

石川畜試研報
Bull.Ishikawa Pref.List.
Ress.Center

ISSN 1347—913 X

Bulletin
of the
Ishikawa Prefectural.Livestock Research Center
No. 4 3
March-2013

石川県畜産総合センター研究報告

第 43 号

平成 25 年 3 月

石川県農林総合研究センター
畜産試験場

石川県羽咋郡宝達志水町坪山

Ishikawa Prefectural.Agriculture And Forestry Research Center
Livestock Experiment Station
Hodatsushimizu,Ishikawa,Japan

石川県畜産総合センター研究報告

第 43 号

平成 25 年 3 月

目 次

1. 高エネルギー飼料給与時におけるホルスタイン種育成雌牛の発育および窒素出納に及ぼす飼料中粗タンパク質および第一胃非分解性タンパク質含量の影響 2
2. 飼料作物での遮光によるワルナスビの耕種的防除法に関する研究..... 12
3. 乳牛における分娩後の血中IV型コラーゲン濃度の推移と繁殖性との関係..... 22
4. 受胎率向上のための各種サプリメントの給与技術試験..... 27

高エネルギー飼料給与時におけるホルスタイン種育成雌牛の発育および窒素出納に及ぼす飼料中粗タンパク質および第一胃非分解性タンパク質含量の影響

織部治夫^{1,2}、上田博美³、川嶋賢二⁴、鎌田 望⁴、井上 貢⁴、石井貴茂^{2,5}、浅田尚登⁶、原田英雄⁶、久末修司⁷、秋山 清⁷、久保田和弘⁸、寺田文典⁹、栗原光規⁹、竹中昭雄⁹、櫛引史郎^{2,9}

¹石川県畜産総合センター、²筑波大学大学院生命環境科学研究科、³富山県農林水産総合技術センター畜産研究所、⁴千葉県畜産総合研究センター、⁵茨城県畜産センター、⁶愛知県農業総合試験場、⁷神奈川県畜産技術センター、⁸長野県畜産試験場、⁹畜産草地研究所

Effect of levels of crude protein and rumen-undegradable protein on growth and nitrogen balance in Holstein heifers fed high-energy diets

キーワード：代謝タンパク質、窒素出納、窒素蓄積量、微生物態タンパク質、尿中窒素排泄量

要 約

飼料中の粗タンパク質（CP）および第一胃非分解性タンパク質（CPu）含量が60頭のホルスタイン種育成雌牛の発育および窒素出納に及ぼす影響について検討した。試験期間を90日齢から体重350kgまでとし、増体日量（DG）を1.0kgに設定して低CP（LP）区と高CP（HP）区を設けた。体重200kgまでは乾物中のCP（CPu）含量をLP区13.9%（4.8%）、HP区は16.1%（6.5%）とし、体重200kg以降はLP区11.7%（3.7%）、HP区14.0%（4.8%）とした。体重350kgに達した日齢は両区間に差はなく、発育および体尺値の増加日量にも差は認められなかった。両区の窒素蓄積量に差はなかったが、HP区で尿中窒素排泄量が増加した。尿中排泄アラントイン量から推定した微生物態タンパク質合成量は体重200kg時でHP区が高く（ $P < 0.05$ ）、代謝タンパク質供給量もHP区が高まった（ $P < 0.01$ ）。以上より、TDN含量が70%前後の飼料給与によるDG1.0kgレベルの高増体を示す育成雌牛には、LP区のCPおよびCPu含量以上のタンパク質増給は発育および窒素蓄積量には影響せず、増給したCPuは殆んど尿中に排泄されて有効に利用されないことが示唆された。

I 緒 論

酪農経営における低コスト化と効率化の推進には、育成雌牛に係る飼料費および労働費などの経費節減に加え、育成雌牛を収容する施設の効率的な利用が必須である。そのためには、育成期間の短縮や受胎率の向上、さらに事故率を低下させる

飼養技術の確立が重要である。最近までの牛群検定成績によると、都府県における平均初産月齢は平成9年から平成20年までは約25.0～26.0ヵ月とほぼ横這いで推移しており（家畜改良事業団2009）、依然として育成期間の短縮化が進んでいない。この理由には、従来、初産月齢を早期化する

目的で育成雌牛を高エネルギーで飼養すると受胎率の低下が認められ、結果的に初産分娩が早まらないことが挙げられる。実際、育成期を高エネルギーで飼養した場合、不妊および繁殖障害の増加が指摘されている (Reid ら 1964)。また、育成後期の高エネルギー飼養により分娩時に過肥となった牛は、周産期の代謝病を起こしやすく (Grummer ら 1995)、乳腺への脂肪蓄積による乳腺組織の発達阻害と乳生産性の低下が散見される (ARC 1980 ; Beede と Collier 1986)。

一方で、コーンサイレージおよびアルファルファ乾草主体の高エネルギー・高粗タンパク質 (CP) 飼料の給与により、20~24 ヶ月齢の初産分娩が可能であること (野中ら 1995) や、混合飼料 (TMR) 給与により 1.0 kg の増体日量 (DG) を維持しながらも高い受胎率を示し、初産月齢の早期化につながることを示されている (長谷川ら 1995)。また、春機発動前における育成雌牛へのエネルギー給与レベルを高く維持しながら CP レベルを変えると、低 CP 区では乳腺実質の割合が有意に少なくなるが、高 CP 区では乳腺実質の発達は阻害されないという報告がある (Whitlock ら 2002)。これらの知見は、育成期間での高エネルギーかつ高 CP レベルの飼養は、良好な発育を伴いながら初産月齢の早期化につながることを示唆している。さらに、著者らは先に、育成期間における飼料中エネルギーおよび CP 水準がその後の生産性に及ぼす影響について検討した結果、TDN 含量を 68%前後、CP 含量を 14%前後に設定して DG を 1.0 kg に制御する飼料給与により、初産分娩月齢の早期化と適正な乳生産が可能であることを確認している (石井ら、未発表)。

一般に、飼料中 CP は微生物態タンパク質 (MCP) 合成に関わる第一胃分解性タンパク質 (CPd) と下部消化管で吸収される非分解性タンパク質 (CPu) に分けられる (Krishnamoorthy ら 1983)。そして、それぞれの割合や量を制御することで、育成雌牛

のタンパク利用効率や発育等の改善が図られることが示唆されている (阿部 1980)。そのため、ARC 飼養標準 (1980)、NRC 飼養標準 (1989)、および日本飼養標準・乳牛 (農林水産省農林水産技術会議事務局 1999) では、反芻家畜に給与すべき CP を CPd と CPu とに分けて表示している。既往の報告では、CPu の増加に伴って育成雌牛の飼料効率が上昇するという結果 (Tomlinson ら 1997) と、CPu 含量の増加は育成雌牛の DG と飼料効率への改善効果はないという結果 (Steen ら 1992) があり、CPu の割合が発育等に及ぼす効果については明らかでない。これらの試験では、給与する CP の割合を一定にして CPu 含量を処理区毎で変えているため、必然的に CPd 含量が変わることになる。そこで本試験では、育成期間における発育目標値を DG1.0 kg とする高エネルギー条件の下、給与する CPd および CPu の割合を変えた 2 水準の CP レベルがホルスタイン種育成雌牛の発育、窒素出納、MCP 合成量、および代謝タンパク質 (MP) 供給量に及ぼす影響について検討した。

II 材料および方法

1. 供試牛の飼養管理

石川、千葉、茨城、富山、神奈川、長野、および愛知の公設畜産試験研究機関で生産されたホルスタイン種雌子牛 60 頭を供試した。供試牛は生後 42 日間哺乳を行い、離乳後は人工乳 (CP17%、TDN70%以上) を 2.5 kg/日 を上限として給与し、乾草を不断給餌した。また、試験開始は 90 日齢として、その 1 週間前から試験飼料への馴致を行った。

試験期間は体重が 350 kg を超えて初回人工授精を実施するまでとし、その時の体高が 125 cm 以上となることを目標とした。試験期間中は、供試牛を単飼ペンまたは個体識別給餌装置が付設されたストール内で管理した。

本試験は、「産業動物の飼養及び保管に関する基準」(昭和 62 年 10 月 9 日総理府告示第 22 号) に

準拠して実施した。

2. 試験飼料および給与法

試験飼料の内容を表1に示した。濃厚飼料および加熱大豆粕は各試験場間で同一のものを購入した。その他の単味飼料については各県で流通しているものを用いた。粗飼料は同一ロットのカナダ産チモシー乾草を5~6cmに切断して給与した。

表2.1 試験飼料の構成および成分値

	前期		後期	
	LP区	HP区	LP区	HP区
飼料構成 (%)				
配合飼料 ¹⁾	35.0	32.0	31.0	28.0
圧片とうもろこし	15.0	12.0	15.0	12.0
大豆粕	1.0			3.0
加熱大豆粕	3.0	10.0		3.0
チモシー乾草 ²⁾	46.0	46.0	54.0	54.0
成分値 (DM%) ³⁾				
TDN	73.3	73.6	71.4	71.7
CP	13.9	16.1	11.7	14.0
CPd	9.1	9.6	8.0	9.2
CPu	4.8	6.5	3.7	4.8
NDF	48.6	50.9	52.2	52.1
前期：90日齢から体重200kgまでの期間				
後期：体重200kgから体重350kgまでの期間				
¹⁾ 原材料名および配合割合：38% とうもろこし(ふすま、グルテンフィード、米ぬか)、34% 穀類(とうもろこし、大麦、マイロ、小麦粉)、15% 植物性油かす類(なたね油かす、大豆油かす)、13% その他(アルファルファ、糖みつ、炭酸カルシウム、食塩、リン酸カルシウム)				
²⁾ 切断長 約5cm				
³⁾ 設計値				

ホルスタイン種育成雌牛の1日当り乾物(DM)摂取量中のCP要求量は、体重200kg前後を境として大きく低下することが知られている(農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)。そのため、本試験における飼料中CP含量については、試験期間を体重200kgまでの前期と体重200kg以降350kgに達するまでの後期に分け、両期間で日本飼養標準・乳牛(農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)が提示するCP要求量を下回るLP区と上回るHP区を設定した。具体的には、前期および後期の飼料中CP含量をそれぞれ14%および12%とするLP区と、前期16%および後期14%とするHP区を設け、両区に各30頭を配置した。飼料中CP含量に占めるCPdおよびCPuの割合については、次のように設定した。CPの適正分解率は0.65~0.7の範囲であることから(日本飼養標準・乳牛(農林水産省農林水産技術会議事務局 1999))前後期とも

LP区のCPdを上記範囲内にし、HP区のCPdを調節することによりMP供給量に差をもたせた。前期はCPdおよびCPu含量をそれぞれLP区9.1%および4.8%、HP区9.6%および6.5%、後期はLP区を8.0%および3.7%、HP区を9.2%および4.8%に設定した。

飼料給与量は、測定体重と設定DGから予測した平均体重を基に、設定DGから算出したTDN要求量(農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)の100%を給与した。また、毎朝の飼料給与前に残飼を回収して、前日の給与量との差から1日当たりの摂取量を算出した。圧片とうもろこし、大豆粕、およびチモシー乾草のCP中CPd含量は、日本飼養標準・乳牛(農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)「飼料中蛋白質各画分の割合(CP中%)」から算出して、それぞれ40%、70%、および70%と評価した。配合飼料のCP中CPd含量は、構成している単味飼料の第一胃内分解率から算出して59%と算出した。加熱大豆粕のCP中CPd含量は、製造メーカー(West Central Cooperative, Ralston, Iowa, USA)の公表値である40%を採用した。

3. 測定項目

体重は試験開始時から2週間間隔で、体尺値は4週間間隔で測定した。

血液は、全ての供試牛について、試験開始時から2ヵ月間隔で朝の飼料給与前に頸静脈から採取し、遠心分離(3,000 rpm、20分)後、血漿を-30℃で凍結保存した。血漿中の一般成分は生化学分析装置(CL-7000; 島津製作所、京都)を用いて分析した。

第一胃液は、全ての供試牛について、9ヵ月齢時に朝の飼料給与4時間後に胃カテーテルを用いて採取し、遠心(3,000 rpm、10分)後、上清を-30℃で凍結保存した。アンモニア態窒素(NH₃-N)濃度はインドフェノールニトロプレシッド法(日本分析化学会北海道支部 1981)により、揮発性脂肪酸(VFA)濃度は高速液体クロマトグラフィー(D2500; 日立ハイテクノロジーズ、東京)によ

り測定した（渡邊 1994）。プロトゾア数は第一胃液 1 mL にホルマリン・メチルグリーン溶液 4 mL を加えてプロトゾアを固定染色後、フックス・ローゼンタール血球計算板（エルマ販売、東京）を用いて計測した（Itabashi ら 1984）。

4. 消化試験および窒素出納試験

供試牛が 6 ヶ月齢以降で体重が 200 kg に達した時期と、9 ヶ月齢以降で体重が 300 kg に達した時期に、酸性デタージェントリグニン（ADL）をマーカーとしたインデックス法により消化試験を行った。供試頭数は、200 kg 時が 53 頭、300 kg 時が 59 頭である。また、飼料、糞、および尿中の窒素含量を測定して窒素の出納を評価した。MCP 合成量は、尿中クレアチニンをインデックスとして部分尿から尿中アラントイン排泄量を推定し、次式（Chen と Gomes 1992）により算出した。

$$\text{MCP} = \text{MN} \times 6.25$$

$$\text{MN} = (70\text{Pda}) / (0.83 \times 0.116 \times 1000)$$

$$\text{Pda} = (\text{PDe} - 0.385 \times \text{MBW}) / 0.85$$

$$\text{PDe} = 100 / 90 \times \text{尿中アラントイン排泄量 (mmol)}$$

MN: 微生物態窒素

Pda (mmol/日): 体内に吸収されたプリン誘導体

PDe (mmol/日): 尿として体外に排泄されたプリン誘導体

MBW: 代謝体重

MP 供給量については次式（NRC 2001）により推定した。

$$\text{MP} = \text{MCP} \times 0.8 \times 0.8 + \text{CPu} \times 0.8 + \text{DMI} \times 1.9 \times 0.5 \times 0.8 \times 6.25$$

MP 要求量については NRC 飼養標準（2001）により、維持および成長の要因ごとに要求量を求め合計した。

尿量の推定は既往の予備試験（林ら 2002 未発表；野中ら 2003 未発表）の結果から育成雌牛の体重 1 kg 当りのクレアチニン排泄量を一定として、次式を用いて行った。

