

## 電気牧柵での管理がウマの血漿中コルチゾール濃度、心拍数および心電図 RR 間隔変動の概日リズムと放牧時の行動に及ぼす影響

里見 匠望・松浦 晶央\*

北里大学大学院獣医学系研究科  
青森県十和田市東二十三番 35-1 〒 034-8628

2016年9月27日受付, 2016年11月15日受理

### 要約

電気牧柵を用いた放牧管理がウマにおよぼす影響を評価するため、固定柵の放牧地に放牧した場合（C区）と電気牧柵の放牧地へ放牧した場合（E区）の両区で各種ストレス指標の概日リズムおよび放牧時の行動を比較した。供試動物をこれまで電気牧柵に触れたことのない乗用馬3頭として両区に同じウマを用い、1日90分間の放牧をした。1週間の馴致期間の後、C区を連続して2日間、E区を連続して2日間の合計4日間にわたって、1日5回の採血、心電図の連続測定（10時から翌日8時まで）をおこない、放牧中にビデオ撮影をした。評価指標を血漿中コルチゾール濃度、心拍数、および心電図 RR 間隔変動の概日リズムと放牧時間中の行動指標とした。コルチゾールおよび心拍数においては、両区で同様の概日リズムが見られた。また、コルチゾールはE区でC区よりも全体的に低く推移するように見受けられた。心電図 R-R 間隔変動では、交感神経活動の指標である LF/HF にC区で概日リズムが見られたものの、E区1日目では乱れがあった。放牧中の行動には全項目で有意差はなかった。以上より、電気牧柵を用いた放牧管理はウマの血漿中コルチゾール濃度と心拍数の概日リズムおよび行動に大きな影響を及ぼさないが、交感神経活動に影響を及ぼす可能性があるため、初めて用いる場合には管理上の注意が必要であると考えられた。

キーワード：ウマ、行動、概日リズム、ストレス、電気牧柵

東北畜産学会報 66(3): 65 ~ 71 2017

### 緒言

アニマルウェルフェアの概念として5つの自由、すなわち、飢えと渇きからの自由、不快からの自由、痛み、傷害および疾病からの自由、正常行動を発現する自由、および恐怖と苦悩からの自由がある（FAWC, 1993）。アニマルウェルフェアの考え方に対応したウマの飼養管理指針によると、放牧管理は5つの自由のひとつである正常行動を発現する自由が満たされやすい飼養方式とさ

れている（日本馬事協会, 2011）。放牧管理に用いる牧柵には固定柵と電気牧柵があり、電気牧柵は固定柵に比べて移動や設置が容易であり総合的な経費が安価であるが、電気刺激や痛みによる心理柵として機能する点から、ウェルフェアを考える上ではウマへの過剰なストレスが懸念される。一般に、継続的な過剰ストレスは免疫力の低下など有害な影響を及ぼすため、快適性に配慮した飼育管理を実現する上で、動物が受けるストレスの程度を把握し、適切なストレス環境下で動物を飼育管理することが重要である。

ストレスに対する生体反応として、自律神経系を介する視床下部—交感神経—副腎髄質系と、内分泌系を介する視床下部—下垂体—副腎皮質系が知られている。

\* 連絡者：松浦 晶央（まつうら あきお）  
〒 034-8628 青森県十和田市東二十三番町 35-1  
Tel 0176-249344  
E-mail matsuuraj@vmas.kitasato-u.ac.jp

自律神経系の評価には心拍数や心電図 RR 間隔変動が (Akselrod ら, 1981; Kuwahara ら, 1996; Matsuura ら, 2016)、内分泌系の評価としては、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) や副腎皮質ホルモン (Vincent と Michell, 1992; Marc ら, 2000) がしばしば用いられる。代表的な副腎皮質ホルモンとして、コルチゾール、コルチゾン、およびアルドステロンがあるが、この3種類のうちコルチゾールの半減期が60分から90分間と最も長い(稲葉, 1977)。本研究では同時に複数頭の採血をおこなうため、半減期の長い血漿中コルチゾール濃度を内分泌系のストレス指標として用いることとした。

