

1 牛の生殖細胞操作による繁殖技術の確立

—— 性選別精液を利用した体内受精卵生産の高度化 ——

担当部署名：家畜生産技術部 家畜繁殖研究室

担当者名：○川野辺章夫、北條享、高崎久子、稲葉浩子

研究期間：平成26年度～29年度（継続） 予算区分：県単

1. 目的

牛の生殖細胞操作技術は、体外受精、雌雄の産み分け（DNA検査、性選別精液）、双子生産、クローン牛生産等、受精卵移植技術を応用した先端的繁殖技術であり、遺伝的能力に優れた高能力牛を効率的に生産するためには極めて重要である。ホルスタイン種の性選別精液♀は、後継牛の計画的生産に利用されており、性選別精液♀を用いた受精卵生産についても要望が増大している。しかし、性選別精液は1ストロー当たりの精子数が少なく、性選別・凍結の過程で精子活力が低下することもあり、過剰排卵処理（以下SOV）による受精卵生産成績は通常精液に比べ著しく劣る。そこで、性選別精液♀を用いた効率的な雌受精卵の生産技術として、SOVの前処置として優勢卵胞を除去し（DFR）、卵胞発育及び排卵時間を一定にするSOVプログラム（以下DFR-SOV）を開発した（平成25年度）。

しかしながら、DFRを実施するには卵子吸引（OPU）仕様の超音波診断装置が必要であることから、生産現場での実用化は制限される。そこで、生産現場への普及を目的に、ホルモン剤（オバホルモン）の投与により優勢卵胞を退行させる手法を用いて、DFRと同等の効果が期待できる卵胞ウェーブの調整方法を研究する。

2. 方法

（1）卵胞ウェーブの調整（優勢卵胞退行及び除去）

対照区：CIDR挿入後3日目の朝に直径8mm以上の大卵胞をすべて吸引除去する。（DFR法）

試験区：CIDRを挿入すると同時にオバホルモン1mlを筋肉内に投与し、優勢卵胞を退行させる。

（2）過剰排卵処置及び人工授精

DFR-SOVの方法は、発情周期の任意時期に留置型プロゲステロン製剤（CIDR）を膣内挿入し（Day0）、Day6から4日間で総量FSH30AUを漸減投与した。Day8にクロプロステラル製剤0.225mg（以下PG）を投与し、Day9にCIDRを除去して発情を誘起した。Day10にGnRH（酢酸フェルチリンとして200μg）を投与し、Day11に1回のみ人工授精（以下AI）を行った。AIは、（一社）家畜改良事業団の採卵用性選別雌精液（Sort90、封入精子数600万）を左右子宮角浅部に1本ずつ合計2本を注入し、AI後6日目に常法により採卵した。

（3）調査項目

採卵時の卵巣所見：超音波診断による推定黄体数及び遺残卵胞数

採卵成績：回収卵数、正常卵数、変性卵数、未受精卵数、受精卵の品質（ランク及び発育ステージ）

3. 結果の概要

（1）採卵時の卵巣所見及び採卵成績を表1に示した。採卵時の卵巣所見では、対照区と試験区で推定黄体数に有意な差は見られなかったが、遺残卵胞数で試験区が若干多い傾向があった。

（2）採卵成績において、回収卵数は、試験区で多い傾向にあったが、統計的な有意差は見られなかった。正常卵数、推定雌卵数では両区に差がなかったことから、オバホルモン投与によ

り DFR と同等の受精卵生産成績を得られることが示された。

(3) 正常卵の品質（ランク）では、両区において大きな違いは認められないが、試験区で Code I が多く、対照区で Code III がやや多い傾向があった。また、発育ステージでは試験区の方がやや若い傾向があった。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

次年度は、性選別精液♀を用いた受精卵生産において、正常胚率の向上を目的に、注入する精子数（注入するストロー本数）が受精卵生産成績に及ぼす影響を調査し、適正な注入精子数を検討する。

[具体的データ]

