

ISSN 1882-4862

広島総技研畜技セ研報
Bull,Hiroshima Pref.
Tech.Res.Ins.
Livest.Tech.Res.Cent.

広島県立総合技術研究所 畜産技術センター研究報告

Bulletin

Hiroshima Prefectural Technology Research Institute

Livestock Technology Research Center

第 16号

平成 24 年 3 月

2012

広島県立総合技術研究所

畜産技術センター

広島県庄原市七塚町 584

Hiroshima Prefectural Technology Research Institute

Livestock Technology Research Center

Nanatsuka,Shobara,Hirosima Pref.Japan

目 次

原著論文

牛床マットの違いが乳牛の乳生産と行動に及ぼす影響 Influence of Cow milk productions and Behaviors on different mats 新出昭吾, 番匠宏行.....	1
飼料イネWCSを用いた発酵TMRの農家給与実証試験 Feeding Trial on Farm of Fermented Total Mixed Ration Composed of Rice Whole Crop Silage 新出昭吾, 神田則昭, 伊藤健一.....	6
低ケイ酸含量飼料イネが消化性に及ぼす影響 The influence of digestibility in rice whole crop silage with low silicic acid 新出昭吾, 一井眞比古.....	15
飼料イネ裏作飼料作物のダイレクトカット調製に適する刈取時期と省力栽培の検討 Investigation on harvest time and labor saving-cultivation on secondary forage crop of forage rice 大坂隆志, 坂井宏行, 伊藤健一.....	22
TMR中の飼料イネWCSの切断長の違いが泌乳成績に及ぼす影響 Effect of Cutting Length for Milk Production of Rice Whole Crop Silage composed Total Mixed Ration 新出昭吾, 吉村知子, 伊藤健一.....	29
遺伝子型を活用した「広島牛」育種手法の確立に関する研究 Studies for establishment of the breeding system used DNA genotyping in "Hiroshima-gyu" 今井佳積, 井原紗弥香, 松重忠美, 渡邊敏夫, 杉本喜憲.....	37
核移植に用いるレシピエント卵子の保存方法の検討 Examination of preservation method of recipient cytoplasm used for nuclear transfer 日高健雅, 谷本陽子, 福馬敬紘, 井原紗弥香, 今井佳積, 尾形康弘, 松重忠美.....	45
他誌掲載論文要約	
ウシ体外受精胚のガラス化保存 Cryopreservation of in vitro-produced bovine embryos by vitrification 尾形康弘, 日高健雅, 松重忠美, 前田照夫.....	50
黒毛和種牛群におけるミトコンドリアDNAの多様性 Diversity of mitochondrial DNA of Japanese black cattle 日高健雅, 福馬敬紘, 井原紗弥香, 松重忠美, 尾形康弘.....	50

High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ustiloxin A in Forage Rice Silage Shigeru MIYAZAKI, Yuichi MATSUMOTO, Tsutomu UCHIHARA and Kazuhide MORIMOTO.....	51
Intramammary challenge of lipopolysaccharide stimulates secretion of lingual antimicrobial peptide into milk of dairy cows N. Isobe , K. Morimoto , J. Nakamura , A. Yamasaki , and Y. Yoshimura.....	51
下痢予防用大腸菌不活化ワクチンの接種による乳房炎死廃事故低減効果 Effects of <i>Escherichia coli</i> -inactivated vaccine inoculation for the prevention of diarrhea to reduce animal destruction and mortality due to mastitis 森本和秀, 清水 和, 黒瀬智泰, 中谷啓二, 秋田真司, 篠塚康典, 磯部直樹.....	52
受精胚移植を目的とした発情同期化処置時の卵巣所見について Ovarian findings after estrus synchronization treatment for implantation of a fertilized embryo 尾形康弘, 日高健雅, 松重忠美, 磯部直樹, 前田照夫.....	53
牛体外受精胚の移植適期について Optimum implantation time of an <i>in-vitro</i> fertilized bovine embryo 日高健雅, 尾形康弘, 永井武史, 栗原順三, 松重忠美.....	53
下痢予防用牛大腸菌不活化ワクチンと <i>Escherichia coli</i> J5 株の血清学的交差性の解析 Analysis of serological crossing between a bovine <i>Escherichia coli</i> inactivated vaccine for the prevention of diarrhea and an <i>Escherichia coli</i> J5 strain 森本和秀, 吉村知子, 大坂隆志, 長尾かおり, 新出昭吾, 磯部直樹.....	54
乳牛における飼料イネWCS給与と課題 Feeding of rice whole crop silage for lactating dairy cow and the problem 新出昭吾.....	54
稲こうじ病罹病初め給与が乳用種育成雌牛の成育に及ぼす影響 The Effect of Feeding False Smut Balls of Rice on Growth in Growing Dairy Cattle 森本和秀, 吉村知子, 新出昭吾, 宮崎茂.....	55
泌乳最盛期のホルスタインからの体外受精胚生産 The Production of In-vitro fertilized embryos from Holstein cattle in the early lactation period 尾形康弘, 日高健雅, 松重忠美, 前田照夫	55
Efficacy of enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> vaccine for bovine clinical mastitis Kazuhide Morimoto, Madoka Shimizu, Tomoyasu Kurose, Keiji Nakatani, Shinji Akita, Yasunori Shinozuka and Naoki Isobe.....	56

牛床マットの違いが乳牛の乳生産と行動に及ぼす影響

Influence of Cow milk productions and Behaviors on different mats

新出昭吾 番匠宏行*

要 約

牛床マットの違い（薄型ゴムマット区（以下、薄型区）、厚型ゴムマット区（以下、厚型区）、ゴムチップマット区（以下、ゴムチップ区））が乳牛の生産と行動に及ぼす影響を、乳牛9頭によるラテン方格法で調査した。

乾物摂取量、粗飼料摂取量及び粗飼料摂取割合は、牛床マットの違いにより影響されなかった。また、乳量は、薄型区に比較し、厚型区及びゴムチップ区が多い傾向にあった（ $P=0.12$ ）。乳成分は差が認められなかった。牛床マットの違いは泌乳成績に明快な効果を及ぼさなかった。起立回数と横臥回数はいずれの区も12～13回/日であり、区間に差が認められなかった。一方、起立時間は、薄型区及び厚型区がゴムチップ区より長く（ $P<0.05$ ）、横臥時間は逆にゴムチップ区が長かった（ $P<0.05$ ）。1行動（1回）当たりの起立時間は、薄型区が69分であり、ゴムチップ区の51分より有意に長かった（ $P<0.05$ ）が、1行動当たりの横臥時間は66～68分で区間に差が認められなかった。総そしゃく時間/乾物摂取量（分/kg）は、ゴムチップ区が有意に長かった（ $P<0.05$ ）。牛床マットの快適性向上は、ストレスを軽減させ、乾物摂取量当たりの総そしゃく時間を増加させる効果が認められた。

I 緒言

飼料摂取量が多く、代謝量が大い高泌乳牛の生産性の向上には、飼料給与改善のみならず、通風、換気、防塵、防暑対策や、飼槽、水槽、繋ぎ、牛床改善など、様々なストレスを軽減する環境改善が重要となっている。カウコンフォートは乳牛の快適性向上と理解されているが、これらの効果を定量的に把握する方法として、乾物摂取量、乳量、乳成分値、増体量などの数量効果による評価が示されている¹⁾。

今回、繋ぎ式飼養の乳牛にとって365日生活する場である牛床マットの違いが乳生産に及ぼす影響を

検討した。さらに、牛床マットの快適性の違いが乳牛の行動に及ぼす影響について、ビデオ画像と顎の動きを電氣的歪み値として計測するそしゃく行動により検討した。

II 試験方法

1 供試牛

試験開始時における供試牛のプロファイルを表1に示した。平均乳量36.5kg/日の乳牛1区あたり3頭、全3区で計9頭を供試した。

表1 試験開始時における供試牛のプロファイル

牛 No	分娩年月日	分娩後 日数*	体重 (kg)	乳量 (kg/日)	乳脂率 (%)	乳タンパク 質率 (%)	無脂固形 分率 (%)
1	2002/09/09	47	698	48.3	4.01	3.25	8.87
2	2002/08/26	61	574	46.7	3.85	3.19	8.64
3	2002/02/19	249	685	24.3	4.76	3.67	9.04
4	2002/07/06	112	642	40.4	4.00	3.34	8.96
5	2002/05/19	160	638	38.6	4.09	3.06	8.78
6	2002/09/14	42	522	29.5	4.16	3.31	9.12
7	2002/09/04	52	671	39.3	3.33	3.21	9.05
8	2002/02/15	253	632	32.2	4.65	3.62	9.45
9	2002/05/07	172	592	29.4	4.61	3.66	9.42
	平均	122	628	36.5	4.16	3.37	9.04
	標準偏差	±89	±56	±8.2	±0.45	±0.23	±0.27

* 試験開始時

(2)

2 試験区及び管理

試験区は、薄型区、厚型区及びゴムチップ区の3区とし表2に示した。また、マット敷設の様子について写真1、写真2に示した。飼養試験は、1期14日間、計3期のラテン方格法⁹⁾で、乳牛ごとに牛床を入れ替える方法で実施した。いずれの牛床も、幅130cm、長さ183cmとした。

牛の繋留方法は1本チェーンによるタイストールとし、牛床底から125cmの高さのません棒に長さ80cmのチェーンの端を固定した。

飲水は、ウォーターカップによる自由摂取とした。

3 供試飼料

試験開始前の乳量、乳脂率及び体重から算出した乾物必要量の110%を給与量³⁾とし、トウモロコシサイレージは原物20~25kg/頭・日、イタリアンライグラス乾草は原物2~4kg/頭・日をそれぞれ等量3回/日給与した。また、配合飼料は泌乳量に応じて原物13~17kg/頭・日を自動給飼機により等量8回/日給与した。

4 調査項目

飼料摂取量は、8:30から翌日8:30までを1日単位として、残飼量を調査し、給与量から残飼量を差し引き算出した。乳量は9:00、17:00の2回搾

乳量の合計とし、毎日調査した。乳成分は、各試験期の12~13日目に2日連続して、朝、夕の搾乳ごとに調査した。家畜行動のうち起立・横臥行動は、ビデオ撮影器を用い、5秒間につき1秒間撮影するインターバル撮影方式で連続72時間撮影し調査した。また、採食行動及び反芻行動は、ストレインゲージを鼻梁部全面に装着した頭絡により、乳牛の顎の動きを電気的歪みとしてデータログに記憶する方法⁵⁾で連続72時間調査した。体重は各試験期の最終日の朝に測定した。

III 結果および考察

1 飼料摂取量

飼料摂取量を表3に示した。

乾物摂取量、粗飼料摂取量及び粗飼料摂取割合は、牛床マットの違いにより影響されなかった。

2 乳量、乳成分

乳量、乳成分を表3に示した。

乳量は、薄型区に比較し、厚型区及びゴムチップ区が多い傾向にあった(P=0.12)。

乳脂率、乳タンパク質率、乳糖率及び無脂固形分率は区間に差が認められなかった。乳牛は1日の40~50%を横臥させる必要があり、横臥中の乳牛は長時間反芻し、乳房の血流量は2倍になる⁶⁾。

表2 試験区の条件

区	厚さ	加工	備考
薄型ゴムマット区	厚さ2.5cm	滑り止め加工無	10年間使用
厚型ゴムマット区	厚さ3.5cm	滑り止め加工有	新品
ゴムチップマット区	切断チップ入	滑り止めクロス	新品

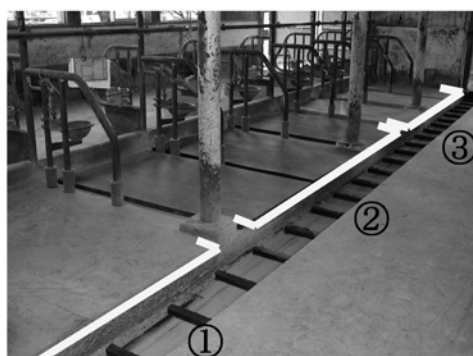


写真1 マット敷設の様子
(①薄型ゴム, ②厚型ゴム, ③ゴムチップ)



写真2 厚型ゴムマット (左) と
ゴムチップマット (右)

また、乳汁合成速度を増加させる重要な生理機能の一つは乳房への血流量の増加であることが報告されている^{2, 8)}。本試験では、1日当たりの横臥時間がゴムチップ区で有意に長かったが、牛床マットの違いは泌乳成績に明らかな影響を及ぼしておらず、試験期間が短いことなどが影響した可能性がある。

3 体重増加量

体重の増減には差が認められなかった。

4 起立及び横臥行動

起立及び横臥行動について、行動回数及び行動時間を表4に示した。

起立回数と横臥回数はいずれの区も12~13回/日であり、区間に差が認められなかった。一方、起立時間は、薄型区及び厚型区がゴムチップ区より長く ($P<0.05$)、横臥時間は逆にゴムチップ区が長かった ($P<0.05$)。そのため、一日における起立時間の割合は、薄型区及び厚型区がゴムチップ区より大きく、横臥時間の割合は逆となった ($P<0.05$)。1行動(1回)当たりの起立時間は、薄型区が69分であり、ゴムチップ区の51分より有意に長かった ($P<0.05$)が、

1行動当たりの横臥時間は66~68分であり区間に差が認められなかった。

繋ぎ式飼養では、クッション性の高いマットは、起立、横臥行動における衝撃やすべりによるストレスが少なく、横臥時間の延長に寄与し、横臥時間の長短は、乳牛にとっての快適性の指標になると考えられる。また、1行動(1回)当たりの起立時間が長い場合は、横臥から起立する際の苦痛、恐れなどのストレスが関係し、横臥動作に移りにくい傾向があるかもしれない。厚型区、ゴムチップ区は、薄型区に比べ起立及び横臥時に牛床でのすべりが少なく、肢蹄の位置決めが容易であり、起立、横臥行動がスムーズなことが観察された。軟質マットでは、横臥時間が長く、起立時間が短いこと¹⁾が報告されており、薄型区は、他の区よりすべりやすい状態であり、ストレスになっている可能性がある。さらに、これらの行動を生理的側面からみれば、体熱産生量は横臥時が起立時より低く²⁾、横臥割合の増加は環境条件の好適度を示す指標²⁾とされ、ストレスが軽減している可能性が示唆される。本試験では、ゴムチップ区は他の区より、1日当たり起立時間が有意に短く ($P<0.05$)、横臥時間が有意に長い ($P<0.05$) ことから、快適な状態であったと推測された。

表3 飼料摂取量、泌乳成績及び体重

項目	薄型区	厚型区	ゴムチップ区	SEM
乾物摂取量 (kg/日)	23.7	24.5	24.1	0.3
粗飼料摂取量 (kg/日)	9.0	9.5	9.4	0.2
粗飼料摂取割合 (%)	37.7	38.6	38.8	0.6
乳量 (kg/日)	38.1	39.9	39.0	0.5
乳脂率 (%)	4.14	4.13	4.09	0.07
乳タンパク質率 (%)	3.35	3.30	3.31	0.01
乳糖率 (%)	4.54	4.57	4.55	0.02
無脂固形分率 (%)	8.89	8.88	8.86	0.01
体重増減量 (kg)	10.0	7.0	12.8	6.2

SEM: 標準誤差

表4 起立及び横臥行動

項目	薄型区	厚型区	ゴムチップ区	SEM
起立回数 (回/日)	12.0	12.7	13.1	0.5
横臥回数 (回/日)	12.3	12.8	13.0	0.5
起立時間 (分/日)	703 ^a	671 ^a	606 ^b	21
横臥時間 (分/日)	737 ^b	769 ^b	834 ^a	21
起立割合 (%/日)	48.8 ^a	46.6 ^a	42.1 ^b	1.4
横臥割合 (%/日)	51.2 ^b	53.4 ^b	57.9 ^a	1.4
起立時間/回 (分/回)	69 ^a	62 ^{ab}	51 ^b	4
横臥時間/回 (分/回)	66	66	68	2

異符号間に有意差 (ab: $P<0.05$) SEM: 標準誤差

(4)

表5 そしゃく行動

項目	薄型区	厚型区	ゴムチップ区	SEM
採食時間(分/日)	340 ^b	350 ^b	386 ^a	12
採食速度(g/分)	71.5	72.6	62.7	2.9
反芻時間(分/日)	407	416	425	8
総そしゃく時間(分/日)	747 ^b	766 ^b	811 ^a	11
総吐出回数(回/日)	498	505	511	9
反芻期数(回/日)	14.1	14.2	14.1	0.3
1反芻期持続時間(分/期)	29.0	29.2	30.4	0.7
1反芻期吐出回数(回/期)	35.7	35.6	36.8	0.8
1反芻期そしゃく回数(回/期)	2101	2142	2228	50
総そしゃく時間/乾物摂取量(分/kg)	31.8 ^b	31.4 ^b	34.0 ^a	0.7
1吐出食塊当たりのそしゃく時間(秒)	49.0	49.6	50.0	0.4
1吐出食塊当たりのそしゃく回数(回)	59.2	60.6	61.3	0.6

総そしゃく時間=採食時間+反芻時間

総そしゃく時間/乾物摂取量：RVI (Roughage Value Index：粗飼料価指数)，SEM：標準誤差

異符号間に有意差(ab:P<0.05)

5 そしゃく行動

そしゃく行動を表5に示した。

1) 採食行動

採食時間は、ゴムチップ区が他の区より長かった(P<0.05)。一方、採食速度は、ゴムチップ区が遅い傾向にあった(P<0.08)。採食は、概ね起立時に行われる。そのため、起立時間が短いものの採食時間の長かったゴムチップ区に比べ、起立時間の長い薄型区や厚型区は、採食に伴わない起立時間が長いことを示していると考えられた。

2) 反芻行動

反芻時間は、区間に差が認められなかった。

3) 総そしゃく時間

採食時間と反芻時間の総和で表される総そしゃく時間は、ゴムチップ区が有意に長かった(P<0.05)。総吐出回数は差が認められなかった。また、反芻期数、1反芻期持続時間、1反芻期吐出回数及び1反芻期そしゃく回数には差が認められなかった。

総そしゃく時間/乾物摂取量(分/kg)は、ゴムチップ区が有意に長かった(P<0.05)。この指標はRVI (Roughage Value Index：粗飼料価指数)⁷⁾とも称され、一般に、飼料の物理性を反映しRVIが大きいほど飼料の粗剛性は大きいことが報告されている⁸⁾。しかし、本試験では、すべての牛が同じ種類の飼料を与えられており、また、乾物摂取量、粗飼料摂取量に差がないことから、ゴムチップ区のRVIの増加が飼料の物理性の増加によるとは考えられない。そのため、ゴムチップ区のRVIが大きかった結果は、牛床マットのクッション性が高く快適性が向上し、ストレスが軽減したことに伴う効果と考えられた。起立時における、「ため食い」が減少し、採食速度が

低下し、その結果、採食時間を延長させ(P<0.05)、さらに、横臥時間が延長したこと(P<0.05)により、相対的にそしゃく時間が増加したためと考えられる。快適性の向上に伴い、RVIが増加したことは非常に興味深い。このことは、第一胃内容液の性状にも好影響を与える可能性があると考えられた。

1吐出食塊当たりのそしゃく時間やそしゃく回数は区間に差が認められなかった。

IV おわりに

遺伝的改良が進んだ高泌乳牛は代謝量が多く、ストレスの原因にも敏感に反応するようになっている。摂取エネルギーを最大限生産に振り向けるためには、生体を維持するエネルギー要求量を最少にする対応が必要であり、乳牛にとっての快適性の追求は、家畜福祉とともに生涯生産性の向上につながると考えられる。

本試験は、短期の試験であり、泌乳成績に明かな効果を認めなかった。しかし、厚型ゴムマットやゴムチップマットでは、乳量が増加する傾向にあり、また、横臥時間が増加したことから、牛床の快適性が向上し、起立、横臥行動時のストレスが軽減したと考えられ、長期の施用効果についての示唆が得られた。

引用文献

- 1) 井口信行：牛の快適性向上技術の確立—牛マットと牛行動—，滋賀県農業総合センター畜産技術振興センター研究報告第8，1～3P，2002。
- 2) 石井幹：牛の行動学入門，203P，236P，中央畜産

会, 東京, 1986.

- 3) 農林水産省農林水産技術会議事務局編：日本飼養標準（乳用牛）1999年版, 189P, 中央畜産会, 東京, 1999.
- 4) 岡本全弘：反芻家畜における粗飼料の物理的消化に関する研究, 日畜会報 62, 717～725P, 1991.
- 5) 新出昭吾, 河野幸雄：電気歪み値による咀嚼行動の自動判定, 関西畜産学会報 155, 23～28P, 2004.
- 6) Rodenburg, J and K.Harold. : The impact of freestall base and bedding on cow comfort. Proceeding from the Conference. Dairy Housing and Equipment Systems:Managing and Planning for Profitability, 214～225P, 2000. (<http://www.agri.pref.hokkaido.jp/konsen/labo/shisetu/Base&Bed>)
- 7) Sudweeks, E. M., L. O. Ely, D. R. Mertens and L. Sisk. : Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diet:Roughage value index system. J. Anim Sci 53 , 1406～1411P, 1984.
- 8) 津田恒之, 小原嘉昭, 加藤和雄:家畜生理学, 284P, 養賢堂, 東京, 2004.
- 9) 吉田実：畜産を中心とする実験計画法, 477P, 養賢堂, 東京, 1983.

飼料イネ WCS を用いた発酵 TMR の 農家給与実証試験

Feeding Trial on Farm of Fermented Total Mixed Ration Composed of Rice Whole Crop Silage

新出昭吾 神田則昭 伊藤健一*

要 約

搾乳牛 40 頭を飼養する牛群検定参加農家において、飼料イネホールクロップサイレージ（以下、飼料イネ WCS）を用いた発酵 TMR の農家給与実証試験を 2006 年 5～9 月に実施した。試験区は飼料イネ WCS を主体とする飼料イネ発酵混合飼料（TMR）を給与する飼料イネ TMR 区とし、一方、対照区はスーダン、オーツの購入乾草を主体とする発酵 TMR を給与する購入乾草 TMR 区とし、それぞれの区に各 20 頭を配置した。

乳量 30kg/日程度の乳牛に対する飼料イネ TMR 区の TMR 設計は、中性デタージェント繊維（NDF）の消化率が低いことから発酵 TMR 中の NDF 含量を乾物中 31～33% とした。また、子実排せつに伴う養分ロスを補うために非繊維性炭水化物（NFC）含量を乾物中 38～40% に設定し、可消化養分総量（TDN）含量も高めにした。これらの指標値を用い設計した飼料イネ WCS を乾物 20% 混合した発酵 TMR を給与した乳牛は、夏季においても、乾物摂取量、泌乳成績が良好で、繁殖成績も優れ、飼料イネ WCS の有効性が実証された。

I 緒言

平成 20 年度(2008 年)、わが国の WCS 用イネの栽培面積が 8,931ha にまで拡大し、本県では飼料イネの栽培面積は 137ha となった。これらは、2007～2008 年の飼料価格の高騰に後押しされた部分もあるが、地域での耕畜連携を進め、地域で生産された粗飼料を地域で消費し、より安全で安心できる畜産物を地域に供給するという本来の方向への希求の表れと考えられる。

飼料イネ WCS の給与技術の開発は、2000 年から全国各地で実施されてきており、乳牛用飼料としての利点、欠点が明らかになってきた⁹⁾。筆者らも既報で、飼料イネ専用品種として栽培面積の多い「クサノホシ」について、TDN 収量は黄熟期の収穫が最大となる⁴⁾ものの、黄熟期以降は収穫の遅れとともに、ふん中への子実排せつの増加と栄養的な損失⁴⁾、繊維の消化性の低下などが生じることを明らかにした。このことから、収穫適期は出穂後 20 日前後とし、泌乳前期牛には刈遅れの飼料イネの給与は控えることが望ましいこと⁴⁾を指摘した。また、給与時の栄養レベルにおいては、飼料イネを用いた TMR 中の NDF 含量は 31～33%、NFC 含量は 38～40% とすること⁸⁾、飼料イネ WCS の切断長は 1.5～3.0cm とすること^{6,7)}、TMR 中の飼料イネ WCS の乾物混合割合は泌乳中期牛

への給与では 26～30% を最大とすること⁵⁾、泌乳前期牛への給与では 25% 程度とすること⁸⁾を明らかにした。

今回は、上述の給与指標を用いながら、搾乳牛 40 頭で 305 日平均乳量が 10,090kg の牛群検定参加農家で、5～9 月の期間に飼料イネ WCS を主体とする発酵 TMR の給与実証試験を実施した。

II 実証試験

1 給与実証農家および試験区配置

牛群検定参加農家の三次市の K 牧場を給与実証農家とした。飼養概況は、対尻式繋ぎ牛舎で搾乳牛頭数 40 頭であり、給与実証試験前年の泌乳成績は、305 日平均推定乳量 10,090 kg /頭、乳脂率 3.95%、乳タンパク質率 3.20%、無脂固形分率 8.65%、平均分娩間隔は 463 日であった。

試験区分は、搾乳牛 40 頭を 2 分し、試験区は飼料イネ主体の発酵 TMR 給与群を南側に 20 頭、対照区は従来からの購入乾草主体の発酵 TMR（発酵 TMR を 2 種給与）給与群を北側に 20 頭配置した。試験区分の概要は、分娩後日数、平均乳量、平均体重および平均ボディコンディションスコア（BCS）について表 1 に示した。

2 給与実証期間

2006年5～9月

3 給与飼料

給与実証試験を行った農家は、従前より、広島県酪農業協同組合（以下、酪農協）の TMR センターで調製した 2 種類の購入乾草主体発酵 TMR を給与していたことから、対照区は購入乾草 TMR 区とした。試験区は粗飼料として飼料イネ WCS を主体とする発酵 TMR を給与する飼料イネ TMR 区とした。

