

乳用牛の周産期病予防に向けた酸化ストレス軽減技術の開発（第1報）

矢田桃子 荻野武夫 村上知之

Development of oxidation stress mitigation technique for prevention of perinatal disease of dairy cattle (First Report)

Momoko Yata, Takeo Ogino, Tomoyuki Murakami

要 約

稲 WCS 給与による周産期の酸化ストレス軽減技術を開発するため、府内で生産された稲 WCS 及び土壌の成分調査を行うとともに、当センター慣行飼料を用い抗酸化物質添加の有無による酸化ストレス物質や血中成分の違いを調査した。

- 1 府内 4 カ所で生産されている稲 WCS の成分に差はなかった。また、土壌中の成分が必ずしも稲 WCS に反映されるわけではなかった。
- 2 当所慣行の飼料では、血中の酸化ストレスマーカーであるスーパーオキシドディスムターゼと炎症性サイトカインのインターロイキン 1 β は周産期において抗酸化物質添加剤の有無では差が認められなかった。
- 3 当所慣行の飼料では、乾物摂取量、体重、乳量および乳成分と血液性状（Glu、Ca、NEFA、 β -カロテン、 α -トコフェロール）には抗酸化物質添加の有無による有意な差が認められなかった。

キーワード：乳用牛、酸化ストレス、インターロイキン 1 β

緒 言

近年、乳牛は遺伝的改良により高泌乳化が進む一方で、繁殖成績の悪化や供用年数の短縮という課題がある。乳牛の主な除籍の理由は、分娩直後や高泌乳期に発生する周産期病等の疾病があげられるが、原因の 1 つとして、「酸化ストレス」が注目されている。高泌乳牛は高水準の乳生産を維持するために体内で活発なエネルギー代謝を行う際に、大量の酸素を必要とし、体内で酸素を利用した際に生成する過剰な活性酸素が細胞機能や免疫力、生殖細胞の機能の低下を引き起こす。生涯生産性向上のためには酸化ストレスを軽減し長命連産性を向上させる必要がある。

一方、京都府内では自給飼料の利用促進のため稲ホールクロップサイレージ（WCS）用の機械の整備が進むとともに、稲 WCS の生産が拡大しており、酪農家での稲 WCS の周年給与が期待される。稲 WCS の特徴は、輸入乾牧草と比べ多くの抗酸化作用を有する β カロテンやビタミン E などの成分が含まれていると言われている。し

かし、その効果を調べた報告は少ない¹⁾。

本試験では府内で生産される稲 WCS の抗酸化作用成分を把握するとともに、稲 WCS 給与により高泌乳牛の周産期の酸化ストレスを低減できる飼養管理方法を検討する。

2017 年度は府内産稲 WCS の成分調査および当センター慣行の飼料と市販の抗酸化物質（ビタミン A、ビタミン E、セレン等）を含む混合添加剤（以下、「添加剤」という。）を用いて酸化ストレスの傾向を調査した。

材料及び方法

1. 京都府の稲 WCS の特徴の解明

(1) 府内産稲 WCS の成分分析

ア 対象品種

コシヒカリ

イ 収穫・調整

中丹地域（2 箇所）、南丹地域（2 箇所）の計 4 カ所で栽培された稲 WCS を専用収穫機で収穫した。

ウ 保管

収穫・調製された稲 WCS は 2017 年 8 月 23 日に当センターに搬入し、1 段積みで貨物コンテナ内に保管した。

エ 採材

調製後 2 か月目（試料採取年月 2017 年 11 月 13 日）にドリルサンプラーを用いロール中央部 3 カ所から採取した。

オ 飼料成分分析

pH はガラス電極法、窒素は CN コーダー法、リン酸はバナドモリブデン酸比色法、カリウム・亜鉛・マンガン・銅は原子吸光法、一般成分（水分、粗脂肪、粗蛋白質、粗繊維、粗灰分、可溶無窒素物）は定法²⁾、 β -カロテン、 α トコフェロールは高速液体クロマトグラフィー法を用いそれぞれ測定を行った。また、当センターの自給飼料として、イタリアンライグラスサイレージおよびトウモロコシサイレージについても一般成分を測定した。

