

広島県立畜産技術センター研究報告

Bulletin
Hiroshima prefectural
Livestock Technology Research Center

第 14 号

平成 18 年 10 月

2006

広島県立畜産技術センター
広島県庄原市七塚町 584

Hiroshima prefectural Livestock Technology Research Center

Nanatsuka, Shobara, Hiroshima Pref. Japan

目 次

原著論文

- クローン技術による種畜検定システムの検討
 Estimate of testing system with clones: *TANIMOTO et al*
 谷本陽子, 今井 昭, 尾形康弘, 松重忠美, 堀内俊孝..... 1

学位論文(京都大学審査)

- 高泌乳牛における乳タンパク質向上のための飼料給与に関する研究
 Studies on the feeding for the milk protein improvement in highly lactating dairy cow
 : *SHINDE*
 新出昭吾..... 11

他誌掲載論文

- バイパスグルコース製剤給与による肉牛中グリコーゲン含量の増加効果
 Effect of rumen bypass glucose on muscle glycogen stores in beef: *KONO and NAGAO*
 河野幸雄, 長尾かおり..... 91

他誌掲載論文要約

- マイクロドロップレット法で凍結保存したウシのレシピエント卵子による核移植成績
 Development of Nuclear Transplant by Bovine Recipient Oocytes to Frozen Using Microdroplet
 Method: *OGATA et al*
 尾形康弘, 今井 昭, 志水 学..... 96

- 凍結保存したウシの体外受精胚をドナー細胞とした核移植
 Nuclear Transfer Using Frozen in Vitro Fertilized Bovine Embryos as Donor Cells: *IMAI et al*
al
 今井 昭, 尾形康弘, 田澤直子, 原田佳積, 白須 洋, 堀内俊孝..... 96

- マイクロドロップレット法でガラス化保存したウシ体外受精胚をドナー細胞とした核移植の検討
 Nuclear Transfer Using an in Vitro Bovine Fertilized Embryo Vitrified by Microdroplet
 Method for the Nuclear Transplantation of Donor Cells: *IMAI et al*
 今井 昭, 尾形康弘, 名越吉文, 松重忠美, 志水 学, 堀内俊孝..... 97

- 経膈採卵・体外受精由来ウシ2細胞期の割球分離による一卵性双子生産
 The Production of Identical Twins by Separation of an in vitro Fertilized Bovine 2-cell
 Embryo made an Ova Collected by Ultrasound-guided Follicular Aspiration Method: *IMAI et al*
 今井 昭, 尾形康弘, 名越吉文, 松重忠美, 堀内俊孝..... 97

- ドナー核と同一または非同ーウシ個体から経膈採卵されたレシピエント卵子を用いた核移植胚の生産
 Production of Clone Embryos Using Recipient Oocytes Recovered by Ultrasound-guided
 Follicular Aspiration Method from Cows of the Same or Different Origin from Donor Cells:
IMAI et al
 今井 昭, 尾形康弘, 名越吉文, 松重忠美, 堀内俊孝..... 98

- 鉄鋼スラグの堆肥副資材への利用
 Utilization of Steel Slag for Cattle Waste Compost as a Dry Ingredient: *ITO and FURUMOTO*
 伊藤健一, 古本史..... 98

- 電気歪み値による咀嚼行動の自動判定
 Automatic Analyses of Chewing Behavior by Electric Strained Signals: *SHINDE and KONO*
 新出昭吾, 河野幸雄..... 99

- 飼料イネホールクroppサイレーシ割合の異なるTMR給与が乳生産および咀嚼行動に及ぼす影響
 Effects of Rice Whole Crop Silage Proportion in Total Mixed Ration on Milk Production
 Performance and Chewing Activity of Lactating Cow: *SHINDE et al*
 新出昭吾, 城田圭子, 尾長かおり..... 99

クローン技術による種畜検定システムの検討

Estimate of testing system with clones

谷本陽子・今井 昭*・尾形康弘・松重忠美・堀内俊孝**

要 約

経膈採卵・体外受精胚の割球を分離し、候補種雄牛として利用する体外受精産子と、同一遺伝子を持つ検定用クローン牛 3 頭を作出することで、効率的かつ精度の高い種畜造成システムを構築することを目的に試験を行った。

まず、体外受精由来 2 細胞期胚の割球分離を行うことで、1 頭の体外受精産子とともに核移植用ドナー細胞の作出が可能となった。次に、リクローン技術及びドナー胚の保存技術(マイクロドロップレット法によるガラス化保存技術)により、クローン胚を大量作出することで、候補種雄牛の能力判定に用いる検定用クローン牛を確実に 3 頭以上生産することが可能となった。

これらの技術を活用し、実際に 2 分離由来体外受精産子(候補種雄牛)とそのリクローン産子を 3 セット作出することに成功し、後代検定手法に比べて短期間で精度の高い種畜検定システムの実用化に目途がたった。

緒言

本県では、種雄牛の能力を短期間に判定することを目的に平成 9 年度から、体内受精胚を人為的に 2 分割して一卵性双子を誕生させ、産子の片方を種雄牛候補として育成し、もう一方の産子の肥育成績を基にして種雄牛の能力を判定する分割卵検定を行ってきた。

この方法は、種雄牛造成に必要な期間が「後代検定」法に比べて半分の 3 年半に短縮ができるが、1 頭の供胚牛からの受精卵採取数には限りがあり、また雄双子の取得率が低いため多くの受胚牛の確保が必要となる。また、種雄牛候補と同一遺伝子を持つ検定牛 1 頭の肥育成績は種雄牛候補の後代産子 7 頭分の成績³⁾にしか相当しないため、後代検定法と比べて検定精度が低い。さらには事故等による検定中止や肥育期間中の環境要因に成績が左右されやすい等の問題が残されている。

そこで、本試験では経膈採卵・体外受精胚の割球を分離し、種雄牛候補となる体外受精産子と同一遺伝子を持つ検定用クローン牛を 3 頭以上作出することで効率的かつ精度の高い種畜検定システムの構築を目指し、体外受精胚の割球分離法、2 分離胚をドナー細胞としたクローン作出法、検定用クローン牛の効率的作出法を検討した。

材料と方法

1 と体卵巢及び経膈採卵による卵子の採取

と体卵巢に存在する直径 7mm 以下の卵胞から注射器(注射針:21G)を用いて卵胞液と共に卵子を吸引採取した。

経膈採卵は当センターに繋養している黒毛和種雌牛を用いて、経膈穿刺用 7.5Mhz コンベックス探触子(アロカ社 UHT-9106-7.5)、超音波画像診断装置(アロカ社 SSD-1200)、穿刺針にはダブルルーメンニードル(クック社 K-OPSD-1760,17G,60cm)及び卵子吸引システム(クック社 K-MAR-5115)を用いて行った。回収液は 5% ウシ胎児血清(FCS)及び 1.8 ユニット/ml のヘパリンを添加した乳酸加リンゲルを用い、吸引圧 110mmHg、吸引速度 0.10ml/min の条件で行った。

採取したウシ未成熟卵子は、卵丘細胞の付着度及び卵子の形態的観察により A~E ランクに分別し、卵丘細胞が 2 層以上付着し、かつ卵細胞質が均一である B ランク以上の卵子を試験に供した。

2 体外成熟、体外受精及び体外培養

ウシ卵子は 10%FCS, 50ng/ml 上皮成長因子(EGF), 0.12au/ml FSH 添加 M199 培地にて 5%CO₂・95%air の気相条件下で 22~24 時間成熟培養を行った。

体外受精は常法に従い⁵⁾ 黒毛和種凍結精液を融解

*広島県福山家畜保健衛生所, **広島県立大学

(2)

後, 6.0×10^6 /ml の精子濃度で 6 時間媒精を行った。

体外培養は, 媒精後 72 時間までは 3mg/ml BSA 添加 CR1aa 培地にて 5% O_2 ・5% CO_2 ・90% N_2 ・38.5 の気相条件下で, 72 時間以降は 10%FCS 添加 CR1aa 培地にて 5% CO_2 ・95%air・38.5 の気相条件下で Vero 細胞との共培養⁵⁾を行った。また核移植胚の培養は, 細胞融合後 72 時間までは 3mg/ml BSA 添加 CR1aa 培地, mSOF 培地にて 5% O_2 ・5% CO_2 ・90% N_2 ・38.5 の気相条件下で, 72 時間以降は 10%FCS 添加 CR1aa 培地にて 5% CO_2 ・95%air・38.5 の気相条件下で Vero 細胞との共培養⁶⁾, または 8mg/ml BSA 添加 CR1aa 培地, mSOF 培地にて 5% O_2 ・5% CO_2 ・90% N_2 ・38.5 気相条件下で行った。

3 割球分離

分離操作は, 2 細胞期胚を 0.25% アクチナーゼ E 添加 M2 液中で 1 分程度処理して透明帯を除去した後, 0.125%トリプシン添加 PBS 液中で軽くピペティングすることにより行った。

4 核移植用レシピエント卵子の作出

体外成熟 22 時間目の卵子の顆粒層細胞を 0.1% ヒアルロニダーゼ液中でピペティングにより剥離し, 第一極体を放出した卵子のみを試験に用いた。第一極体放出卵子を顕微鏡下で極体を目印にした細胞質押し出し法により細胞核を除去し, M199 培地に 10 μ M のカルシウムイオノフォアと 25 μ M のイノシトール 3リン酸を加えた液に 5 分間暴露したのち, 100 μ g/ml ピューロマイシンを加えた 3mg/ml BSA 添加 CR1aa 培地にて 6 時間処理する複合活性化処理を行い, レシピエント卵子を作成した。

5 核移植用ドナー細胞の作出

体外受精及び核移植後 5 日目に桑実期胚へ発生した胚を 0.02%EDTA 加 0.125%トリプシン酵素液中でピペティングにより割球単離し, 核移植用ドナー細胞とした。

6 核移植・細胞融合

レシピエント卵子にドナー細胞をマイクロマニピレーターを用いて挿入後, 細胞融合液中にて交流 8.5V/mm 5sec, 直流 75V/mm 50 μ sec \times 2 回の電気パルスを加えることにより細胞融合を行った。

7 胚の凍結, ガラス化及び融解

1) 緩慢凍結(5E6P)法

M199 培地にエチレングリコールを 5%, プロピレングリコールを 6%, シュクロースを 0.1M, FCS を 20%となる

ように添加した液を凍結液とし, 胚を室温にてストローに封入後, -7 の凍結器に投入し, 植氷後-0.3 /min で -30 まで冷却後, 液体窒素に投入した。胚の融解は, 7秒間のエアソーイング後, 35 の微温湯中に浸漬することで行い, 20%FCS 添加 M199 培地にて洗浄後, 試験に供した。

2) マイクロドロプレット(MD)法⁷⁾

10%エチレングリコール, 20%FCS を添加した M199 培地をガラス化前処理液(10%EG)とした。

40%エチレングリコール, 1.0M シュクロース及び 20% FCS を添加した M199 培地をガラス化液(VS14)とした。

0.3M シュクロース, 20%FCS を添加した M199 培地を融解液(0.3M Su)とした。

胚のガラス化はガラス化前処理液(10%EG)に 5 分間平衡した後, ガラス化液(VS14)で 30 秒以内に 3 回以上洗浄した後, ピペットにて液体窒素中に直接ドロップを滴下することにより行った。ドロップは 5 μ l 前後であった。

胚の融解は融解液(0.3M Su)にドロップを直接投下し, 2 分間静置することにより行った。その後, 20%FCS 添加 M199 培地にて洗浄後, 試験に供した。

8 胚盤胞の構成細胞調査

体外受精及び核移植後 7 日目に胚盤胞に発生した胚を Iwasaki ら¹⁰⁾の方法に準じて内細胞塊と栄養膜細胞の 2 重蛍光染色による分染を行った。分染後, 蛍光顕微鏡下にて核数を速やかにカウントすることにより細胞数を確認した。

9 2 分離胚の雌雄判別

2 分離胚をドナー細胞としたクローン胚のうち, 発育が途中で停止した胚や低品質胚を試料とし, 牛胚性判別キット「XY セクター」(伊藤ハム)を用いて PCR 法による雌雄判別を行った。

10 受胎牛への移植

当センターに繋養されているホルスタイン種及び黒毛和種を用い, 子宮頸管経由法により 1 あるいは 2 胚を移植した。

試験 1: 体外受精胚の割球分離法の検討

1) 体外受精胚の割球分離の検討

割球分離を行う胚の選択のためにと体卵巢由来卵子を用いて体外受精後の胚の卵割時期および卵割時間別発生成績について調査し, 割球分離は体外受精

後 28 時間目に行うこととした。

と体卵巣由来卵子を体外受精後、割球分離を行った分離胚及び 28 時間までに卵割した無処理胚の発生率および体外受精後 7 日目に胚盤胞へ発生した胚の細胞構成について調査した。

2) 経膈採卵・体外受精由来 2 分離胚の受胎性の検討

経膈採卵由来体外受精胚を割球分離し、発生率を調査した。また、得られた Twin 胚(2分離胚)を受胚牛に移植した。

試験 2: 2 分離胚をドナー細胞としたクローン作出技術の検討

1) 分離由来桑実期胚をドナー細胞とした核移植の検討

2 分離由来桑実期胚を割球分離し、核移植用ドナー細胞として利用可能な細胞数を調査した。また、これらを用いて核移植を行って 2 分離由来桑実期胚から得られる再構築桑実期胚の個数を調査した。

2) 核移植の培養法の検討

核移植胚を血清添加 CR1aa 培養液にて Vero 細胞と共培養 (CR1aa-FCS 区)、血清無添加 CR1aa 培養液 (CR1aa-BSA 区)、血清無添加 mSOF 培養液 (mSOF-BSA 区)にて培養し、その後の発生率及び核移植後 7 日目に胚盤胞へ発生した胚の細胞構成を比較した。

3) 再構築桑実期胚及び胚盤胞の凍結保存法の検討

体外受精由来桑実期胚を緩慢凍結法(5E6P 区)、マイクロドロプレット法(MD 区)により凍結し、融解後の発生率及び核移植用ドナー細胞として利用可能な細胞数を無処理の新鮮胚と比較した。また、これらをドナー細胞とした核移植胚の発生率、核移植後 7 日目に胚盤胞へ発生した胚の総細胞数比較した。また、発生

した核移植胚を受胚牛へ移植し、各区間の受胎率を比較した。

核移植後 7 日目の胚盤胞を緩慢凍結法(5E6P 区)、マイクロドロプレット法(MD 区)により凍結し、融解 24 時間後の生存率、細胞構成及び受胎率を無処理の新鮮胚と比較した。

試験 3: ドナー細胞の増幅技術の検討

1) 再構築桑実期胚をドナー細胞とした核移植の検討

核移植由来桑実期胚を再度ドナー細胞として 4 回の継代核移植を行い、各世代間の発生率及び核移植後 7 日目に胚盤胞へ発生した胚の細胞構成を比較した。

2) リクローン胚の受胎性の検討

継代核移植により得られたリクローン胚を受胚牛に移植し、クローン胚の受胎率と比較した。

結果

試験 1: 体外受精胚の割球分離法の検討

1) 体外受精胚の割球分離の検討

胚の卵割頻度は、体外受精 23 時間目以降から増加し、26 ~ 27 時間の間をピークに(16.4%)、その後減少した(図 1)。胚盤胞発生率は体外受精後 28 時間までに卵割した区はそれ以後に卵割した区よりも有意に高くなった(表 1)。以上のことから割球分離は体外受精後 28 時間までに卵割した 2 細胞期胚を用いた。また、分離後の胚の発生率は無処理の体外受精胚と差がなく(表 2)、体外受精後 7 日目に胚盤胞に発生した胚の細胞構成は、内細胞塊、栄養膜細胞とも対照区の約半分であり、構成比に変化は認められなかった(表 3)。

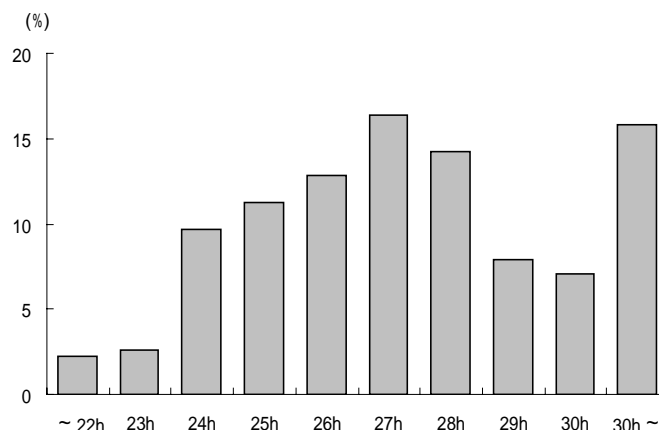


図 1 体外受精胚の卵割時期 (n=494)
縦軸; 卵割した胚の総数に対する時間別割合 (%)
横軸; 体外受精後の経過時間 (h)

(4)

表1 体外受精胚の卵割時間別発生率

	供試 2細胞期胚数	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
~24h	38	35 ^A (92.1)	29 ^C (76.3)	25 ^E (65.8)
24h~28h	169	144 ^A (85.2)	129 ^C (76.3)	104 ^E (61.5)
28h~	114	55 ^B (48.2)	35 ^D (30.7)	32 ^F (28.1)

発生率 = 発生数 / 供試胚数 異符号間に有意差 (P<0.01)

表2 体外受精胚の分離後の発生成績

	供試胚数 (2細胞期胚数)	再卵割数 (%)	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
分離胚	136 (68)	135 (99.3)	125 (91.9)	122 (89.7)	103 (75.7)
無処理区	92		78 (84.8)	71 (77.2)	59 (64.1)

発生率 = 発生数 / 供試胚数

表3 7日目分離胚由来胚盤胞の細胞構成

	供試胚数	総細胞数	内細胞塊細胞数	栄養膜細胞数
分離胚	25	76.3 ± 5.1	23.2 ± 2.0	53.1 ± 3.9
無処理区	33	148.4 ± 13.5	53.3 ± 5.5	95.2 ± 9.5

平均 ± S.E.

表4 経膈採卵・体外受精由来胚の分離後の発生成績

供試胚数 (2細胞期胚数)	再卵割数 (%)	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)	Twin胚数 (%)
38 (19)	36 (94.7)	31 (81.6)	27 (71.1)	24 (63.2)	10 (52.6)

発生率 = 発生数 / 供試胚数 Twin胚率 = Twin胚組数 / 2細胞期胚数

2) 経膈採卵由来割球分離胚の受胎性の検討

割球分離した経膈採卵由来体外受精胚のうち63.2%(24/38)が胚盤胞に発生した。うちTwin胚は10組であった(表4)。得られたTwin胚のうち9組を9頭の受胎牛へ移植した結果、5頭が受胎し、うち4頭が4組の双子を分娩した(写真1,表5)。

表5 割球分離胚の移植成績

移植数	受胎頭数	受胎率	分娩数	流産数
9	5	55.5%	4	1



写真1 経膈採卵・体外受精胚の割球分離により誕生した一卵性双子

試験2: 2分離胚をドナー細胞としたクローン作出技術の検討

1) 分離由来桑実期胚をドナー細胞とした核移植の検討

2分離由来桑実期胚のドナー細胞として利用可能な細胞数は1胚あたり18.0個であった。これらを用いて核移植を行った結果、7.7個の桑実期胚が得られた(表6)。

2) 核移植胚の培養法の検討

血清添加 CR1aa-Vero細胞共培養区(CR1aa-FCS区)と比較して、血清無添加の CR1aa-BSA 区は胚盤胞発生率が有意に低かったが、mSOF-BSA 区では差がなかった(表 7)。核移植後 7 日目に胚盤胞に発生した胚の細胞構成においては、mSOF-BSA 区が他区よりも内細胞塊細胞数が高くなる傾向が認められた(表 8)。

3) 再構築桑実期胚及び胚盤胞の凍結保存法の検討

体外受精由来桑実期胚の凍結・融解後の胚盤胞発生率は MD 区 80.7%(67/83)で、5E6P 区 59.4%(41/69)より有意に高く、新鮮区と同等であった(表 9)。核移植用ドナー細胞として利用可能な細胞数は各区間に差は無かった(表 10)。また、これらをドナー

細胞とした核移植胚の胚盤胞発生率は MD 区 42.3% (175/414)で新鮮区と差がなかったが、5E6P 区 31.6%(89/282)は他区よりも有意に低かった(表 11)。核移植後 7 日目に胚盤胞に発生した胚の総細胞数は、MD 区は新鮮区と差がなかったが、5E6P 区は新鮮区より低くなる傾向が認められた(表 12)。また、発生した核移植胚を受胎牛に移植した結果、各区間の受胎率に差はなく、良好な成績が得られた(表 13)。

7 日目再構築胚盤胞の凍結・融解 24 時間後の生存率は、5E6P 区は新鮮区と差がなかったが、MD 区では有意に低かった(表 14)。凍結・融解 24 時間後の細胞構成は各区間に差はなく(表 15)、移植成績においても各区間に有意な差がなかった(表 16)。

表6 2分離由来桑実胚をドナー細胞とした核移植成績

	ドナー細胞数	利用可能細胞数	核移植数	融合数	卵割数	8細胞期数	桑実期数
No.1	13	12	12	12	12	11	8
No.2	20	20	15	13	12	8	6
No.3	25	22	13	13	13	10	9
Average	19.3	18.0	13.3	12.7	12.3	9.7	7.7
S.E.	2.8	2.5	0.7	0.3	0.3	0.7	0.7

表7 各培養液における核移植胚発生率

	核移植数	融合数 (%)	卵割数 (%)	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
CR1aa-FCS区	66	65 (98.5)	62 (93.9)	51 ^a (77.3)	48 ^c (72.7)	44 ^e (66.7)
CR1aa-BSA区	52	51 (98.1)	46 (88.5)	26 ^b (50.0)	24 ^d (46.2)	17 ^f (32.7)
mSOF-BSA区	55	55 (100)	52 (94.5)	44 ^a (80.0)	36 ^c (65.5)	27 ^e (49.1)

異符号間に有意差 (P<0.05)

表8 各培養液における核移植胚の細胞構成

	供試胚数	総細胞数	内細胞塊細胞数	栄養膜細胞数
CR1aa-FCS区	14	133.4 ± 12.2	43.1 ± 5.1	90.3 ± 8.1
CR1aa-BSA区	13	134.6 ± 12.6	42.0 ± 6.3	92.6 ± 6.9
mSOF-BSA区	24	146.8 ± 13.6	52.0 ± 6.9	94.8 ± 7.3

平均 ± S.E.

表9 体外受精桑実期胚の凍結融解後の生存率

	供試胚数	融解直後 (%)	胚盤胞 (%)	脱出胚 (%)
新鮮区	88	88 (100)	78 ^a (88.6)	59 ^c (67.0)
5E6P区	69	69 (100)	41 ^b (59.4)	27 ^d (39.1)
MD区	83	83 (100)	67 ^a (80.7)	48 ^c (57.8)

異符号間に有意差(P<0.05)

(6)

表10 ドナー細胞数として利用可能な細胞数

	供試胚数	総細胞数	利用可能細胞数
新鮮区	10	33.2 ± 2.0	30.8 ± 1.6
5E6P区	8	29.3 ± 2.1	27.1 ± 1.7
MD区	8	32.4 ± 1.3	31.5 ± 1.9

平均 ± S.E.

表11 凍結体外受精胚をドナー細胞とした核移植成績

	核移植数	融合数 (%)	卵割数 (%)	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
新鮮区	118	113 (95.8)	111 (98.2)	84 ^a (74.3)	68 (60.2)	55 ^c (48.7)
5E6P区	290	282 (97.2)	264 (93.6)	153 ^b (54.3)	127 (45.0)	89 ^d (31.6)
MD区	418	414 (99.0)	400 (96.7)	300 ^a (72.5)	230 (55.6)	175 ^c (42.3)

異符号間に有意差 (P<0.05)

表12 7日目再構築胚盤胞の総細胞数

	供試胚数	総細胞数
新鮮区	27	129.9 ± 8.9
5E6P区	57	108.5 ± 7.6
MD区	41	116.3 ± 6.7

平均 ± S.E.

表13 凍結ドナー細胞を用いた核移植胚の移植成績

	移植頭数	受胎頭数	受胎率
新鮮区	22	13	59.1%
5E6P区	9	4	44.4%
MD区	18	10	55.6%

表14 再構築胚盤胞の凍結融解後の生存率

	供試胚数	融解直後 (%)	24時間後 (%)	脱出胚 (%)
新鮮区	24	24 (100)	24 ^a (100)	24 ^c (100)
5E6P区	16	16 (100)	15 ^a (93.8)	8 (50.0)
MD区	7	7 (100)	4 ^b (57.1)	4 ^d (57.1)

異符号間に有意差 (P<0.05)

表15 凍結融解24時間後の細胞構成

	供試胚数	総細胞数	内細胞塊細胞数	栄養膜細胞数
新鮮区 (day7)	6	137.3 ± 7.8	44.0 ± 4.0	88.3 ± 4.9
5E6P区	13	118.2 ± 15.7	32.1 ± 6.5	86.1 ± 9.7
MD区	4	78.0 ± 13.1	23.0 ± 6.8	55.0 ± 8.5

平均 ± S.E.

表16 凍結核移植胚の移植成績

	移植頭数	受胎頭数	受胎率
新鮮区	19	11	57.9%
5E6P区	20	6	30.0%
MD区	4	3	75.0%

試験 3:ドナー細胞の増幅技術の検討

1) 再構築桑実期胚をドナー細胞とした核移植

継代核移植を4代まで行った結果、発生率、胚盤胞の細胞数ともに有意な差はなかった(表17,18)。

2) リクローン胚の受胎性の検討

継代核移植により得られたリクローン胚を13頭の受胎牛に移植した結果、受胎率は46.2%(6/13)で、クローン胚の受胎率57.9%(11/19)と有意な差はなかった(表19)。

この試験で、2分離胚由来体外受精産子とペアのリクローン産子を2セット作出した。Lot.1については、リクローン産子4頭を作出した。このうち、レシピエント卵子の由来がドナー細胞と同一のものは1頭、異なるものは3頭である。Lot.2では、レシピエント卵子の由来がドナー細胞と同一のリクローン産子2頭を作出した(表20、写真2)。



写真2 2分離胚由来体外受精産子(写真左)とペアのリクローン産子(写真右)

表17 各継代核移植胚の発生率

	核移植数	融合数 (%)	卵割数 (%)	8細胞期数 (%)	桑実期数 (%)	胚盤胞数 (%)
NT	81	78 (96.3)	76 (93.8)	63 (77.8)	55 (67.9)	40 (49.4)
2ndNT	92	89 (96.7)	84 (91.3)	65 (70.7)	53 (57.6)	42 (45.7)
3rdNT	93	90 (96.8)	89 (95.7)	71 (76.3)	63 (67.7)	49 (52.7)
4thNT	102	99 (97.1)	97 (95.1)	78 (76.5)	61 (59.8)	46 (45.1)

表18 各継代核移植胚の細胞構成

	供試胚数	総細胞数	内細胞塊細胞数	栄養膜細胞数
NT	14	133.4 ± 12.2	43.1 ± 5.1	90.3 ± 8.1
2ndNT	19	132.7 ± 16.4	54.6 ± 8.8	78.1 ± 8.5
3rdNT	25	140.3 ± 11.3	45.8 ± 4.3	94.5 ± 7.6
4thNT	13	113.4 ± 7.6	39.2 ± 3.4	74.2 ± 5.8

平均 ± S.E.

表19 リクローン胚の移植成績

	移植頭数	受胎頭数	受胎率
クローン胚 (NT)	19	11	57.9%
リクローン胚 (2ndNT)	13	6	46.2%

表20 検定用クローン牛作出状況

体外受精産子	リクローン胚		分娩頭数	レシピエント卵子の由来	
	移植頭数	受胎頭数		ドナー同一	ドナー非同
Lot.1	5頭	4頭	4頭	1頭	3頭
Lot.2	2頭	2頭	2頭	2頭	-

(8)

考察

本県が平成 9 年度から取り組んでいる「分割卵検定」は、種雄牛造成期間を、一般に行われている「後代検定」法に比べて半分の 3 年半に短縮できる大きなメリットがあるものの、顕微操作で 2 分割した胚を受胎牛に移植してもペア個体が得られる確実性に乏しく、ペアが得られても分娩するまで性別が不明であるため、多くの移植作業を行う必要がある。また、種雄牛候補と同一遺伝子を持つ検定牛 1 頭の肥育成績は種雄牛候補の後代産子 7 頭分の成績³⁾にしか相当しないため、後代検定法と比べて検定精度が低い。さらには事故等による検定中止や肥育期間中の環境要因に成績が左右されやすい等の問題が残されている。

そこで我々は、分割卵検定方式の中にクローン技術を組み込み、経膈採卵・体外受精胚からの一卵性双子生産技術と受精卵クローン技術を組み合わせ、体外受精産子である種雄牛候補と同時に同一遺伝子を持つ検定用クローン牛を複数頭以上生産することによる効率的な種雄牛造成システムの構築について検討を行った。具体的には経膈採卵・体外受精胚を割球分離し、一方の胚から体外受精産子を作成し、もう一方の胚を核移植のドナー細胞として用いて複数頭のクローン牛を作成する。このクローン産子の肥育成績により、種雄牛候補である体外受精産子の能力を判定するというものである。クローン産子は種雄牛候補と同一遺伝子であるため、種雄牛候補の産子約 7 頭分の肥育成績とみなされ³⁾、クローン産子 3 頭の作出により種雄牛候補の産子 15 頭で行う後代検定よりも短期間で精度の高い検定が可能となる。

経膈採卵は一週間に 2 回程度の連続採卵が可能であり、ホルモン投与も必要としないため、優秀な雌牛からの効率的な体外受精胚の生産が可能である⁸⁾。しかし、体外受精胚の切断 2 分離による一卵性双子作出は細胞数の減少などから困難であると言われている。また、体内受精胚と比較して、体外受精胚は、胚を構成する細胞の活性が低く¹²⁾、耐凍性や性別判別後の胚修復に差があることが確認されている¹⁸⁾。そこで本試験では最初に経膈採卵・体外受精胚の割球分離法の検討を行った。体外受精胚の卵割時期について調査したところ、卵割時期のピークは体外受精後 26～27 時間で、28 時間以降に卵割したものはその後の発生率が低いことを確認した。このことから、体外受精後 28 時間経過時に割球分離操作に使用する胚を選択することが有効であると考えられた。

割球分離操作を行った胚の発生率を調査した結果、胚盤胞率は 75.7%と良好で、割球分離を行わなかった

ものと差を認めなかった。また、発生した胚盤胞の総細胞数は無処理のもの約半分であったが、内細胞塊及び栄養膜細胞の構成比に差は認められなかった。割球分離操作により作出される胚は対照区と比較して容積が半分となるのに対し、表面積は 63%と半分より大きく、栄養膜細胞の比率が増大し、内細胞塊の比率が減少することが予想された。2-4 細胞期の割球の減少は内細胞塊細胞数を減少させることがマウス^{14),15)}やヒト¹⁶⁾で報告されている。また、Buehr²⁾らは、胚の表面積に比例して栄養膜細胞の比率が決定するとしている。しかし、我々の成績では若干減少傾向がみられたものの、内細胞塊の比率は 2 倍数と対照区との差は見受けられず、2 細胞期胚の 2 分離により十分に受胎能のある胚の作出が可能であると考えられ、割球分離した胚 9 組の移植成績は受胎率 55.5%で、4 組の一卵性双子を得ており、胚が高い受胎性を有していることを確認した⁹⁾。

次に分離胚をドナー細胞としたクローン胚作出技術の検討を行った。2 分離由来桑実胚の細胞数は通常の胚の約半分程度しかないため、1 回の核移植で得られるクローン胚も通常より少なくなる。2 分離由来桑実期胚のドナー細胞と核移植を行ったところ、平均 7.7 個の再構築桑実期胚が得られたが、これを胚盤胞まで培養して受胎牛に移植した場合、検定用クローン牛 3 頭の確保が困難であると思われた。そこで、核移植由来桑実期胚をドナー細胞とした継代核移植を行い、再構築胚の増幅技術の検討を行った。Teijya^ら¹⁷⁾は 7 世代の核移植を繰り返し、継代数の増加に伴って胚盤胞発生率が有意に減少するとしているが、4 回の継代核移植を行った第 4 世代のクローン産子を得ている。我々は、MD 法によりガラス化保存した体外受精胚をドナー細胞とした核移植胚の発生率及び 7 日目胚盤胞の総細胞数、細胞構成は新鮮区と差がなく、受胎率も良好であったため、ドナー細胞として用いる再構築桑実胚の保存に MD 法を適用した。これらを用いて 4 世代の継代核移植を行ったが、各世代の発生率及び 7 日目胚盤胞の総細胞数、細胞構成に有意差はなかった。またクローン胚の受胎率も 46.2%とクローン胚と有意差は無く、継代核移植を行うことで 3 頭のクローン産子を確保できると考えた。

本試験では種雄牛造成を目的としているため、2 分離胚の雌雄判別が必要となる。我々は、通常ウシ胚の場合、胚の栄養膜細胞の一部を切断分離したものをバイオプシー試料とし、PCR 法によって性染色体の DNA を増幅して雄特異的バンドを検出することにより雌雄判別を行っている。しかしバイオプシーを行った胚は切断分離によるダメージを受けるため、受胎率が低くなる⁴⁾。このため通常の胚よりも細胞数が半分程度になった 2 分離胚のバイオプシー処理は受胎率を大きく低下させることが考えられる。そこで我々は 2 分離胚をドナー細胞としたクロー

ーン胚のうち、発育が途中で停止した胚や低品質胚を利用して雌雄判別を行った。また、MD法で再構築桑実胚を保存しておき、雄と判定した2分離胚の受胎を確認した時点でこれを融解してドナー細胞とした継代核移植を行い、移植用のリクローン胚を作成することができるため、効率的に種雄牛候補とペアのクローン牛を作出することが可能である。

以上のように分割胚作出技術とクローン技術を組み合わせ、効率的に雄ペアを作出することで、短期間で精度の高い種雄牛造成が行える目途がたった。

しかし、これまでに体外受精産子及びクローン産子の生時体重は人工授精産子よりも重くなることが報告されており^{10,11)}、種雄牛候補、検定牛の生時体重が検定成績に影響を及ぼすことが考えられる。また、これまでに2分離胚由来体外受精産子とペアのリクローン牛の2セット(Lot.1, Lot.2)を作出しているが、Lot.1はリクローン牛4頭を作出し、このうちレシピエント卵子の由来がドナー細胞と同一のものが1頭、異なるものが3頭である。クローン個体の細胞質は核移植に用いたレシピエント卵子由来となる。万年¹³⁾らは黒毛和種において、細胞質内に存在するミトコンドリアDNA(mtDNA)が脂肪交雑やロース芯面積などの枝肉形質に影響を及ぼすと報告しており、レシピエント卵子の由来がクローン産子の肥育成績に影響を及ぼす可能性がある。今後は本試験で構築したシステムの実用化を進めるために、このような問題について検証を行っていく必要がある。

引用文献

- 1) Buehr, M. et al.: Size regulation in chimaeric mouse embryos, *J. Embryo. Exp. Morphol.*, 31, 229-234(1974)
- 2) 古川 力 クローン技術の育種効率に及ぼすインパクト 東日本 ET 研報, 15:29-44
- 3) 後藤充宏ほか: 単離割球を利用した一卵多子生産技術の検討、徳島県畜試研報, 37, 5-8(1996)
- 4) 広島県立畜産技術センター 平成 10 年度試験研究・事業成果概要書, 18-19(1999)
- 5) 堀内俊孝: 牛の体外受精マニュアル、広島農業の研究, 26, 31-40(1990)
- 6) 今井 昭ほか: ウシ体外受精胚の Vero 細胞との共培養、広島県獣医学会雑誌, 14, 32-35(1999)
- 7) 今井昭ほか: マイクロドロップレット法でガラス化保存したウシ体外受精胚をドナー細胞とした核移植の検討、広島県獣医学会雑誌, 16, 9-13(2001)
- 8) 今井 昭ほか: 経膈採卵技術を活用した優秀雌牛の効率的利用、第 38 回広島県畜産関係業績発表会収録, 138-140(2001)
- 9) 今井 昭ほか: 経膈採卵・体外受精由来ウシ 2 細胞期胚の割球分離による一卵性双子生産、広島県獣医学会雑誌, 17, 9-13(2002)
- 10) Iwasaki, S. et al.: Morphology and proportion of inner cell mass of bovine blastocysts in vitro and in vivo, *J. Reprod. Fert.* 90, 279-284(1990)
- 11) Jhonson, W.H., Loskutoff, N.M. et al.: Production of four identical calves by the separation of blastomere from in vitro derived four-cell embryo, *The Veterinary Record*, July 1, 15-16(1995)
- 12) Leibo, S.P. et al.: Cryobiology of in vitro-derived bovine embryos, *Theriogenology*, 39, 81-94(1993)
- 13) Mannen H et al.: Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle, *J. Anim. Sci.* 2003. 81:68-73
- 14) 尾形康弘ほか: マイクロドロップレット法で凍結保存したウシのレシピエント卵子による核移植成績、広島県獣医学会雑誌, 15, 33-36(2000)
- 15) Rands, G.F.: Cell allocation in half-and quadruple-sized preimplantation mouse embryo, *J. Exp. Zool.* 236, 67-70(1985)
- 16) Somer, G.R. et al.: Allocation of cells to the inner cell mass and trophoblast of 3/4 mouse embryos, *Reprod. Fertil. Dev.* 2, 51-59(1990)
- 17) Takano, H. et al.: Cloning of Bovine Embryos By Multiple Nuclear Transfer, *Theriogenology* 47:1365-1373(1997)
- 18) Tarin, J.J.: Human embryo biopsy on the second day post insemination for preimplantation diagnosis: Removal of a quarter of embryo retards cleavage, *Fertil. Steril.* 58, 970-976(1992)
- 19) Tarkowaski, A.K. et al.: Development of blastomere of mouse eggs isolated at the 4- and 8- cell stage, *J. Embryol. Exp.* 18, 155-180(1967)
- 20) Teija, T. et al.: Development of Bovine Embryo-Derived Clones After Increasing Rounds of Nuclear Recycling, *Mol. Reprod Dev* 58:384-389(2001)
- 21) 富永敬一郎ほか: 牛分断胚の凍結、繁殖技術会誌, 13(2), 65-75(1991)
- 22) Willadsen, S.M. et al.: Attempt to produce monozygotic quadruplet in cattle by blastomere separation, *The Veterinary Record*, 7, 211-213(1981)

高泌乳牛における乳タンパク質向上のための飼料給与に関する研究

新出 昭吾

2005

目次

第 1 章 緒言	要約
第 2 章 飼料中の粗タンパク質含量が乳生産に及ぼす影響	謝辞
第 1 節 泌乳前期における粗タンパク質含量の違いが乳タンパク質率に及ぼす影響	英文要約
第 3 章 飼料の処理や飼料構成が飼料タンパク質の第一胃内分解様相に及ぼす影響	引用文献
第 1 節 圧ペン大豆の加熱処理が第一胃内粗タンパク質有効分解度に及ぼす影響	
第 2 節 粗飼料源と粗濃比の異なる TMR 給与下における TMR 構成飼料原料の第一胃内粗タンパク質有効分解度	
第 4 章 飼料粗タンパク質の第一胃内有効分解度が乳生産に及ぼす影響	
第 1 節 高エネルギー飼料でのタンパク質分解度が泌乳初期における乳生産に及ぼす影響	
第 5 章 粗飼料源と粗濃比の違いが乳生産に及ぼす影響	
第 1 節 トウモロコシサイレージ主体の粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響	
第 2 節 イタリアンライグラスサイレージ主体の粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響	
第 3 節 飼料イネホールクroppサイレージの粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響	
第 6 章 総括	

第1章 緒論

1 研究の背景と目的

我が国は、昭和 50 年から乳用雌牛群の能力把握と資質改良のため乳用牛群検定事業に取り組んだ。広島県においては、この牛群検定事業の成績を活用した改良や飼養管理の改善により、乳牛一頭当たりの 305 日乳量が、平成 10 年には 8,816kg、平成 15 年は 9,447kg に達し、10,000kg 以上の高泌乳牛の割合は 36.6%を占めるまでに達している(乳用牛群検定成績のまとめ,1998; 2003)。

広島県においては、粗飼料生産基盤が狭小であり、濃厚飼料多給の実態(乳用牛群検定成績のまとめ,1998; 2003)であり、乳成分に関しては、乳脂率の低下、乳タンパク質率や無脂固形分率の向上が予測された。しかし、広島県の乳量水準は全国のトップレベルであるものの、中国地方の他県に比較し、乳脂肪率が 4.00%以上で極端に高く、乳タンパク質や無脂固形分率が低い状況で推移している。この間、バター在庫の増加、飲用乳の消費の鈍化や消費者の健康志向もすすみ、生乳の取引基準が、乳脂率重視から乳タンパク質率や無脂固形分率重視へと移行されてきた。飲用乳の消費県として、他県産の生乳に打ち勝つ乳質の確保が重要になってきた。

無脂固形分のうち乳糖率は牛乳の浸透圧を一定に保つという生理的な働きから、飼料給与により大きく変動する成分でない(日本飼養標準,1994)とされている。一方、乳タンパク質率は無脂固形分率と相関が高く(佐藤, 1986)、無脂固形分率の向上には乳タンパク質率向上が鍵になる。

乳牛の体組織で利用される窒素源としてのアミノ酸は乳タンパク質の原料でもあり、これらアミノ酸は飼料粗タンパク質(CP)が第一胃内微生物により分解、再合成された微生物体タンパク質に由来するもの、また、第一胃内での分解を免れた飼料 CP に由来するものにより構成される(日本飼養標準,1994,1999)。特に、高泌乳牛においては、第一胃内における微生物体タンパク質からの CP 供給だけでは不足し、第一胃内では不消化であるが下部消化管で吸収されるバイパス CP の供給が必要とされている(NRC 飼養標準,1989,2001)。

このような中で、酪農家は乳タンパク質率の向上や泌乳前期における乳量の増加に対して、CP 給与量の増加や、第一胃バイパス CP の給与の効果を期待し、日本飼養標準(1999)や NRC 飼養標準(1989)に示される一定値の第一胃内 CP 分解率を参考に飼料設計している。しかし、非繊維性炭水化物(NFC)の給与が不足し十分なエネルギーが伴わない場合や、エネルギーを高めるために粗脂肪(EE)が過剰に給与された場合、第一胃内微生物

物の増殖が阻害され(Devendra and Lewis,1974; Ørskov et al.,1978)、乳タンパク質率の低下が助長され、血液性状では第一胃内 CP の分解の程度を示す指標である血液尿素窒素(BUN)量が高くなり、分娩間隔は長期化の傾向にある(乳用牛群検定成績のまとめ,1998;2003)。また、先進的な酪農家では、アミノ酸組成に優れる魚粉がバイパスCPとして用いられてきたが、2001年狂牛病(BSE)の発生以来、動物由来の CP の利用が禁止され、植物由来の CP での対応が求められている状況にある。

さらに、2004 年に『家畜排泄物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律(家畜排泄物管理法)』が施行され、糞尿処理に対して強力な監視、指導体制が構築された。酪農経営では、乳生産だけでなく、糞尿の適正な還元を含め土地利用型の循環型農業、再生産農業への取り組みが不可欠であり、尿中や糞中への窒素排泄量の抑制などを通じ、飼料給与 CP は最少にして、家畜の生産性を最大にすることが求められているが、これらの手法は手探りの状況にある。

また、酪農家では、多くの輸入購入乾草を利用しているが、2000 年の口蹄疫発生以来、地域で生産される安心、安全な自給粗飼料を給与することに関心が高まっている。特に、広島県では、夏作物のトウモロコシと冬作物のイタリアンライグラスの栽培が再評価されつつあり、水田作付け可能面積の概ね 40%の減反田の活用が模索され、2001 年から、湿田に強く、従来技術と機械により栽培が可能な飼料イネの利用への期待が大きくなっている。現在は、圃場整備が進み土地の集積が可能となり、飼料イネの大規模生産や、ホールクロップサイレージ(WCS)としての広域流通が進みつつある。しかし、酪農家は、乳牛の高泌乳化とともに、消化性が悪いという理由でイネ副産物の稲ワラを給与しなくなっており、飼料イネ WCS も稲ワラと同じ様に消化性が悪く、高泌乳牛の乾物摂取量や養分摂取量を満たすことができないという懸念をもっている。

高泌乳牛にとって、粗飼料の給与は反芻胃の恒常性の維持に重要な意味を持つ(日本飼養標準,1999)が、泌乳前期における粗飼料の多給はエネルギー摂取量を制限し、第一胃の容積的な制約の要因になり、乳タンパク質率や無脂固形分率を低下させるという相反する現実もある。

この第一胃内充満度は、中性デタージェント繊維(NDF)摂取量や NDF の微細化様相により影響を受け、飼料の第一胃内通過速度は NDF 摂取量の増加により低下することが報告されている(Welch,1986; 岡本,1991)。第一胃内からの消失は、飼料の第一胃内滞留時間を左右する要因であり、飼料 CP の分解の程度を変化させることから、第一胃における飼料の通過速度の査定は非常に

(14)

重要な項目と考えられる。しかし、混合飼料(TMR)中の粗飼料の違いや粗濃比が咀嚼行動や通過速度に及ぼす影響についての情報は少ない。

このような状況の中で、乳牛一頭当りの生産量が充分でない自給粗飼料を有効利用するためには、泌乳に要するエネルギーを最大限摂取させるとともに、反芻生理を維持するための粗飼料給与量や条件を明らかにし、微生物体タンパク質合成に関係する第一胃内分解性タンパク質や、下部消化管で吸収される非分解性タンパク質の割合や量を制御し、乳タンパク質率向上を図る必要がある(NRC 飼養標準,1989,2001;AFRC 飼養標準,1993;日本飼養標準,1994,1999)。

NRC 飼養標準(1989)では、CPを分解性タンパク質(DIP)と非分解性タンパク質(UIP)にわけ、これらの値は飼料固有の固定値として評価したが、これらの割合は、乾物摂取量(Uden,1984)や粗飼料と濃厚飼料の給与比率(入来ら,1986)、咀嚼行動(岡本,1991)など様々な要因に左右される飼料の通過速度に対応したものでない。一方、AFRC 飼養標準(1993)では、分解性CP(DIP)ではなく、有効分解度という概念を用い、第一胃内でのCP分解の程度は、CPの分解速度とそのときの第一胃からの飼料の流出速度(通過速度)により可変するという考えに基づいており、第一胃内でのCP分解度がより实际的に推定できると考えられる。

この場合、パラメータとして飼料CPの分解の速い可溶性部分(易分解性分画)の割合 a 、潜在的に分解可能であるが分解が遅い部分(難分解性分画)割合 b 、および、 b 分画の分解速度 c 、そして、飼料の通過速度 k を求める必要がある。分解性CPは、易分解性タンパク質/CP = a と、難分解性タンパク質/CP = b で、 $b = bc/(c+k)$ との総和で表される。しかし、これらパラメータ a, b, c に関する飼料側のデータは十分ではなく、日本飼養標準(1999)などに示される固定した分解率を用いざるをえない状況である。また、通過速度 k も、わが国の粗飼料割合の少ない飼料給与条件での測定はほとんどない。

そこで、本研究では、農家で給与されている飼料の分解パラメータを明らかにすること、本県の代表的な粗飼料であるトウモロコシサイレージ、イタリアンライグラスサイレージおよび飼料イネサイレージの粗飼料摂取割合が、第一胃内発酵や咀嚼行動に及ぼす影響、また、飼料の通過速度に及ぼす影響を明らかにすることにより、飼料のCP有効分解度と乳量や乳タンパク質率の関係を検討することとした。

本研究においては、第一胃内分解パラメータは、ナイロンバッグ法(Mehrez and Ørskov,1977; Nocek,1988; Ørskov and McDonald,1979)で計測した。また、通過速度は、飼料に標識物質を塗布する方法としたが、これらマーカ-の条件として、1)飼料に対する親和性に優れる

こと、2)標識した飼料片からのマーカ-の乖離がないこと、3)生体に吸収されないこと、4)生体に毒性がないこと、5)分析が容易であることなどが示されている(Ellis and Bever,1984)。標識物質として、酸化クロム(Uden,1980; Grovum and Williams,1973)、プリリアントグリーンやフクシンなどの染色物質(豊川ら,1978)、酸性デタージェントリグニン(ADL)(Judkins et al.,1990)、希土類元素(Allen and Van Soest,1984)などが固相のマーカ-として利用されている。このうち、酸化クロムは、第一胃内でほとんど発酵を受けず、クロム吸着飼料片の比重は第一胃内通過至適比重の $1.0 \sim 1.4 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$ を超過する(Martz and Belyea,1986)ため、第一胃内通過速度が抑制され内容物との挙動が一致しないこと、また、生体に吸収されること(Uden,1980)、酸性デタージェントリグニンは糞中への回収率が低く、通過速度の指標にするには問題があること(Judkins et al.,1990)が報告されており、これらはマーカ-としての条件を満たしていない。

一方、希土類元素のうちランタノイド(原子番号57から71)は、周期表の f 族・6 周期に属し、最外部電子配列が同一で化学的性質が類似し、植物細胞壁成分と高い親和性を示し、不消化であり、第一胃内での飼料の分解と挙動が一致すると報告(Allen and Van Soest,1984)され、通過速度マーカ-として多くの研究で利用されている(一戸,1994; Pond et al.,1989; Erdman et al.,1987; Teeter et al.,1984; Poore et al.,1990; Hartnell and Satter,1979; Mader et al.,1984; Turnbull and Th-omas,1987)。また、Pond et al.(1989)は、同じ粒度の飼料片に対し標識として用いた希土類元素の種類は第一胃内通過速度に影響しなかったことを報告している。このことから、本研究では希土類元素のうち、サマリウム(Sm)、ディスプロシウム(Dy)、ランタン(La)、イッテルビウム(Yb)を標識マーカ-として用いた。

また、希土類元素の標識方法には、一定濃度の希土類元素溶液をスプレーで塗布する方法(Mader et al.,1984)と、希土類元素溶液中に飼料を浸漬し水洗する浸漬法(Teeter et al.,1984)がある。Teeter et al.(1984)は、スプレー法では全消化管内においては希土類元素の標識飼料からの遊離があり、浸漬法が優れるとした。一方、大下ら(1995)は、希土類元素を標識として乾草へのスプレー法と浸漬法による標識方法の違いを比較し、標識方法の違いによって下部消化管通過速度 k_2 に差が認められるものの、第一胃内通過速度 k_1 には差が認められないとしている。飼料の第一胃 CP 有効分解度を求めるには、第一胃内通過速度 k_1 が必要とされるのであり、本試験での第一胃内における CP 有効分解度の査定にはスプレー法による標識法を採用した。

標識する飼料原料について、Erdman et al.(1987)は、粗飼料の給与構成割合を同一とし、3 種類の希土類元

素(Ce, La, Sm)を用い、計9種類の濃厚飼料原料の第一胃内通過速度を調査し、これら標識飼料の第一胃内通過速度は差が認められなかったことを報告している。このことから、本研究では、予備調査で希土類元素を塗布した標識飼料の摂取を拒否する乳牛も散見されたことから、標識する飼料として嗜好性が良い飼料原料であること、農家が一般に用いる飼料であること、希土類元素を塗布しやすいこと、給与飼料構成のうち濃厚飼料の乾物摂取割合が65~74%以上を占めること、また、本試験で用いた濃厚飼料原料のうち平均的な分解パラメータを示すことなどを考慮して、濃厚飼料のうち乾熱圧ぺん大豆を標識飼料とし、これらの通過速度を飼料全体の通過速度とみなした。すなわち、標識処理は、希土類元素の1%(w/v)溶液1リットルをスプレーにより3.5kgの乾熱圧ぺん大豆に噴霧、混和し、60℃で48時間通風乾燥した。これら標識圧ぺん大豆500g/頭を給与し、給与後、経時的に直腸糞を採取し、直腸糞中の希土類元素含量の経時的減衰をGroven and Williams(1973)のモデルに当てはめ通過速度を求める手法を採用した。

以上のような条件で、本研究では、実際に農家が利用している飼料原料や飼料給与割合を基本とし、第2章では、飼料中のCP含量が乳量や乳タンパク質率、第一胃内のCPの利用を示す指標のBUN値、繁殖成績などに及ぼす影響を検討した。

第3章では、熱加工処理した飼料や粗濃比、粗飼料の種類が異なるTMR給与における構成飼料原料の第一胃内分解パラメータをナイロンバッグ法で明らかにし、第一胃内の通過速度との関連で第一胃内CP分解度に及ぼす影響を検討した。

第4章では、農家が用いている粗濃比で高エネルギー飼料の給与条件で、特に、乾物摂取量が低く、乳タンパク質率が低下しやすい泌乳初期における飼料の通過速度を検討し、3水準の飼料のCP有効分解度が乳タンパク質率に及ぼす影響を検討した。

第5章では、本県の主要な自給粗飼料であるトウモロコシサイレージ、イタリアンライグラスサイレージおよび飼料イネサイレージをそれぞれ用いたTMRの粗飼料割合が、飼料の通過速度、第一胃内容液性状や咀嚼行動に及ぼす特性について明らかにし、乳量や乳タンパク質率に影響すると考えられる飼料のCP有効分解度との関連で検討した。

最後に、第6章では、結果を総括して考察した。

2 従来の研究

昭和60年代の乳牛における飼料給与上の関心は乳脂率の向上であり、広島県をはじめとする府県の場合、自給粗飼料の生産基盤が狭小であり、粗飼料給与割合の少ない中でいかに乳脂率を維持するかということに重

点がおかれていた。

この中で、乳脂率3.5%を維持するためには粗繊維含量が17%以上必要とする指標(日本飼養標準,1987)が示されていたが、由来する繊維源の違いにより乳脂率への反応が異なる場合が散見された。National Research Council(NRC)飼養標準(1989)ではNDF含量が指標とされ、飼料乾物中のNDF給与推奨値は25~28%でありそのうち75%は粗飼料由来の繊維で確保すべきことが示された。繊維区分の指標がより明確になったが、農家現場では粗飼料給与量が十分でなく、繊維の75%を粗飼料由来で確保することは至難の状況であった。これに対し、食品副産物などの給与が多いわが国の給与実態を踏まえ、NDFの適正レベルについての試験が実施され、NDF含量は35%とする指標値(日本飼養標準,1999)が示されたが、粗繊維の場合と同様に、由来する繊維源の違いにより第一胃内の恒常性維持への影響が異なる場合があり、より明確な指標が求められている。

