

## 第Ⅳ章 泌乳牛におけるタンパク質供給量と アミノ酸栄養に基づく窒素排泄量低減

### 1. 緒言

育成豚では飼料中のアミノ酸バランスを考慮して、CP含量を低く設定することにより、尿窒素排泄量が低減すると報告（Rofflerら 1986；古谷ら 1997；Suzukiら 1998）され、既に養豚および養鶏産業では窒素およびリン含量を低くした飼料が開発されており、一部実用化している。乳牛ではルーメン保護アミノ酸（RPAA）製剤を用いて、飼料中CP含量を下げることににより、乳タンパク質生産量を低下させることなく、窒素排泄量を低減できることが示唆されている（Dinnら 1998；足立ら 2003）。第Ⅲ章では、牧草サイレージ主体飼養において、RPAA製剤および魚粉の添加により乳タンパク質生産が高まることを示した。これらは、RDP割合の高い牧草サイレージ主体の飼養において、RUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉を用い、ルーメン内の窒素・ペプチドバランスと、アミノ酸要求量を考慮して飼料設計することにより、乳生産を低下させずに窒素排泄量を低減できることを示唆している。

そこで、本章では牧草サイレージ主体飼養において、飼料中CP水準を13、15、17%の3水準設け、13%および15%CP区には魚粉を全飼料中2%（乾物中）添加し、乳生産および血中遊離アミノ酸濃度への影響と、窒素排泄量の低減効果を検討した。

### 2. 試験方法

供試牛は泌乳中期（試験開始時の平均分娩後日数157日）の2産以上のホルスタイン種乳牛6頭（平均体重675kg）を用い、1期18日間の3×3ラテン方格法で窒素出納試験を実施した。試験処理は全飼料中のCP含量で13%CP区、15%CP区および17%CP区の3水準を設けた。

給与飼料は、各区とも牧草サイレージ主体の混合飼料（TMR）とし自由採食させた。TMRには表14に示したように、チモシー主体牧草サイレージ、加熱圧ぺんとうもろこし、大豆粕および魚粉を用い、

乾物比率を13%CP区で55：39：4：2、15%CP区で55：34.6：8.4：2、17%CP区で55：30：15：0とした。飼料設計に当たっては、アミノ酸バランスを考慮（O'Connor 1993）して13%CP区および15%CP区には、魚粉を全飼料中に2%（乾物中）添加し、TDN含量は各区とも76%とした。市販のミネラル添加剤は1日当たり200g/頭を添加した。飼料は1日1回（9:30）給与し、搾乳は1日2回（9:30および19:30）行った。

窒素出納試験は、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日間とし、本期には糞尿を全量分離採取した。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た。消化試験はメンヨウ4頭を用い、予備期14日、本期4日の全糞採取法で行った。加熱圧ぺんとうもろこし、魚粉および大豆粕の見かけのCP消化率は、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。

乳量、飼料給与量および残餌量（現物）は本期4日間毎日計量し、乳成分は毎日分析した。頸静脈と乳静脈からの採血および乳汁採取は、本期最終日に行い、採取時刻は飼料給与前および給与後3、6および9時間とした。また、血清遊離アミノ酸の動静脈差の測定のために、頸動脈血および乳静脈血の採血を、本期最終日の飼料給与3時間後（朝の搾乳後3時間と同じ）に行った。

血液は血清を分離後、血清尿素窒素（SUN）、血糖および遊離脂肪酸は自動化学分析装置（TBA-20R、東芝メディカル、東京）、血清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）により分析を行った。一般乳成分および乳中尿素窒素（MUN）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、統計処理はラテン方格の解析はSAS GLM法（SAS 1990）により行った。

Table 14. Chemical composition and nutritive values of feedstuffs and TMR<sup>1</sup>

	Grass	Steam-	Soybean	Fish	TMR <sup>1</sup>		
	silage	rolling	corn	meal	meal	13%CP	15%CP
DM, %	24.5	82.5	86.1	92.0	36.1	36.2	36.2
	----- (% of DM) -----						
CP	11.2	9.1	51.5	66.5	13.2	15.1	16.7
Crude fat	3.5	3.9	1.3	9.1	3.7	3.6	3.3
NDF	69.4	14.5	14.7	0	44.1	44.1	44.4
ADF	44.1	4.5	9.9	0	26.2	26.5	26.9
TDN	63.5	92.3	86.8	82.9	76.1	75.8	75.7

<sup>1</sup>TMR(total mixed ration) consisted of 55% grass silage, 39% steam-rolling corn, 4% soybean meal, 2% fish meal in 13%CP, 55% grass silage, 34.6% steam-rolling corn, 8.4% soybean meal, 2% fish meal in 15%CP, and 55% grass silage, 30% steam-rolling corn, 15% soybean meal in 17%CP(DM basis).

### 3. 結果

TMR中の実測CP含量は13%CP区が13.2%、15%CP区が15.1%、17%CP区が16.7%とほぼ設定通りであり、各区ともTDN含量は76%、NDF含量は44%であった(表14)。乾物摂取量は13%CP区が20.6kg/日、15%CP区が20.9kg/日、17%CP区が21.5kg/日と、17%CP区がやや多かったが有意差はなかった(表15)。

CP摂取量は13%CP区が2.72kg/日、15%CP区が3.14kg/日、17%CP区が3.58kg/日(各処理間に $P < 0.01$ )であったが、TDN摂取量およびNDF摂取量には差がなかった。TDN/CP比は13%CP区が5.8、15%CP区が5.1、17%CP区が4.6(各処理間に $P < 0.01$ )であった。

日本飼養標準(農林水産省農林水産技術会議事務局1999)の養分要求量に対する養分充足率では、CP充足率は13%CP区が90%、15%CP区が102%、17%CP区が115%(各処理間に $P < 0.01$ )と13%CP区が有意に低かったが、TDN充足率は各区とも100%を越えていた。

乳量は13%CP区が29.5kg/日、15%CP区が30.3kg/日、17%CP区が30.5kg/日と13%CP区がやや低かったが有意な差はなかった。4%補正乳量(FCM量)、乳成分量および乳成分率は、処理間に差がなかった。血糖および血清遊離脂肪酸の濃度は処理間に差がなかった。

糞量は13%CP区が52.7kg/日、15%CP区が54.6kg/日、17%CP区が55.2kg/日と13%CP区がやや低く、尿量は各々10.5、11.5、13.2kg/日と、13%CP区と15%CP区が17%CP区(ともに $P < 0.07$ )に比べ低い傾向がみられた(表16)。

糞窒素量は13%CP区が161g/日、15%CP区が174g/日、17%CP区が171g/日と13%CP区がやや低かったが有意な差はなかった。尿窒素量は13%CP区が69g/日、15%CP区が98g/日、17%CP区が125g/日、糞窒素量と尿窒素量の合計量は各々230、272、295g/日と、13%CP区 $<$ 15%CP区 $<$ 17%CP区の順に高く各処理間に有意な差がみられた。13%CP区および15%CP区の尿窒素量は、17%CP区に比べ各々55%および78%となり、飼料中CP含量の低下とともに著しい減少がみられた。窒素蓄積量は13%CP区と15%CP区が17%CP区に比べ少なく有意な差がみられた。摂取窒素量に対する糞尿窒素量の割合は、13%CP区が53.1%、15%CP区が54.0%、17%CP区が51.6%と処理間に差がなかった。

MUNおよびSUNの濃度は、採材時間による変動が少なく、MUN濃度の平均が13%CP区が7.3mg/dl、15%CP区が10.6mg/dl、17%CP区が14.3mg/dl、SUN濃度が各々8.7、12.0、15.5mg/dlと、いずれも飼料中のCP含量が高くなると、MUNおよびSUNも有意に高くなった(各処理間に $P < 0.01$ )(表17)。また、MUN濃度とSUN濃度との相関も高く( $r =$

0.97、 $P < 0.001$ )、MUN濃度 (y) のSUN濃度 (x) に対する回帰式は、 $y = 1.1074x + 0.66$ であった(図6)。さらに、SUN濃度はTDN/CP比および尿窒素量とも相関が高かった(各々  $r = 0.61$ 、 $0.57$ 、ともに  $P < 0.01$ ) (図7、8)。

