ＩＳＳＮ　2187－6428

Bulletin of the
Akita Prefectural Livestock Experiment Station

NO.31 December 2016

秋田県畜産試験場
研　究　報　告

第　31　号
平成28年12月

Akita Prefectural Livestock Experiment Station
Daisen, Akita, Japan

秋田県畜産試験場
秋　田　県　大　仙　市

秋田畜試研報　Bull.Akita.Pref.Livest,Exp.stn.no.31.p1-61（December 2016）

秋田県畜産試験場研究報告　第31号（平成二十八年十二月）
Bull.Akita.Pref.Livest.Exp.stn.no.31 (December 2016)
秋田県畜産試験場

秋田県畜産試験場研究報告　第31号（平成28年12月）

目　　次

1　酪農場における乳酸菌バクテリオシンを利用した微生物制御法の開発
…… 千葉　祐子 …… 1～ 5
小原　　剛
渡邊　　潤

2　牛の暑熱ストレス軽減対策による繁殖機能改善の検討（第２報）
…… 高橋　利清 …… 6～9
佐々木航弥
千田　惣浩
相馬　祐介
渡邊　　潤
佐藤　寛子

3　飼料作物奨励品種選定試験　－ 飼料用トウモロコシ（平成26年度）－
…… 由利奈美江 …… 10～14
渡邊　　潤
佐藤　寛子

4　飼料作物奨励品種選定試験　－ 飼料用稲（平成26年度）－　…… 由利奈美江 …… 15～19
渡邊　　潤
佐藤　寛子

5　飼料作物奨励品種選定試験　－ 飼料用トウモロコシ（平成27年度）－
…… 由利奈美江 …… 20～25
渡邊　　潤
千葉　祐子

6　飼料作物奨励品種選定試験　－ 飼料用稲（平成27年度）－
…… 由利奈美江 …… 26～30
千葉　祐子
渡邊　　潤

7　ウシ凍結精液作製時の不凍タンパク質およびグルタチオン添加が融解後の精子生存性に及ぼす影響
…… 佐々木航弥 …… 31～35
小原　剛
高橋　利清

8　高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明（第４報）
－ アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のハプロタイプと鶏肉のアラキドン酸含有率との関連性 －
…… 力丸　宗弘 …… 36～42
江川やよい
山口　進
高橋　大希
小松　恵
高橋　秀彰

9　始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立（第３報）
－ 遠距離輸送した凍結始原生殖細胞の移植による比内鶏の機能的な配偶子の生産 －
…… 力丸　宗弘 …… 43～52
中村　隼明
高橋　大希
小松　恵
高橋　利清
田上　貴寛

10　比内地鶏の出荷率向上のための研究（第１報）
－ 生産者の飼養管理状況調査 －　…… 青谷　大希 …… 53～56
小松　恵
力丸　宗弘

11　比内地鶏母系原種鶏の系統造成と利用系統の組合せ試験（第１報）…… 佐藤　悠紀 …… 57～61
青谷　大希
力丸　宗弘
山崎　司

酪農場における乳酸菌バクテリオシンを利用した微生物制御法の開発

千葉祐子・小原　剛*・渡邊　潤

*現：秋田県中央家畜保健衛生所

要　約

乳酸菌が生産するバクテリオシンと呼ばれる抗菌ペプチドは，抗生物質に比べて耐性菌を誘導しにくく，食用にも供される安全性の高い物質である．また，酪農経営において収益性を大きく損ねる乳房炎は，乳頭の周辺の微生物環境を整えることで予防が期待できる．バクテリオシンにより敷料中の微生物環境を制御する方法を検討するため，予備試験として敷料として使用されるおがくずの乳酸発酵に適する条件を調査した．その結果，以下の結果が得られた．

1　おがくずへのバクテリオシン産生乳酸菌の添加により，乳酸菌の増殖が確認された．

2　糖蜜の添加によりpHが安定的に低下した．

3　乳酸発酵により大腸菌の生育を強く抑制した．

緒　言

乳房炎は，乳用牛の死廃傷病事故の最も大きな要因となっており，酪農経営の収益性に関わる重大な疾病および家畜の最難治疾病の一つとされている．家畜共済制度の保険支払い実績によると，乳房疾患の全体に占める割合は死廃事故では約15%，病傷事故では約23%と常にトップを占めている（市川，1992）．また近年，生乳の品質は，乳房炎の指標である乳中体細胞数によって評価され，取引価格に影響する．そのため，乳房炎の発生は収入減に直接つながり，酪農家は日々その対策を講じている．乳房炎は乳頭口に微生物が侵入することから始まるため，乳頭環境の微生物を制御できれば新規感染の抑制が可能となる．

乳酸菌は古くから発酵食品に利用され，その抗菌物質は保存性の向上に寄与している．また，乳酸菌にはバクテリオシンと総称される抗菌ペプチドを生産するものがある（善藤ら，2009）．乳酸菌バクテリオシンは，強い殺菌効果をもちながらも，プロテアーゼで容易に分解され，自然環境に残留しないことから，抗生物質に比べて耐性菌を誘導しにくい特徴がある．乳酸菌バクテリオシンの代表的なものとして，ナイシンAが知られている．ナイシンAは，欧米を中心に56カ国で食品添加物として認可されており（Delves-Broughton, 1990），ヒトや家畜に対しても安全性の高い物質である．

そこで，バクテリオシンを活用した新たな乳房炎予防の可能性として，バクテリオシンによる敷料の微生物制御の方法について検討し，予備試験として敷料の乳酸菌発酵に適する条件を調査した．

材料と方法

1　供試材料

・敷料：おがくず（スギ）

・乳酸菌ナイシンA生産株：*Lactococcus lactis subsp. lactis*（ATCC11454）

KWIK-STIKTM Two Pack（Microbiologics 49825-62）

・資化物質：糖蜜（非食品用）

2　乳酸菌の培養

MRS寒天培地10 mLに原株を塗布し，CO_2インキュベーターで35℃・48時間嫌気培養した．培養後，MRS液体培地10 mLに培養プレートから単離したコロニーを接種し，35℃・24時間静置し，前培養した．MRS液体培地1 Lに前培養した菌液10 mLを加え，35℃・24時間静置培養した．

3　試験区（表1）

おがくず100 gに水分50％及び60％となるよう乳酸菌培養液を添加した．試料をナイロンパウチに入れ，バキュームシーラーを用いて脱気，密閉し，3週間培養した．それぞれの水分量で，糖蜜を生重量比5％となるよう添加する区，添加しない区を設定した．また，培養温度についても20℃培養区，36℃培養区を設定した．

4　調査項目

1）乳酸菌数

滅菌希釈水9 mLに各区の試料1 gを混合したものを試料原液とした．マイクロピペットを用い1 mLの試料原液を9 mLの希釈水に加えて均一に混合した．同様に段階希釈を行い，10^{12}倍希釈液まで調製した．菌数の測定には，次のように混釈平板培養法により算定した．シャーレに希釈液を1 mL分注し，BCP加プレートカウントアガール「ニッスイ」15 mLで混釈し，アネロパック・ケンキを用い36℃，72時間嫌気培養した．この操作をそれぞれの希釈段階で3反復行った．それぞれ培養後，コロニーをカウントし，検体1 gあたりの菌数を算出した．また，乳酸菌培養液についても，同様に混釈培養法により，培養液1 mLあたりの菌数を算出した．

2）大腸菌数

乳酸菌と同様に希釈液を調製し，DHL培地で混釈し36℃，24時間培養した．培養後，コロニーをカウントし，検体1 gあたりの菌数を算出した．

3）pH

各区の試料25 gを採取し，70 mLの蒸留水に混合した．4℃で24時間静置し，ろ過した液のpHを測定した．

5　統計処理

得られたデータは，一元配置分散分析により差の検定を行い，区間の検定はTukey'sの方法で統計処理した．

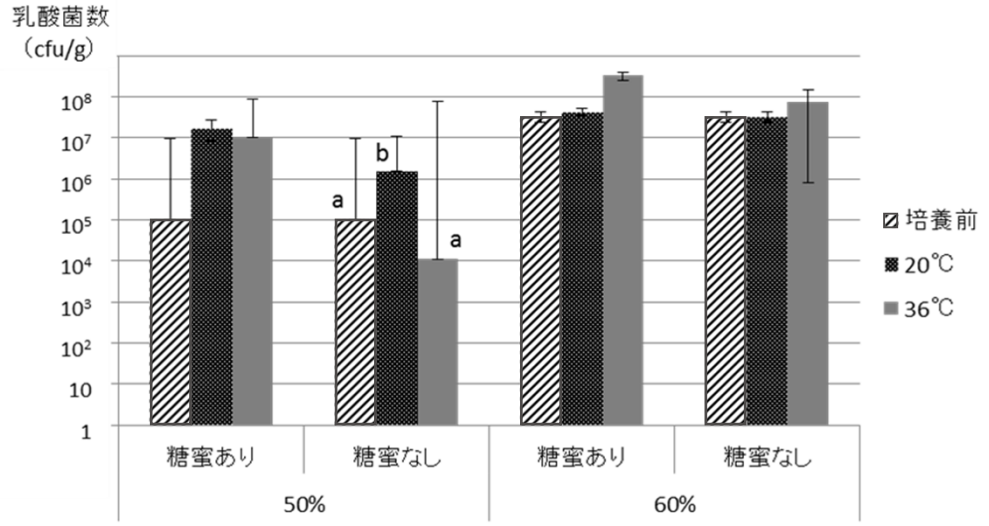
結果と考察

1　乳酸菌数（図1）

乳酸菌培養液の生菌数は，3.0×10^{8} cfu/mLだった．乳酸菌培養液を添加調製直後，培養前

表1　試験区分

水分	50%				60%			
糖蜜添加	あり		なし		あり		なし	
培養温度	20℃	36℃	20℃	36℃	20℃	36℃	20℃	36℃



＊異符号間に有意差あり（P＜0.05）

図１　培養前後の乳酸菌数の変化

の試料1 g当たりの乳酸菌数は，50％水分で1.0 ×10^5 cfu/g，60％水分で3.4×10^7 cfu/gであった．60％水分で，菌数が多くなったのは，乳酸菌培養液で水分調整を行ったことが要因である．

3週間の培養後，乳酸菌数は糖蜜添加の有無に係わらず，50％水分・20℃で10^6 ～ 10^7 cfu/gに増加，60％水分・20℃および36℃では10^7 ～ 10^8 cfu/gに増加した．

水分50％の各区とも本培養期間で，10 ～ 10^2倍の菌数の増加が認められた．今回用いた乳酸菌株は約23時間で最大活性に到達するため（Mahboubeh *et al*. 2009），本試験で供試した乳酸菌も，10^8 cfu/mL程度で菌体濃度の上限に達すると考えられ，本結果とも合致する．

50％水分・糖蜜添加なし・36℃培養で，乳酸菌数の増加割合が低く，3反復しているうち，2つで菌が分離されず，1つも非常に少なかった．但し，本条件で著しく乳酸菌の増加を妨げている原因は特定できず，再検討する必要がある．

60％水分・36℃が，50％水分および60％水分・20℃に比較して増加した理由としては，今回用いた乳酸菌株の増殖至適温度が40℃前後であることと，水分が多いため流動性が増し，運動能を有さない乳酸菌が増殖しやすい環境であったとも考えられる．

2　大腸菌数（図２）

培養前の試料1 g当たりの大腸菌数は，8.5×10^5 cfu/gであった．

3週間の培養後，大腸菌数はすべての区で有意に減少し，60％水分・糖蜜添加・20℃でわずかに認められた以外は，検出されなかった．

ナイシンAは，大腸菌に対しては抗菌性を示さない事が知られており（田中ら，2001），本試験により，大腸菌が検出されなくなった理由としては，pH等他の要因であると考えられる．今後，黄色ブドウ球菌等，他の乳房炎原因菌について調査していく必要がある．

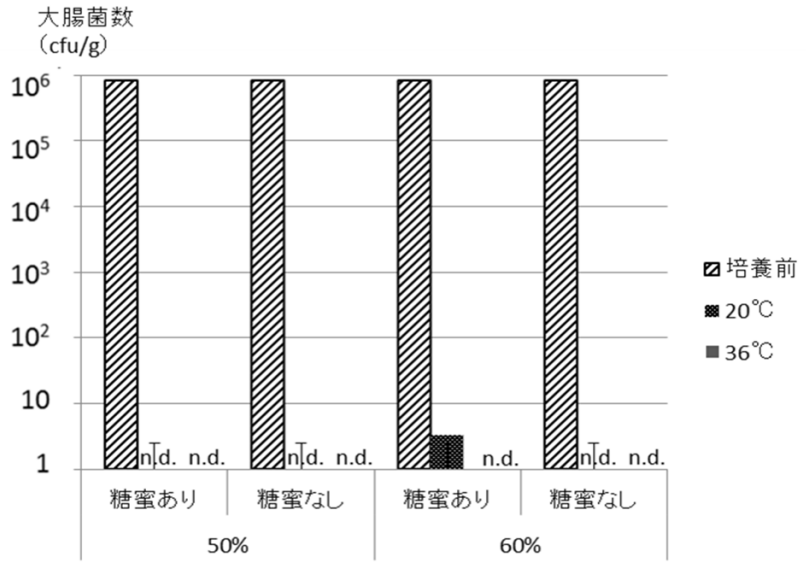
3　pH（図３）

培養前のpHは，50％水分・糖蜜添加で4.93，50％水分・糖蜜添加なしで5.00，60％水分・糖蜜添加で4.74，60％水分・糖蜜添加なしで4.73

で，水分調整のための乳酸菌培養液添加量が多かった60％水分区で低い値となった．

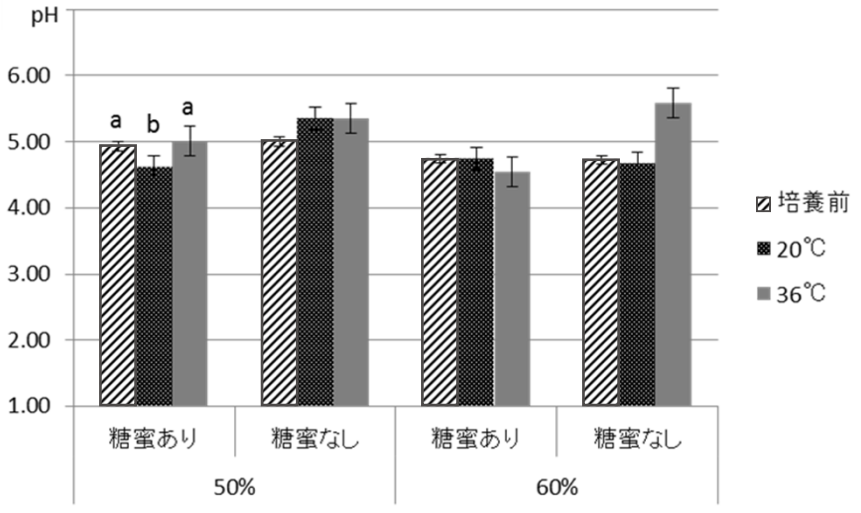
３週間の培養後，50％水分・糖蜜添加・20℃でpH4.62と有意な低下を示し，また，乳酸菌数の最も高かった60℃水分・糖蜜添加・30℃でpH4.54，60％水分・糖蜜無添加・20℃でpH4.66と低下した．糖蜜添加区において，よりpHを低く，安定的に維持する傾向が認められた．

一方で，50％水分・糖蜜無添加では，20℃および36℃のどちらの温度でも，pHの上昇が認められた．乳酸菌数の増加とpHが低下する現象が不一致する試験区もあったが，菌数と代



＊n.d.：不検出

図２　培養前後の大腸菌数の変化



＊異符号間に有意差あり（P＜0.05）

図３　培養前後のpHの変化

謝物は必ずしも一致しない（Matsumoto *et al.* 2012）という報告もある．しかしながら今後，発酵品質評価手法として，有機酸含量の測定を含めて検討したい．

本試験では，バクテリオシンによる敷料の微生物制御の方法について検討する事を目的とし，予備試験として敷料の乳酸発酵する条件について調査した．その結果，おがくずへのバクテリオシン産生乳酸菌の添加により，乳酸菌を増殖させる事が可能で，さらに糖蜜の添加により，安定的なpHの低下を確認した．また，発酵により大腸菌の生育を強く抑制した．

今後は，これらの結果をもとに，実際のフレコンバックを使用した敷料発酵調製を行い，実際に搾乳牛の牛床に利用し，乳頭表面における細菌数の変化等を調査する．

引用文献

Delves-Broughton, J. 1990. Nisin and its application as a food preservative. International Journal of Dairy Technology, 43, 73-76.

市川忠雄. 1992. 搾乳施設と乳房炎. 牧草と園芸, 40:12, 16-19

Mahboubeh mirhosseono, IRAJ NAHVI, Giti Emtiazi, Manoochehr Tavassoli. 2009. Characterisation of anti - Listeria monocytogenes bacteriocins from Enterococcus faecium strains isolated from dairy products. International journal of Dairy Technology, 63:1, 55-61

Matsumoto M, Kibe R, Ooga T, Aiba Y, Kurihara S, Sawaki E, Koga Y, Benno Y. 2012. Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome. Scientific Reports, 25; 2: 233

田中義人, 堀川和美, 中山宏, 塚谷裕子, 北森成治. 2001. 乳酸菌*lactococcus lactis* IO-1が産生するバクテリオシン，ナイシンZ の抗菌活性，福島県保険環境研究所年報，28，95-100.

善藤威史, 米山史紀, 澤　稔彦, 園元謙二. 2009. 乳酸菌が生産する抗菌物質. 防菌防黴, 37, 903-911.

牛の暑熱ストレス軽減対策による繁殖機能改善の検討（第２報）

高橋利清[*1]・佐々木航弥・千田惣浩[*2]・相馬祐介・渡邊　潤・佐藤寛子[*3]

[*1]現：秋田県農林水産部畜産振興課
[*2]現：秋田県中央家畜保健衛生所
[*3]現：秋田県平鹿地域振興局

要　約

暑熱期におけるウシの繁殖機能改善を目的として，暑熱ストレスと密接な関係にある酸化ストレスを軽減させるため，抗酸化作用を有するメラトニンに着目して研究を行った．本試験では，生産現場における普及性の向上を図るため，メラトニンを多く含む植物であるケールを対象に，圃場における生育試験及び暑熱期に分娩した繁殖雌牛に対する給与試験を行い，ケールの発育状況や収穫量及び繁殖雌牛の初回人工授精日数について検討を行った．その結果，当場の圃場において一定量のケールが収穫でき，自家栽培によるケールの給与が可能であることが示唆された．また，繁殖雌牛への給与により分娩後の初回人工授精日数に短縮がみられた．これらのことから，ケールは本県の気候においても十分な生育を行うことや，暑熱時に分娩した雌牛に給与した場合，繁殖性が改善することが示唆された．

緒　言

地球温暖化などの影響により気温の上昇が進む中，家畜への影響も懸念されている（野中ら, 2009）．黒毛和種においても，暑熱期には呼吸数や体表面温度が高くなると，不快指数が上昇することが知られ（狩又ら, 2012），暑熱によるストレスの増加は，ウシの受胎率や産子生産性に影響を及ぼし，繁殖性の低下を招くことが報告されている（Kobayashi *et al*, 2013, Watanabe *et al*, 2014）．また，暑熱ストレス下では，ウシの生体内において還元性成分であるスルフヒドリル基やアスコルビン酸濃度が低下することから，酸化ストレスの亢進が示唆されている（Tanaka *et al*, 2008）．これらのことから，暑熱と酸化ストレスは密接な関係を持ち，酸化ストレスの軽減を行うことで，暑熱による生体への負荷低減に繋がることが期待できる．

メラトニンは，脳の松果体から分泌されるホルモンであり，生体内において日中は低値で推移し，夜間に増加することから，睡眠との関連性が指摘（Ralph *et al*, 1971）されているほか，抗酸化作用も有することが確認されている（Rodriguez *et al*, 2004, Sugino, 2006）．生殖に関わる作用として，ヒトにおいてはメラトニンの服用により，受精率や胚の利用率向上が報告されている（Nishihara *et al*, 2014）．我々は，黒毛和種の繁殖雌牛にメラトニンの経口投与を行うことで，暑熱時の酸化ストレス軽減が図られ，卵子の質低下抑制やストレス指標の安定化が起こることを明らかにした（高橋ら, 2014）．

そこで本研究では，生産現場における普及性の向上を図るために，メラトニンを多く含む植物であるケールに着目し，自家栽培によるケール給与の可能性や，給与後にウシの繁殖性に及ぼす影響

について検討した.

材料と方法

1　ケールの栽培

長野県とヤクルトヘルスフーズ株式会社が共同育成した，ケールの新品種「ハイパール」を長野県野菜花き試験場の協力を得て用いた．４月下旬に播種を行い，128セルのトレイを用いて育苗した．５月下旬に草丈が約５cm，葉数４～５枚に達した苗を,場内の圃場に定植した.畝幅及び株間100×50 cmとし，黒マルチによる全面マルチ栽培を行った．施肥は10 a当たり窒素25 kgとした．また，全面に防虫ネットを被覆した.

調査は10株とし，収穫時に草丈，株幅，葉数，葉重，全長，葉柄全長，葉長，葉幅について調査を行った．なお,収穫葉は地際部から収穫し，黄化葉や極小葉及び被害葉を除く，葉身部分が15 cm以上の葉を対象とした.

2　黒毛和種繁殖雌牛へのケールの給与

暑熱時（６月下旬～８月）に分娩を行った黒毛和種８頭を供試し，対照区及び試験区で４頭ずつに分けて試験を実施した.

試験区として分娩後50 ～ 60日目の個体に，半乾燥したケールの葉（原物300 g/頭/日）を10日間給与し，メラトニン含有植物の給与が暑熱時における分娩後の初回人工授精日数に及ぼす影響について調査した．なお，ケール非給与区を対照区とした.

結　果

1　ケールの栽培

１株あたりの平均草丈は100.6 cm，平均葉数は75.6枚，葉柄全長は74.4 cm，葉長は48.8 cm，葉幅は22.2 cm，全重は5.7 kgであった.

葉重は平均で4.4 kgであり，１頭･1日当たりの給与量300 gで換算すると，14頭分に相当する量が採取できることが示唆された（表１）.

2　黒毛和種繁殖雌牛へのケールの給与

分娩後の繁殖機能回復について，ケールを給与して調査を行った．その結果，分娩後の初回平均人工授精日数は79.0日となり，同期対照区４頭の102日と比較して23日の短縮がみられた（表２）.

