

第65回秋田県獣医畜産技術研究発表会 演題一覧

部 別	演題 番号	演 題 名	所 属	発表者	
家畜 保健 衛生	第1部	1	管内肉用牛農家の繁殖性向上を目指したチーム巡回指導の取り組み	中央家畜保健衛生所	千葉 祐子
		2	牛大規模農場繁殖検診を通じた繁殖技術向上対策	北部家畜保健衛生所	中村 南斗
		3	受精卵移植技術の経営内取り入れと波及効果	南部家畜保健衛生所	佐藤 龍
		4	過去11年間の鹿角地域における3牧場のピロプラズマ原虫の寄生と今後の放牧衛生検査について	北部家畜保健衛生所	菅野 宏
		5	上場子牛の呼吸器病ワクチン接種における意識調査と多頭飼育農場の衛生対策の検討	南部家畜保健衛生所	高橋 千恵
		6	バルク乳モニタリング検査を活用した搾乳衛生指導	中央家畜保健衛生所	大庭 要
	第2部	7	県内養豚場で発生した豚サーコウイルス関連疾病（PCVAD）	中央家畜保健衛生所	千葉 脩史
獣 医 畜 産 の 部		8	管内の黒毛和種繁殖農場の代謝プロファイルテスト	NOSA I 秋田	市岡 英恵
		9	高糖含量オーチャードグラスの地域適応性試験	畜産試験場	西野 瞭
		10	黒毛和種の生時体重や在胎日数に及ぼす種雄牛の影響	畜産試験場	佐々木 航弥
		11	DNAバルクサンプルの全ゲノムシーケンスによる比内地鶏の行動的ストレス反応性関連遺伝子の探索	畜産試験場	青谷 大希

管内肉用牛農家の繁殖性向上を目指したチーム巡回指導の取り組み

中央家畜保健衛生所

○千葉祐子 西宮弘 石川すばる

1. はじめに

肉用牛の生産拡大に向け、繁殖技術指導により子牛の効率的生産を目指すため、家保・地域振興局・民間獣医師等による指導チームを設置し、数年前からモデル農家を設定して、定期繁殖巡回を行っている。これまでの指導による成果をまとめるとともに、今年度実施した、栄養管理面からの指導の取り組みについて報告する。

2. 方法

(1) 農家の概要

A～C 農場はモデル農家として、平成 27 年もしくは平成 29 年から定期繁殖巡回を実施している。いずれも増頭を目指す若手農家で、B・C 農場は先代の酪農経営から黒毛繁殖経営に転換した。D 農場は酪肉複合農家だが、黒毛繁殖牛の繁殖状況が不良のため、今年度から指導に入った。それぞれの繁殖牛飼養頭数及び空胎日数を表 1 に示す。指導チームでの定期繁殖巡回により、空胎期間が短縮してきていたが、B・C 農場では、ここ 1～2 年は長期不受胎牛が散見され、空胎期間がやや延びている。

表 1. 各農場の年度別平均空胎期間

A 農場				B 農場					
	H29	H30	R1	H27	H28	H29	H30	R1	
空胎期間 (日)	126	123	117	130	121	100	95	107	
繁殖牛 (頭)	19	24	26	23	24	30	30	35	

C 農場						D 農場	
	H27	H28	H29	H30	R1	R1	
空胎期間 (日)	121	87	85	117	102	300<	
繁殖牛 (頭)	46	40	42	40	43	11	

(2) 指導方法

巡回時に繁殖状況を聞き取りし、必要に応じて、直腸検査、妊娠鑑定、フレッシュチェックおよび繁殖障害治療等を実施した。繁殖情報はエクセルソフト等で「見える化」し、農家や関係機関で共有した。一部農場では、スマートフォンの繁殖管理アプリを使って、情報を共有した。繁殖管理アプリでは、農家がクラウド内でデータを更新し、関係機関が巡回前に直近のデータを入手し検診に備えた。繁殖検診ではエコーによる早期妊娠診断やフレッシュチェックを実施した。これらのデータを関係機関が

把握し共有することで、エコーによる早期妊娠診断やフレッシュチェック、長期空胎牛の指摘などをスムーズに実施することができた。

(3) 調査内容

チーム巡回による効果を把握するため、モデル農家3戸における分娩間隔短縮による経済効果を算定した。また、今年の実績不振を受けて、対症療法だけでなく栄養管理の問題を洗い出し、指導を強化するため、栄養管理実態を調査した。調査対象はA～D農家4戸29頭とした。調査項目は、血中尿素態窒素（BUN）、総コレステロール（TCHO）、アルブミン（ALB）、GOT、GGT、糞便pH、体高、胸囲（推定体重）、ボディコンディションスコア、給与飼料とした。

3. 結果

(1) 分娩間隔短縮による経済効果

経済効果は以下の式により算定した。

(今年度生産予定頭数－指導開始時分娩間隔の場合の生産頭数)

× (市場販売額－子牛生産費)

例：A農場

{(365日/402日×26頭)－(365日/411日×26頭)} × (776,139円－418,220円)

なお、市場販売額には、あきた総合家畜市場成績（子牛市場）より、平成31年4月～令和2年1月平均価格776,139円を、子牛生産費には、平成30年度畜産物生産費統計より頭数規模20～50頭未満の子牛1頭あたりの費用418,220円を使用した。また、モデル農家の分娩間隔は、表2に示した空胎期間に黒毛和牛平均妊娠期間285日を加えた数値とした。モデル農家における指導後の分娩間隔は、いずれも秋田県内平均分娩間隔411.8日（平成30年度認定和牛改良組合実績）より短縮し、短縮の程度と飼養規模により年間19万～68万円の経済効果があった（表2）。

表2. 各農場の分娩間隔短縮による経済効果

A農場					B農場				
	H29	R1	差	経済効果		H27	R1	差	経済効果
分娩間隔（日）	411	402	-9	185,023円	分娩間隔（日）	415	392	-23	646,457円
繁殖牛（頭）		26			繁殖牛（頭）		35		
C農場									
	H27	R1	差	経済効果					
分娩間隔（日）	406	387	-19	679,301円					
繁殖牛（頭）		43							

(2) 血液検査、糞便検査

測定値をグラフにプロットし、正常範囲¹⁾を破線で示した。BUNはB農場が高値、A・D農場が低値だった(図1)。ALBはA農場が低値を示した(図2)。TCHOではB・C農場が高値となった(図3)。GOTではB・C農場の一部、GGTではB・D農場とC農場の一部で高値だった(図4、5)。GOT・GGTいずれも高い個体は脂肪肝の疑いがあり、長期的な過剰給与が考えられる。BCS及び体重/体高ではB・D農場が高値だった(図6、7)。糞便pHは、1頭を除いてすべての個体で高値を示した(図8)。糞中pHは、受胎率に影響のある²⁾血中アンモニア濃度と相関があるとされている³⁾ため、エネルギーとタンパク質の摂取量のバランスが崩れていることが示唆される。以上のことから、A農場でタンパク不足、B・C農場でエネルギー及びタンパク過剰、D農場でエネルギー過剰という状況が考えられた。

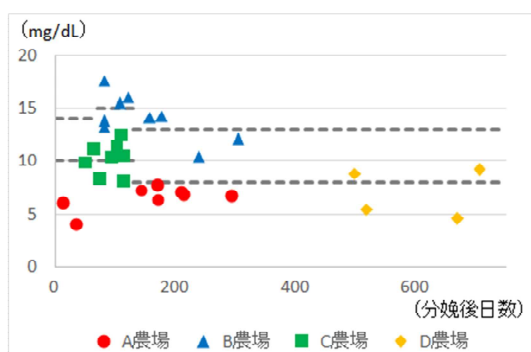


図1. BUN 値の分布

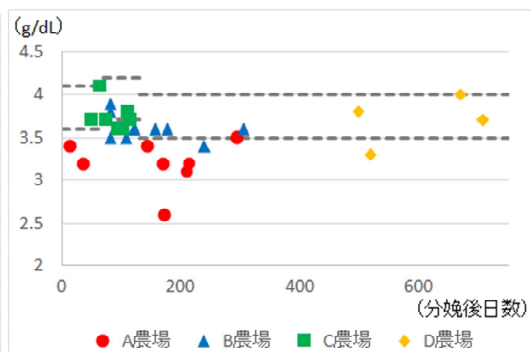


図2. ALB 値の分布

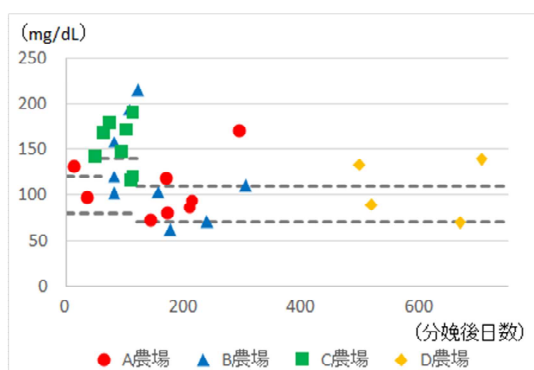


図3. TCHO 値の分布

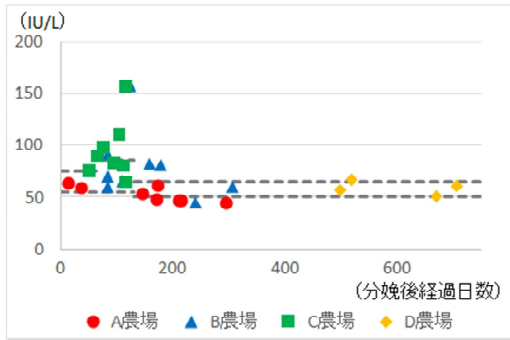


図 4. GOT 値の分布

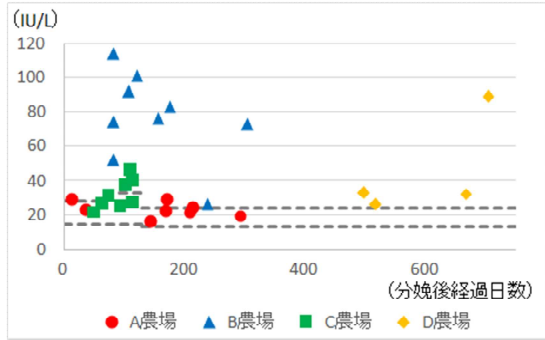


図 5. GGT 値の分布

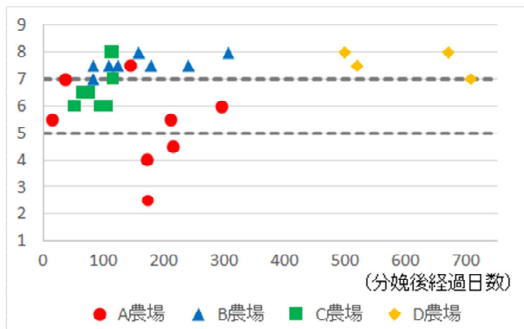


図 6. BCS 値の分布

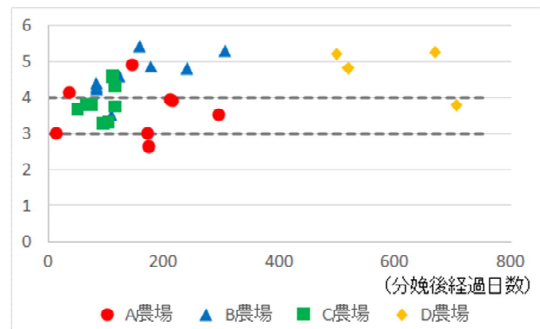


図 7. 体重/体高の分布

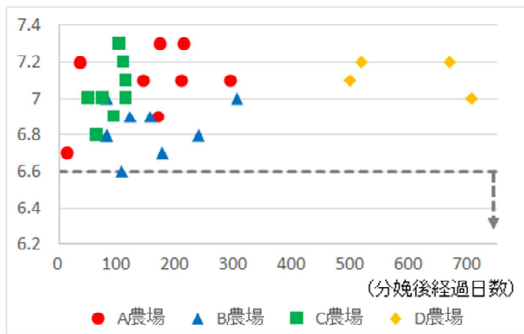


図 8. 糞便中 pH の分布

(3) 飼料給与状況

対象農家の飼料給与量を表 3、養分要求量充足率を表 4 に示した。養分要求量充足率の計算には、日本飼養標準肉用牛（2008 年版）⁴⁾及び日本標準飼料成分表（2009 年版）⁵⁾を使用した。血液検査でタンパク欠乏が疑われた A・D 農場は粗飼料主体の給与体系だった。A 農場では増し飼いをせず、濃厚飼料給与量が一定で、分娩後は TDN が不足してた。D 農場は過肥のため濃厚飼料の給与を停止していたが、粗飼料を飽食しており、計算上 TDN、タンパクともに過剰だった。過剰給与が疑われた B・C 農場ではいずれも TDN 及びタンパクが過剰で、特にタンパクが多い設計となっていた。

表 3. 飼料給与量 (kg)

	濃厚飼料	粗飼料	草種等	その他
A 農場 分娩後	1.6	6	購入 2 番草	
長期不受胎	1.6	6	(草種不明)	
B 農場 分娩後	6	6	自給	
長期不受胎	3	6	オーチャードグラス	
C 農場 分娩後	3	16	自給	乳牛用 TMR 3
長期不受胎	1	16	オーチャードグラス	
D 農場 長期不受胎	-	18	自給チモシー	

表 4. 養分要求量充足率 (%)

	乾物	TDN	粗タンパク
A 農場 分娩後	76	82	107
長期不受胎	106	130	210
B 農場 分娩後	93	120	146
長期不受胎	87	120	181
C 農場 分娩後	176	205	228
長期不受胎	186	233	313
D 農場 長期不受胎	200	219	204

(4) 農家への指導

(2) 及び (3) のまとめと、農家への指導内容を図 9 に示した。A 農家には分娩後のみ濃厚飼料を増給するよう指導した。なお、A 農家では指導後の聞き取りにより分娩後の初回発情が明瞭化したとの報告があった。B・C・D 農場にはそれぞれ繁殖ステージに合わせた飼料設計を行い、指導を行った。D 農場では指導後に血中尿素態窒素が全頭正常値に改善した。



図9. 農場毎の調査結果と指導内容

4. まとめと今後の課題

チーム巡回により分娩間隔は短縮し、経済効果は19万から68万円だった。乳用牛飼養経験のある農家では、黒毛繁殖牛へ過剰給与する傾向があった。血液検査結果と給与飼料計算結果が一致しない事例があり、繁殖不良でも原因は多様で、様々な角度から総合的に検証する必要がある。今後は、クラウド管理システムの導入を進め、効率化を図っていく。また、今後も定期的なチーム巡回を継続し、経過をサポートしていく。

5. 参考文献

- 1) 独立行政法人家畜改良センター鳥取牧場. 黒毛和種繁殖雌牛における代謝プロファイルテスト診断マニュアル. 2016(online), <http://www.nlbc.go.jp/tottori/kenkyuuseika/taishaprofairu/H28mptsindan.pdf>, (参照 2020-03-12)
- 2) 福島成紀, 木曾田繁, 滝本英二. 黒毛和種における繁殖性向上を目指した飼料給与体系の検討. 岡山県農林水産総合センター畜産研究所研究報告第6号, 2016, p.55-59.
- 3) 細川泰子. 受精卵移植時の血液検査値と受胎率・糞便 pH との関係. 平成20年度岩手県農業研究センター試験研究成果書, 2008, p. (指) -48-1(online), http://www2.pref.iwate.jp/~hp2088/seika/h20/h20_shidou48.pdf, (参照 2020-03-12)
- 4) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編. 日本飼養標準肉用牛 (2008年版). 社団法人中央畜産会, 2008.
- 5) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編. 日本標準飼料成分表 (2009年版). 社団法人中央畜産会, 2009.

【はじめに】

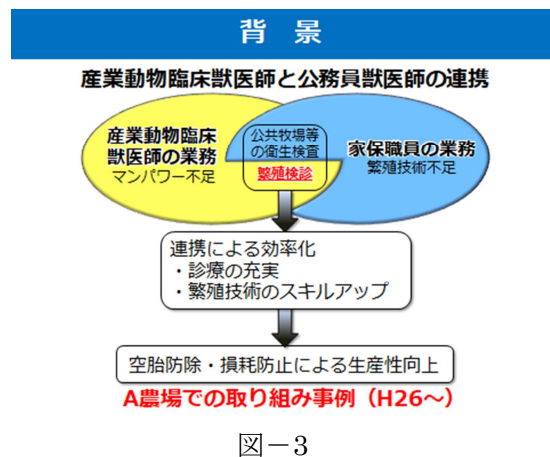
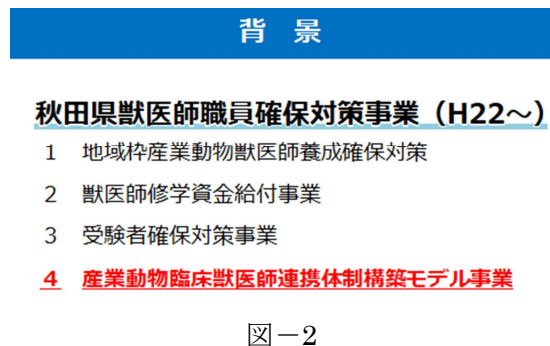
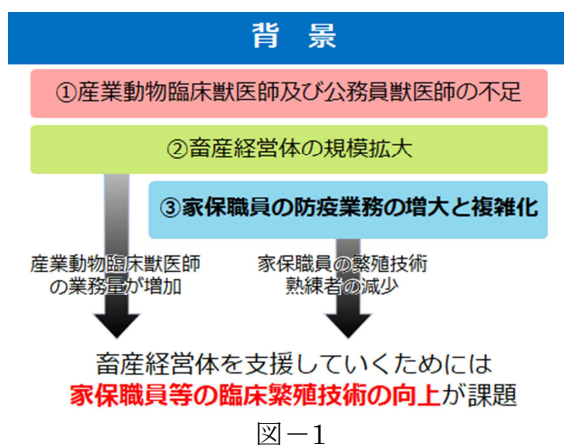
管内一酪農場（以下、A農場）において、当所と開業獣医師が連携し実施した繁殖検診を通して、繁殖技術向上のために行った対策について概要を報告する。

1 背景

近年、小動物臨床系志向の高まりに伴い、産業動物臨床獣医師や公務員獣医師の確保が難しい状況が続いている。また、国や県の事業を活用し家畜の飼養規模拡大が図られており、産業動物臨床獣医師の業務量が増加している。家畜保健衛生所（以下、家保）においては、防疫業務の増大と複雑化により防疫業務が優先され、牛の臨床繁殖技術を有する職員が減少し、繁殖農家の指導・相談に応じきれない状況にある。そのような状況の中で畜産経営体を支援していくためには、家保職員等の臨床繁殖技術の向上が課題になっている（図-1）。

このような課題がある中、秋田県獣医師職員確保対策事業において、産業動物臨床獣医師連携体制構築モデル事業があり、この事業により、産業動物臨床獣医師不足と家保職員の繁殖技術不足を補い、双方の業務の効率化を図っている（図-2）。

