

北海道立畜産試験場研究報告

第 25 号

Bulletin of
the Hokkaido Animal Research Center

No. 25

平成15年12月
December 2003

北海道立畜産試験場
北海道上川郡新得町

Hokkaido Animal Research Center
Shintoku, Hokkaido, Japan



HOKKAIDO GOVERNMENT

北海道立畜産試験場研究報告

第25号 平成15年12月

目次

論文

ロードアイランドレッド雌鶏における非線形成長曲線のパラメータと体重および産卵性との関係 宝寄山裕直・森壽七徳・大原睦生……………	1
梅山豚×ランドレース実験家系におけるDNAマーカーと豚の経済形質との連鎖解析 内藤 学・山田 渥……………	8
マクロファージ系培養細胞を用いた鶏卵由来成分の免疫賦活機能評価法 宝寄山裕直・野田 遊……………	16
エゾシカ (<i>Cervus nippon yesoensis</i>) の飼料摂取量および消化率の季節変動 國重享子・戸苅哲郎……………	24
エゾシカ (<i>Cervus nippon yesoensis</i>) とめん羊における乾草給与時の飼料摂取量、乾物消化率および 消化管内滞留時間の季節変動 國重享子・戸苅哲郎……………	31
短 報	
北海道黒毛和種の育種価評価情報による枝肉形質の予測 宝寄山裕直・酒井稔史・山本裕介……………	37
スイートコーンの茎葉、加工残渣のサイレージ特性と消化率 阿部英則・山川政明……………	43
場外雑誌掲載学術論文抄録……………	47

改題前誌：北海道立新得畜産試験場研究報告（1～23号）

滝川畜産試験場研究報告（1～31号）

Bulletin of the Hokkaido Animal Research Center

No.25 October

Contents

Full Paper

- Relationships among Non-linear Growth Curve Parameters, Body Weights and Egg Productive Traits in Rhode Island Red Pullets
Hironao HOUKIYAMA, Sitinori MORISAKI and Mutsuo OHARA..... 1
- Linkage analysis of Quantitative Trait Loci in Meishang×Landrace Pigs using DNA markers
Akira NAITO and Atsushi YAMADA 8
- Assay using Macrophages for Immune Response Stimulating Activity of Ingredients derived from Chicken Eggs
Hironao HOUKIYAMA and Yu NODA..... 16
- The seasonal variation of food intake and digestibility of Yeso sika deer (Cervus nippon yesoensis)
Kyoko KUNISHIGE and Tetsuro TOGARI 24
- Seasonal variation in food intake, dry matter digestibility and digestive tract retention time of Timothy hay feeding in Yeso sika deer (Cervus nippon yesoensis) and sheep.
Kyoko KUNISHIGE and Tetsuro TOGARI 31

Note

- Prediction of carcass traits based on breeding value and environmental effects obtained from Genetic Evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido
Hironao HOUKIYAMA, Toshifumi SAKAI, Yusike YAMAMOTO..... 37
- Characteristics and digestibility of sweetcorn stover, byproduct silage
Hidenori ABE, Masaaki YAMAKAWA..... 43
- Summaries of the papers by the staff appearing on the scientific journal 47

Formerly : Bulletin of the Hokkaido Prefectural Shintoku Animal Husbandry Experiment Station (No. 1-23)
Bulletin of Takikawa Animal Husbandry Experiment Station of Hokkaido (No. 1-31)

ロードアイランドレッド雌鶏における非線形成長曲線の パラメータと体重および産卵性との関係

宝寄山裕直・森寄七徳・大原睦生

北海道立畜産試験場

(2002.1.29 受付, 2002.3.25 受理)

要旨 ロードアイランドレッド雌鶏の体重について、非線形成長曲線を利用して成長パターンを育種改良するために、Bertalanffyのモデルを用いて成長曲線のパラメータと体重および産卵性との遺伝的関係を検討した。

1. 成熟値および成熟速度の遺伝率は、それぞれ 0.65 ± 0.11 および 0.61 ± 0.11 と高く、両者の遺伝相関は -0.79 ± 0.18 と負の強い相関を示した。
2. 成熟速度と28、98および300日齢時における体重の遺伝相関は、それぞれ -0.18 ± 0.18 、 0.17 ± 0.17 および -0.70 ± 0.18 であった。
3. 成熟速度と最大成長速度時日齢および最大成長速度との遺伝相関は、それぞれ -0.90 ± 0.20 および 0.70 ± 0.09 であった。
4. 成熟速度と産卵形質との間には、卵重との間に弱い負の遺伝相関が認められたが、初産日齢および産卵率との間には、遺伝相関が認められなかった。

これらの遺伝的関係から、成熟速度に基づく選抜は、100日齢前後の体重を増加させ、成熟体重を抑制するので成長パターンを変化させることが可能であり、産卵性も低下させないと推測された。したがって、成長パターンを育種改良するためには、成熟速度を選抜形質として用いることが有効であると考察された。

キーワード：ロードアイランドレッド、成長パターン、非線形成長曲線、成熟速度、選抜

道畜試研究報, 25:1-7, 2003

緒言

これまで鶏の育種改良において、ある時点の体重や増体量が改良すべき経済的形質としてとらえられ、選抜が続けられてきた。体重や増体量は、測定が比較的容易であることから広く用いられてきた。しかし、より経済性を追求するためには、初期発育の向上により生産量を増やし、かつ成熟体重の抑制により飼料費を節減するというように、成長パターンそのものを改良することが必要となっている。

個体の成長は、受精から成熟に達するまでに複雑な生理的過程を経るので、成長パターンを改良するためには成長を個体ごとに経時的にとらえていくことが必要である。しかし、体重は測定時までの累積成長量を示しているが成長速度そのものを示しておらず、増体量も測定期間内の平均成長速度を示しているが成長速度の変化についての情報を与えない。そのため体重や増体量から、全体の成長過程を的確に把握することは困難である。

この点に関して、成長の数学的なモデルを用いると全体の成長過程を経時的に把握することが可能になる。特に非線形成長曲線は、いくつかの日齢体重記録から、成長パターンに関する情報を意味のある数個のパラメータに要約し客観化する。非線形成長曲線は、3～4個のパラメータをもつBrody、Logistic、Gompertz、Bertalanffy、Richardsのモデルが代表的である。鶏において、成長曲線への当てはめは、Gompertzのモデルを用いた報告が多く^{2),12),16),19)}、その他Logisticモデルを用いた報告¹⁷⁾やRichardsのモデルを用いた報告がある^{1),9)}。また、宝寄山⁸⁾はロードアイランドレッド雌鶏の体重について、非線形成長曲線の育種利用を考えた場合、Bertalanffyのモデルが最適であると報告している。

非線形成長曲線を利用した成長パターンの育種改良については、GROSSMAN and BOHREN⁶⁾やFITZHUGH⁴⁾がその可能性について示している。また、GROSSMAN and BOHREN⁵⁾はLogisticモデルに、BARBATO³⁾はGompertzのモデルに体重記録を当てはめ、成長曲線のパラ

連絡者：宝寄山裕直 (e-mail: hhoki@agri.pref.hokkaido.jp)

メータの遺伝率や遺伝相関を推定している。しかし、成長曲線のパラメータと産卵性については、三好ら¹⁰⁾の報告で若干検討されている程度である。

本研究では、非線形成長曲線を利用して成長パターンを育種改良するために、Bertalanffyの成長曲線を用いて成長曲線のパラメータと体重および産卵性との遺伝的関係を検討した。

材料および方法

供試鶏として、旧北海道立滝川畜産試験場において発育と産卵性を中心に系統造成しているロードアイランドレッドの雌鶏506羽（1991年ふ化鶏230羽、1992年ふ化鶏276羽）を用いた。

育雛期については、1991年ふ化鶏が平飼い飼育、1992年ふ化鶏が一群約10羽でケージ飼育をした。成鶏期は、兩年のふ化鶏のいずれも単飼用ケージで飼育した。なお、各飼育期間にあわせて、それぞれ市販の幼雛用、中雛用、大雛用および成鶏用飼料を不断給餌した。

体重は、1991年ふ化鶏においては28, 49, 70, 98, 155, 166および300日齢時に、1992年ふ化鶏においては28, 49, 98, 119, 175および300日齢時に測定した。また、産卵性の指標として初産日齢（SM）、300日齢時の卵重（EW）、181～300日齢の産卵率（EP）を用いた。

成長曲線は、各個体の体重記録を式1のBertalanffyの非線形成長曲線に当てはめて、個体ごとに成熟値、成熟速度および積分定数の各パラメータを推定した。なお、反復収束解はMarquardt法により得た。各個体の成長曲線に対する適合度の検討は、自由度調整済み寄与率（R²）¹³⁾をその指標として用いた。

$$BW(t) = A(1 - Be^{-kt})^3 \quad \dots \text{式1}$$

Y：体重。A：成熟値。B：積分定数。

k：成熟速度。t：日齢。

ここで、式1を時間tで微分すると、t日齢時における式2の成長速度V(t)が得られる。

$$V(t) = dBW(t)/dt \\ = 3ABke^{-kt}(1 - Be^{-kt})^2 \quad \dots \text{式2}$$

さらに、成長速度の最大値を調べるために、式2を時間tで微分すると、式3の成長速度の変化率 $\alpha(t)$ が得られる。

$$\alpha(t) = dV(t)/dt \\ = -3ABk^2e^{-kt}(1 - Be^{-kt})(1 - 3Be^{-kt}) \dots \text{式3}$$

式3より

$$t = \log(3B)/k \quad \dots \text{式4}$$

でV(t)は最大値（MG）をとる。本研究では、この成長速度が最大となる日齢（AMG）を式4により求め分析に用いた。

得られた各パラメータや測定値の遺伝率および遺伝相関は、HARVEY⁷⁾の最小二乗分散分析プログラムを使用し、父母成分より推定した。なお、用いた数学的モデルは式5の通りである。

$$Y_{ijkl} = u + H_i + S_{ij} + D_{ijk} + e_{ijkl} \quad \dots \text{式5}$$

Y_{ijkl}：成長曲線のパラメータおよび産卵形質。

u：集団平均。

H_i：i番目の年の効果。

S_{ij}：i番目の年のj番目の父鶏の効果。

D_{ijk}：i番目の年のj番目の父鶏のk番目の母鶏の効果。

e_{ijkl}：残差。

結果および考察

集団の特性を示すため、供試鶏の産卵成績と体重を表1に示した。一般に、卵用ロードアイランドレッド系統の300日齢時体重は約2000gであるが、本系統は3000g前後と約1.5倍の大きさを示した。一方、産卵性は卵用系統と同程度の成績であり、コマーシャル肉用鶏の母系統である本系統の特性を示していた。また、1991年と1992年ふ化群で成績に差が認められるが、これは育雛期の飼養形態の差によるところが大きいと考察される。

各日齢時の体重を個体ごとに、成長曲線に当てはめて

Table1. Egg productive traits and body weight of Rhode Island Red pullets

Year of hatch	Traits	BW (g)	SM (days)	EW (g)	EP (%)
1991	ME	2838	164	62.3	90.9
	SD	309	8	4.6	9.6
	CV(%)	10.9	5.1	7.4	10.5
1992	ME	3161	169	63.7	86.6
	SD	303	17	4.8	10.9
	CV(%)	9.6	10.2	7.5	12.6

BW：body weight at 300 days of age. SM：sexual maturity(age at the first laid).

EW：egg weight at 300 days of age. EP：egg production rate from 181 to 300 days of age.

ME：Means. SD:standard deviation. CV：coefficient of variation.

Table2. Growth parameter estimates for body weight fitted by Bertalanffy's curve and it's goodness of fit

Year of hatch	Traits	A (g)	B (10 ⁻⁴)	k (10 ⁻⁵)	AMG (days)	MG (g/day)	R ^{*2}
1991	ME	2937	7329	1428	55.8	18.4	0.9796
	SD	357	640	250	6.2	2.5	0.0171
	Min	2079	5916	814	42.5	12.2	0.9055
	Max	4041	9487	2085	77.9	26.6	0.9985
	CV(%)	12.2	8.7	17.5	11.1	13.6	1.7
1992	ME	3235	8384	1636	56.8	23.2	0.9879
	SD	331	666	239	4.7	2.0	0.0134
	Min	2445	6897	1099	44.4	17.9	0.9194
	Max	4095	11501	2604	71.2	30.2	0.9997
	CV(%)	10.2	7.9	14.6	8.3	8.7	1.4

A:mature size. B:constant of integration. k:mature rate.
 AMG:age at maximum gain. MG : maximum gain.
 R^{*2} : adjusted coefficient of determination.
 ME : Means. SD : standard deviation. CV : coefficient of variation.
 Min : minimum. Max : maximum.

Table3. Heritability and genetic correlation between growth parameter estimates for body weight

	A	B	k	AMG	MG
A	<u>0.65±0.11</u>				
B	-0.45±0.18	<u>0.54±0.10</u>			
k	-0.79±0.18	0.85±0.05	<u>0.61±0.11</u>		
AMG	0.90±0.04	-0.53±0.18	-0.90±0.20	<u>0.57±0.11</u>	
MG	-0.11±0.17	0.86±0.05	0.70±0.09	-0.38±0.18	<u>0.54±0.10</u>

heritability : on the diagonal(underlined part). genetic correlation : below the diagonal.
 A : mature size. B : constant of integration. k : mature rate.
 AMG : age at maximum gain. MG : maximum gain.

得られたパラメータの推定値およびR^{*2}を表2に示した。R^{*2}の1991年および1992年ふ化鶏の平均値は、それぞれ0.9796および0.9879と高く、良好な当てはまりを示した。成熟値の1991年および1992年ふ化鶏の平均値は、それぞれ2937gおよび3235gであり、300日齢時体重と概ね一致していた。したがって、300日齢時にはほぼ成熟値に達していると考察された。MGの1991年および1992年ふ化鶏の平均値は、それぞれ18.4g/日および23.2g/日であり、AMGの平均値は、それぞれ55.8日および56.8日であった。したがって、本供試鶏は56日齢前後で成長速度が最大となり、その値は20g/日程度であると考察された。ところで、成長曲線から得られた各パラメータは推定値であり、誤差を含んでいる。しかし本報告では、成長曲線の当てはまりが良好であったことから、この誤差を無視して検討をすすめた。

成長曲線の各パラメータ間の遺伝率および遺伝相関を表3に示した。成熟値および成熟速度の遺伝率は、それぞれ0.65±0.11および0.61±0.11と高かった。また、AMG

およびMGの遺伝率も、0.55前後で成熟値や成熟速度と同様に高かった。BARBATO³⁾は、プロイラータイプの雄系統と未選抜集団との交配試験から、成熟速度とAMGの遺伝率をそれぞれ0.48および0.18と推定している。本研究の結果は、これらより高い値となった。

成熟値と成熟速度の遺伝相関は、-0.79±0.18と負の強い相関を示した。これは、成熟速度の速い個体は、成熟値が小さいとした報告に一致する^{4), 12), 18), 20)}。AMGおよびMGの成熟値との遺伝相関は、それぞれ0.90±0.04および-0.11±0.17であり、成熟速度との遺伝相関は、それぞれ-0.90±0.20および0.70±0.09であった。これらから、成熟値の大きい個体は、最大成長に達する日齢が遅く、最大成長速度は小さく、逆に、成熟速度の大きい個体は、最大成長に達する日齢が早く、最大成長速度が大きいという関係が認められた。

各日齢時における体重の遺伝率と成長曲線の各パラメータとの遺伝相関を表4に示した。300日齢時体重の遺伝率は0.64±0.11であり、成熟値の遺伝率にはほぼ一致する

Table4. Heritability and genetic correlation between growth parameter estimates and body weight

		BW28	BW49	BW98	BW119	BW300
genetic correlation	heritability	0.43±0.10	0.48±0.10	0.49±0.10	0.58±0.11	0.64±0.11
	A	0.30±0.16	0.38±0.15	0.58±0.10	0.52±0.12	0.96±0.01
	B	-0.45±0.20	-0.33±0.19	0.36±0.16	0.34±0.15	-0.38±0.18
	k	-0.18±0.18	-0.15±0.18	0.17±0.17	0.09±0.17	-0.70±0.18
	AMG	-0.09±0.18	-0.05±0.18	0.05±0.18	0.16±0.17	0.82±0.06
	MG	0.03±0.18	0.17±0.17	0.75±0.09	0.74±0.08	-0.01±0.17

BW(n) : body weight at (n) days of age.

A : mature size. B : constant of integration. k : mature rate.

AMG : age at maximum gain. MG : maximum gain.

Table5. Heritability and genetic correlation between growth parameter estimates and egg productive traits

		SM	EW	EP
genetic correlation	heritability	0.65±0.11	0.58±0.11	0.49±0.10
	A	-0.13±0.16	0.18±0.16	0.12±0.17
	B	-0.10±0.17	-0.24±0.17	-0.07±0.18
	k	-0.06±0.16	-0.16±0.17	-0.09±0.17
	AMG	-0.01±0.17	0.03±0.17	0.12±0.18
	MG	-0.25±0.17	-0.03±0.17	-0.07±0.18

SM : sexual maturity. EW : egg weight at 300 days of age.

EP : egg production rate from 181 to 300 days of age.

A : mature size. B : constant of integration. k : mature rate.

AMG : age at maximum gain. MG : maximum gain.

値であった。成熟値と各日齢時における体重の遺伝相関は、28日齢時では、中程度の正の相関が認められたが、加齢に伴い高くなる傾向を示し、300日齢時では0.96±0.01と1に近い値となった。成熟速度と各日齢時における体重の遺伝相関は、28日齢では-0.18±0.18と弱い負の相関が認められたが、加齢に伴い高くなり、98日齢時では0.17±0.17と正の相関が認められた。その後、再び小さくなり、300日齢時では-0.70±0.18と強い負の相関を示した。MGと各日齢時における体重の遺伝相関は、98日齢時が0.75±0.09と最も高かったが、28日齢時や300日齢時体重では、遺伝相関はほとんど認められなかった。これらより、成熟速度による選抜は、100日齢前後の体重を増加させ、成熟値を減少させると考察された。

各産卵形質の遺伝率と成長曲線の各パラメータとの遺伝相関を表5に示した。SM、EWおよびEPの遺伝率は、それぞれ0.65±0.11、0.58±0.11および0.49±0.10であり、産卵形質の遺伝率に関する報告をまとめた値¹¹⁾とEWはほぼ一致したが、SMとEPはやや高かった。成熟値とSM、EWおよびEPの遺伝相関は、それぞれ-0.13±0.16、0.18±0.16および0.12±0.17であった。成熟速度とSM、EWおよびEPの遺伝相関は、それぞれ-0.06±0.16、-0.16±0.17および-0.09±0.17であり、EWとの間に弱い負の遺伝相関が認められたが、SMおよびEP

との間には遺伝相関がほとんど認められなかった。

これまでの結果を検証するため、供試鶏から成熟速度の大きい順に抽出した100羽の集団(H_k)と小さい順に抽出した100羽の集団(L_k)を仮定し、2つの集団の加齢に伴う成長速度および体重の推移を図1および図2に示した。図1において、H_kはL_kよりAMGが早く、MGが大きいことを表しており、成熟速度がAMGと負の、MGとは正の遺伝相関があることに一致している。また、H_kはL_kより成熟速度の増減が急であり、成熟速度の変化のパターンにも差があることを示している。結果的に、これらのことが図2で認められるような、50～200日齢ではH_kはL_kより大きく、その後両者が逆転するという成長パターンの違いを生み出していると考察された。また図2では、成熟速度と119日齢時体重との間には正の遺伝相関があり、成熟速度と成熟値との間には負の遺伝相関があることにも対応している。

本研究の最終的な目的は、成長曲線のパラメータを用いて成長パターンを育種改良することである。その点において、成熟値や成熟速度の遺伝率は高く、選抜形質として用いることの有効性が示唆された。特に成熟速度に基づく選抜は、100日齢前後の体重を増加させ、かつ成熟体重を抑制するので、成長パターンを変化させることが可能であると推測された。また、産卵性を低下させる

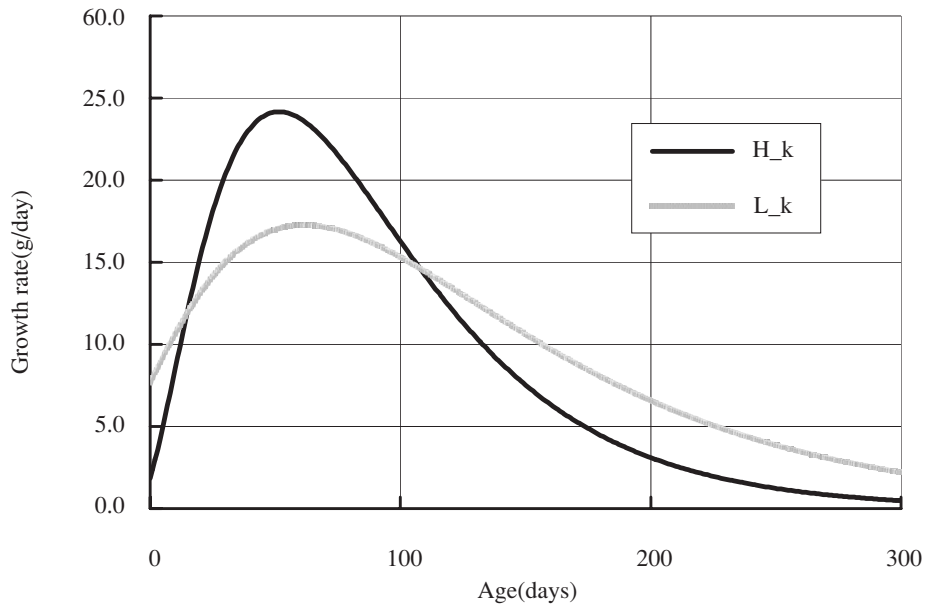


Figure1. Growth rate pattern for hypothetical groups(H_k: group of high mature rate n=100,L_k:group of low mature rate n=100) based on the growth rate function derived from Bertalanffy curve.

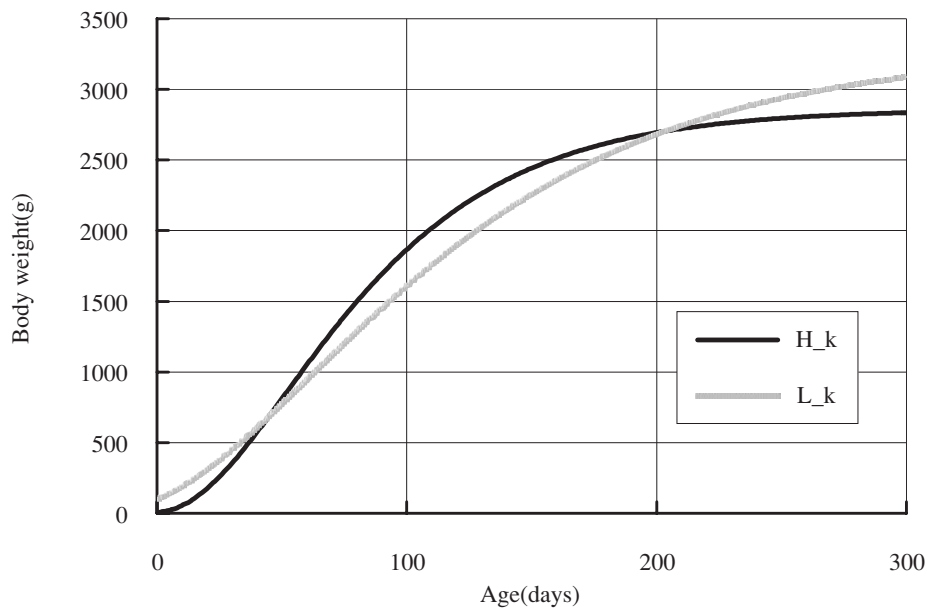


Figure2. Growth pattern for hypothetical groups (H_k:group of high mature rate n=100,L_k:group of low mature rate n=100) based on the Bertalanffy curve.