考　察

本研究では，暑熱期の繁殖機能改善を目的に，暑熱ストレスと密接な関係にある酸化ストレスを

表１　ケールの収量特性調査

品種名	草丈 (cm)	株幅 (cm)	葉数 (枚)	葉重 (kg)	全重 (kg)	葉柄全長 (cm)	葉長 (cm)	葉幅 (cm)
ハイパール	100.6 ± 8.9	144.4 ± 12.9	75.6 ± 39.0	4.4 ± 1.1	5.7 ± 1.3	74.4 ± 5.7	48.8 ± 5.1	22.2 ± 2.8

表２　暑熱期に分娩した黒毛和種繁殖牛へのケール給与が初回人工授精日数に及ぼす影響

区分	供試頭数	初回AI日数
対照区	4	102.0 ± 12.1
試験区	4	79.0 ± 2.2

軽減するため，抗酸化作用を有するメラトニンについて着目した．そして，生産現場での普及性向上を図るため，メラトニンを多く含む植物であるケールを対象に，圃場における生育調査及び暑熱期に分娩した繁殖雌牛に対し給与を行い，ケールの発育状況や収穫量及び初回人工授精日数について検討を行った．

その結果，当場の圃場において一定量のケールが収穫でき，自家栽培によるケールの給与が可能であることが示唆された．さらに，ケールの葉には植食性昆虫であるモンシロチョウの幼虫などによる食害があるため，対策として防虫ネットが有効であることが示唆された．一方で，積極的に摂食を行わない牛もいることが判明し，効率的な給与方法について，今後の検討が必要と考えられる．また，ケールを含むアブラナ科の植物は，S-メチルシステインスルフォキシドを含み，反芻動物における腸内の化学反応によりジメチルジスルフィドへと変化し，牛や羊などでは溶血性貧血を起こすことが知られる（Smith, 1980）．しかし，本研究における給与量では異常牛は見られないことや，ケールジュース粕サイレージを搾乳牛に給与した場合に，空胎日数が短縮され繁殖性の改善効果が示唆されているなど（稲垣と小池, 2014），過剰な給与を行わない限り，ウシにおいても繁殖性に対して有効に作用することが示唆される．

また，繁殖雌牛への給与により，分娩後の初回人工授精日数に短縮がみられた．ホルスタイン種では分娩から約５日目に卵胞波が発現し，主席卵胞が選抜される．この内，約半数の個体は分娩後３週間程度で排卵するが，残りの半数は排卵せずに卵胞が退行するか嚢腫化することが報告されている（Savio *et al*, 1990, Darwash *et al*, 1997）．また，血中と卵胞中の遊離脂肪酸（NEFA）濃度は相関が高く，卵胞液中のNEFAが高濃度になると卵丘細胞のアポトーシスが増加することや，卵子の成熟時における繁殖雌牛の体温上昇は，その後の胚発生に影響を及ぼすことも報告され（鍋西, 2012），分娩時に暑熱ストレスなどによりエネルギーバランスが崩れ，卵子の質に影響を及ぼすことも示唆される．

これに対し，エネルギー代謝において，酸化還元酵素の補酵素として作用することが知られるナイアシン（Vitamin B3）の給与により，NEFAの低下がみられることや（大坪ら, 2012），βカロテンの給与が乳用牛における分娩後の早期排卵を促進したとの報告もある（川島, 2014）．

この様に，暑熱ストレスにより繁殖性への影響は大きいことが考えられ，新出ら（1994）は，ホルスタイン種の暑熱期分娩牛へのストレス軽減対策として，飼料給与と送風の組み合わせにより繁殖性の回復を示唆している．さらに，暑熱反応の指標としては，呼吸数や直腸温度と比較して，平均体温（平均皮膚温度×0.14＋直腸温度×0.86）や体感温度（湿球温度×0.65＋乾球温度×0.35）を考慮し対応した方が効果的であるとしている．このほか，黒毛和種においても，暑熱対策として寒冷紗が有効であるとの報告もある（安藤, 2009）．

以上，本研究においてメラトニンの高含有植物であるケールについて，本県の気候においても十分な生育を行うことや，暑熱時に分娩した雌牛に対し給与した場合，繁殖性が改善することが示唆された．しかしながら，ケールに含有するメラトニンが，ウシの生体内で作用する機序などについては，今後詳細な検討が必要である．

謝　辞

ケール（ハイパール）の栽培に関して，多くのご指導をいただいた，長野県野菜花き試験場の芹澤啓明 主任研究員に深謝します．

引用文献

安藤哲. 2009. 黒毛和種繁殖雌牛における暑熱期

の寒冷紗を用いたひ陰舎の防暑効果. 日畜会報 80, 451-456.

Darwash AO, Lamminga GE, Wooliams JA. 1997. The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. Anim Sci 65, 9-16.

稲垣祝, 小池正充. 2014. 搾乳牛に給与した場合のケールジュース粕サイレージの機能性飼料としての付加価値の検討. 愛媛畜研セ研報 2, 1-5.

狩又亮治, 大坪利豪, 江副大輔, 山下大司, 井上一輝, 加茂辰生, 河野宏, 黒川洋介. 2012. 暑熱ストレス評価法の確立及び暑熱ストレス軽減化手法の開発による家畜生産効率向上に関する試験-黒毛和種繁殖牛でのサーモグラフィ利用による暑熱ストレス評価法-. 佐賀畜試研報 49, 21-23.

川島千帆. 2014. 乳牛における分娩後の繁殖機能回復及び受胎に影響を及ぼす栄養代謝因子に関する研究. 北畜草会報 2, 31-38.

Kobayashi Y, Wakamiya K, Kohka M, Yamamoto Y, Okuda K. 2013. Summer heat stress affects prostaglandin synthesis in the bovine oviduct. Reproduction 146, 103-110.

鍋西久. 2012. 温湿度指数（THI）を用いた暑熱対策. 臨床獣医 30, 21-25.

Nishihara T, Hashimoto S, Ito K, Nakaoka Y, Matsumoto K, Hosoi Y, Morimoto Y. 2014. Oral melatonin supplementation improves oocyte and embryo quality in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Gynecol Endocrinol 30, 359-62.

野中最子, 小林洋介, 樋口浩二, 永西修. 2009. 地球温暖化が日本における家畜の生産性に及ぼす影響評価の現状と課題. 地球環境 14, 215-222.

大坪利豪, 江副大輔, 狩又亮治, 山下大司, 加茂辰生, 河野宏, 黒川洋介. 2012. 暑熱ストレス評価法の確立及び暑熱ストレス軽減化手法の開発による家畜生産効率向上に関する試験-暑熱期における乳牛へのバイパスナイアシン給与の効果. 佐賀畜試研報 49, 15-20.

Ralph CL, Mull D, Lynch HJ, Hedlund L. 1971. A melatonin rhythm persists in rat pineals in darkness. Endocrinology 89, 1361-1316.

Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, Reiter RJ. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J Pineal Res 36, 1-9.

Savio JD, Boland MP, Roche JF. 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. J Reprod Fertil 88, 581-591.

新出昭吾, 松重忠美, 松村弘明. 1994. 夏期分娩牛での暑熱ストレス反応開始予測と防暑対策の効果. 広島畜試研報 10, 5-15.

Smith RH. 1980. Kale poisoning: the brassica anaemia factor. Vet Rec 107, 12-15.

Sugino N. 2006. Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum. Anim Sci J 77, 556–565.

高橋利清, 西宮弘, 千田惣浩, 伊賀浩輔, 酒出淳一. 2015. 牛の暑熱ストレス軽減対策による繁殖機能改善の検討（第1報）. 秋田畜試研報 29, 23-27.

Tanaka M, Kamiya Y, Suzuki T, Kamiya M, Nakai Y. 2008. Relationship between milk production and plasma concentrations of oxidative stress markers during hot season in primiparous cows. Anim Sci J 79, 481–486.

Watanabe U, Takagi M, Yamato O, Otoi T, Okamoto K. 2014. Retrospective surveillance of metabolic parameters affecting reproductive performance of Japanese Black breeding cows. J Vet Sci 15, 283-288.

飼料作物奨励品種選定試験

－ 飼料用トウモロコシ（平成26年度） －

由利奈美江・渡邊　潤・佐藤寛子*

*現：秋田県平鹿地域振興局

要　約

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

平成26年の飼料用トウモロコシの生育は，黄熟期に達する日数はほぼ平年並みで，乾物収量も平年並みであった.

A636は乾物収量および栄養収量も標準品種のKE9601より高く，初期生育も良好で収量性にも優れていることが認められたが，検定２年目の品種であり，引き続き調査が必要である.

TX1277は収量性は優れていたが，発芽率が低いことが問題として挙げられる.

緒　言

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

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

材料と方法

１　試験期間　平成26年５月14日～９月29日

２　試験場所　秋田県畜産試験場内試験圃場

３　試験圃場の構成

15m^2（３×５ m）　３反復／１品種

１区当たり５畦，畦間75 cmとして２粒点播１本仕立てとした.

４　栽培概要

１）栽培密度

相対熟度118日以下の品種　7,018本／ 10 a

相対熟度119日以上の品種　6,061本／ 10 a

２）施肥

土壌改良資材として10 a当たり堆肥４t，苦土石灰100 kg，熔燐60 kgを施用し，基肥として窒素12 kg，リン酸24 kg，カリ12 kgを施用した. なお追肥は行わなかった(表１).

３）播種日

平成26年５月14日

４）供試品種

17品種供試し，うち３品種は標準品種である．相対熟度及び育成場所は表２に示すとおりである.

５）調査方法

牧草･飼料作物系統適応性試験実施要領(独立行政法人畜産草地研究所．2001．飼料作物系統適応性検定試験実施要領（改定５版).）に従って生育特性及び収量特性を調査した.

表１　施肥量

（kg／10a）

区分	N	P_2O_5	K_2O	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		SL0746	95	雪印
2		TH1089	100	タキイ種苗
3		P9400	100-105	パイオニア
4	標準	36B08	106	パイオニア
5		KE1581	108	カネコ種苗
6		TX1241	110	カネコ種苗
7	標準	KE9601	115	カネコ種苗
8		B703	115	パイオニア
9		TX1162	115	タキイ種苗
10		KE0652A	117	カネコ種苗
11		A636	118	パイオニア
12		KE1671A	118	カネコ種苗
13		SM1023	120	雪印種苗
14		KE9730	123	カネコ種苗
15		SH2821	125	雪印種苗
16		TX1277	125	タキイ種苗
17	標準	32F27	126	パイオニア

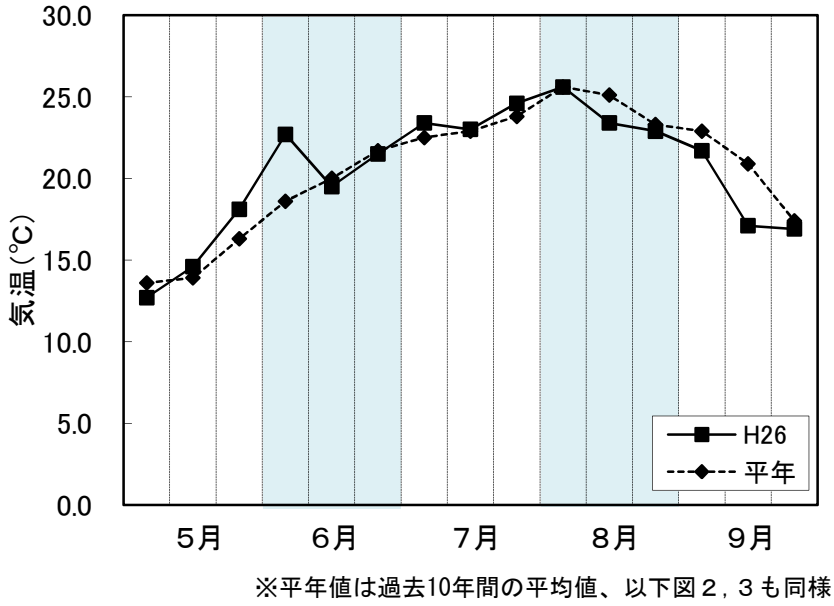
結果と考察

1　栽培期間中の気象の特徴

平成26年５～９月の状況について近隣の気象庁大曲観測所のデータを参考として，旬別の平均気温，日照時間及び降水量を図１から３に示した．なお，平年値として過去10年間の平均値を用いた．

１）気温

平均気温は，５月上旬は平年よりやや低く推移し，中下旬はやや高く推移した．６月は上旬が平年より高く推移し平年よりも4.1℃高くなったが，中下旬はほぼ平年並みであった．７月は平年よりやや高く推移した．８月はほぼ平年並みで推移したが，８月中旬は平年より低くなった．９月は平年よりやや低く，特に９月中旬は寒気の影響で平年より3.8℃低くなった．９月の平均では平年よりも1.8℃低くなった（図１）．



※平年値は過去10年間の平均値、以下図２，３も同様

図１　旬別平均気温（大曲）

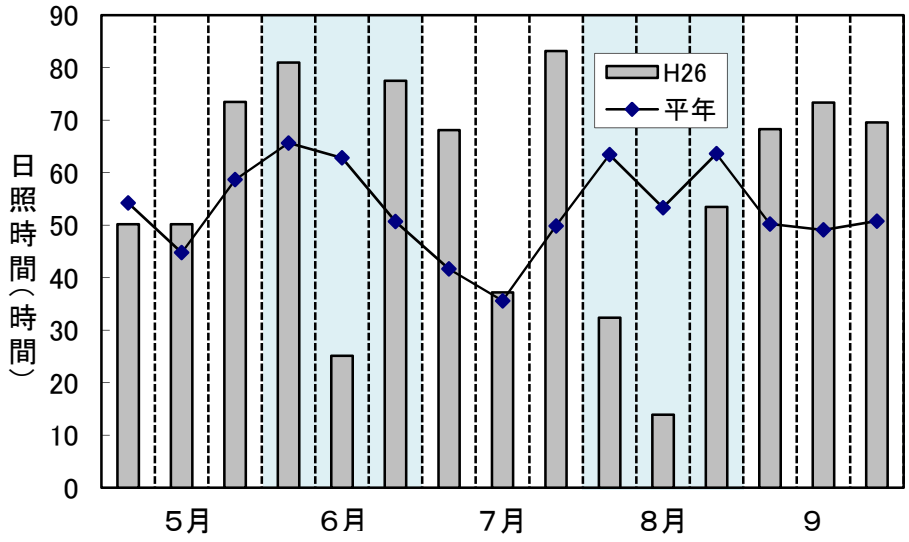


図２　旬別日照時間（大曲）

２）日照時間（日射量）

５月上旬は平年より短くなったが，中下旬は平年より長かった．６月上旬は平年より長かったが，６月中旬は低気圧や気圧の谷の影響で曇りや雨の日が多く，平年比40%と短くなり，６月下旬は平年比153%と長かった．７月は中旬は平年並みだが，上旬，下旬でそれぞれ平年比164%，167%と平年より長くなった．８月は台風11号や前線の影響で平年より短くなり，特に８月中旬は平年比26%と大幅に短かった．９月は高気圧の影響で晴れの日

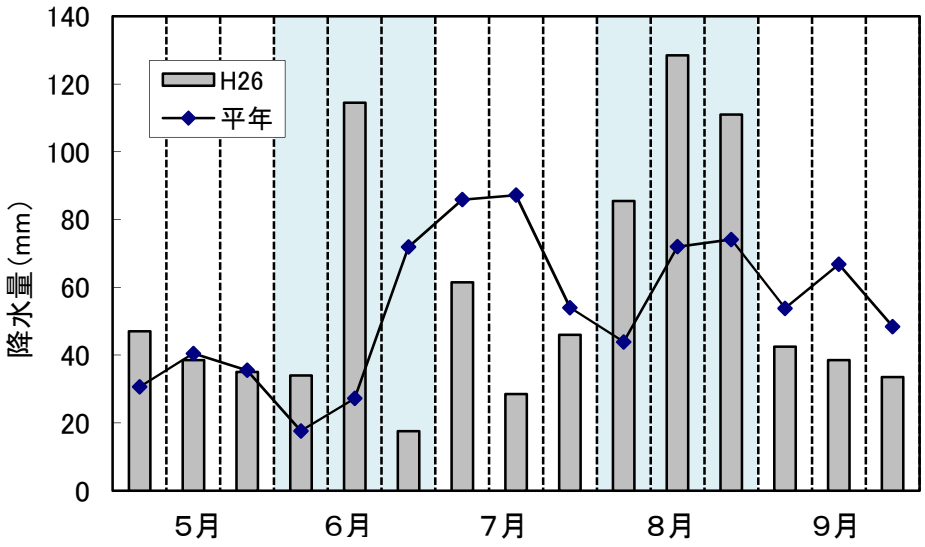


図３　旬別降水量（大曲）

が多く，旬を通して平年より高くなった（図２）．

３）降水量

５月上旬は平年より多くなったが中下旬は平年並みであった．６月上旬から中旬は気圧の谷や低気圧の影響で大雨の日があり平年より多めに推移し，特に中旬は平年比421%と多くなった．６月下旬は高気圧に覆われて晴れの日が多かったため，平年より少なくなった．東北北部の梅雨入りは６月６日頃であり，平年より８日早かった．７月は梅雨前線や気圧の谷の影響で雨の日もあったが，高気圧に覆われて晴れの日が多かったため平年より少なく推移した．東北北部の梅雨明けは７月25日頃で平年より３日早かった．８月は前線や気圧の谷の影響で雨の日が多く，特に８月上旬は台風11号の影響もあり，平年比195%と多くなった．９月は高気圧に覆われて晴れの日が多く，平年より少なく推移した（図３）．

２　生育および収量特性

播種は５月14日に行った．播種後の平均気温が平年並みに推移したため，出芽までに要した日数は10日と平年並みであった．出芽が確認された５月下旬から６月上旬までは，気温が平年よりも高く推移し，日照時間も多かったため，６月中旬に実施した播種後40日の草丈は平年よりも高かった．

絹糸の抽出時期は，平年並みの７月中旬～下旬であった．

黄熟期に達する日数は，ほぼ平年並みであり，乾物収量も平年並みであった．

KE1581（相対熟度108日），TX1241（相対熟度110日），TX1162（相対熟度115日），KE0652A（相対熟度117日），A636（相対熟度118日）およびKE1671A（相対熟度118日）は，標準品種であるKE9601（相対熟度115日）と比較して，初期生育草丈（播種後40日）が高かった（表３）．

A636は乾物収量（総重量）および栄養収量（TDN収量）も標準品種のKE9601より高く，初期生育も良好で収量性にも優れていることが

認められた（表4）．A636は奨励品種として期待されるが，検定２年目の品種であり，平成25年度の栽培結果（佐藤ら2015）において標準品種より乾物収量および栄養収量ともに標準品種を下回ったため，引き続き調査が必要である．

KE9730（相対熟度123日）およびSH2821（相対熟度125日）は標準品種である32F27（相対熟度126日）より乾物収量は高く，TDN収量は同等であった．

TX1277（相対熟度125日）は，標準品種である32F27（相対熟度126日）よりも乾物収量およびTDN収量が高かった（表４）．しかしながら，TX1277は発芽率が約50%程度と低く，株間が広くなり個体あたりの重量が増加したことが収量増加の原因であると考えられる．

引用文献

独立行政法人畜産草地研究所．2001．飼料作物系統適応性検定試験実施要領（改定5版）．畜産装置研究所平成13-1資料．農林水産技術会議事務局

佐藤寛子，渡邊潤，加藤真姫子．2015．飼料作物奨励品種選定試験－飼料用とうもろこし（平成25年度）－．秋田県畜産試験場研究報告　第29号，63-66

表３　生育特性

No	品種・系統名	相対熟度	初期生育草丈 (cm)	収穫月日 (月日)	収穫熟度	折損 (%)	稈長 (cm)	着雌穂高 (cm)
1	SL0746	95	91.5	8/27	黄中	7.0	251.7	93.4
2	TH1089	100	91.2	8/27	黄初	6.0	274.0	112.6
3	P9400	100-105	98.8	8/27	黄中	2.0	269.8	124.7
4	標準 36B08	106	100.4	9/12	黄後	4.0	244.6	115.2
5	KE1581	108	103.5	9/12	黄後	3.0	270.2	121.5
6	TX1241	110	95.4	9/12	黄後	1.0	290.9	121.7
7	標準 KE9601	115	92.5	9/12	黄後	0.0	284.4	129.4
8	B703	115	89.0	9/12	黄後	2.0	251.6	111.2
9	TX1162	115	97.4	9/19	黄後	2.0	240.8	159.3
10	KE0652A	117	97.4	9/19	黄後	7.0	245.1	153.1
11	A636	118	97.3	9/19	黄後	6.0	238.9	136.6
12	KE1671A	118	97.0	9/19	黄初	3.0	236.0	156.1
13	SM1023	120	91.7	9/29	黄後	3.0	213.1	136.7
14	KE9730	123	96.4	9/29	黄後	1.0	246.8	160.6
15	SH2821	125	85.6	9/29	黄後	1.0	216.9	143.5
16	TX1277	125	90.4	9/29	黄後	0.0	227.7	138.2
17	標準 32F27	126	102.0	9/29	黄後	1.0	234.1	234.1

表４　収量特性

No	品種・系統名	相対熟度	生総重量 (kg/10a)	生総重量 標比 (%)	乾物収量 茎葉 (kg/10a)	乾物収量 雌穂 (kg/10a)	乾物収量 総重 (kg/10a)	乾物収量 標比 (%)	乾雌穂重割合 (%)	栄養収量 ＤＣＰ (kg/10a)	栄養収量 ＴＤＮ (kg/10a)	栄養収量 標比 (%)
1	SL0746	95	5,452	117	833	1,042	1,874	77	56	110	1,320	84
2	TH1089	100	5,814	125	894	1,022	1,916	79	53	112	1,339	85
3	P9400	100-105	5,537	119	835	1,026	1,861	76	55	109	1,309	83
4	標準 36B08	106	4,649	100	1,027	1,220	2,439	100	50	131	1,576	100
5	KE1581	108	6,138	83	1,029	1,175	2,205	85	53	128	1,540	89
6	TX1241	110	5,514	75	980	1,208	2,188	84	55	128	1,539	89
7	標準 KE9601	115	7,363	100	1,479	1,111	2,590	100	43	145	1,739	100
8	B703	115	5,976	81	1,037	1,396	2,433	94	57	144	1,725	99
9	TX1162	115	7,864	107	1,291	972	2,263	87	43	127	1,520	87
10	KE0652A	117	7,359	100	1,235	1,026	2,261	87	45	128	1,533	88
11	A636	118	7,119	97	1,220	1,521	2,744	106	55	161	1,931	111
12	KE1671A	118	7,104	101	1,241	1,031	2,272	88	45	128	1,540	89
13	SM1023	120	6,539	93	1,432	1,335	2,767	99	48	158	1,897	98
14	KE9730	123	8,589	123	1,635	1,281	2,916	104	44	164	1,966	102
15	SH2821	125	8,426	120	1,734	1,251	2,985	107	42	167	1,997	103
16	TX1277	125	9,874	141	1,981	1,665	3,646	130	46	206	2,475	128
17	標準 32F27	126	7,008	100	1,392	1,404	2,797	100	50	161	1,931	100

