

# 目 次

## 一般論文

### 【肉用牛】

黒毛和種子牛における胸腹囲比の違いが増体に及ぼす影響

堀之内正次郎・蓑毛将太・大山真二 ----- 1

自給粗飼料を活用した子牛育成用発酵TMRの検討（第1報）

蓑毛将太・福永又三 ----- 5

粗飼料多給および早期出荷が黒毛和種去勢牛の飼料摂取量、発育、血液性状、胃液性状、および枝肉成績に及ぼす影響

前田友香・石ヶ野公久・福永又三・竹之山慎一 ----- 10

宮崎牛のおいしさ見える化試験

日高祐輝・永田修平・原好宏・月足拓己 ----- 21

黒毛和種におけるヒアルロン酸を用いた過剰排卵処理方法の検討

堀内早苗・杉野文章・橋谷薫・須崎哲也 ----- 30

受精卵移植における受卵牛選定手法の検討

堀内早苗・北野典子・橋谷薫・杉野文章 ----- 35

### 【乳用牛】

搾乳ロボット導入農家の調査

井上優子・廣津美和・森弘 ----- 41

### 【飼料草地・病害虫】

飼料作物奨励品種選定試験（令和4年度）1．トウモロコシ

井上優子・黒木邦彦・廣津美和 ----- 47

飼料作物奨励品種選定試験（令和4年度）2．ソルガム

井上優子・黒木邦彦・廣津美和 ----- 50

飼料作物奨励品種選定試験（令和4年度） 3. イタリアンライグラス 井上優子・黒木邦彦・廣津美和 .....	54
飼料用トウモロコシにおけるツマジロクサヨトウの効果的な防除対策 井上優子・黒木邦彦・廣津美和 .....	58
<b>【環境衛生】</b>	
「BOD監視システム」によるスマート養豚排水処理の実証（第2報） 甲斐敬康・三角久志・長峰孝文・横山浩 .....	64
地域資源を活用した環境負荷軽減型配合飼料の効果実証（第3報） 三角久志・甲斐敬康・柴田翔平 .....	78

# 黒毛和種子牛における胸腹囲比の違いが 増体に及ぼす影響

堀之内正次郎・蓑毛将太・大山真二

Effect of difference in paunch girth/chest girth ratio on growth in Japanese Black calves

Shojiroh HORINOUCI, Shota MINOMO, Shinji OYAMA

<要約>畜産試験場内で飼育した黒毛和種子牛 148 頭(雄 73 頭、雌 75 頭)の胸腹囲比(腹囲/胸囲×100)の推移を解析したところ、4 週齢から 16 週齢間に胸腹囲比が顕著に増加したことから、若齢牛の消化管発達の評価に活用できる可能性が示唆された。更に、40 週齢時点の平均体重以上および未満の 2 区に分けて比較したところ、平均体重以上の雄子牛は平均未満よりも胸腹囲比が有意に早く伸び、約 16 週齢時点で胸腹囲比が 120%に到達した。以上の結果から、若齢牛の胸腹囲比の推移は子牛の発育指標の一つとして有効である可能性が示唆された。

通常、子牛の発育を示す指標として主に用いられるのは体重や体高である。子牛セリにおいて日齢体重がセリ価格に大きく影響するのは、良好な発育をしてきた子牛かどうかを判断する重要な項目だからである。しかし、子牛の定期的な体重測定は手間や労力がかかることから、一般の農場で実施している例は少ない。そのような中、胸囲からおおよその体重を推定する手法が普及したことにより、農家自身または畜産指導員等が胸囲測定を実施することが多くなった。しかし、実態は胸囲そのものの数値よりも推定体重を重視する傾向にあり、成績改善にうまく活用できていない事例が散見される。その一方で、胸囲測定を定期的に行い、課題を抽出して子牛発育の成績改善を達成した報告(阿部ら 2015)や、胸囲だけでなく腹囲を定期的に測定し、胸腹囲比(腹囲/胸囲×100)の推移によって若齢子牛の消化管発達を評価できる報告(大森ら 1968)もあり、胸囲および腹囲の測定値を活用することは非常に大きい意義をもつと言える。

そこで、本報告では黒毛和種子牛の胸腹囲比に着目し、畜産試験場内で飼育された子牛のデータを用いて子牛発育の良否を決める基準として活用できるかを調査した。

## 材料および方法

本試験は、宮崎県畜産試験場動物実験等実施規定に基づき実施した。

供試牛は、平成 24 年度(2012 年度)から令和 4 年度(2022 年度)の間に場内で生産された黒毛和種を用い、生時体重から 40 週齢体重のデータが揃っている 148 頭(雄 73 頭、雌 75 頭)を用いた(表 1)。また、表 2 に示すように、雌雄それぞれ 40 週齢時点の平均体重以上および未満に分け、発育の良否と胸腹囲比率の関連性を比較することとした。

子牛の体重および胸囲・腹囲測定は、4,8,12,16,20,24,28,32,36,40 週齢時に実施し、体重計は TRU-TEST EW5(富士平工業株式会社)を用い、巻尺は一般市販されているものを用いた。胸囲は肩甲骨後隅直後指 2 本後の帯径部における周囲長を測定し、腹囲は腹の帯径部が最大となる部位を測定した。

胸腹囲比は、以下の式で算出した。

$$\text{胸腹囲比}(\%) = \text{腹囲}(\text{cm}) \div \text{胸囲}(\text{cm}) \times 100$$

子牛の飼養管理については、生後 3 日で母子分離を行い、朝と夕方の 2 回授乳に加え、餌付け飼料(CP23%、TDN76.5%)とアルファルファ(購入粗

飼料 DM88.3%、CP19.3%、TDN52.9%) を与えた。10 ~ 12 週齢頃から離乳とともに濃厚飼料を餌付け用から子牛育成用 (CP15%、TDN69%) に徐々に切り替え、粗飼料はアルファルファからチモシー (購入粗飼料 DM88.8%、CP8.6%、TDN55.2%) へと徐々に切り替え、40 週齢まで飼育した。また、子牛の飼育環境は単飼とした。

なお、子牛によっては、代用乳 (ミルク) 投与を行った個体も一定数いたが、解析要因として考慮はしなかった。

得られたデータの統計解析は、すべてスチューデントの t 検定を用いて p 値を算出し、5%以下の時に有意とした。

表1 解析に供した子牛の基礎データ

	雄(n=73)				雌(n=75)			
	平均値	標準偏差	最大値	最小値	平均値	標準偏差	最大値	最小値
生時体重	36.0	5.1	51.5	19.4	33.6	5.9	47.8	17.4
40週齢時体重	297.4	23.5	343.0	239.0	263.7	28.6	320.0	185.5

※欠測値がある個体は解析から除外した。

表2 比較区分設定

	雄平均体重以上区(n=37)				雄平均体重未満区(n=36)			
	平均値	標準偏差	最大値	最小値	平均値	標準偏差	最大値	最小値
生時体重	38.0	5.2	51.5	23.7	34.0	4.3	41.6	19.4
40週齢時体重	316.2	12.2	343.0	298.0	278.1	15.0	297.0	239.0

※雄平均体重は表1の297kgを基準とした

	雌平均体重以上区(n=35)				雌平均体重未満区(n=40)			
	平均値	標準偏差	最大値	最小値	平均値	標準偏差	最大値	最小値
生時体重	36.5	4.7	47.8	26.8	31.0	5.6	42.5	17.4
40週齢時体重	287.5	18.0	320.0	264.0	242.8	17.7	263.0	185.5

※雌平均体重は表1の263kgを基準とした

## 結 果

図 1 に雌雄それぞれの胸腹囲比の推移を示した。雌雄間の有意差はなく、4 週齢から 16 週齢間に顕著に増加し、およそ 120%に到達した時点からは大きく変動することはなく、ゆるやかに推移する傾向が見られた。

図 2 に 40 週齢体重が平均以上および未満に区分した雄の胸腹囲比の推移を示した。平均以上の群の胸腹囲比は 8 週齢、16 週齢、24 週齢時点で有意に高かった。また、平均以上の群は 16 週齢時点で胸腹囲比 120%を超えており、平均未満の群は 20 週齢時点でようやく 120%に到達した。

図 3 には、図 2 と同様に雌の胸腹囲比の推移を示した。雄ほど顕著な差は見られなかったが、平均体重以上の群は胸腹囲比 120%到達が早い結果であった。

表 3 に雌雄それぞれの胸腹囲比 120%到達日齢を個体ごとに推定し、平均体重以上と未満で比較した結果を示した。雄は平均以上の群が有意に早く 120%に到達しており、雌は有意差はないものの、雄と同様の傾向を示した。

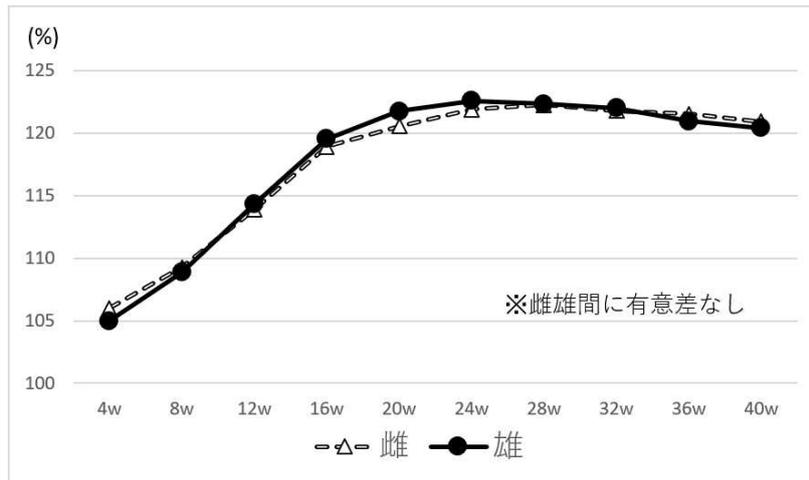


図1 黒毛和種子牛における胸腹囲比の推移

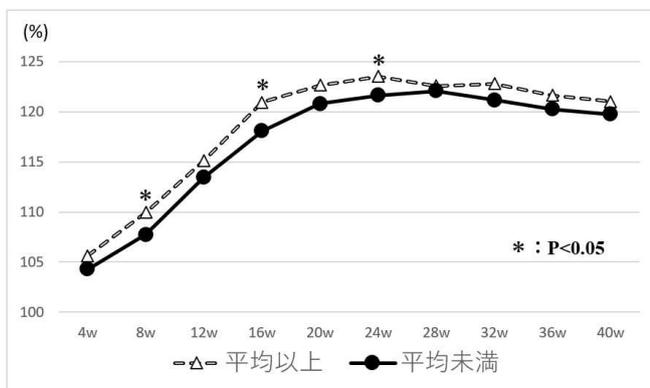


図2 平均体重以上・未満で区分した黒毛和種子牛雄の胸腹囲比の推移

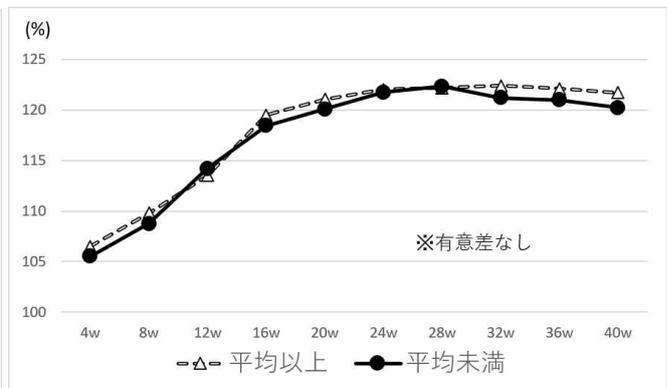


図3 平均体重以上・未満で区分した黒毛和種子牛雌の胸腹囲比の推移

表3 平均体重以上・未満で区分した黒毛和種子牛の胸腹囲比120%到達日齢

	平均以上		平均未満		P値
雄	114.4 ±	35.3	131.6 ±	34.3	0.041
雌	123.6 ±	41.7	130.9 ±	47.1	0.507

※平均値±標準偏差

※胸腹囲比120%到達日齢は、到達前後の数値から個体ごとに推定した

## 考 察

本調査結果から、黒毛和種子牛の発育の良否は、胸囲と腹囲の比率が120%に到達する日齢が一つの基準として活用できる可能性が示唆された。簡潔に述べれば、胸腹囲比が早く大きくなる子牛は消化管、特に第1胃の発達が顕著であり、セリ出荷までの発育が良好である傾向が見られた。

大森ら(1968)はホルスタイン雄子牛を用いて胸腹囲比と消化管重量、第1胃重量および第1胃+第2胃組織重量との間の関連性を調査し、いずれも高い相関関係があったことから、子牛の腹囲測定は消化管の発達状況および育成中の飼料の適否を判断するのに有用な指標となりうることを報告している。また、阿部ら(2015)は子牛の胸囲測定を定期的に行うことで群の発育曲線を可視化し、給餌管理の見直しに有効であることを報告している。このこと

から、日常的に子牛の胸囲および腹囲を測定することは、子牛の発育のみならず、消化管の発達具合や、現在の飼養管理方法が適切なのを見直すきっかけにもなる。

しかしながら、本報告は畜産試験場内のデータのみで論じており、一般農場において胸腹囲比が子牛発育の良否を判断する基準の一つとして活用可能かはまだ未知数である。実際、子牛の飼育方法は農場によって大きく異なり、哺乳方法、餌付け飼料および粗飼料の給与方法や種類など、様々である。また、極端な事例として、胸囲が標準よりも小さく腹囲が大きいだけの子牛であれば、いくら胸腹囲比が高くても「発育が良い子牛」とはとても言えないだろう。このため、胸腹囲比を活用するのであれば、なるべく生後 1 ヶ月齢程度から定期的に測定することを推奨したい。図 1 に示したように、胸腹囲比は消化管が最も発達する生時から 16 週齢にかけて急激に増加している。つまり、「子牛の腹づくり」を客観的に評価する基準の一つとして活用するべきである。

昨今の情勢から、いかにコストをかけずに子牛を早く大きくすることが重要視されている。子牛を早く大きくするためには、若齢時における消化管の良好な発達が必須である。消化管の発達具合は子牛の外貌を目で見るだけでなく、実際に胸囲、腹囲を定期的に測定し、図 1 ～ 3 のように可視化すると良い。そうすることで、農場における子牛発育改善の課題が見えてくる。胸囲および腹囲の測定は一般販売されている通常の巻尺でも十分測定が可能である。牛を繋ぐ手間があるものの、大きくコストがかかることはない。

以上のことから、子牛の胸囲・腹囲を定期的に測定して算出した胸腹囲比は一つの指標として活用できると言える。今後も、子牛発育改善の基準として活用しうる項目を調査・解析していく方針である。

## 文 献

- 阿部信介, 堀之内正次郎, 出口裕一郎, 壺岐佳浩.  
2015. 子牛の定期胸囲測定による群管理の有用性と近年の給餌管理指導の問題点. 宮崎県農業共済団体家畜診療獣医師機関誌「大草原」第 33 号, 12-28.
- 大森昭一郎, 川端麻夫, 小林剛, 浜田龍夫, 亀岡喧一. 1968. 子牛の腹囲測定の意義について. 農水省畜産試験場研究報告 18 号, 69-76.

# 自給粗飼料を活用した子牛育成用 発酵 TMR の検討 (第 1 報)

蓑毛将太・福永又三

A study on Fermented TMR for Raising Calves Using Self-supplied Roughage (Vol.1)

Shota MINOMO, Yuzo FUKUNAGA

〈要約〉水分含量が異なる 3 区分 (40%区、50%区、60%区) の発酵 TMR をパウチで 0 日、30 日、60 日、120 日貯蔵した結果、飼料成分についてはいずれの貯蔵日数においても水分含量による有意な差はみられなかった。発酵品質については、有意な差はみられなかったものの 40% 区に比べて 50%区と 60%区が良好と示唆される。

近年、畜産農家戸数が減少している一方で、飼養頭数は増加していることから大規模化が進み、一戸当たりの飼養頭数が増加傾向にある。さらに、畜産農家の高齢化も進んでおり、作業の効率化や省力化が求められていることからコントラクターや TMR センターなどを整備している地域が増えている。コントラクターや TMR センターを利用することは、畜産農家における労働力の負担低減につながることから、国が利用を促している。

TMR については濃厚飼料と粗飼料を混合していることから「完全飼料」などと呼ばれている。特に、酪農家をはじめ、和牛繁殖農家でも利用されている発酵 TMR は、好気的変敗が起きにくいことから長期保存が可能である。これまで発酵 TMR について、給与することでコスト低減につながった報告 (浅田ら 2014) や未利用資源を用いた発酵 TMR を給与した報告 (服部ら 2015) がされている。しかし、発酵 TMR に使われる粗飼料は輸入乾草が多く、自給粗飼料を活用した発酵 TMR に関する研究は少ない。

そこで今回、自給粗飼料を活用した発酵 TMR の検討および給与試験を行う。本報においては、発酵 TMR の選定を行った。

## 材料および方法

### 1 供試材料

材料は、場内で生産されたイタリアンヘイレージ、トウモロコシサイレージおよび市販の育成用濃厚飼料とし、攪拌した後パウチ 1 袋に 300 g 入れ (図 1)、常温で保管した。

試験区分について、水分含量が 40%、50%、60% の 3 区分とし、40%区は加水せず、50%区と 60%区はそれぞれ加水して水分含量を調整した (表 1)。2021 年 8 月 31 日を貯蔵日数 0 日とし、9 月 30 日 (貯蔵日数 30 日)、10 月 30 日 (貯蔵日数 60 日)、12 月 29 日 (貯蔵日数 120 日) にパウチを開封した。



図 1 パウチ

表 1 試験区分における配合割合 (原物割合)

処理区	イタリアン ヘイレージ	トウモロコシ サイレージ	市販用 濃厚飼料	水分
40%区	40.0	10.0	50.0	0.0
50%区	33.3	8.3	41.7	16.7
60%区	26.7	6.7	33.3	33.3

## 2 調査項目および分析方法

調査項目は水分含量、粗脂肪含量 (EE)、粗タンパク質含量 (CP)、耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ処理中性デタージェント繊維含量 (aNDFom)、有機物 (OM)、単・小糖類含量 (WSC)、pH、有機酸組成、揮発性塩基態窒素含量 (VBN)、フリーク評点および V-Score とした。水分含量は 60 °C で約 24 時間通風乾燥後に 135 °C の 2 時間乾燥法、EE はジエチルエーテル抽出法、CP はケルダール法、aNDFom は AOAC 法、OM については灰化法で粗灰分を求め、100-粗灰分を OM とした。WSC はアンスロン法、pH は pH メーターで測定し、有機酸組成は高速液体クロマトグラフ有機酸測定システムによる BTB ポストラベル法でそれぞれ測定した (自給飼料利用研究会 2009)。また、有機酸組成からフリーク評点、有機酸組成および VBN から V-Score をそれぞれ求め、発酵品質の評価を行った (自給飼料利用研究会 2009)。