(2) 土壌分析

ア 採剤時期 2017 年 10 月 5 日（刈り取り後）

イ 採材場所

中丹地域（2 箇所）、南丹地域（2 箇所）の水田から、対角線採土法により、水田の対角線上 5 箇所から 500 g ずつ土壌を採材して混合後、500 g を試料とした。

ウ 土壌成分分析

pH はガラス電極法、窒素は CN コーダー法、リン酸はバナドモリブデン酸比色法、カリウム・亜鉛・マンガン・銅は原子吸光法を用いてそれぞれ測定を行った。

2. 血中成分の測定によるサプリメントの検討

(1) 試験期間 2017 年 8 月 30 日～12 月 5 日

(2) 供試牛

当センター乳用牛舎に繋養するホルスタイン種雌牛のうち、2017 年 9 月から同年 10 月に分娩予定の初産牛 2 頭、経産牛 2 頭、計 4 頭を供試した。

(3) 試験区分

分娩予定日の 21 日前から分娩後 70 日までの間、サプリメントを 1 日 100g 投与する試験区と無投与の対照区に分け、両区に初産牛と経産牛をそれぞれ 1 頭ずつ計 4 頭配置した。

(4) 給与飼料

分娩前は両区とも、粗飼料はクレイグラス乾草、とうもろこしサイレージおよびイタリアンライグラスサイレージを、濃厚飼料は市販の移行期用配合飼料（移行期フレペレ、JA 西日本くみあい飼料株式会社）を給与した。分娩直後にはグリセナージ（日産合成工

業）1 本およびゲンキコール Ca（日産合成工業）1 本を経口給与した。分娩後は両区とも、粗飼料はとうもろこしサイレージ、イタリアンライグラスサイレージ、クレイグラス乾草、オーツ乾草およびチモシー乾草、濃厚飼料は移行期用配合飼料から泌乳用配合飼料（ラクトシルバー、JA 西日本くみあい飼料株式会社）へと置き換え、1 日最大 500g を上限に増給した。また、サプリメントとして全酪ミクロス（全酪連）を期間中 1 日 100g 給与した。

(5) 調査項目と測定方法

ア 体重

分娩予定の 3 および 1 週間前、分娩日、分娩後 4、10 週に牛衡機で計測した。

イ 乾物摂取量

残飼量を週 2 回秤量し、摂取量を算出した。

ウ 乳量及び乳成分

乳量は朝夕の搾乳毎にミルクメーター（Waikato Milking Systems NZ Ltd. MKV Milk Meter）により計測した。

乳成分（乳脂肪率、乳蛋白率、無脂固形分率及び体細胞数）は分娩後 2 週ごとに乳汁検体を採取し、生乳検査所にて赤外線分析法により定量した成績を用いた。

エ 血液の採取と成分分析

朝の飼料給与前（9 時）に真空採血管（プレーン・ヘパリン入り）を用い、尾静脈から採血した。採取した血液を遠心分離（3000rpm×10 分）し、血漿・血清・赤血球溶血液を分析に供するまで -20℃で凍結保存した。

分析項目は、 β カロテン、 α トコフェロール、インターロイキン 1 β 、遊離脂肪酸（NEFA）、スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）、グルコース、カルシウムとした。

β カロテン、 α トコフェロールは血漿を用い高速液体クロマトグラフィー法、インターロイキン 1 β は血清を用い ELISA 法、NEFA は血清、SOD は赤血球溶血液をそれぞれ用い比色法、グルコースとカルシウムは血清を用い血液自動分析装置（富士ドライケム）でそれぞれ測定した。

