

1 乳牛の潜在性ケトーシスの早期診断手法の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○野口宗彦、三好勇紀

研究期間：令和2（2020）～令和4（2022）年度 予算区分：県単

1 目的

昨今の農場で問題とされる潜在性ケトーシスは明らかな臨床症状を伴わず血中ケトン体濃度が上昇するもので、生乳生産が日量 1.2kg 減少、分娩後 30 日以内の廃用リスクが 3 倍に増加、第 4 胃変位のリスクが 2.6 倍に増加等経済的損失の重大性が指摘されている。

ケトーシスの診断は主に β -ヒドロキシ酪酸(BHBA)濃度で行われるが、近年簡易的測定技術も開発されており、牛群検定データとしての提供も予定されている。

本試験では、検定データを活用した潜在性ケトーシスの早期診断手法を開発するとともに、他の疾病との関連性についても分析を行う。

2 方法

(1) 県内牛群検定データの収集と分析

牛群検定データで提供される全ての検定組合員の乳中ケトン体データから、0.12mmol/L 以上を潜在性ケトーシス発生牛に分類し、4～10 月の月ごとに個体発生率を比較した。また、各月の発生牛のうち発生前 3 か月間を追跡可能な個体を各月 10 頭抽出し、ケトン体、乳脂率、蛋白質率、乳脂比の経時変化について比較検討を行った。

(2) BHBA の個体ごとの経時的変動データの把握と分析

当センターにおける 11、12 月分娩牛 7 頭についてポータブル血中濃度測定器(フリースタイルプレジジョンネオ、アボットジャパン株式会社)を用い分娩予定日前 7 日、分娩後 5 日、10 日、20 日、40 日の 5 回、11:30 から 13:30 の間に採血し測定した。

3 結果の概要

(1) 牛群検定データ分析結果

ア 分析した 7 か月の発生率は、4 月は 1.6%、5 月は 1.2%、6 月は 1.4%、7 月は 3.0%、8 月は 2.9%、9 月は 1.2%、10 月は 1.6%であり、7、8 月の暑熱期に高くなる傾向にあった(表 1)。

イ 発生牛の乳脂率は 3 か月前のデータから高い傾向で推移する傾向と乳脂率が 4.5%以下で発生している場合には、P F 比が栄養過多を示す 0.9 以上で推移している傾向が見られた(表 2)。

(2) BHBA の個体ごとの経時的変動データの把握と分析

血液における基準値(1.2mmol/l)を超えたのは 1 頭 1 回(分娩後 20 日 2.7mmol/l)であった(図 1)。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

(1) 当センターにおいては潜在性ケトーシスの発生が少なく早期診断手法開発のための十分なデータが得られなかったことから、調査期間、頭数を拡大してより多くのデータ収集、分析を行う。

(2) 発生率の高い搾乳日数 14 日以下については、乾乳期の調査分析が必要と思われる。

(3) 牛群検定時データの分析を続けるとともに、多発農家における検査を実施しデータを収集分析する。

[具体的データ]

表1 潜在性ケトーシス発生状況

検定実施月	個体		
	検定頭数(延)	発生頭数(延)	発生率
4月	21,390頭	331頭	1.6%
5月	20,922頭	245頭	1.2%
6月	65,443頭	622頭	1.0%
7月	20,051頭	596頭	3.0%
8月	21,272頭	626頭	2.9%
9月	20,266頭	251頭	1.2%
10月	20,230頭	313頭	1.6%

