

[成果情報名] ウシ初乳の一般細菌汚染と子牛感染症との関連性

[要 約] 酪農家で凍結保存されたウシ初乳は、乳房から採取した初乳に比べて一般細菌の検出率が高く、生菌数も多いが、全初乳検体とも60 30分加熱によって細菌は検出されなくなる。また、給与した初乳中の生菌数が 1.0×10^4 cfu/mlを越えると、子牛の桿状核好中球数が増加し、活力低下等の症状が発現する。

[キーワード] ウシ初乳、一般細菌、生菌数、子牛感染症

[担 当] 静岡畜技研・大家畜部（旧畜試・乳牛部）

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

[区 分] 畜産・草地

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

ウシ初乳は子牛に免疫グロブリン等を付与する上で重要だが、初乳を介した子牛への感染症（ヨーネ病、牛白血病など）も多い。しかし、牛舎やウシ乳房に常在する一般細菌の初乳汚染については、よくわかっていない。そこで、酪農場で凍結保存されている初乳（以下、凍結初乳）と乳房から直接、採取した初乳（乳房採取初乳）について、一般細菌を分離・同定し、汚染状況を明らかにする。また、初乳中の生菌数が子牛に与える影響についても調査する。

[成果の内容・特徴]

1. 静岡県の10酪農家より採取した凍結初乳12検体、乳房採取初乳20検体を対象に、一般細菌の分離・同定と生菌数を測定した。その結果、凍結初乳の75% から *Escherichia coli*, *Staphylococcus chromogenes* 等が分離され、平均生菌数は 1.8×10^4 cfu/mlである。乳房採取初乳は10%から *Streptococcus uberis* 等が分離されたのみで、平均生菌数は 3.5×10^2 cfu/mlで、凍結初乳のほうが乳房採取初乳より生菌数が多い($P < 0.05$) (図1)。また、全初乳検体とも、60 30分加熱により、一般細菌は検出されなくなる。
2. 健康な初生子牛5頭を対象に、初乳を生後2日間給与し、3日目以降は全乳を給与した。その結果、給与初乳中の生菌数が 1.0×10^4 cfu/mlを越える2頭では、活力の低下等が発現する(表1)。この2頭を臨床異常群、他の3頭を正常群として血液検査を比べると、臨床異常群では桿状核好中球数が増加する傾向を示す(図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 搾乳器具の汚染や乳房炎に起因する初乳の細菌汚染対策に活用できる。
2. 初乳の生菌数と子牛感染症との関連性および初乳の低温殺菌処理の有効性について、普遍性が裏付けられれば、子牛感染症の低減技術として普及に移せる。

[具体的データ]