結果及び考察

1. 京都府の稲 WCS の特徴の解明

今回用いた稲 WCS の収穫時期は出穂前から糊熟期であった。

一般成分は、水分は 66.7 から 70.1%、粗蛋白質が「南丹 1」を除き 6%以上、粗繊維が

29.1 から 36.3%と日本標準飼料成分表(2009)とほぼ同等であった。また、カリウムはイタリアンライグラスサイレージやクレイングラス乾草より低く、チモシー乾草やトウモロコシサイレージとはほぼ同等の値となった。抗酸化作用がある銅、亜鉛、マンガンについては、マンガンがイタリアンライグラスサイレージより高値

となり、銅と亜鉛は低値となった(表1)。ほ場別で比較すると、 β -カロテンは南丹1が低く、 α -トコフェロールは中丹1が低い値となったが、いずれも日本標準飼料成分表(2009)の範囲内であった(表2)。

発酵品質は水分が若干高かったが pH は 3.7 から 4.6 で発酵品質は中から良であった。

表1. 稲 WCS 中の一般成分

ほ場	水分 (%)	粗脂肪 (%)	粗蛋白質 (%)	粗繊維 (%)	粗灰分 (%)	可溶性 無窒素物 (%)	収穫時期
中丹1	69.2	3.7	6.9	29.1	12.9	47.3	糊熟
中丹2	69.3	3.4	6.7	34.6	14.3	40.9	出穂前
南丹1	66.7	2.7	5.4	31.3	12.5	48.2	乳熟
南丹2	70.1	3.6	6.6	36.3	8.9	44.6	糊熟
*チモシー乾草	11.1	2.3	8.1	34.3	7.1	48.2	-
*クレイングラス乾草	9.4	2.3	11.8	31.1	8.8	46.1	-
イタリアンライグラスサイレージ	69.5	3.4	9.3	33.7	12.5	41.3	出穂期
トウモロコシサイレージ	78.1	3.3	8.1	31.2	7.0	50.6	黄熟期

*日本標準飼料成分表(2009年版)より

表2. 稲 WCS 中の微量成分

ほ場	窒素 (%)	リン (%)	カリ (%)	亜鉛 (mg/kg)	銅 (mg/kg)	マンガン (mg/kg)	pH	β -カロテン (mg/kgDM)	α -トコフェロール (mg/kgDM)
中丹1	1.06	0.26	1.37	56.21	1.39	143.40	4.1	52.53	94.17
中丹2	1.01	0.28	1.90	43.36	1.13	132.82	4.2	73.72	167.37
南丹1	0.85	0.18	1.19	41.96	0.77	128.63	3.7	25.69	177.92
南丹2	1.04	0.31	1.86	44.99	0.76	153.11	4.6	51.60	166.01
*チモシー乾草	-	0.18	1.63	-	-	-	-	10	-
*クレイングラス乾草	-	0.24	2.58	-	-	-	-	-	-
*イタリアンライグラスサイレージ	-	0.33	3.42	57	10	81	-	82	-
*トウモロコシサイレージ	-	0.25	1.65	-	-	-	-	42	-

*日本標準飼料成分表(2009年版)より

表3. 土壌中の成分

ほ場	窒素 (%)	リン (mg/100g)	カリ (mg/100g)	亜鉛 (mg/kg)	銅 (mg/kg)	マンガン (mg/kg)	pH
中丹1	0.45	26.43	12.90	9.54	0.94	22.48	5.9
中丹2	0.19	11.52	6.74	5.12	9.40	90.40	6.1
南丹1	0.21	15.94	3.77	7.55	9.14	55.28	5.2
南丹2	0.26	17.00	6.74	8.24	11.88	17.91	6.2

土壌中の銅・マンガンについてはバラツキが多く、中丹1（畜産農家）の土壌で窒素、リン酸、カリ、亜鉛が多い傾向がみられたが、収穫した稲 WCS ではその傾向は見られず、残りの3ほ場においても土壌と稲 WCS の関連性は見られなかった。また、稲 WCS、土壌とも地域的な差は認められなかったことより、府内で生産されている稲 WCS は成分の地域差はなく、どこで生産されたものでも、同じように輸入乾牧草の代替として利用可能であると考えられた(表3)。