家保職員の繁殖技術不足という課題を解決するために、家保職員が実施する公共牧場等での衛生検査や産業動物臨床獣医師が実施する繁殖治療、特に牛大規模農場の繁殖検診において、家保の若手職員が繁殖治療を補助することによって、県の事業で必要となる繁殖技術を習得することに繋がることから、平成26年よりA農場における開業獣医師と連携した定期繁殖検診を行ってきた（図-3）。



2 農場の概要

A農場は県事業等を活用し、平成23年度に経産牛繋ぎ40頭からフリーストール180頭に規模拡大し、現在農事組合法人として経営しており、給餌方式はTMRで、粗飼料は自家産のイネWCSや牧草、輸入乾草を用いている。子牛は県外市場へ販売し、育成牛は県内外に預託している(図-4)。

3 繁殖検診体制

平成26年の夏に農場主から家保に繁殖成績を向上させたいと相談があり、同年9月から新たに開業獣医師と連携し、分娩後早期の繁殖検診(以下、フレッシュチェック)を行うようになった。平成28年4月以降、開業獣医師が専任となり、毎週フレッシュチェックを含む繁殖検診、治療、人工授精(以下、AI)等を行い、家保と振興局、農業公社は約2週間隔で同行し、家保は検診・衛生管理指導を行っている(図-5)。

4 取組み内容

平成26年9月から令和元年12月までに、延べ110回1,981頭にわたって検診を行った。この検診において、繁殖技術向上対策の一環として、熟練職員と若手職員の相対技術指導を併せて実施した。延べ4名の熟練職員が定期的に技術指導を行い、4名の若手職員が指導を受けた。検診の際、はじめに開業獣医師が超音波診断装置を用いて検診を進めていく。家保は合間をみて相対技術指導を行い、直腸検査法で生殖器の状態の把握を行う。また、薬液注入棒を用いて子宮頸管を通過させる訓練を行っている。この技術は、牛受精卵採取において必要不可欠な技術であり、反復して訓練する貴重な機会になっている(図-6)。

A農場の概要

- ・県事業等を活用し、平成23年度に経産牛繋ぎ40頭からフリーストール180頭に規模拡大
- ・現在、農事組合法人として経営

従事者：6人
 飼養形態：フリーストール&ミルキングパーラー方式
 給餌方式：TMR方式
 粗飼料は自家産(イネWCS・牧草)
 +購入(輸入乾草)
 移出入状況：ホル雄やF1子牛を県外市場へ販売
 育成牛は県内外に預託(年間約40~50頭)
 施設：フリーストール牛舎、搾乳舎、
 飼料庫、堆肥舎 各1棟
 ※既存の繋ぎ牛舎は子牛哺育等に活用

図-4

繁殖検診体制

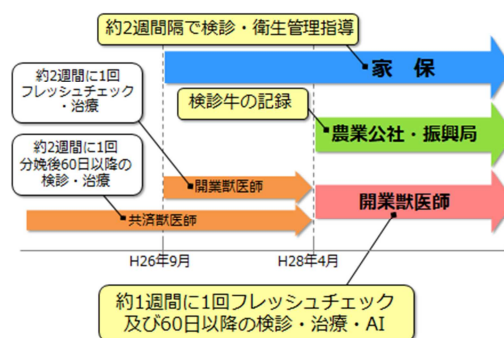


図-5

取組み内容

- 繁殖検診補助開始時からの
 検診実施回数 110回
 延べ検診頭数 1,981頭
- 繁殖検診を行った家保職員
 熟練職員 4名
 若手職員 4名

(平成26年9月~令和元年12月実績)



図-6

5 結果

技術指導を通じて4名が習得した技術について一覧で示す(図-7)。陰部所見の判別について検診参加以前から習得していた者も含め全員が技術習得することができた。また、子宮頸管や子宮、卵巣の状態の把握が可能になり、直腸検査法での繁殖検診技術の習得に寄与した。また、子宮内薬液注入技術の訓練を積極的に行うことにより習得に大きく寄与した。一方、治療方針については開業獣医師が決定するため打診を行うことができるまでには至っていない(図-7)。

若手職員が習得した技術や知識は農家巡回時に繁殖に関する助言や指導に活かし、家畜人工授精師養成講習会においては、講師として講義・実習を実施し、経験をもとに受講者に対して助言や指導を行うことができた。

熟練職員から教わり、初心者に対して指導するという一連の課程を経たことによって、技術習得には5つの行程が必要であると感じた。講習会等で聞いたことについて自ら調べ、牛を実際に見て、直腸検査をすることで、生殖器の状態を把握する。その後、繰り返し挑戦していくことで技術が確立、熟練していくと考えた。この過程を意識して応用技術の習得、初心者への指導を行っていきたいと考えている(図-8)。

一方、熟練職員も検診を通じて、初心者がどのようなところで躓くのが明確になり、技術者養成における指導のポイントを押さえることに繋がった。それが自らの指導方針の検討を行う機会となり、指導を受ける人のレベルに合わせた助言と指導を講習会等の所外の技術者養成の場で行うことに繋がった。また、繁殖障害がなかなか改善されない牛について、普段のアプローチではなく基礎に立ち返って膣鏡を用いると見立てが変わるというシーンもあった。慣れによる簡略化は大規模繁殖農場での検診において時間短縮のために大事なスキルだが、基礎的な手技を行うことの重要性も実感した(図-9)。

結果				
指導を受けた4名の繁殖技術について				
	検診に参加したことにより習得した技術			◎
	検診に参加したことによりある程度習得した技術			○
	習得していない技術			×
技術項目	◎	○	×	検診以前から習得
陰部所見を判別する	2	0	0	2
膣鏡を挿入し、膣内の異常を判別する	0	2	1	1
子宮頸管を触知する	3	0	0	1
子宮を触知する	1	2	0	1
子宮の状態を判別する	0	4	0	0
卵巣を触知する	1	3	0	0
黄体と卵胞を判別する	0	4	0	0
卵巣の状態を把握し、スケッチする	0	3	1	0
子宮内薬液注入を行う	2	1	1	0
繁殖障害に対する治療方針の打診を行う	0	1	3	0

図-7

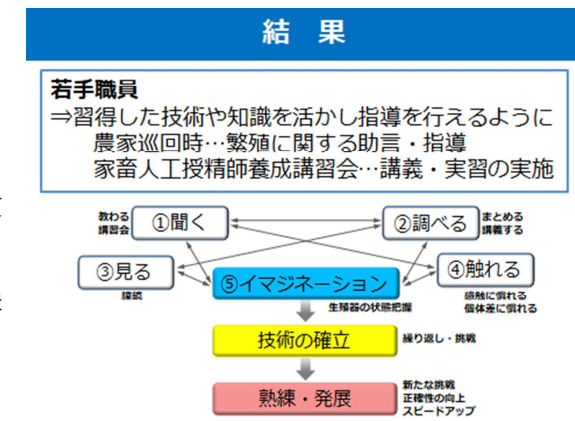


図-8



図-9

また、開業獣医師は平成 28 年 4 月から専任となり、AI を開始し受胎率が向上した。超音波診断装置については同年 6 月から自身が購入したものの使用を開始し、繁殖技術が向上した（図-10）。



図-10

6 まとめ

家保職員等の技術向上が課題である中、大規模農場繁殖検診において相対技術指導を行い、4名の若手職員の繁殖検診技術及び子宮内薬液注入技術が向上した。得られた知識と経験が指導する立場になった際に活用されている。また、熟練者にとっても指導方針の検討を行う機会になるなど両者にとって貴重な機会になっている。そして、開業獣医師が多数の繁殖牛に対して AI と超音波診断を行うことにより技術が向上した。

7 今後の技術向上に向けて

得られた知識と経験を還元し、他の人の知識や経験を取り入れるため、管内のみならず管外の若手職員を含めた技術検討会を開催していきたいと考えている。また、牛受精卵採取におけるバルーンカテーテルの導入や回収液の還流には、繊細で高度な技術が要求されるが、技術の習得機会は限られている。そういった技術習得のために、バルーンカテーテルを用いて薬液注入を行うなど訓練方法を工夫し、試験場へ積極的に赴き実習を受け、家保に超音波診断装置を導入し訓練するといった取組みを行い、知識吸収と訓練の機会を増やし、技術者を養成していく必要があると考える。

受精卵移植技術の経営内取り入れと波及効果

南部家畜保健衛生所

○佐藤 龍、千田惣浩

【はじめに】

平成 28 年から 29 年にかけて、本県では勝忠平や百合茂など九州の気高系を主とする血統構成の若牛を県外導入する繁殖雌牛資質向上事業を開始し、導入を希望する管内繁殖経営農家 19 戸の参画で 54 頭が導入された。

当所は、導入時の着地検査としてヨーネ病及び牛ウイルス性下痢・粘膜病の検査を全頭実施するとともに、初回人工授精状況、分娩状況などを調査した。また、初産分娩後 2 ヶ月前後を目処に、事業規約にあるとおり当該牛からの受精卵採取のため、農家誘導と技術指導を担い受精卵確保を実施したので報告する。

【調査項目】

(1) 導入牛の繁殖状況

秋田県肉用牛繁殖管理システムや聞き取りにより記録が明らかな 47 頭について、導入牛の初産分娩月齢及び産子の性を調査した。また、主に平成 28 年導入牛で、2 産目の分娩が判明している 17 頭について分娩間隔を空胎期間として算出した。

(2) 産子の市場販売成績

あきた総合家畜市場に出荷された 27 頭の発育性として出荷体重と販売価格について調査した。

(3) 採卵成績

導入牛からの平成 29、30、31 年度の採卵数及び参画農家数、また、採卵成績として 1 頭あたりの回収卵数、得られた正常胚数及び凍結処理を行い作成されたストロー数について年次推移等を調査した。さらに、本事業の他に当所で実施した採卵総数についてもデータを整理した。

【事業の目的と導入牛の概要】

事業の目的は、本県における繁殖雌牛の資質向上のため、すなわち産肉性に優れた高能力雌牛の増頭を図るため、他県からの導入に対し支援することで、和牛能力のポテンシャルの底上げを図ることにある。

当所は、初産分娩後を基本に導入してから採卵を実施し、肉用牛農家への供給を円滑に執り行った。繁殖状況調査や採卵への誘導と計画の策定、ならびに現地採卵と検卵・凍結処理を実施した。なお、検卵・凍結処理は畜産試験場研究員の協力の下、畜産試験場改良増殖棟で行った。

29 戸、54 頭が導入され、導入先は北海道が延べ 4 戸 18 頭、青森県が延べ 7 戸 8 頭、栃木県が延べ 14 戸 14 頭、宮城県が延べ 12 戸 12 頭、岩手県が 2 戸 2 頭であった（図-1）。なお、血統構成は父が勝忠平が 28 頭、百合茂が 23 頭であった。

【調査成績】

(1) 導入牛の繁殖状況

初産分娩月齢は平均 24.3 ヶ月で、県の改良目標である 23～25 ヶ月齢を概ね達成していた。産子の性別は雄が 22 頭、雌が 25 頭であった。また、17 頭については 2 産目も得られており、その空胎期間は平均 401 日で、平成 29 年の県平均 411 日を上回る成績であった。また、1 年 1 産達成経営体は 9 戸 52.9%にとどまったが、うち 8 戸が採卵を行ったことのある経営体であった（表-1）。

初産分娩月齢や分娩間隔の結果から、発情観察等導入経営体の責任感が示唆された。聞き取りによると、発情発見のための目視回数を増やしたり、中には普段行かなかった夕食後の牛舎見回りを行ったとする経営主もあった。受精卵移植技術は繁殖管理への効果があることが示唆された。

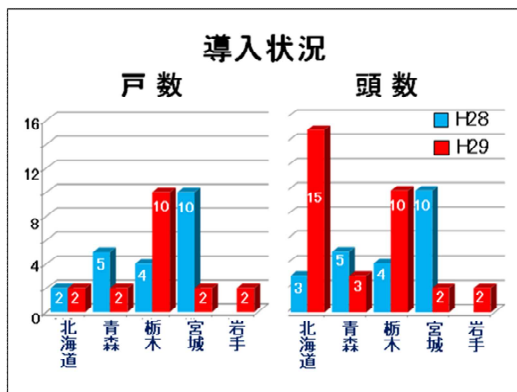


図-1 導入状況

表-1 導入牛の繁殖状況

(n47)		
初産分娩月齢	平均 24.3ヶ月	(範囲) (21.4～30.4)
産子の性	♂	22頭 (46.8%)
	♀	25頭 (53.2%)
1～2産目空胎期間 (17戸/17頭)	平均 401日	(範囲) (321～534)
1年1産達成 経営体	9戸/17戸 52.9%	うち8戸(88.9%)が 採卵経験あり

(2) 産子の市場販売成績

出荷日齢は去勢で平均 289 日齢、めすで平均 296 日齢であった。体重は去勢で 300 から 351kg、平均 325kg と斉一性があり総じて発育が良好であった。一方、めすは最低で 236kg と管理技術の不良が疑われた経営体もあったが、347kg の個体もあり平均値で 293kg であった。また、販売価格は、去勢で平均 789,000 円、めすで平均 646,000 円であった。

(3) 採卵成績

当所では採卵を実施する際に、畜主に該当牛の発情観察を励行し、発情があったら連絡をもらうこととしている。卵胞波の動向を加味し、発情後 9 日目に黄体ホルモン製剤の装着、13 日目に外因性性腺刺激ホルモン放出ホルモンによる過剰排卵処理を行っている（図-2）。

採卵終了後は、動物用イソジンの子宮内注入と PGF2α の投与を行い、また、黄体ホルモン製剤を腔内 1 2 日間挿入し、2 日後の発情誘起で人工授精を推奨している。その他、採卵前に肝機能の改善、ビタミン・ミネラルの補強及び受精卵の抗酸化作用等を期待し、当所から飼料添加剤を提供している。

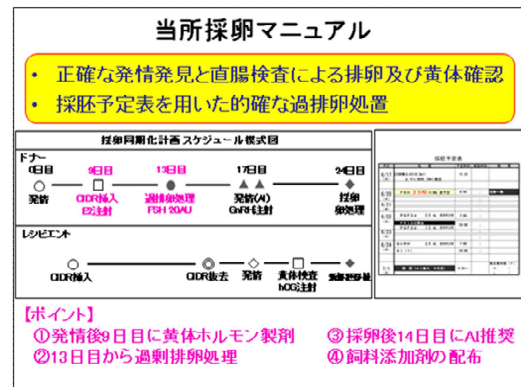


図-2 当所採卵マニュアル

導入牛の採卵成績について、令和元年12月末現在までに30頭が供された。採卵成績は、1頭あたりの平均で回収卵数は18.2個、そのうちの正常胚が10.2個であった。一部新鮮卵移植や低ランクの廃棄等あったが、ほとんどが凍結処理され、1回当たり8.8個、計264個のストローを作成した(図-3)。

当所では以前より個々経営体から依頼されて行う採卵を行い、これに付随して本事業採卵が加わり、採卵件数は増加している。平成29年度は計21回、平成30年度は計35回であったのに対し今年度は昨年12月末現在までで、計51回と増加した。今年度の成績は1頭あたり回収卵18.3個、正常胚9.8個、凍結胚8.1個、合計398本の凍結ストローを作成した(図-4)。

	H29		H30		H31 (R1.12月末現在)		計	
	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数
回数(戸数)	1	(1)	14	(9)	15	(10)	30	(21)
回収卵数	36		148		203		182	
正常胚数	16		93		107		102	
凍結胚数 (作成ストロー数)	16		89		82		88	
			(125)		(123)		(264)	
※回収卵数、正常胚数、凍結胚数:1頭あたりの平均								

図-3 導入牛の採卵成績

	H29		H30		H31 (R1.12月末現在)	
	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数
回数(戸数)	21	(13)	35	(23)	51	(27)
回収卵数	16.0		15.2		18.3	
正常胚数	8.3		8.9		9.8	
凍結胚数 (作成ストロー数)	7.0		7.6		8.1	
	(140)		(250)		(398)	
※回収卵数、正常胚数、凍結胚数:1頭あたりの平均						

図-4 全採卵成績

【優良事例】

受精卵移植技術指導を通じ、様々な波及効果があった。事例1は、2年間畜産試験場でフロンティア研修を経て、牛舎を新設した新規就農者であり、本事業の採卵を契機に、育種価情報を活用し、牛群改良に取り組み中である(写真-1)。事例2は、以前から乳用牛40頭を飼養していたが、子息の就農を契機に県有の受精卵を中心として黒毛和種の生産を行い、乳用牛40頭に加え黒毛和種繁殖雌牛30頭を飼育する乳肉一貫経営となった(写真-2)。事例3は、黒毛和種26頭を飼養し、受精卵移植を経営内に取り入れてきた農場である。本農場で育種価が一番高い「そのだ71号」(写真-3)を始祖牛に毎年採卵を行い、去勢産子はあきた総合家畜市場に上場され、125万円、130万円と記録的な高額販売された実績がある。事例4は、昨年5月、経営主が突然亡くなり、奥さんと長女で60頭の繁殖経営を引き継いだ農場である。9月、関係機関で本農場のフォローアップ会議が開催され、当所では妊娠鑑定、繁殖障害牛の治療等繁殖技術指導から飼料給与指導を行い、繁殖管理台帳を作成し、月に1回繁殖指導を実施している。今年度採卵を2回行っており、12月には採卵とともに、6頭の新鮮卵移植を実施した(写真-4)。



写真-1 事例1



写真-2 事例2



写真-3 事例3



写真-4 事例4

【まとめ】

繁殖雌牛資質向上事業で導入された54頭の繁殖状況は良好であった。また、当所は導入牛からの採卵を実施し、今年度の受精卵移植関連業務は飛躍的に増加した。その要因には、新規就農者からの育種価指標の扱い方や飼養管理、後継牛保留に関する相談等問い合わせが多く、その都度丁寧に応対し、必要あれば現地指導等、現場重視型の対応を心がけたことが一因となったと推察される。

採卵を通じて秋田牛の資質向上に努めるなかで、牛群の改良・増産意欲向上、雌牛の繁殖管理や飼料給与法の改善への意識改革といった波及効果が認められた。今後は、導入牛のゲノム育種価解析と優良受精卵の移植を推進し、令和4年度の鹿児島全共での躍進につながるよう指導に取り組んでいきたいと考える。

過去 11 年間の鹿角地域における 3 牧場のピロプラズマ原虫の寄生と今後の放牧衛生検査について

秋田県北部家畜保健衛生所
○菅野 宏 野村真実

【はじめに】

過去 11 年間の鹿角地域の 3 牧場におけるピロプラズマ原虫（以下、小型ピロ）の寄生状況を分析したところ、入牧後の衛生対策により、小型ピロの寄生頭数の減少がみられた。その結果を踏まえ、令和元年度の当該 3 牧場における放牧衛生検査（以下、検査）は、小型ピロの寄生状況及び血液検査の結果に基づいた検査内容として実施したので、その概要を報告する。

表-1

【小型ピロプラズマ病（表-1）】

*Theileria orientalis*による住血原虫病で、主な症状は貧血、発熱や発育沈滞等である。死廃率は1%未満であるが、他の病原体との混合感染で症状の悪化を呈す場合がある。対策はベクターであるマダニ類の制御であるが、飼育環境からの完全な撲滅は困難なことから、殺ダニ効果のある薬剤を継続的に使用し、マダニ類の吸血から牛を守ることが対策になる。