表2 発生から3か月前までの乳分析値の推移

検定実施月		発生3か月前	発生2か月前	発生1か月前	発生月
4月	BHBA平均値	0.30	0.14	0.13	0.69
	脂肪率平均値	4.80	4.12	4.58	3.86
	P/F比平均値	1.06	1.11	0.88	1.20
5月	BHBA平均値	0.02	0.02	0.01	0.41
	脂肪率平均値	4.09	4.16	4.02	5.37
	P/F比平均値	0.92	0.89	0.92	0.88
6月	BHBA平均値	0.08	0.09	0.07	0.50
	脂肪率平均値	3.97	4.18	4.00	4.97
	P/F比平均値	0.85	0.79	0.82	0.73
7月	BHBA平均値	0.01	0.05	0.29	1.53
	脂肪率平均値	3.89	3.94	3.42	4.01
	P/F比平均値	0.84	0.84	0.98	0.86
8月	BHBA平均値	0.02	0.06	0.21	1.47
	脂肪率平均値	3.57	3.77	3.82	4.04
	P/F比平均値	0.97	0.83	0.83	0.81
9月	BHBA平均値	0.03	0.04	0.16	0.65
	脂肪率平均値	3.95	4.18	4.33	7.00
	P/F比平均値	0.87	0.89	0.84	0.78
10月	BHBA平均値	0.11	0.04	0.20	0.53
	脂肪率平均値	3.92	3.67	3.83	5.86
	P/F比平均値	0.89	0.95	0.91	0.79

BHBA : mmol/l 脂肪率 : %

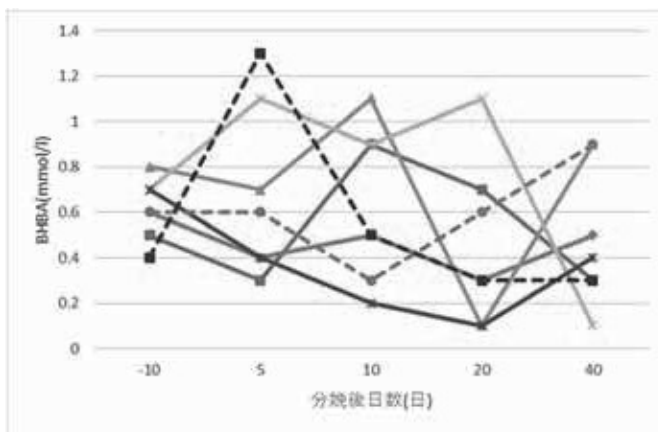


図1 分娩前後のBHBAの推移

2 カメラによる乳牛の牛舎内行動パターンデータの収集及び分析で牛舎内問題箇所を特定する技術開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○星一美、野口宗彦

研究期間：令和3（2021）～令和4（2022）年度 予算区分：県単

1 目的

近年の猛暑は酪農業にも深刻な影響を与えており、（一社）中央酪農会議の試算によると、夏季の乳量の低下や体細胞数の増加による経済的損失は、経産牛40頭規模で年間100～200万円にも及ぶとされる。乳牛の暑熱対策は、生産性はもちろんのことアニマルウェルフェアの観点からも従前にも増して重要な課題となっている。このような中、従来の開放型の牛舎とはコンセプトが異なる、環境制御型の牛舎が新たに提案され始めている。しかし新築や従来の牛舎を改築する場合でもかなりのコストが見込まれることから、従来型の牛舎においても実現可能な低コストの環境制御システムを開発していく必要がある。

そこで、環境制御型牛舎内（スマート酪農牛舎）において、環境データ、カメラによる乳牛の行動パターン、深部体温等を比較検討し、牛舎内の快適性を左右する要因の特定を行う。

