

[成果情報名] 黄色ブドウ球菌性乳房炎の治癒率は細菌の遺伝子型により異なる

[要 約] 当所の乳房炎由来黄色ブドウ球菌は、PFGE 法により 2 つの遺伝子型に分類され、治癒率及び保有する病原遺伝子が異なる。また、保有する病原遺伝子と初発及び再発時の治癒率との関連は認められない。

[キーワード] 黄色ブドウ球菌、乳房炎、PFGE 法、遺伝子型

[担 当] 静岡畜技研・安全生乳プロジェクトスタッフ

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

[区 分] 畜産・草地

[分 類] 研究・参考

[背景・ねらい]

牛乳房炎から分離される黄色ブドウ球菌 (SA) は、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法により 16 系統 60 パターンの遺伝子型に分類され、遺伝子型によって、保有する病原因子が異なることが報告されている。そこで、菌の遺伝子型や、保有する病原因子の違いが乳房炎治癒及び再発に関連するかを調査する。

[成果の内容・特徴]

- 1 当所の乳房炎由来 SA は PFGE 法により 16 系統の中の 2 系統 (A, B) に属する遺伝子型に分類され (図 1)、A 遺伝子型の初発と再発の治癒率に差が認められる (表 1)。
- 2 エンテロトキシン C (SEC) 遺伝子、毒素ショック症候群毒素 (TSST-1) 遺伝子、フィブロネクチン結合タンパク (Fnbp) B 遺伝子の保有率は遺伝子型で異なる (表 2)。
- 3 SA 乳房炎の初発時及び再発時の治癒率は SEC、TSST-1、FnbpB 遺伝子の保有に関係なく、差は認められない (表 3)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 SA 乳房炎の遺伝子型を同定することにより、乳房炎の治癒率が予測できることを示す知見として活用できる。
- 2 今回調査した以外の遺伝子型及び病原遺伝子について治癒との関連性を検討する必要がある。

[具体的データ]

A B

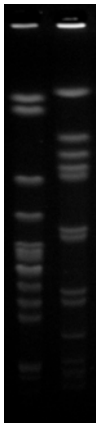


表 1 遺伝子型別の治癒率

遺伝子型	株数	治癒率 (%)	
		初発	再発
A	20	85.7 ^a	33.3 ^b
B	56	61.7	50.0

異符号間に有意差あり (a, b : P<0.05)

図 1 SA の遺伝子型

表 2 遺伝子型別の病原遺伝子保有率

遺伝子型	株数	保有率 (%)		
		SEC	TSST-1	FnbpB
A	20	25	25	0
B	56	0	0	80

表 3 病原遺伝子別の治癒率

病原遺伝子	治癒率 (%)			
	初発		再発	
	保有	非保有	保有	非保有
SEC	66.7	68.9	0.0	50.0
TSST-1	66.7	68.9	0.0	50.0
FnbpB	59.3	81.0	44.4	50.0

[その他]

研究課題名：安全な生乳生産に影響を及ぼす要因の特定と対策

予算区分：県単

研究期間：2008～2010年度

研究担当者：小柳寿文、檀原麻実、赤松裕久

[成果情報名] 乳牛のケトーシスでの血中3-メチルヒスチジンおよび NEFA 動態と繁殖機能回復

[要 約] 乳牛のケトーシスでは、分娩後に血中 3-メチルヒスチジン (3-MH) と NEFA が健康牛と比べ上昇し、初回発情も遅延し、初回発情日数は分娩日の NEFA・分娩 14 日後の 3-MH に相関し、エネルギーとタンパク質の負のバランスが繁殖機能回復を遅延させる。

[キーワード] 3-メチルヒスチジン、ケトーシス、ウシ、初回発情日数

[担 当] 静岡畜技研・安全生乳プロジェクトスタッフ

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

[区 分] 畜産・草地 (牛)

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

乳牛のケトーシスではエネルギーだけではなく、タンパク質も負のバランスになり、分娩後に血中 3-MH が上昇する。また、ケトーシス牛では初回発情日数も遅延する。そこで、血中 3-MH と他の血液エネルギー代謝指標およびそれらと初回発情日数との相関を調査し、タンパク質およびエネルギー代謝と繁殖性との関連性を調査する。

