

血中 β -カロチンと乳牛の繁殖成績について

誌名	青森県畜産試験場報告 = Bulletin of the Aomori Zootechnical Experiment Station
ISSN	0385681X
著者	鈴木, 裕之 小野寺, 邦男 沼田, 喜久雄
巻/号	15号
掲載ページ	p. 9-16
発行年月	1987年10月

血中 β -カロチンと乳牛の繁殖成績について

鈴木 裕之・小野寺邦男・沼田喜久雄*・真山 隆

(昭和62年4月6日受理)

Relationship Between Serum β -Carotene and
Reproductive Performance in Dairy CattleHiroyuki SUZUKI, Kunio ONODERA, Kikuo NUMATA,
and Takashi MAYAMA

緒 言

飼料中に含まれる β -カロチンは栄養学的にビタミンAの前駆物質として必要であるとされてきたが、近年、 β -カロチン独自の生理的作用が新たに注目されてきている。すなわち、MEYER¹⁾らおよびLOTHAMMER²⁾らの一連の研究では、 β -カロチン欠乏飼料を給与した牛群で受胎成績の低下、排卵遅延、卵胞のう腫の発生増加などが確認されている。しかし、その後他の研究者らにより追試された研究結果のなかには、繁殖効率への影響はないとする否定的な報告もみられ^{3), 4)}、牛における β -カロチンの役割は十分に明かにされているとはいえない。

そこで、乳牛の繁殖に及ぼす β -カロチンの影響を知るために、血中の濃度を測定し、繁殖成績との関連について検討を加えた。

材料および方法

1. 供試牛

当场で飼養されているホルスタイン種経産牛38

頭(延55頭、2才3カ月~10才)ならびに未経産牛4頭(1才9カ月~2才5カ月)を供試した。飼料はオーチャードグラス主体の牧草サイレージ、ビートパルプおよびオーチャードグラス主体の牧草乾草を基礎飼料として給与し(試験2の一部を除く)、濃厚飼料は乳量に応じて日本飼養標準のDCP 120~130%およびTDN 100~105%を基準に給与を行った。

2. 試験方法

試験1: 発情から分娩、そして初回発情に至るまでの繁殖周期における血中濃度の変化を調べる目的で、経産牛6頭を供試した。発情日と翌日に人工授精(AI)を施し、30日目または60日目まで2~5日間隔で採血した。このうち、受胎が確認された牛については、その後30日間隔で、さらに分娩前後を3~4日間隔で採血を続け、分娩後93~150日目までの血中濃度の変化を追跡した。

試験2: 牧草乾草のみ給与した経産牛および未経産牛群の中で確認された繁殖障害牛8頭、すなわち無発情を主徴とする牛3頭と流早産を経験した牛5頭の血中 β -カロチン濃度を測定し、発情が正常に回復している牛5頭の血中濃度と比較検討

*現 十和田家畜保健衛生所

した。また、無発情牛に対してはプロスタグランディン $F_2\alpha$ (PGF $_2\alpha$) 30mgを筋肉内注射して、発情の誘起効果について検査し、他方、発情が正常に回復している牛については発情日に AI を実施し、受胎の有無を調べた。

試験3: AI後の血中 β -カロチン濃度とその後の受胎成績との関連を、試験1および試験2の11頭分のデータも組み入れ、経産牛35頭、延51頭について検討した。受胎の確認はAI後40~60日目に直腸検査により行った。

3. 採血および β -カロチンの定量

血液試料は朝の給餌(搾乳)前に頸静脈より採取した。採血管は直ちにアルミホイルで被い遮光に留意して実験室に運び、血清を分離した。 β -カロチンの定量は、原則として採血日に行ったが、一部の血清は分析まで -20°C に保存した。

β -カロチンの抽出は、血清1mlに対し15mlの石油エーテル・ジエチルエーテル混合液(v/v, 50:50)を加え、タッチミキサーにより3分間振盪混和した。5分間静置後、有機溶媒層を別の小

試験管に取り出し、 N_2 ガス気相下、 30°C の条件下で蒸発乾固させ、これをジエチルエーテルに再溶解して、 $20\mu\text{l}$ を高速液体クロマトグラフィ(HPLC)に注入した。

HPLCは島津高速液体クロマトグラフィ LC-5A型で、カラムはZORBAX-ODS($\phi 4.6\text{mm}$, 250mm, Dupont)を用いた。移動相はメタノール・テトラヒドロフラン(v/v, 90:10)、カラム温度を 40°C 、流速を $1.2\text{ml}/\text{min}$ の条件下で溶出・分離して、紫外可視分光光度計検出器(SPD-1)により447nmで濃度を測定した。