飼料作物奨励品種選定試験

－ 飼料用稲（平成26年度） －

由利奈美江・渡邊　潤・佐藤寛子*

*現：秋田県平鹿地域振興局

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・収量特性を調査した．

関東以西向けに育成された「たちすずか」は出穂が遅く，食用米の収穫後の収穫となるため，収穫時期の拡大が図られる．また，乾物収量が高く，子実割合が低い事から未消化籾の低減や落下種子の懸念などの生産現場の要望に応えることが出来る品種である．

緒　言

秋田県におけるイネホールクロップサイレージ（以下イネWCS）用稲の平成25年度作付面積は1,046 haと取組は拡大してきている．しかし，品種の構成割合をみると「あきたこまち」等の食用米品種が約70%と最も多く作付されており，飼料用稲専用品種の作付は少ない．今後，飼料用稲の普及定着をさらに図り，生産コストの低減により経営を安定させるためには食用米品種に比べて多収性，耐病性，耐倒伏性優れている飼料用稲専用品種の普及が必要である．

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に，飼料用稲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．供試品種は，栽培適期の拡大，落下籾の発芽による食用米への混入防止，未消化籾の排泄を低減させるため子実割合の低い品種を求める等の生産現場からの要望に応えるため,「クサノホシ」「たちすずか」といった関東以西向けに育成された品種を含めた６品種とした．

材料と方法

１　試験期間　平成 26 年 4 月 28 日～ 10 月 24 日

２　試験場所　大仙市神宮寺金葛

３　試験圃場の構成

１区画　57.6 m^2（2.4 × 24 m）

４　栽培概要

１）栽植密度

18.2株／m^2

２）施肥（10 a当たり）

前作として，大豆を３年間作付していたため，土壌中の養分残存量を考慮し，施肥量を設定した．

基肥　窒素５ kg，リン酸５ kg，加里５ kg

追肥　なし

３）播種日および移植日

播種日：平成26年４月28日

移植日：平成26年５月26日

５　供試品種

夢あおば（現行の奨励品種），べこげんき，タチアオバ，たちすがた，クサノホシ，たちすずかの合計６品種

6　生育及び収量調査

生育調査は草丈，茎数及び葉色（SPAD値）を測定した．収量調査は水分，全重，桿長，穂長，穂数，収量，穂割合等について測定した．

収量調査は「夢あおば」「べこげんき」「たちすがた」は黄熟期に，「クサノホシ」「タチアオバ」は糊熟期に，「たちすずか」は乳熟から糊熟期に実施した．

結果と考察

1　栽培期間中の気象の特徴

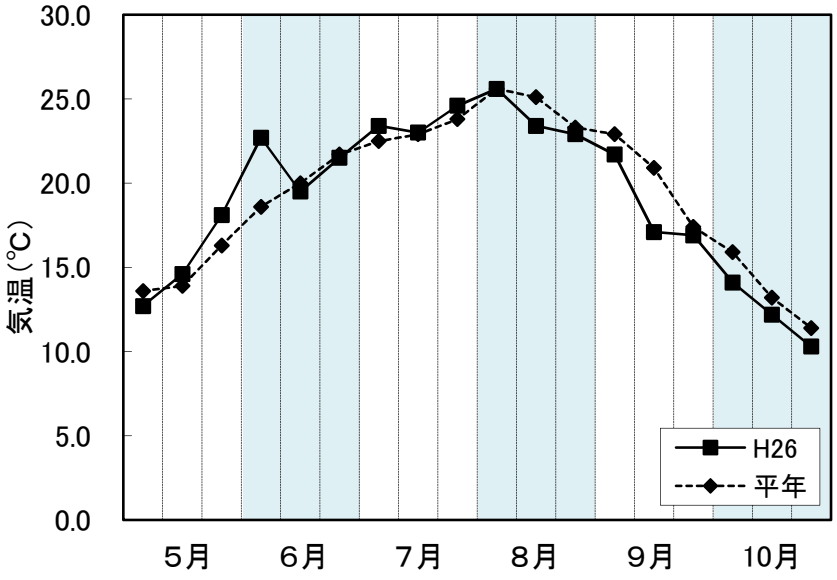
平成26年５月～10月の状況について近隣の気象庁大曲観測所のデータを参考として，旬別の平均気温，日照時間及び降水量を図－１から３に示した．なお，平年値として過去10年間の平均値を用いた．

１）気温

平均気温は，５月上旬は平年よりやや低く推移し，中下旬はやや高く推移した．６月は上旬が平年より高く推移し平年よりも4.1℃高くなったが，中下旬はほぼ平年並みであった．７月は平年よりやや高く推移した．８月はほぼ平年並みで推移したが，８月中旬は平年より低くなった．９月は平年よりやや低く，特に９月中旬は寒気の影響で平年より3.8℃低くなった．９月の平均では平年よりも1.8℃低くなった．10月は寒気の影響で平年より月平均1.4℃低く推移した．

２）日照時間（日射量）

５月上旬は平年より短くなったが，中下旬は平年より長かった．６月上旬は平年より長かったが，６月中旬は低気圧や気圧の谷の影響で曇りや雨の日が多く，平年比40%と短くなり，６月下旬は平年比153%と長かった．７月は中旬は平年並みだが，上旬，下旬でそれぞれ平年比164%，167%と平年より長くなった．８月は台風11号や前線の影響で平年より短くなり，特に８月中旬は平年比26%と大幅



※平年値は過去10年間の平均値、以下図２，３も同様

図１　旬別平均気温（大曲）

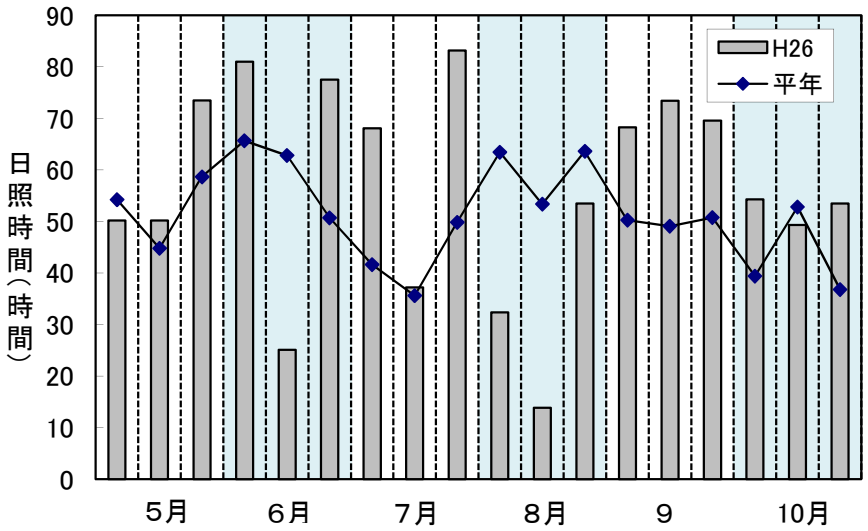


図２　旬別日照時間（大曲）

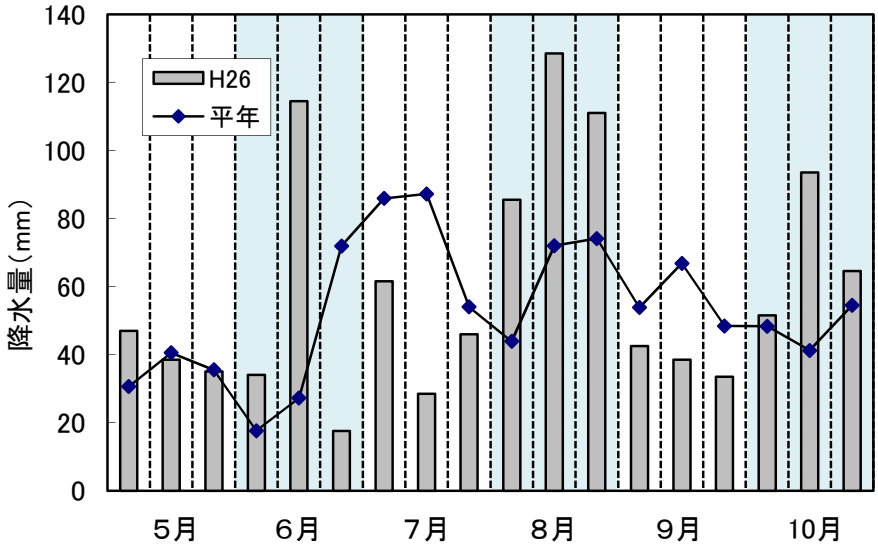


図３　旬別降水量（大曲）

に短かった．９月は高気圧の影響で晴れの日が多く，旬を通して平年より高くなった．10月上旬下旬は平年より高く，中旬は平年より低く推移した．

３）降水量

５月上旬は平年より多くなったが中下旬は平年並みであった．６月上旬から中旬は気圧の谷や低気圧の影響で大雨の日があり平年より多めに推移し，特に中旬は平年比421%と多くなった．６月下旬は高気圧に覆われて晴れの日が多かったため，平年より少なくなった．東北北部の梅雨入りは６月６日頃であり，平年より８日早かった．７月は梅雨前線や気圧の谷の影響で雨の日もあったが，高気圧に覆われて晴れの日が多かったため平年より少なく推移した．東北北部の梅雨明けは７月25日頃で平年より３日早かった．８月は前線や気圧の谷の影響で雨の日が多く，特に８月上

旬は台風11号の影響もあり，平年比195%と多くなった．９月は高気圧に覆われて晴れの日が多く，平年より少なく推移した．10月は台風18号，19号の影響で大雨の日があり，平年より高く推移した．

２　生育および収量調査

生育調査の結果を表１に示した．「べこげんき」は，期間を通じて他品種より草丈が高く推移したが，茎数は最も少なかった．「たちすずか」は，期間を通じて草丈が最も低く推移した

表１　生育調査結果

品種・系統名	調査項目	6月25日	7月5日	7月15日	7月25日
夢あおば	草丈(cm)	45.8	67.1	74.2	85.0
	茎数(本/株)	26.6	28.0	27.3	20.4
	SPAD値		37.6	30.8	29.4
べこげんき	草丈(cm)	46.3	69.9	79.2	95.0
	茎数(本/株)	19.6	20.4	19.6	14.9
	SPAD値		38.9	37.5	34.9
タチアオバ	草丈(cm)	41.6	59.5	70.1	85.6
	茎数(本/株)	23.0	25.4	25.5	21.4
	SPAD値		38.9	33.0	30.5
たちすがた	草丈(cm)	46.3	69.7	80.9	94.8
	茎数(本/株)	18.2	22.0	21.2	18.3
	SPAD値		35.3	28.1	26.7
クサノホシ	草丈(cm)	41.3	56.2	65.7	82.9
	茎数(本/株)	22.5	29.4	27.5	23.8
	SPAD値		37.0	31.5	29.5
たちすずか	草丈(cm)	39.0	52.2	59.4	66.9
	茎数(本/株)	20.6	29.3	29.3	25.4
	SPAD値		37.3	31.9	29.1

表２　収量調査結果

品種名	出穂日	調査日	草丈	稈長	穂長	穂数	収量(kg/10a)		水分	乾物穂
			cm	cm	cm	本/㎡	現物	乾物	%	割合%
夢あおば	8月6日	9月10日	99.3	72.6	18.1	279.0	3456.6	1445.8	58.1	54.9
べこげんき	7月27日	8月28日	106.3	77.1	29.2	307.9	3371.3	1326.8	60.6	57.1
たちすがた	8月15日	10月1日	119.6	93.8	23.1	245.7	3707.0	1472.0	60.3	45.2
クサノホシ	9月9日	10月23日	129.5	89.1	18.4	283.5	3992.7	1538.0	61.5	27.9
たちすずか	9月28日	10月23日	129.7	94.2	14.4	330.0	4393.2	1627.1	63.0	4.2
タチアオバ	9月18日	10月23日	125.0	84.8	22.4	281.7	4446.6	1500.8	66.2	12.1

が，茎数は最も多かった．「クサノホシ」は「たちすずか」に次いで期間中の草丈は短く，茎数は多かった．

収量調査の結果を表２に示した．出穂日は「べこげんき」が７月27日と最も早く，「クサノホシ」「タチアオバ」「たちすずか」の３品種は９月に入ってから出穂した．出穂が最も遅かったのは「たちすずか」で９月28日であった．

桿長は「たちすずか」が94.2 cmと最も高く，穂数も「たちすずか」が330本/m^2と最も多かった．しかし「たちすずか」の穂長は14.4 cmであり，６品種中最も短かった．乾物収量は「たちすずか」が1,627.1 kg/10 aと最も多く，次いで「クサノホシ」，「タチアオバ」が多かった．

「たちすずか」の乾物穂割合は4.2%と最も低かった．これは穂長が６品種中最も短かったことに加え，調査時に熟期が乳熟から糊熟であったためと考えられる．

ま と め

「たちすがた」は試験５年目の品種であり，これまでの試験結果から現行奨励品種の「夢あおば」と比較して，出穂期が 10 日から 14 日遅くなることが確認されている．また，乾物収量も「夢あおば」より多かった．

「たちすずか」は出穂が９月中旬から下旬のため食用米収穫後の収穫となり，イネ WCS を食用米より早く収穫することが多い秋田県において，収穫時期の拡大が図られる．また，子実割合が低い事から未消化籾の低減や落下種子の懸念などの生産現場の要望に応えることが出来る品種である．

飼料作物奨励品種選定試験

－ 飼料用トウモロコシ（平成27年度） －

由利奈美江・渡邊　潤・千葉祐子

要　約

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

平成27年の飼料用トウモロコシの生育は，黄熟期に達する日数はほぼ平年並みで，乾物収量も平年並みであった.

TX1235は乾物収量および栄養収量が標準品種の36B08より高く，初期生育も良好であった。

KE9730は乾物収量および栄養収量が標準品種の32F27より高かったが，検定1年目および２年目では標準品種と同等であった。

SH4812は収量性に優れていたが，発芽率が低いことが問題として挙げられる。

緒　言

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

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

材料と方法

１　試験期間　平成27年５月14日～９月29日

２　試験場所　秋田県畜産試験場内試験圃場

３　試験圃場の構成

15 m^2（３×５ m）　３反復／１品種

１区当たり５畦，畦間75 cmとして２粒点播１本仕立てとした.

４　栽培概要

１）栽培密度

相対熟度118日以下の品種　7,018本／ 10 a

相対熟度119日以上の品種　6,061本／ 10 a

２）施肥

土壌改良資材として10 a当たり堆肥４t，苦土石灰100 kg，熔燐60 kgを施用し，基肥として窒素12 kg，リン酸24 kg，カリ12 kgを施用した．なお，追肥は行わなかった（表１）.

３）播種日

平成27年５月14日

４）供試品種

17品種供試し，うち３品種は標準品種である．相対熟度及び育成場所は表2に示すとおりである.

５）調査方法

牧草･飼料作物系統適応性試験実施要領(独立行政法人畜産草地研究所．2001．飼料作物系統適応性検定試験実施要領（改定5版）.）に従って生育特性及び収量特性を調査した.

表１　施肥量

（kg／10a）

区分	N	P_2O_5	K_2O	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		SL12029	90	雪印
2		SL0746	95	雪印
3		KE2458	100	カネコ種苗
4		TX1235	105	タキイ種苗
5	標準	36B08	106	パイオニア
6		TX1241	110	タキイ種苗
7		TX1334	110	タキイ種苗
8		KE2620	114	カネコ種苗
9	標準	KE9601	115	カネコ種苗
10		TX1162	115	タキイ種苗
11		KE0652A	117	カネコ種苗
12		A636	118	パイオニア
13		KE1671A	118	カネコ種苗
14		KE9730	123	カネコ種苗
15		SH2821	125	雪印種苗
16		SH4812	125	雪印種苗
17	標準	32F27	126	パイオニア

結果と考察

１　栽培期間中の気象の特徴

平成27年５～９月の状況について近隣の気象庁大曲観測所のデータを参考として，旬別の平均気温，日照時間及び降水量を図１から３に示した。なお，平年値として過去10年間の平均値を用いた。

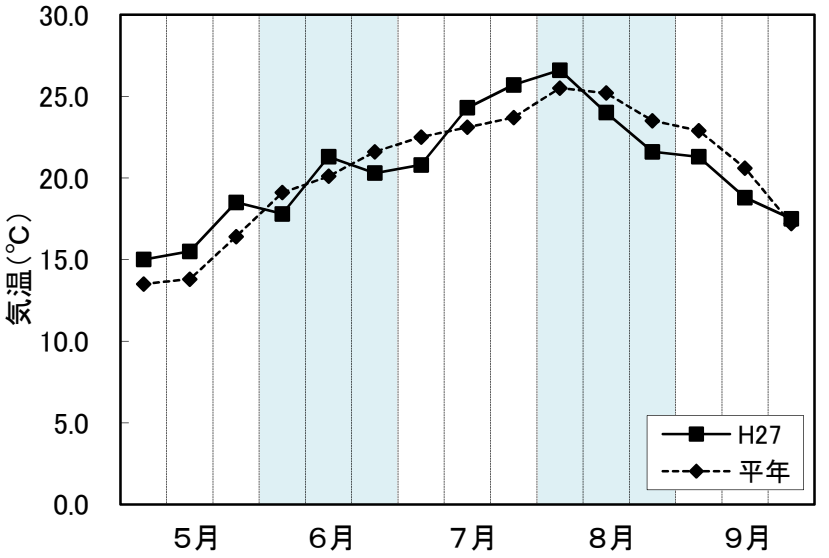
１）気温

平年と比較して，平均気温は，５月は高気圧に覆われて晴れの日が多かったため，高く推移した．６月は上旬に低く，中旬が高く，下旬は低く推移した．７月は月を通して高く

推移した．８月上旬は高くなったが，中下旬は低く推移した．９月は上旬・中旬は低く推移し，特に９月中旬は寒気の影響で平年より3.8℃低くなった．９月下旬は同等であった（図１）．

２）日照時間（日射量）

平年と比較して，日照時間は，５月は高気圧に覆われて晴れの日が多く，中旬は同等であったが，上旬・下旬は平年比150%とかなり多くなった．６月中旬は多くなったが，上旬・下旬は同等であった．７月は月を通して多くなったが，特に７月上旬は梅雨前線の影響も小さく，かなり多くなった．８月上旬は高気圧の影響で多かったが，中下旬は前線や低気圧の影響で曇りや雨の日が多かったため，少なくなった．９月上旬は台風18号から



※平年値は過去10年間の平均値、以下図２，３も同様

図１　旬別平均気温（大曲）

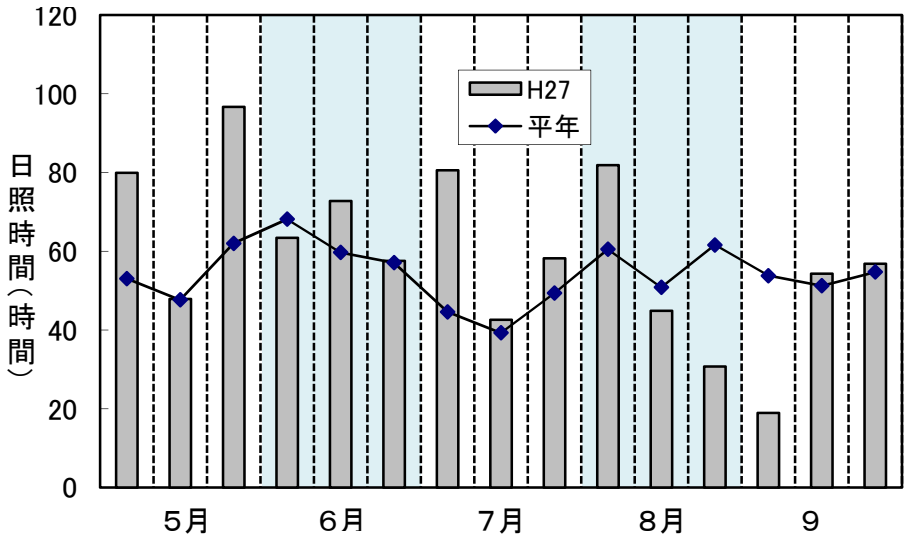


図２　旬別日照時間（大曲）

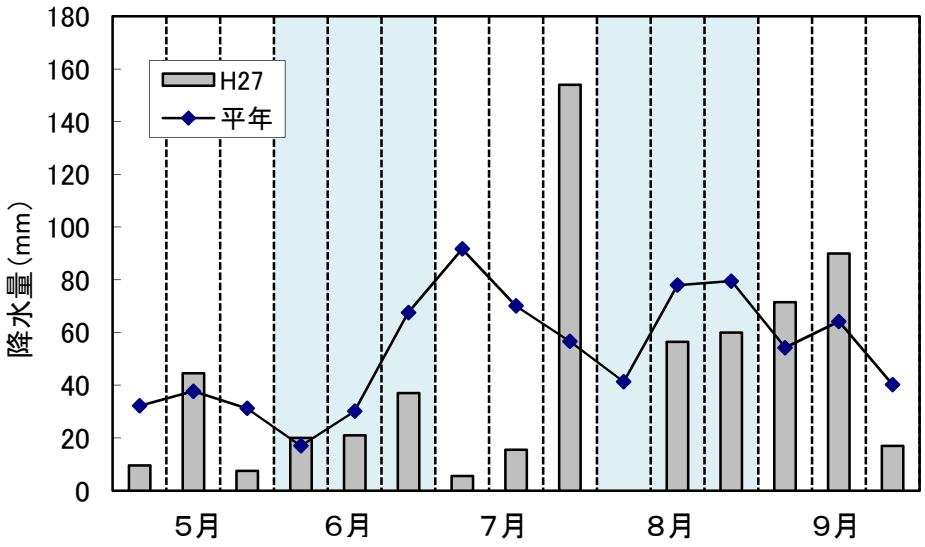


図３　旬別降水量（大曲）

変わった低気圧の影響で大雨となり，平年比35%と大幅に少なくなった．９月中下旬はほぼ同等であった（図２）．

３）降水量

平年と比較して，降水量は，５月は上旬・下旬が高気圧の影響で晴れの日が多かったため，月を通して少なかった．６月上旬は高くなったが，中下旬はかなり少なかった．東北北部の梅雨入りは６月26日頃であり，平年より12日遅かった．７月上旬は高気圧に覆われ，平年比６%とかなり少なく，中旬も同様に平年比22%とかなり少なく推移したが，７月下旬は前線や気圧の谷の影響で雨の日が多く，平年比272%とかなり多くなった．東北北部の梅雨明けは７月29日頃で平年より1日遅かった．８月上旬は高気圧に覆われて晴れの日が多く，降水量は０であり，中下旬も低く推移した．９月上中旬は低気圧や前線の影響や台風18号から変わった低気圧の影響で多くなり，下旬は高気圧に覆われて晴れる日が多く，かなり少なかった（図３）．