2 方法

(1) 調査期間 令和3年6～9月（行動観察と体温測定は各月1週間）

(2) 調査項目

ア 牛舎内環境

気温及び湿度：温湿度計（ロガー付）をスマート酪農牛舎内3か所、フリーストール牛舎1か所、屋外1か所に設置し1時間間隔で測定

風速：風速計でスマート酪農牛舎内32か所を測定

イ 行動観察

タイムラプスカメラをスマート酪農牛舎内4か所に設置し5分間隔で撮影

ウ 体温測定

搾乳牛4頭に、小型温度センサー（ロガー付）を装着した使用済み臍内留置型黄体ホルモン製剤（E.O.ガス滅菌済み）を臍内留置し測定

3 結果の概要

(1) 調査期間中の平均飼養頭数は、スマート酪農牛舎43.3頭（搾乳牛）、フリーストール牛舎（妊娠牛）4.5頭であった。

(2) 調査期間中の平均気温（図1）は、スマート酪農牛舎 $23.7 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$ 、フリーストール牛舎 $23.4 \pm 4.5^{\circ}\text{C}$ 、屋外 $22.8 \pm 4.1^{\circ}\text{C}$ 、平均湿度はスマート酪農牛舎 $80.1 \pm 11.9\%$ 、フリーストール牛舎 $68.0 \pm 16.9\%$ 、屋外 $81.6 \pm 14.5\%$ であり、スマート酪農牛舎が他に比べ高かったが、1日の最高気温はスマート酪農牛舎が他に比べ低かった。

(3) 風速はビッグファン周辺から離れるにつれ低下し、最も離れた角では無風状態であったが、牛床付近は牛体に風が十分に当たることが確認できた。

(4) 日が差し込む時間帯は、日の当たるストールで休息する搾乳牛は少ないこと（ただし、夜間はそのストールで牛は休息）、水飲み水槽周辺に集まる（図2）傾向が観察された。

(5) スマート酪農牛舎内気温と体温の推移に相関は確認できず、また、1日の体温推移に概日リズムは確認されなかった（図3）。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

暑熱行動パターン（評価指標）の確立のために牛舎内のより詳細な牛の行動調査が必要である。

[具体的データ]

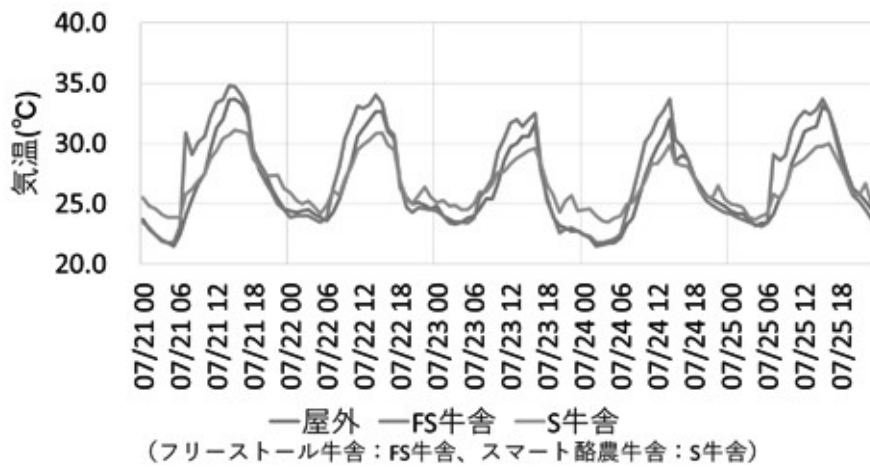


図1 気温推移



図2 水飲み水槽周辺への集まり

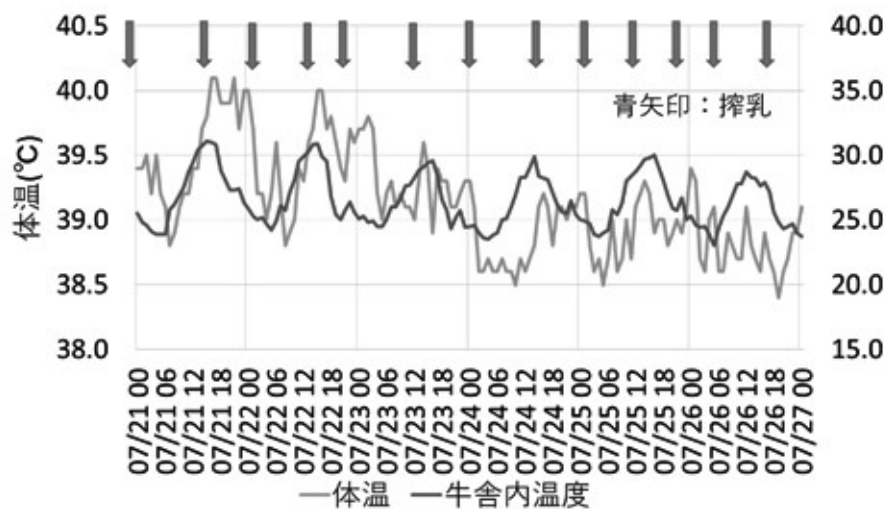


図3 体温と牛舎内温度の推移

3 乳用育成牛における OPU-IVP 高能力雌牛増産技術の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○三好勇紀

