



しあわせ信州

第67回
畜産技術研究発表会
集 録

令和4年度
長野県

目 次

No.	演 題 名	所 属	氏 名	ページ
1	畜産を学ぶ高校生への学術的支援	松本家畜保健衛生所	山口 慎輝子	1
②	管内養豚場と家保の新たな協力体制による生産性向上の取組	飯田家畜保健衛生所	間瀬 加奈子	6
③	血清抗体価を用いた牛マイコプラズマ性乳房炎の清浄化と環境検査による再発防止対策	伊那家畜保健衛生所	中村 光	11
4	牛ウイルス性下痢持続感染牛摘発事例と管内の課題	長野家畜保健衛生所	河西 晴子	17
5	管内養豚場におけるサルモネラ症の発生事例	飯田家畜保健衛生所	三木 一真	20
6	飼養豚及び野生イノシシにおける豚熱抗体価の推移	松本家畜保健衛生所	伊藤 唯	24
7	母豚の中和抗体価を用いた豚熱ワクチン接種適齢期推定と適期接種に向けた取組	松本家畜保健衛生所	中島 冬萌	28
8	デルマトフィルス症の冬季集団発生	佐久家畜保健衛生所	小林 憲一郎	31
9	<i>Streptococcus ruminantium</i> が分離された牛肺炎の一例と過去に牛から分離された <i>Streptococcus suis</i> の再同定	松本家畜保健衛生所	鈴木 健太	36
10	牛サルファ剤中毒事例における眼房水中総サルファ剤濃度の定量方法の検討	松本家畜保健衛生所	松澤 直樹	39
⑩	当所における血液生化学検査の測定結果と精度管理	伊那家畜保健衛生所	平野 皓己	43
12	ドライアイスと滑走式マイクロームによる凍結切片作製について	松本家畜保健衛生所	徳武 慎哉	49
13	松本農業農村支援センター管内の飼料作物生育概況	松本農業農村支援センター	海内 裕和	56
14	青刈りとうもろこしの極早生品種の収穫時期と収量性について	畜産試験場	伊藤 達也	69
15	黒毛和種繁殖雌牛の繁殖性に影響する血中生化学成分	畜産試験場	常田 将宏	73
16	胚盤胞胚の発生率が高い牛体外受精卵の選別技術の検討	畜産試験場	藤森 祐紀	76
17	「長交鶏3号」における止まり木の利用特性および発育、産肉成績への影響	農業大学校 畜産研究科	小田 恋	78
18	「信州黄金シャモ」の母鶏としての愛媛県保有名古屋種の特性	畜産試験場	大塚 ひなこ	81
19	切歯の有無および外科的去勢の熟練度の違いが子豚の発育に及ぼす影響	畜産試験場	保科 和夫	84
20	(令和4年度日本産業動物獣医師会中部地区学会長賞受賞記念講演) 柿皮給与による牛の消化管内メタン生成抑制効果の検討	獣医師会 (畜産試験場)	神田 章	88
○ 関東甲信越ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演題				

畜産を学ぶ高校生への学術的支援

○山口慎輝子、松下彩、木内英昭、宮澤隆
(松本家畜保健衛生所)

要約

当所では以前から、管内農業高校からの依頼により、牛等の妊娠鑑定や、高病原性鳥インフルエンザに関する授業を実施している。令和3年度からは卒業研究のサポートとして、大学教授らと交えたアニマルウェルフェア(AW)に係る研究課題検討会を開催し、より専門的な取り組みとなるよう支援。令和4年12月、動物関係の学科・コースに所属する全学年を対象にアンケート調査を実施。アンケートの結果、AWや飼養衛生管理への関心が高いことがうかがえた。卒業後の進路は、畜産以外の動物関係の職業を希望する生徒も多かったが、動物展示施設等においても衛生管理は重要であり、家保との交流は畜産等に関する知識の向上や衛生意識の啓発に有用であると考え。畜産に係る従来の内容の他、産官学が連携し、AW等の新たな分野について専門家と学ぶ機会をつくることも家保として重要な役割であると考え。

1 はじめに

当所では以前から、管内の農業高校からの依頼により、妊娠鑑定等の授業を実施している。

令和3年度及び4年度の農業高校と家保の関わりをまとめるとともに、今後の家保の農業高校に対する役割を考えるため、高校生にアンケート調査を実施したので、その結果を報告する。

2 農業高校の概要

農業高校には3つの学科があり、各学科40名の1年生が入学する。2年次にコース選択があり、それぞれ3つのコースに分かれる。畜産に関係するのは生物工学科動物バイオテクノロジーコースであり、令和4年度は2年生23名、3年生22名が在籍し

ている(表1)。両学年ともに最も人数の多いコースとなっており、動物関係の人気の高さがうかがえる。

表1 農業高校の学科・コース

1年次(各40名)	2年次以降(コース)	2年生(人)	3年生(人)
グリーンサイエンス科	フード	17	14
	フラワー	11	12
	フルーツ	12	13
生物工学科	植物バイオテクノロジー	5	7
	動物バイオテクノロジー	23	22
	微生物バイオテクノロジー	12	7
環境クリエイト科	施工テクニカル	17	15
	環境デザイン	8	10
	設計エンジニア	6	9

3 農業高校と家保の関わり

令和3年度及び4年度の農業高校と家保の関わりを表2に示す。

表 2 農業高校と家保の関わり (R3~R4 年度)

R3	4月	牛の妊娠鑑定
		アニマルウェルフェアに係る研究課題検討会
	10月	山羊の妊娠鑑定
	10~12月	卒業研究のサポート
	6月	高病原性鳥インフルエンザに関する授業 家保の業務・獣医系大学の生活について
	6~7月	牛の妊娠鑑定
	7~12月	卒業研究のサポート

(1) 牛の妊娠鑑定

妊娠診断方法やエコー画像の見え方等について授業を行った後、実際にエコーを用いて牛の妊娠鑑定を行った (図 1)。



図 1 授業で描写した牛胎子のエコー画像

(2) 山羊の妊娠鑑定

外側から腹部にプローブを当て (図 2)、胎齢 2 か月ほどの胎子が確認された。確認された胎子の画像と分娩前の兆候についても資料を作成し、授業後の学習に役立てた。

(3) 高病原性鳥インフルエンザに関する授業

定点モニタリングの際に、検査の目的や方法等を説明し、採材の様子を見てもらった。また、家保の業務や獣医系大学の生活についても説明した。



図 2 山羊の妊娠鑑定の様子

(4) 卒業研究のサポート

①代謝プロファイル

3 年生はカリキュラムの 1 つに卒業研究がある。令和 3 年度より、繁殖雌牛において繁殖ステージごとに給与した餌が血液性状と栄養状態に与える影響について調査している。血液検査結果を読み取るにあたって、餌の消化吸収についての仕組みや各血液検査項目が反映している代謝状態、検査項目が上昇・下降することで何が考えられるかを説明し、牛の栄養状態について考察した。また、飼料会社の方にも協力をいただき、現在給与している餌の基本的な栄養成分や BCS について説明していただいた。

②AW に係る研究課題検討会

東北大学名誉教授佐藤衆介氏、信州大学農学部准教授竹田謙一氏を講師として迎え、AW の世界と日本の動き、今後の展望について講演していただいた。生徒が令和 3 年度の卒業研究内容を発表し、講師の先生から講評をいただくとともに令和 4 年度の卒業研究内容を検討した (図 3)。



図3 AWに係る研究課題検討会の様子

4 アンケート調査

(1) アンケート内容

令和3年度及び4年度の農業高校と家保の関わりから、今後の家保の農業高校に対する役割を考えるため、アンケート調査を実施した。生物工学科1年生及び動物バイオテクノロジーコース2、3年生を対象とし、1年生36名、2年生21名、3年生22名から回答を得られた。アンケートの内容は次のとおりである。

- ① 妊娠鑑定の授業について
- ② 現在の畜産のイメージ（問題点）
- ③ 今後の畜産に望むこと
- ④ 家保等行政にしてほしいこと
- ⑤ 家保へ希望する授業
- ⑥ 将来就きたい職業

なお、①は家保が行った牛の妊娠鑑定の授業を受けた2、3年生を対象とし、資料のわかりやすさ、説明のわかりやすさ、胎子の画像のわかりやすさについて5段階で評価してもらった。②～⑥は全員を対象とし、自由記述とした。

(2) アンケート結果

① 妊娠鑑定の授業について

いずれも「まったくわからなかった」という生徒はおらず、家保が実施した授業は概ね理解されたことがうかがえた。胎子の画像については「あまりわからなかった」とい

う生徒も少数みられた（図4）。

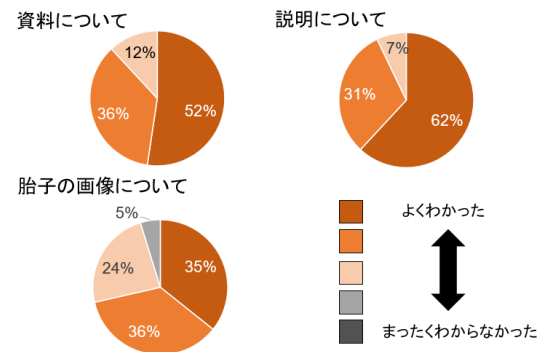


図4 アンケート結果①

妊娠鑑定の授業について

② 現在の畜産のイメージ（問題点）

高齢化や離農の増加による「担い手不足」が最も多く挙げられた。また、飼料価格の高騰等から「経営が厳しい」という回答も多く、最近の情勢にも関心が高い。「重労働」、「休みがない」等、「大変」だという回答も多かった。「飼育スペースが狭い」、「ストレスの改善が必要」等、「AWの認識が不足している」との回答も比較的多く、AWの認識が進んでいることがわかった（図5）。

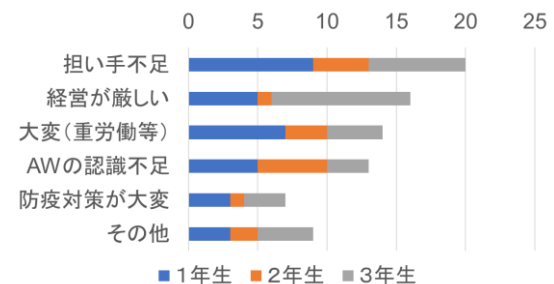


図5 アンケート結果②

現在の畜産のイメージ（問題点）

③ 今後の畜産に望むこと

今後の畜産に望むことでは「AWの推進」が最も多く、AWへの関心の高さがうかがえた。また、飼料価格高騰への対策で「自給飼料の増産」という回答が多く挙げられた。「防

疫対策の改善」については、「衛生対策をしっかりしてほしい」、「病気にかからないようにしてほしい」、「殺処分で食べられず捨てられる動物を減らしてほしい」等の回答があった。また、「消費者に畜産のことをもっと知ってほしい」、「興味をもってほしい」等、消費者に関する回答もあった。その他、「畜産業が衰退しないようにしてほしい」、「収益向上」、「作業の効率化と省力化」、「臭気対策」、「ブランド化・消費拡大」等様々な回答があった（図6）。

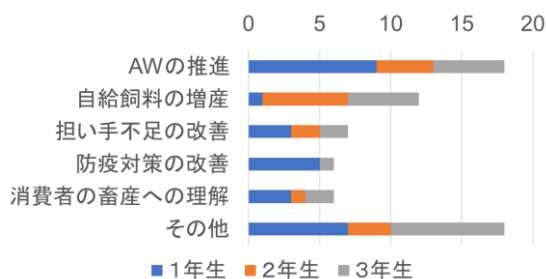


図6 アンケート結果③
今後の畜産に望むこと

④ 家保等行政にしてほしいこと

家保等行政にしてほしいことでは「鳥インフルエンザ等が発生しないようにしてほしい」、「動物が感染しないよう心掛けてほしい」等の「家畜伝染病の発生防止」が多くあった。「犠牲になる動物を少なくしてほしい」、「殺処分ではなく違う方法で解決できないか」等、殺処分についての回答もあった。「飼育環境の改善」や、「AWの考え方を広めてほしい」等、「AWの推進」についての回答も多くあった。また、「畜産を身近な就職先の1つにしてほしい」等の「担い手確保対策」や、「小学生から畜産を学ぶ機会を設けてほしい」、「消費者の畜産への理解を高めてほしい」等という回答があった（図7）。

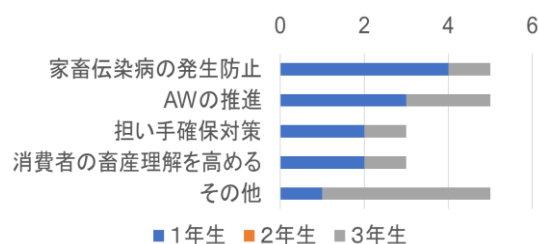


図7 アンケート結果④
家保等行政にしてほしいこと

⑤ 家保へ希望する授業

家保へ希望する授業では以下の回答があった。

- 多くの動物に関する知識
- 飼料給与等の管理技術
- 家保の体験学習
- 家畜伝染病に関する授業（鳥インフルエンザ等）
- 家畜の生態
- 妊娠鑑定について
- 家保職員になった理由

⑥ 将来就きたい職業

畜産に関係する職業を希望する生徒はどの学年も1割程度であったが、酪農を営み、自ら人工授精を行いたいという生徒もいた。畜産以外の動物関係の職業を希望する生徒は多く、特に動物看護師や動物園・水族館の飼育員等が人気であった。その他、畜産・動物関係以外で様々な職業があった（図8）。

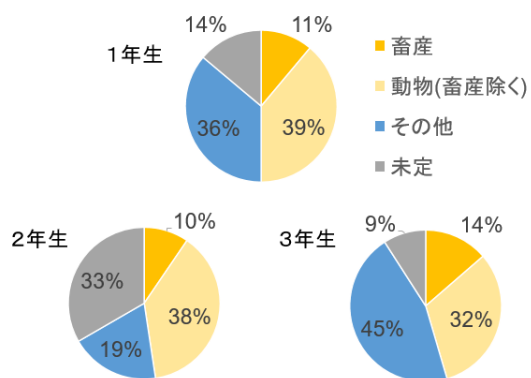


図8 アンケート結果⑥
将来就きたい職業

5 まとめ

将来就きたい職業では、畜産関係の職業を希望する生徒は少数であった。農業高校の先生からは、農業高校から担い手が増えてくれると嬉しい、増やしていかなければと考えており、普段から担い手不足についてお話しされているということを知った。一方、畜産以外の動物関係の職業を希望する生徒は多くいた。近年は農業高校の教育内容も変わってきており、愛玩動物の専門学校や動物園・水族館の特別講義、地域の動物愛護会の開催する犬のしつけ方教室へのボランティアとしての参加等も実施されている。また、AWや飼養衛生管理への関心が高いことがうかがえた。衛生管理は畜産分野以外でも重要であり、家保との交流は畜産等に関する知識の向上や衛生意識の啓発に有用であると考えられる。新型コロナウイルス感染症拡大前は家保の体験学習が行われていたが、近年は行えておらず、今後実施を検討する。また、産官学が連携し、AW等の新たな分野について専門家と学ぶ機会をつくることも、家保として重要な役割であると考えられる。

○間瀬加奈子、唐澤哲哉、小松浩
(長野県飯田家畜保健衛生所)

要約

管内の養豚農場で、2020年度から母豚の背脂肪厚測定による生産性向上対策を開始した。従来の体制では家畜保健衛生所（以下家保）職員が測定を実施していたが、当該農場では従業員が測定を実施し、半年ごとに測定結果および繁殖成績等を家保へ提出した。2020年10月、家保で作成した資料を基に、繁殖ステージごとのP2点背脂肪厚（以下背脂肪厚）目標値を設定し、飼料給与量を調整した。2021年8月、産子数と背脂肪厚のデータから、繁殖ステージごとの「削瘦」、「正常」、「過肥」の判断基準となる背脂肪厚、飼料給与量を再検討した。2022年1月に、分析結果を基に再提案した。その結果、「正常」背脂肪厚の母豚割合は、50%から71%、母豚1頭当たりの平均産子数は12.7頭から13.1頭に増加した。背脂肪厚で飼料給与量を決めたことで、繁殖成績が向上した。農場が測定、家保は分析・助言と分担することで、分業化が進展し、農場の主体性の向上につながった。作業分担による双方向の情報共有で、家保と農場の新たな協力体制が構築できることが示唆された。

1 はじめに

近年、養豚農家の戸数は減少傾向にあり、肉豚生産基盤の脆弱化が懸念される。そこで当県では養豚生産力強化支援事業を実施している。この事業は、地域の中核的な養豚農家の経営改善と新技術の導入を進めることにより高収益化、飼養頭数の拡大を図ることを目的としている。

一般に、繁殖豚は成長の途上で性成熟を迎えて交配に供されてから妊娠、分娩・授乳、離乳・交配という繁殖サイクルを繰り返す。その間の体型（体重や脂肪付着）を適正に管理することは、繁殖成績を生涯にわたって良好に維持するうえで重要だとされている¹⁾。特に過肥は胚の死滅や、子宮の着床能力の減退の原因となり、その結果、発情再起や受胎が低下し、繁殖成績の低下につながる²⁾。したがって、育成段階・種付段階での給餌管理が重要になる。

繁殖豚の体型を適切に管理するために用いられるのが背脂肪厚測定である。豚の体脂肪量と背脂肪厚では、相関関係が認められている³⁾。体脂肪量は豚の飼料要求量と関連しており、この飼料要求量が適切だと繁殖豚の能力を発揮させることができる。背脂肪厚は最後肋骨を確認し、脊椎の交点から5~6cmのP2点を測定する（図1）。

今回、著者らは、管内の農場において、繁殖成績向上および生存産子数の向上を目的として、背脂肪厚測定と飼料給餌量の調整を実施し、一定の成果が得られたので報告する。

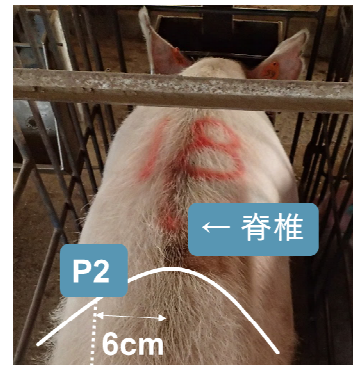


図1 P2点位置

2 材料および方法

(1) 農場の概要

繁殖豚300頭を飼養する農場である。妊娠前期は2~3頭の群飼育を行い、妊娠後期に分娩ストールに移動している。

(2) 実施体制

背脂肪厚の測定等の調査は2020年5月24日~2022年3月3日種付分を対象に実施した。妊娠前期は群で飼育しており背脂肪厚測定ができないため、測定は種付時、種付後75日、分娩7日前に実施した。農場が背脂肪厚を測定し、産子数などの繁殖成績を記録

した。農場は半年ごとに、測定結果や繁殖成績を家保に送付した。送られたデータを家保で分析し、家保と農場で検討会を実施した。

(3) 検討会および検討内容

2020年10月に、家保から農場へ背脂肪厚測定や飼料給与量調整に関する資料を送付した。その資料を基に、農場が背脂肪厚目標値と飼料給与量を決定し、2020年10月26日種付分から決定した飼料給与量に変更した。2020年は新型コロナウイルス感染症がまん延していたため検討会は実施できず、最初の検討会は2021年8月20日に実施した。その間、文書やメールで農場とのやり取りを継続した。第1回検討会では、繁殖豚の削瘦・正常・過肥の判断基準を設定した。さらに、飼料給与量を再検討した。第2回検討会は、2022年1月20日に実施し、背脂肪厚目標値を再設定した。2022年9月7日に行った第3回検討会では第1回～第3回までの結果を比較した(図2)。



図2 検討会および検討内容

3 結果

(1) 第1回検討会

家保から送付した資料をもとに農場が基本給餌量と給餌量コントロール、目標背脂肪厚を設定した(表1)。給餌量コントロールは2020年10月26日種付分から開始した。

表1 基本給餌量と給餌量コントロール、目標背脂肪厚

基本給餌量					
種付後日数	種付中	種付後～7日	8～91日	92～114日	冬
給餌量(kg)	1.0	1.5	2.4	3.6	+0.5

給餌量コントロール (2020年10月26日種付分から)			
	削瘦	正常	過肥
背脂肪厚(mm)	12以下	13～18	19以上
給餌量(kg)	+0.5～1.0	±0	-0.5

目標背脂肪厚			
種付後日数	種付時	種付後75日	分娩7日前
背脂肪厚(mm)	13	15	17

基本給餌量は種付後日数により、種付中1.0 kg、種付後～7日1.5 kg、種付後8～91日2.4 kg、種付後92～114日3.6 kgとした。冬季は体温保持により維持エネルギー量が増加するため、給餌量を0.5 kg増量した。背脂肪厚は12mm以下を削瘦、13～18mmを正常、19mm以上を過肥とした。削瘦豚は0.5～1.0 kg増量、過肥豚は0.5 kg減量というように、背脂肪厚によって給餌量を調整した。目標背脂肪厚は種付時13mm、種付後75日15mm、分娩7日前17mmとした。

給餌量コントロールを行った結果、2021年6月には、正常豚が63%から35%に減少した。過肥豚は27%から65%に増加した(図3)。

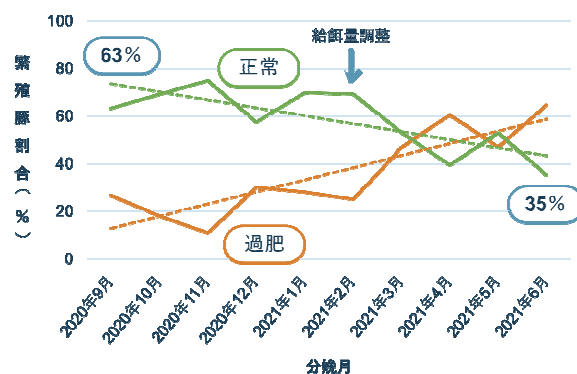


図3 分娩7日前における正常・過肥豚の割合の推移 (正常: 13～18mm)

また、給餌量コントロール以降の背脂肪厚は、種付時12.9mmから分娩7日前18.6mmに増加していた(表2)。したがって、現状の給餌量コントロールプログラムでは給餌量が多いと判断した。しかし、種付後75日から

分娩7日前は約2mm背脂肪厚が増加しており目標背脂肪厚の増加幅と一致していた(表2)。以上の結果から、種付時13mm、種付後75日に15mm、分娩7日前17mmを目指す目標は変更せず、給餌量コントロールプログラムの変更を提案した(表3)。2020年10月時点では、削瘦時に0.5~1.0kg給餌量を増量していた。それに対し、変更後は種付時に0.5kg増量、種付後75日は増量しないようにした。また、種付後92日以降は背脂肪厚に関わらず、基本給餌量を給与した(表3)。

表2 給餌量コントロール以前と以降の平均背脂肪厚

	(mm)		
	種付時	種付後75日	分娩7日前
目標背脂肪厚	13	15	17
給餌量コントロール以前	13.8	14.6	16.6
給餌量コントロール以降	12.9	16.4	18.6

注: 給餌量コントロール以降の種付後75日(16.4)と分娩7日前(18.6)の間には2mm増加があり、給餌量過多を示している。

表3 新たな給餌量コントロールプログラム

	変更前			(kg)
	削瘦	正常	過肥	
事業開始時	+0.5~1.0	±0	-0.5	
新たな給餌量コントロールプログラム				
種付時	+0.5	±0	-0.5	
種付後75日	±0	±0	-0.5	

給餌量コントロールと同様に背脂肪厚の基準も測定時ごとに設定した(表4)。

表4 新たな背脂肪厚の基準

	変更前			(mm)
	削瘦	正常	過肥	
事業開始時	12以下	13~18	19以上	
新たな背脂肪厚の基準				
種付時	9以下	10~15	16以上	
種付後75日	11以下	12~17	18以上	
分娩7日前	13以下	14~19	20以上	

(2) 第2回検討会

変更した給餌量コントロールをもとに飼料を給与した結果、正常豚は63%から91%に増加した。過肥豚は17%から5%に減少した(図4)。

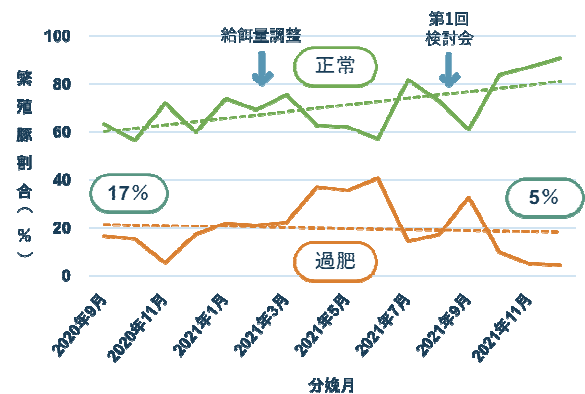


図4 分婣7日前における正常・過肥豚の割合の推移(正常:14~19mm)

また、産次数別の背脂肪厚の推移では、初産で背脂肪厚が厚く、2産次以降で薄くなる傾向だった(図5)。この結果から、未経産豚と経産豚で背脂肪厚が異なることがわかった。初回交配時の体重が小さいと、初産時の総産子数や生存産子数が減少する⁴⁾。体重の軽い母豚ほど、無発情による淘汰率が上がる傾向もある²⁾。さらに、未経産豚は経産豚の1割増しの給餌量が適切だといわれている⁴⁾。したがって、未経産豚と経産豚のそれぞれで目標背脂肪厚を設定した(表5)。

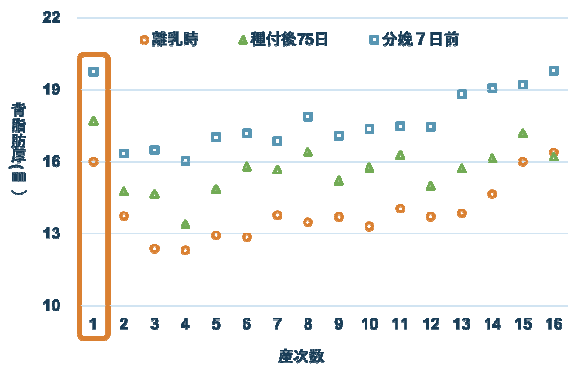


図5 産次数別の背脂肪厚の推移

表5 未経産豚と経産豚の目標背脂肪厚

未経産豚 (mm)			
	消瘦	正常	過肥
種付時	13以下	14~17	18以上
種付後75日	15以下	16~19	20以上
分娩7日前	17以下	18~21	22以上

経産豚 (mm)			
	消瘦	正常	過肥
種付時	11以下	12~15	16以上
種付後75日	13以下	14~17	18以上
分娩7日前	15以下	16~19	20以上

(3) 第3回検討会

第2回検討会で設定した目標背脂肪厚をもとに、飼料給与をした結果、正常豚は50%から71%に増加した。過肥豚は減少傾向だった(図6)。

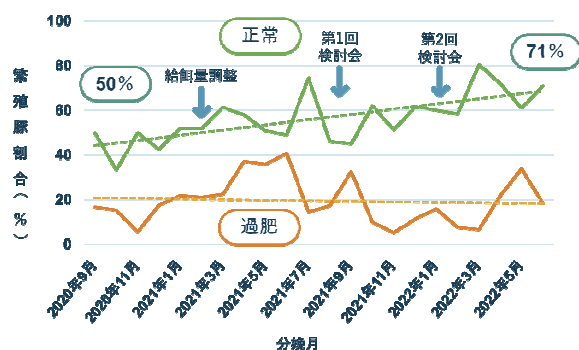


図6 分娩7日前における正常・過肥豚の割合の推移 (正常: 16~19mm)

第1回検討会から第3回検討会までの間、産子数は12.7頭から13.1頭に、生存産子数は11.4頭から11.8頭に増加した(図7)。



図7 産子数と生存産子数の推移

また、分娩頭数と生存産子数の推移では、豚熱の影響により母豚の導入ができず、一時的に減少がみられたものの(2020年11月~12月)、農場全体でみても生存産子数が増加した(図8)。

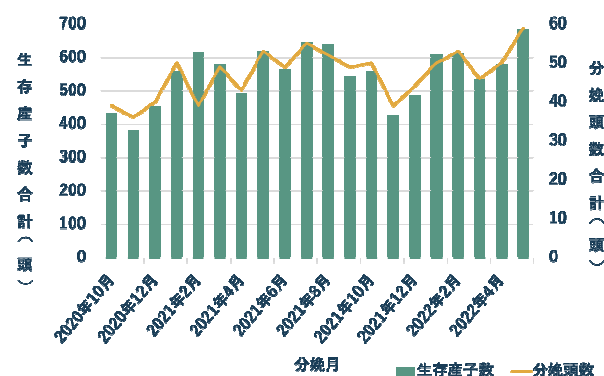


図8 分娩頭数と生存産子数の推移

4 考察

養豚生産力強化支援事業における母豚の背脂肪厚測定では、家保が測定から分析までの役割を担っていた。それに対し今回は、農場が直接測定する体制で実施し、農場で記録された背脂肪厚測定結果と繁殖成績を家保で分析した。農場では、飼料給与の改善点が可視化され、データを活用することができるようになった。その結果適切な飼料給与につながり、繁殖成績が向上したと考えられた。

自農場で得た測定結果が目に見える形で成果につながっていくことで、農場のモチベーションが高まり、主体性の向上につながったと推察された。さらに、農場に入る人数を制限することにより、疾病の侵入リスクを減少させることもできると考えられた。農場が測定、家保が分析・助言というように分業化することで、双方向の情報共有ができ、家保と農場の新たな協力体制が構築できると考えられた。

なお、今回のような体制で背脂肪厚測定を取り入れるには、農場で背脂肪厚測定や繁殖成績の記録を行っているか、また行っていない場合も新たにこれらの作業を実施する余裕やモチベーションがあるか等を考慮して農場を選定する必要がある。各農場の現況や特性に合わせてことによって、養豚農場の生産性向上につながればよいと考える。

参考文献

- 1) 養豚の教科書, 株式会社ピッグフォーラム 22, 2016
- 2) 生産獣医療システム養豚編, 社団法人農山漁村文化協会, 2000
- 3) 道立畜試家畜研究部中小家畜育種科成績概要書, 2007
- 4) 新・豚病対策, 有限会社ベネット, 2021

血清抗体価を用いた牛マイコプラズマ性乳房炎の清浄化と

環境検査による再発防止対策

○中村 光、佐藤 聖子、中山 恵、青木 一郎、林 健
(長野県伊那家畜保健衛生所)

はじめに

近年、日本の大規模農場を中心としてマイコプラズマ感染症の発生が増加しており、規模拡大のために積極的な導入を行っている農場ほど外部からマイコプラズマが侵入しやすく、大規模牛群における発生増加と関連している可能性がある[1]。農場で問題になりやすい牛マイコプラズマ感染症として、*Mycoplasma bovis* (以下、*M.bovis*)、*Mycoplasma californicum*、*Mycoplasma bovigenitalium* (以下、*M.bg*)等を原因菌とした乳房炎、肺炎、関節炎、中耳炎があり、特に *M.bovis* による牛マイコプラズマ性乳房炎は、一度罹患すると保菌牛として生涯排菌する問題がある。これは、*M.bovis* が可変表面タンパク(Vsps)を持ち、誘導された抗体に対し表面タンパク質が遺伝的な組み換えを行うことで、液性免疫を逃れ、細胞内に侵入するためである。宿主細胞内で長期間生存する *M.bovis* は、乳腺細胞へ感染し難治性乳房炎を引き起こすだけでなく、リンパ管や血管を介して呼吸器や生殖器に感染する。また、*M.bovis* は、牛呼吸器病症候群(BRDC)の主な病原体の一つとされ、他の呼吸器症状を引き起こす細菌の感染を促す素因となる可能性が示唆されている。マイコプラズマの細菌培養検査は、採材から同定まで1週間以上を要するため、発生農場における初期対応の遅れに繋がることで、深刻な経済的損失を招く恐れがある[2][3][4][5][6]。

本例では、管内の *M.bovis* が摘発された大規模農場で清浄化に向けて継続的に

行った対策と子牛の環境検査による再発防止対策について報告する。

農場概要

当該農場は、2021年から規模拡大のため導入を続けており、2022年12月の搾乳頭数が約450頭になった。また、2021年から2022年にかけて、パラレルパーラーからロータリーパーラーへの変更、大型バルクタンクの設置、フリーバーン牛舎の増築がなされた(図1)。

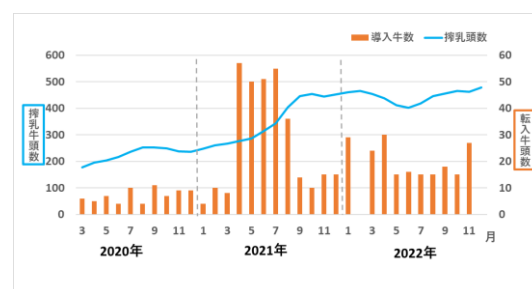


図1 搾乳牛および導入牛の頭数変化

経過

2021年6月、管内酪農家を対象とした、酪農生産性向上対策事業におけるマイコプラズマの摘発を目的にしたバルク乳スクリーニング検査を実施したところ当該農場のバルクタンクから *M.bovis* が分離された。そこで2021年7月に陽性個体把握のため、搾乳牛全頭検査(368頭)を実施し、*M.bovis* 陽性牛30頭を摘発した。2021年11月に清浄性確認のため、2回目の搾乳牛全頭検査(447頭)を行い、新たに *M.bovis* 陽性牛を27頭摘発した。

2022年5月、10月に実施したバルク乳スクリーニング検査及び搾乳牛全頭検査（5月：406頭、10月465頭）では、*M.bovis* 陽性牛が確認されなかった。しかし、5月に *M.bg* 陽性牛2頭を摘発した。また2022年3月、中耳炎を発症した子牛1頭の鼻汁から *Mycoplasma bovirhinis*（以下、*M.brh*）が分離された。

乾乳牛及び導入牛については、2021年7月の摘発時から継続的に分娩後検査を行い、2022年12月までに571頭中4頭の *M.bovis* 陽性牛および1頭の *M.bg* 陽性牛を摘発した[7]。

2022年12月以降、当該農場において *M.bovis* 陽性牛は、確認されなかった。しかし、継続的な導入が続いており、新たな *M.bovis* 感染牛の侵入により、再び農場にまん延してしまう可能性があった。さらに、マイコプラズマ感染が疑われる中耳炎による子牛の耳垂れが散発して確認された。上記の問題に対して、農場における *M.bovis* まん延状況の確認および乾乳牛における *M.bovis* 感染牛の早期摘発のため、血清を用いた乾乳牛の抗体検査を行った。また、子牛間のマイコプラズマ感染症流行防止のため子牛の給与乳および飼育環境の細菌検査を実施し、検査結果を踏まえた衛生指導を行った。

M.bovis 陽性牛および陰性牛の抗体量調査

材料及び方法

2021年7月の全頭搾乳牛検査で摘発された *M.bovis* 陽性牛21頭及び *M.bovis* 陰性牛5頭の血清計26検体を用い、P81 ELISAにて、*M.bovis* 抗体量調査を行った。P81 ELISA法は、吸光値から *M.bovis* の特異的膜タンパク質に対する抗体の定量を行い、抗体量から過去の感染歴を調査する検査方法である。カットオフ値は、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、カットオフ値以上を抗体陽性と同定した。また、

検出上限は、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。t検定を行い有意水準5%以下（ $p < 0.05$ ）を有意とした[8][9]。

結果

M.bovis 陽性牛の抗体量は、検出上限の200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を示す個体が21頭中8頭確認され、*M.bovis* 陰性牛よりも優位（ $p < 0.05$ ）に高値を示した（図2）。

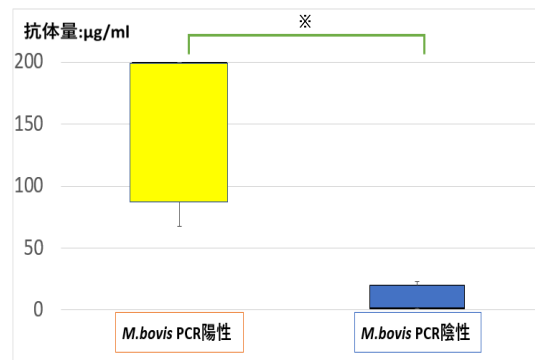


図2 *M.bovis* 陽性牛と陰性牛の抗体量調査（※ $p < 0.05$ ）

乾乳牛の抗体量調査

材料及び方法

2021年8月に当該農場で採材した乾乳牛111頭の血清を用いて、P81 ELISAで、*M.bovis* 抗体量調査を行った。

結果

乾乳牛では、76頭が抗体陰性であり抗体陽性は、35頭であった。そのうち検出上限である200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の抗体量を示す個体が7頭確認された（図3）。

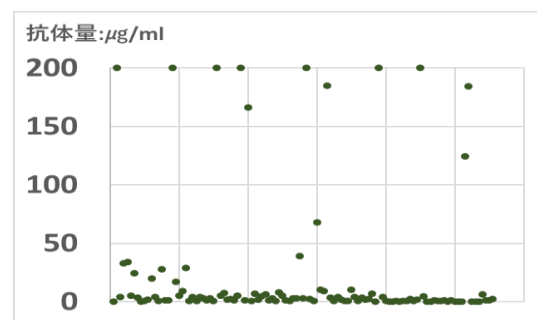


図3 乾乳牛の *M.bovis* 抗体量

乾乳牛群における抗体陰性率の推移

材料及び方法

2021年8月、11月、2022年2月、4月の計4回、P81 ELISA による乾乳牛群の抗体量調査を行った。

結果

2021年8月、11月の乾乳牛群の抗体陰性率は、それぞれ69%、67%であった。対して、農場内の *M.bovis* 陽性牛を全て淘汰するなどの対策を実施した2022年2月、4月の抗体陰性率は、それぞれ89%、83%になり、抗体陰性率が上昇した(図4)。

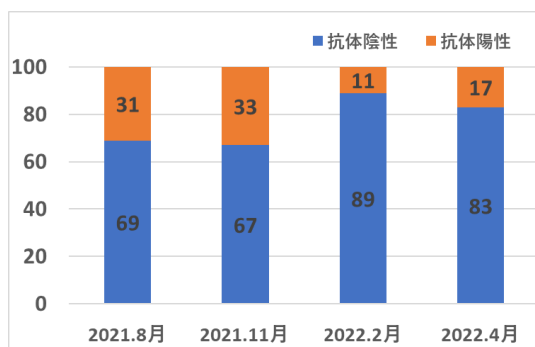


図4 乾乳牛群の抗体陰性率

抗体量調査を利用した慢性乳房炎牛への応用

材料及び方法

M.bovis は、潜伏感染をすることで、検査から逃れることや生体内に長期生存することが知られている[2][10][11]。そこで、当該農場における *M.bovis* 潜伏感染牛の早期摘発のため、*M.bovis* 未分離かつ慢性的に乳房炎を繰り返していた搾乳牛(慢性乳房炎牛)10頭の血清を用いて抗体量調査を行った。

結果

当該農場における慢性乳房炎牛10頭の内、5頭が抗体陽性を示した。(表

1)。

表1 慢性乳房炎牛の *M.bovis* 抗体量

血清No	<i>M.bovis</i> 抗体量 (μg/ml)
1	4.7
2	0.8
3	0.9
4	0.5
5	34.8
6	169.0
7	10.6
8	85.1
9	104.0
10	4.7

※カットオフ値：5 μg/ml

子牛におけるマイコプラズマ感染症の流行防止対策

背景、材料及び方法

M.bovis の清浄化対策を進める中、当該農場では、中耳炎を発症する子牛が多く、円滑な預託や販売に支障が出ていた(図5)。子牛の中耳炎は、牛マイコプラズマ感染症の特徴的な症状の1つである[12][13]。そこで、当該農場の子牛間で流行している中耳炎の原因菌特定のため、典型的な耳垂れを引き起こしている子牛の鼻汁を用いてマイコプラズマ培養検査を行った。また、子牛間のマイコプラズマ感染症流行防止のため、従業員へ子牛の飼育状況の聞き取り及び、表2に示した給与乳ルート各段階での環境拭き取り、給与乳の一般細菌検査およびマイコプラズマ培養検査を実施した。

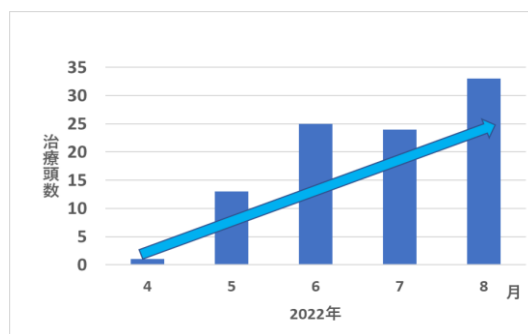


図5 中耳炎の子牛頭数

表2 子牛給与乳ルート of 各段階

①乳房炎牛のバケツミルカー (ミルククロー内部)
②パスチャライズ前タンクおよびパスチャライズ前給与乳
③移動式パスチャライザー (以下ミルクタクシー) およびパスチャライズ後給与乳
④哺乳バケツ
⑤子牛用バルクタンク