TMR の調製は、酪農協の TMR センターで行い、試験区の飼料イネ TMR 中の乾物混合割合は、飼料イネ WCS20.1%（理論切断長は 3.0cm 設定）、アルファルファ乾草 12.2%とし、食品副産物（ビール粕、ミカンジュース粕など）と組み合わせた。これを、30 日程度貯蔵して乳酸発酵させた発酵 TMR（飼料イネ TMR 区）と、スーダン乾草およびオーツ乾草等で粗飼料が構成されている従来タイプの購入乾草発酵 TMR（購入乾草 TMR 区）の給与比較を行った。両区の発酵 TMR の粗飼料混合割合と養分含量は表 2 のとおり

である。なお、飼料イネ TMR の構成飼料原料と混合割合を表 3 に示した。

両区の養分含量は、乳量 30kg/日の乳牛に対し発酵 TMR 原物 35kg（乾物 21kg）/日・頭で概ね養分充足するように設定¹⁾した。また、養分の過不足は配合飼料（乾物中 CP18%—TDN85%）と自家産のイタリアンライグラス乾草や購入エンバク乾草などで調整した。飼料イネ TMR への馴致は表 4 に示すように 8 日間を充てた。

4 調査項目

乾物摂取量、乳量および乳成分は牛群検定を 15 日ごと 2 回/月行い調査した。また、同時に BCS、繁殖成績を調査した。なお、統計処理は F 検定による分散分析を実施した。

III 結果および考察

5～9 月における調査時の給与実証の結果を図 1～12 に示した。なお、各図中に示した値は給与実証期間における調査項目の牛群の平均値を示している。

表1 試験区分の概要

試験区分	頭数 (頭)	分娩後日数 (日)	平均乳量 (kg/日)	平均体重 (kg)	平均BCS*
飼料イネTMR	20	264±184	33.4±10.8	637±69	3.14±0.34
購入乾草TMR	20	225±126	31.1±7.5	629±104	3.18±0.27

*BCS：ボディコンディションスコア 値は、平均値±標準偏差

表2 発酵TMRの粗飼料乾物混合割合と養分含量

	飼料イネTMR	購入乾草TMR
粗飼料乾物割合（乾物%）	32.3	37.8
飼料イネWCS	20.1	-
アルファルファ乾草	12.2	-
H-TMR（スーダン乾草等）	-	15.3
O-TMR（オーツ・バガス等）	-	22.5
乾物（DM）	60.0	64.0
	————— 乾物中 —————	
粗タンパク質（CP）	16.1	15.5
可消化養分総量（TDN）	74.2	74.1
中性デタージェント繊維（NDF）	33.4	35.9
非繊維性炭水化物（NFC）	38.2	36.8

注) 購入乾草TMRは、H-TMRとO-TMR の給与比が1:1

(8)

1 乾物摂取量

飼料イネ TMR 区は乾物摂取量が高く推移し、期間中の平均値は 21.8kg/日であり有意に高かった (P<0.05) (図 1)。飼料イネ WCS の給与は乾物摂取量が抑制されるとして給与を控える農家もあるが、本試験のように、飼料中の NDF 含量を低めに調整することで、乾物摂取量を高く維持させることができる。CP 摂取量、TDN 摂取量は、乾物摂取量に連動して飼料イネ TMR 区が高く推移した (P<0.05) (図 2, 3)。

2 NDF, NFC 摂取量

期間中の平均 NDF 摂取量は、飼料イネ TMR 区 7.9kg/日、購入乾草 TMR 区 7.8kg/日で両区間に差がなく、グラフから判断し、両区とも概ね NDF 摂取量 10kg/日程度が摂取の上限であることが推察された (図 4)。図 5 に示すように、泌乳前・中期 (分娩後 220 日前後まで) では飼料イネ TMR 区の NDF 含量が 34~36%以下で推移しており、このことが泌乳前期の乾物摂取量を高く維持できた要因と考えられる。飼料イネ WCS は繊維が粗剛で物理性が強いいため、NDF 含量を低く設定すること³⁾が乾物摂取量維持に重要であることが確認できた。

また、NFC 摂取量 (図 6) は、飼料イネ TMR 区が購入乾草 TMR 区よりも高く (P<0.05) 維持されている。これは、排せつされる子実の栄養的損失を補う⁴⁾ため飼料イネ TMR の NFC 含量を高めた結果であり、飼料イネ TMR の養分含量の調整によって、乳タンパク質などの乳成分の向上が可能であることが実証され

た。期間中の平均 NFC 含量 (図 7) は、飼料イネ TMR 区が 37.2%、購入乾草 TMR 区が 35.9%で推移した。

3 乳量

305 日推定乳量は、牛群の平均日乳量から 2 点法泌乳曲線²⁾で推定し、飼料イネ TMR 区が 8,912kg/頭、購入乾草 TMR 区が 9,030kg/頭で、両区に差が認められなかった。一方、305 日推定 FCM (4%脂肪補正乳) 量は、飼料イネ TMR 区 8,698kg/頭、購入乾草 TMR 区 8,488kg/頭であり、乳脂率の差を反映し飼料イネ TMR 区が多かった (図 8)。このことは、飼料イネ WCS の繊維消化性が悪いことから NDF 含量を低めにすること、子実排せつによる栄養損失分を考慮して NFC 含量を高めにする、その結果 TDN 含量を高めることなどで栄養的に補えば、飼料イネ WCS を乾物 20%混合した TMR の給与でも、問題なく乳量は確保できることを示している。

4 乳成分

期間中の平均乳脂率は、飼料イネ TMR 区が 3.84%と高い傾向にあった (図 9)。また、エネルギー摂取量と関係する乳タンパク質率、無脂固形分率は飼料イネ TMR 区が高く (P<0.05)、NFC 摂取量が高く維持できた (P<0.05) 効果と推察された (図 10, 11)。結果として、期間中の平均 TDN 摂取量は、購入乾草 TMR 区 14.8kg/日に対して、飼料イネ TMR 区が 16.3kg/日と有意に多かった (P<0.05)。

表3 飼料イネ発酵TMRの構成飼料原料と混合割合

飼料名	原物混合量 (kg)	乾物混合量 (kg)	乾物混合割合 (%)
飼料イネWCS	622	271	20.1
アルファルファ① (開花) 乾草	180	165	12.2
トウモロコシ (フレーク圧ペン)	200	179	13.2
大麦 (フレーク圧ペン)	200	184	13.6
フスマ	100	89	6.6
大豆 (乾熱処理)	60	58	4.3
大豆粕	35	32	2.4
綿実	70	65	4.8
ビール粕 (脱水)	245	81	6.0
ビートパルプ	80	73	5.4
コーングルテンフィード	60	57	4.2
コーングルテンミール (CP60%)	25	23	1.7
ミカンジュース粕	30	27	2.0
糖蜜 (国内甘藷)	50	39	2.9
第三リン酸カルシウム	5	5	0.4
炭酸カルシウム	5	5	0.4
水	285	0	0.0

表4 乳量30kg/日の乳牛への飼料イネ発酵TMRの切換え馴致事例

飼料切換えの日数	切換え前	1	2	3	4	5	6	7	8	
原物給与量 (kg/日)		給与開始								
飼料イネTMR		10	10	20	20	30	30	35	35	
購入乾草TMR	30	20	20	10	10					
配合飼料	2	2	2	2	2	2	2			
飼料イネWCS	3.5	2	2	2	2	1.5	1.5			
オーツ乾草	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.5	0.5	
乾物給与量 (kg/日)										
飼料イネTMR		6.0	6.0	12.0	12.0	18.0	18.0	21.0	21.0	
購入乾草TMR	18.0	12.0	12.0	6.0	6.0					
配合飼料	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7			
飼料イネWCS	1.5	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	0.7			
オーツ乾草	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	0.4	0.4	
総乾物摂取量 (kg/日)	22.6	21.9	21.9	21.9	21.9	21.7	21.7	21.4	21.4	
粗飼料摂取割合 (%)	41.3	38.4	38.4	37.3	37.3	35.6	35.6	33.4	33.4	

乳量30kg/日以上牛に対しては、配合飼料とTMR給与量を増加

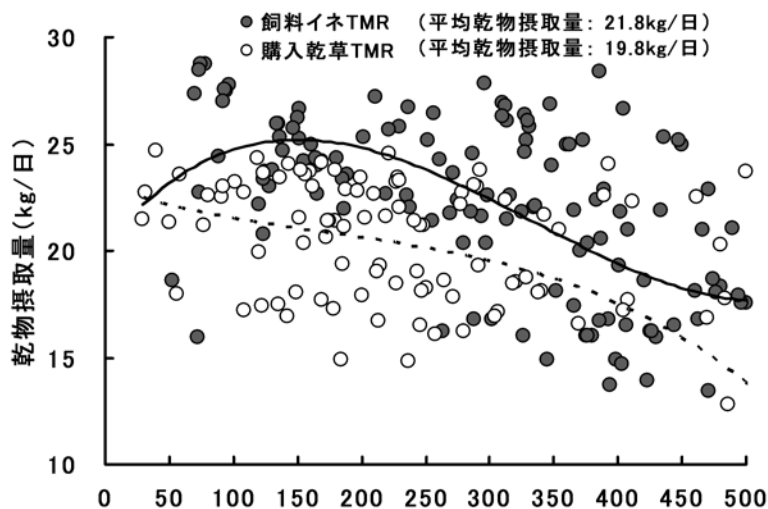


図1 乾物摂取量の推移

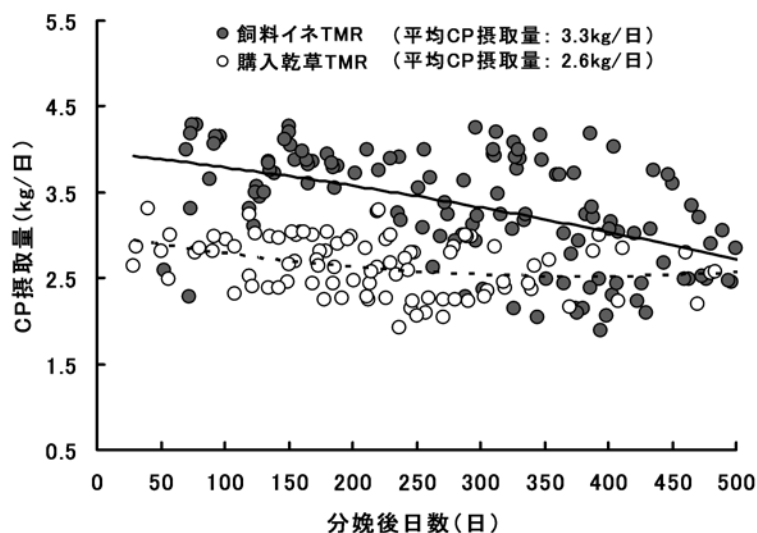


図2 CP摂取量の推移

(10)

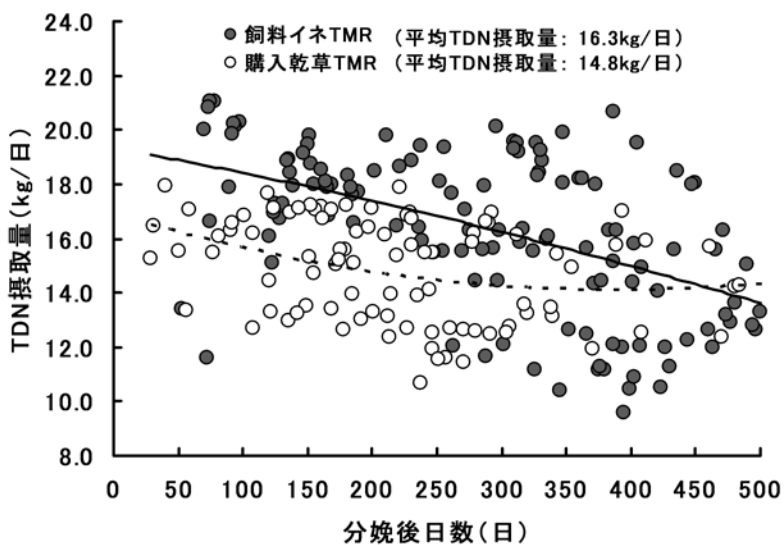


図3 TDN摂取量の推移

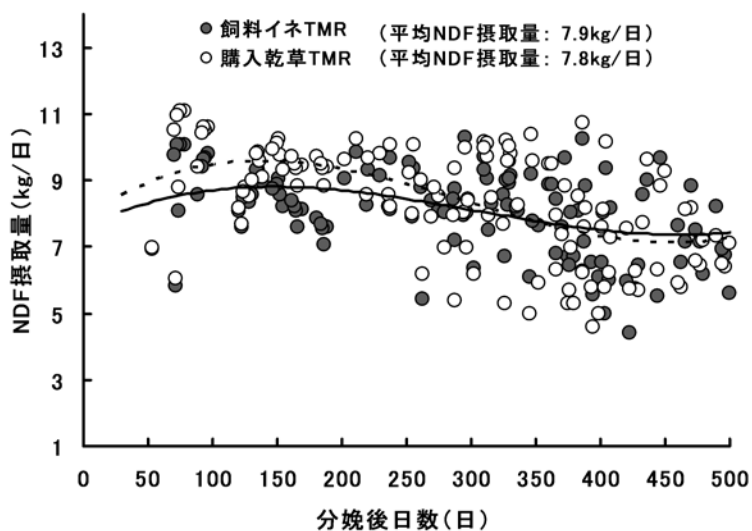


図4 NDF摂取量の推移

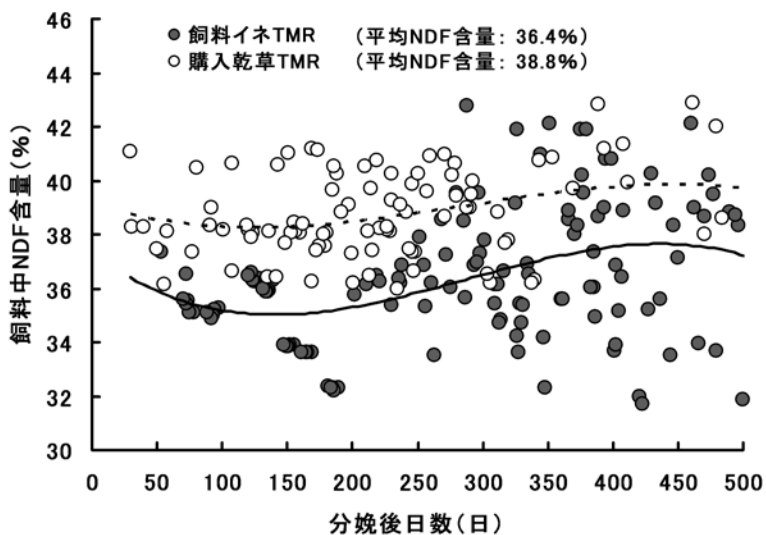


図5 飼料中NDF含量の推移

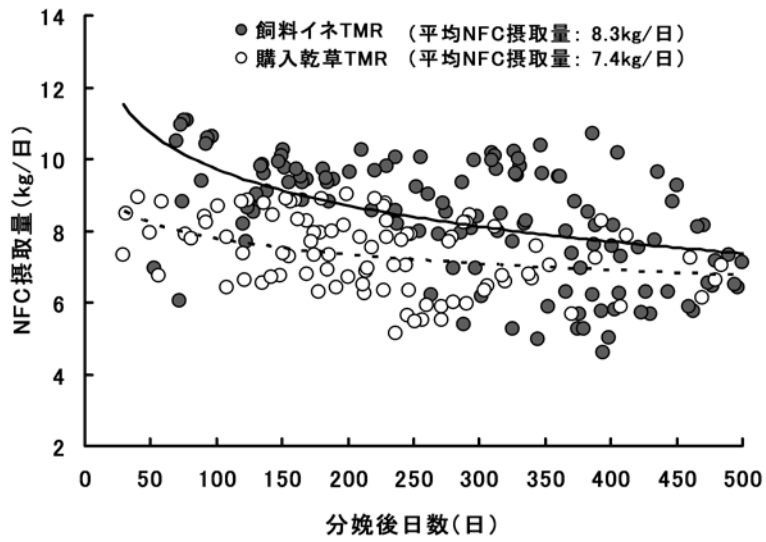


図6 NFC摂取量の推移

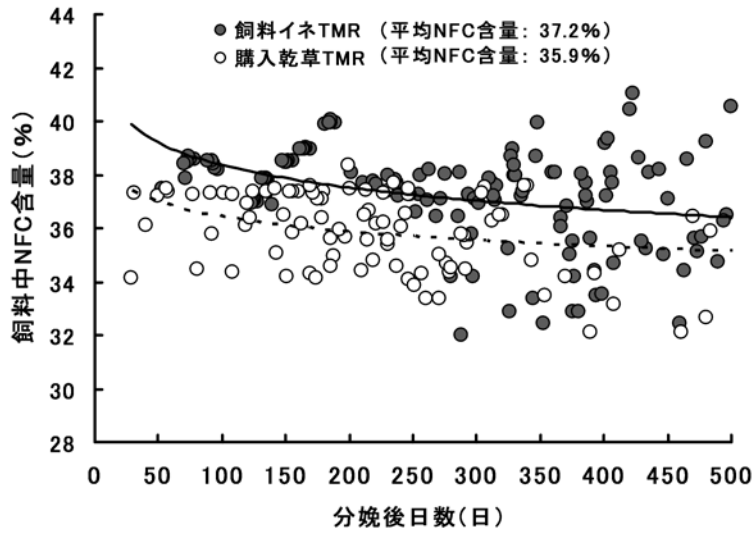


図7 飼料中NFC含量の推移

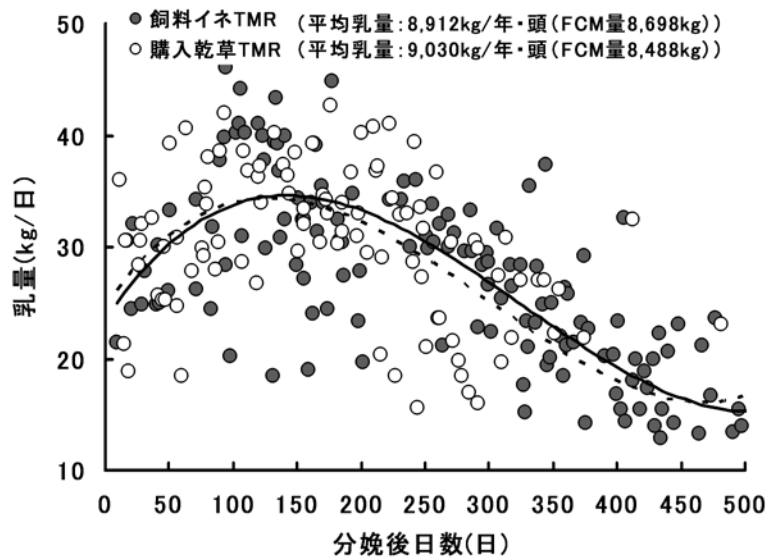


図8 乳量の推移

(12)

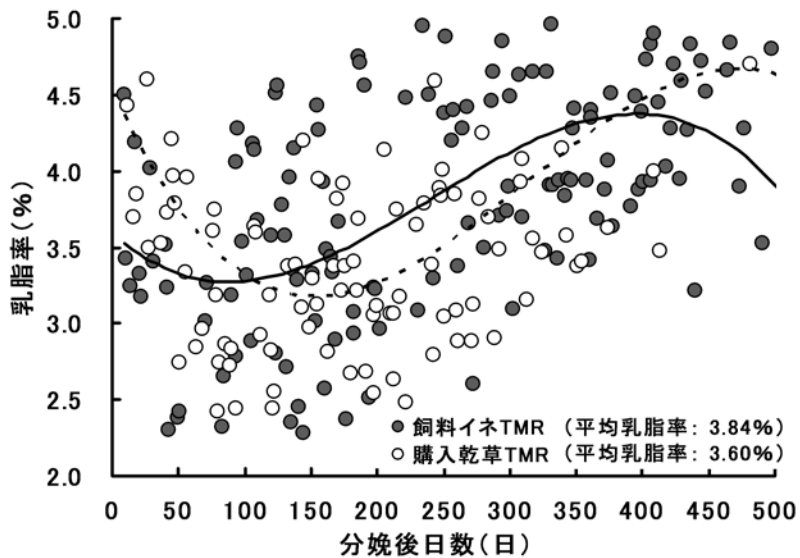


図9 乳脂率の推移

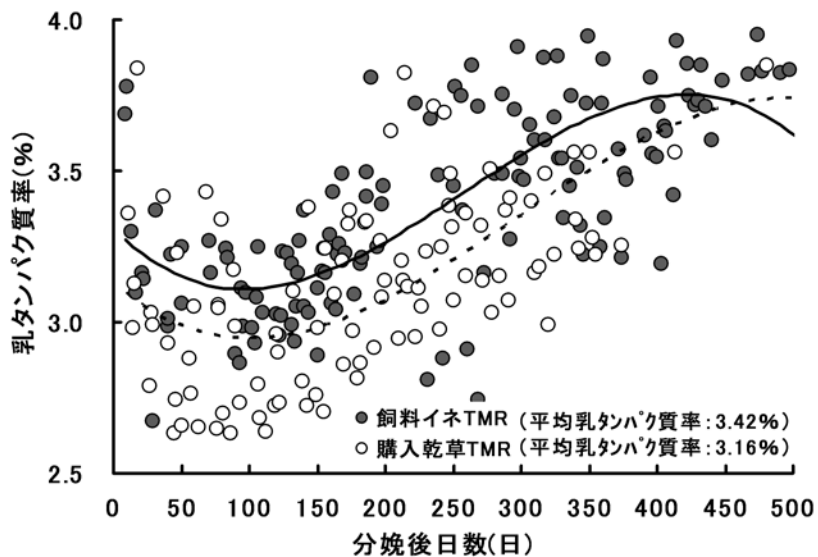


図10 乳タンパク質率の推移

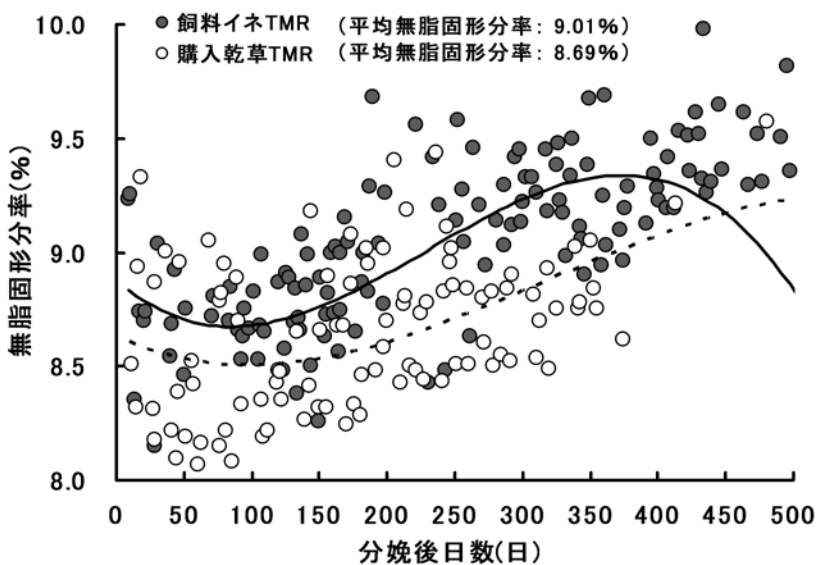


図11 無脂固形分率の推移

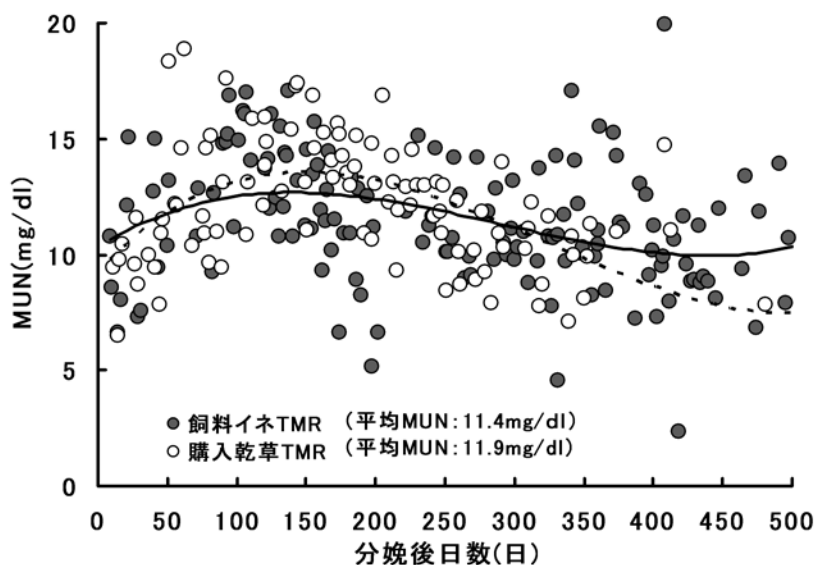


図 12 乳汁中尿素窒素 (MUN) の推移

表5 給与実証期間中における繁殖成績

項目	飼料イネTMR	購入乾草TMR
授精延べ頭数 (頭)	16	27
受胎頭数/授精実頭数	6/8	3/10
受胎率 (%)	37.5	11.1
授精回数 (回)	2.0	2.7

受胎率 (%) = 受胎頭数/授精延べ頭数

5 繁殖成績

暑熱期は、乾物摂取量、養分摂取量が低下し、乳生産や受胎成績が悪化しやすいが、このことは、本実証試験を実施した5～9月の夏季における305日推定乳量が9,000kg/頭程度にとどまり、給与実証試験前年における年間の305日の平均乳量10,090kg/頭に比較し低い値となったことから窺われた。飼料中の窒素とエネルギーのバランスの失宜は繁殖成績に影響を与えるが、乳汁中尿素窒素濃度は飼料イネTMR区11.4mg/dl、購入乾草TMR区11.9mg/dlであり差は認められなかった(図12)。しかし、受胎率(受胎頭数/授精延べ頭数)は購入乾草TMR区の11.1%に比べ、飼料イネTMR区が37.5%と優れた結果が得られた(表5)。本給与実証試験では、飼料イネWCSの理論切断長を3.0cm、乳量30kg/日のレベルではNDF含量を31～33%、NFC含量を38～40%とし、他の粗飼料を併給するに当たって、NDF含量の低いマメ科粗飼料や早刈の粗飼料を用いたことで養分摂取量