[成果の内容・特徴]

- 1 当所飼養のホルスタイン種経産牛 17 頭を、ケトーシス群 (n=7) と健康群 (n=10) に分けた。ケトーシスの診断基準は元気食欲の低下および乳中 β -ヒドロキシ酪酸 200 $\mu\text{mol/l}$ 以上とした。
- 2 分娩 14 日前、分娩日、分娩 14、30、60 日後に血液検査を実施した。検査項目は 3-MH、遊離脂肪酸 (NEFA)、総コレステロール、インスリン様成長因子-1 (IGF-1) 等とした。また、繁殖機能回復の指標として初回発情日数を調査した。
- 3 分娩日におけるケトーシス群の NEFA は健康群より高く ($P < 0.05$)、分娩 14、30 日後における 3-MH もケトーシス群で高い ($P < 0.01$)。しかし、他の血液項目では両群間に差はみられない。
- 4 ケトーシス群の初回発情日数は 72 ± 15 日で、健康群の 44 ± 11 日より遅延が認められる ($P < 0.01$)。
- 5 初回発情日数を目的変数とし、それぞれの血液検査項目について分娩-14、0、14、30、および 60 日の測定値を説明変数とした重回帰分析を実施した。初回発情日数との相関は、NEFA では 0 日、3-MH では 14 日において認められる。しかし、他の血液検査項目とは相関は認められない。
- 6 以上のことから、乳牛のケトーシスではエネルギーに加えてタンパク質も負のバランスになり、それらが複合して繁殖機能回復を遅延させることが示唆される。

[成果の活用面・留意点]

- 1 ケトーシスの診断および防除対策時に、病態を把握する上で参考になる。
- 2 農場での指導に活用する場合は、農場ごとの飼養管理状況を考慮する必要がある。

[具体的データ]

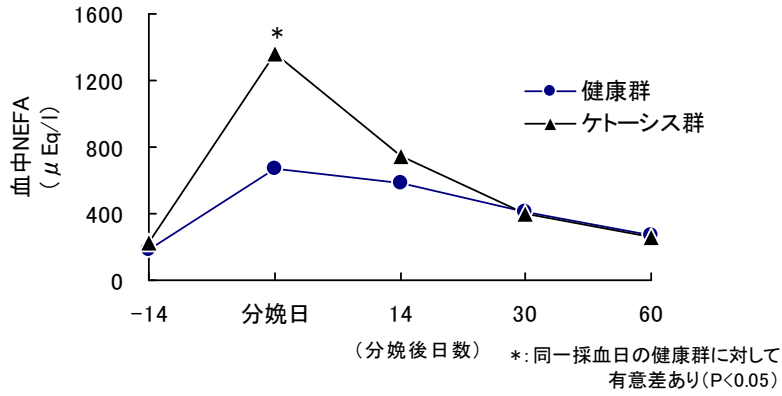


図1 血中NEFA濃度の推移

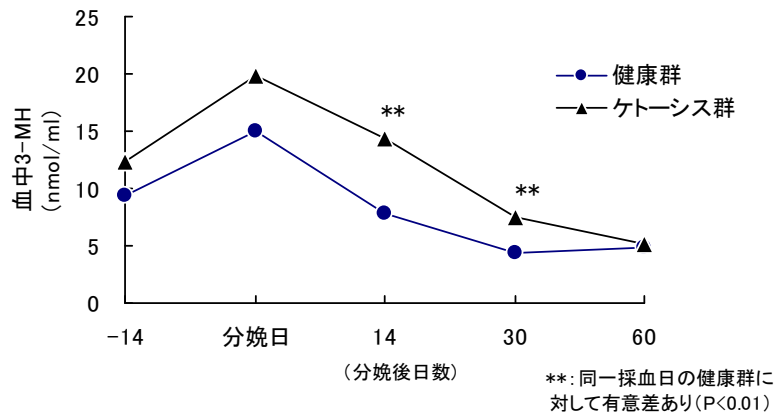


図2 血中3-MH濃度の推移

表1 初回発情日数を目的変数とした重回帰分析 (n=17)

