

[成果情報名] 性選別精液を用いた体内胚生産法の確立

[要 約] 受精率が低いとされる性選別精液に、精子活力向上効果のあるリラキシンを添加し、保温対策を行った精子注入器を用いることにより高い採卵成績が得られる。

[キーワード] リラキシン、カテーテル式注入器、受胎率向上

[担 当] 静岡畜技研・酪農科

[連絡先] 電話 0544-52-0146 電子メール chikugi-kenkyutoukatu@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 畜産・草地（牛）

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

近年、性選別精液が市販されるようになり、これを用いて目的とした性の胚のみを回収することが試みられるようになってきたが、正常胚の回収率は低く、手法として確立していない。そこで、性選別精液の精子活力の向上法や精液の子宮内への注入法を検討することで受精率を向上させ、正常な体内胚を効率的に生産する手法を確立する。

[成果の内容・特徴]

- 1 通常精液（凍結保存した性無選別精液）に、いくつかの動物種で精子活力向上効果が判明しているブタ卵巢由来リラキシンを添加処理し、培養後の精子活力を検査したところ、運動力+++（最活発な前進運動）を示す精子の割合は、添加濃度に比例して高く推移した（図1）。
- 2 精子活力が向上した濃度（2000ng/ml）のリラキシンを過剰排卵処理に用いる精液に添加し、採卵成績を検討したところ、添加区では正常卵生産率が有意に高かった（図2）。
- 3 従来のステップ式（子宮浅部注入用）とカテーテル式注入器（子宮深部注入用）を用いて、精液ストローの装着時間と精液注入後の精液温度を測定したところ、カテーテル式はステップ式に比べ、装着に時間を要し温度感作を受けやすかった（表1）。性選別精液へのリラキシンの添加処理と保温対策を講じたカテーテル式注入器を組み合わせることで、ステップ式に比べ、有意に高い採卵成績が得られた（表2）。

[成果の活用面・留意点]

- 1 カテーテル式注入器については、受精卵移植に従事する技術者（主に獣医師）に勉強会等を通じて成果を伝えることで、技術者を通じて農家への利用、普及を図る。
- 2 リラキシンは、当面、静岡大学から提供を受けたブタ卵巢由来のものを技術者を通じて使用するが、将来的にはカイコを用いて安価に製造したリラキシンの利用（現在、静岡大学と共同研究を計画中）。
- 3 所内における受精卵採取に活用し、農家に胚を供給している。

[具体的データ]

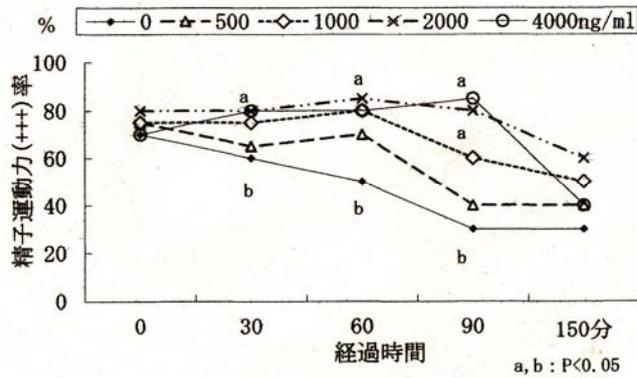


図1 リラキシン濃度と精子活力の推移

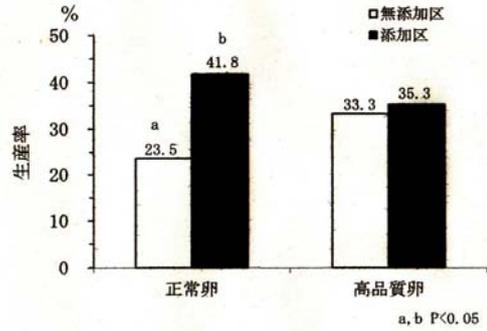


図2 リラキシン添加と採卵成績

表1 精液注入器へのストロー装着時間と精液温度

注入器	装着時間 (秒)	室内温度		
		28℃	20℃	7℃
注入直後精液温度 (℃)				
ステップ式	21.9 ± 1.5 ^a	32.8 ± 0.8 ^a	26.0 ± 0.9 ^a	16.9 ± 0.6 ^a
カテーテル式	29.9 ± 2.2 ^b	30.9 ± 0.9 ^b	23.9 ± 0.6 ^b	14.0 ± 0.5 ^b

a, b : P<0.05

表2 注入器と採卵成績

注入器	採卵頭数	正常卵率	高品質卵率
ステップ式	5	46.4 ^a	50
カテーテル式	5	84.6 ^b	50

a, b : P<0.05

[その他]

