

乳牛の空胎期間短縮に向けた研究

東山崎達生・田中靖広*1・上山繁成*2・脇 大作

要 約

乳用牛の空胎期間の短縮を目的に、ホルスタイン種雌牛延べ52頭の分娩前後におけるボディコンディションスコア（BCS）、体重減少率、遊離脂肪酸（NEFA）濃度、酸化ストレス（TBARS濃度）及び生化学検査を実施し、分娩後初回授精日数及び空胎日数との関連性を調査した。初回授精日数の目標値（88日）をオーバーした牛は、分娩後60日までのボディコンディションスコアと体重の減少が大きく、NEFA濃度、TBARS濃度、血中尿素窒素（BUN）とγ-グルタミルトランスペプチダーゼ（GGT）濃度が高く、無機リン（iP）濃度は低い値で推移した。空胎日数の目標値（145日）をオーバーした牛は、分娩前のボディコンディションスコアが低く、分娩後7日目の体重が大きく減少し、NEFA濃度、TBARS濃度、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）濃度が高く、血清カルシウム（Ca）濃度は低い値で推移した。

また、場内と県内酪農家1戸のホルスタイン種雌牛17頭を用いて、メトリチェック及びサイトブラシによる子宮検査を行ったところ、潜在性子宮内膜炎と診断された牛はいなかった。

以上のことから、分娩後のボディコンディションスコアと体重の減少は初回授精日数に影響を及ぼし、分娩後の酸化ストレスを抑制することで、空胎期間の短縮につながることを示唆された。

キーワード：空胎期間，酸化ストレス，NEFA濃度，乳用牛，ボディコンディションスコア

緒 言

近年、乳用牛の泌乳能力が向上する中で、微弱発情やそれに伴う交配適期の見逃し、分娩後の生殖機能（卵巣・子宮）回復遅延、リピートブリーダー牛（発情は正常に回帰するが、3回以上の人工授精で受胎しない牛）が増加するなど、空胎日数の長期化が課題となっている。

乳用牛の繁殖成績については、泌乳量との間に負の相関が見られ⁵⁾、泌乳量と栄養摂取量のバランスが強く影響し^{2) 13)}、分娩後の、急激な乳量の増加に対して、飼料の摂取エネルギーが不足することから、負のエネルギーバランス状態となり、脂肪肝やケトosisなどの周産期疾患を発生し、その後の乳量や発情回帰に影響を及ぼすことが知られている¹⁴⁾。飼料からの摂取エネルギーが不足すると、体脂肪の動員により遊離脂肪酸（NEFA）が高値を示し¹⁵⁾、肝臓中の遊離脂肪酸代謝が活発化することで活性酸素が発生する。なお、活性酸素が除去能力を超えた状態を酸化ストレス状態と言い、大量に発生した活性酸素が重要なホルモン分泌を含めた生理機能に悪影響を与えることが、生

産性や繁殖能力を低下させる要因の一つと考えられている^{4) 6)}。

また、負のエネルギーバランスが長期化することは、分娩後のBCSを大きく低下させることから、分娩前の状態への回復が遅れるほど繁殖成績を悪化させ^{1) 10) 17)}るとともに、脂質代謝の異常や酸化ストレスを発生させることで、繁殖成績を低下させることが報告されている³⁾。

さらに、繁殖成績を低下させる要因の一つとして、炎症性子宮疾患があり、粘液中に異常を見つけにくい潜在性子宮内膜炎が初回授精受胎率を低下させるなど、リピートブリーダー牛を引き起こすことが報告されている¹⁰⁾。

そこで本研究では、乳用牛の空胎日数を短縮するため、分娩前後の体重、血中の遊離脂肪酸（NEFA）濃度、酸化ストレス（TBARS濃度）、一般生化学と繁殖成績の関連性について検討した。また、リピートブリーダー牛の潜在性子宮内膜炎の発生状況について調査した。

試験材料および方法

1 調査期間

平成26年4月～平成30年3月

2 供試牛

（連絡先）大家畜部

*1 鹿兒島地域振興局

*2 始良家畜保健衛生所

当場のフリーストール牛舎で飼養するホルスタイン種雌牛延べ 52 頭を供試した。

3 調査項目

(1) ボディコンディションスコア (BCS)

BCS は Dr フェーガソンの UV 法 (1 から 5 の 5 段階, 2 から 4 は 0.25 刻み) を用いて, 分娩予定 7 日前, 分娩後 7 日目, 60 日目に測定した。