ような強い相関も認められなかった。

したがって、成長パターンを育種改良するためには、成熟速度を選抜形質として用いることが有効であると考察された。

引用文献

- 1) 秋元博一：ロードアイランドレッド鶏の体重の成長解析. 畜産の研究, 45: 949-952 (1991)
- 2) ANTONY, N. B., EMMERSON, D. A., K. E., NESTOR and BACON, W. L. : Comparison of growth curves of weight selected populations of turkeys, quail, and chickens. Poult. Sci., 70: 13-19 (1991)
- 3) BARBATO, G. F.: Genetic architecture of growth curve parameters in chickens. Theoretical and Applied Genetics, 83: 24-32. (1991)
- 4) FITZHUGH, H. A., Jr. : Analysis of growth curves and strategies for altering their shape. J. Anim. Sci., 42: 1036-1051 (1976)
- 5) GROSSMAN, M and B. B. BOHREN : Logistic growth curve of chickens: heritability of parameters. J. Heredity, 76: 459-462 (1985)
- 6) GROSSMAN, M and B. B. BOHREN : Comparison of proposed growth curve functions in chickens. Growth, 46: 259-274 (1982)
- 7) HARVEY, W. R. : User's guide for LSMLMW and MIXMDL PC-2 Version. Ohio University Press, Columbus (1990)
- 8) 宝寄山裕直・杉本亘之：ロードアイランドレッド「滝川P9系」における雌鶏の体重に対する非線形成長モデルの適合度の比較. 滝川畜試研報, 28: 7-16 (1994)
- 9) KNIZETOVA, H., J. HAYANEK, B. KNIZE and J. ROUBICEK : Analysis of growth curves of fowl. 1. chickens. Br. Poult. Sci., 32: 1027-1038 (1991)
- 10) 三好俊三・鈴木三義・光本孝次：採卵鶏の体重変化に対する非線形成長曲線モデルの適用. 家禽会誌, 32: 394-401 (1995)
- 11) 水間豊・猪貴義・岡田育穂：家畜育種学, 205頁, 朝倉書店, 東京 (1984)
- 12) 向井文雄・和田康彦・並河澄・棚瀬勝美：黒毛和種雌牛の体測定値への非線形発育モデルの当てはめによる発育様相の把握. 日畜会報, 51: 247-255 (1980)
- 13) 奥野忠一：応用統計ハンドブック, 132, 養賢堂, 東京 (1980)
- 14) PARKS, J. R. : A theory of Feeding and Growth of Animals, 232-234, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Germany (1982)
- 15) PASTERNAK, H and B. A., SHALEV : Genetic-economic evaluation of traits in a broiler enterprise: Reduction of food intake due to increased growth rate. Br. Poult. Sci., 24: 531-536 (1983)
- 16) RICKLEFS, S. R., G. M., PESTI and H. L. MARKS : Modification of growth and development of muscles of poultry. Poult. Sci., 64: 1563-1576 (1985)
- 17) SANG, J. H. : Analysis of the growth of selected lines of Brown Leghorn. Pr. 12th World's Poult. Cong., 49-51 (1962)
- 18) TAYLOR, St. C. S. and H. A. FITZHUGH, Jr. : Genetic relationships between mature weight and time taken to mature within breed. J. Anim. Sci. 33: 726-731 (1971)
- 19) TZENG, R. Y. and W. A. BECKER : Growth patterns of body weights and abdominal fat weights in male broiler chickens. Poult. Sci., 60: 1101-1106 (1981)
- 20) 和田康彦・佐々木善之・向井文雄・松本豊：非線形発育モデルの当てはめによる黒毛和種雌牛の体重の発育様相の把握. 日畜会報, 54: 46-51 (1983)

Relationships among Non-linear Growth Curve Parameters, Body Weight and Egg Productive Traits in Rhode Island Red Pullets

Hironao HOUKIYAMA, Sitinori MORISAKI and Mutsuo OHARA

Hokkaido Animal Research Center
(Received 29 January 2002, Accepted 25 March 2002)

Corresponding : Hironao Houkiyama (e-mail : hhoki@agri.pref.hokkaido.jp)

Relationships among parameters of Bertalanffy's non-linear growth curve, body weight and egg productive traits in Rhode Island Red pullets were analyzed to develop strategies to improve the growth pattern.

1. Estimated heritability of mature size and mature rate were high, being 0.65 ± 0.11 and 0.61 ± 0.11 , respectively. Genetic correlation between these values was estimated as -0.79 ± 0.18 , showing a highly negative relationship.
2. Genetic correlations between mature rate and body weight at 28, 98 and 300 days were estimated as -0.18 ± 0.18 , 0.17 ± 0.17 and -0.70 ± 0.18 , respectively.
3. In analyzing the genetic correlations between the mature rate and age at maximum gain and mature rate and maximum gain, values were estimated as -0.90 ± 0.20 and 0.70 ± 0.09 , respectively.
4. Estimate of genetic correlation between mature rate and egg weight showed a slightly negative relationship while there were no genetic relationships between mature rate, sexual maturity or egg production rate.

From these results, it may be deduced that selection for mature rate increases body weight at about 100 days of age and decreases mature size, and thus changes the growth pattern. However, it has little influence on egg productive traits. Therefore, it is concluded that the mature rate is useful as a characteristic to select for improved growth pattern genetically.

Key words : Rhode Island Red, growth pattern, non-linear growth curve, mature rate, selection

梅山豚×ランドレース実験家系における DNAマーカーと豚の経済形質との連鎖解析

内藤 学・山田 渥

北海道立畜産試験場

(2002.1.18 受付, 2002.3.25 受理)

要 旨 豚の経済形質に関する遺伝子座 (QTL) を検出するため、梅山豚とランドレースの交雑により生産したF1世代8頭、F2世代304頭で構成された実験家系を作出した。多型解析で利用可能と判定された101個のマイクロサテライトDNAマーカーで豚の連鎖地図を作製した。F2世代139頭の形質を調査し、その測定値とマーカーの連鎖解析をおこなった結果、20形質において豚染色体上26ヵ所にQTL候補が検出された。

キーワード：ブタ・実験家系・DNAマーカー・連鎖解析

道畜試研究報, 25:8-15, 2003

家畜の改良において従来おこなわれてきた育種方法は表現形質を基にした統計学的選抜であるが、繁殖性・強健性など遺伝率の低い形質においてはこれらを改善することは困難であった。

しかし近年分子遺伝学の発展とともにDNAを解析することで効率的な選抜の可能性があることが示唆されてきた。そのためにはまずゲノム上に遺伝子領域の位置を特定するための地図、すなわち連鎖地図の作製が必須となる。アメリカ農務省は単独で¹⁾、ヨーロッパ各国研究機関は共同で²⁾ それぞれ連鎖地図を発表した。

わが国においても1994年度より農水省畜産試験場(現畜草研・生物研)が中心となって当該を含め8道県の研

究機関が共同で連鎖地図作製の作業をおこなってきた(「DNAマーカーを用いた新育種技術の開発」)。またこのプロジェクトでは次の段階として豚の実験家系から得られた経済形質のデータと遺伝子地図による量的遺伝子座(QTLs)の連鎖解析も推進している。多くの研究機関が連携する意義は、それぞれから提供されたデータから複数の機関で同じ位置にQTL候補を検出することで、より信頼性の高いデータとすることである。

本研究は、当該で作出した実験家系においてDNAマーカーを用いて連鎖地図を作製した。またF2世代の形質とマーカーとの連鎖解析によって染色体上の遺伝子座の位置を推定して多数のQTL候補の検出をおこなった。

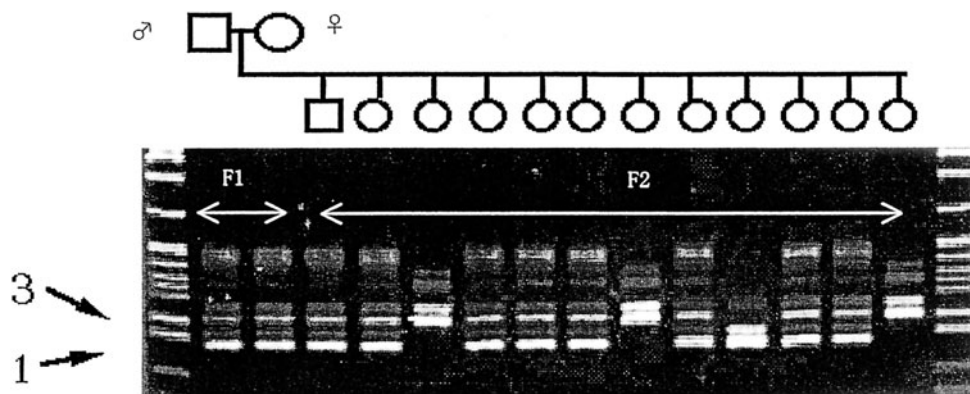


Fig1. Segregation of F2 generation used of electrophoresis with a microsatellite marker
Lengths of marker fragments "1"=101bp, "3"=125bp

連絡者：内藤学 (e-mail: anaito@agri.pref.hokkaido.jp)

M×L家系におけるQTL解析

Table1. Result of research about F2 generation

	Trait	Number	Mean ± S.D.	Maximum	Minimum
Growth	Bodyweight at birth(kg)	304	1.14 ± 0.22	1.75	0.40
	2 nd .week (kg)	285	3.88 ± 0.72	5.7	1.6
	4 th .week (kg)	284	7.52 ± 1.36	10.9	3.2
	8 th .week (kg)	163	17.8 ± 3.4	25.6	8.5
	Teat number Left	304	8.01 ± 0.70	10	6
	Right	304	8.04 ± 0.64	10	6
Finishing	Age at 30kg (day)	147	80.8 ± 9.7	121	60
	Age at 70kg (day)	147	138.5 ± 14.4	187	109
	Total gain(kg)	147	40.4 ± 2.4	47.2	34.0
	Daily gain (g/day)	147	716 ± 107	956	456
	Daily feed intake(kg/day)	147	2.38 ± 0.29	3.58	1.65
	Feed conversion ratio	147	3.36 ± .42	4.57	2.16
Carcass	Bodyweight at slaughter(kg)	138	67.7 ± 1.9	73.8	62.2
	Carcass weight Left(kg)	139	23.4 ± 0.8	26.6	21.4
	Right(kg)	139	23.1 ± 0.9	25.7	21.2
	Carcass length(cm)	139	84.5 ± 2.6	92.2	77.0
	Back loin length I (cm)	139	70.7 ± 2.9	81.0	64.5
	Back loin length II (cm)	139	61.6 ± 2.4	67.4	54.5
	Carcass depth(cm)	139	30.3 ± 0.9	32.6	28.0
	Carcass height(cm)	139	11.4 ± 0.8	17.7	10.0
	Loin length(cm)	139	45.2 ± 2.4	51.8	38.4
	Eye muscle area (cm ²)	137	12.5 ± 1.8	18.5	7.5
	Backfat thickness Shoulder(cm)	139	3.8 ± 0.4	4.7	2.7
	Middle(cm)	139	1.8 ± 0.4	2.8	0.7
	Carcass /live weight(%)	138	68.8 ± 1.8	75.4	63.0
	Carcass specific gravity	139	.0409 ± .0068	.0602	.0242
	Shoulder weight(kg)	139	7.32 ± 0.35	8.74	6.46
	Shoulder specific gravity	139	.0475 ± .0075	.0679	.0244
	Loin weight(kg)	139	8.73 ± 0.67	10.74	7.40
	Loin specific gravity	139	.0260 ± .0070	.0485	.0099
	Bottom specific gravity	138	.0530 ± .0061	.0706	.0372
	Viscera weight(kg)	139	10.5 ± 0.9	13.5	8.3
	Legs' weight(kg)	139	1.06 ± 0.09	1.34	0.84
	Cannon circumference(cm)	139	13.8 ± 0.6	16.0	12.5
	Vertebra number	139	20.6 ± 0.7	22	19
Meat	Moisture(%)	136	73.5 ± 1.4	76.5	67.1
	Meat color L value	139	44.1 ± 3.6	54.1	36.4
	a value	139	6.4 ± 1.3	9.8	3.7
	b value	139	7.4 ± 0.8	10.1	6.0
	Water-holding capacity(pressed)	138	73.2 ± 4.5	85.1	62.7
	Extension rate	138	24.9 ± 3.1	35.4	17.8
Fat	Fat color L value	139	70.9 ± 1.5	87.7	65.5
	a value	139	2.0 ± 0.9	6.1	0.0
	b value	139	5.7 ± 0.7	7.3	3.7
	Melting point				
	Outer backfat(°C)	135	31.8 ± 2.4	39.0	28.3
	Inner backfat(°C)	135	37.4 ± 3.1	43.5	30.3
Kidney leaf fat (°C)	135	44.2 ± 1.7	48.0	40.3	

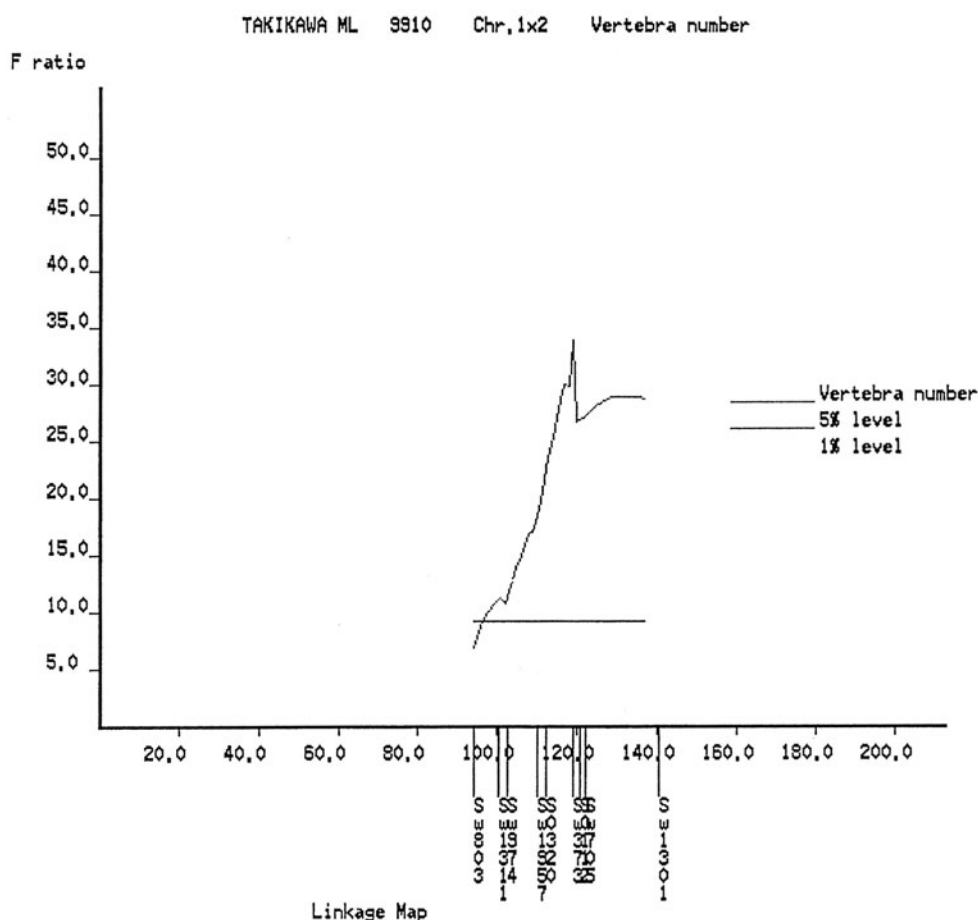


Fig2.Likelihood ratio for Vertebra numbers on Chr.1

材料および方法

1. 実験家系の作出

本研究では遺伝的距離の離れた豚の組み合わせとして、中国在来豚である梅山豚の雌2頭とヨーロッパ改良種であるランドレース系統豚ハマナスL1の雄1頭を交配し、3世代にわたる実験家系を作出した。F1世代の雄1頭と雌7頭の間で、4頭の全きょうだい交配および3頭の半きょうだい交配をおこない、5産次まで26腹計304頭のF2世代の個体を生産した。

2. 連鎖地図の作製

DNAサンプルは耳の皮膚片からフェノール法により抽出して調整した。DNAマーカーの目的とする領域の増幅には酵素にtaq DNA polymeraseを用いたPCR法によりおこなった。PCR産物をアクリルアミドゲルで電気泳

動し、エチジウムブロマイドで染色後、紫外線照射下でバンドの確認と写真撮影をおこないタイピングした(図1)。平成7~8年度にSTAFF研究所から供給された164個のマイクロサテライトDNAマーカーについて多型情報を調査し、連鎖地図作製に用いた。判断が困難であるマーカーや平成9年度以降に配布されたマーカーについてはSTAFF研究所の協力を得て進めた。DNAマーカーのタイピング情報についてCRIMAPソフトウェアを用いて連鎖地図を作製した。

3. 経済形質とDNAマーカーの連鎖解析 (QTL解析)

本試験ではなるべく多くの形質についてQTL解析をおこなうことを目的として、F2世代の体型、発育形質、と体形質、肉質に関するデータを記録した。

生まれてから体重30kgになるまでの管理は滝川畜産試験場の慣行に従いおこなった。2産目および4産目産子は4週の体重測定終了までのデータを記録した。1産目、3産目および5産目産子は30kgから検定を開始し70kgを検定終了時体重として豚産肉能力検定法に準じて管理およ

M×L家系におけるQTL解析

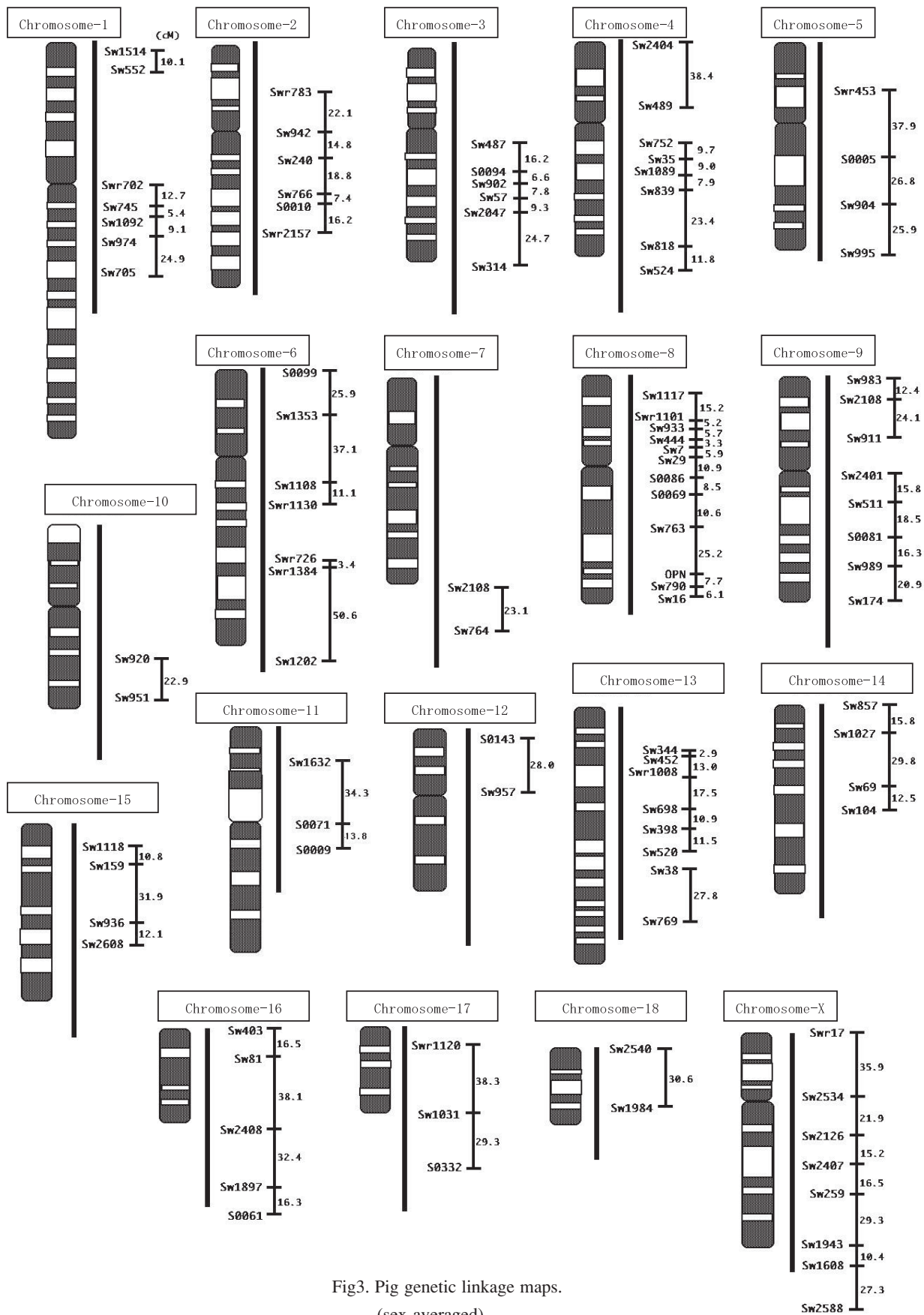


Fig3. Pig genetic linkage maps.
(sex-averaged)

Table 2. Found QTL effect in Meishang × Landrace family

Trait	Chr.	Additive effect	Dominant effect	Full model	Reduced model	QTL effect
Body weight at birth	13	0.034 NS	0.223 **	0.0374	0.0416	10.07
Teat number (total)	10	-0.265 **	0.201 NS	0.4358	0.4732	8.59
Dairy gain(30-70kg)	4	68.49 **	-3.322 NS	8683.6	11519	32.65
Feed conversion ratio	4	-0.455 **	-0.372 NS	0.1504	0.2330	35.46
Carcass length	3	-0.638 NS	-2.691 NS	4.6165	5.7505	19.72
	7	1.330 **	-0.259 **	4.8324	5.5337	12.67
Back loin length I	3	-0.507 NS	-2.185 NS	3.7544	4.4694	16
	7	0.991 **	3.999 **	6.2263	7.5722	17.78
Back loin length II	1	1.447 **	-0.203 NS	3.9818	4.7373	15.95
	7	1.179 **	1.013 NS	4.2389	4.8272	12.19
Carcass depth	8	-0.066 NS	-0.694 **	0.5648	0.6517	13.34
Loin length	3	-0.290 NS	-2.714 **	4.3096	5.3189	18.98
Eye muscle area	4	0.865 *	-2.595 **	5.5825	6.6455	16
	8	-1.192 **	2.384 **	5.4433	6.2966	13.55
Shoulder weight	2	0.084 NS	-0.352 **	0.0836	0.1031	18.93
Loin weight	4	-0.483 **	-0.203 NS	0.2791	0.3657	23.67
Shoulder specific gravity	X	-0.006 **	-0.002 NS	0.0000	0.0000	25
Loin specific gravity	4	0.007 **	0.002 NS	0.0001	0.0001	18.18
Bottom specific gravity	4	0.006 **	0.001 NS	0.0000	0.0000	25
Viscera weight	2	0.722 **	0.901 NS	0.3208	0.6139	47.74
Legs' weight (total)	4	0.065 **	0.051 NS	0.0052	0.0072	27.55
Cannon circumference	8	3.587 **	-1.825 NS	29.595	33.725	12.25
Vertebra number	1	0.513 **	-0.110 NS	0.3441	0.5037	46.37
Water-holding capacity	2	-0.458 NS	3.366 NS	13.056	14.700	11.19
	3	-2.050 **	1.557 NS	10.507	13.155	20.13
	16	0.173 NS	6.964 NS	13.221	15.430	14.31

*:P<0.05 ** :P<0.01 NS: No significant

び調査をおこなった。検定終了頭数147頭のうち139頭について70kgに達した後1週間以内にと殺解体を実施し、翌日にと体形質の測定および枝肉ロース部位後方から肉・脂肪サンプルの採取をおこなった。形質の測定値については表1に示した。

