

## 輸送距離の違いが黒毛和種肥育素牛の被毛と糞便中 コルチゾル含有量および血液成分に及ぼす影響

秋吉珠早<sup>1)</sup> 迫田智汎<sup>2)</sup> 野内 南<sup>2)</sup>  
阿部紀次<sup>1,2)</sup> 佐藤綾乃<sup>1,2)</sup> 加藤敏英<sup>1,2)†</sup>

- 1) 酪農学園大学附属動物医療センター  
2) 酪農学園大学獣医学類生産動物医療分野

(2020年8月20日受付・2020年12月8日受理)

**要 約** 輸送距離が異なる黒毛和種肥育素牛を対象に、輸送ストレスの評価を目的として、血液成分、被毛中コルチゾル (h-Cort) ならびに糞便中コルチゾル代謝物含有量 (f-Cort) を比較した。供試牛は、長距離群 7 頭と短距離群 30 頭であり、それぞれの月齢および体重 (平均±標準偏差) は 8.0 ± 0.0 カ月および 197.9 ± 34.0 kg, 8.8 ± 0.7 カ月および 300.4 ± 42.6 kg であった (月齢, 体重ともに群間に有意差あり,  $p < 0.05$ )。長距離群は、沖縄県多良間島から山形県最上町までの約 2,628 km (海路 956 km, 陸路 1,672 km) を所要時間 96 時間、短距離群は山形県川西町から最上町までの陸路約 130 km を所要時間 3 時間で輸送された。すべての供試牛は、家畜運搬用トラックに積み込まれ、1 頭当たりの収容スペースはそれぞれ 0.93, 1.00 m<sup>2</sup> であった。検査材料として、被毛は頸部背側部から、輸送前と農場到着後 72 日の 2 回、血液と直腸便は農場到着時を加えた 3 回採取した。その結果、輸送前と到着後 72 日における h-Cort の平均値 (pg/mg) は、長距離群が 6.8 と 11.7, 短距離群が 3.9 と 1.5 であり、短距離群では有意に減少した ( $p < 0.05$ )。群間の比較では、長距離群が到着後 72 日に有意に高値を示した ( $p < 0.01$ )。同様に、輸送前、到着時および 72 日後の f-Cort の平均値 (pg/mg) は、長距離群ではそれぞれ 5.1, 60.9 および 37.7, 短距離群ではそれぞれ 30.6, 28.8 および 15.2 であり、長距離群では到着時に有意に増加し、短距離群では 72 日後に有意に減少した ( $p < 0.05$ )。群間での比較では、長距離群は短距離群に比べ、輸送前に低値、到着時と 72 日後に高値を示し、いずれも有意差が認められた ( $p < 0.01$  または 0.05)。血液成分のうち、ビタミン A 濃度は両群とも輸送前に比べ到着時に有意に低値を示し、FFA は到着時に有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。特に長距離群における FFA の上昇幅は、短距離群に比べ大きかった。以上の成績より、長距離輸送は牛に対してより大きくかつ持続的なストレスを与えた可能性が示唆された。

——キーワード：糞便中コルチゾル, 被毛中コルチゾル, 黒毛和種肥育素牛, 長距離輸送, ストレス

.....産業動物臨床医誌 12(1): 1-7, 2021

### はじめに

近年、日本では農場の大型化が急速に進行しているが、家畜飼養頭数確保には遠方からの輸送が不可欠であり、その移動範囲は著しく拡大している。輸送は家畜にとってストレスになることが知られており、その程度は例えば牛 1 頭当たりの荷台の面積や季節により異なることも指摘されている [1-3]。様々な動物のストレスの指標として、血液や唾液、乳汁などを用いたコルチゾル測

定の有用性が報告されている [4-6]。一方で、これらの検査成績は短期のストレス指標としては有用である [7] が、日内変動や概日周期がある [8] ため、長期にわたるストレスを反映するものではないと考えられている。また、動物福祉の観点から、材料採取時に家畜に苦痛を与えないことが望ましい。そのため、近年は採取が容易で長期保存も可能 [9] な被毛や糞便の検査が行われている。被毛に関する多く研究では、牛の毛色や部位ある

† 連絡責任者：加藤敏英 (酪農学園大学獣医学類生産動物外科学ユニット)

〒 069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 ☎ 011-388-4786 FAX 011-388-4169  
E-mail : ktoshi@rakuno.ac.jp

