

道畜試研究報告
Bull. Hokkaido
Anim. Res. Ctr

北海道立畜産試験場研究報告

第二十六号

(Bull. Hokkaido Anim. Res. Ctr)

平成十九年三月

北海道立畜産試験場研究報告

第 26 号

Bulletin of
the Hokkaido Animal Research Center

No. 26

平成19年 3 月

March 2007

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26号 平成19年3月

目次

論文

陰イオン塩製剤の添加が泌乳牛の乾物摂取量、血液および尿に及ぼす影響

松井義貴・小倉紀美・川本 哲…………… 1

大ヨークシャーにおける肢蹄審査形質と産肉能力との関連

山内和律・梶野清二・岩上弦太郎・内藤 学・小泉 徹…………… 8

放牧時における補助飼料給与水準が黒毛和種去勢育成牛の発育・血液性状およびルーメン内容液性状に及ぼす影響

杉本昌仁・八代田千鶴・佐藤幸信・斎藤利朗・川崎 勉…………… 14

石炭灰（クリンカアッシュ）の牛ふん堆肥化副資材としての利用性

湊 啓子・渡部 敢・田村 忠・阿部英則…………… 24

短報

豚のヘモフィルス・パラスイス感染に対するベンジルペニシリンの治療効果

仙名和浩・及川 学・米道裕彌…………… 31

ウシの分娩開始を報知する装置の性能評価

南橋 昭、清家 昇、本間正俊、石川和也、牧方末雄、堂地 修、陰山聡一、
森安 悟、澤井 健、平山博樹、山本裕介…………… 34

場外雑誌掲載学術論文抄録…………… 38

Bulletin of the Hokkaido Animal Research Center

No.26

Contents

Full Paper

- Effects of an anionic product on dry matter intake, blood and urine in lactating cows
Yoshitaka MATSUI, Noriyoshi OGURA and Satoshi KAWAMOTO..... 1
- Relationships between leg conformation traits and meat production traits in Large White
Kazunori YAMAUCHI , Kiyoji KAZINO, Gentaro IWAGAMI, Akira NAITO and Tohru KOIZUMI 8
- Effects of supplemental concentrate levels on performance, ruminal characteristics,
and blood constituents of Wagyu steers on pasture
Masahito SUGIMOTO , Chizuru YAYOTA , Yukinobu SATO ,Toshiro SAITO
and Tsutomu KAWASAKI..... 14
- Utility of coal combustion clinker ash as a sub material in cattle manure composting
Keiko MINATO, Kan WATANOBE, Tadashi TAMURA and Hidenori ABE..... 24
- Note
- Therapeutic effect of benzylpenicillin against *Haemophilus parasuis* infection of pigs
Kazuhiro SENNA, Manabu OIKAWA and Hiromi YONEMICHI 31
- Trial manufacture and performance test of informing device of onset of parturition in cattle
Akira MINAMIHASHI, Noboru SEIKE, Masatoshi HONMA, Kazuya ISHIKAWA,
Sueo MAKIKATA, Osamu DOCHI, Soichi KAGEYAMA, Satoru MORIYASU,
Ken SAWAI, Hiroki HIRAYAMA and Yusuke YAMAMOTO 34
- Summaries of the papers by staff appearing on the scientific journal 38

陰イオン塩製剤の添加が泌乳牛の乾物摂取量、 血液および尿に及ぼす影響

松井義貴・小倉紀美・川本 哲

北海道立畜産試験場

要 旨 乾乳期飼料中の陽イオン-陰イオン差を改善するために有効とされる市販の陰イオン塩製剤 (BIO-CHLOR™) について、15頭のホルスタイン種泌乳牛を供試して本製剤の適切な添加量を検討した。本製剤の混合飼料への添加割合を、試験Ⅰで乾物比0%、3%、6%、試験Ⅱで乾物比0%、4.6%として、それぞれ1期2週間とする3×3ラテン方格法およびクロスオーバー法により試験を実施した。

試験Ⅰにおいて、乾物比6%の陰イオン塩製剤を添加した場合は、静脈血および尿pHは低下したものの、乾物摂取量は対照区に比べて11.1%低下した。3%添加した場合は、血液pHの低下は認められなかった。試験Ⅱにおいて、4.6%添加した場合は、静脈血および尿pHは低下し、尿カルシウム/クレアチニンは上昇したものの、乾物摂取量の減少は試験Ⅰの6%添加の場合ほど大きくはなかった。以上の結果から、本製剤の添加割合は乾物比4.6%が適当であると考えられた。

キーワード：陽イオン-陰イオン差、乳牛、尿pH、血液pH、カルシウム

道畜試研報, 26:1-7, 2007

緒 言

乳牛における乳熱を含む分娩時の起立不能症は、周産期疾病のうちで最も問題となっている疾病である。それらの疾病は低カルシウム (Ca) 血症による起立不能を主徴としており、死亡に至る例も多数認められる。それらの疾病の予防として、これまで注射剤、経口投与剤や飼料添加物の利用および分娩前のCa給与量の低減等が検討されてきた⁵⁾。

一方、分娩前の給与飼料中のミネラル含量に注目し、陽イオンと陰イオンとの差を計算したイオンバランス (Cation Anion Difference: CAD) と乳熱の発症との関係も示されてきた^{1,8,12)}。分娩前の乳牛に対して陰イオン含量が多い飼料を給与すると、体内の酸塩基平衡に影響を与え²⁾、軽度の代謝性アシドーシスを誘導させ、上皮小体ホルモンに対する反応性が高まる。そのため、分娩時のCa欠乏状態ではCaの供給が高まり、乳熱の発症を低減できる³⁾。また、Oetzel⁹⁾ は過去の文献のデータを解析し、硫黄 (S) 含量の多い飼料を給与した場合には乳熱の発症が減少し、CADが高ければ乳熱の発症が多くなることを示した。

最近、草地への糞尿の還元によりカリウム (K) 含量の多い粗飼料が生産され、K等の陽イオンの影響を軽減させるため、分娩前の乳牛に対して陰イオン塩製剤の利用が試みられている。島袋ら¹¹⁾ は、分娩前の乳牛に市

販のグルタミン酸発酵副産物を乾物 (DM) 中7.4%添加した飼料を給与したところ、無添加の牛に比べて飼料摂取量は少なかったことを報告した。このように、陰イオン塩製剤の適切な添加量については不明な点があり、検討する余地が残されている。そこで本研究では、陰イオン塩製剤の適切な添加量と陰イオン塩製剤の添加が乳牛の乾物摂取量、血液および尿に及ぼす影響を検討した。

材料および方法

試験Ⅰ 北海道立畜産試験場で飼養している泌乳後期のホルスタイン種乳牛9頭を供試して、チモシー主体の牧草サイレージ、とうもろこしサイレージおよび市販の配合飼料に、市販のグルタミン酸発酵副産物を含む陰イオン塩製剤 (BIO-CHLOR™, BIOVANCE TECHNOLOGIES INC製, 表1) をDM比で6%、3%および0%添加した混合飼料を給与した区 (6%区、3%区、対照区) を設けた (表2)。試験は3つの飼料をそれぞれ2週間ずつ給与し、後半の1週間を本期とする3×3ラテン方格法にて実施した。各区における粗タンパク質含量を同様にするために、3%および対照区では大豆粕を添加した。飼料は毎日午前中に1日の全量を給与した。

飼料中のナトリウム (Na)、K、Ca、マグネシウム (Mg) 含量は飼料を乾式灰化後、原子吸光分析法で測定し、リン (P) 含量はバナドモリブデン酸法、塩素

連絡者：松井義貴 (e-mail: matsuiys@agri.pref.hokkaido.jp)

Table 1 Macromineral content and cation-anion difference (CAD) of BIO-CHLOR™

Na	K	Cl	S	Ca	Mg	P	CAD*
(% of DM)							
2.05	1.09	8.67	2.73	0.15	0.34	0.91	-2977.7

* : Calculated as (mEq {[Na]+[K]}-[Cl]+[S]}/kg diet DM)

Table 2 Ingredients and macromineral content of three total mixed diets fed to lactating cows (Experiment I)

	6% anionic product	3% anionic product	Control
Ingredient, % of DM			
Grass silage	40.0	40.0	40.0
Corn silage	40.0	40.0	40.0
Formula feed	13.0	13.0	13.0
Soybean meal	0	3.0	6.0
BIO-CHLOR™	6.0	3.0	0
Mineral-mix	1.0	1.0	1.0
Mineral composition, % of DM			
Na	0.48	0.42	0.36
K	1.35	1.40	1.46
Cl	1.26	1.00	0.74
S	0.38	0.32	0.25
Ca	0.57	0.57	0.57
Mg	0.19	0.19	0.19
P	0.56	0.55	0.55
CAD*	-38.0	+59.4	+165.7

* : Calculated as (mEq {[Na]+[K]}-[Cl]+[S]}/kg diet DM)

(Cl) 含量は硝酸銀による滴定法で測定した⁶⁾。S含量は硫酸バリウム生成濁度法で測定した⁴⁾。これらの測定値のうちNa, K, Cl, Sの飼料中の割合からCADを算出した。すなわち、 $CAD (mEq/DMkg) = \{ [Na\%] \times 435 + [K\%] \times 256 \} - \{ [Cl\%] \times 282 + [S\%] \times 624 \}$ の式¹⁾を用いた。

本期1週間における1日当たりの乾物摂取量 (DMI) と4%脂肪補正乳量 (FCM) を算出した。なお、搾乳は1日に2回、午前6時と午後4時に行い、乳脂肪含量は本期中に1回赤外線牛乳分析法 (MilkoScan S 50, Foss Electric製) にて測定した。また、動脈血を尾動脈より、静脈血を頸静脈よりともに本期最終日の飼料給与前に採取して、Clイオン (Cl⁻) 濃度、重炭酸イオン (HCO₃⁻) 濃度およびpHを血液ガス電解質分析装置 (バイエル・メディカル製) にて、血清Ca濃度を原子吸光光度計にて測定した。さらに、尿については本期最終日の飼料給与約3時間後に会陰部摩擦法により自然排尿させて採取するとともに、本期2日目に飼料給与前、給与3、8、11.5、18および24時間後の6回採取して、尿pHを測定した。

試験Ⅱ 北海道立畜産試験場で飼養している泌乳中期から後期のホルスタイン種乳牛6頭を供試し、クロスオ

ーバー法で以下の試験を行った。チモシー主体の牧草サイレージ、とうもろこしサイレージおよび市販の配合飼料に、陰イオン塩製剤 (BIO-CHLOR™) をDM比で4.6% (4.6%区) または0%添加 (対照区) した混合飼料 (表3) をそれぞれ3頭ずつに2週間給与した。その後飼料を反転させて2週間給与した。両区の粗タンパク質含量を同様にするために、対照区では大豆粕を添加した。試験Ⅰと同様に飼料のミネラル含量と乳脂肪含量を測定し、CAD、各試験期の後半1週間における1日当たりのDMIおよびFCMを算出した。また、陰イオン塩製剤給与開始前、1週間後および2週間後の午前中の飼料給与前に頸静脈から血液を採取して、Cl⁻濃度、HCO₃⁻濃度、pHおよび血清Ca濃度を測定した。尿については数日毎に、飼料給与約3時間後に採取してpHを測定するとともに、原子吸光光度計にてCa濃度を、血液自動分析装置 (ベックマン・コールター製) にてクレアチニン濃度を測定し、尿へのCa排泄量の指標となる尿Ca/クレアチニンを算出した。

統計分析 SAS¹⁰⁾ のGLMプロシジャを用いてデータの分析を行った。試験Ⅰでは制限付き最小有意差法で平均値の多重比較を行い、試験Ⅱでは処理の効果をF検定

陰イオン塩製剤の添加が泌乳牛の乾物摂取量、血液および尿に及ぼす影響

Table 3 Ingredients and macromineral content of two total mixed diets fed to lactating cows (Experiment II)

	4.6% anionic product	Control
Ingredient, % of DM		
Grass silage	23.5	23.5
Corn silage	49.9	49.9
Formula feed	20.4	20.4
Soybean meal	0	4.6
BIO-CHLOR™	4.6	0
Mineral-mix	1.5	1.5
Mineral composition, % of DM		
Na	0.65	0.56
K	1.44	1.49
Cl	1.20	0.80
S	0.30	0.20
Ca	0.57	0.58
Mg	0.20	0.20
P	0.66	0.66
CAD*	+125.8	+274.6

* : Calculated as (mEq {[Na]+[K]}-[Cl]+[S]}/kg diet DM)

で調べた。ともに有意水準は5%とした。

結果と考察

試験 I 陰イオン塩製剤を6%添加した区においては、対照区に比べてDMIが11.1%少なかったが (P<0.05)、FCMには有意な差は認められなかった (表4)。一方、3%区においては、対照区に比べてDMIの差は認められ

なかった。

動脈血HCO₃⁻濃度は6%区で他の区よりも有意に低かった (P<0.05) もの、動脈血pHには有意な差は認められなかった (表5)。静脈血Cl⁻濃度は各区に有意な差はなかったものの、HCO₃⁻濃度およびpHは6%区で有意に低かった (P<0.05) (表6)。これは陰イオン塩製剤にCl⁻が8.7%含有するために、Cl⁻が消化管で吸収され、酸塩基平衡によって血液中のHCO₃⁻濃度が減少し、pH

Table 4 Dry matter intake and milk production (Experiment I)

Treatments	Dry matter intake (kg/day)	4% fat corrected milk production (kg/day)
6% anionic product	16.8±1.4 ^b	19.0±3.5 ^b
3% anionic product	18.8±1.3 ^a	22.7±1.7 ^a
Control	18.9±1.6 ^a	21.9±3.4 ^{ab}

Mean±Standard deviation,

ab : Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

Table 5 Bicarbonate concentration and pH in arterial blood (Experiment I)

Treatments	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	pH
6% anionic product	25.8±3.8 ^b	7.44±0.04
3% anionic product	30.2±3.2 ^a	7.46±0.04
Control	30.6±2.7 ^a	7.47±0.04

Mean±Standard deviation,

ab : Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

Table 6 Chloride ion concentration, bicarbonate concentration and pH in venous blood (Experiment I)

Treatments	Cl ⁻ (mmol/L)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	pH
6% anionic product	106±3	25.9±3.1 ^b	7.37±0.03 ^b
3% anionic product	105±2	30.8±3.3 ^a	7.41±0.03 ^a
Control	103±2	33.1±3.0 ^a	7.43±0.04 ^a

Mean±Standard deviation,

ab : Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

Table 7 Urine pH (Experiment I)

Treatments	pH
6% anionic product	5.85±0.16 ^c
3% anionic product	6.64±0.85 ^b
Control	8.01±0.17 ^a

Mean±Standard deviation,

abc : Means with different superscripts are significantly different (P<0.05).

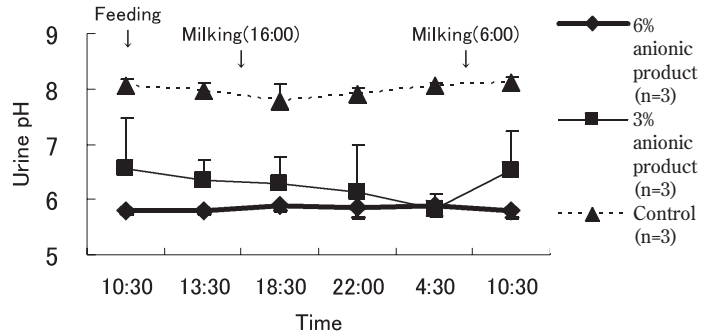


Figure 1 Diurnal changes of urine pH (Experiment I)

Bars of each data point indicate standard deviation.

を低下させたためと考えられた。各飼料給与2週間後の血清Ca濃度は、対照区で9.91±0.50mg/dl、6%区で10.32±0.74mg/dl、3%区で10.34±1.03mg/dlであり、有意な差は認められなかった。

本試験における尿pHは、6%区および3%区で陰イオン塩製剤添加1週間後には対照区よりも有意に低い値を示した (P<0.05) (表7)。また、尿pHの日内の大きな変動は認められなかった (図1)。

これらのことから、陰イオン塩製剤を6%添加した飼料を給与した牛は、血液および尿pHの低下は認められたが、DMIが少なかったことから、陰イオン塩製剤の過剰添加であると考えられた。また、3%添加した飼料を給与した牛は、DMIは減少しなかったが、血液pHの低下が認められなかったため、陰イオン塩製剤の添加不足であると考えられた。

試験Ⅱ 試験Ⅰの結果をふまえて、陰イオン塩製剤を

4.6%添加した区を設定したところ、DMIは対照区に比べて有意に少なく (P<0.05)、FCMも4.6%区において有意に少なかった (P<0.05) (表8)。静脈血Cl⁻濃度、HCO₃⁻濃度およびpHは4.6%区の1週間後において有意に低い値を示し (P<0.05)、2週間後においてはCl⁻濃度のみ有意に低い値を示した (P<0.05) (表9)。各飼料給与2週間後の血清Ca濃度は、対照区で9.80±0.41mg/dl、4.6%区で9.70±0.47mg/dlであり、有意な差は認められなかった。

尿pHは対照区の飼料から陰イオン塩製剤を添加した飼料に変換した場合、2日後には低下を示し、4日後には最低レベルの6.0にまで低下した。陰イオン塩製剤を添加した飼料から対照区の飼料に変換した場合、4日後には通常レベルの8.0に戻った (図2)。尿へのCa排泄量の指標となるCa/クレアチニンは陰イオン塩製剤を添加した飼料に変換した場合、2日後には顕著に高くなり、対

Table 8 Dry matter intake and milk production (Experiment II)

Treatments	Dry matter intake (kg/day)	4% fat corrected milk production (kg/day)
4.6% anionic product	19.9±1.6 ^b	25.6±2.1 ^b
Control	21.1±1.7 ^a	27.5±3.5 ^a

Mean±Standard deviation,

ab : Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

Table 9 Chloride ion concentration, bicarbonate concentration and pH in venous blood at 1 week and 2 weeks after feeding (Experiment II)

Treatments	Cl ⁻ (mmol/L)		HCO ₃ ⁻ (mmol/L)		pH	
	1 week	2 weeks	1 week	2 weeks	1 week	2 weeks
4.6% anionic product	105 ± 2 ^a	103 ± 2 ^a	26.7 ± 1.8 ^b	32.2 ± 5.8	7.35 ± 0.02 ^b	7.38 ± 0.03
Control	101 ± 1 ^b	101 ± 2 ^b	33.1 ± 1.2 ^a	35.2 ± 5.6	7.40 ± 0.02 ^a	7.41 ± 0.03

Mean ± Standard deviation,

ab : Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

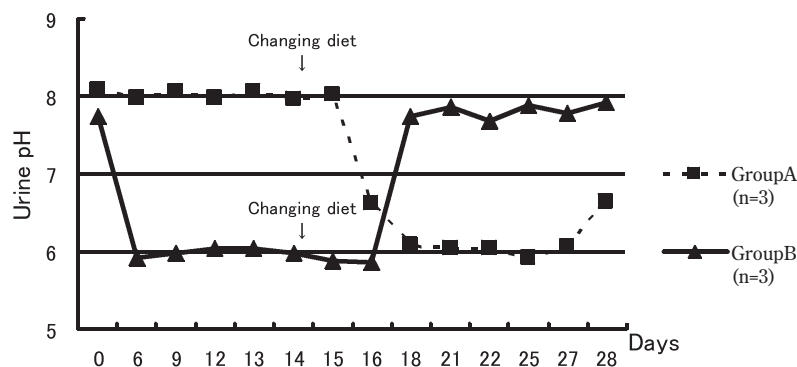


Figure 2 Urine pH after changing each diet (Experiment II)

Group A : Control diet (0 to 13 day), 4.6% anionic product diet (14 to 27 day).

Group B : 4.6% anionic product diet (0 to 13 day), Control diet (14 to 27 day).

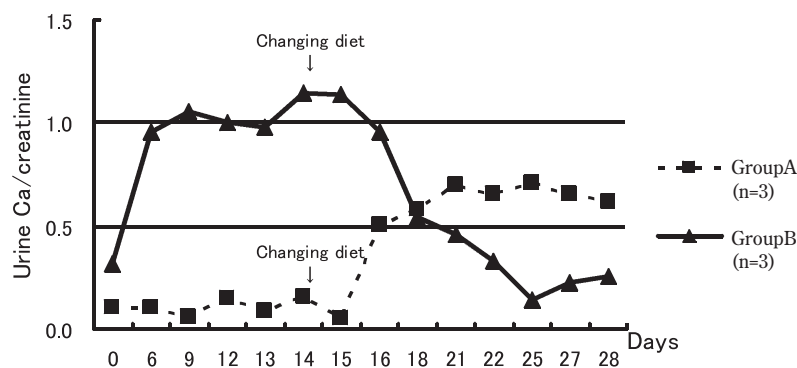


Figure 3 Mean urine Ca/creatinine after changing each diet (Experiment II)

Group A : Control diet (0 to 13 day), 4.6% anionic product diet (14 to 27 day).

Group B : 4.6% anionic product diet (0 to 13 day), Control diet (14 to 27 day).

