

1 粳米サイレージと稲 WCS の乳牛への効率的な給与技術の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○星一美、酒向佑輔、野口宗彦

研究期間：平成 28 (2016) ～令和元 (2019) 年度 予算区分：受託 (経営体強化プロ)

1 目的

本県は、都府県における酪農主産地としての地位を確立しているが、収益性の改善と地域資源循環に重要な意義を持つ自給飼料の生産と利用については経営間の格差が大きい。今後、本県が生乳の供給拠点として安定的に存続していく上では、飼料自給率を引き上げることが重要な課題となっている。これまで、粳米サイレージ、イネ WCS を含み飼料自給率 51%かつ粗飼料自給率 100% (乾物ベース) に調製した飼料を用いて給与方法 (分離給与、TMR 給与) の比較検討を実施したが、乳生産、血液性状、第一胃内容液性状等に差は見られなかったものの、軟便を呈する個体が見られ消化器障害等が懸念された。

そこで、トウモロコシサイレージ、イネ WCS、粳米サイレージ等の自給飼料多給による安定牛乳生産技術を開発するため、給与メニューの一部見直し、再試験を実施した。

2 方法

- (1) 供試家畜：泌乳中後期ホルスタイン種経産牛 6 頭
- (2) 試験期間及び試験方法：1 期 3 週間、3×3 ラテン方格法による飼養試験
- (3) 試験区 (給与飼料の構成割合及び成分含量は表 1 のとおり)
対照区：当センター慣行飼料
試験区 I：トウモロコシサイレージ、イネ WCS、粳米サイレージを活用し、飼料自給率 51% (粗飼料自給率 100%) となるよう調整した飼料
試験区 II：トウモロコシサイレージ、イネ WCS、イタリアンライグラスサイレージ、粳米サイレージを活用し、飼料自給率 51% (粗飼料自給率 100%) となるよう調整した飼料
飼料は全て TMR (混合飼料) 給与
- (4) 調査項目：体重、飼料摂取量、乳量、乳成分、血液性状、第一胃内容液性状、糞スコア

3 結果の概要

- (1) 飼料摂取量 (乾物)、乳量及び乳成分において、試験区間に有意な差は認められなかった (表 2)。
- (2) 一般血液性状及び第一胃内容液性状において、試験区間に有意な差は認められず、糞スコアは、試験期間をとおして全試験区で良好であった (表 3)。
- (3) 生乳 1kg 当たりの飼料費を試算したところ、試験区 I 28.6 円/kg、試験区 II 31.7 円/kg となり対照区 33.1 円/kg と比べ、各々 13.6%、4.1% 低減が図られた (表 4)。

以上のことから、粳米サイレージ、稲 WCS を含み飼料自給率 51%かつ粗飼料自給率 100% (乾物ベース) に調整した 2 つの給与メニュー (試験区 I、試験区 II) は、飼料費の低減を図り、日乳量 40kg 程度の乳生産が可能であることが示唆された。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

4 年間の粳米サイレージの研究成果及び給与マニュアルを基に、粳米サイレージを活用した飼料自給率向上と飼料費低減技術を普及させる。

[具体的データ]

表1 給与飼料の構成割合及び成分含量

項目\試験区	対照区	試験区 I	試験区 II
構成割合 (乾物中%)			
トモロシサイレージ	31.9	31.9	26.6
イネWCS	-	11.9	12.0
イタリアンライグラスサイレージ	-	-	5.0
エンバク乾草	7.0	-	-
トルフェスクストロ乾草	7.2	-	-
粃米サイレージ	-	7.9	7.9
配合飼料	43.6	36.5	36.6
高CP配合飼料	6.7	6.6	6.7
大豆粕	1.7	3.3	3.3
ビタミン・ミネラル類	1.9	1.9	1.9
粗飼料自給率 (%)	69.1	100	100
飼料自給率 (%)	31.9	51.7	51.5
成分含量 (乾物中%)			
可消化養分総量	70.2	71.1	70.8
粗タンパク質	14.7	14.9	15.1
粗脂肪	3.0	3.1	3.1
中性繊維	36.9	32.7	33.2
糖・タンパク質・有機酸類	34.3	41.1	40.0

表2 飼料摂取量及び乳生産

項目\試験区	対照区	試験区 I	試験区 II
供試頭数	6	6	6
体重	kg 659	655	654
乾物摂取量	kg/日 26.5	24.1	25.8
乳量	kg/日 40.4	40.6	39.3
乳脂肪率	% 3.62	3.51	3.75
乳タンパク質率	% 3.19	3.22	3.19
無脂固形分率	% 8.61	8.68	8.68
乳中尿素窒素	mg/dL 13.0	13.5	13.9

表3 血液性状、第一胃内容液性状及び糞スコア

項目\試験区	対照区	試験区 I	試験区 II
血液			
グルコース	mg/dl 48	53	51
総コレステロール	mg/dl 255	279	243
尿素窒素	mg/dl 16	18	17
GOT	IU/L 49	53	57
Ca	mg/dl 11	11	11
γ-GTP	IU/L 59	68	70
第一胃内容液			
pH	6.51	6.71	6.69
総VFA濃度	mmol/dl 17.33	16.74	16.31
酢酸	mmol/dl 10.22	9.14	9.45
プロピオン酸	mmol/dl 4.04	4.24	3.69
酢酸/プロピオン酸比	2.53	2.16	2.56
糞スコア (注)	3.00	2.83	3.00