1 日排尿量 = 25.2 (mg/kg BW) × BW / 部分尿中クレアチニン含量

糞と尿の採取は、各々 3 日連続で 1 日 2 回、朝夕の飼料給与前に行った。糞は直腸から 1 回につき 200 g 採取して 6 回分を混合したものを 60°C で 48 時間乾燥後、粉碎して分析用試料とした。尿は糞の採取直前にマッサージ法（浅井ら 2008）で採取した。2 枚重ねのガーゼで尿を濾過後、尿 98 mL に 20% 硫酸を 2 mL 加えて全量 100 mL として冷蔵庫に保管した。そして 6 回分の尿を混合後、50 mL を採取して分析まで -30°C で凍結保存した。

飼料および糞の DM および CP 含量を AOAC 法（1990）により、飼料の中性デタージェント繊維（aNDFom）含量、糞の酸性デタージェント繊維（ADFom）含量および飼料と糞の ADL 含量をデタージェント法（Van Soest ら 1991）により、総エネルギー（GE）を燃研式自動ボンベ熱量計（CA-4PJ；島津製作所、京都）により測定した。尿成分はアラントインを Young と Conway（1942）の方法で、クレアチニンを Jaffe 法（クレアチニン - テストワコー；和光純薬工業、大阪）による市販の分析キットを用いて、窒素含量をケルダール法（阿部 2001）で定量した。

6. 統計処理

得られたデータは飼料中 CP 含量を主効果とし、県をブロック因子とする乱塊法の分散分析を行った。解析には SAS（1990）の GLM プロシジャを用いた。なお、統計的に有意な水準は $P < 0.05$ とした。

III 結果

1. 発育および飼料摂取量

試験開始時と終了時の体重、体尺値、およびそれらの 1 日当たり増加量を表 2 に示した。体重が 350 kg に達した日齢は HP 区が LP 区に比べ 9.7 日短かったが、有意な差は認められなかった。同日齢での体高も両区間に差は認められなかった。体尺

項目	試験開始時(90日齢)		体重200kg時		試験終了時(体重350kg)		1日当り増加量(kg/cm/日)	
	LP	HP	LP	HP	LP	HP	LP	HP
例数	30	30	30	30	30	30	30	30
日齢	91.4±0.5	90.6±0.5	184.0±2.6	181.3±2.5	329.9±4.0	320.2±4.0		
体重(kg)	106.2±1.5	108.5±1.5	199.4±1.8	200.6±1.5	356.3±1.0	356.9±1.0	1.050±0.02	1.090±0.02
前期							1.030±0.02	1.050±0.02
後期							1.080±0.02	1.120±0.02
体高	93.4±0.6	94.2±0.6	110.4±0.6	110.5±0.6	126.7±0.5	126.5±0.5	0.140±0.002	0.142±0.002
十字部高	96.9±0.6	97.7±0.6	114.2±0.6	113.7±0.5	130.2±0.5	129.9±0.5	0.142±0.003	0.142±0.003
腰角(cm)	24.2±0.2	24.3±0.2	31.9±0.3	32.0±0.3	41.0±0.2	41.2±0.2	0.072±0.002	0.075±0.002
腕幅(cm)	27.4±0.2	27.7±0.2	34.7±0.2	34.6±0.2	42.4±0.2	42.3±0.2	0.064±0.001	0.065±0.001
尻長(cm)	30.4±0.2	30.6±0.2	37.4±0.3	37.9±0.3	46.1±0.3	46.3±0.3	0.067±0.001	0.069±0.001
坐骨幅(cm)	16.8±0.2	16.8±0.2	21.5±0.3	21.9±0.4	27.5±0.3	27.2±0.3	0.045±0.001	0.046±0.001
管圍(cm)	12.3±0.1	12.4±0.1	14.4±0.1	14.4±0.1	17.0±0.1	17.1±0.1	0.020±0.001	0.020±0.001
胸圍(cm)	106.2±0.6	106.9±0.6	132.8±1.0	132.0±0.8	162.3±0.8	162.4±0.8	0.237±0.003	0.244±0.003
最小二乗平均 ± 標準誤差								

項目	前期(≤200kg体重)		後期(>200kg体重)		全期	
	LP	HP	LP	HP	LP	HP
例数	30	30	30	30	30	30
試験日数	92.4±2.7	90.5±2.7	143.8±3.3	137.4±2.7	236.2±4.1	228.0±4.5
采食摂取量						
DM(kg)	417.3±10.5	407.8±10.5	956.9±19.0	939.2±19.0	1374.2±24.3	1347.0±24.3
CP(kg)	59.0±1.7 ^A	66.3±1.7 ^B	117.6±3.0 ^A	135.2±3.0 ^B	176.5±3.8	201.5±3.8
CPd(kg)	38.4±1.1	38.9±1.1	79.9±2.0 ^A	88.2±2.0 ^B	118.2±2.5	127.1±2.5
CPu(kg)	20.2±0.6 ^A	27.0±0.6 ^B	38.1±1.2 ^A	46.4±1.2 ^B	58.3±1.4	73.4±1.4
TDN(kg)	299.3±7.6	295.1±7.6	661.9±13.3	650.7±13.3	961.3±17.3	945.8±17.3
ME(Mcal)	1082.3	1067.1	2393.6	2353.1	3476.2	3420.2
CP:ME(g/Mcal)	54.5	62.1	48.9	57.5	50.8	58.9
飼料効率(kg/kg)						
DM当り増体量	0.228±0.006	0.229±0.006	0.161±0.003	0.163±0.004	0.183±0.003	0.183±0.003
TDN摂取量当り増体量	0.317±0.009	0.316±0.009	0.231±0.005	0.233±0.006	0.262±0.004	0.262±0.004
CP摂取量当り増体量	1.624±0.044 ^A	1.417±0.040 ^B	1.320±0.034 ^A	1.148±0.036 ^B	1.432±0.023 ^A	1.258±0.023 ^B
最小二乗平均 ± 標準誤差						
¹⁾ 最小二乗平均 ± 標準誤差						
²⁾ P<0.01						
³⁾ ME=TDN×4.41×0.82						

値の1日当たり増加量についても、区間に差は認められなかった。両区のDGは前期では差はなく、後期ではHP区がやや高い傾向($P = 0.111$)を示した。また、全試験期間中のDGは両区ともに当初設定した1.0kgを若干上回って推移した。

試験期間中におけるDM、CP、TDN摂取量、および飼料効率を表3に示した。両区のDM摂取量は同レベルであった。したがって、CP摂取量は前期および後期ともHP区がLP区に比べて多くなった($P < 0.01$)。CPd摂取量は後期においてHP区が高く($P < 0.01$)、CPu摂取量は前後期を通じてHP区で増加した($P < 0.01$)。DM摂取量に占めるCP摂取量、CPd摂取量およびCPu摂取量の割合は、各々設定した試験飼料の各成分含量にほぼ一致した。DM摂取量に占めるTDN摂取量の割合は両区とも前

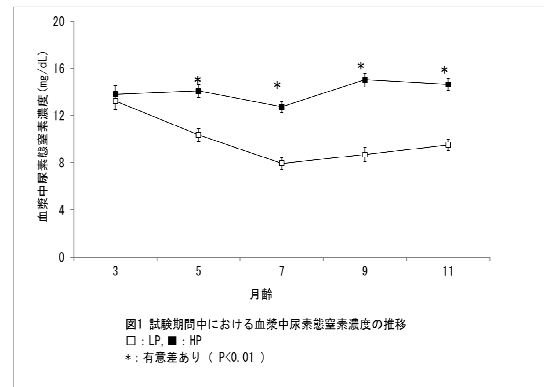
期72%、後期69%で、表1に示した飼料設計のDM中TDN%に比べて2%程度低くなった。これは試験期間を通じて、チモシー乾草の残飼が総飼料給与量の2~4%程度、生じたためである。試験期間を通じた飼料効率のうちDMおよびTDN摂取量当たりの増体量は、両区間に差は認められなかったが、CP摂取量当たりの増体量はLP区がHP区に比べて向上した。 $(P < 0.01)$ 。

2. 繁殖成績

初回発情日齢、初回人工授精日齢、受胎日齢、および受胎までに要した人工授精回数を表4に示した。初回発情日齢は両区で差は認められなかった。体重350kg、体高125cmを超えた後に実施した初回の人工授精日齢はHP区がLP区に比べ4日短かったが、差は認められなかった。受胎までに要した人工授精回数は両区に差はなく、受胎日齢はHP区がLP区に比べ5日短かったが、差は認められなかった。

3. 血液性状および第一胃液性状

血漿中のグルコース、総タンパク質、アルブミン、総コレステロール、トリグリセライド、遊離脂肪酸、カルシウム、無機リン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、およびγ-グルタミルトランスペプチダーゼの各項目で区間に差は認められなかった(データ不掲載)。血漿中尿素態窒素(PUN)濃度は、試験期間を通じてHP区がLP区に比べて有意に高く推移した(図1)。



第一胃液性状を表5に示した。総VFA濃度、各

VFA 濃度、酢酸/プロピオン酸 (A/P) 比、およびプロトゾア数に区間の差は認められなかったが、NH₃-N 濃度は LP 区で低下した ($P < 0.01$)。

表5 9か月齢時の第一胃内揮発性脂肪酸(VFA)濃度、アンモニア態窒素濃度、およびプロトゾア数^{1,2)}

項目	LP	HP
例数	30	30
総VFA濃度 (mmol/dL)	8.68±0.21	8.69±0.23
VFAの割合 (mmol/dL)		
酢酸 (A)	5.84±0.14	5.81±0.15
プロピオン酸 (P)	1.63±0.06	1.67±0.06
酪酸	0.06±0.00	0.06±0.00
n酪酸	1.02±0.05	1.01±0.05
i/バレリアン酸	0.06±0.00	0.07±0.01
n/バレリアン酸	0.07±0.00	0.08±0.00
A/P比	3.63±0.07	3.56±0.08
アンモニア態窒素 (mg/dL)	2.63±0.36 ^A	4.23±0.39 ^B
プロトゾア数 (×10 ⁵ /mL)	6.11±0.87	4.18±0.87

¹⁾最小二乗平均±標準誤差

²⁾異符号間に有意差あり

4. 窒素出納

窒素摂取量および尿中窒素排泄量は、体重 200 kgおよび 300 kg時ともに HP 区で多くなった ($P <$

0.01) が、糞中窒素排泄量および窒素蓄積量については区間に差は認められなかった (表 6)。

MCP 合成量は、体重 200 kg時において HP 区が LP 区よりも増加し ($P < 0.05$)、300 kg時でも HP 区が LP 区を上回る傾向を示した ($P = 0.088$)。

飼料中 CP の消化率は、体重 300 kg時において HP 区が高かったが ($P < 0.01$)、DM、ADFom、および GE 消化率は両区に差は認められなかった。

MP の供給量、要求量および充足率を表 7 に示した。MP 供給量は、

表6 200kgおよび300kg時における窒素出納および消化率^{1,2,3)}

項目	200kg				300kg			
	LP		HP		LP		HP	
例数	26		27		29		30	
摂取量								
乾物 (g/day)	5,345.1±79.6		5,454.7±75.9		7,706.8±91.0		7,767.8±62.8	
総エネルギー (MJ/day)	99.56±1.45		102.50±1.50		143.45±1.72		146.24±1.30	
窒素出納 (g/day)								
窒素摂取量	120.1±2.2 ^A		140.4±2.3 ^B		151.2±1.8 ^A		178.0±1.8 ^B	
窒素排泄量								
糞中	38.3±2.0 (31.9)		40.7±2.0 (29.0)		60.1±2.1 (39.7)		60.8±2.1 (34.2)	
尿中	32.5±1.2 ^A (27.1)		46.2±1.2 ^B (32.9)		43.0±1.8 ^A (28.4)		67.8±1.8 ^B (38.0)	
窒素蓄積量	49.3±2.6 (41.0)		53.4±2.7 (38.0)		47.9±2.8 (31.7)		49.4±2.7 (27.8)	
尿								
アラントイン排泄量 (mg/dL)	324.2±19.0		313.0±19.2		362.8±20.8 ^A		333.5±20.5 ^B	
クレアチニン排泄量 (mg/dL)	125.8±6.9		111.5±6.9		152.3±8.2		130.9±8.0	
微生物態タンパク質 (g/day)	60.2±2.8 ^a		69.7±2.8 ^b		90.4±2.9 ^A		97.9±2.8 ^B	
消化率 (%)								
乾物	70.9±1.3		70.8±1.3		66.1±1.2		66.2±1.1	
酸性デタージェント繊維	53.4±1.7		52.1±1.7		50.4±1.8		50.4±1.7	
CP	67.5±1.6		70.6±1.6		60.1±1.4 ^A		65.8±1.3 ^B	
GE	69.0±1.4		69.1±1.4		64.5±1.3		65.0±1.2	

¹⁾最小二乗平均 ± 標準誤差

²⁾異符号間に有意差あり(大文字 $P < 0.01$; 小文字 $P < 0.05$)

³⁾(100): 窒素摂取量を100とした場合の割合

表7 MPの供給量、要求量、および充足率

項目	200kg		300kg	
	LP	HP	LP	HP
例数	26		27	
MP供給量 (g/day)	472.1±11.9 ^A		589.8±11.8 ^B	
MP要求量 (g/day)	419.4±2.1		419.4±2.0	
充足率	113%		141%	

¹⁾最小二乗平均 ± 標準誤差

²⁾異符号間に有意差あり(大文字 $P < 0.01$; 小文字 $P < 0.05$)

体重 200 kg および 300 kg の両時期ともに HP 区が LP 区に比べて多くなった ($P < 0.01$)。また MP 要求量は両時期とも両区に差は認められなかった。

IV 考察

本試験では、初回人工授精の基準を体重 350 kg で体高 125 cm と設定したが、両区ともに体重 350 kg 到達時には体高が 125 cm を超えていた。したがって、両区の供試牛は体格のバランスを良好に保った発育であったと考えられた。体重が 350 kg に到達した日齢は、HP 区の方が早くなる傾向であったが、有意差は認められなかった。その後、人工授精を実施した結果、受胎日齢は LP 区 380 日、HP 区 362 日となり、両区ともに都府県の平均初産月齢 25 ヶ月 (平成 20 年) (家畜改良事業団 2009) に比べて 3~4 ヶ月早い分娩であった。

