

# センシング技術を活用した若狭牛の効率的な増産技術の確立 (第 1 報)

## (発情検知および分娩検知を目的とした多機能性膣内留置型センサの開発)

鈴木要人・川森庸博

**要 約** 複数のセンサを組み合わせることで正確な発情検知と分娩時刻を予測することを可能とする膣内留置型センサの開発を目的に、センサ候補と考えられる膣温、3 軸加速度、Global Positioning System (GPS)、子宮頸管粘液の pH、電気伝導度およびグルコース (Glu) のセンサ開発と発情時や分娩時の生体変化について調査を行った。本報では膣内留置型センサのセンサ候補である各種センサの開発および温度センサと GPS センサを用いて発情時の生体変化を調査した。温度センサ単独では気温が下がり始める秋季においては発情検知が可能であることが示唆されたが、夏期の暑熱期では発情の検知は困難であった。GPS センサを頸部へ装着した場合には発情時に移動距離が増加し発情検知が可能であることが示唆されたが、膣内に装着した場合データの受信ができないため発情検知が不可能であった。

キーワード：センシング、発情検知、膣温、GPS

### 諸 言

近年発情不明瞭牛の増加、受胎率の低下および分娩事故の増加といった繁殖管理に関わる問題が増えている。全国の黒毛和種出生頭数をみても平成 22 年度の約 54 万頭から減少を続け平成 27 年度には約 50 万頭となっている<sup>6)</sup>。

福井県においても黒毛和種における出生頭数は全国の推移と同様に平成 22 年度～平成 27 年度まではほぼ毎年減少<sup>6)</sup>しており、黒毛和種子牛の不足が問題となっている。問題解決の方法として、黒毛和種牛の受精卵を乳用雌牛へ移植する方法や、二卵移植をすることが考えられる。しかし、福井県内では発情不明瞭なため移植できなかった乳用雌牛が多く、また単胎分娩に比べ多胎分娩は事故率が高い<sup>7)</sup>ため、現在福井県では二卵移植を行っていない。

このような繁殖管理の問題を解決する方法として、近年では畜産分野においても、センシングなどの IoT が導入され始めており、歩数計、活動量計および体温測定といったセンシング技

術を取り入れた商品が市販されている。しかし、条件などにより発情検出成績が異なることが報告<sup>10)</sup>されており、まだ不明な点も多い。

これらのセンシング技術は、牛の発情時などに起こる行動や生理的な変化に着目したもので、牛の発情時の変化として体温の上昇<sup>3)</sup>、子宮頸管粘液の pH の低下、電気伝導度の上昇<sup>8)</sup>などが報告されている。

本試験では複数のセンサを組み合わせることで、既成の IoT 機器よりも正確な発情発見と分娩時刻を予測することができる膣内留置型センサの開発を目的に、センサ候補と考えられる膣温、3 軸加速度、GPS、子宮頸管粘液の pH、電気伝導度およびグルコースセンサを開発し、発情時や分娩時の生体変化を調査することで、各種センサが膣内留置型センサとして用いることが可能か検討した。

### 材料および方法

#### 1 膣内留置型センサの開発

##### (1) 開発体制

センシング機器の開発のため、3つの研究機関が連携し役割を分担する体制を構築した。マイクロコンピュータ（マイコン）とセンサ機器全般の開発を福井県工業技術センター、グルコースセンサの開発を福井大学工学部、開発されたセンシング機器の生体試験を福井県畜産試験場が各々分担した。

## (2) センサの種類

開発に取り組んだセンサの種類は、温度、3軸加速度、GPS、pH、電気電導度およびグルコースの6つである。その中で今報告までに試作したセンサは、温度、GPS、pH および電気電導度の4つであり、そのうちpHと電気電導度の2センサは腔内留置が可能な大きさまで小さくできなかった。そこで温度とGPSセンサについてのみ腔内留置試験を実施した。3軸加速度とグルコースセンサについては、現在試作中であり、今後生体試験をしていく予定である。なお、グルコースセンサについては腔内へ留置した状態で繰り返し測定することを想定しており、同一条件下で繰り返し測定しても一定のグルコース濃度が得られる連続測定時の安定性を調べた。測定方法は瀧ら<sup>14)</sup>の方法に準じて実施した。なお、グルコース濃度を電流値に換算して測定している。

## (3) 腔内留置型センサの構造

センサを管理するマイコン、センサ、測定したデータを記録するmicro SD card およびバッテリーからなるセンサ機械部（図1）とこれらを入れる外装部および腔内からの脱落を防ぐストッパで構成した（図2）。