QTL候補検出にはインターバルマッピング法を用いた(図2)。これは量的形質の異なる2つの近交系のF2集団においてQTLを最尤法(Maximum Likelihood Method)で2マーカー間にマップする方法で、QTLの遺伝子型は判らなくとも両側に隣接するマーカーの遺伝子型からQTLの位置や置換効果、優勢効果を求め、その期待度の最大値(最尤度)が得られる位置にQTLの存在を確認するものである¹¹⁾。今回の分析では環境要因はモデルに含めなかった。連鎖地図の作製およびQTL解析は農水省畜産試

験場の和田氏(現佐賀大)に依頼した。

試験結果および考察

多型解析の結果、164マーカーのうち當場では87マーカー、STAFF研究所では14マーカーで多型性を確認した。併せて101個のDNAマーカーを用いてF2世代における結果から連鎖地図を作製した(図3)。地図の全長は1413.9cMで、マーカー間平均距離は14.0cMと計算された。いずれの染色体上にも1ヶ所以上DNAマーカーが配置されたが、染色体により配置された数に差がみられた。したがってQTL解析に必要な最小限の距離である20cMを満たしていない染色体も多く存在した。DNAマーカー相互の位置関係についてはこれまでに発表されている

USDAの地図と比較して大きな矛盾は見られなかった。

実験家系F2世代139頭のデータと101マーカーによる解析の結果、尤度比検定量（F値）1%以下の水準で有意に染色体上に存在するQTL候補が20の形質について26カ所に検出された。それらについて相加的遺伝効果、優勢効果およびQTL分散割合を表2に示した。

相加的遺伝効果がプラスの項目はランドレースのアレルで増加、マイナスの項目はランドレースのアレルで減少となることを示している。例えば10番染色体上にある乳頭数のQTL候補は相加的遺伝効果が負であり、梅山豚のアレルを持つと乳頭数が増えることが示された。乳頭数の10番染色体上、D Gの4番染色体上など12形質13カ所のQTL候補については相加的遺伝効果は有意かつ優性効果は有意でなく、マーカーアシスト選抜に特に有効であると考えられた。

本試験の家系独自に、内臓重量は2番染色体上に、四肢重量は4番染色体上に、また管囲は8番染色体上にそれぞれQTL候補が検出された。

1番染色体上にある椎骨数のQTL候補は農水省畜試⁷⁾、群馬畜試⁵⁾、静岡中小家畜試⁶⁾、鹿児島畜試⁴⁾と多くの家系で報告されている。3番染色体上にあると体長のQTL候補は静岡中小家畜試⁶⁾、4番染色体上にあるDGのQTL候補は鹿児島畜試³⁾で報告されている。4番染色体上にある背脂肪厚のQTL候補については農水省畜試⁷⁾、鹿児島畜試³⁾で報告され、さらに国外においてもスウェーデンの家系¹⁾でもこのQTL候補の存在が報告されている。このように複数の家系で検出されたこれらの候補については近傍にメジャージーンが存在する可能性が非常に高いと考えられる。

今回当場で報告した以外にもこれまでに排卵数の割合⁸⁾、片側潜伏性精巢⁴⁾など多数のQTL候補の報告がされている。これらはまだ実用的な選抜には利用されていないがQTL解析を応用していく上での今後の展開と方向性も示唆されている¹⁰⁾。今後さらに研究が進めば、本試験で検出されたQTL候補も含めて、QTL解析は将来におけるDNAマーカー選抜育種の実用化に寄与することが期待される。

謝 辞

本研究は平成7～11年度に北海道立滝川畜産試験場（現道立畜試）においておこなわれた「DNAマーカーを用いた新育種技術の開発」の成果の一部を取りまとめたものである。農水省畜試ゲノムチームの各位には技術的なご指導と連鎖地図作製およびQTL解析について絶大なるご協力をいただいた。STAFF研究所第2部の関係の皆様にはマイクロサテライトマーカーの提供と一部のマーカー解析にご協力をいただいた。また各県の事業担当

の方々には有益な論議とご助言をいただいた。以上の各位に深く感謝の意を表します。

引用文献

- Anderson, L., C. S. Herry, H. Ellegren, S. A. Knott, M. Johansson, K. Andersson, L. Andersson-Eklund, I. Edfors-Lilja, M. Fredholm, I. Hansson, J. Hakansson and K. Lundstrom: Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, No. 263: 1771-1774, 1994
- Archibald, A. L., C. S. Haley, J. F. Brown, S. Couperwhite, H. A. McQueen, D. Nicholson, W. Coppieters, A. Van de Weghe, A. Stratil, A. K. Wintero, M. Fredholm, N. J. Lersen, V. H. Neilsen, D. Milan, N. Woloszyn, A. Robic, M. Dlsen, J. Riquet, J. Gellin, J. C. Caritez, G. Burgaud, L. Ollivier, J. -P. Bidanel, M. Vaiman, C. Renard, H. Geldermann, R. Davoli, D. Ruyter, E. J. M. Verstege, M. A. M. Groenen, W. Davies, B. Hoyheim, A. Keiserud, L. Andersson, H. Ellegren, M. Johansson, L. Marklund, J. R. Miller, D. V. Andersson Dear, E. Singer, A. J. Jeffreys, C. Moran, P. LeTissier, Muladno, M. F. Rothchild, C. K. Tuggle, D. Vaske, J. Helm, H. -C. Liu, A. Rahman, T. -P. Yu, R. G. Larson, C. B. Schmitz: The PigMaP consortium linkage map of the pig: *Mamm. Genome*, 6: 157-175, 1995
- 福島仁司・加治佐修・丸野弘幸・平山愛和・福永智明・小村喜久男・三宅正志・小林栄治・和田康彦・美川智・峰澤満・安江博・犬童政昭・川野組男: 遺伝子利用による優良豚選抜技術の確立. 鹿児島県畜産試験場研究報告, No. 33: 44-49 (2000)
- 広津美和・黒木豊美: DNAマーカーを用いた新育種技術の開発. 宮崎県畜産試験場研究報告, No. 13: 148-151 (2000)
- 松原英二・湊和之・渋谷立人: イノブタ実験家系における経済形質とマイクロサテライトマーカーとの連鎖解析. 群馬県畜産試験場研究報告, No. 6: 40-45 (1999)
- 室伏淳一・河原崎達雄・堀内篤・久松紀子・楠本宏司・美川智・和田康彦・小林栄治・峰澤満・安江博: 金華豚・大ヨークシャー種交雑実験家系における産肉性、肉質とDNAマーカーとの連鎖解析. 第69回日本養豚学会大会講演要旨: 5 (1998)
- 大石孝雄・安江博: 豚ゲノム解析研究—最近の進歩. 農水省畜産試験場研究報告, No. 59: 1-15 (1999)
- Rathje, T. A., G. A. Rohrer, and R. K. Johnson: Evidence for Quantitative Trait Loci Affecting Ovulation Rate in Pigs: *J. Anim. Sci.*, 75: 1486-1494 (1997)

- 9) Rohrer, G. A., L. J. Alexander, J. W. Keele, T. P. Smith and C. W. Beattie: A Microsatellite Linkage Map of the Porcine Genome: *Genetics*, 136 : 231-245 (1994)
- 10) Spelman, R. J., H. Bovenhuis: Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programmes. *Animal Genetics*, 29 : 77-84 (1998)
- 11) 富樫研治: 量的形質遺伝子座 (QTL) の位置と効果の推定法. *動物遺伝研究会誌* Vol24, No2 : 45-52 (1996)

Linkage analysis of Quantitative Trait Loci in Meishang×Landrace Pigs using DNA markers

Akira NAITO and Atsushi YAMADA

Hokkaido Animal Research Center
(Received 18 January 2002, Accepted 25 march 2002)

Corresponding : Akira Naito (e-mail : anaito@agri.pref.hokkaido.jp))

For the purpose of finding the pig QTLs, we made a resource family crossing Meishan and Landrace pigs, that generated 8 F1 animals and 304 F2 animals. Genetic linkage maps of the pig were made by 101 available polymorphic microsatellite markers. 139 F2 animals were surveyed for the traits, and from the results of the QTL analysis using markers, 20 traits were detected at 26 points on the porcine chromosomes.

Key words : pig, resource family, DNA marker, linkage analysis

マクロファージ系培養細胞を用いた鶏卵由来成分の免疫賦活機能評価法

宝寄山裕直・野田 遊

北海道立畜産試験場

(2002.5.8 受付, 2002.6.4 受理)

要 旨 免疫賦活物質であるリポポリサッカライド (LPS) でマクロファージ系培養細胞を刺激し、その細胞分化と細胞傷害作用を分析することにより、免疫賦活機能の簡易な評価法を検討した。さらに、その評価法を用いて鶏卵由来成分の免疫賦活機能の評価した。細胞は、J774.1, RAW264およびTHP-1を用いた。それぞれ、細胞分化は増殖抑制と形態変化を、細胞傷害作用は一酸化窒素 (NO) 産生量を指標とした。LPS刺激により、J774.1およびRAW264において、細胞増殖抑制および形態変化が認められ、活性化マクロファージに分化誘導されていることが確認されたが、THP-1においては確認されなかった。細胞分化による評価は、J774.1やRAW264を用いて、3日間培養、ポジティブコントロールのLPS濃度0.4 μ g/ml以上での実施が適当と考えられた。NO産生量は、LPS濃度が0.1 μ g/ml以上で増加が認められ、RAW264がJ774.1より多く、24時間で最大となった。NO産生量を指標とする評価は、RAW264を 1×10^6 個/ml程度用いて、24時間培養、ポジティブコントロールのLPS濃度1 μ g/mlでの実施が適当と考えられた。細胞傷害作用による評価は、細胞分化による評価に比べて、評価所要時間が短く、簡易で多検体処理が可能であった。そこで、鶏卵由来成分の免疫賦活機能は、NO産生量を指標とする細胞傷害作用を用いて評価した。プロテアーゼ処理した濃度100 μ g/mlのオボムチン、卵黄膜およびカラザによるRAW264の刺激において、1 μ g/mlのLPSを凌ぐNO産生効果が認められ、鶏卵由来成分の免疫賦活機能が確認された。以上より、NO産生量を指標とした細胞傷害作用を用いる評価法は、免疫賦活機能における差異の一次的なスクリーニングに利用可能であると考えられた。

キーワード：マクロファージ、免疫賦活機能、鶏卵、細胞分化、一酸化窒素

道畜試研究報, 25 : 16-23, 2003

緒 言

食生活の改善は、多くの病気から我々の身を守り、平均寿命を伸ばす結果となっている。その要因の一つは、食品がヒトの免疫機能を賦活化しているためと考えられる。食品の機能には、1次機能として栄養機能、2次機能として感覚機能、3次機能として高次の生命活動に対する調節機能があり¹²⁾、免疫賦活機能は、この3次機能に該当する。鶏卵においては、卵白や卵黄膜およびカラザに共通して存在するムチン型糖ペプチドが免疫賦活機能を有するとの報告がある¹⁴⁾。

現在、様々な品種あるいは飼養法により生産された鶏卵が市販されているが、これらがヒトへの免疫賦活機能におよぼす影響を検討した報告は少ない^{4),13)}。鶏卵の免疫賦活機能における品種や飼養法の違いを明らかにするためには、簡易に短時間で測定可能な評価系が必要である。

通常、外来性異物や病原微生物が生体内に侵入すると、これらは抗原非特異的に宿主の防御機構により分解処理されて、生体から排除される。その過程で食細胞が主要な宿主防御を担っている。特にマクロファージは抗原処理だけではなく抗原提示細胞としてT細胞活性化に関与し、さらにT細胞の媒介により活性化され、細胞傷害作用を示す¹⁰⁾。マクロファージの細胞傷害作用を担うエフェクター分子としては、種々のサイトカイン、活性酸素、一酸化窒素 (NO) などがある。最近、NOを介したマクロファージの抗ウイルス活性は、急性感染期におけるウイルスの排除および致死率の低下ばかりではなく、潜伏感染リスクの減少という次元においても、きわめて重要な役割を担っていることが明らかにされ⁹⁾、その重要性が認識され始めている。

マクロファージの活性化物質としては、各種微生物、サイトカイン、化学物質などがあるが、グラム陰性菌外膜の主要構成成分であるリポポリサッカライド (LPS)

連絡者：宝寄山裕直 (e-mail : hhoki@agri.pref.hokkaido.jp)

は、強力な活性化物質として知られており、マクロファージの活性化機構の解析に広く用いられている^{8),11)}。そこで本研究では、マクロファージ系培養細胞を用いて、鶏卵の免疫賦活機能を簡易に多検体を評価するための方法を検討した。

材料および方法

免疫賦活物質であるE.coli由来のLPS(O111:B4,LBL)によりマクロファージ系培養細胞を刺激し、その活性化反応を免疫賦活機能の評価基準とした。活性化反応は、細胞分化および細胞傷害作用により分析し、各測定条件を設定した。それぞれ、細胞分化は増殖抑制と形態変化を、細胞傷害作用はNO産生量を指標とした。さらに、検討された評価法を用いて鶏卵由来成分の免疫賦活機能を評価した。

マクロファージ系培養細胞

マウス由来マクロファージ系細胞であるJ774.1と

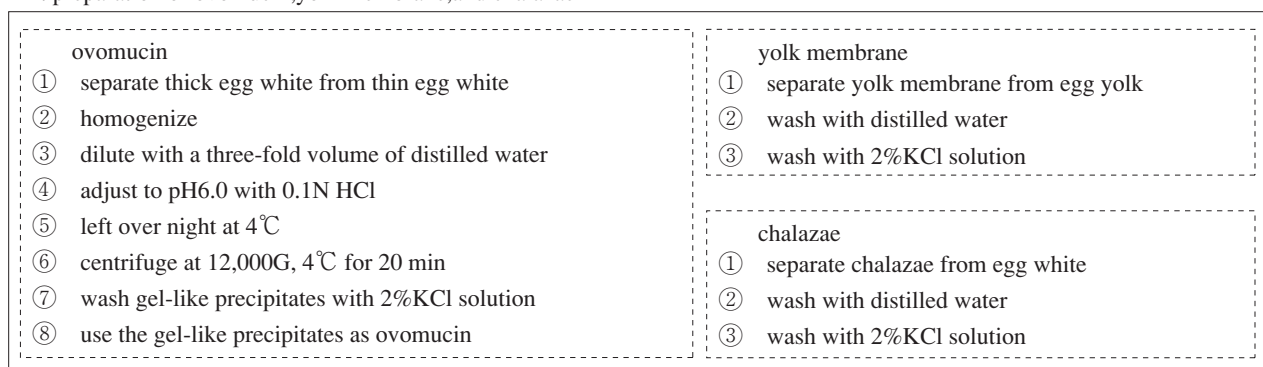
RAW264、およびヒト由来単芽球様細胞であるTHP-1を用いた。J774.1 およびRAW264は理化学研究所ジーンバンク細胞開発銀行から、THP-1は東北大学加齢医学研究所付属医用細胞資源センターから供与をうけた。

各細胞は、10cmの培養ディッシュを用いて5%CO₂、湿度100%、37℃下で培養した。培養液は、60℃で30分間加熱することにより非働化した牛胎仔血清(FBS, Sigma)を10%含むRPMI1640 (Sigma)を用いた。各評価法には対数増殖期の細胞を用いた。

マクロファージ活性化反応

細胞分化：供試細胞をPBSで3回洗浄後、5%非働化FBSを含むRPMI1640 (5%FBS-RPMI) で細胞を調製した。細胞密度は、細胞数が少ない場合、増殖の遅延が考えられるので通常の継代培養と同じ1×10⁵個/ml程度とした。これを96ウェル培養プレートに、各処理(細胞の種類、LPS濃度、培養時間)あたり3ウェルを使用し、100μlずつ分注した後、5%CO₂、37℃下で2時間培養し、平衡化した。さらに、5%FBS-RPMIでLPSを各濃度(THP-1: 5,10,20,30,60μg/ml, J774.1とRAW264: 0.4,2,10,50μg/ml)

1. preparation of ovomucin,yolk membrane,and chalazae



2. protease digestions of ovomucin,yolk membrane,and chalazae

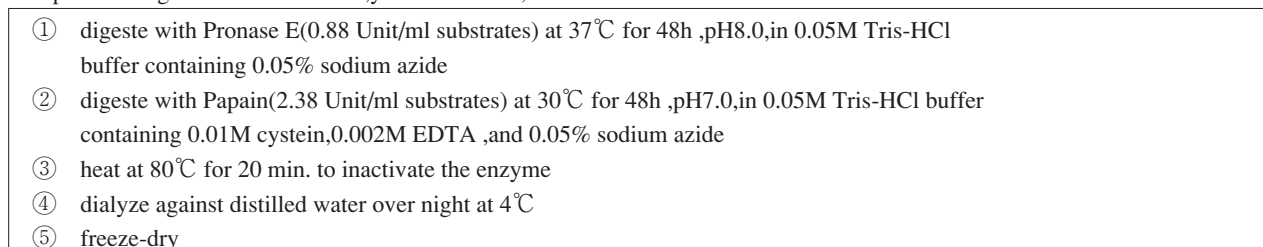


Fig.1 Preparation and protease digestions of ovomucin,yolk membrane,and chalazae.

Hen eggs of Rhode Island Red were collected within 24h after laying. The protease digests of ovomucin,yolk membrane,and chalazae of them were used for cell proliferation assay and nitric oxide generation assay.

に調製し、各ウェルの培養上清と置換した。その後、所定の時間（THP-1:1,2,3,5,7日、J774.1とRAW264:1,2,3,5日）、5%CO₂、37℃下で培養し、細胞数の測定と細胞形態の観察をおこない、本評価法に適した細胞の種類、LPS濃度、培養時間を決定した。細胞数は、細胞懸濁液をトリパンブルーにより染色後、ヘモサイトメーターで計測し、3ウェルの平均値を生細胞数とした。細胞の形態変化は、位相差倒立顕微鏡（Nikon TE200）により経時的に観察した。

細胞傷害作用：細胞分化の項と同様の方法で、細胞調製と培養をおこなった。NOの産生量は、上清中のNO₂⁻を指標とし、本評価法に適した細胞の種類、細胞密度、LPS濃度、培養時間を決定した。各条件は、最初に1μg/mlのLPSで細胞を刺激し、細胞密度（2×10⁵, 1×10⁶個/ml）と培養時間（8, 16, 24, 32, 40時間）を検討し、その結果得られた培養時間で、LPS濃度（0.01, 0.1, 1, 10μg/ml）と細胞密度（4×10⁴, 2×10⁵, 1×10⁶個/ml）を検討した。NO₂⁻は、培養上清を96ウェルのアッセイプレートに移し、Griess反応に基づく吸光度法³⁾により測定した。

鶏卵由来成分の調製

ロードアイランドレッド種の産卵後24時間以内の鶏卵から、オボムチン、卵黄膜、およびカラザを調製した。

これらは、TANIZAKIら¹⁴⁾の方法を基本として、図1に示す方法により処理した。

凍結乾燥したオボムチン、卵黄膜およびカラザは、蒸留水に溶解し、Bradford法⁷⁾によりタンパク濃度を測定した。供試前には、0.2μmのフィルターでろ過滅菌し、所定の濃度（0.01, 0.1, 1, 10, 100μg/ml）に調製した。

結果および考察

マクロファージ活性化反応

細胞分化：各濃度のLPS刺激による免疫担当細胞の増殖に対する効果を図2に示した。THP-1に対しては、60μg/mlの高濃度でも、若干の増殖抑制が認められる程度であった。LPSのJ774.1およびRAW264に対する効果は大きく、濃度が0.4μg/ml以上のすべての区において、増殖抑制効果が認められた。しかし、濃度による差は認められなかった。

各細胞のコントロールを比較するとTHP-1は、J774.1やRAW264に比べて供試細胞数が多い。これはJ774.1やRAW264が接着系細胞、THP-1が浮遊系細胞のためである。J774.1のコントロールにおいて5日目の細胞数が減少しているが、5日目の計測で、死細胞が約4割に達しており、死細胞まで含めると3日目と同程度の細胞数であ

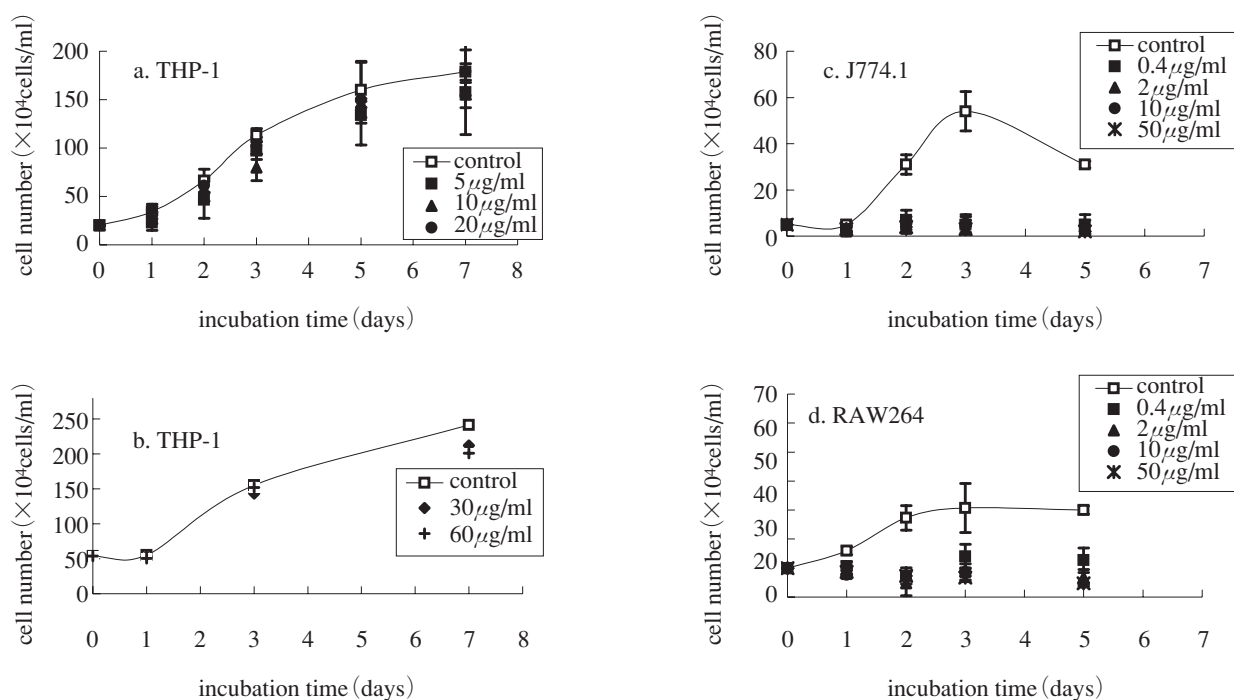


Fig.2 Effects of some concentration of LPS on the proliferation of THP-1 (a,b),J774.1 (c) ,and RAW264 (d) cells. The cells were incubated with some concentration of LPS,or without LPS in the RPMI1640 medium containing 5% heat-inactivated FBS. Living cells were measured at indicated time,and data represent means of triplicate or duplicate wells.

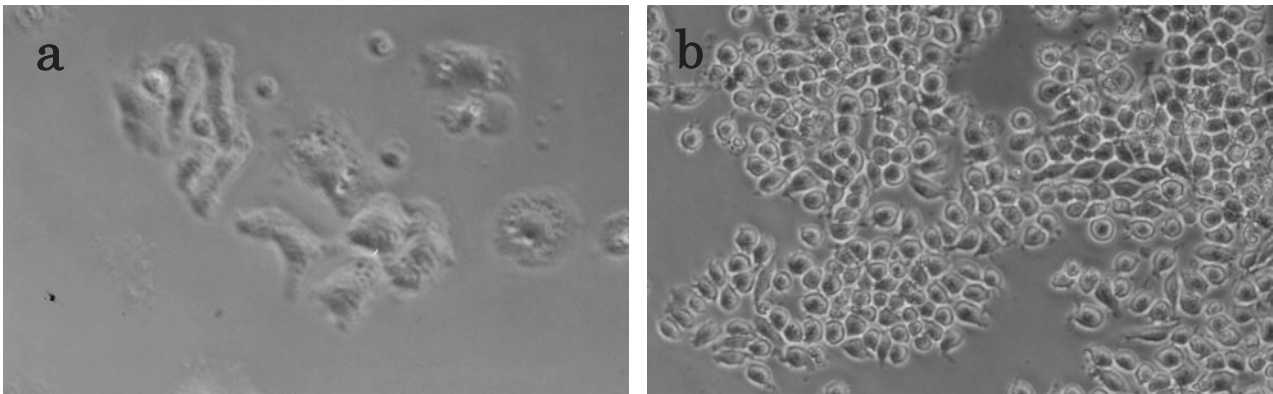


Fig.3 Effects of LPS on the morphology of J774.1 cells.