Hoffman ら (2001) は、飼料 DM 中 TDN 水準を 65% にして CP 水準を 8~15% まで 4 段階に分けた飼養試験を行っている。それによると、ホルスタイン種育成雌牛の DG に差はなかったが、CP 含量が最も高い区で胸囲の増加量が高まり、さらに飼料中 CP 含量と体高および腰角幅の増加量との間に正の相関を認めている。また、ホルスタイン種育成雌牛への高 CP 飼料 (15.6%) の給与 (DM 中 TDN 含量 70.5%) は、低 CP 飼料 (11.8%) に比べて DG が 9.5% 向上し、腰角幅、十字部高、体高、および胸囲の成長が 12~18% 増加したという報告がある (Lammers と Heinrichs 2000)。しかし、より高いエネルギー含量 (DM 中 TDN 含量 78.8%) で 3 水準の CP 含量 (13.7%、16.2%、18.8%) の TMR をホルスタイン種育成雌牛に給与しても、DG と体高の増加量に差を認めていない知見もある (Whitlock 2002)。このように、育成牛の体尺値の発育に及ぼす CP の影響に関しては統一した結果が得られていない。本試験では、試験期間を通じて両区の DG および体尺値の増加日量に差が認められなかった。したがって、飼料中の TDN 含量が 70% 前後では、CP 含量が前期 14%~16%、後期 12%~14% の範囲で変化しても発育に影響しないことが示唆された。なお、給与飼料の粗濃比は動物栄養試験法 (阿部 2001) に従い、繊維消化率の低下が生じないよう 50:50 に近い割合 (前期 46:54、後期 54:46) にし、なおかつ後期は CP 含量を下げるために粗飼料の割合を増やした。粗飼料はチモシー乾草のみとしたため、試験開始当初にチモシー乾草を食べ残す個体が認められた。このため、設計値における DM 中 TDN 含量に比べて DM 摂取量中の TDN 摂取量は 2% 程度低下した。

Sejrsen ら (1982) は 7 ヶ月齢の育成雌牛 (体重 180 kg) を用いて、制限給餌と不断給餌が乳腺組織重量に及ぼす影響について検討している。体重 320 kg までの期間、制限給餌の DG を 0.6 kg に設定して、DM 中 CP 含量を 15% に調整した飼料で飼養試験を行った。その結果、制限給餌した育成雌牛の DM 摂取量は不断給餌の 60% で、期間 DG は制限給餌区 0.6 kg、不断給餌区 1.2 kg であった。しかし、不断給餌区の乳腺組織重量は制限給餌区よりも 23% 低下した。我々は先に、DG1.1 kg で発育した育成雌牛は、DG0.97 kg の育成雌牛に比べて、初産時の 305 日乳量が有意に低下することを確認している (Ishii ら 2011)。本試験では両区ともに制限給餌で目標の DG を超えていることから、不断給餌にした場合には DG が 1.1 kg を超えて、乳腺への脂肪付着および続く乳生産への影響が懸念される。

一方、飼料中のタンパク質レベルが発育に及ぼす影

響について、エネルギーとのバランスから検討した報告も散見される。Gabler と Heinrichs (2003a) は、体重 150~200 kg の育成雌牛に対し、CP:代謝エネルギー (ME) 比 (g/Mcal) が 45.0、63.3、69.4、および 77.3 の 4 種類の飼料を給与した結果、CP:ME 比の上昇に伴い第一胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度、PUN 濃度、および MCP 合成量が増加し、尿中窒素排泄量は顕著に増加することを認めている。これらの傾向から、経済面および環境面を考慮した適正 CP:ME 比は 63.3 前後としている。Lammers と Heinrichs (2000) は、7~12 ヶ月齢の育成雌牛を用いて、飼料中総エネルギーは一定で CP:ME 比 (g/Mcal) を 46、54、および 61 に調整した飼料の給与試験を実施している。それによると、CP:ME 比が高い区は低い区に比べて飼料効率が 6% 上昇し、DG が 9% 上昇した。また、BCS の増加割合が少なく、乳腺管の発達を示す乳頭長が 35~38% 伸長した。本試験における CP:ME 比は、前期は LP 区 54.5、HP 区 62.1 であり、後期は LP 区 48.9、HP 区 57.5 であった。NRC (2001) による CP:ME 比の適正範囲は、6 ヶ月齢未満の育成牛では 59~62:1、6~12 ヶ月齢の育成牛には 49~51:1 としており、目標 DG を 0.7 kg に設定している。本試験の結果は、前期は HP 区で、後期は LP 区が NRC (2001) の適正範囲内であった。

飼料中の CPd と CPu 割合に関して Bethard ら (1997) は、DM 中 TDN 含量を 66% として CPu 含量を変えた飼料 (CP 中 26.6%、51.9%) による給与試験を行い、乳用育成雌牛の DG に差を認めていない。さらに、エネルギー水準 (DM 中 TDN 含量 69~70%) および CP 水準 (DM 中 12.3~12.5%) を一定にして、CPu 含量を変えた 4 水準 (8%、23%、43%、54%) の飼料を給与しても育成雌牛の DG に違いはなかった (阿部ら 1991)。一方、Tomlinson ら (1997) は、CP レベルを DM 中 11~12% に設定して CPu 含量を変えた 4 水準 (CP 中 55%、50%、43%、31%) の飼料 (DM 中 TDN 含量 63~64%) の給与試験を行っている。その結果、CPu の割合が高くなるほど DG が直線的に増加し、さらに、十字部高の増加量および飼料効率は CPu 割合が高くなるほど向上したことを認めている。

本試験では、両区間の発育レベルに差がなかったことから、飼料中 CPu 含量を 1~2% 高めた程度では発育向上への影響は少ないものと考えられた。両区の DG は 1.0 kg を若干超える高い成長レベルを示しており、LP 区でもタンパク質要求量を超える量を供給したことから発育に影響が現れなかった可能性がある。Tomlinson ら (1997) の試験で発育に影響が認められたことは、CP 水準と TDN 含量が本試験に比べて低いことから基本的に MP 供給量が不足気味であり、そのために CPu の影響が強く現れたものと推察される。

試験期間を通しての PUN 濃度および 9 ヶ月齢の第一胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度は HP 区で高くなったが、総 VFA 濃度および A/P 比は両区間に差が認められなかった。Gabler と Heinrichs (2003a) は、飼料中 ME 含量を一定にして CP 含量を変えた飼料を給与した場合、PUN 濃度および第一胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度は飼料中 CP 含量が高くなるにつれて上昇したが、第一胃液の pH、総 VFA 産生量、および A/P 比は CP 含量に影響を受けなかったと報告している。我々の試験結果は、これと一致するものであった。第一胃液中の $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度が低下すると第一胃内微生物の代謝や増殖が抑制される (Russel と Wallace 1988)。

第一胃内微生物の活動を支えるための $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度の下限値は 5 mg/dL であり (Satter と Slyter 1974)、これ以下になると繊維成分の消化率が低下する (El-Shazly ら 1961; Satter と Slyter 1974)。また、PUN は摂取したタンパク質の代謝産物であり、第一胃液の発酵状態を表す指標となることが知られている (木田 1996)。本試験の HP 区では、PUN 濃度は試験期間を通じて 13 ~ 16 mg/dL と臨床的な正常範囲内 (農林水産省経済局 1997) で推移し、9 ヶ月齢時の第一胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度は 5 mg/dL をわずかに下回った。一方、LP 区の PUN 濃度は 7 および 9 ヶ月齢において正常範囲を下回り、第一胃液 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度も 5 mg/dL を大きく割り込んでいたことから、微生物の活動低下と繊維消化への影響が懸念されるレベルと考えられる。しかしながら、LP 区の CP 消化率は HP 区に比べて低かったものの、DM、ADFom、および GE 消化率は HP 区と有意差がなかったことから、第一胃の消化機能は HP 区と同じレベルに維持されていたと推察される。我々が消化試験のマーカーとした ADL の回収率は 93%程度である (竹澤ら 1992) ことから、本試験の各成分の消化率は他のマーカーを使用した場合に比べて、やや低い評価値であると推察される。

窒素摂取量と尿中窒素排泄量は前後期とも HP 区が LP 区に比べて増えたが、糞中窒素排泄量と窒素蓄積量は前後期で両区間に差は認められなかった。これらのことから、HP 区の窒素摂取量は LP 区と比べて多かったが、その殆どが尿中に排泄され、増給した CPu は有効に利用されなかったと考えられた。

Devant ら (2000) は、体内への窒素蓄積量と飼料中 CP レベルについて検討し、飼料 DM 中 CP 含量が 14% 以上の場合、CP 中 CPd 含量を変えても窒素蓄積量には影響しないことを報告している。この結果は、本研究と同様の傾向である。

MCP 合成量は CP 摂取量の上昇に伴って増加することが知られている (Gabler と Heinrichs 2003a)。また、CPd は微生物によってアンモニアまで分解された後に MCP へと再合成される (Hungate 1966; Bryant 1973) ことから、MCP 合成量の増加は CPd 摂取量の上昇によって起こると推測されている (Gabler と Heinrichs 2003a)。一方で、CPd 摂取量を高めても尿中アラントイン排泄量は高まらず MCP 合成量に影響しないという知見もある (Gabler と Heinrichs 2003b)。本試験の前期において HP 区が LP 区に比べて MCP 合成量が増加したが、LP 区と HP 区の飼料中 CPd 含量の差 (0.5% = 9.6% - 9.1%) に起因すると考えられる。後期でも HP 区は MCP 合成量が LP 区に比べて増加する傾向が認められ、これは HP 区の飼料中 CPd 含量を 1% 程度高めたことにより CPd 摂取量が増加したためと考えられる。日本飼養標準・乳牛 (農林水産省農林水産技術会議事務局 2006) には、第一胃でのタンパク質分解性を固定した値である CPd から第一胃内での通過速度を考慮した有効分解性タンパク質 (ECPd) による精密な評価が示されている。しかし、育成雌牛の ECPd 要求量はまだ示されていないことから、本試験では CPd を採用した。

MP は飼料タンパク質の評価方法のひとつで、生体への窒素の供給量を表す

(NRC 2001)。その算出法は MCP 合成量、CPu、および内因性タンパク質にそれぞれ消化率を掛けて合計した値である (NRC 2001)。MP 供給量は前後期ともに HP 区で増加したが、これは MCP 合成量および CPu 摂取量が

HP 区で高かったためである。しかしながら、後期の HP 区で期間中 DG が LP 区よりも高い傾向 ($P=0.108$) を示した以外、飼料効率や体尺値に効果は認められなかった。小腸への MP 供給量が MP 要求量と合致すれば飼料タンパク質の利用効率が最大となるが、MP 供給量が要求量に対して過剰であれば利用されない割合が増える (NRC 2001)。本試験の HP 区は MP 要求量に対して供給量が大きく上回り、充足率は前期 141%、後期 150% であった。これらの充足率は LP 区 (前期 113%、後期 127%) よりも高かったことから、HP 区は LP 区に比べ MP の供給量が多く、過剰分は体外へ排泄されたものと推察される。また、LP 区においても MP 供給量は要求量を若干上回っており、LP 区の CP および CPd 水準でも要求量を満たしていると考えられた。

日本飼養標準・乳牛 (農林水産省農林水産技術会議事務局 2006) では、DG を 1.0 kg に設定する場合は、体重 250 kg 程度までは飼料中の CP 含量を 15% 以上にする必要があるとしている。また、AFRC (1993) および NRC (1989) は、乾物換算で 16% を超える CP レベルを推奨している。さらに Kertz ら (1987) は、3 ~ 6 ヶ月齢の育成雌牛が過肥にならずに DG 1.0 kg の成長を示すには、最低でも 17% の飼料中 CP 濃度が必要であることを指摘している。しかし本試験の結果からは、3 ヶ月齢から体重 200 kg までは飼料中の TDN 含量が 70% 程度の場合、CP 含量が 14% でも十分な発育を示すことが示唆された。続く体重 200 kg から 350 kg までの期間においても、飼料中 CP 含量を HP 区の水準である 14% まで高める必要はないと推察された。CPu 含量については、前期は 5% 以上に高めても尿中に排泄される窒素量が増加することから、過剰な窒素供給になると考えられた。これまで述べたような育成雌牛の成長に必要な摂取窒素の効率的利用を検討する事に加えて、糞尿中への排泄窒素量を低減することも重要であることから、体内の代謝で利用される以上の窒素量を給与することは避けるべきである。糞尿中への過剰な窒素排泄量を低減させる手段として、NSC 含量が高く CP 含量が低い飼料の給与や、CPd と炭水化物の割合を調整した飼料給与が有効であることが報告されている (Tamminga 1992)。本試験の結果は、育成雌牛の十分な発育を維持しつつ、糞尿中の窒素排泄量を制御して環境負荷量を低減するために重要な知見であると考えられる。

今後は、乳腺の発達とそれに続く初産乳量および乳成分等の泌乳成績についても検討が必要と考えられる。さらにボディコンディションスコアのような体脂肪の蓄積状況も加味して、繁殖機能も含めた生涯生産性についての影響も評価しなければならない。

V 引用文献

- 阿部又信. 1980. ルーメン発酵の効率と飼料のルーメン・バイパス. 日本畜産学会報 **51**, 1-11.
- 阿部又信, 入江誠一, 入来常徳. 1991. 第一胃内分解性蛋白質 (RDP) と非分解性蛋白質 (UDP) の摂取比率が異なる場合の子牛の増体成績. 日本畜産学会報 **62**, 148-153.
- 阿部 亮. 2001. 一般成分 (6 成分). 新編 動物栄養試験法 (石橋 晃監修). 第 1 版. pp. 455-466. 養賢堂, 東京.
- Agricultural and Food Research Council (AFRC). 1993. Energy and protein requirements of ruminants. (An advisory manual prepared by the Agric.