小型ピロプラズマ病

- ◆原因
*Theileria orientalis*がマダニ類の吸血を介して牛に感染し、貧血等の症状を起こす
- ◆主な症状
 - ・貧血、発熱、発育停滞など
 - ・死廃率は1%未満だが、混合感染や強いストレス等で症状が悪化
- ◆対策
 - ・ベクターであるマダニ類の制御

【鹿角地域の 3 牧場の概要（表-2）】

管理主体は秋田県畜産農業協同組合鹿角支所で、放牧期間は5月から11月である。当所による検査は5月から7月の間に、約3週間隔で3回実施し、検査対象牛は初放牧牛及び仔牛等である。小型ピロプラズマ病の対策は、合成ピレスロイド系殺虫剤（以下、殺ダニ剤）のプアオン法によるマダニ類の防除を約3週間隔で行っている。

表-2

牧場の概要

管理主体：秋田県畜産農業協同組合鹿角支所
放牧期間：5月～11月
検査：2～3回（検査対象牛：初放牧牛、仔牛、種雄牛）
衛生対策：合成ピレスロイド系殺虫剤による放牧牛に対するマダニ類の防除（プアオン法、約3週間隔）

牧場	A牧場	B牧場	C牧場
開設年	昭和50年	昭和46年	昭和48年
草地面積	124ha	59ha	140ha
放牧頭数※	最大：94頭 平均：77頭	最大：114頭 平均：89頭	最大：210頭 平均：158頭
放牧牛	日本短角種 黒毛和種	黒毛和種	日本短角種 黒毛和種

※平成20年～平成30年

【過去 11 年間における鹿角地域の 3 牧場の小型ピロの寄生について】

1)A 牧場（図-1）：寄生頭数の割合では、平成 23 年以降は寄生無しの頭数が過半数になった。また平成 28 年以降は寄生無しの頭数の割合が常に増加した。寄生無しの頭数の割合は平成 20 年の 24%から平成 30 年の 97%に上昇した。寄生の程度の割合では、1+の割合が増加し、平成 29 年以降は 1+のみとなった。

2) B 牧場 (図-2) : 寄生頭数の割合では、平成 27 年以降は寄生無しの頭数が常に増加し、平成 29 年以降は寄生頭数はみられなかった。寄生無しの頭数の割合は、平成 20 年の 59% から平成 30 年に 100% になった。寄生の程度の割合では、平成 24 年以降は 1+ の頭数が約 8 割程度で推移し、平成 29 年以降は小型ピロの寄生はみられなかった。

3) C 牧場 (図-3) : 寄生頭数の割合では、平成 25 年以降は寄生無しの頭数が過半数を示した。また平成 27 年以降は、寄生無しの頭数が常に増加を示した。寄生無しの頭数の割合は、平成 20 年の 36% から平成 30 年には 98% になった。寄生の程度の割合では、平成 27 年以降は 1+ の頭数の割合が常に増加していた。

4) 3 牧場のまとめ (表-3) : 3 牧場ともに小型ピロの寄生頭数は減少し、また寄生の程度も軽減した。これまで実施してきた定期的な殺ダニ剤により、マダニ類が防除され、小型ピロの寄生を抑制できたことが要因と推測された。

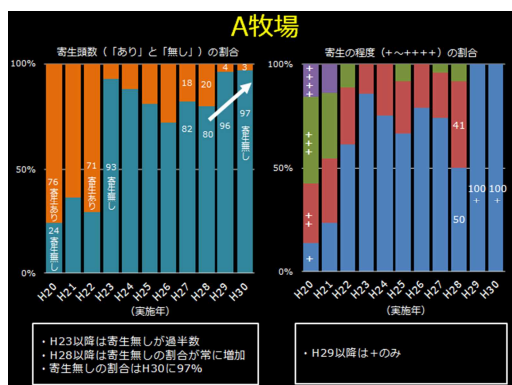


図-1

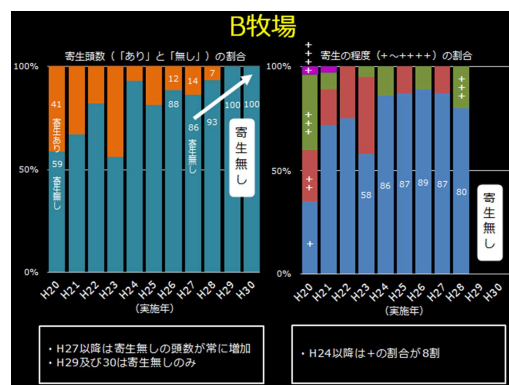


図-2

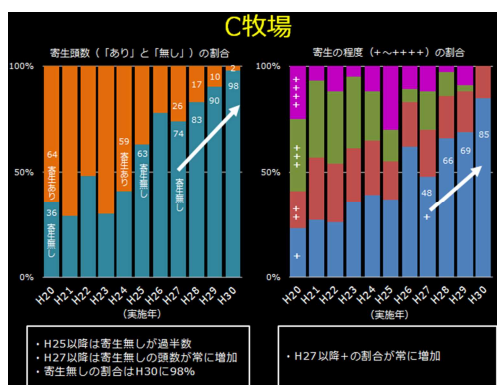


図-3

表-3

牧場	「寄生無し」の頭数の割合		寄生の程度の割合
	H20	H30	
A	<ul style="list-style-type: none"> ・ H23以降は過半数 ・ H28以降は常に増加 24%	97%	H29以降は+のみ
B	<ul style="list-style-type: none"> ・ H29以降は100% ・ H27以降は常に増加 59%	100%	H24以降は+が8割程度で推移
C	<ul style="list-style-type: none"> ・ H25以降は過半数 ・ H27以降は常に増加 36%	98%	H27以降は+が常に増加

↓

・ 3 牧場ともに小型ピロの寄生頭数は減少し、寄生の程度も軽減
 ・ 過去 3 年間ではどの牧場でも小型ピロの寄生は減少
 ・ 定期的な殺ダニ剤の塗布により、ベクターであるマダニ類が防除され、小型ピロの寄生を抑制

【令和元年度の3牧場における検査（表-4）】

過去11年間の小型ピロの寄生状況から、今年度の検査は検査回数と対象牛を小型ピロの寄生状況を考慮して検査する方法とし、管理主体に検査パターンを提案し、協議した。その結果、入牧後、約3週間後の5月下旬の検査を目視のみとし、6月中旬から7月上旬に最初の血液検査を実施し、さらにその検査結果をもとに3週間後の検査の実施とその内容を決める検査パターンとした。

表-4

検査パターン（1～3）を提案			
検査パターン	入牧の約3週間後 (5月下旬)	前の検査から約3週間後 (6月中旬)	前の検査から約3週間後 (7月上旬)
これまで	○	○	○
1	○	×	△
2	×	○	△
3	×	×	○

○：血液検査
 ×：目視検査
 △：直前の寄生頭数及び割合と過去3年間の同時期の寄生頭数を比較、新規放牧牛の有無、放牧牛の状態等で実施を決定

⇒ 「検査パターン2」で実施

【今年度の3牧場の検査結果】

1) A 牧場（図-4）：38頭の初放牧牛及び仔牛について検査を実施した。1+の寄生が3頭でみられた。寄生頭数及び割合は平成29年と同程度であった。過去3年間の結果と同程度で、また寄生がみられた牛のHt値は寄生がみられなかった牛と同程度であったことから、3週間後の令和元年度における最後の検査は殺ダニ剤の塗布と目視検査を計画した。当該検査で肉眼的に異常を示す牛はみられなかった。

2) B 牧場（図-5,6）：23頭の初放牧牛及び仔牛について検査を実施した。2+の牛が1頭でみられた。過去3年間との比較では、寄生頭数も少数で、また寄生割合も低い値を示した。しかしながら、過去3年で2+の牛がみられなかったこと、またHt値も26%とやや低値を示していたこと、さらに今回の検査以降に新規の入牧牛が1頭いたことから、管理主体と次回の検査について協議した。3週間後の令和元年度における最後の検査は、殺ダニ剤の塗布に加え、2+の寄生がみられた1頭と新規の入牧牛1頭の計2頭について血液検査を実施することを計画し、他の放牧牛については臨床観察とした。なお2+の牛については抗原虫薬が投与された。3週間後における令和元年度の最後の検査では、これら2頭に小型ピロの寄生はみられなかった。なお、この2頭を含め、牧場に肉眼的に異常を示す牛はみられなかった。

3) C 牧場（図-7,8）：69頭の初放牧牛及び仔牛について検査を実施した。2+の牛が1頭でみられた。過去3年間との比較では、寄生頭数は少数で、寄生の程度も低かった。3週間後の令和元年度最後の検査は、今回の検査以降に新規の入牧牛が16頭いたことから、管理主体と協議し、2+の牛1頭と新規の入牧牛の計17頭について血液検査を実施する計画を立てた。なお、Ht値で異常を示す牛はみられなかった。3週間後における令和元年度最後の検査では、殺ダニ剤の塗布に加え、2+の寄生がみられた1頭と新規の入牧牛16頭の計17頭について血液検査を実施した。小型ピロの寄生はみられず、また肉眼的に異常を示す放牧牛もみられなかった。

4) 3牧場のまとめ（表-5）：A牧場で経過観察とした牛は下牧後も特に異常はみられな

かった。またB及びC牧場で2+の牛がみられたが、3週間後の検査で小型ピロ寄生はみられなかった。また各牧場の放牧牛にも肉眼的に特記すべき異状はみられなかった。

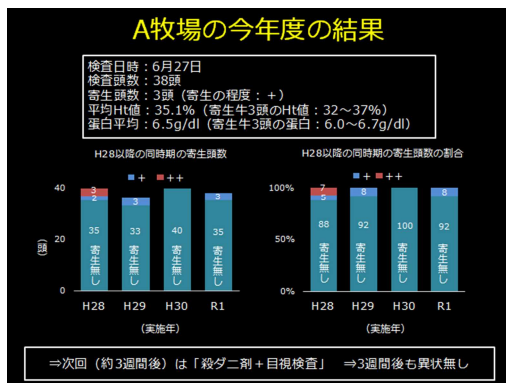


図-4

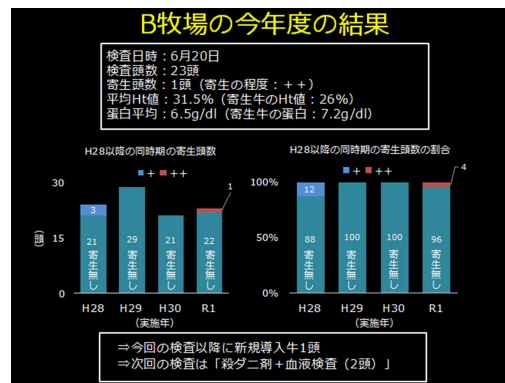


図-5

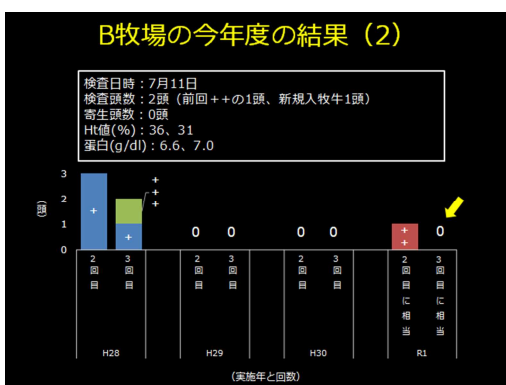


図-6

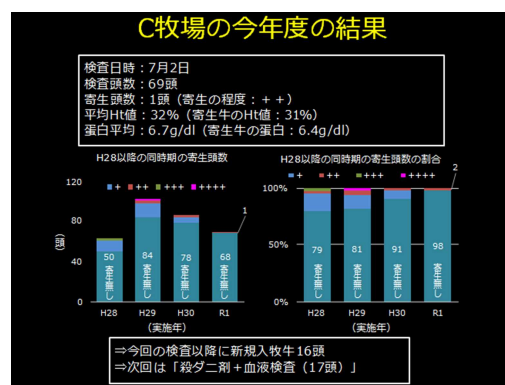


図-7

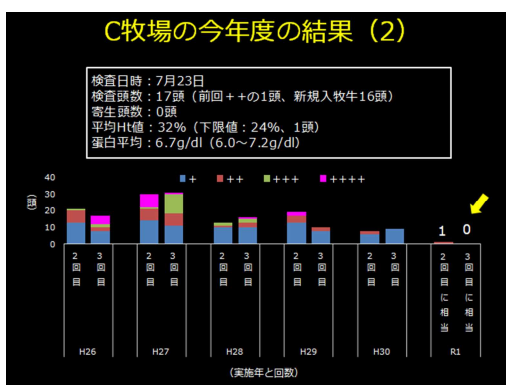


図-8

まとめ

牧場	初回 (前年までの「2回目」に相当)	次回 (前年までの「3回目」に相当)
A	3頭、+	目視検査及び経過観察
B	1頭、++	・2頭を検査 ・寄生はみられず
C	1頭、++	・17頭を検査 ・寄生はみられず

⇒臨床所見も特記すべき異状なし

【効果 (表-6)】

令和元年度の3牧場の検査費用は59600円であった。昨年までの年間の平均検査料に比

べ、管理主体は約 10000 円の負担が軽減された。また検査回数及び頭数が減ったことから、採血時の管理主体の保定も軽減された。当所においては、目視検査の場合、1～2 名で対応可能で、また頭数が少ない場合も 2 名で対応可能であり、検査にかかる家保職員の人員の効率化が図られた。

表－6

効果

- ・ 本年度の検査料合計：59,600円

A牧場 (1回分)	: 15,200円 (38頭×400円)
B牧場 (1回分) +2頭	: 10,000円 (25頭×400円)
C牧場 (1回分) +17頭	: 34,400円 (86頭×400円)

 ⇒過去11年の平均 (168,800円) に比べ
 管理主体は約100,000円の負担減
- ・ 採血時の保定が不要あるいは負担軽減
- ・ 目視検査の場合は1～2名で対応可能
- ・ 少ない頭数の場合は2名で対応可能
 ⇒検査にかかる家保職員の人員効率化

表－7

考察と今後の検査

- ・ 当該地域の牧場における気温とダニの活動状況の関係
- ・ 下牧時に++以上の寄生がみられた牛
- ・ 殺ダニ剤の適切な投与



【考察と今後の検査 (表－7)】

小型ピロのベクターであるマダニ類の活動状況は気温と関係しているが、今回の検査では未確認であった。マダニ類の活動状況に応じた検査を実施することで、さらに効果的な検査ができると思われる。今回の検査では確認されなかったが、小型ピロが濃厚寄生している牛の処置について明確になっていなかった。濃厚寄生の牛は、下牧後に小型ピロを牛舎に持ち帰り、牛舎で重篤化する場合や吸血昆虫等を介して同居牛へ小型ピロをまん延させてしまう可能性がある。したがって小型ピロの寄生程度の高い牛については、貧血等の明確な症状を示していなくても、下牧前に治療等について考慮する必要があると思われる。当所では殺ダニ剤の適切な投与についてこれまで指導してきたが、今後も引き続き、その効果が十分に発揮するように指導する予定である。小型ピロプラズマ病の原因である小型ピロの寄生の程度や有無は、当所が実施する検査でしか判断できないことから、今後も検査を通じ、牧場利用者が安心して牛を放牧できる牧場環境に貢献していきたいと考えている。以上

上場子牛への呼吸器病ワクチン接種における意識調査と多頭飼育農場の衛生対策の検討

秋田県南部家畜保健衛生所

○高橋千恵 山田典子

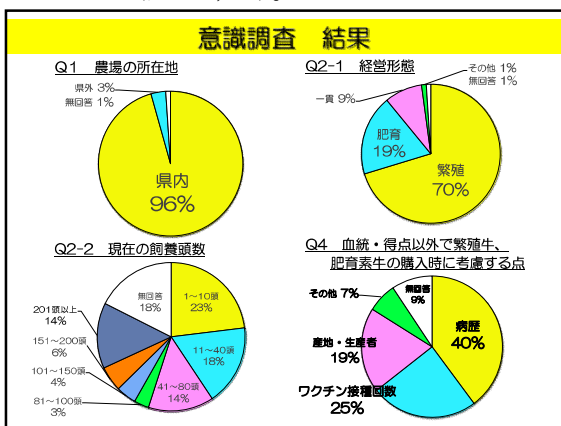
平成 29 年に県内で伝染性呼吸器病が流行し、子牛の購買先で事故が多発した。あきた総合家畜市場では上場子牛の衛生対策強化のため、平成 31 年 4 月からワクチン接種を 1 回から 2 回に変更し、牛 RS ウイルス病 (RSV)、牛パラインフルエンザウイルス 3 型感染症 (PI3V)、牛ウイルス性下痢・粘膜病 (BVDV)、牛アデノウイルス感染症 (7 型) (Ad7)、牛伝染性鼻気管炎 (IBR)、牛ヒストフィルス・ソムニ感染症 (ヘモ) の 6 種類の呼吸器病に対する十分な免疫を有した子牛の上場を目指した。今回、ワクチン接種変更によるワクチンの接種時期や種類及び子牛への影響について、市場購買者及び肉用牛生産者に対しアンケート形式の意識調査を実施した。さらに、呼吸器病の発生が多い多頭飼育農場 1 戸について、個別の衛生対策を検討したので、その概要について報告する。

1. アンケートによる意識調査

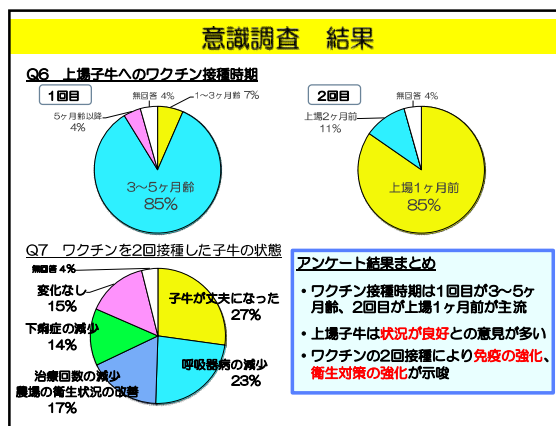
アンケート用紙は郵送または手渡しで市場利用者に配布し、配布数 450 件に対し回答数が 91 件、回収率は 20%であった。

回答者のうち県内の飼養者が 96%、経営形態は繁殖経営が 70%、肥育経営が 19%であった。飼養頭数は 10 頭未満から 200 頭以上と多様な飼養規模農家が市場を利用していることが判明した。血統・得点以外で繁殖牛、肥育素牛の購入時に考慮する点は、病歴が 40%、ワクチン接種回数が 25%を占め、血統以外では疾病等を考慮していると推察された。

ワクチンの接種時期は 1 回目 3~5 ヶ月齢、2 回目は上場 1 ヶ月までの接種がともに 85%と大半を占めた。2 回接種した子牛の状況は、子牛が丈夫になった、呼吸器病が減ったなど、状況が好転したとの意見が全体の 8 割を占めたが、一方で変化がなかったとの回答も 15%認められた (図-1, 2)。



< 図-1 >



< 図-2 >

2. 多頭飼育農場の衛生対策の検討

意識調査から2回接種による免疫の強化、衛生対策の強化が図られていると示唆されたが、導入後に肺炎や下痢が発生した農場もあった。そのため、農場ごとの衛生対策が重要であると考え、今回、管内N地域の多頭飼育農場1戸をモデル農家として衛生対策を検討した。