区間による差はみられなかった。また、分娩後10週目において対照区の乳量減少が大きくなる傾向があった。乾物摂取量において、区間での差はみられなかった(表4)。

2. 血中成分の測定によるサプリメントの検討

(1) 体重・乾物摂取量・乳量

体重は、乳量が多い牛ほど減少しており、

表4. 体重・乾物摂取量・乳量の比較

	試験区	経産牛		初産牛	
		対象区	試験区	対象区	試験区
分娩前	体重(kg)	872	828	690	690
	乾物摂取量(kg/日)	9.5	12.3	10.1	8.7
分	1週	793	793	636	644
	乾物摂取量(kg/日)	13.9	13.8	12.4	11.4
	平均乳量(kg/日)	40.4	38.7	26.3	28.0
	体重(kg)	730	663	622	578
娩	4週	18.7	19.2	16.5	17.6
	乾物摂取量(kg/日)	51.6	49.9	38.9	37.3
	平均乳量(kg/日)	745	631	619	600
	体重(kg)	745	631	619	600
後	10週	21.4	29.6	20.0	16.6
	乾物摂取量(kg/日)	44.8	48.8	34.9	36.5
	平均乳量(kg/日)	44.8	48.8	34.9	36.5
	体重(kg)	44.8	48.8	34.9	36.5

※分娩後1週の体重は分娩後0日の体重

(2) 乳成分

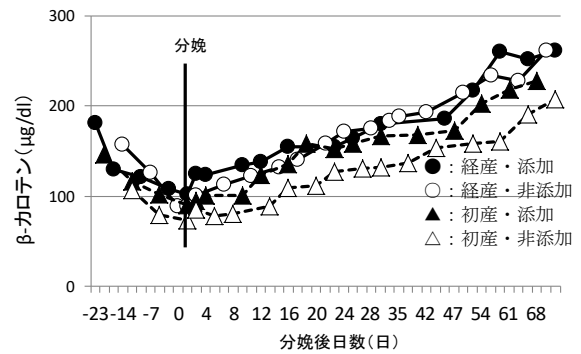
両区間での顕著な差は見られなかった(表5)。

表5. 乳成分の週次比較

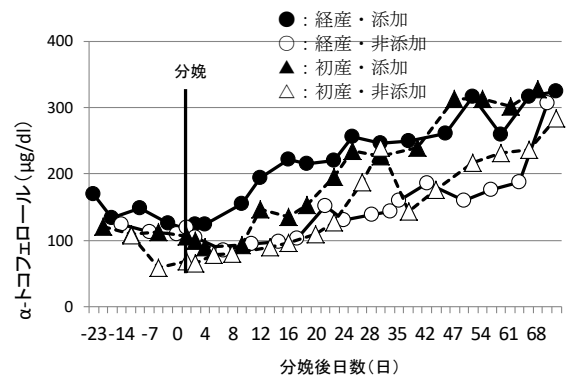
項目	週次	経産・試験	経産・対照	初産・試験	初産・対照
乳脂率 (%)	2	6.46	6.16	6.00	4.65
	4	5.76	6.04	4.07	3.45
	6	3.21	5.16	4.46	3.76
	8	3.61	3.53	4.87	3.96
	10	6.35	3.91	5.29	5.06
乳蛋白質 (%)	2	3.41	3.74	3.50	3.61
	4	2.80	3.28	3.09	3.21
	6	2.90	2.91	3.03	3.17
	8	2.95	3.01	3.05	3.21
	10	2.92	2.98	2.90	3.10
乳糖 (%)	2	4.33	4.26	4.63	4.53
	4	4.45	4.31	4.73	4.82
	6	4.69	4.67	4.75	4.81
	8	4.63	4.79	4.87	4.72
	10	4.29	4.55	4.91	4.76
無脂固形分 (%)	2	8.74	9.00	9.12	9.14
	4	8.25	8.58	8.82	9.03
	6	8.58	8.58	8.78	8.98
	8	8.58	8.70	8.92	9.03
	10	8.21	8.53	8.81	8.86
MUN (mg/dl)	2	10.75	5.00	8.35	8.75
	4	14.40	12.95	12.60	19.20
	6	9.35	8.60	8.65	8.80
	8	8.95	7.80	10.55	11.85
	10	8.35	8.00	14.10	11.35