The cells were incubated with $4\mu\text{g/ml}$ of LPS (a), or without LPS (b) in the RPMI1640 medium containing 5% heat-inactivated FBS. The morphology was observed under a phase-difference microscope and photographed ($\times 200$) after 3 days incubation.

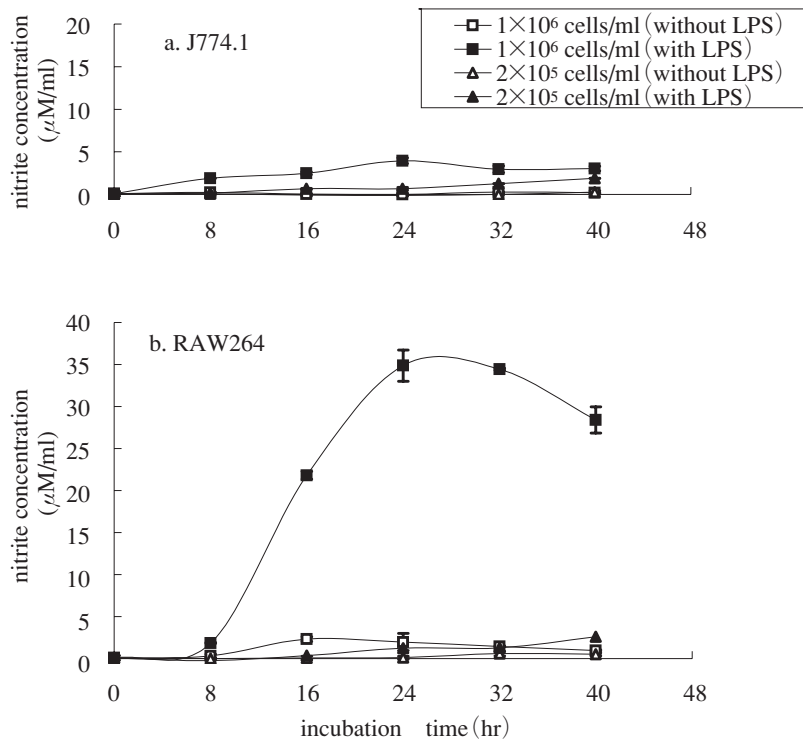


Fig.4 Effects of LPS on the generation of nitric oxide from J774.1 (a) and RAW264 (b) cells incubated for various lengths of time.

The cells, with density were 1×10^6 cells/ml (\square, \blacksquare) and 2×10^5 cells/ml ($\triangle, \blacktriangle$) were incubated with $1\mu\text{g/ml}$ ($\blacksquare, \blacktriangle$) of LPS, or without (\square, \triangle) LPS in the RPMI1640 medium containing 5% heat-inactivated FBS for 0, 8, 16, 24, 32, 40 hr. NO_2^- in the supernatants were measured at indicated time by using Griess reaction and data represent means of triplicate wells.

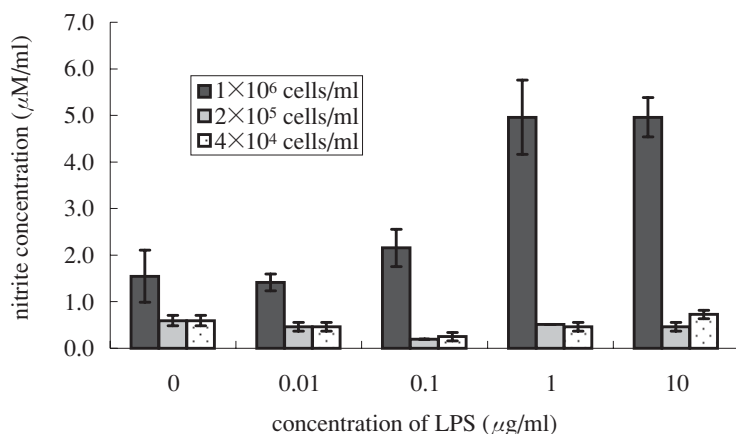


Fig.5 Effects of some concentration of LPS on the generation of nitric oxide by RAW264 cells.

The cells, which density were 1×10^6 cells/ml (■), 2×10^5 cells/ml (▲), and 4×10^4 cells/ml (▲) were incubated with 0.01, 0.1, 1, 10 µg/ml of LPS and without LPS in the RPMI1640 medium containing 5% heat-inactivated FBS for 24hr. NO_2^- in the supernatants were measured at indicated periods by using Griess reaction and data represent means of triplicate wells.

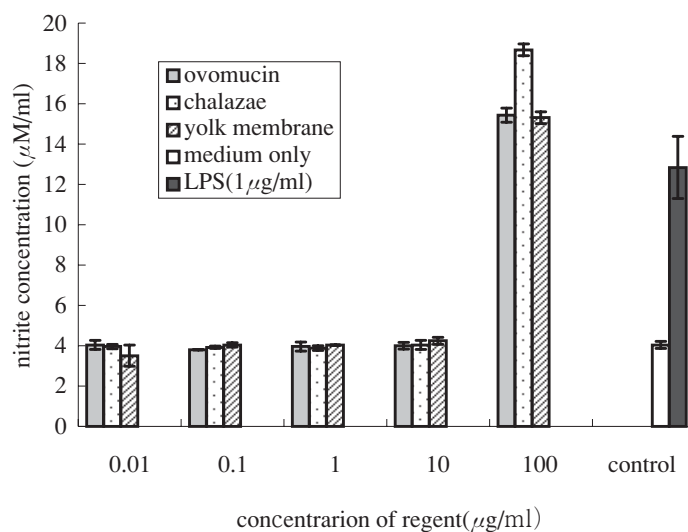


Fig.6 Effects of some concentration of ingredients derived from chicken eggs on the generation of nitric oxide by RAW264 cells.

The cells (1×10^6 cells/ml) were incubated with 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µg/ml of ingredients derived from chicken eggs, 1 µg/ml of LPS for positive control, and without reagent for negative control in the RPMI1640 medium containing 5% heat-inactivated FBS for 24hr. NO_2^- in the supernatants were measured by using Griess reaction and data represent of triplicate wells.

った。5日目に死細胞割合が高いのは、J774.1が接着系細胞であるため、過密度になったためと考えられた。一方、同じ接着系細胞であるRAW264に細胞数の減少がなかったのは、細胞密度がJ774.1に比べて低かったためと考えられた。THP-1については、浮遊系細胞であるため3日目以後も増殖が認められた。

LPS刺激によるJ774.1の形態変化に対する効果を図3の位相差顕微鏡写真に示した。LPS刺激により、24時間以内に細胞形態の変化が認められた。細胞形態は、球状からアメーバ状になり、大型化し、輪郭が不明瞭になった(a)。一方、LPS刺激がない場合は、輪郭が明瞭で、活発な増殖を繰り返し、細胞形態も球状のままであった(b)。

マクロファージは、活性化マクロファージに分化すると、増殖が抑制され、大型化するなどの形態変化をおこす^{6),14)}。本研究では、J774.1およびRAW264において、細胞増殖抑制および形態変化が認められ、活性化マクロファージに分化誘導されていることが確認されたが、THP-1については確認されなかった。したがって、細胞分化を指標とする評価には、J774.1やRAW264を用いることが適当と考えられた。また、培養時間は、コントロールの細胞増殖曲線および評価に要する時間を考慮して、3日間が適当と考えられた。LPS濃度は $0.4 \mu\text{g/ml}$ 以上あれば、ポジティブコントロールとして利用できると考えられた。

細胞傷害作用：細胞分化の結果から、NO産生量については、J774.1およびRAW264を検討対象とした。LPS刺激によるJ774.1およびRAW264のNO産生と培養時間の関係を図4に示した。J774.1およびRAW264ともLPS刺激によりNOの産生量の増加が認められた。その産生量は、RAW264がJ774.1より多かった。また、その産生量は培養時間が長くなるにつれ増加し、24時間で最大となった。24時間以降の減少は、NO産生量の指標として用いた NO_2^- が酸化され NO_3^- に変化したことが要因の一つと考えられた。したがって、NO産生量の評価は、その産生量の多いRAW264を 1×10^6 個/ml程度用いて、24時間培養で実施することが適当と考えられた。

次にRAW264のNO産生における各濃度のLPS刺激効果を図5に示した。細胞密度が 1×10^6 個/mlの区において、LPS濃度が $0.1 \mu\text{g/ml}$ からNO産生の増加がみられ、 $1 \mu\text{g/ml}$ で最大となり、それ以上の濃度でほぼ一定であった。したがって、ポジティブコントロールとしてLPSを用いる場合、その濃度は、 $1 \mu\text{g/ml}$ が適当と考えられた。

LPSによるマクロファージ活性化は、 $1 \sim 10 \text{ng/ml}$ の低濃度LPSでは、血清中のLPS結合蛋白(LBP)との複合体が、マクロファージ上のCD14に結合して、細胞内にシグナルが伝達されることにより開始される。一方、 $0.1 \sim 1 \mu\text{g/ml}$ の高濃度LPSでは、CD14に依存せずにシグ

ナルを伝達している可能性が報告されている^{8),11)}。本評価法の検出限界は、LPSで $0.1 \mu\text{g/ml}$ 相当と考えられ、その濃度からCD14非依存性のシグナル伝達系の関与が示唆された。

水溶液中でのNOは、半減期が0.1から5秒と非常に短いため¹⁾、直接測定することは困難である。そのためNO産生量は、生体内での最終酸化物の一つである NO_2^- をもって推定することが一般的である³⁾。本研究では、簡易な評価法という視点から、一般的な方法を用いたが、検出精度の向上を意図する場合、もう一つの最終酸化物である NO_3^- を NO_2^- に還元して測定することが必要と考えられた。

マクロファージ活性化反応の細胞分化と細胞傷害作用による評価法を比較した場合、細胞傷害作用による評価は、細胞分化による評価に比べて、評価所要時間が短く、簡易で多検体処理が可能であった。そこで、鶏卵由来成分の免疫賦活機能は、NO産生量を指標とする細胞傷害作用を用いて評価した。

鶏卵由来成分の免疫賦活機能

プロテアーゼ処理した各濃度の鶏卵由来成分の刺激に対するRAW264のNO産生効果を図6に示した。鶏卵由来成分の濃度が $10 \mu\text{g/ml}$ までは、NO産生に増加はみられなかったが、 $100 \mu\text{g/ml}$ では $1 \mu\text{g/ml}$ のLPSを凌ぐ効果が認められ、免疫賦活機能が確認された。鶏卵由来成分の比較では、ややカラザが高い傾向があった。また、1個の鶏卵から得られたオボムチン、カラザおよび卵黄膜の重量は、それぞれ、12.3、6.0および8.1mgとオボムチンの収量が最も多かったが、その調製には卵黄膜やカラザより時間と手順を必要とした。

オボムチン、カラザおよび卵黄膜に共通して存在する硫酸化糖鎖は、ペプチド鎖にO-グリコシド型で結合しており、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、硫酸基等から成っている典型的なムチン型糖鎖である^{5),14)}。ムチン型糖鎖は、生体防御機能をはじめとして、様々な生体調節機能が報告されている¹⁶⁾。しかし、これらの鶏卵由来成分が免疫賦活機能を得るためには、非特異的に作用するプロナーゼEなどのタンパク消化酵素処理が必要であり¹⁴⁾、その処理に長時間を要している。今後は、鶏卵由来成分の調製法について、より簡略化を検討する必要があると考えられた。

オボムチンは卵白中の分布にかたよがりがあり、濃厚卵白には水様卵白の4倍ものオボムチンが含まれており、フレキシブルな繊維状を呈し濃厚卵白の維持に貢献している²⁾。この濃厚卵白の高さは、鶏卵品質に関して求められる形質の一つであり、育種改良が可能である¹⁵⁾。北海道立畜産試験場においては、濃厚卵白の高さについて高低2方向に選抜を繰り返し、濃厚卵白高の高い系統

と低い系統を維持している。これらの系統間で、鶏卵1個あたりのオボムチン含量に差があることが考えられ、免疫賦活機能の品種間差検討への利用が期待される。

本研究で検討された評価法は、*in vitro*のものであるが、免疫賦活機能における差異の一次的なスクリーニングに用いることが可能であると考えられる。

引用文献

- 1) 相沢久道：NOの気道への作用の多様性。臨床免疫, 35：132-140 (2001)
- 2) 浅野悠輔・石原良三：卵その化学と加工技術, 69-70. 光琳, 東京 (1985)
- 3) 藤原大美・淀井淳司: 免疫研究法ハンドブック. 改訂第2版. 199-200, 中外医学社, 東京 (1996)
- 4) INOUE, H., FUNAYAMA, H., SEKIMOTO, K., MIURA, E. and KUMAGAI, N. : The suppressive mechanism of histamine release from rat peritoneal mast cell of iodine-enriched eggs. *Int. J. Tissue React.*, 23:73-79 (2001)
- 5) KATO, A : Chemistry of functional substances in poultry eggs and its applications to human health. *Proceedings 6th Asian Pacific Poultry congress* , 52-57(1998)
- 6) 加藤昭夫：食肉、鶏卵、乳由来成分のマクロファージ活性化と免疫賦活作用. 食肉に関する助成研究調査成果報告, 16:369-373 (1999)
- 7) 日本生化学会編：基礎生化学実験法. 第3巻タンパク質検出・構造解析法, 11-12, 東京化学同人, 東京 (2001)
- 8) 西島正弘：マクロファージのリポポリサッカライド受容体. 蛋白質核酸酵素, 40:359-369 (1995)
- 9) 野田敏司・田中和生・古賀泰裕：ウイルス感染におけるNOを介したマクロファージの生体防御機能. 臨床免疫, 36:211-219 (2001)
- 10) ROITT, I., BROSTOFF, J. and MALE, D. : 免疫学イラストレイテッド. 原書第5版, 132-134, 南江堂, 東京 (2000)
- 11) 進土ひとみ・赤川清子・吉田彪：マクロファージ活性化の初期シグナル伝達機構. 臨床免疫, 28:70-78 (1996)
- 12) 須見洋行：食品機能学への招待, 3, 三共出版, 東京(1999)
- 13) 鈴木亜由美・合田之久・川手秀一：鶏卵の生理活性に関する試験. 農研センター研究成果情報, 28:199-200 (1995)
- 14) TANIZAKI, H., TANAKA, H., IWATA, H. and KATO, A. : Activation of macrophages by sulfated glycopeptides in ovomucin, yolk membrane and chalazae in chicken eggs. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61:1883-1889 (1997)
- 15) WASHBURN, K. W. : *Poultry Breeding and Genetics*, 785-786, Elsevier, Amsterdam (1990)
- 16) 渡邊乾二：特異構造に支えられたオボムチンの多様な生体調節機能. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 74:802-806 (2000)

Assay using Macrophages for Immune Response Stimulating Activity of Ingredients derived from Chicken Eggs

Hironao HOUKIYAMA and Yu NODA

Hokkaido Animal Research Center
(Received 8 May 2002, Accepted 4 June 2002)

Corresponding : Hironao Houkiyama (e-mail : hhoki@agri.pref.hokkaido.jp)

Simple assays for immune response stimulating activity were considered by analyzing proliferation and cytotoxicity of cultured macrophages that were activated by lipopolysaccharide (LPS). The assay was applied to estimate activity of ingredients derived from chicken eggs. J774.1, RAW264, and THP-1 were used for the assays. Cell proliferation was evaluated according to increases in the number of cells and morphology. Cytotoxicity was evaluated by generation of nitric oxide.

Results showed that J774.1 and RAW264 stopped cell growth and induced morphological differentiation to activated-macrophages. For the cell proliferation assay, it was necessary to culture J774.1 or RAW264 for 3 d and to use 0.4 μ g/ml of LPS or more as a positive control. For the cytotoxicity assay, it was required to culture RAW264 (1×10^6 cells/ml) for 24 h and to use 1 μ g/ml of LPS as a positive control. Then, the cytotoxicity assay for immune response stimulating activity was applied to estimate activity of ingredients derived from chicken eggs. It was identified that protease-digested ovomucin, yolk membrane, and chalazae increase generation of nitric oxide.

This assay can be used for primary screening of immune response stimulating activity.

Key word : macrophage, immune response stimulating activity, chicken egg, cell proliferation, nitric oxide

エゾシカ(*Cervus nippon yesoensis*)の飼料摂取量および消化率の季節変動

國重享子・戸苅哲郎

北海道立畜産試験場

(2002.3.25 受付, 2003.8.23 受理)

要 旨 エゾシカの飼料摂取量および消化率の季節変動について検討した。エゾシカにチモシー乾草(乾草給与区) および配合飼料をチモシー乾草と給与したとき(配合飼料併給区)の飼料摂取量は、夏期から秋期にかけて増加し、冬期に有意($P<0.05$)に減少するという季節変動がみられ、冬期は秋期に比較して乾草給与区では54%、配合飼料併給区では56%に減少した。

乾草給与区における乾物消化率は冬期が夏期より有意($P<0.05$)に低かった。成分消化率は、粗蛋白質は冬期が春期および夏期より有意($P<0.05$)に高く、粗脂肪および粗繊維は夏期が冬期および春期より有意($P<0.05$)に高かった。配合飼料併給区における乾物消化率も冬期が夏期より有意($P<0.05$)に低く、冬期 $63.4\pm 1.8\%$ 、夏期 $68.8\pm 1.0\%$ だった。成分消化率は、粗蛋白質では秋期および冬期が春期および夏期より有意($P<0.05$)に高く、粗脂肪および粗繊維では夏期が冬期より有意($P<0.05$)に高かった。このことからエゾシカの消化機能は季節による影響を受けていると推察される。

エゾシカの消化率をめん羊と比較すると、乾草給与区は乾物消化率、粗繊維消化率および可消化養分総量(TDN)含量においてやや低かったが、配合飼料併給区では大きな差はなかった。このことから、エゾシカの消化能力はめん羊とほぼ同程度であることが推察された。

キーワード：エゾシカ、飼料摂取量、消化率、季節変動

道畜試研究報, 25: 24-30, 2003

緒 言

エゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) は北海道に生息する代表的な大型哺乳動物であり、灌木や野草を採食する反芻動物である。明治初期の大雪と乱獲により一時は絶滅の危機に瀕したが、その後の保護施策と生息環境の変化により生息数の増加と分布域の拡大がみられ、農業および林業被害が増加しており、地域的に大きな問題となっている。

一方で、エゾシカを食肉動物として産業化する試みも行われているが、日本における養鹿産業の歴史は浅く、シカの飼育に関する研究が少ない。アカシカなどの飼育が盛んな諸外国の研究では、シカ科の動物には採食量、体重増加および繁殖周期などに著しい季節性を持っていることが報告されており、エゾシカにおいても季節変動があるものと推察される。このようなエゾシカの生態的特徴を把握し、飼養、栄養のデータに基づく管理技術を確認することは、エゾシカを産業動物として飼育し、鹿肉を安定的に供給する上で重要であると考えられる。

そこで本試験では、乾草および配合飼料を乾草と併給したときの自由飼料摂取量および各飼料成分の消化率を

季節毎に測定し、エゾシカの飼料利用性の季節変動について明らかにするとともに、めん羊との比較を行った。

材料と方法

1) 供試動物、供試飼料および消化試験法

供試動物には、池田町イケダシカ牧場より導入し、滝川畜産試験場内で飼育している雌エゾシカ3頭を用いた。供試時の年齢および体重を表1に示した。供試年齢は試験開始時の1998年秋で、シカAは13歳、シカBは5歳、シカCは3歳だった。また、滝川畜産試験場に繁養するサフォーク種の去勢羊4頭(1998年秋で3歳)を比較のために用いた。試験開始時の平均体重はエゾシカ $64.5\pm 8.9\text{kg}$ 、めん羊 $65.7\pm 4.0\text{kg}$ と差はなかった。

供試飼料は、1998年6月に調製した1番草チモシー主体乾草およびめん羊肥育用配合飼料を用いた。乾草は残飼が1割程度となる量を、配合飼料給与は乾草と配合飼料が現物の重量比で2:1の割合とし、1日量を9時と16時の2回に分けて給与し、水と固形塩は自由摂取とした。

試験は、乾草のみを給与した区(乾草給与区)ならびに乾草および配合飼料を併給した区(配合飼料併給区)

連絡者：國重享子 (e-mail: kunisige@agri.pref.hokkaido.jp)

の2区実施し、期間は1998年10月（秋期）、1999年1月（冬期）、1999年4月（春期）および1999年7月（夏期）に全糞採取法により実施した。実施期間は秋期および春期は予備期7日間、本期6日間とし、冬期および夏期は予備期7日間、本期10日間とし、2試験区は連続して行った。消化試験実施時は、エゾシカを糞尿分離が可能な専用のケージ（W 180×D 80×H 120cm）に収容し、試験実施時期以外は飼育舎およびパドック内で群飼し、5～11月はパドックに放牧するとともに、乾草および配合飼料を給与した。12～4月はパドックを閉鎖し、乾草および配合飼料で飼育した。めん羊は消化試験実施時は消化試験用ケージに収容した。

2) 分析方法

飼料および糞の一般成分は常法¹⁾により分析した。給

与した飼料の一般成分を表2に示した。なお、水分は135℃2時間乾燥法、粗蛋白質はケルダール法、粗脂肪はソックスレー法、粗繊維は濾過法によった。統計処理は季節間についてのt検定²⁾を動物種および供試飼料ごとに実施した。

結果と考察

エゾシカとめん羊の乾草給与区および配合飼料併給区の代謝体重（kg^{0.75}）当たり乾物摂取量を表3に示した。エゾシカの乾草給与区における乾物摂取量は、秋期は55.2±0.4g/kg^{0.75}、冬期は29.8±6.0g/kg^{0.75}、春期は36.3±4.0g/kg^{0.75}、夏期は43.3±4.0g/kg^{0.75}であり、秋期は有意（P<0.05）に高く、冬期は秋期に比較して54%に減少した。配合飼料併給区における乾物摂取量は、秋期は64.4±0.9g/kg^{0.75}、冬期は35.8±7.8g/kg^{0.75}、春

Table1. Age and body weight of the deer and sheep used in the digestion.

	Age	Autumn		Winter		Spring		Summer	
		Body Weight	MBS*	Body Weight	MBS*	Body Weight	MBS*	Body Weight	MBS*
		kg	kg ^{0.75}	kg	kg ^{0.75}	kg	kg ^{0.75}	kg	kg ^{0.75}
Deer A	13	74.2	25.3	69.4	24.0	60.2	21.6	74.8	25.4
B	5	62.6	22.3	59.0	21.3	54.6	20.1	68.6	23.8
C	3	56.6	20.6	54.2	20.0	51.4	19.2	64.8	22.8
Average	7.0	64.5	22.7	60.9	21.8	55.4	20.3	69.4	24.0
SEM	5.3	8.9	2.4	7.8	2.1	4.5	1.2	5.0	1.3
Sheep A	3	70.6	24.4	73.4	25.1	81.6	27.1	84.2	27.8
B	3	62.8	22.3	65.6	23.1	74.6	25.4	74.2	25.3
C	3	62.0	22.1	67.0	23.4	76.4	25.8	78.2	26.3
D	3	67.2	23.5	69.6	24.1	78.2	26.3	75.6	25.6
Average	3.0	65.7	23.1	68.9	23.9	77.7	26.2	78.1	26.3
SEM	0.0	4.0	1.1	3.4	0.9	3.0	0.8	4.4	1.1

※MBS：Metabolic body size

Table 2. Chemical composition of feedstuffs.

