

1 性選別精液に適した人工授精適期の検討

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○青木亜紀子、久利生正邦、稲葉浩子

研究期間：平成 27(2015)～平成 30(2018)年度

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。特にホルスタイン種の雌性選別精液（以下、選別精液）は、後継牛の計画的生産に利用され、普及も進んでいる。

しかし、選別精液では 1 ストロー当たりの精子数が通常精液に比べて少なく、選別処理による精子活力への影響もあり、受胎率は通常精液に比べ低くとどまっている。そこで、選別精液を用いた効率的な雌産子の生産技術として、発情同期化の技術を応用し、選別精液に適した人工授精（以下、AI）の時期を検討する。

卵胞ウェーブの調整方法については、昨年度までに行った「性選別精液を利用した体内胚生産の高度化」と同様、生産現場への普及を目的に、簡便かつ安価な、ホルモン剤（エストラジオール製剤、以下 EB）の投与により優勢卵胞を退行させる手法を用いる。

2. 方法

(1) 供試牛

当所で飼養しているホルスタイン種経産牛（1～2 産）、7 頭。

(2) 定時受精（TAI）プログラム

ア 卵胞ウェーブの調整（優勢卵胞の退行）

発情の直前直後を避けた任意の時期に徐放性留置型プロジェステロン製剤（以下、CIDR）を膈内に挿入（Day0）、同時に EB 1 ml（エストラジオールベンゾエイトとして 2mg）を筋肉内に投与し、優勢卵胞を退行させた。

イ 発情の同期化及び AI

Day8 にクロプロステノール製剤 0.225mg（以下 PG）を投与、Day9 に CIDR を除去し発情を誘起した。Day10 に GnRH（酢酸フェルチレリンとして 200 μ g）を投与して排卵を促進、24h 区（n=5）では GnRH 投与の 24 時間後、30h 区（n=8）では同 30 時間後に、主席卵胞が存在する側の子宮角浅部に、性選別精液 1 本を注入した（Day11）。

(3) 調査項目

供試牛の情報；産次数、分娩後日数、日乳量、処理開始前の発情観察、卵巢所見等

授精の状況；種雄牛名号、AI 部位、AI 時の卵胞径

受胎成績；AI30 日以降、任意の時期に超音波画像診断装置を用いて妊娠診断を行った。

3. 結果の概要

(1) 24h 区では 5 頭中 4 頭（80%）、30h 区では 2 頭中 1 頭（50%）が受胎した。

(2) 試験牛 27 頭で超音波画像診断装置による卵胞動態の観察を行い、GnRH 投与後 27 時間で 2 頭、30 時間で 10 頭、33 時間で 10 頭、33 時間以降 48 時間までに 5 頭の排卵が確認された。27～33 時間に、排卵の 81.5%が集中した。

(3) これまでに本試験で性選別精液の AI により受胎した 14 頭（24h 区 2 頭、30h 区 3 頭）の産子はいずれも雌であり、胎齢の平均は 277 日であった。このうち、H29 年度の試験で受胎した 1 頭は双胎で胎齢 272 日に雌 2 頭を娩出したが、生後直死及び死産によりいずれも死亡した。

4. 今後の課題と次年度以降の計画

近年、高泌乳化により明確な発情の観察や授精適期の把握が難しくなっているとされているが、本 TAI プログラムでは、GnRH 投与後 30 時間前後の時間帯に排卵を集中させることが可能であった。更に、GnRH 投与後 24~30 時間での AI で、経産牛においても 48.6%（搾乳牛に限れば 43.8%）と、通常精液同等の受胎率を得られることが明らかとなり（H27~30、n=35）、泌乳成績等の判明した優良経産牛における後継牛作出への貢献が期待される。