- Food. Res. Council Technical Committee on Responses to Nutrients.) CAB International, Wallingford, U.K.
- Agricultural Research Council (ARC). 1980. The nutrient requirements of ruminant livestock. A. R. C. London.
- 浅井英樹, 中村 豊, 喜多一美. 2008. 乾乳牛における尿の採取時間間隔の違いが尿中カリウム排泄日量の推定精度に及ぼす影響. 日本畜産学会報 **79**, 45-50.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Beede DK, Collier RJ. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *Journal of Animal Science* **62**, 543-554.
- Bethard GL, James RE, Mcgilliard ML. 1997. Effect of rumen-undegradable protein and energy on growth and feed efficiency of growing Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **80**, 2149-2155.
- Bryant MP. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Federation Proceedings* **32**:1809-1813.
- Chen XB, Gomes MJ. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. *An occasional publication of the Rowett Research Institute* **AB2 95B**.
- Devant M, Ferret A, Gasa J, Calsamiglia S, Casals R. 2000. Effect of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high concentrate diets from 100 to 230 kg body weight. *Journal of Animal Science* **78**, 1667-1676.
- El-Shazly K, Dehority BA, Johnson RR. 1961. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. *Journal of Animal Science* **20**, 268-273.
- Gabler MT, Heinrichs AJ. 2003b. Altering soluble and potentially rumen degradable protein for prepubertal Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **86**, 2122-2130.
- Gabler MT, Heinrichs AJ. 2003a. Effects of increasing dietary protein on nutrient utilization in heifers. *Journal of Dairy Science* **86**, 2170-2177.
- Grummer RR, Hoffman PC, Luck ML, Bertics SJ. 1995. Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *Journal of Dairy Science* **78**, 172-180.
- 長谷川鬼子男, 小林 寛, 鈴木庄一, 生方順亮, 籠橋太史, 佐藤尚史, 土屋英希. 1995. 混合飼料給与による乳用子牛の育成法. 福島県畜産試験場研究報告 **8**, 11-28.
- Hoffman PC, Esser NM, Bauman LM, Denzine SL, Engstrom M, Chester-Jones H. 2001. Effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **84**, 843-847.
- Hungate RE. 1966. The Rumen and its Microbes. *Academic Press*, 281-330.
- 石橋 晃. 2001. 新編 動物栄養試験法. pp. 192-194. 養賢堂, 東京.
- Ishii T, Kawashima K, Oribe H, Ueda H, Hasunuma T, Akiyama K, Nakayama H, Kurihara M, Terada F, Kushibiki S. 2011. Effect of growth and dietary crude protein level until first insemination on milk production during first lactation in Holstein heifers. *Animal Science journal* in press.
- Itabashi H, Kobayashi T, Matsumoto M. 1984. The effects of rumen ciliate protozoa on energy metabolism and some constituents in rumen fluid and blood plasma of goats. *Japanese Journal of Zootechnical Science* **55**, 248-256.
- Kertz AF, Prewitt LR, Ballam JM. 1987. Increased weight gain and effects on growth parameters of Holstein heifers calves from 3 to 12 months of age. *Journal of Dairy Science* **70**, 1612-1622.
- Krishnamoorthy U, Sniffen CJ, Stern MD, Van Soest PJ. 1983. Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and an *in vitro* simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. *British journal of Nutrition* **50**, 555-568.
- 木田克弥. 1996. もうかる酪農経営 牛群検診と個体能力の向上. pp. 28-31. 酪農総合研究所, 北海道.
- Lammers BP, Heinrichs AJ. 2000. The response of altering the ratio of dietary protein to energy on growth, feed efficiency, and mammary development in rapidly growing prepubertal heifers. *Journal of Dairy Science* **83**, 977-983.
- 日本分析化学会北海道支部. 1981. 水の分析(第3版). pp. 210, 358. 化学同人, 北海道.
- 野中敏道, 圓山 繁, 中島宣好. 1995. 高泌乳牛の飼養マニュアル作成に関する研究 —TMR 飼養による乳用牛の早期育成技術の検討(第2報). 熊本県農業研究センター畜産研究所試験成績書 13-18.
- 農林水産省経済局編. 1997. 家畜共済における臨床病理検査要領. p. 140. 全国農業共済協会, 東京.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編. 1995. 日本標準飼料成分表(1995年版). 中央畜産会, 東京.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編. 1999. 日本飼養標準・乳牛(1999年版). 中央畜産会, 東京.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編. 2006. 日本飼養標準・乳牛(2006年版). 中央畜産会, 東京.
- National Research Council(NRC). 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th revised ed.

- National Academy Press, Washington DC.
- National Research Council(NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised ed. National Academy Press, Washington DC.
- Reid JT, Loosli JK, Trimmer GW, Turk KL, Asdell SA, Smith SE. 1964. Effect of plane of nutrition during early life on growth, reproduction, production, health and longevity of Holstein cows. 1. Birth to fifth calving. *Cornell University Agricultural Experimental Station Bulletin* No. 987.
- Russell JB, Wallace RJ. 1988. Energy yielding and consuming reactions. In *The Rumen Microbial Ecosystem. Elsevier Applied Science* 185-215.
- SAS. 1990. SAS/STAT ソフトウェア : ユーザーズガイド. Version 6.03, 1st edn. pp. 809-904. 株式会社サスインスティテュート ジャパン, 東京.
- Satter LD, Slyter LL. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition* **32**, 199-208.
- Sejrsen K, Huber JT, Tucker HA, Akers RM. 1982. Influence of nutrition of mammary development in pre-and postpubertal heifers. *Journal of Dairy Science* **65**, 793-800.
- Steen TM, Quigley JD, Heitmann III RN, Gresham JD. 1992. Effects of lasalocid and undegraded protein on growth and body composition of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **75**, 2517.
- 家畜改良事業団. 2009. 一平成 9~20 年度一乳用牛群能力検定成績のまとめ. 家畜改良事業団(社), 東京.
- 竹澤武春, 滝沢静雄, 宮重俊一. 1992. リグニンを指示物質とした消化率測定法の検討. *西日本畜産学会報* **35**, 26-31.
- Tamminga S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal Dairy Science* **75**, 345-357.
- Tomlinson DJ, James RE, McGillard ML. 1997. Influence of undegradability of protein in the diet on intake, daily gain, feed efficiency and body composition of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **80**, 943-948.

VI Summary

The effects of two diets containing different levels of crude protein (CP), rumen-degradable protein (CPd) and rumen-undegradable protein (CPu) on growth performance and nitrogen balance were

examined in 60 Holstein heifers. The experimental period was from 3 months of age until a body weight (BW) of 350 kg was reached. Dietary energy treatments were designed to achieve average daily weight gains of 1.0 kg/day. Two groups of heifers were assigned based on different CP levels: a low-CP (LP) group, n=30; and a high-CP (HP) group, n=30. The dietary CPu contents were 4.8% and 6.5% in heifers weighing ≤ 200 kg in the LP and HP groups, respectively; the dietary CPu contents were 3.7% and 4.8% in heifers weighing > 200 kg in the LP and HP groups, respectively. In the HP group, the time taken to reach a BW of 350 kg was 9.7 days shorter than in the LP group, although this difference was not statistically significant. During the experimental period, daily BW gain and the gains in specific body parts did not differ between the two groups. Plasma urea nitrogen concentration was higher ($P < 0.05$) in the HP group than in the LP group. The ruminal ammonia-N level in the HP group was significantly higher than in the LP group ($P < 0.01$) when the BW was 300 kg. A nitrogen balance test was conducted when the BW was 200 kg and when it was 300 kg. Nitrogen retention did not differ significantly between the groups, but nitrogen urinary excretion was greater ($P < 0.05$) in the HP group than in the LP group. MCP synthesis in the HP group was significantly higher than that in the LP group ($P < 0.05$) when the BW was 200 kg. The metabolizable protein supply of the HP group was significantly higher than that of the LP group ($P < 0.05$) when the BW was 200 kg and when it was 300 kg. Therefore, when administering a high-energy diet to heifers, increased dietary CP and CPu did not affect the growth performance or nitrogen retention. The results showed that because most of the increased CPu is excreted in urine, CPu was not utilized efficiently for growth performance.

飼料作物での遮光によるワルナスビの耕種的防除法に関する研究

織部 治夫¹、表 俊雄²、堂岸 宏³

¹石川県畜産総合センター、²石川県県央農林総合事務所、³石川県農林業公社

Cultural Control of Horsenettle (*Solanum carolinense* L.) by Shading with Forage Crops
Haruo Oribe¹, Toshio Omote², Hiroshi Dougan³

キーワード：ワルナスビ、耕種的防除、遮光

要 約

草丈の高い飼料作物を栽培することによって、その遮光により強害外来雑草のワルナスビを防除する方法について検討した。

始めに、長さ 10 cm のワルナスビの根片を 2007 年 5 月 28 日に地下に埋設し、その後 3 年間、春先の萌芽後または開花後から晩秋までの期間に遮光率が異なる 3 種類 (50, 75, 95%) の遮光ネットで植物体を被覆し、ワルナスビの地上部および根の生育を観察した。その結果、遮光率が高いほど地上部および根の生育は抑制された。

次に、ワルナスビの根片を埋設した区画にスーダングラスとイタリアンライグラスの連続栽培およびリードカナリーグラスを単作栽培し、混播牧草地にワルナスビの根片を埋設した区画を比較対照とし、ワルナスビの地上部および根の生育を観察した。スーダングラスを栽培した区画の 1 番草刈取り 20 日前における地上 3.5 cm の照度は、遮光率 95% の遮光ネットで被覆した区画の照度よりも低くなった。スーダングラスとイタリアンライグラスの連続栽培区画に埋設したワルナスビの根の重量は埋設 2 年目以降、混播牧草区のワルナスビの根と比べて低い傾向であり、また埋設 3 年目にはワルナスビの根は観察されなかった。リードカナリーグラスの普通播、厚播の栽培区画に埋設 3 年目のワルナスビの根の重量は混播牧草栽培区画のワルナスビに比べ低い傾向であった。

以上のことから、ワルナスビの周囲にワルナスビよりも草丈の高い飼料作物を栽培し、遮光することにより、生育を抑制できることが示唆された。

I 緒 論

1980 年代以降、全国的に蔓延している北米南部原産のワルナスビ (*Solanum carolinense* L.) (西田, 2002) は、多年生の雑草で防除が困難である。石川県内においても、飼料作物作付け総面積の 3.7% にあたる約 34ha にワルナスビが発生している (石川県農林総合事務所調べ, 2011)。その状況は、全国の傾向と同様で、ワルナスビは公共育成牧場や酪農家の牧草地に侵入して繁茂し、場所によっては群落化しているところも見受けられる。ワルナスビの草地への侵入は牧草の収量を低下させる。また、牧草

の刈取りからサイレージ等の調製段階におい

てワルナスビが混入することによる牧草の嗜好性の低下も問題となっている。

宮崎 (2005) は、ワルナスビは根系により栄養繁殖を行う雑草であり、その根は肥厚して広く深く伸長し、そこからの茎葉の発生が難防除の主要因であると考えている。また、除草剤を使った防除法についても研究が行われている。永年草地圃場において、単年処理でワルナスビの地上部を枯死させる薬剤はあるが、根を完全に枯死させることはできなかった、また、圃場試験においては MDBA 等の薬剤を適期連年処理

することで、経年的にワルナスビ発生本数を抑えることができたとする（小野ら，2004）報告や牧草地に使用可能な除草剤を用いて防除効果を検討した結果、チフェンスルフロンメチル水和剤、DBN 粒剤が生育を一定期間抑制したが、完全防除は困難であったという報告（荒木と矢田部，2007）をはじめ、除草剤を用いた試験は数多く行われているが、完全防除までには至っていない。しかし、近年、串田と谷田（2002）はスーダン型ソルガムは高い遮光効果があり、ワルナスビの乾物重量、本数を少なくしたと報告している。また、吉尾ら（2000）は、ワルナスビが侵入しているトウモロコシ圃場（条間 70 cm 株間 20 cm で栽培）にイタリアンライグラスおよびヘアリーベッチを播種し、トウモロコシ収穫時のワルナスビの発生状況を調査した。その結果、イタリアンライグラスを a 当り 0.6 kg またはヘアリーベッチを a 当り 0.4 kg 播種することによりワルナスビの乾物重量が 1 割程度低下したとしている。さらに、オーチャードグラスが生育しているコンテナに播種したワルナスビは、出芽率、生存個体数および生育が抑制されたと報告されている（農林水産省草地試験場，1996）。このようにワルナスビは遮光

によってある程度、生育が抑えられることが明らかになっている。しかし、これらはいずれも単年の研究であり、このような遮光を単年だけでなく複数年続けることでワルナスビの防除に一層の効果が現れることが期待される。そこで、本研究は、飼料作物を栽培することによる遮光効果を複数年継続して利用することでワルナスビの防除法について検討した。

II 材料および方法

1. 生育段階調査

オーチャードグラスが優占している混播牧草地においてワルナスビが蔓延している箇所からワルナスビの萌芽 10 個体を選定し、平成 19～21 年の 3 年間、毎年、生育段階について観察および調査を行った。生育段階の特定は 10 個体中、2 個体以上が萌芽、着蕾、開花、結実の各生育段階に達した時点とした。

2. ネットでの遮光による抑制試験

2m×2m の裸地を 1 区画とする試験区を設け、10 cm の長さに切断した直径 7～15mm のワルナスビ根片を 1 個ずつ 2007 年 5 月 28 日に地下 10 cm に埋設した。その後、2007 年には開花から 115 日間（7 月 23 日から 11 月 14 日まで）、

また 2008 年、2009 年には萌芽から 183 日間 (2008:4 月 30 日から 10 月 29 日まで、2009:5 月 17 日から 11 月 15 日まで)、遮光ネット (大豊化学工業株式会社) で被覆した塩化ビニールパイプ製の枠 (1m×1m×1m) をワルナスビに被せた。遮光率が 50%、75%、95% の 3 種類の遮光ネットを各区につき 1 種類を用い、遮光率を 50%、75%、95% とする 3 区を設定し、各区につき 3 反復実施した。遮光期間終了の翌日に草丈、茎数、冠部被度 (2009 年は測定せず)、生草重量および乾物重量を測定した。冠部被度の測定は、地上 1m の高さにおける試験区画 4 m² に対するワルナスビが占有している面積を百分率で表した。ワルナスビ根片の埋設から 4 年目の平成 22 年 10 月 20 日に根片を掘り起こした。埋設した根片の重量および径は 50% 区 16.1 ± 1.4 g : 12.0 ± 0.8 mm、75% 区 15.5 ± 1.4 g : 13.2 ± 1.4 mm、95% 区 17.0 ± 1.7 g : 13.2 ± 0.2 mm であった。なお、照度の測定 (地上 3.5 cm) は 2008 年 7 月 5 日に実施し、照度計 (横河メータ&インスツルメンツ (株) 51002 型) を用いた。

3. 飼料作物による抑制試験

2m×2m を 1 区画とする試験区を設け、各区画に長さ 10 cm に切断したワルナスビ根片を 1 個

ずつ地下 10 cm に埋設し、同じ区画内で牧草を栽培した。牧草の種類により、(1) スーダングラスおよびイタリアンライグラスの連続栽培区 (SG+IRG 区)、(2) リードカナリーグラスの単作区 (RCG 区) を設けた。この両区にそれぞれ既存の混播牧草 (ペレニアルライグラス、オーチャードグラス、クローバ) 圃場にワルナスビを埋設した 2m×2m の区画 (MIX 区) を対照区とした。さらにスーダングラスおよびリードカナリーグラスは播種密度の違いにより普通播き (播種量: スーダングラス 1 kg/a、リードカナリーグラス 0.15 kg/a) と厚播き (播種量: スーダングラス 1.5 kg/a、リードカナリーグラス 0.3 kg/a) を設定した。イタリアンライグラスの播種量は 0.25 kg/a とした。これらの区は将来のワルナスビの根片の掘起し時期 (埋設から 1 年目、2 年目、3 年目) によって更に 3 区に分け、1 区あたり 3 反復で実施した。根片の重量および径は各区とも 9 本の平均 ± 標準偏差で SG+IRG 区普通播 11.9 ± 1.3 g : 10.6 ± 1.0 mm、SG+IRG 区厚播 9.8 ± 1.8 g : 10.0 ± 0.8 mm、RCG 区普通播 8.2 ± 0.4 g : 6.8 ± 0.6 mm、RCG 厚播 8.4 ± 0.2 g : 7.9 ± 0.7 mm、SG+IRG 区の対照としての MIX 区 8.5 ± 1.2 g : 9.1 ± 1.2 mm、RCG 区の対

