

プロアントシアニジンの給与が乳用牛の繁殖機能に及ぼす影響

森川繁樹・藤井侑里子・西村公寿・北田寛治・福井弘之

要 約

近年の酪農経営において、乳用牛の分娩間隔延長が喫緊の課題となっていることから、その解決の一助として、分娩前後にポリフェノールの一種であるプロアントシアニジンを給与し、繁殖成績の改善効果を検討した。プロアントシアニジン給与群では、非給与群と比較して、分娩後、初回排卵日数および初回発情日数が短くなる傾向にあった。また、夏期分娩牛に対する給与効果については、抗酸化作用を有する海藻サプリメントを給与した牛よりも、初回排卵日数および初回発情日数が短くなった。供試牛の酸化ストレス指標としたTBARS（2-チオバルビツール酸反応性物質）については、非給与群と比較して給与群で分娩後8週時に低くなる傾向があり、プロアントシアニジンが酸化ストレスを抑制する可能性が示唆された。また、血液性状検査では、給与群において分娩後8週時の栄養状態が良好であり、分娩後の血中総ケトン体濃度も低く推移したことから、プロアントシアニジン給与により分娩後のエネルギーバランスが改善される可能性が考えられた。

目 的

酪農経営において、繁殖管理は農家の収益に直結し、分娩間隔が1日延長すれば1200円の損失があるとされている¹⁾。しかし、乳用牛の平均分娩間隔は延長傾向にあり、特に徳島県の酪農家における平均値は全国平均よりも長く、喫緊の課題となっている。一方、近年、繁殖機能と酸化ストレスに関する研究が数多くの分野で進む中、ヒトの分野では、ポリフェノール等の抗酸化物質が不妊の改善に効果がある²⁾として注目されており、それを含む種々の食品やサプリメントが販売されている。畜産分野においても、抗酸化物質に関する研究や給与事例が報告されている^{3,4)}が、特にポリフェノールの給与効果に関する知見は少ない。プロアントシアニジンは、ポリフェノール野中で特に抗酸化作用が強いとされており⁵⁾、本研究では、同物質を乳牛へ給与し、繁殖成績の改善効果について検討した。

材料および方法

1) 供試牛および給与方法

ホルスタイン種初産牛4頭および経産牛4頭を供試し、ポリフェノールの1種であるプロアントシアニジン（ブドウ種子抽出物）を含有する混合飼料「サプリMQ」（日本ニュートリション株式会社）100 g/日を分娩予定日の28日前から分娩後84日までトップドレッシングにより給与した（試験区I）。非給与群として、初産牛4頭および経産牛6頭を供試した（対照区）。供試牛のうち、夏期（7月～9月）の分娩は試験区Iが4頭、対照区は0頭であった。

夏期分娩牛におけるプロアントシアニジンの給与効果を比較検証するため、夏期分娩のホルスタイン種初産牛3頭を供試し、抗酸化作用が報告されている海藻サプリメント⁶⁾をプロアントシアニジンと同様に給与した（試験区II）。供試牛は全頭群管理とし、当課慣行の飼料を給与した。泌乳

期は表 1 に示すTMR（混合飼料）を飽食給与し、さらに泌乳期用配合飼料およびヘイキューブをそれぞれ2kg/日・頭 給与した。

表 1 当課慣行の泌乳期用TMR組成

材料 (%DM)	
トウモロコシサイレージ	18.2
スーダングラス乾草	13.9
ヘイキューブ	16.6
泌乳牛用配合飼料	34.3
ビートパルプ	13.3
大豆粕	1.9
カルシウム・ビタミン剤	1.7
設計成分値 (%DM)	
TDN	68.8
CP	14.1

DM：乾物，TDN：可消化養分総量，

CP：粗蛋白質

2) 調査項目

(1) 分娩後の繁殖機能

超音波診断装置を用い、分娩後5日目から3日間隔で直腸検査を実施し、初回排卵日数、初回発情日数および子宮修復日数を調査した。卵巣に直径1cm以上の卵胞を認め、明瞭な発情兆候を示したものを発情とし、子宮内膜の腫脹が無く、子宮腔の貯留物が確認されなくなった時点を子宮修復とした。

