飼料用イネとバイパスナイアシンによる泌乳牛の暑熱対策

埼玉県農業技術研究センター ○大澤 玲 日産合成工業株式会社 上地 さり

I 緒言

乳牛は飼育環境が気温 25℃以上になると暑熱ストレスを受けるようになり、体温の上昇や採食量の低下などにより、乳生産や繁殖性が低下し、経済的損失につながる¹)。特に本県は全国でも有数の暑さの厳しい地域であり、生産性向上のため暑熱ストレスの低減が課題となっている。

ビタミンB群に属する「ナイアシン」は皮膚毛細血管の血流量増加により皮膚からの体温放出を誘導する。前報文献において、ルーメンで分解されず下部消化管で吸収されるバイパスナイアシン(RP-NA)の泌乳牛への給与が、暑熱期の体温上昇を抑え、繁殖成績を向上させる可能性を報告した。今回は、酸化ストレス抑制効果が期待できる天然ビタミンEを豊富に含むとされる高糖分高消化性の飼料用イネ「つきすずか」と RP-NA の併用による効果を検討した。

Ⅱ 材料および方法

1 試験期間

試験は 1 次試験として 2021 年 9 月 6 日~10 月 19 日、2 次試験として 2022 年 8 月 22 日~10 月 4 日の 2 回行った。本試験は農業技術研究センター動物実験等実施規定により実施した。

2 供試牛

各期とも、つなぎ牛舎で飼養する搾乳中のホルスタイン種経産牛を 1 次試験、2 次試験ともに 9 頭ずつ供試した。試験開始時の平均分娩後日数は 1 次試験 79 日、2 次試験で 117日、平均産次は 1 次試験で 2.3 産、2 次試験で 1.7 産だった。

3 試験区分

各期とも、試験区は粗飼料をチモシー100%とする対照区 3 頭、チモシーの乾物中 75%を 切断長 6 mmで微細断収穫 ((株)タカキタ,三重県) した飼料用イネ「つきすずか」(写真 1) で代替する飼料用イネ 75%区 3 頭、飼料用イネ 75%区に RP-NA20g/頭/日 (写真 2) を毎朝添加する飼料用イネ 75%+RP-NA 区 3 頭を配置し、馴致期間 4~6 日、試験期間 10 日のラテン方格法により行った。飼料は同一成分の TMR となるよう表 1 のとおりの乾物配合割合で混合し、水分率 50%程度となるよう調製し、細断型ロールベーラー ((株)タカキタ,三重

県)でロール形成後、ラッピングマシーン((株)アグリテック,北海道)でラップ梱包(雪印種苗(株),北海道)し、調製から 1 か月程度保存して発酵 TMR として給与した。給与は 8:00、15:00 の 1 日 2 回給与とした。添加区は、RP-NA20g/頭/日を朝の飼料給与時に TMR に振りかけて(トップドレス)給与した。

4 調査項目および分析方法

(1) 飼料摂取量

飼料摂取量は個体ごとに毎日の給与量と飼料残渣量を記録し、1 週ごとの代表サンプルの水分測定値をもとに乾物摂取量を測定した。給与した TMR はロール開封ごとにサンプルを採取して冷凍保存し、試験終了後解凍したサンプルを同量ずつ混合した後に代表サンプルを採取し、分析を依頼した(十勝農業協同組合連合会,北海道)。この結果により TDN 摂取量を算出した。

(2)乳量、乳成分

搾乳は8:00 と 16:50 の 2 回行い、1 日乳量は朝・夕の搾乳量の合計とし、搾乳時にミルクメーター(オリオン機械株式会社、長野)により毎日測定した。乳成分測定は各試験期間の最終日に生乳を朝夕の搾乳時に採取し、検査を依頼した(関東生乳販連、栃木)。

(3) 環境温度、体温

温度・湿度データロガー(株式会社KNラボラトリーズ、大阪)を直射日光のあたらない試験牛房近くの牛舎内の壁(牛床から約 1.5m の位置)に設置し、15 分おきに温度・湿度を測定した。測定データから、温度湿度指数(THI: $0.8 \times$ 温度($^{\circ}$ C)+ $0.01 \times$ 湿度(%)×(温度($^{\circ}$ C)-14.3)+46.3)を算出した。