(2) 体重減少率

分娩前後の体重減少率は $\text{体重減少率}(\%) = [(\text{現在体重}) - (\text{分娩前体重})] / (\text{分娩前体重}) \times 100^{11)}$ を用いて算出した。体重測定は, 分娩予定 7 日前, 分娩日, 分娩後 7 日目, 30 日目, 60 日目に行った。

(3) 血液性状

分娩予定 7 日前, 分娩日, 分娩後 3 日, 7 日, 30 日, 60 日目に頸静脈から採血を実施した。

採取した血液は, 38°C のインキュベーターで 10 分間加温し, フィブリンを析出させた後, 遠心分離 (3000rpm, 4°C, 15 分間) し, 血清および血漿は測定まで -20°C で冷凍保存した。

血液性状については, 遊離脂肪酸 (NEFA) は NEFA C-テストワコーを用いて, 血中尿素窒素 (BUN), 総コレステロール (T-CHO), 血糖 (GLu), グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT), γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) カルシウム (Ca), 無機リン (iP) は自動分析装置 (DRI-CHEM3030 FUJIFILM) を用いて測定した。

酸化ストレスの指標として, 血漿中のチオバルビツール酸反応物 (TBARS) 濃度測定を行った。TBARS 濃度は, Tanaka ら (2011) および Yagi (1984) の方法に従い, 血漿を蒸留水で 2 倍希釈した 1ml 次に, 0.3%チオバルビタール 1ml と 15%トリクロロ酢酸 1ml を混合したものを, 100°C で 15 分加熱した後に 5 分間氷冷し, 次に, ピリジン:1-ブタノール (1:15) の混合液 3ml を加えて攪拌し, 1 分間静置後, 遠心分離 (3000rpm, 15 分間) した上清を分光光度 (532nm) で吸光度を測定した。なお, 標準曲線は 1,1,3,3-テトラメトキシプロパンを用いて作成し, 脂質ペルオキシダーゼ濃度は, 還元したマロンジアルデヒド量として算出した。

(4) 潜在性子宮内膜炎

H23 年度および H28 年度の家畜共済のデータを用いて県内の乳用牛の子宮内膜炎の発生状況を調査した。

また, 平成 28 年 4 月から平成 29 年 3 月に, 当該及び県内酪農家 1 戸において, 2 回以上の人工授精 (受

精卵移植を含む) で不受胎となったホルスタイン種雌牛 17 頭について, メトリチェック (ステンレス棒の先端にゴムカップを取り付けた器具) を用いて膣粘液を採取し, Sheldon (2006) らの報告をもとに, 膿の割合を 0 から 4 の 5 段階で評価し, 子宮内膜炎を診断し, 併せて, サイトブラシを用いて子宮内膜細胞を採取し, H.Pthmann (2015) の報告をもとに, 全細胞数に対する多形核白血球 (PMN) 割合を算出し, 5%以上の牛を潜在性子宮内膜炎診断することとした。

4 繁殖成績

空胎日数の目標値については, 鹿児島県家畜改良増殖目標の平成 37 年度分娩間隔目標値が 14 ヶ月 (425 日) であることから, (14 ヶ月 (425 日) - 妊娠期間 280 日) 145 日以下に設定し, 初回授精日数については, 平成 28 年から平成 29 年の鹿児島県の平均授精回数が 2.7 回であったことから (目標空胎日数 145 日 - 2.7 回 × 21 日) 88 日以下に設定した。

結 果

1 初回授精日数による比較

初回授精日数が 88 日以下 (88 日区) の牛が 41 頭, 89 日以上 (89 日区) が 11 頭であり, それぞれの平均産次は 2.2 ± 1.1 と 2.2 ± 1.3 であった。なお, 両区ともに発育途上で体重増加が多い 2 産以下が, 約 7 割を占めていた。(表 1)

表 1 初回授精日数別の供試牛の産次構成

区分	産 次					合計	2産以下
	1	2	3	4	5		
88日区	12	16	6	6	1	41	68.3%
89日区	4	4	1	1	1	11	72.7%

BCS は, 両区ともに分娩後に低下し, 分娩予定 7 日前から分娩後 60 日目までの BCS 減少は, 89 日区が, 0.69 で 88 日区の 0.45 を上回った。