結果および考察

試験1: 供試牛6頭より得られたAI後1日目の平均血中 β -カロチン濃度は $2.988\pm 0.640\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。このうち不受胎に終わった3頭におけるAI後60日目迄の血中濃度の変化には(図1)、発情周期に関連するような特定のパターンは見い出せなかった。中間⁵⁾は、2頭の乳牛でそれぞれ

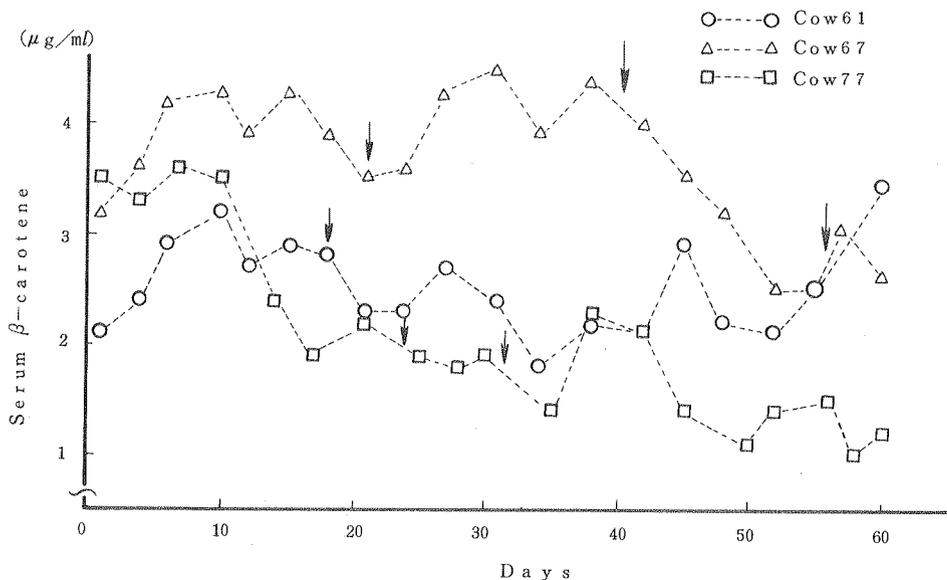


図1 乳牛の発情周期中の血清中 β -カロチン濃度の変化(↓は発情を示す)

Fig. 1. Changes in serum β -carotene concentration during estrous cycle (Arrow shows estrus).

れ2性周期にわたって血清中のβ-カロチン量とプロジェステロン値を比較しているが、両者の変動は必ずしも一致したものではないことを確認しており、本試験の観察を支持するものであった。

受胎が確認された3頭についての30日目までの血中濃度変化を図2に示した。AI後21~22日目までは大差なく推移したが、その後低下の傾向が見られ、30日目に平均で $1.718 \pm 0.592 \mu\text{g/ml}$ の

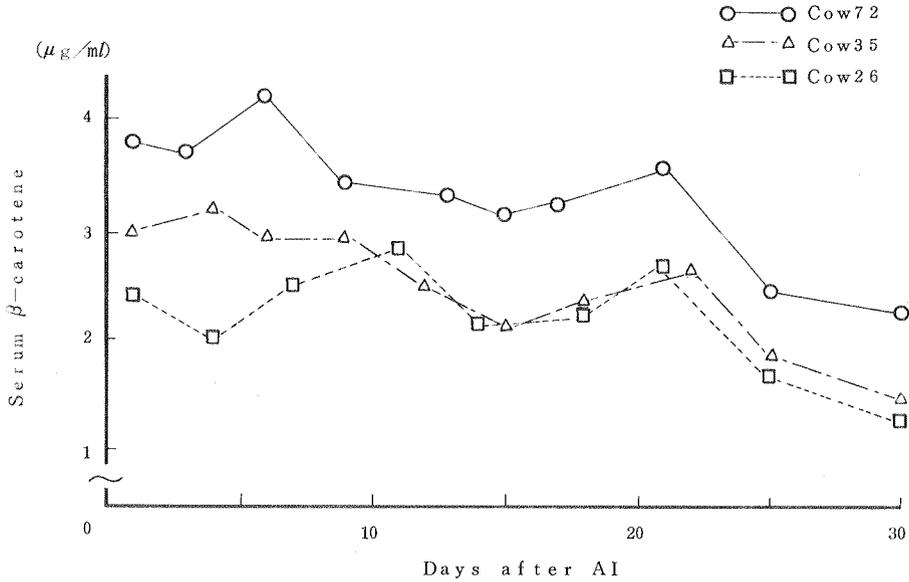


図2 人工授精後の血清中β-カロチン濃度の変化(受胎例)