## 3 統計処理

統計処理は EZR (Kanda 2012) を用いて行った。有意差の検定は Kruskal-Wallis 検定を用いた。

# 結 果

### 1 飼料成分

発酵 TMR における飼料成分の分析結果について表 2 に示した。各項目のばらつきはみられたが、いずれの貯蔵日数においても、処理区による差は認められなかった。WSC については、貯蔵日数が経過するごとに減少傾向にあった。

### 2 発酵品質評価

pH の推移を図 2 に示した。いずれの貯蔵日数においても有意な差は認められなかったが、水分含量が高いほど、pH は低く推移していた。フリーク評点の推移を図 3 に示した。いずれの貯蔵日数においても処理区による有意な差は認められなかった。V-Score の推移を図 4 に示した。いずれの貯蔵日数においても処理区による有意な差は認められなかったが、水分含量が低いほど V-Score が低く推移していた。有機酸組成のうち、乳酸、酢酸、プロピオン酸および酪酸の推移を図 5 から図 8 に示した。乳酸、酢酸およびプロピオン酸については、いずれの貯蔵

表 2 飼料成分の分析結果

貯蔵日数	処理区	水分含量	EE (%DM)	OM (%DM)	aNDFom (%DM)	CP (%DM)	WSC (%DM)
0日目	40%	42.90	2.95	92.43	30.53	19.97	16.70
	50%	53.67	2.84	92.05	29.11	20.25	16.66
	60%	54.28	2.78	92.20	25.05	21.18	18.73
30日目	40%	33.35	2.78	92.95	23.25	22.41	5.35
	50%	47.95	2.94	92.52	26.39	21.83	3.80
	60%	57.76	2.96	92.57	25.18	22.00	2.98
60日目	40%	43.34	2.90	92.10	31.56	21.06	3.67
	50%	54.72	2.99	91.95	31.65	20.98	2.80
	60%	63.33	3.08	92.11	28.86	21.40	3.36
120日目	40%	39.66	2.77	91.78	36.35	17.79	2.39
	50%	44.11	2.71	92.11	28.34	18.86	2.27
	60%	66.22	3.18	91.53	34.31	17.65	1.88

日数においても処理区による有意な差は認められなかったが、どの処理区においても貯蔵日数の経過に伴い高く推移していた。酪酸については、いずれの貯蔵日数においても処理区による有意な差は認められなかった。

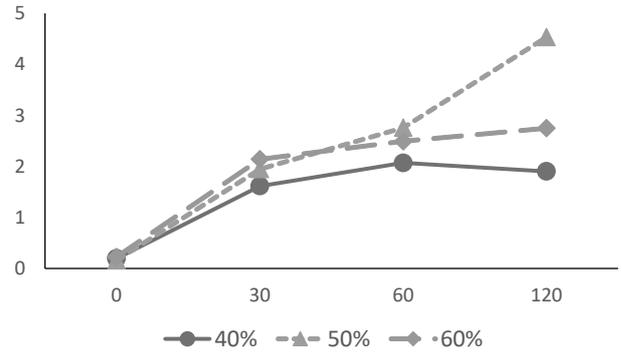


図 5 乳酸の推移 (%FM)

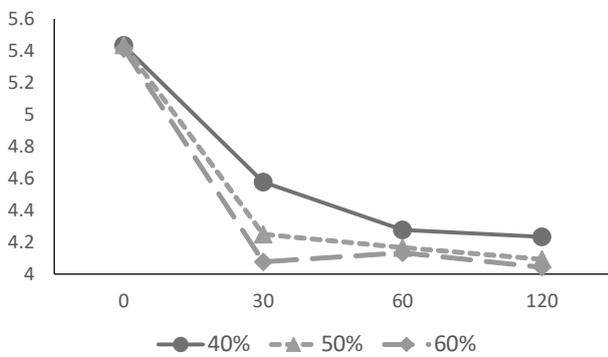


図 2 pH の推移

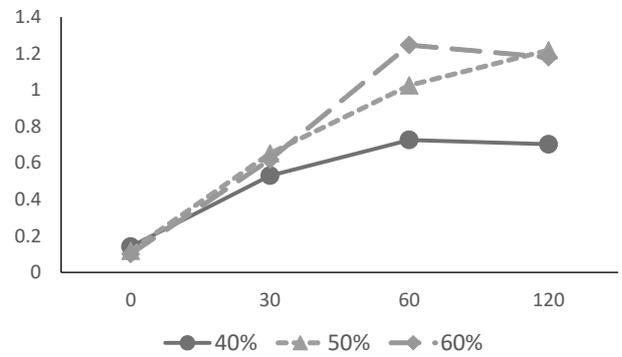


図 6 酢酸の推移 (%FM)

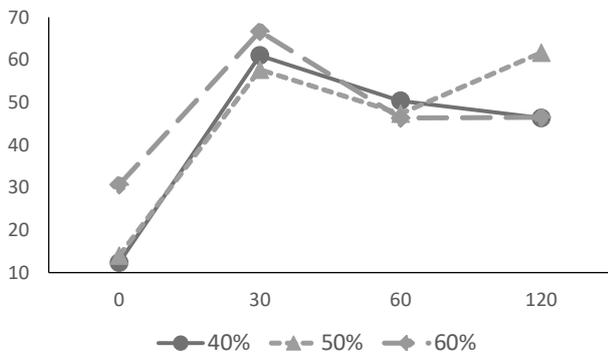


図 3 フリーク評点の推移

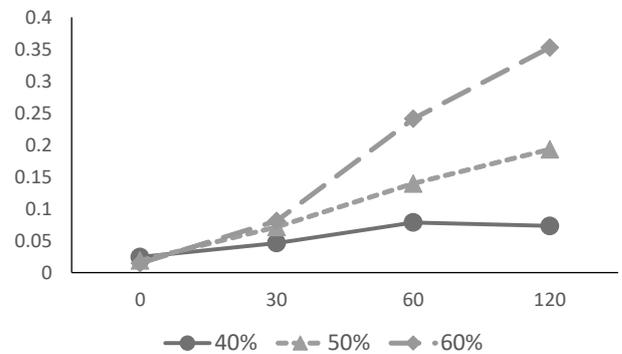


図 7 プロピオン酸の推移 (%FM)

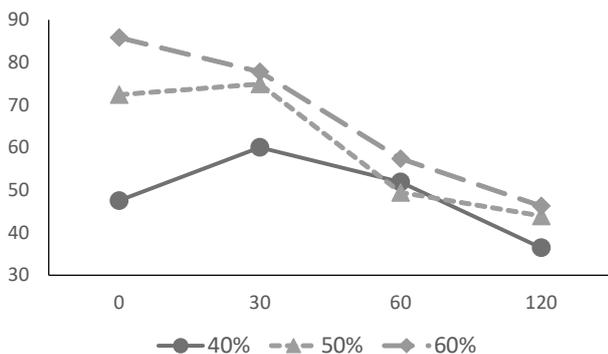


図 4 V-Score の推移

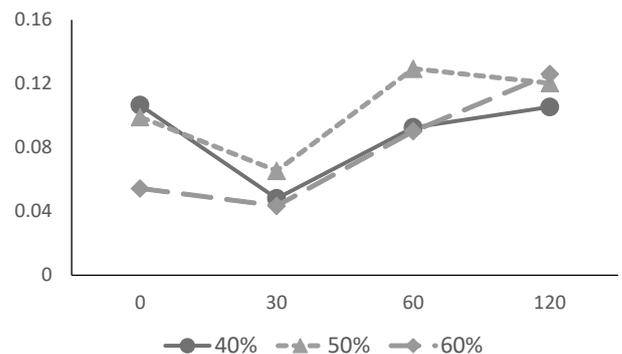


図 8 酪酸の推移 (%FM)

## 考 察

水分含量の異なる発酵 TMR を調査した結果、飼料成分にはあまり影響しないことが示唆された。西村ら (2014) は、水分含量の違いで CP や OM などの飼料成分に差は認められなかったと報告しており、今回も同様の結果が得られた。一方、発酵品質について、今回の結果は水分含量の違いによって差が認められなかった。西村ら (2014) や斉藤と米本 (2004) は、水分含量の違いは発酵 TMR の発酵品質に影響すると報告している。これまでの報告と異なった理由として、水分含量にばらつきがみられたことで、発酵品質評価の項目にもばらつきがみられた可能性がある。

発酵品質評価における pH については 4.2 以下であれば良いとされており、40%区は 120 日、50%区と 60%区は 30 日で 4.2 程度の数値に達した。発酵過程において、pH を素早く 4.2 以下に低下させることが重要であるといわれている。このため、有意な差は認められなかったが、40%区と比較すると 50%区と 60%区の方が好ましいと考えられる。

今回の試験では、発酵品質を評価するフリーク評点や V-Score において貯蔵日数の経過に伴い、悪化していたことから、不良発酵が進んでいた可能性がある。不良発酵は酪酸発酵と好気的変敗の大きく分けて 2 つある。酪酸発酵は異物混入などが影響しており、酪酸発酵が進むと、乳酸は酪酸に分解されて pH は高くなり、CP はアンモニアに分解される。しかし今回、乳酸と酪酸 (図 5、8) は貯蔵日数の経過に伴い、高く推移しており、pH (図 2) についてはすべての処理区において低く推移している。このことから、酪酸発酵が進んだ可能性は低いと考えられる。好気的変敗については密封不良などが影響し、空気中の酸素にさらされ嫌気状態にならないことで最終的に腐敗する。腐敗に至るまでには、糖類、乳酸および粗タンパク質が分解され、pH が上昇して熱を発する。しかし今回、乳酸の分解や pH の上昇は認められず、パウチの開封時に腐敗が進んでいなかったことから、好気的変敗が発生した可能性は低

いと考えられる。また、WSC は貯蔵日数の経過に伴い減少傾向にあることから、乳酸菌が糖類を消費して乳酸発酵を促進していることが示唆される。

発酵 TMR の品質調査において、高温貯蔵区は 3 カ月たっても発酵品質が安定していたが、低温貯蔵区では 3 カ月貯蔵しても安定しなかったと報告されている (名取と細谷 2011)。今回の試験はパウチを常温で保管していたため、外気温の影響を受けたと考えられる。貯蔵日数 0 日は 8 月 31 日で、120 日は 12 月 29 日であるため、貯蔵日数が経過するにつれて高温から低温へと外気温が低下していった。このため、低温にさらされていたと考えられる 60 日と 120 日では発酵品質が低下した可能性が示唆される。

発酵品質の結果から、有意な差は認められなかったものの 40%区と比較すると 50%区と 60%区が良好であると示唆される。今後は発酵品質の良好な発酵 TMR に向けて、糖や乳酸菌の添加も検討し、50%区と 60%区での給与試験を実施する。

## 文 献

- 浅田勉, 大川清充, 櫻井由美, 小林正和, 林清征幸.  
2014. 黒毛和種去勢牛の育成期における飼料構成の違いが産肉性に及ぼす影響. 群馬県畜産試験場研究報告第 21 号, 9-30.
- 服部育男, 神谷充, 春日久志, 吉田広和, 川田隆博, 井将也, 加藤直樹, 小林良次. 2015. 製糖残さ等地域未利用資源の混合が飼料用サトウキビを主体とする繁殖牛用発酵 TMR の発酵品質と人工乾物消化率に及ぼす影響. 日本暖地畜産学会報第 58 号第 1 報, 95-101.
- Kanda Y. Investigation of the freely-available easy-to-use software "EZ" (Easy R) for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 2013 : 48, 452-458. advance online publication 3 December 2012 ; doi : 10. 1038/bmt. 2012. 244
- 名取美貴, 細谷肇. 2011. トウモロコシサイレージを用いた発酵 TMR の小規模サイレージ発酵試験法 (パウチ法) による品質解析. 千葉県畜産総合研究センター研究報告第 11 号, 73-76.
- 西村慶子, 中原高士, 永西修, 中西良孝. 2014. 水分含量が異なる牧草サイレージと飼料用米の配合が発酵 TMR の発酵品質ならびにタンパク質画分に及ぼす影響. 日本草地学会誌第 60 巻第 1 号, 29-34.
- 斉藤建一, 米本貞夫. 2004. 水分含量および尿素液の添加水準の違いがイネホールクロップサイレージの発酵品質に及ぼす影響. 千葉県畜産総合研究センター第 3 号, 45-50.
- 自給飼料利用研究会編. 2009. 三訂版粗飼料の品質評価ガイドブック. 日本草地畜産種子協会, 64-78.

# 粗飼料多給および早期出荷が黒毛和種去勢牛の 飼料摂取量、発育、血液性状、胃液性状、および枝肉成績に 及ぼす影響

前田友香<sup>1)</sup>・石ヶ野公久・福永又三・竹之山慎一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>日本獣医生命科学大学・<sup>2)</sup>南九州大学

Effect of feeding high roughage feed and/or shorter fattening period on feed intake,  
growth performance, blood profiles and carcass grades of Japanese Black steer

Yuka MAEDA, Kimihisa ISHIGANO, Yuzo FUKUNAGA and Shinichi TAKENOYAMA

<要約>粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた黒毛和種肥育牛飼養体系を検討した。まず肥育前期の粗飼料多給と早期出荷が飼養成績に及ぼす影響を検討した。その結果、26 カ月齢で出荷（早期出荷）すると 28 カ月齢で出荷した場合よりも枝肉成績は劣るが、飼料効率が向上した。また、前期粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた肥育体系は、単純に早期出荷する体系に比べて、枝肉成績に差はないが、飼料給与量は減少し牛肉中アミノ酸含量は増加することが分かった。したがって、早期出荷体系において前期粗飼料多給は意義があるといえる。次に、育成期からの高タンパク粗飼料の給与（強化育成）が、肥育前期粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた肥育飼養を実施した場合の発育成績および枝肉成績に及ぼす影響について検討した。その結果、枝肉成績には強化育成の影響はなかったが、増体や牛肉中成分に影響が認められた。

家畜改良増殖目標では、黒毛和種去勢牛の場合、平均で 29.5 カ月齢の出荷月齢を 26~28 カ月齢に早めることを目標として掲げている（農林水産省 2021）。また近年、輸入穀物価格は高騰しており、それを主原料とする濃厚飼料を多給する肥育経営は、飼料費が増大し不安定な状況である。そのため、生産効率を高め、かつ飼料費の削減にもつながる早期出荷技術の確立は喫緊の課題である。

また、子牛の育成方法が肥育成績に影響を及ぼすことはよく知られている。一般に、育成期に濃厚飼料多給で飼養すると過肥になり、その子牛をそのまま肥育すると、肥育前期の発育は良いが肥育後期に増体が伸びず、出荷体重が小さくなる（NARO 2009）。また、繁殖牛向けの育成でも、骨盤や乳腺組織の発達の観点から、良質な粗飼料主体の飼養による比較的穏やかな成長をさせ

ることが、高い子牛生産性を発揮するうえで重要とされている（NARO 2009）。このような背景から、当試験場では子牛の育成期に高タンパク粗飼料を多給する飼養管理技術（強化育成）について検討してきた（中武ら 2019）。しかしながら、育成期の高タンパク粗飼料多給が、その後の肥育時期の発育や枝肉成績に及ぼす影響は明らかではない。

そこで本研究では、粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた黒毛和種肥育牛飼養体系を検討するとともに、強化育成が肥育前期粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた飼養を実施した場合の肥育成績および枝肉成績に及ぼす影響について検討した。

## 材料および方法

### 試験 1

供試牛は 10 カ月齢の黒毛和種去勢牛 17 頭とし

た。処理区は、場内の慣行で飼養し 28 カ月齢で出荷する対照区 (n = 4)、場内の慣行で飼養し 26 カ月齢で出荷する試験区 1 (n = 7)、そして、肥育前期の濃厚飼料給与量を体重比 1%に制限し 26 カ月齢で出荷する試験区 2 (n = 6) の 3 区とした (表 1)。肥育ステージの区分は、10 カ月齢から 14 カ月齢を肥育前期、15 カ月齢から 22 カ月齢を肥育中期、そして 23 カ月齢以降 (出荷まで) を肥育後期とした。給与飼料は、肥育前期ではチモシーおよび市販の肥育前期用配合飼料にトウモロコシ圧ペン、大豆粕、フスマ、およびルーサンペレットを混合したものを、肥育中期および肥育後期では稲わらおよび市販の肥育仕上用配合飼料を、それぞれ用いた。各飼料の化学成分を表 2 に示した。

試験区 1 の肥育前期を除いて、飼料の給与量は日本飼養標準・肉用牛 (NARO 2009) に基づき、肥育開始時体重 300 kg、平均日増体量 (DG) 0.8 kg としたときの粗タンパク (CP) および可消化養分総量 (TDN) の要求量を充足する量とした。飼料は 1 日量を 2 回に分けて、午前 9 時および午後 4 時に給与した。なお、供試牛は約 6 m<sup>2</sup> の単房で飼養し、水およびミネラルブロックは自由摂取とした。

飼料摂取量は、毎日残餌量を計量して給与量から残餌量を差し引くことで求めた。体重は、2 週 (w) ごとに測定した。血液は、0、8、20、32、44、56、68、80w および出荷時に、朝の飼料給与 4 時間後の午後 1 時に頸静脈から真空採血管を用いて採取した。採取した血液は直ちに遮光保冷し、遠心分離 (4°C、1870×g、15 分) 後血清を採取して、分析まで -30°C で凍結保存した。各血液成分 (総タンパク質 (TP)、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、尿素窒素 (UN)、総コレステロール (T-cho)、無機リン (iP) およびビタミン A (VA)) の分析は、株

式会社リンテック (福岡) に委託した。

供試牛は、対照区は 28 カ月齢時に、試験区 1 および 2 は 26 カ月齢時に、株式会社ミヤチク高崎工場へ出荷しと畜され、公益社団法人日本食肉格付協会による格付評価を受けた。また、各供試牛の胸最長筋を採取し、脂肪酸組成および遊離アミノ酸含量を測定した。なお、牛肉の分析は、南九州大学に委託した。

処理区間差の検定には分散分析を用い、有意であった項目については、Tukey 法により多重比較を行った。そして有意水準 5%未満を有意差ありとした。

## 試験 2

供試牛は 10 カ月齢の黒毛和種去勢牛 6 頭とした。処理区は、子牛セリにて購入し肥育前期の濃厚飼料給与量を体重比 1%に制限する対照区 (n = 3) および場内で生産された子牛を高タンパク粗飼料を給与して飼養し (強化育成)、その後肥育前期には濃厚飼料給与量を体重比 1%に制限する試験区 (n = 3) の 2 区とした (表 3)。いずれの処理区も 26 カ月齢で出荷した。なお、場内で生産された子牛の給与飼料および飼養管理方法は、中武ら (2019) の報告の試験区 (去勢) のとおりである。両処理区とも、肥育中期以降の飼料給与量は試験 1 と同様に設計した。給与飼料、飼料給与方法および飼養管理方法は試験 1 と同様である。