結果

鼻汁のマイコプラズマ培養検査では、1頭中1頭で *M.brh* が分離された。

従業員への聞き取り調査の結果、農場では、経費削減のため子牛への給与乳に廃棄乳(治療中の乳房炎牛の乳)をパスチャライズして使用していること、外国人を含む従業員数が多く、子牛牛舎の作業担当者が日によって交代している背景があった。

一般細菌は、複数の採材場所で総菌数、細菌種が共に多く確認された(総菌数 >20,000CFU/ml)。また、採材時にバケツミルカーのミルククロー内部や哺乳バケツのニップル接合部で、洗浄不足による多くの乳石と乾燥不足が確認された(表3)。また環境拭き取り、給与乳からマイコプラズマは、分離されなかった。

表3 子牛の飼育環境検査結果

採材箇所	検体	総菌数 (CFU/ml)	備考
①バケツミルカーのミルククロー内部	拭き取り	3,400	採材時に多くの乳石を確認
②パスチャライズ前タンク	拭き取り 乳汁	>20,000 >20,000	
③ミルクタクシー	拭き取り 乳汁	>20,000 >20,000	
④哺乳バケツ	拭き取り	>20,000	ニップル接合部に乳石を確認 乾燥不足を確認
⑤子牛用バルクタンク	拭き取り 乳	>20,000 >20,000	



子牛の飼育環境に対する衛生指導および指導後の環境検査

衛生指導の内容

農場への聞き取り調査と環境検査の結果

を踏まえ、以下4つの改善点を指摘した。①哺乳バケツの余った乳をミルクタクシーに戻っていたことから、哺乳バケツの乳をパスチャライズ後の乳と混ぜないこと、②哺乳バケツ等、給与機器や器具の洗浄や乾燥を徹底すること、③複数台のミルクタクシーを効率的に活用すること、④ミルククロー内部の乳石を除去する頻度を高めること。そして子牛飼育の責任者がおらず、作業手順が作業者によって異なっていたため、子牛の飼育責任者を決め、作業手順を再確認すること。

これらに対し、写真を多く用いた対策案を作成し、外国人労働者を含む従業員にわかりやすく説明すると共に、給与から機器の洗浄までの作業方法の統一化を図った(図6)。

指導後の環境検査

衛生指導を行った3か月後に、再度同じ採材箇所の環境検査を行った。

図6 対策案の一例

場所別対策案

問題箇所：バケツ、哺乳バケツ

- バケツのティートカップ内側からの細菌は、未検出でしたが、ミルククロー部分に乳石が多く、多数の菌が検出されました。
- 哺乳バケツのニップル接合部等、洗いづらい箇所が目で見えるほど汚れていました。




対策案①：

- 定期的なミルククロー部分(ゴム部分)の点検も含む、手動洗浄。
- 哺乳バケツ洗浄の際に、汚れやすい部分(ニップルの接合部)を集中洗浄。

対策案②：

- 哺乳バケツ、ニップルの乾燥不十分は、細菌の温床につながるため哺乳バケツ、ニップルの数を多くして半分は、乾燥し交互に使用。バケツとニップルの乾燥場所をつくる。
- 担当者ごと手技に変化がないように洗い方のリスト化

結果

前回と同様に多くの細菌が分離された場所は、バケツミルカーのミルククロー内部の拭き取り、パスチャライズ前タンク内の乳汁、ミルクタクシー内の乳汁、子牛用

バルクタンク内の乳汁であり、パステライズ前後で確認された総菌数に変化がなかった。しかし、哺乳バケツを含む4か所の拭き取り検体から分離された細菌数は、非常に少なく、洗浄・消毒・乾燥の改善効果が見られた(表4)。

さらに前回、同定された細菌種と比較すると衛生指導後、3か所の拭き取り検体から分離された細菌種が減少した(表5)。2回の環境検査を踏まえ、以下の2点を指導した。①搾乳衛生を徹底することで、子牛の給与乳における細菌数の減少させること、②細菌感染への抵抗力をつけるために子牛牛舎の飼育環境の改善を行うこと。

衛生指導の結果、8月以降の中耳炎および呼吸器症状で治療した子牛の頭数は、減少した(図7)。

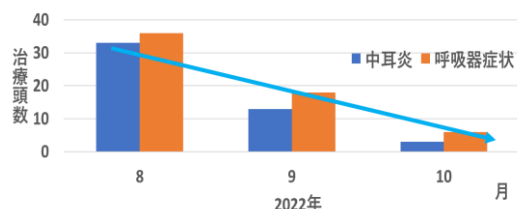


図7 中耳炎および呼吸器症状の子牛頭数

考察

当該農場では、2021年に実施したバルク乳スクリーニング検査で *M.bovis* が確認され、継続的なマイコプラズマ清浄化対策を行い、合計で *M.bovis* 陽性牛61頭、*M.bg* 陽性牛3頭を摘発した。2021年から2022年にかけて、規模拡大のために継続的な導入をしていた背景があり、マイコプラズマが新規導入牛と共に農場へ侵入したことが強く示唆された[14]。

M.bovis および *M.bg* 陽性牛を摘発・淘汰を行った後も、継続的な導入が続いており、新たなマイコプラズマ感染牛が農場に侵入し、まん延する可能性があった。

上記の課題に対し、*M.bovis* 潜伏感染牛を早期に摘発し、農場内のまん延を防止するために、P81ELISAを用いた抗体検査を活用した。農場における *M.bovis* のまん延が疑われた2021年の乾乳牛群における *M.bovis* 抗体陰性率は、6割であったが、清浄化対策が進み、2022年では、抗体陰性率が8割に上昇したことが確認された。また、培養検査で *M.bovis* が非検出かつ慢性的に乳房炎を繰り返す個体に対して、抗体検査を行うことで血清学的視点から *M.bovis* 潜伏感染牛を早期に摘発した。抗体検査は、マイコプラズマ培養検査によって検出できない個体に対する *M.bovis* 感染の有無を知る一手になり得た。

従来の乳汁を用いた培養検査では、迅速に潜伏感染牛の摘発を行うことが難し

表4 衛生指導後の飼育環境検査結果(総菌数)

採材箇所	検体	前回の総菌数 (CFU/ml)	今回の総菌数 (CFU/ml)
①バケツミルクの内部	拭き取り	3,400	>20,000
	乳汁	>20,000	>20,000
②パステライズ前タンク	拭き取り	>20,000	640
	乳汁	>20,000	>20,000
③ミルクタクシー	拭き取り	>20,000	640
	乳汁	>20,000	>20,000
④哺乳バケツ	拭き取り	>20,000	240
⑤子牛用バルクタンク	拭き取り	>20,000	80
	乳汁	>20,000	>20,000

表5 衛生指導後の飼育環境検査結果(細菌種)

採材箇所	前回の細菌種	今回の細菌種
パステライズ後の給与乳	大腸菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、耐熱性菌	ブドウ球菌、耐熱性菌
子牛用バルクタンクの内部壁面	大腸菌、ブドウ球菌、連鎖球菌、耐熱性菌	ブドウ球菌
哺乳バケツの内部壁面	大腸菌、ブドウ球菌、連鎖球菌	ブドウ球菌、耐熱性菌

い。また、*M.bovis* 清浄化の指標が、発生農場において複数回のバルク乳検査または、全頭個体乳検査を行い、*M.bovis* が確認されないことで清浄化とする細菌学的な視点のみであったが、当該農場では、抗体検査を従来の培養検査と組み合わせることで、搾乳牛だけでなく、乾乳牛群における潜伏感染牛の早期摘発や再発症の可能性がある抗体陽性牛の早期廃用や隔離治療の指標として、血清学的な視点からも農場の清浄化を確認できた[2][10]。

また、マイコプラズマ感染が疑われる中耳炎の特徴である子牛の耳垂れが散発して確認されていたため、子牛の飼育環境について細菌検査を行い、結果を踏まえた衛生指導により、中耳炎だけでなく、鼻汁や発咳などの呼吸器症状を示す個体を減少させることができた。環境検査を踏まえた衛生指導は、マイコプラズマ感染症の子牛間流行を防止するだけでなく、BRDCの対策としても有効であったと考えられた[4][15]。

農場のマイコプラズマ清浄性の維持には、分娩後検査と抗体検査を併用した導入牛への検査には、本手法が有効であったと考えるが、P81ELISAによる抗体検査は、研究段階であり、現場で実用化されていないことから市販化が望まれる。加えて、子牛の検査及び牛舎等の環境検査も同時に行うことが、牛マイコプラズマ性乳房炎の原因菌である *M.bovis* を農場から排除するためには、重要である。

最後に本調査を実施する上でご協力いただいた樋口豪紀教授、権平智講師及び酪農学園大学獣医衛生学ユニットに深謝する。

引用文献

- [1]草場信之：北海道における牛マイコプラズマ性乳房炎の現状（臨床獣医, 2010, 6）
[2]家畜衛生対策推進協議会：牛マイコプラズマ乳房炎の防除技術

[3]湯澤ら：管内大規模酪農家における牛マイコプラズマ乳房炎の防除指導（栃木県家畜保健衛生業績発表会集録 55 1-4, 2013）

[4]Zoetis:BRDC 対策 2.0

(<https://www.zoetis.jp/ls/cattle/brdc/pathogen/mycoplasmabovis/>)

[5]安富：マイコプラズマ性乳房炎発生農場に対するコントロール（臨床獣医, 2010, 6）

[6]樋口豪紀：マイコプラズマ性乳房炎の特徴とその検査技術（MP アグロジャーナル 2010. 10）

[7]中村ら：管内大規模農場における牛マイコプラズマ乳房炎の発生と清浄化に向けた新たな取り組み

(<https://www.pref.nagano.lg.jp/inakachiku/chosa/chosa.html>)

[8]高橋ら：牛マイコプラズマ感染症における血清抗体価の評価（家畜衛生学雑誌 第47巻第1号, 2021）

[9]湯本ら：牛マイコプラズマ感染症発症群における血清抗体価の経時的変化（家畜衛生学雑誌 第48巻第48号, 2022）

[10]山川：マイコプラズマ性乳房炎～清浄化に向けた取り組みから学んだこと～（北海道酪農技術セミナー2018, <http://yubetsu-gyugyn.com>）

[11]樋口：マイコプラズマに対する牛の免疫学的応答性とその特徴（臨床症状獣医 2021. 10）

[12]愛知県西部家畜保健衛生所：子牛にこのような症状はありませんか？

(<https://www.pref.aichi.jp/uploaded/attachment/46357.pdf>)

[13]樋口ら：呼吸器疾患の臨床微生物学6:マイコプラズマによる発生機序(臨床獣医, 2017, 2)

[14]草場ら：北海道における牛マイコプラズマ性乳房炎の発生とその疫学的考察（日本獣医師会雑誌 67巻1号, 2014）

[15]Zoetis：牛呼吸器病症候群（BRDC）(<https://www.zoetis.jp/ls/cattle/sick/brdc/>)

牛ウイルス性下痢持続感染牛摘発事例と管内の課題

河西 晴子

(長野家畜保健衛生所)

要約

2022年11月、酪農生産性向上対策事業におけるバルク乳の牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）遺伝子検査にて管内の酪農家1戸が陽性となり、全頭検査にて持続感染（PI）牛1頭が摘発された。対策として、PI牛の自主淘汰、当該牛淘汰10か月後までに出生してくる子牛の牛ウイルス性下痢（BVD）検査、消石灰の散布による消毒、抗体検査を実施した。対応を進める中で3点の課題が明らかになった。1点目は肉用繁殖農場でBVD検査を行っていない点である。万が一肉用繁殖農場にBVDVが侵入すると早期に発見が出来ず経営に影響が出る恐れがある。2点目は管内の公共牧場でBVD検査が入牧条件となっていない点である。管内の公共牧場ではBVDVワクチン接種を条件としているところもあるが、PI牛はワクチン接種をしても効果がなく、公共牧場にBVDVが侵入することとなり、PI牛から他農場の牛へ感染を拡大させてしまう可能性がある。3点目は導入牛のBVD検査を行っていない点である。この場合、PI牛やPI牛を妊娠した牛を気付かずに導入してしまい、農場内にBVDVがまん延する恐れがある。今後の取り組みとして、公共牧場への入牧条件再検討の提案、本疾病についての知識の普及・啓発、ワクチン接種の指導、導入時のBVD検査、ヨーネ病検査余剰血清を用いた抗原検出ELISAの実施を呼び掛けていく。

1 はじめに

BVDはBVDVにより引き起こされる病気で、届出伝染病に指定されている。通常は、軽度の発熱、下痢、呼吸器症状など一過性の症状で経過するが、妊娠牛に感染すると流産、死産、子牛の奇形を引き起こす。さらに、妊娠18～125日頃に感染すると免疫寛容が成立し、胎子がPI牛となる。PI牛は生涯ウイルスを排出し続けるため、重要な感染源である¹⁾。

2 長野県のBVD検査体制

長野県ではBVDを摘発するために、図1に示す検査を実施している。2014年から、酪農生産性向上対策事業で年2回バルク乳のBVDV遺伝子検査を実施しており、陽性確認時には全頭検査で陽性牛の特定を行い、3週間後以降に再度検査を実施しPI牛を確定する。その後BVD清浄化対策を行う。点線で囲われている部分は、地域により体制が異なる部分である。県内では、入牧条件としてBVD検査、ワクチン接種の両方を定めている公共牧場や、導入牛のBVD検査を大多数の農場で実施している地域もある。管内では、入牧条件としてワクチン

接種を定めている公共牧場はあるがBVD検査を定めている公共牧場はなく、導入牛のBVD検査を実施している農場もなかった。

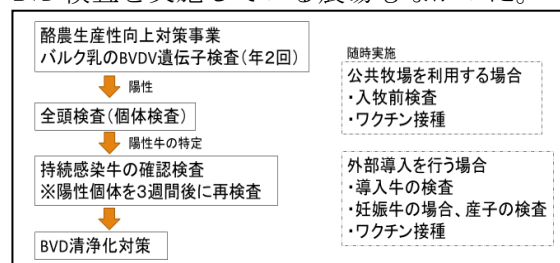


図1 長野県のBVD検査体制

3 発生農場の概要

発生農場は乳用牛9頭を対尻式つなぎ牛舎で飼養しており、廃用予定の牛を除く全頭に毎年BVDV不活化ワクチンを接種していた。

発生農場の牛の動きを図2に示す。①公共牧場への牛の預託、②県外への出荷、③県内他農場の受精卵を用いた借り腹移植を行い子牛を元の農家に返す、という3つの経路があった。

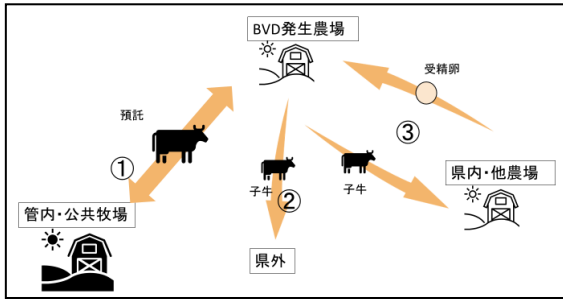


図2 発生農場での牛の動き

4 PI牛摘発までのBVD検査の流れ(図3)

2022年度は5月と11月にバルク乳のBVDV遺伝子検査を実施した。5月の検査では陰性だったが、11月の検査で1型陽性となった。そのため、5月に採材したヨーネ病検査の余剰血清と11月のバルク乳のBVDV遺伝子検査陽性後に採材した血清を用いて、抗原検出ELISAを実施しPI牛1頭を摘発した。同居牛は全て陰性だった。

5 発生農場の牛について

今回摘発されたPI牛(以下当該牛)とその母牛、摘発時の同居牛、当該牛のウイルス排泄期間中に発生農場で出生した牛の一覧を図4に示す。

(1) 当該牛とその母牛について

当該牛は2019年11月生まれで、摘発時36か月齢、自家産で移動歴はなかった。2022年6月に1産目の分娩であったが、死産で子牛には奇形があった。当該牛の母

牛は2017年12月生まれで、2019年11月に当該牛を分娩し3日後に死亡していた。聞き取りによると、公共牧場に預託していた頃から体力がなく分娩後に起立不能となり死亡したとのことだった。なお、この母牛については当所に余剰血清がなく、また搾乳していない為バルク乳検査対象外だったことから、PI牛かは不明である。当該牛の胎齢から推察すると、ウイルスの侵入時期は2019年の2月~6月頃が疑われる。

(2) 発生農場から県内肉用繁殖農場に移動した牛について

AとA'、BとB'1は親子であり、A'とB'1は県内の肉用繁殖農場に移動していた。それぞれ母牛(図4 A、B)の妊娠期間が当該牛のウイルス排泄期間と被っていたため、PI牛摘発後、BVD検査を実施し陰性が確認された。

(3) 妊娠牛について

この3頭(図4 A、C'1、D)は当該牛のウイルス排泄期間と妊娠期間が被っていたため、新生子牛のBVD検査を実施している。Dは2023年の1月に雄の黒毛和種を分娩し、BVD検査で陰性が確認された。

2022年 バルク乳のBVDV遺伝子検査		
前期(5月)	陰性	
後期(11月)	陽性(1型)	
持続感染牛の確認検査		
	採材月	検査頭数
1回目	2022/5	8頭
2回目	2022/11	9頭
PI牛1頭摘発		

ヨーネ病
余剰血清

図3 PI牛摘発までのBVD検査の流れ

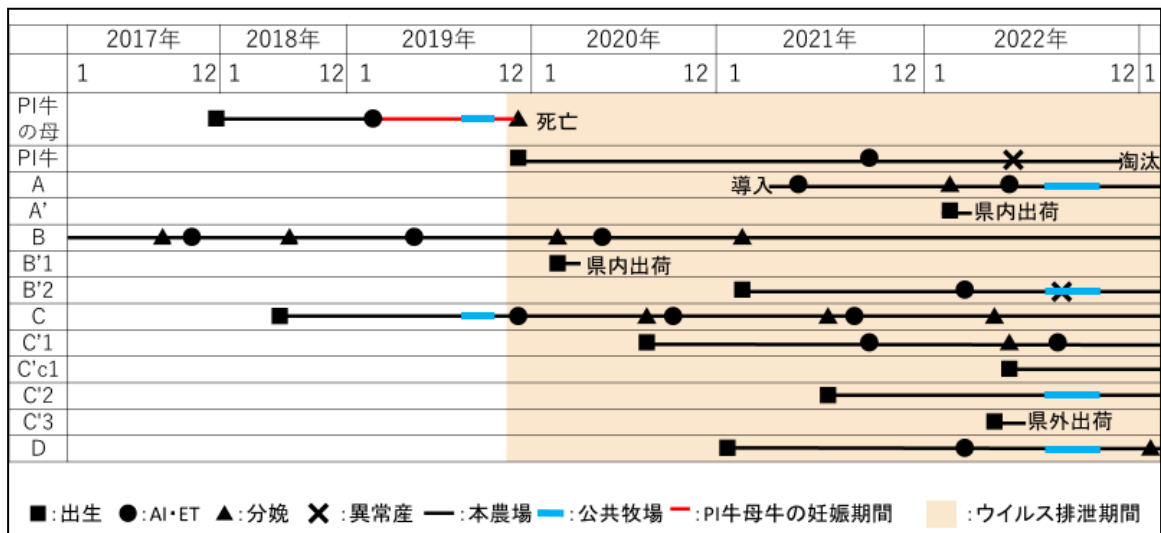


図4 発生農場の牛一覧

6 発生農場での対策

(1) PI 牛の自主淘汰

2022 年 11 月に摘発された PI 牛は 12 月に自主淘汰を実施した。

(2) 新生子牛の抗原検出 ELISA

当該牛淘汰 10 か月後までに出生する子牛について実施中である。対象は 3 頭あり、2023 年 1 月に出生した 1 頭は陰性であった。出荷のため農場主が出来るだけ早期の検査を希望しており、5 か月齢未満の牛でも当所で検査実施可能な耳片を材料として BVD 検査を行っている。

(3) 消石灰の散布による消毒

(4) 抗体検査

PI 牛及び同居牛 8 頭の抗体検査を実施した。検査結果は表 1 に示す。同居牛の抗体価は BVDV 2 型に比べ BVDV 1 型で高い値を示していた。

表 1 抗体検査の結果

個体No.	1 型	2 型
PI 牛	8※	< 2
A	1024	32
B	256	32
B' 2	512	32
C	≧2048	64
C' 1	512	2
C' c 1	≧2048	1024
C' 2	1024	32
D	512	8
幾何平均値	312	32

※PI 牛の感染しているウイルス株と中和試験に使用したウイルス株の反応により、見かけ上抗体を保有しているように見えている。

7 管内の課題

今回の事例対応で、管内の課題が 3 点挙げられた。

(1) 肉用繁殖農場における BVD 検査未実施

発生農場から肉用繁殖農場への牛の移動があった。BVD 検査の結果、移動した牛は陰性だったが、万が一 BVDV が侵入した場

合には、早期に発見することが出来ず経営に影響が出る恐れがあった。

(2) 管内公共牧場における入牧条件

当該牛に移動歴はなかったが、同居牛には公共牧場への預託歴がある牛もいた。管内の公共牧場では BVDV ワクチンを入牧条件としている公共牧場もあるが、PI 牛にはワクチン接種の効果がなく公共牧場に BVDV が侵入することとなり、PI 牛から他農場の牛に感染を拡大させてしまう可能性があった。

管内に公共牧場は 6 ヶ所あるが、入牧前検査で BVD 検査を実施している牧場はなかった。また、BVDV ワクチンについて必須としている公共牧場は 3 ヶ所のみであり、公共牧場での BVD 対策が十分に行われていない現状がある。

(3) 導入牛の BVD 検査未実施

牛の導入に際しては、PI 牛や PI 牛を妊娠した牛を気付かずに導入するリスクがあり、農場内や地域に BVDV が侵入・まん延する恐れがあった。

8 今後の取り組み

まず、公共牧場での BVD 対策を強化するために公共牧場管理主体への本疾病の説明と入牧条件再検討の提案を行っていく。また、広報の発行、関係機関への働きかけ、農場訪問時の普及・啓発を通して、本疾病についての知識の普及・啓発、ワクチン接種の指導、導入時の BVD 検査実施を呼び掛けていく。さらに、次年度以降、ヨーネ病検査に合わせて余剰血清で BVD の抗原検出 ELISA が実施可能であることも周知していく。これらの取り組みにより、清浄化及び発生予防に取り組んでいく。

【参考文献】

- 1) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2016 年) 牛ウイルス性下痢・粘膜病に関する防疫対策ガイドライン

○三木一真、中島純子、小松浩
(長野県飯田家畜保健衛生所)

要約

令和4年8月、管内の養豚一貫経営農場の離乳舎で元気消失、発育不良、食欲減退等を呈し、死亡数増加がみられたため、立入調査等を実施したところ、豚舎内環境材料から *Salmonella* Typhimurium (血清型 4:i:-) (ST) 及び *Salmonella* Infantis (SI) が分離された。畜舎内に複数のラットサインを確認したため、ネズミによる伝播を疑い、畜舎内の消毒とネズミ対策を指示した。発症豚は抗生剤で治療したところ、初発から半年以上経過後もサルモネラ属菌が環境から分離されており、症状は改善するものの、肥育期間が約 30 日間延長し、経営に大きな影響を及ぼした。治療と並行してモニタリング検査を継続実施しているが、サルモネラ症は清浄化に時間がかかることから、日頃の衛生対策の徹底継続が発生予防のために重要と推察された。

1 はじめに

Salmonella 4:i:-はSTと生化学的性状や遺伝的分類上類似することから、農林水産省消費・安全局動物衛生課より、2018年4月1日以降、STと見做されるようになり¹⁾、直近5年間のヒトの食中毒発生件数では比較的上位を占める血清型である²⁾。

Salmonella Infantis (SI) は4:i:-よりもさらに多くの食中毒事例が報告されている血清型であり、いずれも家畜または畜産物からの分離例が多く報告されていることから、畜産分野では比較的高頻度に遭遇し、かつ問題となることが多い^{3) 4) 5)}。

今回、これらに起因すると思われるサルモネラ症が発生したため、検査及び対応について報告する。

2 発生農場の概要

母豚約 330 頭を飼養する一貫経営農場であり、LWD 種の肉豚を年間約 7,000 頭出荷している。農場は分娩哺乳舎、離乳舎、肥育舎、育成舎に分かれている一般的な構造であり、床面はすべてスノコ式である。肥育素豚は平均 21 日齢で離乳舎に移動し、約 70 日齢まで飼養された後、肥育舎へ移動する。

3 発生経過

令和4年8月7日から10日にかけて、離乳舎での死亡頭数増加、元気消失、発育不良、食欲減退等を呈する豚の増加を受け、担当の

診療獣医師から家畜保健衛生所に通報があった。立入調査を実施し、死亡豚3頭の臓器及び同居豚12頭の血液を用いて豚熱の遺伝子検査を実施し、陰性を確認した。

その後も症状が治まらないことに加え、下痢症状も顕れたため、立入調査を継続した。

4 検査材料と方法

(1) 解剖学検査

検査材料：約 60 日齢の離乳豚 3 頭。

(生体 2 頭と死体 1 頭。2 頭はツラスロマイシンを筋注、1 頭は未治療)

方法：常法により実施した。

(2) 細菌学検査

検査材料：解剖学検査で得られた心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、空腸内容物および立入調査時に採材した環境材料、直腸便。

方法：臓器は 5% ヒツジ血液加寒天培地、チョコレート寒天培地、DHL 寒天培地を用いて 5% 炭酸ガス培養により実施した。

空腸内容物および直腸便は、ハーナテトラチオン酸塩培地で 42°C、24 時間選択増菌後ノボビオシン加 DHL 寒天培地および ES サルモネラ II 寒天培地を用いた好気培養により 37°C、24 時間培養した。

環境材料は、バッファード・ペプトン・ウォーター培地により、37°C、24 時間予備増菌後、空腸内容物および直腸便と同様に培養した。分離菌は、サルモネラ免疫血清及び市販の同定キットにより血清型別を行った。

(3) 薬剤感受性試験

検査材料：(2) で分離されたコロニー
 方法：ミューラーヒントン寒天培地を用い、
 一濃度ディスク法により、アンピシリン
 (AM10)、セファゾリン (CZ30)、セフロキシ
 シム (CXM30)、ストレプトマイシン (SM)
 、ネオマイシン (N)、カナマイシン (K30)
 、コリスチン (CL)、オキシテトラサイクリ
 ン (OTC)、エンロフロキサシン (ENR)、マ
 ルボフロキサシン (MAR)、スルファメトキ
 サゾールトリメトプリム (ST) について行っ
 た。

4 検査結果

(1) 解剖学検査

外貌では3頭すべてに削瘦が見られ、1頭
 は肛門周囲に赤褐色水様の下痢便が付着して
 いた(図1)。剖検では3頭に共通して空腸
 から回腸壁の菲薄化および腸間膜リンパ節の
 腫脹がみられた(図2、図3)。



図1 肛門周囲の水様性下痢便



図2 回腸壁の菲薄化



図3 腸間膜リンパ節腫脹

(2) 細菌学検査

解剖豚1頭の回腸内容物からSIを分離し
 た。他に有意な菌は分離されなかった。

(3) 薬剤感受性試験

多くの薬剤に感受性を示した(表1)。診
 療獣医師の判断により、抗生剤をエンフロ
 キサシン製剤に変更し治療を継続した。

表1 薬剤感受性試験結果①

AM10	CZ30	CXM30	SM	N	K30	E30
—	+	+	+	+	+	—
23	24	21	15	20	20	10
T30	ENR	GM	CL	MAR	ST	APM
—	+			+	+	
14	29	22	13	29	22	17

+ = 感性、± = 中間、— = 耐性

"数字" = 分離菌に対する判定基準がなく、阻止円の直径(mm)

5 発生後の調査

(1) サルモネラ分離直後の調査

治療によりわずかに症状は改善されたもの
 の、なおも症状は継続しており、SIが分離
 された以外の部屋でも症状がみられるようにな
 ったため、令和4年8月18日に再度立入
 調査を実施した。

離乳舎および離乳舎から肥育舎に移動して
 1週間程度経過した豚房では、削瘦、元気消
 失した豚が多くみられた(図4)。

症状が顕著だった離乳舎1号、2号および
 肥育舎53番豚房について、環境材料を採材
 し、3(2)と同様、サルモネラ選択培地を
 用いた検査を実施したところ、離乳舎1号か
 らSIが、肥育舎53番豚房からST(4:i:-)
 が分離された(図5、図6)。



図4 各舎の虚弱豚

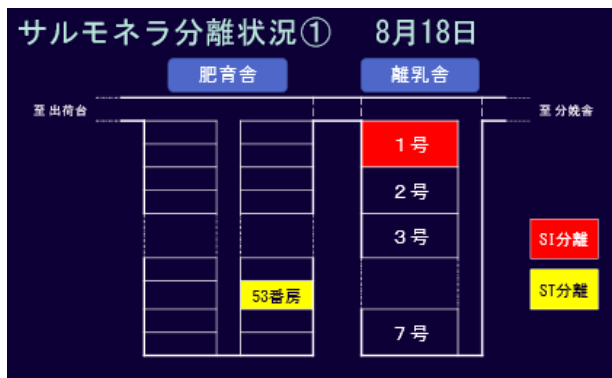


図5 SI、ST分離状況と配置図

分離された ST、SI について薬剤感受性試験を実施したところ、多くの薬剤に感受性を示す結果となったため（表2）、診療獣医師と相談のうえ、引き続きエンロフロキサシン製剤の投与をすることとなった。

表2 薬剤感受性試験結果②

血清型	AM10	CZ30	CXM30	SM	N	K30	E30
SI 離乳舎1号	+	+	+	+	+	+	-
	25	26	21	15	21	21	10
	T30	ENR	GM	CL	MAR	ST	APM
	±	+			+	+	
	15	29	23	13	32	24	18
ST 肥育舎53番	+	+	+	-	+	+	-
	24	26	24	6	23	23	11
	T30	ENR	GM	CL	MAR	ST	APM
	-	+			+	+	
	6	29	23	12	29	26	17

+ = 感性、± = 中間、- = 耐性

"数字" = 分離菌に対する判定基準がなく、阻止円の直径(mm)

(2) 継続調査

経過観察のため、令和4年9月27日、11月9日、12月19日、令和5年2月3日に同様の立入調査およびサルモネラの検査を実施した。

抗生剤の投与が奏効し、9月の調査時には若干の下痢程度に回復した（図6）が、サルモネラの分離は継続した。その後も、治療により回復はするものの、治療を中止すると発症するといった状況が2月以降まで続き、サルモネラも継続的に分離された（表3）。

各調査時に、豚舎内でラットサインが見られたことから、齧歯類を介しての感染が疑われた（図7）。



図6 離乳舎での下痢、回復した肥育舎

表3 サルモネラの分離状況

採材場所	令和4年				令和5年
	8月18日	9月27日	11月9日	12月19日	2月3日
離乳舎1号	<i>S. Infantis</i> (07群)				
離乳舎2号		07群	07群		
離乳舎3号					04群
肥育豚舎 53番豚房	<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i> (4:i:-)	04群			



図7 飼料給餌器の上のネズミの糞
豚房周辺にみられたネズミの足跡

6 対策

対策として、日常的に実施している洗浄・消毒を徹底するよう指示した。消毒薬は逆性石鹼を1,000倍希釈しているものを使用していたが、希釈倍率がそれ以上高くないよう注意し、従業員への健康被害防止のため素手による作業をやめ、うがい・手洗いを念入りに実施するよう促した。

ネズミ等齧歯類対策として、既に殺鼠剤を使用していたが、効果が薄かったため、専門の駆除業者へ駆除の依頼をすることを提案した。駆除の実施までに時間がかかるものの、業者を選定し、農家から見積もりを依頼している。また、畜舎外からのより強固な侵入防止策として、畜舎外周を囲うようにパーテーションを設置するための工事を実施予定である。

モニタリングのため、立入調査およびサルモネラ検査も引き続き実施していく。

7 考察

サルモネラは一度侵入すると長期に渡って養豚場の運営に影響を及ぼす。今回の事例では、8月の発生から半年以上経過後にもサルモネラ菌が分離されており、また、肥育期間が30日以上延長するなど、経営的にも大きなダメージがあった。

適切な抗生剤の投与で回復することが可能であるが、長期間に渡って投与し続けなければならない。

当該農場は衛生意識が高く、日常的に洗浄・消毒の実施をしており、殺鼠剤も適宜使用していたが、それだけでは効果が得られなかったことから、駆除業者へ依頼することやパーテーションの設置等、ネズミに対してより直接的な対応が必要と示唆された。

引用文献

- 1) 農林水産省消費・安全局動物衛生課：サルモネラ(4:i:-)の取扱について、平成30年3月29日付け 29消安第6791号
- 2) 国立感染症研究所、病原微生物検出情報、食中毒菌、サルモネラ、血清型割合 2019～2023年
- 3) 多田郷士、他：第59回長野県畜産技術

研究発表集(2015)

4) 浅井鉄夫：豚から分離されるサルモネラの血清型と汚染源、日本SPF豚研究会 All About Swine, 33, 20-22 (2008)

5) 3) 阿部成章、他：日獣会誌、49、164-167 (1996)

飼養豚及び野生イノシシの豚熱抗体価の推移

○伊藤唯 片倉裕喜
(長野県松本家畜保健衛生所)

要約

2018年に国内で26年ぶりとなる豚熱が発生して以降、飼養豚及び野生イノシシへ感染が拡大、蔓延している。本県は2019年10月から飼養豚へワクチン接種を開始し、飼養豚ELISA抗体陽性率は初回ワクチン接種後検査で90%を超えたが、2020年4月から12月の肥育豚は80%を下回り、接種を30~40日齢から50~60日齢へと後倒した。これにより2021年以降ELISA抗体陽性率は80%以上と改善した。母豚中和抗体価の直近の推移は中央値32倍をピークに正規分布しており、移行抗体の消失時期が早まっていると推測され、接種日齢の前倒しが求められている。また本県の野生イノシシにおけるELISA抗体陽性率は2020年4月から2021年7月は50%程度で推移、2022年1月の68%をピークに減少、2022年11月は20%程度であり、2022年は遺伝子陽性は2個体と野生イノシシに感染が起こると再度蔓延する可能性が示唆された。飼養豚への感染防止対策は適期日齢でのワクチン接種とバイオセキュリティの強化、野生イノシシへのワクチン散布と捕獲強化及びサーベイランス検査の継続が重要と考えられる。

1 はじめに

2018年9月9日に豚熱が国内で26年ぶりに発生し、2019年2月には疫学関連農場として本県でも豚熱が発生。同年7月に野生イノシシで感染が確認され、9月には県内2農場で豚熱が発生した。本県は豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針(以下「防疫指針」)に基づき2019年10月から豚熱ワクチン接種を開始、同年11月に免疫付与状況等確認検査を開始し、以降6か月毎にELISA検査を実施している。野生イノシシのサーベイランス検査は2018年9月から開始している。今回直近2022年に行った母豚の中和抗体価の測定結果と合わせ、これらのデータについて考察したので報告する。

2 材料および方法

(1) 飼養豚

ELISA検査は、2019年11月から2022年12月までに採材した県内養豚場の豚血清8211検体、中和試験は2022年4月から9月に採材された498検体について非働化後に検査に用いた。検査は、防疫指針上に記載されている別紙1「豚熱の診断マニュアル」の各抗体検査方法に基づき実施した。ELISA検査は豚コレラエライザキットⅡ(

ニッポンジーン株式会社)を使用した。

(2) 野生イノシシ

2018年9月から2022年11月までに捕獲・死亡した野生イノシシの扁桃または血清を用い、遺伝子検査2850検体、ELISA検査2628検体を実施した。検査方法は野生イノシシについても防疫指針上に記載されている別紙1「豚熱の診断マニュアル」に基づき実施した。遺伝子検査については2022年5月以降市販のキット(CSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Probe(with ROX Reference Dye)/タカラバイオ株式会社)を用いてリアルタイムRT-PCRを実施した。またELISA検査については飼養豚と同様のキットを用いた。

3 結果および対応

(1) 飼養豚

飼養豚における免疫付与状況等確認検査の結果は、初回ワクチン接種後の2019年11月から2020年3月までの検査で繁殖豚、肥育豚ともにELISA検査陽性率90%を超えたが、2020年4月から12月の肥育豚の陽性率が62.2%、72.4%と80%下回る結果であった(表1)。このことからワクチンブレイクが発生していると考えられ、本県では接種日齢を30~40日齢接種からの後ろ倒しを検

討した。また2020年8月牛豚等疾病小委員会より、飼養豚等への豚熱ワクチン接種後の免疫付与状況についての今後の方針として、「ワクチン未接種の母豚に初めてワクチンを接種した場合、母豚の抗体価が非常に高くなる可能性があり、その母豚から出生した子豚については、移行抗体の影響が長く続くことにより、50日齢未満で接種した場合に、子豚の抗体価の上昇が抑制されたり遅延したりする可能性がある。このため、こうした子豚について、適切に免疫を獲得させるためには、接種日齢を50～60日齢程度に遅らせることが望ましい。また、抗体検査のための採材時期としては、接種後40日以降が望ましい」[1]と示された。これにより接種日齢を50～60日齢へと後ろ倒しし、2021年以降は陽性率が80%を下回することはなかった(表2)。

表1 2019年から2020年の免疫付与状況等確認検査(ELISA検査)の結果

	繁殖豚			肥育豚		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
第1回 2019.11～2020.3	365	340	93.2	1364	1323	97.0
第2回 2020.4～2020.9	333	316	94.9	1298	807	62.2
第3回 2020.11～2020.12	346	320	92.5	923	668	72.4

表2 2019年から2022年の免疫付与状況等確認検査(ELISA検査)の結果

	繁殖豚			肥育豚		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
第1回 2019.11～2020.3	365	340	93.2	1364	1323	97.0
第2回 2020.4～2020.9	333	316	94.9	1298	807	62.2
第3回 2020.11～2020.12	346	320	92.5	923	668	72.4
第4回 2021.4～2021.9	589	569	96.9	803	671	83.6
第5回 2021.10～2022.2	350	327	93.4	409	328	80.2
第6回 2022.4～2022.9	719	678	94.3	712	635	89.2

直近の2022年4月から9月に採材された母豚の中和抗体価の推移は、検体数498頭、32倍をピークに正規分布しており中央値32倍、GM値34.8倍であった(図1)。そのうち

初回一斉接種接種を受けた第1世代の母豚が約1割存在していたことから、第2世代の母豚の中和抗体価の分布を確認したところ、第1世代の母豚は二峰性の分布をとっており、中央値64倍、GM値75.1倍であったのに対し第2世代の母豚中和抗体価は中央値32倍、GM値30.5倍であった(図2)。

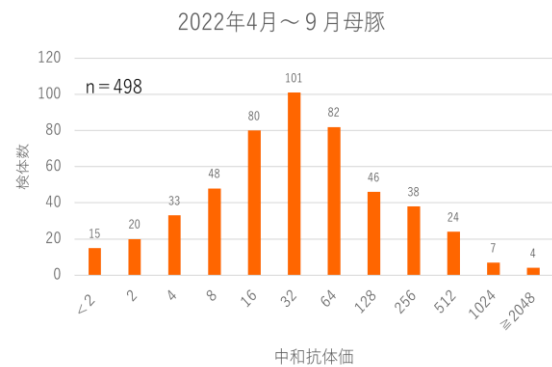


図1 2022年4月から9月の母豚中和抗体価の推移

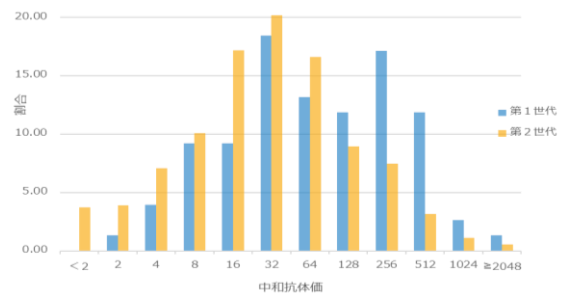


図2 第1世代と第2世代の中和抗体価の分布

(2) 野生イノシシ

県内で遺伝子陽性検体が確認されたのは2019年7月8日であり、以降9月にかけて遺伝子陽性検体は検査頭数の約40%を占めていた。ELISA検査陽性検体は2019年9月以降に確認された。2019年10月から2021年の4月までは遺伝子陽性率は上下があるものの10～20%程度検出、その後2021年5月からは遺伝子陽性率は激減し、1%未満となっており、直近の遺伝子検査陽性頭数は2022年5月と7月に1頭ずつ検出している。抗体陽性率は2022年1月をピークに2022年11月は20%程度に推移している(図3)。

