

高知畜試研報
No.20
2019

BULLETIN OF
KOCHI PREFECTURAL LIVESTOCK EXPERIMENT STATION

No.20
February 2019

高知県畜産試験場研究報告

第 20 号

平成 31 年 2 月

高知県畜産試験場

高知県高岡郡佐川町中組1247

KOCHI PREFECTURAL LIVESTOCK EXPERIMENT STATION

Nakagumi 1247, Sakawa Kochi 789-1233, Japan

高知県畜産試験場研究報告

第 2 0 号

平成 3 1 年 2 月

目 次

県内における乳用牛の搾乳性に関連する要因 新見沙織・川原尚人	1
小型電子乳量計とビデオを用いた搾乳作業改善（第 1 報） 川原尚人	7
小型電子乳量計とビデオを用いた搾乳作業改善（第 2 報） 川原尚人	22
ウシ性判別胚の効率的作出に繋がるサンプリング法の検討 近森太志・西川弘子・山崎也寸志・野村泰弘	31
土佐あかうし受精卵の試験配布成績 山崎良洋・山崎也寸志・近森太志・西川弘子・高橋 徹	36
柑橘精油抽出残渣の養鶏利用への検討 山田博之・長坂直比路・水野悦秀・池上和己	47

BULLETIN OF KOCHI PREFECTURAL LIVESTOCK EXPERIMENT STATION

Vol.20

February 2019

CONTENTS

Factors related to milkability of dairy cows in the prefecture

Saori Niimi and Naoto Kawahara 1

Improvement of Milking Operation using Compact Electronic Milk Meters and Video Cameras Part1

Naoto Kawahara 7

Improvement of Milking Operation using Compact Electronic Milk Meters and Video Cameras Part2

Naoto Kawahara 22

Development of Sampling Methods to efficiently product bovine sexing embryos

Taishi Chikamori, Hiroko Nishigawa, Yasushi Yamasaki and Yasuhiro Nomura 31

Research on Conception of Experimental Embrios (Japanese Tosa Brown Cattle)

Yoshihiro Yamasaki, Yasushi Yamasaki, Taishi Chikamori
Hiroko Nishigawa and Tooru Takahashi 36

Studies on Availability of Citrus Oil Lees as Feed for Poultry

Hiroyuki Yamada, Naohiro Nagasaka, Etuhide Mizuno and Kazumi Ikegami 47

県内における乳用牛の搾乳性に関連する要因

新見 沙織・川原 尚人

Factors related to milkability of dairy cows in the prefecture

Saori Niimi and Naoto Kawahara

要 約

小型電子乳量計のラクトコーダ (WMB AG) と牛群検定のデータを収集・分析することで、乳房炎と関連があるとされている搾乳作業 (ライナースリップ、過搾乳及びマシンストリップング) の原因である、「渋い牛」や「残乳」、生乳の流速が「階段状になる牛」の発生要因を検討した。

その結果、渋い牛 (主搾乳期時間10分以上かつ最大流速 4 kg/分以下) の発生には種雄牛、残乳 (後搾り乳量1.2kg 以上) の発生には搾乳手技、階段状 (下降期に30秒以上流速が停滞している) の発生には牛の生理あるいは搾乳手技が関係している可能性が示唆された。

はじめに

乳房炎は乳牛の疾病の中で生産性に直接関わる乳腺に起きる疾病であり、経済的損失が非常に大きい。

乳房炎の指標として、乳中の体細胞数が広く用いられている。体細胞とは、主に乳汁中に含まれる白血球や脱落上皮細胞のことを指す。乳房炎は、病原体が乳房内に侵入して増殖し、乳管や乳腺を刺激することで発生する。炎症が発生すると、血液中の白血球や炎症により傷んだ上皮細胞が乳汁に移行する。こうして、乳汁中に移行した白血球と脱落上皮細胞が体細胞数として計測される¹⁾。

体細胞数が一定の値以上となった酪農家は、ペナルティとして罰金を支払う必要がある。体細胞数が当時のペナルティの基準である30万個/ml 以上となった県内酪農家は2011年は69戸/76戸 (90.8%)、2012年は59戸/74戸 (79.7%)、2013年は54戸/64戸 (84.4%) と多く、酪農家は体細胞数低減への対応に苦慮している。

不適切な搾乳手技は、乳房炎の発生原因の一つである。小型電子乳量計のラクトコーダ (WMB AG) を搾乳時に使用し、そのデータやグラフを見ることで「バイモダリティ (泌乳開始直後に流速が低下す

る現象。搾乳前の前搾りが不十分な場合に発生する)」、「ライナースリップ (乳頭に装着したライナーがずれてミルカー内に空気が入ること。ミルカー内の真空圧が低下し、搾乳した生乳が逆流して乳頭口を傷つける)」や「過搾乳 (搾乳が終了してもミルカーを外さない行為。乳頭口が損傷し、細菌が侵入する危険性が高くなる)」、「マシンストリップング (搾乳終了間近に乳房を揉む行為。ライナースリップを誘発する)」などの不適切な搾乳手技が行われたかどうかを検証することができる (図1-2)。

搾乳手技には、搾乳時の乳の出方 (搾乳性) が大きく影響すると考えられる。代表的な搾乳性の悪い牛として、搾乳時間の長い「渋い牛」、「残乳が発生する牛」、ラクトコーダのグラフの下降期が「階段状になる牛」が挙げられ (図3-5)、これらの牛を搾乳する場合、不適切な搾乳手技につながる可能性が高い。しかし、これらの牛が発生する要因は、未だに明らかになっていない。

そこで、「渋い牛」、「残乳が発生する牛」及び「階段状になる牛」について調査し、各現象の発生要因を検討する。

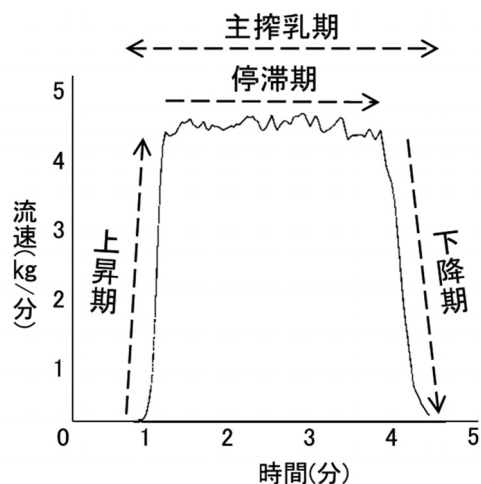


図1 正しい搾乳手技の場合のラクトコーダのグラフと各搾乳期の名称

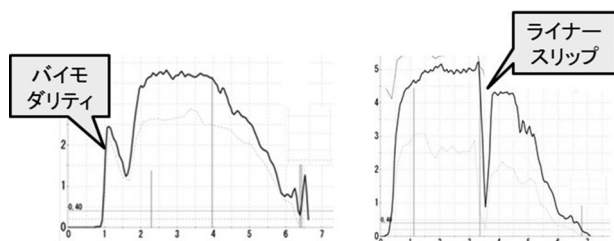


図2 不適切な搾乳手技の場合のラクトコーダグラフ

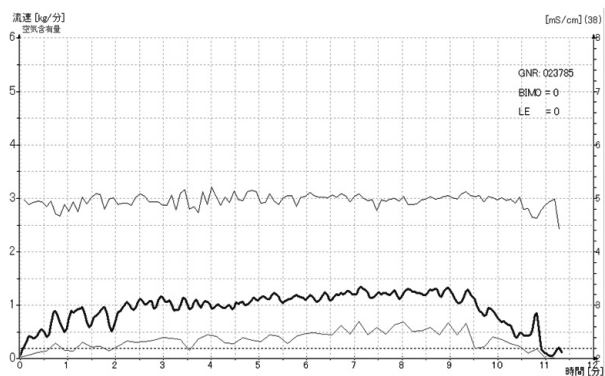


図3 渋い牛

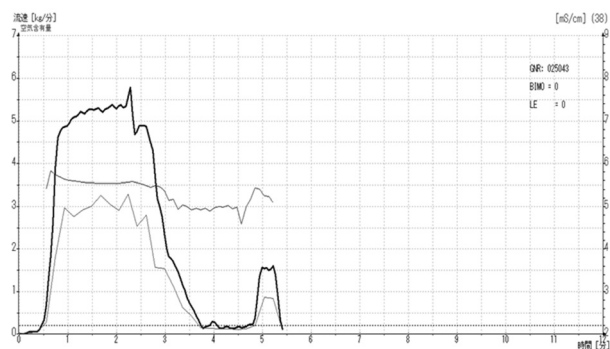


図4 残乳が発生する牛

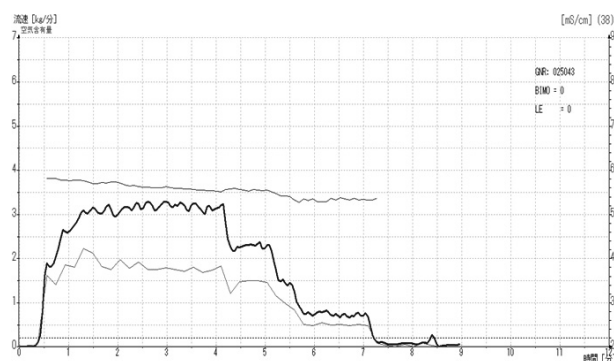


図5 下降期が「階段状になる牛」

材料及び方法

1 調査対象

2009～2015年の間にラクトコーダを継続使用した牛群検定農家12戸で飼養されていた乳用牛（ホルスタイン種牝牛）876頭のデータ（総データ数 34,451）を用いた。なお、生乳の流速が「階段状になる牛」のみ、12戸のうち2012～2015年の間にラクトコーダを継続使用した牛群検定農家2戸で飼養されていた乳用牛171頭のデータ（総データ数 5,659）を用いた。

2 調査項目

1) ラクトコーダデータ

各搾乳期時間（上昇期・停滞期・下降期・主搾乳期）、最大流速、バイモダリティ発生率、ライナー スリップ発生率

2) 牛群検定データ

体細胞リニアスコア、標準乳量、産次、父牛（種雄牛）

3 調査方法

1) 定義の決定

「渋い牛」は主搾乳時間と最大流速、「残乳が発生する牛」は後搾り乳量を指標として、定義を決定した。「階段状になる牛」はウェブアプリ Web Plot Digitizer を用いて、調査対象牛のラクトコードグラフ画像から抽出した座標データによって定義を決定した。

2) 発生要因の検討

(1) 発生率

調査期間中に各現象の定義を1回以上満たした牛の発生率を調べた。

(2) 調査項目

定義を満たしたデータとその他のデータとの間で各調査項目の測定値を比較し、発生要因を検討した。

父牛との関連性は、娘牛である調査対象牛のデータを用いてクラスター分析を行い、各種雄牛をグループ分けした後、グループごとの傾向を調べた。クラスター分析は、調査対象牛の中に娘牛が3頭以上いる父牛のみ(49頭)を対象とし、「渋い牛」は主搾乳時間と最大流速、「残乳が発生する牛」は後搾り乳量と後搾り時間のデータを用いた。なお、「階段状になる牛」は調査頭数が少なかったため、父牛との関連性は調べていない。

統計解析には PASW Statistic18 (IBM) を用いた。バイモダリティとライナースリップの発生率はカイ二乗検定、その他の項目は Mann-Whitney の U 検定を用いて解析を行った。

結 果

1 渋い牛

1) 定義の決定

渋い牛は、長い時間、遅い流速で射乳し続けることが特徴であるため、主搾乳期時間と最大流速を指標として用いた。

主搾乳期時間は、外れ値(データを小さい順に並べたときに下から75%に位置する値(第3四分位数)から25%に位置する値(第1四分位数)を引いた値を1.5倍して、その値を第3四分位数に足した値以上の値)(図6)を参考とし、10分以上と定義した。

最大流速は、第3四分位数を参考とし、4 kg/分以下と定義した。

以上の結果から、「主搾乳時間が10分以上」かつ「最大流速が4 kg/分以下」の牛を渋い牛とした。

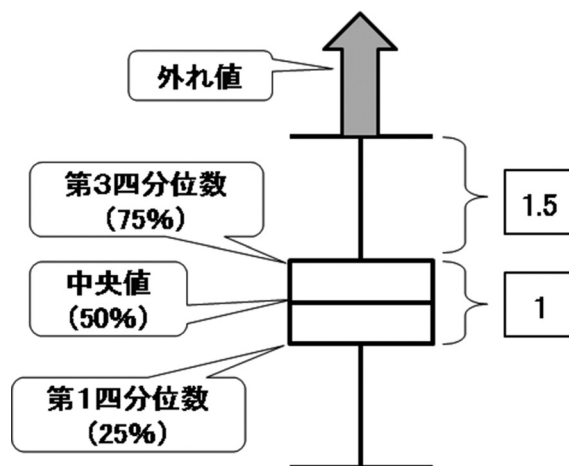


図6 四分位数と外れ値の模式図(箱ひげ図)

2) 発生要因の検討

(1) 発生率

調査対象876頭の内、192頭(21.9%)が渋い牛であった。

渋い牛の中で1産目からデータがある牛122頭のデータを用いて、渋い牛が最初に定義を満たした(初発)産次について調べた。1産目の時点で約65%の牛が定義を満たしていた。さらに、2産目までを合わせると、90%以上の牛が定義を満たしていた。そのため、産次や年齢を重ねることで渋くなる可能性は低いと考えられる(表1)。

表1 渋い牛の初発産次数と発生割合

産次 (産)	頭数 (頭)	発生割合 (%)
1	80	65.6
2	31	25.4
3	9	7.4
4産以上	2	1.6

(2) 調査項目

渋い牛は、主搾乳期時間だけでなく、他の搾乳期も全て他の牛よりも長かった(表2)。また、バイモダリティの発生率も高かった。これは、バイモダリティの発生は流速の高低差で判別されるため、最大流速が低い渋い牛ではラクトコードが判別しづらかった可能性が考えられる。さらに、ライナースリップの発生率が高かったが、これは渋い牛は搾乳時間が長く、他の牛よりもミルカーをつけている時間が

表2 渋い牛の各調査項目の平均値

	上昇期 (分)	停滞期 (分)	下降期 (分)	主搾乳期 (分)	最大流速 (kg/分)	BIMO ^{※1} (%)	LE ^{※2} (%)	標準乳量 (kg)	体細胞 リニアスコア
渋い	0.72	5.20	6.15	12.07	2.51	10.63	10.63	35.97	1.89
その他	0.62	2.15	2.43	5.20	3.96	15.27	3.17	32.53	2.39
有意差 ^{※3}	*	*	*	*	*	*	*	*	*

※1 バイモダリティ発生率

※2 ライナーズリップ発生率

※3 $P < 0.05$

長くなるため、ライナーズリップが発生する確率が高くなるためだと考えられる。

クラスター分析の結果、種雄牛49頭を3つのグループに分類した(図7)。

グループ2は、主搾乳期時間が短く、最大流速が早いという搾乳性が良いグループであったのに対し、グループ3は、主搾乳期時間が長く、最大流速が遅いという渋い牛の特徴を持つグループであった。また、グループ1は、主搾乳期時間、最大流速ともに中間に位置していた(図8)。

グループごとに種雄牛の傾向を調べてみた結果、グループ3に属する7頭の内、種雄牛Aを父牛または祖父牛に持つ種雄牛が3頭おり、Aの系統であると、搾乳性が悪く搾乳時間が長くなりやすいという傾向が見られた。そのため、種雄牛は搾乳性を決定する要因の一つであると考えられる。

しかし、他の種雄牛は各グループに散らばっており、渋い牛との関連は特に見られなかったため、渋い牛の発生には種雄牛を含めた複数の要因が関係していることが示唆された。

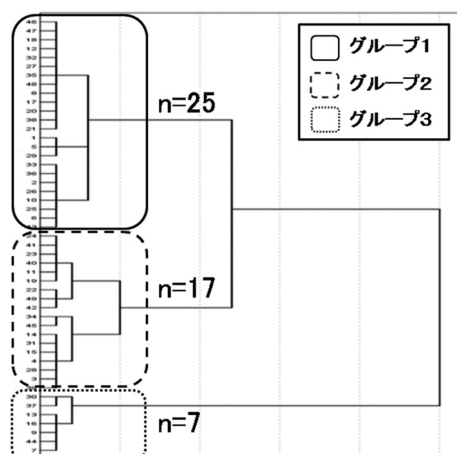


図7 主搾乳時間と最大流速による種雄牛のクラスター分析結果

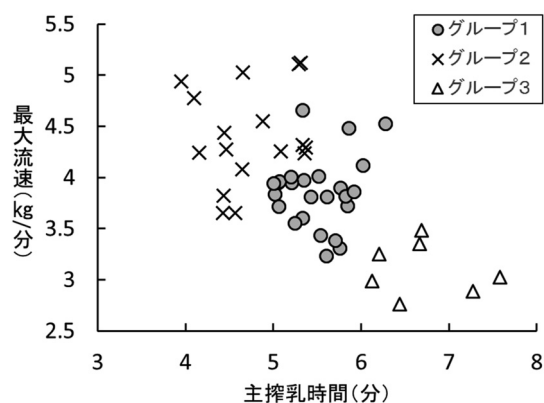


図8 種雄牛別の主搾乳時間と最大流速

2 残乳が発生する牛

1) 定義の決定

後搾り乳量の外れ値を参考にして、「後搾り乳量が1.2kg以上」の場合、残乳が発生したと定義した。

2) 発生要因の検討

(1) 発生率

調査対象876頭の内、365頭(41.7%)が「残乳が発生する牛」であった。

残乳が発生する牛の中で1産目からデータがある牛206頭のデータを用いて、初産産次について調べた。1産目の時点で約40%の牛が定義を満たしていた。さらに、2産目までを合わせると、約80%以上の牛が定義を満たしていた。そのため、産次や年齢を重ねることで残乳が発生する可能性は低いと考えられる(表3)。

表3 残乳の初産産次数と発生割合

産次 (産)	頭数 (頭)	発生割合 (%)
1	82	39.8
2	80	38.8
3	32	15.5
4産以上	12	5.8

(2) 調査項目

残乳が発生する牛は、流速の上昇期が長く、バイモダリティの発生率が高い、そして最大流速が低かった(表4)。これらの特徴は、搾乳前の前搾りが不十分であったり、ミルカーの装着のタイミングが適切ではない場合にみられる。そのため、前搾りやミルカー装着のタイミングなどの搾乳手技は残乳の発生の原因だと考えられる。

そのため、前搾りの回数を増やしたり、前搾りしてから1分～1分30秒後にミルカーを装着するなど

の搾乳手技の改善を行うことで、残乳の発生が減少する可能性が考えられる。

クラスター分析の結果、種雄牛49頭を3つのグループに分類した(図9)。

グループ1は、後搾り時間が短く、後搾り乳量が少ないグループであったのに対し、グループ2は、後搾り時間が長く、後搾り乳量が多いグループだった。また、グループ3は後搾り時間、後搾り乳量ともに中間に位置していた(図10)。