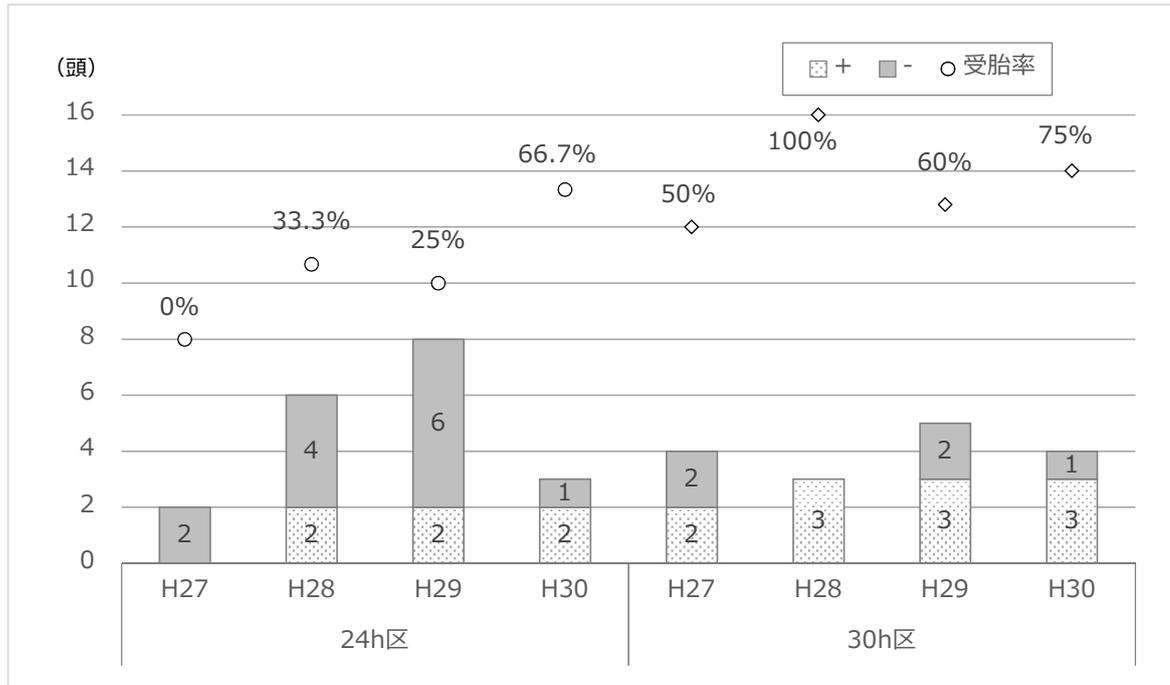


図1 各区における受胎成績

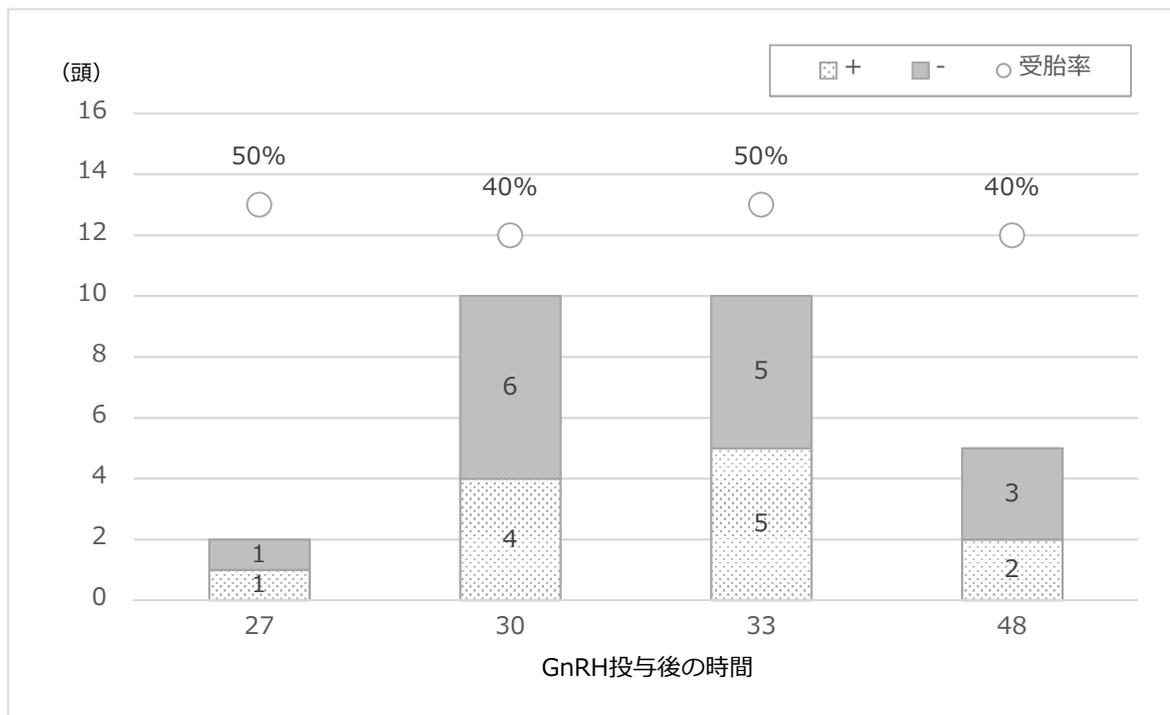


図2 超音波画像診断による排卵の確認及び受胎率

2 粳米サイレージとイネ WCS の乳牛への効率的な給与技術の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○酒向佑輔、林美貴成、豊田知紀

研究期間：平成 28（2017）年度～平成 30（2018）年度

予算区分：県単

1. 目的

本県は、都府県における酪農主産地としての地位を確立しているが、収益性の改善と地域資源循環に重要な意義を持つ自給飼料の生産と利用については経営間の格差が大きい。今後、本県が生乳の供給拠点として安定的に存続していく上では、飼料自給率を引き上げることが重要な課題となっている。そこで、トウモロコシサイレージ、イネ WCS、粳米サイレージ等の自給飼料の多給による安定牛乳生産技術の開発を目標とし、今回は、粳米サイレージに着目した。粳米サイレージは、当センターでもこれまで給与試験を行っており、25%程度まで給与しても問題ないとの結果も得ている。今回は、粳米サイレージについて、現地実証を行うとともに、ハンドリングや使いやすさなどを検討することを目的とした。

2. 方法

- (1) 実証値：那須塩原市の酪農家（つなぎ飼い、40 頭搾乳）
- (2) 供試家畜：ホルスタイン種搾乳牛 40 頭（搾乳牛全頭）
- (3) 給与期間：H31（2019）年 3 月 8 日～5 月 1 日
- (4) 給与方法：当センターで製造した粳米サイレージ 3kg を加えた飼料を TMR にて給与
- (5) 調査方法：給与開始前 2 ヶ月間および給与開始後 2 ヶ月間の牛群検定成績を比較
- (6) 調査協力：那須農業振興事務所、酪農とちぎ那須高原支所、明治飼糧株式会社

3. 結果の概要

- (1) 粳米サイレージの成分及び発酵品質を、表 1、2 に示した。pH がやや高かったものの、V-スコアは 80 以上であり品質は良好であったと考えられる。
- (2) 給与メニューおよび成分含量を、表 3 に示した。粳米サイレージ 3kg を添加するにあたって濃厚飼料を 3kg 減らしたが、不足する蛋白質を補う為に補助資料を 0.5kg 添加することとなった。
- (3) 乳量・乳成分については、図に示した。
いずれの項目においても有意な差は見られなかった。
- (4) 実証農家からの聞き取りにおいては、牛群全体の食下量の低下、選り好みなどは見られず、給与期間中の牛の状態は良好であったとのことだった。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

粳米サイレージやイネ WCS それぞれについては、現地実証されているものの両者も組み合わせた場合の現地実証はまだである。今後、粳米サイレージとイネ WCS を組み合わせ、自給率を高めた給与メニューによる現地実証や事例の調査を行いたい。

また、粳米サイレージを個人農家で利用するは、自力で TMR に混ぜる分離給与の場合、カートで配送するなどの手間が増えてしまうことも考えられる為、地域のコントラクターや酪農組合、飼料会社などと連携して、利用するルートや利用方法を考えていく必要があると考える。

表 1

一般成分・ミネラル/項目	H29産	H30産
粗タンパク質(CP)	7.5	7.0
粗脂肪(EE)	1.7	0.9
中性デタージェント繊維(NDF)	15.0	14.9
粗灰分(Cash)	3.3	4.4
カルシウム(Ca)	0.04	0.04
リン(P)	0.32	0.31
可消化養分総量(TDN)	79.4	76.9

分析: 明治飼料株式会社水戸研究所中央分析センター

表 2

	原物中		推奨値
	H29	H30	
水分 %	31.7	28.7	
pH	4.3	4.4	<4.0
アンモニア態N/全N %	10.1	4.2	<6
酪酸 %	0.000	0.000	0
乳酸 %	0.260	0.401	
酢酸 %	1.097	0.383	
プロピオン酸 %	0.000	0.000	
V-スコア	83点	99点	

分析: 明治飼料株式会社水戸研究所中央分析センター

表 3 給与メニューおよび成分含量

	粃米サイレージ 給与開始前	粃米サイレージ 給与開始後
配合量(原物,kg/日)		
トウモロコシサイレージ	15.0	15.0
ライ麦サイレージ	5.0	5.0
配合飼料	9.5	6.5
補助飼料	-	0.5
粃米サイレージ	-	3.0
ビートパルプ	2.0	2.0
チモン干草	1.0	1.0
ルーサン干草	2.5	3.0
成分含量(乾物,%)		
可消化養分総量(TDN)	71.8	71.1
粗タンパク質(CP)	15.5	14.9
粗脂肪(EE)	3.9	3.3
中性デタージェント繊維(NDF)	38.8	38.1

明治飼料株式会社

表 4 牛群検定成績

	搾乳牛頭数	搾乳日数(日)	産次	標準乳量(kg)	乳量(kg)	乳脂率(%)	乳タンパク質率(%)	無脂固形分率(%)
給与開始前 (検定日:2月5日)	40	162	2.5	33.6	30.9	4.07	3.45	8.90
給与開始前 (検定日:3月2日)	38	177	2.5	31.7	29.1	4.09	3.39	8.90
給与開始後 (検定日:4月3日)	38	176	2.5	34.2	31.8	4.19	3.49	9.02
給与開始後 (検定日:5月2日)	36	192	2.5	34.5	31.3	4.04	3.41	8.91