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	NFE	Crude ash
	%	% of DM				
Hay						
Autumn	12.8	6.3	1.8	36.5	48.8	6.7
Winter	12.9	6.7	1.9	37.3	47.2	6.9
Spring	13.9	5.3	1.5	33.6	53.7	5.9
Summer	13.4	6.7	2.7	34.8	53.1	2.7
Formula feed						
Autumn	13.5	15.3	4.1	5.0	70.6	5.1
Winter	13.4	15.7	5.1	5.3	68.7	5.2
Spring	11.8	15.4	4.6	5.3	70.0	4.7
Summer	11.5	14.4	4.6	4.6	71.8	4.6

期は $50.1 \pm 4.8 \text{g/kg}^{0.75}$ 、夏期は $52.5 \pm 5.1 \text{g/kg}^{0.75}$ であり、乾草給与区と同様に秋期は有意 ($P < 0.05$) に高く、冬期は秋期に比較して56%に減少した。同時期に実施しためん羊と比較すると、秋期の乾物摂取量は乾草給与区でエゾシカ $55.2 \pm 0.4 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $50.8 \pm 1.7 \text{g/kg}^{0.75}$ 、配合飼料併給区でエゾシカ $64.4 \pm 0.9 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $63.9 \pm 1.6 \text{g/kg}^{0.75}$ であった。一方、冬期の乾物摂取量は、乾草給与区でエゾシカ $29.8 \pm 6.0 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $55.3 \pm 3.5 \text{g/kg}^{0.75}$ 、とエゾシカはめん羊の54%であった。配合飼料併給区においてもエゾシカ $35.8 \pm 7.8 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $70.2 \pm 4.3 \text{g/kg}^{0.75}$ とエゾシカはめん羊の51%であった。

アカシカやニホンジカなどのシカ科の動物には、飼料摂取量が季節変動することが広く知られている^{3,4,5}。小田島らがニホンジカで行った研究⁶) では、2月の飼料摂取量が代謝体重当たり55gであり、5月、8月および11月の平均値 (70g) より有意に低いと報告されている。群飼のニホンジカを用いた研究⁷) においても同様に、飼料摂取量は12月から漸減し始め、2月で最低となったとしている。また、アカシカの成雌を用いた試験⁸) においても、飼料摂取量は発情期に減少し、その後一時的に回復した後、冬期に最低としている。相馬らがエゾシカで実施した試験⁹) においても、飼料摂取量は春期から夏期に増加し冬期に最低の値になったと報告している。

Table 3. Dry matter intake per MBS of hay and formula feed of deer and sheep. (g/kg^{0.75})

	Autumn		Winter		Spring		Summer	
	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM
Hay								
Deer	55.2 a*	± 0.4	29.8 c*	± 6.0	36.3 bc*	± 4.0	43.3 b*	± 4.0
Sheep	50.8 b*	± 1.7	55.3 a*	± 3.5	53.1 ab*	± 3.9	55.9 ab*	± 5.6
Formula feed								
Deer	64.4 a	± 0.9	35.8 c*	± 7.8	50.1 b*	± 4.8	52.5 b*	± 5.1
Sheep	63.9 c	± 1.6	70.2 b*	± 4.3	77.1 a*	± 3.7	74.2 ab*	± 7.6

MBS : Metabolic body size

abc : Means on the same line with unlike superscripts are different (p < 0.05)

* : Significant difference between deer and sheep in each treatment (p < 0.05)

Table 4. Digestibility and nutritive values of hay of deer and sheep. (%)

	Autumn		Winter		Spring		Summer	
	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM
Deer								
Digestibility								
Dry matter	52.6 abc*	± 5.3	52.5 c	± 1.3	54.2 b*	± 0.2	56.9 a	± 1.2
Crude protein	54.3 ab	± 7.4	59.9 a*	± 0.4	51.1 b*	± 2.5	43.0 c*	± 1.9
Crude fat	42.4 c	± 2.7	49.1 b	± 0.9	31.3 d	± 2.2	68.5 a	± 2.4
Crude fiber	55.7 ab*	± 3.8	52.4 b*	± 1.7	51.2 b*	± 1.5	59.8 a	± 1.7
Nutritive value								
TDN	55.8 ab*	± 4.1	50.7 b*	± 1.3	53.1 b*	± 0.3	60.1 a	± 1.6
DCP	3.4 ab	± 0.5	4.0 a*	± 0.0	2.7 b*	± 0.1	2.9 b*	± 0.1
Sheep								
Digestibility								
Dry matter	60.8 a*	± 2.8	53.9 c	± 0.9	57.1 b*	± 2.2	57.4 ab	± 2.6
Crude protein	56.6 a	± 3.0	53.9 ab*	± 2.9	42.4 c*	± 5.6	50.2 b*	± 3.2
Crude fat	40.1 c	± 3.9	47.5 b	± 2.6	38.3 c	± 8.0	70.6 a	± 6.3
Crude fiber	69.1 a*	± 4.5	57.0 b*	± 1.6	55.4 b*	± 2.3	59.0 b	± 3.5
Nutritive value								
TDN	64.9 a*	± 3.1	52.5 c*	± 0.8	55.7 b*	± 1.9	60.8 a	± 2.6
DCP	3.6 a	± 0.2	3.6 a*	± 0.2	2.2 b*	± 0.3	3.4 a*	± 0.2

abc : Means on the same line with unlike superscripts are different (p < 0.05)

* : Significant difference between deer and sheep in each treatment (p < 0.05)

Table 5. Digestibility and nutritive values of formula feed of deer and sheep. (%)

	Autumn		Winter		Spring		Summer	
	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM
Deer								
Digestibility								
Dry matter	63.4 ^{ab}	± 5.0	63.4 ^b	± 1.8	65.9 ^{ab}	± 3.0	68.8 ^a	± 1.0
Crude protein	66.6 ^a	± 4.2	67.4 ^a	± 1.5	53.9 ^c	± 2.4	59.9 ^b	± 0.9
Crude fat	65.7 ^b	± 1.7	51.4 ^{a*}	± 3.9	60.3 ^c	± 1.5	84.1 ^a	± 2.0
Crude fiber	52.7 ^{ab}	± 6.9	49.0 ^{b*}	± 2.0	56.7 ^{ab}	± 6.1	59.2 ^a	± 1.9
Nutritive value								
TDN	67.2 ^{ab}	± 4.4	64.8 ^b	± 1.9	66.8 ^b	± 2.9	71.4 ^a	± 1.6
DCP	7.2 ^b	± 0.5	8.5 ^{a*}	± 0.2	5.9 ^{c*}	± 0.2	6.7 ^{b*}	± 0.1
Sheep								
Digestibility								
Dry matter	66.3 ^{ab}	± 2.6	64.7 ^b	± 1.0	65.8 ^b	± 1.3	68.4 ^a	± 2.1
Crude protein	66.6 ^a	± 2.7	65.9 ^{ab}	± 2.1	54.2 ^c	± 1.7	62.7 ^b	± 2.8
Crude fat	64.6 ^b	± 5.3	66.6 ^{b*}	± 0.9	59.6 ^b	± 2.6	84.0 ^a	± 2.4
Crude fiber	59.4	± 4.4	56.1 [*]	± 1.9	57.5	± 2.8	57.5	± 4.0
Nutritive value								
TDN	69.8 ^a	± 2.5	64.8 ^b	± 1.0	66.1 ^b	± 1.3	69.5 ^a	± 2.0
DCP	7.2 ^a	± 0.2	6.9 ^{b*}	± 0.2	5.4 ^{d*}	± 0.2	6.4 ^{c*}	± 0.2

abc : Means on the same line with unlike superscripts are different (p < 0.05)
 * : Significant difference between deer and sheep in each treatment (p < 0.05)

本試験においても飼料摂取量は冬期に著しく減少するという結果が得られたことから、他のシカ科の動物と同様に、エゾシカについても夏期から秋期にかけて飼料摂取量が増加し、冬期に著しく減少するという季節変動が認められた。

このような飼料摂取量の季節性についてBarryらが行った試験⁸⁾では、アカシカを短日、長日条件下で飼育した場合、飼料摂取量は短日条件下では減少し、長日条件下では増加したと報告されている。また、メラトニンを投与することにより飼料摂取量が抑制されることから、季節性の発現には松果体から分泌されるメラトニンが関与しており、メラトニンの分泌には日長時間が影響しているとしている。このことから、エゾシカの飼料摂取量にも他のシカ科の動物と同じ季節性がみられることは、アカシカと同様にホルモンの影響を受けていると推察された。

エゾシカとめん羊の乾草給与区および配合飼料併給区の消化率および栄養価を表4、5に示した。エゾシカの乾草給与区における乾物消化率は、冬期が夏期より有意 (P < 0.05) に低く、秋期52.6 ± 5.3%、冬期52.5 ± 1.3%、春期54.2 ± 0.2%、夏期56.9 ± 1.2%だった。成分消化率は、粗蛋白質では冬期が59.9 ± 0.4%で春期および夏期より有意 (P < 0.05) に高く、粗脂肪および粗繊維は夏期が68.5 ± 2.4%および59.8 ± 1.7%で冬期および春期より有意 (P < 0.05) に高かった。配合飼料併給区における乾物消化率も冬期が夏期より有意 (P < 0.05)

に低く、秋期63.4 ± 2.1%、冬期63.4 ± 1.8%、春期65.9 ± 3.0%、夏期68.8 ± 1.0%だった。成分消化率は、粗蛋白質では秋期および冬期が66.6 ± 4.2%および67.4 ± 1.5%で春期および夏期より有意 (P < 0.05) に高く、粗脂肪および粗繊維では夏期がそれぞれ84.1 ± 2.0%および59.2 ± 1.9%で、冬期より有意 (P < 0.05) に高かった。TDNは、冬期および春期が乾草給与区で50.7 ± 1.3%および53.1 ± 0.3%、配合飼料併給区で64.8 ± 1.9%および66.8 ± 2.9%であり、夏期より有意 (P < 0.05) に低かった。DCPは冬期が乾草給与区で8.5 ± 0.2%、配合飼料併給区で6.9 ± 0.2%であり、夏期および春期より有意 (P < 0.05) に高かった。

めん羊と比較すると、乾草給与区では乾物消化率および粗繊維消化率でエゾシカがめん羊より低く、TDNもエゾシカがめん羊より低かった。粗蛋白質消化率では、秋期および夏期はエゾシカ54.3 ± 7.4%および43.0 ± 1.9%、めん羊56.6 ± 3.0%および50.2 ± 3.2%とエゾシカがめん羊より低かったが、冬期および春期ではエゾシカ59.9 ± 0.4%および51.1 ± 2.5%、めん羊53.9 ± 2.9%および42.4 ± 5.6%とエゾシカが有意 (P < 0.05) に高く、DCPも同様の傾向がみられた。一方配合飼料併給区では冬期において粗脂肪および粗繊維消化率がエゾシカが低かったが、TDNに差はなかった。DCPについてはエゾシカがめん羊より高い傾向にあった。

消化率の季節性について、ニホンジカにアルファルファヘイキューブを給与した試験⁶⁾では、乾物消化率は2

月が7月より有意に低く、NDFおよびADF消化率についても2月が低い傾向にあったと報告している。今回の成績では、乾物消化率および粗繊維消化率について両区とも冬期が夏期より低く、エゾシカにおいてもニホンジカと同様の傾向がみられた。一方多くの家畜では、飼料摂取量が多くなると消化器内を早く通過するため、消化が悪くなり、消化率は低下する傾向にある¹³⁾。エゾシカの飼料摂取量は、冬期では飼料摂取量が最も少ないにも拘らず消化率が低くなっており、消化機能についても季節の影響を受けていると推察された。また、粗蛋白質消化率は冬期が高く、他の成分消化率とは異なった傾向となった。一般に飼料摂取量が過度に少ない場合、消化液など内因性窒素が糞中に排出される割合が多くなり、粗蛋白質消化率が低下する¹³⁾。しかし、エゾシカでは飼料摂取量が最も少ない冬期に粗蛋白質消化率が高かった。このことは飼料摂取量の季節の影響を受けて消化機能が低下し、消化液など内因性窒素が減少するためと推察されるが、消化率の季節性については更に検討する必要があると考えられる。

シカ科の動物とめん羊との消化率を比較した試験では、ヤクシカとめん羊に乾草を給与した場合、ヤクシカのNDFおよびヘミセルロースの消化率が低かったことが報告されている¹⁰⁾。また、ニホンジカとめん羊の消化率を比較した小田島らの試験⁶⁾では、有機物、NDFおよびADFの消化率がめん羊より低いと述べている。これについて小田島らは、反芻動物には消化管の形態的特徴から多量の食物繊維を消化できるGrass eater型、繊維消化能力が低いConcentrate selector型およびその中間型があり、シカ類は中間型およびConcentrate selector型にまたがって分類されている¹²⁾が、ニホンジカはConcentrate selector型に近い可能性を示唆している。一方、エゾシカにロールバール乾草、アルファルファハイキューブおよびロールバールサイレージを給与した試験¹¹⁾では粗繊維とヘミセルロースの消化率がめん羊よりもやや低い傾向にあったが、乾草とフスマもしくはダイズ粕を混合給与した試験¹⁴⁾では、消化率は全成分においてめん羊より高かったと報告している。このことから増子らは、エゾシカの繊維消化率はめん羊よりやや劣るが、繊維質含量が低く粗蛋白質が高い飼料では飼料全体の繊維消化率が高くなり、牧草類と濃厚飼料を混合給与した場合のエゾシカの消化能力は優れていることを示唆しており、エゾシカは中間型に近いと推察している。今回の成績においても乾物消化率および粗繊維消化率は乾草給与区ではエゾシカがめん羊より低かったが、配合飼料併給区では大きな差はなかったことから、エゾシカの消化能力は中間型に近くめん羊とほぼ同程度であることが推察された。

このように、エゾシカに乾草および配合飼料を併給し

た場合の飼料摂取量は、夏期から秋期にかけて増加し、冬期に著しく減少するという季節変動がみられた。また、乾物消化率および粗繊維消化率は両区とも冬期が夏期より低く、粗蛋白質消化率は冬期が高かった。このことからエゾシカの消化機能は季節性の影響を受けていると推察される。エゾシカの消化率をめん羊と比較すると、乾物消化率および粗繊維消化率は乾草給与区ではエゾシカがめん羊より低く、TDNもエゾシカがめん羊より低かったが、配合飼料併給区では大きな差はなかった。このことから、エゾシカの消化能力はめん羊とほぼ同程度であることが推察された。

引用文献

- 1) 森本宏：動物栄養試験法：208-396（1971）
- 2) 吉田実，阿部猛夫：畜産における統計処理方法，27-35，中央畜産会，東京（1982）
- 3) Aagnes,T.H.,A.S.Blix.,S.D.Mathiesen.：Food intake, digestibility and rumen fermentation in reindeer fed baled timothy silage in summer and winter. J.Agr.Sci,127:517-523（1996）
- 4) 池田昭七，澁谷知香子，石田光晴，武田武雄，佐藤衆介，菅原和夫：ニホンジカの季節生産性の行動学的解析，日本畜産学会大会講演要旨，83（1997）
- 5) 池田昭七，武田武雄，石田光晴，齊藤孝夫：ニホンジカの飼料採食性および消化率について宮城農短大報，38：27-36（1991）
- 6) 小田島守，梶田泰史，南基澤，李相洛，千家弘行，加藤和男，太田実，佐々木康之：制限給与下のニホンジカおよびヒツジにおける飼料片の消化管内通過速度および消化率の季節変動，日畜会報，62：308-313（1992）
- 7) 小田島守，中島功司，大友泰，小田伸一，庄司芳男，加藤和男，太田実，佐々木康之：群飼ニホンジカの採食量と体重の周年変化，日畜会報，64：421-423（1992）
- 8) Barry.T.N.,J.M.Suttie.,J.A.Milne.,R.N.B.Kay.：Control of food intake in domesticated deer. Physiological aspect of digestion and metabolism in ruminants, 385-401, Academic Press, San. Diego（1991）
- 9) 相馬幸作，増子孝義，小林雄一，石田芳郎：エゾシカにおける乾草採食量の季節変化，北畜会報，40：27-30（1998）
- 10) 増子孝義，鶴田直美，石島芳郎：ヤクシカおよびヒツジに給与したイネ科主体ロールバール乾草およびアルファルファハイキューブの消化性と窒素利用率，北畜会報，36：67-70（1994）
- 11) 増子孝義，相馬幸作，熊谷弘美，高橋興平，亀山

- 祐一, 石島芳郎: エゾシカにおける乾草、ハイキ
ューブおよびサイレージの消化率と窒素出納. 日
草誌, 43: 32-36 (1997)
- 12) Hofman, R.R.: Aspects of digestive physiology in
ruminants, 1-20 Comstock Publishing Associates, Ithaca
(1988)
- 13) 森本宏: 家畜栄養学第12版, 246, 養賢堂, 東京
(1981)
- 14) 増子孝義, 相馬幸作, 藤井正樹, 高崎興平, 石島
芳郎: エゾシカにおける乾草とフスマおよびダイ
ズ粕混合物の消化率と窒素出納. 北農会報, 40:
22-26 (1998)

Seasonal variation of food intake and digestibility of Yeso sika deer (*Cervus nippon yesoensis*)

Kyoko KUNISIGE and Tetsuro TOKARI

Hokkaido Animal Research Center
(Received 25 March 2002, Accepted 23 August 2003)

Corresponding: Kyoko Kunisige(e-Mail:kunisige@agri.pref.Hokkaido.jp)

Seasonal variations in food intake and digestibility in Yeso sika deer were examined. In this experiment, Yeso sika deer were provided with either timothy hay (hay feeding) or a combination of formula feed and timothy hay (combination feeding). Food intake increased in the fall compared with summer. The seasonal variation in winter was represented by a significant decrease ($P<0.05$) in comparison with fall. There was a 54% decrease in hay feeding and 56% decrease in combination feeding. Dry matter digestibility in winter with hay feeding was significantly lower ($P<0.05$) than that in summer. With regard to digestibility of components, digestibility of crude protein in winter was significantly higher ($P<0.05$) than in spring and summer, and that of crude fat and crude fiber in summer was significantly higher ($P<0.05$) than that in winter and spring. In winter, dry matter digestibility of combination feeding was also significantly lower ($P<0.05$) than in summer ($63.4\pm 1.8\%$ vs 68.8 ± 1.0). As for digestibility of components, that of crude protein was higher in fall and winter than in summer and spring ($P<0.05$). However, digestibility of crude fat and crude fiber was higher in summer than in winter ($P<0.05$). These results suggest that the digestive function of Yeso sika deer is affected by the seasons.

Although with hay feeding, dry matter digestibility, crude fiber digestibility and total digestible nutrient content were a little low, there was not a large difference in those values for combination feeding of Yeso sika deer in comparison with sheep. From these results, the digestive ability of Yeso sika deer is suggested to be almost equivalent to that of sheep.

Key words : Yeso sika deer, Food intake, Digestibility, Seasonal variation.

エゾシカ(*Cervus nippon yesoensis*)とめん羊における乾草給与時の飼料摂取量、乾物消化率および消化管内滞留時間の季節変動

國重享子・戸苅哲郎

北海道立畜産試験場

(2002.3.25 受付, 2003.8.23 受理)

要 旨 エゾシカおよびめん羊にチモシー乾草を給与した時の飼料摂取量、乾物消化率および消化管内滞留時間を冬期(1月)および夏期(7月)に測定した。代謝体重当たりの飼料摂取量は、冬期ではエゾシカ $29.8 \pm 6.0 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $55.3 \pm 3.5 \text{g/kg}^{0.75}$ 、夏期ではエゾシカ $43.3 \pm 4.0 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $55.9 \pm 5.6 \text{g/kg}^{0.75}$ であり、エゾシカはめん羊より有意($P < 0.05$)に低かった。乾物消化率は、冬期ではエゾシカ $52.5 \pm 1.3\%$ 、めん羊 $53.9 \pm 0.9\%$ 、夏期ではエゾシカ $56.9 \pm 1.2\%$ 、めん羊 $57.4 \pm 2.6\%$ であり、エゾシカはめん羊より低い傾向にあった。また、エゾシカでは冬期の乾物消化率が夏期より有意($P < 0.05$)に低かった。消化管内滞留時間は、冬期はエゾシカ 49.1 ± 3.4 時間、めん羊 75.6 ± 6.8 時間、夏期はエゾシカ 59.0 ± 2.1 時間、めん羊 80.4 ± 2.3 時間であり、エゾシカが有意($P < 0.05$)に短かった。また、エゾシカでは冬期の消化管内滞留時間が夏期より有意($P < 0.05$)に短かった。

以上の結果から、両動物種間の飼料摂取量、乾物消化率ならびに消化管内滞留時間に種差が認められた。

キーワード: エゾシカ、飼料摂取量、消化管内滞留時間、乾物消化率、季節変動

道畜試研究報, 25: 31-36, 2003

緒 言

著者らは、前報¹⁾においてエゾシカおよびめん羊の乾草および配合飼料給与時における自由飼料摂取量および各飼料成分の消化率を季節毎に測定した。その結果、

他のシカ類と同様にエゾシカにおいても季節変動があることを報告した。今回はエゾシカおよびめん羊の冬期および夏期における乾草給与時の乾物摂取量、乾物消化率および消化管内滞留時間を測定した。

Table1. Age and body weight of the deer and sheep used in the digestion.

	Age	Winter		Summer	
		Body Weight	MBS*	Body Weight	MBS*
		kg	kg ^{0.75}	kg	kg ^{0.75}
Deer A	13	69.4	24.0	74.8	25.4
B	5	59.0	21.3	68.6	23.8
C	3	54.2	20.0	64.8	22.8
Average	7.0	60.9	21.8	69.4	24.0
SEM	5.3	7.8	2.1	5.0	1.3
Sheep A	3	73.4	25.1	84.2	27.8
B	3	65.6	23.1	74.2	25.3
C	3	67.0	23.4	78.2	26.3
D	3	69.6	24.1	75.6	25.6
Average	3.0	68.9	23.9	78.1	26.3
SEM	0.0	3.4	0.9	4.4	1.1

*MBS:Metabolic body size

連絡者: 國重享子 (e-mail: kunisige@agri.pref.hokkaido.jp)

試験方法

供試動物の供試時年齢および体重は表1のとおりである。供試動物および消化試験法は前報¹⁾と同様とした。試験は1999年1月(以下「冬期」)および1999年7月(以下「夏期」)に実施し、期間は予備期7日間、本期10日間とした。供試飼料は、1998年6月に調製した1番草チモシー主体乾草を用いた。乾草は残飼が1割程度となる量を9時と16時の2回に分けて給与し、水と固形塩は自由摂取とした。

消化管内滞留時間の測定には、糞中染色飼料片の1日毎の排泄率(以下「日排泄率」)および反芻胃内滞留時間を指標として用いた。反芻胃内滞留時間は、Balch(1950)²⁾の方法に基づき、糞中染色飼料片の累積排泄率が5%および80%を示す時間の差とした。染色飼料片の排泄率の測定は、本期開始時に給与した染色飼料が、糞中に排泄される数を測定することにより実施した。日排泄率は糞中に排泄された染色飼料片の総累積数を100とする半日毎の排泄数の割合である。染色飼料は、乾草を0.05%クリスタルバイオレット溶液で6時間煮沸後、洗浄水の色がなくなるまで水洗してから乾燥したものを用いた。染色飼料の給与量は給与乾草の5%とし、本期

開始時に給与した。それを全量採食したことを確認した後、乾草を所定量給与した。糞の採取は試験開始後36時間目までは4時間毎、60時間までは6時間毎、その後は12時間毎に行った。糞中の染色飼料片は、採取した糞をよく混和した後、約1gを秤量し、ナイロンメッシュ上で水洗いしながら肉眼で測定した。

飼料および糞の一般成分は前報¹⁾と同様に分析した。給与した飼料の一般成分を表2に示した。統計処理は季節間および動物種間についてのt検定³⁾を実施した。

結果および考察

エゾシカおよびめん羊の代謝体重(kg^{0.75})当たり乾物摂取量、乾物消化率および消化管内滞留時間を表3に示した。また、エゾシカの日排泄率および累積排泄率を図1に、冬期および夏期のエゾシカとめん羊の日排泄率および累積排泄率を図2、3に示した。

エゾシカの冬期および夏期の乾物摂取量は、29.8±6.0g/kg^{0.75}および43.3±4.0g/kg^{0.75}と冬期は夏期に比べ有意(P<0.05)に低かった。同時期に実施しためん羊と比較すると、冬期はエゾシカ29.8±6.0g/kg^{0.75}、めん羊55.3±3.5g/kg^{0.75}とエゾシカはめん羊の54%であった

Table 2. Chemical composition of Timothy hay used for the examination.

