発育が得られることは明らかとなったが、添加量を増やしてもGNAの増体効果は確認できなかった。

8週間アミノ酸を給与した区は発育は同等だが、費用がかさむ傾向がある。

全体として、コスト面で技術の応用に改善を要するので、今後の課題としたい。

文 献

- 石塚条次, 力丸宗弘. 2005. 特定JAS規格に対応した比内地鶏生産体系の確立－秋田比内地鶏の早期出荷に適した高エネルギー飼料－. 秋田畜試研報 20, 41-45.
- 石塚条次, 力丸宗弘, 小松恵. 2009. トレーサビリティを明確にした秋田比内地鶏飼育方式の確立（第2報）. 秋田畜試研報 23, 60-65.
- 石塚条次, 力丸宗弘, 小松恵. 2010. 秋田比内地鶏飼育の出荷体重を添加物によって150 g大きくする. 秋田畜試研報 24, 32-38.
- 佐々木茂, 山本敬子, 熊谷昌則. 1999. 秋田比内地鶏雄雛の有効活用技術の確立（第1報）－飼料給与法が発育や肉質に及ぼす影響－. 秋田畜試研報 14, 31-37.

秋田比内地鶏のDNA識別手法の確立 (第4報)

力丸 宗弘・石塚 条次・小松 恵・高橋 秀彰*

*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

比内地鶏のDNA識別手法の有効性を検証するため、5つのマイクロサテライトDNAマーカー (ABR0241, ABR0311, ABR0633, ADL0250, ABR1003) を用いて比内地鶏の各部位15検体 (もも肉, むね肉, ささみ, 心臓, 肝臓, 砂肝, 脾臓, 首肉, 手羽元, 手羽先, 尻 (ぼんじり), 心臓上部 (つなぎ), 軟骨, 皮, 脂), 加工品63検体 (ガラスープ, くんせい, みそ漬, しお漬, しょうゆ漬, チキンソーセージ) 計78検体, その他の肉用鶏 (ブロイラー (95), 銘柄鶏9種類 (60), 地鶏33種類 (186)) 計341検体のDNA識別を行った。比内地鶏の各部位および加工品の識別では, すべての検体において5マーカーのPCR増幅が確認され, それぞれのマーカー型を判定できた。各検体が示すマーカー型は, 比内地鶏と矛盾しなかった。また, ブロイラーおよび銘柄鶏は, 全検体, 比内地鶏ではないと否定することができた。地鶏186検体のうち, 14検体 (7.5%) は, 比内地鶏が示すマーカー型と矛盾せず, 比内地鶏ではないと否定することができなかった。しかしながら, 特定の地鶏の全検体が, 本識別手法をすり抜けるということはなかった。以上の結果から, 市場に流通する部位肉, 内臓, 加工品すべてに比内地鶏のDNA識別手法を応用可能であること, および5マーカーの調査によって, ブロイラーおよび銘柄鶏は容易に比内地鶏と識別できることが示唆された。

緒 言

県の特産品である比内地鶏は年々出荷羽数が増加し, 県内だけでなく, 関東圏を主に需要が増えており, 平成19年には75万羽が出荷されている。しかしながら, その年, 加工肉と卵を含む比内地鶏肉の偽装表示事件が発覚し, 比内地鶏ブランド全体を揺るがす大問題となった。秋田県では, これらの問題を抜本的に解決するため, 比内地鶏ブランド認証制度を整備し, 信頼回復に努めている。こうした中で, 比内地鶏のトレーサビリティ・システムが整備されつつある。

食品のトレーサビリティとは, 食品の取り扱いの記録を残すことにより, 食品の移動を把握できるようにする仕組みである (社団法人食品需給研究センター 2003)。牛肉では2003年に牛肉のトレーサビリティに関する法律が施行され, 生産から流通に至る履歴を牛の個体番号によって管理す

るシステムが整備された (農林水産省 2003)。また, 鶏肉においても, トレーサビリティ・システム導入の動きが広がっている (社団法人食品需給研究センター 2008)。このような食品のトレーサビリティ・システムの効力を確かなものにするためには, 科学的根拠に基づいた検証が必要である。生産物の農場や品種の特定可能なDNAが明らかとなっている場合, その特徴を捉えるDNA識別手法を活用すれば, 生産, 加工および流通各段階で生産物を確認できるため, トレーサビリティ・システムの検証方法として有効である。

我々は前々報 (力丸ら 2009) において, 比内地鶏のZ染色体上のマイクロサテライトDNAマーカーを調査することによって, 比内地鶏と他の種鶏を識別する方法を報告した。この手法を基礎研究段階から実用段階に引き上げ, 比内地鶏のブランド認証制度をサポートするためには, 実際に市

場に流通する検体を用いてDNA識別手法の有効性を検証しておく必要がある。そこで、本報では、識別に有効である5つのマーカーを用いて、比内地鶏の生肉および内臓の各部位、ガラスープ、くんせいなどの加工品および実際に市場に流通しているブロイラー、銘柄鶏、地鶏を検査対象として比内地鶏のDNA識別手法の有効性の検証を行った。

材料および方法

1 供試材料

比内地鶏は、もも肉、むね肉などいわゆる「正肉」のほか、心臓、砂肝など焼き鳥を主な使用目的とする「部位肉」、内臓肉が市場に流通している。また、「きりたんぼ鍋」用のガラスープのほか、くんせい、みそ漬けなど保存の利く加工品が出回っている。そこで、秋田県農林水産技術センター畜産試験場で生産した比内地鶏の各部位（もも肉、むね肉、ささみ、心臓、肝臓、砂肝、脾臓、首肉、手羽元、手羽先、尻（ぼんじり）、心臓上部（つなぎ）、軟骨、皮、脂（腹腔内脂肪））15検体、および市販の比内地鶏加工商品6形態（ガラスープ、くんせい、みそ漬け、しお漬け、しょうゆ漬け、チキンソーセージ）63検体の合計78検体（表

1）を用いて、市場流通形態の比内地鶏のDNA識別手法の有効性の検討を行った。

次に比内地鶏ではない肉用鶏341検体（ブロイラー95検体、銘柄鶏60検体、地鶏186検体：表2）を用いて、比内地鶏と他の肉用鶏を判定できるか検証を行った。銘柄鶏および地鶏は、「鶏肉表示のガイドライン」（財団法人日本食鳥協会2007）の定義に従い分類した。「銘柄鶏」とは、両親が地鶏に比べ増体に優れた肉専用種といわれるもので、素びなの羽色が有色（褐色や黒色）のものと、通常ブロイラーと呼ばれる白い若どりの場合がある。本研究で用いた材料では、前者には中札内産赤どり、榛名百日鶏、プレノアール、三河赤鶏、みつせ鶏、古処鶏が、後者には、南部どり、森林どりが該当する。「地鶏」とは、在来種の純系によるもの、または在来種を素びなの生産の両親が片親に使ったもので在来種由来の血液百分率が50%以上の素びなから生産され、28日以降平飼い、定められた飼育密度で、80日間以上飼育する（農林水産省1999）。その多くは軍鶏や各県所有の在来種と、商社系ブロイラー（チャンキー、コブ）、白色プリマスロック、ロードアイランドレッド、横斑プリマスロックなどが複数交配されている。中には上州地鳥のように比内鶏を

表1 識別に用いた比内地鶏の各部位および加工品

	種類	検体数
生肉等	各部位*	15
加工品	ガラスープ	1
	くんせいA**	40
	くんせいB**	10
	みそ漬け	2
	しお漬け	2
	しょうゆ漬け	2
	チキンソーセージ	6
合計		78

* :もも肉、むね肉、ささみ、心臓、肝臓、砂肝、脾臓、首肉、手羽元

手羽先、尻（ぼんじり）、心臓上部（つなぎ）、軟骨、皮、脂（腹腔内脂肪）、

** :くんせいA（メーカーA）、くんせいB（メーカーB）

雄系種鶏作出に用いている事例もある。本研究では、「国産銘柄鶏ガイドブック2007」に掲載されている銘柄鶏および地鶏の交配様式を調べ、肉用鶏生産に関わる種鶏を可能な限り網羅するように銘柄鶏および地鶏肉を収集・調査した。なお、東京しゃもは、軍鶏とロードアイランドレッドを基にする在来種由来血液百分率100%の素びなから生産されるが、ケージ飼育によって生産されるため「銘柄鶏」に分類した。

本試験に用いた比内地鶏の加工品、銘柄鶏および地鶏の検体は、生産・販売関係者に対し予め本研究目的を提示し、使用承諾を得た上で鶏肉を購入し、実験に用いた。

2 DNA抽出

FTAクラシックカード (WB120205, GE Healthcare UK, Buckinghamshire, UK) を用いて、ゲノムDNAの抽出を行った。生肉および肉片を含む加工品からのDNA抽出では、肉片約0.03~0.05 gをFTAクラシックカード上で圧片し、室温で一晩風乾させた。ガラスープについては、表面に浮かぶ油をFTAクラシックカードに垂らし、同様に風乾させた。乾燥した部分から、専用の直径1.2 mmのマイクロパンチ (WB100028, GE Healthcare UK) を用いて、ディスクを5つ打ち抜き、それを0.2 mlチューブへ移した。チューブに100 μ lのFTA精製試薬 (WB120204, GE Healthcare UK) を加え、ピペティングで攪拌した後、20分間静置した。

上清を捨て、100 μ lのDNAzol BD溶液 (10974-020, Invitrogen, Carlsbad, California, USA) を加え、ピペティングで攪拌した後、20分間静置した。上清を捨て、滅菌水100 μ lで3回洗浄した。最後に、100 μ lの滅菌水を入れ、90°Cで10分間熱処理した後、上清を回収し、以下に述べるポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) の鋳型DNA溶液として用いた。DNA溶液は、PCR直前まで、-30°Cで冷凍保存した。

3 マイクロサテライトDNA多型の検出

本研究では、4つのABRマーカー (ABR0241, ABR0311, ABR0633: Takahashiら, 2005; ABR1003: Rikimaru と Takahashi 2007) と1つのADLマーカー (ADL0250, Chengら, 1995) を使用した (表3)。DNAは各2.5 pmolのプライマー, 200 μ MのdNTP, 1.2 mMのMgSO₄, 0.125 units KODPlusポリメラーゼ (KOD-201; 東洋紡, 東京), 東洋紡から供給される1×反応バッファー, 上記の鋳型DNA溶液2 μ lを含む6 μ lの反応液に調整し (表4), サーマルサイクラー (GeneAmp™ PCR System 9700: アプライドバイオシステムズ, Foster City, CA, USA) を用いてPCR増幅を行った。PCRサイクルは、94°C, 2分間の熱変性後, 熱変性 (94°C, 15秒), アニーリング (58°C, 30秒), 伸長反応 (68°C, 30秒) のサイクルを40回繰り返し, 最後に68°Cで9分30秒伸長反応を行った。PCR産物をサイズスタンダード (DN MW Standard Marker: タカラバイオ株式会社, 大津,