照としての MIX 区 $8.4 \pm 0.5 \text{g} : 8.1 \pm 0.5 \text{mm}$ であった。

SG+IRG 区は、2007 年春にスーダングラスの播種を行うと同時にワルナスビ根片を埋設した。RCG 区は、2007 年秋にリードカナリーグラスを播種し、翌春にワルナスビ根片を埋設した。SG+IRG 区の対照となる MIX 区、RCG 区の対照となる MIX 区とも、それぞれ、試験区と同じ日にワルナスビ根片を埋設した。各区とも牧草刈取と同時にワルナスビを一緒に刈取り、ワルナスビの草丈、乾物重量を調査した。また、埋設から 1 年目、2 年目、3 年目にそれぞれワルナスビの根を掘起こし、根の重量を測定した。また、1 番草刈取予定 20 日前の平成 20 年 7 月 5 日にスーダングラス、リードカナリーグラス、混播牧草の区画の地上 3.5 cm における照度を測定した。

III 結果および考察

ワルナスビの生育段階の推移の結果を表 1 に示した。萌芽の時期は 2007 年は 5 月 18 日、

	萌芽期	着蕾期	開花期	結実期
2007	5/18	6/4	6/18	7/16
2008	4/30	5/27	6/12	7/2
2009	5/17	6/2	6/15	7/13

2009 年は 5 月 17 日とほとんど同じであったが、2008 年は 4 月 30 日で 2007、2009 年に比べ、17、18 日早かった。これは気温が、2008 年は 3 月中旬から 4 月中旬にかけて高く推移したこと、4 月上・中旬の降水量が 2008 年は 2007、2009 年に比べて多かったことが影響していると考えられた。また、2008 年は 1 月中旬から 3 月上旬にかけて気温が 2007、2009 年よりも $2 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 低く推移したが、この時期の低温はワルナスビの萌芽の時期に影響しなかった。着蕾の時期は 2007 年が 6 月 2 日、2009 年が 6 月 4 日でほぼ同じであったが、2008 年はそれらよりも 6~8 日早かった。これは前述のように萌芽期も 2008 年が早かったことによると思われる。平成 2007、2009 年は萌芽から着蕾まで 16、17 日を要したが、2008 年は 27 日要していることから、いくら萌芽が早くても 5 月末以降にならないと着蕾しないと推測された。開花期は 3 年ともほぼ同じ時期（6 月 12 日から 6 月 18 日）であった。このことから萌芽期、着蕾期の時期が異なっても開花期はほぼ同じ時期になることが推察された。

宮崎 (2005) は萌芽可能温度範囲 ($15 \sim 20^{\circ}\text{C}$) でも、正常な根から茎葉は発生しないが、茎葉

遮光率	1年目(2007)					2年目(2008)					3年目(2009)			
	草丈 (cm)	茎数 (本)	冠部被度 (%)	生草重量 (g)	乾物重量 (g)	草丈 (cm)	茎数 (本)	冠部被度 (%)	生草重量 (g)	乾物重量 (g)	草丈 (cm)	茎数 (本)	生草重量 (g)	乾物重量 (g)
50%区	79.7	1.0	4.2	140.7	34.3	117.7	3.7	30.4 ^a	348.2 ^a	69.1 ^a	95.8	3.0	186.4	37.9
75%区	77.7	1.0	3.4	131.4	27.9	152.7	2.7	20.0 ^{ab}	268.9 ^{ab}	50.2 ^{ab}	92.2	2.3	134.1	26.8
95%区	46.7	1.0	0.4	21.1	4.6	96.3	2.0	4.8 ^b	56.5 ^b	10.7 ^b	69.7	2.3	51.8	10.4

異符号間に有意差あり(P<0.05)

を地上部だけ刈り取ると切除した茎からのみ茎葉が再生すると報告しており、ワルナスビの地上部の刈取を行わなかった本調査では、毎年6月以降にはこの報告と同様に、茎葉の発生は認められなかった。

遮光による抑制試験の結果を表2に示した。遮光率が高くなるにつれてワルナスビの草丈および生草・乾物重量は低くなる傾向が見られた。なかでも遮光率95%区は50%区に比べて、2年目のワルナスビの地上部の生草重量、乾物重量および冠部被度は有意に低くなった。

実生ワルナスビは50%遮光条件下では、地上部、地下部とも無遮光条件と同等に生育し、75%以上の遮光条件下では生育は著しく低下するものの、主根長は95%遮光条件下においても播種後95日目には約40cm(平均径1.8mm)まで伸長した(浦川と出口, 1999)と報告されている。本研究でも遮光率75%区は50%区に比べて、有意差はなかったものの1、2年目の冠部被度、1、2、3年目の生草重量、乾物重量について低

い傾向であった。95%区は75%区よりもさらに生育は低下し、有意差はなかったが、1、2、3年目の草丈、生草重量、乾物重量および1、2年目の冠部被度は低い傾向であった。95%区における2年目の冠部被度、生草重量、乾物重量は50%区と比べ、有意に低下した。95%区は根の埋設後、3年間、連続して遮光したにもかかわらず、根は存在していた。

遮光による抑制試験におけるワルナスビ根の重量を表3に示した。

区分	埋設	掘起	掘起/埋設
	(2007.5.28)	(2010.10.20)	
遮光率50%区	16.1	42.0	2.61
遮光率75%区	15.5	13.4	0.86
遮光率95%区	17.0	11.2	0.66

2007年5月28日のワルナスビ根の埋設からおよそ3年半後の2010年10月20日に根を掘り起こした。遮光率50%区では掘起時の根の重量は埋設時の2.6倍であった。一方、遮光率75%区および95%区では掘起時の根の重量は埋設時より小さかった。遮光率が高くなるほどワルナスビの根の生育抑制効果は大きくなると考え

1年目(2007)														2年目(2008)																											
区分	SG 播種	ワルナスビ 根片埋設		SG1番草刈取時(8/13) MIX2番草刈取時(8/3)		SG2番草刈取時(10/3) MIX3番草刈取時(10/3)		ワルナスビ 根掘起		IRG 播種	IRG 刈取	SG 播種		SG1番草刈取時(7/25) MIX1番草刈取時(7/25)		SG2番草刈取時(9/24) MIX2番草刈取時(9/24)		ワルナスビ 根掘起		IRG 播種																					
		草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)			草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)																								
SG+IRG区	普通播	5/28	5/28	41	11.6	55	4.1	10/4	10/5			4/21	5/16	79	2.8	46	4.1	9/25	10/6																						
	厚播	5/28	5/28	60	4.5	45	1.8	10/4	10/5			4/21	5/16	63	5.7	63	17.7	9/25	10/6																						
MIX区	混播牧草	—	5/28	45	2.5	45	5.7	10/4	—			4/21	5/16	66	6.2	47	12.7	9/25	—																						
※ 播種量(SG:普通播:1.0kg/a、厚播:1.5kg/a)、IRG(0.25kg/a))														SG:スーダングラス IRG:イタリアンライグラス MIX:混播牧草																											
3年目(2009)																																									
区分	SG+IRG区	普通播	IRG2番草刈取時(5/28) MIX1番草刈取時(5/28)		SG播種	SG1番草刈取時(8/26) MIX2番草刈取時(8/26)		SG2番草刈取時(10/7) MIX3番草刈取時(10/7)		ワルナスビ 根掘起																															
			草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)		草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)																												
			—	—	6/22	—	—	—	—	10/22																															
			—	—	6/22	—	—	—	—	10/22																															
MIX区		混播牧草	42	24	—	35	244	53.8	24	10/22																															
2007														1年目(2008)														2年目(2009)													
区分	RCG 播種	ワルナスビ 根片埋設		1番草刈取時 (RCG、MIXとも7/25)		2番草刈取時 (RCG、MIXとも9/24)		ワルナスビ 根掘起		2番草刈取時 (RCG、MIXとも6/12)		3番草刈取時 (RCG、MIXとも10/7)		ワルナスビ 根掘起																											
		草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)																										
RCG区	普通播	9/21	5/15	49	1.7	43	1.8	9/25		40	6.4	44	14.0	10/22																											
	厚播	9/21	5/15	55	2.2	48	2.3	9/25		36	2.2	27	2.0	10/22																											
MIX区	混播牧草	—	5/15	35	1.7	40	2.3	9/25		38	6.1	46	30.0	10/22																											
※ 播種量(普通播:0.15kg/a、厚播:0.3kg/a)														RCG:リードカナリーグラス MIX:混播牧草																											
														3年目(2010)																											
区分	RCG区	普通播	1番草刈取時 (RCG、MIXとも6/3)		2番草刈取時 (RCG、MIXとも7/27)		3番草刈取時 (RCG、MIXとも9/15)		ワルナスビ 根掘起																																
			草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)	草丈 (cm)	乾物重量 (g/4㎡)																															
			測定せず	1.2	59.7	19.2	36.2	21.2	10/20																																
			測定せず	1.2	61.8	26.4	37.8	24.4	10/20																																
MIX区		混播牧草	測定せず	1.6	50.6	80.8	36.6	82.8	10/20																																

られた。また、遮光ネットで被覆したワルナスビは開花したが、結実しなかった。

飼料作物によるワルナスビ抑制試験の結果を表4に示した。SG+IRG区でのワルナスビの生育は1年目、2年目のスーダングラスの1番草、2番草の刈取時と時期をほぼ同じくする混播牧草の2番草、3番草の刈取時のワルナスビの草丈、乾物重量においてMIX区と同等かまたはMIX区よりも高かった。しかし、3年目にはワルナスビは地上に認められなかった。RCG区においては、1年目の草丈、乾物重量はMIX区と有意差は認められなかった。2年目の秋からワルナスビの生育はRCG区がMIX区よりも低下した。3年目の3番草刈取時においてはRCG区の

ワルナスビの乾物重量はMIX区よりも低下した。SG+IRG区では、試験開始から最初の2年間はMIX区に比べ、ワルナスビの生育に差は認められなかったが、3年目には地上にワルナスビは認められなかった。

飼料作物抑制試験における飼料作物の草丈の推移を表5に示した。SG+IRG区、RCG区、MIX区どの区においても牧草の草丈は常にワルナスビの草丈よりも高く推移した。スーダングラス、リードカナリーグラスとも普通播と厚播とで、草丈に差はなかった。

飼料作物抑制試験におけるワルナスビの根の重量を表6に示した。SG+IRG区、RCG区およびMIX区とも埋設から1年目にはワルナスビの

スーダングラス+イタリアンライグラス連続栽培区	1年目(2007)				2年目(2008)				3年目(2009)						
	測定日				3/25	4/21	5/12	6/2	6/12	7/2	4/17	5/8	7/27	8/26	10/7
イタリアンライグラス					28.7	94.7					78.4				
スーダングラス 普通播										73.5				154.7	136
厚播										77.8				151	145.5
混播牧草					19.5		106	35.6	90.2			94.2	63.6		
リードカナリーグラス区	1年目(2008)				2年目(2009)				3年目(2010)						
	測定日	3/25	6/12	7/2	9/24	5/8	5/18	6/12	10/7	7/27					
リードカナリーグラス 普通播		10.5	61.6	84.6	72.8		108.4	67	59	83.2					
厚播		11.2	62.6	79.4	69		105.7	67	57.5	83.1					
混播牧草			97.9			83.2		83.5	64	55.5					

区分	埋設時	1年目		2年目		3年目	
スーダングラス(SG)+イタリアンライグラス(IRG)区	普通播	11.9	19.7 (1.7)	6.4 (0.5)	0 (0.0)		
	厚播	9.8	11.4 (1.2)	19.8 (2.0)	0 (0.0)		
混播牧草(MIX)区		8.5	19.8 (2.3)	47.3 (5.6)	99.6 (11.7)		
リードカナリーグラス(RCG)区	普通播	8.2	9.1 (1.1)	18.9 (2.3)	14.7 (1.8)		
	厚播	8.4	12 (1.4)	18 (2.1)	44.4 (5.3)		
混播牧草(MIX)区		8.4	11.8 (1.4)	143 (17.0)	154 (18.3)		

根の重量は平均 1.5 倍 (1.1~2.3) に増加した。SG+IRG 区では、2 年目には普通播の区画のワルナスビの根の重量は埋設時よりも小さくなったが厚播の区画の根は 2 倍、MIX 区の根は埋設時の約 5 倍に増加した。3 年目には普通播、厚播ともにワルナスビの根は認められなかった。1~3 年目にかけて MIX 区のワルナスビの根の重量は増加した。RCG 区においては普通播、厚播ともワルナスビの根の重量が 2 年目には埋設時の 2 倍程度に生育したが、MIX 区では、17 倍と生育が著しかった。3 年目には RCG (普通播) 区では、2 年目よりやや小さくなり、RCG

(厚播) では 2 年目の 2 倍に生育した。MIX 区ではワルナスビの根は 2 年目から 3 年目にかけてやや大きくなった。これらのことから、SG+IRG 区および RCG 区では MIX 区に比べると、ワルナスビの根の生育は抑制され、SG+IRG 区の方が RCG 区よりも抑制効果は大きかった。

遮光ネット内および飼料作物による抑制試験の区画の照度を表 7 に示した。遮光率 50% 区の照度は裸地の照度の 2.9%、75% 区では 2.7%、95% 区では 1.9% に大幅に低下した。測定日は 7 月 5 日で、SG+IRG 区ではスーダングラスが 1 番草刈取 20 日目の旺盛に繁茂している時期で

表7 遮光ネット内および牧草地の照度				(ルクス)	
遮光率50%区				933	(2.9)
遮光率75%区				869	(2.7)
遮光率95%区				633	(1.9)
裸地				32,633	(100.0)
スーダングラス(SG)+イタリアンライグラス(IRG)区		普通播		495	(1.5)
スーダングラス(SG)+イタリアンライグラス(IRG)区		厚播		390	(1.2)
混播牧草(MIX)区				2,313	(7.1)
リードカナリーグラス(RCG)区		普通播		1,493	(4.6)
リードカナリーグラス(RCG)区		厚播		1,056	(3.2)
混播牧草(MIX)区				3,581	(11.0)