血漿中コルチゾール濃度 (Irvine と Alexander, 1994) と心電図 RR 間隔変動 (Kuwahara ら, 1999) には概日リズムが存在する。コルチゾール濃度も心拍数もストレスにより上昇するが、その上昇が普段の概日リズムの変動内におさまっていたならばウマが日常的に許容できるストレスを受けたのみと考えられ、逆にそれらの値が概日リズムの変動範囲を超えて上昇したならば、日常の飼育管理下では経験しない重大なストレスを受けたと考えることができる。すなわち、これらの概日リズムの乱れにより、ストレスの程度を客観的に判断できることとなる。そこで、電気柵を用いた場合のウマのストレス応答を把握するため、初めて電気柵放牧地で放牧した場合 (E 区) と普段放牧されている固定柵放牧地

で放牧した場合 (C 区) において、血漿中コルチゾール濃度、心拍数および心電図 RR 間隔変動を測定し、特に、各測定項目の概日リズムに着目して両区の比較を行った。あわせて、両区の放牧時間中の行動を比較した。

## 材料および方法

本研究における動物実験は、北里大学獣医学部動物実験委員会の承認を得て実施した。

### 1. 供試動物

供試動物はこれまで電気柵に触れたことのない乗用馬3頭とし、両区に同じウマを用いた。供試動物の年齢、性別、品種、体尺、および体重を表1に示した。10:00、17:00、21:00、翌日6:00にチモシー2番刈り乾草2kg (以下すべて原物重量) を給餌し、これに加え10:00に生草10kgを、17:00と翌日6:00に濃厚飼料 (ペレット: 0.3~0.7kg、ふすま: 0.3~1.3kg) とミネラル (60~120g) を給餌した。

### 2. サンプル採取方法および測定方法

実験は2014年9月から10月におこなった。実験期間は7日間の馴致期間と4日間の測定期間からなった。表2に実験期間における気温および湿度を示した。馴致期

表1. 供試動物の概要

No.	性別	年齢	品種	体高 (cm)	体長 (cm)	胸深 (cm)	胸囲 (cm)	管囲 (cm)	体重 (kg)
1	メス	10	北海道和種	141.8	174.0	71.6	182.4	18.6	485.5
2	去勢オス	6	北海道和種 × ハフリンガー	145.1	161.5	67.5	170.2	18.8	415.0
3	去勢オス	11	サラブレッド	159.5	167.3	75.4	185.7	19.9	510.5
平均値±SD				148.8±9.4	167.6±6.3	71.5±4.0	179.4±8.2	19.1±0.7	470.3±49.5

表2. C区およびE区における気温および湿度

	1日目		2日目		平均	
	C区	E区	C区	E区	C区	E区
気温(°C) <sup>a</sup>	18.7	18.2	19.8	18.5	19.3	18.4
湿度(%) <sup>b</sup>	76.1	74.1	71.5	75.9	73.8	75.0

<sup>a</sup> 1日の平均気温を示す

<sup>b</sup> 1日の平均湿度を示す

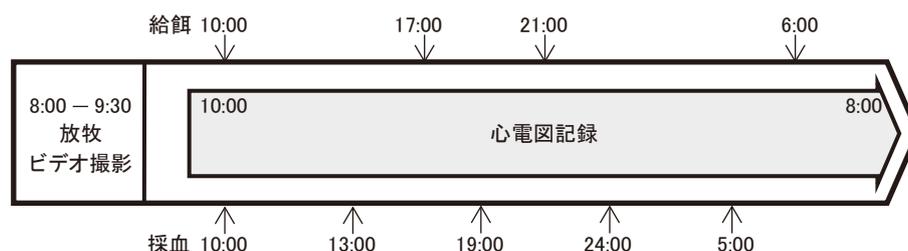


図1 測定期間中の1日のスケジュール

間には、1日交代で8:00から9:30まで固定柵放牧地での放牧と、調馬索あるいは騎乗運動をおこなった。測定期間には、図1に示すタイムスケジュールに従い、放牧、採血、心電図記録、およびビデオ撮影をおこなった。すなわち、両区で8:00から9:30まで放牧とビデオ撮影をおこなった後、10:00に蹄洗場にウマをつなぎ、頸静脈から5 mlの採血をして直ちにヘパリンナトリウム入り試験管に移し、ホルター心電計を装着して馬房に戻した。その後、13:00、19:00、24:00、翌日5:00に同様に採血をおこなった。ホルター心電計を翌日8:00まで装着し続け、心電図を22時間連続的に記録した。