体重は, 両区とも分娩後に低下し, 分娩後 60 日の体重減少率は 89 日区が高かった。

血液性状については, NEFA 濃度は 89 日区が分娩予定 7 日前から分娩後 7 日目に高値で推移した (図 3) TBARS 濃度は 89 日区が高値で推移しており (図 4) また, BUN 濃度と GGT 濃度は 88 日区が高値で, iP 濃度は 88 日区が低値で推移した。(図 5, 8, 10, 11)。

その他の項目については, 顕著な差は認められなかった (図 6, 7, 9)。

図1 初回授精日数別のBCSの推移

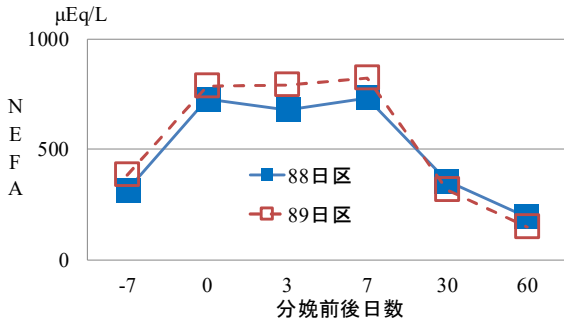


図3 初回授精日数別のNEFA濃度の推移

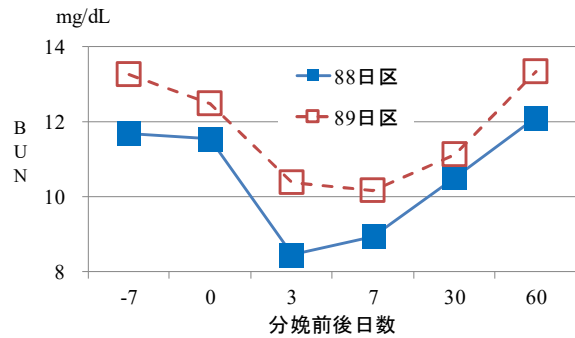


図5 初回授精日数別のBUN濃度の推移

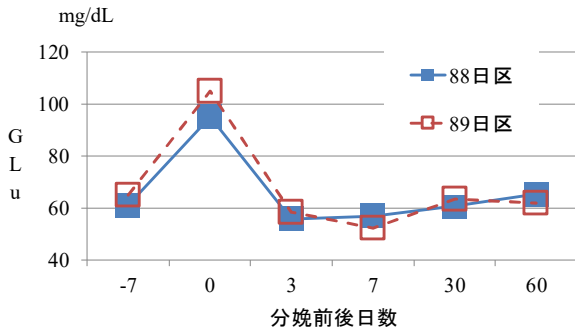


図7 初回授精日数別のGLU濃度の推移

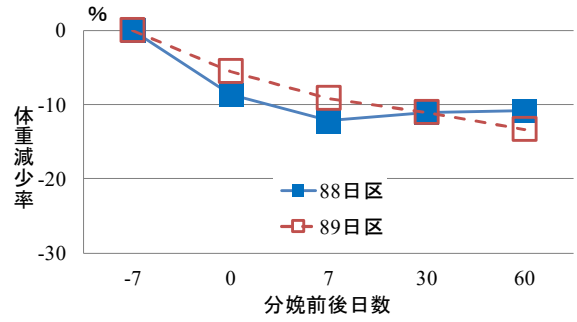


図2 初回授精日数別の体重減少率の推移

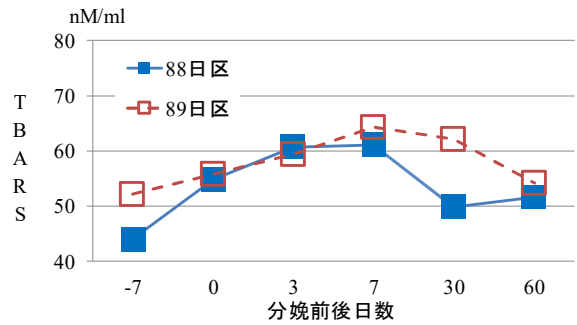


図4 初回授精日数別のTBARS濃度の推移

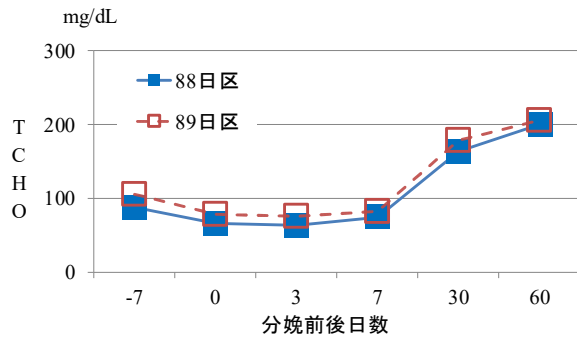


図6 初回授精日数別のTCHO濃度の推移

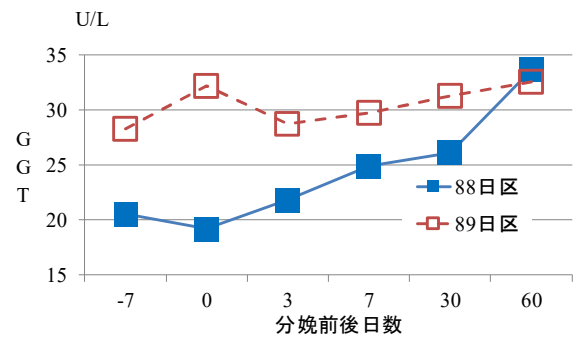


図8 初回授精日数別のGGT濃度の推移

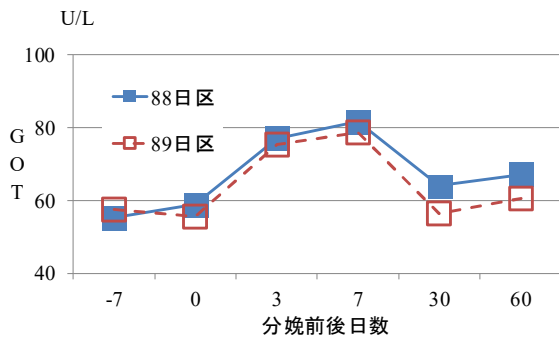