飼料摂取量、体重および血液性状は、試験 1 と同様に測定した。

すべての供試牛は試験終了後、株式会社ミヤチク高崎工場へ出荷しと畜され、公益社団法人日本食肉格付協会による格付評価を受けた。牛肉の分析項目は試験 1 と同様である。

処理区間差の検定には T 検定を用いた。そして有意水準 5%未満を有意差ありとした。

表 1 供試飼料の化学成分

処理区	頭数 (頭)	開始時月齢 (カ月齢)	出荷月齢 (カ月齢)	飼養管理
対照区	4	10	28	場内慣行
試験区1	7	10	26	場内慣行
試験区2	6	10	26	肥育前期の濃厚飼料給与量を体重比1%量 (原物) に制限

表2 供試飼料の化学成分

項目	粗飼料		濃厚飼料	
	チモシー	稲わら	前期*	中期・後期
DM (%)	85.9	87.8	86.8	87
CP (DM%)	10.1	5.4	17.2	12.1
TDN (DM%)	62.6	42.9	85.6	85

\*しもふり特号50%、トウモロコシ圧ぺん30%、大豆粕10%、フスマ5%、ルーサンペレット5% (DM比) 含む

表3 処理区分 (試験2)

処理区	頭数	開始時月齢 (カ月齢)	出荷月齢 (カ月齢)	導入
対照区	3	10	26	子牛セリ導入
試験区	3	10	26	離乳から10カ月齢まで高タンパク粗飼料多給

## 結 果

### 試験1

試験期間中の総飼料摂取量は、対照区で 5,742 kg、試験区1で 4,646 kg、試験区2で 4,285 kgであり、対照区に比べ試験区1および2ともに有意に少なかった。粗飼料および濃厚飼料の1日当たりの飼料摂取量を表4に示した。1日当たりの粗飼料摂取量は、処理区間に有意な差は認められなかった。1日当たりの濃厚飼料摂取量は、肥育前期および試験期間全体で、対照区および試験区1よりも試験区2が少なかった ( $P < 0.01$ )。

体重およびDGを表5に、体重の推移を図1に示した。試験開始時の体重は処理区間に差は認められなかったが、終了時体重には処理区間に有意差が認められ、対照区に比べて試験区1および2ともに値が小さかった。DGは、肥育前期では処理区間に差が認められ、試験区2で最も小さい値が示されたものの、他の肥育ステージでは処理による影響は認められなかった。そして、肥育期間全体では、いずれの処理区もほぼ同等であった。

血液性状の推移を表6に示した。本研究で調査したすべての血液成分 (TP、A/G比、GGT、UN、T-cho、iPおよびVA)に、処理区間差は認められなかった。

枝肉成績を表7に示した。枝肉重量、ばらの厚

さ、皮下脂肪の厚さおよび牛脂肪交雑基準は、対照区に比べて試験区1および2ともに有意に値が低かった。胸最長筋面積および歩留基準値には、処理による影響は認められなかった。

脂肪酸組成を図2に示した。パルミトレイン酸 (16:1(n-7))は、対照区 (4.45%) に比べて試験区1 (3.60%) および2 (3.63%) が有意に低かった。その他の成分の比率には差は認められなかった。

アミノ酸含量を図3に示した。アスパラギン酸、グリシン、ヒスチジンおよびプロリンは、処理による差が認められた。アスパラギン酸およびプロリンは、試験区2が他の処理区よりも有意に多く、ヒスチジンは、対照区よりも両試験区が多かった ( $P < 0.05$ )。そして、グリシンは両試験区とも対照区とは差は認められなかったが、試験区1に比べて試験区2で値が高かった ( $P < 0.05$ )。

### 試験2

総飼料摂取量は、対照区および試験区でそれぞれ 4,500 kg および 4,072 kg であり、その差は有意ではなかった。表8に1日当たりの粗飼料と濃厚飼料の摂取量を示した。1日当たりの粗飼料の摂取量は、肥育前期を除いて、いずれの肥育ステージも対照区よりも試験区で少なく (肥育中期;  $P < 0.05$ 、肥育後期;  $P < 0.01$ )、肥育期間全体でも試験区は対照区よりも有意に少なかった。

た。1日当たりの濃厚飼料摂取量は、肥育前期では対照区に比べ試験区で有意に多かったが、肥育後期では逆に対照区よりも試験区で少なかった ( $P < 0.05$ )。肥育中期および試験期間全体では処理区間に差は認められなかった。

体重と DG を表 9 に、体重の推移を図 4 に、それぞれ示した。試験開始時の体重は、対照区に比べ試験区で大きかったが ( $P < 0.05$ )、試験終了時の体重には処理区間差は認められなかった。DG は、肥育後期において対照区よりも試験区で値が小さかったが、試験期間全体では両処理区はほぼ同等であった。

血液性状の推移を表 10 に示した。44w の A/G 比 ( $P < 0.05$ ) および 32w の血清 iP 濃度 ( $P < 0.01$ ) は、対照区に比べて試験区で値が低かった。その他の項目には、処理による影響は認めら

れなかった。

枝肉成績を表 11 に示した。すべての項目に、処理による影響は認められなかった。

脂肪酸組成を図 5 に示した。ラウリン酸 (12:0)、リノール酸 (18:2(n-6)) および  $\alpha$  リノレン酸 (18:3(n-3)) には、処理区間に有意差が認められた。具体的には、ラウリン酸は対照区よりも試験区の値が小さかった ( $P < 0.05$ ) が、リノール酸および  $\alpha$  リノレン酸は試験区で対照区よりも割合が高まった ( $P < 0.05$ )。

各アミノ酸含量を図 6 に示した。調査したいずれの項目も、処理区間に有意差は認められなかった。

表 4 1日当たりの飼料摂取量 (試験 1)

項目	対照区	試験区1	試験区2	有意差
飼料摂取量 (kg/日/頭)				
粗飼料				
前期	3.31 ± 0.18	3.20 ± 0.13	3.62 ± 0.12	ns
中期	2.12 ± 0.17	1.83 ± 0.17	1.99 ± 0.25	ns
後期	1.72 ± 0.07	1.61 ± 0.18	1.57 ± 0.28	ns
全体	2.39 ± 0.12	2.21 ± 0.10	2.39 ± 0.18	ns
濃厚飼料				
前期	5.37 ± 0.16 <sup>a</sup>	5.49 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.77 ± 0.14 <sup>b</sup>	**
中期	8.38 ± 0.21	8.22 ± 0.10	7.92 ± 0.06	ns
後期	8.68 ± 0.21	8.56 ± 0.14	8.28 ± 0.34	ns
全体	7.48 ± 0.14 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.65 ± 0.11 <sup>b</sup>	**

\*\*、 $P < 0.01$ , ns; 有意差なし

ab異符号間に有意差あり ( $P < 0.05$ )

表 5 体重および日増体量 (試験 1)

項目	対照区	試験区1	試験区2	有意差
体重 (kg)				
開始時	311 ± 5	332 ± 8	319 ± 13	ns
終了時	813 ± 15	753 ± 17	729 ± 18	*
日増体量 (kg/日)				
前期	1.07 ± 0.02	1.00 ± 0.03	0.81 ± 0.05	**
中期	0.89 ± 0.04	0.85 ± 0.02	0.94 ± 0.04	ns
後期	0.70 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.85 ± 0.06	ns
全体	0.88 ± 0.04	0.87 ± 0.02	0.88 ± 0.02	ns

\*\*、 $P < 0.01$ , \*,  $P < 0.05$ , ns; 有意差なし

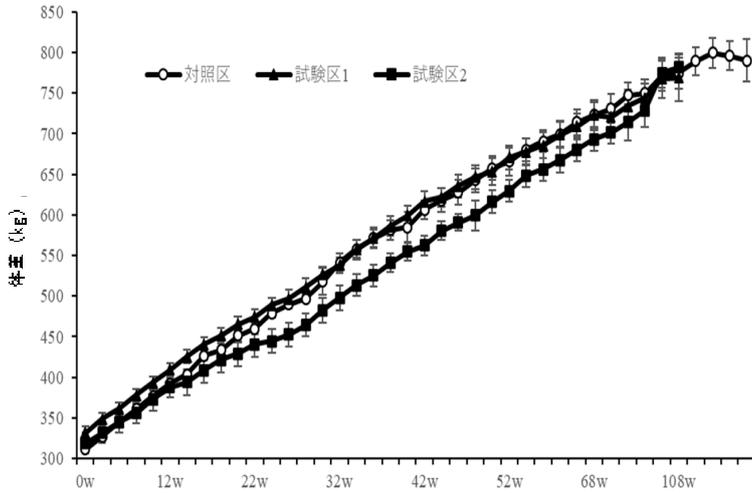


図1 体重の推移 (試験1)

表6 血液性状の推移 (試験1)

項目	処理区	週								
		0w	8w	20w	32w	44w	56w	68w	80w	出荷
TP, g/dL	対照区	6.6 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.2	5.7 ± 0.2	6.7 ± 0.1	6.5 ± 0.1	6.8 ± 0.2	6.9 ± 0.2	6.7 ± 0.1
	試験区1	6.5 ± 0.1	6.9 ± 0.2	6.4 ± 0.1	6.3 ± 0.2	6.8 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.7 ± 0.1	—	—
	試験区2	6.6 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.4 ± 0.1	6.7 ± 0.1	6.6 ± 0.1	6.6 ± 0.1	—	—
A/G ratio	対照区	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.1 ± 0.1
	試験区1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.0	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	—	—
	試験区2	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	—	—
GGT, IU/L	対照区	18 ± 1	18 ± 2	18 ± 2	29 ± 11	25 ± 4	26 ± 5	16 ± 2	18 ± 2	25 ± 5
	試験区1	15 ± 1	20 ± 3	20 ± 2	19 ± 1	25 ± 3	23 ± 3	26 ± 5	—	—
	試験区2	18 ± 2	19 ± 2	18 ± 2	31 ± 12	30 ± 7	25 ± 3	21 ± 1	—	—
UN, mg/dL	対照区	10.8 ± 1.1	14.4 ± 1.9	13.4 ± 1.4	13.2 ± 1.3	14.0 ± 1.3	14.7 ± 2.4	15.1 ± 3.5	12.3 ± 2.9	14.9 ± 1.0
	試験区1	11.7 ± 1.0	13.8 ± 1.2	16.2 ± 0.9	12.4 ± 0.8	12.2 ± 1.0	13.9 ± 1.2	14.0 ± 1.1	—	—
	試験区2	10.6 ± 1.4	12.9 ± 1.1	13.2 ± 1.3	12.9 ± 1.0	13.3 ± 0.9	12.2 ± 1.2	14.4 ± 0.8	—	—
T-cho, mg/dL	対照区	100 ± 11	107 ± 10	115 ± 9	119 ± 12	183 ± 21	183 ± 19	144 ± 25	168 ± 23	177 ± 20
	試験区1	96 ± 8	108 ± 10	120 ± 7	124 ± 10	146 ± 10	148 ± 13	158 ± 13	—	—
	試験区2	85 ± 7	94 ± 3	113 ± 7	133 ± 5	148 ± 7	150 ± 5	148 ± 6	—	—
iP, mg/dL	対照区	8.2 ± 0.3	8.0 ± 0.5	7.3 ± 0.4	6.6 ± 0.3	7.3 ± 0.3	6.7 ± 0.4	7.6 ± 0.4	5.8 ± 0.7	6.5 ± 0.4
	試験区1	7.7 ± 0.5	8.1 ± 0.2	7.9 ± 0.3	7.3 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.2	7.5 ± 0.4	—	—
	試験区2	8.0 ± 0.4	8.9 ± 0.3	7.8 ± 0.4	7.9 ± 0.2	7.3 ± 0.4	7.1 ± 0.4	7.3 ± 0.2	—	—
VA, IU/dL	対照区	79 ± 5	82 ± 6	81 ± 4	56 ± 12	46 ± 10	33 ± 8	56 ± 5	68 ± 9	44 ± 11
	試験区1	77 ± 4	84 ± 5	76 ± 11	68 ± 8	45 ± 6	53 ± 6	50 ± 10	—	—
	試験区2	79 ± 8	85 ± 6	81 ± 6	76 ± 12	54 ± 3	45 ± 4	54 ± 8	—	—

表7 枝肉成績 (試験1)

	枝肉重量 (kg)	胸最長筋面積 (cm <sup>2</sup> )	ばらの厚さ (cm)	皮下脂肪の厚さ (cm)	歩留基準値	牛脂肪交雑基準 (BMS No.)
対照区	517.7 ± 19.7 <sup>a</sup>	63.0 ± 9.6	9.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	74.0 ± 1.8	6.8 ± 1.0 <sup>a</sup>
試験区1	469.1 ± 36.7 <sup>b</sup>	55.9 ± 6.5	7.6 ± 1.1 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.4 <sup>b</sup>	73.4 ± 1.0	4.7 ± 1.8 <sup>b</sup>
試験区2	441.5 ± 31.1 <sup>b</sup>	56.7 ± 6.3	6.9 ± 0.6 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.5 <sup>b</sup>	73.7 ± 0.5	3.8 ± 1.3 <sup>b</sup>

ab異符号間に有意差あり (P < 0.05)

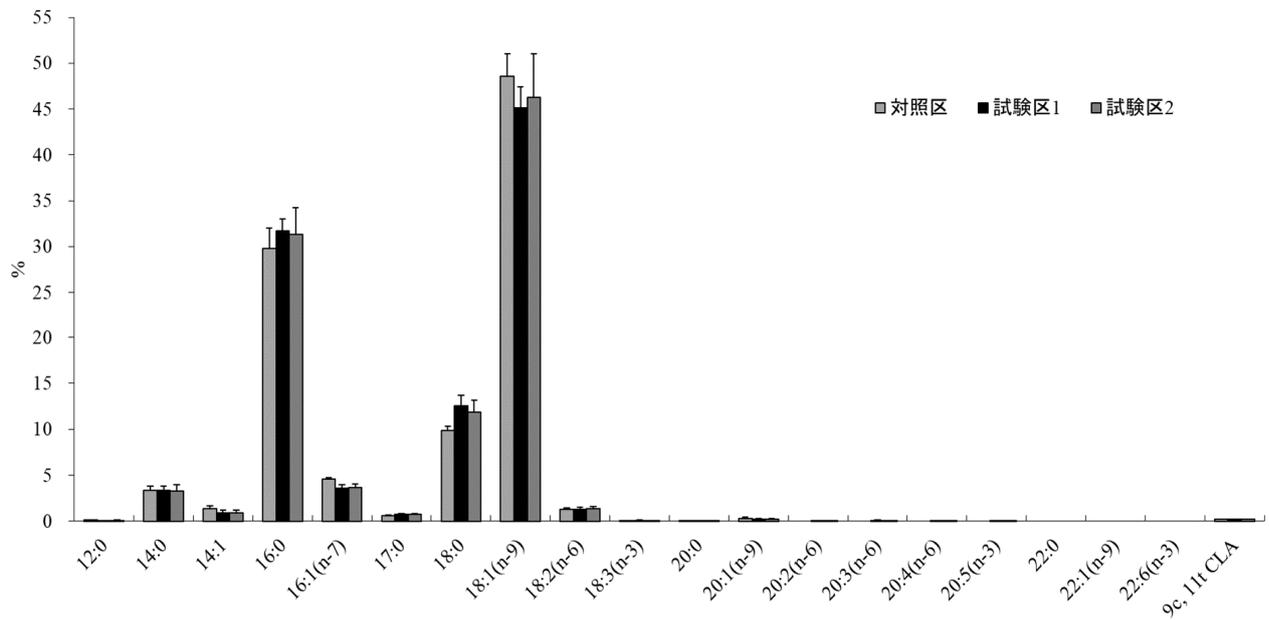


図2 脂肪酸組成 (試験1)

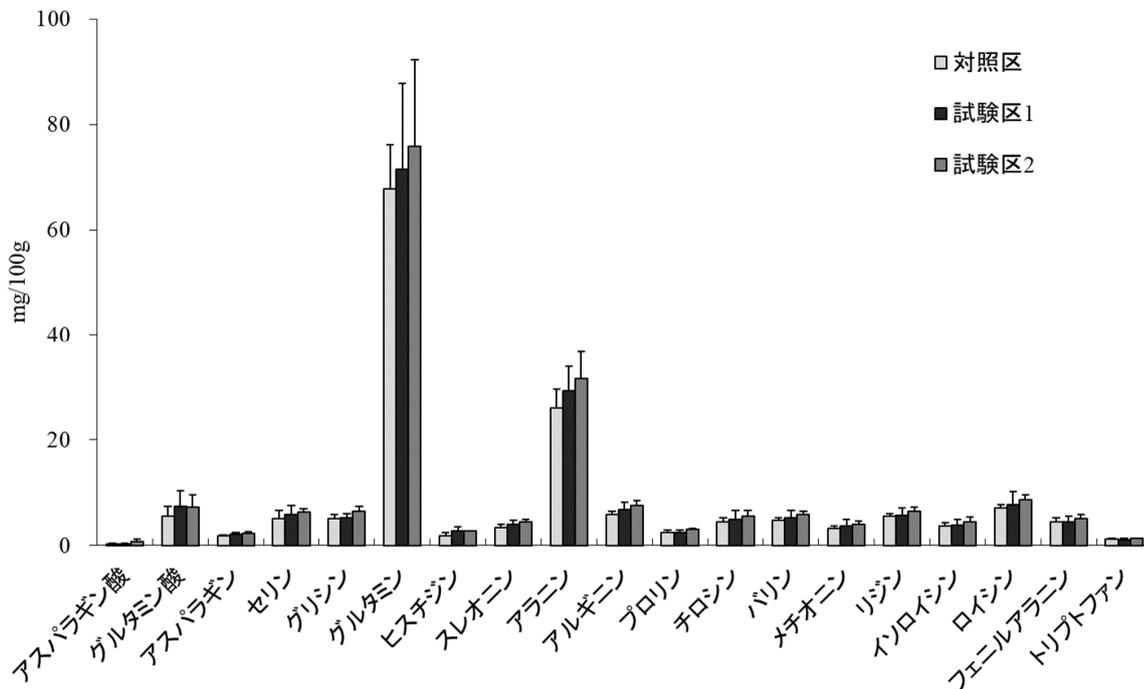


図3 アミノ酸含量 (試験1)

表8 1日当たりの飼料摂取量 (試験2)

項目	対照区	試験区	有意差
飼料摂取量 (kg/日/頭)			
粗飼料			
前期	3.59 ± 0.21	3.65 ± 0.15	ns
中期	2.46 ± 0.24	1.52 ± 0.17	*
後期	2.20 ± 0.21	1.06 ± 0.14	**
全体	2.75 ± 0.14	2.08 ± 0.12	*
濃厚飼料			
前期	3.50 ± 0.16	4.03 ± 0.06	*
中期	8.00 ± 0.04	7.83 ± 0.09	ns
後期	9.06 ± 0.07	8.36 ± 0.14	*
全体	6.86 ± 0.04	6.74 ± 0.09	ns

