

第一章 緒 言

1. 研究の目的

乳牛のタンパク質栄養に関する研究の進展は著しく、飼料のルーメン内分解性や通過速度 (Russell 1992; Sniffen 1992) およびアミノ酸レベルでのタンパク質栄養を考慮したモデルが提案されている (O'Connor 1993)。飼料中タンパク質はルーメン内微生物によりペプチド、アミノ酸およびアンモニアに分解される分解性タンパク質 (RDP: Ruminally degraged protein) と、ルーメン内で分解されない非分解性タンパク質 (RUP: Ruminally undegraded protein) に分けられる。ルーメン内微生物はペプチド、アミノ酸およびアンモニアとともに、纖維、糖、デンプンなどの炭水化物を利用して微生物タンパク質 (MCP: Microbial crude protein) を合成する。

乳量4,500kgの牛が要求するタンパク質はMCPから供給可能 (Virtanen 1966) だが、一乳期乳量9,000kg以上の高泌乳牛ではMCPだけでは十分でなく、RUPからの供給も重要になる。RUP中のアミノ酸組成を改善するために、ルーメン保護アミノ酸 (RPAA: Rumen protected amino acid) 製剤やアミノ酸バランスを考慮した高RUP飼料を組み合わせることにより、飼料中タンパク質の利用効率をより高めることが可能である。

MCPのアミノ酸組成は、給与飼料の違いによる差は少なく、乳タンパク質のアミノ酸組成に近い (O'Connor 1993)。したがって、ルーメン微生物によるタンパク質合成は、生物価の低い飼料タンパク質および非タンパク質態窒素を、生物価の高い良質なタンパク質に変換する大きな役割を果たしている。

RUPのアミノ酸組成は、飼料の種類により大きく異なる (O'Connor 1993)。魚粉のRUP中のアミノ酸組成は、牛乳中タンパク質のアミノ酸組成に近いが、高RUP飼料として用いられてきた加熱大豆および血粉はメチオニン含量が低く、血粉はリジンおよびヒスチジン含量が高いなど飼料により特徴がある。したがって、RUPの供給を考える場合には、タンパク質の給与量やルーメン内分解性ばかりでなく、アミノ酸バランスを充分考慮する必要がある。

乳合成を制限するアミノ酸に関する研究では、メチオニンおよびリジンは第1あるいは第2制限アミノ酸になりやすいことが明らかにされている (Taoら 1974; Schwabら 1976; Wohltら 1991; Santosら 1998; National Research Council 2001)。しかし、RPAA製剤あるいは高RUP飼料を用いた泌乳試験では、乳生産および乾物摂取量への影響は必ずしも一致した成績が得られていない (National Research Council 2001)。これは乳合成を制限するアミノ酸が飼料構成や乳量水準の違いにより異なるほかに、RPAA製剤の製造法や添加量、高RUP飼料のアミノ酸組成の違いが影響しているものと考えられる。また、RUP中のアミノ酸組成の改善により、乳および体蓄積への窒素量を増加させ、糞尿への窒素排泄量を低減することも可能である。

一方近年、酪農経営の規模拡大と個体乳量の増加にともない、家畜糞尿による環境負荷量の増大と環境汚染が進み、農場全体の糞尿管理や窒素バランスが重要な問題となっている (Korevaar 1992; Van Hornら 1994; Douら 1996; Wilkersonら 1997; National Research Council 2001)。環境汚染防止に関する規制はEU諸国内でも異なるが、家畜頭数上限 (/ha) ではオランダが2.0家畜単位、デンマークが牛2.3頭、糞尿施用上限 (/ha) ではドイツが窒素換算で170kg、イギリスが同210kg (松田 2001)と示されており、北海道においても許容限界に達する地域もみられる。家畜から排泄される窒素は、硝酸態窒素として地表水や地下水を汚染するとともに、アンモニアとして大気を汚染する。環境への窒素負荷量の増大は深刻であり、これらを軽減するには家畜側からは、窒素摂取量を低減するか、窒素の利用効率を高め、糞尿への窒素排泄量を減少させる方法がある。

集約的な酪農が進展するアメリカでは、購入飼料や化学肥料として農場に持ち込まれる窒素量のうち農場に残る窒素の割合は64~76% (Klausner 1993)、オランダではその割合は86% (Korevaar 1992) と報告されている。泌乳牛が摂取する窒素量のうち糞

尿へ排泄される窒素の割合は、55%～69%（早坂 1994、寺田ら 1997、Wilkersonら 1997）とされる。糞中窒素の多くは、飼料の不消化物、微生物タンパク質および内因性窒素であり、尿中窒素は尿素態窒素およびアンモニア態窒素である（Van Hornら 1994）。尿中の尿素態窒素は排泄後速やかに糞中微生物由来のウレアーゼによりアンモニアへと分解されるため、牛舎環境の悪化により家畜の健康に影響を及ぼすとともに、揮散したアンモニアは酸性雨の原因ともなる。これらを軽減するには飼料中タンパク質の分解性およびアミノ酸組成を考慮し、窒素供給量の減少と窒素利用効率を高める方法について検討する必要がある。

北海道における自給粗飼料の利用形態は、牧草サイレージ利用が1979年の16%から1997年には62%へと増加し、天候不順な北海道では栄養含量の高い貯蔵粗飼料を確保するために、牧草サイレージ利用が主たる利用形態となっている。牧草サイレージはタンパク質中のRDP割合が高い（原ら 1999）。したがって、牧草サイレージのタンパク質の利用効率を高め窒素排泄量の低減を図るには、易発酵性炭水化物の十分な供給と、アミノ酸バランスを考慮した高RUP飼料の補給が重要であろう。

以上の観点から本研究は、牧草サイレージ主体飼養において、乳牛の飼料タンパク質の利用効率を高めることにより、糞尿への窒素排出量をコントロールし、環境への窒素負荷量を低減することを目的に、牧草サイレージ主体給与下の泌乳牛において以下の点について検討した。第Ⅱ章では窒素出納試験データに基づく糞尿量および窒素排泄量の飼料的要因の解析、第Ⅲ章ではルーメン保護アミノ酸製剤の添加あるいはRUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉の給与による乳タンパク質生産の向上効果、第Ⅳ章ではタンパク質供給量およびアミノ酸栄養を考慮した窒素排泄量低減策を検討し、第Ⅴ章ではそれらを総合的に考察した。

2. 従来の研究

1) 乳牛の糞尿量および窒素排泄量

乳牛から排泄される糞尿量および窒素量は、乳量水準、乾物摂取量、給与飼料および飼養環境などにより異なる（HolterとUrban 1992；Van Hornら 1994；Wilkersonら 1997；アメリカ農業工学会 2002）。これらの報告では乳牛1頭当たりの糞量は35.8～45.4kg／日、尿量は14.1～27.2kg／日とかなりの幅がある。乳牛1頭当たりの窒素排泄量では、糞窒素量は163～170g／日と差は少ないが、尿窒素量は102～177g／日と大きな差がある（Van Hornら 1994；Wilkersonら 1997；寺田ら 1997；早坂 1997）。糞窒素量はCP水準を下げることにより、ある程度低減できるが、糞窒素量の半分以上は代謝性窒素が占めるため変動幅が少ない（寺田ら 1997）。

尿量は窒素、ナトリウムおよびカリウム摂取量と関係が深く（Banninkら 1999；久米ら 2003）、また、飲水量は乾物摂取量、乳量、ナトリウム摂取量および環境温度に影響される（Murphyら 1983）ため、尿量の変動幅は大きいと考えられる。尿窒素にはルーメン内で過剰となった窒素が肝臓で尿素に変換されたもののほかに、体タンパク質の代謝産物が含まれる。このため、飼料中炭水化物とタンパク質の分解性および供給量（National Research Council 2001）、さらには養分充足状況が尿窒素量に影響を与える。

一方、牧草サイレージは水分含量、NDF含量およびRDPの割合が高い（原ら 1999）ことから、乾物摂取量、糞量および窒素利用効率が他の飼料と異なると考えられるが、これらに関する報告は少ない。

2) 反芻動物におけるアミノ酸栄養の意義

タンパク質を構成する主要なアミノ酸20種のうち、アルギニン（Arg）、ヒスチジン（His）、イソロイシン（Ile）、ロイシン（Leu）、リジン（Lys）、メチオニン（Met）、フェニールアラニン（Phe）、スレオニン（Thr）、トリプトファン（Trp）およびバリン（Val）の10種は、家畜の栄養に必須なアミノ

酸とされるが、必須アミノ酸と非必須アミノ酸の区別は、単胃動物を用いた研究に基づくものであり、泌乳牛に関する研究はごくわずかである (National Research Council 2001)。