照区の飼料に変換した場合、4日後には低くなり、その後徐々に減少した(図3)。Moselら⁷⁾は、分娩前の乳牛にCADが低い飼料を給与すると、血漿Ca濃度は影響しなかったが、尿へのCa排泄量の増加および尿pHの低下が認められたと報告した。本結果はMoselら⁷⁾の報告と同様に、CADが低い飼料の給与により骨からのCa動員が行われるものの、血液中ではホルモンの作用によりCa濃度を一定に維持されるために、余剰分は尿中に排泄されたと考えられる。

試験Iおよび試験IIから、陰イオン塩製剤を全飼料中のDM比で3%添加した場合には、血液pHの低下は認められなかったが、6%または4.6%添加した場合には、血

液pHの低下が認められ、血液中へのCa動員が期待された。また、陰イオン塩製剤を6%添加した場合には、DMIは対照区と比べて11.1%も減少したものの、4.6%添加した場合には、対照区と比べて5.7%の減少に留まった。これらのことから、陰イオン塩製剤の添加割合は給与飼料のCADによっても異なるが、4.6%程度が適当であると考えられた。

引用文献

- 1) Block E. : Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk

- fever. *J. Dairy Sci.*, 67:2939-2948 (1984)
- 2) Block E.: Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77:1437-1450 (1994)
 - 3) Goff J. P., Horst R. L., Mueller F. J., Miller J. K., Kiess G. A. and Dowlen H. H.: Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *J. Dairy Sci.* 74:3863-3871 (1991)
 - 4) 林淳三 (ほか) 編: 食品分析ハンドブック (建帛社) : 297-298 (1982)
 - 5) Horst R. L., Goff J. P., Reinhardt T. A. and Buxton D. R.: Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 80:1269-1280 (1997)
 - 6) 自給飼料品質評価研究会編: 粗飼料の品質評価ガイドブック (社団法人日本草地協会) : 23-29 (1994)
 - 7) Mosel M. Van, Klooster A. Th. Van't, Mosel F. Van and Kuilen J. Van Der: Effects of reducing dietary $[(Na^{+}+K^{+}) - (Cl^{-}+SO_{4}^{-})]$ on the rate of calcium mobilisation by dairy cows at parturition. *Res. Vet. Sci.*, 54: 1 - 9 (1993)
 - 8) Oetzel G. R., Olson J. D., Curtis C. R. and Fettman M. J.: Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71:3302-3309 (1988)
 - 9) Oetzel G. R.: Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 74:3900-3912 (1991)
 - 10) SAS/STATソフトウェア: SASユーザーズガイド第6版 (SAS出版社): 569-603, 705-744 (1995)
 - 11) 島袋宏俊、玉城政信、知念雅昭: 乳牛の分娩前後栄養管理技術の確立 (1) 乾乳末期におけるグルタミン酸発酵副産物のイオンバランス調整剤給与が乳牛に及ぼす影響, 試験研究報告第38号 (沖縄県畜産試験場) : 10-17 (2000)
 - 12) Tucker W. B., Harrison G. A. and Hemken R. W.: Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 71:346-354 (1988)

陰イオン塩製剤の添加が泌乳牛の乾物摂取量、血液および尿に及ぼす影響

Effects of an anionic product on dry matter intake, blood and urine in lactating cows

Yoshitaka MATSUI, Noriyoshi OGURA and Satoshi KAWAMOTO

Hokkaido Animal Research Center

Corresponding: Yoshitaka Matsui (e-mail: matsuiys@agri.pref.hokkaido.jp)

Fifteen lactating Holstein cows were used to determine the proper proportion of the commercial anionic product (BIO-CHLOR™), which is effective in improving the dietary cation-anion difference during a dry period. The proportion of this product to be added to the total mixed ration was assumed to be 0%, 3% or 6% of the dry matter (DM) in experiment I (Exp I) and to be 0% or 4.6% of DM in experiment II (Exp II). Exp I and Exp II were conducted by the 3×3 Latin square design and the cross-over methods, respectively, for two week periods.

In Exp I, although cows fed the anionic product at 6% of DM had a lower venous blood pH and urine pH, the DM intake (DMI) of these cows was 11.1% less than that of cows fed the 0%. In the cows fed the 3%, the blood pH did not decrease. In Exp II, although cows fed the 4.6% anionic product had lower venous blood and urine pH and higher urine calcium/creatinine, the decrease in the DMI of these cows was no more than that of the cows fed the 6% in Exp I. These results suggest that the proportion of this product should be 4.6% of DM.

Key words : cation-anion difference, dairy cow, urine pH, blood pH, calcium

大ヨークシャーにおける肢蹄審査形質と産肉能力との関連

山内和律・梶野清二・岩上弦太郎・内藤学・小泉徹

北海道立畜産試験場

要 旨 大ヨークシャー供試豚1, 100頭(雄349頭, 去勢232頭, 雌519頭)を用いて, 肢蹄の得点評価を行い, それらに対する性の影響, 遺伝率および産肉形質の選抜による肢蹄の影響について検討を行った。肢蹄審査形質は前肢前貌(front legs/ front, FF), 前肢側貌(front legs/side, FS), 前ツナギ(front legs/pastern, FP), 後肢後貌(hind-legs/behind, RB), 後肢側貌(hind-legs/side, RS) および後ツナギ(hind-legs/pastern, RP) の6形質であり, スウェーデンにおける豚育種プログラムにおいて利用されているものである。FF, FP, RSおよびRPにおいて性間に有意な差が存在した。肢蹄審査形質の遺伝率はFP(0.45)およびRP(0.36)を除いて0.09~0.18であった。肢蹄審査形質間の遺伝相関では, FPとRP間に強い相関関係(0.72)があった他FFとFS(0.56), FFとFP(-0.54), FFとRB(0.46), FFとRS(-0.31), FFとRP(-0.43), そしてFSとFP(-0.30)に相関関係があった。肢蹄審査形質と産肉形質との遺伝相関では, 平均日増体量(DG)とFF(0.34), DGとFS(0.63), DGとRS(0.53), 体長1/2部位の背脂肪厚(BF)とFF(-0.41), BFとFS(-0.47), BFとFP(0.41), そしてBFとRP(0.58)に相関関係があり, DGおよびBF形質に関する選抜により肢蹄スコアが変化することを示唆していた。

キーワード: 肢蹄審査形質、大ヨークシャー、産肉能力、遺伝相関

道畜試研報, 26: 8-13, 2007

緒 言

近年の繁殖雌豚の飼養形態としてはストールによる飼育が定着してきている。これに伴い肢蹄の障害を示す豚が年々増加し, 繁殖雌豚では肢蹄障害が淘汰の主要原因となっている^{6,12}。また近年の豚は育成期の日増体量の改良および体型の大型化が進んでいるが, この様な産肉形質の改良が豚の肢蹄障害の発生要因の一つとされている^{6,12}。種豚の肢蹄評価については様々な方法が提唱され使用されている^{2,4,5,8,9,11,12}。これらの肢蹄評価は最悪から最適の間を多段階に区分する方法^{2,4,8,9}と, 生物学的変動範囲を全て含むように区分し中間値を最適とする方法^{5,11}とに大別される。前者は複数形質の改良を行う場合に各形質の和を用いた切断型の選抜が可能であり適

している。一方後者は生物学的変動範囲を全て含むため個々の肢蹄外貌の変化を調査する場合に適している。本研究では, 豚の肢蹄障害を育種改良により減少させるため, 前者のスウェーデンの能力検定で利用されている肢蹄の評価方式⁵を用いて肢蹄の得点評価を行い, それらに対する性の影響, 遺伝率および産肉形質の選抜による肢蹄の影響について検討を行った。

材料および方法

供試豚および飼養管理方法 供試豚は北海道立畜産試験場SPF養豚施設において2001~2002年度に生産された大ヨークシャー1,100頭を用いた。供試豚の年度別および性別内訳は表1に示した。供試豚は分娩後3~4週で

Table 1. Number of animals

Year	Sex		
	'boar	'barrow	'gilt
2001	166	129	257
2002	183	103	262
Total	349	232	519

連絡者: 山内和律 (e-mail: yamauchi@agri.pref.hokkaido.jp)

離乳し、1～2腹(10～20頭)を1群として7～9週齢まで3.0×3.2m²の離乳豚房(トライアングルスノコ)に収容した。その後、供試豚は3.6×2.7m²の豚房(コンクリートスノコ)に移動し、10～12頭規模で群飼した。飼料はすべて不断給与し、水はドリンカーにより自由に摂取できるようにした。

肢蹄の得点評価 得点評価は90kg到達時点に実施した。肢蹄に関する審査方式はスウェーデンにおけるランドレース、大ヨークシャーおよびハンプシャーの検定において用いられている審査形質および審査スコアを使用した。本スコアは前肢前貌(front legs/front,FF)、前肢側貌(front legs/side,FS)、前ツナギ(front legs/pastern,FP)、後肢後貌(hind-legs/behind,RB)、後肢側貌(hind-legs/side,RS)および後ツナギ(hind-legs/pastern,RP)について5を最良の得点とした1から9までの9つのカテゴリーでスコア化したものである。

産肉形質 産肉形質として本研究で取り上げたのは体

重30～90kgの平均日増体量(DG)および体重90kg時における体長1/2部位の背脂肪厚(BF)である。背脂肪厚の測定は超音波測定装置により行った。

統計的手法

性差 雄、雌および去勢についての最小二乗平均値の算出および差の検定にはHarveyのLSMLMW¹⁾を用いた。モデルには性以外の効果として年次×誕生月×検定場所を加えた。

遺伝的パラメータ 遺伝的パラメータの推定にはVCE 5.1.2³⁾を用いた。手法は多形質および単形質アニマルモデルを用いてREMLのgradient法により算出した。測定値に影響を与える母数効果としては個体の性、年次×誕生月×検定場所の2つの効果を、変量効果としては個体の効果、および母性効果などをとり除くために恒久的環境効果の2つの効果をモデルに加えた。血縁行列に加える個体は測定個体の3世代前までの祖先とした。

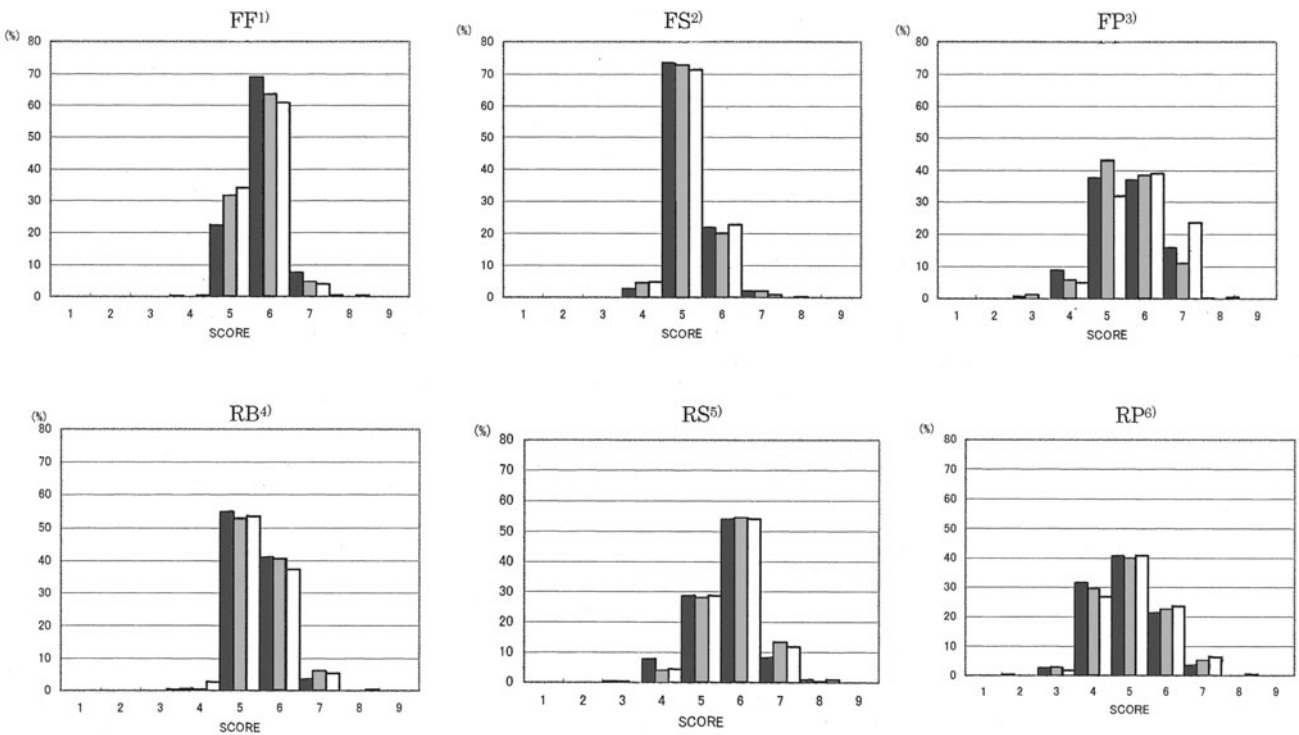


Fig.1 Distribution of leg conformation score. (boars: gilts: barrows:)

- 1)FF:front legs/front
- 2)FS:front legs/side
- 3)FP:front legs/pastern
- 4)RB:hind legs/behind
- 5)RS:hind legs/side
- 6)RP:hind legs/pastern

Table 2. Least Square Means of linear conformation scores of leg within sex

	FF ²⁾	FS ³⁾	FP ⁴⁾	RB ⁵⁾	RS ⁶⁾	RP ⁷⁾
gilts	5.74 ^a	5.27	5.43 ^a	5.52	5.70 ^a	4.82 ^{ab}
boar	5.88 ^b	5.29	5.51 ^a	5.45	5.56 ^b	4.75 ^a
barrow	5.71 ^c	5.26	5.73 ^b	5.47	5.71 ^a	4.94 ^b

1)Means within column having the different letters are significantly different(P<0.05)

2)FF:front legs/front

3)FS:front legs/side

4)FP:front legs/pastern

5)RB:hind legs/behind

6)RS:hind legs/side

7)RS:hind legs/pastern

Table 3. Least Square Means of DG and BF within sex

	DG (g/day)	BF(mm)
gilt	949 ^a	16.3 ^a
boar	1035 ^b	17.6 ^b
barrow	1061 ^c	19.5 ^c

1)Means within column having the different letters are significantly different(P<0.05)

2)DG: Average daily gain from 30kg to 90kg live weight

3)BF: Ultrasonic back fat measurement at 1/2 of body length

結 果

本試験における各審査形質のスコア値分布を性ごとに図1に示した。6形質全てにおいてスコア1に分類された個体は存在しなかった。雄および去勢のFFはスコア4~8に分布していたのに対し雌ではスコア5, 6およびスコア7の3つの階級のみ分布していた。RBは去勢がスコア3~8に分布していたのに対し、雌および雄ではスコア4~7にだけ分布していた。また肢蹄スコアに関する雄、雌および去勢の最小二乗平均値を表2に示した。肢蹄の6形質のうち、FF、FP、RSおよびRPにおいて性の効果が有意であった。FFでは、雄が5.88、次いで雌、去勢の順に大きく、それぞれに有意差があった。FPでは去勢が雌および雄よりも有意に大きなスコア値

となった。RSでは雌および去勢が雄よりも有意に大きなスコア値となった。RPでは去勢が雄よりも有意に大きなスコア値となった。

産肉能力として取り上げたDGおよびBFに関する雄、雌および去勢の最小二乗平均値を表3に示した。DGにおいて去勢は雌および雄よりも、そして雄は雌よりもそれぞれ有意(P<0.05)に大きな値となった。BFにおいては雌が雄および去勢よりも、そして雄は去勢より有意に薄かった。

産肉能力と審査形質の遺伝分散、恒久的環境分散、誤差分散、遺伝率および母性効果を表4に示した。DGおよびBFの遺伝率は0.31および0.52であった。審査形質の遺伝率はFPの値が0.45、RPの値が0.32と高い値であった以外は0.09~0.18の間であった。

Table 4. Additive genetic(σ_a^2),litter(σ_c^2) and environmental variances(σ_e^2), heritabilities(h^2), proportions of litter variance(c^2) and standard errors (S.E.) of h^2 and c^2 for leg conformation score and performance of meat production.

	σ_a^2	σ_c^2	σ_e^2	h^2	S.E.	c^2	S.E.
DG ¹⁾	2245	146	4854	0.31	0.03	0.02	0.00
BF ²⁾	505	47	419	0.52	0.02	0.05	0.01
FF ³⁾	0.03	0.00	0.28	0.09	0.01	0.01	0.00
FS ⁴⁾	0.03	0.01	0.22	0.12	0.02	0.05	0.02
FP ⁵⁾	0.28	0.02	0.33	0.45	0.03	0.03	0.01
RB ⁶⁾	0.07	0.00	0.31	0.18	0.02	0.01	0.00
RS ⁷⁾	0.08	0.01	0.45	0.15	0.02	0.02	0.01
RP ⁸⁾	0.19	0.02	0.39	0.32	0.02	0.04	0.01

1)DG:average daily gain 30~90kg

2)BF:back fat depth at 1/2

3)FF:front legs/front

4)FS:front legs/side

5)FP:front legs/pastern

6)RB:hind legs/behind

7)RS:hind legs/side

8)RP:hind legs/pastern

Table 5. Genetic(below diagonal) and phenotypic(above diagonal) correlations between leg conformation scores and Performance Traits

	DG ¹⁾	BF ²⁾	FF ³⁾	FS ⁴⁾	FP ⁵⁾	RB ⁶⁾	RS ⁷⁾	RP ⁸⁾
DG		0.16	-0.04	0.08	0.12	-0.04	0.05	-0.04
BF	-0.04±0.079)		-0.06	-0.10	0.24	-0.05	-0.06	0.24
FF	0.34±0.06	-0.41±0.09		0.07	-0.09	0.12	-0.02	-0.05
FS	0.63±0.09	-0.47±0.08	0.56±0.13		-0.20	0.06	0.08	-0.10
FP	0.22±0.04	0.41±0.03	-0.54±0.09	-0.30±0.10		-0.10	-0.02	0.37
RB	0.10±0.04	-0.17±0.04	0.46±0.06	0.15±0.06	-0.20±0.05		0.15	-0.06
RS	0.53±0.04	-0.25±0.07	0.31±0.07	0.12±0.11	0.08±0.06	0.18±0.07		-0.02
RP	-0.21±0.04	0.58±0.04	-0.43±0.07	-0.60±0.09	0.72±0.03	0.06±0.06	0.10±0.07	

1)DG:average daily gain 30-90kg

2)BF:Ultrasound back fat measurement at 1/2

3)FF:front legs/front

4)FS:front legs/side

5)FP:front legs/pastern

6)RB:hind legs/behind

7)RS:hind legs/side

8)RS:hind legs/pastern

9) genetic correlation±standard error

今回推定したDG, BF, FF, FS, FP, RB, RSおよびRPの表型および遺伝相関を表5に示した。

表型相関はFPとRP間が0.37であった以外は、-0.3~0.3の範囲でありあまり相関がなかった。

産肉形質であるDGとBFとの遺伝相関は-0.04と低い値になった。肢蹄6形質間の遺伝相関ではFPおよびRPに0.72と高い正の相関関係が示された。また、FFとFS間(0.56)、FFとRB間(0.46)およびFFとRS間(0.31)において正の相関関係が、FFとFP間(-0.54)、FFとRP間(-0.43)、FSとFP間(-0.30)およびFSとRP間(-0.60)に負の相関関係が示された。

DGおよびBFと肢蹄審査形質との遺伝相関では、DGとFF, FSおよびRSとの間にそれぞれ0.34, 0.63, 0.53と正の相関関係、またBFとFF, FS, FPおよびRPとの間にそれぞれ-0.41, -0.47, 0.41, 0.58と正あるいは負の相関関係が示された。

考 察

本研究では複数の線形審査形質において有意な性差が認められた。Luideheim⁵⁾は本研究と同じ審査方法を用いて表型相関および遺伝相関を算出しているが、性の影響についての検討は行っていない。また、Steenbergenら¹¹⁾は肢蹄形質を10段階で評価する審査方法について検討を行っているが、種雄候補豚を対象とした分析であり、性差についての検討はない。評価方法は異なるが門脇ら²⁾はアメリカ審査基準を用いて肢蹄について検討し、本研究と同様にこれら審査基準形質において性間で差があることを示した。我が国の養豚ではランドレースと大ヨークシャーにより作成された交雑雌とデュロック雄を用いた3元交雑による豚肉生産が主流である。このため、大ヨークシャーおよびランドレースで肢蹄の改良を行う場

合は雌を想定した選抜を行う必要があり雄を選抜する際にはこれら性差を勘案しなければならない。

本研究におけるDGとBFの遺伝率はそれぞれ0.31と0.52であった。RothschildとRuvinsky⁷⁾は1944から1995年にかけて算出された能力検定におけるDGとBFの遺伝率について示した。不断給餌条件下でのDGとBFの遺伝率に関する平均値はそれぞれ0.31および0.49であるとしている。今回の推定値はこれらとほぼ等しい値となっている。また、彼らはDGとBFの遺伝相関についても検証しており、不断給餌条件下におけるDGとBFの遺伝相関は-0.26~0.55の範囲であるとしている。今回のDGとBFとの遺伝相関推定値は-0.04であり、その範囲内にあった。