血液サンプルは、小型遠心機で6200 rpm、2000 G、10分間遠心分離をおこない、血漿のみを分析時まで-30℃で保存した。分析時には1時間室温で解凍した後、キット (Cayman CHEMICAL Cortisol Express EIA Kit) を用いてEIA法によりコルチゾール濃度を測定した。心電図電極は、ウマのキ甲から左側肩関節を結ぶ線上の1/4、左側肩甲骨の下から1/3、左側肘頭から10cm後方の3ヶ所に付け、AB誘導により心電図を測定した(松浦ら, 2008)。心拍変動解析にはSCM-6000システム(フクダ電子)を用い、RRデータ解析システム(MemCalc/CHIRAM, 諏訪トラス)により解析した。放牧開始時から90分間ビデオカメラで撮影をおこない、行動コーディングシステム(ディケイエイチ)を

用いて、立位休息、採食、牧柵に接触、移動の4項目の合計時間を計測した。

### 3. 統計解析

統計解析には解析ソフトSPSSを用いた。竹原(2011)に従って、処理および時間を要因として反復測定二元配置分散分析をおこない、有意な交互作用あるいは主要因があった場合、多重比較(Bonferroni法)をおこなって処理の単純主効果を評価した。立位休息、採食、牧柵に接触、移動の4項目における合計時間については、Wilcoxonの符号付検定により両区の差を評価した。

## 結果

図2にC区およびE区の血漿中コルチゾール濃度の変化を示した。C区では1.94~12.73 ng/ml、E区では1.03~6.00 ng/mlの範囲で推移し、交互作用(処理×時間)は有意であった( $P<0.05$ )。両区で朝方から夕方にかけて減少し、夕方から朝方にかけて増加する概日リズムが見られた。E区がC区と比較して1日目5時と2日目5時に有意に低く( $P<0.05$ )、2日目10時で低い傾向があった( $P<0.1$ )。

心拍数および心電図RR間隔変動に関して、ウマ1のC区2日目24時と5時、ウマ2のE区2日目19時、

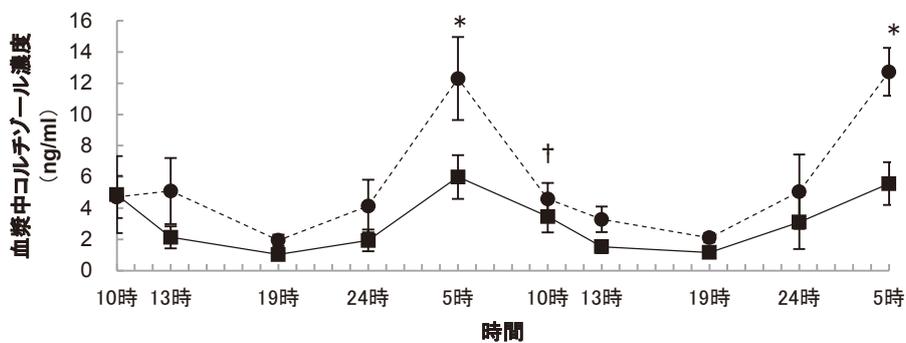


図2 C区(●)およびE区(■)における血漿中コルチゾール濃度の変化  
エラーバーは標準誤差を示す  
( $n=3$ 、牧柵×時間  $P<0.05$ 、\* $P<0.05$ 、† $P<0.1$ )