いは年齢によってコルチゾル含有量に差があるという報告 [10-12] もみられるが、ほとんどは数週から数カ月程度の長期的なストレス評価に有用であるとしている [7, 10, 13-15]。また、糞便中コルチゾル含有量は被毛中のそれと数週間相関した [16] ことから、糞便も中長期的なストレス評価の材料として有用と考えられる。このような状況の中で、これまで国内では輸送が牛に及ぼす影響について、黒毛和種牛の輸送前後における体重と血液性状の変化に関する報告 [17] や、ホルスタイン種牛の免疫細胞機能の変化に関する報告がある [18, 19]。しかし、黒毛和種牛の被毛中ならびに糞便中のコルチゾル含有量を測定し、長距離と短距離の輸送前後で比較した報告は見当たらない。そこで、本研究の目的は黒毛和種肥育素牛を対象として、長距離と短距離の輸送前後の被毛中コルチゾルならびに糞便中コルチゾル代謝物含有量、血液成分を測定し、両群のストレス状況を比較することとした。

#### 材料および方法

**供試牛の概要：**黒毛和種肥育素牛合計 37 頭を供試した。このうち 7 頭（長距離輸送群；L 群）は沖縄県多良間島、30 頭（短距離輸送群；S 群）は山形県置賜地域で生産された。輸送時の月齢と体重（平均±標準偏差）は、L 群でそれぞれ 8.0 ± 0.0 カ月齢と 197.9 ± 34.0 kg、S 群で 8.8 ± 0.7 カ月齢と 300.4 ± 42.6 kg であった（月齢、体重ともに群間に有意差あり。p<0.05, Student の t 検定）。すべての供試牛は山形県最上町の 1 肥育農場まで輸送された。輸送条件を表 1 に示した。L 群の輸送距離および所要時間は海路（フェリー）と陸路（トラック）を合わせて約 2,628 km と 96 時間、S 群のそれは陸路約 130 km と 3 時間であった。陸路輸送は家畜運搬用トラックを用い、1 頭当たりの収容スペースは一般的な商用スペース [3] よりもやや広い 0.93 または 1.00 m<sup>2</sup> であっ

た。L 群の輸送中の給餌は粗飼料のみであり、給水は中継地ごとに行われた。S 群では、給餌および給水は行われなかった。L 群は同一牧場で出生、育成された後、家畜市場を介さずに直接調査農場に輸送された。S 群は、複数の繁殖農場からトラックで当日 7 時まで家畜市場に輸送（距離約 1～8 km, 所要時間約 5～30 分）、係留された後、13 時に調査農場に向けて出発した。また、L 群は、5 カ月齢までに呼吸器病ウイルス 5 種（牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス、牛 RS ウイルス、牛アデノウイルス 7 型）の生ワクチン（牛 5 種混合生ワクチン：微生物化学研究所、京都）を 3 回、ヒストフィルス・ソムニ不活化ワクチン（微生物化学研究所）をそれぞれ適期に接種されていた。さらに、輸送前に呼吸器病ウイルス 2 種（牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス）の鼻腔粘膜ワクチン（TSV<sup>®</sup>-2：ゾエティス・ジャパン、東京）の鼻腔内接種ならびにビタミン AD<sub>3</sub>E 注射剤（VA として 50 IU）を投与されていた。S 群は、市場上場の約 1 カ月前に L 群と同様の呼吸器病ウイルス 5 種生ワクチンを接種されていた。

両群の導入前の飼養形態は、L 群が 1 頭当たり約 4.4～7.0 m<sup>2</sup> で群飼され、S 群が 1 頭当たり約 5～6 m<sup>2</sup> で単飼または群飼されていた。輸送後は、両群それぞれ、7.2 × 4.5 m の広さに 5 頭ずつ（約 6.5 m<sup>2</sup>/頭）で群飼され、月齢に応じた同一の飼料給与体系で飼養された。

**材料採取および調査項目：**輸送前（多良間島の生産農場または川西町の家畜市場にて）、調査農場到着時および到着後 72 日に、供試牛の頸静脈から真空採血管を用いて採血し、同時に直腸便を直腸検査用手袋により採取した。また、輸送前と到着後 72 日には、頸部背線の被毛を 2 cm<sup>2</sup> 程度、生え際から鋏で切り取った（長さ約 2～3 cm）。採取した血液は直ちに遮光し、糞便および被毛とともに 10℃ 以下の冷蔵環境下に保存された状態で