注) 評価: 1 (液状の糞) ~ 5 (硬い糞)
3 が良好な状態

表4 飼料費

項目\試験区	対照区	試験区 I	試験区 II
飼料費 (円/日・頭)	1,336	1,160	1,246
濃厚飼料費	768	736	790
粃米サイレージ ¹⁾	-	88	95
配合飼料 ²⁾	576	437	469
高CP配合飼料 ²⁾	149	134	144
大豆粕 ²⁾	43	77	83
粗飼料費	495	359	385
トモロシサイレージ ³⁾	222	202	181
イネWCS ²⁾	-	157	169
イタリアンライグラスサイレージ ³⁾	-	-	36
フェン乾草 ²⁾	165	-	-
トルフェスク乾草 ²⁾	108	-	-
ビタミン・ミネラル類 ²⁾	73	65	70
生乳 1kg当たりの (比率)	33.1 (100)	28.6 (86.4)	31.7 (95.9)

1) 粃米サイレージは購入費+製造費 (山形畜試齊野ら参照) として試算 (32.4円/kg)

2) 購入飼料は購入価格 (令和元年5~7月) から試算

3) 自給飼料は生乳生産費統計 (2017年度) から試算

2 地域常在乳酸菌群の検討と乳製品（チーズ・ヨーグルト）への活用

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○酒向佑輔、水沼清美、野口宗彦

研究期間：平成30（2018）～令和2（2020）年度 予算区分：県単

1 目的

TPP11 や EPA 等の影響により、今後、これまで以上に安価な輸入乳製品が国内で流通することが想定されることから、国産乳製品は輸入乳製品との差別化が求められる。しかし、国内で乳製品製造に用いられる乳酸菌（スターター）は、そのほとんどが海外製であり、海外製品との差別化が難しく、県内チーズ工房から、地元の食品由来のスターター開発が求められている。

そこで、乳製品製造に活用できる県産食品由来スターターを開発するため、県産の発酵食品等から分離した乳酸菌株（53 株）の特性を調査し、チーズ製造に適した乳酸菌を選抜することを目的とした。

2 材料及び方法

(1) 材料：県産の発酵食品から分離した乳酸菌 53 株

(MRS 培地由来株：34 株、M17 培地由来株：19 株)

(2) 方法

解凍した乳酸菌保存液 20 μ L を、MRS 液体培地及び M17 液体培地（4mL）に添加し、30°C で一晚培養したものを処理液とし、その処理液を以下①～⑤の条件下で培地等に添加し、各条件で培養し、各特性を調査した。

①温度適正：分離由来の液体培地（MRS か M17）（4mL）に処理液を 20 μ L 添加し、40°C、30°C（基準）、20°C、10°C にてそれぞれ 48 時間培養し、増殖度合いを確認した。

②塩耐性：分離由来の液体培地に塩化ナトリウムを加え、塩分濃度が 3%、6%、9%、12% となるようにそれぞれ調製した培地（4mL）に処理液を 20 μ L 添加し、30°C にて 48 時間培養し、増殖度合いを確認した。

③発酵型：分離由来の液体培地に処理液 20 μ およびダーラム管を挿入し、30°C にて 48 時間培養し、気泡の発生の有無を確認した。

④溶菌率：リン酸緩衝液に遠心分離し上澄みを除いた濃縮した処理液を添加し、濁度が OD0.5 程度になるように調製した溶液（10ml 程度）を 30°C にて 48 時間培養し、濁度の変化割合をもって溶菌率とした。

⑤凝乳性：スキムミルクに処理液 20 μ L を添加し、30°C にて 48 時間以上培養し、凝固の有無を確認した。

3 結果の概要

MRS 培地由来株の①温度適正、②塩耐性、③発酵型、④溶菌率、⑤凝固乳性について表 1 に示した。M17 培地由来株は、MRS 培地由来株と比較し増殖が遅く、塩耐性も見られなかった（6% 以上で+がない）ことから、MRS 培地由来株である 34 株から、以下の条件を満たす菌をチーズ製造に向く菌として選抜した結果、T09、T29、T31、T45、T48、T52 の 6 株を選抜することができた。

【選抜条件】

①温度適正：10°C、20°C（熟成温度）で増殖が見られること。

②塩耐性：6%以上で増殖が見られること。（チーズ製造時の塩漬けに耐えられる）

③発酵型：ガスの発生がないもしくは僅かであること。

④溶菌率：50%以下（すぐに死滅しない）であること。

⑤凝固性：凝固（乳中で乳酸発酵して増殖）が見られること。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

選抜された6株それぞれを用いて試験管レベルで試験製造を行い、一般的なチーズ製造工程に悪影響を及ぼさないことを確認した上で、実規模にてチーズ製造を行い、各株を添加した時のチーズの特性について調査する。

[具体的データ]

