

近赤外分光法および Aquaphotomics を用いた乳牛の発情診断

竹村豪¹、Gyorgy Bazar^{1,2}、生田健太郎³、山口悦司³、石川翔³、古川茜¹、窪田陽介⁴、Roumiana Tsenkova^{1*}

¹神戸大学農学研究科、²Kaposvar 大学、³淡路農業技術センター、⁴神戸大学自然科学系先端融合研究環

Detection of estrus in dairy cows by means of near infrared spectroscopy and Aquaphotomics

Go Takemura¹, Gyorgy Bazar^{1,2}, Kentarou Ikuta³, Etsushi Yamaguchi³, Shou Ishikawa³, Akane Furukawa¹,

Yosuke Kubota⁴, Roumiana Tsenkova^{1*}

¹Graduate school of agricultural science Kobe University, ²Kaposvar University, ³Hyogo prefectural Awaji

agricultural research center, ⁴Organization of advanced science and technology Kobe University

E-mail: rtsen@kobe-u.ac.jp

1. 目的

近年、乳牛の繁殖成績は低下の一途を辿り、酪農業に多大な損害を生んでいる。繁殖には発情診断が重要だが、従来の行動観察や、EIA 法などの体液中性ホルモン濃度変化の測定による発情診断は多大な時間や労力を要す[1]。そこで、新たな手法として迅速、簡便な近赤外分光法と、Tsenkova により提唱された水分子情報を基とする分析手法 Aquaphotomic に着目した[2]。本手法は、近赤外スペクトルから生体内の分子の変化と水分子との相互作用を観察するものであり、先行研究としてジャイアントパンダの尿中性ホルモン濃度に基づく発情診断などが挙げられる。従って本研究では、乳牛の生乳を用いた性ホルモン濃度に基づく発情診断の可能性を検討した[3]。

2. 方法

供試ホルスタイン牛にはホルモン製剤で発情同期した淡路農業技術センターの牛 14 頭（牛 A - N）と、発情同期をせざかつ発情時期でないコントロール牛 5 頭（牛 O - S）を用いた。試料には前搾り乳と生乳を用い、生乳は牛 A - S から、前搾り乳は牛 D - S から採材した。各牛につき、発情予定期間を含む 8 日間毎日、午前と午後に乳試料を採材し、コントロール牛も同様に採材した。次に、近赤外分光器 XDS (FOSS 社) により 40 °C 下、光路長 1 mm で全サンプルの 400 - 2500 nm (解析領域は水の第一倍音領域である 1300 - 1600 nm) のスペクトルを 3 本連続で測定した。

一方、乳牛は体内の性ホルモンであるプロジェステロン (P₄) 濃度が高い水準（高 P₄ 期）から低い水準（高 P₄ 期）へと急低下した後に発情が起き、血清中と乳中の P₄ 濃度には高い相関関係がある[4]。従って、高 P₄ 期と低 P₄ 期のスペクトルの違いを明らかにするため、採材期間に血清サンプルも採材し、血清中 P₄ 濃度を EIA 法で測定した。P₄ 濃度に従ってスペクトルを高 P₄ 期と低 P₄ 期に分け、前処理に中心化、変換に MSC と二次微分を行い、牛別およびサンプル種別（生乳（午前/午後）、前搾り乳（午前/午後））に差スペクトル（高 P₄ 期 - 低 P₄ 期）を計算した。次に差スペクトルで発情同期牛に現れかつコントロール牛では現れないピークを示す波長を抽出し、次式で示すアクア

グラムを作成し、各期のパターンの違いを観察した。

$$Aqg_{\lambda} = \frac{x_{\lambda} - \bar{x}_{\lambda}}{\sigma_{\lambda}}$$

Aqg_λ: 波長λのアクアグラム値 x_λ: サンプルのλにおける吸光度(MSC処理値)
x̄_λ: λにおける全サンプルの吸光度の平均 σ_λ: λにおける全サンプルの吸光度の標準偏差

3. 結果

各サンプルのアクアグラム値を高 P₄ 期と低 P₄ 期でそれぞれ平均した結果、全てのサンプル種で 70%以上の発情牛が共通の特徴的なアクアグラムのパターンを示した (Fig.1)。一方で、全てのサンプル種において一部のコントロール牛が同様のパターンを示したが、生乳（午前）および前搾り乳（午前）では 80%以上のコントロール牛が全く異なるパターンを示したため、これらのサンプル種が P₄ 濃度水準の診断に特に有用であると考えられる。また、波長の帰属から、高 P₄ 期と低 P₄ 期それぞれの時期で水分子の水素結合の状態が変化する可能性が示唆され、これは Kinoshita ら [3] の結果と類似した傾向であった。

4. 結論

生乳の近赤外スペクトルを用いて、乳中 P₄ 濃度から発情診断を行うことができる可能性が示唆された。

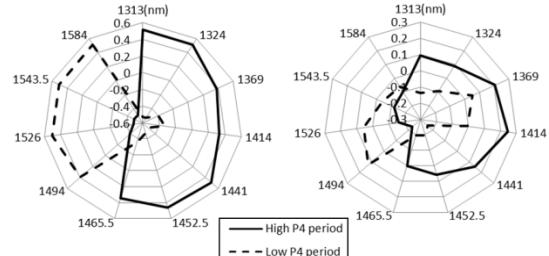


Fig1. Foremilk (am) Aquagram (Left: Estrus cows average, Right: Control cows average)

参考文献

- 1) Saint-Dizier, M et al., (2012), *Reprod Dom Anim*, **47**: 1056-1061
- 2) Tsenkova, R. (2009), *J. Near Infrared Spectrosc.* **17**: 303-314.
- 3) Kinoshita, K et al., (2012) , *Sci. Rep.* **2**: 856; doi:10.1038/srep00856
- 4) Roelofs, J.B. et al., (2006), *Animal Reproduction Science* **91**: 337-243.