Fig. 2. Changes of serum β-carotene concentration after artificial insemination (AI)

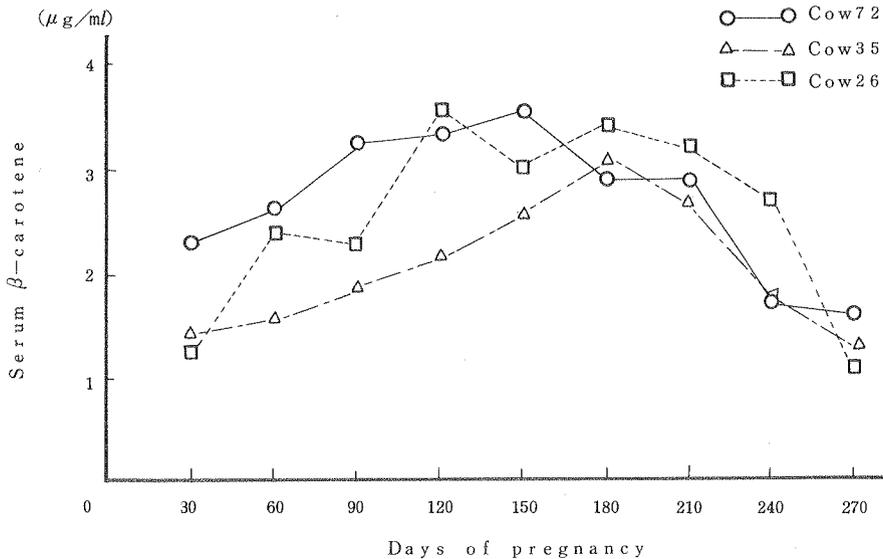


図3 乳牛の妊娠期間中における血清中β-カロチン濃度の変化

Fig. 3. Changes of serum β-carotene concentration in pregnant cows.

低い値が得られた。図3にはその後の妊娠期間中の変化を30日間隔で示した。30日目の一時的な低下の後、徐々に上昇傾向を示し、妊娠中期にはAI直後のレベルにまで回復したが、妊娠の180~210日目より再び低下が始まった。本試験で観察され

