

## 飼料のマイコトキシン汚染と乳牛の生産性との関係

和田賢二<sup>1)</sup>・遠藤 洋<sup>1)</sup>・小形芳美<sup>1)</sup>・小岩政照<sup>2)</sup>・永幡 肇<sup>2)</sup>

## Relationship between contamination of mycotoxin in feeds and the productivity of dairy cows

Kenji WADA<sup>1)</sup>, Hiroshi ENDO<sup>1)</sup>, Yoshimi OGATA<sup>1)</sup>, Masateru KOIWA<sup>2)</sup> and Hajime NAGAHATA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Yamagata Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Associations,  
1-7-7 Kubota, Yamagata-shi, Yamagata 990-2482

<sup>2)</sup> Rakuno Gakuen Univ, 582 Midori-chou, Bunkyoudai, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-8501  
(2008. 10. 31 受付 / 2008. 12. 8 受理)

## Summary

The concentration of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), deoxynivalenol (DON) and zealarenone (ZEN) in commercially available feeds and farm-prepared roughages were determined to investigate the relation to the productivity in dairy farms. Concentrations of AFB<sub>1</sub>, DON and ZEN in commercially available feeds and farm-prepared roughages were within the approved levels, however, some farm-prepared roughages showed excess the approved levels. Decreased milk yields and increased cull rates appeared to be associated with increased levels of AFB<sub>1</sub> in farm-prepared roughages from dairy farms. This relation was found to be more apparent in dairy farms where one-kind of farm-prepared roughages was supplied to the dairy cows than the dairy farms in which two-kind of roughages and commercially available feeds were given to the dairy cows. From these results it has been considered that mycotoxin in feeds may be associated with farm-prepared roughages, particularly AFB<sub>1</sub> affects more clearly the productivity of dairy cows.

Keywords : dairy cow, farm-prepared roughages, mycotoxin, productivity

家畜衛生学雑誌 34, 149～155 (2009)

## 序 文

近年バイオエタノールに関連する穀物相場の上昇は諸外国における牧草からトウモロコシへの作付け転換を助長し、日本国内では配合飼料に加えて輸入粗飼料の高騰が続いている。さらにわが国の輸入飼料を軸とした畜産経営は窒素過多をはじめとした土壌への負荷も懸念されていることから自給粗飼料に対する重要性が高まってきている。しかし、畜産現場において実際に給与されている自給粗飼料の中には明らかにカビの発生が認められる

ような低品質飼料もみられ、疾病発生や生産性への影響も少なくないと考えられている<sup>7, 11, 15)</sup>。

一部のカビは毒性物質であるマイコトキシンを産生し人や家畜に対し危害を及ぼすことが知られている<sup>14)</sup>。国内で家畜に給与される飼料ではアフラトキシン B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)、デオキシニバレノール (DON)、ゼアラレノン (ZEN) に対して法的な暫定基準値が設けられている。しかし、それぞれの農場で調製、給与されている自給粗飼料のマイコトキシンに関する調査は行われておらず、その汚染実態は不明のままである。また、近年の乳牛は泌乳量の増加に伴い採食量が多く、さまざまなストレスにさらされるためマイコトキシンの影響を比較的受けやすい可能性が指摘されているが<sup>15, 17)</sup>、乳牛の生産性とマイコトキシンに関して疫学的に調査した報告は少ない。

そこで今回自給粗飼料を中心とした AFB<sub>1</sub>、DON、

<sup>1)</sup> 山形県農業共済組合連合会  
〒999-2482 山形県山形市久保田1-7-7

<sup>2)</sup> 酪農学園大学獣医学部  
〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582

ZENの汚染状況および乳牛の生産性に対する影響を明らかにすることを目的に調査を実施した。

## 材料および方法

### 1. 供試材料

2004～2006年において山形県内の酪農場（40件）、黒毛和種繁殖農場（38件）および肥育農場（12件）で採取した飼料を材料とした（ $n=172$ ）。グラスサイレージ（GS； $n=50$ ）、デントコーンサイレージ（DCS； $n=53$ ）、稲ホールクロップサイレージ（WCS； $n=12$ ）、稲ワラ（ $n=40$ ）、配合飼料（ $n=3$ ）、購入乾草（ $n=3$ ）、カス類（ $n=3$ ）、TMR飼料（ $n=8$ ）の乾物中マイコトキシン濃度を調査した。