朝の搾乳後3時間における頸動脈血の血清遊離メチオニン濃度は、13%CP区が $2.44 \mu\text{mol/dl}$ 、15%CP区が $2.24 \mu\text{mol/dl}$ 、17%CP区が $1.99 \mu\text{mol/dl}$ で、

13%CP区と15%CP区が17%CP区よりやや高く、動静脈差(頸動脈血-乳静脈血)も各々1.49、1.36、 $1.17 \mu\text{mol/dl}$ と同様の傾向がみられた。リジンおよびスレオニンについても同様の傾向がみられた。また、ほとんどの必須アミノ酸の動静脈差は、13%CP区  $>$  15%CP区  $>$  17%CP区の順であった。しかし、いずれも有意な差はみられなかった(表18)。

Table 15. Body weight(BW), feed intake, nutrient sufficiency rate, milk production, milk composition and serum composition

	13%CP	15%CP	17%CP
BW, kg	672 $\pm$ 43	674 $\pm$ 49	679 $\pm$ 51
Feed intake			
DM, kg/d	20.6 $\pm$ 1.0	20.9 $\pm$ 1.2	21.5 $\pm$ 1.4
CP, kg/d	2.72 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	3.14 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	3.58 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>
TDN, kg/d	15.7 $\pm$ 0.7	15.9 $\pm$ 0.9	16.3 $\pm$ 1.1
NDF, kg/d	9.1 $\pm$ 0.5	9.3 $\pm$ 0.7	9.6 $\pm$ 0.6
TDN/CP	5.8 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	5.1 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	4.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>
Nutrient sufficiency rate*			
CP, %	90.3 $\pm$ 7.5 <sup>c</sup>	102.0 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup>	115.0 $\pm$ 6.7 <sup>a</sup>
TDN, %	104.0 $\pm$ 5.6	102.8 $\pm$ 1.8	104.3 $\pm$ 7.4
Milk production			
Milk, kg/d	29.5 $\pm$ 3.1	30.3 $\pm$ 2.2	30.5 $\pm$ 2.5
FCM, kg/d	30.1 $\pm$ 3.3	30.8 $\pm$ 1.5	31.2 $\pm$ 2.6
Fat, kg/d	1.22 $\pm$ 0.15	1.25 $\pm$ 0.09	1.27 $\pm$ 0.12
Protein, kg/d	0.94 $\pm$ 0.08	0.98 $\pm$ 0.06	0.96 $\pm$ 0.07
Milk composition			
Fat, %	4.14 $\pm$ 0.26	4.13 $\pm$ 0.41	4.17 $\pm$ 0.31
Protein, %	3.19 $\pm$ 0.12	3.25 $\pm$ 0.09	3.16 $\pm$ 0.10
Serum composition			
Glucose, mg/dl	61.9 $\pm$ 4.7	60.8 $\pm$ 6.5	60.6 $\pm$ 5.9
NEFA, $\mu\text{Eq/L}$	116 $\pm$ 85	97 $\pm$ 36	78 $\pm$ 20

\* : Nutrient sufficiency rate=intake/requirement $\times$ 100.

<sup>a b c</sup> : Means in the same line with different superscript letters differ ( $p < 0.01$ ).

Table 16. Amounts of feces and urine, and nitrogen balance

	13%CP	15%CP	17%CP
Feces, kg/d	52.7 ± 5.3	54.6 ± 5.8	55.2 ± 3.8
Urine, kg/d	10.5 ± 4.4	11.5 ± 3.3	13.2 ± 3.9
N balance, g/d			
Intake	435 ± 33 <sup>C</sup>	503 ± 36 <sup>B</sup>	573 ± 50 <sup>A</sup>
Feces	161 ± 15	174 ± 14	171 ± 15
Urine	69 ± 15 <sup>B c</sup>	98 ± 24 <sup>ABb</sup>	125 ± 25 <sup>A a</sup>
Milk	150 ± 13	157 ± 9	154 ± 11
Retention	54 ± 24 <sup>B b</sup>	74 ± 14 <sup>ABb</sup>	124 ± 42 <sup>A a</sup>
Feces+Urine	230 ± 6 <sup>B</sup>	272 ± 30 <sup>A</sup>	295 ± 38 <sup>A</sup>
N rate to N intake, %			
Feces	37.2 ± 5.0 <sup>A</sup>	34.6 ± 1.4 <sup>A</sup>	29.8 ± 2.3 <sup>B</sup>
Urine	15.9 ± 3.1	19.5 ± 4.3	21.8 ± 4.0
Milk	34.6 ± 2.1 <sup>A</sup>	31.3 ± 2.0 <sup>B</sup>	26.9 ± 1.6 <sup>C</sup>
Retention	12.3 ± 4.8 <sup>b</sup>	14.7 ± 2.6 <sup>a b</sup>	21.4 ± 6.9 <sup>a</sup>
Feces+Urine	53.1 ± 3.6	54.0 ± 3.4	51.6 ± 5.7

Means in the same line with different superscript letters differ(<sup>A B C</sup>:P<0.01、<sup>a b c</sup>:P<0.05).

Table 17. Concentrations of urea-N in milk serum and in serum of jugular artery after feeding

		After feeding				Mean ± SD
		0	3hr	6hr	9hr	
Urea-N in milk serum	13%CP	6.3 <sup>C</sup>	6.9 <sup>C</sup>	7.7 <sup>C</sup>	8.7 <sup>C</sup>	7.3 ± 0.7 <sup>C</sup>
	15%CP	9.6 <sup>B</sup>	10.9 <sup>B</sup>	10.8 <sup>B</sup>	11.1 <sup>B</sup>	10.6 ± 1.9 <sup>B</sup>
	17%CP	13.5 <sup>A</sup>	15.0 <sup>A</sup>	14.3 <sup>A</sup>	14.4 <sup>A</sup>	14.3 ± 1.2 <sup>A</sup>
Urea-N in serum of jugular artery	13%CP	7.3 <sup>C</sup>	9.6 <sup>C</sup>	9.2 <sup>C</sup>	8.9 <sup>C</sup>	8.7 ± 1.2 <sup>C</sup>
	15%CP	10.9 <sup>B</sup>	11.8 <sup>B</sup>	12.4 <sup>B</sup>	12.8 <sup>B</sup>	12.0 ± 2.1 <sup>B</sup>
	17%CP	15.2 <sup>A</sup>	15.9 <sup>A</sup>	15.7 <sup>A</sup>	15.2 <sup>A</sup>	15.5 ± 1.4 <sup>A</sup>

<sup>A B C</sup> : Means in the same row with different superscript letters differ(P<0.01).

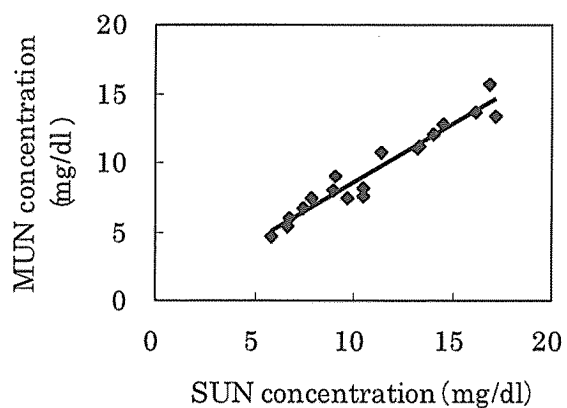


Fig. 6. Relationship between SUN concentration and MUN concentration.

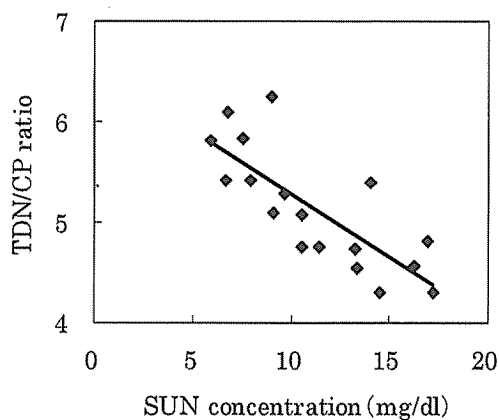


Fig. 7. Relationship between TDN/CP ratio and SUN concentration.