図 9 初回授精日数別の GOT 濃度の推移

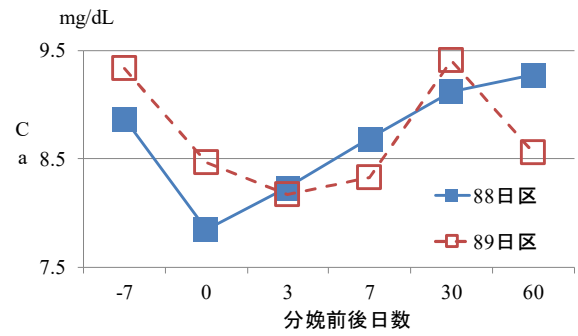


図 10 初回授精日数別の Ca 濃度の推移

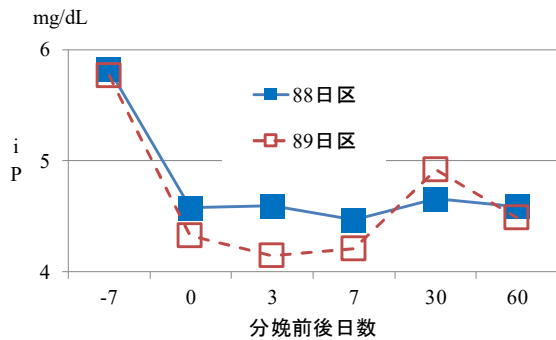


図 11 初回授精日数別の iP 濃度の推移

表 2 空胎日数別の供試牛の産次構成

区分	産次					合計	2産以下
	1	2	3	4	5		
145日区	11	13	3	4	2	33	72.7%
146日区	4	5	3	2	0	14	64.2%

2 空胎日数による比較

空胎日数が 145 日以下(145 日区)の牛が 33 頭、146 日以上(146 日区)が 14 頭であり、それぞれの平均産次は 2.2±1.2 と 2.2±1.0 であった、なお、両区ともに発育途上で体重増加が多い、2 産以下が約 7 割を占めていた(表 2)。

BCS は、145 日区が分娩前に高く、両区とも分娩後に低下し、分娩後 60 日目には同様の値となった(図 12)。

体重は分娩後に低下し、分娩後 7 日目の減少率は、146 日区が高く、60 日目は 145 日区が高かった。(図 13)。

血液性状については、NEFA 濃度は 146 日区が分娩前後に高い値で推移し、分娩後 60 日目には同様の値となった(図 14)。TBARS 濃度は、146 日区が分娩後高い値で推移し、分娩後 60 日目には同濃度となった(図 15)。

また、146 日区の BUN と iP 濃度が分娩後 7 日目に低値を示し(図 16, 22) GOT 濃度が高値で、Ca 濃度が低値で推移した(図 20, 21)