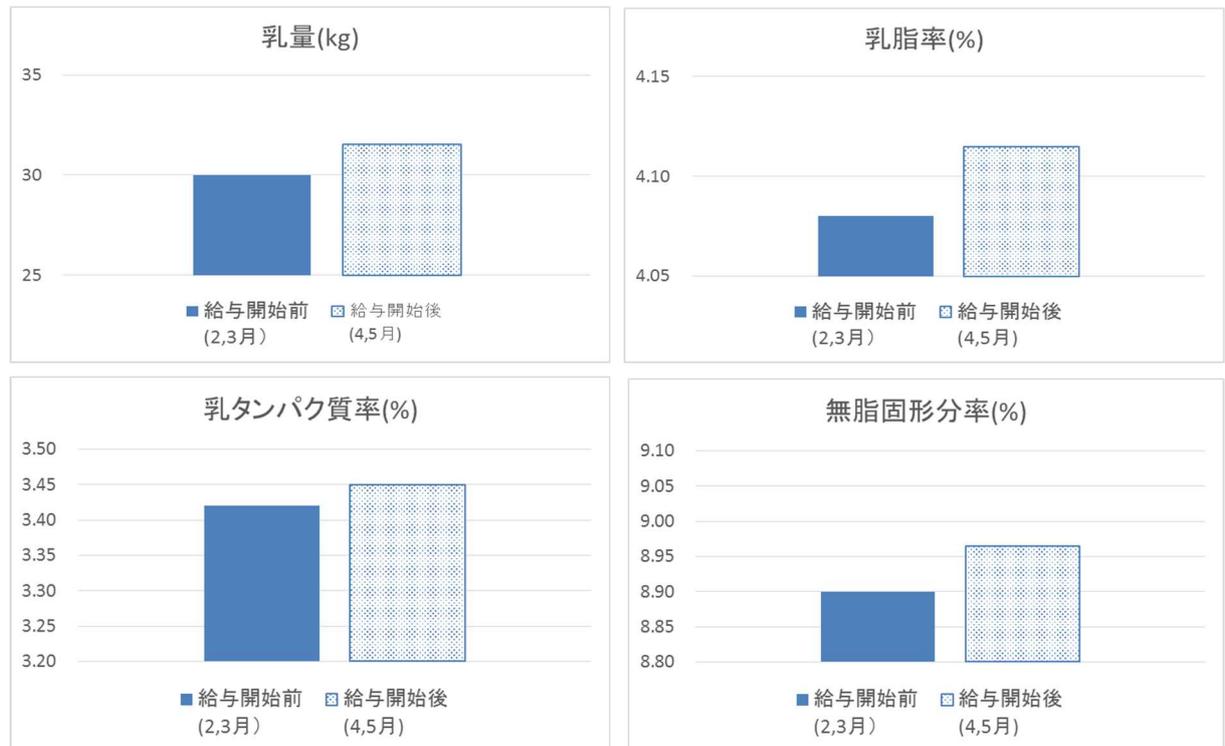


図 乳量および乳成分

3 牛体の毛刈り、換気、細霧等、経営形態に応じた効果的な暑熱対策技術の実証

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○渡邊ゆずは、酒向佑輔、豊田知紀

研究期間：平成 29（2017）年度～平成 30（2018）年度

予算区分：県単

1. 目的

夏季の暑熱ストレスは、乳牛の生理・生産機能に様々な悪影響を及ぼし、体温・呼吸数の上昇、採食量の減少、乳量・乳成分の低下とともに、疾病の増加や繁殖成績の低下などをもたらす。本県でも夏季の暑熱ストレスの影響が大きく、地球温暖化に伴って気温がさらに上昇すると乳生産に及ぼす悪影響は莫大になると予想される。

平成 26～28 年度の暑熱ストレス低減推進事業では、県内 6 酪農家をモデル農家として暑熱対策に係わる指導支援を行ってきた。これらの取組で得られた知見や技術を当センターで実証し、その効果を数値化することを目的とし試験を実施した。

2. 方法

(1) 供試家畜：泌乳期ホルスタイン種 12 頭

(2) 試験期間：H30（2018）年 7 月 2 日～20 日

[毛刈り日時：H30（2018）年 6 月 27 日]

(3) 試験区：散水区（毛刈り有り）：散水と毛刈りを行う区（3 頭）

散水区（毛刈り無し）：毛刈りは行わず散水のみを行う区（3 頭）

対照区（毛刈り有り）：毛刈りをし、散水を行わない区（3 頭）

対照区（毛刈り無し）：散水も、毛刈りも行わない区（3 頭）

(4) 方法

散水は 1 日 2 回、10 時 30 分頃と 13 時 30 分頃から各回 15 分実施した。設備は、H28（2016）年度に作成した散水設備（穴を開けた塩ビ管から散水される）を用いた。散水時、牛は連動スタンションに繫留し、牛体の肩甲骨付近が濡れるように散水を行った。また、散水を行わない対照区についても、散水区へ散水を行っている間は、連動スタンションで繫留した。直腸温度、体表温度は、散水開始前（0 分）、散水終了直後（15 分）、及び散水終了 1 時間後（75 分）にそれぞれ測定した。その他、散水終了直後から散水終了 25 分後まで 2、3 分刻みで体表温度を測定した。

(5) 調査項目：温度、湿度、THI、乳量、乳成分、体表温度、直腸温度、血液性状

3. 結果の概要

(1) H28 年度に安価な資材で作成した散水設備は、設置から 3 年経過したが散水中に不具合が生じることなく使用可能であった。

(2) 平均散水量は約 25 リットル/分であり、1 頭にかかる散水量は 0.35 リットル/分～0.52 リットル/分であった。

(3) 血液性状については、表 1 に示した。

(4) 体表温度の変化については、表 2、図 1、2 に示した。

散水区において、毛刈りの有り無しに関わらず、体表温度は有意に低下しその後 20 分程度（散水 15 分及び終了後 5 分経過後）で散水前と同程度の水準に戻った。対照区の毛刈りをした区については、1 時間経過後に体表温度が有意に上昇した。また、対照区の毛刈りを行っていない区については、随時同じ体表温度を維持していた。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

散水により体表温度が有意に低下したことから、散水により一時的に体表温度を下げる効果があることが示唆された。また、散水後 20 分程度で散水前と同程度の水準に戻ったことから、散水間隔や回数等の参考とし、次年度以降も同様の散水設備による暑熱対策を行いたい。