あり、RCG 区も同様の圃場状況であった。SG+IRG 区、RCG 区の照度はともに裸地の照度の 4.5%以下であった。RCG 区の照度は MIX 区の 1/3 であり、MIX 区に比べてワルナスビの生育は抑制され、その効果は試験開始から 2 年目に認められた。また、SG+IRG 区の照度は、普通播、厚播とも RCG 区の普通播、厚播の 1/3、MIX 区の 1/4 程度であり、遮光の効果は 3 年目に現れた。このことからスーダングラスはリードカナリーグラスより遮光効果が高く、その照度は遮光率 95%区より低いことが確認された。MIX 区の照度は遮光率 50%区よりも高く、ワルナスビに対する被覆の効果は小さいと考えられた。本研究では、ワルナスビの根片を埋設すると同時にワルナスビよりも草丈が高くなるイタリアンライグラス、スーダングラスおよびリードカナリーグラスを播種して、ワルナスビの生育状況を調査した。その結果、MIX 区では、ワルナ

スビの地上部が活発に生育したが、SG+IRG 区、RCG 区では飼料作物が土壌表面を被覆することで内部の照度が低下し、ワルナスビの生育は低かった。特に SG+IRG 区では、3 年目には根および地上部が観察されなかった。これらのことから、飼料作物の栽培によるワルナスビの生育抑制効果が認められ、特にスーダングラス+イタリアンライグラス体系では顕著であった。本研究でリードカナリーグラスをワルナスビの生育抑制飼料作物として利用したのは、これまでに報告がなく、北信越、特に北陸の多雪地域においては重要な基幹牧草の一つであることによる。リードカナリーグラスによるワルナスビの生育抑制効果はスーダングラス+イタリアンライグラス体系と比べ低かったが、2 年以上継続することで、高くなった。小野ら(2004)は、永年草地で夏期にワルナスビに除草剤処理し、秋期にイタリアンライグラスやオ

オーチャードグラス等を追播し、飼料作物被度を高めることでワルナスビの発生を抑えることができる」と提案している。本研究でも同様の結果が得られ、イタリアンライグラス、スーダングラス、リードカナリーグラスの栽培により被度が高まったことによって、結果的に照度が低下し、ワルナスビの生育抑制効果が認められた。

本研究における耕種的防除法は、除草剤を使用しないことから環境に配慮した農薬費・労働費の節減につながる技術として有望であると考えられた。本研究では、10 cmのワルナスビ根片に対する防除技術の開発を試みたが、今後はワルナスビが広く群落化している圃場における本技術の適用が課題であると考えられる。

IV 引用文献

荒木創・矢田部憲一. 除草剤によるワルナスビ防除効果の検討. 新潟県農業総合研究所畜産研究センター研究報告. 16:6-8. 2007.

串田晴彦・谷田重遠. 高品質粗飼料安定生産技術の確立—スーダン型ソルガムの遮光によるワルナスビの防除技術—. 岡山県総合畜産センター研究報告. 13: 11-15. 2002.

宮崎桂. 多年生雑草ワルナスビ (*Solanum carolinense* L.) の根系による栄養繁殖. 根の研究. 14(3): 99-104. 2005.

西田智子. 飼料畑・草地における外来雑草の侵入. 日本草地学会誌. 48(2): 168-176. 2002.

農林水産省草地試験場. オーチャードグラス草地での外来雑草ワルナスビの生育特性. 草地飼料作研究成果最新情報. 12: 25-26. 1996.

小野晃一・前田綾子・田澤倫子・星一好・星一美. 採草地における外来雑草ワルナスビに対する除草剤連年処理試験. 栃木県畜産酪農研究センター試験研究報告書. 1-7. 2004.

浦川修司・出口裕二. 実生ワルナスビの生育及び栄養繁殖能力の獲得時期. 研究成果情報生産環境・畜産-草地 関東東海農業. J1091A. 256-257. 1999.

吉尾卓宏・関正博・津田公男. 飼料畑におけるワルナスビ防除方法の開発. 茨城県畜産試験場研究報告. 30:13-16. 2000.

V Summary

Methods of controlling the imported weed horsenettle by forage crops were examined.

On May 28,2007, horsenettle roots(10cm) were partially buried underground. After blooming, the plants were covered by one of three types of shade netting (shade ratios 50%,75%,and 95%) .

Next, Sudangrass (*Sorghum sudanense* Stapt.) and Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.)were cultured in one plot (2m × 2m) of horsenettle, and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) in another. In the Sudangrass plot luminance 3.5cm above ground was lower than that under 95% shading. Horsenettle roots were lighter in the Sudangrass/Italian ryegrass plot than in the reed canarygrass plot.

In the 3 years that have since passed no growth of buried horsenettle roots was observed in the former plot, while in the latter, growth was observed but not extensively.

It is suggested that culturing tall forage crops around horsenettle inhibits its growth.

乳牛における分娩後の血中IV型コラーゲン濃度の推移と繁殖性との関係

林 みち子¹⁾、長井 誠²⁾、堀 登¹⁾、坂口 政信⁴⁾、早川 裕二³⁾、北 満夫⁴⁾

1 南部家畜保健衛生所、2 東京農工大、3 県庁農業安全課、4 畜産試験場

The Relationship between Change of Plasma Type IV Collagen Concentration and Reproduction in the Postpartum Dairy Cows

Michiko Hayashi, Makoto Nagai, Noboru Hori, Masanobu Sakaguchi, Yuji Hayakawa, Mitsuo Kita

キーワード：牛IV型コラーゲン、子宮修復、受胎率向上

要 約

乳用経産牛の受胎率向上を目的に、子宮内膜修復の指標として血中牛IV型コラーゲン濃度を測定し、繁殖性との関連性を調べた。その結果、分娩後に①卵巣機能が正常に回復し、②乳生産に備えた適切な栄養管理ができ、かつ③子宮内膜の細菌に対する抵抗性があり、④子宮内膜の修復が完了した牛が早期に妊娠することができたものと考えられ、血中牛IV型コラーゲン濃度測定が子宮修復の指標となり得る可能性が示唆された。

I 緒 論

近年、乳牛の繁殖性の低下は世界的な問題となっているが、その要因として、泌乳能力の向上を目的とした遺伝的改良に原因があるとしている。

石川県においても同様、乳牛の泌乳能力が向上した反面、繁殖性が年々低下し、分娩間隔は平成10年に421日であったものが、平成19年には452日となり、約10年間で30日程度の分娩間隔が延長している。

乳牛の分娩間隔の延長は、不安定な乳質、乳量の低下を招き、農家の収益に関わる重大な問題となっている。牛の繁殖性低下の要因に関しては、卵巣機能や受精卵側の要因の研究は多くなされているが、分娩後の子宮修復状況を客観的に評価する基準は未だに確立されていない。この問題の解決に向け、平成21年度から3カ年計画で「受精卵移植における子宮内環境改善による受胎率向上技術の確立」のため、主に子宮の修復状況に着目した試験を実施した。

子宮内膜の主要構成要因は、細胞外マトリクスと呼ばれ、妊娠に伴う子宮内膜の改変は細胞外マトリクスの変化に基づくと考えられている。細胞外マトリクスは主

に線維性タンパク、複合糖質、糖タンパク質からなる。

線維性タンパクは主にコラーゲンとエラスチンであり、中でもコラーゲンは、生体タンパクの約3分の1を占め、最も多く存在するタンパク質である。

コラーゲンは構成鎖の組成が異なるI型からXIVIII(18)型まで知られている。中でもIV型コラーゲンは、組織の基底膜を構成するコラーゲンで、他の多くのコラーゲンが線維状を呈するのに対し、IV型コラーゲンはシート状を呈すると言われている⁸⁾。

通常コラーゲンは3本撚りロープ状構造をしており、コラゲナーゼにより分解される。しかし、IV型コラーゲンはN末端に7Sドメイン、C末端にNC1ドメインという3本撚りでない部分を持ち、中でも7Sドメイン部分はコラゲナーゼで分解されないために、血中に比較的安定的に存在する。このため、7Sドメインをターゲットとした測定系の立ち上げが可能であることが考えられた。

胎盤形成時に組織再構築が起こる事は、既に組織学的手法で明らかにされている¹⁰⁾が、生体の牛でモニターする手法は確立されていない。また分娩後の子宮修

復に関しては、超音波検査で劇的な形態変化を遂げることは観察されている^{3, 5)}が、子宮内膜の修復状況を詳細に把握することは難しい⁹⁾。そこで、免疫アッセイ法で、基底膜再構築により分解・生成されるコラーゲンIV型を捉えることにより、子宮修復の評価ができないかどうかを、血漿中ホルモン濃度、血液生化学的性状、子宮内細菌学的検索、繁殖性と共に総合的に検討した。

II 材料および方法

1. 供試牛および採材法

石川県畜産総合センターで飼養されているホルスタイン種経産牛12頭(平均1.8産)を用いた。

採血は採食後3時間目に実施した。採血部位は頸静脈とした。血液生化学検査には、ブレイン真空採血管(テルモ)にて2週間に1度採取した全血を、室温にて1時間程度静置、冷却遠心(4℃、3000rpm、15分)により分離した血清を用いた。なお、検査は採血当日中に実施した。牛血中IV型コラーゲン濃度およびホルモン濃度は、ヘパリン加真空採血管(テルモ)を用い、1週間に1度採取した血漿を用いた。血漿は採取直後より氷冷により実験室まで運搬、冷却遠心(4℃、3000rpm、15分)を行い分離した。分離した血漿は各種測定を実施するまでの期間、-20℃にて冷凍保存した。なお、採血期間は分娩1週間前から分娩後8週目までとした。

2. 牛IV型コラーゲン測定法

測定方法は、独自に開発した時間分解蛍光免疫測定法で実施した。まずウシIV型コラーゲン(高研)をクロストリジウム由来コラーゲナーゼ(和光純薬)で消化して断片化し、これをセファクリルS200-HR(GEヘルスケア)でゲル濾過を行って、N末端側の7Sドメインの12量体(分子量約300kDa)を精製した。12量体をヨードアセトアミド(和光純薬)でアルキル化して単量体(分子量約32kDa)に解離させ、単量体をトレーサーと測定用標準品に用いた。7Sドメインをユーロピウムで標識してトレーサーを作成した。標識はDELFLIA Eu-Labeling kit(DELFLIA)を用いた。抗ウシIV型コラーゲンの抗体は、IV型コラーゲン(高研)をアジュバントと混和してウサギに免疫して作成した。

測定手順は、まず検体又は標準液を第二抗体固定化96穴プレート(DELFLIA Strip Plate)に分注し、更に抗体を分注して一晩室温でインキュベートした。翌日にプレートを洗浄し、内容液を完全に除いてからEu標識トレーサーを分注して3時間室温でインキュベートしてから再びプレートを洗浄して内容液を完全に除いた。プレートに増強試薬(Perkin elmer)を分注して5分間インキュベートしてからPerkin elmer1420 Multilabel counter(Perkin elmer)にて時間分解蛍光測定を行い、各ウェルの蛍光強度を測定し、標準液の測定値を片対数グラフにプロットした標準曲線から検体の濃度を読み取った。

なお、血中IV型コラーゲン濃度の測定は、独立行政法人農業生物資源研究所動物科学研究領域動物生産生理機能ユニットと共同で実施した。

3. 性ホルモン測定法

性ホルモン(エストラジオール(E₂)、プロゲステロン(P₄))濃度の測定は、DELFLIA Estradiol kit(DELFLIA)、DELFLIA Progesterone kit(DELFLIA)を用いTakahashi⁷⁾の方法に基づき実施した。

4. 血液生化学検査法

血液生化学検査は、遊離脂肪酸(NEFA)、グルコース(Glu)、尿素態窒素(BUN)、GOT、 γ -GTP、総コレステロール(T-Cho)の6項目を小型生化学自動分析装置CA-180(古野電気株式会社製)を用いて測定した。またケトン体は、3-ヒドロキシ酪酸キット ケトフィルムN((株)三和化学研究所)を用い、血中ケトン体測定器 ケトメーターN KM-4520((株)三和化学研究所)にて測定した。

5. 子宮内細菌検査法

子宮内細菌検査は、分娩後4週と8週に実施した。採材は、供試牛の外陰部を清拭後、モー4号(ミサワ医科工業(株))を子宮角に挿入し、生理的食塩水を還流させ、注射筒にて液を回収して実施した。なお、検査には左右個別のモー4号を用い、採材した材料は、採取後すぐに氷冷し、検査に供するまで-80℃にて冷凍保存した。培地には①5%綿羊血液加TSA寒天培地、②DHL寒天培地、③5%卵黄加GAM寒天培地を用いて実施した。回収液を原液で100 μ Lそれぞれの培地に接種

し、培養は①を 37℃、5%CO₂、および嫌気条件下で 18～48h、②を 37℃好気培養 18～24h、③を 37℃で嫌気培養 18～48h、それぞれ実施した。菌の同定には API (バイオメリュースメックス社) を使用した。

6. 統計処理法

得られた結果について、分娩後 12 週以内に受胎した早期受胎群 (n=3) とし、分娩後 12 週以降に受胎または受胎しなかった長期不受胎群 (n=9) との平均値間の差の検定を Student-t 検定にて行った。また、有意水準は P<0.05 とした。

Ⅲ 結果

1. 血中Ⅳ型コラーゲン濃度 (ng/ml) は、ほぼ全頭で分娩日から分娩後 1 週目 (以下週目:w) に高値を示し、分娩後 3w に低下するパターンを示した。また、分娩後 3、4w には、早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 10.33±5.73 (3w)、10.53±4.69 (4w)、長期不受胎群 : 47.22±29.82 (3w)、61.56±54.57 (4w))。

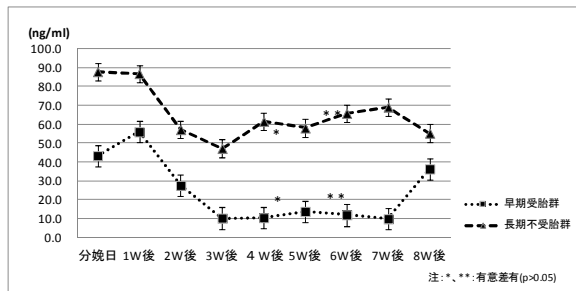


図 1. 牛Ⅳ型コラーゲン

2. 血中 E₂ 濃度 (pg/ml) は、分娩後 4、7w に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 3.70±2.50 (4w)、2.04±2.03 (7w)、長期不受胎群 : 12.13±11.12 (4w)、11.86±11.91 (7w))。

血中 P₄ 濃度 (ng/ml) は、分娩後 5、8w に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 0.26±0.21 (5w)、0.51±0.09 (8w)、長期不受胎群 : 2.09±1.39 (5w)、2.26±1.52 (8w))。

