

高デンプン飼料給与時の乳牛の血中およびルーメン液中 D/L乳酸，アンモニア濃度の推移

岡田啓司[†] 古川岳大 安田 準 内藤善久

岩手大学農学部 (〒020-8550 盛岡市上田3-18-8)

(2002年10月21日受付・2003年4月11日受理)

要 約

飼料のデンプン濃度とルーメン液および血液乳酸濃度の関係を検討した。ホルスタイン種雌牛3頭に3週間、オーチャードグラス乾草を飽食させた後、乾物中デンプン濃度34%の飼料を3週間給与した。採材は濃厚飼料採食の2時間後に行った。ルーメン液pHは3頭とも低下した。ルーメン液原虫は小型オフリオスコレックスを中心に7日目以降顕著に増加した。ルーメン液D-乳酸とL-乳酸濃度，アンモニア濃度に変化はなかった。血中D-乳酸濃度は8日以降急激に増加した。L-乳酸とアンモニア濃度に変化はなかった。ルーメン液pHとルーメン液L-乳酸濃度，ルーメン液D-乳酸濃度とL-乳酸濃度，ルーメン液と血液のD-乳酸/L-乳酸比にはおのおの正の相関，ルーメン液総原虫数とルーメン液L-乳酸濃度には負の相関があった。以上より血中D-乳酸濃度は高デンプン飼料給与を反映することが認められた。——キーワード：アンモニア，血液診断，乳酸，ルーメン液，飼料デンプン。

日獣会誌 56, 450～454 (2003)

代謝プロフィールテスト (MPT) で測定される血液成分は給与飼料の内容によって大きく変動するが，それだけでは説明のつかない測定値を示す牛群は少なくない，特に乳牛のルーメン環境は給与飼料の内容やその給与順序によって変化し，飼料の消化・吸収に大きな影響を及ぼす [18]。現在まで行ってきた牛群検診において，高デンプン飼料給与牛群の血液成分は低アンモニアおよび高乳酸の傾向が多くみられ，ルーメンでのアンモニアおよび乳酸濃度が血液中に反映している可能性が考えられた。

そこで粗飼料を飽食していた牛群に，高タンパク質あるいは高デンプン飼料を単回給与し，その前後の血中アンモニア濃度および乳酸濃度の変動を検討した。その結果，血中アンモニア濃度は牛が摂取した飼料のタンパク質のルーメンにおける消化の状態を反映している可能性が示唆された [17, 18]。しかし高デンプン給与群ではルーメン液中乳酸濃度は変化したものの，血中乳酸濃度に変化は見られなかった。

そこで，高デンプン飼料の長期投与と血中の乳酸濃度の関係を確認するため，給与飼料中のデンプン濃度とルーメン液中および血中の乳酸濃度の相互関係について検討した。

材 料 お よ び 方 法

臨床的に健康な乾乳期のホルスタイン種成雌牛3頭を用いた。供試牛は馴致期間として3週間以上オーチャードグラス乾草のみを飽食させた後，3週間にわたって飼料給与試験を実施した。

粗飼料成分は近赤外線法で分析し，NRC 飼養標準

表1 供試牛と給与飼料

平均体重 (kg)	667±29	
乳 期	乾乳期	
給与飼料量 (kg/日)	乾 草 ^{a)}	6.0±0.5
	大 麦 ^{b)}	3.0±0.2
	コ ー ン ^{c)}	3.0±0.2
成分充足率 (%)	DM ¹⁾	100.0±3.5
	TDN ²⁾	105.3±2.9
	CP ³⁾	104.7±2.3
乾物中養分濃度 (%)	TDN	61.1±1.7
	CP	11.5±1.2
	デンプン	34.0±0.0

a) 乾草：オーチャードグラス，b) 大麦：大麦圧片

c) コーン：トウモロコシ圧片

1) DM：乾物量，2) TDN：可消化養分総量，3) CP：粗タンパク質

[†] 連絡責任者：岡田啓司 (岩手大学農学部附属家畜病院)