表 1 各区の血液性状

	散水区	散水区	対照区	対照区
gul(mg/dl)	40.00	36.56	41.22	39.11
T-Cho(mg/dl)	222.56 a	200.44	194.00	201.67 b
BUN E(mg/dl)	10.50	9.89	12.56	12.78
GOT(IU/l)	45.00	48.11	46.44	49.56
GPT(IU/l)	12.33 a	20.50	15.20	19.71 b
Ca(mg/dl)	10.32	10.49	10.20	11.11
GGT	38.78	40.67	41.67	41.00
NEFA(μ Eq/l)	0.08	0.06	0.06	0.06
アセト酢酸(μ mol/l)	27.67	31.67	23.56	17.22
β ヒドロキシ酪酸(μ mol/l)	858.78	975.11 a	798.33	746.11 b
d-ROMsテスト	123.6 a	129.2 a	124.4	109.4 b
BAPテスト	2159.6	2202.8	2114.6	2250.0

※経時変化について異符号間に有意差あり (p < 0.05)

表 2 体表温度の経時変化

	散水前	散水直後	散水1時間後
散水区(毛刈りあり)	35.5 a	34.1 ab	35.8 b
散水区(毛刈りなし)	35.6 a	33.4 ab	35.9 b
対照区(毛刈りあり)	35.5 a	35.9 b	36.0 b
対照区(毛刈りなし)	35.8	35.8	35.8

※経時変化について異符号間に有意差あり (p < 0.05)

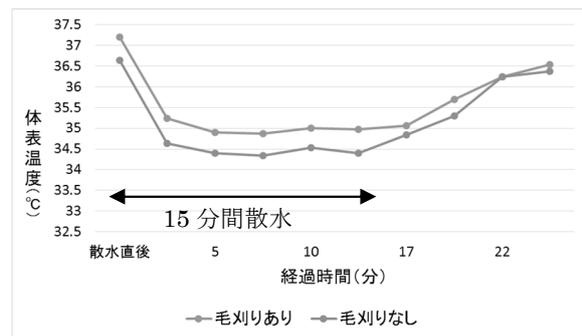
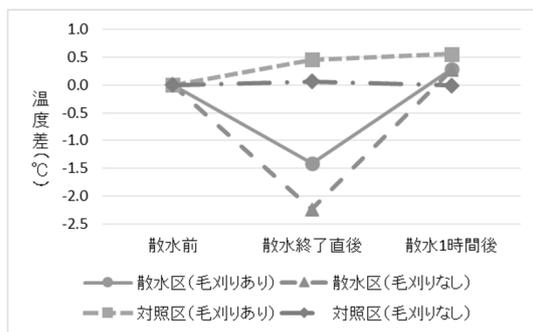


図 1 散水区における散水後体表温度の変化 図 2 散水前を 0 とした場合の体表温度の増減

4 チーズ製造に適した泌乳期の解明

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○林美貴成、渡邊ゆずは、豊田知紀

研究期間：平成29年度～平成30年度 予算区分：国庫

1. 目的

県内チーズ工房において、チーズ製造時に乳酸菌添加後もチーズ原料乳のpHが下がらず、凝乳しにくいという現象がまれに起こっている。要因としては、チーズの原料となる生乳は分娩後の搾乳日数（泌乳期）の違いにより、乳成分組成が大きく変動することが考えられた。そこで、泌乳期の異なる生乳を用いてチーズを製造し、スターター添加後のpH推移やチーズ歩留まりについて検討し、泌乳期の違いによる乳成分変動がチーズ製造に与える影響について明らかにすることを目的に試験を行った。H30年度は、製造した泌乳期別チーズを熟成後、チーズ中に含まれる遊離アミノ酸含量を測定し、熟成に与える影響について検討した。

2. 材料及び方法

(1) 供試チーズ

H29年度に製造した泌乳期別チーズ（泌乳初期（分娩後6～50日）、泌乳最盛期（同51～110日）、泌乳中期（同111～220日）及び泌乳後期（220日～））それぞれ4個のチーズで検討した

