

Bulletin of
Shizuoka Prefectural
Research Institute of Animal Industry
Swine & Poultry Research Center

No. 4

January, 2011

静岡県畜産技術研究所
中小家畜研究センター研究報告

第4号

平成23年1月

静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター
静岡県畜産経営環境技術センター

静岡県菊川市西方2780
Kikugawa-shi, Shizuoka-ken
Japan

静岡県畜産技術研究所中小家畜研究報告
Bull. Shizuoka
Swine & Poultry
Res. Cen.
No. 4

目 次

1. エストロジェン投与が1個のブタ胚の生存性に及ぼす影響	1
河原崎達雄、塩谷聡子、大津雪子	
2. 極小ミニ豚の血清 IGF- I 濃度と IGF- I レセプターの遺伝子構造および発現量	9
塩谷聡子、河原崎達雄、大津雪子、美川智 ¹	
(1 独立行政法人 農業生物資源研究所)	
3. 極小ミニ豚における消化率の調査	17
大津雪子、塩谷聡子、河原崎達雄、堀内 篤	
4. トレーサビリティシステムを備えた大ヨークシャー種系統豚の造成	21
知久幹夫	
5. 配合飼料中への粳米の混合がブロイラーの成長および肉質に及ぼす影響	29
松井繁幸、池谷守司	
6. 配合飼料への粳米の混合が採卵鶏の生産性および卵質に及ぼす影響	35
松井繁幸、池谷守司	

Bulletin of
Shizuoka Prefectural
Research Institute of Animal Industry
Swine & Poultry Research Center
No. 4 2011

Contents

1. Effect of Estrogen administration during early pregnancy on survival of single embryo in pigs. 1
Tatsuo Kawarasaki, Satoko Enya, Yukiko Otsu
2. Serum IGF-I level and gene structures of IGF-I receptor and expressions of IGF-I receptor in micro pigs. 9
Satoko Enya ,Tatsuo Kawarasaki, Yukiko Otsu, Satoru Mikawa¹
(¹National Institute of Agrobiological Sciences)
3. Investigation on the dietary digestibility in micro pigs. 17
Yukiko Otsu, Satoko Enya, Tatsuo Kawarasaki
4. Breeding Large White pig strain of which animals and traceable with mtDNA based analyzing system. 21
Mikio Chikyu
5. Effect of paddy rice inclusion compound feed on growth performance and carcass parameters of broiler chicks. 29
Shigeyuki Matsui, Moriji Ikeya
6. Effect of paddy rice inclusion in compound feed on egg production and qualities in laying-hens. 35
Shigeyuki Matsui, Moriji Ikeya

エストロゲン投与が1個のブタ胚の生存性に及ぼす影響

Effect of Estrogen administration during early pregnancy on survival of single embryo in pigs

河原崎達雄・塩谷聡子・大津雪子

要約：本研究では、発情を誘起した未成熟雌ブタに移植した1個の胚の生存性に及ぼす、外因性エストロジェンの影響について検討した。実験1：未成熟雌ブタに対しeCG 1000 IUおよびhCG 750IUを72時間間隔で投与、発情を誘起し、hCG投与6日目に片側子宮角の先端に、発情同期化した雌ブタから採取した胚（胚盤胞）1個を移植した。その後、安息香酸エストラジオール（EB）5mgをhCG投与後11日（EB1-5mg）、11、13および15日（EB3-5mg）、11、12、13、14および15日（EB5-5mg）に投与、プロピオン酸エストラジオール（EDP）20mgを11日（EDP1-20mg）、11および14日（EDP2-20mg）に投与した。妊娠52-59日齢で剖検したところ、エストラジオール無処理区では妊娠例は得られなかったが、処理区ではいずれも妊娠例が得られ、EDP2-20mgで最も高い妊娠率（77.8%：7/9頭）であった。実験2：未成熟雌ブタに対して1胚移植し、EDP2-20mg処理を行い、妊娠したものは分娩させた。胚の生存率は、妊娠30日目に75%（9/12頭）であったが、分娩（33.3%：4/9頭）、離乳（8.3%：1/9頭）時まで減少した。実験3：5mgEDPをhCG投与の11日（EDP1-5mg）、11および14日（EDP2-5mg）に投与し、hCG投与後52-57日後に剖検、偽妊娠の有無を確認した。剖検時の偽妊娠率はEDP1-5mg（0%：0/11頭）に対し、EDP2-5mg（63.6%：7/11頭）で高かった。実験4：未成熟雌ブタ12頭に対し1胚移植し、EDP2-5mg処理を行い、妊娠を確認したブタについては分娩させた。妊娠30日目の妊娠率は66.7%（8/12頭）、その後胚の生存率は分娩まで変わらなかった。1頭は分娩時に難産で死亡、1頭は両前肢蹄に奇形があり、分娩6日後に死亡した。生存率は妊娠30日齢と離乳時（50%：6/12頭）で統計的に差はなく、生時体重および離乳時体重は一般ブタと変わらなかった。

以上の結果より、EDP2-5mg処理は移植された1個の胚を産子へ発生させるために有効であることが明らかになった。しかし、1頭の産子で蹄の奇形が確認されたことから、エストロゲン投与との因果関係を明らかにするとともに、投与時期、濃度等についてさらに検討することが必要と考えられた。

（静岡畜技研中小研セ研報 4, 1～8, 2011）

はじめに

ブタは妊娠初期の子宮内に2～4個の胚が存在しないと妊娠継続が困難になる（Polgeら1966; Oguri 1990）。そのため、妊娠初期になんらかの理由で少数になってしまった胚は、正常な胚であっても生存できなくなってしまうものと考えられる。体細胞クローンブタが誕生し、資源の保存や遺伝子組み換えブタの作出

に応用され始めているが（Betthausenら2000; Onishiら2000; Polejaevaら2000）、その成功率は低く、妊娠初期に妊娠維持に必要な数の発生能力のある胚を得られない場合がある。遺伝資源としての活用が期待されるブタや遺伝子組み換えブタは一旦誕生すれば、その後は自然交配により増殖することが可能である（Shibataら2006, Kawarasakiら2009b）。そのため、少数であっても正常胚を確実に産子にまで導くことができれば、非常に有効である。

ブタ胚は受精 10-16 日目頃に著しく形態を変化させ (Anderson 1978; Geisert ら 1982a)、エストロジェンを産出し、プロスタグランジンの黄体への作用を抑制するため、黄体は機能を維持し、妊娠が成立する (Perry ら 1973; Bazer and Thatcher 1977; Gadsby ら 1980; Geisert ら 1982b)。また、単為発生胚の共移植は初期の妊娠維持に有効である (Kawarasaki ら 2009a)。

着床前後の雌ブタへのエストロジェン投与は、黄体の退行を抑制し、偽妊娠状態を誘起すること (Geisert ら 1987; Pusateri ら 1996; Cushman ら 1999)、偽妊娠ブタへのプロスタグランジンの投与は、偽妊娠ブタの黄体を退行させ、発情の同期化に有効であり、これらに人工授精することにより正常な産子の生産が可能であること (Guthrie 1975; Noguchi ら 2010) が報告されている。

本研究では、妊娠初期ブタに対する外因性エストロジェンの投与が、少数胚の生存を補助できるかを確認するために、1 胚のみを移植した妊娠初期の未成熟雌ブタにエストラジオールを投与し、胚の生存性に与える影響を検討した。

材料および方法

レシピエントブタ

ウマ絨毛性性腺刺激ホルモン (eCG: エール薬品株式会社) 1000IU とヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG: エール薬品株式会社) 750IU を 72 時間間隔で筋肉内注射し、hCG 投与の翌日に許容した未成熟雌ブタ (153-192 日齢) 99 頭を実験に用いた。

胚の準備および移植

レシピエントブタと同時期に eCG 1000IU と hCG 750IU を 72 時間間隔で筋肉内注射し、許容した未成熟雌ブタ 19 頭に対して hCG 投与の 30 および 36 時間後に人工授精し、hCG 投与の 6 日後に開腹手術 (Kawarasaki ら 2009a) により胚を回収した。

hCG 投与の 6 日後に開腹手術を行い、発情を同期化したレシピエントブタの片側子宮角の先端に胚盤胞期胚 1 個を移植した。

供試豚の管理

レシピエントブタは、1.2m × 2.5m の豚房に単独飼育し、種豚用配合飼料 (CP 14.5%、TDN 72.0%) を 2.0kg / 日 給与した。発情発現の有無を 1 日 1 回確認した。

統計処理

統計処理は Stat View for Windows version 5 (SAS Institute Inc. 1988) を用いて行った。処理後の発情発現率、妊娠率は χ^2 法、生時体重、3 週齢時体重は分散分析法で解析した。

実験計画

実験の概要を図 1 に示した。

実験 1

未成熟雌ブタ 53 頭 (161-193 日齢) を実験に供した。hCG 投与の 6 日後に、胚盤胞期胚 1 個を移植後、安息香酸エストラジオール (EB: 三共エール薬品株式会社、東京) またはプロピオン酸エストラジオール (EDP: あすか製薬株式会社、東京) 処理を行った。EB 処理では hCG 投与の 11 日 (EB1-5mg)、11、13 および 15 日 (EB3-5mg)、11、12、13、14 および 15 日 (EB5-5mg) 後に各 5mg を、EDP 処理では hCG 投与 11 日 (EDP1-20mg)、11 および 14 日 (EDP2-20mg) 後に各 20mg を筋肉内注射した。処理後、発情発現の有無を 1 日 1 回観察、hCG 投与の 53-60 日後に剖検し、胚の有無、偽妊娠の有無を確認した。

実験 2

実験 1 で受胎率の最も高かった EDP2-20mg 処理を、1 個の胚を移植した未成熟雌ブタに行い、産子への発生能について検討した。未成熟雌ブタ 12 頭 (161-193 日齢) を実験に供した。hCG 投与の 6 日後に、レシピエントブタに対して胚盤胞期胚 1 個を移植し、hCG 投与の 11 および 14 日後に EDP 20mg を筋肉内注射した。処理後、発情発現の有無を 1 日 1 回観察し、受精後 30、40 および 50 日で超音波画像妊娠診断装置 (HS-101V: 富士平工業株式会社、東京) により胎子の生存の有無を確認した。不受胎例は hCG 投与の 65-113 日で剖検、子宮および卵

巢の所見を確認し、受胎例は分娩させた。分娩した産子については、3-4週齢で離乳し、3週齢まで毎週体重を測定した。

実験3

EDPの低濃度(5mg)処理が偽妊娠誘起に

エストロゲン投与が1個のブタ胚の生存性に及ぼす影響

与える影響を検討した。未成熟雌ブタ22頭に対し、hCG投与後11日(EDP1-5mg)、11および14日(EDP2-5mg)に、EDP5mgを筋肉内注射した。処理後、1日1回発情の有無を確認、hCG投与の53-58日後に剖検し、子宮および卵巢の所見を確認した。

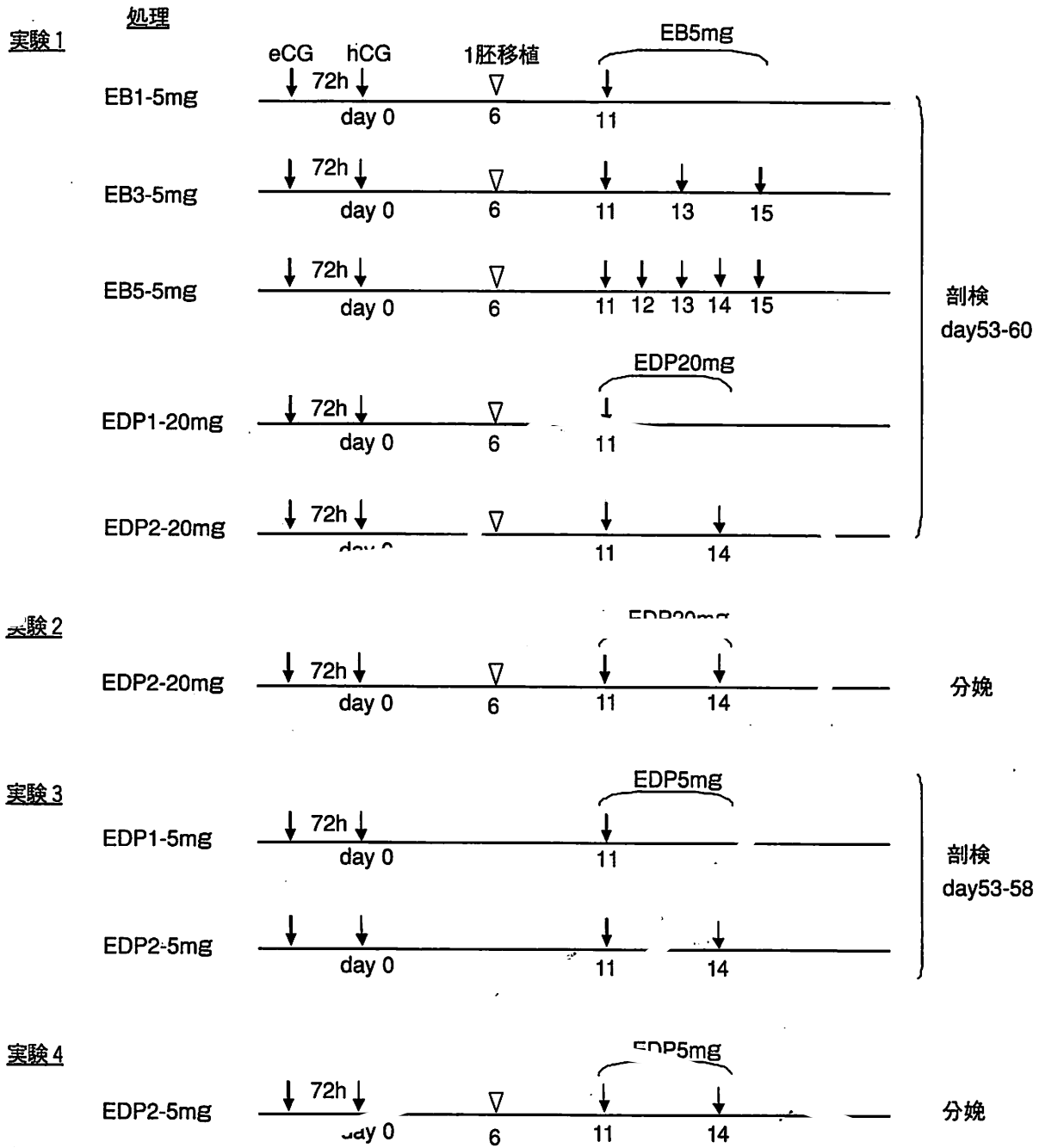


図1 実験の概要

EB: エストロゲン、EDP: プロピオン酸エストロゲン、↓: 薬剤の投与、▽: 1個の胚を移植、day0: hCG投与日

実験4

実験3の結果において高い偽妊娠率が得られたEDP2-5mg処理について、1個の胚の生存性に与える影響を検討した。未成熟雌ブタ12頭(153-173日齢)を実験に供した。hCG投与の6日後に、胚盤胞期胚1個を移植した。処理後、1日1回発情発現の有無を観察するとともに、受精後30、40および50日で超音波妊娠画像診断装置により胎子生存の有無を確認した。不受胎例はhCG投与の69-97日後に剖検、子宮お

よび卵巣の所見を確認し、受胎したものは分娩させた。産子は3-4週齢で離乳し、3週齢まで毎週体重を測定した。

結果

実験1

処理後の発情再帰は、EB処理では、投与回数が増すに従い減少し(無処理およびEB1-5mgとEB5-5mgとの間に有意差:P<0.05)、

表1 エストロジェン処理がレシピエントの発情発現、1個の移植胚の生存性に及ぼす影響

処理	レシピエント数	発情再帰 頭数(%)	発情再帰までの日数				妊娠頭数(%)	非妊娠無発情頭数(%)	
			-30	31-40	41-50	平均		偽妊娠	卵巣静止
無処理	9	8(88.9) ^a	5	2	1	29.0±3.9	0(0) ^b	0(0)	1(14.3)
EB1-5mg	9	7(77.8) ^a	4	2	1	32.0±3.3	2(22.2)	0(0)	0(0)
EB3-5mg	10	4(40.0)	0	3	1	36.5±4.2	3(30.0)	3(30.0)	0(0)
EB5-5mg	9	1(11.1) ^b	0	1	0	31	4(44.4)	4(44.4)	0(0)
EDP1-20mg	9	1(11.1) ^b	1	0	0	28	3(33.3)	5(55.6)	0(0)
EDP2-20mg	9	0(0) ^b	0	0	0	-	7(77.8) ^a	2(22.2)	0(0)

異符号間に有意差 (P<0.05)
各処理については、図1を参照

表2 プロピオン酸エストラジオール処理がレシピエントの発情発現、1個の移植胚の生存性、産子への発生に及ぼす影響

エストロジェン処理	レシピエント頭数	発情再帰頭数(%)				発情再帰までの日数 平均±SE	無発情ブタの剖検所見頭数(%)		移植胚の生存頭数(%)					産子体重(kg)平均±SE	
		-30	31-40	41-50	合計		偽妊娠	卵巣静止	30	40	50	分娩	離乳	生時	3週齢
実験2 EDP2-20mg	12	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	-	2(16.7)	1(8.3)	9 ^a (75.0)	8 ^a (66.7)	6(50.0)	4(33.3)	1 ^b (8.3)	1.19	3.8
実験3 EDP1-5mg	11	4(36.4)	4(36.4)	1(9.1)	9 ^a (81.8)	32.4±2.5	0 ^b (0)	2(18.2)							
実験3 EDP2-5mg	11	2(22.2)	1(9.1)	0(0)	3 ^b (27.3)	31.0±2.0	7 ^a (63.6)	1(9.1)							
実験4 EDP2-5mg	12	1(8.3)	0(0)	0(0)	1(8.3)	20	3(25.0)	0(0)	8(66.7)	8(66.7)	8(66.7)	8(66.7)	6(50.0)	1.32	5.83