表 1 採卵時の卵巣所見及び採卵成績

区分	対照区	試験区
供試頭数	5	5
推定黄体数	10.6±4.1	10.6±3.4
遺残卵胞数	2.0±1.7	3.8±1.3
回収卵数	7.0±3.6	9.6±5.3
正常卵数	5.4±2.9	5.4±1.0
正常卵率	78.0%	69.6%
推定雌卵数 ※)	4.9	4.9
変性卵数	1.4±1.0	4.2±4.4
未受精卵数	0.4±0.5	2.0±2.4
	(mean ± SD)	
※) 推定雌卵数は正常卵数の90%で試算		

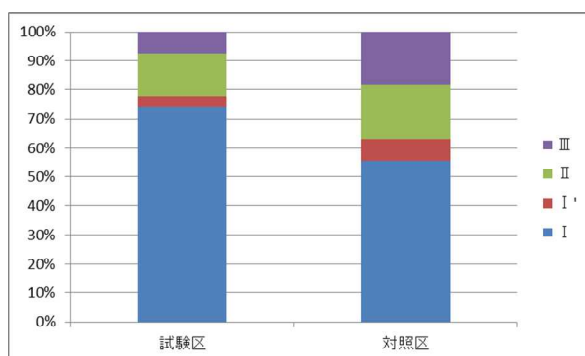


図 1 正常卵ランク別の割合

※ I : 優良卵、I' : I と II の中間
II : 普通卵、III : 不良卵

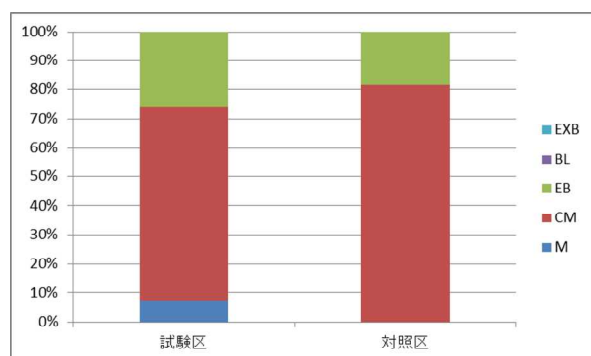


図 2 正常卵のステージ別の割合

※ EXB : 拡張胚盤胞、BL : 胚盤胞、EB : 早期胚盤胞
CM : 収縮桑実胚、M : 桑実胚

2 泌乳パターンを平準化させる飼料給与方法の開発

担当部署名：家畜生産技術部 乳牛飼養研究室

担当者名：○上野源一、大輪真司、室井章一、高橋孝志

研究期間：平成24年度～平成26年度（最終） 予算区分：県単

1. 目的

乳牛の育種改良により、一乳期の総乳量は飛躍的に向上した。しかし、飼料によるエネルギー摂取が、分娩後の著しい乳量の増加、その後の乳量の減少という乳生産の経時的変化（低持続型の泌乳パターン）に対応しきれず（負のエネルギーバランス）、様々な疾病や繁殖障害が生じることが問題となっている。近年、泌乳曲線を平準化することにより泌乳初期における負のエネルギーバランスを軽減し、繁殖機能の回復や周産期病の予防に寄与することが示唆されている。

また、2産次以上の乳牛において乾乳期の栄養制限をすることで、泌乳曲線が平準化し、乳生産と健全性が向上することが明らかとなった。

そこで、本研究では生産現場の産次数が2.5産(牛群検定)と若年齢化していることから、若年齢牛群に対応すべく、初産牛を供試し、群管理下（フリーストール）における乾乳期の栄養水準の違いが乳生産に及ぼす影響を検討する。

2. 方法

(1) 供試牛：当センター繋養ホルスタイン種初産牛6頭

(2) 試験期間 分娩前60日（乾乳前期40日・後期20日間）～分娩後80日

(3) 試験区(表-1参照)

乾乳前期の栄養水準によって2区設定

試験区：日本飼養標準に基づく可消化養分総量(TDN)要求量80%(3頭)

対照区：TDN要求量100%(3頭)