乳牛の高乳量化とともにエネルギー摂取量を高める必要から、混合飼料(TMR:Total Mixed Ration)給与に関する研究が実施されてきた。特に、易発酵性炭水化物の給与と第一胃恒常性の維持の両立が重要とされるようになり、第一胃内発酵の安定化指標として、乾物1kg当りの咀嚼時間(採食時間+反芻時間の総和)、いわゆる、粗飼料価指数(RVI:Roughage Value Index)により、飼料の物理性を評価する必要性が高まっている(日本飼養標準,1999)。すでに、Sudweeks et al.(1981)は、乳脂率3.5%を維持するに要するRVIは31.1分/kgという指標を示した。しかし、高泌乳牛では摂取量が多く、飼料の通過速度が速まることからRVI値は低下し、高泌乳牛への適合性について疑問が呈されている(千葉畜産センター,1998;日本飼養標準,1999)。RVIは繊維含量と飼料の物理性を加味した栄養管理指標として実用的であるが、RVIの測定には多くの時間とコストがかかるため、試験例は少ない(Fujihara,1980;岡本,1991;千葉畜産センター,1998;新出ら,1999,2002)。咀嚼による飼料片の微細化は、乾物摂取量(Uden,1984)や粗飼料と濃厚飼料の給与比率(入来ら,1986)、飼料粒度(Welch,1986)などとともに飼料の通過速度に影響し、第一胃内でのCPの利用の程度や発酵に影響すると考えられることから、特に、府県のような粗飼料摂取割合が少ないTMR給与における高泌乳牛でのRVIデータの集積が必要であり、簡便で正確に咀嚼行動を調査する方法の開発(新出・河野,2004)が求められている。

乳牛における飼料CPに関する新しい考え方が、Agricultural Research Council(ARC)飼養標準(1980)で示され、従来のCP,DCPの要求量の評価に替わるシステムが報告された。タンパク質の要求量を示すシステムの理論は、体組織で利用可能な微生物体タンパク質が乳

(16)

牛の必要以上に生産できるときは、窒素の要求量は第一胃内微生物が要求する分解性タンパク質の量となる。一方、微生物体タンパク質の合成量が乳牛の体組織で必要とされる量以下ならば、それ以上の必要量は非分解性タンパク質で補給され、かつ、第一胃以下の下部消化管でこれらが吸収されるということが前提の理論となっている。

その後、NRC 飼養標準(1989)、Agricultural and Food Research Council(AFRC)飼養標準(1993)においても、反芻胃内における CP の分解特性がタンパク質要求量の算出に組み込まれた。

NRC 飼養標準(1989)では、タンパク質を分解性タンパク質(DIP)と非分解性タンパク質(UIP)にわけ、これらの値は飼料固有の固定値として評価され、微生物体タンパク質合成量は、TDN 摂取量に相関するという経験則をもとにした回帰式を採用したが、高 EE 含量の飼料が給与される場合にこの合成量を過大評価する問題点が指摘された。つまり、高 EE 含量の飼料は、ルーメン内の微生物の繊維分解障害、ルーメン内微生物に対する毒性作用などによる活性阻害(Devendra and Lewis,1974; Ørskov et al.,1978)、微生物体タンパク質合成量の低下、乳腺でのアミノ酸代謝の変化(Palmquist and Moser, 1981)などの要因により乳タンパク質率が低下することが示唆された。さらに、小腸到達 CP の消化率は一律 80%とされ、吸収 CP 中のアミノ酸組成についての考慮はされていなかった。

一方、AFRC 飼養標準(1993)では、飼料 CP に常に一定の分解性を与えるシステムではなく、第一胃内における CP の分解の程度は第一胃内の飼料の通過速度により可変するものとした。通過速度は、維持エネルギー要求量に対するエネルギー摂取量の倍数から推定する方法が示され、第一胃内 CP 有効分解度という概念を用い、第一胃内での CP 分解度がより実際的に推定できるようになった。その後、コーネル大学の Sniffen et al.(1992)がタンパク質と炭水化物の新しい評価システムである CNCPS を発表した。これらは、化学分析値から飼料 CP を 5 つの分画、炭水化物を 4 つの分画に分け、それぞれの分画ごとの消化速度と通過速度から利用性を評価し、微生物体タンパク質合成量を発酵性炭水化物の摂取量との関係で説明するシステムを発表し、現在検証が行われつつある。

2001年に、NRC 飼養標準(2001)が発表された。第一胃内非分解性 CP(RUP)の算出には、in situ 法データによるメカニティックモデルが用いられ、RUP 含量を左右する項目として、乾物摂取量、濃厚飼料割合、飼料中の NDF 含量により飼料の通過速度が推定された。第一胃内微生物体タンパク質合成量は、発酵性有機物(OM)から推定され、飼料原料により小腸における RUP の消化

性や栄養価が異なることが考慮され、必須アミノ酸の小腸移行量の予測式が提示され、より精緻なシステムが公表された。しかし、飼料 CP や RUP から乳量や乳タンパク質量を予測する回帰式は寄与率が低いことが指摘されている。

一方、わが国においては、CP に関する情報は未整備のままであり、日本飼養標準(1994,1999)は CP 要求量と固定値としての飼料の CP 分解割合(度)を示すのみである。飼料 CP の第一胃内分解度は、乾物摂取量(Uden, 1984)や粗飼料と濃厚飼料の給与比率(入来ら,1986)、飼料粒度(Welch,1986)など様々な要因に左右される第一胃内の通過速度により変動する。しかし、日本飼養標準(1999)では、高泌乳牛での通過速度の算定基準が示されておらず、飼料 CP の有効分解度の算出が困難である。また、諸外国の CP 分解度に関する泌乳試験は、粗飼料給与割合が 50%前後のものが多い(Armentano et al.,1993;Khorasani et al.,1996)。このことから、実際に農家が利用している飼料原料や飼料給与割合を基本とし、粗飼料の種類、粗濃比が及ぼす通過速度に関するデータ集積や、泌乳試験が不可欠である。

以上のように、乳タンパク質向上に関して未整備の部分が多いため、現在までに明らかになっている飼料 CP の利用を左右する EE, NFC や NDF などの量や割合について断片的に示されている指標を統合しながら、飼料の第一胃内 CP 有効分解度の算定に不可欠な、飼料の第一胃内分解パラメータや第一胃内通過速度を明らかにし、乳タンパク質率向上のための飼料給与についての研究を展開する必要があった。

第2章 飼料中の粗タンパク質含量が乳生産に及ぼす影響

第1節 泌乳前期における粗タンパク質含量の違いが乳タンパク質率に及ぼす影響

緒言

飼料中の粗タンパク質(CP)は、通常、窒素量に 6.25 を乗じた値で表記されるが、これにはタンパク質以外の窒素化合物(非蛋白態窒素:NPN)も含む(NRC 飼養標準,2001;日本飼養標準,1999)。反芻家畜は、尿素などのこれら NPN をタンパク質の代替として利用できる特徴を持ち、第一胃内微生物により、NPN がさらに消化利用性が高い微生物体タンパク質に変換、再合成される(Hungate,1966)。タンパク質の供給をこの微生物体タンパク質のみに依存した場合、乳量 4,000kg 程度の産乳が可能であることが報告(Virtanen,1969)されている。しかし、現在の高泌乳牛(40kg 以上の牛)では、これら微生物体タンパク質だけではタンパク質要求量を充足できず、第一胃をバイパスし、下部消化管で消化吸収される非分解性 CP が必要とされる(NRC 飼養標準,1989,2001;日本飼養標準,1994,1999)。

農家においては、泌乳前期における乳量の増加は飼料中の CP 給与量の増加によるとされている。しかし、可消化養分総量(TDN)給与量が伴わない飼料給与や、粗脂肪(EE)含量の高い食品副産物の安易な多量給与が、乳タンパク質率の低下を誘発し、血液性状では第一胃内における CP の分解の程度を示す血液尿素窒素(BUN)量が高く、健康や繁殖成績(Ferguson and Chalupa,1989; Canfield et al.,1990; Butler et al.,1996)に影響し、肢蹄疾患の発生が認められる事例が多い。これら疾病発生を抑制するため、泌乳初期の CP 給与レベルを低く設定した農家も散見されるが、第一胃内アンモニア濃度が低くなり(Satter and Slyter,1974)、逆に泌乳量や乳タンパク質率が低下する実態が発生している。

分娩後の泌乳前期の乳用牛は、乾物摂取量や養分摂取量が乳量の増加に対して生理的に追いつかず、蓄積した体脂肪を消費して不足する養分量を満たすため、体重が減少する(NRC 飼養標準,1989;日本飼養標準,1994,1999)。しかし、分娩後に体重の低下が継続するような管理は、分娩間隔の長期化につながると報告されている(Butler and Smith,1989)。

この際、この体重の減少が乳生産に供給できる養分は、TDN 量と CP 量ではバランスが悪く、相対的にタンパ

ク質量が不足する(日本飼養標準,1987,1994)。試算すれば、体重 1kg の低下により放出されるエネルギーは TDN 量で 2.1kg、窒素は CP 量で 320g となり、乳脂率 3.5%の生乳生産量に換算するとそれぞれ 7kg に対して 4kg となり、飼料中の CP 量が泌乳前期の乳量と乳成分を律速すると考えられる。

一方、過剰に摂取された CP、あるいは、エネルギーが不足する状況で給与された CP が第一胃で分解される際に発生するアンモニアは、肝臓の機能を障害し、繁殖障害(卵胞腫脹、受精胚の早期死滅)(Ferguson and Chalupa,1989;佐藤,1986; Spain et al.,1990)や関節炎などの原因になり、エネルギー損失が増加するとされている。

CP の効率的な給与においては、エネルギー給与レベルや、飼料 CP の第一胃内での分解速度、下部消化管への流入量、消化性、さらにアミノ酸の構成を考慮すべき(NRC 飼養標準,1989,2001;日本飼養標準,1994,1999)と考えられるが飼料給与に応用するには情報が十分ではない。

そこで、今回は、高泌乳牛における乳生産性向上に関する筆者の研究の中で得られた知見(新出ら,1995,1997)をもとに、TDN 含量は 76~77%、EE 含量は 5%の水準で、農家における CP 給与の検証として、飼料中の CP 含量の違いが泌乳前期における泌乳成績や繁殖成績に及ぼす影響を調査した。

材料および試験方法

1 供試牛

試験開始前に、乳量 30kg / 日以上ホルスタイン種乳用牛を 4 頭供試し、CP 含量を異にした供試配合飼料 3 区(14%区、17%区、20%区)の嗜好性調査を行った。飼養試験は、前産次泌乳成績が明らかなホルスタイン種乳用牛 9 頭をそれぞれの給与区に配置し、分娩前 14 日~分娩後 110 日にわたり、一元配置試験法(吉田,1983)で実施した。乳用牛の前産次泌乳成績のプロファイルを表 1 に示した。

2 供試飼料および管理

供試配合飼料は、単味濃厚飼料 10 種類を用い、CP 含量を異にした 3 区を調製した。供試配合飼料の配合割合と乾物中の養分含量を表 2 に示した。なお、魚粉を用いて飼料中の CP を調整した本試験は BSE 発生以前の 1992~1993 年に実施したものであり、魚粉の利用が制限されていなかった時期であることを明記しておく。

飼料は分離給与とし、粗飼料は乾物重量で 9~10kg / 日相当量を基準とし、原物でトウモロコシサイレー

(18)

15kg(黄熟期,切断長 1.5 ~ 2.5cm),チモシー乾草 4kg(出穂期),アルファルファヘイキューブ 2kg を給与し,必ず残餌が出る量とした。

供試配合飼料は分娩予定 14 日前から 2kg / 日を,分娩 7 日前から 4kg / 日をリード給与した。分娩後 6 日目からは,1kg / 2 日で増給するチャレンジ給与を行い,給与量 8kg / 日でその量を 5 日間維持した。その後,再び増給し,32 日目以降は 17kg / 日とした。粗飼料は,全試験期間中,上述の給与量を給与した。

供試配合飼料の給与時間は,8:30(搾乳前),12:00,16:00 の 3 回とし,給与量の割合はそれぞれ,一日給与量の 35%,30%,35%とした。粗飼料は,トウモロコシサイレージを 9:30 ~ 10:00 に全量,アルファルファヘイキューブを 8:30,16:00 に各 1kg を給与した。チモシー乾草は 16:45 に全量を給与した。ミネラルは,一日必要量を 8:30,16:00 に供試配合飼料にトップ Dressing で給与し,飲水は,ウォーターカップによる自由飲水とした。

なお,搾乳は,8:30 と 17:00 の 2 回搾乳とした。

Table 1. Using Holstein cows for experiment

CowNo	last parturition day	parity	milk productions of last parturition			
			305ds milk yield* (kg)	milk fat (%)	milk protein (%)	SNF (%)
1	1991.10.21	(1)	6097.2	3.74	2.95	8.52
2	1991.12.21	(2)	9132.8	3.60	2.98	8.60
3	1991.9.22	(2)	10174.0	3.74	3.06	8.86
4	1991.2.5	(2)	8796.1	3.62	3.14	8.86
5	1992.2.10	(1)	7770.7	3.80	3.06	8.69
6	1992.6.30	(1)	7839.9	4.20	3.29	8.84
7	1991.8.16	(3)	7558.4	4.36	3.23	8.76
8	1991.11.6	(1)	7867.0	4.12	3.13	8.69
9	1992.5.29	(2)	9408.9	3.58	3.15	8.65
Average			8293.9	3.86	3.11	8.72
±SD			±1212.6	±0.29	±0.11	±0.12

* involved estimated 305ds milk yield.

SNF:solid-not-fat, SD: standard deviation.

Table 2. Ingredients and chemical compositions in experimental concentrates(%)

Item	CP14%	CP17%	CP20%
Corn	22	18	13
Barley	22	17	16
Soybean dry heated	6	9	10
Soybean meal	1	2	13
Wheat bran	13	13	13
Beet pulp	18	9	12
Cotton seed	13	9	7
Fish meal	-	3	4
Soybean hulls	-	8	4
Corn gluten feed	5	12	8
Dry matter	89.1	89.2	89.2
% DM basis			
Crude protein	16.1	20.6	25.1
Total digestible nutrients	84.6	84.3	84.6
Crude fat	6.1	6.3	6.1
Crude fiber	9.6	9.5	9.0
Acid detergent fiber	15.2	14.4	13.9
Neutral detergent fiber	29.8	29.0	27.2

3 試験区および調査内容

1) 嗜好性調査

8:30 の搾乳前に市販配合飼料(乾物中 CP19%, TDN82%)を給与し,搾乳終了後の 9:50 から嗜好性調査を行った。乾物摂取量が少ない分娩後の乳牛の状態を再現するために,あらかじめ 8kg / 頭の配合飼料を給

与し満腹状態を仮想して調査を行った。

嗜好性調査は,供試配合飼料の 10 分間の採食回数と採食量を調査する二者択一法(林ら,1965)とした。

塩ビ容器(幅 25cm×横 35cm×高さ 15cm)に供試配合飼料を各々 8kg 入れ,調査牛の飼槽に 2 種類を同時に配置し,採食回数と採食量を調査した。採食回数は,飼

料に口を付けた回数とした。採食量は、5 分間の調査後直ちに塩ビ容器の飼料残重量を測定し、配置場所の影響を除くため左右の場所を入れ替え、再び5分間調査し、計 10 分間の成績で判断した。供試牛が、すべての組合せを経験するように 3 日間連続して行った。

2) 飼養試験

試験区は、供試配合飼料が最大給与量となる分娩後 32 日以降に給与飼料全体の CP 含量が 14%となる区(以下 CP14%区)、17%となる区(CP17%区)、20%となる区(CP20%区)の 3 区を設定した。

いずれの給与区も、給与飼料乾物中の TDN 含量は 76~77%、EE 含量は 5%前後とした。

飼養試験は、一元配置試験法(吉田,1983)とし、飼料摂取量、養分摂取量は、毎日の給与量と残餌量から算出し、10 日間毎の平均値を用いた。

乳量は毎日計測し、10 日間毎の平均値を用いた。

乳成分は 7 日毎に、夕方と朝にサンプリングしたものを

単位とし、MILKO-SCAN 104(N.FOSS ELECTORIC)を用いて分析した。

体重は、分娩予定 7 日前、分娩後 5 日目および分娩後 10 日目、以降 10 日毎に搾乳終了後の 10:00 に測定した。

血液は、分娩後 10 日目とそれ以降 20 日毎に、朝の飼料給与前の 8:00 に頸静脈から採取し、5 時間放置後、3000 回転/分で 15 分間遠心分離して得た血清を分析に供した。

3) 給与飼料の分析

供試配合飼料、粗飼料は、試験の 10 日毎に連続した 3 日間、それぞれ原物 500g/日をサンプリングし、75 で 96 時間通風乾燥し混合したものを分析に供した。試料は、粗飼料の品質評価ガイドブック(1994)に従い、一般成分、酸性デタージェント繊維(ADF)含量、中性デタージェント繊維(NDF)含量(阿部,1988)を分析した。

Table 4. Chemical compositions of roughages and concentrates on dry matter basis(%)

Feed	DM	CP	EE	NFE	Cfi	Ash	ADF	NDF	TDN
	%DM								
Roughages									
Corn silage	32.4* ±2.08*	7.97 ±0.88	2.66 ±0.53	63.50 ±1.55	20.86 ±2.11	5.00 ±0.41	26.07 ±1.23	44.24 ±2.08	66.23 ±0.72
Timothy hay	89.5 ±1.71	10.52 ±1.72	1.67 ±0.35	49.24 ±1.58	33.90 ±4.92	6.61 ±0.55	41.57 ±6.42	64.44 ±1.86	62.51 ±0.43
Alfalfa hay cube	88.9 ±1.58	11.09 ±1.57	0.96 ±0.40	39.58 ±3.09	29.40 ±2.40	13.70 ±3.08	34.41 ±1.21	41.40 ±3.62	55.85 ±4.38
Concentrations									
Corn	89.0	9.55	4.38	83.15	1.46	1.46	3.93	16.52	92.52
Barley	87.0	12.41	2.64	78.16	4.37	2.41	8.85	17.36	84.78
Soybeandry heated	92.7	43.91	17.48	30.30	3.02	5.30	8.20	10.68	104.14
Soybean meal	88.4	57.13	1.13	30.11	5.20	6.43	8.94	15.84	86.85
Cotton Seed	92.9	20.67	20.45	31.01	23.68	4.19	34.66	42.63	88.04
Beet pulp	89.1	11.22	0.67	62.21	18.63	7.26	26.04	47.47	74.33
Wheat bran	88.4	16.65	2.87	66.70	8.73	5.05	13.32	41.33	71.79
Fish meal	92.3	67.17	9.75	0.76	0.65	21.67	1.08	1.19	80.63
Soybean hulls	89.5	17.32	1.79	43.80	32.29	4.80	37.21	50.28	67.47
Corn gluten feed	88.9	21.37	4.05	61.91	7.42	5.24	12.26	39.37	84.80

DM:dry matter, CP:crude protein, EE:ether extracts, NFE:nitrogen free extracts, Cfi:crude fiber,

ADF:acid detergent fiber, NDF:nutral detergent fiber, TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995).

* average±standard deviation.

粗飼料および供試配合飼料の調製に用いた単味濃厚飼料原料の分析値を表 4 に示した。なお、粗飼料の値は、全試験期間の平均値±標準偏差で示した。供試配合飼料の成分値は、表 4 の単味濃厚飼料の分析値を用いて算出した。なお、TDN 推定値は、日本標準飼料成分表(1995)の消化率を用いて算出した。

4) 統計処理

解析は、一元配置法の解析手順(吉田,1983)により、分散分析は F 検定を、処理区間の有意差検定は Duncan の多重検定を用いた。なお、乳量については、前産次の乳量成績を変量要因に取り込んだモデルによりの最小自乗法プログラム(Hervey,1987)により解析した。

結果および考察

1 嗜好性調査

供試配合飼料の嗜好性調査結果を表 5 に示した。採食回数は、CP20%区 > CP17%区 > CP14%区の順となり、採食量は CP14%区 > CP20%区 > CP17%区の順と

なったが、区間に差は認められなかった。しかし、供試牛の臭覚検査行動(石井,1986)から判断して、魚粉に対して臭いの拒絶閾が高い牛も観察された。このことから、魚粉の給与にあたっては、臭気が摂取量を抑制する可能性があり、分娩直後の乳用牛に給与する場合には、特に慣しが必要と思われた。

Table 5. Number of feed intake and dry matter intake(10min)

Item	CP14%	CP17%	CP20%
Number of feed intakes(time)	7.5	8.3	9.5
Dry matter intake(kg)	1.6	1.0	1.5

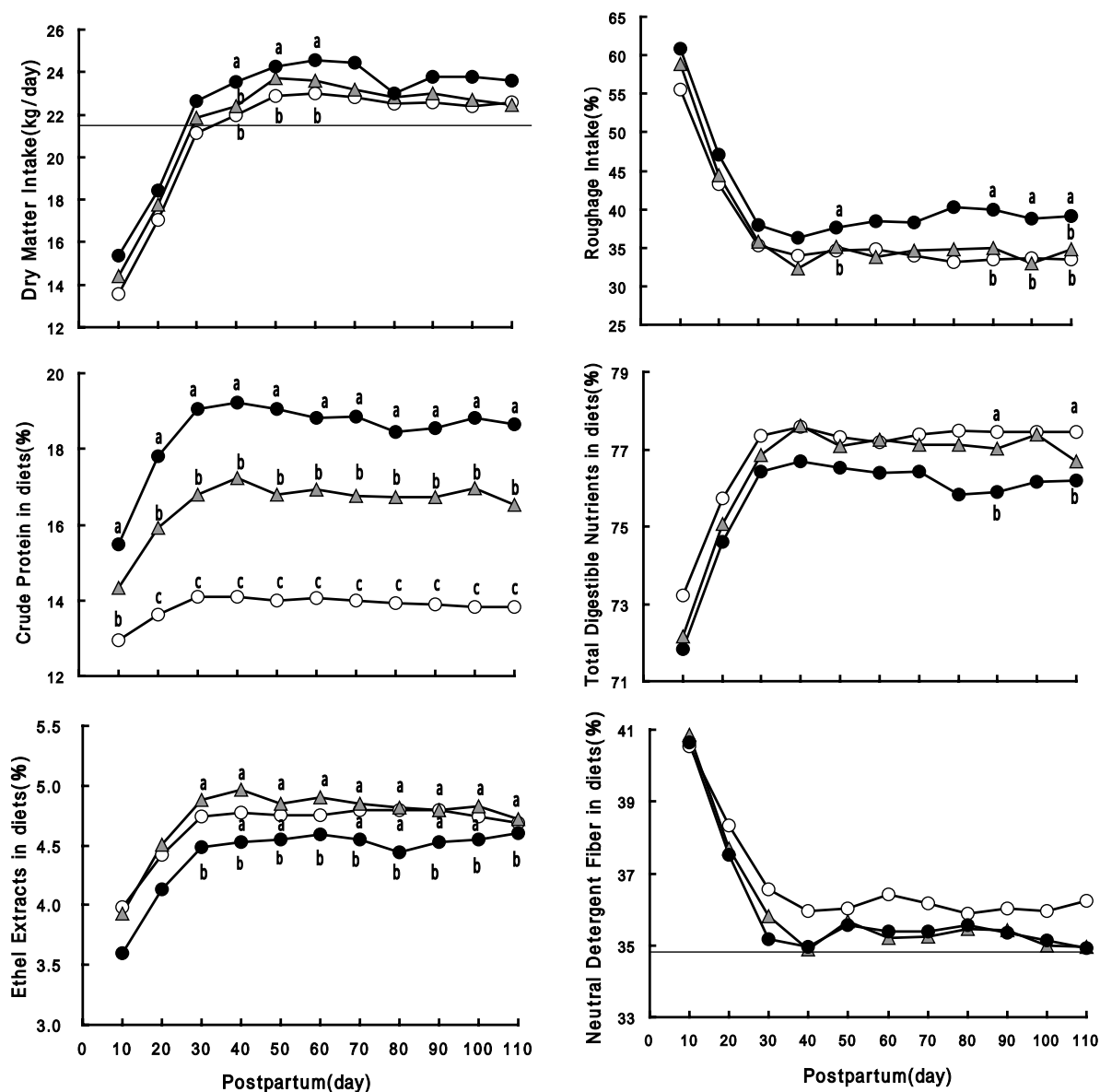


Fig.1. Changes of dry matter intake (kg/day), roughage intake (%), crude protein (%), total digestible nutrients (%), ethel extracts (%) and neutral detergent fiber (%) after parturition. Each symbol (CP14%: ○, CP17%: △, CP20%: ●) represents means of three lactating cows. Means within the same day with different superscripts differ (abc; P < 0.05).

2 飼養試験成績

1) 飼料摂取量

飼料摂取量の推移を図 1 に示した。

(1) 乾物摂取量, 粗飼料摂取量および粗飼料摂取割合

乾物摂取量は, 各給与区とも分娩後 30 日まで直線的に推移し, 分娩後 50~60 日で最大摂取量に達した。分娩後 30 日までの直線的推移は, 供試配合飼料の増給パターンに伴うものであった。また, 食い止まりは認められなかった。

分娩後 30 日以降の乾物摂取量は CP20%区 > CP17%区 > CP14%区で, CP20%給与区が一貫して高く, 分娩後 40 日~60 日は, CP14%区に比較し有意に高く推移した ($P<0.05$)。CP20%区と CP14%区間の乾物摂取量の差は 1.5kg/日 (平均値) であった。CP 含量を増加させると乾物摂取量は直線的に増加する (Kung and Huber, 1983; Roffler et al., 1978) とされ, 本試験の結果においても CP 含量の増加とともに乾物摂取量が増加した。

また, 粗飼料乾物摂取量は, CP20%区が, CP17%区および CP14%区に比較し高く推移した。粗飼料摂取割合は, いずれの給与区も供試配合飼料の摂取増加に伴い低下し, 分娩後 40 日以降は, CP20%区が高く推移した。供試配合飼料の摂取量は給与区間で差がないため, 飼料中の CP 含量の増加が飼料の消化率を改善 (Oldham, 1984) し, 粗飼料乾物摂取量, 粗飼料摂取割合を増加させたものと考えられた。

(2) CP 摂取量および CP 含量

CP 摂取量, CP 含量は, 分娩後 30 日まで直線的に増加し, CP20%区 > CP17%区 > CP14%区の順で推移し, 試験設計どおり一貫して区間に差 ($P<0.05$) が認められた。なお, 粗飼料の摂取量の変動などにより, CP20%区の CP 含量は試験設定値よりやや低くなり 19%前後で推移した。

(3) TDN 摂取量および TDN 含量

TDN 摂取量は, CP20%区が, 分娩後 40 日で他の給与区に比較し高く ($P<0.05$), 以降 70 日目まで高く推移する傾向であった。摂取飼料中の TDN 含量は, CP20%区が, 分娩後 90, 110 日に CP14%区に比較し低かった ($P<0.05$) が, その他の時期では給与区間に差は認められなかった。CP20%区は TDN 摂取量が多いものの, TDN 含量が低い傾向にあったのは, 粗飼料摂取量が多く濃度が希釈されたと考えられた。しかし, TDN 含量はいずれの区も乾物中 76~77%で推移し, 泌乳成績が良好であった試験結果のレベル (新出ら, 1995, 1997) に維持されていた。

(4) 粗脂肪 (EE) 摂取量および EE 含量

EE 摂取量は, 給与区間に差が認められなかったが,

摂取飼料中の EE 含量は, CP20%区が, CP17%区に比較し分娩後 30 日以降, CP14%区に比較し分娩後 40 日以降低く推移した ($P<0.05$)。これは, 乾物摂取量, 粗飼料摂取量が CP20%区で多く, TDN 含量と同様に結果的に希釈されたためと考えられた。

(5) NDF 摂取量および NDF 含量

NDF 摂取量および飼料中の NDF 含量は差が認められず, 摂取飼料中の NDF 含量は 35~36%のレベルで推移し差が認められなかった。いずれの給与区も, 粗繊維含量は 15~16%で, ADF 含量は 20~21%前後で推移した。繊維含量は乾物摂取量と負の相関があると報告 (Varga and Hoover, 1983; 岡本, 1991) されている。本試験では, それぞれの繊維含量に差が認められず, 本試験の乾物摂取量の差には, これらの繊維含量や摂取量は影響していないと考えられた。

(6) 充足率

乾物充足率は, 各給与区とも分娩後 30 日で, 100%に達し, 給与区間に差が認められなかった。

CP 充足率は, CP17%区および CP20%区が分娩後 30 日で充足率 100%を超えたが, CP14%区は 90%であり, 以降 95%前後の充足率で推移した。CP14%区は CP20%区に比較して, 分娩後 50 日まで低く ($P<0.05$), また, 分娩後 80 日および 100 日に低かった ($P<0.05$)。CP14%区の結果は, 飼料中の CP 含量が低かったことを反映したものと考えられた。

TDN 充足率は, CP14%区が分娩後 40 日で, CP17%区が分娩後 60 日で 100%を超えた。一方, CP20%区は, 分娩後 50 日で 95%に達し, 以降横ばいで推移し, 分娩後 100 日に CP17%区に比較して有意に低かった ($P<0.05$)。これは, 乳量に対する TDN 必要量の差が充足率に現れたものと考えられた。しかし, CP20%区は, TDN 充足率を満たし得なかったものの, 乳量が維持され, 体重が微増したことから, 飼料の利用効率が良好であることが推察された。今後, 飼料構成, 飼料の組合せによる飼料中の養分の第一胃内, 消化管内での利用性 (Russell et al., 1992) についての検討が必要と考えられた。

2) 泌乳成績

乳量, 乳成分の推移を図 2 に示した。

(1) 乳量

乳量は, CP20%区 > CP17%区 > CP14%区の順に推移し, CP20%区は, CP14%区に比較し, 分娩後 30~60 日まで多い傾向にあった ($P<0.1$)。また, 分娩後 100 日の乳量は, CP20%区が, CP14%区および CP17%区に比較し有意に高かった ($P<0.05$)。前産次および今産次の分娩後 6 日から 110 日までの乳量を表 3 に示した。

CP17%区および CP20%区の泌乳曲線は, 分娩後 30 日から分娩後 50 日の乳量の立ち上がりが早く, 乳量比

(22)

ークが明瞭であった。また、CP20%区は乳量ピークに達した後の低下程度が小さく、分娩後 70 日程度まで乳量は維持された。CP14%区の泌乳曲線は、乳量の立ち上がり抑制され、ピークが認められず、分娩後 40 日以降は横ばいとなった。乳量は CP 含量の影響を受ける

(Howard et al.,1987; Kung and Huber,1983; Oldham, 1984; Roffler et al.,1978; Zimmerman et al.,1992)ため、泌乳初期に CP 摂取量や CP 含量が低い場合、乳量のピークが抑制され、乳量が低く推移すると考えられた。

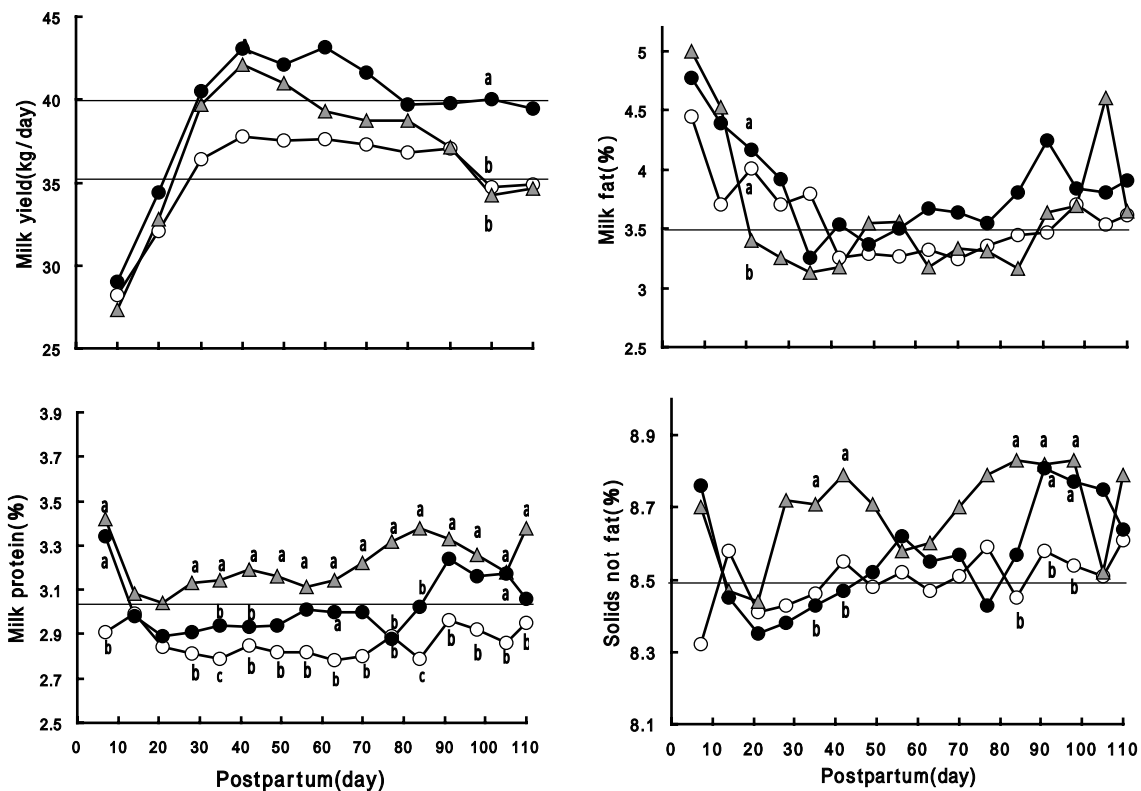


Fig.2. Changes of milk yield (kg/day),milk fat (%),milk protein (%), solid-not-fat (%) after parturition. Each symbol(CP14% : ○, CP17% : △, CP20% : ●) represents means of three lactating cows. Means within the same day with different superscripts differ(abc:P<0.05).

Table 3. Milk yielding of last parturition and present parturiton

CowNo	Feed	parturition day	parity (time)	Milk yielding (kg)*	
				Last parturition	Present parturition
1	CP14%	1992.12. 6	2	2538.6	3535.3
2	CP14%	1993.1. 1	3	3803.3	3808.3
3	CP14%	1993. 3.22	3	3770.3	4366.5
4	CP17%	1992.12. 5	3	3627.4	4182.4
5	CP17%	1993. 1.15	2	3165.1	3522.1
6	CP17%	1993. 5.29	2	3215.6	3857.0
7	CP20%	1993. 2.11	4	3432.3	4412.2
8	CP20%	1993. 4.2	2	2777.8	4604.3
9	CP20%	1993. 5.29	3	3677.8	4015.0

* Milk yielding(kg) from 6ds to 110ds after parturition.

分娩後 40 日 ~ 70 日における CP20%区と CP14%区の間の乳量差は概ね 5kg / 日であった。CP20%区と CP 14%区の乾物摂取量の差は 1.5kg / 日であり、この乾

物摂取量の差はトウモロコシサイレージ摂取量の差であった。乾物摂取量が増加したトウモロコシサイレージ由来の TDN 摂取量は 990g, CP 摂取量は 105g と試算され

た。日本飼養標準(1994)では乳脂率 3.5%の牛乳を 1 kg 生産するのに必要な TDN 量は 0.31kg, CP 量は 69g であることから, TDN では 3.2kg / 日, CP では 1.5kg / 日の乳生産に相当した。このことから, CP20% 区の 5kg / 日の増加した乳量は, 乾物摂取量の増加に起因した CP および TDN 摂取量の増加と, 泌乳効率の向上によるものと考えられた。CP 含量を高めれば, 乳量の増加に有効であると思われた。

(2) 乳脂率

乳脂率は, 分娩後 21 日に CP17% 区が他の給与区に比較し低かった ($P < 0.05$) が, その後は給与区間に差が認められなかった。本試験の結果は給与区間の EE 摂取量に差がなく, また, 血液中のコレステロール値など脂肪分画にも差がないことから, 飼料中の EE が乳脂肪へ直接移行した(Palmquist and Beaulieu, 1993)量にも差はなかったものと考えられた。CP20% 区の粗飼料摂取量, 粗飼料摂取割合も乳脂率には影響していなかった。

(3) 乳タンパク質率

乳タンパク質率は, CP17% 区が, CP14% 区に比較し分娩後 28 日以降高く ($P < 0.05$) 推移し, また, CP20% 区に比較し分娩後 35 日, 42 日, 77 日, 84 日に高かった。

乳タンパク質率はエネルギー摂取量が多いと高くなる(佐藤ら, 1992)。本試験では TDN 充足率は各給与区間に差はなかったが, 乳タンパク質率は, 乳量の多かった CP17% 区および CP20% 区が CP14% 区より高く推移した。これは, CP の摂取量が多かったこと, 給与飼料中のアミノ酸組成の差(O'Connor et al., 1993)が考えられた。特に, CP17% および CP20% 区には魚粉を用いており, 魚粉 CP は第一胃内での分解速度が低く, 乳量, 乳タンパク質率が改善されると報告されている(Hussein and Jordan, 1991)。魚粉の CP のほとんどは難分解性分画の CP で占められ, この部分の分解速度が遅い(NRC 飼養標準, 2001)。また, 魚粉は, 牛乳生産において不足しやすいメチオニンやリジンを豊富に含む(NRC 飼養標準, 2001)ため, これらのアミノ酸が, 小腸から効率的に取込まれ乳タンパク質率の原料として利用された(Ørskov, 1982)と考えられた。

また, 乳タンパク質率の向上には, 第一胃内で合成される微生物体タンパク質の合成を増加させることが必要(日本飼養標準, 1994)であり, CP14% 区では, 微生物体タンパク質合成の窒素材料としての飼料 CP が少ないことが律速要因となり, 微生物体タンパク質合成が抑制され, 乳タンパク質率が低く推移したと考えられた。今後は飼料のアミノ酸組成と下部消化管での消化性(NRC 飼養標準, 2001)と, 第一胃内の微生物体タンパク質合成量をモニターする(Fujihara et al., 1987)必要があると思われた。

(4) 無脂固形分率

無脂固形分率は, CP17% 区が高く推移する傾向であり, 分娩後 35 日, 42 日に CP20% 区に比較して高く, また, CP14% 区に比較して分娩後 84 ~ 98 日に高かった ($P < 0.05$)。

分娩後 49 日以降にはいずれの給与区も 8.5% 以上で推移した。無脂固形分率は, 養分摂取量, エネルギー摂取量と関係が深い(増淵ら, 1984)と報告されている。一般に, 泌乳初期では, 養分摂取量が不足するため, 無脂固形分率は 8.5% 以下の値で推移しやすい。本試験では, TDN 充足率は CP20% 区が 95% 程度でやや低かったものの, 他の区は 100% 以上で推移し, いずれの給与区も生乳取引基準である 8.5% 以上への回復が早かった。これは, 給与飼料中の TDN 含量を 76 ~ 77% に高く設定したことが要因と推察された。

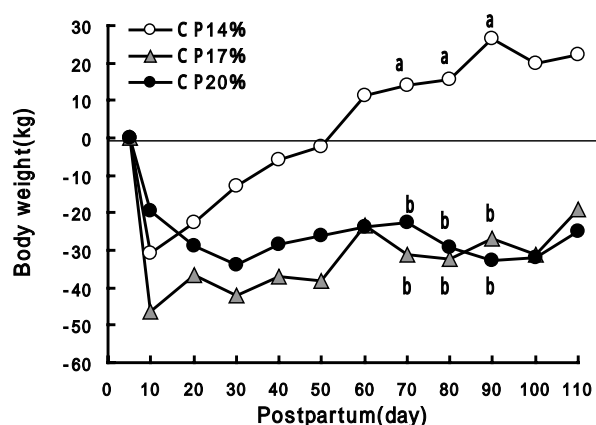


Fig.3. Changes of body weight(kg) after parturition. Each symbol represents means of three lactating cows. Means within the same day with different superscripts differ ($ab: P < 0.05$). Body weight at 5 days parturition was set up as 0kg.

3) 体重

分娩後 5 日目の体重を 0 とし, その後の増減体重の推移を図 3 に示した。

体重の回復が最も早かったのは, CP14% 区であり, 分娩後 50 日には, 概ね分娩後 5 日目の体重にまで回復した。CP14% 区は, 分娩後 70 ~ 90 日に他の給与区に比較し体重増加が大きかった ($P < 0.05$)。CP14% 区は, 第一胃内では微生物体タンパク質合成のための窒素源(アンモニア)が少なく, 炭水化物の分解により生成された低級脂肪酸などのエネルギーが多い状況であり, 微生物体タンパク質合成に利用されなかったエネルギーが体重増加に分配されたと推察された。また, 濃厚飼料の給与が多くなると第一胃内でのプロピオン酸産生量が増加し, 摂取した栄養素は牛乳生産ではなく, 体脂肪合成に使用される(日本飼養標準, 1994)ことから, 本試験の結

(24)

果も同様の起序であったと考えられた。

CP17%区, CP20%区は, 体重が分娩後 10~30 日に最低値となり, その後横ばいもしくは微増傾向となった。体重の低下度合いが小さいほど, 発情回帰は早く, 分娩

間隔短縮につながると報告(Butler and Smith,1989)されている。結果として, 本試験での成績は給与区間の受胎までの日数に差が認められなかったが, 供試頭数が少ないことから今後も継続して検討する必要がある。

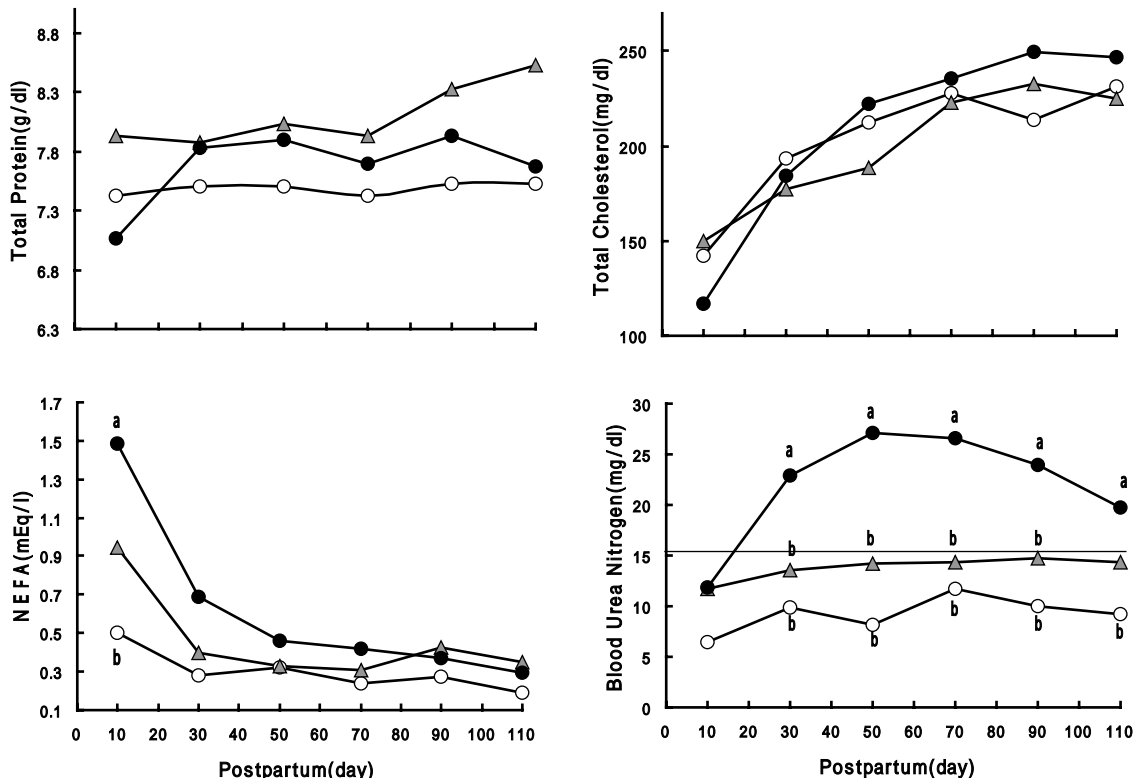


Fig.4. Changes of total protein(g/dl), total cholesterol(mg/dl), NEFA(mEq/l) and urea nitrogen(mg/dl) in blood after parturition. Each symbol(CP14%:○, CP17%:△, CP20%:●) represents means of three lactating cows. Means within the same day with different superscripts differ(abc:P<0.05).

4) 血液性状

血液性状の推移を図 4 に示した。

(1)血中総蛋白量

総蛋白量は, いずれの給与区間にも差が認められなかった。給与飼料中の CP 含量を高めても, 総蛋白やアルブミンは必ずしも上昇しない(佐藤,1986)ことが報告されており, 本試験でも同様の結果であった。

(2)総コレステロール

総コレステロール値は, 乳期の進行とともに上昇する(佐藤,1986)とされ, 本試験でも分娩後 10 日目に最も低い値を示し, 分娩後日数の経過とともに上昇したが, 各給与区間に差は認められなかった。

(3)遊離脂肪酸(NEFA)

NEFA は, いずれの給与区も分娩後 10 日目が最も高く, 日数の経過とともに低下した。分娩後 10 日目に P20%区が CP14%区より高く(P<0.05), 分娩後 30 日目には高い傾向(P<0.1)が認められ, 以降は各給与区間に差は認められなかった。NEFA 値の上昇はエネルギー

摂取不足で認められる(佐藤ら,1992)が, 各給与区とも泌乳初期の泌乳量の急激な上昇に対し養分摂取量が追いつかず, 体脂肪の消費により養分必要量が補われたものと推察された。分娩後 30 日までの給与区間の NEFA 値の差は, TDN 摂取量, EE 摂取量に有意な差がないことから, 急激に増加した乳量に対する養分必要量と飼料からの養分摂取量の差が影響したものと考えられ, CP20%区では乳量が多かったことから蓄積体脂肪が動員された結果と思われた。

(4)血液尿素窒素(BUN)

BUN 値は, CP 含量の水準にともない, CP20%区 > CP17%区 > CP14%区で推移した。分娩後 30 日以降は CP20%区が, CP17%区および CP14%区より高く推移した(P<0.05)。また, CP17%区は CP14%区に比較し高い傾向が認められた。一般に, CP 含量(特に, 溶解性, 分解性タンパク質)が高くなると BUN は増加することが報告されている(Holter et al.,1982; Jordan et al.,1983; Kung and Huber,1983; Oldham,1984;佐藤,1986; Howard et

al.,1987;佐藤ら,1992)。また, BUN は第一胃内におけるアンモニア発生量の指標になる(Holter et al.,1982;日本飼養標準,1994)。BUN は, 正常値が 15mg/dl 前後であり, 25mg/dl を超えるときは, タンパク質とエネルギーの給与量とのバランスについて検討する必要があるとされている。本試験では, CP20%区の BUN が高く推移し

たことから, 第一胃内でのアンモニアの発生量が明らかに多かったことを示し, 一方, BUN が 10mg/dl 以下で推移する場合には CP 不足が報告されており(佐藤,1986), このことにより, CP14%区では第一胃内での微生物体タンパク質合成量が抑制されたと推察された。

Table 6. Reproduction efficiency and reproduction disease

CowNo	Feed	Parturition day	days of first sexual excitement after parturition	Final fertilized day	numbers of insemination	days of last insemination after parturition	reproduction disease
1	CP14%	1992.12.6	38	93/08/28	3	265	hypo-ovarianism
2	CP14%	1993.1.1	35	93/03/25	1	84	
3	CP14%	1993.3.22	23	93/06/22	2	92	
4	CP17%	1992.12.5	86	-	(none-insemination)		hypo-ovarianism
5	CP17%	1993.1.15	71	93/04/15	1	91	
6	CP17%	1993.5.29	56	93/08/24	1	87	lutein cyst
7	CP20%	1993.2.11	24	93/05/11	2	89	
8	CP20%	1993.4.2	65	93/06/30	2	90	
9	CP20%	1993.5.29	20	93/08/09	2	72	ovarian tumor

5) 繁殖成績と疾病

繁殖成績を表 6 に示した。

BUN 量が高いと繁殖に影響(Edwards et al.,1980;佐藤,1986;Ferguson et al.,1993;Butler,1998)するとされ, 分解性 CP の過剰の方が受胎率低下に関与すると報告されている(Butler,1998)。過剰な CP が繁殖成績を低下させる理由は, アンモニアにより, 繁殖に関するホルモンの失調や受精胚の早期死滅(日本飼養標準,1994)や, 子宮内 pH の低下やプロジェステロン生産の低下(Butler, 1998), 過剰窒素の代謝排泄時に必要なエネルギーによる泌乳初期の負のエネルギーバランスでの排卵遅延(Butler,1998)が報告されている。一方, BUN 値は繁殖成績に影響しないとする報告(Howard et al.,1987)もある。本試験では, 第一胃内でのアンモニア発生量の指標となる BUN 値(Holter et al.,1982;日本飼養標準,1994)に有意差があり, CP20%区が高く推移したものの, 受精回数, 最終種付けまでの日数は, 他の給与区と比較し差は認められなかった(受精しなかった牛については除く)。一方, 初回発情までの日数は, CP17%区(平均 71 日±標準偏差 15)が CP14%区(32 日±8), CP20%区(36 日±24)に比較し, 長い傾向であった($P<0.1$)がこの理由は明らかでない。供試頭数が少なく, 個体差の影響も大きいと考えられ, 反復して試験する必要がある。

また, 繁殖成績に関しては, CP よりむしろ TDN の充足が関係するという報告(Butler and Smith,1989; NRC 飼養標準,1989)がある。しかし, 繁殖に関する疾病を見れば, 初期に, CP14%区では, CP 不足に起因すると考えられる卵胞発育不全(獣医学大辞典,1989)が, 一方, CP17%, CP20%区では, CP 過剰に起因すると推察される

軽度ではあるが卵胞腫(獣医学大辞典,1989)系統の発生が見られた。

以上の結果から, 泌乳前期に飼料中の CP 含量を 20%程度に高くすれば, 泌乳量が向上し, 乳量ピークが顕著となるものの, BUN 値が上昇したことから, 現状では給与飼料の乾物中 CP 含量は 17%程度にすべきと考えられた。しかし, 過剰な窒素は, 糞尿中に排泄される量も多くなる。乳牛において, 摂取窒素量に占める糞中へ排泄される窒素割合は 39%, 尿中へは 24%であり, 糞中排泄窒素に対する代謝性糞中窒素の割合から算出した CP の真の消化率は 82%で, 消化率向上による排泄窒素の低減効果は大きくないと報告されている(寺田ら,1996)。しかし, 尿中窒素に対する内因性尿中窒素の割合は 11%であり, 尿中窒素排泄量を低下させることの意義は大きい。CP 給与量を抑制しながら, 尿中への窒素排泄量の低下と最大量の生産を両立させる CP 給与量を検討する必要がある。飼料中の CP の微生物体タンパク質への変換や, 小腸からの吸収は, 第一胃内での分解特性(分解割合, 分解速度)(阿部,1980;Russell et al.,1992;Sniffen et al.,1992)と, 炭水化物の発酵速度(Russell et al.,1992; Sniffen et al.,1992)に関係することから, 第一胃内でのアンモニア発生量や許容される BUN 値について明確にし, 効率的な飼料タンパク質の利用を検討する必要がある。

第3章 飼料の処理や飼料構成が飼料タンパク質の第一胃内分解様相に及ぼす影響

飼料中の粗タンパク質(CP)は、第一胃で分解を免れた飼料タンパク質と、第一胃内で合成された微生物体タンパク質が、ともに下部消化管で吸収され得るアミノ酸量で評価される(阿部,1980)。乳タンパク質の原料はアミノ酸であり、飼料CP、微生物体タンパク質のいずれのルートからの供給であってもアミノ酸の吸収量が不足すれば、乳タンパク質生産量は低下する。

高泌乳牛へのCPの過剰な給与や第一胃内でのCPの過度な分解はCPの利用効率が低下する(阿部,1980; NRC 飼養標準,1989,2001; Ørskov and McDonald,1979)。そのため、飼料CPの利用を増加させるためには、微生物体タンパク質合成に大きく係わる第一胃内で分解されるタンパク質と、下部消化管で吸収される非分解性タンパク質の割合や量を制御する必要性が指摘されている(NRC 飼養標準,1989,2001; 日本飼養標準,1994,1999; Russell et al.,1992; Sniffen et al.,1992)。

また、第一胃内での飼料CPの利用の程度は飼料個々の分解速度(Nocek,1988; Ørskov and McDonald,1979)と第一胃から流出する飼料の通過速度(Grovum and Williams,1973; Ørskov and McDonald,1979)の2つの相対的な速度(Ørskov and McDonald,1979; Waldo and Smith,1972)により大きく影響を受ける。個々の飼料の分解速度は、加工調製の方法や飼料CPの結合構造の違いにより大きく異なる。また、第一胃内や消化管内の飼料通過速度は、乾物摂取量(Eliman and Ørskov,1984; Sniffen et al.,1992)、粗濃比(入来ら,1986)、粗飼料の種類や切断長(岡本,1979)、飼料の微細化様相(一戸,1994)や粒度(Welch,1986)、比重(Kaske and Engelhardt,1990; Sutherland,1988; Welch,1986)などにより異なることが報告されている。しかし、飼料の分解様相と通過速度の関係についての情報を高泌乳牛の飼料給与に応用するには、農家における飼料の給与実態に基づく情報が少ないため十分でない。そこで、飼料の加熱処理や、一般に農家で用いられている粗濃比や粗飼料の種類の違いが第一胃内分解速度と飼料通過速度に及ぼす影響を調査し、これらが第一胃内分解度に及ぼす影響を検討する。

第1節 圧ぺん大豆の加熱処理が第一胃内粗タンパク質有効分解度に及ぼす影響

緒言

高泌乳牛は、窒素要求量が大きく、第一胃内微生物体タンパク質合成量には限界があり、第一胃内微生物体タンパク質のみでは窒素要求量が満たされないため、飼料中のタンパク質(CP)を下部消化管で吸収させる必要性が指摘されている(NRC,1989; 日本飼養標準,1994,1999; Russell et al.,1992; Sniffen et al.,1992)。この飼料CPを下部消化管へバイパスさせるため、第一胃内での飼料CPの分解を抑制する方法として加熱処理があり、加熱処理され熱変性したタンパク質は、第一胃内での分解度が低下することが報告されている(Ganesh and Grieve,1990)。CP含量やエネルギー含量が高く、高泌乳牛への給与に利点が多い大豆は、トリプシン消化酵素阻害物質を不活性化することとあわせて加熱処理が実施され(畜産大辞典,1978)、ロースト処理およびエクストルーダ処理などによる加熱処理が主流となっている。しかし、エクストルーダ処理は大豆油脂の短時間での流出(Reddy et al.,1994)が問題となり、農家においてはロースト処理の圧ぺん大豆の利用が増加してきたが、過度の加熱処理はタンパク質の熱変性の程度が大きく、下部消化管での吸収が阻害されることが報告(Merchen et al.,1997)されている。しかし、大豆粕に関わる試験は多いものの、未脱脂大豆の加熱温度や時間が第一胃内有効分解に及ぼす影響についての報告は加熱温度が比較的低温域のものが多く(Ganesh and Grieve,1990; Hus and Satter,1995; Lykos and Varge,1995)、高温域での加熱処理が未脱脂大豆のタンパク質の分解度に及ぼす影響は不明である。さらに、高泌乳牛の窒素要求量を満たすには、第一胃におけるCPの分解様相(Ørskov and McDonald,1979)だけでなく、実際の泌乳牛の飼養条件にあてはめ第一胃内通過速度(Grovum and Williams,1973; Ørskov and McDonald,1979)を加味したCP有効分解度で評価する必要がある。

そこで、流通する400ロースト加熱処理の圧ぺん大豆の乳牛における有効分解度を評価するとともに、400加熱の感作時間の違いが第一胃内CP有効分解度に及ぼす影響について調査した。

材料および試験方法

1 供試材料

加熱時間の異なる未脱脂圧ぺん大豆4種類を調製した。すなわち、同一ロットの未脱脂生大豆を用い、非加熱,400 30s加熱,400 60s加熱,400 120sのロースト加熱の4区とし、それぞれの一般成分値を表1に示し

た。供試材料の調製は、全国酪農業協同組合連合会（広島事務所）に依頼した。未脱脂大豆が円筒回転釜の中を加熱（400℃）された砂とともに回転移動し、所定時間経過後、砂と分離され圧ぺん化された後に完成品となる。なお、供試材料のうち 400℃120s 加熱の圧ぺん大豆が一般流通品に相当する。

2 第一胃内分解パラメータの調査

供試動物は、ルーメンカニューレを装着しためん羊 3 頭、体重 37.2 ± 1.1 kg (平均値 \pm 標準偏差) を用いナイロンバック法 (Mehrez and Ørskov, 1977; Nocek, 1988; Ørskov and McDonald, 1979) により測定した。供試動物への飼料は、圧ぺん大麦とフスマを 2:1 で混合したものを濃厚飼料とし、細切チモシー乾草: 濃厚飼料 = 1:1 (乾物比) の割合 (CP11.3%, 可消化養分総量 (TDN) 60.2%) で Agricultural Research Council 飼養標準 (1980) に準拠し維持エネルギー要求量を満たすように、9:00 と 16:00 に 1/2 ずつを給与した。それぞれの供試大豆はカッティングミルを用い粉碎し 2mm の篩を通過したものを投入サンプルとした。これらサンプルの培養時間は 2, 4, 6, 12, 24 および 48 時間とした。使用したナイロンバックの大きさ

は、縦 15cm, 横 9cm, 目開き 45 μ m であり、バック表面積 cm^2 当り供試圧ぺん大豆サンプル 20mg を封入した。

培養時間経過後に 1 つずつナイロンバックを取り出すために、あらかじめ、6 個のナイロンバックをナイロン製のひもに輪ゴムで固定し、朝 9:00 の飼料給与直後に、これらを一度にルーメンカニューレから第一胃液層に投入した。所定時間培養後、ナイロンバックを取り出し、流水中で濁りがなくなるまでもみ洗いし、軽く絞り、-20℃ のフリーザーで凍結した。その後解凍し、すべてのナイロンバックを家庭用洗濯機で 30 分間流水中にて洗浄し、60 分で 48 時間通風乾燥した。培養後のナイロンバック中の残渣は、乾物および CP 含量を測定し、CP 消失率を算出した。なお、CP はナイロンバック中の残渣の全量を用い、ケルダール法 (動物栄養試験法, 1971) で分析し、各供試圧ぺん大豆の CP 消失率を Ørskov and McDonald (1979) の指数式 $P(t) = a + b(1 - e^{-ct})$ に当てはめ、第一胃内における CP 分解パラメータを算出した。P(t) は時間 t における消失率 (%), a は飼料が第一胃内に投入された後、急速に分解する易分解性の分画割合 (%) を示し、b はゆっくりとはあるが分解する難分解性の分画割合 (%) で、c は b 分画の分解速度定数 (/hr) を示す。

Table 1. Chemical compositions of raw and heated soybeans

	DM	% of DM						Ash	TDN
		CP	EE	Cfi	NFE	NDF			
Raw Soybean	89.7	41.3	19.2	5.0	29.6	9.9	4.9	105.8	
Heated Soybean									
400 30sec	91.1	40.2	20.7	3.1	30.8	14.0	5.2	107.4	
400 60sec	91.0	40.2	20.5	2.9	31.1	13.2	5.3	107.1	
400 120sec	91.6	41.7	20.8	2.2	30.2	13.2	5.1	107.7	

DM; dry matter, CP; crude protein, EE; ether extracts, Cfi; crude fiber,

NFE; nitrogen free extracts, NDF; neutral detergent fiber,

TDN; total digestible nutrients calculated from Standard Table of Feed Composition in Japan (1995).

