

島根畜技セ研報

第 45 号

Bull.Shimane

Live.Tech.C

No.45 2021

ISSN 1882-1030

Bulletin of the
Shimane Prefectural Livestock Technology Center

No.45 March 2021

島根県畜産技術センター研究報告

第 45 号

島根県畜産技術センター

出雲市古志町 3775

Shimane Prefectural Livestock Technology Center

Izumo, Shimane, Japan

Bulletin of the
Shimane Prefectural Livestock Technology Center

No.45 2021

島根県畜産技術センター研究報告 第45号 (2021)

島根県畜産技術センター研究報告 第45号

目 次

脂肪酸組成と脂肪含量の違いが和牛肉の嗜好性に及ぼす影響

安部亜津子 佐々木啓介¹ 成相伸久 …………… 1
1 農研機構畜産研究部門

黒毛和種における水酸化アルミニウムゲル吸着卵胞刺激ホルモン製剤を用いた
単回投与型過剰排卵処理プログラムの検討

坂本洋一 森脇俊輔 …………… 9

黒毛和種牛における性選別精液を利用した体内胚生産手法の検討

澤 香代子 長谷川清寿 …………… 15

脂肪酸組成と脂肪含量の違いが和牛肉の嗜好性に及ぼす影響

安部亜津子 佐々木啓介¹ 成相伸久

要約 和牛肉の一価不飽和脂肪酸 (MUFA) 割合および脂肪含量の違いが消費者の嗜好性に及ぼす影響を調べるため、嗜好型官能評価を行った。まず、MUFA 割合の異なる黒毛和種去勢牛の胸最長筋 2 点 (高 MUFA:60.9%、低 MUFA:57.6%) について、訓練されていないパネル (48 名) を用いて、嗜好性 4 項目 (香り、食感、味、全体の好ましさ) および官能特性 4 項目 (後味の強さ、脂肪味の強さ、かみ切りやすさ、ジューシーさ) の二点比較による官能評価を行った (実験 1)。「脂肪味の強さ」では高 MUFA を、「味の好ましさ」では低 MUFA を選択した人数が多かった ($P<0.05$) が、「全体の好ましさ」にはサンプルによる有意な差は認められなかった。次に、MUFA 割合の高低 (高 M:60% 以上、低 M:58% 以下) と、脂肪含量の高低 (高 F:BMS No.7 以上、低 F:BMS No.4 以下) の組合せが異なる黒毛和種去勢牛の胸最長筋 4 点について、訓練されていないパネル (44 名) を用いて、嗜好性 4 項目 (香り、食感、味、全体の好ましさ) の評点法による官能評価を行った (実験 2)。「食感の好ましさ」の評点は、高 M 高 F が低 M 低 F および高 M 低 F と比べて有意 ($p<0.05$) に高かった。また、MUFA 割合の高低で区分した場合、いずれの評価項目においても有意な差はみられなかったが、脂肪含量の高低で区分した場合には、「食感の好ましさ」($P<0.01$) および「全体の好ましさ」($p<0.05$) は、高 F の方が低 F よりも高い評点を示した。以上の結果から、和牛肉の嗜好性に対しては、MUFA 割合の高低よりも脂肪含量の高低の方が大きく影響すること、また、低脂肪よりも高脂肪の方が嗜好性が高くなることが確認された。

キーワード : 黒毛和種牛肉 脂肪酸組成 脂肪含量 嗜好型官能評価

黒毛和種牛においては、脂肪交雑が枝肉評価に最も影響し¹⁾、これを指標とした育種改良や飼養管理技術改善が行われた結果、脂肪交雑は年々向上している²⁾。一方で、近年の消費者ニーズの多様化に対応するため、脂肪酸やアミノ酸等の牛肉のおいしさに関連する成分の指標化と改良を進めることが求められている³⁾。その中で、脂肪酸組成は、牛肉の食感や風味に影響を及ぼすとされ⁴⁾、枝肉購買時に重視される項目の一つである脂肪の質との関連も報告されている⁵⁾。鳥根県においても、「しまね和牛」枝肉の市場評価向上のために光学測定⁶⁾による枝肉脂肪酸測定を行っているが、得られたデータを消費段階での有利販売に活用するためには、実際に牛肉を喫食した際に感じる特徴や、消費者の好みに対する影響を明らかにする必要がある。

牛肉の脂肪酸組成、中でも、一価不飽和脂肪酸 (MUFA) 割合は、分析型官能評価の結果から、風味や食感といった官能特性と相関があることが報告されており^{7,8)}、消費者の嗜好に影響を及ぼす特性に関与することが考えられる。しかし、MUFA 割合と消費者嗜好との関連を、一般消費者をパネルとして用いた嗜好型官能評価によって解析した

報告は見られない。一方、牛肉中の脂肪含量は官能特性に大きな影響を及ぼすことが良く知られており⁹⁻¹¹⁾、BMS No. と消費者嗜好との関連性も示唆されている¹²⁾ ことから、脂肪酸組成と脂肪含量の両方を要因として考慮した評価を行う必要があると考えられる。

そこで本研究では、MUFA 割合の違いが消費者の嗜好性や、消費者が感じる官能特性に及ぼす影響を調べるため、MUFA 割合の異なる和牛肉について、一般パネルを用いた嗜好型官能評価を行った (実験 1)。さらに、脂肪含量の影響を考慮した調査として、MUFA 割合および脂肪含量の高低の組み合わせの異なるサンプルを用いた官能評価を行い、両者が嗜好性の違いに及ぼす影響を検討した (実験 2)。

材料および方法

実験 1

供試試料

調査対象は、MUFA 割合の異なる黒毛和種去勢牛胸最長筋 (サーロイン部) 2 点とし、鳥根県農業協同組合 (鳥根県松江市) から購入した。

¹ 農研機構畜産研究部門

なお、サンプルは、BMS No.3～5の個体から、MUFA60%を基準としてそれよりも高いものと低いものそれぞれ1点を選定した。選定したサンプルのMUFA割合（ガスクロマトグラフ法による実測値）は60.9%および57.6%であり、本実験においてはこれらをそれぞれ高MUFAサンプル、低MUFAサンプルと呼ぶこととした。サンプルは真空包装下で4℃、14日間保存後に-30℃で保管し、官能評価2日前に4℃に設定した冷蔵庫内で解凍した。解凍したサンプルは、評価前日に業者（鳥根県農業協同組合）に委託して0.5cm厚さにスライスし、サンプル調製まで4℃に設定した冷蔵庫内で保管した。

サンプル調製と調理

評価用サンプルは、スライスしたロース芯から定規で計測して3×4cmに切り出し、230℃に設定したホットプレート（KZ-HP1100-K、パナソニック株式会社、大阪府門真市）で表・裏各30秒加熱調理した。調理後のサンプルは、室温まで放冷したのち、各サンプルにつき1枚を蓋付きのPET製カップ（C-APカップ66-60、中央化学、埼玉県鴻巣市）に入れてパネリストに提示した。

官能評価

官能評価は、訓練されていないパネル（48名）による二点比較で行った。ただし、評価は4回に分けて行い、各回の概要は表1に示すとおりであった。サンプル番号は3桁の乱数とし、ラテン方格法により無作為にサンプルを割り付けた。サンプルは2種類を同時に提示し、試食する順序は任意とした。ただし、サンプルとサンプルの間では、純水（赤ちゃんの純水、アサヒグループ食品株式会社、東京）で口腔内をすすがせた。評価項目は、嗜好性4項目（香り、食感、味、全体の好ましさ）および官能特性4項目（後味の強さ、脂肪味の強さ、かみ切りやすさ、ジューシーさ）とした。官能特性のうち、後味の強さ、脂肪味の強さおよびジュー

シーさについては「どちらが強い」、かみ切りやすさについては「どちらがかみ切りやすい」、嗜好性については「どちらが好ましいか」について、いずれか一方のサンプルを選択させた。統計処理は、二項検定により行った。また、評価項目間の関連については、カイ2乗検定により分析した。

理化学分析

評価に用いた牛肉は、一般成分（水分、粗脂肪、粗蛋白質および粗灰分）を常法¹³⁾により測定した。

実験2

供試試料

調査対象は、MUFA割合の高低と、脂肪含量（BMS No.）の高低の組合せが異なる黒毛和種去勢牛胸最長筋（サーロイン部）4点とした。なお、サンプルは、MUFA割合については高MUFA（高M）：60%以上、低MUFA（低M）：58%以下（光学測定による推定値）、脂肪含量については高脂肪（高F）：BMS No.7以上、低脂肪（低F）：BMS No.4以下を基準として、表2に示すサンプルを選定し、鳥根県農業協同組合から購入した。サンプルは真空包装下で4℃、14日間保存後に-30℃で保管し、官能評価2日前に4℃に設定した冷蔵庫内で解凍した。解凍したサンプルは、評価前日に業者（鳥根県農業協同組合）に委託して0.5cm厚さにスライスし、サンプル調製まで4℃に設定した冷蔵庫内で保管した。

サンプル調製と調理

評価用サンプルは、スライスしたロース芯から直径4cmの製菓用抜型を用いてディスク状に切り出し、230℃に設定したホットプレート（KZ-HP1100-K、パナソニック株式会社）で表・裏各30秒加熱調理した。調理後のサンプルは、各サンプルにつき1枚を蓋付きのPET製カップ（C-APカップ66-60、中央化学）に入れ、評価直前まで50℃に設定したインキュベータ内で保温した。

表1 パネリストの内訳（実験1）

回次	男	女	計
1	17	5	22
2	7	1	8
3	4	6	10
4	6	2	8
合計	34	14	48

数値は人数を示す。

表2 官能評価に用いたサンプル（実験2）

	MUFA割合 ¹	BMS No.	粗脂肪含量 ²
低M・低F	56.1	4	32.2
低M・高F	56.8	7	41.1
高M・低F	64.7	4	33.7
高M・高F	61.1	9	47.3

1 MUFA：一価不飽和脂肪酸、光学測定による推定値（%）。

2 常法による化学分析値（現物中%）。

官能評価

官能評価は、訓練されていないパネル（和牛生産者、畜産関係機関職員等 44名）による評点法により行った。パネルリストの性別および年代別の内訳は、表3のとおりであった。サンプル番号は3桁の乱数とし、ラテン方格法によりランダムにサンプルを割り付け、提示順がパネルリスト毎に異なるものになるようにした。サンプルは1種ずつ提供し、1つのサンプルの評価が終了するごとに1分以上の休憩をとり、その間に純水（赤ちゃんの純水、アサヒグループ食品株式会社）で口腔内をすすがせた。評価項目は、嗜好性4項目（香り、食感、味、全体の好ましさ）とし、各項目について6段階（大変好ましい：6～大変好ましくない：1）の評点をつけて評価させた。得られたデータは、統計プログラムSASのMIXEDプロシジャ¹⁴⁾を用いて、MUFA割合の高低、脂肪含量の高低および提供順序を固定効果、パネルリストを変量効果とした混合モデル分散分析を行い、MUFA割合および脂肪含量が各評価項目に及ぼす効果を解析した。なお、MUFA割合および脂肪含量の高低については、