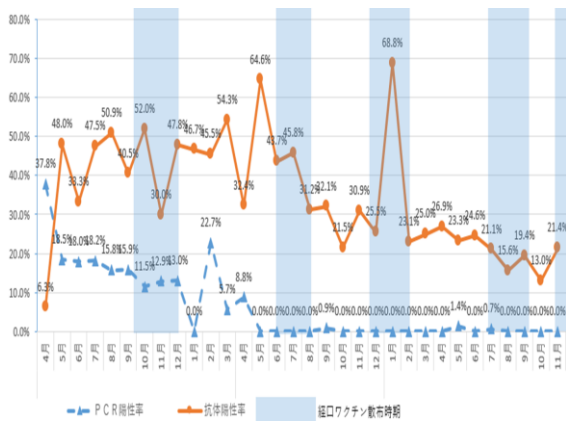


図3 2020年4月から2022年11月までの野生イノシシの検査成績

近隣県を含む野生イノシシの豚熱検査状況は県境付近において、岐阜県で2022年11月と12月に陽性イノシシが確認されている。また、埼玉県と群馬県でも11月に、愛知県と静岡県では12月に陽性イノシシが確認されている(図4)。

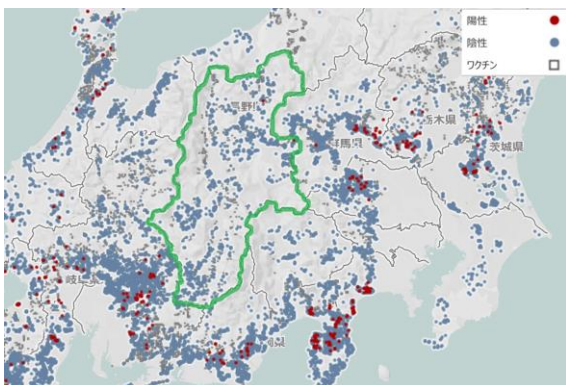


図4 2022年4月から11月までの本県を含む近隣県の野生イノシシの検査状況(農林水産省HPより抜粋)

野生イノシシの交尾期は、12月から1月にかけて始まり約3ヶ月間続くとされる[2]。この時期に活発に動き回るため、感染イノシシがイノシシ集団に直接感染を拡散させる可能性や、感染した母イノシシが120日の妊娠期間を経て、春に出産した場合、その幼獣の中には持続感染個体が存在している可能性が考えられ、豚熱を蔓延させる可能性は高い。

4 考察

(1) 飼養豚

直近の肥育豚のELISA陽性率は89.2%と高い傾向にあり、母豚の中和抗体価は32倍をピークに正規分布していたことから、子豚への移行抗体価は低く、ワクチンブレイクの恐れは少なくなり、移行抗体の消失時期が早まっていることが考えられた。このことから出生からワクチン接種までに豚熱の感染リスクがあり、ワクチン接種日齢の前倒しが必要と考えられる。

飼養豚の対策については、適期日齢でのワクチン接種、農場バイオセキュリティ強化が重要である。適期日齢でのワクチン接種は、ELISA検査と中和試験を併用し、それらのデータに基づき農場毎に最適な接種日齢を推測し、その後接種日齢は適正であったかの確認検査を実施していく。また農場バイオセキュリティ強化として自分の農場にどのような危害要因が存在するか、それらを排除・低減させるために農場HACCPやGAPなどの考えを取り入れ、リスク低減に向けた取り組みを継続的に行い、リスク管理をすることが必要と考察する。

(2) 野生イノシシ

捕獲用の罠、ワクチン散布などは人が立ち入る人里に近い場所に設置しているため、人が立ち入れない山奥では遺伝子陽性イノシシが捕獲されずウイルスを拡散している可能性や、またELISA検査で抗体陽性率が低い状況であることから、近隣県の発生状況を見ても本県で再蔓延する可能性が考えられた。ウイルスを拡散しないために抗体陽性率は高いほうがよく、40%以上を保持したいところである[3]。

野生イノシシの対策としては、サーベイランス検査、ワクチン散布、捕獲の強化の実施が重要である。サーベイランス検査により、県内のイノシシの動向、感染状況を把握することは、野生イノシシから飼養豚への感染予防に繋がるため、引き続き検査の実施が重要である。ワクチン散布については、餌の嗜好性を良くする、イノシシの行動パターンを把握するなど、専門家や他

県と情報交換しながらワクチン摂取率を向上させることが必要と考えられる。理想としては遺伝子検査陽性率0%、抗体陽性率40%以上の継続が求められる。捕獲の強化については、で野生イノシシの絶対数を減少させ、密度を低下させることによりが感染拡大の予防につながる。

5 終わりに

野生イノシシの対策は飼養豚への感染予防上重要であるため、引き続き関係機関の方々と協力して検査を継続していくことが大切と考える。

6 参考文献

- [1]第60回牛豚等疾病小委員会 資料2-1
- [2]仲谷淳：知られざるイノシシの生態と社会(2001)
- [3]Guidelines on surveillance / monitoring control and eradication of Classical Swine Fever in wild boar EC(2010)

母豚の中和抗体価を用いた豚熱ワクチン接種適期推定と適期接種に向けた取組

○中島冬萌、大泉卓也、森野なつ樹、宮澤隆
(長野県松本家畜保健衛生所)

要約

現在、豚熱の発生防止には免疫の穴が最小となる日齢でのワクチン接種が重要視されている。接種適期検討のため、令和3年7月から令和4年8月にかけて管内5農場の肥育豚と2農場の未接種豚の抗体検査を実施した。各農場の肥育豚の抗体陽性率は概ね8割以上、未接種豚の移行抗体価16倍以下個体の割合は9割以上だった。この結果から全農場で接種日齢をこれまでの51～60日齢から40～48日齢に変更した。しかし肥育豚の抗体価のみでは、変更した日齢が本当に適期かどうかの判断は困難であった。そこで従来よりも正確に適期を検討するため、母豚の中和抗体価を用いた適期推定を実施した。5農場の母豚各30検体の中和試験を行い、得られた中和抗体価を適期推定モデルに代入して適期を算出した。その結果、各農場の適期は5～33日齢以降と推定された。全農場で接種日齢の前倒しが必要と考えられ、40～48日齢から27～38日齢に変更した。うち1農場では28日齢接種群の免疫付与状況確認検査を実施し、その結果は中和試験を併用し抗体陽性率100%であった。今回用いたモデルは適期推定の新たな指標となり、肥育豚の免疫付与状況確認検査と併用することで適期接種が可能と考えられた。

1 はじめに

野生いのししの豚熱感染が本州及び四国に拡大している中、飼育豚の豚熱の発生防止には飼養衛生管理基準の遵守に加え、豚熱ワクチン接種が重要視されている。豚熱が発生する要因として、移行抗体の消失あるいは、ワクチンブレイクによる不十分なテイクにより免疫の穴ができることが懸念されており、免疫の穴を最小にする接種日齢の設定が必要となっている。

管内では令和4年8月まで、肥育豚の免疫付与状況確認検査と未接種豚の移行抗体価の検査結果をもとに接種日齢を検討してきた。今回、より正確に接種適期を推定するため、新たな知見をもとに母豚の中和抗体価を用いて子豚の接種適期の推定を試みたので、その概要を報告する。

2 農場の概要

管内5農場（A～E農場）における令和3年12月時点でのワクチン接種日齢は51～60日齢であった(表1)。

表1 管内5農場の概要

農場	分娩管理方法	豚熱ワクチン接種		
		間隔	日齢(R3.12時点)	接種者
A	スリーセブン	18日	55日齢	家畜防疫員
B	スリーセブン	21日	60日齢	家畜防疫員 (R4.12から 知事認定獣医師)
C	連続飼育	7日	55日齢	家畜防疫員
D	ウィークリー	7日	51日齢	家畜防疫員
E	ウィークリー	7日	53日齢	家畜防疫員

3 方法と結果

試験1 肥育豚の免疫付与状況確認検査・未接種豚の移行抗体調査

(1) 材料及び方法

令和3年12月から令和4年8月にかけて5農場の肥育豚155検体をELISA法により、2農場の未接種豚35検体を中和試験により実施した。

(2) 結果

肥育豚の接種日齢ごとのELISA陽性率はE農場の53日齢接種を除き、概ね8割以上であった。また、未接種豚の各採血日齢における移行抗体価16倍以下の個体の割合はいずれも9割以上であった。これらの結果から、各農場で接種日齢を51～60日齢から40

～48日齢に前倒しした(表2)。

表2 肥育豚の免疫付与状況確認検査・未接種豚の移行抗体調査の結果

農場	肥育豚 接種日齢 ELISA抗体陽性率(頭数)		未接種豚 採血日齢 移行抗体価16倍以下割合(頭数)			接種日齢 R4.10
	55日齢	37日齢				
A	100%(15/15)	80%(12/15)				40日齢
B	80%(12/15)	80%(8/10)	90%(9/10)	90%(9/10)	50日齢	40日齢
C	97%(19/30)					48日齢
D	87%(13/15)	93%(14/15)				44日齢
E	67%(10/15)	93%(14/15)	100%(5/5)	100%(5/5)	100%(5/5)	45日齢

試験2 母豚の中和抗体価を用いた接種適期の推定

(1) 材料と方法

令和4年7月から11月にかけて5農場の母豚各30検体の中和試験を実施した。得られた中和抗体価を適期推定モデル¹⁾に代入し、接種適期を算出した(図1)。

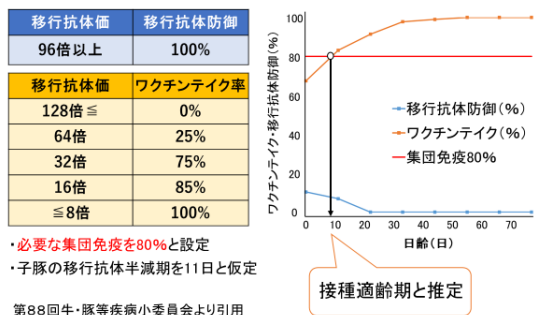


図1 接種適期推定モデル

モデルでは移行抗体価96倍以上と推定された子豚が発症防御されると仮定し、移行抗体で発症防御できる子豚の割合を青いグラフで示した。子豚の移行抗体価とワクチンテイク率の関係を表のように仮定し、移行抗体価に基づいたワクチンテイク率の推移をオレンジのグラフで示した。また、必要な集団免疫を80%と設定し、ワクチンテイク率が80%となる日齢を接種適期とした。

(2) 結果

接種適期は母豚の抗体価分布により農場間で差がみられたが、全農場で令和4年10月時点より早い日齢と推定された(図2、

表3)。

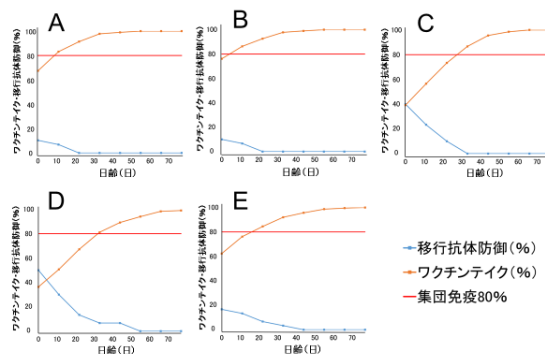


図2 各農場の接種適期推定グラフ

表3 推定された接種適期

農場	接種適期	接種日齢
		R4.10時点
A	9日齢以降	40日齢
B	5日齢以降	40日齢
C	28日齢以降	48日齢
D	33日齢以降	44日齢
E	17日齢以降	45日齢

試験2の結果から、管内全農場で接種の前倒しが必要と考察されたため、各農場の担当職員と農場側で接種日齢について検討した。また、母豚の中和抗体価と推定した子豚の接種適期のグラフをまとめた資料を作成し、他農場の分も併せて各農場に配付した(図3)。他農場の状況を共有することで、接種の前倒しを躊躇している農場の後押しを狙った。

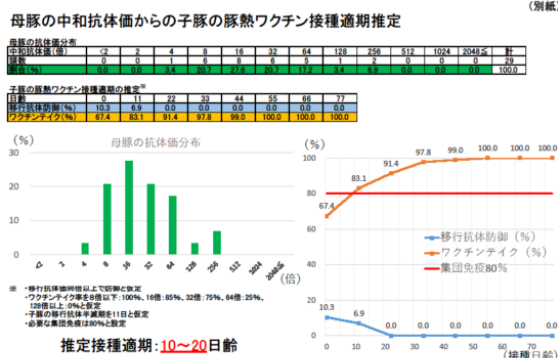


図3 農場間での情報共有

接種日齢について農場側と検討を進める中、免疫付与状況確認検査の結果も踏まえて全農場で接種日齢を27～38日齢に前倒した(表4)。

表4 接種日齢の変更

農場	接種適期	豚熱ワクチン接種日齢	
		R4.10時点	R5.1時点
A	9日齢以降	40日齢	27日齢
B	5日齢以降	40日齢	28日齢
C	28日齢以降	48日齢	38日齢
D	33日齢以降	44日齢	37日齢
E	17日齢以降	45日齢	38日齢

試験3 接種日齢の評価

(1) 材料と方法

B農場において28日齢接種に変更した肥育豚10頭から接種42日後に採血し、免疫付与状況確認のためELISA法を実施した。ELISA陰性の検体については中和試験を実施し、中和抗体価1倍以上を陽性と判定した。

(2) 結果

ELISA陽性率は53%(4頭/10頭)、中和試験を含めた抗体陽性率は100%(10頭/10頭)であった。

4 考察

第88回牛豚等疾病小委員会では、ELISA陰性の場合には中和試験を実施することが望ましく、中和抗体価1倍から抗体陽性とすることが示された²⁾。また、移行抗体価16倍以下では発症防御されず、防御に必要な移行抗体価はおそらく少なくとも96倍以上であること、従来の仮定よりも移行抗体価ごとのワクチンテイク率が低い可能性が示された。

これらの知見を踏まえると、試験1において肥育豚のELISA陽性率は8割以上と高く、移行抗体の低下に合わせた接種日齢の設定で免疫の穴を縮小できる余地があると考えられた。また、肥育豚の免疫付与状況や未

接種豚の移行抗体価をもとにした接種日齢の設定では、具体的にどの程度まで前倒しが可能か、判断することは困難であった。以上の課題から、従来よりも正確な適期を検討するため、新たな知見に基づき母豚の中和抗体価を用いた適期推定を実施した。

試験2の結果から管内5農場で接種日齢の見直しが必要と推察されたことに基づき、実際に全農場で接種日齢を変更した。B農場では試験3の結果から、28日齢に前倒しても免疫が付与されると示唆された。今後他の4農場でも免疫付与状況を適宜確認し、接種日齢変更の評価をしていく必要がある。より正確に接種適期を検討する場合には、ワクチン接種後90日以上経過した個体を対象に免疫付与状況確認検査を実施する。

令和5年4月から農場の登録飼養衛生管理者によるワクチン接種が始まると、分娩舎内での接種や、去勢、離乳などの作業のタイミングに合わせた接種が可能となる。これまでの家畜防疫員による接種と比較してより柔軟な接種が可能になると予想される。

一方、今後ワクチン接種地域が拡大した場合、県外から母豚を導入する農場では、第一世代の母豚が導入されることで母豚の抗体価にばらつきが生じる可能性がある。その場合は一括追加接種協議も視野に入れ、2回接種により免疫の穴を縮小していく必要があると考えられる。

5 終わりに

今回用いた適期推定モデルは、適期推定の新たな指標となり得ると考えられ、肥育豚の免疫付与状況確認検査と併用することで、適期接種が可能と推察される。

6 参考文献

- 1) 豚熱ワクチン接種による免疫付与に係る都道府県担当者意見交換会 資料2
- 2) 第88回牛豚等疾病小委員会 資料1-1

デルマトフィルス症の冬季集団発生

○ 小林憲一郎
(佐久家畜保健衛生所)

要約

Dermatophilus congolensis (Dc) は牛、めん山羊及び馬等における皮膚炎（デルマトフィルス症）の原因菌である。2022年1月、A酪農場で同症の集団発生を認め、発生要因を調査した。A酪農場がそれまで利用していなかったB公共牧場を2021年に利用していたことから、公共牧場との関連性を検討した。2022年6月から9月に管内8牧場、延べ898頭で同症の発生状況を調査した。B牧場の皮膚病発症牛3頭からDcを分離した。A酪農場及びB牧場分離株、計4株の薬剤耐性プロファイル、パルスフィールドゲル電気泳動及び16S rDNA全長シークエンスによる分子系統解析を実施し、両農場分離株の疫学的関連性を確認した。また、Dcの低温ストレス耐性を検討した。冷蔵・冷凍保存した皮膚病変部からDcを分離したことから、皮膚病変部が冬季集団発生の感染源となる可能性が示唆された。本症の冬季集団発生の要因は、①寒冷ストレスによる免疫力低下、②B牧場下牧牛を介したA酪農場へのDc侵入、③冬季発症牛の病変部による搾乳牛舎内におけるDcの拡散と推察した。

1 はじめに

デルマトフィルス症は、グラム陽性桿菌で遊走子形成を特徴とする *Dermatophilus congolensis* (Dc) による滲出性皮膚炎である。感染動物は、牛・めん山羊・馬及び人など多様な動物に感染する。伝播様式は直接的伝播に加えて、吸血昆虫や有棘植物による間接的伝播が知られている。発生は世界中で見られており、国内においても、沖縄県、宮崎県、北海道等、全国で発生が見られる。高温・多湿かつ低栄養となりやすい公共牧場で集団発生が報告されている。発症牛の多くは、1か月程度で治癒し、再感染に抵抗することが知られているが、混合感染による子牛の死亡例が報告されているほか、皮革の商品価値低下などの経済的被害がある。

2022年1月にA酪農場において皮膚炎の集団発生が見られ、病性鑑定の結果、デルマトフィルス症と診断した。飼料高騰や高齢化

に加え、牛伝染性リンパ腫（EBL）対策として、公共牧場の利用は増加している。このような環境の下、公共牧場やその利用農家における皮膚病の予防は重要である。しかし、デルマトフィルス症の冬季集団発生の報告は少ない。そこで、筆者らはデルマトフィルス症の原因究明と発生予防のため、冬季集団発生の原因究明に取り組んだ。調査は、発生農場の疫学調査、公共牧場のデルマトフィルス症発生状況調査及びDc低温ストレス耐性試験を実施した。

2 病性鑑定

A酪農場は、搾乳牛27頭、育成牛13頭を飼養しており、搾乳牛は対尻式繋ぎ牛舎、育成牛は屋外パドックで飼育している。皮膚炎の発生時期は、2022年1月上旬からで、病性鑑定の実施は1月下旬になってからであった。稟告は、「搾乳牛で重度の皮膚炎が多

発、皮膚が浮き上がり剥離、掻痒感なし、乳量低下」という内容で、診療獣医師から原因究明の依頼があった。病性鑑定実施時には、獣医師による治療が開始されており、病変部へのヨード系消毒剤（ポリアップ16）の噴霧が行われていた。

搾乳牛群は、育成牛屋外放牧場出入り口付近が初発で、その後牛群全体に感染が広がっていた。また、育成牛でも一部感染を確認した。症状は胸部、腹部、頭部及び顔面などに広範囲にわたり皮膚の剥離を確認した(図1)。臨床検査実施時は、被毛の再生が始まっており、獣医師による治療が有効であったものと示唆された。

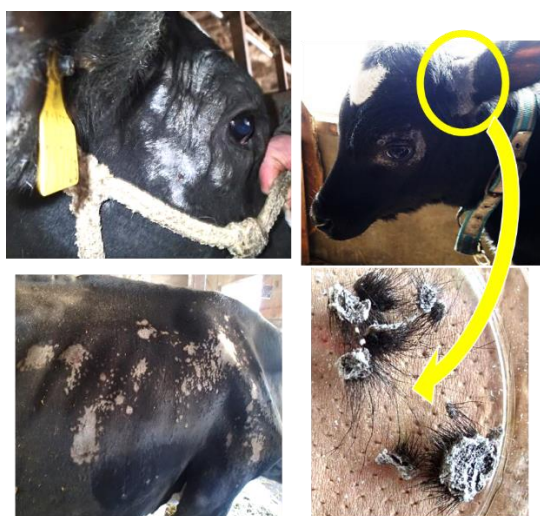


図1 皮膚炎発症牛の皮膚病変部

発症牛のうち、4頭から皮膚病変部を採取し、寄生虫検査及び細菌検査を実施した。寄生虫学検査は、実体顕微鏡による観察を行ったが、すべて陰性であった。細菌検査は、病変部スタンプ標本を作製してグラム染色を実施したところ、2検体でグラム陽性の菌糸様菌体を認めた。また、病変部を滅菌生理食塩水に浸漬後、5%ヒツジ血液寒天培地、DHL

寒天培地、マンニット食塩寒天培地及びサブロー寒天培地に接種して、2~7日間、37℃ 5%CO₂添加培養を実施したところ、2検体の48時間培養後の血液寒天培地上にβ溶血を伴い、培地に食い込むように発育するコロニーを認めた。これらのコロニーを鏡検したところ、グラム陽性で球菌状断裂菌体を認めたことからデルマトフィルス症を疑い、PCRにて同定した(図2)。

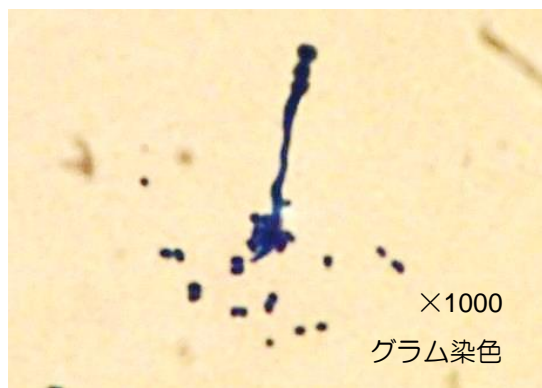


図2 5%羊血液寒天培地上に発育したDcとそのグラム染色像

3 発生農場の疫学調査

A酪農場で実施した検査の残余血清を用いて、抗体検査を実施した。抗体検査は、A酪農場分離株由来抗原を用いたゲル内沈降反応を実施した。抗原作成及び検査は、Kinjyoらの方法に準じて実施した。

集団発生前の2020年9月に搾乳牛で血清を採取した15頭の抗Dc抗体保有率は、27% (4/15)であった(図3)。集団発生後の2022年4月に血清を採取した搾乳牛21頭の抗体保有率は、81% (17/21)に増加していた。また、同時に採取した育成牛14頭の抗体保有率は、7% (1/14)で、搾乳牛に比べて有意に低かった ($p=2.0 \times 10^{-5}$)。

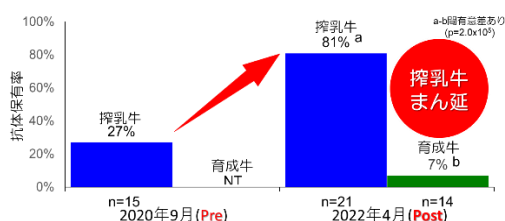


図3 A酪農場におけるデルマトフィルス症 冬季集団発生前後の抗 *D. congolensis* 抗体保有率

聞き取り調査により、A酪農場は自家育成のため、外部導入はないものの、長年公共牧場を利用しており、2021年にはこれまで利用のなかったB公共牧場の利用を開始したことが明らかになった。また、A酪農場の所在地であるX市の気温変化を気象庁ホームページで調べたところ、2021年12月30日から2022年1月2日にかけて最低気温の急激な低下が見られ、シーズン最低となる -13°C を計測した(図4)。

以上の結果から、A酪農場におけるデルマトフィルス症の集団発生は、抗Dc抗体保有率の低い牛群に、B公共牧場からの下牧牛を介してDcが持ち込まれたために発生したものと推察された。また、発生にあたっては、寒冷ストレスが引き金になった可能性が示唆された。

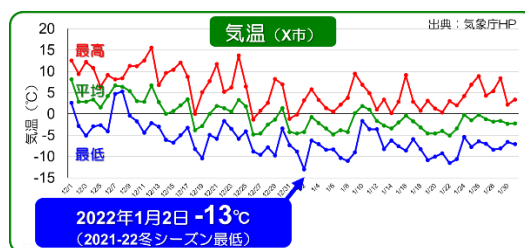


図4 X市における2021年12月～2022年1月の気温変化 (出典：気象庁HP)

4 公共牧場の発生状況調査

2022年6～9月に、管内8公共牧場で19回、延べ898頭を対象に実施した放牧衛生検査に合わせて、デルマトフィルス症の発生状況調査を実施した。方法は臨床観察により、皮膚炎を認めた個体については、病変部を採取して、寄生虫検査及び細菌検査を実施した。また、皮膚炎を認めた個体では、病変部を用手除去し、ヨード系消毒剤を噴霧した。

表1 管内8公共牧場におけるデルマトフィルス症発生状況調査結果 (単位：頭数)

牧場	6月	7月	8月	9月	合計
B	62	66	61	51	240
C	58	54	55	49	216
D	46	52	72	64	234
E		40	39		79
F	3頭発症	16		14	30
G			32		32
H		22			22
I		45			45
合計	166	295	259	178	898

検査の結果、B公共牧場の6月検査において、3頭の発症牛を確認した(表1)。その他の検査では発症牛は確認されなかった。発症牛3頭はすべてホルスタイン種の育成牛(9, 15, 20か月齢)で、異なる農場から預託されていた。B公共牧場の入牧前と下牧時に採取した9農場42頭のペア血清を用いて、

抗体保有率を調べたところ、入牧前は21% (9/21)であった抗体保有率が、下牧時には88% (37/42)まで上昇していた。

A酪農場分離株1株と、B公共牧場分離株3株の計4株について、疫学的関連性を調査した。薬剤耐性プロファイル及びパルスフィールドゲル電気泳動は、4株すべて同一の泳動パターンを示した(表2、図5)。また、16S rDNAの全長シーケンスを用いた分子系統解析により、A酪農場分離株と、B公共牧場分離株の1株は極めて近縁であった。以上のことから、A酪農場に侵入したDcは、B公共牧場由来と推察した(図6)。

表2 A酪農場及びB公共牧場分離株4株の薬剤耐性プロファイル(単位:mm)

菌株	ST合剤											
	PCG	AMX	ABPC	CTF	SM	KM	FRM	OTC	TS	ERFX	OBFX	SXT
A	39	40	40	35	12	14	15	38	31	21	22	32
B-1	40	NT	35	NT	12	12	NT	41	NT	NT	NT	NT
B-2	38	40	32	35	12	12	13	36	30	24	21	28
B-3	45	38	38	38	12	11	15	40	32	18	22	30

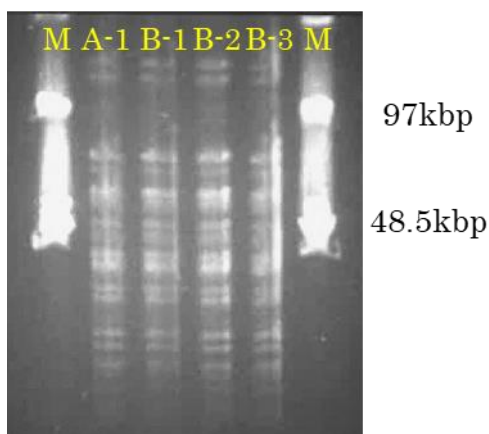


図5 パルスフィールドゲル電気泳動像
M:マーカー、A-1:A酪農場分離株、B-1:B公共牧場分離株1、B-2:B公共牧場分離株2、B-3:B公共牧場分離株3

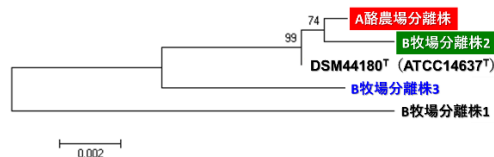


図6 16S rDNA全長シーケンスによる分子系統樹

5 Dc低温ストレス耐性試験

4°Cで冷蔵保存した皮膚病変部からのDc分離を試みたところ、最長9か月間保存した検体からDcが分離された。そこで、B公共牧場から採取して、5か月間冷蔵保存した皮膚病変部2検体について、-18°Cまたは4°Cで保存した検体からの定量的なDc分離を試みた。分離は、初めに検体1gに滅菌生理食塩水1mLを懸濁後、10倍階段希釈をして5%ヒツジ血液寒天培地に接種し、37°C48時間5%CO₂添加培養後、菌数を測定した。その後、検体1gを-18°C又は4°Cで30日間保存し、再度菌数測定を実施した。その結果、-18°C又は4°C30日間保存後であっても10⁶CFU/gを超える菌数のDcが検出された(図7)。この結果から、皮膚病変部のDcは低温かつ乾燥した環境、すなわち今回の症例における搾乳牛舎内の環境では感染力を保持するものと推察した。

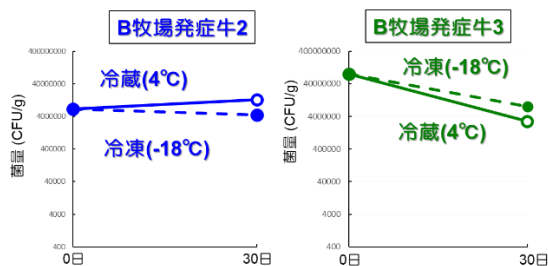


図7 冷凍・冷蔵保存した皮膚病変部からのDc分離試験

さらに、Dc の凍結・融解耐性試験を実施した。A 酪農場分離株 1 株と B 公共牧場分離株 2 株を純培養して、1 コロニーを滅菌蒸留水 10mL で懸濁し、菌数測定を実施した。その後、 -18°C または 4°C で 10 日間保存し、室温放置後、再度菌数を測定した。同様の菌数測定を 3 回繰り返した。その結果、凍結・融解を繰り返すごとに分離菌数は減少し、2～3 回の凍結・融解で検出限界以下 ($<400\text{CFU/mL}$) まで減少した (図 8)。以上の結果から、冬季の湿潤かつ温度変化の激しい環境、すなわち今回の症例における、屋外放牧場のような環境では、Dc は大幅に菌数が減少するものと推察した。

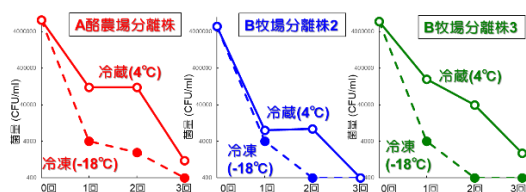


図 8 Dc の凍結・融解耐性試験

6 考察

A 酪農場でデルマトフィルス症の冬季集団発生について、その要因を検討した。その結果、Dc 低免疫牛群への病原体侵入に加えて、寒冷ストレスが発症の引き金になったものと推察した。また、Dc は B 公共牧場下牧牛を介して A 酪農場に侵入したものと推察した。皮膚病変部の Dc は低温かつ乾燥した環境に抵抗性であることから、皮膚病変部等を介して搾乳牛舎内に病原体が拡散したものと推察した。以上の結果から予防法を検討したところ、放牧前の皮膚病治療を徹底や放牧中のモニタリング・治療に加え、下牧後の一時的隔離と牛体消毒を実施し、冬季デルマトフィルス症が発症した場合は発症牛を早期隔離

するとともに、畜舎消毒を実施して環境中の病原体を減少させる必要があると推察した。

謝 辞

農場調査にご協力いただいた、協同乳業株式会社浅間診療所古川寿郎先生と、分子系統解析を実施していただいた、酪農学園大学獣医細菌学ユニット村田亮先生に深謝申し上げます。

引用文献

- [1] 高畠ら、北海道獣医師会雑誌、54 (2010)
- [2] Kinjyo et al. 麻布大学獣医学部紀要、14, p37-41 (1993)
- [3] Larrasa et al. FEMS Microbiology Letters, 240, p87-97 (2004)
- [4] DERMATOPHILOSIS. OIE Terrestrial Manual (2008)
- [5] Branford et al. Veterinary sciences 8, 135 (2021)

*Streptococcus ruminantium*が分離された牛肺炎の一例と 過去に牛から分離された *Streptococcus suis* の再同定

○ 鈴木健太
長野県松本家畜保健衛生所

要約

Streptococcus suis (Ss) は 35 種類以上の血清型に分類されるが、そのうち血清型 33 は 2017 年に *Streptococcus ruminantium* (Sr) に再分類された。そして過去に同定された牛由来の Ss の多くが Sr である可能性が指摘されている。2022 年 3 月に呼吸器症状を呈して死亡した牛の肺から、*Mycoplasma bovis* や *Trueperella pyogenes* とともに分離された菌が県内で初めて Sr と同定された。Sr 特異的 PCR は 2019 年に公開されたことから、過去に Ss と同定され、当所に保存されていた牛由来 3 株の再同定及び薬剤感受性試験を実施したところ、3 株とも Sr と同定され、いずれもアミノグリコシド系・テトラサイクリン系薬剤に耐性を示した。以上のことから牛の病性鑑定時に、Sr を疑う菌が分離された場合は、正確な診断の為 PCR での同定が重要であり、引き続き症例の集積が必要である。

1 はじめに

Streptococcus suis (Ss) は豚レンサ球菌症の原因菌の 1 つに挙げられるが、牛においても肺炎や心内膜炎等の病巣から分離される¹⁾。Ss は 35 種類以上の血清型に分類されるが、2005 年に血清型 32・34 が *Streptococcus orisratti* に、2015 年に血清型 20・22・26 が *Streptococcus parasuis*、2017 年に血清型 33 が *Streptococcus ruminantium* (Sr) として再分類されている^{2,3)}。そして今まで牛由来で Ss と判定されたものの多くは Sr に該当する可能性が指摘されている⁴⁾。

Sr は牛の肺炎や心内膜炎、関節炎等の様々な病巣から分離されることが報告されている⁴⁾。一方で健康な牛からの分離も報告されている⁴⁾。Ss 及び Sr は生化学性状が類似しており、市販同定キットでは Ss と判定されることから^{2,4)}、正しく同定するには各菌種に特異的な PCR を実施することが必要となる。なお、PCR の実施にあたり、recN 遺伝子を対象とした Ss 特異的 PCR (以下 recN-PCR)⁵⁾では Ss を同定することが可能であるが、gdh 遺伝子を対象とした Ss 特異的 PCR (以下 gdh-PCR)⁶⁾では Sr も陽性となる⁵⁾ことから Ss の同定には適切なプライマーを使用して PCR を実施する必要がある。今回、県内で初めて Sr が同定

された症例に遭遇したため、その概要について報告するとともに、過去に Ss と同定された牛由来株の再同定及び薬剤感受性試験を実施したので報告する。

2 県内で初めて Sr と同定された症例について (1) 症例

肉用牛、黒毛和種、去勢、5 カ月齢。2022 年 1 月に咽頭の腫れ、気管・肺音異常のため治療を実施。以降定期的に治療を行うも 3 月 18 日に死亡した。当所で常法により解剖学検査及び細菌学検査を実施した。

(2) 解剖学検査

外貌は月齢に対してやや発育不良であり、眼球がやや突出、その周囲に腫脹が認められた。解剖では、胸壁と肺が癒着し、肺全体にわたり多数の膿瘍が認められた (図 1)。また、脳では血管充盈がみられ、内耳道に膿の貯留が認められた (図 2)。



図1 肺



図2 頭部の横断像

矢頭：内耳道での膿の貯留

(3) 細菌学検査

気管スワブ及び肺から *Mycoplasma bovis* (以下 Mb) が分離された。また、肺から *Trueperella pyogenes* (以下 Tp) 及びレンサ球菌が分離された。このレンサ球菌は生化学性状検査で Ss と判定されたことから、インスタジーンマトリックス (Bio-Rad、Hercules、CA、USA) を用いて DNA 抽出を行い、Sr 特異的 PCR⁴⁾ を実施したところ、Sr と同定された。

(4) 診断

Mb による内耳炎、Mb・Tp 及び Sr の混合感染による肺炎と診断された

3 過去に分離された牛由来 Ss の再同定

(1) 材料及び方法

当所で -80℃ で保存されていた牛由来 Ss の 3 株を用いた (表 1)。分離された株はラピッド ID32 ストレップアピ (ピオメリュー・ジャパン(株)、東京) を用いた生化学性状検査及びインスタジ-

ーンマトリックスを用いて DNA 抽出を行い gdh-PCR 及び recN-PCR、Sr 特異的 PCR⁴⁻⁶⁾ を行った (表 2)。また、一濃度ディスク法により薬剤感受性試験を実施した。

表 1 過去に分離された牛由来 Ss

分離年	畜種	症状等	由来	その他
2009	肉用牛	呼吸器症状	鼻汁	
2014	肉用牛	中皮腫、肺膿瘍	肺	
2018	肉用牛	第四胃炎、肺膿瘍	肺	グラム陰性桿菌 <i>Mycoplasma bovirhinis</i>

表 2 実施した PCR のプライマー

対象菌種	対象遺伝子	プライマー名	プライマー配列 (5'→3')	PCR産物 (bp)
Ss	gdh	JP4	GCAGCGTATTCTGTCAAACG	688
		JP5	CCATGGACAGATAAAGATGG	
Ss	recN	SSrecN-F	CTACAAACAGCTCTCTTCT	336
		SSrecN-R	ACAACAGCCAATTCATGGCGTGATT	
Sr	16S rRNA	16SrRNA-F 16SrPNA-R	GCAAGTGGAAACGCAACTTTTCA CTATGTATCGTTGCCTTGAG	248

(2) 結果

生化学性状検査ではいずれも Ss と判定された (表 3)。PCR では gdh-PCR⁶⁾ では陽性となったが、recN-PCR⁵⁾ では陰性、Sr 特異的 PCR⁴⁾ で陽性となったことから Sr と同定された (表 4)。また、薬剤感受性試験ではアミノグリコシド系及びテトラサイクリン系薬剤に耐性を示していた (表 5)。

表 3 ラピッド ID32 ストレップアピの結果

分離年	プロファイル	判定	% ID
2009	33072563111	Ss II	99.9
2014	23072563111	Ss II	99.9
2018	21032561100	Ss I	99.9

表 4 PCR の結果

分離年	<i>S. suis</i> PCR		Sr 特異的 PCR
	gdh-PCR	recN-PCR	
2009	+	-	+
2014	+	-	+
2018	+	-	+

＋：特異的な遺伝子が検出された

－：特異的な遺伝子は検出されなかった

表 5 薬剤感受性試験結果

分離年	PCG	MDIPC	ABPC	CEZ	CXM	SM	FRM	KM	EM	TC	ERFX
2009	S	I	S	S	S	R	R	R	R	R	I
2014	S	I	S	S	S	I	R	R	S	R	I
2018	S	I	S	S	S	I	R	R	S	R	I

S : 感性、I : 中間、R : 耐性

4 まとめ及び考察

呼吸器症状を呈し死亡した子牛の肺から Sr が分離され、県内で初めての同定事例となった。Sr は 2017 年に Ss から再分類され³⁾、PCR で同定可能となったのは 2019 年であったことから⁴⁾、過去に当所で Ss と同定された牛由来株が Sr の可能性があるため、再同定を実施した。その結果いずれも Sr と同定された。以上のことから既報のとおり本県でも牛由来で Ss と同定されていた株の多くは Sr であった。

菌種の同定には市販同定キットを用いた生化学性状検査が一般的に使用されているが、Sr は Ss と判定されるため、市販同定キットでは両者を鑑別することが出来ず、同定には PCR が必須となる。しかし、PCR でも、過去 Ss の同定に使用されていた *gdh*-PCR⁶⁾では Sr の他に *Streptococcus galloyticus* や *Streptococcus gallinaceus*、*Streptococcus ovis* といった菌でも陽性となることから²⁾、*gdh*-PCR⁶⁾の結果には注意する必要があり、Ss の同定には *recN*PCR⁵⁾を、Sr の同定には Sr 特異的 PCR⁴⁾を用いた同定を行う必要がある。

Sr の病原性については、健康牛の口腔や鼻腔スワブ、肺、扁桃から分離される事例もあることから⁴⁾、他の細菌や病原体が病巣から分離された場合は二次感染もしくは常在菌の可能性も考慮し、慎重に検討をする必要がある。本県の事例においても、Mb が同時に分離された症例や、他の原因(中皮腫、第四胃炎)による死亡の症例から Sr が分離されていたことから、病原性についてはさらに症例を積み重ねて検討する必要があると考えられた。

以上のことから、牛での病性鑑定実施時に Sr を疑う菌が分離された場合は、PCR での同定が重要であり、引き続き症例の集積が必要であると考えられた。

引用文献

- 1) Higgins R, Gottschalk M, Fecteau G, Sauvageau R, De Guise S, Du Tremblay D : Quebec. Isolation of *Streptococcus suis* from cattle. Can Vet J, 31, 529 (1990)
- 2) Okura M, Osaki M, Nomoto R, Arai S, Osawa R, Sekizaki T, Takamatsu D : Current taxonomical situation of *Streptococcus suis*, Pathogens, 5, 45, 1-14 (2016)
- 3) Tohya M, Arai S, Tomida J, Watanabe T, Kawamura Y, Katsumi M, Ushimizu M, Ishida-Kuroki K, Yoshizumi M, Uzawa Y, Iguchi S, Yoshida A, Kikuchi K, Sekizaki T : Defining the taxonomic status of *Streptococcus suis* serotype 33: the proposal for *Streptococcus ruminantium* sp. nov, Int J Syst Evol Microbiol, 67, 3660-3665 (2017)
- 4) Okura M, Maruyama F, Ota A, Tanaka T, Matobe Y, Osawa A, Sadaat MS, Osaki M, Toyoda A, Ogura Y, Hayashi T, Takamatsu D : Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the S. suis-like bacterium *Streptococcus rumintium* in ruminants, Vet Res, 50-94 (2019)
- 5) Ishida S, Tien LHT, Osawa R, Tohya M, Nomoto R, Kawamura Y, Takahashi T, Kikuchi N, Kikuchi K, Sekizaki T : Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*, J Microbiol Meth, 107, 66-70 (2014)
- 6) Okwumabua O, O' Connor M, Shull E : A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase, FEMS Microbiol Lett, 218, 79-84 (2003)