Table 2. Milk yield and milk compositions of used Holstein cows for passage rate determined

CowNo	Parturition		Days after parturition	weight (kg)	Milk (kg/d)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)
	Day	time							
1	94/03/14	3	73	653	51.5	3.19	2.61	4.62	8.23
2	93/12/08	2	169	635	37.7	3.84	3.16	4.54	8.69
3	94/02/10	5	105	631	38.3	4.21	3.08	4.53	8.61
4	94/02/20	1	95	514	36.7	3.96	2.80	4.57	8.37

SNF: solid-not-fat

3 第一胃内通過速度定数の測定

表 2 に示したホルスタイン種泌乳牛 4 頭で、体重 608 \pm 64 kg (平均値 \pm 標準偏差), 乳量 41.0 \pm 7.0 kg/日, 乳脂率 3.8 \pm 0.4 % のものを用いた。試験期間を通して、給与飼料は粗飼料: 濃厚飼料 = 37:63 (粗飼料はトウモロコシサイレージ, チモシー乾草, ハイキューブで乾物 9kg)

の割合で、CP 含量 16~17%, TDN 含量 76~77% のものを日本飼養標準 (1994) の乾物必要量の 105% になるように 9:00, 13:00 および 16:00 に 1 日給与量の 1/3 ずつを給与した。

通過速度を求めるマーカーとして、4 種類の圧ぺん大豆はそれぞれ塩化サマリウム六水和物 ($\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

(28)

原子量 364.8), 塩化ディスプロシウム六水和物 ($DyCl_3 \cdot 6H_2O$ =原子量 376.9), 塩化ランタン七水和物 ($LaCl_3 \cdot 7H_2O$ =原子量 371.4), 塩化イッテルビウム六水和物 ($YbCl_3 \cdot 6H_2O$ =原子量 387.5) で標識した。標識は Mader et al.(1984)の方法に従い, それぞれの希土類元素の 1% (w/v) 溶液 1 リットルをスプレーにより 3.5kg の圧べん大豆に噴霧, 混和し, 60 で 48 時間通風乾燥したものをを用いた。

予備飼養試験 8 日間, 本試験 6 日間とし, 本試験開始の朝 8:30 にこれら 4 種類の標識した圧べん大豆を各 500g, 合計 2kg を同等原物量の配合飼料と代替し単投与した。なお, 飼料給与は, 標識した圧べん大豆の給与日以外は給与パターンを同様にした。本試験初日は標識大豆投与 (8:30) から 2 時間毎に, 2 日目は 4 時間毎, 3~6 日目の 8:30 までは 12 時間毎の計 24 回にわたり経時的に原物で 400g の直腸糞をポリプロピレン容器に採取し, 65 で 120 時間通風乾燥した。乾燥した糞は, 1.0mm の篩を装着したウイレーミルで粉碎後, 乾物重量を求めた。さらに, 0.5g を硝酸で湿式灰化し, ICP 発光分光分析計 (島津, ICPS-2000) を用いて直腸糞中の希土類元素含量を測定し, これら希土類元素の経時的減衰値を Grovum and Williams(1973)のモデルに当てはめ通過速度定数を算出した。第一胃内有効分解度は, $dg = a + bc / (c + k)$ (Ørskov and McDonald, 1979) により算出した。なお, dg は第一胃内有効分解度 (%), a, b, c はナイロンバック分解パラメータ, k は第一胃内通過速度定数 (/hr) を示す。

4 統計処理

結果は, 加熱処理を一要因とする F 検定で分散分析を行い, 処理区間の差の検定は Duncan の多重検定 (米澤ら, 1998) を用いた。

結果および考察

1 第一胃内乾物, 粗タンパク質分解パラメータ

乾物, 粗タンパク質のナイロンバックからの消失率は図 1, 2 に示したが, 各処理区とも投入後概ね 24 時間で平衡に達した。

分解パラメータ値については表 3 に示した。乾物, CP とも易分解性分画割合 a は, 加熱処理 3 区が非加熱処理区に比較し有意に小さく ($P < 0.05$), 難分解性分画割合 b は有意に大きかった ($P < 0.05$)。しかし, 加熱処理の 3 処理区間には有意な差は認められなかった。加熱処理区は, 易分解性分画割合 a が減少し, 難分解性分画割合 b が増加した。これらの結果は, 本試験とは加熱処理方法が異なるもの大豆への加熱温度を 4 水準とした

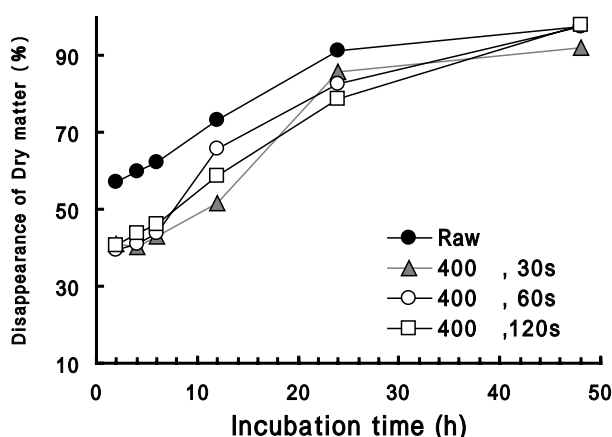


Fig.1. Dry matter disappearance of raw and heated soybeans as determined by nylon bag technique (means of three observation at each time).

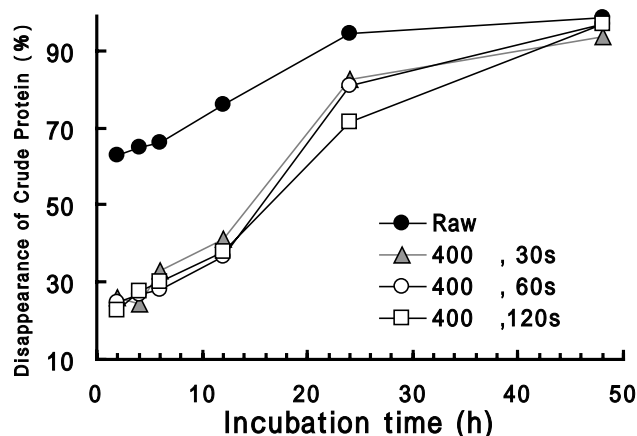


Fig.2. Crude protein disappearance of raw and heated soybeans as determined by nylon bag technique (means of three observation at each time).

Ganesh and Grieve(1990)の試験結果と一致し, 加熱による分解パラメータの易分解性分画割合 a の低下, 難分解性分画割合 b の増加が認められた。大豆のタンパク質は主としてグロブリンとアルブミン等で構成され, グロブリンは水に難溶であるが中性塩類に可溶であり, アルブミンは水や塩類に可溶であるが, 加熱変性を有するため熱によって水に不溶となる(畜産大辞典, 1978)。この結果, 第一胃内での分解消失に影響し, 分解パラメータ a, b に差が生じたものと考えられる。しかし, 潜在的分解性分画割合 (a + b) と b 分画の分解速度定数 c はいずれの処理区間にも有意な差は認められなかった。

Table 3. Ruminal degradation characteristics for raw and heated soybeans

	Raw soybean	Heated(400)		
		30sec	60sec	120sec
Dry matter				
a (%)	49.4 ^a	28.7 ^b	28.2 ^b	31.1 ^b
b (%)	50.6 ^a	69.2 ^b	71.8 ^b	68.8 ^b
c (/ hr)	0.06	0.05	0.06	0.05
Crude protein				
a (%)	54.8 ^a	18.7 ^b	11.3 ^b	10.3 ^b
b (%)	45.2 ^a	81.2 ^b	88.7 ^b	83.4 ^b
c (/ hr)	0.06	0.04	0.05	0.06

Means values for three sheep.

Ruminal degradation characteristics according to the equation

$$P(t) = a + b(1 - e^{-ct})$$

P: disappearance at time t (%).

a: rapidly soluble fraction (%).

b: slowly degradable fraction (%).

c: rate constant of disappearance for b fraction (/ hr).

t: incubation time.

Means within the same row with different superscripts differ(ab:P < 0.05).

Table 4. Ruminal passage rate constant for raw and heated soybeans (% / hr)

	Raw soybean	Heated(400)		
		30sec	60sec	120sec
Passage rate constant	1.94±0.41 ^a	3.04±0.36 ^b	2.26±0.26 ^b	3.18±0.55 ^b

Means values with the standard deviations for four cows.

Means within the same row with different superscripts differ(ab:P < 0.05).

2 第一胃内通過速度定数

第一胃内通過速度を表4に示した。通過速度調査期間(5日間)の泌乳牛4頭の乾物摂取量は23.5kg±1.4/日(平均±標準偏差),粗飼料乾物摂取割合は36.6%±2.4/日,摂取飼料乾物中のCP含量は17.1%±0.4,TDN含量は76.8%±0.4,粗脂肪(EE)含量は5.5%±0.08,酸性デタージェント繊維(ADF)含量は20.6%±0.4および中性デタージェント繊維(NDF)含量は36.6%±0.6で推移した。

本試験では,通過速度の計測に,第一胃の飼料片の動態測定に利用可能とされる希土類元素(Allen and Van Soest,1984)を用いた。標識物質を用いて飼料の通過速度や消化率を測定した報告は多い。酸化クロム(Uden,1980),ブリリアントグリーンやフクシン(豊川ら,1978)などの染色物質,酸性デタージェントリグニン(ADL)(Judkins et al.,1990),希土類元素(Allen and Van Soest,1984)などが固相のマーカースとして利用されている。このうち,酸化クロムは第一胃内で不消化であるが内容物との挙動が必ずしも一致せず,比重が重く第一胃内通過

速度が抑制される(Uden,1980)。酸性デタージェントリグニンは糞中への回収率が低く,通過速度の指標にするには問題があることが報告(Judkins et al.,1990)されている。希土類元素のうちランタノイドは不消化であり植物細胞壁成分と高い親和性を示し,反芻胃内での飼料の分解と同様の挙動を示す(Allen and Van Soest,1984)ため,通過速度マーカースとしての利用が多い(一戸,1994;Pond et al.,1989;Erdman et al.,1987;Teeter et al.,1984;Poore et al.,1990;Hartnell and Satter,1979;Mader et al.,1984;Turnbull and Thomas,1987)。このことから,本研究では希土類元素のうち,サマリウム(Sm),ディスプロシウム(Dy),ランタン(La),イッテルビウム(Yb)を用い4種類の圧ぺん大豆を標識した。

大下ら(1995)は,希土類元素を標識として乾草へのスプレー法と浸漬法による標識方法の違いを比較し,標識方法の違いによって下部消化管通過速度 k2 に差が認められるものの,第一胃内通過速度 k1 には差が認められないとしている。また,Pond et al.(1989)は,同じ粒度の飼料片に対し標識として用いた希土類元素の種類は

(30)

第一胃内通過速度に影響しなかったことを報告している。このことから、塗布方法としてスプレー法を用いたこと、4種類の希土類元素を標識として用いたことについては、第一胃内通過速度 k_1 の測定、また、第一胃内における CP 有効分解度の査定には問題ないものと考えられた。

第一胃から固形物あるいは液体が一定の速度で流出し、かつ、流出量に見合う量の固形物あるいは液体が補われ、それらが第一胃内で一定量に保たれると仮定すれば、直腸糞中の希土類元素マーカーの濃度は一定の割合 (k) で減少することになる。このとき、 t 時間後の濃度 S は、指数関数 $S = ae^{-kt}$ 、つまり、 $\ln S = \ln a - kt$ で表すことができマーカー濃度 ($\ln S$) と時間 t の関係は片対数座標上で直線となる (Grovmum and Williams, 1973; 入来ら, 1986)。

そこで、糞中の希土類元素濃度 (糞乾物 g 当りの希土類元素 μg) を時間に対する片対数座標上で直線回帰をとり、傾きの絶対値を通過速度定数 k とした。希土類元素の減衰値と希土類元素を単投与した後の時間との相関関係はそれぞれ $r = 0.92$ 以上であり、第一胃から下部消化管への飼料の移行流出をよく説明できることがわかった。

第一胃内通過速度は、加熱処理区が非加熱処理区に比較し有意に速い ($P < 0.05$) 結果となった。しかし、加

熱処理 3 区間には有意な差は認められなかった。

飼料の粒子サイズは第一胃内通過速度に影響する (一戸, 1994; Poppi et al., 1980) が、本試験での圧ぺん大豆の物理的形態はいずれも差がなく、この通過速度の差は圧ぺん大豆の粒子サイズの違いに起因するものではないと考えられる。第一胃内での粒子の比重は第一胃内通過速度に大きく影響し (Sutherland, 1988)、比重 $1.0 \sim 1.4 g \cdot ml^{-1}$ 前後に微細化された飼料粒子が最も速く第一胃を通過することが報告されている (Welch, 1986)。また、反芻や第一胃内発酵により飼料粒子が微細化される際、飼料細胞組織中への第一胃内微生物の浸入は発酵によるガスを生じ機能比重 (functional specific gravity) を低下させる (Hooper and Welch, 1985; Nocek and Kohn, 1987; Sutherland, 1988)。その結果、第一胃内に浮遊する粒子の比重は、第一胃通過に要する最適値より低くなる (Sutherland, 1988)。このことから、本試験における非加熱処理圧ぺん大豆の易分解性分画割合 a が加熱処理のそれと比較しかなり大きく、第一胃内での発酵初期に分解に伴い発生するガスも多いと推定され、非加熱処理圧ぺん大豆の分解粒子は第一胃上層においてこれらガスと共に浮遊粒子として存在し、その結果、第一胃における流出速度 (通過速度) が遅くなったものと推察された。

Table 5. Estimates of ruminal effective degradability (%) of crude protein for raw and heated soybeans

	Raw soybean	Heated(400)		
		30sec	60sec	120sec
dg	86.4±1.5 ^a	63.2±2.8 ^b	69.5±7.5 ^b	61.6±6.8 ^b

$$dg = a + bc / (c + k)$$

a, b, c : Ruminal degradation parameters (%) (see Table 3).

k : Ruminal passage rate constant (/hr) (see Table 4).

Means within the same row with different superscripts differ (ab: $P < 0.05$).

3 第一胃内 CP 有効分解度

第一胃内 CP 有効分解度を表 5 に示した。

加熱処理 3 区の CP の第一胃内有効分解度は、非加熱処理区に比較し有意に低かった ($P < 0.05$)。これは、CP の潜在的分解割合 ($a + b$) には処理区間に差が認められなかったが、加熱処理区では非加熱処理区に比較し、易分解性分画割合 a が有意に低下したこと、第一胃内の通過速度が有意に速くなったことによると考えられる。第一胃内における飼料の消化性は第一胃内の滞留時間に大きく影響されることが報告 (Blaxter et al., 1956) され、通過速度の速い加熱処理区が非加熱処理区に比較し dg が小さかった理由と考えられる。しかし、加熱大豆 3 処理区間では加熱時間が第一胃内 CP 有効分解度に及ぼす影響に差は認められなかった。

以上のことから、加熱処理の有無は第一胃内での CP 分解速度と通過速度に影響を与えることが明らかになった。また、加熱処理区間では第一胃内分解速度や有効分解度に差が認められなかったことから、第一胃内 CP 有効分解度を低下させるには 400 30s の加熱処理で有効であると考えられた。飼料により第一胃内での分解速度は異なり、また、第一胃内や消化管内の飼料の通過速度は粗飼料の割合や種類、繊維含量により異なることが報告 (Welch, 1986) されている。そのため、第一胃内における CP 分解度は同一飼料であっても一定値 (固定値) ではない可能性がある。第一胃内での飼料 CP の利用を予測するには、飼料の分解特性と通過速度の情報が不可欠と考えられ、今後は農家の給与実態に合せ様々な飼養形態下における飼料の分解特性や通過速度を明確にする必要がある。

第2節 粗飼料源と粗濃比の異なる TMR の給与と下における TMR 構成飼料原料の第一胃内粗タンパク質有効分解度

緒言

乳牛において飼料粗タンパク質 (CP) を有効利用するためには、第一胃内で分解され微生物体タンパク質に変換される分解性タンパク質や下部消化管で吸収される非分解性タンパク質の量、割合を適正に組合せる必要があることが報告されている (NRC 飼養標準, 1989, 2001; 日本飼養標準, 1994, 1999; Russell et al., 1992; Sniffen et al., 1992)。こうした中で、酪農家は、混合飼料 (TMR: Total Mixed Ration) の給与方式を採用している。この方法は、家畜栄養学の情報を反映しやすく、乾物摂取量の向上や飼料の選択的摂取の回避、第一胃内発酵の恒常性維持などで利点が多い。しかし、農家において第一胃内における CP の利用率を考慮した飼料給与設計を実施する場合には、給与実態に応じた TMR 給与時の飼料個々の第一胃内分解速度や発酵の程度 (Nocek, 1988; Ørskov and McDonald, 1979)、飼料の下部消化管への流出速度 (Grovmum and Williams, 1973; Ørskov and McDonald, 1979) などについて明らかにする必要がある。これらの情報を用い、TMR 中の CP と炭水化物の分解を適正にシンクロナイズさせ、第一胃内微生物の合成量を増加させることが生産性の向上につながると考えられる。

飼料の下部消化管への流出速度は、乾物摂取量 (El-Iman and Ørskov, 1984; Sniffen et al., 1992)、粗濃比 (入来ら, 1986)、粗飼料の種類や切断長 (岡本, 1979)、飼料の微細化様相 (一戸, 1994) や粒度 (Welch, 1986)、比重 (Kaske and Engelhardt, 1990; Sutherland, 1988; Welch, 1986) などにより異なることが報告されている。農家実態では、給与飼料は様々な飼料構成であるが、広島県における主要な自給粗飼料であるトウモロコシサイレージ、イタリアンライグラスサイレージを主たる構成飼料原料とした TMR を給与した場合の通過速度、また、粗飼料基盤の狭小な広島県で泌乳前期に給与可能な最大の粗飼料給与割合である 45% から反芻胃生理を維持しうる最小の 30% の範囲における TMR を給与した場合の通過速度についての情報はほとんどない。そこで、これら粗飼料源と粗濃比の違いが、TMR を構成する個々の飼料原料の第一胃内分解様相と TMR の第一胃内通過速度

および第一胃内 CP 有効分解度に及ぼす影響を調査した。

試験方法

1 第一胃内分解様相把握試験

1) 供試牛、供試飼料および給与 TMR

粗飼料源をそれぞれトウモロコシサイレージ、イタリアンライグラスサイレージとし、粗濃比を 30:70 (TMR30% 区)、37:63 (TMR37% 区)、45:55 (TMR45% 区) に調製した。TMR は、表 1 に示した飼料原料を用い、表 2、表 3 の混合割合で調製した。また、表 4 に TMR の養分含量を示した。それぞれの粗飼料は 1.5cm 設定のカッターで切断し、実測切断長は、トウモロコシサイレージが 2.56 ± 1.91 cm (平均値 \pm 標準偏差)、イタリアンライグラスサイレージが 3.39 ± 2.32 cm (平均 \pm 標準偏差) であった。

第一胃フィステル装着乾乳牛 3 頭にそれぞれの TMR を給与し、個々の TMR 構成飼料原料について、2 反復のナイロンバッグ法 (Nocek, 1988; Ørskov and McDonald, 1979) により第一胃内分解速度を測定するラテン方格法を実施した。TMR の切り替えおよび馴致にはそれぞれ 10 日間を設けた。エネルギー摂取量の多い泌乳牛における第一胃の状態を想定して、TMR は基礎飼料として T DN 必要量の 150% を朝 8:30、夕 15:00 の 2 回に分け等量ずつ給与した。ミネラルはトップドレッシングし、水は自由飲水とした。

培養したサンプルは、TMR 構成飼料原料 10 種類 (圧べんトウモロコシ、圧べん大麦、乾熱大豆、大豆粕、大豆皮、ビートパルプ、綿実、一般フスマ、コーングルテンミール、ハイキューブ) およびサイレージを用いた。いずれの飼料も 2.0mm の篩を装着したカッティングミルで粉碎したものを供試した。

Table 1. Chemical compositions of concentrates and roughages on dry matter basis(%)

	% of DM basis							TDN
	DM	CP	EE	Cfi	NFE	NDF	Ash	
Corn	89.86	8.80	4.41	1.33	84.12	10.59	1.34	92.82
Barley	88.34	13.17	2.81	3.81	78.15	16.96	2.05	85.44
Wheat bran	88.35	18.20	4.32	9.67	62.39	36.83	5.42	72.51
Beet pulp	91.04	10.12	1.06	19.86	62.09	37.58	6.87	74.60
Soybean dry heated	97.64	42.24	22.78	4.65	25.04	9.08	5.30	108.89
Soybean meal	89.76	49.48	1.30	6.50	36.11	10.80	6.61	86.73
Soybean hulls	93.25	15.66	4.39	28.50	45.19	44.69	6.26	69.44
Cotton seed	94.11	23.12	23.95	22.79	25.90	39.65	4.24	94.31
Corn gluten meal	91.30	69.17	3.21	0.57	24.94	3.51	2.11	90.22
Fatty acid calcium salt	98.15	0	86.46	0	0	0	25.03	182.86
Corn silage	33.16	7.83	4.21	18.80	64.58	40.24	4.57	68.55
Italian ryegrass silage	15.39	7.36	2.29	36.65	41.68	65.99	12.02	64.16
Alfalfa hay cube	89.38	18.28	2.21	27.45	41.40	43.55	10.67	60.62

DM:dry matter, CP:crude protein, EE:ether extracts, NFE:nitrogen free extracts, Cfi:crude fiber, NDF:nutral detergent fiber, TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995).

Table 2. Ingredients of mixed concentrate and mixed roughage for total mixed ration which corn silage was used(as fed basis %)

Mixed concentrate		Mixed roughage	
Feed	ratio (%)	Feed	ratio (%)
Corn	16.7	Corn silage	85.0
Barley	16.7	Alfalfa hay cube	15.0
Soybeandry heated	11.1		
Soybean meal	5.5		
Wheat bran	16.7		
Beet pulp	16.7		
Cotton seed	5.5		
Soybean hulls	11.1		

Table 3. Ingredients of mixed concentrate and mixed roughage for total mixed ration which italian ryegrass silage was used(as fed basis %)

Mixed concentrate		Mixed roughage	
Feed	ratio (%)	Feed	ratio (%)
Corn	16.7	Italian ryegrass silage	93.0
Barley	16.7	Alfalfa hay cube	7.0
Soybean dry heated	11.1		
Soybean meal	5.5		
Wheat bran	16.7		
Beet pulp	16.7		
Cotton seed	5.5		
Soybean hulls	11.1		

Table 4. Ingredients and chemical compositions in total mixed rations (%DM)

Roughage	Corn silage			Italian ryegrass silage		
	TMR30	TMR37	TMR45	TMR30	TMR37	TMR45
Mixed concentrate	69.9	60.7	49.3	69.7	60.7	51.4
Corn gluten meal	-	1.4	3.0	-	1.6	2.2
Fatty acid calcium salt	-	1.1	2.7	-	0.6	1.3
Mixed roughage	30.1	36.9	45.0	30.3	37.1	45.1
Dry Matter	67.0	63.3	59.4	49.7	45.1	40.7
	% of DM basis					
Crude Protein	16.7	16.7	16.6	16.5	16.6	16.5
TDN	78.7	78.7	78.8	77.8	77.7	77.7
EE	5.8	6.4	7.3	5.3	6.0	6.9
NDF	33.4	33.5	33.4	36.9	38.4	40.3
NFC	37.0	35.9	34.5	34.4	31.4	27.9

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995),

EE:ether extracts, NDF:nutral detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash)

ナイロンバッグは縦 15cm, 横 8cm (有効表面積 160 cm² = 10cm×8cm×2) でメッシュサイズ 45μm のものを用い, 供試飼料は 20mg / バッグ表面積 cm² を封入した。ナイロンバッグは 70cm のナイロン製ひも (40cm のゴムチューブ付き) に輪ゴムで固定した。第一胃への投入前に, サンプル当たり 6 バッグを 1 連として, 15 分間水道水に浸漬した。それぞれ軽く絞り, 朝 9:00 にフィステル開口部 (直径 10cm) から第一胃液層部に投入し, 所定時間ごとに第一胃から引き出した。その時点で, 発酵ガスによりバッグが膨満しているものはガスを抜き, 再投入した。取り出したバッグは流水中で濁りが無くなるまで揉み洗いし, 軽く絞り, -20 で凍結した。

凍結したすべてのバッグは解凍後, 洗濯ネットに入れ, 家庭用洗濯機で流水しながら洗浄した。洗浄は 5 分間経過ごとに, 洗浄水をすべて入れ換え, 計 4 回 20 分間行い, 洗浄水の濁りが無くなるのを確認した。その後, ナイロンバッグは 65 48 時間通風乾燥し, 浸漬前後の乾物から乾物消失率を求めた。また, バッグ中の残渣のすべてを用い CP 分析を行い, CP 消失率を求めた。第一胃内分解パラメータ値は指数関数モデル式 $P = a + b \times (1 - e^{-ct})$ (Ørskov and McDonald, 1979) に当てはめ算出した。P は消失率 (%), a は飼料が第一胃内に投入された後, 急速に分解する易分解性の分画割合 (%) を示し, b はゆっくりとではあるが分解する難分解性の分画割合 (%) で, c は b 分画の分解速度定数 (/hr) を示す。

2 通過速度測定試験

1) 供試牛

飼料の第一胃内通過速度の測定は, それぞれ粗飼料源ごとに各 6 頭の泌乳牛を用い, 粗濃比を異にした 3 種類の TMR を乾物必要量の 110% 給与する 3×3 のラテン方格法 (吉田, 1983) で実施した。

2) 方法

通過速度を測定する標識として, 希土類元素を塗布した標識乾熱大豆を使用した。用いた希土類元素は, TMR30% 区に塩化ディスプレイウム六水和物 (DyCl₃·6H₂O=原子量 376.9), TMR37% 区に塩化イッテルビウム六水和物 (YbCl₃·6H₂O=原子量 387.5), TMR45% 区に塩化ランタン七水和物 (LaCl₃·7H₂O=原子量 371.4) を用いて標識した。標識は Mader et al.(1984)の方法に従い, それぞれの希土類元素の 1% (w/v) 溶液 1 リットルをスプレーにより 3.5kg の圧べん大豆に噴霧, 混和し, 60

で 48 時間通風乾燥したものをを用いた。6 日間の予備飼養期間を置き, 5 日間を本試験として直腸糞の採取を実施した。本試験の初日 8:30 に標識乾熱大豆を単投与し, 投与後 24 時間目から 2 時間毎に 12 回, 48 時間目から 4 時間毎に 6 回, 72 時間目から 12 時間毎に 4 回の計 22 回にわたって経時的に原物で 400g の直腸糞をポリプロピレン容器に採取し, 65 で 120 時間通風乾燥した。乾燥した糞は, 0.5mm の篩を装着したウイレーミルで粉碎後, テフロン製密閉容器に粉碎した糞サンプル 0.5g と濃硝酸 5ml を入れ, マイクロウエーブ (CEM 社, MDS-2000) により湿式灰化した。その後分解液は脱イオン水でメスフラスコ 50ml にメスアップし, No 5B 濾紙でろ過したものを分析サンプルとした。希土類元素含量の分析は卓上型誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (SEIKO 電子工業, SPS-7700) を用いた。糞サンプルの乾物を測定し, これら糞中の希土類元素の経時的減衰値を Grovum and Williams (1973) のモデルに当てはめ, 通過速度定数を算出した。

第一胃内における CP 有効分解度は, 第一胃内分解パラメータ a, b, c, および第一胃内通過速度定数 k の値を, $dg = a + bc / (c + k)$ (Ørskov and McDonald, 1979) の式に代入して算出した。

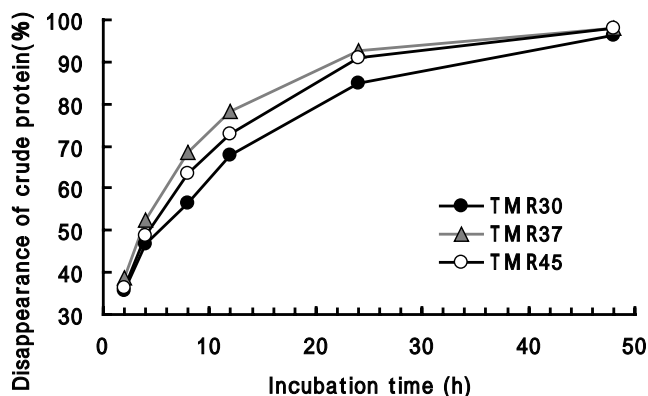


Fig. 1. Changes in disappearance of crude protein of corn as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

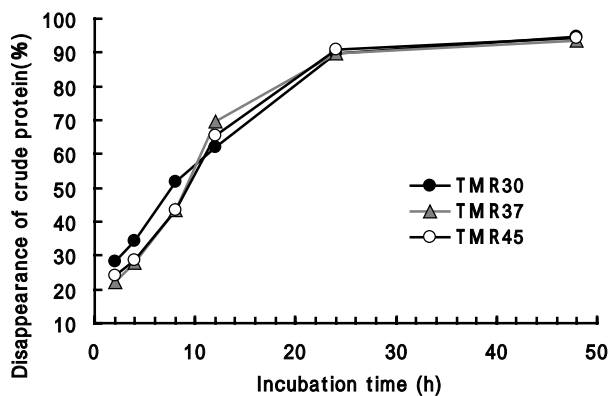


Fig. 4. Changes in disappearance of crude protein of beet pulp as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

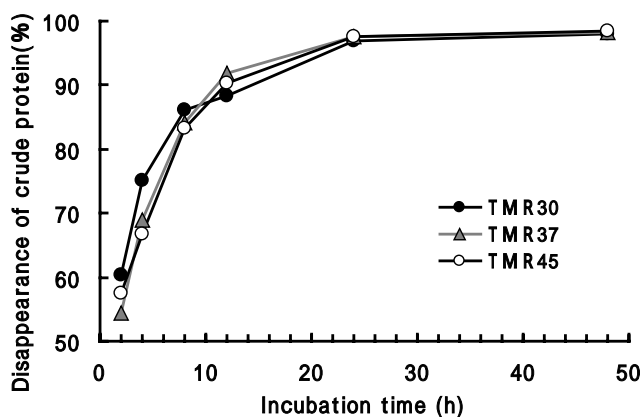


Fig. 2. Changes in disappearance of crude protein of barley as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

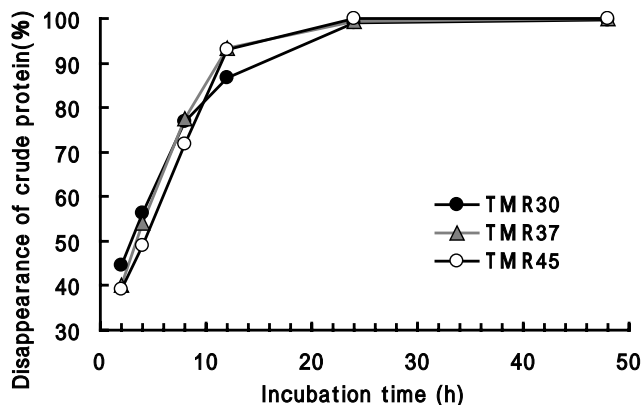


Fig. 5. Changes in disappearance of crude protein of soybean dry heated as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

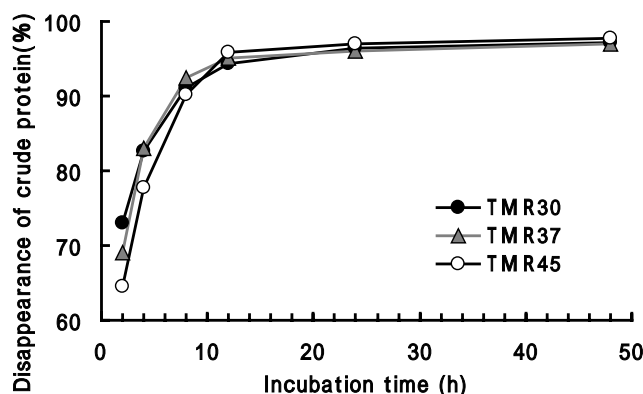


Fig. 3. Changes in disappearance of crude protein of wheat bran as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

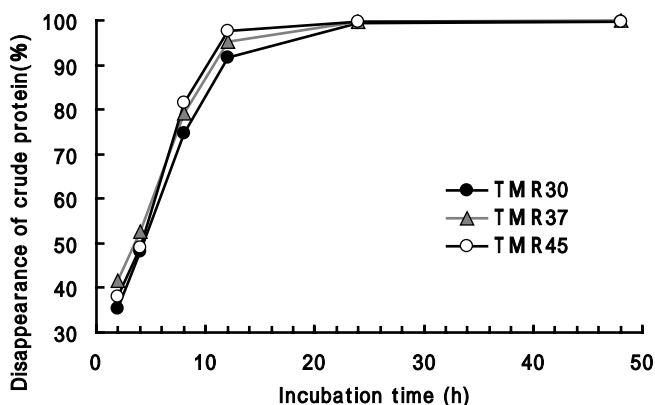


Fig. 6. Changes in disappearance of crude protein of soybean meal as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

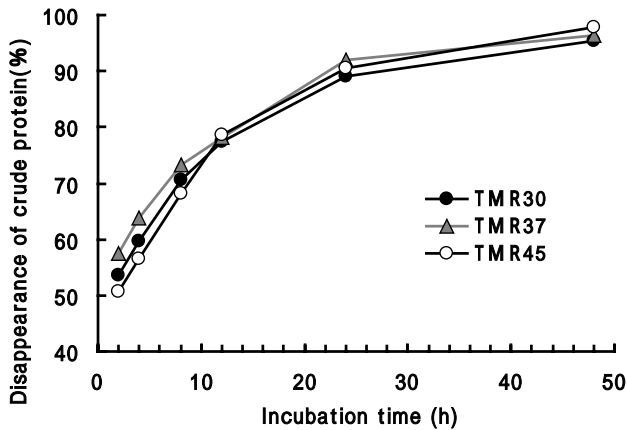


Fig. 7. Changes in disappearance of crude protein of soybean hulls as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

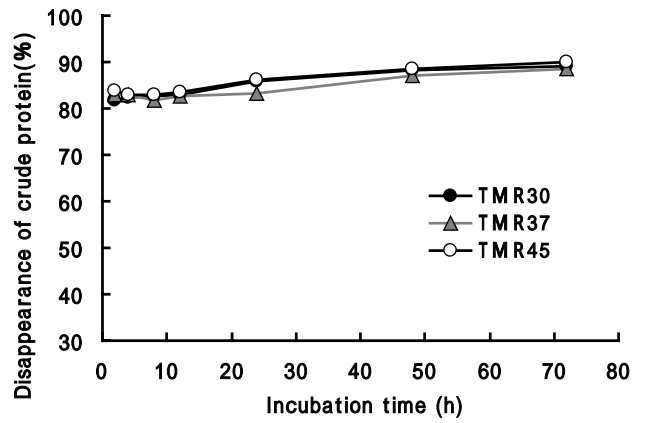


Fig. 10. Changes in disappearance of crude protein of corn silage as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

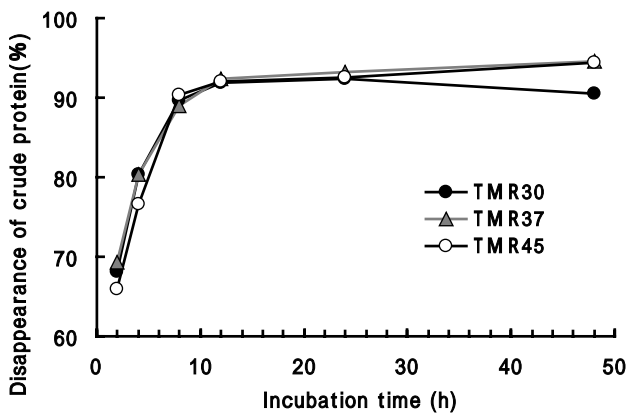


Fig. 8. Changes in disappearance of crude protein of cotton seed as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

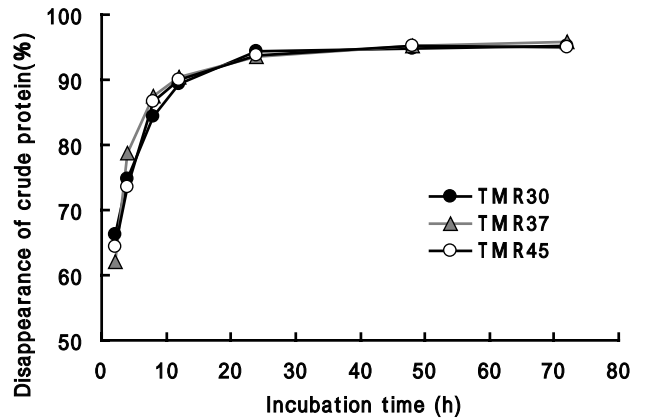


Fig. 11. Changes in disappearance of crude protein of alfalfa hay cube as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

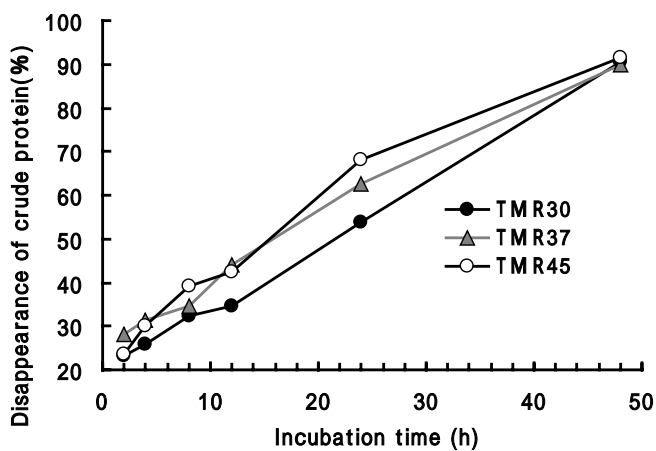


Fig. 9. Changes in disappearance of crude protein of corn gluten meal as determined by nylon bag technique on fistulated cows fed corn silage TMR (means of three observation at each time).

(36)

3 統計処理

統計処理は、第一胃内通過速度については、ラテン方格法の解析手順(吉田,1983)に従い、平均値間の有意差検定は Duncan の多重検定を行った。また、第一胃内分解様相については、Harvey の最小自乗分散分析プログラム LSMLMW(1986)を用いて実施し、数学モデルはつぎのとおりとした。

$$Y_{ijk1} = \mu + Cow_i + Roughage_j + Ratio_k + Feed_l + (Roughage \times Feed)_{jl} + (Ratio \times Feed)_{kl} + e_{ijk1}$$

Y_{ijk1} : 各第一胃内分解パラメータ, 有効分解度の観測値

μ : 全平均

Cow_i : 家畜の効果 ($i = 1, 2, 3$)

$Roughage_j$: 粗飼料源の効果 ($j = 1, 2$)

$Ratio_k$: 粗濃比 ($k = 1, 2, 3$)

$Feed_l$: 培養 TMR 構成飼料原料の効果 ($l = 1 \sim 10$)

$(Roughage \times Feed)_{jl}$: 粗飼料源と飼料原料の交互作用

$(Ratio \times Feed)_{kl}$: 粗濃比と飼料原料の交互作用

e_{ijk1} : 誤差

結果および考察

1 構成飼料原料の CP 分解様相

トウモロコシサイレージ主体 TMR, イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR 給与下における CP 消失パターンは、共に近似していた。図 1 から図 11 に、トウモロコシサイレージ主体 TMR 給与下における構成飼料原料 11 種類の第一胃内 CP 消失パターンを示した。

供試した TMR 構成飼料原料の中で、CP の分解が著しく速やかなものは、トウモロコシサイレージ, イタリアンライグラスサイレージ, ヘイキューブ, 圧ぺん大麦, 一般フスマ, 綿実であった。これらは培養後 2hr で 60~80%, 12hr で 80~90% の消失率を示した。この中で、サイレージはいずれも特異的であり, 0 time(水洗のみ)のバック洗浄で 75%程度, 2hr で 80%以上が消失し, 以降ほぼ横ばいに推移した。0 time での高い消失は、サイレージの貯蔵過程における可溶性非蛋白態窒素(NPN)の増加(藤田・勝俣,1975)によるものと考えられた。しかし, NPN 区分を除いたサイレージの純タンパク質区分の初期分解率は同時間帯での粗タンパク質の分解率に比較して著しく低いことが報告(藤田ら.,1991)されており, 本試験で培養 2hr 以降横ばいの消失曲線を示したことを裏付けるものと考えられる。初期分解率が大きい飼料の場合, 第一胃内微生物がこれら窒素源を有効に利用できずアンモニアの生成速度が微生物体タンパク質合成速度を

凌駕し, これら余剰なアンモニアは肝臓で尿素に変換され尿として体外排泄されるため窒素損失が大きくなる可能性がある。サイレージ中の CP 含量は高くないが, TMR 中の混合量が大きいので, 第一胃における CP の利用が問題となると思われる。第一胃内において易分解性炭水化物などのエネルギーの存在が窒素の利用を律速することが想像されるため, 炭水化物の分解様相についての把握が必要と考えられた。

圧ぺんトウモロコシ, 乾熱大豆, 大豆粕, 大豆皮は, 消失率が培養後 2hr で 25~55%, 12hr で 65~95% であり, やや緩やかな消失パターンを示した。さらに緩やかな消失であったものはビートパルプであり, 培養後 2hr で 25%, 12hr で 60%前後の消失を示した。最も消失が低いものは, コーングルテンミールであり, 培養後 2hr で 20%前後, 12hr で 35%, 24hr で 60%前後の消失で直線的な推移を示した。泌乳最盛期の高泌乳牛や最大成長期の子牛には, 第一胃から供給される微生物体タンパク質だけでは必要量を満たさない可能性が大きい(Ørskov, 1982)ことが報告され, 宿主に対するタンパク質供給量を増加させるためには, 第一胃内での分解を抑制し, 下部消化管で吸収させることが有効になる。この場合, 通過速度が同一と仮定すれば, CP 含量が高く第一胃内での消失速度が遅いコーングルテンミールは下部消化管へ到達する CP 量が多く, 窒素供給の点では有効と考えられるが, 第一胃内分解様相とバイパスしたタンパク質の下部消化管での吸収性は本質的に無関係という報告(阿部ら,1983)があり, 下部消化管での吸収性を検討する必要がある。

2 第一胃内粗タンパク質分解パラメータ

表 5, 表 6 に第一胃内分解パラメータ, 有効分解度の主効果ごと及び交互作用の最小自乗平均値と有意性について示した。

1) 第一胃内分解パラメータ

供試した 12 種類の TMR 構成飼料原料間における分解パラメータには明らかな差が認められ, 第一胃内での分解様相は飼料により大きく異なることが判明した。

易分解性分画の割合 a は, サイレージで高く, ビートパルプ, コーングルテンミールで低かった。分解速度 c 値は, 綿実, 一般フスマ, ヘイキューブで大きかった。

2) 粗飼料源と粗濃比の効果

粗飼料源および粗濃比の違いが粗タンパク質第一胃内分解パラメータの易分解性分画の割合 a に及ぼす効果は有意な差が認められなかった ($P > 0.05$)。この a の値は, Ørskov and McDonald(1979)の示すモデル式では, 時間 $t = 0$ の値に等しく第一胃内での微生物や発酵の影響を受けるものでなく, 個々の飼料固有の属性であり外的要因により左右されないものと考えられる。一方, 粗飼

Table 5. Ruminal passage rate and rumination behavior in the kind of roughage and concentrate:roughage ratio

	Corn silage TMR			Italian ryegrass silage TMR		
	TMR30	TMR37	TMR45	TMR30	TMR37	TMR45
Dry matter intake(kg/d)	21.5	22.6	21.3	23.0 ^a	21.3	20.5 ^b
Passage rate(%/hr)	6.01 ^a	6.35 ^a	5.27 ^b	5.55 ^a	4.55 ^b	5.34 ^a
Eating time(min/d)	330.0 ^b	395.2 ^a	381.2	371.3 ^b	390.7	408.2 ^a
Rate of eating(gDM/min)	74.6	72.0	61.2	67.8 ^a	58.0 ^b	53.9 ^b
Total chewing time(min/d)	641.1 ^b	749.3 ^a	748.9 ^a	871.8 ^b	911.1	949.1 ^a
RVI(min/kg)	27.3 ^b	31.0	33.2 ^a	36.9 ^c	40.6 ^b	44.7 ^a

RVI:Roughage value index(Total chewing time(min/d)/dry matter intake(kg/d)).