研究期間：令和3(2021) (中断) 予算区分：県単

1 目的

乳用後継牛不足が深刻化する中、受精卵移植により優良雌子牛を確保するためには、採卵・移植技術もさることながら、供胚牛の選定も大きく寄与するところである。体外受精胚生産として OPU-IVP 技術が本来胚生産ができない育成牛(6か月齢～)、繁殖障害牛または肥育牛からの胚生産に利用されている。本研究では乳用育成牛における OPU-IVP 高能力雌牛増産技術を開発することを目的とし、春期発動期に入った育成牛に OPU を実施し、OPU の影響、すなわち、繰り返し OPU を行うことによる、卵巣癒着、細菌感染症およびその後の卵巣動態を観察し、よりドナー牛へ負担が少ない受精卵作出適齢の解明の検討を行う。

2 方法

- (1) 供試牛：当センターで飼養している 10～12 か月齢のホルスタイン種育成牛 8 頭
- (2) 調査項目：回収卵子数、卵割率、胚盤胞発生率、性成熟月齢および卵巣動態

3 結果の概要

- (1) 6 か月齢から可能とされているが、卵巣の操作が困難であった。
- (2) OPU 実施後の繁殖性(性成熟および卵巣動態)には影響は認められなかった。
- (3) A 社(従来型)のプローブは育成牛での使用は困難であった。
- (4) 回収卵子数は最大で 3 個/頭であり、その後の培養には少なすぎた(表 1)。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

10～13 か月齢の育成牛では、卵巣のサイズが小さく、保持することが困難であることから、この月齢で実施する場合には、ホルモン剤の投与による前処置を実施する必要があると考えられた。処置により小卵胞の発育を促進させ、中卵胞の数を増やすことで回収卵子数の増加が期待できる。また、胚は互いに作用し合って胚の発育を促進する何らかの胚発育因子を培養液中に分泌していることから、回収卵子数が増えれば、集合培養により胚盤胞発生率が向上し、結果、凍結可能胚率の増加も見込める。

経膈プローブは改良が進み、径が細い物が出てきているが、育成牛用として販売されているものはまだ無い。また、OPU は技術の習熟度によって回収成績が大きく変動すること。その他、10～13 か月時点でホルモン剤投与した場合のドナー牛の発情周期が不規則になってしまう問題がある。そのため、次年度は育成牛での OPU は一時中断し、技術継承のため OPU は継続して実施、同時にホルスタイン種経産牛でのホルモン剤を投与して OPU-IVP を実施した場合の回収卵子数、胚盤胞発生率の成績から、育成牛に負担のないホルモン剤投与量を決定する必要があると考えられる。

[具体的データ]

表 1 OPU-IVP 成績および胚生産成績

実施月齢	OPU プローブ種類	回収卵子数	卵割率	胚盤胞発生率	備考
10	A 社(従来型)				挿入不可
10	A 社(改良型)	1	0	0	
11	A 社(従来型)	2	-	-	卵子吸引のみ
11	A 社(従来型)	0	-	-	卵子吸引のみ
11	B 社	3	0	0	
12	B 社	2	0	0	
12	C 社	0	-	-	卵子吸引のみ
12	C 社	3	0	0	