(3) 血液成分

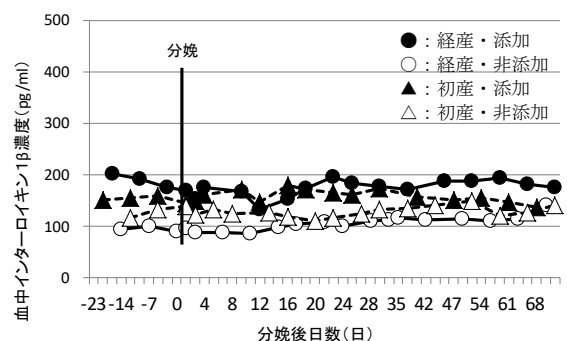
血中 β -カロテン濃度は、分娩前3週間前から減少し、分娩時から分娩1週後にかけ最低値となり、その後徐々に回復した(図1)。

図1 分娩前後の血中 β -カロテン濃度の推移

血中 α -トコフェロール濃度は、分娩後に最低値になり、その後上昇した。また、経産牛、初産牛ともに試験区が対照区よりも高い傾向を示した。(図2)。 β -カロテン、 α -トコフェロールにおいて、両区とも分娩後～1週間の時に最低値になるのは、脂溶性ビタミンが初乳中へ大量に分泌されたことによるものと思われた。

