

## 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2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 (Second Report)

Momoko Yata, Takeo Ogino, Tomoyuki Murakami

### 要 約

稲ホールクロップサイレージ(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 を給与した乳牛の抗酸化成分の推移を調査した。

本試験は、2018～2019 年度にて稲 WCS 給与試験を実施しており、2019 年度についてはデータを収集中であるため、今回は 2018 年度の結果を示した。考察については、2019 年度のデータを加えて行うこととする。

キーワード：乳用牛、酸化ストレス、β-カロテン、α-トコフェロール

### 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<sup>1)</sup>。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、その原因の1つである「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<sup>2)</sup>。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、府内では自給飼料の利用促進のため稲 WCS 用の収穫機械の導入が進むとともに、稲 WCS の生産面積が拡大している。稲 WCS の特徴は、輸入乾牧草と比べ抗酸化作用を有するβカロテンやビタミン E などの成分が多く含まれていると報告されている<sup>3)</sup>。しかし、実際に稲 WCS を給与して、酸化ストレス低減効果を調べた報告は少ない。

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。

2018 年度は府内産稲 WCS を給与し、βカロテン、αトコフェロールといった抗酸化成分の推移を調査した。

### 材料及び方法

稲 WCS 給与時の分娩前後の酸化ストレス状況の把握

(1) 試験期間 2017 年 12 月 21 日～2018 年 7 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、2018 年 1 月から 4 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、稲 WCS を給与する試験区と非給与の対照区に分け、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、粗飼料はクレイングラス乾草、チモシー乾草、オーツ乾草、およびアルファルファヘイキューブを、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、

\* 京都府丹後家畜保健衛生所

試験区は一部乾草を稲 WCS (8kg/日) に置き換えて給与した。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、粗飼料はクレイングラス乾草、オーツ乾草、チモシー乾草およびアルファルファヘイキューブと、試験区は一部乾草を稲 WCS に置き換えて給与し、濃厚飼料は移行期用配合飼料から泌乳用配合飼料 (エナジー-18、JA 西日本くみあい飼料株式会社) へと置き換え、1日最大 500 g を上限に増給した。また、移行期 Ca を試験期間中 1日 200 g 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

残飼量を毎日秤量し、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 (3000 rpm×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、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 0.5 ml に水とピロガロール含有エタノールを加えよく混和したのち、n-ヘキサンで抽出し、βカロテンは 450 nm、αトコフェロール 292 nm でそれぞれ高速液体クロマトグラフィー法<sup>4)</sup>にて測定をおこなった。

NEFA は、ラボアッセイ™ NEFA キット (和光純薬) を用い、5 μl の血漿と 100 μl の発色試液をリン酸緩衝液 pH 7.0 で溶解した溶液を混合し、10 分間、37℃ で加温した。次に、200 μl の発色試液を加え、10 分間、37℃ で加温した後、550 nm

における吸光度を分光光度計で測定し、基準液から算出した検量線から、血漿遊離脂肪酸濃度 (mEq/L) を求めた。

SOD は RANSOD キット (Randox 社) を用い、赤血球溶血液をリン酸緩衝液 pH 7.0 で希釈した後、キサントニン・INT 混合試薬を入れ攪拌した。次にキサントニンオキシダーゼを加え、分光光度計で 505 nm にて測定を実施した。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) 体重・乾物摂取量

体重は試験区が分娩後徐々に回復したのに対し、対照区では分娩後試験終了まで減少した (図 1)。また、乾物摂取量 (図 2) については、試験期間中、両区とも同様に推移した。

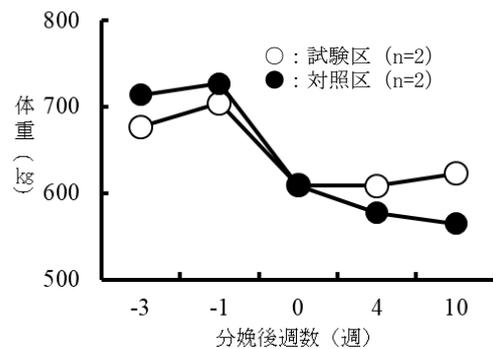


図 1. 体重の推移

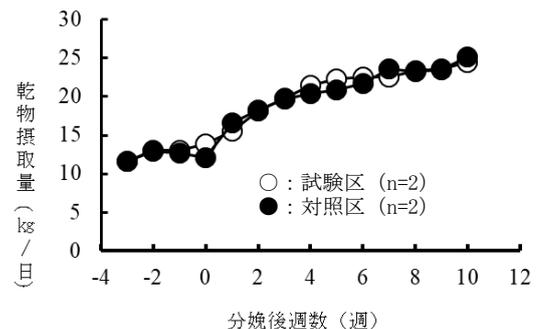


図 2. 乾物摂取量の推移

(2) 乳量・乳中成分

乳量、乳中成分 (表 1) は、試験中は以下のとおりであった。

表 1. 各試験区供試牛の乳成分平均値の推移 (両区とも n=2)

	試験区	2週	4週	6週	8週	10週
乳量 (kg/日)	試験区	28.9	35.2	38.1	40.1	37.5
	対照区	31.5	39.6	39.3	39.8	39.7
乳脂肪 (%)	試験区	5.98	4.00	3.95	3.70	4.43
	対照区	4.66	4.15	6.32	4.10	3.95
乳蛋白 (%)	試験区	3.69	3.19	3.11	3.17	3.48
	対照区	3.48	3.04	2.84	3.05	3.00
MUN (mg/dl)	試験区	11.4	13.9	15.5	13.8	16.2
	対照区	9.6	13.0	13.4	15.2	12.9
体細胞数 (万/ml)	試験区	48.9	5.8	4.7	8.3	1.4
	対照区	7.1	10.9	9.0	4.5	6.4