4 乳蛋白質等に特色のある牛群の乳生産及び生乳を用いた乳製品の特性調査

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○東利菜、星一美

研究期間：令和3（2021）年度～令和4（2022）年度 予算区分：県単

1 目的

近年、消費者の健康志向によるカルシウムやその他栄養の摂取の意識もあり、飲用牛乳向けの処理量は微増しており、今後も健康志向に寄り添った牛乳や乳製品の需要の拡大が見込まれる。また、チーズに関して、日本人1人当たりの消費量は伸びているものの、国内のチーズ消費量の約87%は輸入品で賄われている。

そこで、蛋白質等に特色のある生乳を生産するため、ゲノミック評価を実施し、乳生産への影響及び乳の特性を調査することで生乳の消費拡大や酪農家の所得向上に資する。

2 方法

(1) 供試牛：1産次の305日成績検定済みの経産牛10頭

(2) 調査項目

ア 牛群検定成績…1産次の補正乳量、乳脂率、蛋白質率、無脂固形分率

（乳成分については、305日間成績の値を使用）

イ ゲノミック評価…ネットメリット、チーズメリット、乳量、脂肪率、蛋白率、カップパーカゼイン、ベータラクトグロブリン

※カップパーカゼイン：チーズの凝固過程に影響するA、B、Eの変異体。

チーズに対してBB=最も好ましい

※ベータラクトグロブリン：カゼインやタンパク質の生成に影響を与える主要なホエイタンパク質のA、Bの変異体。

チーズに対してBB=最も好ましい

3 結果の概要

(1) 検定成績の乳蛋白質率とゲノミック評価の蛋白率の間、ゲノミック評価値のネットメリットとチーズメリットの間にそれぞれ強い正の相関が見られた（表1、図1、2）。一方で、蛋白質をはじめとする乳成績とチーズに関する遺伝能力間等に関連は確認できなかった（表2）。

(2) 過去にゲノミック評価を行った未経産の牛を含めた場内飼養牛70頭のうち、チーズに対して好ましいとされるベータラクトグロブリンとカップパーカゼインの型（BB）を持つ牛がそれぞれ7頭、12頭確認できた。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

牛群検定成績とゲノミック評価の関連性について、今年度は10頭解析を行ったが、次年度以降は、ゲノミック評価済みの初産牛のデータを蓄積し、頭数を増やしてさらなる解析を実施する。また、乳蛋白質やチーズメリットに関わるゲノムで高い評価を持つ個体（群）の生乳を用いて製造した乳製品（チーズ）の特性を調査する。

[具体的データ]

表1. 牛群検定成績とゲノミック評価値の相関関係

項目	相関係数	
補正乳量	乳蛋白率	-0.39
補正乳量	Net Merit (\$)	0.29
乳蛋白率	Net Merit (\$)	0.36
乳蛋白率	Pro %	0.96
補正乳量	Cheese Merit	0.28
乳蛋白率	Cheese Merit	0.38
乳蛋白量	Cheese Merit	0.39
無脂固形	Cheese Merit	0.25
乳脂率	Cheese Merit	0.59
乳脂率	Fat %	0.27
Net Merit (\$)	Cheese Merit	1.00
Milk Yield	Net Merit (\$)	0.81