表 1. 長距離輸送群と短距離輸送群の輸送条件

群	距離 (km)	時間 (h)	輸送日	収容密度 (m <sup>2</sup> /頭)	出発地 (気温℃)	経由地 (気温℃)	到着地 (気温℃)
L 群 <sup>1)</sup> (n=7)	956 (海路) 1,672 (陸路)	96	2018. 7.25-28	0.93	多良間島 <sup>3)</sup> (27.9)	宮古島 <sup>3)</sup> (26.9) 鹿児島 (25.6)	最上町 <sup>4)</sup> (23.3)
S 群 <sup>2)</sup> (n=30)	130 (陸路)	3	2018. 7.6	1.00	川西町 <sup>4)</sup> (23.2)	—	

1) 長距離輸送群, 2) 短距離輸送群, 3) 沖縄県, 4) 山形県各地の気温は気象庁のデータ。

酪農学園大学へ搬送された。検査項目は、被毛中コルチゾル (h-Cort) ならびに糞便中コルチゾル代謝物含有量 (f-Cort) の他、血液生化学的検査として血清中コルチゾル濃度 (s-Cort)、ビタミン A 濃度 (Vit.A)、総コレステロール (T-cho)、遊離脂肪酸 (FFA)、尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、ナトリウム (Na) およびクロール (Cl) を測定した。また、供試牛の到着後は、調査農場で 72 日間にわたり臨床所見を観察し、臨床的に治療を要する疾病の発生率と病名、治療内容を記録した。

**検査方法：**酪農学園大学では、血液は到着後 48 時間以内に血清分離し、糞便および被毛とともに  $-30^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存された。冷凍保存された糞便および被毛は、測定前に常温および遮光下で解凍された。まず、糞便は恒温乾燥機を用いて  $60^{\circ}\text{C}$ 、48 時間乾燥された。その後、粉碎機 (MS-100：トミー精工、東京) を用いて、5,000 rpm、150 秒で粉末状にし、0.04 g を 2.0 ml チューブに入れた。次に、被毛は 0.08 g を 15 ml 遠心管に入れ、イソプロパノール 5.0 ml を加え攪拌した後、ドラフト内で 3 日間自然乾燥させた。乾燥した被毛 0.04 g をビーズとともに 2.0 ml チューブに入れ、糞便と同様に粉碎機を用いて、5000 rpm、150 秒で粉末状にした。糞便および被毛の粉碎後の処理は、メタノールを 1.0 ml 加えてローテーターで 15 rpm、室温、24 時間攪拌し、 $10,000 \times g$ 、室温、10 分間遠心分離した。その後、上清を試験管に移し、ヒートブロックで  $38^{\circ}\text{C}$  に加熱しながら、窒素ガスで 30 分乾固させた後、PBS 0.3 ml を加え溶解、室温で 1 時間振盪しコルチゾル抽出液とした。h-Cort および f-Cort 測定は、被毛サンプルはそのまま、糞便サンプルは蒸留水で 5 倍に希釈し、コルチコステロン ELISA 測定キット (DetectX：Arbor Assays, MI, USA) を用い、マイクロプレートリーダー (I Mark マイクロプレートリーダー：バイオ・ラッド ラボラトリー

ズ、東京) を用い、450 nm の波長で可視光濃度を測定した。また、血液生化学的検査のうち、s-Cort は h-Cort および f-Cort と同じく ELISA 測定キット、その他は自動分析装置 (LABOSPECT008K：日立ハイテック、東京) および (JCA-BM8060：日本電子、東京) により測定した。

**統計解析：**両群の体重に有意差がみられたため、Pearson の相関検定により輸送前の h-Cort および f-Cort との相関解析を行った。血液成分、h-Cort および f-Cort 測定値は平均値  $\pm$  標準偏差で示し、Tukey-Kramer の HSD 検定を用いて群ごとならびに群間で比較した。また、疾病発生率は Fisher の正確検定を用いた。いずれも有意水準 5% 未満を有意差ありと評価した。