\*\*、 $P < 0.01$ , \*、 $P < 0.05$ , ns; 有意差なし

表9 体重および日増体量 (試験2)

項目	対照区	試験区	有意差
体重 (kg)			
開始時	294 ± 12	345 ± 1	*
終了時	716 ± 41	752 ± 31	ns
日増体量 (kg/日)			
前期	0.72 ± 0.02	0.89 ± 0.06	ns
中期	0.96 ± 0.06	0.92 ± 0.05	ns
後期	0.95 ± 0.06	0.75 ± 0.03	**
全体	0.88 ± 0.03	0.88 ± 0.05	ns

\*\*、 $P < 0.01$ , \*、 $P < 0.05$ , ns; 有意差なし

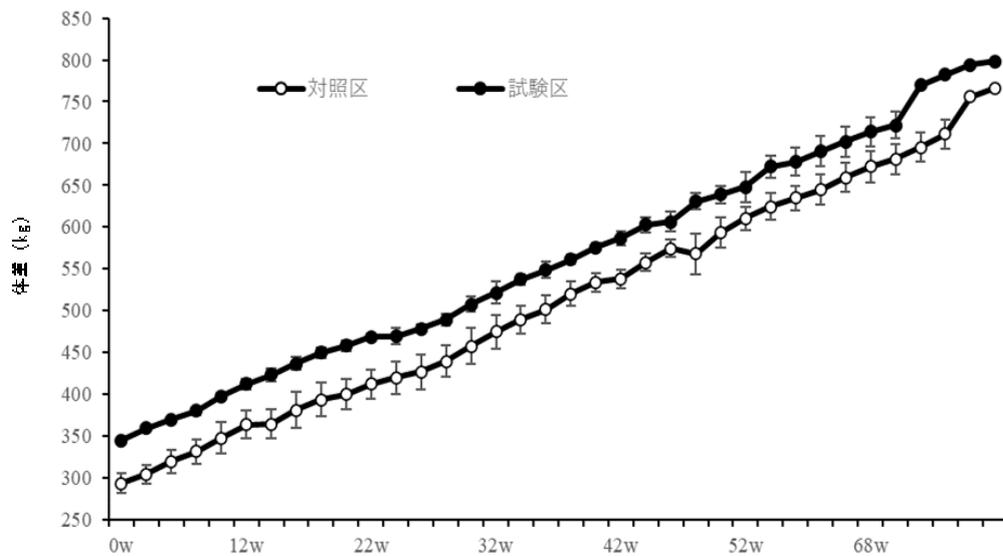


図4 体重の推移 (試験2)

表 10 血液性状の推移 (試験 2)

項目	処理区	週						出荷
		0w	8w	20w	32w	44w	56w	
TP, g/dL	対照区	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.1	6.5 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.0	6.6 ± 0.1
	試験区	6.5 ± 0.1	6.3 ± 0.5	6.6 ± 0.1	6.3 ± 0.1	6.8 ± 0.1	6.5 ± 0.2	6.5 ± 0.3
A/G ratio	対照区	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.0	1.0 ± 0.0
	試験区	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.0	0.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0
GGT, IU/L	対照区	19 ± 4	18 ± 4	18 ± 5	41 ± 26	37 ± 17	25 ± 5	19 ± 2
	試験区	17 ± 1	19 ± 3	19 ± 2	21 ± 2	24 ± 1	24 ± 2	23 ± 2
UN, mg/dL	対照区	12.7 ± 1.3	12.8 ± 1.2	11.9 ± 1.9	13.3 ± 1.3	13.0 ± 0.8	13.4 ± 1.8	14.3 ± 0.8
	試験区	8.5 ± 1.8	12.9 ± 2.1	14.6 ± 1.9	12.6 ± 1.7	13.5 ± 2.3	11.4 ± 0.5	14.5 ± 1.5
T-cho, mg/dL	対照区	85 ± 15	97 ± 2	105 ± 9	134 ± 6	153 ± 16	148 ± 8	151 ± 13
	試験区	85 ± 2	92 ± 6	120 ± 12	131 ± 8	143 ± 5	151 ± 5	144 ± 6
iP, mg/dL	対照区	8.7 ± 0.6	8.9 ± 0.1	7.9 ± 0.8	8.4 ± 0.1 <sup>A</sup>	8.1 ± 0.2	7.1 ± 0.6	7.1 ± 0.3
	試験区	7.3 ± 0.1	8.8 ± 0.7	7.7 ± 0.2	7.4 ± 0.1 <sup>B</sup>	6.7 ± 0.7	6.9 ± 0.4	7.5 ± 0.2
VA, IU/dL	対照区	92 ± 9	89 ± 9	81 ± 10	84 ± 24	52 ± 5	56 ± 5	44 ± 13
	試験区	67 ± 7	81 ± 7	82 ± 10	67 ± 6	52 ± 4	41 ± 6	65 ± 8

異符号間に有意差あり (AB;  $P < 0.01$ , ab;  $P < 0.05$ )

表 11 枝肉成績 (試験 2)

	枝肉重量 (kg)	胸最長筋面積 (cm <sup>2</sup> )	ばらの厚さ (cm)	皮下脂肪の厚さ (cm)	歩留基準値	牛脂肪交雑基準 (BMS No.)
対照区	455.9 ± 32.4	58.0 ± 7.9	6.9 ± 0.7	2.7 ± 0.4	73.5 ± 0.8	3.7 ± 1.2
試験区	427.0 ± 27.2	55.3 ± 5.5	6.9 ± 0.6	2.3 ± 0.6	73.8 ± 0.2	4.0 ± 1.7

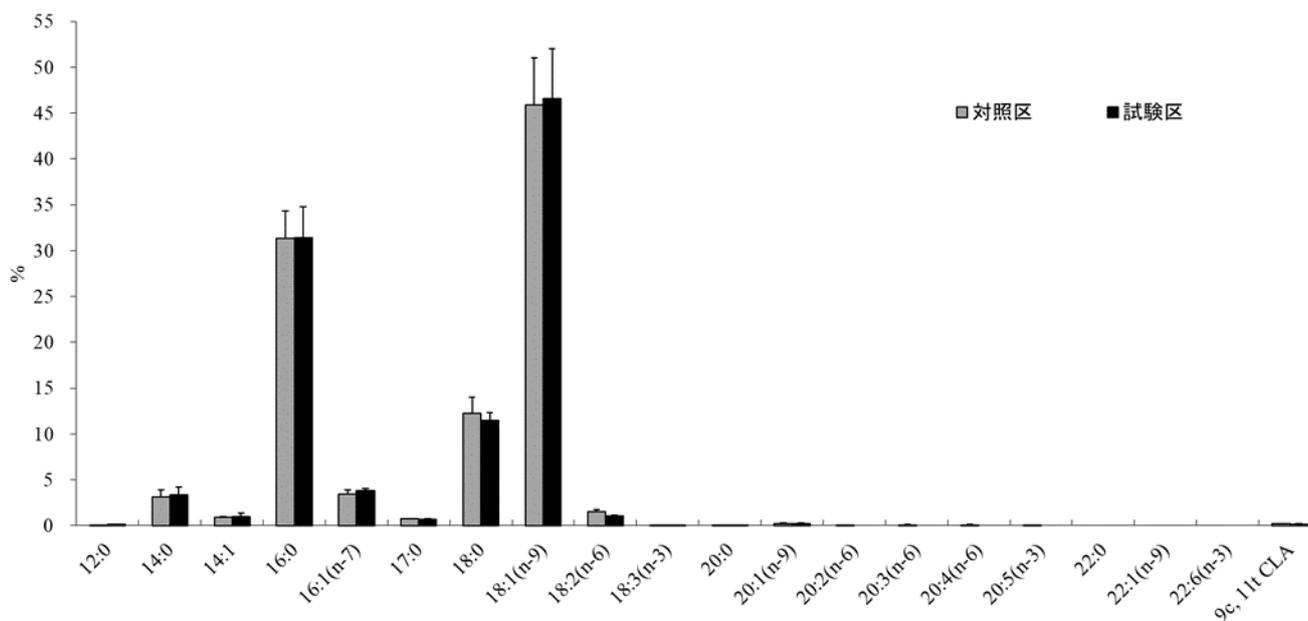


図 5 脂肪酸組成 (試験 2)

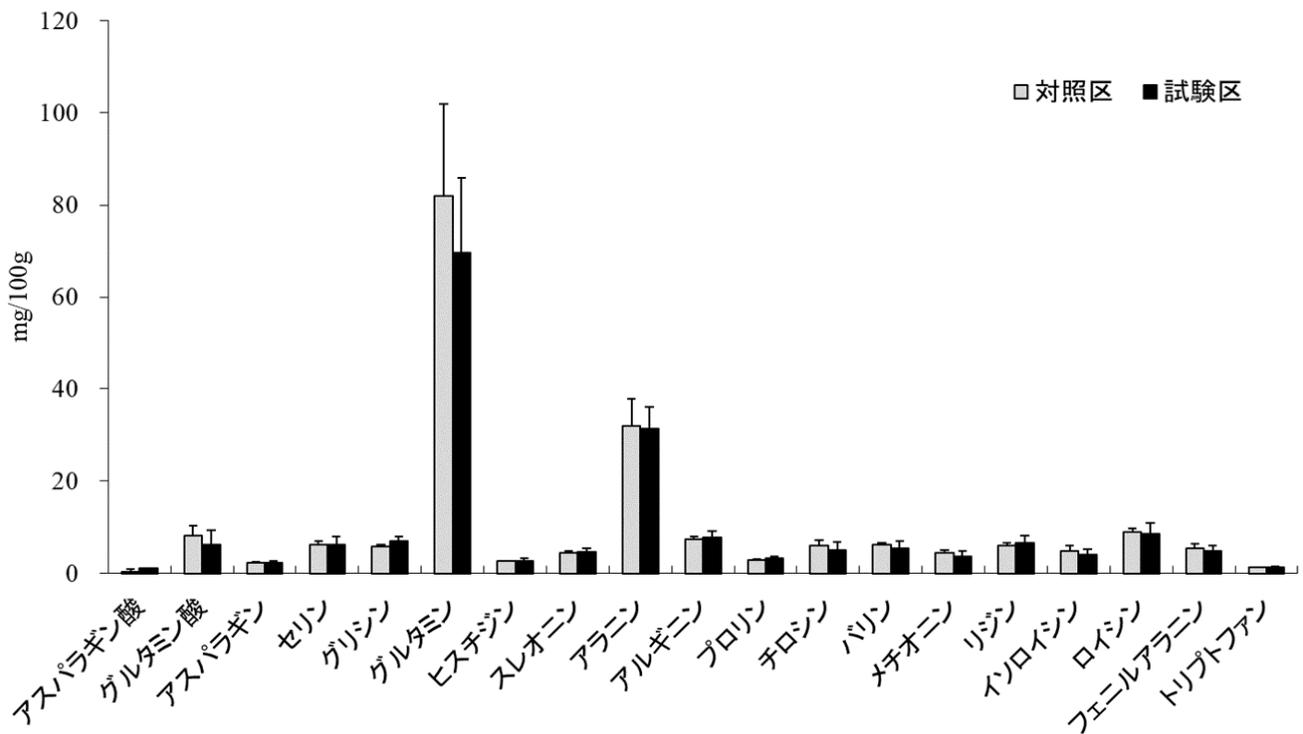


図 6 アミノ酸含量 (試験 2)

## 考 察

### 試験 1

本試験は、粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた黒毛和種肥育牛飼養体系を検討した。

粗飼料摂取量は、有意ではなかったものの、対照区よりも試験区 2 で値が高まった (対照区 vs. 試験区 2 = 3.31 kg/day vs. 3.62kg/day)。濃厚飼料の摂取量は、制限することで肥育前期および試験期間全体で減少した。DG は、肥育前期は濃厚飼料摂取量を反映し減少したが、試験期間全体では濃厚飼料給与量の制限による影響は認められなかった。飼料給与量や給与 TDN 量を制限することで、飼料効率が高まることはこれまでも多数報告されている (Fox ら 1972 ; Hicks ら 1990 ; Murphy と Loerch 1994 ; Galyean ら 1999)。本試験で得られた結果は、これらの知見と関連するものと考えられる。

本試験では、血液性状に処理区間差は認められ

なかった。また、各時期における血液成分値は、黒毛和種去勢肥育牛として、一般的な範囲内であった (乙丸ら 2015)。

既報では、粗飼料を多給すると牛肉中化学成分が変動することが示されている (常石ら 2008)。常石ら (2008) は、粗飼料多給の飼養は濃厚飼料多給の飼養と比較して、牛肉中のアミノ酸含量の高まりや脂肪酸組成におけるオレイン酸割合の低下を報告している。本研究では、総アミノ酸含量は処理区間に差は認められなかった (対照区 vs. 試験区 1 vs. 試験区 2 = 159 mg/100g vs. 174 mg/100g vs. 190 mg/100g) が、試験区 2 で最も高い値が示された。また、アスパラギン酸、グリシン、ヒスチジンおよびプロリンも、試験区 2 で高まる結果が得られている。さらにオレイン酸割合には処理の影響は認められなかったものの、同じ不飽和脂肪酸であるパルミトレイン酸は試験区 1 および 2 では割合が減少していた。よって肥育前期の粗飼料多給は、アミノ酸含量が高まり不飽和脂肪酸割合が減少することが示された。

肥育前期に粗飼料を多給すると、枝肉重量、筋肉量、骨量および蓄積脂肪量が減少する（三橋ら 1997）。本研究の枝肉重量および牛脂肪交雑基準の結果は既報と一致するものであった。なお、肥育前期のエネルギー摂取水準が低くても、肥育後期の水準が高ければ脂肪蓄積量に影響しないことも分かっており（三橋ら 1997）、今後肥育後期の給与水準についても検討する必要がある。

前期粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた肥育体系は、単純な早期出荷の肥育体系と比べて、枝肉成績はほぼ同等であるが、給与飼料量は減少し牛肉中アミノ酸含量は増加することが分かった。したがって、早期出荷体系において前期粗飼料多給は意義があると考えられる。

## 試験 2

本試験では、強化育成が肥育前期粗飼料多給と早期出荷を組み合わせた飼養を実施した場合の肥育成績および枝肉成績に及ぼす影響について検討した。

粗飼料摂取量は強化育成により減少した。濃厚飼料は肥育ステージによって異なり、強化育成により肥育前期では増加し、肥育後期では減少した。また、DG は肥育後期に強化育成により低下した。3 カ月齢から 15 カ月齢まで粗飼料を多給すると、15 カ月齢から 20 カ月齢の DG は濃厚飼料多給の飼養に比べて高まることが報告されている（坂下ら 2001）。育成期と肥育期の栄養摂取水準の違いによる肥育成績への影響を検討した報告（浅岡ら 2012）では、肥育後期の DG は、育成期および肥育期に粗飼料を多給した場合に最も高まることが示されている。本試験では、強化育成により粗飼料摂取量が減少しており、そのことが肥育後期の DG 低下につながった可能性が考えられる。

A/G 比の低下は栄養不足や肝炎を示し、血清 iP 濃度の低下はリン摂取量の欠乏をそれぞれ示す。しかしながら、本試験の結果は両項目とも極端な低値が示されたものではなく、健全性には特に影響なかったものと考えられる。

脂肪酸組成では、強化育成によりリノール酸お

よび  $\alpha$  リノレン酸は高まった。リノール酸は穀物中に多く含まれるため、濃厚飼料の摂取が多いと脂肪酸組成中の比率が高まる（常石ら 2008）。また、 $\alpha$  リノレン酸は大豆給与量が増加することで増加することが分かっている（坂東島ら 2008）。しかしながら、本試験の結果では、濃厚飼料摂取量は肥育前期において強化育成により増加していたものの、肥育後期では逆に減少し、肥育期間全体としては処理による影響は認められず、前述の知見とは結果が一致していない。この原因として、対照区には子牛セリ市にて購入した去勢牛を用いたが、同一の生産者もしくは母牛から生産された子牛ではなく、条件が統一されていなかったことが考えられる。

以上より、早期出荷体系における肥育前期の粗飼料多給は、飼料効率の増加や牛肉中アミノ酸含量の増加など、良好な影響をもたらす可能性が示唆された。一方で、枝肉成績は通常月齢よりも早期に出荷すると低下しており、早期出荷に適した肥育前期および後期の飼養体系についてより検討する必要がある。また、強化育成による肥育成績への効果は明確ではなかった。今後は子牛の条件をそろえて再検討する必要がある。

## 参 考 文 献

- 農林水産省, 2021, 家畜改良増殖目標,  
令和4年3月18日参照  
[https://www.maff.go.jp/j/press/seisan/c\\_kikaku/attach/pdf/200331-2.pdf](https://www.maff.go.jp/j/press/seisan/c_kikaku/attach/pdf/200331-2.pdf)
- 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構  
(編), 2009, 日本飼養標準・肉用牛(2008年度版), 中央畜産会, 東京.
- 中武美夢, 日高祐輝, 福永又三, 原好宏.  
2019. 高タンパク粗飼料を多給した子牛育成技術の検討. 宮崎県畜産試験場試験研究報告 30, 6-10.
- Fox DG, Johnson RR, Preston RL, Dockerty TR, Klosterman EW. 1972. Protein and energy utilization during compensatory growth in beef cattle. *Journal of animal science* 34, 310-318.
- Hicks RB, Owens FN, Gill DR, Martin JJ, Strasia CA. 1990. Effect of controlled feed intake on performance and carcass characteristics of feedlot steers and heifers. *Journal of animal science* 68, 233-244.
- Murphy TA, Loerch SC. 1994. Effect of restricted feeding of growing steers on performance, carcass characteristics, and composition. *Journal of animal science* 72, 2497-2507.
- Galyean ML., Hatfield EE, Stanton TL. 1999. Review: Restricted and Programmed Feeding of Beef Cattle—Definitions, Application, and Research Results. Manuscript No. T-5-380 of the College of Agric. Sci. and Nat. Res. *The professional animal scientist* 15, 1-6.
- 乙丸孝之助, 志賀英恵, 鹿海淳子, 柳田孝司.  
2015. 鹿児島県における黒毛和種肥育去勢牛の血液生化学的性状. 産業動物臨床医学雑誌 5, 185-190.
- 常石英作, 中西雄二, 平野清, 折戸秀樹, 小路敦, 神谷充, 加藤直樹, 中村好徳.  
2008. 放牧や粗飼料多給で生産された牛肉中の遊離アミノ酸や脂肪酸組成の特徴. 肉用牛研究会報 86, 22-25
- 三津本充, 小沢 忍, 三橋忠由, 山下良弘.  
1989. 黒毛和種去勢牛の枝肉形質に及ぼす仕上げ体重, 種雄牛および肥育後期濃厚飼料の影響. 日本畜産学会報 60, 351-358.
- 坂下邦仁, 川畑健次, 岡野良一, 堤知子, 西村健一, 大園正陽. 2000. 子牛育成期から肥育中期における栄養水準が肉質に及ぼす影響 (1): 増体および産肉性について. 鹿児島県畜産試験場研究報告 34, 13-30.
- 浅岡壮平, 稲田淳, 林武司, 磯崎良寛, 家守紹光, 齋藤昭. 2012. 強化哺育後の育成期における栄養摂取量と肥育期における粗飼料割合の違いが交雑種去勢牛の発育および産肉性に及ぼす影響. 福岡県農業総合試験場研究報告 31, 74-78.
- 坂東島直人, 日高通裕, 工藤幸弘, 矢野秀雄, 松井徹, 沖永紀子, 石田孝史, 原田宏.  
2008. 黒毛和種去勢牛の枝肉発育に対するビタミンCおよび補助飼料給与の効果. 西日本畜産学会報, 51, 67-73.