２　生育および収量特性

播種は５月14日に行った．播種後の平均気温は高かったが，発芽までに要した日数は10日と平年並みであった．出芽が確認された５月下旬から６月上旬までは，気温が平年よりも高く推移し，日照時間も多かったため，６月中旬に実施した播種後40日の草丈は平年よりも高かった．絹糸の抽出時期は，平年並みの７月中旬～下旬であった．

黄熟期に達する日数は，ほぼ平年並みであり，乾物収量も平年並みであった．

TX1241（相対熟度110日），TX1334（相対熟度110日），KE2620（相対熟度114日），TX1162（相対熟度115日），KE0652A（相対熟度117日），A636（相対熟度118日）およびKE1671A（相対熟度118日）は，標準品種であるKE9601（相対熟度115日）と比較して，播種後40日に測定した初期生育草丈が高かった（表3）．

SH2821（相対熟度125日）およびSH4812（相対熟度125日）は，標準品種である32F27（相対熟度126日）と比較して，播種後40日に測定した初期生育草丈が高かった。

TX1235（相対熟度105日）は標準品種の36B08と比較して，乾物収量（総重量）および

表３　生育特性

No		品種・系統名	相対熟度	初期生育草丈 (cm)	収穫月日 (月日)	収穫熟度	折損 (%)	稈長 (cm)	着雌穂高 (cm)
1		SL12029	90	93.8	9/7	黄後	7.0	238.9	82.6
2		SL0746	95	89.2	9/7	黄後	11.0	220.4	69.5
3		KE2458	100	91.8	9/8	黄後	4.0	220.0	92.6
4		TX1235	105	87.1	9/17	黄後	4.0	233.1	114.3
5	標準	36B08	106	98.2	9/8	黄後	2.0	215.7	97.6
6		TX1241	110	95.7	9/17	黄後	5.0	236.3	105.1
7		TX1334	110	97.7	9/17	黄後	4.0	237.1	107.6
8		KE2620	114	95.4	9/17	黄後	3.0	221.0	107.9
9	標準	KE9601	115	87.6	9/28	黄後	7.0	251.5	116.9
10		TX1162	115	89.1	9/28	黄後	2.0	259.1	132.6
11		KE0652A	117	91.0	9/30	黄後	19.0	244.8	125.3
12		A636	118	88.7	9/30	黄後	14.0	252.0	117.9
13		KE1671A	118	90.2	9/30	黄後	13.0	266.3	127.0
14		KE9730	123	83.2	9/30	黄後	8.0	243.6	118.0
15		SH2821	125	93.9	9/30	黄後	15.0	263.5	131.2
16		SH4812	125	100.2	9/30	黄後	12.0	266.3	129.6
17	標準	32F27	126	90.7	9/30	黄後	19.0	241.5	115.3

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	栄養収量		
				(kg/10a)	標比 (%)	茎葉 (kg/10a)	雌穂 (kg/10a)	総重 (kg/10a)	標比 (%)	重割合 (%)	ＤＣＰ (kg/10a)	ＴＤＮ (kg/10a)	標比 (%)
1		SL12029	90	4,645	93	1,201	910	2,112	110	43	118	1,419	103
2		SL0746	95	4,913	98	753	999	1,752	91	57	103	1,241	90
3		KE2458	100	6,044	121	914	1,136	2,049	106	55	120	1,443	104
4		TX1235	105	5,678	114	7,768	1,168	2,336	121	50	134	1,612	117
5	標準	36B08	106	4,988	100	755	1,169	1,924	100	61	115	1,381	100
6		TX1241	110	5,245	91	897	1,021	1,918	58	53	112	1,340	61
7		TX1334	110	6,891	120	891	1,329	2,220	67	60	132	1,589	72
8		KE2620	114	6,503	113	846	1,282	2,128	65	60	127	1,525	69
9	標準	KE9601	115	5,747	100	1,897	1,392	3,289	100	42	184	2,204	100
10		TX1162	115	6,402	111	1,999	1,322	3,321	101	40	184	2,203	100
11		KE0652A	117	5,817	101	892	1,329	2,221	68	60	132	1,589	72
12		A636	118	5,747	100	968	1,512	2,480	75	61	148	1,782	81
13		KE1671A	118	5,591	97	893	1,289	2,182	66	59	130	1,557	71
14		KE9730	123	6,499	116	1,117	1,329	2,446	119	54	143	1,715	116
15		SH2821	125	6,220	111	1,301	987	2,288	111	43	128	1,538	104
16		SH4812	125	5,895	105	1,086	1,251	2,337	114	54	136	1,634	110
17	標準	32F27	126	5,606	100	804	1,255	2,059	100	61	123	1,480	100

栄養収量（TDN収量）が高くなった。

KE9730（相対熟度123日）は標準品種である32F27と比較して，乾物収量および栄養収量が高くなったが，検定１年目および２年目では標準品種と同等であった（佐藤ら 2015，由利ら 2016）。

SH4812は標準品種である32F27と比較して，乾物収量および栄養収量が高くなった（表４）。しかしながら，SH4812の発芽率は標準品種および他品種と比較しても明らかに低かった。そのため，株間が広くなり，個体あたりの重量が増加したことが収量増加の原因であると考えられる。

引用文献

独立行政法人畜産草地研究所．2001．飼料作物系統適応性検定試験実施要領（改定5版）．畜産草地研究所平成13-1資料．農林水産技術会議事務局

佐藤寛子，渡邊潤，加藤真姫子．2015．飼料作物奨励品種選定試験－飼料用トウモロコシ（平成25年度）－．秋田県畜産試験場研究報告第29号，63-66

由利奈美江，渡邊潤，佐藤寛子．2016．飼料作物奨励品種選定試験－飼料用トウモロコシ（平成26年度）－．秋田県畜産試験場研究報告第30号 10-14

飼料作物奨励品種選定試験

－ 飼料用稲（平成27年度） －

由利奈美江・千葉祐子・渡邊　潤

要　約

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

関東以西向けに育成された「たちすずか」「たちあやか」は食用米の収穫後の収穫となるため，収穫時期の拡大が図られる．また，乾物収量が高く，子実割合が低い事から未消化籾の低減や落下種子の懸念などの生産現場の要望に応えることが出来る品種である．

緒　言

秋田県におけるイネWCS（ホールクロップサイレージ）用稲の平成26年度作付面積は1,079 haと取組は拡大してきている．しかし，品種の構成割合をみると「あきたこまち」等の食用米品種が約70%と最も多く作付されており，飼料用稲専用品種の作付は少ない．今後，飼料用稲の普及定着をさらに図り，生産コストの低減により経営を安定させるためには食用米品種に比べて多収性，耐病性，耐倒伏性優れている飼料用稲専用品種の普及が必要である．

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に，飼料用稲専用品種として育成されたものについて栽培，調査を行った．供試品種は，栽培適期の拡大，落下籾の発芽による食用米への混入防止，未消化籾の排泄を低減させるため子実割合の低い品種を求める等の生産現場からの要望に応えるため,「たちあやか」「たちすずか」といった関東以西向けに育成された品種を含めた５品種とした．

材料と方法

1　試験期間　平成27年４月27日～ 10月29日

2　試験場所　大仙市神宮寺金葛

3　試験圃場の構成

１区画　57.6 m^2（2.4×24 m）

4　栽培概要

１）栽植密度

18.2株／m^2

２）施肥（10 a当たり）

前々作として，大豆を３年間作付していたため，土壌中の養分残存量を考慮し，施肥量を設定した．

基肥　窒素５ kg，リン酸５ kg，加里５ kg

追肥　なし

３）播種日および移植日

播種日：平成27年４月27日

移植日：平成27年５月14日

5　供試品種

たちはやて，べこげんき，たちすがた，たちあやか，たちすずかの合計５品種

6　生育及び収量調査

生育調査は草丈，茎数及び葉色（SPAD値）

を測定した．収量調査は黄熟期に水分，全重，桿長，穂長，穂数，収量，穂割合等について測定した．

結果と考察

1　栽培期間中の気象の特徴

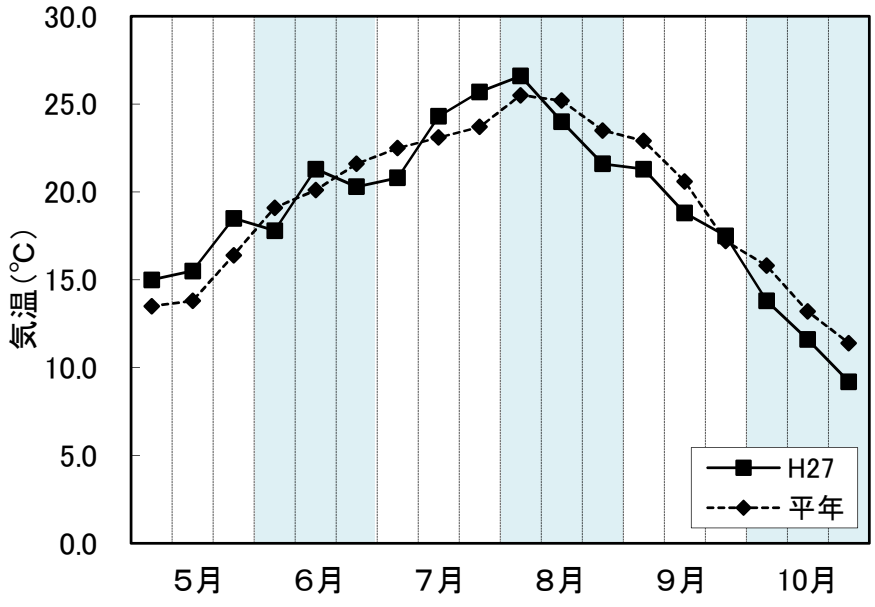
平成27年５～10月の状況について近隣の気象庁大曲観測所のデータを参考として，旬別の平均気温，日照時間及び降水量を図－１から３に示した．なお，平年値として過去10年間の平均値を用いた．

１）気温

平年と比較して，平均気温は，５月は高気圧に覆われて晴れの日が多かったため，高く推移した．６月は上旬は低く，中旬が高く，下旬は低く推移した．７月は旬を通して高く推移した．８月上旬は高くなったが，中下旬は低く推移した．９月は上旬・中旬は低く推移し，特に９月中旬は寒気の影響で平年より3.8℃低くなった．９月下旬は同等であった．10月は低気圧や寒気の影響もあり，低く推移した（図１）．

２）日照時間（日射量）

平年と比較して，日照時間は，５月は高気圧に覆われて晴れの日が多く，中旬は同等であったが上旬・下旬は平年比150%とかなり多くなった．６月中旬は多くなったが,上旬･下旬は同等であった．7月は月を通して多くなったが，特に７月上旬は梅雨前線の影響も小さく，かなり多くなった．８月上旬は高気圧の影響で多かったが，中下旬は前線や低気圧の影響で曇りや雨の日が多かったため，少なくなった．９月上旬は台風18号から変わった低気圧の影響で大雨となり，平年比35%と大幅に少なくなった．９月中下旬はほぼ同等



※平年値は過去10年間の平均値、以下図２，３も同様

図１　旬別平均気温（大曲）

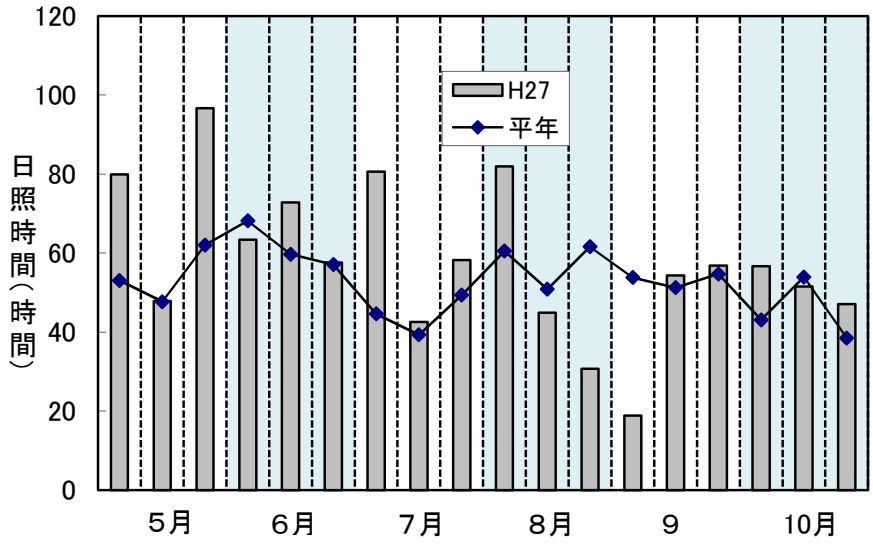


図２　旬別日照時間（大曲）

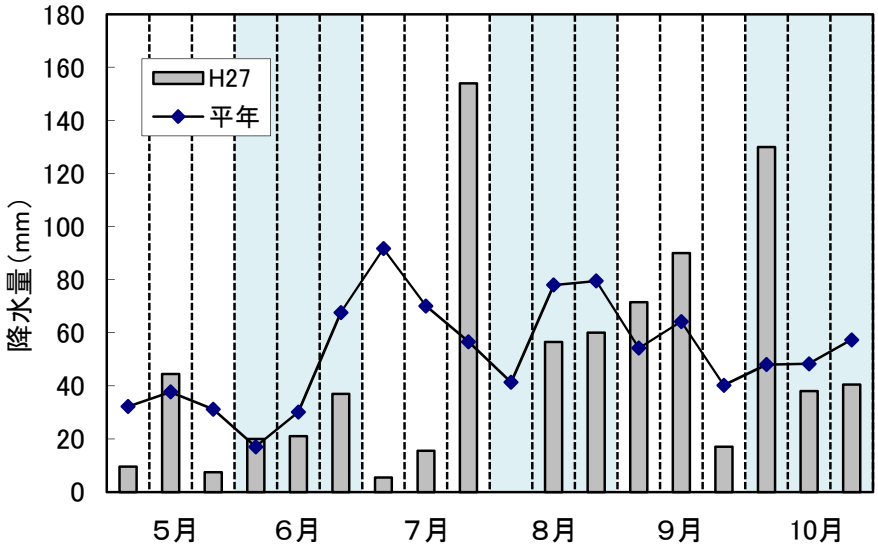


図３　旬別降水量（大曲）

であった．10月上旬下旬は多く，中旬は少なく推移した（図２）．

３）降水量

平年と比較して，降水量は，５月は上旬・下旬が高気圧の影響で晴れの日が多かったため，月を通して少なかった．６月上旬は高くなったが，中下旬はかなり少なかった．東北北部の梅雨入りは６月26日頃であり，平年より12日遅かった．７月上旬は高気圧に覆われ，平年比６％とかなり少なく，中旬も同様に平年比22％とかなり少なく推移したが，７月下旬は前線や気圧の谷の影響で雨の日が多く，平年比272％とかなり多くなった．東北北部の梅雨明けは７月29日頃で平年より1日遅かった．８月上旬は高気圧に覆われて晴れの日が多く，降水量は0であり，中下旬も低く推移した．９月上中旬は低気圧や前線の影響や台風18号から変わった低気圧の影響で多くなり，下旬は高気圧に覆われて晴れる日が多く，平年よりかなり少なかった．10月上旬

は低気圧や台風23号の影響で平年比271％とかなり多く，中下旬は少なく推移した（図３）．

2　生育および収量調査

生育調査の結果を表１に示した．「たちあやか」および「たちすずか」は，調査開始時の茎数はたちあやか14.4本/株，たちすずか15.2本/株と，他品種とほぼ変わりなかったが，７月28日には他品種が約16本/株であるのに対し，たちあやか24.8本/株，たちすずか27.5本/株とかなり多くなった．７月28日の調査時に草丈が最も高いのは「たちすがた」で98.8 cmで，最も低いのは「たちすずか」で79.5 cmであった．

収量調査の結果を表２に示した．出穂日は「べこげんき」が７月28日日と最も早く，「たちはやて」「たちすがた」「たちあやか」の３品種は８月に出穂した．出穂が最も遅かったのは「たちすずか」で９月16日であった．

草丈は「たちあやか」が136.7 cmと最も高かった．穂数は「たちはやて」が336.5本/m^2と最も多く，「たちすずか」が100.7本/m^2と最も少なかった．乾物収量は「たちあやか」が1,711.5 kg/10 aと最も多く，次いで「たちすずか」，「べこげんき」が多かった．

乾物穂割合は「たちすずか」が1.0%と最も低く，「たちあやか」が次いで低く，5.5%であった．これは「たちすずか」「たちあやか」が茎葉型の品種であることと，調査時に「たちすずか」が乳熟期，「たちあやか」が糊熟期であっ

表１　生育調査結果

品種・系統名	調査項目	6月26日	7月28日
たちはやて	草丈(cm)	33.3	96.5
	茎数(本/株)	12.5	16.2
	SPAD値		41.8
べこげんき	草丈(cm)	33.4	93.3
	茎数(本/株)	14.0	16.2
	SPAD値		40.9
たちすがた	草丈(cm)	34.0	98.8
	茎数(本/株)	16.5	15.9
	SPAD値		44.5
たちあやか	草丈(cm)	36.9	89.7
	茎数(本/株)	14.4	24.8
	SPAD値		45.3
たちすずか	草丈(cm)	34.1	79.5
	茎数(本/株)	15.2	27.5
	SPAD値		37.0

表２　収量調査結果

品種名	出穂日	調査日	草丈	稈長	穂長	穂数	収量(kg/10a)		水分	乾物穂
			cm	cm	cm	本/㎡	現物	乾物	%	割合%
たちはやて	－	9月17日	107.4	74.8	23.5	366.5	4129.1	1533.3	62.9	41.0
べこげんき	7月28日	9月17日	127.8	93.3	32.2	340.8	3310.1	1605.4	51.5	63.0
たちすがた	8月25日	10月14日	133.5	－	－	312.8	4254.3	1435.2	66.3	21.8
たちあやか	8月31日	10月14日	136.7	－	－	284.2	4231.5	1711.5	59.6	5.5
たちすずか	9月16日	10月14日	132.7	－	－	100.7	4845.8	1614.8	66.7	1.0

たことが影響していると考えられる.

3　まとめ

「たちすずか」は出穂が９月中旬から下旬であり,「たちあやか」は８月下旬のため食用米の収穫後の収穫となり，イネWCSを食用米より早く収穫することが多い秋田県において，収穫時期の拡大が図られる．また，子実割合が低い事から未消化籾の低減や落下種子の懸念などの生産現場の要望に応えることが出来る品種である.

「たちすずか」「たちあやか」は茎葉中の糖分含量が高いといわれており（松下ら 2012a，松下ら2012b），高水分での刈取りに対して発酵品質の改善が期待できるとともに，牧草代替としての価値が期待される.

引用文献

松下景，飯田修一，出田収，春原嘉弘，前田英郎，田村泰章．2012茎葉多収で消化性に優れ高糖分含量の飼料用水稲品種「たちすずか」の育成．近畿中国四国農業研究センター研究報告 第11号，1-13

松下景，石井卓郎，飯田修一，出田収，春原嘉弘，前田英郎．2011茎葉多収で中生の稲発酵粗飼料用水稲新品種候補系統「たちあやか」．平成23年度近畿中国四国農業研究センター成果情報

ウシ凍結精液作製時の不凍タンパク質およびグルタチオン添加が融解後の精子生存性に及ぼす影響

佐々木航弥・小原　剛[*1]・高橋利清[*2]

[*1]現：秋田県中央家畜保健衛生所
[*2]現：秋田県農林水産部畜産振興課

要　約

ウシ精子の凍結・融解後の運動性向上を目的として，氷点下における細胞保護物質である不凍タンパク質（AFP）および抗酸化物質であるグルタチオン（GSH）を凍結希釈液に添加し，精子の運動性および受精能に与える影響を検討した．黒毛和種種雄牛３頭から採取した精液を供試し，２段階希釈の後にプログラムフリーザーを用いて凍結した．試験１では１次希釈液にAFPを0.1，0.5および1.0 μg/mL添加した３区を試験区，試験２では試験１の試験区３区の１次希釈液にそれぞれGSHを１ mM添加したものを試験区とし，融解後の精子運動率，直進性，頭部振幅を測定した．試験３ではAFP0.5区の精液を用いて体外受精（IVF）を行い，卵割率と発生率を調査した．

その結果，AFPを0.5 μg/mL添加した区（0.5区）において対照区と比較して融解後の精子運動率が有意に高かった（$P<0.05$）．AFPと同時にGSHを１ mM添加したAFP＋GSH区では，AFP区と比較して，精子運動率，直進性および頭部振幅について差は認められなかった．また，AFP0.5 区の精液を用いた体外受精試験では，対照区と比較して分割率，胚盤胞発生率に差は認められなかった．以上のことから，ウシ凍結希釈液に対し，0.5 μg/mL のAFP添加は凍結融解後の精子運動性を有意に改善することが示唆された．しかしながら，AFP添加精液への１ mM濃度のGSH添加は，運動性を改善しなかった．なお，AFP添加精液は体外において正常な受精能を有していることが示唆された．

緒　言

ウシの生産現場において，人工授精（AI）の受胎率は，子牛の生産性に影響を与える重要な要素である．しかし肉用牛の初回AI受胎率は年々低下傾向にあることが報告されている（家畜改良事業団2014）．受胎率向上のためには，使用する凍結精液について，融解後の生存精子数の増加が重要であるとの報告がある（佐藤と小田原，2003; 西ら，2003）．過去に当場では，精子の耐凍性が低い個体について，アルブミンに不飽和脂肪酸を付与したリノール酸アルブミン（LAA）を凍結希釈液へ添加するとともに，平衡時間を従来の５時間から30時間に延長することで，凍結・融解後の精子生存率が向上することを報告している（Takahashi *et al*. 2012）．

不凍タンパク質（Antifreeze Protein：AFP）は，氷点下の温度域において，細胞内に生成する氷結晶の表面に吸着し，その成長を抑制する働きをもつ細胞保護物質であり，食品や血液，臓器等の保存への応用も検討されている（鍋西ら，2011）．また，グルタチオン（GSH）は，あらゆる生物の細胞に普遍的に存在する物質で，生体内での酸化

ストレス耐性に関与する（服部ら，2013）抗酸化作用を持つ物質である（江口ら，2009）.

そこで本研究では，ウシ精子において，凍結障害からの保護および長期平衡に伴う酸化の抑制を行うため，凍結希釈液へのAFPおよびGSH添加による，精子の運動性や受精能に及ぼす影響を検討した.