※灰色：牛群検定成績の項目、
白色：ゲノミック評価の項目

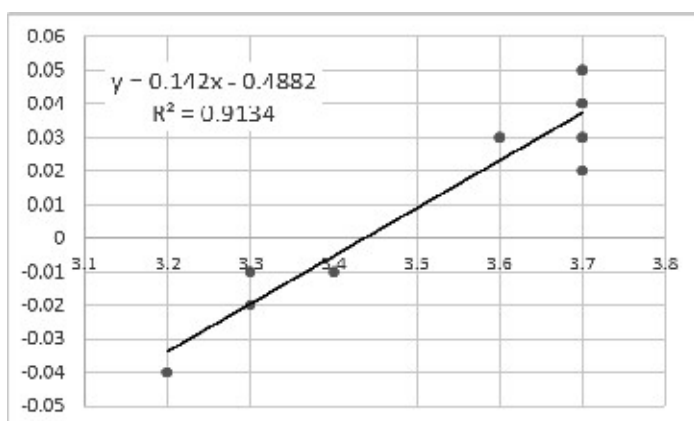


図1. 乳蛋白率とPro%の相関関係

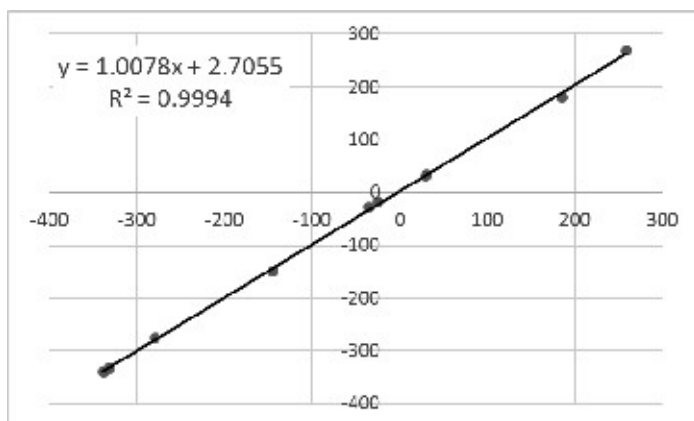


図2. Net Merit と Cheese Merit の相関関係

表2. 牛群検定成績とゲノミック評価値の一元配置分散分析の結果

項目	P値	
Beta Lactoglobulin	Cheese Merit	0.14
Beta Lactoglobulin	乳蛋白率	0.54
Kappa Casein	Cheese Merit	0.16
Kappa Casein	乳蛋白率	0.76

※灰色：牛群検定成績の項目、
白色：ゲノミック評価の項目

5 日本の食習慣に対応した乳製品の開発

担当部署名：乳牛研究室

担当者名：○東利菜、星一美

研究期間：令和3（2021）年度～令和4（2022）年度 予算区分：県単

1 目的

近年、消費者の健康志向によるカルシウムやその他栄養の摂取の意識もあり、飲用牛乳向けの処理量は微増しており、今後も健康志向に寄り添った牛乳や乳製品の需要の拡大が見込まれる。また、チーズに関して、日本人1人当たりの消費量は伸びているものの、国内のチーズ消費量の約87%は輸入品で賄われている。

そこで、蛋白質に着目した牛乳及び乳製品への価値の付加や、食習慣に即した乳製品の開発を通して、生乳の消費拡大や酪農家の所得向上に資することを目的に、地域に根付く地域常在の乳酸菌等の特性を調査し、それを用いてチーズを製造し、その特徴を調査することで、食習慣に対応した乳製品を開発する。

2 方法

(1) 那須塩原市オリジナルチーズ開発支援

ア ブルーベリー由来乳酸菌のチーズ製造適正の調査

市特産のブルーベリー由来乳酸菌7株について、特性（温度適正、塩耐性、凝乳性）を調査した。

【選抜条件】

- ① 温度適正：10℃、20℃（熟成温度）で増殖が見られること。
- ② 塩耐性：6%以上で増殖が見られること。（チーズ製造時の塩漬けに耐えられる）
- ③ 凝固性：凝固（乳中で乳酸発酵して増殖）が見られること。

イ 選抜された乳酸菌を用いてのチーズ製造

市販スターター（10⁹cfu/mL）に候補株 10⁵cfu/mL をそれぞれ添加したフロマージュブラン及びゴータチーズの製造を実施した。

(2) 地域常在菌を用いた乳製品の特性調査

ア 地域常在菌（OY-57）を用いたチーズの試作

製造場所：地域のチーズ工房4カ所

チーズ種：モッツアレラチーズ、フレッシュチーズ、フロマージュブラン、白カビチーズ

試験区：対照区…メインスターターのみ

OY-57 添加区…メインスターター+OY-57（乾燥粉末化）

イ 特性調査

評価項目：嗜好型官能評価、成分（水分、タンパク質、脂質、灰分、炭水化物、エネルギー）、遊離アミノ酸

3 結果の概要

- (1) チーズ製造適正の調査の結果をもとに4株（ONCT6130、32、33、34）を選抜した（表1）。また、それらを添加したチーズの嗜好調査により、ONCT6130が商品化する乳酸菌に選抜された。
- (2) 官能評価の結果、モッツアレラチーズ・フレッシュチーズ・フロマージュブランでわずかな差ではあるが、OY-57 添加区の方が高い評価となった（表2）。モッツアレラチーズ・フレッシュチーズ・白カビチーズの3種のチーズでは、OY-57 添加区の方が硬いという評