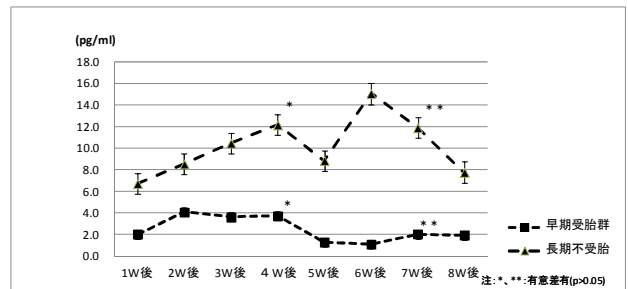


図 2. E₂

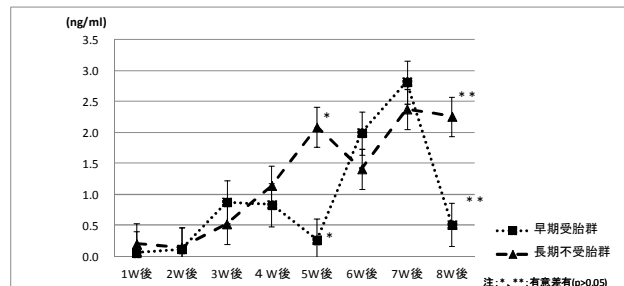


図 3. P₄

3. 血液生化学検査では、NEFA が分娩日と分娩後 4w に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 374.67±64.66 (分娩日)、208.33±3.77 (4w)、長期不受胎群 : 579.0±179.23 (分娩日)、408.11±248.48 (4w))。また Glu では、分娩後 2、4、8w に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 43.33±10.34 (2W)、50.33±1.25 (4w)、39.5±5.5 (8w)、長期不受胎群 : 60.56±13.21 (2w)、58.56±10.71 (4w)、56.67±7.57 (8w))。さらに BUN は分娩日に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に低かった (早期受胎群 : 7.37±2.86 (分娩日)、長期不受胎群 : 13.18±4.0 (分娩日))。T-cho では分娩後 8w に早期受胎群が長期不受胎群に比べ有意に高かった (早期受胎群 : 217.0±23.0 (8W)、長期不受胎群 : 176.56±26.7 (8W))。その他の項目では両群に差はみられなかった。

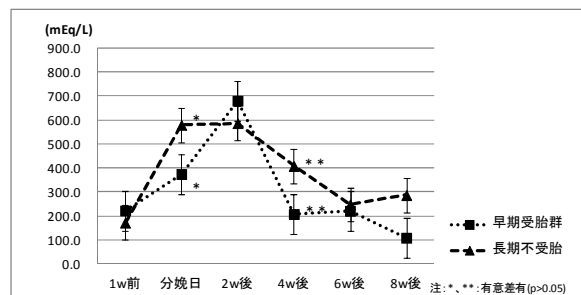


図 4. NEFA

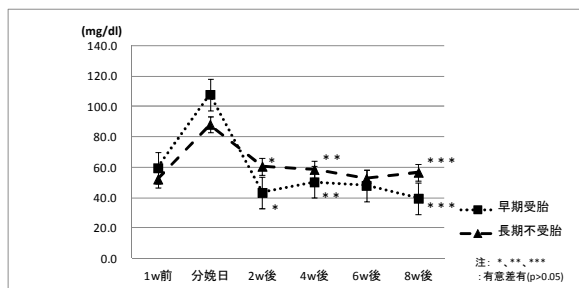


図 5. グルコース

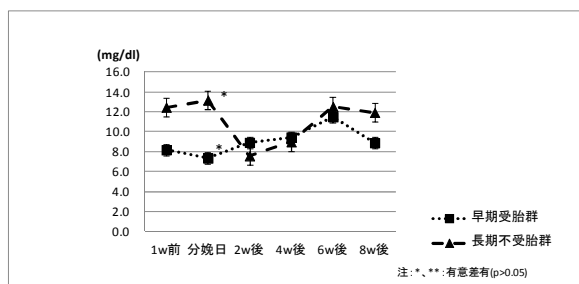


図 6. BUN

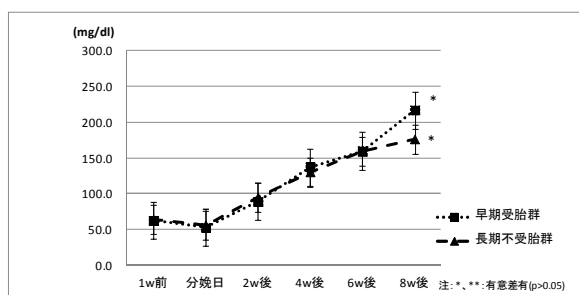


図 7. T-Cho

4. 細菌学検査では、分娩後 4w には長期不受胎群では 9 頭中 7 頭、早期受胎群では 3 頭中 1 頭で分離菌数が 10^2 CFU/ml 以上であったが、分娩後 8w には、早期受胎群は全頭 10^2 CFU/ml 以下となったが、長期不受胎群では 9 頭中 1 頭で分離菌数が 10^2 CFU/ml 以上となった。分離菌は主に大腸菌や Arcanobacterium であった。

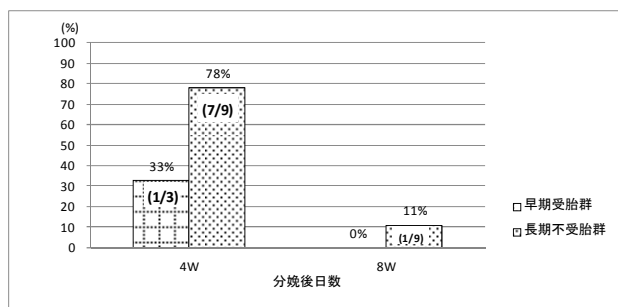


図 8. 細菌検査成績

IV まとめおよび考察

牛IV型コラーゲンの濃度は、ほぼ全頭で分娩日から

分娩後 1w に高値を示し、分娩後 3w に低下したが、特に早期受胎群では、3w 以降、一定の値で推移するパターンを示した。小山⁵⁾は、乳牛の分娩後の子宮を定期的にエコーによる検査を行い、分娩後 30 日前後に子宮内膜の修復が終了する、OKANO¹⁾らも和牛雌牛で子宮退縮は分娩後約 40 日としていることから、子宮の修復が進むと、牛IV型コラーゲンの濃度も低くなることが推察された。また、Kaidi R ら²⁾は分娩後の子宮収縮に伴い、コラーゲンの尿中排泄が 6 日で最大になり、2-3 週で元に戻る事を報告しているが、このことは今回我々の測定したコラーゲンの濃度の推移とほぼ一致しており、コラーゲンの血中濃度と尿中濃度の関連性も示唆された。さらに長期不受胎群では、早期受胎群に比べ、牛IV型コラーゲンが高値で推移していたが、E2 も長期不受胎群で早期受胎群に比べ高値で推移し、修復が遅れている子宮に対し、子宮を修復させるために E2 の分泌が促進された事も考えられた。

早期受胎群では、長期不受胎群に比較し、分娩後 5、8w の P 濃度が有意に低く、また NEFA、子宮内からの細菌分離率および牛IV型コラーゲン濃度も有意に低かった。これらのことから、分娩後に①卵巣機能が正常に回復し、②泌乳生産に備えた適切な栄養管理ができ、③子宮内膜の細菌に対する抵抗性があり、④子宮内膜の修復が完了した経産牛が、早期に妊娠することができると考えられた。

現在、分娩後の子宮の機能的な回復を確認する方法として直腸検査法⁹⁾と超音波画像診断^{3, 5)}が用いられているが、卵巣機能^{4, 6)}ほどよくわかっておらず、牛IV型コラーゲンの血中濃度測定は、子宮修復の指標となり得る可能性が示唆された。

また現在、分娩後 30~40 日を経過する牛に対し、悪露や後産停滞など子宮の回復状態および卵巣機能の回復を把握するフレッシュチェックを全頭を実施すること繁殖検診の原則となっているが、フレッシュチェックの 1 項目として牛IV型コラーゲン濃度の測定を実施することにより、分娩後早期の不受胎原因の特定とその後の受胎につながるものと期待したい。

V 謝辞

本試験の実験にあたり、牛IV型コラーゲン濃度、性

ホルモンの測定に御指導・御協力いただきました独立行政法人 農業生物資源研究所 動物科学研究領域 動物生産生理機能ユニット 高橋 透先生に御礼申し上げます。

VI 引用文献

- 1) OKANO A、 et al(1996)、 Post partum Uterine Involution in the cow、 JARQ Vol. 30、 No. 2、 113-121
- 2) Kaidi R、 et al(1991)、 Source Uterine collagen during involution in cattle、 Matrix、 Apr;11(2)、 101-107
- 3) 上村 俊一ら(1990)、分娩後の乳牛における血漿中プロジェステロン濃度と超音波診断装置で判定した繁殖機能の回復経過、北海道立農試集報 61、13-20
- 4) Kawashima C、 et al(2006)、 Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows、 J. Reprod. Dev. 52、 479-486
- 5) 小山 毅 (2012)、超音波画像診断による牛の子宮修復評価の試み、北獣会誌 56、10-15
- 6) Sakaguchi M、 et al(2004)、 Postpartum ovarian follicular dynamics and estrus activity in lactating dairy cows、 J. Dairy Sci. 87、 2114-2121
- 7) Takahashi T(2004)、 A direct time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) for measuring plasma estradiol-17beta concentrations in cattle、 J. Vet. Med. Sci. Mar66(3)、 225-229

8) Haralson MA & Hassell JR(1995)、 Extracellular Matrix、 Oxford University Press、 London、 1-10

9) 星野邦夫(1989)、子宮疾患への対応上の問題点、獣医畜産新報 817、5-10

10) Yamada O、 et al (2002)、 The dynamic expression of extracellular matrix in the bovine endometrium at implantation、 J. Vet. Med. Sci. 64(3)、 207-214

VII Summary

To improve the pregnancy rates in dairy cows, we investigate the relationship between change of the plasma type IV collagen concentration and its reproduction. Normal (conceived within 80 days post partum) compare with subfertile (conceived after 80 days post partum), has appropriate estradiol level, lower nonesterified fatty acid (NEFA) concentration, lower ratio of detected bacteria, and lower concentration of bovine type IV collagen. In conclusion, this study reveals that Normal herds that have recovering ovarian function, appropriate nutrition administration for milk production, endometrium resistance for bacteria infection, completed endometrium remodeling. Results in the present study infer that plasma collagen IV profile is one of the suitable markers for evaluation of post partum uterine involution.

受胎率向上のための各種サプリメントの給与技術試験

林 みち子¹⁾、堀 登¹⁾、坂口 政信³⁾、早川 裕二²⁾、鈴木武人⁴⁾、牛越節男⁵⁾、
北 満夫³⁾

1 南部家畜保健衛生所、2 県庁農業安全課、3 畜産試験場、4 麻布大学、5 牛越生理学研究所

Effect of Supplementation to Improve the Pregnancy Rates in Dairy Cows.

Michiko Hayashi, Noboru Hori, Masanobu Sakaguchi, Yuji Hayakawa, Takehito Suzuki, Setsuo Ushikoshi, Mitsuo Kita

キーワード：受胎率向上、サプリメント

要 約

乳用経産牛における受胎率向上を目的に、野外で2種類のサプリメント給与試験を行った。エネルギーとバイパス蛋白を補うサプリメントでは効果がほとんど見られなかった。肝機能の改善を目的としたサプリメントでは、分娩後早期に負のエネルギーバランスから回復し、また IGF-1 の分泌が促進されたことにより繁殖性が改善された。

I 緒 論

近年、乳用牛の繁殖性の低下は世界的な問題となっているが、その原因として、泌乳能力の向上を目的とした遺伝的改良に原因があるとしている。

乳用牛の分娩間隔の延長は、不安定な乳質、乳量の低下を招くため、農家の収益に関わる重大な問題となる。

乳用牛は、分娩後の泌乳初期、採食量の生理的な低下に伴い、負のエネルギーバランスに陥りやすく、結果、ケトosis、脂肪肝や発情回帰遅延の原因となることが、これまでに多く報告されている^{4, 5)}。

国内外の飼料メーカーでは、乳牛の生産性を向上させるため、サプリメントを開発し、これまでに広く普及してきている。サプリメントの種類にはエネルギーを補給するもの、アミノ酸・ビタミン・ミネラル類⁶⁾を供給するもの、腸内細菌叢のバランス改善、飼料中のカビの吸着剤、飼料の消化性向上、畜産物に高付加価値をつけるものなど多くの種類がある。

この中で、分娩後の負のエネルギーバランスを改善するサプリメント、および肝機能の改善を目的としたサプリメントの繁殖性に与える影響を調査した。

II 材料および方法

1. サプリメント

使用サプリメントは、試験1では、アリメットやビタミン・ミネラル類、ふすま、糖蜜等を成分とし、主にエネルギーとバイパス蛋白を補うもの(A)、リゾプス麴エキス粉末、塩化コリン等を成分とし、肝機能の改善を目的としたもの²⁾(B)の2種類を同一農家で使用した。また対照

群も併せて設けた。試験2ではサプリメントBを3農家で給与した。

Aの給与量は分娩前20日間と分娩後30日間の計50日間、300g/頭を飼料にトップドレスして給与した。

Bは分娩予定日20日前より分娩までの給与としたが、分娩が予定日より早くなった場合には、給与期間が設定した期間となるように分娩後も給与することとした。給与量は10g/頭を飼料にトップドレスして給与した。

2. 供試牛

試験1

成牛50頭、育成牛33頭を飼養する酪農家で実施した。供試牛は全頭ホルスタイン種。タイストール式牛舎。A群6頭、B群4頭、対照6頭の計16頭の経産牛を用いた。試験開始前に給与飼料の粗蛋白(CP)および可消化養分総量(TDN)充足率を調査し、100%以上であることを確認した。

試験2

農家の詳細は、A農家は成牛50頭、育成牛33頭を飼養。B農家は成牛24頭、育成牛6頭を飼養。C農家は成牛51頭、育成17頭を飼養。いずれの農家も全頭ホルスタイン種。タイストール式牛舎。各農家ともに試験開始前に給与飼料のCP・TDN充足率を調査し、100%以上であることを確認した。各農家に給与、対照群を設け、投与群9頭、対照群6頭の全15頭(A農家:投与2、対照1、B農家:投与2、対照2、C農家:投与5、対照3)で試験を実施した。

3. 採材法

採血は採食後3時間目を実施した。採血部位は頸静脈とした。血液生化学的検査には、プレイン真空採血管(テル

モ)にて2週間に1度採取した全血を、室温にて1時間程度静置、冷却遠心(4℃、3000rpm、15分)により分離した血清を用いた。また、検査は採血当日中に実施した。ホルモン濃度は、ヘパリン加真空採血管(テルモ)を用い、1週間に1度採取した血漿を用いた。血漿は採取直後より氷冷により実験室まで運搬、冷却遠心(4℃、3000rpm、15分)を行い分離した。分離した血漿は各種測定を実施するまでの期間、-20度にて冷凍保存した。なお、採血期間は分娩1週間前から分娩後8週目までとした。