(2) 調査項目及び方法

調査項目

熟成3、6、9ヵ月におけるチーズ中遊離アミノ酸含量

方法

各チーズを熟成3ヵ月、6ヵ月、9ヵ月でサンプリングし、分析に供するまで真空包装して-20℃で凍結保存した後、アミノ酸分析機（日立L-8900型）により行った。

3. 結果の概要

熟成3、6、9ヵ月におけるチーズ中総遊離アミノ酸含量は、いずれの熟成期間においても、泌乳期別チーズ間に有意な差は認められなかった。

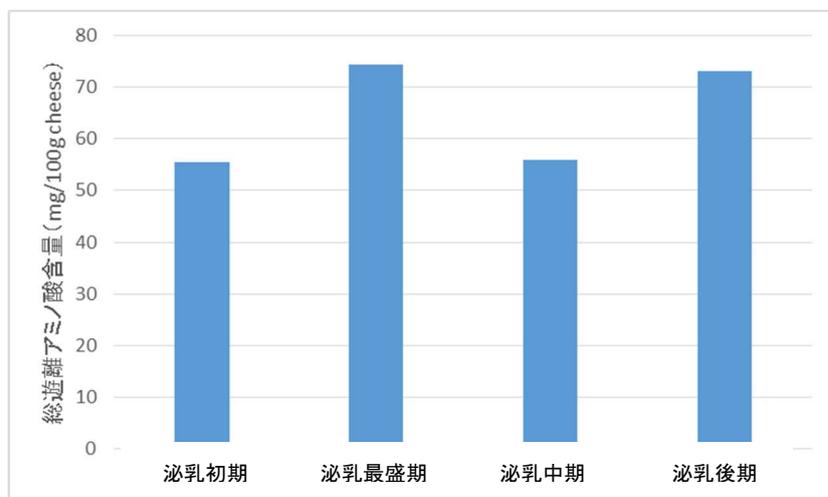


図1 熟成3ヵ月におけるチーズ中総遊離アミノ酸含量

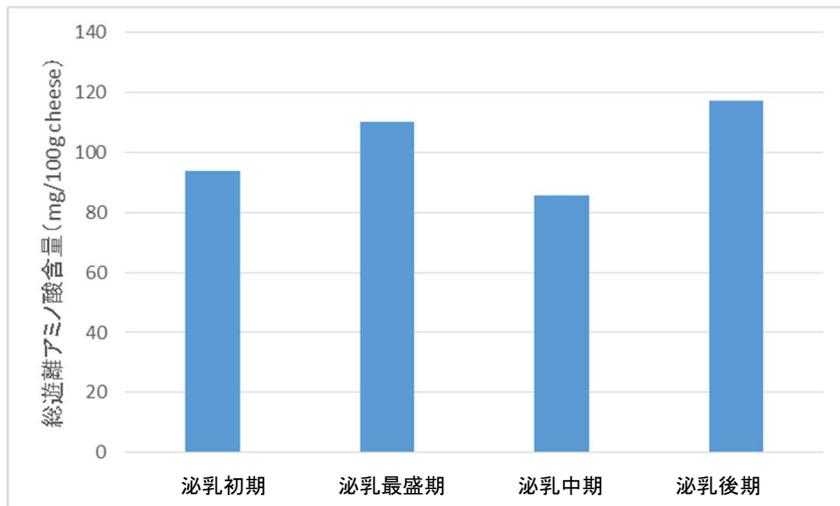


図2 熟成6ヵ月におけるチーズ中総遊離アミノ酸含量

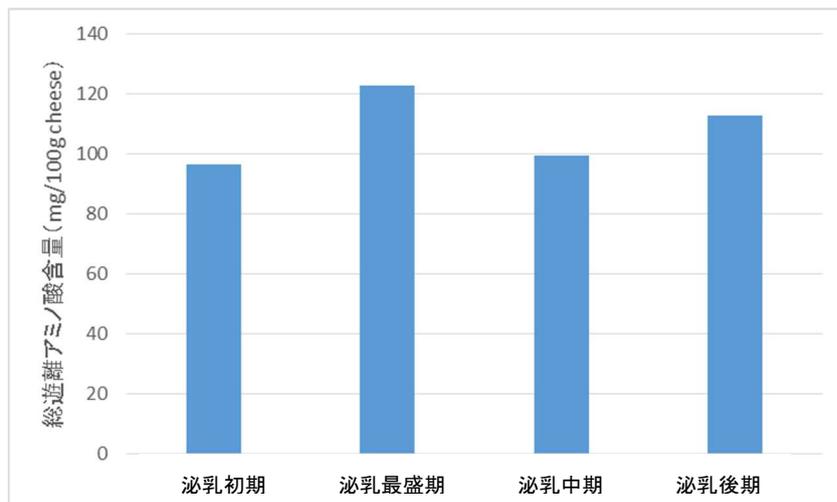


図3 熟成9ヵ月におけるチーズ中総遊離アミノ酸含量

4. 今後の問題点

本研究から、泌乳期の違いによる乳成分変動は、原料乳の凝固やチーズ熟成中におけるアミノ酸含量への影響を明らかにすることはできなかった。

5 地域常在乳酸菌群の検討と乳製品(チーズ・ヨーグルト)への活用

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○林美貴成、渡邊ゆずは、豊田知紀

研究期間：平成30年度～令和2年度 予算区分：県単

1. 目的

TPP11（11か国による環太平洋経済連携協定）やEPA（経済連携協定）等の影響により、今後、これまで以上に安価と輸入乳製品が国内で流通することが想定されることから、国産乳製品と輸入乳製品との差別化が求められる。一方、国内で乳製品製造に用いられる乳酸菌スターターは、そのほとんどが海外製であり、海外製品との差別化が難しく、県内チーズ工房から、地元の食品由来のスターター開発が期待されている。そこで、乳製品製造に活用できる栃木県産食品由来スターターの開発を目的に研究を開始した。県産の発酵食品等から乳酸菌候補株を分離に取り組んだ。

2. 材料及び方法

(1) 材料：栃木県産の発酵食品等 計 25 点

(2) 方法：MRS 寒天培地及び M17 寒天培地（Difco Laboratories）上に、食品の懸濁液を塗抹し、30℃で 24～48 時間嫌気培養を行った。コロニー形成後、コロニーのサイズ、色、形態を指標として釣菌し、液体培地で培養後、10%グリセロール液体培地中に -80℃で保存した。

3. 結果の概要

コロニーのサイズ、色、形態を指標とし、25 点のサンプルのうち 16 点から乳酸菌候補株 53 菌株を分離した。（下表）

表 分離源と分離培地

系統番号	分離源	分離培地
1	低温殺菌乳	M17
2	低温殺菌乳	M17
3	ぬか漬け①	M17
4	ぬか漬け①	M17
5	ぬか漬け①	M17
6	ぬか漬け①	MRS
7	ぬか漬け①	MRS
8	ぬか漬け①	MRS
9	粕漬け	MRS
10	粕漬け	MRS
11	米麴漬け①	MRS
12	米麴漬け①	MRS
13	米麴漬け①	MRS
14	にらキムチ	MRS
15	にらキムチ	MRS
16	割干しキムチ(大根)	MRS
17	割干しキムチ	MRS

18	割干しキムチ	M17
19	しその実漬け	MRS
20	しその実漬け	MRS
21	しその実漬け	M17
22	米麴漬け②	MRS
23	米麴漬け②	MRS
24	米麴漬け②	M17
25	生エゴマ葉キムチ	MRS
26	生エゴマ葉キムチ	MRS
27	ぬか漬け②	MRS
28	ぬか漬け②	MRS
29	ぬか漬け②	MRS
30	ぬか漬け②	MRS
31	ぬか漬け②	MRS
32	みそ	M17
33	たくあん①	MRS
34	あゆうるか(川魚塩辛)	M17
35	あゆうるか	M17
36	あゆうるか	M17
37	あゆうるか	M17
38	あゆうるか	M17
39	なすキムチ	M17
40	たくあん②	M17
41	たくあん②	M17
42	たくあん②	M17
43	たくあん②	MRS
44	たくあん②	MRS
45	たくあん②	MRS
46	たくあん②	MRS
47	たくあん③	M17
48	たくあん③	MRS
49	たくあん③	MRS
50	たくあん③	MRS
51	たくあん③	MRS
52	たくあん②	MRS
53	たくあん②	MRS

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

県産食品由来スターターを開発に向けて、分離した乳酸菌候補株の菌種の同定及び各種機能性評価を行う。

6 地元由来乳酸菌を活用したチーズ製造技術の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○林美貴成、渡邊ゆずは、豊田知紀

研究期間：平成30年度～平成31年度

予算区分：国庫

1. 目的

県内チーズ工場の経営、採算性改善の取組として、熟成タイプチーズの熟成期間を短縮することが上げられる。また、地元由来の乳酸菌によるチーズ製造技術の開発も求められている。そこで本研究では、(独)国立高等専門機構小山工業高等専門学校との共同により小山工業高等専門学校において、県産食品から蛋白質分解能等を指標に選抜された3株の乳酸菌株を用いて、チーズを製造する際の適正な製造条件を明らかにすることを目的とした。今年度は、50ml チューブ中において選抜株を用いたチーズを製造し、選抜株の適正な添加量について検討を行った。

2. 方法

- (1) 供試材料：生乳（畜産酪農研究センター産）、乳酸菌、レンネット（凝乳酵素）等
- (2) 試験：地元由来乳酸菌（選抜株）の添加割合によって、4試験区を設定し、50ml チューブ中でチーズを製造し、各種分析に供した。
- (3) 供試区
選抜株3菌株（No.12,37,57）についてそれぞれ、下記の4試験区を設定した。
無添加区：市販スターターのみを用いた区
10⁴区：市販スターターに選抜株を10⁴ cfu/ml 添加した区
10⁵区：市販スターターに選抜株を10⁵ cfu/ml 添加した区
10⁶区：市販スターターに選抜株を10⁶ cfu/ml 添加した区
- (4) 調査項目：スターター添加後（凝乳後はホエイのpH推移、
チーズ中生菌数及び遊離アミノ酸含量（熟成0日、30日）

3. 結果の概要

- (1) チーズ製造中のpH推移は、無添加区と比較して、選抜株添加区（10⁴区、10⁵区、10⁶区）においてpH6.2までの到達時間が短くなる傾向が認められた。（図1）
- (2) 熟成30日のチーズ中生菌数は、いずれの選抜株においても試験区間で有意な差が認められなかった。（図2）
- (3) 熟成30日後のチーズ中総遊離アミノ酸含量は、No.37 10⁵添加区において、無添加区と比較して総遊離アミノ酸量が多い傾向が認められた。（図3）