の確保が可能となり、飼料イネWCSの発酵TMRの給与によって、受胎率の低下を防ぎ繁殖成績を維持できたと考えられた。

以上の結果から、飼料イネWCSを用いると乳量が低下するという懸念が払拭され、NDFやNFC含量を調整した飼料イネWCSの発酵TMRは、夏季に乾物摂取量が確保でき、分娩後200日程度まで乳量30～40kg/日程度の乳牛の泌乳成績を維持できる栄養価値を持つことが明らかになった。また、一般に乳量40kg/日程度の乳牛の飼料費は1,400～1,550円/日程度(2005年時)であるが、安価な飼料イネWCSやビール粕等食品副産物を用いた今回の発酵TMRでは1,100～1,200円/日になり、1日1頭当りの飼料費を20～30%削減することが可能であった。このような飼料イネWCSや食品副産物を組み合わせた発酵TMRの給与は酪農経営の安定に寄与すると考えられ、飼料イネWCSの有効性が農家実証で明らかになった。

引用文献

- 1) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
(編): 日本飼養標準・乳牛(2006年版). 中央畜産
会, 東京, 88~90P, 2006.
- 2) 林 孝・長嶺慶隆: Estimation of lactation curve
by only two samplings of daily yield, Animal
Science and Technology 64, 1149-1155, 1993.
- 3) 新出昭吾・城田圭子: 稲発酵粗飼料(飼料イネ WCS)
の飼料特性と高泌乳牛への給与, 近畿中国四国地域
における新技術第1号, 198~201P, 2001.
- 4) 新出昭吾: 稲発酵粗飼料研究の現状と展望, 農業技
術 57, 567~570P, 2002.
- 5) 新出昭吾・城田圭子・長尾かおり: 飼料イネホール
クroppサイレージ割合の異なる TMR 給与が乳生産
および咀嚼行動に及ぼす影響. 関西畜産学会報 156,
7~14P, 2005.
- 6) 新出昭吾・岩水正: 飼料イネホールクroppサイレ
ージの切断長の違いが子実排せつに及ぼす影響, 広
島総技研畜技セ研報 15, 9~13P, 2008.
- 7) 新出昭吾・園田あずさ・岩水正: 飼料イネホールク
roppサイレージにおける切断長と給与子実形状の
違いが乳牛の乳生産に及ぼす影響, 広島総技研畜技
セ研報 15, 15~22P, 2008.
- 8) 新出昭吾・大坂隆志: 泌乳前期における混合飼料中
の稲発酵粗飼料の混合割合は25%程度が適正, 近畿
中国四国地域における新技術第5号, 114~117P,
2005.
- 9) 全国飼料増産行動会議・日本草地畜産種子協会: 稲
発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル. 日本草地畜
産種子協会, 東京, 136P, 2006

低ケイ酸含量飼料イネが消化性に及ぼす影響

The influence of digestibility in rice whole crop silage with low silicic acid

新出昭吾 一井眞比古*

要 約

飼料イネホールクロップサイレージ（以下、WCS）の消化性を比較検討するために、フィステルを装着した乾乳牛 3 頭を用いて調査した。試験 1 では、オオチカラ従来種とオオチカラの低ケイ酸含量突然変異系統（以下、GR1）の刈取時期の違い（出穂後 30 日、出穂後 40 日）が茎葉および子実の乾物の消失率に及ぼす影響をナイロンバッグ法で調査した。茎葉の乾物有効分解度は、イネ間ではオオチカラ従来種が大きく、刈取時期間では完熟期が大きかった。一方、子実の乾物有効分解度は、イネ間、刈取間とも差が認められなかった。GR1 はケイ酸含量がオオチカラ従来種の 10~15% と低いものの、リグニン含量が 25~45% 高いため、消化性の向上効果が高リグニン含量の条件により相殺された可能性が考えられた。試験 2 では、オオチカラ従来種、GR1 および対照としてクサノホシの WCS における各成分の消化率を 1 期 14 日間、計 3 期のラテン方格法による消化試験で比較した。消化試験に用いたオオチカラ従来種、GR1 およびクサノホシの WCS の発酵品質に差はなかった。消化試験では、GR1 は粗灰分含量が低く、可溶無窒素物割合が高いため消化率が従来種より向上し可消化養分総量（以下、TDN）が有意に高くなった（ $P < 0.05$ ）。このことから、ケイ酸含量の低減は消化性の向上に寄与することが示唆された。

I 緒言

本県では、平成 12 年から飼料イネの栽培・利用が進められている。飼料イネ WCS の乳牛への給与にあたり、泌乳前期の乳牛では乾物摂取量が伸びないことが農家の声として聞かれる。飼料イネは、特性として穀類および植物体のケイ酸含量が高い。ケイ酸は、繊維を初めとした植物体の支持層の細胞と結合し、含有率が高いものほど乾物消失率が低いことが報告され¹⁾、これらの消化性の低下が乾物摂取量を抑制している可能性がある。一般に、消化率が高まれば乾物摂取量は増加する³⁾ ことから、泌乳前期に給与する粗飼料の具備すべき条件として消化性が高いことが重要になる。また、飼料イネ WCS を家畜飼料として用いるに当たって、マイナス要因を明らかにし、特性を踏まえた給与を行う必要がある。

すでに、イネ品種の『オオチカラ』由来でケイ酸含量蓄積能が単一の劣性遺伝子支配されている低ケイ酸含量突然変異系統の GR1 が見出されており（香川大学保有）、消化性が改善される可能性を持つと考えられる。そこで、クサノホシを対照として、GR1、オオチカラ従来種の収量、サイレージ発酵品質を調査するとともに、ケイ酸含量の違いが乳牛の消化性に及ぼす影響を検討した。

II 研究内容

1 オオチカラ従来種および GR1 の刈取時期の違いが第一胃内消化性に及ぼす影響（試験 1）

1) 供試飼料

オオチカラ従来種および GR1 は、香川大学の試験圃場で出穂後 30 日目および 40 日目に収穫し、茎葉と子実を分けて、広島畜技セに搬入後、60℃、120 時間通風乾燥し、乾物含量を求めた。それぞれの茎葉および子実は、2mm の篩を装着したカッティングミルを用い粉碎した。

2) 供試家畜

フィステルを装着した乾乳牛 3 頭を用いた。

3) 試験方法

それぞれの刈取時期の茎葉、子実を第一胃内へ同時に投入して培養した。培養は投入時期を変え 3 反復し、乾物消失率を求めた。フィステルを装着した乾乳牛への基礎飼料として飼料イネ WCS 原物 30kg/日・頭（乾物 10kg/日・頭）とフスマ原物 2kg/日・頭を、乾物必要量を満たす²⁾ ように給与した。

第一胃内での乾物の消失率は、ナイロンバッグ法⁶⁾により当センターの慣行法で調査した。すなわち、ナイロンバッグの第一胃内への投入は、比較する 2 種類の飼料材料を同時に行った。ナイロンバッグは

(16)

投入後 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 時間経過時に 1 バッグずつ取り出し、流水中で濁りがなくなるまで洗浄し、直ちに微生物の活性を停止させるため -20℃ で凍結保存した。その後、凍結保存したナイロンバッグを解凍し家庭用洗濯機で水を 5 分ごとに入れ替えながら、計 20 分間洗浄した。これらを 60℃、48 時間通風乾燥し、ナイロンバッグの内容物重量を計量し、乾物消失率を算出した。

乾物の消失率 (P) は次式により求めた。

$$P = a + b(1 - e^{-ct}) \quad (\text{Orskov and McDonald 1979})^{6)}$$

a : 易分解性分画 (%)

b : 難分解性分画 (%)

c : 難分解性分画 (b 分画) の分解速度定数 (/h)

t : 培養時間

a+b : 潜在的分解可能割合 (%)

飼料の通過速度を考慮した第一胃内有効分解度 (dg) は次式により求めた。

$$dg = a + b \times c / (c + k) \quad (\text{Orskov and McDonald 1979})^{6)}$$

a, b, c : 上記に同じ

k : 通過速度定数 (/h)

なお、今回は飼料が、k=0.02, 0.05, 0.08/h で第一胃内を通過すると仮定¹⁾して算出した。

4) 統計処理

結果は、イネ品種、刈取期を要因とする F 検定で分散分析を行い、処理区間の差の検定は Duncan の多重検定を用いた。

2 オオチカラ従来種, GR1 およびクサノホシの消化試験 (試験 2)

1) 供試飼料

飼料イネの供試品種は、クサノホシ、オオチカラ従来種および GR1 を用い、総窒素投下量は 6.5kg/10a で栽培した。なお、後者 2 つは一つの圃場を 2 分割して栽培した。それぞれ出穂後 30 日目に収穫し、無切断でロール形成後、8 層巻きでラッピングし WCS とした。

2) 供試家畜

フィステルを装着した乾乳牛 3 頭を用いた。

3) 試験方法

飼料イネは、貯蔵後 120 日目に開封し、それぞれ切断長が 3cm になるように細断した。原物 2,000g を採取し、うち 150g を発酵品質調査に用い、残りを 60℃ で通風乾燥後、2mm の篩を装着したカッティングミルで粉碎した。供試家畜への給与は、それぞれの飼料イネ WCS を原物 20kg/日・頭、大豆粕を原物 1.5kg/日・頭とし、飼料全体の CP 含量が 12% 以上になるように調整した。TDN 充足率は 100% 以上にな

るように給与した。また、微量栄養素を満たすように、リン酸カルシウム 0.15kg/日および食塩 0.1kg/日 を給与した。

表 1 に示すように、1 期を 9 日間の予備期と 5 日間の本試験の 14 日間とし、計 3 期のラテン方格法で消化試験を実施した。ふんおよび尿は、全量を本試験の 5 日間に連続して採取した。尿はカテーテルで 20% 硫酸 400cc を入れた 20ℓ ポリ容器に 1 日を単位として採取した。重量測定後、うち 500ml を採取し、5 日間の本試験終了時に日単位の重量割合で混合して窒素分析に供した。ふんも同様に 1 日を単位として重量を測定後、均一になるまで攪拌混合し、1 日量の 1/2 を子実排せつ率調査用に採取し、洗米機を用いて洗浄後、子実を回収し、子実排せつ率を求めた。ふんは原物 1,500g をビニール袋に採取し冷蔵保存し、5 日間のサンプリング終了時に日単位の重量割合で混合し、60℃、4 日間通風乾燥し、乾物を測定後、0.5mm の篩をつけたカッティングミルで粉碎し、化学的成分組成の測定と各成分の消化率を求めた。

4) 統計処理

結果は、イネ品種を要因とする F 検定で分散分析を行い、処理区間の差の検定は Duncan の多重検定を用いた。

III 結果および考察

1 オオチカラ従来種および GR1 の刈取時期の違いが第一胃内消化性に及ぼす影響 (試験 1)

茎葉、子実消失率および有効分解度を表 2 および表 3 に示した。茎葉の乾物の分解パラメータの a および b 値は、イネ間 (従来種 vs GR1)、刈取時期間 (黄熟期 vs 完熟期) に差が認められなかった。一方、c (b 分画の分解速度定数) 値は、GR1 が小さく、イネ間に有意差が認められた (P<0.05)。その結果、通過速度を考慮した第一胃内乾物の有効分解度は GR1 が低かった (P<0.05)。有効分解度は、イネ間では、オオチカラ従来種が大きく、刈取間では完熟期が大きかった (P<0.05)。茎葉においては、オオチカラ従来種に比較して GR1 はケイ酸含量が低い乾物消失率の向上を認めなかった。

子実の分解パラメータ a および b 値は、茎葉と同様に差が認められなかった。一方、b 分画の分解速度定数の c 値は、従来種が大きくイネ間に有意差が認められた (P<0.05)。しかし、飼料の第一胃内通過速度をそれぞれ 2.0, 5.0, 8.0%/h としたときの子実の乾物有効分解度は差が認められなかった。

表1 試験区配置

Cow No	体重 (kg)	第Ⅰ期	第Ⅱ期	第Ⅲ期
1	844	クサノホシ	オオチカラGR 1	オオチカラ従来種
2	738	オオチカラ従来種	クサノホシ	オオチカラGR 1
3	749	オオチカラGR 1	オオチカラ従来種	クサノホシ

以上の結果から、GR 1の乾物消失率はオオチカラ従来種と差がない、もしくは、劣ると考えられるが、繊維消化率の向上が期待されたにも関わらず、乾物有効分解度に差が認められなかった理由は次のとおりと考えられる。

供試飼料イネの器官別のケイ酸含量を表4に、総リグニン含量を表5に示した。ケイ酸は、繊維と結合するため、ほとんどの部位で認められる⁹⁾が、オオチカラ従来種においては、特に、籾殻、止葉での蓄積が多かった。また、GR 1は止葉に多く認められたものの、オオチカラ従来種の概ね1/10の含量であった。ケイ質化現象により、ケイ酸は葉の表皮細胞を取り囲むように過度に集積、沈積する⁵⁾ことが知られ、茎よりも葉において表皮組織との物理的結合が強いことが推察された。

一方、総リグニン含量は、GR 1がいずれの器官においてもオオチカラ従来種より25~43%高い値を示した。ケイ酸は植物体と結合して、植物の耐倒伏性を維持する効果を持つが、GR 1はケイ酸含量がオオチカラ従来種の1/5程度の値であることから、脆弱な植物体を強固に維持するために、生理的な働きによりリグニンの沈着が進み繊維の木化が進行したものと考えられる。リグニンは植物体を強固に維持するが、飼料作物の生育ステージの進行によるリグニン含量の増加は消化率の低下を招くこと⁷⁾、また、反芻胃内における牧草の消化性の程度は植物組織におけるリグニン化の程度に左右されること²⁾が報告されている。本試験の結果からは、GR 1の低ケイ酸含量に伴う繊維の消化性の向上と、リグ

表2 茎葉乾物分解パラメータ

イネ	オオチカラ従来種		オオチカラGR 1		有意性	
	黄熟	完熟	黄熟	完熟	イネ間 (従来種*GR 1)	刈取時期間 (黄熟*完熟)
刈取時期						
a (%)	23.4	26	24.3	24.4		
b (%)	43.7	41.6	47.3	44.4		
c (/h)	0.029 ^a	0.028 ^{ab}	0.023 ^b	0.023 ^b	*	
dg (有効分解度)						
k : passage rate (/h)						
0.02	49.3 ^{ab}	50.2 ^a	48.2 ^b	48.1 ^b	*	
0.05	39.6 ^b	41.0 ^a	37.9 ^c	38.4 ^c	*	*
0.08	35.3 ^b	36.9 ^a	33.7 ^c	34.4 ^c	*	*
異符号間に有意差 (abc : P<0.05)					* : P<0.05	

注) a, b, cは、指数関数モデル式

P (消失率) = $a + b(1 - e^{-c \cdot t})$ (Orskov and McDonald 1979) における定数

a : 易分解性分画 (%)

b : 難分解性分画 (%)

c : 難分解性分画 (b分画) の分解速度定数 (/h)

t : 培養時間

a+b : 潜在的分解可能割合 (%)

dg : 飼料の通過速度を考慮した第一胃内有効分解度 (%)

$dg = a + b \times c / (c + k)$ (Orskov and McDonald 1979)

a, b, c : 上記に同じ

k : 通過速度定数 (/h)

ここでは飼料が、k=0.02, 0.05, 0.08/hで第一胃内を通過すると仮定

表3 子実乾物分解パラメータ

イネ	オオチカラ従来種		オオチカラGR1		有意性		
	刈取時期	黄熟	完熟	黄熟	完熟	イネ間 (従来種*GR1)	刈取時期間 (黄熟*完熟)
a (%)		47.8	46.1	49.1	48.2		
b (%)		30.2	32.3	30.2	32.4		
c (/h)		0.181 ^{ab}	0.208 ^a	0.141 ^b	0.141 ^b	*	
dg (有効分解度)							
k : passage rate (/h)							
0.02		74.9	75.5	75.4	76.5		
0.05		71.4	72.0	71.3	72.1		
0.08		68.6	69.4	68.2	68.9		

異符号間に有意差 (abc : P<0.05)

* : P<0.05

注) a, b, cは, 指数関数モデル式

P (消失率) = $a+b(1-e^{-ct})$ (Orskov and McDonald 1979) における定数

a : 易分解性分画 (%)

b : 難分解性分画 (%)

c : 難分解性分画 (b分画) の分解速度定数 (/h)

t : 培養時間

a+b : 潜在的分解可能割合 (%)

dg : 飼料の通過速度を考慮した第一胃内有効分解度 (%)

$dg = a+b \times c / (c+k)$ (Orskov and McDonald 1979)

a, b, c : 上記に同じ

k : 通過速度定数 (/h)

ここでは飼料が, k=0.02, 0.05, 0.08/hで第一胃内を通過すると仮定

表4 オオチカラ従来種およびGR1における器官別ケイ酸含量 (%) (香川大学分析)

	器官			
	籾殻	葉身	茎・葉鞘	止葉
オオチカラ従来種	20.1 (100) *	12.4 (100)	8.5 (100)	14.6 (100)
オオチカラGR1	2.2 (11)	1.6 (11)	1.1 (13)	6.3 (43)

* () 内はオオチカラ従来種の値を100としたときの値

表5 オオチカラ従来種およびGR1における器官別総リグニン含量 (%) (香川大学分析)

	器官		
	葉身	葉鞘	稈
オオチカラ従来種	18.0±2.1 (100) *	18.7±1.8 (100)	17.7±0.9 (100)
オオチカラGR1	25.7±3.0 (143)	26.2±0.4 (140)	22.1±2.1 (125)

* () 内はオオチカラ従来種の値を100としたときの値

ニンの蓄積による消化性の低下という相反する事象により, 繊維消化率が相殺されたと考えられた。すなわち, 飼料イネの消化率向上は, ケイ酸含量の低下だけでは達成できないと考えられ, この点についてさらに検討する必要がある。

2 オオチカラ従来種, GR1およびクサノホシの消

化試験 (試験2)

1) 飼料イネの乾物割合および子実熟度割合

各イネの刈取時のプロファイルを表6,7に示した。乾物収量は, オオチカラ従来種が1,068kg/10a, GR1が1,090kg/10aであった。一方, クサノホシは

958kg/10a であり、例年の収量成績 (1,250kg/10a) よりも低かった。

乾物含量は、オオチカラ従来種、GR1 が低かったが、極晩生のクサノホシは高かった。子実割合は、早生品種のオオチカラ従来種及びGR1 が、クサノホシに比べて高かった。

子実の押し潰しによる子実熟度調査では、いずれの飼料イネも未熟から完熟期の範囲の子実を認めた。このうち、クサノホシは、乾物含量が高く、完熟子実割合が多いことから、他の品種よりも生育熟期がやや進んでいたと考えられる。

2) 供試飼料イネ WCS の化学的組成

供試飼料イネ WCS の化学的組成値および推定 TDN 含量を表 8 に示した。粗タンパク質 (CP) 含量は GR1 が他の飼料イネ WCS に比較し高かった。一方、粗灰分含量は、GR1 が低く、ケイ酸含量が低いことによると推定された。日本標準飼料成分表 (2001)⁴⁾ の消化率を用い算出した各飼料イネ WCS の推定 TDN 含量は、GR1 が 61.7%、オオチカラ従来種 58.4%、クサノホシ 58.4% で、GR1 が高い値を示した。この結果からは、GR1 は CP 含量が高いこと、粗灰分含量が低く相対的に可溶無窒素物 (NFE) 含量が高いことにより、推定 TDN 含量も高い値を示したと考えられた。

3) 飼料イネ WCS の発酵品質

サイレージの発酵品質を表 9 に示した。pH はクサノホシが高かった。クサノホシは他の区に比べ、極晩生であり水分含量が低いことから、サイレージの

発酵全般が抑制された結果と考えられた。その結果、pH 値が高く、酸の生成量が少ないものの、酪酸の生成量が抑制され、V-Score¹⁰⁾ が高かったと考えられた。一方、消化試験時の給与では、WCS の摂取拒否などもなく、V-Score の点の高低が摂取量に影響しているとは認められなかった。

4) 飼料イネ WCS の消化率

併給した大豆粕の消化率を一定とし、飼料イネ WCS の成分ごとの消化率を算出し、表 10 に示した。CP 消化率、粗脂肪 (EE) 消化率および粗繊維 (Cfi) 消化率は差が認められなかった。一方、NFE 消化率は区間に有意差が認められ、GR1 が高かった ($P < 0.05$)。繊維と結合しやすいとされるケイ酸が多い場合、Cfi の消化性が低下すると予測されたが、Cfi 消化率は区間に差がなく、ケイ酸含量の多少に影響されなかった。Cfi の消化率において GR1 と従来種の間には差がないのは、試験 1 で上述したように、GR1 の低ケイ酸含量による消化性向上効果が、高リグニン含量による消化性の低下により相殺されたと考えられた。

日本標準飼料成分表 (2001)⁴⁾ に記載のイネ (黄熟期) の消化率は、CP が 51%、EE が 61%、NFE が 70% および Cfi が 48% であり、本試験における CP 消化率はこれに比較してかなり低かった。この理由は、本試験では、併給した大豆粕の消化率を一定値 (日本標準飼料成分表 2001)⁴⁾ として飼料イネ WCS の消化率を算出したため、本試験で供試した大豆粕の CP 消化率を過大評価したものと考えられた。

表6刈取時プロファイル

	乾物含量 %	乾物収量 kg/10a	茎葉乾物含量 %	子実乾物含量 %	茎葉割合 %	子実割合 %
オオチカラ従来種	35.1	1,068	22.9	63.8	45.7	54.3
オオチカラGR1	36.9	1,090	24.2	63.4	44.0	56.0
クサノホシ	46.4	958	34.5	72.5	51.0	49.0

表7子実熟度割合 (%)

	未熟	乳熟	糊熟	黄熟	完熟
オオチカラ従来種	7.3	10.7	12.3	51.4	18.3
オオチカラGR1	8.5	11.8	10.7	46.6	22.4
クサノホシ	6.2	5.4	22.4	40.5	25.4

未熟 : 内容物がない, 不稔
 乳熟 : 白濁液が出る
 糊熟 : 液が出ず, 糊状
 黄熟 : 糊熟と完熟の間
 完熟 : 押しつぶせない

表8 供試飼料の化学的組成および推定可消化養分総量

	乾物中 (%)						日本標準飼料成分表2001年版				推定可消化養分総量 (%)	飼料イネ WCS子実割合 (乾物中%)
	乾物含量 (%)	粗タンパク質	粗脂肪	粗繊維	可溶無窒素物	粗灰分	消化率 (%)					
		CP	EE	Cfi	NFE	CAsh	CP	EE	Cfi	NFE		
オオチカラ	33.9	5.2	2.9	23.7	57.6	10.5	51	61	48	70	58.4	54.3
従来種	2.0	0.1	0.4	1.3	1.9	0.5						
オオチカラ	36.2	5.9	2.9	24.9	61.0	5.2	51	61	48	70	61.7	56.0
GR1	0.5	0.1	0.7	0.3	0.5	0.0						
クサノホシ	44.3	4.2	2.4	26.5	57.6	9.3	51	61	48	70	58.4	49.0
	2.1	0.5	0.6	1.7	1.3	0.6						
大豆粕	91.8	49.8	1.1	5.7	36.2	7.2	92	84	74	94	86.2	

※ TDN含量は、日本標準飼料成分表の消化率の値を用いた
飼料イネの乾物中 (%) の値は上段：平均値, 下段：±標準偏差

表9 サイレージ発酵品質

サンプル	pH	原物中濃度 (%)					VBN(原物中%) アンモニア態窒素	評点	V-Score
		酢酸	P酸	乳酸	酪酸	総酸			
オオチカラ従来種	4.16	0.45	0.05	0.13	0.36	0.99	0.01	69	可
オオチカラGR1	4.08	0.31	0.02	0.28	0.26	0.88	0.01	78	可
クサノホシ	4.41	0.21	0.01	0.22	0.11	0.55	0.01	91	良

P酸：プロピオン酸

表10 低ケイ酸飼料イネWCSの消化率および子実排せつ率

	飼料イネWCS			SE
	クサノホシ	オオチカラ従来種	オオチカラGR1	
飼料イネWCS消化率*				
粗タンパク質 (CP)	14.8	30.9	33.3	3.7
粗脂肪 (EE)	51.5	64.9	66.9	3.5
粗繊維 (Cfi)	50.9	49.5	49.6	2.1
可溶無窒素物 (NFE)	61.4 ^c	64.4 ^b	65.0 ^a	0.1
飼料イネWCS可消化養分総量 (TDN) *	52.3 ^b	54.8 ^b	58.4 ^a	0.5
全体 (飼料イネWCS+大豆粕) 消化率				
粗タンパク質 (CP)	72.2	72.2	70.6	1.0
粗脂肪 (EE)	54.8	66.4	68.2	3.1
粗繊維 (Cfi)	51.8	50.7	50.7	2.0
可溶無窒素物 (NFE)	65.7 ^b	68.0 ^a	68.2 ^a	0.2
全体可消化養分総量 (TDN)	58.9 ^b	60.4 ^{a b}	63.2 ^a	0.5
飼料イネ中の子実乾物割合 (%)	49.0	54.3	56.0	-
子実摂取量 (g/日)	3,876	4,207	4,285	144
子実排せつ量 (g/日)	394	341	320	35
子実排せつ率 (%)	10.3	8.3	7.6	0.9

* 併給した大豆粕の消化率 (日本標準飼料成分表2001) を一定値として評価

SE：標準誤差

異符号間に有意差 (abc : P<0.05)

5) 飼料イネ WCS の TDN 含量

本試験の消化率から算出した飼料イネ WCS の TDN 含量は、表 10 に示したとおり GR 1 がクサノホシに

比較し有意に高かった (P<0.05)。飼料イネ WCS は一般に消化性が低いことが報告されているが、GR 1 は、粗灰分含量が低く (ケイ酸含量が低く)、NFE 含

量が高く、さらに、NFEの消化率が向上し、TDN含量が高いことから、養分要求量の多い泌乳前期の乳牛への給与においては有効と考えられた。

6) 子実排せつ率

子実排せつ率を表10に示した。各飼料イネWCSの子実乾物割合は、GR1 56.0% > 従来種 54.3% > クサノホシ 49.0%であった(表8)。子実摂取量に対する排せつ子実の割合(子実排せつ率)は区間に差が認められず、ケイ酸含量の違いは排せつ率には影響していないと考えられた。

GR1区は、子実排せつ量に差はないが、子実割合が高いことから、子実摂取量が多いことになる。このことは、採食時の咀嚼によって破碎される破碎子実量も多くなると推定される。そのため、GR1におけるNFE消化率の向上は、低いケイ酸含量の影響とともに、そしゃく破碎によりモミガラ外に露出された高消化のデンプン量が多く、TDNが高くなった可能性が考えられた。また、泌乳牛においては、子実排せつ率は40~50%程度に達する⁸⁾が、本試験では10%前後であった。この理由は、乾乳牛は乾物摂取量が少なく、飼料の第一胃内通過速度が遅く、反芻胃における消化機会、そしゃくによる破碎の機会が多く、子実排せつ率が低くなったことによると考えられた。

以上のことから、GR1は、リグニン含量の増加により乾物有効分解度が向上しなかったが、粗灰分含量が低く、NFE割合の増加とNFE消化率の向上によりTDN含量が有意に高くなっており、ケイ酸含量の低下は消化性の向上に寄与することが示唆された。

引用文献

- 1) Agricultural and Food Research Council, Energy and Protein Requirements of Ruminants, Alderman, G and Cottrill, B.R. eds. Cab International Wallingford, UK, 25, 1993.
- 2) 川村修, 千秋達道, 堀口雅昭, 松本達郎: 牧草の反芻内消化と中性デタージェント繊維測定法に関する組織化学的検討. 日畜会報 46(1), 6~10P, 1975.
- 3) 農林水産省農林水産技術会議事務局: 日本飼養標準乳牛. 中央畜産会, 東京, 1994.
- 4) 農林水産省農林水産技術会議事務局編: 日本標準飼料成分表 1995年版, 293P, 中央畜産会, 東京, 1995.
- 5) 岡島秀夫: イネの生理, 農山漁村文化協会, 東京, 76~78P, 1968.
- 6) ØRSKOV, ER and L. McDONALD.: The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. :J. Agri. Sci (Camb) . 92., 499~533P, 1979.
- 7) 下条雅敬, 増田泰久, 五斗一郎: 暖地型牧草及び稲・麦わらの消化と摂食並びに稲の倒伏に対するリグニンとケイ酸の関与. ルーメン研究会報 6(1), 1~6P, 1995.
- 8) 新出昭吾: 稲発酵粗飼料研究の現状と展望. 農業技術 57, 567~570P, 2002.
- 9) 豊川好司, 坪松戒三, 野村忠弘: 稲ワラの利用性向上に関する研究 第4報 牛の第1胃内における稲ワラ中のセルロース, リグニンおよびケイ酸の消失率と乾物消失率の関係, 日本草地学会報 21(1), 42~46P, 1975.
- 10) 全国飼料増産行動会議・日本草地畜産種子協会: 稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル. 日本草地畜産種子協会, 東京, 136P, 2006.