実験2では、移植胚の生存率の段階間において、実験3では、発情再帰率、偽妊娠率の処理間において、異符号間に有意差 (P<0.05) 各処理については、図1を参照

EDP 処理では、1回の投与で殆ど発情再帰は抑制された（無処理 および EB1-5mg と EB5-5mg、EDP1-20mg および EDP2-20mg との間に有意差：P<0.05）。発情再帰日数は、何れの処理においても30日前後となり差は認められなかった（表1）。

EB 処理では、投与回数が増加するに従い妊娠あるいは偽妊娠する個体の割合が増加する傾向がみられた。EDP 処理では、1回および2回の投与で高い妊娠あるいは偽妊娠率が得られた。妊娠率はEDPの2回投与で最も高くなり、無処理との間で有意差（P<0.05）が認められた（表1）。

実験2

処理時の発情から50日後までに発情を発現する個体は認められなかった。移植胚の生存率は、妊娠30日目の超音波画像妊娠診断結果で66.7%（9/12頭）であったが、分娩（33.3%：4/12頭）、離乳（8.3%：1/12頭）までに徐々に減少した（妊娠30あるいは40日目と離乳時で有意差：P<0.05）。不受胎例の2頭は偽妊娠、1頭は卵巣静止であった。分娩された子ブタ4頭のうち3頭は虚弱で、3日目までに死亡した。このうち1頭に右眼球の形成不全が認められた。生時体重および離乳時体重は、それぞれ1.19 ± 0.12kg および 3.80kg であった（表2）。

実験3

処理後の発情発現率は、EDP1-5mg 処理で、EDP2-5mg 処理よりも高く、有意差（P<0.05）を認めた。発情再帰日数は、それぞれ32.4 ± 2.5日、31.0 ± 2.0日で処理による差は認められなかった。剖検時の偽妊娠率は、EDP1-5mg 処理では認められなかったのに対し、EDP2-5mg 処理では63.6%（7/11頭）と高く、両処理間に有意差（P<0.05）が認められた（表2）。

実験4

処理後の発情発現は、1頭（8.3%）で確認されたが、そのほかは無発情であった。妊娠率は、妊娠30日で66.7%（8/12頭）であり、その割合は40日、50日および分娩まで変わらなかった。不受胎例の3頭は偽妊娠であった。分娩時

に難産で1頭が死亡し、1頭は両前肢蹄に奇形があり、分娩6日後に死亡した。残りの6頭は正常に発育し、離乳した。妊娠30日齢と離乳時までの生存率に統計的差はなく、生時体重および離乳時体重は、それぞれ1.32 ± 0.14kg および 5.83 ± 0.53kg であった（表2）。

考 察

本研究では、妊娠初期のエストロゲン投与は、移植された1個のブタ胚を産子にまで発生させることを初めて明らかにした。すなわち、ブタの妊娠の決定は、受精10-16日目頃に胚が産生するエストロゲンを契機に行われるが（Bazer and Thatcher 1977; Gadsby ら 1980; Geisert ら 1982b）、外因性のエストロゲン投与がこの作用を代替できることを明らかにしたものである。

偽妊娠率を十分高めるためには、5mg EBでは、発情開始11日目頃から連続5日間（EB5-5mg）、20mg EDPでは、11日に1回（EDP1-20mg）、5mg EDPでは、11日と14日の2回（EDP2-5mg）の投与が必要であった。Guthrie（1975）は発情開始後11-14日に、毎日EBを10mg投与することにより処理後20日間以上発情発現を抑制できることを、Noguchi ら（2010）は12日にEDP20mgの1回投与で偽妊娠を誘発できることを報告しており、今回の成績もこれらの結果に一致する。

1胚移植レシピエントの妊娠率を高めるためには、EDPの2回投与が効果的であることが明らかとなった。妊娠ブタの子宮環流液および血中のエストロゲン量は、妊娠10～11日目頃と、14～15日目以降の2峰性に増加する（Stone と Semark 1985; Robertson ら 1978）。また、エストロゲン投与により長期に偽妊娠を継続させるためには、妊娠10～11日目頃と14～16日目頃（Geisert ら 1987）あるいは17-19日目頃（Pusateri ら 1996）の2回に分けたエストロゲン投与が必要であり、外因性エストロゲンは、子宮内のCa²⁺濃度、タンパク質量を増加させる（Geisert ら 1982b; Geisert ら 1987）。今回のEDPの2回投与は、生体内のエストロゲンの消長に近いものであり、妊娠維

持に有効であったものと考えられる。

高濃度のエストロゲン投与は、着床後の胚の生存率を低下させる可能性があることが示唆された。20mg EDPの2回投与では、高い受胎率を得ることができるが、その後胚が死滅し、分娩、離乳まで発生する確率は低下した。濃度を低下させた5mg EDPの2回投与では、妊娠中の胚の生存率の低下はないことから、胚の生存率低下の原因は高濃度エストロゲンの影響と思われる。エストロゲン投与後分娩まで確認した20mg EDPの2回投与で眼球の形成不全産子が1頭、5mg EDPの2回投与で蹄の奇形が1頭確認されている。エストロゲン投与は妊娠の継続、胚の発生に影響を与えており、発情周期の9-10日目にエストラジオールを投与することは子宮内の遺伝子発現に乱れを来たし (Ross JWら2007)、胚の着床を阻害する (Morganら1987) が、12～13日では胚の生存性に影響を与えない (Popeら1986) ことが報告されている。一方、EDPによる偽妊娠誘起、発情同期化後の産子について異常は報告されていない (Noguchiら2010)。奇形の発生とエストロゲン投与との因果関係を明らかにするとともに、エストロゲンの投与時期、投与量などを詳細に検討し、胚の発生に悪影響を与えない条件を確定することが必要と考えられる。

結論として、EDP2-5mg処理は移植された1個の胚を産子へ発生させるために有効であることが明らかになった。しかし、一部の産子で奇形が確認されたことから、エストロゲン投与との因果関係を明らかにするとともに、投与時期、濃度等についてさらに検討することが必要と考えられた。

参考文献

- Anderson LL. 1978. Growth, protein content and distribution of early pig embryos. *The Anatomical Record*, 190: 143 - 153.
- Bazer FW, Thatcher WW. 1977. Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F2alpha by the uterine endometrium. *Prostaglandins*, 14: 397 - 400.
- Bethausser J, Forsberg E, Augenstein M, Childs I, Eilertsen K, Enos J, Forsyth TE, Golueke P, Jurgella G, Koppang R, Lesmeister T, Mallon K, Mell G, Misica P, Pace M, Pfister-Genskow M, Strelchenko N, Voelker G, Watt S, Thompson S, Bishop M. 2000. Production of cloned pigs from in vitro systems. *Nature Biotechnology*, 18: 1055-1059.
- Cushman RA, Davis PE, Boonyaparakob U, Hedgpeth VS, Burns PJ, Britt JH. 1999. Technical note: use of slow-release estradiol and prostaglandin F2alpha to induce pseudopregnancy and control estrus in gilts. *Journal of Animal Science*, 77: 2883-2885.
- Gadsby JE, Heap RB, Burton RD. 1980. Oestrogen production by blastocyst and early embryonic tissue of various species. *Journal of Reproduction & Fertility*, 60: 409 - 417.
- Geisert RD, Zavy MT, Wettemann RP, Biggers BG. 1987. Length of pseudopregnancy and pattern of uterine protein release as influenced by time and duration of oestrogen administration in the pig. *Journal of Reproduction & Fertility*, 79: 163-172.
- Geisert RD, Renegar RH, Thatcher WW, Roberts RM, Bazer FW. 1982a. Establishment of pregnancy in the pig: I. Interrelationships between preimplantation development of the pig blastocyst and uterine endometrial secretions. *Biology of Reproduction*, 27: 925-939.
- Geisert RD, Thatcher WW, Roberts RM, Bazer FW. 1982b. Establishment of pregnancy in the pig: III. Endometrial secretory response to estradiol valerate administered on day 11 of the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 27: 957-965.

- Guthrie HD. 1975. Estrous synchronization and fertility in gilts treated with estradiol-benzoate and prostaglandin F2 a . *Theriogenology*, 4: 69-67.
- 河原崎達雄. 2004. ブタ体細胞クローン技術の現状. *日豚学誌*, 41: 49-58.
- Kawarasaki T, Otake M, Tsuchiya S, Shibata M, Matsumoto K, Isobe N. 2009 a, Co-transfer of parthenogenotes and single porcine embryos leads to full-term development of the embryos. *Animal Reproduction Science*, 112: 8-21.
- Kawarasaki T, Uchiyama K, Hirao A, Azuma S, Otake M, Shibata M, Tsuchiya S, Enosawa S, Takeuchi K, Konno K, Yoshino H, Hakamata Y, Wakai T, Ookawara S, Tanaka H, Kobayashi E, Murakami T. 2009 b. Profile of new green fluorescent protein (GFP) -transgenic Jinhua pigs as an imaging source. *Journal of Biomedical Optics*, 14 (5) : 054017.
- Morgan GL, Geisert RD, Zavy MT, Fazleabas AT. 1987. Development and survival of pig blastocysts after oestrogen administration on day 9 or days 9 and 10 of pregnancy. *Journal of Reproduction & Fertility*, 80: 133-141.
- Noguchi M, Yoshioka K, Suzuki C, Arai S, Itoh S, Wada Y. 2010 Estrus synchronization with pseudopregnant gilts induced by a single treatment of estradiol dipropionate. *The Journal of Reproduction and Development*, 56: 421-427.
- Oguri N. 1990. Recent progress in porcine embryos transfer and cryopreservation. *The Japanese Journal of Swine Science*, 27: 80-86.
- Onishi A, Iwamoto M, Akita T, Mikawa S, Takeda K, Awata T, Hanada H, Perry ACF. 2000. Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei. *Science*, 289: 1188-1190.
- Perry JS, Heap RB, Amoroso EC. 1973. Steroid hormone production by pig blastocysts. *Nature*, 245: 45-57.
- Polejaeva IA, Chen SH, Vaught TD, Page RL, Mullins J, Ball S, Dai Y, Boone J, Walker S, Ayares DL, Colman A, Campbell KHS. 2000. Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature*, 407: 86-90.
- Polge C, Rowson LE, Chang MC. 1966. The effect of reducing the number of embryos during early stages of gestation on the maintenance of pregnancy in the pig. *Journal of Reproduction & Fertility*, 12: 395-397.
- Pope WF, Lawyer MS, Butler WR, Foote RH, First NL. 1986. Dose-response shift in the ability of gilts to remain pregnant following exogenous estradiol-17 beta exposure. *Journal of Animal Science*, 63: 1208-1210.
- Pusateri AE, Smith JM, Smith JW 2nd, Thomford PJ, Diekman MA. 1996. Maternal recognition of pregnancy in swine. I. Minimal requirement for exogenous estradiol-17 beta to induce either short or long pseudopregnancy in cycling gilts. *Biology of Reproduction*, 55: 582-589.
- Robertson HA, King GJ, Dyck GW. 1978. The appearance of oestrone sulphate in the peripheral plasma of the pig early in pregnancy. *Journal of Reproduction & Fertility*, 52: 337-338.
- Ross JW, Ashworth MD, White FJ, Johnson GA, Ayoubi PJ, DeSilva U, Whitworth KM, Prather RS, Geisert RD. 2007. Premature estrogen exposure alters endometrial gene expression to disrupt pregnancy in the pig. *Endocrinology*, 148: 4761-4773.
- Shibata M, Otake M, Tsuchiya S, Chikyu M, Horiuchi A, Kawarasaki T. 2006. Reproductive and growth performance in Jin Hua pigs cloned from somatic cell nuclei and the meat quality of their

offspring. *The Journal of Reproduction and Development*, 52: 583-590.

Stone BA, Seamark RF. 1985. Steroid hormones in uterine washings and in plasma of gilts between days 9 and 15 after oestrus and between days 9 and 15 after coitus. *Journal of Reproduction & Fertility*, 75: 209-221.

極小ミニ豚の血清 IGF- I 濃度と IGF- I レセプターの 遺伝子構造および発現量

Serum IGF-I level and gene structures of IGF-I receptor and expressions of IGF-I receptor in micro pigs

塩谷聡子・河原崎達雄・大津雪子・美川智¹⁾

要約：極小ミニ豚の体が小さい原因に成長ホルモン等が関与していれば、実験動物としての利用範囲が制限される可能性が考えられる。本研究では、極小ミニ豚の血清 IGF- I 濃度、IGF- I レセプターの遺伝子構造、IGF- I レセプターの発現量を他のブタと比較し、違いがないか調査した。8 週齢時の血清 IGF- I 濃度は、極小ミニ豚 $291.3 \pm 46.3\text{ng/ml}$ ($n=3$)、金華豚 $539.4 \pm 154.7\text{ng/ml}$ ($n=8$)、大ヨークシャー種 $361.7 \pm 100.7\text{ng/ml}$ ($n=6$) で有意差はなかった。IGF- I レセプターの遺伝子構造を、極小ミニ豚と金華豚等と比較したところ、11 カ所で多型がみられたがアミノ酸の置換は伴わなかった。IGF- I レセプターの発現量は、極小ミニ豚と金華豚で同等であった。以上の結果から、極小ミニ豚の体が小さい原因は不明であったが、西洋種や金華豚と比較して体格は小さく、血液中の IGF- I 濃度、IGF- I レセプターの遺伝子構造および発現量に他のブタと違いはないことから、極小ミニ豚は実験用のミニブタとして汎用性のあることが示唆された。

(静岡畜技研中小研セ研報 4, 9 ~ 15, 2011)

はじめに

ブタは、近年医学実験用の動物として注目されており、様々な試験に用いられている(齋藤 9)。しかし、実験用のミニブタとはいえ体が $40 \sim 50\text{kg}$ になるブタを、開発中の高価薬物を大量に投与する医薬品の安全性試験等に用いることや、大学等の一般的な研究施設で飼育することは難しく、その利用は少数にとどまっている。

近頃、静岡県内の農場で、体が非常に小さいミニ豚(以下、極小ミニ豚と略す)が誕生し、極小ミニ豚は、ポットベリー種の中から体が小さい個体を選び、他の品種のブタと交配を繰り返して結果できた交雑種で、現在実験用のミニブタとして国内で流通しているクラウンミニブタ(中西ら 1991)や、NIBS系ミニブタ(齋藤 2009)よりも小さく、6ヶ月齢の体重が 10kg

程度にしかない。そこで、極小ミニ豚は実験用のミニブタとして非常に高い可能性を持っていると考えられた。

出生後の哺乳動物の成長には、成長ホルモン(GH)-インスリン様成長因子(IGF)軸が重要な働きを担っていることはよく知られている。脳下垂体前葉から分泌されたGHが肝臓における成長ホルモンレセプターに結合することで、肝臓におけるインスリン様成長因子 I (Insulin-like growth factor- I, 以下 IGF- I と略す)の合成・分泌が促進される。血液中に分泌された IGF- I は、標的細胞の膜上に存在する IGF- I レセプター(以下 IGF- I R と略す)と結合することで、細胞の代謝・増殖を促進し、動物の成長を促進させる(矢野ら 1995)が、この GH-IGF 軸が変化したことが原因で、体の大きさが影響を受けたと考えられる報告がある。

例えば、ヒトの GH 分泌不全性低身長症は、

突発性の原因により下垂体前葉でのGH分泌が減少して低身長となる疾患であり、ヒトのLaron症候群(Laron型小人症)は、GHレセプター(以下GHRと略す)に変異があり(Amselemら1989)、IGF-Iの産生が低下して低身長となる疾患である。イヌでは、Nathanら(2007)によって、IGF-I遺伝子の働きを制御する塩基配列に特定の変異があると体が小さくなることが報告されたが、これは、Eigenmannら(1984)やLauterioら(1988)による、体のサイズと血清IGF-Iの濃度には相関がみられるという報告と一致している。マウスでは、Yihuaら(1997)によって、GHR/binding protein(GHR/BP)をノックアウトしたマウスでは、ノックアウトしていないマウスと比較して、体重は有意に減少、血清GH濃度は大きく上昇、血清IGF-I濃度は90%減少したと報告されている。

ブタでは、Zenobiら(1988)は、同じ月齢のGöttingen miniature-pig(Minnesota miniature pig、Vietnamese pig、German Landraceの交雑種)と家畜のブタを比較すると、血液中IGF-I濃度等に有意な差はなく、体の大きさとGH、IGF-I分泌量等に相関はないと報告した。一方、Lauterioら(1988)は、Yucatan miniature pig(性成熟体重:約35kg)の中で小さい豚を選び交配させてできたYucatan micro pig(性成熟体重:約16~20kg)は、同じ月齢のYucatan miniature pigと比較して血中IGF-I量、GH-BP量が少ないと報告したが、その原因は不明であった。