(2) 血液性状・BCS

対照区5頭、試験区 I 8頭について、分娩前4、2、1週および分娩後1、4、8、12週時（試験区 II については分娩後1、4、8、12週時）に採血し、血液生化学的検査を行った。検査項目は、総コレステロール(T-Cho)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)、尿素窒素(BUN)、グルコース(Glu)、総ケトン体、ビタミンE、βカロテンとした。血液性状のうち、ビタミンE、βカロテンについては徳島家畜保健衛生所に依頼し、高速液体クロマトグラフィーにより分析を行

った。他の項目は株式会社四国中検に依頼し、ケトン体については自動分析装置JCA-BM8000（日本電子株式会社）、その他はラボステクト006（株式会社日立ハイテクノロジーズ）により分析を行った。なお、採血時にBCS（ボディコンディションスコア）の判定も同時に実施した。

(3) 酸化ストレス

酸化ストレス指標として、分娩前1週および分娩後1、4、8、12週時（試験区 II については、分娩後8、12週時）における血漿中TBARS濃度を測定した。血漿中TBARS濃度はFluorometric TBARS Microplate Assay Kit（Oxford Biomedical Research）により測定した。

各区間の差については、Microsoft Excel 2013 の t 検定により統計処理を実施した。

結 果

(1) 分娩後の繁殖機能

プロアントシアニジンを与えた試験区 I では、対照区と比較し初回排卵日数および初回発情日数が短くなる傾向にあったが、有意な差は認められなかった（図1）。一方、試験区 I のうち夏期分娩の牛においては、夏期に海藻サプリメントを与えた試験区 II と比較したところ、初回排卵日数および初回発情日数が有意に短くなった（図2）。子宮回復日数については、各区間で差は認められなかった。

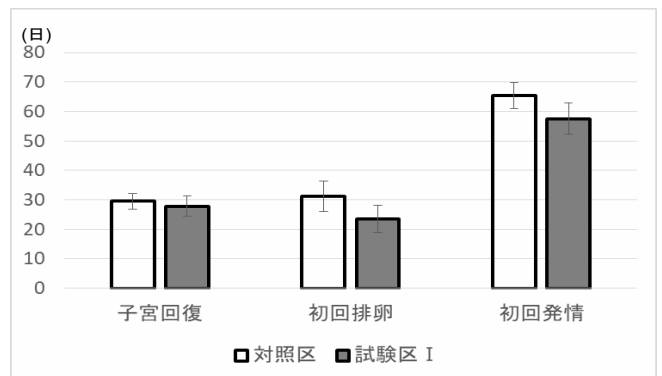


図 1 分娩後の繁殖機能の比較

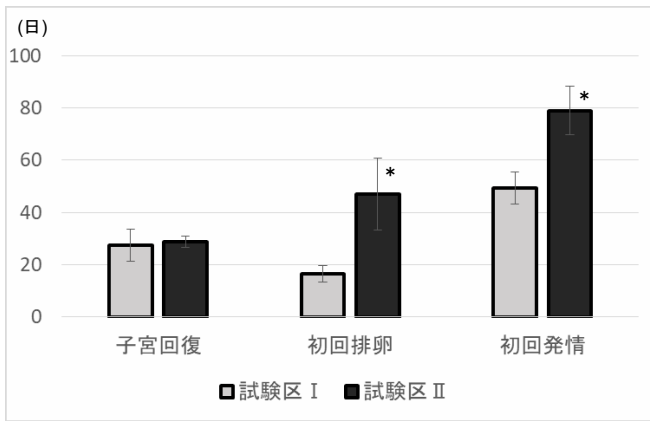


図2 夏期分娩牛における繁殖機能の比較
*:P<0.05

(2) 血液性状・BCS

血液性状については、分娩前2週時の血中T-Cho値、Glu値、Ca値およびIP値、分娩後8週時の血中T-Cho値、TP値、Ca値およびIP値において、対照区と比較して試験区 I が有意に高かった (表2)。また、分娩後1、4、8週時の血中総ケトン体濃度は対照区が有意に高かった (図3)。ビタミンE値については、期間を通して試験区 I が対照区と比較して高く推移し、分娩前1、2週時および分娩後1週時では有意に高い値であった (図4)。他の値については、有意な差は認められなかった。試験区 I のうち夏期分娩の牛について、試験区 II と比較したところ (図5, 表3)、分娩後1、4週時の血中総ケトン体濃度は試験区 II が有意に高く、分娩後1週時の血中Glu値は試験区 I が有意に高かった。また、T-cho値についても分娩後8週時まで高い傾向にあった。ビタミンE値については分娩後8週時において試験区 I が有意に高かった。他の項目およびBCSについては、各区間で差は認められなかった。

