

ISSN 0919-3235

北海道畜産学会報

第45巻 2003年



原著論文 (7 編)

研究ノート (2 編)

会員からの声 (1 編)

シンポジウム報告 (3 編)

第58回北海道畜産学会大会 一般講演一覧

大会報告

学会記事

北海道畜産学会

HOKKAIDO ANIMAL SCIENCE AND AGRICULTURE SOCIETY

お 知 ら せ

1. 第 59 回北海道畜産学会大会開催予定

と き：2003 年 9 月 1 日(月)と 2 日(火)
場 所：東京農業大学オホーツクキャンパス
詳細な案内は後日郵送いたします。

2. 費納入のお願い

会報の送付封筒のタックシールに、すでに納入いただいた年度が記載されております。お確めの上、未納入年度分の会費を納入してください。3 年間滞納しますと除名処分の対象となりますのでご注意ください。

年会費

正会員 3,000 円

学生会員 2,000 円

郵便振替 口座番号：02770-4-4947 加入者名：北海道畜産学会

なお、学生会員につきましては、継続の場合も 1 年ごとに入会の手続きをしていただくこととなっております。

ご不明な点は、会計幹事 宝寄山裕直までご連絡ください。

住所：081-0038 上川郡新得町西 5 線 39 番地 北海道立畜産試験場

電話：01566-4-5321

ファックス：01566-4-6151

E-mail：hhoki@agri.pref.hokkaido.jp

3. 住所等変更のご連絡のお願い

会員の方で住所当に変更が生じた場合には、下記の用紙にご記入の上、上記の会計幹事（宝寄山）までお送り願います。

きりとり

住所等変更届け

(届け出日 年 月 日)

お名前

住所
旧 TEL・FAX

住所
新 TEL・FAX

北海道畜産学会報

第 45 卷

平成 15 年 3 月

目 次

特 集

北海道における BSE 対策	小関忠雄.....	1
BSE パニック後のヨーロッパ.....	寺脇良悟.....	5

原著論文

ホルスタイン種における MUC1-VNTR 多型と乳中体細胞数との関連性について	山本直幸・西浦明子・富樫研治.....	9
醗酵食肉製品に用いる有用細菌の食塩による生育阻害に対するアルギニンの緩和効果	関川三男・河村多美・藤井はるか・島田謙一郎・福島道広・三上正幸.....	17
ウシ脊髄における正常型細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) の局在	中村富美男・田中誠一・小林 謙・關 巖・李 昇遠・福永重治.....	25
産次、分娩季節、乳量およびボディコンディションスコア低下が分娩後乳牛の繁殖性に与える影響	坂口 実・笹本良彦・鈴木貴博・高橋芳幸・山田 豊.....	33
エゾシカ (<i>Cervus nippon yezoensis</i>) における角の伸長と骨代謝の関係	亀山祐一・國井彰子・伊藤雅夫・石島芳郎.....	41
酪農場の糞尿処理過程と飼料生産過程における窒素負荷の評価	猫本健司・鈴木一好・長田 隆・干場信司・河上博美・大川典子・森田 茂・松本光司.....	45

研究ノート

0.3%アンモニア処理したとうもろこしのサイレージ発酵過程における微生物相	阿部英則.....	51
Relationships between polymorphic variants and expression level of the corresponding constituents in major milk protein loci of Holstein-Friesian cows	Michinari Yokohama and Tatsuya Watanabe	55

会員からの声

初乳の利用	齋藤善一.....	59
-------------	-----------	----

シンポジウム報告

第 7 回 International Colloquium on Paratuberculosis に参加して	尾上貞雄.....	61
スコットランドで開催された第 13 回国際サイレージ学会.....	増子孝義.....	65
第 36 回国際応用動物行動学会 (ISAE) 参加報告	瀬尾哲也.....	69

第 58 回 北海道畜産学会大会 大会講演一覧.....	71
大会報告	75
学会記事	84
役員名簿	88
北海道畜産学会会則	90
北海道畜産学会編集委員会規定	91
北海道畜産学会投稿規定	91
北海道畜産学会報原稿作成要領	92
北海道畜産学会表彰規定	93
会員名簿	95

特 集

北海道における BSE 対策

小関 忠雄

北海道農政部酪農畜産課

1 はじめに

日本における BSE の発生は、牛肉の消費と価格の大幅な低下をもたらし、道内の畜産農家と関連産業に大きな打撃を与えた。北海道では畜産農家と関連産業への経営支援対策と発生農家への経営再開支援を行うとともに、直ちに牛肉の安全確保と新たな感染防止対策に取り組んだ。その成果もあり、平成 14 年に入って発生した 4 例目、5 例目では、消費者も市場も冷静な反応を示し、最近の市場価格では BSE 発生前の水準に回復しつつある。

この間の北海道における BSE 対策は、適切な情報提供を行うことを基本として取り組んできた。食品は、消費者の評価と信頼がその購買動向を大きく左右するが、BSE の発生後、様々な対策を講じて「安全対策は万全」と強調しても、なかなか消費者の「安心」を得られなかったのは、過去の行政対応への不信と BSE 発生に引き続く偽装問題によりこの信頼感が崩れたことによる。こうした食に対する信頼を回復するためには、正しい情報を速やかに伝えることが重要であると位置づけ、様々な対策を開始した。

BSE が疑われる牛が発見されたという報告を受けた 9 月 11 日には緊急対策会議を開催するとともに、畜産関係団体に説明を行った。また、翌日には消費者団体に BSE に関する説明会を実施した。と畜場における全頭検査の実施とそのスクリーニング検査結果（一次検査結果）の公表を決めたのも、速やかな情報提供が大事であるということに基づいている。副知事を本部長とする北海道 BSE 対策本部についてもその論議の全てを公開して行い、原因究明を推進するために生産者に対するサーベイランス検査への協力を奨励する措置など、これまでに 15 回の本部会議を開催し BSE 対策を推進してきた。

2 BSE 対策推進の基本的な考え方

北海道における BSE 対策は、(1)BSE の新たな感染防止のための対策、(2)畜産農家等の経営安定のための対策、(3)BSE に関する知識の普及と牛肉の消費回復のための対策、(4)畜産副産物（肉骨粉）を適切に処理するための対策、という大きく 4 つの柱で実施してきた。これらの対策には平成 13 年度に 13 億円、14 年度にお

いては 21 億円を措置している。これまでに行ってきた様々な対策については、「北海道が進める BSE 対策の概要」として一覧表に整理した。次に、これらの対策から主なものを解説する。

(1) BSE の新たな感染防止のための対策

① と畜場における全頭検査

食肉の安全を保証するため、と畜場における BSE 検査体制をいち早く整備するとともに、スクリーニング検査結果についても公表するなど、速やかな情報提供に努めた。

② 家畜衛生からの安全確保

農場段階の BSE 検査については、道内 14 カ所の家畜保健衛生所に年間 2,200 頭の検査体制を整備し、BSE サーベイランス検査を実施してきた。平成 13 年 4 月から 14 年 12 月までに 648 頭の検査を実施しているが、その全頭で陰性が確認されている。このサーベイランス検査に積極的な協力を得るため、国に先駆けて生産者が検査へ牛を提供することへの奨励や、BSE 発生農家に対し原因究明への協力と位置づけて協力金を交付するなどを行ってきた。

平成 14 年 7 月に牛海綿状脳症対策特別措置法が施行され、15 年度から死亡牛の BSE 検査が義務化された。北海道では、現在、死亡牛を対象とした BSE 検査を開始するための準備を進めており、15 年度からは 24 カ月齢以上で神経症状を呈した死亡牛及び平成 8 年 2 ～ 4 月生まれの死亡牛を対象に 5,000 頭程度を検査し、検査体制の整備が整う 16 年度からは道内で発生すると想定される死亡牛 11 万頭のうち、24 カ月齢以上の 4 万頭の死亡牛全頭について BSE 検査を開始することとしている。

③ 飼料の適正給与の推進

牛の飼料給与については、動物性蛋白質を含む飼料の取り扱いについてのパンフレットを作成配布するとともに、飼料製造業者や販売業者への講習会を開催し、飼料の適正利用のための指導チームを地域に設置するなどの取り組みを進めた。

また、畜産試験場において牛用飼料への肉骨粉の混入がないかを分析、監視しているが、これまで（平成 14 年 12 月まで）分析を行った 182 点の飼料については動物性蛋白質は検出されていない。

④ BSE 関連の試験研究

国内 2 例目、4 例目にあたる道内の BSE 発生農家より、その疑似患畜の一部を畜産試験場において隔離飼養し、経過観察とともに疑似患畜の基礎的なデータ収集に努めている。

さらに、畜産試験場では異常プリオンの高感度で簡便な検出方法の開発に、根釧農業試験場では輸入飼料に依存しない地域資源を活用した北海道らしい乳牛飼養法の確立に取り組んでいる。

(2) 畜産農家等の経営安定のための対策

畜産農家等においては、BSE 発生以降牛肉の消費低迷や価格の下落により経営に大きな影響を受けた。北海道は農業団体と連携して BSE の影響調査を行うとともに、経営資金の融通に対する利子補給や、肥育農家に対する経営費の補填や経営安定対策参加農家に対する生産者積立金の立て替え払いの支援を行い、BSE 発生農場に対しては経営再開に対する支援対策などを実施してきた。

また、BSE の発生により経済的に影響を受けている中小企業に対して特別金融相談室を設置し金融の円滑化を図った。

(3) BSE に関する知識の普及と牛肉の消費回復のための対策

牛肉の消費回復については、何よりも消費者の不安感を払拭することが重要であることから、北海道として知りうる限りの情報を迅速に伝えることに努めた。BSE に対する知識の普及とともに、取り組む安全対策についての情報提供に努め、マスメディアによる広報や説明会の開催、産地見学会などを実施してきた。

と畜場における解体作業のなかで背割り工程が消費者の不安の一つでもあったことから、全てのと畜場にせき髄吸引装置をいち早く整備し、安全の確保に万全を期した。

また、個体識別のために牛全頭に対する耳標装着を行い、牛肉のトレーサビリティ確保のための仕組みづくりに取り組んでいる。

(4) 畜産副産物（肉骨粉）を適切に処理するための対策

BSE の撲滅には飼料を介した循環を断つことが最も重要であることから、BSE の感染源であることが疑われている肉骨粉の不正流用などが生じないように、確実に焼却処分することとした。これには市町村等の 42 カ所（平成 14 年 12 月以降は 17 カ所）の一般廃棄物処理施設や、2 カ所のセメント工場と 1 カ所の製紙工場の協力をいただき焼却処理を進めている。一時は肉骨粉の在庫量は全道で 1 万トンを超えたが、民間の 3 工場の協力を順次得ることにより焼却能力は製造量を

上回る体制を整えることができ、平成 15 年春までには在庫量の焼却は全て終了する見込みとなっている。

3 おわりに

わが国における BSE 患畜の発見より 1 年余りが経過し、牛肉の消費も価格についても発生前の水準に回復してきている。平成 14 年に入ってから 4 例目、5 例目の発生に際しては、消費者も市場も冷静な反応を示しており、一連の対策により BSE に対する共通の認識がある程度浸透したとも評価できる。平成 15 年度からは死亡牛の BSE 検査を開始するが、原因究明の努力を続け、BSE が発生したとしても安心して生産できる環境を整えることが重要と考えている。

BSE の問題は、農業の最も基本的な役割が生命の糧である食料を安全・安心なものとして安定的に供給することにあること。そして、農業という生産活動がそれ単独で成立するものではなく、消費者の信頼に支えられていることを関係者に再認識させてくれた。今回の BSE では、畜産と関連産業が大きな打撃を受けたが、農業とその関連産業は北海道にとって地域の重要な基幹産業であり、今後とも安定的な発展を図っていかなくてはならない。その発展を期していくためには、消費者の支持を得ることが何よりも重要であり、その消費者が食品に求める第一は「安全」であり、その安全が裏切られることがないという「安心」の保証である。

本道農業の特色である「豊かな土地資源」と「冷涼な気候」は、何よりも安全な農畜産物を生産するには有利な条件にあり、これまでもクリーン農業を推進してきたところである。また、平成 14 年度より新たに道産食品安全室を設置し、BSE 対策に止まらず、道産食品の生産・加工から流通・消費に至る「安全・安心」な仕組みづくりを推進している。

BSE 対策の一環として実施してきた消費者と生産者との意見交換会では、「消費者に足りなかったのは生産現場を知ることではないか」、「正確な情報を集め判断できる消費者でありたい」というように、食の安全に積極的に関わってほしいという消費者の声が聞かれた。BSE 問題をきっかけに食の安全に向けられる消費者の目が厳しくなるとともに積極的な姿勢に変わってきていることを、生産者をはじめとした農業関係者や行政は「BSE の財産」ととらえ、消費者や流通関係者との協働作業として、安全・安心な食料生産のブランドとして北海道をつくりあげていくことに努力してまいりたい。

北海道が進める BSE 対策の概要

(1) BSE の新たな感染防止のための対策

- と畜場での BSE 検査の実施
 - ・ 検査機器、検査室、検査キット等の整備
 - ・ 検査機器の増設、施設増築等
 - ・ 検査の実施と食肉衛生検査所整備（東藻琴）
- BSE 検査に対応した食肉センターの整備
 - ・ 可食内臓等保管冷蔵庫と SRM 焼却炉整備
 - ・ 脊髓吸引装置の導入
- 家畜衛生確保対策の強化
 - ・ 家畜保健衛生所の BSE 病性鑑定施設の整備（検査機器・保冷库の整備）
 - ・ 牛海绵状脳症の病性鑑定体制の強化（異常牛立入検査、病性鑑定牛の処分等）
 - ・ 生産農家への衛生検査等の実施
 - ・ BSE サーベイランスの強化
（検査への協力を奨励するための生産者への検体提供奨励金、原因究明協力金の交付）
- 死亡牛 BSE 検査体制の整備
 - ・ 死亡牛の BSE 検査に必要な検査材料採取施設、冷蔵保管施設等の整備
- 飼料の適正給与の推進
 - ・ 適正給与の手引き、給与指針の作成、飼料製造・販売業者講習会開催
 - ・ 牛用飼料の肉骨粉混入監視体制の整備
 - ・ 適正な飼料給与の推進、立入検査、肉骨粉混入監視の実施
- BSE 関連試験研究の推進
 - ・ 疑似患畜の買上げ・隔離飼養・調査研究
 - ・ 疑似患畜の隔離施設整備
 - ・ 異常プリオンの簡便な検出方法の研究開発
 - ・ 輸入飼料に依存しない地域資源を活用した北海道らしい乳牛飼養法の研究開発

(2) 畜産農家等の経営安定のための対策

- 経営の維持・継続に必要な資金の融通
 - ・ 大家畜経営維持資金・BSE 対応畜産経営安定資金の融通（無利子化）と大家畜経営維持資金の償還延長
 - ・ 中小企業振興資金の融通
- 肉用牛肥育経営の負担軽減
 - ・ 「マル緊事業」の生産者積立金の立替基金造成支援
- BSE 発生農場の経営再開支援
 - ・ 発生農家の経営維持を支援する市町村に対する補助
 - ・ 発生農場における新たに導入される牛の事故率低減のための一時隔離施設や既存施設の改修などへの助成

(3) BSE に関する知識の普及と牛肉の消費回復のための対策

- 道産牛肉の安全性の PR と正しい知識の普及
 - ・ 検査済表示の実施、啓発資料の配付
 - ・ 消費者説明会等の開催
- BSE 発生に伴う緊急の牛肉隔離
 - ・ BSE 陽性牛関連の枝肉等の保留・廃棄への補償等
- 道産牛肉の安全性の確保
 - ・ 家畜個体管理に関わる IT 導入
（個体識別管理システムの運用）
 - ・ 安全・安心認定制度の検討
（先進国調査、制度検討、実験事業の実施）

- 安心な表示の仕組みづくりと牛肉消費向上対策
 - ・ 個体識別管理を利用した新流通システムの導入・普及
 - ・ 地域が主体となったキャンペーンの実施

(4) 畜産副産物（肉骨粉）を適切に処理するための対策

- 肉骨粉の適正な処理の推進
 - ・ 肉骨粉製造業者等説明会の開催，焼却処理計画の策定及び連絡調整
- 畜産リサイクルシステムの検討
 - ・ 関係団体等との検討・協議の実施

特 集

BSE パニック後のヨーロッパ

寺脇 良悟

酪農学園大学短期大学部

1986年にイギリスでBSEの発生がはじめて確認され、1996年にはヒトへの感染の可能性が発表され、世界中がBSEパニックに陥った。2001年にはついに日本においてBSE罹患牛が発見された。昨年(2001年)、酪農学園大学ではBSEに関するプロジェクトを立ち上げた。プロジェクトの一環として、ヨーロッパ諸国におけるBSE対策と現状を調査し、日本における今後のBSE対策の参考とすべき情報収集の任を負って、6月中旬にスイス、フランス、デンマークを酪農学園大学の岡本全弘氏とともに訪れた。幸いにして、道立畜産試験場の尾上貞雄氏が同時期の調査を計画されていたので行動を共にできたことは心強かった。日本でのBSE報道はイギリスに関するものが多く、BSEはイギリスから一足飛びに日本へ来た感があるように思える。地理的・経済的にイギリスと近いヨーロッパの国々はBSEに対して今日までどのように対処し、国民感情はBSEパニックから今日までどのように変化したのか、そして沈静化しつつあるBSEに対する政府や世論の現状と今後の見通しなどについては、われわれは知る機会をほとんど持たない。"BSEに汚染したものを"を輸入してしまった国々の現状を報告する。

I. 調査旅程と訪問先

表に示すように今回の調査では大学や研究機関そして情報の収集と提供を目的とする機関さらには酪農家を直接指導する立場にある酪農団体ならびに獣医局を訪問した。さらには、BSE罹患牛が発見された農家を訪ねることができた。

II. ス イ ス

ベルン大学臨床獣医学科動物TSE情報研究室にProf. Dr. Andreas Zurbriggen氏を訪問した。挨拶の後、研究室のスタッフがBSE罹患動物の処理を行う施設に案内してくれた。この施設には、罹患動物から脳を摘出する手術室があり、脳は左右に2分され、一方は検査に用いられ、他方は保存されとのことである。罹患牛の脳組織染色切片を顕微鏡で見せてもらいながら詳しい説明を受けた。BSE特有の空胞が鮮明に観察でき、濃く染まった顆粒が線を描くように並んでいるのが特徴的であった。施設見学後、Prof. Dr. Ar-

dreas Zurbriggen氏のほかにDr. Marcus G. Doherr氏とDr. Margrit Pittet-Jäckle女史が同席し、スイスのBSE対策の現状や進入経路に関する考え方を話してもらった。また、われわれの質問に丁寧に答えていただいた。

スイスのBSE発生件数はイギリス、アイルランド、ポルトガル、フランスに次いで第5位であるが、母集団の大きさから考えるとスイスの発生率はフランスより高率であろう。追跡調査にとって不可欠な個体の識別に関する対策はわが国が緊急対策で整備しつつあるものと同等なしくみのようである。すなわち、出生子牛の両耳に耳標を付け、中央のデータベースに登録する方法のようである。BSEが発生した農家に対する対処方法は3回の変遷があったようだ。

スイス国内へのBSEプリオンタンパクの侵入経路については2つの主経路を考えているようである。第1のルートはイギリス(あるいは、他のヨーロッパ諸国を経由して)から輸入した肉骨粉であり、第2のルートはイギリス(あるいは、他のヨーロッパ諸国を経由して)から輸入した生体であろうと考えている。わが国で発見された4頭のBSE罹患牛は同じ代用乳を与えられており、この代用乳が注目されているとの質問に対して、同じ代用乳を与えられた子牛はかなりの頭数であり、そのすべての牛がBSEに罹患しているわけではないとの答えであった。

スイスでは1990年に初めてBSE罹患牛の報告があったが、政府(政策決定者)、研究者、獣医師などの関係機関間の情報伝達が大変うまく行っている。その結果、一般社会への対応は良好であろうと考えている。つまり、適切な時期に関係機関が適切な情報を公開し、社会の信頼を得ることが大切であるということであろう。事実、牛肉消費量は当初若干減少したが、その後早い時期に回復したそうである。

BSE発生後、農家を指導する上での変化についての質問に対して、農家の飼養管理に関する指導については変更する必要がないことを強調していた。なぜなら、BSE発生と家畜の管理には何の関連性もないからで、とにかく大切なことはBSEに汚染されたものを排除することに心がけ、BSEプリオンタンパクの伝達ルートを遮断することが重要であると力説した。スイスでは独自にBSE罹患牛の臨床症状を詳細に解説したビ

デオを作成し、家畜に対する注意深い観察を指導しているようである。

BSE の遺伝学的研究についての質問に対して、BSE の発生メカニズムに関する遺伝学的研究成果は今のところなく、何も言えない。BSE に係わる遺伝子の存在やその位置についても何も分かっていないとの答えであった。また、乳牛の遺伝的産乳能力と BSE 発生との関連性について、高泌乳牛はより多くの肉骨粉を食べる機会があると考えられるので、BSE に汚染される確率が高いと考えられないかと質問した。確かに高泌乳牛はより多くの肉骨粉を必要とするであろう。しかし、多くの BSE 罹患牛は非常に若い時期に BSE 感染していると考えられるので、乳生産量と BSE 感染の危険率には深い関係はないと考えている。わざわざ低泌乳牛への選抜・改良は問題外であるとの答えであった。

スイスにおける BSE 発生件数は肉骨粉の輸入停止以降急激に減少している。近年の若干の増加は、検査体制の充実によるものと考えている。スイスの消費者は『共食い』に対して抵抗感をもっているようである。BSE の生体診断は現時点では非常に困難である。検査用キットが販売されているが、サンプル検査の豊富な経験が必要で、そのための多数の陽性サンプルが不可欠である。

午後からはスイス BSE 情報室に場所を移し、Dr. Margrit Pittet-Jäckle 女史からスライドを使った BSE 監視体制と BSE 発生状況、さらには、BSE 罹患牛の特徴的な臨床症状や BSE に関する診断法について詳しい解説があった。BSE 発生の報告件数を左右する要因として、病気に対する認識の程度、届け出に対する積極的な気持ちそして検査能力の重要性を強調していた。BSE 診断には、組織学的検査、免疫組織化学検査、迅速検査を用いている。BSE の潜伏期が平均 5 年と長いこと、死亡した動物の脳組織を使って診断することそして発症から死亡までの期間が短いことなどが BSE のリスク管理を難しくしている。スイスでは BSE に関して危険な集団を特定し、目標を定めた監視体制を 1999 年から整えている。まず迅速検査を行い、陽性反応がでた場合は、組織学的検査あるいは免疫組織化学検査を行って確定診断を行うとのことである。Dr. Margrit Pittet-Jäckle 女史から BSE 罹患牛の臨床症状を解説したビデオテープを土産にいただいた。

III. フランス

クレルモン・フェランにあるフランス農業研究所 (INRA) に Dr. Doreau 氏を訪ね、研究所の説明を受けた。その後、Dr. Doreau 氏の運転で、BES 発生農家を訪問し、生産者の声を直接聞くことができた。

フランスでは集約的農業と持続的農業を目指す 2 つの農家同盟がある。訪問した農家は後者に属し、繁殖牛 65 頭、全部で 180 頭を飼養、その他にほろほろ鳥を

飼養している。自家生産物を使ったレストランを経営し、オーガニックの認可取得を目標にしている。BSE と同様に遺伝子組み換え物質にも神経質で、ほとんどは放牧により肥育している。農家の見解は次のようであった。BSE の農家への侵入ルートは肉骨粉が混入しているサプリメントあるいは導入された素牛と考えているが、はっきりしたことは未だ不明である。BSE のフランスへの侵入ルートは英国から第三国を経由した違法な貿易が原因と考えている。フランスにおける肉牛農家の 10~15% は潜在的に BSE 汚染されていると思う。政府の重大な過失は、肉骨粉の輸入を完全に監視下に置けなかったことだと考えている。消費者と一緒に safety and tasty を追求したい。牛舎内には、と畜場がいっぱいのためと殺することができない 2 頭の肉牛がいた。と殺対象牛は発生牛と同一群にいる罹患牛より月齢の高いものであるとのことであった。

研究所に帰り、Dr. M. Lherm 氏 (農業経済分野)、Dr. S. Rousset 女史 (消費動向分野) および Dr. C. Ducrot 氏 (生態病理分野) から話を伺った。

フランスの牛肉生産は、酪農と肉牛専業農家では事情がまったく異なるので、その対応が難しい。価格や所得に影響する要因が多数存在し、牛肉生産のクォータ制やポーランドからの輸入を重要な要因としてあげられる。牛肉価格は長期低落傾向であるが、支持制度によって維持されている。1997 年と 2002 年に BSE の影響と考えられる若干の低下が見られた。生産者価格は 13% 低下したが、消費者価格は頭数の減少があって 6% 上昇した。鶏肉とマトンの価格は 50% 上昇したとのことである。

フランス国内の肉消費量は 1980 年以降低下傾向にあり、特に牛肉においてはその傾向が顕著であるようだ。42% の国民が肉の消費量を減らしているが、消費動向は年齢層によっても異なっている。safety or no という反応である。しかし、スポーツマンや妊婦などは肉が必需品であると考え人達もいる。肉を取り入れた食事を奨励するメッセージも出されている。政府の品質保証は一般市民に信用されているようだ。BSE についての専用電話や食肉の安全性に関する政府ホームページなどの手段を使って、市民対応しているとのことである。

IV. デンマーク

オーフスの酪農会館にデンマーク家畜・食肉協会の F. Thune-Stephensen 獣医師とデンマーク農業アドバイザーの M. Steffensen 獣医師を訪問した。会議内容は以下の通りである。

デンマーク国内で BSE プリオンタンパクの増殖サイクルとこのサイクルを遮断するために重要な要因についての説明があった。大切な要因は、牛生体の輸入、飼料肉骨粉の輸入、BSE 罹患牛に関する監視体制と淘