乾乳後期は両区ともにTDN要求量100%

分娩後は当該慣行飼養法に基づきフリーストール内でTMRを給与した。

(4) 調査項目

乳量、日乳量（1週目、4週目、2～5週平均、1～10週平均）及び泌乳持続性指標値（ピーク乳量、ピーク乳量到達週、4週目までの増加率、ピーク乳量までの増加率）等

3. 結果の概要

(1) 試験区の乳量(図-1)及び泌乳持続性指標(表-2)であるピーク乳量、60日目乳量、4週目までの増加率、240日目乳量、305日目乳量、305日目乳量に有意差が認められ、群管理下においても泌乳持続性が高まることが示唆された。

(2) 日乳量からwoodの推定式に当てはめると、図-2の曲線が得られ、305日の推定乳量が、試験区で9,838kg、対照区で7,913kgであり、有意差が認められた。

表-1 飼料給与量(kg)

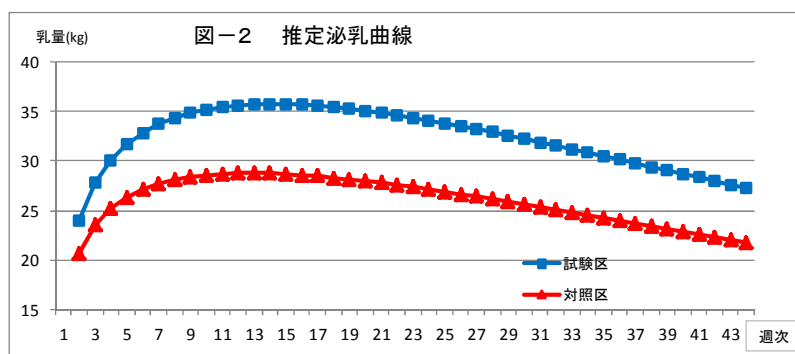
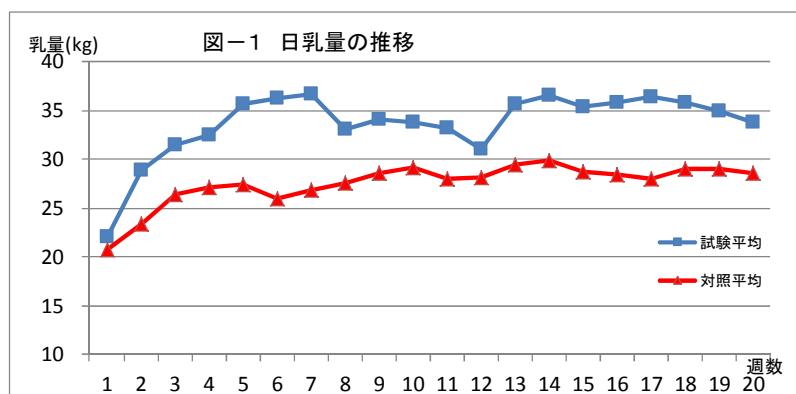
飼料名	乾乳前期		乾乳後期	
	試験区n=3	対照区n=3	試験区n=3	対照区n=3
コーンサイレージ	10.7	11.9	12.0	12.0
	3.5	3.8	3.9	3.9
チモシー乾草	6.5	6.7	6.0	5.7
	6.0	6.1	5.5	5.2
大豆粕	1.0	0	0	0
	0.9			
配合飼料	0	2.1	4.1	3.5
		1.9	3.8	3.2

注: 上段が現物重量、下段は乾物重量
乾乳後期は分娩前日の量

表-2 乳量及び泌乳持続性指標

	試験区(n=3)	対照区(n=3)
実測ピーク乳量*1	38.6	32.0
実測ピーク乳量到達週	9.7	19.7
1週目乳量	23.9	20.7
4週目乳量	31.7	26.3
2, 3, 4, 5週の平均乳量	30.6	25.5
1~10週の平均乳量	32.0	26.4
4週目までの増加率	1.9	0.7
ピーク乳量までの増加率	2.6	1.9
60日目乳量*1	35.1	28.5
240日目乳量*2	30.4	24.2
305日目乳量*2	27.0	21.6
305日目乳量*2	9,838	7,913