本研究で得られた肢蹄審査形質の遺伝率はFPおよびRPがそれぞれ0.45および0.32で、DGおよびBFと同程度の値であった。またFFは0.09と最も低い遺伝率を示した。その他の肢蹄審査形質の遺伝率は0.12~0.18の範囲であった。Luideheim⁵⁾は、本研究に用いられた線形審査方式により肢蹄の遺伝率を求め、それらが0~0.2の間であるとしている。Steenbergenら¹¹⁾はLuideheim⁵⁾よりさらに1段階細かく分けた0~9の10段階の線形スコアを用いて、これら肢蹄に関する6形質についてオランダにおける検定雄豚のデータを基に遺伝率を推定した。彼らの推定したFF, FS, FP, RB, RSおよびRPの遺伝率はそれぞれ0.06, 0.06, 0.31, 0.22, 0.23および0.30であり、本研究と同様にFFが最も低かった。また、FPおよびRPが本研究と同様に他の4形質よりも高い値であった。

Steenbergenら¹¹⁾はこれら6肢蹄審査形質間の遺伝相関を算出しており、これらの遺伝相関はFFとFS間(0.72)、FFとRB間(0.31)、FFとRS間(-0.45)、FSとFP間(-0.32)およびFSとRP間(-0.32)以外については-0.3~0.3としている。本研究ではFFとFP間、FFとRP間およびFPとRP

間に絶対値で0.3を超える遺伝相関が存在した。また、FFとRS間では彼らの推定値が-0.45と負であったのに対し、今回得られた値は0.31と正の遺伝相関となった。本研究はSPF条件下で大ヨークシャーの雄、雌および去勢を用いて群飼により実施したが、彼らの研究はオランダにおけるランドレースおよび大ヨークシャー種雄候補豚を用いての研究であり、また大部分の個体(3,034頭中2,667頭)は単飼により実施されている。これら試験実施条件の差が遺伝相関の差とも考えられるが詳細は不明である。

今回の試験ではBFとRPとの遺伝相関が0.58であった。Steenbergenら¹¹⁾はDGおよびBFと肢蹄審査形質について遺伝相関を推定しているが、DGとFPとの遺伝相関が0.41であった以外は絶対値で0.3を超える遺伝相関は推定されていない。本研究における遺伝相関との差は肢蹄審査形質間における遺伝相関と同様に試験実施条件の差とも考えられるが詳細は不明である。

以上のことからFPおよびRPについてはDGおよびBFと同程度の直接選抜が可能であると考えられた。またその他の4形質については、FPおよびRPと同程度の直接選抜効果を上げるにはより高い正確度あるいは強い選抜圧が必要である。しかし、肢蹄の改良に対する選抜圧を増やすことは、他の形質への選抜圧を減少させることになる。産肉形質であるDGおよびBFと肢蹄審査形質との遺伝相関では、正または負の相関関係を示すものがあつた。このことはDGあるいはBFの選抜により肢蹄審査形質が間接選抜されることを表している。DGおよびBFの改良を行う実際の育種計画ではこれらの関係を考慮し、独立淘汰あるいは他の選抜形質との指数式による肢蹄の改良を行う必要がある。

引用文献

- 1) Harvey, W. H. User's guide for lsmlmw and mixmdl pc-2 version (1990).
- 2) 門脇宏・鈴木啓一・小川ゆう子・伊藤勝. デュロック種の肢蹄形質と産肉能力, 日豚会誌, 35 (3), 107-113 (1998)
- 3) Kovac, M., and E. I. Groeneveld. VCE- 5 User's Guide and Reference Manual ver 5.1 (2002)
- 4) Lundeheim, N. Acta Agric. Scand. Genetic analysis of osteochondrosis and leg weakness in the swedish pig progeny testing scheme., 37:159-173 (1987)
- 5) Lundeheim, N. Conformation scoring in the swedish pig progeny testing scheme., Proceedings of NJF-Seminar no. 265, Denmark, 27-28 March, 70-71 (1996)
- 6) 大畑博義・楠原征治. ブタの健脚性に関する研究., 日豚会誌, 38 (3), 151-164 (2001)
- 7) Rothschild, M. F. and A. Ruvinsky. The Genetics of the pig. 427-462 (1998)
- 8) Serenius, T., M.-L. Sevón-Aimonen, E. A. Mäntysaari., :The genetics of leg weakness in Finnish Lagen White and Landrace populations. Livestock Prod. Sci. 69, 101-111 (2001).
- 9) 柴田宏志・高添由紀子・市川理恵子・石川由貴・古川武士・鈴木進・中川忠雄・本間紀之・鈴木ひろみ・梅田雅夫・佐藤義政・阿部渉・小川泰・宮腰雄一. 系統豚「ニホンカイL2」の造成とその特性., 新潟県農業総合研究所畜産研究センター研究報告, 14, 1-10 (2003).
- 10) Stalder K. J., M. Knauer, T. J. Baas, M. F. Rothschild and J. W. Mabry. Sow Longevity., Pig News and Information 25 (2). 53-74, 2004.
- 11) Steenbergen, E. J. Van, E. Kanis and H. A. M. Van Der Steen. Genetic parameters of Fattening Performance and Exterior Trait of Boars Tested in Central Station., Livestock Prod. Sci., 24, 65-82 (1990).
- 12) 鈴木啓一. 豚の肢蹄の強健性の評価について, 日豚会誌, 38:135-142 (2001).

Relationships between leg conformation traits and meat production traits in Large White

Kazunori YAMAUCHI, Kiyoji KAZINO, Gentaro IWAGAMI, Akira NAITO and Tohru KOIZUMI.

Hokkaido Animal Research Center

Corresponding : Kazunori Yamauchi (e-mail : yamauchi@agri.pref.hokkaido.jp)

A total of 1,100 pigs (349 boars, 232 barrows and 519 gilts) were used to investigate genetic parameters of leg conformation traits and genetic relationship between leg conformation traits and meat production traits. Leg conformation traits used in this [study] were front-legs/front (FF), front-legs/side (FS), front-legs/pastern (FP), hind-legs/behind (RB), hind-legs/side (RS) and hind-legs/pastern (RP). These 6 traits are being used in a Swedish pig breeding scheme .

Significant differences between sexes were found in FF, FP, RS and RP. Heritabilities of leg conformation traits were 0.09-0.18 except for FP (0.45) and RP (0.36). Genetic correlation between FP and RP was the highest of all genetic correlations between leg conformation traits. In other genetic correlations between leg conformation traits, there [were] relationships between FF and FS (0.56), between FF and FP (-0.54), between FF and RB (0.46), between FF and RS (-0.31), between FF and RP (-0.43), between FS and FP (-0.30) and between FP and RP (0.72). In genetic correlations between leg conformation traits and meat production traits, there were relationships between average daily gain (DG) and FF (0.34), between DG and FS (0.63), between DG and RS (0.53), between ultrasonic back fat measurement at 1/2 of [the] body length (BF) and FF (-0.41), between BF and FS (-0.4), between BF and FP (0.41) and between BF and RP (0.58). These results suggested that the selection of meat production traits may be changed by leg conformation traits.

Key words : leg conformation traits, Large White. meat production traits, genetic relationship

Effects of supplemental concentrate levels on performance, ruminal characteristics, and blood constituents of Wagyu steers on pasture

Masahito SUGIMOTO^a, Chizuru YAYOTA^b, Yukinobu SATO^a, Toshiro SAITO^a
and Tsutomu KAWASAKI^c.

^aHokkaido Animal Research Center,

^bGraduate School of Agriculture, Hokkaido University

^cHokkaido Prefectural Tenpoku Agricultural Experiment Station

Abstract Twelve Japanese Black (Wagyu) steer calves were used to determine the effects of supplemental concentrate levels on performance, ruminal characteristics, and blood constituents during the grazing period. We tested the following treatments: 1) high-concentrate supplementation on pasture (HC, fed concentrate at 57.5 g dry matter (DM) per metabolic body weight (BW^{0.75})) and 2) moderate-concentrate supplementation on pasture (MC, fed concentrate at 50 gDM/BW^{0.75}). The supplemental concentrate consisted of 50% commercial formula feed and 50% rolled barley. The quantity of supplement was adjusted for body weight (BW) changes every two weeks. Daily gain was not affected by the treatments. The paunch girth / heart girth ratio at the end of the experiment was higher ($P < 0.05$) for the MC steers than for the HC steers. Both the grazing time and ruminating time were longer ($P < 0.01$) for the MC steers than for the HC steers. Although the supplemental concentrate level did not influence the ruminal pH, ammonia nitrogen (NH₃-N) or total volatile fatty acids (VFA) concentrations, the ruminal acetate/propionate ratio was higher ($P < 0.05$) for the MC steers than for the HC steers. A significant difference ($P < 0.05$) was noted in serum urea nitrogen during the early stage of the experiment. The nonesterified fatty acid (NEFA) concentration was not affected by the treatments. These results lead us to suggest that exceeding the 50 gDM/BW^{0.75}/day concentrate supplementation for grazing Wagyu steer calves was ineffective in enhancing their performance and physiological status.

Keywords : grazing, concentrate level, performance, Wagyu steers

Bull. Hokkaido Anim. Res. Ctr., 26:14-23, 2007

Introduction

In general, the feeding systems in growing Wagyu steers rely on high-concentrate diets. The economic dynamics of the systems depend on grain prices. The substitution of concentrate-based diets with a diet containing pasture in growing steers could reduce feeding costs⁵⁾. However, grazing frequently depresses the growth of Wagyu calves. Restricted nutrient intake is probably the major factor that limits production of grazing animals¹¹⁾. Supplementation is necessary, therefore, to allow stocker cattle to gain weight during a grazing period²⁾.

In the case of penned Wagyu steers fed hay *ad libitum*, we reported that the optimum daily concentrate level would be 50 g of dry matter (DM) per metabolic body weight (BW^{0.75}) during the growing period²⁸⁾. The total digestible nutrient (TDN) requirements for maintenance of grazing cattle are at

least 15% and perhaps as much as 50% higher than those for penned cattle, depending on conditions such as the size and the inclination of pastures¹⁴⁾. Therefore, grazing Wagyu calves may need to be given a supplemental concentrate of 50 gDM/BW^{0.75}/day or more to achieve optimum growth. However, requirements generated from measurements in penned animals present both theoretical and practical concerns when they are applied to grazing situations³⁾. Moreover, superfluous concentrate supplementation reduces forage fiber digestion and grazing activity¹²⁾. Hence, the advantages of supplementing concentrate exceeding 50 gDM/BW^{0.75}/day for grazing Wagyu calves are still unknown.

The objective of this study was to evaluate the effects of supplemental concentrate level on growth performance, ruminal characteristics, and several physiological changes in grazing Wagyu steers.

Corresponding : Masahito Sugimoto (e-mail : sugimomh@agri.pref.hokkaido.jp)

Materials and Methods

Animals and study pasture

In designing the research protocols regarding animal care, we followed the guidelines recommended in the *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching* ⁶⁾.

Twelve Wagyu male calves, approximately 13 weeks of age, were assigned to one of two treatment groups of 6 animals each: 1) a high-concentrate supplementation on pasture (HC, fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate) and 2) a moderate-concentrate supplementation on pasture (MC, fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate). The supplemental concentrate was group-fed, and the quantity of the concentrate was adjusted for BW changes every two weeks. The concentrate consisted of 50% commercial formula feed (TDN, 83.5%; crude protein (CP), 20.0%, based on guaranteed value) and 50% rolled barley (TDN, 84.1%; CP, 12.0% ¹⁸⁾). The calves grazed rotationally from late May (approximately 13 weeks of age) until early October (approximately 34 weeks of age), 2002. The length of the grazing period was 147 days. The maximum ambient temperature was 32.2°C (July 30), and the minimum was -0.4°C (May 17).

All calves had *ad libitum* access to water and trace mineral salt (96.6% NaCl, 0.0732% α -FeOOH, 0.1104% Fe₂O₃, 0.0377% CuSO₄, 0.0066% CoSO₄, 0.1235% ZnSO₄, 0.1046% MnCO₃, 0.0077% Ca(IO₃)₂, 0.0033% Na₂SeO₃, 2000 IU/kg Vitamin E) throughout the experiment.

The calves were treated for parasites with Ivomec® (Merck, Rahway) at the start of the experiment. They were castrated under sedation with xylazine hydrochloride by trained technicians at approximately 18 weeks of age. Their health status was observed at feedings. Rectal temperatures were measured in animals that were visibly anorexic or had severe nasal mucous drainage and rapid or labored breathing. Any animal with a rectal temperature over 39.5 °C was treated with antibiotics.

Vegetation in the study pasture consisted of 60% orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), 25% Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.), 5% meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.), 5% white clover (*Trifolium repens* L.) and 5% other grasses, all of which were measured by visual observation. A part of the pasture was divided into nine paddocks. Because herbage growth early in the study was relatively high, we used five of them from the start of the experiment to early July; we then used all nine from that time until the end of the experiment. Each paddock was approximately 350 m² (16 × 22 m). Because the quality of

the forages declined as they increased in maturity, the paddocks were managed using a weed cutter so as to maintain herbage height between 20 and 30 cm. The paddocks were fertilized with 2 kg/100m² of 15-15-10-5 (N-P-K-Mg) fertilizer in late May.

Measurement and sample preparation

Concentrate intake was recorded every day. Herbage intake was estimated from animal performance ¹⁾, using the TDN requirements for the maintenance and growth of animals (based on MAFF ¹⁴⁾). Given our study conditions, we estimated the maintenance TDN requirements of the grazing cattle to be 30% more than that of penned cattle ^{14, 30)}.

Body weight (unshrunk) was measured every two weeks. Body measurements were carried out at 13, 22, and 32 weeks of age. The frame size index was calculated by the method of Sugimoto *et al.* ²⁹⁾. The subcutaneous fat depth was measured ultrasonically at the end of the experiment. The measurement site of subcutaneous fat depth was just behind the left scapula.

To monitor herbage quantity and quality, two 11 m² (0.5 × 22 m) random herbage samples per paddock were cut monthly with a lawn mower. Herbage and concentrate samples were dried in a forced-air oven at 65 °C, ground through a 1-mm screen and stored for chemical analysis.

Ruminal fluid and blood samples were taken just before morning feeding when calves were 16, 24, and 32 weeks of age. Ruminal fluid samples were collected via a stomach tube and transferred to a polypropylene conical tube, measured for pH immediately, then stored at -30°C for further analysis.

Blood samples were taken from the jugular vein. Nine-milliliter samples were collected in a vacutainer tube containing gel and clot activator for analysis of aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, urea nitrogen, total cholesterol, triacylglycerol, nonesterified fatty acids, phosphor lipid, magnesium, calcium, insulin, triiodothyronine, and thyroxine. In addition, 2-ml samples were collected in a vacutainer tube containing sodium fluoride for analysis of glucose.

Grazing and ruminating behavior was monitored visually for a 12-h period (from 6:00 to 18:00). Grazing and ruminating activities were noted every 10 min, and each activity was assumed to persist for the entire 10 min interval.

Sample analysis

Herbage samples were analyzed for DM, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude protein (CP), and TDN by the near-infrared ray procedure (NIR Model

6500, NIRSystems). Organic matter (OM) concentrations were determined by ashing in a muffle furnace at 550°C for 2 h. Supplemental concentrate samples were analyzed for their components by standard procedures. Seasonal changes of herbage quality and quantity are shown in Table 1. It was likely that chemical compositions and herbage mass were not different between the paddocks for HC steers and for MC steers.

Frozen ruminal fluid samples were thawed at room temperature and centrifuged at $2000 \times g$ for 20 min. Supernatant fractions were analyzed for ammonia nitrogen by the phenol-hypochlorite method ⁸⁾ and for volatile fatty acids (VFA) by gas chromatography (GC-17A, Shimadzu). Serum aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, urea nitrogen, total cholesterol, triacylglycerol, nonesterified fatty acids, phosphor lipid, and plasma glucose analyses were entrusted to a clinical laboratory. Serum magnesium and calcium were analyzed with the auto clinical analyzer (Synchron CX 5 Delta, Beckman Coulter). We used the enzyme immunoassay analyzer (AIA-600, Tosoh) for analysis of insulin, triiodothyronine, and thyroxine.

Calculations and statistical analysis

We used the GLM procedure of SAS ²⁶⁾ for all statistical

components. Although the steers were group-fed in our experiment, the coefficient of variation of final body weight was 12.6%. Hence, we considered that the mutual influence among the animals within the groups was vanishingly small; all random variables in this experiment were independent ³¹⁾. Assuming a completely random design, we analyzed growth data using an analysis of variance (ANOVA). Time sequential data (ruminal characteristics, blood constituents, and grazing behaviors) were analyzed using a repeated measures ANOVA ²²⁾. The sphericity assumption of errors was tested by Mauchly's sphericity test. When the assumption was not satisfied, we modified the degree of freedom for the F-test using the Greenhouse-Geisser epsilon. When the null hypothesis was rejected in the F-test ($P < 0.05$), sampling period differences (including the effects of age and advancing season) were evaluated for linear and quadratic effects with orthogonal polynomials. If significant treatment \times sampling period interactions were detected ($P < 0.05$), treatment differences were evaluated in each sampling period. Because the calves were fed in groups, we were not able to calculate the statistical significance of the differences in feed intake data.

Table 1. Seasonal changes in chemical composition of herbage, sward height and herbage mass

Treatments	Item	Early June	Early July	Early August	Early September
HC	DM (g/kg FM)	234.2	276.5	161.2	235.1
	OM (g/kg DM)	889.6	916.7	886.6	896.4
	CP (g/kg DM)	203.7	180.4	197.9	183.2
	NDF (g/kg DM)	536.8	566.1	564.7	580.5
	ADF (g/kg DM)	275.4	292.1	309.5	322.7
	EE (g/kg DM)	36.1	42.5	43.7	37.0
	TDN (g/kg DM)	585.0	608.6	612.8	568.6
	Sward height (cm)	26.1	28.7	35.5	30.7
	Herbage mass (kg DM / 1000m ²)	136.1	163.7	156.6	260.6
MC	DM (g/kg FM)	205.4	261.2	180.1	215.3
	OM (g/kg DM)	895.4	908.0	896.6	891.0
	CP (g/kg DM)	190.6	169.7	198.2	185.8
	NDF (g/kg DM)	573.4	580.4	526.2	581.2
	ADF (g/kg DM)	284.4	306.1	294.0	323.9
	EE (g/kg DM)	40.5	38.8	46.1	39.0
	TDN (g/kg DM)	579.4	585.9	635.3	564.7
	Sward height (cm)	29.8	29.8	36.7	32.0
	Herbage mass (kg DM / 1000m ²)	134.2	150.7	191.5	240.4

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture. FM: fresh matter; DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; EE: ether extract; TDN: total digestible nutrients.

Table 2. The effects of concentrate supplementation level on performance in growing Wagyu steers on pasture

Item	Treatments		s.e.	P value
	HC	MC		
n	6	6		
Initial weight (kg)	105.6	100.1	4.2	0.379
Final weight (kg)	209.0	205.4	10.7	0.817
Daily gain (kg)	0.70	0.72	0.06	0.872
Withers height gain (cm)	17.7	17.9	0.9	0.877
Final paunch girth/heart girth ratio	1.15	1.23	0.02	0.032
Final fattening index ^a	1.85	1.88	0.08	0.772
Final frame size index ^b	292.2	295.5	5.1	0.663
Final fat depth (cm)	0.52	0.53	0.05	0.799
Feed intake ^c (kgDM/d)				
forage	1.1	1.7	-	-
concentrate	2.6	2.2	-	-
total	3.7	3.9	-	-

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture.

^a body weight ÷ withers height (Oka et al. 1999)

^b Calculated from the body measurements data vector (Sugimoto et al. 2001) which was taken at the end of the experiment.

^c No statistical analysis for this data. Forage intake was estimated from TDN requirements for growth (based on Japanese Feeding Standard, MAFF 2000).

Results and Discussion

Performance

Calves were generally healthy and, importantly, health status traits did not vary between the treatment groups (data are not shown). Growth performance of the steers is presented in Table 2. Daily gain (DG) was not affected by the treatment groups, indicating that energy and protein intakes were similar between the treatments. The paunch girth / heart girth ratio at 32 weeks of age was higher ($P < 0.05$) for the MC steers than for the HC steers, indicating that the rumen/reticulum size would be greater for the MC steers than for the HC steers²⁰). Such an increase in the rumen/reticulum size is probably attributable to the intake of a great deal of herbage by the MC steers in the grazing period, with a subsequent increase in intestinal activity. Other growth data, especially withers height gain and frame-size index, were not significantly affected by either treatment. These results suggested that the supplemental concentrate over the MC level did not contribute to increasing the body weight gain and skeletal growth of grazing Wagyu steers.