体温の測定は、試験期間を通して尾部にボタン電池式データロガー(写真 3, (株) KN ラボラトリーズ,大阪)を装着し、15 分おきに体表温度を測定するとともに、妊娠していない試験牛については、ホルモン同期化処置時は未使用のシダー1900(ゾエティス・ジャパン(株),東京都)を、それ以外の時は使用済みのシダーを洗浄、EOG滅菌したものに電池式データロガーを装着して膣内に留置し、膣温度を測定した(写真 4)。

(4) 反芻時間、胃液 pH

各区 2 頭ずつの試験牛にルミログ (写真 5,光和ネットワークサービス(株),埼玉) を装着し、反芻、採食、休息時間の測定を行った。さらに、各試験期間の最終日の飼料給与から約 4 時間後に、ルミナー (富士平工業(株),東京) により経口的に胃液を採取し、直後にpHメーター (アズワン(株),大阪) でpHを測定した。

(5) 血液成分

各試験期間最終日にヘパリン入り真空採血管およびプレーン真空採血管を用いて頸静脈より血液を採取した。ヘパリン入り真空採血管で採取した血液は、RP-NA 摂取後に生体内で生合成されるニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)の血中濃度の分析用として全血を、血液生化学分析およびコルチゾール、スルフヒドリル基(SH基)、チオバルビツール酸反応性物質(TBARS)、アスコルビン酸の血中濃度の分析用として遠心後(3000rpm、

20分)の血漿を-20℃以下で測定まで保管した。また、プレーン採血管で採取した血液は、 遊離脂肪酸 (NEFA)、ビタミン A、ビタミン E、 β カロテン、総ケトン、アセト酢酸、 β ヒ ドロキシ酪酸の血中濃度の分析用として遠心後(3000rpm、20分)の血清を-20℃以下で 測定まで保管した。NAD 測定は定法²⁾ により行った。血液生化学分析はスポットケム(ア ークレイ(株), 京都) を用いて、γーグルタミルトランスペプチターゼ (GGT:γ-GPT)、 アルカリフォスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、グルコース (Glu)、総コレス テロール(TC)、尿素体窒素(BUN)、アルブミン(ALB)、総蛋白(TP)、グルタミン酸ピル ビン酸トランスアミナーゼ (GPT:ALT)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT:AST)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、マグネシウム (Mg)、ナトリウム (Na)、カ リウム(K)、クロール(C1)の測定を行った。コルチゾール濃度はコルチゾール ELISA キ ット(ケイマンケミカル, USA)、SH 基濃度は田中らの方法³⁾、アスコルビン酸濃度は定法 1)、TBARS 濃度は 1 次試験サンプルは Kikugawa らの方法 4)、2 次試験サンプルは TBARS マ イクロプレートアッセイキット(オックスフォード メディアカル リサーチ,アメリカ) により分析した。なお、コルチゾール濃度は2次試験のサンプルのみを分析した。NEFA 濃 度は NEFAC テスト (富士フィルム和光純薬工業(株),東京) により行い、ビタミン A、ビタ ミン E、βカロテン濃度は NDTS(株)(北海道)、総ケトン体、アセト酢酸、3-ヒドロキシ酪 酸濃度は日研ザイル(株)(静岡)へ依頼分析した。

(6) 統計解析

各値は1次試験、2次試験の結果を集計して解析した。統計解析は、エクセル統計 ((株)社会情報サービス,東京)を使用し、試験処置により対応のある一元配置分散分析を行い、試験処置の効果が認められた場合 (P<0.05) に、Bonferroni 法による全群の多 重比較を行った。



