

## バイパスビタミンC, パントテン酸, 飼料用酵母, カビ毒吸着材を含む混合飼料がホルスタイン種雌牛のルーメン液のpHおよび揮発性脂肪酸組成に及ぼす影響

田川伸一<sup>1,3</sup>, 吉田智佳子<sup>1</sup>, 伊藤有希菜<sup>1</sup>, 佐藤駿介<sup>1</sup>, 星野由芽<sup>1</sup>, 田中繁史<sup>1</sup>,  
西川孝一<sup>1</sup>, 國實寿典<sup>2</sup>

<sup>1</sup>新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター村松ステーション, 〒959-1701新潟県五泉市石曾根6934

<sup>2</sup>清水港飼料株式会社研究所, 〒273-0005千葉県船橋市本町2丁目10-14 船橋サウスビル8階

<sup>3</sup>現所属, 日本甜菜製糖株式会社総合研究所, 〒080-0831北海道帯広市稲田町南9線西13番地

### The effects of mixed feed contained rumen protected vitamin C, pantothenic acid, yeast and mycotoxin adsorbent on ruminal pH, volatile fatty acid composition in rumen fluid of Holstein cows.

Shin-ichi Tagawa<sup>1,3</sup>, Chikako Yoshida<sup>1</sup>, Yukina Ito<sup>1</sup>, Syunsuke Sato<sup>1</sup>, Yume Hoshino<sup>1</sup>, Shigefumi Tanaka<sup>1</sup>,  
Takakazu Nishikawa<sup>1</sup>, Hisanori Kunizane<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Field Center for Sustainable Agriculture and Forestry, Muramatsu Station, Faculty of Agriculture, Niigata University,  
Gosen, Niigata, 〒959-1701, Japan

<sup>2</sup>Shimizuko Shiryo Co., Ltd., Research Center, Funabashi, Chiba, 〒273-0005, Japan

<sup>3</sup>Present address, Nippon Beet Sugar Manufacturing Co., Ltd., Research Center, Obihiro, Hokkaido, 〒080-0831, Japan

2021年7月21日受付, 2022年6月1日受理

## 緒 言

乳牛は, 高温ストレスにより体温の上昇および乾物摂取量の減少がみられ, 加えて乳量と増体量の減少および乳成分率と受胎率の低下がみられる(農業食品産業技術総合研究機構, 2007; Polsky と von Keyserlingk, 2017; Liuら, 2019)。これらのような高温ストレスによる乳牛の生産性の低減を抑えるために送風, 散水, 細霧の組み合わせが有効であるといわれている(農業食品

産業技術総合研究機構, 2007)。更に, 乳牛の高温ストレスを緩和するために抗酸化作用をもつバイパスビタミンC(加藤ら, 2009; 土佐ら, 2016), そして, 乳牛の高温ストレスを緩和して乳量の減少を抑えることを目的として酵母(Chiquette, 1995; Al-Qaisiら, 2020; Perdomoら, 2020)を給与した試験が報告された。しかし, 乳牛を飼養する現場で, 目的の異なる複数の飼料添加物を, 同時にトップドレスなどの方法で給与することやTMRに混合することは, 作業が煩雑になるため実際の作業現場では難しい。ゆえに, これらを混合した飼料を給与し, その効果を調査する必要があると考えられる。

一方, これまで, 乳牛に不足しているといわれているパントテン酸の給与(Juchemら, 2012; Ferreiraら, 2015; Liuら, 2017), および, 高温時に飼料に発生し

\* 連絡者: 吉田 智佳子 (よしだちかこ)  
(新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター村松ステーション)  
〒959-1701 新潟県五泉市石曾根6934  
TEL: 0250-58-5737, FAX: 0250-58-7046  
E-mail: cyoshida@agr.niigata-u.ac.jp

やすいと考えられる、カビに由来する有害物質（カビ毒）を吸着するためのカビ毒吸着材を給与した試験が報告されている（Makiら, 2016; Jiangら, 2020）。そこで、近年、乳牛の生産性に望ましい働きをすると考えられるこれらの原料を組み合わせることでペレットに成形した混合飼料が製造された。