汰プログラム、特定危険部位の排除、レンダリング処理システムそして集団構成であることを強調していた。BSE の侵入と世界各国への拡大については、デンマーク国内への BSE プリオンタンパクの侵入は、肉骨粉と代用乳が原因と考えている。特に、代用乳については 5～6 年前に主にドイツから大量に輸入した。この代用乳に含まれる牛脂が疑わしいとの考えがある。BSE 汚染拡大の重要なポイントは、英国は肉骨粉の国内での使用は禁止したにもかかわらず、輸出したことである。BSE 防止策をもっていない国からの汚染を防ぐためには、遺伝資源として生体を輸入することを止め、凍結精液や凍結受精卵を輸入することが大切である。それから、生体で輸入したものは food chain に決して含めないことであることを力説していた。

デンマークの個体識別システムは 5 桁の農家コードと 4 桁の個体コードからなっている。生まれたばかりの子牛にコードが記入された耳標を装着する。このコードは一生変わらない。牛が売買された場合は、報告の義務があり、データベースはその都度更新される。よって、個体のトレースは可能である。アドバイザリーセンターは、デンマークを 10 の地区に分割し、各地区に BSE 専門官を配置している。担当地区農家の指導や家畜の履歴追跡調査を行っている。家畜に関するデータベースは 2 つの機関にあり、互いに登録番号の変換が自動的に行われるようになっている。そのため、個体の追跡調査は容易であるとのことである。特定危険部位は 2000 年からすべて除去し、焼却処分している。レンダリングプラントの焼却処理は、1997 年 4 月 1 日より 133 度、20 分、3 気圧の条件で行っている。デンマークでは普通 50～60 ヶ月齢でと殺されるので、BSE の臨床症状が表れる前に処分される可能性が高く、監視上の問題点になっているとのことであった。

BSE についての酪農家に対する教育は各農家との数多くのミーティングを通して行っている。また、雑誌への執筆で情報提供している。今日もこれから酪農家が集まって、レクチャーを行う予定になっていると話していた。BSE 発生農家と報道機関との間にアドバイザリーセンターが入り、両者のトラブルを未然に防ぐ役割を果たしているとのことであった。BSE 発生農家に対する救済措置は国が 20%、農業団体が 80%を負担している。BSE 検査費用は当初農家が 100%負担していたが、現在では国が一部を負担している。

国民には「共食い」に対する抵抗感があるようだ。この感情を緩和する方策として、豚の肉骨粉を鶏に、鶏の肉骨粉を豚に、豚と鶏の肉骨粉を魚に給与するなどのアイデアがある。牛肉の消費量は、BSE 発生当初減少したが、短期間で回復し、その後 22 kg から 24 kg に増加したとのことである。

現在ヨーロッパ各国から報告されている BSE 発生頭数はそれぞれの国の BSE 汚染度と比例していると

考えている。大量に肉骨粉を英国から輸入したスイス、ポルトガルそしてフランスでは、多くの BSE 発生頭数が報告されているからである。しかし、東ヨーロッパ諸国にも大量に肉骨粉は輸入されているにもかかわらず、BSE 発生頭数は少ない。その理由はわからないけれども、また、極東や北アメリカについても同様な疑問を個人 (F. Thune-Stephensen 獣医師) 的にもっている。例えば、米国ではスクレイピーの発生はある。そして、レンダリングシステムはかつての英国と同様であった。スクレイピーが羊から牛に感染する可能性は高いであろう。大量の肉骨粉が使用されている。しかし、BSE 発生の報告はない。確かに、米国における牛のと殺年齢は若いけれども、イスラエルについても同様な思いがある。

つぎに、オーフス地区獣医局の O. G. Jørgensen 獣医師を訪ねた。BSE の検出率は事故や淘汰の牛で 0.0082%であり、正常な状態でと殺された牛では 0.0013%であった。特定危険部位や検査の結果陽性であったと体は一つのレンダリングプラントに集められ、高圧滅菌処理される。現在では 90 k トンもの肉骨粉が保管されている。利用方法として、セメント会社では 10%程度をセメントに混合する。情報公開を適切に行ったので消費者の信頼はあると考えているとのことである。また、報道機関への窓口は一つに限定した。デンマーク人は農村と農業に対する深い理解をもっているが、都会に住む人々への説明は難しいとの思いを話してくれた。

V. ま と め

BSE の感染防止や食肉の安全対策に関する認識や姿勢は訪問した 3 つの国でほぼ同様であるように思えた。国際獣疫事務局 (OIE) の規約に準じた体制作りを各国とも進めた結果であろう。また、BSE 罹患牛の追跡調査に欠くことのできない個体識別システムも各国とも同様なものであり、これはわが国においても緊急に整備されつつある仕組みと変わらないものであった。

ヨーロッパ諸国そして全世界への BSE 汚染に対する英国の責任についても同様の意見を持っていた。『英国が自国での肉骨粉使用を禁止したにもかかわらず、輸出し続けた』ことに対する批判は強烈であった。

パニックを最小限に抑え、その結果として肉とくに牛肉の消費量減少をくい止めるための最も重要な要因は、監督省庁の対応であることが今回の調査で再確認できた。どの国においても、一般市民に対する迅速で正確な情報公開と対応の大切さを強調していた。訪問した 3 つの国の現状はいずれも平穏を取り戻し、BSE パニックの様相はうかがえなかった。

BSE プリオンタンパクの進入経路はいずれの国でも特定されておらず、様々な推測や考えがあるようで

ある。デンマークでは代用乳中の牛脂が疑われていることが興味深い。

VI. 謝 辞

今回の調査に際しては、訪問を快諾して下さった緒機関の皆さんはもちろんのこと、訪問先の選定や日程

調整ならびに現地での案内などをして頂いた北海道立畜産試験場の尾上貞雄氏，フランス農業研究所に留学中の北海道大学農学部の上田宏一郎氏，デンマーク農業試験場ならびに酪農学園大学客員教授の高井久光氏そして留学中の酪農学園大学大学院酪農学研究科博士課程の河上博美さんに感謝いたします。

調査旅程と訪問先

日 時	訪 問 先
6 月15日(土)	千歳空港→関西空港→パリ・CDG空港（フランス）
6 月16日(日)	パリ・Paris Gare de Lyon駅（フランス）→ ベルン駅（スイス）
6 月17日(月)	午前 ベルン大学臨床獣医学科動物TSE情報研究室 午後 スイスBSE情報室
6 月18日(火)	ベルン駅（スイス）→ クレルモン・フェラン駅（フランス）
6 月19日(水)	午前 フランス農業研究所（INRA） BSE発生農家 午後 フランス農業研究所（INRA）
6 月20日(木)	クレルモン・フェラン駅（フランス）→パリ・Paris Gare de Lyon駅（フランス）→パリ・CDG空港（フランス）→ビルンド 空港（デンマーク）
6 月21日(金)	午前 オーフス酪農協会 午後 オーフス地区獣医局
6 月22日(土)	ビルンド駅（デンマーク）→コペンハーゲン空港（デンマーク） →パリ・CDG空港（フランス）→
6 月23日(日)	→関西空港→千歳空港

原 著

ホルスタイン種における MUC1-VNTR 多型と 乳中体細胞数との関連性について

山本 直幸・西浦 明子・富樫 研治

北海道農業研究センター畜産草地部, 札幌市豊平区 062-8555

Relationship between MUC1-VNTR polymorphisms and somatic cell count in Holstein cows

Naoyuki YAMAMOTO, Akiko NISHIURA and Kenji TOGASHI

Department of Animal Production and Grassland,
National Agricultural Research Center for Hokkaido Region (NARCH),
Toyohira-ku, Sapporo-shi 062-8555

キーワード : ホルスタイン種, ムチン, MUC1, VNTR 多型, 乳中体細胞数

Key words : Holstein cows, mucin, MUC1, VNTR polymorphisms, somatic cell count

Abstract

A polymorphic glycoprotein, MUC1 mucin, of high molecular weight is found on the bovine milk fat globule membrane. The milk fat globule membrane is deposited into the milk during secretion and is a source of apical glycoproteins of lactating mammary epithelial cells. Milk MUC1 mucin has the function concerned with the immunity by such cases as the infection defense. MUC1 gene contains a segment of tandemly repeated VNTR type polymorphisms (60bp/1 consensus sequence unit) at exon2 region. The purposes of this study was to detect the MUC1-VNTR type polymorphisms and to estimate the relationship between MUC1-VNTR type polymorphisms and milk MUC1 mucin protein function using SCC for indirectly index in Holstein dairy cows. MUC1 gene contains 2 to 17 tandem repeats of 20 amino acids within the repeat domain. There was high frequency (90.41%) of eight times and more in the number of repeats. And RFLPs type polymorphisms was confirmed within the consensus sequence unit of VNTR digestion with restriction enzyme *PvuII*. Mean of SCC ($\times 10^3/\text{ml}$) and LS were high frequency of VNTR12 (144.94, 2.02) than VNTR9 (84.77, 1.53) and VNTR13 (103.78, 1.59) ($p < 0.01$). The frequency of less than 100 ($\times 10^3/\text{ml}$) of SCC in VNTR9 was high, and the frequency of over 100 ($\times 10^3/\text{ml}$) of SCC in VNTR12 was high. These results suggested that MUC1-VNTR polymorphisms were related to milk MUC1 mucin function such as the first line of infection defense.

要 約

乳中にある MUC1 ムチンは脂肪球皮膜上に発現しており, 感染防御等一次免疫に関わる機能を有する高分子量の糖タンパク質である. この乳中 MUC1 ムチンの遺伝子 MUC1 はエクソン 2 に VNTR 型の反復繰返し多型構造 (60 塩基/1 繰返し単位) を持つ. そこで, ホルスタイン種における MUC1-VNTR 多型を解

析するとともに, 乳中 MUC1 ムチンの持つ機能性が MUC1-VNTR 多型と関連性があるかどうかを, SCC を間接的な機能性指標として用い検討を行った. その結果, MUC1-VNTR の反復繰返し回数は 8 回以上の割合 (90.41%) が多く, さらに VNTR 配列の繰返し単位内にも RFLPs 多型が確認された. 3 つの VNTR 型間で平均 SCC ($\times 10^3/\text{ml}$) および平均 LS を比較すると, VNTR12 (144.94, 2.02) は VNTR9 (84.77, 1.53) と VNTR13 (103.78, 1.59) より有意 ($p < 0.01$) に高かった. SCC の分布では VNTR9 は 100 ($\times 10^3/$

ml)以下の割合が他の VNTR 型より多く、 $100(\times 10^3/\text{ml})$ を越える分布では VNTR12 の割合が多かった。以上の結果より、MUC1-VNTR 多型は乳中 MUC1 ムチンの持つ感染防御能と関連性がある可能性を示唆するものと考えられた。

緒 言

乳中の脂肪球皮膜上に発現している主要タンパク質 (PETERSON *et al.*, 2001) の一つであるムチンタンパク質(乳中 MUC1 ムチン)は乳腺上皮細胞を由来とし、糖鎖が結合した高分子量の膜結合型糖タンパク質である (GENDLER *et al.*, 1987; GENDLER *et al.*, 1988; GENDLER, 2001)。

これまでに、ヒトにおいては 12 種類のムチンタンパク質遺伝子の存在が報告されており (GENDLER, 2001), このうちの乳中 MUC1 ムチンは第 1 染色体上にマップされている MUC1 遺伝子によってコードされている。ウシの乳中 MUC1 ムチンもヒトと同じく MUC1 遺伝子の産物であるが、その遺伝子は第 3 染色体上に存在すると推定されている。MUC1 をはじめ、いずれの MUC 遺伝子にも翻訳領域内に縦列反復配列 (VNTR: variable number of tandem repeat) 型の多型を有していることが明らかとなっている。MUC1 遺伝子には第 2 エクソンに 60 塩基 (20 アミノ酸) を一つの反復繰返し単位とする VNTR 配列が存在している (LANCASTER *et al.*, 1990)。MUC1 遺伝子の構造、すなわち 7 つのエクソンとエクソン領域に VNTR を持つという特徴は動物種間で共通であるが、塩基配列ではウシ (PALLESEN *et al.*, 2001) ヒト (GENDLER *et al.*, 1990), テナガザル (SPICER *et al.*, 1995), マウス (SPICER *et al.*, 1991), ウサギ (HEWETSON and CHILTON, 1997) など動物種間でかなり異なった配列であることが報告されている。

MUC1-VNTR 構造の生理的な機能はまだ十分に解明されていないが、ヒトにおいては乳中 MUC1 ムチンが微生物の増殖を強く抑制する働きを持っているとの報告がある (NEWMAN, 1995; YOLKEN *et al.*, 1992)。また、ウシにおいてはロタウィルスの感染により発症する下痢を乳中 MUC1 ムチンが予防あるいは症状を低減する効果を持つことが、マウスを使った実験により明らかにされている (EBINA, *et al.*, 1992)。乳中に限らず一般にムチンタンパク質は接着性の免疫的防御作用を有すること (FUKUDA, 2002), さらにその遺伝子の翻訳領域に極めて大きな繰返し構造を有することなどから、MUC1-VNTR の多型が乳中 MUC1 ムチンの機能性に影響を及ぼす可能性を推定することが出来る。

そこで本研究では、乳用牛であるホルスタイン種において MUC1-VNTR 多型の検出と同定を試みるとともに、非特異的な一次免疫に関与していると考えら

れている乳中 MUC1 ムチンの機能が MUC1-VNTR 多型との間に関連性をもつかどうかについて、乳中に検出される体細胞数 (SCC) およびそのリニアスコア (LS) を間接的な機能性指標として用いることで検討を試みた。

材料および方法

供試家畜

北海道農業研究センター (北農研) において飼養されたホルスタイン種で、平成元年 1 月から平成 14 年 6 月の間に在籍した個体のうちの 103 個体を用いた。また、東千歳地区の一般酪農家で飼養されているホルスタイン種 5 牛群の合計 304 個体についても MUC1-VNTR の多型検出と同定を行った。

DNA 抽出

ゲノム DNA の抽出には血液あるいは乳を用いた。血液には EDTA を抗凝固剤として用い PBS による洗浄を 2 回行った。凍結保存 (-80°C) 後、市販の核酸抽出用キット (Code No. 9081, TAKARA 社製) で DNA を抽出した。また乳は変性を防ぐためにアジ化ナトリウム (最終濃度 0.02%) を添加後、冷蔵 (4°C) あるいは冷凍 (-20°C) で保存した。DNA 抽出は Chelex 100 resin 樹脂 (Cat. No. 142-1253, BIO-RAD 社製) と Proteinase K (MERCK 社製) を用いた樹脂ビーズ法 (AMILLS *et al.*, 1997) で行い解析に用いた。

多型検出

MUC1-VNTR 領域の DNA 増幅には、エクソン 2 の塩基配列情報よりプライマーセットを設計し、2 点 PCR プログラムで増幅特異性を高めた。PCR 法の条件を Table 1 および Table 2 に示した。

PCR 増幅産物は 2% アガーロースゲル電気泳動法で分離した。エチジウムブロマイドによる染色後、紫外線ランプ照射下でポラロイド撮影を行い、検出された DNA 長から VNTR の反復繰返し回数の同定を行った。さらにマイクロチップ電気泳動システム (SV1210, HITACHI 社製) を用いて同一個体の PCR 産物長を測定することで繰返し回数の再同定と確認を行った。MUC1 遺伝子の塩基配列は PCR 産物のダイレクトシーケンシングにより決定した。

MUC1-VNTR 内の RFLPs 解析には、PCR 産物 20 μl を 20 単位の制限酵素 *Pvu*II (Code No. 1076A, TAKARA 社製) で 37°C 2 時間以上消化し 2% アガーロースゲルで検出した。

SCC 測定

SCC の測定は隔週で実施し、夜および翌朝の搾乳時に個体毎に採取した生乳サンプルを用い、体細胞数測定装置 (FOSSMATIC 90, N. FOSS ELECTRIC 社

Table 1 Preparation of the PCR master mixes.

Component	Volume per reaction (μ l)	Final concentration
Template DNA	2	-
Primer 1 (AACGTCCAGTCCCACTAAAG)	2	0.2 μ M
Primer 2 (CAGCTCCTGATAGTAGCTGG)	2	0.2 μ M
dNTPs Mix	2	200 μ M of each
10 X PCR Buffer	2	1 X
Taq (AmpliTaq Gold, AB*)	0.2	1 unit
MgCl ₂	1.2	1.5 mM
H ₂ O	8.6	-
Total	20.0	

*) Applied Biosystems.

Table 2 Thermal cycling protocol.

Step	Initial	PCR Cycle (40 cycles)		Final
		Denature	Anneal-Extend	
Temp. (°C)	95	94	60	72
Time (sec)	540	30	300	600

Thermal Cycler: GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

製)により計測されたものである。LSは対数変換された SCC の分類に従った値を用いた。解析には平成元年 1 月から平成 14 年 6 月までの期間で在群中に記録された個体毎の全データを用いた。

結果および考察

MUC1-VNTR の反復繰返し回数を北農研、一般酪農家のホルスタイン種合計 6 牛群 407 頭について解析したところ、2 回から 17 回の繰返し回数を持つ個体が確認された。また、反復繰返しのない個体も確認された (Figure 1)。

反復繰返し回数の分布を見ると、8 回以上の個体の割合 (90.41%) が多く、7 回以下の割合 (9.59%) は少なかった。このうち、北農研の個体については殆どが 9 回 (VNTR9, 44.7%), 12 回 (VNTR12, 32.0%), 13 回 (VNTR13, 21.4%) の 3 型で占められ、その他

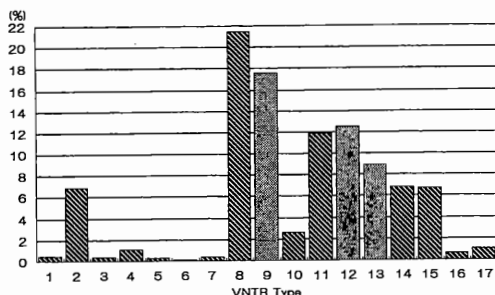


Figure 1 The distribution of MUC1-VNTR type (number of repeats). Major three types of MUC1-VNTR detected in NARCH Holstein cows were VNTR9, 12 and 13.

の型を持つ個体は若干であった。一方、一般酪農家の個体では繰返し回数が極めて少ないものが確認された。これらは PCR に用いた鋳型 DNA の状態などの影響により正確に増幅されなかった可能性が疑われたため再検討を行ったが、同様の結果であった。

ヒトにおいては、北部ヨーロッパの女性を対象とした解析で MUC1-VNTR に 21 回から 125 回の反復繰返し回数があることが報告されている (GENDLER *et al.*, 1990)。ウシでは米国のホルスタイン種集団の解析で 25 回から 35 回の繰返し回数があると報告されている (HENS *et al.*, 1995; HUOTT *et al.*, 1995)。また、エアシャー種、ブラウンスイス種、ジャージー種などでは、乳中 MUC1 ムチンのタンパク質解析による分子量からの推定で、MUC1-VNTR 多型はホルスタイン種より少ないと報告されている (PATTON and MULLER, 1992)。これらの報告と本研究の結果を合わせて考察すると、MUC1-VNTR は動物種間および系統間あるいは集団間においてその多型性が大きく異なると考えられる。

MUC1-VNTR は繰返し回数の違いが PCR 産物の長さの差となり、それが多型として検出されるが、この多型の他にさらに VNTR の繰返し単位内に塩基の変異に由来する多型が存在するかどうかを北農研の個体について調べた。VNTR 領域を含む塩基配列を解析し、決定した塩基配列情報より制限酵素認識部位を検索し RFLPs を検出した。その結果、制限酵素 *Pvu*II (認識配列: cagctg) での消化において塩基変異が確認された (YAMAMOTO, 2002A; 2002B; 2002C)。この RFLPs は MUC1 の VNTR9, VNTR12, VNTR13 それぞれの型に特異的に対応する変異であった (Figure 2)。また、この変異はアミノ酸の置換は伴わないものであった。

これらのことから、MUC1-VNTR 領域は 60 塩基 20 アミノ酸を 1 単位とする規則的な反復繰返し配列構造を保持しつつ、さらに繰返し単位内の塩基変異による複数のタイプが存在することが明らかとなった。

乳中 SCC の増加は、乳頭口から乳腺内に侵入した細菌の感染増殖に対する防御反応として好中球をはじ

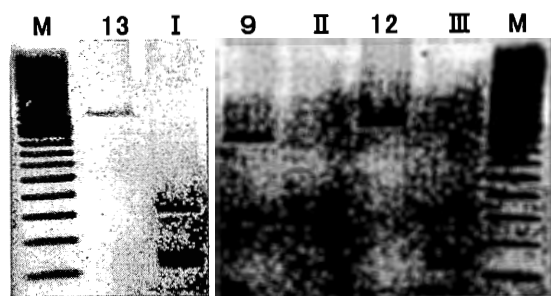


Figure 2 Correspondence with MUC1-VNTR type and RFLPs type digestion with restriction enzyme PvuII.
M: 100 bp ladder marker, 13・9・12: VNTR type, I・II・III: RFLPs type.

めとする白血球等が乳中へ浸潤すること起因する (BRADLEY, 2002) 場合が多い。乳腺内感染の過程で、乳中にある細菌の増殖阻止物質の一つである MUC1 ムチンが細菌増殖を抑える機能の一部を担っていることは推定できる。そこで、乳中 MUC1 ムチンの主たる機能である微生物に対する感染防御能と MUC1-VNTR 多型との間に関連性があるかどうかについて、北農研牛群で確認された MUC1-VNTR の 3 つの型 (VNTR9, VNTR12, VNTR13) を SCC と LS を間接的な機能性指標として用いて比較検討を行った。

その結果、各 MUC1-VNTR 型の平均 SCC は VNTR9 が最も低く $84.77 (\times 10^3/\text{ml})$ 、VNTR12 が最も高く 144.94 で大きな差が認められた。VNTR13 は 103.78 であり、各型間の分散分析の結果においても有意な差 ($p < 0.01$) が確認された。平均 LS は VNTR9 が 1.53 、VNTR12 が 2.02 、VNTR13 が 1.59 であり、VNTR12 と VNTR9, VNTR13 の間に有意な差 ($p < 0.01$) が認められた (Table 3)。

また、MUC1-VNTR の 3 型毎の SCC 分布を見てみると、 $100 (\times 10^3/\text{ml})$ 以下は VNTR12 の割合 (73.88%) が VNTR9 (85.5%)、VNTR13 (81.96%) と比較して有意 ($p < 0.01$) に少なく (Figure 3A)、 $100 (\times 10^3/\text{ml})$ を越える分布では逆に VNTR12 が他の型に比べて高い割合を示した (Figure 3B: Figure 3A の $100 (\times 10^3/\text{ml})$ を越える SCC 分布を拡大して示す)。この差が上記の平均 SCC と平均 LS の差として現れたものと考えられた。

解析に使用した SCC データは平成元年 1 月から平

成 14 年 6 月までに測定されたものである。産次別の供試個体数割合は、VNTR12 で 3 産次の割合が 34.29 と VNTR9 (17.39)、VNTR13 (18.18) より高い割合であったが、いずれも 2 産次から 5 産次までで供試個体数の 80% 以上を占めていた (VNTR9: 80.43, VNTR12: 82.87, VNTR13: 81.82)。3 産次以外の産次における供試個体数割合の VNTR 型間差は 0.69 から 9.62 であった。産次別の平均 SCC データ数には VNTR 型間に差はなく、産次を重ねるに従い SCC データ数も増加した。総データ数は 11,748 (合計 103 個体)、平均データ数は 1 個体当たり 114.1、{VNTR9: 113.5 (32~252), VNTR12: 114.4 (32~260), VNTR13: 114.6 (42~251)}、平均産次数は 3.91 産 {VNTR9: 3.93 (1~8), VNTR12: 3.80 (1~8), VNTR13: 4.05 (2~8)} であった。VNTR 型に基づき分類された 3 群の間には、産次別個体数割合、平成元年から平成 14 年までの各年次における個体数割合と産次別割合など供試個体群構成に大きな差異は認められなかった。

乳中 MUC1 ムチン上には O 型結合と呼ばれるグループの糖鎖が結合しており、この糖鎖分子はアミノ酸のセリン、スレオニンに特異的に結合し機能性発現に大きく関わっている (HANISCH *et al.*, 1996)。本研究で決定した MUC1 遺伝子のエクソン 1 から 6 までのアミノ酸配列 (Table 4) のどの領域にこの糖鎖が結合するかを、NetOGlyc 2.0 Prediction Server (The Center for Biological Sequence Analysis, <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) を用いて解析を行った。その結果、エクソン 2 の VNTR 配列が主たる糖化部位であることが強く推定された (山本, 未発表)。

MUC1 ムチンを構成する糖は MUC1 ムチン全重量の 50~80% を占め、数個から 20 個程度の糖鎖分子として VNTR 配列の特異的アミノ酸部分に結合し、3 次構造の保持に寄与していると考えられている。MUC1-VNTR の繰返し回数が異なることにより乳中 MUC1 ムチンの分子量も比例して異なってくる。それとともに、結合する糖鎖の量も相対的に変化することが考えられる。さらには VNTR の 1 繰返し単位が 20 アミノ酸と大きいこと、翻訳領域に存在する VNTR 配列については、mRNA の安定性や翻訳効率に影響を及ぼす可能性があることなどを総合的に考えると、MUC1-VNTR 多型の同定は乳中 MUC1 ムチンの機能性を解明するためにも極めて重要であると言える。

MUC1 遺伝子の多型は一次免疫能のみならず、乳脂肪率、乳タンパク質率や乳房炎感受性等との関連性についても指摘されている (HENS *et al.*, 1995)。MUC1-VNTR 配列の長さや免疫的機能性との関連を解析した報告は極めて少ないが、ヒトにおいて過敏性皮膚炎の炎症の程度が MUC1 遺伝子の長さ、つまり VNTR

Table 3 Mean of SCC and LS in milk each of the MUC1-VNTR types.