外装部については、腔内から脱落しても壊れない耐久性と腔内に留置しても子宮頸管粘液がセンサ機械部に浸透しない防水性を備えた素材を検討した。ストッパについては、腔内から脱落しない素材および腔内への留置時と抜去時に腔を傷つけない素材について検討した。



図1 センサ機械部

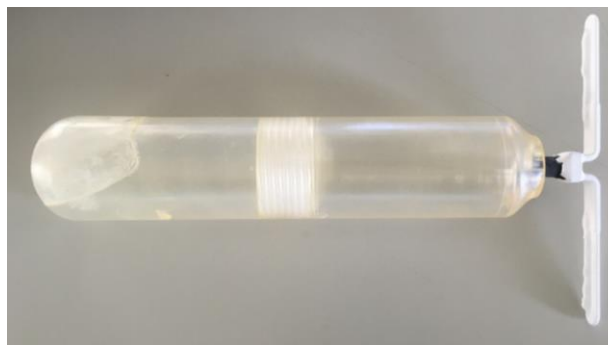


図2 外装部とストッパ

## 2 生体試験

### (1) 供試牛

周年放牧しているホルスタイン種で規則正しい発情周期が確認できた3頭を供試牛とした。発情確認については、直腸検査、スタンディング行動、その他発情徴候（粘液漏出、外陰部腫脹など）により総合的に判定した。

### (2) 牛への腔内留置型センサの影響

試作した腔内留置型センサを、供試牛3頭の腔内へ22日間留置した。留置前と腔内留置型センサの抜去後に採血と腔内の状態確認を行った。採血はヘパリンリチウム加真空採血管（ベノジェクトII真空採血管：テルモ株式会社、東京）を用い、遠心分離（3,000rpm、4℃、15分）によって血漿を採取した。得られた血漿より、富士ドライケム7000V（富士フィルム株式会社、東京）を用いて総コレステロール（TCHO）、グルコース（Glu）、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）、尿素態窒素濃度（BUN）、総タンパク質（TP）、アルブミン（Alb）、リン（IP）およびカルシウム（Ca）を、フリーラジカル解析装置（FREE carpe diem：株式会社ウイスマー、東京）を用いて酸化ストレス度をそれぞれ測定した。腔内の状態確認は、腔鏡を用いて炎症や出血を確認した。

### (3) 発情時における膣温の変化

供試牛 3 頭の膣内に温度センサを附属した膣内留置型センサを挿入した。また、バッテリー持続時間が短いため 24 時間以内でのバッテリー交換が必要であった。測定は 8 月から 9 月と 11 月に、それぞれ 1 回ずつの計 2 回実施した。測定期間は試験開始日から発情後 3 日以上とし、試験開始日は黄体期の体温と黄体退行時の膣温変化をみるため発情予定日の 7 日前以上とした。膣温データは 1 分に 1 回、温度と日時が micro SD card へ記録され、記録されたデータをパソコンで処理した。

### (4) 発情時における移動距離の変化

供試牛 1 頭の頸部と膣内に GPS センサを装着し移動距離を測定した。測定期間は、発情時の移動距離を確認するため、発情日とその前後 1 日の計 3 日とした。GPS データは毎秒経度と緯度の位置情報が micro SD card 内へ記録されており、記録されたデータをパソコンで処理し 1 時間ごとの移動距離を算出した。

### (5) 発情時の子宮頸管粘液内グルコース濃度の測定

供試牛 1 頭から、発情日とその前後 2 日の計 5 日間の子宮頸管粘液を採取した。グルコース濃度の測定は、福井大学工学部へ依頼して、グルコース測定キット (EnzyChrom Glucose Assay Kit : BioAssay System, アメリカ) により実施した。

## 結 果

### 1 膣内留置型センサの開発

マイコンは arduino-nano (arduino.cc, 伊) を用いることとし、外装部は光硬化性樹脂 (TSR-883 : シーメット株式会社, 神奈川) を用い 3D プリンターで作製した。ストッパの素材については、膣内を傷つけない素材として柔軟性のあるシリコーン (信越シリコーン KE-12 : 信越化学工業株式会社, 東京) を用い、複数の形状が異なるストッパを作製したが、膣内留置試験中に全ての形状のストッパが折れ外装部の脱落が認められたため、柔軟性と耐久性

がある PA11 (ポリアミド 11) に変更した。膣内留置型センサの持続時間は 2000mA バッテリーを用いたところ約 30 時間程度で、外装部の大きさは、センサ機器等を内包できる外径 48.6mm, 長さ 235mm とした。