この混合飼料の給与による直接の影響は、先ず、ルーメン内発酵に現れると考えられる。これまで、ルーメン内の揮発性脂肪酸（Volatile fatty acid, VFA）含量は、酵母の給与によって（Perdomoら, 2020）、また、パントテン酸の給与によって（Liuら, 2017）高くなったことが報告された。すなわち、前述の混合飼料を給与した乳牛のルーメンでは、給与していない乳牛のそれと比べて繊維分解菌や乳酸利用菌が活躍し、その結果、ルーメン液中のVFA含量は多く、その組成が異なる可能性が考えられる。

一般的に、高温や泌乳、妊娠等のストレスは乳牛のルーメン内の性状に影響することが考えられる。ゆえに、これらのストレスとなる要因を取り除いた条件で、この混合飼料がルーメンの性状に及ぼす影響を調べる必要がある。そこで、本試験では、この混合飼料のルーメン内発酵に及ぼす効果を明らかにすることを目的として、高温ストレスのない時期に、泌乳および妊娠していないホルスタイン種雌牛を供してルーメン液のpH、VFAおよびVFA中の脂肪酸組成に及ぼす影響を調査したので報告する。

## 材料および方法

### 飼料および家畜試験方法

供試家畜の飼養は、新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター村松ステーション（以下附属農場とする、五泉市）産のオーチャードグラス主体のロール牧草サイレージ（2020年10月19日から11月9日まで給与したもの、5月14日刈り取り、10月6日開封、以下粗飼料Aとする、および、11月10日以降給与したもの、5月30日刈り取り、11月9日開封、以下粗飼料Bとする）を飽食とし、市販配合飼料（商品名：FP18、清水港飼料株式会社、石巻市）を現物重量で10.0kg、ビートパルプペレット（アメリカ産）を1.0 kg給与した（対照区）。混合飼料区は、粗飼料は対照区と同様に飽食とし、市販配合飼料を9.85 kg、ビートパルプペレットは0.5 kg、混合飼料を1.30 kg給与した区とした（混合飼料区）。市販配合飼料、ビートパルプペレットおよび混合飼料は午前9時と午後4時に自動給餌機により給餌し、粗飼料は同時に管理者が手で給与した。なお、水と鉱塩は自由摂

取とした。

市販配合飼料は、飼料成分表示表によると、トウモロコシ、加熱処理トウモロコシ、小麦粉、マイロが合わせて49%、大豆油かすと菜種油かすが合わせて24%、ふすま、コーングルテンフィード、米ぬか油かすが合わせて24%、炭酸カルシウム、糖蜜、食塩、パン酵母、リン酸カルシウムが合わせて3%から成る、ペレットと圧パントウモロコシの飼料であった。この市販配合飼料に含有する飼料添加物の名称は、ビタミンA、ビタミンD<sub>3</sub>、ビタミンE、炭酸マンガン、炭酸亜鉛、硫酸鉄、硫酸銅、硫酸コバルト、ヨウ素酸カルシウム、硫酸亜鉛メチオニンであった。なお、6月から9月の間はプロピオン酸カルシウムがプロピオン酸として0.08%含有された。

また、混合飼料は、原材料はとうもろこし、ふすま、米ぬか油かす、炭酸カルシウム、糖蜜、モンモリロナイト、酵母、そして、含有する飼料添加物として、ビタミンC、パントテン酸から成る、ペレット飼料であった。酵母は、商品名：アクリサフSC47（ワイピーテック株式会社、東京）、ビタミンCは、商品名：テクノコート70（ワイピーテック株式会社、東京）、モンモリロナイトは、商品名：ミズカバインダー（水澤化学株式会社、東京）が用いられた。すなわち、混合飼料1kgあたり、酵母（*Saccharomyces cerevisiae* strain Sc47）は $1 \times 10^{11}$ cfu、L-アスコルビン酸は21 g、モンモリロナイトは15g、D-パントテン酸カルシウムは1,000mg含まれると計算された。混合飼料に付された製品の使用方法には、体重100 kg に対し100 g/日を目安に給与、また高温ストレス時や体調不良が疑われる場合は増量すると書かれていたが、混合飼料の効果を明らかにするために推奨量の2倍量を目安に1.3 kg/日を給与した。