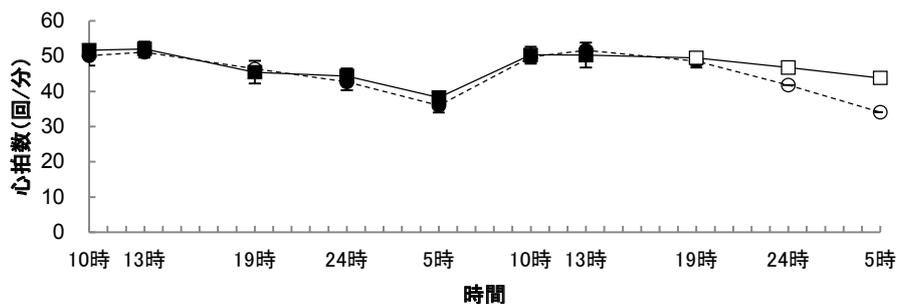


図3 C区(○)およびE区(□)における心拍数の変化  
( $n=3$ であるが、およびはデータの欠損を示す)

およびウマ3のC区1日目19時とE区2日目19時、24時、および5時において心電計の電極が外れて測定ができなかった。そのため、心拍数および心電図RR間隔変動図の結果については統計処理ができなかった。図3に両区の心拍数の変化を示した。C区では34.1～51.6拍/分、E区では38.3～52.0拍/分の範囲で推移し、両区で朝方から日中にかけて増加し、日中から朝方にかけて減少する概日リズムが見られた。

図4に両区のLF/HF（交感神経活動の指標）の変化を示した。C区1日目と2日目およびE区2日目で朝方から日中にかけて増加し、日中から朝方にかけて減少する概日リズムが見受けられた。一方、E区1日目は夕方まで増加し、夜中には減少するものの、朝方に再び上昇する変化が見られた。図5に両区のHF（副交感神

経活動）の変化を示した。両区で朝方から日中にかけて減少し、日中から朝方にかけて増加する概日リズムが見受けられたが、特に1日目に関してE区でC区よりも低く推移するように見受けられた。

図6に両区での放牧時の90分間あたりの行動の合計時間を示した。立位休息、採食、牧柵に接触、および移動の4項目すべてにおいて、両区間に有意差はなかった。

## 考 察

乗用馬あるいは競走馬は一般的に蹄鉄が装着されており、他個体と物理的に接触すると重大な損傷に直結することから、放牧による群管理を避けるのが一般的である。さらに、調教者は日常的にこれらを調教する必要があり、

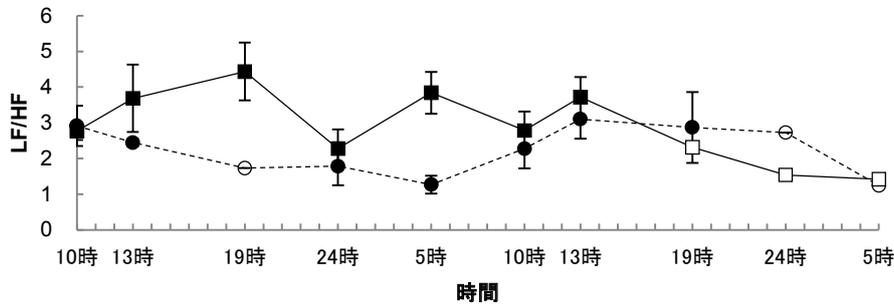


図4 C区 ( ) およびE区 ( ) におけるLF/HFの変化  
(n=3であるが、およびはデータの欠損を示す)

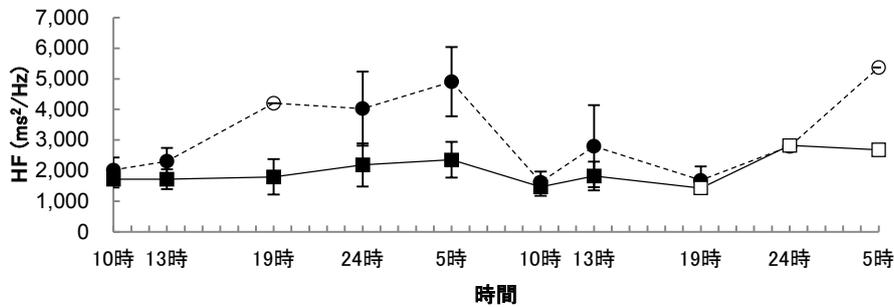


図5 C区 ( ) およびE区 ( ) におけるHFの変化  
(n=3であるが、およびはデータの欠損を示す)