グルコースセンサの安定性試験では測定初日から 30 日以後まで電流値の維持を目指したが、センサ機能の低下により、グルコース濃度 3.0 mM では測定初日から 30 日後に電流値が 94%, 1.5 mM では 60%, 0.5 mM では 15% 減少し、グルコース濃度 0.5 mM では他の濃度に比べ電流値の減少が軽微であった (図 3)。

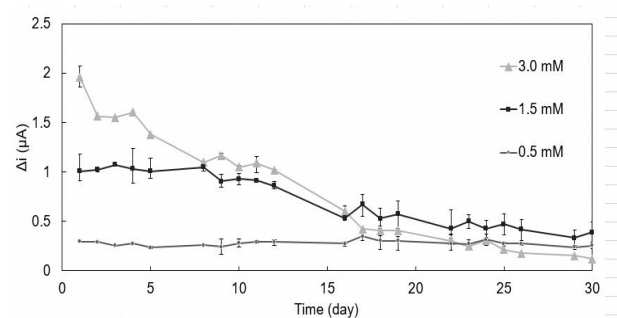


図 3 30 日間連続測定時のセンサ安定性

### 2 生体試験

PA11 ストッパを備えた膣内留置型センサの装着試験では、すべての供試牛で試験期間中の脱落や外装部内への子宮頸管粘液の流入は認められなかった。また、血液生化学検査においても大きな変化は認められなかった。膣内の状態については軽い炎症がみられた他、ストッパを取り出す際に膣内が傷つき出血が認められた。

温度センサでは正常にデータが得られたのは、供試牛 3 頭中 1 頭であった。供試牛 2 頭では発情前 3 日から発情日の期間でセンサ機械部に不具合が生じ、発情時の膣温データを収集することは不可能であった。

データが得られた供試牛 1 頭では、夏季の暑熱期において発情を検知することは困難であった (図 4)。また、膣温を外気温と比較したところ連動する傾向がみられた (図 5)。一方、外気温が下がり始めた 11 月の試験では、発情を検知できた (図 6)。また、温度センサを体温計 (動物用体温計 MercuryFree : 藤平工業株式会社, 東

京)と比較したところ、体温計よりも 0.8℃から 1.1℃高く記録された。

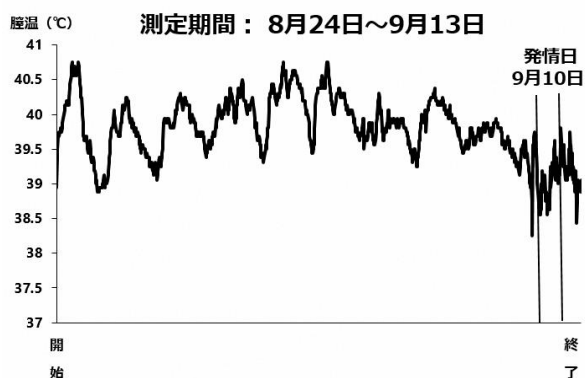


図 4 夏場の膣温推移

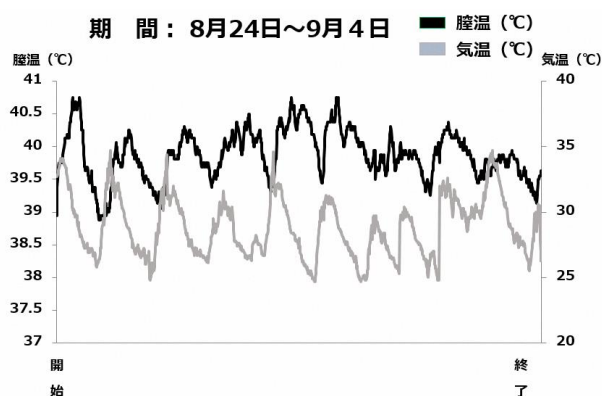


図 5 夏場の膣温と外気温

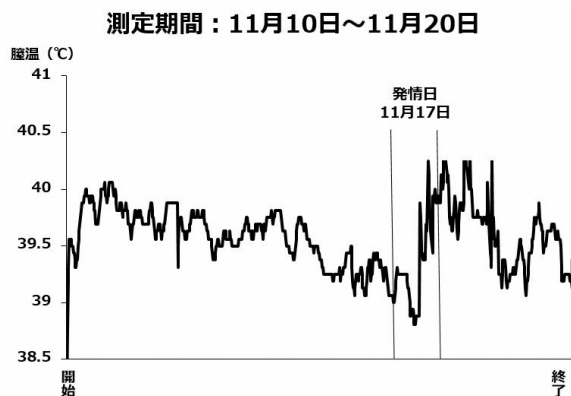


図 6 秋場の膣温推移

GPS センサを頸部へ装着した場合、発情前後 1 日と比較して発情日に移動距離が増加した (図 7)。GPS センサを膣内へ装着した場合は緯度や経度などの位置情報が取得できず micro SD card に記録されなかった。