### 成績

h-Cort および f-Cort について、輸送前の値と体重との相関解析を実施したところ、どちらも有意な相関ではないことが確認された (それぞれの相関係数と  $p$  値： $-0.319$ ,  $p=0.054$ ,  $0.292$ ,  $p=0.105$ )。h-Cort (pg/mg) の輸送前と到着後 72 日の値は、L 群と S 群、それぞれ  $6.8 \pm 3.3$  と  $11.7 \pm 6.7$ ,  $3.9 \pm 2.8$  と  $1.5 \pm 0.5$  であり、S 群では有意に減少した ( $p<0.05$ )。群間で輸送後 72 日の値を比べると、S 群で有意に低かった ( $p<0.01$ ) (図 1)。同様に、f-Cort (pg/mg) の輸送前、到着時および到着後 72 日の値は、それぞれ L 群で  $5.1 \pm 1.8$ ,  $60.9 \pm 46.5$  および  $37.7 \pm 21.2$ 、S 群で  $30.6 \pm 18.3$ ,  $28.8 \pm 20.4$  および  $15.2 \pm 11.0$  であり、いずれの時点でも群間で有意差が認められた ( $p<0.01$  または  $p<0.05$ )。すなわち、輸送前は L 群が低く、到着時および到着後 72 日は L 群が高かった。また、群ごとにみると、S 群では到着後 72 日の値は輸送前および到着時に比べ有意に低く、L 群では輸送前に比べ到着時に有意に高かった ( $p<0.05$ ) (図 2)。

血液生化学的検査成績を表 2 に示した。群ごとにみると、まず L 群では Vit.A が輸送前に比べ到着時に有意

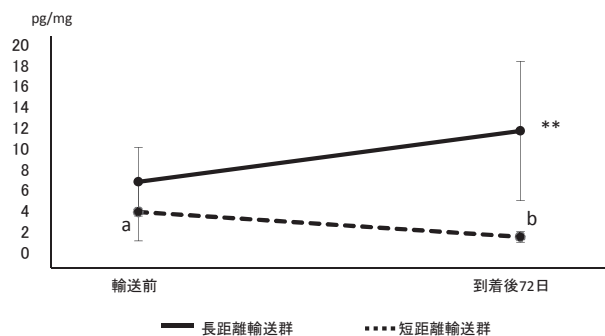


図 1. 被毛中コルチゾル含有量

\*\*：群間に有意差あり ( $p<0.01$ )，ab：群内において有意差あり ( $p<0.05$ ) (Tukey-Kramer's HSD 検定)

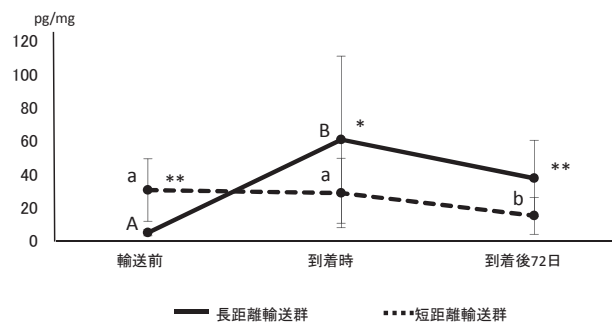


図 2. 糞便中コルチゾル代謝物含有量

\*\*：群間に有意差あり ( $p<0.01$ )，\*：群間に有意差あり ( $p<0.05$ )，ab, AB：群内において異符号間で有意差あり ( $p<0.05$ ) (Tukey-Kramer's HSD 検定)