説明変数	R	R2	SE	P値
血中3-メチルヒスチジン(分娩14日後)	0.6989	0.4884	0.8904	0.0245
血中NEFA(分娩日)	0.6329	0.4006	0.0068	0.0085

R: 重相関係数 R2: 決定係数
SE: 標準誤差

[その他]

研究課題名: 乳牛における血中3-メチルヒスチジン濃度を指標とした代謝病予防・治療法の確立

予算区分: 県単

研究期間: 2004~2006年度

研究担当者: 赤松裕久、土屋貴幸(静岡県東部家保)、檀原麻実、中島一喜(畜産草地研)

発表論文等: Hirohisa AKAMATSU et al. (2007) Journal of Veterinary Medical Science 69 (10) : 1091-1093

[成果情報名] 分娩前の乳汁検査に基づく牛乳房炎の予防的治療効果の検討

[要 約] 分娩前の乳汁性状が初乳様・水様の分房に泌乳期用抗生物質軟膏による治療を実施すると、分娩日の細菌分離率が低下する。また、水様分房では分娩後 10 日以内の臨床型乳房炎発症率が低下する傾向がある。

[キーワード] 乳用牛、乳房炎、分娩前、乳汁性状

[担 当] 静岡畜技研・安全生乳プロジェクトスタッフ

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

[区 分] 畜産・草地（牛）

[分 類] 技術・普及

[背景・ねらい]

分娩前の乳汁性状を粘度によって水様・初乳様・アメ状の 3 段階に分類すると、初乳様または水様の場合、粘度が高いアメ状と比較して細菌分離率が高く、乳房炎発症率が高くなる。そこで、分娩前の乳汁性状に基づいた乾乳期の治療試験を実施し、その有用性を検討する。