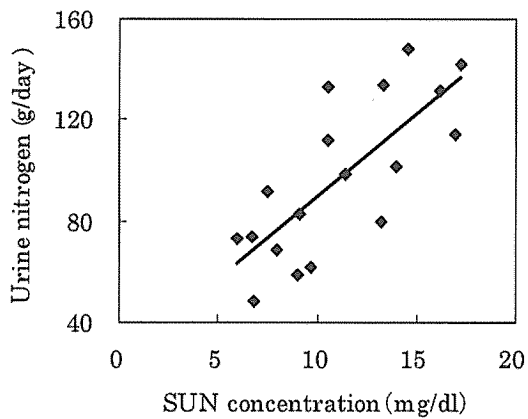


Fig. 8. Relationship between urine nitrogen and SUN concentration.

Table 18. Concentrations of essential amino acids in serum of jugular artery and milk vein 3 hrs after morning milking

		Jugular arterial serum	Milk venous serum	Artery-Vein Difference
		$\mu\text{mol/dl}$		
Met	13%CP	2.44 ± 0.59	0.96 ± 0.36	1.49 ± 0.35
	15%CP	2.24 ± 0.45	0.88 ± 0.31	1.36 ± 0.36
	17%CP	1.99 ± 0.22	0.83 ± 0.14	1.17 ± 0.17
Lys	13%CP	8.18 ± 1.25	3.68 ± 0.99	4.51 ± 0.66
	15%CP	8.05 ± 1.54	3.84 ± 0.83	4.21 ± 1.26
	17%CP	7.08 ± 0.85	3.61 ± 0.82	3.47 ± 0.44
His	13%CP	4.20 ± 1.40	2.61 ± 1.05	1.59 ± 0.74
	15%CP	4.55 ± 1.23	3.32 ± 1.14	1.23 ± 0.33
	17%CP	4.36 ± 1.04	3.44 ± 1.01	0.92 ± 0.07
Phe	13%CP	4.63 ± 0.70	2.60 ± 0.24	2.03 ± 0.47
	15%CP	4.89 ± 0.61	2.83 ± 2.97	2.06 ± 0.38
	17%CP	4.65 ± 0.46	2.97 ± 0.58	1.68 ± 0.20
Thr	13%CP	10.36 ± 1.90	7.22 ± 2.22	3.14 ± 1.66
	15%CP	10.27 ± 1.35	8.05 ± 1.16	2.22 ± 0.67
	17%CP	9.38 ± 1.03	7.63 ± 1.19	1.75 ± 0.55
Arg	13%CP	15.15 ± 1.57	11.44 ± 2.03	3.71 ± 1.39
	15%CP	14.87 ± 2.77	11.70 ± 2.55	3.17 ± 1.30
	17%CP	14.88 ± 1.88	12.19 ± 1.62	2.69 ± 0.66
Trp	13%CP	3.40 ± 0.55	2.74 ± 0.47	0.66 ± 0.48
	15%CP	3.92 ± 0.89	3.61 ± 0.81	0.31 ± 0.34
	17%CP	3.30 ± 0.43	3.01 ± 0.55	0.29 ± 0.20
Val	13%CP	21.09 ± 3.45	15.59 ± 2.42	5.50 ± 1.92
	15%CP	21.86 ± 3.81	17.51 ± 3.86	4.35 ± 1.96
	17%CP	22.24 ± 4.18	18.46 ± 4.26	3.78 ± 0.42
Leu	13%CP	13.93 ± 2.31	8.52 ± 1.25	5.41 ± 1.37
	15%CP	15.02 ± 2.23	9.41 ± 2.09	5.61 ± 1.27
	17%CP	14.22 ± 2.44	9.89 ± 2.62	4.33 ± 0.51
Ile	13%CP	12.49 ± 1.27	8.85 ± 0.92	3.64 ± 1.07
	15%CP	12.30 ± 1.35	8.79 ± 1.60	3.50 ± 1.19
	17%CP	12.49 ± 1.74	9.46 ± 1.87	3.04 ± 0.31
Total	13%CP	95.86 ± 12.32	64.19 ± 7.61	31.67 ± 8.37
EAA	15%CP	97.93 ± 13.19	69.93 ± 12.13	28.01 ± 8.57
	17%CP	94.59 ± 10.44	71.48 ± 11.57	23.11 ± 2.40

#### 4. 考 察

泌乳牛への給与飼料中CP含量は、14%以下になると見かけのCP消化率が低下し、乾物摂取量、乳量および乳タンパク質生産量が低下する可能性がある (Oldham 1984, Rofflerら 1986)。本研究では飼料中CP含量は、13%CP区が13.2%、15%CP区が15.1%、17%CP区が16.7%であったが、乾物摂取量および乳生産に差がみられなかった。牧草サイレージはRDPの割合が高く (農林水産省農林水産技術会議事務局 1999)、13%CP区のSUNも平均8.7mg/dlとそれ程低くなかったことから、牧草サイレージ主体給与下では13%CP区でもRDPは不足していなかったものと推察された。

一方、泌乳牛ではメチオニンおよびリジンが乳合成の制限アミノ酸になりやすいといわれる (National Research Council 2001)。本研究では頸動脈血の血清遊離メチオニンおよびリジン濃度は、13%CP区と15%CP区が17%CP区に比べいずれも高く、魚粉の添加により、メチオニンおよびリジンが補給されたためと考えられた。また、乳合成は搾乳後盛んとなり、血清遊離アミノ酸濃度の動静脈差は、乳合成のため取り込まれるアミノ酸量を反映するといわれる (Yangら 1986)。本研究では搾乳後3時間にこれらの差を測定したが、いずれも有意差はなかった。これらから、本研究で飼料中CP含量を低く設定した区においても乳生産に差がなかったのは、RDP量の不足が少なく、なおかつRUP割合が多くメチオニンおよびリジン含量も高い魚粉の給与により、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たためと考えられた。

寺田と塩谷 (1998) は、泌乳牛の給与飼料に約5%の魚粉を用い、生産性を維持しつつ窒素排泄量を1割程度削減できることを示唆している。本研究では尿窒素量は、飼料中CP含量の低下とともに減少し、13%CP区および15%CP区は17%CP区に比べ、各々55%と78%に低下した。糞窒素量は13%CP区がやや低かったが、有意な差はみられなかった。同

様の傾向は育成豚でも報告され、糞窒素量がそれほど低下しないのは、糞中に排泄される窒素には、飼料に直接由来しない代謝性窒素が含まれるためとされる (古谷ら 1997)。蓄積窒素量が13%CP区と15%CP区で少なかった原因は明らかでなかった。

本研究では尿窒素量およびSUN濃度の低下とともに、尿量も減少する傾向がみられた。同様の傾向は、Dinnら (1998) や大谷ら (2001) も報告しており、CP摂取量が多いとSUN濃度は高くなり、その濃度を下げするために飲水量が増え、その結果として尿量は増えるが、CP摂取量が少ない場合はその逆となる。

大谷ら (2001) は尿窒素量低減の指標として、MUN濃度が有効であることを示し、本研究でも同様の結果が得られた。本研究でMUN濃度とSUN濃度の相関が極めて高かったのは、給与飼料が混合飼料であり、ルーメン内発酵の変化が少なかったためと考えられた。

これらから、牧草サイレージ主体飼養において魚粉を用いて、飼料中のタンパク質、エネルギーおよびアミノ酸のバランスを考慮することにより、飼料中CP含量を低く設計しても、乳生産を低下させずに、尿窒素量をかなり低減できることが明らかとなった。牧草サイレージはRDP割合が高く、牧草サイレージ多給与下ではMCP合成に必要な窒素源が不足することが少ないと考えられる。一方、牧草サイレージはRUP割合が低いことから、魚粉等の高RUP飼料を効果的に補給することにより乳生産を低下させずに、窒素排泄量の低減が可能と考えられる。また、生体内で過剰となった尿素は、血液を介して乳中および尿中へと排泄されるため、MUN濃度およびSUN濃度は尿窒素量の増減を鋭敏に反映し、尿窒素量低減の有用な指標となる。特に、MUN濃度は乳検情報の1つとして農家でも利用可能なことから、環境への窒素負荷量の低減とタンパク質飼料の節減の指標として利用価値が高いと考えられる。