表4 残乳が発生する牛の各調査項目の平均値

	上昇期 (分)	停滞期 (分)	下降期 (分)	主搾乳期 (分)	最大流速 (kg/分)	BIMO ^{※1} (%)	LE ^{※2} (%)	標準乳量 (kg)	体細胞 リニアスコア
残乳	0.65	2.41	2.39	5.45	3.73	17.13	4.16	34.18	2.62
その他	0.62	2.24	2.56	5.42	3.92	14.96	3.39	32.59	2.37
有意差 ^{※3}	*		*		*	*		*	*

※1 バイモダリティ発生率

※2 ライナーズリップ発生率

※3 P<0.05

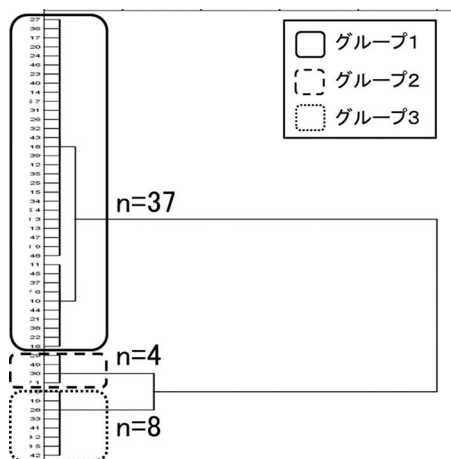


図9 後搾り乳量と後搾り時間による種雄牛のクラスター分析結果

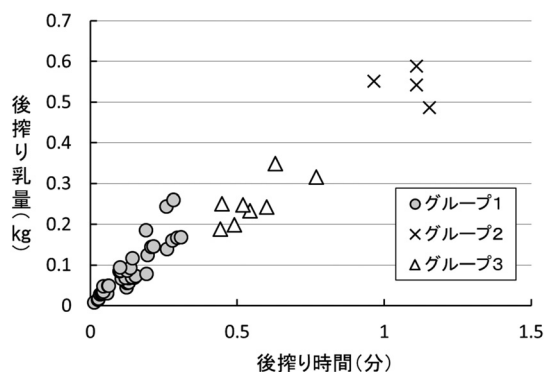


図10 種雄牛別の後搾り乳量と後搾り時間

グループごとに種雄牛の傾向を調べてみた結果、グループ2に属する4頭の内、種雄牛Bを父牛または祖父牛に持つ種雄牛が3頭おり、Bの系統であると、搾乳性が悪く、残乳が発生しやすい傾向が見られた。

次に種雄牛Bの血統の娘牛について調査した。今回の調査対象には種雄牛Bの血統の娘牛の頭数は9頭おり、7頭は後搾りをする農家a、2頭は後搾りをしない農家bの牛であった。農家別に種雄牛Bの血統の娘牛の後搾り時間と後搾り乳量のデータを集計すると、農家aの平均値は1.13分、0.56kgであったのに対し、農家bの平均値は0.16分、0.22kgであり、同じ種雄牛の血統の娘牛でも農家によって全く異なる結果となった。以上のことから、今回のクラスター分析結果には農家の搾乳手技が大きく影響したことが原因で、種雄牛の影響を正しく分析できなかったと考えられる。そのため、残乳と父牛との関連性を調査するためには、調査方法を改善する必要がある。

3 階段状になる牛

1) 定義の決定

ラクトコーダは、流速の値や傾き、単位時間(3回の測定インターバル=3×2.8秒=約9秒)あたりの差によって各搾乳期を判別している。そこで、

ラクトコーダの判別基準²⁾を参考とし、ラクトコーダグラフにおいて単位時間中の流速低下の傾きが約15% ($\tan 0.85$) 以下の場合を流速低下が停滞していると判定して、「下降期に30秒以上停滞している」場合を階段状になったと定義した(図11)。

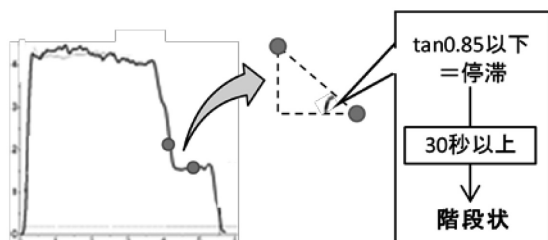


図11 階段状の定義

2) 発生要因の検討

(1) 発生率

調査対象171頭の内、150頭(87.7%)が階段状になる牛であった。農家別の発生率は、農家aは100%(57頭/57頭)、農家bは82%(93頭/114頭)が階段状と判定された。どちらの農家においても発生率が非常に高いことから、グラフが階段状になる、つまり各乳房によって搾り終わる時期が異なる現象は、

牛の生理的なものである可能性が高いと考えられる。

階段状になる牛の中で1産目からデータがある牛101頭のデータを用いて、初発産次について調べた。1産目の時点で約80%の牛が定義を満たしていた。そのため、産次や年齢を重ねることで階段状になる可能性は低いと考えられる(表5)。

表5 階段状の初発産次数と発生割合

産次 (産)	頭数 (頭)	発生割合 (%)
1	82	81.2
2	16	15.8
3	3	3

(2) 調査項目

階段状になる牛は下降期が長く、最大流速が小さかった(表6)。また、有意では無かったが、バイモダリティの発生率が高かった。以上の結果から、残乳が発生する場合と同様に、前搾りやミルカー装着のタイミングなどの搾乳手技も階段状になる要因の一つであると考えられる。

表6 階段状が発生する牛の各調査項目の平均値

	上昇期 (分)	停滞期 (分)	下降期 (分)	主搾乳期 (分)	最大流速 (kg/分)	BIMO ^{※1} (%)	LE ^{※2} (%)	標準乳量 (kg)	体細胞 リニアスコア
階段状	0.58	2.73	2.72	6.03	3.91	8.01	2.08	34.98	1.64
その他	0.60	2.28	1.66	4.54	4.30	6.84	2.90	32.36	1.70
有意差 ^{※3}		*	*	*	*			*	

※1 バイモダリティ発生率

※2 ライナーリップ発生率

※3 $P < 0.05$

参考文献

- 1) 相原光夫(2013)、今日も明日も牛群検定が約束するあなたの酪農経営!、デーリィ・ジャパン、P28
- 2) (一社)家畜改良事業団(2009)、泌乳グラフデータの解析と酪農家への指導、
http://liaj.lin.gr.jp/japanese/kentei/H21_dh_report/H21_dh_report_sanko3.pdf

謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご協力いただきました県内酪農家、(一社)高知県畜産会、中央家畜保健衛生所、西部家畜保健衛生所の皆様に心より感謝申し上げます。

小型電子乳量計とビデオを用いた搾乳作業改善 (第1報)

川原 尚人

Improvement of Milking Operation using Compact Electronic Milk Meters and Video Cameras Part1

Naoto Kawahara

要 約

乳牛の生産性低下の原因の1つである乳房炎の低減を目的として、搾乳作業改善のための手法を開発した。小型電子乳量計(ラクトコーダ)を用いて、搾乳作業および牛の反応についてモニタリングを行い、ビデオカメラを用いて、搾乳前作業から搾乳機器洗浄までの搾乳作業、牛の行動および搾乳環境を記録した。画像編集ソフトを用いて、搾乳作業の記録および農家指導用プレゼンテーション資料作成を同時に行い、関係者での指導内容の検討を経て、調査後1ヶ月以内に個別指導あるいは集合指導を行った。県外の関係者との意見交換で得られた知見を、手法の改善に取り入れることにより、家畜保健衛生所(以下、家保)職員の搾乳作業指導技術が向上した。

家保職員が、定期的に農家を訪問することによって、農家ごとの事情に対応した指導を行い、農家の搾乳作業が改善できた事例があった。

はじめに

乳牛が乳房炎に罹患すると、おもに白血球や上皮細胞に由来する乳中体細胞数が増加する。乳中体細胞数の増加は、生乳取引基準でのペナルティ徴収のみならず、乳量の減少や乳成分率の低下など、乳牛の生産性低下につながり、酪農経営上の障害である。

県内の乳質検査において、年間を通じて乳中体細胞数の生乳取引基準である30万個/ml以下だった農家は2009年には15.3%だったが、2011年には9.2%まで減少して、2012年には20.3%に回復した。

この結果から、県内の多くの酪農家が、乳中体細胞数のコントロールに苦慮していた。

一般に、乳房炎の発生には搾乳作業や搾乳機器の問題が大きく影響しているといわれているが、その問題点を明確に特定して指導するための手法は確立されていなかった。

そこで、高知県域牛群検定組合は、高知県酪農連合協議会の支援を受けて、生乳生産体制高度化推進

事業(乳用牛群乳質改善モデル事業)により、(一社)家畜改良事業団の助成を受けて、小型電子乳量計(ラクトコーダ: WMB(社) 以下、ラクトコーダ)を、2007年に8台、2008年に8台、計16台を導入した¹⁾。

高知県域牛群検定組合は、全国農業協同組合高知県本部や県内の家保など関係機関と連携して、牛群検定未加入農家に対して、ラクトコーダを貸し出すとともに、地域での勉強会や、徳島県の牛群検定農家との交流を通じて、牛群検定の新規加入を推進した。

その結果、県内の乳用牛群検定加入率は、2007年の24.2%から2010年の33.7%に増加した。2014年3月現在、牛群検定農家8戸が、ラクトコーダを使用して、毎月の検定を実施している。

2010年には、「乳用牛群乳質改善モデル事業」において、県畜産振興課萩原一也主幹(当時)が推進会議および情報処理技術専門部会委員に就任して、小型電子乳量計を用いた指導により、牛群の体細胞数が改善された事例報告を行った²⁾。

そして、2010年には、県中央家保から、ラクトコーダデータを十分に活用して、より効果的な指導に繋がっていくための試験研究課題化の要望が当场に提出された。

当场は、県中央家保からの試験研究課題化の要望に対して、試験研究課題ではなく、家保への技術支援事業として対応することとして、技術支援事業「酪農経営向上が期待できる生乳品質向上技術の確立（2011～2013年）」を実施した。

本技術支援事業では、(一社)高知県畜産会(以下、畜産会)及び家保と協力して、ラクトコーダとビデオを併用した、新しい搾乳作業改善方法の開発を行ったので報告する。

材料及び方法

1. 材料

- 1) ラクトコーダ (WMB 社) 16台 (図1)
- 2) ビデオカメラ (ソニー社) 2台
- 3) 動画編集ソフト
Windows Live MovieMaker (Microsoft 社)
- 4) 表計算ソフト Excel (Microsoft 社)
- 5) 統計処理ソフト PASW Statistic 18 (日本 IBM 社)

2. 方法

- 1) 調査農家は、牛群検定に参加している農家のうち、2012年7月から2013年10月までの期間に、ラクトコーダを使用した11戸。
- 2) 搾乳作業改善方法は、①調査打ち合わせ、②農場調査、③農場の状況分析、④分析結果及び指導内容の検討、⑤農家との個別指導及び集合研修、⑥県外関係者との研修による搾乳作業改善へのフィードバックの6手順を繰り返すことによって実施(図2、図3、図4)。
- 3) ラクトコーダを用いて、搾乳中の乳房内及びミルカ内で発生している現象とミルカ洗浄作業中に発生している現象について、詳細なデータを取得した。
- 4) 取得したデータは、LactoPro (WMB 社)を用いて csv 形式のファイルを作成して、表計算ソフト (Excel2007 Microsoft 社) のピボットテーブル

機能を用いて、農家指導用グラフを作成することにより、農場の状況分析を行った(図5、図6、図7、図8、図9)。

5) また、ビデオカメラを用いて、搾乳中の乳房内及びミルカ内で発生している現象とミルカ洗浄作業中に発生している各現象の原因と考えられる、農家の作業、ミルカの状況、牛の状況及び反応、搾乳機器洗浄状況、そして、牛舎環境について、撮影手順を統一して、画像を取得した。編集ソフト (Windows Liveムービーメーカー Microsoft (社))を用いて、取得した画像から、牛ごとに、搾乳作業の開始から終了までの経過時間を計測して、発生した現象や重要な項目の説明及び経過時間の字幕を挿入するとともに、搾乳作業終了の画像の後にラクトコーダグラフを挿入した、農家指導用ファイルを作成した(図10、図11、図13、図14)。

6) 農家との個別指導及び集合研修については、①推奨されている搾乳手順、②ラクトコーダ測定結果、③搾乳作業(農家指導用ファイル)、④農場に帰って何をしますか?の4手順に統一して進行的に進めた。