価が多く、OY-57 の添加が硬さに影響する可能性が示唆された（表 2）。遊離アミノ酸総量は、白カビチーズにおいて、対照区に比較して OY-57 添加区が若干低く、フロマージュブランにおいて、対照区に比較して OY-57 添加区が若干高かった。苦みにかかわるアミノ酸量は、白カビチーズにおいて、対照区に比較して OY-57 添加区が若干低い傾向にあった（図 1）。

4 今後の問題点と次年度以降の計画

OY-57 の添加試験について、次年度は長期熟成チーズで実施する。特徴をまとめ、OY-57 添加の効果が大きい、適性のあるチーズ種を検討する。

[具体的データ]

表 1. ブルーベリー由来乳酸菌のチーズ製造適正

	分離源	管理番号	温度適正		塩耐性				凝乳性 凝固有無	適正調査 による 選抜株
			培養温度		塩分濃度					
			20°C	10°C	3%	6%	9%	12%		
1	ラビットアイ	ONCT6130	+	+	++	++	±	±	+	○
2	ラビットアイ	ONCT6131	+	±	+	+	±	±	+	
3	ラビットアイ	ONCT6132	+	+	++	+	±	±	+	○
4	ラビットアイ	ONCT6133	++	+	++	+	±	±	+	○
5	ラビットアイ	ONCT6134	++	+	+	+	±	±	+	○
6	ラビットアイ	ONCT6135	+	+	+	+	±	±	+	
7	ラビットアイ	ONCT6136	+	-	+	+	±	±	+	

表 2. 官能評価における総合的に好ましいほうへの投票結果

	モッツアレラ チーズ 4票	フレッシュ チーズ 4票	フロマージュ ブラン 2票	白カビチーズ 4票
対照区				
OY-57添加区	5票	6票	4票	2票

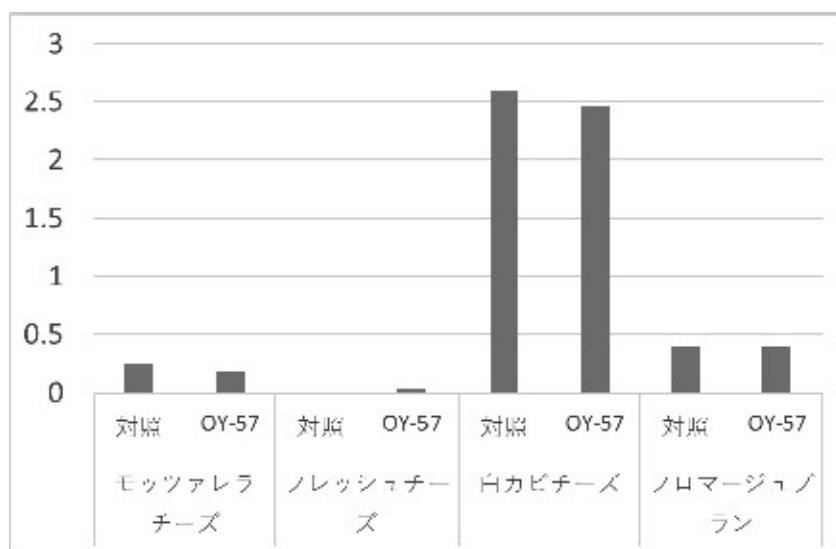


図 1. チーズ中苦みに関係する遊離アミノ酸量 (μmol/g cheese)