表 2. 長距離輸送群と短距離輸送群における輸送前後の血液生化学的検査所見

項目	群	n	輸送前		到着時		到着後 72 日	
VitA (IU/ℓ)	L <sup>1)</sup>	7	67.6 ± 21.9	B	42.5 ± 8.7	C	92.3 ± 17.3 <sup>a</sup>	A
	S <sup>2)</sup>	30	80.6 ± 15.4	A	54.2 ± 31.5	B	76.5 ± 16.7 <sup>b</sup>	A
Tcho (mg/dℓ)	L	7	99.7 ± 19.4	B	106.0 ± 19.4	B	146.7 ± 20.0 <sup>a</sup>	A
	S	30	129.5 ± 32.5		132.3 ± 36.4		120.2 ± 29.6 <sup>b</sup>	
FFA (mEq/ℓ)	L	7	0.114 ± 0.035 <sup>a</sup>	B	0.983 ± 0.147	A	0.179 ± 0.019 <sup>a</sup>	B
	S	30	0.412 ± 0.199 <sup>b</sup>	B	0.653 ± 0.248	A	0.115 ± 0.042 <sup>b</sup>	C
BUN (mg/dℓ)	L	7	8.7 ± 2.3	C	11.8 ± 1.2	B	18.7 ± 2.0 <sup>a</sup>	A
	S	30	12.3 ± 3.0	B	12.7 ± 3.4	B	15.3 ± 2.6 <sup>b</sup>	A
TP (g/dℓ)	L	7	6.8 ± 0.3	A	7.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	A	6.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	B
	S	30	6.4 ± 0.5		6.5 ± 0.4 <sup>b</sup>		6.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	
Alb (g/dℓ)	L	7	3.3 ± 0.4 <sup>a</sup>		3.3 ± 0.3		3.2 ± 0.1	
	S	30	3.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	A	3.7 ± 0.3	A	3.3 ± 0.3	B
Na (mEq/ℓ)	L	7	142.7 ± 1.9		141.7 ± 1.8		142.0 ± 1.2 <sup>a</sup>	
	S	30	140.9 ± 6.3		143.7 ± 5.6		143.4 ± 1.6 <sup>b</sup>	
Cl (mEq/ℓ)	L	7	99.6 ± 1.3		98.6 ± 2.4		100.0 ± 1.3	
	S	30	100.3 ± 4.9		101.2 ± 4		100.9 ± 1.7	
Cort. <sup>†</sup> (pg/ml)	L	7	5.4 ± 1.2 <sup>a</sup>	A (n=6)	7.9 ± 1.1	B (n=6)	7.0 ± 1.6	
	S	30	7.1 ± 0.8 <sup>b</sup>	(n=29)	7.0 ± 1.2	(n=26)	6.5 ± 1.6	

数字は平均値 ± 標準偏差, 1) 長距離輸送群, 2) 短距離輸送群, † (コルチゾル): 非正規分布であるため log 変換した. ab: 群間に有意差あり ( $p < 0.05$ ), 群内において異符号間で有意差あり ( $p < 0.05$ ) (Tukey-Kramer's HSD 検定)

に低値を示した ( $p < 0.05$ , 以下同じ). これとは逆に, FFA, BUN および s-Cort は輸送前に比べ到着時に有意に高値を示した. 到着後 72 日では, Vit.A が著しく上昇し, 輸送前との比較でも有意差が認められた. FFA は到着時に比べ有意に低下し, 輸送前と同等の値を示した. T-cho と BUN は到着時に比べ有意に上昇した. TP は輸送前および到着時に比べ有意に低値を示した. 一方, S 群では, 輸送前に比べ到着時に Vit.A が有意に低値を示し, FFA は有意に高値を示した. 到着後 72 日では, FFA が輸送前および到着時に比べ有意に低下した. この他, BUN は有意に上昇し, Alb は有意に低下した. また, 両群を採材時期ごとに比較すると, 輸送前は FFA と Alb, s-Cort は S 群が L 群よりも有意に高かった. 到着時では TP が L 群で有意に高かった. 到着後 72 日では, L 群の Vit.A, T-cho, FFA および BUN が S 群よりも有意に高値を示し, TP および Na は有意に低値を示した. Vit.A および FFA 以外の項目は, 概ね正常範囲内で推移していた.

両群の疾病発生率は, S 群が 6.7% (2/30), L 群が 14.3% (1/7) で群間に有意な差はなかった. 疾患名はいずれも気管支炎で, 到着後 37 日以内に発症しており,

すべて抗菌剤治療により治癒した. これらの 3 頭は, h-Cort と f-Cort を含め, いずれの検査項目も特徴的な推移は示さなかった.

#### 考 察

本研究の輸送は, 家畜運搬専用車両を用い, 適切な積み降ろし作業と収容密度の下で行われた. また, 導入後の飼養環境は両群とも同一かつ適切であった.

