

## 課題名

デヒドロエピアンドロステロンを用いた牛体内胚採取成績向上に関する試験研究事業

## 期間・区分

平成 28 年度～令和 2 年度、国補

## 背景・目的

ウシの体内胚採取（採胚）において、過剰排卵処理に対する卵巢反応性鈍化による回収卵数の低下等の問題があり、採胚成績を向上させる方法が求められている。

一方、ヒトの生殖医療分野において、不妊患者にデヒドロエピアンドロステロン (Dehydroepiandrosterone : DHEA) を投与することで回収卵数が増加し、胚の品質も向上することが報告されている。しかしながら、ウシにおいては DHEA に関する報告が少なく、その効果が明らかになっていない。そこで、黒毛和種繁殖雌牛への DHEA 製剤の投与が体内胚採取成績に及ぼす影響を明らかにする。

## 方法

当センター飼養の黒毛和種繁殖雌牛を DHEA 製剤投与区および非投与区でそれぞれ延べ 10 頭供試した。過剰排卵処理は DHEA 製剤投与区および非投与区どちらも漸減投与方法により行い、DHEA 製剤投与区においては、過剰排卵処理開始と同時に DHEA 製剤 200 mg を注射用水 10ml に溶解し、頸部皮下内に投与した。人工授精後 6.5 日目に採胚を行い、採胚後、超音波画像診断装置により卵巢を観察し、採胚成績および卵巢所見について比較した。

## 成果・評価

採卵成績については、DHEA 製剤投与区において、平均採取卵数は 13.4 個、平均受精卵数は 7.7 個、平均正常卵数は 5.9 個であった。また、DHEA 製剤非投与区において、平均採取卵数は 6.0 個、平均受精卵数は 4.4 個、平均正常卵数が 2.6 個であった。

これらの結果より、平均採取卵数は DHEA 製剤を投与することによって、有意に増加することが明らかとなった ( $p < 0.05$ )。また、平均受精卵数及び平均正常卵数は有意な差がみられなかったものの、DHEA 製剤を投与することによって、増加する傾向がみられた。採卵時の卵巢所見については、DHEA 製剤投与区において、平均黄体数は 13.0 個、平均遺残卵胞数は 10.4 個、平均反応数は 23.4 個であった。また、DHEA 製剤非投与区において、平均黄体数は 9.6 個、平均遺残卵胞数は 7.1 個、平均反応数は 16.7 個であった。

これらの結果より、DHEA 製剤を投与することによって、平均黄体数及び平均反応数は増加する傾向がみられた。今回使用した DEHA-S 製剤は、現在、製造中止になっていることから、これに代わる製剤等を検討する必要があると考えられる。

## 課題名

抗ミュラー管ホルモンを指標とした効率的な体内胚生産の検討

## 期間・区分

令和 2～5 年度、県単

## 背景・目的

人工授精の不受胎対策として受精卵移植が行われ、受精卵の需要が増加しているが、供卵牛の過剰排卵処理に対する卵巢の反応性や採卵成績には個体差があり、安定して受精卵を生産できない問題がある。

一方、ヒトの不妊治療領域においては、抗ミュラー管ホルモン（AMH）を指標とした、過剰排卵処理方法の決定や卵巢低反応の予測などにより、効率的な受精卵の生産が行われている。しかし、ウシにおいては、AMH に関する報告は少ない。

黒毛和種雌牛の AMH と採卵成績との関連性を解析し、AMH が採卵回数の適正化の指標および受精卵生産能力の高い個体の早期選抜の指標となるか検討する。さらに、AMH が過剰排卵処理時の適正な卵胞刺激ホルモン（FSH）投与量の選択指標となるか検討することで、効率的な受精卵生産技術の確立を図る。

## 方法

本研究では、令和 2～3 年度では 1 及び 3 の課題、令和 4～5 年度では 2 及び 3 の課題を行う。

- 1 黒毛和種繁殖雌牛の AMH 値を指標とした、採卵成績との関連性および受精卵生産能力に応じた採卵回数適正化の検討

当センター飼養の黒毛和種繁殖雌牛について、採卵 1 ヶ月前、過剰排卵処理前、採卵日に採血を行い、AMH 値を ELISA 法により測定する。4 か月間隔で 3 回採卵を実施し、採卵成績（反応数、回収卵数、正常卵数、変性卵数、未受精卵数等）のデータを収集し、AMH 値との関連性を解析する。同様に、採卵日の AMH 値と次回採卵成績との関連性を解析する。