管内N地域は、6農場で若手を中心に現在多頭飼育化がすすみ、定期的に市・JA・獣医師が協力して巡回指導を実施している和牛繁殖の中核的な地域である。しかし、呼吸器病や下痢症などの疾病発生が多く、発生予防と農場の衛生対策等が検討課題とされていた。

昨年度の加藤らの調査では多頭飼育農場では呼吸器病の発生などから、移行抗体によりワクチン効果が阻害されていることが報告された¹⁾。N地域の多頭飼育農場も、2回接種への変更後も十分なワクチン効果が得られず、ウイルス性疾病がまん延するリスクが高い状態にあることが示唆され、個々の農場の実情に即した衛生対策の設定により疾病発生のリスクを低下させられると考えた。

3. モデル農家の調査

N地域の80頭規模、繁殖農場1農場を選定し、衛生対策を検討した。当該農場は人や牛の出入りが多く、N地域の中でも特に呼吸器病が多発する傾向にあり、H28年にRSVの発生が、H30年には牛コロナウイルス病（BCV）の発生が認められた。

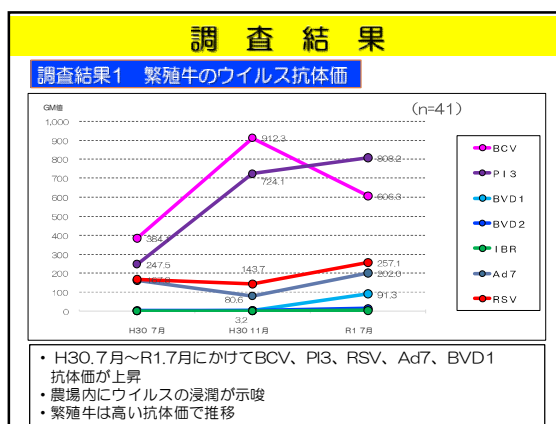
農場の衛生状況を確認するため、繁殖牛41頭のウイルス抗体価を測定し、また移行抗体による影響とワクチン接種時期の検討のため3組の母牛と子牛について、ウイルス抗体価を調査した。採血時期は、繁殖牛の調査がH30年7月、H30年11月及びR1年7月の3回、母牛と子牛の調査がH30年11月（接種前、1ヶ月齢）、H31年3月（1回目接種後、4～5ヶ月齢）、R1年7月（2回目接種後、8ヶ月齢）及びR1年8月（上場前、9ヶ月齢）の4ステージとした。ウイルス中和抗体検査は、RSV、PI3、BVD1型、BVD2型、Ad7、IBR及びBCVについて実施した。

1) 繁殖牛のウイルス抗体価

H30年11月にBCV、PI3抗体が上昇し、元年7月にRSV、Ad7、BVD1抗体が上昇しており、農場内へのウイルス浸潤が示唆され、繁殖牛は高い抗体価で推移していることが判明した（図-3）。

2) 母牛と子牛のウイルス抗体価

RSV抗体価は、母牛では64倍～256倍で推移し、うち1頭はR1年7月に上昇がみられた。子牛は1ヶ月齢で移行抗体と思われる高値がみられ、その後低下したが、9ヶ月

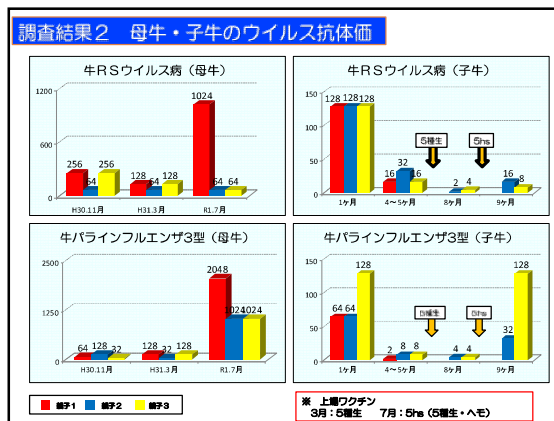


<図-3>

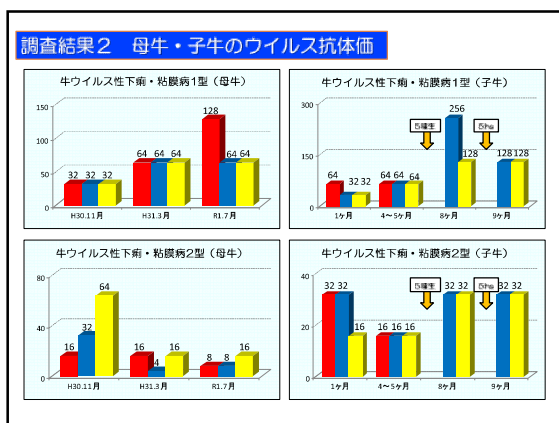
齢で上昇が確認され、移行抗体によるワクチン効果の阻害が示唆された。PI3 抗体価は、母牛で R1 年 7 月に上昇がみられた。子牛では RSV 抗体価と同様に、ワクチン効果の阻害が示唆された。

BVD1 型及び 2 型抗体価は、母牛で 4 倍～128 倍で推移していた。子牛では、ワクチン接種による上昇がみられ、上場時まで高値が持続していた。

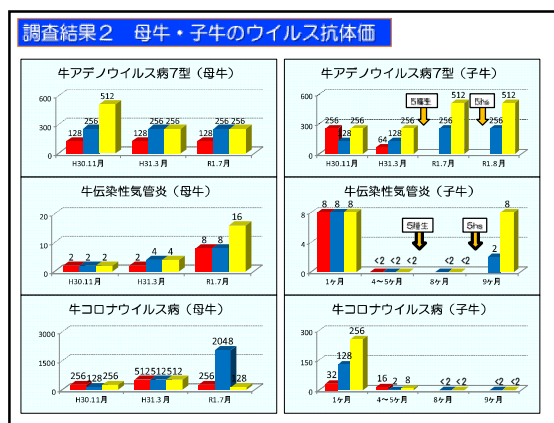
Ad7 抗体価は、母牛では 28 倍～512 倍で推移していた。子牛では、ワクチン接種による上昇がみられ、上場時まで高値が持続していた。IBR 抗体価は、母牛では 2 倍～16 倍で推移しており、子牛では、1 ヶ月齢で有していた抗体は減少し、9 ヶ月齢で上昇が確認された。BCV 抗体価について、母牛では上昇し、子牛で移行抗体による高値がみられた (図—4, 5, 6)。



< 図—4 >



< 図—5 >



< 図—6 >

4. 農場衛生対策の変更点

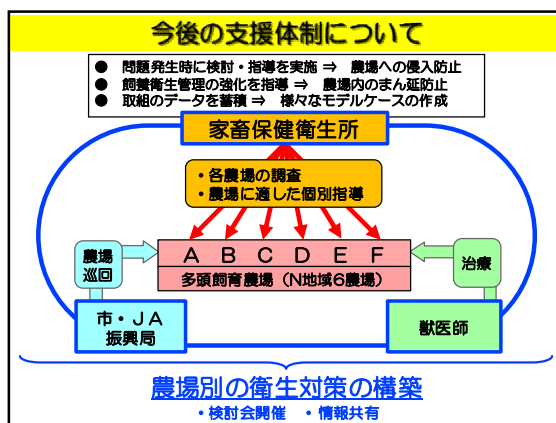
呼吸器病ウイルス抗体価の測定結果から農場対策として、従来から月 1 回実施していた煙霧消毒を、疾病好発時期である春・秋は 1 回実施することとした。子牛については、不活化ワクチンを 1 ヶ月齢時に追加し、1 回目のワクチン接種を 1 ヶ月遅らせるよう提言した。母牛については、呼吸器病及び下痢症に対するワクチン接種の追加を指導した。導入牛については、着地検査の実施に加え、病歴やワクチン接種歴等の確認及び隔離飼育の検討を指導した。

このように、従来から実施していた衛生対策を実情に即した形に見直し、個々の農家で対応することを明確化させることで、農家の衛生意識が向上した。

5. 今後の支援体制について

N地域の多頭飼育農場1農場をモデルケースとして子牛の呼吸器病対策を中心に農場の衛生対策について検討したところ、飼育環境及び疾病の発生状況などによるワクチン効果の阻害が示唆された。衛生対策については客観的数値にもとづいた現状把握により対策事項が明確化し、的確な衛生指導の実施につながった。

今後はN地域の他の多頭飼育農場についても、問題発生時の検討や飼養衛生管理の強化により農場への疾病の侵入及びまん延防止に努めるとともに、それぞれの農場が抱える課題に適したわかりやすい衛生対策を提案し、市・JA・地域振興局及び獣医師と連携の強化、検討会等による情報共有により、農場の損耗防止に向けた包括的な衛生対策の構築を目指す（図-7）。



< 図-7 >

【参考文献】

- 1) 加藤真姫子, 鈴木人志: 子牛市場上場前の牛呼吸器病ワクチン接種時期に関する有効性の検討 (2019)

バルク乳モニタリング検査を活用した搾乳衛生指導

秋田県中央家畜保険衛生所
○大庭要、山口恭代

1 はじめに

酪農家にとって乳房炎は経営上損害の大きい疾病であり、全国の泌乳器疾病の病傷事故発生割合は29.2%と事故原因の中で最大である。しかし、平成28～30年の間に当所に病性鑑定として依頼された件数は6件、11.5%と当所に依頼される乳房炎検査件数は少ない。また、近年、発熱や乳房の硬結、乳汁内のブツ等の症状を示さない乳房炎や、PLテストに反応しないが体細胞数は上昇する潜在性乳房炎が増加しており、畜主が乳房炎に気付かない事例も多く存在する。

そこで私たちは、農家に負担の少ないバルク乳を用いた検査を行い、積極的に潜在性乳房炎の摘発と搾乳衛生指導を実施したのでその概要を報告する。

2 バルク乳検査の利点について

表-1：分離細菌と搾乳衛生指標

従来よりバルク乳検査は、農場の衛生状態の指標と考えられている。バルク乳検査の利点は、採材が簡単で、牛群すべての分房乳が含まれるため乳房炎起因菌の検出はもちろんのこと、酪農場の搾乳作業や牛舎環境、搾乳機器の洗浄状態などを予想するデータとなり、改善の方向性を知るために有効な手段となる²⁾。例えば、生菌数は乳質の指標である。大腸菌群（以下、CO）、環境性ブドウ球菌（以下、CNS）、耐熱性菌及び緑膿菌は搾乳作業の衛生指標であり、CO及びレンサ球菌は牛舎環境の衛生指標となる。また、黄色ブドウ球菌（以下、SA）は乳房炎罹患牛の指標とした^{2, 3)}（表-1）。

検査項目	指標（今回の指導における着目事項）
生菌数	乳質
大腸菌群（CO）	牛舎環境 搾乳衛生
黄色ブドウ球菌（SA）	乳房炎
環境性ブドウ球菌（CNS）	搾乳衛生
レンサ球菌	牛舎環境
耐熱性菌	搾乳衛生
緑膿菌	搾乳衛生

3 農場概要

今回対象とした5農場はいずれも繋ぎ牛舎、パイプライン方式で搾乳を実施。

農場①は、搾乳牛40頭、搾乳者2人、細菌数は1.2万、体細胞数25万。

細菌数は低い体細胞数が多く潜在性乳房炎が疑われる農場。細菌数が増加した場合、パイプラインの自己点検を実施している。

農場②は、搾乳牛16頭、搾乳者1人、細菌数1.1万、体細胞数18万。

細菌数、体細胞数ともに安定しているが、SA治療牛が存在する農場。

農場③は、搾乳牛18頭、搾乳者2人、細菌数8千、体細胞数15万。

年間とおして乳房炎発生がほとんどなく管内の優良農場。

農場④は、搾乳牛80頭、搾乳者4人、細菌数2.6万、細胞数19万。
細菌数が夏季に大きく増加する。

農場⑤は、搾乳牛25頭、搾乳者2人、細菌数6万、体細胞数34万。

農場主も細菌数、体細胞数ともに高いと自覚している。

4 バルク乳の採材

採材は農場主立ち会いのもと家畜保健衛生所職員が毎回同じ時間に実施。十分に冷却したバルク乳を5分以上攪拌し、丸形バルククーラーであれば上部の蓋をあけ、滅菌プラスチックピペットを用いて上層部から生乳30mlを遠沈管に採取した。また、密閉型バルククーラーの場合はコックを開いて少し生乳を排出した後採取した。採取後は直ちにクラッシュアイスで氷冷し当所に搬入、細菌培養に供した²⁾(図-1、2-3)。



図-1：採材道具



図-2：採材風景



図-3：氷冷運搬

5 方法

(1) 細菌培養

一般に乳房炎の場合、ほぼ単一のコロニーが生育するため判定は容易であるが、バルク乳の場合、乳房炎菌以外に環境由来菌など複数種の菌が混入するため同定は複雑となる。

今回、検査成績を迅速に農場に返却するため、選択培地を活用、簡易かつ迅速に検査を実施した。検査は乳汁100 μ Lを各種培地に塗布、37 $^{\circ}$ C、48時間好気培養し、コロニー数を計測した。

材料：バルク乳（管内5農場15検体）

培地：5%羊血液寒天培地、ECC培地、卵黄加マンニット培地、NAC寒天培地

方法：各培地で37 $^{\circ}$ C、48時間好気培養後、コロニーの形態でCO、SA、CNS、レンサ球菌、耐熱性菌、緑膿菌、その他に同定し、菌数を計測した¹⁾(表-2)。

表-2：検査項目と使用培地

検査項目	使用培地	計測コロニー	培養方法
生菌数	5%羊血液寒天培地	すべて計測	乳汁100 μ L塗布し、37 $^{\circ}$ C48時間培養後のcfu/mlを算出
大腸菌群(CO)	ECC培地	青色または赤色	
黄色ブドウ球菌(SA)	卵黄加マンニット培地	黄色・卵黄反応 ラックス凝集反応	
環境性ブドウ球菌(CNS)	卵黄加マンニット培地	SA以外すべて計測	生菌数は、原液のほか10 ² まで10倍段階希釈し、菌数を測定
レンサ球菌	5%羊血液寒天培地	グラム陽性球菌 カタラーゼ試験陰性	耐熱性菌は、あらかじめバルク乳を63 $^{\circ}$ C30分で加温処理後、培養
耐熱性菌	5%羊血液寒天培地	すべて計測	
緑膿菌	NAC寒天培地	緑～黄色の蛍光色を呈す大型コロニー	

(2) 検査成績報告

検査成績は報告様式（一覧表、培地写真）を作成し農家に返却した。一覧表は培養検査成績に数値で記入。検査項目毎にA～Dランク（目標～非常に多い）の4段階に分類。検査項目のランクは、三好らの用いた判定基準³⁾を基に当所の実状にあわせた基準に改変し使用。項目ごとの該当ランクに丸印を入れ、農場の現在の衛生状況が一目で分かるようにし、丸印が左側（Aランク）に少しでも移動するよう指導した（図-4）。

さらに、菌量を数値で表記してもその汚染度は農家に伝わりにくい。そこで今回検査成績を視覚的に理解してもらうため、各培地写真を提示した。また、指導・対策前後の培地を比較して提示することで、指導・対策効果を実感、衛生意識の向上を狙った（図-5）。



図-4：成績報告様式（一覧表）

図-5：成績報告様式（培地写真）

6 指導方針

検査成績により指導を実施。概要を右フローに示す（図-6）。

(1) 乳房炎菌が検出された場合

全頭検査を行うか、個体乳検査とバルク乳検査を併用し乳房炎牛を摘発。摘発時は搾乳順の変更を指導した。また、続いて薬剤感受性試験を行い、成績を管理獣医師と共有、治療薬選択に貢献した。薬剤感受性試験の成績によっては乳房炎罹患牛の淘汰を指導した³⁾。

(2) 菌数の高い項目がある場合

原因究明のため搾乳方法について聞き取り調査し、聞き取りでは原因究明に至らない場合は搾乳立会により原因を特定、改善箇所及び改善策を提示した。農場自らができることを選択させ対策を指導した。治療または衛生対策実施後、再検査により指導

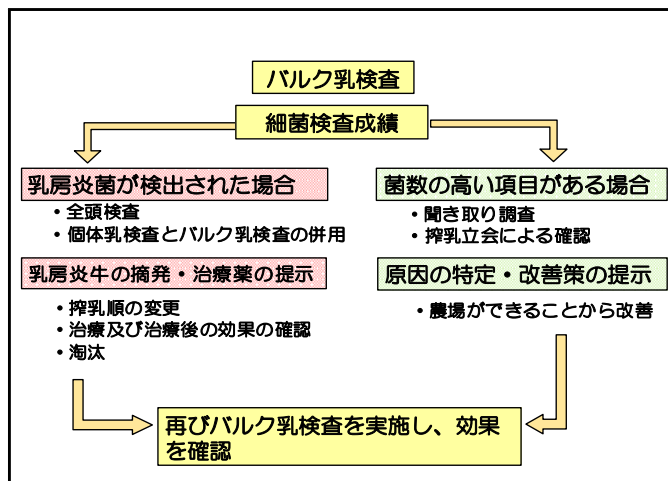


図-6：指導方針

の効果を確認することとした^{1, 4)}。

7 指導前の細菌検査成績

バルク乳から検出されてはいけないSAはB～Dランク、その他はC及びDランクを改善が必要な項目とした。

農場①、②及び④からはSAが分離されたため、乳房炎牛の摘発を指導した。生菌数が少ない農場①、②、③のうち、農場①から緑膿菌を検出。耐熱性菌の発育がみられないことからパイプラインの洗浄不良等の環境要因が否定され、緑膿菌排菌牛の存在が示唆された。農場②及び③は、生菌数が少ないにもかかわらず、そのほとんどをCNSが占めており特徴的であった。また、農場②では耐熱性菌も検出された。農場④及び⑤は生菌数が非常に多く、すべての項目の改善が必要であった（表－3）。

表－3：指導前の細菌検査成績

	生菌数	大腸菌群 (Co)	黄色ブドウ球菌 (SA)	環境性ブドウ球菌 (CNS)	レンサ球菌	耐熱性菌	緑膿菌	指導事項 SAはBランク以下 その他はC、Dランク
農場①	A	A	D	A	A	A	+	SA、緑膿菌
農場②	B	B	B	D	A	C	-	SA 耐熱性菌、CNS
農場③	A	B	A	D	A	A	-	CNS
農場④	C	D	B	D	B	D	-	SA 全体的に菌数が多い
農場⑤	D	D	A	D	D	D	+	全体的に菌数が多い

8 指導

(1) 乳房炎牛の摘発

農場①、②及び④に乳房炎牛の摘発を指導。

1) 事例1

農場①は乳房炎牛摘発のため全頭検査を実施。

搾乳牛40頭からSA排菌牛6頭、緑膿菌排菌牛2頭、計8頭の乳房炎牛を摘発した。今回摘発された乳房炎菌排菌牛は畜主の予想と異なっており、全頭検査の必要性を示す結果であった。薬剤感受性試験でSAは、検査薬剤に感受性を示した。治療の参考となるよう検査成績を管理獣医師と共有、農場①は乾乳期治療で対応することとした。緑膿菌は薬剤耐性菌であったため、淘汰を指導した。当該農場では乳房炎予防のため、搾乳牛全頭に乳房炎ワクチンの使用を開始している。