The remains of concentrates were not observed throughout the experiment in either group. By design, concentrate intake was greater for the HC steers than for the MC steers. Conversely, calculated herbage intake tended to be greater for the MC steers than for the HC steers. Supplementing forage with grain-based concentrates often decreases forage

intake¹⁷). French *et al.*⁷) reported that increasing supplementary concentrate reduced grass intake on an autumn grass pasture. The reduction in forage intake by grazing in response to energy supplementation has been termed substitution³). The substitution rate, defined as the decrease in herbage intake per unit supplement, was 1.5 between the MC steers and the HC steers. This rate was slightly higher than that noted by Kristensen and Aaes¹⁰), who reported a substitution rate of 1.1 between moderate (6.3 kgDM) concentrate-fed cows and high (7.6 kgDM) concentrate-fed cows. The substitution rate is influenced by the method used to calculate the intake of herbage¹⁰). In our experiment, herbage intake was measured from performance, assuming a constant digestibility of herbage. Because increasing the grain-based concentrate supplementation generally reduces the forage fiber digestibility, the herbage intake of the HC steers has probably been underestimated; therefore, the substitution rate might be overestimated.

Time spent grazing and ruminating during the daytime (from 06:00 to 18:00) is shown in Table 3. No “treatment × observation period” interactions were detected. Krysl and Hess¹¹) showed in their review that nighttime grazing represents a small percentage of the total daily grazing time and contributes minimally to daily forage intake. In cattle, 65% to 100% of daily grazing time occurs between 06:00 and 19:00 over a wide range of environmental temperatures, supplementation regimens, grazing management and forage

Table 3. The effects of concentrate supplementation level on grazing behavior^a in Wagyu steers on pasture

Item	Treatment		s.e.	Pvalue	Observation period				s.e.	Contrast ^b		
	HC	MC			16 wk (JUN)	20 wk (JUL)	25 wk (AUG)	29 wk (SEP)		L	Q	C
n	6	6			12	12	12	12				
Grazing (min)	119.1	171.3	11.2	0.002	95.0	159.2	137.5	195.5	14.0	<0.001	0.828	0.012
Ruminating (min)	105.7	145.4	9.8	0.006	84.2	93.3	177.5	150.9	9.3	<0.001	0.065	<0.001

No significant "treatment × observation period" interactions were detected for each variable.

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture.

JUN: early June; JUL: early July; AUG: early August; SEP: early September.

^a Grazing behavior was monitored visually for a 12-h period (from 6:00 to 18:00).

^b Observed significance level for linear (L), quadratic (Q) and cubic (C) effects of the sampling period.

types, according to their review. We observed grazing activity during approximately the same time period; therefore, we deemed daily grazing activities possible to assess.

Grazing times declined significantly ($P < 0.01$) with increased concentrate supplementation, indicating that the roughage intake was lower for the HC steers than for the MC steers. Krysl and Hess¹¹⁾ indicated that a negative relationship was noted between forage OM intake and grazing time, and they reported that supplementation seemed to decrease grazing time. In our experiment, the grazing time of Wagyu steer calves decreased from 171.3min/12h with 50 gDM/BW^{0.75} concentrate to 119.1min/12h with 57.5 gDM/BW^{0.75}. The fall in grazing time with the supplemental concentrate increase was in agreement with the findings of Sarker and Holmes²⁵⁾, who reported that minutes per day spent grazing decreased from 495 with 2 kg concentrates to 359 with 8 kg. Caton and Dhuyvetter³⁾ noted that if grazing time was decreased, energy demands from work associated with grazing should also decrease, which suggests that energy expenditure associated with grazing would be lower for the HC steers than for the MC steers in our study. However, no differences in growth performance were noted between the HC steers and the MC steers, suggesting that declining energy expenditure associated with grazing in the HC steers did not alter growth performance under our experimental conditions.

Grazing time was influenced in terms of both linear ($P < 0.01$) and cubic ($P < 0.05$) effects by advancing the experimental period, and it decreased from July to August. A cubic response ($P < 0.01$) was also observed across the period for the ruminating time. The reduction in grazing activities is probably due to the decrease in forage intake associated with the onset of midsummer and the reduced quality of the grasses.

Ruminal characteristics

No significant "treatment × sampling period" interactions were detected for ruminal characteristics (Table 4) except in the case of isovalerate; however, the nature of the interactions did not preclude evaluation of main effects (changes in magnitude of differences but not in direction). The supplemental concentrate level did not influence ruminal pH, NH₃-N or total VFA concentrations.

In general, increasing the supplemental concentrate decreased the ruminal pH as a result of an increase in dietary starch. A declining ruminal pH associated with an increase in dietary starch should affect the ruminal bacteria toward a greater amylolytic and lower cellulolytic population. The resulting bacteria shifts were thought to reduce fiber digestion and negatively affect the intake of grazed forage. However, in the present study, the supplemental concentrate level did not alter ruminal pH. This result was in agreement with that of Pordomingo *et al.*²³⁾, who showed that cattle grazing a summer range that are supplemented with increasing levels of corn demonstrate no reduction in ruminal pH, which averaged between 6.3 and 6.4. Moreover, Caton and Dhuyvetter³⁾ noted that ruminal pH was not always reduced by grain supplementation. Growth of cellulolytic bacteria is reduced when the ruminal pH falls below 6.2²¹⁾; therefore, detrimental effects on fiber digestion induced by low ruminal pH resulting from an increase in concentrate supplementation seem unlikely in our experiment.

Pordomingo *et al.*²³⁾ indicated that a decrease in forage organic matter intake as grain supplementation levels increased could have resulted from the combined effects of substitution and decreased forage digestibility. Therefore, the decreased forage intake in the HC steers compared with that in the MC steers, as noted above, might not have been caused by decreasing forage digestibility but by substitution.

Ruminal NH₃-N concentrations ranging from 6.5 to 11.5,

Table 4. The effects of concentrate supplementation level on ruminal characteristics in Wagyu steers on pasture

Item	Treatment		s.e.	Pvalue	Observation period			s.e.	Contrast ^b	
	HC	MC			16 wk (JUN)	24 wk (JUL)	32 wk (SEP)		L	Q
n	6	6			12	12	12			
pH	6.94	6.89	0.06	0.566	6.96	6.96	6.83	0.07	0.165	0.430
Ammonia nitrogen (mg/dL)	9.8	9.6	1.0	0.897	6.5	11.1	11.5	1.0	0.001	0.095
Total VFA (mmol/dL)	4.1	4.2	0.3	0.920	3.8	3.8	4.9	0.4	0.069	0.215
Molar proportions										
Acetate	0.6104	0.6576	0.0096	0.002	0.6287	0.6503	0.6199	0.0134	0.651	0.127
Propionate	0.2445	0.2028	0.0118	0.017	0.2580	0.1953	0.2189	0.0141	0.053	0.014
Butyrate	0.0859	0.0839	0.0061	0.815	0.0611	0.0923	0.1028	0.0053	0.001	0.106
Isobutyrate	0.0169	0.0183	0.0012	0.439	0.0160	0.0192	0.0175	0.0015	0.419	0.189
Valerate	0.0173	0.0162	0.0014	0.553	0.0203	0.0140	0.0159	0.0015	0.042	0.029
Isovalerate	0.0250	0.0213	0.0021	0.205	0.0159	0.0290	0.0249	0.0021	0.004	0.001
Acetate/propionate ratio	2.7	3.3	0.2	0.014	2.5	3.5	2.9	0.2	0.197	0.006

No significant "treatment \times sampling period" interactions were detected for ruminal characteristics except for isovalerate; however, the nature of the interaction did not preclude evaluation of main effects (changes in magnitude of differences but not direction).

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture.

JUN: early June; JUL: late July; SEP: late September.

a Observed significance level for linear (L) and quadratic (Q) effects of the sampling period.

with averages of 9.6 to 9.8, were substantially above the 1.5 to 6.5 mg/dL recommended by Satter and Slyter²⁷⁾ to obtain optimal microbial protein synthesis, which represents approximately 5 mg/dL. Ammonia nitrogen increased linearly (linear; $P < 0.01$) as the sampling period advanced, indicating that degradable protein in the rumen increased with the advancing period.

The lack of differences in total VFA noted between the treatment groups suggested that increasing supplemental concentrate did not increase fermentable substrate in the rumen. As Chase and Hibberd⁴⁾ described, when total VFA concentrations were considered indicative of VFA production, similar total VFA concentrations for each treatment suggested that there would be a little if any difference in the energy balance between the HC steers and the MC steers. Total VFA tended to increase (linear; $P < 0.1$) as the sampling period advanced, indicating that the fermentable substrate in the rumen increased with advancing period. This might be due to an increasing forage OM intake associated with the growth of steers. Hess et al.⁹⁾, working with yearling beef cattle consuming pasture grass (intermediate wheatgrass) and supplemented with protein sources, also found that OM intake increased linearly with advancing period.

The molar proportion of acetate was higher ($P < 0.01$) for the MC steers than for the HC steers, and that of propionate was higher ($P < 0.05$) for the HC steers than for the MC steers, findings that were in agreement with those of Naruse *et al.*¹⁶⁾. Therefore, the acetate/propionate ratio was higher ($P < 0.05$) for the MC steers than for the HC steers. The molar proportions of butyrate, isobutyrate, valerate, and isovalerate were not significantly affected by the treatments. Butyrate increased linearly (linear; $P < 0.01$) with advancing period, a result that might also be explained by the increasing forage OM intake associated with growth of steers. A quadratic response was noted for valerate (quadratic; $P < 0.05$) and isovalerate (quadratic; $P < 0.01$). The reasons for these responses were unclear.

Blood constituents

Except for serum urea nitrogen, no "treatment \times sampling period" interactions were detected for blood constituents (Table 5 and Fig. 1). Aspartate aminotransferase and gamma - glutamyl transpeptidase activities did not differ between the HC steers and the MC steers, indicating few adverse effects on liver function as a result of increasing supplementation level.

Serum phosphor lipid concentrations were higher ($P < 0.05$)

Table 5. The effects of concentrate supplementation level on blood constituents in Wagyu steers on pasture

Item	Treatment		s.e.	Pvalue	Observation period			s.e.	Contrast ^b	
	HC	MC			16 wk (JUN)	24 wk (JUL)	32 wk (SEP)		L	Q
n	6	6			12	12	12			
AST (IU/L)	77.4	86.9	4.1	0.113	82.5	82.9	81.1	5.3	0.851	0.863
γ -GTP (IU/L)	22.3	22.5	2.6	0.952	23.1	25.6	18.7	3.1	0.320	0.223
Total cholesterol (mg/dL)	35.8	43.7	3.0	0.076	30.4	44.8	44.2	3.4	0.008	0.085
Triacylglycerol (mg/dL)	10.9	12.3	0.8	0.221	11.2	12.8	10.8	1.0	0.762	0.122
Nonesterified fatty acids (mEq/L)	0.31	0.31	0.03	0.857	0.41	0.29	0.23	0.02	<0.001	0.210
Phospholipid (mg/dL)	56.3	68.9	3.5	0.014	51.4	70.3	66.1	4.0	0.015	0.025
Glucose (mg/dL)	80.6	81.7	2.0	0.678	82.3	79.8	81.4	2.4	0.810	0.490
Magnesium (mg/dL)	2.5	2.6	0.1	0.941	2.6	2.7	2.4	0.1	0.029	0.074
Calcium (mg/dL)	10.0	9.8	0.1	0.299	9.9	10.0	9.8	0.1	0.353	0.257
Insulin (μ U/mL)	9.2	2.2	4.2	0.251	2.5	12.1	3.3	5.3	0.917	0.163
Triiodothyronine (ng/mL)	2.1	2.3	0.1	0.295	2.1	2.1	2.3	0.2	0.440	0.561
Thyroxin (μ g/dL)	5.5	5.4	0.4	0.779	5.2	4.3	6.8	0.3	0.001	0.001>

No significant "treatment \times sampling period" interactions were detected for each variable.

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture.

AST: aspartate aminotransferase; γ -GTP: gamma-glutamyl transpeptidase.

JUN: early June; JUL: late July, SEP: late September.

^a Observed significance level for linear (L) and quadratic (Q) effects of the sampling period.

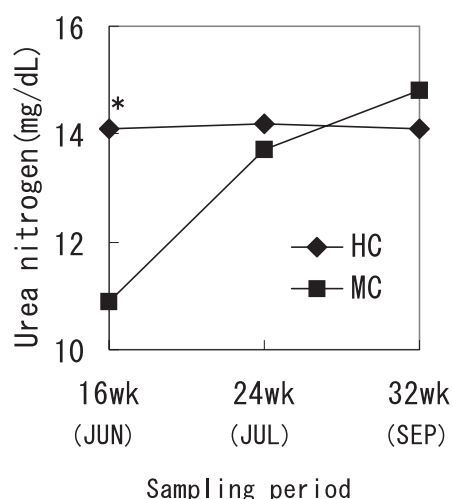


Fig 1. The effects of concentrate supplementation level on serum urea nitrogen in Wagyu steers on pasture

"Treatment \times sampling period" interactions were detected ($p < 0.05$) for this variable.

HC: fed at 57.5 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture; MC: fed at 50 gDM/BW^{0.75} concentrate on pasture.

*: a significant difference ($P < 0.05$) was observed between the treatments at 16 wk of age.

JUN: early June; JUL: late July; SEP: late September.

for the MC steers than for the HC steers. Serum total cholesterol tended to be higher ($P < 0.1$) for the MC steers than for the HC steers. The triacylglycerol concentration was numerically higher for the MC steers than for the HC steers, but the difference was not significant. For serum lipid, most

measurements assess total cholesterol, triacylglycerol, and phosphor lipid concentration¹⁵). We found that these serum lipid components were higher for the MC steers than for the HC steers. In general, serum lipid concentrate correlated with energy intake¹⁵), though we estimated that energy intake was similar for the two treatments. Therefore, the concentrate *versus* herbage ratio in diets, although isoenergetic, probably changes the lipid metabolism of grazing calves.

Serum glucose, magnesium, calcium, triiodothyronine, and thyroxin concentrations were not affected by the treatments or advancing period. Serum total cholesterol increased linearly (linear; $P < 0.05$), and nonesterified fatty acids concentrations decreased linearly (linear; $P < 0.05$) with advancing sampling period, indicating that the energy status of the steers improved with advancing age or grazing stage. Serum phosphor lipid, magnesium, and thyroxin responded quadratically (quadratic; $P < 0.05$).

Serum insulin concentrations were numerically higher for the HC steers than for the MC steers, but this difference was not significant. Bodine and Purvis²) noted that nutrient intake influenced insulin concentrations. Furthermore, increasing ruminal propionate production, which has often been associated with high-concentrate diets, has been shown to stimulate pancreatic insulin secretion²⁴). McCann and Reimers¹³) showed that plasma insulin was higher in obese than in lean sheep. In the present study, the final fat depth was similar for the two treatment groups, indicating that the

degree of obesity was similar for the HC and MC steers. The serum insulin was numerically higher for the HC steers than for the MC steers probably because of the high ruminal propionate proportion in the HC steers.

A significant difference ($P < 0.05$) between the two groups was noted for serum urea nitrogen at 16 weeks of age, but not at 24 or 32 weeks of age. As noted above, this result was not due to the fact that protein intake in the MC steers was comparatively lower for microbial protein production.

Conclusions

We concluded that concentrate-based supplements above 50 gDM/BW^{0.75} depress grazing time and forage intake and have little effect on growth performance and ruminal function in grazing Wagyu steer calves. However, we found that the supplemental concentrate level influences the lipid metabolism of grazing calves.

Acknowledgments

We thank the technical staff of the Hokkaido Animal Research Center for their care of the animals and their technical support.

References

- 1) Baker, RD: Estimating herbage intake from animal performance. In Leaver J.D. (Eds.), *Herbage intake handbook*. The British Grassland Society, Maidenhead, pp.77-93 (1982)
- 2) Bodine, TN and Purvis, HT: Effects of supplemental energy and/or degradable intake protein on performance, grazing behavior, intake, digestibility, and fecal and blood indices by beef steers grazed on dormant native tallgrass prairie. *J. Anim. Sci.*, 81: 304-317 (2003)
- 3) Caton, JS and Dhuyvetter, DV: Influence of energy supplementation on grazing ruminants: Requirements and responses. *J. Anim. Sci.*, 75: 533-542 (1997)
- 4) Chase, CC and Hibberd, CA: Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. *J. Anim. Sci.*, 65: 557-566 (1987)
- 5) Comerford, JW, Harpster, HW and Baumer, VH: The effects of grazing, liquid supplements, and implants on feedlot performance and carcass traits of Holstein steers. *J. Anim. Sci.*, 79: 325-332 (2001)
- 6) Consortium: Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural research and teaching, First Edition. Consortium for Developing a Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, Champaign, IL (1988)
- 7) French, P, Riordan, GO, O'Kiely, P, Caffrey, PJ and Moloney, AP: Intake and growth of steers offered different allowances of autumn grass and concentrates. *Anim. Sci.*, 72: 129-138 (2001)
- 8) Hafley, JL, Anderson, BE and Klopstein, TJ: Supplementation of growing cattle grazing Warm-Season grass with protein of various ruminal degradabilities. *J. Anim. Sci.*, 71: 522-529 (1993)
- 9) Hess, BW, Park, KK, Krysl, LJ, Judkins, MB, McCracken, BA and Hanks, DR: Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate Wheatgrass pasture: Effects on nutrient quality forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation, and digestion. *J. Anim. Sci.*, 72: 2113-2123 (1994)
- 10) Kristensen, T and Aaes, O: Interaction between level of barley supplement, season and stage of lactation on performance of dairy cows at pasture. *Acta. Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.*, 49: 1-11 (1999)
- 11) Krysl, LJ and Hess, BW: Influence of supplementation on behavior of grazing cattle. *J. Anim. Sci.*, 71: 2546-2555 (1993)
- 12) Kunkle, WE, Johns, JT, Poore, MH and Herd, DB: Designing supplementation programs for beef cattle fed forage-based diets. *Proceeding of the American Society of Animal Science*, (1999) Available: <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings/0912.pdf>
- 13) McCann, JP and Reimers, TJ: Effects of obesity on insulin and glucose metabolism in cyclic heifers. *J. Anim. Sci.*, 62: 772-782 (1986)
- 14) MAFF (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries): *Japanese Feeding Standard for Beef Cattle 2000*. Japan Livestock Industry Association, Tokyo. (2000).
- 15) Morita, Z, Tsuchiya, H, Minami, T and Hattori, N: Serum lipid changes during the fattening period and their relation to carcass traits in Japanese Black steers. *Bull. Fac. Agric., Tottori Univ.*, 36: 19-27 (1984)
- 16) Naruse, M, Kajikawa, H, Morita, H, Hashiba, K, Maruyama, S, Morimoto, H, Miura, Y, Fujita, K, Fuke, T, Amari, M, Masaki, S, Ozutumi, K and Abe, A: Relationships of dietary and ruminal characteristics to carcass traits in Wagyu steers.