4. 性ホルモン測定法

プロゲステロン(P₄)濃度の測定は、試験1は、DELFLIA Progesterone kit(DELFLIA)を用い、Perkin elmer1420 Multilabel counter (Perkin elmer)を用いた時間分解蛍光測定を行い、試験2は Progesterone EIA Kit (Cayman Chemical)を用い、マルチスキャン JX (日本ジェネティクス)にて測定した。

5. 血液生化学検査法

血液生化学的検査は、遊離脂肪酸(NEFA)、グルコース(Glu)、尿素態窒素(BUN)、GOT、γ-GTP、総コレステロール(T-Cho)の6項目を小型生化学自動分析装置CA-180(古野電気株式会社製)を用いて測定した。またケトン体は、3-ヒドロキシ酪酸キット ケトフィルムN((株)三和化学研究所)を用い、血中ケトン体測定器 ケトメーターN KM-4520((株)三和化学研究所)にて測定した。

6. IGF-1 測定法

試験2のみ、Insulin-like growth factor-1(IGF-1)濃度を Bovine Insulin-like Growth Factor-1 ELISA Kit (CUSABIO)を用い、マルチスキャン JX (日本ジェネティクス)にて測定した。

7. 繁殖成績

分娩後の発情兆候の観察による初回発情までの日数と分娩後180日までの受胎率により評価した。

8. 統計処理法

得られた結果について、各サプリメントと対照区の平均値、標準偏差を求め、平均値間の差の検定を Student-t 検定にて行った。また、有意水準は P<0.05 とした。

Ⅲ 結果

試験1

1-1. 血中 P4 濃度

いずれのサプリメントも対照群に対して有意差は見られなかったが、対照群で分娩後早期に排卵があった個体がみられた。

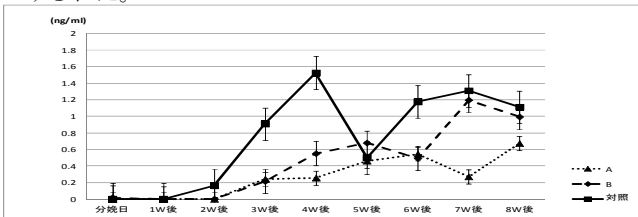


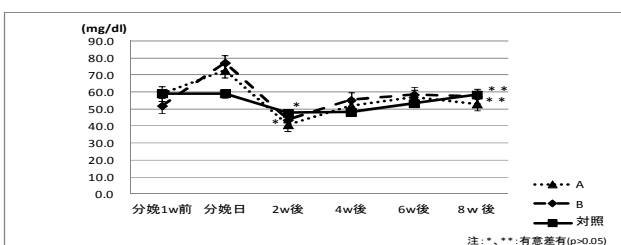
図1. P4

1-2. 血液生化学的検査

1) Glu

A群で分娩後2週目、8週目で対照群に対し有意に低値を示した(A群:41.0±7.0(2W)、53.2±4.1(8W)、対照:47.7±4.3(2W)、58.4±1.9(8W))。

B群で有意差はないが、対照群と比較して高く推移する傾向にあった。



注:*,** :有意差有(p>0.05)

図2. Glu

2) NEFA

分娩日にB群で対照群に比べ有意に高値を示した(B群:503.0±145.3、対照:378.8±110.6)。また有意差はないが、B群では対照群と比べ、分娩後早期に正常値へ回復する傾向にあった。

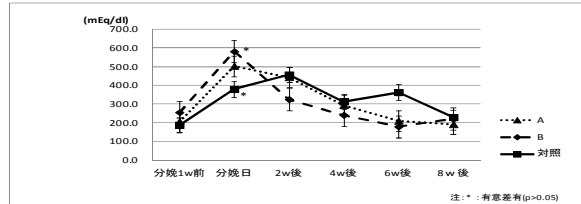


図3. NEFA

3) ケトン体

いずれも有意な推移をしないが、B群で低く推移する傾向にあった。

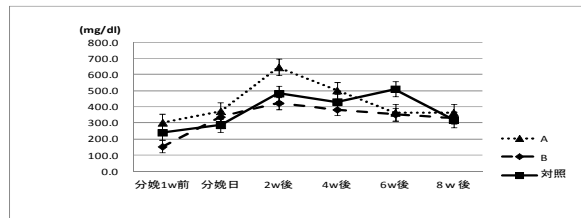


図4. ケトン体

4) γ-GTP

いずれのサプリメントも対照群に比べ有意差は見られないが、A群で他の群より低く推移する傾向にあった。

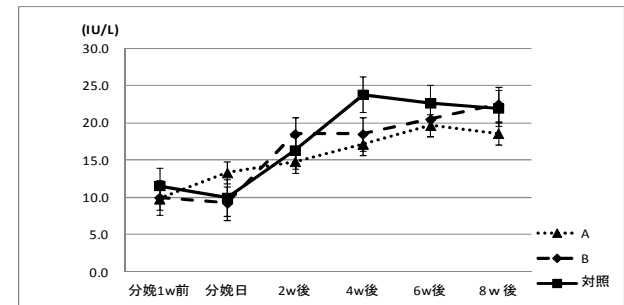


図5. γGTP

5) その他

その他の項目では特に有意な傾向は見られなかった。

1-3. 繁殖成績

分娩後の初回発情は、A群で66.5±22.8日、B群53.5±9.7日、対照で70.0±14.7日で、いずれのサプリメントも対照群に比べ有意差は見られなかった。

受胎率はA群で16.7%(6頭中1頭受胎)、B群で50%(4頭中2頭受胎)、対照で25%(4頭中1頭受胎)であった。

試験2

2-1. P4 濃度

投与群は対照群に比べ有意差は見られなかったが、投与群で分娩後初期に機能性黄体の存在する個体がみられた。

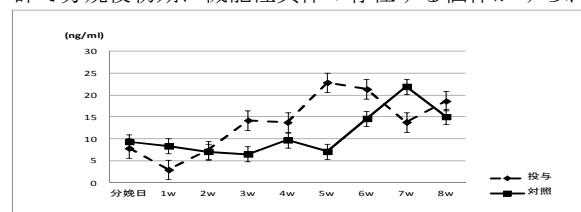


図6. P4

2-2. 血液生化学的検査

1) Glu

投与群が対照に比べやや高めに推移する傾向にあった。

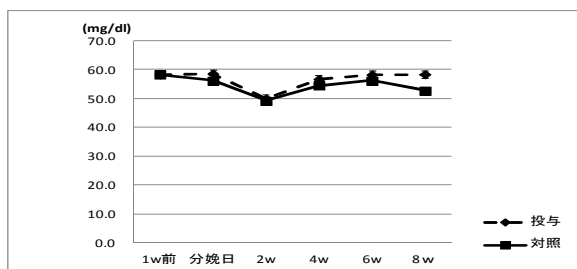


図 7. Glu

2) NEFA

投与群が対照に比べ低値で推移する傾向にあったが、有意差は見られなかった。

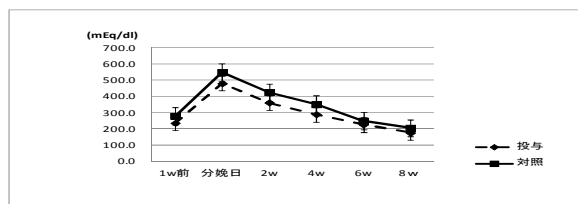


図 8. NEFA

3) ケトン体

投与群が対照に比べ、分娩日と分娩2週目に低値で推移していたが、有意差は見られなかった。

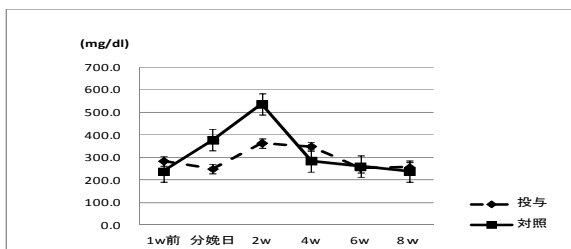


図 9. ケトン体

4) γ -GTP

投与群で分娩日に、対照に対し有意に高値であったが、その後は有意差は見られなかった。

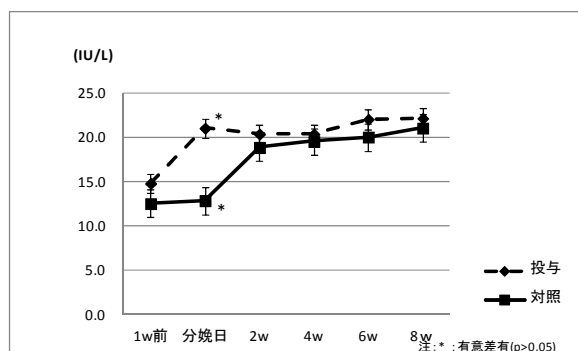


図 10. γ GTP

5) GOT

投与群で分娩2週目まで低値で推移する傾向にあったが、その後は対照と差が見られなかった。

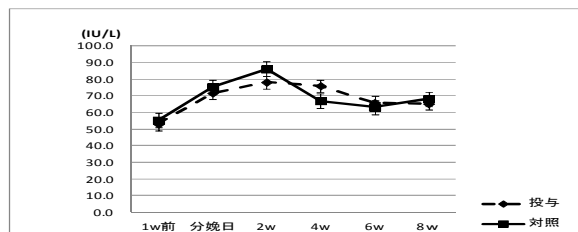


図 11. GOT

2-3. IGF-1 濃度

分娩日、分娩後2週、4週、8週に、投与群は対照群に比べ、有意な高値を示した(投与群: 60.4 ± 9.2 (分娩日)、 58.1 ± 9.6 (2W)、 64.5 ± 13.5 (4W)、 66.5 ± 11.5 (8W)、非投与群 43.5 ± 13.1 (分娩日)、 43.9 ± 9.5 (2W)、 48.7 ± 7.4 (4W)、 48.2 ± 14.8 (8W))

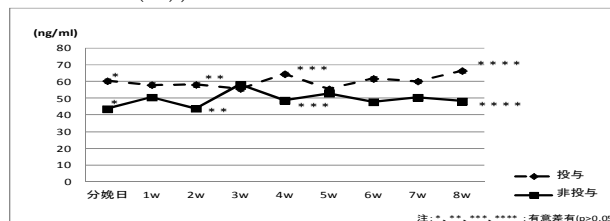


図 12. IGF-1 濃度

2-4. 繁殖成績

分娩後の初回発情は、投与群9頭のうち3頭が早期に廃用となり、6頭の成績ではあるが、 43.0 ± 33.1 日、対照群でも6頭中1頭が早期に廃用となったため、5頭の成績ではあるが、 63.0 ± 35.0 日と、投与群で対照群に比較し、分娩後早期に初回発情が現れる傾向にあったが、有意差はなかった。

受胎率は投与群で66.7%(6頭中4頭受胎)、対照群で40.0%(5頭中2頭受胎)であった。

IV まとめおよび考察

試験1でAを給与した群は、分娩後2、8週でGluが低く、また有意差はないものの、NEFA およびケトン体で対照群よりも高値で推移し、観察期間を通してエネルギー不足であった事が考えられ、繁殖成績も改善せず、サプリメントの効果が殆ど見られなかった。これは負のエネルギーバランスの中、肝機能の指標には見られていないが、肝機能低下により糖新生機能が抑制された状態であったこと、分娩後の採食量が伸びていない状態の中、分娩前後にエネルギーを補うサプリメントを給与しても、エネルギー不足を補いきれないことが考えられた⁶⁾。

これに対し試験1のBでは、NEFA およびケトン体が分娩後高値にはなったものの、対照群に比較し低値で推移し、分娩後早期に正常値に回復した。またGluも有意差は無いものの、対照群に比較して高く推移し、脂肪動員で生じたNEFAをケトン体に転換せずにグルコースとして使える事を示しており、肝臓の糖新生が活発であると考えられた。

試験2でも試験1-Bとほぼ同様の血液生化学検査結果が得られた。また、血中IGF-1濃度は、投与群において分娩日、分娩後2週、4週、8週で対照群に対し有意に上昇した。IGF-1は肝臓が分泌するホルモンで、乳用牛では卵胞の成長を調整する因子である。川島ら^{3,7)}はIGF-1が高泌乳牛群の分娩後の卵巣機能再開のサインとなることを報告している。今回、投与群でIGF-1が対照に比較して有意に高値であったこと、繁殖成績においても、投与群で分娩後早期に初回発情が現れ、受胎率も高いことから、サプリメントBは肝機能を改善し、その結果、IGF-1の分泌が促進し、繁殖成績の向上に繋がったものと考え、橋本ら²⁾の試験を裏付ける結果となった。

繁殖性に関わるサプリメントとしては、 β カロテンなど^{1,7)}が既に報告されているが、今回のサプリメントも繁殖性を改善するものとして今後も継続した調査をしていきたい。

V 引用文献

1) Govindarajan T, et al(2008)、Fecal and Urinary

Lignans, Intrafollicular Estradiol, and Endometrial Receptor in Lactating Dairy Cows Fed Diets Supplemented with Hydrogenated Animal Fat, Flaxseed or Sunflower Seed, *J. Reproductive and Development*, Vol. 54, No. 6, 439-446

2) 橋本憲庸ら (2008)、乾乳期にアドヘルズ散 S を投与した高泌乳牛群の分娩後の繁殖成績向上への試み、*日本獣医師会三学会年次大会講演要旨集 2007*、153

3) Kawashima C et al (2007)、Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows, *Reproduction* 133, 155-163

4) Lucy MC (2001)、Reproductive loss on high-producing dairy cattle: where will it end?, *J. Dairy Sci.*, 84, 1277-1293

5) Nebel R.L et al (1993)、Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 76, 3257-3268

6) 大澤健司 (2010)、限りなき乾乳期短縮への挑戦-繁殖成績向上のために、*畜産コンサルタント Vol. 46 No. 546*、52-58

7) Spicer LJ et al (1990) Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrus behavior, *J. Dairy Sci.*, 73, 929-937

8) 鳥居伸一郎 (2009) 肉牛および乳牛の繁殖成績における微量ミネラルの重要性、*日本胚移植学会雑誌 第 31 巻 2 号*、119-126

VI 英文摘要

We investigated the effect of 2 kinds of supplements to improve the pregnancy rates in dairy cows. Supplementation of rumen-bypassed protein and energy complex showed no effect on pregnancy rates. Meanwhile, the cows that were administered supplement for liver function improvement demonstrated a tendency to recover from negative energy balance during the postpartum period, and stimulate the release of IGF-1 from liver. Therefore, it is suggested that latter supplement has improved ability of reproductive function.