乳合成を制限するアミノ酸に関する研究は、第四胃または十二指腸への各種アミノ酸の投与やRPAA製剤の添加、あるいは動・静脈血の血清遊離アミノ酸濃度の測定などにより行われてきた。その結果、メチオニン、リジン、ヒスチジン、フェニールアラニン、スレオニンおよびアルギニンが制限アミノ酸になる可能性があり、特にメチオニンおよびリジンは第1あるいは第2制限アミノ酸になりやすいことが明らかにされている (Santosら 1998; National Research Council 2001; Schwabら 1976; Taoら 1974; Wohltら 1991)。

しかし、ルーメン保護メチオニン (RPM: Rumen protected methionine) 製剤およびルーメン保護リジン (RPL: Rumen protected lysine) 製剤を用いた試験では、乳生産および乾物摂取量への影響は必ずしも一致した成績が得られていない (National Research Council 2001)。乳生産を制限するアミノ酸は、飼料構成や乳量水準の違いにより異なるほかに、RPAA製剤の製造法 (National Research Council 2001) や添加量の違いが小腸へ移行するアミノ酸供給量に影響を与えているものと考えられる。

また、RUP割合の高い飼料として、処理された大豆粕、魚粉、血粉、フェザーミール、ミートミールおよびコーングルテンミールなどを供試した試験でも、乳生産への影響は必ずしも一致した結果が得られていない (HusseinとJordan 1991; Santosら 1998; National Research Council 2001)。Santosら (1998) は1985~1997年に報告された108の論文を考察し、処理された大豆粕および魚粉の給与では乳生

産を高めることが多いが、その他の高RUP飼料では乳生産が低下する場合もあるとしている。高RUP飼料の乳生産への反応の違いは、RUP中のアミノ酸組成の違いやルーメン発酵への影響の違いが大きい。特に、基礎粗飼料の違いによる影響は強いものと考えられる。

3) 飼料中アミノ酸バランスを考慮した窒素排泄量の低減

育成豚では飼料中のアミノ酸バランスを考慮して、CP含量を低くすることにより、尿窒素排泄量を低減できると報告されている (Rofflerら 1986; 古谷ら 1997; Suzukiら 1998)。古谷ら (1997) は育成豚飼料のCP含量を約4%単位減らしても、欠乏するリジンおよびスレオニンを十分補給すれば、発育成績は標準飼料とほとんど変わらず、尿窒素排泄量を37%減少できたとしている。

一方、乳牛のタンパク質栄養では、飼料のルーメン内分解性、通過速度およびアミノ酸要求量を考慮したモデル (Russell 1992; Sniffen 1992; O'Connor 1993) が提案されているが、単胃動物に比べアミノ酸レベルでの研究は少ない。Dinnら (1998) はこのモデルに基づきRPAA製剤を用いて、乳タンパク質生産量を低下させることなく、尿窒素排泄量が低減できることを報告している。また、寺田と塙谷 (1998) は、泌乳牛に魚粉を用い、生産性を維持しつつ窒素排泄量が1割程度削減できることを示唆している。このように、乳牛においても豚や鶏と同様にアミノ酸レベルでタンパク質栄養をコントロールすることにより、飼料中タンパク質の利用効率を高め、窒素排泄量を低減できる可能性があるが、牧草サイレージ主体飼養下での報告はない。

第Ⅱ章 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

1. 緒 言

家畜から排泄される糞尿の有効利用と環境への汚染防止には、適切な利用・処理施設の設置が重要である。施設設置の基準となる糞尿量は、乳牛ではこれまで糞量40kg、尿量20kg、合計量60kg（中央畜産会 1978）、あるいは糞量30kg、尿量20kg、合計量50kg（北海道農業改良普及協会 1994）が一般的に用いられてきた。しかし、近年、乳牛の泌乳能力の向上に伴い、乾物摂取量が増加し、飼料構成も変化しており、糞尿量および窒素排泄量を正確に把握する必要がある。

乳牛から排泄される糞尿量および窒素排出量は、HolterとUrban (1992)、Van Hornら (1994) およびWilkersonら (1997) によって報告されているが、乳量水準、乾物摂取量、給与飼料および飼養環境などによりかなり異なる。高泌乳牛は乾物摂取量が多いため、糞量は増加する。しかし、乾物摂取量が5%増加すると、飼料中CP含量を約1ポイント低く設定できる (Chase 1994) ことから、窒素の利用効率は高まり、乳量1kgあたりの窒素排泄量は低くなる。

また、飼料中タンパク質はルーメン内でペプチド、アミノ酸およびアンモニアに分解され、微生物タンパク質合成の原料となるが、過剰のアンモニアは肝臓で尿素に合成され尿中に排泄される。このため飼料中タンパク質のルーメン内分解性は、窒素の利用効率に大きく影響する。北海道における牧草の利用形態は、乾草利用からサイレージ利用へと大きく変化している。牧草サイレージは乾草に比べ、水分含量および溶解性タンパク質の割合が高く（原ら 1999）、乾物摂取量および窒素利用効率が他の粗飼料と異なる可能性がある。

そこで、牧草サイレージ主体飼養での窒素出納試験データを取りまとめ、泌乳牛の糞尿量および窒素排泄量に関する基礎データを示すとともに、それらに及ぼす飼料的要因を解析した。

2. 試験方法

泌乳牛の糞尿量および窒素排泄量の解析には、根釧農業試験場において1988～1996年に実施した窒素出納試験のデータを用いた。供試牛は泌乳前期、中期、後期のウシを合わせて初産牛が128頭、2産以上のウシが131頭、計259頭であった（表1）。平均乳量は初産牛が23.1kg/日、2産以上のウシが31.5kg/日、体重は各々545、660kgであった。乳脂率は初産牛が3.94%、2産以上のウシが3.95%、乳タンパク質率は各々3.01、3.12%であった。

給与粗飼料はすべてチモシー主体の牧草サイレージであり、濃厚飼料は初産牛では市販配合飼料を乳量に応じて分離給与し、2産以上のウシでは加熱圧ペんとうもろこし、大麦および大豆粕などを牧草サイレージと混ぜ、混合飼料として給与した。飼料は1日1回（10:30）給与し、飲水は自由とした。搾乳は1日2回（9:30および19:30）行った。給与飼料の平均乾物中CP含量は初産牛で16.6%、2産以上のウシで15.5%、TDN含量は各々70.0、71.5%、NDF含量は各々43.9、43.6%であり、乾物摂取量は各々15.5、20.9kg/日であった。

出納試験は糞尿分離装置が設置された試験用ストールで行い、予備期14日間、本期4日間（一部3日間）とし、本期に糞尿を全量分離採取した。乳量、乳成分、飼料給与量および残食量（現物）は毎日計量あるいは分析し、体重の測定は本期終了後に実施した。

牧草サイレージの栄養価は、初産牛ではADF含量から推定（牧草・飼料作物栄養価問題検討委員会編 1991）し、2産以上のウシではメンヨウの消化試験により求めた。消化試験はメンヨウ4頭を用い、予備期14日間、本期4日間の全糞採取法で行った。濃厚飼料の消化率は、市販配合飼料ではメンヨウの消化試験により求め、単味飼料では日本標準飼料成分表（農林水産省農林水産技術会議事務局1995）より引用した。乳成分は赤外線牛乳分析法（ミルコスキンFT120、Foss Electric社、デンマーク）、飼料の一般分析は常法（森本 1971）、NDFおよびADFはデ

タージェント法（農林水産省畜産試験場編 1981）により分析した。

統計処理は、糞尿量および窒素排泄量の比較では、初産牛および2産以上のウシごとに、乳期平均値の差の検定をSAS GLM法 (SAS1990) により行った。

さらに、糞尿量および糞尿窒素量に及ぼす要因を解析するため、初産牛および2産以上のウシのデータを用いて、単相関係数の算出し、さらに2産以上のウシでは単回帰分析（吉田と阿部 1982）を行った。

Table 1. Records of animals, milk yield, milk composition, dry matter intake and chemical composition and nutritive values of diets

Stage of lactation	Primiparous cows				Multiparous cows			
	Early	Middle	Late	All	Early	Middle	Late	All
Cows, no.	51	41	36	128	55	36	40	131
DIM	56	149	246	139	65	154	241	143
BW, kg	527 ^B	548 ^{A,B}	567 ^A	545	650	656	678	660
Milk yield, kg/d	26.7 ^A	22.5 ^B	18.8 ^C	23.1	37.6 ^A	29.0 ^B	25.5 ^C	31.5
Fat, %	3.82 ^B	3.93 ^{A,B}	4.12 ^A	3.94	3.87 ^B	3.97 ^{A,B}	4.04 ^A	3.95
Protein, %	2.91 ^B	3.02 ^{A,B}	3.13 ^A	3.01	3.00 ^B	3.19 ^A	3.21 ^A	3.12
DMI, kg/d	15.9	15.3	15.3	15.5	22.5 ^A	20.1 ^B	19.4 ^B	20.9
Dietary DM, %	49.8 ^A	47.3 ^{A,B}	41.7 ^B	46.7	50.3 ^A	51.8 ^A	43.4 ^B	48.6
CP, %	17.0 ^A	16.5 ^{A,B}	16.0 ^B	16.6	15.9 ^A	15.4 ^{A,B}	15.0 ^B	15.5
TDN, %	73.7 ^A	70.8 ^B	64.0 ^C	70.0	74.1 ^A	69.8 ^B	69.5 ^B	71.5
NDF, %	39.7 ^B	45.8 ^A	47.8 ^A	43.9	40.3 ^B	45.1 ^A	46.7 ^A	43.6

^{A,B,C} : Means in the same row in each of primiparous cows and multiparous cows with different superscript letters differ ($P<0.01$).