図1 ラクトコーダ



図2 農場調査



図3 農家との集合研修



図4 県外関係者との研修

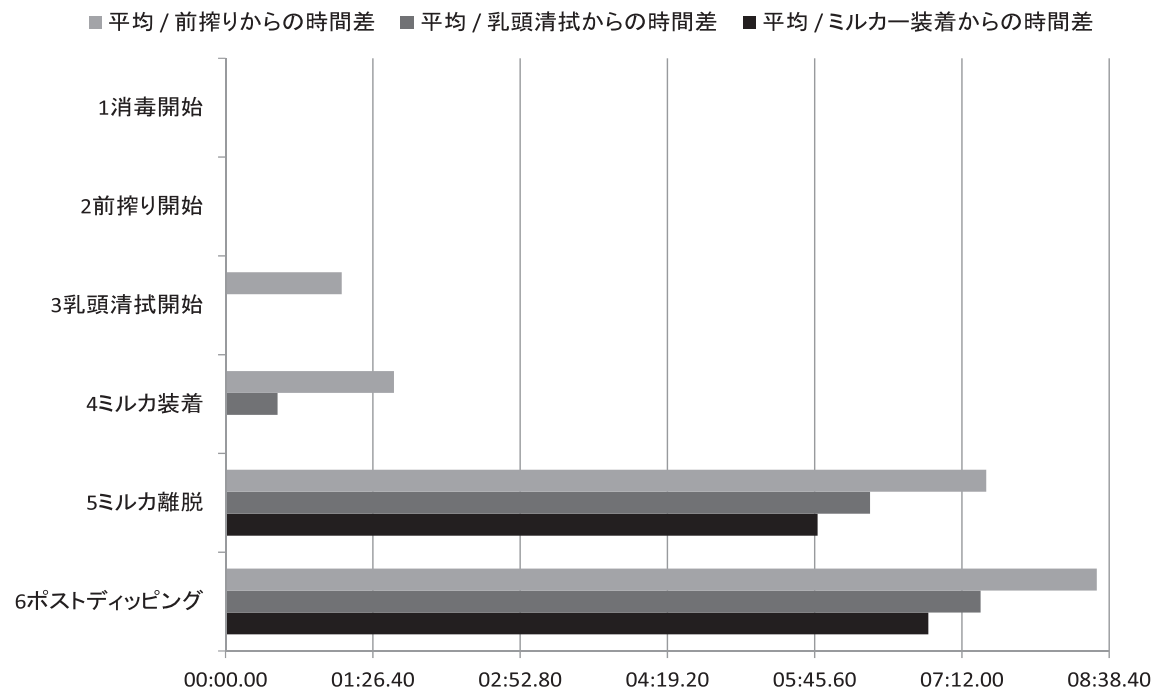


図5 平均時間計測結果例

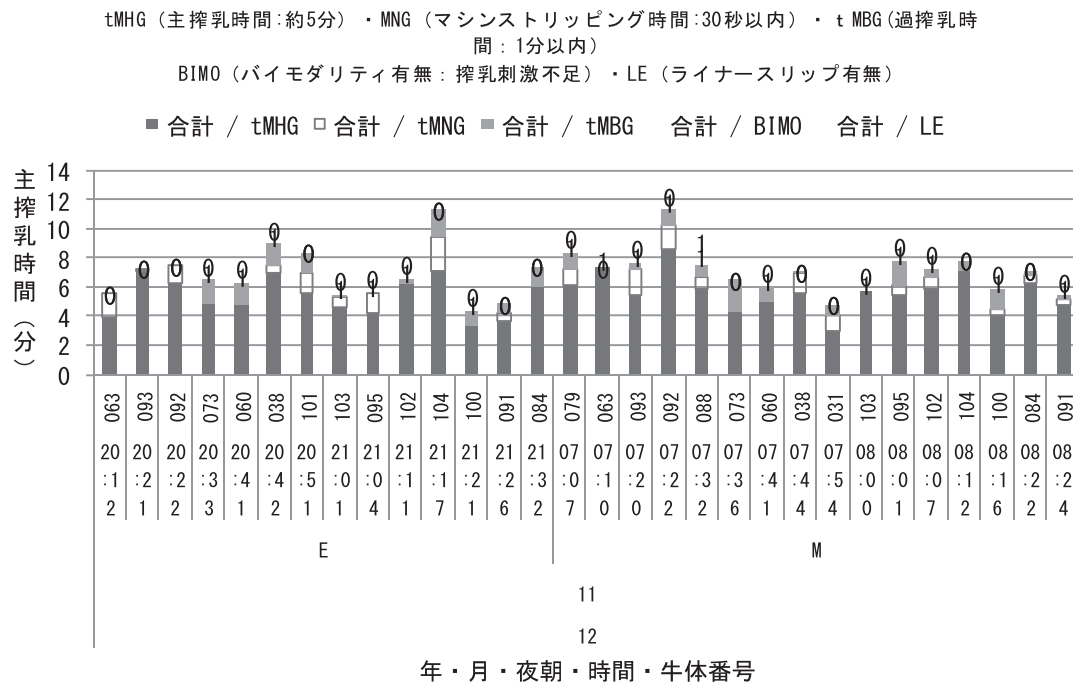


図6 搾乳順の各時間および有無項目における表示例

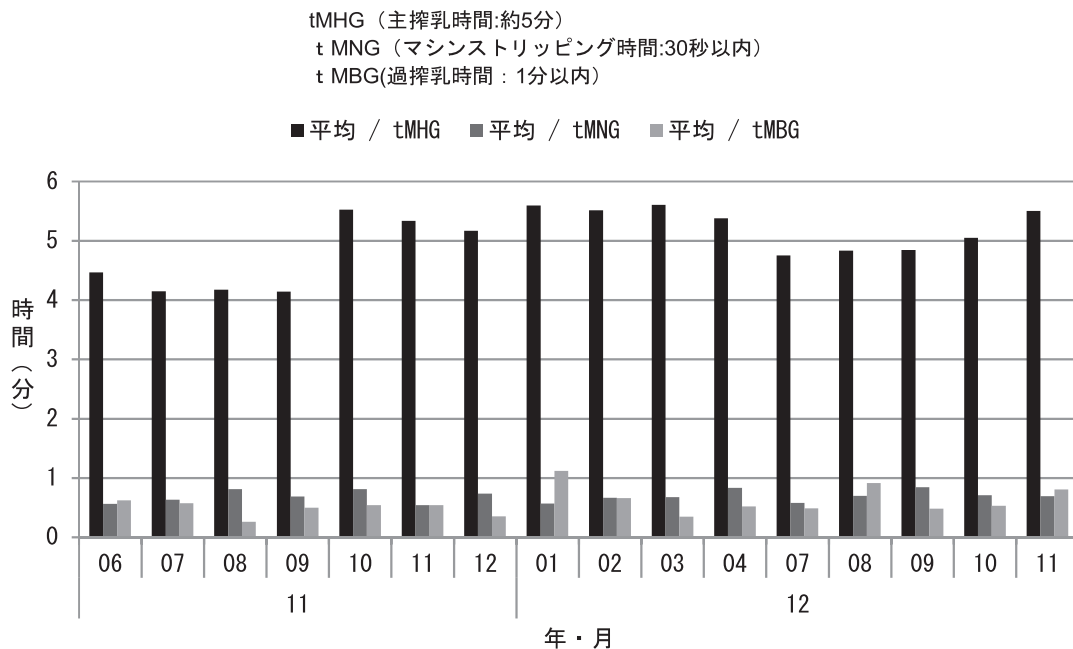


図7 搾乳時間項目の月推移

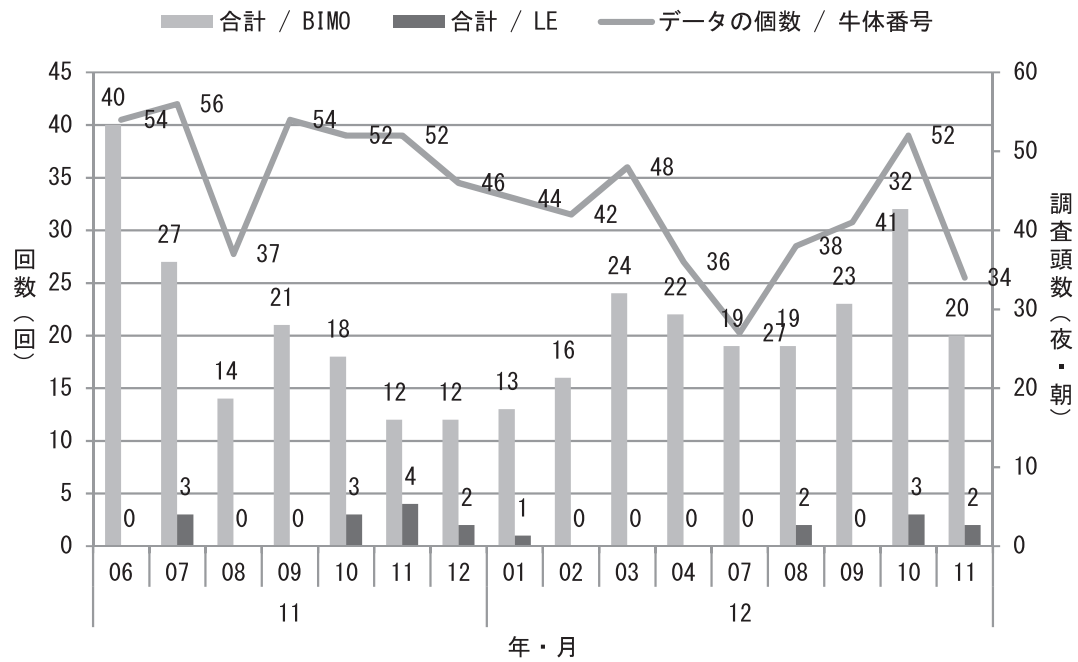


図8 パイモダリティおよびライナースリップ発生回数の推移

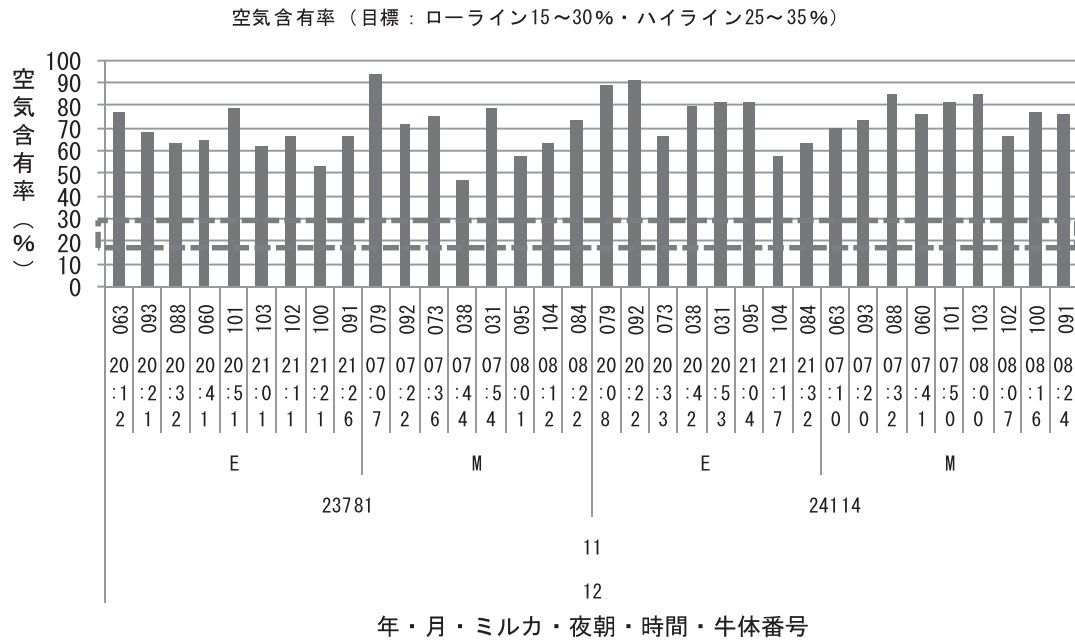


図9 ミルカおよび搾乳ごとの空気含有率



図11 動画編集ソフト（時間計測・動画作成）

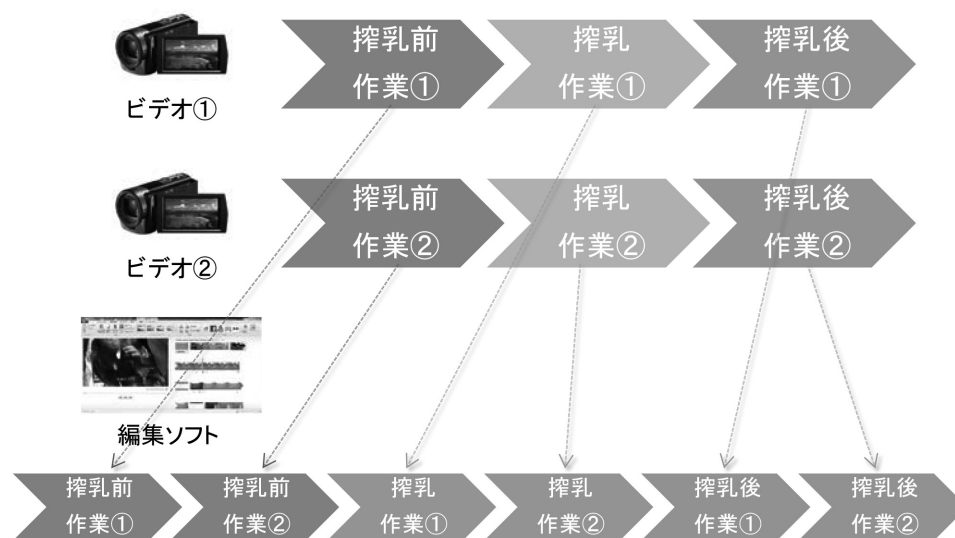


図12 ビデオ編集の方法



図13 撮影した搾乳作業と字幕の例



図14 撮影した搾乳準備、搾乳環境および洗浄状況

結果及び考察

調査農家11戸のうち、調査期間中に月平均乳中体細胞数が30万個/mlがひと月でもあった農家が6戸、ひと月もなかった農家が5戸であった（図15）。

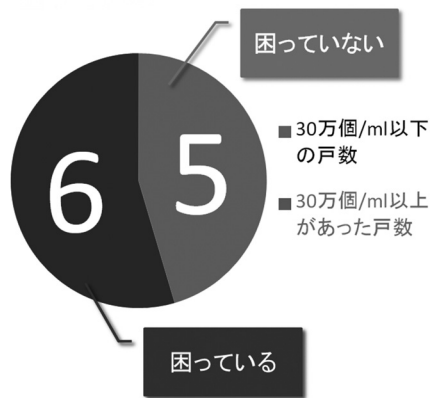


図15 月平均体細胞数30万個/ml以上の戸数

搾乳手順は10種類あり、先に前搾りを行う農家が6戸、先に乳頭清拭を行う農家が5戸であった（図16）。

搾乳調査農家11戸のうち、乳頭への負担を増加させる平均過搾乳時間が、設定目標の60秒以内を超えていたのは2戸であった（図17）。

調査した、21,651回の搾乳における、過搾乳時間のヒストグラムを作成した。平均過搾乳時間は、38.4秒であった（図18）。

平均過搾乳時間と1人あたりのミルカ台数の間には、高い相関が認められた（ $R^2=0.4456$ ）（図20）。

1人あたりのミルカ台数が3台を超えると、平均搾乳時間が50秒を上回っていた。ミルカ台数を2台/人に減らすこと、搾乳中にミルカのクロー内を流れる生乳から目を離さないこと及び過搾乳警報装置を活用することを指導して、調査を継続している。C農家では、家保職員が、平均過搾乳時間が増加し

農場	A	B	C	D	E	F	G	H	I	j	K
1	ブレDip	乳頭清拭	乳頭清拭	前搾り	前搾り	前搾り	前搾り	乳房清拭	乳房乳頭清拭	消毒	乳頭清拭
2	前搾り	前搾り	前搾り	乳頭清拭	乳頭清拭①	乳頭清拭	乳房清拭	乳頭清拭①	前搾り	前搾り	前搾り
3	乳頭清拭	M装着	ブレDip	M装着	乳頭清拭②	ブレDip	乳頭清拭	前搾り	M装着	乳頭清拭	M装着
4	M装着	M離脱	ブレDip拭取	M離脱	M装着	ブレDip拭取	ブレDip	乳頭清拭②	M離脱	M装着	M離脱
5	M離脱	ポストDip	M装着	ポストDip	M離脱	M装着	ブレDip拭取	M装着	ポストDip	M離脱	ポストDip
6	ポストDip		M離脱		ポストDip	M離脱	M装着	M離脱		ポストDip	
7			ポストDip			ポストDip	M離脱	ポストDip			
8							ポストDip				

M:ミルカ Dip:ディッピング

図16 調査農家の搾乳手順

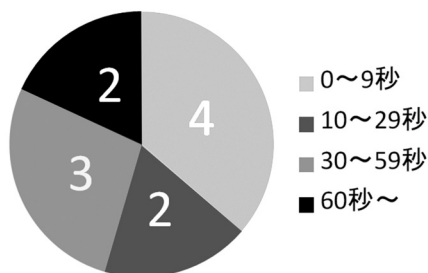


図17 平均過搾乳時間の戸数分布

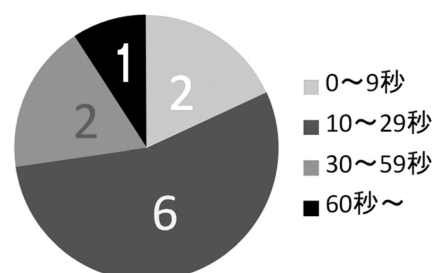


図18 平均マシンストリップング時間の戸数分布

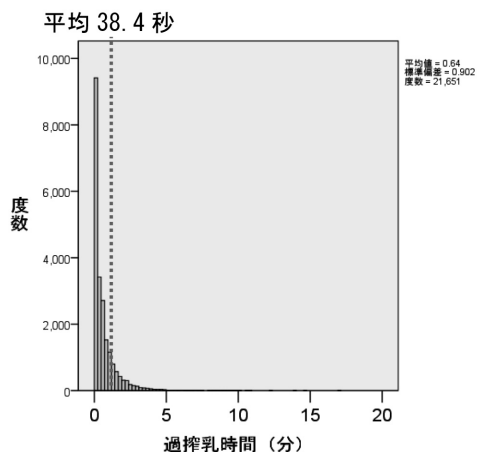


図19 過搾乳時間のヒストグラム

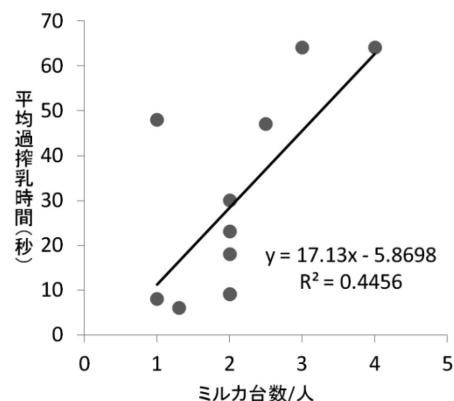


図20 平均過搾乳時間と1人あたりミルカ台数との関係

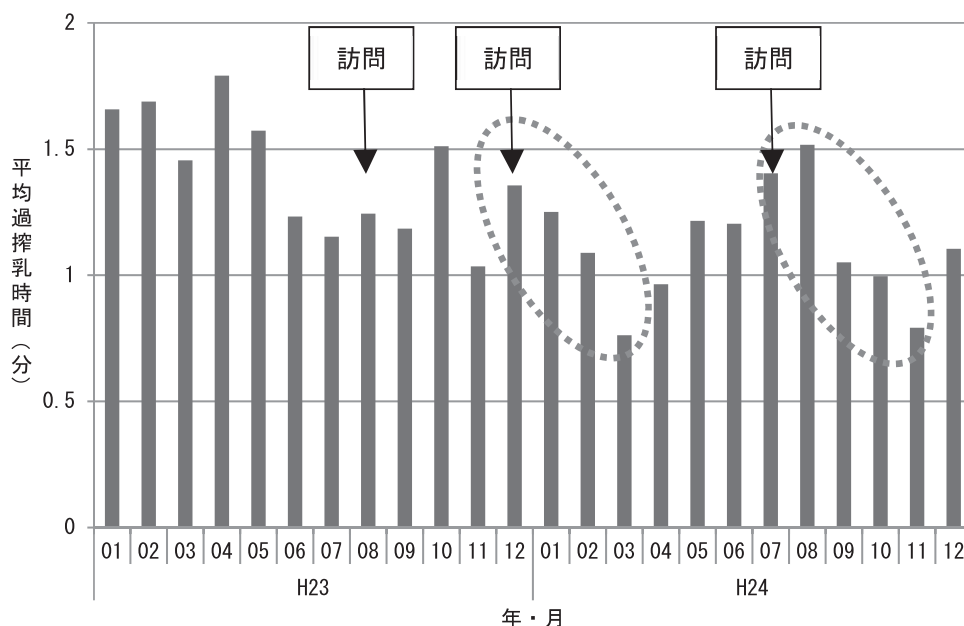


図21 C 農家の平均過搾乳時間の推移

たことを確認して、家保職員が、C 農家を訪問して過搾乳をしないことの重要性を説明すると、C 農家の平均過搾乳時間が減少した(図21)。

乳頭を傷つけ、ライナースリップの原因になる平均マシンストリップ時間が、設定目標の30秒を超えていたのは3戸であった(図18)。

残乳量が少ない牛にはマシンストリップをしないよう指導をして、調査を継続している。

搾乳調査農家11戸のうち、搾乳刺激不足の目安であるバイモダリティ発生率が、設定目標の10%以下であったのは2戸であり、9戸が10%以上であった(図22)。

前搾りの回数と強さを増やすよう指導したとこ

ろ、3戸で調査期間中に改善が見られ、残る6戸は調査を継続している(図24、図25、図26)。

乳頭口を傷つけるおそれがあるライナースリップ発生率は、設定目標を0%としたが、4%以下であった8戸を許容範囲として、10%を超えていた2戸に、ミルカ装着前に、乳頭が十分に膨らんだことを確認すること及び乳頭に残った水分を十分に清拭するよう指導をして、調査を継続している(図23)。