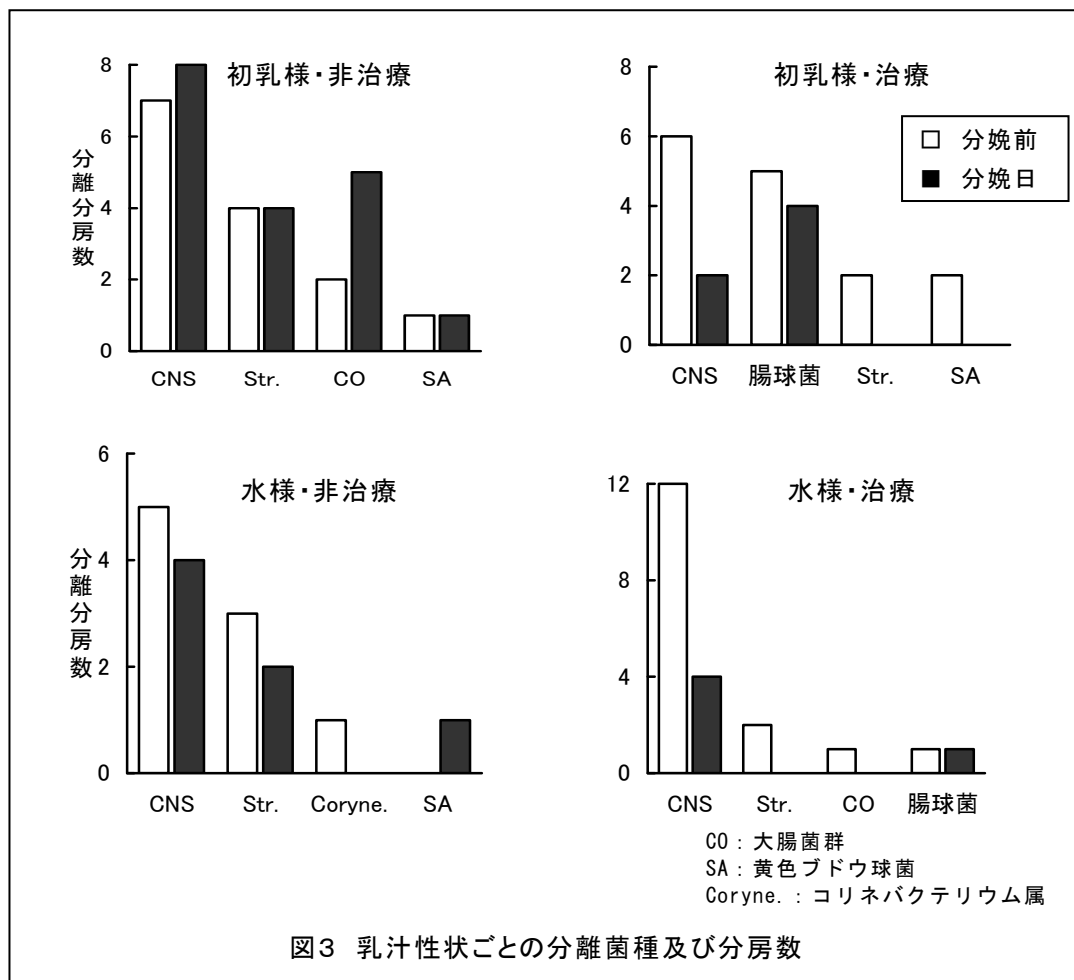
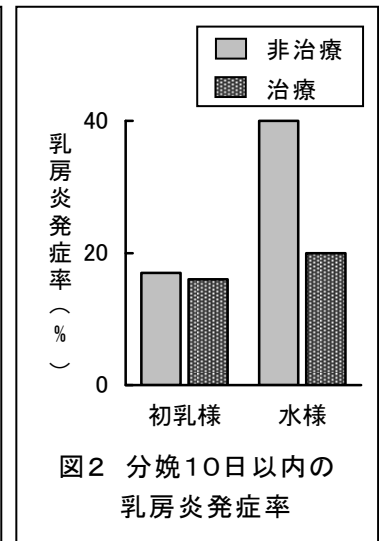
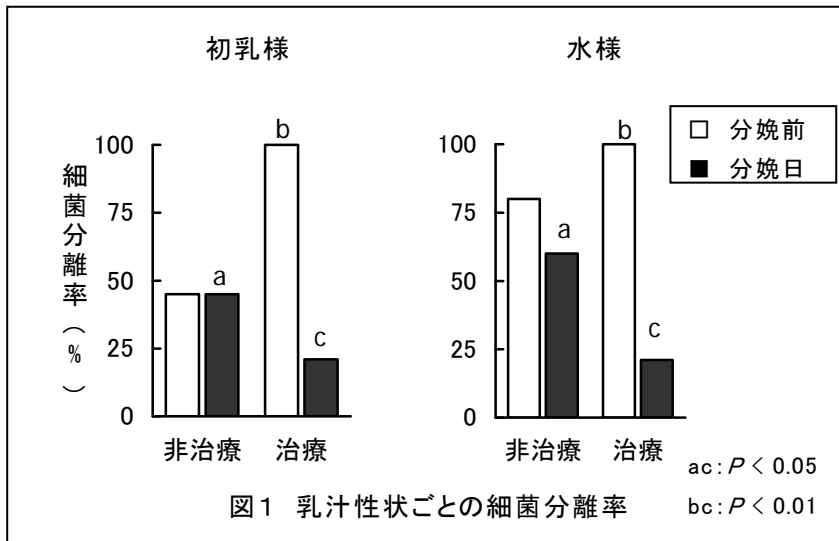
[成果の内容・特徴]