DIM : Days in milk.

3. 結 果

糞量は全乳期の平均で初産牛が35.8kg/日、2産以上のウシが51.4kg/日であり、乳期による差は少なかった（表2）。尿量は全乳期の平均で初産牛が13.8kg/日、2産以上のウシが13.0kg/日であったが、初産牛の泌乳後期は16.4kg/日と前期および中期より多かった（ $P<0.01$ ）。糞量と尿量の合計量は、全乳期の平均で初産牛が49.6kg/日、2産以上のウシが64.3kg/日で、初産牛では泌乳後期が前期に比べ多かった（ $P<0.01$ ）が、2産以上のウシでは乳期による差はなかった。

窒素出納では、摂取窒素量は全乳期の平均で初産牛が411g/日、2産以上のウシが519g/日と2産以上のウシが多く、いずれも泌乳前期が後期に比べ多かった（ $P<0.01$ ）。糞窒素量は全乳期の平均で初産牛が146g/日、2産以上のウシが179g/日と2産以上のウシが多く、いずれも泌乳前期が後期に比べ多かっ

た（ $P<0.01$ ）。尿窒素量は全乳期の平均で初産牛が78g/日、2産以上のウシが110g/日であり、初産牛では泌乳後期が中期より多かった（ $P<0.01$ ）が、2産以上のウシでは乳期による差はなかった。糞窒素量と尿窒素量の合計量は、全乳期の平均で初産牛が225g/日、2産以上のウシが289g/日と、2産以上のウシが多く、2産以上のウシでは泌乳前期が後期に比べ多かった（ $P<0.01$ ）。

乳窒素量は全乳期の平均で初産牛が110g/日、2産以上のウシが156g/日と2産以上のウシが多く、初産牛、2産以上のウシとも乳期では、泌乳前期>中期>後期の順で多かった（ $P<0.01$ ）。蓄積窒素量は全乳期の平均で初産牛が76g/日、2産以上のウシが74g/日と乳期による差はなかった。また、摂取窒素量に対する糞尿への窒素排泄量の割合は、全乳期の平均で各々55.0、55.9%と差が少なかった。

初産牛および2産以上のウシのデータを用いて、

糞尿量および窒素排泄量と、乳量、体重および飼料摂取量との単相関係数を求めた（表3、4）。糞量は初産牛および2産以上のウシとも乳量および体重との相関が低かったが、NDF摂取量とは有意な正の相関がみられ、相関係数は各々0.46、0.58（P<0.001）であった。糞窒素量は乳量、乾物摂取量、CPおよびTDN摂取量と正の相関がみられ、相関係数は初産牛が各々0.41、0.45、0.55、0.55、2産以上

のウシが各々0.65、0.69、0.77、0.58であった（いずれもP<0.001）。尿量および尿窒素量は、TDN/CP比と負の相関がみられ、相関係数は初産牛が各々-0.45、-0.50、2産以上のウシが各々-0.58、-0.65（いずれもP<0.001）であり、逆にCP摂取量とは正の相関がみられた。また、尿量は尿窒素量と正の高い相関がみられ、相関係数は初産牛が0.65、2産以上のウシが0.78（ともにP<0.001）であった。

Table 2. Excretion of feces, urine and nitrogen balance in primiparous and multiparous cows

Stage of lactation	Primiparous cows				Multiparous cows			
	Early	Middle	Late	All	Early	Middle	Late	All
Feces, kg/d	34.7	36.9	36.0	35.8	50.7	51.1	52.5	51.4
Urine, kg/d	12.1 ^B	13.6 ^B	16.4 ^A	13.8	13.4	13.0	12.4	13.0
Feces+Urine, kg/d	46.9 ^B	50.4 ^{A,B}	52.5 ^A	49.6	64.1	64.1	64.9	64.3
N balance, g/d								
Intake	431 ^A	405 ^{A,B}	391 ^B	411	574 ^A	497 ^B	463 ^B	519
Feces	152 ^A	147 ^{A,B}	138 ^B	146	196 ^A	174 ^B	161 ^B	179
Urine	76 ^{A,B}	72 ^B	90 ^A	78	115	117	97	110
Milk	124 ^A	108 ^B	94 ^C	110	179 ^A	148 ^B	130 ^C	156
Retention	79	78	69	76	84	58	74	74
Feces+Urine	228	219	228	225	311 ^A	291 ^{A,B}	259 ^B	289
N excretory rate*, %	52.9 ^B	54.5 ^B	58.5 ^A	55.0	54.2	58.5	55.9	55.9

* : N excretory rate = (N feces + N urine) / N intake × 100.

^{A B C} : Means in the same row in each of primiparous cows and multiparous cows with different superscript letters differ (P<0.01).

Table 3. Correlation coefficients among feces, urine, feces N, urine N, milk yield, body weight and feed intake in primiparous cows

	Milk yield	BW	Intake				TDN/CP
			DM	CP	TDN	NDF	
Feces	0.04	0.06	0.26**	-0.06	0.14	0.46**	0.28
Urine	-0.21	0.33**	0.11	0.29**	-0.05	0.20	-0.45**
Feces N	0.41**	0.01	0.45**	0.55**	0.55**	0.15	-0.13**
Urine N	-0.06	0.25	0.13	0.39**	0.03	-0.06	-0.50**

* : Significantly different (P<0.01).

** : Significantly different (P<0.001).

Table 4. Correlation coefficients among feces, urine, feces N, urine N, milk yield, body weight and feed intake in multiparous cows

	Milk	BW	Intake			TDN/CP
	yield		DM	CP	TDN	NDF
Feces	0.11	0.13	0.34**	0.14	0.19	0.58**
Urine	0.20	0.01	0.26*	0.45**	0.09	0.15
Feces N	0.65**	-0.12	0.69**	0.77**	0.58**	0.25*
Urine N	0.25*	0.17	0.30**	0.57**	0.14	-0.02

* : Significantly different ($P < 0.01$).

** : Significantly different ($P < 0.001$).

さらに、糞尿量および窒素排泄量に及ぼす要因のうち相関の比較的高かったものについて、2産以上のウシについて単回帰分析を行った。

糞量は、NDF摂取量と正の有意な直線的関係がみられた（図1）。糞量： y_1 (kg/日) のNDF摂取量： x_1 (kg/日) に対する回帰式は次の通りであった。
 $y_1 = 3.57x_1 + 19.1$ ($R^2 = 0.34$, $P < 0.001$)

尿量は、TDN/CP比と負の有意な直線的関係がみられた（図2）。尿量： y_2 (kg/日) のTDN/CP比： x_2 に対する回帰式は次の通りであった。

$$y_2 = -5.08x_2 + 36.6 \quad (R^2 = 0.33, P < 0.001)$$

糞窒素量は、CP摂取量と有意な正の直線的関係がみられた（図3）。糞窒素量： y_3 (g/日) のCP摂

取量： x_3 (kg/日) に対する回帰式は次の通りであった。

$$y_3 = 39.4x_3 + 51 \quad (R^2 = 0.59, P < 0.001)$$

尿窒素量は、TDN/CP比と有意な二次曲線的関係がみられた（図4）。尿窒素量： y_4 (g/日) のTDN/CP比： x_4 に対する回帰式は次の通りであった。

$$y_4 = 32.12x_4^2 - 362.36x_4 + 1093 \quad (R^2 = 0.49, P < 0.001)$$

また、尿量は尿窒素量と有意な二次曲線的関係がみられた（図5）。

尿量： y_5 (kg/日) の尿窒素量： x_5 (g/日) に対する回帰式は次の通りであった。

$$y_5 = -0.0003x_5^2 + 0.1639x_5 - 0.3 \quad (R^2 = 0.65, P < 0.001)$$

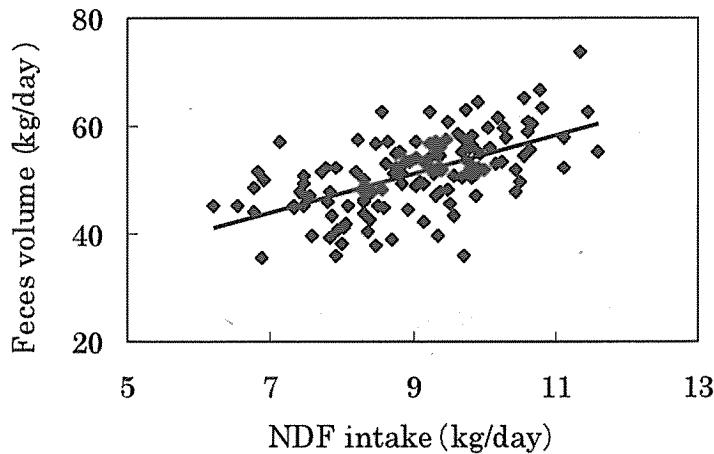


Fig. 1. Relationship between feces volume and NDF intake in multiparous cows.