*1: P<0.05, *2: P<0.01



4. 今後の問題点と次年度以降の計画

乾乳前期の栄養制限によって乳生産性が向上することが示唆されたが、初産牛の分娩後の養分要求量は維持と産乳の要求量に加えて、成熟に向けた成長のための要求量を考慮する必要がある。そのため、供試頭数を増やしデータの信頼性を高める必要がある。

3 稲ワラ利用による国産飼料割合を高めたTMRの給与が泌乳中期の乳生産に及ぼす影響

担当部署名：家畜生産技術部 乳牛飼養研究室

担当者名：○室井章一、上野源一、大輪真司、高橋孝志

研究期間：平成24年度～26年度（完了） 予算区分：受託

1. 目的

輸入飼料の高騰は続き、酪農経営を圧迫しており、その対策として、自給飼料や食品製造副産物などの給与割合を高めることにより、十分な乳生産が得られ、かつ生乳生産費の低減が図れる飼料給与技術開発が望まれている。

そこで、飼料用玄米や生米ぬかなどの食品製造副産物を有効活用し、国産飼料100%給与を目指した牛乳生産技術を開発するために、今回は、粗飼料の主体を稲ワラとした場合の泌乳中期の乳生産に及ぼす影響について検討した。

2. 方法

- (1) 泌乳中期のホルスタイン種6頭を3群(1群2頭)に分け、当センターでの慣行TMRをT区(対照区)、飼料用玄米(粗挽き)、稲WCS及び生米ヌカ及びトウモロコシサイレージ等にエンバク乾草を加えたE区、E区のエンバク乾草を稲ワラ乾草で代替したI区の3試験区を設定し、3×3(1期21日間)のラテン方格法で給与試験を実施した。
- (2) 供試飼料は、混合飼料の形で給与し、自由採食とした。その成分含量(設計値)は、表1のとおりであった。
- (3) 今回の試験では、乾物中の国産飼料割合(%)は、T区:41、E区:68、I区:83であった。
- (4) 調査項目は、飼料摂取状況、乳生産、第一胃内容液、血液性状、消化率、生乳生産費とした。

3. 結果の概要

- (1) 乾物摂取量(kg/日)は、試験区間に有意な差は認められなかったが、T区(27.5)に対しI区(20.1)で低い傾向を示した。
- (2) 日乳量(kg)は、T区(38.3)に対しI区(28.1)で低い値を示した。乳中尿素窒素(mg/ml)は、E区(20.4)とI区(23.4)がT区(13.7)に対し高い値を示した。
- (3) 乾物消化率(%)は、T区(67.1)がE区(54.0)とI区(55.0)に対し高い値を示した。
- (4) 乳飼比は、試験区間に有意な差は認められなかった。乳代金(円)と乳代金-飼料費(円)は、T区(5,253、3,233)がE区(3,558、1,882)とI区(3,089、1,985)に対し高い値を示したが、E区とI区では、有意な差は認められなかった。

以上のことから、泌乳中期のホルスタイン種へ稲ワラを給与飼料乾物中16%程度給与することにより、乾物中の国産飼料割合を83%まで高めることができたが、飼料採食量の低下に伴う日乳量の減少、乳成分についても変化が見られた。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

酪農において稲ワラ利用を拡大するためには、稲ワラの給与量や稲ワラサイレージの利用等を再検討する必要がある。

[具体的データ]

表1 供試飼料

項目 \ 試験区	乾物中(%)		
	T(対照)	E(エンバク)	I(稲ワラ)
配合割合			
市販配合飼料(粗飼料入り)	59.0		
エンバク乾草	6.6	15.3	
稲ワラ(水稻)			16.5
飼料用玄米		16.1	19.5
生米ヌカ		13.1	13.2
トウモロコシサイレージ	30.4	10.1	10.2
イネWCS		27.8	21.0
大豆発酵飼料		4.4	2.9
大豆粕	3.3	9.9	13.3
リンカル、ビタミン剤等	0.7	3.3	3.4
計	100	100	100
成分含量等(設計値)			
T D N	68.3	71.0	70.2
C P	15.3	14.4	15.3
N D F	41.5	35.2	34.7
粗脂肪	3.3	5.5	5.2
デンプン	25.1	26.5	23.1
給与飼料単価(円・DMkg)	69.5	67.7	54.5
国産飼料給与割合	41	68	83