(3) 血漿中TBARS濃度

試験区 I における血漿中TBARS濃度については、分娩後8週時において対照区と比較して低い傾向にあったが、有意な差は認められなかった (図6)。試験区 I と試験区 II の間において、血漿中TBARS濃度に差は認められなかった (表3)。

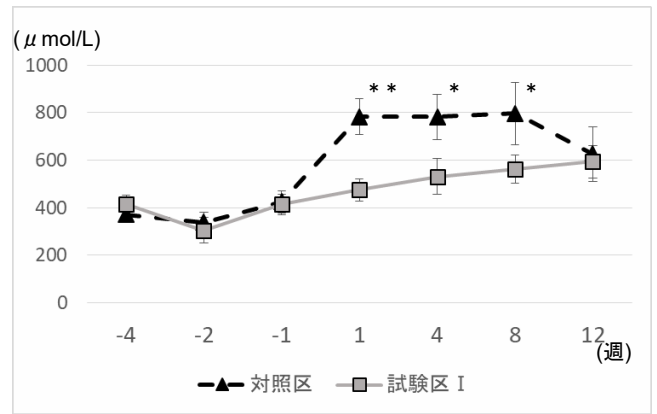


図3 血中総ケトン体濃度の推移

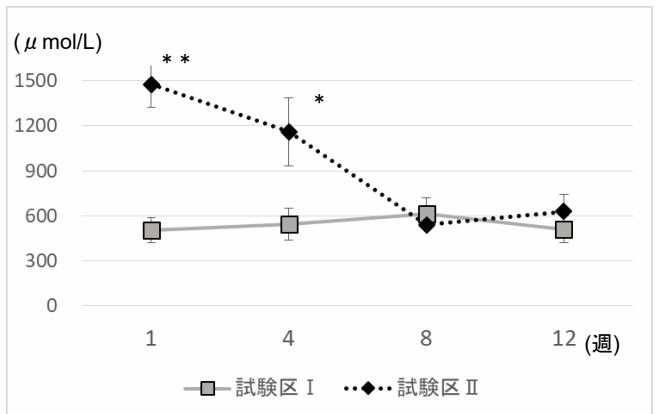


図4 夏期分娩牛における血中ケトン体濃度

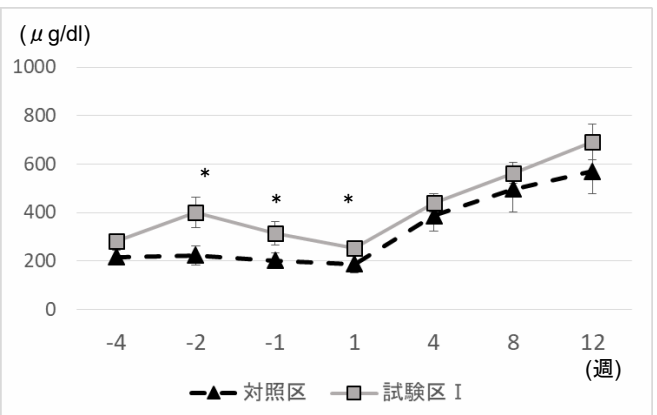


図5 血中ビタミンE濃度の推移

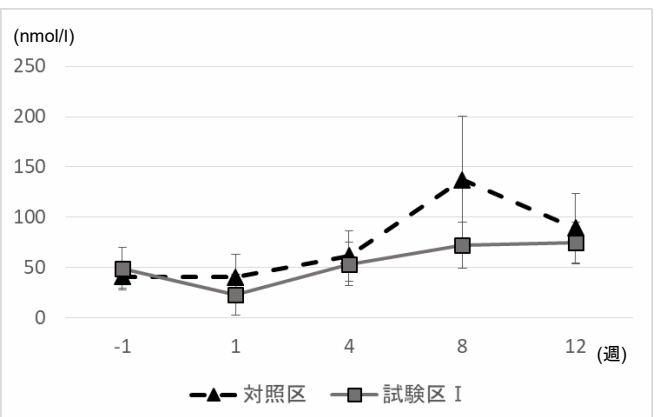


図6 血漿中TBARS濃度の推移

(グラフ内記号 **:P<0.01, *:P<0.05)