図2 分娩前後の血中 α -トコフェロール濃度の推移

炎症性サイトカインである血中インターロイキン1 β 濃度は、経産牛、初産牛ともに値が100～250pg/ml前後で推移した(図3)。

図3 分娩前後のインターロイキン1 β 濃度の推移

度の推移

酸化ストレスマーカーである血中 SOD 濃度は両区に差は認められず、また、大きな増減はなかった。（図 4）

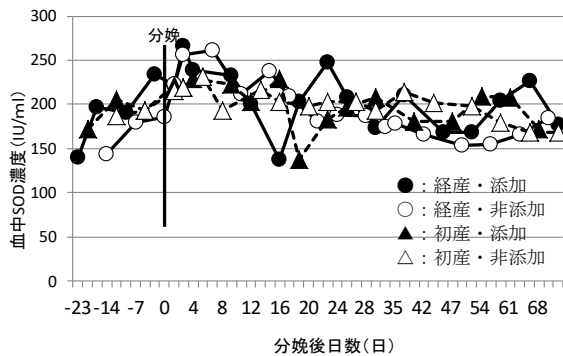


図 4 分娩前後の SOD 濃度の推移

血中 NEFA 濃度は、経産牛両区と初産牛試験区において、血中グルコース濃度を補うように体脂肪動員により分娩直後から上昇し、経時的に低下した（図 5）。

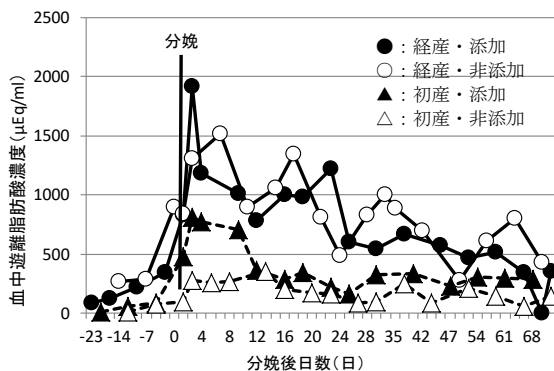


図 5 分娩前後の血中 NEFA 濃度の推移

血中グルコース濃度は、経産牛は両区ともに分娩後低下し 3 週で元に戻ったが、初産牛では分娩後の低下からの回復が早い傾向が認められた（図 6）。

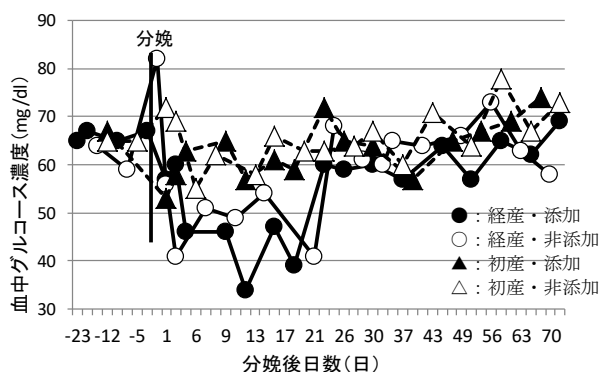


図 6 分娩前後の血中グルコース濃度の推移

移

血中カルシウム濃度については、経産牛では産乳により両区とも分娩後急激に低下したが、試験区の方が落ち込みが少なく、対照区に比べ高く推移した。初産牛では、経産牛に比べ分娩後の落ち込みは少なく、試験区は経産牛と同様に分娩後のカルシウム濃度が、対象区に比べて高く推移した（図 7）。

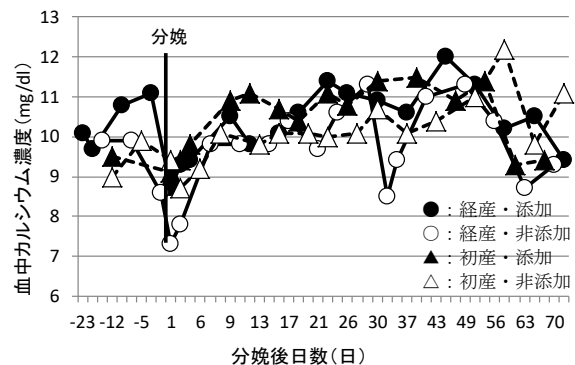


図 7 分娩前後の血中カルシウム濃度の推移

当センター慣行の給与飼料ではインターロイキン 1β、SOD ともに差が認められなかった。これは、慣行飼料で給与しているサイレージ中に一定量の抗酸化物質が含まれていたことから、サプリメントを与えても差がなかったものと推察される。

今年度は自給飼料主体で試験を行ったが、府内農家で多く使われているのは輸入乾草であることから、今後は稲 WCS と輸入乾草の比較給与試験を行っていく。

引用及び参考文献

- 1) 稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル第 6 版(2015) 日本草地畜産種子協会
- 2) 自給飼料利用研究会編(2009) 粗飼料の品質評価ガイドブック三訂版(社) 日本草地畜産種子協会
- 3) 水上智秋・長尾伸一郎(2014) イネ WCS を主体とした乾乳期飼料の給与が分娩前後の乳牛に与える影響 岡山農総セ畜研報 4
- 4) 細田謙次(2012) 畜産分野における酸化ストレス、抗酸化能の評価～アントシアニン高含有自給飼料の給与事例～ 自給飼料利用研究会
- 5) 二階堂聡ら(2008) 周産期における微量ミネラル投与が乳牛の疾病発生と繁殖成績に及ぼす影響 日獣会誌 61
- 6) 久米新一ら(2011) 高泌乳牛の移行期の栄養管

理と血液成分の関連性 畜産の研究 66

7)U.Bernabucci (2002) Markers of Oxidative Status
in Plasma and Erythrocytes of Transition Dairy Cows
During Hot Season J.Dairy Sci. 85:2173-2179

8) 久枝啓一ら Escherichia coli による乳牛の甚
急性乳房炎における血清中および乳清中サイト
カインの動態と臨床症状日獣会誌 61 443～448
(2008)