表1 MRS培地にて分離した乳酸菌の各株の特性と選抜結果

No.	分離原	温度(°C)			凝乳	塩濃度(%)				発酵型	溶菌率	温度①	凝乳②	塩③	溶菌④	結果	
		40	20	10		3%	6%	9%	12%								
T0006	ぬか漬け	++	++	±	+	++	+	±	-	ホ	78	△		△	×	×あり不採用	
T0007	ぬか漬け	++	++	-	+	++	±	±	-	へ	19	×				×あり不採用	
T0008	ぬか漬け	++	++	+	+	±	±	-	-	へ	22			×		×あり不採用	
T0009	酒粕	++	++	++	+	++	±	±	-	ホ	35	◎		△		△ありだが低温◎で採用	
T0010	酒粕	++	+	±	+	++	±	-	-	ホ	45	△	×	×		×あり不採用	
T0011	米麴	++	++	±	+	++	+	-	-	ホ	37	△		×		×あり不採用	
T0012	米麴	++	++	-	+	++	+	-	-	ホ	29	×		×		×あり不採用	
T0013	米麴	++	++	-	+	++	+	-	-	ホ	41	×		×		×あり不採用	
T0014	キムチ	++	+	+	+	++	±	-	-	へ	30		×	×		×あり不採用	
T0015	キムチ	++	+	±		++	-	-	-	へ	20		×	×		×あり不採用	
T0016	キムチ	++	++	+		++	±	-	-	ホ	33		×	×		×あり不採用	
T0017	キムチ	保管中に死滅(耐凍性×)															耐凍性×
T0019	紫蘇の実漬け	++	++	-	+	++	++	-	-	へ	20	×		×		×あり不採用	
T0020	紫蘇の実漬け	++	+	±	+	++	+	-	-	へ	28	△		×		×あり不採用	
T0022	米麴	++	+	-	+	±	±	±	±	ホ	32	×				×あり不採用	
T0023	米麴	++	+	-	+	++	+	-	-	へ	28	×		×		×あり不採用	
T0025	キムチ	++	+	+	+	++	++	±	-	へ	40			△		特筆項目無し	
T0026	キムチ	++	+	±	+	++	+	+	-	ホ	89	△		×	×	×あり不採用	
T0027	ぬか漬け	++	+	±	+	+	-	-	-	ホ	71	△		×	×	×あり不採用	
T0028	ぬか漬け	++	++	+	+	++	++	±	±	ホ	68				×	×あり不採用	
T0029	ぬか漬け	++	++	±	+	++	++	+	±	ホ	28	△				△ありだが凝乳◎で採用	
T0030	ぬか漬け	++	++	±	+	++	++	+	±	ホ	34	△				△あり、特筆項目無し	
T0031	ぬか漬け	++	+	+	+	++	+	±	±	ホ	7				◎	溶菌性◎	
T0033	沢庵	++	+	±	+	++	±	±	±	へ	15	△				△あり、特筆項目無し	
T0043	沢庵	++	+	+	+	+	+	±	±	ホ	30	△				塩耐性不安あり、不採用	
T0044	沢庵	++	+	±	+	++	++	+	±	ホ	22	△				△あり、特筆項目無し	
T0045	沢庵	++	+	+	+	++	++	±	±	ホ	24					いずれも○	
T0046	沢庵	++	++	+		++	±	-	-	へ	37		×	×		×あり不採用	
T0048	沢庵	++	+	+	+	++	+	±	±	へ	12					いずれも○	
T0049	沢庵	++	±	±	+	++	+	±	±	へ	32	△				△あり、特筆項目無し	
T0050	沢庵	++	+	+	+	++	++	+	-	へ	48			△		△あり、特筆項目無し	
T0051	沢庵	++	++	+	+	++	+	-	-	へ	24			×		×あり不採用	
T0052	沢庵	++	+	+	+	++	+	±	±	へ	23					いずれも○	
T0053	沢庵	++	++	±	+	++	-	-	-	へ	18	△		×		×あり不採用	

※温度適正、塩耐性 ++:30℃培養時と同等の増殖 +:30℃培養時よりやや少ない増殖
±:僅かな増殖が見られる -:増殖が見られない

※発酵型 ホ:ホモ型(ガスの発生無し) へ:ヘテロ型(ガスの発生無し)

※凝固 +:凝固あり -:凝固が見られない

3 地元由来乳酸菌を活用したチーズ製造技術の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○酒向佑輔、星一美、水沼清美、野口宗彦

研究期間：平成 30（2018）～令和元（2019）年度 予算区分：国庫

1 目的

県内の 6 次産業化でチーズ製造に取り組む酪農家から、熟成タイプチーズの熟成期間を短縮することが望まれていることから、共同研究機関において、これまで県産食品からタンパク質分解能等を指標に 3 株の乳酸菌を選抜し、試験管レベルでチーズを製造し製造条件を明らかにした。今回は、選抜株の添加が、チーズに及ぼす影響を実規模にて確認するとともに、味に及ぼす影響を確認するため、当センターのチーズ工房にて実規模にて製造し、検討を行った。

2 方法

- (1) 供試サンプル：生乳（畜産酪農研究センター産ホルスタイン種の生乳）、乳酸菌（CHN-11 及び選抜株（No12、No37、No57））、レンネット（凝乳酵素）等
- (2) チーズ製造方法：当センター評価加工棟チーズ製造室の 35 L のチーズバットにて、生乳 10kg を用いて各試験区 3 回ずつゴーダタイプチーズ製造手順に従い製造し、途中、熟成 1 週間後、1 ヶ月後、2 ヶ月後、3 ヶ月後にサンプリングを実施し、3 ヶ月後に評価を実施した。
- (3) 試験区
対照区：CHN-11（ 10^9 cfu/mL）のみでゴーダチーズを製造する区（慣行）
OY12 区：CHN-11（ 10^9 cfu/mL）+ OY12（ 10^5 cfu/mL）で製造する区
OY37 区：CHN-11（ 10^9 cfu/mL）+ OY37（ 10^5 cfu/mL）で製造する区
OY57 区：CHN-11（ 10^9 cfu/mL）+ OY57（ 10^5 cfu/mL）で製造する区
- (4) 調査項目：カッティング後のホエイ pH の経時的変化、チーズ中の乳酸菌の生菌数、アミノ酸含量、成分、官能評価