写真1 RP-NA



写真2 飼料用イネ「つきすずか」



写真3 体表(尾)温測定



写真4 膣温測定



写真5 反芻測定

表1 試験用TMR乾物混合割合

区/乾物割合%	チモシー	飼料用イネ 「つきすずか」	配合	大豆粕	リンカル	RP-NA
対照区チモシー100%	50		47.3	1.5	1.2	
イネ75%区	12.5	37.5	39.6	9.2	1.2	
イネ75%+RP-NA区	12.5	37.5	39.6	9.2	1.2	朝20g

Ⅲ 結果

1 試験用飼料の分析結果

1次試験、2次試験に使用した TMR の分析値は、TDN、CP は両区ほぼ同等となったが、1 次試験の飼料用イネ 75%区では CP がやや低くなった。1 次試験、2 次試験ともに NDF は対 照区で高くなり、NFC は飼料用イネ 75%区で高くなった。また、飼料用イネ 75%区は酢酸発 酵型であり、開封から1週間程度は2次発酵をせず良好な状態を維持できた。さらに、ビ タミン E 濃度は対照区に比較して高い値となった (表 2)。

表2 飼料分析値/乾物

表2 飼料分析値/乾物						
27177 1712 17013		1次試験		2次試験		
		対照区イ	ネ75%区	対照区	イネ75%区	
TDN	%	69.1	69.0	64.2	63.3	
CP(粗蛋白質)	%	16.8	14.8	16.9	16.2	
NDF(中性デタージェント繊維)	%	43.2	32.4	48.3	42.7	
NFC(非繊維性炭水化物)	%	33.7	44.0	28.6	32.4	
EE(粗脂肪)	%	2.3	1.6	2.4	1.7	
粗灰分	%	7.6	9.9	7.3	10.2	
рH		4.1	4.4	4.6	4.6	
酪酸	%	0.00	0.00	0.38	0.05	
乳酸	%	5.15	2.38	4.29	1.91	
酢酸	%	0.57	1.92	0.59	1.40	
プロピオン酸	%	0.00	0.00	0.06	0.00	
<i>V-スコア</i>		99点	93点	85点	95点	
ピタミンE	IU/kg	6.1	31.4	15.1	29.5	

2 飼料摂取量

乾物摂取量 (DMI) および TDN 摂取量はは飼料用イネ 75%、飼料用イネ 75%+RP-NA 区で 高くなった。飼料用イネ 75%+RP-NA 区添加区では、さらに乾物/体重比(DMI/BW) も 高まった (表 3)。

表3 体重および飼料摂取量

	対照区	イネ75%区	イネ75%十 RP-NA区	
kg	553.7ª	564.3 ^b	559.6	
スコア	2.8	2.8	2.8	
kg/日	20.6ª	21.9°	22.2 ^b	
%	3.5 ⁴	3.7	3.7°	
kg/日	13.8⁴	14.6°	14.7 ^ь	
%	95.7	97.9	99.1	
	スコア kg/日 % kg/日	kg 553.7 ^a スコア 2.8 kg/日 20.6 ^a % 3.5 ^a kg/日 13.8 ^a	kg 553.7° 564.3° スコア 2.8 2.8 kg/日 20.6° 21.9° % 3.5° 3.7 kg/日 13.8° 14.6°	

a,b:p < 0.01, a,c:p < 0.05

3 乳量、乳成分

乳量は各区差がなかったが、飼料用イネ 75%+RP-NA 区で 4%乳脂補正乳量 (FCM 乳量)が高くなった。乳成分は各区ほぼ同等であったが、乳脂肪率、乳中尿素態窒素 (MUN) は飼料用イネ 75%区、飼料用イネ 75%+RP-NA 区で高くなった。乳脂肪酸組成では、飼料用イネ 75%区、飼料用イネ 75%+RP-NA 区で、デノボ脂肪酸 (DenovoFA)、ミックス脂肪酸 (MixedFA) が高く、プレフォーム脂肪酸 (PrefFA) が低くなった (表 4)。