その他の項目については、顕著な差は認められなかった(図 17, 18, 19)。

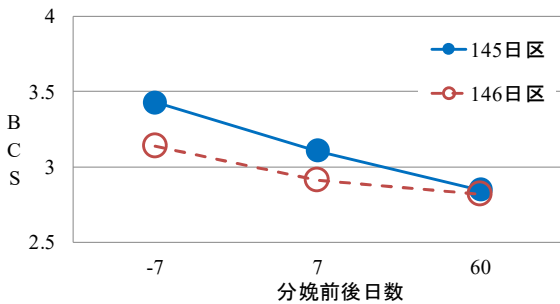


図 12 空胎日数別の BCS の推移

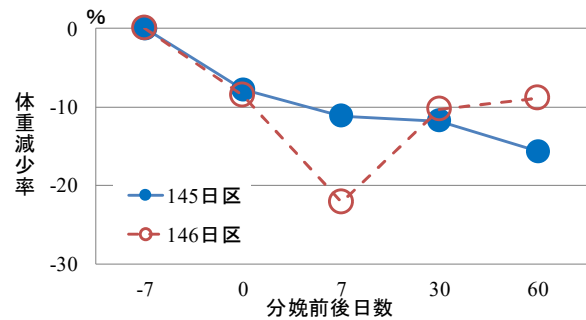


図 13 空胎日数別の体重減少率の推移

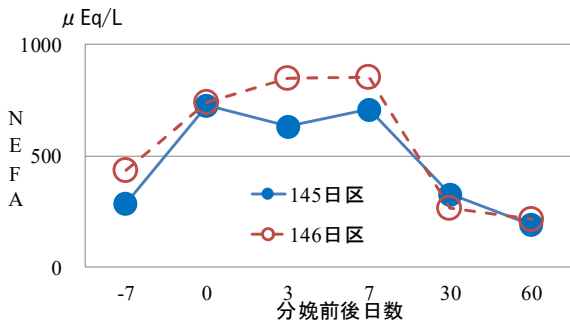


図 14 空胎日数別の NEFA 濃度の推移

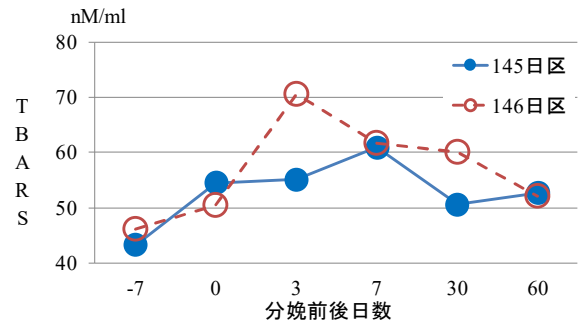


図 15 空胎日数別の TBARS 濃度の推移

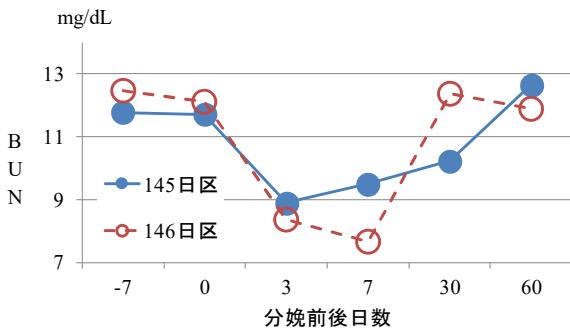


図 16 空胎日数別の BUN 濃度の推移

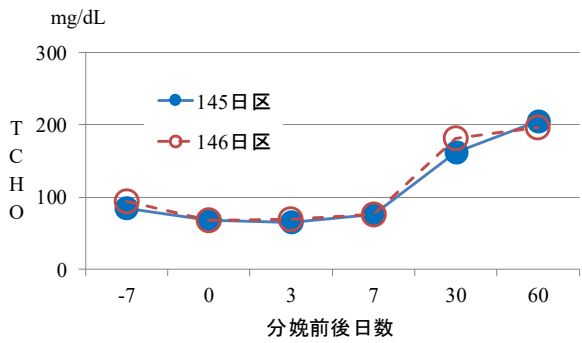


図 17 空胎日数別の TCHO 濃度の推移

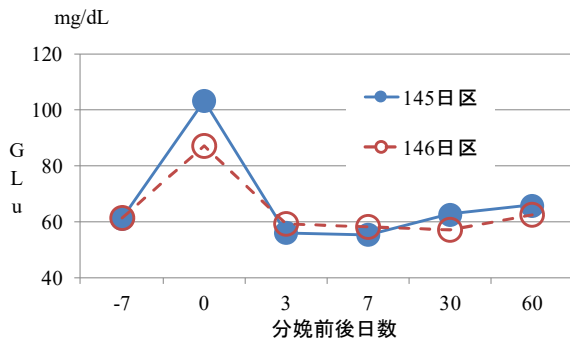


図 18 空胎日数別の GLu 濃度の推移

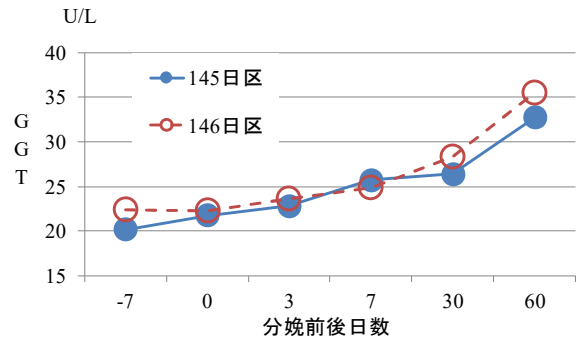


図 19 空胎日数別の GGT 濃度の推移

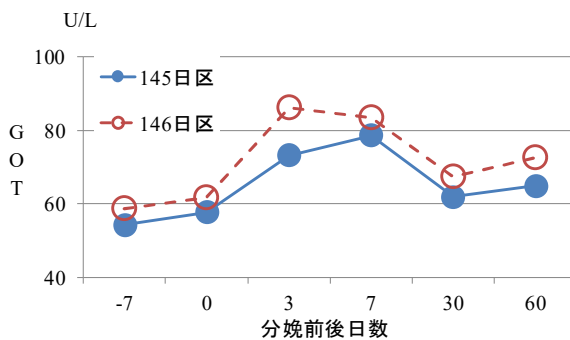


図 20 空胎日数別の GOT 濃度の推移

