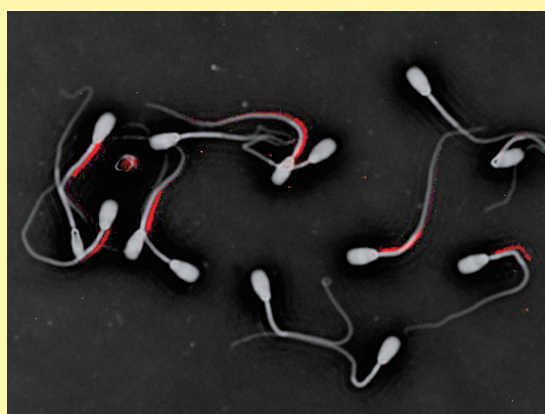




人工授精技術者のための 牛人工授精マニュアル

—人的要因の見直しに向けた確認メモ集—



2014年1月

農研機構畜産草地研究所

【表紙の説明】

左上：0.25ml ストロー用シース管の先端部

右上：精液の注入操作

左下：牛精子の活性ミトコンドリア染色（MitoTracker[®] Red CMXRos）

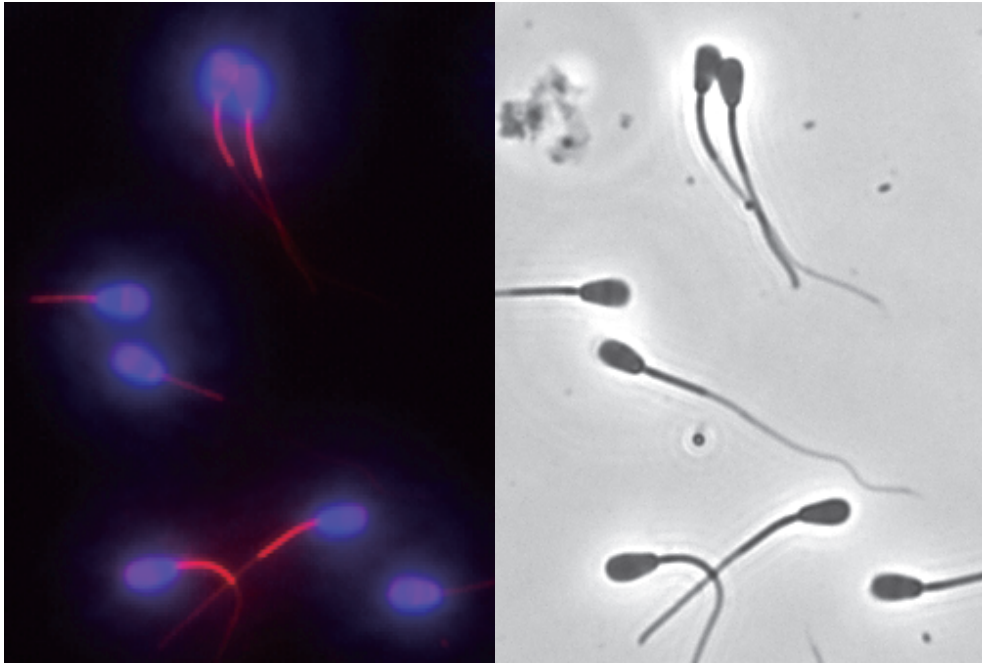
右下：消毒用噴霧器

（農研機構畜産草地研究所）

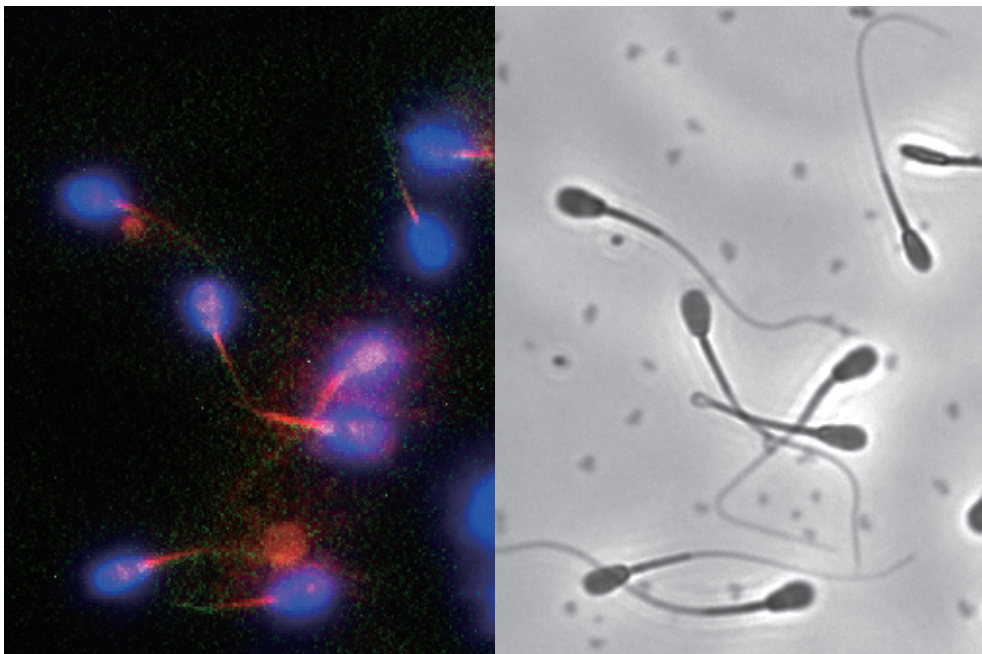


種雄牛の精液採取
擬牝台への乗駕から射精まで

(農研機構畜産草地研究所)