両者の交互作用についても検討した。MUFA割合および脂肪含量の効果が有意な場合は、Tukey法により平均値の差を検定した。

結果および考察

実験1

各評価項目におけるサンプル別の選択数の集計値を表4に示した。官能特性では、「脂肪味の強さ」において有意（ $P<0.01$ ）な違いが認められ、高MUFAが低MUFAよりも強いと回答した人数が多かった。また、嗜好性に関する項目では、「味の好ましさ」において有意（ $P<0.05$ ）な違いが認められ、高MUFAよりも低MUFAの方が好ましいと回答した人数が多かった。これらの結果から、和牛肉脂肪中のMUFA割合の高低によって、官能特性や嗜好性が異なる可能性が示唆された。しかし、総合的な評価である「全体の好ましさ」では、サンプルによる有意な差は認められなかった。

サンプルの一般成分は、表5に示した。粗脂肪含量は高MUFAの方が低MUFAよりも高く、粗蛋白質含量は低MUFAの方が高MUFAよりも高

表3 パネルリストの内訳（実験2）

	年齢					計
	29歳以下	30~39歳	40~49歳	50~59歳	60歳以上	
女性	3	4	1			8
男性	2	7	9	15	3	36
合計	5	11	10	15	3	44

数値は人数を示す。

表4 各評価項目に対するサンプル別の選択数（実験1）

サンプル	官能特性				嗜好性（好ましさ）			
	後味の強さ	脂肪味の強さ	かみ切りやすさ	ジューシーさ	香り	食感	味	全体
高MUFA	17	35	26	27	21	19	15	18
低MUFA	31	13	22	21	27	29	33	30
		**					*	

数値は、各評価項目においてサンプルを選択したパネルリストの人数を示す。

* : $P<0.05$, ** : $P<0.01$ （二項検定）。

表5 官能評価に用いたサンプルの一般成分含量（実験1）

サンプル	水分	粗脂肪	粗蛋白質	粗灰分
高MUFA	36.0	53.9	9.0	0.52
低MUFA	40.7	46.2	12.0	0.63

数値は現物中%を示す。

かった。「脂肪味の強さ」は、低 MUFA よりも高 MUFA の方が強いと回答した人数が多かったが、高 MUFA の方が脂肪含量が高かったことが評価に影響を及ぼした可能性が考えられた。

評価項目間の関連をカイ2乗検定により分析した結果を表6、7および8に示した。「全体の好ましさ」に対して、嗜好性に関する項目では「味」および「食感」との間に、官能特性に関する項目では「かみ切りやすさ」および「ジューシーさ」との間に、それぞれ有意 ($P<0.05$) な関連が認められた (表6、7)。さらに、嗜好性と官能特性との関連では、「味の好ましさ」と「ジューシーさ」および「かみ切りやすさ」の間に、また、「食感の好ましさ」と「かみ切りやすさ」との間に有意 ($p<0.05$) な関連が見られた (表8)。総合的な評価である「全体の好ましさ」に關与する要因として、「ジューシーさ」および「かみ切りやすさ」の關与が示唆された。食肉の食味には、風味のほか、テクスチャーおよび多汁性が重要であるとされて

いる¹⁵⁾。また、齋藤ら¹⁶⁾が黒毛和種牛肉について行った消費者型官能評価においても、総合的な「おいしさ」評価は、「風味」に次いで、「多汁性」および「柔らかさ」との相関が高いという結果が得られている。これらのことから、「ジューシーさ (多汁性)」および「かみ切りやすさ」は、牛肉の嗜好性に影響を及ぼす主要な要因であると推察される。

一方、佐久間ら⁷⁾が、分析型官能評価によって黒毛和種牛肉の脂肪含量 (脂肪交雑等級) および脂肪酸組成と官能特性との関連を検討した結果、脂肪交雑と「やわらかさ」、「多汁性」および「香り」との間に正の相関が認められている。また、鈴木ら⁸⁾も同様な調査を行い、BMS No. の高い方が「やわらかさ」や「多汁性」、「総合的な評価」において優れていたと報告している。さらに、BMS No. の異なる和牛肉の嗜好型官能評価の結果から、消費者はジューシーさと脂肪の多さを重視して評価しているとする報告もある¹²⁾ ことから、脂肪含量は牛肉の官能特性に大きな影響を与える要因

表6 「全体の好ましさ」とその他評価項目との関連 (実験1)

評価項目	選択されたサンプル	「全体の好ましさ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=18)	低MUFA (n=30)		
嗜好性の選択					
香りの好ましさ	高MUFA	10	11	1.631	0.240
	低MUFA	8	19		
食感の好ましさ	高MUFA	13	6	12.829	<0.001
	低MUFA	5	24		
味の好ましさ	高MUFA	15	0	36.364	<0.001
	低MUFA	3	30		
官能特性の選択					
後味の強さ	高MUFA	9	8	2.678	0.127
	低MUFA	9	22		
脂肪味の強さ	高MUFA	14	21	0.345	0.740
	低MUFA	4	9		
かみ切りやすさ	高MUFA	14	12	6.467	0.017
	低MUFA	4	18		
ジューシーさ	高MUFA	15	12	8.584	0.006
	低MUFA	3	18		

数値は、各評価項目においてサンプルを選択した人数を示す。

1 Fisherの直接法。

表7 香り、食感および味の「好ましさ」とその他の評価項目との関連（実験1）

評価項目	選択されたサンプル	「香りの好ましさ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=21)	低MUFA (n=27)		
嗜好性の選択					
食感の好ましさ	高MUFA	10	9	1.008	0.380
	低MUFA	11	18		
味の好ましさ	高MUFA	8	7	0.814	0.531
	低MUFA	13	20		
官能特性の選択					
後味の強さ	高MUFA	8	9	0.117	0.769
	低MUFA	13	18		
脂肪味の強さ	高MUFA	15	20	0.042	>0.999
	低MUFA	6	7		
かみ切りやすさ	高MUFA	10	16	0.645	0.561
	低MUFA	11	11		
ジューシーさ	高MUFA	13	14	0.485	0.565
	低MUFA	8	13		
評価項目	選択されたサンプル	「食感の好ましさ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=19)	低MUFA (n=29)		
嗜好性の選択					
味の好ましさ	高MUFA	11	4	10.392	0.003
	低MUFA	8	25		
官能特性の選択					
後味の強さ	高MUFA	5	12	1.139	0.363
	低MUFA	14	17		
脂肪味の強さ	高MUFA	14	21	0.009	>0.999
	低MUFA	5	8		
かみ切りやすさ	高MUFA	15	11	7.779	0.008
	低MUFA	11	18		
ジューシーさ	高MUFA	12	15	0.610	0.555
	低MUFA	7	14		
評価項目	選択されたサンプル	「味の好ましさ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=15)	低MUFA (n=33)		
官能特性の選択					
後味の強さ	高MUFA	8	9	3.062	0.108
	低MUFA	9	24		
脂肪味の強さ	高MUFA	12	23	0.554	0.727
	低MUFA	3	10		
かみ切りやすさ	高MUFA	12	14	5.865	0.027
	低MUFA	3	19		
ジューシーさ	高MUFA	13	14	8.202	0.005
	低MUFA	2	19		

数値は、各評価項目においてサンプルを選択した人数を示す。

1 Fisherの直接法。

表8 官能特性に関する評価項目間の関連 (実験1)

評価項目	選択されたサンプル	「後味の強さ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=17)	低MUFA (n=31)		
官能特性の選択					
脂肪味の強さ	高MUFA	15	20	3.126	0.099
	低MUFA	2	11		
かみ切りやすさ	高MUFA	7	19	1.789	0.232
	低MUFA	10	12		
ジューシーさ	高MUFA	12	15	2.198	0.224
	低MUFA	5	16		

評価項目	選択されたサンプル	「脂肪味の強さ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=35)	低MUFA (n=13)		
官能特性の選択					
かみ切りやすさ	高MUFA	21	5	1.771	0.210
	低MUFA	14	8		
ジューシーさ	高MUFA	23	4	4.704	0.049
	低MUFA	12	9		

評価項目	選択されたサンプル	「かみ切りやすさ」の選択		カイ2乗値	P値 ¹
		高MUFA (n=26)	低MUFA (n=22)		
官能特性の選択					
ジューシーさ	高MUFA	18	9	3.884	0.080
	低MUFA	8	13		

数値は、各評価項目においてサンプルを選択した人数を示す。

1 Fisherの直接法。

表9 一価不飽和脂肪酸割合および脂肪含量の高低の違いが各評価項目の評点に及ぼす効果 (実験2)

評価項目	MUFA割合		SEM	脂肪含量		SEM	P値		
	低	高		低	高		MUFA	脂肪	交互作用
全体の好ましさ	4.04	4.20	0.13	3.85 b	4.30 a	0.13	0.329	0.035	0.671
香りの好ましさ	4.03	4.26	0.12	4.08	4.21	0.12	0.134	0.373	0.739
食感の好ましさ	4.12	4.24	0.14	3.85 b	4.52 a	0.14	0.513	0.001	0.440
味の好ましさ	4.07	4.26	0.14	4.00	4.33	0.14	0.248	0.057	0.359

数値は、評点の最小二乗平均値を示す。

異符号間に有意差あり (P<0.05)。

であることがうかがえる。実験1で用いたサンプルの脂肪含量は、低 MUFA が 46.2%、高 MUFA が 53.9% と異なっており、MUFA 割合よりも脂肪含量が官能特性や全体の嗜好の評価に影響を及ぼした可能性があると考えられた。

実験2

MUFA 割合の高低および脂肪含量の高低でそれぞれ区分した場合の、各評価項目の評点の最小自乗平均値を表9に示した。MUFA 割合の高低で区分した場合においては、いずれの評価項目においても MUFA 割合による有意な効果はみられなかった。一方、脂肪含量の高低で区分した場合には、「食感の好ましさ」($P<0.01$) および「全体の好ましさ」($p<0.05$) において、脂肪含量による有意な効果が認められ、「食感」、「全体」ともに、高 F の方が、低 F よりも高い評点を示した。MUFA 割合と脂肪含量との間に、交互作用は認められなかった。サンプルの種類による比較では、「食感の好ましさ」においてサンプルによる有意 ($p<0.01$) な効果が認められ、高 M 高 F (4.65) が、低 M 低 F (3.87) および高 M 低 F (3.82) と比べて有意に評点が高かった ($p<0.05$)。

Okumura ら⁹⁾ は、黒毛和種牛肉について、訓練されたパネルを用いた官能評価により、BMS No. の高い方が総合評価の評点が高いことを示したが、脂肪含量が高まることによって牛肉の多汁性の評価が向上し、その結果として総合評価が高くなったと考察している。本試験でも、多汁性が関与する「食感の好ましさ」および「全体の好ましさ」において脂肪含量の高い高 F の方が評点が高いという結果が得られたことから、和牛肉の嗜好性に対しては、MUFA 割合の高低よりも脂肪含量の高低の方が大きく影響すること、また、低脂肪よりも高脂肪の方が嗜好性が高くなることが確認された。