表2 血液性状およびBCSの推移

分娩前後週		-4	-2	-1	1	4	8	12
T-Cho	対照区	71.8±11.5	63.4±12.8 *	60.4±12.1	71.6±9.2	136.6±7.5	138.2±12.1 *	170.8±18.9
	試験区Ⅰ	75.9±15.9	96±5	72.6±13.8	74.8±12.5	133.5±17.2	181±22.7	171.3±13.2
TP	対照区	5.6±0.1	5.6±0.3	6.2±0.3	6.1±0.4	6.8±0.4	6.3±0.5 **	7.5±0.5
	試験区Ⅰ	5.7±0.8	6.7±0.7	5.7±0.8	6.7±0.3	7.5±0.3	8±0.4	7.2±0.4
Ca	対照区	7.8±0.6	7.3±0.6 *	8.2±0.9	8.3±0.2	8.5±0.3	8.1±0.4 **	9.2±0.5
	試験区Ⅰ	7.9±0.9	9.8±0.1	8.3±0.9	8.7±0.7	9.5±0.5	9.8±0.5	9.2±0.3
IP	対照区	4.6±0.1	3.8±0.5 *	3.8±0.6	4.1±0.1	4.3±0.5	3.3±0.2 **	4.4±0.3
	試験区Ⅰ	4.6±0.6	5.4±0.6	4.9±0.6	4.9±0.8	5.2±0.7	4.9±0.3	4.9±0.3
Glu	対照区	55±3	51.2±3.8 *	52±7.2	53.4±2.7	56.2±3	57.8±7.7	61.2±4.4
	試験区Ⅰ	51.9±4.8	67.2±5	57.4±7.8	58.4±4.5	57.4±6.7	66.6±2.9	60.4±1.9
ケトン体	対照区	371.8±28	339±43.3	424.8±46.3	783.2±75.9 **	783.4±95.1 *	797.4±131.8 *	626.8±114.7
	試験区Ⅰ	417.1±36.6	305.3±53.6	414.3±42.4	475.3±47.9	532±74	562.7±59.1	594.5±68.8
ビタミンE	対照区	216.5±25.8	222.4±38.8 *	201.6±32.4 *	187.4±36.4 *	386±62.9	495.8±95.6	570.5±92.2
	試験区Ⅰ	281.6±24.9	400.5±61.6	312.9±47.9	253±20.6	440.5±36.8	563.4±42.5	692.3±73.9
βカロテン	対照区	156.3±21.8	147.2±25.5	133.6±24.2	68.2±10	85.4±11.6	98.8±20.5	105.5±32.5
	試験区Ⅰ	147.6±15.2	147.8±15.1	130.3±11.6	68.7±6.1	81.8±11.6	71.7±8.8	71.3±8
アルブミン	対照区	3.4±0.2	3.3±0.3	3.1±0.2	3.2±0.2	3.1±0.2	3.1±0.3	3.4±0.2
	試験区Ⅰ	3.3±0.2	3.3±0.1	3.3±0.1	3.2±0.1	3.2±0.1	3.4±0.1	3.2±0.2
尿素窒素	対照区	9.8±1.1	6.7±1	7.3±1.1	5.8±0.5	5.7±0.8	7.6±1.4	7.3±1.1
	試験区Ⅰ	7.4±1.2	8.7±0.6	8.3±1.2	6.4±0.8	6.7±0.6	9±1.4	8.9±1.2
BCS	対照区	3.2±0.1	3.2±0.1	3.2±0.1	3.1±0.1	3.1±0.1	3±0	3±0.1
	試験区Ⅰ	3.1±0.1	3.1±0.1	3.1±0.1	3±0.1	3±0	3±0	3±0.1