表2 DNA識別に用いた肉用鶏

若鶏 (95 検体)	ブロイラー
銘柄鶏 (60 検体)	中札内産赤どり、南部どり、東京しゃも、榛名百日鶏、プレノワール、三河赤鶏、森林どり、みつせ鶏、古処鶏 (9 種類)
地鶏 (186 検体)	青森シャモロック、南部かしわ、やまがた地鶏、川俣シャモ、会津地鶏、上州地鳥、栃木しゃも、やさとしやも、筑波地鶏、奥久慈しゃも、房総地どり、彩の国地鶏タマシャモ、駿河シャモ、にいがた地鶏、奥美濃古地鶏、名古屋コーチン、近江しゃも、京地どり、熊野地どり、大和肉鶏、播州地どり、丹波地どり、但馬地どり、媛っこ地鶏、道後地鶏、讃岐コーチン、土佐はちきん地鶏、土佐ジロー、天草大王、熊本コーチン、みやざき地頭鶏、さつま地鶏、烏骨鶏 (33 種類)

滋賀) と共に、DNA自動シーケンサー (モデル 3100: Perkin-Elmer, Foster City, CA, USA) を用いて電気泳動した。DNA断片の長さはGene Mapperソフトウェア (Perkin-Elmer, Foster City, CA, USA) を用いて、推定した。5つのマーカーのPCR増幅産物の長さに基づいて、マーカー型を判定した。

4 比内地鶏の判定方法

我々は、秋田県農林水産技術センター畜産試験場で飼育、維持している比内地鶏において、一つに固定した遺伝子型を示すZ染色体上のマイクロサテライトDNAマーカー14個を見出し、その活用によって、理論上、比内地鶏とその他の種鶏を識別できると報告した (RikimaruとTakahashi 2007)。すなわち、比内地鶏を父親とするF1の雌 (性染色体の核型: ZW) のZ染色体は、比内地鶏のそれに由来するので、比内地鶏の雌は、比内地鶏と全く同じマーカー型を示す。また、F1の雄 (同: ZZ) においても一方のZ染色体は比内地鶏に由来するので、一方は比内地鶏で固定したマーカー型を示す。

本研究では、14個のマーカーのうち他種鶏との識別率が相対的に高い5個のマーカーを選定し、すべてのマーカーにおいて比内地鶏由来の遺伝子型が検出された場合、「比内地鶏と矛盾しない」と判定し、そうでない場合は「比内地鶏ではない」と判定した。

結果および考察

比内地鶏の各部位および加工品の判定結果を表5に示した。各検体・各マーカーが示すマーカー型は、すべて比内地鶏と矛盾しなかった。

PCR法は、本研究のように特定鶏種に由来する鶏肉の識別や、肉種識別のためのDNA検出に用いられているが、食肉の処理とPCRの検出限界について検討した報告がいくつかある。たとえば、Matsunagaら (1999) は、ウシ、ブタ、ニワトリ、ヒツジ、ヤギおよびウマの種特異的なシトクロームb (cytb) 遺伝子を同時に検出するマルチプレックスPCR法を開発した。その中で、120°C、30分間熱処理した肉からDNAを抽出し、同法に

表3 識別に用いたマイクロサテライトDNAマーカー

Marker	Forward primer (5' → 3')	Reverse primer (5' → 3')	References
ABR0241	ATACACTCGGCAAGCCAGAC	CCCGGATCAGCTCATAAAGAC	Takahashi et al. (2005)
ABR0311	CCTAAAGCAGGAAGGCAGAA	TTGGAGCATTTGTGGAGAAG	Takahashi et al. (2005)
ABR0633	AGTATGTTATTGCCTGTGGC	TTTGGGAGAAGGAATGTTGT	Takahashi et al. (2005)
ADL0250	AAGCCGTACTGAGAAGCACT	CAGGCACAGTAGAAAAGAAC	Hu et al. (2001)
ABR1003	AGAGGTAGGCGATGGACCAA	ATGCACCAAGTGACCAGGGAC	Rikimaru and Takahashi (2007)

表4 PCR反応液の組成

	使用量
鋳型DNA溶液	2.0 μ l
10×PCRバッファー	0.6 μ l
2 mM dNTPミックス	0.6 μ l
25 mM MgSO ₄	0.288 μ l
プライマーF (200 μ M)	0.0125 μ l
プライマーR (200 μ M)	0.0125 μ l
KOD DNA ポリメラーゼ (1 U/ μ l)	0.125 μ l
滅菌蒸留水	2.362 μ l
全量	6.0 μ l

KOD DNA ポリメラーゼ: KOD-Plus-(東洋紡)

よる種特異的なcytbの検出を試みた時、増幅サイズを439 bpに設定したウマのサンプルではPCR増幅が認められず、それより増幅サイズが398~157 bpと短い他の5種では、通常のPCR増幅が認められたと報告した。そして、ウマにおいても、より短いDNA断片を増幅するよう改善すれば、この問題は解決するであろうと考察した。Pascoalら(2005)は、BSEプリオンタンパク質の不活性化処理(133°C/300 kPaで20分間、および121°Cで2時間オートクレーブ)を施した牛肉から抽出したDNAからでも、増幅サイズを115 bpに設定したウシのcytbのPCR増幅が可能であると報告した。Arslanら(2006)は、肉の調理を想定して、煮沸した場合(97.5°Cで最長230分)、オートクレーブした場合(120°Cで最長90分)、オーブンで焼いた場合(200°Cで最長150分)、フライパンでソテーした場合(45分間、肉の内部温度115°C、フライパンの油の温度173°C)などの処理をした牛肉からでも、271 bpのPCR産物の増幅が可能であると報告した。一方、本研究で用いた加工品は、市販のものであり、どのような高温、高圧処理を施されたかは不明である。しかしながら、通常の加工品であれば、Pascoalら(2005)やArslanら(2006)が検討したほど、厳しい条件で肉を処理することは想像できない。なぜならば、たとえばArslanら(2006)の最も厳しい条件で肉を処理した場合、視覚的においしいと感じないほど、煮崩れていたり、焼けこげてしまったりしていることが容易に想像され、そのような加工商品は消費者に受け入れられないからである。また、5つのマーカのPCR増幅サイズは、最も長いものでもABR0633の261 bpと短く、このことも有利に働き、本研究では、加工品においても何ら問題なく、5マーカのPCR増幅と型判定に成功したものと推察される。

今回対象とした加工品の中で、ガラスープは、きりたんぼ鍋のスープの素として広く流通してい

るが、スープの本体部分からのDNA抽出やDNAマーカのPCR増幅は困難であった。そこで、脂(腹腔内脂肪)のDNA識別が可能であったことをヒントに、スープに浮遊する油の中にDNAが含まれている可能性について検討した結果、ガラスープについてもマーカのPCR増幅と型判定ができた。我々は、先に、卵殻からのDNA抽出方法を開発し、比内地鶏卵のDNA識別が可能であることを報告した(RikimaruとTakahashi 2009)。これに本研究結果を加えることによって、比内地鶏を使用したほとんどの比内地鶏商品が、DNA検査の対象となりうることを実証したことになる。しかしながら、加工品では原材料に比内地鶏肉を100%使っていないか、比内地鶏を何パーセント使用しているかといった具体的な表示義務がない。そのため、原材料に比内地鶏肉を100%使用していない加工品や、殻が付いていない卵の加工品のDNA識別はできない。

比内地鶏とその他の肉用鶏の判定結果を表6に、またその他の肉用鶏における、比内地鶏とその矛盾が検出されたマーカ数とサンプル数の内訳を表7に示した。調査したプロイラーおよび銘柄鶏は、すべて「比内地鶏ではない」と否定できた。偽装表示として、生産コストが相対的に安いプロイラーを比内地鶏と偽るケースは想定されるため、本法は有効な識別手法になると考えられる。一方、地鶏のうち、7.5%(186検体中14検体)は、「比内地鶏ではない」と否定できなかった。しかしながら、本法では、比内地鶏を「比内地鶏ではない」と誤判定することはなかったし、調査した特定の地鶏の全検体が、この検査をすり抜けるといったこともなかった。また、偽装表示として、その他の地鶏を比内地鶏と偽るケースはほぼ想定外である。したがって、本研究で用いた5マーカによる検査は、比内地鶏のDNA識別法として、実効性が担保されているものと考えられる。一部比内地鶏ではないと否定できない地鶏肉のサン

表5 比内地鶏の各部位および加工品における判定結果

サンプル	判定結果		識別率
	比内地鶏と矛盾しない	比内地鶏ではない	
各部位			
もも肉	1	0	100%
むね肉	1	0	100%
ささみ	1	0	100%
心臓	1	0	100%
肝臓	1	0	100%
砂肝	1	0	100%
脾臓	1	0	100%
首肉	1	0	100%
手羽元	1	0	100%
手羽先	1	0	100%
尻(ぼんじり)	1	0	100%
心臓上部(つなぎ)	1	0	100%
軟骨	1	0	100%
皮	1	0	100%
脂(腹腔内脂肪)	1	0	100%
加工品			
ガラスープ	1	0	100%
くんせいA	40	0	100%
くんせいB	10	0	100%
みそ漬け	2	0	100%
しお漬け	2	0	100%
しょうゆ漬け	2	0	100%
チキンソーセージ	6	0	100%
合計	78	0	100%

表6 肉用鶏での判定結果

	No. Samples	判定結果		識別率
		識別可能	識別不可	
ブロイラー	95	95	0	100%
銘柄鶏	60	60	0	100%
地鶏	186	172	14	92.5%
合計	341	327	14	95.9%

ルが見られたが、調査マーカー数を増やすことで対応可能と考えている。

以上の結果から、今回提示した5マーカーを調べることで、比内地鶏の各部位、加工品のDNA識別が可能であること、特にスープの形態でも油

が回収できればDNA識別が可能であることを示した。また、ブロイラーおよび銘柄鶏は、容易に比内地鶏と識別できることが示唆された。

謝 辞

表7 プロイラー、銘柄鶏および地鶏における、比内地鶏との矛盾が検出されたマーカー数とサンプル数の内訳

	矛盾が検出されたマーカー数				合計
	0 個	1 個	2 個	3 個以上	
プロイラー	0	2	14	79	95
銘柄鶏	0	3	10	47	60
地鶏	14	50	62	60	186

本研究を遂行するにあたり、本研究目的にご理解をいただき、鶏肉の購入にご賛同いただきました各県の肉用鶏生産、販売関係者の方々に深甚の謝意を表します。

文 献

- Arslan A, Ilhak I, Calicioglu M. 2006. Effect of method of cooking on identification of heat processed beef using polymerase chain reaction (PCR) technique. *Meat Science* 72, 326-330.
- Cheng HH, Levin I, Vallejo RL, Khatib H, Dodgson JB, Crittenden LB, Hillel J. 1995. Development of a genetic map of the chicken with markers of high utility. *Poultry Science* 74, 1855-1874.
- 国産銘柄鶏ガイドブック2007. 社団法人日本食鳥協会. 東京.
- Matsunaga T, Chikuni K, Tanabe R, Muroya S, Shibata K, Yamada J, Shinmura Y. 1999. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51. 143-148.
- Pascal A, Prado M, Calo P, Cepeda A, Barros-Velázquez J. 2005. Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction method. *European Food Research and Technology* 220, 444-450.
- Rikimaru K, Takahashi H. 2007. A method for discriminating a Japanese brand of chicken, the Hinai-jidori, using microsatellite markers. *Poultry Science* 86, 1881-1886.
- 力丸宗弘・石塚条次・小松恵・高橋秀彰. 2009. 秋田比内地鶏のDNA識別手法の確立(第2報). 秋田農技セ畜試研究報告 23, 54-59.
- Rikimaru K, Takahashi H. 2009. A simple and efficient method for extraction PCR-amplifiable DNA from chicken eggshells. *Animal Science Journal* 80, 220-223.
- 食品トレーサビリティシステム導入の手引き. 社団法人食品需給研究センター. 東京. 2003.
- Takahashi H, M Tsudzuki, O Sasaki, J Niikura, M Inoue-Murayama, M Minezawa. 2005. A chicken linkage map based on microsatellite markers in an intercross of Japanese Large Game and White Leghorn. *Animal Genetics* 36, 463-467.
- 鶏肉トレーサビリティ導入の手引き. 社団法人食品需給研究センター. 東京. 2005.
- 牛の個体識別のための情報の管理及び伝達に関する特別措置法. 農林水産省. 東京. 2003.