Means within the same roughage TMR with different superscripts differ (abc:P<0.05)

Table 6. Least squares means of effect of roughage, concentrate:roughage ratio and feed ruminal degradable characteristics¹⁾ and ruminal effective degradable²⁾ of crude protein of total mixed ration

	CP / DM	a ¹⁾	b	c	dg ²⁾
Effect of Roughage					
Corn silage	-	34.5	63.4	0.156 ^A	75.5 ^A
Italian ryegrass silage	-	33.8	63.8	0.199 ^B	80.1 ^B
Significance level P value		0.492	0.712	0.001	0.001
Effect of Concentrate:Roughage ratio					
30%	-	33.0	64.5	0.182 ^a	77.2 ^A
37%	-	35.1	62.7	0.185 ^a	77.6 ^A
45%	-	34.4	63.5	0.167 ^b	78.7 ^B
Significance level P value		0.170	0.291	0.014	0.010
Effect of Feed					
Corn	8.8	27.4 ^{Aa}	70.8 ^A	0.123 ^{Aa}	75.0 ^A
Barley	13.2	41.4 ^B	56.8 ^B	0.214 ^B	85.6 ^B
Wheat bran	18.2	35.2 ^C	61.1 ^C	0.408 ^C	88.8 ^C
Beet pulp	10.1	7.8 ^D	90.6 ^D	0.100 ^{ADc}	64.1 ^D
Soybean dry heated	42.2	31.6 ^{Eb}	68.4 ^{AE}	0.137 ^{Eb}	79.7 ^E
Soybean meal	49.5	35.9 ^{A EF}	64.1 ^{A EF}	0.145 ^{E F}	81.4 ^{E F}
Soybean hulls	15.7	43.8 ^{CG}	53.7 ^{CGa}	0.095 ^{ADG}	77.1 ^G
Cotton seed	23.1	46.8 ^{CGH}	47.8 ^{CHb}	0.272 ^{CH}	85.9 ^H
Corn gluten meal	69.2	22.1 ^{DI}	77.8 ^{DI}	0.043 ^{Id}	54.8 ^I
Alfalfa hay cube	18.3	49.8 ^{CGHK}	44.7 ^{CHK}	0.239 ^{BK}	85.8 ^{BHJ}
Significance level P value		0.001	0.001	0.001	0.001
Effect of cow					
		0.001	0.001	0.037	0.361
Interaction (Significance level P value)					
Roughage×Feed		0.001	0.001	0.001	0.001
Concentrate:Roughage ratio×Feed		0.001	0.001	0.001	0.001

Model: $Y_{ijkl} = \mu + Cow_i + Roughage_j + Ratio_k + Feed_l + (Roughage \times Feed)_{jl} + (Ratio \times Feed)_{kl} + e_{ijkl}$

where

Y_{ijkl} : all dependent variable presented

μ : overall mean

Cow_i : effect of cow i ($i = 1, 2, 3$)

$Roughage_j$: effect of roughage j ($j = 1, 2$)

$Ratio_k$: effect of concentrate:roughage ratio k ($k = 1, 2, 3$)

$Feed_l$: effect of feed l ($l = 1 \sim 10$)

$(Roughage \times Feed)_{jl}$: interaction of roughage and feed

$(Ratio \times Feed)_{kl}$: interaction of concentrate:roughage ratio and feed

e_{ijkl} : residual error term

Means within the same column with different superscripts differ (ABCDEFGHIJK: P<0.01)

料の種類や粗濃比などの飼料構成などにより差が生じると考えられたのは、b, c の値であり、b 分画割合は微生物の産生する分解酵素活性の影響を受け、定数 c はこれらの変化に応じて変るものと推測したが、本試験では難分解性分画の割合 b に対するこれら粗飼料源および粗濃比の効果には差が認められなかった ($P>0.05$)。しかし、b 分画の分解速度定数 c に対する粗飼料源の効果は、トウモロコシサイレージ TMR 区で有意に小さい値を示し、また、粗濃比の効果は、45% 区が、30% 区および 37% 区に比較し有意に小さかった ($P<0.05$)。

パラメータ c 値は、第一胃内における微生物発酵の影響によるところが大きいと考えられるが、入来ら(1986)らは、粗濃比が極端な飼料給与条件で培養試験を実施し、多くの培養サンプルで粗飼料多給時にパラメータ c 値が増加する傾向を認め、粗飼料給与時の方が繊維の消化が良好になり CP の分解も促進されることを示唆した。本試験において、パラメータ c への粗飼料源の及ぼす効果を見た場合、中性デタージェント繊維 (NDF) 含量が相対的に高いイタリアンライグラスサイレージ主体 TMR の方がトウモロコシサイレージ主体 TMR に比較して c 値が大きいため、入来ら(1986)の報告に合致すると考えられた。しかし、パラメータ c 値への粗濃比の及ぼす効果を見た場合、粗飼料割合が多く、NDF 含量の高い 45% 区が最も小さい値を示し、入来ら(1986)の報告に反した。

セルロースやヘミセルロースを発酵させる微生物は比較的増殖速度が遅く、一方、非繊維性炭水化物 (NFC) を発酵させる微生物は増殖速度が急速であり、窒素源としてアンモニアを利用する (Russell et al., 1992)。本試験では、粗飼料源においては相対的に NFC 含量が高いトウモロコシサイレージ主体 TMR でパラメータ c 値が小さく、粗濃比においては NFC 含量が高い 30% 区、37% 区で大きい結果であり、微生物の増殖速度は適正な窒素源が確保されれば NFC の消化速度に比例するとした Russell et al. (1992) の報告に前者は反し、後者は合致する結果となっている。この理由は明確でないが、飼料中の粗脂肪 (EE) 摂取量の増加は、第一胃内における微生物の活性を阻害する (Devendra and Lewis, 1974; Ørskov et al., 1978; Palmquist and Conrad, 1978) ことから、TMR 中の TDN 含量を同一とする際に用いた EE レベルの違いが微生物活性に影響した可能性が考えられた。粗飼料源ではトウモロコシサイレージ主体 TMR の EE 含量が高く、粗濃比では粗飼料割合の多い 45% の EE 含量が高いことから、これらの区で第一胃内微生物の活性が低下し、b 分画の分解速度定数 c が有意に小さい値を示したと考えられた。以上のことから、飼料中の EE 水準が高くなれば CP 有効分解度は低下する可能性が示唆された。

粗飼料源と飼料、粗濃比と飼料の主効果間の交互作

用は各第一胃内分解パラメータにおいて有意であった ($P<0.01$)。藤田ら(1988)は、分解率に及ぼす給与粗飼料の影響は大きいものではないことを報告した。入来ら(1986)は、パラメータ a, b は、各飼料原料に固有の属性であり、外的要因に左右されにくい性質を持ち、粗濃比の影響をほとんど受けないと報告した。本試験では、パラメータ a, b に関しての交互作用が生じた理由が明確でない。

一方、パラメータ c は、b 分画の分解速度定数であり、粗飼料源、粗濃比などの外的要因により左右される変数であり、第一胃内発酵のパターンの変化により交互作用が認められることは十分考えられる。給与飼料の繊維含量の増加は繊維の消化率の向上を促し CP の分解も促進する (入来ら, 1986)。そのため、パラメータ c 値が特に大きい繊維含量の多い飼料、例えば、圧べん大麦、一般フスマは、間接的に粗濃比の効果に内在すると思われる EE により微生物活性が阻害され c 値が小さくなるという現象が生じ、粗飼料源や粗濃比と交互作用が認められたと思われる。

3 飼料の第一胃内通過速度

本試験では、通過速度を求める標識として希土類元素を用いた。希土類元素のうち原子番号が 57 から 71 のランタノイドは、化学的性質が近似しており細胞壁成分に高い親和性を示し、反芻胃の飼料片の動態測定に利用可能であり、同じ動態を示すことが報告 (Allen and Van Soest, 1984) され、また、同じ粒度の飼料片への塗布において、希土類元素の種類の違いは第一胃内通過速度に影響しないことが示されている (Pond et al., 1989)。また、TMR の給与切り替えに伴う希土類元素の消化管への残留が、それぞれの糞中の濃度に対し誤差を生じる可能性を排除するため、それぞれの粗濃比の TMR ごとに異なる希土類元素を標識として用いた。標識する飼料原料として、希土類元素の塗布が容易であること、単投与した場合嗜好性がよいこと、平均的な第一胃内分解パラメータを示すことなどを考慮し、TMR の構成割合が多い濃厚飼料のうち乾熱大豆を用い、飼料総体の第一胃内通過速度を求めた。

飼料の第一胃内通過速度は、トウモロコシサイレージ主体 TMR では粗飼料摂取割合の大きい TMR45% 区が、TMR30%、TMR37% 区に比較し遅く ($P<0.05$)、粗飼料摂取割合の増加は、飼料の通過速度を低下させた (表 5)。一方、イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR では、TMR37% 区の通過速度が他の区に比較して有意に小さく ($P<0.05$)、TMR30% 区と TMR45% 区間には差が認められなかった。一般に、植物細胞壁の消化は比較的ゆっくりと進行し、反芻胃内に長時間滞留し、その結果、飼料の利用性は増加するが、飼料摂取量を低下

させる相反関係を生じる(岡本,1991)。飼料摂取量の多少は通過速度に影響を与える(Eliman and Ørskov,1984)。本試験において、通過速度はトウモロコシサイレージ主体 TMR(平均 6.00%/hr)がイタリアンライグラスサイレージ主体 TMR(平均 5.15%/hr)に比較して速く、粗飼料の繊維形状、それに伴う咀嚼行動の違いにより微細化様相が異なり、飼料繊維片の消失速度と通過速度に影響したと考えられた。

反芻動物は、採食時にはえん下に必要な程度にしか咀嚼しない習性をもつ(Church,1969; Luginbuhl et al, 1989)が、粗剛な飼料ほどえん下時の大粒子の割合が減少すること(Jaster and Murphy,1983)から、採食速度は、一定の飼料片粒子サイズへの破碎に要する程度を示すことになり、飼料の粗剛性を表現する指標となると考えられる。採食速度をみた場合、トウモロコシサイレージ TMR においては、いずれの区も差がなく、TMR 中の粗飼料割合は影響しなかった。一方、イタリアンライグラスサイレージ TMR の場合、粗飼料割合の少ない TMR30%区が他の区に比べ有意に速かった($P<0.05$)。この採食速度の結果は、同じ粗飼料割合であっても、イタリアンライグラスサイレージは採食への抵抗(粗剛性)が大きいことを示している。一般に、NDF 含量が増加すると採食時間が長くなり、採食速度が低下するが、粗飼料中の NDF 含量はトウモロコシサイレージが 40.2%、イタリアンライグラスサイレージが 66.0%であり、NDF 含量の違いが採食速度に影響したと考えられた。

また、繊維の摂取量は乾物摂取量と通過速度に影響するが、いずれの TMR 区でも粗飼料摂取割合の増加に伴い、粗飼料由来の NDF 摂取量が増加した。しかし、粗飼料の違いによりそれぞれの NDF が飼料摂取量に及ぼす影響は異なっており、トウモロコシサイレージ主体 TMR では粗濃比の違いは乾物摂取量に有意な差を示さなかった(第 5 章第 1 節参照)が、イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR では、粗飼料摂取割合の増加、粗飼料由来の NDF 摂取量の増加に伴い乾物摂取量は有意に減少($P<0.05$)した(第 5 章第 2 節参照)。第一胃内における消失に関しては、阿部・阿部(1991)は、飼料中の構造的炭水化物や CP の影響を取り除き、細胞壁の可消化分画の消失速度を比較し、トウモロコシサイレージがイタリアンライグラス乾草に比較し速いことを示している。この繊維の消化性の違いにより、トウモロコシサイレージ TMR の方が第一胃内からの消失が速く、第一胃内飼料通過速度が速かったと考えられた。

また、飼料の切断長が咀嚼行動に影響することが知られている(岡本,1991)。本試験では、いずれの粗飼料もカッターの切断長設定値は 1.5cm としたが、実測切断長は、トウモロコシサイレージで $2.56\pm 1.91\text{cm}$ (平均値 \pm 標準偏差)、イタリアンライグラスサイレージで $3.39\pm 2.32\text{cm}$

(平均 \pm 標準偏差)であった。これらの切断長の差が咀嚼行動に及ぼす影響は明らかではないが、切断長が 9mm と 30mm の乾草を比較した報告(岡本,1991)では、30mm の切断長で咀嚼時間が長く、第一胃内通過速度が遅い傾向を示したとしている。このことから、切断長は通過速度に対して無関係ではないと考えられる。飼料の微細化が進むほど、第一胃内の固形物の滞留時間は短縮し、飼料の下部消化管への流れが速くなることが報告(Jaster and Murphy,1983; Martz and Belyea,1986; 岡本,1991)されており、単位重量あたりの採食と反芻の総和で示される咀嚼時間が粗剛性評価に有用であると同時に、粗飼料価指数(RVI: Roughage Value Index)が小さいほど微細化傾向は大きいと考えられ、RVI と通過速度の関係を検討すべきと考えられた。

乾物摂取量の増加は飼料通過速度が速くなり(Eliman and Ørskov,1984)、乾物摂取量の低下は逆の様相を呈することが報告されている(日本飼養標準,1999)。一方、Bruining and Bosch (1992)は、粗飼料摂取量が同一で濃厚飼料摂取量の異なる乳牛の通過速度には差がないことを示している。また、Uden(1984)は、飼料の消化管内滞留時間は粗濃比に影響されないが、乾物摂取量が増加するにつれ短くなるとしている。本試験のイタリアンライグラスサイレージ主体 TMR(第 5 章第 2 節参照)においては、摂取量の多かった TMR30%区と、摂取量の少なかった TMR45%区では、第一胃内通過速度に差が認められず、Bruining and Bosch (1992)の報告と同様であり、Uden(1984)の報告と異なった。イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR の場合、トウモロコシサイレージ主体 TMR と異なり、TMR45%区においては、飼料摂取量が少ないものの、単位摂取量あたりの咀嚼効率が増加したことにより飼料の微細化が進行し、通過速度が TMR30%区程度に速くなった可能性が考えられた。飼料の通過速度については、咀嚼行動との関連を考慮する必要があると思われた。

4 第一胃内 CP 有効分解度

通過速度定数 k を加味した第一胃内 CP 有効分解度(dg)は、粗飼料源ではトウモロコシサイレージ主体 TMR が有意に小さかった($P<0.05$)。一方、粗濃比では、45%区が、30%、37%区に比較し大きかった($P<0.01$)。本来、パラメータ a 、 b が等しく、第一胃内通過速度定数 k が同じと仮定するならば、パラメータ c が小さいものほど、有効分解度は小さい値となる。しかしながら、本試験では、パラメータ c が小さい 45%区がもっとも CP 有効分解度が大きかった。これは、通過速度 k が遅かったためであり、 c が小さいものの dg が大きかった理由と考えられた。入来ら (1986)は、粗濃比の違いは CP 分解パラメータに大きな影響を及ぼさないと報告し、藤田ら(1988)は、24 時間

(40)

経過時の CP 分解率を dg 値とし、分解率に及ぼす粗飼料の影響は小さいことを示している。本試験においても、第一胃内分解パラメータには大きな差はないと考えられ、有効分解度には通過速度の影響が大きいと思われた。

以上の結果から、第一胃内分解パラメータ a, b 値に粗飼料源の違いや粗濃比が及ぼす影響は有意ではなかったが、c 値は TMR 中の EE 含量が多い場合小さい値を示し、粗飼料の NDF 含量が多い場合大きい値を示した。また、第一胃内有効分解度 dg は、第一胃内分解パラメータ c の影響よりも、飼料の通過速度 k の影響が大きいと思われた。しかし、本試験の CP 有効分解度の結果は、日本飼養標準(1994)に示された第一胃内 CP 分解割合の数値とかなり異なった。これは、通過速度のデータや測定条件が明らかでないことも原因しているが、第一胃内における CP あるいは有機物の有効分解度は分解速度(Nocek,1988; Ørskov and McDonald,1979)と通過速度(Grovum and Williams,1973; Ørskov and McDonald,1979)の相対的な値により決定される(Waldo and Smith,1972)ものであり、通過速度に影響する要因として、飼料摂取量、粗飼料の種類、粗飼料摂取量、NDF 含量、切断長などの項目に、咀嚼行動が複雑に関与しており、例数を重ねて検討すべきと考えられた。

第4章 飼料粗タンパク質の第一胃内有効分解度が乳生産に及ぼす影響

第1節 高エネルギー飼料でのタンパク質分解度が泌乳初期における乳生産に及ぼす影響

緒言

生乳の取引基準が乳タンパク質、無脂固形分率重視となり、特に、泌乳前期に低下しやすいこれら成分の向上が課題になっている。そのため、農家現場では、乳量や乳タンパク質率の向上に対する第一胃バイパスタンパク質の効果を期待し、日本飼養標準(1999)や NRC 飼養標準(1989)に示される一定値の第一胃内粗タンパク質(CP)分解率を参考に飼料設計している。しかし、飼料 CP の第一胃内分解度は、乾物摂取量(Uden,1984)や粗飼料と濃厚飼料の給与比率(入来ら,1986)、飼料粒度(Welch,1986)など様々な要因に左右される飼料の通過速度により変動する。しかし、わが国の飼養標準(1999)では、高泌乳牛での通過速度の算定基準が示されていないために、飼料 CP の有効分解度の算出が困難である。

一般に府県における高泌乳牛への粗飼料の乾物給与割合は 35%前後と少ない。飼料 CP の分解度を飼料給与に応用する場合には、このような飼料構成での高泌乳牛の飼料摂取レベルに対応した通過速度の情報が必要不可欠である。また、乳生産に対する CP 分解度の影響についての諸外国での試験報告(Armentano et al.,1993; Khorasani et al.,1996)は、粗飼料割合が 50%前後のものが多い。さらに、CP 分解度の効果は乳生産量 30 kg/日以上が目安とされているが、体組織成分の動員が活発なエネルギー摂取レベルが低い泌乳ピーク前と、必要エネルギーを充足しやすいピーク後では、CP 分解度に対する反応に違いがあるかもしれない。

そこで、試験 1 では、粗飼料割合 35%で高エネルギーの飼養条件下における高泌乳牛での CP 有効分解度を検討するため、飼料の第一胃内分解速度と通過速度を測定した。試験 2 では、府県レベルの飼養条件下で、第一胃内の CP 分解度が異なる配合飼料の給与が、分娩直後から泌乳ピーク後の日乳量が 30kg 程度に低下するまでの飼料摂取や乳生産に及ぼす影響を検討した。

Table 1. Ingredient profile of concentrate mixes

Item	Hdg	Mdg	Ldg
	% as fed basis		
Corn	15.5	17.0	19.8
Barley	15.5	17.0	19.8
Wheat bran	8.2	9.7	9.9
Beet pulp	7.3	8.7	8.9
Soybean dry heat	-	7.3	13.9
Soybean non dry heat	12.2	4.9	-
Soybean meal	9.4	1.9	-
Soybean hulls	8.2	10.7	13.9
Cotton seed	10.2	9.7	5.9
Corn gluten meal	-	5.8	7.9
Corn gluten feed	13.5	7.3	-

Table 2. Chemical composition of concentrates and roughages

Item	DM	CP	EE	NDF	NFC	Ash	TDN
Concentrate			%DM				
Hdg	88.6	21.1	6.5	25.1	42.0	5.3	85.4
Mdg	89.0	21.3	6.6	25.0	42.5	4.6	85.5
Ldg	89.2	21.5	6.3	23.7	44.7	3.8	85.8
Roughage							
Corn silage	30.4	6.9	2.3	51.1	34.4	5.3	65.5
Timothy hay	88.9	7.0	2.0	64.5	20.3	6.2	69.9
Alfalfa hay cube	89.6	16.6	1.6	43.7	27.4	10.7	57.1

CP:crude protein, EE:ether extracts, NFE:nitrogen free extracts, NDF:neutral detergent fiber,

NFC:none fiber carbohydrate = 100 - (CP + EE + NDF + Ash),

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Table of Feed Composition in Japan(1995).

材料および方法

1 試験 1: CP 有効分解度

1) 供試動物

給与飼料の第一胃内分解速度は、ルーメンカニューレを装着しためん羊 3 頭, 体重 37.2±1.1kg (平均値±標準偏差) および乾乳牛 3 頭, 体重 708±51kg のものを用い, ナイロンバッグ法(Nocek, 1988)により調査した。また, 第一胃内通過速度は, ホルスタイン種泌乳牛 4 頭, 体重 608±64kg, 乳量 41.1±7.0kg / 日のものを用い測定した。

2) 給与飼料

日本飼養標準(1999)に示されている各飼料原料の CP 分解割合の平均値を用い, 加熱処理圧ぺん大豆, 非加熱圧ぺん大豆, コーングルテンミール, コーングルテンフィードなどの単味濃厚飼料を表 1 の割合で混合し, CP の有効分解度が 3 つのレベルの供試配合飼料(高分解度区: Hdg 区, 中分解度区: Mdg 区および低分解度区: Ldg 区)を調製した。給与飼料の化学的組成の値を表 2 に示した。なお, 日本飼養標準のタンパク質画

分の割合から算出した CP 分解度は Hdg 区が 71.7%, Mdg 区が 67.3%, Ldg 区は 63.2%であった。

めん羊への飼料は, 既報(新出, 2000)と同様に, 維持要求量を満たすように, 細切チモシー乾草:濃厚飼料 = 50:50 の割合のもの(CP11.3%, TDN60.2%)を給与した。また, 分解速度の調査に用いた乾乳牛および通過速度調査に用いた泌乳牛への飼料については, 試験 2 の泌乳試験における濃厚飼料摂取量が最大となる分娩後 32 日以降の時点の粗濃比と養分含量(粗飼料:濃厚飼料 = 35:65, 乾物中 CP17%, TDN78%, 粗脂肪(EE) 5.5%, 中性デタージェント繊維(NDF)34%)を想定した飼料構成とし, 日本飼養標準(1999)の乾物必要量の 105%を給与した。

3) 管理および試料採取

第一胃内分解度の測定は既報(新出, 2000)に準じた方法を用いた。それぞれの供試飼料はカッピングミルで粉碎し, 2mm の篩を通過したものを投入サンプルとした。あらかじめ, 単味濃厚飼料の 2 サンプルをめん羊と乾乳牛で比較を行い, 第一胃内分解パラメータに大きな違いは認められなかったことから, 供試配合飼料につい

(42)

てはめん羊を用い 2, 4, 6, 12, 24 時間, 粗飼料については乾乳牛を用い 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 時間培養した。

各飼料の CP 有効分解度 (dg) は, Ørskov and McDonald(1979)の示したモデル式 $dg(\%) = a + bc / (c + k)$ により算出し, a, b, c は分解パラメータで, k は通過速度定数を示す。

飼料の通過速度の測定は, 塩化ランタン七水和物 ($LaCl_3 \cdot 7H_2O$ =原子量 371.4) を標識として用いた。すなわち, 希土類元素の 1% (w/v) 溶液 1 リットルをスプレーにより 3.5kg の乾熱処理圧ぺん大豆に噴霧, 混和し, 60 で 48 時間通風乾燥したものを用いた。泌乳牛に対し, 8 日間の予備飼養期間の後, 標識圧ぺん大豆 500g/頭を給与し, 給与後 120 時間, 計 18 回にわたり直腸糞を採取し, 直腸糞中の希土類元素含量の経時的減衰を Grovum and Williams(1973)のモデルに当てはめ通過速度を求めた。本試験では, 希土類元素を塗布しやすいこと, 飼料構成のうち平均的な分解パラメータを示すこと, 濃厚飼料の乾物摂取割合が 65% 以上を占めることなどを考慮して, 乾熱処理圧ぺん大豆の通過速度を飼料全体の通過速度とみなした。また, 日本飼養標準から算出した維持に要する可消化養分総量 (TDN) 量に対する摂取 TDN 量の倍数を AFRC 飼養標準(1993)のモデル式に当てはめ算出した通過速度と比較した。

2 試験 2: 泌乳試験

1) 供試飼料および供試動物

CP 有効分解度の異なる飼料給与が分娩後からの乳生産に及ぼす効果を検討するために, 試験 1 で用いた粗飼料と CP 有効分解度が異なる 3 区の供試配合飼料 (高分解度区: Hdg 区, 中分解度区: Mdg 区および低分解度区: Ldg 区) を給与した。泌乳試験は, 2 産次以上のホルスタイン種乳用牛を各区に分娩予定順に 3 頭ずつ, 計 9 頭を配置し, 分娩後 16 週間にわたり一元配置試験法(吉田, 1983)で実施した。

なお, 試験 2 における通過速度は, 試験 1 と同様に日本飼養標準(1999)から算出した維持 TDN 必要量に対する TDN 摂取量の倍数を AFRC 飼養標準(1993)に示されるモデル式に当てはめて算出し, 給与飼料の CP 有効分解度を求めた。

2) 管理および試料採取

供試配合飼料は分娩予定 2 週前から原物 2kg/日を, 1 週前から 4kg/日を 1 日 2 回 (8:30, 16:30) 給与し, 分娩後 4 日目まで維持した。分娩後 5 日目からは 1 日 3 回 (8:30, 12:30 および 16:30) 等量給与で 1kg/2 日の割合で増給し, 給与量が 8kg/日に達した段階でこの給与量を 5 日間維持した。その後, 再び同様の割合で増給し, 分娩後 32 日目以降は 17kg/日を給与した。粗飼料は,

自由摂取とし, 乾物で 9kg/日 (原物でトウモロコシサイレージ 15kg, チモシー乾草 4kg, ヘイキューブ 2kg) 摂取を目標に, これらの残餌が 2kg/日程度となる量を給与した。いずれの区も乳量 40kg/日, 乳脂率 3.5%, 体重 600kg の条件の乳牛を想定し, 乾物中 CP17%, TDN78% の飼料を日本飼養標準(1999)に示される乾物必要量の 105% になるように給与した。

飼料摂取量, 乳量は毎日測定し 1 週間ごとの平均値を求めた。なお, 給与飼料と残飼サンプルはそれぞれ 2 週間ごとに採取した。乳成分は分娩後 1 週ごとに測定した。血液は分娩後 10, 30, 50, 70, 90, 110 日目に, 飼料給与前の 8:00 に頸静脈から採取した。体重は分娩後 5 日目から 10 日ごとに搾乳終了後の 10:00 に測定した。

3 分析法

試験 1 におけるナイロンバッグ中の残渣は, 60 で 48 時間通風乾燥した後, 常法(粗飼料の品質評価ハンドブック, 2001)により乾物と CP 含量を測定した。直腸糞は, 原物で 400g をポリプロピレン容器に採取し, 65 で 120 時間通風乾燥した。乾燥した糞は, 0.5mm の篩を装着したウイレーミルで粉碎後, テフロン製密閉容器に 0.5g 入れ, 硝酸 5ml を加え, マイクロウエーブ (MDS-2000, CEM, アメリカ) で湿式灰化した。これらの分解液を 50ml にメスアップし, No5B 濾紙で濾過したものを分析サンプルとした。その後, ICP 発光分光分析装置 (SPS-7700, SEIKO 電子工業, 東京) により直腸糞中の希土類元素 La 含量を測定した。

試験 2 における給与飼料と残飼サンプルは, 試験 1 と同様に常法で乾物および化学的組成を求めた。乳成分は MILKO-SCAN 104 (N.FOSS.ELECTORIC 社, デンマーク) で測定した。血液は, 採取後, 3000rpm, 15 分間遠心分離し, スポットケム (SP-4410, (株) 京都第一科学, 京都) で血漿中の尿素窒素 (PUN) 値を求めた。

4 統計処理

供試配合飼料の第一胃内分解様相の比較は F 検定による分散分析を行った(吉田, 1983)。泌乳試験における比較は, 給与飼料中の CP 有効分解度を処理因子とする F 検定で分散分析を行い, 処理区間の有意差検定は Duncan の多重検定を用いた。

結果および考察

1 試験 1: CP 有効分解度

供試配合飼料と粗飼料の分解パラメータ, および, CP 有効分解度の平均値と標準誤差を表 3 に示した。

Table 3. Ruminal degradation parameters and dg of crude protein for concentrates and roughages

Item	Degradation parameter			dg ²⁾	
	a ¹⁾	b ¹⁾	c ¹⁾	Soybean	AFRC
Concentrate					
Hdg	60.9 ^d	39.1 ^f	0.044 ^d	85.1 ^d	72.4 ^d
	± 1.5	± 1.5	± 0.004	± 1.0	± 1.3
Mdg	51.9 ^e	48.2 ^e	0.024 ^e	74.5 ^e	60.9 ^e
	± 1.5	± 1.5	± 0.005	± 1.9	± 0.6
Ldg	47.3 ^f	52.7 ^d	0.014 ^e	65.2 ^f	53.5 ^f
	± 2.9	± 3.0	± 0.006	± 3.3	± 1.5
Roughage					
Corn silage	81.8	13.5	0.018	87.2	83.8
	± 0.6	± 0.6	± 0.006	± 0.5	± 0.6
Timothy hay	31.0	59.5	0.096	77.3	59.4
	± 1.0	± 1.3	± 0.006	± 3.3	± 1.5
Alfalfa hay cube	49.1	45.6	0.222	89.7	80.1
	± 3.8	± 2.4	± 0.010	± 3.1	± 3.4

Means values ± standard error of concentrates for three sheep and means values ± standard error of roughages for three cows.

Means of concentrates within the same line with different superscripts differ(def: P<0.05).

¹⁾a,b,c: according to the equation $P(t) = a + b(1 - e^{-ct})$

P: percentage disappearance at time t(%),

a: rapidly soluble fraction(%), b: slowly degradable fraction(%),

c: rate constant of disappearance for b fraction(/hr), t: incubation time

²⁾dg = $a + bc / (c + k)$

dg: ruminal degradability(%)

k: rate constant of ruminal passage(/h).....Soybean:0.0272/h. AFRC:0.105/h.

1) 第一胃内分解パラメータ

3種類の供試配合飼料の第一胃内 CP 分解速度は、培養 2 時間目から区間に差が認められ、Hdg 区は最も消失率が大きかった。そのため、他の区に比較して CP の分解パラメータの易分解性分画割合 a が大きく、難分解性分画割合 b が小さかった(P<0.05)。また、Hdg 区では b 分画の分解速度定数 c も高かった(P<0.05)。粗飼料では、トウモロコシサイレージの a 分画割合が大きく、サイレージの貯蔵過程で非タンパク態窒素が増加したことによるものと推察された。

2) 飼料通過速度および CP 有効分解度

各 4 頭の供試牛における糞中の希土類元素濃度(糞乾物 g 当りの希土類元素 μg)の減衰パターンと、これら減衰値と時間の直線回帰を図 1 に示した。

通過速度定数 k の値は 0.0272 ± 0.002 / hr であり、希土類元素を単投与した後の時間と希土類元素の減衰との相関関係はそれぞれ $r = 0.92$ 以上であった。分解パラメータと通過速度から算出した Hdg 区、Mdg 区及び Ldg 区の供試配合飼料の CP 有効分解度はそれぞれ 85.1%、74.5% 及び 65.2% と算出された。

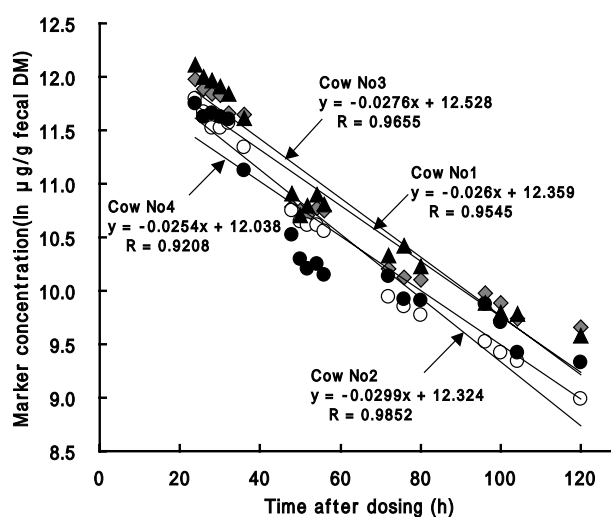


Fig. 1. Fecal excretion patterns of rare-earth element(La) dosed as particulate marker and linear regression formula in four cows(Cow No1(), Cow No2(), Cow No3() and Cow No4()).

Table 4. Changes of feed intakes, passage rate constants after parturition

after parturition	1w	2w	3w	4w	5w	6w	7w	8w	10w	13w	16w
Dry matter intake(kg/d)											
Hdg	13.7	15.5	18.5	20.2	21.3	21.6	21.8	21.8	21.9	22.3	22.6
	±0.2	±0.3	±0.8	±1.6	±1.2	±0.7	±0.7	±1.0	±1.1	±1.3	±1.0
Mdg	13.7	15.4	18.1	19.8	20.4	21.6	22.1	21.4	21.1	21.8	21.8
	±0.4	±0.4	±0.4	±1.0	±1.5	±1.1	±0.9	±1.0	±0.6	±0.4	±0.5
Ldg	13.2	15.0	17.3	18.6	20.8	20.8	21.4	22.1	21.9	21.9	22.0
	±1.1	±0.9	±1.2	±2.1	±1.5	±0.9	±0.8	±0.4	±0.5	±0.5	±0.4
Roughage intake(kg/d)											
Hdg	8.1	8.3	8.1	7.1	6.6	7.2	7.5	7.4	7.8	8.0	8.3
	±0.2	±0.3	±0.8	±0.8	±0.6	±0.3	±0.3	±0.5	±0.6	±0.8	±0.5
Mdg	8.0	7.7	7.5	6.4	5.9	6.9	7.2	6.8	7.1	7.4	7.4
	±0.4	±0.4	±0.4	±0.8	±0.9	±0.6	±0.4	±0.3	±0.9	±0.6	±0.9
Ldg	7.6	7.3	6.7	6.1	6.8	6.8	7.0	7.7	7.6	7.7	7.8
	±1.1	±0.9	±1.2	±0.9	±0.7	±0.3	±0.6	±0.3	±0.2	±0.2	±0.1
CP in dry matter intake(%)											
Hdg	13.8	14.7	15.8	16.9	17.5	17.1	17.0	17.0b	16.9b	17.0	16.8b
	±0.1	±0.2	±0.4	±0.2	±0.2	±0.1	±0.1	±0.1	±0.1	±0.3	±0.1
Mdg	14.0	15.2	16.2	17.5	17.9	17.4	17.4	17.5a	17.4a	17.3	17.4a
	±0.2	±0.3	±0.2	±0.3	±0.3	±0.2	±0.2	±0.1	±0.2	±0.1	±0.2
Ldg	14.4	15.6	16.9	17.7	17.6	17.5	17.6	17.3ab	17.4ab	17.4	17.3ab
	±0.6	±0.5	±0.7	±0.4	±0.3	±0.1	±0.3	±0.1	±0.1	±0.1	±0.1
TDN in dry matter intake(%)											
Hdg	73.0	74.6	76.4	78.1	78.9	78.4	78.3	78.3	78.1	78.0	77.7b
	±0.2	±0.02	±0.2	±0.2	±0.1	±0.1	±0.1	±0.1	±0.1	±0.3	±0.2
Mdg	73.1	74.9	76.9	78.7	79.4	78.9	78.7	78.8	78.6	78.4	78.4a
	±0.2	±0.2	±0.3	±0.5	±0.4	±0.2	±0.1	±0.2	±0.3	±0.3	±0.2
Ldg	74.0	75.5	77.5	78.6	78.9	78.8	78.7	78.4	78.6	78.3	78.2ab
	±0.8	±0.7	±0.9	±0.3	±0.3	±0.4	±0.4	±0.4	±0.3	±0.04	±0.1
Passage rate constant(h) *											
Hdg	0.069	0.080	0.092	0.098	0.102	0.102	0.102	0.102	0.102	0.101	0.100
	±0.003	±0.003	±0.001	±0.003	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.002
Mdg	0.066	0.075	0.088	0.095	0.097	0.100	0.101	0.099	0.099	0.098	0.098
	±0.007	±0.004	±0.005	±0.006	±0.008	±0.007	±0.007	±0.006	±0.006	±0.004	±0.005
Ldg	0.064	0.074	0.084	0.088	0.096	0.097	0.098	0.100	0.098	0.098	0.097
	±0.004	±0.003	±0.004	±0.007	±0.004	±0.002	±0.002	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001
Ruminal degradability of CP in dry matter intake(%)											
Hdg	10.7a	11.2a	11.8a	12.5a	12.8a	12.6a	12.5a	12.6a	12.5a	12.6a	12.5a
	±0.1	±0.1	±0.2	±0.2	±0.2	±0.1	±0.1	±0.1	±0.1	±0.2	±0.1
Mdg	9.8b	10.3b	10.6b	11.3b	11.5b	11.2b	11.1b	11.3b	11.3b	11.3b	11.3b
	±0.2	±0.3	±0.8	±0.8	±0.6	±0.3	±0.3	±0.5	±0.6	±0.8	±0.5
Ldg	9.4b	9.7c	10.1b	10.5c	10.3c	10.2c	10.3c	10.1c	10.2c	10.2c	10.2c
	±0.3	±0.3	±0.4	±0.3	±0.2	±0.1	±0.1	±0.03	±0.02	±0.04	±0.1

Means values ± standard error for three cows. Means within the same line with different superscripts differ (abc:P<0.05).

Hdg:high ruminal degradability of CP diet, Mdg:Middle ruminal degradability of CP diet,

Ldg:Low ruminal degradability of CP diet.

CP:crude protein, TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Table of Feed Composition in Japan (1995).

* The passage rate constants were calculated based on empirical equation($k = -0.024 + 0.179\{1 - e^{(-0.278 \times L)}\}$) shown in feeding standard of the Agricultural and Food Research Council(1993).

しかし、希土類元素を濃厚飼料に塗布し、分娩前8週から分娩後44週にわたり、乳牛に投与し通過速度を求めた報告(Hartnell and Satter,1979)では、通過速度定数

kは乳期の進行にかかわらず、平均で0.04~0.05/hr程度が示され、本試験の数値はこれらよりかなり低い値を示した。特に、Hdg区のCP有効分解度は、日本飼養標

Table 5. Changes of body weight after parturition

after parturition	5d	15 d	25d	35d	45d	55d	65d	75d	85d	95d	115d
Hdg	0(594*)	-17	-13	-1	-4	5	12	17	25	32	49
Mdg	0(623)	0	-11	1	7	13	19	24	23	35	42
Ldg	0(636)	-2	4	11	8	15	22	36	40	38	44

Body weight at 5 days after parturition was set up as 0kg. Means values for three cows.

Hdg:high ruminal degradability of CP diet, Mdg:Middle ruminal degradability of CP diet,

Ldg:Low ruminal degradability of CP diet.

* Average body weight (kg) at 5 days after parturition.

準 (1999)に示された単味濃厚飼料の分解性CPの上限値に近く、飼料全体の通過速度への適用には問題があると考えられた。そこで、AFRC 飼養標準に示されるモデル式 $k = -0.024 + 0.179\{1 - e^{(-0.278 \times L)}\}$ により、通過速度定数 k の算出を試みた。本試験に用いた4頭の乳牛の乾物摂取量は $23.5\text{kg} \pm 2.4/\text{日}$ (平均 \pm 標準偏差)、TDN 摂取量 $18.1\text{kg} \pm 1.7/\text{日}$ であり、維持 TDN 必要量に対する TDN 摂取量の倍数 L は 4.6 となり、 $k = 0.105$ と算出された。この係数 k を Ørskov and McDonald(1979)のモデル式に当てはめた場合、Hdg 区、Mdg 区及び Ldg 区の供試配合飼料のCP有効分解度はそれぞれ72.4%、60.9%及び 53.5%となり、本試験の標識乾熱処理圧ペン大豆による測定値よりもかなり小さい値となった。一方、日本飼養標準に示された分解性CP分画の平均値を用いて算出したCP分解度はHdg区が71.7%、Mdg区が67.3%、Ldg区は 63.2%であり、今回の第一胃内分解パラメータ値から通過速度定数 k を逆算したところ、それぞれ0.115、0.051、および0.032になった。Hdg区の通過速度定数はAFRCで算出した値に近く、Ldg区は乾熱処理圧ペン大豆での値に近かった。

通過速度は、飼料片の粒度に影響を受け、液層部分は固層部分より速いこと(Bruining and Bosch,1992)、飼料の第一胃内通過には至適比重(Welch,1986)があることなどが示されている。本試験で用いた配合飼料の構成飼料原料は、標識した乾熱処理圧ペン大豆よりも粒度が小さいものも多い。また、液層の通過速度について検討していないことから、乾熱処理圧ペン大豆で求めた通過速度をすべての飼料の通過速度として当てはめると、CP有効分解度を過大評価する可能性があると考えられた。このことから、単一の飼料の通過速度を全ての飼料の代表値として用いることは難しいと考えられる。また、日本飼養標準(1999)に示されたCP分画の値にはかなりの幅があるためCP分解割合の算出には注意が必要と思われた。

2 試験2:泌乳試験

試験1において、CPの分解程度の処理間差はHdg

区とLdg区間で20%あることから、これらの配合飼料の給与による分娩から泌乳ピークにかけての乳タンパク質率や生産量への影響を検討した。飼料摂取量および通過速度定数の結果を表4に、体重の推移を表5に示した。また、泌乳成績を図2に示した。

1) 飼料摂取量および体重

各区とも、供試配合飼料の増給に伴い、乾物摂取量は分娩後5週まで直線的に増加し、その後も区間に差が認められなかった。粗飼料摂取量も差が認められなかった。また、CP摂取量、TDN摂取量および非繊維性炭水化物(NFC)摂取量も区間に差が認められず、分娩後5週以降のCP含量はいずれの区も $17.3 \pm 0.2\%$ の範囲であり、TDN含量は乾物中78%、EEが5%、NDFが34%、NFCが38%前後で推移した。

AFRC 飼養標準(1993)のモデル式に当てはめて算出した通過速度定数は、乾物摂取量の増加とともに大きくなったが、区間に差は認められず、配合飼料給与量が最大量に達した後は概ね $0.099/\text{h}$ 前後で推移した。乾物摂取量に占める有効分解CP濃度(%)および分解性CP摂取量(kg/日)は、分娩後5週目でそれぞれ、Hdg区が12.8%、2.7kg、Mdg区が11.3%、2.3kg、Ldg区が10.3%、2.1kgであった。試験期間を通して、CP有効分解度(%)は、Hdg区は $74.6 \pm 0.1\%$ 、Mdg区は $65.7 \pm 0.5\%$ 、Ldg区は $60.0 \pm 0.4\%$ で推移したが、分解度の違いは乾物摂取量に影響を及ぼさなかった。Erdman and Vandersall(1983)は泌乳前期牛を用いCP含量14%の給与水準で濃厚飼料のCP分解度を73%と53%とした飼料給与では、乾物摂取量は高分解度区が高いと報告し、第一胃内微生物への窒素供給の重要性を示唆した。本試験において乾物摂取量に差が認められなかったのは、各区間ともCPは17%と給与レベルが高く、CP分解度が低いLdg区の第一胃内CPの分解量であっても、第一胃内微生物の増殖が制限されなかったためと思われる。

分娩後5日目の平均体重を0kgとした10日ごとの推移は、区間に差は認められなかった。

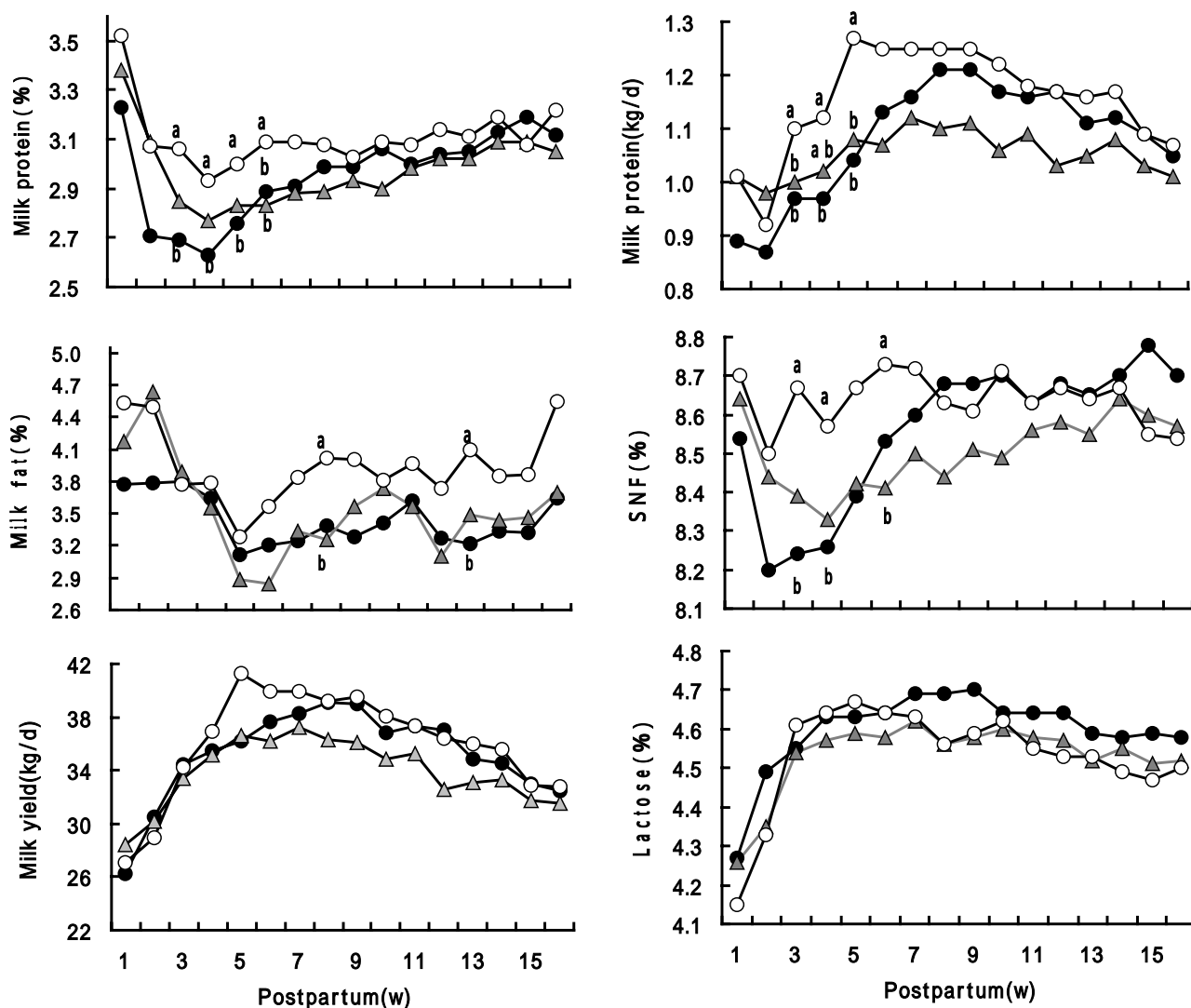


Fig.2. Changes of milk yield(kg/d), milk fat(%), milk protein(%), lactose(%), Solid-not-fat(%) and milk protein(kg/d) after parturition. Each symbol (Hdg: \circ , Mdg: \bullet , Ldg: \triangle) represents means of three lactating cows. Means within the same day with different superscripts differ(ab:P<0.05).

2) 泌乳成績

乳量は、Ldg 区が、Mdg 区および Hdg 区に比較して泌乳初期の泌乳ピークへの到達が早まり、分娩後 5 週前後の乳量が多い傾向にあったが統計的な差は認められなかった。また、16 週間の総乳量も差が認められなかった。

本試験の場合、乳量に明確に差が認められなかったのは、いずれの区も全期間を通して、TDN 含量が 78% 前後と高く TDN 摂取量に差がなかったと考えられた。

しかし、n 数が少なく個体差の影響も考えられるため、さらに検討する必要がある。

乳成分においては、乳脂率はいずれの区も分娩 5 週に低下し、その後、Ldg 区が分娩後 8、13 週に高かった (P<0.05) が、その他の時期に区間差は認められなかった。乳タンパク質率は、分娩後 3~6 週に、Hdg 区は大きく低下したが、Ldg 区は Hdg 区に比較して高く推移した (P<0.05)。また、乳タンパク質生産量は、Ldg 区が分娩後 3~5 週に他の区に比較して高く推移した (P<0.05)。

無脂固形分率は、Ldg 区が乳タンパク質率と同様に、他の区に比較して高く推移した($P<0.05$)。一方、無脂固形分生産量は、区間に差が認められなかった。

泌乳中期の牛を用いた報告では、乳量 30kg/日以下の牛の場合、非分解性 CP 摂取量が増加しても乳量や乳タンパク質へ反応がないものの、乳量 30kg/日以上の場合には反応が大きいとしている(Armentano et al., 1993)。また、泌乳初期の牛を用い飼料中の CP 含量を 16.5%と 18.5%の飼料を給与した報告では、非分解性 CP の増加は、乳量、乳タンパク質生産量を向上させる傾向にあり、非分解性 CP によるアミノ酸供給の効果が示唆されている(Cunningham et al., 1996)。分娩後、乳糖含量の増加に連動した乳量の増加により、乳脂率や乳タンパク質率は、一旦、低下した後に増加する。このような反応は他の報告(日本飼養標準, 1999)でも認められるところであり、また、乳タンパク質はエネルギー摂取量と関係が深い。その際、本試験においては、飼料中の TDN 含量が 78%前後の高エネルギー飼料給与の条件下であっても、飼料摂取レベルの低い泌乳ピーク前には、高分解度 Hdg の飼料では乳タンパク質含量が大きく低下したのに対して、低分解度 Ldg の飼料ではその低下が抑制された。分娩後 3~6 週には乳量が急速に増加していくために増大する CP 要求量が第一胃内で合成される微生物体タンパク質からの供給だけでは満たされない。このとき、非分解性 CP 量は、Hdg 区が 4.4%、Mdg 区が 6.1%、Ldg 区が 7.1%前後であり、Hdg 区と Ldg 区の乳タンパク質率の差は下部消化管への移行 CP 量の違いによると考えられた。一方、泌乳ピーク後には、Hdg の飼料であっても、乾物摂取量が増加してくる分娩後 7~8 週には、TDN 摂取量が増加し、飼料中の TDN 含量が 78%程度と高く必要エネルギーを充足しやすいことから、体重も増加しはじめ、微生物体タンパク質合成量も多くなり、分解度の違いが乳タンパク質含量へ及ぼす影響が小さくなったと考えられた。

無脂固形分率は、一般にエネルギー摂取量と正の相関関係にあるが、エネルギー摂取量は区間に差がないこと、また、乳糖率に差がないことから、乳タンパク質率の差を反映したものとなった。

3) PUN

PUN 値の推移を図 3 に示した。分娩後 30 日以降、PUN 値 (mg/dl) は、Hdg 区 21.4 ± 1.0 、Mdg 区 18.6 ± 1.1 、Ldg 区 15.4 ± 3.3 で推移し、分娩後 30 日、90 日に Hdg 区が Ldg 区に比較して高く($P<0.05$)、その他の時期も高く推移する傾向が認められた。分娩後 30 日以降の PUN 値の違いは、最大摂取量に達した供試配合飼料に由来する CP の有効分解量を反映したものと考えられた。

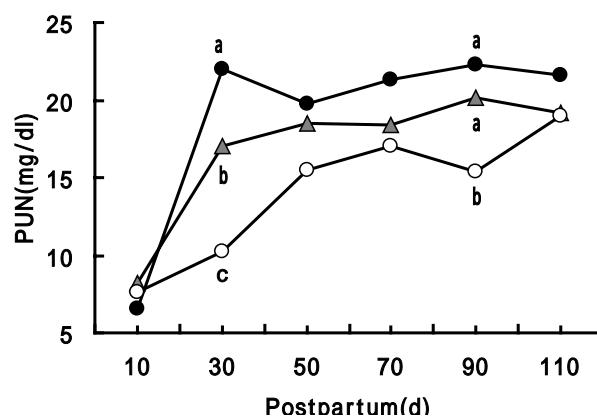


Fig.3. Changes of plasma urea nitrogen(mg/dl) after parturition.

Each symbol (Hdg: ●, Mdg: ▲, Ldg: ○) represents means of three lactating cows.

Means within the same day with different superscripts differ(abc: $P<0.05$).

以上の結果から、高エネルギー飼料給与下でも、飼料摂取レベルの低い泌乳ピーク前には、乳タンパク質含量が CP の高分解度飼料で大きく低下するのに対して、低分解度飼料でその低下を抑制できることが判明した。一方、泌乳ピーク以降には、高分解度飼料でも乾物摂取量が増加してくるため必要エネルギーを充足しやすく、微生物体タンパク質合成量も多くなり、分解度の違いによる乳タンパク質への影響が小さくなると考えられた。分解度の異なる飼料の給与は、泌乳ピーク前と後で乳タンパク質生産への影響が異なることが示唆された。

本試験の泌乳初期の 5~6 週のデータでは、AFRC 飼養標準(1993)のモデル式を用いての飼料通過速度は平均 9.80%/hr 前後と算出された。一方、今回の乾熱圧べん大豆の通過速度 2.72%/hr は、かなり低い値となったが、この理由は明らかではない。

希土類元素を塗布した濃厚飼料で通過速度を求めた報告(Erdman et al., 1987; Hartnell and Satter, 1979)では、通過速度 k は乳期や給与飼料の養分濃度、また、濃厚飼料の種類にかかわらず、4.0~5.0%/hr 程度であることが示されており、これらと比較し本試験の乾熱大豆による値は低く、AFRC 飼養標準の値は高いと考えられた。

NRC 飼養標準(2001)においては、希土類元素を標識として通過速度を求めた多くの経験則から、飼料の通過速度の算出式を示している。サイレージなどの水分を含む粗飼料の通過速度 $k = 3.054 + 0.614 \times$ 体重当りの乾物摂取量 % (BW%)、乾草の通過速度 $k = 3.362 + 0.479 \times$ BW% - $0.007 \times$ 乾物中の濃厚飼料割合% - $0.017 \times$ 飼料原料乾物中 NDF%、濃厚飼料の通過速度 $k = 2.904 + 1.375 \times$ BW% - $0.02 \times$ 乾物中の濃厚飼料割

合%でそれぞれ示されている。これらの式に本試験のデータを当てはめた場合、サイレージの通過速度 $k = 5.16\%/hr$ 、乾草の通過速度 $k = 3.63\%/hr$ 、濃厚飼料の通過速度 $k = 6.27\%/hr$ と算出された。この通過速度から本試験の CP 有効分解度を求めた場合、Hdg 区 $78.2 \pm 0.2\%$ 、Mdg 区 $68.2 \pm 0.5\%$ 、Ldg 区 $61.8 \pm 0.7\%$ となり、AFRC 飼養標準の値に比較して高く算出された。

実際の第一胃内では液層部と固層部がそれぞれ別の流出速度を示す複雑な系と考えられる。通過速度は、飼料粒の粒度に影響を受け、液層部分は固層部分より速いこと(Bruining and Bosch,1992)、飼料の第一胃内通過には至適比重(Welch,1986)があることなどが示されている。また、NDF 含量の多い粗飼料の通過速度は遅く、すべての飼料が一律の通過速度を示すとは考えにくい。このことから AFRC の飼養標準と NRC 飼養標準の通過速度のどちらが妥当かは現時点では判断できないが、AFRC 飼養標準の通過速度は高い値を示し、上限値に近いと考えられた。CP 有効分解度を左右する通過速度についてデータ集積する必要がある。

本試験の結果から、乾熱処理圧べん大豆を用いて通過速度を推定すると、高泌乳牛でもかなり低い値となり、その結果、CP 有効分解度が高く推定された。このことから、飼料総体の通過速度を代表するような飼料原料を標識し通過速度を測定する必要があると考えられた。

第 5 章 粗飼料源と粗濃比の違いが乳生産に及ぼす影響

高泌乳牛にとって、粗飼料の給与は反芻胃の恒常性の維持に重要な意味を持つ(日本飼養標準,1999)。しかし、粗飼料の種類が異なる場合、同一の養分含量に調整し給与しても、乳生産に対する反応が異なることが農家実態として観察される。また、粗飼料の種類(Andrighetto et al.,1993)、生育段階(Beauchemin,1991)や繊維含量(Clark and Armentano,1999)、切断長(Beauchemin et al.,1994)、繊維の形態(Woodford and Murphy,1988)が異なれば、これらの体積的要因の影響により第一胃内における養分摂取と容積制限の競合が生じ乾物摂取量に影響することが報告されている(津田ら,1987)。また、第一胃内発酵や、反芻時間(Sudweeks et al.,1981; Woodford and Murphy,1988; Beauchemin,1991;1994)、微細化様相(Welch and Smith,1970;一戸,1994)、飼料の第一胃における膨満度や消化速度(日本飼養標準,1999; Nocek and Russell,1988)、繊維量に由来する飼料の通過速度(Welch and Smith,1970; Welch,1986; Andrighetto et al.,1993)が変化し、乳生産に大きく影響することが予想される。

こうした中で、酪農家では、多くの輸入購入乾草を利用しているが、2000 年の口蹄疫発生以来、地域で生産される安心、安全な自給粗飼料を給与することに関心が高まっている。特に、広島県では、夏作物のトウモロコシと冬作物のイタリアンライグラスの栽培が再評価されつつある。また、水田作付け可能面積の概ね 40%におよぶ減反田の活用が模索され、2001 年から、湿田に強く、従来技術と機械により栽培が可能な飼料イネの利用への期待が大きくなっている。

現在までの乳タンパク質率向上に関する一連の研究の中で、飼料中の可消化養分総量(TDN)含量は 77%前後に高く設定すること、飼料中の粗脂肪(EE)含量は 5.0%前後とすること、EE 摂取量が多い場合、第一胃内微生物の活性が阻害され飼料タンパク質の利用の低下や、血液尿素窒素(BUN)量の増加が生じ、乳タンパク質率が低下することを示した(新出ら,1997)。さらに、給与飼料乾物中の粗タンパク質(CP)含量が 20%を超えると BUN 値が増加するため、17%前後が望ましく、飼料 CP の有効利用のためには第一胃内での分解様相の把握が必要であることを示唆した(第 2 章第 1 節)。

広島県あるいは府県においては、乳牛一頭当りの生産量が充分でない自給粗飼料を有効に利用するにあたって、泌乳に要するエネルギーを最大限摂取させるとともに反芻生理を維持する最小限の粗飼料給与が前提とな

っており、異なる粗飼料のそれぞれの飼料特性を把握し、粗飼料の種類や粗濃比ごとの通過速度を明らかにし、乳量や乳タンパク質率に及ぼす影響について検討する必要がある。

第1節 トウモロコシサイレージ主体の粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響

緒言

第一胃内における飼料の分解度は第一胃内の飼料通過速度(滞留時間)に影響を受ける(入来ら,1986)。この飼料の通過速度は飼料構成、特に粗濃比や繊維量に影響され(Welch,1986)、反芻行動を変化させ(Gordon, 1958;岡本,1991)、第一胃内での消化率や有効分解度に大きく影響する。しかし、現状では、第一胃内の CP 分解度を飼料設計に応用するに当り、情報がほとんどない。また、農家における粗飼料の給与比率は泌乳前期には

30~35%のレベルであり、窒素要求量の大きい高泌乳牛で CP の利用率を向上させるためには、特にこの時期の第一胃内での飼料通過速度や CP 有効分解度に対する明確な査定が必要になる。

そこで、粗飼料生産基盤の狭小な本県の農家が泌乳前期の乳牛に対して給与可能と想定される粗飼料乾物割合を最大 45%から最少 30%の範囲に想定し、本県の主要な夏作物として位置づけられているトウモロコシサイレージを主体とした粗飼料割合の異なる混合飼料(Total Mixed Ration:TMR)で CP 含量、TDN 含量を一定とした飼料の給与が、乳量、乳タンパク質率、飼料の通過速度、咀嚼行動、血液性状および第一胃内容液性状に及ぼす影響を検討した。

試験方法

1 供試牛

ホルスタイン種乳用雌牛 6 頭を用いた。飼養試験開始 1 週間前の供試牛の泌乳成績を表 1 に示した。

Table 1. Using Holstein cows for experiment

CowNo	parturition day	time	weight (kg)	Milk (kg)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)	Days after parturition (days)
1	1995,11,20	4	690	36.4	3.82	3.25	4.56	8.81	200
2	1995,08,23	2	634	36.1	2.51	3.19	4.68	8.87	289
3	1995,11,29	4	728	31.5	3.38	3.15	4.54	8.69	191
4	1995,12,14	3	651	31.6	3.79	3.45	4.49	8.94	176
5	1996,01,17	2	647	35.6	2.89	3.08	4.45	8.52	142
6	1996,03,07	2	539	38.5	3.65	3.00	4.62	8.61	92
Average			648	35.0	3.34	3.19	4.56	8.74	182
±SD			±64	±2.8	±0.53	±1.56	±0.84	±0.16	±65

Average data of one week before an examination started.