〒020-8550 盛岡市上田3-18-8 ☎ FAX 019-621-6237

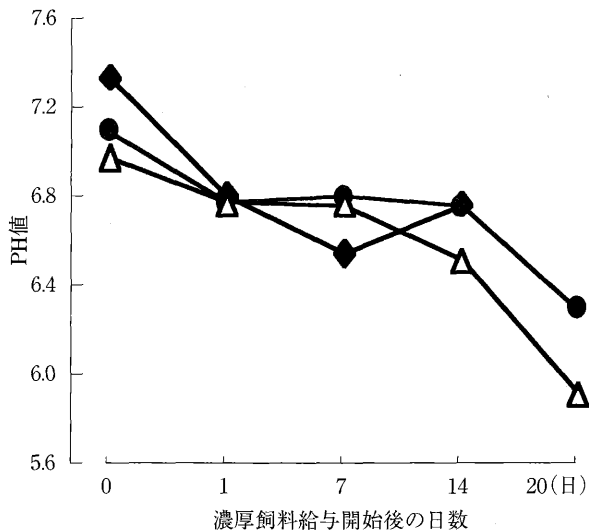


図1 濃厚飼料採食2時間後におけるルーメン液pH
0日は粗飼料のみの給与のため、粗飼料給与後日数
◆印の個体は急性鼓脹症のため14日までで中止

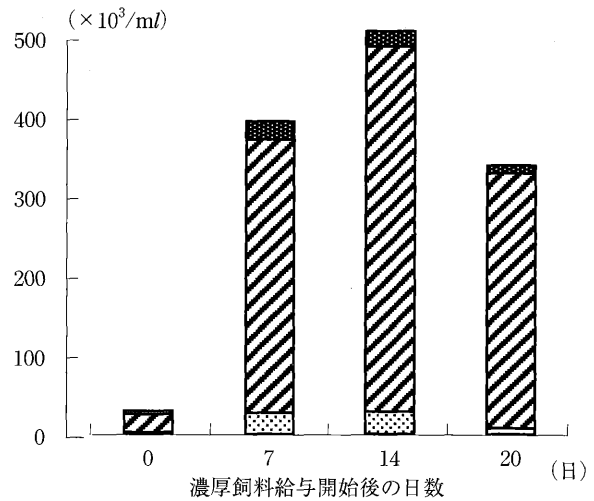


図2 ルーメン液中原虫数の推移
■ダシトリカ・イソトリカ □小型オフリオスコレックス
▨大・中オフリオスコレックス

[14]に基づいて給与飼料設計を行った。圧片大麦および圧片トウモロコシの飼料成分は飼料成分表の記載に従った。供試牛には、乾物充足率が100%となるように、乾物中デンプン濃度が34%の高デンプン飼料を朝夕2回、均等量給与した。給与飼料中の成分充足率および成分濃度は表1に示した。

ルーメン液採取は試験開始前日を0日として、0, 1, 7, 14, 20日の採血直後に経口胃汁採取器^{a)}を用いて行った。採取した胃汁の一部はガラス電極法によりpHを測定し、残りは二重ガーゼ濾過後、ただちに吉田の方法[13]によるルーメン液中原虫の運動性の判定、メチルグリン、ホルマリン、塩化ナトリウムの混合液(MFS液:メチルグリン0.3g, 10倍希釈市販ホルマリン液1L, NaCl 8.5g)で5倍希釈しルーメン液中原虫の計数、冷却遠心(4℃, 3,000rpm, 20分)して上清を分離し紫外吸収法による乳酸^{b)}と比色法によるアンモニアの測定に供した。

採血は連日、朝の濃厚飼料採食の2時間後にフッ化ナトリウム加真空採血管およびEDTA加真空採血管を用いて行った。血中乳酸濃度はフッ化ナトリウム加血漿を用いて胃汁と同様の方法で測定し、血中アンモニア濃度はEDTA加血液を用いて採血後ただちに微量拡散法^{c)}で測定した。

経日的変化の有意性は二元配置分散分析法、測定項目の相関の有意性はSpearmanの順位相関検定により検定した。

成 績

ルーメン液成分・性状の経日的変化:ルーメン液pHの推移を図1に示した。試験開始後、3個体とも徐々に低下し、各採材日間に5%未満の危険率で有意差が認められた。

ルーメン原虫数の推移を図2に示した。ルーメン液中の総原虫数は7日より著しく増加し、各採材日間に5%未満の危険率で有意差が認められた。いずれの原虫数も増加傾向を示し、特に小型オフリオスコレックスには各採材日間に5%未満の危険率で有意差が認められた。原虫の運動性には変化が認められなかった。D-乳酸濃度およびL-乳酸濃度は、3頭中2頭で低下したが1頭は変動が少なく、有意差はなかった。アンモニア濃度(図3)に有意な変化は認められなかった。