表1に供試した飼料の分析値を示した。粗飼料Aは水分含量44.8%の低水分サイレージで、乳酸含量は乾物中1.9%、酢酸含量は1.2%、酪酸含量は0.3%で比較的良好なものであった。粗飼料Bも水分は42.4%の低水分サイレージであった。なお、粗飼料Bの有機酸の分析はしなかった。すなわち、試験に供した飼料の水分含量を比較すると、粗飼料A、Bの水分が高かったのに対し、市販配合飼料、ビートパルプペレット、混合飼料は水分が11.4%以下と低かった。そして、粗たん白質（Crude protein, CP）含量は市販配合飼料が最も高く、乾物中21.8%であったのに対し、ビートパルプペレットは9.1%と最も低かった。しかし、中性デタージェント繊維（Neutral detergent fiber, aNDF）含量は市販配合飼料が最も低かったのに対し、ビートパルプペレットが最も高く43.9%であった。非繊維性炭水化物（Non-fibrous carbohydrate, NFC）は混合飼料が最も高く47.8%で

あったのに対し、粗飼料Aが最も低く3.9%であった。

### 供試動物

飼養試験は新潟大学動物実験規則に基づいて実施した。附属農場において飼養されるホルスタイン種雌牛4頭（それぞれの農場管理番号（10桁個体番号）および生年月日：10（1380599696）および2013年7月28日，12（1380599726）および2013年11月6日，44（1455199882）および2015年4月5日，56（1490700265）および2017年11月5日）を対照区と混合飼料区に2頭ずつグループ分けし、二重反転試験法（森本，1971）により、2020年10月19日から2020年12月8日までを3期に分けて実施した。すなわち、1期：10月19日から11月4日，2期：11月4日から11月25日，3期：11月25日から12月8日とし、各期の最終日に飼料給与後3時間目に経口的にルーメン液を採取した。各期の最終日に飼料給与後3時間目に経口的にルーメン液をルミナー胃汁採取器（富士平工業株式会社，東京）を用いて採取した。採取したルーメン液は、二重ガーゼを使って濾過し、pHメーター（HORIBA D-51，株式会社堀場エステック，京都市）でpHを測定した。その後、VFAの測定までマイナス20℃で冷凍保管した。

乾物摂取量は附属農場の管理上の都合で1期から3期の全期間で調べられなかったため、2期の11月9日から12日の連続3日間の2頭の採食量を測定し、各飼料の乾物率から1日の平均（平均±標準偏差）として算出し

た。すなわち、対照区は粗飼料を飽食とし、市販配合飼料を1日あたり10.0 kg、ビートパルプペレット1.0 kgを給与し、混合飼料区は対照区と同様に粗飼料を飽食とし、市販配合飼料を9.85 kg、ビートパルプペレットを0.5 kg、混合飼料を1.30 kg給与した。採食量は、朝の飼料給与前に食べ残された飼料を回収し、それを給与量から差し引いた値とした。採食量は、対照区（n=2）と試験区（n=2）で、乾物あたり、それぞれ粗飼料が8.09±0.65 kgおよび7.99±0.24 kg、配合飼料が8.86±0.0 kgおよび8.73±0.0 kg、ビートパルプペレットが0.92±0.0 kgおよび0.46±0.0 kg、混合飼料が無給与および1.16±0.0 kgであった。

### 化学分析

VFA含量は、水流ら（2009）を参考に、凍結して保管したルーメン液のサンプルを室温で解凍後、7200×gで10分間遠心分離し、その上澄み部をHPLC（Prominence有機酸分析システム，株式会社島津製作所，京都）で測定した。HPLCカラムにShim-Pack SCR102H（株式会社島津製作所，京都），移動相に4mM p-トルエンスルホン酸を用いて、流速0.6 ml/min，温度40℃で各有機酸を分離した。分離後、流速0.6 ml/minの緩衝液（4 mM p-トルエンスルホン酸，16 mM ビストリス，0.078 mM EDTA）を混合し、電気伝導度検出器（CDD-10Avp，株式会社島津製作所，京都）で検出した。乳酸，酢酸，プロピオン酸，i酪酸，n酪酸，i吉草酸およ