(3) 血液成分

βカロテンの血中濃度を図 3 に、αトコフェロールの血中濃度を図 4 に示した。また、酸化ストレスの指標となる血中 SOD 活性を図 5 に、血中 NEFA 濃度を図 6 に示した。

血中グルコース濃度、血中カルシウム濃度は、図 7、8 に示した。

今年度に行った給与試験では、供試頭数が少なく、区間での差が明確に表れなかった。本試験では、各区 5 頭、計 10 頭の供試頭数を予定しており、すべての試験結果が出てから、考察を行う。

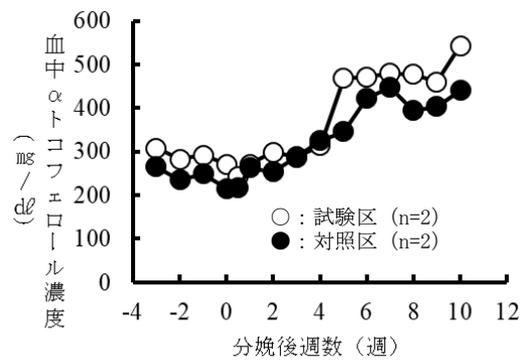


図 4 分娩前後の血中 α-トコフェロール濃度の推移

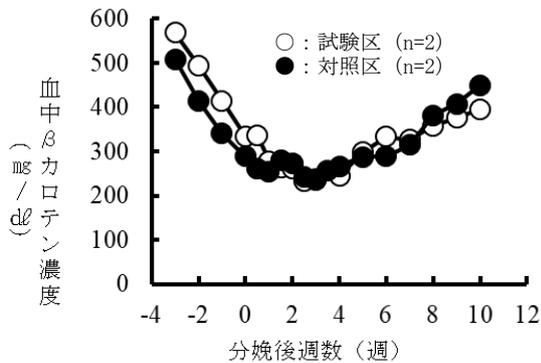


図 3 分娩前後の血中 β-カロテン濃度の推移

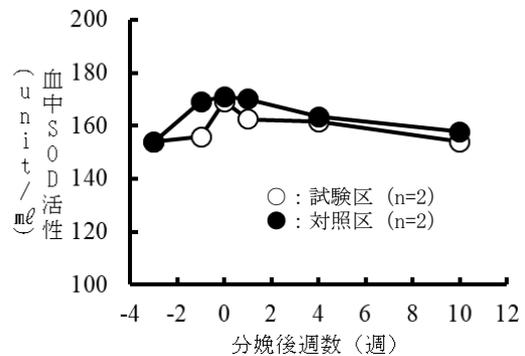


図 5 分娩前後の血中 SOD 活性の推移

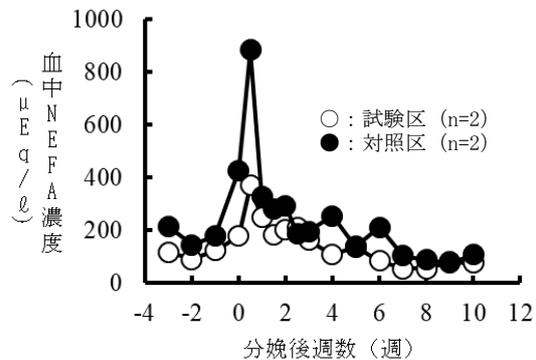


図 6 分娩前後の血中 NEFA 濃度の推移

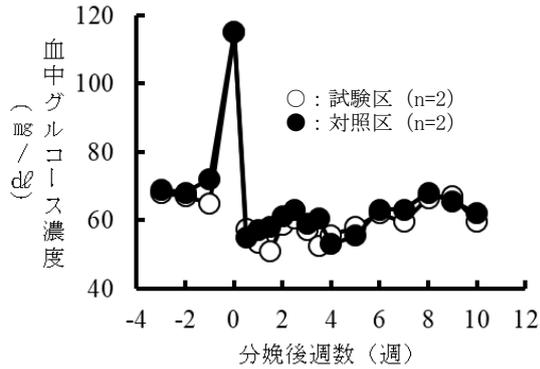


図7 分娩前後の血中グルコース濃度の推移

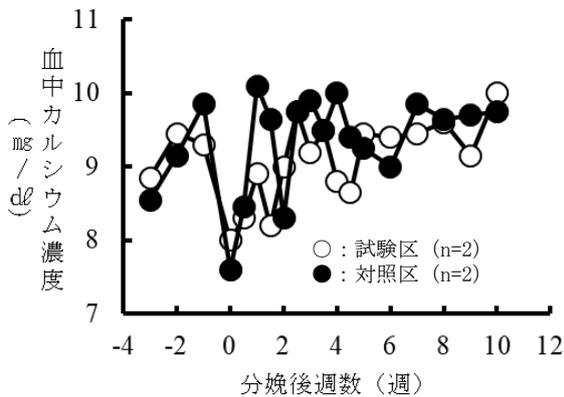


図8 分娩前後の血中カルシウム濃度の推移

During Hot Season Journal of Dairy Science  
85:2173-2179

8) 久枝啓一ら (2008) 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 日本獣医師会雑誌 61 443-448

## 引用及び参考文献

- 1) (一社) 家畜改良事業団「乳用牛群能力検定成績のまとめ」
- 2) 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
- 3) (一社) 日本草地畜産種子協会 (2015) 「稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル第6版」
- 4) 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
- 5) 農研機構 (2007) 「家畜における生化学病性鑑定のための臨床生化学的検査マニュアル」
- 6) 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
- 7) 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: 1172-1180
- 8) U. Bernabucci (2002) Markers of Oxidative Status in Plasma and Erythrocytes of Transition Dairy Cows