VNTR Type	No. of cows	No. of Data	SCC Mean ^{a)}	LS Mean
9	46	5222	84.77 ^{a)}	1.53 ^{a)}
12	35	4004	144.94 ^{b)}	2.02 ^{b)}
13	22	2522	103.78 ^{c)}	1.59 ^{a)}

*: $\times 10^3/\text{ml}$, Mean values with different superscript letters were significantly different ($p < 0.01$).

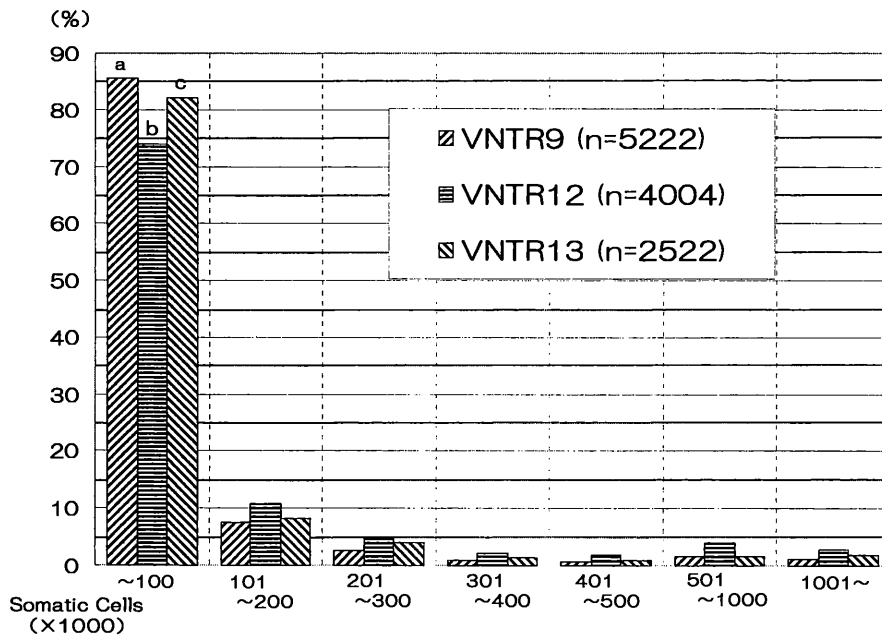


Figure 3A The distribution of somatic cell count (SCC) in milk of VNTR9, VNTR12 and VNTR13.
a), b), c): Mean values with different superscript letters were significantly different ($p < 0.01$).

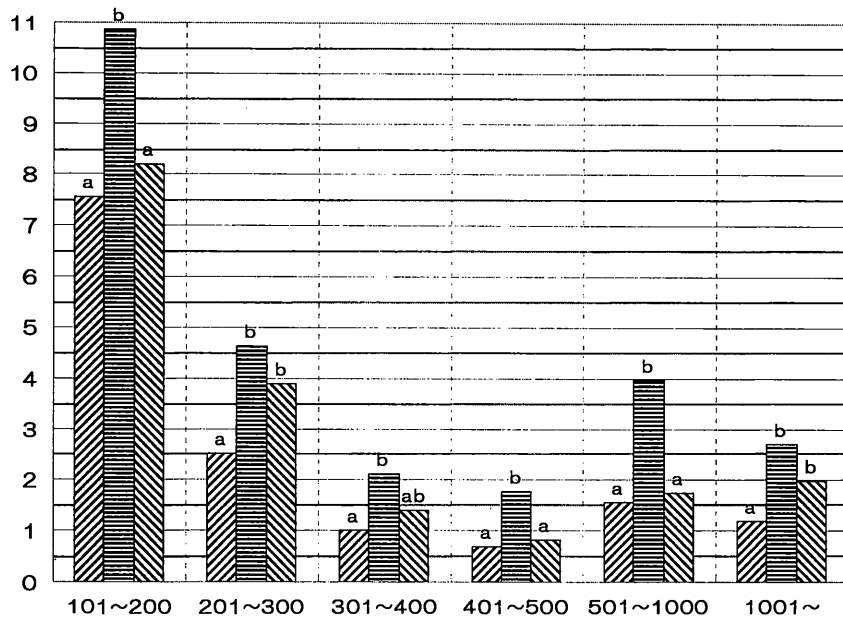


Figure 3B The distribution of somatic cell count (SCC) in milk of VNTR9, VNTR12 and VNTR13.
a), b), ab): Mean values with different superscript letters were significantly different ($p < 0.01$).

配列の繰返し回数と関連性があるとの報告がある (ANDO *et al.*, 1998).

本研究における MUC1-VNTR と乳中 MUC1 ムチン機能との関連性についての解析は、北農研牛群で確認された3つの VNTR 型について、SCC から間接的に機能性推定を行ったものであり直接的に評価したものではない。MUC1-VNTR 型間の平均 SCC の比較で認められた有意な差が、乳中 MUC1 ムチンのタンパク質の大きさに起因する機能の差なのか、あるいは3次構造が異なるために現れた機能の差なのかは不明であ

る。また、生体の免疫的防御能に関わる様々な因子によっても SCC は変動する。しかしながら、MUC1-VNTR 配列が機能性発現に極めて重要な領域であることを考慮すると、本結果は乳中 MUC1 ムチンの機能と MUC1-VNTR 多型との間に関連性があることを示唆するものであると考える。今後、ウシにおいて MUC1-VNTR 多型がどの程度あるのか、またウシ品種間での差異の有無等を明らかにするとともに、SCC を用いた乳中 MUC1 ムチン機能評価法の有効性について継続して検討を行う必要がある。

Table 4 Amino acid sequences of MUC1 gene exon 1 to 6.

Exon No.	Amino acid sequence
1	MTPDIQAPFL SLLLLFPVLT
2	VANVPTLTTS DSINPRRTTP VSTTQSSPTS SPTKETSWST TTLLTASSP APSPAASPGH DGASTPTSSP APSPAASPGH NGTSSPTGSP AP <i>SPAASPGHDG ASTPTSSPAP (VNTR region)</i> SDTSSMTTRS MSSSMVTSAH KGTSSPATMT PVSKGTPSSV PSSETAPTAA SHIHRTAASS PSIALSTSSN PKTSQQLSVR VSLYFLSFRI TNLQFNSSLE NPQTSYYQEL QRSIWGL
3	ILQIYKQGEF LGLSEIKFR
4	PGSVVVELTL AFREGTTAEW VKAQFSQLEA HAASYNLTIS GVSGE
5	VYSAPFGSSA QAGSGVPGWG IALLVLVCVL VALAHYLIA L
6	VVCQCGRKKC EQLDVFTLD TYHPMSPYEE

文 献

- AMILLS, M., O. FRANCINO, M. JANSÁ and A. SANCHEZ (1997) Isolation of genomic DNA from milk samples by using Chelex resin. *J. Dairy Res.*, **64**: 231-238.
- ANDO, I., A. KUKITA, G. SOMA and H. HINO (1998) A large number of tandem repeats in the polymorphic epithelial mucin gene is associated with severe acne. *J. Dermatol.*, **25**(3): 150-152.
- BRADLEY, A. (2002) Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.*, **164**(2): 116.
- EBINA, T., M. OHTA, Y. KANAMARU, Y. YAMAMOTO-OSUMI and K. BAKA (1992) Passive immunizations of suckling mice and infants with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *J. Med. Virol.*, **38**(2): 117-123.
- FUKUDA, M. (2002) Roles of mucin-type O-glycans in cell adhesion. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1573**(3): 394-405.
- GENDLER, S. J., J. M. BURCHELL, T. DUHIG, D. LAMPORT, R. WHITE, M. PARKER and J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU (1987) Cloning of partial cDNA encoding differentiation and tumor-associated mucin glycoproteins expressed by human mammary epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**(17): 6060-6064.
- GENDLER, S. J., J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU, T. DUHIG, J. ROTHBARD and J. BURCHELL (1988) A highly immunogenic region of a human polymorphic epithelial mucin expressed by carcinomas is made up of tandem repeats. *J. Biol. Chem.*, **263**(26): 12820-12823.
- GENDLER, S. J., C. A. LANCASTER, J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU, T. DUHIG, N. PEAT, J. BURCHELL, L. PEMBERTON, E. N. LALANI and D. WILSON (1990) Molecular cloning and expression of human tumor-associated polymorphic epithelial mucin. *J. Biol. Chem.*, **265**(25): 15286-15293.
- GENDLER, S. J. (2001) MUC1, the renaissance molecule. *Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **6**(3): 339-353.
- HANISCH, F. G., T. R. STADIE, F. DEUTZMANN and J. PETER-KATALINIC (1996) MUC1 glycoforms in breast cancer cell line T47D as a model for carcinoma-associated alterations of O-glycosylation. *Eur. J. Biochem.*, **236**(1): 318-327.
- HENS, J. R., G. W. ROGERS, M. L. HUOTT and S. PATTON (1995) Associations of the epithelial mucin, PAS-1, with yield, health, and reproductive traits in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **78**(11): 2473-2480.
- HEWETSON, A. and B. S. CHILTON (1997) Molecular cloning and hormone-dependent expression of rabbit Muc1 in the cervix and uterus. *Biol. Reprod.*, **57**(2): 468-477.
- HUOTT, M. L., R. V. JOSEPHSON, J. R. HENS, G. W. ROGERS and S. PATTON (1995) Polymorphic forms of the epithelial mucin, PAS-I (MUC1), in milk of Holstein cows (*Bos taurus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **111B**(4): 559-565.
- LANCASTER, C. A., N. PEAT, T. DUHIG, D. WILSON, J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU and S. J. GENDLER (1990) Structure and expression of the human polymorphic epithelial mucin gene: an expressed VNTR unit. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**(3): 1019-1029.
- MATHER, I. H. (2000) A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *J. Dairy Sci.*, **83**(2): 203-247.
- NEWMAN, J. (1995) How breast milk protects newborn. *Scientific Am.*, **Dec**: 58-61.
- PALLESEN, L. T., M. H. ANDERSEN, R. L. NIELSEN, L. BERGLUND, T. E. PETERSEN, L. K. RASMUSSEN and J. T. RASMUSSEN (2001) Purification of MUC1 from bovine milk-fat globules and characterization of a corresponding full-length cDNA clone. *J. Dairy Sci.*, **84**(12): 2591-2598.

- PATTON, S. and L. D. MULLER (1992) Genetic polymorphism of the epithelial mucin, PAS-I, in milk samples from the major dairy breeds. *J. Dairy Sci.*, **75**(3): 863-867.
- PETERSON, J. A., C. D. SCALLAN, R. L. CERIANI and M. HAMOSH (2001) Structural and functional aspects of three major glycoproteins of the human milk fat globule membrane. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **501**: 179-187.
- SPICER, A. P., G. PARRY, S. PATTON and S. J. GENDLER (1991) Molecular cloning and analysis of the mouse homologue of the tumor-associated mucin, MUC1, reveals conservation of potential O-glycosylation sites, transmembrane, and cytoplasmic domains and a loss of minisatellite-like polymorphism. *J. Biol. Chem.*, **266**(23): 15099-15109.
- SPICER, A. P., T. DUHIG, B. S. CHILTON and S. J. GENDLER (1995) Analysis of mammalian MUC1 genes reveals potential functionally important domains. *Mamm. Genome*, **6**(12): 885-888.
- YAMAMOTO, N. (2002A) *Bos taurus* MUC1/VNTR1 gene for mucin, partial cds. Accession number AB084273, DDBJ/EMBL/GenBank.
- YAMAMOTO, N. (2002B) *Bos taurus* MUC1/VNTR2 gene for mucin, partial cds. Accession number AB084274, DDBJ/EMBL/GenBank.
- YAMAMOTO, N. (2002C) *Bos taurus* MUC1/VNTR3 gene for mucin, partial cds. Accession number AB084275, DDBJ/EMBL/GenBank.
- YOLKEN, R. H., J. A. PETERSON, S. L. VONDERFECHT, E. T. FOUTS, K. MIDTHUN and D. S. NEWBURG (1992) Human milk mucin inhibits rotavirus replication and prevents experimental gastroenteritis. *J. Clin. Invest.*, **90**(5): 1984-1991.

原 著

醃酵食肉製品に用いる有用細菌の食塩による 生育阻害に対するアルギニンの緩和効果

関川 三男・河村 多美・藤井はるか・島田謙一郎・福島 道広・三上 正幸
帯広畜産大学, 帯広市 080-8555

Effect of arginine on growth of lactic acid bacteria for fermented sausage under high concentration of salt

M. SEKIKAWA, T. KAWAMURA, H. FUJII, K. SHIMADA, M. FUKUSHIMA and M. MIKAMI

Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine Laboratory of Meat Science
Obihiro, Hokkaido, 080-8555, Japan

キーワード: 醃酵食肉製品, 乳酸菌, 食塩, アルギニン

Key words: fermented meat, lactic acid bacteria, salt, arginine

Abstract

In this study, the effect of arginine (Arg) of the NaCl induced growth inhibition was examined for *Sta. carnosus* and *P. acidilactici* which isolated from the commercial starter culture of fermented sausage. When Arg and/or NaCl were added to MRS broth and cultured with shaking, the differences were not recorded in the broth pH, the nitrate reduction activity, and the protein degradation activity. However, the viable count of both strains had decreased by adding NaCl. The addition of Arg has increased the number of recovered cell and it was remarkable in *Sta. carnosus*. Arg added broth was metabolized by both strain, the content of Arg in broth was decreased, especially it was disappeared in cultured broth of *Sta. carnosus*. SEM photographs showed an enlarged and cohesive morphology of both spheroidal strains by adding NaCl to the broth. Addition of Arg, this tendency was decreased in *P. acidilactici*, whereas a small wrinkle on the surface of *Sta. carnosus*. It was thought that, the two bacterial strains used in this study, the growth inhibitory effect caused by high concentration of NaCl was partly recovered by the addition of Arg to the broth.

要 旨

本研究では、醃酵肉製品用のスターターとして用いられている *Staphylococcus carnosus* および *Pediococcus acidilactici* を供試菌として高濃度の食塩による生育阻害に対するアルギニンの効果を検討した。MRS 液体培地に食塩あるいはアルギニンを添加して振盪培養を行うと、培養後の培地 pH、硝酸塩還元活性およびタンパク質分解活性には両供試菌ともに食塩あるいはアルギニンの有無による差異が認められなかった。生菌数は食塩の添加によって減少したが、アルギニンを添加すると食塩による減少が軽減され、これは *Sta. carnosus* で著しかった。両供試菌ともに添加したアル

ギニンは培地中で減少し、特に、*Sta. carnosus* では枯渇した。一方、食塩あるいはアルギニンの添加は乾燥菌体のアミノ酸組成に大きな影響を与えなかった。走査型電子顕微鏡像から、両供試菌ともに食塩の添加は菌体の膨化、凝集を促し、アルギニンの添加によって *P. acidilactici* では、この傾向が低減したが、*Sta. carnosus* では菌体表面に皺様の構造が観察された。以上の結果から、今回用いた供試菌において、添加したアルギニンは資化され食塩による生育阻害に対して緩和的に作用するものと考えられた。

緒 言

醃酵食肉製品（非加熱食肉製品）は、独特の風味を醸成させるために加熱処理を行わない。これらの製造に当たっては、高い食塩濃度を維持し、さらに温度・

湿度を制御して腐敗性あるいは病原性微生物の増殖を阻止する必要がある。さらに高品質な製品を安定的に供給するために、原料肉に有用微生物をスターターとして添加する方法が一般化している(三浦, 1987)。しかし、原料肉に加えられた高濃度の食塩等によって乳酸菌などの有用細菌の代謝が阻害され、スターターとして期待される効果が十分に得られないこともあり、使用する微生物の組み合わせや菌種には一般化した方法が知られていない。

そこで、今回、微生物に対して浸透圧の緩和作用や水分活性の調節作用が期待されるアミノ酸等(山本, 1996)、特にアルギニンに注目して、醗酵肉製品の乾燥工程で生じる高食塩濃度環境下において、スターターとして加えられた微生物の生育に対するアミノ酸等の影響を検討した。

研究方法

1) 供試菌株

本実験に用いた菌株は、市販の醗酵ソーセージおよび醗酵ソーセージ用スターターから本研究室において単離・保存されている *Staphylococcus carnosus* M72, *Staphylococcus xylosus* 2M86, *Pediococcus acidilactici* P120, *Pediococcus pentosaceus* P120 および *Lactobacillus sake* L110 の5菌株である。

これらの菌株は MRS 寒天斜面培地 (OXOID) に穿刺し、37℃で24時間培養後、5℃の冷蔵庫に保存し、約20日毎に植え継ぎを行ったものである。前培養は、供試菌を10 mLのMRS液体培地に、1白金線釣菌、接種後、よく攪拌してから、37℃で18時間行った。なお、振盪培養を行うに当たっては、濁度(660 nm, Ubest-50 日本分光)を用いて菌数を推定した。

2) 細菌の生育に対する食塩の影響

食塩濃度(5, 8, 10, 13, 15%)を変えた MRS 液体培地をL字型試験管に、それぞれ14 mLずつ分注し、あらかじめ前培養した供試菌を1 mL接種し、37℃で約5日間振盪培養(20 rpm, バイオフォトレコーダーTN-112D, 東洋)して生育曲線を得た。食塩による生育阻害は、この生育曲線の形態から判断した。

3) 供試菌の食塩による生育阻害を緩和するアミノ酸関連化合物の影響

供試菌および食塩濃度としては、*Sta. carnosus* は13%, *P. acidilactici* は8%とした。MRS液体培地に、アルギニン、グルタミン、アラニン、ベタイン、グルタミン酸をそれぞれ0.5% (w/v) 加え、これをL字型試験管に14 mLずつ分注し、前培養した供試菌を1 mLずつ接種し、37℃で5日間振盪培養を行った。

4) pH および生菌数の測定

振盪培養後の培養液を遠心分離し、上澄の pH (pH Boy-P2) を測定した。生菌数の測定は、*Sta. carnosus* では標準寒天培地(栄研)を、*P. acidilactici* は MRS 寒天培地を用い平板混釈培養法により37℃48時間培養しコロニー数を数えた。

5) プロテアーゼ活性および硝酸塩還元活性

食塩を終濃度5%となるように添加した MRS 寒天培地に、その1/3容量の15%スキムミルク水溶液を加え平板培地を作製し、供試菌を1白金線、釣菌し接種した。これを37℃で24時間あるいは20℃で4日間培養し、形成されたクリアゾーンの大きさからプロテアーゼ活性の有無を判断した。硝酸塩還元活性は、MRS液体培地に硝酸カリウム0.1% (w/v) を混合し、培地中の亜硝酸根を公定法に従って測定した。

6) 培養液中の遊離アミノ酸および乾燥菌体のアミノ酸組成

MRS液体培地を対照として、これに0.5%アルギニンおよび食塩(*Sta. carnosus*: 13%, *P. acidilactici*: 8%)を加え、これに前培養した供試菌1 mLを接種し、37℃で5日間振盪培養した。培養後、遠心分離(4000 rpm, 15℃, 15分, Himac CR 21 HITACHI)し、菌体と培養上澄を得た。培養上澄は、濾過後、ロ液に等量の8%TCA溶液を加え、この遠心上澄をマイジョリディスク(WP-25, TOSO)に通し、この4%TCA可溶性画分を培養液の遊離アミノ酸分析用の試料とした。遠心分離で集菌した菌体は、生理的食塩水で2回遠心洗浄した後、さらに50, 75, 100%のアセトン(アセトン, 蒸留水, v/v)で遠心洗浄した。この洗脱に少量の100%アセトンを加えドラフト内で乾燥させた。この乾燥菌体の一部を恒温器(100℃, 24時間)で、さらに乾燥後、約1 mgを精秤後、6 N塩酸を約2 mL加えて溶解させ、窒素を封入し、110±1℃(ブロックヒーター)で24時間、加水分解した。試験管を開封後、エバポレーター(55℃)を用いて塩酸を完全に除去し、0.2 N塩酸を加え0.5 mLとした。これらの試料50 μlをアミノ酸分析装置(Model 835, 日立)に供し、得られた結果はアミノ酸重量で表した。

7) 走査型電気顕微鏡による菌体の形態観察

供試菌の乾燥菌体は、アミノ酸分析用のものを用いた。これを少量のアセトンに懸濁し、イオンクリーニングを施したスライドガラス上に滴下し、37℃で2時間放置した後、金蒸着(イオンコーターIB-3, EIKO)を行い試料とした。走査型電子顕微鏡(日本電子製JSM-6301F型)観察は、加速電圧15 kV, 倍率20,000倍で行った。

結 果

1) 供試菌の選択および食塩濃度の決定

今回用いた供試菌を種々の食塩濃度の MRS 液体培地で振盪培養を行い、得られた生育曲線から食塩による生育阻害を判断した。その結果、*L. sake* は前培養においては濁度（吸光度）が 1.2 まで上昇したが、食塩存在下における振盪培養では濁度上昇が認められなかった。*Sta. xylosus* は、前培養においても濁度が 0.2 までしか上昇しなかった。また、*P. pentosaceus* は 5 % 食塩濃度で振盪培養を行うと、濁度上昇が 0.5 程度であった。すなわち、この 3 菌株は食塩による生育阻害が著しいために、今回の実験では用いないこととした。そこで、5 % 食塩存在下の振盪培養で濁度上昇が約 1.0 以上となった *Sta. carnosus* および *P. acidilactici* を本実験の供試菌とした。

これら供試菌の耐塩性は、MRS 液体培地に食塩を 0, 5, 8, 10, 13 および 15% 添加し、典型的な S 字状の生育曲線が得られる限界の濃度とした。その結果、*Sta. carnosus* では 13%, *P. acidilactici* では 8 % (図 1) であった。

2) 供試菌の食塩による生育阻害を緩和するアミノ酸等の検索

供試菌の高濃度食塩による生育阻害を緩和するアミノ酸等を検索するためにアラニン、アルギニン、グルタミン、グルタミン酸、リジンおよびベタインに注目し、それぞれ別個に培地に 0.5% (w/v) を添加して、振盪培養を行った。*Sta. carnosus* において食塩存在下 (13%) でベタインおよびグルタミン酸の添加は、定常期の濁度を低下させたので阻害的に作用すると判断した。また、アルギニンを除く他のアミノ酸の添加では、定常期の濁度が無添加の場合とほぼ同等となったが、誘導期が延長された。アルギニンの添加は、定常期の濁度が食塩のみ添加の場合に対し約 19% 回復し、また誘導期の長さにも影響を与えなかった。このときの典型的な生育曲線を図 2 に示した。*P. acidilactici* においては食塩存在下 (8 %) でリジンあるいはベタインを

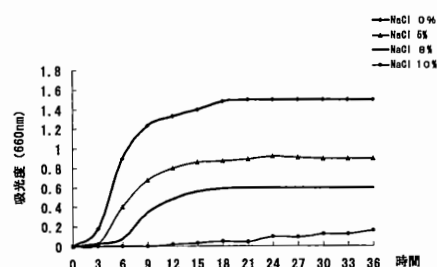


図 1 *P. acidilactici* の生育に対する食塩濃度の影響
MRS 液体培地に各濃度の食塩を添加し、*P. acidilactici* を振盪培養 (37℃) を行った時の典型的生育曲線

添加すると食塩のみの場合に比べて濁度が低下した。供試した他のアミノ酸の添加では、食塩のみの場合に比べ定常期の濁度が同等あるいはそれ以上になった。特に、アルギニンを添加すると、定常期の濁度を約 16% 回復させた。そこで、本実験では、アミノ酸関連物質の中で特に効果が高いと考えられたアルギニンに注目して以後の実験を行った。

3) 培養後の pH および生菌数

振盪培養後の培地の pH は、両供試菌ともに食塩およびアルギニン添加の有無にかかわらず、*Sta. carnosus* では 4.4 から 4.6, *P. acidilactici* では 3.9 から 4.1 と、大きな差異はなかった。

生菌数では *Sta. carnosus* において、無添加の 8.7 (log cfu/mL) から 13% 食塩添加で 6.8 に減少したものが、アルギニンの添加によって 7.4 まで回復した。一方、*P. acidilactici* では無添加の 7.7 (log cfu/mL) から 8 % 食塩添加で 5.7 に減少し、アルギニンの添加によって僅かに (5.9) 回復した。

4) タンパク質分解および硝酸還元活性に対する食塩およびアルギニンの影響

食塩存在下で、プロテアーゼ活性に及ぼすアルギニンの影響を検討するために、培地に混入したカゼインがプロテアーゼによって分解されて形成されるクリアゾーンの大きさを肉眼的に比較した。なお、今回は供試菌の生育を良くするために食塩濃度を 5 % とした。両供試菌ともに、食塩の添加でコロニーが小さくなり、これに伴ってクリアゾーンの大きさも小さくなる傾向が認められた。なお、アルギニンの添加によってクリアゾーンが大きくなる傾向はなかった。

供試菌の硝酸塩還元活性を経時的に亜硝酸根量を測定することで調査したが、今回用いた両菌株は、ともに最大で亜硝酸根が 1 ppm 以下であり、食塩あるいはアルギニン添加による硝酸塩の還元活性について分析することはできなかった。

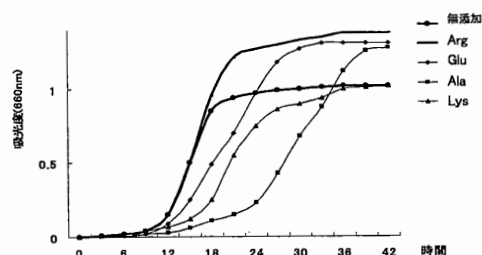


図 2 *Sta. carnosus* の生育に対するアミノ酸関連物質の影響

MRS 液体培地に食塩 13% および各アミノ酸関連物質 0.5% を添加し、前培養した *Sta. carnosus* を 1 ml 接種し、振盪培養 (37℃) を行った時の典型的生育曲線