表1. 試験に供した飼料の化学組成

		粗飼料A	粗飼料B	市販配合飼料	ビートパルプ	混合飼料
水分	現物中%	44.5	42.4	11.4	7.6	11.3
粗蛋白質	乾物中%	12.1	9.8	21.8	9.1	13.9
SIP	%CP	47.0	46.0	23.0	21.0	25.0
粗灰分	乾物中%	11.8	6.8	6.9	6.5	8.1
粗脂肪	乾物中%	3.7	3.8	3.0	1.0	3.7
aNDF	乾物中%	71.8	63.1	23.3	43.9	26.4
ADF	乾物中%	39.9	39.1	10.6	26.7	10.4
NFC	乾物中%	3.9	19.3	45.0	39.6	47.8
カルシウム	乾物中%	0.4	0.4	0.7	1.3	1.6
リン	乾物中%	0.4	0.3	0.6	0.1	0.6
マグネシウム	乾物中%	0.3	0.2	0.3	0.4	0.3
カリウム	乾物中%	3.6	3.5	1.1	0.3	0.9
塩素	乾物中%	0.9	0.7	0.3	0.0	0.1
硫黄	乾物中%	0.3	0.2	0.3	0.5	0.2
銅	乾物中ppm	11.0	7.0	13.0	13.0	12.0
亜鉛	乾物中ppm	23.0	16.0	89.0	17.0	74.0
マンガン	乾物中ppm	421.0	365.0	83.0	118.0	124.0
鉄	乾物中ppm	105.0	166.0	199.0	1230.0	429.0
DCAD	meq/100g dietDM	60.5	67.9	12.8	-12.8	18.2
テタニー比	K/(Mg+Ca)当量	2.4	2.6	0.5	0.1	0.2

SIP：溶解性蛋白質；aNDF：中性デタージェント繊維；ADF：酸性デタージェント繊維；NFC：非繊維性炭水化物；DCAD：イオンバランス

びn吉草酸を定量し、それらの割合を求めた。なお、粗飼料AとB、市販配合飼料、ビートパルプペレットおよび混合飼料は、水分、CP、溶解性蛋白質 (Soluble Intake Protein, SIP)、粗灰分、粗脂肪、aNDF、酸性デタージェント繊維 (Acid detergent fiber, ADF)、NFC、カルシウム、リン、マグネシウム、カリウム、塩素、硫黄、銅、亜鉛、マンガン、鉄を分析し、イオンバランス (Dietary Cation-Anion Difference, DCAD) およびテタニー比を計算した。これらは全国酪農業協同組合連合会分析センター (神栖市) に依頼した (表1)。

### 統計処理

統計処理はSAS® OnDemand for AcademicsのMIXEDプロシジャを用いて、分類変数群および固定効果群をそれぞれ試験期および添加物処理とし、従属変数をpH、VFA総量、乳酸、酢酸、プロピオン酸、i酪酸、n酪酸、i吉草酸およびn吉草酸として計算し、対照区と混合飼料区の比較を行った。

### 結果および考察

表2にルーメン液のpH、VFA総量 (mmol/L)、乳酸、酢酸、プロピオン酸、i酪酸、n酪酸、i吉草酸およびn吉草酸の割合 (%) を示した。本試験の結果、試験期による違いはみられなかった。また、対照区と混合飼料区のルーメン液のpHはそれぞれ6.8と6.7、VFA総量は76.3と80.3 mmol/L、乳酸は0.1と0.6%、プロピオン酸は18.6と17.8%で、pH、VFA総量および脂肪酸組成に混合飼料の効果は認められなかったが、混合飼料区の方がわずかに高かった。このことから、混合飼料給与により飼料に占める濃厚飼料の割合が増えて乳酸やプロピオン酸がわずかに多く生成されたが、乳牛のルーメン内の発酵の著しい変動なく利用できることが示された。本試

験結果では、飼料摂取量とルーメン液の性状のみの結果では混合飼料の給与の影響が殆どみられなかったため、この混合飼料を実際に泌乳牛に給与し、乳牛の生産性を調査するための試験が必要であった。そして、飼料添加物を混合給与する場合には、飼料添加物の単独の作用とそれらの相乗効果や相殺効果が起きる可能性が懸念される。そして、これらの飼料添加物の投与量の差について調査するために、混合飼料中の添加物を定量する必要があるが、附属農場での試験期間の制約と試験に供試できる牛の都合により、飼料添加物の相互作用を調査すること、添加物の定量はできなかった。

本報告では、本試験で供した混合飼料に含まれていたバイパスビタミンC、酵母、パントテン酸およびカビ毒吸着剤について、これらを単体で給与して乳牛のルーメン液の性状および乳生産性を調べた報告と本試験の結果を比較する。