### 2. マイコトキシン濃度の測定

各種給与飼料から無作為に10～15カ所から10g程度ずつ採取し、その混合物を検体とした。各検体をインキュベーターで70℃、72時間乾燥させ、粉碎機で2,500rpm、1分間粉碎した。5gの粉碎検体から70%メタノールで抽出した液をAFB<sub>1</sub>測定に、またリン酸緩衝生理食塩水（PBS, pH7.4）で抽出した液をDONおよびZEN測定に供した。測定は市販キット（Veratox Quantitative Test Kit, Neogen, USA）を用い、吸光度はマイクロプレートリーダー（Model 680, Bio Rad, USA）を用いて波長650nmで測定した。各マイコトキシン濃度は自給粗飼料と購入飼料の比較および自給粗飼料の種類別による比較を行った。本研究では飼料安全法で示されている濃度、すなわちAFB<sub>1</sub>は10ppbおよび20ppb、DONは1 ppmおよび4 ppm、ZENは1000ppbを基準値とし、飼料種ごとに濃度別割合を算出した（表1）。

### 3. マイコトキシンと乳牛の生産性との関連

2006年7月および12月のいずれかに自給飼料のマイコトキシン濃度を測定し、その自給飼料が2006年4月～2007年3月において4ヵ月間以上給与されている20

戸の酪農場を対象とした。各酪農場の2006年度における淘汰率および1頭あたりの年間平均乳量を調査した。淘汰率は疾病発症に伴う廃用個体を飼養頭数で除して算出した。粗飼料の給与形態別に1種類の自給粗飼料を給与している農場（I群； $n=5$ ）、2種類の自給粗飼料を給与している農場（II群； $n=7$ ）、購入乾草と自給粗飼料を併用している農場（III群； $n=8$ ）に区分し、マイコトキシン濃度、淘汰率および年間平均乳量を比較した。各酪農場の牛群の年齢構成は平均4.8～5.8才であった。

### 4. 統計処理

3群間以上の比較ではScheffe's F-testを用いた。マイコトキシンと生産性の関係ではスピアマンの順位相関係数の検定を行った。いずれも危険率5%未満を有意とした。

## 結 果

AFB<sub>1</sub>の濃度別割合は自給粗飼料で10ppb以上20ppb未満が38%（50/155）、20ppb以上が18%（28/155）であり、購入飼料ではTMRの1検体（10.1ppb）を除いて基準値未満であった（図1）。DONは自給粗飼料で1 ppm以上4 ppm未満が25%（39/155）、4 ppm以上が2%（3/155）であった。購入飼料ではすべて基準値未満であった。ZENは自給粗飼料で1000ppb以上が11%（17/155）で検出され、購入飼料はすべて基準値未満であった。

自給粗飼料別におけるAFB<sub>1</sub>の平均濃度はGS、DCS、WCS、稲ワラの順にそれぞれ18.0 ± 14.6ppb、14.1 ± 9.61ppb、10.8 ± 8.70ppb、5.5 ± 3.5ppbであり、GSおよびDCSは稲ワラよりもAFB<sub>1</sub>濃度が有意に高かった（図2）。DONの平均濃度は0.80 ± 0.65ppm、1.30 ± 1.47ppm、0.38 ± 0.28ppm、0.60 ± 0.08ppmであり、DCSはWCSおよび稲ワラよりもDON濃度が有意に高かった。ZENの平均濃度は175.9 ± 183.8ppb、705.9 ±

表1. 飼料安全法によるマイコトキシンの暫定基準値

マイコトキシン	規 制 対 象	基準値
アフラトキシンB <sub>1</sub>	配合飼料（牛、豚、鶏およびうずら用）	20ppb
AFB <sub>1</sub>	配合飼料（ほ乳子牛、乳用牛、ほ乳期子豚、幼すうおよびブロイラー前期用）	10ppb
デオキシニバレノール	飼料中（生後3ヵ月以上の牛用）	4.0ppm
DON	飼料中（上記以外の家畜等用）	1.0ppm
ゼアラレノン		
ZEN	飼料中（家畜用）	1000ppb