そこで、極小ミニ豚の体が小さい原因に成長ホルモン等の関与があるかどうかを調べるために、血液中のIGF-I濃度、IGF-I Rの遺伝子構造、IGF-I Rの発現量を他のブタと比較し、違いの有無から極小ミニ豚の実験用動物としての有用性を検討したので報告する。

材料および方法

1. 血液中のIGF-I濃度の調査

(1) 供試豚

8週齢の極小ミニ豚3頭(雄1頭、雌2頭)、金華豚8頭(雄4頭、雌4頭)、大ヨークシャー

種6頭(雄3頭、雌3頭)を用いた(表1)。

表1 供試豚

品種	8週齢		合計
	♂	♀	
極小ミニブタ	1	2	3
金華豚	4	4	8
大ヨークシャー種	3	3	6

(2) 供試豚の管理

極小ミニ豚は帝王切開で誕生後、40日齢までは子豚用ミルク等((株)科学飼料研究所、東京)、8週齢までは哺乳期子豚育成用配合飼料(CP 18.0%、TDN 81.0%)を不断給餌し、体重測定をした後に採血した。

金華豚、大ヨークシャー種は3週齢で離乳、8週齢までは哺乳期子豚育成用配合飼料(CP 18.0%、TDN 81.0%)を不断給餌し、体重測定をした後に採血した。

採血は頸静脈から行い、血清分離後、血清を-80℃で凍結保存したものを検体とした。

(3) 測定方法

Immunoradiometric assay(IRMA)法(ソマトメジンC・II「バイエル」、バイエルメディカル(株)、東京)を用いた。

2. IGF-I R構造の調査

(1) 供試豚

極小ミニ豚7頭(雄3頭、雌4頭)と金華豚4頭(雌4頭)を用いた。

(2) DNAの抽出

DNAを抽出するための材料は、耳片を用いた。採材した耳片は、PBS(-)を用いて洗浄し、Proteinase Kを含んだDNA抽出バッファー(0.2 mg/ml Proteinase K、10 mM EDTA、120 mM NaCl、1% SDS、10 mM Tris-HCl[pH8.0])にて溶解後、フェノール・クロロホルム処理にて精製し、エタノール沈殿によりゲノムDNAを抽出した。

(3) IGF-I Rエキソン部分の塩基配列の解析

IGF-I R遺伝子(NC_010443 [Accession number in GenBank/DDBJ/EMBL]、299,414bp)の21個のエキソン(NM_214172、4,316bp)領域の増幅産物を得るため、プライマーを作製した。プライマーと増幅領域は表2

に示した。

PCR 反応は、最終濃度が 0.025 units/ μ l の AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)、 $1 \times$ PCR Buffer (添付のもの。MgCl₂ 濃度は終濃度が 1.5 mM となる)、0.2 mM dNTPs、0.25 μ M

の各プライマー、および 20 ng の各 DNA で全量を 15 μ l として行った。この PCR 増幅産物について BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いたサンガー法により塩基配列を解析した。

表 2 IGF- I レセプター遺伝子プライマー

プライマー	増幅領域	塩基数
igf1re2f :5' (50597) cgccctcctctctgctctc	エクソン 2	661
igf1re2r :5' (51357) cagcagaacttgcggtcag		
igf1re3f :5' (236683) actctgctgggtgctgtct	エクソン 3	495
igf1re3r :5' (237177) gaagcccatctccctaac		
igf1re4f :5' (241087) tcaatggtgcttttggtg	エクソン 4	396
igf1re4r :5' (241481) cgccatggtgtttccta		
igf1re5f :5' (243869) ccccttgtaaccaagtgaaca	エクソン 5	234
igf1re5r :5' (244102) atgtccagctctgcagggt		
igf1re6f :5' (254210) tctgataggcaaggcagtg	エクソン 6	397
igf1re6r :5' (254606) cgtgtgagtgagtgctcat		
igf1re7f :5' (256276) gacttgggggaagagggtct	エクソン 7	283
igf1re7r :5' (256558) cgggtgatggatgctatgaca		
igf1re8f :5' (257877) cccaatggctcattttgt	エクソン 8	484
igf1re8r :5' (258360) acagctcattgcatccctct		
igf1re9f :5' (260457) catgggtttgattgtgtct	エクソン 9	300
igf1re9r :5' (260737) gtagcataaggctcggggagt		
igf1re10f :5' (260785) aggtgctaaccgtgggtgtct	エクソン 10	399
igf1re10r :5' (261183) cctacactgctgtccacct		
igf1re11f :5' (266286) tcctactcacaagtcaagttctc	エクソン 11	393
igf1re11r :5' (266678) ggtgtcagcctccatctgta		
igf1re12f :5' (268103) ttttgggggacttgagtctaa	エクソン 12	244
igf1re12r :5' (268347) atgccatcacctgtattgga		
igf1re13f :5' (268792) ttttgggggacttgagtctaa	エクソン 13	300
igf1re13r :5' (269091) ccacctgcttcaagtctcc		
igf1re14f :5' (274154) tgagcagttgttcaccaggt	エクソン 14	195
igf1re14r :5' (274348) agatggcaaagtgtctgacc		
igf1re15f :5' (275208) gagaagcatggggatgtttt	エクソン 15	227
igf1re15r :5' (275434) caaacctctccccctaat		
igf1re16f :5' (279556) gtgtcgccatcctgacct	エクソン 16	396
igf1re16r :5' (279951) ggatgagtcgcaaacccata		
igf1re17f :5' (280039) ctcaagggtggctcctgggtg	エクソン 17	249
igf1re17r :5' (280287) ctgggggaaagggtctagagg		
igf1re18f :5' (282205) ggaaagaatgcagggtgaga	エクソン 18	296
igf1re18r :5' (282500) gcctgcttggtccctaaaa		
igf1re19f :5' (285883) gcactgagcctctctgctgt	エクソン 19	259
igf1re19r :5' (286141) gggaagagactgagctgggtg		
igf1re20f :5' (291487) agaaaggctaccaggaggag	エクソン 20	296
igf1re20r :5' (291782) gtcctctctcaacggctct		
igf1re21f :5' (298844) gtctctgtagtggggaaagc	エクソン 21	589
igf1re21r :5' (299432) cagcaatggcagttctggag		

*5'端の括弧内は配列NC_010443を基準にした塩基番号

3. IGF- I R の発現解析

(1) 供試豚

2. の IGF- I R の構造調査で、エキソン 11 の 2269 番目の塩基 (NM_214172 を基準にした塩基番号) が、C/C であった金華豚 (雌) と T/T であった極小ミニ豚 (雄) を交配して得られた F1、2 頭を用いた。

(2) RNA の抽出

4 週齢の F1 の肝臓は、RNAlater (TaKaRa、滋賀) に浸漬し保存した。乳鉢に肝臓を入れ、RNA 精製用の TRIzol LS Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 中で完全に組織が溶解するまで処理した後、フェノール・クロロホルム処理にて精製し、エタノール沈殿により RNA を抽出した。

(3) RT-PCR

ReverTra-Plus (TOYOBO、東京) を用いて逆転写反応 (Random primer 使用) 後、エキソン 11 の 2269 番目の塩基 (NM_214172 を基準にした塩基番号) を増幅産物として得られるように作製したプライマーを用いて、PCR 反応を行った。プライマーは表 3 に示した。

PCR 反応は、最終濃度が 0.025 units/ μ l の AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)、1 \times PCR Buffer (添付のもの。MgCl₂ 濃度は終濃度が 1.5 mM となる)、0.2 mM dNTPs、0.25 μ M の各プライマー、および 20 ng の各 DNA で全量を 15 μ l として行った。

表 3 IGF- I レセプター発現量用プライマー

プライマー	
f	:5' (2043)gtatgctgatggcaccattg
r	:5' (2334)tctgggtccgtgacattgta

*5'端の括弧内は配列 Accession.NM_214172 を基準にした塩基番号

(4) 多型部位のシーケンスによる分析

RT-PCR による増幅産物をプラスミドベクターへクローニング (TOPO TA Cloning Kit Version K, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) した後、大腸菌 (Competent Quick DH5 α , TOYOBO, 東京) に形質転換し、得られた 192 個のコロニーについて PCR 反応 (Insert Check Ready-, TOYOBO, 東京) を

行った。この PCR 増幅産物について BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いたサンガー法により塩基配列を解析した。

4. 統計処理

統計処理は、Stat View for Windows version 5 (SAS Institute Inc.1988) を用いた。体重、血中 IGF- I 濃度の差を分散分析で解析した。

結 果

1. 血液中の IGF- I 濃度

8 週齢の血液中の IGF- I 濃度および体重を図 1 に示した。

8 週齢の体重の平均値は、極小ミニ豚 6618.3 \pm 415.5g、金華豚 14740.0 \pm 1126.4g、大ヨークシャー種 17333.3 \pm 1998.7g で、その間に有意な差が認められた (極小ミニ豚と金華豚、極小ミニ豚と大ヨークシャー種との間に有意差: P<0.01)。

8 週齢の血液中 IGF- I 濃度の平均値は、極小ミニ豚 291.3 \pm 46.3ng/ml、金華豚 539.4 \pm 154.7ng/ml、大ヨークシャー種 361.7 \pm 100.7ng/ml で、その間に有意な差は認められなかった。

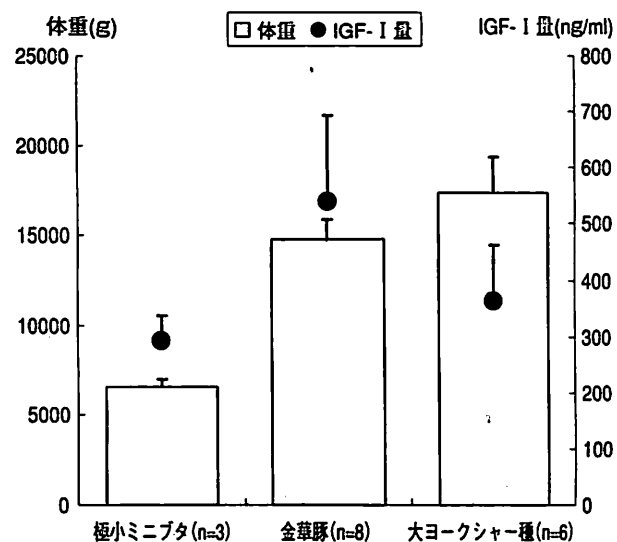


図 1 8 週齢時 血清 IGF- I 濃度 (ng/ml) および体重 (g)

極小ミニ豚と金華豚、極小ミニ豚と大ヨークシャー種の体重の間に有意差 (P<0.01)。

2. IGF- I R 構造

IGF- I R 遺伝子のエキソン部分で多型がみ

られた場所を表4に示した。

極小ミニ豚の IGF- I R エキソン部分の塩基配列には、金華豚や NC_010443 と比較して 11 塩基で多型が認められたが、アミノ酸の置換を伴う変化はみられなかった。

3. IGF- I R 発現量

F 1 の 2 個体について解析した合計 192 個 (F1 ① 96 個、F1 ② 96 個) のコロニーの中で、解析が可能だった 153 個 (F1 ① 83 個、F1 ② 70 個) について、エキソン 11 の 2269 番目の塩基を図 2 に示した。

表 4 IGF- I レセプター遺伝子 エキソン部分塩基置換部位

位置	51068	237021	256364	258181	266362	279771	279837	280176	282332	282398	299013
エキソンNo	2	3	7	8	11	16	16	17	18	18	21
NC_010443 ♀	C	C	G	T	C	T	T	G	T	T	T
極小ミニブタNa1♂	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
極小ミニブタNa2♂	T	G/C	T/G	C/T	C/T	C/T	C/T	G	C/T	C/T	C/T
極小ミニブタNa3♂	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
極小ミニブタNa4♀	T	G	T	T	T	C	C	G	C	C	C
極小ミニブタNa5♀	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
極小ミニブタNa6♀	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
極小ミニブタNa7♀	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
金華豚Na1 ♀	C/T	G	T	C	C/T	C	C	G	C	C	C
金華豚Na2 ♀	T	G	T	C	T	C	C	G	C	C	C
金華豚Na3 ♀	C/T	G	T	C	C/T	C	C	G	C	C	C
金華豚Na4 ♀	C	G	T	C	C	C	C	A	C	C	C

(配列NC_010443を基準にした塩基番号)

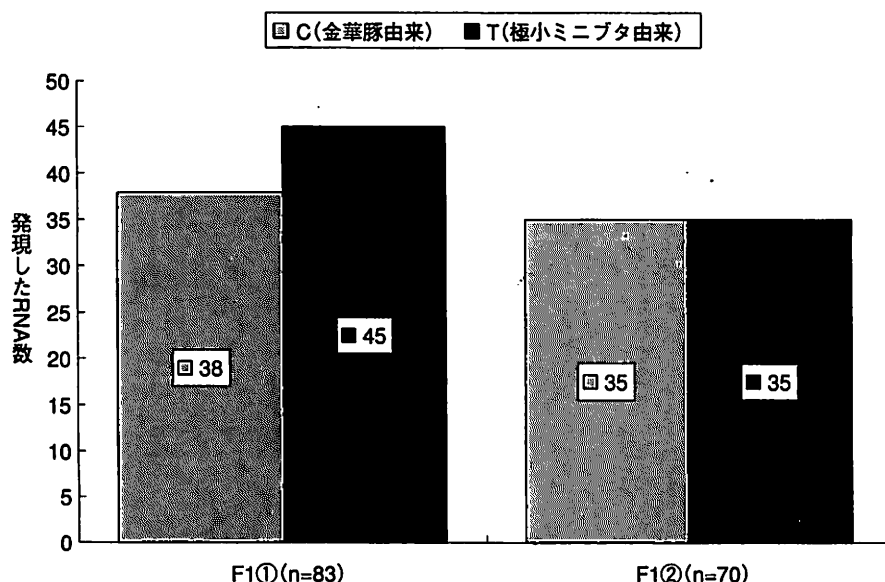


図 2 F 1 個体における IGF- I レセプターの発現の由来

①と②は個体を示す。

金華豚由来の塩基 C と極小ミニ豚由来の塩基 T で、差はみられなかった。

考 察

血液中の IGF- I 濃度は、栄養状態の影響を受ける (Weller ら 1994) とされているので、供試豚には全て同じ餌を不断給餌し、8 週齢で血液採取を行った。また、測定に用いたソマトメジン C・II 「バイエル」は、ヒトの血中 IGF- I 濃度測定用キットであるが、ヒト (Peter Rotwein ら 1986) とブタ (Mathias Muller と Gottfried Brem.1990) の IGF- I 塩基配列を比較したところ、13 塩基で多型が認められたものの、70 個のアミノ酸の中に置換を伴う変異は認められなかったため、このキットによるブタの血液中 IGF- I 濃度の測定が可能と判断した。

極小ミニ豚と中型の金華豚、大型の大ヨークシャー種では、体重に大きな差が認められたが、血清 IGF- I 濃度に有意な差は認められなかった。このことから、極小ミニ豚と他の豚の体重の差は、IGF- I 量によるものではないと考えられた。

IGF- I R は、胎子期の発育に重要な役割を果たしており、IGF- I R をノックダウンしたマウス胎子は重度の成長障害を示し、生存できないことが報告されている (Liu ら 1993)。そこで、IGF- I R に、極小ミニ豚と他のブタと比較して違いがないか調査を行った。

最初に IGF- I R のエキソン部分 (NM_214172、4,316bp) の塩基配列を他のブタと比較した。

3 種類のブタ {極小ミニ豚 (7 頭) と金華豚 (3 頭) と NC_010443} で、IGF- I R 遺伝子のエキソン部分の塩基配列を比較した結果、11 カ所で塩基配列の違いが観察された。しかし、これらの塩基の多型は、全てアミノ酸の置換を伴わない塩基の違いであり、比較した 11 頭全ての IGF- I R は同じアミノ酸配列であることがわかった。また塩基配列の多型は 3 種類のブタとも IGF- I R 遺伝子上にはほぼ同様に観察されたが、極小ミニ豚固有である多型はみられなかった。

次に、発現している IGF- I R の量が他のブ

タと比較して変化 (減少) していないか調べるため、発現している IGF- I R が、母親の金華豚から受け継がれた遺伝子 (塩基 C) から作られているか、父親の極小ミニ豚から受け継がれた遺伝子 (塩基 T) から作られているのかを調査し、比率から極小ミニ豚の IGF- I R の発現量を確認した。その結果、図 2 のように、発現していた IGF- I R の遺伝子の由来は、塩基 T と塩基 C がほぼ同数となり、金華豚由来と極小ミニ豚由来の遺伝子から作られた IGF- I R の数に差はみられなかった。このことから、極小ミニ豚は金華豚と同等の IGF- I R を発現できると考えられ、分泌された IGF- I と結合する IGF- I R の量に違いはないと推察された。

以上から、血液中の IGF- I 濃度、IGF- I R の遺伝子構造および発現量に他のブタと違いはなく、極小ミニ豚の体が小さい原因は不明であったが、西洋種や金華豚と比較して体が小さいことから、極小ミニ豚は実験用のミニブタとして汎用性のあることが示唆された。