材料と方法

1　供試精液

当場で繋養している黒毛和種種雄牛３頭を用い，それぞれ種雄牛A，B，Cとした．精液は，当該牛を擬牝台に乗駕させ，ウシ用人工膣（富士平工業株式会社）を用いて横取り法で採取した．採取した精液の量，色，臭気，精子数および運動性を検査し，正常と判定したものを供試した.

2　精液の希釈

種雄牛から精液を採取後，１次希釈として30℃に加温した18%ニワトリ卵黄を含む卵黄クエン酸緩衝液にLAAを1 mg/mLを加えた１次希釈液と等量希釈し，４℃の恒温室にて30時間かけて緩慢冷却しながら平衡し，その後２次希釈として，14%グリセリンを含む卵黄クエン酸緩衝液を最終希釈量の1/2量を滴下しながら1.5時間の平衡を行った.

3　精液のストロー充填および凍結処理

２次希釈終了後，ストローマシンINT-705型（富士平工業株式会社）を用い，ウシ人工授精用の0.5 mLプラスチックストロー（富士平工業株式会社）に充填した後，プログラムフリーザー（MODEL 1010，Forma Scientific,Inc,USA）で-140℃まで冷却後，直ちに液体窒素中に投入した.

4　凍結精液の融解および精子の運動解析

凍結保存していた精液ストローを，38.5℃の温湯に30秒浸漬して融解した．融解したストローをストローカッターで切断し，スライドグラスに滴下した精液のうち0.5 μmLを，マイクロピペットを用いて精子運動計算用カウンティングチャンバー（ニューロサイエンス社）に流して，精子運動解析装置（ディテクト社）を用いて精子の運動性を測定した．測定項目は，精子運動率，直進性，頭部振幅の３つとし，精子運動率はサンプル採取した全精子中の運動している精子の割合（%），直進性は直進速度を曲進速度で割った値，頭部振幅は頭部の振れ幅（μm）として測定した．測定は精液採取直後と凍結・融解後の２点とした．融解後の成績は，各区３本の凍結・融解後の平均値を測定値とし，計５回反復した.

5　体外受精

供試卵子は，食肉処理場由来卵巣から吸引採取により，卵丘細胞３層以上のものを選択し，各区60個ずつ用いた．黒毛和種種雄牛３頭の精液を用いて媒精を行った.

体外受精（IVF）の方法は18 G注射針にて卵巣より物理的に卵子吸引後，未成熟卵子成熟培養を20時間実施した．次に，精子濃度500万 / mLに調整した各精液中で媒精を６時間実施し，卵丘細胞を剥離後，発生培養を行った．培養は全て38.5℃，５% CO^2，飽和湿度の条件下で行った．体外生産（IVP）には機能性ペプチド研究所の卵子回収液，卵子成熟共培養用培養液（IVMD101），媒精用培養液（IVF100），裸化受精卵培養液（IVD101）を用いた.

6　試験区分

試験１）AFP添加がウシ精子の運動性に及ぼす影響

1次希釈液にAFPを0.1，0.5および1.0 μg/mL添加した3区（0.1区，0.5区，1.0区）を試験区として，凍結を行った.

試験2）AFP＋GSH添加がウシ精子の運動性に及ぼす影響

試験1でAFPを加えた3区の1次希釈液に，それぞれGSHを1 mM添加したものを試験区（AFP+GSH区）とした．融解後の成績は，各区3本の凍結・融解後の平均値を測定値とし，計4回反復した.

試験3）AFPを添加したウシ凍結精液がIVP胚に及ぼす影響

AFP0.5区の精液を用いてIVFを行い，体外胚の発生試験を行った．媒精2日後に卵割率，7日後に胚盤胞発生率を調査した.

7　統計処理

Statviewプログラムを用いてTukey-Kramer法およびt検定にて統計処理を実施した.

結　果

1　AFP添加がウシ精子の運動性に及ぼす影響

融解後の直進性，頭部振幅については対照区と比較して有意な差は認められなかったが，精子運動率は対照区と比較して0.5区で有意に高かった（77.6% vs86.2% ;P<0.05）（表1）.

2　AFP＋GSH添加がウシ精子の運動性に及ぼす影響

融解後の精子運動率，直進性，頭部振幅について，対照区と試験区で有意な差は認められなかった（表2）.

3　AFPを添加したウシ凍結精液がIVP胚に及ぼす影響

AFP0.5区精液を用いたIVP胚において，対照区と比較して，分割率，胚盤胞発生率に有意な低下は認められず，対照区と同等の発生率が得られた（表3）

表1　ウシ精子の凍結希釈液へのAFP添加が融解後の運動性に及ぼす影響

区分（AFP）		精子運動率(%)	直進性	頭部振幅(μm)
採精直後		88.9±　8.0	0.37±0.07	3.69±0.55
融解後	対照区	77.6±　12.3 [a]	0.30±0.03	2.18±0.35
	0.1区	82.8±　8.5	0.31±0.04	2.26±0.39
	0.5区	86.2±　7.2 [b]	0.30±0.03	2.38±0.40
	1.0区	83.2±　8.4	0.30±0.03	2.29±0.37

＊異符号間で有意差あり（P<0.05）

AFP：不凍タンパク質

対照区：AFP不添加
0.1区：AFP0.1μg/mLを希釈液に添加
0.5区：AFP0.5μg/mLを希釈液に添加
1.0区：AFP1.0μg/mLを希釈液に添加

表２　ウシ精子の凍結希釈液へのAFPおよびGSH添加が融解後の運動性に及ぼす影響

区分（AFP+GSH）		精子運動率(%)	直進性	頭部振幅(μm)
採精直後		87.0± 8.1	0.39±0.05	2.60±0.76
融解後	対照区	75.5± 10.9	0.34±0.04	1.90±0.38
	0.1区	75.6± 23.0	0.33±0.07	2.14±0.58
	0.5区	80.6± 11.2	0.31±0.07	2.30±0.59
	1.0区	77.1± 11.8	0.32±0.06	2.12±0.49

AFP:不凍タンパク質，GSH:グルタチオン

対照区:AFP，GSH共に不添加
0.1区:AFP0.1μg/mL，GSH1mMを希釈液に添加
0.5区:AFP0.5μg/mL，GSH1mMを希釈液に添加
1.0区:AFP1.0μg/mL，GSH1mMを希釈液に添加

表３　AFP添加したウシ凍結精子がIVPに及ぼす影響

区分（AFP）	供試卵数	胚発生数(%)	
		分割	胚盤胞
対照区	60	45 (75.0)	14 (23.3)
0.5区	60	51 (85.0)	15 (25.0)

AFP:不凍タンパク質　　分割:IVF後2日，胚盤胞:IVF後7日

対照区:AFP不添加
0.5区:AFP0.5μg/mLを希釈液に添加

考　察

AFPは，氷点下において，氷結晶の成長を抑制することで細胞の生存率を向上させる機能を有する（西宮ら，2008）．またGSHは，あらゆる生物の生体内に存在する物質であり，抗酸化作用を有する（江口ら，2009）．

そこで本研究では，凍結・融解後のウシ精子の運動性向上を目的として，AFPとGSHの２つの物質に着目した． AFPまたは，AFPおよびGSHを添加した凍結精液を対象に，融解後の精子運動性，ならびにAFP添加精液における体外受精能について検討した．

その結果，凍結希釈液へAFPおよびGSHを添加したウシ精液では，無添加と比較して有意な差は認められなかった．しかし，AFPのみを0.5 μg/mL添加した精液では，無添加と比較して，直進性と頭部振幅に影響を及ぼさないものの，精子運動率を有意に改善させた． さらに，AFP0.5 μg/mL添加精液を用いたIVP胚発生は，無添加精液と比較して胚盤胞発生率について有意な低下は認められず，正常な受精能を有することが確認された．このことから，ウシ凍結希釈液へのAFP添加は，0.5 μg/mLの濃度で融解後の精子運動性を改善させるとともに，体外での胚発生に関し

て受精能への悪影響を及ぼさないことが示唆された．このように，AFPは凍結時の細胞生存性に影響を与えると考えられ，ウシ胚においても，凍結保存液へAFPを添加し，0.5 mg/mLの濃度で融解後の生存率が向上したとの報告もある（鍋西ら，2010）．

以上のことから，本研究においてAFPがウシ精子に対して凍結時の細胞保護作用を示すことが示唆された．しかし，精液希釈液へのAFPおよびGSH添加では，無添加と比較して有意な改善が認められなかったことから，AFP単独添加と異なる影響を与えたと考えられる．したがって，今後はウシ凍結希釈液へのGSH添加が，凍結時に精子へ与える影響について詳細な検討が必要である．

謝　辞

本研究は，生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究（大学共同利用機関法人自然科学研究機構基礎生物学研究所IBBPセンター）の助成によるものです．

引用文献

家畜改良事業団（2014）受胎調査成績．http://liaj.or.jp/giken/gijutsubu/seieki/jyutai.htm [2014 年10 月10 日参照]

佐藤亘, 小田原利美. 2003. テオフィリンとピルビン酸塩が牛の精子の凍結能に与える影響. 大分畜試報告 32, 1.

西浩二, 鷭田洋一, 新福由香, 清野滋美, 上村利久, 内山正二, 大久津昌治. 2003. 牛凍結精液の有効利用に関する研究. 鹿児島肉改研報 8, 6-8.

Takahashi et al. 2012. Reprod Domest Anim. 47, 92-97.

鍋西久, 津田栄, 高木哲, 大田洋, 鎌田博志, 西元俊文. 2010. ウシ胚の凍結保存液への不凍タンパク質添加が融解後の生存性，受胎性に及ぼす影響. 宮崎畜試研報 23, 55-57.

服部領太, 鈴木聡, 楠本憲一. 2013. Aspergillus oryzae菌体内グルタチオンに対する環境ストレスの影響. 食総研報[研究ノート] 77, 33-38

江口裕伸, 藤原範子, 大河原知水, 鈴木敬一郎, 谷口直之. 2009. 酸化ストレスと健康. 生物試料分析 32-4, 247-256

西宮佳志, 三重安弘, 平野悠, 近藤英昌, 三浦愛, 津田栄. 2008. 不凍蛋白質の大量精製と新たな応用開拓. Synthesiology 1-1, 7-14

高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明（第４報）

－ アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のハプロタイプと鶏肉のアラキドン酸含有率との関連性 －

力丸宗弘・江川やよい[*1]・山口　進[*1]・青谷大希・小松　恵[*2]・高橋秀彰[*3]

[*1] 株式会社J-オイルミルズ　油脂基盤技術研究所

[*2]現：秋田県南部家畜保健衛生所

[*3]国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構　畜産研究部門

要　約

我々はこれまでにアラキドン酸が鶏肉のおいしさに関連していることを報告した．本研究では，鶏肉のおいしさの指標である脂肪酸組成におけるアラキドン酸含有率の遺伝的改良を目的として，アラキドン酸代謝に関連する３つの酵素遺伝子，デルタ６デサチュラーゼ遺伝子（*D6D*），エロンガーゼ遺伝子（*EL5*），デルタ５デサチュラーゼ遺伝子（*D5D*）において，鶏肉の中性脂肪中のアラキドン酸含有率と関連性が疑われる一塩基多型（SNP）（*D6D*遺伝子；A/G，*EL5*遺伝子；T/A，*D5D*遺伝子；A/G）について調査を行った．比内地鶏94羽を対象として，各遺伝子におけるSNPから構成される遺伝子型を同定し，SNPの組み合わせ（ハプロタイプ）の同定を行った結果，４つのハプロタイプ（*D6D-EL5-D5D*の順に，H1；A-T-A，H2；A-T-G，H3；G-T-G，H4；A-A-A）が同定された．次に94羽の中から32羽を選定し，各遺伝子におけるSNPの遺伝子型とモモ肉の脂肪酸組成を比較した結果，EL5遺伝子はTアリルがAアリルに，D5D遺伝子はGアリルがAアリルに，D6D遺伝子はGアリルがAアリルに対してアラキドン酸含有率に対する効果が高かった．アラキドン酸含有率とハプロタイプとの関連性では，H3がアラキドン酸を高める効果が最も高く，H4が最も低かった．以上の結果から，これらの酵素遺伝子を指標としたアラキドン酸含有率の遺伝的改良が可能であることが示唆された．

緒　言

我々はこれまでに比内地鶏とブロイラーを同一飼養環境下で飼育し，モモ肉の肉質を比較した結果，アラキドン酸を多く有することが比内地鶏の肉の特徴であることを明らかにした（力丸ら2011）．また，アラキドン酸油脂を５％添加した飼料を屠殺前２週間比内地鶏へ給与した結果，鶏肉中のアラキドン酸含量が増加し，官能評価では，全体的な味の強さ，旨味，こく味，後味が他の油脂を飼料に添加した区の鶏肉より有意に高い値を示し，アラキドン酸高含有油を飼料へ添加することによって，鶏肉のおいしさが向上することを報告した（力丸ら 2012）．さらに，比内地鶏へ３つの異なる添加割合のアラキドン酸油脂を添加した飼料を給与した結果，アラキドン酸含量はアラキドン酸油脂の添加割合が高くなるにしたがって直線的に増加し，アラキドン酸油脂を飼料へ添加することによって，鶏肉中のアラキドン酸含量を調節できることを報告した（力丸ら 2014）．しかしながら，アラキドン酸油脂は飼料添加物として利用するには現状ではコストが高すぎるため，実用化には至っていない．

アラキドン酸はn-6系不飽和脂肪酸の最終産物であり，含有率の違いが生じる原因として，代謝経路中に存在する酵素活性の違いが考えられる．アラキドン酸の生合成回路（図１）においてデルタ６デサチュラーゼ（D6D）はリノール酸をγ－リノレン酸に変換する等の機能を有する酵素である．エロンガーゼ（EL5）は脂肪酸を伸長させる酵素である．デルタ５デサチュラーゼ（D5D）は脂肪酸のカルボキシル基を１位として５番目の位置を不飽和化する酵素である．D5Dはインスリンの作用で活性化され，リノール酸をアラキドン酸に変換する．このことからアラキドン酸代謝に関わる３つの酵素遺伝子，デルタ６デサチュラーゼ遺伝子（*D6D*），エロンガーゼ遺伝子（*EL5*），デルタ５デサチュラーゼ遺伝子（*D5D*）に着目した．*D6D*遺伝子はアラキドン酸合成経路の第一段階，*EL5*遺伝子は経路の第二段階，*D5D*遺伝子はアラキドン酸生合成の最終段階に関わっている．本研究では，各酵素遺伝子のDNA多型と比内地鶏のモモ肉中のアラキドン酸含有率との関連性を明らかにすることを目的とした．

材料と方法

１　供試鶏

秋田県畜産試験場で同日に孵化し，22週齢まで飼育した雌の比内地鶏94羽を解析に用いた．飼養管理については，当場の慣行に従って運動場付きのパイプハウスで飼育した．

２　サンプルの準備および保存

鶏を18時間絶食させた後，放血脱毛し，屠体をすぐに氷水で冷却した．屠体を解体し，モモ肉から骨を取り外した後，片側のモモ肉をミートチョッパー（No.5-A，ベリタス，東京）を用いてミンチした．ミンチした肉をポリ袋に入れ，分析まで－30℃で保存した．

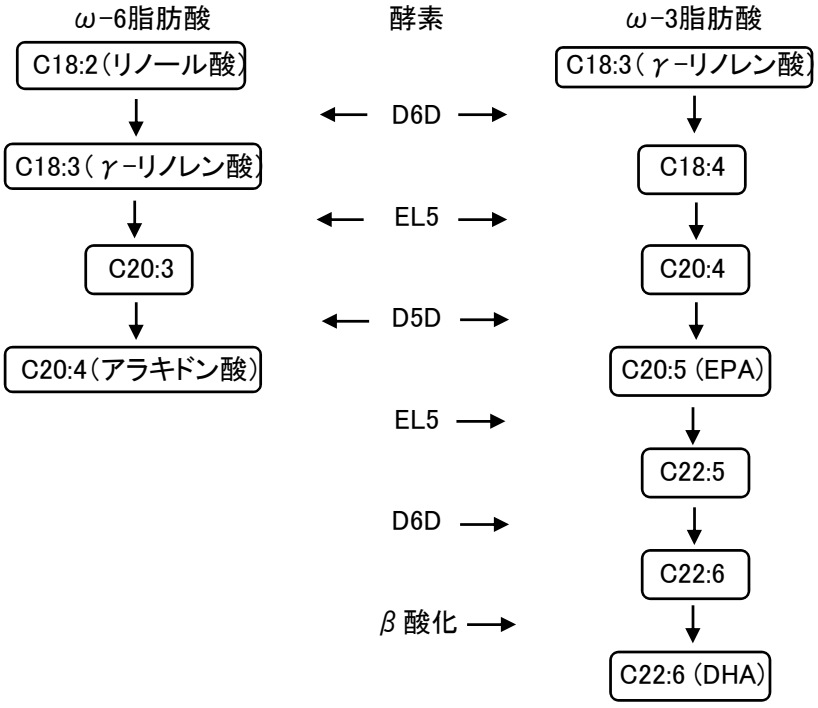


図１　長鎖高度不飽和脂肪酸の生合成経路

3　脂肪酸組成

脂肪酸分析は，Iverson ら（2001）の方法により，凍結肉0.1gにクロロホルム：メタノール（2:1vol/vol）3 mLを加え脂質を抽出した．抽出脂質を1.5 mLヘキサンに溶かし，2 MKOHメタノール溶液200 μLを加え30秒間撹拌した．飽和食塩水2 mLを加えた後，5分遠心（1000 g）し上層を採取した．脂肪酸メチルエステルはガスクロマトグラフ（GC2010; 島津製作所，東京）で0.25 mm × 30 m × 0.25 μmのキャピラリーカラムDB-23を用いて測定した．カラムは80℃ 2分保持後，160℃まで35℃ /分で加温し，続いて185℃まで2℃ /分で加温，続いて230℃まで10℃ /分で加温し，9分間維持のプログラムで分析した．注入口とFID検出口温度は250℃とし，キャリアガスはHeで流量1.49 mL/分，流速35.4 cm/秒とした．脂肪酸はSupelco 37 Component FAME Mix（Sigma-Aldrich Co.，セントルイス，ミズーリ，アメリカ）とのリテンションタイムの比較によって同定した．

4　アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子の一塩基多型（SNP）の検出

Ensembl Chicken Genome Browser（http://www.ensembl.org/Gallus_gallus（ニワトリドラフトシーケンス2011年11月版））において，*D6D*遺伝子の塩基配列は第5染色体の16,094,554-16,111,784bp，*EL5*遺伝子の塩基配列は第3染色体87,654,796-87,692,542bp，*D5D*遺伝子は*D6D*遺伝子と同じく第5染色体の16,079,252-16,088,563bpに示されている．

本研究では，これらの領域に存在するSNPのうち，*D6D*遺伝子のLC060926（GまたはA），*EL5*遺伝子のrs15421073（TまたはA），*D5D*遺伝子のrs733003230（GまたはA）を鶏肉の中性脂肪中のアラキドン酸含有率との関連性が疑われる候補SNPとした．LC060926およびrs15421073は*D6D*遺伝子および*EL5*遺伝子の5'発現調節領域に存在する．また，rs733003230は*D5D*遺伝子のエクソン1に存在する非同義

表1　アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子の遺伝子型判定に用いたプライマー

プライマーセット	プライマー（5´→3´）	遺伝子型	
		A	G
D6D_1	TCGCACATAGCTCCGTGTT AAATCCTGCCGCAGAGAAG	＋	－
D6D_2	AACCTTCCGCTCTATCACCA TGGGCCGAGCTTGCCGCG	－	＋
		T	A
EL5_1	GCTTTCCAAAGTCAGGTTGC CCCAGCAGTTGGTATTCATAT	＋	－
EL5_2	GCTTTCCAAAGTCAGGTTGC CCCAAGCAGTTGGTATTCAAAA	－	＋
		G	A
D5D_1	CCGGCGTAGTGGCTGATGAC GGAGGGGAGAGCCATGTAG	＋	－
D5D_2	CCGGCGTAGTGGCTGATGAC GGCGGGGAGAGCCATGCAA	－	＋

D6D：デルタ6デサチュラーゼ，EL5：エロンガーゼ，D5D：デルタ5デサチュラーゼ

置換SNPである．各候補SNPの遺伝子多型はMAMA法（Ritaら 1992）により検出した．比内地鶏94個体における各酵素遺伝子のSNPの遺伝子型を識別するため，それぞれ２つのプライマーセットを用いて，SNP特異的なPCRを行った（表１）．

*D6D*遺伝子のA側の反応液はプライマー 0.02 μL（2pmol），4.5 μLの２×PCR mix（KOD：東洋紡，大阪，日本），5.5μL のMilliQ水にDNA １ μLを加えて調整した．*D6D*遺伝子のG側の反応液はプライマー 0.02 μL（2pmol），４ μL の２×PCR mix（KOD：東洋紡），６ μL のMilliQ水にDNA １ μLを加えて調整した．PCRサイクルは，G側はホットスタート（94℃，30秒間），熱変性（94℃，30秒間，98℃，10秒間），アニーリング（65℃，30秒間），伸長反応（72℃，15秒間）のサイクルを30回，A側はホットスタート（95℃，２分間），熱変性（95℃，20秒間），アニーリング（67℃，30秒間），伸長反応（72℃，30秒間）のサイクルを35回繰り返した．４ μLのPCR産物をTAEバッファー中で２％アガロースゲルにより150Vで30分間電気泳動を行い，エチジウムブロマイドで30分間染色を行った．

*EL5*遺伝子の反応液は各プライマー 0.02 μL（2pmol），３ μL の２× PCR mix（EmeraldAmp：タカラバイオ，大津，日本），３μL のMilliQ水にDNA １ μLを加えて調整した．PCRサイクルは，T側は熱変性（98℃，10秒間），アニーリング（60℃，30秒間），伸長反応（72℃，30秒間）のサイクルを30回，A側は熱変性（98℃，10秒間），アニーリング（63℃，30秒間），伸長反応（72℃，30秒間）のサイクルを35回繰り返した．２μLのPCR産物をTAEバッファー中で２％アガロースゲルにより150Vで30分間電気泳動を行い，エチジウムブロマイドで30分間染色を行った．