5) アミノ酸分析

食塩あるいはアルギニン添加の有無による供試菌の培養遠心上澄の遊離アミノ酸含量を分析し、その結果を表1に示した。

Sta. carnosus において、培養後のアルギニンの減少量は、無添加（培地のみ）で5.2 mg、食塩添加で5.9 mg、食塩およびアルギニン添加で15.9 mgであった。同様に *P. acidilactici* においては、アルギニンの減少量は、無添加で5.8 mg、食塩添加で5.7 mg、食塩およびアルギニン添加で、60.2 mgであった。また、両供試菌においてアルギニンの減少に伴い、オルニチンとグルタミンが増加する傾向が認められた。

両供試菌のアセトン乾燥菌体を加水分解しアミノ酸分析を行った結果を表2に示した。両供試菌ともに菌体へのアルギニンの蓄積は認められなかった。*Sta. carnosus* では食塩添加で菌体の総アミノ酸量（26.4 mg/乾燥菌体 100 g）が無添加（23.6 mg）に比べて増加し、さらにアルギニンを添加すると27.4 mgとなった。一方、*P. acidilactici* では、これとは逆に無添加で21.6 mgであったものが、食塩およびアルギニンを添加すると約15 mgと、総量が減少した。

6) 走査型電子顕微鏡観察

供試菌の形態に対する食塩およびアルギニンの影響を走査型電子顕微鏡で観察し、その結果を図3に示した。両供試菌ともに食塩の添加によって菌体が膨化する様子が観察された。さらに *Sta. carnosus* では、莢膜様の構造が認められ個々の菌体は凝集する傾向が認められた。アルギニンの添加によって *Sta. carnosus* では、細胞表面の莢膜様の構造に細かい皺が観察されたが、*P. acidilactici* では、この膜様構造が見られず無添加と同様に滑沢な表面が観察された。

考 察

醗酵ソーセージ用スターターとして製品化されている市販品は、乳酸菌を中心に数種類の細菌を組み合わせているものが多い。各細菌は、固有の特性を有し、混合して使用することで相乗的な効果が期待されている。これらの中で、本実験に用いた *Sta. carnosus* と *P. acidilactici* は、今回、示したように比較的に耐塩性が高く、生育も安定している。このためソーセージ内で乾燥後期まで優勢な細菌叢を保つものと考えられる。この両菌の、食塩耐性を調べると、*Sta. carnosus* では13%、*P. acidilactici* では8%まで典型的なシグモイド状の生育曲線を示した。一般に、スターターとして細菌に望まれる耐塩性は6%であるが、乾塩法などでは局所的に食塩濃度が高くなる可能性も容易に推定され、今回、行った高濃度の食塩と細菌の生育との関係を検討することも重要である。そこで、高濃度の食塩環境下にアルギニンを含むいくつかのアミノ酸関連物

質を加えて供試菌を培養しその効果を検討すると、アミノ酸関連物質は *Sta. carnosus* において誘導期を延長することを除き、両供試菌ともに最終的には定常期の濁度を上昇させ、特にアルギニンでは誘導期を延長することなく定常期の濁度も上昇させた。すなわち、今回用いたアミノ酸は高濃度の食塩存在下、阻害された生育を回復する作用を有し、特にアルギニンにおいて著しいことが明らかとなった。

乳酸菌は、乳酸醗酵に伴う乳酸の蓄積で環境 pH を低下させ、他の有害微生物などが生育し難い環境を作る。しかし、乳酸菌自身も、この pH の低下により生育が阻害される (SMITH and PALMBO, 1983; PEREZ *et al.*, 1992)。アルギニンは塩基性アミノ酸であり、アンモニアなどの代謝産物を含め環境 pH を上昇させる可能性が考えられるが、今回用いた供試菌においては食塩あるいはアルギニンの添加の有無に関わらずに培養後の pH を変化させることはなく、アルギニンの食塩による生育阻害の緩和効果は、環境（培地）pH の低下防止作用によるものではないことが推定された。これらの結果は液体培地の濁度によって供試菌の生育を推定したが、この上昇には死菌体や代謝産物の凝集・蓄積などの関与も考えられるので、培養後の生菌数の測定を行った。食塩のみを添加した培地における生菌数と比較して、アルギニン添加では、*Sta. carnosus* の生菌数が約4倍になり、*P. acidilactici* でも生菌数の増加が確認された。

供試菌におけるアルギニンの至適濃度を検討すると、アルギニンを0.5%添加したときに最も生育が良く、これ以上の添加による効果はなく、むしろ濁度を低下させた。そこで本実験ではアルギニンの添加量を0.5%とした。アミノ酸においてもいくつかのものは細菌の生育を阻害する。グリシンは、グラム陰性菌などに用量依存的に生育を阻害し、その作用はペプチドグリカンのアラニンと置換し構造を脆弱化させることにある (三浦・関川, 1979)。アルギニンにおいても添加量の増大に伴い浸透圧の上昇や代謝に為害的に作用し、細菌の生育を阻害するものと推定される。

醗酵ソーセージや食肉の呈味性向上に寄与するペプチドや遊離アミノ酸は (三上ら 1998; HIERRO *et al.*, 1999)、主に肉内在性の酸性プロテアーゼによって生成され (SEKIKAWA *et al.*, 1998)、乳酸菌はソーセージの pH を低下させることでタンパク質分解を促進する。また、一般に乳酸菌は細胞外にプロテアーゼを放出しないと考えられているが (MOLTEL *et al.*, 1992)、乳酸菌はアミノ酸の生合成能がないために窒素源としてタンパク質を効率的に利用する必要がある。このためのタンパク質分解系が菌体表面に存在し、このプロテアーゼやペプチダーゼが菌体周辺のタンパク質をペプチド、アミノ酸に分解し、これを体内に取り込んでいると考えられている (THOMAS and PRICHARD,

表 1 培養上清の遊離アミノ酸含量

	<i>Sta. carnosus</i>			<i>P. acidilactici</i>		
	MRS	食塩	食塩+Arg	MRS	食塩	食塩+Arg
Hyp	0.9	0.7	0.7	3.5	2.3	2.0
Asp	2.5	1.7	2.0	12.5	6.3	6.0
Thr	10.5	7.1	7.7	9.8	11.8	13.6
Ser	5.9	1.0	1.7	12.7	9.0	7.2
Glu	19.7	17.7	23.3	18.5	24.1	29.0
Pro	1.7	1.3	1.5	2.7	2.1	1.9
Gly	1.9	0.0	0.0	5.4	5.3	5.2
Ala	9.8	8.7	9.5	16.0	14.2	14.2
Cys	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3
Val	7.7	6.7	7.7	10.7	9.3	9.5
Met	2.3	1.9	2.6	0.7	1.0	1.5
Ile	3.8	2.9	3.7	6.8	5.4	5.7
Leu	11.3	8.8	11.8	18.3	14.8	15.5
Tyr	4.4	4.5	3.9	4.6	4.7	4.2
Phe	5.4	4.7	2.8	2.9	4.3	4.0
Orn	5.3	9.4	19.4	4.8	11.1	7.4
Lys	12.6	12.2	15.0	17.5	17.5	17.9
NH ₃	6.5	7.0	8.1	7.4	7.9	13.0
His	1.2	1.1	1.6	2.0	1.6	1.6
Arg	0.0	0.7	47.8	0.1	0.1	0.2
合 計	113.6	98.4	171.2	157.5	153.1	160.0

(mg/100ml)

各培地(MRS：MRS 液体培地，食塩：MRS に食塩添加，食塩+Arg：MRS に食塩とアルギニンを添加)を用いて振盪培養後の培養上清中の遊離アミノ酸含量

表 2 各培地で培養した菌体のアミノ酸組成

	<i>Sta. carnosus</i>			<i>P. acidilactici</i>		
	MRS	食塩	食塩+Arg	MRS	食塩	食塩+Arg
Hyp	0.7	0.6	0.6	1.2	0.8	0.7
Asp	2.4	2.0	1.9	1.6	1.2	1.2
Thr	1.0	1.0	1.1	0.9	0.7	0.7
Ser	0.1	0.1	0.1	0.3	0.2	0.2
Glu	4.1	4.7	4.9	2.8	2.2	2.1
Pro	0.5	0.4	0.4	0.6	0.5	0.4
Gly	3.0	4.9	5.2	2.4	1.0	1.0
Ala	2.5	3.7	3.7	0.0	0.0	0.0
Cys	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Val	1.2	0.9	0.9	1.2	1.0	1.0
Met	0.4	0.2	0.2	0.5	0.0	0.1
Ile	1.4	1.7	1.8	2.0	1.4	1.4
Leu	1.0	1.2	1.2	1.6	1.3	1.3
Tyr	0.6	0.4	0.4	0.5	0.2	0.4
Phe	0.1	0.1	0.2	0.8	0.7	0.7
Lys	2.6	3.0	3.1	3.1	2.0	2.0
NH ₃	0.4	0.5	0.5	0.3	0.4	0.4
His	0.4	0.3	0.3	0.6	0.6	0.5
Arg	0.9	0.7	0.7	1.0	0.8	0.8
合 計	23.6	26.4	27.4	21.6	15.2	15.1

各培地(MRS：MRS 液体培地，食塩：MRS に食塩添加，食塩+Arg：MRS に食塩とアルギニンを添加)で振盪培養した菌体(アセトン乾燥)の加水分解物のアミノ酸組成 (mg/100mg)

1974; 中西, 1983; FLORES *et al.*, 1997). 今回, 用いた *Sta. carnosus* は *Micrococcus* 属の改良種で, タンパク質の分解力が強いとされているが(三浦, 1987), 高濃度の食塩とタンパク分解活性との関係は余り検討されていない。そこで, 菌体由来のプロテアーゼ活性を, カゼインを基質として加えた寒天平板培地上に形成されるクリアゾーンの大きさから定性的に分析した。その結果, 両供試菌ともに無添加の培地に明らかなクリアゾーンが観察されプロテアーゼの存在が確認された。食塩を添加したものでは, 細菌のコロニーが無添加のものに比べて小さく, これに対応しクリアゾーンも小さかった。また, アルギニンを添加してもクリアゾーンの大きさには, ほとんど変化がなかった。すなわち, アルギニンの添加は, 供試菌のプロテアーゼ活性に大きな影響を与えなかったものと考えられる。

培地に添加したアルギニンの消長を検討するために培養上澄の遊離アミノ酸含量を分析した。両供試菌ともに, MRS 液体培地中のアルギニンは減少し, *Sta. carnosus* においては食塩添加によってほぼ枯渇した。食塩およびアルギニンを添加すると, 無添加に比べて約3倍のアルギニンが消費された。なお, アルギニンの減少に伴いオルニチンが蓄積する傾向が認められた。*P. acidilactici* では, 食塩あるいはアルギニン添加の有無にかかわらずに培地中のアルギニンは, ほとんど枯渇した。しかし, *Sta. carnosus* とは異なり, アルギニンの減少に伴いオルニチンが蓄積する傾向は顕著ではなかった。オルニチンはアルギニンが脱アミノされて生じ, 多くの細菌にはアルギニンの代謝によって ATP を生成するアルギニンディミナーゼ (ADI) 系が存在する。今回の結果から, 両供試菌には ADI 系の存在が推定されるが, 最終的な代謝産物や経路には差があることが示唆された。

次に, 添加したアルギニンが菌体に蓄積されたかを確認するために, アセトン乾燥菌体を調製し, この加水分解物をアミノ酸分析に供した。両供試菌ともに食塩あるいはアルギニンの添加の有無にかかわらずに菌体を構成するアミノ酸組成には大きな違いは認められず, 添加したアルギニンは菌体に, 直接, 取り込まれ構成アミノ酸として蓄積するのではなく, 何らかの代謝を受けていることが考えられた。*Sta. carnosus* では, 特にグリシンおよびアラニンが増加しているのに対して, *P. acidilactici* ではグリシンおよびリジンが減少し, 特にアラニンは消失してしまった。また, 乾燥菌体のアミノ酸総量は, *Sta. carnosus* では, 無添加, 食塩添加, 食塩+アルギニン添加の順に多くなっているのに対して, *P. acidilactici* では反対に少なくなる傾向が認められた。この傾向は, 走査型電子顕微鏡像において *Sta. carnosus* では高食塩濃度下, 菌体が膨化・凝集し, さらにアルギニン添加により, この傾向が著しくなり表層に皺を伴う膜様構造が認められたことと

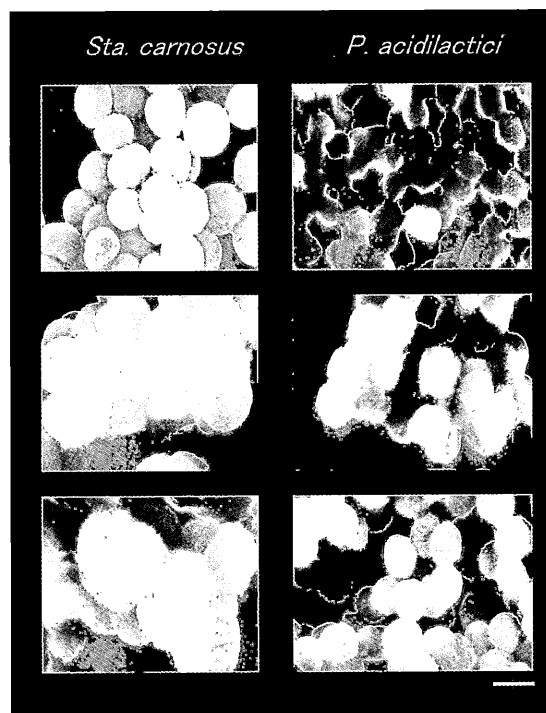


図3 供試菌の形態に及ぼす食塩およびアルギニンの影響

各培地 (上段: MRS 液体培地, 中段: MRS に食塩添加, 下段: MRS に食塩とアルギニンを添加) で振盪培養した *Sta. carnosus* (左), *P. acidilactici* (右) のアセトン乾燥菌体の走査型電子顕微鏡像。下端の白線は 1.0 μm を表す。

関連しているのかもしれない。すなわち, 食塩とアルギニン存在下で, 菌体を構成するアミノ酸量が重量当たり最も多かったことと一致し, 莢膜などの合成量が多かったものとも推察される。また, 菌体の凝集は, 莢膜などの細胞壁成分の増加により食塩などの浸透圧に対する直接的な防御反応なのかもしれない。

謝 辞

本研究の一部は, 文部科学省科学研究費 (MS # 14656097), 「21 世紀 COE プログラム」補助金 (A-1) および(財)三栄源食品化学研究振興財団研究助成金によって遂行された。ここに記して謝意を表す。また, 菌体の走査型電子顕微鏡の写真撮影にご協力を頂いた帯広畜産大学得字圭彦博士に深謝する。

参 考 文 献

- HIERRO, E., L. D. HOZ and J. A. ORDONEZ (1999) Contribution of the microbial and meat endogenous enzymes to the free amino acid and amine contents of dry fermented sausages. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1156-1161.
- FLORES, J., J. R. MARCUS, P. J. NIETO, L. NAVARRO (1997) Effect of processing condition on proteolysis and taste of dry-cured sausages,

- Lebensm Unters Forsch, **204**: 168-172.
- 三上正幸, 川島寿子, 関川三男 (1998) 細菌性スターカルチャーを添加した非加熱醗酵ソーセージの微生物学および理化学的性状について. 日本畜産学会報, **69**: 53-61.
- 三浦弘之 (1987) ミクロコッカス利用発酵ソーセージの特性. 酪農科学の研究, **36**: 323-329.
- 三浦弘之, 関川三男 (1979) グラム陰性桿菌に対するグリシンの抑菌作用. 帯大研報, **11**: 333-352.
- MONTEL M. C., R. TALON, M. CANTONNET, J. CAYROL (1992) Peptidase activities of starter cultures. Meat Science Technology, **38**: 811-813.
- 中西武雄 (1983) 牛乳・乳製品の微生物学, 地球社, 19-338, 東京
- PEREZ, S. R., H. MIURA, M. MIKAMI, M. SEKIKAWA, (1992) Action of isolated Micrococcus sp., Pediococcus sp. and Lactobacillus sp. in fermented dry sausage. Research Bulletin Obihiro University, **17**: 367-375
- SEKIKAWA M., K. SENO, M. MIKAMI (1998) Degradation of ubiquitin in beef during storage. Meat Science, **48**: 201-204
- SMITH, J. L. and S. A. PALMBO (1983) Use of starter cultures in meat. J. Food Protect., **46**: 997-1106
- THOMAS, T. D. and G. G. PRICHARD (1974) Localization of proteinase near the cell surface of Streptococcus lactis. J. Bacteriol., **118**: 329-333.
- 山本直之 (1996) 乳酸菌の科学と技術. 森地敏樹編, 111-132, 学会出版センター. 東京

原 著

ウシ脊髄における正常型細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) の局在

中村富美男・田中 誠一・小林 謙・關 巖・李 昇遠・福永 重治

北海道大学大学院農学研究科畜産資源開発学講座, 札幌市北区 060-8589

Immunohistochemical localization of cellular prion protein (PrPc) in the bovine spinal cord

Fumio NAKAMURA, Masakazu TANAKA, Ken KOBAYASHI,
Iwao SEKI, Seung-Won LEE and Shigeharu FUKUNAGA

Research Group of Animal Product Science, Graduate School of
Agriculture, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo-shi 060-8589

キーワード: ウシ, 脊髄, プリオンタンパク質, 免疫組織化学

Key words: bovine, spinal cord, cellular prion protein, immunohistochemistry

Abstract

In contrast with the interest shown in and recent accumulation on scrapie prion protein (PrPsc), little interest has been shown in the cellular prion protein (PrPc) and there is a lack of basic physiological knowledge of PrPc. In this study, we therefore investigated the immunolocalization of PrPc in the bovine spinal cord. Blood vessel of various size, cell bodies, axons and dendrites of neuronal cells in the cervical portion of spinal cord were immunostained with anti-PrPc antibody. In tissues originating from glial cells, PrPc was found in the myelin sheath of myelinated nerve fibers, ependymal cells of central canal, geratinous support of neurons, membrane limitans gliae perivascularis, membrane limitans gliae superficialis and its branches lining beneath the connective tissue support of nervous tissue. These findings suggest that PrPc is a protein that exists in various components of the central nervous system but is localized characteristically in the boundary of nervous tissue.

要 約

異常型プリオンタンパク質 (PrPsc) とは対照的に, 正常型の細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) に対する注目度は低く生理学的な基礎知識も十分には蓄積されていないので, 中枢神経系の一つとしてのウシ脊髄における PrPc の局在を免疫組織学的に調べた。ウシ頸髄においては, 様々な大きさの血管, 神経細胞の細胞体, 軸索および突起が抗 PrPc 抗体によって免疫染色された。グリア細胞に由来する組織においては, 軸索を囲んでいる髄鞘, 中心管の上皮細胞, 神経の膠質性支柱, 神経膠性血管周囲膜, 神経膠性表層限界膜と結合組織性支柱に沿って走行する神経膠性表層限界膜の分枝に PrPc は存在していた。これらの結果から,

PrPc は中枢神経系の様々な構成要素に普遍的に存在するタンパク質であるが, 神経組織の境界部における局在が特徴的なタンパク質であることが示唆された。

緒 言

プリオンタンパク質は, 元来その生理学的な機能に基づいて同定されたタンパク質ではなく, 伝達性海綿状脳症 (TSE) に深く係わる物質として発見された (PRUSINER, 1998)。従って, 異常型プリオンタンパク質 (PrPsc) に対する関心は高く, 病状に伴う免疫組織化学的な局在変化や感染機序に関する研究も多数報告されている (BURTHEM *et al.*, 2001; DEBEER *et al.*, 2001; MA and LINDQUIST, 2001; VOIGTLANDER *et al.*, 2001; GU *et al.*, 2002)。しかし, 正常型の細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) への注目度は低く生理学的な基礎知識が不足しており, 生体における役割の全容も

解明されていない (MARTINS *et al.*, 2002). 加えて, PrPc の免疫組織化学的検出方法が確立されていないために, 中枢神経系においてさえ PrPc の局在に関する矛盾した結果が報告されている (VERGHESE-NIKOLAKAKI *et al.*, 1999; LAINE *et al.*, 2001; FORD *et al.*, 2002)そこで本研究では, 凍結切片を冷メタノールで固定した後に間接蛍光抗体染色 (NAKAMURA *et al.*, 2002)を行うことにより, ウシ脊髄における PrPc の局在を検索した. また, 神経細胞の指標としてニューロフィラメント (NF) を, 神経膠細胞 (グリア細胞) の指標としてグリア線維酸性タンパク質 (GFAP) を, 結合組織の指標としてコラーゲンを抗体染色により検出し, これらの局在との比較により PrPc の局在を特徴づけ, その役割を検討した. このことは, PrPc の生理機能を解明するための畜産学的基础知見としてだけでなく, 社会的関心の高い狂牛病 (BSE) 問題に対する学術情報としての意義も大きいと考えられる.

材料および方法

供試材料

日本で BSE 発症牛が確認される以前に屠場より入手し, -80°C に保存していた約 18 ヶ月齢のホルスタイン種去勢牛 3 頭の第四頸髄付近を試料として用いた.

組織切片の調製

正中面に沿って半切した頸髄を OCT コンパウンド (Tissue Tek; SAKURA, Tokyo) に包埋後凍結した. クリオスタット (CM3000; Leica, Germany) を用いて厚さ $14\text{ }\mu\text{m}$ の凍結横断切片を作成し, -20°C に冷却した 100%メタノール内で 20 分間固定した後, リン酸緩衝塩溶液 (PBS) 中で再含水化した (NAKAMURA *et al.*, 2002).

免疫染色

固定後の切片は, ヘマトキシリン・エオシン (H・E) 染色を行うと共に, 間接蛍光抗体法により免疫染色を行った. 非特異的反応を抑制するために, 5%正常ヤギ血清 (SIGMA, USA), 3%カゼイン (Nacalai Tesque, Inc., Kyoto), 1%ウシ血清アルブミン (BSA; SIGMA), 0.05%NaN₃ を含む T-PBS (0.05% Tween-20 を含む PBS) をブロッキング溶液として用いて 37°C で 30 分間処理した切片は, 下記の濃度にブロッキング溶液で希釈した各第一抗体と 37°C で 90 分間反応させた. T-PBS で洗浄した切片は, 150 倍にブロッキング溶液で希釈した FITC 標識抗ウサギ IgG (ICN Pharmaceuticals Inc., USA) を第二抗体として 37°C で 30 分間蛍光染色した. 染色標本は, T-PBS で洗浄後, Perma Flour (Thermo Shandon, USA) で封入し, 蛍光顕微鏡 (OLYMPUS, Tokyo) で観察した. なお, 第一抗体には, ブロッキング溶液で 100 倍に

希釈した anti-bovine PrPc (NAKAMURA *et al.*, 2002), 200 倍に希釈した anti-bovine NF (P-033; InRo Biomedtec Ab, Sweden), anti-bovine GFAP (RP041; Diagnostic Bio Systems, USA), anti-bovine type III (LB-1387; LSL, Tokyo) および V collagen (LB-1597; LSL, Tokyo) ウサギ抗血清を使用した.

結 果

脊髄における結合組織の局在

ウシ頸髄横断面の HE 染色像において観察される脊髄の結合組織は, 辺縁のクモ膜, 前脊髄動脈, 軟膜, 後中隔等であって (Fig. 1A), 実質表層部の白質や内部で H 字形を呈した灰白質に存在する結合組織の確認は困難であった. しかし, 結合組織に存在する間質コラーゲンである III 型あるいは V 型コラーゲンに対する抗体染色によっては上記に加え, 軟膜外部に存在する後根の神経内膜と周膜, 軟膜から枝分れして白質に陥入した後中間中隔や後中間溝の結合組織性支柱とその分枝およびそれらに伴って陥入した微細な血管の切断片が多数染色されていた (Fig. 1B, C, D).

脊髄における神経組織の局在

神経細胞に特異的な中間径フィラメントである NF に対する抗体染色では, 灰白質に存在する神経細胞体は染色されず, 細胞から伸長した様々な太さの軸索と突起の断片が染色されていた (Fig. 2A). 一方, 白質においては, 横断された有髄神経の大小の軸索と前根や後根の並走した軸索が束状に染色されていたが, 血管等の結合組織存在部位における陽性反応は観察されなかった (Fig. 2B).

グリア細胞に特異的な中間径フィラメントである GFAP に対する抗体染色では, 軟膜下白質表面の神経膠性表層限界膜とそれから分枝する様に白質に陥入した中間溝や中隔も線状に染色されていた (Fig. 2C). 前正中裂の拡大像においては, 正中裂に陥入した軟膜と血管は染色されておらず, 密集した微細な膠線維が線状あるいは網目状に染色された神経膠性表層限界膜とその分枝や白質の髄鞘が陽性反応を示していた (Fig. 2D). 髄鞘の染色像は, 白質の拡大像でより明確であり (Fig. 2E), 様々な大きさの円形もしくは多角形に染色された有髄神経の髄鞘が連続して膠網を形成し, この膠網は, 膠線維が線状に密集した膠質性支柱と神経膠性血管周囲限界膜によって大きく区画されていた.