なお、極小ミニ豚の体が小さい原因については、極小ミニ豚を親世代に用いた連鎖解析を行い、解明していく予定である。

参考文献

- Amsalem S, Duquesnoy P, Attree O, Novelli G, Bousnina S, Postel-Vinay MC, Goossens M, 1989. Laron dwarfism and mutations of the growth hormone-receptor gene. *The new England Journal of medicine*, 321 (15) :989-95.
- Eigenmann JE, Patterson DF, Froesch ER. 1984. Body size parallels insulin-like growth factor I levels but not growth hormone secretory capacity. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 106 (4) :448-63.
- Lauterio TJ, Trivedi B, Kapadia M, Daughaday WH. 1988. Reduced 125I-hGH binding by serum of dwarf pigs but not by serum of dwarfed poodles. *Comparative biochemistry and physiology A*, 91 (1) :15-9.
- Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. 1993. Mice carrying null

- mutations of the genes encoding insulin-like growth factor 1 (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell*, 75 (1) :59-72.
- Mathias M, Gottfried B, 1990. Nucleotide sequence of porcine insulin-like growth factor 1:5' untranslated region, exons 1 and 2 and mRNA. *Nucleic Acids Research*, 18 (2) 364.
- 中西喜彦・小川清彦・柳田宏一・山内忠平, 1991. 近交系クラウンミニブタの体尺測定値と特徴について. *日豚会誌*, 28:211-218
- Nathan BS, Carlos DB, Kevin C, Melissa MG, Keyan Z, Lan Z, Badri P, Eric K, Sean D, Paul GJ, Pascale Q, Gary SJ, Heidi GP, Neale F, Dana SM, Dennis FL, Ebenezer S, Magnus N, K. Gordon L, Robert KW, Elaine AO, 2007. A single IGF1 allele is a major determinant of small size in dogs. *Science*, 316 (5821) :112-115
- Prter R, Karen MP, Daniel KD, and Gwen GK, 1986. Organization and sequence of the human insulin-like growth factor 1 gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 261 (11) :4828-4832.
- 齋藤敏樹, 2009. 食用以外に利用される豚について. *ALL about SWINE*, 35 : 14-20
- Weller PA, Dauncey MJ, Bates PC, Brameld JM, Buttery PJ & Gilmour RS, 1994. Regulation of porcine insulin-like growth factor 1 and growth hormone receptor mRNA expression by energy status. *The American Physiological Society*, 266:E776-E785.
- 矢野秀雄・平井静・北川政幸, 1995, 肉用牛における栄養生理研究の最近の進歩 (2)、畜産の研究、第 59 巻、第 12 号, 1259-1266
- Yihua Z, Bixiong CX, Hiralal GM, Li H, Michael R, Maria L, Shigeru O, Lori C, Karen C, Thomas EW, Gerhard B, and John JK, 1997. A mammalian model for Laron syndrome produced by targeted disruption of the mouse growth hormone receptor/binding protein gene (the Laron mouse). *Proceedings of the National Academy*
- of Sciences of the United States of America*, 94 (24) :13215-13220.
- Zenobi PD, Guler HP, Zapf J, Froesch ER, 1988. Insulin-like growth factor in the Göttinger miniature-pig. *Acta Endocrinologica (Copenh)*, 117 (3) :343-52.

極小ミニ豚における消化率の調査

Investigation on the dietary digestibility in micro pigs

大津雪子、塩谷聡子、河原崎達雄、堀内 篤

要約：静岡県富士宮市で非常に体格の小さなミニブタ（以下、極小ミニ豚とする）が誕生し、実験動物としての利用が期待されている。しかし、生産効率を追求する産業豚の飼養標準とは異なり、過肥も削瘦もしていない健康な極小ミニ豚を生産するための飼養標準はない。そこで、極小ミニ豚の適正給与量を検討するため、極小ミニ豚と産業豚を用いて酸不溶性灰分（AIA）を用いた指示物質法による消化試験を行った。

14～17週齢において、粗脂肪の消化率は極小ミニ豚（72.0%）が産業豚（66.4%）よりも高い傾向にあった（ $P=0.06$ ）が、その他の項目においては、極小ミニ豚と産業豚で各栄養成分の消化率に差はなかった。また、可消化養分総量（TDN）についても両者の間に差は認められなかった。

今後は、極小ミニ豚の適正給与量を検討するために、さらに代謝エネルギーや体組成を調べるとともに、エネルギー要求量を調べる。

（静岡畜技研中小研セ研報 4, 17～20, 2011）

はじめに

我が国の実験用ミニブタとしては、(株) ジャパンファームクラウン研究所のクラウン系と(財) 日本生物科学研究所のNIBS系の2種類の系統が知られている。2009年にはオリエンタル酵母工業(株)がデンマークのエレガード社よりゲッチングン系の輸入販売を開始した。近年、静岡県富士宮市で非常に体格の小さなミニブタ（以下、極小ミニ豚とする）が誕生した(塩谷ら2009)。極小ミニ豚の体格は、通常実験動物として利用される6ヵ月齢時の体重が約10kgであり、クラウン系、NIBS系、ゲッチングン系などの実験用ミニブタが約20kgである(中西ら1991; 斎藤2009; 谷川ら2000)のに対し、非常に小型である。このことは、大学等の研究施設において犬用の飼育ケージを利用した飼育が可能であり、また、薬効試験においても薬品の使用量が少なくすむなど、メリットが大きい。一方、動物実験においては結果の再現性がとくに重視されることから、動物の遺伝的な育

一性と同時に標準的な飼養管理方法を確立しておくことが重要である。

産業豚については飼養標準が確立されているが、現在流通しているミニブタにおける消化率や適正給与量についてはいくつかの報告(谷川ら2000; 小牧ら2000)があるものの、飼養標準は未だ確立されていない。さらに体格の小さな極小ミニ豚に対してはこれまでのデータを適用できるとは限らないため、極小ミニ豚に適した飼養標準を新たに検討する必要がある。

飼料の適正給与量を算出するには、まず実際に給与している飼料で消化試験を行い、可消化養分総量(TDN)を測定後、代謝エネルギー(ME)/可消化エネルギー(DE)の割合や、基礎代謝エネルギー(BMR)から維持エネルギー要求量(MER)を明らかにする必要がある(宮澤ら2007)。

本研究では、極小ミニ豚と産業豚の飼料消化率を比較検討するため酸不溶性灰分(AIA)を用いた指示物質による消化試験を行った。

材料および方法

消化試験は常法（石橋ら 2001）により、AIA の分析は古谷ら（2001）の方法で行った。

1. 供試豚

10 週齢で体重約 10kg の極小ミニ豚雌 2 頭と体重約 25kg の大ヨークシャー種雌 2 頭、また、10 週齢で体重約 11kg の極小ミニ豚雄 2 頭と体重約 34kg の交雑種（WD）雄 2 頭を用いて計 2 回試験を実施した。それぞれの試験開始時および終了時の体重を表 1 に示した。

2. 供試飼料

ブタの発育の段階に応じて、10～12 週齢には市販の子豚育成用配合飼料（ピグウルトラ B ペレット；JA 東日本くみあい飼料株式会社 CP：13.0%、TDN：77.0%）、14～17 週齢には

実験動物用飼料であるミニブタ用飼料（MP；オリエンタル酵母工業株式会社 CP：15.7%、TDN：59.8%）を用いた。これらの飼料に、指標物質として AIA であるセライト（Celite-545）を 2% 添加した。

3. 試験方法

個別に消化試験ケージに収容し（図 1）、給与は 1 日に朝 1 回で、給与量は体重の 4%、飲水は自由とした。

馴致期間は 5 日以上とし、本試験（採糞期間）は 3 日以上で成分分析をするのに十分な量が得られるまで採取した。採取は朝夕の 2 回に分け、設置したトレイの上の、尿などに汚染されていない糞を採取した。採取した糞は 60℃の通風乾燥機で乾燥した後、数日間屋内に放置し風乾物とし、粉碎して分析用サンプルとした。

表 1 各消化試験の開始時および終了時平均体重

品種	性	n	単位 kg			
			Bペレット		MP	
			開始時(週齢)	終了時(週齢)	開始時(週齢)	終了時(週齢)
極小ミニ豚	♀	2	10.3(10)	11.7(12)	12.9(16)	14.0(18)
大ヨークシャー	♀	2	25.0(10)	28.5(12)	50.0(16)	51.0(17)
極小ミニ豚	♂	2	10.7(10)	11.4(12)	12.5(15)	14.0(18)
交雑種	♂	2	33.8(10)	35.8(12)	63.5(15)	65.3(17)

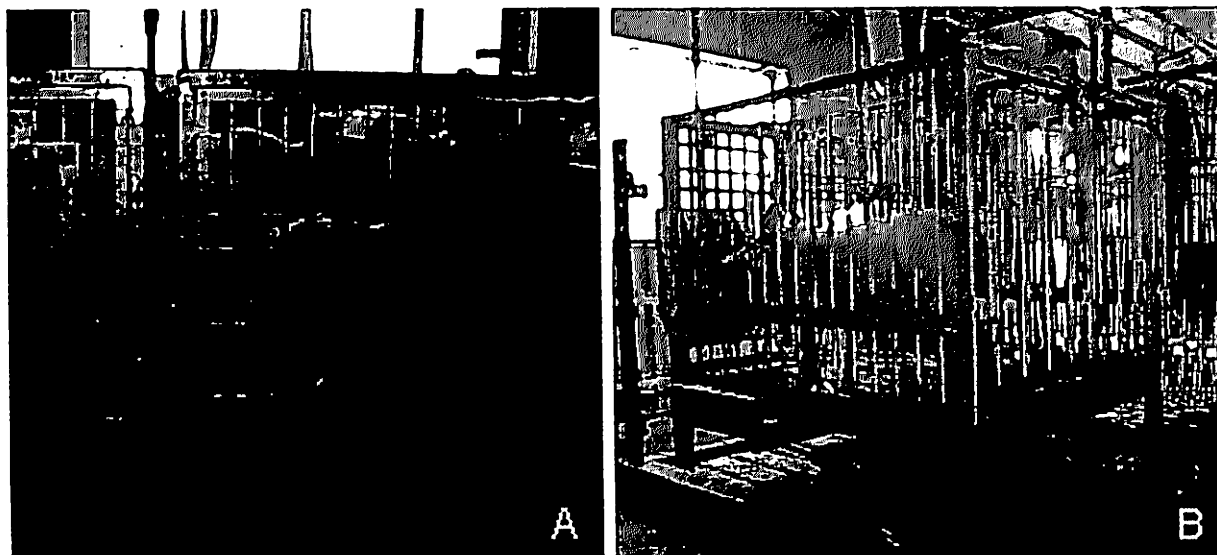


図 1 消化試験ケージ（左：極小ミニ豚、右：産業豚）

- A 寸法（mm）：幅 750 × 高さ 660（床面から 900） × 奥行き 800
トレイをスノコの下に差し込み、トレイ上の糞を採取した。
- B 寸法（mm）：幅 470 × 高さ 930（床面から 1230） × 奥行き 1050
ブタが回転できないように幅を狭くしてした。設置したトレイ上の糞を採取した。

4. 成分分析法と消化率の計算方法

(1) 一般成分（6成分）の分析法

水分の分析は135℃ 2時間乾燥法、粗タンパク質の分析はケルダール法により、粗脂肪の分析はエーテル抽出法、粗繊維の分析は静置法、粗灰分の分析は電気炉を用いた600℃ 2時間灰化法により行った。また、可溶性無窒素物（NFE）は、上記の値から算出した。

(2) 消化率の計算方法

AIA法による栄養成分の消化率は次式により算出した。

$$\text{消化率 (\%)} = 100 - (\text{飼料中 AIA 含量} / \text{糞中 AIA 含量}) \times (\text{糞中成分含量} / \text{試料中成分含量}) \times \text{AIA 回収率 (\%)}$$

なお、今回行った指示物質法では、この式のAIA回収率を100とした。

(3) 統計処理

各区間の差をみるための統計処理は“Stat w” (SAS institute inc.) を用い、分散分析により検定した。

結果および考察

供試飼料の成分分析値を表2に、各栄養成分の消化率と可消化養分総量（TDN）を表3に示した。

表2 供試飼料の成分分析値 単位%

	Bベレット	MP
水分	11.88	8.98
粗タンパク質	16.16	14.00
粗脂肪	3.67	4.77
粗繊維	2.74	8.25
粗灰分	6.17	14.82
NFE	59.38	49.18

各栄養成分の消化率は、10～12週齢において産業豚と極小ミニ豚で有意差は認められなかった。14～17週齢では粗脂肪の消化率は極小ミニ豚（72.0%）が産業豚（66.4%）よりも高い傾向にあったが、両者間に有意差は見られなかった。本結果は、小牧ら（2000）がNIBS系ミニブタを用いた全糞採取法で行った消化試験における、ミニブタは家畜ブタ（産業豚）の消化率に比較して12.5～20.5%高いという結果とは異なるものであった。また、TDNについても両者の間で有意差は認められなかった。よって、極小ミニ豚と産業豚では飼料の利用性には差がないと考えられた。

日本飼養標準・豚（2005）によると、一般にエネルギー要求量は、生命維持のためのエネルギーと生産（増体）のためのエネルギーに分けられ、体組成の違いが影響する。体組成は、ブタの体成分蓄積量を全と体分析により測定し、成長に伴う蛋白質と脂肪の蓄積量を求め、増体分の要求量を蛋白質および脂肪の蓄積のための要求量に分けて算出する。

ゲッチングミニブタと産業豚では体組成の比率が異なっており、体重当たりの筋肉量がドイツ・ランドレースでは18%であるのに対し、ミニブタでは13.5%と少ないことが言われている（Peter Dら1988）。したがって、極小ミニ豚でも産業豚と比較して筋肉量が少なく基礎代謝エネルギーが小さいことが考えられる。

今後はさらに代謝エネルギーや体組成の分析を実施し、エネルギー要求量を明らかにして、極小ミニ豚の適正給与法の確立を目指す。

表3 極小ミニ豚と産業豚の各栄養成分の消化率とTDN

単位%

	Bベレット		MP	
	極小ミニ豚(n=4)	産業豚(n=4)	極小ミニ豚(n=4)	産業豚(n=4)
	平均値±標準偏差	平均値±標準偏差	平均値±標準偏差	平均値±標準偏差
粗タンパク質	79.9±2.8	80.8±1.8	67.7±3.0	66.2±2.3
粗脂肪	86.2±1.8	85.6±2.0	72.0±2.3	66.4±4.4
粗繊維	43.6±5.2	53.6±3.0	54.5±8.5	49.0±0.8
NFE	92.2±0.5	93.8±0.5	73.2±3.3	78.5±0.4
TDN	75.7±0.6	77.6±0.5	58.5±1.5	58.2±1.0

参考文献

- 塩谷聡子・美川 智・大津雪子・堀内 篤・桑原 康・河原崎達雄. 2009, アジア系ミニブタの体尺測定値と特徴について. 日本養豚学会誌, 46:94.
- 古谷 修・山本朱美・伊藤 稔・青木幸尚. 2001, 豚の消化試験における指示物質としてのセライト添加酸不溶性灰分の利用. 日本養豚学会誌, 38:171-176.
- 石橋 晃 (監修). 2001. 新編 動物栄養試験法 181-183 養賢堂. 東京
- 小牧 弘・嘉代三雅子・中山幸子・堀ノ内涼子・柴野暁子・渡辺美穂・浅野早苗・山口美奈子・中村佳容子・下川由紀・矢澤 肇・水谷 誠・小松和英・松村芳秀 (2000) ミニ豚と産業豚の消化力の比較. 日本畜産学会第97回大会講演要旨, 26.
- 宮澤悦子・白草菜穂子・中谷真実・松本 力・本江一郎・宮原晃義・佐伯真魚・小牧弘. 2007. ミニブタにおける代謝エネルギーの簡易測定法に関する研究. 関東畜産学会報, 58:77-84
- 中西喜彦・小川清彦・柳田宏一・山中忠平. 1991, 近交系クラウンミニブタの体尺測定値と特徴について. 日本養豚学会誌, 28:211-217.
- 日本飼養標準・豚 (2005年版) 5-23 中央畜産会. 東京
- Peter D.Zenobi,Hans-Peter Guler,Jurger Zapf and E.Rudolf Froesch,1988.Insulin-like growth factors in the Gottinger miniature-pig.*Acta Endocrinologica* (Copenh) 177:343-352
- 斎藤敏樹. 2009. 食用以外に利用される豚について. ALL about SWINE, 35:14-20.
- 谷川 学・堤 秀樹・二木力夫・谷岡功邦・石井 一・内田昌樹・片桐公一・熊谷栄二・古賀哲文・島津美樹・田島淳子, 2000. ミニブタ実験マニュアル. 14・40, (株) エス・エル・エー研究所. 東京

トレーサビリティシステムを備えた大ヨークシャー種系統豚の造成

Breeding Large White pig strain of which animals and traceable with mtDNA based analyzing system

知久幹夫

要約:本県の系統造成豚「フジヨーク」の後継豚となる SPF 大ヨークシャー種系統豚の造成を実施した。基礎豚は「フジヨーク」の維持群と富山県、徳島県、岐阜県の各系統豚から選定した。産肉形質の選抜は、一日平均増体重、背脂肪の厚さ、ロース断面積としたが、さらに、第3世代から、前肢管囲、後肢管囲を、総合育種価算出式に入れて実施した。肢蹄の繋ぎの形状、蹄の形状については、独立淘汰法により選抜した。第5世代において、総合育種価の標準化された選抜差の累積が、雄で1.86、雌で1.61となり、系統造成の認定基準を満たすこととなり、「フジヨーク2」として認定された。「フジヨーク2」の特徴は、体長がやや短く、深みがあり、肢蹄が強健である。また、特徴的な配列のミトコンドリアDNAを維持群に持たせ、トレーサビリティシステムを併せ持った系統となった。「フジヨーク2」の維持は、雄15頭、雌30頭の規模で実施し、主に「静岡型銘柄豚」生産の種豚として、生産農家に供給をする。