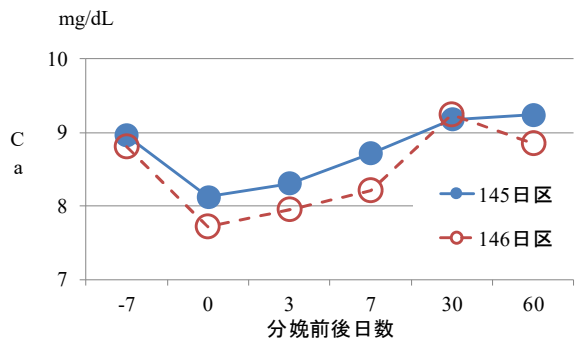


図 21 空胎日数別の Ca 濃度の推移

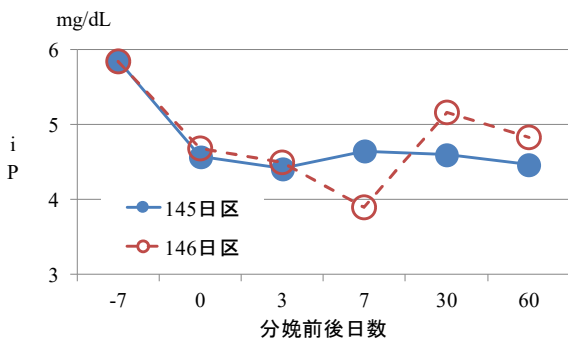


図 22 空胎日数別の iP 濃度の推移

3 潜在性子宮内膜炎

県内の子宮内膜炎の発生は、平成 23 年度は 4.4%であったが、H28 年度は 6.1%に増加していた(表 3)。メトリチェックを用いた膿粘性性状については、スコア 0 (透明な粘液) と診断した牛が 14 頭、スコア 1 (膿断片を含んだ透明な粘液) が 3 頭であった。サイトブラシを用いて子宮内膜細胞を採材したところ、全ての牛の多形核白血球の割合が 5%未満であったことから、潜在性子宮内膜炎と診断される牛は認められなかった(表 4)。

表 3 本県の乳用牛における生殖器病の病傷事故件数 (農業共済調べ)

単位:頭(%)

区分	共済加入頭数		生殖器病の全病傷事故件数			
	成牛	育成牛	成牛	育成牛	うち「子宮内膜炎」病傷事故件数	
			成牛	育成牛	成牛	育成牛
平成23年度	12,558	1,565	4,551(36.2%)	271(17.3%)	550(4.4%)	24(1.5%)
平成28年度	12,112	1,192	5,460(45.1%)	322(27.0%)	737(6.1%)	11(0.9%)