SD: standard deviation.

Table 2. Chemical compositions of roughages and concentrates of total mixed ration on dry matter basis(%).

Item	DM	CP	EE	Cfi	NFE	NDF	Ash	TDN
DM%								
Corn	89.86	8.80	4.41	1.33	84.12	10.59	1.34	92.82
Barley	88.34	13.17	2.81	3.81	78.15	16.96	2.05	85.44
Wheat bran	88.35	18.20	4.32	9.67	62.39	36.83	5.42	72.51
Beet pulp	91.04	10.12	1.06	19.86	62.09	37.58	6.87	74.60
Soybean dry heated	97.64	42.24	22.78	4.65	25.04	9.08	5.30	108.89
Soybean meal	89.76	49.48	1.30	6.50	36.11	10.80	6.61	86.73
Soybean hulls	93.25	15.66	4.39	28.50	45.19	44.69	6.26	69.44
Cotton seed	94.11	23.12	23.95	22.79	25.90	39.65	4.24	94.31
Corn gluten meal	91.30	69.17	3.21	0.57	24.94	3.51	2.11	90.22
Fatty acid calcium salt	98.15	0	86.46	0	0	0	25.03	182.86
Corn silage	33.16	7.83	4.21	18.80	64.58	40.24	4.57	68.55
Alfalfa hay cube	89.38	18.28	2.21	27.45	41.40	43.55	10.67	60.62

CP:crude protein, EE:ether extracts, NFE:nitrogen free extracts, NDF:nutral detergent fiber,

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995).

Table 3. Ingredients of total mixed ration which corn silage was used(as fed basis %)

Mixed concentrate		Mixed roughage	
Feed	ratio (%)	Feed	ratio (%)
Corn	16.7	Corn silage	85.0
Barley	16.7	Alfalfa hay cube	15.0
Soybean dry heated	11.1		
Soybean meal	5.5		
Wheat bran	16.7		
Beet pulp	16.7		
Cotton seed	5.5		
Soybean hulls	11.1		

Table 4. Ingredients and chemical compositions in total mixed rations (%DM)

Item	TMR30	TMR37	TMR45
Mixed concentrate	69.9	60.7	49.3
Corn gluten meal	-	1.4	3.0
Fatty acid calcium salt	-	1.1	2.7
Mixed roughage	30.1	36.9	45.0
Dry matter	67.0	63.3	59.4
	% DM		
Crude protein	16.7	16.7	16.6
TDN	78.7	78.7	78.8
EE	5.8	6.4	7.3
NDF	33.4	33.5	33.4
NFC	37.0	35.9	34.5

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995),

EE:ether extracts, NDF:nutral detergent fiber,

NFC:non fiber carbohydrate =100-(CP+EE+NDF+Ash)

2 給与飼料

粗飼料はトウモロコシサイレージとヘイキューブを用い、濃厚飼料は 10 種類を用い、粗飼料と濃厚飼料の割合を乾物比で 30:70(TMR30), 37:63(TMR37), 45:55(TMR45)に調製した TMR を給与した。いずれの TMR も乾物中の養分含量が同一となるように、コーングルテンミールと脂肪酸カルシウムで調整した。TMR 構成飼料原料の成分値および混合割合を表 2, 表 3 および表 4 に示した。なお、トウモロコシサイレージの実測切断長は、2.56±1.91cm (平均値±標準偏差)であった。

試験開始前 14 日間は馴致のために TMR30 を給与し、試験開始前 1 週間の平均乳量と乳脂率および試験開始前 3 日間連続で測定した体重の平均値を基準に、日本飼養標準(1994)の乾物必要量の 110%を全試験期間の TMR 給与量とした。それぞれの TMR は、8:40, 11:00, 15:00, 17:00 に 1 日の給与量の 1/4 ずつを 4 回に分けて給与した。また、通過速度計測用の標識として単投与する乾熱大豆に馴致するため、朝 8:30 に乾熱大豆 500 g を塩ビ容器(幅 25cm×長さ 35cm×高さ 15cm)で別給与した。ミネラルは 8:40, 17:00 に 1 日所要量の各 1/2 量ずつを TMR にトップドレッシングした。飲水はウォーターカップによる自由飲水とした。なお、搾乳は、8:30 および 17:00 の 2 回搾乳で実施した。

3 試験区および調査項目

試験は予備飼養期間 9 日間、本試験 5 日間の計 14 日間とし、3 期からなる 3×3 のラテン方格法(吉田,1983)を用いた。

1) 飼料摂取量, 養分摂取量および乳量

飼料摂取量, 養分摂取量および乳量はいずれも本試験 5 日間の飼料摂取量, 養分摂取量, 乳量の平均値を用いた。飼料及び養分摂取量は、給与量から、残餌量を差し引き算出した。給与飼料および残餌の乾物含量は、試験 14 日間の 8, 10, 12 日目にサンプリングし、65 で 120 時間通風乾燥し平均した値を用いた。

2) 乳成分

乳成分は試験の 10 日目夕方から 12 日目朝までの計 4 回の搾乳時にサンプリングした試料を、MILKO-SCAN 104(N.FOSS ELECTORIC)で分析し、夕方と朝のものを一単位とし、加重平均した値を用いた。

3) 体重

体重は、各期本試験終了の翌朝に本試験に給与した TMR を給与し、搾乳終了後の 9:50 に測定した値を用いた。

4) 第一胃内飼料通過速度

第一胃内の飼料通過速度の測定は、3.5kgの乾熱大豆に希土類元素 1%element 溶液 1リットルを、Mader et al.(1984)の報告により Spray を用いる方法で塗布した後、65℃で48時間通風乾燥した標識乾熱大豆を用いた。すなわち、TMR30区は希土類元素の塩化ディスプレイシウム六水和物 ($\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ =原子量 376.9)、TMR37区は塩化イッテルビウム六水和物 ($\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ =原子量 387.5)、TMR45区は塩化ランタン七水和物 ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ =原子量 371.4)を標識した乾熱大豆を使用した。5日間の予備飼養期間を置き、6日目8:30に標識乾熱大豆500gを単投与し、投与後24時間目から2時間毎に12回、48時間目から4時間毎に6回、72時間目から12時間毎に4回の計22回にわたって経時的に原物で400gの直腸糞をポリプロピレン容器に採取し、65℃で120時間通風乾燥した。

乾燥した糞は、0.5mmの篩を装着したウイレーミルで粉碎後、テフロン製密閉容器に粉碎した糞0.5gと濃硝酸5mlを入れ、マイクロエーブ(CEM社、MDS-2000)で湿式灰化した。その後、分解液を脱イオン水で洗いながらメスフラスコに移し、50mlにメスアップし、N05B濾紙でろ過したものを分析用サンプルとした。希土類元素含量の分析は卓上型誘導結合プラズマ発光分光分析装置(SEIKO電子工業 SPS-7700)を用い、直腸糞中の希土類元素の経時的減衰から通過速度定数(Grovum and Williams,1973)を算出した。

5) 咀嚼行動

咀嚼行動は、各TMR給与区1頭ずつの計3頭を用い、朝の飼料給与時刻の8:30から始まる24時間を1日の単位とし、試験開始9~13日目に5日間連続調査した。測定方法は、供試牛に装着した皮製頭絡の上顎部に、ステンレススチール板に貼り付けたストレインゲージをビニールテープで固定し、顎の動きにより生じるストレインゲージの歪みを電気信号に変換し記録する方法とした。

6) 血液性状、第一胃内容液

血液、第一胃内容液は、咀嚼行動調査に用いた3頭の牛から採取した。血液は各期本試験最終日の8:00、10:00、11:00、12:00、13:00、15:00(計6回)に、第一胃内容液は、8:00、10:00、11:00、13:00、15:00(計5回)に採取した。

血液は、ヘパリン塗布した真空採血管で頸静脈から採取し、ヘマトクリット値を測定後、直ちに3000回転/分で15分間遠心分離し血漿を分析に供した。血液性状は、血液化学自動分析システム(日本ロシュ、スポットケム SP-4410)を用いて測定した。なお、遊離脂肪酸(NEFA)

は、NEFA—テストワコー比色試薬(和光純薬工業)を使用し、分光光度計(島津製作所、UV-1200)を用いて測定した。血漿浸透圧は、浸透圧測定装置(京都第一化学、オズモスタット OM-6040)を用いて測定した。

第一胃内容液は、ルーメンカテーテルを供試牛の口から第一胃内に挿入し300mlを吸引採取した。採取した第一胃内容液は二重ガーゼでろ過し、pH測定後、100mlをサンプリングし微生物の活性を止めるため飽和塩化水銀1mlを添加した。これらサンプルは第一胃内低級脂肪酸(VFA)組成、アンモニア態窒素分析まで-20℃で凍結保存した。VFAは、ガスクロマトグラフィ(日立、G-3000)で内部標準液に2—エチル酪酸を用いて測定した。アンモニア態窒素は水蒸気蒸留法により測定した。

4 統計処理

成績の統計処理はラテン方格法(吉田,1983)の分析手順で行い、分散分析はF検定、処理区間の有意差検定はDuncanの多重検定を用いた。血液性状、第一胃液性状については時間因子を要因として加え最小自乗法(米澤ら,1998)を用い解析した。

結果および考察

1 飼料摂取量

1) 乾物摂取量、粗飼料摂取量、粗飼料摂取割合および中性デタージェント繊維(NDF)摂取量

飼料摂取量の結果を表5に示した。乾物摂取量は、TMRの粗濃比の違いに影響されず、いずれの区も差が認められなかった。

粗飼料乾物摂取量および摂取割合は試験設計どおり有意差が認められた($P<0.05$)。一方、総NDF摂取量には有意な差が認められず、乾物中のNDF含量は30~31%程度であった。このレベルは乳生産や第一胃内の恒常性維持にはNDF含量35%が適正とする指標(日本飼養標準,1994.1999)からすれば低かった。粗飼料に由来するNDF摂取量はTMR45区(3.96kg/日) $>$ TMR37区(3.45kg/日) $>$ TMR30区(2.67kg/日)であり、TMR区間に差が認められた($P<0.05$)。NDF摂取量の増加は乾物摂取量を制限することが報告(Mertens,1995)されているが、本試験のトウモロコシサイレージ、ヘイキューブに由来するNDFは、禾本科粗飼料の様に繊維構造が強固でなく、微細化しやすく、第一胃での分解速度が速く(Varga and Hoover,1983;日本飼養標準,1999)、粗濃比が異なっても乾物摂取量に大きく影響するような繊維でなかったと推察された。

Table 5. Feed intake of cows fed experimental total mixed rations

Item	TMR30	TMR37	TMR45	SEM
DM intake (kg)	21.5	22.6	21.3	0.8
Roughage intake (kg)	6.5 ^c	8.4 ^b	9.6 ^a	0.2
NDF intake (kg)	6.54	6.99	6.67	0.2
Roughage NDF intake(kg)	2.67 ^c	3.45 ^b	3.96 ^a	0.11
EE intake (kg)	1.25 ^b	1.43 ^a	1.55 ^a	0.05
NFC intake (kg)	9.03	9.06	8.25	0.31
TDN intake (kg)	16.9	17.6	16.8	0.6
Passage rate (% / hr)	6.01 ^a	6.35 ^a	5.27 ^b	0.20
Ruminal effective degradability (%)	79	78	78	-
Effective degradable CP (kg)	2.84	2.94	2.76	0.2

DM:dry matter, EE:ether extracts, NDF:nutral detergent fiber,

NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash).

SEM:Standard Error of Mean.

Means within the same raw with different superscripts differ(abc:P<0.05)

2) エーテル抽出物(EE)摂取量

EE 摂取量および EE 含量は, TMR45 区 (1.55kg/日, 7.3%) > TMR37 区 (1.43kg/日, 6.3%) > TMR30 区 (1.25kg/日, 5.8%) となり, TMR37, TMR45 区は TMR30 区に比較して高かった。これは, 粗濃比を変えたことによる TDN 含量の違いを, 脂肪酸カルシウムを用い同じ TDN 濃度に調整したことによる。

3) 非繊維性炭水化物(NFC)摂取量

NFC は, $NFC = 100 - (CP + EE + NDF + \text{灰分})$ により算出した。

NFC 摂取量は, TMR45 区が TMR30, 37 区に比較して少ない傾向があった(P<0.1)。給与 TMR 中の NFC 含量は TMR30 区が 41.95%, TMR37 区が 40.57%, TMR45 区が 38.78% であり粗濃比の影響を反映したものであった。NFC の過剰給与が第一胃内 pH の低下と乾物摂取量の低下を招く(Allen and Beede,1996)とされる。TMR37 区の pH が低かったが, 低級脂肪酸 VFA 濃度が高く, 酢酸/プロピオン酸比は 3.0 以上であり, 第一胃内発酵に問題はないと考えられた。

4) TDN 摂取量

TDN 摂取量は区間に有意な差が認められなかった。しかし, TMR30 区は EE 摂取量が少なく, 一方, TMR45 区は EE 摂取量が多いことから, TDN 摂取量, TDN 含量に差は認められないものの, 由来するエネルギーは異なることになる。

2 第一胃内飼料通過速度

通過速度の結果を表 5 に示した。飼料の第一胃内通過速度は TMR45 区が他の区に比較し有意に低かった

(P<0.05)。一般に, 飼料の第一胃内通過速度は NDF 摂取量が増加すれば低下する(Welch,1986;岡本,1991)とされている。本試験では, NDF 摂取量および乾物摂取量に有意な差が認められないことから, 第一胃の膨満の程度には大きな影響がなかったと考えられる。しかし, 通過速度に有意差が認められたことから, 粗飼料由来の NDF 量, 第一胃内での発酵様相や咀嚼行動が影響を与えたものと考えられた。

3 泌乳成績および体重増減量

泌乳成績, 体重増減量を表 6 に示した。

1) 泌乳成績

本試験における粗濃比の違いは, 乳量, 乳成分に影響せず区間に差が認められなかった。

乳脂率は, 各区とも NDF 含量が 30~31% であったが 3.4~3.5% に維持された。飼料中の EE 含量がいずれの区も乾物中 5% を越えており, 乳脂肪中の長鎖脂肪酸の約 90% が飼料中から直接移行する(Palmquist and Mattos,1978)ことから, これら飼料中の油脂に由来する長鎖脂肪酸が乳脂肪の材料として取り込まれ乳脂率維持に寄与したと考えられた。

乳タンパク質率は, 区間に有意な差が認められなかった。それぞれの TMR の第一胃内 CP 有効分解度を個々の飼料の分解パラメータから試算(第 3 章第 2 節から試算)すると, いずれの給与区も 78~79% であった。これは, 通過速度に及ぼす影響をできる限り粗濃比に限定するために, 粗濃比の違いによる TMR の養分濃度の違いを, 第一胃内発酵に影響を与えにくいと考えられたバイパス油脂とコーングルテンミールを用いて調整したためであり, その結果, 通過速度は異なったが有効分解度は同一の値になった。このことから, 第一胃内微生物へ供給され

Table 6. Milk production and body weight of cows fed experimental total mixed rations

Item		TMR30	TMR37	TMR45	SEM
Milk yield	(kg)	34.2	34.3	32.8	1.1
Fat	(%)	3.41	3.55	3.45	0.33
Protein	(%)	3.08	3.15	3.10	0.09
Lactose	(%)	4.62	4.59	4.54	0.03
SNF	(%)	8.69	8.73	8.64	0.07
Change of weight	(kg)	+ 1.3	- 2.0	+ 1.3	3.3

SEM:Standard Error of Mean.

た飼料 CP の分解量は差が認められなかった。しかし, TMR30 区は血液尿素窒素(BUN)値が有意に低く ($P < 0.01$), 第一胃内では, 微生物のエネルギー源としての易分解性炭水化物, NFC とのバランスにより, 微生物体タンパク質の合成が旺盛(Nocek and Russell,1988)であったと推察された。一方, TMR37, TMR45 区は, TMR30 区に比較して BUN 値が高いことから ($P < 0.05$), 第一胃内微生物のエネルギー源にならない EE 摂取量が多く (Palmquist and Conrad,1978; Nocek and Russell,1988), 微生物体タンパク質の合成が抑制(Ørskov et al.,1978; Palmquist and Conrad,1978)された可能性がある。このことから, 第一胃内での CP 有効分解度が同一であっても, 第一胃内に存在するエネルギーの質によって CP の利用が影響を受けることが示唆された。乳タンパク質率は区間に有意差が認められないことから, 乳タンパク質の原料である飼料タンパク質の利用に関して, いずれの区も第一胃内微生物体タンパク質と下部消化管到達タンパク質の総和の吸収量に差がなかったものと思われた。今後は, 第一胃内における飼料のエネルギーの種類(Nocek and Russell,1988)やバイパスしたタンパク質のアミノ酸組成の検討(阿部,1980; Ørskov,1982)が必要

と考えられた。

乳糖率, 無脂固形分率は TMR 区間に有意差が認められなかった。

2) 体重増減量

体重増減量は, TMR 区間に有意な差が認められなかった。

4 血液性状

血液性状は, TMR 区間と採血時間ごとの最小自乗平均値と検定結果について表 7 に示した。

1) ヘマトクリット(Ht)

Ht 値は TMR 区間では TMR30 区が TMR45 区に比較して有意に低かった ($P < 0.05$) が, 採血時間ごとの値には, 一定の傾向は認められなかった。

2) 総蛋白, アルブミン

総蛋白, アルブミン値は TMR 区間では差が認められなかった。これらの項目は長期的なタンパク質の栄養状態を示す指標(佐藤,1986)になるが, 本試験結果は TMR 区間に CP 摂取に関しては差がなかったことを示している。採血時間ごとの値には差が認められるものの大きな変動ではなかった。

Table 7. Least Squares mean of blood compositions among TMR diets and sampling times

Item	TMR			Sampling time					
	30	37	45	8:00	10:00	11:00	12:00	13:00	15:00
Ht	30.2 ^a	30.7	31.2 ^b	32.1 ^{Aa}	30.5 ^b	30.8 ^{Bbc}	29.5 ^{be}	30.4 ^d	31.1 ^F
Total protein(g/dl)	8.6	8.6	8.5	8.4 ^A	8.5 ^C	8.6 ^{Ea}	8.4	8.6 ^C	8.9 ^{BDFbd}
Albumin(g/dl)	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2 ^a	4.1	4.1 ^{bc}	4.1	4.2 ^d
GOT(IU/l)	52.0	56.6	50.9	52.0	51.7	52.4	51.2	54.9	56.1
GPT(IU/l)	18.8	19.7	18.2	17.4 ^A	18.7	19.3	18.8	20.3 ^B	19.0
Total cholesterol(mg/dl)	220 ^A	230 ^B	235 ^B	233	229	228	224	227	229
NEFA(mg/dl)	0.05 ^A	0.06 ^a	0.08 ^{Bb}	0.07	0.06	0.06	0.08 ^a	0.05 ^b	0.06
Glucose(mg/dl)	61.0 ^A	57.0 ^B	57.9 ^B	63.0 ^A	58.3 ^{Ba}	57.6 ^B	59.0 ^{Bc}	55.3 ^{Bbde}	58.4 ^{Bf}
Urea Nitrogen(mg/dl)	13.8 ^A	15.3 ^B	15.7 ^B	15.1	15.1	15.7 ^A	15.3	14.7	13.7 ^B
OMP(mOsm/kg)	285.1	286.0	284.4	284.5 ^a	287.1 ^{bc}	285.6	285.2	284.3 ^d	284.3 ^d
Ca(mg/dl)	11.1	10.6	10.8	10.9 ^a	10.7 ^c	10.6 ^{Ac}	10.5 ^{EGb}	11.1 ^{BF}	11.1 ^{DHd}

Means within the same raw with different superscripts differ (AB,CD,EF: $P < 0.01$, ab,cd: $P < 0.05$)

Ht: hematocrit, GOT: glutamic-oxaloacetic transaminase, GPT: glutamicpyruvic transaminase,

NEFA: non- esterified fatty acid, OMP:osmotic pressure.

(54)

3) グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT),
グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)

GOT は、いずれの区も基準値 30~90IU/l(中村ら,1973)内で推移した。GOT 活性の上昇はタンパク質の過剰摂取などによる肝機能の障害に起因することが報告(佐藤,1986)されているが、TMR 区間、採血時間ごとの値には差が認められなかった。GPT も同様に有意な差は認められず、基準値 15~30IU/l(中村ら,1973)内で推移した。

4) 総コレステロール,遊離脂肪酸(NEFA)

総コレステロール値は TMR37 区および TMR45 区が TMR30 区に比較して有意に低かった($P<0.01$)。これは、粗濃比が異なることによるエネルギー濃度の違いを油脂により調整したためであり、飼料中の EE 含量の差を反映したものと考えられた。NEFA は、TMR45 区が TMR30 区および TMR37 区に比較して高い値であった($P<0.01$ ないし $P<0.05$)。NEFA は体脂肪動員の指標(佐藤ら,1984; 佐藤,1986)とされるが本試験での TDN 摂取量は各区とも差がないため、飼料中の油脂、脂肪酸カルシウムの添加による上昇と推察された。

5) 血糖

血糖値は、TMR30 区が、TMR37 区および TMR45 区に比較して高い値を示した($P<0.01$)。これも前述のように、区間のエネルギー含量の差を、でんぷんで調整した TMR30 区と油脂で調整した他区との差が反映されたものと考えられた。採血時間間には、日内変動が認められ、飼料摂取前 8:00 が最も高く、採食に伴い血糖値の低下(佐藤ら,1984)が生じた。しかし、摂取後の 10:00 以降の時間では血糖値の推移に大きな差が認められず、基準値 50~70mg/dl(中村ら,1973)の範囲であり、TMR の不断給飼の効果と考えられた。

6) 血液尿素窒素(BUN)

BUN 値は、TMR30 区が、TMR37 区および TMR45 区に比較し低かった($P<0.01$)。飼料の第一胃内 CP 有効分解度および CP 有効分解量は区間に差がないため、第一胃内微生物の活性の違いが反映されたと考えられた。つまり、TMR30 区は、微生物の利用しやすい易分解性炭水化物としての NFC、でんぷん(Nocek and Russell,1988)などが多いが、他の区は、微生物のエネルギー源とならない油脂(Palmquist and Conrad,1978; Nocek and Russell,1988)の割合が多く、微生物の増殖が抑制された(Ørskov et al.,1978; Palmquist and Conrad, 1978)可能性がある。Mabjeesh et al.(1997)は、NSC(非構造性炭水化物)給与量を同一として、NSC 摂取量(kg)/分解性 CP 摂取量(kg)比を 3.8 と 4.2 の水準で比較し、下部

消化管への第一胃内微生物体タンパク質の移行量は後者が多く、血漿中尿素窒素(PUN)値も低いと報告している。本試験の場合、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、TMR30 区が 3.18, TMR37 区が 3.08, TMR45 区が 2.99 であり、TMR30 区で高かった。さらに EE 摂取の影響も加味され、第一胃における CP の利用に差が生じ BUN 値に影響したと考えられた。しかし、本試験の結果は、高い EE 摂取レベルにもかかわらず相対的に BUN 値のレベルは低いと考えられ、油脂が第一胃内で溶解しにくい脂肪酸カルシウムの形態であったこと、微生物のエネルギー源となる NFC レベルが高いこと、飼料通過速度が速いことなどが要因となり BUN 値のレベルが低かったと推察された。

7) 血液浸透圧

血液浸透圧は、TMR 区間に差が認められなかった。一方、採血時間間では、10:00 の値が 8:00, 13:00, 15:00 の値に比較して有意に高かった($P<0.05$)。血液浸透圧は 300mOsm/kg とされ、飼料摂取前のルーメン液浸透圧は 260mOsm/kg であり、血液浸透圧に比較して低張であることが報告されている(津田・柴田,1987)。しかし、採食 2 時間後にはルーメン液浸透圧が上昇し、血液側からルーメン側に水分が吸収される(津田・柴田,1987)。本試験では、TMR 給与前の 8:00 に比較して、8:30 の飼料給与により家畜の採食行動が促され、10:00 には採食に伴い増加する第一胃内への唾液流入や、血液中から第一胃内への水分移動(佐々木ら,1974)により、一過性のアシドーシス的傾向(佐々木ら,1974)が生じ、血液浸透圧が有意に高くなった($P<0.05$)と考えられた。その後は、TMR が自由摂取できる状況のため恒常性が維持されたと思われる。反芻行動の発現要因の一つに血液浸透圧の変化があり、高浸透圧が反芻行動を抑制することが報告(Grovum and Wever,1992)されているが、本試験の 8:00 から 15:00 までの結果では血液浸透圧と反芻行動との関連は明確ではなかった。

8) Ca

Ca は、TMR 区間には差が認められなかった。Ca はホルモン調節機能が関与し、恒常性が強く変動は少ない(佐藤ら,1984)とされているが、採血時間間では、10:00~12:00 に有意に低く推移し、基準値 9~11mg/dl(中村ら,1973)の範囲であったが、日内変動があると考えられた。

Table 8. Least Squares mean of rumen liquid contents among TMR diets and sampling times

Item	TMR			Sampling time				
	30	37	45	8:00	10:00	11:00	13:00	15:00
pH	6.77	6.57 ^b	6.89 ^a	6.95 ^{a,c}	6.85 ^e	6.73	6.55 ^{b,f}	6.64 ^d
VFA (mol%)								
Acetic acid	61.2	62.3	62.9	63.2	62.9	61.5	61.8	61.2
Propionic acid	21.4 ^a	20.0 ^a	18.5 ^b	19.1	20.3	19.4	20.8	20.2
Butyric acid	11.8 ^b	13.3 ^a	11.9 ^b	11.5	12.3	12.0	13.0	12.9
VFA (mM)								
Acetic acid	54.7 ^b	90.0 ^a	56.1 ^b	61.3	59.9	57.3	87.6	68.6
Propionic acid	18.8 ^b	29.4 ^a	17.1 ^b	19.2	19.7	18.0	29.6	22.3
Butyric acid	10.6 ^b	20.2 ^a	10.8 ^b	11.5	12.4	11.9	19.3	14.8
Total VFA concentration (mM)	89.2 ^b	145.3 ^a	89.8 ^b	98.0	96.0	92.6	142.6	111.2
Ammonium nitrogen (mg/dl)	0.096	0.096	0.083	0.113 ^a	0.106 ^a	0.090 ^c	0.099 ^a	0.058 ^{b,d}

Means within the same raw with different superscripts differ (ab,cd,ef: $P < 0.05$)

VFA: volatile fatty acid.

5 第一胃内容液性状

第一胃内容液性状は、TMR 給与区と採取時間ごとの最小自乗平均値および解析結果を表 8 に示した。

1) pH

pH 値は、TMR37 区が、TMR45 区に比較し有意に低かった ($P < 0.05$)。pH 値の低下は第一胃における飼料形態の微細化と発酵の指標(岡本,1979)とされ、TMR37 区では飼料の微細化が発酵や飼料の消化を促進し、これら食塊の下部消化管への流出を促し、第一胃内通過速度が速くなったと推測された。また、本試験における泌乳牛の pH 値は、同じ TMR を給与したフィステル牛と比較し明らかに高く推移した。これは、泌乳牛においては、飼料摂取量が多く不断給飼の条件であり、第一胃がたえず摂取飼料で希釈されるとともに、反芻による唾液流入が多く(岡本,1979)、また、第一胃内から飼料が一定の速度で流出するため pH 値の上昇が抑えられたと考えられた。TMR45 区に比べ TMR37 区の pH 値の低下は、低級脂肪酸(VFA)濃度も高かったことから、通過速度の低下によるものではなく飼料の微細化に伴う発酵の昂進によるものと考えられた。

2) 低級脂肪酸(VFA)組成

第一胃内 VFA 組成は、酢酸割合が TMR45 区で高くなる傾向にあり、プロピオン酸割合は有意に低かった ($P < 0.05$)。TMR30 区および TMR37 区は NFC 摂取量が多い傾向 ($P < 0.1$) にあり、プロピオン酸産生割合が高かった(津田・柴田,1987)と考えられた。酢酸/プロピオン酸比は、TMR30 区では 3.0 以下であったが、TMR37 区、TMR45 区は 3.1, 3.4 であり、第一胃内発酵は安定していたと考えられた。

VFA 濃度は、TMR37 区が、TMR30 区および TMR45

区に比較して有意に高かった ($P < 0.05$)。このことから、通過速度が速かった TMR37 区は、ルーメン内容物の回転率(阿部,1980)が速く、第一胃内の微生物の増殖効率が旺盛(阿部,1980;日本飼養標準,1999)であった可能性が考えられた。

6 採食・反芻行動

採食・反芻行動の結果を表 9 に示した。

1) 採食時間および速度

採食時間の違いは飼料の粗剛さを示す指標と考えられる。そこで、それぞれ 1 日 4 回の TMR 給与に伴い引き起こされる連続する採食時間合計(連続採食時間)と、1 日の総採食時間について調査した。連続採食時間は、TMR30 区が、TMR37 区および TMR45 区に比較し有意に短かった ($P < 0.05$)。また、総採食時間は、TMR30 区が TMR37 区に比較して有意に短かった ($P < 0.05$)。採食速度は、TMR30 区が TMR45 区に比較して速い傾向にあった ($P < 0.1$)。反芻動物は、採食時にはえん下に必要な程度にしか咀嚼しない習性をもち Church, 1969; Luginbuhl et al., 1989) の採食時の咀嚼による効果は、えん下食塊を形作るための微細化、飼料成分の抽出、また、第一胃内微生物に利用できるような形態への植物細胞の破壊とされる(岡本,1979)。粗剛な飼料ほどえん下時の大粒子の割合が減少することが報告(Jaster and Murphy, 1983)されており、採食速度は、一定の飼料片粒子サイズへの破碎に要する程度を示すことになり、飼料の粗剛性を示す指標となると考えられる。そのため、細切や粉碎などの飼料粒子の微細化を促す加工は採食時間を短縮し、採食速度は増加する(岡本,1979)。本試験で用いた粗飼料は微細化しやすいと考えられたが、粗飼料の絶対量の差が採食時間に有意な差をもたらす

Table 9. Rumination behavior of cows fed experimental total mixed rations

Item	TMR30	TMR37	TMR45	SEM
Continued time spent eating(min / TMR4 time per day)	135.1 ^b	192.8 ^a	195.6 ^a	17.2
Total time spent eating (min / day)	330.0 ^b	395.2 ^a	381.2	22.4
Rate of eating (gDM / min)	74.6	72.0	61.2	5.9
Total rumination time(min / day)	311.1	354.1	367.7	24.0
Number of rumination period(time / day)	11.1	10.7	10.5	0.7
Duration of rumination period(min / period)	27.3 ^b	33.0 ^a	35.3 ^a	1.5
Number of boli regurgitated / rumination period (time / period)	25.9 ^b	33.6 ^a	39.3 ^a	2.8
Number of boli regurgitated (time / day)	291.4 ^b	359.5 ^{ab}	400.2 ^a	33.8
Total rumination time / 1000g dry matter intake(sec)	850.9	908.1	999.8	63.4
Total rumination time / 1000g total NDF intake (sec)	2794.5	2931.2	3179.5	205.7
Total rumination time / 1000g roughage NDFintake (sec)	6857.3 ^a	5830.3 ^{ab}	5314.3 ^b	486.4
Total chewing time / 1000g dry matter intake(sec)	1638.0 ^b	1858.7 ^{ab}	1991.3 ^a	97.2
Total chewing time / 1000g total NDF intake(sec)	5379.0 ^b	6002.0 ^{ab}	6334.7 ^a	314.0
Total chewing time / 1000g roughage NDF intake(sec)	13178.5 ^a	11994.4 ^{ab}	10633.2 ^b	678.7
Number of chews per bolus (time)	58.9	57.5	60.0	1.1
Number of chews per bolus time(sec)	56.4	54.2	56.2	0.8

Total chewing time: Total time spend eating + Total rumination time

SEM: Standard Error of Mean.

Means within the same raw with different superscripts differ (ab: P<0.05)

たと思われる。一般に NDF 含量の増加は粗剛性を示すが、NDF 摂取量には差が認められず、採食時間は、粗飼料の NDF の量や性質に左右されたと考えられた。TMR30 区は、粗飼料割合が最も少ない物理的性質のため、連続的に口腔に取り入れ、えん下されやすかったと推察された。

2) 反芻時間

総反芻時間は、粗飼料摂取割合の多い TMR45 区で長くなる傾向にあった。反芻時間は、乾物摂取量の多少や粗飼料と濃厚飼料の比率により大きな影響を受け、濃厚飼料の比率が減少するにつれ反芻時間は増加する (Gordon, 1958; Oltjen et al., 1962)。また、反芻時間は飼料の NDF 含量と正の相関があり、第一胃内の繊維量の増加により反芻時間は増加する (Welch and Smith, 1970)。しかし、本試験では、NDF 含量は差がないものの、総反芻時間は TMR45 区で長くなる傾向が認められた。このことは、反芻時間は繊維含量だけで決定されるものでなく、NDF の性質、消化性にも影響を受けることを示唆している。

反芻の程度 (時間、頻度) は飼料の摩砕程度と関係があり、第一胃から下部消化管へ流出可能な飼料粒子サイズにするための時間の差を示し、粗い飼料粒子が反芻を刺激し、微細化は進行する。また、飼料の微細化が進むほど、第一胃内の固形物の滞留時間は短縮し飼料の下部消化管への流れが速くなる (Jaster and Murphy, 1983; Martz and Belyea, 1986; 岡本, 1991) ことが示され

ており、TMR30 区および TMR37 区は微細化が容易であったと考えられた。TMR30 区は、TMR45 区に比較して微細化が容易であったため、総反芻回数には差はないものの、1 反芻期持続時間および 1 反芻期吐出回数が少なく (P<0.05)、また、総吐出回数が少なくなり (P<0.05)、総反芻時間が短い傾向になった (P<0.1) と考えられた。飼料の微細化により第一胃内発酵が活発になり、総 VFA 濃度が高まり、pH 値は低下することから、ある程度反芻が昂進され、飼料通過速度が早く、飼料の代謝回転率が高い TMR37 区の程度の飼料構成がトウモロコシサイレージを粗飼料として用いる場合に有効と考えられた。

3) 反芻効率

効率的に第一胃内発酵を継続させるためには、第一胃の活動 (第一胃内容物の攪拌) が活発になる必要がある。そのためには、単位飼料摂取量当りの反芻時間あるいは咀嚼時間 (採食時間 + 反芻時間の総和) が長いほうが効率的となる。反芻効率では、乾物摂取量 1,000g 当りの総反芻時間は、粗飼料摂取量の多い TMR45 区が TMR30 区に比較して長い傾向にあった (P<0.1)。摂取総 NDF 1,000g 当りの総反芻時間は、区間に差が認められなかった。飼料の第一胃内滞留時間に影響すると考えられる粗飼料由来の NDF 1,000g 当りの総反芻時間は TMR30 区が TMR45 区に比較して長く (P<0.05)、反芻により効率的に粗飼料 NDF が微細化され、通過速度が速くなった (P<0.05) と推察された。つまり、TMR30 区

は粗飼料由来の NDF 摂取量が少ないが、粗飼料由来 NDF1,000g 当りの総反芻時間が長かったことから、単位重量当りの NDF に対してより効率的に反芻が行われたと考えられた。一方、TMR45 区は、粗飼料由来の NDF1,000g 当りの総反芻時間が TMR30 に比較し短く ($P<0.05$) 反芻効率が低下しており、その結果、飼料の微細化に時間を要し、飼料の滞留時間が長く、通過速度が遅くなった ($P<0.05$) と考えられた。

乾物摂取量 1,000g、総 NDF1,000g および粗飼料由来 NDF1,000g 当りの総咀嚼時間は総反芻時間の場合と同様の傾向であるが有意差 ($P<0.05$) が認められた。

4) 咀嚼回数および咀嚼時間

反芻の質的变化を示す(岡本,1979)と考えられる 1 吐き戻し食塊当りの咀嚼回数、および、咀嚼時間には各 TMR 区間に差が認められなかった。このことから、農家において、同一牛群内で粗飼料乾物摂取割合が 30~45% 程度の TMR を摂取している場合には、乳牛ごとに微細化様相の全く異なる粗飼料を摂取している場合を除き、1 吐き戻し食塊当りの咀嚼時間また咀嚼回数により粗飼料の給与量の多寡を評価することはできないと考えられた。

以上の結果から、トウモロコシサイレージを主体とする TMR の場合、粗飼料乾物摂取割合が 30~45% であれば、乾物摂取量、泌乳成績に関して大きな差はないと考えられた。

トウモロコシサイレージを用いた TMR の場合、飼料の特性としてでんぷんを多く含むため、第一胃内微生物へのエネルギーとしての NFC 含量が高い。また、通過速度が 6.00%/hr 前後と速いことで飼料 CP 分解量が抑えられ、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、TMR 30 区が 3.18、TMR37 区が 3.08、TMR45 区が 2.99 となった。この結果、BUN 値も相対的に低く推移したと考えられた。一方、VFA 産生割合から考慮した場合、トウモロコシサイレージ摂取割合が 30% 区では、酢酸/プロピオン酸比が 3.0 以下となり、微生物活性が抑制される可能性があることから、粗飼料摂取割合は 37% 以上に設定すべきと考えられた。

第2節 イタリアンライグラスサイレージ主体の粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響

緒言

粗飼料としてトウモロコシサイレージを主体とし、粗濃比を 30:70, 37:63, 45:55 とした TMR を給与した場合、粗飼料に由来する NDF 摂取量の違いが飼料の第一胃内通過速度に影響した(第 5 章第 1 節)。この飼料の通過速度は飼料構成、特に粗濃比や繊維量に影響され(Welch, 1986)、反芻行動を変化させ(Gordon, 1958; Welch and Smith, 1970)、第一胃内での消化率や CP 有効分解度が大きく影響されると考えられた。

今回は、トウモロコシサイレージとは繊維の性質が異なり、第一胃内での分解速度が異なる(阿部ら, 1991)と予想される禾本科のイタリアンライグラスサイレージを主体とした混合飼料(TMR)を用い、トウモロコシサイレージ主体 TMR の飼養試験(第 5 章第 1 節)と同様に、泌乳前期に給与する粗飼料乾物割合を最大 45% から最少 30% の範囲に想定し、CP 含量、TDN 含量を同一とした TMR の給与が、乳量、乳タンパク質率、飼料の通過速度、反芻行動、血液性状および第一胃内容液性状に及ぼす影響を調査した。

試験方法

1 供試牛

ホルスタイン種乳用雌牛 6 頭を用いた。飼養試験開始 1 週間前の供試牛の泌乳成績は表 1 に示した。搾乳時間は朝 8:30、夕 17:00 の 2 回搾乳とした。

2 給与飼料

粗飼料はイタリアンライグラスサイレージとヘイキューブを用い、濃厚飼料は 10 種類を用い、粗濃比を乾物比で 30:70 (TMR30)、37:63 (TMR37)、45:55 (TMR45) に調製した TMR を給与した。CP および TDN 含量を同一にするため、コーングルテンミールと脂肪酸カルシウムを用いて調整した。TMR 構成飼料原料の成分値および混合割合については表 2、表 3 および表 4 に示した。

なお、イタリアンライグラスサイレージは、平均切断長を 3.39 ± 2.32 cm (茎部分の測定値の平均 \pm 標準偏差) で調製したものをを用いた。

試験前の馴致、給与量、給与時間はトウモロコシサイ

Table 1. Using Holstein cows for experiment

CowNo	delivery day	time	weight (kg)	Milk (kg)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)	days after delivery* (day)
1	1997,07,22	4	615	36.4	4.71	3.02	4.43	8.45	74
2	1997,07,10	2	644	36.1	4.25	3.15	4.56	8.72	86
3	1997,07,30	4	645	31.5	4.09	2.93	4.58	8.51	66
4	1997,02,16	3	599	31.6	4.35	3.11	4.42	8.53	230
5	1997,04,06	2	664	35.6	4.80	3.38	4.40	8.78	181
6	1997,04,07	2	674	38.5	3.77	2.82	4.57	8.39	180
Average			640	35.0	4.33	3.07	4.49	8.56	136
±SD			±29	±2.8	±0.39	±0.19	±0.08	±0.15	±69

Average data of one week before an examination started.

SD: standard error.

Table 2. Chemical compositions of roughages and concentrates of total mixed ration on dry matter basis(%)

	DM	CP	EE	Cfi	NFE	NDF	NFC	Ash	TDN
	DM%								
Corn	91.57	8.85	5.75	1.39	82.34	10.21	73.52	1.67	93.91
Barley	88.67	11.11	2.47	4.14	79.84	20.20	63.77	2.45	84.94
Wheat bran	87.75	17.44	5.40	9.34	62.29	31.48	40.15	5.53	73.51
Beet pulp	90.31	8.66	0.83	17.67	65.62	45.38	37.90	7.23	75.32
Soybean dry heated	96.84	40.41	21.88	3.54	28.55	7.63	24.45	5.63	107.98
Soybean meal	89.94	49.08	0.98	5.55	37.42	11.22	31.74	6.98	86.27
Soybean hulls	93.25	17.51	3.76	24.25	46.97	45.47	25.76	7.50	67.53
Cotton seed	92.35	21.16	22.22	19.61	33.19	50.45	2.35	3.82	91.49
Corn gluten meal	91.06	70.15	2.05	0.70	25.69	6.54	19.85	1.41	91.49
Fatty acid calcium salt	98.41	0	83.60	0	0	0	0	24.20	176.81
Italian rygrass silage	15.39	7.36	2.29	36.65	41.68	65.99	12.34	12.02	64.16
Alfalfa hay cube	89.37	18.06	2.57	28.55	39.40	44.55	23.41	11.41	59.86

DM:dry matter, CP:crude protein, EE:ether extracts, Cfi:crude fiber, NFE:nitrogen free extracts,

NDF:neutral detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash),

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995).

Table 3. Ingredients of Total Mixed Ration which Italian rygrass silage was used(as fed basis %)

Mixed concentrate		Mixed roughage	
Feed	ratio (%)	Feed	ratio (%)
Corn	16.7	Italian rygrass silage	85.0
Barley	16.7	Alfalfa hay cube	15.0
Soybean dry heated	11.1		
Soybean meal	5.5		
Wheat bran	16.7		
Beet pulp	16.7		
Cotton seed	5.5		
Soybean hulls	11.1		

Table 4. Ingredients and chemical compositions in Total Mixed Rations (%DM)

	TMR30	TMR37	TMR45
Mixed concentrate	69.7	60.7	51.4
Corn gluten meal	-	1.6	2.2
Fatty acid calcium salt	-	0.6	1.3
Mixed roughage	30.3	37.1	45.1
Dry matter	49.7	45.1	40.7
Crude protein	16.5	16.6	16.5
TDN	77.8	77.7	77.7
EE	5.3	6.0	6.9
NDF	36.9	38.4	40.3
NFC	34.4	31.4	27.9

TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995),

EE:ether extracts, NDF:neutral detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash).

レージ主体 TMR 給与試験と同様とした。つまり、試験開始前 14 日間は馴致のため TMR30 を給与し、試験開始前 1 週間の平均乳量と乳脂率および試験開始前 3 日間連続で測定した体重の平均値を基準に、日本飼養標準(1994)の乾物必要量の 110%を全試験期間の TMR 給与量とした。それぞれの TMR は、8:40, 11:00, 15:00, 17:00 に 1 日の給与量の 1/4 ずつを 4 回に分けて給与した。また、通過速度計測用の標識として単投与する乾熱大豆に馴致するため、朝 8:30 に乾熱大豆 500g を塩ビ容器(幅 25cm×長さ 35cm×高さ 15cm)で別給与した。通過速度測定のための標識乾熱大豆は、TMR30 区は希土類元素の塩化ディスプロシウム六水和物($\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ =原子量 376.9), TMR37 区は塩化イッテルビウム六水和物($\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ =原子量 387.5), TMR45 区は塩化ランタン七水和物($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ =原子量 371.4)を用いスプレーにより標識した。ミネラルは 8:40, 17:00 に 1 日所要量の各 1/2 量ずつを TMR にトップドレッシングした。飲水はウォーターカップによる自由飲水とした。

3 試験区および調査項目

試験は予備飼養期間 9 日間、本試験 5 日間とし、3 期からなる 3×3 のラテン方格法(吉田,1983)を用いた。調査項目、成績についての取りまとめおよび成績の統計処理、その他はトウモロコシサイレージ主体 TMR 給与試験(第 5 章第 1 節)と同様とした。

結果および考察

飼料摂取量、通過速度および第一胃内 CP 有効分解度を表 5 に示した。

1 飼料摂取量

1) 乾物摂取量, 粗飼料摂取量, 粗飼料摂取割合および中性デタージェント繊維(NDF)摂取量

乾物摂取量は、TMR の粗飼料割合の増加に伴い低下し、TMR45 区が TMR30 区に比較して低かった ($P < 0.05$)。粗飼料乾物摂取量および摂取割合は試験設計どおり有意差 ($P < 0.05$)が認められたが、NDF 摂取量には差が認められなかった。本試験の NDF 含量はトウモロコシサイレージ主体 TMR 試験の値と比較し、3~6%程度高く、サイレージ中の含量の差に由来するものであった。飼料中の NDF 摂取量の増加は乾物摂取量を低下させる(Varga and Hoover,1983;岡本,1991)ことが報告されているが、本試験は飼料全体の NDF 摂取量には区間差が認められなかったが、粗飼料に由来する NDF 摂取量は TMR45 区(5.61kg/日) > TMR37 区(4.90kg/日) > TMR30 区(4.21kg/日)であり、TMR 区間に差が認められた ($P < 0.05$)。

フィステル装着牛に対して、フィステルから第一胃内に非栄養性の増量材を投入すると、採食量が減少することが報告されている(津田・柴田,1987)。このことから、イタリアンライグラスサイレージなどの粗飼料由来の NDF は濃厚飼料由来の NDF に比較し粗剛性が強く、第一胃の膨満度に及ぼす効果が大きいため、TMR45 区は乾物摂取量が抑えられたと考えられた。本試験の場合、粗飼料給与割合の増加が乾物摂取量の低下に及ぼした影響はトウモロコシサイレージを用いた TMR の場合と異なり大きいことから、イタリアンライグラスサイレージの繊維は、構造が強固であり、微細化しにくく、第一胃での分解速度が遅い(Varga and Hoover,1983;阿部ら,1991;Andrighetto et al.,1993)と推察された。イタリアンライグラスサイレージを用いた TMR を調製する場合、エネルギー摂取量を増加させるには、粗飼料割合は乾物で 30%程度にまで低下させる必要があると考えられた。さらに、本試験での切断長は 3.39cm(平均)であったが、粗飼料の切断

Table 5. Feed intake of cows fed experimental total mixed rations

	TMR30	TMR37	TMR45	SEM
DM intake (kg)	23.0 ^a	21.8 ^{a,b}	20.5 ^b	0.4
Roughage intake (kg)	7.0 ^c	8.1 ^b	9.3 ^a	0.1
NDF intake (kg)	8.48	8.39	8.28	0.18
RoughageNDF intake(kg)	4.21 ^c	4.90 ^b	5.61 ^a	0.11
EE intake (kg)	1.22 ^c	1.31 ^b	1.42 ^a	0.03
NFC intake (kg)	7.91 ^a	6.86 ^b	5.73 ^c	0.14
Crude Protein intake (kg)	3.79 ^a	3.62 ^{a,b}	3.39 ^b	0.07
TDN intake (kg)	17.9 ^a	17.0 ^{a,b}	16.0 ^b	0.3
Passage rate (% / hr)	5.55 ^a	4.55 ^b	5.34 ^a	0.10
Ruminal effective degradability(%)	81.3	82.0	78.9	-
Effective degradable CP(kg)	3.08 ^a	2.97 ^a	2.68 ^b	0.06

Means within the same raw with different superscripts differ (abc:P<0.05)

DM:dry matter, EE:ether extracts, NDF:nutral detergent fiber,

NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash).

SEM:Standard Error of Mean.