動物のストレス評価項目として, h-Cort の有用性が多数報告されている. González ら [10] は, ホルスタイン種乳牛を用い, 副腎皮質ホルモン負荷と年齢が h-Cort に及ぼす影響を調べ, 年齢や毛色によって差はあるものの, h-Cort は 1 ~ 2 週間程度のストレス評価に有用であると報告した. また, Bacci ら [20] は, 豚を対象として 2 回の連続した生殖周期で h-Cort を調べ, 分娩と授乳の時期を経た分娩後 70 ~ 75 日の値が分娩前および分娩後約 4 週に比べ有意に高かったと報告している. この他, 同一個体でも被毛の採取部位や洗浄方法によって数値が異なるという報告 [12, 21] は散見されるが, 乳牛のほか肉用牛や豚, 馬においても唾液や乳汁よりも長い, 数週~数カ月の長期のストレス評価の指標として,

その有用性に関する報告は多い [7, 11, 13, 22]. 本研究においては, h-Cort の到着後 72 日の測定値は, 短距離輸送群では輸送前に比べ低下したが, 長距離輸送群では増加し, 群間に有意差が認められた. また, f-Cort 測定値においては, 長距離輸送群の輸送前の値は短距離輸送群より低かったものの, その後は高く推移した. f-Cort については, 4 週間 8 回の採材で得られた平均値が, 25 日間発育した被毛のコルチゾル含有量と有意な正の相関が認められたことが報告されている [16]. したがって, f-Cort も数週間にわたるストレス状態を反映する可能性がある. 牛にとっては, 飼育場所の変更自体がストレスであり, 本研究においても到着後 72 日の h-Cort および f-Cort に影響を及ぼしたものと考えられた. 一方, 供試牛の導入前の飼養密度に大きな差はなく, 導入後の飼養環境も同一だったことから, 長距離輸送群の到着後 72 日の h-Cort と f-Cort が短距離輸送群よりも有意に高かった背景には, 長い輸送距離と時間があったことが示唆された. すなわち, 長距離輸送は短距離輸送に比べ, 牛に対してより大きくかつ持続的なストレスを与えたものと推察された. 輸送が牛に及ぼす悪影響については国内外で様々な報告がみられる. Ishizaki ら [18] は, ホルスタイン種の去勢子牛 6 頭を用い, 約 100 km 4 時間の輸送後に気管支肺胞洗浄液細胞 (80~85% がマクロファージ) を検査したところ, 化学発光能は輸送前に比べ輸送後 4 時間および 3 日後に有意に低下し, CD4<sup>+</sup> 増加によって CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比が上昇したと報告した. そして, これらのことが牛呼吸器病を引き起こす要因となる可能性を示唆している. Riondato ら [23] は, 24 頭のブロンダキテーヌ種雄子牛を約 950 km 14 時間輸送したところ, 末梢血 T リンパ球サブセットの割合が減少し, それは NK 細胞増殖によるものと推察し, ストレス誘発性の免疫系刺激があった可能性を示唆している. 本研究においては免疫系に関する知見は得られていないが, 長距離輸送によるストレスが長引けば, 個体の免疫能が低下し, 疾病発生リスクは高まると予測していた. しかしながら, 結果的に農場到着後の疾病発生率は短距離輸送群と差がなく, 疾病発症と h-Cort および f-Cort との間に関連性は見出せなかった. 以前より, 牛ではウイルスや細菌による輸送に伴う呼吸器病 (輸送熱) が惹起されやすい [24] と言われているなかで, この農場ではこれまでも多良間島など遠方からの導入牛に呼吸器病はほとんど発生していない (成績は示さず). この農場において長距離輸送牛の疾病発生率が抑制されているのは, ワクチンの複数回接種に加え, 輸送前の鼻腔粘膜ワクチン接種やビタミン剤投与がルーチンワークとして実施されているためと推察された. 一方で, Ishiwata ら [3] は, 給水や休憩を設けた, 収容面積が 1 頭当たり 1.62 m<sup>2</sup> の

長距離輸送は, 牛にとって大きなストレスではないと推察している. この報告では血漿コルチゾル濃度などを指標にしたが, 今後, 輸送時の収容面積と h-Cort および f-Cort との関連性を調査する必要がある.