飼料イネ裏作飼料作物のダイレクトカット調製に適する 刈取時期と省力栽培の検討

Investigation on harvest time and labor saving-cultivation on secondary forage crop of forage rice

大坂隆志* 坂井宏行** 伊藤健一***

要 約

飼料イネ生産組織の収益性の向上と自給粗飼料供給量の増加のために、夏作の飼料イネと裏作（冬作）飼料作物の二毛作栽培を検討した。裏作飼料作物のダイレクトカット調製に適する収穫時含水率は、イタリアンライグラス、エンバクともに70%だった。立毛状態での含水率低下が早い極早生品種が適した。飼料イネ立毛中にイタリアンライグラスとエンバクを播種する方法（立毛播種）では、出芽率は高い（46～89%）が、播種期は9月中～下旬となり播種適期より3～7週間早くなるため寒害により減収した。一方、イタリアンライグラスは3月に追肥することで収量が増加した。飼料イネ収穫後にイタリアンライグラスとエンバクを不耕起播種し堆肥を散布する方法では、出芽率は16～76%と幅があり播種後の降雨の影響を受けた。乾物収量は、両品種とも600kg/10a程度だった。裏作飼料作物の播種を10月下旬から11月中旬、収穫を5月下旬、飼料イネ移植を6月上旬、収穫を10月上旬に行えば、飼料イネと裏作飼料作物の二毛作栽培は労力的にも可能だった。裏作飼料作物の販売価格を乾物50円/kgとし、地代、管理費、償却費は飼料イネで負担すると仮定すると、飼料イネ単作の場合に比べ、生産組織の利益は290～980円/10a増加する。

I 緒言

本県では飼料イネは転作作物として2000年頃から栽培され、2006年度は約92ha栽培されている¹⁾。飼料イネの主な収穫方法は、飼料イネ収穫機で収穫、細断、ロールベール成形し、ラッピングマシンでストレッチフィルムを巻き付け密封する。密封されたものはロールベールサイロと呼ばれ、ウシ用発酵粗飼料として利用されている。この収穫方法は、刈取後すぐにサイロとして密封（ダイレクトカット調製）するので、予乾作業が省略でき、予乾作業途中の降雨により栄養が損失することがない。また、一般的には、予乾を含めた収穫から調製作業終了までに3日以上要するが、予乾作業を必要としないこの収穫方法は収穫から調製まで1日で終わり、軽労化することができる。また、水田では予乾草の拾い上げ時に土を巻き上げ、品質を低下させる可能性がある²⁾が、ダイレクトカット調製ではこの危険性が少ない。

飼料イネ収穫機は現在、飼料イネの収穫だけに使われているが、他作物も収穫できれば機械利用率の向上、自給粗飼料供給量の増加、生産組織の売上げ増加など利点が多いと考えられる。

そこで、省力的な飼料イネ裏作飼料作物栽培技術と飼料イネ収穫機による裏作飼料作物の刈取適期の

検討を行い、これらの栽培実証による収益試算を行った。

II 試験方法

1 ダイレクトカット調製に適する刈取時期の検討

牧草、エンバクなどの飼料作物をサイレージとして貯蔵するためには、一般的には予乾作業により水分を調製する必要がある。予乾作業をしない場合、含水率80%の材料草を用いたサイレージ調製では、ロールベールの型崩れ、多量の排汁により、貯蔵性が劣る可能性がある。一方、飼料イネ収穫機を用いた収穫では、材料草は予乾作業をせずに収穫と同時にロールベール成形され、収穫機から排出後ストレッチフィルムで包装される。

そこで、材料草の含水率が低下するまで刈取期を遅らせ、飼料イネ収穫機でイタリアンライグラスとエンバクを収穫・サイレージ調製し、発酵品質と乳牛における嗜好性を調査し、刈取適期について検討した。

なお、飼料イネ収穫機は、(株)ヤンマー社製 飼料イネ収穫機（フレール型）YW1400Hを使用した。

1) イタリアンライグラスの刈取適期の検討

品種は「ニオウダチ」(早生)を使用し、刈取時期は出穂後17日(含水率80%)、53日(同70%)、62日(同68%)の3区とし、ダイレクトカット調製した。

サイレージは4~5ヶ月貯蔵後開封し、嗜好性調査を行った。それぞれの区に搾乳中のホルスタイン雌牛2頭を配置し、計6頭を用いて、1期3日間のラテン方格法で採食量を調査した。なお、粗飼料は全て供試サイレージを自由採食とし、濃厚飼料は13~14kg/日給与した。

2) エンバクの刈取適期の検討

品種は「アーリークイーン」(極早生)を使用し、刈取時期は出穂後1日(含水率76%)、31日(同67%)の2区とし、ダイレクトカット調製した。

サイレージは3~4ヶ月貯蔵後開封し、嗜好性調査を行った。それぞれの区に搾乳中のホルスタイン雌牛2頭を配置し、計4頭を用いて、1期3日間の反転試験法で採食量を調査した。粗飼料は供試サイレージのみを自由摂取させ、濃厚飼料は13~15kg/日給与した。

2 品種選定

異なる品種を転作田で栽培し、生育、収量を比較した。なお、栽培概況は次のとおりである。

1) 品種：イタリアンライグラス

極早生：ハナミワセ

さちあおば

ウヅキアオバ

早生：ワセアオバ

タチワセ

ニオウダチ

中生：タチマサリ

エンバク

極早生：スーパーハヤテ隼

中生：ニューオールマイティ

2) 播種日：2004年11月2日

3) 播種量：イタリアンライグラス 3kg/10a

エンバク 6kg/10a

4) 施肥量：化学肥料 N-P₂O₅-K₂O=3-4.5-2.25kg/10a

5) 調査区：1区 2.5×2.5m, 3反復

6) 収量調査日：2005年5月10日

3 飼料イネ裏作飼料作物の省力栽培技術の検討

飼料イネ収穫前にイタリアンライグラスとエンバクを立毛播種し、播種量の違いによる出芽率、施肥回数の違いによる生育、収量を比較した。

1) 出芽率比較試験

前作は、飼料イネ(クサノホシ)を2005年5月12日に移植、10月3日に収穫した。

(1) 品種：イタリアンライグラス

極早生：ハナミワセ

早生：タチワセ

エンバク

極早生：スーパーハヤテ隼

中生：ニューオールマイティ

(2) 播種日：2005年9月21日

(3) 播種量：イタリアンライグラス

3kg/10a, 4.5kg/10a

エンバク 6kg/10a, 9kg/10a

(4) 調査区：1区 3×5m

(5) 調査日：2005年10月7日

2) 収量比較試験

前作は、飼料イネ(クサノホシ)を2005年6月19日に湛水直播、10月6日に収穫した。

(1) 品種：イタリアンライグラス

極早生：ハナミワセ

早生：タチワセ

エンバク

極早生：スーパーハヤテ隼

中生：ニューオールマイティ

(2) 播種日：2005年9月16日

(3) 播種量：イタリアンライグラス 4.5kg/10a

エンバク 9kg/10a

(4) 施肥量：化学肥料 N-P₂O₅-K₂O=8-12-6kg/10a

1回施肥区は播種時に全量施用

2回施肥区は播種時と2006年3月20日に半量ずつ施用

(5) 調査区：1区 8×32.5m

(6) 調査日：2006年5月9日

(7) ロール収穫日：2006年5月21日

4 不耕起栽培実証試験

飼料イネ生産組織が管理する転作田約30aで、飼料イネ収穫後に極早生種のイタリアンライグラスとエンバクをそれぞれ不耕起栽培した。立毛播種では、年内生育が旺盛なため耐寒性の低下や、飼料イネ収穫機による苗の踏みつぶしがあるので、飼料イネ収穫後の播種とした。

播種方法は、不耕起状態で行い、播種直後に化学肥料を動力散布機で、堆肥をマニュアルスプレッダで施用した。

前作は、飼料イネ(クサノホシ)を2006年6月

(24)

10日頃に移植，10月10日頃に収穫した。

- 1) 品種：イタリアンライグラス ハナミワセ
エンバク スーパーハヤテ隼
- 2) 播種日：イタリアンライグラス
2006年10月18日
エンバク 2006年11月14日
- 3) 播種量：イタリアンライグラス 3kg/10a
エンバク 6kg/10a
- 4) 施肥量：牛ふん堆肥 2t/10a
化学肥料
N-P₂O₅-K₂O=4-5.9-1.9~6-9-4.5kg/10a
化学肥料は，播種時と3月20日に半量ずつ施用した。
- 5) 収量調査日：2007年5月21日
- 6) ロール収穫日：2007年5月22日

5 経営評価

飼料イネ裏作飼料作物実証栽培に要した生産費を調査し，収支を明らかにした。

III 結果および考察

1 ダイレクトカット調製に適する刈取時期

飼料イネ収穫機（フレール型）によるイタリアンライグラス，エンバクの収穫は，飼料イネ同様に順調に行えた。

イタリアンライグラスダイレクトカットサイレージの発酵品質を表1に，飼料成分と乾物摂取量を表2に示した。発酵品質は，水分の多い出穂後17日区で酢酸濃度が高い傾向にあり，新美らの報告³⁾と一致した。含水率は出穂後日数の経過とともに低下し，乳酸濃度は高くなる傾向にあった。いずれの区にも土壌混入は見られず，酪酸生成量の増加²⁾やカビなどの発生による発酵品質の悪化はなかった。飼料成分は，出穂後日数の経過とともに，0a（高消化性繊維），TDNは減少し，0b（低消化性繊維）は増加する傾向にあり，栄養価が低下する傾向だった。乾物摂取量は，出穂後53日区（含水率71%）は62日区（含水率68%）より高かった（ $p < 0.05$ ）。繊維含量の増加

は乾物摂取量を低下させることが報告されており⁴⁾，出穂後日数が経過し植物体の粗剛性が増したため乾物摂取量が抑制されたと考えられる。また，含水率の増加は乾物摂取量を低下させる傾向にあることが報告されており³⁾，出穂後17日区が53日区より低い傾向にあったのはこのことが原因と考えられる。

エンバクダイレクトカットサイレージの発酵品質を表3に，飼料成分と乾物摂取量を表4に示した。発酵品質は，両区とも土壌混入は見られず，酪酸生成量の増加²⁾やカビなどの発生による発酵品質の悪化はなかった。飼料成分は，出穂後日数の経過とともに，0a，TDNは減少し，0bは増加する傾向にあり，栄養価が低下する傾向だった。乾物摂取量は，両区とも高く，有意差はなかった。エンバクとイタリアンライグラス間の比較はしていないが，イタリアンライグラスに比べ0bが十分に低く，栄養成分の違いが摂取量に与える影響は小さかったと考えられる。乾物摂取量が多いので，泌乳牛に給与する場合は有利かもしれない。

イタリアンライグラス17日区ロールは，高水分のため衝撃に弱く，運搬などによる型崩れがあった。一般に，高水分ロールは型崩れしやすいため，ロールを積み重ねて保存する場合，下段のロールが変形し崩れやすいことから，ロール内への外気の侵入などによる不良発酵の可能性が考えられる。

これらのことから，ダイレクトカット調製に適する刈取時期は含水率70%の時期であると考えられる。

2 品種選定

転作田での栽培試験結果を表5に示した。

イタリアンライグラスの収穫時含水率は，ハナミワセが最も低く66.8%，次いでウヅキアオバ，さちあおばが低かった。乾物収量に差はなかった。エンバクの収穫時含水率，乾物収量に差はなかった。

次作に飼料イネを栽培する栽培体系の場合，裏作飼料作物の含水率が早く低下し早めに収穫が終了される方が望ましく，含水率の低下が早い極早生品種を用いるべきであると考えられる。

表1 イタリアンライグラスダイレクトカットロールベールラップサイレージの発酵品質

	含水率 (%)	pH	原物中濃度 (%)				
			酢酸	プロピオン酸	乳酸	酪酸	アンモニア
出穂後17日	80.5	3.67	0.47	0.11	0.86	0.00	0.01
出穂後53日	71.3	3.74	0.11	0.02	0.93	0.24	0.02
出穂後62日	68.3	3.79	0.17	0.00	1.10	0.13	0.02

表2 イタリアンライグラスダイレクトカットロールベールラップサイレージの飼料成分
泌乳牛における乾物摂取量

	粗灰分 (DM%)	OCW (DM%)	OCC (DM%)	0a (DM%)	0b (DM%)	CP (DM%)	TDN (DM%, 推定値)	乾物摂取量 (kg/日)
出穂後17日	9.3	72.4	18.3	12.8	59.6	8.7	52.2	5.83
出穂後53日	9.8	72.9	17.3	8.5	64.4	7.5	49.8	6.79 ^a
出穂後62日	9.0	73.2	17.7	7.8	65.4	9.5	49.5	5.50 ^b

OCW：細胞壁物質 0a：高消化性繊維 0b：低消化性繊維
異符号間に有意差あり (ab:p<0.05)

TDN推定式: $54.18 + 0.287(OCC + 0a) - 0.1830b$ ⁷⁾

表3 エンバクダイレクトカットロールベールラップサイレー
の発酵品質

	含水率 (%)	pH	原物中濃度 (%)				
			酢酸	プロピ オン酸	乳酸	酪酸	アンモ ニア
出穂後1日	76.3	3.48	0.11	0.04	0.72	0.16	0.06
出穂後31日	67.7	3.67	0.08	0.00	0.49	0.23	0.07

表4 エンバクダイレクトカットロールベールラップサイレージの飼料成分と泌乳牛
における乾物摂取量

	粗灰分 (DM%)	OCW (DM%)	OCC (DM%)	0a (DM%)	0b (DM%)	CP (DM%)	TDN (DM%, 推定値)	乾物摂 取量 (kg/日)
出穂後1日	6.9	52.1	41.0	16.2	35.8	7.4	64.1	7.33
出穂後31日	7.6	57.5	34.9	9.7	47.8	5.8	58.2	8.72

TDN推定式: $54.18 + 0.287(OCC + 0a) - 0.1830b$ ⁷⁾

表5 品種選定調査結果

品種名	早晚	出穂期 月/日	草丈 (cm)	含水率 (%)	乾物収量 (kg/10a)
イタリアンライグラス					
ハナミワセ	極早生	4/12	107	66.8 ^a	415
さちあおば	極早生	4/12	105	70.2 ^b	359
ウヅキアオバ	極早生	4/12	103	70.1 ^b	354
ワセアオバ	早生	4/26	102	72.0 ^{cc}	397
タチワセ	早生	4/22	108	71.6 ^c	375
ニオウダチ	早生	4/22	94	73.7 ^d	316
タチマサリ	中生	4/26	96	72.2 ^c	302
エンバク					
スーパーハヤテ隼	極早生	4/26	90	72.2	320
ニューオールマイティ	中生	5/6	64	75.9	349

播種期：2004年11月2日

収穫期：2005年5月10日

播種量：イリ73kg/10a, エンバク6kg/10a

施肥量：N-P₂O₅-K₂O=3-4.5-2.3kg/10a

異符号間に有意差あり (abcde:p<0.01)

表6 立毛播種によるイタリアンライグラス、エンバクの出芽率

品種名	早晚	播種量 (kg/10a)	出芽個体数 (個体/m ²)	出芽率 (%)
イタリアンライグラス				
ハナミワセ	極早生	3.0	413	46.3
		4.5	731	54.7
タチワセ	早生	3.0	431	50.9
		4.5	763	60.1
エンバク				
スーパーハヤテ隼	極早生	6.0	72	46.6
		9.0	205	88.5
		6.0	165	75.4
ニューオールマイティ	中生	6.0	165	75.4
		9.0	192	58.5

飼料イネ収穫期：2005年10月3日
播種期：2005年9月21日

表7 施肥回数の違いによるイタリアンライグラスの生育、収量

品種名	早晚	施肥回数 (回)	出穂期 (月/日)	倒伏 (無1~甚9)	草丈 (cm)	原物収量 (kg/10a)	乾物率 (%)	乾物収量 (kg/10a)
ハナミワセ	極早生	1	4/14	1	93	1,389	25.3	351
		2	4/19	2	105	2,307	23.1	534
タチワセ	早生	1	5/1	1	85	1,539	23.1	355
		2	5/2	1	93	2,519	21.0	530

播種期：2005年9月16日

施肥量：N-P205-K20=8-12-6kg/10a

収量調査：2006年5月9日

イネ収穫：2006年5月22日

3 飼料イネ裏作飼料作物の省力栽培技術

1) 立毛播種における播種量

出芽率を表6に示した。出芽率は、イタリアンライグラスは46~60%、エンバクは47~89%と高かった。飼料イネの生育中に株間に播種したことから、適度な湿度が保たれ出芽に良好な環境が得られたため高い出芽率となったと考えられる。立毛播種の場合、播種量はイタリアンライグラス 3kg/10a、エンバク 6kg/10a程度が望ましいと考えられる。

2) 立毛播種における施肥回数

出芽率はイタリアンライグラス 53~65%、エンバク 80~92%と高かったが、飼料イネ収穫時の収穫機旋回により苗が踏みつぶされ生育がない部分があった。また、収穫後のわだち部分は水が溜まり、生育がなかった。

イタリアンライグラスは、秋の生育は良好だったが、2月頃から葉先から枯れが発生し始めた。1回施肥区ではその傾向が顕著だった。枯れの原因は、立毛播種では飼料イネ収穫前に播種することから、播種期が適期より約1ヶ月早く、成長が進み、耐寒性が低下したことが考えられる。

乾物収量を表7に示した。乾物収量は、1回施肥区 350kg/10a、2回施肥区 530kg/10a程度だった。2回施肥区では3月下旬に追肥したため生育が回復し、

乾物収量が増加した。不耕起栽培において一度に多くの化学肥料を施肥することは、肥料の流亡を招く可能性があり、2回以上に分けて施肥した方がよいと考えられる。

エンバクは、1月の時点で草丈 27~41cm となり、越冬中草丈としては過長となった。スーパーハヤテ隼（極早生種）では、一部で年内に出穂した。そのため、耐寒性が低下し、2月には大半が枯死し、収量は得られなかった。この原因は、イタリアンライグラスと同様に、立毛播種のため播種時期を早期化したことによると考えられる。エンバクの播種適期は11月であるが、立毛播種では適期より約2ヶ月早くなるため、立毛播種は適さないと考えられる。

イタリアンライグラスの収穫は、飼料イネ収穫機（フレール型）で5月22日に行った。収穫時含水率は、最適値の70%程度まで低下していた。収穫後、6月中旬に飼料イネを移植し、平年並みの収量（乾物 700~800kg/10a）が得られた。

4 不耕起栽培実証試験

立毛播種では播種時期を早期化することで飼料イネ収穫機による苗の踏みつぶしや生育の進み過ぎによる耐寒性の低下など、収量を低下させる要因が多いので、播種時期を収穫後とする不耕起栽培を検討した。

出芽率、生育状況、収量を表8に示した。

出芽率は、イタリアンライグラスは16~22%と低く、エンバクは75~76%と高かった。イタリアンライグラス播種後は降雨が少なく、エンバク播種後は適度に降雨があったことが出芽率の差となったと考えられる。

越冬中の生育状況は良好で、立毛播種時に見られた葉先から全体への枯れは見られなかった。

出穂期は、イタリアンライグラスが4月12日、エンバクが4月23日だった。

乾物収量は、イタリアンライグラスが440~670kg/10a、エンバクが650~740kg/10aであり、エンバクの収量が優れた。なお、多少、雑草の混入が認められた。

飼料成分を表9に示した。粗たんぱく質(CP)は日本標準飼料成分表⁵⁾の値と比較して乾物中3~5%と低く、刈取ステージが遅かったことが影響したと考えられる。泌乳牛に給与する場合には、粗たんぱく質の高い飼料と組み合わせる必要がある。

収穫は5月21~22日に行い、飼料イネの移植は6月上旬に行った。今回の結果のように、飼料イネ裏作飼料作物の播種を10月下旬から11月中旬に、収穫を5月下旬に、飼料イネの移植を6月上旬に、収穫を10月上旬に行うことで、裏作飼料作物と飼料イネの二毛作栽培は時期的にも労力的にも可能である。

飼料イネの生育は、裏作飼料作物の残根による移植後の定着不良などの問題はなく良好で、平年並みの収量(乾物700~800kg/10a)が得られた。このことから、移植した飼料イネの生育に裏作飼料作物の

残根の影響はないと考えられる。

不耕起栽培では省力化を図ることができ、乾物収量は600kg/10a程度得られたが、出芽を安定させ、雑草の混入を低減するためには、覆土や鎮圧により発芽率を向上させ収量を安定させた方が収益に有利かもしれない。試験に協力していただいた生産組織では、試験終了後も二毛作を実施し、イタリアンライグラス播種後に浅く1回ロータリー耕をすることで、安定した出芽率を達成していることから覆土のメリットが窺える。

5 経営評価

実証栽培結果から、裏作飼料作物の乾物収量を600kg/10aとして10aあたりの収支を試算した。試算結果を表10に示した。

イタリアンライグラス栽培における生産費は、資材費18,924円、ロール運搬費4,195円、労働費5,900円、合計29,019円だった。エンバク栽培における生産費は、イタリアンライグラスに比べ種子代が高く、29,706円だった。なお、飼料イネ栽培により助成金を受けているので、償却費、地代は飼料イネで負担することとした。

イタリアンライグラスロール販売額を乾物50円/kgと仮定すると、収益は30,000円で、生産費29,019円を差し引くと、利益は981円/10aとなる。エンバクの利益は、294円/10aとなる。イタリアンライグラスの方が生産費が低く生産者にはメリットであるが、エンバクには嗜好性がよいという畜産農

表8 不耕起実証栽培による飼料イネ裏作飼料作物の生育、収量

品種名	化学肥料 (N-P ₂ O ₅ -K ₂ O kg/10a)	出芽率 (%)	出穂期 (月/日)	草丈 (cm)	倒伏 (無1~ 甚9)	原物収量 (kg/10a)	乾物率 (%)	乾物収量 (kg/10a)	ロール重量 (kg/個)
イタリアンライグラス									
ハナミワセ	4.3-5.9-1.9	16	4/12	126	2	1,388	32.2	447	192
ハナミワセ	6-9-4.5	22	4/12	133	3	2,085	32.2	672	208
エンバク									
スーパーハヤテ隼	4-6-3	75	4/23	123	1	2,940	25.2	741	259
スーパーハヤテ隼	6-9-4.5	76	4/23	121	1	2,495	26.1	652	258

播種期：ハナミワセ2006年10月18日、スーパーハヤテ隼11月14日 堆肥散布量：牛ふん堆肥2t/1
播種量：ハナミワセ3kg/10a、スーパーハヤテ隼6kg/10a 収穫期：2007年5月21~22日