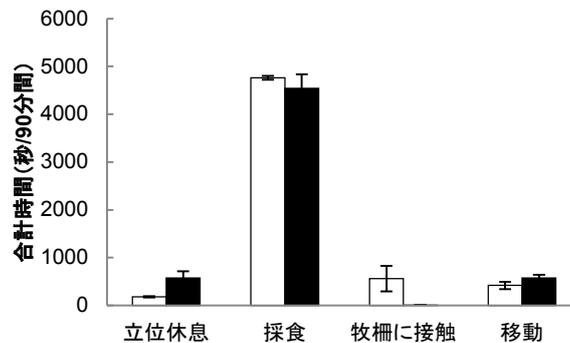


図6 C区 ( ) およびE区 ( ) における90分間あたりの放牧時の行動時間  
エラーバーは標準誤差を示す (n=3)

すぐに装鞍をして調教できるように、一日の大半を馬房の中で管理するのが一般的である。しかし、24時間のうち調教時間以外の時間をすべて狭い馬房内で単飼すると、しばしば柵癖や熊壁などといった異常行動が発現され、健康上大きな問題となる。一方、乗馬施設の限られた敷地内に管理馬全頭の放牧地を確保することは極めて困難であるため、数か所の放牧地内に1頭ずつ順番にウマを放すこととなり、必然的に放牧時間は数時間に制限され、放牧地も裸地化する傾向にある。繁殖雌馬、仔馬、あるいは養老馬には装蹄せず調教も課さないため、ウシやヒツジなどと同様、広大な放牧地に長時間多頭数で放牧することが例外的に可能であるが、群で長時間放牧管理できないといった事情は、乗用馬特有の飼育管理上の制約といえる。本研究では、こうした乗用馬の一般的な飼育管理方式を想定し、90分間という短時間かつ単頭の放牧条件下で試験を行うこととした。

ウマの血漿中コルチゾール濃度は、6時から9時に最大値となり18時から21時に最小値となる概日リズムを示す(IrvineとAlexander, 1994)。Giannettoら(2014)もウマの血清中コルチゾール濃度は日の出開始時に最大値となる概日リズムを示すと指摘しており、本研究における両区のコルチゾール濃度の結果はこれらの先行研究に一致した。したがって、90分間/日の電気柵での放牧は、血漿中コルチゾール濃度の概日リズムそのものを乱す刺激にはならないと考えられた。コルチゾール濃度がE区でC区よりも低く推移した点については、各種作業を反復するうちに供試動物が慣れた可能性が考えられた。本研究の目的上、初めて電気柵の放牧を体験するウマを供試動物とする必要があったが、初めて電気柵に触ったウマはその強烈な刺激から、柵へのその後の接触を極端に控えることが当初想定された。実験計画法の観点から、測定順のランダム化としてC区→E区とE区→C区のカウンターバランスをとる必要があるが、E区を先に測定するとその後のC区における放牧時の行動に大きな変化が生じる可能性があったために、本研究では測定順のランダム化をおこなわずにC区→E区の順番で測定をおこなった。しかしながら、結果的には反復作業による測定行為そのものへの馴化が影響することとなったため、今後はC区→E区→C区の試験デザインを採用してさらに厳密な計画で再検討する必要がある。

Ohmuraら(2006)によると、安静時のウマ(サラブレッド種、2歳)の心拍数は11時に41.0拍/分の最大値となり、3時に34.6拍/分の最小値をとる概日リズムを示し、有意な正弦関数モデルがあてはまる。本研究における両区の心拍数の結果もこの結果にほぼ一致したた

め、本研究条件下での電気柵での放牧はウマの心拍数の概日リズムに乱れを起こす刺激にはならないと考えられた。一方、統計的に解析不可であるものの、電気柵1日目には交感神経系の指標であるLF/HFが乱れ、副交感神経系の指標であるHFが低く推移するよう見受けられた現象は、新奇環境ストレスによる影響の可能性が考えられた。