- 1 静岡県内の 1 酪農場で飼養されているホルスタイン種経産牛 45 頭を対象に、分娩 14 日前と分娩日に分房ごとの乳汁を採取し、分娩 14 日前の乳汁性状が初乳様の分房を治療群 (n=29) と非治療群 (n=29)、同様に水様分房についても治療群 (n=25) と非治療群 (n=10) に分け、細菌分離率と分娩後 10 日以内の臨床型乳房炎発症率を比較した。また、免疫グロブリン (IgG1、IgG2)、ラクトフェリン (Lf)、 α 1 酸性糖蛋白 (α 1AG) の濃度を比較した。
- 2 治療は分娩 10 日前に泌乳期用抗生物質軟膏 1 本 1 回注入とし、抗生物質の選択は分娩 14 日前の薬剤感受性検査結果に基づいて行った。
- 3 分娩日の細菌分離率は、初乳様では非治療群 45% に対し治療群では 21% と低く ($P < 0.05$)、水様でも非治療群 60% に対して治療群では 24% と低い ($P < 0.05$) (図 1)。
- 4 水様分房の分娩後 10 日以内の臨床型乳房炎発症率は、非治療群 40% に対し治療群では 20% と低下する傾向を示す (図 2)。
- 5 初乳様、水様とも分娩 14 日前の分離菌はコアグラールゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) およびレンサ球菌 (Str.) であり、治療群ではこれらの菌は分娩日に減少する (図 3)。
- 6 初乳様、水様ともに非治療群と治療群の IgG1、IgG2、Lf、 α 1AG 濃度には差が認められない。

[成果の活用面・留意点]

- 1 分娩前の乳汁性状が初乳様、水様の分房への抗生物質投与は分娩日の細菌分離率を低下させ、分娩後の乳房炎制御に活用できる。
- 2 分娩前は乳房内感染が起こりやすい時期であるため、採材時及び治療時の感染予防に留意する。

[具体的データ]



[その他]

研究課題名：乾乳期検査に基づく乳房炎治療法の確立

予算区分：県単

研究期間：2007～2009年度

研究担当者：檀原麻実、赤松裕久、小柳寿文、板垣昌志（NOSAI 山形）

[成果情報名] 低品質ウシ性判別胚の保存にはクライオトップ法が有効である

[要 約] クライオトップを用いたウシ性判別胚のガラス化保存において、ストロー内希釈液の組成は受胎率に影響を及ぼし、0.2モル Sucrose を添加した希釈液を用いることにより、低品質ウシ性判別胚（C ランク）でも約 70%の生存率が得られ、受胎も得られる。

[キーワード] クライオトップ、ガラス化保存、性判別、低品質胚、ウシ、ストロー内希釈

[担 当] 静岡畜技研・酪農科

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

[区 分] 畜産・草地（牛）

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

ウシ性判別胚の保存は、ガラス化保存法が一般的に用いられているが、野外普及のためには、農家の庭先で簡便に耐凍剤希釈ができる手法が必要である。超急速ガラス化保存法であるクライオトップ（CT）法¹⁾はウシ性判別胚の保存法として有効であり、野外で簡易に耐凍剤を希釈できるストロー内希釈法の有効性も報告されている。そこで、ストロー内希釈法に適した希釈液を検討するとともに、今まで保存が困難であった低品質ウシ性判別胚（C ランク）を CT 法で保存し、低品質ウシ性判別胚の保存法としての CT 法の有効性を確認する。

¹⁾ kuwayama, M(1998), J. Assist. Reprod. Genet., 17(8):477

[成果の内容・特徴]

- 1 性判別目的で約 10%の細胞を採取後、CT 法で保存したウシ性判別胚（A、B ランク）を 0.2Mの Sucrose (Suc)を含む 20%子牛血清（CS）加 D-PBS（38℃に加温）を用いてストロー内希釈（図 1）を行うと、56.5%の受胎率が得られる（表 1）ことから、本希釈液は CT 法のストロー内希釈液として有効である。
- 2 CT 法で保存した低品質ウシ性判別胚は、0.2Mの Suc を含む 20%CS 加 D-PBS（38℃に加温）を用いてストロー内希釈を行うと、約 70%の生存率が得られる（表 2）。
- 3 CT 法で保存した低品質ウシ性判別胚の移植で、33.3%（2/6）の受胎率が得られることから、CT 法を用いることにより低品質ウシ胚の性判別利用が可能である（表 3）。