核(青)と活性化ミトコンドリア(赤)の染色
(Hoechst33342 と MitoTracker® Red CMXRos)



核(青)と高活性化ミトコンドリア(赤)の染色
(Hoechst33342 と JC-1)

技術レポート15号

人工授精技術者のための牛人工授精マニュアル の刊行にあたって

本マニュアルは、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の研究課題「雌を妊娠させやすい雄牛の評価と新規精液凍結法による繁殖性向上技術の開発とその実証（#23032；平成23～25年度）」の現地検討会の成果を活用して製作されたものである。読者としては、現場経験が豊富な人工授精技術者を想定している。

この現地検討会は、平成24年11月30日、人工授精現場で活躍している獣医師や家畜人工授精師を交え、家畜改良事業団家畜改良技術研究所にて開催された。それによって、この課題で取り組んでいる牛人工授精の研究開発に対する現場の要望を収集すると同時に、彼らが求めているマニュアル像を探った。その結果、組織体制の合理化により業務量が増大し、多忙な日々を過ごす人工授精技術者であっても容易に目を通せるような「簡潔でわかりやすいマニュアル」という要求が浮かび上がってきた。さらに、平成23年度畜産草地研究所問題別研究会「牛における人工授精の現状と今後の研究展開」において、現役の人工授精技術者の研修が途絶えている人工授精現場では、受胎率向上のため、人的要因を中心に、技術者自身が見直すべき点の多いことも判明していた。

それらを受け、1ページの上には、図表を、また、下部には、人工授精技術者が人的要因および管理的要因などを見直す際の参考資料として「確認メモ」をそれぞれ配置し、「各ページが読みきり形式」の簡潔なマニュアルを作成した。

今回のマニュアルが厳しい環境下で日夜奮闘されている牛人工授精技術者に活用され、「牛人工授精の受胎率向上」に資することができれば幸いである。

平成26年1月

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
畜産草地研究所 所長 土肥 宏志

目次

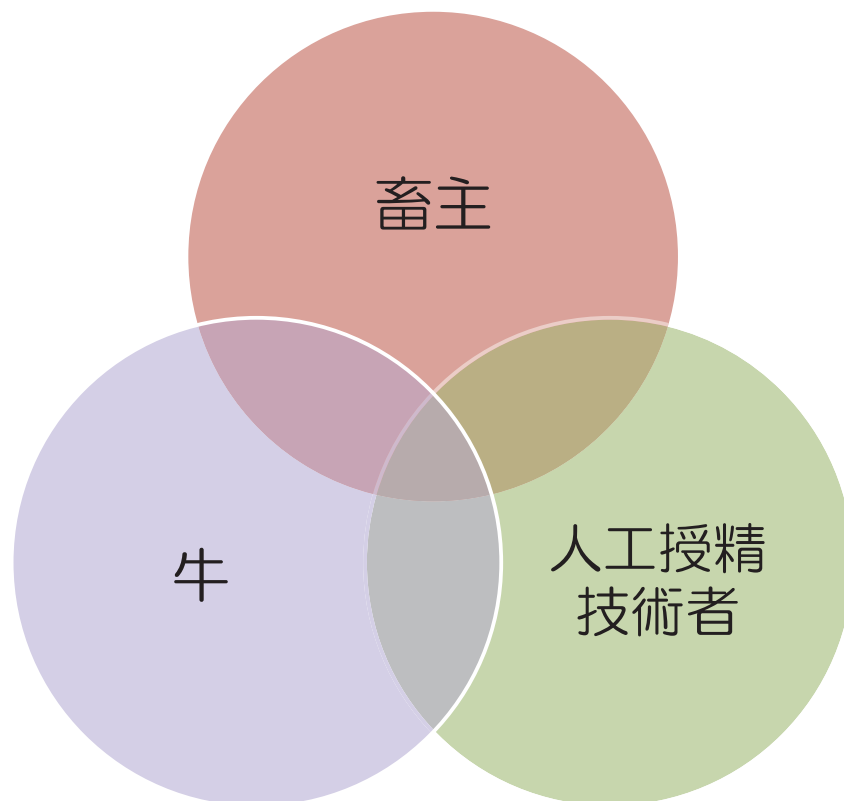
マニュアル

はじめに	1
構造的要因の見直しを	3
衛生・防疫概念の見直しを	4
発情の発見	5
授精適期	6
凍結精液の保管と取扱い	7
凍結精液の融解	8
精液の注入	9
人工授精後の黄体の変化	10
ホルスタイン種の繁殖性	11
ホルスタイン種の繁殖に有用な情報	12
あとがき	13