血液生化学的検査所見では, 両群とも到着時の FFA が輸送前に比べ著しく上昇していたが, これは輸送中の給餌が粗飼料のみであったことに加え, 輸送ストレスの負荷により車両内での採食量が不十分であったためと推察された. 特に長距離輸送群の上昇幅が大きかったのは, 所要時間が長かったためと考えられた. 到着後は, 両群ともに十分な飼料が給与され, 輸送ストレスからも解放されたことから, 採食量も増加し, 72 日後にはほぼ正常範囲に回復していた. また, 飲水量不足の影響も懸念されたが, 血清中 BUN や TP, Alb に大きな変動はなく, Na と Cl もほぼ正常範囲内で推移した. このことから, 輸送中は自由飲水ではなかったものの, 途中の給水が有効だったと推察された. 血清中ビタミン A 濃度は, 輸送などのストレスにより低下することが知られており [25], 本調査でも同様の成績が示された. 両群とも, 到着時に経口ビタミン製剤を投与されたことから, 血中濃度は 10 日目までに速やかに上昇した (成績は示さず). また, 輸送前の血清中コルチゾル濃度は長距離輸送群に比べ短距離輸送群で高値を示したが, これは前者がひとつの農場で輸送開始直前に採血されたのに対し, 後者は各繁殖農場から市場にトラック輸送されたことに加え, 到着後から採血まで 5 時間以上係留されていたためと推察された.

本研究では, 輸送が黒毛和種肥育素牛に対し様々なストレスを及ぼす可能性が示唆されたことから, 特に長距離輸送中の適切な給餌給水, 輸送前後の栄養補給など, 動物福祉に配慮した対策が必要である.

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり, 検査材料の採取にご協力をいただいた山口畜産の山口 聡先生, コルチゾル測定にご協力をいただいた酪農学園大学獣医学類の林 英明准教授, 検査成績の統計学的解析等にご助言いただいた NOSAI 山形の渡辺栄次先生ならびに酪農学園大学獣医学類の蒔田浩平教授に深謝いたします.

## 引用文献

1. Gupta S, et al : Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances, Vet J, 173, 605-616 (2007)
2. Ishiwata T, et al : Stress of beef steers transported at a commercial space allowance, Anim Behavi Manag,

- 44, 171-175 (2008)
3. Ishiwata T, et al. : Physical conditions in a cattle vehicle during spring and autumn conditions in Japan, and reactions of steers to long distance transport, *Anim Sci J*, 79, 620-627 (2008)
  4. Veissier I, Le Neindre P : Cortisol responses to physical and pharmacological stimuli in heifers, *Reprod Nutr Dev*, 28, 553-562 (1988)
  5. Negrão JA, et al. : Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking, *J Dairy Sci*, 87, 1713-1718 (2004)
  6. Hernandez CE, et al. : Time lag between peak concentrations of plasma and salivary cortisol following a stressful procedure in dairy cattle, *Acta Vet Scand*, 56, 61 (2014), doi:10.1186/s13028-014-0061-3
  7. Comin A, et al. : Hair cortisol as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in Friesian dairy cows clinically or physiologically compromised, *Livest Sci*, 152, 36-41 (2013)
  8. Lefcourt AM, et al. : Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows, *J Dairy Sci*, 76, 2607-2612 (1993)
  9. Russell E, et al. : Hair cortisol as a biological marker of chronic stress; current status, future directions and unanswered questions, *Psychoneuroendocrinology*, 37, 589-601 (2012)
  10. González-de-la-Vara MR, et al. : Effects of adrenocorticotrophic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle, *Can J Vet Res*, 75, 216-221 (2011)
  11. Moya D, et al. : Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle, *Livest Sci*, 158, 138-144 (2013)
  12. Burnett TA, et al. : Factors affecting hair cortisol concentrations in lactating dairy cows, *J Dairy Sci*, 97, 7685-7690 (2014)
  13. Burnett TA, et al.: Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows, *J Dairy Sci*, 98, 4414-4426 (2015)
  14. Carroll GA, et al. : Identifying physiological measures of lifetime welfare status in pigs; exploring the usefulness of haptoglobin, C-reactive protein and hair cortisol sampled at the time of slaughter, *Irish Vet J*, 71, 8 (2018), doi: 10.1186/s13620-018-0118-0
  15. Endo N, et al. : Hair cortisol concentration in pre- and postpartum dairy cows, and its association with body condition, hock health, and reproductive status, *Anim Sci J*, 90, 924-931 (2019)
  16. Tallo-Parra O, et al. : Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA; protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites, *Animal*, 9, 1059-1064 (2015)
  17. 林 淳 : 黒毛和種育成雌牛における長距離・長時間輸送による体重および血液性状の変化, *産業動物臨床医誌*, 7, 231-234 (2017)
  18. Ishizaki H, et al. : Influence of truck-transportation on the function of bronchoalveolar lavage fluid cells in cattle, *Vet Immunol Immunopathol*, 105, 67-74 (2005)
  19. Yagi Y, et al. : Transport stress increases somatic cell counts in milk, and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows, *J Vet Med Sci*, 66, 381-387 (2004)
  20. Bacci ML, et al. : Hair cortisol determination in sows in two consecutive reproductive cycles, *Reprod Biol*, 14, 218-223 (2014)
  21. Nedić S, et al. : Cortisol concentrations in hair, blood and milk of Holstein and Busha cattle, *Slovenian Vet Res*, 54, 163-172 (2017)
  22. Comin A, et al. : Hair cortisol level as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in horse foals, *Vet J*, 194, 131-132 (2012)
  23. Riondato F, et al. : Effects of road transportation on lymphocyte subsets in calves, *Vet J*, 175, 364-368 (2008)
  24. Yates WD : A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle, *Can J Comp Med*, 46, 225-263 (1982)
  25. Adachi K, et al. : Significant decrease of serum vitamin A level in Japanese Black beef steers after introduction to a farm, *J Vet Med Sci*, 60, 101-102 (1998)