一方、今回の評価では、パネリストの年代や性別に偏りがあったことに加え、畜産関係者がほとんどであった。また、同時に行ったアンケート調査から、赤身肉よりも霜降り肉を好む人が多かった(データは示さず)。林ら¹²⁾ は、BMS No. の異なる牛肉の消費者型官能評価結果を用いて消費者の嗜好を解析し、大半のパネリストにおいて嗜好性に差はないが、それ以外のパネリストには、高脂肪の牛肉を好むグループと嫌うグループが存在することを報告している。また、Sasaki ら¹⁷⁾ が和牛、

ホルスタイン種牛および輸入牛肉を用いて行った消費者型官能評価では、パネリストの多くは高脂肪牛肉を好むが、中程度の脂肪交雑を好む消費者が少数であるが存在することを示している。加えて、北川ら¹¹⁾ は、脂肪含量の異なる和牛肉の分析型官能評価において、「総合評価」に影響を及ぼす官能特性は、サンプルの脂肪含量によって異なることを報告している。その一方で、「総合評価」の評価において、一般消費者とは異なる分析型パネルを用いた場合にはバイアスが生じることを指摘し、パネリストの属性を考慮したうえで消費者型官能評価を行う必要性を述べている¹¹⁾。これらのことから、サンプルに対する一般消費者の嗜好性をより適正に評価するためには、属性の偏りをできるだけ排除できるようにパネリストを選定することが必要である。また、評価結果に基づき、パネリストを牛肉に対する嗜好で区分して解析を行うことも有効であると考えられる。

実験2では、評点法による嗜好性の評価を行ったのみで、官能特性についての評価項目を設定しなかった。そのため、サンプルのどのような特性の違いが嗜好性に影響を及ぼすかを解析することができなかった。従来考え方では、嗜好型パネルを用いた官能評価は、サンプルの好き嫌いや嗜好の度合いを測定する目的で用いられ、官能特性の強度といった分析的な評価は困難であるとされていた¹⁸⁾。しかし、近年、いわゆる「Rapid」な手法である Check-All-That-Apply (CATA) 法が開発され、嗜好型パネルを用いた官能特性の評価が可能となっている¹⁹⁾。畜産物でも、豚肉およびその加工品において CATA 法を利用した特性評価の事例が報告されており²⁰⁾、和牛肉においても、こうした手法を用いた評価を行うことによって、MUFA 割合および脂肪含量の違いが、どのような特性を介して嗜好性を及ぼすかを調査することは有用であると考えられる。

謝 辞

今回の官能評価は、しまね和牛肉ブランド確立推進協議会との共同により実施したものであり、企画ならびに評価運営にあたっていただいた構成団体の担当者各位に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 岡本圭介ら. 日本畜産学会報, 74: 475-482. 2003.

- 2) 独立行政法人家畜改良センター. 枝肉成績と
りまとめ概要 (平成30年度). 2019.
- 3) 農林水産省. 家畜改良増殖目標. 2015.
- 4) 小林正人ら. 東北畜産学会報, 60: 65-73.
2011.
- 5) 西岡輝美ら. 日本畜産学会報, 79: 391-401.
2008.
- 6) 大倉力ら. 照明学会誌, 93: 492-500. 2009.
- 7) 佐久間弘典ら. 日本畜産学会報, 83: 291-299.
2012.
- 8) 鈴木啓一ら. 日本畜産学会報, 84: 375-382.
2013.
- 9) Okumura T., et. al. *Asian-Australasian Journal
of Animal Science*, 20: 577-581. 2007.
- 10) Iida F., et. al. *Animal Science Journal*, 86: 707-
715. 2015.
- 11) 北川貴志ら. 日本畜産学会報, 87: 235-241.
2016.
- 12) 林武司ら. 福岡県農林業総合試験場研究報告, 4:
84-90. 2018.
- 13) 家畜改良センター. 食肉の理化学分析及び官
能評価マニュアル. pp.7-17. 2010.
- 14) Statistical Analysis System (SAS). SAS/STAT
9.2 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, Nc.
2008.
- 15) 入江正和. 日本養豚学会誌, 39: 221-254. 2002.
- 16) 齋藤薫ら. 肉用牛研究会報, 90: 22-28. 2011.
- 17) Sasaki K., et. al. *Journal of the Science of Food
and Agriculture*, 97: 3453-3462. 2017.
- 18) 國枝里美. 化学と生物, 50: 742-747. 2012.
- 19) 今村美穂. 化学と生物, 50: 818-824. 2012.
- 20) 笹木俊ら. 2020. 日本養豚学会誌, 57: 116-
125. 2020.

黒毛和種における水酸化アルミニウムゲル吸着卵胞刺激ホルモン製剤を用いた単回投与型過剰排卵処理プログラムの検討

坂本洋一 森脇俊輔

要約 黒毛和種雌牛の体内胚採取 (ER) に適用する過剰排卵処理 (SOV) の省力化を目的として、水酸化アルミニウムゲル (AhG) を吸着剤とした単回投与型 FSH 製剤を用いた新たな SOV プログラムを検討した。まず、ブタ由来卵胞刺激ホルモン (FSH) 20AU を 6 回漸減投与する当センターの常法 (従来区) と従来区の FSH 漸減投与を 30AU 単回投与に置き換えた手法 (単回区) との比較を行った (実験 1)。採卵成績は、従来区および単回区でそれぞれ、推定黄体数が 17.9 ± 10.3 および 12.3 ± 12.3 、総採取卵数が 14.6 ± 10.1 および 11.4 ± 12.8 、正常胚数が 12.5 ± 10.1 および 8.5 ± 10.1 、変性胚数が 1.9 ± 2.5 および 2.1 ± 3.6 、未受精卵数が 0.2 ± 0.4 および 0.8 ± 1.3 で、有意差は認められなかったが、推定黄体数、総採取卵数および正常胚数はいずれも従来区が単回区を上回った。また、ER 時の推定黄体数 10 個を基準として低反応個体 (≤ 9 個) と高反応個体 (10 個 \leq) とに分類したところ、単回区の低反応個体の無排卵率が 87.7% と明らかに高率であった。以上のことから、常法の FSH 漸減投与を 30AU の単回投与に置き換えるだけでは、排卵率が低下し、常法以上の採卵成績を得ることは困難であると考えられた。そこで、単回処理中の卵胞動態調査を考慮したプログラムを設定し、採卵成績を検討した (実験 2)。実験 2 では、FSH 投与量を 10AU 減の 20AU とした 20AU/標準区と、FSH 投与量は 30AU を維持したまま、FSH 投与から PG 投与および腔内留置型プロゲステロン製剤 (DIB) 抜去までの時間を短縮した 30AU/短縮区の 2 区を設け採卵成績を比較した。採卵成績は、20AU/標準区および 30AU/短縮区でそれぞれ、推定黄体数が 11.6 ± 9.5 および 21.4 ± 14.3 、総採取卵数が 10.8 ± 9.7 および 21.3 ± 14.5 、正常胚数が 10.1 ± 8.8 および 17.8 ± 12.1 、良質胚数が 8.5 ± 8.6 および 15.6 ± 11.1 であり、いずれの成績も 30AU/短縮区が 20AU/標準区を上回った。また、推定無排卵率は 20AU/標準区が 36.4 ± 32.7 、30AU/短縮区が 25.4 ± 28.8 であり、30AU/短縮区においては、実験 1 の従来区と比較しても安定した排卵成績が確認された。以上のことから、FSH 投与量を 30AU の単回投与とし、FSH 投与から PG 投与および DIB 抜去までの期間を常法より 8 時間短縮した 48 時間とすることで、安定した採卵成績が得られ、SOV の省力化が可能であると考えられた。

キーワード：FSH 単回投与 黒毛和種 過剰排卵処理 省力化

雌牛からの体内胚採取 (ER) に際し実施する過剰排卵処理 (SOV) は、ブタ由来卵胞刺激ホルモン (FSH) を数日にわたり多回投与する手法により主に行われてきたが、近年では、省力化や牛へのストレス低減の観点から、生理食塩水 50ml を溶媒とした皮下単回投与法¹⁾が報告され、本県の黒毛和種雌牛からの ER も 21.1% (平成 30 年度) が皮下単回投与で行われている。皮下単回投与法は、本県の主流である FSH の 6 回漸減投与法と比較して、注射機会が 5 回少なく、特に長距離移動が必要な遠方の農場での SOV における作業者の負担は大きく軽減された。一方で、特に神経質な牛へ投与する場合の安全性を考慮し、皮下注射量を少量にできないか、また、腔内留置型プロゲステロン製剤の脱落による処理継続不能の危険性を排除

できないか等、現場からはさらなる利便性と確実性の向上が求められるようになった。

そこで、我々は、平成 29 年 2 月に販売が開始された水酸化アルミニウムゲル (AhG) を吸着剤とした単回投与型 FSH 製剤を用いた新たな SOV プログラムの検討を開始した。本製剤は、投与量が 2.5ml と少量でありながら、AhG の持つ徐放化作用により単回投与でも効果が持続するとされており、本剤を用いた明確な処理プログラムを提案することで、SOV 作業にかかる現場業務の省力化と効率化が期待できる。

本研究では、まず、本県における FSH 6 回漸減投与 (従来) 法の漸減投与部分のみを AhG 吸着 FSH 製剤の単回投与に置き換えた場合の胚生産成績および SOV 処理中の卵胞動態について従来法と

の比較調査を行った(実験1)。さらに実験1で得られた知見を基に、新たに2つの単回投与法を設定し、効率的なSOV法を比較検討した(実験2)。

材料および方法

実験1

FSHを6回漸減投与(5,5,3,3,2,2;総量20AU)する当センターの常法(従来区)と従来区のFSH漸減投与を30AU単回投与に置き換えた手法(単回区)を設定し、当センター繋養の黒毛和種経産牛(n=10)に対して、各区の手法を概ね60日以上の間隔をあげ交互に1回ずつ適用した。なお、適用順序は乱数によりランダムに割り付け、5頭ずつ均等に配置した。

SOV手法は表1に示した。すなわち、両区とも前処理として、発情後5から10日目の膣内留置型プロゲステロン製剤(DIB;オバプロンV、共立製薬)の挿入と、エストラジオール安息香酸エステル(EB)製剤(エストラジオール注「KS」;共立製薬)1mgの投与(9:00)を起点(Day0)とし、従来区は、Day4,9:00よりFSH製剤(アントリンR10;共立製薬)を漸減投与(5,5,3,3,2,2;総量20AU)、Day6,17:00にプロスタグランジン(PG)F_{2α}類縁体(d-クロプロステノール;ダルマジン、共立製薬)を150μg投与しDIBを抜去、Day8,17:00に性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁体(酢酸フェルチレリン;スポルネン注、共立製薬)を100μg投与し、人工授精(AI)を2回(Day8,17:00、Day9,9:00)行った。単回区は、従来区のFSH漸減投与を、Day4,9:00にAhG吸着FSH(アントリンR10・AI;共立製薬)30AU(製品説明書記載の量)の単回投与に置き換えた処理法とした。