血液成分の経時的変化:試験開始後の各個体の血中D-乳酸濃度の推移を図3に示した。7日までは変動に一定の傾向はなかったが、その後急激に増加し、各採材日間に5%未満の危険率で有意差が認められた。L-乳酸濃度およびアンモニア濃度に有意な変化は認められなかった。

ルーメン液成分・性状および血液成分の相関:ルーメン液成分・性状および血液成分の相関を表2に示した。ルーメン液pHとルーメン液中総原虫数および血中D-乳酸濃度との間に負の相関が、ルーメン液中L-乳酸濃度との間に正の相関がそれぞれ認められた。ルーメン液中総原虫数とルーメン液中L-乳酸濃度との間に負の相関が認められた。ルーメン液中D-乳酸濃度とルーメン液中L-乳酸濃度との間に正の相関が認められた。ルーメン液中のD-乳酸とL-乳酸の比(D-乳酸/L-乳酸)と、血中D-乳酸/L-乳酸比との間に正の相関が認めら

a) ルミナー:富士平工業(株), 東京。

b) FキットD/L乳酸:ベーリンガー・マンハイム(株), ドイツ。

c) アミチェックメーターAA-4120:(東京都第一科学, 京都)。

表2 ルーメン液成分・性状および血液成分の相関

ルーメン液 pH	△ 5%	—	5%	—	△ 5%	—	—
ルーメン液中総原虫数	—	—	△ 5%	—	—	—	—
ルーメン液中D-乳酸	—	—	5%	—	—	—	—
ルーメン液中L-乳酸	—	—	—	—	—	—	—
ルーメン液中アンモニア	—	—	—	—	—	—	—
血中D-乳酸	—	—	—	—	—	—	—
血中L-乳酸	—	—	—	—	—	—	—
血中アンモニア	—	—	—	—	—	—	—