## 第V章 総 合 考 察

### 1. 泌乳牛の窒素排泄量および尿量に及ぼす要因

乳牛が摂取する窒素源は、飼料中タンパク質および尿素、硝酸塩などの非タンパク態窒素 (NPN) である。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: Rumen degradable protein) と、ルーメン内で分解されない非分解性タンパク質 (RUP: Rumen undegradable protein) に分けられ、NPNは速やかにアンモニアに分解される。

ルーメン内微生物はこれらのペプチド、アミノ酸およびアンモニアとともに、可消化繊維、糖およびデンプンなどの発酵性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。MCPとRUPの多くはルーメン以降の消化管で消化され、アミノ酸として小腸で吸収される。吸収されたアミノ酸は、乳牛の維持、成長、繁殖および泌乳に利用される。MCP合成量を高めるには、RDPと発酵性炭水化物の供給、ルーメン内容物の希釈率の増加、イオウとリンの適正給与および微生物増殖因子の供給が重要とされる (農林水産省技術会議事務局 1999)。

RDPやNPNが過剰に摂取されると、ルーメン内でアンモニアが過剰となりルーメン壁から吸収され、肝臓で尿素に変換される。血中に移行した尿素は尿中および乳中に排泄されるが、高濃度の尿素窒素は家畜の健康や繁殖成績に悪影響を及ぼすばかりでなく、環境への窒素負荷量を増加させる (農林水産省技術会議事務局 1999)。逆に、RDPやNPNが不足する場合には、ルーメン内アンモニア濃度が低下し、MCP合成量および繊維消化率の低下により乾物摂取量が減少する。

第II章では、糞尿への窒素排泄量に及ぼす飼料的要因を検討するため、牧草サイレージ主体で飼養された泌乳牛259頭の窒素出納試験成績を解析した。糞窒素量はCP摂取量が多くなると高くなる傾向を示し、同様の傾向は寺田ら (1997) も報告している。したがって、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と考えられる。しかし、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、糞窒素の低減効果は多くを望めない (寺田ら 1997)。第IV章の窒素低減試験でも飼料中CP含量の違いにもかかわらず、糞窒素量に差はみられず、乳生産を低下させずに糞窒素量を低減することは難しいと考えられる。

尿窒素量は第II章ではTDN/CP比と負の二次曲線的関係がみられ、第IV章でもTDN/CP比の低下に伴い増加した。CP摂取量の過剰あるいはCP摂取量に対しTDN摂取量が不足する場合にはTDN/CP比は低くなり、ルーメン内でアンモニアが過剰となる。アンモニアは生体にとって極めて有毒であるため、肝臓機能が正常であれば速やかに尿素に変換され、尿中あるいは乳中に排泄される。このため飼料中TDN/CP比が低い場合には尿窒素量が増加する。

尿量は第II章では尿窒素量と正の二次曲線的関係がみられ、尿窒素量の低下とともに減少し、第IV章でも同様の傾向がみられた。これらは飼料中TDN/CP比の適正化により、尿窒素量ばかりではなく、尿量も低下することを示している。家畜は有毒な尿素を体内から排泄するために、飲水量を増やし尿から積極的に尿素を排泄する機能があり (Dinnら 1998)、その作用には抗利尿ホルモンが関与する (大谷ら 2001) と考えられる。しかし、尿量は窒素摂取量以外にもナトリウムおよびカリ摂取量が過剰となると増加する傾向がある (Murphyら 1983; 久米ら 2003)。さらに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; Banninkら 1999)、尿量に影響を与える。したがって、尿量を少なくするには尿窒素量の低減だけでなく、上記の尿量に関わる種々の要因を制御する必要がある。尿量の低減により、糞尿処理施設の縮小や、スラリーを堆肥化する場合には、乾物率向上による堆肥化促進が期待される。

また、第IV章では血中尿素窒素 (SUN) および乳中尿素窒素 (MUN) の濃度は、飼料中TDN/CP比



および尿窒素量と正の相関があることを示した。ルーメン内で過剰となったアンモニアが尿素に変換され、血液および尿を介して排泄されるため、それらの濃度が飼料中TDN/CP比および尿窒素量の指標となる。特に、MUN濃度は最近、乳成分を分析する赤外線分析装置で測定可能となったことから、乳検成績などで容易にモニターすることができるため、窒素排泄量低減の指標として有用である。

これらから、飼料中タンパク質量と発酵性炭水化物などのエネルギー供給量とのバランスを図り、TDN/CP比を適正にすることにより、尿窒素量ばかりでなく尿量も低減し、環境負荷量は軽減される。その際、SUN濃度およびMUN濃度は、TDN/CP比および尿窒素量の有用な指標となる。

## 2. ルーメン保護アミノ酸および魚粉の添加による乳タンパク質向上効果

小腸に移行する代謝タンパク質量を高めるには、MCP量ばかりではなく、RUP量も重要である。MCP合成量を高めるには、RDPおよび発酵性炭水化物の供給量およびそれらのバランスが大切である。RUP量は飼料のルーメン内分解性により異なり、さらにRUP中のアミノ酸組成は飼料の種類により異なる (O'Connor 1993)。このため、RUP供給量の増加を考える場合には、飼料分解性ばかりではなく、RUP中のアミノ酸組成をも考慮する必要がある。第Ⅲ章では乳合成における制限アミノ酸とされるメチオニンおよびリジンを、ルーメン保護アミノ酸 (RPAA) 製剤として添加した試験と、RUP中のメチオニンおよびリジン含量が高い魚粉の給与試験を実施した。

NRC標準 (National Research Council 2001) では、小腸に移行する代謝タンパク質中のメチオニンおよびリジン供給量が増加すると、飼料摂取量、乳量、乳タンパク質率および乳タンパク質生産量が増大する傾向にあるが、その効果は必ずしも一定ではないとしている。本研究ではRPAA製剤および魚粉の添加により、乳量は差がなかったが、乳タンパク質率はいずれの試験においても対照区に比べおよそ0.2ポイント高くなり、NRC (National Research

Council 2001) の見解を裏付ける結果となった。また、RPAA製剤および魚粉の添加効果は乳量水準と関係があるとされる (AtwalとErfle 1992; Santosら 1998)。本研究のRPAA製剤および魚粉の添加試験では、泌乳初期の実乳量がともに37~38kg/日と比較的高かったため、乳タンパク率の向上効果がみられたものと考えられる。

また、RPAA製剤および魚粉の添加が乾物摂取量への影響では、RPAA製剤添加により増加したとする報告 (Casperら 1987; Illgら 1987; Schingoetheら 1988) や、魚粉給与により低下したとする報告 (Windschitl 1991; AtwalとErfle 1992) がある。しかし、牧草サイレージ主体給与下でRPAA製剤や魚粉を添加した本研究では、乾物摂取量への影響はみられなかった。これはRPAA製剤あるいは魚粉を混合飼料 (TMR) として給与したこと、また魚粉は良質のものを用いたため、嗜好性への影響が少なかったためと推察される。

これらから、牧草サイレージ主体飼養において、RPAA製剤あるいは魚粉を添加することにより、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、乾物摂取量を低下させることなく、乳タンパク質生産は高まることが明らかとなった。このことは飼料中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。

## 3. アミノ酸栄養の指標としての血清遊離アミノ酸濃度の意義

血清遊離メチオニン濃度は、第Ⅲ章-1のRPAA製剤をDLメチオニンとして1日30g添加した試験では3.1  $\mu\text{mol/dl}$ を越え、同15gを添加した試験でも2.5  $\mu\text{mol/dl}$ 以上となり、対照区の2.3  $\mu\text{mol/dl}$ 以下に比べ高く、添加量に応じて高くなった。第Ⅲ章-2の魚粉給与試験では、魚粉区2.43  $\mu\text{mol/dl}$ 、対照区2.15  $\mu\text{mol/dl}$ と魚粉区が高くなった。このようにRPAAのメチオニン製剤あるいは魚粉の添加により、血清遊離メチオニン濃度が高まったのは、下部消化管でメチオニンが効率的に吸収され、血清濃度に反映したものと考えられる。