(静岡畜技研中小研セ研報 4, 21~28, 2011)

はじめに

本県では、繁殖性の改良に重点を置いた大ヨークシャー種系統豚「フジヨーク」と、肉質の改良に重点を置いたデュロック種系統豚「フジロック」を利用し、「静岡型銘柄豚」の生産が行われ、年間約3万頭が生産されている。平成6年に認定された「フジヨーク」の近交係数が15%以上に上昇することに備え、平成16年から、後継大ヨークシャー種の造成を開始した。また、当時、食品表示の偽装等が問題となっており、食品の安全、安心を確保するための、トレーサビリティシステムの確立が望まれていた。そこで、造成と同時に次の系統豚では、特徴的な配列のミトコンドリアDNAを用いたトレーサビリティシステムの確立を目指した。

材料および方法

1) 基礎豚の選定とSPF化

造成された大ヨークシャー種系統豚か

ら、オーエスキー病やPRRS（豚繁殖・呼吸障害症候群）などの家畜伝染病の発生の無い地域で維持されている系統を選定した。

基礎豚とする豚は、富山県、徳島県、岐阜県から系統豚の妊娠豚5頭を導入し、帝王切開によりSPF化した。SPFエリアに導入した群から発育、肢蹄が良好な個体を選抜した。その結果、富山県由来雄4頭、雌8頭、徳島県由来雄4頭、雌9頭、岐阜県由来雄4頭、雌4頭、「フジヨーク」から雄4頭、雌16頭を選抜し、基礎豚とした。

「フジヨーク2」の系統造成の基本計画を表1に示した。基礎豚から生まれた雄雌各150頭から、第一次選抜を8週齢で行い、原則として各腹から雄1頭、雌3頭を選抜した。第二次選抜は90kgでBLUP法及び独立淘汰選抜法を用い、繁殖に供する雄15頭、雌40頭を選抜した。分娩成績から雌30頭を選抜し、その産子を次世代選抜に供与した。その後は、同様の方法で、1年1世代で選抜を繰り返した。給与飼料は表2のとおりである。その他の管理は大ヨークシャー種系統造成（知久ら1994）およびデュ

表1. 系統造成基本計画

時期	出生	一次選抜 (8週齢)	二次選抜 (体重90kg)	交配	分娩
	8~11月	11~1月	2~5月	4~7月	8~11月
♂	150	30	15	15	
♀	150	90	45	40	30

表2. 給与飼料

区 分	給与期間	TDN (%)	DCP (%)	
子 豚	人工乳A	14日齢~35日齢	87.0	21.0
	人工乳B	35日齢~30kg	81.0	18.0
育成豚	肥 育 B	30kg~70kg	77.0	16.0
	肥 育 C	70kg~90kg	77.0	14.0
種 豚	種豚用飼料	90kg~	72.0	14.5

ロック種系統造成 (堀内ら 1996) と同様とした。

(2) 選抜の方法

産肉形質である一日平均増体重 (DG)、背脂肪の厚さ (BF)、ロース断面積 (EM) については BLUP 法を用いて選抜した。肢蹄の選抜については独立淘汰選抜法を用いた。

ア BLUP 法

総合育種価を与える式、遺伝的パラメーター及び改良目標値を表3に示した。遺伝的パラメーターは「フジヨーク」系統造成で第一世代

から第七世代までプールした値 (知久ら 1994) を使用した。総合育種価を与える式は第一世代、第二世代の分散を用いてプログラム "Sindex" (佐藤 1996) を利用して作成した。多型質総合育種価 BLUP を推定するためにプログラム "MBLUP3" を利用した。世代、性別を母数効果とした。

一日平均増体重 (DG) は十分な値であったため改良目標を 0g とした。また背脂肪の厚さ (BF) の改良目標を -0.5cm、ロース断面積 (EM) を 6 cm² とした。

表3. 希望改良量と遺伝的パラメーター

選抜形質	希望改良量	遺伝的パラメーター (対角線上遺伝率、右上遺伝相関、左下表型相関)		
		BF (cm)	EM (cm ²)	DG (g/day)
BF (cm)	-0.5	0.68	0.49	0.16
EM (cm ²)	6	-0.24	0.49	-0.19
DG (g/day)	±0	0.08	-0.06	0.58

* DG: 30kg~90kg BF及びEM: 90kg時測定、体長の1/2

* 遺伝率: 遺伝の強さ、遺伝相関: 遺伝的に各形質間で影響を与える強さ、表型相関: 表からみて各形質間で影響を与える強さ

総合育種価算出式

$$H = -3.842379 \cdot BF + 2.580285 \cdot EM + 0.014822 \cdot DG$$

表4. 改定した希望改良量と遺伝的パラメーター

選抜形質	希望改良量	遺伝的パラメーター (対角線上遺伝率、右上遺伝相関、左下表型相関)				
		BF (cm)	EM (cm ²)	DG (g/day)	前肢	後肢
BF (cm)	-0.2	0.50	0.14	0.19	-0.24	-0.17
EM (cm ²)	2	0.05	0.52	-0.12	-0.04	-0.03
DG (g/day)	60	0.22	-0.30	0.75	-0.03	0.03
管囲前肢	0.2	-0.37	-0.04	-0.07	0.81	0.81
管囲後肢	0.6	-0.35	-0.02	0.00	0.85	0.74

* DG: 30kg~90kg BF及びEM: 90kg時測定、体長の1/2

* 遺伝率: 遺伝の強さ、遺伝相関: 遺伝的に各形質間で影響を与える強さ、表型相関: 表からみて各形質間で影響を与える強さ

総合育種価算出式

$$H = -3.48902 \cdot BF + 0.522852 \cdot EM + 0.014256 \cdot DG - 6.46556 \cdot \text{管囲前肢平均} + 8.495287 \cdot \text{管囲後肢平均}$$

イ 総合育種価算出式の改定

第三世代まで、上記アで算出した総合育種価算出式でそれぞれの豚について、育種価を推定し、選抜を実施してきたが、より正確な選抜ができるよう、改良している豚の群の成績を用い総合育種価算出式を改定した。一日平均増体重 (DG) をやや改良するため目標を 60g とした。また背脂肪の厚さ (BF) の改良目標を 0.2cm、ロース断面積 (EM) を 2 cm² とした。よって、この総合育種価算出式に、前肢管囲、後肢管囲も入れて、産肉形質の改良と、管囲の太さの改良を総合的に実施できるようにした (表 5)。

肢蹄の選抜

肢蹄の選抜は寺田ら (2007) の方法で実施した。すなわち、つなぎの形状評価は National Producers Council (1995) で報告された肢蹄形状の 5 段階評価法を用いた。蹄の形質評価は岐阜県、愛知県方式の評価法を用いた。管囲を測定した。つなぎスコアの低い個体を除外した。また蹄スコアも 1 であるものを除外した。管囲に関しては、前肢管囲と後肢管囲のみを選抜したが、第三世代以降は総合育種価算出式で評価を行った。

ミトコンドリア DNA の斉一化

ミトコンドリア DNA の斉一化を確認するため、ミトコンドリア DNA の変異 (C→T) のハプロタイプは、井手ら (2004) が報告した、塩基番号 302 番の位置で C→T の

変異があるタイプである。このハプロタイプは、アジア系のもので、家畜豚の集団の中では極めて特異的な塩基置換であると考えられている。このハプロタイプの斉一化は、各世代の選抜時に、総合育種価が高く、このハプロタイプを持つ豚を選抜した。

結果および考察

(1) 改良形質の成績推移

育成豚の世代ごとの成績の推移 (表型価、推定育種価、肢蹄成績の変化) を表 5、表 6、表 7、図 1 に示した。

一日平均増体重は、第三世代までやや低下する方向であったが、総合育種価算出式を改定後低下することなく横ばいに推移した。最終的に雄で目標の 1,000g は維持したが、雌で 837g と目標に到達しなかった。背脂肪厚は雄、雌ともに第四世代で目標値に近づいたが、最終世代でやや厚くなった。ロース断面積は雄で 34.69cm²、雌で 34.76 cm² と目標値に到達した。管囲は、前、後ともに、雄、雌の平均値 (前肢 16.4cm、後肢 17.4cm) で目標に到達した。総合育種価の推移は、改良形質の遺伝的な能力を旨めた評価となるが、その値は、一日平均増体重の第五世代雌を除き、第三世代以降順調に推移してきた。肢蹄の選抜結果は、管囲は順調に改良された。つなぎの形状は改善され、柔軟性を持った蹄になった。つなぎ、蹄の評価数値が改善

表 5. 改良形質の世代ごとの推移 1) 表型価

世代	DG(g)		BF(cm)		EM(cm ²)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	1112±117	1011±112	2.70±0.39	2.60±0.46	28.08±2.92	29.23±3.49
2	1110±114	919±100	2.41±0.37	2.61±0.43	28.03±3.28	29.83±3.31
3	1024±127	861±89	2.48±0.50	2.70±0.44	32.11±5.58	33.62±4.07
4	1080±83	922±80	2.54±0.34	2.48±0.39	34.11±2.36	33.51±3.78
5	1003±102	837±104	2.69±0.45	2.66±0.49	34.69±2.25	34.76±2.10

世代	前肢管囲 (前)		後肢管囲 (後)	
	♂	♀	♂	♀
1	16.81±0.65	15.93±0.58	17.54±0.82	16.62±0.57
2	16.70±0.53	15.93±0.46	17.42±0.59	16.51±0.68
3	16.89±0.56	16.01±0.58	17.43±0.55	16.51±0.60
4	17.52±0.42	16.32±0.50	18.23±0.43	16.94±0.55
5	17.16±0.43	16.12±0.43	18.26±0.56	17.07±0.64

表6. 改良形質の世代ごとの推移 2) 推定育種価

世代	DG(g)		BF(cm)		EM(cm ²)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	13.48±89.94	10.18±95.31	0.00±0.26	0.00±0.25	-0.06±2.82	0.02±2.01
2	9.98±81.20	17.85±76.19	-0.04±0.22	-0.10±0.22	0.02±2.00	0.60±2.02
3	14.15±94.60	10.19±69.74	-0.02±0.20	-0.01±0.21	0.62±2.25	0.28±2.24
4	7.13±50.85	6.75±49.45	-0.06±0.19	-0.08±0.23	0.90±1.34	0.16±1.88
5	0.02±52.34	-2.12±52.17	-0.12±0.30	-0.16±0.32	1.10±1.25	0.83±1.14

世代	管囲(前)		管囲(後)		総合育種価	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	0.03±0.54	0.02±0.48	0.02±0.60	0.02±0.45	-0.22±2.89	0.23±2.43
2	0.09±0.44	0.17±0.40	0.10±0.45	0.16±0.35	0.55±2.33	0.68±1.97
3	0.09±0.42	0.06±0.47	0.08±0.40	0.06±0.45	0.73±2.43	0.44±2.49
4	0.37±0.25	0.24±0.35	0.39±0.28	0.24±0.38	1.69±1.39	0.99±1.59
5	0.37±0.27	0.32±0.29	0.48±0.38	0.39±0.43	2.67±1.42	2.23±1.77

表7. 肢蹄成績の変化

世代	管囲(cm)		つなぎ(5段階評価)		蹄(3段階評価)	
	前	後	前	後	前	後
1	16.2	16.9	3.9	3.1	2.7	2.0
2	16.1	16.7	3.8	3.2	2.9	2.3
3	16.4	16.9	3.2	2.2	2.9	2.2
4	16.7	17.6	3.5	3.4	3.0	2.4
5	16.4	17.4	2.8	2.8	2.7	2.4

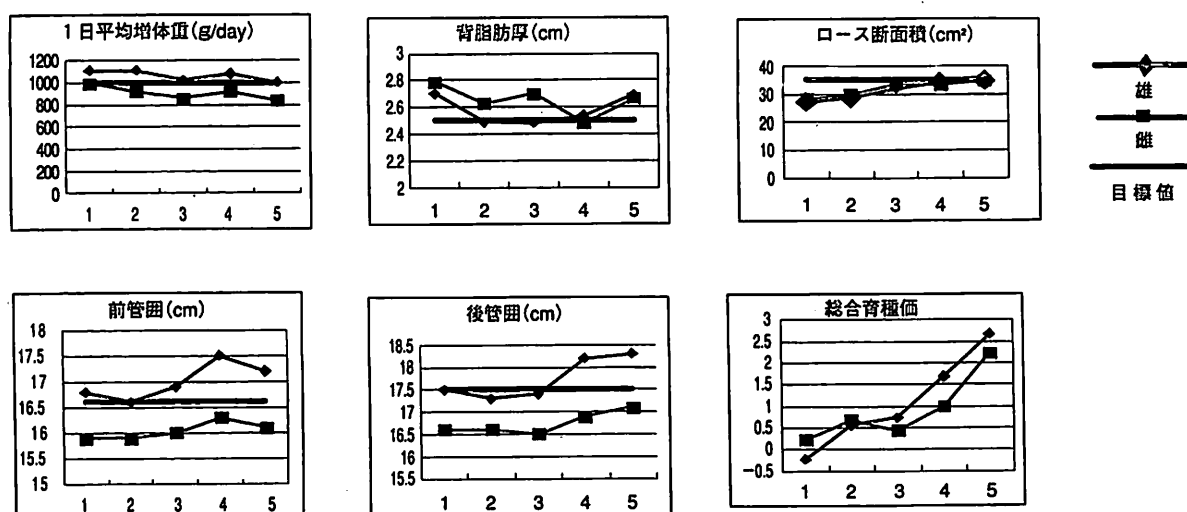


図1. 改良形質の世代ごとの推移

されていないが、評価者が一定していなかったことと、客観的な評価が困難であったことが影響したと思われる。しかし、スコアの低いものは淘汰されており、選抜時に再度確認しているので改良は実現していると考えられる。

系統造成豚の認定基準は、造成前に、登録審議会が計画の承認を受けていること、群の大き

さが、種雄豚5頭以上、種雌豚30頭以上であること、群内全ての個体間に基礎世代豚以後の血縁があること、能力について、目的とする総合育種価について、標準化した選抜差の累積が1以上あることと規定されている。第5世代において、総合育種価の、標準化された選抜差の累積が、雄で1.86、雌で1.61と、能力につい

て、総合的に改良されたと評価できる価となり、
 系統造成の認定基準を満たし、「フジヨーク2」
 として認定された (表8)。

表8. 総合育種価の標準化された選抜差

	世代	性	母集団		選抜個体	選抜差	標準化された選抜差
			平均	S.D	平均		
総合育種価	1	♂	-0.22	2.89	0.74	0.97	0.33
		♀	0.23	2.43	0.96	0.73	0.30
	2	♂	0.55	2.33	1.02	0.47	0.20
		♀	0.68	1.97	0.96	0.28	0.14
	3	♂	0.73	2.43	2.10	1.36	0.56
		♀	0.44	2.48	0.84	0.40	0.16
	4	♂	1.69	1.38	2.43	0.74	0.54
		♀	0.99	1.59	1.56	0.57	0.36
	5	♂	2.67	1.42	2.99	0.31	0.22
		♀	2.23	1.77	3.37	1.14	0.64

選抜差は、選抜個体の平均値から母集団の平均値を引いた値。
 標準化された選抜差は、選抜差を母集団のS.D. (標準偏差) で割った値。
 総合育種価の標準化された選抜差の雄の累積は、1.86。雌の累積は、1.61。

(2) 体尺測定値と体型

育成豚の体尺測定値を表9に示した。特徴としては、やや体長が短く、巾と深みがあり、骨太の外観である。管囲が太くなったと同時に、蹄の形状、つなぎの形状についても選抜してきたので、つなぎが適度にやわらかく、蹄も左右そろい、しっかり開いて安定したものが多くなった。肢蹄がしっかりしたことで、分娩時等の肢蹄による事故はほとんどない (写真1)。

(3) 繁殖成績

世代ごとの繁殖成績を表10に示した。第二、四世代で平均産子数が10頭であったが、他の世代でやや低くなった。系統造成の場合、約2ヶ月の間に交配を集中させ、毎世代の分娩、検定期間を統一する必要があるため、やや日齢の若い豚を交配することもある。また、人工授精で、初産でもあるということから、繁殖成績に及ぼ

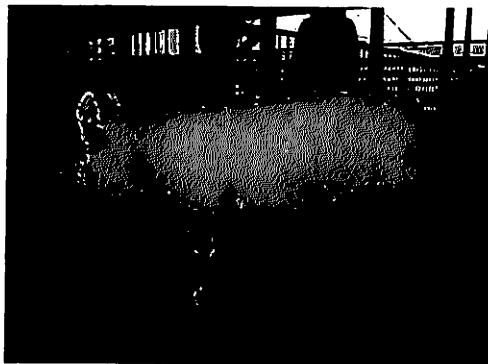
すマイナス要因があることは確かである。しかし、雌系で利用することは、やはり、繁殖成績が気になるところとなる。そこで、二産目の成績を調査したところ、平均総産子数10.78頭、平均離乳頭数10.11頭という成績であった。今後、これらの種豚を維持することになるが、繁殖成績の改良にも努めたいと考える。