△：負の相関
5%：5%以下の危険率で有意な相関あり
—：相関なし

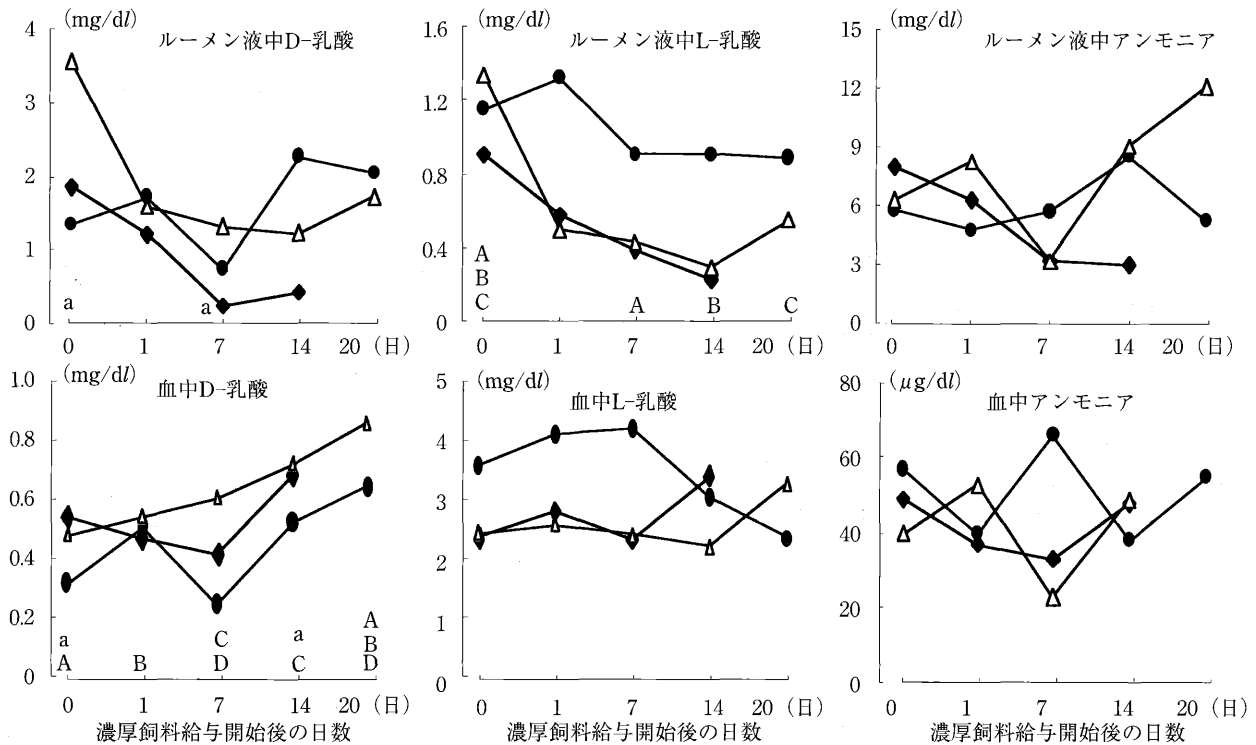


図3 ルーメン液中および血中乳酸濃度・アンモニア濃度

a : $P < 0.05$, A, B, C, D : $P < 0.01$ 同一グラフ内の同文字間に有意差あり

れた (図4). その他の項目間において相関は認められなかった.

考 察

本研究では、乳牛への高デンプン飼料給与時のルーメン液成分・性状および血液成分を調べることににより、乳牛のルーメンコンディションがどの程度血中乳酸濃度に反映するかについて検討した.

ルーメン液 pH は試験開始後に低下し、同時にルーメ

ン液中総原虫数の急激な増加がみられた. ルーメン液 pH はルーメン内細菌の種類や増殖速度、および細菌の生成する発酵生産物などに影響されると同時に、それらに影響を与える [11, 20, 22]. その結果、ルーメン液 pH の変化とルーメン微生物叢の変化が繰り返される [19]. 本試験においてもルーメン液 pH が低下し続けたことから、高デンプン飼料への変更により微生物叢の連続的な変化が生じていたものと考えられた. デンプン含有量の多い飼料の採食によりルーメン液 pH はしばしば

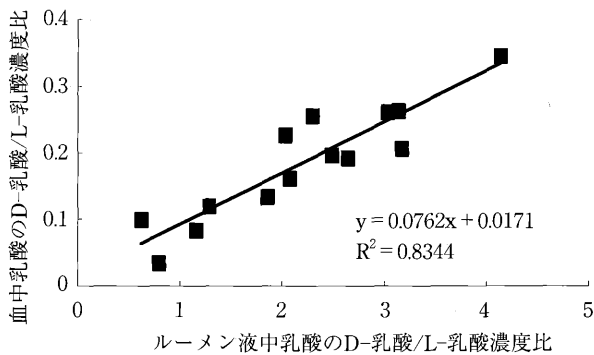


図4 ルーメン液中および血中のD-乳酸/L-乳酸濃度比の相関

6.0以下に低下する [10] ので, 本試験をさらに延長すれば, そのような現象が確認できたかもしれない。

一方, 大量の粗飼料を給与した牛に対して濃厚飼料や穀類の給与量を増やしていくと, 1.5kg までは濃厚飼料中のデンプンなどの可溶性炭水化物が制限基質として働くため濃厚飼料量に正比例してルーメン液中原虫が増加する [1, 12]。しかし原虫数は, 飽食の2/3あるいは維持エネルギー量の1~1.8倍の給餌量で増加が停止し [3, 4, 9], この水準をこえた濃厚飼料を与えると原虫数は急速に減少し, しばしば絶滅する [12]。

本試験において試験開始前はオーチャードグラス乾草のみを飽食させるという飼養条件であり, 試験開始前の総原虫数が健康乳牛の $10^5 \sim 10^6$ /ml [2]と比較して少なかったことから, デンプンがルーメン内微生物増殖のための制限基質となっていたために試験開始後に増加したと考えられた。

ルーメン液中原虫数の推移では, 大型オフリオスコレックスやイソトリカなどの大型の原虫ほど割合が低くなっていく傾向がみられた。これは大型原虫の数とルーメン液pHは正の相関がある [7] ことから, 大型原虫の増殖が他の原虫に比べて抑制されたことが窺われた。