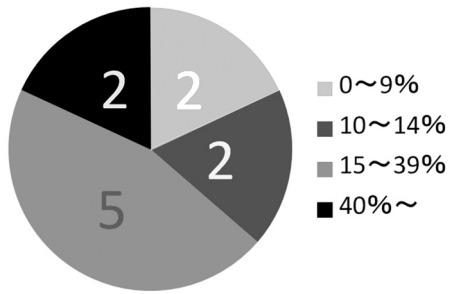


図22 平均バイモダリティ発生率の戸数分布

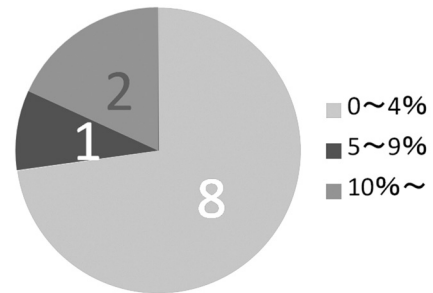


図23 平均ライナースリップ発生率の戸数分布

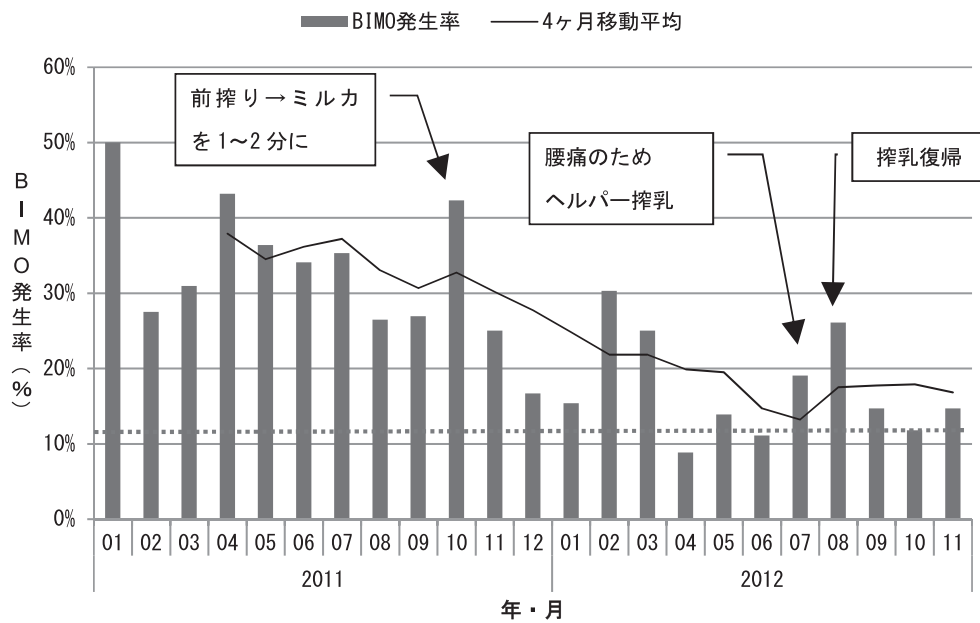


図24 B 農家の平均バイモダリティ発生率推移

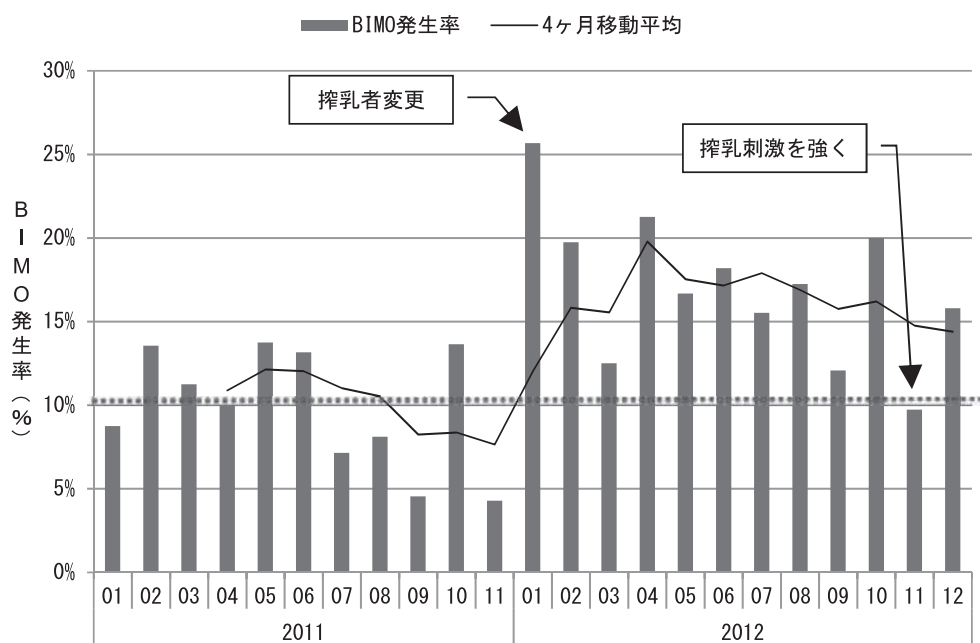


図25 E 農家の平均バイモダリティ発生率推移

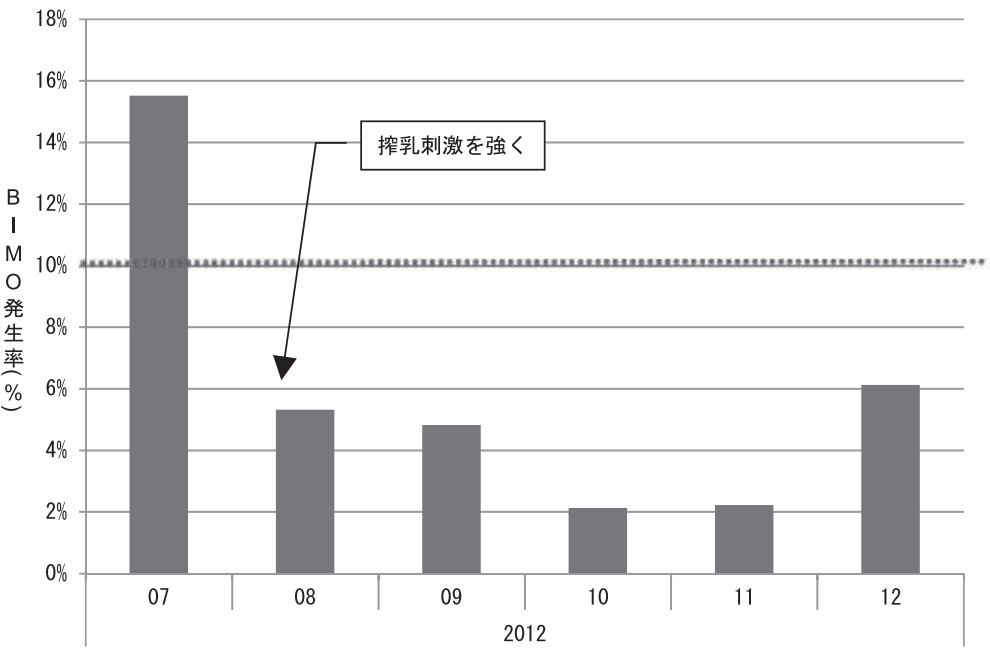


図26 K 農家の平均バイモダリティ発生率推移

搾乳機器洗浄については、洗浄モニタリング項目を設定して、洗浄結果のグラフと洗浄のようすを撮影したビデオ画像を、農家に提示することで指導を行った（表1、図14）。
搾乳機器洗浄調査農家8戸のうち、湯温が低い農家が4戸あった。満水率は7戸が満たされており、乱流率は、7戸が十分であった。

湯温が低かった4戸のうち2戸がボイラーの湯温設定を変更して、改善された。
また、満水率及び乱流率に問題があった1戸で、破損していた洗浄タップを交換した後、搾乳機器の改善を確認した（図28、図29）。

表1 洗浄モニタリング項目

項 目	内 容	適正範囲
温度	洗浄水の温度	ぬるま湯（40℃）又は水
		前すぎ 高い温度のお湯で洗浄すると、乳タンパク質が変性し、その後の洗剤でも汚れが落ちなくなる
		主洗浄 アルカリ洗剤、酸性洗剤が働く温度範囲 → 60～80℃ 酸性洗剤が働く温度範囲は排出される温度が 40℃以上 循環した洗浄水が 40℃以下になると汚れが再付着
		後すぎ ぬるま湯（40℃）又は水
電気伝導度	洗剤の濃度	アルカリ洗剤、酸性洗剤 0.5% 殺菌剤 300 倍（電気伝導度は反応なし）
満水率	洗浄水の量	
乱流率	洗浄の強さ	

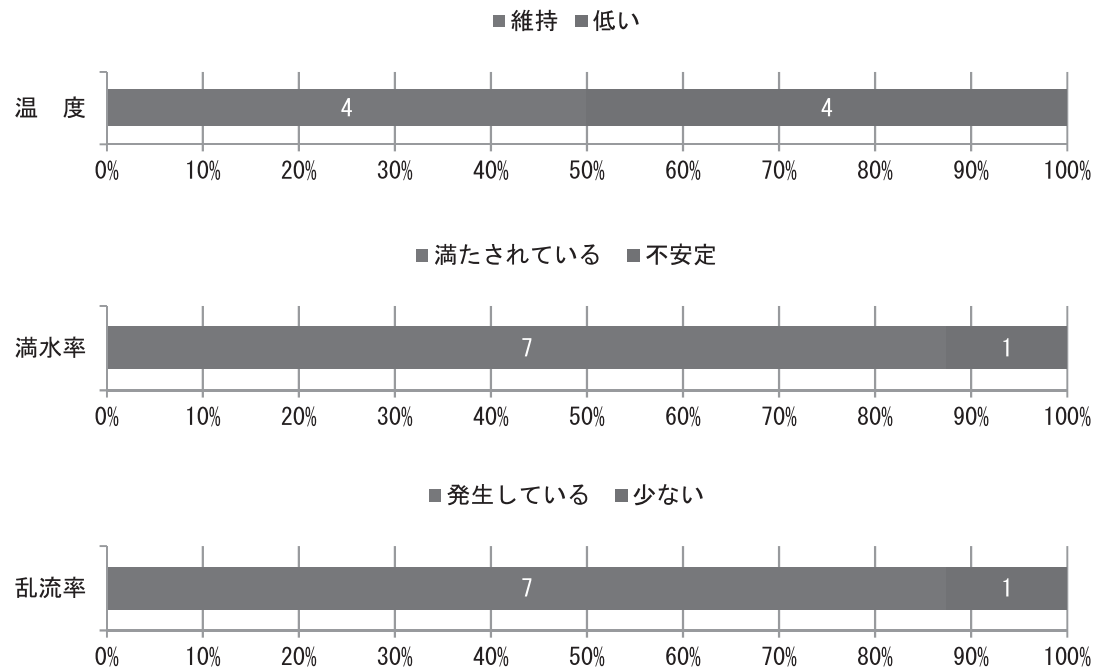


図27 洗浄モニタリング項目の結果

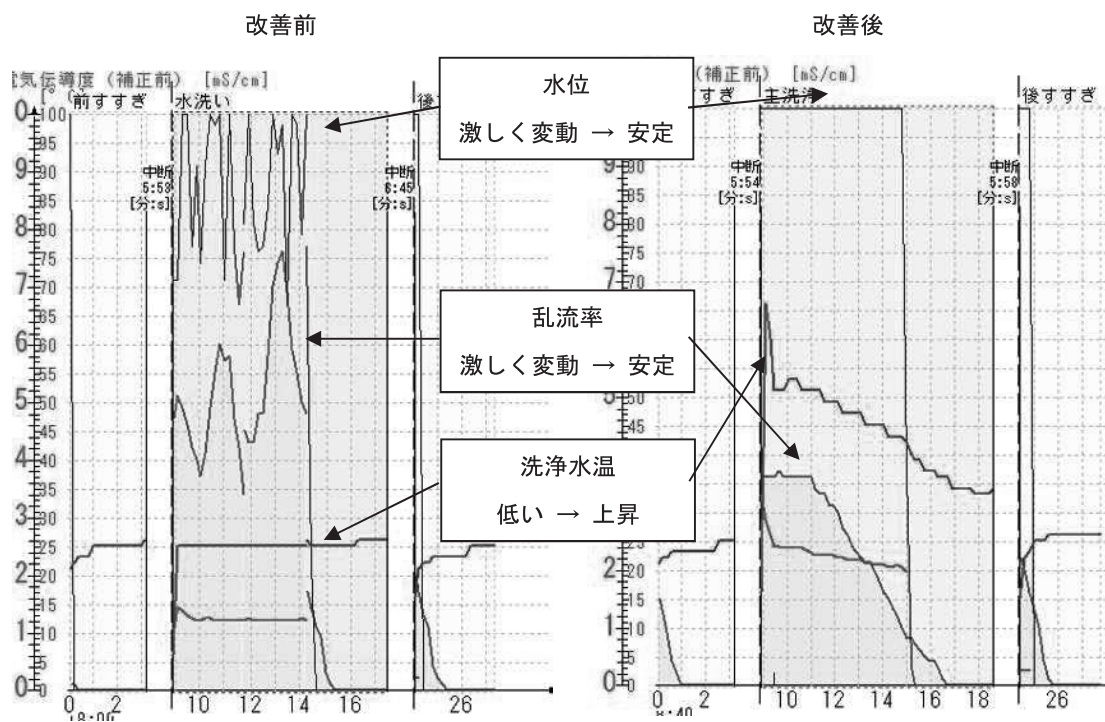


図28 洗浄モニタリングの改善例

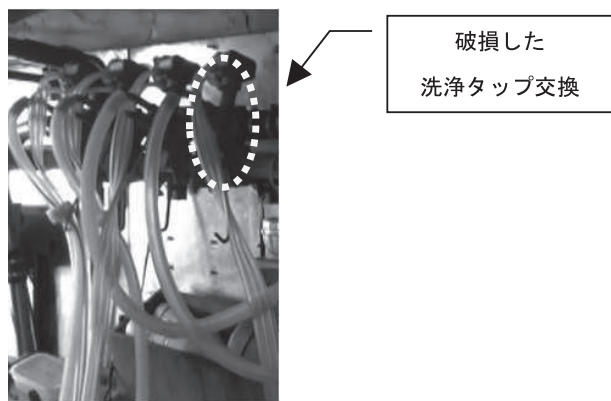


図29 改善した洗浄タップ

今回の取り組みでは、関係者間で調査準備を入念に行うとともに、速報性を重視するため、調査、分析結果及び指導内容の検討および農家説明までを1ヶ月以内で行った。

調査農家ごとに、調査項目、調査手法および注意点について、畜産会、家保および畜試で打ち合わせを行い、現地調査を行った。

ビデオ撮影に当たっては、ビデオ撮影必須項目および撮影順序について、家保および畜試で統一して撮影した。ビデオカメラは搾乳者1名に1台を用いた。牛群検定初日の夜に、リハーサル撮影を行い、翌日朝に調査用の撮影を行った。

これは、夜間の撮影では、光量が少ないため、農家の手元や乳頭が撮影できないこと、農家の搾乳作業を妨げない撮影位置および撮影方法を決定すること、農家と牛に、ビデオ撮影に慣れていただくことを目的としたためであった。

ラクトコーダデータおよびビデオ画像は、家保および畜試が解析を行った。

ラクトコーダデータについては、定型的な項目について、ラクトコーダからインポートしたCSV形式ファイルをExcel 2007のピボットテーブル機能を用いたファイルに読み込むことで、ラクトコーダデータ入手日に多面的なグラフを作成して、指導案を検討した。

ビデオ画像については、撮影日の午後に、編集ソフトに画像ファイルを取り込んだ。これは、ビデオカメラ2台で搾乳作業2時間とすると、合計4時間の長時間の画像ファイルが生成される。字幕とラクトコーダグラフを挿入して、見せたい画像をすぐに農家に見ていただくために、カーソルで頭出しができる編集ソフトを用いて、プレゼンテーションを行った。

字幕に表示する、関連項目の時間計測については、編集ソフトの時間表示をExcel 2007に入力することで、平均値の算出および農家へのプレゼンテーション用グラフの作成を行った。

分析結果及び指導内容の検討個別指導では、搾乳刺激、過搾乳時間、マシンストリップ時間、ライナースリップ回数及び残乳量などを、牛ごとに数値化して、ビデオ画像で記録した実際の搾乳作業と牛の反応と関連づけて、具体的に農家に説明することで、説得力が向上して、農家の理解が深まり、農家の搾乳作業見直しのきっかけになった(図30)。

また、今まで、農家及び関係者が見過ぎていた、搾乳機器の洗浄状況を確認することができた。

そして、農家の反応及び事情を加味して、段階に応じた、無理のない、搾乳作業改善方法の開発に繋がった。

集合研修では、農家が、今まで見る機会がなかったお互いの搾乳作業を、説明付きビデオ画像で見ることで話がはずみ、指導者が気づけなかった現象の原因や改善方法を、農家同士で教え合うことで、改善効果が高まった(図3)。

農家指導用ファイルは、編集ソフトの操作に習熟すれば約半日で作成可能であり、大山乳業視察研修(2012年3月5日、大山乳業農業協同組合)、(一社)家畜改良事業団主催の平成24年度乳用牛の飼養管理技術改善システム開発事業に係る小型電子乳量計システム情報収集会議(2015年2月26日～27日、ふくおか県酪農業協同組合)、ラクトコーダ利用検討会(2013年2月28日～3月1日、(公財)中国四国酪農大学校)、平成25年第1回窓口団体担当者会議(2013年8月28日～8月29日、土佐香美農協)およびラクトコーダ利用検討会(2014年2月18日～2月29日、高知ちばさんセンター)など、県内外の関係者との情報交換時にも、具体的な説明資料として使用できた(図4)。

今後は、県内の全農家が、導入したラクトコーダとビデオを使用して、搾乳作業及び搾乳機器洗浄作業のモニタリングと改善を不断に行うことで、県内で生産される生乳の品質向上及び維持に勤め、県産の牛乳及び乳製品の商品価値を高めるとともに、農家の労力負担軽減およびカウコンフォートに役立つことができれば幸いである。

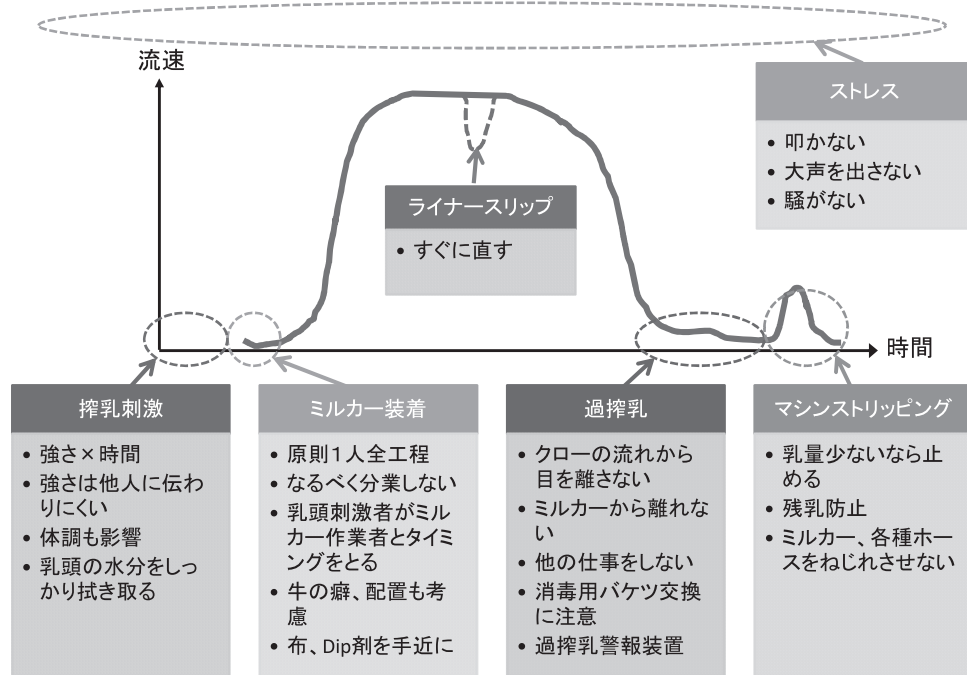


図30 搾乳作業のポイント

謝 辞

本技術支援事業の実施にあたり、県内外の農家、(一社)高知県畜産会、高知県農業共済組合、(一社)家畜改良事業団、大山乳業農業協同組合、おかやま酪農業協同組合、(公財)中国四国酪農大学校、(株)ラクトシステムの方々および農家指導に熱意を持って取り組んでいただいた、日高拓郎、米田佐知、山崎也寸志、市川恭子、山崎慎一郎、萩原一也、美馬伸吾、久保紀恵、森木啓、堤聡太郎、橘川雅紀、濱田けいの各位に多大なご協力をいただきましたことに深謝いたします。

引用文献

- 1) (株)ラクトシステム HP
- 2) 平成21年度生乳生産体制高度化推進事業(乳用牛群乳質改善モデル事業)事業報告書。(社)家畜改良事業団, 2010.