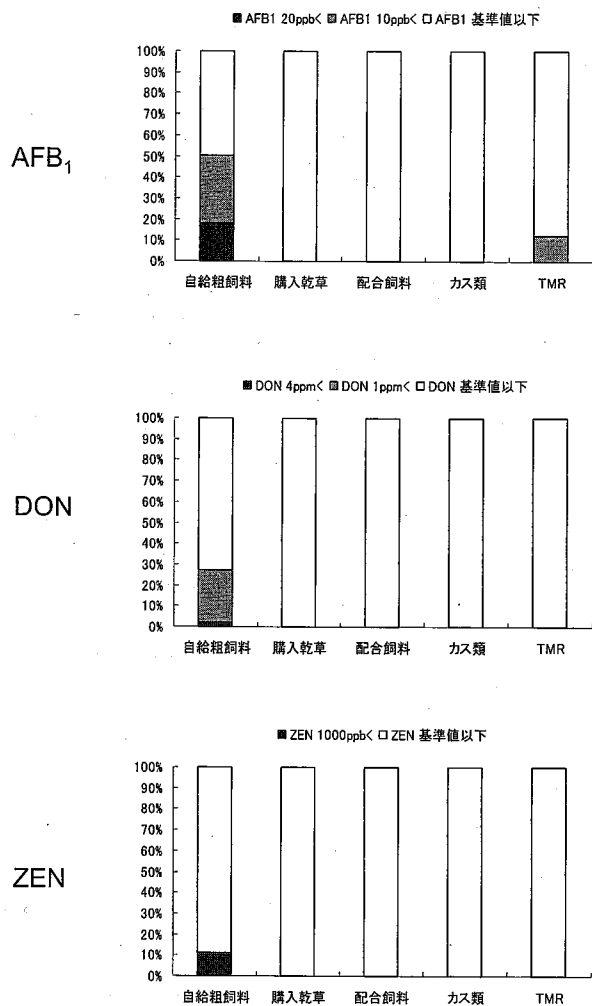


図1. 自給粗飼料および購入（購入乾草、配合飼料、カス類、TMR）飼料のマイコトキシン濃度別割合  
 自給粗飼料：n = 155、購入乾草：n = 3、配合飼料：n = 3、カス類：n = 3、TMR：n = 8  
 AFB<sub>1</sub>：アフラトキシンB<sub>1</sub>、DON：デオキシニバレノール、ZEN：ゼアラレノン、TMR：total mixed rations

877.0ppb、129.1 ± 166.0ppb、179.4 ± 198.8ppbであり、DCSが最も高かった。また濃度別割合で比較するとAFB<sub>1</sub>はGSの26%（13/50検体）、DCSの26%（14/53検体）、WCSの8%（1/12検体）で20ppbを超えていた。DONはDCSの6%（3/53検体）で4ppmを超えていた。ZENはDCSの32%（17/53検体）で1000ppbを超えていた。

自給粗飼料の給与形態別による酪農場の淘汰率はI群で10.1 ± 9.0%、II群で7.1 ± 5.0%、III群で5.6 ± 5.7%であり自給飼料単独給与農場でやや高い傾向にあったが、有意差は認められなかった（表2）。各群における

年間乳量/頭はそれぞれ6,896 ± 1,167kg、8,197 ± 619kgおよび8,504 ± 597kgであり、I群に比較してII群およびIII群で有意に高かった。またI群の中でも自給粗飼料のAFB<sub>1</sub>濃度が20ppb以上を示すC、D、E農場では淘汰率が10%を上回り、年間乳量/頭は7,000kg以下であった。II群ではマイコトキシン濃度と淘汰率および乳量との間に一定の関係は見られなかったが、DCSおよびGS両者のAFB<sub>1</sub>濃度が高いL農場では7,529kg/頭と同群の中で低い傾向がみられた。III群においてもマイコトキシンと淘汰率に一定の関係は見られなかったが、DCSのAFB<sub>1</sub>濃度が高いQ農場で7,947kg/頭と同群の中でやや低い傾向がみられた。全体でみるとAFB<sub>1</sub>濃度と淘汰率の間には有意な正の相関（rs = 0.5、p < 0.05）が認められた。群別ではI群で高い相関（rs = 0.90、p < 0.05）が認められ、II群（rs = 0.64）およびIII群（rs = -0.27）では相関性は認められなかった。またAFB<sub>1</sub>濃度と年間乳量/頭の間ではI群（rs = -0.60）、II群およびIII群ともに有意な相関は認められなかった（図3）。