2) 事例2

農場②は、排菌牛が予想されていたため全頭検査は行わず、畜主が乳房炎の治療を家畜診療所に依頼していた。当所は治療後の効果確認として、当該牛の分房乳検査を行いSA陰性を確認した。また、他に排菌牛がないかバルク乳検査を継続して実施、SAのコントロールにバルク乳検査を活用して陰性を確認している²⁾。

3) 事例3

農場④は、検査成績を伝えたところ日頃の作業が忙しく、個体乳採材は難しいため乳房炎牛の摘発に対して消極的であった。SAは搾乳作業を介して容易に正常牛の分房に伝播され、体細胞数を増加させるリスクがあることを理解してもらい、SA排菌量をモニタリングしつつ指導を継続している。

表－4：農場①の薬剤感受性試験成績表

	CEZ	TS	ABPC	EM	S10
SA	S	S	S	S	—
緑膿菌	R	R	R	R	R

(2) 菌数が高い項目がある農場への指導

1) 耐熱性菌が高い農場②、④及び⑤

原因は、パイプラインの洗浄方法が不適、洗浄の湯温が不適、パッキン等の交換がされていないことがあげられる^{1, 4)}。

2) CNSが高い農場②～④

原因は、素手で乳頭を触っている、乳頭清拭の不良等があげられる^{1, 4)}。

3) 原因特定方法

搾乳作業手順の聞き取りを実施、聞き取りで不明な点があれば搾乳立会を実施した。

搾乳立会では、搾乳準備、手順、方法及びタイム計測等により菌数が増える要因を突き止め、その改善案を提示した(図-7)。

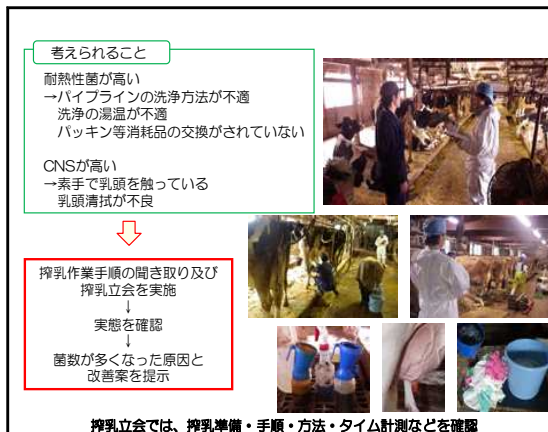


図-7: 搾乳衛生指導

(3) 搾乳作業の問題点と改善策の提示

聞き取りまたは搾乳立会により判明した各農場の搾乳作業の問題点と改善策を提示した。

SAが検出された農場①は搾乳作業が優良で今回の立会では指導を必要としなかった。

農場②～⑤はゴム手袋を装着をしておらず、農場②、④及び⑤は、ライン洗浄の湯温等、パイプライン点検をしていなかった。その他農場③及び⑤では清拭

	ゴム手袋の装着	乳頭清拭の方法	1頭2巾のタオル	前搾り回数	前搾り・搾乳開始時の器具の消毒	搾乳時間	ミルカーの使用台数へ人数	ホストディッピング	パイプラインの点検	パイプライン洗浄湯温	洗浄の適正使用	
農場①	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
農場②	×	-	-	-	-	-	-	-	△	○	○	一聞き取り問題のみ
農場③	×	○	×	○	○	×	○	○	○	○	○	一聞き取り問題のみ
農場④	×	-	-	-	-	-	-	-	△	×	○	
農場⑤	△	×	×	×	×	×	×	×	△	○	×	

○: 良好
△: 一部不適
×: 不適
-: 未確認

改善策の提示: 農場① 指導の必要なし
農場②～⑤ ゴム手袋の装着
農場②④⑤ パイプラインの点検 特にパッキンの交換
農場⑤ 搾乳作業全般の見直しが必要

図-8: 各農場の搾乳作業の問題点と改善策

農場ごとに改善策を提示し、自らが選択し得ることから対策を行うよう指導した。

9 指導結果

耐熱性菌は、パイプライン点検を指導・実施した農場②、④及び⑤の3農場すべてで菌数が減少。また、自主点検により農場③においても菌数は減少した(図-9)。

CNSが多く見られた農場②～⑤のうち、ゴム手袋装着を徹底した農場②及び③で菌数が減少した(図-10)。

生菌数については、対策を実施した4農場すべてで菌数が減少した。搾乳衛生対策が効果的に作用した結果と考える(図-11)。

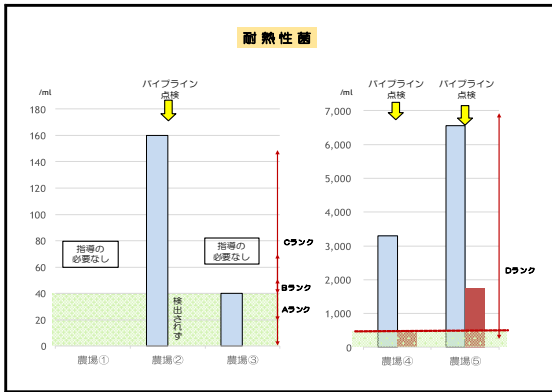


図-9：指導結果-耐熱性菌

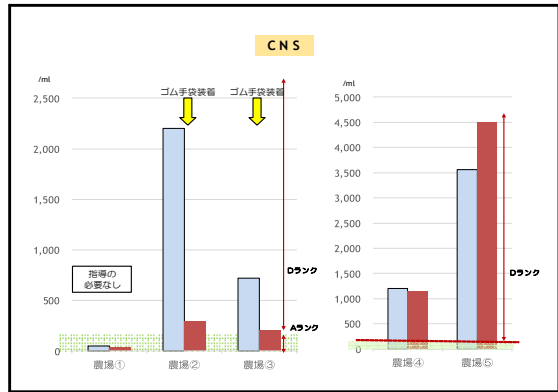


図-10：指導結果-CNS

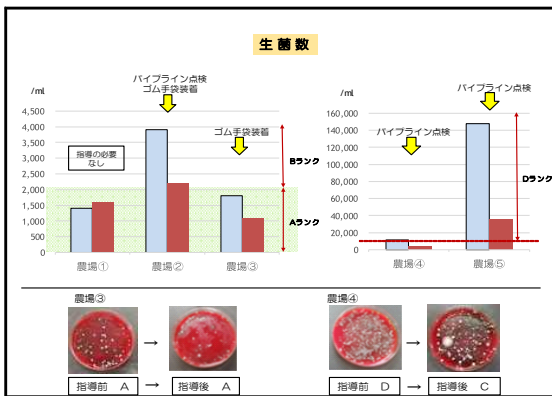


図-11：指導結果-生菌数

10 指導前後の牛群検定成績の比較

今回の乳房炎牛摘発及び搾乳衛生指導が牛群検定成績にどう反映されたか確認した。

乳房炎牛対策を行った農場①及び②では乳房炎の指標である体細胞数が減少。パイプラインやゴム手袋装着を指導した4農場のうち3農場で細菌数が減少(図-12)。今回の当所の取組が牛群検定にも効果をもたらしたと考えられた。

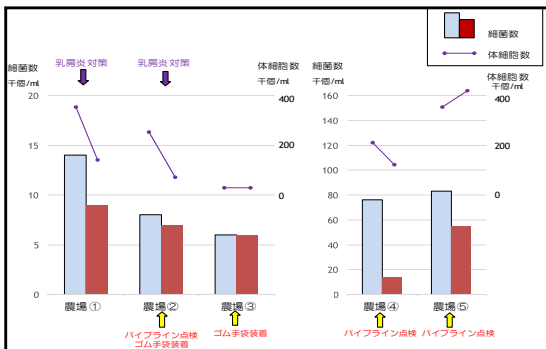


図-12：牛群検定成績の推移

1.1 まとめと課題

バルク乳検査の利点は、農家の負担が軽く簡単であり、畜主が気付かない潜在性乳房炎牛の摘発を可能とする。また、分離菌種により、搾乳衛生指導事項が明確化、農場のレベルに合わせた衛生対策が行え、農場の定期的な衛生状況チェックとしても利用できる。

また、搾乳衛生意識の改善は、ライン点検や手袋装着等、農家が取組やすい簡単な対策から始めることで、少しの改善が確実に菌数を減少させることを示せた。さらに培地写真を活用することで改善効果がひと目で分かるため、農家の衛生意識の向上とモチベーションの維持に有効であった。

今後の課題は、農場に対して根気強くアプローチを行い、より安心安全な生乳生産を行えるよう指導していくとともに、搾乳成績向上に貢献していく。

参考文献

- 1) 社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会 (1998) 『生産獣医療システム 乳牛編 1』農林水産省畜産局衛生課監修、新制作社.
- 2) 三好志朗「乳房炎コントロールのためのバルク乳モニタリング：継続の重要性」『臨床獣医』、2015年7月号 (Vol. 33、No. 7)、p. 29-32.
- 3) 三好志朗「バルクタンク乳モニタリングは乳房炎コントロールのファーストステップ」『臨床 獣医』、2015年10月号 (Vol. 33、No. 10)、p. 6-7.
- 4) Roger Blowey・Peter Edmondson (2012) 『牛の乳房炎コントロール 増補改訂版』(河合一洋, 竹内和世訳)、緑書房.

県内養豚場で発生した豚サーコウイルス関連疾病（PCVAD）

秋田県中央家畜保健衛生所

○千葉脩史 李英輝

【はじめに】

豚サーコウイルス関連疾病（PCVAD）は豚サーコウイルス2型（PCV2）の感染による疾病の総称であり、病型として、離乳後多臓器性発育不良症候群（PMWS）、豚皮膚炎腎症症候群（PDNS）、PCV2関連呼吸器病、PCV2関連腸炎、PCV2関連繁殖障害がある。また、細菌等の他の病原体との混合感染により症状が重篤化するおそれがある。今回、県内の一貫農場で発生を認めたPCVADについて得られた知見を報告する。

【農場概要】

当該農場は、母豚32頭、種雄豚4頭、肥育豚300頭の一貫経営農場で、ワクチンは、母豚および育成豚に日本脳炎、豚パルボウイルス、子豚に豚丹毒、マイコプラズマのワクチンをそれぞれ接種していた。当該農場では生体導入はなく、精液を購入し、人工授精により母豚更新を行い、種雄豚との交配により肥育豚を作出していた。また、出荷は県内と畜場で、一部を自ら加工していた。

【発生概要】

令和元年11月から12月にかけて、同腹の哺乳豚12頭のうち10頭が下痢を呈し、9頭が死亡したことから、そのうち発症豚1頭（No.1）および死亡豚1頭（No.2）について病性鑑定を行った。

【病性鑑定】

（1）剖検所見

No.1の諸臓器に著変はみられなかったが（写真1）、No.2は肺前葉が肝変化していた（写真2）。



写真1 No.1：著変なし

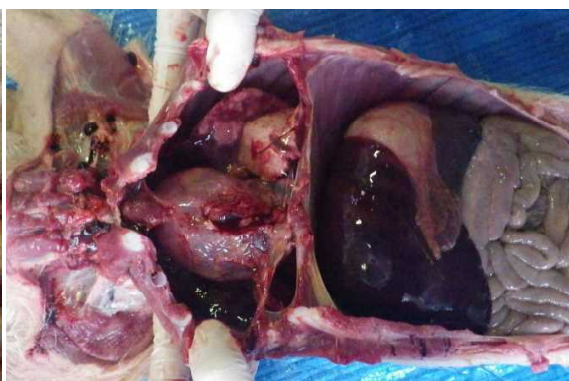


写真2 No.2：肺前葉の肝変化

(2) 材料

No. 1の生材料およびホルマリン材料、No. 2のホルマリン材料、同居豚血清および当該農場の環境材料を用いた。

(3) ウイルス学的検査

PCRおよびRT-PCRにより豚コレラウイルス、アフリカ豚コレラウイルス、豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス、伝染性胃腸炎ウイルス、豚流行性下痢ウイルスおよび豚サーコウイルス2 (PCV2) の遺伝子検査を行った。また、同居豚血清を用いた間接蛍光抗体法 (IFA) により抗体価の測定を行った。

(4) 細菌学的検査

5%羊血液加TSA培地、DHL寒天培地、ES II 培地、卵黄加GAM培地で37℃24時間、好気または嫌気培養により菌分離を行った。

(5) 病理組織学的検査

定法によりHE染色、グラム染色、免疫組織科学的染色 (IHC) を行った。また、豚コレラについて、凍結標本を用いた蛍光抗体法を行った。

【病性鑑定結果】

(1) ウイルス学的検査

PCRでは、No. 1の5臓器、扁桃、腸管および環境材料からPCV2特異遺伝子を検出した (写真3)。また、制限酵素Acc I およびFba I を用いた遺伝子型別により、得られた増幅産物は全て PCV2bと型別された (写真4)。さらにリアルタイムPCRにより、各臓器中から最大 10^8 copies/gのウイルス量を検出した。同居豚血清を用いたIFAでは全頭からPCV2抗体を検出した。

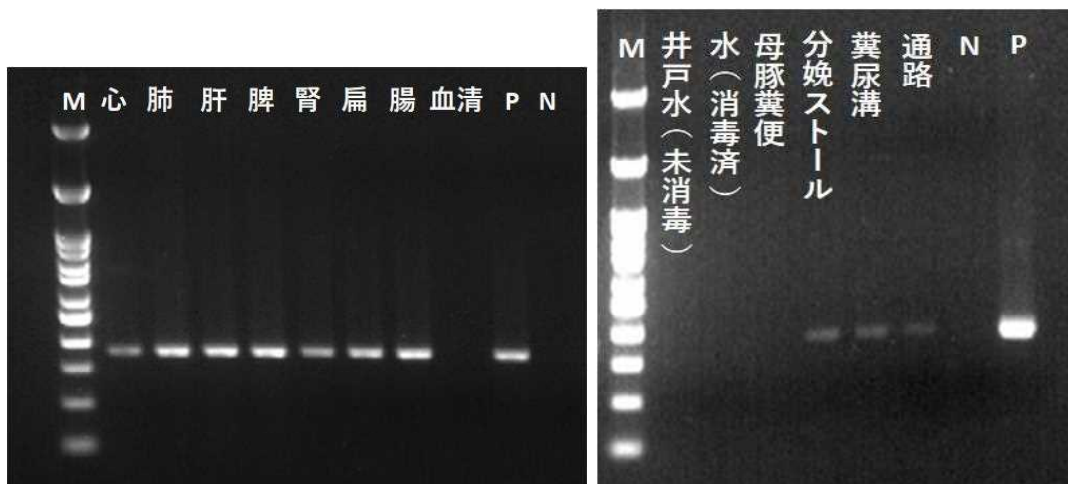


写真3 No.1 の諸臓器および環境材料を用いた PCR

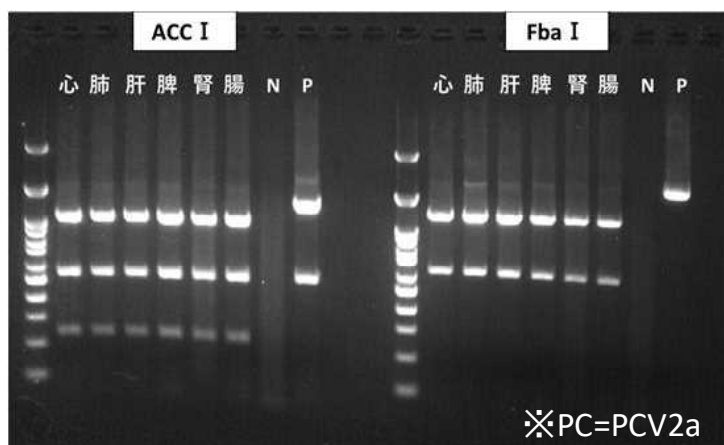


写真4 遺伝子型別

(2) 細菌学的検査

各臓器において有意菌分離陰性だった。

(3) 病理組織化学的検査

No. 1およびNo. 2の消化管において、絨毛萎縮を伴う肉芽腫性腸炎がみられた（写真5）。また、パイエル板や腸間膜リンパ節のリンパ球は減少し、細網細胞等により置換されていた。No. 1の腸間膜リンパ節では、抗塩基性細胞質内封入体が多数みられ、抗PCV2免疫染色で陽性反応を示した（写真6、7）。また、No. 2では細菌感染による壊死性・化膿性病変がみられた。

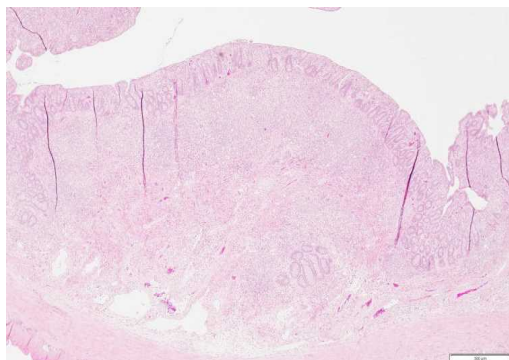


写真5 絨毛萎縮を伴う肉芽腫性腸炎

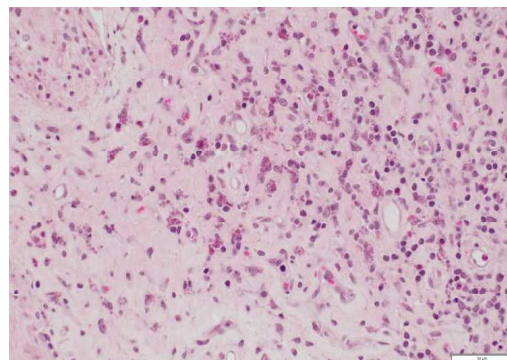


写真6 腸間膜リンパ節における抗塩基性細胞質内封入体

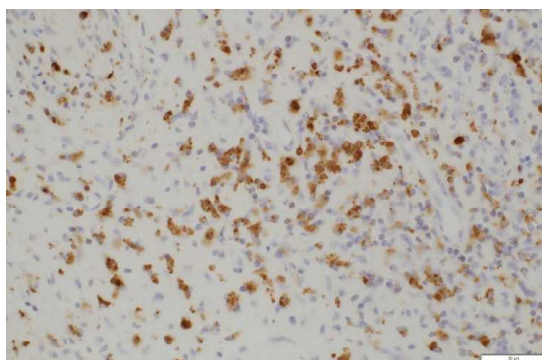


写真7 腸間膜リンパ節における抗PCV2 IHC

【まとめ（病性鑑定）】

ウイルス検査で、諸臓器から PCV2 特異遺伝子が検出され、遺伝子型別において PCV2b に型別された。また、臓器からは最大 10^8 copies/gのウイルス量が検出された。病理組織学的では、絨毛の萎縮を伴う肉芽腫性腸炎がみられ、パイエル板や腸間膜リンパ節のリンパ球は減少していた。また、病変部において抗PCV2免疫染色陽性像が多数みられた。以上から、本症例をPCVADと診断した。さらに下痢を主症状とすること、主に消化管に病変がみられることから、病型として、豚サーコウイルス関連性腸炎と推察した。当該農場では平成22年にもPCVADの発生があり、環境材料からもPCV2特異遺伝子が検出されていることから、農場内ではPCV2が継続的に感染をしているものと考えられた。