(4) トレーサビリティの確立

ミトコンドリアには、核のDNAとは別に独自のmtDNAが存在する。その遺伝様式は母親のmtDNAのみが子供に伝わり、父親のmtDNAは次世代には伝わらないという母系遺伝の様式をとることが特徴である。したがって、系統内のmtDNAをその他の系統と識別できるような特徴的なタイプに統一すれば、三元交雑豚についても「フジヨーク2」を利用したことをmtDNAによって証明することができる。

表9. 体尺測定値

区分	体長	体高	胸囲	前幅	胸幅	後幅	胸深 (cm)
♂	105.8	62.3	102.1	30.5	26.4	29.7	31.7
♀	107.0	62.3	101.8	28.9	26.0	29.1	31.6



第四世代雄



第五世代雄



第四世代妊娠豚



第五世代雌

写真1. 造成豚の体型

表10. 繁殖成績

世代	分娩腹数	総産子数	哺乳開始頭数	離乳頭数
0	37	9.16	8.54	7.73
1	31	8.00	7.81	7.58
2	36	10.14	9.19	8.58
3	28	8.86	8.14	7.64
4	31	10.00	9.10	8.55
2産目	9	10.78	10.78	10.11

三元交雑豚の母系が判別できれば、「フジヨーク2」を母系に用いた「静岡型銘柄豚」を証明することができ、トレーサビリティーシステムの中で、産地や品種の履歴を流通段階で科学的に追跡することが可能となる。

井手ら(2004)がこの特徴的なmtDNAを決定し、判別方法を確立した。また、寺田ら(2007)が系統造成を実施するうえで、世代が早い段階で雌について特徴的なmtDNAを持つ個体を多く集め、雄については能力の高い個体を選抜することによりmtDNAの斉一化と育種を両立さ

せることができると報告している。したがって、今回の造成過程では、各世代で斉一化しようとしたmtDNAを持つ個体を選抜するようにし、その割合は、基礎豚で26%、第一世代で44%、第2世代で71%、第3世代で83%、第四世代で100%となった。

この結果、DNA分析(PCR-RFLP法)により、1日あれば、店頭で販売されている肉のmtDNAのハプロタイプが判定でき、「フジヨーク2」が利用された豚肉か判別できるようになった。

(5) 血縁係数、近交係数の推移と基礎豚の相対寄与率の変化

血縁係数は、基礎豚として系統造成された群を、「フジヨーク」も含め4群利用したので、第一世代で2.15%、第五世代では13.29%であった。近交係数は、第五世代で、2.48%であった(図2)。系統豚の近交係数が15%程度になると、近交退化という現象が現れるといわれている。

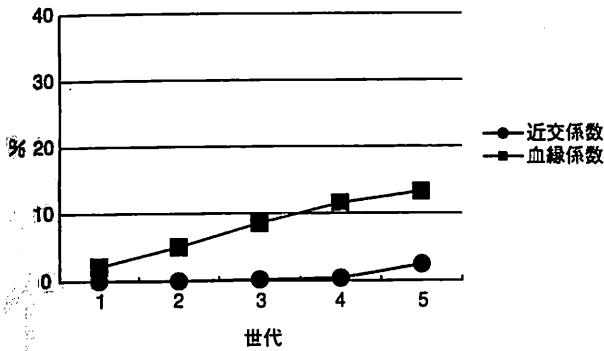


図2. 血縁係数、近交係数の推移

それは、繁殖成績が低下したり、奇形が現れたりという現象である。この系統豚の維持群をできるだけ長持ちさせるには、近交係数の上昇を抑えるように、適切な血縁管理を実施して、計画的な交配を行うことが必要になる。基礎豚の相対寄与率の変化は、基礎豚の遺伝子が各世代に残った割合を示すが、雄の基礎豚15頭のうち12頭が、雌の基礎豚30頭のうち23頭が残りその遺伝子の割合は表1のとおりである。

今後、「フジヨーク」の供給を終了し、平成22年度後半から「フジヨーク2」の供給を開始する。なお、「フジヨーク2」は、「静岡型銘柄豚」の種豚として供給される。

表11. 基礎豚の相対寄与率の変化

基礎豚♂	G1	G2	G3	G4	G5	基礎豚♀	G1	G2	G3	G4	G5	基礎豚♀	G1	G2	G3	G4	G5
991308	14.26	17.22	13.90	16.88	16.90	1020492	8.40	5.57	2.36	0.79	1.13	1031321	0.84	2.53	1.33	1.473	1.225
991331	8.40	3.04	0.26	0.79	0.94	1020522	0.84	1.03	0.26	0.58	0.00	1031322	1.69	4.07	4.46	2.908	3.301
1021223	7.55	5.62	13.98	10.31	10.49	1020526	1.69	1.03	3.43	2.16	2.64	1031328	0.84	2.78	1.84	2.156	2.637
1021400	0.84	0.26	0.00	0.00	0.00	1020611	6.71	9.38	11.06	12.18	11.27	1031342	0.84	2.78	5.27	4.059	5.371
1031047	0.84	2.53	1.33	1.47	1.23	1021256	0.84	2.78	0.52	0.79	0.63	1031343	0.84	0.26	0.00	0	0
1031116	9.24	12.68	8.96	8.59	8.58	1030432	0.84	0.77	3.69	6.07	4.68	1031362	7.55	2.78	0.26	0.79	0.941
1031246	1.69	3.30	3.43	2.05	1.23	1030549	1.69	1.29	2.88	4.06	3.39	1031363	8.40	5.57	6.05	7.075	6.001
1031248	0.84	0.77	1.84	2.16	2.64	1030551	0.84	0.26	0.00	0.00	0.00	1031367	6.71	1.03	1.59	2.731	2.949
1031324	0.84	0.26	0.00	0.00	0.00	1031051	0.84	2.78	5.27	3.34	4.08	1031401	0.84	2.78	3.17	3.952	4.271
1031339	0.84	2.78	0.00	0.00	0.00	1031085	7.55	9.12	6.86	5.06	5.00	1031481	6.71	1.80	3.65	4.274	4.617
1031352	6.71	9.38	11.06	12.18	11.27	1031086	7.55	8.87	5.79	6.90	7.54	1031482	0.84	0.26	0.00	0	0
1031359	1.69	1.29	2.88	4.06	3.39	1031118	0.84	3.04	1.84	2.05	1.23	1031509	6.71	8.61	5.53	4.597	5.779
1031400	15.11	13.71	11.58	10.24	12.03	1031240	0.84	2.78	0.00	0.00	0.00	1031510	6.71	2.83	8.70	6.968	6.409
1031495	10.09	9.12	12.39	11.56	11.25	1031245	6.71	8.35	8.11	9.98	9.36	1031512	0.84	0.26	0.00	0	0
1031496	18.49	14.23	9.44	9.59	10.02	1031253	0.84	0.26	0.00	0.00	0.00	1031519	0.84	0.77	1.59	2.731	2.949

参考文献

- 1) 知久幹夫・堀内篤. 1994. SPFにおける大ヨークシャー種の系統造成(6)最終世代までの成績. 静岡県中小家畜試験場報告, 7:9-15.
- 2) 堀内篤・知久幹夫・河原崎達雄・室伏淳一・鈴木滋・曾根勝・楢崎真澄・野口博道. 1996. SPF環境下におけるデュロック種系統豚の造成(2). 静岡県中小家畜試験場報告, 9:1-7.
- 3) 井手華子・堀内篤・知久幹夫・寺田圭・奥村直彦. 2005. ミトコンドリアDNA非コード領域の多型による系統豚「フジヨーク」の母系解析. 日本養豚学会誌, 42:130-138.
- 4) 寺田圭・大津雪子. 系統造成育種群におけるミトコンドリアDNAハプロタイプと産肉能力の関係. 2007. 静岡県中小家畜試験場研究報告, 17:1-5.

配合飼料中への粳米の混合がブロイラーの成長 および肉質に及ぼす影響

Effect of paddy rice inclusion compound feed on growth performance and carcass parameters of broiler chicks.

松井繁幸、池谷守司

要約：市販配合飼料へ粳米を混合する方法により、肥育後期のブロイラーへの飼料米給与試験を実施した。粳米混合割合を0%、10%、20%、30%とした試験区を設け、生産性および肉質等への影響を調査し、以下の結果を得た。

- 1 粳米混合は出荷時体重には影響しないものの、粳米混合割合が多いほど飼料摂取量が多くなる傾向がみられ、30%区において他試験区と比較して飼料要求率が上昇し、生産指数が低下した。
- 2 粳米の混合により筋胃重量割合および腹腔内脂肪重量割合が増加し、粳米混合割合が多いほどその増加量は大きくなった。
- 3 浅胸筋の加熱損失および剪断力価等の物理的性質には影響はみられなかった。
- 4 腹腔内脂肪における脂肪酸組成では、パルミチン酸の増加やリノール酸の減少などの変化がみられた。

以上から、粳米の添加割合は20%程度が適当と考えられ、その場合に脂肪酸組成の変化等により生産物の高付加価値化の可能性が考えられた。

(静岡中小試研センター研究報告 4, 29～34, 2011)

はじめに

日本の食料自給率はカロリーベースで約40%と低水準にあり、中でも豚肉や鶏肉、および鶏卵については10%以下と非常に低い値となっている。これは、飼料の主原料となるトウモロコシや大豆等のほとんどを海外からの輸入に頼っていることに原因があり、このような輸入依存の状況下では国内の畜産経営は海外の穀物栽培状況等により大きく左右されてしまい、畜産物の安定供給に対し懸念がもたれている。特に、近年では新興国での穀物需要の増加や原油資源の枯渇問題による穀物のバイオ燃料への転換需要の高まりから穀物価格が高騰し、現在でも高止りの状態が続いている。

この問題に対し、近年では未利用資源やリサイクル資源、また国産米の飼料利用に関する動

きが活発化しており、特に飼料米については遊休農地の有効活用の側面からもその利用が注目されている。米の飼料化については1980年代から数多くの研究がされているが、最近では飼料専用種や超多収米品種などの開発やこれらの栽培技術に関する研究が進んでいる。

ブロイラーへの飼料米給与方法としては、米の成分がトウモロコシと同様であることから配合飼料中のその代替として利用する方法等が考えられるが、今回は農家段階での簡易な飼料米の利用方法として、配合飼料へ粳米を単純に混合する方法について検討し、生産性および肉質等へ及ぼす影響について調査を実施した。

材料および方法

1 供試鶏および試験期間

平成21年11月4日餌付けの市販プロイラー専用種（チャンキー）雌240羽を用い、平成21年11月24日（21日齢）から平成21年12月20日（47日齢）まで27日間調査を実施した。供試鶏はウインドレス鶏舎、平飼いで飼育し、不断給餌、自由飲水とした。

2 試験区分

試験区分は、粳米をプロイラー用市販配合飼料（以下、配合飼料）に10%混合した10%区、以下同様に20%区、30%区、および配合飼料のみを給与する対照区の4区分とした。供試羽数は各区60羽（20羽を1群とし3群ずつ）を割当てた。

3 供試米および飼料

供試米は、静岡県内にて2009年に収穫した食用品種（あさひの夢、あいちのかおり）を粉付のまま粉碎せず使い、調査全期間において配合飼料に混合し給与した。参考として、粳米および各試験区の飼料成分値を表1に示した。

表1 粳米および給与飼料の成分値

	粗タンパク(%)	粗脂肪(%)	粗繊維(%)	粗灰分(%)	ME(Kcal/kg)
粳米 ¹⁾	6.5	2.2	8.6	5.4	2,660
対照区 ²⁾	18.0	5.0	5.0	8.0	3,200
10%区	16.9	4.7	5.4	7.7	3,146
20%区	15.7	4.4	5.7	7.5	3,092
30%区	14.6	4.2	6.1	7.2	3,038

1) 日本標準飼料成分表（2009）より引用

2) 対照区飼料はメーカー表示値。その他試験区飼料は計算値。

4 調査項目

(1) 生産性：1週間毎に体重および残飼量を測定し、増体量、飼料摂取量、飼料要求率を調査した。また、試験終了時における生産指数（（体重×育成率）/（飼料要求率×出荷日齢））を算出した。

(2) 解体成績：試験終了時に試験区毎に9羽ずつと殺・解体処理し、もも肉、むね肉、ささみ、心臓、肝臓、筋胃および腹腔内脂肪の重量を測定し、と体重に対する重量割合をそれぞれ算出した。なお、正肉はもも肉、むね肉およびささみの合計とし、また可食内臓は心臓、肝臓、および筋胃の合計とした。

(3) 肉質等：

ア 筋肉および脂肪の色差：半腱様筋（もも肉）、浅胸筋（むね肉）、および腹腔内脂肪の明度（L値）、赤色度（a値）、および黄色度（b値）について、分光測色計（ミノルタ製、CM-508d）を用いて測定した。

イ 加熱損失：厚さ1cm×2cm×5cmにカットした浅胸筋を秤量し、ビニール袋に入れて脱気した。次に70℃に調整した恒温水槽にて60分間加熱し、その後30分間流水中で冷却し、固形物のみを秤量した。加熱前後の重量差から加熱損失率を算出した。

ウ 剪断力価：試料は加熱損失率測定後のものを用いた。これを1cm×1cm×約4cmのスティック状に整形した後、Waner-Bratzler剪断計（G-R MANUFACTURING 製、MODEL280）を用いて筋繊維と垂直方向に数箇所切断し、その平均値を剪断力価とした。

エ 脂肪酸組成：腹腔内脂肪を加熱溶出し、ナトリウムメチラート法によりメチル化し、ガスクロマトグラフィー（島津製作所製、GC9A）により炭素数14～20の脂肪酸について、重量比から各組成を算出した。

5 統計処理

分散分析法による検定を行った後、Tukey-Kramer法による多重比較検定を実施した。なお、有意水準は0.05とした。

結 果

1 生産性

表2に全試験期間累計の飼育成績を示した。

(1) 体重および増体量：図1に試験期間中の体重の推移を示した。粳米混合割合が多いほど体重は低くなる傾向にあった。試験開始1週間後では対照区と20%区、対照区と30%区、10%区と20%区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差が認められたが、その後、2週間後から終了時までには10%区と30%区の間みに有意差がみられた。

図2に1週間毎の増体量の推移を示した。試験開始～1週目では粳米混合割合が多いほど増体量は小さくなり、対照区と20%区、対照区

表2 飼育成績 (累計)

	出荷時体重 (g)	飼料摂取量 (g/d/羽)	飼料要求率	育成率 (%)	生産指数
対照区	3169.3 ± 176.3 ^{ab}	177.4 ± 3.2 ^a	2.13 ± 0.01 ^a	100	310.2 ± 3.2 ^{ab}
10%区	3224.8 ± 186.9 ^a	178.7 ± 2.5 ^{ab}	2.10 ± 0.02 ^a	100	320.7 ± 5.7 ^a
20%区	3179.3 ± 208.9 ^{ab}	180.0 ± 3.8 ^{ab}	2.13 ± 0.06 ^a	98.3	306.1 ± 6.6 ^b
30%区	3123.1 ± 189.7 ^b	187.1 ± 4.3 ^b	2.27 ± 0.03 ^b	98.3	281.7 ± 1.1 ^c

平均値 ± 標準偏差 (育成率は平均値のみを示す)

異符号間に5%水準で有意差あり (出荷時体重; n=59~60、その他; n=3)

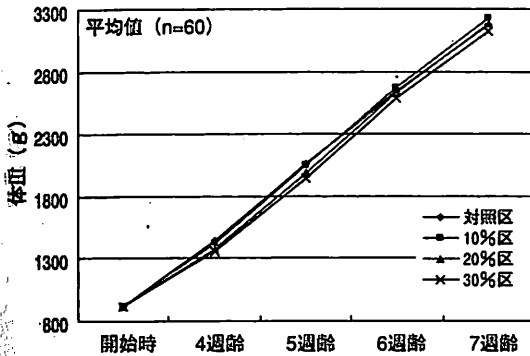


図1 体重の推移

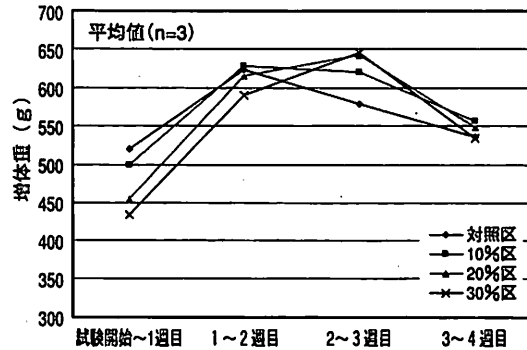


図2 増体量の推移

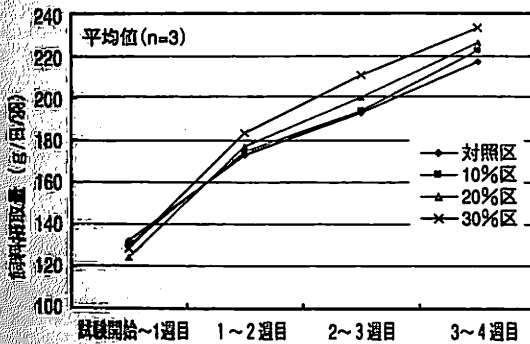


図3 飼料摂取量の推移

と30%区、10%区と20%区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差が認められた。1週目~2週目でも同様の傾向となり、10%区と30%区との間に有意差が見られた。2週目~3週目では、逆に米粉混合割合が多いほど増体量が多くなり、対照区と20%区、および対照区と30%区との間に有意差がみられた。3週~試験終了時まではいずれの試験区間でも有意差はみられなかった。