参考資料

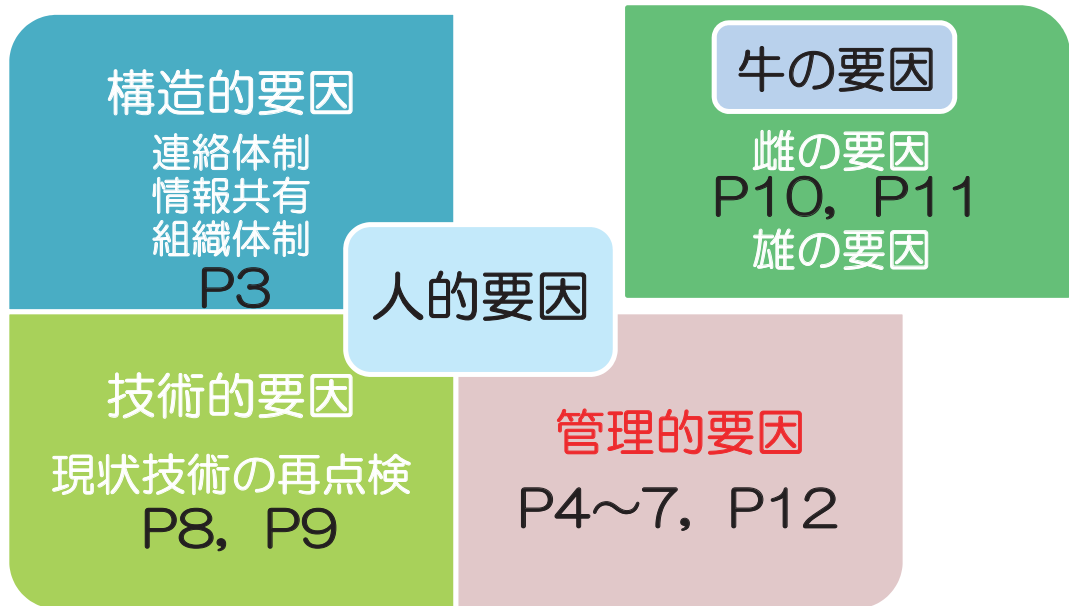
【参考資料1】	15
人工授精の技術に関するアンケート調査結果 酪農学園大学 野田 直行、堂地 修	
【参考資料2】	24
乳用牛の人工授精現場において受胎率低下を引き起こしている要因の抽出 (独)農研機構 畜産草地研究所 渡辺 伸也	
【参考資料3】	28
発情発見における留意事項 (独)家畜改良センター 熊本牧場 吉ざわ 努	
【参考資料4】	30
乳用牛受胎率向上のための重要管理点チェックシート (家畜人工授精技術者向け) (社)日本家畜人工授精師協会	
【参考資料5】	32
乳用牛受胎率向上のための重要管理点チェックシート (酪農家向け) (社)日本家畜人工授精師協会	

マニュアル



はじめに

- 人工授精の成否は、人間と牛との共同作業による結果です。受胎が成立しない場合、どこかに問題があるはずで、その問題点を明らかにしなければ、受胎率の向上は望めません。
- 多くの牛群では、40%はスムーズに受胎、30%はちょっと足踏み、残りの30%は厄介といわれています。受胎率向上には、その残り30%の受胎性を向上させる必要があります。
- 人工授精技術者は技術に意識を集中するのが常ですが、技術者を取り巻く人的要因が問題となっていることも多いようです。
- 問題点には、「自分で解決できるもの」と「自分で解決できないもの」があり、その要因を明らかにすべきです。
- 明確にできた問題点の中で、「自分で解決できるもの」を解消するための参考資料として、本マニュアルをご活用ください。
- 本マニュアルは、分類された各要因を軸に、種々の対応について逆引きする構成になっています。



- 育種改良により、牛の能力は向上してきました。
- それに伴い、飼養形態も変化しています。
- しかし、牛の恒常性そのものは維持されています。
- したがって、人が変わらなければ解決に至りません。

構造的要因の見直しを

当たり前の話ですが、意思疎通には大切な内容です。現行の体制を、再度、見直してみてください。

○連絡体制：畜主とのコミュニケーション

人工授精技術者は、畜主との日々の連携が必要です。

- 授精に訪問した際、畜主が不在であるような関係は修正すべきです。
- 正確な発情の稟告をしてもらうよう、指導も大切な要因です。

○情報共有

技術者集団で種々のデータを収集・分析することは、今後の展開に必須です。

- 技術普及指導資料＝新たな知見等の紹介
- 現状評価資料＝現行の技術評価に利用
- 繁殖指導管理資料＝畜主への指導

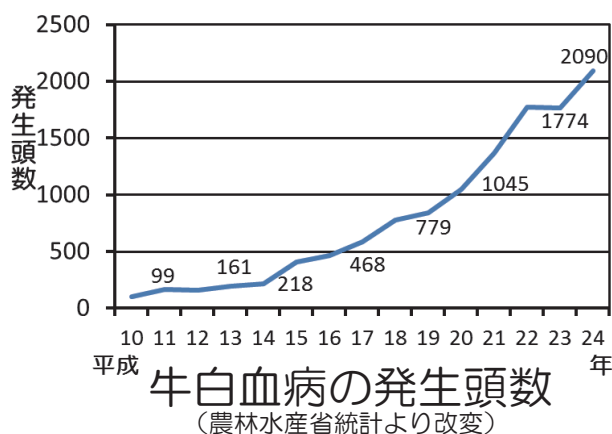
また、畜主を交えた勉強会や研修会などへの参加や開催に努めることにより、地域内で情報を共有し合うことも大切です。