- 2 黒毛和種繁殖雌牛の AMH 値を指標とした、過剰排卵処理時の適正な FSH 投与量の検討

課題 1 で得られた AMH 値と採卵成績のデータを基に、AMH 値を分類、指標化する。採卵予定牛に対して、指標により過剰排卵処理時の FSH 投与量を決定し、採卵を実施する。過剰排卵処理を常法で行った場合と指標により FSH 投与量を決定した場合で採卵成績を比較検討する。

- 3 黒毛和種育成雌牛の AMH 値を指標とした、供卵牛早期選抜方法の検討

黒毛和種育成雌牛について、生後、1 ヶ月齢から 12 ヶ月齢まで 1 ヶ月間隔で採血を行い、AMH 値を ELISA 法により測定する。初産後、4 ヶ月後に採卵を実施し、採卵成績のデータを収集し、AMH 値との関連性を解析する。

## 成果・評価

当センター飼養の供卵牛 65 頭から 173 サンプル、育成牛 14 頭から 28 サンプルを回収した。血液サンプルを回収した供卵牛 65 頭の採卵成績は、平均採卵数 10.5 個、平均正常卵数 5.8 個、平均黄体数 13.5 個、平均遺残卵胞数 10.4 個、平均反応数(黄体数+遺残卵胞数) 23.9 個だった。

次年度は、ELISA 法により令和 2 年度に回収したサンプルの AMH 値の測定を行い、採卵成績との関連性を解析する。また、採卵プログラムにおける適正な採血時期について検討し、技術普及に向けたコストおよび作業量の低減を図る。

## 課題名

牛の受精卵移植技術普及定着に関する研究

## 期間・区分

平成2年度～、県単

## 背景・目的

黒毛和種の受精卵移植技術の普及定着を図るためには、農家への安定した受精卵の供給と凍結保存受精卵の高い受胎率が必要である。そのために、受精卵の効率的な生産及び凍結・融解技術の確立を図る。

## 方法

当センター飼養の供卵牛及び農家飼養牛（共に黒毛和種）を供試牛として、常法で過剰排卵処理を行い採卵した。凍結方法は、耐凍剤を用いた緩慢凍結法で行った。

## 成果・評価

- 1 センター飼養供卵牛延べ72頭で採卵した結果は、回収卵数707個のうち正常卵は385個で、1頭あたりのA～Bランク卵数は4.3個であった。過去7年のセンター飼養供卵牛の採卵成績は以下の表のとおり。R2年度に採卵成績が向上した要因として、採卵成績が落ち込む8～10月は採卵を避けたこと、個体に応じた過剰排卵処理プログラムを組んだこと（FSH投与量の変更、過剰排卵処理前の大卵胞除去処理）を行ったことが挙げられる。

年度	R2	R1	H30	H29	H28	H27	H26
採卵頭数（延べ）	72	103	117	107	59	38	35
回収卵数	707	687	927	824	638	409	288
正常卵数	385	321	406	385	210	204	144
A～Bランク卵数	313	251	343	229	103	132	70
1頭当たりの A～Bランク卵数	4.3	2.4	2.9	2.1	1.7	3.5	2.0

- 2 農家飼養黒毛和種雌牛延べ41頭では、回収卵数442個のうち正常卵数は217個で、1頭あたりの平均正常卵数は5.3個/頭、正常卵率は49.1%であった。農家飼養ホルスタイン種雌牛延べ3頭では、回収卵数21個のうち正常卵数は14個で、1頭あたりの平均正常卵数は4.7個/頭、正常卵率は66.7%であった。
- 3 センターで採卵した受精卵のうち県内農家等への譲渡したものは281個であった。

## 課題名

乳用牛へのファイトケミカル給与による繁殖成績及び乳生産性向上技術の開発に関する試験研究事業

## 期間・区分

平成 29 年度～令和 3 年度、国補

## 背景・目的

ファイトケミカル的一种であるスルフォラファンは、ブロッコリーの新芽等に多く含まれ、細胞内でのグルタチオン生成を促す作用を持ち、ヒトでの試験では抗酸化能や肝機能を改善させることが報告されている。これを乳用牛に投与することにより、グルタチオンの体内合成を促し、分娩前後における酸化ストレスを低減させることによる繁殖成績向上技術を開発する。