*D5D*遺伝子のG側の反応液はプライマー 0.015 μL（1.5pmol），３μL の２× PCR mix（EmeraldAmp：タカラバイオ），３μL のMilliQ水にDNA １ μLを加えて調整した．*D5D*遺伝子のA側の反応液はプライマー 0.02 μL（2pmol），４ μL の２×PCR mix（Paq5000：アジレント・テクノロジー，カリフォルニア，アメリカ），６ μL のMilliQ水にDNA １ μLを加えて調整した．PCRサイクルは，G側はホットスタート（94℃，30秒間），熱変性（94℃，30秒間，98℃，10秒間），アニーリング（65℃，30秒間），伸長反応（72℃，15秒間）のサイクルを30回，A側はホットスタート（95℃，２分間），熱変性（95℃，20秒間），アニーリング（67℃，30秒間），伸長反応（72℃，30秒間）のサイクルを35回繰り返した．４ μLのPCR産物をTAEバッファー中で２％アガロースゲルにより150Vで30分間電気泳動を行い，エチジウムブロマイドで30分間染色を行った．

*D6D*遺伝子ではAプライマーの274bpのバンドのみ検出された時をA/A，Gプライマーの397bpのみを検出した時をG/G，そして両方のバンドを検出した時をA/Gと判定した．*EL5*遺伝子ではTプライマーの247bpのバンドのみ検出された時をT/T，Aプライマーの248bpのみを検出した時をA/A，そして両方のバンドを検出した時をT/Aと判定した．*D5D*遺伝子ではAプライマーの195bpのバンドのみ検出された時をA/A，Gプライマーの195bpのみを検出した時をG/G，そして両方のバンドを検出した時をA/Gと判定した．

各酵素遺伝子における候補SNPから構成される遺伝子型を検出後，SNPの組み合わせ（ハプロタイプ）の同定をおこなった．SNPの効果はThesiasソフトウェア（Tregouet と Garelle 2007）により求めた．

結果と考察

比内地鶏の雌個体94羽を解析した結果，表２に示す４つのハプロタイプが検出（H1：ATA，H2：ATG，H3：GTG，H4：AAA）され，表３に示す８種類のジェノタイプが検出された．ハプロタイプの頻度はH1（55.3%），H2（29.3%），H3（10.1%），H4（5.3%）の順に高く，ジェノタイプの頻度はH1 / H1（31.9%），H1 / H2（30.9%），H1 / H3（12.8%），H2 / H2（8.51%），H2 / H3（5.32%），H2 / H4（5.32%），H1 / H4（3.19%），H3 / H4（2.13%）の順に高かった．H3/H3とH4/H4のジェノタイプを有する個体は存在しなかったが，これは比内地鶏の父親である比内鶏は*D6D*遺伝子と*EL5*遺伝子におけるSNPの遺伝子型がそれぞれAアリルとTアリルに固定しており，H3とH4の個体が存在しないためである．これらの結果から，比内地鶏には４つのハプロタイプしか存在しないことが明らかとなった．

次に，94羽の中から32羽を選定し，アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子の遺伝子型とモモ肉の中性脂肪中のアラキドン酸含有率の関連性を調べた結果，*D6D*遺伝子ではA/G（2.45%）がA/A（2.22%），*EL5*遺伝子ではT/T（2.48%）がT/A（2.01%），*D5D*遺伝子ではG/G（2.66%）がA/G（2.26%），A/A（2.03%）よりアラキドン酸含有率が高く，*D6D*遺伝子ではGアリルがAアリル，*EL5*遺伝子ではTアリルがAアリル，*D5D*遺伝子ではGアリルがAアリルよりアラキドン酸含有率に対する効果が大きかった（表４）．次にハプロタイプとモモ肉中のアラキドン酸含有率の関連性を調べた結

表２　比内地鶏集団におけるアラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のハプロタイプ

ハプロタイプ名	遺伝子			頻度（%）
	D6D	*EL5*	*D5D*	
H1	A	T	A	55.3
H2	A	T	G	29.3
H3	G	T	G	10.1
H4	A	A	A	5.3

表３　比内地鶏集団におけるアラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のジェノタイプ

ジェノタイプ	羽数	頻度（%）
H1 / H1	30	31.9
H1 / H2	29	30.9
H1 / H3	12	12.8
H2 / H2	8	8.51
H2 / H3	5	5.32
H1 / H4	3	3.19
H2 / H4	5	5.32
H3 / H4	2	2.13
H3 / H3	0	0
H4 / H4	0	0

果，H3（1.55%），H2（1.27%），H1（1.05%），H4（0.76%）の順に高かった（表５）．また，ハプロタイプの組み合わせから想定されるモモ肉中のアラキドン酸含有率はH3/H3のジェノタイプがアラキドン酸含有率を高める効果が3.10%と最も高く，H4/H4のジェノタイプが1.52%と最も低かった（表６）．

これらの結果はアラキドン酸代謝関連酵素遺伝子における候補SNPがモモ肉中のアラキドン酸含有率に影響を与えることを示唆しており，アラキドン酸代謝に関わる３つの各酵素遺伝子の酵素活性の違いが鶏肉の中性脂肪中のアラキドン酸含有率に違いを生ずるという我々の仮説を支持している．

以上の結果から，ハプロタイプの組み合わせではH3/H3のジェノタイプがアラキドン酸含有率を高める効果が最も高いことが明らかとなった．力丸ら（2011）は比内地鶏のモモ肉中におけるアラキドン酸含有率は1.92%と報告しているが，今回の結果から想定されるハプロタイプの組み合わせではH1/H4，H4/H4のジェノタイプ以外はアラキドン酸含有率がそれよりも高いと想定された．今後アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のSNP情報に基づき，特にH3を有する個体を選抜することによって，さらにアラキドン酸含有率の高い比内地鶏生産が可能になると考えられる．

以上の結果から，アラキドン酸の生合成に関わる各酵素遺伝子のSNP情報を指標とした鶏肉のアラキドン酸含有率の遺伝的制御の可能性が示された．

表４　アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のジェノタイプとモモ肉の脂肪酸組成

遺伝子	*D6D*		*EL5*		*D5D*		
ジェノタイプ	A/A	A/G	T/T	T/A	A/A	A/G	G/G
n	20	12	25	7	10	15	7
脂肪酸組成（%）							
ミリスチン酸（C14:0）	0.69	0.65	0.68	0.67	0.70	0.67	0.67
パルミチン酸（C16:0）	23.28 ^{a}	22.47 ^{b}	22.70	23.44	24.20 ^{a}	22.65 ^{b}	22.41 ^{b}
パルミトレイン酸（C16:1）	4.25 ^{a}	4.00 ^{b}	3.74 ^{b}	4.85 ^{a}	4.73 ^{a}	4.20 ^{b}	3.49 ^{b}
ヘプタデカン酸（C17:0）	0.16	0.17	0.17	0.15	0.15	0.15	0.19
ステアリン酸（C18:0）	7.59	7.72	7.95 ^{a}	7.12 ^{b}	7.36 ^{b}	7.44 ^{b}	8.32 ^{a}
オレイン酸（C18:1）	38.08	38.4	37.59 ^{b}	39.2 ^{a}	34.86	38.36	37.61
リノール酸（C18:2）	20.03	20.47	20.73	19.31	18.03 ^{b}	20.70 ^{b}	21.37 ^{a}
γ－リノレン酸（C18:3）	0.14	0.11	0.11	0.16	0.17	0.13	0.09
α－リノレン酸（C18:3）	0.66	0.65	0.67	0.64	0.64	0.67	0.67
エイコセン酸（C20:1）	0.26	0.28	0.27	0.26	0.25	0.28	0.25
エイコサジエン酸（C20:2）	0.15	0.13	0.15	0.13	0.19 ^{a}	0.13 ^{b}	0.12 ^{b}
エイコサトリエン酸（C20:3）	0.17 ^{a}	0.12 ^{b}	0.15	0.14	0.20 ^{a}	0.13 ^{b}	0.13 ^{b}
アラキドン酸（C20:4）	2.22 ^{b}	2.45 ^{a}	2.48 ^{a}	2.01 ^{b}	2.03 ^{b}	2.26 ^{ab}	2.66 ^{a}
リグノセリン酸（C24:0）	0.19	0.17	0.19	0.17	0.19	0.17	0.21
ドコサヘキサエン酸（C22:6）	0.56 ^{b}	0.62 ^{b}	0.63 ^{a}	0.51 ^{b}	0.50 ^{c}	0.58 ^{b}	0.67 ^{a}
未同定	1.13	1.15	1.35	0.78	1.75	1.04	0.71
アラキドン酸に対するSNPの効果	*D6D* ：G＞A		*EL5* ：T＞A		*D5D* ：G＞A		

^{a,b,c}：同一遺伝子内の遺伝子型の平均値において、異符号間に有意差有り（P<0.05）

表５　アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のハプロタイプとモモ肉の脂肪酸組成中のアラキドン酸含有率

ハプロタイプ名	*D6D*	*EL5*	*D5D*	アラキドン酸含有率（%）
H1	A	T	A	1.05 [b]
H2	A	T	G	1.27 [a]
H3	G	T	G	1.55 [a]
H4	A	A	A	0.76 [c]

[a,b,c]：異符号間に有意差有り（$P<0.05$）

表６　アラキドン酸代謝関連酵素遺伝子のハプロタイプの組み合わせから想定されるアラキドン酸含有率（%）

	H1	H2	H3	H4
H1	2.10	2.32	2.60	1.81
H2	−	2.54	2.62	2.03
H3	−	−	3.10	2.31
H4	−	−	−	1.52

引用文献

Iverson, SJ, Lang, SLC, and Cooper, MH. 2001. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. Lipids 36, 1283–1287.

Pérez-Enciso M and Misztal. I. 2004. Qxpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. Bioinformatics 20, 2792–2798.

力丸宗弘，高橋大希，小松恵，石塚条次，清原玲子，山口進，高橋秀彰．2011．高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明（第１報）－比内地鶏とブロイラーの肉質評価－．秋田農技セ畜試研究報告25, 75-83.

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．2012．高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明（第２報）－アラキドン酸等油脂添加飼料が比内地鶏の肉の味に及ぼす影響－．秋田農技セ畜試研究報告26, 45-53.

力丸宗弘，清原玲子，山口進，高橋大希，小松恵，石塚条次，高橋秀彰．2014．高度不飽和脂肪酸と鶏肉のおいしさとの関連性の解明（第３報）－アラキドン酸等油脂添加飼料が肉中のアラキドン酸含量に及ぼす影響－．秋田畜試研究報告28, 67-73.

Rita SC, Helmut Z, Phouthone K and William G. 1992. Thilly Mismatch Amplification Mutation Assay（MAMA）: Appl,cat,on to the c-H-ras Gene. PCR Methods and Applications 2, 14-20.

Tregouet DA and Garelle V. 2007. A new JAVA interface implementation of THESIAS: testing haplotype effects in association studies. Bioinformatics 23, 1038-1039.

始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立（第３報）

－ 遠距離輸送した凍結始原生殖細胞の移植による比内鶏の機能的な配偶子の生産 －

力丸宗弘・中村隼明[*1]・青谷大希・小松　恵[*2]・高橋利清[*3]・田上貴寛[*4]

[*1]大学共同利用機関法人　自然科学研究機構　基礎生物学研究所
[*2]現：秋田県南部家畜保健衛生所
[*3]現：秋田県農林水産部畜産振興課
[*4]国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構　畜産研究部門

要　約

本研究では，高病原性鳥インフルエンザ発生時のリスク分散を想定し，茨城県つくば市のサブバンクで保管した比内鶏の凍結始原生殖細胞（PGCs）を秋田県大仙市まで輸送した後，融解・移植による個体復元を試みた．東日本大震災の影響により凍結融解した比内鶏PGCsの大部分を失ったものの，残りを33個の白色レグホーン胚へ移植することができ，このうち19個（雄12個，雌７個）がふ化し，８羽（雄７羽，雌１羽）が生殖系列キメラニワトリであることを確認した．検定交雑の結果から，凍結PGCs由来の後代産出率が高かった雄の生殖系列キメラニワトリ2羽と，雌の生殖系列キメラニワトリ１羽を交配したが，これらの組み合わせからは比内鶏を復元できなかった．代わりに，これら雄の生殖系列キメラニワトリ２羽と，比内鶏の非凍結PGCsの移植により作出した雌の生殖系列キメラニワトリ２羽と交配した結果，14羽の比内鶏を復元することができた．性成熟に達した比内鶏11羽（雄６羽，雌５羽）のうち，ふ化日が比較的近い７羽（雄３羽，雌４羽）についてそれぞれ精液性状および産卵率を検査した結果，通常の比内鶏と同等の成績であった．以上より，本研究によって遠距離輸送したニワトリ凍結PGCsが機能的な配偶子へ分化することが初めて証明された．このことから，ニワトリ凍結PGCsの保管とその遠距離輸送は，産業有用品種や希少品種の高病原性鳥インフルエンザ発生時のリスク分散に資するものと期待される．

緒　言

ニワトリは，肉および卵を継続的に生産するための家禽として極めて重要であるのみならず，実験動物としての利用価値も非常に高い．特に我が国の畜産業では，全国各地の地鶏や銘柄鶏の作出に様々な在来鶏（明治時代までに国内で成立し，又は導入され定着したニワトリ38品種）が利用されており（社団法人日本食鳥協会 2007），それらを利用した肉用鶏の生産羽数は年間841万羽にのぼる（農林水産省 2014）．また，食卵の差別化を図るため，卵用としても在来鶏が多く利用されている．このことから在来鶏やそれらを利用した商業用の系統は，地域の養鶏産業には欠かせない貴重な遺伝資源となっている．

現在，家禽の遺伝資源は生体による系統維持が主流であるが，これには広大な施設と多額の費用を必要とするうえ，感染症の流行や自然災害の脅威に常に曝されている．特に高病原性鳥インフル

エンザについては，アジア各国で頻繁に発生しており，国内においても多くの肉用および卵用鶏が殺処分されている．地鶏や銘柄鶏の原原種が絶滅した場合，復活ができない，あるいは復活に長い年月を要することになる．また，原原種鶏の損失により地域の肉および卵の生産が停滞するため，一次産業から六次産業を含めると生産地域に及ぼす経済的損失は計り知れない．このため，原原種鶏や在来鶏を有する種鶏場では，生体のみならず細胞レベルでのリスク分散が必要とされている．

ニワトリでは，精液の凍結保存は可能になっているものの，卵の凍結保存は技術的に不可能である．これに対して，胚発生過程に出現する配偶子の前駆細胞である始原生殖細胞（PGCs）は凍結保存することが可能であり，他のニワトリ胚へ移植することにより受精能を持つ配偶子へ分化することから（Naitoら 1994a; Nakamuraら 2010a），雌雄両方に由来する遺伝資源を安全に長期間保存することができる．秋田県畜産試験場（以下，秋田畜試）では，県の特産鶏である比内地鶏を生産するための比内鶏の原原種鶏を有しているため，将来的には秋田県のメインバンクおよび県外のサブバンクにて凍結PGCsを保管することにより，高病原性鳥インフルエンザ発生時のリスク分散を目指している．

我々は前報（力丸ら 2015）において，比内鶏のPGCsを他のニワトリ胚へ移植して生殖系列キメラニワトリを作出し，生殖系列キメラニワトリ同士の交配から純粋な比内鶏を再生することに成功した．しかし，これまでにニワトリ凍結PGCsを遠距離輸送し，融解・移植によって個体が復元された事例はない．そこで本研究では，高病原性鳥インフルエンザ発生時のリスク分散を想定して，県外のサブバンクとして茨城県に所在する国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究所を設定し，同所で採取・保管した比内鶏の凍結PGCsを秋田県まで輸送した後融解・移植によって比内鶏を復元することができるか検討することを目的とした．

材料と方法

1　種卵および供試動物

秋田畜試において維持している比内鶏および家畜改良センター岡崎牧場より導入した白色レグホーンの種卵を供試した．なお，比内鶏の種卵は，秋田畜試（大仙市）から農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門（茨城県つくば市；以下，「畜草研」）まで輸送した．

2　比内鶏のPGCsの分離および凍結保存

本作業は，畜草研においておこなった．比内鶏の種卵のふ卵は，ふ卵器（P-008B Biotype；昭和フランキ，埼玉）を用いて39.0℃，相対湿度50 ～ 60%，転卵1時間あたり1回（転卵角度90°）の条件でおこなった．発生段階14 ～ 15（Hamburger と Hamilton 1951）の胚を用いるために，輸送された種卵118個を50 ～ 54時間ふ卵した．実体顕微鏡（MZ75；Leica Microsystems，東京）下にてマイクロガラスピペット（内径0.69 mm；外径1.19 mm; 先端角20 °; Drummond Scientific Co., Broomall, PA，USA）を用いて比内鶏胚の背側大動脈より採血し，Ca2+およびMg2+を含まないPBS(-) 中に回収した．なお，回収した血液の性判別は行わず，PGCsの分離・凍結保存・移植については雌雄混在の状態で行った．血液からのPGCsの分離は，Nycodenz 密度勾配遠心分離（Zhao と Kuwana 2003）を一部改変した方法（Nakamuraら 2010b）により行った．ニワトリPGCsは位相差顕微鏡下で観察することにより，細胞の大きさや細胞質に非常に多くの顆粒を含有するといった形態学的特徴の違いから赤血球と識別することができる（Fujimotoら 1976）ことから，位相差顕微鏡（IX71；OLYMPUS, 東京）下にて濃縮した細胞中から，

マイクロガラスピペット（内径0.69 mm；外径1.19 mm；先端角20 °；Drummond Scientific Co.）を用いて形態的に異常のみられなかったPGCsのみを回収した. 回収した比内鶏PGCsは，1.2mLの凍結チューブ（Nalgene Rochster, NY，USA）内に準備した細胞凍結保存液（セルバンカー1；十慈フィールド株式会社，東京）200μL中に懸濁した．凍結チューブはクライオ1℃凍結容器（Nalgene™ Cryo 1℃ Freezing Container；Nalgene Rochster）を用いて-80℃まで1分あたり1℃ずつ冷却した後，畜草研の液体窒素タンク中にて1~2ヶ月間凍結保存した（-196℃）.

3　凍結PGCsの輸送および生殖系列キメラニワトリの作出

秋田畜試にて凍結PGCsから比内鶏を復元するために，畜草研にて凍結チューブを凍結試料搬送容器ドライシッパー（DR-2DS；クライオワン，大阪）に移して専用ハードケース内に梱包後，鉄道ならびに乗用車を利用して搬送した．具体的には，JR常磐線ひたち野うしく駅から上野経由で秋田新幹線大曲（秋田）駅まで鉄道を利用し，研究機関と駅の間の移動には乗用車を利用した．搬送に要した時間は約6時間であった．秋田畜試では白色レグホーンの種卵をふ卵器（P-008（B）型；昭和フランキ）を用いて前述と同様の条件で52時間ふ卵した．卵殻の鈍端に極小の穴を開けた後，鋭端に直径1.0–1.5cmの窓を開けた．宿主胚の内在性PGCs数を減少（Naitoら 1994b）させるため, 実体顕微鏡（SZK12；オリンパス）下にて，マイクロガラスピペット（内径0.69 mm; 外径1.19 mm; 先端角20 °；Drummond Scientific Co.）を用いて白色レグホーン胚の背側大動脈から血液（3.5 ～ 6μL）を除去した．比内鶏凍結PGCsの融解は，液体窒素中から取り出した凍結チューブを39.0℃の温湯中で急速に行った．凍結保護液を除去するため，10%ウシ胎児血清（Gibco/Invitrogen，Grand Island，NY，USA）を含むPBS（-）にて凍結融解したPGCsを洗浄し，5分間遠沈した後（200g，室温），上清を除去した．細胞懸濁液約20μLをプラスチックディッシュ上に滴下し，位相差顕微鏡（IX71；オリンパス）下にて，凍結融解した比内鶏PGCsをマイクロガラスピペット内に回収した．回収した比内鶏PGCsを約100~200個ずつ, 実体顕微鏡（SZK12；オリンパス）下にて，白色レグホーン胚の背側大動脈より血液中へ移植した．卵白を2 ～ 3mL除去した後，卵殻鋭端部の窓をラップで覆い，38.5℃，相対湿度50 ～ 60%，転卵1時間あたり2回（転卵角度30°）の条件にてふ化までふ卵した.

4　検定交雑

性成熟した操作個体は，人工授精により一般飼育している比内鶏と交配し，それぞれ約100羽の後代の羽色を鑑別した．羽色については，ドナーに用いた比内鶏は優性白色遺伝子座を劣性ホモ（i/i）で保有するため羽色が茶色となり，宿主に用いた白色レグホーンは，優性白色遺伝子座を優性ホモ（I/I）で保有するため羽色が白色となる．したがって，検定交雑によって得られる羽色が茶色のヒヨコ（i/i）は比内鶏のPGCsに由来する後代であり，羽色が白色で小さな黒色の斑点があるヒヨコ（I/i）は宿主の内在性PGCsに由来する後代である（力丸ら2015）ことから，本研究では羽色が茶色の後代を産出した操作個体を生殖系列キメラニワトリと判定した.

5　比内鶏の復元

検定交雑の結果から比内鶏の凍結PGCs由来の後代産出率が高かった雄の生殖系列キメラニワトリ2羽（Z703とZ718）と，雌の生殖系列キメラニワトリ1羽（Z707）を人工授精により交配し，後代を可能な限り得てその羽色を鑑

別した.

続いて，前述の雄の生殖系列キメラニワトリ２羽（Z703とZ718）と，力丸ら（2015）において報告した凍結保存していない新鮮なPGCsを移植した雌の生殖系列キメラニワトリ２羽（B892とB899；比内鶏PGCs由来の後代産出率はそれぞれ37.7%と71.7%）を人工授精により交配し，後代を可能な限り得てその羽色を鑑別した.

なお，羽色が茶色の後代については，比内鶏DNA識別マーカー（力丸ら 2012）を用いてDNAレベルでの鑑別もおこなった.

6　復元した比内鶏の飼養管理

生殖系列キメラニワトリ同士の交配により復元した比内鶏の幼雛は，４段式バタリーケージ（78.5cm×73.0cm×48.3cm）で４週齢まで飼育した．その後，育雛用ケージ（90.6cm×60.5cm×60.5cm）に移して17週齢まで飼育した．18週齢以降，雄は平飼い舎，雌は採卵用ケージ（22.7cm×39.5cm×45.5cm）へ移して60週齢まで飼育した.

飼料は，０～４週齢まで幼雛用（ME，3,000 kcal/kg; CP，24%），５～10週齢まで中雛用（ME，2,850kcal/kg; CP，18%），11～17週齢まで大雛用（ME，2,800kcal/kg; CP，15%），18週齢以降成鶏用（ME，2,850kcal/kg; CP，18%）を給与した．なお，18～60週齢の期間では，明期を16時間に設定した。飼料と飲水は，試験期間を通して自由摂取とした.