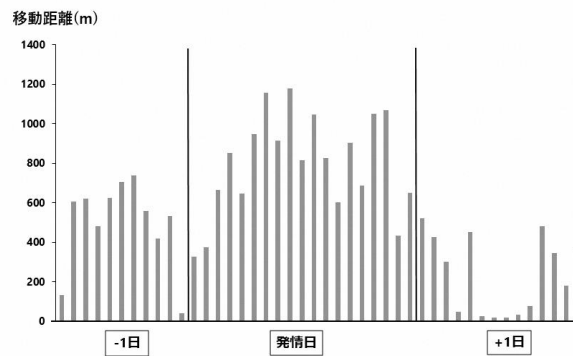


図 7 発情日と発情日前後 1 日の移動距離

#### 4 グルコースセンサ

発情日とその前後 2 日の計 5 日間の子宮頸管粘液のグルコース濃度を測定したところ、発情後 2 日間のグルコース濃度が、発情日および発情日前 2 日間と比較して高い濃度となった (表 1)。

表 1 子宮頸管粘液グルコース濃度

日数	-2	-1	発情日	+1	+2
Glu	0.24	0.25	0.35	2	1.95
濃度	mM	mM	mM	mM	mM

#### 考 察

今回用いたマイコンは、消費電力が大きいため 24 時間以内でのバッテリー交換が必要である。今後は消費電力が少なく無線によりデータの送信が可能となるマイコンの開発が必要であると考え。ストッパについては膣内から脱落が認められない PA11 を用いて作成したが、抜去時に膣内を傷つけたことから、膣内を傷つけにくい素材に変更するまたはストッパをコーティングする必要があると考えられた。

膣内留置型センサを供試牛に装着したところ、22 日間留置しても外装部内へ子宮頸管粘液の流入が認められなかったことから、外装部の防水性は問題ないを考える。しかし、膣内留置型センサが大きいため抜去に時間がかかること、および装着時から装着 1 日ほどの期間に尾の挙

上が認められたことから膣内留置型センサの小型化が必要であると考えられる。

発情時の膣温変化については、黄体退行によりプロゲステロン (P4) 濃度が下がることにより、黒毛和種の膣温 (体温) が低下する<sup>13)</sup>ことや、LH サージと同時期に膣温が上昇し発情時に約 0.48℃上昇する<sup>2)</sup>ことが報告されている。本試験での秋期の膣温測定結果でも、黄体退行時期から全体的に膣温が下がり始め発情時に約 1℃膣温の上昇が認められ、これまでの報告に近い結果となった。一方、夏期における測定では発情の前日にも急激な膣温上昇が認められ発情時の膣温上昇と区別できなかつた。家畜は一般的に熱的中性圏下の気温変化では体温を維持できるが、上臨界温度を超えると体温上昇を引き起こす<sup>5)</sup>とされており、乳用牛の適温域は 4~20℃、上臨界温度は 25℃と報告<sup>1) 12)</sup>されている。また、暑熱ストレスが乳用牛の黄体細胞から分泌されるステロイドホルモンの分泌異常を引き起こすことが報告<sup>15)</sup>されている。気象庁のデータ<sup>4)</sup>を基に、夏期に行った本試験の気温をみると、測定期間中の全ての日で最高気温が上臨界温度域に達していたため、温度センサでは発情検知が不可能であったと考える。また、データ収集できなかった 2 頭ではマイコンに入力したプログラミングの不具合による記録不備とセンサ機械部が外装部内で動くことによりバッテリーの接続不良が認められた。そのため、マイコンのプログラムと外装部内におけるセンサ機器の固定化方法を検討する必要があると考える。

発情時の行動量の増加を、歩数の上昇でとらえて発情を検知する方法が報告されており<sup>9) 11)</sup>、GPS センサにおいても行動量の増加を移動距離でとらえて測定した結果、歩数と同じように発情時に移動距離が増加した。しかし、膣内へ留置した場合は位置情報が記録されなかつた。これは、室内で GPS センサを使用した場合、建物が障害となり人工衛星からの位置情報を受信できないのと同様の理由であると考えられる。そのため、膣内留置型センサ候補から GPS センサを除外した。