脊髄における PrPc の局在

正中裂において抗 PrPc 抗体によって染色されていたのは, 軟膜内外の血管, 軟膜下の神経膠性表層限界膜とその分枝であり, 軟膜自体は染色されていなかった (Fig. 3A). 脊髄の中央部に位置し脳脊髄液が存在

する中心管では、上衣細胞の核以外の細胞質が細い突起状の膠線維も含めて染色されていた (Fig. 3B). 後中隔周辺では、脊髄軟膜から分枝した後中間中隔と中間溝に加えそれらの分枝が GFAP の場合と同様に鮮明な線状に染色されていた (Fig. 3C). 一方、灰白質は、全体として白質より強く染色されており (Fig. 3D), 挿入図に示した前柱の巨大な運動神経細胞の拡大像においては細胞質全体と二方向の突起が、中間帯の比較的小さな神経細胞では核周辺の強い陽性反応に加え三方向に伸長した軸索と突起が染色されていた。白質の拡大像においては、横断された有髄神経の軸索とそれらを同心円状に取り囲んでいる髄鞘が共に染色されているのに加え、毛細血管とその神経膠性血管周囲限界膜が染色されていた (Fig. 3E).

脊髄神経の出入り口であり白質と灰白質が交錯する後外側溝においては、PrPc と NF や GFAP の局在との関連性が観察された (Fig. 3F, G, H). すなわち、抗 PrPc 抗体染色像では、異なる網目の膠網が線状に染色された結合組織性支柱と膠質性支柱によって区画されており (Fig. 3F), 抗 GFAP 抗体によっては、膠網はより明確に染色され、線状の区画は幾分弱く染色されていたが PrPc に類似した染色像が観察された (Fig. 3G). 一方、抗 NF 抗体染色によっては、上記の異なる網目や区画毎に軸索が集団化した根糸が集合して後根を形成している様子が観察された (Fig. 3H).

考 察

本研究では、ウシ中枢神経系における PrPc の存在

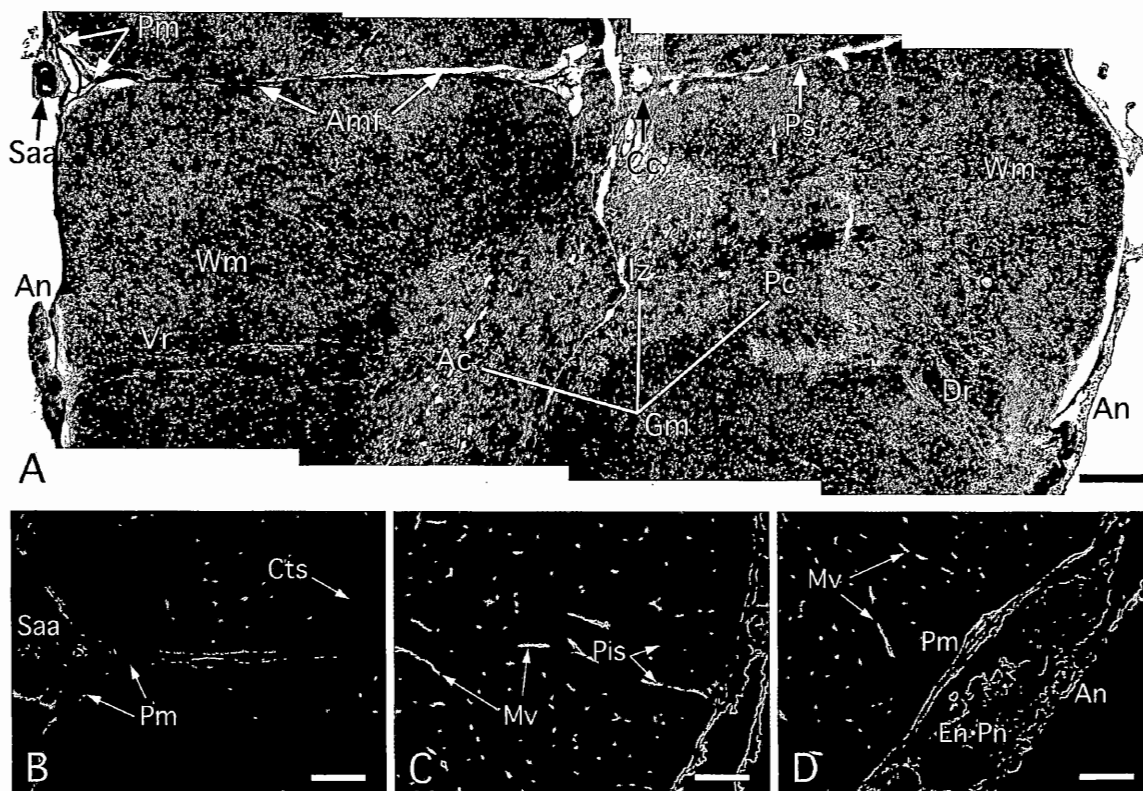


Fig. 1. Localization of connective tissues in the bovine spinal cord.

In a transverse section of cervical portion of the bovine spinal cord stained with HE (A), the spinal cord is divided from side to side by the spinal anterior artery (Saa), anterior median fissure (Amf), central canal (Cc) and posterior septum (Ps). The gray matter (Gm), which consists of the anterior column (Ac), intermediate zone (Iz) and posterior column (Pc), exists inside the white matter (Wm) covered by the pia mater (Pm). The ventral root (Vr) and dorsal root (Dr) extend from the Gm to the peripheral region surrounded by the arachnoid (An). The boxed areas B, C and D in A are shown in B, C and D respectively. In B, Saa, Pm and its branches, called connective tissue support (Cts), are immunostained with anti-type III collagen antibody. In the posterior region of the spinal cord (C, D), the posterior intermediate septum and sulcus (Pis), microvessels (Mv), endoneurium (En) and perineurium (Pn) between the Pm and An are all stained with anti-type V collagen antibody. Scale bars, 1.0 mm (A), 0.5 mm (B, C, D).

The abbreviations used here are also used in Fig. 2 and 3.

部位の概要を把握するために、大脳や小脳に比べて構造が単純で比較的小さな横断面で全体像が検索可能な脊髄を間接蛍光抗体染色法により観察した。その結果、神経細胞の細胞体、軸索、突起のいずれにも PrPc は存在しており、グリア細胞に由来するものにおいては、有髄神経の髄鞘、中心管上衣細胞の細胞質と突起、膠質性支柱、神経膠性表層限界膜と神経膠性血管周囲限界膜に存在していた。さらに、結合組織性支柱である中間中隔および中間溝とそれらの分枝にも存在しており、加えて、脈管系では大小を問わず血管にも PrPc は存在していた。従って、PrPc は中枢神経系を構成する多くの要素に広範囲に、換言すれば、中枢神経系全体に普遍的に存在するタンパク質であると考えられた。

しかし、PrPc は中枢神経系全体において均一に存在しているのではなく、その局在には幾つの特徴が観察された。まず第一は、脊髄軟膜下における線状の

陽性反応として観察された基底膜と接している神経膠性表層限界膜における局在あり、表層限界膜全体に存在することにより、脊髄の実質である神経組織全体を被っていたことである。第二は、コラーゲンに対する抗体染色で確認された結合組織性支柱における局在である。これは PrPc が、グリア細胞の指標タンパク質として用いた GFAP と類似した局在を示し、PrPc は神経系細胞の細胞膜リン脂質に繫留された状態で細胞外に存在し (MADORE *et al.*, 1999)、基底膜構成成分との結合性を有することから (GRANER *et al.*, 2000)、PrPc は中隔やその分枝である結合組織性支柱の実質である細胞外マトリックス自体に存在しているのではないと判断された。すなわち、これらと白質の境界部である神経膠性表層限界膜が中隔に沿って枝分れた分枝に局在していると判断され、結合性および膠質性支柱と共に白質の膠網をより大きく区画するという構

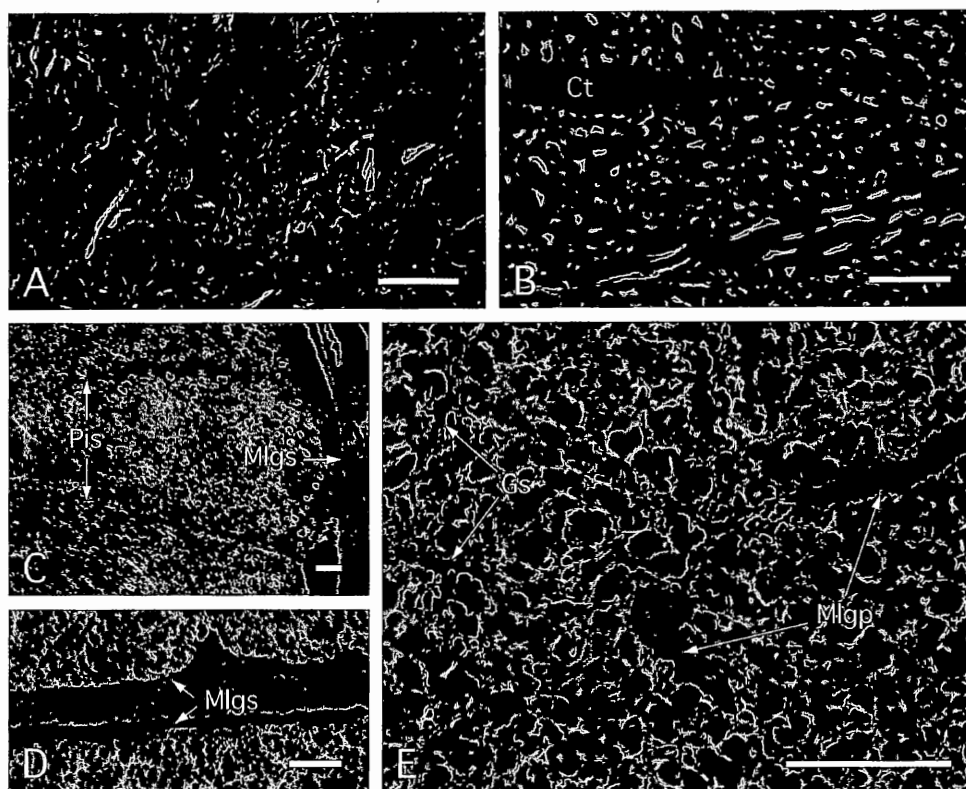


Fig. 2. Localization of neurofilament (NF) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the bovine spinal cord.

Transverse sections of the cervical portion of bovine spinal cord are immunostained with anti-NF (A, B) or GFAP (C, D, E) antibody. In the Gm (A), NFs were detected in various-sized fragments of axons and/or dendrites, but the cytoplasm around the nuclei (yellow) of neural cells was not stained. In the Wm (B), cross-sectioned thin and thick axons of myelinated nerve fibers and bundles of axons are immunostained, but the connective tissue (Ct) is not stained. GFAP was detected in the superficial layer of the Wm, called membrane limitans gliae superficialis (Mlgs), and in the Pis (C). In the Amf (D), the immunostained Mlgs shows a mass of fine fibers and that branch into the Wm. In the Wm (E), the stained myelin sheaths form a glial net that is sectioned by the stained gelatinous support (Gs) and membrane limitans gliae perivascularis (Mlgp). Scale bars, 100 μ m.

造的な役割を果たしていると考えられた。第三は、神経膠性血管周囲限界膜と中心管上皮細胞における局在である。中心管には脳脊髄液が存在しており、中心管上皮細胞は髄液脳関門の、血管周囲限界膜は血液脳関

門の各々重要な機能構成要素であり（藤田と藤田, 1983），加えて，PrPcは血球細胞にも髄液にも存在していることから（BARCLAY *et al.*, 2002），PrPcは関門機能と密接に係わっていると考えられる。

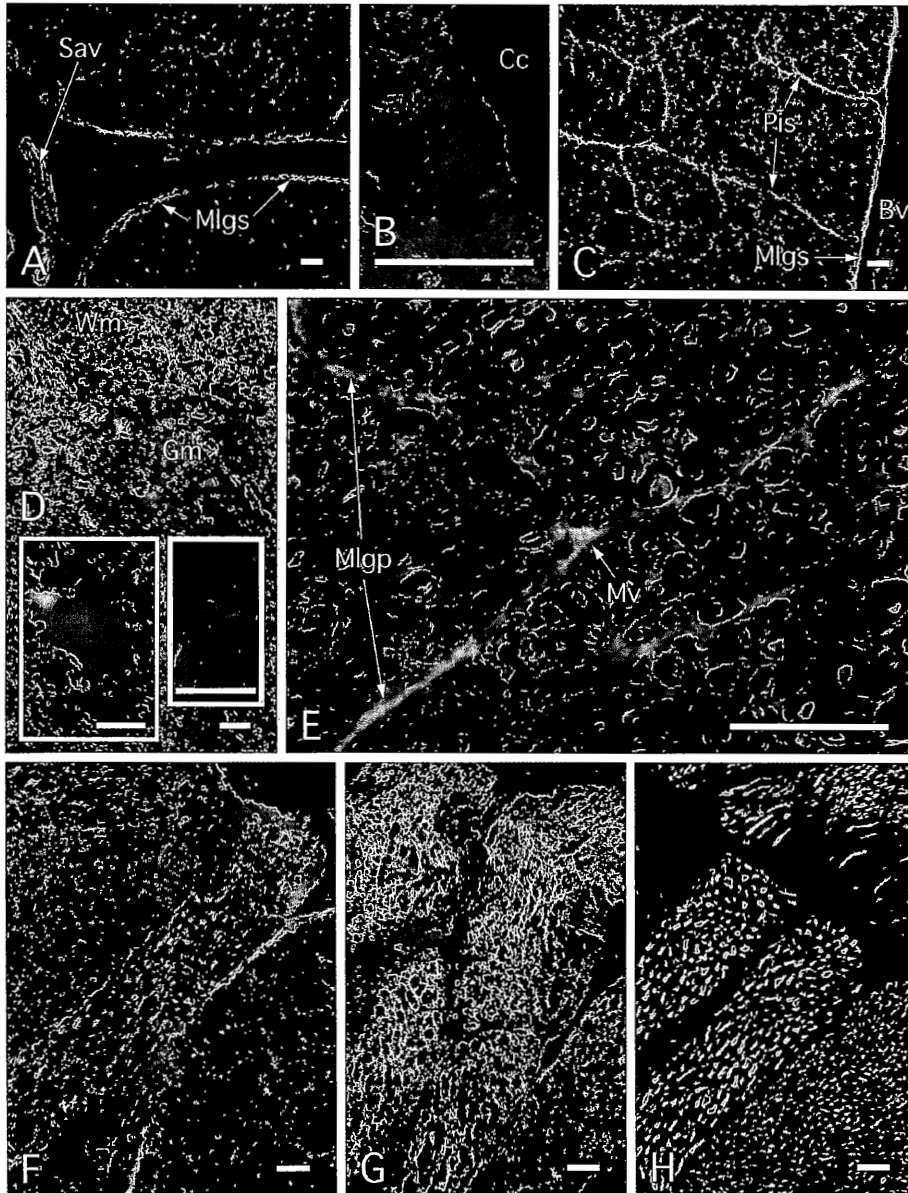


Fig. 3. Localization of cellular prion protein (PrPc) in the bovine spinal cord.

Transverse sections of the cervical portion of the bovine spinal cord are stained with anti-PrPc (A, B, C, D, E, F), GFAP (G) or NF (H) antibody. PrPc was detected in the spinal anterior vein (Sav), Mlgs and its branch near the Amf (A). In B, the cytoplasm and glial fibers of ependymal cells of the Cc are immunostained. In the posterior region of the spinal cord (C), a blood vessel (Bv), Mlgs, Pis and its branches are stained. In the Gm (D), cell bodies, axons and dendrites of neural cells are stained (insets). In a magnified image of the Wm (E), cross-sectioned axons and myelin sheaths of myelinated nerve fibers, microvessels and Mlgp are immunostained with anti-PrPc antibody. Near the sulcus lateralis posterior (F, G, H), the immunostained PrPc shows various types of glial net sectioned by linearly stained gelatinous and/or connective tissue support (F). The immunostaining pattern of GFAP resembles that of PrPc (G), but the immunostained NFs of axons are grouped in the sections described above (H). Scale bars, 100 μ m (A-H), 50 μ m (insets of D).

上述した PrPc の局在に関する三つの特徴は共通点を有している。神経膠性表層限界膜と血管周囲限界膜および中心管上衣は神経組織と他組織との境界を成しており、結合組織性および膠質性支柱は上記境界内部を区画しており、いずれも神経組織を分界している構造物である。一方今日、PrPc の生理機能に関しては、抗オキシダント作用を中心とした神経細胞の生存性への寄与が提案されている (BROWN *et al.*, 1999)。このことと局在の特徴を考え合わせると、中枢神経系における PrPc は神経組織、特に神経細胞の生存に適した環境の構築要素と推察される。この推論は、近年、ニューロンネットワークの発達を導く環境要素として神経細胞周囲の細胞外マトリックス網の存在が明らかにされ (MATTHEWS *et al.*, 2002)、PrPc の関与も提起されている (GRANER *et al.*, 2000) ことから示唆される。また、本研究では、光学顕微鏡下における PrPc の特徴的局在を検討したが、今後、軸索と髄鞘あるいはこれらと周囲の細胞外マトリックス網間におけるより詳細な PrPc の局在が検証されれば、神経細胞の生存環境に果たす PrPc の役割が解明されると思われる (MATTEI *et al.*, 2002)。

文 献

- BARCLAY, G. R., E. F. HOUSTON, S. I. HOLLIDAY, C. F. FAUCHAR and M. L. TURNER (2002) Comparative analysis of normal prion protein expression on human, rodent, and ruminant blood cells by using a panel of prion antibodies. *Transfusion*, **42**: 517-526.
- BROWN, D. R., B. S. WONG, F. HAFIZ, C. CLIVE, S. J. HASWELL and I. M. JONES (1999) Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem. J.*, **344**: 1-5.
- BURTHEM, J., B. URBAN, A. PAIN and D. J. ROBERTS (2001) The normal cellular prion protein is strongly expressed by myeloid dendritic cells. *Blood*, **98**: 3733-3738.
- DEBEER, S. O. S., T. G. M. BARON and A. A. BENCSIK (2001) Immunohistochemistry of PrPsc within bovine spongiform encephalopathy brain sample with graded autolysis. *J. Histochem. Cytochem.*, **49**: 1519-1524.
- FORD, M. J., L. J. BURTON, R. J. MORRIS and S. M. HALL (2002) Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse. *Neurosci.*, **113**: 177-192.
- 藤田尚男, 藤田恒夫 (1983) 標準組織学総論. 第2版. 257-259. 医学書院. 東京.
- GRANER, E., A. F. MERCADANTE, S. M. ZONTA, V. R. MARTINS, D. G. JAY and R. R. BRENTANI (2000) Laminin-induced PC-12 cell differentiation is inhibited following laser inactivation of cellular prion protein. *FEBS Letters*, **482**: 257-260.
- GU, Y., H. FUJIOKA, R. S. MISHRA, R. LI and N. SINGH (2002) Prion peptide 106-126 modulates the aggregation of cellular prion protein and induces the synthesis of potentially neurotoxic transmembrane PrP. *J. Biol. Chem.*, **277**: 2275-2286.
- LAINE, J., M. E. MARC, M. M. SY and H. AXELRAD (2001) Cellular and subcellular morphological localization of normal prion protein in rodent cerebellum. *E. J. Neurosci.*, **14**: 47-56.
- MA, J. and S. LINDQUIST (2001) Wild-type PrP and a mutant associated with prion disease are subject to retrograde transport and proteasome degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**: 14955-14960.
- MADORE, N., K. L. SMITH, C. H. GRAHAM, A. JEN, K. BRADY, S. HALL and R. MORRIS (1999) Functionally different GPI proteins are organized in different domains on the neuronal surface. *EMBO J.*, **18**: 6917-6926.
- MARTINS, V. R., R. LINDEN, M. A. M. PRADO, R. WALZ, A. C. SAKAMOTO, I. IZQUIERDO and R. R. BRENTANI (2002) Cellular prion protein: on the road for functions. *FEBS Letters*, **512**: 25-28.
- MATTEI, V., T. GAROFALO, R. MISASI, C. GIZZI, M. T. MASCELLINO, V. DOLO, G. M. PONTIERI, M. SORICE and A. PAVAN (2002) Association of cellular prion protein with gangliosides in plasma membrane microdomains of neural and lymphocytic cells. *Neurochem. Res.*, **27**: 743-749.
- MATTHEWS, R. T., G. M. KELLY, C. A. ZERILLO, G. GRAY, M. TIEMEYER and S. HOCKFIELD (2002) AggreCAN glycoforms contribute to the molecular heterogeneity of perineuronal nets. *J. Neurosci.*, **22**: 7536-7547.
- NAKAMURA, F., I. SEKI, K. KOBAYASHI, M. TANAKA and S. FUKUNAGA (2002) Immunohistochemical detection of cellular prion protein (PrPc) in the rat central nervous system. *Anim. Sci. J.*, **73**: 553-556.
- PRUSINER, S. B. (1998) Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **95**: 13363-13383.
- VERGHESE -NIKOLAKAKI, S., H. MICHALOUDI, M. POLYMERIDOU, M. H. GROSCUP, G. C. PAPADOPOULOS and T. SKLAVIADIS (1999) Expression of the prion protein in the rat forebrain - an immunohistochemical study. *Neurosci. Letters*, **272**: 9-12.
- VOIGTLANDER, T., S. KLOPPPEL, P. BIRNER, C. JARIUS,

H. FLICKER, S. VERGHESE -NIKOLAKAKI, T.
SKLAVIADIS, M. GUENTCHEV and H. BUDKA (2001)
Marked increase of neuronal prion protein in

immunoreactivity in Alzheimer's disease and
human prion disease. *Acta Neuropathol.*, **101**: 417-
423.

産次、分娩季節、乳量およびボディーコンディションスコア低下が 分娩後乳牛の繁殖性に与える影響

坂口 実¹⁾・笹本 良彦²⁾・鈴木 貴博²⁾・高橋 芳幸²⁾・山田 豊¹⁾

¹⁾ ㈱農業技術研究機構北海道農業研究センター, 札幌市 062-8555

²⁾ 北海道大学大学院獣医学研究科, 札幌市 060-0818

Some Factors Affecting on Postpartum Reproductive Performance in Dairy Cattle

Minoru SAKAGUCHI¹⁾, Yoshihiko SASAMOTO²⁾, Takahiro SUZUKI²⁾,
Yoshiyuki TAKAHASHI²⁾ and Yutaka YAMADA¹⁾

¹⁾ National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, NARO, Sapporo-shi 062-8555

²⁾ Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo-shi 060-0818

キーワード : 乳牛, 繁殖, 空胎期間, 初回排卵, 妊娠率

Key words : Dairy cattle, Reproduction, Days open, First ovulation, Pregnancy rate

Abstract

Some factors affecting on the reproductive performance of postpartum (PP) cows were investigated in 50 Holstein cows, which were examined for the PP days of ovulations and involution of uterine diameter by ultrasonography. Milk yield and loss of body condition score (BCS) during early lactation were recorded. Almost all cows were served for artificial insemination when estrus was detected after the second PP ovulation. Data were analyzed by ANOVA or Fisher's Exact test. In multiparous cows, the PP first estrus was delayed compared to that in primiparous cows, however there was no significant difference in days open. Greater BCS loss, more frequent anestrous ovulation and delayed PP first estrus were observed in the cows calving during the winter but no delay in days open was detected. Increased milk yield elevated the BCS loss and delayed the PP first ovulation, estrus and service but not affected on days open. More than 0.5 of BCS loss delayed only the PP first ovulation. Mean interval to the PP first ovulation was 40 days later in late ovulating cows than that in early ovulating cows and the delay affected the PP first estrus and service. In the late ovulating cows, because the PP first ovarian cycle and interval to the involution of uterine diameter were shortened and services per conception tended to be lower, the difference in the days open between early and late ovulation cows were only 20 days. In conclusion, the effect of parity, calving season, milk yield and BCS loss on the PP reproductive performance of dairy cows were demonstrated. The deviation in intervals to PP first ovulation was great and might affect on pregnancy rate.