以上のことから、No. 37 は、10⁵cfu/ml 添加区の熟成30日チーズで、総遊離アミノ酸含量が増加する傾向が認められ、チーズ中においても高い蛋白質分解能を有することが示唆された。また、選抜株の適正添加量は、No. 37 は10⁵cfu/ml、No. 12, 57 は10⁶cfu/ml であることが示唆された。

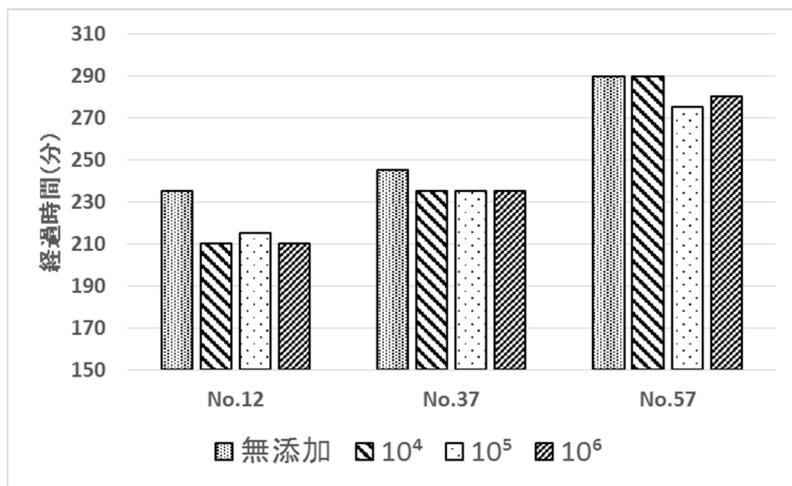


図1 スターター添加後から pH6.2 までの到達時間

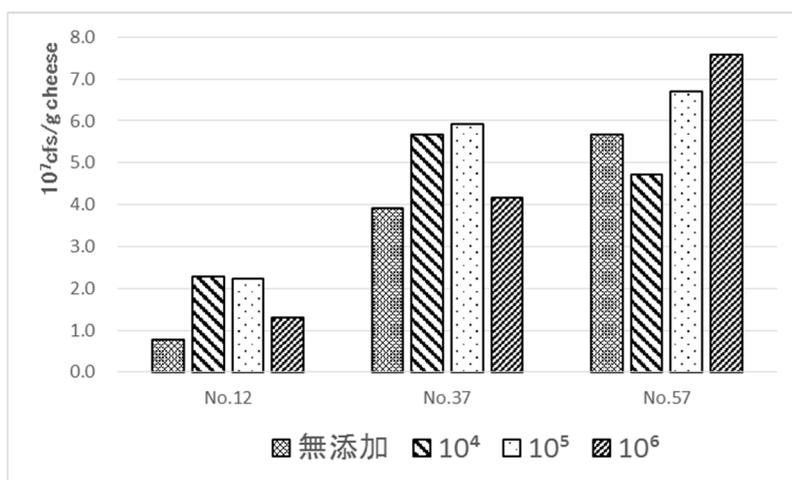


図2 熟成 30 日におけるチーズ中生菌数

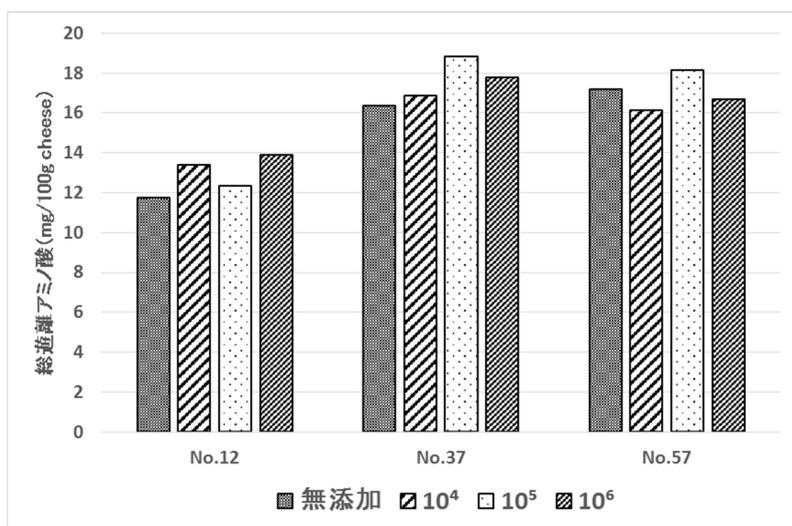


図3 熟成 30 日におけるチーズ中総遊離アミノ酸含量

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

実製造（チーズバット）規模で、選抜株を用いたチーズを製造し、各種評価を実施し、選抜株の添加効果を明らかにする。

7 SNP解析による高能力牛のゲノミック評価及び産子の能力評価

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○稲葉浩子、久利生正邦

研究期間：平成30（2018）～令和2（2020）年度

予算区分：県単

1. 目的

我が国の乳用牛の泌乳能力は飛躍的に向上したが、疾病増加による供用年数の短縮や空胎期間延長等の繁殖性低下が問題となっている。

当センターでは体型及び泌乳能力に優れたセンター飼養高能力乳用牛の受精卵を県内酪農家に供給することによって、優良乳用後継牛の増頭を図っている。しかし、酪農経営をめぐる上記のような問題を改善するためには、さらに早期に高能力な供胚牛の選定が必要である。

そこで、ゲノム解析技術の向上により牛の能力評価に利用できるようになったSNP（Single Nucleotide Polymorphism：一塩基多型）解析を実施し、高能力牛のゲノミック評価及び産子の能力評価を行うことで、優良供胚牛の選定及び供胚牛候補の早期選抜を検討する。

2. 方法

ゲノミック評価は、（一社）ホルスタイン登録協会が取りまとめる SNP 検査のデータと従来評価である総合指数（NTP：Nippon Total Profit index 日本総合評価指数）から算出される GNTP（Genomic Nippon Total Profit index ゲノミック日本総合評価指数）を採用した。

（1）ゲノミック評価による優良供胚牛の選定

ア 供試牛：センター飼養で体型得点 85 点以上及び補正乳量が 12,000kg 以上の経産牛 6 頭

イ 従来評価との検討事項：体型得点、補正乳量、NTPとゲノミック評価実施後に得られる GNTP

ウ 選定方法：GNTP上位牛を優良供胚牛として選定

（2）ゲノミック評価による未經産牛の選抜

ア 供試牛：センター飼養の未經産牛 4 頭（優良血統及びその近縁の娘牛）

イ 従来評価との検討事項：両親育種価の平均値である推定育種価（PA）とゲノミック評価実施後に得られるGNTP

ウ 選抜方法：GNTP上位牛を供胚牛となる優良未經産牛として選抜

3. 結果の概要

（1）経産牛の GNTP は、NTP より低い傾向にあった。また当センターでは 3 産以上で体型得点 85 点以上及び補正乳量おおむね 13,000kg 以上の経産牛を供胚牛の条件としているが、このような高能力牛であっても GNTP は低値であり、ゲノミック評価による優良供胚牛としては選定されなかった（表 1）。