血清遊離リジン濃度は、第Ⅲ章-1のRPAA製剤をL-リジンとして1日20g添加した試験では差がみられなかったが、第Ⅲ章-2の魚粉給与試験では魚粉区8.90  $\mu$ mol/dl、対照区7.66  $\mu$ mol/dlと魚粉区で高くなった。これは魚粉給与試験ではメチオニンと同様に、下部消化管でのリジン吸収量の増加を反映して血清濃度が高くなったが、RPAAのリジン製剤添加では、製剤がルーメン内で分解されたか、添加量が十分でなかった可能性がある。これらは血清遊離アミノ酸濃度が、RPAA製剤の性能や高RUP飼料の給与量判定に有用であることを示している。

血清遊離アミノ酸は乳腺細胞で大量に取り込まれ、乳合成に利用される。乳合成は搾乳後急速に高まり、乳腺細胞に乳が多く貯留すると乳合成は低下する。それに伴い乳腺細胞へのアミノ酸取り込み量も変化するため、血清遊離アミノ酸濃度は搾乳後経過時間の影響を受けると考えられる。第Ⅲ章-2の魚粉給与試験では、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1時間に比べ3および5時間に低下した。これ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は、搾乳後の経過時間を考慮する必要があることを示している。また、血清遊離アミノ酸濃度の乳動脈-乳静脈差は、乳腺細胞におけるアミノ酸の取り込み量を反映するといわれる (Yangら 1986)。第Ⅲ章-2では乳動脈の代わりに頸静脈、第Ⅳ章では乳動脈の代わりに頸動脈を用いているが、いずれも搾乳後3時間で対照区の血清遊離メチオニン濃度が低下し、乳静脈血との差も対照区が魚粉区に比べ低い傾向にあった。これらはメチオニンが乳合成において、制限アミノ酸となりやすいことを示している。

これらから、血清遊離アミノ酸濃度は、アミノ酸レベルでの充足状況を反映し、タンパク質栄養の指標として有用であることを示しており、さらに、乳動脈-乳静脈差は乳腺細胞におけるアミノ酸の取り込み量にある程度反映すると考えられる。

#### 4. アミノ酸栄養改善による窒素排泄量低減

本研究の第Ⅲ章では、RPAA製剤および魚粉の添

加により、乳タンパク質生産が高まることを示した。さらに、第Ⅳ章では飼料のルーメン内分解性や通過速度ばかりではなく、アミノ酸レベルでのタンパク質栄養を考慮したモデル (Russell 1992; Sniffen 1992; O'Connor 1993) を用いて、どの程度糞尿からの窒素排泄量を低減できるか検討した。

反芻家畜のタンパク質栄養では、MCP合成効率を最適にするため、十分なRDPを供給し、かつ生産性を落とすことなく飼料中CP含量を低くすることが重要である (National Research Council 2001)。一方、泌乳牛への給与飼料中CP含量は、14%以下になると見かけのCP消化率が低下し、乾物摂取量、乳量および乳タンパク質生産量が低下するといわれる (Oldham 1984, Rofflerら 1986)。本研究では牧草サイレージ主体給与下で、魚粉を添加することによりアミノ酸栄養を改善し、飼料中CP含量を13%と15%に低下させた区を設け、対照区 (17%CP区) と比較した。その結果、13%CP区と15%CP区では乳生産や乾物摂取量が低下することなく、尿窒素量は対照区に比べ各々55%および78%に低下した。牧草サイレージはRDPの割合が高いため、CP消化率の低下が少なく、その結果、13%CP区でも乾物摂取量および乳生産が低下しなかったと考えられた。そのことはSUN濃度からも推察された。それに加えて、高RUP飼料の1つである魚粉の給与により、乳合成における制限アミノ酸が効率的に補給され、乳生産への影響が少なかったものと考えられた。

これらから、RDP割合が高い牧草サイレージ主体の飼養において、TDN/CP比を適正に保つとともに、RUP割合が高く、なおかつメチオニンおよびリジン含量が高い飼料の添加により、乳タンパク質合成は高まり、尿窒素量および尿量の減少が期待される。このことは環境への窒素負荷量の低減ばかりではなく、高タンパク質飼料の節減にもつながる。

なお、ウシ、メンヨウ、ヤギおよびシカを対象とする飼料への魚粉、フィッシュソリュブルなどの魚介類由来タンパク質の利用は、わが国では平成16年1月1日以降法令で禁止されている。したがって、高RUP飼料の利用にあたっては、植物由来の高RUP飼料を組み合わせる必要がある。

## 第Ⅵ章 摘 要

1. 近年、乳量の増加と酪農経営の規模拡大にともない、環境汚染が増大している。そこで、第Ⅱ章では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と飼料摂取量との関係を解析し、窒素排泄量を低下させ、体内への窒素吸収量を高めるには、給与飼料中のTDN/CP比、RDPとRUPの割合およびRUPのアミノ酸組成を検討する必要があると指摘した。第Ⅲ章では泌乳初期牛へのRPAA製剤および魚粉の添加が、乳量および乳タンパク質生産に及ぼす影響を検討した。第Ⅳ章では牧草サイレージ主体飼養において、給与飼料中CP含量を低く設定し魚粉を給与することにより、乳生産を低下させずに、窒素排泄量を低減し得る可能性について検討した。

2. 第Ⅱ章での泌乳牛の糞尿量および窒素排泄量に関する試験では、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泌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を明らかにした。

3. 第Ⅲ章-1の泌乳初期牛へのRPAA製剤添加試験

では、牧草サイレージ主体の混合飼料給与において、ルーメン保護メチオニン (RPM) およびルーメン保護リジン (RPL) の添加が乳生産および血液成分に及ぼす影響を検討した。試験1では2産以上の乳牛16頭を用い、RPM (DL-メチオニン量で30g) を分娩後16週間添加 (RPM区) し、試験2では同14頭を用い、RPM (同15g) およびRPL (L-リジン量で20g) を分娩後12週間添加 (RPML区) し、各々対照区を設けた。乾物摂取量および実乳量は、試験1、2とも処理間に差がなかった。しかし、乳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%、試験2では分娩後3~12週で対照区が2.80%、RPML区が3.00%と、いずれも添加区が0.20ポイント高かった (各々 $P<0.02$ 、 $P<0.21$ )。乳タンパク質量は試験1、2とも添加区が多い傾向にあった。血清遊離メチオニン濃度は、試験1、2とも添加区が対照区に比べ高かった ( $P<0.01$ )。しかし、血清遊離リジン濃度は、リジンを添加した試験2でも処理間に差がなく、リジン添加の効果は少なかったと推察された。以上の結果より、牧草サイレージ主体飼養では、RPM添加により、乳合成において制限アミノ酸とされるメチオニンが補給され、乳タンパク質率が高まるものと考えられた。

第Ⅲ章-2の泌乳初期牛への魚粉給与試験では、牧草サイレージ主体飼養において、魚粉給与が乳量、乳成分および血液成分に及ぼす影響を検討した。供試牛は2産以上の乳牛26頭を用い、混合飼料を分娩後6日から12週まで給与した。混合飼料の乾物比率は、牧草サイレージと圧ぺんとうもろこしと大豆粕と魚粉が、対照区で50:38:12:0、魚粉区で50:39:6:5、とし、養分含量はともにCP含量15%、TDN含量77%とした。乾物摂取量は対照区が20.1kg/日、魚粉区が20.7kg/日と差がなかった。実乳量は対照区が37.6kg/日、魚粉区が38.6kg/日と差がなかった。しかし、乳タンパク質量は対照区が1.07g/日、魚粉区が1.17g/日、乳タンパク質率は対照区が2.86%、魚粉区が3.04%と、ともに魚粉区が高かった (各々 $P<0.07$ 、 $P<0.05$ )。血清遊離メチ

オニン濃度は対照区が $2.15 \mu\text{mol/dl}$ 、魚粉区が $2.43 \mu\text{mol/dl}$ 、血清遊離リジン濃度は対照区が $7.66 \mu\text{mol/dl}$ 、魚粉区が $8.90 \mu\text{mol/dl}$ と、ともに魚粉区が高かった（各々 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ）。以上の結果より、牧草サイレージ主体飼養では魚粉給与により、制限アミノ酸と推察されるメチオニンおよびリジンが効率的に補給され、乳タンパク質生産が高まったものと考えられた。