高度不飽和脂肪酸と鶏肉とのおいしさの関連性の解明 (第1報)

—比内地鶏とブロイラーの肉質評価—

力丸 宗弘・高橋 大希・小松 恵・石塚 条次・清原 玲子*・山口 進*・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

比内地鶏は一般的なブロイラーより官能評価が良好である。本研究では、鶏肉のおいしさに影響する要因を特定するため、比内地鶏とブロイラーのもも肉における一般成分、遊離アミノ酸、イノシン酸、脂肪酸組成の分析および官能評価を行った。比内地鶏とブロイラーを同じ日にふ化し、① 8 週齢ブロイラー区、② 22 週齢ブロイラー区、③ 22 週齢比内地鶏区の 3 区を設定した。比内地鶏とブロイラーを同じ環境下で飼育し、8 および 22 週間同じ飼料を給与した。8 週齢ブロイラー区は 22 週齢比内地鶏区より遊離アミノ酸とグルタミン酸含量が有意に高かった。22 週齢比内地鶏区は 8 週齢ブロイラー区よりイノシン酸含量が有意に高かったが、22 週齢比内地鶏区と 22 週齢ブロイラー区に有意な差は認められなかった。これらの結果からイノシン酸含量は肉用鶏間の違いよりむしろ日齢 (週齢) 間の違いを反映していることが示唆された。一方、アラキドン酸含量は比内地鶏とブロイラーとの間で有意な差が認められた。また、「蒸し肉」あるいは「スープ」の官能評価においても 22 週比内地鶏区は 22 週ブロイラー区より有意に味、うまみ、こくみ、後味が強く、嗜好性が高かった。これらの結果からアラキドン酸が比内地鶏のおいしさに関与している可能性が示唆された。しかしながら、比内地鶏のアラキドン酸含量とおいしさとの関与を解明するためには更なる研究が必要である。

緒 言

鶏肉の「おいしさ」を構成する主な要素は、味、香り、歯ごたえとされている。このうちの味と香りを合わせたものは「風味」と呼ばれる。食肉の呈味は主として甘味、塩味、酸味、苦味およびうま味からなる五基本味に加え、肉用の味およびこくが主とされ、鶏肉ではアミノ酸の一種であるグルタミン酸や核酸の一種であるイノシン酸などのうま味を呈する成分が味の形成に重要であると考

えられている (Katoら 1989)。また、食肉の「おいしさ」は屠殺後の貯蔵 (熟成) によっても影響を受け、肉を熟成させることによって、風味の向上が見られる (Nishimuraら 1988)。鶏肉の熟成期間は、牛や豚と比較して短く、通常、低温下で約一日間とされ、この間にイノシン酸などの核酸

関連物質が増し、風味が向上するとされている。4℃で保存した鶏肉では、イノシン酸は屠殺後の ATP (アデノシン三リン酸) の分解により生じ、屠殺 8 時間後に最高値に達し、その後緩やかに減少する (Terasakiら 1966)。一方、脂質や脂肪酸は、香気や歯ごたえに影響するが、鶏肉では肉中の粗脂肪含量が少ないため、グルタミン酸やイノシン酸などのうま味成分が「おいしさ」の中心と考えられている。

比内地鶏は一般的なブロイラーより官能評価が良好である (畠山ら 1983)。Fujimuraら (1994) は比内地鶏はブロイラーと比較してイノシン酸含量が高いことから、うま味の違いはグルタミン酸とイノシン酸含量のバランスによるものと示唆している。これまで、地鶏においてグルタミン酸を

含む遊離アミノ酸やイノシン酸などの肉質特性に関する研究が数多く行われているが、その結果は報告によって異なる。唐澤ら(1989)は地鶏のもも肉中の遊離アミノ酸とグルタミン酸含量はブロイラーよりも有意に高いことを報告している。一方、他の研究では、グルタミン酸を含む遊離アミノ酸はブロイラーの方がむしろ多く、イノシン酸含量も有意な差は認められていない(福永ら1989;伊藤ら1996;松石ら2005)。また、松石ら(2005)はブロイラーから作ったスープは地鶏のスープよりおいしい傾向があると報告している。これらの研究結果は遊離アミノ酸、グルタミン酸、イノシン酸が鶏肉のおいしさに関与していることを示唆しているが、遊離アミノ酸、グルタミン酸、イノシン酸含量の違いが本当に地鶏のおいしさに関与しているのかどうかは明確ではない。福永ら(1989)は、地鶏肉が普通のブロイラーより美味であることは、少なくとも遊離アミノ酸やイノシン酸による呈味が主要因ではないと推測している。また、松石ら(2005)も肉のおいしさを特徴づけている要因は、味ではなく、加熱レバー香気も一部含む特有香と特有の豊かな噛みごたえであると考察している。さらに、過去の研究では、地鶏とブロイラーの肉質を評価する際、それぞれの鶏に適した飼育が行われているため、飼育期間や給与飼料などの環境要因が斉一ではなく、比較する鶏の週齢や給与飼料も異なる。

これまでの研究結果から、鶏肉のおいしさに影響する要因を特定するためには、同一環境において肉用鶏間の肉質特性における違いを検出する必要があると考えられる。そこで、本研究では、比内地鶏のおいしさに影響する要因を特定するため、環境要因に焦点を合わせ、同一飼養管理における比内地鶏とブロイラーの肉質特性を比較することとした。

材料および方法

1 供試材料

比内地鶏とブロイラーの雌びなを同一日に同じふ卵器でふ化し、18羽の比内地鶏と18羽のブロイラーをそれぞれ放飼場が付随したハウスで22週齢まで飼育した。飼育期間は、平成20年8月20日から平成21年1月21日までの22週間とした。飼料は同一とし、2週齢まで前期飼料(ME3,050 kcal/kg, CP22%以上)、3から22週齢まで後期飼料(ME3,250 kcal/kg, CP17%以上)を給与した。飼料は不断給餌とし、水は自由飲水とした。試験区はブロイラーと比内地鶏の出荷時期を考慮し、①8週齢ブロイラー区、②22週齢ブロイラー区、③22週齢比内地鶏区の3区とした。

2 肉質分析

8週齢および22週齢に各区から5羽をランダムに抽出し、18時間絶食した後、体重測定を行い屠殺した。放血脱毛後、と体の温度が8℃まで下がるまですぐに氷水で冷やし、30分間と体をつるした。と体を解体し、もも肉の骨を抜いた後、皮を取り除き、もも肉を家庭用のミートチョッパー(No.5-A; Veritas, 東京)でミンチした。その後、サンプルを分析するまで-30℃で保存した。

1) 一般成分

水分は135℃で2時間オープン乾燥法により測定した。粗タンパク質含量は、自動ケルダール窒素測定システム(SuperKjel 1400; Actac Co., 東京)を用いて測定した。粗脂肪含量は自動分析装置(Soxtec 2050; FOSS Analytical Co., Hilleroed, デンマーク)を用いてエーテル抽出法で測定した。

2) イノシン酸および遊離アミノ酸

(1) イノシン酸

5gの肉を2分間15mlの蒸留水により均質化した。ホモジェネートは20分間4℃10000×gで遠心分離した。上清を0.45 μmの薄膜フィルターにかけ、濾過はHPLC(1100 HPLC series; Agilent Technologies Co., 東京)を用い

て分析した。

(2) 遊離アミノ酸

5 gの肉を0.1% 2-メルカプトエタノール 22.5 mlおよび50% (W/V)トリクロロ酢酸 3 mlにより均質化した。ホモジェネートは3時間以上静置後、20分間4℃ 10000×gで遠心分離した。上清を回収し、ろ紙で濾過した。濾過のpHを2.3に調整後、遊離アミノ酸をアミノ酸分析器 (JLC-500/V; JEOL Co., 東京) を用いて分析した。

3) 脂肪酸組成

Folchら (1957) の方法に従って、肉約3 gにクロロホルムメタノール (2:1, vol/vol) 80 mlを加え脂肪を抽出した。抽出脂肪を20%ホウ素3フッ化メタノール化合物でメチル化し (Morisonら, 1964), ガスクロマトグラフィー (GC-1700; 島津製作所, 京都) を用いて測定した。カラムは50℃から170℃まで10℃/分加温, 続いて170℃から210℃まで1.2℃/分で加温のプログラムで分析した。注入口と検出温度は250℃とし, 搬送ガスはヘリウムで, 流量は1.5 ml/分とした。クロマトグラフはコンピューティングインテグレーター (C-R7A plus; 島津製作所) で記録した。脂肪酸は標準の脂肪酸のメチル・エステル相対的保有倍率を比較することによって確認し, 相対的比率は合計したピーク面積の割合として同定した。

3 官能分析

22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区のもも肉を「蒸し肉」または「スープ」にして官能評価を行った。官能評価には, 歯ごたえの影響を無くすため, もも肉をひき肉にし, 電子レンジで加熱した「蒸し肉」と, 水を加え30分直火加熱し固形物を除いた「スープ」の二品目を用いた。

1) 「蒸し肉」の準備

もも肉を一晩4℃で解凍し, 皮を取り除き, ミートチョッパー (No.5-A; Veritas) で2度挽ぎした。ひき肉を20 gずつふた付きの電子レンジ用PP容

器に入れ, 500 Wの電子レンジで40秒加熱し, 蒸したてを評価した。

2) 「スープ」の準備

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分加熱し, 煮出した。その後, 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ずつプラカップに分注し, 温かい状態 (60℃) で評価を行った。

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16名のパネラーによって, 分析型パネルによる五段階評点法により実施した。パネラーは22週齢ブロイラー区をコントロール (評点=0)として評価を行い, コントロールに対して22週齢比内地鶏区が強い/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」の評価では, 11項目 (香りの強さ, 香りの好ましさ, 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, 肉の臭みの強さ, 肉の硬さ, 全体の好ましさ)について評価を行った。「スープ」の評価では, 肉の硬さのかわりに塩味の強さについて評価を行った。

4 統計処理

肉質の分析には, Excel統計2006ソフトウェア (Social Survey Research Information, 東京) を用い, Tukey, Bonferroni, Scheffeの多重比較検定により試験区の比較を行った。官能評価の分析には, Wilcoxonの符号順位差検定により試験区の比較を行った。P値がすべての多重比較テストにおいて0.05未満の時に試験区間の有意差とした。