# 宮崎牛のおいしさ見える化試験

日高祐輝<sup>1)</sup>・永田修平<sup>2)</sup>・原好宏・月足拓己

<sup>1)</sup> 宮崎県畜産振興課・<sup>2)</sup> 宮崎県農業流通ブランド課

## Study of visualize the taste of Miyazaki-beef

yuuki HIDAKA, shuuhei NAGATA, yoshihiro HARA, takumi TSUKIASHI

**<要約>**枝肉切開面における見た目でも好ましいか好ましくないかを判別した宮崎牛について、官能評価では、やわらかさ、うま味の強さ等で有意差が認められたが、理化学分析では有意差が認められなかった。メタボローム解析では、好ましい宮崎牛の成分を特定できていないが、共通するアミノ酸成分等が検出されており、成分の特徴によりグループ化できる可能性がある。

宮崎牛については、国内外における知名度が確実に向上しているものの、全国的に牛枝肉の上物率(4等級以上)が80%を超える中では、いかに他産地と差別化を図るかが課題となっている。

そのような中、差別化の1つとして、オレイン酸に基づくブランド化や全国和牛能力共進会において脂肪の質が審査基準に取り入れられるなど、牛肉中の脂肪酸組成が注目されており、現在では牛枝肉の脂肪酸を簡易的に測定できる食肉脂質測定装置が開発されている。一価不飽和脂肪酸の含有率が高くなると口溶けが良くなることから、一価不飽和脂肪酸の多くを占めるオレイン酸をはじめとする不飽和脂肪酸に注目が集まっており、消費者が国産和牛を選ぶ際に、41.6%(n=1,725)が「国産和牛」にこだわり、64.4%(n=1,800)が「食肉の味(風味)」を重要とするという調査結果がある。

一方で、牛肉のおいしさには、食感に関与する脂肪酸組成だけでなく、味や香りなどが複雑に関与していると考えられている。しかしながら、味や香りを牛枝肉で測定できるまでには至っておらず、牛枝肉において、おいしさを推定する知見もない。

そこで本研究では、宮崎牛の枝肉切開面におけ

る見た目の好ましさと、食味に関する官能評価や味や香りの成分の関連性を調査し、おいしさの見える化を目的とした。

## 材料および方法

### 1 供試サンプル

供試サンプルは、4等級以上の去勢牛のうち枝肉第6-7肋骨間の切開面において肉色や脂肪の光沢と質、サシの入り具合などの見たいもとに、試験場職員と畜場の販売担当職員が目あわせを行い、見たいが好ましいか好ましくないかを判別した宮崎牛を選定した。宮崎牛とは、宮崎県内の種雄牛もしくは家畜改良のため指定された種雄牛を一代祖に持つもののうち、宮崎県内生まれ宮崎県内育ちの黒毛和種で、肉質等級が4等級以上のものと定義している。選定したサンプルは食肉工場個別にチルド保管し、と畜後7日目に急速冷凍保存した後、官能評価まで-30℃下で保管した。令和元年度から令和3年度の各年度において、見たいが好ましい10検体、好ましくない検体10検体の20検体ずつ(合計60検体)を使用した。

### 2 官能評価

各年度 20 検体を 4 回に分け (5 検体/回)、評点法を用いた分析型官能評価を実施した。パネリストは、宮崎牛を取り扱うレストランのシェフ等に依頼した。

評価項目としては、①「(食べる前の) 香りの強さ」、②「(口に入れた時から飲み込むまでの全体の印象) やわらかさ」、③「繊維感」、④「多汁性」、⑤「うま味の強さ」、⑥「(口中香りと肉の味を合わせた全体の印象) 風味の強さ」の 6 項目とした。評価項目の数値は、パネリストが 0 ~ 100 の数値で評価し、数値が大きいほど強いことを示す。

サンプルは、官能評価の前日に 4 °C の冷蔵庫に入れ、緩慢解凍した。当日に牛肉の真空パックを開封し、ロース芯をトリミングした。理化学分析に使用する分を切り出し保存した後、残りを 3cm 厚にスライスし、170 °C に予熱したスチームコンベクションで中心温度が 65 °C になるまで加熱した。加熱後、牛肉の表面を切り除き、幅 1cm × 厚さ 1cm × 長さ 2cm に成形し、デザートカップに 2 本ずつ入れて 1 時間保温して提供した。検体の提供順についてはラテン方格によりランダムイズし、1 検体につき 2 回繰り返して評価を実施した。

### 3 脂肪の融点

ろ紙を敷いたロートと三角フラスコを用い、検体を 105 °C の恒温乾燥器で 4 時間加熱して脂肪を抽出した。抽出した脂肪を毛細管で 1 cm 吸い上げたものを 1 検体につき 7 本作り、-30 °C の冷凍庫で 1 晩冷凍した。翌日、ビーカーに水道水を入れ、氷を加えながら 5 °C 程度まで水温を下げ、冷凍した毛細管をビーカー内に浸し、ホットスターラーを用い徐々に加熱した。毛細管内で脂肪が 1cm 上昇した時の温度を記録し、7 本の平均値をサンプルの融点とした。

### 4 粗脂肪含量

ビーカーにガラス棒および海砂を 2g 入れ、135 °C の恒温乾燥機で 2 時間乾燥させた。乾燥後、デシケーター内で 30 分放冷し、秤量した。秤量済みのビーカーに牛肉サンプルを約 2g 入れ、ガラス棒

を用いてビーカー内の海砂とサンプルが十分に混ざるように混合した。この時のビーカーは、1 検体につき 2 つずつ用意した。その後、再び 135 °C の恒温乾燥機で 2 時間乾燥させた。乾燥後、デシケーター内で 30 分放冷し、秤量した。ソックスレー抽出ビンには沸石を 2 粒入れ、135 °C の恒温乾燥機で 2 時間乾燥させ、デシケーター内で 30 分放冷した。

ソックスレー抽出機のサイフォン部分に円筒ろ紙をセットし、その中に牛肉サンプルを入れ、ジエチルエーテルを注ぎ入れ、抽出を開始した。

抽出は 11 時間行い、抽出後のサンプルは、105 °C の恒温乾燥機で 2 時間乾燥し、30 分の放冷後、秤量し、2 つの平均値を粗脂肪含量とした。

### 5 剪断力価

おんどとりを牛肉サンプルの中心に刺し、ビニール袋に入れ、80 °C に設定したウォーターバスの中で中心温度が 65 °C になるまで温めた。引き上げたサンプルをなるべく繊維と平行に、幅 1cm × 厚さ 1cm × 長さ 2cm に成形した。これを 6 本切り出し、「Texture Analyzer TA-XT2i」を用いて 1 本につき 2 回測定した。12 回分の結果のうち最大値と最小値を除いた 10 回分の平均値を結果とした。

### 6 メタボローム解析

メタボローム解析 (Metabolomic analysis) は、生物の代謝物質 (メタボライト) の総体を対象とした解析法であり、遺伝子を対象としたゲノム解析、mRNA を対象としたトランスクリプトーム解析、タンパク質を対象としたプロテオーム解析などと同じ、生物中にある分子全体の変動を探索し、生命現象を網羅的に解析する手法の 1 つである。代謝物は、糖、アミノ酸、脂肪酸や有機酸などの分子量 1,000 以下の低分子化合物で、約 3,000 種と言われており、その解析は、生体内の活動や表原型を把握する解析として、以下のような長所が挙げられている。

- (1) 遺伝子 (約 2 万種)、タンパク質 (約 3 万種) に比べ種類が少なく、網羅的に解析しやすいこと。
- (2) 分子量が少なく検出方法が確立しており、タンパク質より測定しやすいこと。

(3)代謝物は、ヒトから微生物までの生物が含有し、その働きもある程度共通しているため、技術の汎用性が高いこと。

(4)代謝物はタンパク質(酵素)により産生されるため、タンパク質の活性を観察できること。

代謝物の物理・化学的特性は、特定溶媒への溶解性(極性)、イオンの電荷(電離度)、揮発性(沸点)および分子量などの多様な要素を持つ。メタボローム解析に用いる分離検出・定量機器は、GC(ガスクロマトグラフ)、LC(液体クロマトグラフ)、CE(キャピラリー電気泳動)などの分離検出部と、MS(質量分析器)の定量部で構成されているが、これらの分離検出方法は代謝物の特性に対してそれぞれ適性があるため、実際の解析においては、目標代謝物の性質に応じて分析方法を使い分ける必要がある。

メタボローム解析では、1サンプルから100を超える代謝物のデータを得ることが可能であるため、特定代謝回路上の関連代謝物の変動を解析するなど、はじめから特定の代謝物に焦点を当てた解析にも活用されているが、得られた代謝物データ全てを使用して多変量解析することにより、全体の傾向を視覚的に表し、サンプル特性を明確にする解析にも活用されている。

メタボローム解析は、主に医学を中心に発展してきたが、近年では食品・農業の分野の研究にも応用が進んでおり、畜産分野においては、黒毛和種牛肉のおいしさに関わる指標の探求や黒毛和種牛肉とホルスタイン種牛肉の比較研究などに活用した事例がある。

そこで本研究では、民間の分析機関に依頼し、CE-MSおよびLC-MSによる解析を行い、「宮崎牛」の特性解明に取り組んだ。なお、予算の都合上、2019年度に10検体、2020年度に20検体、2021年度に10検体の計40検体で実施した。

## 結 果

官能評価の結果、2019年度でうま味の強さの項目で有意差( $P<0.01$ )が認められ、2020、2021

年度でも好ましくないと判別したサンプルの方がうま味の強さが強い傾向が見られた。2021年度ではやわらかさと繊維感の項目で有意差( $P<0.001$ )が認められ、2019、2020年度でも好ましくない方がやわらかく、繊維感が少ない傾向が見られた(表1)。

官能評価の評価項目間で、全ての年度に共通して多汁性と風味の強さ、うま味の強さと風味の強さにおいて中程度以上の正の相関が認められた。また、やわらかさと繊維感において中程度以上の負の相関が認められた(表2)。

理化学分析の結果、どの項目においても好ましいサンプルと好ましくないサンプルで差があるとは言えない結果となった(表3)。

メタボローム解析を年度ごとに実施した結果、2019年度は443種類、2020年度は367種類、2021年度は307種類の成分が検出された。主成分分析において、2019年度は好ましいと判別した牛肉がグループ化されているが、2020、2021年度の結果では、好ましいと判別した牛肉でのグループ化はないが、成分の特徴によってある程度グループ化された(図1)。

また、代謝物質のヒートマップにおいて成分の分布に一定の傾向が確認された(図2)。

検出された代謝物は、(1)解糖系/糖新生に関与する代謝物、(2)TCAサイクルに関与する代謝物、(3)ペントースリン酸経路に関与する代謝物、(4)アミノ酸、(5)アミノ酸関連代謝物、(6)アミン類、(7)脂肪酸、(8)有機酸関連代謝物、(9)糖類関連代謝物、(10)糖リン酸関連代謝物、(11)核酸代謝物および(12)その他の代謝物に大別された。

第1主成分および第2主成分の因子負荷量における上位20物質と下位20物質のうち、必須アミノ酸であるバリンやイソロイシン、うま味成分の1つであるグルタミン酸などが各年度に共通して検出された(表4~9)。

表1 官能評価結果

実施年度	区分	検体数	香りの強さ (食べる前)	やわらかさ	繊維感	多汁性	うま味の強さ	風味の強さ
2019年度	好ましい	10	50.5±10.6	65.4±8.2	48.5±7.7	48.5±7.7	42.1±13.2	40.5±9.5
	好ましくない	10	44.5±5.7	66.8±6.9	45.9±7.9	45.9±7.9	46.0±5.6	43.8±5.2
	有意差		NS	NS	NS	NS	*	NS
2020年度	好ましい	10	51.3±5.6	51.6±13.2	52.8±11.5	42.9±9.8	40.6±9.5	46.0±10.2
	好ましくない	10	55.1±6.6	60.2±6.5	46.7±7.9	48.2±5.9	45.7±7.2	51.5±6.7
	有意差		NS	NS	NS	NS	NS	NS
2021年度	好ましい	10	58.1±6.0	54.5±10.4	49.0±10.0	51.6±6.6	49.2±9.6	53.6±7.5
	好ましくない	10	62.7±4.2	61.9±12.5	43.6±9.8	57.3±5.7	51.7±5.7	56.5±5.4
	有意差		NS	**	**	NS	NS	NS

※平均値±標準偏差

※NS : P>0.05、\* < P : 0.01、\*\* < P : 0.001

表2 官能評価における評価項目間の相関係数

2019年度	香りの強さ (食べる前)	やわらかさ	繊維感	多汁性	うま味の強さ	風味の強さ
香りの強さ (食べる前)	1	-0.18	0.01	0.50 *	0.46 *	0.54 *
やわらかさ		1	-0.81 ***	0.24	0.03	0.11
繊維感			1	-0.46 *	-0.37	-0.42
多汁性				1	0.73 ***	0.78 ***
うま味の強さ					1	0.92 ***
風味の強さ						1
2020年度	香りの強さ (食べる前)	やわらかさ	繊維感	多汁性	うま味の強さ	風味の強さ
香りの強さ (食べる前)	1	-0.12	-0.20	0.30	0.40	0.42
やわらかさ		1	-0.76 ***	0.63 **	0.42	0.49 *
繊維感			1	-0.64 **	-0.51 *	-0.63 **
多汁性				1	0.84 ***	0.90 ***
うま味の強さ					1	0.91 ***
風味の強さ						1
2021年度	香りの強さ (食べる前)	やわらかさ	繊維感	多汁性	うま味の強さ	風味の強さ
香りの強さ (食べる前)	1	0.41	-0.23	0.35	0.55 *	0.62 **
やわらかさ		1	-0.77 ***	0.83 ***	0.35	0.66 **
繊維感			1	-0.67 **	-0.26	-0.49 *
多汁性				1	0.39	0.66 **
うま味の強さ					1	0.70 ***
風味の強さ						1

※ \* < P : 0.05、\*\* < P : 0.01、\*\*\* < P : 0.001

表3 理化学分析結果

実施年度	区分	検体数	粗脂肪含量 (%)	脂肪の融点 (°C)	剪断力価 (g)
2019年度	好ましい	10	72.5±6.3	32.4±3.9	1320.3±278.4
	好ましくない	10	73.5±8.0	34.8±3.6	1438.0±365.2
	有意差		NS	NS	NS
2020年度	好ましい	10	84.2±4.4	34.0±3.4	731.2±209.2
	好ましくない	10	81.4±2.8	31.5±5.8	855.8±348.4
	有意差		NS	NS	NS
2021年度	好ましい	10	84.2±5.9	32.8±3.0	1110.8±256.6
	好ましくない	10	84.2±3.6	34.4±3.2	1014.6±335.4
	有意差		NS	NS	NS

※平均値±標準偏差

※NS : P>0.05

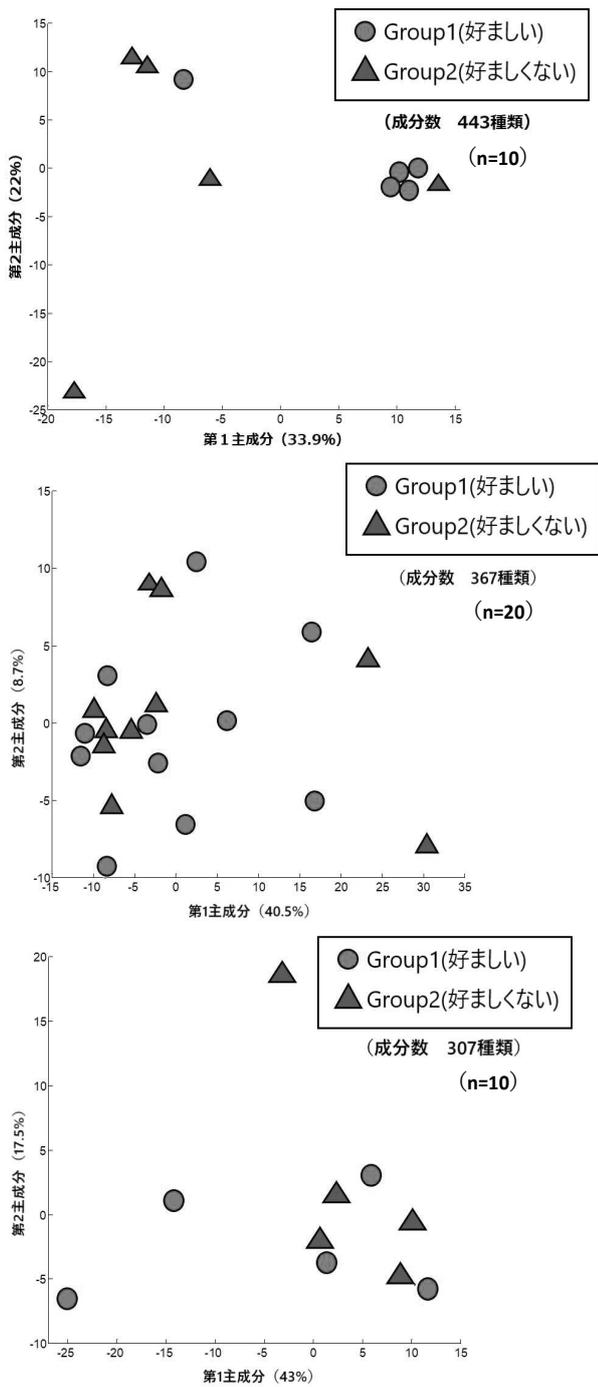


図1 メタボローム解析における主成分分析  
(上段：2019年度 中段：2020年度 下段：2021年度)  
※成分数は、官能評価に用いた検体の一部をメタボローム解析し、検出できたイオン性代謝物質と脂溶性代謝物質の総数