牛サルファ剤中毒事例における眼房水中総サルファ剤濃度の定量方法の検討

○松澤直樹、神戸三希、宮澤隆
(松本家畜保健衛生所)

要約

サルファ剤の過剰投与はスルファミン結晶の析出による尿路結石症を引き起こす。サルファ剤中毒の診断における総サルファ剤濃度の測定について、死後容易に採材可能な眼房水を試料とした比色定量の方法を検討した。サルファ剤投与後に死亡した交雑種雄子牛の眼房水、尿および血清を採材し、絶対検量線法にて濃度計算すると共に添加回収試験を実施した。各標準液および試料を除タンパク後、上清に等量の塩酸を混和して水浴中で加熱し、亜硝酸ナトリウム溶液、アミド硫酸アンモニウム溶液、N-(1-ナフチル)エチレンジアミン試薬を順に混和し、吸光度を測定した。総サルファ剤濃度は眼房水で $37.2 \mu\text{g/mL}$ 、尿で $666.2 \mu\text{g/mL}$ 、血清で $101.8 \mu\text{g/mL}$ 、陰性対照で $1.0 \mu\text{g/mL}$ 未満だった。添加回収率は 98.5%と良好な成績が得られ、簡易的な定量方法として利用可能と示唆された。また、眼房水の測定値は尿の 5.6%、血清の 36.5%程度を反映する可能性が示唆されたが、検体数不足のため、一般に適用可能かの判断は今後の課題とする。

1 はじめに

サルファ剤とは、葉酸合成阻害作用を有する合成抗菌剤であり、安価かつ抗原虫作用も示すことから、牛コクシジウム病の第一選択薬として広く使用されている。一方で、サルファ剤の代謝物であるアセチル化スルホンアミドは難溶性であり、最終的な代謝経路は尿への排泄であることから、過剰投与等によりスルファミン結晶が析出し、尿路結石症を引き起こすと報告されている。

家畜保健衛生所の病性鑑定業務における生体試料中サルファ剤の検出方法については、Bratton and Marshall の方法^[1]を利用した尿および血清を試料とした比色法^{[2][3]}や、腎臓を材料とした高速液体クロマトグラフィー（以下、「HPLC」）法^[4]が過去に報告されている。今回、筆者らは死体から容易に採材可能な眼房水を試料とし、迅速か

つ簡便に実施可能な検査方法であるジアゾカップリング反応を利用した比色法を用いて、総サルファ剤濃度の簡易的な定量方法を検討した。供試検体として当所管内で発生した牛のサルファ剤中毒事例の検体を用いて試験を実施したので報告する。

2 供試検体の概要

(1) 発生経過

当該牛は令和4年4月2日生まれの交雑種雄子牛だった。8日に導入元農場からの移動に先立ち牛伝染性リンパ腫および牛ウイルス性下痢症のPCR検査を実施し、あわせて血液生化学検査を実施して、いずれも異常がないことを確認した。その後、12日に発生農場へと移動し、17日に下痢を呈したことから、管理獣医師がサルファ剤の一種であるスルファモノメトキシシ（以下、「SMMX」）製

剤を処方し、4日間経口投与を行った。投与量はSMMXとして約25mg/kg/日で、添付文書の用量以下だった。しかし、21日の朝に死亡していたのを飼養者が発見し、当所にて病性鑑定を実施した。死亡時点で19日齢だった。なお、発生農場の哺乳牛は代用乳のみ給与されており、飲水は給与されていなかった。

(2) 病性鑑定

解剖所見では、外貌には著変を認めなかったが、膀胱内に結石が砂状に貯留していた。また、腎臓内にも結石の存在を認めた(図1)。尿沈渣を顕微鏡で観察すると、麦束状の結晶成分を確認した(図2)。



図1. 解剖所見



図2. 尿沈渣の顕微鏡写真

結石に対し、Hawk Oser-Summerson法の斎藤変法^[5]を用いた簡易鑑別を行ったところ、加熱によりタール状に融解黒色化したことから、スルファミン結晶と判定した(表1)。

表1. 尿路結石の簡易鑑別表

【尿石簡易鑑別(Hawk Oser-Summerson法の斎藤変法)】						
粉末を白金耳上で加熱	感機へ重量変化機はぼぼ消失	粉末を連火炎で加熱	手順			尿結石の種類
			長く燃え炭は鮮褐色	樹脂の燃える臭い	エタノール・エーテルに溶ける	
		瞬間的に燃え炭は蒼白色	腐敗臭	エタノール・エーテルに溶けない		フィブリン
		炎の青色なし	無臭	粉末に濃硝酸添加	赤色	システチン
				粉末に濃硝酸添加	粉に10% NaOH+煮沸	尿酸アンモニウム
				黄色・溶立たないで溶ける	アンモニア臭(+)	尿酸
					アンモニア臭(-)	ホウ酸
						スルファミン
						尿酸塩
						シュウ酸塩
						リン酸
						アンモニウムマグネシウム

死後血清の生化学検査ではBUN、Cre、CPK、Ca、iP、GOT、GGTの上昇およびTCHOの低下を認めた(表2)。また、比色法により尿上清と血清からスルホンアミドを検出した。

表2. 死後血清の生化学検査結果

項目	結果	項目	結果
TP	7.3 (g/dL)	Ca	14.5 ↑ (mg/dL)
ALB	3.8 (g/dL)	iP	>15 ↑ (mg/dL)
BUN	91.7 ↑ (mg/dL)	GOT	116 ↑ (U/L)
CRE	6.2 ↑ (mg/dL)	GGT	117 ↑ (U/L)
CPK	>2000 ↑ (U/L)	TCHO	112 ↓ (mg/dL)

細菌学的検査では、主要五臓器および尿から有意な菌が検出されず、空腸内大腸菌数の増加およびサルモネラの検出も認めなかった。寄生虫検査では、虫卵およびオーシストは検出されなかった。病理組織学的検査では、腎集合管および尿管上皮細胞の変性・壊死が確認された。以上の結果より総合的に判断し、サ

ルファ剤中毒による尿路結石症と診断した。なお、発生の要因は、飲水不足および下痢に伴う脱水により相対的な過剰投与になったものと推察した。

3 材料および方法

(1) 材料

総サルファ剤濃度測定のため、発生牛の死体から眼房水、尿の上清および血清を採材し、遮光して -20°C で凍結保存したものを供試検体とした。また、陰性対象として、同一牛のSMMX製剤投与13日前に採材されていた血清を使用した。各検体は、試験に供する直前に融解し、精製水で1倍から 10^3 倍の範囲で希釈して試料とした。

添加回収試験のため、10倍希釈した眼房水検体に $20\mu\text{g/mL}$ となるように標準液を添加したものをを用いた。

(2) 試薬

ア SMMX 標準液

HPLC用SMMX一水和物標準品（富士フィルム和光純薬）を溶解し、0, 1, 10, 25, $50\mu\text{g/mL}$ の標準液を作製した。

イ 10%トリクロロ酢酸溶液

特級トリクロロ酢酸（富士フィルム和光純薬）10gを精製水100mLで溶解して作製した。

ウ 1mol/L 塩酸

有害金属測定用塩酸（富士フィルム和光純薬）を精製水で12倍希釈して作製した。

エ 0.25%亜硝酸ナトリウム溶液

特級亜硝酸ナトリウム（関東化学）

25mgを精製水10mLで溶解して作製した。

オ 2.5%アミド硫酸アンモニウム溶液

特級スルファミン酸アンモニウム（富士フィルム和光純薬）250mgを精製水10mLで溶解して作製した。

カ 1% N-(1-ナフチル)エチレンジアミン試薬

生化学用N-(1-ナフチル)エチレンジアミン二塩酸塩（東京化成工業）100mgを精製水10mLで溶解して作製した。

(3) 方法

ア タンパク質の除去

各濃度の標準液および試料 $500\mu\text{L}$ に10%トリクロロ酢酸溶液 $500\mu\text{L}$ を攪拌しながら添加して混和し、12,000rpmで10分間遠心分離した。

イ アセチル基の加水分解

上清 $500\mu\text{L}$ をガラス試験管に分取し、 1mol/L 塩酸 $500\mu\text{L}$ を添加して混和し、 100°C で60分間加熱後、冷水中で放冷した。

ウ ジアゾ化

0.25%亜硝酸ナトリウム溶液 $100\mu\text{L}$ を添加して混和し、室温で10分間静置した。

エ 余剰亜硝酸の分解

2.5%アミド硫酸アンモニウム溶液 $100\mu\text{L}$ を添加して混和し、室温で10分間静置した。

オ カップリング反応

1% N-(1-ナフチル)エチレンジアミン試薬 $200\mu\text{L}$ を添加して混和し、室温で10分間静置した。

カ 吸光値測定

反応液 1mL をアクリル製キュベットに分取し、紫外可視分光光度計 (UV-1850, 島津製作所) を用いて、波長 545nm の吸光度を測定した。

4 結果

標準液の吸光度から作製した検量線の決定係数は $R^2=0.9982$ だった。検量線から各試料の総サルファ剤濃度を回帰分析した結果を表 3 に示した。

眼房水試料における添加回収率は 98.5% だった。

表 3. 総サルファ剤濃度測定値

検体	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
眼房水	37.2
尿	666.2
血清	101.8
陰性対照血清	< 1.0

5 考察

眼房水を試料としたジアゾカップリング反応による比色定量法を検討した結果、良好な添加回収率が得られた。このことから、本方法は、牛の死体中に存在するサルファ剤濃度の簡易的な定量方法として利用可能であると考えられた。

また、本試験の結果では、眼房水中の総サルファ剤濃度は、尿の 5.6%、血清の 36.5% 程度の値を反映する可能性が示唆されたが、1 個体のみを検体とした試験のため、一般に適用可能かの判断は難しいと考えられた。同様の症例で試験を行ってデータを集積する等、今後の課題としたい。

6 参考文献

- [1] A. C. BRATTON & E. K. MARSHALL, Jr.: A new coupling component for sulfanilamide determination. J. Biol. Chem. 128: 537-550, 1939
- [2] 寺山好美: 哺乳子牛におけるサルファ剤中毒, 平成 26 年度長崎県家畜保健衛生業績発表会, 2014
- [3] 久我由利子: 黒毛和種子牛においてサルファ剤中毒が疑われた一例について, 平成 28 年度家畜衛生研修会 (生化学部門), 2016
- [4] 石井択径: 牛の腎臓及び尿中スルファジメトキシシン濃度測定の有用性, 平成 25 年度鹿児島県家畜保健衛生業績発表会, 2013
- [5] 金井泉: 臨床検査法提要, 金井正光編, 改定第 31 版, 209-211, 金原出版, 1998

当所における血液生化学検査の

測定結果と精度管理

○ 平野皓己・後藤義明・林健
(長野県伊那家畜保健衛生所)

はじめに

近年、臨床検査における技術向上の中で、精度管理が特に重要視されている。家畜保健衛生所は臨床検査機関としての側面をもち、検査技術の標準化や質の高いサービスの提供が求められている。臨床検査で得られた測定値は測定方法や測定器具などの技術的変動、遺伝や個体差、性差などの個体間変動、日内や日差、季節差などの個体内変動などに左右される。このような変動要因の中で特に家畜保健衛生所の職員に係る部分は技術的変動である。

当所では血液生化学検査数が年間約 550 検体と多い上に、1 年に 1 回実施している外部精度管理では毎年、同傾向の測定誤差が認められていた。そのため当所における精度管理の再検証が必要であると判断し、過去の検査結果の見直し及び検査体制の検討を行い、より精度の高い検査結果を得られるように独自調査を実施した。

材料と方法

材料は 2017 年 12 月～2022 年 2 月の期間に実施した血液生化学検査検体とした。臨床獣医師からの依頼検査検体は計 2,162 検体あり、乳用牛 2,073 検体、肉用牛 81 検体、その他 8 検体であった。そのうち乳用牛の月齢平均値は 60.1 ヶ月齢、月齢中央値は 59 ヶ月齢であった。

また、家畜保健衛生所の事業として行った牛群ドックは計 590 検体であり、月齢平均値 53.5

ヶ月齢、月齢中央値 50 ヶ月齢であった。

測定機器は乾式臨床化学分析装置、富士ドライケム FDC4000V を使用し、当所における基準値は平成 17 年度改定「家畜共済における臨床病理検査要領」ならびに獣医内科学（初版：文永堂出版）に基づいて作成した（表 1）。

外部精度管理については毎年 6 月に富士ドライケムサーベイに参加し、9 月に結果を集計、10 月から 11 月にかけて許容範囲外項目について測定機器の校正を実施した。

独自調査内容は、①外部精度管理の集計を行い、調査期間内における結果を再評価した。②月別の測定平均値は放牧以外で飼養されている搾乳牛（ホルスタイン種）のうち健常牛 590 頭に対して解析した。③補正基準値の作成は外部精度管理の結果及び測定機器の使用頻度から算出、作成した。④検査結果の再評価は臨床獣医師からの依頼検査のあった罹患牛 1,595 頭の検査結果に補正基準値を適応し、再評価した。⑤稟告別動向に関しては、補正基準値を稟告別に適応し、その動向を調査した。

表 1 当所における基準値

項目	基準値	項目	基準値
TP	6.2 - 7.5 (g/dl)	GGT	11 - 25 (U/l)
ALB	3.0 - 3.6 (g/dl)	Mg	2.0 - 2.7 (mg/dl)
GLU	45 - 70 (mg/dl)	Cre	0.5 - 1.8 (mg/dl)
BUN	7.5 - 17.5 (mg/dl)	T-BIL	0.1 - 0.8 (mg/dl)
TCHO	100 - 180 (mg/dl)	TG	20 - 50 (mg/dl)
Ca	9.0 - 11.5 (mg/dl)	Na	138 - 148 (mEq/l)
IP	5.0 - 7.0 (mg/dl)	K	3.9 - 5.3 (mEq/l)
GOT	45 - 110 (U/l)	Cl	96 - 110 (mEq/l)
CPK	4.8 - 12.1 (U/l)		

結果

① 外部精度管理の集計

外部精度管理にて標準コントロール血清（QP-L, QP-H）を用いた測定結果を下記に示した（表2）。本調査期間内にB及びC判定となった項目はGLU、BUN、TCHO、ALB、T-BIL、IPの6項目であった。特にTCHOとALBに関してはすべての年でC判定であり、GLUとIPにおいても実施年の大部分でC判定であった。また、外部精度管理の測定値は、ほぼすべての項目で基準値を上回る傾向が確認された。

表2 外部精度管理の集計

項目	年	基準値	2018		2019			
			判定	測定値		判定	測定値	
				1回目	2回目		1回目	2回目
GLU	QP-L	107	C	130	128	A	110	109
	QP-H	324	C	372	374	A	328	340
BUN	QP-L	13.8	A	15.0	13.9	C	15.1	15.2
	QP-H	51.5	B	54.3	53.3	B	52.7	52.6
TCHO	QP-L	120	C	154	152	C	150	147
	QP-H	148	C	184	184	C	188	185
ALB	QP-L	3.5	C	4.4	4.3	C	4.2	4.2
	QP-H	4.3	C	5.2	5.0	C	5.5	5.6
T-BIL	QP-L	0.8	A	1.0	1.0	A	1.0	1.0
	QP-H	4.9	B	5.3	5.3	B	6.2	6.2
IP	QP-L	3.4	B	3.7	3.7	C	4.1	4.2
	QP-H	6.4	A	6.5	6.5	C	7.8	7.8

項目	年	基準値	2020		2021			
			判定	測定値		判定	測定値	
				1回目	2回目		1回目	2回目
GLU	QP-L	107	C	124	119	C	117	121
	QP-H	324	C	371	367	C	365	360
BUN	QP-L	13.8	C	15.3	15.2	A	14.6	14.7
	QP-H	51.5	B	53.3	52.9	B	53.3	53.0
TCHO	QP-L	120	C	144	141	C	161	157
	QP-H	148	C	178	172	C	192	189
ALB	QP-L	3.5	C	4.4	4.5	C	4.2	4.2
	QP-H	4.3	C	5.3	5.3	C	5.3	5.2
T-BIL	QP-L	0.8	A	1.0	1.0	A	0.6	0.6
	QP-H	4.9	B	4.4	4.3	A	4.3	4.4
IP	QP-L	3.4	C	4.5	4.4	C	4.2	4.7
	QP-H	6.4	C	7.8	8.0	C	7.6	7.6

② 月別測定平均値

外部精度管理結果にて調査期間内にC判定となったGLU、BUN、TCHO、ALB、IPに関して月別の測定平均値を集計、グラフ化した。測定機器の校正を黄色網掛け、基準値を緑色網掛けで示した（図1, 2, 3, 4, 5）。これらの測定項目全てで測定機器の校正実施後に測定平均値が減少し、その後に経時的増加をする傾向が認められた。また、TCHOにおいては測定平均値の大部分が、IPでは校正時前に基準値を大きく外れていることが確認された。

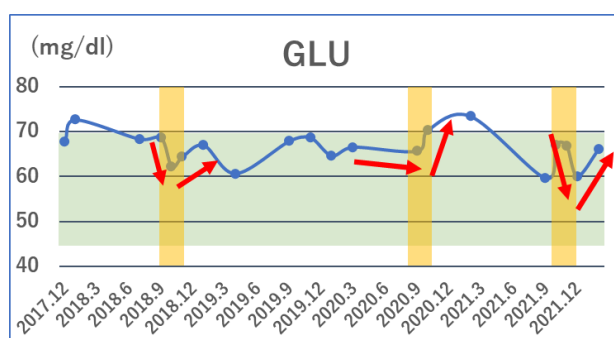


図1 GLUにおける月別の測定平均値

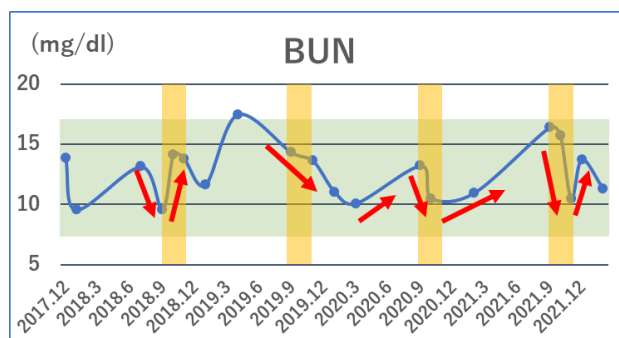


図2 BUNにおける月別の測定平均値

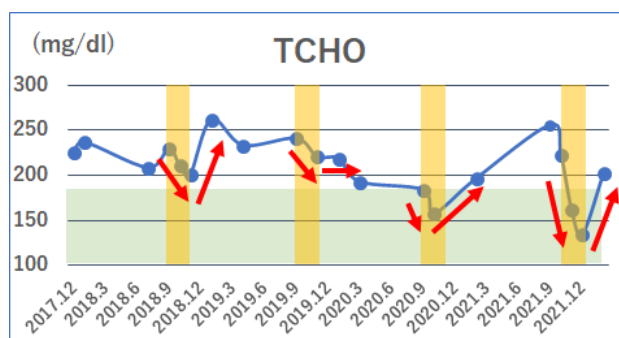


図3 TCHOにおける月別の測定平均値

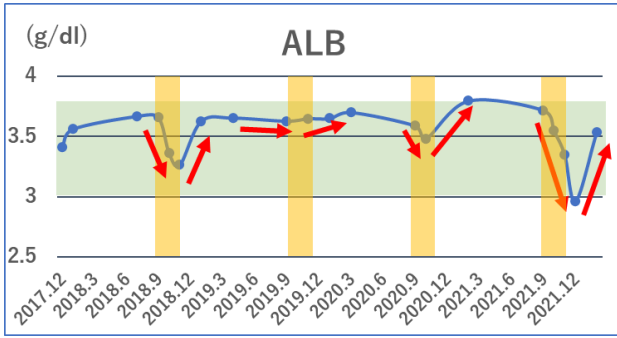


図4 ALBにおける月別の測定平均値

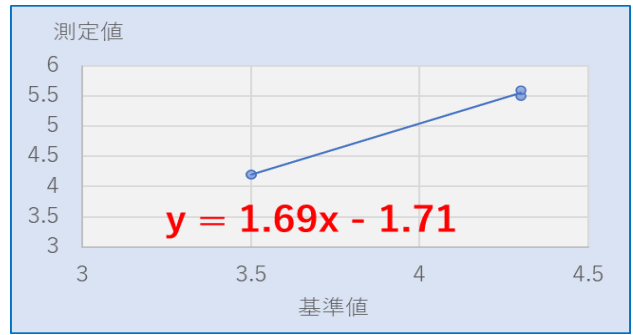


図6 2018年ALB近似式

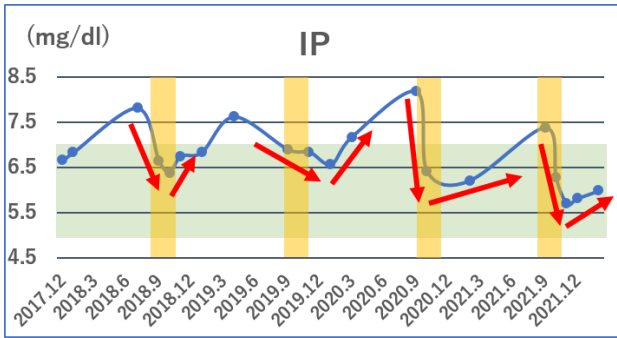


図5 IPにおける月別の測定平均値

③ 補正基準値の作成

測定誤差を考慮した補正基準値を作成するにあたり、測定誤差の変化量は測定回数に依存すると仮定した。本調査では補正基準を作成する対象を外部精度管理で一度でもC判定とされたGLU、BUN、TCHO、ALB、IPとした。これらの項目では全調査期間で月別の補正基準値を作成した。また、その作成手順については2018年のALBを一例とし、以下に示した。

1. 近似式の作成

外部精度管理における基準値及びコントロール血清を用いた測定値から近似式を作成した(表3, 図6)。

表3 2018年ALB外部精度管理の結果

年	項目	判定	回数	基準値	測定値	
2018	ALB	QP-L	C	1回目	3.5	4.2
			C	2回目	3.5	4.2
		QP-H	C	1回目	4.3	5.5
			C	2回目	4.3	5.6

2. 校正直前の補正基準値

近似式を用いて、校正直前の当所のALB基準値(3.00~3.60mg/dL)を補正し、ALB補正基準値(3.36~4.37mg/dL)を算出した。

3. 測定機器の使用割合を算出

当該年度校正時から次年度校正時までの測定機器の使用回数を集計し、月別の測定割合を算出した。

4. 補正基準値における月別変化量を算出

校正直前のALB補正基準値(3.36~4.37mg/dL)から当所のALB基準値(3.00~3.60mg/dL)の差(0.36~0.77mg/dL)に月別の使用機器割合を乗じ、月別の変化量を算出し、補正基準値を作成した。(表4)。

表4 2018年ALBにおける補正基準値

年月	測定回数	測定割合	補正下限値	補正上限値
校正			3.00	3.60
2018.10	84	13.2%	3.05	3.70
2018.11	125	19.7%	3.12	3.85
2018.12	32	5.0%	3.14	3.89
2019.1	58	9.1%	3.17	3.96
2019.2	31	4.9%	3.19	4.00
2019.3	37	5.8%	3.21	4.04
2019.4	49	7.7%	3.24	4.10
2019.5	38	6.0%	3.26	4.15
2019.6	26	4.1%	3.27	4.18
2019.7	51	8.0%	3.30	4.24
2019.8	46	7.2%	3.33	4.30
2019.9	59	9.3%	3.36	4.37
校正	計636	100%	3.00	3.60

④ 検査結果の再評価

先に求めた各項目の月ごとの補正基準値を臨床獣医師からの依頼検査結果に適応し、修正が必要であった検体数を求めた。また、修正が必要な検体については、異常値判定が正常値判定となったもの、正常値判定が異常値判定となったものそれぞれを評価した。解析対象項目における修正検体数割合は GLU で 9.8%、BUN で 5.9%、TCHO で 8.7%、ALB で 48.8%、IP で 15.7% であった (表 5)。

表 5 修正検体数及びその割合

項目	検査検体数	修正検体数			割合
		①	②	計	
GLU	112	9	2	11	9.8%
BUN	1064	30	33	63	5.9%
TCHO	298	10	16	26	8.7%
ALB	1000	183	355	488	48.8%
IP	977	70	83	153	15.7%

続いて修正が必要であった検体の測定値分布を棒グラフに示した。棒グラフ青色は異常値判定が正常値判定、橙色は正常値判定が異常値判定となったものを示した。GLU では修正が必要な検体の測定値は基準値の測定付近が多く、測定誤差が少ないことが示唆されるが、BUN や TCHO、ALB、IP では一定数に基準値から大きく外れた検体もあり測定誤差が大きいことが窺えた (図 7, 8, 9, 10, 11)。

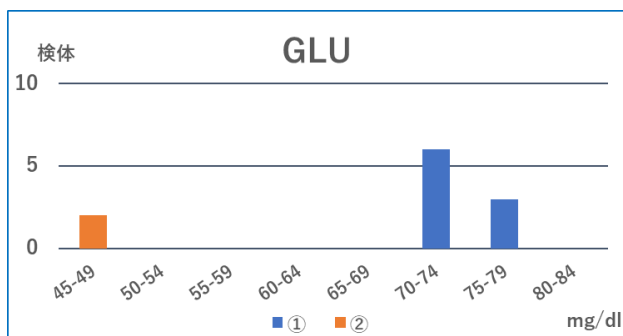


図 7 GLU 修正検体の測定値分布

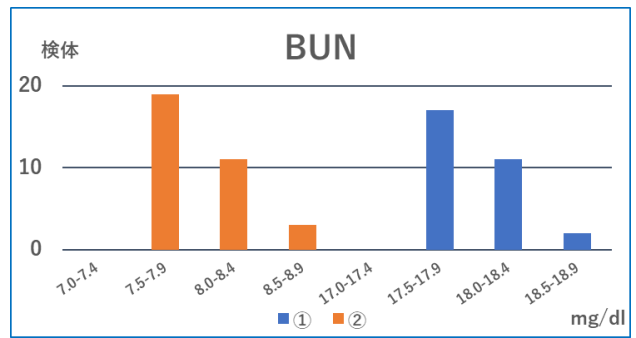


図 8 BUN 修正検体の測定値分布

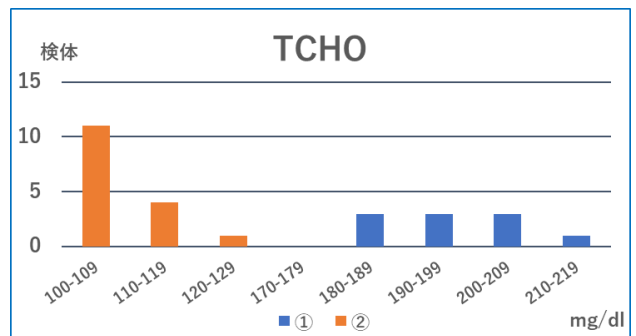


図 9 TCHO 修正検体の測定値分布

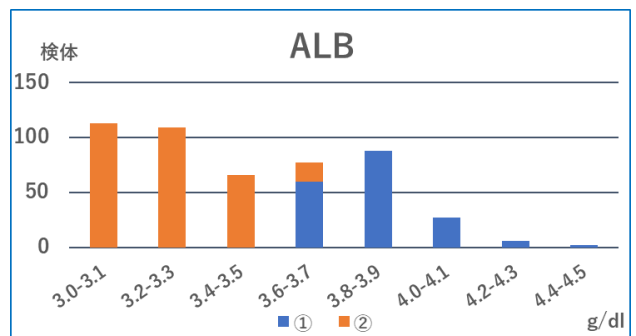


図 10 ALB 修正検体の測定値分布

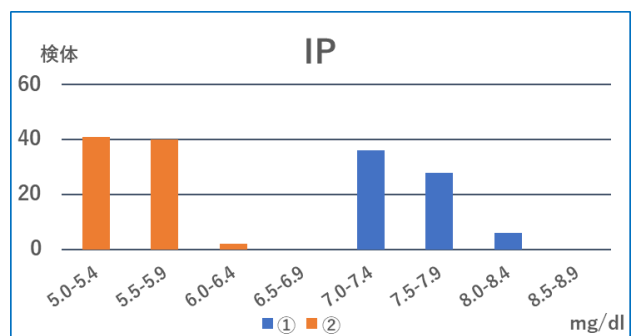


図 11 IP 修正検体の測定値分布

次に月別の修正検体数と修正検体の割合をグラフに示した。棒グラフ青色は異常値判定が正常値判定、橙色は正常値判定が異常値判定となったものを示し、折れ線グラフは総検体数に対する修正検体数の割合を示した。BUN、TCHO、ALB、IP では修正検体数及び割合が経時的増加傾向にあり、特に3月付近から増加ペースの上

昇が確認された（図 12, 13, 14, 15, 16）。

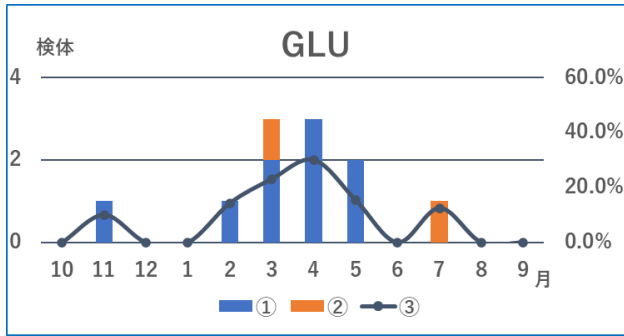


図 12 GLU 月別の修正検体数及び割合

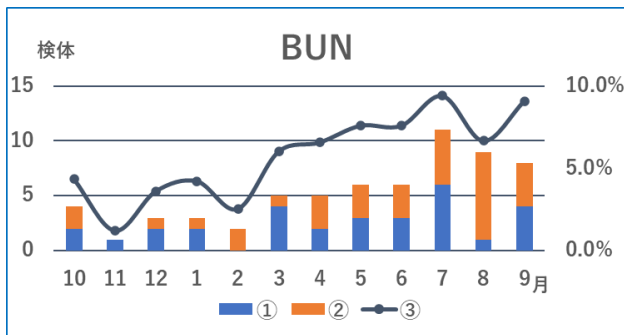


図 13 BUN 月別の修正検体数及び割合

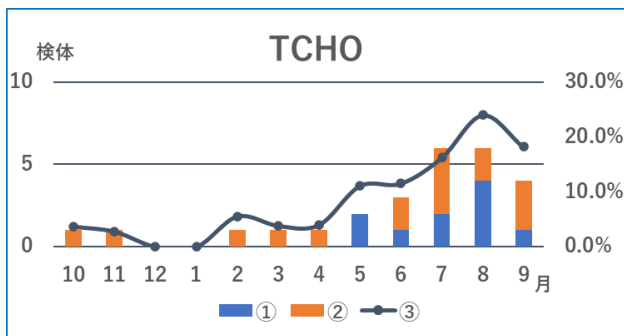


図 14 TCHO 月別の修正検体数及び割合

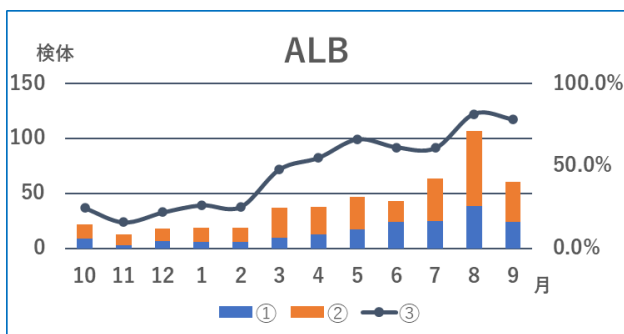


図 15 ALB 月別の修正検体数及び割合

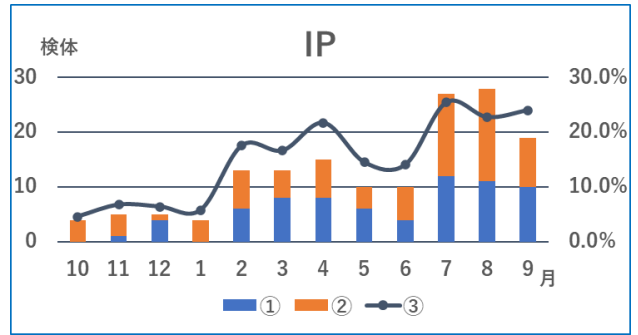


図 16 IP 月別の修正検体数及び割合

⑤ 稟告別動向

補正基準値を適応した検査結果項目 GLU、BUN、TCHO、ALB、IP について、臨床獣医からの稟告別の修正検体数を再評価した。稟告は削瘦、起立困難及び不能、食欲減退及び廃絶、軟便及び下痢、発熱、乳房炎別に再評価した。削瘦に関しては TCHO、ALB、IP が、乳房炎に関しては GLU、BUN、ALB、IP が顕著に高く観察された（表 6）。

表 6 稟告別修正検体割合

項目	GLU	BUN	TCHO	ALB	IP
	修正検体割合	修正検体割合	修正検体割合	修正検体割合	修正検体割合
削瘦	3.1%	5.3%	9.9%	46.2%	18.0%
起立困難 起立不能	7.0%	5.4%	10.5%	48.9%	15.3%
食欲減退 食欲廃絶	12.9%	5.7%	9.2%	50.3%	14.4%
軟便 下痢	9.5%	7.5%	6.9%	52.8%	15.9%
発熱	8.3%	6.8%	9.7%	54.3%	18.1%
乳房炎	15.4%	7.6%	0.0%	48.7%	19.6%

考 察

当所における血液生化学検査の依頼数は多く、外部精度管理結果からも一定の測定誤差を認めていたが、過去の検査検証及びデータ化はなされていなかった。本調査から、年一回の校正では経時的変化による測定誤差が大きく、同時に修正検体数の割合増加も認められ、測定精度に問題があることが確認された。また、検査の大部分を臨床獣医師による依頼検査が占めており、診断や治療方針にも影響を与えている可能性が示唆された。

安定した測定結果を得るためには新基準を作成する必要性があり、新たな校正頻度を策定する必要があると考えられた。新基準の基礎として、測定機器の校正後から新たに修正検体数の割合が5ポイント増加した時点で再校正を実施するとした。調査期間内におけるGLU、BUN、TCHO、ALB、IPにおいて修正検体数の割合が5ポイント増加したときの測定機器使用数を算出したところ、達したのは2020年ALBの190回であった。このことから当所の検査体制においては概ね200回毎に測定機器の校正を実施することで、一定の精度が保たれると考えられた。

本調査の結果から当所の使用頻度においての新基準を作成することができたが、測定技術の標準化や測定環境の整備など他の変動要因対策も見過ごしてはならない。また、新基準はコントロール血清による測定、近似式による校正を一定の測定回数毎に実施するだけでよく、簡便な操作のため県下の統一基準として応用できるのではないかと考える。そのため、他家畜保健衛生所における検査結果の検証が今後は必要であると考えられる。

これらのことから県の検査機関として、各家畜保健衛生所における検査精度の向上及び標準化のためには測定精度の検証、測定技術の標準化、測定機器の定期的な更新等が必要と考える。また、測定機器も日々進化しており、家畜保健衛生所の職員として最新の技術に対応した測定技術や知識を学ぶ必要があるのではと考える。

ドライアイスと滑走式マイクロトームによる凍結切片作製について

○徳武慎哉

長野県松本家畜保健衛生所

要約

クリオスタット以外の新鮮凍結切片作製法として、電子冷却式氷結装置 MC-802C (大和光機工業株式会社) による凍結ブロック薄切手順を参考に、滑走式マイクロトームとドライアイスを用いた手法を検討した。0 日齢初生雛の脾臓を除く主要臓器及び大脳を OCT コンパウンド (サクラファインテックジャパン株式会社) で包埋後、ドライアイス・エタノールを用いて凍結し、ドライアイスで冷却した滑走式マイクロトームを用いて薄切、HE 染色により観察した。その結果、全臓器で凍結切片の作製は可能であるものの、一部臓器では固有構造の観察は困難であった。今後、新鮮凍結ブロック作製に関する作業条件の改善、家畜保健衛生所における通常業務への凍結切片法の応用等の検討が必要。

1 はじめに

凍結切片法は、未固定臓器又は固定臓器をパラフィン包埋せず凍結する事で適切な硬度を付与し、薄切する組織学的手法である¹⁾。通常、未固定臓器 (新鮮臓器) を本法により処理したブロックは新鮮凍結ブロック、新鮮凍結ブロックから作製された切片は新鮮凍結切片と呼ばれる²⁾。一方、固定臓器をパラフィン包埋せず凍結処理した後で薄切したものは固定後凍結切片と呼ばれる²⁾。

凍結切片はホルマリン固定パラフィン包埋切片 (FFPE 切片) と比較して、検体処理の際に固定剤や有機溶剤の使用、又は熱処理等の蛋白質の変性を伴う工程がない、あるいは少ない事から抗原物質の保存性が良く、さらに短時間で処理可能である事が利点とされ、人為領域では主に術中迅速診断や免疫染色などに利用される³⁻⁵⁾。

しかし、凍結切片はパラフィン包埋切片に比較して組織や細胞の形態保持が困難である事²⁾、凍結ブロックの保存にはディープフリーザーが必要で²⁾、保存期間や条件によっては組織が乾燥するため、パラフィン包埋ブロックのような半永久的保存は不可能である事、さらに薄切を行うには専用の機械が必要である事が欠点と考えられる。

今回、クリオスタット (新鮮凍結切片作製用回転

式マイクロトーム) や特殊な資材を使用せず、安価かつ簡便に凍結切片を作製する方法が無いか検討を行ったので、その結果と課題について報告する。

2 背景

一般的に凍結切片の作製にはクリオスタットと呼ばれる専用の機材が使用される。当所ではクリオスタット 2 機種を所有するものの、いずれの機種も購入から 20 年から 30 年が経過し故障中である。その上、いずれの機種も既にメーカー修理対応不能とされた事から、現在当所では凍結切片の作製は不可能となっている。

しかし、家保業務におけるクリオスタットの用途は通常、豚熱の蛍光抗体法に用いる扁桃の薄切のみであり使用頻度が低い。さらに、類似の現行機種は 400 万円以上の高価な機材である事から、現在更新の目途は立っていない。

そこで、クリオスタットや特殊な資材を購入せず、当所に常備されている資材を活用する事で凍結切片を作製する方法が無いか検討を行ったところ、電子冷却式氷結装置 MC-802C (大和光機工業株式会社, <https://youtu.be/3l00yk51Pps>) による凍結ブロック薄切手順が応用可能と考えた。

当該機器は凍結ブロックを冷却・接着する機能を有したステージであり、パラフィン包埋ブロック薄

切用の滑走式マイクロトームに装着し、ドライアイスで冷却したナイフを用いる事で簡易的に凍結切片を作製する機材である。

しかし今回、当該機器の購入は困難であった事から、その薄切手順を参考に、滑走式マイクロトームの標本固定台をドライアイスで直接冷却する事で凍結ブロックを薄切する手法を考案し、検討を行った。

3 材料及び方法

(1) 凍結ブロック作製法の検討

ア 材料

HA 試験用血液採取後の初生雛（死体）由来肝臓、OCT コンパウンド（サクラファインテックジャパン株式会社）、ポリプロピレンフィルム製クリアファイル（以下、PPF）。冷媒として 99%エタノール、ドライアイスパウダーを使用した。

イ 方法

99%エタノールに鶏殺処分用サイフォン式炭酸ガスボンベから作製したドライアイスパウダーを混和し、ドライアイス・エタノールを作製した。

生及びホルマリン固定肝臓を 3mm 厚にトリミングし、PPF 製自作モールド（40×20×20 mm）に入れ OCT コンパウンドで包埋した。包埋後、モールドをドライアイス・エタノールに 90 秒浮遊して急速凍結した。（図 1）

対照として成鶏肝臓のホルマリン固定臓器を同様に包埋後、モールドをプラスチックシャーレに静置しディープフリーザー内（-80℃）で 30 分凍結した。作製した凍結ブロック及び対照はそれぞれ 3μm 厚に薄切後、HE 染色で比較した。



図 1 凍結ブロック作製手順

(2) ドライアイスと滑走式マイクロトームによる凍結ブロック薄切の可否の検討

ア 材料

初生雛の脾臓を除く主要 5 臓器及び大脳、OCT コンパウンド（サクラファインテックジャパン株式会社）、滑走式マイクロトーム（LEICA SM2000R）、ドライアイスパウダー、発泡スチロール。

イ 方法

発泡スチロールで自作したドライアイスホルダーをナイフホルダーに装着し、ドライアイスホルダー及び発泡スチロール片で断熱した標本固定台にドライアイスパウダーを盛り、凍結ブロックを冷却しながら 3 μm 厚に薄切した。（図 2, 3）