表9 不耕起実証栽培による飼料イネ裏作飼料作物の飼料成分

品種名	化学肥料 (N-P ₂ O ₅ -K ₂ O kg/10a)	粗灰分 (DM%)	OCW (DM%)	OCC (DM%)	0a (DM%)	0b (DM%)	CP (DM%)	NDF (DM%)	EE (DM%)	TDN (DM%, 推定値)
イタリアンライグラス										
ハナミワセ	4.3-5.9-1.9	6.5	53.0	40.5	6.2	46.8	3.9	51.9	1.5	59.0
ハナミワセ	6-9-4.5	5.9	53.5	40.5	6.1	47.4	3.4	52.5	1.3	58.9
エンバク										
スーパーハヤテ隼	4-6-3	7.0	57.2	35.8	7.0	50.3	4.9	56.4	2.3	57.3
スーパーハヤテ隼	6-9-4.5	7.4	55.6	37.1	7.3	48.3	4.6	54.8	1.8	58.1

TDN推定式: $54.18 + 0.287(OCC + 0a) - 0.1830b$ ⁷⁾

表10 飼料イネ裏作飼料作物生産収支試算

草種	イタリアンライグラス		エンバク	
収量 (ロール/10a)	9.6	乾物収量600kg/10a 原物収量1,875kg/10a 含水率68%, 重量195kg/個	9.4	乾物収量600kg/10a 原物収量2,400kg/10a 含水率75%, 重量255kg/個
収益 (円/10a)	30,000		30,000	
ロール売上	30,000	乾物50円×600kg	30,000	乾物50円×600kg
費用 (円/10a)	29,019		29,706	
資材費	18,924	種子 2,079 (693×3kg) 堆肥 7,000 (2t, 散布料込) 化学肥料 4,202 (1,827×2.3袋) 燃料 1,237 フィルム・トワイ 3,792 (395×9.6ロール) 修理費 614	19,698	種子 2,964 (494×6kg) 堆肥 7,000 (2t, 散布料込) 化学肥料 4,202 (1,827×2.3袋) 燃料 1,217 フィルム・トワイ 3,713 (395×9.4ロール) 修理費 614
機械利用費	4,195	ロール運搬費 4,195 (437×9.6ロール)	4,108	ロール運搬費 4,108 (437×9.4ロール)
労働費	5,900	1,000×5.9時間	5,900	1,000×5.9時間
利益 (円/10a)	981		294	

家にとってのメリットがあるので、畜産農家の要望を踏まえて草種を選択する必要がある。飼料イネ裏作飼料作物生産は、飼料イネ生産組織には労働機会や利益の増加、畜産経営体には自給粗飼料の供給増加・堆肥の利用促進という利点があることが明らかになった。また、2005年3月に策定された食料・農業・農村基本計画では、わが国の飼料自給率を平成2015年度までに35%に向上させるという目標が設定されており⁶⁾、自給率向上に寄与できる。

引用文献

- 1) 広島県農林水産部農水産振興局畜産振興室：平成19年度畜産振興施策の概要，101 P，2007
- 2) 名久井忠・箭原信男・高井慎二：倒伏がトウモロコシサイレージの品質・利用性に及ぼす影響，東北農業研究 33，171～172P，1983
- 3) 新美光弘・福山喜一・清慎一郎・川村修：材料草の水分含量が暖地型牧草サイレージ発酵と黒毛和種繁殖牛による採食性に及ぼす影響，日草誌 53(3)，183～188P，2007
- 4) R. D. SHAVER, L. D. SATTER, and A. JORGENSEN : Impact of Forage Fiber Content on Digestion and Digesta Passage in Lactating Dairy Cows, J Dairy Sci 71, 1556～1565P, 1988
- 5) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編：日本標準飼料成分表(2001年版)，245P，社団法人中央畜産会，東京，2001
- 6) 農林水産省：食料・農業・農村基本計画，33P，2005
- 7) 自給飼料品質評価研究会編：改訂粗飼料の品質評価ガイドブック，社団法人日本草地畜産種子協会，77P，2001

TMR 中の飼料イネ WCS の切断長の違いが 泌乳成績に及ぼす影響

Effect of Cutting Length for Milk Production of Rice Whole Crop Silage composed Total Mixed Ration

新出昭吾・吉村知子*・伊藤健一**

要 約

混合飼料（以下、TMR）中の乾物混合割合を20%とした飼料イネホールクロップサイレージ（以下、飼料イネ WCS）の切断長をそれぞれ1.5cm、4.5cmに変えることで飼料片粒度割合の異なる発酵 TMR を調製し、試験1では、切断長の異なる発酵 TMR の発酵品質、嗜好性及び採食性について調査した。さらに、試験2では、乾乳期（分娩前1ヶ月）から泌乳前期（分娩～分娩後3ヶ月）において乳牛6頭を用い、乾物摂取量、泌乳成績及び咀嚼行動に及ぼす影響を検討した。試験1の結果では、切断長が短い1.5cm TMR の乾物摂取量が有意に多かった。試験2の結果では、パーティクルセパレーターで調査した TMR の飼料片粒度割合は、切断長の違いによりパーティクルセパレーターの上段及び中段に差が認められ、飼料イネ WCS の切断長を1.5cmとした発酵 TMR は、大粒子の割合が少なかった。泌乳試験における乾物摂取量は、有意差は認められなかったが、分娩前後とも1.5cmの TMR が多い傾向にあった。乳量には有意差は認められなかった。一方、乳タンパク質率は、分娩後3週で1.5cmの TMR で有意に高かった ($P < 0.05$)。以上のことから、切断長の短い1.5cmの TMR では、粗飼料乾物摂取量当りあるいは飼料イネ乾物摂取量当りの咀嚼時間が短く、乾物摂取量を増加させる傾向にあり、泌乳前期牛における40kg/日程度の乳量を維持し、乳タンパク質率を改善する効果があると考えられた。

I 緒言

粗飼料の切断長が長い場合や混合程度が不十分な場合、選択摂取（選び食い）が生じやすく、濃厚飼料に偏重した飼料の摂取により乳牛の消化が阻害され安定した乳生産ができないことが懸念される。逆に、TMR 混合機を長時間攪拌した場合、粗飼料の繊維形状が損なわれ、生産や生理に影響する可能性が考えられる。

筆者らは、泌乳前期の乳牛において、乾物摂取量を確保し、乳量を維持向上できる TMR 中の飼料イネ WCS の乾物混合割合は分娩後10週程度までは25%とすべきであり、分娩後10週以降は乾物摂取量が回復することから30%でも問題は認められないことを明らかにした⁶⁾。こうした中で、泌乳最盛期の乳牛に養分充足させ、泌乳量を確保するためには、より多くの TMR を摂取させる必要があり、粗飼料の切断長が短い場合に摂取量が改善すること¹⁰⁾が知られている。

そこで、飼料イネ切断効果を確認するために、乾物混合割合を20%とした飼料イネ WCS の切断長を

1.5cm 及び4.5cm に変えることで飼料片粒度割合の異なる発酵 TMR を調製し、これら TMR を乾乳期（分娩前1ヶ月）から泌乳前期（分娩～分娩後3ヶ月）の乳牛6頭に給与し、乾物摂取量、泌乳成績及び咀嚼行動に及ぼす影響を検討する。

II 試験方法

1 供試材料

黄熟期の飼料イネ「クサノホシ」を収穫後、フォーレーハーベスタで1.5cm及び4.5cmに設定した切断長で細断し、細断型ロールペーラに投入しロール成形した。粗飼料乾物混合割合は32.3%（飼料イネ WCS 20.1%、アルファルファ乾草12.2%）で、発酵 TMR を2区（1.5cm TMR 区及び4.5cm TMR 区）調製した（表1）。なお、TMR 構成飼料原料の投入順序と原物混合重量を表2に示した。それぞれの TMR の混合時間は20分間とし、TMR 調製後の貯蔵期間は30日間とした。

2 供試牛及び方法、調査項目

1) 試験1：嗜好性と採食性調査

泌乳試験に先立ち、貯蔵期間（0日及び30日）と切断長（1.5cm及び4.5cm）が発酵品質、嗜好性と採食性に及ぼす影響についてTMR4区で調査した。発酵品質は、pH、乳酸、低級脂肪酸（VFA）、アンモニアについて調査し、V-Scoreを算出した¹⁰⁾。また、The Pennsylvania State University 考案のパーティクルセパレーターにより飼料粒度割合を調査した³⁾。

嗜好性と採食性については、TMR 摂取未経験の乳牛6頭を用い調査した。調査はそれぞれの泌乳試験に用いる発酵TMR(表2)原物50kg/日・頭を給与し、1期2日間ごと4期、計8日間のラテン方格法⁸⁾で実施した。嗜好性はそれぞれの調査期初日の給与開始直後45分間の乾物摂取量を、採食性は2日間の乾物摂取量を調査した。

飼料粒度割合は、TMR原物250gを供試し調査した。飼料粒度で4段階に選別した飼料を重量測定

した。

2) 試験2：泌乳試験

泌乳試験は、前産次の305日乳量が概ね等しくなるように、各区3頭計6頭の乳牛を配置した。分娩前4週～分娩後14週にわたり、乾物摂取量、泌乳成績及び咀嚼行動に及ぼす影響について一元配置法⁸⁾で調査した。発酵TMRは分娩前4週から給与し、自由摂取させた。なお、分娩後の乳量の増加に伴う必要養分量の調整は、配合飼料をトップドレッシングで追加給与した。乾物摂取量は、給与量から残飼量を差し引いて求めた。乳成分は毎週朝夕を1単位としてサンプリングし調査した。第一胃内容液は、分娩後1, 2, 3, 6, 8, 12週に採取し、pH、低級脂肪酸割合を調査した。第一胃内容液は、ルーメンカテーターを供試牛の口から第一胃内に挿入し300mlを吸引採取した。採取した第一胃内容液は二重ガーゼでろ過し、pH測定後、100mlをサンプリングし微生物の活性を止めるため飽和塩化水銀1mlを添加した。これらサンプルは第一胃内低級脂肪酸（VFA）組成

表1 供試発酵TMRの養分含量（乾物%）

	1.5cmTMR	4.5cmTMR
飼料イネWCSの切断長 (cm)	1.5	4.5
粗飼料割合 (乾物%)		32.3
飼料イネWCS		20.1
アルファルファ乾草		12.2
乾物		60.1
CP (粗タンパク質)		16.3
DIP (分解性タンパク質)		8.7
TDN (可消化養分総量)		73.4
NDF (中性デタージェント繊維)		33.0
NFC (非繊維性炭水化物)		38.2

表2 TMR構成飼料原料の投入順序と原物重量

投入順序	飼料種別	飼料原料	原物重量 (kg)	備考
1	サイレージ	飼料イネWCS (黄熟)	580	1~3を投入して2分間 予備混合
2	乾草	アルファルファ① (開花) 乾草	180	
3	製造粕類	ビール粕 (脱水)	245	
4	穀物飼料	トウモロコシ (圧ペン)	200	
4	穀物飼料	大豆 (乾熱処理)	60	
4	製造粕類	ミカン皮	30	
5	ヌカ類	フスマ	100	
5	穀物飼料	大麦 (圧ペン)	200	
6	油粕類	大豆粕	35	
6	油粕類	綿実	70	
6	製造粕類	ビートパルプ	80	
6	製造粕類	コーングルテンフィード	60	
6	製造粕類	コーングルテンミール	25	
6	ミネラル	第三リン酸カルシウム	5	
6	ミネラル	炭酸カルシウム	5	
7	製造粕類	糖蜜	50	1~6を投入後、7を投入 しながら20分間攪拌
7	その他	水	320	
	合計		2245	

注) 投入順序同一番号は投入が同時

糖蜜はあらかじめ水と混合したものを注入

表3 切断長の異なる発酵TMRの発酵品質

	1.5cmTMR	4.5cmTMR
pH	5.01	4.93
原物中 (%)		
乳酸	0.70	0.59
酢酸	0.17	0.14
プロピオン酸	0.00	0.00
酪酸	0.04	0.03
アンモニア	0.03	0.04
V-Score	96.2	97.7

発酵TMR調製後30日以降の20サンプルの平均

表4 切断長および貯蔵期間が及ぼす摂取量への効果

	切断長		貯蔵期間		SEM	切断長× 貯蔵期間
	1.5cm	4.5cm	0日	30日		
45分間乾物摂取量 (kg)	6.1	5.38	6.28 ^a	5.2 ^b	0.27	ns
採食速度 (g/分)	136	120	140 ^a	116 ^b	6.0	ns
乾物摂取量 (kg/日)	25.95 ^a	24.57 ^b	25.2	25.33	0.36	ns

異符号間に有意差 (ab : P<0.05)

SEM : 標準誤差

表5 パーティクルセパレーターによるTMRの粒度割合(原物%)

粒度区分	切片サイズ(cm)	1.5cm TMR	4.5cmTMR	SEM
Upper	1.91<	6.1 ^b	17.5 ^a	0.3
Middle	0.79-1.91	24.2 ^a	13.2 ^b	0.2
Lower	0.18-0.79	55.1	54.7	0.3
Bottom Pan	<0.18	14.7	14.5	0.1

異符号間に有意差 (ab : P<0.05)

SEM : 標準誤差

分析まで-20℃で凍結保存した。VFA は、ガスクロマトグラフィ (日立, G-3000) で内部標準液に 2-エチル酪酸を用いて測定した。咀嚼行動は、供試牛全頭に咀嚼歪みを計測するセンサーを取り付けた革製頭絡を用い、分後後 90 日目から 5 日間連続調査した⁵⁾。体重は毎週 10 時 30 分に測定した。

III 結果及び考察

1 試験 1 : 嗜好性と採食性調査

1) 発酵品質

冬期において、調製貯蔵後 30 日以降の発酵 TMR の発酵品質では、いずれの TMR も pH が 5.0 前後、V-Score は 96~98 点程度であり、差は認められなかった (表 3)。

2) 切断長と貯蔵期間が嗜好性、採食性に及ぼす影響

表 4 に、切断長と貯蔵期間が摂取量へ及ぼす効果について示した。

貯蔵期間において、45 分間調査 (嗜好性調査) では、0 日の TMR の乾物摂取量が有意に高かった (P<0.05) が、2 日間調査 (採食性調査) では、乾

物摂取量に差が認められなかった。一方、切断長において、嗜好性調査では、乾物摂取量に差は認められなかったが、採食性調査では 1.5cmTMR 区が有意に高かった (P<0.05)。

以上のことから、貯蔵期間においては、45 分間調査で 0 日の方が乾物摂取量、採食速度が優れていたものの、2 日間調査の乾物摂取量には差が認められなかった。一方、より現実の摂取量に近いと考えられる 2 日間調査で、切断長の短い 1.5cmTMR 区の摂取量が有意に多かった (P<0.05) ことから、長期にわたる給与の場合、切断長は乾物摂取量の増加に寄与する可能性が大きいと考えられた。

3) パーティクルセパレーターによる飼料片粒度

表 5 にパーティクルセパレーターによる TMR の飼料片粒度分布を示した。パーティクルセパレーターで調査した 1.5cmTMR 区の飼料片粒度割合は、4.5cmTMR 区より、パーティクルセパレーターの上段 (1.91cm 以上) の割合が減少し、中段 (0.79~1.91 cm) の割合が増加した (P<0.05)。切断長の違いは上段及び中段における飼料片粒度割合に影響したが、下段及び受け皿の粒度には影響しなかった。

2 試験2：泌乳試験

1) 乾物摂取量

泌乳試験における、乾物摂取量の推移を図1に示した。乾物摂取量は分娩前から分娩後6週程度まで1.5cmTMR区が多い傾向であったが統計的な差は認められなかった。

試験1の乳牛6頭を用いた採食性調査では、切断長の短い1.5cmTMR区の摂取量が有意に高く($P<0.05$)、パーティクルセパレーターによる飼料片粒度割合は、1.5cmTMR区が、4.5cmTMR区に比較し、上段(1.91 cm以上)の割合が有意に少なかった($P<0.05$)ことから、この割合違いが乾物摂取量に影響を与えたと考えられた。このことから、長期の給与においても摂取量増加に寄与するものと推察したが有意差は認められなかった。

2) 乳量

乳量の推移を図2に示した。乾物摂取量と同様に、分娩後6週程度まで1.5cmTMR区が多い傾向であったが、差は認められなかった。

一方、飼料効率(発酵TMRの摂取乾物kg当りの乳量)を計算すると、分娩後6週程度まで、4.5cmTMR区が高く推移した。乾物摂取量は4.5cmTMR区が低い傾向にあるものの、切断長が長いことから採食時における嚥下抵抗が大きくなり、咀嚼の昂進により子実の破碎が促され、栄養的な損失が軽減された⁴⁾可能性が考えられた。新出ら⁴⁾は、3cm前後の切断長であれば乾物摂取量の抑制を是正でき、子実排せつ率が低下することを示しており、1.5cmTMR区に観察された栄養的損失は飼料イネWCSの切断長を3.0cm程度にすることで改善できるものと推察される。

3) 乳成分

乳成分の推移を図3~5に示した。乳脂率は差が認められなかった。一方、エネルギー摂取量と関係の深い乳タンパク質率は、1.5cmTMR区が分娩後3週に有意に高く($P<0.05$)、切断長が短い場合、乾物摂取量が多い傾向にありエネルギー摂取量も多かったと考えられた。

切断長の短い飼料イネWCSの給与では、子実排せつ率が高くなる問題があり、栄養的損失は大きくなる⁴⁾が、4.5cmTMR区は乾物摂取量が低い傾向にあり、乳量や乳タンパク質率が抑制されていることから、養分摂取量が制限されたと考えられた。

4) 乳汁中尿素窒素量

乳汁中尿素窒素量の推移を図6に示した。乳汁中尿素窒素量には差が認められなかった。

5) 体重推移

分娩前後の体重の推移を図7に示した。体重は差

が認められなかったが、体重低下の程度は4.5cmTMR区に比較し1.5cmTMR区は小さい傾向にあり、乾物摂取量が多い傾向にあったためと考えられた。

6) 第一胃内容液性状

第一胃内容液性状を表6に示した。第一胃内容液のpH値は差が認められなかった。また、低級脂肪酸生成量にも、差が認められなかった。

7) 咀嚼行動

咀嚼行動の結果を表7に示した。総採食時間は1.5cmTMR区が長い傾向にあった。乾物摂取量が多い傾向にあったためと考えられたが、差は認められなかった。また、総反芻時間には差が認められなかった。

粗飼料価指数(RVI)(分/kg)⁷⁾は1.5cmTMR区が短い傾向にあり、咀嚼時間/粗飼料乾物摂取量(分/kg)、咀嚼時間/飼料イネ乾物摂取量(分/kg)は1.5cmTMR区が有意に短かった($P<0.05$)。これは、切断長が影響したと考えられた。

反芻時間は、飼料のNDF含量と正の相関があり、第一胃内の繊維量の増加により反芻時間は増加することが報告されている。⁹⁾しかし、本試験では、発酵TMR中のNDF含量は差がないが粗飼料乾物摂取量当りあるいは飼料イネ乾物摂取量当りの咀嚼時間は、4.5cmTMR区で長かった。このことは、咀嚼時間は繊維含量だけで決定されるものでなく、切断長にも影響を受けることを示している。

咀嚼の程度は飼料の摩砕程度と関係があり、第一胃から下部消化管へ流出可能な飼料粒子サイズにするための時間に差が生じ、飼料の微細化が進むほど、第一胃内の固形物の滞留時間は短縮し飼料の下部消化管への流れが速くなる^{1,2)}ことが示されている。飼料イネWCSの切断長を1.5cmとした発酵TMRは、飼料片粒度割合では大粒子割合が少なく、粗飼料乾物摂取量当りあるいは飼料イネ乾物摂取量当りの咀嚼時間を短縮させ、乾物摂取量の増加傾向に寄与し、このことが泌乳前期の乳タンパク質率を改善したと考えられる。

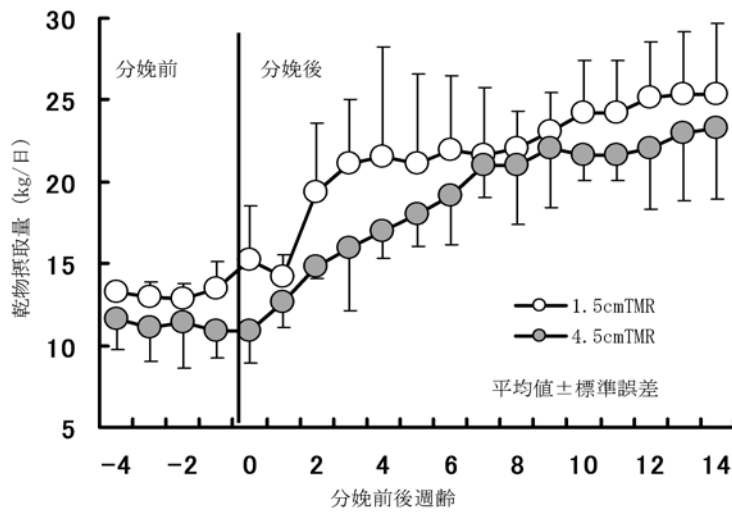


図1 乾物摂取量の推移

注) 分娩週を0週齢とした

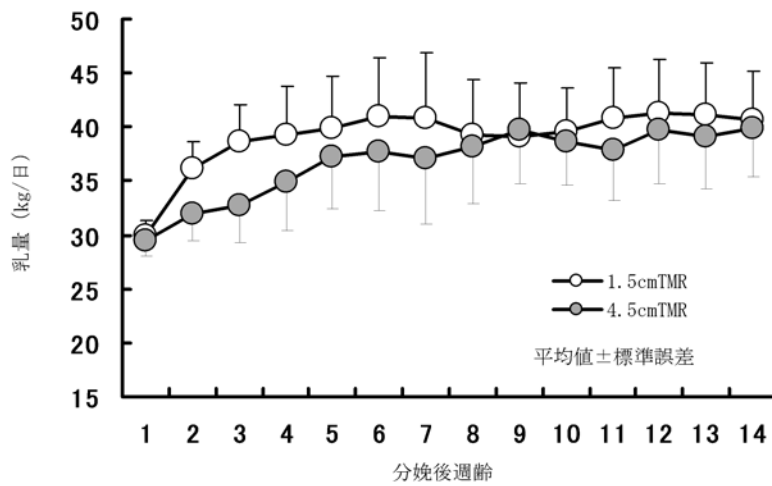


図2 乳量の推移

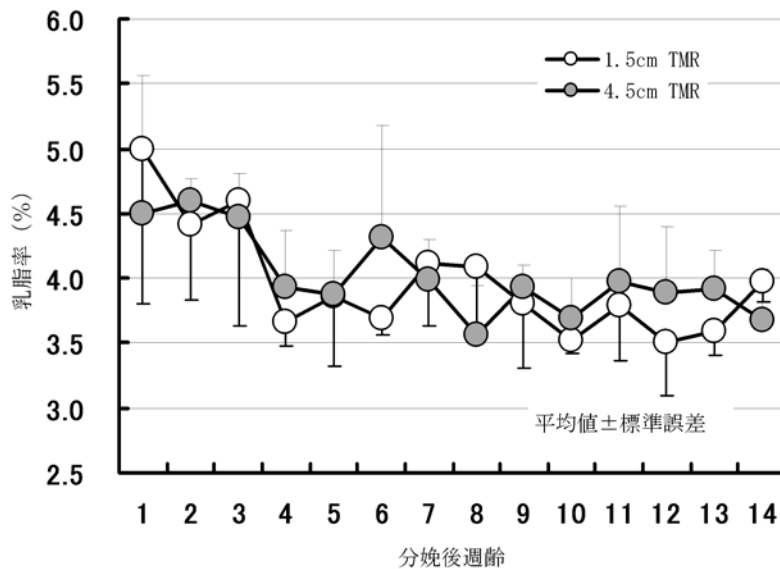


図3 乳脂率の推移

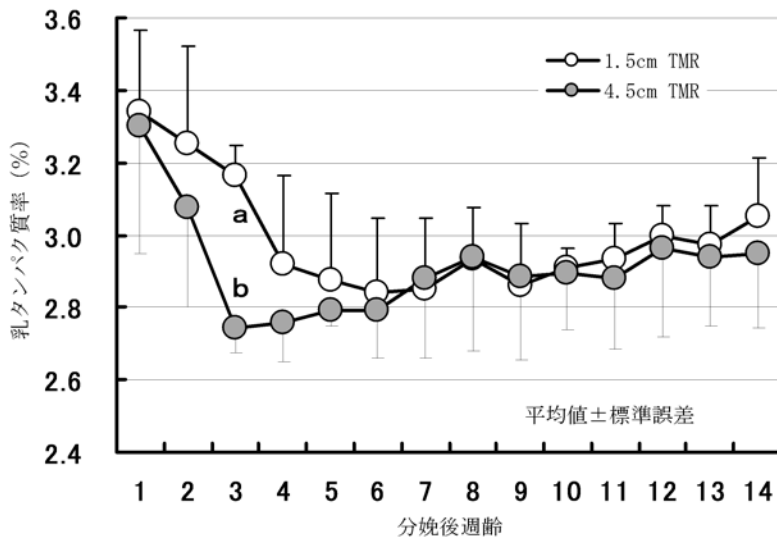


図4 乳タンパク質率の推移
異符号間に有意差 (ab : P<0.05)