4. 第IV章の窒素排泄量低減試験では、飼料中アミノ酸バランスを考慮して、乳生産を低下させずに窒素排泄量を低減し得る可能性について検討した。供試牛は泌乳中期の2産以上の乳牛6頭を用い、 $3 \times 3$ 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 $125\text{g/日}$ 、15%CP区が $98\text{g/日}$ 、13%CP区が $69\text{g/日}$ 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 $14.3\text{mg/dl}$ 、15%CP区が $10.6\text{mg/dl}$ 、13%CP区が $7.3\text{mg/dl}$ 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。以上の結果から、魚粉などの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を効率的に補給することにより、飼料中CP含量を低く設定しても乳生産を低下させ

ずに、尿窒素量低減が可能と考えられた。

5. これらから、飼料中のTDN/CP比を適正に保つことにより、尿窒素量ばかりでなく尿量も減少することが示唆され、同時に乳中および血中の尿素窒素濃度は、尿窒素量低減の指標として有用であることが示された。また、牧草サイレージ主体飼養において、RPAAs製剤あるいは魚粉の添加は、乳タンパク質合成の制限アミノ酸と考えられるメチオニンおよびリジンを補給し、乳タンパク質生産を高めることを示した。さらに、魚粉の添加により乳生産を低下させることなく、飼料中CP含量を下げ、尿窒素量を低減できることを示した。

#### 謝辞

本研究をとりまとめるにあたり、終始懇切なるご指導を賜り、かつご校閲の労をおとり頂いた北海道大学大学院農学研究科教授近藤誠司博士には衷心から感謝の意を表す。また、北海道大学大学院農学研究科教授田中桂一博士、同助教授小林泰男博士および同講師中辻浩喜博士には、ご校閲の労をおとりいただき、有益なる助言を賜った。ここに深甚なる謝意を表す。

本研究は北海道立根釧農業試験場で実施したものであり、研究実施期間中に在任された北海道立根釧農業試験場元場長中川渡氏・国井輝男氏・清水良彦氏・所和暢氏、同研究部長沢口正利氏・関口久雄氏、同酪農第二科長塚本達氏・八田忠雄氏・芹川慎氏、同酪農第一科長杉本亘之氏・遠谷良樹氏・小倉紀美氏、同酪農第二科研究員上村俊一氏・高橋雅信氏・山田渥氏・糟谷広高氏、同酪農第一科研究職員峰崎康裕氏・西村和行氏・花田正明氏・藤田眞美子氏・小関忠雄氏・堂腰顕氏から、多大なるご激励、ご助言およびご協力を頂いた。また、供試牛の管理ならびに飼料生産では、北海道立根釧農業試験場管理科諸氏、予算執行などの事務手続きでは同総務課諸氏、飼料分析などでは同酪農第二科および酪農第一科の臨時職員諸氏に甚大なるご協力を頂いた。ここに各位に深く謝意の意を表します。

## 引用文献

- 足立憲隆、宇田三男、小林宏子、阿部正彦、富田道則、稲葉満、林登、藤井清和、瀬尾哲則、野中敏道、清水正裕、野中最子、寺田文典. 2003. ルーメンバイパスメチオニン製剤の利用による乳生産の効率化と窒素排泄量の低減. 日本畜産学会報. 74(3) : 397-405.
- American Society of Agricultural Engineers (ASAE) . 2002. Manure production and characteristics. ASAE Standards 2002. 687-689. Agric. Eng. Yearbook. ASAE. Michigan.
- Armentano LE, Bertics SJ, Ducharme GA. 1997. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *Journal of Dairy Science*, 80:1194-1199.
- Atwal AS, Erfle JD. 1992. Effects of feeding fish meal to cows on digestibility, milk production, and milk composition. *Journal of Dairy Science*, 75:502-507.
- Bannink A, Valk H, Van Vuuren AM. 1999. Intake and excretion of sodium, potassium, and nitrogen and the effects on urine production by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82:1008-1018.
- Blauwiel R, Hoover WH, Slider SD, Miller TK. 1990. Effects of fish meal protein supplementation on milk yield and composition and blood constituents of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73:3217-3221.
- 牧草・飼料作物栄養価問題検討委員会編. 1991. 牧草・飼料作物栄養価の評価の手引き. 北農会. 北海道.
- Bremmer DR, Overton TR, Clark JH. 1997. Production and composition of milk from Jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. *Journal of Dairy Science*, 80:1374-1380.
- Broderick GA. 1992. Relative value of fish meal versus solvent soybean meal for lactating dairy cows fed alfalfa silage as sole forage. *Journal of Dairy Science*, 75:174-183.
- Bruckental I, Drori D, Kaim M, Lehrer H, Folmam Y. 1989. Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparous and multiparous dairy cows. *Animal Production*. 43:319-329.
- Calsamiglia S, Caja G, Stern MD, Crooker BA. 1995. Effect of ruminal versus duodenal dosing of fish meal on ruminal fermentation and milk composition. *Journal of Dairy Science*, 78:1999-2007.
- Canale CJ, Muller LD, McCahon HA, Whitsel TJ, Varga GA, Lormore MJ. 1990. Dietary fat and ruminally protected amino acids for high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73:135-141.
- Carroll DJ, Hossain FR, Keller MR. 1994. Effect of supplemental fish meal on the lactation and reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77:3058-3072.
- Casper DP, Schingoethe DJ, Yang CMJ, Mueller CR. 1987. Protected methionine supplementation with extruded blend of soybeans and soybean meal for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 70:321-330.
- Casper DP, Schingoethe DJ. 1988. Protected methionine supplementation to a barley-based diet for cows during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 71:164-172.
- Chalupa W. 1976. Degradation of amino acids by mixed rumen microbial population. *Journal of Animal Science*, 43 : 829-834.
- Chapoutot P, Schmidely P, Sauvant D, Robert JC, Sloan B. 1992. Influence of a ruminally protected blend of methionine and lysine (ML) on the

- dairy cow nutrition and production. *Journal of Dairy Science*, 75(Suppl.1):199.
- Chase, LE. 1994. Environmental considerations in developing dairy rations. pp.56-62 in *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.*, Rochester, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
- Chow JM, DePeters EJ, Baldwin RL. 1990. Effect of rumen-protected methionine and lysine on casein in milk when diets high in fat or concentrate are fed. *Journal of Dairy Science*, 73:1051-1061.
- 中央畜産会. 1978. 家畜排泄物の処理・利用の手引き. p2.
- Clark JH. 1975. Lactational responses to postprandial administration of proteins and amino acids. *Journal of Dairy Science*, 58:1178-1197.
- Cody RF, Murphy JJ, Morgan DJ. 1990. Effect of supplementary crude protein level and degradability in grass silage-based diets on performance of dairy cows, and degradability and abomasal nitrogen flow in sheep. *Animal Production*, 51:235-244.
- Colin-Schoellen O, Laurent F, Vignon B, Robert JC, Sloan B. 1995. Interactions of ruminally protected methionine and lysine with protein source or energy level in the diets of cows. *Journal of Dairy Science*, 78:2807-2818.
- Dinn NE, Shelford JA, Fisher LJ. 1998. Use of the Cornell net carbohydrate and protein system and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81:229-237.
- Donkin SS, Varga GA, Sweeney TF, Muller LD. 1989. Rumen-protected methionine and lysine: Effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. *Journal of Dairy Science*, 72:1484-1491.
- Dou Z, Kohr RA, Ferguson JD, Boston RC, Newbold JD. 1996. Managing nitrogen on dairy farms : An integrated approach 1. Model description. *Journal of Dairy Science*, 79:2071-2080.
- 古谷修、渡部正樹、阿部博行、清水俊郎、大門博之、佐藤佳子、今田哲雄、佐藤金一. 1997. アミノ酸添加低蛋白質飼料の給与による肉豚における窒素排泄量の低減. *日本養豚学会誌*, 34(1) : 15-20.
- 橋爪徳三、森本宏、増淵敏彦、安部道夫、浜田竜夫、堀井聡、実川義人、横田千尺、山本藤五郎、高橋覚蔵、吉野正純、斉藤久弥. 1965. 畜産試験場特別報告、6 : 7-58.
- 早坂貴代史. 1997. 完全混合飼料給与におけるホルスタイン種泌乳牛の乾物摂取量と養分要求量に関する研究. *北海道農業試験場研究報告*, 165 : 1-68.
- 原悟志、藤田眞美子、堂腰顕、上田和夫、西村和行、扇勉. 1999. 牧草サイレージの調製条件とタンパク質分画. *北海道農業試験場集報*, 77 : 49-52.
- 広岡博之、島田和宏、林孝、寺田文典. 2001. 肥育牛に関する窒素排泄量予測モデルの比較. *日本畜産学会報*, 72(10) : J610-J617.
- 北海道農業改良普及協会. 1994. 北海道農業生産技術体系、Ⅱ家畜一乳用牛糞尿処理施設. p234.
- Holter JB, Urban Jr WE. 1992. Water partitioning and intake prediction in dry and lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 75:1472-1479.
- Hussein HS, Jordan RM. 1991. Fish meal as a protein supplement in ruminant diets : A review. *Journal of Animal Science*, 69:2147-2156.
- Illg DJ, Sommerfeldt JL, Schingoethe DJ. 1987. Lactational and systemic responses to the supplementation of protected methionine in soybean meal diets. *Journal of Dairy Science*, 70 : 620-629.
- King KJ, Huber JT, Sadik M, Bergen WG, Grant AL, King VL. 1990. Influence of dietary protein sources on the amino acid profiles available for digestion and metabolism in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 73:3208-3216.