研究課題名：性選別精液を用いた体内胚生産法の確立

予算区分：県単独

研究期間：2013～2015年度

研究担当者：佐野文彦

発表論文等：精液注入器の違いが操作時間と精液温度に及ぼす影響、佐野ら、静岡県畜産技術研究所研究報告、8、6-7、2015

[成果情報名] 放牧牛における牛乳頭腫総合的防除システム

[要 約] 静岡県内の放牧育成牛における牛乳頭腫症の状況調査、感染予防、治療と複合的な対策を実施し、静岡県内に難治性の BPV9 型が浸潤しており、忌避剤の乳房塗布で発症予防が可能であり、木酢酸を含んだ治療液で治療可能であることが明らかになった。

[キーワード] 牛乳頭腫症、遺伝子型、木酢酸

[担 当] 静岡畜技研・酪農科、肉牛科

[連絡先] 電話 0544-52-0146 電子メール chikugi-kenkyutoukatu@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 畜産・草地（牛）

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

牛乳頭腫はウシパピローマウイルス（BPV）による感染症であるが、効果的な予防法は現在のところ確立されていない。また、治療として一般に外科的切除や投薬が行われているが、労力の面から改善が求められている。

そこで、本疾病の主要な感染経路である吸血昆虫の刺咬を防除し、効率的予防法を開発する。また発症牛に対する効果的な治療法の確立を図るため、新規治療法の有効性および治癒メカニズムの科学的検証を行い、予防と治療を組み合わせた牛乳頭腫の総合的な防除システムを確立する。

[成果の内容・特徴]

- 1 PCR-RFLP 法を用いた簡易な遺伝子型別法を開発し、より簡易に BPV のスクリーニングが可能となった（図 1）。
- 2 H24～H25 年にかけて、県内の放牧利用農家を中心に、上記の PCR-RFLP 法を用いて BPV 遺伝子型の分布状況を調査した結果、BPV 6、9、10 型が検出された（図 2）。なお、難治性の 9 型が検出されたことから対策が急務である。
- 3 乳房に対してピレスロイド系忌避剤に定着剤として流動パラフィンを混合したものを塗布し、防除効果を検証した結果、乳頭腫症の発症率が有意に減少した（表 1）。
- 4 治療薬（木酢酸、酢酸、イソジンの等量混合液）を乳頭腫に塗付し、治療効果を検証した結果、乳頭の乳頭腫に対し、従来法と比較して治癒率が有意に高かった（表 2）。病理組織学的解析の結果、上記治療薬はウイルス感染細胞の角化を亢進し、細胞の脱落を促すことで治癒が促進されるものと示唆された。

[成果の活用面・留意点]

- 1 従来のダイレクトシーケンス法より簡便な BPV 型別法が確立された。
- 2 静岡県内の公共育成牧場における BPV 遺伝子型が明らかになった。
- 3 昆虫忌避剤（ETB 乳剤＋流動パラフィン）の乳房塗布による牛乳頭腫症防除効果は、慣行法（モクターール乳房塗布）より優れていた。
- 4 木酢酸、酢酸、イソジンを等量に配合した治療液の乳頭腫症に対する治療効果を慣行法（消毒のみ）と比較し、治癒の機序について解析した。

[具体的データ]

表1 乳頭における乳頭腫発症頭数及び発症率

処置	発症(頭)		発症率(%)
	有	無	
忌避剤+パラフィン(n=20)	2	18	10.0 ^a
モクタール(慣行法、n=112)	44	68	39.3 ^b