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	NFE	Crude ash
	%	% of DM				
Winter	12.9	6.7	1.9	37.3	47.2	6.9
Summer	13.4	6.7	2.7	34.8	53.1	2.7

Table 3. Dry matter intake, digestibility and digestive tract retention time of Timothy hay by deer and sheep.

		Winter		Summer		Significant(Winter:Summer)
		mean	SEM	mean	SEM	
Deer						
Dry matter intake per MBS	g/kg ^{0.75}	29.8 ^a	± 6.0	43.3 ^a	± 4.0	*
Dry matter digestibility	%	52.5	± 1.3	56.9	± 1.2	*
5% cumulative excreted time	hr	5.2 ^a	± 2.0	10.8	± 2.1	*
80% cumulative excreted time	hr	54.3 ^a	± 1.5	69.8 ^a	± 1.6	*
Reticulo-ruminal retention time	hr	49.1 ^a	± 3.4	59.0 ^a	± 2.1	*
Sheep						
Dry matter intake per MBS	g/kg ^{0.75}	55.3 ^b	± 3.5	55.9 ^b	± 5.6	NS
Dry matter digestibility	%	53.9	± 0.9	57.4	± 2.6	*
5% cumulative excreted time	hr	16.1 ^b	± 6.5	13.1	± 1.1	NS
80% cumulative excreted time	hr	91.7 ^b	± 0.3	93.5 ^b	± 3.2	NS
Reticulo-ruminal retention time	hr	75.6 ^b	± 6.8	80.4 ^b	± 2.3	NS

MBS: Metabolic body size

*: Significant difference between winter and summer (p<0.05)

ab: Significant difference between deer and sheep (p<0.05)

が、夏期はエゾシカ $43.3 \pm 4.0 \text{g/kg}^{0.75}$ 、めん羊 $55.9 \pm 5.6 \text{g/kg}^{0.75}$ であり、エゾシカはめん羊の77%と差は少なかった。

エゾシカの冬期および夏期の乾物消化率は $52.5 \pm 1.3\%$ および $56.9 \pm 1.2\%$ と、冬期が有意 ($P < 0.05$) に低かった。めん羊と比較すると冬期はエゾシカ $52.5 \pm 1.3\%$ 、めん羊 $53.9 \pm 0.9\%$ 、夏期はエゾシカ $56.9 \pm 1.2\%$ 、めん羊 $57.4 \pm 2.6\%$ であり、両期ともにエゾシカはめん羊より低い傾向にあった。

エゾシカの最大日排泄率日数は、冬期で1.5日、夏期で2.5日であり、めん羊は両期とも2.5日なので、冬期ではめん羊より1日早く、夏期ではめん羊と同じだった。累積排泄率5%と80%の到達時間を見ると、エゾシカは冬期でそれぞれ 5.2 ± 2.0 時間と 54.3 ± 1.5 時間、夏期で 10.8 ± 2.1 時間と 69.8 ± 1.6 時間であり、冬期が有意 ($P < 0.05$) に短かった。それに対し、めん羊では冬期でそれぞれ 16.1 ± 6.5 時間と 91.7 ± 0.3 時間、夏期で 13.1 ± 1.1 時間と 93.5 ± 3.2 時間であり、両期に差はなかった。両者を比較すると冬期の5%、80%における到達時間でエゾシカがめん羊よりも有意 ($P < 0.05$) に短かった。

反芻胃内滞留時間は、エゾシカでは冬期で 49.1 ± 3.4 時間、夏期で 59.0 ± 2.1 時間と、冬期が有意 ($P < 0.05$)

に約10時間短かった。めん羊では冬期で 75.6 ± 6.8 時間、夏期で 80.4 ± 2.3 時間であり有意な差はなかった。両者を比較すると、冬期はエゾシカ 49.1 ± 3.4 時間、めん羊 75.6 ± 6.8 時間、夏期はエゾシカ 59.0 ± 2.1 時間、めん羊 80.4 ± 2.3 時間であり、両期ともエゾシカが有意 ($P < 0.05$) に短かった。

今回の成績では、エゾシカはめん羊より消化管内滞留時間が短く、消化率がやや低かった。また、エゾシカの消化管内滞留時間は夏期より冬期が短く、消化率が低かった。消化管内滞留時間と消化率について、KAYとGOODALL⁷⁾はアカシカとめん羊の消化率は消化管内滞留時間の増加に比例して増大すると報告している。また、小田島ら^{4, 5, 6)}がニホンジカで行った研究では、ニホンジカの消化管内滞留時間はめん羊より短く、消化率が低いことが報告されている。このような消化率と消化管内滞留時間との関連は、飼料の種類や性質によって変動することが種々の動物種で認められている⁸⁾。今回の成績における消化管内滞留時間との消化率との関連は、これらの報告とほぼ同じ傾向にあった。

消化管内滞留時間について、反芻動物の消化管においては、第1胃・第2胃での滞留時間が全滞留時間の約60%を占めており、アカシカでも同様の結果が報告され

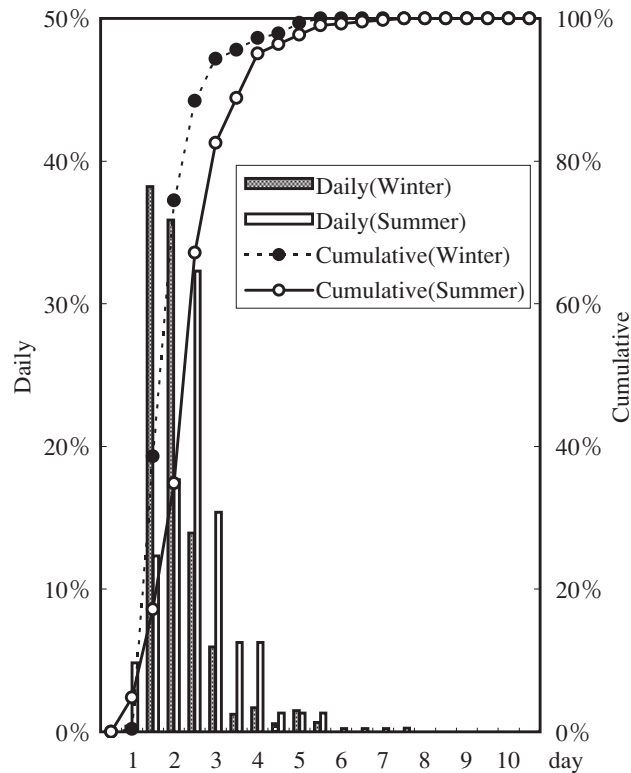


Fig 1. Daily and cumulative fraction(%) of total markers excreted of food particles for deer in summer and winter

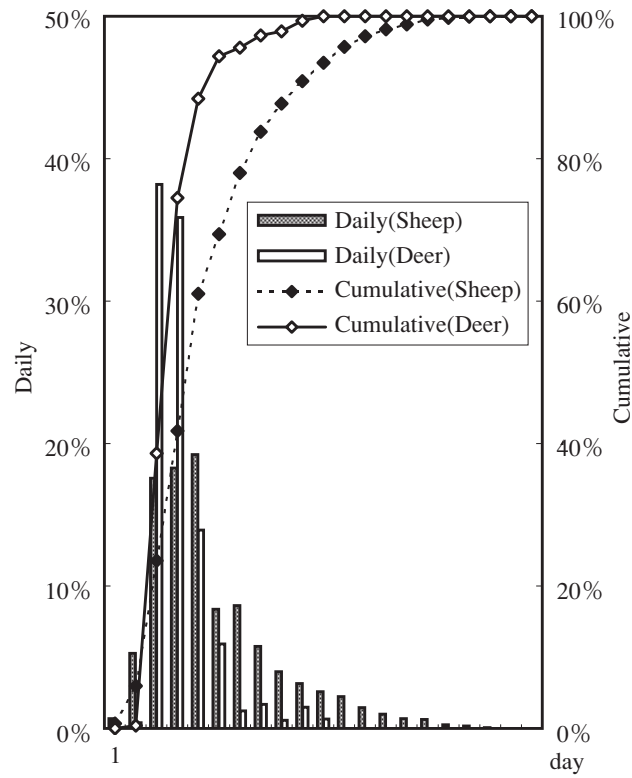


Fig 2. Daily and cumulative fraction(%) of total markers excreted of food particles for deer and sheep in winter.

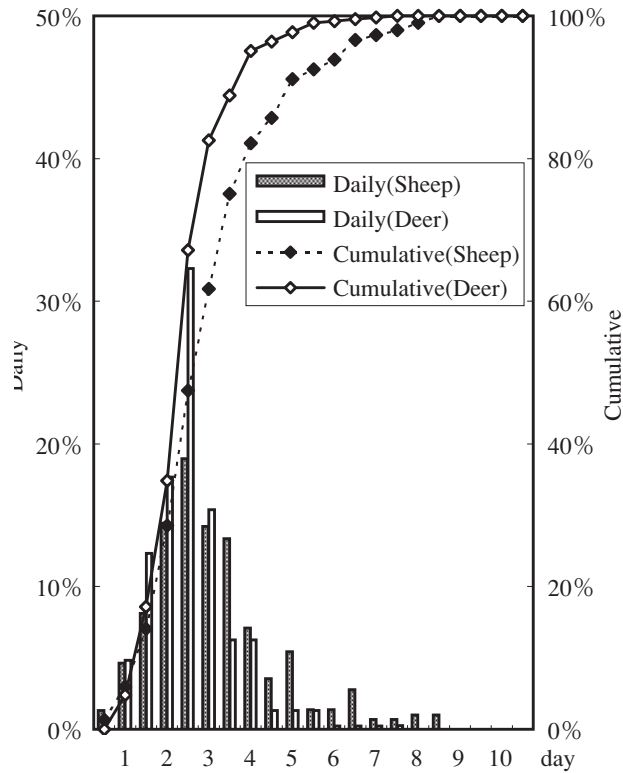


Fig 3. Daily and cumulative fraction(%) of total markers excreted of food particles for deer and sheep in summer.

ている⁹⁾。また、小田島ら⁴⁾はニホンジカの消化管内滞留時間がめん羊より短い原因は、ニホンジカの前胃の容積がめん羊より小さいこと、あるいは第二・三胃口の径や開閉頻度が大きいためと推察している。一方、エゾシカの胃内容物の体重に対する重量比は $3.9 \pm 0.3\%$ であり¹⁰⁾、めん羊の12.1%に比べて非常に少ない¹¹⁾。これらのことから、エゾシカは胃の容積が相対的に小さいために滞留時間が短く、結果として消化管内滞留時間がめん羊より短くなったと推察される。

消化管内滞留時間と飼料摂取量について、甘利ら¹²⁾は乾乳牛を用いた研究において消化管内滞留時間は飼料摂取量と関連性があり、飼料摂取量が増加すると消化管内滞留時間は短くなるとしている。しかし今回の成績では、冬期は飼料摂取量が減少したにも拘わらず消化管内滞留時間は短くなった。小田島ら⁴⁾がニホンジカで行った研究では、飼料給与量を一定にした条件下においても消化管内滞留時間は冬期で短く、冬期における気温の低下や日照時間の減少が内分泌系あるいは自律神経系に影響を及ぼし、消化管機能の変化を引き起こしていると推察している。前報¹⁾によりエゾシカにおいても飼料摂取量の季節変動があることが明らかになったことから、本試験においてエゾシカの飼料摂取量が冬期に減少し、消化管内滞留時間が短くなったことについて、ニホンジカと同様に消化管機能の変化が関与しているものと考えられた。しかし、飼料摂取量が最も低下する冬期において消化管内滞留時間が短くなる機構については不明である。エゾシカはめん羊より飼育の歴史が浅く家畜化が進んでいないので、餌の少ない冬期に適応するため、飼料摂取量を少なくする消化機能になっているものと推察される。以上のようなエゾシカ特有の消化機能を考慮し、それに適応した飼育管理を実施することは、養鹿産業を行う上で重要である。

引用文献

1) 國重享子, 戸苅哲郎: エゾシカの飼料摂取量および消化率の季節変動. 北海道畜試研報. 25:24-30

(2003)

- 2) Balch. C.C.: Factors affecting the utilization of food by dairy cows. *Br.J.Nutr.* 4: 361-388 (1950)
- 3) 吉田実, 阿部猛夫: 畜産における統計処理方法: 27-35, 中央畜産会 (1982)
- 4) 小田島守, 梶田泰史, 南基澤, 李相洛, 千家弘行, 加藤和男, 太田実, 佐々木康之: 制限給餌下のニホンジカおよびヒツジにおける飼料片の消化管内通過速度および消化率の季節変動. *日畜産会報*. 62: 308-313 (1992)
- 5) 加藤和雄, 梶田泰史, 小田島守, 李相洛, 千家弘行, 大友泰, 庄司芳男, 太田実, 佐々木康之: ニホンジカとヒツジにおける飼料通過速度および消化率. *東北大学川渡農場報告*. 5: 59-62 (1989)
- 6) 加藤和雄, 小田島守, 太田実, 李相洛, 小田伸一, 大友泰, 庄司芳男, 佐々木康之: ニホンジカにおけるポリカーボネイト・パーティクルの通過速度: ヤギ, ヒツジとの比較. *東北大学川渡農場報告*. 4: 61-63 (1989)
- 7) Kay, R.N.B and E.D.Goodall.: The intake, digestibility and retention time of roughage diets by red deer and sheep. *Proc.Nutr.Soc.* 35: 98A-99A (1976)
- 8) 坂口英: 後腸発酵動物における飼料消化能力と消化管内容物移行の様相. *栄養生理研究会報*. 33: 101-125 (1982)
- 9) Van Soest P.J.: Nutritional ecology of the Ruminant. 221-229, O&B Books, Portlana (1982)
- 10) 北海道環境科学研究センター他: エゾシカの保全と管理に関する研究: 157-199 (2001)
- 11) 日本緬羊協会: 羊肉の理化学的特性等に関する調査報告書: 17-23 (1996)
- 12) 甘利雅弘, 森登, 新宮博行, 榎木茂彦, 阿部亮: 乳牛におけるチモシー乾草の自由採食量と飼料組成、第一胃内滞留時間、消化率、消化速度との関係. *日草会誌*. 44: 248-254 (1998)

Seasonal variation in food intake, dry matter digestibility and digestive tract retention time of Timothy hay feeding in Yeso sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) and sheep.

Kyoko KUNISIGE and Tetsuro TOKARI

Hokkaido Animal Research Center
(Received 25 March 2002, Accepted 23 August 2003)

Corresponding : Kyoko Kunisige(e-Mail:kunisige@agri.pref.Hokkaido.jp)

In Yeso sika deer and sheep that were fed timothy hay stained with crystal violet, food intake, dry matter digestibility and retention time through the entire digestive tract were measured in winter (January) and summer (July). Food intake per metabolic body size was $29.8 \pm 6.0 \text{g/kg}^{0.75}$ in the Yeso sika deer and $55.3 \pm 3.5 \text{g/kg}^{0.75}$ in the sheep in winter, while values in summer were $43.3 \pm 4.0 \text{g/kg}^{0.75}$ in the Yeso sika deer and $55.9 \pm 5.6 \text{g/kg}^{0.75}$ in the sheep. Values in the Yeso sika deer were lower with significance ($P < 0.05$) than those of the sheep. Dry matter digestibility was $52.5 \pm 1.3\%$ in Yeso sika deer and $53.9 \pm 0.9\%$ in sheep in winter and was $56.9 \pm 1.2\%$ in Yeso sika deer and $57.4 \pm 2.6\%$ in sheep in the summer. Dry matter digestibility was lower in the Yeso sika deer than in sheep, with those values in the Yeso sika deer being significantly lower in winter than in summer ($P < 0.05$). Digestive tract retention time was 49.1 ± 3.4 hours and 75.6 ± 6.8 hours in Yeso sika deer and sheep, respectively, in winter and was 59.0 ± 2.1 hours and 80.4 ± 2.3 hours in Yeso sika deer and in sheep, respectively, in summer. These retention times were significantly shorter in Yeso sika deer than in sheep ($P < 0.05$), and in Yeso sika deer values were significantly shorter in winter than in summer ($P < 0.05$).

These results indicate that it is important in the deer industry to adapt rearing management to the digestive function of Yeso sika deer because of differences between Yeso sika deer and sheep with regard to food intake, dry matter digestibility and digestive tract retention time.

Key words : Yeso sika deer, Food intake, Digestive tract retention time, Dry matter digestibility, Seasonal variation.

北海道黒毛和種の育種価評価情報による枝肉形質の予測

宝寄山裕直・酒井稔史・山本裕介

北海道立畜産試験場

キーワード：黒毛和種、育種価、評価、枝肉形質、予測

(2002.12.12. 受付 2003.1.29 受理)

Prediction of carcass traits based on breeding value and environmental effects obtained from genetic evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido

Hironao HOUKIYAMA, Toshifumi SAKAI and Yusuke YAMAMOTO

Hokkaido Animal Research Center

Key words: Japanese Black, breeding value, carcass traits, prediction

(Received 12 December 2002, Accepted 29 January 2003)

北海道では黒毛和種枝肉形質の育種価評価が1993年に開始され、その評価回数は2002年11月で17回を数えるに至った。しかし、道内で供用中の雌牛で育種価が判明しているのは、2002年5月現在40,480頭中9,796頭で、判明率は24.2%であり、全国平均の43.5%に比べて低い現状にある⁴⁾。その要因の一つとして、これまで北海道における黒毛和種生産が、肥育素牛の生産販売を主体としていたことにより、育種価評価に必要な肥育牛の枝肉成績を収集し難いことがあげられる。しかし、近年、肉牛情報活用システムの運用が始まり、枝肉成績を収集する体制が整いつつある。同時に、育種価を用いた交配シミュレーションなど、情報の積極的な活用が可能となった。そこで、育種価情報活用の有効性を検証するため、現在、実施されている育種価評価において得られる情報を用いて枝肉形質を予測し、実際の枝肉成績と比較した。

緒 言

枝肉形質の予測は「北海道黒毛和種育種価評価」において、2001年7月の評価（14回目評価）に用いた枝肉成

績18,680件のうち、その前回にあたる2001年1月の評価（13回目評価）以後、新規に集められた肥育牛の枝肉成績2,644件を対象とした。予測値は13回目評価により得られた育種価および環境効果を用いて式1により算出し、14回目評価時の枝肉成績と比較した。予測は、対象枝肉成績のうち13回目評価時点で効果全てに欠測値がない878件について実施した。

$$\hat{Y}_{ijklm} = u + (S_i + D_j) / 2 + H_k + Y_l + F_m + c_1 (M_{ijklm} - M) / 2 + c_2 (M_{ijklm} - M) + d (IN_{ijklm} - IN) \cdots \cdots \text{式 1}$$

\hat{Y}_{ijklm} ：個体ijklmの予測値、u：全平均、 S_i ：i番目の父の育種価、 D_j ：j番目の母の育種価、 H_k ：k番目の性効果、 Y_l ：l番目の出荷年効果、 F_m ：m番目の肥育地効果、 $c_1 \sim c_2$ ：出荷月齢に対する偏回帰係数、 M_{ijklm} ：個体ijklmの出荷月齢、 M ：出荷月齢の平均値、d：近交係数に対する偏回帰係数、 IN_{ijklm} ：個体ijklmの近交係数、 IN ：近交係数の平均値

なお、分析対象とした枝肉形質は、枝肉重量(CW)、ロース芯面積(RA)、バラ厚(RT)、皮下脂肪厚(SFT)、

連絡者：宝寄山裕直 (e-mail: hhoki@agri.pref.hokkaido.jp)

歩留基準値(YE)、脂肪交雑基準値(BMS)の6形質とした。また、BMSナンバー(BMS_No)は、以下のように

BMSから変換して求めた。

BMS	0	0+	1-	1	1+	2-	2	2+	3-	3	4	5
	0	0.33	0.67	1	1.33	1.67	2	2.33	2.67	3	4	5
BMS_No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

結果および考察

予測対象個体の枝肉成績および予測値の概要をそれぞれ表1および表2に示した。観察値と予測値の平均の差を比較すると、観察値に比べてCWは予測値の方が大きい傾向、逆にRA、RT、YE、BMSは予測値の方が小さい傾向があった。SFTは、雌においては予測値が小さく、去勢については予測値が大きく、性により±の符号が逆

転していた。観察値の形質別の変動係数では、BMSが最も大きく、ついでSFT、RAの順で、次にCWとRTが同程度であり、YEは最も小さかった。予測値においても同様の傾向が認められた。BMSの変動係数が大きいことの要因の一つとして、BMSは3以上の値でスケール間隔が3倍になっていることがあげられた。また、各形質の予測値の変動係数は0.7~37.5%、観察値の変動係数は1.8~59.0%であり、予測値の変動は観察値の30~

Table1 Observations of carcass traits of Japanese Black cattle in Hokkaido to be predicted.

sex	female			castrated		
	num.of anim.	238		640		
traits	mean	sd	cv	mean	sd	cv
CW	384 ± 44	11.5	440 ± 49	11.2		
RA	52.3 ± 7.9	15.1	54.6 ± 7.9	14.5		
RT	7.1 ± 0.8	11.2	7.5 ± 0.8	11.2		
SFT	2.7 ± 0.8	29.1	2.3 ± 0.7	30.2		
YE	73.7 ± 1.5	2.0	73.9 ± 1.3	1.8		
BMS	1.27 ± 0.68	53.5	1.40 ± 0.83	59.0		

CW : carcass weight(kg), RA : rib eye area(cm²), RT : rib thickness(cm)
 SFT : subcutaneous fat thickness(cm), YE : yield estimate, BMS : beef marbling score
 cv : coefficient of variance(%)

Table2 Expected value of carcass traits of Japanese Black cattle in Hokkaido to be predicted.

sex	female				castrated			
	num.of anim.	238			640			
traits	mean	sd	cv	d	mean	sd	cv	d
CW	393 ± 21	5.4	10	443 ± 21	4.7	3		
RA	49.1 ± 3.5	7.2	-3.2	51.0 ± 3.2	6.2	-3.6		
RT	7.1 ± 0.3	4.9	-0.1	7.3 ± 0.4	5.3	-0.2		
SFT	2.3 ± 0.2	9.6	-0.4	2.4 ± 0.3	10.5	0.1		
YE	73.3 ± 0.5	0.7	-0.5	73.4 ± 0.5	0.7	-0.5		
BMS	1.17 ± 0.44	37.5	-0.11	1.31 ± 0.45	34.3	-0.09		

CW : carcass weight(kg), RA : rib eye area(cm²), RT : rib thickness(cm)
 SFT : subcutaneous fat thickness(cm), YE : yield estimate, BMS : beef marbling score
 cv : coefficient of variance(%), d : difference of mean of expected value and observation

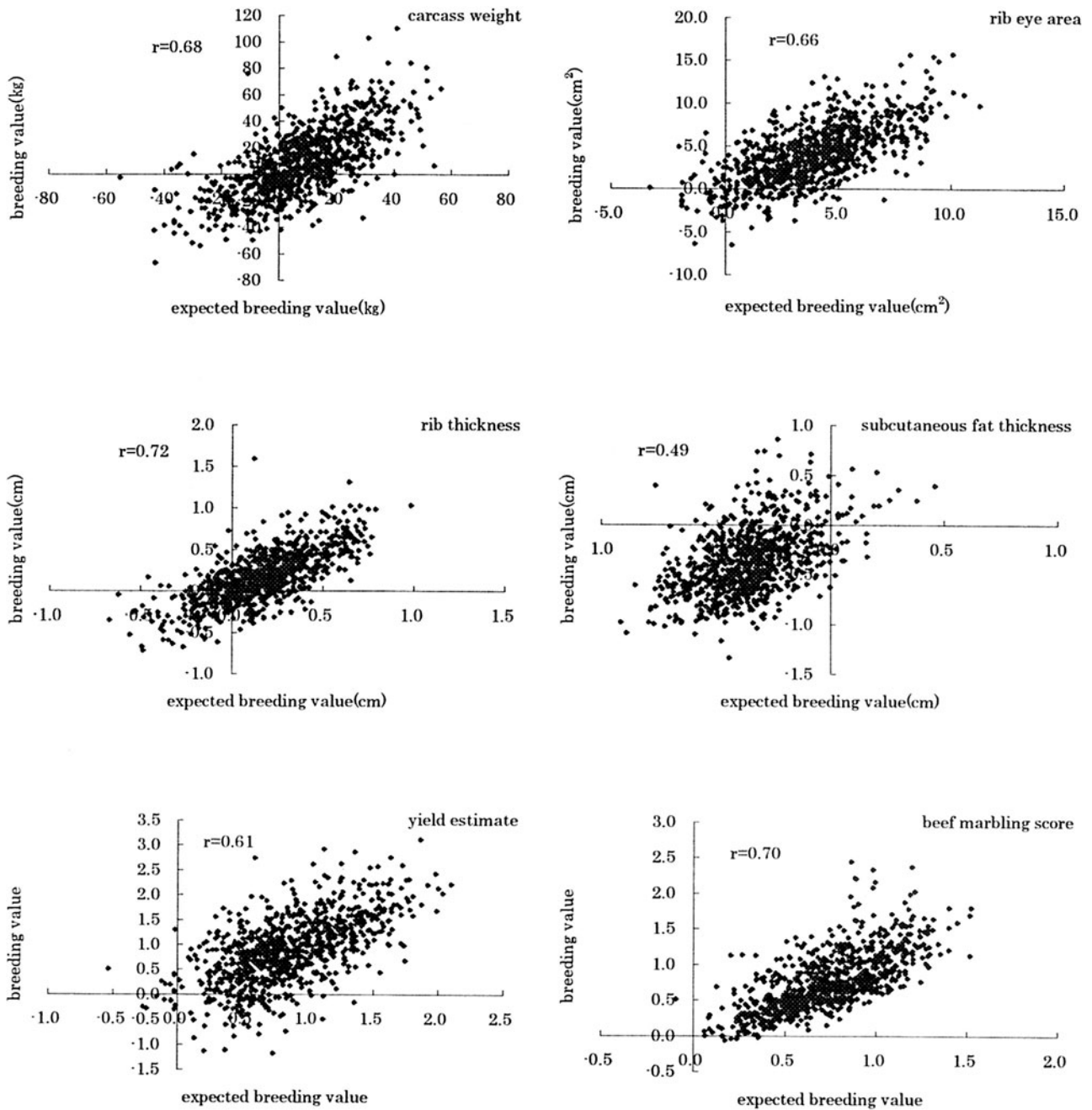


Fig.1 Comparison between expected and evaluated breeding value of carcass traits of Japanese Black cattle in Hokkaido.