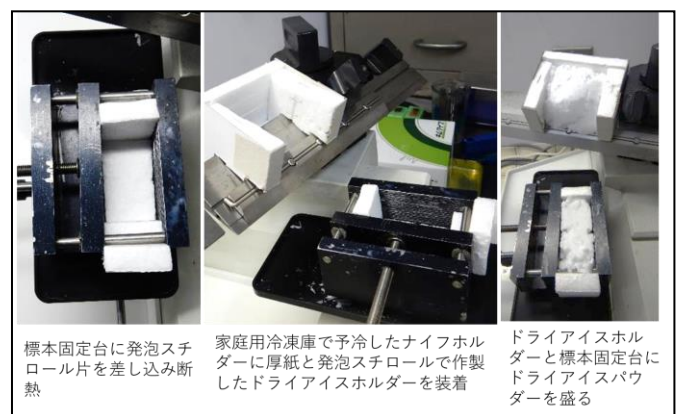


図 2 滑走式マイクロトームの冷却法

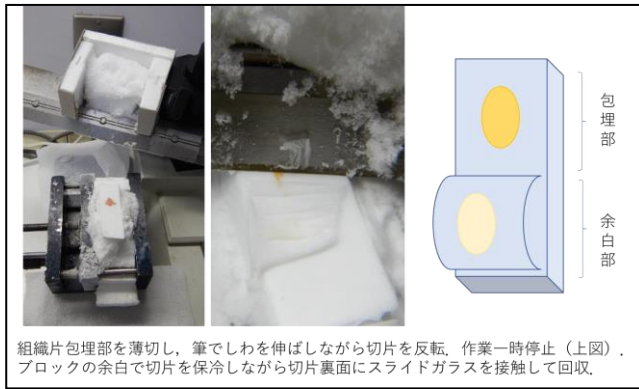


図3 薄切手順

(3) 切片の固定法

ア 材料

初生雛肝臓の凍結ブロック

イ 方法

3 μm厚の切片をスライドガラスに貼り付け、2~3秒間振って風乾後、素早く10%ホルマリン加エタノールで室温固定後（5分以上）、HE染色を行った。

対照として同一ブロックから回収した切片を風乾後、10分室温放置してから、同様に固定及びHE染色を行った。

(4) パラフィン包埋切片との比較

ア 材料

初生雛臓器由来の新鮮凍結ブロック及びパラフィン包埋ブロック

イ 方法

各ブロックを3 μm厚に薄切後、HE染色により組織像を比較した。

4 結果

(1) 凍結ブロック作製法の検討

ドライアイス・エタノールによる急速凍結は新鮮臓器及び固定臓器いずれも良好な結果を示した。

一方、ディープフリーザー内での凍結した凍結ブロックは、氷晶によるアーティファクトが激しく標本として不適切であった。このことから、ドライアイス・エタノールによる凍結が、安価かつ迅速であり最適と判断した。（図4）

(2) ドライアイスと滑走式マイクロトームによる凍結ブロック薄切の可否の検討

すべての新鮮凍結ブロックから切片を作製、回収する事が可能だった。（図5）

(3) 切片の固定法

風乾後室温放置した切片は細胞の境界が不明で硝子様を呈した。さらに、核の染色性は著しく低下し、全体的に滲んだ切片として観察された。（図6）これは、新鮮凍結切片は未固定細胞を薄切した物である為、融解すると細胞内容物が流動し次第に立体構造が崩壊するものと考えた。

このことから、切片は風乾後遅滞なく固定液に浸漬する必要があると推察された。

(4) パラフィン包埋切片との比較

全臓器に共通する特徴として、凍結切片はパラフィン切片に比較して、核及び細胞質の染色性が弱い傾向であった。

心臓、肺、大脳の新鮮凍結切片では標本観察の障害となる大きなアーティファクトは認められず、比較的固有構造の観察は容易であった。（図7, 8, 11）特に肺や髄膜の血管構造、脳の脈絡叢等の血管に富んだ構造はよく観察された。（図8, 12）しかし、心臓では、パラフィン包埋切片と比較すると、心筋細胞の核で空胞化、筋線維間に水腫様の空隙が認められた。（図7）

肝臓の新鮮凍結切片では標本観察の障害となる大きなアーティファクトは認められなかったが、パラフィン包埋切片に比較して脂肪滴が強調され、さらに固有構造である肝細胞索や類洞の構造が不明瞭であった。（図9）

腎臓では尿細管や糸球体の構造が全体的に崩壊し、固有構造の観察は困難であった。（図10）

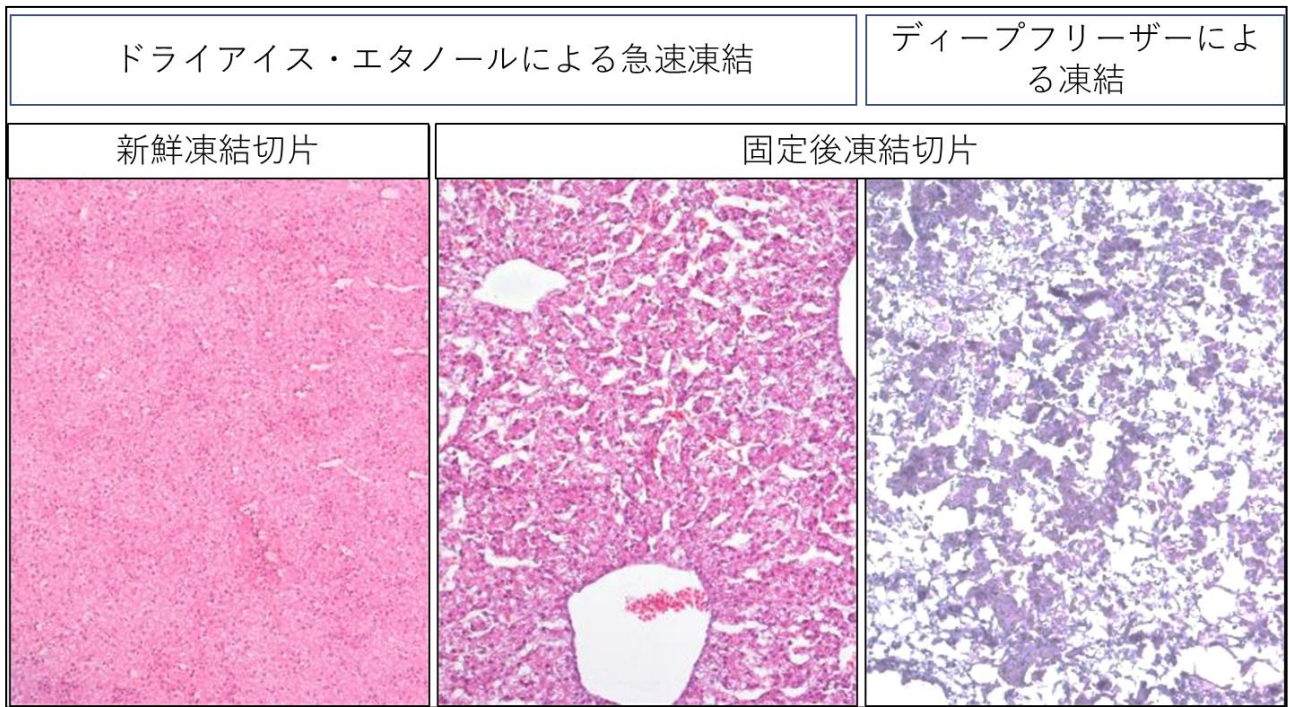


図4 凍結法及び固定の有無による切片の比較

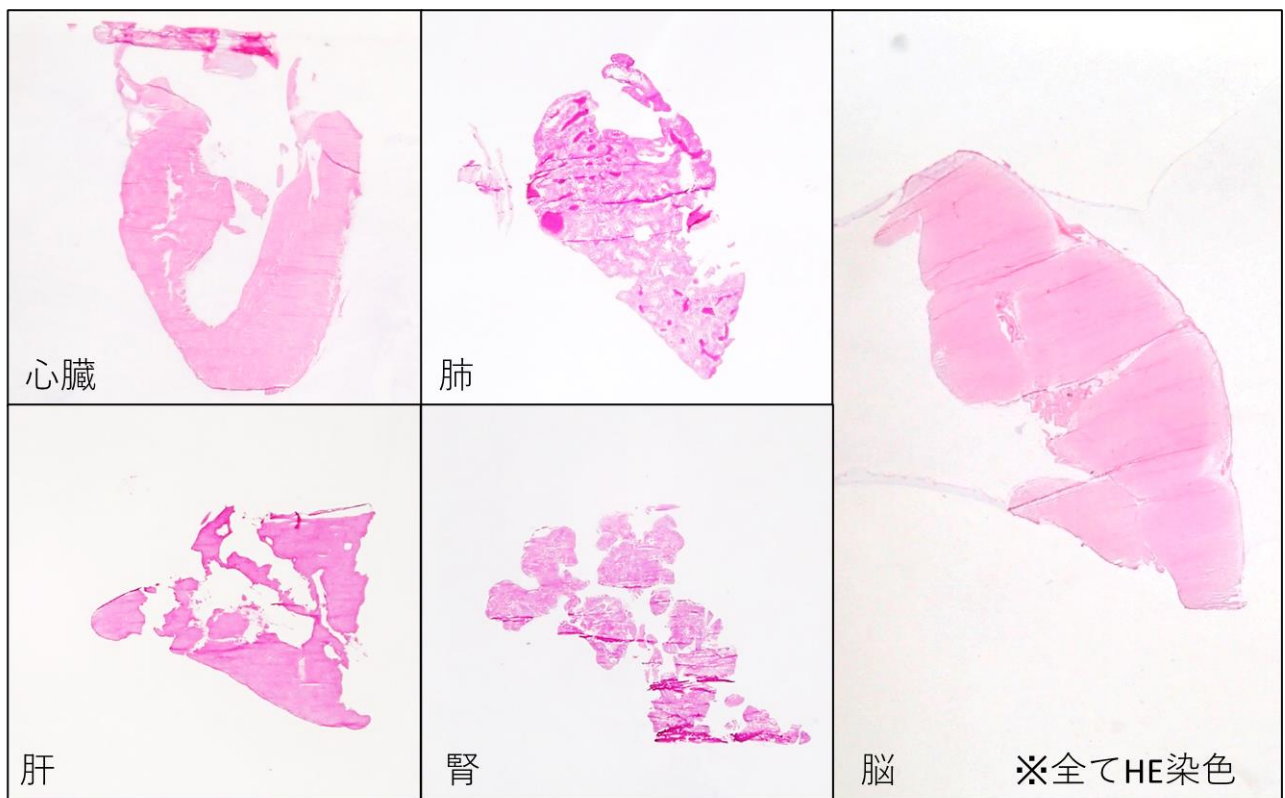


図5 各切片のルーペ像

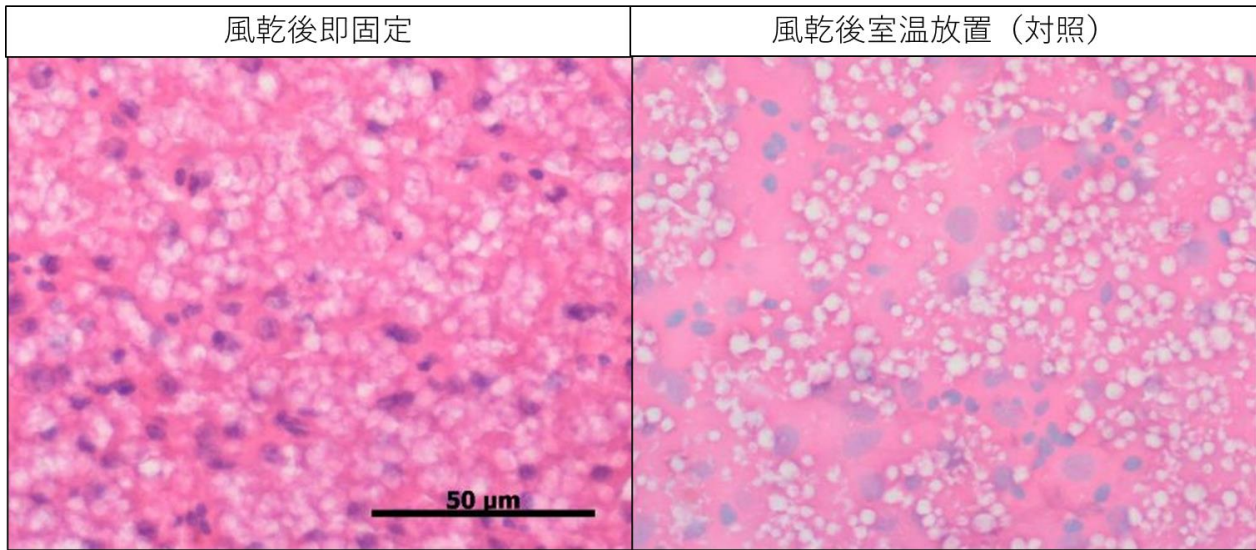


図 6 固定法の違いによる肝切片の比較

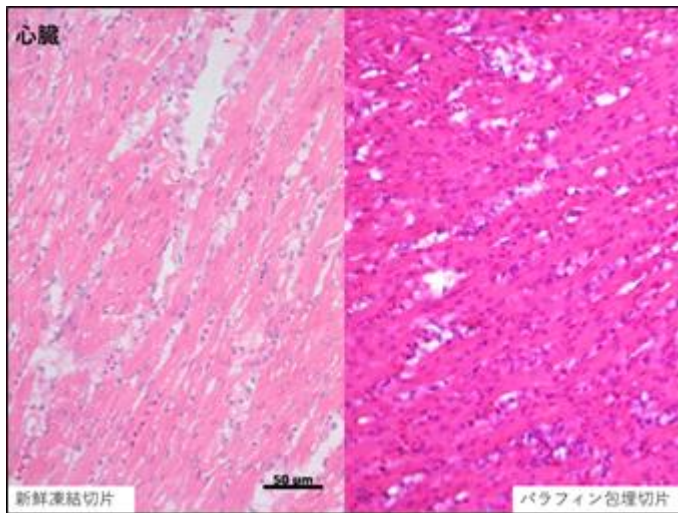


図 7 心筋の比較

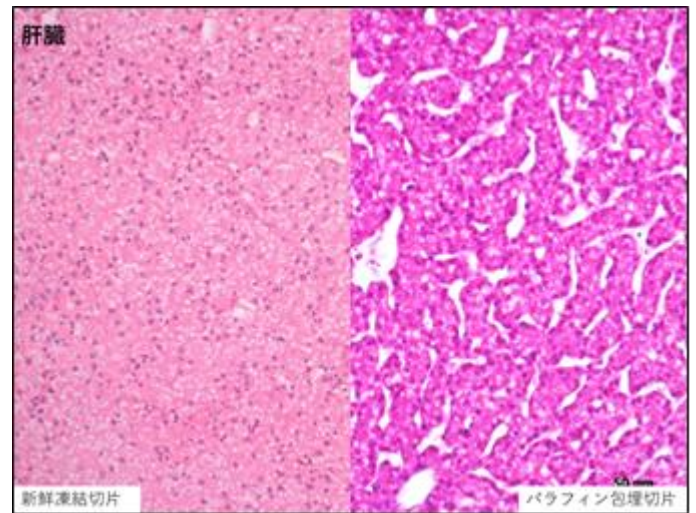


図 9 肝臓の比較

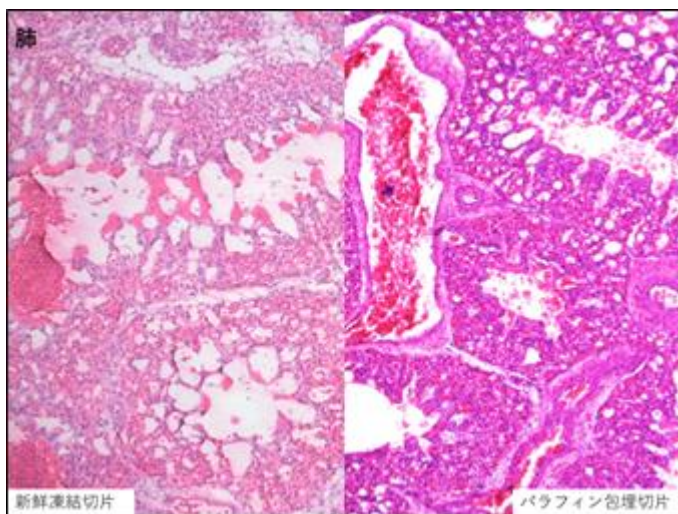


図 8 肺の比較

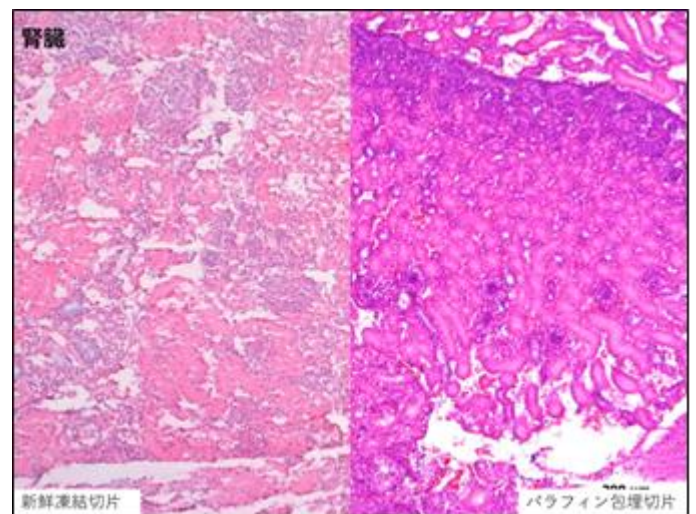


図 10 腎臓の比較

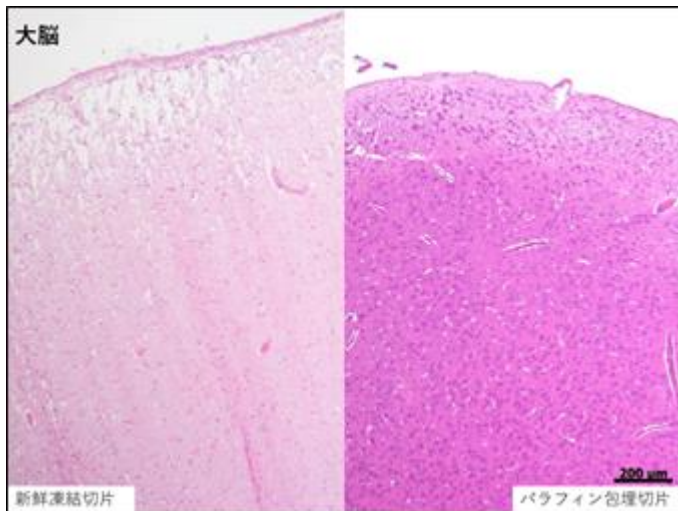


図 11 脳の比較

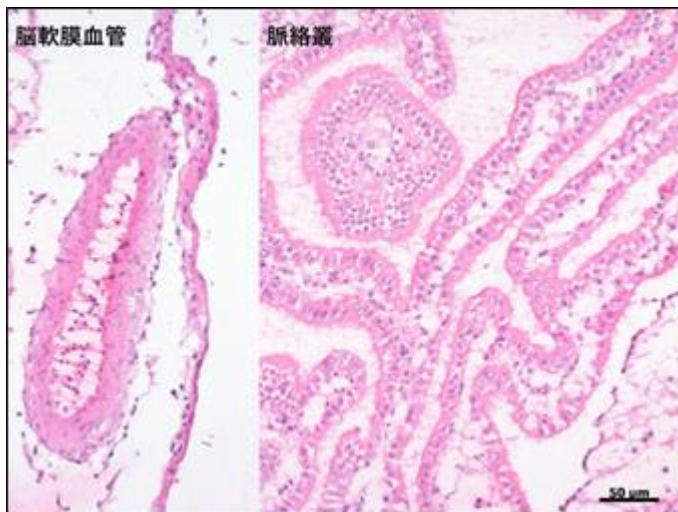


図 12 脳血管及び脈絡叢

5 まとめ及び考察

今回の検討を通して、新鮮凍結薄切はドライアイスと滑走式マイクロトームで簡易的に作製可能と推察された。また、今回活用した資材は、全て廃棄品や不用品を流用している事から経済的であり、当所のように凍結切片法の利用頻度の低い施設では、ある程度有用な方法と考えられた。

一方検討課題として、凍結切片はパラフィン包埋切片と比較して、組織の固有構造の保存性低い事が問題と考えられた。今回の検討で利用した初生雛のような幼弱動物の臓器は成熟個体に比較して一般的に脆弱であり、特に初生雛の肝臓は生理的に脂肪変性を示すため、通常肝臓より脂肪を多く含む。こ

の事から、脱水・脱脂・固定の工程を含まない新鮮凍結切片では脂肪滴が強調され、細胞が膨化し、肝細胞索や類洞のような固有構造の観察が困難であったと推察された。また、脆弱かつ微小な初生雛の腎臓は完全な形で摘出は難しく、さらに未固定であった事から組織切片としても構造が崩壊し易かったものと推察された。これらの点は、肺や脳の脈絡叢等、結合組織の多い血管構造が豊富な組織においては構造がよく保たれた事からも矛盾はないと考えられた。

以上の事から、作業過程での脱水・脱脂・固定の有無、臓器ごとの結合組織・脂肪含有量の差等による影響については基本的に変更し難い要素であるため、凍結切片法の技術的な限界としてある程度許容せざるを得ないと考えられた。しかし、今回の検討では組織の前処理を実施していない事から、今後、スクロース置換等の前処理法の導入の他、凍結スプレー等の比較的安価な市販品による作業温度管理法の活用、自作モールドの改良、冷媒の変更などによる凍結条件の改善等を検討する必要があると考える。

また、これまで通常業務で利用されていなかった凍結切片法の更なる活用を検討するに当たり、今後は豚の扁桃の他、成鶏や他畜種への応用の可否を検討する事が必要と考える。

参考文献

- [1] 福元 茂, 都築 正雄, 浦野 順文, 凍結切片作製法, 検査と技術, 8巻10号, pp.849-856, (1980)
- [2] 蓮井 和久, 免疫組織化学の基礎と応用 V. 組織・細胞の固定, 鹿児島大学リポジトリ <https://ir.kagoshima-u.ac.jp/records/8203>
- [3] 堤 寛, 平澤 浩, 病理医に必要なワンポイント病理技術 新鮮凍結切片のつくり方, 病理と臨床, Vol.22 No. 5, 515-518, (2004)
- [4] 京都大学オープンコースウェア 資源生物科学実験及び実験法 I・II 第1章第2節 組織切片の作製法と染色法, <https://ocw.kyoto-u.ac.jp/course/452/>
- [5] 高橋 暁, 鳥越 甲順, 中村 俊雄, 新鮮骨格筋の凍結縦断切片作製の改良法, 金沢大学十全医

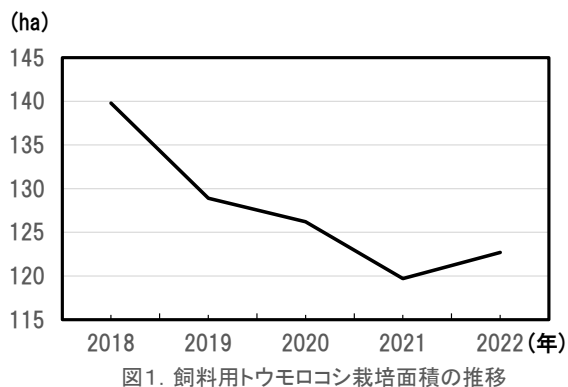
学会雑誌, 第 88 卷第 5 号, 617-622, (1979)

(松本農業農村支援センター)

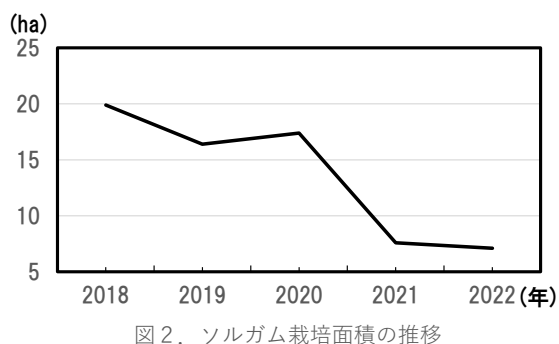
1 目的

松本農業農村支援センター(以下、当センター)が担当する松本地域は、多様で豊かな自然や風土と大消費地に比較的近い立地を活かした農業が展開されており、米・園芸作物・畜産等の産地として発展してきた。畜産については、特に酪農家を中心に自給飼料生産が盛んな地域であり、飼料用トウモロコシやソルガム等の飼料作物が約 150ha、裏作のライ麦を含めた牧草が約 270ha、飼料用米・稲発酵粗飼料用稲(以下、イネWCS)約 60ha、計約 480ha が作付けされている(令和 4 年 10 月 松本農業農村支援センター調べ。以降図 5 まで同じ)。

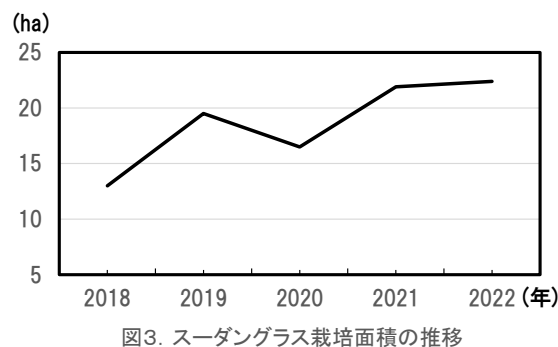
今年の栽培面積の内訳や増減は、次のとおりである。飼料用トウモロコシの栽培面積は約 123ha であり、過去 5 年間における栽培面積は減少傾向にある(図 1)。



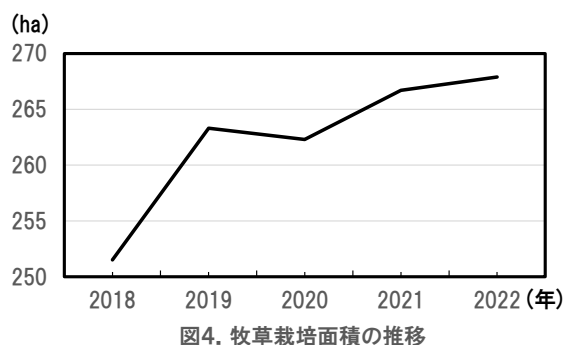
スーダングラスを除く飼料用ソルガムの栽培面積は約 7ha であり、過去 5 年間の栽培面積は約 1/3 に減少した(図 2)。



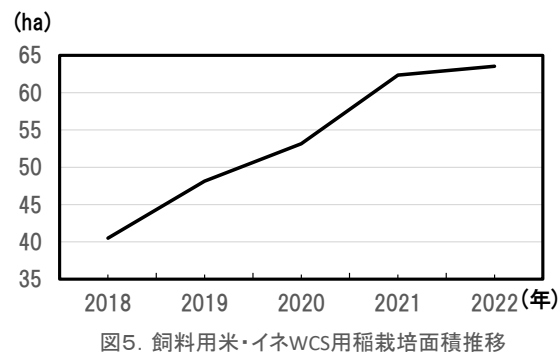
その一方で、スーダングラスの栽培面積は約 22ha と 5 年前からほぼ倍増した(図 3)。裏作のライ麦、イタリアンライグラスを含



む牧草の栽培面積は約 270ha であり、5 年前から 20ha 余り増加したが、ここ 2 年は面積がほぼ横ばいの状態であった(図 4)。



さらに、近年、飼料米・イネWCS 専用品種の栽培面積も増加しており、5 年前の約 40ha から、今年度は 1.5 倍強の約 65ha になった(図 5)。



このように自給飼料生産に力を入れている地域的背景があっても、近年の飼料・燃料価格高騰や品薄状態は、経営を圧迫する大きな

要因となっており、農家の自給飼料に対する期待は増々高まっている。

当センターは、飼料用トウモロコシやソルガムの品種展示圃を設置し、普及活動の参考にしている。今回は、今年度の品種展示圃における取組の紹介と今後に向けた取組について報告する。

2 材料及び方法

(1) 飼料用トウモロコシ品種展示圃

【耕種概要】

松本市波田に設置した飼料用トウモロコシ品種展示圃の耕種概要は次に示すとおりである。相対熟度(Relative Maturity、以下、RM)118以下の品種を早生、RM123以上の品種を中生とし、展示品種として早生：9品種、中生：5品種、計14品種を栽培した(図6)。早生品種の標準品種にはP社のRM115の品種を、中生品種の標準品種には長野県育成品種でRM125の「タカネフドウ」をそれぞれ用いた。

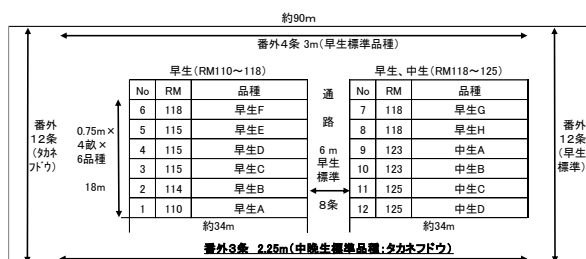


図6 令和4年度トウモロコシ品種展示圃配置図

牛糞堆肥を8 t/10 a 施用後速やかにロータリー耕起し、概ね30日が経過した令和4年5月20日に播種を行った。栽植密度は畝間75cm×株間20cm、6,667本/10aとし、1区面積は102 m²(幅3m×長さ34m)としたが、中生品種の標準品種とした「タカネフドウ」のみ76.5 m²(幅2.25m×長さ34m)とした。区の反復は設けなかった。雑草対策として、令和4年7月10日(トウモロコシ8葉期)にトブラメゾン液剤(濃度：150mL/100L/10a)による茎葉処理を行った。

【調査方法】

生育特性の調査は「飼料作物系統適応性検定試験実施要領」(改定5版)に準じて実施した。稈長、稈径及び着雌穂高の調査を8月19日に実施した。収量調査は、各区4畝のうち

両端の畝(1畝目と4畝目)を除いた2畝目あるいは3畝目の株を用いて実施した。畝の始まりから1m以上展示区の中に入り、生育中庸かつ連続して株が1m以上続く箇所を5株を地際から鎌を用いて刈り取った。圃場において刈り取った個体の草丈、雌穂長を測定した後、茎葉と雌穂に分解し、それぞれの重量を測定した。その後、畜産試験場に持ち込んで細断し、それぞれ十分に攪拌の上ナイロン製網袋に入れて乾物率算出用のサンプルとした。各サンプルの原物重を網袋ごと秤量後、直ちに通風乾燥機に入れ、60℃72時間の通風乾燥を行った。乾燥終了後、再び秤量し、以下の式で乾物率を得た。

$$(\text{サンプル乾物重} - \text{風袋重}) / (\text{サンプル原物重} - \text{風袋重}) \times 100 (\%)$$

乾物率は小数点以下第2位で四捨五入した値を用いた。

上記原物収量に乾物率を乗じて乾物収量を求めた。また、乾物茎葉収量及び雌穂収量から以下の式により、乾物中の可消化養分総量(Total Digestive Nutrition、以下TDN)収量を推定した。

$$\text{推定乾物TDN収量} = \text{乾物茎葉収量} \times 0.582 + \text{乾物雌穂収量} \times 0.85$$

(2) 飼料用ソルガム品種展示圃

【耕種概要】

松本市奈川に設置した飼料用ソルガム品種展示圃の耕種概要は以下のとおりである。展示品種には、晩生：1品種(「秋立」)、極晩生：3品種(「東山交37号」、「東山交38号」、「風立」)、計4品種の長野県育成品種を用いた。「風立」を除く3品種は繊維の消化性を向上させる高消化性遺伝子「bmr-18」を保有する「高消化性品種」であった(圃場の配置は図7のとおり)。

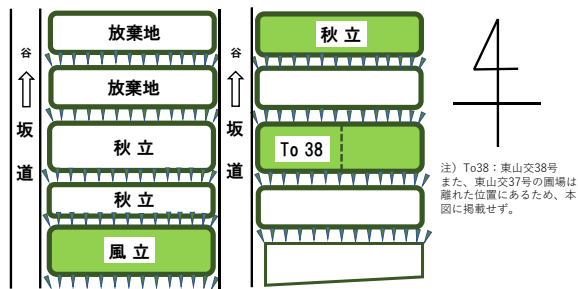


図7. ソルガム品種展示園(松本市奈川)圃場配置

4月下旬に牛糞堆肥を2.5t/10a施用後速やかにロータリー耕起した。5月中旬に基肥として化成肥料を70kg/10a(N:P:K=9.1:12:8.4kg/10a)施用し、その後令和4年5月23日に播種を行った。栽植密度は畝間90cm×株間8cm、13,889本/10aとし、1品種1圃場の方式で播種を行ったため、1区面積は200~450㎡、無反復とした。発芽後、概ね3週後に間引きを行い、1株1本立とした。終了後、化成肥料22.2kg/10a(N:4.8kg/10a)を株元に追肥し、土寄せを行った。

雑草対策として、播種後の覆土・鎮圧直後にリニュロン水和剤(濃度:150g/100L/10a)による土壌処理を行った。その後、ソルガム発芽始期にアトラジンフロアブル剤(濃度:200mL/100L/10a)による土壌処理を行った。さらにソルガム生育期(概ね8葉期)にベンタゾンナトリウム塩液剤(濃度:150mL/100L/10a)による雑草茎葉処理を行った。

【調査方法】

生育特性及び収量性の調査は「飼料作物系統適応性検定試験実施要領」(改定5版)に準じて実施した。収量調査は、各区のうち両端の2畝を除いた畝の株を用いて実施した。畝の始まりから1m以上の中に入り、生育中庸かつ連続して株が1m以上続く箇所12株を地際から鎌を用いて刈り取った。圃場において刈り取った個体の草丈、稈径、茎数を測定した後、重量を測定した。その後、生育中庸な5個体を達観により選抜し、畜産試験場に持ち込んで細断した。十分に攪拌の上ナイロン製網袋に入れて乾物率算出用のサンプルとした。各サンプルの原物重を網袋ごと秤量後、直ちに通風乾燥機に入れ、60℃72時間の通風乾燥を行った。乾燥終了後、再び秤量し、以下の式で乾物率を得た。

$$\frac{(\text{サンプル乾物重} - \text{風袋重})}{(\text{サンプル原物重} - \text{風袋重})} \times 100 (\%)$$

乾物率は小数点以下第2位で四捨五入した値を用いた。上記原物収量に乾物率を乗じて乾物収量を求めた。また、乾物茎葉収量及び雌穂収量から以下の式により、乾物中のTDN収量を推定した。

$$\text{推定乾物TDN収量} = \text{乾物茎葉収量} \times (\text{過去に得られた乾物中TDN\%の平均値})$$

3 結果

(1) 飼料用トウモロコシ品種展示園

【発芽特性】

全ての品種が播種後概ね7日で発芽した(写真1)。発芽の良否及び揃い(整否)を「極良:9~並:5~極不良:1」の評点により評価した。発芽の良否及び整否は極めて良好で品種間差は認められなかった(表1)。

表1 発芽特性 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	相対熟度 RM	発芽期 (月/日)	発芽	
			良否	整否
早生A	110	5/27	9	9
早生B	114	5/27	9	9
早生C	115	5/27	9	9
早生D	115	5/27	9	9
早生E	115	5/27	9	9
早生F	118	5/27	9	9
早生G	118	5/26	9	9
早生H	118	5/26	9	9
早生標準	115	5/27	9	9
早生平均	115	5/26	9	9
中生A	123	5/26	9	9
中生B	123	5/27	9	9
中生C	125	5/27	9	9
中生D	125	5/27	9	9
タカネドウ	125	5/27	9	9
中生平均	124	5/27	9	9

注)発芽良否及び整否の評点は極良:9~極不良:1

土壌処理用除草剤を散布しなかった影響で、雑草の発生が認められた(写真1)。



写真1 発芽状況(撮影:令和4年5月27日)

【初期生育】

令和4年6月17日に実施した初期生育調査結果を表2に示す。初期生育の良否を「極良:9～並:5～極不良:1」の評点により評価した。全品種の初期生育は「良」～「極良」を示す評点7～9であった。早生品種の草丈は53～65cmで平均58.9cm、中生品種の草丈は49～65cmで平均55.7cmであった。特に、早生品種においては早生標準品種と早生H、中生品種においては「タカネフドウ」の初期生育が「極良」であった。

表2 初期生育(令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	相対熟度 RM	初期生育	初期草丈 (cm)
早生A	110	8	53
早生B	114	7	58
早生C	115	7	56
早生D	115	8	61
早生E	115	8	59
早生F	118	7	60
早生G	118	8	56
早生H	118	9	65
早生標準	115	9	63
早生平均	115	7.9	58.9
中生A	123	8	57
中生B	123	7	51
中生C	125	8	58
中生D	125	7	49
タカネフドウ	125	9	65
中生平均	124	7.8	55.7

注)初期生育評点は極良:9～極不良:1

トウモロコシの初期生育時において、雑草による被圧は生じていなかったが、その生育は旺盛であった(写真2)。



写真2 初期生育状況
(撮影:令和4年6月17日撮影)

【出穂及び絹糸抽出特性】

雄穂の出穂及び雌穂の絹糸抽出の調査結果を表3に示す。早生品種の雄穂出穂は令和4年7月15日から始まり、その平均は7月19日であった(データ未掲)。出穂開始から概ね2日以内に出穂期を迎え、出穂期の平均は7月21日、播種後出穂期までに要した日数(以下、出穂期まで日数)の平均は約62日であった。中生品種では同年同月22日頃から始まり、平均7月23日であった(データ未掲)。中生品種も出穂開始から概ね2日以内に出穂期を迎えたが、6日を要する品種もあった。出穂期の平均は7月25日であり、早生品種より4日遅かった。また、出穂期まで日数の平均は約67日であり、早生品種よりも約5日遅かった。各品種の出穂期及び出穂期まで日数は表3のとおりであった(表3)。

表3 雄穂出穂期および絹糸抽出期 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	相対熟度 RM	雄 穂		雌 穂	
		出穂期 (月/日)	出穂期まで 日数	絹糸抽出期 (月/日)	抽出期まで 日数
早生A	110	7/17	58	7/24	65
早生B	114	7/21	62	7/25	66
早生C	115	7/23	64	7/24	65
早生D	115	7/20	61	7/25	66
早生E	115	7/22	63	7/24	65
早生F	118	7/22	63	7/24	65
早生G	118	7/22	63	7/24	65
早生H	118	7/22	63	7/24	65
早生標準	115	7/21	62	7/24	65
早生平均	115	7/21	62.1	7/24	65.2
中生A	123	7/25	66	8/1	73
中生B	123	7/25	66	7/25	66
中生C	125	7/24	65	8/1	73
中生D	125	7/30	71	8/1	73
タカネフドウ	125	7/24	65	7/25	66
中生平均	124	7/25	66.6	7/29	70.2

注)「出穂期まで日数」、「抽出期まで日数」は、それぞれ播種日から「出穂期」、「絹糸抽出期」までの日数

雌穂の絹糸抽出は、早生品種においては7月20日から始まり、絹糸抽出開始の平均は

7月22日であった(データ未掲)。抽出開始から概ね2日以内に絹糸抽出期を迎え、平均は7月24日、播種後絹糸抽出期までに要した日数(以下、抽出期まで日数)の平均は約65日であった。早生品種における出穂期と絹糸抽出期の差は約3日であり、出穂期の3日後に絹糸抽出期を迎えた。中生品種の絹糸抽出は、7月24日頃から始まり、抽出開始の平均は7月27日であった(データ未掲)。中生品種の多くは絹糸抽出開始翌日には絹糸抽出期を迎えた。しかし、雄穂の出穂開始から出穂期までに6日を要した品種は、雄穂の出穂同様に7日を要した。この品種を除き、雄穂出穂後2～7日後に絹糸抽出が始まっていた。この品種は出穂開始の翌日には絹糸抽出も始まり、同様に5日経過後に絹糸抽出期を迎えた(データ未掲)。絹糸抽出期の平均は7月29日と早生品種より5日遅かった。そのため、抽出期まで日数の平均は約70日となり、出穂期同様、早生品種よりも約5日遅かった。各品種の絹糸抽出期及び抽出期まで日数は表3のとおりであった。

【黄熟期までの生育】

生育特性に関する調査結果を表4に示す。

表4 生育特性^{注1)} (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	RM	草丈 (cm)	稈長 (cm)	稈径 (mm)	着雌 穂高 (cm)	着雌 ^{注2)} 穂高率 (%)	雌穂長 (cm)
早生A	110	350	310	26	143	46	21
早生B	114	327	289	28	133	46	20
早生C	115	353	327	26	169	52	20
早生D	115	382	338	27	170	50	23
早生E	115	350	313	26	151	48	21
早生F	118	351	320	26	170	53	21
早生G	118	346	311	26	148	48	21
早生H	118	366	331	26	165	50	20
早生標準	115	351	295	27	136	46	21
早生平均	115	353.0	314.8	26.5	153.7	49	20.7
中生A	123	341	326	26	180	55	21
中生B	123	340	309	26	153	50	23
中生C	125	361	323	28	168	52	21
中生D	125	373	334	28	173	52	22
タカネフドウ	125	308	284	29	145	51	23
中生平均	124	344.4	314.9	27.2	163.7	52	22.1