表4 乳量、乳成分

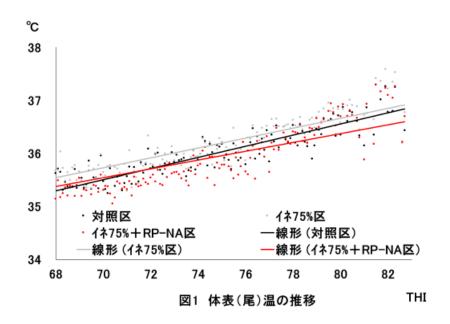
		対照区	イネ75%区	イネ75% 十 RP-NA区
平均乳量	kg/day	29.0	28.7	29.7
平均FCM乳量	kg/day	28.0°	28.8	29.9 ^b
乳脂率	%	3.9 ⁴	4.1 ^b	4.0°
無脂固形分率	%	8.7	8.7	8.7
乳蛋白質率	%	3.3	3.3	3.3
乳糖率	%	4.5	4.6	4.6
体細胞数	千/ml	24.4	20.5	13.8
MUN	mg/dL	14.0°	15.9⁵	16.7 ^b
DenovoFA	%	30.1ª	31.5 ^b	31.1 ^b
MixedFA	%	32.28	34.9 [₺]	34.5 ^b
PrefFA	%	36.3ª	32.2 ^b	33.0 ^b

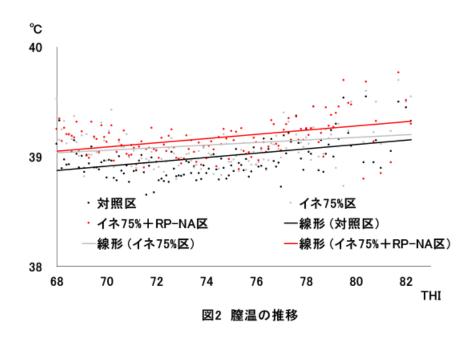
a,b:p<0.01, a,c:p<0.05

4 環境温度、体温

試験期間の牛舎 THI は 1 次試験では $54.8 \sim 78.4$ 、 2 次試験では $65.9 \sim 82.7$ の間で変動はあったもののほぼ試験期間を通して 68 以上で推移し、暑熱環境下にあった。

体表(尾)温は飼料用イネ 75%+RP-NA 区で低く推移したが(図 2)、膣温は高く推移した (図 3)。





5 健全性への影響

電池レスビーコンの装着により採食・反芻時間を測定した結果、飼料用イネ 75%区および飼料用イネ 75%+RP-NA 区の採食時間、反芻時間、休息時間は対照区とほぼ同等となり、胃液 pH も各区に差は見られなかった(図 4)。

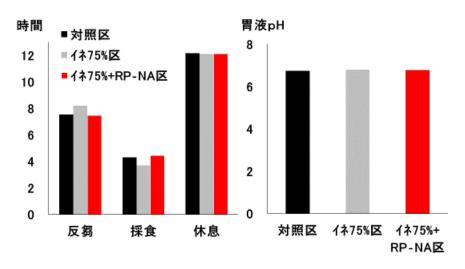


図3 健全性への影響

6 血液成分

血中 NAD 濃度は各区で差がなかった。ビタミンE濃度は対照区と比較して飼料用イネ 給与で高い値ではあったが有意な差ではなかった。また、 β カロテン濃度は飼料用イネ 75%+RP-NA 区で低い傾向があった。生化学性状では、TC が飼料用イネ 75%区で低く、BUN が飼料用イネ 75%+RP - NA 区で高くなった。SH 基は飼料用イネ 75%区および飼料用イネ 75%+RP - NA 区で低く、コルチゾールは飼料用イネ 75%+RP - NA 区で低い傾向が認められた。NEFA は飼料用イネ 75%区で低くなった。その他の項目では差なかった(表 5)。