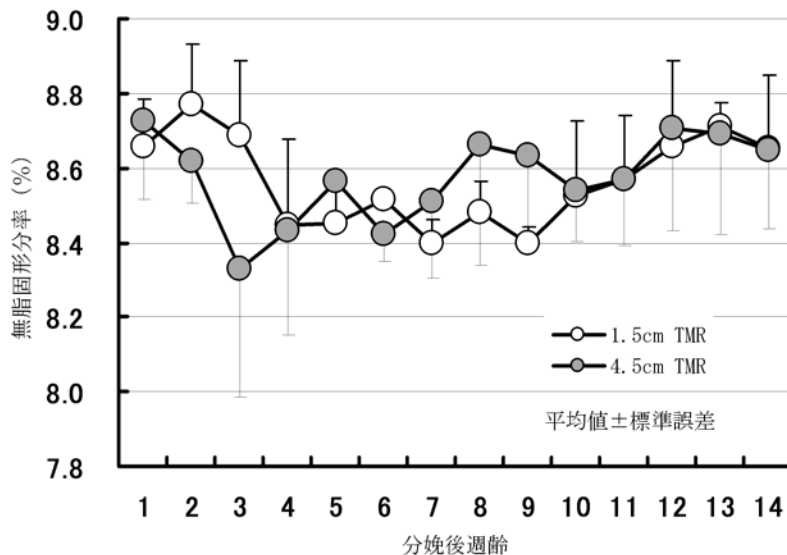


図5 無脂固形分率の推移

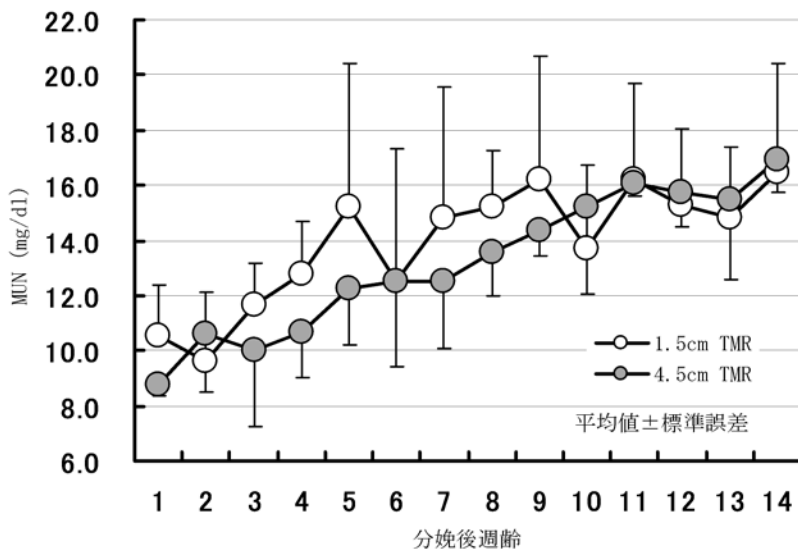


図6 乳汁中尿素窒素 (MUN) 値の推移

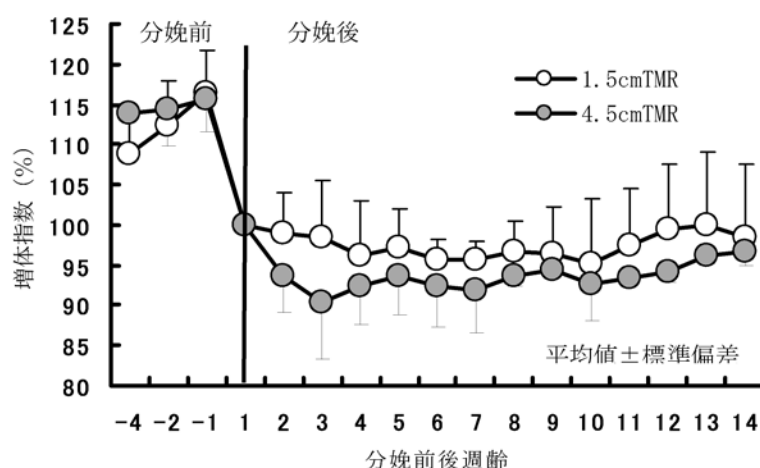


図7 分娩前後の増体指数の推移
分娩後1週の体重を100としたときの推移

表6 第一胃内容液性状

		分娩後週齢					
		1	2	3	6	8	12
pH	1.5cmTMR	6.57	6.52	6.66	6.58	6.67	6.54
	4.5cmTMR	6.32	6.69	6.62	6.72	6.68	6.53
酢酸 (mM)	1.5cmTMR	77.2	130.9	141.6	114.4	105.0	197.6
	4.5cmTMR	117.8	107.2	82.6	139.0	146.1	204.8
プロピオン酸 (mM)	1.5cmTMR	27.6	53.1	55.3	46.3	28.9	64.8
	4.5cmTMR	32.8	39.8	24.1	54.1	42.7	66.0
酪酸 (mM)	1.5cmTMR	13.6	25.4	28.4	20.6	21.3	35.4
	4.5cmTMR	21.6	20.6	14.7	24.2	27.9	33.4
総酸量 (mM)	1.5cmTMR	120.9	214.3	230.2	184.7	158.1	303.8
	4.5cmTMR	175.6	170.9	123.8	222.0	221.4	310.2

表7 各TMR給与におけるそしゃく行動

		1.5cmTMR	4.5cmTMR	SEM
総採食時間	(分/日)	416.4	360.6	57.9
総反芻時間	(分/日)	421.3	423.4	44.4
総そしゃく時間	(分/日)	837.7	784.0	91.7
採食速度	(g/分)	64.0	62.7	4.4
反芻回数	(回/日)	14.3	15.6	0.9
1反芻期持続時間	(分/期)	29.8	27.5	4.0
反芻期吐出回数	(回/期)	37.2	36.0	4.8
1吐出そしゃく回数	(回/吐出)	55.4	51.4	3.3
RVI	(分/kg)	32.2	35.0	1.0
そしゃく時間/粗飼料kg	(分/kg)	112.0 ^b	128.0 ^a	3.6
そしゃく時間/飼料イネkg	(分/kg)	180.5 ^b	206.5 ^a	14.2

RVI: 粗飼料価指数 (そしゃく時間/乾物摂取量)
異符号間に有意差 (ab: P<0.05)

引用文献

- 1) Jaster, E. H and M. R. Murphy. : Effects of varying particle size of forage on digestion and chewing behavior of dairy heifers. J. Dairy. Sci. 66 ., 802~810P, 1983.
- 2) Martz, F. A and R. L. Belyea. : Role of particle size and forage quality in digestion and bycattle and sheep. J. Dairy Sci. 69., 1996~2008P, 1986.
- 3) Particle Size Analysis :
<http://www.das.psu.edu/dairynutrition/forages/particle/>
- 4) 新出昭吾, 岩水正 : 飼料イネホールクロップサイレージの切断長の違いが子実排せつに及ぼす影響, 広島県立総合技術研究所畜産技術センター研究報告第15号, 9~13P, 2008.
- 5) 新出昭吾, 河野幸雄 : 電気歪み値による咀嚼行動の自動判定, 関西畜産学会報 155, 23~28P, 2004.
- 6) 新出昭吾, 大坂隆志 : 泌乳前期における混合飼料中の稲発酵粗飼料の混合割合は25%程度が適正, 近畿中国四国地域における新技術第5号, 114~117P, 2005.
- 7) Sudweeks, E. M., L. O. Ely, D. R. Mertens and L. Sisk. : Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diet: Roughage value index system. J. Anim. Sci. 53 ., 1406~1411P, 1981.
- 8) 吉田実 : 畜産を中心とする実験計画法, 477P, 養賢堂, 東京, 1983.
- 9) Welch, J. G. and Smith, A. M. . : Forage quantity and rumination time in cattle. J. Dairy. Sci. 53., 799~800P, 1970.
- 10) 全国飼料増産行動会議・日本草地畜産種子協会 : 稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル. 日本草地畜産種子協会, 東京, 136P, 2006.

遺伝子型を活用した「広島牛」育種手法の確立に関する研究

Studies for establishment of the breeding system used
DNA genotyping in "Hiroshima-gyu"

今井佳積 井原紗弥香* 松重忠美** 渡邊敏夫*** 杉本喜憲***

要 約

広島牛の産肉性に関わる遺伝子を解明し、新しい育種手法を確立するために、本県種雄牛「宮島」と去勢産子 518 頭の DNA を用いて肉質関連遺伝子座領域を探索した。常染色体 29 本全域を網羅するマイクロサテライトマーカーの DNA 型判定を行い、親から子に伝わったハプロタイプと産子の枝肉成績との関連性を調査する QTL 解析を実施した結果、枝肉重量 1 箇所、脂肪交雑 (BMS) 2 箇所遺伝子の存在が強く示唆される領域を検出した ($p < 0.001$)。各領域で親から受け継いだハプロタイプ別に産子を分けて枝肉成績の平均値を比較したところ、枝肉重量ではプラス効果をもたらす型を受け継いだ牛群と受け継いでいない牛群の平均値の差は 20.8kg ($p < 0.0001$)、脂肪交雑では両群の差は 0.7 ($p < 0.0001$) および 0.9 ($p < 0.0001$) であった。さらに、BMS の 2 つの領域でプラス効果をもたらす型を受け継いだ牛群は、いずれも受け継いでいない牛群と比較して BMS が 1.4 上回る ($p < 0.00001$) ことが判明した。以上の結果、目的形質の遺伝子座領域を探索するための DNA 解析技術を用いることにより、広島牛および全国の牛の遺伝子情報を従来の「育種価」評価に加えた、新しい育種改良手法確立への可能性が示唆された。

I 緒言

近年の分子遺伝学研究的進展に伴い、牛、豚、鶏などの家畜でもゲノム地図の作成が急速に進んでいる。特に、遺伝子探索の新たなツールとして、染色体上に多数存在するマイクロサテライト (CA リピート部分) の開発が精力的に行われてきた。このマイクロサテライトの位置をゲノム地図に示すことで、これを指標 (マイクロサテライトマーカー; 以下 MS マーカー) として任意の形質の責任遺伝子探索が可能になってきた。この MS マーカーの大量開発⁶⁾などを経て、ウシについては 2006 年 8 月に全ゲノム配列が公開された。染色体上の正確な位置情報を持つ MS マーカーを用いて、目的形質の遺伝子座領域 (QTL) を検出し、該当領域でその形質にプラス効果をもたらすマーカー型 (CA リピート長) を検査すれば、このマーカー型情報から QTL 保有状況が判明するため、効率的で精度の高い育種改良が可能となる。このような遺伝子情報を従来の「育種価評価」に加えた新たな育種手法の確立が期待されている。

ウシでは 1990 年頃から、乳牛の生産形質にかかわる遺伝子や肉用種の産肉性に関する遺伝子の探索が海外で行われてきた^{1,2)}が、黒毛和種に関する遺伝子の研究は日本国内でも殆ど例がなく、病気や産肉性

に関連する遺伝子の情報が不足していた。そのため、1995 年から、ウシゲノム地図上の MS マーカーを用いた黒毛和種における遺伝性疾患や産肉形質に関わる遺伝子の同定と、遺伝子情報を用いた新たな黒毛和種育種手法の確立を目標に、(社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所 (以下動物遺伝研究所) が国、道県の研究機関および (社)家畜改良事業団との共同研究を実施している。これまでに、地図上に 4,000 箇所以上配置する MS マーカーの型を効率的に判定する手法⁵⁾や、目的形質遺伝子座と連鎖した MS マーカーを検出するための連鎖解析プログラム³⁾について研究を行い、2000 年には和牛の遺伝病として問題視されていた腎尿細管形成不全症の責任遺伝子クローニン (CL) 16 の同定および診断方法の確立に成功している^{6,9)}。

本県でも、遺伝子情報を用いた新たな育種手法の確立に向けてこの共同研究に参画し、広島牛における肉質関連遺伝子座領域の特定と、MS マーカーを用いた育種の実用化を目指している。本研究では、1995 年度広島県選抜種雄牛「宮島」号とその産子からなる父方半きょうだい大家系で、親から子に伝わったマーカー型と産子の枝肉成績との関連性について調査することにより、広島牛の産肉形質に関わる遺伝子座領域を探索した。

*広島県立総合技術研究所保健環境センター、**広島県北部畜産事務所、***社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所

II 試験方法

1 材料

本実験では本県種雄牛「宮島」号と、血統情報と枝肉成績が確実に追跡できる県内肥育農家、JA管轄肥育センター、企業牧場及び広島市食肉市場枝肉共進会などで収集した「宮島」号去勢産子518頭とで構成した父方半きょうだい大家系を用いた。遺伝子座領域探索の対象形質は、枝肉重量と、(社)日本食肉格付協会が示す肉質評価項目のうち歩留率、ロース芯面積および脂肪交雑評点(BMS-No.)で計4項目とした。

血液から白血球を分離し、Proteinase-K(Wako Chemical)で一晩酵素処理した後、フェノール・クロロホルム処理とエタノール沈殿処理をおこなってDNAを抽出・精製し、20ng/ μ lに濃度調整したものをPCRに供した。

2 マーカー型判定

最初に、種雄牛「宮島」号について、ウシゲノム地図⁶⁾の1~29番の常染色体上のMSマーカー(2005年現在3,800個配置)1,221個で型判定を実施し、約600個のヘテロ型マーカーを選別した。このうち、29本の常染色体全域で均等に情報が得られるよう、296個を1次スクリーニング用マーカーとして配置し、去勢産子95頭のマーカー型を判定し、QTL解析を実施した。

判定方法は既報に準じ⁵⁾、DNA20ng、プライマー各6.25pmol、MgCl₂1.67mM、各dNTPs0.2mMとTaq DNA polymerase(ABgene, Epsom, U.K.)0.375unitを含む15 μ l反応液を用いて該当箇所を増幅した。PCR反応は、サーマルサイクラー(TaKaRa PCR Thermal Cycler MP; Model TP-3000)を用い、94°Cで4分間の熱変性後、94°C30秒、55°Cまたは60°Cで30秒、72°C30秒を30サイクル、72°Cで5分の伸長反応を行って終了した。得られたPCR産物はDNAシーケンサー(ABI Prism 377XL; Applied Biosystems)で

電気泳動処理し、GENESCAN672とGenotyper(Applied Biosystems)でデータ解析しマーカー型を判定した。このマーカー型と枝肉成績を、線形回帰を用いた統計処理法によるQTL解析プログラム^{3,16)}に供した。

この結果、遺伝子座領域説明の対象4形質とも遺伝子座の存在を示唆する領域を検出した。このうち広島牛の改良目標形質である脂肪交雑と枝肉重量の検

この連鎖解析で、各産子が父親の持つ2つのマーカー型のどちらを受け継いだかが判明した。通常は双方が均等に産子に伝わるが、一方に大きく偏って伝わっているマーカーは削除し、削除したマーカーの近傍にある「宮島」号ヘテロ型マーカーをあらたに判定して、最終的に染色体番号1番で29個、23番で16個、25番で14個のマーカーの型判定データでQTL解析を実施した。

3 QTL解析および統計処理

マーカー型と枝肉成績データを用いたQTL解析はすべて、インターバルマッピング法に基づくQTL解析プログラム^{3,16)}を父方半きょうだい用に作成して実施した。1次および2次スクリーニング後の連鎖解析でマッピングされたQTL領域における父親(種雄牛「宮島」号)のハプロタイプ(相同染色体上のマーカー型の組み合わせ)を確定し、産子518頭について各ハプロタイプの保有状況を調査した。親から受け継いだハプロタイプが確定している産子をタイプ別に群分けし、各群の表現型値の差の検定を分散分析およびt検定により実施した。

III 結果

1 「宮島」大家系去勢産子518頭の産肉形質について

本研究に用いた「宮島」号去勢産子計518頭の枝肉重量、歩留率、ロース芯面積およびBMS-No.は表1のとおりであった。BMS-No.は平均値4.5が示すように、4を中心とする分布であった(図1)。

表1 「宮島」大家系去勢産子518頭の産肉形質

	枝肉重量 (kg)	枝肉歩留 (%)	ロース芯面積 (cm ²)	脂肪交雑 (BMS-No.)
平均±S.D.	448.7±51.9	73.4±1.5	55.5±7.1	4.5±1.7

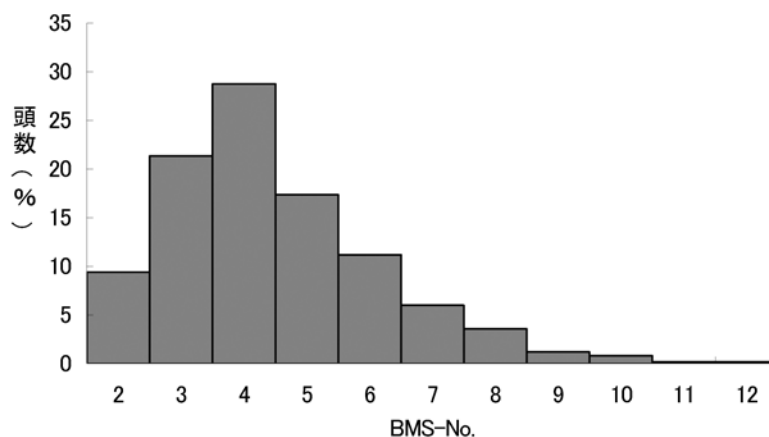


図1 「宮島」大家系去勢産子 518 頭の BMS-No. の分布

表2 「宮島」におけるMSマーカーの型判定結果

	染色体 1 本平均	総数
型判定実施マーカー数	42	1, 221
型判明マーカー数	38	1, 091
ホモ判明マーカー数	14	413
1次スクリーニング用マーカー数	10	296

2 「宮島」ヘテロ型マーカーの配置

家系の父である「宮島」号で、ウシゲノム地図の常染色体 1~29 番の MS マーカー 1,221 個で型判定した結果、678 個でヘテロ型であることが判明した。これらのうち、1 次スクリーニング用マーカーとして、29 本の常染色体全域をカバーするように 1 染色体当たり 10 マーカー程度配置した。平均マーカー間隔は 11.8cM であった (表 2)。

3 去勢産子 518 頭のマーカー型判定

1) 1 次スクリーニング

産子 95 頭分のサンプルで型判定を行い、QTL 解析

を実施した結果、BMS-No. 2 ヶ所 ($p < 0.05$)、枝肉重量 1 ヶ所 ($p < 0.01$)、歩留 4 ヶ所 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) 及びロース芯面積 2 ヶ所 ($p < 0.05$) で形質との関連性が示唆される染色体を検出した。

2) 2 次スクリーニング

1 次スクリーニングで遺伝子の存在が示唆された 8 箇所の染色体領域のうち、広島県で改良目標の主要 2 形質の脂肪交雑と枝肉重量で検出された染色体領域 (1, 23, 25 番染色体) について、「宮島」号で未判定の MS マーカーでヘテロ型を検索した。新たに検出したヘテロ型マーカーについてサンプルを 220 頭分に増やして型判定を実施し、同様の QTL 解析を行った結果、いずれの領域も継続して遺伝子の存在が示唆された ($p < 0.001$) (表 3)。

表3 去勢産子220頭によるQTL解析の結果

染色体番号	マーカー数	形質	有意水準	遺伝子座領域
1	16	脂肪交雑	$p < 0.001$	112-148cM
23	13	枝肉重量	$p < 0.001$	48-58cM
25	10	脂肪交雑	$p < 0.001$	41-70cM

(40)

このため、さらに新規に探索した「宮島」号のヘテロ型マーカーを用い、産子を518頭に増やして型判定を実施し、QTL解析を継続した結果、1番染色体ではBMSに関わる領域で引き続き遺伝子の存在が示唆された(図2)とともに、新たにロース芯面積と連鎖する領

域を検出した。23番染色体の枝肉重量の関連領域(図4)と25番染色体のBMS関連領域(図3)はそれぞれ、遺伝子座領域の存在がさらに強く示唆された。また、25番染色体であらたにロース芯面積と歩留にかかわる遺伝子座領域を検出した。

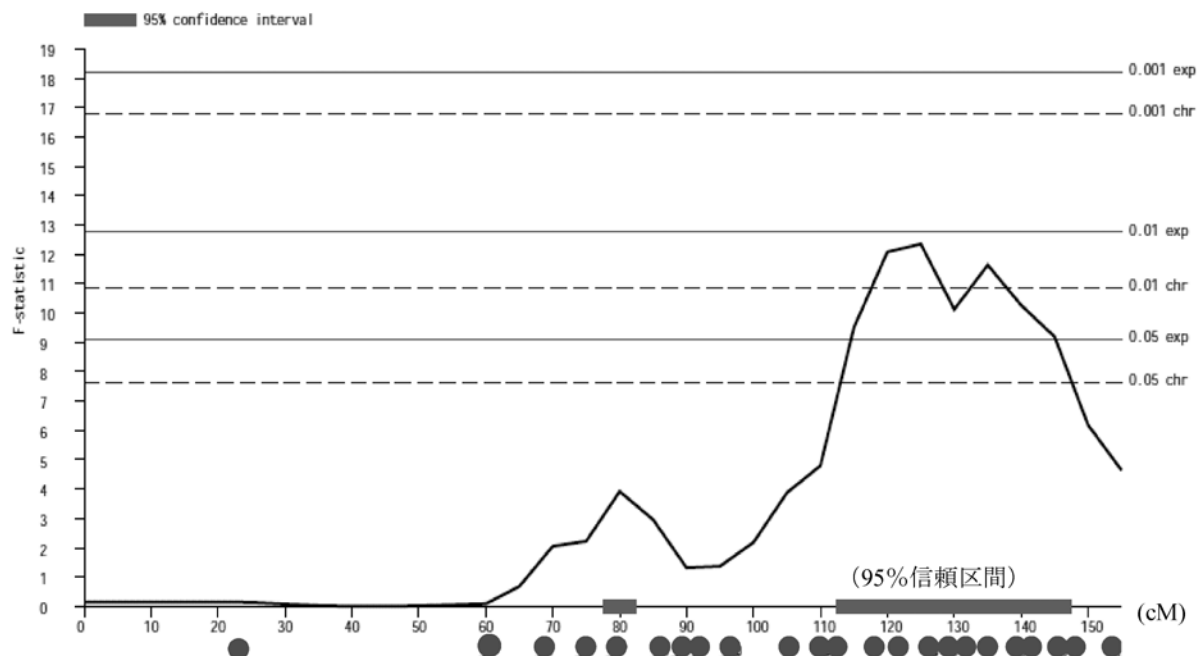


図2 1番染色体に検出された脂肪交雑評点(BMS-No.)関連遺伝子座領域
(●は使用したマーカーの位置)

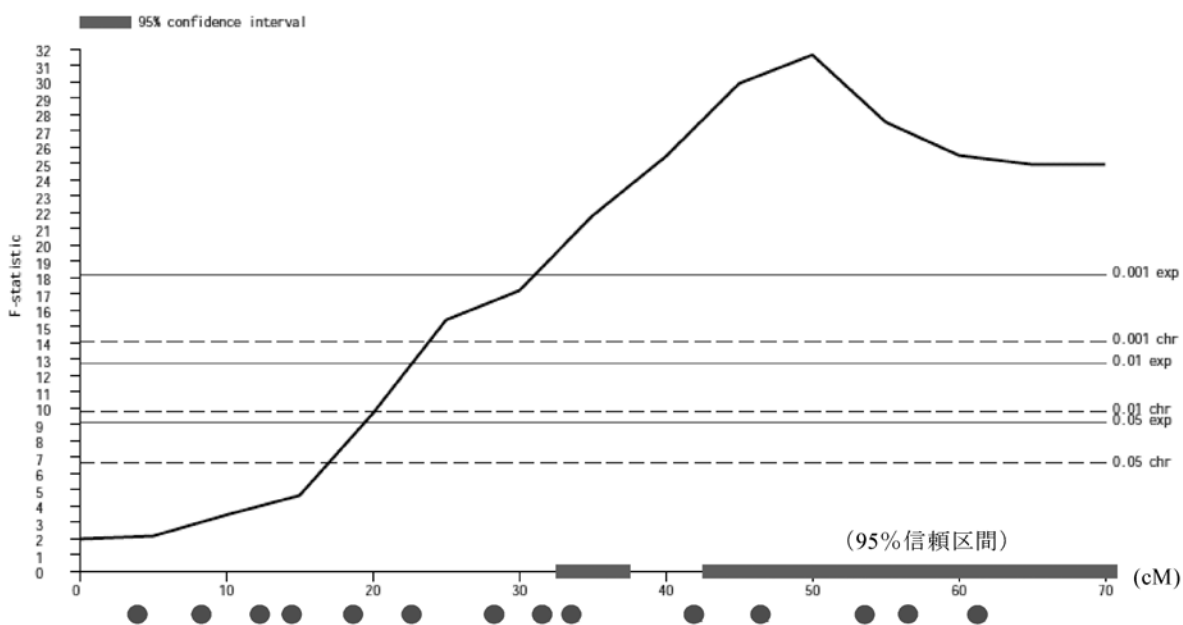


図3 25番染色体に検出された脂肪交雑評点(BMS-No.)関連遺伝子座領域
(●は使用したマーカーの位置)

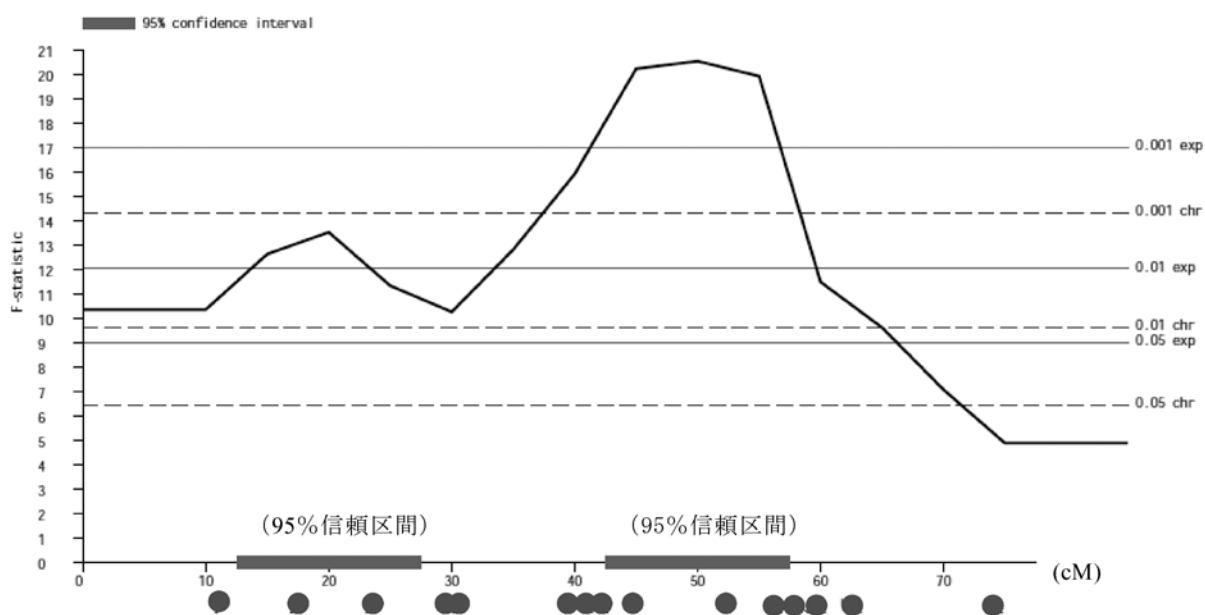


図4 23番染色体に検出された枝肉重量関連遺伝子座領域 (●は使用したマーカーの位置)

3) 「宮島」号ハプロタイプ別産子群の枝肉形質の比較

今回検出した産肉形質に関わる6つの遺伝子座領域について、それぞれ父「宮島」号から伝わったハプロタイプ別に518頭の産子を群分けし、対象形質の成績の平均値が高い群のハプロタイプをQ型、低い群のハプロタイプをq型として、牛群の枝肉成績をそれぞれの領域で比較した。1番染色体のBMS検出領域では、Q型牛群とq型牛群の平均BMS-No.の差は0.7 (p<0.0005)、25番のBMS検出領域では、Q群とq群の差は0.9

(p<0.00001)であった。23番の枝肉重量検出領域ではQ群とq群の差は20.8kg (p<0.00005)、25番の歩留形質検出領域では、平均歩留の差は0.4ポイント (p<0.005)、1番のロース芯面積検出領域では平均ロース芯面積の差は1.7 cm² (p<0.05)、25番のロース芯面積検出領域では平均ロース芯面積の差は2.0cm² (p<0.001)であった(表4)。2つの遺伝子座領域(1番, 25番染色体)を検出したBMSについては、さらに各ハプロタイプの

表4 去勢産子518頭によるQTL解析の結果

形質	染色体番号	領域 (cM) (領域内マーカー数)	Q群の 平均値	q群の 平均値
脂肪交雑 (BMS-No.)	1	112-148 (4)	4.8 ^A (n=195)	4.1 ^B (n=195)
	25	33以降 (7)	4.9 ^A (n=186)	4.0 ^B (n=192)
枝肉重量 (kg)	23	40-58 (7)	461.4kg ^A (n=199)	440.6kg ^B (n=210)
歩留 (%)	25	22-53 (7)	73.6% ^A (n=173)	73.2% ^B (n=181)
ロース芯面積 (cm ²)	1	60-80 (4)	56.5cm ² ^a (n=164)	54.8cm ² ^b (n=175)
	25	30-60 (8)	56.6cm ² ^A (n=200)	54.6cm ² ^B (n=201)

(異符号間に有意差あり ab:p<0.05, AB:p<0.001)

表5 1番染色体と25番染色体のハプロタイプ組合せ別BMS-No.