処理中は両区の卵胞動態を把握するため、Day0(DIB挿入時)、Day4(SOV開始時)、Day8(初回AI時)、Day9(2回目AI時)、Day9(GnRH投与後24時間)に超音波画像診断装置(MyLabOne VET、Esaote Europe B.V.社)を用いて直径4mm以下の小卵胞、5-7mmの中卵胞、8mm以上の大卵胞数を計測した。ERはDay15に子宮灌流により行い、推定黄体数、総採取卵数、正常胚数(品質コード1-3)²⁾、変性胚数および未受精卵数について比較調査を行った。また、排卵状況確認のため初回AI時の大卵胞数とER時推定黄体数との差から推定無排卵個数を算出し採卵成績との関連性を調査した。

さらに、単回投与における詳細な卵胞動態を把

握するため、Day4から10まで1日2回(9:00、17:00)の継続的な卵巣観察を、比較試験に用いた供試牛とは別の黒毛和種経産牛2頭を用いて行った。

実験2

FSHの投与単位を実験1の従来区と同様にした手法と、早期に最大数に到達した大卵胞の排卵率向上を期待し、PG投与時期を早期化した手法、つまり、実験1の単回区の処理日程のままに、FSH投与量を10AU減の20AUとした20AU/標準区と、FSH投与量は30AUを維持したまま、FSH投与からPG投与およびDIB抜去までの期間(FSH-PG間)を短縮した30AU/短縮区の2区を設定した(表2)。なお、30AU/短縮区は、DIB挿入とEB投与(Day0)時間およびAhG吸着FSH30AU単回投与(Day4)時間を17:00とすることで、FSH-PG間を8時間短縮した。供試牛は当センター繋養の黒毛和種経産牛(n=8)とし、概ね60日以上の間隔をあげ交互に1回ずつ適用した。なお、適用順序は乱数によりランダムに割り付け、4頭ずつ均等に配置した。

ERは試験1同様、子宮灌流により行い、推定黄体数、総採取卵数、正常胚数(品質コード1-3)²⁾および良質胚数(品質コード1-2)²⁾を比較した。

統計解析

解析ソフト(エクセル統計、社会情報サービス)を用い、各実験の2つの試験区分の比較については対応のあるt検定を、全4試験区分の比較については各数値について分散分析を行い、試験区の効果が有意な場合には、多重比較検定(Scheffe法)を適用した。

結果

実験1

処理中の従来区および単回区の大卵胞数(平均値±標準偏差)は、DIB挿入時が1.5±0.8および1.7±1.3、SOV開始時が1.3±0.7および1.2±0.4、初回AI時が28.3±14.4および24.1±8.4、2回目AI時が26.4±16.0および24.2±10.8、GnRH投与後24時間が16.5±12.1および14.9±12.9であった(表3)。

採卵成績(平均値±標準偏差)は、従来区および単回区でそれぞれ、推定黄体数が17.9±10.3および12.3±12.3、総採取卵数が14.6±10.1および11.4±12.8、正常胚数が12.5±10.1および8.5±

10.1、変性胚数が 1.9 ± 2.5 および 2.1 ± 3.6 、未受精卵数が 0.2 ± 0.4 および 0.8 ± 1.3 で、処理区間に有意差は認められなかったが、推定黄体数、総採取卵数および正常胚数はいずれも単回区が低かった。(表4)。

試験区毎に推定黄体数 10 個を境界として供試牛を区分し、採卵成績を比較した結果を表5に示し

た。推定黄体数 10 個以上の高反応個体は、従来区に 8 頭、単回区に 5 頭確認され (いずれも 10 頭中)、高反応個体における従来区および単回区の採卵成績は、それぞれ、総採取卵数が 18.0 ± 7.6 および 20.8 ± 10.6 、正常胚数が 15.4 ± 8.6 および 15.2 ± 9.2 であった。また、推定黄体数 9 個以下の低反応個体は、従来区に 2 頭、単回区に 5 頭確認され、総

表 1 実験1で用いた過剰排卵処理プログラム

試験区	時刻	Day ¹⁾									
		0	...	4	5	6	...	8	9	...	15
従来区	9:00	EB DIB挿入		FSH(5AU)	FSH(3AU)	FSH(2AU)			AI		ER
	17:00			FSH(5AU)	FSH(3AU)	FSH(2AU) PG DIB抜去		GnRH AI			
単回区	9:00	EB DIB挿入		FSH(30AU)					AI		ER
	17:00					PG DIB抜去		GnRH AI			

¹⁾ EB投与とDIB挿入を起点日(0)とした日数。

表 2 実験2で用いたSOVプログラム

試験区	時刻	Day ¹⁾									
		0	...	4	5	6	...	8	9	...	15
20AU/標準区	9:00	EB DIB挿入		FSH(20AU)					AI		ER
	17:00					PG DIB抜去		GnRH AI			
30AU/短縮区	9:00								AI		ER
	17:00	EB DIB挿入		FSH(30AU)		PG DIB抜去		GnRH AI			

¹⁾ EB投与とDIB挿入を起点日(0)とした日数。

表 3 過剰排卵処理中の卵胞数(実験1)

区分	卵胞サイズ	Day0	Day4	Day8	Day9	Day9
		9:00	9:00	17:00	9:00	17:00
		DIB挿入時	SOV開始時	初回AI時	2回目AI時	GnRH投与後24時間
従来区 (n=10)	大	1.5 ± 0.8	1.3 ± 0.7	28.3 ± 14.4	26.4 ± 16.0	16.5 ± 12.1
	中	0.4 ± 0.7	1.9 ± 1.6	4.1 ± 2.3	3.9 ± 2.1	4.5 ± 2.7
	小	11.0 ± 2.9	12.7 ± 3.5	3.4 ± 6.7	3.5 ± 6.7	4.7 ± 7.1
単回区 (n=10)	大	1.7 ± 1.3	1.2 ± 0.4	24.1 ± 8.4	24.2 ± 10.8	14.9 ± 12.9
	中	1.8 ± 2.3	1.5 ± 1.2	5.0 ± 2.3	4.3 ± 2.0	5.1 ± 2.0
	小	10.9 ± 4.3	13.5 ± 6.3	1.3 ± 1.9	1.3 ± 1.6	2.4 ± 2.9

数値は平均値±標準偏差を示す

採取卵数が 1.0 ± 0 および 2.0 ± 2.3 、正常胚数が 1.0 ± 0 および 1.8 ± 2.4 であり、処理区間で有意差は認められなかった。一方、無排卵個数とその比率は、従来区の高反応個体と低反応個体の間には差が認められなかったが、単回区においては高反応個体の 3.4 ± 1.7 (16%) に対し、低反応個体は 20.4 ± 7.1 (87.7%) であり、低反応個体の無排卵率は高反応個体と比較して明らかに高率であった (表5)。

卵胞動態調査を行った2頭の初回AI時大卵胞数、推定黄体数、無排卵個数およびSOV開始時の小卵胞数は、供試牛1が40、7、33および29、供試牛2が36、32、4、および17であった。大卵胞は両供試牛ともにDay5より出現し始め、供試牛1の大卵胞数はDay7,17:00時点でほぼピークに達し、供試牛2はDay8,17:00時点でピークに達した (図1)。

表4 採卵成績(実験1)

	推定黄体数 ¹⁾	総採取卵数	正常胚数 ²⁾ (%) ⁴⁾	変性胚数 ³⁾ (%) ⁴⁾	未受精卵数 (%) ⁴⁾
従来区 (n=10)	17.9 ± 10.3	14.6 ± 10.1	12.5 ± 10.1 (85.6)	1.9 ± 2.5 (13.1)	0.2 ± 0.4 (1.3)
単回区 (n=10)	12.3 ± 12.3	11.4 ± 12.8	8.5 ± 10.1 (74.6)	2.1 ± 3.6 (18.4)	0.8 ± 1.3 (7.0)

数値は平均値±標準偏差を示す

¹⁾推定黄体数は超音波画像診断装置により計測したER時の黄体数。

²⁾正常胚数は国際胚移植学会 (IETS) による「品質コード1-3」と判定した胚。

³⁾変性胚数は国際胚移植学会 (IETS) による「品質コード4」と判定した胚。

⁴⁾総採取卵数に対する割合。

表5 推定黄体数10個を境界とした区分間での採卵成績の比較(実験1)

推定黄体数	区分 (頭数)	総採取卵数	正常胚数 ¹⁾	初回AI時大卵胞数 ²⁾	推定黄体数 ³⁾	無排卵個数 ⁴⁾ (%) ⁵⁾	FSH投与開始時の 小卵胞数
10個≧ (高反応)	従来区 (8/10)	18.0 ± 7.6	15.4 ± 8.6	33.8 ± 9.0	21.5 ± 7.3	12.3 ± 7.8 (34.6)	12.1 ± 3.3
	単回区 (5/10)	20.8 ± 10.6	15.2 ± 9.4	25.2 ± 8.8	22.0 ± 9.1	3.4 ± 1.7 (16.0) ^{a)}	10.6 ± 3.4
≦9個 (低反応)	従来区 (2/10)	1.0 ± 0	1.0 ± 0	6.5 ± 4.5	3.5 ± 2.5	3.0 ± 2.0 (47.7)	15.0 ± 2.0
	単回区 (5/10)	2.0 ± 2.3	1.8 ± 2.4	23.0 ± 6.7	2.6 ± 2.1	20.4 ± 7.1 (87.7) ^{b)}	16.4 ± 6.6

数値は平均値±標準偏差, 異符号間に有意差あり (a,b:P<0.01).