表5 血液成分							
20 = 12,3373		対照区		イネ75%区		イネ75%+RP-NA区	
NAD	μM	0.33		0.32		0. 32	
GGT	IU/L	39.83		38.28		39. 72	
ALP	IU/L	149.11		143.78		149.44	
LDH	IU/L	674.11		685.56		691.06	
Glu	mg/dL	71. 17		68.28		69.67	
TC	mg/dL	183.50	a	165.61	ь	172. 56	ab
BUN	mg/dL	18.44	а	20.06	ac	20. 83	c
ALB	g/dL	3.92		3.87		3.81	
TP	g/dL	6.66		6.48		6. 51	
ALT	IU/L	19.78		20.39		21.50	
AST	IU/L	57. 94		58.44		62. 94	
IP	mg/dL	6.36		6.51		6. 52	
Ca	mg/dL	8.59		8.74		8. 28	
Mg	mg/dL	2.45		2.66		2. 54	
Na	mmol/L	130.06		132.39		130. 28	
K	mmol/L	4.03		3.84		3. 87	
CI	mmol/L	91.44		93.61		91.89	
コルチゾール	ng/mL	11.81	a	11.65	ad	11.41	d
SH基	μM	0.39	a	0.34	G	0. 33	G
TBARS	MDA(μM)	5. 11		4.60		4. 35	
VitA	μg/dL	37.11		36.94		36.00	
VitE	μg/dL	803.08		981.08		1154.65	
βカロテン	μg/dL	113.89	a	99.55	ad	87. 25	d
アスコルビン酸	mg/dL	0.20		0.22		0. 21	
NEFA	uEg/L	87. 18	a	74.24	b	81. 29	ab
総ケトン	mmol/L	702.72		713.22		724. 17	
アセト酢酸	mmol/L	0.89		0.50		0. 33	
βヒドロキシ酪酸	mmol/L	717.33		725.11		725. 89	
a, b:p<0.01, a, c:p<0.0	5, a,d:P<0.1						

IV 考察

天然ビタミン E の酸化ストレス抑制が期待できる飼料用イネ「つきすずか」と体温上昇抑制効果が期待できる RP-NA の併用が泌乳牛の生産性に及ぼす影響を検討した。

試験期間の牛舎 THI は試験期間を通してほとんどのポイントが 68 以上で推移し、いずれの試験期においても暑熱環境下での試験となった。

本県で一般的に利用されるイネ科の粗飼料であるチモシー乾草を、切断長 6 mmで微細断収穫した飼料用イネ「つきすずか」で乾物中 75%置き換えると、乾物摂取量、TDN 摂取量が高まり、さらに RP-NA を併用すると DMI/BW も高まった。暑熱環境下では体温の上昇に伴い、DMI の落ち込みが大きいとされる中で¹⁾、飼料用イネの嗜好性が高かった結果、よく食い込めたと考えられ、飼料用イネは暑熱期の飼料として有効であることが示唆された。今回の飼料用イネは切断長 6 mmで微細断しているため反芻刺激に乏しく、胃の健全性に影響すると考えられたため反芻時間の測定を行ったが、チモシー乾草を給与した場合の反芻時間と差がなく、胃液 p H も同等であり、チモシー乾草の 75%置き換えでは、健全性に影響しないと考えられた。

乳量は各区差がなかったが、乳脂肪率は飼料用イネ給与により高まった。飼料用イネ給与により、乾物摂取量が高まった結果、繊維の摂取量も高まり、乳脂肪率が高まったと考えられた。さらに RP-NA を給与した結果、4%乳脂補正乳量(FCM 乳量)が高まったことから、飼料用イネ給与に RP-NA を添加することで、生産性が向上する可能性が示唆された。一方で、MUN は飼料用イネ給与で高まったことから、ルーメン内における分解性炭水化物と分解性蛋白質のバランスを見直し、より飼料中の蛋白質が効率的に利用できるような飼料設計となるよう再検討する必要がある。また、乳脂肪酸組成では、飼料用イネ給与でデノボ脂肪酸、ミックス脂肪酸が高まり、乾物摂取量が高かったにもかかわらずプレフォーム脂肪酸が低くなったことから、ルーメン内での脂肪酸生産が活発で、体脂肪からの脂肪動員が少なかったことが推察された。