長の違いは乾物摂取量に影響する(Castle et al.,1979)と考えられ、泌乳前期における乾物摂取量向上のために、切断長の違いが飼料摂取量、飼料通過速度および泌乳成績に及ぼす影響について併せて検討する必要がある。

2) エーテル抽出物(EE)摂取量

EE 摂取量および EE 含量は、TMR45 区(1.42kg/日, 6.9%) > TMR37 区(1.31kg/日, 6.0%) > TMR30 区(1.22kg/日, 5.3%)であり、TMR 区間に差が認められた(P<0.05)。これは、粗濃比による養分濃度の異なる TMR を同一 TDN 含量への調整するため、脂肪酸カルシウムを用いたことによる。

3) 非繊維性炭水化物(NFC)摂取量

NFC 摂取量は、TMR30 区(7.91kg/日, 34.4%) > TMR37 区(6.86kg/日, 31.4%) > TMR45 区(5.73kg/日, 27.9%)であり、TMR 区間に差が認められた(P<0.05)。第一胃内微生物は、第一胃内易分解性炭水化物の存在下で増殖する(Nocek and Russell,1988)ことが報告され、TMR45 区は NFC 含量が 30% 以下であり、微生物への易分解性炭水化物のレベルが明らかに低いと思われた。イタリアンライグラスサイレージを粗飼料源として粗飼料割合を 45% 程度に設定する場合、NFC のレベルを上げることが困難であり、この点からも粗飼料割合を低下させる必要があると考えられた。

4) CP 摂取量

CP 摂取量は TMR30 区が TMR45 区に比較して高かった(P<0.05)。この差は、TMR 中の CP 含量は同一であることから、乾物摂取量の違いに由来するものであった。

5) TDN 摂取量

TDN 摂取量は、TMR30 区が TMR45 区に比較して高かった(P<0.05)。しかし、TMR30 区は EE 摂取量が少なく、NFC 摂取量、NFC 含量が多く、一方、TMR45 区は EE 摂取量が多く NFC 含量が低いため、TDN 摂取量、TDN 含量に差は認められないものの、由来するエネルギーは大きく異なった。飼料が高 EE 含量のものである場合、TDN 量は反芻胃内発酵の程度を示す指標にほとんどなりえないこと(Satter and Roffer,1975)、また、本試験では第一胃内で溶解しにくい脂肪酸カルシウムの添加であったが、高 EE 含量の飼料は第一胃内微生物の活性を阻害すること(Ørskov et al.,1978;Palmquist and Conrad,1978)、さらに、NFC 含量および NFC 摂取量が低いことから、TMR45 区は、微生物体タンパク質合成量が抑制された可能性がある。

6) 第一胃内飼料通過速度

第一胃内飼料通過速度を表 5 に示した。

飼料の第一胃内通過速度は TMR37 区が他の区に比較して有意に低かった(P<0.05)。一般に、乾物摂取量の増加は、飼料の第一胃内通過速度を早くする(Eliman and Ørskov,1984)。また、飼料の第一胃内通過速度は NDF 摂取量が増加すれば低下すると報告(Welch,1986;岡本,1991)されている。本試験では、NDF 摂取量に差が認められなかったが、通過速度に有意差が認められたことから、発酵様相や単位摂取量に対する咀嚼程度、反芻効率の違いが、飼料の微細化様相に影響を与えたものと考えられた。トウモロコシサイレージ主体 TMR に比較して、第一胃内飼料通過速度は 1%/hr 程度遅く、また、総咀嚼時間が長いことから、繊維の性質の違いが想像された。

7) 第一胃内 CP 有効分解度および第一胃内 CP 分解量

第一胃内 CP 有効分解度(dg)は, TMR 飼料原料の分解パラメータ平均値(第 3 章第 2 節)と本試験の通過速度の値を用い, $dg = a + bc/(c + k)$ (Ørskov and M-

cDonald,1979)に当てはめ算出した。その結果, 第一胃内微生物に利用可能な CP 量(CP 有効分解量)は, TMR30 区が 3.08kg, TMR37 区が 2.97kg であり, TMR45 区の 2.68kg に比較して大きい値を示した($P < 0.05$)。

Table 6. Milk production and body weight of cows fed experimental total mixed rations

Item		TMR30	TMR37	TMR45	SEM
Milk yield	(kg)	36.6 ^a	35.9 ^a	34.1 ^b	0.5
Fat	(%)	4.31	4.50	4.76	0.17
Protein	(%)	3.18	3.04	3.06	0.06
Lactose	(%)	4.57 ^a	4.45 ^{ab}	4.39 ^b	0.04
SNF	(%)	8.74 ^a	8.49 ^{ab}	8.45 ^b	0.08
Change of weight	(kg)	+ 5.3	+ 3.5	+ 6.1	5.0

SEM:Standard Error of Mean

Means within the same raw with different superscripts differ(ab:P<0.05)

2 泌乳成績および体重増減量

泌乳成績, 体重増減量を表 6 に示した。

1) 泌乳成績

乳量は TMR30 区, TMR37 区が TMR45 区に比較して有意に多かった($P < 0.05$)。これは, 飼料摂取量の違いと考えられ, TDN 摂取量は TMR45 区が TMR30 区に比較し 1.9kg/日, TMR37 区が TMR30 区に比較し 0.9 kg/日少なかったためと考えられる。しかし, 乳量 1kg 生産に必要な TDN 量から考えれば, 乳量差は小さかった。

乳脂率は, TMR 中の NDF 含量が 36.9 ~ 40.3% と高く, トウモロコシサイレージ主体 TMR 給与時より高く維持されたが, 区間に差は認められなかった。

乳タンパク質率は区間に差が認められないものの TMR30 区が高い傾向にあった($P < 0.1$)。それぞれの TMR の第一胃内 CP 有効分解度を個々の飼料から試算(第 3 章第 2 節)すると, TMR30 区が 81.3%, TMR37 区が 82.0%, TMR45 区が 78.9% であり, 乾物摂取量を勘案すれば, TMR30 区が最も第一胃内 CP 有効分解量が多かった。しかし, 血液尿素窒素(BUN)値は TMR30 区(16.8mg/dl) < TMR37 区(17.9mg/dl) < TMR45 区(19.4mg/dl) であり, TMR45 区が有意に高かった($P < 0.01$ or $P < 0.05$)。このことは, NFC 摂取量に対する CP 有効分解量の割合に関係すると考えられた。つまり, TMR30 区は第一胃内容液の VFA 濃度が高く, NFC 摂取量が多く微生物体タンパク質の合成が旺盛(Nocek and Russell,1988)であり, 分解性 CP の効率的利用がなされたと考えられた。一方, TMR37, TMR45 区は, TMR30 区に比較して EE 摂取量が多く, EE は第一胃内微生物のエネルギー源になり得ない(Nocek and Russell,1988;Palmquist and Conrad,1978)こと, 第一義的にも第一胃内微生物の合成量に関係する NFC 含量

(Nocek and Russell,1988)が低いことから, 微生物体タンパク質の合成が抑制され, 分解性 CP の利用も低かったと考えられた。その結果, BUN の値は, TMR30 区が低く, TMR45 区が高い値を示した。

乳糖率, 無脂固形分率は TMR30 区が TMR45 区に比較して高く($P < 0.05$), 生乳取り引き基準値の 8.5% を上回った。これらの成分はエネルギー摂取量との相関が高く, TDN 摂取量の違いが影響したものと考えられる。このことから, 無脂固形分率を取引基準の 8.5% 以上で推移させるためには, NFC レベルは少なくとも飼料乾物中 34 ~ 35% 以上に設定する必要があると考えられた。また, 既報(新出ら,1997.1999)から考慮すれば, NDF 含量に対する NFC 含量の割合は 0.9 ~ 1.2 の範囲にすべきと考えられた。

2) 体重増減量

体重増減量は, TMR 区間に有意な差が認められなかった。

Table 7. Least square means of blood compositions per total mixed rations and sampling times

Item	TMR			Sampling time					
	30	37	45	8:00	10:00	11:00	12:00	13:00	15:00
Ht	30.9	30.2	30.8	29.5 ^{Aa}	30.3	30.8 ^b	30.5	31.1 ^B	31.5 ^B
Total blood protein (g/dl)	8.9 ^A	8.6 ^B	8.7	8.6 ^{Aa}	8.6 ^c	8.7	8.7	8.9 ^{Bd}	8.8 ^b
Albumin(g/dl)	4.3	4.3	4.3	4.3 ^A	4.2 ^A	4.4 ^B	4.3	4.3	4.4
GOT (IU/l)	47.9 ^{Aa}	40.2 ^B	45.3 ^{Ab}	40.4 ^A	42.2 ^{Bc}	45.7 ^{Bb}	44.2 ^{Bc}	46.7 ^{BD}	47.6 ^{BDd}
GPT (IU/l)	17.2	16.1	17.3	17.5 ^a	15.6 ^{bc}	16.2	16.3	17.4	18.2 ^d
Total cholesterol(mg/dl)	260 ^{Aa}	285 ^b	314 ^{Bc}	297	279	286	282	289	286
NEFA (mg/dl)	0.11 ^A	0.14 ^{Ba}	0.13 ^{Bb}	0.14 ^a	0.12	0.12	0.11 ^b	0.13	0.11 ^b
Glucose(mg/dl)	66.4 ^A	64.1 ^A	59.6 ^B	66.1 ^{Aa}	62.6 ^b	62.4 ^b	61.3 ^B	65.0	62.7 ^b
Urea Nitrogen (mg/dl)	16.8 ^{Aa}	17.9 ^{Ab}	19.4 ^B	17.2 ^a	18.2	18.4	18.6 ^b	18.3	17.2
OMP(mOsm/kg)	263.6	262.1	264.3	261.7	263.1	264.1	263.2	261.7	266.1
Ca(mg/dl)	11.5	11.2	11.3	11.4	11.1 ^a	11.3	11.3	11.3	11.7 ^b

Means within the same raw with different superscripts differ(AB,CD:P<0.01 ab,cd:P<0.05).

Ht: hematocrit, GOT: glutamic-oxaloacetic transaminase, GPT: glutamic pyruvic transaminase,

NEFA: non- esterified fatty acid, OMP:osmotic pressure.

3 血液性状

血液性状は、TMR 区間と採血時間ごとの最小自乗平均値と検定結果について表 7 に示した。

1) ヘマトクリット(Ht)

Ht 値は TMR 区間に差が認められなかった。採血時間ごとの値では、TMR 摂取前 8:00 が低い傾向であった。

2) 総蛋白, アルブミン

総蛋白は、TMR30 区が TMR37 区に比較して有意差が認められた(P<0.01)が大きな差ではなかった。アルブミン値は TMR 区間に差が認められなかった。これらの値は長期的なタンパク質の栄養状態を示す指標(佐藤,1986)になるが、本試験結果は TMR 区間に CP 摂取に関しては差がなかったと考えられた。採血時間ごとの値には差が認められるものの大きな変動ではなかった。

3) グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)

GOT は、いずれの区も基準値 30~90IU/l(中村ら, 1973)内で推移したが、TMR37 区が有意に低かった。GOT 活性の上昇はタンパク質の過剰摂取などによる肝機能の障害に起因することが報告(佐藤,1986)されているが、TMR 区間、採血時間ごとの値には差が認められなかった。GPT は区間に有意な差は認められず、基準値 15~30IU/l(中村ら,1973)内で推移した。

4) 総コレステロール, 遊離脂肪酸(NEFA)

総コレステロール値は TMR30 区が、TMR37 区および

TMR45 区に比較して低かった(P<0.05)。これは、粗濃度が異なることによるエネルギー濃度の違いを油脂により調整したためであり、飼料中の EE 含量の差を反映したものと考えられる。NEFA は、TMR37 区が他の区に比較して高く、TMR30 区が最も低い値であった(P<0.01 ないし P<0.05)。NEFA は体脂肪動員の指標(佐藤ら,1984;佐藤,1986)とされる。本試験での TDN 摂取量は TMR30 区が高く、体重も増加しており、体脂肪の動員は抑制されていたと考えられた。さらに、TMR37 区、45 区における NEFA の値は飼料中の油脂、脂肪酸カルシウムの添加により上昇したと推察された。

5) 血糖

血糖値は、TMR45 区が、TMR30 区および TMR37 区に比較して低い値を示した(P<0.01)。これも前述のように、区間のエネルギー含量の差を、でんぷんで調整した TMR30 区と油脂で調整した他区との差が反映されたものと考えられた。採血時間間には、日内変動が認められ、飼料摂取前 8:00 が最も高く、採食に伴い血糖値の低下が生じた。この現象は佐藤ら(1984)も報告している。しかし、摂取後の 10:00 以降の時間では血糖値の推移に大きな差が認められず、基準値 50~70mg/dl(中村ら, 1973)の範囲であり、TMR の不断給飼の効果と考えられた。

6) 血液尿素窒素(BUN)

BUN 値は、TMR30 区が、TMR37 区および TMR45 区に比較して低い値を示した(P<0.01 or P<0.05)。飼料の第一胃内 CP 有効分解度および CP 有効分解量は、

それぞれ TMR30 区が 81.3%, 3.08kg, TMR37 区が 82.0%, 2.97kg, TMR45 区が 78.9%, 2.68kg であった。

一般に BUN 値の増加は分解性タンパク質の過剰, エネルギー不足で生じる(日本飼養標準, 1999)。しかし, 本試験では分解性の CP 摂取量と BUN 値は逆の関係となり, 分解性の CP 摂取量が少ない TMR45 区が高い BUN 値を示した。これは, 第一胃内微生物の活性の違いが反映されたものと考えられる。すなわち, TMR30 区は, 微生物の利用しやすい易分解性炭水化物としてのでんぷん(Nocek and Russell, 1988)を含む NFC 含量が高いが, TMR45 区は微生物のエネルギー源とならない油脂のレベルが高く (Nocek and Russell, 1988; Palmquist and Conrad, 1978), さらに, NFC 含量が明らかに低いことから, 微生物の増殖が抑制された(Ørskov et al., 1978; Palmquist and Conrad, 1978)と考えられた。その結果, 第一胃内でのアンモニアの利用に差が生じたと思われた。一方, TMR30 区は, TMR45 区に比較して第一胃内での微生物体タンパク質合成が旺盛であり, 第一胃内における CP 分解に伴うアンモニアの利用も効率的であったと考えられる。しかし, 本試験の BUN 値は, トウモロコシサイレージ主体 TMR の給与試験(第 5 章第 1 節)に比較し総体的に高い。本試験の場合, NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は, TMR30 区が 2.57, TMR37 区が 2.30, TMR45 区が 2.13 であり, NFC の給与水準が低いこと, 飼料の第一胃内通過速度が遅いことが原因と考えられた。

採血時間間では, TMR 摂取前の 8:00 が最も低く, TMR 摂取後上昇するという日内変動が観察された。

7) 血液浸透圧

血液浸透圧は, TMR 区間に有意な差が認められなかった。一方, 採血時間間においても有意な差は認められなかった。文献値では, 血液浸透圧は 300mOsm/kg, 飼料摂取前のルーメン液浸透圧は 260mOsm/kg であり, 血液浸透圧に比較して低張であると(津田・柴田, 1987)している。しかし, 本試験は TMR 摂取前 8:00 の血液浸透圧が 261.7mOsm/kg, ルーメン液浸透圧は 259.2mOsm/kg であった。また, 10:00 の採血時にも血液浸透圧, ルーメン浸透圧に大きな変化は認められなかった。これは, トウモロコシサイレージ主体 TMR の摂取の場合と異なり, イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR は, 粗飼料の NDF 含量が高く粗剛性が強いいため, 採食時間がいずれの TMR 区においても 2 倍程度長く, 採血時の 10:00 にはまだ TMR を継続して採食中であり, 血液からルーメンへの劇的な水分吸収が生じていなかったためと考えられた。

8) Ca

Ca は, TMR 区間には有意な差が認められなかった。

Ca はホルモン調節機能が関与し, 恒常性が強く変動は少ない(佐藤ら, 1984)とされているが, 採血時間間では, 10:00 に有意に低く推移したが, 基準値 9~11mg/dl (中村ら, 1973)の範囲であった。

血液性状のいずれも TMR と採血時間間に交互作用は認められなかった。

4 第一胃内容液性状

第一胃内容液性状は, TMR 給与区と採取時間ごとの最小自乗平均値および解析結果を表 8 に示した。

1) pH

pH 値は, TMR30 区が, TMR37 区および TMR45 区に比較し低かった($P < 0.05$)。pH 値は, 粗飼料摂取割合が低下すると低く推移することが報告され, また, pH 値の低下は第一胃における飼料形態の微細化と発酵の指標(岡本, 1979)であり, TMR30 区では微細な飼料構成が発酵や飼料の消化を促進し, これら食塊の下部消化管への流出が促されたと推測される。

2) 低級脂肪酸(VFA)組成

第一胃内 VFA 割合は, いずれの TMR 区間にも差が認められず, NFC 摂取量や粗飼料に由来する NDF 摂取量の違いは影響していなかった。採取時間間では酢酸割合は 8:00 に高く, 一方, 酪酸割合は 8:00 に低く, 酢酸と逆のパターンであった。

VFA 濃度は, TMR30 区が, TMR45 区に比較して高かった($P < 0.05$)。また, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸濃度はいずれも TMR30 区が TMR45 区に比較して高い値を示した。このことから, TMR30 区は第一胃内微生物のエネルギー源である NFC 含量が高く, 微生物の活性が向上しており第一胃内での発酵が容易であったことが推測され, ルーメン内容物の回転率(阿部, 1980)が速く, 第一胃内の微生物の増殖効率が旺盛(阿部, 1980)であったと考えられる。しかし, トウモロコシサイレージ主体 TMR 給与に比べ, 微生物活性は低いと考えられた。

第一胃内容液性状のいずれも, TMR と採取時間間に交互作用は認められなかった。

Table 8. Least square means of ruminal compositions per total mixed rations and sampling times

Item	TMR			Sampling time					
	30	37	45	8:00	10:00	11:00	12:00	13:00	15:00
pH	6.94 ^A	7.13 ^B	7.20 ^B	7.31 ^{Aa}	7.06 ^B	7.05 ^B	7.13 ^b	6.99 ^B	6.99 ^B
VFA (mol%)									
Acetic acid	67.4	67.6	67.3	69.8 ^{Aa}	66.5 ^B	67.1 ^B	65.9 ^B	67.6 ^b	67.5 ^b
Propionic acid	18.5	18.6	18.6	18.5	18.4	18.0	19.1	18.6	18.9
Butyric acid	14.2	13.8	14.1	11.8 ^A	15.1 ^{Ba}	14.9 ^B	15.0 ^{Ba}	13.8 ^B	13.6 ^{Bb}
VFA (mM)									
Acetic acid	49.2 ^A	44.7	40.6 ^B	40.5 ^a	46.4	42.9	42.1	48.0	49.1 ^b
Propionic acid	13.6 ^a	12.4	11.6 ^b	10.8 ^a	12.9	11.7	12.6	13.3	13.8 ^b
Butyric acid	10.7 ^{Aa}	9.2 ^b	8.8 ^B	6.9 ^A	10.7 ^B	10.0 ^B	9.8 ^B	9.8 ^B	10.0 ^B
Total VFA concentration(mM)	73.4 ^A	66.3	61.0 ^B	58.3 ^a	70.1 ^b	64.6	64.5	71.0 ^b	72.9 ^b
Ammonium nitrgen (mg/dl)	0.090	0.094	0.080	0.089	0.114 ^{Aa}	0.081 ^b	0.080 ^b	0.079 ^B	0.087 ^b
OMP(mOsm/kg)	261.7 ^a	256.2	251.4 ^b	259.2	258.9	252.4	263.2 ^a	250.7 ^b	253.9

Means within the same raw with different superscripts differ(AB:P<0.01 ab:P<0.05).

VFA:volatile fatty acid, OMP:osmotic pressure.

Table 9. Rumination behaviors of cows fed experimental total mixed rations

Item	TMR30	TMR37	TMR45	SEM
Total time spent eating (min / day)	371.3 ^b	390.7 ^{ab}	408.2 ^a	12.1
Rate of eating (gDM / min)	67.8 ^a	58.0 ^b	53.9 ^b	3.4
Total rumination time (min / day)	500.4	520.5	540.9	18.2
Total chewing time (min / day)	871.8 ^b	911.1 ^{ab}	949.1 ^a	21.8
Number of rumination period (time / day)	12.9	13.0	12.7	0.5
Duration of rumination period (min / period)	39.5	40.4	42.9	1.3
Number of boli regurgitated (time / day)	563.3 ^b	555.4 ^{ab}	599.3 ^a	24.7
1 Number of boli regurgitated / rumination period (time / period)	43.9	43.1	47.5	1.4
Rumination lagtime (min)	121.2	132.3	113.1	9.8
Total rumination time / 1000g dry matter intake (sec)	1269.8 ^b	1391.5 ^{ab}	1526.2 ^a	49.5
Total rumination time / 1000g total NDF intake (sec)	3441.2	3624.0	3787.1	126.6
Total chewing time / 1000g dry matter intake (sec)	2215.9 ^c	2436.2 ^b	2682.0 ^a	63.5
Total chewing time / 1000g total NDF intake (sec)	6005.1 ^b	6344.3 ^{ab}	6655.1 ^a	162.9
Number of total chews (time / day)	33967.2 ^b	35254.3 ^{ab}	37266.7 ^a	829.5
Number of chews per rumination bolus (time / period)	2481.3	2491.5	2731.7	117.1
Number of chews per bolus (time)	55.5 ^b	61.1 ^a	57.7	1.9
Number of chews per bolus time (sec)	51.5 ^a	52.1 ^a	49.2 ^b	0.4
Rate of chewing per rumination bolus (time / min)	65.2	70.2	70.5	2.0

Total chewing time: Total time spend eating + Total rumination time.

Rumination lagtime: times between ruminations. SEM:Standard Error of Mean

Means within the same raw with different superscripts differ(abc:P<0.05)

5 採食・反芻行動

採食・反芻行動は、TMR 給与区と採取時間ごとの最小自乗平均値および解析結果を表 9 に示した。

1) 採食時間および採食速度

総採食時間は、TMR30 区が TMR45 区に比較し短かった(P<0.05)。採食速度は、TMR30 区が TMR37 区お

よび TMR45 区に比較して速かった(P<0.05)。反芻動物は、採食時にはえん下に必要な程度にしか咀嚼しない習性をもつ Church,1969;Luginbuhl et al.,1989)が、粗剛な飼料ほどえん下時の大粒子の割合が減少することが報告(Jaster and Murphy,1983)されており、採食速度は、一定の飼料片粒子サイズへの破碎に要する程度を

示すことになり、飼料の粗剛性を表現する指標となると考えられる。一般に NDF 含量の増加は粗剛性が高いことを示す(岡本,1979)。TMR45 区は他の区に比較して NDF 摂取量に差は認められないが、濃厚飼料由来の微細な NDF に比較し、サイレージなどの粗飼料の大粒子飼料片が多く粗剛な物理的性質のため、えん下時の抵抗が強いと考えられる。Mertens(1997)は食品副産物の NDF の反芻発現効果は粗飼料の 0.4 倍、濃厚飼料は 0.3~0.8 倍であり、これらの NDF の粒子サイズは微細で飼料摂取量に大きな影響を及ぼさないと報告しており、繊維の物理性は、粗飼料と濃厚飼料では効果が異なると考えられる。これらのことから、採食速度が遅くなり、採食時間が長く、飼料摂取量が抑制されたと考えられた。また、トウモロコシサイレージ主体 TMR の給与試験に比較し採食速度が遅く、禾本科のイタリアンライグラスサイレージは微細化、一定粒度の飼料片サイズへの破碎に抵抗が大きいことが窺われた。

2) 反芻時間および咀嚼時間

総反芻時間は、粗飼料摂取割合の多い TMR45 区が長い傾向にあったが有意ではなかった。一方、総咀嚼時間(採食時間+反芻時間の総和)は、TMR45 区は TMR30 区に比較し長かった($P<0.05$)。反芻時間は、乾物摂取量の多少や粗飼料と濃厚飼料の比率により大きな影響を受け、濃厚飼料の比率が減少するにつれ反芻時間は増加する(Gordon,1958;Oltjen,1962)。また、反芻時間は飼料の NDF 含量と正の相関があり、第一胃内の繊維量の増加により長くなる(Welch and Smith,1970)。本試験では、NDF 摂取量に差がなく、総反芻時間に有意な差が認められなかった。一方、総摂取 NDF1,000g 当りの反芻時間には有意差が認められなかったが、採食から反芻まで含む一連の総咀嚼時間は TMR45 区が有意に長かった($P<0.05$)。TMR45 区は粗飼料の大粒子飼料片が多く、えん下時の抵抗のために採食に要する咀嚼が多くなるが、えん下後は大粒子の割合が減少(Jaster and Murphy,1983)しているため、NDF1,000g 当りの反芻時間に差が認められなかったと考えられた。イタリアンライグラスサイレージにおける粗濃比は反芻時間への影響は小さいが、総咀嚼時間への影響は大きいと考えられた。

総反芻期数、1 反芻期持続時間は TMR 区間に有意差は認められなかった。総吐出回数は TMR45 区が TMR30 区に比較し有意に多かった($P<0.05$)。1 反芻期吐出回数は TMR45 区が TMR37 区に比較して有意に多かった($P<0.05$)。反芻発現までの時間、反芻 Lag time は区間に有意な差が認められなかった。

乾物摂取量 1,000g の総咀嚼時間(採食時間+反芻時間の総和)の値は一般に RVI(Roughage Value Inde-

x:粗飼料価指数)と称されるが、Sudweeks et al.(1981)は、RVI 値は乳脂率に大きく関係し、乳脂率 3.50%を維持するためには乾物摂取量 1kg 当り 31.1 分以上の RVI が必要であることを報告している。本試験の RVI 値は、TMR30 区は 36.9 分、TMR37 区は 40.6 分および TMR45 区は 44.7 分であり、乳脂率 3.50%以上を維持するには十分であったと考えられた。

3) 咀嚼回数および咀嚼時間

総咀嚼回数は TMR45 区が TMR30 区に比較して有意に多かった($P<0.05$)。反芻の質的变化を示す(岡本,1979)と考えられる 1 吐き戻し食塊当りの咀嚼回数は、TMR37 区が TMR30 区に比較し有意に多かった($P<0.05$)。1 吐き戻し食塊当りの咀嚼時間は、TMR45 区が他の区に比較して有意に短かった($P<0.05$)。この結果は、トウモロコシサイレージ主体 TMR 試験の場合と異なっていたが、1 吐き戻し食塊当りの咀嚼回数および咀嚼時間に対して、粗飼料の給与割合が大きな影響を与えているとは考えられず、これらの指標で農家現場の粗飼料摂取量の多少を判断する指標として用いることできないと考えられる。

以上の結果から、飼料摂取量、泌乳成績から考慮して、イタリアンライグラスサイレージを主体とする TMR の場合、トウモロコシサイレージの TMR の場合と異なり、粗飼料由来の NDF 摂取量の増加が粗剛性を増加させ乾物摂取量を抑制しており、エネルギー摂取量を増加させるには、粗飼料割合は乾物で 30%程度にまで低下させる必要があると考えられた。また、本試験に用いたイタリアンライグラスサイレージの飼料特性として、NDF 含量が高く、繊維構造が強固で微細化しにくく、第一胃の通過速度が平均で 5.15%/hr 程度と遅く、NFC 含量を高くしにくい。このことから、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、TMR30 区が 2.57、TMR37 区が 2.30、TMR45 区が 2.13 となり、BUN 値が高くなったと考えられる。飼料 CP の利用性を高め、乳タンパク質率を向上させるためには、少なくとも NFC 含量を 34%以上とし、CP 有効分解量に対して NFC 含量を増加させる必要があり、粗飼料割合は 30%程度にするのが妥当と考えられた。

第3節 飼料イネホールクロップサイレージの粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響

緒言

飼料イネは、耕種サイドでは既存の技術と機械を利用して栽培が可能であること、畜産サイドでは経営内処理が難しい糞尿を地域内の転作田に分散還元できる機会が増大し、生産された飼料イネを利用できることなどから、自給粗飼料生産をになう飼料作物として期待されている。

従来、稲ワラなどの稲作副産物はウシの飼料として給与されてきた。しかし、高泌乳量を目指す乳牛飼養体系への移行に伴い購入乾草の使用量が次第に増加し、近年はほとんど給与されなくなっている。酪農家では、稲ワラの消化性が悪いことを経験しており、そのため、飼料イネ発酵粗飼料(ホールクロップサイレージ:WCS)は稲ワラと同様に、養分要求量の多い高泌乳牛の乾物摂取量や養分摂取量を満たすことができないことを懸念している。

そこで、飼料イネ WCS のみを粗飼料として用い、粗タンパク質(CP)および可消化養分総量(TDN)含量を同一とした粗濃比の異なる混合飼料(TMR)の給与が、乳量、乳成分、第一胃内容液性状および咀嚼行動に及ぼす影響を調査し、飼料イネ WCS の高泌乳牛への適正給与量を検討した。

試験方法

1 供試牛および試験配置

フィステル装着ホルスタイン種乾乳牛 3 頭、, 体重 823 ±56kg(平均±標準偏差)を用いて、飼料 CP の第一胃内有効分解度を調査した。

ホルスタイン種泌乳牛 6 頭を供試し、1 区 2 頭として 3 つの試験区に割り当て、泌乳飼養試験を実施した。試験は、予備期 14 日間、本試験期 7 日間(1 期 21 日間)からなる計 63 日間の 3×3 ラテン方格法(吉田,1983)により実施した。飼養試験開始 1 週間前の供試牛のプロファイルを表 1 に示した。

Table 1. Milk yield and milk compositions of used Holstein cows

CowNo	Delivery Time	weight (kg)	Milk (kg)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)	days after parturition (day)
1	4	647	37.1	4.06	2.66	4.31	7.97	41
2	4	611	41.7	4.31	2.63	4.44	8.07	43
3	2	588	35.4	4.25	2.98	4.40	8.38	112
4	2	571	34.0	3.95	2.66	4.37	8.02	53
5	2	546	34.8	3.76	2.87	4.42	8.28	97
6	2	560	33.3	4.20	3.11	4.50	8.60	104
Average		587	36.1	4.09	2.82	4.41	8.22	75
SD		±37	±3.1	±0.21	±0.20	±0.06	±0.24	±33

Table.2. Chmical compositions of roughages and concentrates of total mixed ration on dry matter basis(%)

	%DM										
	DM	CP	TDN	EE	NDF	NFC	OCW	Oa	Ob	Ash	
Rice whole crop silage	55.1	3.4	52.8	2.4	59.0	24.3	63.0	5.6	57.4	10.9	
Compound feed	90.7	20.8	82.5	6.1	24.3	42.2	-	-	-	6.6	
Corn gluten meal	89.8	71.4	90.1	3.6	14.0	8.6	-	-	-	2.4	
Fatty acid calcium salt	98.3	0	179.9	85.0	0	0	-	-	-	15.0	

DM:dry matter, CP:crude protein, TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan(1995), EE:ether extracts, NDF:neutral detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash), Oa:organic fraction a,Ob:organic fraction b.

Table 3. Ingredients and chemical compositions in Total Mixed Rations

Item	treatment			
	TMR26	TMR30	TMR35	
Mixed stuff (% as fed basis)	Rice whole crop silage	28.7	32.8	37.6
	Compound feed	48.4	44.1	39.1
	Corn gluten meal	0.0	1.1	2.4
	Fatty acid calcium salt	0.2	0.9	1.8
	Water	22.7	21.1	19.1
	Total amount	100.0	100.0	100.0
Chemical composition	DM (%)	60.0	60.0	60.0
			%DM	
	Roughage (%)	26.3	30.1	34.6
	CP	16.9	16.8	16.8
	TDN	76.8	76.7	76.7
	EE	5.6	6.3	7.1
	NDF	33.3	34.2	35.2
	NFC	38.3	36.5	34.3
NFC/NDF	1.15	1.07	0.98	

DM:dry matter, CP:crude protein, TDN:total digestible nutrients calculated from Standard Total of Feed Composition in Japan (1995).EE:ether extracts, NDF:neutral detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate=100-(CP+EE+NDF+Ash).

2 給与飼料の調製および家畜管理

飼料イネ(アケノホシ)を出穂後 40 日に刈取りし, ロールベアラで成形したものをロールシュレグで細断した。これを, FRP サイロに原物密度 292kg/m³ (乾物密度 178kg/m³) で貯蔵し, 詰め込み後 207 日目に開封した。取り出した飼料イネ WCS は切断長が長いものが多く, 混合飼料 (TMR) 調製上, 混合が不均一となることが予想されたため, 切断長 1.5cm 設定のカッターで再切断処理を行った。再切断による茎葉部の長さは, 3.17±2.32cm (平均値±標準偏差) であった。

TMR は, 粗飼料を飼料イネ WCS のみとし, 表 2 に示した化学的成分組成の飼料原料を用い, 乾物比で粗飼料:濃厚飼料 = 26:74 (TMR26 区), 30:70 (TMR30 区), 35:65 (TMR35 区) の割合で, 表 3 に示すとおり調製した。なお, 表 2 および表 3 に示す TDN 値は, 化学的成分組成の分析実測値を用い, 日本標準飼料成分表(1995)に記載されている消化率から算出した。各 TMR 中の養分含量は, CP16.7% および TDN76.7% 前後とし, CP はコーングルテンミールで, TDN は脂肪酸カルシウムで調整した。また, 加水して乾物含量を 60% とした。

フィステル装着乾乳牛への給与量は, 日本飼養標準(1999)の乾物必要量の 120% とし, TMR30 区と同じ飼料を給与した。

泌乳飼養試験では, 試験開始前 10 日間にわたり供試牛に TMR35 を給与し, この期間の平均乳量, 乳脂率および体重を用い, 日本飼養標準(1999)を準用して乾物必要量を算出し, その 110% を給与量とした。なお, TMR は, 1 日給与量の 1/3 ずつを 8:45, 13:00, 18:00 の 3

回に分けて給与した。ミネラルは 11:00, 15:00 に 1 日所要量の各 1/2 量ずつを TMR にトップドレッシングした。水はウォーターカップによる自由飲水とした。搾乳は朝 8:30 および夕 17:00 の 2 回とした。

3 調査項目および分析方法

1) 第一胃内分解速度調査

予備飼養期間を 5 日間とし, 脂肪酸 Ca を除く TMR 構成飼料の乾物および CP の第一胃内分解速度は既報(新出, 2000)と同様に調査し, それぞれ 2 反復実施した。

また, 通過速度定数 k は, AFRC 飼養標準(1993)に示されるモデル式 $k = -0.024 + 0.179\{1 - e^{(-0.278 \times L)}\}$ に, 日本飼養標準(1999)から算出した維持 TDN 必要量に対する TDN 摂取量の倍数 L を当てはめて算出し, 第一胃内有効分解度 dg は, $dg = a + bc/(c+k)$ (Ørskov and McDonald, 1979)により求めた。なお, パラメータ a は飼料が第一胃内に投入された後, 急速に分解する易分解性分画の割合 (%) を, b はゆっくりではあるが分解する難分解性分画の割合 (%) を, c は b 分画の分解速度定数 (/hr) をそれぞれ示す。

2) 泌乳飼養試験

飼料摂取量, 養分摂取量および乳量の成績は, 本試験 7 日間の平均値を用いた。

飼料摂取量は, 給与量から残飼量を差し引き算出した。給与飼料および残飼の乾物含量は, 本試験 7 日間の 3, 5, 7 日目にサンプリングし, 65 °C で 120 時間通風乾燥し測定した 3 回の値を平均して求めた。化学成分組成

はこれらのサンプルを「粗飼料の品質評価ガイドブック」(2001)に記載の方法で分析した。

本試験 4 日目の夕方から 6 日目の朝までの計 4 回の搾乳時に採取した乳サンプルの乳成分を、MILKO-SCAN 104(N.FOSS ELECTORIC 社製)で分析し、加重平均値で示した。さらに、乳成分分析に用いた生乳を 3000rpm で 15 分間遠心分離し、下部液層を乳汁中尿素窒素(MUN)の分析に供した。MUN 分析は、血液化学自動分析システム(日本ロシユ(株)、スポットケム SP-4410)の血液尿素窒素分析キットを用いて測定した。

体重は、各期本試験終了の翌朝、搾乳終了後の 10 時に測定した。

咀嚼行動調査は、本試験開始 2 日目朝の飼料給与時刻の 8 時 30 分から、5 日目 8 時 30 分までの 3 日間連続で実施した。なお、3 日間の咀嚼行動のデータを平均し、1 日当りの行動として算出した。咀嚼行動の測定は、顎の動きにより生じるストレインゲージの電気歪みの信号を解析する方法(新出・河野,2004)によって実施した。

第一胃内容液は、各期本試験最終日の 8, 10, 11, 12, 13, 15 時の計 6 回、ルーメンカテーテルを供試牛の口から第一胃内に挿入し、300ml を吸引採取した。採取した第一胃内容液は四重ガーゼでろ過し、pH 測定後、100ml に微生物の活性を止めるため飽和塩化水銀 1ml を添加して、分析に供するまで -20 で凍結保存した。

低級脂肪酸(VFA)の分析は、キャピラリー電気泳動法(石黒ら,2000)により実施した。すなわち、VFA 測定のためのサンプルは、前述の凍結保存した第一胃内容液 5ml を 3,000 回転/分で 15 分間遠心分離した上澄み液を純水で 6 倍希釈し、0.45 μ m ポアの濾過フィルターで濾過したものをを用いた。測定条件は次のように実施した。

装置:キャピラリー電気泳動装置 Waters クオンタ TM 4000(日本ウォーターズ株式会社製)
 カラム:アキュセップキャピラリアセンブリー 0.75 μ m \times 60cm
 緩衝液:CIA パック OFM BT 溶液 5ml を、四ホウ酸ナトリウムで 200ml にフィルアップして調製
 測定波長:185nm
 印加電圧:10Kv
 試料注入法:重力法 30 秒

3) 統計分析

得られたデータは、期、乳牛、TMR の粗飼料割合をそれぞれ要因とした分散分析(吉田,1983)を行い、平均値間の差の検定は Duncan の多重検定法により行った。

結果および考察

分散分析を実施したところ、期の効果が乳糖率のみに認められたが、その理由は明らかでなかった。

一方、乳牛の効果は、乾物摂取量、乳量、乳タンパク質率、乳糖率および無脂固形分率に認められ、寄与率は 42~95%と大きかった。なお、ラテン方格法(吉田,1983)の解析では、目的とする飼料効果以外の要因はその変動の程度が明らかとなり、全体の変動から取り除かれることから、本試験の目的である TMR の粗飼料割合の及ぼす飼料効果についての結果を示した。

Table 4. Farment qualitys of rice whole crop silage in FRP silo.

Part of silo	Moisture (%)	pH	Total acid (% Wet)	VFA composition (%)			VBN/TN	V-score
				lactic	acetic	butyric		
Upper part	38.8	5.12	0.42	67.4	19.5	13.1	0.01	96
Middle part	38.1	5.17	0.55	55.0	19.8	25.1	0.01	89
Under part	40.3	5.08	0.62	62.8	19.9	17.4	0.01	91

VFA: volatile fatty acid, VBN: volatile basic nitrogen, TN: total nitrogen.

1 給与飼料

FRP サイロにおけるサイレージ発酵品質を表 4 に示した。pH は 5.0 程度と高く、V-score(粗飼料の品質評価ガイドブック,2001)は平均で 92 点であった。一般に、高水分のサイレージで可溶性の炭水化物含量が高い場合、乳酸菌の働きにより乳酸生成が生じ、pH 値は低下する。一方、サイレージの水分含量が低い場合や、可溶性炭

水化物含量が低い場合、乳酸生成は抑制され、pH が高くなり、酪酸生成菌の増殖により酪酸以上の VFA が生成されやすい。それに伴い、アミノ酸の分解が生じ、総窒素(TN)に占める揮発性塩基態窒素(VBN)の割合が増加し、V-score は低下する(粗飼料の品質評価ガイドブック,2001)。黄熟期における飼料イネは水分含量が 65%前後になり(新出,2002)、可溶性炭水化物は 10~12%を

含む(稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル,2001)が、本試験の場合、刈取時期がやや遅く、さらに、立毛によるダイレクトカットの収穫体系でなく、いったん、刈り倒した後にロールペーラでラッピング調製した収穫体系であった。このことから、水分含量が38~40%と低くなり、サイレージ発酵自体が抑制され、pHが5.0以上になったと考えられた。一般に、飼料イネ WCS は、pH が下がりにくく

酸の生成が抑制されるが、V-score は高く、嗜好性は良い(稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル,2001)。VFAとVBN/TNによるV-score評価では、本試験の飼料イネ WCS は良質なサイレージであると判断された。

飼料イネ WCS の CP 含量は日本標準飼料成分表(1995)の値に比べ概ね 1/2 の値であり、中性デタージェント繊維(NDF)含量はやや高かった。

Table 5. Ruminal degradable characteristics and ruminal effective degradability of dry matter and crude protein of ingredients in total mixed ration (%).

item	ruminal degradable characteristics and ruminal effective degradability							
	dry matter				crude protein			
	a (%)	b (%)	c (/hr)	dg (%)	a (%)	b (%)	c (/hr)	dg (%)
Rice whole crop silage	36.5	43.9	0.023	44.6	71.5	23.5	0.015	74.5
Cocentrate	41.0	54.2	0.124	70.8	35.7	63.5	0.170	75.4
Corn gluten meal	25.8	74.2	0.043	47.8	19.8	80.2	0.034	39.9

a: rapidly soluble fraction (%), b: slowly degradable fraction (%), c: rate constant of disappearance for b fraction (/hr), dg: ruminal effective degradability (%), $dg = a + bc/(c+k)$, k: rate constant of ruminal passage (/hr).....0.1018/hr. The passage rate constants were calculated based on empirical equation ($k = -0.024 + 0.179\{1 - e^{(-0.278 \times L)}\}$) shown in feeding standard of the Agricultural and Food Research Council(1993).

2 飼養試験成績

1) 第一胃内分解パラメータおよび有効分解度

TMR に用いた各構成飼料の第一胃内分解パラメータおよび有効分解度(dg)を表5に示した。

飼料イネ WCS の乾物消失速度は遅く、a 分画割合が小さく、c の定数も小さい値であった。一方、CP の分解パラメータは、a 分画の値が大きく、サイレージ調製中に非蛋白態窒素となり、消失速度が速くなったと考えられた。コーングルテンミールの CP の分解パラメータは、a 分画割合が小さく、c の定数も小さい値であり、dg は小さい値となった。

泌乳飼養試験における乳牛の平均体重は599kgであり、日本飼養標準(1999)では、維持に要する TDN 必要量は3.89kgになる。平均乾物摂取量が22.2kg、TDN 摂取量が17.0kgであり、必要量に対する TDN 摂取量の倍数 L は4.37となった。その結果、AFRC 飼養標準のモデル式(1992)による通過速度定数 k は、0.1018/hr と算出され、かなり大きな値となり、この dg による各 TMR 全体の CP の有効分解度は、TMR26 区が72.1%、TMR30 区が70.0%、TMR35 区が66.8%と算出され、日本飼養標準(1999)に示される飼料中の CP 適正分解率65~70%の範囲に概ねあった。一方、分解性タンパク質(CPd)含量は、それぞれ、12.2%、11.8%、11.2%となり、日本飼養標準(1999)に示される CPd の上限値を超えた値となった。これは、給与 CP のレベルが飼養標準より高いことに起因

すると考えられた。

第一胃内における実用的な分解度の計算には通過速度の値が不可欠であるが、わが国の飼養標準では、高泌乳牛での通過速度の算定基準が示されていないために、正確な飼料 CP の有効分解度の算出が困難である。飼料イネ WCS の繊維の分解速度は、イタリアンライグラス乾草に比べて20ポイント程度低く(城田ら,2002)、第一胃内における微生物の分解と反芻咀嚼による微細化が遅く、通過速度が遅くなり、乾物摂取量を抑制する可能性がある。通過速度は、飼料片の粒度が小さいほど速いこと(Bruining and Bosch,1992)、液層部分は固層部分より速いこと(Hartnell and Satter,1979)、飼料の第一胃内通過速度は比重の影響を受けること(Welch,1986)、また、粗飼料の通過速度は濃厚飼料より遅いこと(Hartnell and Satter,1979)が報告されている。飼料イネ WCS に関しての通過速度の情報はほとんどなく、刈取り時期、切断長、粗濃比を変えた様々な飼料構成で調査する必要があると思われる。

2) 飼料摂取量

各処理区における飼料摂取量を表6に示した。乾物摂取量は、区間に差が認められなかった。飼料イネ WCS の乾物摂取量は、TMR35 区が7.7kg/日であった。飼料イネ WCS を自由採食させた他の試験では、乳量20~25kg/日の乳牛で乾物6.3kg(小林ら,1983)、泌乳最盛

Table 6. Feed intake and sufficients of cows fed total mixed rations.

Item	TMR26	TMR30	TMR35	SEM
Dry matter intake (kg/day)	23.0	21.6	21.9	0.6
Silage dry matter intake (kg/day)	6.0 ^b	6.5 ^b	7.7 ^a	0.1
CP intake (kg/day)	3.89	3.62	3.68	0.1
TDN intake (kg/day)	17.7	16.5	16.8	0.5
EE intake (kg/day)	1.29 ^b	1.36 ^b	1.55 ^a	0.04
NDF intake (kg/day)	7.6	7.4	7.7	0.2
NDF intake derived from roughage (kg/day)	3.5 ^c	3.8 ^b	4.5 ^a	0.1
NDF intake derived from concentrates (kg/day)	4.1 ^a	3.6 ^b	3.2 ^c	0.1
NFC intake (kg/day)	8.8 ^a	7.9 ^b	7.5 ^b	0.2
Effective degradable CP (kg/day)	2.80 ^a	2.53 ^a	2.46 ^b	0.1
DM sufficient rate* (%)	100.0	96.5	96.2	2.6
CP sufficient rate* (%)	111.8	107.9	108.1	3.1
TDN sufficient rate* (%)	103.6	100.1	100.3	2.8

SEM: Standard error of means (n=6), Means within the same line with different superscripts differ (abc: P<0.05).

* Sufficient rate for Standard Total of Feed Composition in Japan(1999).

期牛で乾物 7.0kg(水谷ら,2001)を摂取した報告がある。これらの報告では、飼料イネの刈取り時期が本試験と異なるが、本試験での乾物摂取量はこれらの報告に近い値であった。

CPおよびTDN摂取量は、区間に差が認められなかった。エーテル抽出物(EE)摂取量は、TMR35区が他の区に比較して多かった(P<0.05)。これは、TDN含量の調整に用いた脂肪酸カルシウムに由来するものと考えられた。

NDF摂取量は区間に差が認められなかった。一方、非繊維性炭水化物(NFC)摂取量は、TMR26区が、他の区に比較して多かった(P<0.05)。NDF含量の高い飼料は乾物摂取量を制限し(Mertens,1995)、非繊維性炭水化物(NFC)の過剰給与は第一胃内pHの低下と乾物摂取量の低下を招く(Allen and Beede,1996)ことが報告されている。本試験では、NDFおよびNFC含量の多少に乾物摂取量は影響されず、TMR26区においても第一胃内発酵の恒常性は維持されたと考えられた。また、TMR中のNDF含量に対するNFC含量の比(NFC/NDF)は、乳タンパク質率、無脂固形分率の維持向上に対しては0.9~1.2が望ましい(新出ら,1997,1999,2002)と考えられるが、いずれもこの範囲にあった。ただし、TMR中の子実によってNFCが高くなっていることから、この部分の消化率が低ければ泌乳成績に影響すると考えられる。

粗飼料由来のNDF摂取量は、TMR35区が飼料イネサイレージ摂取量に伴い増加した(P<0.05)が、濃厚飼料由来のNDF摂取量は逆に少なかった。飼料イネの繊維(OCW)はイネ科のイタリアンライグラス乾草に比較し

て第一胃内消化速度が40%程度遅く(城田ら,2002)、チモシー乾草に比較してリグニンやケイ酸含量が多い(石田ら,2000)。また、生育ステージの進行に伴って繊維含量が増加し、繊維の消化性が低下することが報告されている(阿部・阿部,1991)。本試験の飼料イネの刈取り時期は出穂後40日であり、奨励されている刈取り時期の出穂後30日前後(稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル,2001)よりやや遅かった。そのため、飼料イネWCSの混合割合を今回の試験の35%よりも多くした場合には、TMR全体の乾物摂取量が抑制される可能性が示唆された。

日本飼養標準(1999)から求めた本試験における飼料全体の乾物充足率は、TMR区間に差はないがTMR30および35区は100%に満たなかった。同様にして求めたCP充足率には差が認められなかった。また、化学的成分組成の分析実測値を用い、日本標準飼料成分表(1995)の消化率を用いて算出したTDN摂取量に対する充足率にも差が認められなかった。

Table 7. Milk yeild and milk compositions of cows fed total mixed rations.

Item	TMR26	TMR30	TMR35	SEM
Milk (kg/d)	36.9 ^a	35.5 ^{ab}	35.2 ^b	0.3
FCM (kg/d)	35.4	34.6	35.0	0.6
Fat (%)	3.71 ^b	3.84 ^{ab}	3.98 ^a	0.05
Protein (%)	3.01 ^a	2.95 ^{ab}	2.91 ^b	0.02
Lactose (%)	4.61 ^a	4.51 ^{ab}	4.47 ^b	0.03
SNF (%)	8.61 ^a	8.45 ^{ab}	8.38 ^b	0.04
Change of body weight (kg)	+ 7.8	+ 9.2	+ 3.1	4.5
MUN (mg/dl)	17.9 ^b	19.5 ^{ab}	21.4 ^a	0.7

FCM: 4% fat corrected milk, SNF: solid-not-fat., MUN: milk urea nitrogen,

SEM: Standard error of means (n=6),

Means within the same line with different superscripts differ(abc:P<0.05).

3) 泌乳成績

泌乳成績を表7に示した。乳量は、TMR26区がTMR35区より多く(P<0.05)、TMR30区より多い傾向にあった(P<0.1)。4%脂肪補正乳(FCM)量は、区間に差が認められなかった。

乳脂率は、TMR35区がTMR26区より高かった(P<0.05)。乳脂肪は、繊維から生産される酢酸、酪酸などの低級脂肪酸および飼料や体脂肪から動員される長鎖脂肪酸に由来(新出ら,1997)するので、本試験では、飼料イネに由来する低級脂肪酸と、TDNの調整に用いた脂肪酸カルシウムに含まれる長鎖脂肪酸により、TMR35区が高くなった可能性が考えられる。また、粗飼料の給与は給与飼料中の30%以上にすることが、乳脂率の維持、向上ならびに第一胃の恒常性維持に必要とされている(津吉ら,1975)。本試験の場合、表7に示すように、粗飼料割合が26%のTMR26区であっても酢酸/プロピオン酸比が3.0以上(日本飼養標準,1999)であり、第一胃内発酵は安定しており、乳脂率を3.5%以上に維持するには十分と考えられた。

乳タンパク質率は、TMR26区が、TMR35区より高かった(P<0.05)。また、乳糖率および無脂固形分率は、TMR26区がTMR35区より高く(P<0.05)、乳タンパク質率と同様の傾向であった。筆者らが実施してきた試験(新出ら,1997,1999,2002)におけるTMR中のNFC/NDF比から推定される乳成分値と比較すると、いずれの区も低かった。これは、糞中に子実が排泄されたことによる第一胃内におけるNFC不足が関係したと考えられた。乾物7.0kg/日の飼料イネWCSを摂取させた報告でも、乳成分のうち乳タンパク質率、無脂固形分率が低く、糞中への子実排泄割合が多かったことから、飼料中の実際のTDN濃度は飼料設計値を下回っていたことが示唆されている(水谷ら,2001)。また、乳タンパク質率や、乳タンパク質率に連動する無脂固形分率はエネルギー摂取量と相関が高く(Emery,1978)、飼料中のデンプン含量の低

下に伴い乳タンパク質率が低下すること(千葉県畜産センター,1998)や、NFCが低い場合、第一胃内における微生物体タンパク質合成が抑制され、血液尿素窒素量も高くなることが指摘され(Mabjeesh et al.,1997)、本試験の乳汁中尿素窒素の値もTMR35区が有意に高くなっていた(P<0.05)。一般にNFCは速やかに揮発性脂肪酸に変換される(Mabjeesh et al.,1997)が、飼料イネWCSの未消化子実の排泄率は、様々な飼料給与条件により12%(平成12年度草地試験研究成果概要書,2001)、多いものでは62.9%(山本ら,2001)に及ぶことから、日本標準飼料成分表(1995)記載の消化率を用いて推定したTDN値や、既存の推定式(平成13年度自給飼料品質評価資料,2002)によるTDN値を用いると、飼料中のTDN含量を過大評価する可能性がある。特に飼料イネの摂取量や子実割合が高くなると実際のTDN摂取量と利用量の乖離が大きくなると考えられた。刈取時期ごとの子実排泄率を調査した報告(新出,2002)では、糊熟期(出穂後23日)が22.9%、黄熟期(出穂後38日)が43.4%、完熟期(出穂後51日)が46.7%であり、黄熟期における排泄子実のTDN量は乳量2kg/日程度が生産できる量に相当し、排泄による損失を考慮した場合、黄熟期の飼料イネWCSの乾物中TDN含量は48%程度にまで低下することを示唆している。今回の試験では、子実排泄率は調査していないが、用いた飼料イネの刈り取り時期が出穂後40日である点と、今回の泌乳試験の結果から、子実排泄の程度が実際のTDN摂取量に影響を及ぼした可能性があると考えられた。

4) 体重増減

試験期間中の体重増減量を表7に示したが、区間に差は認められなかった。

5) 乳汁中尿素窒素(MUN)

MUN値の結果を表7に示した。また、飼料CPの第一

胃内有効分解量を表 7 に示した。第一胃内 CP 有効分解度は、TMR26 区で 72.1%，TMR30 区で 70.0%，TMR35 区で 66.8%と推定された。TMR26 区は TMR35 区より CP 有効分解度、CP 有効分解量が高かったが、MUN 値は逆に低かった (P<0.05)。TMR 中の設計 TDN 含量に差はないものの、TMR35 区は飼料イネの混合割合が多いため子実の排泄量も多く、第一胃内微生物のエネルギーとしての NFC が不足したこと、さらに、脂肪酸カルシウムの混合量が多く、第一胃内での脂肪酸の溶解が第一胃内微生物活性の阻害したことなどの可能性もあり、MUN 値が高かったと推察された。NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、TMR26 区 3.14、TMR30 区は 3.12、TMR35 区は 3.05 となり、トウモロコシサイレージ TMR(第 5 章第 1 節)に近い値であった。Mabjeesh et al.

(1997)は、非構造化炭水化物(NSC)摂取量(kg)/分解性 CP 摂取量(kg)比が高い場合、下部消化管への第一胃内微生物体タンパク質の移行量が多く、血漿中尿素窒素(PUN)値も低いとしている。しかし、飼料イネは子実を含むため NFC は高いが、未消化のまま排泄される子実は 45%程度に達することが報告されている(新出,2002)。この排泄率から実際に利用可能と推定される NFC 摂取量は、TMR26 区 7.88kg、TMR30 区は 6.90kg、TMR35 区は 6.32kg となり、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、それぞれ、2.81、2.73、2.57 に低下したと推察され、MUN 値が高くなったと考えられる。子実排泄量の低減や飼料の第一胃内滞留時間と子実排泄の関係について今後検討する必要がある。

Table 8. Rumen liquid contents of cows fed total mixed rations.

Item	TMR26	TMR30	TMR35	SEM
pH	6.89	6.87	6.87	0.02
VFA (mM)				
Acetic acid	56.5	58.8	57.9	1.2
Propionic acid	18.7 ^a	18.5 ^a	16.6 ^b	0.4
Butyric acid	12.4	12.1	11.7	0.3
Total acid	87.6	89.4	86.3	1.9
VFA(mol%)				
Acetic acid	64.3 ^c	65.7 ^b	67.2 ^a	0.2
Propionic acid	21.5 ^a	20.7 ^b	19.2 ^c	0.2
Butyric acid	14.1	13.6	13.6	0.2
Acetic acid / Propionic acid	3.06 ^b	3.21 ^a	3.56 ^a	0.06

VFA: volatile fatty acid., SEM: Standard error of means (n=6),

Means within the same line with different superscripts differ(abc:P<0.05).

Table 9. Chewing behavior of cows fed total mixed ration.

Item	TMR26	TMR30	TMR35	SEM
Eating time (min / d)	348.7 ^a	335.6 ^b	371.5 ^a	10.9
Rate of eating (gDM / min)	69.7 ^a	67.0 ^a	61.6 ^b	2.0
Total rumination time (min / d)	394.9	396.5	423.9	22.2
Total chewing time (min / d)	743.5	732.1	795.4	23.9
Number of boli regurgitated (time / day)	544.8	534.9	580.0	23.1
Number of rumination period (time / day)	15.8	16.2	16.6	0.6
Duration of rumination period (min / period)	25.0	24.8	26.1	1.1
Number of boli regurgitated / rumination period (time / period)	35.0	33.7	36.2	1.2
Number of chewing per rumination period (time / period)	1699.5	1644.2	1744.8	83.5
Total chewing time / dry matter intake (min/kg)	32.9 ^b	34.3 ^a	36.9 ^a	0.8
Chewing time per bolus(sec)	43.4	44.5	44.2	1.0
Number of chews per bolus (time)	49.0	49.3	49.2	1.3
Rate of chewing per bolus (time / min)	67.8	66.0	66.8	0.4

Total chewing time: Total time spend eating+Total rumination time, SEM: Standard Error of Mean.,

Means within the same raw with different superscripts differ (ab: P<0.05).