- Klausner SD. 1993. Mass nutrient balances on dairy farms. 126-129 in Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf., Rochester, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
- 小林剛、佐藤博、西口靖彦、板橋久雄. 1999. ルーメンバイパスアミノ酸・脂肪の飼料添加が乳生産、ルーメン発酵および血液成分に及ぼす影響. 畜産試験場研究報告、59:17-23.
- Korevaar H. 1992. The nitrogen balance on intensive Dutch dairy farms: a review. *Livestock Production Science*, 31:17-27.
- 久米新一、野中和久、大下友子. 2003. 乾乳牛のメタン発生量並びに窒素・ミネラル排泄量に及ぼす給与粗飼料の影響、北海道農業研究報告、178:21-34.
- Mantysaari PE, Sniffen CL, Muscato TV, Lynch JM, Barbano DM. 1989. Performance of cows in early lactation fed isonitrogenous diets containing soybean meal or animal by-product meals. *Journal of Dairy Science*, 72:2958-2967.
- 森本宏. 1971. 動物栄養試験法 280-396. 養賢堂. 東京.
- Murphy MR, Davis CL, McCoy GC. 1983. Factors affecting water consumption by Holstein cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 66:35-38.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th. revised edition, National Academy Press. Washington, D.C.
- 松田従三. 2001. ヨーロッパ諸国の家畜ふん尿処理. 北海道畜産学会報、43:11-17
- Nichols JR, Schingoethe DJ, Maiga HA, Brouk MJ, Piepenbrink MS. 1998. Evaluation of corn distillers grains and ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81:482-491.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局. 1995. 日本標準飼料成分表 (1995年版). 中央畜産会. 東京.
- 農林水産省技術会議事務局. 1999. 日本飼養標準 乳牛 (1999年版). 中央畜産会. 東京.
- 農林水産省畜産試験場編. 1981. 新しい飼料分析法とその応用. 畜産試験場資料. No. 56-1.
- Obara Y, Fuse H, Terada F, Shibata M, Kawabata A, Sutoh M, Hodate K, Matsumoto M. 1994. Influence of sucrose supplementation on nitrogen kinetics and energy metabolism in sheep fed lucerne hay cubes. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 123:121-127.
- O'Connor JD, Sniffen CJ, Fox DG, Chalupa W. 1993. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. *Journal of Animal Science*, 71:1298-1311.
- 大谷文博、田鎖直澄、上野孝志. 2001. 飼料への易発酵性炭水化物の添加が乳牛の糞尿窒素排泄量に及ぼす影響. 日本畜産学会報、72(8):J239-J246.
- Oldham LD. 1984. Protein-energy interrelationships in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 67:1090-1114.
- Onodera R. 1993. Methionine and lysine metabolism in the rumen and the possible effects of their metabolites on the nutrition and physiology of ruminants. *Amino Acids*, 5:217-232.
- Orskov ER, Reid GW, McDonald I. 1981. The effects of protein degradability and food intake on milk yield and composition in cows in early lactation. *British Journal of Nutrition*, 45:547-555.
- Petit HV, Veira DM. 1991. Effects of grain level and protein source on yield, feed intake, and blood traits of lactating cows fed alfalfa silage. *Journal of Animal Science*, 74:1923-1932.
- Pfeiffer A, Henkel H, Verstegen MWA, Philipczk I. 1995. The influence of protein intake on water balance, flow rate and apparent digestibility of nutrients at the distal ileum in growing pigs. *Livestock Production Science*, 44:179-187.
- Polan CE, Cozzi G, Berzaghi P, Andrighetto I. 1997. A blend of animal and cereal protein or fish meal as partial replacement for soybean meal in the

- diets of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 80:160-166.
- Polan CE, Cummins KA, Sniffen CJ, Muscato TV, Vicini JL, Crooker BA, Clark JH, Johnson DG, Otterby DE, Guillaume B, Muller LD, Varga GA, Murray RA, Peirce-Sandner SB. 1991. Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 74:2997-3013.
- Robinson PH, Fredeen AH, Chalupa W, Julien W, Sato H, Fujieda T, Suzuki H. 1995. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. *Journal of Dairy Science*, 78:582-594.
- Roffler RE, Wray JE, Satter LD. 1986. Production responses in early lactation to additions of soybean meal to diets containing predominantly cornsilage. *Journal of Animal Science*, 69, 1055-1062.
- Rogers JA, Krishnamoorthy U, Sniffen CJ. 1987. Plasma amino acids and milk protein production by cows fed rumen-protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 70:789-798.
- Rogers JA, Peirce-Sandner, Papas AM, Polan CE, Sniffen CJ, Muscato TV, Staples CR, Clark JH. 1989. Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 72:1800-1817.
- Rulquin H, Delaby L. 1997. Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen protected methionine. *Journal of Dairy Science*, 80:2513-2522.
- Santos FAP, Santos JEP, Theurer CB, Huber JT. 1998. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance : A 12-year literature review. *Journal of Dairy Science*, 81 :3182-3213.
- SAS. 1990. SAS/STAT ユーザーズガイド 6.03版. 569-666. SAS出版社. 東京.
- Schingoethe DJ, Casper DP, Yang C. Illg DJ, Sommerfeldt JL, Mueller CR. 1988. Lactational response to soybean meal, heated soybean meal, and extruded soybeans with ruminally protected methionine. *Journal of Dairy Science*, 71:173-180.
- Schwab CG, Bozak CK, Whitehouse NL, Mesbah MMA. 1992. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. *Journal of Dairy Science*, 75:3486-3502.
- Schwab CG, Satter LD, Clay AB. 1976. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. *Journal of Dairy Science*, 59:1254-1270.
- Spain JN, Alvarado MD, Polan CE, Miller CN, McGilliard ML. 1990. Effect of protein source and energy on milk composition in midlactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73:445-452.
- Spain JN, Polan CE, Watkins BA. 1995. Evaluating effects of fish meal on milk fat yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78:1142-1153.
- Suzuki K, Xu Chun Cheng, Kano H, Shimizu T, Sato Y. 1998. Influence of low protein diets on water intake and urine and nitrogen excretion in growing pigs. *Animal Science and Technology*. 69:267-270.
- Tao RC, Asplund JM, Kappel LC. 1974. Response of nitrogen metabolism, plasma amino acids and insulin levels to various levels of methionine infusion in sheep. *Journal of Nutrition*, 104:1646-1656.
- 寺田文典、栗原光規、西田武弘、塩谷繁. 1997. 泌乳牛における窒素排泄量の推定. *日本畜産学会報*, 68(2) : 163-168.
- 寺田文典、塩谷繁. 1998. 泌乳牛の窒素排泄量に及ぼす魚粉給与と環境温度の影響. *日本畜産学会報*, 69(6) : 620-624.
- Van Horn HH, Wilkle AC, Powers WL, Nordsted RA.