a-b: $p < 0.05$

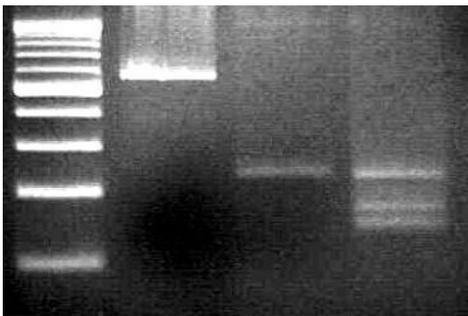


図1 PCR-RFLP 法による切断例

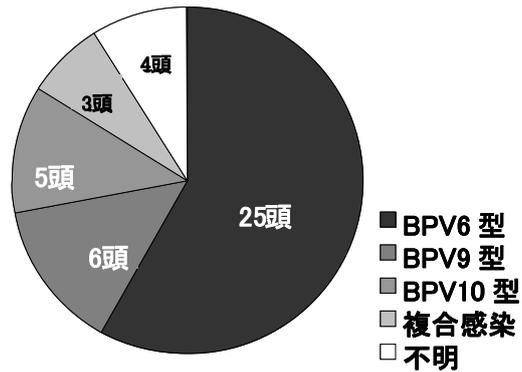


図2 静岡県内のBPV 遺伝子型浸潤状況

表2 治療液による乳頭腫の治癒

処置	治療開始1月後の状態		治癒率(%)
	治癒	非治癒	
有(n=59)	36	23	61.0 ^a
無(n=20)	4	16	20.0 ^b

[その他]

研究課題名：放牧牛における牛乳頭腫総合的防除システム

予算区分：県単独

研究期間：2013～2015

研究担当者：瀬戸隆弘、小林幸恵

発表論文等：静岡県におけるBPV 9の発生及びBPVの簡易型別法の開発、鶴飼ら、日獣誌、66、617-620、2013

[成果情報名] **ドライエイジングによる牛肉熟成技術の開発**

[要 約] ドライエイジングによる牛肉熟成の影響は、熟成期間、品種、部位によって異なり、ウェットエイジングを併用することで、熟成品質を維持したままロスを低減することができる。

[キーワード] 牛肉、ドライエイジング、熟成

[担 当] 静岡畜技研・肉牛科

[連絡先] 電話 0544-52-0146 電子メール chikugi-nikuushi@pref.shizuoka.lg.jp

[区 分] 畜産・草地（牛）

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

近年の牛肉に対する消費者のニーズは、高齢者の増加や、健康志向により、従来の脂肪交雑（霜降り）だけでなく、肉本来のうま味をもつ赤身部分にも目を向けられている。近年、「熟成」が牛肉の高付加価値化のキーワードの一つとして浸透しつつあり、中でも通気性のある状態で長期間熟成させ、独特の香りの特徴とするドライエイジング牛肉は人気を博しているが、硬化した表面の廃棄（トリミング）などによる熟成ロスや、品質の安定性に課題がある。そこで、効率的な牛肉のドライエイジング技術を開発することにより、国産牛肉の消費拡大を図り、生産農家の収益向上および食肉関連産業の活性化を目指す。

[成果の内容・特徴]

1 経時的品質変化の追跡による最適熟成期間の検討

一般的な熟成期間（42 日間）における乳用種モモ肉の品質変化を、経時的（熟成前, 21, 28, 35, 42 日）に調査したところ、せん断力価は 35 日以降で熟成前よりも低下（図 1、 $p < 0.05$ ）し、総遊離アミノ酸含量は 35 日まで経時的に増加した（図 2、 $p < 0.01$ ）。熟成ロス（トリミングロス＋水分量減少）は 42 日で 21 日より増加（ $p < 0.01$ ）したことから、熟成期間が長くなるほど高い熟成効果が得られるが、ロスが多くなることから、最も経済的な熟成期間は 35 日程度であることが判明した。

2 ウェットエイジング（真空パック）を併用した効率的熟成法の検討

高い熟成効果の得られる長期間熟成牛肉の品質を維持したまま熟成ロスを減少させるため、35 日間ドライエイジングした乳用種モモ肉を真空パックして 7 日間追加熟成（併用区）し、一般的なドライエイジング牛肉（対照区、熟成期間 42 日）と品質を比較したところ、せん断力価、総遊離アミノ酸含量に差は認められず、熟成ロスは、対照区 60.6%、併用区 55.2%で、約 1 割軽減（図 3）したことから、本法は熟成ロス低減に有効であることが判明した。