遺伝子型	対象個体数 (頭)	脂肪交雑 (BMS-No.)
Q1Q25	85	5.19 ^A
Q1q25	68	4.19 ^{Ba}
q1Q25	68	4.39 ^{Ba}
q1q25	77	3.76 ^{Bb}

(異符号間に有意差あり AB:p<0.01, ab; p<0.05)

組み合わせによって産子を4つのグループ(Q1Q25, Q1q25, q1Q25, q1q25)に分けてBMS-No.の群平均値を比較した。Q1Q25群は、q1q25群と比較して、BMS-Noが1.4 (p<0.00001)高かった(表5)。

IV 考察

今回実施した肉質関連遺伝子座領域の探索は、動物遺伝研究所を中心とする全国的な共同研究の中で行った。この共同研究で確立した、MSマーカーを解析ツールとする新たな遺伝子探索手法を用い、共同研究参画機関其々、県有あるいは民間の種雄牛とその産子数百頭からなる「父方半きょうだい大家系」を用い、MSマーカーを用いて産肉形質や遺伝病に関わる遺伝子座領域を探索してきた。本県では1996年から、種雄牛「宝栄2」号とその去勢産子去勢169頭の大家系を用いて広島牛における産肉形質関連遺伝子座の探索を行い、BMSに関わる遺伝子座領域を検出した。親から子に伝わったハプロタイプと産肉性との関連性を調査した結果、ハプロタイプによって産子のBMS-No.に1.0の差が見られた^{7,8)}。また、本県と同様に地域の代表的種雄牛とその産子の大家系を用いて産肉性に関わる遺伝子座領域を探索し、枝肉重量に関わる遺伝子座領域を検出した溝下ら¹⁴⁾は、同系統の一般肥育牛でハプロタイプの効果検証を試み、優良ハプロタイプの有無が枝肉重量の分布と一致していたことから、このようなハプロタイプが産肉形質における優良遺伝子型の情報として改良に貢献しうる可能性を示唆している。そこで、これまでの研究で本県でも確立したDNA解析技術を用いて、さらに信頼性の高い遺伝子座領域を解明し、得られた遺伝子情報を優良牛選抜に活用することを目的として、当時最も多く供用されていた種雄牛「宮島」号とその去勢産子518頭の大家系で広島牛の遺伝子探索に取り組んだ。

本研究の結果、前回の研究での「宝栄2」号で検

出した領域とは異なる位置で、信頼性の高いBMS関連遺伝子座領域を2箇所検出した。また、遺伝子座領域探索の対象形質であった枝肉重量、歩留率、ロース芯面積についても同様に、信頼性の高い遺伝子座領域を検出した。さらに、各検出領域で親から子に伝わったハプロタイプと産肉性との関連性を調査した結果、いずれもハプロタイプによって産子の枝肉成績に差が認められ、2箇所の領域を検出したBMSでは、ともに優良型を受け継いだ集団の平均BMS-No.5.2に対し、いずれの優良型も持たない集団の平均BMS-No.は3.8と、2つの優良型の相加的な効果が観察された。これらの結果からこのようなハプロタイプを優良遺伝子型の情報として広島牛改良の場に活用し、産肉能力を推定することが可能となると考えられた。

他県の研究機関でも、地元産種雄牛の産肉形質遺伝子座領域を探索し、信頼性の高い産肉形質関連遺伝子座領域を検出したという報告や、該当領域のハプロタイプによって産肉性に差がある事を示唆した研究報告が近年多く見られる^{10,11,14,15)}。本県では現在、優良遺伝子型として利用可能なハプロタイプを判定するための10個程度のマーカーを各領域別に選定して、優良牛選抜に活用するための遺伝子型判定システムの整備を進めている。他県でも同様に、優良形質を導くハプロタイプを選抜基準に取り入れ始めており、遺伝子情報を用いた育種改良が全国的な広がりを見せている。また、動物遺伝研究所では、共同研究で検出した遺伝子座領域をとりまとめる中で^{18,19)}、複数の大家系解析で検出され、遺伝子が存在する可能性の高い染色体領域を詳細に解析し^{12,13)}、黒毛和種における、枝肉重量や脂肪交雑形質を左右する遺伝子を同定する作業を進めている¹⁷⁾。本県でも、これまでの共同研究で得られた遺伝子情報とともに、今後新たに解明される黒毛和種の遺伝子情報も順次広島牛改良に取り入れ、活用していくことが可能である。

以上の研究成果は、目的形質の遺伝子座領域を探索する新たな技術が確立したと同時に、広島牛育種改良において従来の「育種価」評価に黒毛和種の産肉形質に関わる遺伝子情報を加えた、新しい能力評価が可能となることを示唆している。遺伝的能力の高い個体を交配して次世代の候補牛を生産し、さらに優良遺伝子型を複数受け継いだ個体を選抜するなど、DNA解析技術と遺伝子情報を積極的に活用することで、効率的で精度の高い、確実な育種改良が実現すると考えている。

引用文献

- 1) Casas, E., Keele, J. W., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Stone, R. T. : Identification of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Animal Genetics*, 35, 2-6, 2004
- 2) Grisart, B., Coppieters, W., Farnir, F., Karim, L., Ford, C. et al. : Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.*, 12, 222-231, 2002
- 3) Haley, C. S., Knott, S. A., Elsen, J. M. : Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics*, 136(3), 1195-1207, 1994
- 4) Hirano, T., Nakane, S., Mizoshita, K., Yamakuchi, H., Inoue-Murayama, Watanabe, T., W Barendse, and Sugimoto, Y. : Characterization of 42 highly polymorphic bovine microsatellite markers. *Anim. Genet.*, 27, 365-368, 1996
- 5) Hirano, T., Kobayashi, N., Itoh, T., Takasuga, A., Nakamaru, T., Hirotsune, T., and Sugimoto, Y. : Null Mutation of PCLN-1/Claudin-16 Results in Bovine Chronic Interstitial Nephritis. *Genome Research*, 10, 659-663, 2000
- 6) Ihara, N., Takasuga, A., Mizoshita, K., Takeda, H., Sugimoto, M., Mizoguchi, Y., Hirano, T., Itoh, T., Watanabe, T., Reed, K. M., Snelling, W. M., Kappes, S. M., Beattie, C. W., Bennett, G. L., Sugimoto, Y. : A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome Res.* 14(10A), 1987-1998, 2004
- 7) Imai, K., Ihara, N., Watanabe, T., Tsuji, S., Fukuma, T., Osaki, Y., Ogata, Y., Matsushige, T., Sugimoto, Y. : QTL for beef marbling mapped on BTA 9 and BTA 14 in a paternal half-sib family from purebred Japanese Black cattle (Hiroshima-gyu) population. 29th International Conference on Animal Genetics, F047. Tokyo, Japan, Sept 11-16, 2004
- 8) Imai, K., Matsushige, T., Watanabe, T., Sugimoto, Y., Ihara, N. : Mapping of a quantitative trait locus for beef marbling on bovine chromosome 9 in purebred Japanese black cattle. *Animal Biotechnology*, 18, 75-80, 2007
- 9) Kobayashi, N., Hirano, T., Maruyama, S., Matsuno, H., K Mukoujima, K., Morimoto, H., Noike, H., Tomimatsu, H., Hara, K., Itoh, T., Imakawa, K., Nakayama, H., Nakamaru, T., Sugimoto, Y. : Genetic mapping of a locus associated with bovine chronic interstitial nephritis to chromosome 1. *Animal Genetics*, 31, 91-95, 2000.
- 10) 小林直彦・平野貴・加藤誠二・傍島秀雄・林登・平尾一平・大谷健・杉本善憲 : DNA情報を利用した飛騨牛の育種改良手法の確立に関する研究(第2報), 岐阜県畜産研究所研究報告, 4, 19-24, 2004
- 11) 小林直彦・平野貴・加藤誠二・傍島秀雄・林登・平尾一平・大谷健・杉本善憲 : DNA情報を利用した飛騨牛の育種改良手法の確立に関する研究(第3報), 岐阜県畜産研究所研究報告, 6, 1-9, 2006
- 12) Mizoguchi, Y., Watanabe, T., Fujikawa, K., Iwamoto, E., Sugimoto, Y. : Mapping of quantitative trait loci for carcass traits in a Japanese Black (Wagyu) cattle population. *Anim. Genet.*, 37(1), 51-54, 2006
- 13) Mizoshita, K., Watanabe, T., Hayashi, H., Kubota, C., Yamakuchi, H., Todoroki, J., Sugimoto, Y. : Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *J. Anim. Sci.* 82(12):3415-3420, 2004
- 14) 溝下和則・原一夫・西浩二・山口浩・窪田力・轟木淳一・杉本善憲・田原則雄. 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索(第2報). 鹿児島県肉用牛改良研究所報告, 5, 31-34, 2000
- 15) 溝下和則・西浩二・林史弘・窪田力・山口浩・杉本善憲・轟木淳一. 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索(第5報). 鹿児島県肉用牛改良研究所報告, 8, 9-11, 2003
- 16) Seaton, G., Haley, C. S., Knott, S. A., Kearsley, M., Visscher, P. M. : QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. *Bioinformatics*. 18(2), 339-340, 2002
- 17) Setoguchi, K., Furuta, M., Hirano, T., Nagao, T., Watanabe, T., Sugimoto, Y. and Takasuga, A. :

(44)

Cross-breed comparisons identified a critical 591-kb region for bovine carcass weight QTL (CW-2) on chromosome 6 and the Ile-442-Met substitution in NCAPG as a positional candidate. *BMC Genetics*, 10:43, 2009

- 18) Takasuga, A., Watanabe, T., Mizoguchi, Y., Hirano, T., Ihara, N., Takano, A., Yokouchi, K., Fujikawa, A., Chiba, K., Kobayashi, N., Tatsuda, K., Oe, T., Furukawa-Kuroiwa, M., Nishimura-Abe, A., Fujita, T., Inoue, K., Mizoshita, K., Ogino, K., Sugimoto, Y. : Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping. *Mamm Genome*. 18, 125-136, 2007
- 19) Watanabe, T., Takasuga, A., Mizoguchi, Y., Hirano, T., Ihara, N., Takano, A., Yokouchi, K., Fujikawa, A., Chiba, K., Kobayashi, N., Tatsuda, K., Oe, T., Furukawa, M., Nishimura-Abe, A., Imai, K., Fujita, T., Nagai, S., Inoue, K., Mizoshita, K., Ogino, A., Sugimoto, Y. : A comprehensive QTL mapping of Japanese Black cattle (Wagyu). 29th International Conference on Animal Genetics, Tokyo, Japan, Sept 11-16, F042, 2004

核移植に用いるレシピエント卵子の保存方法の検討

Examination of preservation method of recipient cytoplasm used for nuclear transfer

日高健雅 谷本陽子* 福馬敬紘 井原紗弥香** 今井佳積

尾形康弘*** 松重忠美****

要 約

ウシ未受精卵子の凍結保存方法の確立を目的に、マイクロドロップレット法によるガラス化保存方法を用い、最適な保存時期及び凍結前処理液の処理時間を検討した。

ガラス化保存前後の除核率及び単為発生胚の発生率には保存時期による差は無かったが、核移植胚の胚盤胞発生率は、活性化処理後に保存した Post-Act 区 37.3% (22/59) が、活性化処理前に保存した Pre-Act 区 14.3% (6/43) よりも有意に高かった。

また、凍結前処理液への浸漬時間は 5 分より 2 分の保存性が良い傾向を示した。

以上のことから、核移植用レシピエント卵子は除核、活性化処理後にガラス化保存すること及び凍結前処理液への浸漬は 2 分が適当であると思われた。

I 緒言

ウシ未受精卵子の保存技術は、体外受精胚の作出や核移植の作業効率の向上のために重要である。Whittingham²³⁾がマウスにおいて凍結未受精卵子由来の産子を得て以来、ヒト¹⁾やウサギ²⁾においても未受精卵子の凍結保存の成功例が報告されている。ウシでは Fuku ら⁵⁾、Otoi ら¹⁴⁾が緩慢凍結法で凍結した未受精卵子由来の産子を得たと報告しているが、凍結融解後の生存率や体外受精後の発生率は極めて低く、改善が必要である。

ウシ未受精卵子の凍結保存が困難な要因の 1 つとして、卵子の低温感受性が極めて高いことが指摘されている¹⁸⁾。近年、オープンプルドストロー (Open Pulled Straw: OPS)²²⁾ やゲルローディングチップ²⁰⁾、今回用いたマイクロドロップレット¹⁶⁾ など、高濃度の耐凍剤を添加した微量の溶液で急速に冷却を行うことで低温障害を最小限に抑えることができるガラス化法がウシ未受精卵子の保存に有効であるという報告や、ガラス化保存した卵子から産子が得られた¹⁵⁾ という報告がなされ、著者らも、マイクロドロップレット法が核移植レシピエント卵子の保存に適用可能であることを報告している¹²⁾。

しかし、既報では成熟培養後の卵子を保存した例

が多く、核移植用レシピエント卵子として活性化処理後等に保存した例³⁾は少ない。そこで、ウシ未受精卵子を活性化処理の前後にガラス化保存し、レシピエント卵子の最適な保存時期及びマイクロドロップレット法の処理時間の検討を行った。

II 材料と方法

1 未成熟卵子の採取

牛卵子の採取は、生体卵巣からの経膈採卵と、と体卵巣からの吸引採取により行った。

経膈採卵は、経膈穿刺用 7.5MHz コンベックス探触子 (アロカ社 UHT-9106-7.5)、超音波画像診断装置 (アロカ社 SSD-1200) 及び穿刺針 (ミサワ社, COVA) を用いて行った。回収液は乳酸加リンゲル 1,000ml に 3ml の牛胎仔血清 (FCS) と 90 ユニットのヘパリン Na を添加したものをを用い、吸引圧は 100mmHg により、未成熟卵子の採取を行った。未成熟卵子は注射器 (注射針: 21G) を用い、と体卵巣に存在する直径 7mm 以下の卵胞から卵胞液と共に吸引採取した。採取したウシ未成熟卵子は、卵丘細胞の付着度及び卵子の形態的観察により品質が良いものから A~E ランクに分別し、卵細胞質が均一な B ランク以上の卵子を試験に供した。未成熟卵子のラ

*広島県西部厚生環境事務所呉支所, **広島県立総合技術研究所保健環境センター, ***広島県立総合技術研究所, ****広島県北部畜産事務所

(46)

ンクは、卵丘細胞が3層以上または透明帯周囲全体に付着しているものをAランク、卵丘細胞が2層以上付着しているものをBランク、卵丘細胞が1層または透明帯周囲に1/3以上付着しているものをCランク、卵丘細胞が膨化しているか蜘蛛の巣状に変性しているものをDランク、裸化卵子をEランクに区別した。

2 体外成熟、体外受精及び体外培養

採取した未成熟卵子は10%FCS, 50ng/ml 上皮成長因子(EGF), 0.12a.u./ml 卵胞刺激ホルモン(FSH)添加TCM199培地にて5%O₂・95%air条件下で22~24時間成熟培養を行った。

体外受精は常法に従い⁷⁾凍結精液を融解後、6.0×10⁶個/mlの精子濃度で6時間媒精を行った。

体外培養は、媒精後72時間までは3mg/ml BSA添加mSOF培地にて5%O₂, 5%CO₂, 90%N₂, 38.5℃の気相条件下で、72時間以降は10%FCS添加mSOF培地にて5%CO₂, 95%air, 38.5℃の気相条件下でVero細胞との共培養⁸⁾を行った。

3 核移植用レシピエント卵子の作出、核移植、細胞融合

核移植は以下のとおり行った。成熟培養終了後、0.1%ヒアルロニダーゼ、0.1%コラゲナーゼ添加M2液中でピペッティングにより顆粒層細胞を除去し、囲卵腔内に第一極体を放出した成熟卵子のみを以降の実験に供した。

除核はマイクロマニピュレーターを用いて透明帯にスリットを形成し、極体を目印にした細胞質押し出し法により行った²⁰⁾。

除核卵子はカルシウムイオノフォア10μMとイノシトール3リン酸25μg/mlで5分間処理した後、ピューロマイシン100μg/mlと牛血清アルブミン(BSA)3mg/mlを添加したCR1aa培地で6時間培養する複合活性化処理を施した。除核卵子に、ドナー細胞をマイクロマニピュレーターを用いて挿入後、チンマーマン氏液中にて交流8.5V/mm 5sec, 直流75V/mm 50μsec×2回の電気パルスを加えることにより細胞融合を行った。核移植に用いたドナー細胞は、黒毛和種及びホルスタイン種由来の受精後5日目の桑実期胚を用いた。

体外培養は、細胞融合処理後72時間目までは3mg/ml BSA添加CR1aa培地にて、5%O₂・5%CO₂・90%N₂・38.5℃の条件下で、72時間目以降は10%FCS添加CR1aa培地にてVero細胞との共培養を行った。

4 マイクロドロプレット法によるウシ卵子のガラス化保存・融解

活性化処理前後のウシ未受精卵子を10%エチレングリコール, 1.0M シュクロース, 20%FCSを添加したTCM199培地中で2分または5分間平衡した後、30%エチレングリコール, 20%FCSを添加したM2培地で30秒以内に3回以上洗浄し、ピペットを用いて5μl前後のドロップとして液体室素上に滴下した。ドロップは10秒程度液体室素上を浮遊したのち、液体室素内に沈下した。

融解は、0.3M シュクロース, 20%FCSを添加したM2培地に38.5℃の条件下でドロップを直接投入して、2分間保持させ、その後20%FCSを添加したTCM199培地にて38.5℃の条件下で洗浄した。

5 ウシ卵子の単為活性化処理

ウシ卵子を成熟培養後にカルシウムイオノフォア10μMとイノシトール3リン酸25μg/mlで5分間処理した後、ピューロマイシン100μg/mlとサイトカラシンD2.5μg/ml及びウシ血清アルブミン(BSA)3mg/mlを添加したCR1aa培地で6時間培養し、更にチンマーマン氏液中にて交流8.5V/mm 5sec, 直流75V/mm 50μsec×2回の電気パルスを加えることにより複合単為活性化処理を行った。

6 除核率の調査

ガラス化保存前後の卵子から顕微鏡下で極体を目印にした細胞質押し出し法により細胞核を除去し、ヘキスト染色後、蛍光顕微鏡下の目視検査により核の有無を判定し、除核率を求めた。

7 胚盤胞の構成細胞調査

7日目に胚盤胞に発育したのものについて、単為発生胚はヘキスト染色による総細胞数を、核移植胚はIwasakiら¹¹⁾の方法に準じて2重蛍光染色による分染により内細胞塊細胞数と栄養膜細胞数をカウントした。

8 試験内容

1) レシピエント卵子の保存適期の検討

核移植に用いるレシピエント卵子のマイクロドロプレット法によるガラス化保存に適した処理時期を検討するため、ガラス化保存を除核・活性化処理前に行うPre-Act区と、処理後に行うPost-Act区を

設け、融解後の単為発生または核移植による胚盤胞発生率を調査した。

2) ガラス化保存前処理液の浸漬時間の検討

ウシ成熟卵子を活性化処理後にガラス化保存する場合の、エチレングリコール 10% 前処理液への浸漬時間を検討するため、浸漬時間を 2 分 (2min 区) 及び 5 分 (5min 区) とする試験区を設け、融解後の単為発生における胚盤胞発生率および細胞数を調査し、凍結していない単為発生胚 (対照区) の発生率と比較した。

III 結果

1 レシピエント卵子の保存適期の検討

1) ガラス化保存前後の除核率

除核前にガラス化保存した Pre-Act 区および除核後にガラス化保存した Post-Act 区の除核率はそれぞれ 90.9% (50/55), 94.1% (48/51) であり、両区間に有意な差は認められなかった。

2) ウシ未受精卵子の単為活性化処理成績および核移植成績

ガラス化保存したウシ未受精卵子による単為発生成績は、Pre-Act 区が活性化率 90.2% (55/61), 胚盤胞率 26.2% (16/61) で、Post-Act 区が活性化率 93.4% (57/61), 胚盤胞率 41.0% (25/61) で

Post-Act 区の発生率が高い傾向を示した (表 1)。

単為活性化処理後 7 日目に胚盤胞に発生した胚の総細胞数は Pre-Act 区で 67.4 ± 25.6 個, Post-Act 区で 85.9 ± 32.0 個であった。

ガラス化保存したレシピエント卵子による核移植成績は、Pre-Act 区で融合率 97.7% (42/43), 胚盤胞率 14.0% (6/43), Post-Act 区では、融合率 100% (59/59), 胚盤胞率 37.3% (22/59) と、Post-Act 区が有意に高い発生率を示した (表 2)。

核移植後 7 日目に胚盤胞に発生した胚の細胞構成は Pre-Act 区で内細胞塊細胞数 21.0 ± 12.0 個, 栄養膜細胞数 51.5 ± 13.6 個, Post-Act 区で内細胞塊細胞数 29.7 ± 15.0 個, 栄養膜細胞数 68.8 ± 27.5 個であった。

2 ガラス化保存前処理液の浸漬時間の検討

単為活性化処理による活性化率は 2min 区が 86.8% (46/53), 5min 区が 82.5% (47/57) であった。また胚盤胞発生率は 2min 区が 28.3% (15/53), 5min 区が 17.5% (10/57), 総細胞数は 2min 区が 44.1 ± 5.5 個, 5min 区が 39.2 ± 7.4 個であり、いずれも 2min 区の方が良い傾向を示した (表 3)。

表1 ガラス化保存した未受精卵子による単為発生胚の発生率

	供試胚数	活性化数 (%)	卵割数 (%)	8細胞数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
Pre-Act区	61	55 (90.2)	50 (82.2)	33 (54.1)	27 (44.3)	16 (26.2)
Post-Act区	61	57 (93.4)	53 (86.9)	42 (68.9)	35 (57.4)	25 (41.0)

表2 ガラス化保存したレシピエント卵子による核移植胚の発生率

	供試胚数	融合数 (%)	卵割数 (%)	8細胞数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
Pre-Act区	43	42 (97.7)	38 (88.4)	20 (46.5)	11 (25.6)	6 ^b (14.0)
Post-Act区	59	59 (100.0)	56 (94.9)	30 (50.8)	26 (44.1)	22 ^a (37.3)

異符号間に有意差 (ab:p<0.05)

表3 ガラス化保存した未受精卵子による単為発生胚の発生率

	供試胚数	活性化数 (%)	卵割数 (%)	8細胞数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
2min区	53	46 (86.8)	31 (58.5)	24 (45.3)	21 (39.6)	15 (28.3)
5min区	57	47 (82.5)	26 (45.6)	13 (22.8)	12 (21.2)	10 (17.5)
対照区	52	51 (98.1)	46 (88.5)	37 (71.2)	32 (61.5)	25 (48.1)

IV 考察

押し出し法²⁰⁾を用いた除核によりレシピエント卵子を作成する際、核は第一極体近辺の細胞質内に存在するため、第一極体を目印に除核作業を行うが、第一極体は長時間のボルテックス処理により移動することが報告されている¹⁾など、物理的刺激による除核精度の低下が懸念される。しかし、本研究で用いたガラス化保存処理においては、処理後の卵子における除核率は90.9%(50/55)で、無処理卵子の除核率94.1%(48/51)と有意な差は無く、除核率の低下は認められなかったことから、第一極体を放出した卵子をガラス化処理しても高い精度で除核が可能であることがわかった。