表2 飼料摂取量および乳生産

項目 \ 試験区	T(対照)	E(エンバク)	I(稲ワラ)
体重 kg	663	669	640
乾物摂取量 kg/日	27.5	22.6	20.1
乳量 kg/日	38.3 a	31.5	28.1 b
乳脂率 %	3.49	3.42	3.96
乳蛋白質率 %	3.59 a	3.16 b	3.14 b
無脂固形分率 %	9.03 a	8.44 b	8.50 b
乳中尿素窒素 mg/dl	13.7 a	20.4 b	23.4 b

異符号間に有意差有り(P<0.05)

表3 第一胃内容液および血液性状

項目 \ 試験区	T(対照)	E(エンバク)	I(稲ワラ)
第一胃内容液性状			
NH ₃ 態窒素 mg/dl	10.6	13.6	16.2
総VFA mmol/dl	10.3 a	9.2 b	8.6 b
酢酸モル比率 %	57.8Aa	62.0 b	64.0B
プロピオン酸モル比率 %	26.0 a	21.2 b	20.7 b
A/P比	2.29 A	2.98B	3.11B
プロトゾア総数 10 ⁵ /ml	27	18	17
血液性状			
尿素窒素 mg/dl	10.0 A	16.7 aB	21.5Bb

異符号間に有意差有り(大文字P<0.01、小文字P<0.05)

表4 生産費

項目 \ 試験区	T(対照)	E(エンバク)	I(稲ワラ)
飼料価格 円/乾物kg	69.5	67.7	54.5
飼料費 円/頭/日	2,020	1,676	1,104
乳代金 円/頭/日	5,254 A	3,559B	3,089B
乳代金-飼料費 円/頭/日	3,233 a	1,882 b	1,985 b
乳飼比 %	37.1	43.2	36.2

異符号間に有意差有り(大文字P<0.01、小文字P<0.05)

表5 消化率

項目 \ 試験区	T(対照)	E(エンバク)	I(稲ワラ)
乾物 %	67.1 A	54.0 B	55.0B

異符号間に有意差有り(大文字P<0.01)

4 生乳中機能性成分を増加させる飼養管理が泌乳牛の乳生産に及ぼす影響

担当部署名：家畜生産技術部 乳牛飼養研究室

担当者名：○大輪真司、室井章一、高橋孝志

研究期間：平成26年度～平成27年度（継続） 予算区分：県単

1. 目的

近年、牛乳消費量が低迷する一方、チーズや発酵乳等の乳加工品の需要が高まっている。このような中、酪農家から高品質で加工後も特徴が生かせる生乳の生産技術が求められている。そこで、乳中に含まれる機能性成分（ α トコフェロール等）を高める飼養管理技術を開発すると共に、乳牛へのプラス効果（暑熱時の酸化ストレス低減効果等）についても分析することで、酪農家の収益の増加に寄与する。

2. 方法

(1) 供試家畜：泌乳中期ホルスタイン種6頭（各試験区2頭×3）

(2) 試験：3×3ラテン方格法による飼養試験

(3) 試験区 TMRの主体となる粗飼料によって3区設定（表1）

イネ WCS 区：イネ WCS を乾物中40%としたTMRを給与する区

コーンサイレージ区：コーンサイレージを乾物中40%としたTMRを給与する区

乾草 区：購入乾草（エンバク）を乾物中40%としたTMRを給与する区

(4) 調査項目：飼料摂取量、乳量、乳成分、第一胃内容液性状、血液性状、生乳生産費、生乳及びその加工品（チーズ）中の脂溶性ビタミン濃度、血中酸化ストレスマーカー

3. 結果の概要

(1) 乾物摂取量はイネ WCS 区が他の2区に比べて低い値を示した（表2）。これは、給与したイネ WCS が黄熟期であったため、イネ WCS 中のケイ酸濃度が高まり、嗜好性が低下した可能性が考えられる。