¹⁾正常胚数は国際胚移植学会 (IETS) による「品質コード1-3」と判定した胚。

²⁾初回AI時大卵胞数は超音波画像診断装置により計測した初回AI時における8mm以上の卵胞数。

³⁾推定黄体数は超音波画像診断装置により計測したER時の黄体数。

⁴⁾無排卵個数は初回AI時大卵胞数から推定黄体数を除して算出。

⁵⁾初回AI時大卵胞数に対する割合。

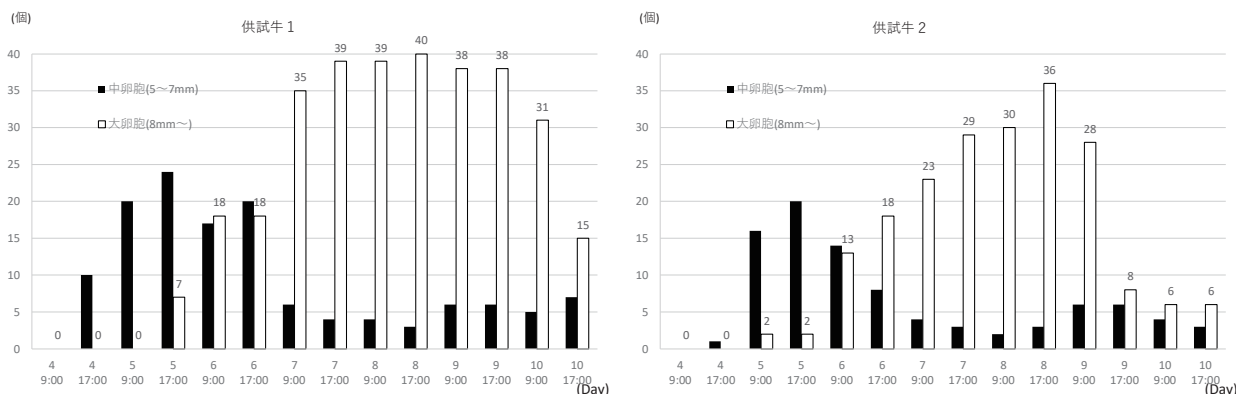


図1 FSH単回投与時の卵胞動態(実験1)

実験2

採卵成績（平均値±標準偏差）は、20AU/標準区および30AU/短縮区でそれぞれ、推定黄体数が11.6±9.5および21.4±14.3、総採取卵数が10.8±9.7および21.3±14.5、正常胚数が10.1±8.8および17.8±12.1、良質胚数が8.5±8.6および15.6±11.1であり、いずれの成績も30AU/短縮区が20AU/標準区を上回った（表6）。

また、推定無排卵率は20AU/標準区が36.4±32.7、30AU/短縮区が25.4±28.8であり、30AU/短縮区においては、実験1の従来区と比較しても安定した排卵が確認された（図2）。

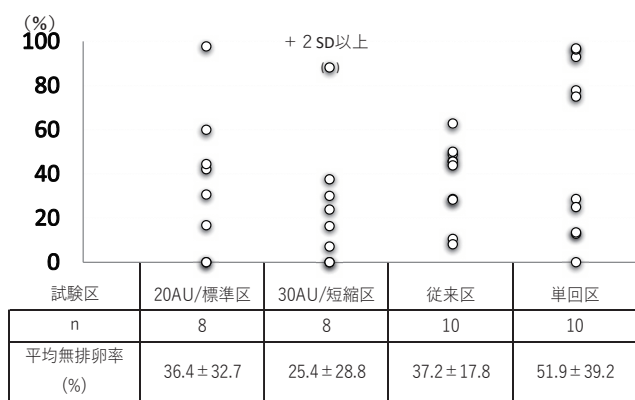


図2 各試験区の無排卵率の分布(実験1,2)

考 察

今回、我々は、SOV手法の省力化と効率化を目的とし、AhGを吸着剤としたFSH製剤による単回投与法の確立を試みた。

まず、実験1として、当センターの常法である従来区と従来区のFSH漸減投与を30AU単回投与に置き換えた単回区について比較試験を行った。その結果、両試験区には統計学的な有意差は確認

されなかったが、単回区におけるER時の推定黄体数、総採取卵数および正常胚数は従来区を下回った。

Huhtinenら³⁾やTanejaら⁴⁾は、SOV開始時における主席卵胞の存在が、SOVへの反応性と採卵成績を低下させることを指摘している。また、小林ら⁵⁾はSOV前の卵胞動態とSOV開始時の卵胞数を解析し、SOV開始時に直径2-3mmの卵胞数が多く、直径7-10mmの卵胞がないように卵胞波を調節する重要性を述べている。つまり、SOV開始前の卵胞波が採卵成績に大きな影響を及ぼすと考えられるが、本実験では、SOV開始4日前のEB投与による卵胞波の同期化を行っていること、従来区および単回区ともに、SOV開始時の卵胞数は同等であったことから、一定程度卵胞波の揃った条件下での試験であったと考えられる。よって、実験1における単回区の採卵成績低下は、FSH投与以降の要因により生じたものと考えられた。

そこで、単回区における採卵成績低下の要因を検索するために、両試験区分をER時の推定黄体数により低反応個体と高反応個体に分類し、より詳細に解析した。その結果、従来区の低反応個体はAI時点における大卵胞数も少なく必然的にER時の黄体数も少なかったと考えられたが、単回区の低反応個体は、AI時点における大卵胞数は同区の高反応個体と同等であった。つまり、単回区の低反応個体においてはFSHにより発生した多くの大卵胞が、排卵に至らなかったことで採卵成績が低下したものと推察された。

Nasserら⁶⁾はSOVにおいて、FSH投与開始日が卵胞波の出現日からずれると排卵率が低下することを指摘しているが、本実験では従来区と単回区間にSOV開始時の小卵胞数の差異は認められなかった。しかしながら、単回区を低反応個体と

表6 採卵成績(実験2)

	推定黄体数 ¹⁾	総採取卵数	正常胚数 ²⁾ (%) ⁴⁾	良質胚数 ³⁾ (%) ⁴⁾
20AU/標準区 (n=8)	11.6±9.5	10.8±9.7	10.1±8.8 (97.0)	8.5±8.6 (80.0)
30AU/短縮区 (n=8)	21.4±14.3	21.3±14.5	17.8±12.1 (87.0)	15.6±11.1 (62.0)

数値は平均値±標準偏差を示す

¹⁾推定黄体数は超音波画像診断装置により計測したER時の黄体数。

²⁾正常胚数は国際胚移植学会（IETS）による「品質コード1-3」と判定した胚。

³⁾良質胚数は国際胚移植学会（IETS）による「品質コード1-2」と判定した胚。

⁴⁾総採取卵数に対する割合。

高反応個体に分類した解析により、FSH 投与開始時の小卵胞個数を比較したところ、低反応個体および高反応個体の FSH 投与開始時の小卵胞個数は 16.4 ± 6.6 および 10.6 ± 3.4 であり、低反応個体で多い傾向 ($p=0.07$) であった。黒毛和種雌牛では、FSH30AU を単回投与した場合の血中 FSH 濃度は、漸減投与と比較して初期に急激に上昇する報告⁷⁾もあることから、FSH30AU の単回投与を行った場合、FSH 投与時の卵胞波の影響をより大きく受ける可能性がある。つまり、SOV 開始時に多くの小卵胞が存在する個体に単回投与を行ったため、初期の FSH 濃度が高くなり、卵胞は急速に大卵胞に発育し、FSH 濃度の低下により処理中に退行に向かった可能性が考えられる。

詳細な卵胞動態調査を行った2頭の成績においても、無排卵個数が多い個体は、SOV 開始時の小卵胞数が29個で、処理中比較的早期に大卵胞数がピークに達したのに対し、無排卵個数の少ない個体では SOV 開始時の小卵胞は17個で、大卵胞数の増加が緩やかであった。

以上、実験1の成績から、単回区の処理では、大卵胞数が比較的早期にピークに達し、卵胞動態と FSH 投与以降の処理が合致しない個体が少なからず存在することが、採卵成績に悪影響を及ぼすのではないかと仮説を立て、実験2において修正プログラムの検討を行った。実験2では、FSH 投与単位を実験1の単回区から10AU減の20AUとすることで、大卵胞の増加速度を緩やかにすることを期待した20AU/標準区と、FSHの投与単位は30AUを維持し、FSH投与からPG投与までの時間を短縮することで、早期にピークに達する大卵胞を排卵させることを期待した30AU/短縮区を設定した。

その結果、実験2の採卵成績は、30AU/短縮区で良好な成績が得られた。特に、無排卵率については、試験1も加えた全4区中で、30AU/短縮区が最も低く抑えられ、ばらつきも小さいことから、FSH投与からDIB抜去とPG投与までの間隔を短縮させたことで、排卵率の安定化が図られたものと考えられた。一方、大卵胞の最大数到達スピードを緩やかにすることを目的とし、FSHの投与単位を20AUとした20AU/標準区は、試験1の従来区と同等の無排卵率に改善されたものの、従来区よりもばらつく傾向であった。

ただし、磯崎ら⁸⁾は、AhGに吸着させたFSH製剤の30AU皮下投与から56時間後にPGを投与

する手法で、20AUの漸減投与法と同等のSOV効果が得られると報告している。この手法は発情後9～13日目をターゲットとしてFSH投与しており、FSH投与後の処理は今回の実験1と同様である。また、皮下投与したFSHの吸収速度は皮下脂肪量に依存している⁹⁾との報告もあることから、採卵成績は、EBによる卵胞波の同期化やボディコンディションスコア等、様々な要因の影響を受けることも考慮しておく必要がある。

今回、同一飼養管理下において、30AU/短縮区の処理、つまりAhG吸着FSH製剤を30AU投与し、FSH投与からPG投与までの間隔を48時間とすることで、実験1の課題が改善され、従来区との比較において同等以上の採卵成績が得られた。当該プログラムは、AhG吸着FSH製剤の経費が、FSH6回漸減投与(総量20AU)法と比較して1,600円程度増加する。しかしながら、4回の注射機会を削減でき、さらに、自家黄体存在下での処理であるため、膈内留置型プロゲステロン製剤の不意の脱落により継続処理が不能となる可能性が低い手法として、現場からの要望に応えるものであり、SOVの新たな選択肢となると考えられた。

参 考 文 献

- 1) S. Hiraizumi, et al. *Theriogenology*, 83: 466-473. 2015.
- 2) 社団法人畜産技術協会. 胚の衛生的取り扱いマニュアル (IETS マニュアル第3版), 164-167. 東京. 2001.
- 3) Huhtinen M., et al. *Theriogenology*, 37: 457-463. 1992.
- 4) Taneja M., et al. *Theriogenology*, 44: 581-597. 1995.
- 5) 小林修一ら. 日本畜産学会報, 68: 45-53. 1997.
- 6) Nasser LF., et al. *Theriogenology*, 40: 713-724. 1993.
- 7) 農研機構 (2017年9月14公開), プレスリリース「作業の省力化と牛への負担軽減を実現できる過剰排卵誘起法を開発」. http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/press/laboratory/nilgs-neo/077370.html (閲覧日: 2020年12月10日).
- 8) 磯崎良寛ら. 福岡県農業総合試験場研究報告, 26: 61-64. 2007.
- 9) BO G A., et al. *Theriogenology*, 42: 963-975. 1994.