### 考 察

いくつかの自給粗飼料では基準値を超えるマイコトキシンが検出されたものの購入飼料ではほぼ基準値未満であった。このことから購入飼料では適切にマイコトキシンのコントロールがなされており、農場段階においてカビが発生するような保管管理に失宜がない限りマイコトキシンに関する安全性は高いことが示唆された。一方自給飼料では天候不順や調製の不備などによるカビの発生にともない、マイコトキシンが発生するケースがあることが示された。またそれらの飼料では変質や劣化が起きていることが推察され、品質および栄養価の変化についても調査する必要があると考えられた。

人の食品分野では広くマイコトキシンに関する調査がなされているが、中でもトウモロコシはAFB<sub>1</sub>、DON、ZENを含むさまざまなマイコトキシンが最も多く検出されている<sup>14)</sup>。牛の自給粗飼料に関する報告でもDCSを中心に調査したものが多く、複数種のマイコトキシンが検出されている<sup>3-6, 8, 10, 12, 13)</sup>。さらに平田ら<sup>6)</sup>は国内で生産されたWCS、稲ワラ、GSおよびDCSにおけるトリコテセン系マイコトキシン、ZENおよびフモニシン類の汚染を調査しており、DCSは他の自給粗飼料よりもマイコトキシン濃度が高いことを示している。今回の調査でもDCSはDON、AFB<sub>1</sub>およびZENのいずれも平均濃度および基準値以上を示す検体の割合が高い傾向であった。したがって大量のトウモロコシ子実を含むDCSはマイコトキシン発生に最も注意が必要な自給粗飼料のひとつであることが推察された。