た妊娠初期の血中 β -カロチンの一時的な低下は、不受胎牛で見られなかったことから、妊娠に起因する現象である可能性が示唆される。

分娩前後における血中 β -カロチン濃度の変化を図4Aおよび図4Bに示した。分娩前の低下の

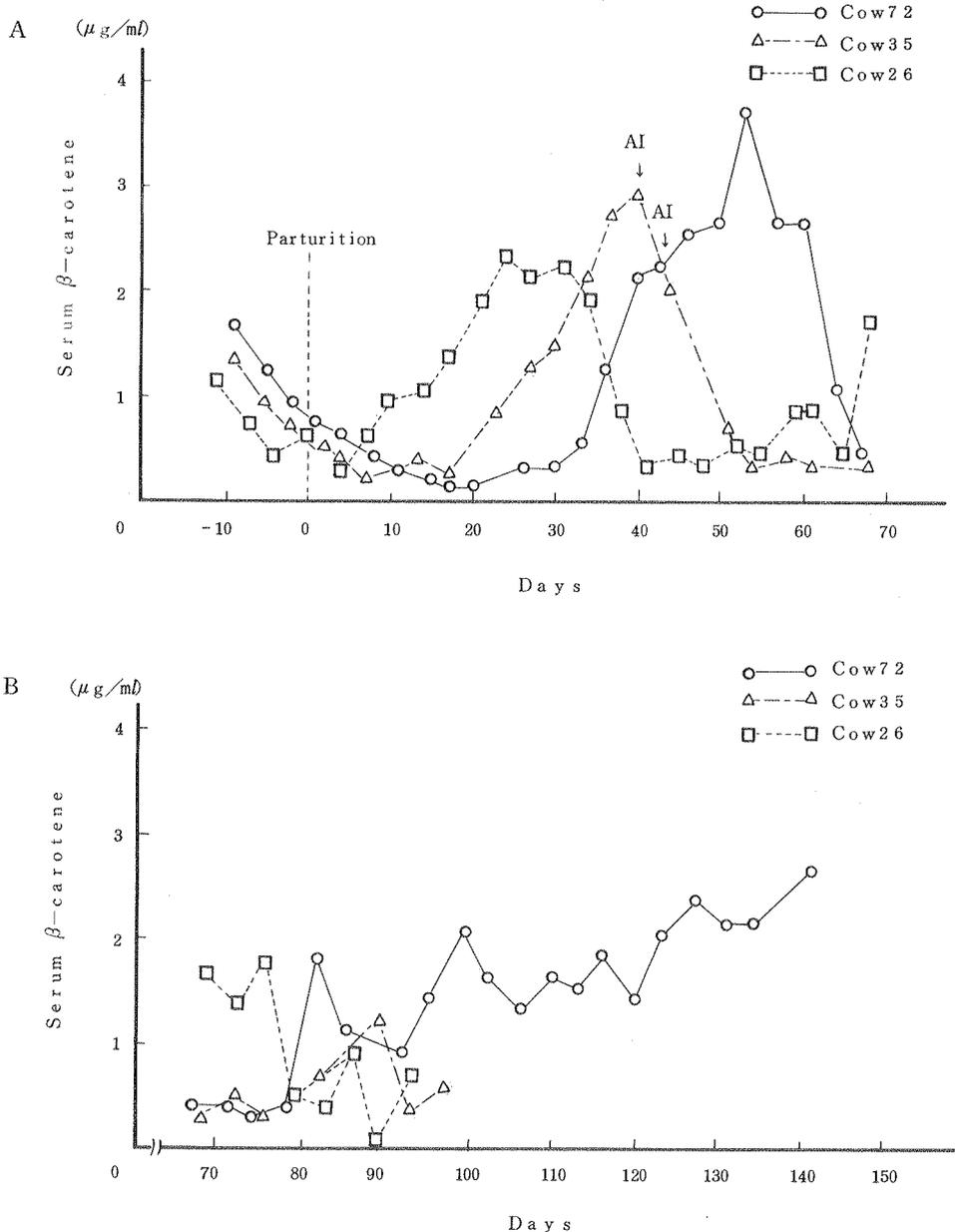


図4 分娩前後の乳牛における血清中 β -カロチンの濃度の変化
 Fig. 4. Changes of serum β -carotene concentration on days from parturition.

傾向が分娩後もわずかに続き、この時期に本試験期間を通じて最低値が得られた ($N = 3$, $0.201 \pm 0.047 \mu\text{g/ml}$)。分娩前後において乳牛の血中 β -カロチン濃度が低下する現象については LOTTHAMMER⁶⁾ や RAKES⁷⁾ も報告している。本試験では、分娩後10~30日目から血中 β -カロチン濃度が上昇し始め、3例中2例でそれぞ

れ分娩後38日目(35号牛)及び42日目(72号牛)に初回発情を認めた。AIの結果、72号牛で受胎が確認された。この例ではAI後23日目から34日目(分娩後67日目から78日目に相当)に低値を示した後、濃度が上昇するパターンが続いた。他方、スタンディング発情の発現に至らなかった26号牛では、血中 β -カロチン濃度が分娩直後に一時的

Table 1. Serum β -carotene concentration in females exhibiting reproductive failure

Group	No. of females	Serum β -carotene ($\mu\text{g/ml}$)	References
Anestrus	3	0.135	Response to PGF2 α *
		0.204	-
		0.399	+
Abortion or Immature labor	5	0.088	Abortion at 137 days
		0.232	Abortion at 119 days
		0.699	Immature labor at 235 days
		0.762	Abortion at 113 days
		1.078	Immature labor at 240 days
Normally cycling	5	1.221	Conception after AI
		1.562	-
		2.009	+
		3.171	+
		3.929	+

* Estrus induced.

Table 2. Relationship between serum β -carotene concentration and subsequent fertility

Group *	No. of animals (%)	No. of pregnant animals	Conception rate (%)
I	11 (21.6)	2	18.2
II	19 (37.3)	5	26.3
III	14 (27.5)	6	42.9
IV	7 (13.7)	5	71.4
Total	51(100.0)	18	35.3

* β -carotene concentration: I, less than $1 \mu\text{g/ml}$; II, $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$; III, $2 \sim 3 \mu\text{g/ml}$; IV, more than $3 \mu\text{g/ml}$