- Anim. Sci. Technol. (Jpn) 67, 146-152 (1996)
- 17) NRC: Nutrient Requirements of Beef Cattle, Seventh Edition. National Academy Press, Washington DC (1996)
 - 18) NARO(National Agricultural Research Organization): Standard Tables of Feed Composition in Japan 2001. Japan Livestock Industry Association, Tokyo (2001)
 - 19) Oka, A, Dohgo, T, Ohtagaki, S and Juen, M: Effects of roughage levels on growth, beef quality, ruminal characteristics and serum constituents in Japanese Black steers during the growing period. Anim. Sci. J. 70, 451-459 (1999)
 - 20) Oomori, S, Kawabata, A, Kobayashi, T, Hamada, T and Kameoka, K: The significance of paunch girth measurement of calves. Bull. Nat. Inst. Anim. Ind. 21, 69-75 (1968)
 - 21) Ørskov, ER: Rumen Microorganisms and their Nutrition. In Ørskov ER. (eds.), Protein Nutrition in Ruminants, Academic Press, New York. pp. 19-39 (1982)
 - 22) Pate, FM, Brown, WF and Hammond, AC: Value of feather meal in a molasses-based liquid supplement fed to yearling cattle consuming a forage diet. J. Anim. Sci. 73, 2865-2872 (1995)
 - 23) Pordomingo, AJ, Wallace, JD, Freeman, AS and Galyean, ML: Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. J. Anim. Sci. 69, 1678-1687 (1991)
 - 24) Sano, H: Control of secretion and action of insulin by volatile fatty acids in ruminants. Anim. Sci. Technol. (Jpn) 68, 993-1002 (1997)
 - 25) Sarker, AB and Holmes, W: The influence of supplementary feeding on the herbage intake and grazing behaviour of dry cows. J. Br. Grassl. Soc. 29, 141-143 (1974)
 - 26) SAS: SAS user's guide: SAS/STAT software Version 6 First Edition. SAS Institute Japan. Tokyo. pp. 569-603 (1995)
 - 27) Satter, LD and Slyter, LL: Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. Br. J. Nutr. 32, 199-208 (1974)
 - 28) Sugimoto, M, Sato, Y and Sagae, Y: Effect of concentrate level on performance in early-weaned growing Wagyu steers fed hay ad libitum. Bull. Shintoku Anim. Husb. Exp. Stn. 23, 1 - 9 (2000)
 - 29) Sugimoto, M, Yayota, C, Kuzuoka, S, Sato, Y, Sagae, Y and Miyazaki, H: Application of norm of body measurements data vector as an index of frame size in Wagyu steers. Bull. Beef Cattle Sci. 71, 11-16. (2001).
 - 30) Sugimoto, M, Yayota, C, Kuzuoka, S and Sato, Y: Effects of supplemental protein sources during the grazing period on performance, ruminal characteristics and blood constituents in early-weaned growing Wagyu steer calves. Anim. Sci. J. 74, 303-311 (2003)
 - 31) Yoshida, M: Design of experiments for animal husbandry, Fifth Edition. Yokendo, Tokyo (1989)

放牧時における補助飼料給与水準が黒毛和種去勢育成牛の発育・血液性状およびルーメン内溶液性状に及ぼす影響

杉本昌仁¹・八代田千鶴²・佐藤幸信¹・斉藤利朗¹・川崎 勉³

¹北海道立畜産試験場 ²北海道大学大学院 ³北海道立天北農業試験場

連絡者：杉本昌仁 (e-mail: sugimomh@agri.pref.hokkaido.jp)

放牧期間中に与える補助飼料給与水準の違いが、黒毛和種去勢子牛の発育・食草行動・ルーメン内溶液性状および血液性状に及ぼす影響を調べる目的で実験を行った。供試した子牛は12頭で、一日に57.5gDM/BW^{0.75}の補助飼料を与えるHC区と50gDM/BW^{0.75}の補助飼料を与えるMC区の2試験区を設けてそれぞれに6頭ずつ配置した。補助飼料は、市販の肉牛育成用配合飼料と圧パン大麦を1:1で混合したものをを用いた。体重測定を2週間隔で実施し、体重に合わせて補助飼料給与量を変更した。

試験期間中の日増体量は両区に差がなかった。試験終了時の「腹囲/胸囲」比はMC区がHC区より有意に大きくなり(P<0.05)、MC区の方が消化管の発達に優れることが示唆された。日中(6:00~18:00)の食草時間と反芻時間を観察したところ、どちらもMC区が長かった。ルーメン内溶液のpH・アンモニア態窒素・総VFA濃度に差は認められなかったが、「酢酸/プロピオン酸」比はMC区の方が高かった。血中の尿素態窒素濃度は、試験期間の初期においてMC区が有意に低い値を示した(P<0.05)。NEFA濃度は両区に差が無かった。以上の結果から、補助飼料給与水準を50gDM/BW^{0.75}以上に高めても放牧中の黒毛和種去勢子牛の発育や栄養状態に対する正の効果は無いと考えられた。

キーワード：放牧、給与水準、増体、黒毛和種

石炭灰(クリンカアッシュ)の牛ふん堆肥化副資材としての利用性

湊 啓子・渡部 敢・田村 忠・阿部 英則

北海道立畜産試験場

要 旨 石炭燃焼後に発生する石炭灰(クリンカアッシュ)の牛ふん堆肥化副資材としての利用性を検討した。乳牛ふんとおが粉を水分約70%となるように混合した区を0%区とし、0%区に用いたおが粉容積の10、30および50%を石炭灰で代替してそれぞれ牛ふんと混合し、それぞれ10、30および50%区とした。混合物各0.54m³を箱形容器につめ、温暖期と寒冷期の2回堆肥化試験を実施した。最高到達温度は2回の試験ともに50%区で顕著に抑制された。10%および30%区は、温暖期では0%区と同程度だったが、寒冷期では石炭灰の混合比率が増すにつれ最高到達温度は低下する傾向を示した。しかしながら、品温の積算値は2回の試験ともに50%区以外は同程度かやや上回る値を示し、有機物分解率も同様の傾向を示した。試験開始時の容積重は石炭灰の混合比率が増すにつれ高まり、0、10、30および50%区でそれぞれ約370、400、490および550 kg/m³であった。50%区でみられた発酵の抑制は、容積重が高まり通気性が低下したことによるものと推察された。以上の結果、石炭灰は堆肥化副資材として、おが粉の代替材として利用可能な資材であることが明らかになった。しかしながら、多量の石炭灰の混合は発酵を抑制するため、その代替率は30% (容積比) を上限として、牛ふんとの混合後の容積重が500 kg/m³以下となるように利用することが望ましいものと考えられた。

キーワード：石炭灰、牛ふん、堆肥、堆肥化副資材

道畜試研報, 26 : 24-30, 2007

緒 言

石炭燃焼後に発生する石炭灰は日本国内で年間987万t (平成15年度実績) 発生している。このうち約85%はセメント原料や建設材料等に利用されているが、残りの15% (約150万t) は埋め立て処分されている¹⁰⁾。石炭灰の発生量は将来的に増加することが予測されており、有効利用先の拡大が求められている。石炭灰は、集塵機で集められる微粉状のフライアッシュとボイラ底部で回収される溶結状のクリンカアッシュに大別される。クリンカアッシュは粉状のフライアッシュに比べ砂に近い粒度分布を示し、径0.2~20 μ m位の孔隙が多数あいているため、排水性、通気性がよいとされ⁹⁾、家畜の敷料や堆肥化副資材としての利用の可能性が期待されている。

家畜の敷料や堆肥化副資材には、おが粉、バーク、麦・稲稈、もみ殻などの農・林業から発生する副産物が用いられているが、いずれも地域的に偏在するため必要量の入手が困難な場面が多くみられる³⁾。その他、古紙類^{6, 11)}や剪定枝⁴⁾などの利用性が検討され一部で利用されている。また、廃材チップを利用したり、堆肥を乾燥して敷料として再利用する取り組みも行われている。資源の循環利用をうたう「バイオマスニッポン総合戦略」の策定や、「家畜排せつ物法の管理の適正化及び利用の

促進に関する法律」の施行により、堆肥化副資材の需要は今後さらに増大するものと予想される。このような背景の下、安価な敷料や堆肥化副資材の開発が強く求められている。

石炭灰の堆肥化副資材としての利用は、鶏糞処理資材としてフライアッシュの利用性を検討した報告がある⁷⁾、その他に詳細な検討例はみられない。堆肥化副資材としては、水分含量が高い家畜ふんの通気性を改善する機能が求められるが、石炭灰は容積重が高く単独で家畜ふんと混和しても通気性の改善効果は期待できない。

そこで本試験では、石炭灰 (クリンカアッシュ) の牛ふん堆肥化副資材としての利用性を、おが粉の一部代替材としておが粉と石炭灰の混合比率を変えて検討した。

材料と方法

石炭灰はストーカーボイラーより排出されたクリンカアッシュを用いた。試験に供したおが粉および石炭灰の理化学性状を表1に示した。乳牛ふんは道立畜産試験場内の繋ぎ牛舎で飼養されている泌乳牛のふんを用いた。この乳牛ふんに対しおが粉を水分約70%となるように混合した区を0%区として、0%区に用いたおが粉の10、30および50% (容積比) を石炭灰で置き換えて牛ふんと

連絡者：湊 啓子 (e-mail : minatokk@agri.pref.hokkaido.jp)

Table1. Ingredients and compositions of composting sub-materials

Ingredient	Trial season	p H	Moisture	Ash	Total carbon	Total nitrogen	Bulk density	Water capacity
			(%FM)		(%DM)		(kg/m ³)	
Sawdust	Warm	—	35.9	0.4	51.4	0.1	130	420
	Cold	5.6	44.6	0.5	49.9	0.1	180	
Coal ash	Warm	—	15.2	84.5	15.1	0.2	860	50
	Cold	5.6	5.2	84.7	15.0	0.2	790	

Table2. Mixture ratio of sub-materials

Treatment	Volume ratio		Weight ratio(fresh matter)			
	Sawdust	Coal ash	— Warm —		— Cold —	
			Sawdust	Coal ash	Sawdust	Coal ash
Tr.0%	1	0	1	0.0	1	0.0
Tr.10%	0.9	0.1	1	0.7	1	0.5
Tr.30%	0.7	0.3	1	2.8	1	1.9
Tr.50%	0.5	0.5	1	6.6	1	4.4

混合した区を、各々10、30および50%区とした(表2)。各混合物0.54m³を断熱材製の箱形容器(底面80×幅80×高85cm)に詰め屋内に置き、温暖期と寒冷期の2回堆肥化試験を実施した。試験期間は温暖期では7/25～9/14の51日間、寒冷期では2/28～6/7の96日間として、その間にそれぞれ切返しを2回(温暖期:詰込後10、24日目、寒冷期:31、51日目)おこなった。

試験開始時、終了時および各切返し時に総重量を計量し、よく混合して分析試料を採取した。これらの試料について、pH、水分、灰分、有機物、全炭素、全窒素、アンモニア態窒素、硝酸態窒素含量およびコマツナ発芽率を測定した。また、堆積物の品温は堆積中心部を温度センサー(熱電対)により4時間ごとに測定した。pH

およびコマツナ発芽率は堆肥等有機物分析法⁸⁾に準じて、水分は135℃恒量法、灰分は600℃・2時間の乾式灰化法で測定した。有機物含量は乾物含量から灰分含量を差し引いた値とした。全炭素および全窒素はCNコーダー(vario EL, Elementar Analysensysteme GmbH, Germany)、アンモニア態窒素および硝酸態窒素はフローインジェクション法(Aquatec 5400 Analyzer, FOSS TECATOR AB, Sweden)により測定した。

結果と考察

(1) 発酵温度の推移

堆肥化期間中の品温および外気温の推移を図1に、日

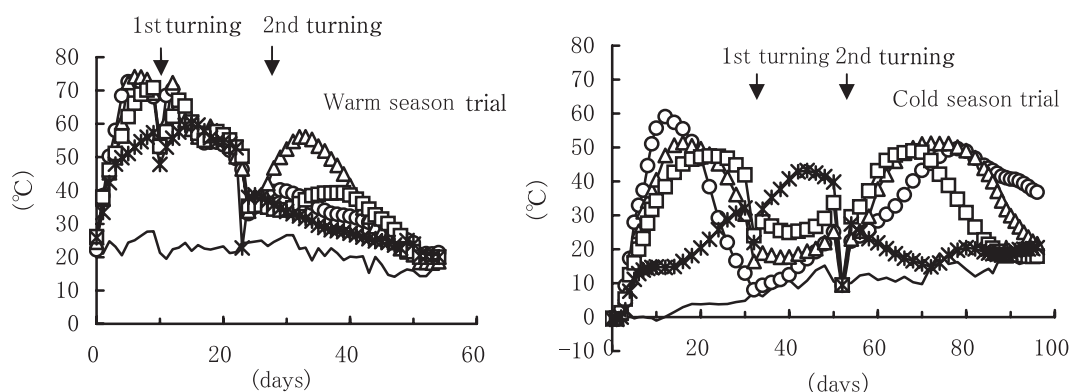


Fig.1 Changes in temperature of manure sawdust mixture added to different rate of coal ash and ambient temperature during composting

○— ; Tr.0% (Coal ash:Sawdust=0.0:1.0, V/v) ▲— ; Tr.10% (0.1:0.9)
 □— ; Tr.30% (0.3:0.7) *— ; Tr.50% (0.5:0.5) — Ambient temperature

Table3. Dairy mean temperature and accumulated temperature of ambient during composting of manure sawdust mixture added to coal ash.

Trial season	Time (day)	Tr.0% ¹⁾	Tr.10% ¹⁾	Tr.30% ¹⁾	Tr.50% ¹⁾	Ambient (°C)
Warm	51	2315	2497	2307	2038	1133
Cold	96	3109	3291	3134	2202	892

1)Tr.0% (Coal ash:sawdust=0.0:1.0 (v/v)), Tr.10% (0.1 : 0.9), Tr.30% (0.3 : 0.7), Tr.50% (0.5 : 0.5)

平均品温の積算値を表3に示した。外気温は温暖期試験では試験期間中20℃前後で推移した。寒冷期試験では堆積後10日間は0℃前後で推移、その後緩やかに上昇して2回目の切返し時には約10℃、試験終了時には約20℃まで上昇した。温暖期試験では、各区とも品温は試験開始後速やかに上昇し、0、10および30%区では5～10日で70～75℃の最高温度に達した。50%区では50℃以上の品温上昇が緩慢で、最高温度は1回目の切返し5日後の60℃であった。各処理区ともに1回目の切返し（堆積10日目）後に、品温は再上昇したが、石炭灰の混合割合が増すにつれ最高温度までの到達時間が長く温度は低かった。2回目の切返し（堆積24日目）後は10%区のみ58℃まで上昇したが、他の区の品温は緩やかな低下傾向を示した。寒冷期試験では、1回目の切返しまで外気温が10℃以下と低く、堆積物の品温上昇は温暖期に比べ緩慢で、かつ石炭灰の混合割合が高まるにつれてより顕著であった。最高温度は温暖期より10～20℃低く、0、10、30および50%区でそれぞれ59、51、49および43℃であった。

2回の堆肥化試験の結果、特に寒冷期試験において石炭灰の混合割合が高まるにつれて最高到達温度は抑制される傾向が強く見られた。しかしながら、堆肥化期間中の日平均品温の積算値（表3）は、温暖期、寒冷期試験ともに0%区に比べ50%区で顕著に低かったが、10%区

ではやや高く、30%区では同程度の値を示した。

(2) 有機物分解率の推移

堆肥化期間中の有機物分解率の変化を図2に示した。温暖期試験の有機物分解率は、顕著な温度上昇がみられた2回目の切返し（堆積24日目）までに急速に高まった。試験終了時では0%区と50%区では約20%と同程度であり、10%区および30%区ではそれぞれ28%、33%と0%区を大きく上回った。寒冷期試験では、温暖期試験よりも品温上昇が抑制されたため、有機物分解率の上昇は緩慢であったがしだいに上昇し、試験終了時では50%区以外は0%区を上回った。

前述したように、日平均品温の積算値は50%区以外は0%区と同程度かやや上回る程度であったが、有機物分解率は10%および30%区で0%区を大きく上回った。これは、リグニン等の難分解性の炭素化合物を多く含むおが粉を、無機質資材である石炭灰で代替したために、有機物中にしめる牛ふんに由来する易分解性画分が相対的に増加したことが影響しているものと考えられた。また、50%区は有機物中の易分解性画分が処理間で最も高いことが推察されるが、堆肥化の進行が顕著に抑制された結果として、有機物分解率は温暖期では0%区と同程度、寒冷期では0%区より低かったと考えられた。

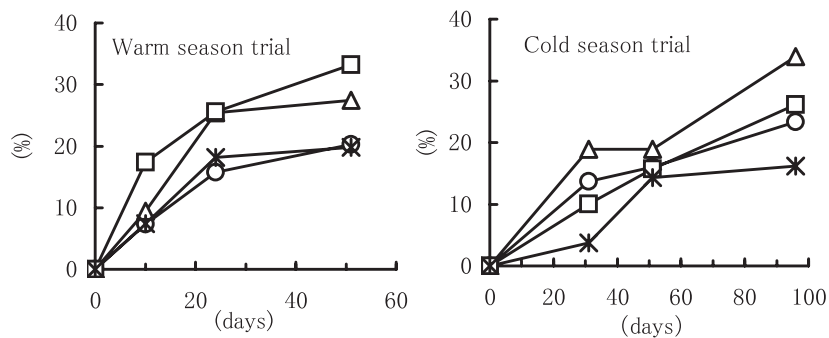


Fig.2 Changes in ratio of decomposition of organic matter during composting of manure sawdust mixture added to different rate of coal ash.

○— ; Tr.0% (Coal ash:Sawdust=0.0:1.0, V/v) △— ; Tr.10% (0.1:0.9)
 □— ; Tr.30% (0.3:0.7) *— ; Tr.50% (0.5:0.5)

Table4. Changes in bulk density during composting of manure sawdust mixture added to coal ash .

Trial season	Time (day)	Tr.0% ¹⁾	Tr.10% ¹⁾	Tr.30% ¹⁾	Tr.50% ¹⁾
Warm	0	379	388	487	568
	10	373	450	563	653
	24	339	434	552	640
	51	322	426	557	605
Cold	0	365	412	489	537
	31	421	471	530	610
	51	395	458	553	614
	96	330	420	544	604

1)Tr.0% (Coal ash:sawdust=0.0:1.0(v/v)),Tr. 10% (0.1:0.9),Tr.30% (0.3:0.7),Tr.50% (0.5:0.5)

Table5. Changes in chemical composition and germination percentage of komatsuna during composting of manure sawdust mixture added to coal ash (Warm season trial) .

Treatment ¹⁾	day	pH	Moisture (%FM)	Ash	Total carbon (%DM)	Total nitrogen	C/N ration	NH ₄ -N	NO ₃ -N	Germination percentage ²⁾ (%)
Tr.0%	0	6.0	71.1	5.1	48.7	0.7	70.5	0.41	0.00	57
	10	8.5	70.0	4.6	49.2	0.7	66.8	0.95	0.01	83
	24	7.8	69.1	5.7	47.9	0.8	62.1	0.32	0.04	90
	51	6.4	68.7	6.7	48.2	0.9	53.1	0.12	0.52	100
Tr.10%	0	7.5	62.8	35.3	35.8	0.6	60.4	0.41	0.00	77
	10	8.8	60.0	39.9	35.0	0.6	55.6	0.49	0.05	93
	24	8.7	58.6	47.6	30.7	0.6	50.9	0.00	0.04	100
	51	9.0	58.1	45.0	31.5	0.7	44.4	0.00	0.02	97
Tr.30%	0	8.1	55.0	52.6	26.8	0.5	57.2	0.26	0.00	97
	10	8.9	53.0	59.6	25.1	0.5	53.5	0.42	0.01	93
	24	8.8	51.4	61.9	25.4	0.5	49.1	0.01	0.00	100
	51	8.9	50.5	64.7	22.9	0.5	44.9	0.00	0.00	97
Tr.50%	0	8.7	49.1	66.8	27.0	0.5	58.7	0.23	0.00	97
	10	8.8	49.1	67.7	22.5	0.4	51.5	0.47	0.01	100
	24	8.8	47.6	70.5	22.3	0.5	47.7	0.00	0.00	100
	51	8.8	46.2	69.8	21.0	0.5	46.1	0.00	0.00	100

1)Tr.0% (Coal ash : sawdust=0.0 : 1.0, v/v), Tr.10% (0.1 : 0.9), Tr.30% (0.3 : 0.7), Tr.50% (0.5 : 0.5)

2)Komatsuna seed germination test

品温上昇と有機物分解率の結果より、堆肥化の進行は50%区では顕著に抑制されたが、10%および30%区では0%区と同等かやや上回る有機物分解が生じたと考えられた。

(3) 容積重の変化

堆肥化過程における容積重の変化を表4に示した。試験開始時の容積重は0、10、30および50%区でそれぞれ

約370、400、490および550kg/m³であり、石炭灰の添加割合が増すにつれ容積重は高まった。

堆肥化を良好に進めるには堆積物の通気性を良くすることが重要であり、通気性の目安としては空隙率(気相率)が30%以上必要であるとされ、現場では堆積開始時の容積重を500~600kg/m³以下に調整することが目安とされている¹²⁾。本試験においては、試験開始時の容積重はいずれも600kg/m³以下であったものの50%区では堆

Table6. Changes in chemical composition and germination percentage of komatsuna during composting of manure sawdust mixture added to coal ash (Cold season trial) .