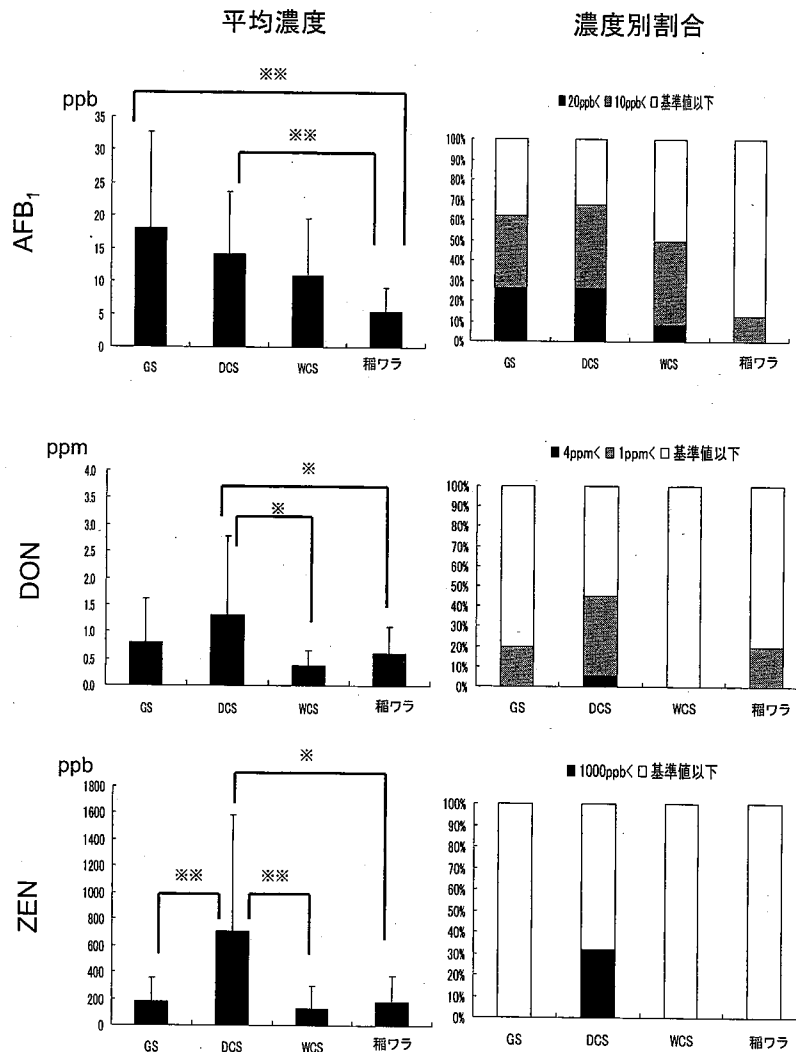


図2. 自給粗飼料別のマイコトキシン平均濃度と濃度別割合

GS (グラスサイレージ) : n = 50, DCS (デントコーンサイレージ) : n = 53

WCS (稲ホールクroppサイレージ) : n = 12, 稲ワラ : n = 40

マイコトキシン濃度 : 平均値 ± 標準偏差, ※ : p < 0.05, ※※ : p < 0.01

輸入乾草のエンドファイト中毒を除くと国内においてマイコトキシン中毒と診断された症例報告は非常に少ない<sup>7,9)</sup>。また2002年度～2006年度の家畜共済統計においても乳用牛および肉用牛の全病傷事故に占めるマイコトキシン中毒の割合はわずか0.01%程度に過ぎない。しかし野外におけるマイコトキシン中毒は低レベルおよび慢性的であり<sup>4, 17)</sup>、その症状は感染症、消化器病、繁殖障害などの病態として現れるため、マイコトキシン中毒として診断することは非常に困難であるとされている<sup>17)</sup>。したがって飼料中のマイコトキシンは牛群の生産性に対し潜在的な影響を及ぼしている可能性が十分考えられ

る。

BROWNら<sup>2)</sup>は実験的にAFB<sub>1</sub>を摂取させた乳牛で泌乳量が低下したことを述べており、BOUDRAら<sup>11)</sup>は野外における調査でバルク乳からアフラトキシンM<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) が検出される農場では生産乳量が低い傾向がみられたことを報告している。さらに和田ら<sup>15, 16)</sup>はin vitroにおいてAFB<sub>1</sub>およびDONがリンパ球の増殖能を阻害し、またAFB<sub>1</sub>の関与が疑われた酪農場においてマイコトキシン吸着剤の添加後、乳汁中AFM<sub>1</sub>の低下およびリンパ球数の増加が認められたことを報告している。本調査ではI群の農場で、かつAFB<sub>1</sub>濃度が高い農場ではとくに年間

表2. 酪農場における自給粗飼料のマイコトキシン濃度と生産性との関係

	農場	自給粗飼料	DON (ppm)	AFB <sub>1</sub> (ppb)	ZEN (ppb)	淘汰率 (%)	年間乳量 (kg)
I 群	A	GS	1.46	13.4	191	0	7939
	B	GS	0.39	0	135	1.8	8020
	C	GS	1.70	63.6	681	20.5	6850
	D	WCS	0.39	30.0	135	11.4	5185
	E	DCS	7.48	37.1	1427	16.7	6484
	Mean ± SD					10.1 ± 9.0	6896 ± 1167 <sup>a</sup>
II 群	F	DCS	0.39	14.4	139	2.7	8167
		GS	0.27	4.6	102		
	G	DCS	0.88	18.5	1396	10.5	8232
		GS	0.15	5.5	0		
	H	DCS	7.42	5.6	959	0	8133
		GS	0.89	17.2	234		
	I	DCS	0.90	12.0	501	2.9	8258
		GS	1.96	22.9	261		
	J	DCS	1.36	21.8	2185	12.1	9430
		GS	0.93	8.2	189		
K	DCS	3.18	14.7	4129	9.3	7629	
	GS	0.53	14.8	171			
L	DCS	1.44	31.9	488	11.9	7529	
	GS	2.53	31.1	461			
	Mean ± SD					7.1 ± 5.0	8197 ± 619 <sup>b</sup>
III 群	M	GS	3.79	16.2	180	0	8878
	N	GS	0.54	11.6	366	1.8	9618
	O	DCS	0.82	15.5	468	1.8	8123
	P	DCS	1.20	18.8	1647	4.0	8435
	Q	DCS	1.21	22.2	1269	3.8	7947
	R	DCS	1.63	10.7	2278	4.3	8507
	S	DCS	2.14	12.7	446	15.8	8251
	T	DCS	1.11	15.5	181	13.3	8651
	Mean ± SD					5.6 ± 5.7	8551 ± 522 <sup>c</sup>