結 果

1 一般成分

もも肉中の一般成分 (水分, 粗タンパク質, 粗

脂肪含量)を表1に示した。

8週齢ブロイラー区は22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より水分含量が有意に高かった。22週齢比内地鶏区は8週齢ブロイラー区および22週齢ブロイラー区より粗タンパク質含量が有意に高かった。22週齢ブロイラー区は8週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より粗脂肪含量が有意に高かった。

2 イノシン酸および遊離アミノ酸含量

もも肉中の遊離アミノ酸およびイノシン酸含量を表2に示した。8週齢ブロイラー区は遊離アミノ酸総量が22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より有意に高かった。検出されたアミノ酸のうち8週齢ブロイラー区はセリン、グルタミン、プロリン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ルチン、チロシン、フェニルアラニン、

表1 もも肉の一般成分

項目	8週齢ブロイラー区		22週齢ブロイラー区		22週齢比内地鶏区	
体重(g)	2632.4 ±	252 ^b	5778.0 ±	491.7 ^a	2188.0 ±	119.0 ^c
水分(g/100g)	74.1 ±	1.3 ^a	70.8 ±	1.6 ^b	71.3 ±	0.3 ^b
粗タンパク質(g/100g)	19.4 ±	0.4 ^b	19.8 ±	0.9 ^b	21.0 ±	0.4 ^a
粗脂肪(g/100g)	5.5 ±	1.2 ^b	8.5 ±	1.8 ^a	6.3 ±	0.5 ^b

異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

表2 もも肉の遊離アミノ酸およびイノシン酸

項目	8週齢ブロイラー区		22週齢ブロイラー区		22週齢比内地鶏区	
遊離アミノ酸、mg/100g						
アスパラギン酸	27.6 ±	5.3	26.4 ±	6.8	22.6 ±	1.5
スレオニン	11.0 ±	2.6	8.6 ±	1.7	7.8 ±	1.9
セリン	31.2 ±	9.6 ^a	20.0 ±	1.2 ^b	18.0 ±	2.1 ^b
アスパラギン	8.2 ±	1.8 ^a	6.2 ±	1.3 ^{ab}	5.0 ±	0.7 ^b
グルタミン酸	38.8 ±	4.9 ^a	23.6 ±	5.0 ^c	31.2 ±	1.3 ^b
グルタミン	92 ±	20.0 ^a	66.4 ±	5.5 ^b	57.4 ±	6.7 ^b
プロリン	6.2 ±	1.9 ^a	4.0 ±	0.0 ^b	3.4 ±	0.5 ^b
グリシン	22.2 ±	6.0 ^a	18.2 ±	2.3 ^{ab}	13.8 ±	2.3 ^b
アラニン	35.2 ±	9.9 ^a	27.6 ±	3.3 ^{ab}	22.0 ±	1.9 ^b
バリン	6.4 ±	1.7 ^a	4.2 ±	0.4 ^b	4.2 ±	0.4 ^b
メチオニン	3.6 ±	0.9 ^a	2.0 ±	0.0 ^b	2.0 ±	0.0 ^b
イソロイシン	4.4 ±	1.1 ^a	2.4 ±	0.5 ^b	2.0 ±	0.0 ^b
ロイシン	9.0 ±	2.1 ^a	4.6 ±	0.5 ^b	4.4 ±	0.5 ^b
チロシン	5.6 ±	1.1 ^a	2.6 ±	0.5 ^b	3.8 ±	0.4 ^b
フェニルアラニン	4.4 ±	1.1 ^a	2.6 ±	0.5 ^b	2.2 ±	0.4 ^b
ヒスチジン	5.8 ±	1.1	5.4 ±	0.5	4.6 ±	0.5
リジン	18.0 ±	7.7	11.0 ±	1.0	10.4 ±	1.1
アルギニン	12.2 ±	5.7 ^a	6.8 ±	1.5 ^b	5.8 ±	0.8 ^b
遊離アミノ酸総量、mg/100g	341.8 ±	66.3 ^a	242.6 ±	16.6 ^b	220.6 ±	13.0 ^b
イノシン酸、mg/100g	131.2 ±	19.8 ^b	143.6 ±	9.5 ^{ab}	156.6 ±	8.4 ^a

異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

アルギニンが22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より有意に高かった。また、8週齢ブロイラー区はアスパラギン、グリシン、アラニンが22週齢比内地鶏区より有意に高かった。アスパラギン、グリシン、アラニンは8週齢ブロイラー区と22週齢ブロイラー区、22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区との間に有意な差は認められなかった。グルタミン酸は8週齢ブロイラー区で最も高く、22週齢ブロイラー区で最も低かった。イノシン酸含量は22週齢比内地鶏区が8週齢ブロイラー区よりも有意に高かったが、8週齢ブロイラー区と22週齢ブロイラー区、22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区との間に有意な差は認められなかった。

3 脂肪酸組成

もも肉中の脂肪酸組成を表3に示した。アラキドン酸は、22週齢比内地鶏区が8週齢ブロイ

ラー区および22週齢ブロイラー区よりも有意に高かった。しかし、22週齢比内地鶏区の α -リノレン酸は8週齢ブロイラー区および22週齢ブロイラー区よりも有意に低かった。ミリスチン酸は22週齢ブロイラー区が8週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より有意に高かった。一方、パルミトレイン酸は8週齢ブロイラー区が22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区より有意に高かった。ヘプタデカン酸は22週齢ブロイラー区が8週齢ブロイラー区より有意に高かったが、8週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区および22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区との間に有意な差は認められなかった。エイコサトリエン酸は8週齢ブロイラー区が22週齢比内地鶏区より有意に高かったが、8週齢ブロイラー区と22週齢ブロイラー区および22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区との間に有意

表3 もも肉の脂肪酸組成 (%)

項目		8週齢ブロイラー区	22週齢ブロイラー区	22週齢比内地鶏区
ミリスチン酸	C14:0	0.68 ± 0.04 ^b	0.90 ± 0.07 ^a	0.72 ± 0.04 ^a
ミリストレイン酸	C14:1	0.08 ± 0.08	—	—
パルミチン酸	C16:0	21.56 ± 0.80	21.46 ± 0.74	20.68 ± 0.83
パルミトレイン酸	C16:1	4.14 ± 0.54 ^a	2.80 ± 0.07 ^b	3.02 ± 0.43 ^b
ヘプタデカン酸	C17:0	0.14 ± 0.05 ^a	0.24 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.00 ^{ab}
ヘプタデセン酸	C17:1	—	0.16 ± 0.05	0.06 ± 0.09
ステアリン酸	C18:0	7.12 ± 0.53	7.52 ± 0.34	7.80 ± 0.66
オレイン酸	C18:1	43.26 ± 1.32	43.24 ± 0.77	43.72 ± 1.11
リノール酸	C18:2	17.06 ± 1.56	18.06 ± 0.59	17.48 ± 1.23
α -リノレン酸	C18:3	1.16 ± 0.15 ^a	1.26 ± 0.13 ^a	0.94 ± 0.05 ^b
エイコセン酸	C20:1	0.4 ± 0.00	0.32 ± 0.04	0.42 ± 0.04
エイコサジエン酸	C20:2	0.26 ± 0.05	0.20 ± 0.00	0.20 ± 0.00
エイコサトリエン酸	C20:3	0.26 ± 0.05 ^a	0.18 ± 0.04 ^{ab}	0.16 ± 0.05 ^b
アラキドン酸	C20:4	1.42 ± 0.27 ^b	1.26 ± 0.33 ^b	1.92 ± 0.04 ^a
ドコサテトラエン酸	C22:4	0.32 ± 0.04	0.24 ± 0.05	0.30 ± 0.00
ドコサペンタエン酸	C22:5n-6	0.24 ± 0.05	0.02 ± 0.04	—
ドコサペンタエン酸	C22:5n-3	—	0.12 ± 0.11	0.20 ± 0.00
ドコサヘキサエン酸	C22:6	0.2 ± 0.07 ^b	0.24 ± 0.11 ^{ab}	0.38 ± 0.04 ^a
未同定		1.7 ± 0.20	1.78 ± 0.24	1.80 ± 0.12

異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

な差は認められなかった。ドコサヘキサエン酸は22週齢比内地鶏区が8週齢ブロイラー区より有意に高かったが、8週齢ブロイラー区と22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区との間に有意な差は認められなかった。

4 官能評価

22週齢ブロイラー区および22週齢比内地鶏区の「蒸し肉」および「スープ」官能評価の結果を図1, 2に示した。グラフは22週齢ブロイラー区を0点とした場合の22週齢比内地鶏区の評点平均値を示している。各項目の点数がプラスに転じるほど、その項目が「強い」または「好ましい」ということを示している。「蒸し肉」では、22週齢比内地鶏区が22週齢ブロイラー区に対して香りの強さ、香りの好ましさ、全体の味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さ、肉の臭みの強さ、全体の好ましさが有意に高まった。「スープ」においても、「蒸し肉」と同様に全体の味の強さ、うま味の強さ、コク味の強さ、後味の強さ、塩味の強さ、全体の好ましさが有意に高まっ

た。

考 察

一般的に動物では、日齢とともに体と筋肉の構成が変化し、粗タンパク質および粗脂肪含量が増加し、水分が減少する (Aberleら 2001)。Fanaticoら (2007) は、発育が遅い系統は発育が早い系統より粗タンパク質含量が多いことを報告している。本研究では、8週齢ブロイラー区は22週齢ブロイラー区より水分含量が高く、22週齢ブロイラー区は8週齢ブロイラー区より粗脂肪含量が高く、22週齢比内地鶏区は22週齢ブロイラー区より粗タンパク質含量が高かった。これらの数値の変動は日齢に関連しているかもしれない。日本では、消費者はむね肉よりもも肉を好む傾向にあり、むね肉の市場価格はもも肉よりも安く、需要が少ない (日本食鳥協会 2009)。遊離アミノ酸、グルタミン酸、イノシン酸は鶏肉のおいしさに関連すると考えられているが、むね肉の遊離アミノ酸総量はもも肉よりも高く (Millerら 1965; 三枝ら 1987)、イノシン酸含量はもも肉よ