注1)令和4年9月13、22日調査(稈長、稈径、着雌穂高は8月19日調査)

注2)着雌穂高率=着雌穂高(cm)/稈長(cm)×100 小数点以下は四捨五入。

早生品種の平均値は、草丈が353.0cm、稈長が314.8cm、稈径が26.5mm、着雌穂高が153.7cm、雌穂長が20.7cmであった。中生品種の平均値は、草丈が344.4cm、稈長が314.9cm、稈径が27.2mm、着雌穂高が

163.7cm、雌穂長が22.1cmであった。着雌穂高の平均値は稈長の1/2程度であり、展示栽培を行った品種全てで重心が高い印象を受けた。また、除草剤による茎葉処理を実施する際にトラクターのブームによる損傷を受けたため、「タカネフドウ」の生育が他の品種と比較して劣っていた。

【収量性】

① 原物収量

収量調査を実施した、令和4年9月13日及び22日における各品種の原物収量(kg/10a)を表5に示す。早生品種において、茎葉と雌穂を合計した全草の平均原物収量は8,367kg/10aであった。早生品種では、標準品種の全草原物収量が最も多く、10,266.7kg/10aであった。中生品種において、茎葉と雌穂を合計した全草の平均原物収量は7,626.7kg/10aであり、早生品種よりも少なかった。中生品種でも、標準品種の「タカネフドウ」の全草原物収量が最も多く、9,200kg/10aであった。

表5. 各品種における原物収量(令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	RM	収量(原物kg/10a)			原物 穂重 割合%
		全重	茎葉	雌穂	
早生A	110	7200.0	4800.0	2400.0	33.3
早生B	114	9466.7	6933.3	2533.3	26.8
早生C	115	8933.3	6133.3	2800.0	31.3
早生D	115	8800.0	6133.3	2666.7	30.3
早生E	115	8666.7	5866.7	2800.0	32.3
早生F	118	8000.0	5600.0	2400.0	30.0
早生G	118	8266.7	5733.3	2533.3	30.6
早生H	118	8133.3	5600.0	2533.3	31.1
早生標準	115	10266.7	7333.3	2933.3	28.6
早生平均	115	8637.0	6014.8	2622.2	30.5
中生A	123	6533.3	4266.7	2266.7	34.7
中生B	123	6933.3	4266.7	2666.7	38.5
中生C	125	7600.0	5466.7	2133.3	28.1
中生D	125	7866.7	5733.3	2133.3	27.1
タカネフドウ	125	9200.0	6266.7	2933.3	31.9
中生平均	124	7626.7	5200.0	2426.7	32.0

注)収量調査は早生品種9月13日、中生品種9月22日実施。

② 各品種の乾物率及び黄熟期

表6に収量調査時の部位別乾物率と黄熟期到達までの日数(以下、黄熟期まで日数)を示す。早生品種の茎葉の乾物率は19.0～23.4%で平均20.7%であった。雌穂の乾物率は58.8～64.4%で平均61.0%であった。その結果、全草の乾物率は31.4～34.7%で平均

33.0%であった。黄熟期9月8～15日、黄熟期まで日数は104～112日、平均107.6日であり、RMよりもやや早かった。中生品種の茎葉の乾物率は22.7～26.2%で、平均24.4%であった。雌穂の乾物率は63.1～64.4%で平均は64.0%であった。その結果、全草の乾物率は33.6～39.0%で平均は37.0%となった。黄熟期は9月13～20日、黄熟期まで日数は104～116日、平均111.6日であり、中生品種も早生品種同様にRMよりも早かった。

表6 黄熟期までの日数と乾物率(令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	RM	乾物率(%)			黄熟期 (月/日)	黄熟期 まで 日数
		全草	茎葉	雌穂		
早生A	110	36.1	22.0	64.4	9/12	108
早生B	114	31.6	21.2	60.0	9/12	108
早生C	115	31.4	18.2	60.3	9/8	104
早生D	115	32.2	19.3	61.9	9/8	104
早生E	115	32.9	20.0	60.0	9/13	109
早生F	118	33.6	21.9	60.8	9/13	109
早生G	118	31.4	19.0	59.6	9/13	110
早生H	118	32.7	20.9	58.8	9/15	112
早生標準	115	34.7	23.4	62.9	9/8	104
早生平均	115	33.0	20.7	61.0	9/11	107.6
中生A	123	39.0	25.6	64.2	9/18	115
中生B	123	39.0	23.5	63.9	9/13	109
中生C	125	35.2	23.8	64.4	9/18	114
中生D	125	33.6	22.7	63.1	9/20	116
タカネドウ	125	38.4	26.2	64.4	9/18	104
中生平均	124	37.0	24.4	64.0	9/17	111.6

注)60°Cで72時間の通風乾燥。

③ 乾物収量

各品種の乾物収量(kg/10a)を表7に示す。

表7 各品種における乾物収量 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	RM	収量(乾物kg/10a)			推定 TDN 収量	乾物 穂重 割合%	雌穂 稔実 割合%
		全重	茎葉	雌穂			
早生A	110	2,602.0	1,057.3	1,544.7	1928.3	59.4	100
早生B	114	2,989.1	1,469.0	1,520.1	2147.0	50.9	95
早生C	115	2,807.4	1,118.2	1,689.2	2086.6	60.2	88
早生D	115	2,835.2	1,185.9	1,649.3	2092.1	58.2	95
早生E	115	2,852.2	1,172.5	1,679.7	2110.1	58.9	98
早生F	118	2,686.5	1,226.7	1,459.8	1954.8	54.3	93
早生G	118	2,599.8	1,089.4	1,510.4	1917.9	58.1	92
早生H	118	2,662.2	1,171.8	1,490.4	1948.8	56.0	94
早生標準	115	3,560.8	1,716.7	1,844.1	2566.6	51.8	100
早生平均	115	2,843.9	1,245.3	1,598.6	2083.6	56.4	95.0
中生A	123	2,548.6	1,093.7	1,454.9	1873.2	57.1	97
中生B	123	2,706.3	1,001.4	1,704.9	2032.0	63.0	91
中生C	125	2,675.2	1,301.3	1,374.0	1925.2	51.4	92
中生D	125	2,644.7	1,299.6	1,345.1	1899.7	50.9	84
タカネドウ	125	3,530.5	1,642.0	1,888.5	2560.8	53.5	92
中生平均	124	2,821.1	1,267.6	1,553.5	2058.2	55.2	91.2

注)収量調査は早生品種9月13日、中生品種9月22日実施。

推定TDN収量=茎葉乾物収量×0.582+雌穂乾物収量×0.85

雌穂稔実割合=稔実部分長/雌穂長×100で算出。雌穂10本の平均値。

早生品種において、茎葉と雌穂を合計した

全草の平均乾物収量は2,843.9kg/10a、平均推定TDN収量は2,083.6kg/10aであった。早生品種では、標準品種の全草乾物収量が最も多く、1,716.7kg/10aであった。その一方で、乾物穂重割合が供試品種の中では低い方から2番目(51.8%)だったこともあり、推定TDN収量は最も多くはならなかった。中生品種において、茎葉と雌穂を合計した全草の平均乾物収量は2,821.1kg/10a、平均推定TDN収量は2,058.2kg/10aであり、早生品種とほぼ同じであった。中生品種でも、標準品種の「タカネドウ」の全草乾物収量が最も多く、3,530.5kg/10aであった。また、乾物穂重割合も53.5%と比較的多かったことから、推定TDN収量も2,560.8kg/10aと供試した中生品種の中では最多となった。

早生品種における乾物穂重割合の平均は56.4%だったが、最少と最多の範囲が50.9～60.2%と約10%の開きがあり、品種間の差が大きい傾向があった。中生品種においても同様に、乾物穂重割合の平均は55.2%だったが、最少と最多の範囲が50.9～63.0%と約12%の開きがあり、品種間の差が大きい傾向があった。

雌穂の稔実割合は、早生品種においては88～100%、平均が95.0%であった。中生品種においては84～97%、平均が91.2%であった。

【病虫害及び折損の程度】

病虫害及び折損の程度を表8に示す。

表8 病虫害発生および折損程度 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種	RM	病 害		虫 害		折損 (%)
		黒穂病	根腐病	アブラムシ	アワメイガ	
早生A	110	1	1	1	1	0
早生B	114	1	1	1	1	1
早生C	115	1	1	2	2	0
早生D	115	1	1	2	3	10
早生E	115	1	4	2	3	10
早生F	118	2	1	2	2	1
早生G	118	2	1	2	3	10
早生H	118	2	9	2	2	50
早生標準	115	1	2	2	2	5
早生平均	115	1.3	2.3	1.8	2.1	9.7
中生A	123	1	5	2	3	5
中生B	123	2	9	2	3	30
中生C	125	2	7	2	3	40
中生D	125	1	1	1	2	5
タカネドウ	125	1	1	2	2	5
中生平均	124	1.4	4.6	1.8	2.6	17.0

注)病虫害程度 無:1～甚:9

折損%:試験区全体に占める倒伏割合を連続で評価

病害としては黒穂病と根腐病、虫害としてはアブラムシによる吸汁とアワノメイガによる茎、雌穂の食害が観察された。

黒穂病の発生は散発的であり、病害程度としては軽微であった。また、品種や早晩性の違いによる発生程度の差への影響は観察されなかった。根腐病は早生品種、中生品種の両方で発生が確認された。発生程度「並」～「甚」と判定した品種は根元が中空になっている株が多く、それが原因で根元からの折損が多い傾向にあった(写真3)。また、折損に至らない場合でも茎葉の上方まで枯れ上り、雌穂の茎への固着も緩んで地面に向かって垂れ下がる状態が観察された(写真4)。したがって、展示圃場全体としては折損程度が低かったものの、品種によっては区の30～50%が折損している場合も観察された。



写真3 根腐病(撮影:令和4年9月12日)



写真4 雌穂の下垂(撮影:令和4年9月12日)

アブラムシによる吸汁やその排泄物による植物体の汚損は多くの品種で観察されたが、その程度は軽微であった。アワノメイガによる茎や雌穂の食害も同様に多くの品種で観察されたが、その程度は軽く、大きな減収につながるものではなかった。

(2) 飼料用ソルガム品種展示圃

【発芽特性】

表9に展示圃で栽培した各品種(以下、展示品種)の概要と発芽特性を示す。展示品種は全て長野県畜産試験場で育成された品種である。全ての品種が播種後概ね7日で発芽した(写真5、東山交38号展示圃場)。発芽の良否及び揃い(整否)を「極良:9～並:5～極不良:1」の評点により評価した。発芽の良否及び整否は極めて良好で品種間差は認められなかった。また、この時点において「東山交37号」の播種についての情報を入手しておらず、「東山交37号」については収量調査まで、諸特性の調査を実施しなかった。

表9 発芽特性 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種 名	発芽期 (月/日)	発 芽		備 考
		良否	整否	
東山交38号	6/1	9	9	bmr-18、極晩生
東山交37号	—	—	—	bmr-18、極晩生
風 立	5/30	9	9	比較品種、normal、極晩生
秋 立	5/30	9	9	標準品種、bmr-18、晩生

注)東山交37号は、調査開始時に播種日が不明だったため未調査。

発芽良否、整否:極良9～極不良1



写真5 発芽状況(撮影:令和4年6月6日)

【初期生育】

初期生育調査結果を表10に示す。

表10 初期生育特性 (令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種 名	初期生育	初期草丈 (cm)	備 考
東山交38号	8	30	bmr-18
東山交37号	—	—	bmr-18
風 立	9	35	比較品種、normal
秋 立	7	32	標準品種、bmr-18

注)令和4年6月27日調査。

東山交37号は、調査時点で圃場が不明だったため未調査

初期生育の良否は「極良:9～並:5～極不良:1」の評点により評価した。全品種の初期生育は「良」～「極良」を示す評点7～9であった。供試品種の中では、「風立」の初期生育が最も良好で評点は9であった。次いで「東山交 38 号」の評点が8、標準品種「秋立」の評点7であった。

初期草丈も「風立」が 35cm で最も高かった。次いで「秋立」が 32cm、標準品種の「秋立」が 30cm であった。

【生育特性】

収量調査時の生育特性を表 11 に示す。全展示品種は収量調査まで出穂しなかったが(データ未掲)、生育は極めて良好であった。

表11 収量調査時生育特性(令和4年 松本農業農村支援センター)

品 種 名	草丈 (cm)	稈径 (mm)	茎数 (本/株)	備 考
東山交38号	272	27	1.0	bmr
東山交37号	275	22	1.1	bmr
風 立	229	22	1.9	比較
秋 立	271	22	1.2	bmr、標準

注)令和4年10月11日調査。bmr:高消化性遺伝子保有品種

「東山交 37 号」の草丈が最も高く、275cm であった。次いで「東山交 38 号」と「秋立」が同程度、「風立」は 229cm であった。稈径は「東山交 38 号」が最も太く 27mm、他の 3 品種は 22mm であった。一株当たりの茎数



写真6 東山交38号(撮影:令和4年10月11日)

は、「風立」が最も多くて 1.9 本/株であった。一方、他の展示品種は 1.0～1.2 本/株で同程度であった。

供試品種の育成地である県畜産試験場(標高 760m)では 8 月下旬には出穂期を迎える「秋立」を含め、全品種が未出穂であったことから、全品種の草姿が未出穂タイプの極晩生型ソルガムとなった(写真 6～9)。



写真7 東山交37号
(撮影:令和4年10月11日)



写真8 風立(撮影:令和4年10月11日)



写真9 秋立(撮影:令和4年10月11日)

【収量性】

収量調査を実施した、令和4年10月11日における各品種の収量(kg/10a)を表12に示す。全品種が未出穂だったため、収量は茎葉部の値のみである。

表12 収量(kg/10a) (令和4年 松本農業農村支援センター)

品種名	収量		乾物率%	乾物中TDN%	乾物TDN収量
	原物	乾物			
東山交38号	8,880	1,880.7	21.2	62.3	1,171.7
東山交37号	7,280	1,638.0	22.5	59.9	981.2
風立	9,653	2,107.0	21.8	45.0	948.1
秋立	8,533	1,779.7	20.9	61.7	1,098.1

注)収量調査は令和4年10月11日実施

乾物TDN収量:乾物収量×乾物TDN%で算出。

原物収量では、生育調査では草丈が最も低かった「風立」の収量が最も多く、9,653kg/10aであった。一方で、草丈が最も高かった「東山交37号」は7,280kg/10aであり、最も少なかった。「東山交38号」と「秋立」の収量は同程度であった。

乾物率は20.9～22.5%の範囲で、全品種同程度であった。乾物収量も原物収量と同様に「風立」が最も多くて1,638.0kg/10a、次いで「東山交38号」が1,880.0kg/10a、「秋立」が1,779.7kg/10aの順であった。しかしながら、乾物中TDN濃度を考慮した乾物TDN収量は「東山交38号」が1,171.7kg/10a、「秋立」が1,098.1kg/10a、「東山交37号」が981.2kg/10a、「風立」が948.1kg/10aであった。

3 考察

(1) 飼料用トウモロコシ品種展示圃

本展示圃は試験を目的とした品種比較を行っていないため、区の反復を設けなかった。そのため、様々な生育特性や収量性の品種間差について有意差検定をする事が不可能である。それでも、今後の参考となる幾つかの結果が得られたので、考察を試みた。

第一に、現在の飼料用トウモロコシ品種展示圃では化成肥料を施用せずに堆肥施用のみで飼料用トウモロコシを連作してきた点である。土壌の質に左右されるとはいえ、堆肥施用だけでも吸肥力が大きい飼料用トウモロコシの栽培が可能であることを示唆している。

次いで、根腐れ病発生程度が「甚」と判定される品種が存在した事である。根腐病に罹病した株は株元の茎が中空になり、根から地上部への養分移動が阻害・遮断され、雌穂の下垂(写真4)・脱落、さらには株元からの折損型倒伏にいたる(写真5)。今年度の結果においても、根腐病発生程度が大きい品種は折損株割合が大きく、茎葉部の収量が低い傾向を示唆していた(表7、8)。未熟堆肥の施用は根腐病発生要因の一つとされていることから、適正な堆肥施用の重要性も示唆している。栽培面積の拡大が期待されている子実トウモロコシは、ホールクロップサイレージ調製時の収穫適期である黄熟期よりもさらに遅い完熟期まで栽培する必要がある。このことから、トウモロコシ子実の自給率向上を推進する上でも、根腐病対策は必須の課題であると考えられる。

また、今年度は除草剤による土壌処理を実施しなかった。その結果、トウモロコシの発芽と同時に雑草の発芽が見られ(写真1)、圃場の一部においてはトウモロコシがアレチウリやシロザ等に被覆されてしまい、茎葉処理剤散布前に手取り除草の実施が必要になった(写真10)。



写真10 雑草生育状況
(撮影:令和4年6月20日)

近年、トプラメゾンやトルピラレートを主成分とする非常に殺草効果が高い雑草生育期処理剤が開発された。これらの剤は、それまで防除手段がなかったオオブタクサやブタクサだけではなく、生育が進んだアレチウリやイチビ等にも高い効果を示す。しかし、その結果、これらの剤に頼るあまり、トウモロコシ播種後の土壌処理剤散布を軽視することが

懸念される。環境負荷軽減や経費節減という点では除草剤散布回数が少ない方が望ましいが、未成熟堆肥を施用する機会が多い畜産農家（特に酪農家）においては、土壌処理剤の適切使用によって生育初期における雑草の発生を抑制する事が重要であると考えられる。

収量については、乾物収量に占める雌穂重割合が早生品種においては 50.9～60.2%の範囲で平均 56.4%、中生品種においては 50.9～63.0%の範囲で平均 55.2%であった。前述のとおり、各品種における反復を設けておらず、栽培地も異なるため単純な比較は不可能であるが、平成 6 年度の県畜産試験場における成績では 60%台の成績を示す品種はなく、エネルギー収量を高める育種が進んでいることが示唆された。

(2) 飼料用ソルガム品種展示圃

本展示圃も飼料用トウモロコシ品種展示圃と同様に試験を目的とした品種比較を行っていないため、区の反復を設けていない。そのため、様々な生育特性や収量性の品種間差について有意差検定をする事が不可能である。しかしながら、ここでも今後の参考となる幾つかの結果が得られたので、考察を試みた。

図 2 に示した様にソルガムの栽培面積は減少傾向にある。その要因の一つは、ソルガム利用の主体である小規模の和牛繁殖農家戸数の減少にあると考えられるが、それとは別にトウモロコシと同じ長大型の飼料作物でありながら、ホールクロップサイレージ利用時の収量や栄養価がトウモロコシに劣る点もあったと考えられる。長野県畜産試験場は、農林水産省ソルガム育種指定試験地時代からリグニン合成阻害により繊維の消化性を高める高消化性遺伝子「bmr-18」を導入した飼料用ソルガムの育成を進めており、平成 10(1998)年に世界初の実用品種である「葉月」を育成した。それ以降「秋立」、「華青葉」、「緑竜」、「風高」、「東山交 37 号」、「東山交 38 号」といった兼用型、ソルゴー型のソルガムを育成してきた。前述のとおり、これらのソルガムは繊維の消化性を高めることにより栄養価を高めることを目的として育成された品種である。これらの品種の乾物中 TD

N濃度は、今年度の成績にも引用した畜産試験場提供のデータ(表 12)と同等の 60%前後であるが、あくまでも茎葉部主体の栄養価であり、デンプン等の非構造化炭水化物が寄与する子実部はほとんど含まれていない。このことは、獣害回避といった目的がある場合を除き、デンプン源としてのトウモロコシ栽培を優先し、ソルガム栽培に積極的に取り組もうという動機を低くしていると考えられる。当センターが飼料用ソルガム品種展示圃場を設置している農家は、やはり小規模経営の和牛繁殖農家であり、栄養価が高い粗飼料源として喜んで利用している。最終章で述べる予定であるが、今後の長野県あるいは国内におけるソルガムの育種については「デンプン源は子実トウモロコシ主体」と考え、粗飼料源としての価値を高める方向で進めていくことが望ましいと考えられ、そのことについては関係機関に伝えていきたい。

また、ソルガムは除草剤感受性が比較的高く、特に雑草生育期に使用可能な剤が少ない点も要因の一つとして考えられる。耕種概要でも触れたとおり、本圃場では、ソルガムの生育期における雑草発生時にベンタゾンナトリウム塩液剤による雑草生育期処理を実施したが、ハキダメギク等の一年生キク科雑草には効果が劣り、手取り除草が必要になった。ソルガムでは、一年生キク科雑草に有効なニコスルフロロン乳剤、ハロフルスロンメチル水和剤、トプラメゾン液剤やトルピラレートフロアブル剤といった飼料用トウモロコシで広く使用されている薬剤の登録がなく、使用不可能である。登録の面や育種によりこの点が解決されれば、栽培面積の回復につながる可能性はあると考えられる。

今回、「風立」は、他の供試品種と比較して一株当たりの本数が多く、また乾物収量も多かった(表 12)。圃場主も同様の実感を抱いており、毎年収穫時に鎌で刈り取りを行う際に「『風立』だけは刈るのが大変だ。」とのことであった。このことは、ソルガムの分けつの多少について遺伝的変異があることを示しており、スーダングラスやスーダングラスとの一代雑種であるスーダン型ソルガムを育種する上で参考になると思われた。また、

品種展示圃場を設置した奈川は標高 1,000m ほどでの高標高地である。例年、現地で栽培される「秋立」は出穂に至らないとのことであり、その原因として高標高であるが故の気温の影響が考えられるが、今年度は例年になく高い気温で推移したにもかかわらず、令和4年10月11日の収量調査時まで、「秋立」の出穂が確認されなかった(データ未掲)。今年度は展開葉数の調査を実施していないため、推測に留まるが、気温や日長と供試品種の熟期との関係について興味深い情報を入手出来る可能性があると考えられた。

4 今後の自給飼料生産に向けた取組

関係機関と連携し、次年度以降、当センターとして以下の課題に取り組みたいと考えている。関係機関・各位の御協力をお願いしたい。

(1) イネWCS 専用品種の品種特性評価と栽培支援

現在、当センター管内における飼料稲の栽培面積が増加傾向にあることは冒頭で述べたとおりであるが(図5)、イネWCS 専用品種(以下、専用品種)の栽培に関する情報は個々の栽培農家に留まった状態である。したがって、写真11の様な栽培者による生育差や写真12の様な雑草対策の失敗といった課題

や新規に専用品種栽培を始める生産者に対する指導・助言を実施する上で欠かせない管内における出穂その他の生育



写真11 栽培者の違いによる生育差特性の指標
(撮影:令和4年8月22日)

が存在しない。



写真12 飼料稲栽培水田における雑草対策の失敗
(撮影:令和4年7月12日)

その問題解消を目的として、次年度、当センターの作物担当職員と協力し、松本管内で栽培される専用品種を水稻奨励品種決定調査圃場で栽培・調査することで、専用品種の生育特性を把握・評価したいと考えている。また、専用品種栽培者を巡回して栽培状況を確認して同時に聞き取り調査を行い、実態を把握したいとも考えている。これらにより、①専用品種の生育特性を踏まえた技術支援と②管内・県関係機関との情報共有を図っていき

(2) 自給飼料栽培圃場の雑草対策

近年、配合飼料や輸入粗飼料の供給状況は回復したものの、依然価格が高止まりした状態が続いている。その様な状況下では、収量低下や場合によっては収穫放棄につながる可能性がある写真10や写真13 雑草の繁茂は避ける必要がある。



写真13
トウモロコシにからみついたアサガオ
(撮影:令和4年8月24日)

トプラメゾンやトルピラレートを主成分とする非常に殺草効果が高い雑草生育期処理剤が開発されたことについては、「3 考察(1)飼料用トウモロコシ品種展示圃」で述べ

たとおりである。これらの剤は、既存の剤では対応が困難であったオオブタクサやブタクサに対して極めて高い殺草効果を示す。土壌処理と雑草生育期処理を組み合わせた体系処理に関する情報を今一度提供し、せっかく播種した飼料作物や牧草の収量や品質の低下を防ぐ支援をしたい。

(3) 子実トウモロコシに関する取り組み

これもやはり、近年の配合飼料価格高止まりという状況を受けて普及に向けた期待が高まっている子実トウモロコシに関する取り組みである。

農研機構を中心に取組まれたこれまでの研究や実証試験・栽培により、子実利用に適した品種選定や栽培体系、収穫機械の開発(写真14)等、様々な知見が得られている。



写真14 普通型収穫機とコーンヘッド
(撮影:令和4年11月10日)

その一方で、生産や流通、保管、利用に係る費用や体制の整備については解決すべき課題が残されてもいる。管内で栽培・利用に向けた動きが出る時に備えて、今後に関連する情



写真15 雌穂断面
(撮影:令和4年11月10日)

報を収集・蓄積すると共に、写真15の様にトウモロコシをミルクラインが完熟期まで栽培する必要があることから「3考察(1)飼料用トウモロコシ品種展示圃

」で述べたとおり、根腐病発生の抑制につながる適正な堆肥施用について情報を発信したい。

5 参考資料

- 1) 「次代へつなぐ、笑顔あふれる信州の食と農業・農村」第3期長野県食と農業農村振興計画
- 2) 農林水産省農林水産会議事務局編 飼料作物系統適応性検定試験実施要領(改定5版)
- 3) 北海道新得畜産試験場編 新得畜試研究報告3(1972)
- 4) 一般社団法人長野県植物防疫協会編 令和5年版農作物病虫害・雑草防除基準
- 5) 長野県新しく普及に移す農業技術(1995) 飼料用とうもろこしとして極早生種「N3624」「DK535」早生種「8492」「FFR747」は有望である
- 6) 長野県新しく普及に移す農業技術(1997) 飼料用とうもろこしとして早生種「P3699」晩生種「G4655」は有望である
- 7) 長野県新しく普及に移す農業技術(1998) 飼料用ソルガムとして「東山交21号(葉月)」は有望である
- 8) 長野県新しく普及に移す農業技術(1999) 飼料用とうもろこしとして早生種「DK727」は有望である
- 9) 長野県新しく普及に移せる農業技術(2000) 飼料用とうもろこしとして「DK483」は有望である
- 10) 長野県新しく普及に移す農業技術(2000) 飼料用とうもろこしとして「32K61」は有望である

- 11) 長野県新しく普及に移す農業技術(2000) 高消化性遺伝子” bmr” を持つ「東山交(秋立)」は、消化性・嗜好性及び耐倒伏性に優れ、飼料用ソルガムとして有望である
- 12) 長野県新しく普及に移す農業技術(2000) 飼料用とうもろこし「33J24」「KD670」「GX5006」は有望である
- 13) 長野県新しく普及に移す農業技術(2005) 飼料用とうもろこし「33N43」は有望である
- 14) 長野県普及に移す農業技術(2007) 飼料用とうもろこしとして「34B39」「32F27」は有望である
- 15) 長野県普及に移す農業技術(2008) 飼料用とうもろこし「31P41」は中生品種として有望である
- 16) 長野県中信農業試験場報告(2008)
- 17) 長野県普及に移す農業技術(2011) 中生の飼料用とうもろこし新品種「タカネフドウ」は多収で耐倒伏性に優れる
- 18) 長野県普及に移す農業技術(2011) 飼料用とうもろこし「P1690」、 「P2088」は多収で病害発生が少なく有望である
- 19) 長野県普及に移す農業技術(2013) 飼料用とうもろこし極早生品種「LG3490」と「LG3520」、早生品種「P1543」は耐倒伏性が高く多収な品種である
- 20) 長野県普及に移す農業技術(2017 試行) 飼料用ソルガム「東山交 37 号」は高消化性と紫斑点病抵抗性を併せ持つ晩生のソルゴー型品種である
- 21) 長野県普及に移す農業技術(2019) 飼料用とうもろこし「P9027」、 「P1063」は多収で病虫害の発生が少なく有望である
- 22) 長野県普及に移す農業技術(2020) 飼料用とうもろこし「KD641」は、多収で牛の選好性もよく有望である
- 23) 長野県普及に移す農業技術(2021 試行) 飼料用ソルガム「東山交 38 号」は高消化性の極晩生品種として有望である
- 24) 国立研究開発法人農業技術総合研究機構編(2019) 子実用トウモロコシ生産・利活用の手引き(都府県向け) 第1版

伊藤達也
(畜産試験場)

要 約

長野県のサイレージ用のとうもろこし収穫は9月から行われるが、9月の長雨や台風の被害を少しでも回避するために収穫時期の早い極早生品種の利用について検討した。標高 760mの試験場ほ場において、市販の飼料用とうもろこしの極早生 (RM90、93、95) 7 品種を用いて、密植区 (8,333 本/10a)、標準区 (7,020 本/10a) の栽培試験を3ヵ年 (2019～2021 年) 実施した。播種を 2019 年は5月9日、2020年と2021年は5月12日に実施したところ、8月下旬に収穫できることが確認できた。このことにより長雨や台風による被害を受けやすい9月を回避できると考えられた。また早生品種の ZX9595 (RM95) を密植栽培すると収穫量を約6%増やせることを確認した。

背景および目的

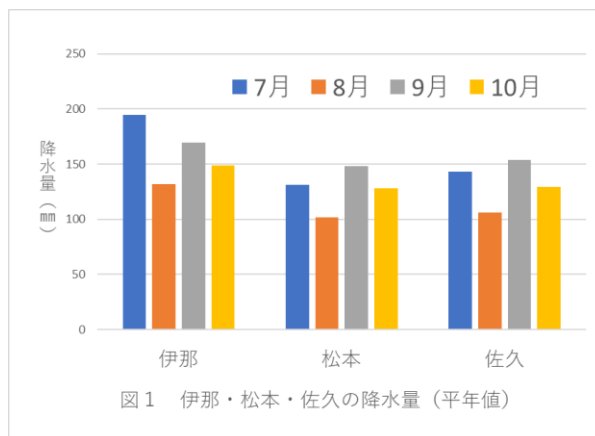
青刈りとうもろこしは、栄養価の高い子実と良質な繊維を含む茎葉からなり、県内の酪農家ではサイレージ飼料として栽培されている。長野県で栽培されているとうもろこし品種は、主に RM (相対熟度、表1) 110日～125日 が利用されており、収穫時

表1 早晚性とRM

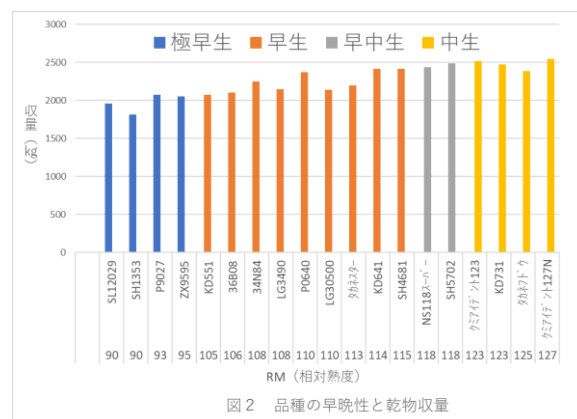
早晚性	RM (相対熟度、日)
極早生	RM105以下
早生	RM115以下
早中生	RM120以下
中生	RM127以下

※種苗会社の道府県カタログを参照

期が9月以降となるため、長雨や台風による被害を受けやすく、適期収穫ができないことがある。図1は長野県の青刈りとうもろこしが多く生産されている地域での7月から10月までの降水量の平年値です。9月は8月や10月より降水量が多く、松本、佐久では7月の梅雨時期より降水量が多くなっている。そこで、9月より前に収穫が可能と考えられる RM90～95 日の極早生品種を栽培することで長雨や



台風の被害を少しでも回避できるのではないかと考えた。しかし、極早生の乾物収量は、RM が長い品種の乾物収量より少ない傾向がみられる (図2)。そこで極早生品種の収量を増やす方法として、密植栽培について検討を行い、収穫時期及び収量性について明らかにしたので報告する。



材料および方法

当場のほ場 (標高 760m) において、市販の極早生7品種を用いて栽培試験を実施した。2019 年は、P9027 (RM93)、ベネット 95 (RM95)、ZX9595 (RM95) の3品種、2020 年は、SL12029 (RM90)、SH1353 (RM90)、TH13103 (RM90)、ZX9595 (RM95) の4品種、2021 年は SL12029 (RM90)、SH1353 (RM90)、TH13101 (RM95)、ZX9595 (RM95) の4品種を供試した。栽培密度は、標準区では条間75cm、株間19cmの10aあたり7,020本とし、密植区では条間75cm、株間16cmの10aあたり8,333本とした。播種日は、2019年は5月9日、2020年と2021年は5月12日とした。肥料は、牛糞堆肥5

t/10a、苦土石灰 40kg/10a、熔リン 40kg/10a、硫安 50kg/10a を施用した。1 区の面積は 12.0m² (4 畦) とし、3 反復で調査した。殺虫剤は、クルーザー FS30 を種子塗布し、除草剤は、ゲザノンゴールドを土壌処理し、アルファードフロアブルを 5 葉期に茎葉処理した。調査は、とうもろこし系統適応性検定試験実施要領に準じて実施した。

結果および考察

【2019 年度】

密植区の着雌穂高及び着雌穂高率は、標準区に比べ有意に高くなった。調査した 3 ヶ年の中で唯一倒伏がみられたが、密植の影響はみられなかった。8 月下旬に刈り取り適期の基準であるミルクライン数値が「5」前後となっていたため、8 月下旬が刈り取り適期と考えられた。また、密植区のミルクラインの数値は、標準区に比べ小さかったことから、熟期が遅れていた。乾物収量は、密植の効果はみられなかった (表 2)。

【2020 年度】

密植区の乾物収量及び TDN 収量は、標準区に比べ有意に多くなった。その他の調査項目は、密植の影響はみられなかった。収穫調査は、SL12029 を 9 月 1 日に実施したが、標準区のミルクラインが 8.4 となり収穫適期を過ぎていた。また、SH1353 は 8 月 21 日に実施したがミルクラインが 2.7 となり収穫適期より早い時期であった。このことから調査した 4 品種は 8 月 25 日頃が刈り取り適期と考えられた (表

3)。

【2021 年度】

調査項目の中で密植区の着雌穂高が標準区に比べ 5%水準で有意に高くなった。その他の調査項目は、密植の影響はみられなかった。収穫調査は 8 月下旬に実施し、SH1353 はミルクライン数値から熟期は進んでいたが、4 品種は 8 月下旬が刈り取り適期と考えられた (表 4)。

【3 ヶ年栽培した ZX9595】

ZX9595 は、3 ヶ年調査を実施した。収穫日はミルクラインの数値が「5」前後となっているため、8 月下旬が刈り取り適期と考えられた。密植区の乾物収量は、標準区に比べ 1%水準で有意に多くなった。その他の調査項目は、密植の影響はみられなかった。

【全体のまとめ】

標高 760m で極早生品種である RM90~RM95 の品種を 5 月 12 日までに播種すると、8 月下旬に収穫が可能である。栽植密度を高くすると着雌穂高率 (着雌穂高/稈長×100) が高くなる傾向がみられたが、倒伏への影響はみられなかった。ミルクラインの数値から密植すると熟期が遅くなる傾向がみられた。極早生品種の収量は、標準密度では RM115 日の早生品種に比べると 10~15%程度少ないが、栽植密度 8333 本/10a に高くすると、ほとんどの品種で収穫量が多くなる傾向がみられ、3 年間調査した ZX9595 では 117 kg/10a 多くなった。しかし ZX9595 を密植栽培しても 6%程度の増収のため、早生品種

表 2 2019 年生育概況

試験区	品種名	RM	絹糸	稈長	着雌穂高	着雌穂高率	倒伏	収穫日	ミルクライン	乾物率	乾物収量	乾雌穂重割合	TDN 収量 ²⁾
			抽出期										
密植	P9027	93	7/15	246	108	44.1	6.7	8/26	4.5	33.0	2231	57.5	1642
	ベネット95	95	7/17	253	129	48.2	25.0	8/29	4.9	28.4	2071	55.9	1516
	ZX9595	95	7/15	277	111	40.0	16.7	8/27	5.7	29.3	2195	53.9	1595
	平均		7/15	259	116	44.1	16.1	8/27	5.0	30.2	2166	55.8	1584
標準	P9027	93	7/13	249	105	42.2	0.0	8/26	4.9	33.1	2193	54.9	1599
	ベネット95	95	7/17	246	119	48.2	23.3	8/29	5.1	29.2	2089	56.4	1532
	ZX9595	95	7/14	279	107	38.3	21.7	8/27	6.3	30.4	2167	52.6	1567
	平均		7/15	258	110	42.9	15.0	8/27	5.4	30.9	2150	54.6	1566
分散分析 ³⁾													
栽植密度			NS	*	**	NS				NS	NS	NS	NS
品 種			***	***	***	NS				***	NS	*	NS
交互作用			NS	NS	NS	NS				NS	NS	NS	NS

1) ミルクライン：0 (黄熟未満) ~ 10 (完熟)。

2) 推定 TDN 収量 = 乾茎葉重 × 0.582 + 乾雌穂重 × 0.85。

3) NS：有意差なし、*：5%水準で有意、**：1%水準で有意、***：0.1%水準で有意。

との収量差を埋めることはできなかった。
以上のことから、準高冷地において極早生品種利用は、長雨や台風の発生による被害を受けやすい9

月を回避できると考えられた。なお極早生の密植による増収は、品種間に差があるので、もう少し検討する必要がある。

表3 2020年生育概況

試験区	品種名	RM	絹糸	稈長	着雌	着雌穂	倒伏	収穫日	ミルク	乾物	乾物	乾雌	TDN
			抽出期		穂高	穂高			ライン			率	
			月/日	cm	cm	%	%	月日	0-10 ¹⁾	%	kg/10a	%	kg/10a
密植	SL12029	90	7/12	218	90	41.3	0.0	9/1	8.3	36.0	2223	50.6	1595
	SH1353	90	7/11	222	100	45.5	0.0	8/21	2.5	28.4	1839	49.4	1314
	TH13103	90	7/16	227	109	48.2	0.0	8/27	4.1	33.9	2010	54.5	1463
	ZX9595	95	7/13	251	110	43.9	0.0	8/25	5.5	30.9	2185	53.5	1585
	平均		7/13	229	102	44.7	0.0	8/26	5.1	32.3	2064	52.0	1489
標準	SL12029	90	7/12	214	87	40.8	0.0	9/1	8.4	37.8	1930	50.5	1385
	SH1353	90	7/10	216	102	47.1	0.0	8/21	2.7	29.0	1700	52.1	1227
	TH13103	90	7/14	232	108	46.6	0.0	8/27	4.5	34.1	1792	54.6	1305
	ZX9595	95	7/12	245	104	42.5	0.0	8/25	4.7	29.6	1964	52.1	1417
	平均		7/12	227	100	44.3	0.0	8/26	5.1	32.6	1847	52.3	1334
分散分析 ³⁾													
栽植密度				NS	NS	NS	-			NS	***	NS	***
品 種				***	***	***	-			***	***	***	***
交互作用				NS	NS	NS	-			**	NS	NS	*

1) ミルクライン：0（黄熟未満）～10（完熟）。

2) 推定TDN収量＝乾茎葉重×0.582＋乾雌穂重×0.85。

3) NS：有意差なし、*：5%水準で有意、**：1%水準で有意、***：0.1%水準で有意。

表4 2021年生育概況

試験区	品種名	RM	絹糸	稈長	着雌 穂高	着雌 穂高 率	倒伏	収穫日	ミルク ライン	乾物 率	乾物 収量	乾雌 穂重 割合	TDN 収量 ²⁾
			抽出期										
密植	SL12029	90	7/14	241	102	42.3	0.0	8/30	6.1	38.6	1940	58.1	1431
	SH1353	90	7/13	250	111	44.4	0.0	8/31	7.5	35.3	2018	58.2	1489
	TH13101	95	7/18	267	128	48.0	0.0	8/30	4.9	32.7	2079	58.9	1538
	ZX9595	95	7/15	276	118	42.9	0.0	8/27	5.3	28.8	2119	56.8	1556
	平均		7/15	259	115	44.4	0.0	8/29	6.0	33.9	2039	58.0	1504
標準	SL12029	90	7/13	237	96	40.5	0.0	8/30	6.3	36.1	1949	56.9	1432
	SH1353	90	7/13	249	110	44.2	0.0	8/31	7.6	34.4	1920	58.3	1417
	TH13101	95	7/18	260	120	46.2	0.0	8/30	4.9	32.8	2071	58.8	1531
	ZX9595	95	7/15	269	114	42.4	0.0	8/27	5.4	29.5	2017	56.1	1477
	平均		7/14	254	110	43.3	0.0	8/29	6.1	33.2	1989	57.5	1464
分散分析 ³⁾													
栽植密度				NS	*	NS	NS			NS	NS	NS	NS
品 種				***	***	***	NS			***	NS	*	*
交互作用				NS	NS	NS	NS			*	NS	NS	NS