Treatment ¹⁾	day	pH	Moisture (%FM)	Ash	Total carbon (%DM)	Total nitrogen	C/N ration	NH ₄ -N —(mg/gDM)—	NO ₃ -N	Germination percentage ²⁾ (%)
Tr.0%	0	7.5	70.9	2.8	48.7	0.7	67.5	0.22	0.01	40
	31	8.8	72.2	3.7	48.9	0.8	58.3	0.19	0.01	67
	51	8.0	72.8	3.3	48.8	0.8	58.1	0.00	0.09	70
	96	7.0	72.0	4.3	46.7	1.0	46.8	0.00	0.62	97
Tr.10%	0	7.5	61.2	36.4	32.9	0.5	63.7	0.03	0.00	47
	31	8.7	61.7	39.9	32.5	0.6	52.7	0.00	0.01	90
	51	8.5	62.5	39.8	32.3	0.6	51.7	0.00	0.03	100
	96	8.9	61.9	47.8	29.7	0.7	42.9	0.00	0.02	93
Tr.30%	0	7.9	53.1	53.8	26.5	0.5	53.3	0.06	0.01	93
	31	8.8	53.9	56.0	24.3	0.5	49.6	0.00	0.01	100
	51	8.4	53.3	58.7	26.1	0.5	47.6	0.00	0.03	100
	96	8.9	51.4	62.5	24.6	0.6	43.5	0.01	0.03	100
Tr.50%	0	8.2	49.9	65.7	22.2	0.4	49.5	0.00	0.01	97
	31	8.9	48.0	66.0	23.3	0.5	50.2	0.00	0.01	100
	51	8.7	48.3	69.2	21.3	0.5	46.7	0.00	0.01	100
	96	9.0	46.8	69.9	20.5	0.4	46.6	0.02	0.02	100

1)Tr.0% (Coal ash : sawdust=0.0 : 1.0, v/v), Tr.10% (0.1 : 0.9), Tr.30% (0.3 : 0.7), Tr.50% (0.5 : 0.5)

2)Komatsuna seed germination test

肥化が遅延した。上記目安はおが粉やもみ殻等の有機質資材を副資材として求められた値であることから、石炭灰のように容積重が高い副資材を利用する場合は、開始時の容積重が500kg/m³以下となるような範囲での利用が望ましいものと考えられた。

(4) 理化学性状の変化

堆肥化過程における理化学性状の変化を表5(温暖期)、表6(寒冷期)に示した。

試験開始時の水分含量は石炭灰の混合割合が高まるにつれ低下し、両試験ともに0%区の71%に対して50%区では約50%であった。堆肥化過程では寒冷期の0%および10%区を除き水分含量は2~5ポイント低下した。一般的に、水分含量の低下により通気性は高まるが、本試験ではおが粉に比べ含水量が低く容積重の高い石炭灰を混合しているため、石炭灰の混合による水分含量の低下は通気性の改善につながるものではないと考えられた。灰分含量は無機質資材である石炭灰の混合により、石炭灰の添加割合が増加するにつれて大幅に増加し、堆肥化過程でも増加傾向を示した。

試験に用いた石炭灰のpHは9.1とアルカリ性であったため、試験開始時の各混合物のpHは石炭灰の混合によりやや高まった。堆肥化過程では各区ともpHは上昇傾向を示したが、0%区では、堆肥化後半のアンモニア態窒素含量の減少および硝酸態窒素含量の増加に伴い下降

した。一方、10%、30%および50%区では試験終了時も硝酸態窒素含量は少量しか検出されずpHの下降は見られなかった。堆肥化後半の硝酸態窒素含量の増加は牛ふん堆肥の腐熟化の指標とされる²⁾が、石炭灰を副資材として混合した場合は腐熟の指標として利用できない可能性が示唆された。

全炭素、全窒素含量およびC/N比は石炭灰の混合により、混合割合が増すにつれ相対的に低下した。堆肥化過程においては、全炭素含量およびC/N比は各区ともに低下傾向を示したが、全窒素含量はほぼ一定か、やや増加する傾向を示した。

コマツナ種子の発芽率は0%および10%区では堆肥化の進行に伴い高まり、試験終了時にはほぼ100%であった。揮発性脂肪酸やフェノール性酸などの作物の生育に阻害的な影響を及ぼすとされる物質¹⁾は堆肥化の過程で消失したものと考えられた。30%および50%区の発芽率は試験開始時ですでに90%以上と高かった。これは、それらの処理区では現物重量の約4~6割が石炭灰であるため、発芽阻害成分を含むふん尿やおが粉の含有量が少なかったためと推察された。

以上、石炭灰の牛ふん堆肥化副資材としての利用性、おが粉の代替材として石炭灰とおが粉の混合比率を変えて検討した結果、石炭灰は堆肥化副資材として、おが粉の代替材として利用可能な資材であることが明らかになった。しかしながら、多量の石炭灰の混合は容積重を高

め堆肥化を抑制するため、その代替率はおが粉の30% (容積比)を上限として、ふん尿との混合後の容積重が500kg/m³以下となるように利用することが望ましいものと推察された。

石炭灰には原料となる石炭に由来する重金属(ヒ素、クロム、セレン)やホウ素、フッ素などが多量に含まれるものが稀に存在する⁵⁾が、本試験で供試した石炭灰においては、それらは不検出か肥料取締法や土壤環境基準値の規制値以下であった。堆肥化副資材として利用する場合は重金属、ホウ素およびフッ素含量がそれらの規制値以下であることが利用の前提となる。

謝辞

本試験は、住友石炭工業(株)からの受託試験(課題名;石炭灰の敷料化試験)の一部として実施したもので、試験に必要な石炭灰の提供を受けた。関係各位に謝意を表する。

引用文献

- 1) Haga, K. Production of compost from organic waste. FFTA Extension Bulletin. 311, 1-18 (1990)
- 2) 原田靖生. 家畜ふん堆肥の腐熟度. 畜産環境対策大辞典. 127-130. 4. (1995)
- 3) 堀江秀夫. 北海道における家畜敷料の需給予測. 林産試験場報告. 15 (5) : 10-20 (2001)
- 4) 市川明・中谷洋・増田達明・加納正敏・平山鉄夫. 高水分牛ふん尿の堆肥化における梨剪定枝の利用法. 33 : 287-292 (2001)
- 5) 木村龍男. 「石炭中の微量元素—その地球化学と環境問題」『応用石炭組織学会論文集』No. 15 (1996年)
- 6) 小柳渉. シュレッター裁断紙を利用した乳牛ふんの堆肥化. 新潟畜セ研報. 13 : 16-17 (2001)
- 7) 増谷寿彦・山上喜久・小滝正勝. フライアッシュを基材とする鶏糞処理資材の利用性. 埼玉県鶏試研報. 29 : 35-40 (1996)
- 8) (財)日本土壤協会. 堆肥等有機物分析法. (財)日本土壤協会. 21, 214 (2000)
- 9) 澤好博. 石炭灰の有効利用拡大・促進に向けて. CCT Journal. 8 (10) : 29-34 (2003)
- 10) 財石炭利用総合センター. 石炭灰全国実態調査報告書 (2003)
- 11) 芹澤駿治・大島貢・池田博保・村松重緒・日吉公男・遠藤恭延. 古紙及び紙系廃棄物の牛舎敷料及びふん尿堆肥化技術の検討. 静岡県畜試研報. 26 : 25-29 (2000)
- 12) 財畜産環境整備機構. 家畜ふん尿処理・利用の手引き. (財畜産環境整備機構. 31 (1999)

Utility of coal combustion clinker ash as a sub material in cattle manure composting

Keiko MINATO, Kan WATANOBE, Tadashi TAMURA and Hidenori ABE

Hokkaido Amino Research Center

Corresponding : Keiko Minato (e-mail : minatokk@agri.pref.hokkaido.jp)

This study was conducted to examine the utility of clinker ash produced after coal combustion as a sub material in cattle manure composting. In a control treatment (Tr 0%), cattle manure was mixed with sawdust to adjust the moisture content to 70%. Sawdust used in the control treatment (Tr 0%) was replaced by clinker ash at the rate of 10%, 30%, and 50% (v/v) as Tr 10%, Tr 30%, and Tr 50%, respectively, and each sub-material mixture was mixed with cattle manure. About 0.54m³ of each manure-sub-material mixture was piled in the composting apparatus. The experiment was carried out in both the summer and winter seasons. The maximum pile temperature of Tr 50% was lower than that of Tr 0% in both experiments. The maximum temperature of the piles in the summer was similar between treatments except for Tr 50%; in contrast, the temperatures in the winter tended to be lower as the clinker ash addition rate increased. However, the accumulated pile temperatures of Tr 10% and Tr 30% were similar to or higher than Tr 0%. In addition, the temperature of the decomposing organic matter showed a tendency similar to that of the accumulated pile during both seasons.

At the start of the experiment, the larger clinker ash addition rates resulted in higher bulk densities (about 370, 400, 490 and 550 kg/m³ for Tr 0%, Tr 10%, Tr 30% and Tr 50%, respectively). A lower ratio of decomposed organic matter in the Tr 50% seemed to be due to a decrease in air permeability with an increase in bulk density.

These results indicate that clinker ash can be used as an alternative sub material for sawdust in cattle manure composting. However, larger clinker ash additions suppressed composting because of a higher bulk density. Therefore, we suggest that at the start of composting clinker ash can replace up to 30% (v/v) of sawdust, or 500 kg/m³ of bulk density.

Key words : clinker ash, cattle manure, compost, sub material

豚のヘモフィルス・パラスイス感染に対するベンジルペニシリンの治療効果

仙名和浩・及川学・米道裕彌

北海道立畜産試験場

キーワード： *Haemophilus parasuis* , SPF豚, 抗生物質治療

Therapeutic effect of benzylpenicillin against *Haemophilus parasuis* infection of pigs.

Kazuhiro SENNA, Manabu OIKAWA and Hiromi YONEMICHI

Hokkaido Animal Research Center

Key words: *Haemophilus parasuis* , SPF swine, antibiotic therapy

緒 言

豚のヘモフィルス・パラスイス感染症はグレーサー病とも呼ばれ、*Haemophilus parasuis* (以下Hps) による全身性の感染症である。発症豚では発熱を主徴とし、多発性繊維素性漿膜炎、関節炎および髄膜炎にともなう発咳・呼吸困難、関節の腫脹および神経症状がみられ、重症例では急性の経過で死亡する。耐過豚においても肺や胸膜などの癒着を後遺し、発育不良などの被害をもたらす。Hpsが常在している豚群では、鼻粘膜などの気道に定着し、通常は健康保菌豚として認められ、群の再編成等によって散発的な発生をみる。一方、Hps陰性の豚に初感染すると、しばしば致死的な病原性を示す¹⁾。そのため、Hps陰性を維持しているSPF種豚場等から、Hps陽性農場に種豚候補豚を導入する際に、発病を予防する対策が必要となっている。

Hps感染症の予防には、Hps全菌体を用いた不活化ワクチンの接種が有効である。しかし、ワクチン製造に用いた株と野外株の血清型の組み合わせによっては、交差免疫による防御が期待できない場合があることが明らかになっている²⁾。こうした場合の対策として、発病の早期発見と抗生物質による治療が考えられる。そこで、Hps陰性のSPF豚にHpsを気管内接種し、発熱を発病の指標として、抗生物質による治療の効果を検討した。

材料および方法

1. 供試豚

細菌学および血清学的にHpsの浸潤が確認されてい

ないSPF豚農場で生産された子豚5頭(体重28.4~30.2kg)を用いた。供試豚は、Hpsの接種前に鼻汁および血液を採取し、それぞれHpsが分離されないことおよび血清中抗体が陰性であることを確認した。

2. 供試菌株

北海道内の症例から分離した滝川188株(PAGE I型、血清型2型)を用いた。同株は、Hps陰性のSPF豚に対し、 10^5 CFUの気管内接種で致死的な病原性を有する⁵⁾。接種菌は、 β NAD・豚血清加ハートインフュージョン液体培地を用い、37℃で19時間培養し、 10^4 CFU/mlとなるよう培地で希釈した。

3. Hpsの気管内接種

全身麻酔下で気管内に挿管し、カテーテルを用いて菌液を注入した。1頭あたりの注入液量は5ml、接種菌量は 5.1×10^4 CFUとした。

4. 処理区および抗生物質の投与

Hpsの接種後6時間おきに体温(直腸温)を測定し、初めて40.0℃以上の発熱を確認してから抗生物質の投与を開始するまでの時間により、12、24および48時間の3処理区を設け、それぞれに1頭(12H-1)、2頭(24H-1、24H-2)および2頭(48H-1、48H-2)を配置した。

治療に用いる抗生物質は、注射剤が市販され供試豚の感受性が高い薬剤の中からベンジルペニシリンを選択し、1回あたりの投薬量を90万単位とした。初回投与は試験処理により発熱確認後の経過時間で行い、2回目をその翌朝に、3回目を翌々朝にそれぞれ筋肉内注射した。解熱が認められなかった豚については、投与を継続した。

5. 体温の測定

Hpsの接種後の4日目まで6時間おきに直腸温を測定し、

連絡者：仙名和浩 (e-mail: sennak@agri.pref.hokkaido.jp)

その後5日目は朝夕の1日2回，6日目以降は朝1回とした。

6. 病変の確認および臓器からのHpsの分離

Hpsの接種後13日目（1頭のみ6日目）に血液を採取した後，安楽死させて肉眼病変の有無を確認した。そして，鼻汁，血液，脊髄，肺，肝，腎，脾，鼠蹊リンパ節，胸水，腹水，心嚢水および関節液を採取し，Hpsの分離を行った。

7. Hpsの培養

β NAD・豚血清加ハートインフュージョン寒天培地を用い，5% CO₂・37℃で一晩培養した。発育の見られたコロニーを純培養し，グラム陰性，カタラーゼ陽性， β NAD要求性，ウレアーゼ非産生および非溶血性によりHpsと同定した⁴⁾。

8. 血清中抗体価の測定

滝川188株のホルマリン不活化全菌体を抗原に用いた

補体結合反応により測定し，血清の希釈倍率4倍未満を抗体陰性と判定した。また，Hps接種後の抗体上昇は，希釈倍率が接種前よりも4倍以上上昇した場合を有意と判定した。

結果および考察

Hps接種前の検査により，鼻汁中からHpsは分離されず，血清中抗体価は4倍未満であったことから，供試豚はHps陰性であると考えた。

供試豚はHps接種後11～42時間で40.0℃以上の発熱を確認した。発熱時の臨床所見は，元気はやや消失するが食欲減退は明確でなかった。

処理区ごとの体温の推移を図1に示した。抗生物質の初回投与後に体温が40.0℃以下となるまでの時間は，

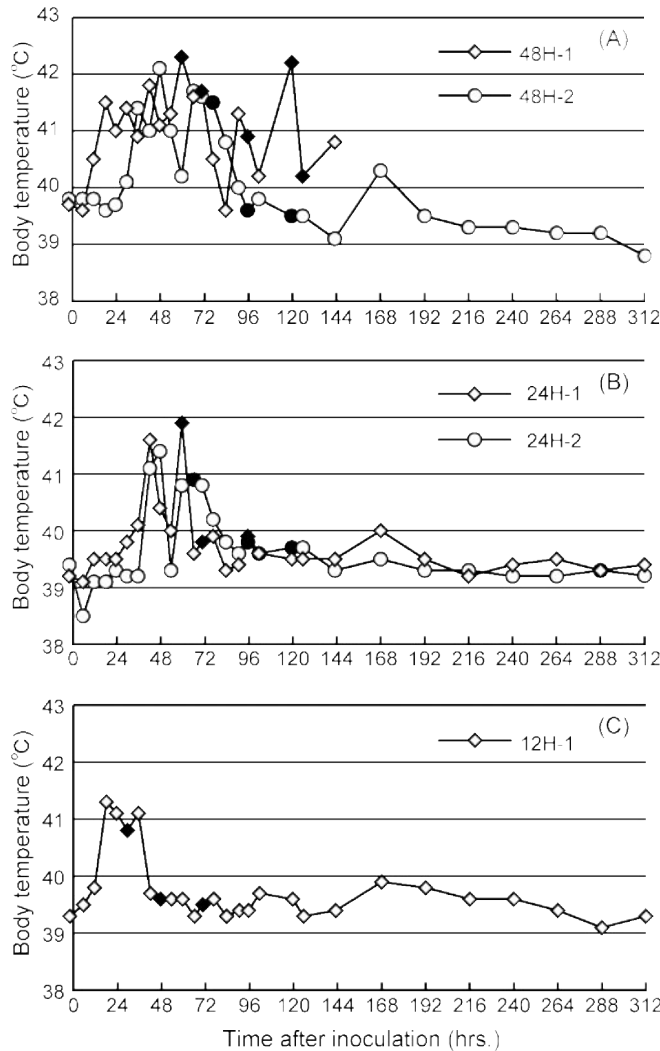


Figure 1 Change of body temperature after *H. parasuis* inoculation and antibiotic injection. Antibiotic injection was started 48 hours (A : 48H-1, 48H-2), 24 hours (B : 24H-1, 24H-2), and 12 hours (C : 12H-1) after the body temperature was first measured at over 40.0℃. The filled points (◆ or ●) indicate an antibiotic (benzyl penicillin) injection.

12H-1, 24H-1および24H-2ではそれぞれ13, 7および17時間と短かったが, 48H-1および48H-2ではそれぞれ24および19時間と延長する傾向が認められた。特に48H-1は, 一時的に解熱が認められたがすぐに再発熱し, その後も抗生物質の投与を継続したが解熱することはなく, Hpsの接種後6日目に観察を終了して剖検した。

剖検時の肉眼病変は, 12H-1, 24H-1および24H-2には認められなかった。一方, 48H-1は腹腔内に, 48H-2は心嚢内および腹腔内にそれぞれHpsの感染に起因すると考えられる繊維素性漿膜炎が認められた。

臓器材料等の細菌培養では, 解熱が認められた12H-1, 24H-1, 24H-2および48H-2の臓器材料等からHpsは分離されなかった。したがってこれらの豚では, 投与したベンジルペニシリンが有効に作用したと考えられた。一方, 一時的な解熱の後に再発熱した48H-1では, 脊髄からHpsが分離された。血液中に吸収されたベンジルペニシリンは, 血液脳脊髄液関門により脳脊髄液にほとんど移行しない³⁾。そのため, 脊髄に侵入したHpsに十分に作用しなかったと考えられた。

Hpsが分離されなかった4頭のHpsに対する剖検時の血清中抗体価は, 32倍または128倍以上に上昇していた。このことから, 4頭ともHpsの感染が成立していたことが確認された。

以上の結果から, 発熱を確認してから12または24時間後に抗生物質の投与を開始することにより, Hps感染症を治療できることが示された。一方, 48時間後に治療を開始した場合, 病変の後遺が認められ, また十分な解熱が得られない場合があり, 治療効果は不十分であると考えられた。Hps感染症の抗生物質による治療は, 臨床症状を確認後, 速やかに開始すべきとされているが, 指標とする臨床症状についての具体的な記載はない⁶⁾。今回の成績は, 40.0℃以上の発熱確認を指標とした場合の治療開始までの時間について目安を示すと考えられる。

今回の実験では, Hps接種後6時間間隔の体温測定時に40.0℃を超えた時点が抗生物質投与の基準時刻とした。発熱確認後6時間目ではいずれの個体も41.0℃以上の高体温を持続していたが, その後12時間目に向けて全頭が0.3~2.1℃の体温低下を示し(以下, 一過性の体温低下とする), うち1頭は40.0℃以下となった(図2)。Hps陰性の種豚候補豚をHps陽性農場に導入する場合に, Hps感染症の早期発見を目的として体温測定することが考えられる。このときの検温間隔を24時間(1日1回)とすると, 検温の12時間後に発熱した場合には, 次回の検温が一過性の体温低下と一致する可能性がある。この場合, 発熱を確認できるのは, 実際の発熱の36時間後となる。今回の実験では, 発熱後36時間から治療を開始した場合の効果については検討していないが, 少なくとも効果が確認された24時間以内に抗生物質治療を開始するた

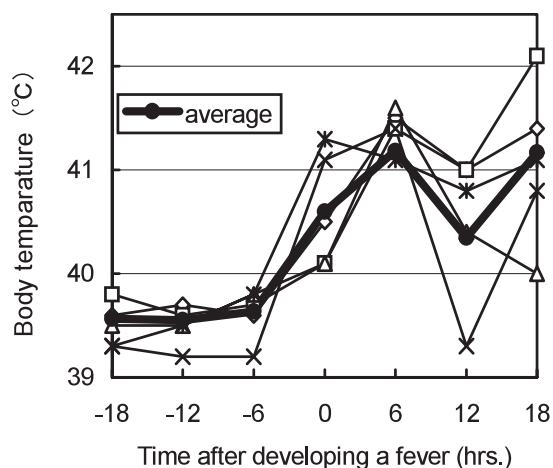


Figure 2 Change of body temperature after reaching over 40.0℃.

Time 0 : The first time measurement when the body temperature reached over 40.0℃.

めには, この一過性の体温低下を考慮して1日2回程度の体温測定が推奨される。

引用文献

- 1) 天野弘・梶尾規一・土屋守・柴田昌利・佐野幸男・鈴木隆春・山本明: SPF豚におけるグレーサー病の発生例. 日獣会誌, 46: 99-102 (1993)
- 2) Takahashi, K., Nagai, S., Yagihashi, T., Ikehata, T., Nakano, Y., Senna, K., Maruyama, T., Murofushi, J.: A Cross-Protection Experiment in Pigs Vaccinated with *Haemophilus parasuis* Serovars 2 and 5 Bacterins, and Evaluation of a Bivalent Vaccine under Laboratory and Field Conditions. J. Vet. Med. Sci., 63 (5) : 487-491 (2001)
- 3) 大久保義夫・吐山豊秋: 家畜薬理学第2次増訂改版: 16-17. 養賢堂, 東京 (1981)
- 4) 両角徹雄: グレーサー病. 豚病学第4版: 302-305. 柏崎守等編, 近代出版, 東京 (1999)
- 5) Senna, K., Oikawa, M., Yonemichi, H.: Glässer's Disease of Pigs Caused by Serovar 2 Strains of *Haemophilus parasuis*. XXV Congress of the World Veterinary Association, Abstracts: 141 (1995)
- 6) Rapp-Gabrielson, V. J.: *Haemophilus parasuis*. Disease of Swine 8th. Ed. : 475-481. Straw, B. E. et al. eds., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa (1999)

ウシの分娩開始を報知する装置の性能評価

南橋 昭¹⁾、清家 昇²⁾、本間正俊³⁾、石川和也³⁾、牧方末雄⁴⁾、堂地 修⁵⁾、
陰山聡一¹⁾、森安 悟¹⁾、澤井 健¹⁾、平山博樹¹⁾、山本裕介¹⁾

¹⁾北海道立畜産試験場 ²⁾(有)ランランETセンター ³⁾有限会社ユニテクノ

⁴⁾株式会社北海道フジワラ ⁵⁾酪農学園大学

キーワード：ウシ、分娩、分娩開始、娩出

Performance test of informing device of onset of parturition in cattle.