■比内地鶏 ◆ブロイラー

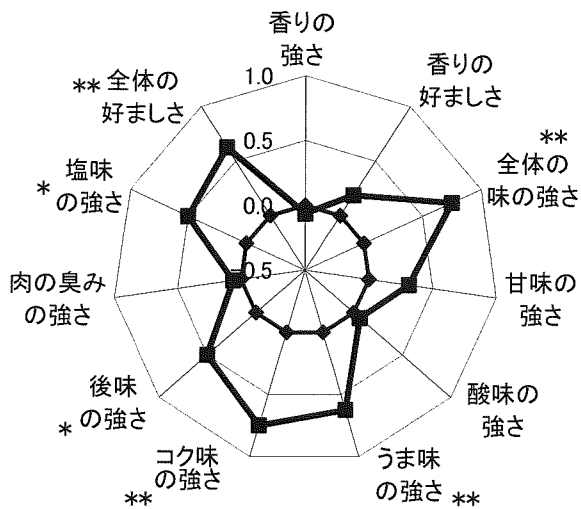


図1 22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区におけるスープの官能評価

* P < 0.05, ** P < 0.01 N = 16

■比内地鶏 ◆ブロイラー

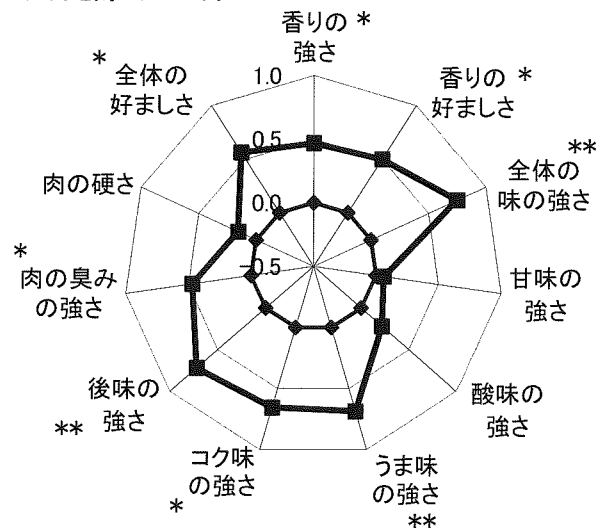


図2 22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区における蒸し肉の官能評価

* P < 0.05, ** P < 0.01 N = 16

りもむね肉の方が高い（Terasakiら 1965；DavidekとKhan 1967；唐澤ら 1989；Vaniら 2006）。本研究では、①日本でもも肉はむね肉よりも好まれること、②日本の消費者の好みに合致する要因がもも肉において有力であることから、もも肉の分析を行うこととした。

鶏肉のイノシン酸含量は日齢に応じて増加する（DavidekとKhan 1967；ChowとJacobson 1968；山下ら 1976；北田ら 1983）ことが報告されており、我々もブロイラーのイノシン酸含量において同様の傾向を確認した。Fujimuraら（1994）は8週齢の比内地鶏のイノシン酸含量は8週齢のブロイラーよりも高いことを報告しているが、本報告は出荷日齢における比内地鶏とブロイラー間のイノシン酸含量の差を示した最初の報告である。イノシン酸含量は22週齢ブロイラー区と22週齢比内地鶏区との間に有意な差は認められないことから、比内地鶏とブロイラーのイノシン酸含量の違いは単に日齢の差が反映されているかもしれない。

イノシン酸や遊離アミノ酸含量とは反対に、もも肉中のアラキドン酸含量はむね肉よりも肉で高く、体重の増加とともに直線的に減少する（KompradaとZelenka 2005）。本研究では、22週齢比内地鶏区のアラキドン酸含量は8および22週齢ブロイラー区よりも有意に高かった。Fujimuraら（1996）は8週齢のブロイラーと8および22週齢の比内地鶏においてアラキドン酸を含む9つの主な脂肪酸組成に有意な差はないことを確認しているが、アラキドン酸を含む肉中の脂肪酸組成は飼料中の脂肪酸によって影響を受けることが報告されている（Marion 1965）。Fujimuraら（1996）の研究では、ブロイラーには6.5%のフィッシュミールが6から8週齢まで給与されているが、比内地鶏は6から10週齢まで4.0%のフィッシュミール、11から18週齢まで0.5%のフィッシュミールが給与されている。本

研究では、比内地鶏とブロイラーは試験期間を通して穀物を基礎とした同じ飼料を給与した。それゆえ、肉中のアラキドン酸は穀物から合成され、比内地鶏とブロイラー間のアラキドン酸含量の差は肉用鶏間の差を反映していることが示唆された。

官能評価では、「蒸し肉」・「スープ」の両方において、22週齢比内地鶏区は22週齢ブロイラー区に対してうま味、コク味、後味の強さなどが有意に強まり、全体的に味が濃いという結果が得られた。これらの結果から、アラキドン酸含量の多さが比内地鶏の特徴であり、アラキドン酸が比内地鶏肉のおいしさに関与していることが示唆された。わずかに酸化したアラキドン酸には調理した鶏肉に類似した風味があることが報告されている（Van Dropら 1966）。また、最近、アラキドン酸を含む多価不飽和脂肪酸と食品の嗜好性との関係が報告されている（清原ら 2009）。アラキドン酸を数%添加した植物油で調整したコロケ、炒飯、野菜スープは有意にうま味、コク味、後味などが強まり、嗜好性も高まる傾向がみられる。これらの研究は、アラキドン酸が鶏肉の風味とおいしさの両方に関与していることを示唆している。しかしながら、比内地鶏のアラキドン酸含量とおいしさとの関与を解明するためには更なる研究が必要である。

謝 辞

本研究の一部は、農林水産省「アグリゲノム研究の総合的な推進」（動物ゲノム情報を活用した新需要創造のための研究）委託研究によるものです。

文 献

Aberle, E. D., J. C. Forrest, D. E. Gerrard, E. W. Mills, H. B. Hedrick, M. D. Judge, and R. A. Merkel. 2001. Principles of Meat Science. 4th

- ed. Kendall Hunt Publications, Dubuque, IA.
- Chow, I. S., and M. Jacobson. 1968. Inosine monophosphate, inosine, and hypoxanthine in meat from broiler 5, 7, and 9 weeks of age. *Poult Sci* 47, 604-608.
- Davidek, J., and A. W. Khan. 1967. Estimation of inosinic acid in chicken muscle and its formation and degradation during post-mortem aging. *J. Food Sci* 32, 155-157.
- Fanatico, A. C., P. B. Pillai, J. L. Emmert, and C. M. Owens. 2007. Meat quality of slow- and fast-growing chicken genotypes fed low-nutrient or standard diets and raised indoors or with outdoor access. *Poult. Sci* 86, 2245-2255.
- Folch, J., M. Lee, and G. H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem* 226, 497-509.
- Fujimura, S., T. Muramoto, M. Katsukawa, T. Hatano, and T. Ishibashi. 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. *Anim. Sci. Technol* 65, 610-618.
- Fujimura, S., H. Koga, H. Takeda, N. Tone, M. Kadowaki, and T. Ishibashi. 1996. Chemical compositions of pectoral meat of Japanese native chicken, Hinai-jidori, and broiler of the same and marketing age. *Anim. Sci. Technol* 67, 541-548.
- 福永隆生, 古賀克也, 舞田祐二, 松岡尚二. 薩摩鶏交雑種の胸肉およびもも肉の遊離アミノ酸, カルノシンおよび5'-イノシン酸含量. *鹿大農学術報告* 39, 223-232.
- 畠山義祝, 赤川淳美, 本郷直樹, 八槻三千代. 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—. *秋田県畜産試験場試験成績報告書*. 昭和56年度. 67-79.
- 伊藤秀夫, 尾関教生, 吉田行夫, 加藤貞臣, 河村孝彦, 坪内涼子, 吉野昌孝, 申七郎. 名古屋コーチン (名古屋種) 鶏肉の食品組織的特性 (第3報) コーチンの蒸しもも肉の組織構造とその成分について. *日本調理科学会誌* 29, 168-177.
- 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.
- Kato H., M.R. Rhue, and T. Nishimura. 1989. Role of amino acids and peptides in food taste. A. C. S. Symposium Series, American Chemical Society 388, 158-174.
- 北田善三, 蓮池秋一, 佐々木美智子, 谷川薫, 堀内龍太郎, 弓場秀雄. 1983. 鶏肉中のATP関連化合物の分析と消長. *日本食品工業学会誌* 30, 19-22.
- 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.
- Komprda, T., and J. Zelenka. 2005. Arachidonic acid and long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in chicken and turkey meat in relation to dietary fat sources. *J. Agric. Food. Chem* 53, 6804-6812.
- Marion, J. E. 1965. Effect of age and dietary fat on the lipids of chicken muscle. *J. Nutrition* 85, 38-44.
- 松石昌典, 加藤綾子, 石毛教子, 堀剛久, 石田雄祐, 金子紗千, 竹之中優典, 宮村陽子, 岩田琢磨, 沖谷明紘. 2005. 名古屋コーチン, プロイラーおよび合鴨肉の食味特性の比較. *日畜会報* 76, 423-430.
- Miller, J. H., L. E. Dawson, and D. H. Bauer. 1965. Free amino acid content of chicken muscle from broilers and hens. *J. Food Sci* 30, 406-411.

- Morrison, W. R., and L. M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetates from lipid with boron trifluoride methanol. *J. Lipid Res* 5, 600-608.
- 日本食鳥協会. 2009. 低需要部位の新規用途の研究開発事業.
- Nishimura, T., K., M. R. Rhue, A. Okitani, and H. Kato. 1988. Components contributing to the improvement of meat taste during storage. *Agric. Biol. Chem* 52, 2323-2330.
- 三枝弘育, 平野直彦, 尾沢進二, 合田之久, 島田直吉, 斉藤季彦. 1987. 軍鶏交雑鶏とブロイラーの浅胸筋および大腿筋における遊離アミノ酸含量の差異. *日畜会報* 58, 707-710.
- Terasaki, M. M. Kajikawa, E. Fujita, and K. Ishii. Studies on the flavor of meats. 1965. Part 1. Formation and degradation of inosinic acids in meats. *Agric. Biol. Chem* 29, 208-215.
- Van Dorp, D. A., P. Akroyd, and L. Mindt. 1966. Unsaturated aldehydes and their use in flavoring food. British Pat. No. 1034352.
- Vani, N. D., V. K. Modi, S. Kavitha, N. M. Sachindra and N. S. Mahendrakar. 2006. Degradation of inosine-5' -monophosphate (IMP) in aqueous and layering chicken muscle fibre systems: Effect of pH and temperature. *LWT-Food Sci. Technol* 39, 627-632.
- 山下近男, 石本佳之, 目加田博行, 海老沢昭二, 村井武彦, 野中進. 1976. ブロイラーの肉質改善に関する研究 (II) 週齢の相違が風味に及ぼす影響. *日本家禽学会誌* 13, 14-18.