考 察

初回授精日数が目標値より延長した 89 日区は、分娩前から分娩後 60 日目までの BCS の減少が大きく、より多くの体脂肪を動員したことが示唆された。BCS は体脂肪の蓄積を反映し、この減少が大きいほど繁殖効率が悪化する¹⁷⁾ことから、分娩後の BCS の減少が、初回授精日数に影響していることが示唆された。

また、初回授精日数が延長した 89 日区は、分娩後 60 日目まで体重が減少し、空胎日数が長い 146 日区は、分娩後 7 日目の体重の減少率が大きかった。分娩後の顕著な体重減少と初回発情の遅れには関連性がある¹⁰⁾ことから、分娩後の体重回復の遅れが、初回授精日数、空胎日数に影響していることが考えられた。

血中 NEFA 濃度は初回授精日数、空胎日数が延長したものは分娩直後から 7 日目まで高値で推移していたことから、肝臓の NEFA の代謝が活発化していたと推察され、TBARS 濃度も上昇していることから、酸化ストレス状態にあったと考えられ、NEFA 濃度が低下した分娩後 30 日目において、TBARS 濃度の低下が少なかったことから、この時期にも酸化ストレスの影響を受けているものと考えられる。

血液生化学検査では、初回授精日数が延長したものは、分娩前後の BUN 及び GGT 濃度が高値を、iP 濃度は低値で推移した。空胎日数が延長したものは GOT

濃度が高値を、Ca 濃度は低値で推移した。

表 4 潜在性子宮内膜炎の診断結果

牛No	分娩後日数	人工授精回数	受精卵移植回数	粘液スコア	多形核白血球割合
1	286	3		0	<5%
2	452	2		0	<5%
3	440	3		0	<5%
4	424	5		0	<5%
5	262	7		0	<5%
6	217	1	3	0	<5%
7	153	2		0	<5%
8	172	3		0	<5%
9	197	3		1	<5%
10	321	2		0	<5%
11	218	2		0	<5%
12	328	3		1	<5%
13	209	4		0	<5%
14	443	5	4	0	<5%
15	186		2	0	<5%
16	235		2	1	<5%
17	197	4		0	<5%

※粘液スコア

スコア0 透明な粘液、スコア1 膿断片を含んだ透明な粘液、スコア2 膿の割合が 50%未満、スコア3 膿の割合が50%以上、スコア4 スコア3の外観かつ悪臭を伴う

一般に BUN 濃度は、タンパク質の摂取や第一胃内の微生物のアンモニア利用効率を反映し、Ca や iP 濃度はタンパク質やエネルギー摂取を反映する²⁷⁾。これ

らのことから、血液生化学検査所見は分娩前後における採食量や第一胃の状態を表すと考えられ、分娩前からの栄養状態が初回授精日数、空胎日数に影響していることが推察された。また、NEFA をエネルギーとして利用するために、肝臓中の酸化活動が活発化し、この酸化活動による酸化ストレスが肝臓の炎症を生む⁷⁾ことから、肝機能の指標となる GGT, GOT 濃度が分娩前から上昇傾向にあり、酸化ストレスの増加時期には肝臓に負荷を及ぼしていたことが考えられる。

メトリチェック及びサイトブラシによる膣粘液採取及び子宮内膜の検査において、潜在性子宮内膜炎と診断できる牛は認められなかったことから、卵巣機能障害等と併せて検査する必要がある。

今回の研究において、分娩前から分娩後 60 日目のボディコンディションスコアの減少や、分娩後の急激な体重減少を抑制し、分娩後 7 日目から 30 日目の酸化ストレスを低減させることで、栄養状態が改善し、空胎期間の短縮につながることを示唆された。田中ら(2012)によると、酸化ストレスの低減手法は、アスコルビン酸などの抗酸化成分の給与が有効である¹⁹⁾と報告しており、分娩前後のボディコンディションスコアの減少を最小限にするような飼養管理の実施に併せて、分娩後の抗酸化物質利用による改善方法も検討していく必要があると考えられる。