## 方法

### 試験 1

飼料切替えに伴うストレス下におけるスルフォラファン含有粉末の給与効果を調べるため、切替え 2 週間前からパウダー 10g/日（スルフォラファン量として約 691mg）で給与、グルタチオン類、酸化ストレスマーカー（TBARS）、肝酵素（ALB、TP、GGT、ALP、AST、ALT）を測定した。

### 試験 2

ブロッコリーの最適なサイレージ化方法を検討するため、①ブロッコリー 1kg、②ブロッコリー 300g とビートパルプ 150g を混ぜたもの、③ブロッコリー 500g とギ酸 0.25ml（全体の 0.05%量）を混ぜたもの、④ブロッコリー 300g とビートパルプ 150g、ギ酸 0.23ml（全体の 0.05%量）を混ぜたもの、⑤細断したブロッコリー 300g とビートパルプ 150g、ギ酸 0.23ml（全体の 0.05%量）を混ぜたものの 5 検体について、袋で密閉し、1 か月室温で保存後、pH、水分量、v-スコア、残留農薬、硝酸態窒素の測定、においによる官能評価を実施した。

## 成果・評価

### 試験 1

グルタチオンについては給与群において切替え 1 週間前に高値となったが、切替当日以降は低値で推移した。一方、TBARS 値および GGT 値について、全期間を通し給与群が対照群を下回った。このことから、スルフォラファン前駆体を給与することで体内のグルタチオン濃度が高くなる一方で、ストレス下においてはより細胞内にグルタチオン類が取り込まれ、抗酸化酵素遺伝子を活性化させ、GGT 値が低下した可能性が考えられた。

### 試験 2

サイレージ化した 5 検体について測定した結果、①ブロッコリー 1kg は pH4.60、水分量 88.5%、v-スコア 98 点、②ブロッコリー 300g とビートパルプ 150g を混ぜたものは pH4.64、水分量 63.6%、v-スコア 99 点、③ブロッコリー 500g とギ酸 0.25ml を混ぜたものは pH4.41、水分量 89.9%、v-スコア 99 点、④ブロッコリー 300g とビートパルプ 150g、ギ酸 0.23ml を混ぜたものは pH4.64、水分量 64.6%、v-スコア 98 点⑤細断したブロッコリー 300g とビートパルプ 150g、ギ酸 0.23ml を混ぜたものは pH4.43、水分量 68.8%、v-スコア 98 点であった。いずれにもおいは芳香性の甘い酸臭がし、v-スコアは 90 点以上と良好であり、残留農薬、硝酸態窒素についても基準値未満であった。今後カビ毒の測定、実際の牛への給与を行うことで飼料としての適性を判断する。

## 課題名

飼料作物品種選定試験  
飼料作物等高能力新品種選定調査

## 期間・区分

昭和 58 年度～、県単  
平成 23 年度～、受託

## 背景・目的

イタリアンライグラス及び飼料用トウモロコシについて、本県の気候・風土に適合した優良品種を選定し、県奨励品種決定の基礎資料とすることにより、本県の自給粗飼料の生産性向上を図る。

## 方法

- 1 イタリアンライグラス  
両試験合わせて 15 品種について、系統適応性検定試験実施要領に基づき、生産力検定を行った。令和元年 10 月 17 日に播種し、施肥等は茨城県飼料作物栽培基準を準用した。
- 2 飼料用トウモロコシ  
両試験合わせて 17 品種について、系統適応性検定試験実施要領に基づき、生産力検定を行った。令和 2 年 4 月 30 日に播種し、施肥等は茨城県飼料作物栽培基準を準用し、収量調査は黄熟期に行った。

## 成果・評価

- 1 イタリアンライグラス  
県単試験、受託試験における早生品種の生育調査（出穂始、倒伏程度、草丈等）では有意差はみられなかった。県単試験における早生品種では、生草・乾物収量に有意差はみられなかったが、乾物率では「すすくダッシュ」が「はたあおば」より有意に高かった。受託試験における早生品種では、「タチワセ」、「クワトロ-TK5」の 2 番草の乾物収量が「はたあおば」と同程度だった。

表1 イタリアンライグラス乾物率結果【県単:早生】

調査項目	乾物率 (%)
品種・系統名	1番草4/16
SI-14(タチユウカ)	22.5 ab
★はたあおば(県単)	22.8 ab
いなずま	21.8 b
ハルユタカ	23.8 ab
KAIR-E1803(すすくダッシュ)	24.4 a
ワセロール	23.0 ab
CV(%)	3.7