1994. Components of dairy manure management systems. *Journal of Dairy Science*, 77:2008-2030.
- Van Vuuren AM, Van Der Koelen CJ, Valk H, De Visser H. 1993. Effects of partial replacement of ryegrass by low protein feeds on rumen fermentation and nitrogen loss by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76:2982-2993.
- Virtanen AI. 1966. Milk production of cows on protein-free feed. *Science* 153:1603-1614.
- Wilkerson VA, Mertens DR, Casper DP. 1997. Prediction of excretion of manure and nitrogen by Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80:3193-3204.
- Windschitl PM. 1991. Lactational performance of high producing dairy cows fed diets containing salmon meal and urea. *Journal of Dairy Science*, 74:3475-3485.
- Wohlt JE, Chmiel SL, Zajac PK, Backer L, Blethen DB, Evans JL. 1991. Dry matter intake, milk yield and composition, and nitrogen use in Holstein cows fed soybean, fish, or corn gluten meals. *Journal of Dairy Science*, 74:1609-1622.
- Xu S, Harrison JH, Chalupa W, Sniffen C, Julien W, Sato H, Fujieda T, Watanabe K, Ueda T, Suzuki H. 1998. The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk yield and composition of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 81:1062-1077.
- Yang CMJ, Schingoethe DJ, Casper DP. 1986. Protected methionine and heattreated soybean meal for high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 69:2348-2357.
- 吉田実、阿部猛夫監修. 1982. 畜産における統計的方法. 中央畜産会. 東京.
- Zerbini E, Polan CE, Herbein JH. 1988. Effect of dietary soybean meal and fish meal on protein digesta flow in Holstein cows during early and midlactation. *Journal of Dairy Science*, 71:1248-1258.

## Improvement of amino acid nutrition to reduce nitrogen excretion in lactating dairy cows

Tsutomu OHGI

Hokkaido Animal Research Center

### ABSTRACT

1. Advances in milk production and the expansion of dairy herds in recent years have increased the environmental pollution. In chapter II, relationship among feces, urine, nitrogen excretion and feed intake investigated from the viewpoint of decreasing nitrogen excretion. Then, in chapter III-1 and 2, experiments was carried out to investigate the effects of ruminally protected amino acids and fish meal supplementation on milk yield, milk composition, and blood components of early lactating dairy cows fed the diet based on grass silage. Further, in chapter IV, an experiment was carried out to determine whether the addition of fish meal to grass silage-based diets could allow reduction of nitrogen excretion without reducing milk production.

2. Manure production and nitrogen excretion in lactating cows fed grass silage-based diets (Chapter II).

To obtain the amount of feces, urine and nitrogen excretion, the results of the nitrogen balance trials with primiparous cows (n=128) and multiparous cows (n=131) fed grass silage-based diets were used. Further, relationship among feces, urine, nitrogen excretion and feed intake in multiparous cows was investigated. The mean milk yield of primiparous cows and multiparous cows was 23.1, 31.5kg/day, and mean body weight was 545kg, 660kg, respectively. The feces volume of primiparous cows and multiparous cows was 35.8 and 51.4kg/day, urine volume

was 13.8 and 13.0kg/day, and the volume of feces plus urine was 49.6 and 64.3kg/day, respectively. The feces nitrogen of primiparous cows and multiparous cows was 146, 179g/day, urine nitrogen was 78, 110g/day, and nitrogen excretion (feces plus urine) was 225, 289g/day, respectively. The ratio of nitrogen excretion to nitrogen intake was 55.0: 55.9%. The correlation coefficients between feces volume and NDF intake, feces nitrogen and CP intake, urine volume and TDN/CP ratio, urine nitrogen and TDN/CP ratio, and urine volume and urine nitrogen, were 0.58, 0.77, -0.58, -0.65 and 0.78, respectively (P<0.001). These results indicate that TDN/CP ratio of diets influences not only urine nitrogen but also urine volume.

3. Investigation to reduce nitrogen excretion from the viewpoint of milk protein production in grass silage-based diets.

Effects of ruminally protected amino acids (Chapter III-1).

Two experiments were conducted to examine the effects of ruminally protected methionine (RPM) and lysine (RPL) on milk yield, milk composition and blood components for early lactating dairy cows fed the diet based on grass silage. In experiment 1, sixteen multiparous cows were fed a total mixed ration with or without RPM (30g/d of DL-methionine) for sixteen weeks after parturition. In experiment 2, fourteen multiparous cows were fed a total mixed ration with or without RPM (15g/d of DL-methionine)

and RPL (20g/d of L-lysine) for twelve weeks after parturition. DM intake and milk yields were not affected by treatment in experiment 1 and 2. However, amino acid supplementations increased milk protein contents by 0.20%unit (2.87% vs. 3.07%;  $P < 0.02$ ) from 3 to 8 weeks after parturition in experiment 1, and by 0.20% unit (2.80% vs. 3.00%;  $P < 0.21$ ) from 3 to 12 weeks after parturition in experiment 2. Addition of RPM increased serum concentration of methionine in experiment 1 and 2 ( $P < 0.01$ ). But, addition of RPL did not affect serum concentrations of lysine, in experiment 2. These results indicated that RPM supplied the amino acid limiting milk protein synthesis, and increased milk protein contents when cows were fed grass silage-based diets.

#### Effects of supplemental fish meal (Chapter III-2)

An experiment was carried out to investigate the effects of fish meal supplementation on milk yield, milk composition, and blood components of early lactating dairy cows fed the diet based on grass silage. Twenty six multiparous cows were randomly fed one of the two diets as total mixed rations (TMR) from 6th day to twelve weeks after parturition. The TMR consisted of grass silage, flaked corn, soybean meal and fish meal at a ratio of 50:38:12:0, or 50:39:6:5 on a DM basis, respectively. TMRs were isonitrogenous (16%CP) and isocaloric (77% TDN). DM intake and milk yields were not affected by the treatment (20.1 vs. 20.7 kg/d, and 37.6 vs. 38.6 kg/d, respectively). However, fish meal supplementation increased milk protein yield and contents (1.07 vs. 1.17 kg/d, and 2.86 vs. 3.04;  $P < 0.07$  and  $P < 0.05$ , respectively). Supplementation of fish meal increased serum concentrations of Met and Lysine (2.15 vs. 2.43  $\mu\text{mol/dl}$ , 7.66 vs. 8.90  $\mu\text{mol/dl}$ ,  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ,

respectively). These results indicate that fish meal supplied amino acid limiting for milk protein synthesis, and increased milk protein contents when cows were fed grass silage-based diets.

#### 4. Supply of protein and improvement of amino acid nutrition to reduce nitrogen excretion in lactating cows (Chapter IV)

To determine whether the addition of fish meal to grass silage-based diets could allow reduction of nitrogen excretion without reducing milk production, an experiment including 3CP treatments was carried out. Six multiparous cows in middle lactation were randomly assigned to treatment sequences in a replicated 3×3 Latin square design. The total mixed rations consisted of grass silage, steam-rolling corn, soybean meal and fish meal at a ratio of 55:39:4:2, 55:34.6:8.4:2 and 55:30:15:0, respectively, on a DM basis. Rations differed in the percentages of CP (13.2%, 15.1%, 16.7%, respectively), but the percentages of TDN was held constant at 76%. Each period was 18 d. The last 4 d of each period were used for data collection. Blood samples were obtained at the last day of each period. The DM intake, milk yields, milk protein yield and feces N were not affected by the treatment. However, urinary N decreased as the percentages of CP in the rations decreased (125, 98, 69 g/d;  $P < 0.05$ , respectively). The concentrations of urea-N in milk decreased as the percentages of CP in the rations decreased (14.3, 10.6, 7.3 mg/dl;  $P < 0.01$ , respectively), and correlated highly with urea-N in serum. Urea-N in milk and serum were correlated highly with urea-N in urine, suggesting that urea-N in milk and serum were useful for the index of excretion of urinary N. Supplementation of fish meal increased slightly the serum concentrations of methionine and lysine in arterial serum and arteriovenous differences. These results

showed that the supplementation of fish meal supplied the amino acids limited for milk production, reduced dietary CP without reducing milk production, and decreased excretion of urinary N.

#### 5. Conclusion

These results in the present studies indicate that TDN/CP ratio of diets influences not only urine nitrogen but also urine

volume, and that urea-N in milk and serum were useful for the index of excretion of urinary N. Ruminally protected amino acids or fish meal supplementation supplied amino acids limiting for milk protein synthesis, and increased milk protein contents when cows were fed grass silage-based diets. The supplementation of fish meal reduced dietary CP without reducing milk production, and decreased excretion of urinary N.