ルーメン液中D-乳酸およびL-乳酸濃度は, ルーメン液pHの低下に伴い3頭中2頭で低下したが, 1頭では変動が少なかった。乳酸を産生するルーメン内微生物は乳酸産生菌とイソトリカ科の原虫であり, これらは高いpH域での乳酸産生を担っている。いっぽう, 乳酸分解菌の最適pHである6.0~6.5では, 乳酸はルーメン内で急速に酢酸やプロピオン酸に代謝される。乳酸発酵が盛んとなるpHは5.5以下であり, 主要な乳酸分解菌が増殖できなくなるpHは5.0以下と非常に低い [6]。このように比較的高いルーメン液pHでも乳酸の産生は行われているが, 過度のルーメン液pHの低下が起こらないうかぎりルーメン液中には乳酸の蓄積が起こらないようにルーメン内微生物叢は作用している。また, ルーメン液は唾液の持つリン酸および重炭酸の緩衝作用などにより

恒常性が保たれている [15]。本試験ではルーメン液pHは6.0前後まで低下したが, ルーメンでの乳酸の蓄積が起こるようなpH域にはならなかった。高デンプン飼料の連日の給与によりルーメン内微生物叢が変化して乳酸の産生量は増加しているが, それらは急速に分解されるために乳酸濃度は変化せず, その分解産物であるプロピオン酸等の増加によりルーメン液pHの低下だけが認められたものと考えられた。

ところで, 乳酸のルーメン壁からの吸収速度は, pHが低く乳酸濃度が高いほど速い [23]。すなわち, ルーメン液中乳酸濃度が変化しなくても, ルーメン液pHが低下すれば血中乳酸濃度の増加する可能性がある。血中L-乳酸にはルーメン液由来の他に筋細胞の解糖系での代謝物質やルーメン壁上皮細胞のプロピオン酸吸収の際の代謝物質としての内因性L-乳酸が存在するので, 血中ではL-乳酸の割合が高くなる [16]。乳酸の吸収速度は揮発性脂肪酸の1/8以下と遅い [5, 23] ため, 血中乳酸濃度がルーメン環境を反映するまでには時間を要するものと考えられた。また, L-乳酸の血中での半減期は22分と短い, D-乳酸は血中に蓄積しやすい [22]。本試験では, 試験の経過とともにルーメン液pHは低下し, 血中D-乳酸濃度が増加した。また, ルーメン液中のD-乳酸/L-乳酸比には, 血中のD-乳酸/L-乳酸比と相関がみられた。これらのことより, ルーメン液pHの低下に伴ってルーメン壁からの乳酸の吸収速度が速くなり, 血中D-乳酸濃度はその代謝速度の遅さから徐々に増加したものと考えられた。血中乳酸の光学異性体組成については, 採血時の供試牛の騒擾はなく血中L-乳酸濃度が安定していたことより, 内因性のL-乳酸の変動はわずかであり, ルーメン液由来の乳酸の変動を反映していると考えられた。

ルーメン内細菌が産生する乳酸の光学異性体の存在割合は, 個体の持つルーメン内微生物叢により異なる [21]。いっぽう, ルーメン液中には乳酸をそれぞれの光学対掌体へと変換する乳酸ラセマーゼが存在する [8]。そのため, ルーメン液中のD-乳酸とL-乳酸濃度に正の相関が認められたものと考えられた。

以上より, 血中D-乳酸濃度はルーメン液pHの低下に関連して変動し, 高デンプン飼料給与を反映することが認められた。今回は乾乳牛を用いた3週間だけの試験であったので, デンプンの給与量を大きくは引き上げられなかったため, ルーメンに乳酸の蓄積が生じるまでルーメン液pHを低下させることができなかった。牛群検診で頻繁に見られる, 牛群としての血中L-乳酸濃度の高値の原因を確認するためには, 泌乳牛を用いてさらに長期間の高デンプン飼料給与の試験を行う必要があると考えられた。