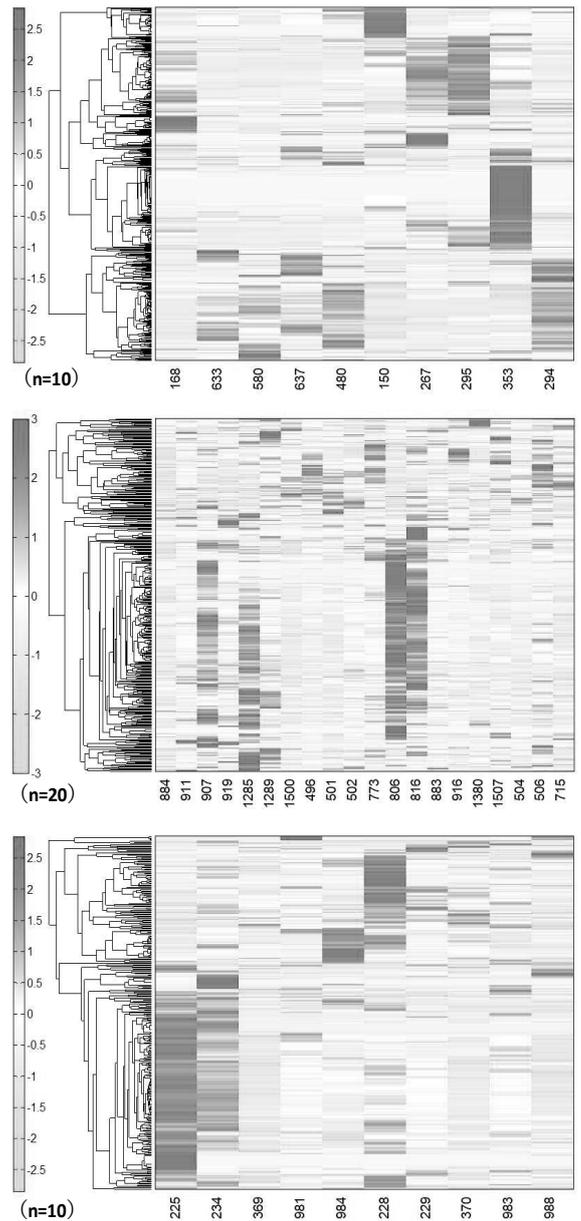


図2 メタボローム解析におけるヒートマップ  
(上段：2019年度 中段：2020年度 下段：2021年度)

表4 主成分分析における第1主成分の因子負荷量 (2019年度)

Compound name (化合物名)	PC1
Glycerol 3-phosphate	9.7E-01
CDP-choline	9.6E-01
GDP-mannose	9.6E-01
GDP-glucose	9.6E-01
AMP	9.6E-01
Ribulose 5-phosphate	9.5E-01
XA0065	9.5E-01
GMP	9.5E-01
Fructose 6-phosphate	9.4E-01
Guanosine	9.4E-01
Glucose 1-phosphate	9.4E-01
Homoserine	9.3E-01
Inosine	9.3E-01
ADP-ribose	9.3E-01
Ribose 5-phosphate	9.3E-01
5-Aminovaleric acid	9.2E-01
IMP	9.2E-01
5-Oxo-2-tetrahydrofurancarboxylic acid	9.2E-01
Propionylcarnitine	9.2E-01
XC0061	9.2E-01
NADH	9.2E-01
UMP	9.1E-01
Arg-Glu	-8.6E-01
Linoleyl ethanolamide	-8.6E-01
Val	-8.7E-01
cis-11-Eicosenoic acid	-8.7E-01
Glu	-8.8E-01
Met	-8.8E-01
Erucic acid	-8.8E-01
cis-11,14-Eicosadienoic acid	-8.8E-01
Val-Pro-Pro	-8.8E-01
Pyridoxamine	-8.8E-01
Ile	-8.9E-01
Phe	-9.0E-01
Stearic acid	-9.0E-01
Leu	-9.1E-01
Riboflavin	-9.1E-01
FA(19:0)-2	-9.2E-01
Citric acid	-9.3E-01
4-Methyl-2-oxovaleric acid	-9.4E-01
3-Methyl-2-oxovaleric acid	-9.4E-01
2-Oxohexanoic acid	-9.5E-01
N-Acetylserine	-9.5E-01
N-Acetylalanine	-9.6E-01

表5 主成分分析における第2主成分の因子負荷量 (2019年度)

Compound name (化合物名)	PC2
His-Glu	8.2E-01
Glucosamine	8.0E-01
Methionine sulfoxide	8.0E-01
Glycerophosphocholine	7.7E-01
Dyphylline	7.7E-01
Cytidine	7.6E-01
AEA(22:6)-2	7.6E-01
Asn	7.5E-01
Ser-Glu	7.5E-01
N-Acetylgalactosamine	7.4E-01
N-Acetylglucosamine	7.4E-01
N-Acetylmannosamine	7.4E-01
XA0033	7.3E-01
Ethyl arachidonate	7.3E-01
Gluconic acid	7.2E-01
3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone	7.1E-01
22-Hydroxycholesterol-1	7.1E-01
N-Acetylorithine	7.1E-01
Ser	7.1E-01
3'-AMP	7.0E-01
Glu-Glu	7.0E-01
N1-Methylguanosine	6.9E-01
Butyric acid	-8.3E-01
Isobutyric acid	-8.3E-01
Agmatine	-8.3E-01
Uracil	-8.4E-01
N8-Acetylspermidine	-8.4E-01
Isovalerylalanine	-8.4E-01
N-Acetylleucine	-8.4E-01
N-Acetylhistidine	-8.4E-01
Ethylacetimidate	-8.4E-01
XC0065	-8.4E-01
$\beta$ -Estradiol	-8.4E-01
N6-Acetyllysine	-8.4E-01
N-Acetylmethionine	-8.4E-01
$\gamma$ -Glu-Val	-8.5E-01
Ethanolamine	-8.7E-01
LysoPAF(16:0)	-8.7E-01
2-Hydroxyvaleric acid	-8.7E-01
1-Methylhistidine	-8.8E-01
3-Methylhistidine	-8.8E-01
AEA(18:1)-1	-8.8E-01
$\gamma$ -Glu-Ala	-9.0E-01
2-Aminoisobutyric acid	-9.2E-01
2-Aminobutyric acid	-9.2E-01
AC(12:1)-1	-9.4E-01

宮崎牛のおいしさ見える化試験

表6 主成分分析における第1主成分の因子負荷量 (2020年度)

Compound name (化合物名)	PC1
Ser	9.8E-01
Ala	9.7E-01
Uridine	9.7E-01
6-Phosphogluconic acid	9.7E-01
Val	9.6E-01
Thr	9.6E-01
Glu	9.6E-01
Carnitine	9.6E-01
Lactic acid	9.5E-01
Pantothenic acid	9.5E-01
$\gamma$ -Glu-Asp	9.5E-01
XC0126	9.4E-01
Ile	9.4E-01
Creatinine	9.4E-01
N6, N6, N6-Trimethyllysine	9.4E-01
Pro	9.3E-01
XC0017	9.3E-01
Phosphorylcholine	9.3E-01
XA0033	9.3E-01
Carnosine	9.3E-01
Palmitic acid	-4.3E-01
22-Hydroxycholesterol	-4.3E-01
Pyridoxal	-4.4E-01
S-Adenosylmethionine	-4.4E-01
Cycloartenol	-4.6E-01
Lanosterol	-4.6E-01
cis-8, 11, 14-Eicosatrienoic acid	-4.7E-01
Sphingosine	-4.7E-01
Sphinganine (d20:0)	-4.7E-01
2-Arachidonoylglycerol	-4.7E-01
Sphinganine	-4.8E-01
Glutathione (GSH)	-5.0E-01
FA (22:5)-1	-5.2E-01
FA (22:4)	-5.3E-01
FA (20:3)	-5.4E-01
Cysteine glutathione disulfide	-5.6E-01
3, 4-Dihydroxyphenylglycol	-5.7E-01
Terephthalic acid	-5.8E-01
2-Hydroxypyridine	-5.8E-01
Cys	-6.4E-01
Homocysteine	-6.5E-01

表7 主成分分析における第2主成分の因子負荷量 (2020年度)

Compound name (化合物名)	PC2
AC (18:2)-2	7.7E-01
AC (20:0)	7.6E-01
AC (16:2)-1	7.5E-01
Linoleic acid	7.4E-01
S-Methylmethionine	7.2E-01
AC (20:1)	6.9E-01
AC (16:2)-2	6.6E-01
Thiaproline	6.5E-01
Sphingosine	6.5E-01
AC (18:0)	6.5E-01
FA (22:5)-2	6.4E-01
Sphinganine	6.3E-01
XC0089	6.2E-01
Glutathione (GSH)	6.2E-01
Oleoyl ethanolamide-1	6.1E-01
Linoleyl ethanolamide-1	5.9E-01
Arachidonic acid	5.8E-01
AC (17:0)-2	5.8E-01
Trp	5.8E-01
Linolenic acid	5.8E-01
Guanidoacetic acid	-3.2E-01
Glucosamine 6-sulfuric acid	-3.2E-01
Methylguanidine	-3.2E-01
N-Ethylmaleimide_+H2O	-3.3E-01
Imidazole-4-methanol	-3.4E-01
N-Acetylhistidine	-3.4E-01
Glycerol 2-phosphate	-3.4E-01
3-Ureidopropionic acid	-3.4E-01
Glutathione (GSSG)_divalent	-3.5E-01
Glycerol	-3.5E-01
3-Amino-2-piperidone	-3.6E-01
CMP-N-acetylneuraminate	-3.7E-01
5-Hydroxylysine	-3.9E-01
Agmatine	-4.0E-01
$\alpha$ -Tocopherol acetate	-4.1E-01
CMP	-4.1E-01
XA0012	-4.1E-01
Taurochenodeoxycholic acid	-4.1E-01
Hippuric acid	-4.3E-01
Butyric acid	-4.8E-01
Isobutyric acid	-4.8E-01

表8 主成分分析における第1主成分の因子負荷量 (2021年度)

Compound name (化合物名)	PC1
AEA(20:3)	8.5E-01
Linoleyl ethanolamide	5.7E-01
Ricinoleic acid-2	5.4E-01
Ricinoleic acid-4	5.2E-01
cis-8, 11, 14-Eicosatrienoic acid	4.9E-01
Octylamine	4.8E-01
Sphingosine(d20:1)	4.0E-01
Arachidonic acid	4.0E-01
AC(16:2)	3.9E-01
Trilaurin	3.7E-01
FA(15:0)	3.6E-01
FA(22:5)	3.5E-01
Cortisol	3.4E-01
Sphinganine	3.4E-01
AC(10:0)-1	3.3E-01
Arachidic acid	3.2E-01
Terephthalic acid	3.2E-01
Riboflavin	3.2E-01
N-Hexanoylsphingosine	3.1E-01
AC(12:0)-2	3.0E-01
Ser-Glu	-9.7E-01
S-Methylcysteine	-9.8E-01
Asn	-9.8E-01
Gly	-9.8E-01
4-Oxopyrrolidine-2-carboxylic acid	-9.8E-01
Pro	-9.8E-01
Ile	-9.8E-01
Lactic acid	-9.8E-01
Arg	-9.8E-01
Carnosine	-9.8E-01
Thiaproline	-9.8E-01
Glu	-9.8E-01
Leu	-9.8E-01
Val	-9.8E-01
N-Acetylorithine	-9.8E-01
XC0145	-9.8E-01
Ala-Ala	-9.9E-01
Uridine	-9.9E-01
N-Acetyllysine	-9.9E-01
Ser	-9.9E-01
Thr	-9.9E-01

表9 主成分分析における第2主成分の因子負荷量 (2021年度)

Compound name (化合物名)	PC2
Cholesterol	9.3E-01
2-Arachidonoylglycerol-1	9.2E-01
AC(23:0)	9.2E-01
Ornithine	9.1E-01
Stearic acid	9.1E-01
AC(20:0)	8.9E-01
17 $\alpha$ -Estradiol-2	8.9E-01
FA(14:1)	8.9E-01
AC(22:0)	8.8E-01
AC(21:0)	8.7E-01
Glycochenodeoxycholic acid	8.6E-01
FA(20:3)	8.4E-01
O-Acetylhomoserine	8.4E-01
2-Aminoadipic acid	8.4E-01
Oleic acid	8.4E-01
AC(18:0)	8.4E-01
Coenzyme Q10	8.2E-01
Glycocholic acid	8.2E-01
Stearoyl ethanolamide	8.2E-01
FA(17:1)	8.1E-01
AC(14:0)-2	8.0E-01
XC0071	-3.3E-01
$\gamma$ -Glu-His	-3.3E-01
CMP-N-acetylneuraminate	-3.3E-01
Pyridoxine	-3.3E-01
$\gamma$ -Glu-Ser	-3.3E-01
Prostaglandin B2	-3.3E-01
AC(14:2)-2	-3.3E-01
Glyceric acid	-3.4E-01
N-Acetylgalactosamine	-3.5E-01
N-Acetylglucosamine	-3.5E-01
$\gamma$ -Glu-Ornithine	-3.5E-01
Trigonelline	-3.5E-01
AC(14:2)-1	-3.5E-01
Flavanone	-3.9E-01
Urocanic acid	-4.3E-01
5-Aminovaleric acid	-4.7E-01
Ribose 5-phosphate	-4.9E-01
Dime thylaminoethanol	-5.3E-01
4-Androstene-3, 17-dione	-6.0E-01
AEA(22:6)	-6.2E-01
Indole-3-carboxaldehyde	-6.3E-01

## 考 察

本研究結果から、「宮崎牛」の特徴を解明するまでには至らず、枝肉切開面における見た目の好ましきから、おいしいと評価される枝肉を選定するのは非常に困難であることが分かった。

供試サンプルは、宮崎牛を使用したため、粗脂肪含量や脂肪の融点において有意な差があるとは言えない結果になったと考えられる。

しかしながら、メタボローム解析の主成分分析結果において、2020, 2021 年度の結果では、見た目の好ましきに関わらず、成分の特徴によってある程度のサンプルがグループ化されていたので、宮崎牛に共通して含まれる成分を追求できる可能性が示唆された。

今後も、消費者に好まれる宮崎牛がどのような特徴を有しているかを調査・研究し、その特性や成分について官能評価とも連動した解析を行い、「宮崎牛」のおいしさを解明することが課題である。

## 謝 辞

試験設計への助言や牛肉サンプルの採材に御協力いただきました、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 佐々木啓介グループ長、株式会社ミヤチク、宮崎県経済農業協同組合連合会、一般社団法人宮崎県家畜改良事業団の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- 公益社団法人日本食肉格付協会. 2021,令和3年格付結果の概要(令和3年1月~12月)
- 公益財団法人日本食肉消費総合センター.  
2021,「食肉に関する意識調査」報告書  
佐久間弘典,齋藤薫,曾和拓,浅野早苗,小平貴都子,奥村寿章,山田信一,川村正. 黒毛和種肥育牛の胸最長筋における官能特性に及ぼす粗脂肪含量と脂肪酸組成の影響について. 日本畜産学会報 83,291-299
- 露木梨紗子,鈴木啓一,飯田文子. 焼成調理における牛肉官能特性に及ぼす脂肪酸組成の影響. 日本調理科学会誌,Vol.49,No.1,19~25
- 鈴木啓一ら.2015,メタボロミクス解析による黒毛和種牛肉のおいしさに関わる指標の探索,平成26年度食肉に関する助成研究調査成果報告書,Vol.33,73-78
- 山田知哉.和牛肉のおいしさを「見える化」する.2019,平成30年度食肉に関する助成研究調査成果報告書,Vol.37,38-44
- 山田知哉.和牛肉のおいしさを「見える化」する(Ⅱ)輸入牛肉との比較.2020,平成31年度(令和元年度)食肉に関する助成研究調査成果報告書,Vol.38,78-81
- 中山統雄,林田雄大,北浦日出世,鶴田勉,守田智,原公庸,古田雅子,行部浩,富澤一仁.202,メタボローム解析による「あか牛」牛肉特性の解明,畜産の情報 2021.11,56-68

# 黒毛和種におけるヒアルロン酸を用いた 過剰排卵処理方法の検討

堀内早苗・杉野文章<sup>1)</sup>・橋谷薫・須崎哲也<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>県立農業大学校・<sup>2)</sup>総合農業試験場

Examination of the superovulation processing method using the hyaluronan in the Japanese Black cows

Sanae HORIUCHI, Fumiaki SUGINO, Kaoru HASHIDANI, Tetsuya SUZAKI

<要約>ヒアルロン酸を添加した pFSH 製剤による過剰排卵処理の投与方法について検討した結果、筋肉内投与のみの場合でも皮下投与と筋肉内投与を併用した場合でも、生理食塩水のみを溶媒とした場合と同等の採胚成績が得られた。

牛における受精卵移植技術は、牛群の改良および優良血統牛の増産が期待され、全国的に普及が進み利用されている。そのような中、本県では受精卵移植普及定着化共同試験（共同試験）に参加し、独立行政法人家畜改良センターの指導のもと、他の参加県とともに効率的な過剰排卵処理プログラムで多くの受精卵を生産することを目的に試験を行ってきた。

これまでの共同試験では、黒毛和種供胚牛において生理食塩水を溶媒としたブタ下垂体由来卵胞刺激ホルモン（pFSH）製剤の頸部皮下 1 回投与方法により、従来の漸減投与方法と同等の採胚成績が得られることを明らかにした（Hiraizumi ら 2015）。

一方、Biancucci ら（2016）は 5 %ヒアルロン酸溶液を溶媒に用いることで過剰排卵処理におけるゴナドトロピン投与量や投与頻度が少なくてすむこと、移植可能胚数や凍結可能胚数が増加することを報告している。また、皮下注射の溶媒として用いた場合のヒアルロン酸の性質として、持続または制御放出、血漿中濃度の維持、より良好な薬物動態および注射回数の減少が利点として報告されている（Prisell ら 1992 ; Esposito ら 2005 ; Kim

ら 2005）。

なお、令和元年度および 2 年度の共同試験において、ヒアルロン酸添加時の pFSH 溶媒総量や添加するヒアルロン酸濃度について検討したところ、溶媒量 10 ml でも従来法と同等の採胚成績が得られ、またヒアルロン酸濃度 4 %添加時に無添加時より良質な胚が得られることを明らかにした（北野ら 2021）。

そこで、令和 3 年度（試験 1）および 4 年度（試験 2）の共同試験では、宮城、茨城、神奈川、長野、奈良の 5 県とともに、ヒアルロン酸添加 pFSH 製剤の投与方法について検討したので報告する。試験 1 では頸部筋肉内への 1 回投与方法、試験 2 では頸部皮下と頸部筋肉内への同時投与方法について検討した。なお、本報告に記載のデータは宮崎県で実施した試験で得られたもののみである。