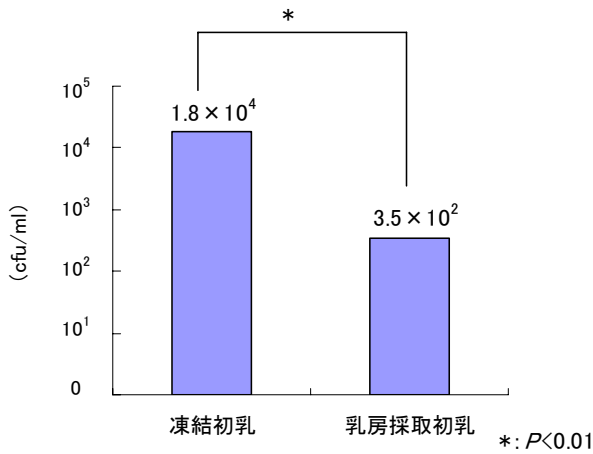


図-1 凍結初乳と乳房採取初乳の生菌数

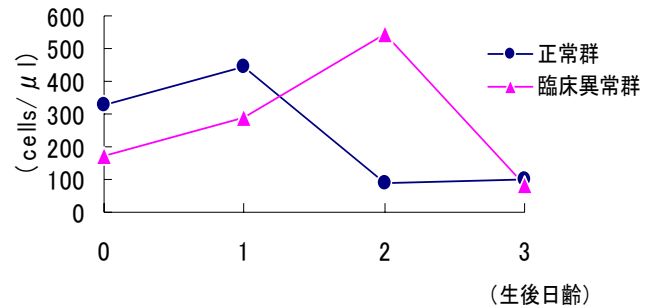


図-2 臨床異常群と正常群の桿状核好中球数の推移

表-1 初乳中の生菌数、分離菌と子牛の臨床症状

子牛No.	給与初乳	初乳中の生菌数 (cfu/ml)	生後0日目(給与1回目)の初乳		子牛の臨床症状 (生後1日目)
			生菌数 (cfu/ml)	分離菌	
1	凍結初乳	$3.0 \times 10^2 \sim 6.0 \times 10^2$	6.0×10^2	<i>Pseudomonas cepacia</i>	正常
2	凍結初乳	$4.0 \times 10^2 \sim 1.7 \times 10^3$	1.7×10^3	<i>Corynebacterium sp.</i>	正常
3	凍結初乳	1.0×10^2	0		正常
4	凍結初乳	$4.0 \times 10^2 \sim 4.0 \times 10^4$	4.0×10^4	<i>Staphylococcus hyicus</i>	元気活力の低下、下痢
5	母牛の初乳	$4.0 \times 10^3 \sim 2.0 \times 10^4$	2.0×10^4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	元気活力の低下

[その他]

研究課題名：ウシ初乳の機能性タンパク質成分を活用したヒト免疫強化食品の開発

予算区分：県単（静岡県プロジェクト研究）

研究期間：2006年

研究担当者：赤松裕久、土屋貴幸、山岸健二、佐野文彦、笠井幸治

発表論文等：赤松裕久（2007），臨床獣医，25（1）：16-19．

[成果情報名] クライオトップでガラス化保存したウシバイオプシー胚のストロー内耐凍剤除去法
[要 約] クライオトップ(CT)を用いてガラス化保存したウシバイオプシー胚は、耐凍剤除去液を入れたストロー内に CT シート部を挿入、上下に振とうして、胚をストロー内に移行させることで、耐凍剤除去が可能である。
[キーワード] クライオトップ、ガラス化保存、ウシバイオプシー胚、ストロー内耐凍剤除去
[担 当] 静岡畜技研・大家畜部（旧畜試・乳牛部）
[連絡先] 電話 0544-52-0146、電子メール chikugi-daikachiku@pref.shizuoka.lg.jp
[区 分] 畜産・草地
[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

通常、ガラス化保存胚を利用する場合、実験室内で熟練した技術者による耐凍剤除去処理が必要で、このことが野外普及の妨げとなっている。そこで、CT を用いてガラス化保存したウシバイオプシー胚を農家の庭先で利用するためのストロー内耐凍剤除去法を明らかにする。

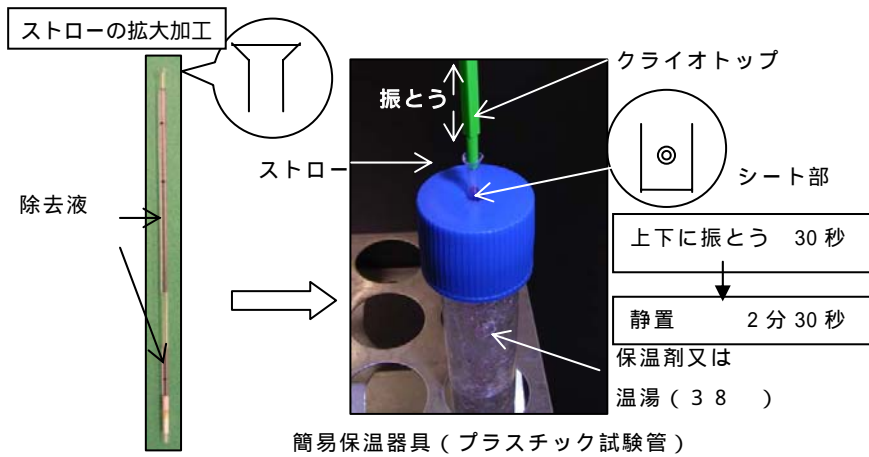
[成果の内容・特徴]

- 1 . 生体から回収した胚を性判別目的で約 20%の細胞を採取後、CT 法で保存したものについて、耐凍剤除去液を充填したストロー（38 ℃ に加温）に CT のシート部を挿入（図 1）し、30 秒、上下に振とう後、CT をストローから取り出し、更に 2 分 30 秒かけて耐凍剤除去を行う。この際、シート部を 30 秒間上下に振とうすることで、すべての胚がストロー内に移行する（表 1）。ストロー内の耐凍剤除去により、胚の生存性は損なわれない（表 1）。
- 2 . 0.3MSuc を含む 20%CS 加 199 を用いたストロー内耐凍剤除去後、30 分放置後の胚の生存性は、Suc 濃度が 0.5M に比べ高い傾向にある（表 2）。したがって、0.3M の Suc を含む除去液を用いる場合は、移植に長時間を要しても、胚に対する障害が少ない傾向にある。
- 3 . 0.3MSuc を含む 20%CS 加 199 を耐凍剤除去液に用いて、ストロー内で CT シート部を 30 秒の上下振とうと 2 分 30 秒の耐凍剤除去操作（図 1）をした後、CT 法でガラス化保存したバイオプシー胚を移植することで、定法（実験室内段階除去法）と同等の受胎率が得られる（表 3）。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 耐凍剤除去液を入れるストローの口を広げ、CT のシート部が挿入しやすいようにするストロー加工が重要である。
- 2 . 保管器から取り出し、ストロー内耐凍剤除去するまでの手技に迅速性が求められる。