**: $P<0.01$, *: $P<0.05$

表3 血液性状、BCSおよびTBARS濃度の推移(夏期分娩牛)

分娩前後週		1	4	8	12		1	4	8	12	
T-Cho	試験区Ⅰ	75.5±8	120±2.7	179.5±7.5 *	161.3±18.6	TP	試験区Ⅰ	6.7±0.2	7.2±0.2	8.1±0.4 **	7.2±0.5
	試験区Ⅱ	62.7±4.4	99±3.8	141.7±27.1	169.7±15.2		試験区Ⅱ	6.5±0.1	7.2±0.4	7±0.6	7.2±0.6
Ca	試験区Ⅰ	9.4±0.2	9.3±0.2	9.7±0.5 **	9.3±0.6	IP	試験区Ⅰ	4.5±0.6	5.3±0.6	5.3±0.3 **	4.6±0
	試験区Ⅱ	8.6±0.5	9±0.1	9.2±0.7	9.7±0.5		試験区Ⅱ	5.3±0.6	5.1±0.6	5.1±0.2	5±0.7
Glu	試験区Ⅰ	55.3±1.7 *	53.3±9.1	68±1.5	61.5±3.3	ケトン体	試験区Ⅰ	504.3±85.1 **	546.3±106.7 *	614±103.7	511.3±90
	試験区Ⅱ	41±4	46±2.9	60.7±3.8	63.3±2.7		試験区Ⅱ	1478±154.5	1160±226	540±14	628±114.4
ビタミンE	試験区Ⅰ	269.7±0	502.7±0	595.5±76.2 *	707.8±137.4	βカロテン	試験区Ⅰ	70.7±0	96.3±0	79.8±14.3	75±12.9
	試験区Ⅱ	N/A	N/A	402±28.2	513.7±79.2		試験区Ⅱ	N/A	N/A	80.3±10.5	83±15.3
アルブミン	試験区Ⅰ	3±0.1	3.1±0.1	3.3±0.2	3.2±0.4	尿素窒素	試験区Ⅰ	5.9±0.4	6.1±0.5	9.3±2.1	9±2.2
	試験区Ⅱ	2.9±0.1	2.9±0.1	3.4±0.2	3.6±0		試験区Ⅱ	6.5±0.1	7.2±0.4	7±0.6	7.2±0.6
BCS	試験区Ⅰ	3±0.1	2.9±0.1	2.9±0.1	3±0.1	TBARS	試験区Ⅰ	N/A	N/A	110.3±37.9	46.9±8.3
	試験区Ⅱ	3±0	2.9±0.1	2.9±0.1	2.9±0.1		試験区Ⅱ	N/A	N/A	58.8±16.1	71.1±18

N/A:データ無し, **: $P<0.01$, *: $P<0.05$

考 察

乳牛は酸化ストレスにより繁殖性が低下すると言われており、大澤らは、抗酸化物質の給与により繁殖性が向上したことを報告している³⁾。本研究では、強力な抗酸化作用を持つとされるプロアントシアニジンに着目し、乳牛の繁殖機能に与える影響について調査した。結果、プロアントシアニジンを給与した牛では、分娩後の初回排卵日数および初回発情日数が短くなる傾向が認められ、血漿中TBARS濃度については、分娩後8週時において対照区と比較して低値傾向を示した。このことは、プロアントシアニジンの給与により泌乳最盛期における酸化ストレスが抑制され、その結果、繁殖機能の回復を早めた可能性を示している。しかし、測定したTBARS濃度は値の分散が大きく、プロアントシアニジンの抗酸化作用による効果を示すためには、データ数の蓄積が求められる。一方、夏期の分娩牛においては、プロアントシアニジンを給与した試験区Ⅰで海藻サプリメントを給与した試験区Ⅱと比較して初回排卵日数および初回発情日数が短くなり、繁殖機能の回復効果が明瞭に示された。このことにより、従来、夏期に低下する乳牛の繁殖性が⁷⁾、プロアントシアニジンの給与により改善する可能性が示唆される。ただし、試験区Ⅰと試験区Ⅱの間で血漿中TBARS濃度に明瞭な差は無く、プロアントシアニジンと海藻サプリメントの間に抗酸化力の差は認められなかった。他の報告では、酸化ストレス指標としてTBARSの他にSOD(スーパーオキシドジスムターゼ)活性、d-ROMs(活性酸素代謝産物)、グルタチオン等が用いられており^{6,8,9)}、プロアントシアニジンの抗酸化作用について検討するためには、さらに複数の指標の測定が求められる。