[成果の活用面・留意点]

- 1 低品質ウシ性判別胚（intact 胚を含む）の保存法として活用する。
- 2 希釈液の入ったストロー内に CT のシート部（胚）を 5 秒以内に入るよう、手技に迅速性が求められる。5 秒以上 10 秒以内では、受胎例は得られなかった（0/4）。
- 3 希釈液を 38℃に保温して、実施することが重要である。

[具体的データ]

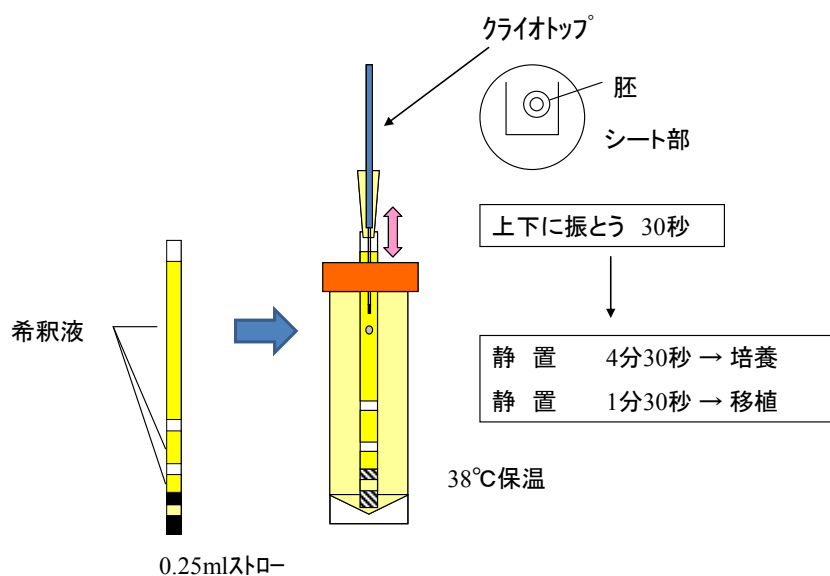


図1 ストロー内希釈法

表1 ストロー内希釈法における希釈液の違いと移植成績（A、Bランクウシ性判別胚）

Suc 濃度 (M)	基本液	移植頭数	受胎頭数	受胎率
0.5	TCM199	8	2	25.0
0.3	TCM199	15	7	46.7
0.3	D-PBS	10	5	50.0
0.2	D-PBS	23	13	56.5

表2 CT法で保存した低品質ウシ性判別胚の生存性評価

胚日齢 (日)	供試胚数 (個)	生存胚数 (%)		
		3h	24h	48h
7	13	11 (84.6)	10 (76.9)	10 (76.9)
8	11	8 (72.7)	7 (63.6)	7 (63.6)

表3 CT法で保存した低品質ウシ性判別胚の移植成績

供試胚	移植頭数	受胎頭数	受胎率
6	6	2	33.3

[その他]

研究課題名：低品質受精卵の有効利用技術の検討

予算区分：県単

研究期間：2008～2009年度

研究担当者：佐野文彦、土屋貴幸（静岡県東部家保）、小柳寿文、小林幸恵、永田浩章（静岡県東部家保）、神尾泰宏

[成果情報名] 種・属間雑種牧草における硝酸態窒素の蓄積特性

[要 約] 種・属間雑種牧草(ハイブリッドライグラス、フェストロリウム)はイタリアンライグラスと異なる硝酸態窒素の蓄積特性を示す。硝酸態窒素濃度の立毛評価にあたっては、イタリアンライグラスの葉色診断の適用はできず、硝酸態窒素分析などが必要となる。

[キーワード] 硝酸態窒素、ハイブリッドライグラス、フェストロリウム、葉色スケール

[担 当] 静岡畜技研・飼料環境科

[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] 研究・参考

[背景・ねらい]