I 群 (A~E農場) : 1 種類の自給粗飼料を給与している農場 (5 戸)

II 群 (F~L農場) : 2 種類の自給粗飼料を給与している農場 (7 戸)

III 群 (M~T農場) : 自給粗飼料と購入乾草を併用している農場 (8 戸)

異記号間に有意差あり : a-b p&lt;0.05, a-c p&lt;0.01

乳量が低かったことから 1 種類の自給粗飼料給与は AFB<sub>1</sub>による直接および間接的な生産性への影響があらわれやすいことが示唆された。さらに 2 種類の自給粗飼料給与農場および購入乾草併用農場では AFB<sub>1</sub>の生産性への影響が顕著ではなかった。したがって良質の自給粗飼料を調製することはもちろん、複数種の自給粗飼料給与および購入乾草との併用はマイコトキシンを希釈してその影響を軽減できることが推察された。

DON および ZEN と産乳量との関係については直接的な

影響は少ないとされており<sup>17)</sup>、本調査においても DON および ZEN と年間乳量との関係については不明であった。しかし DON は免疫機能の低下、ZEN はホルモン様物質として繁殖性の低下作用を有していることから感染症や繁殖障害の増加などにより間接的に乳牛の生産性に影響する可能性も考えられる。また WITLOW ら<sup>17)</sup> および小形ら<sup>10)</sup> はマイコトキシンの重複汚染による生体への影響も述べている。したがって今後種々のマイコトキシンと長期的な乳牛の生産性との関係および重複汚染によ

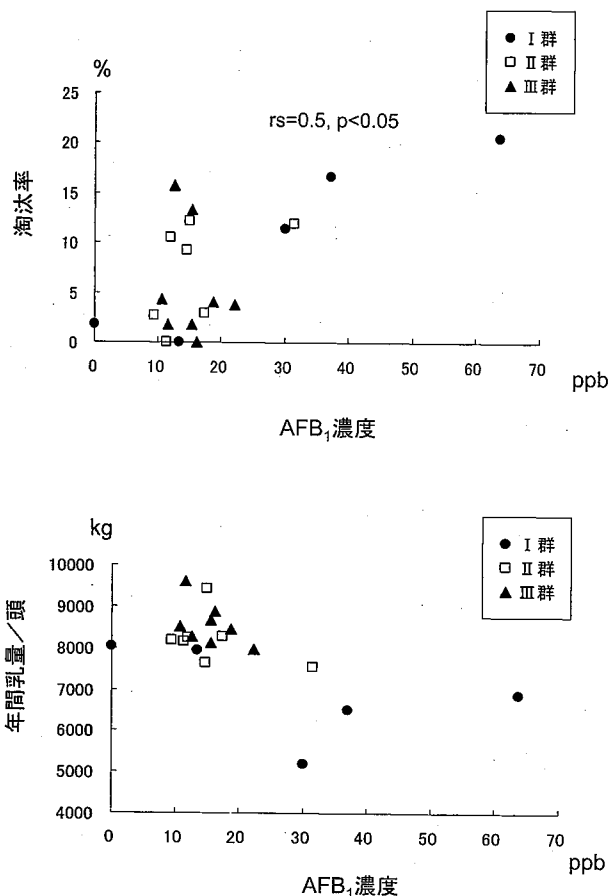


図3. 自給粗飼料のAFB<sub>1</sub>濃度と年間淘汰率および年間乳量/頭との関係

- I群: 1種類の自給粗飼料を給与している農場 (5戸)  
 II群: 2種類の自給粗飼料を給与している農場 (7戸)  
 III群: 自給粗飼料と購入乾草を併用している農場 (8戸)