黒毛和種牛における性選別精液を利用した体内胚生産手法の検討

澤 香代子 長谷川清寿

要約 黒毛和種供胚牛において、性選別精液を用いる体内胚生産に適した過剰排卵処理 (SOV) 手法を検討した。**実験 1** : 慣行 SOV 法 (慣行 SOV 区) よりも排卵時間が短縮する SOV 法として SOV-A 法 (SOV-A 区) を設定し、血中 LH 濃度推移および排卵時間を調査した。慣行 SOV 区は 1 例を除き 2 回の LH サージが認められ、1 回目は GnRH 投与前 4 時間までの間、2 回目は GnRH 投与後 1 から 3 時間の間であった。排卵は、早い例で調査開始時 (GnRH 投与後 11 時間) までに始まり、GnRH 投与後 38 時間まで認められた。SOV-A 区は全例で LH サージが GnRH 投与後 1 から 3 時間の間に、排卵が同投与後 27 から 39 時間の間に認められた。**実験 2** : SOV-A 法による胚採取成績を注入精液の性選別の有無で比較した。人工授精は GnRH 投与後 24 時間の 1 回とし、非選別精液 (通常精液区) は 1 本、採胚用性選別精液 (選別精液区) は 2 本用いた。成績 (通常精液区 vs 選別精液区) は、正常胚数 (14.1 ± 3.6 vs 10.8 ± 3.0)、未受精卵数 (3.3 ± 1.3 vs 5.4 ± 2.7) に差はなかったが、選別精液区は通常精液区よりも正常胚率 (71.9 vs 57.4) が低く ($P < 0.01$)、未受精卵率 (16.8 vs 28.7) が高かった ($P < 0.01$)。**実験 3** : SOV-A 法による胚採取成績を採胚用性選別精液ストローの使用本数で比較した。選別 1 本区および選別 2 本区における成績 (選別 1 本区 vs 選別 2 本区) は、正常胚数 (8.8 ± 2.7 vs 8.3 ± 1.6) 等の調査項目に差は認められなかった。**実験 4** : SOV-A 法より CIDR 抜去を半日遅くした SOV-B 法 (SOV-B 区) を設定し、SOV-A 法 (SOV-A 区) と性選別精液 1 本を用いた胚採取成績を比較した。成績 (SOV-A 区 vs SOV-B 区) は、正常胚数 (15.3 ± 4.2 vs 8.1 ± 3.4)、未受精卵数 (4.1 ± 2.2 vs 6.0 ± 3.1) に有意差は認められなかったが、SOV-B 区は SOV-A 区よりも正常胚率 (67.3 vs 47.1) が低く ($P < 0.001$)、未受精卵率 (18.2 vs 34.7) が高かった ($P < 0.01$)。以上のことから、SOV-A 法では内因性の LH サージが起きる前に外因性の LH サージを誘起可能であり、排卵時間を慣行 SOV 法の半分以下に短縮できた。また、SOV-A 法で性選別精液を用いた場合、通常精液と同等数の正常胚が得られ、使用する採胚用性選別精液ストローは 1 本でも成績に影響を与えないことが示唆された。また、SOV-B 法は SOV-A 法よりも未受精卵率が高く、正常胚率が低くなることから、黒毛和種牛において性選別精液の利用に適した SOV 法としては SOV-A 法が有効であると考えられた。

キーワード : 黒毛和種 性選別精液 過剰排卵処理

牛の雌雄産み分けは、目的に応じた産子の計画的生産を可能にする技術である。黒毛和種における活用方法は、市場価格の高い雄子牛の増産、種雄牛や高能力繁殖雌牛候補の生産などが挙げられ、経営や改良上のメリットが大きい。雌雄産み分けの手法としては、採取した胚を性判別し、そのうち希望する性であった胚を移植する方法が実用化されているが、精子の性選別技術の開発により、性選別精液の人工授精 (AI) も普及してきた。そこで、希望する性の胚および産子の効率的生産法として、性選別精液を過剰排卵処理 (SOV) 後に用いる体内胚生産手法が注目されているが、非選別精液の場合と比較して未受精卵率が高率であったと報告^{2,3)}されており、同等の成績が得られる手法は確立されていない。その要因として、性選別精子は選別処理の影響で受精能力保有時間が短

い⁷⁾ こと、また、非選別精液よりもストローあたりの精子数が少ないこと⁸⁾ が影響していると推察されている。最近、吉岡ら⁴⁾ はホルスタイン種において成熟卵子の採取を目的とした SOV 法を検討し、その手法で排卵時間が一定の時間に集中することを示した。そこで今回、黒毛和種供胚牛において性選別精液に適した SOV 法として、この手法を参考に設定した SOV プログラム (SOV-A 法) により受精率を向上させることを検討した。最初に、SOV-A 法における排卵状況を血中黄体形成ホルモン (LH) 濃度変化とともに調査 (実験 1) し、その後 SOV-A 法の性選別精液での有効性を検討するため、性選別精液と非選別精液の胚採取成績を比較した (実験 2)。また、性選別精液の注入精子数の影響を調べるため、注入ストロー本数について検討した (実験 3)。加えて、胚採取成績の向上

を図るため SOV-A 法を改変した SOV-B 法を設定し、それぞれの胚採取成績を比較した (実験 4)。

材料および方法

実験は 2012 年 6 月から 2016 年 3 月に行った。供胚牛は当センター繋養の黒毛和種経産牛を用いた。各実験の供試牛は、実験ごとに設定した 2 つの試験区にランダムに割り付け、60 日以上の間隔をあけて反転して用いた。

実験 1

過剰排卵処理後の血中 LH 濃度および排卵調査

供試牛 7 頭を用い、排卵集中 SOV 法として設定した SOV-A 法 (SOV-A 区) および慣行法 (慣行 SOV 区) について、SOV 後の血中 LH 濃度推移および排卵時間の調査を行った。

・過剰排卵処理方法

両区ともに発情周期の任意の時期に腔内留置型プロゲステロン製剤 (CIDR; イージーブリード、家畜改良事業団) を挿入した (Day0)。SOV-A 区は、Day3 の朝に直径 8mm 以上の卵胞を吸引除去 (DFR) し、Day4 の夕方から Day7 の朝まで、卵胞刺激ホルモン製剤 (FSH; アントリン R・10、共立製薬) を漸減投与 (5,5,3,3,2,2; 総量 20AU) した。Day6 の夕方にプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 類縁体のクロプロステノール (PG; エストラメイト、インター

ベット) 750 μ g を投与、Day7 の朝に CIDR を抜去し、Day8 の朝に性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁体の酢酸フェルチレリン (GnRH; スポルネン・注、共立製薬) を 100 μ g 投与した。慣行 SOV 区は、Day4 の夕方から SOV-A 区と同様に FSH を漸減投与し、Day7 の朝に PG 投与と CIDR 抜去を行い、Day9 の朝に GnRH を投与した。薬剤および投与量は SOV-A 区と同様とした (図 1)。

・血中 LH 濃度測定

採血は、SOV-A 区は GnRH 投与後 0、1、2、3、4、6、8、11 時間に行った。慣行 SOV 区は GnRH 投与前 18 時間から投与時までには 2 時間間隔で行い、以降は GnRH 投与後 1、2、3、4、6、8、11 時間に行った。血液は頸静脈よりヘパリン加採血管に採取し、遠心分離 (4°C、1710g、20 分) 後、血漿を測定まで -30°C で保存した。LH の測定は時間分解蛍光免疫法⁵⁾ により行った。

・排卵調査

超音波画像による排卵調査は、SOV-A 区は GnRH 投与後 24 時間から 39 時間まで、慣行 SOV 区は同 11 時間から 38 時間まで 3 時間間隔で行った。排卵数は直径 8mm 以上の卵胞の前回調査時からの減少数とした。なお、DFR および卵胞数調査は 7.5MHz プローブを装着した超音波画像診断装置 (prosound 6、アロカ) を用いた。

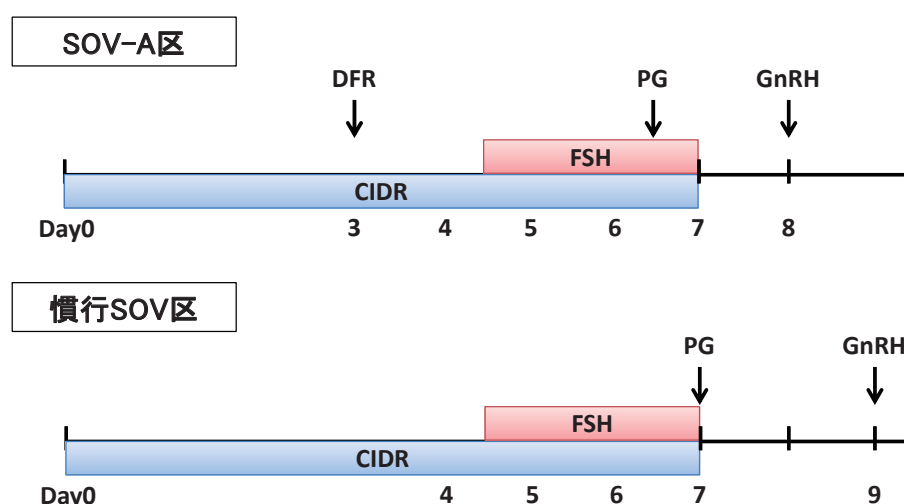


図1 実験1における過剰排卵処理方法

両区ともに腔内留置型プロゲステロン製剤 (CIDR) を Day0 から Day7 の朝まで留置し、Day4 の夕方から卵胞刺激ホルモン (FSH) 製剤を漸減投与 (5,5,3,3,2,2AU)。DFR; SOV-A 区のみ Day3 の朝に直径 8mm 以上の卵胞を吸引除去、PG; プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ (クロプロステノール 750 μ g)、GnRH; 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (酢酸フェルチレリン 100 μ g)

実験 2

精液の性選別の有無が胚採取成績に及ぼす影響

SOV-A 法について、性選別精液あるいは非選別精液（通常精液）を用いた胚採取成績を比較した。供試牛は 10 頭用いた。AI は GnRH 投与後 24 時間に設定し、選別精液区では採胚用性選別精液（精子数 600 万個 / ストロー；Sort⁹⁰、家畜改良事業団）を左右子宮角浅部に 1 本ずつ（計 2 本）、通常精液区では通常精液 1 本を左右子宮角浅部に半量ずつ注入した。胚採取は AI 後 6 日目（Day15）に子宮灌流により行った。調査項目は、胚採取時の推定黄体数、採取卵数、正常胚（品質コード 1-3）⁶⁾ 数、変性胚数および未受精卵数とした。

実験 3

SOV-A 法における性選別精液の注入本数の検討

性選別精液ストローの注入本数による胚採取成績を比較した。供試牛は 8 頭用いた。SOV および AI 時間は実験 2 と同様とし、採胚用性選別精液を選別 1 本区は 1 本、選別 2 本区は 2 本用いた。精液注入部位は、選別 1 本区は子宮体部に、選別 2 本区は左右子宮角浅部に 1 本ずつ注入した。胚採取および調査項目は実験 2 と同様とした。

実験 4

SOV-A 法における CIDR 抜去時期の検討

供試牛は 7 頭を用いた。SOV-A 法の DFR を

CIDR 挿入時の安息香酸エストラジオール（EB；動物用オバホルモン注、あすかアニマルヘルス）1mg 投与に改変した手法を SOV-A・EB 法（SOV-A 区）、SOV-A・EB 法よりも CIDR 抜去を遅らせる SOV 法を SOV-B 法（SOV-B 区）として設定した。すなわち、SOV-A 区は Day7 の朝に FSH の最終投与と同時に CIDR を抜去し、SOV-B 区は Day7 の夕方に抜去した。PG 投与、GnRH 投与および AI 時間は両区同様とし、AI は GnRH 投与後 24 時間に採胚用性選別精液 1 本を子宮体部に注入した。胚採取および調査項目は実験 2 と同様とした（図 2）。