(2) 飼料摂取量: 図3に1週間毎の飼料摂取量の推移を示した。試験開始~1週目ではいずれの試験区間に有意差はみられなかったが、その後は米粉混合割合が多くなるほど飼料摂取量が増加する傾向にあり、対照区と30%区で有意

差がみられた。また、1週目~2週目、および2週目~3週目では10%区と30%区との間に有意差がみられた。

(3) 飼料要求率: 試験全期間の累計において、米粉混合割合が増加するほど飼料要求率は上昇し、対照区と30%区、10%区と30%区、および20%区と30%区とのそれぞれの間に有意差を認めた。

(4) 生産指数: 10%区でもっとも高い値となり、次いで対照区、20%区、30%区の順となった。有意差は、対照区と30%区、10%区と20%区、10%区と30%区、および20%区と30%区とのそれぞれの間に認められた。

2 解体成績

表3に解体成績を示した。むね肉において、対照区と比較して30%区が有意に低い値となった。ささみでは30%区が低い値となり、対照区および20%区との間にそれぞれ有意差を認めた。筋胃は米粉混合割合が増加するほど大きくなり、対照区とそれ以外の試験区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差を認めた。腹腔内脂肪では対照区が他試験区と比べ低い傾向にあり、30%区との間に有意差を認

表3 解体成績

	もも肉	むね肉	ささみ	正肉	心臓	筋胃	肝臓	可食内臓	腹腔内脂肪
対照区	18.73	25.09 ^a	4.52 ^a	48.34	0.51	1.02 ^c	1.75	3.28 ^c	3.12 ^a
10%区	18.56	24.46 ^{ab}	4.21 ^{ab}	47.23	0.48	1.20 ^b	1.75	3.44 ^{bc}	3.77 ^{ab}
20%区	18.91	24.15 ^{ab}	4.40 ^a	47.46	0.51	1.30 ^{ab}	1.85	3.65 ^{ab}	3.71 ^{ab}
30%区	19.34	23.17 ^b	3.85 ^b	46.36	0.50	1.36 ^a	1.91	3.77 ^a	3.80 ^b

と体重に対する割合 (%)
 異符号間に5%水準で有意差あり (n=9)

めた。その他の項目については各試験区間に差は認められなかった。

3 肉質等

(1) 筋肉および脂肪の色差：表4に筋肉および脂肪の色差結果を示した。いずれの部位、項目についても各試験区間に有意差は認められなかった。

(2) 加熱損失率：図4に加熱損失率の結果を示した。30%区でやや高い値を示したが、各試験区間に有意差は認められなかった。

(3) 剪断力価：図5に剪断力価の結果を示した。各試験区間に有意差は認められず、粃米混合による影響はみられなかった。

(4) 脂肪酸組成：表5に脂肪酸組成の結果を示した。ミリスチン酸では、対照区と比較して各粃米混合区において低い値を示し、それぞれ有意差を認めた。パルミチン酸では粃米混合割合が増加するほど高い傾向となり、対照区と20%区、および対照区と30%区との間にそ

れぞれ有意差を認めた。パルミトレイン酸では粃米混合により増加する傾向にあり、30%区において他の試験区と比較して有意差を認めた。ステアリン酸では粃米混合により減少する傾向にあり、30%区において対照区と比較して有意差を認めた。オレイン酸では粃米混合により増加する傾向がみられたが、各試験区間に有意差はみられなかった。リノール酸では粃米混合により減少し、20%区および30%区において、それぞれ対照区と比較して有意差を認めた。リノレン酸では試験区間に差はみられなかった。アラキジン酸では粃米混合により減少し、各粃米混合区において対照区と比較して有意差を認めた。

考 察

これまでに、配合飼料中のトウモロコシの代替、あるいはマイロの代替として飼料米をプロイラーへ給与した報告(千綿ら、1984;沼田ら、

表4 筋肉および腹腔内脂肪の色差

	半腱様筋 (もも肉)			浅胸筋 (むね肉)			腹腔内脂肪		
	L値	a値	b値	L値	a値	b値	L値	a値	b値
対照区	45.78	2.41	10.86	44.59	-0.58	10.47	76.42	0.07	15.99
10%区	45.22	2.34	11.77	43.17	-0.59	9.48	74.92	-0.05	16.80
20%区	44.96	2.63	10.58	42.92	-0.09	9.29	74.86	-0.22	15.52
30%区	44.92	2.65	11.15	43.22	-0.24	9.29	75.39	0.02	14.97

有意差無し (n=9)

表5 脂肪酸組成

	ミリスチン酸 (C14:0)	パルミチン酸 (C16:0)	パルミトレイン酸 (C16:1)	ステアリン酸 (C18:0)	オレイン酸 (C18:1)	リノール酸 (C18:2)	リノレン酸 (C18:3)	アラキジン酸 (C20:0)
対照区	0.73 ± 0.06 ^a	21.65 ± 0.53 ^a	5.56 ± 0.52 ^a	6.07 ± 1.02 ^a	47.22 ± 1.04	16.70 ± 1.43 ^a	0.18 ± 0.03	1.89 ± 0.16 ^a
10%区	0.65 ± 0.04 ^b	22.63 ± 0.79 ^{ab}	6.27 ± 0.54 ^a	5.35 ± 0.52 ^{ab}	47.71 ± 0.72	15.56 ± 1.06 ^{ab}	0.16 ± 0.03	1.67 ± 0.10 ^b
20%区	0.66 ± 0.04 ^b	22.97 ± 0.98 ^b	6.27 ± 0.40 ^a	5.49 ± 0.40 ^{ab}	47.77 ± 1.31	15.05 ± 1.13 ^b	0.17 ± 0.03	1.64 ± 0.11 ^b
30%区	0.63 ± 0.04 ^b	23.41 ± 0.83 ^b	7.05 ± 0.74 ^b	5.24 ± 0.42 ^b	47.66 ± 1.04	14.29 ± 0.75 ^b	0.16 ± 0.02	1.55 ± 0.16 ^b

平均値 ± 標準偏差
 異符号間に有意差あり (p<0.05, n=8~9)

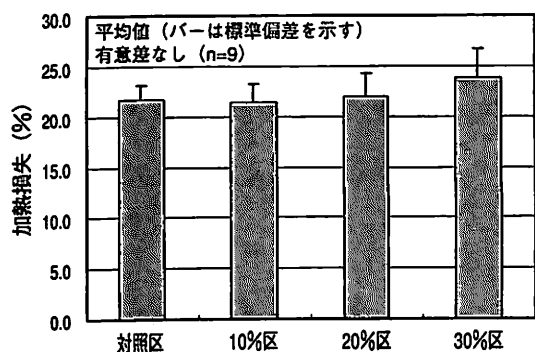


図4 加熱損失割合

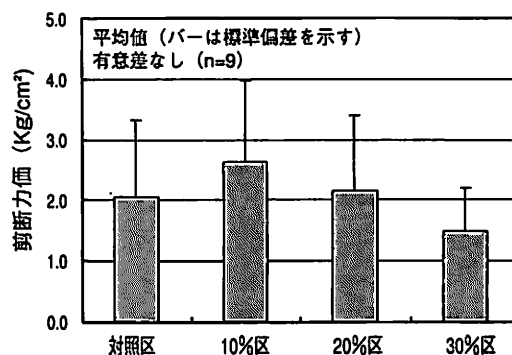


図5 剪断力価

1982; 松川ら, 1982, (独) 家畜改良センター兵庫牧場ら, 2009) があるが、今回、我々は市販配合飼料に粳米を単純混合する方法で給与試験を行い、諸々の影響について調査を実施した。

生産性への影響では、30%区において生産指数の有意な低下がみられた。これは、配合飼料への粳米の混合により給与飼料中の栄養価、特に粗蛋白質割合が低下したことが原因と思われる。つまり、30%区での飼料摂取量は増加するものの増体量が伸びず、最終的な体重は対照区と同等となり、飼料要求率が上昇する結果となった。飼料摂取量の増加については、前述の栄養価の低下による代償性によるものなのか、あるいは粳米の嗜好性が高かったためと思われるが、確定的な判断はできなかった。また、試験開始直後から数日間では、粳米混合した各試験区において粳米を避けて摂取する様子がみられ、その結果、開始から数日間の飼料摂取量は低下した。飼料摂取量の低下は粳米混合割合が多いほど大きかった。しかし、その後は徐々に粳米を摂取する様子が確認され、試験開始1週目以降では対照区と比べて粳米混合区での飼料摂取量が大きくなり、粳米混合割合が多いほどその量は大きくなった。累計結果として、30%区での飼料摂取量は対照区と比べ有意に増加した。このことから、粳米の給与には数日間の馴致が必要と思われた。一方、10%区および20%区では、最終的な生産成績は対照区と比較しても差はなく、20%以内の混合であれば生産性には影響を及ぼさないものと考えられた。

なお、粳米のもみ殻部分の重量を除いて計算すると、飼料摂取量は全区で同等となり、粳米給与の試験区において飼料要求率が低下した。

このことから、もみ殻部分はほとんど利用されていないと考えられた。

解体成績では、粳米混合割合が多くなるに従い、筋胃の重量割合が増加した。これは、粳米の混合により飼料摂取量が増加したことに加え、粳米そのものの物理的な性質から筋胃における破碎動作が多くなったことによるものと考えられた。また、粳米の混合により腹腔内脂肪の増加がみられ、30%区において有意な増加が認められた。村上ら (1997) は、腹腔内脂肪の重量割合は摂取代謝エネルギー (ME) / 摂取蛋白質含量 (CP) 比と相関することを報告している。今回の調査においても、粳米混合割合が増えるに従い摂取 ME / CP 比が増加しており (表6)、粳米の混合により飼料成分が変化し、特に CP が低下することが原因と考えられた。

表6 摂取ME/CP比

	(Mcal/kg)
対照区	17.8
10%区	18.7
20%区	19.7
30%区	20.9

(計算値)

その他、30%区においてむね肉およびささみの重量割合の減少がみられたが、原因は不明であった。

筋肉および脂肪の色差について、筋肉の色差については粳米混合による影響はみられず、また、腹腔内脂肪についても30%区において若干b値が低くなる傾向があったが、有意な差はみられなかった。米には黄色の色素であるキサントフィルが含まれておらず、飼料中に飼料米を混合することにより脂肪や採卵鶏における

卵黄色等が白色化することが知られている（沼田ら 1982；松川ら 1982；脇ら 2008）。今回の試験においては、飼料米の給与方法が配合飼料に混合する方法を用いており、トウモロコシ由来のキサントフィルが多く残存していたと予想され、また、給与期間が4週間と短かったことからその影響が現れなかったものと思われた。

加熱損失率、および剪断力価についてはいずれの区間にも差はみられず、粳米の給与による肉の物性への影響はないものと思われた。

脂肪酸組成では粳米給与の影響が明確に認められた。すなわち、粳米の脂肪酸組成が鶏体の脂肪酸組成に反映され、粳米混合区においてミリスチン酸、ステアリン酸、リノール酸、およびアラキジン酸の減少、およびパルミチン酸とパルミトレイン酸の増加が認められた。その他、オレイン酸については、佐々木ら（2010）がモモ肉について、脇ら（2008）が鶏卵卵黄について、それぞれ飼料米給与によりその割合が増加することを報告しているが、今回の調査では増加する傾向はあったものの、有意差は認められなかった。脂肪酸組成の変化は飼料米給与量によるところが大きいと思われる。これらの脂肪酸組成の変化は、鶏肉の食味に変化や機能性の付加をもたらす可能性があり、粳米を給与した鶏肉の高付加価値化の可能性も考えられた。

今回、通常では食用には供しない腹腔内脂肪を用いて調査したが、佐々木ら（2010）はムネ肉など筋肉内の脂肪においても本報告と同様の結果を報告しており、部位による変化の差はないものと思われる。

今回用いた粳米は、“あさひの夢” および“あいちのかおり” という食用品種であった。大谷（2010）は品種による成分、特に粗蛋白質含量の相違を指摘しており、飼料米の利用にあたっては品種による考慮が必要と思われる。

以上のことから、プロイラー用配合飼料中への粳米の混合は、混合割合 30% で生産性が低下すること、10% 以上の混合で筋胃割合が増加、30% の混合で腹腔内脂肪重量割合の増加、およびムネ肉とささみ重量割合が低下すること、さらに、生産物に対しては脂肪酸組成が変化することが明らかとなった。従って、今回用いた方法で飼料米を利用する場合には、生産性への影

響に関する観点から 20% 程度の混合割合が妥当であると思われた。

参考文献

- 独立行政法人 農業食品産業総合研究機構編
2009. 日本標準飼料成分表. 中央畜産会.
千綿政信・北島輝雄・大林秀穂・中尾峰二・成清文雄, 1984. プロイラーに対する飼料用米（粉碎米）利用に関する試験. 佐賀県畜産試験場試験研究生成績書, 21: 154-158.
沼田稔比古・古山久雄, 1982. プロイラーに対する飼料用米給与試験. 福島県養鶏試験場試験成績報告. 13: 91-96.
松川誠夫・造田高市, 1982. プロイラーに対する飼料米給与試験. 香川県畜産試験場研究報告, 20: 64-68.
脇雅之・村野多可子, 2009. 飼料用米の採卵期への応用. 千葉県畜産総合研究センター研究報告, 9: 5-8.
佐々木志穂・三上豊治・高野真理安, 2010. 平成 21 年度山形県農業総合研究センター試験研究成績書（畜産関係）, 33-34.
村上徹哉・津留崎正信, 1997. 給与飼料の代謝エネルギー水準／蛋白質含量比がプロイラーの腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響. 福岡県農業総合試験場研究報告, 16: 113-116.
大谷滋, 2010. 飼料米の栄養と飼料米利用の鶏飼養. 中部日本養鶏研究会平成 22 年度研究講座テキスト, 1-17.
(独) 家畜改良センター兵庫牧場・(株) 秋川牧園
2009. 国産鶏「はりま」での飼料米給与試験の取り組み. 養鶏の友, 8月号: 44-47.

配合飼料への粳米の混合が採卵鶏の生産性および卵質に及ぼす影響

Effect of paddy rice inclusion in compound feed on egg production and qualities in laying-hens

松井繁幸、池谷守司

要約：採卵鶏への飼料米給与について、市販配合飼料へ粳米を混合する方法により試験を実施した。粳米混合割合を0%、10%、20%、30%とした試験区を設け、生産性および卵質等への影響を調査し、以下の結果を得た。

- 1 産卵率および卵重は、混合割合が増えるほど低下する傾向にあり、産卵日量は混合割合20%以上で有意に低下した。
- 2 飼料摂取量は各区で差はなかったが、飼料要求率では混合割合20%以上で有意に上昇した。
- 3 卵殻強度および卵殻厚は粳米混合の影響はみられなかった。
- 4 卵黄色は混合割合が増えるほど薄くなり、混合割合10%以上で有意に薄くなった。
- 5 混合割合30%の鶏卵の官能評価は良好であった。

以上から、粳米の添加割合は10%程度が適当と考えられ、その場合に卵黄色の白色化など高付加価値化の可能性が考えられた。

(静岡中小試研センター研究報告 4, 35～40, 2011)

はじめに

『配合飼料中への粳米の混合がブロイラーの成長及び肉質に及ぼす影響（松井・池谷2011）』で述べたような社会的背景をもとに、本研究では採卵鶏用市販配合飼料への粳米混合が採卵鶏の生産性および卵質に及ぼす影響について調査を実施した。

材料および方法

1 供試鶏および試験期間

平成21年3月3日餌付けの市販白色系採卵鶏（銘柄；ジュリア）360羽を用い、平成21年11月17日（260日齢）から平成22年1月12日（315日齢）まで56日間調査を実施した。供試鶏は開放型鶏舎、単飼ケージで飼育し、不断給餌、自由飲水とした。

2 試験区分

試験区分は、粳米を成鶏用配合飼料に10%混合した10%区、以下同様に20%区、30%区、および配合飼料のみを給与する対照区の4区分とした。供試羽数は30羽を1群とし、各区3群ずつ割当てた。なお、供試鶏は各群の平均体重が約1620gになるよう調整した。

3 供試米および飼料

供試米は、静岡県内にて2009年に収穫した食用品種（あさひの夢、あいちのかおり）を粉付のまま試験に用い、調査全期間において配合

表1 粳米と給与飼料の成分値

	粗タンパク (%)	粗脂肪 (%)	粗繊維 (%)	粗灰分 (%)	カルシウム (%)	リン (%)	ME (Kcal/kg)
粳米 ¹⁾	6.5	2.2	8.6	5.4	0.05	0.26	2,660
対照区 ²⁾	17.0	3.5	5.0	14.5	3.20	0.40	2,850
10%区	16.0	3.4	5.4	13.6	2.89	0.39	2,831
20%区	14.9	3.2	5.7	12.7	2.57	0.37	2,812
30%区	13.9	3.1	6.1	11.8	2.26	0.36	2,793