○関係団体全体での推進体制の構築を

農協、農業共済組合、農業改良普及センター等が組織の垣根を越えて連携できる環境を作ることが理想的です。

また、組織に所属する人工授精師や獣医師等の連携も大切な要因です。

衛生・防疫概念の見直しを



小型噴霧器による
タイヤの消毒



直検手袋の使用



踏み込み槽の設置

確認メモ

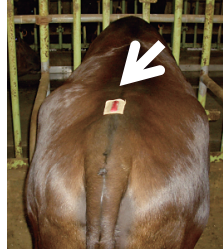
- 近年、牛白血病等の伝染性疾患がまん延しています。人工授精技術者が農場から農場へ移動する際、疾病を伝播させることがあってはなりません。もう一度、衛生に関する概念を確認して下さい。
- 牛白血病は、直腸検査によって媒介される可能性があります。直腸検査用手袋は1頭ごとに交換し、連続して使用することはやめましょう。
- 消毒液専用の噴霧器を携行し、農場の出入りの際に車両消毒（タイヤ等）を励行しましょう。
- 畜舎に踏み込み槽を設置していない農場があれば、畜主に設置をお願いし、疾病の侵入を防止するよう指導しましょう。
- 人工授精技術者専用の長靴を牧場に備えつけることも、よい方法です。

【引用文献】農林水産省、監視伝染病発生状況の累年比較
http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html

発情の発見



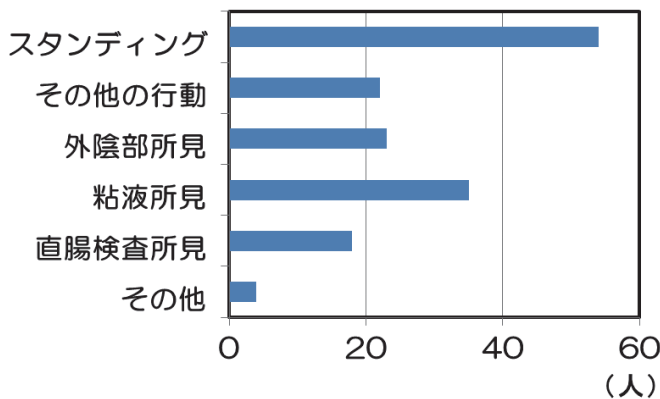
発情を調べるために装着した万歩計
(提供：坂口 実氏)



ヒート マウント
ディテクター



フリーストールにおける
スタンディング
(提供：堂地 修氏)



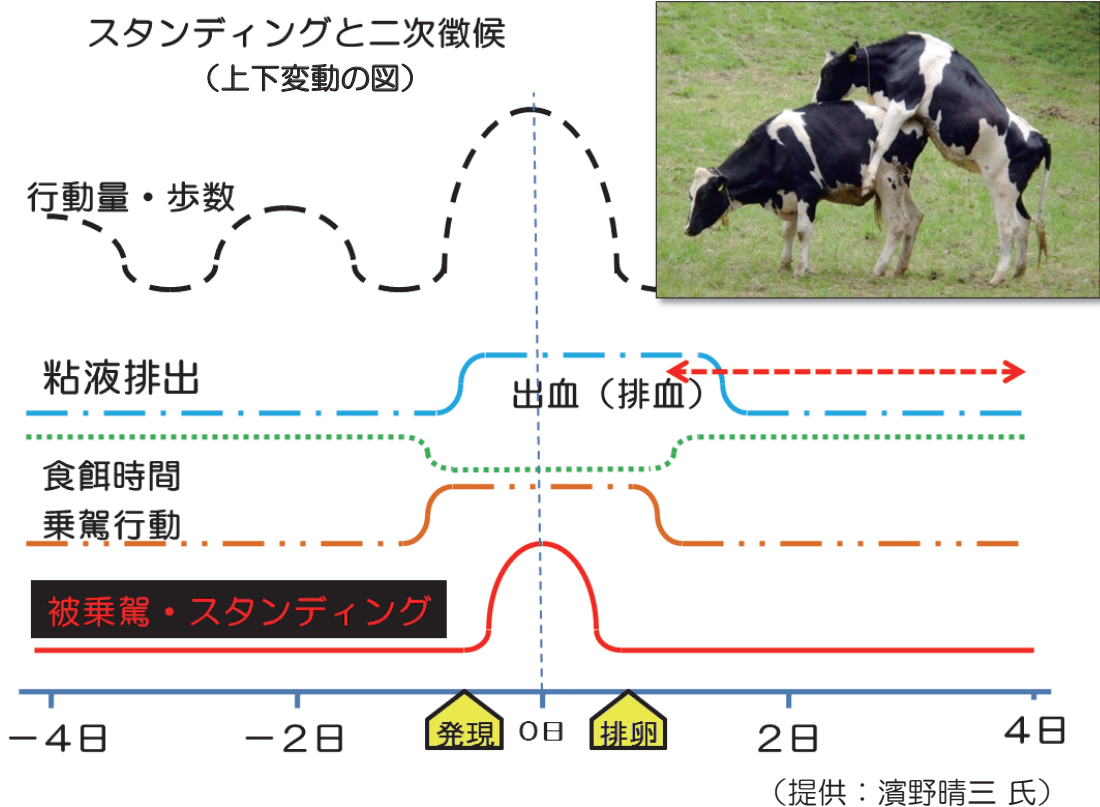
畜主（酪農家）が授精適期を
決める際の根拠
(堂地ら、2006より改変)