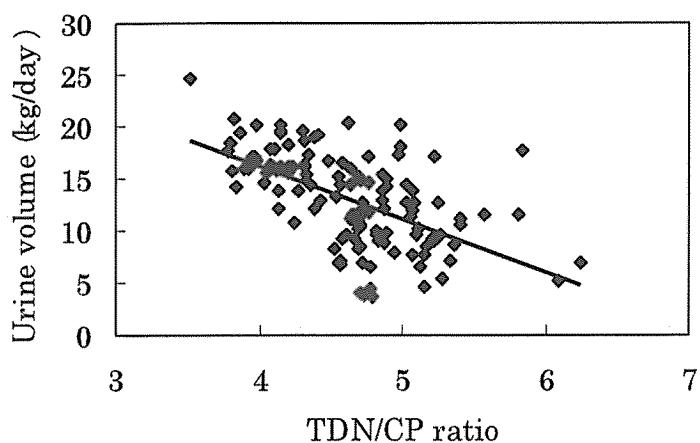


Fig. 2. Relationship between urine volume and TDN/CP ratio in multiparous cows.

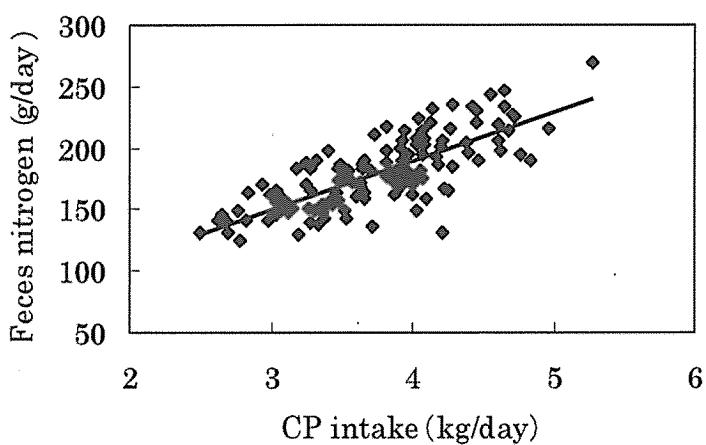


Fig. 3. Relationship between feces nitrogen and CP intake in multiparous cows.

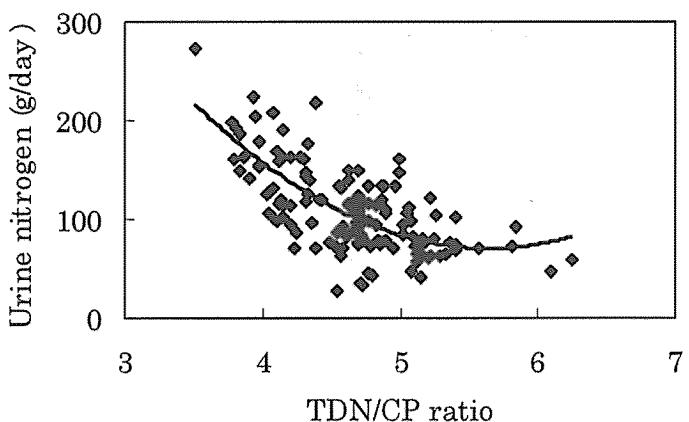


Fig. 4. Relationship between urine nitrogen and TDN/CP ratio in multiparous cows.

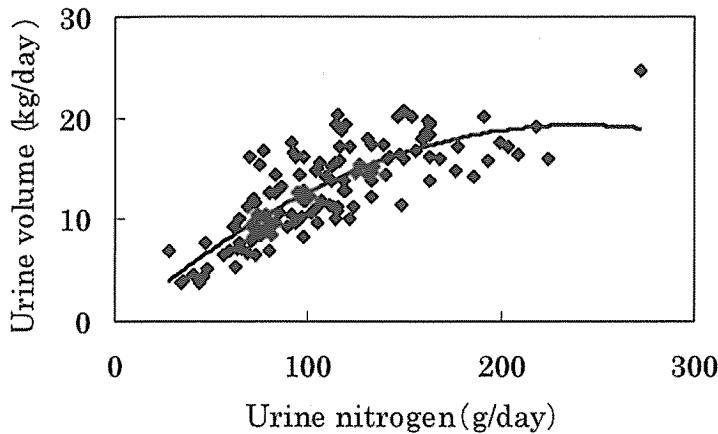


Fig. 5. Relationship between urine volume and urine nitrogen in multiparous cows.

4. 考 察

乳牛の糞尿量および窒素排泄量に関するこれまでの報告では、乳量水準、乾物摂取量および飼養環境などにより違いがみられる。HolterとUrban (1992) は乳牛1頭当たりの乳量が34.6kg/日、乾物摂取量が18.7kg/日で、糞量が35.8kg/日、尿量が14.1kg/日、Van Hornら (1994) は乳量が31.8kg、乾物摂取量が21.0kgで、糞量が45.4kg、尿量が27.2kg、Wilkersonら (1997) は乳量が29kg/日、乾物摂取量が17.9kg/日で、糞量が36.2kg/日、尿量が17.5kg/日であったと報告している。また、アメリカ農業工学会 (ASAE, 2002) の基準では、体重1,000kg当たりの糞尿量は86±17kg/日、うち尿量は26±4.3kg/日と示されていることから、体重660kgの乳牛では、糞尿量が56.8kg/日、糞量が39.6kg/日、尿量が17.2kg/日となる。牧草サイレージを給与した本研究では、2産以上のウシ1頭当たりの乳量が31.5kg/日、乾物摂取量が20.9kg/日で、糞量が51.4kg/日、尿量が13.0kg/日であったことから、同水準の乳量レベルの報告より糞量が多く、尿量が少ないと結果であった。

乳牛1頭当たりの糞窒素量は、寺田ら (1997) が163g/日、早坂 (1997) が170g/日、Wilkersonら (1997) が163g/日と報告し、本研究の2産以上のウシとほぼ同様の値であった。尿窒素量は寺田ら

(1997) が102g/日、早坂 (1997) が100g/日と報告し、本研究の2産以上のウシとほぼ同様であったが、Wilkersonら (1997) は164g/日、Van Hornら (1994) は177g/日と高い値を報告しており、尿窒素量は報告者により大きく異なる。

摂取窒素量に対する糞尿への窒素排泄量の割合は、初産牛が55.0%、2産以上のウシが55.9%であり、早坂 (1994) の55%と同様の成績であった。しかし、橋爪ら (1965) は60%前後、寺田ら (1997) は63.4%、Wilkersonら (1997) は69%と報告している。これらの相違は給与飼料あるいは乳量水準の違いによるものと推察され、基礎飼料として早坂 (1994) は牧草サイレージ、橋爪ら (1965) はチモシー乾草、寺田ら (1997) は乾草、Wilkersonら (1997) はとうもろこしサイレージやアルファルファ乾草などを用いており、平均日乳量は各々34kg、27kg、24kg、29kgであった。

糞量および糞窒素量に及ぼす要因では、糞量は乾物摂取量よりNDF摂取量との相関が高く、NDF含量の低い飼料や良質粗飼料の給与により、糞量をある程度低減できると考えられた。糞窒素量はCP摂取量の増加とともに直線的に増加し、寺田ら (1997) や広岡ら (2001) も同様の傾向を報告している。糞窒素量の低減には、CP水準の抑制、給与飼料の品質向上などが重要であるが、糞窒素量の半分以上は

代謝性糞中窒素が占め、粗タンパク質の真の消化率は高いことから、タンパク質の消化性の向上による糞窒素量の低減効果はあまり多くを望めない（寺田ら 1997）。

尿量および尿窒素量に及ぼす要因では、尿量および尿窒素量は、TDN/CP比と各々負の直線的あるいは二次曲線的関係がみられ、さらに尿量と尿窒素量は正の二次曲線的関係がみられた。Obaraら（1994）はショ糖の添加、大谷ら（2001）はバレイショ澱粉の添加による尿窒素量の低下を報告し、窒素の利用性には炭水化物代謝が関与すると述べている。また、寺田ら（1997）は、尿窒素量に占める内因性尿窒素の割合は1割程度で、飼料中のTDN/CP比を適正にすることにより、尿窒素量の低減が可能であると述べている。大谷ら（2001）は尿窒素量の低下とともに尿量の減少も報告し、血清尿素窒素濃度や抗利尿ホルモンの関与を示唆している。また、Dinnら（1998）は、タンパク質摂取量の増加による利尿効果により、飲水量および尿量が増加すると報告している。同様の傾向は育成豚でも報告（Pfeifferら 1995； Suzukiら 1998）され、Pfeifferら（1995）は飲水量および尿量が増える要因として、尿素サイクルの活性化により、尿から尿素態窒素やアンモニア態窒素を排泄するために水の要求量が高まることを挙げている。