7　復元した比内鶏の精液性状および産卵率

生殖系列キメラニワトリ同士の交配により復元した比内鶏のうち，ふ化日が比較的近い個体について，雄では腹部マッサージ法により採取した精液中の精子濃度（百万個/mL）および精子運動率を調査し，雌では21～60週齢におけるヘンディ産卵率および４週間ごとの産卵率を算出した．なお，精子濃度と精子運動率については，精液を希釈液で100倍に薄めた後，37℃に加温した測定専用のスライドグラスチャンバーに移し，精子運動解析装置（SMAS；株式会社ディテクト，東京）を用いて評価した.

結　果

1　生殖系列キメラニワトリにおける比内鶏PGCs由来の後代産出率

畜草研にて採取した合計9,446個の比内鶏PGCs（合計10バイアル）を１～２ヶ月凍結保存した後，試験を実施するために秋田畜試へ搬送した．凍結融解後における比内鶏PGCsの回収率は，65.5±4.1%（4バイアル）であった．なお，移植当日東日本大震災の激しい揺れによって凍結融解した比内鶏PGCsの大部分を失ったため，残る６バイアルの回収率は計測できなかった．不特定数（約100~200個）のPGCsを33個の白色レグホーン胚へ移植した結果，19個（雄12個，雌７個）がふ化し，性成熟に達した．検定交雑の結果，比内鶏の凍結PGCsを移植した操作個体８羽（雄７羽，雌１羽）より茶色の後代が得られたことから，生殖系列キメラニワトリであると判定した（表１および表２）．これら生殖系列キメラニワトリにおける比内鶏の凍結PGCs由来の後代産出率は8.7±4.4%（最高38.7%，最低1.7%）であった.

2　生殖系列キメラニワトリ同士の交配による比内鶏の復元

前述の検定交雑の結果から，比内鶏の凍結PGCs由来の後代産出率が高かった雄の生殖系列キメラニワトリ２羽（Z703とZ718；比内鶏PGCs由来の後代産出率はそれぞれ38.7%と5.4%）と，本研究において１羽のみ得られた雌の生殖系列キメラニワトリ（Z707；比内鶏PGCs由来の後代産出率は1.7%）を交配したが，これらの掛け合わせでは比内鶏を復元できなかった（表３）．しかしながら，前述の雄の生

表１．比内鶏の凍結PGCsを移植した雄の操作個体と通常の雌の比内鶏の交配による検定交雑結果

キメラID	後代数	ドナー由来の後代数（茶色のヒヨコ）	宿主由来の後代数（黒班のある白色のヒヨコ）	ドナー由来後代の割合（%）
Z703	111	43	68	38.7
Z708	89	0	89	0.0
Z709	109	0	109	0.0
Z710	106	4	102	3.8
Z711	136	0	136	0.0
Z712	103	5	98	4.9
Z713	114	0	114	0.0
Z714	107	2	105	1.9
Z715	110	0	110	0.0
Z717	102	4	98	3.9
Z718	112	6	106	5.4
Z719 *	83	8	75	9.6

*, Z719は途中へい死

表２．比内鶏の凍結PGCsを移植した雌の操作個体と通常の雄の比内鶏の交配による検定交雑結果

キメラID	後代数	ドナー由来の後代数（茶色のヒヨコ）	宿主由来の後代数（黒班のある白色のヒヨコ）	ドナー由来後代の割合（%）
Z701	108	0	108	0.0
Z702	116	0	116	0.0
Z704	118	0	118	0.0
Z705	121	0	121	0.0
Z706	106	0	106	0.0
Z707	121	2	119	1.7
Z716	105	0	105	0.0

表３．PGCsを移植した生殖系列キメラニワトリ同士の交配結果

キメラID		後代数	ドナー由来の後代数（茶色のヒヨコ）	雑種と白色レグホーンの後代数	ドナー由来の割合（%）
雄	雌				
Z703（凍結）	Z707（凍結）	17	0	17	0.0
	B892（非凍結）	3	1	2	33.3
	B899（非凍結）	41	12	29	29.3
Z718（凍結）	Z707（凍結）	54	0	54	0.0
	B892（非凍結）	3	0	3	0.0
	B899（非凍結）	43	1	42	2.3

*, B892,B899は力丸ら（2015）において作出した雌の生殖系列キメラニワトリ

殖系列キメラニワトリ２羽（Z703とZ718）と，力丸ら（2015）において報告した比内鶏の非凍結PGCsを移植した雌の生殖系列キメラニワトリ２羽（B892とB899；比内鶏PGCs由来の後代産出率はそれぞれ37.7%と71.7%）を交配した結果，３通りの掛け合わせ（Z703とB892，Z703とB899，Z718とB899）から比内鶏14羽を復元することができた．比内鶏の復元率は，それぞれ33.3%（1/3），29.3%（12/41），2.3%（1/43）であった．比内鶏DNA識別マーカーによる解析の結果，これら復元個体の遺伝子型はすべて比内鶏のものと一致したことから，DNAレベルにおいても比内鶏であることが確認された（データ非表示）．

3　復元した比内鶏の精液性状と産卵率

生殖系列キメラニワトリ同士の交配により復元された比内鶏14羽のうち，３羽は育成過程でへい死し，11羽（雄６羽，雌５羽）が性成熟に達した．復元した比内鶏のうちふ化日が比較的近かった７羽（雄３羽，雌４羽）について，それぞれ精液性状および産卵率を検査した．本研究において復元した雄の比内鶏の精液性状を表４に示した．復元した雄の比内鶏の精子濃度および精子運動率はそれぞれ2,213±2,164（百万個/mL）および69±26%であり，通常の雄の比内鶏（精子濃度2,262±1,004（百万個/mL），精子運動率：77±16%）と同等の成績であった．また，復元した雌の比内鶏における21 ～ 60週齢のヘンディ産卵率は28.9±5.4%であり，通常の雌の比内鶏(28.5%)と同等の成績であった(表５)．

考　察

本研究は，比内鶏を地鶏の原原種鶏のモデルとして用いて，遠距離輸送したニワトリ凍結PGCsが融解・移植によって受精能を持つ配偶子へ分化

表４．PGCsから復元した雌の比内鶏の精液性状

	精子濃度(百万/mL)			精子運動率(%)		
生殖系列キメラニワトリから得られた比内鶏 (n=3)	2,213	±	2,164	69	±	26
比内鶏 *(n=4)	2,262	±	1,004	77	±	16

*, 2013年生まれの比内鶏種鶏

表５．PGCsから復元した雌の比内鶏の産卵成績

比内鶏ID	週齢										
	21～24	25～28	29～32	33～36	37～40	41～44	45～48	49～52	53～56	57～60	平均
C960	0.0	25.0	28.6	53.6	28.6	0.0	0.0	0.0	7.1	17.9	16.1
C990	0.0	25.0	64.3	57.1	64.3	50.0	0.0	0.0	39.3	32.1	33.2
C998	0.0	10.7	53.6	57.1	7.1	0.0	0.0	0.0	57.1	64.3	25.0
C919	14.3	71.4	64.3	60.7	35.7	39.3	53.6	14.3	57.1	3.6	41.4
平均	3.6	33.0	52.7	57.1	33.9	22.3	13.4	3.6	40.2	29.5	28.9
比内鶏 *	4.4	20.5	34.1	40.0	37.5	25.9	38.1	32.1	27.6	25.4	28.5

*, 群飼ケージにおける比内鶏種鶏の平均産卵成績(2011年～2013年)

することを初めて証明した．本研究では，茨城県つくば市（サブバンク）で保管した凍結PGCsを秋田県大仙市（メインバンク）まで搬送した後，雌雄両方の生殖系列キメラニワトリを作出することに成功した．この結果から，サブバンクにおける凍結PGCsの保管は，高病原性鳥インフルエンザ等の感染症発生時のリスク分散対策として現在最も有効な手段であると考えられる．

本研究では，遠距離輸送した凍結PGCsを移植して作出した生殖系列キメラニワトリ同士の交配によって比内鶏を復元することができなかった．これは，作出された生殖系列キメラニワトリ８羽のうち雌は１羽のみであり，そのドナーPGCs由来の後代産出率が1.7%と低かったためと考えられる．主な原因として，凍結・融解したPGCsを計数している最中に東日本大震災が発生したため，PGCsの大部分を損失したことに加えて，作業を中断したことにより適切な発生段階でPGCsを移植できなかったことが挙げられる．また，作業再開後も停電等による非常に困難な状況下で移植したことも一因として挙げられる．一方で，力丸ら（2015）において作出したドナーPGCs由来の後代産出率が比較的高い（37.7%と71.7%）雌の生殖系列キメラニワトリとの交配では，比内鶏を復元することができた．これらの結果から，凍結PGCsから効率的に個体復元するためには，ドナーPGCs由来の後代産出率の高い生殖系列キメラニワトリを作出することが重要となる．ドナーPGCs由来の後代産出率の高い生殖系列キメラニワトリを作出するには，ドナーPGCsと宿主胚の性を一致する方法，および宿主胚の内在性PGCsを除去する方法が効果的である（Nakamuraら 2013a）．前者に関しては，異性の宿主胚へ移植したドナーPGCsは機能的な配偶子へ分化しない（Naitoら 1999; Tagamiら 1997, 2007）ことから，雌雄のPGCsをそれぞれ凍結保存することが望ましい．後者に関しては，PGCsが一過的に血中を循環する鳥類特有の特徴（Nakamuraら 2007）を利用して宿主胚の血液を除去することによりPGCsを除去する方法（Naitoら 1994b; Nakamuraら 2010a）や，γ線やX線を宿主胚に照射することによりPGCsを除去する方法（Carsienceら 1993; Nakamuraら 2012）により，ドナーPGCs由来の後代産出率が向上した．また，アルキル化剤であるブスルファン（1，4-butanediol dimethanesulfonate）を宿主胚に投与することによりPGCsを除去する方法では，ドナーPGCs由来の後代のみを産出する生殖系列キメラニワトリがコンスタントに作出された（Nakamuraら 2010b）．これらの方法を利用して生殖系列キメラニワトリを作出することにより，凍結PGCsからの効率的な個体復元が期待される．

今後，凍結PGCsの保管によるニワトリ遺伝資源のリスク分散を実施していくうえで，PGCsの凍結保存法の改善は重要な課題である．現在使用している凍結プロトコルは，手順が非常にシンプルであり，様々なニワトリ品種やウズラにおいても融解後の回収率および生存率が安定している（Nakamuraら 2011; 2013b）．一方で，本法ではPGCsの凍結・融解操作に伴うダメージにより，生殖巣への移住能や分裂能が低下する（Nakamuraら 2011）．冷却速度や凍結保護剤等の条件を最適化することにより，細胞内外の氷晶形成と高濃度の凍結保護剤によるダメージの低減が期待される．また，耐凍性が低いヒトを含む霊長類のES細胞では，ガラス化法を用いることにより有意に生存率が向上する（Fujiokaら 2004）．最近の研究において，ガラス化法はゼブラフィッシュやコイのPGCsの超低温保存に有効であることが示された（Higakiら 2013; Kawakamiら 2015）．また，ガラス化法はニワトリ7日胚生殖巣由来の生殖細胞の超低温保存にも利用可能であり（Koharaら 2008），凍結溶液や凍結容器等の条件を最適化することにより生存率の向上が期待され

る．

生殖系列キメラニワトリ同士の交配により復元した比内鶏の精液性状および産卵率は，通常の比内鶏と同等の成績であった．復元した雌の比内鶏の一部には卵を産まない休産期間が確認されたが，これは比内鶏が他の品種や商業鶏と比較してクラッチ間の休産期間が長い（Robinsonら 1990; Chenら 2007）ことや，他の日本鶏と同様に季節繁殖性が強い（河野ら 1982）ため，ふ化時期の違いによる影響を受けた可能性が考えられる．復元した雄の比内鶏の精子濃度および精子運動率は，正常な比内鶏と同等の成績であった．復元した雄の比内鶏の精子濃度（約20億/mL）は一般的なニワトリ（30~50億/mL；家畜改良センター岡崎牧場 2006）と比較して低かったが，品種によって前述の濃度よりも低いことが報告されている（Linら 2005）ことから，品種間差によるものと考えられる．

ニワトリ遺伝資源を安全に長期間保存するためには，精液の凍結保存も重要である．精液とPGCsの両方を凍結保存することにより，雌の生殖系列キメラニワトリに凍結精液を人工授精することが可能になる．これにより，生殖系列キメラニワトリ同士の交配よりも効率的な個体復元が可能になる．生体と凍結細胞を同じ施設に保管した場合，有事の際にこれらを利用できない可能性がある．リスク分散のためには，凍結PGCsと凍結精液をメインバンクと，遠隔地のサブバンクの両方で保管する必要がある．このため，サブバンクとなる機関と連携を取り，凍結細胞を保管するための体制を整備することも重要である．現在，農業生物資源ジーンバンク（NIASジーンバンク, つくば）や大学連携バイオバックアッププロジェクトセンター（IBBPセンター，岡崎）等の機関にて凍結細胞や凍結精液の保管が可能である．

以上の結果から，ニワトリ凍結PGCsの保管とその遠距離輸送は，産業有用種や希少品種の高病原性鳥インフルエンザ等の感染症発症時のリスク分散に資するものと期待される．

引用文献

Carsience RS, Clark ME, Verrinder Gibbins AM and Etches RJ. 1993. Germline chimeric chickens from dispersed donor blastodermal cells and compromised recipient embryos. Development 117 : 669-675.

Chen CF, Shiue YL, Yen CJ, Tang PC, Chang HC and Lee YP. 2007. Laying traits and underlying transcripts, expressed in the hypothalamus and pituitary gland, that were associated with egg production variability in chickens. Theriogenology 68 : 1305-1315.

Fujimoto T, Ukeshima A and Kiyofuji R. 1976. The origin, migration and morphology of primordial germ cells in the chicken embryo. Anatomical Record 185 : 139-145.

Fujioka T, Yasuchika K, Nakamura Y, Nakatsuji N and Suemori H. 2004. A simple and efficient cryopreservation method for primate embryonic stem cells. International Journal of Developmental Biology 48 : 1149-1154.

Hamburger V and Hamilton HL. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. Journal of Morphology 88 : 49-92.

Higaki S, Kawakami Y, Eto Y, Yamaha E, Nagano M, Katagiri S, Takada T and Takahashi Y. 2013. Cryopreservation of zebrafish (Danio rerio) primordial germ cells by vitrification of yolk-intact and yolk-depleted embryos using various cryoprotectant solutions. Cryobiology 67 : 374-382.

家畜改良センター岡崎牧場．鶏の繁殖技術マニュアル．精液と精子，7頁．2006.

Kawakami Y, Saito T, Fujimoto T, Goto-Kazeto R, Takahashi E, Adachi S, Arai K and Yamaha E. 2015. Viability and motility of vitrified/thawed primordial germ cell isolated from common carp (Cyprinus carpio) somite embryos. Journal of Animal Science 90 : 495-500.

Kohara Y, Kanai Y and Tajima A. 2008. Cryopreservation of gonadal germ cells (GGCs) from the domestic chicken using vitrification. Journal of Poultry Science 45 : 57-61.

河野友宏・伊藤博・一戸健司. 1982. 岐阜地鶏における血中プロジェステロン, エストラジオールおよびテストステロン濃度の季節的変動. 日本家禽学会誌, 19 : 292-299.

Lin YF, Chang SJ, Yang JR, Lee YP and Hsu AL. 2005. Effects of supplemental vitamin E during the mature period on the reproduction performance of Taiwan native chicken cockerels. British Poultry Science 46 : 366-373.

Naito M, Tajima A, Tagami T, Yasuda Y and Kuwana T. 1994a. Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. Journal of Reproduction and Fertility 102 : 321–325.

Naito M, Tajima A, Yasuda Y and Kuwana T. 1994b. Production of germline chimeric chickens, with high transmission rate of donor–derived gametes, produced by transfer of primordial germ cells. Molecular Reproduction and Development 39 : 153–161.

Naito M, Matsubara Y, Harumi T, Tagami T, Kagami H, Sakurai M and Kuwana T. 1999. Differentiation of donor primordial germ cells into functional gametes in the gonads of mixed-sex germline chimaeric chickens produced by transfer of primordial germ cells isolated from embryonic blood. Journal of Reproduction and Fertility 117 : 291-298.

Nakamura Y, Kagami K and Tagami T. 2013a. Development, differentiation and manipulation of germ cells in chicken. Development, Growth & Differentiation 55 : 20-40.

Nakamura Y, Tasai M, Takeda K, Nirasawa K and Tagami T. 2013b. Production of functional gametes from cryopreserved primordial germ cells of Japanese quail. Journal of Reproduction and Development 59 : 432-437.

Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Ono T, Kagami H, Takeda K, Nirasawa K and Tagami T. 2012. X-irradiation removes endogenous primordial germ cells (PGCs) and increases germline transmission of donor PGCs in chimeric chickens. Journal of Reproduction and Development 58 : 432–437.

Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010a. Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken: concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori) . Reproduction, Fertility and Development 22 : 1237–1246.

Nakamura Y, Usui F, Miyahara D, Mori T, Watanabe H, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2011. Viability and functionality of primordial germ cells after freeze-thaw in chickens. Journal of Poultry Science 48 : 57-63.

Nakamura Y, Usui F, Ono T, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2010b. Germline replacement by transfer

of primordial germ cells into partially sterilized embryos in the chicken. Biology of Reproduction 83 : 130–137.

Nakamura Y, Yamamoto Y, Usui F, Mushika T, Ono T, Setioko AR, Takeda K, Nirasawa K, Kagami H and Tagami T. 2007. Migration and proliferation of primordial germ cells in the early chicken embryo. Poultry Science 86 : 2182-2193.

日本学術会議．動物実験の適正な実施に向けたガイドライン．東京．2006.

農林水産省．農林水産統計．食鳥流通統計調査(平成25年)．2014.

力丸宗弘・伊藤なつき・中村隼明・高橋大希・小野愛美・小松恵・松原和衛．2012. 始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立（第１報）－比内鶏DNA識別マーカーを用いた生殖系列キメラニワトリの判別－秋田県畜産試験場研究報告 26, 28-44.

力丸宗弘・中村隼明・高橋大希・小松恵・伊藤なつき・松原和衛．2015. 始原生殖細胞および比内鶏判定マーカーを用いた比内鶏復元技術の確立（第２報）－生殖系列キメラニワトリからの純粋な比内鶏産仔の再生－秋田県畜産試験場研究報告 29, 43-55.

Robinson FE, Hardin RT and Robblee AR. 1990. Reproductive senescence in domestic fowl: effects on egg production, sequence length and inter-sequence pause length. British Poultry Science 31 : 871-879.

社団法人日本食鳥協会. 国産銘柄鶏ガイドブック 2007. 2007.

Tagami T, Matsubara Y, Hananda H and Naito M. 1997. Differentiation of chicken primordial germ cells into spermatozoa in male gonads. Development Growth & Differentiation 39 : 267-271.

Tagami T, Kagami H, Matsubara Y, Harumi T, Naito M, Takeda K, Hanada H and Nirasawa K. 2007. Differentiation of female primordial germ cells in the male testes of chicken (Gallus gallus domesticus). Molecular Reproduction and Development 74 : 68-75.

Zhao DF and Kuwana T. 2003. Purification of avian circulating primordial germ cells by nycodenz density gradient centrifugation. British Poultry Science 44 : 30-35.

比内地鶏の出荷率向上のための研究（第１報）

－ 生産者の飼養管理状況調査 －

青谷大希・小松　恵*・力丸宗弘

*現：秋田県南部家畜保健衛生所

要　約

比内地鶏の生産性向上に有効な飼養管理技術を明らかにするため，生産者の飼養管理状況と出荷成績との関連を調査した. 飼養管理状況については平成25年６月に大館市内の比内地鶏生産者26戸に対して，目視及び聴き取りにより現地調査を行った. 導入ロット数, ハウス内のBGM, 給餌器の配置, 天井の遮光, 止まり木等構造物，点灯管理の実施状況によって生産者をグループ分けし，当該年の各生産者の比内地鶏出荷率および出荷個体１羽あたり生体重について分散分析を行った．その結果，ハウス内の点灯管理と出荷個体１羽あたり生体重との間に有意な関連が認められた．出荷率に関しては今回の指標では有効な飼養管理法を特定するには至らなかった.

緒　　言

比内地鶏の出荷羽数は平成20年をピークに一時減少したものの，平成23年以降は堅調に増加している．一方，飼料費をはじめとする生産コストは年々上昇し，生産者におけるロットあたりの収益性は低下している．復調の兆しを見せる比内地鶏産業を今後さらに盛り上げていくためには，ロットあたりの収益性を向上させることが必須の課題であるが，我々は比内地鶏の育成期間における損耗に着目した．ヒナの導入羽数に対する出荷羽数の割合である出荷率は県全体で90%程度であり，年間５万羽以上のヒナが育成期間中に死亡している．育成期間中の損耗は，収益が得られないだけでなく，それまでの育成費やヒナの導入費が無駄になることから生産者において大きな損失となる．加えて，処理，加工，小売といった川下産業においては潜在的な損失であるといえる.

比内地鶏の育成期間における損耗の大部分が圧死であることから，県では圧死を予防することで出荷率を改善し，ロットあたりの収益性を向上させるための試験研究を平成25年度に開始した．この研究では“①飼養管理技術の向上”“②圧死予防技術の開発”“③栄養生理や育種改良による比内地鶏の気質改善”を目指して各種の調査を遂行している.

本稿では，上記の“①飼養管理技術の向上”に資する目的で平成25年に県北部の生産者に対して実施した現地調査と，当該年の出荷成績との関連を解析した結果について報告する．出荷成績についてはこれまで，生産者によって出荷率や出荷重量にばらつきがあるとの指摘が，処理，加工，小売業者から多く寄せられてきたことから，生産者が普段実施している日常の飼養管理や飼養施設の構造の中に，出荷率を含めた生産性を向上させる要因が存在すると考え，各生産者における飼養管理状況と，出荷成績との関連を調査した.