しかしながら、乳牛の繁殖成績の向上には、多くの要因が関連しており、今後とも様々な角度から研究を進めていく必要がある。

引用文献

- 1) 江口 里香 2005. 乳牛の移行期における臨床検査成績とその後の繁殖成績との関係. 日本家畜臨床学会誌, 28 (2) : 34-41
- 2) 生田 健太郎 1996. 乳牛における代謝プロファイルテストと繁殖状況. 兵庫農技研報 (畜産), 32, 41-48
- 3) 青木 真理 . 初産乳牛の分娩後排卵時期と血漿中抗酸化物質濃度の変化. 農研機構
- 4) 小林 崇之 2016. ホルスタイン種経産牛における活性酸素代謝物質 (d-ROMs 濃度) および血中プロゲステロン (P4) 濃度が人工授精の受胎に及ぼす影響. 福井県研究報告代 29 号
- 5) 平子 誠 2011. 乳牛の繁殖性低下の現状と子宮環境—繁殖成績向上に向けた取り組み—
- 6) 坂谷 美樹 2013. 暑熱による低受胎 日本胚移植学誌 Vol.35.No03. 109-115
- 7) 佐藤 繁 2005. 乳牛における分娩前の血糖および遊離脂肪酸値と分娩後の負のエネルギーバランスの関係 家畜臨床誌 28(1):1-6
- 8) マネージメント情報 2011 年 12 月
- 9) 北海道農研・集約放牧研究チーム. 乳牛の分娩後における体重減少と繁殖性の関係
- 10) 森山 直樹 2007. ホルスタイン種乳用牛の周産期における血液と乳成分および体重変動と分娩後の卵巣活動の関連性 Jpn.J.Vet.Clinics 30(2):45-50
- 11) 檜垣 繁光 1991. 飼料給与が繁殖に影響する (抄訳) 家畜診療 331, 55-57
- 12) 山田 恭嗣・中尾 俊彦・園中 篤・南 繁・宮野 正章・中尾 茂・森好 政晴・河田 啓一郎 1994. 乳牛の栄養状態と周産期疾病および受胎成績 日獣会誌 47 322-326
- 13) 吉木 勝策・中尾 俊彦・森好 政晴・河田 啓一郎 1986. 高泌乳牛における分娩後の栄養水準と卵巣機能の回復状態との関係 日畜会報 57 553-560
- 14) Grummer,R.R.,1995 Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. J.Anim.Sci.,73 2820-2833
- 15) 西田 武弘・栗原 光規・寺田文典・Purnomoadi,A. 柴田 正貴 1999. 乳牛の妊娠末期におけるエネルギー水準が血漿代謝産物およびホルモン濃度に及ぼす影響. Anim.Sci. J. 70 J123-J131
- 16) Vandehaar,M.J.,Yousif,G.,Sharma,B,KHerdt,T.H.,Emery,R.S.,Allen.M.S and protein density of perpartum diets on fat and protein metabolism of dairy cattle in the periparturient period .J. Dairy Sci.82 1282-1295
- 17) 阿部 榮・植松 正巳・斉藤 博水・渡辺 大作 2004. 乳牛のボディコンディションスコアの変化と繁殖成績 家畜臨床誌 27(2) 46-50
- 18) 岡田 哲司 2001. 繁殖管理プログラム生産獣医療システム・乳牛編 1(全国家畜畜産物衛生指導協会編), pp65-98,農山漁村文化協会, 東京
- 19) 田中 正仁 2012. 泌乳牛における高温環境下の酸化ストレス評価とその低減に関する研究

Study for shortening the emptying period of dairy cows

Tatuki Touyamasaki, Yasuhiro Tanaka, Sigenaru Ueyama and Daisaku Waki

Summary

The relationship between changes of body condition score (BCS), weight loss rate, free fatty acid (NEFA) concentration, oxidative stress (TBARS concentration) and Biochemical tests during the pre and postpartum periods and reproductive performance was investigated in 52 cows.

Cows that exceeded the target value for first insemination days (88 days) had a large decrease in body condition score and weight loss until 60 days after calving, NEFA concentration, TBARS concentration, BUN and GGT concentrations were high, and iP concentrations remained low.

Cows that exceeded target value for open period days (145 days) had a low body condition score before calving and the weight on the 7 day after calving was greatly reduced.

NEFA concentration, TBARS concentration and GOT concentration were high, and Ca concentration remained low.

In addition, uterine examination with a metric check and a cytobrush was performed on 17 Holstein cows of the dairy farm and one dairy farm in the prefecture and no cow was diagnosed with latent endometritis.

These results suggested that body condition scores and weight loss after parturition affect the number of days of first insemination, suppression of postpartum oxidative stress leads to shortening the empty period.

Keywords : body condition score, dairy cows, empty period, NEFA concentration, oxidative stress