本研究でみられた尿窒素量の増加に伴う尿量の増

加は、血清尿素窒素濃度の上昇に起因する利尿効果によるものと推測され、飼料中のTDN/CP比を適正に保つことにより、尿窒素量の減少のみならず、尿量も減少させ得ることが示唆された。しかし、尿量は窒素摂取量以外に、ナトリウムおよびカリウム摂取量と関係が深いとする報告（Banninkら 1999；久米ら 2003）や、飲水量は乾物摂取量、乳量、ナトリウム摂取量および環境温度に影響されるとする報告（Murphyら 1983）があり、尿量に及ぼす他の要因についてもさらに検討する必要がある。

本研究が他の報告（Van Hornら 1994； Wilkersonら 1997）に比べ、糞量が多かったのは、牧草サイレージ主体飼養でNDF含量が平均44%と高かったためと考えられた。一方、尿量および尿窒素量が少なかったのは、飼料中のTDN/CP比がほぼ適正であり、ルーメン内で過剰となるアンモニアが少ないことから、尿窒素量も低く、尿量が減少したものと推察された。これらは、給与飼料の栄養バランスおよびルーメン内分解性を考慮することにより、環境への窒素負荷量は軽減できることを示している。また、牧草サイレージはルーメン内で分解されるタンパク質（RDP）の割合が高いため、RUP含量の高い飼料やRPAA製剤の添加により、さらにタンパク質の利用効率は高まり、窒素排泄量の低減に寄与するものと考えられる。

第Ⅲ章 牧草サイレージ主体飼養における乳タンパク質生産からみた窒素排泄量低減に向けた検討

III-1 ルーメン保護アミノ酸添加の効果

1. 緒 言

乳合成において制限アミノ酸となりやすいアミノ酸は、メチオニンおよびリジンである(National Research Council 2001)。制限アミノ酸を効率的に補給することにより、乳合成が高まると考えられるが、結晶性のメチオニンおよびリジンはルーメン内で急速に分解される(Chalupa 1976; Onodera 1993)。このため、メチオニンおよびリジンを脂肪酸またはpHに感受性のある高分子化合物によりコーティングしたり、メチオニンアナログなどにより、ルーメン内での分解を抑えた製剤が作成されている(National Research Council 2001)。しかし、ルーメン保護メチオニン(RPM: Rumen protected methionine)およびルーメン保護リジン(RPL: Rumen protected lysine)製剤を用いた試験では、乳生産への影響は必ずしも一致した成績が得られていない(National Research Council 2001)。

前章では、飼料中TDN/CP比を適正にし、飼料タンパク質のルーメン内分解性を考慮することにより、環境への窒素負荷量は軽減できることを示唆した。特に牧草サイレージは、ルーメン内で分解されるタンパク質(RDP)の割合が高いことから、RUP含量の高い飼料やRPAA製剤の添加により、さらにタンパク質の利用効率は高まり、窒素排泄量の低減に寄与するものと考えられる。

そこで、牧草サイレージ主体飼養において、泌乳初期牛を用いてRPM製剤およびRPL製剤の添加試験を2回実施し、乳生産および血清遊離アミノ酸濃度への影響を検討し、乳タンパク質生産の向上効果を検証した。

2. 試験方法

試験1ではRPM製剤(DL-メチオニン量で1日30g)を分娩後16週間添加(RPM区)し、試験2ではRPM

製剤(同15g)およびRPL製剤(L-リジン量で20g)を分娩後12週間添加(RPML区)し、また各々に対し、ルーメン保護アミノ酸(RPAA)製剤を添加しない対照区を設けた。RPAA製剤は、コーティング剤に油脂、崩壊剤にキトサンを使用した製品(日本曹達株式会社製)を用いた。

供試牛は試験1では2産以上のホルスタイン種乳牛16頭(分娩前4週の体重716kg)、試験2では同14頭(同719kg)を用い、各試験ごとに前産次の泌乳成績とともに乳成分率がほぼ等しくなるように振り分けた。試験開始は試験1、2とも分娩予定4週前とし、分娩前4~2週はチモシー主体の牧草サイレージのみを飽食させ、分娩前2週から分娩日までは濃厚飼料3kg/日を併給した。分娩後1~5日まではさらに濃厚飼料給与量を毎日1kgずつ増加し、分娩後6日以降は試験1、2ともに混合飼料(TMR)を給与した。TMRには牧草サイレージ、圧ペんとうもろこしおよび大豆粕を用い、各飼料の乾物配合割合を試験1では50:40:10、試験2では50:38:12とした。TMRは自由採食とし、RPMおよびRPLは分娩後、給与飼料上に添加した。また、市販のミネラル添加剤は1日当たり300g/頭添加した。飼料は1日1回(10:30)給与し、飲水は自由とした。搾乳は1日2回(9:30および19:30)行った。

飼料原料およびTMRの化学成分およびTDN含量は表5に示した。牧草サイレージのTDN含量はメンヨウの消化試験により求め、圧ペんとうもろこしおよび大豆粕の消化率は、日本標準飼料成分表(農林水産技術会議事務局1995)より引用した。採血は頸静脈より分娩前後とも2週間隔で行い、採取時刻は飼料給与前の午前10時とした。血清を分離後、血清の遊離アミノ酸は高速液体クロマトグラフ法(JLC-300、日本電子、東京)、血糖、遊離脂肪酸(NEFA)、 β -ヒドロキシ酪酸(BHBA)および血清尿素窒素

(SUN) は自動化学分析装置 (TBA-20R、東芝メデイカル、東京) により分析を行った。

乳量、飼料摂取量および残食量は毎日計量し、乳成分および体重の測定は週1回実施した。乳成分は赤外線牛乳分析法 (ミルコスキヤンFT120、Foss

Electric社、デンマーク)、飼料の一般分析は常法 (森本 1971)、NDFはデータージェント法 (農林水産省畜産試験場編 1981) により分析した。なお、処理間の平均値の差の検定は *t* 検定 (吉田と阿部、1982) により行った。

Table 5. Chemical composition and nutritive values of feedstuffs and TMR¹

Experiment 1				Experiment 2					
	Grass silage	Flaked corn	Soybean meal	TMR ¹		Grass silage	Flaked corn	Soybean meal	TMR ¹
DM, %	34.4	84.9	87.5	59.9	(% of DM)	35.9	85.4	86.5	60.8
CP	13.6	10.7	52.3	16.2		10.9	9.2	51.0	15.1
EE	5.7	4.9	1.0	4.9		4.9	4.2	1.3	4.2
CF	32.5	3.5	5.3	18.0		•	•	•	•
NDF	•	•	•	•		64.1	13.6	16.8	39.2
ADF	•	•	•	•		45.4	5.4	9.4	25.9
TDN	65.4	92.3	86.8	78.5		62.1	92.3	86.8	76.5

¹TMR consisted of 50% grass silage, 40% flaked corn, 10% soybean meal in experiment 1, and 50% grass silage, 38% flaked corn, 12% soybean meal in experiment 2(DM basis).

3. 結 果

1日当りの乾物摂取量は、試験1の分娩後3～8週および9～16週では対照区が各々21.2と22.0kg、RPM区が20.6と21.3kg、試験2の分娩後3～12週では対照区が20.1kg、RPML区が20.5kgといずれも処理間に差がみられなかった（表6）。CPおよびTDN摂取量も乾物摂取量と同様の傾向であった。

1日当りの実乳量は、試験1の分娩後3～8週では対照区が37.8kg、RPM区が36.9kg、分娩後9～16週ではともに34.2kg、試験2の分娩後3～12週では対照区が38.0kg、RPML区が37.9kgといずれも処理間に差がなかった。1日当りの乳タンパク質量は、試験1の分娩後3～8週では対照区が1.09kg、RPM区が1.13kg、試験2では対照区が1.06kg、RPML区が1.13kgといずれも添加区の方が多い傾向にあったが有意な差ではなかった（各々P<0.35、P<0.21）。

乳タンパク質率は、試験1の分娩後3～8週では対照区が2.87%、RPM区が3.07%と、RPM区が0.20ポイント有意に高く（P<0.02）、分娩後9～16週でも各々3.09、3.20%と、RPM区が高い傾向にあった（P<0.07）。試験2では、対照区が2.80%、RPML区

が3.00%と、RPML区が0.20ポイント高い傾向にあった（P<0.21）。乳脂率は試験1の分娩後3～8週のRPM区が4.07%と対照区の3.93%よりも高い傾向にあった（P<0.09）が、乳脂量には差がなかった。乳糖率および乳糖量は処理間に差がなかった。