試験期間中の体温は、体表(尾)温については、RP-NA 給与で上昇抑制効果が認められ、THI が高まるほど対照区より低くなり、暑熱期の体表温上昇を抑制できる可能性が示唆された。一方で、膣温は対照区と比較して飼料用イネ給与で高まり、DMI の増加による体温上昇と考えられた。THI に関係なく体温上昇抑制効果があるとの報告⁵⁾や、筆者らが前報で確認できた THI78~82 程度の暑熱期の体温上昇抑制を期待して飼料用イネ給与に RP-NAを併用したが、DMI 増加による深部体温上昇分を抑制するまでにはいたらなかったと考えられた。

血液成分では、飼料用イネ給与により TC が低いものの正常の範囲内であり、NEFA も低くなったことから、体脂肪からの脂肪動員が少なかったと考えられた。このことは、乳脂肪酸組成の結果と同様の結果であり、飼料用イネ給与で暑熱期の体温上昇により引き起こされる負のエネルギーバランスを改善できる可能性が示唆された。一方で、BUN が飼料用イネ給与により高まったことは、MUN と同様の結果であり、今後飼料構成について検

討が必要と考えられた。飼料用イネ給与による血中のビタミンE濃度の有意な上昇は認められなかったが、給与飼料のビタミンE含量はいずれの試験期も飼料用イネ75%区で高いことを確認できた。RP-NA給与による血中のNAD濃度については、有意な上昇は確認できず、試験処理の有効性を証明するにいたらなかった。NAD濃度については、血中では恒常性が高く、試験処理の効果を確認しにくいとの報告がもあるため、材料、方法について再検討が必要である。SH基は飼料用イネ給与で低い値となり、暑熱ストレスに対する生体の抵抗性はチモシー乾草給与に比較して小さい可能性が危惧されたが、有意差はないもののTBARS、コルチゾールともに低くなった。飼料用イネ給与によるDMIが高まり深部体温上昇したものの、SH基を利用してストレスを軽減し、TBARS、コルチゾールの低下に影響した結果、SH基が低い値となったとも考えられた。さらに、RP-NA給与によりコルチゾールが低下する傾向が認められたことから、RP-NA給与は体表温低下により暑熱ストレスを軽減する可能性が示唆された。

以上から飼料構成を再検討する必要性があるものの、暑熱期に乾物あたり粗飼料の 75% を微細断調製した飼料用イネ「つきすずか」で置き換え、RP-NA を給与することで生産性と健全性の向上が期待できると考えられた。乳牛の暑熱期の生産性向上には、酸化ストレス対策と低エネルギー対策の同時進行が重要であるとの報告 7) もあることから、「つきすずか」のビタミン E および RP-NA の体表温上昇抑制による酸化ストレス抑制と、「つきすずか」の良好な嗜好性による低エネルギー対策の両立が、泌乳牛の栄養面からの暑熱対策として有効であることが示唆された。

V 参考文献

- 1) 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. 産業動物臨床医誌 5(増刊号). 238-246(2015)
- 2) 石橋晃. 新編動物栄養試験法. 養賢堂. 526-528 (2001)
- 3)田中正仁・岩間裕子・神谷充・塩谷繁.春季および夏季における泌乳牛血漿タンパク質中の SH 基量の比較.九州農業研究.第 64 号:107 (2002)
- 4) Kikugawa, K., Yasuhara, Y., Ando, K., Koyama, K., Hiramoto, K., Suzuki M. Effect of supplementation of n-3 polyunsaturated fatty acids on oxidative stress-induced DNA damage of rat hepatocytes. Biol Pharm Bull. 26(9): 1239-1244 (2003)
- 5) 玉置弓弦. バイパスナイアシンが暑熱期の乳牛に及ぼす影響. 第 125 回日本畜産学会. 2019
- 6) 岡本秀己・灘本知憲・宮本悌次郎.ヒトの血中,尿中ナイアシン誘導体含量に及ぼすニコチン酸投与の影響.日本栄養・食糧学会誌.Vol45 No.4:313-316 (1992)
- 7)田中正仁.酸化ストレスから見た乳牛の周産期と暑熱環境.家畜感染症学会誌.7巻2号: 35-40 (2018)