(2) 日乳量及び乳成分については、試験区間で有意な差は認められなかった（表3）。

(3) 乳中のビタミンEは、イネ WCS 区が他の2区に比べて有意に高い値を示した。他の脂溶性ビタミンについては試験区間に有意な差は認められなかった（図1）。

(4) 試験で得られた生乳を原料に生産したチーズ中のビタミンEは、イネ WCS 区で最も高く、コーン区、対照区の順に高い値を示した（図2）。

(5) 血中酸化ストレスマーカーであるTBARSの値は、イネ WCS で乾草区に比べて低い値であった（表4）。

以上のことから、泌乳中期牛にイネ WCS を主体としたTMRを給与することにより、乳中のビタミンEが高まると共に、血中の酸化ストレスマーカーの1つであるTBARSの値が低下することが明らかとなった。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

乳中ビタミン濃度を増加させる濃厚飼料（米ぬか、加熱大豆等）についても検討を行う。

表1 飼料組成および成分含量(乾物%)

項目\区	イネWCS区	コーン区	乾草区
飼料組成			
イネWCS	39.0	0	0
トウモロコシサイレージ	10.2	40.2	10.3
オーツ乾草	6.6	8.9	40.1
市販配合飼料(粗飼料入)	37.8	44.6	43.4
脱脂大豆粕	5.3	5.4	5.0
その他	1.3	0.9	1.1
成分含量			
乾物率	50.1	46.4	71.4
可消化養分総量	66.9	72.2	68.0
粗蛋白質	13.5	14.7	13.8
粗脂肪	3.0	3.1	2.8
中性デタージェント繊維	37.9	36.8	41.6

表2 飼料摂取量および乳生産

項目\区		イネWCS区	コーン区	乾草区
乾物摂取量	kg/日	20.8 a	23.5 b	24.5 b
日乳量	kg/日	30.4	36.9	34.9
乳脂率	%	3.62	3.70	3.57
乳蛋白質率	%	3.18	3.37	3.36
無脂固形分率	%	8.55	8.91	8.87
乳中尿素窒素	mg/dl	15.1	11.6	11.4

表3 血中酸化ストレスマーカー

項目\区		イネWCS区	コーン区	乾草区
TBARS	nM	51.1 a	57.8 ab	68.5 b
チオール基	μM	304.0	306.1	253.4

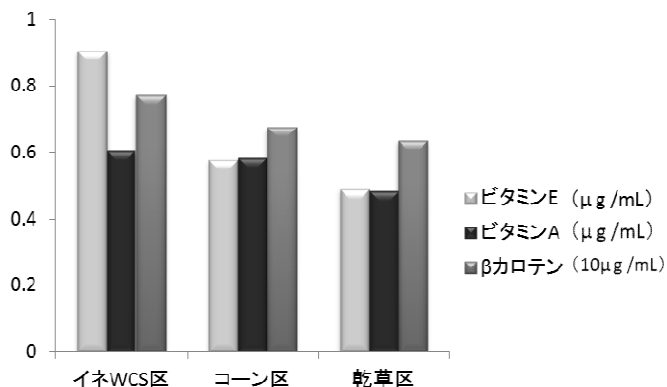


図1 乳中ビタミン濃度

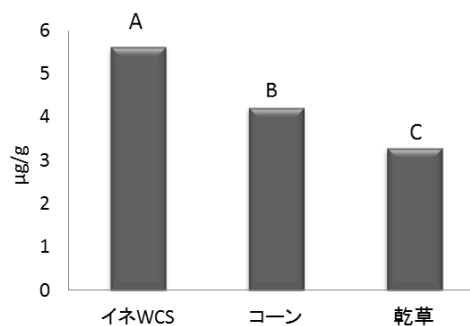


図2 チーズ中ビタミンE濃度

各表及び図、同一行の異符号間に有意差有り(大文字 $P < 0.01$ 、小文字 $P < 0.05$)