3 品種及び部位の違いが熟成品質に与える影響

交雑種（モモ、バラ）及び乳用種（モモ）の牛肉を用いて、ドライエイジング牛肉を試作し、経時的（熟成前, 21, 35 日）な品質の変化を調査した。せん断力価は、モモ肉で低下（交雑種 21 日： $p < 0.01$ 、乳用種 35 日： $p < 0.05$ ）したが、交雑種バラ肉では有意な変化は認められなかった。総遊離アミノ酸含量は、モモ肉で増加（交雑種、乳用種とも 21 日： $p < 0.05$ ）したが、交雑種バラ肉では有意な変化は認められなかった。（図 4）バラ肉ではドライエイジングによる熟成効果が少ないと判明した。

[成果の活用面・留意点]

- 1 効率的にドライエイジング牛肉を生産することができる。
- 2 ドライエイジングによる熟成は 35 日以降も進むため消費者ニーズに即した利用が望ましい。

[具体的データ]

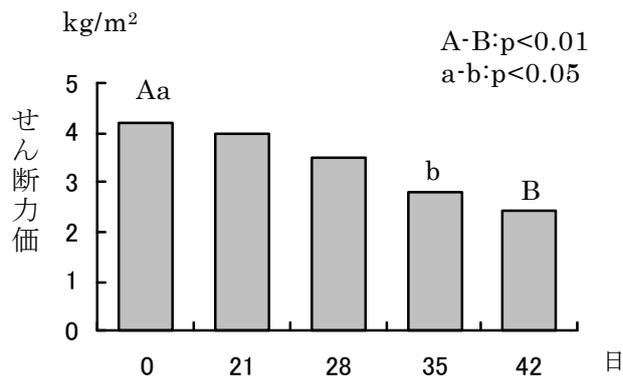


図1 せん断力価の経時的変化

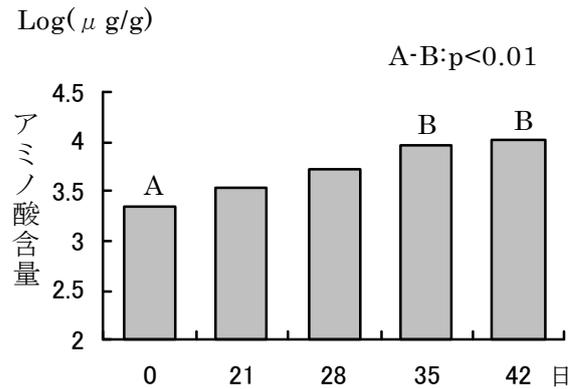


図2 総遊離アミノ酸含量の経時的変化

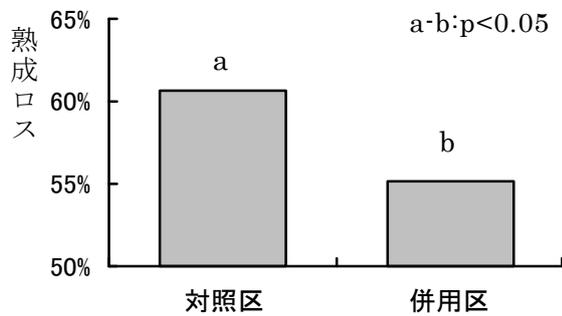


図3 真空パック併用による熟成ロス低減

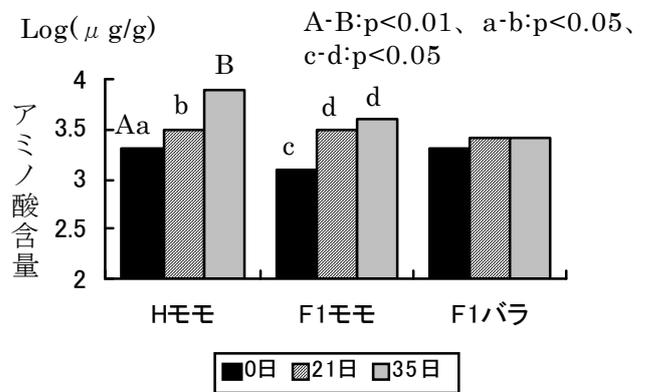


図4 総遊離アミノ酸含量の品種及び部位による違い

[その他]

研究課題名：ドライエイジングによる牛肉熟成技術

予算区分：県単独

研究期間：2013～2015

研究担当者：齋藤美英、小林幸恵、野田準一

発表論文等：静岡県畜産技術研究報告 vol16. 12-14(2013)、vol17. 23-24(2014)