3 結果の概要

- (1) pH
カッティング後のホエイ pH の経時的変化及び低下速度を図 1、2 に示した。低下速度は試験区間で差が見られなかった。
- (2) 遊離アミノ酸
総遊離アミノ酸含量及び主要な遊離アミノ酸含量の経時的変化を、図 3～4 に示した。総遊離アミノ酸量は、各熟成期間においても試験区間に有意な差は見られなかった。遊離アミノ酸のうちの苦み成分であるチロシンについては、OY-57 区が熟成 1 ヶ月以降で他区と比較して有意に低い値を示した（ $p < 0.05$ ）。
- (3) 乳酸菌の生菌数
生菌数の変化を図 5 に示した。熟成 2 ヶ月および熟成 3 ヶ月において OY57 区が他区と比較して有意に高い値を示した（ $p < 0.05$ ）。
- (4) 官能評価
官能評価は、OY57 と対照区で評点法を用いて比較を行ったところ、OY57 区 4.33 点、対照区 4.27 点で有意差は見られなかった（図 6）。
- (5) まとめ
OY-57 株を市販スターターとあわせて利用することで、チーズ中の菌数の増加が期待できることから、熟成が早く進むことが期待されるとともに、苦みを抑えた旨味の多いチーズを製造することが期待できる可能性が示唆された。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

実製造規模（県内のチーズ工房等）で選抜株を用いたチーズを製造し、各種評価を実施し製造の効果を確かなものにしていくとともに、チーズ工房での利用を普及させていく。

[具体的データ]