1) ミルクライン：0（黄熟未満）～10（完熟）。

2) 推定TDN収量＝乾茎葉重×0.582＋乾雌穂重×0.85。

3) NS：有意差なし、*：5%水準で有意、**：1%水準で有意、***：0.1%水準で有意。

表5 「ZX9595」の3カ年の生育概況（2019年～2021年）

品種名	年次	播種日	絹糸	稈長	倒伏	収穫 日	ミルク ライン	乾物 率	乾物 収量	対標 準比	乾物雌 穂重	TDN 収量 ²⁾
		月/日	抽出期 月/日									
ZX9595 密植	2019	5/9	7/14	279	21.7	8/27	5.7	29.3	2195	101	1185	1595
	2020	5/12	7/13	251	0.0	8/25	5.5	30.9	2185	111	1168	1585
	2021	5/12	7/15	276	0.0	8/27	5.3	28.8	2119	105	1214	1556
	平均	5/11	7/13	269	7.2	8/26	5.5	29.7	2166	106	1189	1579
ZX9595 標準	2019	5/9	7/14	279	21.7	8/27	6.3	30.4	2167	100	1141	1567
	2020	5/12	7/12	245	0.0	8/25	4.7	29.6	1964	100	1024	1417
	2021	5/12	7/15	269	0.0	8/27	5.4	29.5	2017	100	1131	1477
	平均	5/10	7/13	265	7.2	8/26	5.5	29.8	2049	100	1099	1487
分散分析 ³⁾												
栽植密度				NS	NS			NS	**	NS	NS	
年 次				***	**			*	*	***	***	
交互作用				NS	NS			**	NS	NS	*	

1) ミルクライン：0（黄熟未満）～10（完熟）。

2) 推定TDN収量＝乾茎葉重×0.582＋乾雌穂重×0.85。

3) NS：有意差なし、*：5%水準で有意、**：1%水準で有意、***：0.1%水準で有意。

(畜産試験場)

はじめに

黒毛和種繁殖雌牛の繁殖成績向上を目的として、ビタミンA (VA) 製剤やβ-カロテン含量の多い飼料等の給与が行われているものの、理想的な血液成分値は明確になっていない。また、長野県の家畜保健衛生所では黒毛和種繁殖雌牛の代謝プロファイルテストを実施し、栄養度や血中成分値について貴重なデータを蓄積しているが、繁殖成績と関連したものにはなっていない。そこで、本研究では家畜保健衛生所が行う代謝プロファイルテストを参考に、畜産試験場で飼養する黒毛和種繁殖雌牛の分娩前後の栄養度及び血中生化学成分値と、繁殖性に関連のある項目や数値について調査した。

1 材料と方法

畜産試験場にて繋養する黒毛和種繁殖雌牛のべ24頭の分娩前60日、30日、分娩後30日、60日、90日、150日に繁殖雌牛の栄養度評価及び採血を行い、血清VA、ビタミンE (VE)、β-カロテン、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、アルブミン:グロブリン比 (AG比)、GOT、GGT、血中尿素窒素 (BUN)、総コレステロール (TCHO)、グルコース (Glu)、BUN:Glu比 (BG比)、ヘマトクリット値 (Hct) を測定し、分娩後の発情回帰日数、受胎に要した人工授精回数、空胎日数との関連を調査した。なお、試験に供した牛群の平均発情回帰日数は50.7±2.2日 (平均値±標準誤差、以下同じ)、受胎に要した平均人工授精回数は1.6±0.2回、平均空胎日数は84.0±7.4日だった。

2 結果

分娩後の発情回帰が遅かった個体は分娩前60日にGlu値が高かった (図1)。受胎に要し

た人工授精回数が多かった個体は分娩前30日にGlu値が低く (図2)、BG比が大きかった (図3)。受胎に要した人工授精回数が多かった個体は分娩後90日にGlu値が低かった (図4)。発情回帰が遅かった個体は分娩後90日でのHct値が低かった (図5)。なお、検査時に脱水等が見られた個体はいなかった。

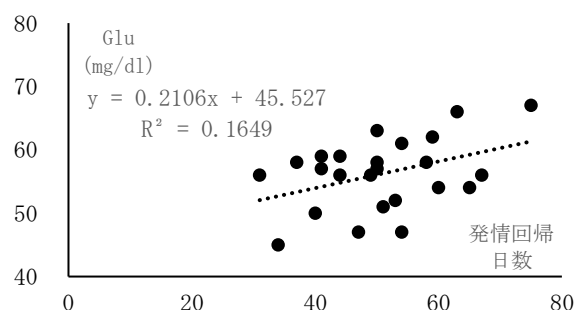


図1 発情回帰日数と分娩前60日のGlu (2020~2022年度、畜産試験場)

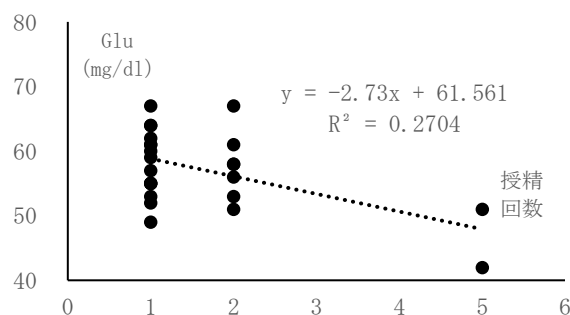


図2 授精回数と分娩前30日のGlu (2020~2022年度、畜産試験場)

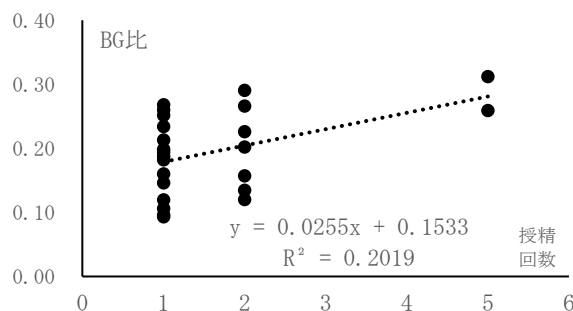


図3 授精回数と分娩前30日のBG比 (2020~2022年度、畜産試験場)

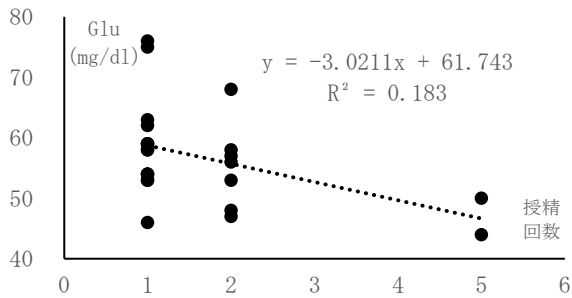


図4 授精回数と分娩後90日のGlu
(2020～2022年度、畜産試験場)

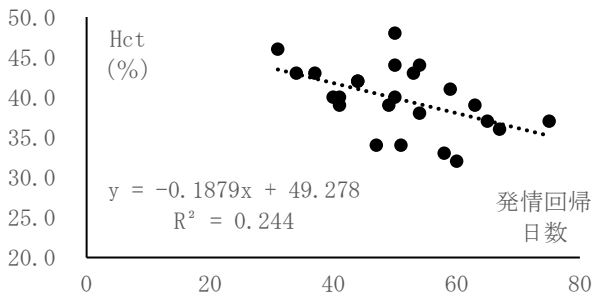


図5 発情回帰日数と分娩後90日のHct
(2020～2022年度、畜産試験場)

分娩後の初回授精にて受胎した群を初回群、2回目以降の人工授精にて受胎した群を2回目以降群として比較した結果、分娩後30日でのVE値は初回群が2回目以降群より高かった(図6)。また、分娩後90日でのGlu値も初回群が高かった(図7)。なお、空胎日数は初回群が短かったが、発情回帰日数には差がなかった。

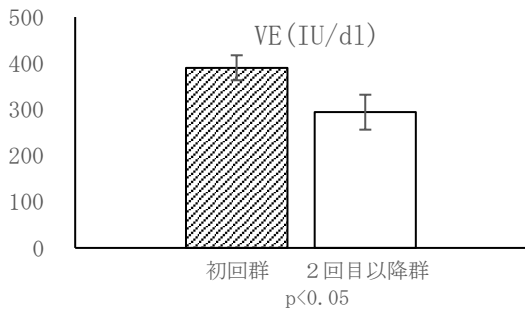


図6 分娩後30日のVE値
(2020～2022年度、畜産試験場)
エラーバーは標準誤差を示す。

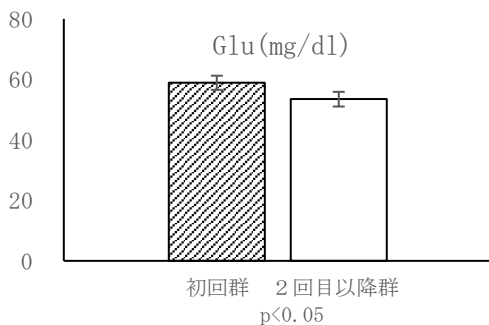


図7 分娩後90日のGlu値
(2020～2022年度、畜産試験場)

本試験で得られた栄養度及び血中生化学成分値の測定結果を示した(図8～21プロットは本試験測定値、破線は平均値、実線は県平均値、横軸は分娩後日数)。

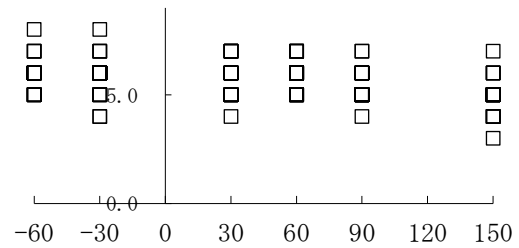


図8 栄養度
(2020～2022年度、畜産試験場)

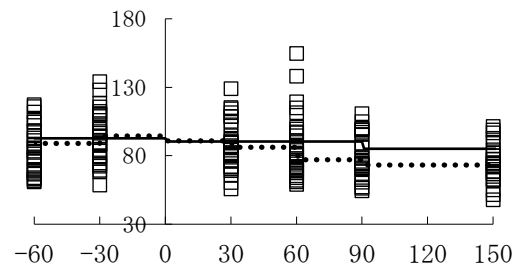


図9 VA (IU/dl)
(2020～2022年度、畜産試験場)

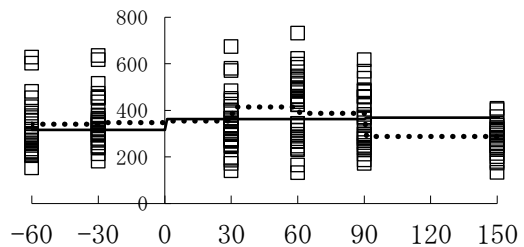


図10 VE (IU/dl)
(2020～2022年度、畜産試験場)

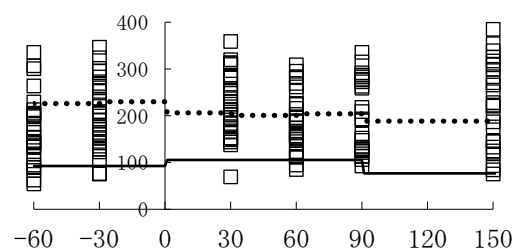


図11 β-カロテン (μg/dl)
(2020～2022年度、畜産試験場)

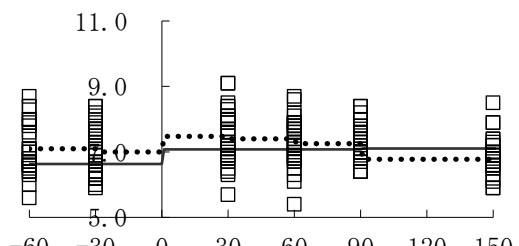


図12 TP (g/dl)
(2020～2022年度、畜産試験場)

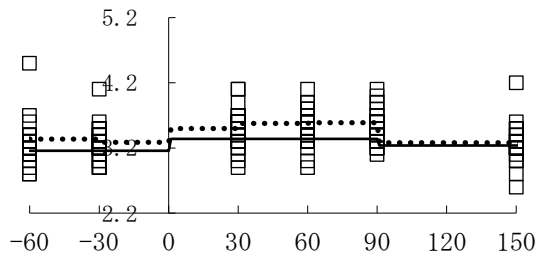


図13 Alb (g/dl)
(2020~2022年度、畜産試験場)

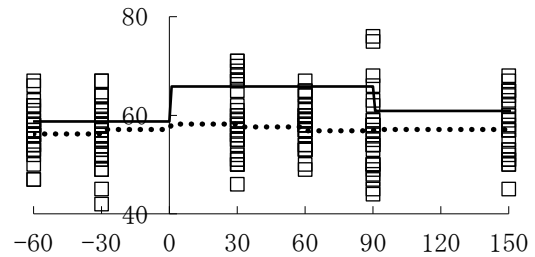


図19 Glu (mg/dl)
(2020~2022年度、畜産試験場)

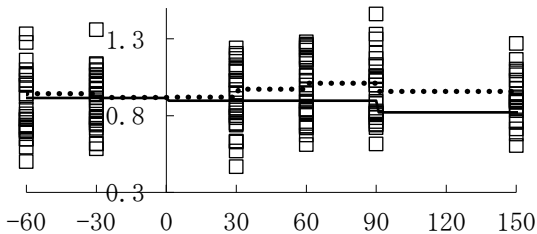


図14 AG比
(2020~2022年度、畜産試験場)

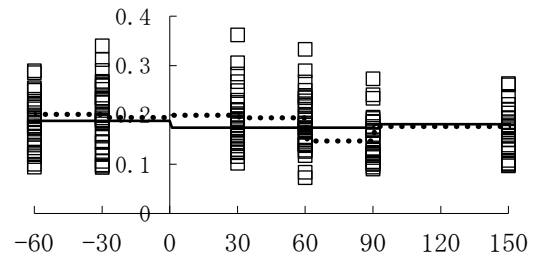


図20 B/G比 (BUN/Glu比)
(2020~2022年度、畜産試験場)

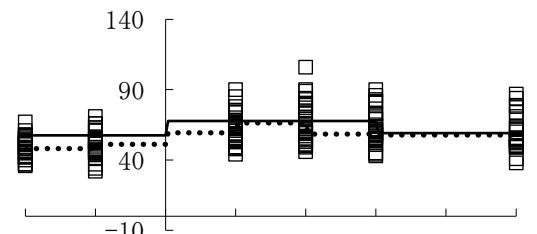


図15 GOT (IU/L)
(2020~2022年度、畜産試験場)

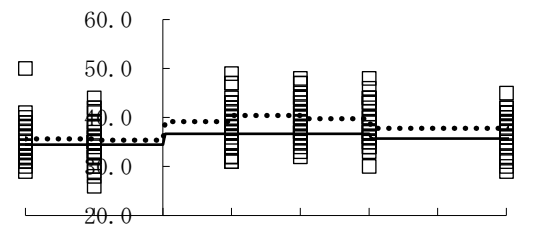


図21 Hct (%)
(2020~2022年度、畜産試験場)

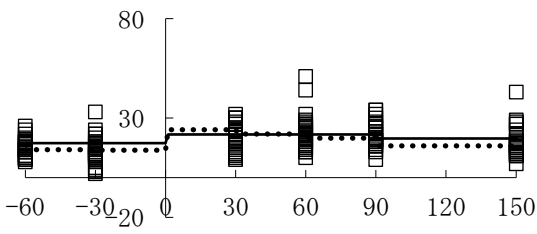


図16 GGT (IU/L)
(2020~2022年度、畜産試験場)

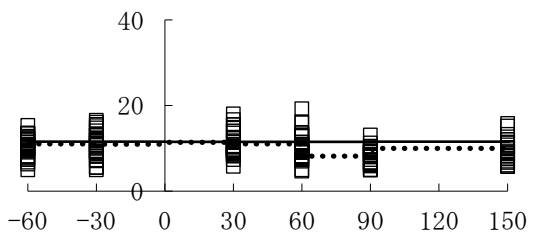


図17 BUN (mg/dl)
(2020~2022年度、畜産試験場)

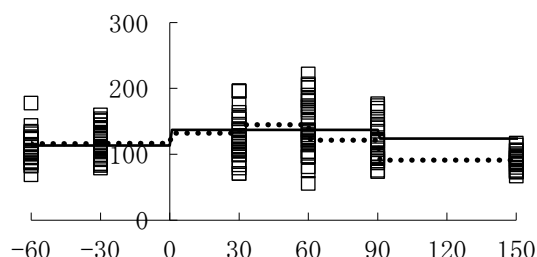


図18 TCHO (mg/dl)
(2020~2022年度、畜産試験場)

本試験に用いた畜産試験場繁殖雌牛群は長野県平均と比較して、 β -カロテン値が顕著に高かった。

3 考察

グルコースが低い個体で受胎に要する人工授精回数が多くなること、BG比が大きくなると受胎に要する人工授精回数が多くなること、ヘマトクリット値が低いと発情回帰が遅れることについては、分娩後の繁殖雌牛の栄養状態が繁殖性に影響していると考えられた。また、本試験に用いた牛群は長野県平均と比較して β カロテン値が顕著に高く、こちらも繁殖成績に影響していると考えられた。

今回の試験からは特に分娩後の適正な飼料給与により、繁殖雌牛の栄養状態を良好に保つことで、繁殖成績が改善できることが示唆された。

○藤森祐紀
畜産試験場

1 目的

牛体外受精卵は卵巣から未成熟卵子を採取して、体外で卵子を成熟培養させ体外受精し、その後、発生培養を行い、受精卵を作出する。この体外受精卵については体外での培養の条件が体内での受精卵の発生環境と異なることから、体内受精卵に比べて品質が低下し、移植可能受精卵の発生率や受胎率が低いという課題がある。これは体外成熟卵子の細胞質成熟の不完全さが、体外受精卵の発生率が低いことが原因と考えられている。

近年、受精卵の経時的観察が可能な受精卵観察システムがヒト生殖補助医療においても注目されており、有効性が確認されている。そこで、受精卵観察システムを用いて、移植可能受精卵への発生率の高い体外受精卵の選別手法を検討したところ、成果が認められたので報告する。

2 体外受精卵の作製と観察

卵子吸引及び検卵

食肉処理場より採取した卵巣から5mlのシリンジと19Gの注射針を用いて、未成熟卵子を吸引採取した。未成熟卵子は1%子牛血清添加乳酸加リンゲル液に入れた遠心管に入れ洗浄した。洗浄後、実体顕微鏡下で卵子を検索し、卵丘細胞が緊密に付着した卵子を選別（AランクとBランク）し、成熟培養した。なお採取した卵子は卵丘細胞の付着状況により次のとおり分類した。

Aランク：卵丘細胞が3層以上で透明帯周囲に緊密に付着したもの

Bランク：卵丘細胞が2層以下又は透明帯周囲1/3以上に付着したもの

Cランク：裸化卵子又はBランクより卵丘細胞の付着が少ないもの

Dランク：卵丘細胞層が膨化又は蜘蛛の巣状に変性したもの

成熟培養

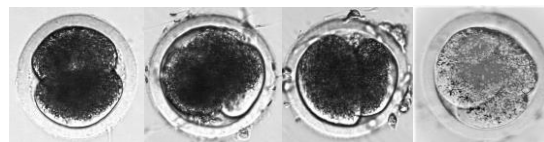
採取卵子は、5%CO₂、95%空気、38°Cの条件で20~22時間程度成熟培養した。成熟培養液は、5%子牛血清添加TCM199を用いた。

媒精

成熟培養後の卵子は、凍結精液（新守秀）を用いて媒精した。精子の受精能獲得誘起には、精子洗浄液（IVF100、機能性ペプチド研究所）で遠心洗浄することで行い、最終濃度500万/mlの精子懸濁液を100ulのドロップの形に分注し、成熟培養後の卵子を約15個ずつ導入して5%CO₂、95%空気、38°Cの条件で6時間媒精した。

受精卵観察システムによる発生培養中の胚の観察

媒精6時間後に卵子を発生培地（5%子牛血清添加修正合成卵管液）に移し、ピペettingにより卵子を裸化した。その後、発生培地入りの受精卵観察システム専用デッシュに受精卵を移し、5%CO₂、95%空気、38.5°Cの条件で受精卵観察システム（アステック）で30分毎に媒精開始後8日目まで撮影し、胚盤胞の発生状況を調査した。また卵割パターンは正常卵割（フラグメント※のない2個の均等な割球）と異常卵割（①フラグメントのあるもの、②不均等な大きさの割球を持つもの、③第一卵割において3から5個の割球に卵割したもの）に分類した（図1）。



均等卵割 ①フラグメント ②不均等卵割 ③3細胞

図1 均等卵割と異常卵割

※フラグメントとは受精卵が細胞分裂する際に発生する細胞断片

3 正常卵割と異常卵割の発生率

媒精後に胚盤胞胚まで発育した受精卵の第1卵割時における正常卵割と異常卵割について発生率を比較した。正常卵割した受精卵は、異常卵割したものと発生率に有意な差が認められた(表1)。

表1 第1卵割時の卵割の違いによる発生率の差
(2020~2021年度、畜産試験場)

卵割様式	胚盤胞胚発生率	
	数(個)	率(%)
正常卵割(n=244)	38	15.6
異常卵割(n=74)	5	6.8

4 媒精後8日目の受精卵の発育ステージと第1卵割形成開始時間との比較

媒精後の8日目の受精卵の発育ステージと第1卵割形成開始時間を図2に示した。2細胞までしか発育しなかった受精卵の第1卵割開始時間は媒精後平均34.5時間で、4細胞までしか発育しなかった受精卵は28.2時間、8細胞までは27.5時間、桑実胚までは25時間、胚盤胞胚まで発育したものは26時間となり、2細胞までしか発育しなかった受精卵は4細胞以上に発育した受精卵に比べ、卵割時間が有意に延長することが認められた。

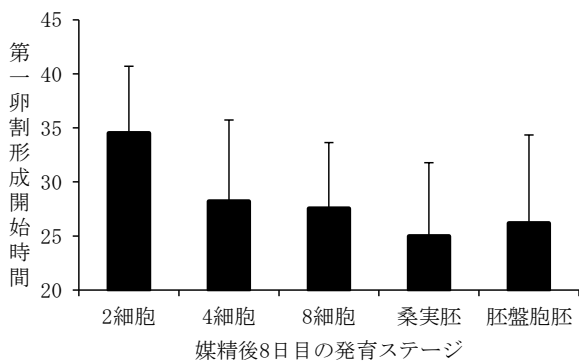


図2 媒精後8日後の受精卵の発育ステージ毎の第1卵割形成開始時間の比較

5 媒精後8日後に胚盤胞胚まで発育した受精卵の第1卵割形成開始時間と発生数の比較

胚盤胞胚まで発育した受精卵の第1卵割形成開始時間の平均26時間を境とし、胚盤胞胚への発生数の比較を表2に示した。26時間以内に第1卵割を形成開始をした受精卵は、26時間以降に第1卵割形成を開始したものに比べ、胚盤胞胚発生数の割合が高まっ

た。なお胚盤胞胚まで発育した受精卵38個は34時間以内に第1卵割の形成を開始した。

表2 正常卵割をした受精卵の第1卵割形成開始時による発生数の比較(2020~2021年度、畜産試験場)

第1卵割形成開始時間	胚盤胞胚発生数(%)
26時間未満	26(68%)
26時間以上34時間未満	12(32%)

6 まとめ

第1卵割において正常卵割したものは異常卵割したものに比べ、胚盤胞胚発生率が高いことが明らかになった。また2細胞までしか発育しなかった受精卵の第1卵割形成開始時間は、他のもの(4細胞胚、8細胞胚、桑実胚、胚盤胞胚)に比べ、卵割時間が有意に延長した。さらに媒精後26時間未満に第1卵割を開始した受精卵は胚盤胞胚の発生率が高いことが明らかになった。これらから、媒精後26時間目に受精卵の発育状況を観察することで、受精卵観察システムを有していなくても胚盤胞胚の発生率が高い受精卵を選別できることが示唆された。今後、これは経膣採卵による体外受精卵作出にも応用可能と考えられた。

7 参考文献

ウシ体外受精胚生産における高品質胚の簡易判別技術の開発と培養液の改善 千葉畜セ研報 19 1-6

高い受胎率が望める体外胚生産技術の確立 佐賀畜試研報 55 7-10

小田 恋

(農業大学校畜産研究科)

1 目的

アニマルウェルフェア（以下AW）の考え方が国際的には世界標準となりつつあり、我が国においてもAWの導入は不可欠となっている。地鶏のAWについては、国内における飼育管理基準としてJAS規格により飼育期間・方式・密度等が示されているものの、種鶏のケージ飼育、産卵箱や止まり木の未設置等、AWの理念に沿わないと思われる飼育も行われている。

昨年度、演者らは本県のブランド地鶏である「信州黄金シャモ」において止まり木設置の影響を検討したところ、止まり木の利用率を高めるには、止まり木に乗るトレーニングが必要であること、止まり木の利用率には系統間差があること、止まり木の設置により鶏は俊敏な行動をとるようになること等が明らかとなった。鶏の俊敏な行動は、エネルギーロスによる飼料要求率の悪化が懸念される一方、筋肉量が増えることによるモモ肉量の増加、胸部の床面との接触時間が減ることによる胸部水疱の減少等の効果が期待できる。

そこで、本研究では県産地鶏として普及に移した「長交鶏 3号」における止まり木の利用特性および止まり木の設置による発育、産肉成績に及ぼす影響を検討した。

2 材料および方法

畜産試験場内の平飼い鶏舎において試験を実施した。試験鶏は「長交鶏 3号」で、止まり木を設置しない慣行区に対し、高さ20cm×長さ1.8m、高さ50cm×長さ1.8mおよび高さ100cm×長さ1.8mの3本の止まり木を設置する試験区を比較した。試験鶏は、ふ化から21日齢までは立体育雛バタリーで育雛し、22日齢に平飼い試験鶏舎に

移動した。移動にあたって、昨年度の試験結果に準じて、人為的に止まり木に鶏を乗せるトレーニングを行いながら実施した。止まり木に乗った個体を確認するため、試験区の鶏には個体番号を付した翼章を装着した。試験期間は22～98日齢、試験羽数と反復は1区36羽×2反復、試験区画は2.6×3.4m区画、飼育密度は各処理区とも4.1羽/m²、雄雌混飼とした。

止まり木の利用特性調査は、8/19、8/22～8/26、8/29、8/30（79～92日齢）の10日間実施した。朝8:30、昼13:00、夕16:00にそれぞれの時間帯に止まり木に乗っている個体数と個体番号を調査した。発育および産肉性調査については期間中の育成率、飼料要求率、試験終了時の体重および産肉量を調査した。また、試験終了時には胸部水疱（通称ムネダコ）の発生率について調査した。

3 結果

(1) 止まり木の利用特性

鶏が止まり木を利用した時間帯は1日のうち朝の時間帯が最も多く、昼および夕と比較して2倍程度高い結果となった（図1）。止まり木の高さ別のべ利用羽数は、高さ20cmの止まり木が最も多く、ついで高さ50cmであった。高さ100cmの止まり木は最も利用羽数が少なかったが、肥育鶏でも1mの高さまで止まりに行く鶏が存在することが明らかとなった（図1）。

止まり木の個体別利用回数については雄鶏では個体No.1の個体のように、特定の個体が利用する一方で、雌鶏では多くの個体がまんべんなく利用する傾向であった（図2）。止まり木の利用回数の合計は雌、雄とも同程度で性による明確な差はなかった（図3）。

(2) 止まり木の設置が発育および産肉成績に及ぼす影響

育成率、飼料要求率には両区間に明確な差はなかった（表1）。体重についても、雌鶏では試験区と慣行区は同程度であったが、雄鶏では試験区が慣行区に比較して若干高い結果となった。しかし、顕著といえるほどの差ではなかった（図4）。産肉量についても体重と同様の傾向で、試験区と慣行区の間に顕著といえるほどの差はなかった（表2）。

胸部水疱については通称ムネダコと呼ばれ、「信州黄金シャモ」の一部の生産者で発生が問題となっている。ブロイラーでは発育のいい鶏群、湿った敷料での飼育、敷料不足等で発生が助長されると報告されている。

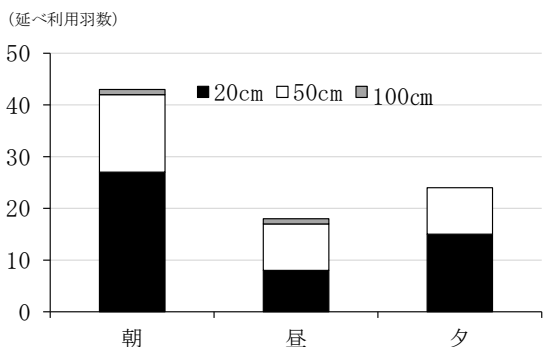


図1 鶏が止まり木を利用した時間帯と止まり木の高さの関係 (2022年) 調査した10日間×3時間帯×2試験区の合計値を示す。

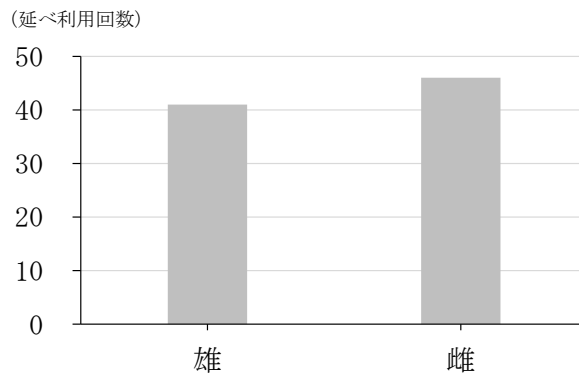


図3 性の違いが止まり木の利用回数に及ぼす影響 (2022年) 調査した10日間×3時間帯×2試験区の合計値を示す。

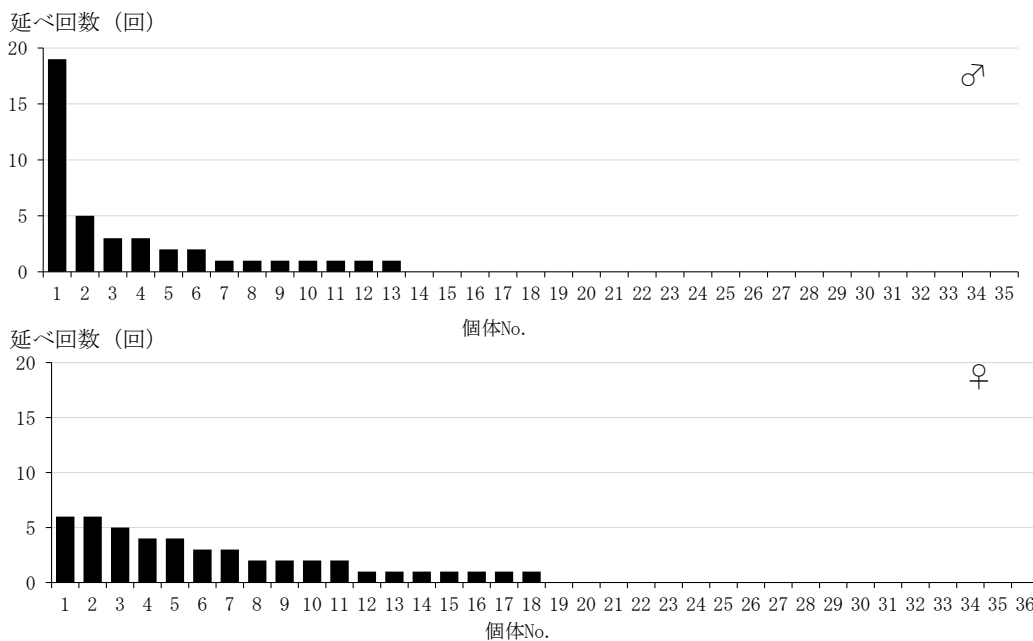


図2 性の違いが止まり木の個体別利用回数に及ぼす影響 (2022年) 調査した10日間×3時間帯×2試験区の合計値を示す。

表1 止まり木の設置が育成率および飼料要求率に及ぼす影響(2022年)

	育成率 (%)	飼料要求率
試験区	99	3.4
慣行区	99	3.3

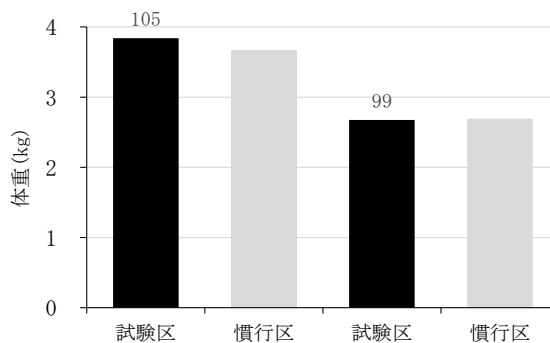


図4 止まり木の設置が試験終了時の体重に及ぼす影響 (2022年) 棒上の数字は対慣行区比を示す。

表2 止まり木の設置が産肉成績に及ぼす影響 (2022年)

性	処理	モモ肉		ムネ肉		正肉		腹腔内脂肪	
		重量g	比率%	重量g	比率%	重量g	比率%	重量g	比率%
♂	試験区	758	22.6	467	13.9	1,343	40.0	99	3.0
	慣行区	765	23.6	419	12.9	1,295	39.9	89	2.8
♀	試験区	514	21.7	335	14.2	936	39.7	104	4.4
	慣行区	518	22.6	324	14.2	924	40.3	92	4.0

各区♂2羽、♀2羽調査した。

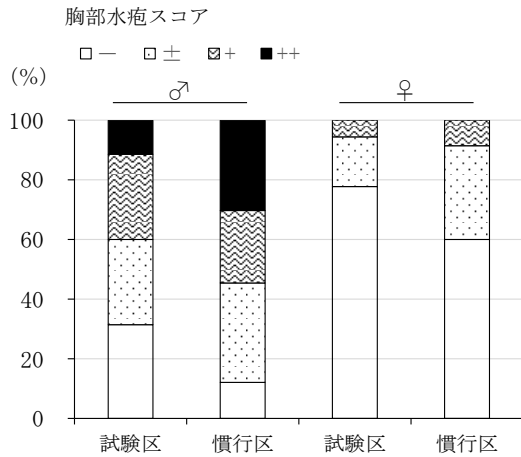


図5 止まり木の設置が胸部水疱の発生率および程度に及ぼす影響 (2022年)

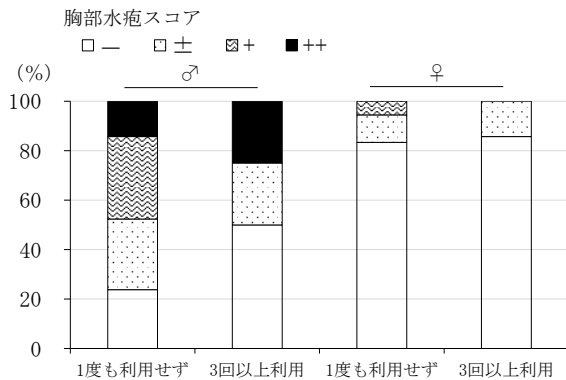


図6 止まり木の利用回数と胸部水疱の発生頻度および程度の関係 (2022年)

この症状が甚だしいと、中抜きでの販売が困難となり、部分肉による販売となるため、経済的損失が大きいとされている。本試験では4つの指数でそれぞれの個体の胸部水疱の発生程度を評価した(表3)。止まり木設置が胸部水疱の発生率に及ぼす影響については雄鶏では胸部が脱毛し、水疱ができた個体割合、スコア+と++の合計は慣行区が55%であったのに対し試験区は40%と低く、スコア++の割合も慣行区30%に対し試験区11%で胸部水疱の発生率、程度ともに試験区が低い結果となった。雌鶏は試験区、慣行区ともに雄鶏に比較して表部水疱の発生は少なく、スコア++の個体は存在しなかった。試験区と慣行区を比較すると、異常がなかった個体、スコア-の個体はそれぞれ78%、60%で、試験区が慣行区に比較して高かった(図5)。

雄鶏では止まり木を3回以上利用した個体は、止まり木を一度も利用しなかった個体に比較してスコア+と++の個体割合が

低く、異常がなかった個体(一)の割合が高かった。雌鶏では、胸部水疱の発生が少なく、雄鶏ほど明確な違いはなかった。水疱ができた固体の割合(スコア+以上)は、3回以上利用した個体では存在しなかったが、一度も利用しなかった個体ではスコア+の個体が10%程度存在した。

4. まとめ

- (1) 止まり木の利用羽数は、朝が、昼や夕方と比較して2倍程度高い。
- (2) 止まり木は低い方が利用率は高いが、100cmの高さでも利用する個体が存在する。
- (3) 雄では、特定の個体が利用するのに対し、雌では多くの個体がまんべんなく利用する。
- (4) 育成率、飼料要求率、体重、産肉量に関しては、顕著な差が認められない。
- (5) 雄は雌より胸部水疱の発生が多い。止まり木を設置すると発生は減少する

1 目的

「信州黄金シャモ」は、父鶏にシャモ 833 系統、母鶏に名古屋種を交配して作出した長野県のブランド地鶏である。現在、母鶏として利用している名古屋種は愛知県由来の系統で、導入後畜産試験場で維持している。しかし、鶏群の飼育規模が小さいため、徐々に近交度が上昇し、強健性や繁殖性、産卵性などの能力の低下が懸念されている。

そこで、新たに愛媛県保有名古屋種を導入し、その強健性や産卵性能を調査するとともに「信州黄金シャモ」の父鶏であるシャモ 833 系統との交配試験を行い、従来の「信州黄金シャモ」との発育、産肉性を比較した。

2 材料および方法

(試験 1 母鶏名古屋種の産卵性能の比較)

愛媛県農林水産研究所畜産研究センターが保有している名古屋種(愛媛系統)は2020年6月24日ふ化鶏、長野県畜産試験場が保有している名古屋種(長野系統)は2019年5月15日ふ化鶏を供試した。愛媛系統が1群15羽を2反復、長野系統が1群15羽または25羽を3反復で、両系統とも単飼ケージで飼育した。調査期間は両系統とも141日齢から448日齢であった。試験飼料は、CP17%以上、ME2,820kcal/kg以上の市販の成鶏飼育用飼料で、試験期間中不断給餌した。

(試験 2 母鶏名古屋種の系統の違いが「信州黄金シャモ」の発育および産肉性に及ぼす影響)

父鶏はシャモ 833 系統で、試験区では母鶏として愛媛系統を交配し、慣行区では長野系統を交配した。母鶏はどちらの区も2021年6月23日ふ化鶏で、ふ化後~21日齢までは立体育雛バッテリーで飼育し、22

日齢時に平飼い鶏舎に移動した。試験期間は2021年8月12日(29日齢)から2021年11月10日(119日齢)とした。両区とも、2.6×3.4m区画に各40羽収容し、反復はなしとした。飼料は、0~21日齢はCP21.0%以上、ME3,100kcal/kg以上のブロイラー肥育前期用飼料、22~119日齢はCP18.0%以上、ME3,200kcal/kg以上のブロイラー肥育後期用飼料を不断給餌した。

官能評価は、オス鶏のモモ肉を検体として(一般社団法人)食肉科学研究所で実施した。検体を2%食塩水に1時間浸漬し、真空包装して70°C30分間、湯浴中で加熱した。その後、検体を1cm切り分けて供試試料とし、官能評価員3名が6項目(軟らかさ、多汁性、弾力性、甘味、うま味、総合評価)について1点から5点の間でブラインドテストし、その平均をとった。

3 結果

(試験 1)

愛媛系統と長野系統の、生存率、飼料摂取量及び平均卵重は同程度だった。しかし、ヘンディ(HD)産卵率は愛媛系統が長野系統より高い傾向であった(表1)。

(試験 2)

母鶏の系統による「信州黄金シャモ」の育成率と飼料要求率、また雌雄別の体重の推移に違いはなく同程度だった(表2、図1)。

産肉成績について、系統の違いと性を要因として分散分析を行ったところ、系統を要因として腹腔内脂肪量に5%水準で有意差があり、性を要因としてモモ肉、ムネ肉、正肉重量に5%水準で有意差があった。また、系統と性の交互作用について、モモ肉、正肉重量に1%水準で有意差があった(表3)。愛媛系統は長野系統を母鶏とする「信州黄金シャモ」と比較して、モモ肉重量は雄鶏では有意に大きい結果となり、雌鶏で有意に小さい結

果となった。モモ肉、ムネ肉、ささみを合計した正肉重量は、雄鶏では愛媛系統が長野系統と比較して大きい傾向だったが、雌鶏は有意に小さい結果となった。性により傾向は異なるが、産肉量では系統間に大きな差は認められなかった。腹腔内脂肪量は、愛媛系統が雄、雌ともに少なく、同様に腹腔内脂肪比率も有意に低い結果となった（図2）。

官能評価の結果については、雄鶏モモ肉の官能評価値は調査6項目のいずれにおいても

5%水準で有意差はなく、食味は同様であると考えられた（図3）。

以上の結果より、「信州黄金シャモ」の母鶏として愛媛系統の利用は可能と考えられるため、今後は信州黄金シャモ振興協議会及び園芸畜産課と協議の上、愛媛系統と長野系統を交配し、得られたものを種鶏としていく予定である。