要 約

乳牛の高性能化に伴う空胎期間の延長を防ぐことは重要な課題である。そこで、産次、分娩季節などの要因が繁殖性にどのような影響を与え、空胎日数にどう

影響するか調査した。50頭のホルスタイン種雌牛を供試し、排卵日および子宮径回復日を特定するとともに、分娩後7～70日の平均日乳量およびボディーコンディションスコア(BCS)の減少を記録した。原則として排卵を2回以上確認した後の最初の発情時に人工授精(AI)した。要因別に得られた平均値は分散分析により解析した。経産乳牛で初産と比べて初回発情が

遅延したが、空胎日数に有意差はなかった。冬期分娩で夏期よりもBCS減少が大きく、また無発情排卵頻度が大きいため初回発情時期が遅れたが、空胎日数には影響しなかった。乳量の増加によりBCSは大きく減少し、初回排卵、発情およびAI時期も遅延したが、空胎日数に有意差はなかった。BCS減少0.5以上の群では0.5未満と比べて初回排卵時期が延長した以外、繁殖性への影響は認められなかった。初回排卵日は、遅い群で早い群より平均40日延長し、初回発情およびAI時期も遅延した。最終的に不受胎となった5頭は、すべて初回排卵の早い群に属していた。初回排卵の遅い群では初回卵巣周期および子宮径回復日数は短縮し、AI回数も少ない傾向にあり、受胎牛の平均空胎日数に有意差はなかった。以上の結果から、産次、分娩季節、乳量、およびBCS低下は乳牛における分娩後の繁殖機能回復の時期に影響を及ぼしたが、空胎日数の長さには大きな影響を及ぼさなかった。また、初回排卵時期は不受胎牛の発生率に影響を及ぼす可能性が示唆された。

結 論

乳牛の遺伝的改良により平均乳量は増加を続けてきた反面、分娩後の繁殖性は低下し続けている。北海道における過去の調査（寺脇ら，1982；上村ら，1985）によると、1980年頃の平均空胎日数は120日前後であり、産次の空胎日数に及ぼす影響が大きいと指摘されている。一方、北海道乳牛検定検査協会（2001）によると、1991年に道内の平均乳量および空胎日数は、それぞれ7,841 kgおよび121日であったが、2000年にはそれぞれ8,678 kgおよび148日となり、年平均で乳量は93 kgの上昇、空胎日数は3日間延長したことになる。この傾向は北海道のみでなく、全国的な問題となっている。この結果、平均泌乳日数は約350日に達し、1年1産すなわち平均空胎日数85日は、もはや現実的な目標ではあり得ない。しかし、100 kgの乳量増加にともない、3日あまり空胎日数が延長するという現在の傾向は、後継牛不足とならんで、今後の酪農経営の大きな不安定要因であり、これ以上の空胎期間の延長を防ぐことは重要な課題である。

分娩後の乳牛の繁殖性に影響する要因として、産次（LUCY *et al.*, 1992）、分娩季節（HANSEN and HAUSER, 1983）、乳量（NEBEL and MCGILLIARD, 1993）、ボディコンディションスコア（BCS）の減少（LOEFFLER *et al.*, 1999）、初回排卵時期（DARWASH *et al.*, 1997）、などが報告されている。そこで、本研究ではこれらの要因が分娩後の乳牛の繁殖性にどのように影響するか、一牛群において検討した。

材料および方法

独立行政法人農業技術研究機構・北海道農業研究セ

ンターで飼養され、1999年10月～2001年6月に分娩した50頭（初産：26頭、経産：24頭）のホルスタイン種雌牛を対象とした。これらの乳牛は分娩後少なくとも180日間搾乳され、また授精対象として繁殖管理がなされた。飼料は日本飼養標準・乳牛（農林水産省農林水産技術会議事務局，1999）にしたがって、濃厚飼料、サイレージおよび乾草を、フリーストールあるいはタイストールで給与した。なお5月から10月の期間は、1日4時間程度放牧し、草量に応じて飼料給与量を調整した。

分娩約1週間後から週3回、原則として月・水・金曜日に超音波診断装置を用いて卵巣を観察し、また直腸検査を随時行なうことにより、排卵日を特定した。後述する2頭を除き排卵は3回目まで確認した。卵巣検査と同時に、超音波診断装置により子宮の横断面を撮影し、左右子宮角基部の血管層の最大径がともに30 mm以下となり、かつ左右の差が5 mm以内となった日を子宮径回復日とし、子宮修復の目安とした。

搾乳は1日2回（9：00および19：00）行ない、乳量記録から分娩後7～70日の平均日乳量を算出した。またこの間週1回BCSを測定し、分娩直後（分娩後3日以内）から分娩後10週間における最大の減少値をBCS減少として分析に用いた。なお、BCSは2ないし3名で判定し、平均値を用いた。朝夕2回の搾乳前に行動を観察し、スタンディングあるいはマウンティング行動が観察された場合、発情と判定した。分娩後3回までの排卵のうち、発情行動を伴わなかったものを無発情排卵とした。人工授精（AI）は分娩後45日から開始し、原則として排卵を2回以上確認した後の最初の発情時に行なった。なお、初回排卵が分娩45日後以降で、2回目の排卵前に明瞭な発情行動が観察された2頭については2回目排卵時にAIした。AI後40日前後に、超音波診断装置により生存胎児の有無を確認し妊娠を診断した。分娩後180日を越えて妊娠しなかった場合、不受胎とした。

産次は初産と2産以上（経産）、分娩季節は夏（3／21～9／20）と冬（9／21～3／20）のそれぞれ2群に分類した。乳量は、低（＜30 kg/日）、中（≥30, <40 kg/日）、高（≥40 kg/日）の3水準に分類し、BCSの減少は0.50未満と0.50以上の2群に分類した。初回排卵時期については、分娩後21日以内を早（Early）、22～42日を中（Middle）、43以降を遅（Late）とした。得られた数値は統計解析ソフトJMP（SASインスティテュートジャパン，2000）を使用して分析した。各要因別に得られた平均値については分散分析を行ない、Tukey-KramerのHSD検定により平均値を比較した。また、妊娠率についてはFisher's Exact検定により比較した。有意水準5%（ $P<0.05$ ）で有意差を判定した。

結 果

供試牛 50 頭の概要および繁殖性に関する値を Table 1 に示した。不受胎牛は 5 頭となり、受胎に要した平均 AI 回数および平均空胎日数は 45 頭について算出した。初回排卵・発情・人工授精日および受胎日の分布を Figure 1~4 に示した。初回排卵は分娩後第

3 週 (15-21 日) に最も多く、第 4 週 (~28 日) までに 53% (28 頭) で観察されたが、70 日を越えたものも 3 頭あった (Figure 1)。初回発情は第 5-6 週に最も多く、第 8 週までに 53% (28 頭) で観察された (Figure 2)。分娩後 45 日以降から開始した初回の人工授精は、42% (21 頭) で第 9-10 週に実施され、第 12 週には 84% の実施率であった (Figure 3)。受胎日は第 13-14

Table 1 Summary of postpartum reproductive performance in 50 lactating cows

Measurement	Mean±SEM	Minimum	Maximum
Parity	2.18±0.23	1	7
Milk yield (kg/day)	35.8±1.2	24.1	49.7
Body condition score at parturition	3.14±0.04	2.14	3.77
Body condition score loss	0.47±0.03	0.13	1.28
Days to uterine diameter involution	17.8±0.6	11	28
Days to first ovulation	30.9±2.4	10	79
Interval of first ovarian cycle (days)	15.8±0.8	6	26
No. of anestrous ovulations	1.36±0.11	0	3
Days to first estrus	55.2±3.0	21	107
Days to first service	71.5±2.6	45	129
Services per conception ¹⁾	1.62±0.12	1	4
Days open ¹⁾	89.6±4.6	45	168

¹⁾ Summary of 45 conceived cows

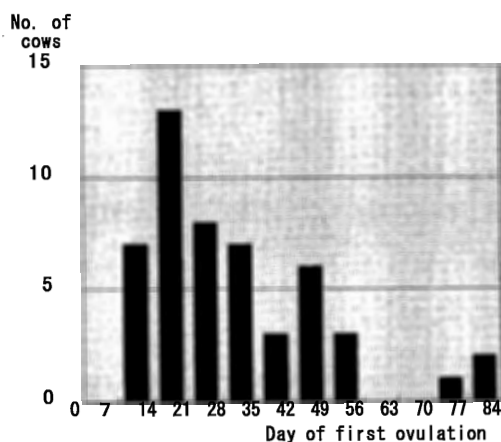


Figure 1 The distribution of interval to first ovulation in 50 postpartum cows

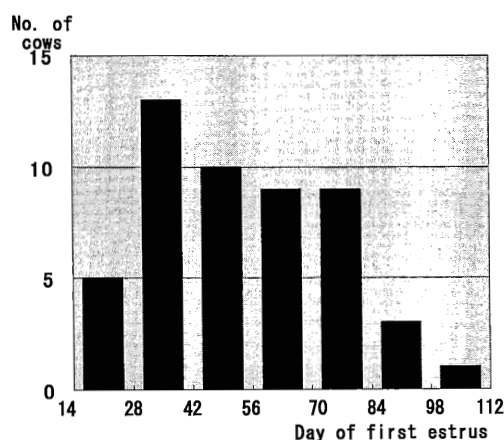


Figure 2 The distribution of interval to first estrus in 50 postpartum cows

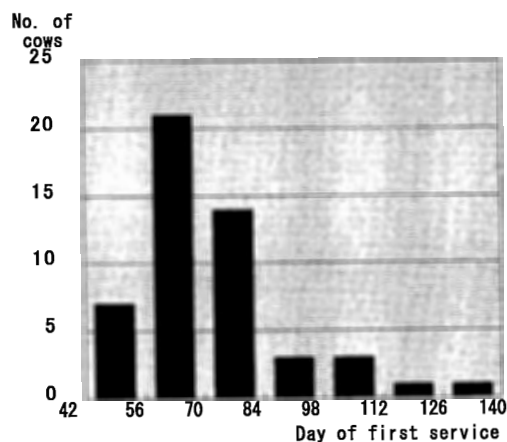


Figure 3 The distribution of interval to first service in 50 postpartum cows

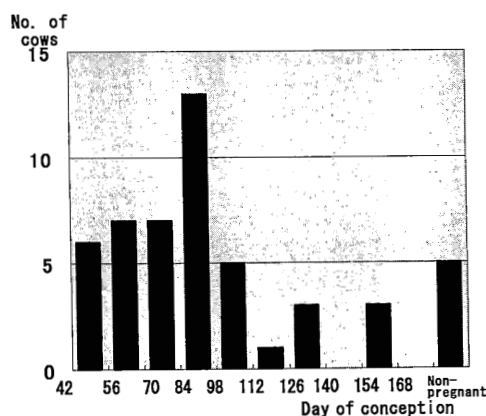


Figure 4 The distribution of interval to conception in 50 postpartum cows

Table 2 Reproductive performance of dairy cows differing in parity
Mean±SEM

Measurement	Parity	
	Primiparous	Multiparous
No. of cows (%)	26(52)	24(48)
Milk yield (kg/day)	30.0±0.8 ^a	42.0±1.5 ^b
Body condition score at parturition	3.11±0.05	3.12±0.08
Body condition score loss	0.40±0.04 ^a	0.56±0.06 ^b
Days to uterine diameter involution	17.3±0.9	18.3±0.8
Days to first ovulation	26.7±3.2	35.5±3.5
Interval of first ovarian cycle (days)	15.1±1.1	16.7±1.3
No. of anestrous ovulations	1.31±0.15	1.42±0.15
Days to first estrus	47.8±3.7 ^a	63.1±4.4 ^b
Days to first service	65.7±2.9 ^a	77.8±4.0 ^b
No. of cows conceiving	23(88)	22(92)
Services per conception	1.65±0.17	1.59±0.17
Days open	83.1±5.4	96.4±7.3

^{a,b} Values with different letters in the same row are significantly different (P < 0.05).

週が最も頻度が高かった (Figure 4)。

初産・経産別 (Table 2) に比較すると、経産牛では日乳量および BCS 減少が有意に高かったが、初回排卵時期に有意な差はなかった。しかし、初回発情時期は経産牛で有意に遅く、その結果初回 AI 時期も約 12 日遅れた。これらの遅れは平均値として空胎日数の差に反映されたが、空胎日数については有意な差ではなかった。分娩季節別 (Table 3) では、BCS 減少が冬期分娩で夏期と比較して有意に大きかった。また冬期分娩では、無発情排卵の発生頻度が有意に高かったため、初回発情時期は夏期と比較して有意に遅延した。平均初回 AI 時期は夏冬でほぼ同じであった。受胎に要した平均 AI 回数は夏期で 0.4 回多く、平均空胎日

数は 15 日程度長くなったが、有意な差は認められなかった。

乳量水準別 (Table 4) では、乳量の増加に伴い BCS 減少は有意に増加し、同様に初回排卵、初回発情ならびに初回 AI 時期も乳量の増加により遅延したが、空胎日数に有意な差は認められなかった。BCS 減少の程度 (Table 5) では、0.5 以上減少の群では分娩直後の BCS 値が有意に大きかったが、初回排卵時期が遅延した以外、繁殖性への影響は認められず、空胎日数も約 90 日とほぼ等しかった。

最後に、初回排卵時期別 (Table 6) では、初回排卵後の最初の卵巢周期は、初回排卵が遅い場合に初回排卵が早い場合と比較して有意に短縮した。初回排卵時

Table 3 Reproductive performance of dairy cows differing in season of parturition
Mean±SEM

Measurement	Season ¹⁾	
	Summer	Winter
No. of cows (%)	23(46)	27(54)
Milk yield (kg/day)	32.4±1.6	38.7±1.5
Body condition score at parturition	3.06±0.07	3.21±0.06
Body condition score loss	0.39±0.04 ^a	0.54±0.05 ^b
Days to uterine diameter involution	18.1±0.9	17.5±0.8
Days to first ovulation	30.2±2.7	31.5±3.9
Interval of first ovarian cycle (days)	15.2±1.3	16.3±1.0
No. of anestrous ovulations	1.00±0.14 ^a	1.67±0.13 ^b
Days to first estrus	47.7±4.1 ^a	61.5±4.1 ^b
Days to first service	70.8±4.1	72.1±3.3
No. of cows conceiving	20(87)	25(93)
Services per conception	1.85±0.18	1.44±0.15
Days open	98.3±8.3	82.6±4.5

¹⁾ Summer: 21 March to 20 September; Winter: 21 September to 20 March.

^{a,b} Values with different letters in the same row are significantly different (P < 0.05).

Table 4 Reproductive performance of dairy cows differing in mean daily milk yield during the first 10 weeks postpartum Mean±SEM

Measurement	Milk yield ¹⁾		
	Low	Middle	High
No. of cows (%)	17(34)	15(30)	18(36)
Milk yield (kg/day)	26.9±0.5 ^a	34.4±0.8 ^b	45.4±0.7 ^c
Body condition score at parturition	3.08±0.05	3.15±0.08	3.19±0.09
Body condition score loss	0.35±0.05 ^a	0.45±0.04 ^{ab}	0.61±0.06 ^b
Days to uterine diameter involution	18.4±1.2	16.9±1.1	17.9±0.8
Days to first ovulation	20.4±2.2 ^a	35.0±4.5 ^b	37.4±4.4 ^b
Interval of first ovarian cycle (days)	16.7±1.2	13.5±1.6	16.7±1.4
No. of anestrous ovulations	1.35±0.21	1.20±0.17	1.50±0.17
Days to first estrus	42.8±4.5 ^a	57.7±5.0 ^{ab}	64.7±4.9 ^b
Days to first service	61.5±3.0 ^a	78.5±6.1 ^{ab}	75.2±3.2 ^b
No. of cows conceiving	14(82)	15(100)	16(89)
Services per conception	1.86±0.25	1.47±0.17	1.56±0.20
Days open	84.1±9.7	93.5±7.9	90.7±6.5

¹⁾ Low: < 30 kg/day; Middle: ≥ 30 and < 40 kg/day; High: ≥ 40 kg/day.^{a,b,c} Values with different letters in the same row are significantly different (P < 0.05).

Table 5 Reproductive performance of dairy cows differing in body condition score (BCS) loss during early lactation period Mean±SEM

Measurement	Loss of BCS	
	< 0.50	≥ 0.50
No. of cows (%)	33(67)	16(33)
Milk yield (kg/day)	33.9±1.4 ^a	39.0±2.0 ^b
Body condition score at parturition	3.01±0.04 ^a	3.41±0.07 ^b
Body condition score loss	0.33±0.02 ^a	0.76±0.03 ^b
Days to uterine diameter involution	17.9±0.7	17.8±1.1
Days to first ovulation	26.6±2.1 ^a	37.3±3.9 ^b
Interval of first ovarian cycle (days)	16.3±1.0	15.4±1.4
No. of anestrous ovulations	1.33±0.13	1.44±0.19
Days to first estrus	50.7±3.6	62.9±5.2
Days to first service	67.5±3.0	77.7±4.3
No. of cows conceiving	29(88)	15(94)
Services per conception	1.76±0.15	1.40±0.19
Days open	89.9±5.8	88.0±8.0

^{a,b} Values with different letters in the same row are significantly different (P < 0.05).

期の遅れは、初回発情および初回 AI 時期に同様の有意な遅れをもたらしたが、それらの遅れは初回排卵の遅れと比較して小さくなった。最終的に不受胎となった5頭は全て初回排卵の早い群で、この群の妊娠率は75%と、初回排卵時期が中程度 (Middle) の群と比較して有意に低かった。平均空胎日数は、初回排卵の遅い群では早い群よりも約20日延長したが、受胎に要した平均 AI 回数が約0.5回少なく、有意差は認められなかった。

考 察

対象牛群は、305日乳量で6,000 kg–7,000 kgの低泌乳牛から10,000 kgを越える高泌乳牛を含んでおり、泌乳初期のBCSの平均減少は0.47と、栄養管理

もほぼ適正水準にあった。平均的な繁殖性として、分娩後30日程度で初回排卵にいたり、正常よりも短い周期の後、2回目の排卵を47日ころむかえた。初回発情は分娩後8週程度で観察され、これに先立って1–2回、無発情で排卵がおこった。分娩後、平均10週で初回のAIが行なわれ、90%は平均1.6回のAIにより、平均90日で受胎し、不受胎牛を除くとはほぼ1年1産に近い繁殖成績であった。また、不受胎となった5頭も含め、少なくとも試験期間中に疾病あるいは事故等の原因により搾乳終了あるいは廃用となった牛はいなかった。今回供試した牛群の乳量水準は実際の酪農現場での水準と同等かそれ以上である。したがって現在の乳牛において、少なくとも100日程度の分娩後平均空胎日数で繁殖を行うことは十分可能であることが示

Table 6 Reproductive performance of dairy cows differing in interval to postpartum resumption of ovarian activity

Measurement	Interval to postpartum first ovulation ¹⁾		
	Early	Middle	Late
No. of cows (%)	20(40)	18(36)	12(24)
Milk yield (kg/day)	31.7±1.7 ^a	37.2±2.0 ^{ab}	40.5±1.9 ^b
Body condition score at parturition	3.08±0.08	3.14±0.05	3.25±0.09
Body condition score loss	0.42±0.06	0.48±0.05	0.55±0.07
Days to uterine diameter involution	19.0±1.0 ^a	18.2±1.0 ^{ab}	15.2±0.8 ^b
Days to first ovulation	16.6±0.8 ^a	30.0±1.3 ^b	56.1±3.7 ^c
Interval of first ovarian cycle (days)	18.0±1.0 ^a	15.5±1.5 ^{ab}	12.5±1.7 ^b
Days to first estrus	44.6±4.0 ^a	52.8±4.3 ^b	76.3±4.8 ^c
No. of anestrus ovulations	1.50±0.17	1.28±0.19	1.25±0.18
Days to first service	63.2±2.8 ^a	69.3±3.9 ^b	88.8±5.0 ^c
No. of cows conceiving	15(75) ^a	18(100) ^b	12(100) ^{ab}
Services per conception	1.73±0.25	1.78±0.17	1.25±0.18
Days open	80.6±7.5	90.0±6.8	100.2±9.8

¹⁾ Early: < 22 days; Middle: 22 - 42 days; Late: > 42 days.^{a,b,c} Values with different letters in the same row are significantly different (P < 0.05).

された。ただし、今回の結果は試験を目的とした飼養条件下の牛群、すなわち、酪農現場と比較して均一かつ良好な栄養および繁殖管理条件下の牛群からデータを収集し、これらをもとに要因別の繁殖成績を分析したものである。したがって本試験の成績を、酪農現場における分娩後乳牛の繁殖性向上を目的に評価あるいは利用するにあたっては、飼養条件が生産現場と必ずしも同等ではない、という点について留意する必要がある。

産次別では、経産牛と比較して初産牛で初回の発情および AI までの日数が有意に短かったにもかかわらず、空胎日数には有意差はなかった。ただし、これらの平均値の差は、12-15 日であり、空胎日数のばらつきの大きさが統計的な有意性に結びつかなかった可能性もあると考えられるため、より多数頭での検討が必要である。LUCY *et al.* (1992) は初産牛の初回排卵および初回発情時期は、経産牛と比較して遅いものの、空胎期間に差はないとしている。原因として、初産牛では負のエネルギーバランス (EB) の程度及び期間が長かったことをあげているが、今回の試験では、負の EB を反映するとされる BCS の低下 (BUTLER and SMITH, 1989, HOLTER *et al.*, 1990) が、初産牛で有意に少なかったことから、異なる結果となったものと考えられた。

性腺刺激ホルモンの季節間変動により、牛の卵巢機能は季節による違いがあるといわれている (MCNATTY *et al.*, 1984)。また、HANSEN and HAUSER (1983) は、肉牛及び搾乳牛において、冬期分娩では夏期分娩と比較して初回発情が遅延すると報告しているが、今回も同様の結果が得られた。一方で、初回排卵時期に季節差はないことから、冬期では無発情排卵が夏期よりも多発していることが明らかとなった。初回

AI 時期は夏・冬ではほぼ等しかったのに対し、有意ではないものの、空胎日数は平均約 16 日夏期分娩群で遅れており、受胎に要した AI 回数も夏期分娩群で 0.4 回多かった。したがって、夏期分娩牛では、初回発情時期は早い、AI 1 回あたりの受胎率は低く、結果として空胎日数は延長している可能性が示された。

一般的に育種改良により乳量の増加している牛群においては、空胎期間の延長など、繁殖性の低下が大きな問題となっている (NEBEL and MCGILLIARD, 1993; ROYAL *et al.*, 2000; HANSEN, 2000; 北海道乳牛検定検査協会, 2001)。今回、対象牛の泌乳初期の日乳量で 20 kg 台を低泌乳、40 kg 以上を高泌乳、30 kg 台をその中間と分類したが、低泌乳牛群で初回排卵は他の 2 群と比較して 2 週間以上早く、30 kg 以上の乳量は初回排卵時期を遅らせることが明らかとなった。乳量増加は最初の卵巢周期および無発情排卵回数に影響を与えなかったが、初回排卵の遅れを反映して、初回発情および AI 時期は高泌乳群で遅かった。しかし、受胎に要した AI 回数は低泌乳牛で多くなる傾向があり、平均空胎日数の差は 10 日以内で有意差は認められなかった。ただし、産次別の結果同様ばらつきが大きかったため、より多頭数での検討が必要であろう。今回の結果は、高泌乳化により初回排卵が遅れ、その影響で初回発情および AI 時期も遅れる可能性を示している。

高泌乳により初回排卵が遅延するメカニズムとして、急激な泌乳量の増加に対してエネルギー摂取が追いつかないという、負の EB が生殖内分泌および卵巢機能に悪影響を与えているという仮説が提唱されている (BEAM and BUTLER, 1999; LUCY, 2001)。一方で、EB は末梢血プロジェステロン濃度を指標とした黄体機能に影響するが、初回排卵および発情の時期には影

響しないとする報告 (SPICER *et al.*, 1990) や、EB は無関係で、高乳量自体が発情発現に影響し、卵巢機能には影響しないという報告 (HARISON *et al.*, 1990) 等もあり、EB と繁殖機能の関係については未解明の部分が多い。今回示された、高泌乳に伴う BCS の低下が負の EB を反映している (LOEFFLER *et al.*, 1999) と仮定すれば、泌乳量の増加による負の EB が初回排卵および発情時期を遅らせていると解釈できる。BCS 減少の度合いで繁殖性を比較した今回の結果、すなわち、BCS 減少の大きい牛では乳量も高く初回排卵が有意に遅れる、という事実はこの解釈を支持するものである。

THATCHER and WILCOX (1973) が、初回授精までの発情回数が多いほど初回授精受胎率が高いと報告して以来、初回排卵が早いほどその後の受胎性も良好であると考えられてきた (LUCY *et al.*, 1992; DARWASH *et al.*, 1997)。今回調べた牛群においては、初回排卵日は遅い群で早い群と比較して平均 40 日遅延し、初回発情、初回 AI 日も、初回排卵の遅い群で有意に遅延した。一方、初回卵巢周期は初回排卵の遅い群で有意に短く、AI 回数も少ない傾向にあった。その結果、両者の平均空胎日数の差は約 20 日と短縮し、有意差はなかった。また、180 日の試験期間内に受胎しなかった 5 頭は全て初回排卵の早い群であり、受胎率にも有意差が認められた。仮にこれら不受胎牛 5 頭の空胎日数を 180 日として平均空胎日数を算出すると、他の 2 群の平均を越えることから、不受胎も含めた意味での繁殖性は初回排卵時期に大きく影響されないと考えられた。

SMITH and WALLACE (1998) は、分娩後 105 日間の平均日乳量がそれぞれ、約 20 および 30 kg の初産および経産牛を用いた検討の結果、経産牛では初回排卵が早い場合受胎率は低下し、初産牛では初回排卵の時期は受胎率に影響しないとの結論を得ている。また、米国での調査 (EICKER *et al.*, 1996) によると、高泌乳牛では障害があっても繁殖が試みられるが、低泌乳牛では早期に淘汰されやすいため、見かけ上高泌乳牛で繁殖性が低下しており、乳量が繁殖性に与える影響は小さいことが示唆されている。今回の結果のうち高乳量ではない、日乳量 40 kg 未満の牛についてはその平均空胎日数から、少なくとも初回排卵の遅れは空胎期間に大きな影響を及ぼさないと考えられた。しかし、この乳量と空胎期間の関係については、今回比較的头数の少なかった高泌乳牛において、より多頭数を対象とした広範かつ詳細な検討が望まれるところである。

初回排卵の遅れがそのまま空胎期間の延長に反映しなかった理由として、初回排卵の早い牛では子宮機能回復が遅れ、この結果、受胎に要した AI 回数が遅い群と比較して平均 0.5 回増加し、また 25% の牛が不受胎となったことが考えられる。ETHERINGTON *et al.*

(1984) は、分娩 15 日後に性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 処置を行い卵巢機能再開を早めた場合、子宮蓄膿症の発生率が上昇し、空胎期間も延長したと報告している。したがって、初回排卵の早い群では、子宮機能の回復のみならず潜在的な子宮内膜炎等の着床阻害要因の存在も推測される。しかし、今回子宮機能回復の指標として使用したのは子宮角基部血管層の長径のみであり、その回復は従来いわれている子宮機能回復の時期 (居在家ら, 1989; KAMIMURA *et al.*, 1993) よりも 10~20 日早かったことから、分娩後の子宮修復と受胎性との関係については、より正確に子宮機能回復を反映する指標を用いた詳細な検討が望まれる。

このように、空胎期間の延長は、初回排卵時期の延長日数の約 1/2 とそれほど大きくなかったが、分娩後 100 日前後での受胎を目標とした場合、70 日以降での初回排卵は障害となりうる。50 頭の分布からみると、過半数の牛は分娩 4 週後以内に初回排卵しており、3 頭 (6%) で 70 日を越えている。DE VRIES and VEERKAMP (2000) は、遺伝的に初回排卵の遅い亜集団 (subpopulation) の存在を指摘しているが、分布状況から見てもこの 3 頭については遺伝的に初回排卵が遅かった可能性もある。初回排卵時期も含めた、遺伝的に規定される繁殖性については不明な点が多く今後の一層の研究が望まれる。