統計解析

統計解析は StatView5.0（SAS）を用いた。各試験区の効果を検討するため、胚採取成績における各調査項目について t 検定を行った。ただし、採取卵数に対する正常胚数、変性胚数および未受精卵数の割合についてはカイ二乗検定を行った。

結 果

実験 1

過剰排卵処理後の血中 LH 濃度および排卵調査

両区の血中 LH 濃度推移および排卵数を図 3 に示した。慣行 SOV 区では 1 例を除き、2 回の LH サージが認められ、サージのピークは 1 回目が GnRH

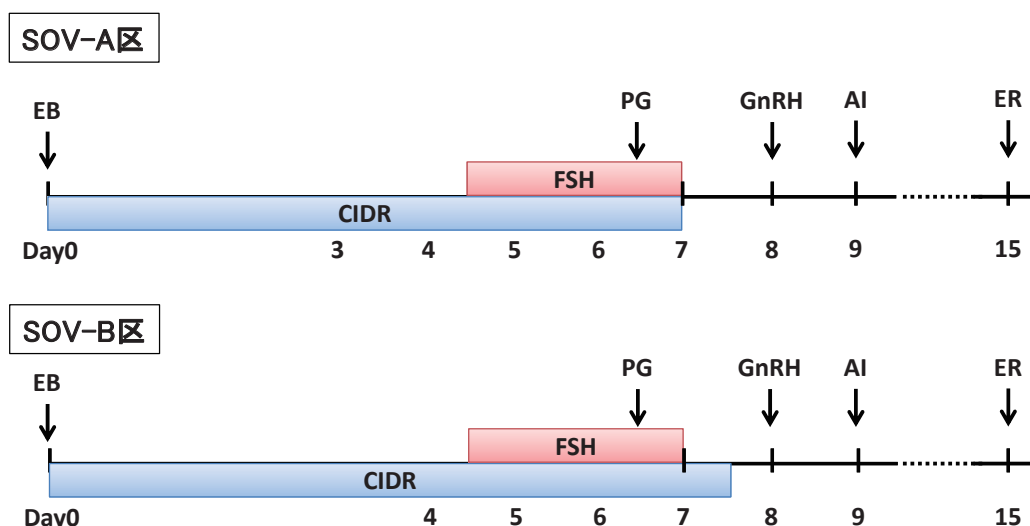


図2 実験4における過排卵処理方法

両区ともにDay0に腔内留置型プロゲステロン製剤(CIDR)を挿入,EB(安息香酸エストラジオール)1mg投与,Day4の夕方から卵胞刺激ホルモン(FSH)製剤を漸減投与(5,5,3,3,2,2A.U.).SOV-A区はDay7の朝、SOV-B区はDay7の夕方にCIDRを抜去。

PG; プロスタグランジンF_{2α}(クロプロステノール750μg)、GnRH; 性腺刺激ホルモン放出ホルモン(酢酸フェルチレリン100μg)、AI; 人工授精、ER; 胚採取

投与前4時間までの間に起こり、2回目がGnRH投与後1時間から3時間の間であった。排卵は、2例が調査開始時(GnRH投与後11時間)にすでに一部が排卵しており、残り4例はGnRH投与後17時間から38時間の間に認められた。LHサージがGnRH投与後2時間の1回だけであった1例では、調査終了時間(GnRH投与後38時間)までに排卵は確認できなかった。一方、SOV-A区では全例でLHサージのピークがGnRH投与後1時間から3時間の間に、排卵が同投与後27時間から39時間の間に認められた。

実験2

精液の性選別の有無が胚採取成績に及ぼす影響

胚採取成績は表1に示した。推定黄体数、採取卵数、正常胚数、変性胚数および未受精卵数に試験区間の差は認められなかったが、正常胚率は選別精液区が通常精液区よりも低く(P<0.01)、未受精卵率は選別精液区が通常精液区よりも高かった(P<0.01)。

実験3

SOV-A法における性選別精液の注入本数の検討

胚採取成績は表2に示した。各調査項目に試験

区間の差はなく、平均採取卵数および正常胚数は選別1本区が14.9個および8.8個であり、選別2本区が15.9個および8.3個であった。

実験4

SOV-A法におけるCIDR抜去時期の検討

胚採取成績は表3に示した。推定黄体数、採取卵数、正常胚数、変性胚数および未受精卵数に試験区間の差は認められなかったが、正常胚率はSOV-B区がSOV-A区よりも低く(P<0.001)、未受精卵率はSOV-B区がSOV-A区よりも高かった(P<0.01)。

考 察

牛性選別精液は選別処理により精子がダメージを受け、生存性や運動性の低下、そして機能性的変化から雌生殖道内での受精能力保有時間が短縮していると考えられている⁷⁾。また、通常精液と比較してストローあたりの精子数が少なく、これらの影響により通常精液よりも人工授精における受胎率が低いと推察されている⁸⁾。同様の影響は、体内胚生産における利用でも認められており、性選別精液を用いた胚採取成績は通常精液と比較し

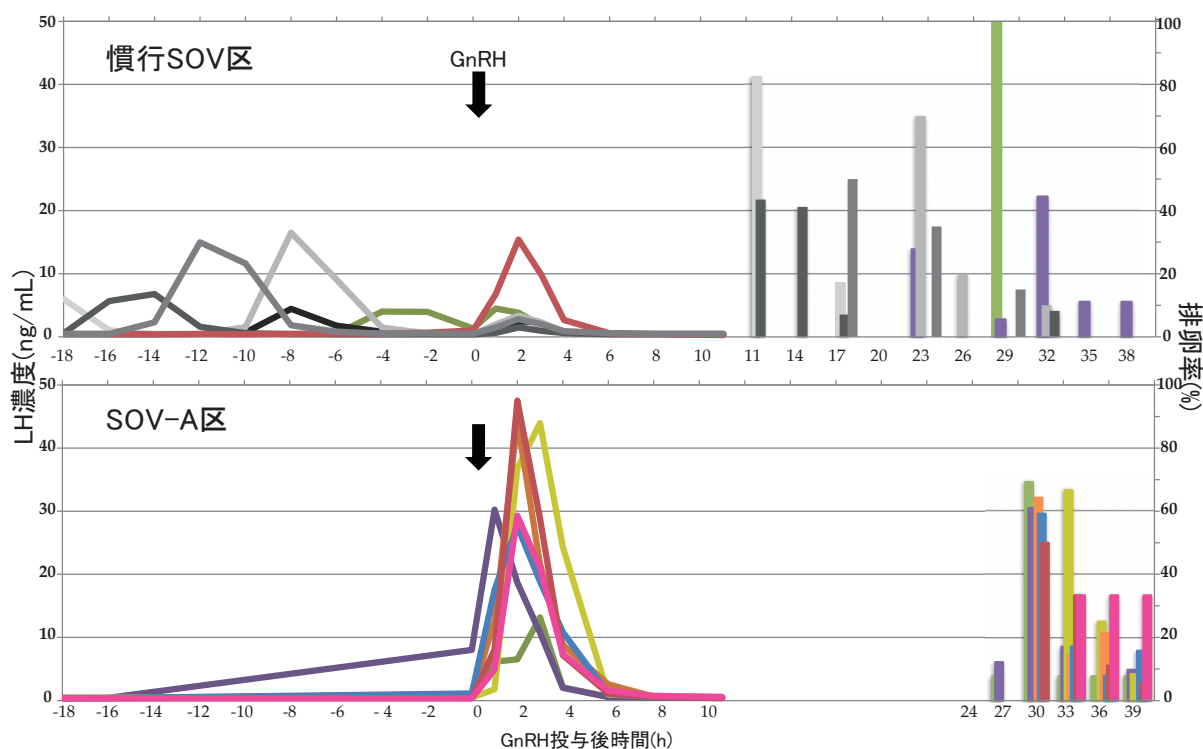


図3 実験1における血中LH濃度推移と排卵数

排卵率; 排卵調査終了時までの総排卵数に対する当該調査時間における排卵数の割合、GnRH; 性腺刺激ホルモン放出ホルモン(酢酸フェルチレリン100 μ g)

表1 非性選別精液(通常精液)または性選別精液を用いた胚採取成績(実験2)

試験区	推定黄体数	採取卵数	正常胚数 (%)*	変性胚数 (%)*	未受精卵数 (%)*
通常精液区 (n=10)	25.4±4.5	19.6±4.5	14.1±3.6 (71.9) ^a	2.2±0.6 (11.2)	3.3±1.3 (16.8) ^a
選別精液区 (n=10)	20.0±5.2	18.8±5.3	10.8±3.0 (57.4) ^b	2.6±0.8 (13.8)	5.4±2.7 (28.7) ^b

数値は平均値±標準誤差、異符号間に有意差あり(a,b:P<0.01)。

*:採取卵数に対する割合。

表2 採胚用性選別精液を1本または2本用いた胚採取成績(実験3)

試験区	推定黄体数	採取卵数	正常胚数 (%)*	変性胚数 (%)*	未受精卵数 (%)*
選別1本区 (n=8)	22.1±6.8	14.9±4.1	8.8±2.7 (58.8)	3.5±1.3 (23.5)	2.6±0.7 (17.6)
選別2本区 (n=8)	23.8±6.3	15.9±3.3	8.3±1.6 (52.0)	3.3±1.5 (20.5)	4.4±1.5 (27.6)

数値は平均値±標準誤差

*:採取卵数に対する割合

表3 SOV-A法またはSOV-B法による胚採取成績(実験4)

試験区	推定黄体数	採取卵数	正常胚数 (%)*	変性胚数 (%)*	未受精卵数 (%)*
SOV-A区 (n=7)	24.7±4.4	22.7±5.3	15.3±4.2 (67.3) ^a	3.3±1.2 (14.5)	4.1±2.2 (18.2) ^c
SOV-B区 (n=7)	18.4±5.4	17.3±5.4	8.1±3.4 (47.1) ^b	3.1±1.2 (18.2)	6.0±3.1 (34.7) ^d

数値は平均値±標準誤差

異なる文字間に有意差あり(a,b:P<0.001, c,d: P<0.01)

*:採取卵数に対する割合

て正常胚率が低く、未受精卵率が高い^{2,3)}という報告が多い。Schenk ら³⁾や Hayakawa ら⁹⁾はホルスタイン種において性選別精液を注入した胚採取成績は、通常精液よりも未受精率が有意に高く、移植可能胚数が少ないことを示している。また、黒毛和種においても、加藤ら¹⁾が、平均正常胚数が3.4から5.8個、平均正常胚率が34.5から53.0%の範囲であり、注入精子数が増えると正常胚数が増える傾向があったと報告している。また、AI適期については、Sales ら¹⁰⁾によると選別精液では通常精液よりも遅い時期、つまり排卵に近い時期が適しており、このことは選別処理の精子への影響¹¹⁾と推察される。SOV後のAIにも適期があり、通常精液の場合、Dalton ら¹²⁾の成績ではスタンディング発情開始後24時間のAIにおいて受精率が高い。これらのことから、性選別精液を用いた体内胚生産手法を検討するにあたって一つの目標となるのは未受精卵率を低下させることであり、AIと排卵のタイミングが重要となる。しかし、慣行SOV法では排卵時間に幅があるため、慣行設定の定時AIを性選別精液で同様に行っても長時間の排卵をカバーすることは難しい。逆に、SOV後の排卵を特定の時間に集中して起こすことができれば、性選別精液を用いる場合にも、その排卵時間に合わせた適期にAIを行うことができると考えられる。そこで、吉岡ら⁴⁾がホルスタイン種で示した排卵集中型SOV法を参考にSOV-A法を設定した。