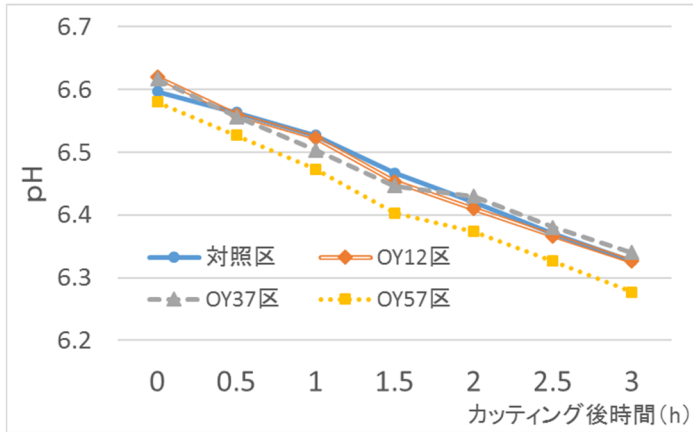


図1 カutting後のホエイの pH の経時的変化

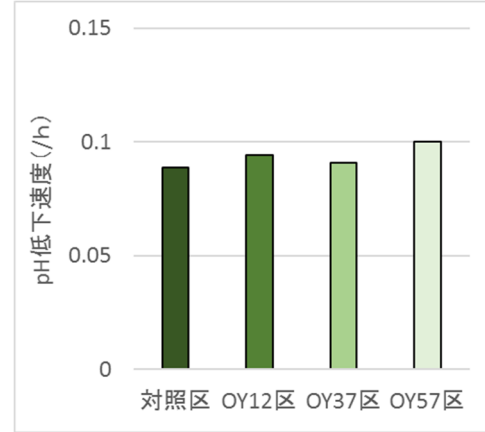


図2 攪拌時のホエイ pH の低下速度

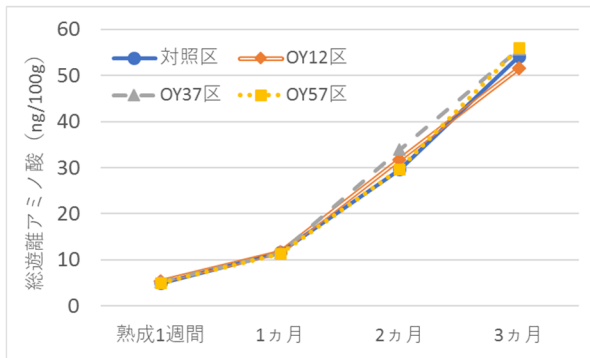


図3 チーズ中の総遊離アミノ酸の経時的変化

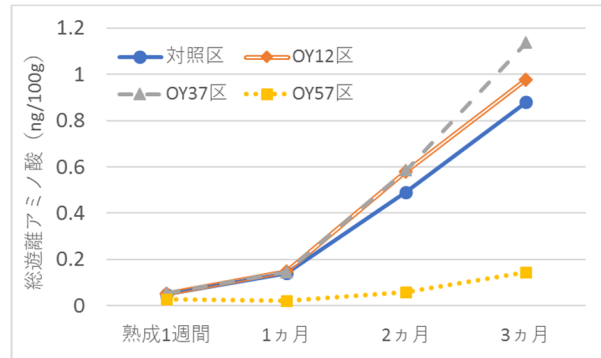


図4 チーズ中のチロシンの経時的変化

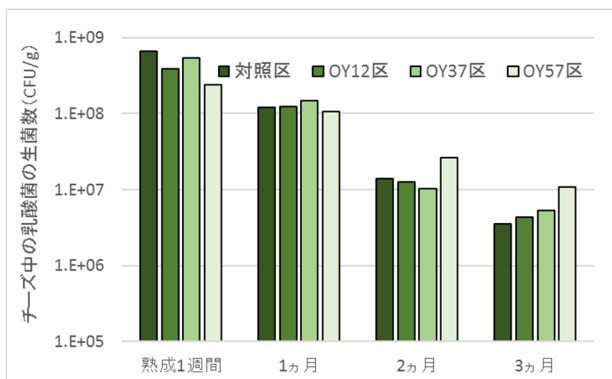


図5 チーズ中の生菌数の経時的変化

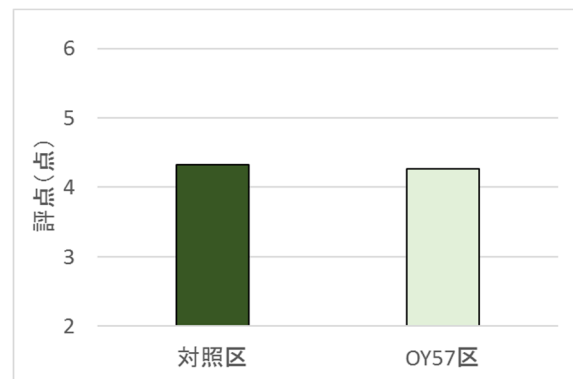


図6 評点法による官能評価結果

4 SNP解析による高能力牛のゲノミック評価及び産子の能力評価

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○三好勇紀、久利生正邦、青木亜紀子

研究期間：平成30（2018）～令和2（2020）年度

予算区分：県単

1 目的

我が国の乳用牛の泌乳能力は飛躍的に向上したが、疾病増加による供用年数の短縮や空胎期間延長等の繁殖性低下が問題となっている。また、乳用後継牛不足も深刻化する中、受精卵移植により優良雌子牛を確保するためには採卵・移植技術の向上もさることながら、供胚牛の選定も大きく影響するところである。

そこで、ゲノム解析技術の向上により牛の能力評価に利用できるようになった国内外のゲノミック評価を活用し、育成牛の能力評価を行うことで、優良供胚牛の選定及び供胚牛候補の早期選抜を検討した。

2 方法

ゲノミック評価は、（一社）ホルスタイン登録協会が取りまとめる SNP 検査のデータと従来評価である総合指数（NTP：Nippon Total Profit index 日本総合評価指数）から算出される Gntp（Genomic Nippon Total Profit index ゲノミック日本総合評価指数）、アルタジャパン株式会社および株式会社野澤組が実施する海外ゲノミック評価を採用した。

（1）ゲノミック評価による未經産牛の選抜

ア 供試牛：センター飼養の未經産牛 23 頭（うち、国内評価 5 頭、海外評価 18 頭）

イ 従来評価との検討事項：両親育種価の平均値である推定育種価（PA-NTP）

ウ 選定方法：総合指数上位牛を優良供胚牛として選定

（2）国内ゲノミック評価と海外ゲノミック評価の比較

ア 供試牛：センター飼養の経産牛2頭、未經産牛5頭

イ 比較検討事項：両者の総合指数、価格、申込受付頻度、母集団の規模

3 結果の概要

（1）国内ゲノミック評価では、すべての個体で比較的高い Gntp（上位 48%以上）が得られた（表1）。うち、牛 A については、高能力種雄牛（NTP3, 526）を交配し、産子が得られた。

B、C についてもそれぞれ高能力種雄牛を交配し、妊娠を確認した。

（2）海外ゲノミック評価では、総合指数（TPI又はIPI）はすべての牛群の平均値が1, 970に対して、検査した牛の平均値は1, 872であった。総合指数が低い2頭については、積極的に遺伝子を残す必要がないと判断し、販売に供した（表2）。

（3）H30年度、4産以上で体型得点89点の経産牛の国内ゲノミック検査を実施したF、G（いずれもGntpは低値）について海外ゲノミック評価を実施したところ、海外の総合指数も低値の結果であった。また、未經産牛については国内で高い評価を得た牛でも海外ゲノミック評価で必ずしも高い評価とはならなかった。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

（1）総合指数の高い乳用種雄牛を交配し、妊娠を確認した個体について産子が得られ次第、ゲノミック評価を実施する。

（2）高い評価が得られた未經産牛は繁殖適齢に達し次第、高能力種雄牛を交配させる。

（3）海外ゲノミック評価にしばり未經産牛のゲノミック評価を実施し、牛群全体の総合指数

の把握に努める

[具体的データ]

表1 未経産牛における推定育種価 (PA-NTP) 及びゲノミック評価を加味した総合指数 (GNTP)

個体	生年月日	母牛 NTP	父牛 NTP	PA-NTP	GNTP	パーセン タイトル
A	H30. 1. 23	924	3,722	2,323	1,810	18
B	H30. 6. 27	1,520	2,972	2,096	1,420	33
C	H30. 8. 14	1,693	2,035	1,864	1,647	23
D	H30. 11. 5	1,222	2,238	1,730	1,149	48
E	H30. 12. 24	1,204	3,392	2,298	1,416	33

表2 経産牛および未経産牛における推定育種価 (PA-NTP) 及び海外ゲノミック評価による総合指数 (TPI又はIPI)

個体	生年月日	母牛 NTP	父牛 NTP	PA-NTP	TPI 又は IPI	パーセ ンタイ ル	備考
F	H22. 6. 20	650	2,778	—	1,350	99	NTP -572
G	H24. 5. 17	47	1,569	808	1,443	99	NTP -83
H	H28. 9. 16	163	243	—	1,816	85	
A	H30. 1. 23	924	3,722	2,323	2,015	71	
I	H30. 2. 10	163	3,157	1,660	1,939	71	
J	H30. 4. 19	-83	3,157	1,537	1,973	71	
B	H30. 6. 27	1,520	2,972	2,096	2,016	71	
C	H30. 8. 14	1,693	2,035	1,864	1,917	71	
D	H30. 11. 5	1,222	2,238	1,730	1,799	85	
E	H30. 12. 24	1,204	3,392	2,298	1,416	99	
K	H31. 3. 24	243	243	243	1,854	85	
L	H31. 3. 26	-104	2,622	1,259	1,925	71	
M	H31. 4. 11	—	473	409	1,602	94	販売
N	R1. 5. 18	-833	2,778	973	1,832	85	
O	R1. 7. 31	—	608	—	1,776	85	
P	R1. 8. 4	—	3,232	—	1,698	94	販売
Q	R1. 8. 7	—	2,778	—	1,725	94	
R	R1. 8. 17	-788	2,778	995	1,792	85	
S	R1. 9. 21	—	2,424	—	2,054	52	
T	R1. 10. 1	-592	608	8	1,785	85	