以上の結果から、経産乳牛では初産と比べて初回発情が遅れること、夏期分娩よりも冬期分娩で無発情排卵が多く初回発情が遅延すること、高乳量あるいは分娩後の BCS の大きな減少は初回排卵を遅らせることが明らかとなった。また、初回排卵時期はばらつきが大きく、子宮修復および不受胎牛発生率に影響することが示唆されたが、初回排卵の遅延は分娩後の空胎期間に大きな影響を及ぼさなかった。

文 献

- BEAM, S. W. and W. R. BUTLER (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* **54**: 411-424.
- BUTLER, W. R., and R. D. SMITH (1989) Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **72**: 767-783.
- DARWASH, A. O., G. E. LAMMING and J. A. WOOLLIAMS (1997) The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Anim. Sci.* **65**: 9-16.
- EICKER, S. W., Y. T. GRÖHN and J. A. HERTL (1996) The association between cumulative milk yield,

- days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *J. Dairy Sci.* **79**: 235-241.
- ETHERINGTON, W. G., W. T. K. BOSU, S. W. MARTIN, J. F. COTE, P. A. DOIG and K. E. LESLIE (1984) Reproductive performance in dairy cows following postpartum treatment with gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin: A field trial. *Can. J. Comp. Med.* **48**: 245-250.
- HANSEN, L. B. (2000) Consequences of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. *J. Dairy Sci.* **84**: 1145-1150.
- HANSEN, P. J. and E. R. HAUSER (1983) Genotype $\times$ environmental interactions on reproductive traits of bovine females. III. Seasonal variation in postpartum reproduction as influenced by genotype, suckling and dietary regimen. *J. Anim. Sci.*, **56**: 1362-1369.
- HARRISON, R. O., S. P. FORD, J. W. YOUNG, A. J. CONLEY and A. E. FREEMAN (1990) Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* **73**: 2749-2758.
- HOLTER, J. B., M. J. SLOTNIK, H. H. HAYES and C. K. BOZAK (1990) Effect of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy, nitrogen partitions, and lactation production responses. *J. Dairy Sci.* **73**: 3502-3511.
- (財)北海道酪農検定検査協会 (2001) 平成12年度 (2000) 個体の305日間成績. 34-46. 札幌.
- 居在家義昭・鈴木 修・島田和宏・小杉山基昭 (1989) 肉用牛における超音波断層法による分娩後の子宮修復の観察. *家畜繁殖誌*, **35**: 54-59.
- KAMIMURA, S., T. OHGI, M. TAKAHASHI and T. TSUKAMOTO (1993) Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J. Vet. Med. Sci.*, **55**: 643-647.
- 上村俊一・尾上貞雄・高橋雅信・五ノ井幸男・八田忠雄・塚本 達 (1985) 道東草地酪農地帯の乳牛牧場14年間の繁殖成績について. *北海道立農試集報*, **53**: 1-8.
- LOEFFLER, S. H., M. J. DE VRIES and Y. H. SCHUKKEN (1999) The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **82**: 2589-2604.
- LUCY, M. C. (2001) Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.* **84**: 1277-1293.
- LUCY, M. C., C. R. STAPLES, W. W. THATCHER, P. S. ERICKSON, R. M. CLEALE, J. L. FIRKINS, J. H. CLARK, M. R. MURPHY and B. O. BRODIE (1992) Influence of diet composition, dry-matter intake, milk production and energy balance on time of post-partum ovulation and fertility in dairy cows. *Anim. Prod.* **54**: 323-331.
- MCNATTY, K. P., N. HUDSON, M. GIBB, K. M. HENDERSON, S. LUN, D. HEATH and G. W. MONTGOMERY (1984) Seasonal differences in ovarian activity in cows. *J. Endocrinol.* **102**: 189-198.
- NEBEL, R. L. and M. L. MCGILLIARD (1993) Interaction of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **76**: 3257-3268.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局 (1999) 日本飼養標準・乳牛. 中央畜産会. 東京.
- ROYAL, M. D., A. O. DARWASH, A. P. F. FLINT, R. WEBB, J. A. WOOLLIAMS and G. E. LAMMING (2000) Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* **70**: 487-501.
- SAS インスティテュートジャパン (2001) JMP4.0 統計およびグラフ機能ガイド. 東京.
- SMITH, M. C. A and J. M. WALLACE (1998) Influence of early post partum ovulation on the re-establishment of pregnancy in multiparous and primiparous dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* **10**: 207-216.
- SPICER, L. J., W. B. TUCKER and G. D. ADAMS (1990) Insulin-like growth factor-I in dairy cows: Relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. *J. Dairy Sci.* **73**: 929-937.
- 寺脇良悟・武藤浩史・小野 斉 (1982) 北海道十勝地方のホルスタイン種乳牛における繁殖効率の変動. *日畜会報*, **53**: 792-796.
- THATCHER, W. W. and C. J. WILCOX (1973) Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in dairy cow. *J. Dairy Sci.* **56**: 608-610.
- DE VRIES, M. J. and R. F. VEERKAMP (2000) Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* **83**: 62-69.

原 著

エゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) における角の伸長と骨代謝の関係

亀山 祐一・國井 彰子・伊藤 雅夫・石島 芳郎

東京農業大学生物産業学部, 網走市 099-2493

Relationship between antler growth and bone metabolism in male Hokkaido sika deer (*Cervus nippon yesoensis*).

Yuichi KAMEYAMA, Akiko KUNII, Masao ITO and Yoshiro ISHIJIMA

Faculty of Bioindustry, Tokyo University of Agriculture,
Abashiri-shi 099-2493

キーワード: エゾシカ, 枝角, カルシウム, 骨代謝

Key words: Hokkaido sika deer, antler, calcium, bone metabolism

Abstract

To discuss the relationship between antler growth and bone metabolism in cervids, morphology of antler and biochemical markers of bone metabolism were observed in male matured Hokkaido sika deer for a year. Morphology of antler were assessed by timing of antler shedding, timing of velvet shedding, appearance of each tines, and sum of length of main beam and tines. Biochemical markers of bone metabolism were assessed by concentrations of total calcium, ionized calcium and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, and activities of alkaline phosphatase (ALP) and bone ALP (BAP) in the serum. Antler casting and velvet shedding were seen in April and September, respectively. Peak growth of antler velvet occurred in June. Most of serum total calcium originated from ionized calcium and both of them has strong homeostasis. Activities of ALP and BAP, and concentrations of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in the serum increased during the antler growth period. These biochemical markers of bone metabolism probably have annual rhythms related to antler growth.

要 約

シカ類における角の伸長と骨代謝の関係を考察するため, エゾシカの成熟雄で角の形態および生化学的骨代謝マーカーを1年間にわたって観察した。角の形態は落角の時期, 剥皮の時期, 各枝角の出現時期, 全体の長さ(メインビームの長さ各枝角の長さの合計)を観察した。生化学的骨代謝マーカーは血清中の総カルシウム, イオン化カルシウム, アルカリフォスファターゼ(ALP), 骨型アルカリフォスファターゼ(BAP), $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (活性型ビタミンD)を測定した。落角は4月, 袋角の剥皮は9月に観察された。袋角の伸長のピークは6月であった。血清総カルシウムのほぼすべてはイオン化カルシウムであり, 両者は年間を通して高い恒常性を示した。血清ALP, BAPおよび活

性型ビタミンDは, 角の伸長期に明瞭な上昇を示した。これらの生化学的骨代謝マーカーは, 角の伸長に関連した周年変化を示すものと思われた。

緒 言

一般的なシカ類の雄には枝角があり, その枝角は毎年生え変わる。この現象はシカ類に特有であり, 他の角がある偶蹄目ではみられない。枝角が発達する途中の柔らかい角は鹿茸と呼ばれ, 中国の養鹿で生産された鹿茸は漢方薬の原料として高値で取引されている(横濱ら, 1991)。鹿茸の主な構成成分は, カルシウムとリンである(石田ら, 1995)。したがって, 中・大型のシカ類の雄がその特徴である大きな枝角を形成するためには, 大量のカルシウムが必要と思われる。しかし, シカ類は草食動物であり, 角の伸長に必要なカルシウムはその時期における飼料摂取で補給しきれないことが考えられる。実際, 角の伸長期にカルシウムの

摂取量が不足した場合は角が細くなり、体重も減少することが知られている(辻井・鄒, 1988)。一方、哺乳動物においてカルシウムは細胞間のシグナルとして機能し、血中濃度が上昇した場合に致命的な疾患を誘発する(CAPEN and ROSOL, 1991)。このため、哺乳動物におけるカルシウムの血中濃度は、骨を緩衝として低濃度かつ厳密に調節されている(木戸ら, 2001)。シカ類においても血中総カルシウムが年間を通してほとんど変動せず、角の伸長と連動した上昇のないことはオジロジカ(KLINGER *et al.*, 1986)、トナカイ(BAKSI and NEWBREY, 1988; BAKSI and NEWBREY, 1989)で報告されている。したがって、わずかずつ代謝された海綿骨および皮質骨が角の伸長に必要なカルシウムの主な供給源であった場合、角の伸長期における雄ジカは骨そしょう症のような状態になっていることが予想される。しかし、シカ類のカルシウム代謝に関する報告は少なく、骨代謝モデル動物としての有用性も明らかにされていない。また、角の形成時期における骨代謝を明らかにすれば、養鹿の生産品である鹿茸増産にも寄与する可能性がある。

そこで本研究はわが国における養鹿の対象種として有望視されているニホンジカの最大亜種エゾシカで角の形態と生化学的骨代謝マーカーを1年間にわたって観察し、角の伸長と骨代謝の関係について考察した。

材料と方法

供試動物はエゾシカ(*Cervus nippon yesoensis*)の成熟雄3頭とした。実験開始時の年齢はNo.1が9歳、No.2が8歳、No.3が5歳であった。これらの個体は東京農業大学生物産業学部の家畜繋養施設(北緯44度)にて、自然光の条件で飼育した。給餌は8-9時および15-16時の朝夕2回行った。粗飼料としては乾草を通年飽食量給与し、夏季には青刈りのイネ科およ

びマメ科牧草、冬季にはクマイザサの給与も行った。濃厚飼料は豆腐粕、規格外小麦および圧片エンバクを用い、適量を通年給与した。飲水は自由摂取とした。

2001年4月から2002年3月の毎月下旬(20日から末日の間、午前中)にシカを不動化し、角の形態観察および採血を行った。不動化はセラクタル2%注射液(バイエル)の2mlを吹き矢で1-3回投与して行った。

角の形態は落角の時期、剥皮の時期、各枝角の出現時期、枝角全体の長さ(両側のメインビームの長さとは各枝角の長さを合計して算出)を観察した。メインビームの長さは、角の付根から主幹の先端部までの内側を測定した。枝角は下から順に第1枝、第2枝、第3枝とし、それぞれの分岐部から先端部までの内側を測定した。

採血は生化学検査用の真空採血管(VP-ASO7660, テルモ)を用い、頸静脈から行った。採取した血液は常法により血清を分離し、血清中の総カルシウム、イオン化カルシウム、アルカリフォスファターゼ(ALP)、骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (活性型ビタミンD)を測定した。これら生化学的骨代謝マーカーの測定は、道東臨床検査センターに依頼した。

結果および考察

供試した3個体は同じ角の成長パターンを示した(Fig. 1)。前年度の角は4月に落角し、同月に出現した新しいメインビームは8月までの4ヶ月間伸長した。第1枝は5月、第2枝は6月、第3枝は7月に出現し、各枝角は出現後1ヶ月以内に伸長を終えた。最終的にNo.1およびNo.3の両側、No.2の右側は3又4尖、No.2の左側は2又3尖の枝角を形成した。エゾシカの雄は3歳以上になると、ほぼすべての個体が3又4

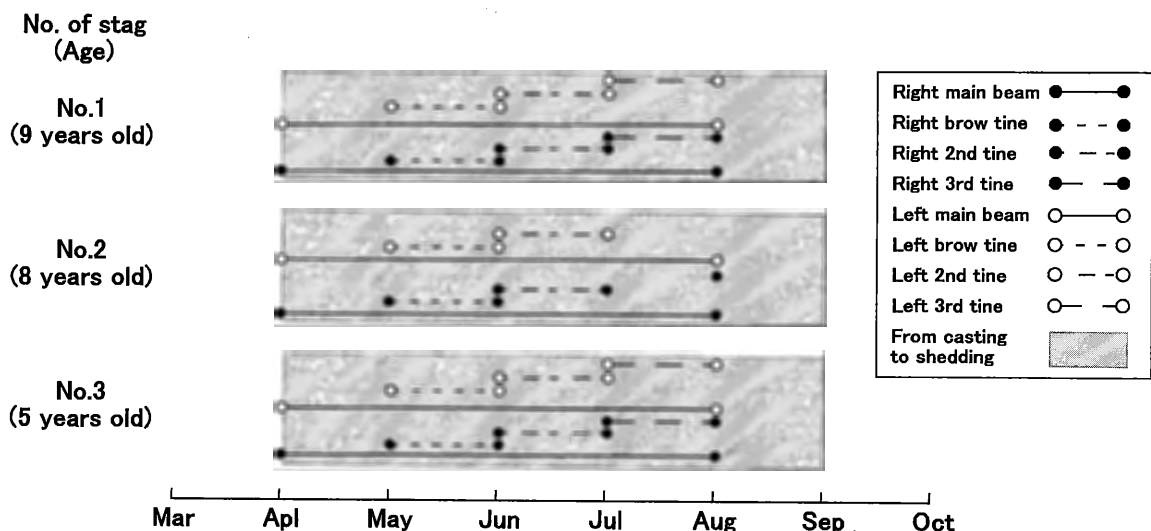


Fig. 1 Pattern of antler growth for three stags in 2001. Each line shows growth period for main beam or tines. Line means antler growth over 1 cm in a month.

尖の枝角を形成する (大泰司, 1986; 梶, 1988). No. 2 は 4, 6 および 7 歳時に右側 3 又 4 尖, 左側 2 又 3 尖, 5 歳時に両側 2 又 3 尖の枝角を形成しており, 同個体の左側における第 3 枝の形成不全は先天的なものと思われた. 袋角の剥皮は, メインビームと第 3 枝が伸長を終えた 1 ヶ月後の 9 月に観察された. 本研究で観察された角の成長パターンは, 野生個体における報告 (大泰司, 1986; 梶, 1988) と一致していた. エゾシカにおける角の成長パターンは, 飼育個体と野生個体で差のないことが示された.

枝角全体の長さの平均値は 8 月に最大値 (182 cm) を記録し, 9 月に剥皮によるわずかな減少を示した (Fig. 2). また, 当月に記録した枝角全体の長さから前月に記録した枝角全体の長さの引き, 枝角全体で 1 ヶ月間に伸長した長さを算出した (Fig. 2). その長さの平均値が最大値を記録したのは 6 月であり (72 cm), 次いで高値を記録したのは 7 月 (56 cm) であった. すなわち, エゾシカの枝角は, 5 月から 6 月にかけてもっとも伸長することが明らかとなった. この時期はメインビーム, 最大の枝角である第 1 枝が伸長, 次いで長い枝角の第 2 枝が出現したため, 最大値を記録したと思われる. 8 月から 9 月にかけては袋角が剥皮したため, 枝角全体で 6 cm の長さが減少した.

血清中の平均総カルシウム濃度と平均イオン化カルシウム濃度は, 年間を通してほとんど変動しなかった (Fig. 3 上段). また, 血清中における総カルシウムのほとんどは, イオン化カルシウムであった. 遊離のイオン化カルシウムはホルモンなどの作用によって厳密な濃度調節を受け, 神経・筋肉の興奮性など細胞機能の維持に重要な役割を果たしている (木戸ら, 2001). エゾシカの血中イオン化カルシウム濃度も他の哺乳動物と同様に厳密な調節を受けて非常に狭い範囲で維持されており, その結果として血中総カルシウムとイオン化カルシウムが高い恒常性を示すものと思われた.

血清中の平均 ALP 活性は 5 月から 8 月にかけて上昇し, 9 月には急激に減少して, その後はほぼ一定値を示した (Fig. 3 中段). 平均 BAP 活性は ALP とほぼ同じ変動を示したが, 6 月から 8 月にかけてはほぼ一定の高値を示した (Fig. 3 中段). 本研究における血清

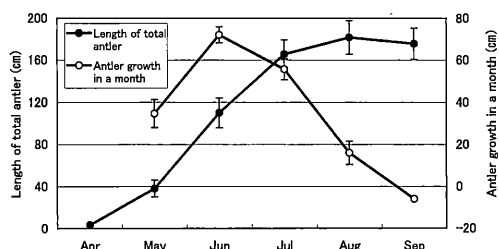


Fig. 2 Antler growth from April to September in 2001 in three stags (mean $\pm$ S.E.). Length of total antler means the sum total of length of main beam and tines.

ALP 活性の変動は, 7 月または 8 月にピークを示した過去の観察結果 (竹岡ら, 2000) を裏付けるものであった. ALP は骨, 腎臓, 肝臓などに由来する非特異的なアイソザイムであるが, 成熟動物の血清 ALP は肝臓性のものが主体を占めるとされている (KRAMER, 1991). 一方, BAP は骨由来の ALP であり, 骨端が閉塞されていない成長期の動物では血清 ALP の主体をなすことが知られている (KRAMER, 1991). しかし, 本研究で供試した個体はすべて成体期であり, すでに成長を終えて骨端が閉塞していると思われる. また, 骨以外の歯根膜, 歯髄, 歯肉における ALP も骨型であること (GOSEKI, *et al.*, 1999), アカシカでは袋角の伸長部で強い ALP 活性が検出されていること (PRICE, *et al.*, 1994) を考えると, 本研究で 6 月から 8 月にかけて高値を示した血清 BAP は袋角の伸長部に由来したものであると思われる. BAP がこの期間にほぼ一定の高値を示した理由は, 各枝角がほぼ 1 ヶ月で伸長を終えるため, 急激な伸長を示す部位が絶えずメインビームの先端と枝角 1 本の先端に限定されたためと思われる.

血清中の平均活性型ビタミン D 濃度は 5 月から 7 月にかけて上昇して最高値 60.3 pg/ml を記録し, 8 月と 9 月に 40 pg/ml 程度を維持した後, 低下するパターンを示した (Fig. 3 下段). 活性型ビタミン D はカルシウム代謝ホルモンの 1 つであり, 小腸におけるカルシウム吸収の促進, 腎臓におけるカルシウム再吸収の促進による間接的な骨形成促進, 骨芽細胞の刺激に

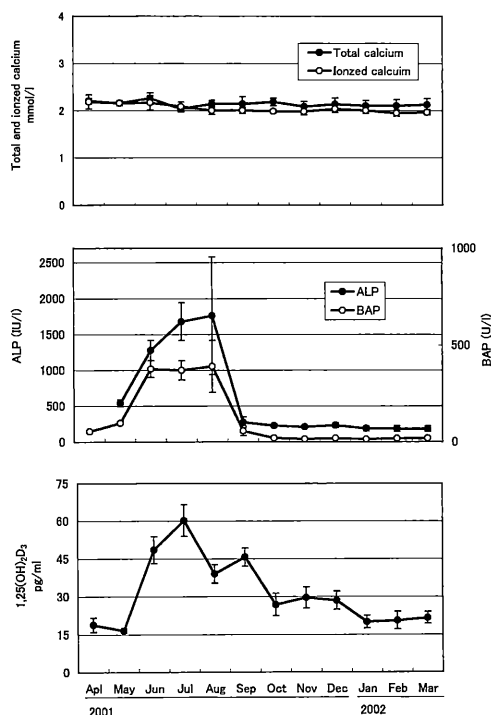


Fig. 3 Seasonal changes in serum ALP, BAP, total and ionized calcium and 1,25(OH)₂D₃ in three stags from April 2001 through March 2002 (mean $\pm$ S.E.). ALP activity in April was not available.

よる直接的な骨形成促進、破骨細胞の生成促進による直接的な骨吸収促進の作用があるとされている(西井, 2001; 宇田川, 2001). このように活性型ビタミンDの作用は、生体がおかれている状況に依存して多面的に応答する特徴がある。袋角が伸長している6月から8月における活性型ビタミンDの高値は、角を形成するための小腸・腎臓におけるカルシウム吸収促進、破骨細胞による骨塩動因を反映したものと思われる。また、袋角が伸長を終えた9月における活性型ビタミンDの高値は、骨塩動因を補償するための小腸・腎臓におけるカルシウム吸収促進、骨芽細胞への作用を反映したものと思われる。したがって、9月の雄エゾシカは骨塩動員により、骨そしょう症のような状態になっている可能性がある。しかし、このことを証明するためには、骨吸収マーカー、骨密度、骨のカルシウム含量、骨の硬組織標本、カルシウム出納などの観察が必要と思われた。

以上より、エゾシカの雄においては生化学的骨代謝マーカーのALP, BAP, 活性型ビタミンDに周年変動があり、その変動は角の伸長に関係することが推測された。

文 献

- BAKSI, S. N. and NEWBREY, J. W. (1988) Plasma calcemic hormones in mature female reindeer (*Rangifer tarandus*). Gen. Comp. Endocrinol., **69**: 262-266.
- BAKSI, S. N. and NEWBREY, J. W. (1989) Bone metabolism during antler growth in female reindeer. Calcif. Tissue Int., **45**: 314-317.
- CAPEN, C. C. and ROSOL, T. J. (1991) 獣医臨床生化学〈第4版〉"カルシウム調節ホルモンおよび無機質(カルシウム, リン, マグネシウム) 代謝異常疾患の項執筆" (久保周一郎・友田 勇 監訳). 682-754. 近代出版. 東京.
- GOSEKI-SONE, M., IIMURA, T., TAKEDA, K., NIFUJI, A., OGATA, Y., YANAGISHITA, M. and OIDA, S. (1999) Expression of mRNA encoding tissue-nonspecific alkaline phosphatase in human dental tissue. Calcif. Tissue Int., **64**: 160-162.
- 石田光晴・目黒 淳・池田昭七・武田武雄 (1995) ニホンジカの肉、乳および鹿茸の無機成分. 宮城農短大報, **43**: 91-94.
- 梶 光一 (1988) 知床の動物"エゾシカの項執筆". (大泰司紀之・中川 元 編著). 155-180. 北海道大学図書刊行会. 札幌.
- 木戸慎介・井上大輔・松本俊夫 (2001) カルシウムと骨"骨内外のイオン移動とミネラルの恒常性の項執筆" (西井易穂・森井浩世・江澤郁子・小島 至 編集). 85-87. 朝倉書店. 東京.
- KLINGER, S. R., ROBEL, R. J., BROWN, B. A. and BRENT, B. E. (1986) Blood characteristics of white-tailed deer from northeastern Kansas. J. Wildl. Dis., **22**(3): 385-388.
- KRAMER, J. W. (1991) 獣医臨床生化学〈第4版〉"臨床酵素学の項執筆" (久保周一郎・友田 勇 監訳). 341-365. 近代出版. 東京.
- 西井易穂 (2001) カルシウムと骨"カルシウム代謝調節ホルモンの概要の項執筆" (西井易穂・森井浩世・江澤郁子・小島 至 編集). 160-163. 朝倉書店. 東京.
- 大泰司紀之 (1986) ニホンジカにおける分類・分布・地理的変異の概要. 哺乳類科学, **53**: 13-17.
- PRICE, J. S., OYAJOB, B. O., OREFFO, R. O. and RUSSELL, R. G. G. (1994) Cells cultured from the growing tip of red deer antler express alkaline phosphatase and proliferate in response to insulin-like growth factor-I. J. Endocrinol., **143**(2): R9-16.
- 竹岡 亮・亀山祐一・石島芳郎 (2000) 飼育下におけるエゾシカ (*Cervus nippon yezoensis*) 雄の血液性状. 北畜会報, **42**: 25-28.
- 辻井弘忠・鄒 俊毅 (1988) 台湾における鹿の飼養管理. 畜産の研究, **42**: 1284-1288.
- 宇田川信之 (2001) カルシウムと骨"骨の項執筆" (西井易穂・森井浩世・江澤郁子・小島 至 編集). 198-200. 朝倉書店. 東京.
- 横濱道成・亀山祐一・増子孝義・小松輝行・橋詰良一・石島芳郎 (1991) エゾシカの資源的価値に関する調査. 東京農大農学集報, **35**: 185-191.

原 著

酪農場の糞尿処理過程と飼料生産過程における窒素負荷の評価

猫本 健司²・鈴木 一好¹・長田 隆¹・干場 信司・河上 博美

大川 典子・森田 茂・松本 光司²

酪農学園大学酪農学科, 江別市 069-8501

¹独立行政法人農業技術研究機構, つくば市 305-8517

²オー・アンド・アール技研, 札幌市 065-0951

Evaluation of the nitrogen load from manure handling and feed production in dairy farm

Kenji NEKOMOTO², Kazuyoshi SUZUKI¹, Takashi OSADA¹, Shinji HOSHIBA, Hiromi KAWAKAMI, Noriko OKAWA, Shigeru MORITA and Koji MATSUMOTO²

Department of Dairy Science, Rakuno Gakuen University, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501

¹National Agricultural Research Organization, Tsukuba, Ibaraki 305-8517

²Organic & Recycled Technologies Laboratory INC., Miyanomori Chuoku, Sapporo, Hokkaido 064-0951

キーワード：窒素負荷, 糞尿処理, 飼料生産, 酪農場

Key words : nitrogen load, manure handling, feed production, dairy farm

Abstract

Five farms having different manure handling system, two composting systems (farm A and B), two aerobic liquid treatment systems (farm C and D) and one anaerobic liquid treatment system (farm E), were investigated to understand the situation of the nitrogen load at each dairy farms. Investigating the nitrogen flow in manure handling by simple chemical analysis of the wastes, the total nitrogen load obtained by farm gate balance method was classified into two categories: nitrogen load in the process of manure handling and that of feed production.