単為発生胚では、胚盤胞発生率および7日目胚盤胞の総細胞数は活性化処理後に保存したPost-Act区が活性化処理前に保存したPre-Act区よりも大きくなる傾向がみられ、核移植胚においても、胚盤胞発生率及び7日目胚盤胞の総細胞数はPost-Act区の方が、Pre-Act区よりも良好な成績を示した。

Kikuchi¹¹⁾らはブタ卵子において第2減数分裂中期(M2期)の卵子には大きな脂肪滴があり、精子侵入後、前核形成期になると脂質滴の大きさと数が減少し低温障害が生じにくくなることを報告している。

また、ウシについてもM2期の卵子は凍結すると紡錘体が障害を受け、前核形成不全となるという報告があるなど¹⁹⁾、M2期の凍結は障害を生じやすい可能性が高いと考えられる。本研究においてPre-Act区はM2期に凍結処理を行っており、Pre-Act区の成績が劣った結果は、M2期の凍結は障害を生じやすいとしたこれらの知見と一致している。

凍結融解における卵子への障害の一つに、細胞膜の変性があり、今回我々もレシピエント卵子の細胞膜変性による核移植時の融合率の低下などを懸念していた。Heyman⁶⁾らは、凍結保存・融解したウサギ卵子を用いて作成した核移植胚が、ドナー細胞とレシピエント卵子の細胞膜融合に問題なく桑実期胚ま

で発育することを報告している。また、斎藤¹⁷⁾らは凍結保存液への糖の添加が凍結融解刺激から細胞膜を保護することを報告している。本試験でも、凍結保存に高濃度のシュークロースを含むガラス化液を用いることで核移植におけるドナー細胞とレシピエント卵子の高率な融合率が得られており、この糖類の細胞膜保護効果により細胞膜変性を防止できたと考えられた。

M2期卵子は、MPF(M-phase promoting factor:M期促進因子)活性が高い状態で維持されているが、精子進入により卵細胞質内のカルシウム濃度が上昇することでMPFが不活化し、第二減数分裂が再開される¹⁰⁾。人為的にレシピエント卵子中のMPF活性を低下させることで、レシピエント卵子自体を活性化させ核移植した再構築胚の細胞分裂を再開させる。本研究における単為発生胚および核移植胚の活性化率は、いずれもPost-Act区およびPre-Act区の両区間に差は無かったことから、ガラス化保存の操作自体が、MPF活性の低下による卵子の活性化に及ぼす影響は無いと思われた。

ガラス化保存は、氷晶の形成を防ぎ、氷晶による細胞への物理的障害を低減できる有効性がある。一方で、ガラス化保存前処理液及びガラス化液には、氷晶形成を防ぐため高濃度の耐凍剤が含有されるため、長時間浸漬した場合の耐凍剤による細胞毒性が懸念される。小田らは、前処理液への浸漬時間1分間で良好な成績を得ており¹³⁾、耐凍剤への暴露時間を短くすることで毒性の影響を軽減できている。本試験の結果、単為発生胚の発生率及び胚盤胞期胚の総細胞数が、5min区に比べ2min区が良好であった。ガラス化処理する場合、前処理液への浸漬時間を2分で実施すれば、耐凍剤へ平衡でき、耐凍剤の毒性の影響が少ないことが判明した。

以上のことにより、核移植用レシピエント卵子の保存は、除核、活性化処理後に行い、ガラス化保存前処理液の浸漬時間は2分が適当であることが示唆された。

引用文献

- 1) Atabay, E. C., et. al. : Factors affecting enucleation rates of bovine and porcine oocytes after removal of cumulus cells by vortexing, *J. Reprod.*, 47, 365-371, 2001
- 2) Al-Hasani S et al. : Successful embryo transfer of cryopreserved and in-vitro fertilized rabbit oocytes. *Hum Reprod*, 4(1):77-79, 1989
- 3) Booth, P. J., et. al. : Full-Term Development of Nuclear Transfer Calves Produced from Open-Pulled Straw (OPS) Vitrified Cytoplasts: Work in Progress. *Theriogenology*, 51, 999-1006, 1999
- 4) Chen C: Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*, 1(8486):884-886, 1986
- 5) Fuku E et al. : In vitro fertilization and development of frozen-thawed bovine oocytes. *Cryobiology*, 29(4) : 485-92, 1992
- 6) Heyman, Y., et. al. : Cryopreservation of recipient oocytes for nuclear transfer in the rabbit species. *Proc CRYO-91*, 1991
- 7) 堀内俊孝 : 牛の体外受精マニュアル, 広島農業の研究, 26, 31-40, 1999
- 8) 今井 昭ほか : ウシ体外受精胚の Vero 細胞との共培養, 広島県獣医学会雑誌, 14, 32-35, 1999
- 9) Iwasaki, S. et. al. : Morphology and proportion of inner cell mass of bovine blastocysts in vitro and in vivo, *J. Reprod. Fert.* 90, 279-284, 1990
- 10) Jaffe, L. F. : The path of calcium in cytosolic calcium oscillations : A unifying hypothesis, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 88, 9883-9887, 1991
- 11) Kikuchi, K., et. al. : Morphological features of lipid droplet transition during porcine oocyte fertilisation and early embryonic development to blastocyst in vivo and in vitro, *Zygote.*, 10, 355-366, 2002
- 12) 尾形ら : マイクロドロプレット法で凍結保存した牛のレシピエント卵子による核移植成績, 広島県獣医学会雑誌, 15, 33-36, 2000
- 13) 小田ら : ウシバイオブシー胚のガラス化保存方法, 岡山総畜セ研報, 18, 20-23, 2009
- 14) Otoi T et. al. : Developmental capacity of bovine oocytes frozen in different cryoprotectants. *Theriogenology*, 40(4) : 801-807, 1993
- 15) Papis, K., et. al. : Factors affecting the survivability of bovine oocytes vitrified in droplets, *Theriogenology.*, 54, 651-685, 2000
- 16) Paris, K., et. al. : The effect of vitrification solution, equilibration time and direct dilution method on survivability of equilibrated or vitrified bovine in vitro matured oocytes, *Theriogenology.*, 43, 293, 1999
- 17) 齋藤美央ら. 牛胚凍結保存液に用いる添加剤の細胞膜保護効果の推定: 静畜研究報 24, 5-8, 1998
- 18) Shaw JM et al. : Fundamental cryobiology of mammalian oocytes and ovarian tissue. *Theriogenology*, 53(1):59-72, 2000
- 19) 志水 学 : 卵子・胚の培養と凍結保存, 研究ジャーナル, 21(9), 25-30, 1998
- 20) 高野ら : 核移植実験系における電気刺激時の温度条件の検討, 繁殖技術会誌, 13, 15-19, 1991
- 21) Tominaga, K., et. al. : Gel-Loading Tip as container for vitrification of in vitro-produced bovine embryos, *J Reprod and Dev.*, 47, 267-273, 2001
- 22) Vajata G et al. : Open pulled straw (OPS) vitrification: A new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 51: 53-58, 1998
- 23) Whittingham DG: Fertilization in vitro and development to term of unfertilized mouse oocytes previously stored at -196 degrees C. *J Reprod Fertil*, 49(1):89-94, 1977

ウシ体外受精胚のガラス化保存

Cryopreservation of in vitro-produced bovine embryos by vitrification

尾形康弘¹⁾・日高健雅¹⁾・松重忠美¹⁾・前田照夫²⁾

広島県獣医学会雑誌 第23号 27-31 (2008)

要約

ウシ体外受精胚は、体内受精胚と比較して凍結に対する感受性が高い。広く普及させるためには、胚の保存方法を改善する必要がある。従来の緩慢凍結法とガラス化法（マイクロドロップレット）で、ウシ体外受精由来胚盤胞期胚の保存・融解後の生存性や細胞数の変化及び受胎性を比較した。

ガラス化保存法の利用により、融解後の胚の生存性が高まった。融解後24時間目の総細胞数とそれを構成する内細胞塊及び栄養膜細胞ともにガラス化保存区の細胞数が増加した。胚の生存性と細胞数が増加したことにより、受胎性も大きく改善された。以上のことより、ウシ体外受精胚のマイクロドロップレット法による保存は十分実用化可能なことが示された。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島大学大学院生物圏科学研究科

黒毛和種牛群におけるミトコンドリアDNAの多様性

Diversity of mitochondrial DNA of Japanese black cattle

日高健雅¹⁾・福馬敬紘²⁾・井原紗弥香³⁾・松重忠美¹⁾・尾形康弘¹⁾

広島県獣医学会雑誌 第23号 33-36 (2008)

要約

レシピエント卵子のmtDNAがクローン牛へ及ぼす影響調査の一環で、県内和牛繁殖雌牛のmtDNAのタイプとその分布状況を調査した。市場出荷された黒毛和種牛350頭の血液を採材し、mtDNAのD-loop領域の解析とタイプ分けを行った。mtDNAのD-loop領域の塩基配列に44カ所の変異を認め、41種類のハプロタイプが判明した。このハプロタイプは6タイプに分けられ、タイプIが59.7% (209頭)と最も多く、タイプIIが10.6% (37頭)、タイプIIIが1.7% (6頭)、タイプIVが10.9% (38頭)、タイプVが10.3% (36頭)、タイプVIが6.9% (24頭)であった。タイプの分布割合は、他県と比較して異なり、県内においても地域差が認められた。mtDNAタイプの分布割合の違いが、地域の雌牛の特性に現れている可能性が示唆された。また、黒毛和種に複数のmtDNAタイプが確認されたことから、ドナー細胞とレシピエント細胞質のmtDNAタイプを揃えることにより、mtDNAタイプの相違によるクローン生産における異常を予防できる可能性が示唆された。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島県立総合技術研究所広島牛改良センター 3) 広島県立総合技術研究所保健環境センター

High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ustiloxin A in Forage Rice Silage

Shigeru MIYAZAKI¹⁾, Yuichi MATSUMOTO²⁾, Tsutomu UCHIHARA³⁾ and Kazuhide MORIMOTO⁴⁾
Journal of Veterinary Medical Science 71:239-241 (2009)

ABSTRACT

We describe a high-performance liquid chromatographic method for determining ustiloxin A, a mycotoxin produced by *Ustilaginoidea virens*, in forage rice silage. Lyophilized silage samples were ground and extracted with water. The extracts were purified by solid-phase extraction and subjected to high-performance liquid chromatography using an octadecylsilane-bonded column. Separated ustiloxin A was detected with ultraviolet (UV) absorption at 254 nm. The limit of quantitation for ustiloxin A in silage found to be 2.5 mg/kg. The present method can be used for routine monitoring of the contamination of ustiloxin A in forage rice silage.

1) (独)動物衛生研究所北海道支所 2) 福島県中央家保 3) 沖縄県中央家保 4) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター

Intramammary challenge of lipopolysaccharide stimulates secretion of lingual antimicrobial peptide into milk of dairy cows

N. Isobe,¹⁾ K. Morimoto²⁾, J. Nakamura¹⁾, A. Yamasaki¹⁾, and Y. Yoshimura¹⁾
Journal of Dairy Science 92:6046-6051 (2009)

ABSTRACT

Lingual antimicrobial peptide (LAP) belongs to the β -defensin family in cattle and is found in bovine milk. However, it is unclear whether LAP is involved in the early immune response to mammary infection. The aim of the study was to investigate the changes of LAP concentration in milk after intramammary challenge with lipopolysaccharide (LPS), the gram-negative bacteria cell membrane component, in dairy cows. Milk was collected before and after LPS or phosphate-buffered saline (control) challenge every hour for 12 h on d 0 and twice daily from d 1 to 7. Somatic cell count (SCC), LAP concentration, and lactoperoxidase (LPO) activity in the milk were measured. Somatic cell count started to increase at 2 h postchallenge and remained high until d 5 ($694 \pm 187 \times 10^3$ to $>1,000 \pm 0 \times 10^3$ cells/mL at d 0; $>1,000 \pm 0 \times 10^3$ cells/mL at d 1 to 3; $684 \pm 194 \times 10^3$ to $829 \pm 108 \times 10^3$ cells/mL at d 4; $527 \pm 197 \times 10^3$ to $656 \pm 145 \times 10^3$ cells/mL at d 5). Somatic cell count increased in the control cows, although the levels were lower compared with those in the LPS challenge group. The LAP concentration in milk increased significantly at 2 h post-LPS-challenge and was maintained at high levels until d 2 (8.6 ± 0.6 to 17.5 ± 2.3 nM). In the control cow infused with phosphate-buffered saline, there was no increase of LAP concentration in milk (5.1 ± 0.6 to 7.2 ± 0.8 nM). Increase of LPO activity in the milk was observed at 6 h after LPS challenge and continued until d 3 (4.7 ± 0.3 to 9.4 ± 1.1 U). No increase of LPO activity was observed in the milk of control cows. The increase and subsequent decrease in LAP concentration after LPS challenge occurred earlier than those of LPO activity. In multiparous cows with LPS infusion, there was a significantly negative relationship between the days leading to the basal levels in LAP concentration and LPO activity ($r = -0.75$). These results suggest that LPS induces secretion

of LAP into milk within hours and that LPO may have a synergistic antimicrobial function with LAP in mammary glands of dairy cows.

1) 広島大学大学院生物圏科学研究科 2) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター

下痢予防用大腸菌不活化ワクチンの接種による 乳房炎死廃事故低減効果

Effects of *Escherichia coli* inactivated vaccine inoculation for the prevention of diarrhea to reduce animal destruction and mortality due to mastitis

森本和秀¹⁾・清水 和²⁾・黒瀬智泰³⁾・中谷啓二⁴⁾・秋田真司⁵⁾・篠塚康典⁶⁾・磯部直樹⁷⁾

広島県獣医学会雑誌 第24号 5-9 (2009)

要 約

4戸の酪農家において、それぞれ半数の牛に下痢予防用大腸菌不活化ワクチン(大腸菌ワクチン)を接種し、接種牛133頭、対照牛140頭について乳房炎発生状況を調査した。接種牛には約1か月間隔で大腸菌不活化ワクチンを2回接種した。家畜診療所のカルテをもとに、乳房炎件数、甚急性乳房炎件数および乳房炎の転帰を調べた。最小二乗分散分析の結果、ワクチン接種の有無による乳房炎発生率の差はなかったが、乳房炎死廃率の最小二乗平均値は、接種牛8.5%、対照牛33.8%であり、有意差が認められた($p < 0.05$)。甚急性乳房炎の発生率にも差はなかったが、死廃率は接種牛27.3%、対照牛75.6%であり、有意差が認められた($p < 0.05$)。また、1戸について、ワクチン接種後5ヶ月間乳房炎乳を採取して細菌検査を行ったが、グラム陰性菌の分離率は接種牛と対照牛の間に差がなかった。大腸菌ワクチンの接種は乳房炎死廃事故を低減させることが示唆されたが、乳房炎発症予防効果は認められなかった。また、今回の成績から試算したワクチンの接種に伴う損益分岐点は、飼養頭数に対する年間死廃頭数割合0.6%であった。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島県東広島家畜保健衛生所 3) NOSAI 広島庄原家畜診療所
4) NOSAI 広島廿日市家畜診療所 5) NOSAI 広島東広島家畜診療所 6) NOSAI 広島山県家畜診療所 7) 広島大学大学院生物圏科学研究科

受精胚移植を目的とした発情同期化処置時の卵巣所見について

Ovarian findings after estrus synchronization treatment
for implantation of a fertilized embryo

尾形康弘¹⁾・日高健雅¹⁾・松重忠美¹⁾・磯部直樹²⁾・前田照夫²⁾

広島県獣医学会雑誌 第24号 11-15 (2009)

要 約

受精胚移植時の受胎率向上を目的として受胎牛の発情同期化処置とその特性について検討した。通常利用されている、PG 処置、オブシンク処置及びCIDR シンク処置の3種類で実験を行った。排卵前の卵胞の大きさ、排卵時期、形成された黄体の大きさ及び血漿中プロゲステロン濃度について測定した。排卵前の卵胞の大きさについては、卵胞波を制御した2区が数値的にはやや大きくなっては有意差はなかった。排卵時間については、PG 区は、GnRH 投与後30時間を中心として排卵が観察されたのに対し、オブシンク区は、GnRH 投与後24時間を中心として排卵が観察された。CIDR シンク区は、その中間の24~30時間後に排卵が集中していた。黄体面積については、排卵時間の早いオブシンク区が最も大きい傾向にあった。血漿中プロゲステロン濃度は、卵胞波制御の2区がPG 区よりも有意に高い値になっており、機能的な黄体形成がなされていた。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島大学大学院生物圏科学研究科

牛体外受精胚の移植適期について

Optimum implantation time of an *in-vitro* fertilized bovine embryo

日高健雅¹⁾・尾形康弘¹⁾・永井武史¹⁾・栗原順三²⁾・松重忠美¹⁾

広島県獣医学会雑誌 第24号 17-20 (2009)

要 約

体外受精胚の発生ステージと受胎牛の黄体日齢の同期化に着目して受胎率を調査した。供試胚は、体外受精胚及び体内受精胚を用いた。体外受精胚は、媒精後7日目の胚盤胞期胚を用い、新鮮胚及びガラス化保存胚を移植した。体内受精胚は、緩慢凍結保存胚を移植した。体外受精胚では、新鮮胚を移植した場合の受胎率は、発情後の移植日の違いによる差はなかったが、ガラス化保存した胚を移植した場合、8日目81.1%に対し7日目50.0%と8日目の受胎率が有意に高かった。体内受精胚の受胎率は、7日目60.7%、8日目56.2%と移植日の違いによる差は認められなかった。これらの結果から、受精胚の由来や処理の違いにより移植適期が異なると考えられた。また、体外受精胚移植には、発情後8日目の受胎牛が適していると考えられる。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島県福山家畜保健衛生所

下痢予防用牛大腸菌不活化ワクチンと

Escherichia coli J5 株の血清学的交差性の解析

Analysis of serological crossing between a bovine *Escherichia coli* inactivated vaccine for the prevention of diarrhea and an *Escherichia coli* J5 strain

森本和秀¹⁾・吉村知子¹⁾・大坂隆志¹⁾・長尾かおり²⁾・新出昭吾¹⁾・磯部直樹³⁾

広島県獣医学会雑誌 第24号 51-54 (2009)

要約

海外では大腸菌の変異株 (O111:B4, J5 株) を使用したワクチンが乳房炎予防に用いられている。今回われわれは、下痢予防用牛大腸菌ワクチン (大腸菌ワクチン) と J5 株について抗原性を比較したので報告する。

6 か月齢の子牛 2 頭を大腸菌ワクチンと J5 株でそれぞれ免疫し、採取したこれらの血清をドットプロット法、ELISA 法により検査した結果、両者に交差反応が認められた。また、乳用牛 20 頭を供試し、うち 10 頭に対し分娩 2 か月前と 1 か月前に大腸菌ワクチンを接種した。分娩予定日の 2, 1.5, 1, 0.5 ヶ月前、分娩直後、分娩後 0.5, 1, 1.5, 2, 3 ヶ月目に血清を採取した。ワクチン特異抗体価 (K99, FY, 31A)、抗 J5 抗体価は、ともにワクチン接種後に有意に上昇し、両者は正の相関を示した。これらのことから、大腸菌ワクチンと J5 株とが血清学的に交差反応を示すことが示唆された。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島県立総合技術研究所食品工業技術センター 3) 広島大学大学院生物圏科学研究科

乳牛における飼料イネ WCS 給与と課題

Feeding of rice whole crop silage for lactating dairy cow and the problem

新出 昭吾

日本草地学会誌 55 (4), 365-372 (2010)

要約

転作田を取り巻く耕畜連携の模索の中で、耐湿性に優れる飼料イネの栽培が拡大し、また、穀物や購入乾草の価格高騰という喫緊の課題の中で、地域で生産される安価で安定した品質の自給粗飼料として飼料イネホールクロップサイレージ (以下「イネ WCS」) の活用が求められ、泌乳牛に対する給与事例も増加してきた。しかし、給与現場では、イネ WCS は嗜好性は良いものの飼料全体の乾物摂取量が抑制される、子実が糞中に排せつされる、消化が悪く栄養価値が低い、あるいは、多量給与で乳量が低下するなどのマイナス評価もされており、乳牛への給与量が伸びない要因になっている。

そこで、イネ WCS の飼料特性と、泌乳前期、中期牛の乳量を維持・向上させるイネ WCS の給与割合や給与量についての研究成果と飼料イネ WCS を用いる場合の課題整理を行い、今後の飼料イネ利用に求められる項目を考察する。

広島県立総合技術研究所畜産技術センター

稲こうじ病罹病糶の給与が乳用種育成雌牛の成育に及ぼす影響

The Effect of Feeding False Smut Balls of Rice on Growth in Growing Dairy Cattle

森本 和秀¹⁾・吉村 知子²⁾・新出 昭吾¹⁾・宮崎 茂³⁾

関西畜産学会報 第166号 19-25 (2010)

要 約

稲こうじ病に罹病した飼料イネから調製した稲発酵粗飼料を牛に給与した場合の影響を確認するため、ウスチロキシンAの飼料イネ乾物中濃度が30 ppmに相当する量の罹病糶をホルスタイン種育成雌牛に給与する試験を実施した。今回設定した30 ppmというウスチロキシンA濃度は、1穂あたり平均2粒の病糶が発生した飼料イネから調製した稲発酵粗飼料中の濃度に相当する。稲こうじ病罹病糶を39日間給与したが、給与牛に臨床上的異常は認められず、飼料摂取量、1日あたり増体重量および尿所見に差は認められなかった。第一胃内容液pHおよび揮発性脂肪酸に占める酢酸の割合に差はなかったが、罹病糶投与牛は対照牛に比べてプロピオン酸の割合が有意に高く ($p < 0.05$)、酪酸の割合が有意に低かった ($p < 0.05$)。しかし、これらの差はわずかであった。以上のことから、ウスチロキシンA濃度が30 ppmに相当する量の稲こうじ病罹病糶を含む飼料イネから調製したサイレージをホルスタイン種育成雌牛に給与し続けても、その成育に及ぼす影響は小さいと考えられた。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) (独)動物衛生研究所北海道支所

泌乳最盛期のホルスタインからの体外受精胚生産

The Production of in-vitro fertilized embryos from Holstein cattle
in the early lactation period

尾形康弘¹⁾・日高健雅¹⁾・松重忠美¹⁾・前田照夫²⁾

広島県獣医学会雑誌 第25号 31-35 (2010)

要 約

泌乳最盛期の乳牛は、外部から投与したホルモンに対する反応性が低く、体内受精胚を生産することが困難である。そのため、未経産牛もしくは、乾乳期に体内受精胚を生産する方法が用いられている。

そこで、過剰排卵処置を必要としない経膈採卵・体外受精技術を利用し、分娩後40～80日の泌乳最盛期にあるホルスタイン種から体外受精胚を生産することで、分娩間隔を延長させることなく、1年1産の実現が可能な技術開発を行った。

体外受精胚の生産効率を向上させるために、卵巣内の卵胞数増加を目的として、経膈採卵48時間前に性腺刺激ホルモン放出ホルモン50 μ g/頭投与した。

平均卵胞数は、無処置区で16.7 \pm 1.4個 (72頭)、GnRH投与区で20.5 \pm 1.7個 (74頭)でGnRH投与区が多い傾向にあった。

平均採卵数は、無処置区で12.1 \pm 1.4個 (72頭)、GnRH投与区で16.1 \pm 1.7個 (74頭)でGnRH投与区が多い傾向にあった。

1回の経膈採卵・体外受精による胚盤胞期胚生産個数は、無処置区で1.8 \pm 0.3個、GnRH投与区で3.4 \pm 0.4個で有意に多くなった。

分娩後40～80日の泌乳最盛期のホルスタインでも、GnRHを前投与することで、卵巣内卵胞数、経膈採卵数、採取卵子の品質向上、体外受精後の胚発生率を改善することができ、後継牛も生産できることが確認された。

この方法の利用により、供卵牛の分娩間隔を延長させることなく、受精胚を確保することができる。

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島大学大学院生物圏科学研究科

Efficacy of enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine for bovine clinical mastitis

Kazuhide Morimoto¹⁾, Madoka Shimizu²⁾, Tomoyasu Kurose³⁾, Keiji Nakatani⁴⁾,
Shinji Shinozuka⁵⁾ and Naoki Isobe⁶⁾

Journal of Dairy Research 78:149-153 (2011)

ABSTRACT

An enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccine designed to prevent diarrhoea was inoculated into dairy cows, and the occurrence of clinical mastitis was investigated for 2 years. Half of 480 cows in five farms were subcutaneously inoculated with ETEC vaccine (Imocolibov) twice with a 1-month interval in 2007 and 2008. Fisher's exact test and survival (time to event) analysis with the log-rank test were used to compare vaccinates and controls. In 2007, there was no significant difference in the incidence rate of mastitis between vaccine (20.3%) and control (17.1%) cows. The rate of death or culling due to mastitis was lower in vaccinated cows (7.4%) than in control cows (29.2%, $P=0.07$, Fisher's exact test; $P=0.02$, log-rank test). In 2008, there was no significant difference in both the incidence rate of mastitis and the rate of death or culling due to mastitis. Milk productivity was compared between vaccinates and controls in one farm. Multi-way analysis of variance (ANOVA) was performed for the amount of 4% fat-corrected milk, and there was no significant difference between vaccinates and controls. These results suggest that ETEC vaccine inoculation reduces death or culling due to mastitis, whereas no preventive effect on the development of mastitis was observed.

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター 2) 広島県西部畜産事務所 3) NOSAI 広島東広島家畜診療所 4) NOSAI 広島廿日市家畜診療所 5) NOSAI 広島三次家畜診療所 6) 広島大学大学院生物圏科学研究科

広島県立総合技術研究所畜産技術センター研究報告第 16 号

平成 24 年 3 月 26 日印刷

平成 24 年 3 月 26 日発行

編集兼発行者 須田 渉
発行所 広島県立総合技術研究所畜産技術センター
広島県庄原市七塚町 584 番地
郵便番号 727-0023
電 話 0824-74-0331
F A X 0824-74-1586
<http://www.pref.hiroshima.lg.jp/soshiki/31/>
印 刷 所 平和印刷株式会社
広島県庄原市板橋町 324 番地 7
電 話 0824-72-1145