Akira MINAMIHASHI¹⁾, Noboru SEIKE²⁾, Masatoshi HONMA³⁾, Kazuya ISHIKAWA³⁾,

Sueo MAKIKATA⁴⁾, Osamu DOCHI⁵⁾, Soichi KAGEYAMA¹⁾, Satoru MORIYASU¹⁾,

Ken SAWAI¹⁾, Hiroki HIRAYAMA¹⁾ and Yusuke YAMAMOTO¹⁾.

¹⁾Hokkaido Animal Research Center ²⁾Ranran ET Center, Ltd. ³⁾Uni-Techno Company, Ltd.

⁴⁾Hokkaido Fujiwara, Inc. ⁵⁾Rakuno Gakuen University

Key words:cattle, parturition, onset of parturition, expulsion

緒 言

分娩事故による子ウシや母ウシの損失を防ぐため、分娩監視は畜産農家にとって不可欠な作業の一つである。乳用牛では約45%³⁾が分娩時に何らかの介助を行っている。また、胚移植技術の普及により価値の高い子ウシが産まれる機会が増加しており、従来にも増して分娩監視の必要性が高まっている。分娩が近づくと骨盤靭帯の弛緩、陰部の腫脹および浮腫、乳腺の腫脹、乳頭の膨大、乳頭開口部からの分泌物の漏出が起こるため、農家ではこれらの変化に基づく外部徴候により分娩日を予測している。しかし、これらの外部徴候は個体差が大きく、正確に分娩日を予測することはできない。また、体温の降下^{1,2,4)}および血糖値の上昇⁵⁾により分娩日を予知できることが報告されているが、分娩開始時刻を正確に知る技術はない。

われわれは、ウシの体温と外気温との温度差を利用して分娩開始を報知する装置（以下、「分娩報知機」と称す）を試作した。本機は、ウシの膈内に挿入したプローブが、分娩時に胎包等により体外に押し出され、プロー

ブがウシの体温から外気温への温度の低下を感知して信号を発信し、携帯電話に分娩開始を知らせるものである。本試験は、試作した分娩報知機の温度感知性能および分娩報知機を分娩前のウシに装着して、プローブの排出、発信機および受信機の作動などの性能を評価した。

材料および方法

1) 試作した分娩報知機

本試験で試作した分娩報知機は、発信機、プローブ、リングおよび受信機からなる（図1）。発信機はプローブ内に収納し、プローブを膈内に留置するためシリコン製のリングを取り付けた。発信機には温度センサーを配置し、設定温度は25～34℃とした。発信機が37℃未満では約5分待機後温度測定を繰り返し、37℃以上では警報待ちモードで5分毎に温度測定を繰り返し、設定温度以下になると設定回数（最大3回）の信号を10秒間隔で発信するプログラムとした。受信機には受信装置と携帯電話を配置し、連絡先電話番号は2つ指定でき、1台の受信機で最大8台の発信機に対応可能とした。受信機が発

連絡者：南橋 昭 (e-mail: minamiha@agri.pref.hokkaido.jp)

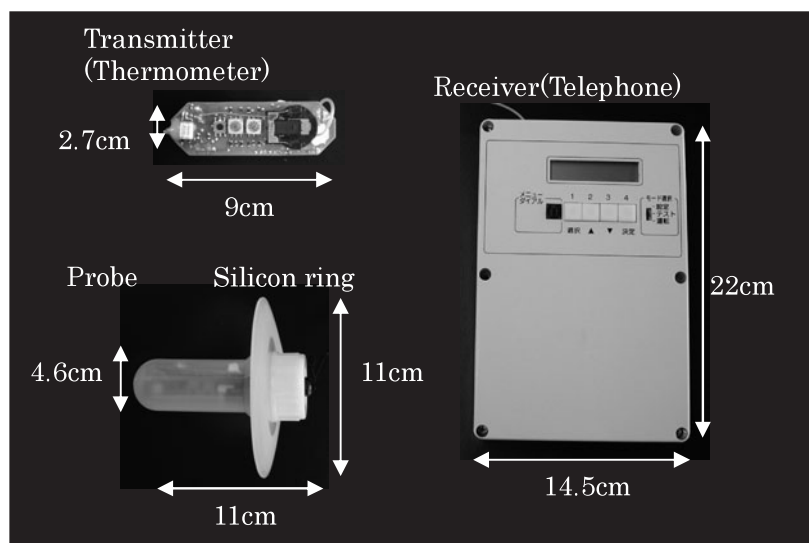


Fig 1. Informing device of onset of parturition

信機からの信号を受信するとすぐに指定の電話を呼び出すプログラムとした。

2) 分娩報知機の温度感知性能

受信機が外気温を感知する性能を評価するため、以下の実験を行った。実験室内でプローブを38.5℃に設定した恒温水槽に浸した後、種々の温度に暴露して携帯電話が鳴るまでの時間を計測した。設定温度は0℃（冷蔵庫）、20℃、30℃および33℃（恒温器）とした。4個のプローブを用いてそれぞれのプローブについて計測を4回繰り返した。発信機の設定温度は34℃（設定可能な最高値）とした（以下の実験も設定温度を34℃とした）。

3) 分娩報知機の作動性の評価

本機を分娩前のウシに装着し、プローブの排出、発信機および受信機の作動性を評価した。

(1) プローブの装着方法

発信機をプローブに収納し、分娩予定日前1週間前後のウシの膣内へ挿入した。プローブの挿入は、リングを指で押しつぶすようにし、できるだけ面積を小さくして挿入した（図2）。挿入時の膣内汚染防止のため、プローブおよび挿入する手や腕（直腸検査用手袋）は塩化ベンザルコニウム液や消毒用アルコールなどで消毒した。プローブが排出後、破損を防止するために臀部背側に接着した円盤状のビニールシートとひもで結んだ。

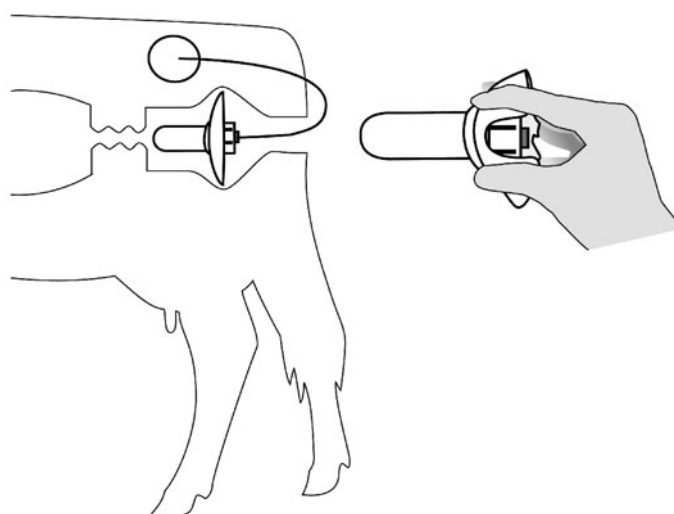


Fig2. The way to insert a probe of the information device of parturition for cattle.

(2) プローブの排出、発信機および受信機の作動性の評価

ホルスタイン種未経産牛1頭および経産牛8頭、アングス種経産牛13頭、黒毛和種経産牛2頭の合計24頭を用いた。分娩予定日の5～7日前にプローブを挿入した。プローブの排出については、無排出、誤排出および正常排出の発生頻度を調査した。

また、アングス種経産牛11頭について排出後の発信機および受信機の作動性を確認した。本機の作動については、無作動、誤作動および正常作動の発生頻度を調査した。

なお、プローブ排出および本機の作動状態は以下のように定義した。

無 排 出：分娩時に排出されるべきプローブが排出されないもの

誤 排 出：分娩ではないのにプローブが排出されるもの
正常排出：分娩に伴いプローブが排出されるもの（誤排出の後、プローブを再度挿入し、分娩に伴いプローブが排出されるものも含む）

無 作 動：プローブが排出されているのに本機が作動しない（携帯電話が鳴らない）もの

誤 作 動：プローブが排出されていないのに本機が作動する（携帯電話が鳴る）もの

正常作動：プローブが排出されて本機が作動する（携帯電話が鳴る）もの

結果と考察

本機の温度感知性能の検討では、設定温度が0℃、20℃、30℃および33℃のときのプローブの排出から分娩報

知までの平均時間は、それぞれ6.3分、8.0分、10.1分および12.2分であり、設定温度の上昇に伴い、所要時間が延長した（表1）。最短時間は1.7分、最長時間は19.9分であった。設定温度が33℃であっても20分以内に報知されることが示された。

本機の作動性の評価のうちプローブの排出状況の調査では、24頭中1頭（4.2%）で無排出が、5頭（20.8%）で誤排出が発生した（表2）。誤排出が発生した5頭のうち2頭は調査を中止し、3頭は再挿入して継続した。最終的に24頭中21頭（87.5%）が分娩に伴いプローブを排出した。

無排出が発生したのは、ホルスタイン種経産牛1頭で、分娩後もプローブが膈内に残り、プローブに取り付けたひもを引っ張ることにより、プローブを膈内から取り出した。このウシの膈腔内は広く、胎包および胎子によりプローブが膈内壁に押しつけられ排出されなかったと考えられた。

誤排出が発生したウシの挿入から誤排出までの時間を表3に示した。誤排出が発生したのは5頭で、1頭（A1）は4回の誤排出（排出後再挿入し、また、排出されるのを4回繰り返した）が発生したため一旦中止し、分娩予定日に再度プローブを挿入したところ、12時間後に分娩に伴いプローブが排出された。3回の誤排出が発生した2頭（B1、D1）は、すべての誤排出が1日以内に発生したため、誤排出と正常排出の判別が困難と判断し、中止した。誤排出を複数回発生したウシの膈腔内はいずれも狭く、ウシが激しい怒責を見せた。プローブ挿入後4日目および27時間目にそれぞれ1回の誤排出が発生した2頭（A2、A3）は、プローブ再挿入後、分娩に伴いプローブが排出された。これらのウシの膈腔内もやや狭かった。また、これら膈腔内が狭いウシでは、プ

Table 1. Effect of air temperature on the time to alarm call after the expulsion of a probe.

Air temperature	0℃	20℃	30℃	33℃
	minutes			
Average	6.3	8.0	10.1	12.2
Minimum	1.7	4.4	5.9	5.7
Maximum	9.1	12.0	14.7	19.9

Preset temperature of the parturition alarm apparatus is 34℃.

Table 2. State of expulsion of a probe.

No. of cows	Duration of placement of a probe (days)	State of expulsion		
		Non-expulsion	False-expulsion	Successful-expulsion
24	1-10	1(4.2%)	5(20.8%)	21(87.5%) ¹⁾

(%) : rate in no. of cows examined

¹⁾Three cows, which were inserted a probe again after false-expulsion, were included.

Table 3. The time to false- expulsion of a probe after insertion.

Cow No.	Frequency of false-expulsion of a prove				Remarks
	1st	2nd	3rd	4th	
A1	22 hr.	40 min.	37 hr.	7 hr.	Parturition followed successful-expulsion of a probe 12 hours after the 4th reinsertion discontinuation
B1	6 hr.	3 hr.	9 hr.		
D1	0.5 day	0.5 day	0.5 day		Parturition followed successful-expulsion of a probe 2 hours after the 1st reinsertion.
A2	4 days				
A3	27 hr.				Parturition followed successful-expulsion of a probe 2 days after the 1st reinsertion

A : Angus, B : Japanese black, D : Holstein

プローブが挿入しにくかった。これらのことから、腹腔内が狭く、誤排出が複数回発生するウシでは、本機の使用に際しては注意を要するものと思われた。このため、プローブおよびリングの形状、大きさおよび硬さを検討することが必要と考えられた。

発信機および受信機の作動性の評価では、調査したすべてのウシ11頭で分娩が報知された。3～6日間の挿入期間においては、無作動および誤作動は発生せず、発信機および受信機が正常に作動することが確認された。

なお、受信機の設置場所により、発信機と受信機が近いにもかかわらず、受信しにくい場所があったことから、牛舎構造（電波に影響を与えると思われる鉄柱などの構造物の存在）により受信範囲が異なると考えられる。あらかじめ設置場所で受信できることを確認しておく必要があると考えられた。

また、本試験に供試した24頭のうち、無排出が発生した1頭および誤排出が発生した5頭を除く18頭についてプローブが排出されてから胎子が娩出されるまでの時間を調査した（表4）。18頭のうち8頭のウシでプローブの排出時刻および胎子の娩出時刻を確認した。10頭のウシで携帯電話が鳴った時刻および胎子の娩出時刻を確認した。プローブが排出されてから携帯電話がなるまでの時間を8分（表1の20℃における平均値）とすると、プローブが排出されてから娩出までの平均時間は1時間21分であり、2時間までに18頭のうち16頭（88.9%）が娩出した。なお、18頭のうち9頭では分娩介助（破水、母ウシの努責なし等で実施）を行った。プローブが排出されてから娩出までの時間が1時間未満の2頭とも分娩介助が必要であったこと、排出から分娩報知まで1.7～19.9分かかることから、分娩事故に備えるためには分娩報知後すぐに牛を観察する必要があると考えられた。

供試したウシにおける1～10日間のプローブの挿入では、挿入によると思われる炎症等が見られなかった。また、分娩後の母ウシおよび産子に異常は認められなかった。

以上のことから、本試験において試作した分娩報知機が分娩開始を報知する装置として有効と判断された。

Table 4. The time to parturition after the expulsion of a probe.

Time (hour)	No. of cows	No. of cows assisted delivery
0.5 \geq	3	0
1.0 \geq	2	2
1.5 \geq	7	3
2.0 \geq	4	2
2.5 \geq	1	1
2.5<	1	1*

The time to alarm of mobile-phone after expulsion of a probe was assumed to be 8 minutes, when expulsion of a probe was not checked.

*:The time to parturition after the expulsion of a probe was 4.3hours.

引用文献

- 1) Ewbank, R.:Predicting the time of parturition in the normal cow : A study of the precalving drop in body temperature in relation to the external signs of imminent calving. *Vet. Rec.*, 75:367-371(1963)
- 2) 藤本泰裕・木村英司・澤田勉・石川全・松永寛・森純一：牛の分娩前徴一直腸温、心拍数および呼吸数の変化. *日畜会報*, 59:301-305(1988)
- 3) 北海道乳牛検定協会：、繁殖成績3)分娩難易度. 個体の305日間成績(付・繁殖成績), 22:45-46(1997)
- 4) 池滝孝・山口光治・石黒敏夫・鈴木省三：体温計測による乳牛の分娩時期予測について. *帯大研報*, 13:13-18(1982)
- 5) 松井義貴・川本哲：血糖値を用いた乳牛の分娩予測技術. *平成15年度研究成果情報(北海道)*, 198-199(2004)

場外学術雑誌掲載論文抄録

魚粉利用による泌乳牛の窒素排出量低減

扇勉, 糟谷広高, 藤田眞美子, 齊藤繁, 原悟志

日本畜産学会報 74 (4) : 509-515 (2003)

牧草サイレージ主体飼養で魚粉を利用して、乳生産を低下させずにどの程度窒素排泄量を低減できるか検討した。供試牛は泌乳中期の2産以上の乳牛6頭を用い、3×3ラテン方格法で窒素出納試験を実施した。供試飼料は混合飼料とし、牧草サイレージ、加熱圧ぺんとうもろこし、大豆粕および魚粉の乾物比率は、13% CP区で55:39:4:2、15% CP区で55:34.6:8.4:2、17% CP区で55:30:17:0とした。全飼料中の実測CP含量は各々13.2、15.1、16.7%であったが、TDN含量はいずれも76%であった。試験は1期18日間とし、糞尿は各期の最後の4日間全量採取し、採血は各期の最終日に行った。乾物摂取量、乳量、乳タンパク質量および乳脂肪量は処理間に差がなかった。窒素排泄量では、糞窒素量は処理間に差がなかったが、尿窒素量は17% CP区が125g/日、15% CP区が98g/日、13% CP区が69g/日と、飼料中CP含量の低下とともに著しい減少がみられた (いずれも $P < 0.05$)。乳中尿素窒素 (MUN) 濃度は17% CP区が14.3mg/dl、15% CP区が10.6mg/dl、13% CP区が7.3mg/dlと、飼料中のCP含量とともに低くなり (いずれも $P < 0.01$)、血清尿素窒素 (SUN) 濃度とも高い相関がみられた。また、MUN濃度およびSUN濃度は、尿窒素量とも相関が高く、尿窒素量低減の指標として有用と考えられた。血清遊離メチオニンおよびリジン濃度は、魚粉を添加した13% CP区および15% CP区が、動脈血および動静脈差ともにやや高い傾向にあった。これらから、魚粉添加により乳合成の制限アミノ酸となるメチオニンおよびリジンが補給され、飼料中CP含量を低く設定しても、乳生産を低下させずに、尿窒素量を低減できることが示唆された。

牧草サイレージ主体飼養における泌乳牛の糞尿量および窒素排泄量

扇勉, 峰崎康裕, 西村和行, 糟谷広高, 藤田眞美子, 原悟志

日本畜産学会報 74 (4) : 525-530 (2003)

根釧農業試験場で実施した初産牛および2産以上のウシの窒素出納試験データを用いて、牧草サイレージ主体飼養における乳牛の糞尿量および窒素排泄量を示すとともに、2産以上のウシのデータを用いて、飼料摂取量との関連を検討した。供試牛は初産牛が128頭、2産以上のウシが131頭であり、平均日乳量は各々23.1、31.5kg、体重は各々545、660kgであった。糞量は初産牛が35.8kg/日、2産以上のウシが51.4kg/日、尿量は各々13.8、13.0kg/日、合計量は各々49.6、64.3kg/日であった。糞窒素量は初産牛が146g/日、2産以上のウシが179g/日、尿窒素量は各々78、110g/日、合計量は各々225、289g/日であった。摂取窒素量に対する糞尿窒素量の割合は、初産牛が55.0%、2産以上のウシが55.9%であった。糞量はNDF摂取量と正の相関 ($r = 0.58$)、糞窒素量はCP摂取量と正の相関 ($r = 0.77$)、尿量および尿窒素量はTDN/CP比と負の相関 (各々 $r = -0.58$ 、 -0.65) がみられた (いずれも $P < 0.001$)。また、尿量は尿窒素量と正の相関 ($r = 0.78$ 、 $P < 0.001$) がみられ、飼料中のTDN/CP比を適正に保つことにより、尿窒素量の減少ばかりでなく、尿量も減少することが示唆された。

Relationship among fat accumulation in the liver, energy intake, milk fat yield and blood metabolites in dairy cows.

Tsutomu Ohgi, Shunichi Kamimura, Yasuhiro Minezaki and Masanobu Takahashi

Animal Science Journal 76 : 549-557 (2005)

For this study, we used 42 multiparous Holstein cows to investigate the relationship among fat accumulation in the liver, dry matter intake, milk yield, and blood metabolites. Based on the percentage of fat in the liver cell at two weeks after parturition, the cows were classified into three groups. These groups were: 1) less than 10% fat: normal group ($n = 29$), 2) 10-20% fat: mild group ($n = 6$), and 3) over 20% fat: moderate group ($n = 7$). Body weight of the moderate group was high (771kg) before calving. The sufficiency rates of total digestible nutrient (TDN) were remarkably decreased (approximate 65%) in early lactation. Milk fat yields and milk fat compositions of the moderate group were higher ($P < 0.05$) than the other groups at 1 and 2 weeks after the parturition. It was suggested that nonesterified fatty acid (NEFA) mobilized from adipose tissues was directly utilized by the mammary gland for synthesis of milk fat. The percentage of bromsulphalein (BSP) retention of the moderate group was high (21.1%) at 30 minutes, and it showed that the BSP clearance function was significantly decreased. The concentrations of NEFA, β -hydroxybutyric acid, and

glucose were appropriate indicators of energy status, however, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase and total bilirubin were not sensitive indicators of a moderate fatty liver. Thus, high-yielding cows that calve in an over fat condition are more likely to develop excessive fat accumulation in the liver because of great mobilization from adipose tissues after parturition. In cows with a moderate fatty liver, decrease of TDN sufficiency rates, increase of milk fat yield, and reduce of liver function were observed in early lactation. The increase of serum NEFA and milk fat composition resulting from mobilization of adipose tissues helped to diagnose moderate fatty liver.