動物のトレーニングにはしばしばオペラント条件づけが利用される。オペラント条件づけとは行動が生じた直後の環境変化によってその行動頻度が変容する現象を指す(楠瀬, 1995)。オペラント条件づけには、強化子出現による行動の強化(正の強化)、強化子消失による罰(負の罰)、罰子出現による罰(正の罰)、および罰子消失による強化(負の強化)の4つのタイプがあるが、罰を用いたトレーニングは、動物の福祉的側面から、あるいはその効果や副次的効果から避けるべきものとされている(内田と菊水, 2008)。マグフォード(1999)によると、イヌのトレーニング目的に利用される電気ショックカラーは非人道的なものであり、有効でない場合が多く、イヌの安心感を著しく損なうこともあるとされている。Schalkeら(2007)は、イヌが電気刺激と自分自身の行動とを明らかに関連付けられる状況下では唾液中コルチゾール濃度の上昇がみられないが、気まぐれに電気刺激を与えた際、あるいは事前に訓練したコマンドに従わなかった場合に電気刺激を与えた際にはコルチゾール濃度が上昇する現象を見出し、電気刺激を誤ったタイミングで与えるとイヌに大きなストレスを誘発するとした。その上で、電気ショックカラーの利用には厳格な資格証明を課し、特別な場合の使用に制限されるべきであると指摘している。

アメリカ獣医動物行動学研究会によると、罰を用いる際に必ず留意すべき点として、タイミングの難しさ、罰を提示したりしなかったりした場合の不適切な行動の増強、罰に対する慣れによる刺激強度の際限ない増強、罰刺激による身体的損傷、罰による恐怖反応の増強、タイミングの悪い罰刺激からの回避による攻撃の増加、罰による突発的攻撃の誘発、罰を与えたヒトやその環境と罰とを不適切に結びつける連合学習、および罰では好ましい効果を教えることができない、といった9つの点を指摘している(内田と菊水, 2008)。電気ショックカラーは様々な行動に対して利用される可能性があるが、これら9つの留意点全てと結びついている。一方、電気柵への接触はウマにとって正の罰として学習されるが、上記9つの留意点に関して電気ショックカラーの誤用とは対照的である。まず、電気柵の刺激にはタイミングの違いがなく、接触時には毎回確実に同じ強度の刺激が即

座に加わる。恐怖反応はあるものの、1回の刺激では損傷を与えることはなく、不適切な連合学習につながることもない。さらには、突発的な攻撃行動が誘発する可能性もなく、牧柵に接触しないことを教えるトレーニングにもなる。本研究において、固定牧柵への接触行動が90分間の放牧時間あたり平均9分間程度観察されたのに対して、電気牧柵へは1日目に1度触れたのみで再び接触する行動は見られなかった。

以上より、本研究条件下での電気牧柵での放牧は、ウマの血漿中コルチゾール濃度および心拍数の概日リズムは乱さないが、初日の自律神経活動には影響を与えうると結論付けた。すなわち、電気牧柵の使用にあたり、初日の管理に十分注意を払えば、時間制限放牧条件下における継続的な使用がウマのウェルフェアを大きく損なうものではないと考えられた。

## 謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 (JSPS KAKENHI No.26450393) による研究助成を受けて行われた。また、本研究を遂行するにあたり、北里大学獣医学部の小倉匡俊助教には初期段階から貴重なご助言をいただいた。また、北里大学獣医学部動物行動学研究室および北里大学獣医学部馬術部所属の学生各位には供試動物の管理や測定などに協力をいただいた。以上の各位に対し、心より感謝の意を表す。

## 引用文献

Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, Chohen RJ. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science*, 213: 220-222. 1981.

Farm Animal Welfare Council (FAWC). Second report on priorities for research and development in farm animal welfare. DEFRA: London, UK. 1993.

Giannetto C, Fazio F, Alberghina D, Assenza A, Panzera M, Piccione G. Different daily patterns of serum cortisol and locomotor activity rhythm in horses under natural photoperiod. *J. Vet. Behav.*, 10: 118-121. 2014.

稲葉稔. 第1編ステロイドホルモン 第2章代謝: 生理学大系Ⅷ 内分泌の生理学 (福田篤郎 編). 第1版. 43-78. 医学書院. 東京. 1977.

Irvine CH, Alexander SL. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 11: 227-238. 1994.

楠瀬良. 学習ならびに行動発達: 家畜行動図説 (佐藤衆介, 近藤誠司, 田中智夫, 楠瀬良 編著). 第1版. 5-8. 朝倉書店. 東京. 1995.