[具体的データ]



除去液充填ストロー 図1 ストロー内耐凍剤除去法

表1 ストロー内耐凍剤除去法^{a)}による胚のストロー内移行と培養^{b)}による胚の生存性評価

CT ^{c)} ・シート部の操作	供試本数 (本)	紛失胚数 (個)	ストロー内に移行 した胚数(個)	移行胚の培養後の生存数(%)	
				24 h	48 h
静置	16	8	8	8(100)	8(100)
振とう	16	0	16	16(100)	16(100)

a)耐凍剤除去液は0.5MのSucを含む20%CS加199,b)培養液は100μM- MEを添加した20%CS加199,c)クライオトップ

表2 ストロー内耐凍剤除去液のSuc濃度・放置時間と培養^{a)}による胚の生存性評価

Suc濃度	放置時間 (分)	供試胚数 (個)	生存胚数(%)	
			24 h	48 h
0.3M	3	14	14(100.0)*	12(85.7)
	30	13	12(92.3)	12(92.3)
0.5M	3	17	16(94.1)	16(94.1)
	30	13	9(69.2)*	9(69.2)

^{a)}100μM- MEを添加した20%CS加199を利用

*P<0.05

表3 耐凍剤除去液のSuc濃度と移植成績

Suc濃度	除去法	移植	受胎	受胎率
		(頭)	(頭)	(%)
0.3M	ストロー内除去	9	5	55.5
0.5M	ストロー内除去	3	1	33.3
1.0M	0.5M 実験室内段階除去 (定法)	36	19	52.8

有意差なし

[その他]

研究課題名：性判別ガラス化保存胚の簡易移植法の検討

予算区分：県単

研究期間：2004～2006年度

研究担当者：佐野文彦、齋藤美英（東部農林事務所）、赤松裕久、永田浩章、土屋貴幸、笠井幸治

[成果情報名] 乳牛ふんの減圧乾燥処理によるふん中雑草種子を不活化する方法

[要 約] 牛ふんの堆肥化における前処理法である減圧乾燥処理は、牛ふんの水分調整と、牛ふん中の雑草種子の不活化を同時に行うことができる。雑草種子の不活化は、水分 87%の乳牛ふんを 70%まで乾燥させる処理で十分であり、このときの減圧処理中のタンク内温度は 65～70℃、処理時間は 3 時間である。

[キーワード] 強害雑草、減圧乾燥、乳牛ふん

[担 当] 静岡畜技研・環境飼料部（旧畜試・環境飼料部）

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

[区 分] 畜産・草地

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

飼料に混入した外来雑草の種子が、不十分な処理をした牛ふんを通じて農地を汚染することが問題となっている。これは牛ふんの堆肥化過程で品温の上昇が不十分あるいは不均一であったため、牛ふん中の雑草種子が不活化されなかったことによる。一方、乳牛ふんなどの含水率が高い有機物の乾燥方法として利用される減圧乾燥処理は、処理過程で雑草種子の不活化に必要な 60～70℃の温度条件を一定時間保持できる。そこで、堆肥化のための水分調整と雑草種子の不活化を同時に行うための乳牛ふんの減圧乾燥処理に必要な処理条件を検討する。

[成果の内容・特徴]

1. 供試した減圧乾燥機（TDS - 2V：東芝機械製）は、タンク容量 0.35m³、蒸気ボイラーを熱源としてタンク内部を加熱しながら、内容物をパドルで攪拌する構造である。
2. 水分 87.4%の乳牛ふん 0.15m³と、ナイロンメッシュバックに入れた 9 種類の雑草および牧草の種子を減圧乾燥機に入れ、真空ポンプにより約 0.07MPa に減圧しながらタンク内部を加熱する。このとき、加熱開始後 30 分以降のタンク内の品温は 65～70℃で推移し、牛ふんを水分 70%まで乾燥させるのに要する時間は 180 分である（図 1）。
3. 減圧乾燥処理した雑草および牧草種子を、無処理を対照として雑草科学実験法（日本雑草学会 2001）に準じた条件で、種子数 25 粒、3 回の繰り返しで発芽させたところ、対照区の発芽率 39～93%に比べ、減圧乾燥処理した雑草および牧草は全く発芽しない（表 1）。