に上昇した後は低いレベルを推移していた。

試験2：表1に無発情牛，流早産牛ならびに正常牛の血清中の β -カロチン濃度を示した。無発情牛群と流早産牛群の平均間には有意差がなかったため，これらをまとめ繁殖障害牛群として正常牛群と比較したところ，繁殖障害牛群の平均血中濃度は $0.450 \pm 0.357 \mu\text{g/ml}$ で，正常牛群の平均値 $2.378 \pm 1.137 \mu\text{g/ml}$ より低かった ($P < 0.05$)。 β -カロチン欠乏飼料を給与した牛群で，MEYER¹⁾らは排卵遅延，黄体発育不良や黄体のう腫の発生を認めており，LOTTHAMMER⁶⁾は早期胚芽死や早産なども高率で起こることを報告している。

本試験では，無発情を主徴とする牛3頭中1例で発情誘起効果を認めることができなかった。また，発情が正常に回帰する牛に対してAIを実施した結果，5頭中3頭で受胎が確認された。興味深いことに，これら3頭では血中 β -カロチン濃度が比較的高かった。

試験3：供試牛51頭の平均血中 β -カロチン濃度は $1.798 \pm 0.880 \mu\text{g/ml}$ であり，最低値は $0.334 \mu\text{g/ml}$ ，最高値は $3.763 \mu\text{g/ml}$ の値が得られ，著しく大きな個体差が観察された。受胎成績との関連についてみるために，得られた血中濃度に従って(I) $1 \mu\text{g/ml}$ 未満，(II) $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ ，(III) $2 \sim 3 \mu\text{g/ml}$ および(IV) $3 \mu\text{g/ml}$ 以上の4区分に各個体を分類し，受胎した個体の割合を比較したところ(表2)，血中 β -カロチン濃度が低いと受胎率が低下する傾向が窺われた ($0.05 < P < 0.1$)。

この結果はLOTTHAMMER²⁾らの報告を支持するものであった。彼らは β -カロチン欠乏牛群において，初回および2回授精後の受胎率の低下や受胎に要した授精回数が多いことを報告している。

FRIESECKE⁸⁾の報告によれば，正常な繁殖活動を維持するためには血中濃度で $3 \mu\text{g/ml}$ 以上が必要で， $2 \sim 3 \mu\text{g/ml}$ だと不足状態， 2

$\mu\text{g/ml}$ 以下だと欠乏状態であるとされている。

これによると，本試験に用いた牛群の大半は極度の欠乏状態であったことになる。血中 β -カロチン濃度は給与される粗飼料の種類や量によって大きく変動することが知られているが^{5, 9)}，本試験では同一牛舎内で，かつ同一飼料を給与したので，前述の大きな個体差を単に給与飼料に求めることは困難であり，その要因の究明が今後の課題として残された。

摘 要

β -カロチンが乳牛の繁殖成績に及ぼす役割を解明するために，以下の試験を行った。供試牛延51頭の血中 β -カロチン濃度は高速液体クロマトグラフィにより定量した。試験1では，妊娠牛3頭について，妊娠期間を通し，分娩，そして初回発情までの血中濃度の変化を追求した。AI後30日目に血中 β -カロチン濃度は一時的に低下し，その後上昇傾向を示したが，妊娠180~210日目より再び低下し始め，分娩後30日以内に最低値 ($0.201 \pm 0.047 \mu\text{g/ml}$) を示した。他方，妊娠に至らなかった3頭での2または3発情周期についてみると，発情周期に特定のパターンを認めることはできなかった。試験2では，繁殖障害牛(無発情牛3頭，流早産牛5頭)の血中 β -カロチン濃度を測定した。繁殖障害牛の血中濃度は ($0.450 \pm 0.357 \mu\text{g/ml}$)，正常牛のそれより ($2.378 \pm 1.137 \mu\text{g/ml}$) 有意に低かった ($P < 0.05$)。試験3では，AI後1日目の血中濃度とその後の受胎成績との関連について検討した。延51頭の平均血中 β -カロチン濃度は $1.798 \mu\text{g/ml}$ で，最低値が $0.334 \mu\text{g/ml}$ ，最高値が $3.763 \mu\text{g/ml}$ で，著しく大きい個体差が認められた。これらを血中濃度により4群，すなわち，(I) $1 \mu\text{g/ml}$ 未満，(II) $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ ，(III) $2 \sim 3 \mu\text{g/ml}$

ml, (W) $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上に分類し受胎した個体の割合を比較したところ、それぞれ18.2% (2/11), 26.3% (5/19), 42.9 (6/14) ならびに71.4% (5/7) の受胎率が得られ、AI時に血中 β -カロチン濃度が低いと妊娠の可能性が低いことが示された。