【考察】

本事例においては、下痢を主症状とし、消化管およびリンパ系組織以外にほぼ病変がみられなかったことから、経口的にPCV2が感染し、腸管に病変形成したものと推察した。また、血行性およびリンパ行性に、全身にウイルスが伝播し、リンパ系組織でのリンパ球減少が起こったものと考えられた。No.2においては、リンパ球減少による易感染状態から、二次的に細菌が感染し壊死性・化膿性病変を形成したものと考えられた。発症要因として、当該農場ではワクチン接種は実施しておらず、母豚の抗体価および母豚からの移行抗体が低値であった可能性が考えられた。また、未確認であるが、初乳摂取不足や農場内ウイルス量過多などの要因も考えられた。対策として、母豚へのワクチン接種を実施し、以降の発生はみられていない。

【参考文献】

- 1) 石川梓ら：県内初の豚サーコウイルス2型（PCV2） genotype1 確認事例．平成20年度神奈川県家畜保健衛生業績発表会集録
- 2) 出口栄三郎：豚サーコウイルス2型（PCV2）のワクチン接種によるPCV2の豚体内動態と農場内コントロール．豚病会報，No. 58，3-10（2011）
- 3) 武平有理子ら：豚サーコウイルス関連疾病の発生と遺伝子型別．第42回奈良県業績発表会（2009）
- 4) 川畷健司ら：わが国の豚における離乳後多臓器性発育不良症候群（PMWS）の実態解明．動衛研研究報告，第109号，9-16（2003, 3）
- 5) 中根崇：豚のサーコウイルス2型カプシド・タンパク質の独特の構造的形状に対する認識が感染転機を決定する．日本SPF豚研究会，44，16-28（2014）
- 6) A. R. Resendes and J. Segales：Characterization of Vascular Lesions in Pigs Affected by Porcine Circovirus Type 2-Systemic Disease. *Veterinary Pathology* 2015, Vd. 52 (3), 497-504

秋田県内の黒毛和種繁殖農場における代謝プロファイルテスト成績

秋田県農業共済組合連合会中央部家畜診療所

○市岡英恵 今野誠 斉藤一秋

1 はじめに

代謝プロファイルテスト(MPT)は、主に乳牛で実施されている血液生化学検査を中心とした牛群検診で、乳量・乳成分の向上、周産期疾病の予防、繁殖性を向上し、生産性が低下する前に飼養管理を改善することを目的とする。近年、黒毛和種繁殖牛において MPT を利用した飼養管理により、繁殖性の向上や子牛の疾病予防が報告されている(岡田ら 1997a、b、2002)。そこで、本試験では、繁殖成績が良好な黒毛和種繁殖農場の牛群と哺乳子牛の下痢が多発する黒毛和種繁殖農場の牛群を用いて MPT を実施し、繁殖成績や子牛の事故率との関連を検討した。

2 材料および方法

i) 供試牛群

繁殖成績が良好な秋田管内の農場(農場 A)および哺乳子牛の下痢が多発する由利本荘管内の農場(農場 B)で飼養する黒毛和種繁殖雌牛を供試した。農場 A は、平均分娩間隔 382.8 日とする黒毛和種の経産牛を 32 頭飼養しており、そのすべてを供試した(牛群 A)。農場 B は黒毛和種の経産牛を 54 頭飼養しており、その平均分娩間隔は 406.2 日である。農場 B では、MPT を 2019 年 3 月と 2019 年 12 月の計 2 回実施し、供試した牛はそれぞれ、54 頭のうち各繁殖ステージからそれぞれ無作為に抽出した 20 頭(牛群 B-1)、15 頭(牛群 B-2)である。

繁殖ステージは、鳥取牧場の代謝プロファイルテストを用いた黒毛和種における飼養管理マニュアルを参考に 3 ステージに分け、妊娠末期(分娩日を Day0 として Day-60~0)、泌乳期(Day1~120)、乾乳期(Day120~-60)とした。

ii) 飼養管理

農場 A で給与した粗飼料はすべて自家産のもので、リードカナリおよびホールクロップサイレージとした。これを全期間それぞれ 10kg/日給与し、さらに大豆を 0.3kg/日給与した。配合飼料は、繁殖ステージに応じて妊娠末期に 3kg/日、泌乳期に 2kg/日、乾乳期に 1.3kg/日給与した。農場 B も給与した粗飼料はすべて自家産のもので、MPT1 回目実施時には、リードカナリおよびホールクロップサイレージを全期間それぞれ 12kg/日、3kg/日給与した。配合飼料は、泌乳期にのみ 2 kg/日給与した。1 回目の MPT の結果から飼料内容を変更し、2 回目実施時には、リードカナリとホールクロップをそれぞれ妊娠末期には 12kg/日、6kg/日、泌乳期にはリードカナリのみを 10kg/日、乾乳期には 10kg/日、6kg/日とした。配合飼料を妊娠末期に 0.5kg/日、泌乳期に 1kg/日、トウモロコシを妊娠末期と乾乳期に 0.5kg/日給与し、加えてフスマを妊娠末期と乾乳期に 0.5kg/日、バイパスタシを妊娠末期にのみ 0.05kg/日給与した。農場 A、B ともに全期間、鉱塩は自由舐食、飲水はウォーターカップ での自由飲水とした。

供試牛群はつなぎ牛舎で飼養し、農場 A では妊娠末期から極力分娩房に移動し分娩させ、

分娩後 4～5 ヶ月間は子付飼養、農場 B では妊娠末期に分娩用牛舎に移動させ、分娩後 1 ヶ月で元の牛舎に移動させ、分娩後 5 ヶ月まで子付飼養とした。

iii)検査項目

血液生化学値の測定は、臨床化学自動分析装置により行い、項目はブドウ糖(Glu)、尿素窒素(BUN)、アルブミン(Alb)、総コレステロール(T-Chol)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGT)の 6 項目とした。BCS の評価は、体表 BCS により調査した。栄養充足率は、日本飼養標準・肉用牛編(農業・食品産業技術総合研究機構 2008)の値に近い養分量の数値により算出した。なお、牛の体重は 500kg、泌乳牛の乳量は 6 kg/日と設定した。

3 結果および考察

MPT の結果、牛群 A は全期間において BUN、Alb が低値、体表 BCS が高値であった。T-Chol、AST、GGT についてはほとんどが基準範囲内であった(図 1)。牛群 B-1、2 ともに、泌乳期の Alb が低値、妊娠末期および乾乳期の BUN、T-Chol、AST が高値であった(図 2)。

栄養充足率の結果、農場 A において CP は妊娠末期に 208%、泌乳期に 127%、乾乳期に 259%、TDN は妊娠末期に 215%、泌乳期に 149%、乾乳期に 237%、DMI は妊娠末期に 205%、泌乳期に 152%、乾乳期に 216%となり、高 CP、高 TDN 飼料であった(表 1)。また、農場 B において、1 回目実施時に、CP は妊娠末期に 155%、泌乳期に 124%、乾乳期に 218%、TDN は妊娠末期に 141%、泌乳期に 132%、乾乳期に 177%、DMI は妊娠末期に 100%、泌乳期に 137%、乾乳期に 115%であった(表 2)。2 回目実施時に、CP は妊娠末期に 278%、泌乳期に 141%、乾乳期に 321%、TDN は妊娠末期に 173%、泌乳期に 93%、乾乳期に 178%、DMI は妊娠末期に 175%、泌乳期に 100%、乾乳期に 168%であった(表 3)。農場 B も同様に、高 CP、高 TDN 飼料であり、さらに 2 回目でより高い結果となった。

農場 A では、分娩後早期の繁殖検診を徹底していたため、栄養充足率および血液生化学検査において基準範囲から逸脱している項目があったが、繁殖成績は良好であったと考えられる。農場 B において、1 回目実施時には哺乳子牛の下痢が多発していたが、2 回目実施時には発症件数は低下していた。しかしながら、血液生化学検査結果は牛群 B-1、2 ともに同様の傾向がみられたので、下痢の発症件数低下は、母乳よりも子牛の発育環境に起因する可能性が高いと考えられる。

今回は栄養充足率と血液生化学検査の結果に一致しない項目が多かった。その要因として、黒毛和種繁殖牛では乳牛の牛群検定のようなシステムがなく、多頭飼養において繁殖成績、飼料給与状況などについて信頼できる記録を有していなかったことである。また、自家産の粗飼料については成分分析を行わず、日本飼養標準・肉用牛編を参考に近い数値で代用したので、今後はより正確なデータを出すことが必要であると考えられる。

繁殖性の低下や子牛損耗率の上昇は、飼料状況のみならず様々な原因によって引き起こされるため、牛の生産性を高めるには飼料管理以外の面からの改善も必要であると考えられる。

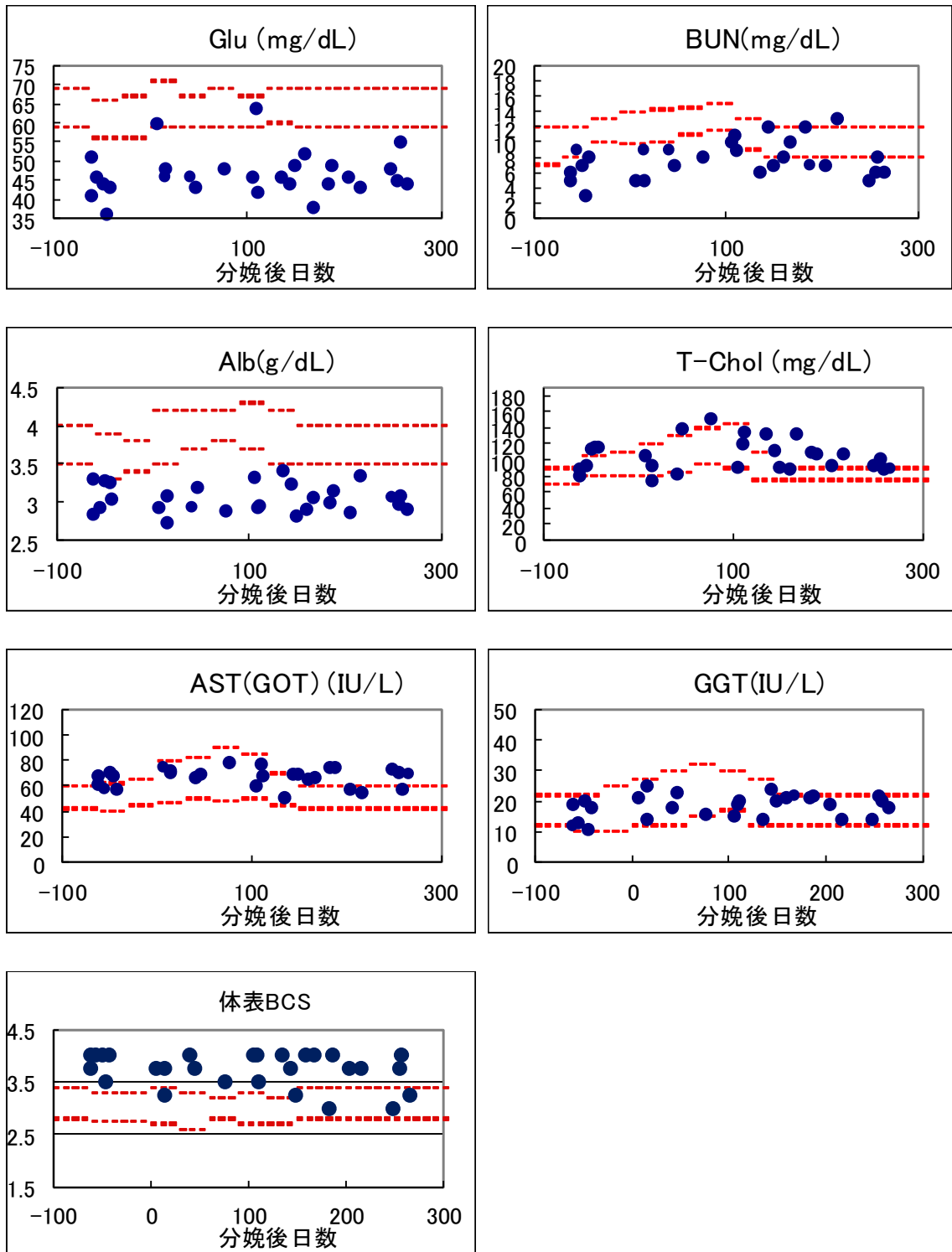


図 1 : 牛群 A の MPT の結果

点線内が適正範囲(鳥取牧場の代謝プロファイルテストを用いた黒毛和種における飼養管理マニュアルを参考)

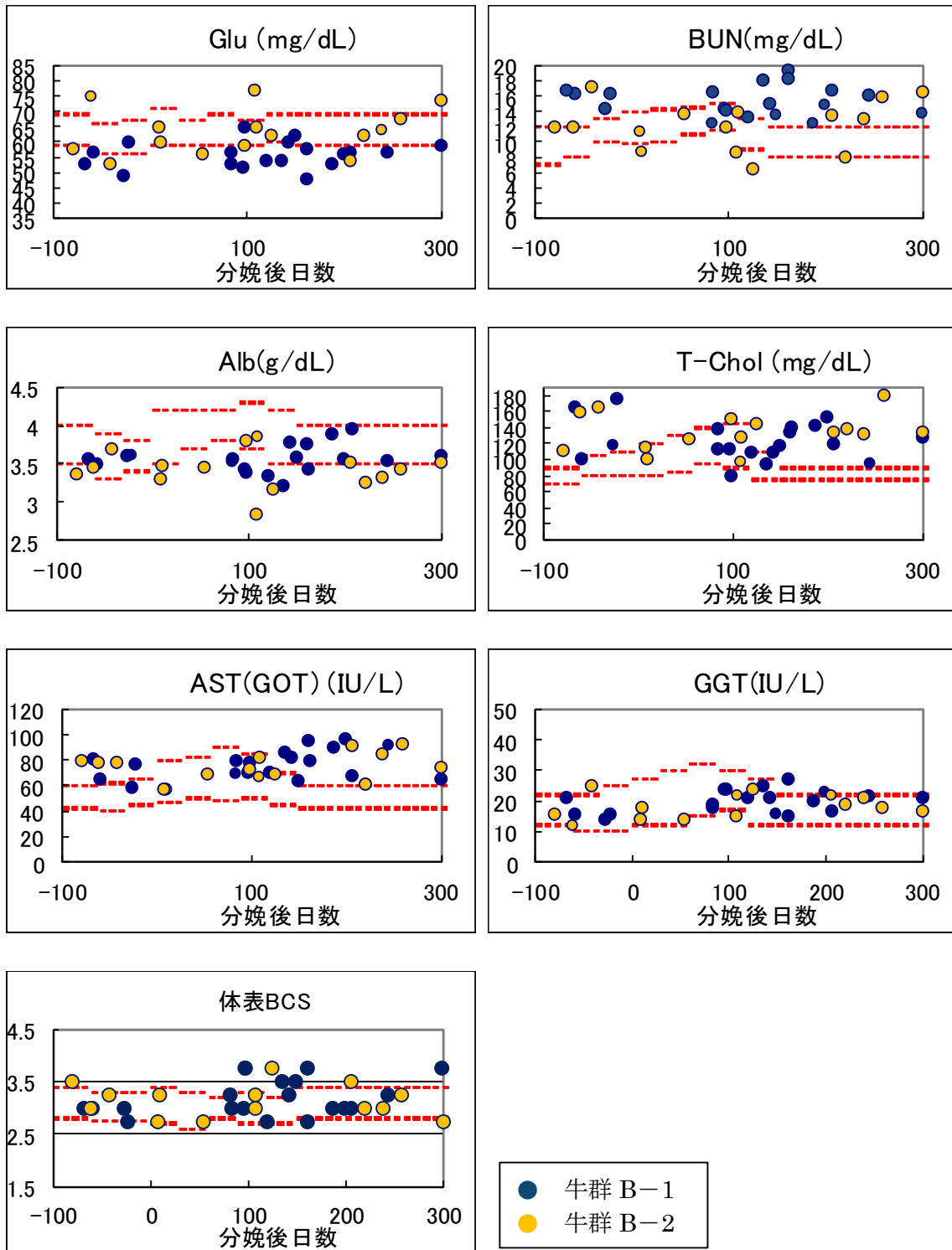


図 2 : 牛群 B-1、2 の MPT の結果
点線内が適正範囲

表 1：農場 A における各繁殖ステージの栄養充足率

	CP(%)	TDN(%)	DMI(%)
妊娠末期	208	215	205
泌乳期	127	149	152
乾乳期	259	237	216

CP（粗タンパク質）、TDN（可消化養分総量）、DMI（乾物摂取量）

表 2：農場 B における 1 回目 MPT 実施時の各繁殖ステージの栄養充足率

	CP(%)	TDN(%)	DMI(%)
妊娠末期	155	141	100
泌乳期	124	132	137
乾乳期	218	177	115

表 3：農場 B における 2 回目 MPT 実施時の各繁殖ステージの栄養充足率

	CP(%)	TDN(%)	DMI(%)
妊娠末期	278	173	175
泌乳期	141	93	100
乾乳期	321	178	168

参考文献

1. 岡田啓司, 菊地薫, 三浦潔, 佐藤利博, 森田靖, 田高恵, 荻野朋子, 金田義宏 1997a 黒毛和種子牛の白痢とアルコール不安定母乳の関係
2. 岡田啓司, 志賀隴郎, 戸川晶子, 深谷敦子, 平田統一, 竹内啓, 内藤善久 2002 黒毛和種牛における給与飼料変更後の胃汁および血液性状の変化と子牛白痢の発症
3. 岡田啓司, 田高恵, 佐藤忠弘, 村田修, 伊藤真, 渡辺一雅, 下山茂樹, 佐々木重荘, 金田義宏 1997b 黒毛和種繁殖母牛の栄養状態と子牛白痢の発生
4. 家畜改良センター鳥取牧場 2016 代謝プロファイルテストを用いた黒毛和種における飼養管理マニュアル
5. 農業・食品産業技術総合研究機構 日本飼養標準・肉用牛編（2008 年版）

高糖含量オーチャードグラスの地域適応性試験

秋田県畜産試験場

○西野瞭 鈴木人志

1 背景及び目的

オーチャードグラスは北海道・東北を中心に利用されているイネ科牧草であり、秋田県においても重要な基幹草種となっている。特徴として、刈り取り後の再生力に優れ、倒伏や干ばつに強いなど環境耐性が強いといったメリットがある。しかし、2 番草以降の栄養価がやや劣ることや、チモシーに比べ栄養価、特に糖含量が低いといったデメリットがある。そのため、糖含量を改善する必要がある。

糖とは、WSC＝水溶性炭水化物のことである。このWSCのメリットについては、家畜の消化性や嗜好性に正の相関があること（眞田ら 2003）や、サイレージの発酵品質向上に関与することが報告されている（服部ら 1996）。そのため牧草中のWSC含量を高めることで高品質な粗飼料生産が期待できると考えられる。近年、WSC含量の多さに着目した高糖含量系統オーチャードグラスが農研機構で育成されたことから、高糖含量系統の2系統、「東北8号」と「北海32号」に着目し、この2系統について栽培試験を行い、秋田県における地域適応性を確認することを目的とした。