血液性状では、試験区ⅠにおけるビタミンEが対照区および試験区Ⅱと比較して有意に高い値を

示した。これは、プロアントシアニジンの抗酸化作用により同じく抗酸化作用を有するビタミンEの消費が抑えられたためと推察される。また、分娩後8週時の血中T-Cho値、TP値、Ca値およびIP値において、試験区Ⅰが対照区と比較して有意に高かった。試験区Ⅱとの比較においても分娩後8週時までT-cho値が高い傾向にあった。生田らは初回授精日数とT-Cho、TP、Caとの間に正の相関があると報告しており¹⁰⁾、本研究においても、栄養状態が繁殖機能の回復に影響した可能性が考えられる。さらに、分娩後血中総ケトン体濃度は対照区、試験区Ⅱと比較して試験区Ⅰが有意に低かった。血中ケトン体は、分娩後のエネルギーバランスの指標として用いられており、血中ケトン体濃度が上昇している個体では繁殖機能の低下が認められている¹¹⁾。参考値として分娩後3ヶ月間に実施した3回の牛群検定成績を比較すると、エネルギーバランスの指標とされるP/F値(乳蛋白質率/乳脂肪率)の平均値は、試験区Ⅰで高かった(表4)。これらのことから、プロアントシアニジンを給与した牛において分娩後のエネルギーバランスが早期に改善し、繁殖機能の回復を早めた可能性が考えられる。今後、プロアントシアニジンの給与による採食量および飼料の消化吸收効率の変化についても調査し、抗酸化作用とエネルギーバランス改善の両効能について、より精密な検討を加えることで、乳牛の分娩間隔を短縮する技術としての確立が期待される。

表4 乳中P/F比の平均値

	P/F比
対照区	0.68±0.02
試験区Ⅰ	0.75±0.01
試験区Ⅱ	0.59±0.02

文 献

- 1) 小岩政照. 2011. 牛群の潜在的繁殖経済損失の評価と対策. 酪農ジャーナル. 54(2), 22-24

- 2) Liu MJ et al., 2018. Resveratrol improves in vitro maturation of oocytes in aged mice and humans. *Fertility and Sterility*. 109, 900-907
- 3) 大澤玲・小林幸恵他. 2014. 抗酸化機能性サプリメントの給与がホルスタイン種初産牛の繁殖成績に及ぼす影響. *日本胚移植学会誌* 36(3), 149-156
- 4) 大澤玲・中村秀夫・馬場未帆・小林博史. 2010. 抗酸化力向上が期待できる紫トウモロコシの乳牛への給与技術. *埼玉県農林総合研究センター研究報告*. No10, 81-84
- 5) 有賀敏明. 1999. プロアントシアニジンの抗酸化機能および疾病予防機能とその利用. *日本油化学会誌*(48). 10, 1087-1096
- 6) 阪谷美樹・高橋昌志. 2010. 黒毛和種繁殖雌牛への海藻粉末給与は夏季の発情時運動量の減少を抑制する. *九州沖縄農業研究成果情報*. No. 25, 163-164
- 7) 阪谷美樹. 2015. 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
- 8) 高橋昌志・阪谷美樹. 2007. 牛の卵管・子宮内環境の季節変動評価. *臨床獣医*. 25(4), 19-23
- 9) 小林崇之・堀川明彦・笹木教隆. 2016. ホルスタイン種経産牛における活性酸素代謝産物(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率に及ぼす影響. *福井県畜産試験場研究報告*(28), 7-12
- 10) 生田健太郎・小鴨睦・山口悦司・香川裕一. 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*. 32, 41-48
- 11) 大脇茂雄・安藤寿・今井俊太郎. 2018. 乳牛におけるフレッシュチェック時の血中 β ヒドロキシ酪酸濃度と分娩後60日までの排卵との関連性. *北獣会誌*62, 69-72