1) 日本標準飼料成分表(2009)より引用

2) 対照区飼料はメーカー表示値。その他試験区飼料は計算値。

飼料へ混合し給与した。参考として、粳米および各試験区の飼料成分値を表1に示した。

4 調査項目

(1) 生産性: 試験開始から28日目までを第1期、29日目から56日目までを第2期として、それぞれの期間ごとに調査した。産卵個数および卵重は毎日測定し、群毎のヘンディ産卵率、平均卵重、産卵日量を算出した。また、各期の最終日に群毎の残飼量を測定し、1羽あたりの平均飼料摂取量、飼料要求率を算出した。なお、これらの調査項目については同一試験区内の3群の平均値をその試験区の結果とした。

(2) 卵質: 試験開始から1週後、2週後、3週後、4週後および8週後に、それぞれの試験区から15個(1群あたり5個ずつ)の鶏卵を用い、卵殻強度、卵殻厚、ハウユニット、卵黄色(カラーファン値)について調査した。また、試験期間中の累計成績として、それぞれの検査項目について1週後から8週後までの5回分の平均値を算出した。

(3) 鶏卵官能評価: 試験開始から4週間後の対照区および30%区の鶏卵をゆで玉子にし、10代から60代までのパネラー計24名に5段階で食味の評価をしてもらった。すなわち、好ましかったものを5点、やや好ましいものを4点、普通を3点、やや好ましくないものを2点、好ましくないものを1点とし、それぞれのサンプルに対して点数をつけ、点数の平均値を算出し評価点とした。

5 統計処理

官能評価以外の調査では分散分析法による検定を行った後、Tukey-Kramer法による多重比較検定を実施した。官能評価調査ではt検定に

よる有意差検定を行った。なお、いずれの検定も有意水準は0.05とした。

結 果

1 生産性

表2に試験期間中の累計の飼育成績を示した。

(1) 産卵率: 図1に各期の産卵率を示した。飼料米混合割合が多くなるほど産卵率は低下し、各期において対照区と30%区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差がみられた。

(2) 平均卵重: 図2に各期の平均卵重を示した。第2期において20%区および30%区が対照区と比較し有意に低下した。第1期および累計成績では飼料米混合割合が多くなるほど平均卵重は低下する傾向にあったが、各区間に有意差はみられなかった。

(3) 産卵日量: 図3に各期の産卵日量を示した。飼料米混合割合が多くなるほど産卵日量は低下し、各期とも対照区と30%区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差がみられた。また、第2期および累計成績では対照区と20%区との間にも有意差がみられた。

(4) 飼料摂取量: 図4に各期の飼料摂取量を示した。各期とも各区間における飼料摂取量に有意差はみられなかった。

(5) 飼料要求率: 図5に各期の飼料要求率を示した。飼料米混合割合が多くなるほど飼料要求率は上昇し、各期において対照区と20%区、対照区と30%区、および10%区と30%区との間にそれぞれ有意差がみられた。また、第2期および累計成績では20%区と30%区との間にも有意差がみられ、さらに累計成績では10%区と20%区との間にも有意差がみられた。

表2 飼育成績(累計)

	産卵率 (%)	平均卵重 (g)	産卵日量 (g)	飼料摂取量 (g)	飼料要求率	生存率 (%)
対照区	96.2±1.6 ^a	61.2±1.6	58.8±0.6 ^a	108.0±1.4	1.83±0.02 ^a	100
10%区	96.1±2.4 ^a	60.0±0.3	57.7±1.2 ^{ab}	107.8±0.9	1.87±0.03 ^a	100
20%区	93.0±2.0 ^{ab}	59.4±0.6	55.2±1.2 ^{bc}	107.0±2.0	1.94±0.01 ^b	100
30%区	88.7±2.6 ^b	59.4±0.4	52.6±1.6 ^c	107.4±1.9	2.04±0.03 ^c	98.9

平均値±標準偏差(生存率は平均値のみ)
異符号間に5%水準で有意差あり(n=3)

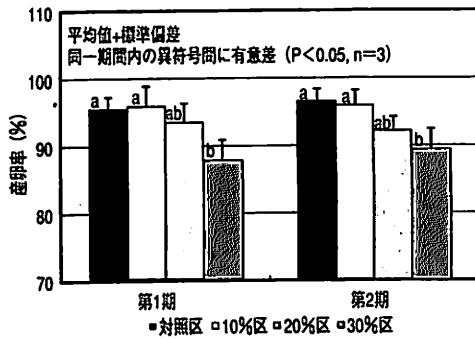


図1 各期の産卵率

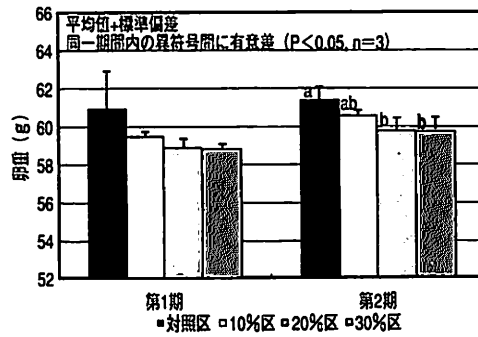


図2 各期の平均卵重

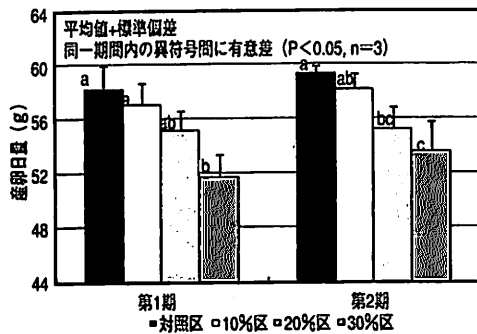


図3 各期の産卵日量

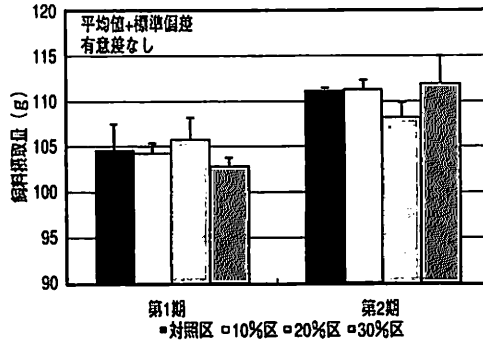


図4 各期の飼料摂取量

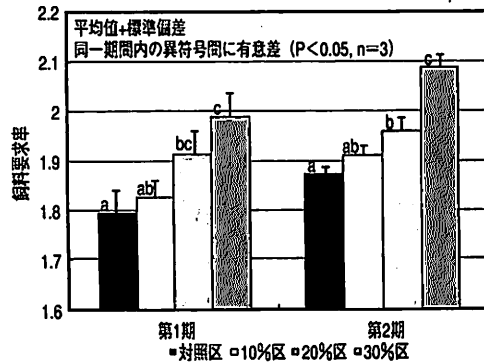


図5 各期の飼料要求率

2 卵質

表3に試験期間中の累計の卵質成績を示した。

(1) 卵殻強度：図6に試験期間中の卵殻強度の推移を示した。4週間後において、30%区が10%区と比較して有意に低い値となったが、試験期間全体では一定の傾向はみられず、その他の調査期間では差は認められなかった。

(2) 卵殻厚：図7に試験期間中の卵殻厚の推移を示した。4週間後において、30%区が10%区と比較して有意に低い値となったが、試験期間全体では一定の傾向はみられず、その他の調査期間では差は認められなかった。

(3) ハウユニット：図8に試験期間中のハウユニットの推移を示した。1週間後の10%区において低値を示し、対照区および30%区とのそれぞれ間に有意差がみられたが、試験期間全体では一定の傾向はみられなかった。累計成績では対照区と10%区、および20%区との間に、また30%区と10%区、および20%区との間にそれぞれ有意差を認めた。

(4) 卵黄色：図9に試験期間中の卵黄色の推移を示した。全期間を通じ、飼料米混合割合が多くなるほど卵黄色は薄くなり、全期間の累計では各区分全てにおいて有意差が認められた。

表3 卵質成績 (累計)

	卵殻強度 (kg/cm ²)	卵殻厚 (1/100mm)	ハウユニット	卵黄色 (カラファーン値)
対照区	4.46±0.67	38.3±2.6	89.2±4.2 ^a	12.2±0.6 ^a
10%区	4.36±0.73	38.5±2.7	87.2±4.6 ^b	11.5±0.7 ^b
20%区	4.31±0.67	37.8±2.6	87.1±5.3 ^b	11.1±0.7 ^c
30%区	4.32±0.68	37.4±2.8	89.4±4.5 ^a	10.6±0.8 ^d

平均値±標準偏差標準偏差
異符号間に5%水準で有意差あり (n=14~15)

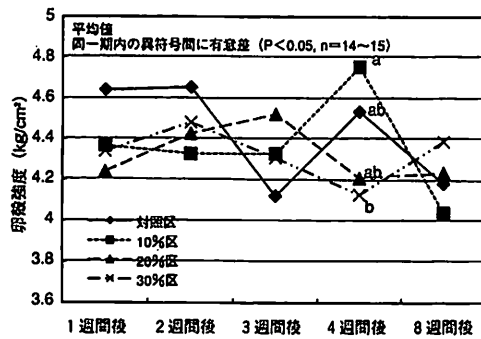


図6 卵殻強度の推移

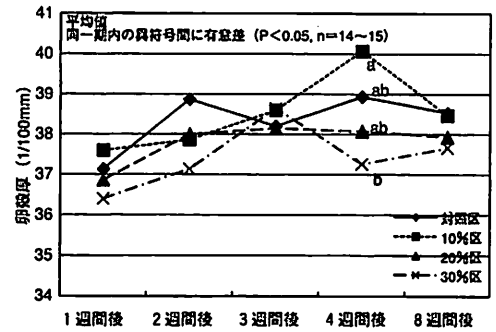


図7 卵殻厚の推移

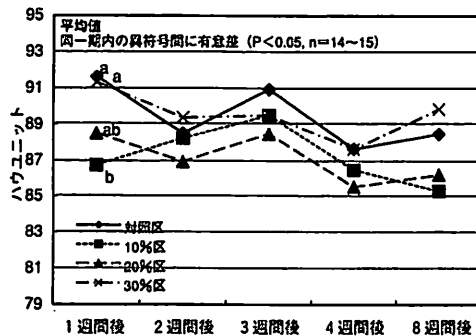


図8 ハウユニットの推移

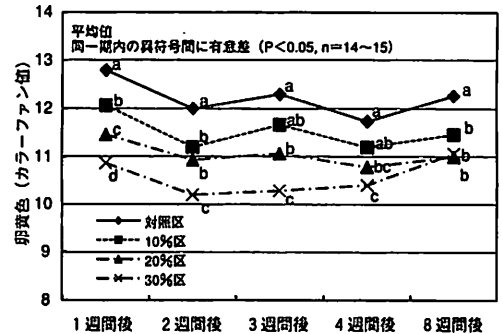


図9 卵黄色の推移

3 鶏卵の官能評価

評価点は対照区が3.5、30%区が3.4で両区間に有意差は認められなかった。

考 察

採卵鶏への飼料米利用については1980年代から多くの研究が実施されており(平瀬ら1983; 赤山ら1985; 澤畑ら1985; 杉本ら1985; 遠藤ら1986)、玄米や粳米、あるいは粉碎米など様々な方法で給与を行った試験が報告されている。これらの研究は飼料原料として米の利用性を調査したものであり、成分調整をした後に給与試験を行っており、産卵諸性能には

影響せず米は飼料原料として利用可能であるとしている。今回、著者らは簡易な方法で飼料米を利用する方法として、未粉碎の粳米を配合飼料へ単純に混合するだけの方法を検討し、この給与方法による生産性および卵質等へ及ぼす影響について調査した。

産卵率、および卵重では粳米混合により低下する傾向がみられ、この結果として20%区および30%区において産卵日量が有意に低下した。飼料摂取量には変化がなかったが、産卵量が低下したことから飼料要求率が上昇した。産卵率や卵重は飼料中の蛋白質含量および代謝エネルギーに影響されることが知られているが(Kjeldsen V 1989)、今回、粳米の混合により

飼料中の蛋白質含量および代謝エネルギーは、対照区の飼料よりも低下していたと思われ(表1)、このことが先の生産性の低下の原因と思われた。なお、粳米のもみ殻部分の重量を除いて計算すると、飼料摂取量は全区で同等となり、粳米給与の試験区において飼料要求率が低下した。このことから、もみ殻部分はほとんど利用されていないと考えられた。

卵殻強度、卵殻厚については粳米混合により若干低下する傾向はあったものの、明確な影響はみられなかった。しかし、飼料中のカルシウム、およびリン含量は粳米混合により低下すると思われ(表1)、長期的に飼育する場合には卵殻強度が低下する可能性があると思われる。なお、今回の卵殻強度の測定値はいずれの試験区も $4\text{kg}/\text{cm}^2$ を維持しており、卵の品質として問題はないと思われた。

ハウユニットは10%区と20%区で低下したが30%区では変化はみられなかった。飼料米給与によるハウユニットへの影響については差がないとする報告が多くあり(澤畑ら1985; 杉本ら1985; 脇ら2009; 西藤ら2009; 龍田ら2010)、今回みられた結果の原因は不明であった。

卵黄色では粳米混合による影響が明確に認められた。すなわち、粳米混合割合が増えるに従って卵黄色は薄色化した。このことは過去の報告(澤畑ら1985; 杉本ら1985; 脇ら2009; 西藤ら2009)からも明らかにされている。卵黄色は飼料中のキサントフィルによって決まるが(吉岡1983)、トウモロコシにはキサントフィルが豊富に含まれている一方で、米にはそれがほとんど含まれないとされている。このため、粳米の混合により飼料中のキサントフィル含量が低下し、卵黄色が薄くなったと思われる。薄い卵黄色は商品の差別化に繋がる一方で、未だ消費者には馴染みのうすいものであるため、販売に際しては理解が必要と思われる。なお、卵黄色は色素物質やバグリカなどの混合によりその調整が可能である(杉本ら1985)。

官能評価では、最も粳米混合の影響があると予想された30%区の鶏卵と対照区の鶏卵の2点についてそれぞれ評価を行った。30%区の評価点は34点と中間点以上であり、粳米混合に

配合飼料への粳米の混合が採卵鶏飼育および卵質に及ぼす影響による鶏卵の官能評価には問題ないと思われた。また、対照区の評価点との間には有意差はみられなかった。

また、プロイラーにおける試験報告でも述べたが、米の品種による成分、特に粗蛋白質含量の相違があることが指摘されており、飼料米の利用にあたっては品種による考慮が必要と思われる。

以上のことから、成鶏用配合飼料中への粳米の混合は、混合割合20%以上で生産性が低下すること、10%以上の混合で卵黄色が薄色化すること、さらに、卵の官能評価には影響しないことが明らかとなった。従って、今回用いた方法で飼料米を利用する場合には、生産性への影響に関する観点から10%程度の混合割合が適当であると思われた。

参考文献

- 独立行政法人 農業食品産業総合研究機構編, 2009. 日本標準飼料成分表. 中央畜産会.
- 平瀬一博・大浦均一・平島元, 1983. 飼料用米の給与試験 採卵鶏への玄米給与試験. 長崎県畜産試験場試験調査成績書(家畜・家禽関係), 98-104.
- 赤山照也・大塚茂夫・岡本俊弘・出雲幹郎・小川篤敬, 1985. 飼料用米の有効利用に関する研究のうち産卵鶏に対するもみ米給与試験. 全農飼料畜産中央研究所試験研究報告, 12:3-7.
- 澤本良夫・郡司勇・海老澤憲・御幡寿・蔵本博久・遠藤国雄, 1985. 未利用資源の利用に関する試験 産卵鶏における飼料米(挽粉玄米)の利用. 茨城県養鶏試験場報告, 19:14-18.
- 杉本俊昭・斉藤勝久・船山一郎, 1985. 採卵鶏に対する飼料米の給与試験. 栃木県畜産試験場研究報告, 2:3-19.
- 遠藤孝成・中西隆男・谷茂夫・杉本数男, 1986. 採卵鶏に対する他用途米(玄米)給与試験. 徳島県畜産試験場研究報告, 27:48-56.
- 脇雅之・村野多可子, 2009. 飼料用米の採卵鶏への応用. 千葉県畜産総合研究センター

研究報告, 9:5-8.

龍田健・久宗幸恵・吉川実・藤橋拓志, 2010.
飼料用米の給与が採卵鶏の産卵成績に及ぼす影響. 兵庫県立農林水産技術総合センター畜産技術センター研究報告, 46:11-13.

立川昌子・浅野智宏・石川寿美代・島部奈美・早川博, 2009. 飼料米給与による採卵鶏への影響. 岐阜県畜産研究所研究報告, :41-46.

Kjeldsen V, 1989. 飼料の品質の変動は家畜の生産に影響する. 科学飼料, 35-8:249.

西藤克己, 2009. 飼料用米給与で耕畜連携産卵と卵質への影響評価. 養鶏の友, 2009年4月号:15-19.

吉田実, 1984. 卵黄の着色度と飼料の色素含量について考える. 畜産の研究, 37-3:378-382.

松井繁幸・池谷守司, 2011. 配合飼料中への粳米の混合がブロイラー飼育に及ぼす影響. 静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター研究報告, 4:29-34.

静岡県畜産技術研究所
中小家畜研究センター研究報告

第 4 号

平成 23 年 1 月

編 集 静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター
発 行 静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター

〒439-0037

静岡県菊川市西方2780

TEL(0537)35-2291(代)

FAX(0537)35-2294

印 刷 株式会社山田印刷所
〒438-0074

静岡県磐田市二之宮251

TEL(0538)35-6151