表1 母鶏名古屋種の系統の違いが産卵性能に及ぼす影響

母鶏名古屋種の系統	生存率 (%)	飼料摂取量 (g/羽・日)	HD産卵率 (%)	平均卵重 (g)
愛媛系統	89.8	110	70.1	54.4
長野系統	91.5	113	62.5	55.6
P値	0.63	0.43	0.09	0.11

長野系統は2019年5月15日ふ化鶏（15～25羽×3反復）で実施した。

表2 母鶏名古屋種の系統の違いが「信州黄金シャモ」の生存率および飼料要求率に及ぼす影響

母鶏名古屋種の系統	育成率 (%)	飼料要求率
愛媛系統	100	3.72
長野系統	95	3.77

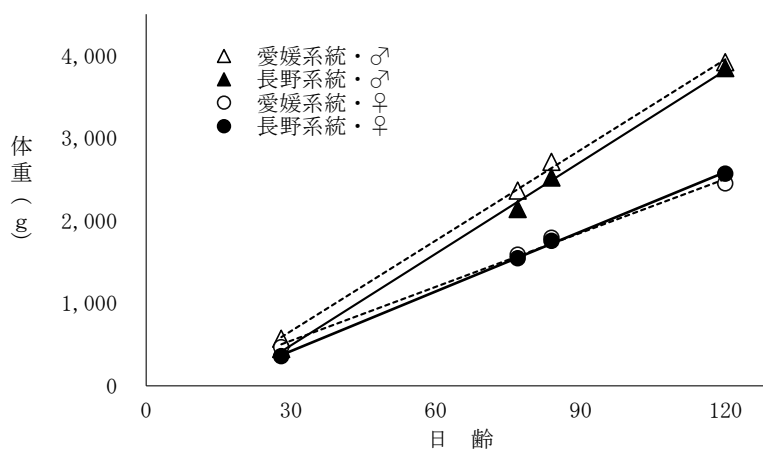


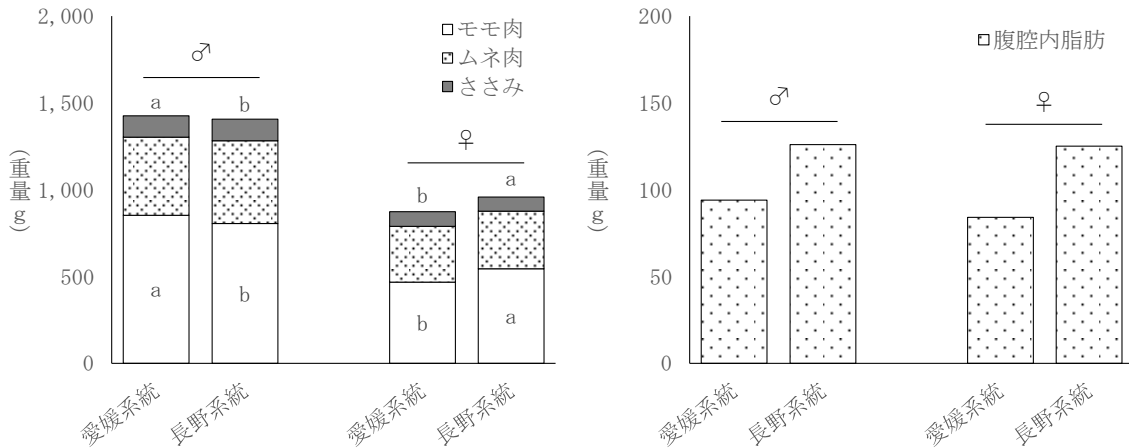
図1 母鶏名古屋種の違いが「信州黄金シャモ」の体重に及ぼす影響

表3 系統の違いと性を要因とする分散分析結果

要因	自由度	モモ肉		ムネ肉		正肉		腹腔内脂肪	
		重量	比率	重量	比率	重量	比率	重量	比率
系統 (A)	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*
性 (B)	1	**	**	**	ns	**	ns	ns	*
A×B	1	**	**	ns	*	**	ns	ns	ns

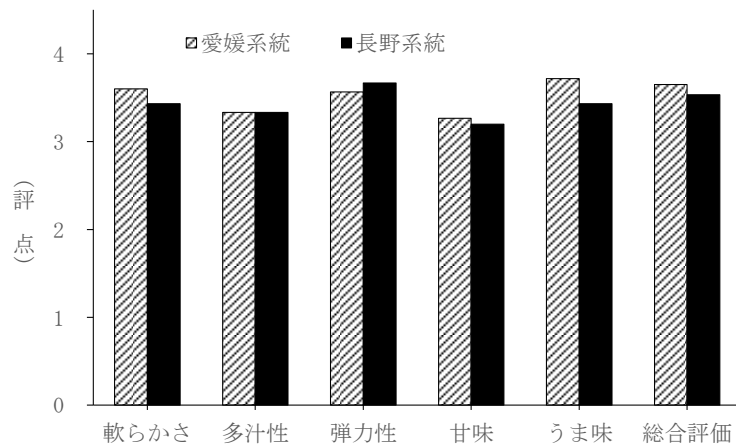
120日齢時に各区♂3羽、♀3羽について実施、** : p<0.01、* : p<0.05、ns : p≥0.05

比率はと体重に対する値を示す



a と b の符号は 1%水準で有意差があることを示す

図2 母鶏名古屋種の系統の違いが「信州黄金シャモ」の産肉成績に及ぼす影響



各区 n=3、いずれの項目も 5%水準で有意差は認められない

図3 母鶏名古屋種の系統の違いが「信州黄金シャモ」の官能評価値に及ぼす影響

切歯の有無および外科的去勢の熟練度の違いが子豚の発育に及ぼす影響

○保科和夫、山上怜奈、安藤順一

(畜産試験場)

背景と目的

家畜の快適性に配慮したアニマルウェルフェア (AW) は、国際的に注目されており、欧米では豚の飼養管理について様々な規制が設けられている。今後こうした取組が世界へ広がると考えられるが、欧米と国内では環境や施設、飼養管理に大きなギャップがあることから、現在、農林水産省において飼養管理等に関する技術的な指針が策定されている。

豚では繁殖豚のストール飼育が話題になっているが、施設の変更は豚の快適性とともコストや生産性への影響を今後十分検討する必要がある。一方、飼養管理における豚の取扱いや飼養環境の見直しは生産性の向上効果も期待できることから現場でも早急に取り組むべき課題である。

本試験では、飼養管理における AW への対応を検討するための基礎データを得ることを目的として、家畜の痛みを伴う処置である切歯と外科的去勢について調査した。

材料および方法

試験 1 切歯の有無が母豚と子豚に及ぼす影響

WL 母豚 19 頭を用いて初産と 2 産時に反復試験を実施した。切歯はニッパーを用いて犬歯の先端を切除し、授乳期間は概ね 4 週とした。試験区分は、切歯をしない無処置区と分娩翌日に切歯を実施する切歯区とし、それぞれ 17 腹および 18 腹分の成績を調査した。

豚は出生時に上顎、下顎とも左右に 2 本の尖った犬歯がある。図 1 に 10 日齢時の両区の犬歯の状況を示した。

調査は令和 3 年 12 月～令和 4 年 8 月に実施し、調査項目は、母豚については分娩前後の体重と背脂肪厚、産子頭数、離乳頭数、離乳後の発情回帰率、回帰した発情での受胎率とし、子豚については、授乳期の発育と事故率とした。なお、一部の子豚について、離乳後の尾かじりの発生状況についても調査した。



無処置区

切歯区

図 1 10 日齢における子豚の犬歯の状況

試験2 外科的去勢の熟練度の違いが子豚の発育に及ぼす影響

WLDの雄子豚119頭を用いて3回の調査を実施した。去勢は一般的に行われているとおり、6～10日齢の間に手術用メスを使用して切開し、精巣を引き抜く方法で実施した。実施者の区分を、外科的去勢を初めて実施、実施経験が数回程度、実施経験が豊富の3区分とした。初めて、または経験が数回の実施者には実施前に方法の説明や見学等の指導を行った。調査は去勢実施後の子豚の体重を測定して発育を比較した。

結果

試験1 切歯の有無が母豚と子豚に及ぼす影響

調査期間中に子豚の犬歯によると思われる乳房への傷や母豚が授乳を嫌う状況は確認されなかった。

母豚への影響を表1に示した。哺乳成績では、無処置区が切歯区と比較して哺乳開始から離乳時までの育成率が2.4%低い結果となった。母豚の分娩前と離乳時における、体重と背脂肪厚の減少率は無処置区が高く、授乳期間の母豚の消耗が大きかったと考えられる。離乳後の繁殖成績では、発情回帰率は無処置区が88%で、切歯区の94%と比較して低く、発情回帰日数も無処置区が有意に遅れた。以上のとおり、子豚の切歯をしないことで、母豚のストレスが生じ、離乳後の繁殖成績が低下した可能性がある。

表1 哺乳子豚への切歯の有無が母豚に与える影響

(2022年、長野県畜産試験場)

(n=分娩, 発情回帰, 次回受胎した各頭数)	哺乳開始頭数 (頭)	離乳頭数 (頭)	離乳時育成率 (%)	体重減少率 (%)	背脂肪厚減少率 (%)	発情回帰率 (%)	発情回帰日数 (日)	次回受胎率 (%)
無処置区 (n=17, 15, 15)	14.4	13.1	92.2	10.3	17.0	88.2	6.1 ^b	88.2
切歯区 (n=18, 17, 15)	13.3	12.5	94.6	8.7	14.8	94.4	5.1 ^a	83.3
区間差 (切歯無-切歯有)	1.1	0.6	-2.4	1.7	2.2	-6.2	1.0	4.9

(同列の異符号間に5%水準で有意差あり)

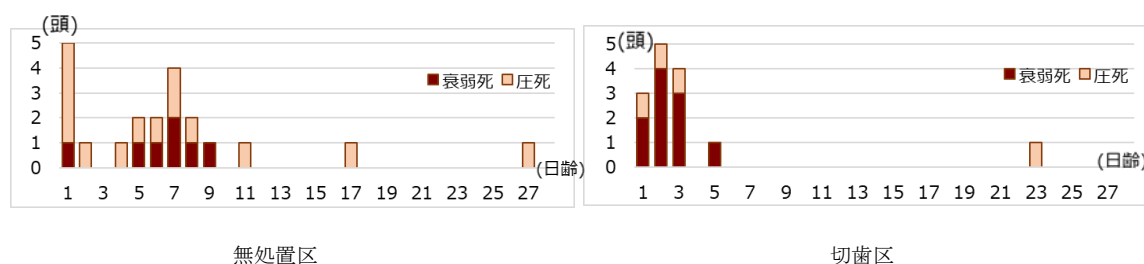


図2 子豚の死亡原因と死亡日齢別の頭数

子豚への影響について、哺乳期間中の子豚の死亡状況を図2に示した。出生5日後までは切歯区で虚弱豚の死亡が多く、切歯によるダメージがあったと考えられるが、無処置区では出生5日以降に圧死が続いた。圧死は子豚の状況だけでなく、母豚の起立や横臥などの行動にも影響されること

から、それらに何らかの変化があった可能性がある。哺乳期間中の子豚の発育を図3と表2に示した。一日平均増体重は無処置区が哺乳開始から2週まで有意に低く、発育が劣ったが、3週目で逆転し、4週目の離乳時体重では切歯区を上回った。哺乳後期には人工乳の摂取が増加するため、そ

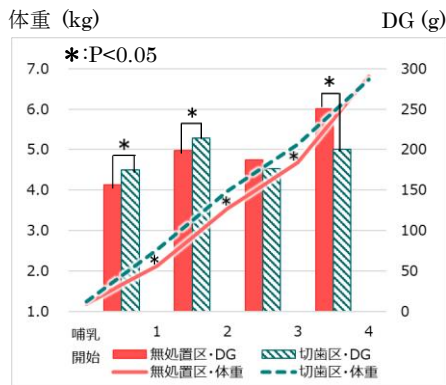


図3 切歯の有無と子豚の発育の推移

の摂取量に差があった可能性がある。

離乳後の尾かじりの発生状況を図4に示した。尾かじりの発生要因として、切歯の

有無、豚房の大きさ、離乳時における他の母豚の産子との群編成の有無について発生率を比較した。無処置区は切歯区より発生率が11ポイント高かった。一方、豚房の大きさでは大豚房が小豚房より29ポイント高く、群編成では他の母豚の子豚と群編成した場合の方が群編成がない場合より32ポイント高かった。この結果から、尾かじりの要因としては、豚房の大きさ、新たな群編成の影響が強いことが伺われた。切歯の影響としては、切歯をしないこと自体は尾かじりの主な原因とはならないものの、発生時には犬歯があることで被害を拡大する要因となる可能性が考えられた。

表2 切歯の有無が子豚の発育に与える影響

(2022年、長野県畜産試験場)

(n=哺乳開始, 1, 2, 3, 4週齢)	哺乳中事故率 (%)	事故原因別 (%)		子豚1頭あたり体重 (kg)					1日平均増体量 (g)
		圧死 (%)	衰弱死 (%)	哺乳開始 (kg)	1週齢 (kg)	2週齢 (kg)	3週齢 (kg)	4週齢 (kg)	
無処置区 (n=244, 232, 225, 224, 164)	8.6	5.7	2.9	1.19	2.12 ^b	3.55 ^b	4.68 ^b	6.81	196.7
切歯区 (n=239, 226, 226, 226, 163)	5.9	1.7	4.2	1.24	2.52 ^a	3.98 ^a	5.13 ^a	6.73	189.8
区間差 (切歯無-切歯有)	2.7	4.1	-1.3	-0.05	-0.40	-0.43	-0.44	0.08	6.9

(同列の異符号間に5%水準で有意差あり)

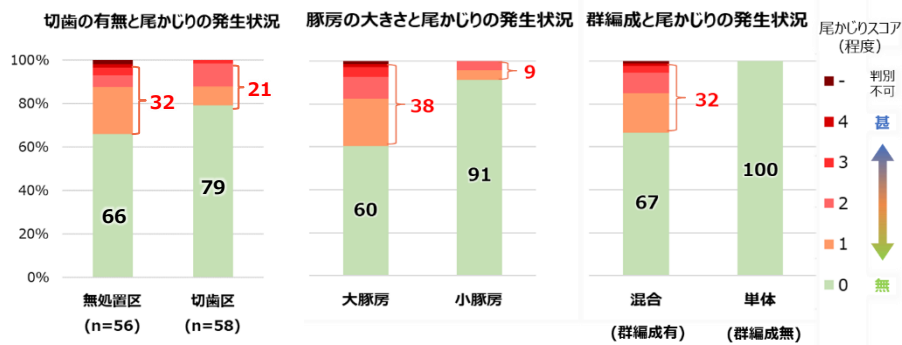


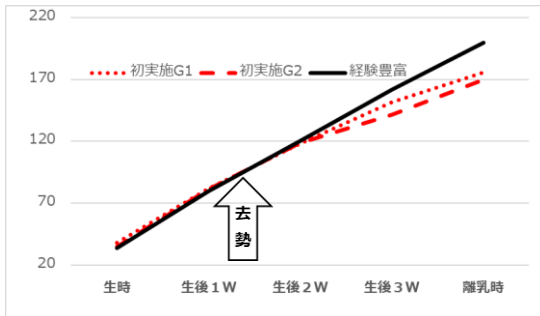
図4 離乳後の子豚における尾かじりの要因別発生状況

試験2 外科的去勢の熟練度の違いが子豚の発育に及ぼす影響

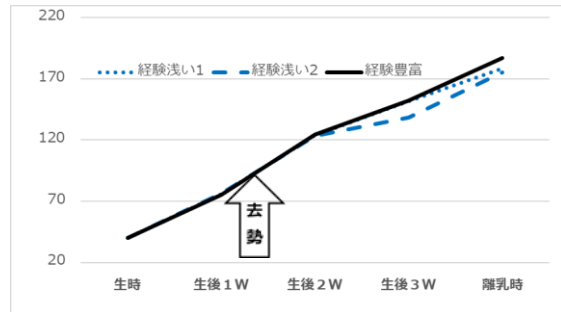
試験子豚の去勢後の発育を図5に示した。去勢時の体重を指標としてその後の発育を比較するため、生後1週目と2週目の体重の平均値を100としてその推移を示した。

初めて去勢を実施したグループと比較し

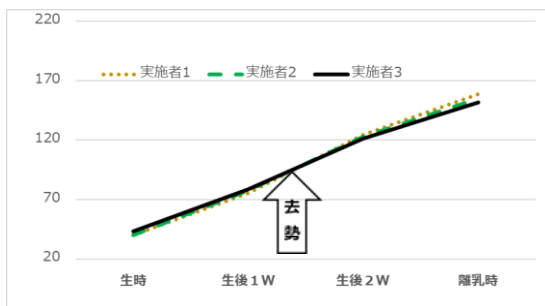
て経験豊富な実施者の方が去勢後の発育が良好だった。また、数回実施したことがある実施者2名と経験豊富な実施者でも同様に経験豊富な実施者の場合が発育良好だった。一方、経験豊富な3名の実施者の結果を比較したところ、実施者間で大きな差は認められなかった。



経初めての実施者と経験豊富な実施者 (n=27)



経験が浅い実施者と経験豊富な実施者 (n=21)



経験豊富な実施者間の比較 (n=71)

図5 外科的去勢熟練度の違いが去勢後の発育に及ぼす影響

去勢時の体重を指標としてその後の発育を比較するため、生後1週目と2週目の体重の平均値を100としてその推移を示した

考察

切歯の有無が母豚と子豚に及ぼす影響では、切歯をしないことで母豚の発情回帰日数が遅れ、子豚の事故率がやや高く、授乳期前半の子豚の増体が低くなった。これらのことから、母豚へのストレスが生じている、または、授乳行動の変化が起きていた可能性がある。今後、ビデオ撮影等による行動観察やストレス指標の測定等で母豚の快適性を評価し、切歯の是非や方法について検討する必要がある。

外科的去勢の熟練度が去勢子豚の発育に及ぼす影響では、外科的去勢の手技の習熟度を向上させることで去勢後の発育における去勢の影響が軽減することが明らかとな

った。飼養管理技術の向上はAWと生産性の向上に有効だと思われる。ただし、発育成績が良いことと、AWに対応して豚の快適性が増していることは、別に考えるべきであり、今後、去勢の痛みを低減するための麻酔方法等を検討することが望まれる。

畜産試験場では、今後もAWの対応と生産性の確保のため、通常実施している基本的な飼養管理方法についてデータを集積し、必要に応じて見直しを行う予定である。

今後は、新たな飼養管理技術の開発においても、生産成績、コスト、省力化だけでなく家畜の快適性の確保も考慮する必要がある。

柿皮給与による牛の消化管内メタン生成抑制効果の検討

- 神田 章*1、橋本 淳一*1、山本 修*1
 矢島 哲男*2、山田 修*2
 上野 豊*3
 *1 長野県畜産試験場
 *2 長野精工金属株式会社
 *3 信州大学農学部

1 はじめに

COP（国連気候変動枠組条約締結国会議）は、条約締結国により地球温暖化対策など気候変動問題について協議を行う会議で、1995年ベルリンで第1回が開催されて以降、現在まで27回開催されています。

2021年英国グラスゴーで開催されたCOP26では、COPのマイルストーンとなっている「2015年パリ協定」で努力項目とされた「気温上昇幅を産業革命以前と比べ1.5℃に抑制する」ことを正式に目標とすることで合意されましたが、この目標達成には2050年にカーボンニュートラル・ゼロカーボン、2030年までに温室効果ガス46%削減が必要となります。

することがゼロカーボンに向けて喫緊の課題となっています。

畜産分野からの温室効果ガス
 温室効果ガス Greenhouse Gas:GHG

		排出量(t)	比率
メタン CH4 地球温暖化係数 21	総排出量	28,485	
	うち農業分野	21,901	76.9%
	うち反芻獣消化管由来	7,563	26.6%
	うち家畜排せつ物由来 (うち糞作)	2,328	8.1%
		11,946	41.9%
		排出量(t)	比率
亜酸化窒素 N2O 地球温暖化係数 310	総排出量	19,988	
	うち農業分野	9,291	46.4%
	うち反芻獣消化管由来		
	うち家畜排せつ物由来 (うち糞作)	3,690	18.5%

出典 温室効果ガスインベントリオフィス

長野県畜産試験場では、ゼロカーボンに関する研究として、①牛の消化管内並びに②家畜排せつ物からGHG発生を抑える技術開発を現在行っております。今回はテーマ①についてご報告させていただきます。

COP：国連気候変動枠組条約締結国会議
Conference Of The Parties
 COP1：ベルリン(1995) COP3：京都議定書(1997) COP21：パリ協定(2015)
 COP26：グラスゴー(2021) COP27：シャルム・エル・シェイク(2022)


COP26（2021年 英国グラスゴー）合意事項
 気温上昇幅を産業革命以前と比べ**1.5℃**に抑制
 （マイルストーンであるパリ協定努力目標の達成）

↓

2050年	カーボンニュートラル（ゼロカーボン）
2030年	温室効果ガス2013年比46%削減

**長野県畜産試験場における
ZERO-CARBONに関する研究**

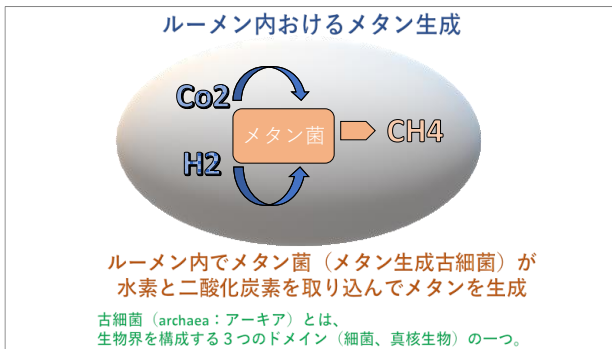
テーマ①
 牛の消化管内からGHG発生を抑える
 ○未利用資源給与によるGHG削減技術の開発



テーマ②
 家畜排せつ物からGHG発生を抑える
 ○堆肥化処理と堆肥施用技術の開発

表は、畜産分野から放出される温室効果ガスGHGの比率を示しています。農業分野から放出されるGHGのうち、畜産由来はメタンで34.7%、亜酸化窒素で18.5%を占めています。地球温暖化対策として畜産由来のGHGを抑制

牛のルーメン内では、メタン菌（後段ではメタン生成古細菌と表現させていただきます）が水素と二酸化炭素を取り込んでメタンが生成されていますが抗酸化作用が高いタンニンやカテキンの存在下では、これらが水素を取り組むため、メタン菌によるメタン生成が抑制されます。



今回演者らはメタン菌を抑制する未利用資源として、長野県南部で製造される干し柿である「市田柿」の柿皮に着目しました。柿皮は年間750tが廃棄されていますが、タンニンの含有が高いため、柿皮給与による牛の消化管内メタン生成抑制効果を検討しました。以下、その概要を報告します。

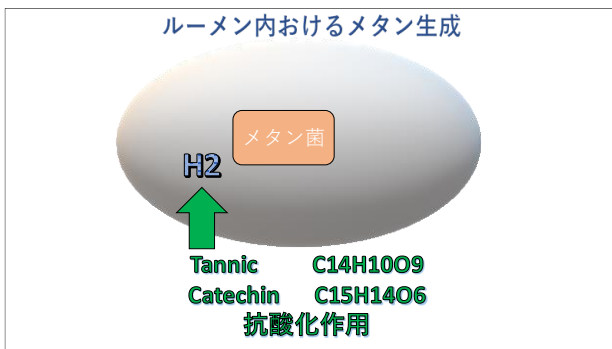
メタン生成菌を抑制する未利用資源

市田柿

長野県飯田市HPから引用

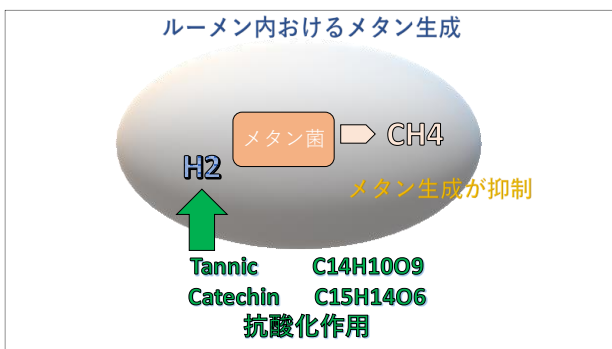
- 市田柿製造工程中に排出される「柿皮」に着目
- 年間750tが廃棄処分
- タンニンの含有が高い

柿皮給与による牛の消化管内メタン生成抑制効果の検討



2 試験概要

今回の試験では、柿皮給与による牛のルーメン内メタンガスの濃度の動態、ルーメン内メタン生成古細菌比率の動態、健康状態や生産性への影響の3項目について検討しました。



試験概要

柿皮給与による牛の

- ルーメン内メタンガスの濃度の動態
- ルーメン内メタン生成古細菌比率の動態
- 健康状態や生産性への影響

長野県飯田市HPから引用

3 材料および方法

供試牛は、臍部にフィステルを装着した2産の乳用牛と肉用牛1頭ずつ用いました。

材料および方法

供試牛

フィステル装着した乳用牛、肉用牛 各1頭

- 乳用牛：ホルスタイン種 雌
2017年9月生まれ 2産 最終分娩2021年3月
- 肉用牛：交雑種 雌
2015年2月生まれ 2産 最終分娩2020年2月



試験材料の柿皮パウダーは、水熱処理の一種である色差分解後に乾燥させたものを用いました。

柿皮パウダーの成分はスライドのとおりです。100 g 中 1.70 g のタンニンを含んでいます。この量はコーヒーの約20倍量です。

なお、柿皮は色差分解することにより、多糖類が単糖類や二糖類に低分子化します。このことは後程説明しますが、ルーメン内のプロピオン酸が増加することも期待できます。

柿皮パウダー給与方法です。5週間トップドレスで給与しました。最初の1週間は馴致期間として、1日100gからの漸増給与を、2週以降は1日400gを給与しました。飼料給与メニューはスライドのとおり、柿皮パウダーは乳用牛は4回、肉用牛は3回に分けて給与しました。

材料および方法

柿皮パウダー給与方法

5週間トップドレスで給与 2021年10月14日～11月18日
1週目 馴致期間 漸増給与 (100g/日～)
2週～ 400g/日

<給与メニュー>

乳用牛

- 8:00 チモシー乾草 1.0kg ●9:20 TMR10kg+柿皮パウダー100g
- 13:30 TMR11kg+柿皮パウダー100g ●15:30 TMR11kg+柿皮パウダー100g
- 17:40 チモシー乾草 2.0kg ●18:15 TMR10kg+柿皮パウダー100g

肉用牛

- 8:00 チモシー乾草2.0kg 稲わら2束+柿皮パウダー100g
- 13:00 マザーくろし0.5kg ヘイキューブ1.0kg 稲わら3束+柿皮パウダー200g
- 16:00 チモシー乾草2.0kg、稲わら 3束+柿皮パウダー100g

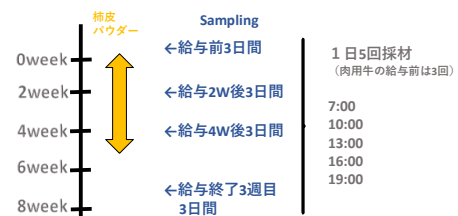
第一胃内メタンガスは、供試牛のフィステルからガス採集器で採材しました。

採材は、柿皮パウダー給与前3日間、給与2週間後3日間、給与4週間後3日間、給与終了後3週目3日間で採材日はスライドに示す時刻に3回から5回行いました。なお、メタン濃度はGC-MSで測定しました。

材料および方法

第一胃内メタンガス採材・メタン濃度測定

- 供試牛のフィステルからガス採集器で採材
- GC-MS (島津製作所) でメタン濃度を測定

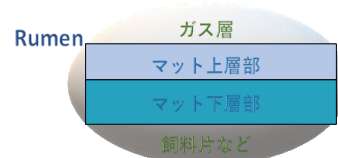


第一胃内のメタン生成古細菌の比率測定は、メタンガス採取と同時にフィステルからルーメンマット上層部と下層部から採取した内容物を、リアルタイムPCR法により抽出DNA総細菌数、メタン生成古細菌数をそれぞれ定量し、比率を求めました。

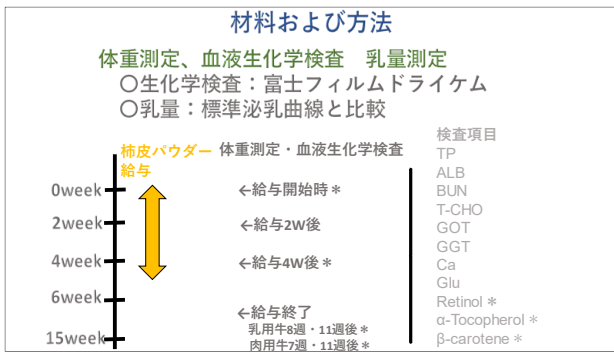
材料および方法

第一胃内メタン生成古細菌比率測定

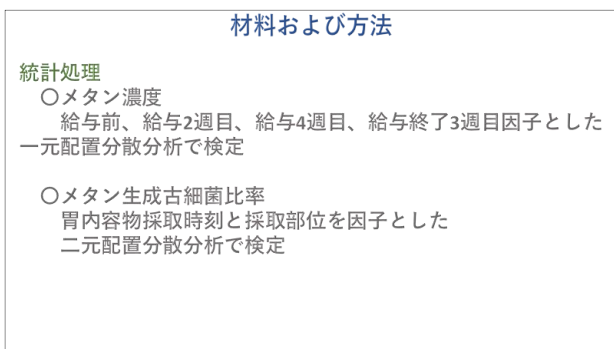
- メタンガス採取と同時にフィステルからルーメンマット上層部と下層部の内容物を採取
- リアルタイムPCR法により抽出DNA総細菌に対するメタン生成古細菌比率を算出



柿皮パウダー給与による供試牛の体調や生産性を確認するため、体重測定と血液生化学検査をスライドに示すスケジュールで行いました。また、乳用牛については、乳量を標準泌乳曲線と比較しました。

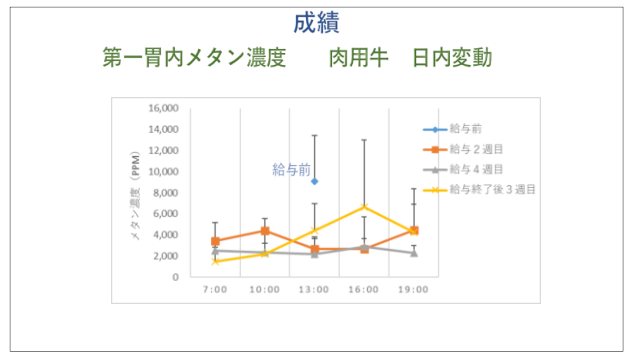
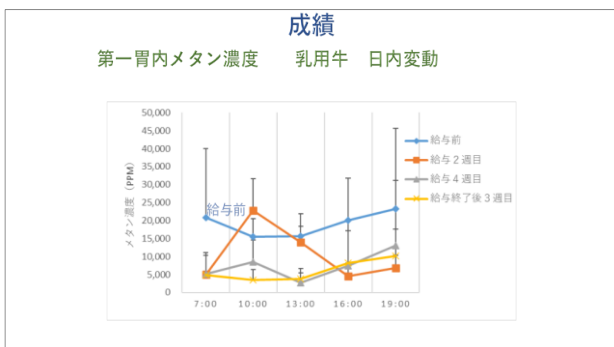


メタン濃度およびメタン生成古細菌比率のデータは、スライドに示す方法で統計処理しました。



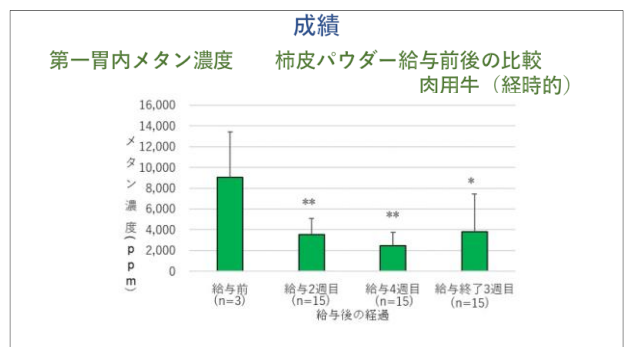
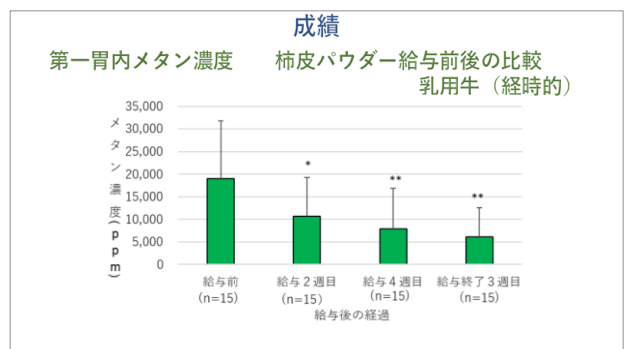
4 成績

第一胃内メタン濃度の日内変動です。乳用牛は試験期間の採材時刻平均で5000~25000ppmで推移し、肉用牛では2000~9000ppmと乳用牛と比較してアンダーに推移しているものの、乳用牛・肉用牛ともに第一胃内メタン濃度の日内変動は高く推移しました。また、柿皮パウダー給与後は給与前よりアンダーで推移しました。



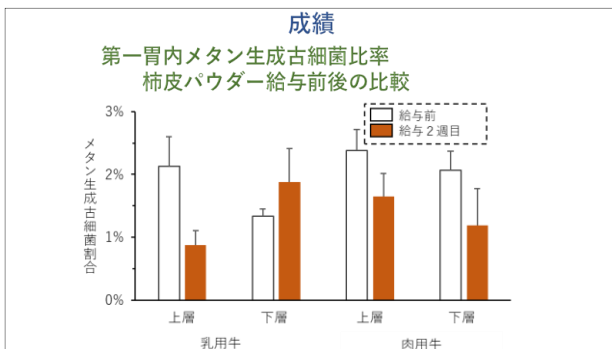
柿皮パウダー給与前後の第一胃内メタン濃度のオーバータイム・経時的な比較です。

乳用牛では、柿皮パウダー給与2週目で第一胃内のメタン濃度が有意に減少しました。肉用牛でも乳用牛と同様に柿皮パウダー給与2週目以降に第一胃内メタン濃度は半分以下となりました。このように、乳用牛・肉用牛ともにオーバータイムにおいても柿皮パウダー給与2週目以降にメタン濃度は有意に減少しました。



柿皮パウダー給与前後におけるメタン生成古細菌比率の比較です。給与前は乳用牛では3日間、肉用牛では1日間、給与2週は、乳用牛、肉用牛ともに3日間の平均値となっています。

乳用牛・肉用牛ともに柿皮パウダー給与2週目以降に乳用牛のルーメンマット下層部を除き、総細菌に対するメタン生成古細菌比率が減少しました。



供試牛の試験期間中の体重、血液生化学検査成績です。乳用牛、肉用牛ともに各項目において多少の増減はあったものの、柿皮パウダー給与後の体重および血液生化学検査に著変は認められませんでした。

成績
体重・血液生化学検査

乳用牛

	R3.10.13 給与開始時	R3.10.21 給与2週目	R4.11.18 給与4週目	R4.1.11 終了後8週目	R4.2.9 終了後11週目
体重(kg)	620	624	596	604	600
TP(g/dl)	7.2	7.6	7.6	7.6	6.6
ALB(g/dl)	3.4	3.6	3.3	2.7	3.2
BUN(mg/dl)	13.8	10.3	9.4	14.8	17.5
TCHO(mg/dl)	254.0	279.0	249.0	298.0	242.0
GOT(U/l)	67.0	68.0	68.0	75.0	58.0
GGT(U/l)	25.0	31.0	27.0	30.0	32.0
Ca(mg/dl)	9.0	10.3	11.1	10.9	10.3
Gluc(mg/dl)	57.0	60.0	63.0	-	-
Retinol(U/dl)	141.2	-	123.8	-	135.5
α-Tocopherol(μg/dl)	398.8	-	241.4	-	377.9
β-carotene(μg/dl)	62.4	-	31.6	-	71.2

成績
体重・血液生化学検査

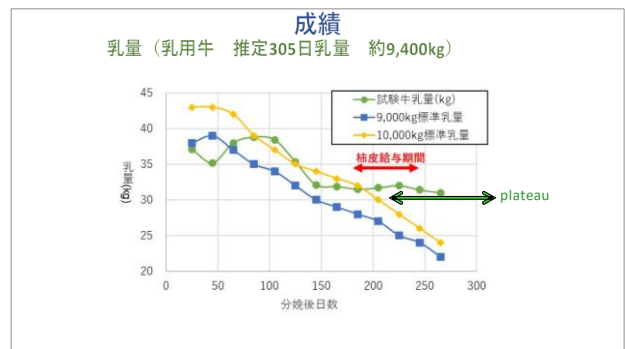
肉用牛

	R3.10.13 給与開始時	R3.10.21 給与2週目	R4.11.18 給与4週目	R4.1.4 終了後7週目	R4.2.9 終了後11週目
体重(kg)	595	588	577	599	605
TP(g/dl)	7.8	7.1	7.1	6.1	7.6
ALB(g/dl)	3.7	3.4	3.7	2.2	4.2
BUN(mg/dl)	11.0	9.9	9.1	10.6	10.1
TCHO(mg/dl)	94.0	88.0	72.0	78.0	87.0
GOT(U/l)	114.0	57.0	62.0	321.0	49.0
GGT(U/l)	22.0	20.0	16.0	20.0	24.0
Ca(mg/dl)	8.7	10.0	10.4	10.8	11.3
Gluc(mg/dl)	65.0	59.0	65.0	-	-
Retinol(U/dl)	84.4	-	80.8	-	76.0
α-Tocopherol(μg/dl)	226.9	-	220.6	-	202.2
β-carotene(μg/dl)	228.0	-	206.8	-	199.2

乳用牛の乳量です。

グラフのグリーンラインは今回の供試牛の乳量の推移です。当該牛の305日補正乳量を9400kgと推定しましたので、ブルーラインで示す9000kgとイエローラインで示す10000kgの標準乳量泌乳曲線と比較しましたが、グラフに示したとおり柿皮パウダー給与期間中も乳量の影響は認められませんでした。

なお、供試牛の乳量は、泌乳後期もプラトーな状態であり、むしろ増加像が伺えました。



5 まとめおよび考察

柿皮パウダー給与により第一胃内メタンガス濃度は有意に減少しました。また、ルーメンマット上層部のメタン生成古細菌の比率も減少しました。柿皮パウダー給与により体重、血液性状、乳量に影響は認められなかったことから、柿皮は牛の消化管内メタンの生成抑制に効果があることが認められました。また、柿皮を色差分解したこと

により糖質が低分子化し、ルーメン内のプロピオン酸が増加し、その結果、乳量が増加したことも示唆されましたが今後さらなる検討が必要と思われました。なお、柿皮パウダー最小給与量の検討および肉質への影響について現在試験中です。

おわりに
わたしたちは、柿皮給与による牛由来のGHG削減の普及に向けた柿皮パウダーの繁殖性などの生産性向上の検討【高付加価値化】柿皮パウダー製造コストダウン【低コスト化】について、引き続き検討を加えていきます。

一方、柿皮（産業廃棄物）処理に係る莫大な経費を柿皮パウダー製造に係る経費に循環・転嫁させたり、そもそもGHG放出削減に係る経費を生産者のみに負わせるのではなく、消費者を含む社会全体がそれぞれの立場で「地球温暖化対策」を考えていかなければならないと思います。

まとめおよび考察

- 柿皮パウダー給与（400 g/日）により第一胃内メタンガス濃度は有意に減少した。また、ルーメンマット上層部のメタン生成古細菌の比率も減少した。
- 柿皮パウダー給与により体重、血液性状、乳量に影響は認められなかった（プロピオン酸増による乳量増加が示唆）。
- 柿皮は牛の消化管内メタンの生成抑制に効果があることが認められた。
- 柿皮パウダー最小給与量の検討および肉質への影響について現在試験中。

6 おわりに

わたしたちは、柿皮給与による牛由来のGHG削減の普及に向けた柿皮パウダーの繁殖性などの生産性向上の検討【高付加価値化】、柿皮パウダー製造コストダウン【低コスト化】について、引き続き検討を加えていきます。

一方、柿皮（産業廃棄物）処理に係る莫大な経費を柿皮パウダー製造に係る経費に循環・転嫁させたり、そもそもGHG放出削減に係る経費を生産者のみに負わせるのではなく、消費者を含む社会全体がそれぞれの立場で「地球温暖化対策」を考えていかなければならないと思います



長野県PRキャラクター「アルクマ」
©長野県アルクマ

発行 令和5年12月

長野県農政部園芸畜産課

家畜防疫対策室