確認メモ

- 発情の確認は、畜主が分担すべき役割です。
- スタンディングが見られる環境があれば、ベストです。
- 支出が生じますが、万歩計や補助器具の導入も有効です。
- フリーストールの場合でも、スタンディングがみられます。
- つなぎ飼いや少数頭飼育の場合には、発情行動の観察が困難になるので、一層注意深い発情徴候の観察が求められます。
- 発情の稟告を受けた場合、何を根拠に発情と判断したのか（粘液、拳動、外陰部の腫脹など）を畜主に報告させるよう、指導してください。
- 畜主が授精適期を決める際の根拠には、大きな個人差があるといわれています。

【引用文献】堂地 修ら、繁殖技術、25: 45-53、2006

授精適期



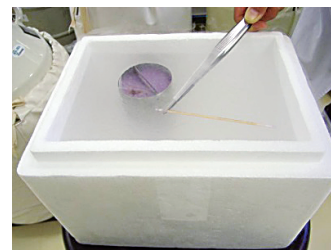
確認メモ

- よく目にする図ですが、基本的な図です。
- 畜主にも提示して、発情前後の牛の挙動を把握してもらって下さい。
- 数多くの商業誌には、繁殖講座が連載されています。それらを読破し、参考に実践することも一案です。
- 発情開始後、6～18時間が授精適期、8～16時間が最適期です。
- ホルモン剤による発情誘起もできます。しかし、その利用法によっては、人工授精の受胎率が低下する場合があります。
- 授精の適否の判断には、次のことが参考になります。
 - ・過去の繁殖歴に問題がないこと
 - ・粘液の汚濁がないこと
 - ・子宮収縮があること

凍結精液の保管と取扱い



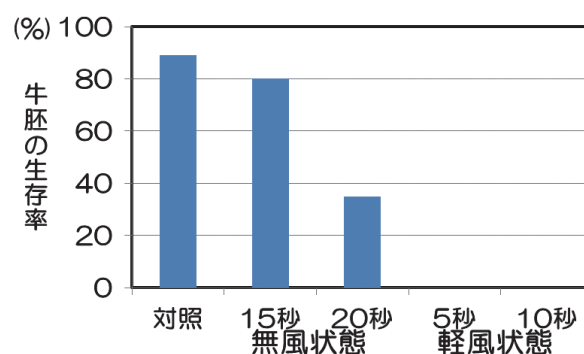
キャニスターの持ちあげかた



液体窒素の入った容器内でのストローの仕分け

外気露出時間とストロー内の温度変化		
外気露出時間(秒)	ストロー内の精液温度(°C)	
	気温24°Cの場合	気温30°Cの場合
5	-146.0	-133.7
10	-137.0	-95.5

(家畜改良事業団、2011より引用)



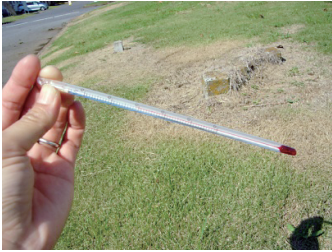
試験的な空中保持(10回)において無風状態は牛胚のダメージを抑制(高橋ら、2008より改変)

確認メモ

- 窒素容器中の液体窒素量の確認を定期的にして下さい。液体窒素の枯渇は、大切な精液の損失を招きます。
- キャニスターを持ち上げる際には、窒素容器の口より上にあげないように配慮します。室温では、キャニスターの温度が急速に上昇します。
- 液体窒素から取り出したストロー内部の温度変化は急激です。わずか5秒の外気露出で、50°C以上の温度上昇が生じます。
- 凍結精液の取扱いは、無風状態で行います。それにより、ストローの温度上昇を最小限にとどめることができ、精子や胚のダメージが低減されます。

【引用文献】家畜改良事業団、Sort⁹⁰人工授精マニュアル、<http://liaj.lin.gr.jp/sort90manual.pdf>
高橋芳幸ら、北海道牛受精卵移植研究会報、27: 22-26、2008