グルコースセンサはグルコース濃度 0.5 mM において測定開始から 30 日後も比較的安定しており、発情周期中のグルコース濃度が 0.5 mM 以下で推移するならば発情後のグルコース濃度の増加を検知できると考えられたため、グルコースセンサは発情検知に用いることが可能と判断した。

以上のことから、膣内留置型センサ候補としてとして、温度センサとグルコースセンサを用いることとした。

今後は、発情時と分娩時のデータ蓄積と膣内留置型センサの無線化や省電力化について検討する。

## 文 献

- 1) Berman AY, Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate, *Journal of Dairy Science*, 68 (6) : 1488-1495, 1985
- 2) Fisher AD・Morton R・Dempsey JMA・HenshallJM・Hill JR, Evaluation of a new approach for the estimation of the time of the LH surge in dairy cows using vaginal temperature and electrodeless conductivity measurements, *Theriogenology*, 70 (7) :1065-1074, 2008
- 3) 伊藤隆・小番真姫子, 肉用牛の発情における体温変動, *東北農業研究*, 52:129-130, 1999
- 4) 気象庁過去の地点・気象データ <https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>
- 5) 野中最子・小林洋介・樋口浩二・永西修, 地球温暖化が日本における家畜の生産性に及ぼす影響評価の現状と課題, *地球環境*, 14 : 215-222, 2009
- 6) 農林水産省畜産統計調査 <https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tikusan/>
- 7) 三宅陽一・三好憲一・森谷浩明・松井基純・羽田真悟, 乳用雌牛における単胎および多胎分娩事故率に関する調査結果, *産業動物臨床医師*, 1 (1) : 5-9, 2010

- 8) 森淳一・富塚常夫・広木政昭・板屋堯由, 牛の性周期中における子宮頸管粘液の pH ならびに電気伝導度の変化—生体内測定による検討, 家畜繁殖学雑誌, 25 (1) : 6-11, 1979
- 9) Roelofs JB・van eerdenburg FJCM・Soede NM・Kemp B, Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle, Theriogenology, 64 (8) :1690-1703, 2005
- 10) Sakaguchi M・Fujiki R・Yabuuchi K・Takahashi Y・Aoki M, Reliability of Estrous Detection in Holstein Using a Radiotelemetric Pedometer Located on the Neck or Legs under Different Rearing Conditions, Journal of Reproduction and Development, 53 (4) : 819-828, 2007
- 11) 坂口実, 搾乳牛における歩数計を用いた発情検出, 日本畜産学会報, 81 (4) : 413-419, 2010
- 12) 阪谷美樹, 暑熱ストレスが産業動物の生産性に与える影響, 産業動物臨床医師, 5:238-246, 2015
- 13) Sakatani M・Takahashi M・Takenouchi N, The efficiency of vaginal temperature measurement for detection of estrus in Japanese Black cows, Journal of Reproduction and Development, 62 (2) : 201-207, 2016
- 14) 瀧 柊也, 牛の発情検知を目指した長期モニタリング可能な体内留置型 2.5 世代グルコースセンサの開発, 福井大学 工学部 物質・生命化学科 令和 2 年度 卒業論文掲載予定, 2021
- 15) Wolfenson D・Roth Z・Median R, Impaired reproduction in heat-stressed cattle:basic and applied aspects, Animal reproduction science, 60-61:535-547, 2000

**Establishment of technology to increase reproduction of Wakasa-gyu ,Japanese black  
efficiently using sensing technology (the 1<sup>st</sup> report)**

**(Development of a Multifunctional indwelling vaginal Sensor for Estrous and Parturition Detection)**

Kaname SUZUKI and Nobuhiro KAWAMORI  
Fukui Prefectural Livestock Experiment Station

**Abstract**

In order to develop an indwelling vaginal sensor that can detect estrus accurately and predict parturition onset time by combined multiple sensors, we developed following sensors which monitored vaginal temperature, 3-axis acceleration, GPS, pH, electrical conductivity and glucose of cervical mucus, and investigated changes in data obtained from above sensors during estrus and parturition. In this paper, we developed those the sensors, which could be candidates for the indwelling type of sensor for dairy cows and investigated changes in vaginal temperature and GPS status. It was suggested that the vaginal temperature sensor alone could detect estrus in fall when the atmospheric temperature began to drop whereas it could not detect when the atmospheric temperature was high in summer. When the GPS sensor was fixed on the neck collar, the moving distance increased during estrus therefore it seemed that estrus could be detected by GPS sensor. However, its data could not be received from outside and estrus could not be detected when the sensor was set in the vagina.

**Keyword:** Sensor, estrus detection, vaginal temperature, GPS