Expected breeding value were obtained from parent's breeding value which were evaluated at 13rd(Jan.2001) genetic evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido(GEJBH) and breeding value were evaluated at 14th(Jul.2001) GEJBH.

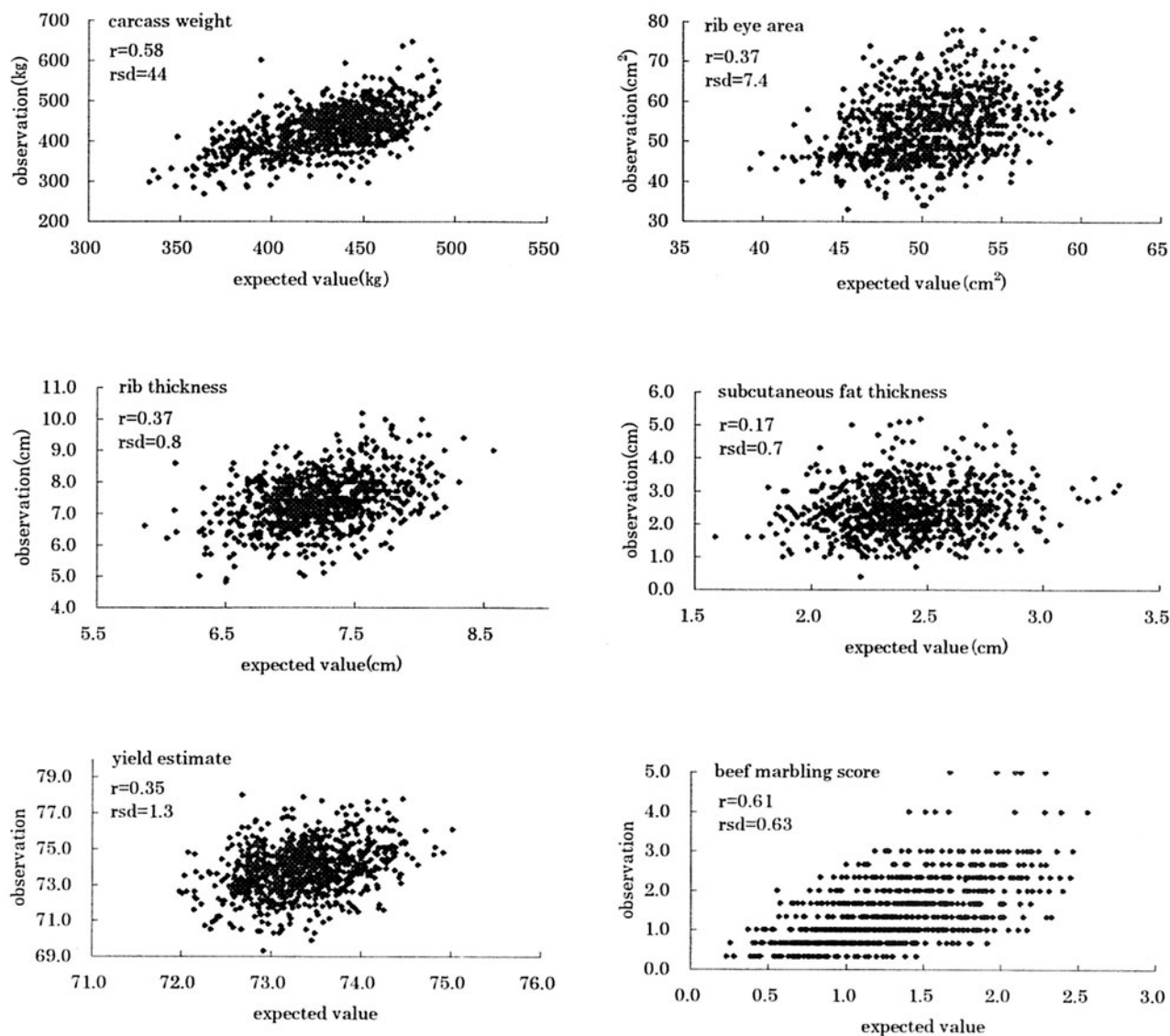


Fig.2 Comparison between expected value and observations of carcass traits of Japanese Black cattle in Hokkaido.

Expected value were obtained from parent's breeding value and environmental effects which were evaluated at 13rd(Jan.2001) genetic evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido(GEJBH) and observations were collected at 14th(Jul.2001) GEJBH. rsd:sd of residual.

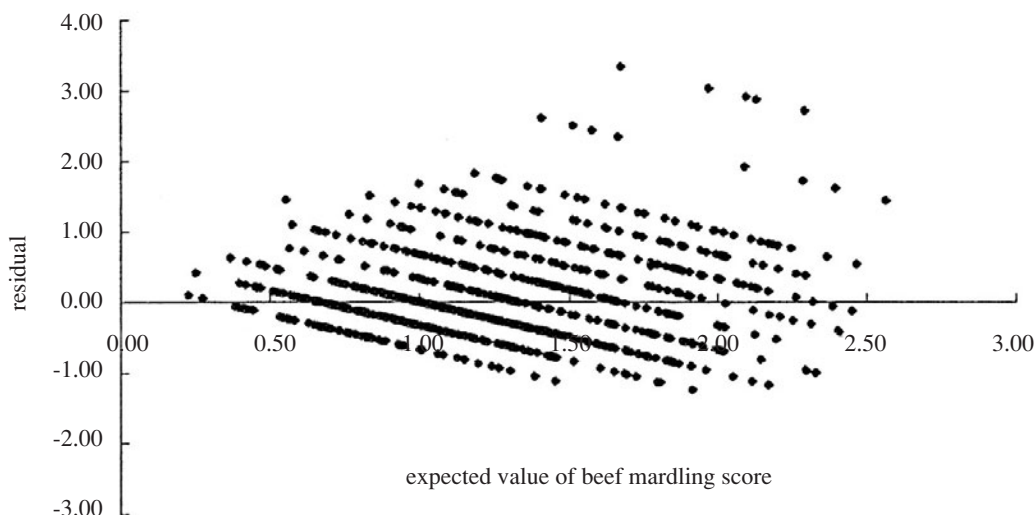


Fig.3 Residual distribution of expected value of beef marbling score.

Expected value were obtained from each parent's breeding value and environmental effects which were evaluated at 13rd(Jan.2001) genetic evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido(GEJBH) and observations were collected at 14th(Jul.2001) GEJBH.

70%と小さかった。これは、観察値が各効果の値を平均値として分布し、その分布に従って、様々な値をとりうるのに対して、予測値は各効果の平均値の和として得られるためである。

予測対象個体の14回目評価における育種価と期待育種価の散布図を図1に示した。育種価と期待育種価の相関は、RTおよびBMSが、それぞれ0.72および0.70と高く、次いでCWが0.68、RAが0.66、YEが0.61という順であった。SFTは0.49であり、6形質の中では最も低かった。本育種価評価は、1975年を基準にしており、育種価の0からの偏差は、予測対象個体の遺伝的改良の程度を示す。すなわちSFTを除く5形質は正の方向、SFTは負の方向に改良が進められたことを示している。

予測値と観察値の散布図を図2に示した。予測値と観察値の相関は、BMSが0.61と最も高く、次いでCWが0.58、RAおよびRTが0.37、YEが0.35という順であった。SFTは0.17であり、6形質の中では最も低かった。SFTの相関が低い理由として、観察値の絶対値が小さいため、測定誤差の割合が高くなっているものと考えられた。SFTの観察値の標準偏差がBMSに次いで、大きいことは、これを支持していると考えられた。予測値の観察値に対する残差の標準偏差は、それぞれCWが0.58、RAが7.4、

RTが0.8、SFTが0.7、YEが1.3、BMSが0.63であった。これらの値は、観察値の標準偏差にほぼ一致するものであった。八重尾³⁾は、5頭の黒毛和種について枝肉形質を予測し、観察値と傾向が一致していることを報告しているが、本研究結果は、その傾向を数値的に裏付けるものであった。

6形質のうち、現在最も重視されているBMSについて、予測値の誤差分布を図3に示した。予測の誤差の範囲は、-1.25から3.33であり、予測値が大きくなるにつれ、誤差分布が正の方向に偏る傾向が認められた。これはBMSはスケール間隔の問題、すなわちBMSナンバーが1から12まで等間隔であるのに対して、BMSは3から5までが、0から3までのスケール間隔の3倍になっていることに起因していると考えられた。牛垣²⁾は、脂肪交雑に関する種牛評価や遺伝的パラメータの推定には、BMSよりもBMS_Noを用いることの妥当性を報告している。また酒井¹⁾は、育種価評価において、11および12の高いBMS_Noの後代牛を持つ雌牛は、BMSにおいて、より高く評価されることを報告しており、本研究結果は、これらの報告を支持するものであった。

BMS_Noにおける予測値の誤差の頻度分布を図4に示した。BMS_Noが予測値と観察値で一致した割合は、

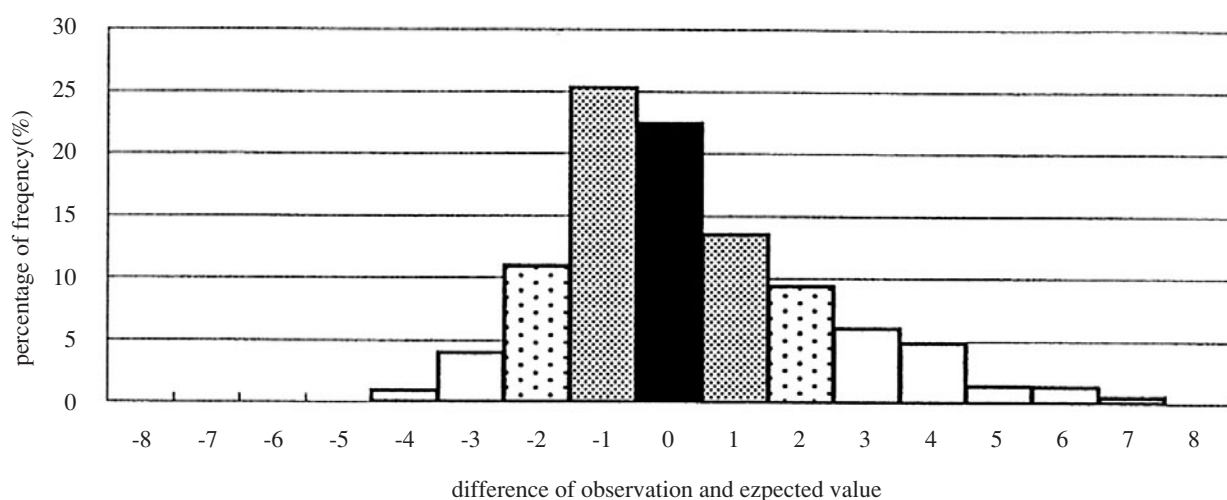


Fig.4 Differential distribution of observation and expected value of beef marbling score number. Expected value were obtained from each parent's breeding value and environmental effects which were evaluated at 13rd(Jan.2001) genetic evaluation for Japanese Black cattle in Hokkaido(GEJBH) and observations were collected at 14th(Jul.2001) GEJBH.

22.4%であった。予測値と観察値の差が±1以内が全体の61.4%、±2以内が81.7%、±3以内は91.1%であった。分布は、正の方向に裾野が広がっており、その影響で、最頻値が-1となっていると考えられた。

予測誤差の標準偏差は、予測対象の観察値の標準偏差と、ほぼ一致したが、これは、評価全体の18,680件の枝肉成績の標準偏差ともほぼ一致するものであった。したがって、本育種価評価においては、評価時に生産者にフィードバックされる枝肉成績の標準偏差が、予測精度のめやすになるものと考えられた。すなわち予測値±枝肉成績の標準偏差の範囲内に、観察値の約7割が入っていることが期待される。

以上より、形質によりその精度に差があるが、枝肉形質の育種価評価情報を用いることにより、枝肉形質の予測が可能であることが示された。今回は、分析モデルや遺伝的パラメーター等を検討しなかったが、今後、評価精度をより向上させるためには、これらの検討を北海道の黒毛和種集団において実施していくことが必要である。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、御協力いただいた(社)北海道酪農畜産協会の方々に感謝する。

引用文献

- 1) 酒井稔史・藤川朗・宝寄山裕直・山本裕介：黒毛和種における脂肪交雑基準値とBMSNo.による育種価評価の比較：北畜会報，第58回大会講演要旨：20（2002）
- 2) 牛垣徹・守屋和幸・佐々木義之：牛枝肉の脂肪交雑を数値的に取り扱う場合BMSナンバーがよいか脂肪交雑基準がよいか．肉用牛研究会報，64：13-14（1998）
- 3) 八重尾直：育種価効果の実証につとめる．肉牛ジャーナル，10（6）：18-24（1997）
- 4) 全国和牛登録協会開発推進課：育種価評価の現状．和牛，221：35-46（2002）

スイートコーンの茎葉、加工残渣のサイレージ特性と消化率

阿部英則・山川政明*

北海道立畜産試験場

*北海道立根釧農業試験場

キーワード：スイートコーン茎葉、スイートコーン加工残渣、サイレージ、消化率

(2003.4.20 受付 2003.8.23 受理)

Characteristics and digestibility of sweetcorn stover, byproduct silage

Hidenori ABE and Masaaki YAMAKAWA¹

Hokkaido Animal Research Center

¹Hokkaido Konsen Agricultural Experiment Station

Key words : Sweetcorn stover, Sweetcorn byproduct, Silage, Digestibility

(Received 20 April 2003, Accepted 23 August 2003)

緒 言

スイートコーンは生食用と加工用に分かれる。加工用では子実は缶詰などにされるが、雌穂の残りの部分である外皮、芯および一部の子実は加工残渣 (SCBP) として加工場近辺の酪農、肉用牛経営での利用事例がみられているが、廃棄されている量も少なくない。また、加工用では雌穂収穫時に茎葉はハーベスタで細断され圃場に散布されるが、生食用では手もぎのため茎葉 (SCS) は圃場に残される。

北海道における2001年度のスイートコーン雌穂の生産量は11.7万トンであり⁹⁾、生食用と加工用の作付け面積、雌穂と茎葉の割合、雌穂中の子実の割合から計算するとSCSは9.5万トン、SCBPは1.6万トンが産出されている。本研究ではSCSとSCBPを飼料として利用するため、そのサイレージ特性を微生物相、乳酸含量から検討し、また消化率を調べた。

方 法

1. サイレージ原料

SCSについては、旧北海道立滝川畜産試験場の圃場で

スイートコーン早生種 (品種名ハニーバンタム) を栽培し、播種90日後の糊熟期に雌穂を取り除いて残りの茎葉部を刈り取り、これを切断長3cmの小型カッターで細切して供試した。水分含量は83.4%であった。

SCBPについては滝川市の食品加工工場から購入した。水分含量は79.4%であった。

2. サイレージ特性

SCS、SCBPとも各5本のLL容ポリビンに力を加えながら一杯に詰め、密閉後に室温で放置した。詰め込み量はSCSで約560g、SCBPで約520gであった。詰め込み2, 4, 7, 16, 50日後にそれぞれ1本ずつ開封し、pHと微生物相を調べた。50日後のサイレージについては乳酸含量と乾物損失率も測定した。なお、材料の微生物相、pHを測定し、これをサイレージ処理前の詰め込み時 (0日) の値とした。

微生物は*Lactobacilli*、*Streptococci*、酵母、糸状菌を測定した。*Lactobacilli*は変法LBS寒天培地⁴⁾を用い、ガスバック (BBL社) を用いた嫌気ジャーで32℃、3日間嫌気培養した。*Streptococci*はTATAC寒天培地⁴⁾を用い、32℃で2日間培養した。酵母と糸状菌はポテトデキストロース寒天培地⁴⁾を用い、25℃で3日間培養した。こ

連絡者：阿部英則 (e-mail: abehide@agri.pref.hokkaido.jp)

れら微生物数の測定は希釈平板法で行った。

pHと乳酸含量はサイレージ70gに水140mlを加え、24時間冷蔵庫で放置後にガーゼでろ過し、ろ液のpHをpHメータで、乳酸含量をBARKER and SUMMERSON法⁶⁾で測定した。乾物損失率は詰め込み時と50日後の乾物量の差から求めた。

3. サイレージの消化率

SCSについては270kgを1m³のタイコンバッグ（太陽コンテナ社）に詰め、バッグ内の空気を追い出すようにして口を締めて密封した。2カ月間放置後に開封して消化試験に供した。SCBPについては690kgをパネルサイロに詰め込み、2カ月間放置後に開封して消化試験に供した。

SCS、SCBPサイレージについて各4頭のサフォーク種去勢羊を用い、サイレージをほぼ全量採食する量を給与した。補助飼料として乾物・全窒素消化率既知の乳牛用配合飼料（育成用）を体重kg当たり12g併給した。供試羊の平均体重はSCSでは49.0±2.2kg、SCBPでは48.6±2.1kgである。6日間の予備期ののち、本期6日間の飼料摂取量を求め全糞を採取して、消化率を算出した。消化率は乳牛用配合飼料を含む全飼料の乾物、有機物、全窒素、中性デタージェント繊維（NDF）および酸性デタージェント繊維（ADF）について求めた。また、全飼料の乾物、全窒素消化率から配合飼料の相当分を差し引いて、サイレージのみの乾物、全窒素消化率を算出した。

飼料と糞の全窒素は常法⁵⁾で、NDFとADF、さらに飼料の酸性デタージェントリグニン（ADL）はデタージェント分析法¹⁾で測定した。

結果および考察

1. サイレージ特性

サイレージ発酵過程におけるpHの変化を図1に、詰め込み50日後における乳酸含量と乾物損失率を表1に示した。SCS、SCBPとも詰め込み2日後のpHは3.5であって、すみやかな低下がみられ、以降も3.0～3.5の範囲で推移した。SCS、SCBPの50日後のpHは3.3、3.0、乳酸含量は1.6、1.8原物%であって、いずれも良質サイレージの範疇¹¹⁾に入るものであった。またSCS、SCBPサイレージの乾物損失率は21、18%であって、材料草504点

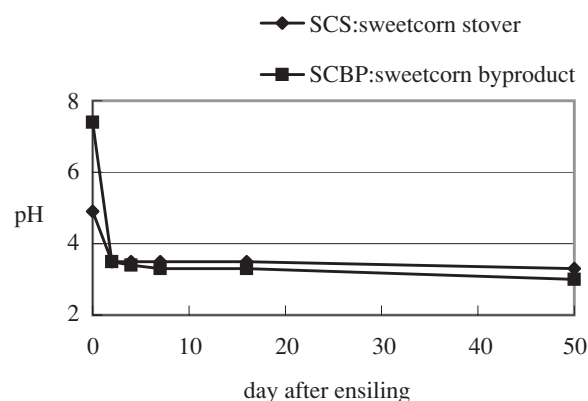


Fig.1 Change of pH during silage fermentation

のサイレージ調製における平均乾物損失率は19.4%¹²⁾であることから、これと比べ同程度であるといえる。

サイレージ発酵過程における微生物数の推移を図2に示した。図では微生物が検出されない場合のlogCFU/gを2とした。*Lactobacilli*は、SCSでは詰め込み後すみやかに増殖して4日後には最高値の8.7となり、その後低下して50日後では6.3であった。SCBPでは2日後には8.0に達し、以降もゆるやかに増す傾向であった。*Streptococci*は、SCSでは詰め込み4日後まで菌数が高まったのに対し、SCBPでは詰め込み後低下して、7日後には検出されなくなった。牧草サイレージでは*Streptococci*は初期に増殖し、次いで*Lactobacilli*が増殖するとされる¹⁰⁾が、SCBPではこれとは明らかに異なっていた。

詰め込み50日後ではSCS、SCBPとも糸状菌は検出されなかったが、酵母数はSCSでは5.6、SCBPでは3.3であった。酵母や糸状菌の増殖によって好気的変敗が発生するとされ¹³⁾、サイレージ発酵過程を通して酵母が検出されることから、その懸念が示されたといえる。

サイレージ調製の目的は嫌気的条件を付与することで好気性微生物による損耗を防止すること、および嫌気的条件下で増殖する*Clostridia*による変敗を防止することにある¹⁰⁾。これを達成するためには埋蔵直後における乳酸菌の急速な増殖とそれによるpHの低下が必要であって、SCS、SCBPとも*Lactobacilli*がすみやかに増殖し、2日後のpHは*Clostridia*が増殖しないとされる4.2以下¹³⁾となり、上記の目的は達せられたと考える。