6) 第一胃内容液性状

第一胃内容液性状については、各サンプリング時間におけるVFA濃度に区間差が認められなかったことから、6回のサンプリングの測定値を平均した値を表8に示した。

第一胃内容液のpH値は区間に差が認められなかった。

総VFA濃度は、区間差が認められなかった。一方、各VFAのモル比は、酢酸割合がTMR35区で多く、プロピオン酸割合がTMR26区で多かった($P<0.05$)。酢酸/プロピオン酸比はいずれの区も3.0を超えていたが、TMR35区は他の区より高かった。これは、TMR中の飼料イネWCS割合の違いによるものと考えられた。

7) 咀嚼行動

咀嚼行動の調査結果を表9に示した。採食時間は、TMR30区がTMR35区より短く($P<0.05$)、採食速度は、TMR26区がTMR35区より速かった($P<0.05$)。飼料イネの繊維は、一般にリグニンとケイ酸含量が高く、粗剛性が高いこと(石田ら,2000)が報告されており、嚥下食塊形成のための飼料片微細化に要する咀嚼時間も長いと推察される。一方TMR26区は、飼料イネWCS割合が少なく、濃厚飼料割合が多いため、咀嚼による破碎、微細化および嚥下食塊の形成が容易であったため、採食速度が速くなったと考えられた。

反芻時間および咀嚼時間は、区間に差が認められず、総吐出回数にも差が認められなかった。また、反芻期数は、区間に差が認められなかった。他の粗飼料を用いた同様の試験でも、粗飼料割合の多寡は反芻期数に影響しないことが報告されている(新出ら,1999,2002)。反芻期持続時間および反芻期あたりの吐出回数にも差が認められなかった。

乾物摂取量当りの総咀嚼時間は、TMR35区がTMR26区より長く($P<0.05$)、飼料イネWCSの混合割合の増加に比例した。Sudweeks et al.(1981)は、乾物摂取量kg当りに要した咀嚼時間を粗飼料価指数、Roughage Value Index (RVI)とした指標により、RVIが31.1分/kgの場合、乳脂率3.50%を維持できると報告している。TMR26区は飼料イネWCS割合が26%と低いレベルであるが、RVIは32.9分/kgで、今回供試した泌乳牛では乳脂率は3.7%以上、酢酸/プロピオン酸比はいずれの区も3.0以上であり、第一胃内容液性状にも異常を認めず、第一胃発酵は正常に行われていたと考えられた。

一方、吐き戻し食塊当りの咀嚼時間、咀嚼回数および咀嚼速度は、区間に差が認められず、反芻食塊の咀嚼に関する質的パラメータは、本試験で用いたTMRの粗剛性によって影響されないことが示され、反芻食塊の咀嚼活動を指標に用い、粗飼料の量の多寡を評価する

ことはできないと考えられた。

以上の結果から、乳量35kg/日程度の乳牛では、出穂後40日刈り取りの飼料イネWCSのTMRへの混合割合は乾物で26~30%が望ましく、サイレージ給与量は6.0~6.5kg/日程度が適正量と考えられた。

飼料イネサイレージTMRの場合、子実を含むため、飼料設計上NFC含量が高くなる。このことから、NFC摂取量(kg)/CP有効分解量(kg)の比は、TMR26区3.14、TMR30区は3.12、TMR35区は3.05となり、トウモロコシサイレージTMR(第4章第1節)の値に近い。しかし、不消化で排泄される子実割合は、乾物摂取量が増加するほど高くなることが想定され、NFC摂取量(kg)/CP有効分解量(kg)の比は、それぞれ、2.81、2.73、2.57に低下すると推定される。その結果、MUN値が高くなったと考えられた。乳量や乳タンパク質率の向上には、排泄子実相当分NFCの追加給与や子実の消化性改善を検討する必要があると思われた。

第6章 総括

本研究は、生乳取引基準が乳脂率から、乳タンパク質率や無脂固形分率重視に移行してきた経緯の中で、特に、泌乳前期に低下しやすいこれら成分の向上が求められており、濃厚飼料多給の実態でありながら、乳成分のうち乳タンパク質率や無脂固形分率が低いという広島県における現状を改善するために実施してきたものである。

また、口蹄疫や狂牛病の発生以来、植物由来の粗タンパク質 (CP) 飼料の利用や地域で生産される自給粗飼料の飼料特性の評価が求められていた。

本論文における飼養の基本は、濃厚飼料多給の高エネルギー飼料給与条件で、泌乳に要するエネルギーを最大限摂取させるとともに反芻生理を維持する最小限の粗飼料給与を前提としており、日本飼養標準(1999)では明らかでなかった飼料 CP の第一胃内分解速度と通過速度により算出した CP の有効分解度が乳タンパク質率向上に及ぼす効果について明らかにするため飼養試験を実施した。

本章では、泌乳前期牛への CP 給与、飼料の第一胃内の CP 分解特性、泌乳初期牛における CP 分解度の効果と通過速度の影響、粗飼料の種類や粗濃比が乳生産や第一胃内の恒常性維持に及ぼす影響について論じる。

1 泌乳前期における粗タンパク質給与

泌乳前期の乳牛における体重減少により乳生産に供給できる養分は、エネルギー量に対して相対的にタンパク質量が不足し、泌乳前期においては CP 含量が乳量や乳成分に対して律速因子となる(日本飼養標準,1994)。このことについて、一乳期の概ね 40%が泌乳される泌乳前期での飼料中の CP 含量が乳生産性に及ぼす影響を検討した本試験では、TDN 含量が 76~77%、EE 含量 4~5%、NDF35%の水準で、飼料中 CP14%程度の飼料給与は明らかに泌乳ピークが低く、乳量が抑制された。また、乳タンパク質率は低く、BUN は 10mg/dl 以下の値を示し、第一胃内微生物への窒素量が不足した結果を得た。一方、CP17%以上の場合、乳量、乳タンパク質率は増加したが、CP20%の場合、第一胃内でのアンモニア発生量の指標となる BUN 値が高く、飼料 CP の利用損失が認められ、これら損失の抑制が課題と考えられた。

家畜の生産に由来する糞尿は、耕地還元では限界を超えるまでに達している地域もあり、環境負荷軽減が求められている(NRC 飼養標準,2001;日本飼養標準,1999)。

乳牛において、摂取窒素量に占める糞中へ排泄される窒素割合は 39%、尿中へは 24%であり、糞中排泄窒素に対する代謝性糞中窒素の割合から算出した CP の真の消化率は 82%で、消化率向上による排泄窒素低減効果は大きくないと報告されている(寺田ら,1996)。しかしながら、尿中窒素に対する内因性尿中窒素の割合は 11%であり、尿中窒素排泄量を低下させることが重要と考えられる。また、エネルギー給与量を一定とし、CP 給与量が 18.3%、16.7%、15.3%の飼料給与(後者 2 つの区はルーメン分解保護アミノ酸使用)では、CP 含量が増加すると、BUN 値の上昇や、摂取窒素に対する糞中窒素排泄割合の低下、尿中窒素排泄割合と尿量の増加を認めたが、乳タンパク質率は差がないと報告されている(Dinn et al.,1998)。これらのことから、生産を阻害せず BUN 値を低下できる CP 給与量の解明が必要と考えられる。しかし、CP14%の水準であれば飼料の消化率が抑制される(Oldham,1984)ことが示唆されており、さらに給与飼料の適正 CP 含量について検討する必要があると考えられた。

第一胃内における微生物体タンパク質合成を高めるには、エネルギーが確保されることが大前提となるが、飼料中の EE 含量の増加は微生物活性を低下させる結果を得ており、非繊維性炭水化物(NFC)のレベルが重要と考えられる。濃厚飼料多給条件でありながら高乳脂率と低タンパク質率の乳成分を示す本県の実況は、EE 含量の多い乾熱大豆や綿実を多く含む濃厚飼料中に含まれる長鎖脂肪酸の約 90%が乳脂肪に直接移行(Palmquist and Mattos,1978)した結果であり、第一胃内微生物の活性低下、微生物体タンパク質の合成量の低下によるものと推察された。

2 飼料の第一胃内 CP 分解特性

第一胃での CP 利用を効率的に進めるには、第一胃内で分解する飼料 CP 量を把握する必要がある。これら CP の分解の程度は、飼料 CP の第一胃内における分解様相とこれら飼料の第一胃内通過速度の相対値により決定される(Ørskov and McDonald,1979)。しかし、第一胃内での分解度を变化させる要因は多い(Eliman and Ørskov, 1984;Sniffen et al.,1992;入来ら,1986;岡本,1979;一戸, 1994;Welch,1986;Kaske and Engelhardt,1990; Sutherland,1988)。こうした中で、一般的に加熱処理が CP のバイパス率向上に用いられる方法であることから、大豆の加熱時間が第一胃内分解度に及ぼす影響を検討した。加熱処理は、第一胃内での易分解性分画割合 a を低下させ、難分解性分画割合 b を増加させた。さらに、b 分画の分解速度定数 c は差が認められなかったが、第一胃内通過速度が速くなったことにより、結果的に第一胃内 CP 有効分解度が低下した。このことは、加工処理により第一胃内 CP 分解様相が異なるだけでなく、通過速度にも影響

することを示唆した。また、CP 分解度の査定には通過速度の計測が不可欠であることが明らかになった。さらに、第一胃内分解度(分解割合)の値は、文献(日本飼養標準,1999)に示されるものと乖離しており、農家で一般的に使用されている単味飼料の分解様相と、混合飼料(TMR)中の粗濃比、粗飼料の種類ごとの飼料通過速度を調査することが重要と考えられた。

第一胃内分解度の計測データの集積と第一胃内分解性にかかわる要因解析のために、粗飼料の種類、粗濃比ごとに TMR 給与下で分解様相を調査した。結果は、分解パラメータのうち、a(易分解性分画)、b(難分解性分画)ともに大きな差は認められなかった。一方、パラメータ c(b 分画の分解速度定数)は、TMR 中の EE 含量が増加すると低下する傾向を示すことが明らかとなり、飼料中の EE 含量に第一胃内微生物の活性が影響を受けるためと推察された。また、NDF 含量の増加がパラメータ c の値を大きくすることが示唆された。しかし、このパラメータ c の変動が CP 有効分解度に及ぼす影響は大きいとはいえず、むしろ、飼料の通過速度に大きく影響をうけ、通過速度が遅いほど有効分解度は大きくなる。飼料通過速度は、トウモロコシサイレージ主体 TMR で 5.5~6.4%/hr、イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR で 4.5~5.0%/hr であり、通過速度は粗飼料の種類や粗濃比により異なることが明らかになった。さらに、飼料構成の違いが通過速度に及ぼす影響について検討を加える必要があるが、本試験結果は、基礎的な知見であり、CP 分解度査定に有効な情報となると考えられた。

3 泌乳初期牛における CP 分解度の効果と通過速度の影響

給与飼料の CP 分解度を低下させた効果は乳生産量 30kg 以上が目安とされている(Armentano et al.,1993)が、体組織成分の動員が活発なエネルギー摂取レベルが低い泌乳ピーク前と、必要エネルギーを充足しやすいピーク後における CP 分解度に対する反応の違いについて検討した報告はあまりない(Sklan and Tinsky,1992)。特に、府県においては高泌乳牛への粗飼料の乾物給与割合は 35%前後と少なく、濃厚飼料多給で高エネルギー給与条件であるが、泌乳前期に乳タンパク質率が低下する実態があり、これらの改善が求められていた。

本研究では、CP 含量の試験(第 2 章第 1 節)で乳生産が良好であった CP17%に設定し、CP の第一胃内有効分解度を、高分解度(Hdg 区:72.4%)、中分解度(Mdg 区:60.9%)および低分解度(Ldg 区:53.5%)とした飼料給与が、分娩後 16 週間の乳生産に及ぼす影響について調査した。乾物摂取量、TDN 摂取量は CP の有効分解度の違いに影響されなかった。泌乳ピークへの到達は、分解度の低い Ldg 区が他の区に比較して早まる

傾向にあったが、乳量は差が認められなかった。泌乳ピーク前(分娩後 3~6 週)の乳タンパク質率は、Hdg 区では低下が大きかったが、Ldg 区では低下が抑制された($P < 0.05$)。一方、泌乳ピーク後には、分解度の大きい Hdg 区であっても乳タンパク質率への影響は小さかった。

わが国の日本飼養標準(1999)では CP 要求量と固定値としての飼料の CP 分解割合を示すのみで、泌乳前期における第一胃内 CP 有効分解度の効果は明らかでなかったが、本試験は、高エネルギー飼料給与下でも、飼料摂取レベルの低い泌乳ピーク前(分娩後 3~6 週)には、乳タンパク質率が CP の高分解度飼料で大きく低下するのに対して、低分解度飼料でその低下を抑制できることを明らかにした。一方、泌乳ピーク以降は、乾物摂取量の増加とともにエネルギーが充足しやすいことから、分解度の違いによる乳タンパク質への影響が小さくなることを明らかにした。本試験では、分解度の異なる飼料の給与は、泌乳ピーク前と後で乳タンパク質生産への影響が異なることを示し、この結果は農家の飼料給与の実態、高エネルギー給与実態に合わせて実施したものであり、農家の飼養への応用は非常に高いと考えられる。

飼料の通過速度は、CP 有効分解度の推定に不可欠である。第 4 章第 1 節の試験における分娩後 5~6 週の飼料通過速度は、AFRC 飼養標準(1992)のモデル式によると平均 9.80%/hr 前後と算出され、かなり高い値を示した。一方、標識乾熱大豆を用いての通過速度は 2.72%/hr と非常に低い値となったが、この原因がなにによるものか明らかでない。希土類元素を塗布した濃厚飼料を用い通過速度を求めた報告(Erdman et al.,1987;Hartnell and Satter,1979)では、通過速度 k は、乳期、給与飼料の養分濃度の違いや、濃厚飼料の種類にかかわらず、4.0~5.0%/hr 程度が示されており、AFRC 飼養標準のモデル式による通過速度は高い傾向を示すと考えられた。

NRC 飼養標準(2001)においては、希土類元素を標識とし通過速度を求めた多くの経験則から、飼料の通過速度の算出式を示している。サイレージなどの水分を含む粗飼料の通過速度は $k = 3.054 + 0.614 \times \text{体重当りの乾物摂取量}(\text{BW}\%)$ 、乾草の通過速度は $k = 3.362 + 0.479 \times \text{BW}\% - 0.007 \times \text{乾物中の濃厚飼料割合}\% - 0.017 \times \text{飼料原料乾物中 NDF}\%$ 、濃厚飼料の通過速度は $k = 2.904 + 1.375 \times \text{BW}\% - 0.02 \times \text{乾物中の濃厚飼料割合}\%$ としてそれぞれ示されている。これらの式に本試験のデータを当てはめた場合、サイレージの通過速度 $k = 5.16\%/hr$ 、乾草の通過速度 $k = 3.63\%/hr$ 、濃厚飼料の通過速度 $k = 6.27\%/hr$ と算出された。この通過速度から本試験(第 4 章第 1 節)の CP 有効分解度を求めた場合、Hdg 区 78.2±0.2%、Mdg 区 68.2±0.5%、Ldg 区 61.8±0.7%となり、AFRC 飼養標準の場合に比べ大きい値となった。この分解度を用い、本試験の第一胃内分解

パラメータの値から通過速度を逆算したところ、それぞれ 5.55%/hr, 4.70%/hr および 3.69%/hr となり、日本飼養標準の分解割合から逆算した値より適合性が高いと思われた。この場合、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg) はそれぞれ、2.79, 3.15, 3.69 となり、PUN 値は 21.9mg/dl, 17.0mg/dl, 15.5mg/dl であり、NFC 摂取量に区間差がないことから、CP 有効分解量の違いが PUN 値に影響していると考えられた。

実際の第一胃内では液層部と固層部がそれぞれ別の流出速度を示す複雑な系と考えられる。通過速度は、飼料粒の粒度に影響を受け、液層部分は固層部分より速いこと(Bruining and Bosch,1992)、飼料の第一胃内通過には至適比重があること(Welch,1986)などが示されている。また、NDF 含量の多い粗飼料の通過速度は遅く、すべての飼料が一律の通過速度を示すとは考えにくい。このことから AFRC 飼養標準と NRC 飼養標準のモデル式による通過速度のどちらが妥当かは現時点では判断できないが、AFRC 飼養標準の通過速度は高い値を示し、上限値に近いものと考えられる。

泌乳初期の飼養では、分娩後 5~10 週程度まで、乾物摂取量が乳量の増加に追いつかないことから、エネルギーバランスは負になる。乾物摂取量の減少は、エネルギー供給の低下を通じ第一胃内微生物の合成量を減少させる。この場合、分解性 CP 要求量も減少することになる。そのため、泌乳初期の CP 有効分解量が多い場合、また、受け皿としての NFC が十分でない場合、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の値が低く BUN 値は高く変動することになる。しかし、CP 要求量は変わらないことから、非分解性 CP 要求量が増加する。非分解性 CP におけるアミノ酸組成の影響を考慮する精緻な研究を今後展開する必要があると考えられる。

現在、環境負荷軽減に対して、最大の生産を維持できる最低の CP 給与レベルとすることが求められている。泌乳初期のエネルギー摂取量が低い泌乳ピーク前に乳タンパク質率が低下し、PUN 値が高くなったことから、CP の利用においては、エネルギーが制限とならない給与が重要となる。

4 粗飼料の種類と粗濃比が乳タンパク質率に及ぼす影響

安全、安心の食料生産が求められ、自給粗飼料の生産が評価されつつある。TMR に用いた自給粗飼料の適正な乾物混合割合を、乳量、乳タンパク質率、第一胃内容液、血液性状や CP 有効分解度から検討した。TMR における各粗飼料の適正な乾物混合割合は、トウモロコシサイレージの場合 37%以上、イタリアンライグラスサイレージの場合 30%程度、飼料イネサイレージの場合 26~30%であり、このレベルであれば第一胃内発酵も維持

されるとする指標を明らかにした。トウモロコシサイレージ主体 TMR では、粗飼料割合の増加は、乾物摂取量、乳量、乳タンパク質率に及ぼす影響が小さいことが示された。イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR では、粗飼料割合の増加は、乾物摂取量、乳量、無脂固形分率を低下させ、禾本科飼料の繊維は微細化が抑制されるため、摂取量の制限要因になることが明らかになった。また、TMR 中の粗飼料割合を増加させると必然的に NFC 摂取量が低下することから、微生物体タンパク質合成が抑制されたと推察された。一方、飼料イネサイレージ TMR では、粗飼料割合の増加は、乳量、乳タンパク質率を低下させたが、子実の排泄による NFC の損失が影響しており、子実消化性の改善の必要性が示唆された。

乾熱大豆で求めた TMR の通過速度を見た場合、TMR30%区、TMR37%区および TMR45%区は、トウモロコシサイレージ主体 TMR が、それぞれ 6.01%/hr, 6.35%/hr および 5.27%/hr であり、イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR が、それぞれ 5.55%/hr, 4.55%/hr, および 5.34%/hr の値を示し、NDF 摂取量の多いイタリアンライグラスサイレージ主体 TMR の通過速度が遅く、粗飼料の違いによる結果と推察された。一方、NRC 飼養標準(2001)のモデル式を用いた濃厚飼料の通過速度は、トウモロコシサイレージ主体 TMR でそれぞれ、6.07%/hr, 6.44%/hr および 6.32%/hr となり、粗飼料割合の少ない TMR では、本試験の乾熱大豆を用いた通過速度に似た数値を示し、濃厚飼料の通過速度を査定する標識飼料として乾熱大豆を用いることは可能と思われた。しかし、イタリアンライグラスサイレージ主体 TMR では、6.45%/hr, 6.33%/hr および 6.21%/hr と算出され、本試験の値と異なった。粗飼料の種類が異なる場合、同じ粗濃比でも粗飼料由来 NDF 摂取量は異なり、RVI 値は異なる値を示し通過速度に影響すると考えられるが、NRC 飼養標準(2001)の濃厚飼料の通過速度を求めるモデル式は粗飼料の違いを考慮したものでないと考えられた。

本試験の結果は、粗飼料が異なると同じ粗濃比であっても、飼料の通過速度は異なり、CP 分解度が影響を受けること、一方、第一胃内 CP 分解度が同一であっても、NFC 摂取量により乳量や乳タンパク質率、BUN 値への影響が異なることを明らかにした。

Mabjeesh et al.(1997)は、NSC(非構造化炭水化物)給与量を同一として、NSC 摂取量(kg)/分解性 CP 摂取量(kg)比を 3.8 と 4.2 の水準で比較し、下部消化管への第一胃内微生物体タンパク質の移行量は後者が多く、血漿中尿素窒素(PUN)値も低いとしている。粗飼料と粗濃比の異なる TMR 給与試験では、NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は、トウモロコシサイレージ主体 TMR の場合、NFC 含量が相対的に高く 3.0~3.2、禾本科のイタリアンライグラスサイレージ主体 TMR の場合、でん

ぶんが少ないことから 2.1 ~ 2.6, 飼料イネサイレージ TMR の場合, 子実が粗飼料乾物中 50%程度を占めるためトウモロコシサイレージ主体 TMR と同様に 3.05 ~ 3.14 であった。エネルギーと尿素窒素(BUN, PUN あるいは乳汁中尿素窒素(MUN))は負の相関関係にあると報告されている(Roseler et al., 1992)。NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比が低いほど, BUN 値は高くなることから, 第一胃内微生物に利用可能なエネルギーの存在が重要と考えられた。飼料イネサイレージTMRにおいては, 子実を含むため NFC は高いが, 未消化のまま排泄される子実は 45%程度に達する(新出, 2002)。そのため, 本試験において実際に利用可能と推定される NFC 摂取量を算出すれば, NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比は 2.5 ~ 2.8 に低下するため, 乳タンパク質率が低く, MUN 値が高くなったと考えられる。今後, 飼料イネの子実消化性向上の取り組みが不可欠と考えられた。

粗飼料と粗濃比の違いを検討した本試験では, NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比と BUN 値の関係は, $y = -0.1028x + 4.5106 (R^2 = 0.495, P < 0.05)$ (y: NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg), x: BUN 値)の関係式で示され, 寄与率は 0.495 とやや低い。BUN に影響を与える要因として, EE 摂取量も考えられることからさらに検討すべきと思われた。

尿素窒素は, タンパク質代謝の有益な指標であり, これらの濃度が高くなれば子宮内の pH 低下や血漿中のプロゲステロン濃度の低下が生じ, 受胎能力が低下することが報告されている(Barton, 1996; Butler, 1998)。また, 農家調査で MUN レベルが 16mg/dl 以上は受胎率が低下し, これ以下であれば乳タンパク質率が高くなること(田中ら, 1998), 要求量以上に分解性 CP が給与された場合, 受胎率は低下することが報告されている(Canfield et al., 1990)。これらのことから, BUN 値が 15mg/dl 程度になる飼料給与を基準にすると, NFC 摂取量(kg)/CP 有効分解量(kg)の比が高い場合, 第一胃内で CP の利用効率がよいことから, その値は 3.0 以上にすべきと考えられた。

従来, 飼料給与する場合, 第一胃内における CP 分解量と NFC 量のバランスが不明であったが, 本試験で検討した CP の第一胃内分解パラメータや通過速度の測定は, CP 有効分解度および量の査定に不可欠であり, 乳タンパク質率向上や BUN, MUN の制御に関して有効な指標になることが明らかになった。

以上の得られた成果や指標は, 粗飼料給与割合の少ない飼養管理において適合性が高いものである。広島県における TMR 供給センターでの飼料設計や農家における給与設計に用いられており, 平成 15 年現在, 広島県の乳タンパク質率は, 中国地域の他県と概ね同レベルにま

で達した。また, 耕畜連携で有効な飼料イネ生産が行われつつあるが, 飼料イネ子実の排泄を改善し, 栄養的価値を向上させることで, さらなる飼料イネの栽培面積の拡大が期待される。

要約

高泌乳牛における乳タンパク質向上のための飼料給与に関する研究

本研究は、乳タンパク質率向上に関して、特に乳タンパク質率の低下しやすい泌乳前期の乳牛に対して、従来の給与指標では未確立であった CP の有効分解度と乳タンパク質率の関係について検討を重ね、粗飼料給与割合の少ない広島県の給与実態における養分給与の技術確立を目的として試験を実施した。得られた結果は次のとおり要約される。

第 2 章 飼料中の粗タンパク質含量が乳生産に及ぼす影響

第 1 節 泌乳前期における粗タンパク質含量の違いが乳タンパク質率に及ぼす影響

分娩～分娩後 110 日間にわたって、9 頭の分娩牛を用い、TDN 含量 76～77%、粗脂肪含量 5%と同一の設定とし、CP 含量を 14%、17%、20%とした飼料が乳生産に及ぼす影響について一元配置法で検討した。飼料中の CP 含量が 17%以上であれば、乾物摂取量が増加し、泌乳ピークも明瞭で乳量も増加した。また、乳タンパク質率も向上した。一方、CP 含量が 14%の場合、泌乳ピークが認められず横ばいの泌乳曲線となり、乳タンパク質率も低い推移を示したが、繁殖に関しては区間に差は認められなかった。しかし、飼料 CP の給与量の増加に伴い、血液尿素窒素量が有意に上昇し、飼料 CP の利用率の低下が認められた。このことから、第一胃内における CP の分解様相について考慮すべきことが示唆された。

第 3 章 飼料の処理や飼料構成が飼料タンパク質の第一胃内分解様相に及ぼす影響

第 1 節 圧ぺん大豆の加熱処理が第一胃内粗タンパク質有効分解度に及ぼす影響

加熱処理が第一胃の分解速度と通過速度に及ぼす

影響を検討するために、加熱時間を異にした圧ぺん大豆 4 種類(非加熱処理, 400 30 秒加熱処理, 400 60 秒加熱処理, 400 120 秒加熱処理)を調製し、3 頭のフィステル装着めん羊を用い in situ 法で第一胃内分解パラメータを、4 頭の泌乳牛を用い marker 法で第一胃内通過速度を測定し、第一胃内乾物および CP 有効分解度を調査した。結果は、加熱処理により CP の易分解性分画割合 a が低下し、難分解性分画割合 b が有意に上昇した。しかし、難分解性分画の分解速度定数 c、潜在的分解分画 a + b は処理間に差は認められなかった。大豆の第一胃内通過速度は、加熱処理により有意に速くなり、第一胃内乾物および CP 有効分解度は低下することが判明した。しかし、加熱時間の間には差は認められなかった。

第 2 節 粗飼料源と粗濃比の異なる TMR 給与下における TMR 構成飼料原料の第一胃内粗タンパク質有効分解度

粗飼料をそれぞれトウモロコシサイレージとイタリアンライグラスサイレージとし、混合飼料(TMR)の粗濃比(それぞれ 30:70, 37:63, 45:55)が TMR 構成飼料原料の第一胃内 CP の有効分解度に及ぼす影響を検討するため、3 頭のフィステル装着牛を用いナイロンバック法で分解パラメータを、6 頭の泌乳牛を用いマーカー法で通過速度定数を調査した。個々の構成飼料原料の第一胃内分解パラメータには明らかな違いが認められた。粗飼料源の違いおよび粗濃比の違いは粗タンパク質の第一胃内分解パラメータの易分解性分画割合 a に有意な差を及ぼさなかった。また、難分解性分画割合 b も差が認められなかった。一方、b 分画の分解速度定数 c は、粗飼料源では、トウモロコシサイレージが有意に小さく ($P < 0.01$)、粗濃比では、粗飼料割合 45%区が他の区に比較して有意に小さかった ($P < 0.01$)。これは TMR 中の粗脂肪の影響と考えられた。飼料の第一胃内通過速度定数は、トウモロコシサイレージ主体 TMR では粗飼料摂取割合の大きい TMR45 区が、TMR30 区および TMR37 区に比較し有意に小さかった ($P < 0.05$)。一方、イタリアンライグラス主体 TMR では、TMR37 区が、他の区に比較し有意に小さかった ($P < 0.05$)。第一胃内粗タンパク質有効分解度 (dg) は、飼料の第一胃内通過速度が遅いもので大きい傾向にあり、トウモロコシサイレージ TMR45 区が、TMR30 区および TMR37 区に比較し有意に大きかった ($P < 0.01$)。b 分画の分解速度定数 c に有意な差が認められたものの、これらが dg に及ぼす影響は小さく、第一胃内有効分解度は通過速度による影響が大きいと考えられた。

第4章 飼料粗タンパク質の第一胃内有効分解度が乳生産に及ぼす影響

第1節 高エネルギー飼料でのタンパク質分解度が泌乳初期における乳生産に及ぼす影響

分娩後から泌乳ピークにかけての高泌乳牛における給与飼料の第一胃内タンパク質分解速度、通過速度および粗タンパク質有効分解度の影響を検討するために、給与飼料中の粗飼料割合が35%前後で、高エネルギーの飼料給与の条件で、次の試験を実施した。

試験1: 乾熱処理圧べん大豆に希土類元素(La, ランタン)を標識し、通過速度を求めたところ、高泌乳牛でもかなり低い値(平均 2.72%/h)となり、飼料粗タンパク質の有効分解度が高く算出された。

試験2: 粗タンパク質の第一胃内有効分解度が異なる、高分解度(Hdg区)、中分解度(Mdg区)および低分解度(Ldg区)の3区の飼料給与が、分娩後16週間の乳生産に及ぼす影響について乳牛9頭を用い一元配置試験法で検討した。なお、飼料の粗タンパク質有効分解度は第一胃内分解パラメータとAFRC飼養標準のモデル式による通過速度からそれぞれ算出した。TDN摂取量から算出した通過速度は10.5%/hとなり、粗タンパク質の有効分解度は、Hdg区が72.4%、Mdg区が60.9%、Ldg区が53.5%となった。乾物摂取量は、粗タンパク質の有効分解度の違いに影響されなかった。TDN摂取量は区間に差は認められなかった。泌乳ピークへの到達は、分解度の低いLdg区が他の区に比較して早まる傾向にあったが、乳量には差が認められなかった。泌乳ピーク前(分娩後3~6週)の乳タンパク質率は、Hdg区では低下が大きかったが、Ldg区では低下が抑制された($P<0.05$)。一方、泌乳ピーク後には、分解度の大きいHdg区であっても分解度の違いによる乳タンパク質含量への影響が小さくなった。分解度の異なる飼料の給与は、泌乳ピーク前と後で乳タンパク質生産への影響が異なることが示唆された。

第5章 粗飼料源と粗濃比の違いが乳生産に及ぼす影響

第1節 トウモロコシサイレージ主体の粗濃比の異なるTMRの給与が乳タンパク質率に及ぼす影響

粗飼料としてトウモロコシサイレージとハイキューブを用い、CP含量17%、TDN含量78%に一定としたTMR30区(粗濃比30:70)、TMR37区(粗濃比37:63)、TMR45区(粗濃比45:55)を給与し、乳量、乳成分、第一胃内通過速度、反芻行動、血液性状および第一胃内容液性状について6頭の泌乳牛を用い3×3のラテン方格法で試験を実施した。通過速度はTMR45区が有意に遅かった。乾物摂取量は粗濃比に影響されなかった。第一胃内CP有効分解度が同一であり、乳量、乳成分に差はなかった。血液性状において、血液尿素窒素量、総コレステロール値は、TMR30区がTMR37区およびTMR45区に比較して有意に低かった($P<0.05$)。一方、グルコースはTMR30区が有意に高く($P<0.05$)、同じTDN含量であっても、由来するエネルギーの種類の違いが影響したと考えられた。反芻行動では、採食時間が粗飼料割合の少ないTMR30区で短く($P<0.05$)、採食速度はTMR45区が遅い傾向にあった。総反芻時間はTMR30区が短い傾向にあったが、総反芻期数には有意な差は認められなかった。1反芻期持続時間はTMR30区が短く、総吐出回数も少なかった($P<0.05$)。反芻の質的变化を示す吐き戻し食塊当りの咀嚼回数、咀嚼時間には区間に有意な差は認められなかった。咀嚼回数は粗飼料摂取量の多少を判断する指標にはならないことが判明した。

以上の結果から、トウモロコシサイレージを主体とするTMRの場合、粗飼料乾物摂取割合は30~45%であれば、乾物摂取量、泌乳成績に関して大きな差はないと考えられたが、酢酸/プロピオン酸比から粗飼料割合は37%以上と考えられた。

第2節 イタリアンライグラスサイレージ主体の粗濃比の異なるTMRの給与が乳タンパク質率に及ぼす影響

粗飼料としてイタリアンライグラスサイレージとハイキューブを用い、CP含量17%、TDN含量78%に一定としたTMR30区(粗濃比30:70)、TMR37区(粗濃比37:63)、TMR45区(粗濃比45:55)を給与し、乳量、乳成分、第一胃内通過速度、反芻行動、血液性状および第一胃内容液性状について6頭の泌乳牛を用い3×3のラテン方格法での試験を実施した。

乾物摂取量は粗濃比の違いに影響され、TMR30区はTMR45区に比較して有意に多かった($P<0.05$)。総NDF摂取量には区間に差が認められなかった。乳量は、TMR30区およびTMR37区はTMR45区に比較して有意に多かった($P<0.05$)。乳脂率、乳タンパク質率は区間に有意な差は認められなかった。一方、乳糖率、無脂固形分率はTMR30区がTMR45区に比較して有意に高く

($P<0.05$)、飼料摂取量の違いが影響したと考えられた。飼料の第一胃内通過速度は TMR37 区が TMR30 区および TMR45 区に比較して有意に遅かった($P<0.05$)。これらの通過速度から算出される各 TMR 区間の CP 有効分解量は TMR45 区が最も小さかった。血液性状において、血液尿素窒素量は粗飼料摂取割合の増加に伴い有意に高くなった($P<0.05$)。グルコースは TMR45 区が他の区に比較し有意に低く($P<0.01$)、総コレステロール値は、TMR45 区が有意に高い値を示し、同じ TDN 含量であっても、EE 含量あるいは NFC 含量が異なるため、由来するエネルギーの種類の違いが影響したと考えられた。低級脂肪酸(VFA)濃度は TMR30 区が TMR45 区に比較して有意に多かった($P<0.01$)。咀嚼行動では、総採食時間は TMR30 区が TMR45 区に比較し有意に短く($P<0.05$)、採食速度は TMR30 区が有意に速く($P<0.05$)、粗飼料摂取割合の影響と考えられた。総咀嚼時間は TMR30 区が TMR45 区に比較し有意に短かった($P<0.05$)。摂取粗飼料由来 NDF1,000g 当りの反芻時間は区間に有意差が認められず、反芻効率には差が認められなかった。一方、反芻の質的变化を示す吐き戻し食塊当りの咀嚼時間は、TMR45 区が有意に短かった。

以上の結果から、飼料摂取量、泌乳成績から考慮して、イタリアンライグラスサイレージを主体とする TMR の場合、乾物摂取量を確保するためには粗飼料割合は 30%程度とし、無脂固形分分画の成分向上のために NFC 含量を 34%以上にする必要があったと考えられた。

第 3 節 飼料イネホールクroppサイレージの粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質に及ぼす影響

出穂後 40 日刈取りの飼料イネ(アケノホシ)で調製した飼料イネ発酵粗飼料(ホールクroppサイレージ:WCS)を用いた粗濃比の異なる混合飼料(TMR)の給与が、泌乳成績、第一胃内容液性状および咀嚼行動に及ぼす影響について、6 頭の乳牛を用い 1 期 21 日間計 63 日間のラテン方格法により調査した。供試した TMR は、粗濃比を乾物比で 26:74(TMR26 区)、30:70(TMR30 区)、35:65(TMR35 区)とした 3 処理で、いずれも乾物含量 60%、粗タンパク質(CP)含量 17%、可消化養分総量(TDN)含量 77%に調整した。乾物摂取量は区間に差が認められなかった。乳量は TMR26 区が TMR35 区より多かった($P<0.05$)。乳脂率は TMR35 区が高く、一方、乳タンパク質率、乳糖率および無脂固形分率は TMR26 区が高かった($P<0.05$)。乳量や無脂固形分率などの値が TMR35 区で低かったのは、TDN 摂取量に差がないことから、子実が糞中へ排泄されたことによる非繊維

性炭水化物の損失が原因と考えられた。乳汁中尿素窒素量は、TMR35 区が TMR26 区より高かった($P<0.05$)。第一胃内容液の pH、低級脂肪酸濃度は差が認められなかったが、酢酸割合は TMR35 区が高く、プロピオン酸割合は TMR26 区が高かった($P<0.05$)。酢酸/プロピオン酸比は、TMR35 区が他の区より高かった($P<0.05$)。採食時間は TMR35 区が TMR30 区より長く($P<0.05$)、採食速度は TMR26 区が速かった($P<0.05$)。一方、乾物摂取量当りの総咀嚼時間は、TMR26 区が TMR35 区より短かった($P<0.05$)が、32.9 分/kg は確保された。

以上の結果から、乳量 35kg/日程度の乳牛に対して、出穂後 40 日刈取りの飼料イネ WCS を用いた TMR を調製給与する場合、サイレージの乾物混合割合は 26~30%が望ましく、サイレージの乾物給与量は 6.0~6.5kg/日が妥当と判断された。

謝辞

本論文を取りまとめるに当たり京都大学大学院農学研究科・農学部応用生物科学専攻の矢野秀雄教授には、終始、懇切なるご指導、ご校閲の労を賜った。また、京都大学大学院農学研究科の佐々木義之教授、久米新一教授、松井徹助教授には、懇篤なるご指導、ご校閲を賜った。さらに、本試験を遂行するにあたり、島根大学生物資源科学部の藤原勉教授ならびに一戸俊義助教授には試験手法など試験開始当初から多大なご助言、ご指導、ご薫陶を賜った。ここに深甚の謝意を表す。

本研究遂行にあたって、幾多の困難な状況の中で御助言、御協力いただいた広島県立畜産試験場、組織改編後の広島県立畜産技術センターの職員諸氏、また、精進をうながすやさしい目ではげましてくれた乳牛たちに心より感謝の意を表す。

英文要約

Studies on the feeding for the milk protein improvement in highly lactating dairy cow.

Chapter Effect of crude protein concentration in diets on milk production.

- Influence of crude protein concentration of diets on milk production and milk component in early lactating dairy cows.

The effect on lactation performance of crude protein (CP) concentration in rations was studied using 9 Holstein cows from preparturition to 110 days postparturition. The cows were fed 3 type of rations of which crude protein concentration were 14, 17 and 20% respectively, based on one-way layout design.

The results obtained were as follows;

Dry matter intake (kg/d) differed significantly among treatments. The cows fed rations of crude protein concentration 20% tended to larger dry matter intake than that fed 14%. The cows fed rations of crude protein concentration 17%, 20% tended to larger milk yielding than fed 14%. Milk yield was not significantly affected by treatments. The cows fed rations of crude protein concentration 14% tended to lower peak of milk yielding than that fed 17% or 20%. Milk fat was not significantly affected among treatments. Milk protein (%) of the cows fed rations of crude protein concentration 14% was significantly lower compared to that of 17% and 20%. Milk SNF (%) showed the similar pattern to milk protein(%). In blood plasma metabolites, urea nitrogen of the cows fed rations of crude protein concentration 20% was significantly higher than that of 14% and 17%($P<0.01$). Reproduction efficiency was not significantly affected among treatments. The results obtained in this study suggest that estimation of ruminal effective degradability of CP is very important.

Chapter Effect of the ruminal effective degradability of crude protein in rations.

- Effect of heating soybean on the effective degradability of crude protein in the rumen.

To evaluate the effect of heating soybean (four types of heated soybeans were prepared by roasting rolled raw soybean at 400 for 0,30,60 and 120 seconds) on the effective degradability of crude protein in the rumen, ruminal degradability and passage rate constant were determined for each soybean. The rumen degradation characteristics and passage rate constant for each soybean were determined using a nylon bag technique and a marker pulse dose procedure using three rumen fistulated weathers and Four Holstein lactating cows, respectively.

The, "a" value which represents the immediate soluble fraction (%), for the raw was significantly higher than for the heated soybeans ($P<0.05$). Inversely, the "b" value which represents the insoluble but fermentable fraction (%), was lower for the raw than for the heated soybeans($P<0.05$). But there were no statistical significant differences in the "a" value and "b" value among the heated soybeans. The values of "c" which represents the rate constant of degradation of "b"(/hr), and the potentially degradable value of "a" + "b" did not differ significantly among soybeans. The ruminal passage rate constant(%/hr) was significantly higher for the heated soybean than for the raw soybean($P<0.05$), but did not differ significantly among the heated soybeans. The ruminal effective degradability of crude protein(%) was significantly higher for the raw than for the heated soybeans($P<0.05$), however, there were no statistical significant differences in the ruminal effective degradability among the heated soybeans. Heat treatment affected the rumen degradation characteristics and passage rate constant.

- **Effect of the roughage and the roughage:concentrate ratio on the effective degradability of total mixed ration (TMR) crude protein in the rumen.**

Ruminally cannulated 3 cows, and lactating 6 cows were used to determine the effects of concentrate to roughage ratio on the effective degradability of crude protein of TMR ingredients in the rumen. Corn silage and Italian ryegrass silage were used as the roughage consisted TMR, respectively. The TMR, ration of concentrate to roughage ratio were 30:70, 37:63, 45:55 respectively. The rumen degradation characteristics and passage rate constant for each TMR ingredients were determined via the nylon bag technique and marker pulse dose procedure.

The results obtained were as follows;

The ruminal degradability parameters differed markedly among investigated diets. The soluble protein(%), and degradable protein(%) did not differ significantly among concentrate to roughage ratio of TMR, and between silage. But on effect of rouguage, degradation rate constant(/ hr) of degradable protein of TMR mixed corn silage as roughage was significantly lower than that of TMR mixed Italian ryegrass silage($P<0.01$), and on effect of concentrate to roughage ratio, roughage of 45:55 was significantly lower than that of others($P<0.01$). The ruminal passage rate at corn silage TMR was significantly lower for concentrate to roughage ratio of 45:55 compared to that of the others($P<0.05$). On the other hand, the ruminal passage rate at Italian ryegrass silage TMR was significantly lower for concentrate to roughage ratio of 37:63 compared to that of the others($P<0.05$). The effective ruminal degradability of crude protein(%) was significantly higher for corn silage TMR, for concentrate to roughage ratio of 45:55 compared to that of the others. The effective ruminal degradability of crude protein (%) is markedly affected by the ruminal passage rate.

Chapter Effect of Ruminal Effective Degradability of Dietary Crude Protein on Milk Production.

- **Effects of the Ruminal Protein Degradability on Milk Production during Early Lactation of Cows fed High-energy Diets .**

The purpose of this research was to examine the effects on milk production of ruminal degradability of dietary protein in early lactating cows fed on a relatively high-energy diet (roughage to concentrate ratio of 35:65).

The first trial was undertaken to evaluate the ruminal degradability of diets by a nylon bag technique using 3 rumen cannulated sheep and dry cows, and then the passage rate was also examined by pulse dose procedure of a marker of rare-earth element (Lanthanum) using 4 early lactating cows. The passage rates were very low (2.72%/h), and then the calculated ruminal degradability of dietary crude protein resulted in relatively high. The second trial was conducted to evaluate the effects on early lactation performance of the difference in ruminal degradability of dietary crude protein, i.e., high (Hdg), middle (Mdg) and low degradability (Ldg), using 9 Holstein cows during 16 weeks after parturition based on one-way layout design. The ruminal degradability of diets were calculated based on the passage rate constant of empirical equation shown in feeding standard of the Agricultural and Food Research Council. Passage rate constant was 0.105/h, and calculated ruminal degradability of dietary crude protein ,Hdg diet was 72.4%, Mdg diet was 60.9% and Ldg diet was 53.5%, respectively. Dry matter intake (kg/d) and total digestible nutrients (kg/d, %) were not significantly affected by the diets used. The cows fed on Ldg diet tended to reach peak of milk yielding faster than the cows fed on Hdg or Mdg, but there were no differences in milk yield during the experiment. Milk protein (%) of the cows fed on Hdg diet was significantly low ($P<0.05$) as compared to that of cows fed on Ldg before the peak of milk yielding (from 3 to 6 weeks after parturition), and then milk protein (%) of the cows fed on Ldg diet was maintained high. On the other hand, milk protein concentration was not affected significantly by the differences in ruminal degradability of dietary crude protein after the peak of milk yielding. Therefore, the results obtained in this study suggest that at early lactating period, low ruminal degradability of dietary protein has an effect on milk protein production and then, has different effect on milk protein production before and after the peak of milk yielding.

Chapter Effect of the kind of roughage and roughage:concentrate ratio of total mixed ration(TMR) on milk production.

- Effects of Corn Silage Proportion in Total Mixed Ration on Milk Production Performance and Chewing Activity of Lactating Cow .

Six lactating cows were used to determine the effects of concentrate to roughage (corn silage and hay cube) ratio in total mixed ration, which were 30:70(TMR30), 37:63(TMR37), 45:55(TMR45) (crude protein17%/dry matter, total digestible nutrients 78%/dry matter, TMR were used, respectively) on the milk production, milk composition, ruminal passage rate, rumination behavior, blood plasma metabolites and ruminal characteristics, based on a 3 × 3 Latin square design.

The results obtained were as follows; The ruminal passage rate was significantly lower for TMR45 than for the others(P<0.01 or P<0.05). Dry matter intakes did not differ significantly among TMR groups. Milk yield and composition did not differ significantly among TMR groups. Also the effective ruminal degradability of crude protein(%) did not differ among TMR groups. In blood plasma metabolites, urea nitrogen and total-cholesterol were significantly lower for TMR30 than for the others(P<0.01). On the other hand, glucose was significantly higher for TMR30 compared to the others(P<0.01). The results affected according to the kind of energy in rumen. Time spent eating (sec/ day) of TMR30 differed significantly compared to the others(P<0.05). Rate of eating (gDM/min) of TMR45 tended to be slower than that of the others. Total rumination time (min/day) tended to be shorter for TMR30 compared to the others. Number of rumination period/day was not significantly affected by diets. And rumination period(min) and number of boli regurgitated/day were significantly lower for TMR30 than for the others(P<0.05). On the other hand, number of chews per bolus and bolus time(sec) did not differ among TMR groups. In TMR consisted of corn silage, roughage ratio of 30 ~ 45% for dry matter intake and milk yield is suitable, but judging from value of acetic acid/ propionic acid, we think that roughage ratio of over 37% is suitable.

- Effects of Italian ryegrass silage Proportion in Total Mixed Ration on Milk Production Performance and Chewing Activity of Lactating Cow .

Six lactating cows were used to determine the effects of concentrate to roughage (Italian ryegrass silage and heycube) ratio in total mixed ration, which were 30:70(TMR30), 37:63(TMR37), 45:55(TRM45)(crude protein17%/dry matter, total digestible nutrients 78%/dry matter, TMR were used, respectively) on the milk production, milk composition, ruminal passage rate, rumination behavior, blood plasma metabolites and ruminal characteristics, based on a 3 × 3 Latin square design.

The results obtained were as follows; Dry matter intakes differed significantly higher for TMR30 compared for TMR45(P<0.01). Total neutral detergent fiber intakes did not differ among TMR groups. Milk yield differed significantly higher for TMR45 compared for the others(P<0.01 or P<0.05). Milk composition of lactose and SNF differed lower for TMR30 compared for TMR45(P<0.05). The ruminal passage rate was significantly lower for TMR37 than for the others(P<0.05). The effective ruminal degradability of crude protein(kg) differed significantly lower for TMR45 compared for the others(P<0.01). In blood plasma metabolites, urea nitrogen and total-cholesterol differed among TMR groups(P<0.05). On the other hand, glucose was significantly lower for TMR45 compared to the others(P<0.05). Time spent eating (min/ day) of TMR30 differed significantly shorter compared to TMR45(P<0.05). Rate of eating (gDM/min) of TMR30 was larger than the others(P<0.01). Total rumination time (min/day) did not differ among TMR. Number of rumination period/day was not affected by diets. Number of boli regurgitated/day were significantly lower for TMR30 than for TMR45(P<0.05). On the other hand, number of chews per bolus time(sec) differed significantly for TMR45 compared to the others(P<0.01). In TMR consisted of italian ryegrass silage, roughage ratio of under 30% , more than 34% in non fiber carbohydrate concentration for milk yield and solid-not-fat production, are suitable.

- **Effects of Rice Whole Crop Silage Proportion in Total Mixed Ration on Milk Production Performance and Chewing Activity of Lactating Cow .**

Six lactating cows were used to determine the effects of concentrate to roughage (rice whole crop silage) ratio in the ration (26:74, 30:70, 35:65 of total mixed ration, ; dry matter 60%, CP17%/DM, TDN77%/DM, TMR were used, respectively) on the milk production, milk composition, ruminal characteristics, rumination behavior, based on a 3 × 3 Latin square design.

Dry matter intake was not significantly affected by the diets. Milk yield of the cows fed in TMR26 was significantly high as compared to that of cows fed on TMR35(P<0.05). Milk protein(%), lactose(%) and solid-not-fat(%) were significantly higher for TMR26 than for TMR35(P<0.05). Because paddy rice was excreted into fecal. Milk urea nitrogen was significantly higher for the cows fed on TMR35 than for that of fed on TMR26(P<0.05). Ruminal pH value and volatile fatty acid(mM) did not differ significantly among TMR groups. Acetic acid(mol%) of the cows fed on TMR35 was high, propionic acid(mol%) of the cows fed on TMR26 was high(P<0.05). Acetic acid/ propionic acid of the cows fed on TMR35 was significantly high as compared to the others(P<0.05). Total chewing time/dry matter intake kg of the cows fed on TMR26 was 32.9min/DMkg, was significantly shorter than that of cows fed on TMR35(P<0.05). Number of chews per bolus and bolus time(sec) did not differ among TMR groups. Therefore, the present study suggested that for the cows of 35kg/d milk yielding, rice whole crop silage of ratio in TMR was suitable 26 ~ 30%, and that of dry matter intakes were 6.0 ~ 6.5kg/d.

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 日畜会報 51 : 1-11.
- 阿部又信・湯川弘之・入来常德. 1983. ルーメン・バイパスタンパク質の第一胃以降における消化性について 日畜会報 54 : 648-653.
- 阿部亮. 1988. 炭水化物成分を中心とした飼養分析法とその飼料栄養評価法への応用, 農林水産省畜産試験場研究資料 第2号.
- 阿部啓之・阿部亮. 1991. 第一胃における各種飼料の繊維の消化特性について. 畜産試験場研究報告, 51:37-42.
- AFRC. 1993. Agricultural and Food Research Council, Energy and Protein Requirements of Ruminants, Alderman, G and Cottrill, B.R. eds. Cab International Wallingford, UK.
- Allen, M.S and P.J. Van Soest. 1984. Periodicity and variation in the binding of rare earth ions to plant cell wall particles. In: Techniques in particle size analysis of food and digesta in ruminants. (Kennedy PM) 180-183. Canadian Society of Animal Science. Occasional Publication 1. Edmonton, Alberta, Canada.
- Allen, M. S and D. K. Beede. 1996. Causes, detection and prevention of ruminal acidosis in dairy cattle. P55. Tri-State Nutr. Conf., Fort Wayne, IN.
- Andrighetto I, Bailoni L, Cozzi G, Tolosa HF, Hartman B, Hinds M, Sapienza. 1993. Observations on in situ degradation of forage cell components in alfalfa and Italian ryegrass. J. Dairy. Sci. 76 : 2624-2631.
- ARC. 1980. Agricultural Research Council : The nutrient requirements of ruminant livestock. Commonwealth Agricultural Bureau. Slough, England, UK.
- Armentano LE, Bertics SJ, Riesterer J. 1993. Lack of response to addition of degradable protein to a low protein diet fed to midlactation dairy cows. J. Dairy. Sci. 76:3755-3762.
- Barton, B.A. 1996. Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cow. J. Dairy Sci. 79:2225-2236.
- Beauchemin, K. A. 1991. Effect of dietary neutral detergent fiber concentration and alfalfa hay quality on chewing, rumen function, and milk production of dairy cows. J. Dairy. Sci. 74 : 3140-3151.
- Beauchemin, K. A., B. I. Farr, L. M. Rode and G. B. Schaalje. 1994. Effect of alfalfa chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. J. Dairy. Sci. 77 : 1326-1339.
- Blaxter, K. L., N. MacC. Graham and F. W. Wainman. 1956. Some observations on the digestibility of food by sheep and on related problems. Br. J. Nutr. 10 : 69-91.
- Bruining, M. and Bosch, M.W. 1992. Ruminal passage rate as affected by CrNDF particle size. Anim Feed Sci and Tech, 37:193-200.
- Butler, W. R and R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. J. Dairy Sci. 72 : 767-783.
- Butler, W. R., J. J. Calaman and S. W. Beam. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. J. Anim. Sci. 74 : 858-865.
- Butler, W. R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J. Dairy Sci., 81, 2533-2539.
- Canfield, R. W., C. J. Sniffen and W. R. Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. J. Dairy. Sci., 73 : 2342-2349.
- Castle, M. E., W. C. Retter and J. N. Watson. 1979. Silage and milk production: Comparison between grass silage of three different chop lengths. Grass and Forage Sci. 34 : 293-301.
- 畜産大辞典, 内藤元男監修 1978. 498. 養賢堂, 東京.
- 千葉県畜産センター特別研究報告. 1998. 3, 65-87
- Church, D. C. 1969. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol. 1. 39-57. O.S.U. Book Stores, Inc., Corvallis.
- Clark, P. W and L. E. Armentano. 1999. Influence of particle size on the effectiveness of the fiber in corn silage. J. Dairy. Science 82 : 581-588.
- Cunningham KD, Cecava MJ, Johnson TR, Ludden PA. 1996. Influence of source and amount of dietary protein on milk yield by cows in early lactation. J. Dairy. Sci 79:620-630.