飼料作物中に高濃度で蓄積した硝酸態窒素は反すう家畜の硝酸塩中毒の原因となる。飼料作物の生育に必要な窒素はしばしば多量に施用され硝酸態窒素の蓄積を引き起こすことから、飼料作物中の硝酸態窒素含量の低減技術と簡易診断技術が求められており、イタリアンライグラスでは葉緑素計を用いた立毛評価方法が開発されている。そこで、今後普及が期待されるハイブリッドライグラスやフェストロリウムなどの種・属間雑種牧草について、硝酸態窒素の蓄積特性と、葉緑素計や安価な水稻用葉色スケールを用いた硝酸態窒素濃度の評価の可能性を検討する。

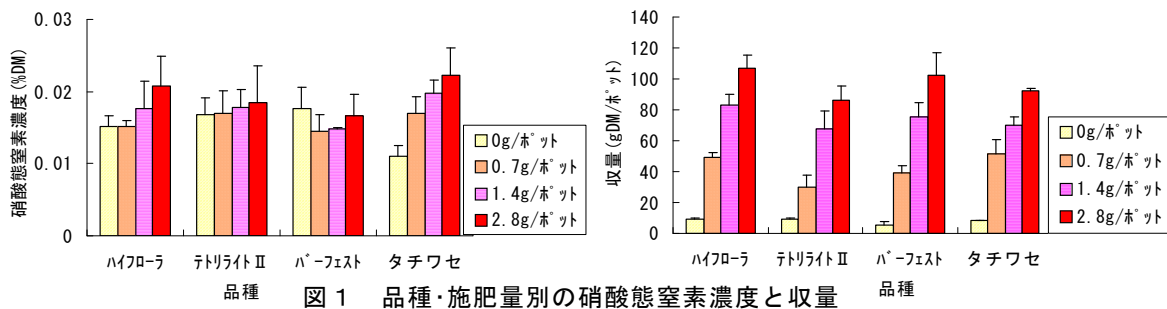
[成果の内容・特徴]

- 1 イタリアンライグラス「タチワセ」は窒素施用量を増加させるとともに硝酸態窒素濃度が上昇するが、種・属間雑種牧草では収量を増加させるが、硝酸態窒素濃度は明確に上昇せず、イタリアンライグラスと異なる硝酸態窒素の蓄積特性を示す(図1)。
- 2 イタリアンライグラスでは、葉緑素計の指示値 (SPAD 値)、葉色スケールの標準色素票値 (C.S. 値) と硝酸態窒素濃度間では有意な相関関係が認められるが、種・属間雑種牧草3品種では SPAD 値及び C.S. 値と硝酸態窒素濃度との相関が低く、イタリアンライグラスとの違いがみられる (表1)。
- 3 フェストロリウム「パーフェスト」、ハイブリッドライグラス「テトリライトⅡ」では、SPAD 値と水稻用葉色スケールの C.S. 値に有意な相関が見られ、イタリアンライグラスにおいて硝酸態窒素濃度の基準値 0.2%DM を上回るか否かの診断基準とされる SPAD 値 47 に相当する C.S. 値は 7 であるが (図2)、C.S. 値が 7 を示す場合でも硝酸態窒素濃度は必ずしも高くない (図3)。
- 4 ハイブリッドライグラス「ハイフローラ」の場合、SPAD 値と C.S. 値は関係が弱い (図2)。
- 5 以上から、種・属間雑種牧草はロリウム属の遺伝形質を有するが、その硝酸態窒素の蓄積特性はイタリアンライグラスとは異なるため、硝酸態窒素濃度の診断に際してはイタリアンライグラスで開発された硝酸中毒を回避するための SPAD 値基準の適用を避け、硝酸態窒素分析などによる診断が必要となる。

[成果の活用面・留意点]

- 1 寒地型の種・属間雑種牧草の硝酸態窒素濃度を診断する際の参考となる。
- 2 「パーフェスト」、「テトリライトⅡ」では別の標準色素票を利用した検討も考えられる。

[具体的データ]