血液成分では、血糖は試験1の対照区がRPM区に比べ有意に高かったが、NEFA、BHBAおよびSUNは処理間に差がなかった（表7）。血清遊離メチオニン濃度は、試験1の分娩後4～8週および10～16週では、対照区が各々2.06と2.30 μmol/dl、RPM区が3.19と3.56 μmol/dlといずれもRPM区が有意に高かった（ともにP<0.01）（表8）。試験2の分娩後4～12週では、対照区が2.08 μmol/dl、RPML区が2.57 μmol/dlとRPML区が有意に高かった（P<0.01）。血清遊離リジン濃度は、試験1では処理間に差がなく、リジンを添加した試験2でも対照区が7.92 μmol/dl、RPM区が8.06 μmol/dlと差がなかった。他の血清遊離必須アミノ酸では、試験2のRPML区の側鎖アミノ酸（バリン、ロイシンおよびイソロイシン）濃度が対照区に比較して低い傾向にあった。

Table 6. Effects of ruminally protected amino acids on feed intake, milk production and milk composition in Experiment 1 and 2

Weeks after parturition	Experiment 1				Experiment 2				Contrast, P<		
	Control		RPM ¹		Control		RPML ²		Exp. 1		Exp. 2
	3-8	9-16	3-8	9-16	3-12	3-12	3-8	9-16	3-12		
No. of cows	8	8	8	8	7	7					
Supplementation level, g/d											
RPM	0	0	30	30	0	15					
RPL	0	0	0	0	0	20					
Feed intake, kg/d											
DM	21.2	22.0	20.6	21.3	20.1	20.5	.54	.42	.40		
CP	3.46	3.56	3.43	3.41	3.00	3.11	.87	.36	.18		
TDN	16.7	17.2	16.2	16.6	15.4	16.0	.61	.40	.15		
Milk production, kg/d											
Milk	37.8	34.2	36.9	34.2	38.0	37.9	.52	.99	.96		
FCM	37.6	33.9	37.3	33.9	36.4	36.3	.83	.99	.96		
Fat	1.49	1.35	1.50	1.35	1.41	1.41	.88	.97	.96		
Protein	1.09	1.06	1.13	1.09	1.06	1.13	.21	.54	.35		
Lactose	1.78	1.61	1.74	1.62	1.70	1.67	.65	.86	.78		
Milk composition, %											
Fat	3.93	3.93	4.07	3.95	3.72	3.72	.09	.82	.97		
Protein	2.87	3.09	3.07	3.20	2.80	3.00	.02	.07	.21		
Lactose	4.70	4.69	4.72	4.73	4.47	4.41	.75	.62	.69		

¹ RPM : ruminally protected methionine.² RPML : ruminally protected methionine and lysine.

Table 7. Effects of ruminally protected amino acids on concentrations of serum metabolites of lactating cows

Weeks after parturition	Experiment 1				Experiment 2				Contrast, P<		
	Control		RPM ¹		Control		RPML ²		Exp. 1		Exp. 2
	3-8	9-16	3-8	9-16	3-12	3-12	3-8	9-16	3-12		
Glucose, mg/dl	62.8	67.8	55.7	60.8	58.5	60.4	.04	.01	.47		
NEFA, μ Eq/L	387	112	421	116	293	227	.78	.81	.39		
BHBA, μ mol/L	1034	.	1518	.	847	816	.27	.	.88		
Urea-N, mg/dl	10.7	10.9	11.2	10.0	9.9	10.5	.67	.32	.43		

¹ RPM : ruminally protected methionine.² RPML : ruminally protected methionine and lysine.

Table 8. Effects of ruminally protected amino acids on concentrations of serum essential amino acids of lactating cows

Weeks	Experiment 1				Experiment 2				Contrast		
	Control		RPM ¹		Control		RPML ²		Exp. 1		Exp. 2
	4-8	10-16	4-8	10-16	4-12	4-12	4-8	10-16	4-12	(P<)	
(μ mol/dl)											
Met	2.06	2.30	3.19	3.56	2.08	2.57	.01	.01	.01		
Lys	7.97	8.89	8.23	8.91	7.92	8.06	.77	.98	.77		
His	6.25	6.94	5.47	7.32	5.13	4.95	.14	.41	.71		
Phe	4.87	5.68	4.95	6.02	5.00	5.06	.75	.29	.83		
Thr	8.46	9.37	7.89	9.74	8.67	8.84	.30	.49	.85		
Arg	13.47	15.49	13.33	15.29	14.01	14.60	.86	.81	.67		
Val	24.54	25.91	23.51	26.58	22.71	20.67	.61	.72	.09		
Leu	16.79	17.05	16.76	17.35	15.81	13.49	.98	.77	.02		
Ile	12.56	12.42	13.00	12.95	12.98	11.25	.69	.46	.06		
Total	96.95	104.06	96.33	107.71	98.18	93.30	.91	.49	.27		

¹ RPM : ruminally protected methionine.² RPML : ruminally protected methionine and lysine.

4. 考 察

RPAA製剤を用いた試験では、乾物摂取量は増加したとする報告 (Casperら 1987 ; Illgら 1987 ; Schingoetheら 1988) と、変化しなかったとする報告 (Rogersら 1987 ; Casperら 1988 ; Donkinら 1989 ; Rogersら 1989 ; Chowら 1990 ; 小林ら 1999) があり、乳量も増加したとする報告 (Illgら 1987 ; Schingoetheら 1988 ; Chapoutotら 1992 ; Robinsonら 1995) もあれば、変化しなかったとする報告 (Rogersら 1987 ; Casperと Schingoethe 1988 ; Donkinら 1989 ; Rogersら 1989 ; Chowら 1990 ; Colin-Schoellenら 1995 ; Nicholsら 1998) もある。本研究ではDonkinら (1989) やRogersら (1987と1989) と同様に、RPAA製剤添加による乾物摂取量の増加および乳量の向上効果はみられなかった。

しかし、乳タンパク質率は、試験1の分娩後3~8週および試験2の分娩後3~12週では添加区が0.2ポイント有意に高く、泌乳初期では明らかにRPM添加による乳タンパク質率の向上効果が認められた。これまでのRPM添加により乳タンパク質率が高まったとする報告 (Casperら 1987 ; Illgら 1987 ; Rogersら 1987 ; Casperら 1988 ; Schingoetheら 1988 ; Donkinら 1989 ; Rogersら 1989 ; Canaleら

1990 ; Chowら 1990 ; Polanら 1991 ; Chapoutotら 1992 ; Colin-Schoellenら 1995 ; Robinsonら 1995 ; RulquinとDelaby 1997 ; Nicholsら 1998) では、およそ0.1ポイントの向上効果が認められており、今回の増加割合は比較的高かった。

NRC標準 (National Research Council 2001) では、メチオニンおよびリジンを泌乳牛の下部消化管に供給した場合の反応についての総説および最近の報告から、メチオニンおよびリジンを添加した場合には、乳量よりも乳タンパク質率に反応が現れやすいと総括し、本研究もこれらを裏付けるものであった。また、RPM添加により乳脂率が高まったとする報告 (Robinsonら 1995 ; Bremmerら 1997 ; Xuら 1998) があり、試験1の分娩後3~8週でも添加区が高い傾向にあった。試験1ではRPM添加量がDLメチオニン量で1日30gと多く、メチオニンが乳腺あるいは肝臓での脂質代謝に関与 (National Research Council 2001) していたのかもしれない。

血清遊離メチオニン濃度は、RPM製剤を添加した多くの報告 (Casperら 1987 ; Rogersら 1987 ; Casperら 1988 ; Donkinら 1989 ; Rogersら 1989 ; Colin-Schoellenら 1995 ; 小林ら 1999) で高くなつたとされ、Rogerら (1987と1989) は添加量に応じ

て高まったと述べている。本研究では、DLメチオニンで1日30gを添加した試験1で $3.1 \mu\text{mol}/\text{dl}$ を越え、同15gを添加した試験2でも $2.5 \mu\text{mol}/\text{dl}$ 以上であり、対照区の $2.3 \mu\text{mol}/\text{dl}$ 以下に比べ有意に高く、添加量に応じて高くなる傾向がみられた。これは本研究に用いたRPM製剤が下部消化管で効率的に吸収されていることを示している。

RPL製剤を添加した試験2では、血清遊離リジン濃度の増加はみられなかった。RPL製剤を添加したこれまでの報告 (Rogersら 1987; Donkinら 1989; Polanら 1991; Chapoutotら 1992) ではいずれも血清遊離リジン濃度が高まっており、本研究では添加量が十分でなかったか、あるいは製剤がルーメン内で分解された可能性があり、本研究でのRPL添加の

効果は少なかったものと推察された。また、側鎖アミノ酸が試験2の添加区で低かった理由については明らかではなかった。

これらから、PRM製剤の添加により乳タンパク質率が高まったのは、牧草サイレージ主体飼養において制限アミノ酸となりやすいメチオニンが効率的に補給され、乳タンパク質合成が高まったためと考えられた。すなわち、制限アミノ酸の添加により飼料中タンパク質の利用効率が高まることが示された。これは飼料中CP含量をさらに低く設定することにより、乳生産を低下させずに窒素排泄量を低減できることをも示唆するものである。また、RPAA製剤と同様の効果は、RUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉の添加によっても期待される。