材料と方法

1　現地調査

生産者に対する現地調査は平成25年６月３日から７日の間に大館市内の比内地鶏生産者26戸に対して実施した．調査方法は飼養施設の目視による確認と飼養管理方法に関する聴き取りとした．

2　生産性指標

当該年における出荷成績のデータはあきた北農業協同組合を通じて得た．得られたデータから生産性の指標として出荷率ならびに出荷個体１羽あたりの生体重を用いた．出荷率の算出にあたり，素びな生産施設が生産者に素びなを供給する際，通常，売却羽数の３％をスペアとして併せて供給していることを考慮し，導入羽数に1.03を乗じた値により出荷羽数を除したものを採用した．出荷個体１羽あたりの生体重は，出荷重量を出荷個体数により除して算出した．なお，今回の関連解析は春夏生まれのロットを対象とし，平成25年３月から８月までに導入され，同年９月から26年１月までに出荷されたロットのデータを解析に供した．ただし，８月に発生した豪雨により溺死したロットのデータは解析から除外した．

3　関連解析

飼養管理上の取り組みに関して現地調査の結果をもとに６つの要因を設定した．各要因の出荷成績に及ぼす影響を明らかにするため，要因ごとに２あるいは３，計16水準を設けて（表１）生産者をグループ分けし，ロットごとの出荷率ならびに１羽あたり生体重について１元配置の分散分析を行った．

結果と考察

1　生産性指標の概況

１）出荷率

平成25年における当該地域の生産者らの出荷率は85.6%であった．出荷月ごとの出荷率（図１）は10月から３月導入のロットで低い傾向が見られ，特に12月導入のロットでは夏期（６月から10月）導入のロットに比較し，有意（$p < 0.05$）に出荷率が低かった．厳寒期には鶏が身を寄せ合わせ，そのまま圧死する事故が多く発生することが聞き取り調査において多く聞かれたことから，冬期導入のロットは幼すうおよび中すう期における寒さによる損耗が多いことが推察された．

幼すう期の寒さによる圧死を防ぐためにはチックガード内の温度が重要である．生産現場では幼すう期の暖房としてガスブルーダーあるいは家畜用電球が主に用いられているが，いずれを使用する場合においても入すう前に床面を適温まで暖めておき，４週齢時の廃温まで日齢に応じた適温を維持する必要が

表1　要因ならびに水準

要因	水準数	水準
年間導入ロット数	4	～8ロット／9～11ロット／12～13ロット／15ロット～
ハウス内のBGM	2	あり／なし
給餌器の配置	2	1列／2列以上
天井の遮光	3	遮光資材なし／全面遮光／部分遮光
止まり木等構造物	3	なし／止まり木のみ／止まり木＋産卵箱
点灯管理	2	夜間消灯／夜間点灯

ある．

2）出荷個体1羽あたり生体重

出荷個体１羽あたり生体重（図２）は７月から９月出荷のロットで小さくなる傾向が見られた．これは仕上げ時期が暑熱期にあたるため，飼料の摂取が減退し，発育が停滞したことが考えられる．暑熱期の発育停滞を防ぐためには，換気をよくし，ハウスビニールの遮光，遮熱性を高くしてハウス内温度の上昇を防ぐとともに，冷たい水を給与する，比較的気温の低い早朝に飼料を給与するなど，鶏の体温上昇も緩和させることが重要である．現地調査を実施した生産者においては，ハウス内や運動場内に遮光ネットを設置して避暑地を設ける，定期的に給水器内の水を入れ替えるといった対策が見られた．暑熱による体調の悪化への対応策としては開口呼吸の昂進による呼吸性アルカローシスを緩和するための栄養管理として，重曹の給与が有効であることがわかっている（細谷　2014）．また，

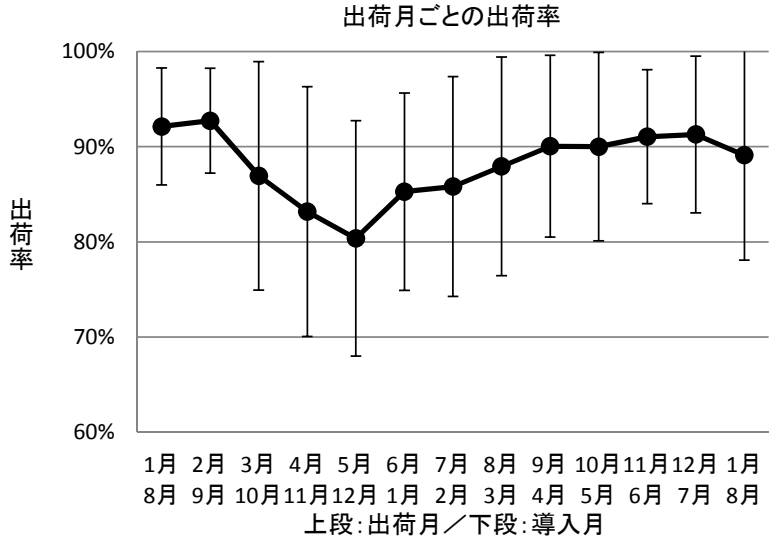


図1　出荷月ごとの出荷率

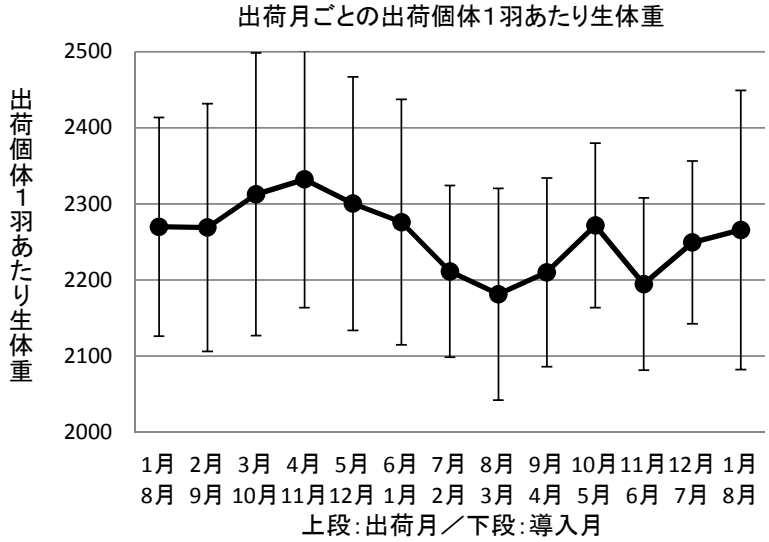


図2　出荷月ごとの出荷個体1羽あたり生体重

暑熱ストレスの緩和には抗酸化作用を有するビタミン剤やミネラルの給与が有効である（細谷と鈴木　2014，鈴木　2015）．

2　飼養管理方法と出荷成績との関連解析

飼養管理方法と出荷成績との関連解析により，ハウス内の点灯管理と出荷個体１羽あたり生体重との間に有意な関連（$p < 0.05$）がみられ，夜間の照明が比内地鶏の増体性向上に有効であることが明らかとなった（図３）．長時間の照明により活動時間が増加し，摂食行動の増加が増体性の向上をもたらしたと推察される．しかし，一方でブロイラーにおいて24時間照明条件下ではかえって生産性を低下させるとの報告もなされており，最適な点灯管理についてはさらなる検討が必要である．

その他の要因，指標については今回の解析では有意な関連は認められなかった（data not shown）．このため，出荷率向上に有効な飼養管理方法を明らかにするためには，一日の観察回数，時間帯，ハウス内で行う作業の内容と所要時間など，飼養者の動きにも焦点をあて，さらに施設構造については定量的な測定項目を追加し，調査内容をさらに充実させる必要がある．

また，生産性の指標として採用した出荷率についても，期間を通してみるのではなく，日齢，原因ごとの損耗割合に細分化して解析を行うことで，圧死の発生要因に応じた予防効果が明らかになるのではないかと考えられる．

以上を踏まえて今後も飼養管理方法の調査を進めるとともに，行動学的調査，遺伝的要因に関する調査を遂行し，多面的なアプローチによって生産性の向上を目指したい．

引用文献

細谷翔一．2014．鶏の暑熱ストレスに対抗する①～暑熱による成績低下のしくみ～．鶏の研究第89巻・第5号49-52

細谷翔一・鈴木和明．2014．鶏の暑熱ストレスに対抗する②～抗酸化物質による夏場対策～．鶏の研究第89巻・第6号48-51

鈴木和明．2015．抗酸化物質による夏場対策～産卵率の低下・飼料摂取量の減少を抑制～．鶏の研究第90巻・第6号22-26

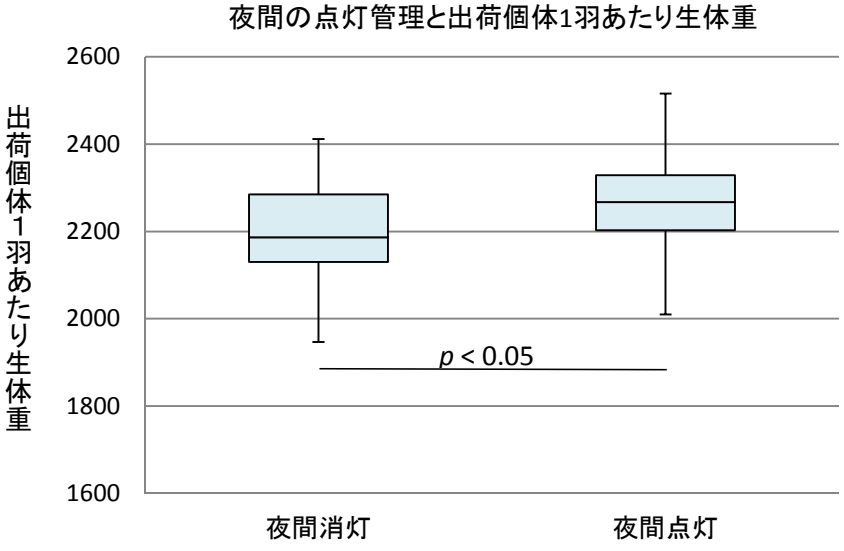


図3　夜間の点灯管理と出荷個体1羽あたり生体重

比内地鶏母系原種鶏の系統造成と利用系統の組合せ試験（第１報）

佐藤悠紀・青谷大希・力丸宗弘・山崎　司

要　約

比内地鶏の増体および肉質を維持しながら，母系であるロードアイランドレッド種（ロード）の産卵能力を向上させることを目的として，三元交雑により２パターン〔（兵庫×岡崎）×岡畜，（兵庫×岡畜）×岡畜〕の組合せのロードを作出し，当場で維持してきたロード（畜試ロード）と産卵性能の比較を行った．調査の結果，産卵の立ち上がりが早く，産卵率は対照区と比較し有意に高く，さらに対照区と比較し飼料摂取量も少なく推移した〔（兵庫×岡畜）×岡畜〕が種鶏として有望と考えられる．

調査の結果，〔（兵庫×岡畜）×岡畜〕は対照とした畜試ロードよりも飼料摂取量が期間平均で18 g～24 g少なく，50％産卵週齢が3～4週早く，20～40週齢における産卵率が5.0％～9.1％有意に高く推移したことから，種鶏候補として有望であると考えられた．

緒　言

本県の特産である比内地鶏は，比内鶏×ロードの交配により作出される一代交雑鶏である．当場では比内鶏とロードの原種鶏を維持しており，民間の比内地鶏素雛生産業者へ種鶏を供給している．

素雛生産業者からは母系であるロードの産卵性向上が求められているが，比内地鶏の増体性や肉質は維持する必要がある．平成23～25年度には，産卵性に優れる独立行政法人家畜改良センター岡崎牧場のYA系統ロード（岡崎ロード），増体性に優れる独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場の86系統ロード（兵庫ロード），畜試ロードとの三元交雑鶏を作出し，ロードの性能調査および比内地鶏の能力調査を行った．三元交雑鶏は組合せにより畜試ロードと比較して産卵性は改善されたものの増体性は低い，あるいは増体性は向上したが産卵性が低い結果となり，改良目標を達成する交配組合せを見出すことはできなかったため，種鶏として利用するには至らなかった（小松ら 2013，2014）．

そこで，本研究では現行の畜試ロードと同等の増体を維持しながら産卵性を向上させることを目的として，新たな組合せによる三元交雑鶏を作出して性能調査を行った．

材料と方法

１　供試鶏

平成22年度に岡崎ロードおよび畜試ロードの系統間交配により造成し，産卵性および増体性を選抜の指標として世代更新している二元交雑ロード（岡畜ロード）を交配に用い，兵庫ロード，岡崎ロードとの三元交雑鶏を作出した．交配は人工授精により行い，これまでの試験結果から産卵率や増体を勘案し，交配様式により２試験区を設定した（表１）．また飼育環境による違いを調査するため，組合せごとに単飼ケージでは50羽，平飼いでは60羽を供試した．

２　試験期間

試験期間は2014年4月16日から2015年7月1日（441日齢）までとした．

３　飼養管理

表１．試験区分

区分	交配様式
試験区　1区	（兵庫R♂ × 岡崎R♀）♂ × 岡畜R♀
試験区　2区	（兵庫R♂ × 岡畜R♀）♂ × 岡畜R♀
対照区	畜試R

兵庫R：独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場の86系統R

岡崎R：独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場のYA系統R

畜試R：秋田県畜産試験場で飼養しているR

岡畜R：岡崎R♂×畜試R♀から系統造成したR

餌付けから4週齢まではバタリー育雛器，4週齢から17週齢までは中大雛用ケージ，17週齢以降は成鶏用単飼ケージと平飼いに分け飼育した。給与飼料は，餌付けから4週齢まで幼雛用（CP24%，ME3,000 kcal/kg），4週齢から10週齢まで中雛用（CP18%，ME2,850 kcal/kg），10週齢から17週齢までは大雛用（CP15%，ME2,800 kcal/kg），17週齢以降は成鶏用（CP18%，ME2,850 kcal/kg）を不断給餌し，飲水は自由摂取とした．125日齢から点灯管理を開始し，自然日照時間を含め全期間14時間点灯することとした．その他の管理は当場の慣行によった．

4　調査項目

１）強健性

餌付けから14週齢までを育成率，14週齢から63週齢までを生存率とした．

２）体重

７，25，62週齢に生体重を測定した．

３）飼料摂取量

25週齢以降5週毎にケージで飼育している任意の10羽を対象に飼料摂取量を調査し，３日間の給餌量と残量から１日１羽あたりの摂取量を算出した．

４）産卵成績

産卵率は20週齢以降，ケージでは個体毎に，平飼いでは区毎に産卵数を毎日記録し，週齢毎に算出した．卵重は30週齢以降5週毎に，ケージで飼育している任意の10羽を対象に測定した．

5　統計処理

ケージ飼育について，分散分析，クラスカルウォリス検定，Tukey･Steel-Dwassの多重比較検定を行い，危険率5%未満で有意とした．

結　果

強健性を表２に示した．育成率は１区で99%，２区で96%，対照区で100%と全ての区で高かった．

体重を表３に示した．7週齢時は２区が935 gと最も大きく，次いで対照区，１区となり，１区と２区の間に有意差が認められた．25週齢時は対照区がケージ飼育3,148 g，平飼い2,848 gと最も大きく，次いで２区，１区となった．またケージ飼育では全ての区で有意差が認められた．62週齢時も対照区がケージ3,827 g，平飼い3,402 gと最も大きく，次いで２区，１区となった．また１区と対照区に有意差が認められたが，２区と対照区には有意差は認められなかった．

飼料摂取量を表４に示した．どの週齢におい

表２．強健性

区分	育成率(0～14週齢)(%)	生存率(14～63週齢)(%)	
		ケージ	平飼い
試験区　1区	99%	98%	93%
試験区　2区	96%	100%	97%
対照区	100%	96%	98%

表３．体重

区分	7週齢(g)	25週齢(g)		62週齢(g)	
		ケージ	平飼い	ケージ	平飼い
試験区　1区	912±84[b]	2885±221[c]	2609±179	3497±346[b]	3165±329
試験区　2区	935±84[a]	3018±213[b]	2765±201	3654±408[ab]	3322±269
対照区	920±69[ab]	3148±200[a]	2848±179	3827±345[a]	3402±387

異符号間に有意差あり(P<0.05)

表４．飼料摂取量（ｇ/日）

区分	25週齢	30週齢	35週齢	40週齢	45週齢	50週齢	55週齢	60週齢	平均
試験区　1区	162	163	174	165	168	150	165	156	163
試験区　2区	154	170	175	170	165	173	167	176	169
対照区	168	181	189	189	186	199	188	194	187

表５　産卵率

		50%産卵到達(週齢)	産卵率(%)		
			20-40週齢	40-60週齢	20-60週齢
ケージ	試験区1区	20	71.5[a]	66.4[a]	69.5[a]
	試験区2区	21	68.9[a]	61.8	65.4[a]
	対照区	24	59.9[b]	60.4[b]	60.4[b]
平飼い	試験区1区	25	50.6	53.0	51.8
	試験区2区	23	61.6	61.2	61.3
	対照区	26	48.6	62.1	55.4

異符号間に有意差あり(P<0.05)

表６．卵重（ｇ）

区分	30週齢	35週齢	40週齢	45週齢	50週齢	55週齢	60週齢
試験区　１区	57.9	63.1	63.9	65.3	68.0	66.6	67.3
試験区　２区	57.3	61.7	62.4	64.8	65.7	66.1	66.2
対照区	55.7	59.6	62.2	62.5	65.2	64.6	65.4

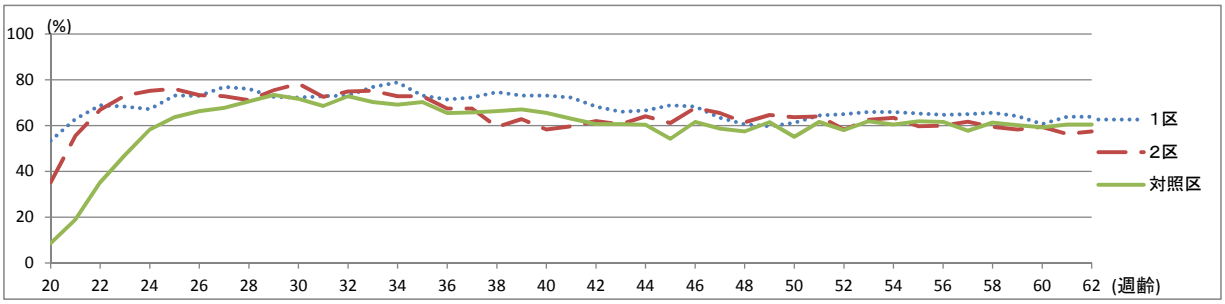


図１　産卵率（ケージ）

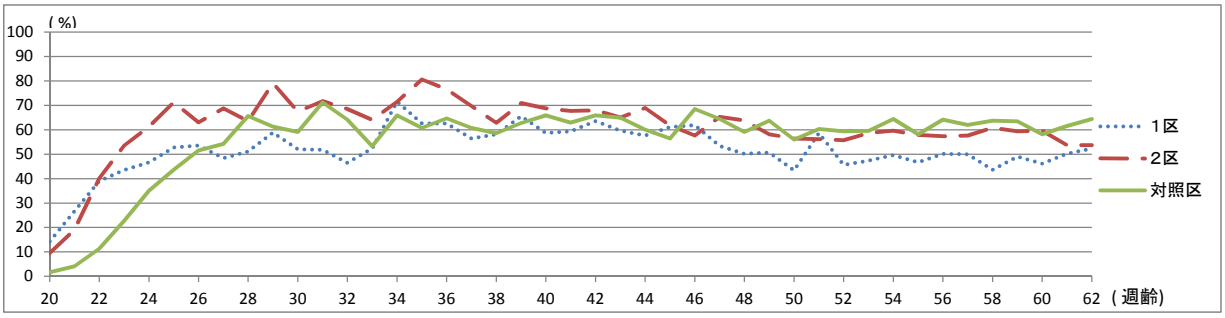


図２　産卵率（平飼い）

ても対照区が最も多く期間平均では187 gであり、１区，２区は少ない傾向を示した．

産卵成績について，産卵率を表５，ケージ飼育の産卵率を図１，平飼いの産卵率を図２，卵重を表６に示した．ケージ飼育・平飼いともに試験区が対照区より50％産卵到達日齢が早い傾向を示し，ケージ飼育では１区20週，２区21週，対照区24週であり，平飼いでは１区25週，２区23週，対照区26週であった．20 ～ 60週における全期間の産卵率はケージ飼育では１区で最も高く69.5％であり，次いで２区65.4％，対照区60.4％となり，１区，２区が対照区より有意に高い結果を示した．平飼いの全期間の産卵率は２区が最も高く61.3％，次いで対照区55.4％、１区51.8％となった．卵重は30週齢時で１区57.9 g，２区57.3 g，対照区55.7 gであり，全ての区において種卵として十分に供用可能な重量であった．

考　　察

当場では，比内地鶏の増体および肉質を維持しつつ，産卵能力の高い種鶏を作出することを目的とし試験を継続してきた．比内地鶏生産性向上のためのロード種鶏群の改良試験（小松ら　2013，2014）では，雌系を岡崎ロードとした区が産卵性能に優れていたが，比内地鶏の生産性が畜試ロードより劣っていたため，新たな種鶏としての利用

に至らなかった．そのため本試験では，岡崎ロードと畜試ロードを交配し系統造成してきた岡畜ロードを雌系に利用し，新たな組合せによる三元交雑鶏を作出して性能調査を行った．

調査の結果，産卵性能については，50％産卵到達週齢が１区・２区が対照区より早く，産卵の立ち上がりが改善された．産卵率は，ケージでは１区・２区ともに対照区よりも高く，平飼いでは２区が対照区よりも高かった．１区でケージの産卵率は良く平飼いの産卵率は低かった原因として，岡崎ロードはケージで改良が進められてきたため平飼いで能力を発揮できなかったことが考えられる．

増体については，以前（小松ら　2013）の試験では，産卵能力に優れ種鶏として有望と思われた組合せと対照区でロードの増体に有意差が認められ，比内地鶏の生産性にも影響が出た．本試験でも１区・２区と対照区の増体に有意差はあったものの，以前（小松ら　2013）の試験ほど大きな差はなく，比内地鶏への影響は少ないものと考えられる．

飼料摂取量は１区・２区が対照区より少なく推移したことから，経済性も優れていると考えられる．

以上の結果から，２区は対照区と比較して産卵能力が高く経済性も優れていることから，種鶏候補として有望であることが示唆された．しかし体重が１区・２区ともに対照区より少ない傾向にあるため，コマーシャル鶏である比内地鶏の増体に影響が出ることが懸念されることから，今後これらの組合せのロードを用いて，比内地鶏の能力調査を実施する．

引用文献

小松恵，高橋大希，力丸宗弘，石塚条次，山崎司．2013．比内地鶏生産性向上のためのロード種鶏群の改良（第１報）．秋田県畜産試験場研究報告27．23-26.

小松恵，高橋大希，力丸宗弘，山崎司．2014 比内地鶏生産性向上のためのロード種鶏群の改良（第２報）．秋田県畜産試験場研究報告28．51-56.

秋田県畜産試験場研究報告

平成 28 年 12 月 9 日発行
編集兼発行　秋田県畜産試験場

代表者　**酒　出　淳　一**

〒019-1701
秋田県大仙市神宮寺字海草沼谷地 13－3
電　話　総 務 企 画 室　0187(72)2511
飼料・家畜研究部　3814，3871
比内地鶏研究部　3813
ＦＡＸ　総 務 企 画 室　0187(72)4371
研　究　部　2807

「この印刷物は、315 部印刷して、単価は 345 円です。」