凍結精液の融解



温度計



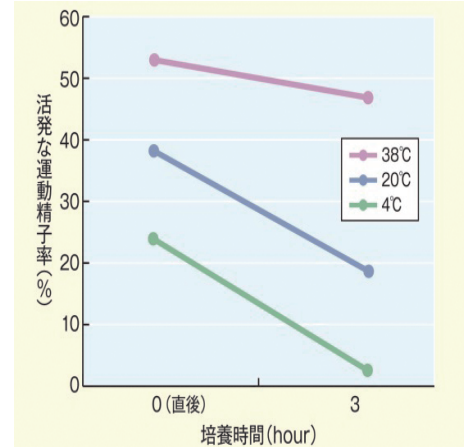
タイマー



38°Cのぬるま湯



38°C、15秒、厳守



融解温度と精子の運動性

4、20、38°Cでそれぞれ融解した精子を3時間培養すると、精子の運動性にグラフのような差が見られます。

(家畜改良事業団、2011より引用)

確認メモ

- 凍結精液を融解する際、温度計とタイマーは必須のものです。勘に頼った融解法は、精子の生存性を損ねます。必ず上記器具を用い、マニュアルに従って、融解することが重要です。
- 融解過程の有害温度域(-40~-15°C)を素早く通過させるため、0.5mℓ ストローの場合、38°C、15秒で融解しましょう。ただし、使用する凍結精液において、人工授精事業体が推奨している融解方法がある場合には、それに従います。
- 授精の直前に、ストローを1本ずつ、融解するようにしましょう。ストローをまとめて融解すると、注入までの時間が長くなることで、精子活力の低下が誘発されます。

【引用文献】家畜改良事業団、Sort⁹⁰人工授精マニュアル、<http://liaj.lin.gr.jp/sort90manual.pdf>

精液の注入



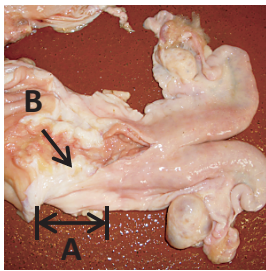
陰唇粘膜の消毒



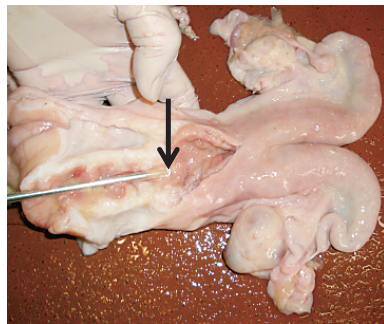
先端の確認



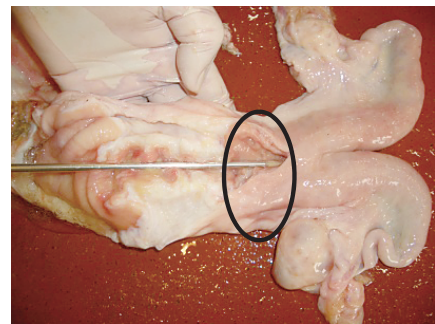
外子宮口



子宮頸管(A)と
輪状ヒダ(B)



子宮頸管深部
への注入



子宮頸管の2cm先の
子宮体への注入がベスト

確認メモ

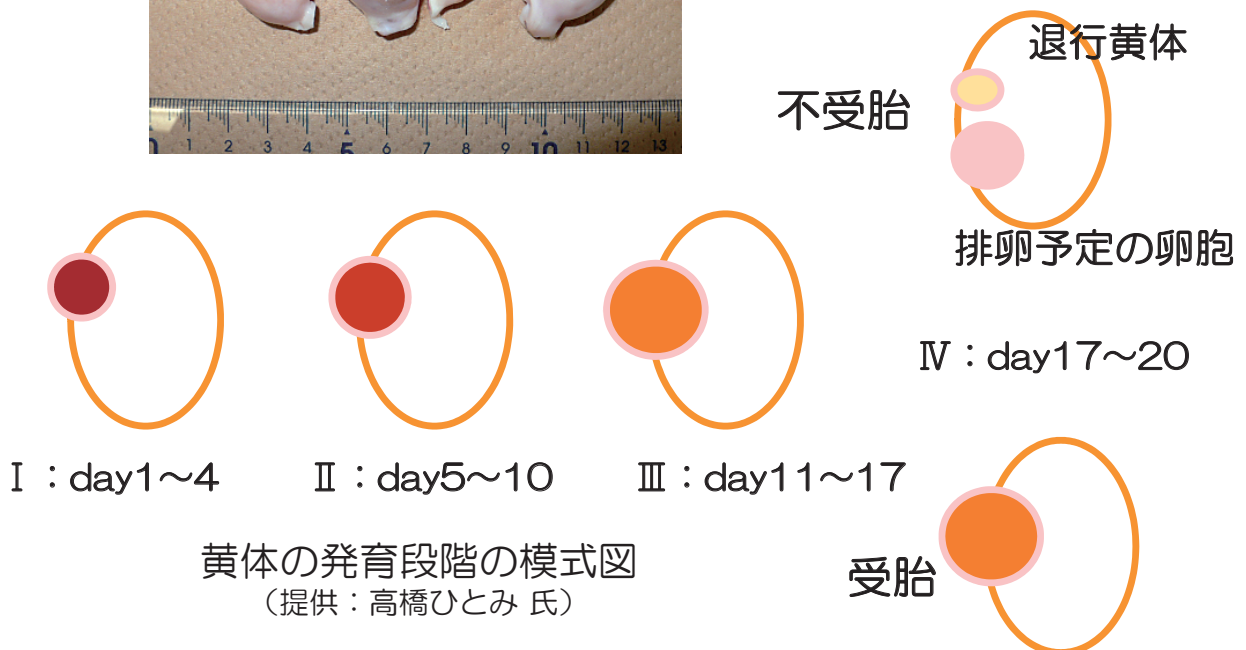
- 陰唇粘膜の消毒は、「内から外」が基本です。
- 授精時の出血は、不受胎につながる主要因です。注入器の挿入は、慎重に行いましょう。
- 精液注入後、シース管の先端に血液が付着していないかを目視し、注入操作に問題がなかったことを確認しましょう。
- とくに厳寒期は、ストローを装着した注入器の保温に留意することが大切です。発泡スチロール箱に保温剤（湯たんぽ）と注入器を入れて運ぶか、専用のウォーマーを購入して利用するなどの方策があります。
- 精液の注入部位は、子宮体といわれる方が多いですが、子宮体は思っているより短いものです。
- 直腸腔法で授精する場合でも、腔鏡を用い、腔や外子宮口などに異常のないことを確認することが大切です。