小型電子乳量計とビデオを用いた搾乳作業改善 (第2報)

川原 尚人

Improvement of Milking Operation using Compact Electronic Milk Meters and Video Cameras Part2

Naoto Kawahara

要 約

第1報で、乳牛の生産性低下の原因の1つである乳房炎の低減を目的として、小型電子乳量計（ラクトコーダ）およびビデオカメラを用いた農家指導用プレゼンテーションの作成および関係者での指導内容の検討を経て、調査後1ヶ月以内に調査農家に対して個別指導あるいは集合指導を行った後、家畜保健衛生所職員（以下、家保職員）が定期的に農家を訪問して農家ごとの事情に対応する、搾乳作業改善のための手法を開発したことを報告した。

家保職員が3年間行った搾乳作業改善の結果、農家の搾乳作業が改善できた事例があった。

しかし、調査対象農家の平均体細胞数の12ヶ月移動平均は減少したが、年間に有意差は認められなかった。搾乳作業の改善だけでは、乳牛の乳房炎への罹患を防ぐことはできず、搾乳作業改善と牛の飼養環境改善を併せて、継続する必要があると考えられた。

はじめに

乳牛が乳房炎に罹患すると、おもに白血球や上皮細胞に由来する乳中体細胞数が増加する。乳中体細胞数の増加は、生乳取引基準でのペナルティ徴収のみならず、乳量の減少や乳成分率の低下など、乳牛の生産性低下につながり、酪農経営上の障害である。

一般に、乳房炎の発生には搾乳作業や搾乳機器の問題が大きく影響しているといわれているが、その問題点を明確に特定して指導するための手法は確立されていなかった。

第1報で、（一社）高知県畜産会及び家保と協力して、ラクトコーダとビデオを併用した、新しい搾乳作業改善方法の開発を行ったことを報告したが、本報告では、家保職員が、新しい搾乳作業改善方法による農家指導を3年間継続した結果を報告する。

材料及び方法

1. 材料

- 1) ラクトコーダ（WMB 社）16台（図1）
- 2) ビデオカメラ（ソニー社）2台
- 3) 動画編集ソフト
Windows Live MovieMaker（Microsoft 社）
- 4) 表計算ソフト Excel（Microsoft 社）
- 5) 統計処理ソフト PASW Statistic 18（日本 IBM 社）



図1 ラクトコーダ



図2 農場調査



図3 農家との集合研修



図4 県外関係者との研修

2. 方法

- 1) 調査農家は、牛群検定に参加している農家のうち2009年から2013年までの期間に、ラクトコーダを使用した農家（表1）。

表1 調査農家戸数

年	調査戸数	ビデオ 撮影戸数
2009	2	
2010	8	
2011	9	5
2012	10	5
2013	10	3

- 2) 搾乳作業改善方法は、①調査打ち合わせ、②農場調査、③農場の状況分析、④分析結果及び指導内容の検討、⑤農家との個別指導及び集合研修、⑥県外関係者との研修による搾乳作業改善へのフィードバックの6手順を繰り返すことによって実施（図2、図3、図4）。
- 3) ラクトコーダを用いて、搾乳中の乳房内及びミルカ内で発生している現象とミルカ洗浄作業中に発生している現象について、詳細なデータを取得

した。取得したデータは、LactoPro（WMB）を用いてcsv形式のファイルを作成して、表計算ソフト（Excel 2007 Microsoft 社）のピボットテーブル機能を用いて、農家指導用グラフを作成することにより、農場の状況分析を行った。

- 4) また、ビデオカメラを用いて、搾乳中の乳房内及びミルカ内で発生している現象とミルカ洗浄作業中に発生している各現象の原因と考えられる、農家の作業、ミルカの状況、牛の状況及び反応、搾乳機器洗浄状況、そして、牛舎環境について、撮影手順を統一して、画像を取得した。編集ソフト（Windows Live ムービーメーカー Microsoft（社））を用いて、取得した画像から、牛ごとに、搾乳作業の開始から終了までの経過時間を計測して、発生した現象や重要な項目の説明及び経過時間の字幕を挿入するとともに、搾乳作業終了の画像の後にラクトコーダグラフを挿入した、農家指導用ファイルを作成した。
- 5) 農家との個別指導及び集合研修については、①推奨されている搾乳手順、②ラクトコーダ測定結果、③搾乳作業（農家指導用ファイル）、④農場に帰って何をしますか？の4手順に統一して進行的（図5）。

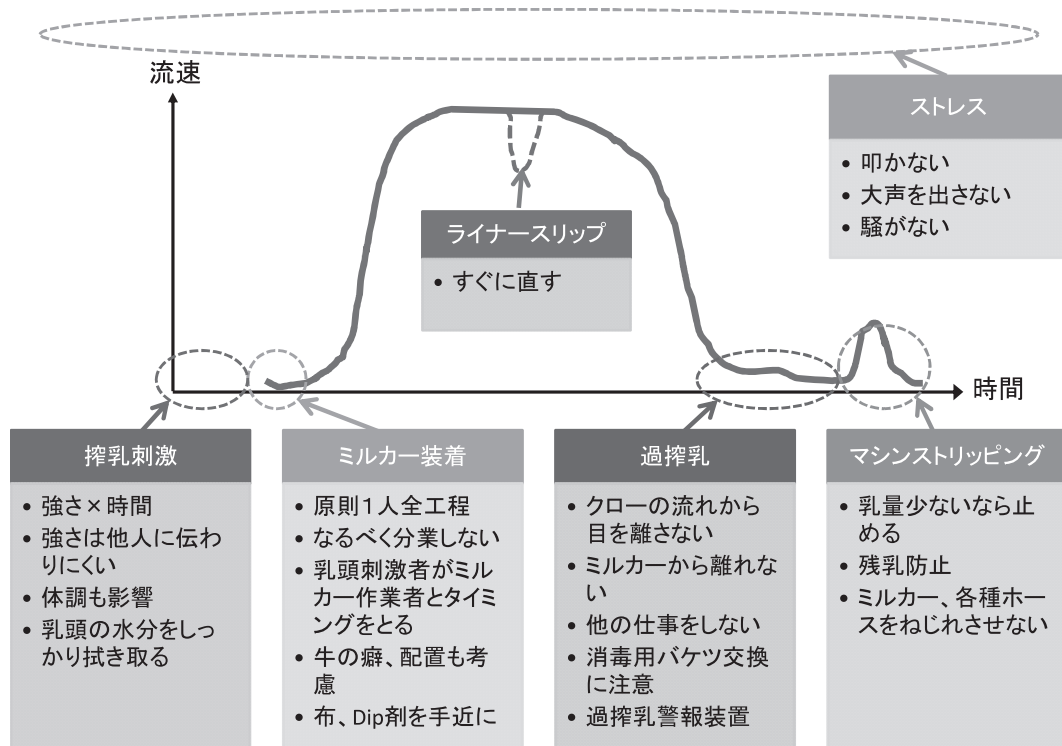


図5 搾乳作業のポイント

結果及び考察

1. 平均バイモダリティ発生回数

調査期間中に、1戸が増加して、2戸が増加して減少して、他の農家は横ばいであった。バイモダリティ発生回数は前搾り刺激不足の目安である。増加していた1戸は、前搾り刺激が不足しており、一旦増加して、その後、下降した2戸は、家保職員の指

導により、搾乳時の前搾り刺激を強くしたと思われる(図6)。

従来から、平均バイモダリティ発生回数が少なかった他の農家は、十分な前搾り刺激を乳頭に与えていたと思われる。

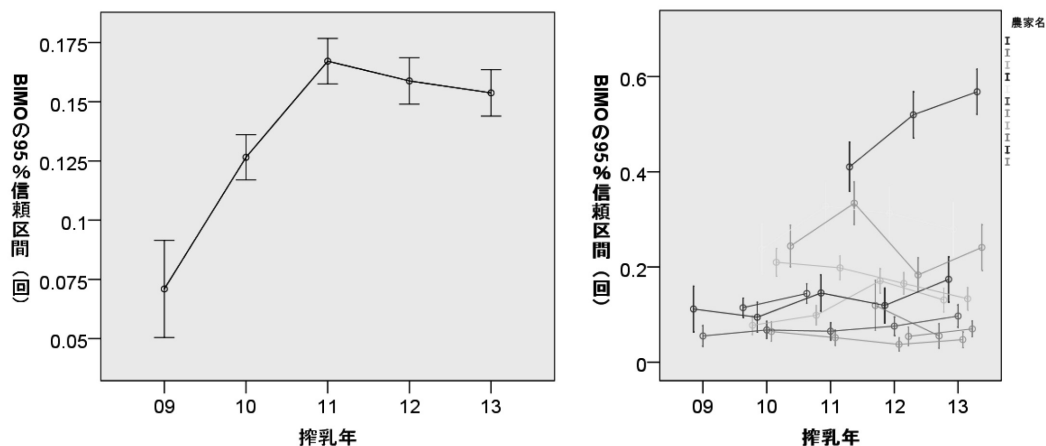


図6 平均BIMO (バイモダリティ) 発生回数の推移

2. 平均 Ts500（流速が 0.5 kg/min に達するまでの時間）

期間中に、1 戸が長く、その後、減少した。他の農家には、大きな変動は認められなかった（図 7）。

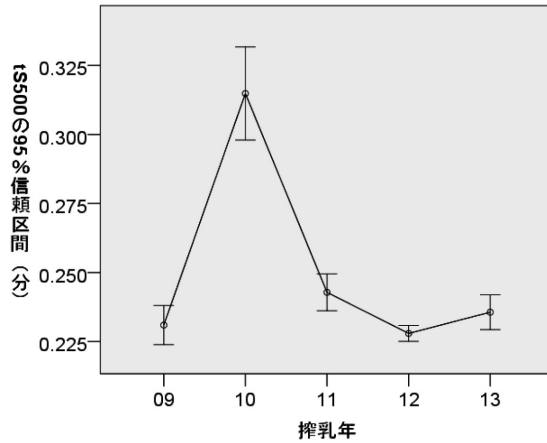


図 7 平均 ts500（流速が 0.5 kg/min に達するまでの時間）の推移

3. 平均 HMF（最高流速の到達時間）

農家間の数値に幅があった（図 8）。

4. 平均 tMHG（主搾乳期時間：上昇期＋停滞期＋下降期）

農家間の数値に幅があった（図 9）。

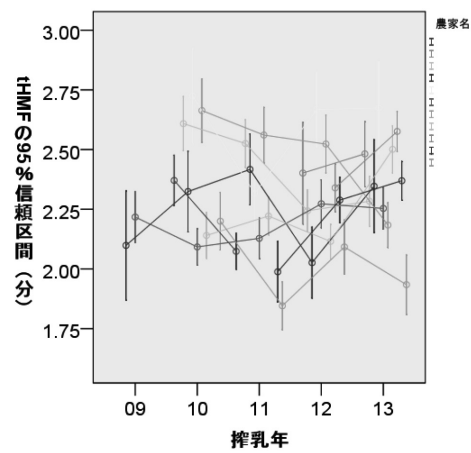
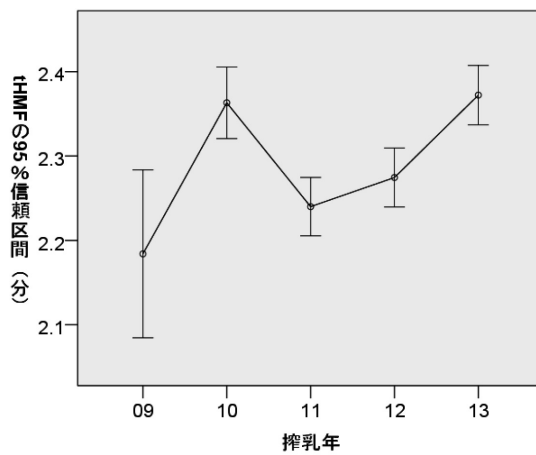
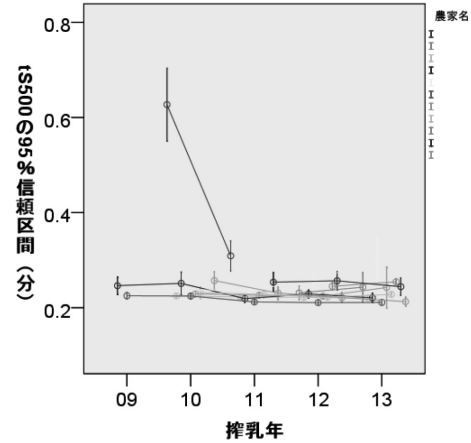


図 8 平均 HMF（最高流速の到達時間）の推移

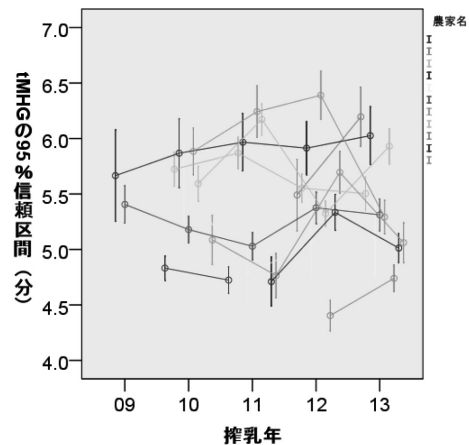
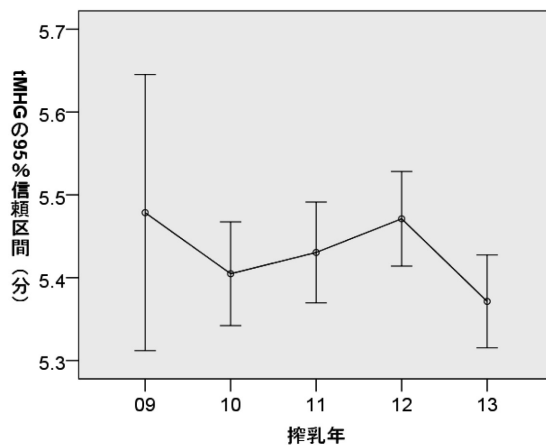


図 9 平均 tMHG（主搾乳期時間：上昇期＋停滞期＋下降期）の推移

5. 平均 tMBG (過搾乳時間)

3戸が減少して、他の農家には、大きな変動は認められなかった (図10)。

過搾乳は人為的な要因で引き起こされるため、過搾乳時間が減少した3戸は、家保職員の指導を受けて、過搾乳を引き起こさない改善を実施したと思われる。

主搾乳期の搾乳時間と全乳量間には、中間の強さ ($R^2=0.361$) の相関が認められた (図11左)。

また、主搾乳期の搾乳時間に過搾乳時間およびマシンストリップング時間を加えた全搾乳時間と全乳量間には、中間の強さ ($R^2=0.273$) の相関が認められた (図11右)。

図11左において、囲み A に分布していた搾乳は、ラクトコーダの操作ミスが原因と思われた。囲み B に分布していた搾乳は、主搾乳期の搾乳時間が10分間以内であり、乳量が25kg/回を超えていたことから、乳量が多かったため、搾乳時間を要していたと考えられた。囲み C に分布していた搾乳は、主搾乳期の搾乳時間が10分間を超えており、乳量が25kg/回以上の搾乳があったが、乳量が25kg/回未満の搾乳については、過搾乳を行わないこと、および牛が要因である場合には、当該牛の淘汰、あるいは当該牛の後継牛を残さないことが、搾乳時間の短縮に有効と思われた。

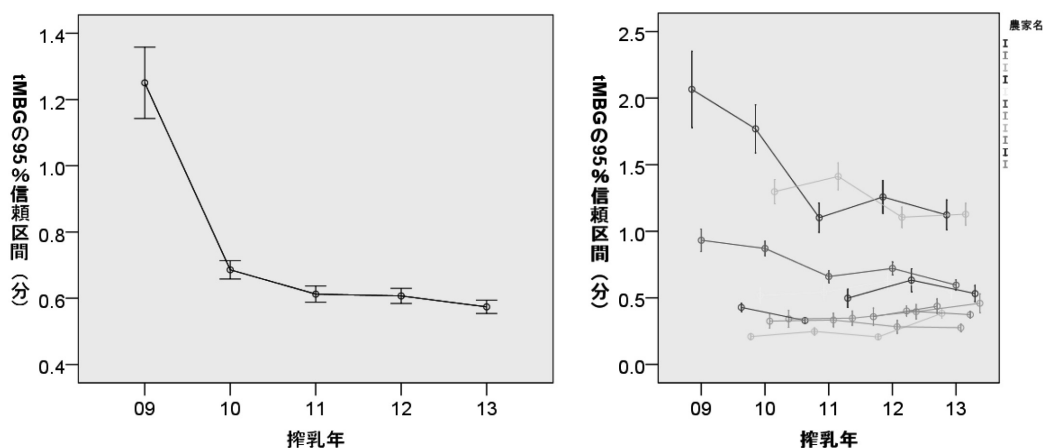


図10 平均 tMBG (過搾乳時間) の推移

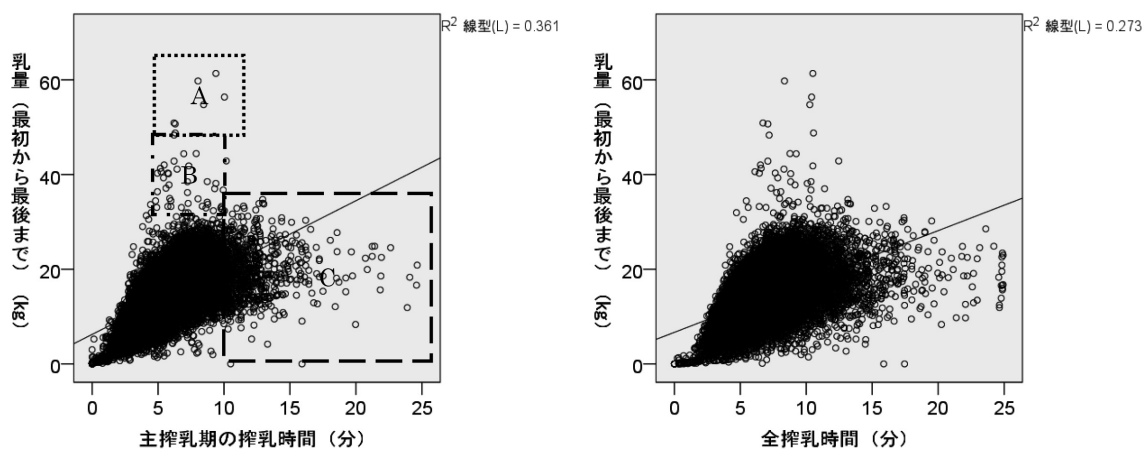


図11 主搾乳期の搾乳時間および全搾乳時間と乳量との関係

6. 平均 tMNG（マシンストリップング時間）

3戸のマシンストリップング時間が長く、3戸のマシンストリップング時間が減少して、5戸が短かった（図12）。

マシンストリップング時間が長い3戸は、マシンストリップングを継続して、マシンストリップング時間が減少した3戸は、マシンストリップングを少なくして、マシンストリップング時間が短かった5戸は、マシンストリップングが少なかったと思われる。