比内地鶏への玄米給与が発育および肉質に及ぼす影響

小松 恵・力丸 宗弘・石塚 条次

要 約

比内地鶏の仕上げ期に玄米によるトウモロコシの25%~全量代替が発育および肉質に及ぼす影響を調査した。発育成績、解体成績、肉色および一般成分において、玄米代替による影響は認められなかった。もも肉筋肉内脂肪の脂肪酸組成では、C18:1の割合が75%以上の玄米代替により有意に増加($P < 0.05$)し、C18:2の割合が50%以上の玄米代替により有意に減少($P < 0.05$)した。n-6/n-3比は玄米代替により有意に低下($P < 0.05$)した。以上より、玄米によるトウモロコシの代替給与は発育成績などに影響はなく、n-6/n-3比の低い脂肪酸組成を持つ比内地鶏肉が生産できることが示唆された。

緒 言

我が国では飼料の大半を海外からの輸入に依存しており、濃厚飼料の自給率は10%に留まっている。近年、バイオエタノールの需要拡大などにより、平成18年の秋以降トウモロコシの国際価格が高騰し、その影響を受けた配合飼料価格の値上げが畜産農家の経営を圧迫している。飼料価格は現在も高止まりを続け、国産飼料の確保が大きな課題として取り上げられるなかで、その対応策として飼料用米の利用に期待が集まっている。

比内地鶏の生産農家からも地域で生産可能な飼料用米の給与と技術が求められている。仕上げ期に市販配合飼料の10~30%を玄米で代替給与した平成20年度の試験では、飼育成績は慣行と差のない結果であった。しかしこの方法では玄米割合をさらに高めた場合、CPやMEの変化による生産性の低下を招くおそれがある。

そこで本試験では、トウモロコシを段階的な割合で、すなわち25%、50%、75%および全量を玄米により代替し、比内地鶏の発育および肉質へ及ぼす影響について調査した。

材料および方法

1 供試鶏

平成21年5月13日餌付けの比内地鶏の雌 150

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週齢までは幼雛用育成飼料(CP24.0%, ME 3,000 kcal/kg)、4週齢から9週齢まではブロイラー肥育前後期用配合飼料(CP19.0%, ME 2,900 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 試験期間

9週齢から22週齢まで(平成21年7月15日~10月14日)とした。

4 試験区分および給与飼料

試験区分は表1のとおり、市販のブロイラー肥育後期用配合飼料(CP16%, ME 2,900 kcal/kg)のみ給与の慣行区と、穀類(トウモロコシおよび玄米)の配合割合を4水準に設定した4つの試験区の計5区を設けた。試験区飼料に配合する飼料用米は、平成20年産の秋田63号の玄米を破碎したものをを用いた。供試羽数は各区30羽とした。

5 調査項目

発育成績は9, 14, 18, 22週齢時に全羽の体重測定を行った。

表1 試験区分および給与飼料の成分 (計算値)

		慣行区	25%代替区	50%代替区	75%代替区	100%代替区
玄米割合	(%)	0.0	16.6	33.2	49.8	66.9
トウモロコシ割合	(%)	66.0	49.6	33.4	17.1	0.3
穀類割合	(%)	66.0	66.2	66.6	66.9	67.2
CP(粗蛋白質)	(%)	16.00	16.51	16.38	16.25	16.11
ME(代謝エネルギー)	kcal/kg	2,900	2,920	2,924	2,929	2,933
供試羽数	羽	30	30	30	30	30

慣行区の穀類にはマイロを含む。

玄米のCPは7.1%(分析値), その他は日本標準飼料成分表より試算。

飼料摂取量は, 体重測定時に残量を測定し, 給与量から差し引いて求めた。

解体調査は, 22 週齢の体重が区の平均値に比較的近い 5 羽を選び, 約 24 時間絶食させ, 放血と殺後解体し, と体, 可食内臓, 腹腔内脂肪, および正肉各部位の重量を測定した。

肉質分析には皮をとってミンチにしたもも肉を供した。

肉色は, 測色色差計 (Z-1001DP, 日本電色工業) により L* (明度), a* (赤色度), b* (黄色度) を測定した。

水分は乾燥法, 粗蛋白質はケルダール法, 粗脂肪はエーテル抽出法により定量を行った。

脂肪酸組成は(財)日本食品分析センターに分析を依頼した。

6 統計処理

Tukey法による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

発育成績を表2に示した。

平均体重の推移において, 18 週齢では100%代替区と比較して25%代替区の体重が有意に大きかったが, 慣行区や他区との有意な差は認められなかった。また, 14 週齢, 22 週齢時においても各区間に有意な差は認められなかった。9~14 週

の期間の1日当たり増体量では, 100%代替区が最も少なく, 慣行区や25%代替区と比較して有意に低かった。14~18 週では各区間に差は認められなかった。18~22 週では, 75%代替区および100%代替区は慣行区および25%代替区より有意に増体量が多かった。飼料摂取量は25%代替区が最も多く, 100%代替区が最も少なかった。飼料要求率は100%代替区が最も低い値を示した。

2 解体成績

解体成績を表3に示した。

生体重に占める割合は, すべての部位において各区間に有意な差は認められなかった。

3 肉色および一般成分

もも肉の肉色および一般成分について表4に示した。

L* (明度), a* (赤色度), b* (黄色度), 水分含量, 粗蛋白質含量および粗脂肪含量は, それぞれ区間に有意な差は認められなかった。

4 脂肪酸組成

もも肉の筋肉内脂肪における脂肪酸組成を表5に示した。

C16:0は, 慣行区と比較して50%代替区で有意に高かったが, 25%代替区, 75%代替区および100%代替区とは有意な差が認められなかった。C18:1は, 75%代替区および100%代替区で, 慣行区および25%代替区よりも有意に高かった。C18:2は, 50%代替区, 75%代替区および100%

表2 発育成績

		慣行区	25%代替区	50%代替区	75%代替区	100%代替区
体重						
9 週齢	g	1016.9	1015.9	1014.0	1014.3	1017.6
14 週齢	g	1784.8	1810.5	1725.5	1756.0	1710.0
18 週齢	g	2269.3 ^{ab}	2329.7 ^a	2219.9 ^{ab}	2245.7 ^{ab}	2211.6 ^b
22 週齢	g	2531.8	2564.9	2509.3	2567.7	2558.1
増体量						
9~14 週	g/日	21.9 ^a	22.7 ^a	20.3 ^{ab}	21.2 ^{ab}	19.8 ^b
14~18 週	g/日	17.3	18.5	17.7	17.5	17.9
18~22 週	g/日	9.4 ^a	8.4 ^a	10.3 ^{ab}	11.5 ^b	12.4 ^b
9~22 週	g/日	16.6	17.0	16.4	17.1	16.9
飼料摂取量						
9~14 週	g/日	94.8	93.1	89.2	89.4	85.4
14~18 週	g/日	105.6	110.6	104.3	99.6	102.3
18~22 週	g/日	114.6	113.8	113.2	116.8	116.0
9~22 週	g/日	104.1	104.6	101.4	100.8	99.9
飼料要求率		6.25	6.14	6.17	5.91	5.90

行内異符号間に有意差あり($P < 0.05$)

表3 解体成績 (生体重に対する各部位の割合)

		慣行区	25%代替区	50%代替区	75%代替区	100%代替区
L*(明度)		52.2	51.6	51.4	51.4	52.0
a*(赤色度)		13.9	14.7	14.6	15.3	14.3
b*(黄色度)		14.4	14.1	13.7	13.7	13.8
水分	%	73.5	74.1	73.3	73.9	73.8
粗脂肪	%	4.5	4.8	4.9	5.2	4.8
粗蛋白質	%	21.0	20.9	20.3	20.4	20.6

n=5

表4 もも肉の肉色および一般成分組成

		慣行区	25%代替区	50%代替区	75%代替区	100%代替区
と体	%	90.05	92.58	93.00	92.42	91.99
可食内臓	%	4.49	4.95	4.38	4.49	4.56
腹腔内脂肪	%	2.77	2.57	2.80	3.64	2.61
もも肉	%	20.53	21.15	20.59	21.24	21.09
むね肉	%	12.51	12.49	12.40	12.85	12.61
ささみ	%	3.91	3.74	3.93	3.70	4.01

n=5

代替区で、慣行区および25%代替区よりも有意に低かった。飽和脂肪酸は、50%代替区、75%代替区および100%代替区で慣行区と比較して有意に高かった。一価不飽和脂肪酸は、75%代替区および100%代替区で慣行区と比較して有意に高かった。多価不飽和脂肪酸は、50%代替区、75%代替区および100%代替区において、慣行区

および25%代替区よりも有意に低かった。n-6/n-3比は玄米代替により低下し、すべての試験区において慣行区より有意に低い値を示した。

考 察

本試験は、比内地鶏の仕上げ期において玄米によるトウモロコシの代替給与が発育および肉質に

表5 脂肪酸組成

	(%)				
	慣行区	25%代替区	50%代替区	75%代替区	100%代替区
C14:0(ミリスチン酸)	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8
C14:1(ミリストレイン酸)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
C16:0(パルミチン酸)	23.8 ^a	24.1 ^{ab}	26.1 ^b	25.5 ^{ab}	25.4 ^{ab}
C16:1(パルミトレイン酸)	4.8	5.2	5.1	5.0	6.0
C17:0(ヘプタデカン酸)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C18:0(ステアリン酸)	7.7	7.6	8.3	8.4	7.9
C18:1(オレイン酸)	38.8 ^a	38.7 ^a	40.2 ^{ac}	41.9 ^{bc}	43.3 ^b
C18:2n-6(リノール酸)	18.2 ^a	17.5 ^a	14.3 ^b	13.0 ^{bc}	10.7 ^c
C18:3n-3(α -リノレン酸)	0.7	0.8	0.7	0.7	0.8
C20:1(エイコセン酸)	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
C20:2n-6(エイコサジエン酸)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:3n-6(エイコサトリエン酸)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:4n-6(アラキドン酸)	1.9	1.5	1.4	1.4	1.5
C22:4n-6(ドコサテトラエン酸)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
C22:5n-3(ドコサペンタエン酸)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C22:6n-3(ドコサヘキサエン酸)	0.4	0.6	0.4	0.4	0.4
未同定	1.5	1.6	1.3	1.4	1.4
飽和脂肪酸	32.5 ^a	32.7 ^{ab}	35.3 ^c	34.9 ^c	34.3 ^{bc}
一価不飽和脂肪酸	44.0 ^a	44.4 ^{ab}	45.8 ^{ab}	47.4 ^{bc}	49.9 ^c
多価不飽和脂肪酸	22.0 ^a	21.3 ^a	17.6 ^b	16.4 ^{bc}	14.4 ^c
n-6/n-3比	16.4 ^a	11.8 ^{bc}	12.9 ^b	11.5 ^{bc}	9.0 ^c

行内異符号間に有意差あり(p<0.05)。n=3

及ぼす影響を明らかにする目的で行った。慣行区飼料は市販のものを用い、試験飼料に占める玄米割合は、25%代替区の16.6%から100%代替区の66.9%と段階的に大きく異なる割合に設定した。配合の都合によりCP、ME値を揃えられなかったため、CPは25%代替区が16.51%と最も高く、次いで50%代替区、75%代替区、100%代替区、慣行区の順に低くなり、MEは代替割合の増加に伴って高い値となっている。小宮山ら(1983)は、ブロイラーの増体量や腹腔内脂肪は後期のME水準の増加に伴い直線的に増加し、飼料摂取量は減少すると報告している。比内地鶏では、仕上げ期飼料のME水準を2,800 kcal/kgあるいは3,000 kcal/kgとすると、3,000 kcal/kgが明らかに増体性に優れ、飼料要求率が低いと報告している(千田ら1992)。本試験において、22週齢時体重の比較では各区に有意な差は認められなかったが、飼料要求率は代替割合の増加により低くなる傾向がみられた。これについては、玄米代替の影響というよりはME水準の差が原因となっている可能

性が考えられる。なお今回腹腔内脂肪量への影響はみられなかった。

1日当たりの増体量では、試験開始後の9~14週では玄米代替割合の高い100%代替区の増体量が慣行区と比較して有意に少なかったが、18~22週では逆に75%代替区および100%代替区の増体量が慣行区や25%代替区より有意に多かった。しかし、9~22週の全期間では差は認められなかった。このことは、玄米代替飼料の給与開始から5週間程度は増体が慣行区より劣るが、試験終了前4週間には慣行区を上回り、終了時には慣行区と同等の増体が得られたことを示している。この理由については明らかにできなかった。