[成果の活用面・留意点]

1. 乳牛ふんの減圧乾燥処理により、堆肥化の水分調整と雑草種子の不活化を同時に行うことが可能である。
2. 減圧乾燥機の容量や型式が異なる場合は、減圧乾燥処理中に十分な処理温度と処理時間が確保できているか確認する必要がある。
3. 減圧乾燥機を乳牛ふんの水分調整として利用した場合、搾乳牛 50 頭規模における年間の処理経費は 5,959 千円（減圧乾燥機と堆肥舎の減価償却費及び労賃を含む）である。

[具体的データ]

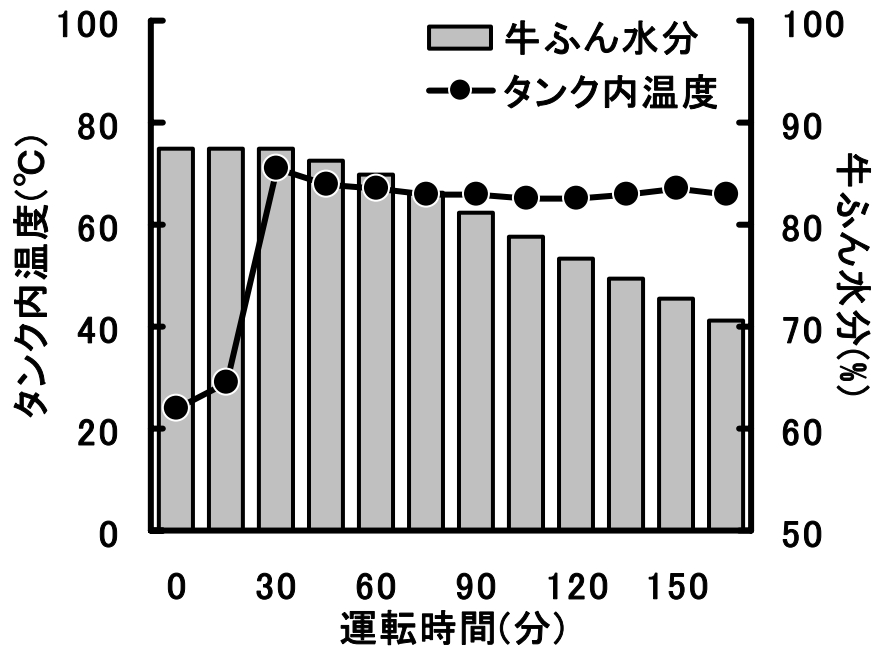


図 1 乳牛ふんを減圧乾燥処理した場合の減圧乾燥機タンク内温度と水分の推移

表 1 減圧乾燥処理による雑草および牧草種子の発芽率の変化

草 種	(%)	
	対照区 (無処理) ¹⁾	減圧乾燥 処理区
シロザ (<i>Chenopodium album</i>)	80.7 ± 6.2	0.0
エゾノギシギシ (<i>Rumex obtusifolius</i>)	78.0 ± 4.9	0.0
イチビ (<i>Abutilon theophrasti</i>)	51.3 ± 2.5	0.0
アメリカイヌホウズキ (<i>Solanum americanum</i>)	85.3 ± 5.2	0.0
ヨウシュチョウセンアサガオ (<i>Datura stramonium</i>)	39.3 ± 0.5	0.0
ワルナスビ (<i>Solanum carolinense</i>)	48.1 ²⁾	0.0
シロビエ (<i>Echinochloa crusgalli</i>)	93.3 ± 2.5	0.0
イタリアンライグラス (<i>Lolium multiflorum</i>)	78.0 ± 1.6	0.0
スーダングラス (<i>Sorghum sudanense</i>)	85.3 ± 3.4	0.0

1) Mean ± S.D.

2) 必要な種子数を確保できなかったため反復なし。

[その他]

研究課題名：有機性廃棄物ゼロエミッションを目指した堆肥生産利用方式の確立

予算区分：県単

研究期間：2003～2005年度

研究担当者：芹澤駿治、片山信也、佐藤克昭、望月建治