※異符号間に有意差あり(p<0.05, Tukey法)

※★は標準品種

表2 イタリアンライグラス乾物収量結果【受託:早生】

調査項目	乾物収量 (kg/a)
品種・系統名	2番草5/12
はやまき18	16.5 b
★はたあおば(受託)	21.4 a
ライジン	16.5 ab
タチワセ	22.5 a
クワトロTK-5	20.2 a

※異符号間に有意差あり(p<0.05, Tukey法)

※★は標準品種

中生品種では「ナガハヒカリ」の 2 番草草丈と 2 番草生草・乾物収量が有意に高かった。また、2 番草乾物率では「さつきばれ EX」、「エクセレント 2」、「タチムシャ」が「ナガハヒカリ」より有意に高い結果となった。

表3 イタリアンライグラスの草丈および収量結果【中生】

調査項目 品種・系統名	草丈 (cm)	生草収量 (kg/a)	乾物収量 (kg/a)	乾物率 (%)
	2番草5/21	2番草5/21	2番草5/21	2番草5/21
KAIR-12M(さつきばれEX)	60.6 bc	111.1 bc	15.6 ab	14.1 a
★ナガハヒカリ	66.7 a	151.9 a	18.1 a	11.9 b
きららワセ	64.4 ab	131.5 ab	15.8 ab	12.0 b
エクセレント2	53.5 d	97.2 c	13.8 b	14.2 a
タチムシャ	56.1 cd	98.1 c	13.6 b	13.9 a

※異符号間に有意差あり(p<0.05)

※★は標準品種

## 2 飼料用トウモロコシ

早生、中生の早、中生品種のすべての品種間で生収量、乾物収量に有意差はみられなかった。しかし、総生収量と総乾物収量では、早生品種「TX1334」、中生品種「ZX9280」が多い傾向があった。

表4 飼料用トウモロコシの収量及び病害調査結果

早晩性	受託	品種名	生収量(kg/a)	乾物収量(kg/a)	折損 (%)	虫害 (%)	紋枯 (%)
			総重量	総重量			
早生		タラニス	421.8	139.2	6.3 b	10.0 ab	26.7 bc
		SL0746	389.6	137.3	10.6 ab	11.9 ab	36.3 bc
		P9400	316.3	106.3	7.9 b	4.6 ab	13.8 c
	◎	北交65号	347.3	114.8	8.3 b	7.1 ab	15.4 c
	◎	36B08	290.9	105.3	2.5 b	4.6 ab	10.8 c
	◎	★34N84	376.6	109.4	5.8 b	6.3 ab	32.5 bc
	◎	LG30500	357.5	139.6	1.7 b	17.9 a	64.6 ab
	◎	P1204	373.2	109.5	8.3 b	7.5 ab	27.5 bc
		長交C949号(タカネスター)	378.3	99.4	5.8 b	8.8 ab	15.0 c
		TX1334	459.4	173.4	13.3 a	0.0 b	85.0 a
	HE16060	347.4	142.9	24.6 a	0.0 b	80.0 a	
	CV(%)	12.0	17.4	68.7	68.8	69.6	
中生の早		KD671	408.3	161.3	7.9	4.2 b	67.9
		SH5702	397.1	158.6	9.2	5.4 b	69.6
		P2088	400.6	147.6	2.9	17.5 a	90.8
		CV(%)	1.2	3.8	40.5	66.6	13.7
中生		九交B78号(ゆめそだち)	339.0	153.3	3.8	42.9 a	54.2
		ZX9280	511.6	178.9	2.1	34.2 ab	55.4
		NS129	372.3	147.8	0.8	24.2 b	52.5
		CV(%)	18.3	8.5	53.8	22.7	2.2

※異符号間に有意差あり(p<0.05,Tukey法)

※★は標準品種

早生品種の折損率では「TX1334」と「HE16060」が有意に高かったが、虫害率では「TX1334」と「HE16060」で有意に低かった。紋枯病では「P9400」と「北交 65号」、「36B08」、「長交 C949号」が有意に低い結果となった。また、中生の早の虫害率は「P2088」、中生の虫害率は「九交 B78号」が有意に高くなった。

なお、6月中旬から7月下旬の長雨の影響で、ほ場の水はけの悪い場所で生育していた「タラニス」、「SL0646」の各一区が、湿害による生育不良により収量が各品種平均の1/3以下となったため除外して評価した。