注 TPI : Total Performance Index
IPI : Igenity Production Index

5 乳牛の過剰排卵処理における卵胞波調節を併用したFSH減数投与法の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○青木亜紀子、三好勇紀、久利生正邦

研究期間：平成30(2018)～令和2(2020)年度 予算区分：県単

1 目的

乳用後継牛不足が深刻化する中、ホルスタイン種の雌性選別精液(以下、選別精液)が開発され、選別精液を用いた受精卵生産の要望も増大しているが、通常精液に比べ採胚成績の劣ることが懸念されている。そこで本県では優良雌子牛の確保に資する技術として10県による共同試験を実施し、雌産子が期待される胚の作出効率が通常精液と同等となる採胚プログラムを開発した。本研究ではこの卵胞波調節を併用したプログラムをベースとし、供胚牛の負担を軽減するため、これまで8回に分けての投与が必要とされた過剰排卵処置における投与回数を減らす可能性を検討した。

2 方法

(1) 卵胞ウェーブの調整(優勢卵胞退行)及び過剰排卵処置(SOV)

発情の直前直後を避けた任意の時期に留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を膣内に挿入し、同時にEB1mL(エストラジオールベンゾエイトとして2mg)を筋肉内に投与し、優勢卵胞を退行させた(day0)。両区ともDay6の夕方から総量30AUの卵胞刺激ホルモンを投与したが、投与の量および時期は次のとおりである。

2ショット区：day6の夕方に20AU(生理的食塩水50mLに溶解)、day7の夕方に10AU(同20mL)を皮下投与

4ショット区：day6、7、8、9の夕方に4回、筋肉内注射による漸減投与

対照区：day6の夕方からday10の朝にかけて8回、筋肉内注射による漸減投与

両区ともday8にクロプロステノール製剤0.225mg(以下PG)を投与、day9にCIDRを除去して発情を誘起、day10にGnRH(酢酸フェルチレンリンとして200 μ g)を投与し、排卵を促進した。

人工授精はday11の午前9時(GnRH投与後24時間)に性選別精液2本を用いて1回のみを行い、day16の午前に常法により採卵(体内胚の採取)を行った。

(2) 調査項目

- ・卵巣所見：超音波画像診断装置による卵胞動態、採胚時の推定黄体数及び遺残卵胞数の観察
- ・採胚成績：回収胚・正常胚・変性胚・未受精卵の数、胚の品質(ランク及び発育ステージ)

3 結果の概要

対照区及び2ショット区には前年度までの成績も含む。

(1) 対照区ではSOV開始時の小卵胞数が多い傾向にあった(表1)。

(2) 2ショット区では採胚時の遺残卵胞数が少ない傾向にあった(表1)。

(3) 採卵成績において、採卵総数及び正常胚の個数は対照区で高い(多い)傾向にあったが、いずれも有意な差は認められなかった(表1)。

(4) 回収された胚の品質(ランク)(図1)及び正常胚の発育ステージ(図2)について、有意な差は認められなかった。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

採胚成績のバラツキが大きいため、特に反転試験による各区の例数を増やすとともに、

超音波画像診断装置による卵胞の発育動態の精査が必要と考えられる。また、特に2回投与における投与間隔及び1回あたりの量（配分）についても検討の余地があると考えられる。

[具体的データ]

表1 超音波画像診断による卵巣所見及び採卵成績

	2ショット区	4ショット区	対照区
供試頭数(頭)	14	12	21
平均年齢(歳)	7.9±2.9	8.6±2.8	8.0±1.7
SOV 開始時卵胞数(個) (うち、小卵胞)	17.4±6.4 (8.0±3.5)	12.0±2.2 (7.0±2.8)	14.2±5.0 (11.7±4.4)
採卵総数(個)	9.0±10.2	8.6±3.3	12.0±7.3
正常胚数(個)	1.8±2.4	1.3±1.9	3.4±4.5
正常胚率(%)	31.7±35.2	15.6±23.2	28.5±34.8
変性胚数(個)	4.3±10.3	4.1±3.3	4.0±5.4
未受精卵数(個)	1.1±1.8	3.2±3.5	3.7±5.2
採卵時遺残卵胞数	1.5±2.3	6.0±5.7	5.1±3.9

(mean±sd)