（2）未經産牛の PA は 4 頭全てで 1,200 以上であった。一方、GNTP は 2 頭が 1,000 を下回ったが、2 頭は 1,000 以上であり、優良未經産牛として選抜した（表 2）。

（3）GNTP 1,484 と最も高かった個体 O について、高能力種雄牛（NTP3,688）の性選別精液を授精し、妊娠を確認した。

4. 次年度以降の計画

- (1) 3の(3)で得られた未経産牛について、SNP検査を実施してゲノミック評価を行う。
- (2) 未経産牛20頭についてゲノミック評価を実施し、優良未経産牛を選抜する。
- (3) ゲノミック評価実施済みの経産牛について実際の成績と比較し、供胚牛選定の基礎資料とする。

[具体的データ]

表1 経産牛の体型得点、補正乳量、NTP 及び Gntp

個体	体型得点	補正乳量	(産歴)	NTP (2018.11 現在)	Gntp (2018.12 現在)	備考
A	86	13,055	(2)	1,404	893	
B	89	13,678	(4)	75	-572	体型優良牛 B の妹
C	85	13,142	(2)	-81	-782	B の妹
D	87	15,228	(2)		605	
E	89	14,908	(3)	390	-104	
F	85	12,805	(2)	-7	-305	F の妹

※いずれもH5、6年導入のスーパーカウ系統牛

表2 未経産牛のPA 及び Gntp

個体	父牛 NTP	母牛	PA (2019.2 現在)	Gntp (2019.2 現在)	(%ランク)	備考
O	3,231	-60	1,586	1,484	(27)	B の孫
P	3,688	-127	1,781	1,278	(39)	E の娘
Q	3,688	102	1,895	792	(61)	祖母が B、C の姉妹
R	2,480	102	1,291	128	(91)	同上

8 乳用牛における卵胞波調節を併用した FSH 減数投与法の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○青木亜紀子、久利生正邦、稲葉浩子

研究期間：平成 30(2018)～令和 2(2020)年度（新規）

予算区分：県単

1. 目的

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、これまで双子生産、体外受精、DNA 検査による雌雄の産み分け、クローン等、受精卵移植技術を応用した先端的な生殖細胞操作技術が開発されてきた。しかし、現代では特にホルスタイン種において、雌性選別精液(以下、選別精液)が普及、後継牛の計画的生産に利用されており、選別精液を用いた受精卵生産の要望も増大している。

選別精液では 1 ストロー当たりの精子数の少なさや、選別処理による活力低下が懸念され、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劣るとされていた。しかし、平成 29 年度までの選別精液を用いた体内受精卵の作出に関する試験では、SOV の前処置として卵胞波の調節を行い、授精本数を 2 本としても、通常精液と同等の雌産子が期待される胚の作出が可能となった。

このため、更に凍結や移植に適した良質な胚の生産効率を高めることで、供胚牛や畜主への負担軽減を目指し、肉用牛では実用化されつつある卵胞刺激ホルモン(以下、FSH)単回投与による SOV を参考に、乳用牛においても可能な FSH 投与回数を減じた SOV 方法を開発する。

2. 方法

(1) 卵胞ウェーブの調整(優勢卵胞退行)及び過剰排卵処置

発情の直前直後を避けた任意の時期に留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を膈内に挿入し、同時に EB1ml(エストラジオールベンゾエイトとして 2mg)を筋肉内に投与し、優勢卵胞を退行させた(Day0)。各区とも、Day6 の夕方から総量 30AU の卵胞刺激ホルモンを投与した。Day8 にクロプロステノール製剤 0.225mg(以下 PG)を投与、Day9 に CIDR を除去して発情を誘起、Day10 に GnRH(酢酸フェルチレンリンとして 200 μ g)を投与し、排卵を促進した。

- ・対照区；day6 の夕方から、4 日間 8 回に分けて臀部筋肉内に漸減投与。
- ・試験区；4shot 区；day6 の夕方から、4 日間 4 回に分けて臀部筋肉内に漸減投与。
2shot 区；day6 の夕方に 20AU、day7 の夕方に 10AU を、頸部に皮下投与(いずれも生理食塩水 50mL に溶解)。

(2) 人工授精(以下、AI)及び胚の回収(以下、採胚)

AI は Day11 の午前 9 時(GnRH 投与後 24 時間)に 1 回のみ、行った。

原則として AI 用の選別精液(製造元、種雄牛及びロットは限定しない)を左右の子宮角浅部に 1 本ずつまたは、通常精液 1 本を左右の子宮角浅部に 2 分の 1 本ずつ注入した。

全頭、AI 後 6 日目の午前(day16)に、常法により胚の回収を行った。

(3) 調査項目

- ・採卵時の卵巣所見：超音波画像診断装置による推定黄体数及び遺残卵胞数の観察
- ・採卵成績；総採胚数、正常胚数、変性胚数、未受精卵数、胚の品質(ランク及びステージ)

3. 結果の概要

採卵時の卵巣所見及び採卵成績を表に示した。

- (1) 採胚時の推定黄体数、大卵胞数に有意な差は認められなかった。
- (2) 採胚成績において、総採胚数は試験区の 4shot 区及び 2shot 区で多く、正常胚の個数及び率は試験区で高い(多い)傾向にあったが、いずれも有意な差は認められなかった(表)。
- (3) 回収された胚の品質(ランク)(図 1)及び正常胚の発育ステージ(図 2)について、有意な差は認められなかった。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

共同試験において、漸減投与と4shotの採卵成績等を検討しており（血中FSH濃度の測定も行う）、平成31年度以降も検討を続ける予定。

体内胚に関する試験では、供胚牛の加齢や栄養状態、気候変動等の影響を抑える飼養管理及び試験牛の選定が課題となる。

[具体的データ]

表 超音波画像診断による卵巢所見及び採卵成績

	対照区 (8回投与)	4shot区 (4回投与)	2shot区 (2回投与)
供試頭数(頭)	7	8	6
平均年齢	8.6±1.8	9.9±1.8	9.3±2.2
推定黄体数(個)	9.5±6.4	11.5±3.5	9.0±1.0
採卵総数(個)	9.0±7.9	7.8±3.5	7.8±3.8
正常胚数(個)	1.9±2.6	0.5±0.8	2.3±2.9
正常胚率(%)	12.2±16.1	6.6±9.8	34.4±41.6
変性胚数(個)	4.4±5.8	4.9±3.8	1.2±1.8
未受精卵数(個)	2.6±2.2	2.6±3.3	1.3±2.2

(mean±sd)