本試験と同じバイパスビタミンCを泌乳牛に給与した研究グループの報告では、乳脂肪率や体細胞数に差は認められなかったことを報告した (加藤ら, 2009; 土佐ら, 2016)。バイパスビタミンCは、ルーメン内で分解されないように加工されているので本試験結果はビタミンCの加工の効果が得られたものと考えられた。また、Jiangら (2020) は、乳牛のルーメン液を用いたin vitro培養試験で、アフラトキシンB1を添加したトウモロコシサイレージを培養した場合、カビ毒吸着剤としてのベントナイトおよび酵母の添加によって培養液中のVFA量が増えたことを報告した。しかし、本試験ではVFA量の上昇はみられなかった。このことから、本試験で用いた飼料中にカビ毒が少なかったと推察された。

酵母を給与した報告によると、Chiquette (1995) は本報告の結果と同じようにVFA総量に効果が見られな

表2. ルーメン液のpH、揮発性脂肪酸総量 (mmol/L) およびその割合 (%) に及ぼす混合飼料給与の影響

	単位	対照区	混合飼料区	標準誤差	P値	
					試験期	添加物
pH		6.8	6.7	0.03	0.10	0.09
揮発性脂肪酸	mmol/L	76.3	80.3	3.94	0.13	0.39
乳酸	%	0.1	0.6	0.20	0.36	0.38
酢酸	%	64.9	64.8	0.26	0.26	0.71
プロピオン酸	%	18.6	17.8	0.26	0.13	0.39
i-酪酸	%	0.6	0.7	0.06	0.80	0.51
n-酪酸	%	13.1	13.3	0.23	0.80	0.69
i-吉草酸	%	1.3	1.5	0.06	0.47	0.45
n-吉草酸	%	1.4	1.3	0.04	0.90	0.30

かったことを報告したが、Perdomoら（2020）はVFA総量、酢酸およびi吉草酸含量が高くなったことを報告した。Perdomoら（2020）は飼料給与後7-8時間でルーメン液を採取しており、本試験では飼料給与後3時間でルーメン液を採取したことから、ルーメン液を採取する時間による影響が考えられた。また、飼料給与後3時間目に採取したルーメン液はpH6.7以上でChiquette（1995）のそれと比べて高く、経口採取による唾液の影響が強かったものと思われた。本試験では附属農場のホルスタイン種雌牛にフィステル装着牛がないため経口採取としたが、唾液が影響しないように採取の方法を改善する必要があったと考えられた。一方、酵母の乳生産性に及ぼす影響を調べたZhuら（2016）は高温ストレス下の乳牛で乳量および日増体量が増加したこと、Perdomoら（2020）は乳蛋白質量の増加したことを報告している。酵母の給与は、Chiquette（1995）が述べる通り、採食量の増加、繊維分解性菌および生菌数の増加、ルーメン液中のVFA総量の増加、pHの上昇、ルーメン液中の乳酸量の減少、消化率の上昇、そして乳量の増加を狙う。これらは高温や穀類多給などのストレス下で効果がみられることが考えられる。しかし、本試験では、ストレスを抑えるために高温ストレスのない時期に、泌乳および妊娠していないホルスタイン種雌牛を供して行った。したがって、一般的に乳牛に負荷されるストレスが少ない条件であったために、濃厚飼料を多給してもルーメン内環境が良好に維持され、ルーメン内環境を改善するという酵母の効果が不明瞭であったと考えられた。

パントテン酸は、ルーメン内で分解されるために乳牛にとって十分な量を満たすことは難しいが、ルーメン内の微生物の合成を高めることが知られている（Liuら、2017）。そこで、Liuら（2017）はパントテン酸を肉用牛に給与しルーメン液のA/P比が3.36と3.83に上昇したことを報告した。表2よりA/P比を計算すると、対照区3.5、混合飼料区3.6であった。本試験の対照区のA/P比は、Sacaduraら（2008）のパントテン酸を給与した区と同程度であり、対照区でルーメン発酵が十分に行われていたと考えられた。パントテン酸の給与効果は給与した飼料の組成によって変わることから（Sacaduraら、2008）、給与される飼料が穀物多給条件になっているなど、特にストレスがあるときにパントテン酸の効果が得られることが考えられた。今後、混合飼料をストレス条件下の乳牛に給与し、乳牛の生産性を調べる必要があると考えられた。