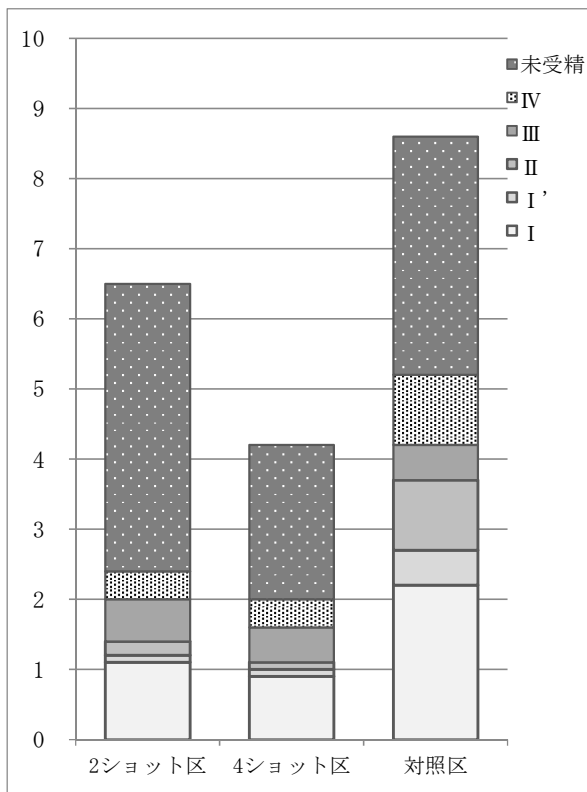


図1 回収された胚のランク

※ I : 優良卵 I' : I と II の中間 II : 普通卵
III : 不良卵 IV : 変性卵

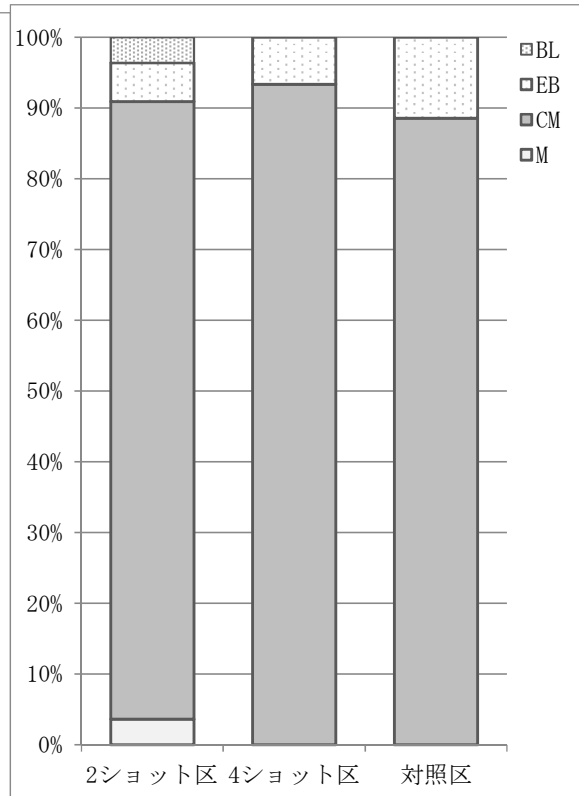


図2 正常胚のステージ別の割合

※ M : 桑実胚 CM : 収縮桑実胚 EB : 早期胚盤胞
BL : 胚盤胞

6 乳牛における添加剤利用等による効率的採胚方法の検討

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○青木亜紀子、三好勇紀、久利生正邦

研究期間：平成30(2018)～令和元(2019)年度 予算区分：県単

1 目的

乳用後継牛不足が深刻化する中、ホルスタイン種の雌性選別精液(以下、選別精液)が開発され、選別精液を用いた受精卵生産の要望も増大しているが、通常精液に比べ採胚成績の劣ることが懸念されていた。そこで本県では優良雌子牛の確保に資する技術として10県による共同試験を実施し、雌産子が期待される胚の作出効率が通常精液と同等となる採胚プログラムを開発した。本研究ではこのプログラムをベースとし、添加剤等の給与による正常胚率の向上により、正常な雌胚作出個数の増加を目指した。

2 方法

(1) 卵胞ウェーブの調整(優勢卵胞退行)及び過剰排卵処置、体内胚の採取

発情の直前直後を避けた任意の時期の17時に留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を膈内に挿入し、同時にEB1mL(エストラジオールベンゾエイトとして2mg)を筋肉内に投与し、優勢卵胞を退行させた(day0)。day6及びday7の夕方に総量30AUの卵胞刺激ホルモンを皮下投与して過剰排卵を誘起、day8にクロプロステノール製剤0.225mg(以下PG)を投与、day9にCIDRを除去、day10にGnRH(酢酸フェルチレンリンとして200 μ g)を投与して排卵を促進した。

人工授精はDay11の午前9時(GnRH投与後24時間)に1回のみ行い、day16の午前に常法により採卵(体内胚の採取)を行った。

(2) 添加剤の投与方法

・試験区：day0～day15の朝に、アスタキサンチン50g添加した飼料を給与した。

・対照区：通常の飼料を給与した(アスタキサンチン無添加)。

なお、両区とも処置等に伴う呼び寄せ時に少量の配合飼料を給与しており、試験区においてはこの配合飼料に試験飼料を混合して給与した。

(3) 調査項目

・卵巣所見：超音波画像診断装置による推定黄体数及び遺残卵胞数等の観察

・採胚成績：回収胚・正常胚・変性胚・未受精卵の数、胚の品質(ランク及び発育ステージ)

3 結果の概要

対照区の成績には前年度までの成績も含む。

(1) 供試牛はホルスタイン種経産牛とし、試験区8頭(乾乳6・搾乳2)、対照区13頭(乾乳9・搾乳4)を配置し、年齢や分娩後の日数に差は認められなかった。

(2) 採卵成績において、回収胚数は試験区で多い傾向にあったが有意差は認められなかった。

(3) 正常胚(code I～III)の個数は試験区で多い傾向にあり、正常胚率は試験区において有意に高かった(表1、 $p<0.05$)。

(4) 正常胚における品質(ランク)(図1)について、試験区で凍結可能な胚(code I～II)の割合が高い傾向にあったが、有意な差は認められなかった。

(5) 正常胚の発育段階は、両区とも殆どが桑実胚及び早期胚盤胞のステージにあり、差は認められなかった。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