マシンストリップングを行う農家は、過去に、乳牛の乳房に残乳があると、乳房炎の原因になると教わった経験があり、後搾りを止めることに納得をしていなかった。

家保職員は、農家にラクトコーダで残乳量を確認していただき、残乳が多い乳牛については、マシン

ストリップングを容認して、残乳が少ない乳牛については、マシンストリップングをしないよう指導を行った。マシンストリップング乳量が減少した3戸は、マシンストリップングの回数を少なくしたと考えられた。

マシンストリップング時間とマシンストリップング乳量の間には、強い相関（ $R^2=0.749$ ）が認められた（図13）。

図13において、囲み A に分布していた搾乳は、マシンストリップング乳量が2 kg 以上あり、農家がマシンストリップングを行うことを容認せざるを得ないと思われたが、囲み B に分布していた搾乳は、マシンストリップング乳量が2 kg 未満であり、農家は、マシンストリップングを中止することが望ましいと考えられた。

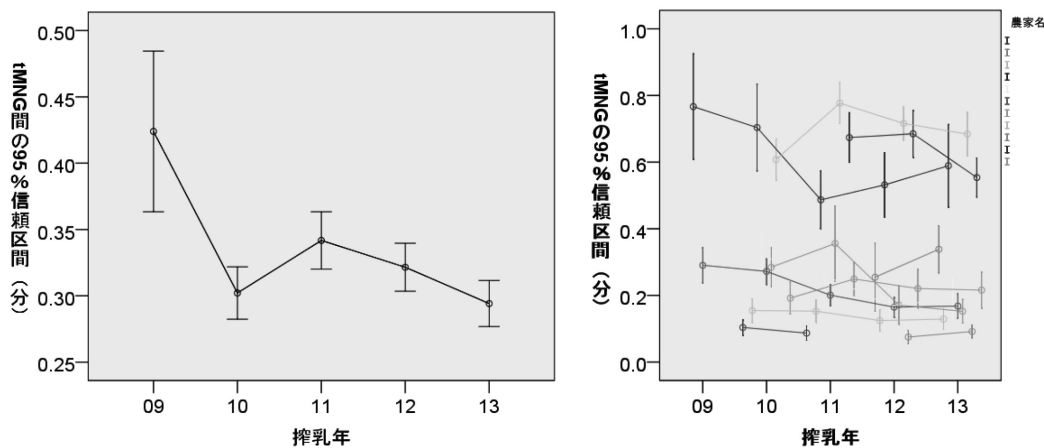


図12 平均 tMNG（マシンストリップング時間）の推移

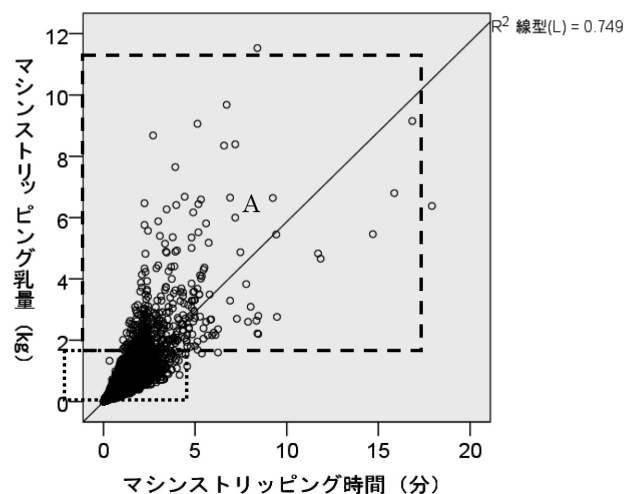


図13 マシンストリップング時間のマシンストリップング乳量の関係

7. LE（ライナースリップ）の有無

1戸のライナースリップの発生が多く、5戸のライナースリップの発生が減少して、5戸のライナースリップの発生が少なかった（図14）。

ライナースリップの発生が多かった農家が減少した。

5戸でライナースリップの発生が減少したのは、家保職員が、ライナースリップの原因になるマシンストリップングを行わないこと、および、ミルカ装着前に、乳頭が十分に膨らんだことを確認すること及び乳頭に残った水分を十分に清拭するよう指導を行って、農家が実施したためと思われる。

8. 平均ELAP（流速上昇期の最大電気伝導度）

2戸でELAPが高めで推移して、3戸で一旦上昇して、低下して、6戸が横ばいであった（図15）。

乳牛が乳房炎に罹患すると、乳中の塩化ナトリウムが増加して、電気伝導度が上昇すると言われている。

泌乳初期に電気伝導度が上昇する場合は、前搾りを十分に行っていなかったことが原因と考えられた。

一旦上昇して、低下した3戸については、前搾りの強さおよび回数を増やして、前搾り乳を十分に取り除いたことにより、流速上昇期の最大電気伝導度が低下したと思われる。

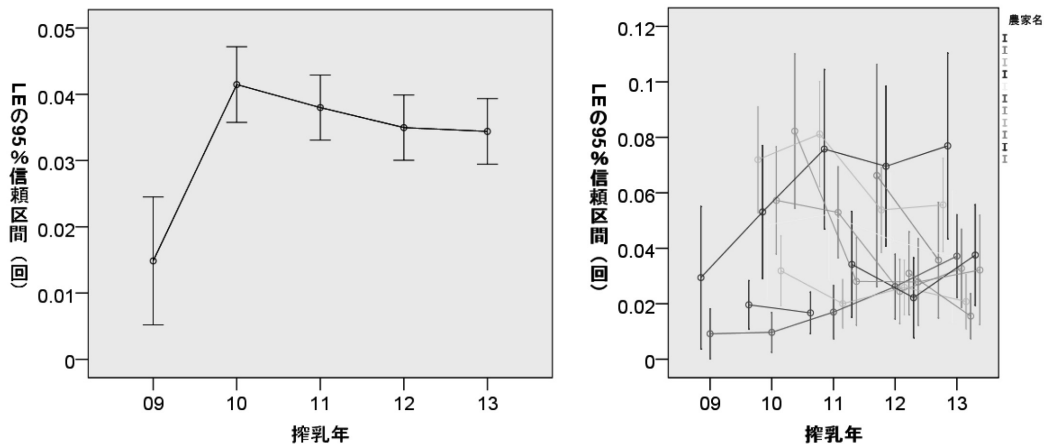


図14 平均LE（ライナースリップ発生回数）の推移

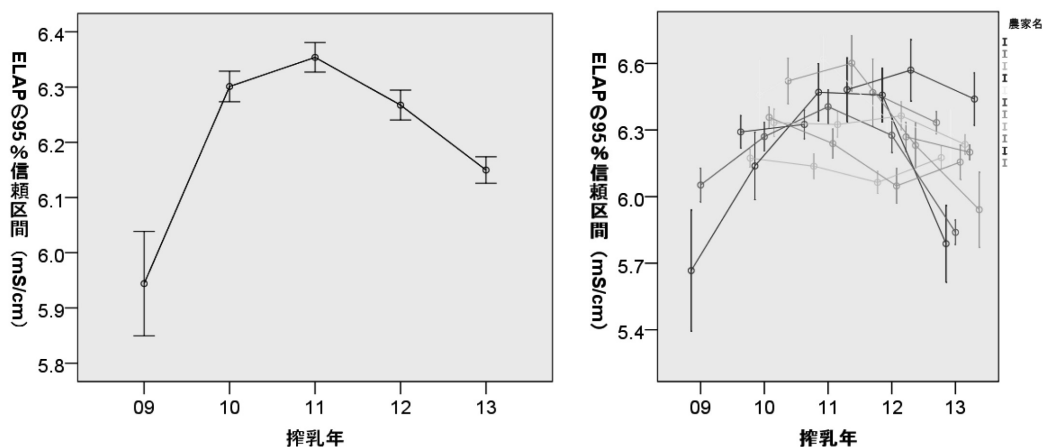


図15 平均ELAP（搾乳初期の最大電気伝導度）の推移

9. 平均 ELMNG（後搾り期の最大電気伝導度）

農家間の数値に幅があり、期間中に大きな変動は認められなかった（図16）。

泌乳後半に電気伝導度が上昇する場合は、搾乳時に最後に搾り残った乳区で、乳房炎に感染した確率が高まると言われている。

農家ごとに最後に搾り残った乳区が乳房炎に感染する可能性に違いがあり、期間中に大きく変動しなかったと思われた。

ビデオ撮影を開始した2011年から2013年の期間において、調査対象農家の平均体細胞数の12ヶ月移動平均は減少したが、年間を比較すると有意差は認められなかった（図17）。

今回の取り組みにより、搾乳作業の改善を行うことで、乳房炎感染リスクを低減することはできたが、搾乳作業の改善だけでは、乳房炎罹患を防ぐことはできなかったと思われた。搾乳作業改善と牛の飼養環境改善を併せて、継続する必要があると考えられた。

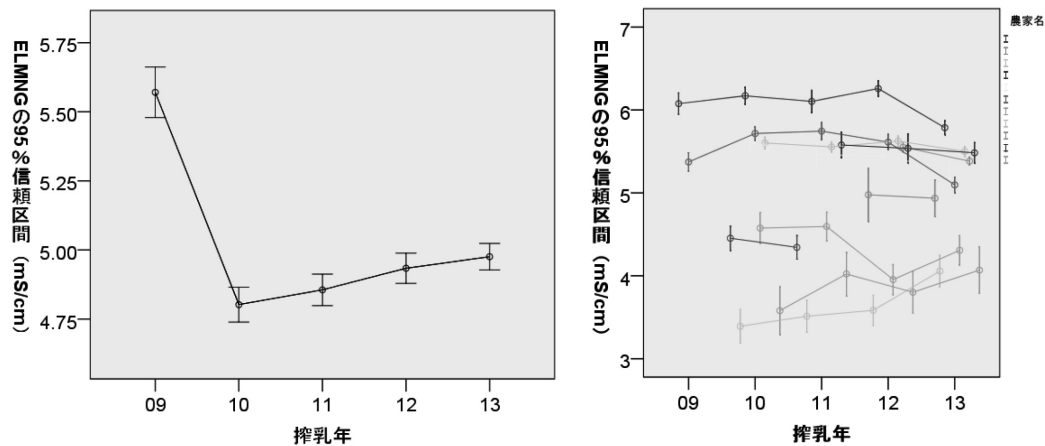


図16 平均 ELMNG（後搾り期の最大電気伝導度）の推移

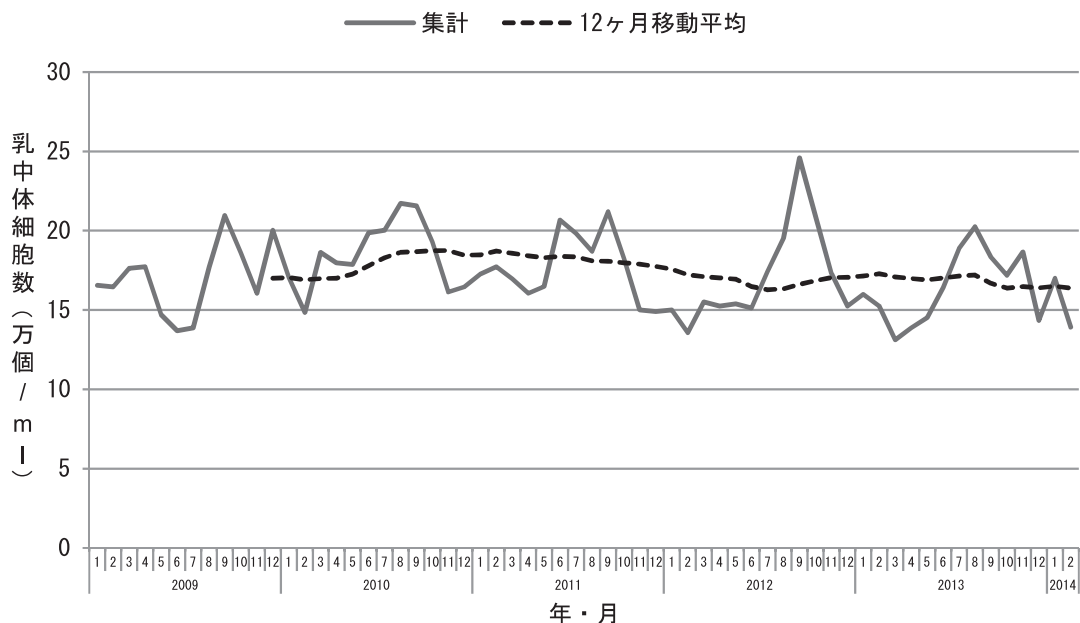


図17 調査対象農家の平均体細胞数の推移（単純平均）

謝 辞

本技術支援事業の実施にあたり、ご協力いただいた県内外の農家、(一社)高知県畜産会、高知県農業共済組合、(一社)家畜改良事業団、大山乳業農業協同組合、おかやま酪農業協同組合(公財)中国四国酪農大学校、県内外の関係機関の方々および農家指導に熱意を持って取り組んでいただいた、日高拓郎、米田佐知、山崎也寸志、市川恭子、山崎慎一郎、萩原一也、美馬伸吾、久保紀恵、森木啓、堤聡太郎、橘川雅紀、濱田けいの各位に多大なご協力をいただきましたことに深謝いたします。

参考文献

1. 平成21年度生乳生産体制高度化推進事業(乳用牛群乳質改善モデル事業)事業報告書。(社)家畜改良事業団, 2010.
2. (株)ラクトシステム HP
3. 小型電子乳量計とビデオを用いた搾乳作業改善(第1報)高知畜試, 2017

ウシ性判別胚の効率的作出に繋がるサンプリング法の検討

近森太志・西川弘子・山崎也寸志・野村泰弘*

Development of Sampling Methods to efficiently product bovine sexing embryos

Taishi Chikamori, Hiroko Nishigawa, Yasushi Yamasaki and Yasuhiro Nomura

要 約

体外受精 (In Vitro Fertilization、以下、IVF) 胚を用いて、金属製マイクロブレードによる垂直胚切断法 (以下、Mb 法) と割球吸引 (Absorb) 法 (以下、Ab 法) によるサンプリング後の生存率を比較した。

サンプリング後の生存率は、IETS (International Embryob Transfer Society ; 国際受精卵移植学会) の胚の品質判定¹⁾ Code2の fair (以下、B ランク胚) の Mb 法、凍結融解後では、Code1の good (以下、A' ランク胚) で Ab 法が高く、胚のランクにより生存率に違いが見られた。

今回の比較においては、体外受精から5日目の桑実胚期 (Morula、以下、M) の Ab 法、6日目の胚盤胞期 (Blastocyst、以下、BL) の Mb 法を組み合わせることで、効率的に性判別胚数を増やす可能性が示唆された。

はじめに

ウシの雌雄産み分け技術は、体格が大きく販売に有利な去勢牛を指向した肥育素牛生産や、乳牛の後継雌牛生産など、畜産経営に有用な技術として、畜産現場から期待されている。

ウシの雌雄産み分け技術については、性判別精液を用いた方法と、胚の一部をサンプリング (胚切断法^{2) 3)}、透明帯切開法⁴⁾、割球吸引法^{5) 6)}、酵素融解法⁷⁾、細胞剥離法⁸⁾ などが試みられている) 後、細胞の DNA を Polymerase Chain Reaction (PCR) 法や Loop-mediated Isothermal Amplification (以下、LAMP 法) 法⁹⁾ を用いて性判別する方法があり、新鮮胚移植で良好な成績が得られている。

しかし、サンプリング後の胚を凍結保存した場合、生存率が低下することが課題であり、解決策として、サンプリング時の胚損傷の少ない割球吸引法の有効性が報告されている^{5) 6)}。

今回は、受胎率の高い性判別胚の作出を目的として、体外受精胚を用いたサンプリングにおける Mb 法と Ab 法の比較を行った。統計処理方法は χ^2 検定を用いた。

材料及び方法

試験1：食肉処理場由来体外受精胚 (以下、食由-IVF 胚) におけるサンプリング方法の生存性調査

1 材料

食肉処理場での卵巣 (黒毛和種、褐毛和種、交雑種を含む) の採材及び卵丘細胞卵子複合体 (Cumulus-Oocyte Complexes : COCs) の吸引はウシ生体卵子吸引・体外受精技術マニュアル¹⁰⁾ に準じて処理をおこなった。

試験には、卵子分類¹¹⁾ の Grade1 (G1)、Grade2 (G2) の卵子を供試した (表1)。

採取した COCs は、0.02AU/mlFSH (アントリン R10 ; 共立製薬) + 1 μ g/mlEstradiol-17 β (Sigma) + 0.2mM ピルビン酸ナトリウム (Sigma) + 10 μ M dbcAMP (Sigma) + 5 % 非働化ウシ胎児血清 (FCS ; MP Biomedicals) 添加 TCM-199 (Gibco) 培地にて 5 %CO₂、95%Air、38.5℃、湿度飽和状態で22~24時間成熟培養を行った。媒精は、媒精基本液 [(株) 機能性ペプチド研究所] とウシ血清アルブミン (BSA ; Sigma) を用いたカフェイン (Sigma) -ヘパリン (持田製薬) 法で、凍結精液

*西部家畜保健衛生所

を融解後 6.0×10^6 個/mlの精子濃度で6時間媒精を行った。発生培養は、卵丘細胞の裸化後、3 mg/mlBSA + 2 % BME (SIGMA) + 1 % MEM (Gibco) + 0.25mg/mlLAA (Sigma) + 5 %FCS 添加 m-SOF [(株) 機能性ペプチド研究所] 培地で 5 % O₂、5 % CO₂、90%N₂、38.5℃の湿度飽和状態で培養を行った。供試胚は、当試験場の体外受精胚生産で多い A' および B ランク胚を用いた。

表1 卵子分類

G1:	透明体の周囲を卵丘細胞が4層以上取り囲んでいる
G2:	透明体の周囲を卵丘細胞が1~3層(放線冠細胞も含む) 附着している
G3:	卵丘細胞が透明帯の周りの部分的(1/3以下) に附着している
G4:	完全に裸化されている
G5:	卵丘細胞が膨化している
G6:	卵丘細胞の附着状態にかかわらず卵細胞質が変性している

2 方法

1) Mb 法

サンプリングは、体外受精日を0日として6日前後の BL の A' および B ランク胚をシャーレに滴下した0.1M スクロース (Wako) + 0.2mM ピルビン酸ナトリウム (Wako) 添加 D-PBS (+) (m-PBS ; Takara Bio) 内にて、マイクロマニピレーター (Nikon and Narishige) に装着したマイクロフェザープレート (Feather K-715) を用いて、栄養膜細胞10%程度を垂直胚切断後、発生培養培地に戻して24時間後に胞胚腔の有無で生存率を調査した。