- Devendra, C., and D. Lewis. 1974. The interaction between dietary lipids and NDFiber in the sheep. *Anim. Prod.* 19 : 67-76.
- Dinn.,N.E, Shelford.,J.A and Fisher.,L.J. 1998. Use of the Cornell net carbohydrate and protein system and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. *J.Dairy Sci.*,81,229-237.
- 動物栄養試験法:森本宏監修,536P,養賢堂,東京,1971.
- Edwards, J. S., E. E. Bartley and A. D. Dayton. 1980. Effects of dietary protein concentration on lactating cows. *J. Dairy. Sci.* 63 : 243-248.
- Eliman, M. E and E. R. Ørskov. 1984. Factors affecting the outflow of protein supplements from rumen. *Anim. Prod.* 38 : 45-51.
- Ellis, W.C and Beever, D.E. 1984. Techniques in particle size analysis of feed and digesta in ruminants. *Can.Soc.Anim Sci. occ. publ.* 1.154-165.
- Emery, R. S. 1978. Feeding for increased milk protein. *J. Dairy. Sci.* 61 : 825-828.
- Erdman, R. A. and J. H. Vandersall. 1983. Effect of rumen degradability on milk yield of dairy cows in early lactation. *J. Dairy. Sci.* 66 : 1873-1880.
- Erdman, R. A., J. H. Vandersall, E. Russek-Cohen and G. Switalski. 1987. Simultaneous measures of rates of ruminal digestion and passage of feeds for prediction of ruminal nitrogen and dry matter digestion in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 64 : 565-577.
- Ferguson, J. D and W. Chalupa. 1989. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 72 : 746- 766.
- Ferguson, J. D., D.T. Galligan, T. Blanchard and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate:The usefulness of test information. *J. Dairy. Sci.* 76 : 3742-3746.
- Fujihara, T., E. R. Ørskov, P. J. Reeds and D. J. Kyle. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J. Agri. Sci. Camb.* 109 : 7-12.
- 藤田裕・勝俣和悦. 1975. 牧草サイレージ中水溶性および非水溶性窒素成分のメン羊による利用性の比較 日畜会報 46 : 347-352.
- 藤田裕・松岡栄・高橋潤一. 1991. 乾草と牧草サイレージタンパク質の第一胃内分解特性の比較 日畜会報 62 : 76-82.
- 藤田裕・松岡栄・高橋潤一・結城隆則・釜野誠也. 1988. 粗飼料タンパク質のバック法による第一胃内分解率に及ぼす給与飼料の効果 日畜会報 59 : 510-516.
- Ganesh,D and D.G.Grieve. 1990. Effect of roasting raw soybeans at three temperatures on in situ dry matter and nitrogen disappearance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73 : 3222-3230.
- Gordon, J. C. 1958. The act of rumination. *J. Agr. Sci.* 50 : 34-42.
- Grovum, W. L. and J. A. Wever. 1992. Increasing the tonicity of blood inhibited rumination in sheep. *J.Anim Sci.*,71(Suppl.1) : 315.
- Grovum, W. L. and V. J. Williams. 1973. Rate of passage of digesta in sheep. 4.Passage of marker through the alimentary tract and biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *Br. J. Nutr.* 30 : 313-329.
- Hartnell, G. F., and L. D. Satter. 1979. Determination of rumen fill, retention time and ruminal turnover rates of ingesta at different stages of lactation in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 48 : 381-392.
- Harvey, W.R. 1987. User's Guide of LSMLMW PC-1 Version. Ohio State University. Columbus.
- 林兼六・伊沢健・太田実. 1965. 草類嗜好性の測定法に関する研究 第一報 給与草の嗜好性に対する数種測定法の比較 日草誌 11 : 168-173 .
- 平成 12 年度草地試験研究成績・計画概要集 2001. 農林水産省草地試験場, 342.
- 平成 13 年度自給飼料品質評価研究会資料.2002.,畜産草地研究所,7-12,
- Holter, JB, Byrne JA and Schwab CG. 1982. Crude protein for milk production. *J. Dairy. Sci.* 65 : 1175-1188.
- Hooper AP, and Welch JG. 1985. Effects of particle size and forage composition on functional specific gravity. *J. Dairy. Sci.* 68: 1652-1658.
- Howard, H. J., E. P. Aalseth, G. D. Adams, L. J. Bush, R. W. McNew and L. J. Dawson. 1987. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 70 : 1563-1571.
- Hungate, R. E. 1966. The Rumen and its Microbes.281-330, Academic Press. New York and London..

- Hussein, H. S., and R. M. Jordan. 1991. Fish meal as a protein supplement in ruminant diets. *J. Anim. Sci.* 69 : 2147-2156.
- Hus and Satter;1995. LD. Procedures for measuring the quality of heated-treated soybeans. *J. Dairy. Sci.*, 78:1353-1361.
- 稲発酵粗飼料推進協議会編. 2001. “稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル”,59.
- 入来常德・佐藤光晴・岩田英二・阿部又信. 1986. 粗飼料:濃厚飼料比が第一胃内における飼料タンパク質の分解に及ぼす影響 *日畜会報* 57 : 237-243.
- 石黒瑛一・日比野洋・曾我朋義・柳井博子・澤田浩和・平岡久明・榎木茂彦, 2000. キャピラリー電気泳動法を用いたサイレージ中の各種有機酸の分析. *畜産の研究* 54,588-590.
- 石井幹:牛の行動学入門, 545P, 中央畜産会, 東京, 1986.
- 石田元彦・M.R.Isiam・安藤貞・坂井真・吉田宣夫.2000. 飼料イネ「関東飼 206号」ロールペールサイレージ給与と乳牛の乳生産と飼料の利用性に関する予備的な観察, 関東畜産学会報 50, 14-21.
- 一戸俊義. 1994. 反芻胃内飼料片の粒度別動態解析法について. *栄養生理研究会報* 38 : 89-114.
- Jaster, E. H and M. R. Murphy. 1983. Effects of varying particle size of forage on digestion and chewing behavior of dairy heifers. *J. Dairy. Sci.* 66 : 802-810.
- 自給粗飼料品質評価研究会編. 粗飼料の品質評価ガイドブック. 6-14. 1994.日本草地協会. 東京.
- 自給粗飼料品質評価研究会編:粗飼料の品質評価ガイドブック, 196, 2001.日本草地畜産種子協会, 東京.
- Jordan, E. R., T. E. Chapman, D. W. Holtan and L. V. Swanson. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 66 : 1854.
- Judkins, M. B., L. J. Krysl and R. K. Barton. 1990. Estimating diet digestibility: A comparison of 11 techniques across six different diets feed to rams. *J. Amin. Sci.* 68 : 1405-1415.
- 獣医学大辞典, 1877P, チクサン出版社, 東京, 1989.
- Kaske, M. and W. V. Engelhardt. 1990. The effect of size and density on mean retention time of particles in the gastrointestinal tract of sheep. *Br. J. Nutr.* 63 : 457-465.
- Khorasani GR, DE Boer G, Kennelly JJ.1996. Response of early lactation cows to ruminally undegradable protein in the diet. *J. Dairy. Sci.* 79:446-453.
- 小林又・直江俊郎・神谷勝則・原田英雄, 1983. 乳牛における稲ホールクロップサイレージの給与法, 愛知県農業総合試験場研究報告 15, 358-363.
- Kung, L. JR and J. T. Huber. 1983, Performance of high producing cows in early lactation fed protein of varying amounts, sources, and degradability. *J. Dairy. Sci.* 66 : 227- 234.
- Luginbuhl, J-M., K. R. Pond, J. C. Burns and J. C. Russ. 1989. Effects of ingestive mastication on particle dimensions and weight distribution form coastal bermudagrass hay fed to steers at four levels. *J. Anim. Sci.* 67 : 538-546.
- Lykos T, Varga GA. 1995. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. *J. Dairy Sci.*78 : 1789-1801.
- Mader,T.L.,R.G. Teeter and G. W. Horn. 1984. Comparison of forage labeling techniques for conducting passage rate studies. *J. Anim. Sci.* 58 : 208-212.
- Martz, F. A and R. L. Belyea. 1986. Role of particle size and forage quality in digestion and by cattle and sheep. *J. Dairy Sci.*69 : 1996-2008.
- 増淵敏彦・竹沢武春・渡辺和雄・小川増弘・酒井義正・興津善徳. 1984. 牛乳の無脂固形含量に及ぼす飼料給与の影響, 粗飼料の品質及び給与水準の影響 *草地試研報*第 27 : 37-47.
- Mabjeesh SJ, Arieli A, Bruckental I, Zamwell S, Tagari H. 1997. Effect of ruminal degradability of crude protein and nonstructural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cows. *J. Dairy Sci.*80: 2939-2949.
- Mehrez, A. Z and E. R.Ørskov. 1977. A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agri. Sci.(Camb).* 88 : 645-650.
- Mertens, D. R. 1995. Nonstructural and structural carbohydrates. 219. *Large Dairy Herd Management.* H. H. Van Horn and C.J.Wilcox, ed.,Am. Dairy Sci. Assoc.,Savoy, IL.
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the

- fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80 : 1463-1481.
- 水谷将也・山本泰也・浦川修司・苅田修一・後藤正和, 2001. 乳牛飼養における飼料イネサイレージ TMR の利用性 25%混合水準における泌乳最盛期での産乳性と臨床所見, 日本草地学会誌 47 別号, 250-251.
- 中村良一・米村寿男・須藤恒二共編: 牛の臨床検査法, 農文協, 東京, 1973.
- National Reserch Council 1989, Nutrient Requirements of Dairy Cattle 6th revised edition, National Academy Press, Washington, D. C.
- National Reserch Council 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle 7th revised edition, National Academy Press, Washington, D. C.
- Nocek JE. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. *J Dairy Sci.*, 71, 2051-2069.
- Nocek, J. E and R. A. Kohn. 1987. Initial particle form and size on change in functional specific gravity of alfalfa and timothy hay. *J. Dairy. Sci.* 70 : 1850-1863.
- Nocek, J. E. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. *J. Dairy. Sci.* 71 : 2051-2069.
- Nocek, J. E. and J. B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial protein synthesis and milk production. *J. Dairy. Sci.* 71 : 2070-2107.
- 農林水産省農林技術会議事務局編: 日本飼養標準(乳用牛)1987年版, 107P, 中央畜産会, 東京, 1987.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編: 日本飼養標準(乳用牛)1994年版, 147P, 中央畜産会, 東京, 1994.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編: 日本標準飼料成分表 1995年版, 293P, 中央畜産会, 東京, 1995.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編: 日本飼養標準(乳用牛)1999年版, 189P, 中央畜産会, 東京, 1999.
- 乳用牛群能力検定成績のまとめ - 平成 10 年度 - 社団法人家畜改良事業団, 1998.
- 乳用牛群能力検定成績のまとめ - 平成 15 年度 - 社団法人家畜改良事業団, 2003.
- Oba, M., and Allen, M.S. 1999. Evaluatrion of the importance of digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 82, 589-596.
- O'Connor, J. D., C. J. Sniffen, D. G. Fox and W. Chalupa. 1993. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. Predicting amino acid adequacy. *J. Anim. Sci.* 71 : 1298-1311.
- 岡本全弘. 1979. 反芻行動とその消化生理学的意義に関する研究 北海道立農業試験場報告 30, 1-69.
- 岡本全弘. 1991. 反芻家畜における粗飼料の物理的消化に関する研究 日畜会報 62 : 717-725.
- Oldham, J. D. 1984. Protein-energy interrelationships in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 67 : 1090-1114.
- Oltjen, R.R., Sirny, R.J and Tillman. 1962. Purified diet studies with sheep. *J. Anim Sci.*, 21, 277-283.
- 大下友子・久馬忠・近藤恒夫. 1995. 乾草給与めん羊の消化管内通過速度測定における希土類元素の標識法の比較. 日畜会報, 66: 875-881.
- Ørskov, E. R and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agri. Sci (Camb).* 92 : 499-533.
- Ørskov, E. R. 1982. Protein nutrition in ruminants. Academic Press, London.
- Ørskov, E.R., R.S. Hine and D.A. Grubb. 1978. The effect of urea on digestion and voluntary intake by sheep of diets supplemented with fat. *Anim. Prod.* 27 : 241-245.
- Palmquist, D. L. and A. D. Beaulieu. 1993. Feed and animal factor influencing milk fat composition. *J. Dairy. Sci.* 76 : 1753-1771.
- Palmquist, D. L. and W. Mattos. 1978. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-Carbon-14) linoleic acid in lactating cows. *J. Dairy. Sci.* 61 : 561-565.
- Palmquist, D. L., and H. R. Conrad. 1978. High fat ration for dairy cows. Effect on feed intake, milk aNDFat production, and plasma metabolites. *J. Dairy. Sci.* 61 : 890-901.
- Palmquist, D.L., and E.A. Moser. 1981. Dietary fat effects on blood insulin, glucose utilization, and milk protein content of lactating cows. *J. Dairy. Sci.* 64 : 1664-1670.
- Pond, K. R., W. C. Ellis, J. H. Matis and A. G. Deswysen.

1989. Passage of chromium-mordanted and rare earth labeled fiber: Time of dosing kinetics. *J. Anim. Sci.* 67 : 1020-1028.
- Poore, M. H., J. A. Moore and R. S. Swingle. 1990. Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and NDF forage in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. *J. Anim. Sci.* 68 : 2965-2973.
- Poppi, D. P., B. W. Norton, D. J. Minson and R. E. Hendricksen. 1980. The validity of critical size theory for particles leaving the rumen. *J. Agric. Sci. (Camb)*. 94 : 275-280.
- Reddy PV, Morrill JL, Nagaraja TG. 1994. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. *J. Dairy Sci.* 77: 3410-3416.
- Roffler, R. E., L. D. Satter, A. R. Hardie and W. J. Tyler. 1978. Influence of dietary protein concentration on milk production by dairy cattle during early lactation. *J. Dairy. Sci.* 61 : 1422-1428.
- Russell, J. B., J. D. O'connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70 : 3551-3561.
- 佐々木康之・渡辺亨・佐藤良樹・加藤清雄・津田恒之. 1974. めん羊の採食に伴う体液酸塩基平衡の変動. *日畜会報* 45 : 8-13.
- 佐藤博・花坂昭吾・松本光人. 1992. 乳牛における血漿成分, 栄養摂取, 牛乳尿素, 乳脂率および乳タンパク質率の関係. *日畜会報* 63 : 1075-1080.
- 佐藤博. 1986. 乳牛における血液成分とその栄養生理的意義. *日畜会報* 57 : 959-970.
- 佐藤博・工藤吉夫・三島哲夫・柏木甲. 1984. 乳牛の血漿ブドウ糖・遊離脂肪酸・尿素・カルシウム・無機リンおよびマグネシウム濃度の日内変動. *日畜会報* 55 : 741-746.
- Satter, L. D and R. E. Roffler. 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 58 : 1219.
- Satter, L. D. and L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. Nutr.*, 32 : 199-208.
- Sklan, D. and Tinsky, M. 1992. Production and reproduction response by dairy cows fed varying undegradable protein coated with rumen bypass fat. *J. Dairy Sci.*, 76, 216-223.
- 新出昭吾. 2000. 圧べん大豆の加熱処理が第一胃内粗タンパク質有効分解度に及ぼす影響. *日畜会報* 71: J245-J251.
- 新出昭吾. 2002. 広島県における稲発酵粗飼料の生産と給与. *農業技術* 57(12), 567-570.
- 新出昭吾. 2002. 高エネルギー飼料でのタンパク質分解度の違いが泌乳初期における乳生産に及ぼす影響. *日本畜産学会報*, 72, 407 - 416.
- 新出昭吾・河野幸雄. 2004. 電気歪み値による咀嚼行動の自動判定. *関西畜産学会報* 155, 23-28.
- 新出昭吾・松重忠美・松村弘明. 1995. TDN 含量を異にした自家配合飼料の給与が乳量と乳成分に及ぼす影響. *広島畜試研究報告*, 10, 17-24.
- 新出昭吾・松重忠美・松村弘明. 1997. 粗脂肪含量を異にした飼料給与が乳量, 乳成分および血液性状に及ぼす影響. *広島畜技センター研究報告*, 11, 1-8.
- 新出昭吾・松重忠美・松村弘明. 1997. でんぷん源の異なる飼料の給与が乳量と乳成分に及ぼす影響. *広島畜技センター研究報告*, 11, 9-15.
- 新出昭吾・荒尾義隆・藤川修治. 1999. 粗濃比の異なる TMR の給与が乳タンパク質率に及ぼす影響. *広島畜技センター研究報告*, 12, 25-35.
- 新出昭吾・藤川修二. 2002. イタリアンライグラスサイレージ主体の TMR の粗濃比の違いが乳生産に及ぼす影響. *広島畜技センター研究報告*, 13, 12-21.
- 城田圭子・新出昭吾・長尾かおり. 2002. 品種と窒素施肥量の違いが飼料イネホークロップサイレージの収量, 飼料成分および消化性に及ぼす影響. *広島県立畜産技術センター研究報告* 13, 56-61.
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70 : 3562-3577.
- Spain, J. N., C. E. Alvarado, C. E. Polan, C. N. Miller and M. L. McGilliard. 1990. Effect of protein source and energy on milk composition in midlactation dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 73 : 445-452.
- Stokes, S. R., W. H. Hoover, T. K. Miller and R. P. Manski. 1991. Impact of carbohydrate and protein levels on bacterial metabolism in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 74 : 860. 第

- 一胃内 pH が低下しなければ飼料中の NFC 含量の増加に伴い微生物の増殖が向上する
- Sudweeks, E. M., L. O. Ely, D. R. Mertens and L. Sisk. 1981. Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diet: Roughage value index system. *J. Anim. Sci.* 53 : 1406-1411.
- Sutherland, T. M. 1988. Particle separation in the forestomachs of sheep . In *Aspects of Digestive Physiology in Ruminants .* (Dobson , A. and M.J.Dobson , eds) 43-73. Comstock Publishing Associates . Ithaca and London.
- 寺田文典・栗原光規・西田武弘・塩谷繁. 1997. 泌乳牛における窒素排泄量の推定. *日畜会報* 68 : 163-168.
- Teeter, R.G., F.N.Owens. and T.L.Mader. 1984. Ytterbium chloride as marker for particulate matter in the rumen. *J. Anim. Sci.* 58 : 465-473.
- 豊川好司・山田和明・高安一郎・坪松戒三. 1978. メン羊において, しょ糖浸漬または磨砕稲わらの摂取量増加と消化, 反芻胃内通過速度および全消化管内充満度との関係からみた稲わら摂取量抑制要因の検討. *日畜会報* 49 : 572-577.
- 津田恒之・柴田章夫編. *新乳牛の科学* 485, 農文協, 東京, 1987.
- 津吉ら. 1975. 乳牛における濃厚飼料多給の生理的限界に関する研究, *農林水産技術会議研究成果*, 81
- Turnbull, G. W., and E. E. Thomas. 1987. Evaluation of rare-earth markers using an in vitro ruminal fermentation system and effect of processing method on ruminal turnover of sized corn particles. *J. Anim. Sci.* 64 : 1835-1841.
- Uden, P., P. E. Colucci and P. J. Van Soest. 1980. Investigation of Chromium, Cerium and Cobalt as marker in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food. Agric.* 31 : 625-632.
- Uden P. 1984. The effect of intake and hay:concentrate ratio upon digestibility and digesta passage. *Anim Feed Sci Tech*, 11:167-179.
- Varga, G. A. and W. H. Hoover. 1983. Rate and extent neutral detergent fiber degradation of feedstuffs in situ. *J. Dairy Sci.* 66 : 2109-2115.
- Virtanen, A. I. 1969. On nitrogen metabolism in milking cows. *Fed. Proc.* 28 : 232-240.
- Waldo, D. R. and L. W. Smith. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Dairy. Sci.* 55 : 125-129.
- Welch, J. G. 1986. Physical parameters of fiber affecting passage from the rumen. *J. Dairy. Sci.* 69 : 2750-2754.
- Welch, J.G. and Smith, A.M., 1969. Influence of forage quality on rumination time in sheep. *J. Anim. Sci.*, 28, 813-818.
- Welch, J.G. and Smith, A.M.. 1970. Forage quantity and rumination time in cattle. *J. Dairy. Sci.* 53 : 799-800.
- Woodford, S. T. and M. R. Murphy. 1988. Effect of forage physical form on chewing activity, dry intake, and rumen function of dairy cows in early lactation. *J. Dairy. Sci.* 71 : 674-686.
- 山本泰也・水谷将也・浦川修司・苅田修一・後藤正和, 2001. 乳牛飼養における飼料イネサイレージ TMR の利用性 飼料イネサイレージ多給 TMR の飼料特性 , *日本草地学会誌* 47 別号, 248-249.
- 米澤勝衛・佐々木義文・今西 茂・藤井宏一共著: *生物統計学*, 212, 朝倉書店, 東京, 1998.
- 吉田実: *畜産を中心とする実験計画法*, 477P, 養賢堂, 東京, 1983 .
- Zimmerman, C.A., A.H.Rakes., T.E.Daniel and B.A.Hopkins. 1992. Effect of total and rumen undegradable protein on the performance of cows fed low fiber diets. *J. Dairy. Sci.* 75 : 1954-1964.

バイパスグルコース製剤給与による牛肉中グリコーゲン含量の増加効果

Effect of rumen bypass glucose on muscle glycogen stores in beef.

河野幸雄 長尾かおり

関西畜産学会報 158, 1~6 (2006)

要 約

肥育後期にルーメンバイパスグルコース製剤を給与し、肥育牛の筋肉中グリコーゲン含量の向上効果について検討した。その結果、バイパスグルコース製剤の給与は、牛肉中のグリコーゲン含量を高くし、と畜前のストレスなどによる異常 pH の発生リスクを回避する手法として有効であることが示唆された。

緒言

肉色は牛肉の品質を決定する上で、重要な形質であり、良い肉色の牛肉を安定的に生産する技術が求められている。肉色に関する研究では、肥育末期のビタミンE給与により、展示中のメチオグロビン形成を抑制することが明らかにされているが(三津本ら,1995)、生産者の利益に直接関わる枝肉の肉色に関する国内の研究は限定的である。海外においては、牛肉 pH が肉色に影響する要因の一つであることが報告されている(Pageら,2001;WulfとWise,1999)。牛肉 pH は、と畜後の筋肉組織におけるミトコンドリアの活性や、酸素消費量への影響を介して、牛肉中の酸素分圧に影響し、鮮赤色を呈する酸化型ミオグロビンの生成量に影響することが明らかにされている。著者らは、国内における牛肉 pH と肉色の関係を明らかにするために、約 1000 頭の市場枝肉を対象とした実態調査を行い、牛肉 pH が肉色に影響していることを確認した(未発表)。このことから、国内産牛肉の肉色を向上させる手段の一つとして、牛肉 pH を改善することが有効であると考えられる。牛肉 pH は、と畜後血液からの酸素供給を失った組織が、グリコーゲンを基質とした解糖によるエネルギー産生を行う際に生成される乳酸により徐々に低下し、と畜 24 時間後には pH5.4~5.5 程度まで低下する(Wulfら,2002)。しかし、筋肉中に蓄積されているグリコーゲンが不足すると、基質が不足し乳酸生成量が抑制されるため pH は比較的高い値となる。筋肉中に蓄積されるグリコーゲンの量は、と畜時における肥育牛の栄養状態を反映すると考えられる。筋肉中のグリコーゲンが不足する原因としては、長期間の飼料摂取不良などによるグリコーゲン蓄積量の不足、ストレスや過激な運動などによるグリコーゲンの消費などが考えられる。グリコーゲンの蓄積量を高めるためには、肥育末期における非構造性炭水化物の摂取量を高位に維持することが有効と考えられるが、反芻胃の恒常性を維持するためには、一般飼

料により給与できる非構造性炭水化物の量には限界がある。そこで、本研究では、肥育後期にルーメンバイパスグルコース製剤を給与し、肥育牛の筋肉中グリコーゲン含量の向上効果について検討した。

実験方法

バイパスグルコース製剤の給与効果を調べるため、給与区と対照区を設け比較を行った。試験牛には、初期胚の核移植により生産した一卵性双子牛、3 ペア 6 頭を用い、同一核由来の 2 個体をペアとし、給与区と対照区に配置した。各ペアの 2 頭は同時に肥育開始し、と畜も同時に行い、枝肉も同じ条件下で調査した。3 組の試験はそれぞれ異なる時期に実施した。

バイパスグルコース製剤は、脂肪酸カルシウム 50%、グルコース 50%混合物を圧縮形成した、直径 3mm のペレット状のものを用いた(ニチユソリューション株式会社製品)。製剤のルーメンバイパス率は、別に行ったナイロンバック法による実験により、48.7%と推定した(未発表)。肥育牛 1 頭当たり、一日量として 300g の製剤を濃厚飼料に混合して給与した。給与期間は、19 ヶ月齢から肥育終了の 29 ヶ月齢までの 10 ヶ月間とした。

肥育期間中の飼料摂取量は毎日計測し、体重は毎月測定した。血液成分は 17 ヶ月齢時から 2 ヶ月間隔で、午後 2 時の定刻に採取し、血清中のグルコース、総コレステロール、トリグリセリド及び遊離脂肪酸を、それぞれ、ヘキソキナーゼ-G-6-PDH 法、酵素法、GPO 比色法及び ACS 比色法により測定した。

と畜後、24 時間冷蔵された左側枝肉の第 6-7 肋骨間を切開し、30 分間発色させた後、ロース芯の 7 箇所をカラーメーター(日本電色工業株式会社製 NR-3000)で測定し、平均値を求めた。その後、食肉用 pH メーター(東亜ディーケーケー株式会社製 HM-17MX,プローブ MXT-

(92)

6101F)を用いてロース芯表面の 7 箇所 の pH を測定し、平均値を牛肉 pH とした。

成分分析用の牛肉試料は、枝肉切開面から約 1cm の厚さのロース芯を採取し、分析まで-80 で保存した。脂肪酸組成測定用に皮下脂肪、筋間脂肪及び腎臓脂肪を、それぞれ 10g 程度採取し、分析まで-80 で保存した。牛肉中水分含量は凍結乾燥法、粗脂肪含量はソックスレー法により測定した。ミオグロビン含量は、シアノメトミオグロビン法(Boccard ら, 1981)により測定し、赤肉部のミオグロビン含量として、無脂肪中ミオグロビン含量を算出した。グリコーゲン含量は、ヨード法(Dreiling ら,1987)を用いて測定した。脂肪酸組成は、脂肪組織からクロロホルム:メタノール(2:1)を用いて抽出した脂肪を、ナトリウムメチラートによりメチルエステル化した後(O'Keefe ら,1968)、キャピラリーガスクロマトグラフ(株式会社日立製作所製 G3000, カラム GL サイエンス株式会社製 CP-Sil188)により測定した。

統計処理は、処理区分とペアを母数効果とするモデルを用いた最小自乗分散分析を、Harvey の分析プログラム、LSMLMW(1987)を用いて行った。

結果

肥育期間中の飼料摂取量及び増体量を表 1 に示した。飼料摂取量については、ペアによる違いが、肥育前期の濃厚飼料摂取量 ($p<0.01$) 及び粗飼料摂取量 ($p=0.06$) で認められ、肥育後期の濃厚飼料摂取量 ($p=0.15$) についても異なる傾向がみられたが、バイパスグルコース製剤の給与による違いは認められなかった。増体量については、肥育後期においてペアにより異なる傾向 ($p=0.15$) がみられたが、バイパスグルコース製剤の給与による違いは何れの肥育期においても認められなかった。

肥育牛のバイパスグルコース製剤に対する嗜好性には問題が無く、設定量を摂取させることが出来た。また、製剤の給与は、濃厚飼料及び粗飼料の摂取量にも影響しなかった。

血液成分値の推移を図 1 に示した。血清総コレステロールは、バイパスグルコース製剤の給与開始とともに増加し、

21 ヶ月齢から 29 ヶ月齢まで、給与区が対照区よりも高く推移する傾向がみられ、23 と 25 ヶ月齢時には有意な差が認められた ($p<0.05$)。一方、中性脂肪は 21 ヶ月齢時には給与区が高くなったが ($p<0.05$)、25 ヶ月齢時には逆に対照区が高くなり ($p<0.05$)、一定の傾向は認められなかった。また、遊離脂肪酸及びグルコースは何れの月齢においても

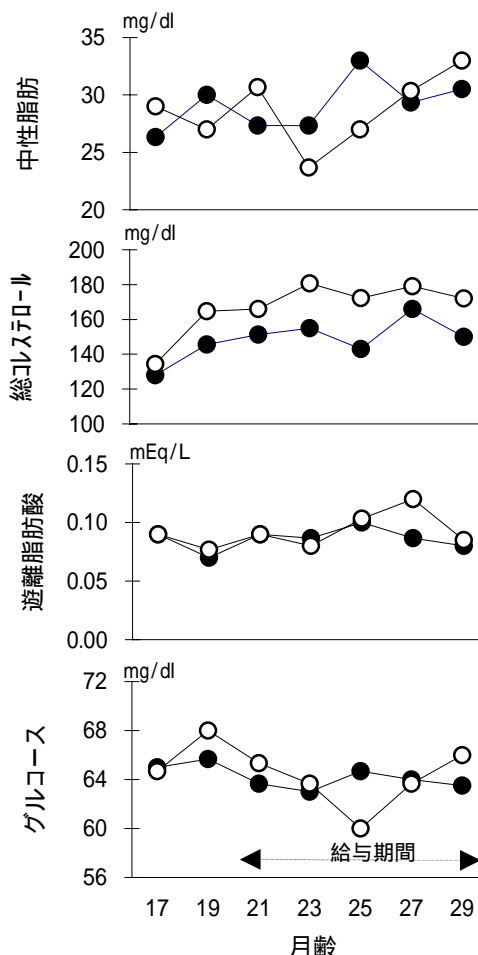


図 1 各種血液成分値の推移
 $p<0.05$: 対照区、 : 給与区

表 1 飼料摂取及び増体

項目	肥育期	処理区分		一卵性双子			P値	
		対照	給与	^A1	^A2	^A3	処理区分	一卵性双子
増体量 kg/日	前期	0.96	0.99	0.93	0.99	1.01	ns	ns
	後期	0.77	0.79	0.71	0.86	0.77	ns	0.15
濃厚飼料摂取量 kg(原物)/日	前期	6.41	6.43	5.79	6.62	6.86	ns	0.00
	後期	8.96	8.84	8.34	9.12	9.25	ns	0.15
粗飼料摂取量 kg(原物)/日	前期	2.88	3.08	3.53	2.68	2.74	ns	0.06
	後期	1.01	1.12	1.03	1.00	1.17	ns	ns

前期: 9-18ヶ月齢, 後期: 19-29ヶ月齢

表2 枝肉成績

項目	処理区分		一卵性双子			P値		
	対照	給与	ペア1	ペア2	ペア3	処理区分	一卵性双子	
枝肉重量	kg	534.0	542.3	501.5	557.0	556.0	ns	0.04
ロース芯面積	cm ²	52.0	57.7	63.5	49.0	52.0	0.02	0.01
ばらの厚さ	cm	8.0	8.0	7.8	8.0	8.2	ns	ns
皮下脂肪厚	cm	3.5	3.5	2.5	4.2	3.9	ns	ns
歩留基準値	%	71.6	72.1	74.4	70.0	71.3	ns	0.10
BMS		3.3	3.7	3.5	3.5	3.5	ns	ns
脂肪交雑等級		3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	ns	ns
BCS		4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	ns	ns
BFS		3.7	3.7	4.0	3.0	4.0	ns	ns

前期:9-18ヶ月齢, 後期:19-29ヶ月齢

表3 牛肉成分及び肉色

項目	処理区分		一卵性双子			P値		
	対照	給与	ペア1	ペア2	ペア3	処理区分	一卵性双子	
水分割合 %	52.4	51.6	52.8	52.9	50.2	ns	ns	
脂肪割合 %	31.0	31.7	30.3	30.6	33.1	ns	ns	
Mb含量 mg/g	6.00	5.91	5.88	5.97	6.02	ns	ns	
牛肉pH	5.58	5.59	5.59	5.59	5.59	ns	ns	
肉色	L*	40.76	39.75	40.29	38.70	41.77	ns	0.11
	a*	30.44	29.86	29.08	30.15	31.21	ns	ns
	b*	15.18	15.17	15.48	14.29	15.76	ns	ns

測定部位: 胸最長筋

Mb含量: 無脂牛肉中のミオグロビン含量

処理による違いは認められなかった。

両区の枝肉成績を表2に示した。ペアによる違いは枝肉重量 ($p < 0.05$) 及びロース芯面積 ($p < 0.05$) について認められ、歩留基準値についても、ペアにより異なる傾向がみられた ($p = 0.10$)。一方、バイパスグルコース製剤の給与による影響は、ロース芯面積について認められ ($p < 0.05$)、給与区は対照区よりも平均で 5.7cm^2 大きかった。その他の項目については、処理区間に有意な差は認められず、牛肉色基準値 (BCS) についても差は無かった。

牛肉成分、牛肉 pH 及びカラーメーターによる肉色計測値を表3に示した。肉色計測値は、L*値、a*値、b*値、何れの値も処理による違いは認められなかった。牛肉中ミオグロビン含量も差が無く、色素量の違いによる肉色への影響も無かった。牛肉中グリコーゲン含量は、給与区が対照区よりも多く ($p = 0.07$)、蓄積量の平均値は約 2 倍となった (図2)。

各脂肪組織における脂肪酸組成割合を表4に示した。総飽和脂肪酸割合は、何れの組織においても、処理による違いは認められなかったが、各脂肪酸毎の割合では、皮下脂肪のミスチン酸 (C14:0)、ミストレイン酸 (C14:1)、パルミトオレイン酸 (C16:1) 及びオレイン酸 (C18:1) の割

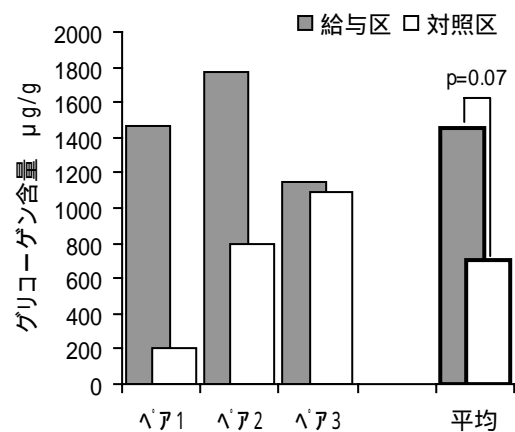


図2 牛肉中グリコーゲン含量

合について違いがみられた。筋間脂肪ではパルミトオレイン酸の割合について違いがみられたが、皮下脂肪では給与区の値が低いのに対し、筋間脂肪では対照区の値が高かった。交雑脂肪ではミスチン酸 (C14:0)、腎臓脂肪ではミストレイン酸 (C14:1) が皮下脂肪と同様の傾向を示した。

表4 各脂肪組織の脂肪酸組成

項目	処理区分		一卵性双子			P値		
	対照	給与	ペア1	ペア2	ペア3	処理区分	一卵性双子	
皮下脂肪	C14:0	3.76	3.31	3.51	2.89	4.20	0.01	0.00
	C14:1	1.81	1.35	2.14	1.28	1.32	0.11	0.08
	C16:0	29.52	29.16	29.14	30.02	28.88	ns	ns
	C16:1	6.40	5.58	7.48	5.28	5.22	0.12	0.04
	C18:0	7.57	8.31	6.98	8.50	8.34	ns	ns
	C18:1	47.98	49.39	48.28	49.18	48.59	0.05	ns
	C18:2	2.18	2.24	1.85	2.17	2.62	ns	ns
	C18:3	0.77	0.68	0.65	0.70	0.84	ns	ns
	総SFA	40.84	40.77	39.61	41.40	41.42	ns	ns
筋間脂肪	C14:0	3.75	3.64	2.52	3.02	5.56	ns	0.03
	C14:1	0.71	0.76	0.81	0.63	0.77	ns	ns
	C16:0	29.24	29.40	26.66	32.58	28.72	ns	ns
	C16:1	2.91	3.39	3.90	2.31	3.24	0.03	0.01
	C18:0	16.21	14.99	13.00	19.30	14.51	ns	0.07
	C18:1	44.72	45.22	50.92	39.78	44.22	ns	0.11
	C18:2	1.99	2.15	1.77	1.98	2.46	ns	ns
	C18:3	0.47	0.44	0.44	0.41	0.53	ns	ns
	総SFA	49.20	48.03	42.17	54.90	48.79	ns	0.09
交雑脂肪	C14:0	3.51	3.35	3.03	3.03	4.23	0.08	0.00
	C14:1	0.77	0.72	0.88	0.65	0.71	ns	ns
	C16:0	32.14	32.42	32.18	33.05	31.62	ns	ns
	C16:1	3.07	3.17	3.70	2.73	2.93	ns	0.11
	C18:0	13.25	13.41	10.71	15.29	14.00	ns	0.15
	C18:1	44.69	44.38	47.43	42.65	43.54	ns	0.14
	C18:2	2.18	2.20	1.78	2.27	2.53	ns	ns
	C18:3	0.38	0.35	0.31	0.35	0.43	ns	ns
	総SFA	48.90	49.17	45.91	51.36	49.85	ns	ns
腎臓脂肪	C14:0	3.95	3.90	3.34	3.25	5.19	ns	0.04
	C14:1	0.57	0.51	0.78	0.42	0.44	0.03	0.00
	C16:0	31.29	31.62	29.79	33.86	30.71	ns	0.02
	C16:1	2.14	2.00	3.29	1.42	1.51	ns	0.00
	C18:0	23.23	24.14	17.13	28.39	25.53	ns	0.03
	C18:1	36.63	35.74	43.91	30.66	33.98	ns	0.03
	C18:2	1.66	1.78	1.42	1.70	2.04	ns	0.06
	C18:3	0.53	0.31	0.35	0.31	0.61	ns	ns
	総SFA	58.46	59.66	50.26	65.50	61.43	ns	0.04

総SFA：総飽和脂肪酸

考察

バイパスグルコース製剤を給与した結果、飼料摂取量や増体量には影響が認められなかったが、血中の総コレステロールに違いがみられた。脂肪酸カルシウムを給与した場合、血中総コレステロールが増加することから (Sklanら, 1989)、本研究における総コレステロールの増加も、製剤中に 50%含まれる脂肪酸カルシウムによる影響と考えられた。一方、血清グルコースは、バイパスグルコース製剤の給与による濃度増加は見られなかった。本研究では 1 日に 300g のバイパスグルコース製剤から 150g のグルコースが摂取されたことになる。そのうち、ルーメンをバイパスしたグルコースは、下部消化管の消化作用によりグルコースとして吸収され血中に移行したと考えられるが、血中グルコース濃度は、恒常性が厳密に保たれるため、血中グルコース濃度としては差が確認できなかったものと思われる。

バイパスグルコース製剤給与により外因性の脂肪供給量が 1 日あたり 150g 増加することから、脂肪蓄積量への影響が予想されたが、皮下脂肪及び枝肉歩留ともに有意な影響は見られなかった。脂肪交雑については、3 ペアのうち 2 ペアにおいて、給与区が対照区よりも多かったが、残りの 1 ペアでは逆に対照区が多かった。しかし、差が見られなかったペアでは、肥育末期に給与区の個体が前肢の関節炎による起立障害を起こし、その後、治療により回復したが、肥育後期の増体は対照区よりも著しく悪く、このことが脂肪交雑を減少させた可能性もある。バイパスグルコース製剤が脂肪交雑に及ぼす影響については、外因性の脂肪供給とは別に、脂肪酸合成を介した影響も考えられる。Smithら (1984) は、皮下脂肪などの脂肪組織が脂肪酸を合成する際、主に酢酸を基質とするのに対し、交雑脂肪は主にグルコースを基質にすることを報告している。肥育牛の場合、ルーメンにおけるプロピオン酸発酵の割合が比較的多く、

プロピオン酸は体内でグルコースに代謝されることから、グルコースの供給は多いが、バイパスグルコース製剤の給与により、さらにグルコースの供給量を増加することで、脂肪交雑が増加することも考えられる。この効果については、今後さらに検討する余地があると思われる。

また、バイパスグルコース製剤に含まれる脂肪の脂肪酸組成はパルミトオレイン酸(45.3%)、オレイン酸(38.8%)及びリノール酸(9.8%)を主成分で、これらの脂肪酸が、牛肉の脂肪酸組成に影響することも予測されたが、直接的な影響は比較的軽度であった。構成率の高い主要な脂肪酸への影響としては皮下脂肪に限定的で、C16脂肪酸割合が低下し、C18脂肪酸割合が増加する傾向が見られた。

一方、ロース芯面積に対する効果が有意となった。バイパスグルコース製剤の給与が、どのような機序でロース芯面積の大きさに影響したのかは不明である。しかし、給与区の血中総コレステロール値が長期間に亘り高く推移していることから、エネルギー充足度が高位安定していたことが一因であると推測された。

牛肉中グリコーゲン含量はバイパスグルコース製剤の給与により高くなった。これは、製剤の給与によりグルコースの供給量が増加したことを反映したと考えられ、牛肉中のグリコーゲン含量を増やすためには、バイパスグルコースの給与が有効であることが確認できた。しかし、牛肉 pH については給与の効果が認められなかった。Wulf ら(2002)は牛肉 pH と牛肉中のグリコーゲンとその代謝物の総量を表すグリコリティックポテンシャル(GP)との関係を明らかにし、GP が 100 $\mu\text{mol/g}$ を下回ると、牛肉 pH が高くなることを示している。彼らは、その理由として GP が 100 $\mu\text{mol/g}$ を下回ると、牛肉 pH が正常値まで低下する前に、グリコーゲンが枯渇するためとしている。本研究では、対照区においても、牛肉中のグリコーゲンは残存しており、これが両区の牛肉 pH に差が無かった原因と考えられる。

以上のことから、バイパスグルコース製剤の給与は、牛肉中のグリコーゲン含量を高くし、と畜前のストレスなどによる異常 pH の発生リスクを回避する手法として有効であることが示唆された。

引用文献

Boccard R., Buchter L., Casteels E., Cosentino E., Dransfield E., Hood D. E., Joseph R. L., Macdougall D. B., Rhodes D. N., Schon I., Tinbergen B. J. and Touraille C. 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the commission of the european communities'(CEC) beef production research programme. *Livestock Production Science*, 8:385-397.

Dreiling, C.E., Brown D.E., Casale L. and Kelly L. 1987. Muscle Glycogen: Comparison of Iodine Binding and Enzyme Digestion Assays and Application to Meat Samples. *Meat Science*, 20:167-177.

Harvey, W.R. 1987. User's Guide of LSMLMW PC-1 Version. Ohio State University. Columbus.

三津本充・小沢忍・三橋忠由・河野幸雄・原田武典・藤田浩三・小出和之, 1995. 黒毛和種去勢肥育牛への屠畜前 4 週間のビタミンE投与による展示中の牛肉色と脂質の安定化. *日畜会報*, 66:962-968.

O'Keefe P.W., Wellington G.H., Mattick L.R., Stouffer J.R. 1968. Composition of bovine muscle lipids at various carcass locations. *J. Food Sci.*, 33:188-192.

Page, J.K., Wulf, D.M. and Schwotzer, T.R. 2001. A survey of beef muscle color and pH. *Journal of Animal Science*, 79:678-687.

Sklan D., Bogin E., Avidar Y. and Gur-Arie S. 1989. Feeding calcium soaps of fatty acids to lactating cows: effect on production, body condition and blood lipids. *J Dairy Res.* 56:675-681.

Smith, S.B. and Crouse, J.D. 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *Journal of Nutrition*, 114:792-800.

Wulf, D.M. and Wise, J.W. 1999. Measuring muscle color on beef carcasses using the L*a*b* color space. *Journal of Animal Science*, 77:2418-2427.

Wulf, D.M., Emmett, R.S., Leheska, J.M. and Moeller, S.J. 2002. Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*, 80:1895-1903.

マイクロドロプレット法で凍結保存したウシの レシピエント卵子による核移植成績

Development of Nuclear Transplant by Bovine Recipient Oocytes to Frozen Using
Microdroplet Method

尾形 康弘・今井 昭¹⁾・志水 学²⁾

広島県獣医学会雑誌 第 15 号 33～36 (2000)

マイクロドロプレット法でウシ成熟卵子を凍結した。凍結したウシ卵子の 93.1% が単為活性化された。単為活性化された凍結融解ウシ卵子の 24.5% が胚盤胞期にまで発生した。凍結保存したウシ卵子をレシピエント卵子として核移植を行った結果、17.9% が胚盤胞期まで発生

した。発生した再構築胚の一部を受胎牛に移植した結果、50% の受胎率が得られた。

これらのことから、マイクロドロプレット法で凍結保存したウシ成熟卵子は核移植用のレシピエント卵子として利用できる。

1) 広島県福山家畜保健衛生所

2) 独立行政法人畜産草地研究所

凍結保存したウシの体外受精胚をドナー細胞とした核移植

Nuclear Transfer Using Frozen in Vitro Fertilized Bovine Embryos as Donor Cells

今井 昭¹⁾・尾形 康弘・田澤 直子²⁾・原田 佳積・白須 洋・堀内 俊孝³⁾

広島県獣医学会雑誌 第 15 号 37～41 (2000)

経膈採卵によって作成したウシの体外受精胚をドナー細胞とする受精卵クローン作出システムの構築を目的として、凍結保存した体外受精胚をドナー細胞とした核移植について検討した。その結果、核移植胚の 8 細胞期胚および胚盤胞期胚への発生率は、体内凍結胚をドナー細胞とした区 203/357 (56.9%) および 139/357 (38.9%)、体外新鮮胚をドナーとした区 208/278 (74.8%) および 137/278 (49.3%)、体外凍結胚をドナーとした区 458/840 (54.5%) および 254/840 (30.2%) であった。また、

核移植胚を受胎牛に移植したときの受胎率は、体内受精胚をドナー細胞とした区で 4/9 (44.4%)、体外新鮮胚をドナーとした区 13/22 (64.3%)、体外凍結胚をドナーとした区 6/16 (37.5%) であった。いずれの区からも産子を得ることができた。

以上の結果、ドナー細胞となる胚の凍結により核移植胚の発生率が低下すること、凍結保存した体外受精胚からも移植可能な胚盤胞期胚が作成可能であり、産子が得られることが確認された。

1) 広島県福山家畜保健衛生所

2) 広島県農林水産部畜産環境室

3) 広島県立大学

マイクロドロップレット法でガラス化保存したウシ体外受精胚を ドナー細胞とした核移植の検討

Nuclear Transfer Using an in Vitro Bovine Fertilized Embryo Vitrified by Microdroplet Method
for the Nuclear Transplantation of Donor Cells

今井 昭¹⁾・尾形 康弘・名越 吉文・松重 忠美・志水 学²⁾・堀内 俊孝³⁾

広島県獣医学会雑誌 第16号 9~13 (2001)

経膈採卵・体外受精により作出した胚をドナー細胞とした受精卵クローン作出システムの構築を目的として、マイクロドロップレット法でガラス化保存した体外受精桑実胚をドナー細胞とした核移植について検討した。核移植胚の胚盤胞への発生率はマイクロドロップレットガラス化ドナー区(MD区)42.3%(175/414)、緩慢凍結ドナー区(緩慢凍結区)31.6%(89/282)、新鮮ドナー区(対象区)48.7%(55/113)であり、MD区と対象区

の間に有意差は認められなかった。核移植胚の受胎牛への移植による受胎率はMD区55.6%(10/18)、緩慢凍結区44.4%(4/9)、対象区59.1%(13/22)であり、MD区において対象区と差のない受胎率が得られた。

以上の結果、マイクロドロップレット法によりガラス化保存した体外受精由来桑実胚は、鮮胚と同様に受精卵クローンのためのドナー細胞として利用可能なことが確認された。

1)広島県福山家畜保健衛生所

2)独立行政法人畜産草地研究所

3)広島県立大学

経膈採卵・体外受精由来ウシ2細胞期の割球分離 による一卵性双子生産

The Production of Identical Twins by Separation of an in vitro Fertilized Bovine 2-cell Embryo
made an Ova Collected by Ultrasound-guided Follicular Aspiratin Method

今井 昭¹⁾・尾形 康弘・名越 吉文・松重 忠美・堀内 俊孝²⁾

広島県獣医学会雑誌 第17号 9~13 (2002)

経膈採卵・体外受精由来ウシ2細胞期胚の割球分離による一卵性双子生産について検討した。経膈採卵・体外受精由来の2細胞期胚19個を分離することにより作出した38個の分離胚において、7個(71.1%)が桑実期胚へ、4個(63.2%)が胚盤胞へと発育した。同一胚由来

の分離胚を9頭の受胎牛に移植した結果、5頭の妊娠を確認し、うち4頭が一卵性双子を娩出した。以上のことから、経膈採卵・体外受精由来ウシ2細胞期胚の割球分離法は、有効な一卵性双子生産技術であることを確認した。

1)広島県福山家畜保健衛生所

2)広島県立大学

ドナー核と同一または非同ーウシ個体から経膈採卵された レシピエント卵子を用いた核移植胚の生産

Production of Clone Embryos Using Recipient Oocytes Recovered by Ultrasound-guided
Follicular Aspiration Method from Cows of the Same or Different Origin from Donor Cells

今井 昭¹⁾・尾形 康弘・名越 吉文・松重 忠美・堀内 俊孝²⁾

広島県獣医学会雑誌 第 18 号 6~10 (2002)

ドナー核と同一または非同ーウシ個体から経膈採卵されたレシピエント卵子を用いた核移植胚の生産について検討した。黒毛和種 A (ドナー核と同一個体) をレシピエント除核卵子とした核移植成績は、融合率 98.3%、卵割率 91.4%、胚盤胞率 60.3%、黒毛和種 B では融合率

94.9%、卵割率 96.4%、胚盤胞率 53.6%、ホルスタイン種 C では、融合率 100%、卵割率 85.2%、胚盤胞率 59.3% であり、黒毛和種 A とホルスタイン種 C 区間では融合率、卵割率、胚盤胞率に優位な差は認められなかった。

1) 広島県福山家畜保健衛生所

2) 広島県立大学

鉄鋼スラグの堆肥副資材への利用

Utilization of Steel Slag for Cattle Waste Compost as a Dry Ingredient

伊藤健一・古本史

関西畜産学会報 154, 1~6 (2004)

乳牛糞堆肥の副資材として、鉄鋼スラグの利用を検討した。通気性と堆積法の改善により、無機質の鉄鋼スラグも副資材として利用できることが判明した。

- 1) 高炉スラグを副資材として、乳牛糞の含水率を 60~70% になるように混合したが、堆肥発酵は起こらなかった。
- 2) 高炉スラグ 7.7% にオガクズ 15.4% を混合し、全体の含水率を 70% に調整したところ、堆肥発酵が認められた。しかし、堆肥発酵は持続せず、オガクズを追加するだけでは副資材として高炉スラグを利用することは難しいと考えられた。
- 3) オガクズを 5.3% 混合することによって通気性を

改善した乳牛糞と、高炉スラグを混合ではなく、個別に分離した層として堆積したところ、切り返しのに伴い混合した後でも堆肥発酵が起こることが認められた。

- 4) オガクズを 7.7% に増量して乳牛糞に混ぜ、高炉スラグと乳牛糞を交互に分離した層として堆積したところ、堆肥発酵は堆積直後から起こった。
- 5) 水砕スラグを副資材として、高炉スラグ同様に乳牛糞と交互に分離した層としたところ、堆肥発酵が起こった。

電気歪み値による咀嚼行動の自動判定

Automatic Analyses of Chewing Behavior by Electric Strained Signals

新出昭吾・河野幸雄

関西畜産学会報 155, 23~28 (2004)

労力がかかる咀嚼行動の測定と解析を、より簡便で正確な方法とするために、ストレインゲージによる電気歪み値により、採食、反芻の行動型を自動判定する方法について6頭の泌乳牛を用いて検討した。

皮製頭絡に装着したストレインゲージを用い、咀嚼に伴う顎の動きによる電気歪み値をデータロガ装置により50ms 間隔で取得し、Magnetic-optical (MO) ディスクにバイナリー形式で記録した。また、同時にレコーダーチャートによる顎の動きを示す折れ線グラフも取得した。電気歪み値データは CSV 形式に変換後、コンピュータープログラムによる解析に用いた。さらに、電気歪み値データは、咀嚼ごとに顎運動の時刻と強さを示すピークデータに変換した。これらピークデータをレコーダーチャートにより記録した顎の動きを示す折れ線グラフと比較しながら、行動識

別のため、採食および反芻行動におけるピークデータの特性の違いを検討した。その結果、一連のピークデータにおけるピーク間隔(咀嚼間隔)の変動係数、ピークの大きさ(咀嚼強度)の変動係数、咀嚼開始からの時間とピークの大きさ(咀嚼強度)の相関係数の3項目が、採食および反芻の行動識別に有効であることが判明した。つぎに、この3項目を用いた識別基準について検討した結果、反芻行動は、咀嚼間隔および咀嚼強度の変動係数がそれぞれ20%以下、反芻の一吐出における咀嚼開始からの時間と咀嚼強度の相関係数が0.7以上の条件とした場合、全ての反芻行動のうち、97.7%の精度で正しく反芻行動と判定できた。1頭の咀嚼行動を解析する時間は、従来、一般的に行われているペン書きレコーダーチャートを解析する方法に比べ1/50程度にまで短縮できた。

飼料イネホールクロップサイレージ割合の異なる TMR 給与が乳生産および咀嚼行動に及ぼす影響

Effects of Rice Whole Crop Silage Proportion in Total Mixed Ration on Milk Production Performance and Chewing Activity of Lactating Cow

新出昭吾・城田圭子¹⁾・長尾かおり

関西畜産学会報 156, 7~14 (2005)

出穂後40日刈取りの飼料イネ(アケノホシ)で調製した飼料イネ発酵粗飼料(ホールクロップサイレージ: WCS)を用いた粗濃比の異なる混合飼料(TMR)の給与が、泌乳成績、第一胃内容液性状および咀嚼行動に及ぼす影響について、6頭の乳牛を用い1期21日間計63日間のラテン方格法により調査した。供試したTMRは、粗濃比を乾物比で26:74(TMR26区)、30:70(TMR30区)、35:65(TMR35区)とした3処理で、いずれも乾物含量60%、粗タンパク質(CP)含量17%、可消化養分総量(TDN)含量77%に調整した。乾物摂取量は区

間に差が認められなかった。乳量はTMR26区がTMR35区より多かった($P<0.05$)。乳脂率はTMR35区が高く、一方、乳タンパク質率、乳糖率および無脂固形分率はTMR26区が高かった($P<0.05$)。乳量や無脂固形分率などの値がTMR35区で低かったのは、TDN摂取量に差がないことから、子実が糞中へ排せつされたことによる非繊維性炭水化物の損失が原因と考えられた。乳汁中尿素窒素量は、TMR35区がTMR26区より高かった($P<0.05$)。第一胃内容液のpH、低級脂肪酸濃度は差が認められなかったが、酢酸割合はTMR35区が高く、プロピオン酸

(100)

割合は TMR26 区が高かった ($P<0.05$)。酢酸/プロピオン酸比は, TMR35 区が他の区より高かった ($P<0.05$)。採食時間は TMR35 区が TMR30 区より長く ($P<0.05$)、採食速度は TMR26 区が速かった ($P<0.05$)。一方, 乾物摂取量当りの総咀嚼時間は, TMR26 区が TMR35 区より短かった ($P<0.05$) が, 32.9 分/kg は確保された。

以上の結果から, 乳量 35kg/日程度の乳牛に対して, 出穂後 40 日刈取りの飼料イネ WCS を用いた TMR を調製給与する場合, サイレージの乾物混合割合は 26 ~ 30% が望ましく, サイレージの乾物給与量は 6.0 ~ 6.5kg/日が妥当と判断された。

1) 広島県備北家畜保健衛生所

広島県立畜産技術センター研究報告第 14 号

平成 18 年 10 月 31 日印刷

平成 18 年 10 月 31 日発行

編集兼発行者	三浦雅彦
発行所	広島県立畜産技術センター 広島県庄原市七塚町 584 郵便番号 727-0023 電話 0824-74-0331 F A X 0824-74-1586 http://www.hiroshima-chikugi.jp
印刷所	シンセイアート株式会社 広島県庄原市新庄町 88-58 電話番号 0824-72-7890