以上の結果より、混合飼料の給与によってVFAには差異はみられず、この混合飼料は乳牛のルーメン内の発

酵の著しい変動なく利用できることが示された。飼料添加物の効果を検討するためには混合飼料に含まれる飼料添加物の相互作用等を調べる必要であると考えられたが、本試験では行うことができず、飼料添加物の単体の給与試験を同時に行うなど、試験手法の検討が必要であった。また、本試験で供した混合飼料の効果を調べるため、今後、高温ストレス下の泌乳牛にこの混合飼料を給与して、ストレスの軽減や生産性に及ぼす影響を調査する必要があると考えられた。

## 謝 辞

本論文を纏めるにあたり、山形大学農学部准教授 松山裕城 博士にご校閲を賜りました。また、化学分析にあたり、新潟県農業総合研究所畜産研究センター 生産・環境科 専門研究員 小柳 渉 博士にご指導いただきました。感謝申し上げます。

## 参考文献

- Al-Qaisi M, Horst EA, Mayorga EJ, Goetz BM, Abeyta MA, Yoon I, Timms LL, Appuhamy JA, Baumgard LH. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on heat-stressed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103: 9634-9645. 2020.
- Chiquette J. *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae*, used alone or in combination, as a feed supplement for beef and dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 75: 405-415. 1995.
- Ferreira G, Brown AN, Teets CL. Effect of biotin and pantothenic acid on performance and concentrations of avidin-binding substances in blood and milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:6449-6454. 2015.
- Jiang Y, Ogunade IM, Arriola KG, Pech-Cervantes AA, Kim DH, Li X, Xue YL, D. Vyas, Adesogan AT. Effects of a physiologically relevant concentration of aflatoxin B1 with or without sequestering agents on in vitro rumen fermentation of a dairy cow diet. *J. Dairy Sci.* 103: 1559-1565. 2020.
- Juchem SO, Robinson PH, Evans E. A fat based rumen protection technology post-ruminally delivers a B vitamin complex to impact performance of multiparous Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174: 68-78. 2012.
- 加藤真姫子, 渡遺 潤, 植村鉄也. 牛の乳汁中体細胞数減少に対するビタミンC, Eの効果 (第1報). 秋田畜試研報23: 9-15. 2009.
- Liu J, Li L, Chen X, Lu Y, Wang D. Effects of heat stress on

- body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: a novel idea for monitoring and evaluation of heat stress. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 32: 1332-1339. 2019.
- Liu Q, Wang C, Li HQ, Guo G, Huo WJ, Pei CX, Zhang SL, Wang H. Effects of dietary protein levels and rumen-protected pantothenate on ruminal fermentation, microbial enzyme activity and bacteria population in Blonde d'Aquitaine × Simmental beef steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 232: 31-39. 2017.
- Maki CR, Monteiro APA, Elmore SE, Tao S, Bernard JK, Harvey RB, Romoser AA, Phillips TD. Calcium montmorillonite clay in dairy feed reduces aflatoxin concentrations in milk without interfering with milk quality, composition or yield. *Anim. Feed Sci. Technol.* 214: 130-135. 2016.
- 水流正裕, 百瀬義男, 高井智之, 中山利明, 渡辺晴彦. フレール型収穫機で収穫・調製したイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum Lam.*) およびライムギ (*Secale cereale L.*) のロールペールサイレージ品質. *日草誌* 54: 295-299. 2009.
- 森本 宏. 動物栄養試験法. 養賢堂. 東京. 1971.
- 農業食品産業技術総合研究機構編. 日本飼養標準乳牛 (2006年版) 中央畜産会. 東京. 2007.
- Perdomo MC, Marsola RS, Favoreto MG, Adesogan A, Staples CR, Santos JEP. Effects of feeding live yeast at 2 dosages on performance and feeding behavior of dairy cows under heat stress. *J. Dairy Sci.* 103:325-339. 2020.
- Polsky L, von Keyserlingk MAG. Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J. Dairy Sci.* 100:8645-8657. 2017.
- Sacadura FC, Robinson PH, Evans E, Lordelo M. Effects of a ruminally protected B-vitamin supplement on milk yield and composition of lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144: 111-124. 2008.
- 土佐 進, 谷原礼輪, 三好里美, 高橋和裕. ビタミンC バイパス油脂給与による乳牛の暑熱対策効果. *香川畜試報告* 50: 5-8. 2016.
- Zhu W, Zhang BX, Yao KY, Yoon I, Chung YH, Wang JK, Liu JX. Effects of supplemental levels of *saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance in dairy cows under heat stress. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 29: 801-806. 2016.