## 試験 1 : 試験方法

### 1 試験方法

過剰排卵処理は発情日および発情直後を避けて腔内留置型黄体ホルモン製剤（CIDR、シダー 1900

；ゾエティス・ジャパン株式会社）を腔内に挿入し、同時に PGF<sub>2α</sub>（クロプロステノール 750 μg、エストラメイト；株式会社インターベット）を頸部筋肉内に投与後、挿入日を 0 日として CIDR 挿入から 7 日目に卵胞波調整のため GnRH（酢酸プセレリン 5 μg、イトレリン；あすか製薬）を投与した。CIDR 挿入から 10 日目に後述の試験区別の溶媒に溶解した pFSH 製剤（アントリン R・10；共立製薬株式会社）20 AU を頸部筋肉内へ 1 回投与した。CIDR 挿入から 12 日目に CIDR を抜去すると同時に PGF<sub>2α</sub> を投与し、その後 31 時間目（CIDR 挿入から 13 日目）に GnRH を投与した。人工授精は GnRH 投与後、24 時間目（CIDR 挿入から 14 日目）の定時に 1 回行い、その 7 日後に採胚を実施した（表 1）。

また、血中 pFSH 濃度を測定するために、pFSH 製剤投与日（CIDR 挿入から 10 日目）から人工授精日（CIDR 挿入から 14 日目）までの期間、表 1 に示したスケジュールで頸静脈から採血を行った。

表 1 過剰排卵処理、採胚および採血スケジュール

Day	0	7	10	11	12	13	14	21
午前 (9時)	CIDR挿入 PGF <sub>2α</sub> エコー		pFSH エコー		CIDR抜去 PGF <sub>2α</sub> エコー			採胚 エコー
午後 (16時)		GnRH エコー				GnRH	人工授精 エコー	
採血(時)			9,13,17,19	9,16	9,16	9,16	9,16	

## 2 供試牛および試験区分

供試牛は場内で飼養している黒毛和種経産牛 3 頭を用いた。暑熱時期（8 月から 9 月中旬）の採胚を避けること、同一牛での採胚間隔を 63 日以上空けることを参加県間で統一し、同一牛で年間 3 回（各区 1 回ずつ）の採胚を実施した。

試験区分は以下のとおりで、1 区および 2 区の pFSH 製剤溶媒に、ヒアルロン酸製剤（HA、ヒアルロン酸 Na 10 mg/ml、ハイオネート；Boehringer Ingelheim）を添加し、3 区とも頸部筋肉内へ投与した。

- 1 区 生理食塩水 6 ml + HA 4 ml
- 2 区 生理食塩水 8 ml + HA 2 ml

- 3 区 生理食塩水 10 ml

## 3 調査項目

採胚成績、超音波診断装置による卵胞数および黄体数の計測（CIDR 挿入日を 0 として、0、7、10、12、14 日目および採胚日に実施）、時間蛍光免疫測定法（TR-FIA）による血中 pFSH 濃度の測定を実施した。また、統計処理については、Kruskal-Wallis 検定を用いた。

## 試験 1：試験結果

採胚成績を表 2 に示した。平均採胚総数は 1 区 19.7 個、2 区 18.3 個および 3 区 22.7 個、平均正常胚数は 1 区 13.0 個、2 区 8.7 個および 3 区 10.0 個、正常胚率は 1 区 75.8 %、2 区 49.6 %および 3 区 50.4 %であった。1 区で正常胚率が最も高かったが、いずれの項目においても各区間に有意差は認められなかった。

表 2 採胚成績

試験区	黄体数	採卵総数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数	正常胚率
1 区	19.7±4.7	19.7±4.7	13.0±1.7	4.0±4.0	2.7±2.2	75.8%
2 区	18.3±1.5	18.3±1.5	8.7±2.2	2.7±1.7	7.0±2.5	49.6%
3 区	21.0±4.9	22.7±5.5	10.0±0.6	9.0±6.2	3.7±0.3	50.4%

(平均値±標準偏差)

小・中・大卵胞数の推移については各区同様の推移を示した（図 1～3）。血中 pFSH 濃度については、pFSH 製剤を投与してから、3 区で 4 時間後、1 区および 2 区で 8 時間後にピークに達したが、ヒアルロン酸添加区の投与後の pFSH 濃度の立ち上がり方がヒアルロン酸無添加区と比較して低い結果となった。ピーク後は 3 区ともなだらかに減少し、24 時間後以降は 3 区間の濃度差はほとんどなくなった。しかし、最終採血時（pFSH 製剤投与から 103 時間後）には、ヒアルロン酸無添加の 3 区と比較して、ヒアルロン酸添加の 1 および 2 区でやや高い値が検出され、ヒアルロン酸による徐放性の効果がより長く続いていることが示唆された（図 4）。

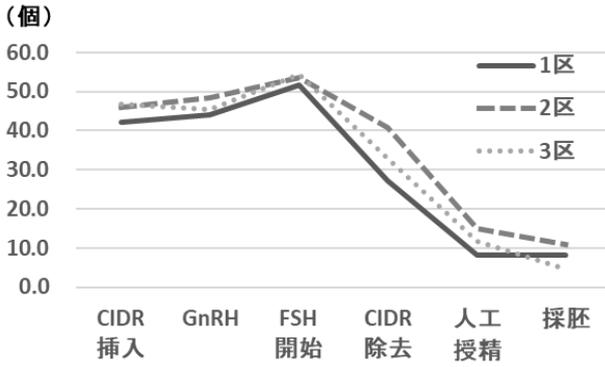


図1 小卵胞数の推移

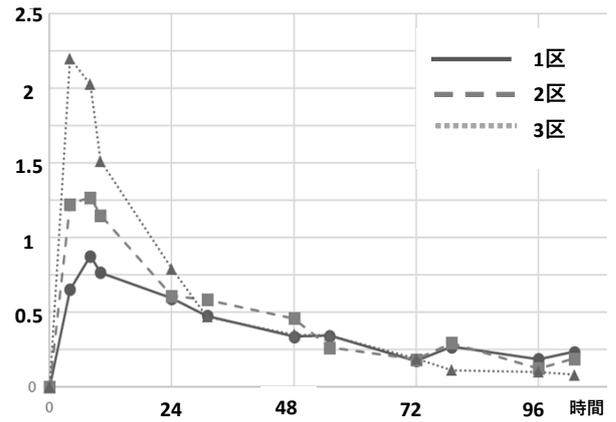


図4 血中 pFSH 濃度 (ng/ml) の推移

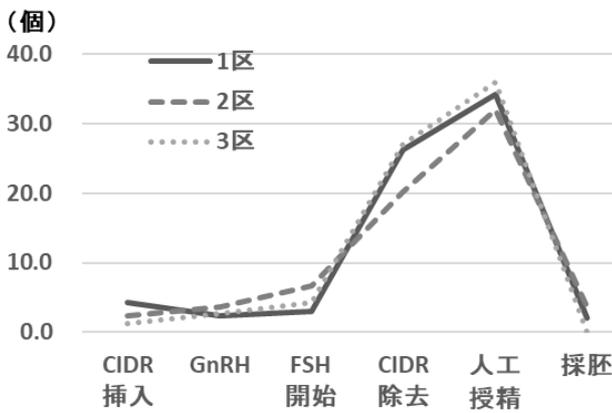


図2 中卵胞数の推移

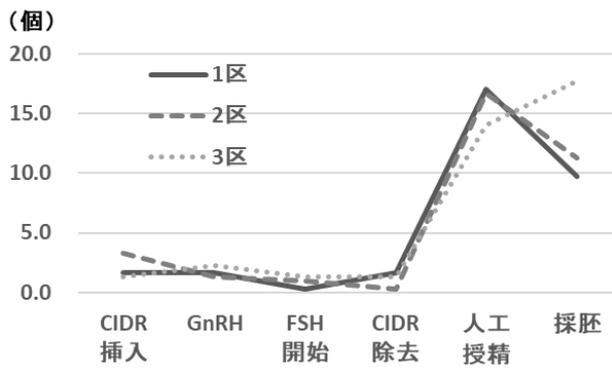


図3 大卵胞数の推移

## 試験2：試験方法

### 1 試験方法

試験1の結果から、ヒアルロン酸無添加の頸部筋肉内投与で最初の立ち上がりを補填し、ヒアルロン酸添加の頸部皮下投与で持続性を保つことで、より良質な胚が得られることが示唆されたため、pFSH 製剤の投与方法についてさらに検討した。試験1と同様の処理スケジュールで、試験区分は以下のとおりとした。

### 2 供試牛および試験区分

供試牛は場内で飼養している黒毛和種経産牛3頭を用いた。採胚の時期および間隔は試験1と同じ条件で、同一牛で年間2回(試験区および対照区)の採胚を実施した。

試験区の pFSH 製剤溶液について、頸部筋肉内投与用は pFSH 製剤 5 AU を生理食塩水のみで溶解し、頸部皮下投与用は pFSH 製剤 15 AU をヒアルロン酸を添加した生理食塩水で溶解し、筋肉内と皮下に同時に投与した。

試験区 生理食塩水 2.5 ml (筋肉内投与)

生理食塩水 4.5 ml + HA 3 ml (皮下投与)

対照区 生理食塩水 10 ml (皮下投与)

### 3 調査項目

試験 1 と同じ項目について調査した。また、統計処理については、スチューデントの t 検定を用いた。

## 試験 2 : 試験 結果

採胚成績を表 3 に示した。平均採胚総数は試験区 12.3 個および対照区 4.7 個、平均正常胚数は試験区 11.0 個および対照区 4.3 個、正常胚率は試験区 89.2 %および対照区 92.9 %であり、いずれの項目においても両区間に有意差は認められなかった。

表 3 採胚成績

試験区分	黄体数	採卵総数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数	正常胚率
試験区	24.3±5.4	12.3±2.9	11.0±2.9	1.3±0.3	0.0±0.0	89.2%
対照区	12.3±2.9	4.7±1.8	4.3±2.0	0.3±0.3	0.0±0.0	92.9%

(平均値±標準偏差)

小・中・大卵胞数の推移について、小卵胞数および中卵胞数は個体差に左右され、やや異なる推移を示す部分もあったが、大卵胞数は両区ともに人工授精時にピークを迎えた(図 5～7)。血中 pFSH 濃度は、pFSH 製剤を投与してから、対照区で 8 時間後、試験区で 10 時間後にピークに達し、投与後の立ち上がりは両区で同様の推移を示した。その後、試験区ではなだらかに減少していったのに対し、対照区では上昇と下降を繰り返しながら血中濃度が減少していった(図 8)。

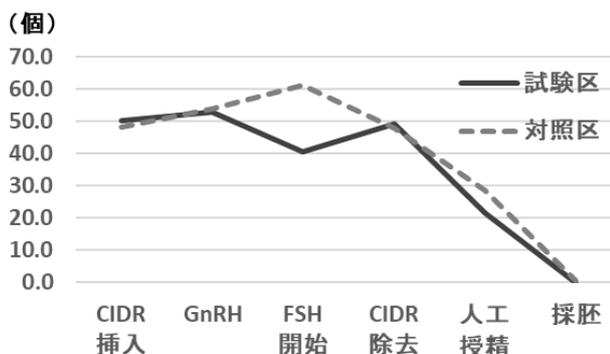


図 5 小卵胞数の推移

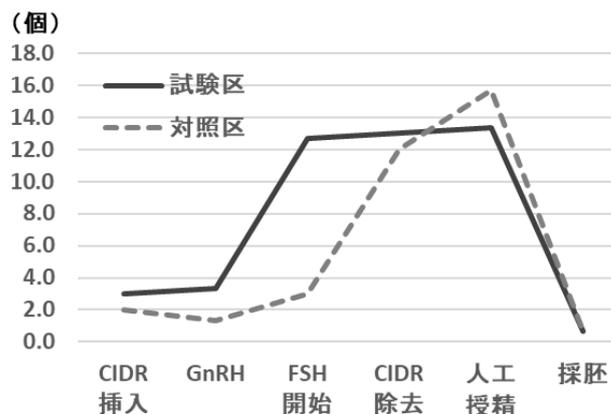


図 6 中卵胞数の推移

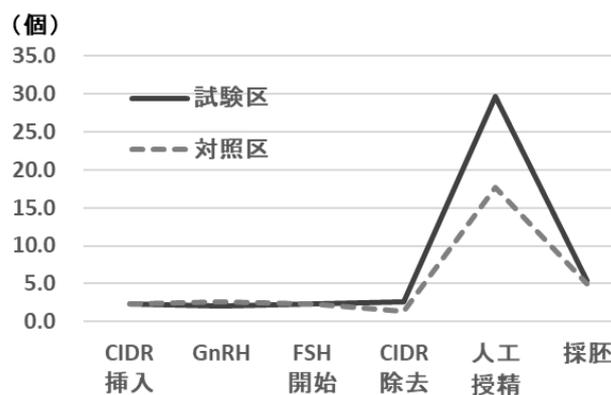


図 7 大卵胞数の推移

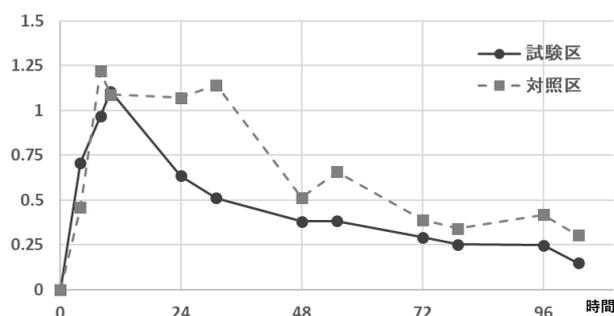


図 8 血中 pFSH 濃度 (ng/ml) の推移

## 考 察

試験1では、現行のpFSH製剤投与方法である皮下投与と比べてより簡単な手技である筋肉内投与で過剰排卵処理を行った際に、ヒアルロン酸が採胚成績や血中pFSH濃度の推移にどのような影響を及ぼすかについて検討した。その結果、採胚成績において有意差は認められなかったが、pFSH製剤投与後の立ち上がりの血中濃度の低さを解決することでより良質な胚が得られることが推察されたため、試験2を実施した。

試験2では、ヒアルロン酸無添加の筋肉内投与で補填することにより、ヒアルロン酸添加の皮下投与を行った試験区でも、対照区と同等の血中pFSH濃度の立ち上がりを示したが、採胚成績において有意差は認められなかった。また、試験1ではヒアルロン酸添加区でより長く血中pFSH濃度が保たれ、徐放性の効果が示唆されたものの、試験2では対照区と比較して、ヒアルロン酸添加による特異的な徐放効果は認められなかった。

また、全体を通して、採胚成績、血中pFSH濃度ともに個体差が大きく反映される結果となり、ヒアルロン酸の徐放効果が採胚成績にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることはできなかった。

今後もヒアルロン酸の有効な利用方法を含め、より効率的な過剰排卵処理技術の開発と普及を目指して試験を継続していきたい。

## 謝 辞

血中pFSH濃度測定に御協力いただきました岩手大学農学部獣医学科繁殖機能制御学研究室の高橋透教授に厚く御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- S.Hiraizumi,H.Nishinomiya,T.Oikawa,N.Sakagami,F.Sano,O.Nishino,T.Kurahara,N.Nishimoto,O.Ishiyama,Y.Hasegawa,Y.Hashiyada.2015.Superovulatory response in Japanese Black cows receiving a single subcutaneous porcine follicle-stimulating hormone treatment or six intramuscular treatments over three days. *Theriogenology* 83,466-473.
- Biancucci A,Sbaragli T,Comin A,Sylla L,Monaci M,Peric T,Stradaioli,G.2016.Reducing treatments in cattle superovulation protocols by combining a pituitary extract with a 0.5% hyaluronan solution: Is it able to diminish activation of the hypothalamic pituitary adrenal axis compared to the traditional protocol? *Theriogenology* 85,914-921.
- Prisell PT,Camber O,Hiselius J,Norstedt G.1992.Evaluation of hyaluronan as a vehicle for peptide growth factors.*Theriogenology* 85,51-56.
- Esposito E,Menegatti E,Cortesi R.2005.Hyaluronan-based microspheres as tools for drug delivery: a comparative study.*International Journal of Pharmaceutics* 288,35-49.
- Kim E,Baba D,Kimura M,Yamashita M,Kashiwabara S,Baba T.2005.Identification of a hyaluronidase, Hyal5, involved in penetration of mouse sperm through cumulus mass.Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 50,18028-18033.
- 北野典子, 矢島りさ, 植田郁恵, 湯澤裕史, 田邊ひとみ, 森村裕之, 藤森祐紀, 中島岳人, 中光大輔, 松田秀雄. 2021年. 黒毛和種におけるヒアルロン酸を用いた過剰排卵処理方法の検討. *日本胚移植学雑誌*, 43, 37-41.

# 受精卵移植における受卵牛選定手法の検討

堀内早苗・北野典子<sup>1)</sup>・橋谷薫・杉野文章<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>都城家畜保健衛生所・<sup>2)</sup>県立農業大学校

## Examination of the recipient cow choice technique in embryo transfer

Sanae HORIUCHI, Noriko KITANO, Kaoru HASHIDANI, Fumiaki SUGINO

＜要約＞受精卵移植予定の牛について、発情前日、発情日、移植日における栄養状態や子宮環境の調査を実施したところ、平均腔内電気抵抗値は発情前日午後に最低値を示し、平均子宮頸管粘液 pH は発情日に最低値を示す傾向にあった。

牛の体内受精卵移植頭数は年々増加傾向にあるが、県内における受胎率は 40 % 前後の低い水準で推移しており（宮崎県家畜防疫対策課 平成 25 年度から令和 4 年度；図 1）、その向上が課題となっている。

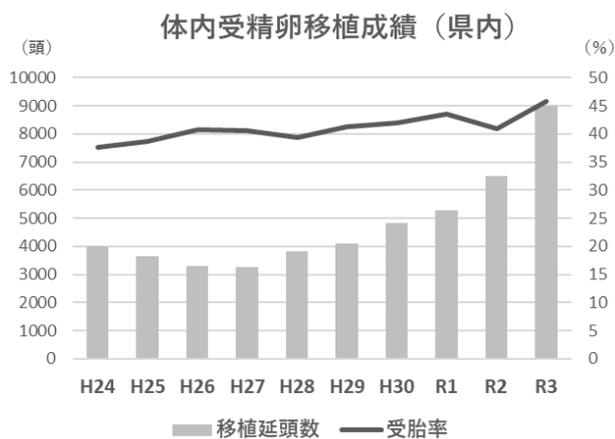


図 1 県内の牛体内受精卵移植成績

これまでに、受精卵移植の受胎率に影響する受卵牛の要因として、血液性状や血中ホルモン濃度、子宮環境の変化、栄養状態等が報告されている（笹木ら 2007；細川と米澤 2008；小林ら 2013；鍋西と杉野 2021）が、これらの指標は農家庭先で簡単に確認できるものではなく、現場では小林ら（2013）が提唱した直腸検査により移植時の黄体の状態を

確認することで受卵牛を選定する方法（図 2）が主流となっている。しかし、その判断は主観的で移植師の経験年数や個人差が大きく反映されるため、直腸検査による黄体評価に代わり、客観的かつ簡易的で現場でも活用できる指標が求められている。

ランク	形状	基準
A		黄体形状は丸く大きく、黄体実質も充実したもの。
A-1		黄体形状、黄体実質とも中等のもの。
B		黄体突起部から実質にかけ水腫が認められるが、黄体実質は中等以上に充実しているもの。
B-1		黄体実質に多量の水腫が認められ、実質の脆弱なもの。
C		黄体形状は、やや小さく、黄体実質はやや硬いもの。
D		黄体形状は小さく実質は硬いもの。
E		黄体はほとんど存在しないもの。

図 2 発情後 7 日目の黄体の形状と基準

そこで本試験では、栄養状態と子宮環境の関連性調査で得られたデータから、高受胎率が見込める受卵牛の要因を包括的に「見える化」できる受卵牛選定手法について検討した。

## 試 験 方 法

### 1 供試牛

供試牛は、一般社団法人宮崎県酪農公社（以下、酪農公社）のホルスタイン種延べ 18 頭（未経産 2 頭、1 産 14 頭、2 産 2 頭）、場内で飼養しているホルスタイン種 5 頭（未経産 5 頭）および黒毛和種延べ 11 頭（未経産 4 頭、1 産 6 頭、2 産 1 頭）を用いた。

### 2 試験方法

雌雄産み分け技術共同試験で用いたプログラム（図 3）で発情を同期化し、発情前日、発情日および受精卵移植日に調査を実施した。このプログラムでは、発情日および発情直後を避けた任意の時期に腔内留置型黄体ホルモン製剤（CIDR、シダー 1900；ゾエティス・ジャパン株式会社）を腔内に挿入すると同時に EB 製剤（エストラジオール安息香酸エステル、動物用オバホルモン注；あすかアニマルヘルス株式会社）を投与した。CIDR 挿入後 8 日目に PGF<sub>2α</sub> 製剤（d-クロプロステノール、ダルマジン；共立製薬株式会社）を投与し、9 日目に CIDR を抜去、10 日目に GnRH 製剤（酢酸フェルチレリン、スポルネン・注；共立製薬株式会社）を投与して発情を誘起した。発情から 7 日後に受精卵移植を実施した。



EB：エストラジオール安息香酸エステル，ホル経産 2 mg，ホル未経産・黒和 1 mg，i.m.  
 PGF<sub>2α</sub>：d-クロプロステノール，ホル経産 0.225 mg，ホル未経産・黒和 0.15mg，i.m.  
 GnRH：酢酸フェルチレリン，ホル経産 100 μg，ホル未経産・黒和 50 μg，i.m.