引用文献

- [1] Abe M, Shibui H, Iriki T, Kumeno F : Br J Nutr, 29, 197-202 (1973)
- [2] Allison MJ, In : Duke's Physiology of domestic animals, 11th ed, 417-427, Cornell University Press, Ithaca (1993)
- [3] Christiansen WC, Woods W, Burrough W : J Anim Sci, 23, 984-988 (1964)
- [4] Dearth RN, Dehority BA, Potter EL : J Anim Sci, 38, 991-996 (1974)
- [5] Gieseke D, Bartelmus C, Stangassinger M : Zentralblatt fur Veterinarmedizin Reihe A, 23, 201-204 (1976)
- [6] 星野貞夫 : ルーメンの世界, 612-622, 農文協, 東京 (1985)
- [7] 木村容子, 新井一博, 湊 和之, 阿部伸司, 野呂明弘 : 日獣会誌, 46, 385-391 (1993)
- [8] Lee D Jr, Matrone G : J Nutr, 101, 967-974 (1971)
- [9] Mackie R I, Gilchrist F M C : J Agric Sci, 90, 241-254 (1978)
- [10] McManus WR, Bigham ML : Res Vet Sci, 24, 129-133 (1978)
- [11] 湊 一 : ルーメンの世界, 114, 農文協, 東京 (1985)
- [12] 中村良一 : 臨床家畜内科診断学, 第3次増訂改版, 282-287, 養賢堂, 東京 (1982)
- [13] 中村和夫 : ルーメンの世界, 141-167, 農文協, 東京 (1985)
- [14] National Research Council : 乳牛の飼養標準—NRC飼養標準第6版一, 佐藤正三監訳, デーリィ・ジャパン, 東京 (1989)
- [15] 小原嘉昭, 新林恒一 : 日畜会報, 48, 192-197 (1977)
- [16] 扇元敬司 : 栄養生理研究会報, 21 : 74-86 (1977)
- [17] 岡田啓司, 古川岳大, 安田 準, 内藤善久 : 日獣会誌, 55, 713-718 (2002)
- [18] 岡田啓司, 佐藤忠弘, 下山茂樹, 赤坂 茂, 佐々木重荘, 佐々木洋子, 高橋覚志, 平田統一 : 日獣会誌, 50, 705-708 (1997)
- [19] Pinchasov Y, Hasdai A, Gordin, Katznelson D, Volcani R : J Dairy Sci, 65 : 28-36 (1982)
- [20] Rosenberger G : 牛の臨床検査診断, 其田三夫他監訳, 237, 近代出版, 東京 (1981)
- [21] Ryan R K : Am J Vet Res, 25, 653-659 (1964)
- [22] Tulleners E P : Bovine Pract, 3, 16-22 (1982)
- [23] Wilson JR, Bartley EE, Anthony HD, Brent BE, Sapienza DA, Chapman TE, Dayton AD, Milleret RJ, Frey RA, Meyer RM : J Anim Sci, 41, 1249-1255 (1975)

Changes in D/L-lactic Acid and Ammonia in Blood and Rumen Fluid of Cows Fed a High-starch Diet

Keiji OKADA*[†], Takehiro FURUKAWA, Jun YASUDA, and Yoshihisa NAITO

* *Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, 020-8550, Japan*

SUMMARY

We investigated the relation between diet starch content and lactic-acid levels in bovine rumen fluid and blood. Three Holstein dairy cows were fed orchard grass abundantly for 3 weeks. They were then fed a diet containing 34% starch (dry weight) for another 3 weeks. Specimens were collected two hours after ingestion of the concentrate. Rumen-fluid pH decreased in all three animals. Protozoa (mainly small Ophryoscolex species) increased markedly 7 days after the change in diet. No changes were observed in D- and L-lactic or ammonia concentrations in the rumen fluid. Blood concentrations of D-lactic acid increased rapidly on the eighth day and thereafter. Blood concentrations of L-lactic acid and ammonia, on the other hand, remained unchanged. Positive correlation was observed in relations between pH and L-lactic acid levels in the rumen fluid, between D- and L-lactic acid levels in the rumen fluid, and between the ratio of D- and L-lactic acids in the rumen fluid and in the blood. Negative correlation was observed between total numbers of protozoa and L-lactic acid levels in the rumen fluid. These results indicate that blood levels of D-lactic acid reflect high-starch feed. — Key words : ammonia, hemodiagnosis, lactic acid, rumen fluid dietary starch.

[†] *Correspondence to : Keiji OKADA (Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Agriculture, Iwate University) 3-18-8 Ueda, Morioka, 020-8550, Japan TEL : FAX 019-621-6237*

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 56, 450 ~ 454 (2003)