飼料用米によるトウモロコシの代替給与によりキサントフィルが減少し、採卵鶏では卵黄色がうすくなる(杉本ら1985)。また、松川ら(1982)はブロイラーで飼料米の割合を増やすと皮と肉の色が薄くなるとしている。本試験ではもも肉のL*, a*およびb*のいずれも区間に差がなく、目視でも肉色の違いは識別できなかった。今回の試

験では、見た目を大きく左右すると考えられる皮や皮下脂肪について調査していないため、今後検討する必要がある。

西藤 (2009) は、玄米をトウモロコシに代替して産卵鶏へ給与することにより、全卵脂肪酸のうちC16:0やC18:1が増加し、C18:2は低下すること、またn-6/n-3比は8前後から5前後に低下することを報告している。後藤ら (2010) も、同様に卵黄の脂肪酸組成においてn-6/n-3比が12前後から8前後に低下すると報告している。本試験では、玄米代替によりC18:1の増加とC18:2の減少が認められた。C18:2は鶏が体内で合成できない必須脂肪酸であるため、トウモロコシと玄米の配合割合の違いに起因する飼料中のC18:2割合の違いが筋肉内脂肪の脂肪酸組成に反映したと考えられる。通常生物の体内において飽和脂肪酸と一価不飽和脂肪酸は合成可能であるが (相井ら1994)、一価不飽和脂肪酸のC18:1が増加したのは、C18:2の減少に伴う相対的な増加や飼料からの移行によるものと考えられる。

日本人の栄養所要量においてn-6系脂肪酸とn-3系脂肪酸の比率は健康な人で4~5:1程度が適当としている。本試験においてn-6/n-3比は玄米代替によりすべての試験区で慣行区よりも有意に低下した。最も低い値を示した100%代替区のn-6/n-3比は9.0であり、目安とされる比率より高いものの、消費者の健康志向に即した変化であることは間違いない。

以上より、比内地鶏仕上げ期に給与する配合飼料の6割以上を占めるトウモロコシを玄米で代替すると、発育成績などに影響はなく、n-6/n-3比の低い脂肪酸組成を持つ比内地鶏生産が可能であることが示唆された。

今回の試験では破碎玄米を利用しているが、粉すりや破碎の手間とコストを考えると全粒粉米の利用が望ましい。また、食味への影響についても今後の検討課題である。

謝 辞

本研究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

- 相井孝允, 石田修三, 佐野幸人, 清水隆司, 津留崎正信, 早澤宏紀, 宮田透. 1994. 高付加価値鶏卵・肉の生産技術—多量にn-3系脂肪酸を含む鶏卵・鶏肉の生産—. 畜産コンサルタント 9月号, 10-31.
- 浅野目謙之ほか. 2009. 飼料用米の生産・給与技術マニュアル (第1版). 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構.
- 厚生労働省. 2009. 日本人の食事摂取基準 (2010年版).
- 小宮山恒, 細川明, 仲沢弘. 1983. ブロイラーの飼養管理技術に関する試験. ブロイラーの肉質, 特に脂肪蓄積の抑制に関する試験 (第I報) 試験-1: 飼料中のCP, ME含量が脂肪蓄積に及ぼす影響. 山梨県畜産試験場研究報告 30, 92-102.
- 西藤克己. 2009. 飼料用米給与で構築連携 産卵と卵質への影響評価~高付加価値化と差別化に向けて~. 養鶏の友. 4月号. 15-19.
- 杉本俊明, 斎藤勝久, 船山一郎. 1985. 採卵鶏に対する飼料米の給与試験. 栃木県畜産試験場研究報告 1. 3-15.
- 千田惣浩, 佐々木専悦, 畠山義祝. 1992. 比内交雑鶏の技術実証試験 (第3報) —仕上げ飼料における栄養水準の検討—. 秋田県畜産試験場研究報告 7. 99-103.
- 松川誠夫, 造田高市. 1982. ブロイラーに対する飼料米給与試験. 香川県畜産試験場研究報告 20. 64-68.
- 文部科学省. 2005. 五訂増補日本食品標準成分表 脂肪酸組成成分表編.

飼料作物推奨品種選定試験
 —飼料用とうもろこし（平成21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、15品種について調査した。

7月、8月は気温や日照時間が平年を下回る日が多く生育や黄熟期に達する時期はやや遅れ気味であったが、収量はほぼ平年並みであった。TX448は、昨年度に引き続き乾物収量、TDN収量の成績が良好であったため、秋田県奨励品種として指定された。

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21年5月8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日以上品種 6,061本/10a

1区当たり5畦、畦間75cm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。

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	TH667	95~100	タキイ種苗
2	LG3490	105	雪印種苗
3	TH680	105	タキイ種苗
4 奨励 標準	36B08	106	パイオニア
5	KE8600A	108	カネコ種苗
6	34N84	108	パイオニア
7 奨励 標準	セシリア	115	パイオニア
8	X7H287	115	パイオニア
9	KD660	116	カネコ種苗
10	31P41	120	パイオニア
11	SH7701	120	雪印種苗
12	TX448	120	タキイ種苗
13	KH8007	120	カネコ種苗
14	HE0798	120	雪印種苗
15 標準	32F27	126	パイオニア

3) 播種日

平成 21 年 5 月 8 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 15 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(農林水産技術会議事務局 2001)。

結果および考察

播種は 5 月 8 日に行った。発芽に要した日数は 10~11 日と平年並みで、播種から発芽期までの気温、日照時間、降水量も平年並みであった。

生育特性について表3に示した。

播種後 40 日 (6 月 16 日) に調査した初期生育草丈は平年よりも 17~20 cm 低かった。これは、

6 月上旬の日照時間が平年よりも少なかったこと、5 月下旬から 6 月中旬までの降水量が平年よりも少なかったことが要因と考えられる。TX448 の初期生育草丈は標準品種である 32F27 に比較して 2 cm ほど高かった。

絹糸抽出期 (7 月 21 ~ 31 日に観察された) は平年よりも 1~2 日遅かった。これは、7 月下旬の気温が平年よりも低かったこと、7 月上旬から下旬までの日照時間が平年よりも少なかったことが要因であると考えられる。収穫適期である黄熟期に達する日数は平年よりも 1 週間ほど遅かった。これは 8 月下旬から 9 月中旬までの気温が平年よりも低かったことが要因と考えられる。しかし、収量は、ほぼ平年並みであった。

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

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	倒伏 (%)	折損 (%)	稈長 (cm)	着雌穂高 (cm)
1	TH667	95~100	54.2	7/21	9/16	黄中	0.2	0.2	273	122
2	LG3490	105	54.4	7/27	9/16	黄中	0.1	0.3	278	122
3	TH680	105	59.9	7/27	9/16	黄中	0.0	0.3	252	129
4	標準 36B08	106	54.1	7/21	9/16	完初	0.0	0.1	212	111
5	KE8600A	108	51.9	7/27	9/16	黄中	0.1	0.2	241	111
6	34N84	108	58.9	7/23	9/16	黄中	0.1	0.2	228	118
7	標準 セシリア	115	58.6	7/27	9/17	黄初	0.0	0.2	253	140
8	X7H287	115	61.4	7/27	9/17	黄中	0.0	0.2	261	127
9	KD660	116	51.7	7/30	9/17	黄中	0.0	0.3	270	140
10	31P41	120	50.7	7/27	9/17	黄中	0.0	0.1	265	115
11	SH7701	120	45.9	7/30	9/24	黄初	0.0	0.2	284	141
12	TX448	120	53.6	7/30	9/24	黄中	0.0	0.3	284	129
13	KH8007	120	53.5	7/27	10/1	黄初	0.0	0.5	273	120
14	HE0798	120	50.6	7/27	10/1	黄中	0.0	0.2	263	123
15	標準 32F27	126	51.8	7/27	10/1	黄中	0.0	0.4	282	134

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		
			(kg/10a)	標比 (%)	茎葉 (kg/10a)	雌穂 (kg/10a)	総重 (kg/10a)	標比 (%)		DCP (kg/10a)	TDN (kg/10a)	標比 (%)
1	TH667	95~100	6,240	106	1,744	781	2,526	94	31	135	1,618	87
2	LG3490	105	6,099	104	1,316	1,154	2,470	91	47	140	1,683	90
3	TH680	105	6,574	112	1,569	1,150	2,719	101	42	152	1,822	98
4	標準 36B08	106	5,889	100	1,351	1,350	2,701	100	50	155	1,864	100
5	KE8600A	108	5,615	95	924	1,054	1,978	73	53	115	1,382	74
6	34N84	108	6,403	109	1,260	1,224	2,484	92	49	142	1,709	92
7	標準 セシリア	115	7,113	100	957	906	1,863	100	49	107	1,279	100
8	X7H287	115	6,625	93	919	1,274	2,192	118	58	130	1,559	122
9	KD660	116	8,107	114	1,029	1,072	2,101	113	51	121	1,455	114
10	31P41	120	7,315	99	1,105	1,199	2,303	85	52	133	1,602	83
11	SH7701	120	8,380	113	1,882	1,605	3,487	129	46	198	2,370	123
12	TX448	120	7,966	108	1,837	1,238	3,075	113	40	171	2,044	106
13	KH8007	120	7,194	97	1,867	780	2,647	98	29	141	1,685	87
14	HE0798	120	6,379	86	1,022	1,479	2,501	92	59	149	1,785	92
15	標準 32F27	126	7,397	100	1,120	1,589	2,709	100	59	161	1,930	100

種の36B08と比較すると、乾物収量はTH680がほぼ同等の値であったが、TDN収量はすべて標準品種を下回る値であった。相対熟度が115~116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それを上回っていた。相対熟度120日以上の品種は、標準品種の32F27と比較すると、乾物収量およびTDN収量はSH7701とTX448でそれを上回っていた。

まとめ

7月、8月は気温や日照時間が平年を下回る日が多く、生育や黄熟期に達する時期はやや遅れ

気味であったが、収量はほぼ平年並みであった。TX448は、昨年度に引き続き乾物収量、TDN収量の成績が良好であったため、秋田県奨励品種として指定された。

文 献

農林水産技術会議事務局. 農水省 草地試験場編. 1999. 飼料作物系統適応性検定試験実施要領 (改訂4版).