図 3 発情同期化プログラム

本試験では、場内飼養黒毛和種 1 頭を供胚牛とし、同一種雄牛の精液ストローを用いて作出した体内受精卵を宮崎シンプル法にて凍結保存し、供試受精卵とした。なお、受精卵移植器は YT ガン（受精卵注入カテーテル；株式会社ヤマネテック）を

使用した。

また、本試験において酪農公社飼養牛のホルモン処理および受精卵移植は酪農公社の職員が実施し、場内飼養牛のホルモン処理および受精卵移植は筆者らが実施した。

### 3 調査項目

各調査日ごとに指定した項目について、調査を実施した（表 1）。

表 1 調査日別調査項目

調査項目	Day 10 (発情前日)		Day 11 (発情日)	Day 18 (移植日)
	午前	午後	午前	午前
子宮・卵巣動態			●	●
VER値	●	●	●	●
頸管粘液pH	●	●	●	●
血液性状（採血）			●	●

発情周期中の子宮と卵巣動態は、直腸検査および動物用超音波診断装置（HS-1600V、本多電子株式会社）により調査した。調査項目の詳細としては、直腸検査による子宮収縮の確認および黄体のランク付け（excellent、good、fair、poor、none）、超音波検査による卵胞数計測および主席卵胞や黄体のサイズ測定を実施した。

腔内電気抵抗（VER）値については、VER 計測器（ブリードテスタ PIT-1 豚腔内電気抵抗測定器；チヨダエレクトリック株式会社）（図 4）を用い、3 回計測した平均値をその時点の VER 値とした。なお、測定時には VER 計測器の電極部が腔壁上部に当たるように測定を行った。



図 4 VER 計測器

頸管粘液 pH については、子宮頸管粘液除去器（NJ

カテーテル；富士平工業株式会社）を用いて採取した頸管粘液を除去器内に保持し、ポータブル型 pH メーター（LAQUA D-210P；HORIBA）に接続したマイクロ ToupH 電極（9618S-10D；HORIBA）（図 5）の先端を除去器内に挿入することで、外気に接することなく除去器内で直ちに pH を測定した。



図 5 pH メーター（下）とマイクロ電極（上）

血液性状検査では、凝固促進剤入り真空採血管（インセパック II-D；積水メディカル株式会社）および抗凝固剤（EDTA-2Na）入り真空採血管（ベノジェクト II；TERUMO）を用いて、頸静脈または尾静脈から採取した血清あるいは血漿を用いた。なお、抗凝固剤入り真空採血管については、採血後氷冷し、遠心分離後は迅速に測定した。検査項目は、血清を用いてグルコース（Gul）、総コレステロール（T-cho）、尿素窒素（BUN）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ（GGT）の 5 項目、血漿を用いてアンモニア（NH<sub>3</sub>）の値を測定した。測定には乾式臨床化学分析装置（DRI-CHEM 4000V；富士フイルム株式会社）を使用した。また、凍結保存した余剰血清について、外部検査機関（富士フイルム和光純薬株式会社）に依頼し、電気化学発光免疫測定法（ECLIA 法）によりプロジェステロン（P4）濃度を測定した。また、データの統計処理については、マン・ホイットニーの U 検定を用いた。

## 試験結果

今回の試験で供試した延べ 34 頭中、受胎したのはホルスタイン種 5 頭のみであり、受胎率は 14.7%であった。

移植日の直腸検査により判定した黄体ランクは、“good”と評価した牛が 29 頭、“fair”と評価した牛が 5 頭であった。なお、受胎した 5 頭については、黄体ランク“good”であった。

血中 P4 濃度と相関があると報告されている VER 値および頸管粘液 pH を測定したところ、各々の相関係数は 0.31 および 0.37 で、ともに弱い正の相関を示した（図 6、7）。また、VER 値と頸管粘液 pH の間で弱い正の相関を示した（ $r=0.28$ ）（図 8）。

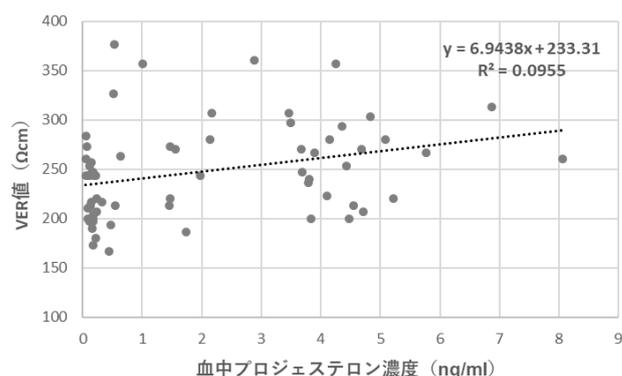


図 6 血中 P4 濃度と VER 値の関係性

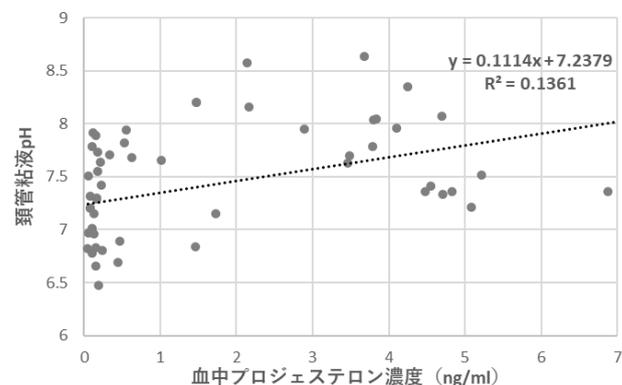


図 7 血中 P4 濃度と頸管粘液 pH の関係性

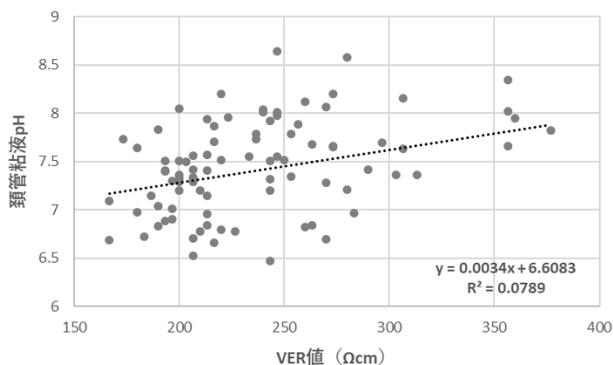


図8 VER値と頸管粘液pHの関係性

牛群全体の平均 VER 値は発情前日午後に最低値 (218 Ω cm) を示し、平均頸管粘液 pH は発情日に最低値 (pH 7.18) を示す傾向にあった (表 2、3)。その両方で、ホルスタイン種の受胎牛群における平均値がホルスタイン種および黒毛和種の不受胎牛群よりも低い値を示したが、受胎牛群と不受胎牛群のデータ間で有意差は認められなかった。

牛の品種別に見ると、ホルスタイン種の受胎牛群の平均 VER 値は発情前日午後に最低値 (193 Ω cm)、発情日に最高値 (246 Ω cm) を示し、平均頸管粘液 pH は発情日に最低値 (pH 6.65)、移植日に最高値 (pH 7.89) を示した (表 2、3)。前述の図 8 で示したとおり、全体データにおいて、VER 値と頸管粘液 pH の間には弱い正の相関が見られたが、ホルスタイン種の受胎牛群の VER 値と頸管粘液 pH の間では弱い負の相関 (r=-0.3) となった。

ホルスタイン種の不受胎牛群では、平均 VER 値、平均頸管粘液 pH とともに、発情日に最低値 (230 Ω cm、pH 7.25)、移植日に最高値 (281 Ω cm、pH 7.58) を示した (表 2、3)。

黒毛和種の不受胎牛群では、平均 VER 値、平均頸管粘液 pH とともに、発情前日午後に最低値 (200 Ω cm、pH 7.34)、移植日に最高値 (255 Ω cm、pH 7.99) を示した (表 2、3)。

血液性状の結果について、飼養管理およびステージの異なる牛群ごとに見てみると、ホル①の牛群全体では BUN がやや低値、GGT がやや高値を示し、AST については不受胎牛群のみ高値を示した

が、全項目において受胎牛群と不受胎牛群の間に有意差は認められなかった (表 4)。

ホル②の牛群では、Gul がやや高値を示したが、概ね参考値内の値であり、黒和の牛群も全項目において概ね参考値内であった (表 4)。

表 2 牛群別の VER 値の推移

牛群の区分		調査項目	VER (Ωcm)			
			測定日	発情前日 午前	発情前日 午後	発情日
ホル	受胎	平均値	195	<u>193</u>	246	239
		標準誤差	5	0	17	14
ホル	不受胎	平均値	245	243	<u>230</u>	281
		標準誤差	13	19	11	12
黒和	不受胎	平均値	225	<u>200</u>	217	255
		標準誤差	7	8	7	14
全体		平均値	232	<u>218</u>	228	266
		標準誤差	7	10	7	8

表 3 牛群別の頸管粘液 pH の推移

牛群の区分		調査項目	頸管粘液 pH			
			測定日	発情前日 午前	発情前日 午後	発情日
ホル	受胎	平均値	7.19	7.41	<u>6.65</u>	7.89
		標準誤差	0.15	0.00	0.31	0.15
ホル	不受胎	平均値	7.26	7.47	<u>7.25</u>	7.58
		標準誤差	0.17	0.16	0.12	0.18
黒和	不受胎	平均値	7.46	<u>7.34</u>	7.35	7.99
		標準誤差	0.16	0.14	0.13	0.18
全体		平均値	7.33	7.40	<u>7.18</u>	7.74
		標準誤差	0.11	0.09	0.10	0.12

表 4 血液性状の結果

牛群の区分		調査項目	Gul	T-cho	BUN	AST	GGT	NH <sub>3</sub>	
ホル	①	受胎	平均値	60	198	10.0	74	31	31
			標準誤差	2	10	0.7	3	1	2
ホル	②	不受胎	平均値	60	173	8.0	90	31	29
			標準誤差	2	6	0.4	4	2	1
ホル		参考値 (泌乳最盛期-中期)	52-70	120-240	12-21	55-80	16-28	47-77	
ホル	②	不受胎	平均値	76	67	10.6	52	20	34
			標準誤差	2	4	0.7	2	1	2
ホル		参考値 (乾乳期)	60-70	70-120	7-15	45-70	15-24	47-77	
黒和	不受胎	平均値	65	106	11	60	25	36	
		標準誤差	3	5	0.7	2	1	1	
黒和		参考値 (乾乳期)	59-69	71-107	9-13	48-66	14-24	47-77	

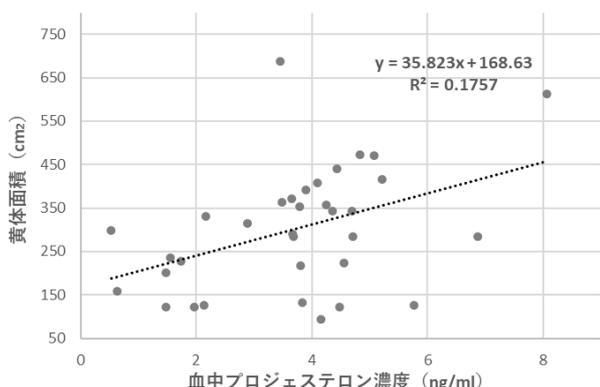


図9 血中 P4 濃度と黄体面積の関係性

移植日の血中 P4 濃度と超音波診断装置による黄体面積の間には正の相関傾向が見られた ( $r=0.42$ )

(図 9) が、移植日の血中 P4 濃度や黄体面積において、受胎牛群と不受胎牛群の間に有意差は認められなかった (表 5)。

また、本多ら (2005) により、移植成績への関与が報告されている血中  $\text{NH}_3$  濃度について、全牛群のデータを比較してみたところ、受胎牛群の平均値がやや低かったものの、受胎牛群と不受胎牛群の間に有意差は認められなかった (表 5)。

表 5 牛群別の移植日の血中 P4 濃度、黄体面積、血中  $\text{NH}_3$  濃度

牛群の区分		調査項目	血中P4濃度 (ng/ml)	黄体面積 (cm <sup>2</sup> )	血中NH <sub>3</sub> 濃度 (ng/ml)
		測定日	移植日	移植日	移植日
ホル	受胎	平均値	3.64	299	27
		標準誤差	0.61	56	3
	不受胎	平均値	3.49	341	29
		標準誤差	0.48	36	1
黒和	不受胎	平均値	4.02	235	37
		標準誤差	0.31	33	2
全体		平均値	3.69	301	31
		標準誤差	0.28	24	1

## 考 察

今回の試験では、受胎率が 14.7 % と低く、受卵牛選定手法を確立するための有用なデータを得る

ことはできなかった。また、今回の試験で受胎牛に特異的なデータが得られなかったことについて、受胎牛のデータが少なかったこと以外にも以下の 2 つの要因が考えられた。

1 つ目の要因として、調査時の手技の不備 (VER 値測定や頸管粘液の採取) により正確なデータが得られていない可能性が考えられた。

VER 値は測定時に供試牛が尿腔だと高い値となり、気腔では低い値が表示される。本試験の調査時も、許容範囲外の値を示す場面が何度もあり、排尿を促したり、直腸越しに測定器を保持しながら再測定を試みたが、数値に変化がないこともあり、ある程度の時間をおいて再測定する必要があると思われた。

また、子宮頸管の細い牛 (特に未經産牛) では、頸管粘液が採取できず pH を測定できなかったり、出血を伴ったため頸管粘液 pH が変化したと推察されるデータもあった。さらに今回使用したマイクロ ToupH 電極は、先端が直径 3 mm のガラス 2 重管になっており、試験期間中に二度破損し、データを取得できないことがあった。そのため、非常に繊細な取扱いが求められ、常に予備の電極の準備も必要となった。

これらのことから、VER 値の測定や頸管粘液の採取を行うためには事前の手技獲得が必須であり、気腔や尿腔を呈しやすい牛や子宮頸管が細い牛など、調査データの取得に不向きな状態の牛への対策や、測定方法または測定器具の変更や工夫が必要であると考えられた。

2 つ目の要因として、受卵牛の条件としては受胎可能な状態であったにもかかわらず、供試受精卵の品質や移植者の手技等が影響して不受胎となり、本来分類されるべき牛群 (受胎) とは異なる牛群 (不受胎) に分類されたことで、正確な検定結果が得られなかった可能性が考えられた。

今回の試験では、供試受精卵による妊否への影響をなくすために、供胚牛と種雄牛を統一させたが、採卵時の供胚牛は 8 ~ 9 歳と比較的高齢で、

平均採卵数 29.4 個に対し平均正常胚率は 42.2 %、平均生産率（凍結可能胚率）は 25.2 %と低く、凍結可能と判定した受精卵の中にも検卵時には識別できなかった問題があったことが示唆された。

移植については、酪農公社では 1 名の移植師のみ、場内飼養牛については様々な経験年数をもつ数人の資格者が携わったが、妊否への影響は不明であった。

以上より、今回の試験では受卵牛選定手法の確立には至らなかったが、令和 5 年度から同じ課題で、調査項目に超音波診断装置による黄体血流の確認およびスコア化を加え、かつ良質な供試受精卵の選定や調査時の手技および移植技術を強化して、より正確なデータを得るために試験を継続していく。

## 謝 辞

今回の試験に御協力いただきました一般社団法人宮崎県酪農公社の皆さまに感謝申し上げます。

## 参 考 文 献

- 県家畜防疫対策課. 家畜人工授精等の成績について（通知）. 平成 25 年度～令和 4 年度. ※県内で開設している家畜人工授精所からデータを集計.
- 鍋西久, 杉野文章. 2021. 繁殖雌牛における腔内電気抵抗値と発情周期および受胎率との関係. 畜産の情報, 4月号, 58-72.
- 細川泰子, 米澤智恵美. 2008. 黒毛和種における子宮頸管粘液 pH による過剰排卵処理後の卵巢反応の推定. 岩手県農業研究センター試験研究成果書, (指) -47-1-2.
- 笹木教隆, 田中健, 谷村英俊, 朝倉利江, 福井幸昌. 2007. ウシ胚移植における受胎牛の血中アンモニア濃度と胚移植成績の関係. 福井県畜産試験場研究報告, 第 20 号, 1-5.
- 小林大誠, 久保田尚, 千葉耕司, 山下秀幸. 2013. 牛胚（受精卵）における受胎率向上に関する要因解析. 千葉県畜産総合研究センター研究報告, 第 13 号, 15-20.
- 本多巖, 坂本秀樹. 2006. 牛胚移植時における受胎牛の血液生化学的成分の比較. 福島県畜産試験場研究報告, 第 14 号, 1-3.