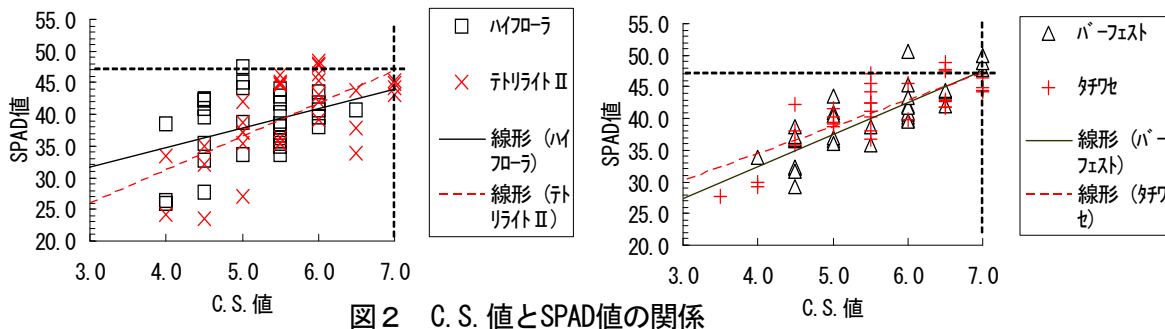


栽培概要：3週育苗した同等の苗5株/ポット、土壌：黒ボク土10L/ポット、施肥水準：0・0.7・1.4・2.8g/ポット、10号ポットを使用し、無加温簡易ハウス内で11月から翌年5月まで栽培

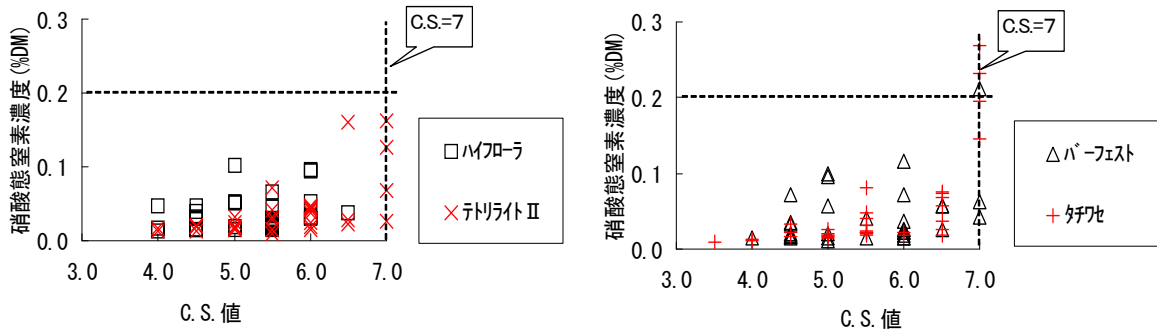
表1 C.S.値、SPAD値と硝酸態窒素の相関係数(R)

品種	C.S.値	SPAD値
ハイフローラ	0.54	0.56
テトリライトII	0.32	0.13
パーフェスト	-0.21	0.35
比)タチワセ	0.89	0.85

試験概要は図1に同じ。試料点数は各品種12点。調査時期は1番草出穂期。完全展葉した上位葉群の5視点平均のC.S.値。ポット中の展葉した全止葉の平均SPAD値及び硝酸態窒素濃度を評価した。C.S.値は葉色スケール((水稲用)富士平工業製)の7C.S.から13段階で評価した。SPAD値は葉緑素計SPAD-502(ミノルタカメラ製)による計測で評価した。



水稲用葉色スケール、葉緑素計を利用して上記4品種について露地栽培を含む様々な栽培条件下で生育させ、一番草の出穂期に計測した。露地栽培のC.S.値、SPAD値は10点の平均値、その他の調査方法は図1と同じ。試料点数は各品種33点。ハイフローラ：R=0.15、テトリライトII：R=0.43、パーフェスト：R=0.68、タチワセ：R=0.62



試験構成は図2と同じ。

[その他]

研究課題名：硝酸態窒素が蓄積しにくい飼料作物の選定と簡易診断法の検討
 予算区分：県単
 研究期間：2009～2010年度
 研究担当者：古屋雅司、稲垣敦之、片山信也、佐藤克昭、笠井幸治