る影響など包括的な調査が必要と考えられる。

### 引用文献

- BOUDRA H., BARNOUIN J., DRAGACCI S., MORGAVI DP. (2007) Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds, *J. Dairy Sci.*, 3197-3201.
- Brown RW., PIER AC., RICHARD JL., KROGSTAD RE. (1981) Effects of dietary aflatoxin on existing bacterial intramammary infections of dairy cows. *Am J Vet Res.* 42, 927-933.
- EL-SHANAWANY AA., MOSTAFA ME., BARAKAT A. (2005) Fungal populations and mycotoxins in silage in Assiut and Sohag governorates in Egypt, with a special reference to characteristic *Aspergilli* toxins, *Mycopathologia*, 159, 281-289.
- GARON D., RICHARD E., SAGE L., BOUCHART V., *et al.* (2006) Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: experimental study, *J. Agric Food Chem.*, 3; 54, 3479-3484.
- GONZALEZ PEREYRA ML., ALONSO VA., SAGER R., MORLACO MB., *et al.* (2007) Fungi and selected mycotoxins from pre- and postfermented corn silage, *J. Appl. Microbiol.*, [Epub ahead of print].
- 平田久明 (2007) 飼料中のマイコトキシン汚染状況, *臨床獣医*, 25, 10-17.
- 小岩政照 (2004) マイコトキシン中毒が疑われる乳牛の発生状況, *臨床獣医*, 22, 4, 14-17.
- MANSFIELD MA., KULDAU GA. (2007) Microbiological and molecular determination of mycobiota in fresh and ensiled maize silage, *Mycologia*, 269-278.
- 三好正一・田口 清・青木 創・虻川孝秀ら (2004) 耳介壊死, 皮膚炎および肢端壊疽を呈した乳牛の1例, *日獣会誌*, 57, 575-578.
- NIZAMLYOGLU F., OGUZ H. (2003) Occurrence of aflatoxins in layer feed and corn samples in Konya province, Turkey, *Food Addit. Contam.*, 20, 654-658.
- 小形芳美・和田賢二・藤倉尚士・高橋浩吉ら (2007) サイレージのマイコトキシンが黒毛和種子牛の発育と疾病に与える影響, *日獣会誌*, 60, 785-790.
- RICHARD E., HEUTTE N., SAGE L., POTTIER D., *et al.* (2007) Toxigenic fungi and mycotoxins in mature corn silage, *Food Chem. Toxicol.*, 2420-2425.
- SKRINJAR M., STUBBLEFIELD RD., VUJICIC IF. (1992) Ochratoxigenic moulds and ochratoxin A in forages and grain feeds, *Acta. Vet. Hung.*, 185-190.
- 宇田川俊一・田端節子・中里光男・細貝祐太郎ら (2002) マイコトキシン各論, マイコトキシン (食品安全性セミナー5), 74-147, 中央法規出版, 東京.
- 和田賢二・遠藤 洋・小形芳美・大塚浩通ら (2007) 3酪農場における自給飼料のマイコトキシン汚染とその対策, *日獣会誌*, 60, 425-429.
- WADA K., HASHIBA Y., OHTSUKA H., KOHIRUIMAKI M., *et al.* (2008) Effects of mycotoxins on mitogen-stimulated proliferation of bovine peripheral blood mononuclear cells, *J. Vet. Med. Sci.*, 70, 193-196.
- WHITLOW LW・HAGLER JR WM・服部貴次 (訳) (2000) マイコトキシンと乳牛の生産性, 健康状態, 繁殖性能との関連, および推奨される防御方法, 対策 (1), *畜産の研究*, 54, 1204-1210.

## 要 約

牛に給与されている購入飼料および自給粗飼料のアフラトキシンB<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)、デオキシニバレノール (DON) およびゼアラレノン (ZEN) 濃度を調査し、酪農場における生産性との関係を検討した。購入飼料はほぼ基準値未満であったが、一部の自給粗飼料では基準値を超えていた。マイコトキシンの中でもAFB<sub>1</sub>濃度が高い自給粗飼料を給与している酪農場で淘汰率が高く、年間乳量/頭が低い傾向にあった。その傾向は1種類の自給粗飼料

を中心に給与している農場で顕著であったが、2種類の自給飼料給与農場および購入乾草の併用農場では影響が少なかった。よって自給粗飼料はマイコトキシンが検出される場合があり、とくにAFB<sub>1</sub>は乳牛の生産性に対する影響が強いことが考えられた。また複数種の粗飼料給与はマイコトキシンを希釈することにより乳牛に対する悪影響を軽減できる可能性が示唆された。

キーワード：乳牛、自給粗飼料、マイコトキジン、生産性