謝 辞

本稿のご校閲を賜りました当場家畜部長 工藤洋一氏に深謝いたします。

文 献

- 1) MEYER, H., AHLSEWEDE L. and K. H. LOTTHAMMER, Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 1. Mitteilung: Versuchsanstellung, Körperentwicklung und Eierstocksfunktion, Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 82: 444 - 449. 1975.
- 2) LOTTHAMMER, K. H., AHLSEWEDE L. and H. MEYER, Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. 2. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und Befruchtungsergebnisse (Versuch III), Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 83: 353 - 358. 1976.
- 3) FOLMAN, Y., ASCARELLI, I., HERZ, Z., ROSENBERG, M., DAVIDSON, M. and A. HALEVI, Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of β -carotene, Br. J. Nutr., 41: 353 - 359. 1979.
- 4) WANG, J. Y., LARSON, L. L. and F. G. OWEN, Effect of beta-carotene supplementation on reproductive performance of dairy heifers. Theriogenology, 18: 461 - 470. 1982.
- 5) 中間實徳・田中幹郎・中橋真澄, 高速液体クロマトグラフィーによる牛血清 β -カロチンの測定, 日獣会誌, 39: 355 - 358. 1986.
- 6) LOTTHAMMER, K. H., IMPORTANCE of β -carotene for the fertility of dairy cattle, Feedstuffs, Oct. 22: 15, 36 - 37, 40. 1979.
- 7) RAKES, A. H., OWENS, M. P., BRITT, J. H. and L. W. WHITLOW, Effect of adding beta-carotene to rations of lactating cows, J. Dairy Sci., 68: 1732 - 1737. 1985.
- 8) FRIESECKE, H., The significance of beta-carotene in ruminant nutrition: field results-Europe. In: Importance of Beta-carotene for Bovine Fertility, Roche. Symp. London, PP. 53 - 72. 1978.
- 9) 福富豊子・大野敦生・小沢清一郎, 乳用牛における血漿中 β -カロチンとビタミンAの動向, 畜産の研究, 38: 1105 - 1108. 1984.

Relationship Between β - Carotene and Reproductive Performance in Dairy Cattle

Hiroyuki SUZUKI, Kunio ONODERA,
Kikuo NUMATA* and Takashi MAYAMA

Summary

Three experiments were conducted to determine physiological function(s) of β - carotene on reproductive performance of dairy cattle. Serum β - carotene of a total of 55 cows and 4 heifers was assayed for these studies by the aid of high-performance liquid chromatography. In Exp. 1, three cows were monitored their serum β - carotene concentrations through pregnancy, calving and subsequent breeding. In these females, there was a transient depression in β - carotene levels at 30 days after insemination, followed by gradually increasing until 6 months of pregnancy. During the last trimester of pregnancy, however, β - carotene levels in serum began to decline again and reached minimum concentration ($0.201 \pm 0.047 \mu\text{g/ml}$) within 30 days postpartum. On the other hand, three cows that failed to pregnant displayed no specific pattern in the changes of β - carotene concentrations throughout two or three successive estrous cycles. In Exp. 2, the levels of β - carotene in serum of the females exhibiting reproductive failure (anestrus, $n=3$; abortion during pregnancy and immature labor, $n=5$) were determined. These animals had lower levels of serum β - carotene ($0.450 \pm 0.357 \mu\text{g/ml}$) compared to normally cycling cows ($n=5$, $2.378 \pm 1.137 \mu\text{g/ml}$; $P < 0.05$). In Exp. 3, relationship between β - carotene concentrations in serum 1 day after insemination and subsequent fertility was studied. Of a total of 51 cows (containing data Exps 1 and 2), the average concentration of β - carotene was $1.798 \mu\text{g/ml}$, ranged from $0.334 \mu\text{g/ml}$ to $3.763 \mu\text{g/ml}$, showing a large variation among individuals. Cows were divided into 4 groups according to their serum β - carotene levels, namely (I) less than $1 \mu\text{g/ml}$, (II) $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$, (III) $2 \sim 3 \mu\text{g/ml}$ and (IV) more than $3 \mu\text{g/ml}$. The conception rates were 18.2% ($2/11$), 26.3% ($5/19$), 42.9% ($6/14$) and 71.4% ($5/7$), respectively, indicating low possibility to become pregnant when serum β - carotene concentration was low.

* Present address : Towada Livestock Hygiene Service Center, Towada, Aomori 034.