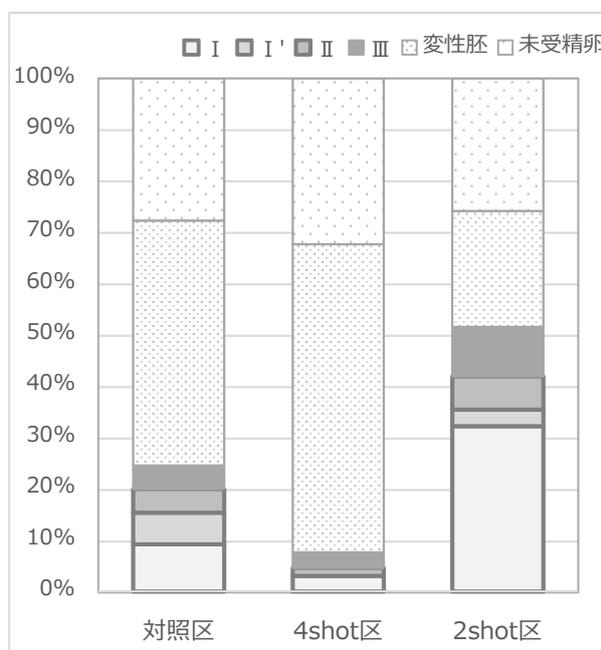


図1 回収された胚のランク別の割合

※ I: 優良卵、I': IとIIの間
II: 普通卵、III: 不良卵

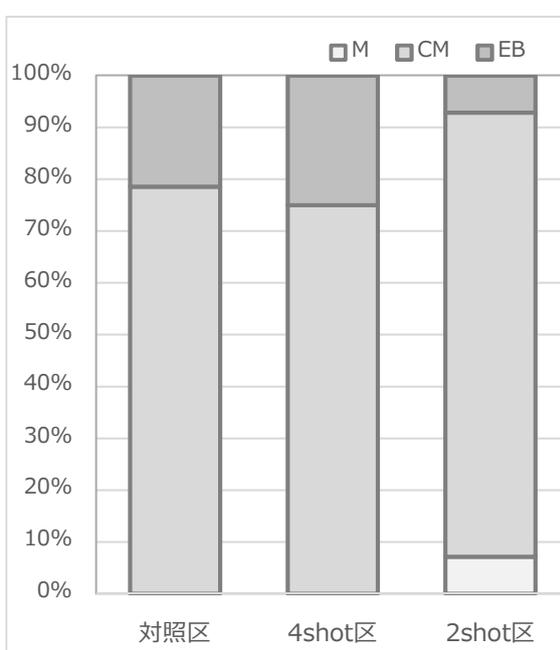


図2 正常胚のステージ別の割合

※ EB: 早期胚盤胞、CM: 収縮桑実胚、M: 桑実胚

9 乾乳管理改善による泌乳曲線の平準化に関する研究

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○酒向佑輔、林美貴成、豊田知紀

研究期間：平成 30（2018）年度～令和 2（2020）年度

予算区分：県単

1. 目的

現在の搾乳牛は最盛期乳量の改良がすすみ、1 乳期あたりの乳量は大幅に向上した一方、受胎率をはじめとした繁殖性が低下し生涯生産乳量も低下していると言われる。現在の牛群において生涯乳量を向上させるためには、泌乳最盛期の負荷を抑える（乳量を抑えることにより体脂肪の急激な動員や高栄養飼料給与によるルーメンアシドーシスの発生の可能性を減らす）こと、また泌乳中後期の乳量を向上（泌乳持続性の向上）させることが必要と考えられる。

そこで、本研究では代謝プロファイルテストを活用し乳生産病の発生予を図るとともに、泌乳平準化を活用し泌乳期における乳生産エネルギーと摂取エネルギーの差を最小限にする栄養管理が乳性産や繁殖性に与える影響について検討することを目的とし、まずは泌乳曲線を平準化するという乾乳期の飼養管理技術を当センターで実証することとした。

2. 方法

(1) 供試家畜：ホルスタイン種経産牛 4 頭

(2) 試験期間：H30（2018）11 月～（各試験牛生；乾乳前期（分娩 9 週前）～分娩後 12 週）

(3) 試験区：実証区（低栄養区） 乾乳前期栄養水準の 80%

対照区（高栄養区） 乾乳前期栄養水準の 100%

※乾乳後期（分娩 3 週間前）は、いずれの区も 100%の栄養水準で給与、分娩後は、当センターの搾乳牛の慣行飼料を自由採食にて給与した。

(4) 調査項目：体重、BCS、一般血液性状、乳量、乳成分、飼料効率

3. 結果の概要

(1) 実証区 2 頭、対照区 2 頭で実施したが、対照区試験牛において分娩後に事故が発生し、飼養管理続行が不可能となり、分娩後は対照区牛一頭のみでの試験となった。

(2) 試験期間中の体重の推移については、図 1 に示した。いずれの牛についても同様な推移となった。

(3) 分娩前の一般血液性状については、表 1 に示した。いずれも以上な値は示さなかった。

(4) 搾乳開始から 12 週間後までの乳量を元に推定される泌乳曲線を図 2-1～2-3 に、泌乳曲線のパラメーターについては、表 2 に示した。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

いずれの牛についてもピーク日数がほとんど同じであり、またピーク時乳量は、低栄養区で下がることを想定していたが、むしろ高い数字を示しており、泌乳曲線をコントロール出来ていたとは言えない結果であった。ただし、乳量については、個体の能力差もあることから、泌乳期全体の実績や繁殖性の実態などを引き続き継続して調査をして行く必要があると考える。

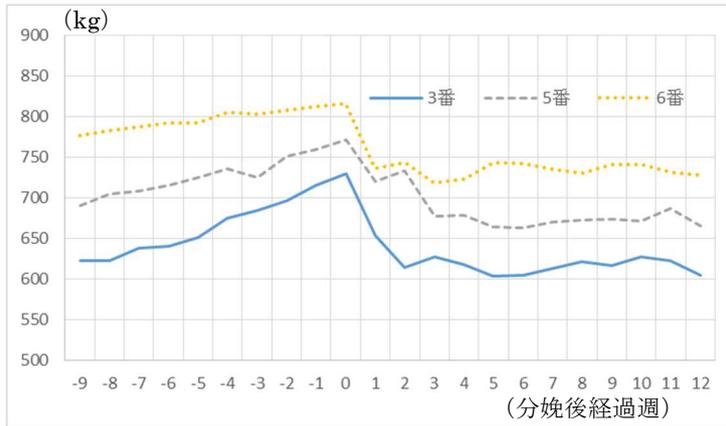


図1 試験期間中の体重の推移

表1 乾乳前期の試験牛の血液性状

項目\試験区		対照区		試験区	
		3番	6番	5番	4番
Glu	mg/dl	55	54	56	37
T-cho	mg/dl	66	60	59	50
BUN	mg/dl	<5	5	7	<5
GOT		27	27(分娩後経過週)		65
TP	mg/dl	7	7.6	6	5.4
Ca	mg/dl	10.8	9.7	10.4	9.2

表2 泌乳曲線のパラメーター

番号	試験区	ピーク時乳量	ピーク日数	305日乳量
3	対照区	44.8	55	12108
5	試験区	58.3	54	14471
6	対照区	49.3	54	12422