Table 1. Lactic acid content and dry matter loss of silage

	Lactic acid (FM%)	Dry matter loss (%)
SCS	1.6	21.1
SCBP	1.8	18.1

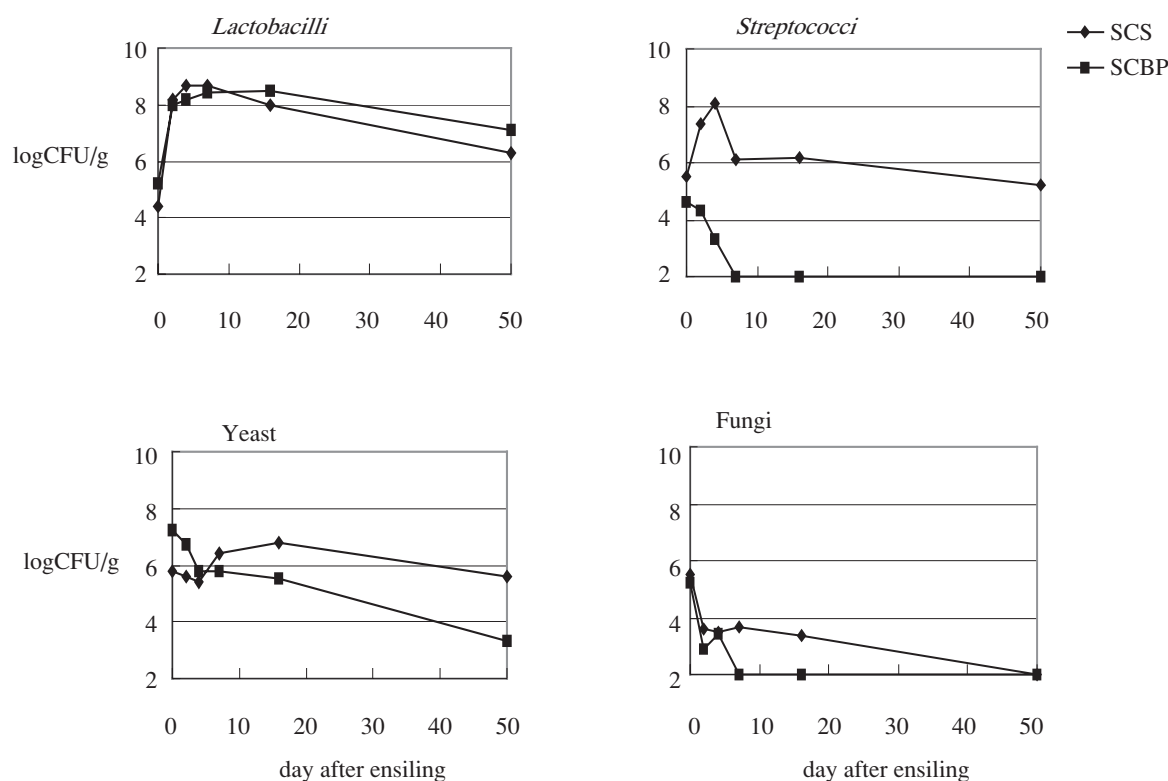


Fig.2 Change of Microorganisms during silage fermentation

2. サイレージの消化率

サイレージの化学組成を表2に示した。全窒素含量はSCSが、NDF含量はSCBPが高い値で、ADF、ADL含量に違いはみられなかった。オーチャードグラス（再生草・出穂期）サイレージ⁷⁾と比べると、SCS、SCBPは全窒素含量は低い値で、NDF、ADF含量は高い値であった。

配合飼料を含む全飼料の消化率を表3に、サイレージの乾物、全窒素消化率を表4に示した。全飼料の乾物、有機物、NDFおよびADFの消化率はSCS、SCBP間に大きな違いはみられなかったが、全窒素消化率はSCBPが低く、サイレージのみの場合ではこの違いはさらに大きくなった。これはSCBPの全窒素含量の低さが主因と考

えられるが、その中にはSCBPの構成物であるトウモロコシ芯⁸⁾の全窒素の含量が低く、消化率は0%であることが大きく影響しているものと考えられる。

オーチャードグラス牧草（北海道在来種）2番草の乾物、全窒素消化率は67、57%である⁷⁾。これと比べて、SCS、SCBPの乾物消化率は67%と同じであり、全窒素消化率では、SCSは高かったが、SCBPでは低かった。また、サイレージ用トウモロコシの早生・中生・晩生種の茎葉部の乾物、全窒素消化率はそれぞれ58～60%、21～31%であって³⁾、これらと比べSCS、SCBPの消化率は高かった。なお、供試量の制約上、サイレージは自由摂取させることはできなかったが、SCS、SCBPの乾物

	Organic matter	Total nitrogen	NDF	ADF	ADL
SCS	90.5	2.29	60.4	37.3	2.3
SCBP	95.0	1.71	66.6	37.3	2.5
Concentrate	93.0	2.53	—	—	—

NDF : Neutral detergent fiber
ADL : Acid detergent lignin

ADF : Acid detergent fiber

Table 3. Apparent digestibility of silage including concentrate (%)

	Dry matter	Organic matter	Total nitrogen	NDF	ADF
SCS	71.3	73.7	74.3	69.8	75.9
SCBP	72.3	74.3	61.5	73.3	79.9

Table 4. Apparent digestibility of silage (%)

	Dry matter	Total nitrogen
SCS	66.8	72.5
SCBP	66.5	43.0

摂取量はそれぞれ12.0、18.5g/kgBWで、採食率はいずれも100%であった。

以上より、SCS、SCBPとも良質なサイレージとなり、その乾物消化率はオーチャードグラス2番草に匹敵した。

引用文献

- 1) 阿部 亮：炭水化物成分を中心とした飼料分析法とその飼料栄養評価法への応用.畜試研資, 2, 23-29 (1988)
- 2) 石栗敏機：オーチャードグラスのめん羊による採食量と飼料価値, 日草誌, 25, 150~155(1979)
- 3) 石栗敏機：サイレージ用トウモロコシの茎葉部分の栄養価. 日草誌, 29, 241-245 (1983)
- 4) 光岡知足：腸内菌の世界. 叢文社, 東京. 321-326 (1980)
- 5) 森本 宏 監修：動物栄養試験法, 286-292 養賢堂, 東京 (1971)
- 6) 森本 宏 監修：動物栄養試験法, 413-416 養賢堂, 東京 (1971)
- 7) 農業技術研究機構編. 日本飼料成分表 (2001年版), 40 中央畜産会, 東京 (2001)
- 8) 農業技術研究機構編. 日本飼料成分表 (2001年版), 88 中央畜産会, 東京 (2001)
- 9) 農林水産省北海道統計事務所. 北海道農林水産統計年報 (総合編) 平成12年~13年. 34-35 (2002)
- 10) 大山嘉信・森地敏樹：サイレージにおける微生物の動態. 微生物の生態 6, 161-178 学会出版センター, 東京 (1979)
- 11) 高野信雄・安宅一夫監修：サイレージの理論と実際, 135 酪農学園短期大学酪農校, 江別 (1984)
- 12) 内田仙二・大島光昭監修：サイレージ科学の生化学(第2版), 279 デーリイジャパン社, 東京 (1995)
- 13) 内田仙二編集：サイレージ科学の進歩, 86-89 デーリイジャパン社, 東京 (1999)

場外学術雑誌掲載論文抄録

Effects of supplemental protein sources during the grazing period on performance, Ruminal characteristics and blood constituents in early-weaned growing Wagyu steer calves

Masahito SUGIMOTO, Cizuru YAYOTA, Syuji KUZUOKA and Yukinobu SATO

Animal Science Journal 74:303-311 (2003)

We investigated the effects of grazing and supplemental protein sources during the grazing period on growth performance, ruminal characteristics and blood constituents in 15 growing Wagyu steer calves weaned at 3 mo of age. Each animal was allotted one of three treatments: 1) GSBM, soybean meal (SBM) supplemented as a protein source during a grazing period; 2) GCGM, corn gluten meal (CGM) supplemented as a protein source during a grazing period; or 3) NG, no grazing, in which steers were fed hay and GSBM concentrate only. The estimated rumen undegradable protein (RUP) concentration of CGM was higher than that of SBM.

High RUP supplementation during the grazing period did not influence feed intake or growth performance. Compared with the NG treatment, the average daily gain in GSBM and GCGM calves was significantly depressed ($p < 0.05$). Body weight / withers height ratio in the NG calves tended to be greater than in the GSBM and GCGM calves. Final paunch girth / heart girth ratio in the GSBM and GCGM calves was significantly greater ($p < 0.05$) than in the NG calves. Supplementation with CGM did not influence ruminal ammonia nitrogen and blood constituents.

These results indicate that CGM supplementation during the grazing period did not enhance the growth of Wagyu calves because the CGM diet probably did not elevate the metabolizable protein supply to the grazing calves above that of the SBM diet in our conditions.

馬鈴薯デンプン粕から麴かびの固体培養により生産した微生物タンパク質および尿素のめんにおける窒素利用性の比較

阿部英則・山川政明・岡本全弘

北海道畜産学会報 44:7-11 (2002)

馬鈴薯デンプン粕に麴かびを固体培養して微生物タンパク質 (PWMBP) を生産し、めん羊における窒素利用性を尿素と比較した。PWMBPは14~15%のタンパク質、1.5~1.9%の非タンパク態窒素を含んでいる。粗飼料として稲わらを、エネルギー源としてポテトパルプ (PP) を用い、稲わらは自由摂取させて消化試験を行った。PWMBPとPPおよび尿素とPPからの全窒素給与量はほぼ等しくなるように設定した。稲わらにPWMBPとPPあるいは尿素とPPを併給すると、全乾物摂取量は有意に増加し、また乾物、中性デタージェント繊維、酸性デタージェント繊維の消化率および窒素蓄積量は有意に向上した。尿素とPPの給与と比べて、PWMBPとPPを給与した場合には窒素蓄積量は有意に多く、血清尿素窒素は有意に低かった。これらのことは主に尿中窒素排泄量の低減によることを示している。これらより、PWMBPの窒素利用性は尿素よりも高いことが示された。

麴かびによるデンプン粕からのタンパク質に富む固体培養物の多量生産とメンヨウにおける栄養価

阿部英則

日本畜産学会報 74:31-35 (2003)

馬鈴薯デンプン粕に麴かびを固体培養して微生物タンパク質に富む培養物 (PWMBP) の多量生産をはかった。培養は麴蓋の代わりとした網かごに原料を薄く盛り、好氣的条件下で行った。PWMBPの生産工程は以下の通りである。脱水デンプン粕 (水分含量75~78%) 35.0kg、ポテトパルプ (水分含量10~15%) 5.9kgおよび各0.4kgのリン酸アンモニウムと炭酸カルシウムを混合し、麴かびが原料内部で増殖しやすいように粒状に成形した。次いで、0.8kg/cm²の圧力で10分間蒸煮し、デンプンのアルファ化をはかった。放冷後、ポテトパルプ1.2kg、尿素0.4kgおよび種麴0.18kgを再度混合して網かごに5cm程度の厚さに盛り30℃の発酵室で2日間培養した。これらの操作はとくに無菌的には行わなかった。1日単位で連続的に培養することにより、PWMBPの多量調製が可能となった。生産されたPWMBPの純タンパク質含量は15.0%であって、純タンパク質中のリジン、メチオニン、イソロイシンの含量は大豆粕やルーメン細菌に近似していた。メンヨウを用いてPWMBPの栄養価を測定したところ、純タンパク質の消化率は56.8%で、可消化養分総量および可消化エネルギー含量は

60.9%および2.72Mcal/kgであった。

0.3%アンモニア処理したとうもろこしのサイレージ発酵過程における微生物相

阿部英則

北海道畜産学会報 45:51-54 (2003)

サイレージ用とうもろこしを無処理および原物重当たりアンモニア (NH₃) 濃度が0.3%となるように処理して、サイレージ化をはかりその過程における微生物相の変化を調べた。無処理と比べて、NH₃0.3%処理では*Lactobacilli*, *Streptococci*の増殖は遅れたものの、最高菌数は高く、また高い菌数が長く維持される傾向であり、乳酸含量も高かった。一方、無処理よりも好気性グラム陰性細菌数の低下が遅れ、乾物損失率は高い傾向であった。NH₃処理により酵母、糸状菌はすみやかに低下した。以上より、サイレージ用とうもろこしをNH₃0.3%処理してサイレージ化すると、乳酸含量が高まる一方、乾物損失は抑制されないが、開封後の好気的変敗が抑制されることが推測された。

根室管内217乳牛群における死廃・病傷事故と乳量水準および飼養形態との関連

扇勉, 八田忠雄

日本獣医師会雑誌 54:667-672 (2001)

根室管内217乳牛群において共済成績および乳検成績に基づき、死廃・病傷事故および平均産次と、乳量水準 (年間経産牛乳量) および飼養形態 (繋ぎ方式およびフリーストール方式) との関連を検討した。高泌乳群は平均産次が低く、除籍率も高かったが、体細胞数は少なく、空胎日数も短い傾向にあった。死廃事故被害率は乳量水準および飼養形態の違いによる差は少なかった。病傷事故被害率は高泌乳群が低泌乳群に比べ高く、なおかつ繋ぎ方式がフリーストール方式に比べ高かった。高泌乳群では乳房炎、第四胃変位、胃腸疾患およびケトosisの病傷事故被害率が高かった。また、繋ぎ方式では乳房炎、乳頭損傷および卵巣疾患、フリーストール方式では第四胃変位および乳熱の病傷事故被害率が高く、それぞれ飼養管理との関連が示唆された。

牧草サイレージの調製法とListeria属菌分離状況との関係

芹川慎、高橋雅信、小関忠雄、扇勉

北海道立農業試験場集報 83:11-14 (2002)

根釧農業試験場で調製した各種牧草サイレージを対象に、*Listeria*属菌 (L属菌) の分離状況を調査した。タワーサイロおよびバンカーサイロで調製したサイレージでは、表層部、特に壁際でL属菌が高率に分離された。ロールベールラップサイレージ (ラップサイレージ) では、表層部と同様に内側からもL属菌が分離された。各種サイレージのpHとL属菌分離状況との関係では、サイレージのpHが6.6以上ではL属菌が高率に分離され、4.5以下では少ない傾向がみられた。これらから、タワーサイロおよびバンカーサイロの表層部とラップサイレージには、L属菌が広く分布するが、サイレージ発酵が良好な部位では、L属菌の増殖は抑えられるものと考えられた。

牧草サイレージ主体飼養における泌乳初期牛の乳生産および血液成分に及ぼすルーメン保護アミノ酸添加の影響

扇勉、峰崎康裕、藤田真美子、花田正明、高橋雅信、斉藤繁

日本畜産学会報 73 (3):417-422 (2002)

泌乳初期牛に牧草サイレージ主体の混合飼料を給与し、ルーメン保護メチオニン (RPM) およびルーメン保護リジン (RPL) の添加試験を2回実施し、乳生産および血液成分に及ぼす影響を検討した。試験1では2産以上の乳牛16頭を用い、RPM (DL-メチオニン量で30g) を分娩後16週間添加 (RPM区) し、試験2では同14頭を用い、RPM (同15g) およびRPL (L-リジン量で20g) を分娩後12週間添加 (RPML区) し、各々対照区を設けた。乾物摂取量および実乳量は、試験1、2とも処理間に差がなかった。しかし、乳蛋白質率は試験1の分娩後3~8週では、対照区が2.87%、RPM区が3.07%、試験2では分娩後3~12週で対照区が2.80%、RPML区が3.00%と、いずれも添加区が0.20ポイント高かった (各々 P<0.02, P<0.21)。乳蛋白質量は試験1、2とも添加区が多い傾向にあった。血清遊離メチオニン濃度は、試験1、2とも添加区が対照区に比べ高かった (P<0.01)。しかし、血清遊離リジン濃度は、リジンを添加した試験2でも処理間に差がなく、リジン添加の効果

は少なかったと推察された。以上の結果より、牧草サイレージ主体飼養では、RPM添加により、乳合成において制限アミノ酸とされるメチオニンが補給され、乳蛋白質率が高まるものと考えられた。

牧草サイレージ主体飼養における泌乳初期牛の乳生産および血液成分に及ぼす魚粉給与の影響

扇勉、花田正明、峰崎康裕、藤田真美子、高橋雅信、斉藤繁

日本畜産学会報 73 (4): 489-494 (2002)

牧草サイレージ主体飼養において、泌乳初期牛に魚粉を給与し、乳量、乳成分および血液成分に及ぼす影響を検討した。供試牛は2産以上の乳牛26頭を用い、混合飼料を分娩後6日から12週まで給与した。混合飼料の乾物比率は、牧草サイレージと圧ぺんとうもろこしと大豆粕と魚粉が、対照区で50:38:12:0、魚粉区で50:39:6:5、とし、養分含量はともにCP含量15%、TDN含量77%とした。乾物摂取量は対照区が20.1kg/日、魚粉区が20.7kg/日と差がなかった。実乳量は対照区が37.6kg/日、魚粉区が38.6kg/日と差がなかった。しかし、乳蛋白質量は対照区が1.07g/日、魚粉区が1.17g/日、乳蛋白質率は対照区が2.86%、魚粉区が3.04%と、ともに魚粉区が高かった(各々 $P<0.07$ 、 $P<0.05$)。血清遊離メチオニン濃度は対照区が $2.15\mu\text{mol/dl}$ 、魚粉区が $2.43\mu\text{mol/dl}$ 、血清遊離リジン濃度は対照区が $7.66\mu\text{mol/dl}$ 、魚粉区が $8.90\mu\text{mol/dl}$ と、ともに魚粉区が高かった(各々 $P<0.05$ 、 $P<0.01$)。以上の結果より、牧草サイレージ主体飼養では魚粉給与により、制限アミノ酸と推察されるメチオニンおよびリジンが効率的に補給され、乳蛋白質生産が高まったものと考えられた。

黄色ブドウ球菌による潜在性乳房炎の泌乳期治療

平井綱雄・河合一洋¹⁾・三木渉¹⁾・蔵本忠¹⁾・下村圭一¹⁾・瀬尾洋行¹⁾・堀川敏夫¹⁾・斧田稔行¹⁾

¹⁾十勝農業共済組合

家畜診療 49巻 7号 459-462 (2002)

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* 以下SA) による潜在性乳房炎に罹患した搾乳牛のうち、過去に同菌による乳房炎罹患歴のない牛41頭57分房に、抗生物質を1日1回で3日間の筋肉内投与および1日2回で3日間の乳房内注入を併用した。また、8頭13分房には抗生物質を1日2回で3日間の乳房内注入を単独で治療した。治療終了1、2、4および8週後に分房乳の細菌検査を行い、いずれのサンプルからも黄色ブドウ球菌が検出されなかった場合、治癒と判定して、その有効性を検討した。筋肉内投与および乳房内注入併用分房では73.7%が治癒し、乳房内注入単独分房では53.8%が治癒した。

Isolation of embryonic stem-like cells from equine blastocysts and their differentiation in vitro

Shigeo Saito, Hideyo Ugai, Ken Sawai, Yusuke Yamamoto, Akira Minamihashi, Kahori Kurosaka, Yoshiro Kobayashi, Takehide Murata, Yuichi Obata, Kazunari Yokoyama

FEBS Letters 531 389-396 (2002)

Embryonic stem (ES) cells are pluripotent cells with the potential capacity to generate any type of cell. We describe here the isolation of pluripotent ES-like cells from equine blastocysts that have been frozen and thawed. Our two lines of ES-like cells (E-1 and E-2) appear to maintain a normal diploid karyotype indefinitely in culture in vitro and to express markers that are characteristic of ES cells from mice, namely, alkaline phosphatase, stage-specific embryonic antigen-1, STAT-3 and Oct 4. After culture of equine ES-like cells in vitro for more than 17 passages, some ES-like cells differentiated to neural precursor cells in the presence of basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor and platelet-derived growth factor. We also developed a protocol that resulted in the differentiation of ES-like cells in vitro to hematopoietic and endothelial cell lineages in response to bFGF, stem cell factor and oncostatin M. Our observations set the stage for future developments that may allow the use of equine ES-like cells for the treatment of neurological and hematopoietic disorders.

Generation of cloned calves and transgenic chimeric embryos from bovine embryonic stem-like cells.

Saito S, Sawai K, Ugai H, Moriyasu S, Minamihashi A, Yamamoto Y, Hirayama H, Kageyama S, Pan J, Murata T, Kobayashi Y,

Obata Y, Yokoyama KK.

Biochemical and Biophysical Research Communications. 309 104-113 (2003)

Bovine embryonic stem-like cells (ES-like cells) appear to maintain a normal diploid karyotype indefinitely during culture in vitro and to express marker proteins that are characteristic of ES cells from mice, namely, alkaline phosphatase (AP), stage-specific embryonic antigen-1 (SSEA-1), STAT-3, and Oct 4. After proliferation of undifferentiated ES-like cells in vitro, some bovine ES-like cells differentiated to neural precursor cells, which were cultured in the presence of basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), and platelet-derived growth factor (PDGF). In addition, calves were successfully cloned using ES-like cells and the frequency of term pregnancies for blastocysts derived from ES-like cells was higher than those of early pregnancies and maintained pregnancies after nuclear transplantation (NT) with bovine somatic cells. Successful cloning from bovine ES-like cells should allow the introduction into cattle of specific genetic characteristics of biomedical and/or agricultural importance.

Use of loop-mediated isothermal amplification of the IS900 sequence for the rapid detection of cultured *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*

M. Enosawa, S. Kageyama, K. Sawai, K. Watanabe,¹ T. Notomi,¹ S. Onoe, Y. Mori,² and Y. Yokomizo²

Eiken Chemical Co.,Ltd., Ohtawara, Japan,¹ National Institute of Animal Health, Tsukuba, Japan,²

J.Clin.Microbiol. 41:4359-4365 (2003)

We evaluated the usefulness of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) to detect specific gene sequences of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). A total of 102 primer sets for LAMP was designed to amplify the IS900, HspX, and F57 gene sequences of MAP. Using each of two primer sets (P-1, P-2) derived from the IS900 fragment, it was possible to detect MAP in a similar manner as with nested PCR. The sensitivity of LAMP using P-1 was 0.5 pg/tube, which was more sensitive than nested PCR. When using P-2, 5 pg/tube could be detected, which was the same sensitivity as with nested PCR. LAMP using P-1 was specific. Although only 2 *Mycobacterium. scrofulaceum* strains out of 43 non-MAP mycobacterial strains, were amplified the amplification reaction was less efficient than with MAP strains, and products could be distinguished from MAP products by restriction digestion. LAMP using P-2 resulted in very specific amplification only from MAP, the same result obtained with nested PCR. Our LAMP method was highly specific, and the white turbidity of magnesium pyrophosphate, a by-product of the LAMP reaction, allowed simple visual detection. Our method is rapid, taking only two hours compared with 4 hours for nested PCR. In addition, the LAMP method is performed under isothermal conditions with no special apparatus needed, which makes it more economical and practical than nested PCR or real-time PCR. These results indicate that LAMP can provide a rapid yet simple test for the detection of MAP.

編 集 委 員 会

委 員 長	扇 勉
副 委 員 長	川 崎 勉
副 委 員 長	森 清一
副 委 員 長	大 原 益博
	佐 藤 幸信
	尾 上 貞雄
	澤 田 嘉昭
事 務 局	大 原 睦生

Editorial Board

Editor-in-chief	Tsutomu OHGI
Associate Editor-in-chief	Tutomu KAWASAKI
Associate Editor-in-chief	Kiyokazu MORI
Associate Editor-in-chief	Masuhiko OOHARA
	Yukinobu SATOH
	Sadao ONOE
	Yoshiaki SAWADA
Editorial Manager	Mutsuo OHARA

All correspondence concerning this journal should be addressed to: Hokkaido Animal Research Center, 5-39 Shintoku-Nishi, Shintoku-chou, Hokkaido, 081-00038 Japan
E-Mail : chikusi-rentyou@agri.pref.hokkaido.jp

北海道立畜産試験場研究報告25号

平成15年12月12日印刷
平成15年12月18日発行

編集発行者 北海道立畜産試験場
081-0038
北海道上川郡新得町新得西5線39号
電話 01566-4-5321

印刷所 ソーゴ印刷株式会社
080-0046
帯広市西16条北1丁目25
電話 0155-34-1281