実験1で両区の排卵時間を調査した結果、慣行SOV区ではその幅は約30時間であったのに対し、SOV-A区では12時間の間に全ての個体が排卵し、特にGnRH投与後27時間から33時間の6時間に集中していた。同様に、LHサージも慣行SOV区では個体ごとにそれぞれの時間に起こった後、GnRH投与による2回目のサージが認められたのに対し、SOV-A区ではGnRH投与後のLHサージのみが認められた。慣行SOV区では、内因性のLHサージが早い例でGnRH投与18時間前に、遅い例で同4時間前に起こり、この時間はCIDR抜去およびPG投与からは30から44時間後ということになる。Kanitz ら¹³⁾は、SOV後のPG投与からLHサージまでは 46.5 ± 4.4 時間であったと報告しており、今回はそれよりも少し早い個体が存在した。一方、SOV-A区ではPG投与後16時間後にCIDRを抜去し、抜去後24時間にGnRHを投与したため、内因性のLHサージが起こる前に外因性

のサージが誘起されたと考えられた。

SOV後、LHサージから排卵開始までは24から30時間であり、バラツキが小さい¹³⁾ことが知られている。今回もそれに一致する結果であり、慣行SOV区ではLHサージが起こった順にサージの約30時間後に排卵を開始し、その後2回目のサージによると推察される排卵が観察された。そして、SOV-A区ではGnRH投与後1から3時間にLHサージが起こり、その26から30時間後に排卵した。SOV-A法と同じような手法として、櫻田ら¹⁴⁾はSOV後の黒毛和種へのGnRH投与時期を、PG投与後32時間と48時間、そして無投与と比較し、発情発現時間や排卵調査、胚の発育ステージの成績から、LH濃度は測定していないものの、32h区では内因性のLHサージより先に外因性のサージが起こり、48h区では内因性サージの後に外因性サージが起こるため、32h区の排卵が無投与と比較して早期に起こったと推察している。今回の慣行SOV区においては、PG投与後30時間で内因性のサージが起こっており、既報^{13,14)}と比べてさらに個体間の幅があった。

SOV-A法による性選別精液を用いた胚採取成績は、通常精液と比較して未受精卵率が高く、正常胚率が低くなった。この成績は、これまでの報告^{2,3)}と同様な傾向であったが、今回の成績は正常胚数には差がなく、選別精液区の正常胚率も約60%と比較的高率であった。したがって、性選別精液を用いるSOV法として、慣行SOV法よりも排卵時間が集中するSOV-A法は、AI時間やAI方法を含め、有効であると考えられた。

一方、性選別精液のもう一つの特徴として、通常精液よりもストローに封入されている精子数が少ないことがあり、このことも胚採取成績に影響している^{1,3)}と考えられている。しかし、精液の費用や注入の作業という観点では使用するストロー本数は少ない方が望ましい。そこで、実験3では採胚用性選別精液(精子数600万個/本)の注入本数について検討した。結果は、1本と2本では胚採取成績に差はなく、SOV-A法でAIをGnRH投与後24時間とする場合、採胚用性選別精液では注入本数を1本としても成績に影響を及ぼさないことが示唆された。SOV-A法と同様な排卵集中SOV法によるホルスタイン種の成績¹⁵⁾でも、採胚用の半分程度の精子数と推察されるAI用選別精液を用いた場合、2本と4本では胚採取成績に有意な差がないことが報告されており、排卵を集

中させることで注入回数や注入精子数を減らすことが可能になったと考えられる。

実験1から実験3のSOV-A法ではSOV開始前にDFR処理を行った。SOV前の処理については、良好な胚採取成績が得られるよう卵胞波を調節することがこれまで多く研究されてきた。小林ら¹⁶⁾は、SOV前の卵胞動態とSOV開始時の卵胞数を解析し、SOV開始時に直径2-3mmの卵胞数が多く、直径7-10mmの卵胞がないように卵胞波を調節する重要性を述べている。DFRについては、胚採取成績が向上する¹⁷⁾という報告と効果が見られなかった¹⁸⁾という報告の両方があるが、これは処理時の発情周期や吸引からSOV開始までの時間などの影響と推察される。しかし一方で、DFRは現場での適用が難しい。そこで、実験4では卵胞波調節手法として以前から利用されている^{19,20)}EBを用い、SOV開始4日前に投与した。今回は両手法について胚採取成績の比較は行っていないが、実験4のSOV-A区の成績は、実験2および実験3の正常胚率と同等であり、DFRをEB投与に変更しても胚採取成績に影響を及ぼさないことが示唆された。

実験2において、両試験区でGnRH投与後24時間に行ったAI時に、GnRH投与時よりも大卵胞数が減少している例が見られた。特に2頭（選別精液区）では12個および19個減少し、胚採取時の黄体数から、排卵と考えられた。胚採取時における未受精卵率はそれぞれ28.6%および8.3%であった。LHサージから排卵までは24時間から30時間である。したがって、夕方にPGを投与し、翌日の朝CIDRを抜去した後、24時間以内にLHサージが起きたと考えられる。このことから、CIDR抜去後早期の発情を避けるため、SOV-A法よりCIDR抜去時間を遅らせるSOV-B法を試みた。しかし、結果はSOV-B区の未受精卵率がSOV-A区よりも高く、正常胚率が有意に低い結果となった。SOV-B法は、CIDR抜去からGnRH投与までの時間がSOV-A法よりも8時間短縮され、16時間となる。Boら²¹⁾は、肉用種供胚牛において、PG投与から腔内留置型プロジェステロン製剤（DIB）抜去までの時間やGnRH投与の時間によって胚採取成績を比較しているが、DIB抜去からGnRH投与までが12時間と24時間では成績に差がみられないと報告している。本試験の結果との違いの要因は明らかでないが、Boらの成績は各試験区の平均採取卵数が9個程度と少なく、供胚牛の品種の違い

の影響も考えられる。また、Sirardら²²⁾は、SOV後の排卵では発育の遅い卵胞から発生能の低い卵子が排卵されることを指摘している。したがって、SOV-B法のようにCIDR抜去からGnRH投与までが短い場合、GnRH投与により排卵は起こるものの、卵胞発育が不十分な卵胞の割合が高く、未受精卵率が高くなった可能性が推察された。したがって、SOV-B法はAI前の排卵は抑制されるものの、受精率が低下し、正常胚率はSOV-A法と差はないが正常胚率は有意に低くなることが明らかとなった。また、実験2以外のSOV-A法ではAI時に排卵していた例は今回見られず、発生頻度や条件について今後も例数を積み重ね、確認する必要がある。

以上のことから、排卵集中型SOV法では内因性のLHサージが引き起こされる前に外因性のLHサージを誘起することが可能であり、その結果、排卵時間は慣行SOV法の半分以下となり、特にGnRH投与後27時間から33時間に集中することが明らかとなった。また、SOV-A法を適用した場合、性選別精液を利用しても通常精液と同等数の正常胚が得られ、採胚用性選別精液の注入本数は1本でも2本の場合と同等の胚採取成績であった。さらに、今後においてはSOV法の改善の余地が指摘され、未受精卵率を低下させて胚採取成績をより一層向上できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 加藤聡ら. 群馬県畜産試験場研究報告, 17: 48-54. 2010.
- 2) Larson J.E., et al. *Theriogenology*, 73: 698-703. 2010.
- 3) Schenk J.L., et al. *Theriogenology*, 65: 299-307. 2006.
- 4) 吉岡一ら. 日本畜産学会第114回大会要旨, 2011.
- 5) Kaneko H., et al. *Biology of Reproduction*, 67: 38-45. 2002.
- 6) 社団法人畜産技術協会. 胚の衛生的取り扱いマニュアル (IETSマニュアル第3版), 164-167. 東京. 2001.
- 7) Graaf S.P. de, et al. *Theriogenology*, 71: 89-97. 2009.
- 8) Frijter A.C.J. s, et al. *Theriogenology*, 71: 64-67. 2009.
- 9) Hayakawa H., et al. *Theriogenology*, 71: 68-73. 2009.

- 10) Sales J.N.S., et al. *Theriogenology*, 76: 427-435. 2011.
- 11) Moce E., et al. *Theriogenology*, 66: 929-936. 2006.
- 12) Dalton J.C., et al. *Journal of Animal Science*, 78: 2081-2085. 2000.
- 13) Kanitz W., et al. *Reproduction Nutrition Development*, 42: 587-599. 2002.
- 14) 櫻田孝之ら. 京都府碓高原総合牧場試験研究報告, 23: 16-23. 2002.
- 15) 坂部吉彦ら. 日本胚移植技術研究会第3回大会要旨, 2019.
- 16) 小林修一ら. 日本畜産学会報, 68: 45-53. 1997.
- 17) Kim I.H., et al. *Theriogenology*, 55: 937-945. 2001.
- 18) 岡崎尚之ら. 島根県畜産試験場研究報告, 34: 1-5. 2001.
- 19) Bo G.A., et al. *Theriogenology*, 43: 31-40. 1995.
- 20) 早坂駿哉ら. 日本胚移植学雑誌, 26: 99-106. 2004.
- 21) Bo G.A., et al. *Theriogenology*, 65: 89-101. 2006.
- 22) Sirard M.A., et al. *Theriogenology*, 65: 126-136. 2006.

発行責任者

所 長 北 村 千 寿

編集委員

生産技術部長	桑 原 賢 治
育種改良部長	成 相 伸 久
肉用牛科長	安 部 亜 津 子
酪農・環境科長	坂 本 洋 一
繁殖技術科長	森 脇 俊 輔
しまね和牛改良科長	山 木 康 嗣

Director: Chitoshi KITAMURA

Assistant Director : Kenji KUWABARA

Assistant Director : Nobuhisa NARIAI

Division Chief of Beef Cattle Production : Atsuko ABE

Division Chief of Dairy Cattle・Environment : Yoichi SAKAMOTO

Division Chief of Reproductive Technology : Syunsuke MORIWAKI

Division Chief of Shimane-Wagyu Improvement : Koji YAMAKI

島根県畜産技術センター研究報告 第45号

令和3年3月 発行

編集兼発行 島根県畜産技術センター
郵便番号 693-0031
島根県出雲市古志町3775
電 話 (0853) 21 - 2631
ファックス (0853) 21 - 2632

印刷所 有限会社 ナガサコ印刷
出雲市下横町350
電 話 (0853) 28 - 2408
ファックス (0853) 28 - 2401