III-2 魚粉給与の効果

1. 緒言

前節ではPRM製剤の添加により、牧草サイレージ主体飼養において制限アミノ酸となりやすいメチオニンが効率的に補給され、乳タンパク質合成が高まることを明らかにした。同様の効果は、RUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉の添加によっても可能と考えられる。

泌乳牛に魚粉を給与した報告では、基礎粗飼料にとうもろこしサイレージ (Zerbiniら 1988; Mantysaariら 1989; Spainら 1990; Wohltら 1991)、アルファルファ乾草 (Carrollら 1994; Calsamiglia ら 1995; Polanら 1997) およびアルファルファサイレージ (AtwalとErfle 1992; Broderick 1992) を用いた研究が多く、イネ科およびマメ科主体の牧草サイレージ (Codyら 1990; Windschitl 1991) を用いた研究は比較的少ない。牧草サイレージは溶解性タンパク質の割合が高く (原ら 1999)、さらに貯蔵中にもタンパク質の分解が進むため、RUPが不足しやすい。

一方、高泌乳牛ではMCPからのタンパク質供給だけではなく、RUPからの供給も重要である。前節ではPRAA製剤の添加により、十二指腸へのメチオニンあるいはリジンの供給量のみを増加させたが、高RUP飼料の1つである魚粉の給与はRUP供給量を増加させる。特に、魚粉は牧草サイレージ主体飼養で乳合成の制限アミノ酸となりやすいメチオニンおよびリジンを多く含んでおり、PRAA製剤と同様に、乳タンパク生産の向上効果が期待される。

そこで、牧草サイレージ主体飼養において、泌乳初期牛に魚粉を給与し、乳生産、飼料摂取量および血清遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響を検討し、乳タンパク質生産の向上効果を検証した。

2. 試験方法

供試牛は2産以上のホルスタイン種乳牛26頭（分娩前4週の平均体重722kg）を用い、対照区と魚粉

区の前産次乳成分がほぼ等しくなるように13頭ずつ振り分けた。前産次における1乳期の平均乳タンパク質率および乳脂肪率は、対照区と魚粉区が各々3.12と3.14%および3.87と3.84%であった。試験期間は分娩前4週～分娩後12週とした。

分娩前後の給与飼料は、分娩前4～2週まではチモシー主体の牧草サイレージのみ自由採食させ、分娩前2週から分娩までは濃厚飼料3kgを併給した。分娩後1～5日まではさらに濃厚飼料給与量を毎日1kgずつ増加し、分娩後6日～12週までは混合飼料(TMR)を自由採食させた。TMRには牧草サイレージと圧ペんとうもろこしと大豆粕と魚粉を用い、乾物比率を対照区で50:38:12:0、魚粉区で50:39:6:5とし、養分含量はいずれのTMRもCPが15%、TDNが77%とほぼ等しくなるように設計した（表9）。市販のミネラル添加剤は1日当たり300g/頭添加した。飼料は1日1回（10:30）給与し、搾乳は1日2回（9:30および19:30）行った。

牧草サイレージの栄養価は、メンヨウの消化試験により求めた。消化試験はメンヨウ4頭を用い、予備期14日間、本期4日間の全糞採取法で行った。圧ペんとうもろこし、魚粉および大豆粕の消化率は、日本標準飼料成分表（農林水産省技術会議事務局1995）より引用した。

採血は頸静脈より分娩前後とも2週間隔で行い、採取時刻は飼料給与前の午前10時とした。また、血清遊離アミノ酸の頸静脈・乳静脈差の測定のために、採血を本期最終日の朝の搾乳後1、3、5時間に行なった。血清を分離後、血清の遊離アミノ酸は高速液体クロマトグラフ法 (JLC-300、日本電子)、 β -ヒドロキシ酪酸 (BHBA) は市販キット (ケトンテストB「三和」、三和化学)、血糖、遊離脂肪酸 (NEFA) および尿素窒素は自動化学分析装置 (TBA-20R、東芝メディカル) により分析を行った。

乳量、飼料給与量および残餌量（現物）は毎日計量し、乳成分および体重の測定は週1回実施した。

乳成分は赤外線牛乳分析法（ミルコスキャンFT120、Foss Electric社、デンマーク）、飼料の一般分析は常法（森本 1971）、NDFおよびADFはデータージェン

ト法（農林水産省畜産試験場編 1981）により分析した。なお、処理間の平均値の差の検定はt検定（吉田と阿部 1982）により行った。

Table 9. Chemical composition and nutritive values of feedstuffs and TMR¹

	Grass	Flaked	Soybean	Fish	TMR ¹	
	silage	corn	meal	meal	Control	+FM
DM, %	35.9	86.4	86.8	89.7 (% of DM)	50.7	50.8
CP	10.7	9.3	51.0	67.7	15.0	15.4
Crude fat	4.4	4.3	1.3	10.3	3.9	4.4
NDF	65.3	13.6	16.8	0	40.2	39.3
ADF	47.2	5.4	9.4	0	27.2	27.0
TDN	62.3	92.3	86.8	82.9	76.8	76.5

¹TMR(total mixed ration) consisted of 50% grass silage, 38% flaked corn, 12% soybean meal in control, and 50% grass silage, 39% flaked corn, 6% soybean meal, 5% fish meal in +FM(DM basis).

3. 結 果

1日当りの乾物摂取量は分娩後3～12週で対照区が20.67±2.59kg、魚粉区が20.05±2.08kgと差がなく、CPおよびTDN摂取量も同様であった（表10）。1日当りの実乳量は対照区が37.6±4.0kg、魚粉区が38.6±5.6kgと差がなく、4%脂肪補正乳量（FCM）も同様であった。1日当りの乳タンパク質量は対照区が1.07±0.11kg、魚粉区が1.17±0.16kgと、魚粉区が0.10kg多かった（P<0.07）。乳タンパク質率は対照区が2.86±0.24%、魚粉区が3.04±0.20%と、魚粉区が0.18ポイント有意に高かった（P<0.05）。乳脂肪および乳糖は、生産量および成分率とも処理間に差がなかった。

分娩後の体重、血清の血糖、NEFA、BHBAおよび尿素窒素濃度は、処理間に差がなかった（表11）。血清遊離メチオニン濃度は分娩後4～12週の平均で対照区が2.15 μmol/dl、魚粉区が2.43 μmol/dlと、魚粉区が有意に高かった（P<0.05）（表12）。週ごとに比較すると、対照区では分娩後8週を除き、分娩後は2.20 μmol/dl以下で推移したのに対し、魚粉区では分娩後4および6週でやや低下したものの、分

娩後2および12週では2.52、2.68 μmol/dlと、対照区の各々2.10、2.07 μmol/dlに比べ高く、その差は有意であった（各々P<0.05および0.01）。

血清遊離リジン濃度は分娩後4～12週の平均で対照区が7.66 μmol/dl、魚粉区が8.90 μmol/dlと魚粉区が有意に高かった（P<0.01）。週ごとに比較すると、対照区では分娩後4週を除き7.80 μmol/dl以下で推移したのに対し、魚粉区では分娩後10および12週で8.89および9.85 μmol/dlと有意に高かった（ともにP<0.01）。その他の血清遊離必須アミノ酸では、分娩後8週のフェニルアラニン濃度が魚粉区で4.36 μmol/dlと有意に低かった（P<0.05）ほかは、処理間に差がなかった。血清遊離必須アミノ酸の総計は、対照区が98.16 μmol/dl、魚粉区が98.26 μmol/dlと差がなかった。

搾乳後1、3、5時間における頸静脈と乳静脈血の血清遊離アミノ酸濃度では、頸静脈血の血清遊離メチオニン濃度が対照区において搾乳後3および5時間に各々1.81、1.86 μmol/dlと低い値を示した。頸静脈と乳静脈血の差も1.21、1.24 μmol/dlと魚粉区に比べ低かった（表13）。

Table 10. Effect of fish meal on feed intake, milk production and milk composition (from 3 to 12 wk postpartum)

	Control		+FM		Contrast
	mean	SD	mean	SD	P<
Feed intake, kg/d					
DM	20.67	2.59	20.05	2.08	0.51
CP	3.05	0.39	3.06	0.35	0.97
TDN	15.85	1.97	15.32	1.63	0.46
Milk production, kg/d					
Milk	37.6	4.0	38.6	5.6	0.58
FCM	36.5	4.0	37.5	5.1	0.58
Fat	1.43	0.17	1.47	0.21	0.61
Protein	1.07	0.11	1.17	0.16	0.07
Lactose	1.70	0.20	1.74	0.23	0.60
Milk composition, %					
Fat	3.81	0.27	3.81	0.28	0.99
Protein	2.86	0.24	3.04	0.20	0.05
Lactose	4.51	0.20	4.51	0.22	0.99

Table 11. Body weight(BW) and concentrations of metabolities in serum of lactating cows

	Weeks after parturition								
	-2w	2w	4w	6w	8w	10w	12w	4-12W	
BW , kg	Cont.	722	642	632	635	636	634	637	641
	+FM	733	658	651	646	648	641	652	650
Glucose , mg/dl	Cont.	61.3	54.2	55.1	58.5	59.8	62.5	60.6	59.3
	+FM	58.3	52.5	51.9	56.7	60.7	59.5	57.9	57.3
NEFA , μ Eq/L	Cont.	196	811	559	280	224	172	160	272
	+FM	217	547	365	272	240	176	150	241
BHBA , μ mol/L	Cont.	365	899	872	ND ¹	574	ND	ND	723
	+FM	487**	890	1131	ND	712	ND	ND	921
Urea-N , mg/dl	Cont.	7.0	8.4	9.4	9.7	9.1	9.2	9.9	9.5
	+FM	8.5	10.2	10.5	11.2	11.1	10.8	10.5	10.8

** : Significantly different from the control(P<0.01).

¹ND : Not determined.