2) Ab 法

ガラス製毛細管 (Drummond MICROCAPS 50 μ l) から、マイクロマニピレーションシステム (Narishige) およびマイクロフォージ (Narishige) を用いて、Holding、Cutting、Injection の3種類のピペット (以下 PP) を作成した。

サンプリングは、体外受精日を0日として5日前後の M の A' および B ランク胚を、シャーレに滴下した発生培養培地内にてマイクロマニピレーターに装着した HoldingPP に保持して透明帯を CuttingPP にて穿刺切開、InjectionPP を挿入し割球 (2~3 個) を吸引後、発生培養培地に戻して48時間後に胞胚腔の有無で生存率を調査した。

3) 超急速ガラス化保存 (クライオトップ法)

生存性確認した胚を、平衡液 (VS15) : 7.5% エチレングリコール (EG ; 和光純薬) + 7.5% ジメチルスルホキシド (DMSO ; ナカライテスク) + 20%CS 添加 m-PBS (+) に3分静置後、ガラス化保存液 (VS33) : 16.5%EG + 16.5%DMSO + 0.5M スクロース + 20%CS 添加 m-PBS (+) の微小滴とともに胚を、クライオトップ [(株) 北里バイオファルマ] に付着させ、1分後に液体窒素内へ投入した¹²⁾。

4) 凍結保存胚融解生存性調査

Mb 法、Ab 法で超急速ガラス化保存した胚を、シャーレ内に38.5℃に加温した20%CS 添加 m-PBS (+) 内で5分静置した後、0.01M システアミン塩酸塩 (Sigma) + 20%FCS 添加 TCM199に移して、5 % O₂、5 % CO₂、90%N₂、38.5℃の湿度飽和状態で培養を行い、24時間後に胞胚腔の有無で生存率を調査した。

試験2 : 経膈採卵 (Ovum Pick-up、以下、OPU) -IVF (以下、OPU-IVF 胚) 胚における Ab 法の性判別および生存性、移植調査

1 材料

卵子の採材は、当試験場飼養の褐毛和種高知系から OPU を行った。OPU は、経膈穿刺用7.5Mhz コンベックス探触子 (日立メディコ EUP-F531)、電子走査型超音波断層装置 (日立エコパル II EUB-405B) のモニターで、大卵胞 (直径10mm 以上)、中卵胞 (直径5-10mm)、小卵胞 (直径5 mm 以下) を、穿刺針 (ミサワ医科工業株式会社 H-タイプ) を用い穿刺して各卵胞を吸引した。回収液には、1 % 非働化ウシ血清 (CS ; Gibco) および 10IU/ml ヘパリン添加乳酸加リンゲル液 (ラクテック注 ; 大塚製薬) を用いた。吸引圧を90~100 mmHg に設定して、COCs の採取を行い、成熟培養、媒精、発生培養は、食由-IVF 胚と同条件で行った。

2 方法

1) Ab 法

食由-IVF 胚における Ab 法と同条件で行い、48時間後に胞胚腔の有無で生存率を調査した。

2) 性判別診断

性判別診断は LAMP 法を用いた。サンプリングした割球を、0.3%Polyvinil alcohol (PVA ; Sigma) 添加 D-PBS (-) 内で洗浄後、牛性判別試薬キット (栄研化学株式会社) の抽出法に従い操作した。性判別診断は、Loopamp エンドポイント濁度測定装置 (テ

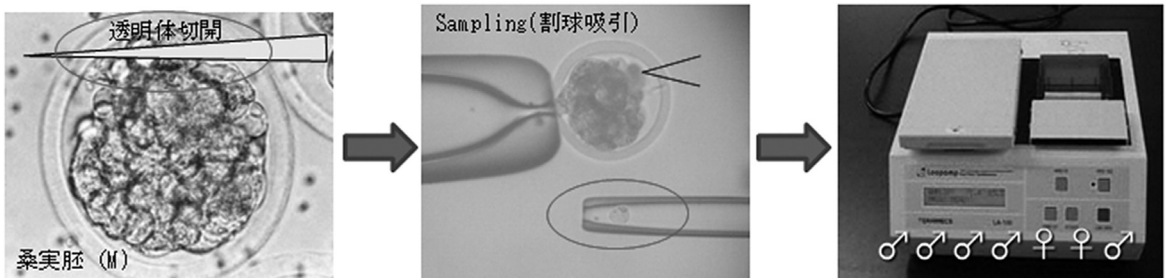


図1 Ab 法によるサンプリングから LAMP 法

ラメックス株式会社 LA-100) を使用して、性判別率を調査した (図 1)。

3) 超急速ガラス化保存 (クライオトップ法)

食由-IVF 胚と同条件で実施した。

4) 移植調査

以下の方法で受胎率、性一致率の調査を行った。

(1) 供試胚

新鮮、凍結胚ともに A' ランク胚を使用した。

(2) 新鮮 1 胚移植

サンプリング 48 時間後の生存性確認胚を移植。

(3) 新鮮 2 胚移植

サンプリング 48 時間後の生存性確認胚を牛片側子宮角に 2 胚同時移植。

(4) 凍結保存胚移植

超急速ガラス化保存した胚を、食由-IVF 胚と同条件で融解培養して 24 時間後に移植。

結果及び考察

試験 1：食由-IVF 胚によるサンプリング方法の生存性調査

サンプリング後の生存率は、Ab 法の A' ランク胚 71.0% (22/31) と B ランク胚 28.6% (2/7) で有意差があった。胚のランク別では、A' ランク胚の Ab 法 71.0% (22/31) と Mb 法 76.0% (19/25) に有意差はなかった。B ランク胚では Mb 法 66.7% (14/21) と

Ab 法 28.6% (2/7) に有意差はなかったが、Mb 法が高い生存率を示した (表 2)。

これは Ab 法が、Mb 法と比べてサンプリングによる物理的損傷は少ないものの、発生 5 日前後の正常細胞と変成細胞との区分が明瞭ではない桑実胚の段階でサンプリングを行うため、変成部位が多い B ランク胚 (50% 以下) では、変成部位の少ない (15% 以下) A' ランク胚よりダメージを受けやすく、生存率が低下 (28.6%) したと考えられた。

一方、Mb 法では、サンプリングによる物理的損傷は Ab 法より大きいものの、発生 6 日前後の正常細胞が内細胞塊や栄養膜細胞に分化する胚盤胞段階でサンプリングを行うため、変成細胞を性判別用のサンプルとすることで内細胞塊や栄養膜細胞へのダメージが軽減され、B ランク胚においては Ab 法より生存率が高く (66.7%) なったと考えられた。

以上のことから、食由-IVF 胚の性判別におけるサンプリング方法として、A' ランク胚では Ab 法を、B ランク胚では Mb 法を用いることで、性判別後の生存率をより高められる可能性が示唆された。

凍結融解後の生存率は、A' ランク胚では、Ab 法 88.9% (16/18) が Mb 法 58.3% (7/12) より高かったが、有意差は認めなかった。B ランク胚では、Mb 法 75.0% (9/12) で、Ab 法を実施していないため Ab 法との比較はできないが、A' ランク胚の Mb 法 58.3% (7/12) と同等の生存率が得られた (表 3)。

表 2 Ab 法及び Mb 法による生存性試験 (食由-IVF 胚)

サンプリング方法	胚ランク	サンプリング (個)	生存率 (%)
Ab 法	A'	22/31 ^a	71.0
	B	2/7 ^b	28.6
Mb 法	A'	19/25	76.0
	B	14/21	66.7

異符号間に有意差有り a, b: p<0.05

表 3 Ab 法及び Mb 法の凍結保存胚融解後生存性試験 (食由-IVF 胚)

サンプリング方法	胚ランク	サンプリング (個)	生存率 (%)
Ab 法	A'	16/18	88.9
	B	0/0	0.0
Mb 法	A'	7/12	58.3
	B	9/12	75.0

凍結は胚にダメージを与える大きな要因となるが、Ab 法が Mb 法に比べて高い生存率を示したことは、Ab 法が凍結のダメージを受けにくいサンプリング方法であることが示唆された。

試験 2：OPU-IVF 胚における Ab 法の性判別および生存性移植調査

OPU-IVF 胚における Ab 法サンプルの LAMP 法診断(図 1)の結果、桑実胚48個のうち、25個が雌、19個が雄、4 個が判定不能で、性判別率は91.7% (44/48)であった。

判定不能の4検体は同一検査ロットであり、他の検査ロットでは同様な状態が発生していないことから、試験手技に原因があったものと考えられた(表4)。

表4 Ab 法—LAMP 法を用いた性判別

胚ステージ	♂ (個)	♀ (個)	不明 (個)	判定率 (%)
桑実胚期	25	19	4	91.7

Ab 法によるサンプリング後の生存率は、食由-IVF 胚同様に OPU-IVF 胚でも A' ランク胚78.0% (32/41)と B ランク胚28.6% (2/7)で有意差があった(表5)。

以上のことから、食由-IVF 胚同様、OPU-IVF 胚の B ランク胚における Ab 法は、サンプリング後の生存率が低いため、実用化には課題が残った。

OPU-IVF 胚では、Mb 法によるサンプリング後の生存性は確認していないが、食由-IVF 胚での成績から考えると、B ランク胚においては、Ab 法より高い生存率が得られる可能性があり、今後、検証していきたい。

表5 Ab 法による生存性試験
(食由-IVF、OPU-IVF 胚)

胚由来	胚ランク	サンプリング (個)	生存率 (%)
食由-IVF	A'	22/31 ^a	71.0
	B	2/7 ^b	28.6
OPU-IVF	A'	32/41 ^a	78.0
	B	2/7 ^b	28.6

異符号間に有意差有り a, b: p<0.05

Ab 法を用いた移植試験の成績(表6)は、新鮮1胚移植では、受胎率53.8% (7/13)、性一致率は83% (6/7)であった。雄胚(6個)で4頭が受胎(うち流産1頭、双子1頭)、4頭の雄産子を得、雌胚(7個)で3頭が受胎。2頭は雌であったが、1頭は雄で性が一致しなかった。

新鮮2胚移植では、受胎率66.6% (2/3)、性一致率は産子が得られていないため不明であった。雄胚(1頭×2個)で1頭、雌胚(2頭×2個)で1頭が受胎したが、いずれも流産した。

超急速ガラス化胚移植では、受胎率100% (2/2)、性一致率100% (2/2)であった。雄胚(1個)が受胎し1頭の雄産子を得、雌胚(1個)が受胎し1頭の雌産子を得た。

性判別不一致1組(♀→♂)については、胚の取り違いなど人為的なミスも否定はできないが、LAMP 法による性判別一致率が100%に近いといわれていることから、今後例数を重ねることで検証を行ってきたい。

新鮮胚移植で流産が見られたものの、いずれの移植方法においても、それぞれの受胎率が50%を超えた。当試験場の平成26～28年度の OPU-IVF インタクト(人為的損傷のない通常胚)新鮮胚の受胎率は47.1% (8/17)であることから、Ab 法による性判別を行うことでの実用性に問題はないと考えられた。また、超急速ガラス化保存胚は移植頭数が2頭と例数は少ないものの、2頭の産子が得られたことから、性判別胚の凍結保存法として、今後の実用化に向けて更に例数を重ねていきたい。

表6 Ab 法を用いた移植試験
(OPU-IVF 胚)

移植方法	性判別胚 (個)	受胎/移植 (頭数)	受胎率 (%)	産子成績 (頭)	性一致率(組) (%)
新鮮1胚移植	♂ (6)	4/6	53.8	♂ (5) *1	83
	♀ (7)	3/7		♀ (2) *2	
新鮮2胚移植	♂ (2)	1/1	66.6	—*3	不明
	♀ (4)	1/2			
超急速ガラス化胚移植	♂ (1)	1/1	100	♂ (1)	100
	♀ (1)	1/1		♀ (1)	

※1 流産(1)、双子(1) ※2 性不一致(1) ※3 流産(2)

青木ら²⁾の胚切断(胚のバイオペシー)によるサンプリングでは、体外受精胚よりも体内受精胚、

B ランク胚よりも A ランク胚 (Code1 Excellent) および A' ランク胚で、胚修復率が高くなったと報告している。また、多くの性判別胚の報告でも体内受精胚の A および A' ランク胚が供試されている。

今回は貴重な褐毛和種高知系の遺伝子資源確保のために、一般的に受胎率が低いと考えられている体外受精の B ランク胚も用いたが、今後の課題として、胚のランク向上に影響のある培地等の更なる改善が必要であると考えられた。

引用文献

- 1) (一社) 日本家畜人工授精師協会：家畜人工授精講習会テキスト (家畜体内受精卵・家畜体外受精卵移植編)、P85-87、実践編口絵、2013
- 2) 青木義和ほか：PCR 法による性判別を目的としたウシ胚の条件とバイオプシー割合の検討、滋賀県畜産技術センター研究報告 6 号、P 1-5、1999
- 3) 上田修二ほか：セラミック被覆刃によるウシ胚のバイオプシーが胚の発育に及ぼす影響、福岡県農業総合試験場研究報告 28 号、P70-73、2009
- 4) 中原仁ほか：ウシ胚における透明帯切開法を用いた性判別方法の検討、岡山県農林総合センター畜産研究所研究報告 1、P 7-11、2011
- 5) 森安悟ほか：吸引法による性判別胚凍結保存後の受胎率向上、北海道立畜産試験場、第19回東日本家畜受精卵移植技術研究会大会、P46-47、2004
- 6) 林みち子ほか：牛胚の雌雄判別のためのサンプル採取と保存技術の確立、石川県畜産総合センター研究報告 41 号、P 9-12、2009
- 7) 紀川将之ほか：高能力乳用牛受精卵の大量生産技術の開発、徳島県立農林水産総合技術センター畜産研究所研究報告 11 号、P 8-11、2012
- 8) 尾形康弘ほか：ウシ胚からの性判別細胞採取法の開発、広島県獣医学会雑誌 No. 22、P16-19、2007
- 9) 陰山聡一ほか：Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を用いた牛胚の性判別、日本哺乳動物卵子学会誌 29 巻 3 号、P113-118、2012
- 10) 小林修司：ウシ生体卵子吸引・体外受精技術マニュアル (家畜改良センター)、独立行政法人家畜改良センター技術マニュアル 19、P 5-9、2007
- 11) 坂口慎一ほか：超音波診断装置を用いた繁殖不適和牛からの連続経膈採卵、日本胚移植学雑誌 17、P94-101、1995
- 12) 橋谷田豊ほか：Cryotop を用いた超急速ガラス化がウシ体外受精胚の生存性および受胎性に及ぼす影響、独立行政法人家畜改良センター、第104回日本繁殖生物学会大会、P116、2011

土佐あかうし受精卵の試験配布成績

山崎良洋・山崎也寸志・近森太志・西川弘子・高橋 徹*

Research on Conception of Experimental Embrios (Japanese Tosa Brown Cattle)

Yoshihiro Yamasaki, Yasushi Yamasaki, Taishi Chikamori
Hiroko Nishigawa and Tooru Takahashi

要 約

平成25年～28年度、当場が制定した二つの実施要領に基づき配布した土佐あかうし試験卵（以下、試験卵）と、平成26～28年度、畜産振興課が実施した土佐あかうし増頭対策事業向けに供給した土佐あかうし事業卵（以下、事業卵）について、畜産振興課に提出された移植報告を使ってその受胎成績をまとめた。

全期間を通した移植実績の中から、284頭分、合計300個の報告を対象データとして集計したところ、受胎頭数は119頭、受胎率は41.9%であった。

はじめに

牛赤身肉への関心の高まりと官民一体となった流通部門への肉の売り込みが功を奏して、平成25年度から土佐あかうし（褐毛和種高知系の通称）の子牛価格は急騰に転じたが、価格の低迷が長らく続いたことや高齢化による繁殖農家の経営中止が相次いだため、土佐あかうし肉の需要に応えるための肥育素牛確保が急務となっている。

肉の需給逼迫を解決するためには、県内酪農家の乳牛を借り腹として受精卵移植で増頭を図る方法が最も速く成果につながる策であったが、平成25年当時、土佐あかうし受精卵はほとんど利用されておらず、移植実績がない中で受精卵の利用を伸ばしていくことができるのかという課題があった。

また、受精卵の供給を担う当試験場のドナー牛もその需要がないままに高齢化が進んでいた。受精卵増産の体制をとるために子牛市場でドナー用若雌牛を購入して更新を図ることも検討したが、導入を躊躇するほど子牛価格は高騰しており、前もって衛生検査した牛を確実に子牛市場で落札できるかなどの課題も多く、市場での導入は实际的ではなかった。

そのような状況の中、試験移植として受精卵を配

布し移植実績を増やししながら受胎率を調査、移植へのハードルを下げて増頭にも寄与する受精卵利用と、腹（レシピエント牛）を貸してくれる酪農家を募り、当場の受精卵で自ら雌子牛を作ってドナー牛更新を図るとともに、その受胎率も調査する受精卵利用に分けて、試験卵として県下に配布する実施要領を平成25年7月に策定した。

同年10月11日、中央家畜保健衛生所で行われた畜産振興課主催「土佐あかうし ET による緊急増頭対策事業（仮称）」説明会において、この二つの実施要領に基づいて平成25年11月1日から平成29年3月31日までの間、試験卵を配布することを関係機関に周知し協力を依頼したのだが、この会の主議題として畜産振興課が説明した「受精卵移植による土佐あかうし増頭対策事業」は、土佐町酪農センターを「キャトルステーション」と位置づけ、酪農家の乳牛飼養管理を受託して土佐あかうし受精卵を移植、生産した ET 産子を育成して肥育素牛を増産する事業を平成26年度から始めるというもので、この事業で使う受精卵の供給も当場が担うことになり、更なる受精卵の生産が課せられることとなった。

しかし、当場の実施要領に基づいて農家において誕生させた ET 産子についても、このキャトルス

*高知県農業振興部畜産振興課

テーションで飼養管理を受託する体制が整備され、平成26年11月から受け込みが始まった。生産子牛の新たな受け皿ができたことによって、26年度、27年度の試験卵配布数は伸びていった。

材料及び方法

「土佐あかうし受精卵移植調査試験実施要領」と「畜産試験場ドナー更新と繁殖雌牛補完補充選定要領」に基づき、平成25年11月から平成29年3月までの足掛け4年間にわたって県内畜産農家に向けて配布を行った試験卵と、平成26年度から28年度の3年間に、「土佐あかうし増頭対策事業」に基づき土佐町酪農センターキャトルステーションへ供給した事業卵について、家畜保健衛生所から畜産振興課に提出された移植報告をもとに、当场が生産した受精卵のみを対象としてその成績をまとめた。当场のドナー牛を使って全農ET研究所が採卵した受精卵の移植成績は含まない。また、試験卵と事業卵を区分した集計は行っていない。