Kuwahara M, Hashimoto S, Ishii K, Yagi Y, Hada T, Hiraga A, Kai M, Kubo K, Oki H, Tsubone H, Sugano S. Assessment of autonomic nervous function by power spectral analysis of heart rate variability in the horse. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 60: 43-48. 1996.

Kuwahara M, Hiraga A, Kai M, Tsubone H, Sugano S. Influence of training on autonomic nervous function in horses: evaluation by power spectral analysis of heart rate variability. *Equine Vet. J. Suppl.*, 30: 178-180. 1999.

Marc M, Parvizi N, Ellendorff F, Kallweit E, Elsaesser F. Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status. *J. Anim. Sci.*, 78: 1936-1946. 2000.

松浦晶央, 武田知華, 黒田千賀, 大村一, 平賀敦, 山崎淳, 甫立孝一. 離乳前のハンドリングが離乳後の子ウマの取り扱い易さに及ぼす影響. *東畜会報*, 57: 6-13. 2008.

Matsuura A, Maruta H, Iwatake T, Kumagai T, Nakanowatari T, Hodate K. The beneficial effects of horse trekking on autonomic nervous activity in experienced rider with no disability. *Anim. Sci. J. In press*. 2016.

マグフォード. 犬の行動修正療法 犬: その進化、行動、人との関係 (ジェームス・サーベル編, 森裕司監修, 武部正美訳) 200-216. チクサン出版社. 東京. 1999.

日本馬事協会. アニマルウェルフェアの考え方に対応した馬の飼養管理指針. 4. <https://www.bajikyo.or.jp/guideline01.pdf>. 2011.

Ohmura H, Hiraga A, Aida H, Kuwahara M, Tsubone H, Jones JH. Changes in heart rate and heart rate variability in Thoroughbreds during prolonged road transportation. *Am. J. Vet. Res.*, 67: 455-462. 2006.

Schalke E, Stichnoth J, Ott S, Jones-Baade, R. Clinical signs caused by the use of electric training collars on dogs in everyday life situations. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 105: 369-380. 2007.

竹原卓真. SPSS のススメ 1. 初版. 167-182. 北大路書房. 京都. 2011.

内田佳子, 菊水健史. 犬と猫の行動学. 42-50. 学窓社. 東京. 2008

Vincent IC, Michell AR. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. *Rse. Vet. Sci.*, 53: 342-345. 1992.

## **Influence of electric fence on circadian rhythm of plasma cortisol, heart rate, and heart rate variability and on behavior in grazing horse**

Takumi SATOMI, Akihiro MATSUURA

Graduate School of Veterinary Science, Kitasato University, Towada, Aomori, 034-8628, Japan

Corresponding: Akihiro MATSUURA

(Tel: +81-176-23-4371, E-mail: matsuura@vmas.kitasato-u.ac.jp)

This study aimed to understand the stress of horses grazing in the paddock using electric fence. Three riding horses who had not touched the electric fence were grazed for 90 min a day in the paddock using metal fence for 2 sequential days (C) and then did in other paddock using the electric fence for 2 sequential days (E). Blood samples were obtained from the jugular veins 5 times a day, electrocardiogram were recorded continuously for 22 hours, and the behavior during grazing were recorded. The circadian rhythm of the plasma cortisol level, heart rate, and heart rate variability (HRV) and their behavior were compared between C and E. Cortisol level exhibited similar circadian rhythm both in C and E. The cortisol level were significantly higher in C than in E at 5:00 ( $P < 0.05$ ). Heart rate also exhibited similar circadian rhythm both in C and E. The LF/HF, an index of the sympathetic nervous activity, showed circadian rhythm in C, while it was showed disturbed pattern only on the first day in E though statistical analysis could not be done because of missing data. There were no significant differences in the behavior between C and E. The results indicated that the influence of electric fence of paddock on the circadian rhythm of their plasma cortisol level, heart rate, and HRV and their grazing behavior in horses were likely to be modest. However, care should be taken when using electric fence for the first time because it would influence on sympathetic nervous activity of the horse on the first day.

**Keywords:** horse, behavior, circadian rhythm, stress, electric fence