飼料作物推奨品種選定試験

－飼料用稲（平成21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。

その結果、「べこごのみ」は乾物収量が1,015.4 kg/10 aと現行の奨励品種である「夢あおば」と比較して同程度で、出穂日は7月30日と1週間ほど早いため、収穫適期の拡大を図るためにも秋田県奨励品種として指定された。

極晩生品種である「リーフスター」と「クサノホシ」は10月中旬に収穫したが乾物収量も高く、出穂はするものの、乳熟にも至らないため、未消化粉が気になるといった要望にも応えられる品種である。また、収穫も食用米の後に作業ができる品種として期待できる。

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21年度の作付面積は577.2 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6割作付されているのに対し、WCS用稲専用品種の作付は約4割と少なく、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。今年度は栽培適期の拡大、漏生粉による混種、未消化粉の排泄が気になるといった生産現場からの要望に応えるため、極晩生品種である「リーフスター」と「クサノホシ」を含めた5品種について栽培試験を実施した。

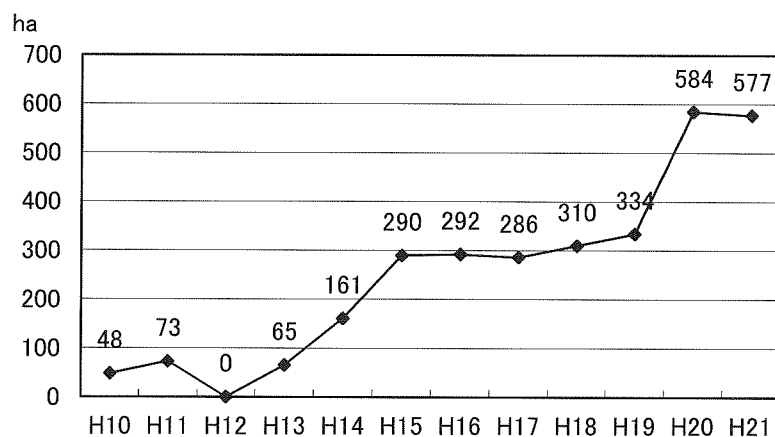


図1 秋田県におけるWCS用稲作付面積の推移

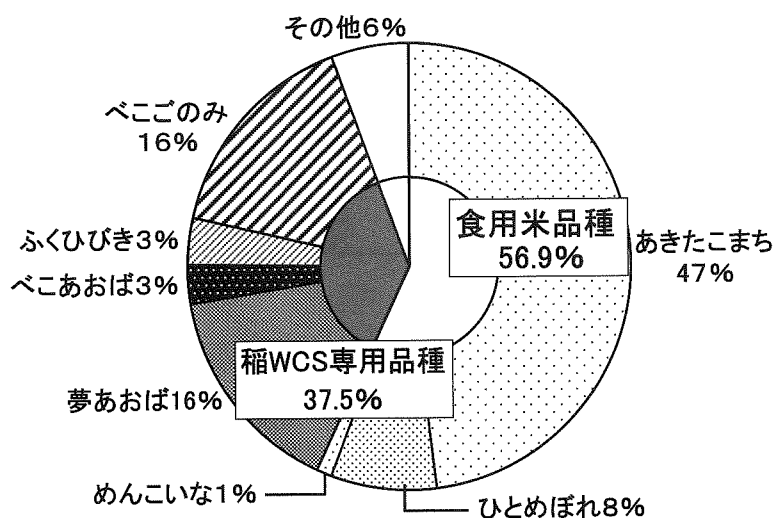


図2 平成21年度WCS用稲品種構成割合

材料および方法

1 試験期間

平成 21 年 4 月 23 日～10 月 14 日

(播種日：4 月 23 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 120.9 m² (4.8×25.2 m)

4 栽培概要

1) 栽植密度

16.7 株/m² (畦間32.7×株間 18.3 cm)

2) 施肥 (10 a 当たり)

基肥 堆肥 4t, 窒素 5 kg, リン酸 8 kg, 加里 8 kg

追肥 無し

5 供試品種

夢あおば (現行の奨励品種), べこあおば (現行の奨励品種), べこごのみ, リーフスター, クサノホシの 5 品種。

6 調査項目

1) 収量調査

桿長, 穂長, 収量, 水分など。

リーフスターとクサノホシを除き黄熟期に実施。

2) 飼料特性

サイレージ用ドラム缶を用いて約 1 ヶ月貯蔵

したWCSについて、発酵品質、飼料成分を分析。

発酵品質は 5～10 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) について分析を行った。

飼料成分の分析試料には、70℃ 48 時間通風乾燥した後粉砕したものを用いた。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 (自給飼料品質評価研究会編 2001)。TDN の推定は次式によった (服部ら 2005)。

TDN =

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

3) 嗜好性試験

一対比較法により実施。供試牛はホルスタイン種泌乳牛、育成牛。

- ・リーフスター VS あきたこまち

(フレール型専用収穫機)

- ・クサノホシ VS あきたこまち

(フレール型専用収穫機)

すべて農用裁断機により、同一設定で細切した。

1 回の試技で提示する量は 1 kg とした。

表1 収量調査結果

品種名	出穂日	調査日	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		
夢あおば	8月6日	9月18日	83.4	19.9	295.6	2748.6	1089.8	60.4	50.2
べこあおば	8月12日	9月24日	72.1	19.9	359.8	3017.2	1264.6	58.1	56.5
べこごのみ	7月30日	9月2日	86.6	20.8	321.8	2988.3	1015.4	66.0	56.6
リーフスター	9月24日	10月14日	79.1	18.5	256.7	3224.2	1137.5	64.7	5.3
クサノホシ	9月24日	10月14日	83.6	17.6	292.5	3520.2	1340.5	61.9	8.1

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
夢あおば	66.8	5.96	0.06	0.00	0.00	0.00	0.0	100.0
べこあおば	70.3	5.36	2.18	0.42	0.00	0.00	0.0	92.5
べこごのみ	61.5	5.59	0.08	0.06	0.00	0.02	0.1	87.4
リーフスター	77.6	4.22	0.66	0.06	0.00	0.10	0.1	96.5
クサノホシ	71.3	4.34	0.54	0.03	0.00	0.00	0.1	97.9

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)
夢あおば	66.8	4.8	2.0	25.1	8.6	72.6	42.4
べこあおば	70.4	6.9	2.8	24.0	7.4	68.8	46.1
べこごのみ	61.5	5.6	1.9	16.6	6.7	82.0	46.4
リーフスター	77.6	5.8	1.6	27.3	8.1	57.3	45.9
クサノホシ	71.3	5.4	1.5	28.8	7.9	65.9	43.3

結果および考察

1 収量調査

出穂は「べこごのみ」が7月30日と最も早かった。極晩生品種である「リーフスター」と「クサノホシ」は、9月24日に出穂したが10月中旬でも乳熟には至らず、乾物穂割合も他の品種が50%以上であったのに対して5.3および8.1%と少なかった。乾物収量は、「クサノホシ」が10a当たり1340.5kgと最も多く、ついで「べこあおば」が1264.6kg、「リーフスター」も1137.5kgと現在、秋田県の奨励品種に指定されている「夢あおば」よりも多かった(表1)。

2 飼料特性

サイレージ用ドラム缶を用いて調製したイネWCSの発酵品質は、何れの品種もVスコアが80点以上と評価は良であった(表2)。

飼料成分について、「べこあおば」は粗蛋白質

6.9%と最も高く、TDNも46.1%と他の品種に比べて高い傾向が認められた。「リーフスター」は粗蛋白質が5.8%、TDNが45.9%と「べこあおば」や「べこごのみ」と同等の値であったが、粗繊維含量は27.3%と高かった。「クサノホシ」は粗蛋白質は5.4%と「べこごのみ」や「リーフスター」と同等の値であったが、TDNは43.3%と低く、粗繊維含量は28.8%と高い値であった(表3)。

3 嗜好性

リーフスターとあきたこまちの比較では、リーフスターの嗜好性が有意に高いことが認められた(図3)。

クサノホシとあきたこまちの比較では、最初の選択性はクサノホシが有意に低い結果であったが、その後の選択性に有意な差は認められなかった(図4)。

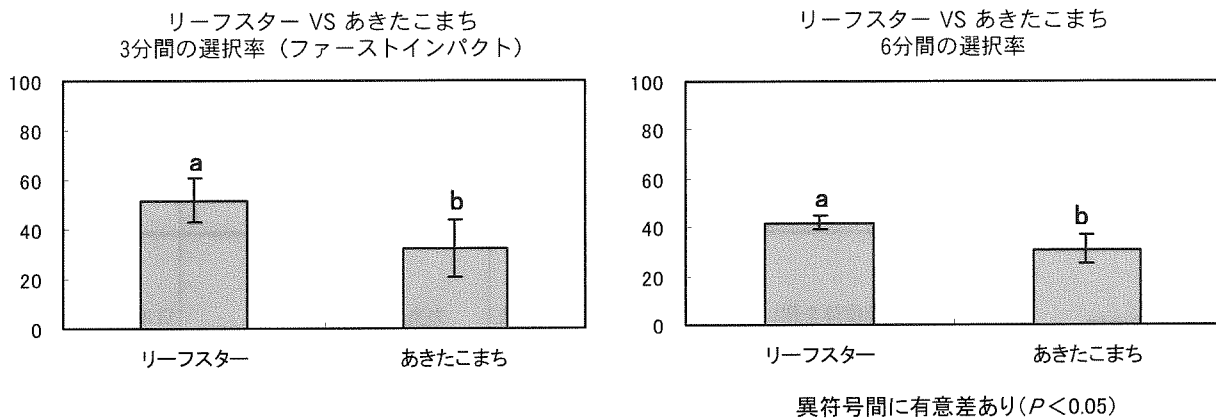


図3 カフェテリア方式による嗜好性の検討結果（リーフスター VS あきたこまち）

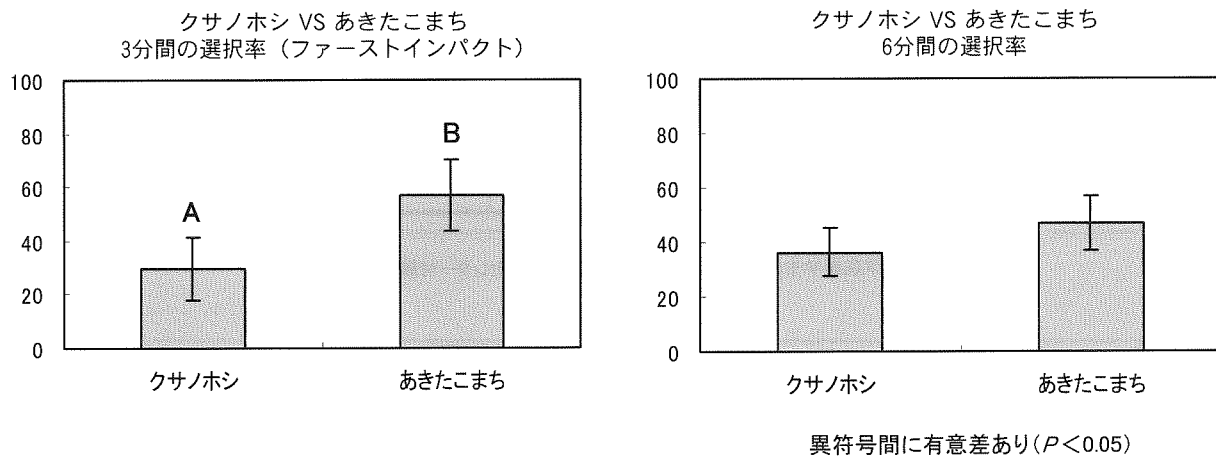


図4 カフェテリア方式による嗜好性の検討結果（クサノホシ VS あきたこまち）

まとめ

「べこごのみ」は現行の奨励品種である「夢あおば」と比較して乾物収量が同程度あるが、出穂日が早いため、収穫適期の拡大を図るため有効であるとして秋田県奨励品種に指定された。極晩生品種である「リーフスター」と「クサノホシ」は10月中旬の収穫で乾物収量が高く、出穂はするものの、乳熟にも至らないため、未消化物が気になるといった要望にも応えられる品種である。また、収穫も食用米の後に作業ができる品種として期待できる。

文献

- 自給飼料品質評価研究会編. 2001. 改訂粗飼料の品質評価ガイドブック. 社団法人日本草地畜産種子協会.
- 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.