Feed intake, lactation performance, blood metabolites and fertility in early lactation dairy cows grazing a timothy pasture
Tsutomu Ohgi, Satoshi Hara, Tadao Ozeki, Mamiko Fujita, Osamu Sakai, Hirotaka Kashuya, Akira Doukoshi and Kazuyuki Nishimura

Animal Science Journal 77 : 215-222 (2006)

The present study was conducted to investigate feed intake, milk yield, milk composition, blood metabolites and fertility in early lactation dairy cows grazing a timothy pasture. Fourteen multiparous Holstein cows that calved between 20 May and 19 July were used over a 3-year period. The stocking rate was 3.6-4.3 cow/ha. Concentrates were fed separately at 9.5-11.5 kg/day per cow (dry matter basis) from 1 to 13 weeks postparturition. Herbage intake was estimated using chromium oxide as an indigestible marker. The mean contents of crude protein, total digestible nutrients (TDN) and neutral detergent fiber of pasture during the 3-year study period were 22.3%, 71.8% and 51.7%, and those of total diet were 18.9%, 77.3% and 40.3%, respectively. The mean herbage dry matter intake was 13.0 kg/day from 2 to 13 weeks postparturition during the study, total dry matter intake was 23.7 kg/day, the TDN sufficiency rate was 105%, milk yield was 39.7 kg/day, and milk fat percentage was 3.30. The decrease in bodyweight postparturition was slight. Urea nitrogen concentrations in serum were below 18.3 mg/dL. The mean days to first estrus and days open were 36 and 104 days, respectively. These results indicate that energy deficiency, decrease in bodyweight and fertility in early lactation barely occur when high producing dairy cows are fed enough grazing grass and suitable concentrates.

No effect of bovine interferon-t for control of calf diarrhea and immunomodulation in calves.

Kohara, J., Yayota, C., and Yokomizo, Y.

J. Vet. Med. Sci. 66: 1161-1164. 2004.

Newborn calves received a low dose of bovine interferon-t (boIFN-t) orally for 4 weeks and calves that had developed diarrhea received a low dose of boIFN-t orally for 5 days. No effects of boIFN-t were seen in duration of diarrhea, or in daily weight gain. Calves received a high dose of boIFN-t subcutaneously 3 times and they were then stimulated with bovine herpesvirus type 1 vaccine. No adverse effects were observed after the administration of boIFN-t and lymphocyte subsets from calves did not change after the stimulation. Our results suggest that boIFN-t does not seem promising for preventing calves from diarrhea, recovering the health state of calves with diarrhea or immunomodulation, although the treatment itself is not toxic.

Experimental transmission of bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation.

Kohara, J., Konnai, S. and Onuma, M.

Jpn. J. Vet. Res. 54: 25-30. 2006

We examined whether Bovine leukemia virus (BLV) was transmitted by rectal palpation using a common sleeve between a BLV-infected cow and BLV-negative steers. Three of four steers developed antibodies against BLV as determined by agar-gel immunodiffusion (AGID) test between 7 to 10 weeks after the first rectal palpation using common sleeves from BLV-infected cow. In the steers, BLV proviral DNA were detected by PCR 1 to 5 weeks earlier than detection of the antibodies by the AGID test. Our experiments demonstrated that rectal palpation is a potential cause of BLV spread in herds and that detection of BLV proviral DNA in cattle by PCR is useful screening test for early diagnosis of BLV infection.

In vitro and in vivo effects of recombinant bovine interferon-t on bovine leukemia virus.

Kohara, J. and Yokomizo, Y.

J. Vet. Med. Sci., 69: 15-19. 2007.

The antiviral effects of recombinant bovine interferon-t (rboIFN-t) on bovine leukemia virus (BLV) were examined in vitro and in vivo. In the in vitro experiments, BLV titers decreased in FLK-BLV cells and in peripheral blood mononuclear cells of BLV-infected cattle treated with rboIFN-t at a concentration higher than 102 U/ml. In order to examine the in vivo effects of rboIFN-t, 10 BLV-infected cattle were subcutaneously injected with rboIFN-t. In the first experiment, 6 cows were administrated with 105 U/kg body weight of rboIFN-t 3 times per week for 4 weeks, while in the second experiment 4 cows were administrated with 106 U/kg body weight of rboIFN-t 3 times per week for 3 weeks. No adverse effects were observed after the administration of rboIFN-t. In experiment No.1, the mean BLV titers in cattle decreased in the post- rboIFN-t administration period compared to the pre- rboIFN-t administration period. In experiment No.2, the mean BLV titers in cattle decreased in the rboIFN-t administration period. These results suggest that rboIFN-t decreases BLV titers in vitro and in vivo and that rboIFN-t possibly reduces the degree of BLV titer in cattle without severe side effects.

Effect of components of green tea extracts, caffeine and catechins on hepatic drug metabolizing enzyme activities and mutagenic transformation of carcinogens

Nikaidou S, Ishizuka M, Maeda Y, Hara Y, Kazusaka A, Fujita S

Japanese journal of veterinary research 52(4):185-192 (2005)

Green tea contains catechins and caffeine as major constituents. Treatment of rats with green tea (2.5% w/v) significantly increased 7-ethoxycoumarin O-deethylase (7-ECOD), caffeine N-1 demethylase (CN1D) and UDP-glucuronyltransferase (UGT) activities. Treatment with caffeine similarly activated CYP1A2 and related monooxygenases as well as UGT, while treatment with catechins induced UGT activity but not 7-ECOD or CN1D activity. Numbers of benzo[a]pyrene (BP)-induced revertant colonies in an Ames test (mutation assay) with *S. typhimurium* TA98 as the test strain were markedly larger when BP was preincubated with the liver S-9 (9000 x g supernatant of liver homogenate) from green tea-treated rats than when preincubated with that from control rats. In a modified Ames assay system in which UGT was activated by the addition of UDP-glucuronic acid to the preincubation mixture, the numbers of revertant colonies in the assay using liver S-9 from green tea-treated rats decreased to a similar level to that in the assay using S-9 from controls. The acceleration of two enzymatic reactions may contribute to the rapid elimination of BP; the first step, the formation of a metabolic intermediate (which is mutagenic) by CYP1A2 and the second, the conjugation of active metabolic intermediates by UGT. We speculated that green tea can reduce the amount of time carcinogens reside in the body and the chance that body tissues will be exposed to active metabolites of carcinogens thorough rapid elimination due to the simultaneous induction of CYP1A2 and UGT activities.

Effect of catechins on mutagenesis of *Salmonella typhimurium* TA 102 elicited by tert-butyl hydroperoxide (t-BuOOH)

Nikaidou S, Ishizuka M, Maeda Y, Hara Y, Kazusaka A, Fujita S

Journal of veterinary medical science 67(1) 137-138 (2005)

Green tea, one of the most popular beverages consumed in Asian countries, has been reported to possess anticarcinogenic and antimutagenic properties. The aim in this study is to test the radical scavenging effect of catechins and caffeine, which were major components of green tea, and if they really prevent oxygen radical-induced mutagenesis. We used TA102 strain of *Salmonella typhimurium* which is sensitive to hydroxyl radical in the Ames mutation assay. We found that caffeine did not show any effects on mutagenesis in this system, but catechin significantly reduced mutagenesis or genotoxicity caused by hydroxyl radical. This radical-scavenging action of catechins may indeed contribute to the anticarcinogenic activity of green tea as has been proposed.

A novel repeated sequence located on the bovine Y chromosome: its application to rapid and precise embryo sexing by PCR.

Kageyama S, Yoshida I, Kawakura K, Chikuni K.

J Vet Med Sci. 2004 May;66(5):509-14.

A novel repeated sequence specific to male cattle was identified and named S4. S4 is a highly repetitive sequence and is a 1.5 kb repeating unit that contains various internal repeated sequences. FISH analysis showed that S4 is localized on the whole long arm and the proximal region of the short arm of the Y chromosome. We found that a PCR primer set for S4 amplified a male-specific 178 bp product in addition to a 145 bp product common to both male and female cells. Although the origin of the 145 bp product is unknown, it acts as a positive internal control in practical embryo sexing. Due to the high copy number of S4, PCR required only 0.5 pg purified DNA for accurate amplification. This made it possible to reduce the amount of biopsy sample required for embryo sexing and thus result in less damage to embryos manipulated. These studies indicate that embryo sexing based on the S4 sequence is accurate and sensitive.

Rapid sexing of bovine preimplantation embryos using loop-mediated isothermal amplification.

Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Takahashi Y, Katagiri S, Toen K, Watanabe K, Notomi T, Yamashina H, Matsuzaki S, Minamihashi A.

Theriogenology, 62(5), 887-96(2004)

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a novel DNA amplification method that amplifies a target sequence specifically under isothermal conditions. The product of LAMP is detected by the turbidity of the reaction mixture without electrophoresis. The objective of this study was to develop a rapid sexing method for bovine preimplantation embryos using LAMP. The first experiment was conducted to optimize the DNA extraction method for LAMP-based embryo sexing. The DNA of single blastomeres was extracted using three methods: heat, NaOH, and proteinase K-Tween 20 (PK-TW) treatments. Sexing was performed with two LAMP reactions, male-specific and male-female common reaction, after DNA extraction. The rates of correct determination of sex were 88.9-94.4%, with no difference among methods. The sensitivity and accuracy of LAMP-based embryo sexing were evaluated in the next experiment. The proportion of samples in which the sex was correctly determined was 75-100% for one to five biopsied cells. Lastly, in vivo-derived embryos were examined to verify the usefulness of LAMP-based embryo sexing, and some of these fresh, sexed embryos were transferred into recipient animals. The time needed for sexing was <1 h. The pregnancy rate was 57.4% and all calves born were of the predicted sex (12 male and 21 female). Therefore, LAMP-based embryo sexing accurately determined gender and is suitable for field application.

Genetic diagnosis of Claudin-16 deficiency and sex determination in bovine preimplantation embryos.

Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Hirano T, Sugimoto Y, Kobayashi N, Inaba M, Sawai K, Onoe S, Minamihashi A.

J Reprod Dev, 50(6), 613-618(2004)

Renal tubular dysplasia is an autosomal recessively inherited disorder in Japanese black cattle that is due to deletion mutations in the claudin-16 gene and causes chronic renal failure and death of affected animals. Here, we report a multiplex-PCR procedure to determine the genotype for claudin-16 deficiency in preimplantation embryos. The presence or absence of the wild-type and mutant allele(s) was precisely detected with the multiplex-PCR using as little as 5 pg of genomic DNA from leukocytes. When biopsied embryo cells were examined for claudin-16 deficiency, 97.2% of genotypes were consistent with the PCR results obtained for the corresponding embryos. In addition, sexing of embryos by PCR was performed using an aliquot of DNA extracted from biopsied embryo cells, and determination of claudin-16 genotype and sex was successfully achieved with an efficiency of 91.7% for claudin-16 genotyping and 83.3% for sexing. The production of a 100-day fetus that was male and homozygous for claudin-16 deficiency, as expected from the analysis of biopsied embryo cells, gave evidence of the reliability and applicability of this procedure for preventing the transmission of this disease and for enabling advances in animal breeding.

Analysis of mRNA Transcripts for Insulin-Like Growth Factor Receptors and Binding Proteins in Bovine Embryos derived from Somatic Cell Nuclear Transfer.

Ken Sawai, Soichi Kageyama, Satoru Moriyasu, Hiroki Hirayama, Akira Minamihashi and Sadao Onoe.

Cloning and Stem cells, 7, 189-198(2005)

The low efficiency of animal production using somatic cell nuclear transfer procedures is considered to be the result of an incomplete reprogramming of donor cell nucleus, which leads to abnormal expression of developmentally important genes. The objective of this study was to determine the abundance of gene transcripts of insulin-like growth factor (IGF)-related genes in cloned bovine embryos reconstructed with somatic cells. Single embryos derived from nuclear transfer reconstructed with somatic cells (NT-SC) or embryo blastomeres (NTEM), in vitro fertilization (IVF), in vivo production (Vivo), and parthenogenetic treatment (PA) were analyzed. The relative abundance of mRNA was examined by real-time PCR. Transcripts of the IGF-1 receptor (r) and IGF binding protein (BP)-2 were detected in all embryos, regardless of origin. IGF-IIr and IGFBP-3 transcripts signals in NT-SC embryos were detected with significantly lower frequencies of 25 and 50%, respectively. Although IGF-Ir and IGFIr transcript levels were not significantly different in NT-SC, NT-EM, IVF, Vivo, and PA embryos, the relative abundance in individual embryos indicated large variation in NT-SC. IGFBP-2 and IGFBP-3 levels were high in the Vivo embryos compared with NT-SC, NT-EM, IVF, or PA embryos. These results suggest differences in levels of transcripts of IGF-related genes in the bovine embryos produced by NT compared with IVF, Vivo, and PA.

ウシ雄特異的DNA配列の品種間比較

平山博樹、陰山聡一、森安 悟、澤井 健、尾上貞雄、南橋 昭

日本胚移植学雑誌, 28(1), 1-5(2006)

ホルスタイン種において同定された雄特異的DNA配列 (S4) の塩基配列を黒毛和種、褐毛和種 (熊本系)、褐毛和種 (高知系) および韓牛と比較し、LAMP法による性判別技術が異なる品種に適用できるか否かを検討した。各品種において、LAMP法の増幅ターゲットとなる領域 (291bp) をPCR法で増幅し、塩基配列を解析した結果、すべての品種で変異は認められなかった。また、ゲノムDNAを試料としてLAMP法による性判別を行った結果、いずれの品種も高い検出感度を示し、受精卵における性判別が可能であると考えられた。

Genetic diagnosis of band 3 deficiency and sexing in bovine preimplantation embryos.

Kageyama S, Hirayama H, Moriyasu S, Inaba M, Ito D, Ohta H, Sawai K, Minamihashi A, Onoe S.

J Vet Med Sci, 68(4), 319-323(2006)

Band 3 deficiency with hereditary spherocytosis and hemolytic anemia in Japanese black cattle, band 3(Bov.Yamagata), is caused by a total lack of band 3 protein with an autosomal dominant inheritance. Genotyping for band 3 deficiency and sexing were successfully achieved in biopsied embryo cells with efficiencies of 98.4% and 97.4%, respectively. Transfer of the embryo that was determined as homozygous for the mutant allele into a recipient cow resulted in the production of a fetus exhibiting the genotype and red cell phenotypes characteristic of band 3(Bov.Yamagata). These results demonstrate that our procedure is reliable and applicable to produce animals free from or homozygous for the mutant allele by breeding carrier animals.

Rapid sexing of water buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos using loop-mediated isothermal amplification.

Hirayama H, Kageyama S, Takahashi Y, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Watanabe K, Kojiya S, Notomi T, Minamihashi A.

Theriogenology, 66(5), 1249-1256(2006)

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a novel DNA amplification method that amplifies a target sequence specifically under isothermal conditions. The objective of this study was to identify a Y chromosome-specific sequence in water buffalo and to establish an efficient procedure for embryo sexing by LAMP. The homologues of a Y chromosome-specific sequence, bovine repeat Y-associated.2, in swamp and river buffalo were cloned, and designated swamp buffalo repeat Y-associated.2 and river buffalo repeat Y-associated.2, respectively. Sexing by LAMP was performed using primers for swamp buffalo repeat Y-associated.2. A 12S rRNA was also amplified by LAMP as a control reaction in both male and female. The minimal amount of the template DNA required for LAMP appeared to be 0.1-10 pg. The sensitivity was further examined using swamp buffalo fibroblasts as templates. When fibroblasts were lysed with NaOH, the minimal cell number required for detection of both male-specific and male-female common DNA appeared to be two cells, whereas correct determination of sex could not be achieved using fibroblasts lysed by heat denaturation. Embryo sexing was also performed using blastomeres from interspecies nuclear transfer embryos. The sex determined

by LAMP for blastomeres corresponded with the sex of nuclear donor cells in analyses using four or five blastomeres as templates. The LAMP reaction required only about 45 min, and the total time for embryo sexing, including DNA extraction, was about 1 h. In conclusion, the present procedure without thermal cycling and electrophoresis was reliable and applicable for water buffalo embryos.

The effects of grazing and supplemental protein concentrations during the grazing period on subsequent finishing performance and carcass quality in Japanese Black Cattle steers

Masahito SUGIMOTO, Syuji KUZUOKA, Chizuru YAYOTA and Yukinobu SATO

Animal Science Journal 75(1): 29-35 (2004)

The effects of grazing and supplemental protein concentrations, provided during the grazing period, on subsequent finishing performance and carcass quality were investigated. This experiment was carried out using 15 Japanese Black Cattle (Wagyu) steers. The steers were fed as follows: 1) GMP: grazing supplemented with moderate protein concentrate (18% CP; dry matter (DM) basis) before finishing, followed by feeding in a barn until slaughter; 2) GLP: grazing supplemented with low protein concentrate (14% CP; DM basis) before finishing, followed by feeding in the barn until slaughter; and 3) NG: no grazing before finishing. From the end of the grazing season to the end of the growing period, the GMP and GLP steers were managed in the same way as the NG steers. All of the animals were fed the same diet in the finishing period (9 mo to 28 mo). None of the three treatments affected the average daily gains. For all treatments, chilled carcass weights were more than 450 kg and did not differ significantly among the groups. The longissimus muscle areas in the grazed steers were numerically larger than in those receiving the NG treatment. Fat thickness was significantly greater ($P < 0.05$) in the NG steers than in the grazed steers. The intramuscular fat and marbling scores were not affected in the grazed steers. In conclusion, the carcass quality of grazed steers was similar to that of the NG steers at a similar final age, and the quantity of meat in the NG steers would be less than that of the GMP and GLP steers. Therefore, spring-born Wagyu steers should be grazed using the GLP supplement before fattening.

The effects of potato-pulp and feeding level of supplements on digestibility, *in situ* forage degradation, and ruminal fermentation in beef steers

Masahito SUGIMOTO, Waka SAITO, Motoki OOI, Yukinobu SATO, Toshiro SAITO and Kiyokazu MORI

Animal Science Journal 77(6): 587-594 (2006)

Six ruminally cannulated Wagyu (Japanese Black) steers (average initial body weight (BW) 387 ± 29 kg) were used in a split-plot design experiment, comprising a 3×3 Latin square design (whole-plot) and a randomized blocks design (sub-plot). The whole-plot treatments were three different feeding levels of supplemental diet, fed at 0.2, 0.4 and 0.6 % of body weight (BW) (dry matter (DM) basis). Sub-plot treatments were two different supplemental diets: a potato-pulp silage-based diet (PPS) and a grain-based diet (GRAIN). Chopped, medium-quality cool-season grass hay (predominately timothy, *Phleum pratense* L.) was fed at 0.7 % BW (DM basis) daily as the basal diet. Each period consisted of 21 d, which included 11 d of adaptation to diets and 10 d of collection period. Chromic oxide was used as an indigestible marker. *In situ* forage degradation was measured using the nylon bag technique. Dry matter intake increased (linear; $P < 0.01$) as feeding level increased and was not affected by diet. Digestibility was not affected by any treatments. The GRAIN diet tended to decrease the rate of *in situ* forage degradation as the feeding level increased, but this trend was not found in the steers fed the PPS diet. Steers fed the GRAIN diet had a lower ($P < 0.1$) ruminal pH compared with steers fed the PPS diet. Ruminal pH was not significantly affected by feeding level; however, it was numerically higher for steers supplemented at 0.2% per BW than that for the steers supplemented above 0.4% per BW due probably to higher starch intake. Total volatile fatty acids (VFA) concentration numerically increased as feeding level increased and was not affected by diet. Increasing the feeding level decreased (linear, $P < 0.01$) the proportion of acetate. Neither diet nor feeding level had any effects on the proportion of ruminal propionate.

In conclusion, there were not the decrease in ruminal pH and the rate of *in situ* forage degradation for the steers fed the PPS diet, which were observed for the steers fed the GRAIN diet. Therefore, for steers fed the PPS diet, there are little adverse effects on forage digestion in the rumen that occur as the feeding level is increased.

編 集 委 員 会

委 員 長	宮 崎 元
副 委 員 長	小 関 忠 雄
副 委 員 長	扇 勉
副 委 員 長	大 原 益 博
	斎 藤 利 朗
	小 泉 徹
	原 悟 志
	遠 谷 良 樹
	阿 部 英 則
事 務 局	大 原 睦 夫

Editorial Board

Editor-in-chief	Hajime MIYAZAKI
Associate Editor-in-chief	Tadao OZEKI
Associate Editor-in-chief	Tsutomu OHGI
Associate Editor-in-chief	Masuhiko OOHARA
	Toshiro SAITO
	Tooru KOIZUMI
	Satoshi HARA
	Yoshiki TOUYA
	Hidenori ABE
Editorial Manager	Mutsuo OHARA

All correspondence concerning this journal should be addressed to:Hokkaido Animal
Research Center,5-39 Shintoku-Nishi, Shintoku-chou,Hokkaido,081-0038 Japan
E-Mail:chikusi-rentyou@agri.pref.hokkaido.jp

北海道立畜産試験場研究報告26号

平成19年 3月30日印刷
平成19年 3月30日発行

編集責任者 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 0156-64-5321

印刷所 大同出版紙業株式会社
080-0017
帯広市西7条南6丁目2番地
電話 0155-23-5107