4年間の受精卵配布実績として、平成29年9月15日時点で321件、321頭への移植報告情報を得た。そのうち、2卵移植を16頭で実施しているため、集計対象の受精卵数は337個であった。

しかし移植報告があった中で、受精卵番号が記載されていない17頭17個と、妊娠確認が記載されていない7頭7個、受精卵番号及び妊娠確認ともに無い2頭2個、使用した受精卵番号が報告されていても受精卵作成時のデータとの間に齟齬がある報告11頭

11個について除外したため、最終的に集計した移植データ総数は284頭分300個であった。

配布した受精卵はA、A'、B、B'、Cの5段階にランク分けしているが、集計では、A'はAランクに、B'はBランクに含めた(表1)。

結 果

284頭へ移植された受精卵の内訳及び受胎結果は、体内卵が193頭に移植され85頭で受胎確認、体外卵が91頭に移植され34頭で受胎確認された。受胎率は体内卵44.0%、体外卵が37.4%であった。また、体内卵、体外卵を合計した受胎確認頭数119頭の受胎率は41.9%であった(表2)。

2卵移植について受胎成績を集計した(表3)。2卵移植は、26年度11頭、27年度4頭、28年度1頭、全期間で16頭に実施され、全体で62.5%と高い受胎成績を得たが、26年度には体内新鮮2卵移植で2頭の雌産子を死産した事例が1件あった他、♂sort90精液を使った体内凍結卵を2卵移植した事例、体内凍結卵のランク違いを2卵移植した事例、体外凍結卵の発育ステージとランクが違う受精卵を2卵移植した事例が各々1件ずつあったが、3事例ともに受胎には至っていない。

また、発育ステージが同じでランクが違う体外新鮮卵を27年度に2卵移植した事例も、受胎には至らなかった(表4)。

表1 胚の品質判定¹⁾

本報告 ランク	運用 ランク	ランク	内 容
A	A	Excellent	正常な発育段階にあり、輪郭が明瞭、色調が正常、変性部位が無く、割球の大きさや集合性が一様であり、対照的で均整な球形の胚
	A'	Good	正常な発育段階にあり、輪郭が明瞭、ほぼ正常な形態を示すが、一部に突出した細胞あるいは不均整が見られる、変性部位は15%以下
B	B	Fair	正常な発育段階にあり、突出した細胞あるいは不均整がやや目立つ。変性部位は50%以下
	B'		
C	C	Poor	細胞が不均整であったり、変性細胞が目立つ。変性部位は75%以下。日齢を踏まえると、発育がやや遅れている胚も含める。
	D	ランク外	未受精卵、著しく発育の遅れている胚、さらに変性の度合いが著しく、輪郭が不明瞭の部分の多い胚

表2 年度別受胎成績

		配布 卵数	除 外 データ	2卵移植 頭 数	実移植 頭 数	対 象 データ	受胎 頭数	受胎率 %
25年度	体内卵	4	0	0	4	4	1	25.0
	体外卵	0	0	0	0	0	0	
	不明	0	0	0				
		4	0	0	4	4	1	25.0
26年度	体内卵	63	1	7	55	55	23	41.8
	体外卵	21	0	4	17	17	5	29.4
	不明	2	2	0				
		86	3	11	72	72	28	38.9
27年度	体内卵	73	7	2	64	64	29	45.3
	体外卵	49	5	2	42	42	14	33.3
	不明	5	5	0				
		127	17	4	106	106	43	40.6
28年度	体内卵	72	2	0	70	70	32	45.7
	体外卵	39	6	1	32	32	15	46.9
	不明	9	9	0				
		120	17	1	102	102	47	46.1
全期間	体内卵	212	10	9	193	193	85	44.0
	体外卵	109	11	7	91	91	34	37.4
	不明	16	16	0				
		337	37	16	284	284	119	41.9

表3 年度別2卵移植成績

		移植頭数		受胎頭数		受胎率%	
		新鮮	凍結	新鮮	凍結	新鮮	凍結
26年度	体内卵	2	5	2	2	100.0	40.0
	体外卵		4		2		50.0
		2	9	2	4		
27年度	体内卵	2		2		100.0	
	体外卵	1	1	0	1	0.0	100.0
		3	1	2	1	66.7	100.0
28年度	体内卵						
	体外卵		1		1		100.0
			1		1		100.0
全期間	体内卵	4	5	4	2	100.0	40.0
	体外卵	1	6	0	4	0.0	66.7

表4 2卵移植の組み合わせ別成績

			I		II		III		IV	
			移植数	受胎数	移植数	受胎数	移植数	受胎数	移植数	受胎数
H26	体内卵	新鮮	2	2						
		凍結	3	1	1	1	1	0		
	体外卵	凍結	3	3					1	0
H27	体内卵	新鮮	2	2						
		新鮮			1	0				
	体外卵	凍結	1	1						
H28	体外卵	凍結	1	1						
全期間	体内卵	新鮮	4	4						
		凍結	3	1	1	1	1	0		
	体外卵	新鮮			1	0				
		凍結	5	5					1	0

* I 同ステージ・同ランク、II 同ステージ・別ランク、III 別ステージ・同ランク、IV 別ステージ・別ランク

体内卵と体外卵別に、新鮮卵と凍結卵、凍結卵では凍結方法の違いにしたがって年度別にその受胎成績を集計した（表5、表6）。また、体内新鮮卵と

体外新鮮卵を发育ステージ別ランク別に分けて、その受胎成績を集計した（表7、表8）。

表5 体内受精卵の処理別成績

	移植頭数		受胎頭数		受胎率%	
	新鮮	凍結	新鮮	凍結	新鮮	凍結
25年度		4		1		25.0
26年度	24	31	13	10	54.2	32.3
27年度	17	47	12	17	70.6	36.2
28年度	17	53	10	22	58.8	41.5
全期間	58	135	35	50	60.3	37.0

*凍結は緩慢凍結のみ。2卵移植は1頭でカウント

表6 体外受精卵の処理別成績

	移植頭数				受胎頭数				受胎率%			
	新鮮	凍結	凍結	凍結	新鮮	凍結	凍結	凍結	新鮮	凍結	凍結	凍結
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
26年度	6	11			2	3			33.3	27.3		
27年度	12	28		2	3	11		0	25.0	39.3		0.0
28年度	5	23	1	3	2	12	1	0	40.0	52.2	100.0	0.0
全期間	23	62	1	5	7	26	1	0	30.4	41.9	100.0	0.0

*凍結1、2、3は、緩慢凍結、急速ガラス化、超急速ガラス化。2卵移植は1頭でカウント

表7 体内新鮮卵のステージ別ランク別成績

		移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
26年度	CM	10	7		6	2		60.0	28.6	
	EB	4			3			75.0		
	BL	3			2			66.7		
		17	7		11	2				
27年度	CM	2	4		1	3		50.0	75.0	
	EB	1			1			100.0		
	BL	7	2		5	2		71.4	100.0	
	EX	1			0			0.0		
		11	6		7	5				
28年度	M		2			1			50.0	
	CM		1	2		1	1		100.0	50.0
	EB	1	1		1	1		100.0	100.0	
	BL	1	1		0	0		0.0	0.0	
	EX	6	2		4	1		66.7	50.0	
		8	7	2	5	4	1			
全期間	M		2			1			50.0	
	CM	12	12	2	7	6	1	58.3	50.0	50.0
	EB	6	1		5	1		83.3	100.0	
	BL	11	3		7	2		63.6	66.7	
	EX	7	2		4	1		57.1	50.0	
		36	20	2	58	23	1	35		

ステージ N:桑実胚 CM:収縮桑実胚 EB:初期胚盤胞 BL:胚盤胞 EX:拡張胚盤胞

ランク A、B、C

表8 体外新鮮卵のステージ別ランク別成績

		移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
26年度	BL	6			2			33.3		
27年度	EB	2	2		0	0		0.0	0.0	
	BL	2	4	2	1	2	0	50.0	50.0	0.0
	EX	1			0			0.0		
		5	6	2	1	2	0			
28年度	EX	1	4		0	2		0.0	50.0	
全期間	EB	2	2		0	0		0.0	0.0	
	BL	8	4	2	3	2	0	37.5	50.0	0.0
	EX	2	4		0	2		0.0	50.0	
		12	10	2	3	4	0			

* H27の新鮮2卵移植1例は、ランク違いの卵が使用されていたため各々をカウント

ステージ N:桑実胚 CM:収縮桑実胚 EB:初期胚盤胞 BL:胚盤胞 EX:拡張胚盤胞

ランク A、B、C

体内凍結卵と体外凍結卵についても、発育ステージ別ランク別の受胎成績を集計した（表9、表10）。

表9 体内凍結卵のステージ別ランク別成績

		移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
25年度	CM	1	2		0	1		0.0	50.0	
	BL		1			0			0.0	
		1	3		0	1				
26年度	CM	4	6		2	3		50.0	50.0	
	EB	6	5		1	2		16.7	40.0	
	BL	11			3			27.3		
	EX	1			0			0.0		
		22	11		6	5				
27年度	M	1			0			0.0		
	CM	6	4		1	2		16.7	50.0	
	EB	12	4		3	1		25.0	25.0	
	BL	20			10			50.0		
		39	8		14	3				
28年度	M			1			0			0.0
	CM	6	1		4	0		66.7	0.0	
	EB	11	3		4	1		36.4	33.3	
	BL	12			6			50.0		
	EX	19			7			36.8		
		48	4	1	21	1	0			
全期間	M	1		1	0		0	0.0		0.0
	CM	17	13		7	6		41.2	46.2	
	EB	29	12		8	4		27.6	33.3	
	BL	43	1		19	0		44.2	0.0	
	EX	20			7			35.0		
		110	26	1	41	10	0			

* H26の2卵移植2例は、ステージ及びランク違いの卵が使用されていたため各々をカウント

ステージ N:桑実胚 CM:収縮桑実胚 EB:初期胚盤胞 BL:胚盤胞 EX:拡張胚盤胞

ランク A、B、C

表10 体外凍結卵のステージ別ランク別成績

		移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
26年度	EB	1	1		0	0		0.0	0.0	
	BL	8	1		3	0		37.5	0.0	
	EX	1			0			0.0		
		10	2		3	0				
27年度	CM	1			1			100.0		
	EB	6	2		4	0		66.7	0.0	
	BL	12	3		5	1		41.7	33.3	
	EX	5	1		0	0		0.0	0.0	
		24	6		10	1				
28年度	BL	1	1		0	0		0.0	0.0	
	EX	21	4		11	2		52.4	50.0	
		22	5		11	2				
全期間	CM	1			1			100.0		
	EB	7	3		4	0		57.1	0.0	
	BL	21	5		8	1		38.1	20.0	
	EX	27	5		11	2		40.7	40.0	
		56	13		24	3				

* H26の2卵移植1例は、ステージ及びランク違いの卵が使用されていたため各々をカウント

ステージ N:桑実胚 CM:収縮桑実胚 EB:初期胚盤胞 BL:胚盤胞 EX:拡張胚盤胞

ランク A、B、C

この報告で対象とする平成25年度末から平成28年度まで足かけ4年間の試験卵等の配布においては、56頭のドナー牛から284頭のレシピエント牛へ300個の受精卵を供給したが、ドナー牛別の移植成績を、体内卵及び体外卵別、新鮮卵及び凍結卵別に分け、そのランクごとの受胎成績を集計した(表11、表12、

表13、表14)。

受精卵の供給数が最も多かったドナー牛は、27個を供給した23-2号であり、全て体内卵であった。

受精卵の供給数が二番目に多かったD-35号が供給した受精卵は、19個全て体外卵であったが、凍結卵の受胎率は50%であった。

表11 体内新鮮卵のドナー牛別ランク別受胎成績

	移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
17-8	2			1			50.0		
18-6	3			3			100.0		
19-5	1	1		1	1		100.0	100.0	
21-2		1			0			0.0	
21-5	1			1			100.0		
22-1		1			0			0.0	
22-10	1			1			100.0		
23-1		3			2			66.7	
23-2		1			0			0.0	
24-3	7	1		4	1		57.1	100.0	
24-7		1			1			100.0	
24-9	1	1		0	0		0.0	0.0	
24-10	1			1			100.0		
24-11	5	2		4	2		80.0	100.0	
24-12	1		1	1		0	100.0		0.0
25-5	1			0			0.0		
26-1	1	1		0	0		0.0	0.0	
26-3		1			1			100.0	
26-5	5			3			60.0		
K-15	3	1		1	0		33.3	0.0	
K-19	1			1			100.0		
K-24	2	3		1	2		50.0	66.7	
U-7		2	1		1	1		50.0	100.0
	36	20	2	23	11	1	63.9	55.0	50.0

ランク A、B、C

表12 体内凍結卵のドナー牛別ランク別受胎成績

	移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
15-3	1			1			100.0		
17-1		1			0			0.0	
18-6	1	1		0	1		0.0	100.0	
21-1		1			0			0.0	
21-5	14			9			64.3		
21-7		1			1			100.0	
22-5	1	1		0	0		0.0	0.0	
22-6	4	2		1	0		25.0	0.0	
22-7	3	1		1	1		33.3	100.0	
22-10	1	2		0	0		0.0	0.0	
23-1	10	2		2	1		20.0	50.0	
23-2	23	2		12	0		52.2	0.0	
23-4	4	2		1	0		25.0	0.0	
24-1	3	2		0	1		0.0	50.0	
24-3	6	1		1	1		16.7	100.0	
24-7	3		1	1		0	33.3		0.0
24-9	7			2			28.6		
24-11	1			1			100.0		
24-12	1			1			100.0		
25-1		2			1			50.0	
25-3	7			0			0.0		
26-5	1			0			0.0		
26-6	1			1			100.0		
78	1			0			0.0		
83		1			0			0.0	
87	4			2			50.0		
D-26	2	1		2	1		100.0	100.0	
K-13	1			0			0.0		
K-20	2			1			50.0		
U-4	6	3		1	2		16.7	66.7	
U-7	2			1			50.0		
	110	26	1	41	10	0	37.3	38.5	0.0

ランク A、B、C

表13 体外新鮮卵のドナー牛別ランク別受胎成績

	移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
15-1	2	1		0	0		0.0	0.0	
17-1		2	1		2	0		100.0	0.0
17-7		1			1			100.0	
17-8	1	1		0	1		0.0	100.0	
18-6		1			0			0.0	
20-6	1			1			100.0		
D-34	5			2			40.0		
D-35	2	3	1	0	0	0	0.0	0.0	0.0
D-36									
K-12		1			0			0.0	
K-22	1			0			0.0		
	12	10	2	3	4	0	25.0	40.0	0.0

ランク A、B、C

表14 体外凍結卵のドナー牛別ランク別受胎成績

	移植頭数			受胎頭数			受胎率(%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
14-7	5			3			60.0		
15-1	4	1		3	0		75.0	0.0	
17-1	2			1			50.0		
17-2		1			0			0.0	
17-7	9			2			22.2		
17-8	3	2		1	1		33.3	50.0	
18-1	2	2		1	0		50.0	0.0	
18-6	4	1		3	1		75.0	100.0	
19-5	1			0			0.0		
20-6	4	1		4	0		100.0	0.0	
21-5	1	1		0	0		0.0	0.0	
D-26	1			0			0.0		
D-27	1			0			0.0		
D-31	1	1		0	0			0.0	
D-33		1			0			0.0	
D-34	6			2			33.3		
D-35	10	2		5	1		50.0	50.0	
D-36	1			0			0.0		
K-19	1			0			0.0		
U-4	1			0			0.0		
	57	13		25	3		43.9	23.1	

ランク A、B、C

考 察

平成25年度から28年度まで行った試験卵の配布では、移植術者は配布を受けた農家が構えることを配布の条件としたが、県外の術者に移植を依頼した農家はなく、全て県内の術者であった。事業卵については家畜保健所職員が移植を担当した。よってこの報告で取りまとめた移植については、県内の移植免許を持った酪農家や農業団体及び関係機関だけで行われている。供給した受精卵も、全農 ET 研究所が生産した受精卵については集計から省き、当試験場が生産した受精卵の結果のみを集計しているので、受精卵の品質を含めた、県下移植現場の現在の実力がこの成績に現れていると思われる。

平成26年度から28年度までの間に、全農 ET 研究所や家畜改良センター及び他県の研究機関へ、延べ7名の職員を受精卵に関する研修として当試験場から派遣している。派遣された職員は各自課題を持って研修に臨んでおり、試験卵等配布中年度を経る毎に、体内卵、体外卵共に受胎率が向上していることから、先進機関での研修は有効であり、今後も後継者育成や職員の異動などの節目ごとに行う必要があると考えられた。

体内受精卵は、いずれの年度でも新鮮卵が高い受胎率を示した。受精卵を凍結した場合は、体内卵、体外卵ともに緩慢凍結卵の受胎成績が、年度を重ねるごとに向上した。

今回の試験配布を行った期間は、「土佐あかうし

増頭対策事業」の実施期間と重なったため、凍結受精卵生産のための備品整備に一定の配慮を受けたことの影響は大きく、今後とも結果を出すための機器整備と定期的な更新が不可欠と思われた。

A ランク受精卵が不足しても、生存性確認作業を行った B ランク卵を使うことで補完することができた。土佐あかうし増産に向けて、次々と施策が打ち出されてくる中で、現場が担う役割は日増しに増える状況にあり、現在のような受精卵生産を継続しながら、新たな施策へ対応していくことは物理的に難しい状況にある。受胎率向上のために、生存性確認を行った受精卵を配布する場合が多々あったが、生存性確認を移植現場が行う作業へと位置づけ直し、当試験場は受精卵の生産だけに特化、B ランク卵を有効に活用してドナー牛の数を抑え、採卵対象からはずした雌牛に新たな役割を振り分けていくなどの、負担の軽減と役割の変更を行っていけば、有限の施設と人員でも新たな役割要請に応えていくことができると考えられる。

引用文献

- 1) 一般社団法人日本家畜人工授精師協会、
2013.家畜人工授精講習会テキスト一家畜体内受精卵・家畜体外受精卵移植編、p86.胚の品質判定を改変

編集委員長 山崎 良洋（場長）

副委員長 豊田 陽一（技術次長）
日高 洋介（研究企画課長）

委員 川原 尚人（大家畜課長）
南 明博（中小家畜課長）

事務局（研究企画課）
吉田 均（企画調整担当チーフ）

高知県畜産試験場研究報告 第20号

平成31年2月20日 印刷

平成31年2月20日 発行

編集発行者 高 知 県 畜 産 試 験 場
〒789-1233 高知県高岡郡佐川町中組1247
電話 0889-22-0044 FAX 0889-22-3960

印刷所 有限会社 西村謄写堂
〒780-0901 高知市上町1丁目6-4
電話 088-822-0492