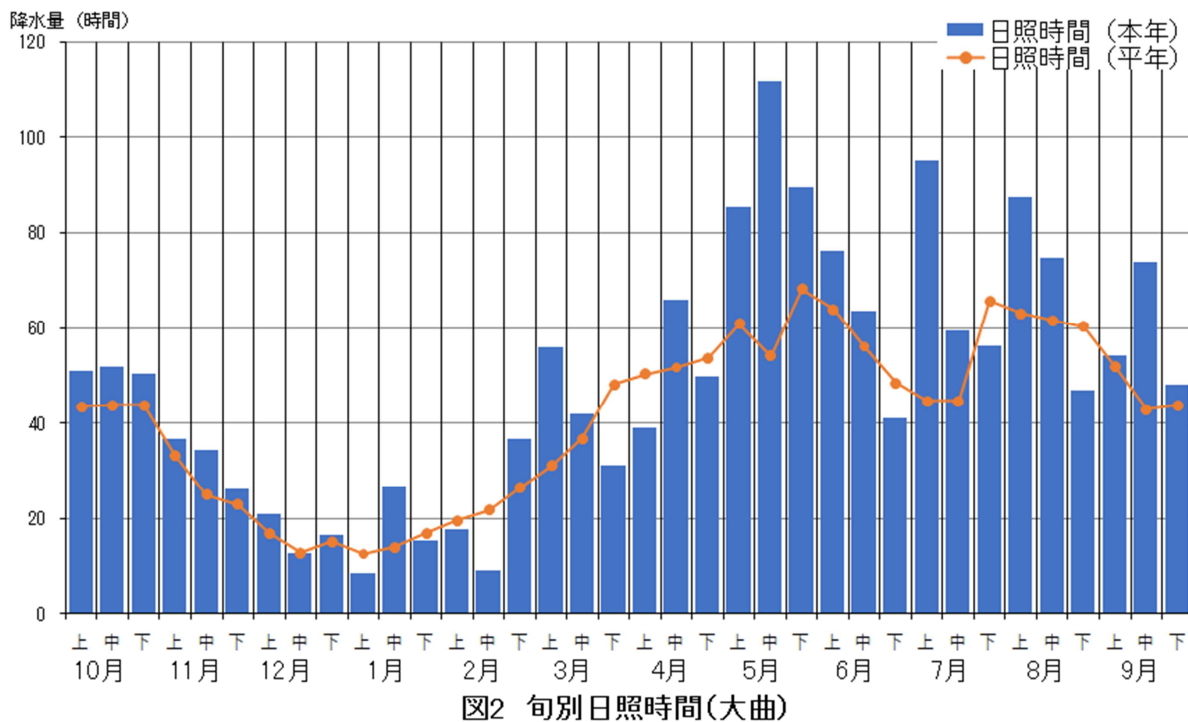
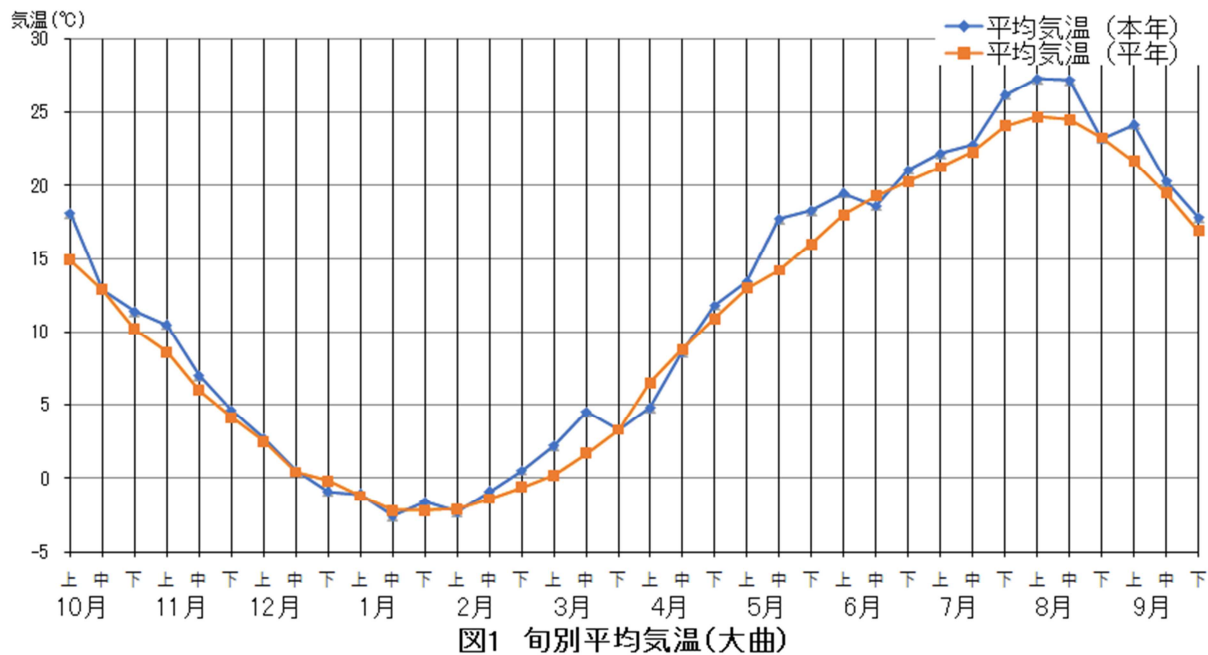
2 材料及び方法

試験圃場は秋田県畜産試験場場内圃場とし、区画は1区画3m×3mの9m²で各品種4反復の乱塊法で設置した。供試品種は、東北農業研究センター（以下東北農研）で育成された系統である「東北8号」、北海道農業研究センターで育成された系統である「北海32号」、標準品種のはるねみどり、秋田県の奨励品種のナツミドリを供試した（標準品種は、北海道・東北で広く栽培されている品種として扱った）。試験期間は平成28年～令和元年までとし、播種は平成28年10月7日に行った。播種量は発芽率で補正を行い、ナツミドリは3.0g/m²、それ以外の品種は3.6g/m²とした。施肥は全面散布とし、N,P,Kをそれぞれ早春に10kg/10a、刈り取り後に5kg/10a施肥した。調査項目は生育特性、草丈、収量、WSC含量とした。ただし、今年度のWSC含量は結果が出ていないため、平成30年度の結果を報告する。それ以外は令和元年（本年）の結果を中心に報告する。なお、WSC含量はサンプルを雪印種苗に送付し、分析を実施した。調査日は越冬性の調査を4月9日に、1番草の調査を5月27日に、2番草の調査を7月22日に、3番草の調査を9月13日に実施した。

3 気象条件

平均気温は、5月中旬から6月上旬、7月下旬から8月中旬で例年よりも高く推移してお

り,特に夏場の気温が非常に高くなる状態が続いた(図1).日照時間は平年よりも多少短い時期があるものの,春からはおおむね長い状態で推移した(図2).降水量は,7月上旬と7月下旬,9月上旬から9月中旬で雨がほとんど降らない期間があった(図3).



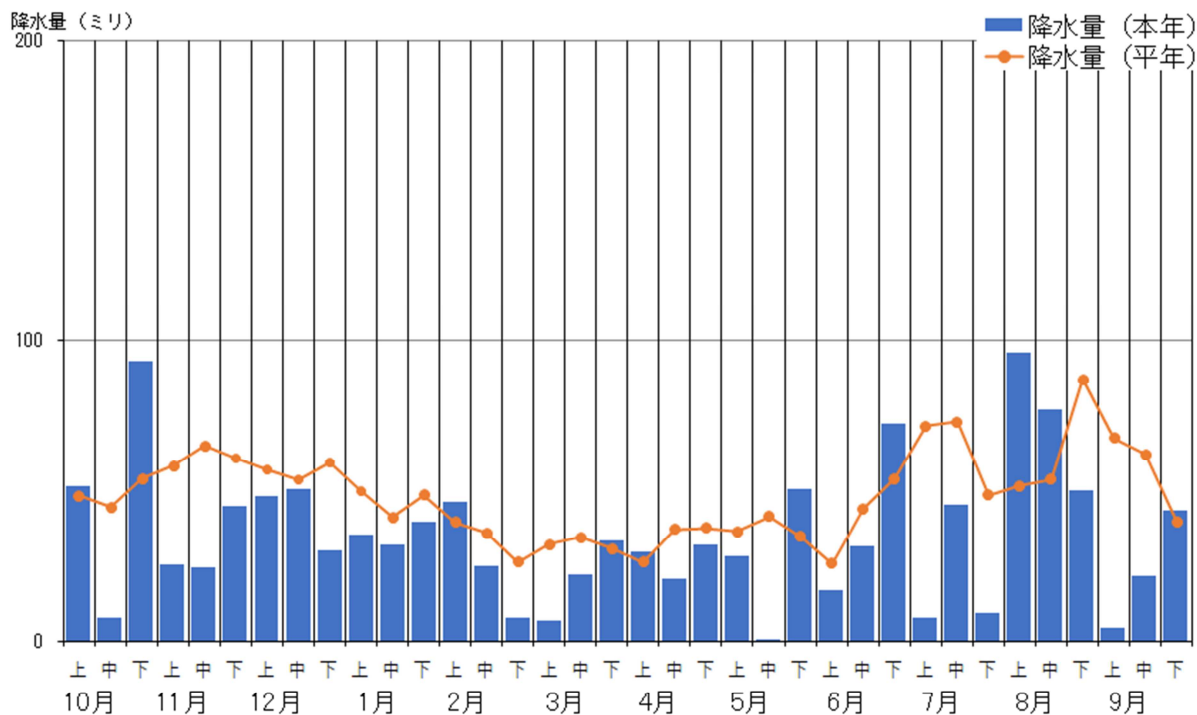


図3 旬別降水量(大曲)

4 結果と考察

越冬性は各品種とも同程度であった(表1)。倒伏程度は、東北8号がやや高い傾向にあったが、程度は低く、刈り取りには影響がないと思われた(表1)。病害程度は、1番草ではあまり発生していなかったが、夏場に高温状態が続いたため2番草では病害が多く発生した(表2)。しかしその中でも東北8号は病害程度が最も低く、北海32号も他品種より病害程度が低かった。草丈は、2番草において東北8号が最も大きくなった。1~3番草の合計収量は乾物・生草収量ともに同程度であった(表4)。また、3年間の合計収量の推移も同程度となっており、本年が最も多収となっている(表5)。WSC含量について、平成30年度のデータによると東北8号、北海32号の両系統ともWSC含量が高い値となっていた(表6)。参考として、東北農研で試験したオーチャードグラスのWSC含量と、そのサイレージのVスコアについて報告する。WSC含量は、秋田県での試験と同じく両系統とも高かった(表7)。また、Vスコアに関しても他品種に比べ両系統とも高い値となった(表8)。WSC含量に応じて乳酸が産生され、それに伴いサイレージの発酵品質も向上することが分かっていることから(服部ら1996)、東北農研で作製したサイレージのVスコアが高いという結果も、WSC含量が多いことに起因するものと考えられる。このことから、秋田県において栽培した高糖含量系統オーチャードグラスも、WSC含量が高いため良質なサイレージが生産できると思われる。

表1 越冬性・倒伏程度

	越冬性	倒伏程度			平均
		1番草	2番草	3番草	
東北8号	8.0	3.0	3.3	1.0	2.4
北海32号	8.0	1.0	3.3	1.0	1.8
はるねみどり	8.0	1.0	3.0	1.0	1.7
ナツミドリ	7.5	1.0	1.0	1.0	1.0

越冬性は極不良を1、極良を9とする

倒伏程度は無または微を1、甚を9とする

表2 病害程度

	1番草	2番草	3番草	平均
東北8号	1.3	4.0	1.0	2.1
北海32号	1.0	5.0	2.3	2.8
はるねみどり	1.0	6.0	2.8	3.3
ナツミドリ	1.8	6.8	3.3	3.9

病害程度は無または微を1、甚を9とする

表3 草丈(cm)

	1番草	2番草	3番草	平均
東北8号	117.8	99.0	90.5	102.4
北海32号	117.3	93.0	89.8	100.0
はるねみどり	112.9	87.4	88.9	96.4
ナツミドリ	118.0	83.8	84.4	95.4

表4 収量

	生草収量(kg/a)			乾物収量(kg/a)				
	1番草	2番草	3番草	1番草	2番草	3番草		
東北8号	266	133	130	529	62	37	29	127
北海32号	302	146	141	589	61	39	31	131
はるねみどり	294	146	140	580	62	40	30	131
ナツミドリ	282	125	136	543	65	36	30	131

表5 利用3年間の合計収量の推移

	生草収量(kg/a)			乾物収量(kg/a)		
	平成29年度	平成30年度	令和元年度	平成29年度	平成30年度	令和元年度
東北8号	425	452	529	85	102	127
北海32号	378	455	589	78	102	131
はるねみどり	379	464	580	76	108	131
ナツミドリ	361	440	543	79	105	131

平成30年度 秋田

表6 WSC(水溶性炭水化物)含量(乾物中%):生草

	1番草	2番草	3番草	平均
東北8号OG	10.8	5.5	7.7	8.0
北海32号	11.2	5.9	7.4	8.2
はるねみどり	8.8	5.7	6.7	7.0
ナツミドリ	6.2	4.4	6.2	5.6

平成30年度 東北農研3回刈り

表7 WSC(水溶性炭水化物)含量(乾物中%):生草

	1番草	2番草	3番草	平均
東北8号	9.8	5.9	9.7	8.5
北海32号	10.2	7.3	9.9	9.1
はるねみどり	9.3	5.5	6.5	7.1
ナツミドリ	6.9	3.9	6.9	5.9

平成30年度 東北農研3回刈り

表8 Vスコア

	1番草	2番草	3番草	平均
東北8号	89.0	82.7	99.4	90.4
北海32号	62.8	91.1	98.4	84.1
はるねみどり	77.5	70.9	95.8	81.4
ナツミドリ	46.4	73.1	79.8	66.4

5 まとめ

今回、高糖含量系統の2系統「東北8号」と「北海32号」の地域適応性試験を行った。その結果、東北8号は耐病性が高く、WSC含量が高いという特徴があり、北海32号は東北8号ほどではないものの耐病性が高く、WSC含量が高いという特徴を持つことが分かった。以上の結果から両系統とも秋田県においても十分栽培利用が可能であり、WSC含量の高さから高品質な牧草の生産が期待できることが示唆された。

今後、高糖含量系統が品種登録された際には、秋田県の奨励品種に選定する予定である。また、それに伴い高糖含量というメリットを踏まえた上での普及推進を図っていくこととしている。それにより、良質な粗飼料生産の実現と、家畜の生産性向上に寄与したいと考えている。

6 謝辞

本試験を行うにあたりご協力とご助言をいただきました農研機構東北農業研究センター、北海道農業研究センターおよび雪印種苗株式会社の各ご担当者の皆様に深く感謝いたします。

黒毛和種の生時体重や在胎日数に及ぼす種雄牛の影響

秋田県畜産試験場

○佐々木航弥 高橋利清

1 背景及び目的

近年、改良の進展に伴い黒毛和種の産子が大型化する傾向にあり、難産や分娩事故の増加が懸念されている。そのため、交配時の種雄牛選択や分娩時の管理に関する指導へ活用することを目的として、当場で生産した県有種雄牛産子について生時体重及び在胎日数を調査した。

2 材料及び方法

県有種雄牛産子のモデル農場を畜産試験場とし、平成27年4月から令和元年11月までに生産された受精卵産子を除く93頭（雄40頭、雌53頭）を調査対象とした。調査項目は、生時体重及び在胎日数とし、性別、生産年度、父、母の系統及び産次別に調査した。生時体重及び在胎日数については、標準値[表1]との比較を行った。統計処理は、一元配置の分散分析により実施した。

3 結果及び考察

【性別】

平均生時体重は、雄で35.3kg、雌で32.8kgであり、雄で有意に高い値であった。また、雄の20.0%、雌の60.4%が標準値より大きかった[表2]。このことから、生時体重は雌で特に大型化していることが示唆された。

平均在胎日数は、雄で290.1日、雌で289.9日であり、雌雄で有意な差はなかった。また、雄の85.0%、雌の88.7%が標準値より長かった[表3]。このことから、在胎日数は雌雄共に長期化していることが示唆された。

【生産年度別】

生時体重及び在胎日数について、雌雄共に年度間で有意な差はなかった[図1][図2]。

【父別】

平均生時体重：雄産子では、最も小さいもので「朝陽」の31.2kg、最も大きいもので「黄金乃花」の38.2kgであり、標準値を超えるものはなかった。しかし、「義平福」及び「黄金乃花」の産子については、最大のもので43.0kg及び54.8kgと大きい産子がみられた。なお、父とする種雄牛間で有意な差はなかった[表4]。雌産子については、最も小さいもので「徳茂百合」の23.6kg、最も大きいもので「義平福」の36.8kgであり、父とする種雄牛間で有意な差があった。また、雌産子のうち「義平福」、「義平清」、「黄金乃花」及び「宝乃花」の産子については標準値を上回る値であり、「義平福」、「黄金乃花」及び「宝乃花」では最大の産子が40kgを超える大きいものであった[表5]。こ

のことから、種雄牛の違いが雌産子の生時体重に影響を与えることが示唆されるとともに、種雄牛によっては、交配や分娩時に注意が必要であると考えられる。

平均在胎日数：雄産子では、「朝陽」以外の6種雄牛について標準値を超えた日数であり、このうち「徳茂百合」を除いた5種雄牛で標準値以上の産子割合が高く、父とする種雄牛間で有意な差があった[表6]。雌産子についても、標準値を超える産子が多いうえ、標準値以上の産子の割合も高い結果であり、父とする種雄牛間で有意な差があった[表7]。このことから、種雄牛の違いが在胎日数に影響を与え、在胎日数が長期化する傾向にあることが示唆された。

【母の系統別】

例数の多い「義平福」及び「松糸華」産子の成績を抽出した結果、生時体重及び在胎日数に有意な差はなかったものの、生時体重では最大5kgの差、在胎日数では最長で4.8日の差があった[表8]。

【産次別】

4産以上している母牛の成績を抽出した結果、産子の生時体重はばらつきがあったが、在胎日数は産次が進むにつれ増加する傾向にあった[表9]。このことから、産次が進むと在胎日数が延長する可能性が示唆された。

4 まとめ

今回、畜産試験場で生産した県有種雄牛産子の成績を基に、生時体重と在胎日数に及ぼす種雄牛の影響を調査した。

その結果、生時体重は雌で大型化、在胎日数は雌雄共に長期化していることが示唆された。また、父とする種雄牛や、母の系統によっても生時体重や在胎日数に影響を与えることが示唆された。さらに、産次が進むにつれ在胎日数が延長することが示唆された。

これらのことから、交配する種雄牛を選ぶ際には、血統や産肉性のみを重視するのではなく、予想される生時体重や在胎日数、母牛の産歴等を考慮することが必要であり、安全な分娩ができるようにすることも重要である。今後は、例数を増やして検討を重ね、交配指導に活用していく。

表1 生時体重及び在胎日数の標準値

性別	生時体重 (kg) *1	在胎日数 (日) *2
雄	39.0	285
雌	29.9	

※1 黒毛和種正常発育曲線(公益社団法人全国和牛登録協会)

※2 家畜人工授精講習会テキスト(一般社団法人日本家畜人工授精師協会)