供胚牛により、FSH 製剤による過剰排卵への反応や正常胚率に個体差が大きいことから、可能な限り反転試験の例数を増加させる必要があると考えられる。

[具体的データ]

表 1 供試牛の概要及び採胚成績

	試験区 (アスタキサンチン給与)	対照区 (無給与)
供試頭数(頭)	8	13
平均年齢(歳)	8.9±3.7	7.9±2.9
採卵総数(個)	6.9±3.6	9.0±10.2
正常胚数(個)	4.8±3.7	1.8±2.4
正常胚率(%)	64.6±31.1 ^a	30.7±38.1 ^b
変性胚数(個)	1.9±2.1	4.3±10.3
未受精卵数(個)	0.3±0.5	1.1±1.8

異符号感に有意差あり (p<0.05) (mean±sd)

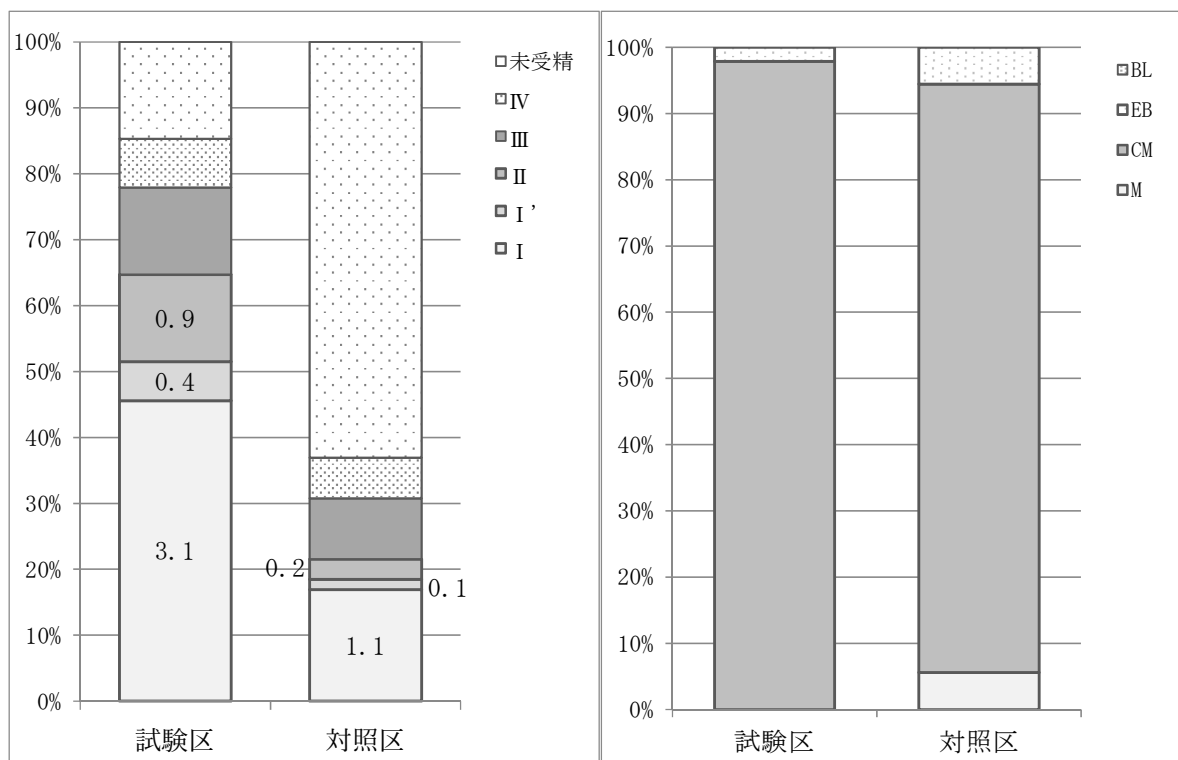


図 1 回収された胚のランク別の割合

※ I : 優良卵 I' : I と II の中間 II : 普通卵
III : 不良卵 IV : 変性卵

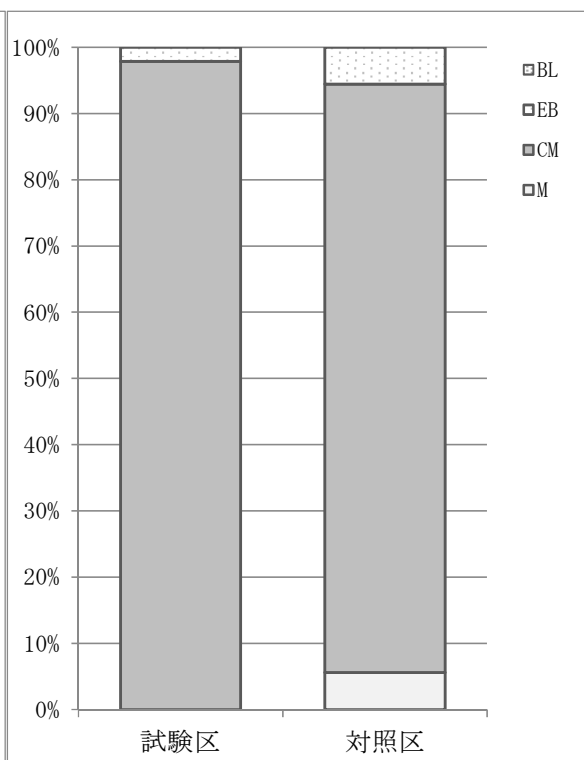


図 2 正常胚のステージ別の割合

※ M : 桑実胚 CM : 収縮桑実胚 EB : 早期胚盤胞
BL : 胚盤胞