Table 12. Concentrations of essential amino acids in serum of lactating cows

		Weeks after parturition							
		-2w	2w	4w	6w	8w	10w	12w	4-12W
		(μ mol/dl)							
Met	Cont.	2.49	2.10	2.12	2.07	2.27	2.20	2.07	2.15
	+FM	2.43	2.52*	2.23	2.25	2.46	2.55	2.68**	2.43*
Lys	Cont.	8.02	7.72	8.27	7.77	7.80	7.01	7.43	7.66
	+FM	8.24	8.45	8.91	8.68	8.23	8.89**	9.85**	8.90*
His	Cont.	5.69	5.61	5.36	5.29	5.11	4.68	4.66	5.02
	+FM	5.20	5.16	5.24	5.49	5.20	5.28	5.17	5.26
Phe	Cont.	5.49	5.06	4.91	4.92	5.19	4.66	4.87	4.91
	+FM	5.09	4.65	4.53	4.50	4.36*	4.60	4.90	4.58
Thr	Cont.	7.38	7.66	8.86	9.07	9.44	8.56	8.71	8.93
	+FM	6.93	7.96	8.01	8.48	8.34	8.60	9.92	8.63
Arg	Cont.	12.70	12.35	13.56	13.47	13.80	14.02	13.88	13.75
	+FM	12.71	12.91	13.50	14.66	13.10	14.11	14.21	13.90
Trp	Cont.	3.58	3.39	4.63	5.12	5.67	3.89	4.02	4.67
	+FM	3.41	3.23	3.62	3.63	4.55	4.26	4.33	4.09
Val	Cont.	21.07	22.02	24.55	24.25	23.18	20.74	21.68	22.88
	+FM	19.97	20.75	23.16	22.82	22.52	22.16	23.03	22.69
Leu	Cont.	13.50	16.65	17.40	16.07	15.92	14.32	14.73	15.69
	+FM	12.15	15.73	16.62	15.96	14.86	14.88	15.40	15.53
Ile	Cont.	11.61	13.90	14.21	13.28	11.92	11.57	11.61	12.52
	+FM	11.25	12.76	13.75	12.64	11.57	11.30	12.06	12.25
Total	Cont.	91.54	96.45	103.87	101.31	100.30	91.65	93.69	98.16
AA	+FM	87.39	94.12	99.57	99.11	95.19	96.62	101.53	98.26

*: Significantly different from the control($P<0.05$).**: Significantly different from the control($P<0.01$).Table 13. Concentrations of essential amino acids in serum of jugular vein and milk vein
1,3,5 hrs after morning milking

	Jugular vein serum			Milk vein serum			Jugular-Milk vein Difference			
	1h	3h	5h	1h	3h	5h	1h	3h	5h	
		(μ mol/dl)								
Met	Cont.	2.20	1.81	1.86	0.52	0.60	0.72	1.68	1.21	1.24
	+FM	2.34	2.42	2.25	0.72	0.80	0.81	1.62	1.62	1.44
Lys	Cont.	7.77	8.35	7.98	2.59	3.38	3.75	5.18	4.97	4.61
	+FM	8.30	8.44	8.40	2.65	2.67	2.96	5.65	5.77	5.44
Total	Cont.	102.5	108.7	105.5	64.8	74.6	77.2	37.7	34.1	28.9
AA	+FM	97.6	107.9	105.9	62.3	69.2	73.7	35.3	38.7	32.2

4. 考 察

泌乳牛に対して高RUP飼料の1つである魚粉を給与した試験は数多く報告されているが、乳生産およ

び十二指腸へのアミノ酸流量への反応は必ずしも一致していない (HusseinとJordan 1991 ; Santosら 1998)。魚粉給与により、乳量 (AtwalとErfle

1992; Broderick 1992) および乳タンパク質率 (Broderick 1992; Calsamigliaら 1995) が向上したとする報告もあれば、RUP量は増加したが、MCP量が減少したため、十二指腸へのアミノ酸流量は変わらず、乳生産の向上効果はなかったとする報告 (Zerbiniら 1988) もある。AtwalとErfle (1992) はこれら成績の違いには乳量水準が関係するとし、乳量27kg/日以下では魚粉給与の効果は少ないと述べ、Santosら (1998) も乳量30kg/日以上でより効果がみられるとしている。

本研究の実乳量は37~38kg/日と処理間に差がなかったが、乳タンパク質率は魚粉区が0.18ポイント高く、乳タンパク質量も多かったことから、魚粉給与により乳タンパク質生産が高まったものと考えられた。NRC飼養基準 (2001) ではメチオニンおよびリジンを添加した場合、乳量よりも乳タンパク質率に反応が現れやすいと総括しており、本研究でもRUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉 (O'Connorら 1993) の給与により、同様の結果が得られた。

一方、魚粉に含まれる長鎖不飽和脂肪酸は、ルーメン発酵および乳中脂肪酸組成に影響を与え (Bruckentalら 1989; Windschitl 1991; Spainら 1995)、乾物摂取量を低下させる (Windschitl 1991; AtwalとErfle 1992) といわれる。しかし、魚粉を給与した試験では、乳脂率が低下したとする報告 (Zerbiniら 1988; Bruckentalら 1989; Mantysaariら 1989; Blauwinkelら 1990; Spainら 1990; Windschitl 1991; Wohltら 1991; Spainら 1995) と、低下しなかったとする報告 (PetitとVeira 1991; Broderick 1992; Carrollら 1994; Polanら 1997) があり、乾物摂取量は変わらなかったとする報告 (Zerbiniら 1988; Mantysaariら 1989; Blauwinkelら 1990; Spainら 1990; Wohltら 1991; Broderick 1992) も多い。

本研究では、魚粉給与により乳脂率および乾物摂取量の低下はみられなかった。NRC飼養基準 (2001) では、油脂などの脂肪添加量が全飼料中の3%以下

であれば飼料摂取量、乳脂肪率およびルーメン発酵に及ぼす影響は少ないとしている。本研究のTMR中の脂肪含量は、魚粉区が4.4%、対照区が3.9%と、魚粉区が0.5ポイント高いだけであり、飼料摂取量、乳脂肪率およびルーメン発酵への影響は少なかったものと考えられた。また、Broderick (1992) が指摘するように、魚粉をTMRとして給与したため、乾物摂取量への影響が少なかったことも考えられた。また、分娩後の体重の推移およびエネルギー代謝の指標となる血中の血糖、NEFAおよびBHBAにおいても処理間に差がなく、乾物摂取量への影響が少なかったことを示している。

搾乳後1、3、5時間における頸静脈と乳静脈血の血清遊離アミノ酸濃度では、頸静脈血の血清遊離メチオニン濃度が対照区において搾乳後3および5時間に低い値を示した。乳合成は搾乳後急速に高まり、乳腺細胞へのアミノ酸の取り込み量が増加するため、対照区では血清遊離メチオニン濃度が低下したものと推察された。これらは血清遊離アミノ酸濃度をタンパク質栄養の指標とする場合に、搾乳後の経過時間を考慮する必要があることを示唆している。

血清遊離メチオニン濃度は魚粉区が対照区に比べ有意に高く、血清遊離リジン濃度も同様の傾向がみられた。RPM製剤およびRPL製剤を添加し、乳タンパク質生産の向上がみられたとするDonkinら (1989) やRogersら (1987) の報告では、血清遊離メチオニンおよびリジン濃度が高くなっている。本研究でもこれらの血清遊離アミノ酸濃度が上昇したのは、魚粉のRUP中メチオニンおよびリジンが、効率的に下部消化管で吸収されたことを示している。

このように牧草サイレージ主体飼養では、RUP割合が高い魚粉を用いることにより、制限アミノ酸とされるメチオニンおよびリジンが効率的に補給され、乳タンパク質生産が向上することが明らかとなった。これは飼料中CP含量をさらに低く設定することにより、乳生産を低下させずに窒素排泄量を低減できることをも示唆するものであり、このことを窒素出納試験により確認する必要がある。