表 2 性別の生時体重

性別	頭数	平均	最大	最小	標準値以上	
					頭数	割合(%)
雄	40	35.3±5.3 a	54.8	28.0	8	20.0
雌	53	32.8±5.1 b	42.0	23.6	32	60.4

※平均値±標準偏差
 ※異符号間で有意差あり(P<0.05)

表 3 性別の在胎日数

性別	頭数	平均	最長	最短	標準値以上	
					頭数	割合(%)
雄	40	290.1±5.4	302	278	34	85.0
雌	53	289.9±4.3	302	279	47	88.7

※平均値±標準偏差

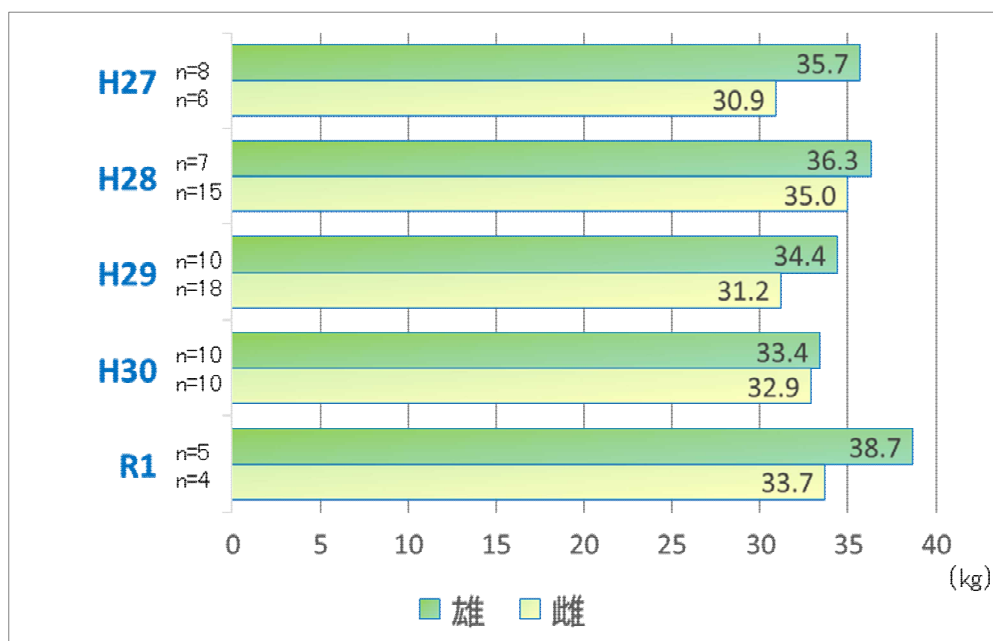


図 1 生産年度別の生時体重

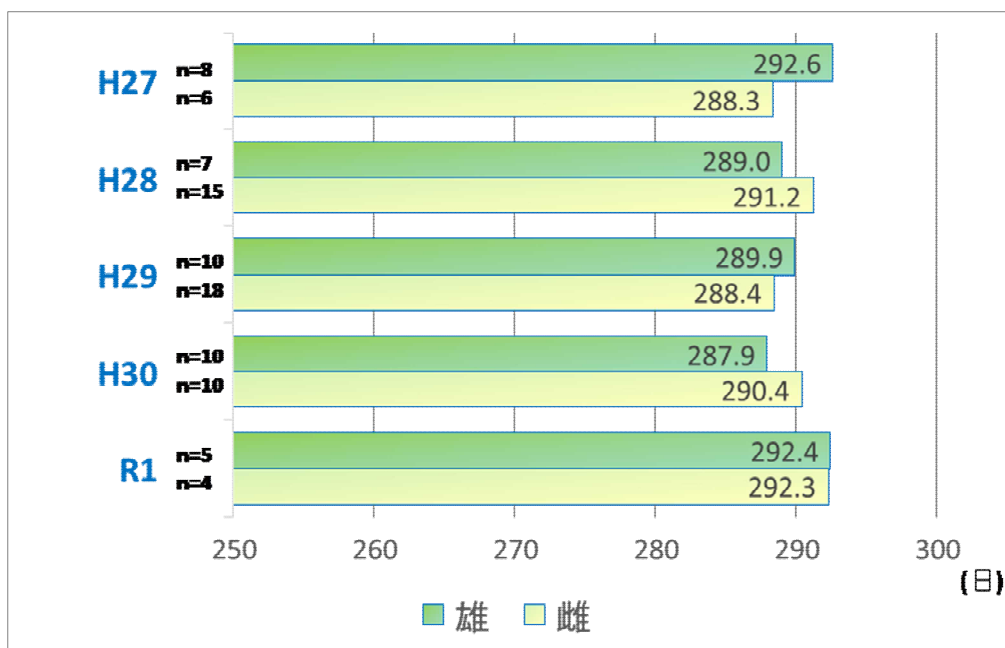


図2 生産年度別の在胎日数

表4 雄産子の父別生時体重

父牛名号	頭数	平均	最大	最小	標準値以上	
					頭数	割合
義平福	12	36.9 ± 4.8	43.0	28.0	4	33.3
松昭秀	0					
松糸華	8	32.8 ± 4.4	39.8	28.0	1	12.5
義平清	5	35.8 ± 1.6	37.8	33.8	0	0.0
徳糸茂	4	35.9 ± 2.7	39.8	33.6	1	25.0
徳茂百合	2	34.4 ± 7.4	39.6	29.2	1	50.0
黄金乃花	5	38.2 ± 9.9	54.8	28.6	1	20.0
宝乃花	0					
朝陽	4	31.2 ± 2.4	34.8	29.4	0	0.0

※平均値±標準偏差

表 5 雌産子の父別生時体重

父牛 名号	頭数	平均	最大	最小	標準値以上	
					頭数	割合
義平福	16	36.8 ± 4.2	42.0	27.0	14	87.5
松昭秀	4	29.3 ± 3.4	33.0	25.6	2	50.0
松糸華	10	29.5 ± 3.8	38.2	25.6	3	30.0
義平清	3	33.9 ± 3.6	36.6	29.8	2	66.7
徳糸茂	8	29.9 ± 3.4	36.0	24.8	4	50.0
徳茂百合	1	23.6 ± 0.0	23.6	23.6	0	0.0
黄金乃花	4	36.3 ± 3.0	40.2	33.8	4	100
宝乃花	6	32.8 ± 5.9	41.2	26.6	3	50.0
朝陽	1	29.2 ± 0.0	29.2	29.2	0	0.0

※平均値±標準偏差

表 6 雄産子の父別在胎日数

父牛 名号	頭数	平均	最長	最短	標準値以上	
					頭数	割合
義平福	12	288.9 ± 5.8	295	278	10	83.3
松昭秀	0					
松糸華	8	287.5 ± 2.7	291	284	7	87.5
義平清	5	293.8 ± 1.6	296	292	5	100.0
徳糸茂	4	297.5 ± 5.3	302	290	4	100.0
徳茂百合	2	288.5 ± 7.8	294	283	1	50.0
黄金乃花	5	292.2 ± 2.6	295	288	5	100.0
宝乃花	0					
朝陽	4	285.0 ± 2.9	288	282	2	50.0

※平均値±標準偏差

表 7 雌産子の父別在胎日数

父牛 名号	頭数	平均	最長	最短	標準以上	
					頭数	割合
義平福	16	289.7 ± 4.4	296	279	13	81.3
松昭秀	4	294.3 ± 6.8	302	286	4	100.0
松糸華	10	285.9 ± 4.0	292	279	7	70.0
義平清	3	291.3 ± 1.2	292	290	3	100.0
徳糸茂	8	291.9 ± 1.7	295	289	8	100.0
徳茂百合	1	285.0 ± 0.0	285	285	1	100.0
黄金乃花	4	291.0 ± 1.4	293	290	4	100.0
宝乃花	6	290.5 ± 3.4	296	286	6	100.0
朝陽	1	291.0 ± 0.0	291	291	1	100.0

※平均値±標準偏差

表 8 母方系統の違いが生時体重及び在胎日数に及ぼす影響

父牛	性別	母方系統	頭数	生時体重(kg)	在胎日数(日)
義平福	雄	田尻	9	36.0	288.2
		気高	2	39.1	290.0
		藤良	1	41.0	293.0
	雌	田尻	6	38.8	290.8
		気高	5	36.6	288.8
		藤良	5	34.6	289.2
松糸華	雄	田尻	3	32.0	288.7
		気高	2	30.7	289.5
		藤良	3	34.9	285.0
	雌	田尻	9	29.6	286.0
		気高	0	0.0	0.0
		藤良	1	28.6	285.0

表 9 母牛の産次が生時体重及び在胎日数に及ぼす影響

母牛 ID	母の父	母の祖父	産次	生年	父 (交配種雄牛)	性別	生時体重	在胎日数
A	茂重安福 (沖縄)	平茂勝	1	H27	徳糸茂	♂	35.0	290.0
			2	H29	義平福	♀	40.4	292.0
			3	H30	義平福	♂	34.8	293.0
			4	R1	義平清	♂	37.8	295.0
B	第1花園	糸福 (鹿児島)	1	H27	徳茂百合	♂	29.2	283.0
			2	H29	義平福	♀	33.2	291.0
			3	H30	義平福	♀	27.0	293.0
			4	R1	義平清	♂	33.8	296.0

DNA バルクサンプルの全ゲノムシーケンスによる比内地鶏の行動的ストレス反応性関連遺伝子の探索

青谷 大希

秋田県畜産試験場

1. 目的

比内地鶏の生産現場において、圧死事故の発生が大きな問題となっている。

そこで我々は、圧死事故の発生に関与すると考えられる行動的ストレス反応性に着目し、鶏における行動的ストレス反応性の品種間差や生産性との関連について研究を行ってきた。そしてその過程で、比内地鶏の初生時における行動的ストレス反応性と、その後の発育や悪癖（つつき；feather pecking）の発生との間に有意な関連があることを明らかにした。

初生時のストレス反応性には、遺伝的な要因が大きく影響していると推察されるため、育種改良への応用が期待されるが、改良効率を向上させるとともに、同様の問題を抱える全国各地の地鶏生産現場へ速やかに技術を普及するためには、鶏の行動的ストレス反応性に関与する遺伝子を明らかにして、マーカーアシスト選抜を可能にする必要がある。しかしながら、現在のところこの分野に関する有力な知見は存在しない。

そこで本研究では、これまでに行動的ストレス反応性を調査した供試個体から採取した血液より DNA を抽出して全ゲノムシーケンスを行い、参照配列に対する変異塩基の頻度を行動的ストレス反応性の異なる群間で比較することにより関連遺伝子を探索した。

2. 方法

2.1 材料

平成 27 年 6 月から平成 29 年 6 月までの間に行動反応試験に供した、882 羽の比内地鶏メスのデータと血液サンプルを用いた。

2.2 Tonic Immobility 試験

行動的ストレス反応性を評価するための行動反応試験として、Tonic Immobility (TI 緊張不動)¹⁾試験を用いた。ヒナを仰向けにして木製の台座に寝かせて胸部を軽く抑え、ヒナが不動姿勢をとった時点で静かに手を放し、不動状態の持続時間、すなわちヒナが起き上がるまでの時間を、180 秒を上限として測定した。なお、手を放してから 5 秒以内にヒナが起き上がった場合は、TI に誘導されなかったものとして、直ちに誘導操作を繰り返し、TI が誘導されるまでの試行回数を記録した。

2.3 調査群の作成

TI 試験の結果から、行動的ストレス反応性の異なる 2 つの仮定の調査群を作成した。TI への誘導に複数回の試行を必要とし、かつ持続時間が短かった個体を抽出して TI

Short 群(n = 31)とし、一度目の試行で TI に誘導され、かつ持続時間が 180 秒に到達した個体群を TI Long 群(n = 30)とした。両群の TI 試験のスコアを Fig. 1 および 2 に示す。

2.4 DNA バルクサンプルの調製

調査群に選抜された各個体の血液サンプルから DNeasy Blood & Tissue Kit (キアゲン ヒルデン ドイツ) を用いてゲノム DNA を抽出した。抽出した DNA サンプルの濃度を 50 ng/μl に調整した後、群ごとに等量ずつ混合し DNA バルクサンプルを調製した。

2.5 全ゲノムシーケンス

DNA バルクサンプルの全ゲノムシーケンスは、タカラバイオ株式会社に委託して実施した。サンプルは品質検定として濃度、純度および断片化の有無を確認した後、TruSeq DNA PCR-Free Library Prep Kit (イルミナ サンディエゴ アメリカ) を用いてシーケンスライブラリーを作製した。作製は TruSeq DNA PCR-Free Library Prep Reference Guide に沿って行われた。なお、本解析においては、2つのライブラリーを混合してシーケンシングしたため、アダプターはサンプルを選別するための index 付きのものを用いた。作製したシーケンスライブラリーは品質検定後に混合され、シーケンス解析に供された。クラスター形成およびシーケンス解析に使用した機器はそれぞれ、cBot Cluster Generation System および HiSeq X Five Sequencing System (ともにイルミナ) で、操作は両機器の標準プロトコルによった。

シーケンス解析により得られた塩基配列情報 (リード) は、アダプターおよび低品質領域を除去した上でセキショクヤケイのゲノム配列 (assembly 名: Gallus_gallus-5.0 accession 番号: GCF_000002315.4) を参照配列としてマッピングし、変異を検出した。変異の種類は一塩基置換、挿入変異および欠失変異とした。なお、リードのクリーニングには Trimmomatic²⁾、マッピングには BWA-MEM³⁾、変異の検出には LoFreq⁴⁾ ソフトウェアをそれぞれ用いた。

2.6 候補遺伝子の探索

検出された変異のうち、アノテーション結果より影響が大きいと予測されるもの、すなわち転写、スプライシングおよび翻訳の開始または終了に影響を与えるもの、ならびにアミノ酸配列あるいはタンパク質の構造に重篤な影響を与える可能性があるものを抽出し、両群における変異塩基の頻度を比較することにより候補遺伝子の探索を行った。両群における変異塩基の頻度は、当該部位における全冗長度に占める変異塩基の割合とし、カイ二乗検定により頻度のちがいの有意性を検定した。

3. 結果と考察

各群においてシーケンス解析により検出された全変異の数ならびに影響度が大きいと予測された変異の数を Table. 1 に示す。これらの変異のうち、影響度が大きく、群間でその頻度が有意 ($p < 0.05$) に異なったものの数は 6,153 座位であった。このうち、すでに機能が明らかになっているものは同一遺伝子内の変異を含めて 2,732 座位であつ

た。この中には、ストレス反応に関連する神経伝達物質であるモノアミンや、自律神経に関連する神経伝達物質であるアセチルコリンの関連遺伝子が複数含まれていた。

本研究で用いた手法は、シーケンス解析における冗長度を利用して両群の変異頻度を仮定したものであり、これらの結果をもってストレス反応性の関連遺伝子であると結論付けることはできないが、これまでにヒトや他の動物種において報告^{5),6)}されているストレス関連神経伝達物質の関連遺伝子が検出されたのは非常に意義深いことである。今後は候補領域について個体レベルの多型解析を行い、ストレス反応性との関連を解析するとともに、当該領域の変異が遺伝子の発現および機能にどのような影響をもたらすかを解析することで、地鶏の行動的ストレス反応性関連遺伝子の特定を目指す。

(Fig.1, 2 入れる)

(Table. 1 入れる)

4. 謝辞

本研究は平成 29 年度公益財団法人伊藤記念財団の助成を受けたものです。

5. 要約

地鶏の行動的ストレス反応性関連遺伝子の候補領域を探索するため、次世代シーケンサーによる DNA バルクサンプルの全ゲノムシーケンスを行った。比内地鶏のメスを用いて初生時に実施した行動反応試験の結果をもとに行動的ストレス反応性の異なる調査群を作成し、血液から抽出した DNA を群ごとに等量ずつ混ぜ合わせ、シーケンス解析に供した。

解析の結果、約 11,000,000 座位の変異が検出された。これらの中から影響度の高い変異を選び、各座位における、全冗長度に占める変異塩基の割合を群における変異の頻度であると仮定して、カイ二乗検定により群間で有意に頻度の異なる領域を調べたところ、6,153 座位が検出された。このうち、機能が明らかとなっているものは 2,732 座位であった。今後は、個体レベルの多型とストレス反応性との関連解析や当該領域の変異が遺伝子の発現および機能にもたらす影響について調査を行う必要がある。

6. 文献

- 1) Jones, R. B. The tonic immobility reaction of the domestic fowl: a review. *W Poultr Sci J* **42**, 82–96 (1986).
- 2) Bolger, A. M., Lohse, M. & Usadel, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* **30**, 2114–2120 (2014).
- 3) Li, H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with

- BWA-MEM. (2013).
- 4) Wilm, A. *et al.* LoFreq: A sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets. *Nucleic Acids Res.* **40**, 11189–11201 (2012).
 - 5) Lesch, K. P. *et al.* Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* **274**, 1527–1531 (1996).
 - 6) Brunner, H. G., Nelen, M., Breakefield, X. O., Ropers, H. H. & van Oost, B. a. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science* **262**, 578–580 (1993).

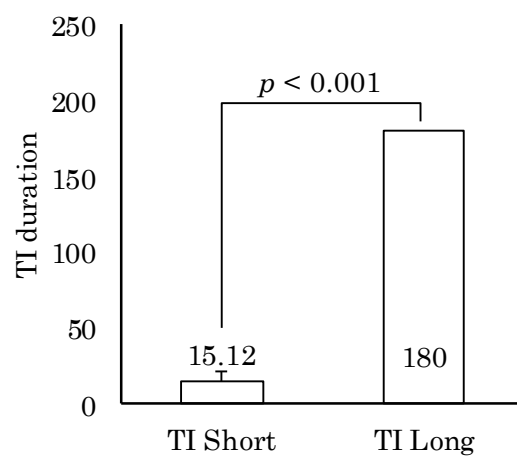


Fig. 1 Duration of Tonic immobility

Statistical analysis was performed by t-test by the null hypothesis described below.

$$H_0: \mu_{\text{TI Short}} = 180$$

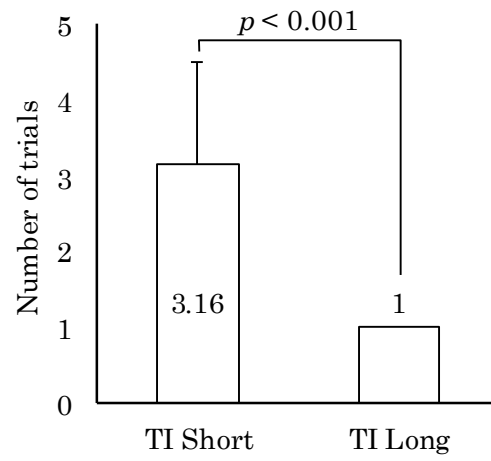


Fig. 2 The number of trials for TI induction

Statistical analysis was performed by t-test by the null hypothesis described below.

$$H_0: \mu_{\text{TI Short}} = 1$$

Table. 1 The number of variants detected by whole-genome resequencing of bulked DNA sample.

	Type of variant			Variant with high impact
	SNP	Insertion	Deletion	
TI Short group	9,906,644	589,831	645,444	54,340
TI Long group	10,052,316	604,306	658,082	55,534