## Effects of transport distance on hair and fecal cortisol concentrations and blood components in Japanese Black breeding cattle

M. Akiyoshi<sup>1)</sup>, C. Sakoda<sup>2)</sup>, M. Nouchi<sup>2)</sup>, N. Abe<sup>1,2)</sup>, A. Sato<sup>1,2)</sup>, T. Kato<sup>1,2)†</sup>

1) *Animal Medical Center, Rakuno Gakuen University*

2) *Department of Large Animal Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University*

**ABSTRACT** The study included 37 Japanese Black breeding cattle allocated to two study groups. One group ( $n=7$ ) was transported from a fattening farm in Tarama Island, Okinawa Prefecture, to a facility in Mogami, Yamagata Prefecture (2,628 km over 96 hours; long distance or Group L), and the other group ( $n=30$ ) was transported within Yamagata Prefecture to the same facility (130 km over 3 hours; short distance or Group S). Each animal had a 0.93 m<sup>2</sup> space in a truck for long-distance transport and 1.00 m<sup>2</sup> for short-distance transport. The age and bodyweight (mean  $\pm$  standard deviation) at the time of transport were 8.0  $\pm$  0 months and 197.9  $\pm$  34.0 kg in Group L and 8.8  $\pm$  0.7 months and 300.4  $\pm$  42.6 kg in Group S, respectively, and were significantly different between the two groups ( $p<0.05$ ). Hair samples were collected twice, before transport and 72 days after arrival. Fecal and blood samples were collected three times, before transport, upon arrival at the facility, and 72 days after arrival. Hair cortisol concentration (h-Cort) and fecal cortisol metabolite concentration (f-Cort) were measured as stress indicators. The mean h-Cort before transport and 72 days after arrival was 6.8 and 11.7 pg/mg in Group L and 3.9 and 1.5 pg/mg in Group S. The mean h-Cort was significantly reduced in Group S ( $p<0.05$ ). By comparison between the groups, post-arrival h-Cort in the long-distance group was significantly higher than in the short-distance group ( $p<0.01$ ). The mean f-Cort before transport, at arrival, and at 72 days after arrival was 5.1, 60.9, and 37.7 pg/mg in the long-distance group and 30.6, 28.8, and 15.2 pg/mg in the short-distance group, respectively. It was significantly lower at 72 days compared to the baseline value in the short-distance group ( $p<0.05$ ). By comparison between the groups, the long-distance group had significantly lower values before transport and higher values at arrival and 72 days after arrival compared to the short-distance group ( $p<0.01$  or 0.05). By blood chemical analysis, significantly lower vitamin A and significantly higher free fatty acids (FFA) were observed on arrival in both groups compared to baseline values ( $p<0.05$ ). In particular, the increase in FFA was larger in the long-distance group than in the short-range group. These findings indicate that long-distance transport might have a severe and prolonged impact on the stress status of cattle.

—**Key Words** : Fecal cortisol metabolites concentration, Hair cortisol concentration, Long-distance transport, Stress

† *Correspondence to : Toshihide Kato (Department of Large Animal Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University)  
582 Bunkyoudai Midorimach, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan  
E-mail : ktoshi@rakuno.ac.jp*

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 12(1): 1-7, 2021