【参考文献】 杉浦伸二郎、LIAJ NEWS No.140、7-8、2013（注入器等保温の工夫）

人工授精後の黄体の変化



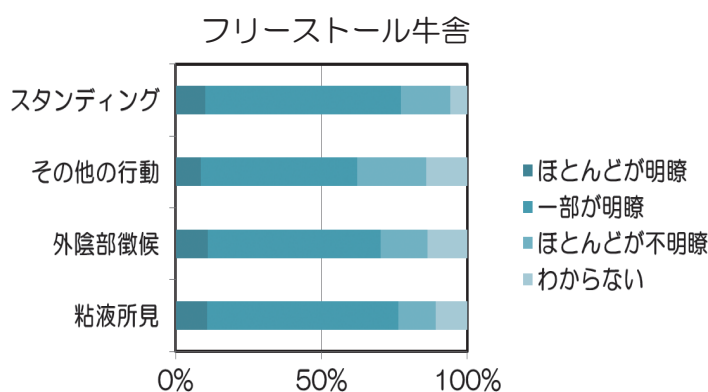
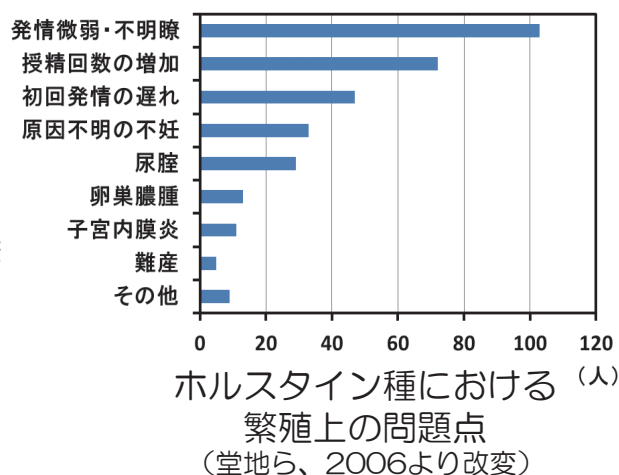
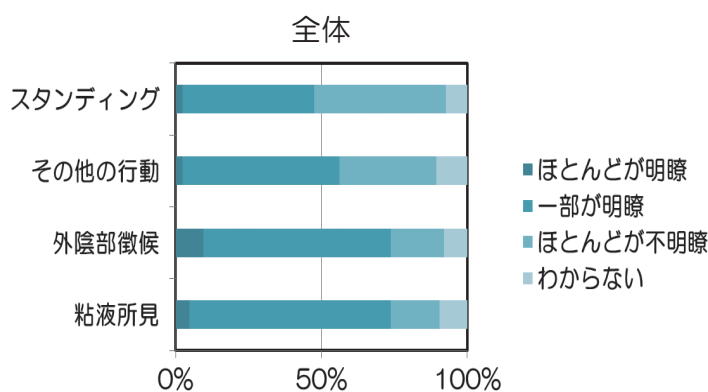
各発育段階の黄体
(提供：赤木悟史氏)



確認メモ

- 黄体の発育は、I～IVの段階に区分されています。なお、ほとんどの黄体期の牛（排卵当日から4日後くらいまで）には、卵胞（主席卵胞、退行過程の主席卵胞を含む）があります。
- 黄体ができなければ、牛側に何らかの原因があると考えられます。獣医師に相談するようにして下さい。
- 発情・排卵後の黄体の発育性は、牛のコンディションによっても変化します。
- 人工授精後、黄体の発育状況を定期的に観察することで、発情回帰の予定日以前に不受胎を推定することも可能です。
- ただし、過度あるいは乱暴な直腸検査は、不受胎や流産の原因になるので、注意が必要です。

ホルスタイン種の繁殖性 — 家畜人工授精技術者の声から —



近年のホルスタイン種の発情徴候
(堂地ら、2006より改変)

乳生産と繁殖性を両立するA牛群

項目	A牛群 (2回/日)	B牛群 (自動搾乳)	C牛群 (2回/日)
頭数(頭)	100	22	62
年間平均乳量(kg)	11,390	10,590	8,427
搾乳回数	2	3	2
平均産次(産)	2.2	3.5	2.1
平均初回授精日数(日)	79	107	77
平均授精回数(回)	2.1	2.4	2.2
平均空胎日数(日)	116	147	127
平均分娩間隔(日)	393	435	405

北海道酪農検定成績表より(2005年10月) (提供: 堂地 修氏)

確認メモ

- 近年のホルスタイン種では、泌乳量の増加に伴い、発情徴候が微弱になるなど、とくに経産牛の状態が以前とは違ってきています。
- 繁殖上の問題点として、発情微弱や不明瞭を訴える人工授精技術者が増えています。
- 一方で、飼養管理や繁殖管理などを最適化することで、乳生産と繁殖性を両立している牛群も存在しています。

【引用文献】 堂地 修ら、繁殖技術、25: 45-53、2006

ホルスタイン種の繁殖に有用な情報

牛群検定のデータ（家畜改良事業団）

- MUN（乳中尿素態窒素）
- P/F（乳蛋白質/乳脂率）
- BCS（ボディコンディションスコア）
- 分娩間隔

MUNからの繁殖障害などの推定

MUN値	推定される状況
~8	受胎率の低下、卵巣腫大、黄体遺残など
8~16	（適正值）
16~	繁殖障害、受胎率の低下

（相原、2013より引用）

P/Fからの繁殖障害などの推定

P/F値	推定される状況
~0.7	授精対象牛における繁殖障害 Pが低い→エネルギー不足、ケトosis Fが高い→脂肪肝、低乳量
0.7~1.0	（適正值）
1.0~	授精対象牛における繁殖障害 ルーメンアシドーシスなどの代謝障害

注）PとFともに低い→乾物摂取不足と推定

（相原、2013より引用）

種雄牛評価結果（家畜改良センター）

- 産子死亡率
- 産子難産率

確認メモ

- MUNは、雌牛の受胎率低下や繁殖障害を推定するための指標として用いられています。
- P/Fは、雌牛の繁殖障害を推定するための指標として用いられています。
- BCSは、雌牛の栄養状態が適切かどうかを判断するための指標として有用です。
- 国内および海外の「種雄牛評価結果」は、家畜改良センターのWebページに公表されています。

→

遺伝的能力評価

検索

【引用文献】相原光夫、今日も明日も牛群検定が約束するあなたの酪農経営！、デーリィ・ジャパン社、2013

あとがき

このマニュアルの目的は、現在、問題になっている牛人工授精の受胎率低下において、その原因となっている部分を明確にし、それを解消するためのヒントを人工授精技術者に提供することにある。この目的を達成するため、「人的要因の見直しに向けた確認メモ集」というユニークな体裁をとっている。それに伴い、学術的な詳説や日常業務として人工授精技術者が熟知している授精手順の詳細はあえて割愛してある。

原稿作成の過程においては、ジェネティクス北海道 高橋芳幸 学術顧問、酪農学園大学農食環境学群 堂地 修 教授、信州大学農学部 濱野光市 教授、北里大学獣医学部 坂口 実 教授、家畜改良センター熊本牧場 吉ざわ 務 場長、家畜改良事業団 濱野晴三 部長ならびに農林水産・食品産業技術振興協会 岡野 彰 専門 PO より有益なご助言をいただいた。また、北海道家畜人工授精師協会、日本 IVF 学会ならびに日本家畜人工授精師協会には、参考資料として掲載した著作物の転載を許諾していただいた。

さらに、このマニュアルの刊行にあたっては、コンソーシアム・メンバーをはじめ、写真・図表を提供していただいた諸先生など、多くの関係者のご支援とご協力を得た。関係されたすべての皆様に感謝の意を表したい。

農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業

(旧 新たな農林水産政策を実現する実用開発事業)

雌を妊娠させやすい雄牛の評価と新規精液凍結法による繁殖性向上技術の開発とその実証

(課題番号：23032、平成 23～25 年度)

研究総括者 渡邊伸也

(農研機構畜産草地研究所 家畜育種繁殖研究領域)

【コンソーシアム・メンバー】

静岡大学農学部：高坂哲也

家畜改良事業団家畜改良技術研究所：湊 芳明、内山京子、船内克俊、絹川将史

農研機構畜産草地研究所：渡邊伸也、武田久美子、金田正弘(平成 24 年 9 月まで)

マニュアル執筆者：渡邊伸也、武田久美子（農研機構畜産草地研究所）