The total nitrogen loads at farm A-E were 140, 270, 310, 220 and 120 [kgN/(ha・year)], respectively. The ratios of the nitrogen load caused by manure handling to the total nitrogen load at farm A-E were 29, 59, 16, 9 and 6%, respectively. These results show the conditions of the manure handling system would influence seriously to the situations of the nitrogen load. On the other hand, the nitrogen loads per cow caused by manure handling at farm A-E were 23, 68, 9, 11 and 4 [kgN/cow・year], respectively. From the results mentioned above, the reasons for comparatively high total nitrogen load can be said to be fully fermented composting at Farm B, high density of cows per hectre at Farm C and method of spreading composted manure at Farm D.

The analytical methods in this study can be utilized for estimating the factors related to nitrogen load without detailed investigation on nitrogen flow in a dairy farm.

要 旨

異なる糞尿管理方式をもつ5酪農場(堆肥処理×2, 曝気処理×2, 嫌気処理×1)にて, 窒素負荷量の調査を行った. 家畜糞尿の化学分析を実施することに

よって, ファーム・ゲート・バランス法で算出した酪農場全体の窒素負荷量を, 糞尿処理過程で発生したものと, 飼料生産過程から発生したものとに分類し, それぞれ比較評価を行った. 各酪農場の全体から発生した単位面積あたりの窒素負荷量は, A~E酪農場の順にそれぞれ140, 270, 310, 220, 120[kgN/(ha・year)]となり, そのうち, 糞尿処理過程で発生した窒素負荷

量の割合は、同、29, 59, 16, 9, 6%となった。このことから、糞尿管理方式は窒素負荷量の増減に大いに影響することが示唆された。一方、糞尿処理過程で発生した窒素負荷量を1頭あたりでみると、A～E酪農場の順にそれぞれ23, 68, 9, 11, 4 [kgN/(cow・year)]であった。これらの結果からみて、B酪農場では堆肥処理が、C酪農場では飼養密度の高さが、D酪農場では糞尿の使い方が、それぞれ窒素負荷量を高めた原因として考えることができた。

本研究の手法により、酪農場内にて厳密な窒素収支の調査を行うことなく、窒素負荷の発生要因をおおまかに捉えることが可能となり、環境負荷の原因やその対策を考える上での一助になると思われた。

緒 言

近年、日本の畜産は輸入穀物飼料を大量に消費し、それにともない家畜糞尿による様々な汚染の問題が露呈している。環境問題に対する関心の高まりもあって、酪農生産においても物質収支や窒素負荷等に関する研究を進め、対策を講じることが急務である。

窒素負荷量を求める一手法であり、EU諸国で用いられるファーム・ゲート・バランス法（オランダ農水環境省、2001）は、系の外部から投入された窒素量から、生産物として系の外部へ流出する窒素量を差し引くもので、データが揃えば比較的容易に窒素負荷量を算出できる。干場ら（2001）はファーム・ゲート・バランス法に類似した手法で、一町村のすべての酪農場における窒素負荷量の算定を試みている。しかし、この方法では、酪農場内部における窒素負荷の発生原因を把握しづらいことが指摘できる。

一方、MATSUMURA（1999）や松中（2001）は、特定の酪農場内における窒素の収支を項目毎に細かく調

査し、細部に至る基礎数値を提供している。これらのデータからみて酪農場では、主に糞尿処理と飼料生産に関わる窒素の収支が、窒素負荷量に大きく影響することが推察できる。しかしながら、窒素の収支の調査には相当の労力を要するため、調査事例は少ないのが現状である。

そこで、本研究では、より多くの事例において、窒素負荷量とそのおおまかな発生要因を把握するために、ファーム・ゲート・バランス法に準じた手法と糞尿処理に関係した簡易な分析から、酪農場全体の窒素負荷量を、糞尿処理過程で生じたものと、飼料生産過程で生じたものとに分類して定量する方法を提案し、その適用例を紹介する。

方 法

調査対象酪農場

北海道の石狩管内と十勝管内に位置する、異なる糞尿管理方式をもつ5酪農場を調査対象とした。各酪農場の経営概要と糞尿管理方式をFig. 1に示す。

D酪農場のみ繋ぎ飼いで飼養であり、他の4酪農場はすべてフリーストール飼養である。糞尿処理に関しては、A酪農場とB酪農場は糞尿の全量を堆肥化し、B酪農場はハウス攪拌乾燥装置を備えている。C酪農場では固液分離した液分を、D酪農場では糞尿分離した液分をそれぞれ曝気処理している。E酪農場では全ての家畜糞尿をバイオガスプラントにて嫌気処理している。耕地面積あたりの飼養頭数（以下、飼養密度と記す）は、C酪農場が5.6[頭/ha]、B酪農場が2.6[頭/ha]で、他の3酪農場（1.7～1.8[頭/ha]）より明らかに高い。なお、A酪農場とC酪農場では、堆肥の一部を畑作農場等に譲渡している。

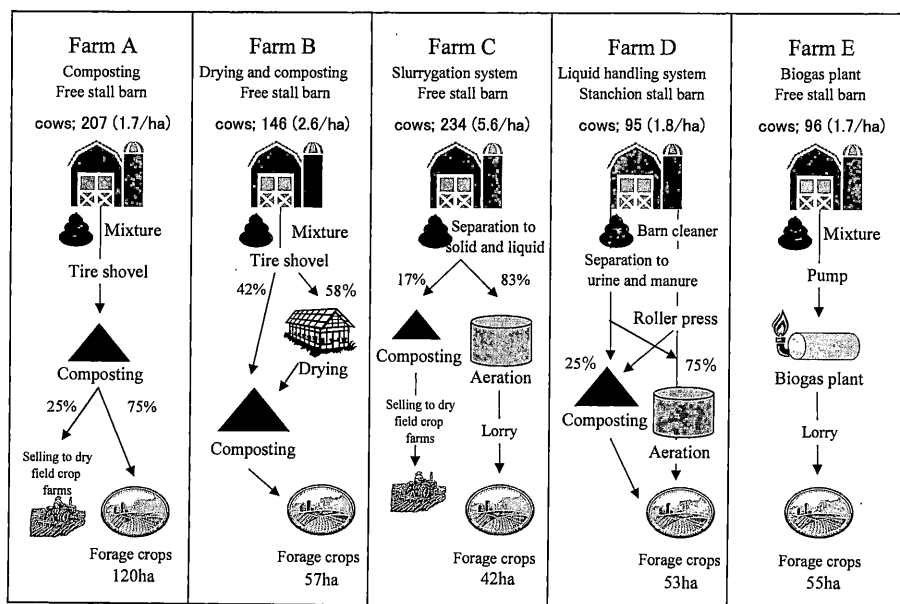


Fig. 1 Dairy housing systems and manure handling systems in five farms

酪農場全体における窒素負荷量の調査方法

本研究では、干場ら（2001）の方法に準じて、酪農場に外部から投入された「流入窒素量」から、生産物として外部へ産出された「産出窒素量」を差し引いた、いわゆる酪農場で有効に利用されなかった窒素量を「酪農場全体における窒素負荷量」と定めた（Fig. 2）。

流入窒素量に関する調査項目は、購入飼料、肥料、敷料に含まれる窒素量とマメ科牧草による窒素固定量とし、産出窒素量に関する調査項目は、販売生乳、個体販売頭数、販売堆肥の量と窒素含有率とした。

購入飼料と化学肥料および販売生乳に含まれる窒素量は、個人別乳牛飼養実態調査（年間生乳生産量・年間平均乳蛋白率）および農業協同組合の組合員勘定をもとに算出し、マメ科牧草による窒素固定量と乳牛個体に含まれる窒素量については、猫本ら（2002）の方法にしたがって文献値から推測した。また、畑作農場等から受け入れた敷料（麦秆）や畑作物粕類からなる飼料（ビートパルプとスイートコーン粕）および畑作農場等へ譲渡した堆肥に含まれる窒素量については、聞き取りと現物のサンプリングおよび化学分析から求めた。なお、窒素の分析方法は、環境庁の JIS K 0102 45 によった。

糞尿処理過程における窒素負荷量の評価方法

本研究では、家畜糞尿が牛舎から搬出されてから、飼料畑へ運ばれる前までに、家畜糞尿から失われた窒素量を「糞尿処理過程における窒素負荷量」と定義した（Fig. 2）。

今回調査した5酪農場では、家畜糞尿の投棄は行われていないため、糞尿の発酵や貯留時において揮散や流亡する窒素量に着目し、数値は以下の式で算出した。

「糞尿処理過程における窒素負荷量」

= [処理前の重量 × 処理前の窒素含有率]

− [処理後の重量 × 処理後の窒素含有率]

窒素含有率を調べるために、牛舎から搬出直後または

は固液分離・糞尿分離直後の現物と、畑へ施用する前または畑作農場等へ譲渡する前の現物をそれぞれ季節毎にサンプリングした。

窒素量の計算に必要な家畜糞尿の重量は、以下のよう求めた。牛の排泄重量については、家畜排泄物の処理・利用の手引き（1978）の数値を用いた。糞尿を固体と液体に分離している場合は、その分離割合を算定するために、分離前の糞尿および分離後の固体と液体のそれぞれをサンプリングして全蒸発残留物を測定した。なお、算定した分離割合は Fig. 1 中に示した。また、発酵・分解により減量する堆肥処理の場合は、堆肥に含まれる強熱残留物（灰分）が分解せず不変であると仮定の上、化学分析により処理前後における現物中の強熱残留物の含有率を求め、それらの数値から堆肥重量の減量を算定した。

一方、液体の場合は、分析精度上、強熱残留物の含有率から減量を求めるのは困難である上、現地では処理前後で体積の変化がほとんどなかったため、本調査では液量の減量はないものとみなした。なお、全蒸発残留物と強熱残留物の分析は、JIS K 0102 14 により行った。

飼料生産過程における窒素負荷量の評価方法

本研究では、家畜糞尿が貯留施設から飼料畑へ運ばれる時点から、収穫された飼料作物が牛体に採食されるまでの間に失われた窒素量を、「飼料生産過程における窒素負荷量」と定義した（Fig. 2）。この過程に関する細かな調査や分析は行わず、窒素負荷量は以下の式により求めた。

「飼料生産過程における窒素負荷量」

= 「酪農場全体における窒素負荷量」

− 「糞尿処理過程における窒素負荷量」

飼料生産過程における窒素負荷量には、飼料畑にて揮散・流亡・蓄積した窒素量のほか、家畜糞尿や自給飼料の運搬、サイレージ調整および給餌時にロスした

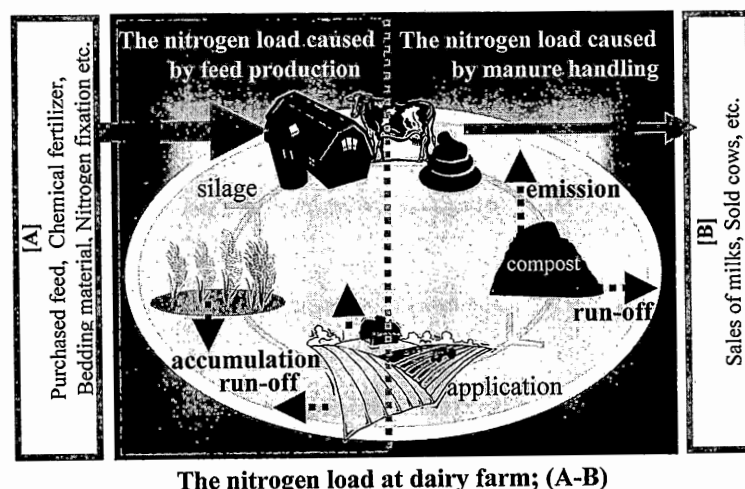


Fig. 2 Schematic diagram of the nitrogen load in this study

窒素量などが含まれる (Fig. 2).

結 果

酪農場全体における窒素負荷量

調査対象酪農場における、単位面積あたりでみた流入窒素量は、A～E酪農場の順にそれぞれ240, 390, 620, 280, 200 [kgN/(ha・year)]であり、産出窒素量はそれぞれ110, 110, 310, 62, 83 [kgN/(ha・year)]であった。

流入窒素量の内訳は、化学肥料による窒素量が、A～E酪農場の順にそれぞれ68, 61, 120, 72, 24[kgN/(ha・year)]であり、購入飼料による窒素量はそれぞれ170, 310, 460, 190, 110 [kgN/(ha・year)]となり、上記以外（敷料や窒素固定など）による窒素量はそれぞれ8, 14, 50, 23, 67 [kgN/(ha・year)]であった。

産出窒素量の内訳は、販売生乳と個体販売による窒素量が、A～E酪農場の順にそれぞれ80, 98, 220, 62, 84 [kgN/(ha・year)]であり、耕種農家等へ譲渡した堆肥などに含まれる窒素量はそれぞれ27, 16, 86, 0, 0 [kgN/(ha・year)]であった。なお、DおよびE酪農場では、堆肥を外部へ譲渡していなかった (Fig. 3)。

飼養密度が高いBおよびC酪農場における単位面積あたりの流入窒素量は、他の3酪農場に比べて明らかに高い。一方、E酪農場では、飼養密度が特に低い

けではないが、化学肥料および購入飼料による流入窒素量が比較的低く、低投入型の経営である傾向が認められた。

一方、単位面積あたりの産出窒素量は、飼養密度が高いBおよびC酪農場や、耕種農家等へ堆肥を譲渡しているAおよびC酪農場において高まる傾向が認められた。なお、販売生乳や個体販売に含まれる窒素量は、成牛1頭あたりでみると、いずれの酪農場でも35～48 [kgN/(cow・year)]の範囲であり、生産物に含まれる産出窒素量には著しい差がなかった。

流入窒素量から産出窒素量を差し引いて算出した酪農場全体における窒素負荷量は、A～E酪農場の順にそれぞれ140, 270, 310, 220, 120 [kgN/(ha・year)]となり、必ずしも飼養密度に比例して窒素負荷量が高まる傾向ではなかった。

そこで、糞尿処理過程および飼料生産過程における窒素負荷量の比率を各酪農場で比較してみると、Fig. 4に示すようにかなりのばらつきが認められ、糞尿処理や飼料生産の状況が窒素負荷量に少なからず影響している可能性が示唆された。

糞尿処理過程における窒素負荷量

家畜糞尿量は飼養頭数に応じて増加するため、糞尿処理過程における窒素負荷量は、成牛1頭あたりの数

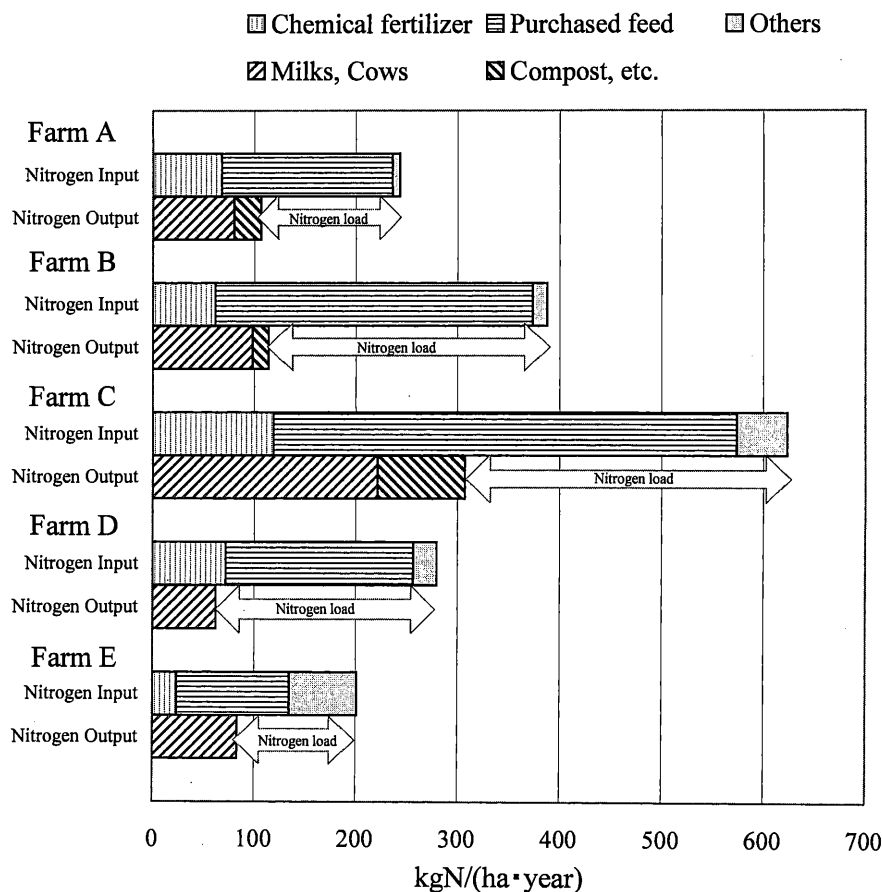


Fig. 3 Nitrogen input and output at each farm

値で比較してみた。各酪農場における値は、A～E酪農場の順にそれぞれ 23, 63, 9, 11, 4 [kgN/(cow・year)] となった (Fig. 5)。

家畜糞尿の全量を堆肥化もしくはハウス内で攪拌乾燥を行う A および B 酪農場において、糞尿処理過程で比較的多くの窒素量が家畜糞尿から失われた。分離した液分の曝気処理が主体である C や D 酪農場の糞尿処理過程では、堆肥処理の A や B 酪農場に比べて窒素負荷の発生が低く、家畜糞尿の全量をバイオガスプラントで嫌気処理する E 酪農場では、糞尿処理過程における窒素負荷量が最も低く抑えられた。

飼料生産過程における窒素負荷量

飼料生産過程における単位面積あたりの窒素負荷量は、A～E 酪農場の順にそれぞれ 97, 110, 270, 200, 110 [kgN/(ha・year)] となった (Fig. 6)。

飼料生産過程における C 酪農場の窒素負荷量が高かったのは、飼養密度の高さから、単位面積あたりの流入窒素量が多くなったためであると推察される。一方、B 酪農場において飼養密度が比較的高いわりに飼料生産過程の窒素負荷量が A や E 酪農場と同程度に抑えられたのは、糞尿処理過程で比較的多くの窒素量が失われたことにより、飼料生産に対する窒素の投入量が低く抑えられたためであると思われる。また、飼養密度が比較的低い D 酪農場の飼料生産過程において窒素負荷量が高い理由としては、含水率の高い糞尿を秋

に施用したため窒素分の流亡が多かった等、貯留施設から運び出した糞尿の使い方に起因する窒素ロスを原因の一つとして挙げるができる。

考 察

個々の酪農場にて窒素の収支を細かく調べることは労力的に困難である。一方、ファーム・ゲート・バランス法に準じて流入窒素量と産出窒素量を定量すれば、細かな現地調査をとまわずに酪農場全体の窒素負荷量を把握することができる。しかしながら、窒素の利用率を高めたり、窒素負荷量を削減するための対策を考える上での情報は十分と言えない。

本研究では、酪農場全体の窒素負荷量を調査するとともに、簡易な分析により糞尿処理過程における窒素負荷量を求め、酪農場内における窒素負荷量の発生要因をおおまかに推定することができた。例えば、窒素負荷量が比較的高かった B～D 酪農場に関しては、B 酪農場では糞尿の乾燥堆肥化の際に窒素負荷の発生が高まっており、C 酪農場では飼養密度の高さに起因して、D 酪農場では糞尿の使い方に起因して飼料生産過程での窒素負荷の発生が高まっている可能性を示唆することができた。

しかしながら、家畜糞尿を投棄している場合や牛舎内およびその周りでの窒素ロスが大きい事例に対して本手法を適用した場合、計算上、飼料生産過程の窒素負荷量が高く算定されてしまうため、このことは今後の検討課題として残される。

なお、糞尿処理過程だけに着目すると、堆肥処理による窒素負荷の発生量が高まっている傾向がみられたが、その一方、TAMURA *et al* (2001) は堆肥の流通により形成される地域内循環が酪農場の窒素負荷量を低減すると報告している。このことから、畜産施設から発生する窒素負荷を検討する際は、個別の農場だけでなく地域全体の窒素の収支も考慮することが必要と考えられ、今後、研究を進める予定である。

参考文献

中央畜産会 (1978)：家畜排せつ物の処理・利用の手引

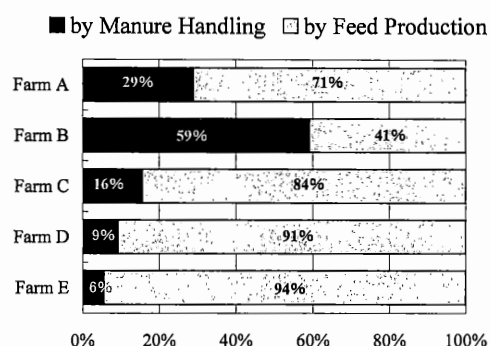


Fig. 4 The contents of the amount of the nitrogen load at each dairy farm

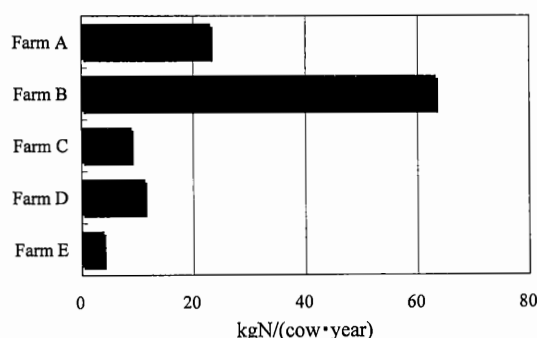


Fig. 5 The nitrogen load caused by manure handling at each dairy farm

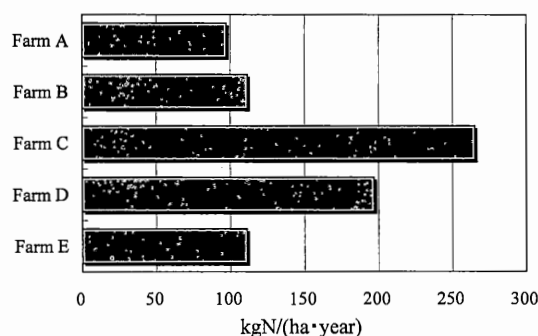


Fig. 6 The nitrogen load caused by feed production at each dairy farm

き, 2.

干場信司・河上博美・森田茂・野田哲治・池口厚男
(2001): 酪農生産システムの複合的評価指標の提案
—— 経営的収益性・窒素負荷量・投入化石エネルギー
による総合的評価, 農業施設, 32(3), 1-6.

MATSUMURA S. (1999); Material circulation in farm
land-balance of materials contained in livestock
manure-, Conference on group management of
dairy cows based on resource circulation,
National grassland research institute, 35-40.

松中照夫(2001): 酪農場の土壌を巡る窒素循環 —— 北
海道におけるふん尿問題 ——, 酪農ジャーナル, 54
(10), 62-63.

猫本健司・干場信司・河上博美・森田 茂・池口厚男
(2002): 経済的収益性・投入化石エネルギー量およ
び窒素負荷量による北海道の一酪農場の総合的評
価, 農業施設, 33(1), 21-26.

TAMURA A., HOSHIBA S., KAWAKAMI H., MORITA
S., NEKOMOTO K. and NODA T. (2001): Compari-
son on nitrogen load in dairy farms between two
districts in Hokkaido and three countries, Green-
house gases and animal agriculture GGAA2001,
297-300.

The Dutch Ministry of Agriculture, Nature Man-
agement and Fisheries(2001): Manure and the
environment, 9-11.

研究ノート

0.3%アンモニア処理したとうもろこしの
サイレージ発酵過程における微生物相

阿部 英則

北海道立畜産試験場 (081-0038 北海道新得町字新得西5線39)

A Change of Microbial Population during Silage Fermentation
of Whole-Crop Corn Treated with 0.3% Ammonia

Hidenori ABE

Hokkaido Animal Research Center, Shintoku-cho, Hokkaido, 081-0038, Japan

キーワード: アンモニア処理, とうもろこしサイレージ, 微生物相

Key words: Ammoniation, Corn silage, Microbial population

緒 言

サイレージ用とうもろこしをサイレージ調製前にアンモニア (NH_3) 処理して, 発酵品質を高める検討が多くなされている。それによると, NH_3 処理することで乳酸含量が増加したという報告例が多い (HUBER and SANTANA, 1972; HUBER ら, 1979; JOHNSON ら, 1982)。これらの場合の NH_3 処理濃度は原物重当たり 0.17~0.89% である。

一方, 糖含量の高い早刈り牧草を NH_3 処理すると有害物質が生成し, 中毒症状を示す場合があるとされ, 農林水産省では牧草に対する NH_3 処理を控えるよう指導している (農林水産省畜産局流通飼料課長・自給飼料課長, 平成4年6月22日付け通達)。この懸念はとうもろこしについても考えられ, アメリカ合衆国のガイドラインではとうもろこしに対する NH_3 処理は 0.3% 以下としている (萬田ら, 1996)。しかし, NH_3 処理したサイレージの微生物相の検討例は少ない (KUNG ら, 2000)。これらを検討することはなぜ乳酸が増すかを明らかにするだけでなく, サイレージ発酵過程における養分損失や開封後の好気的変敗の発生の推測や抑制に役立つものと考えられる。

本試験ではとうもろこしをサイレージ調製前に原物重当たり 0.3% の濃度となるように NH_3 処理し, その後のサイレージ発酵過程における微生物相について調べた。

方 法

旧北海道立滝川畜産試験場の圃場でとうもろこし晩生早種 (品種名 P3732) を栽培し, 播種 110 日後の黄熟期に刈り取り, 切断長 3 cm に設定した小型カッターで細切した。水分含量は 67.9% であった。これに原物重当たり NH_3 濃度が 0.3% となるように, アンモニア水を加えた。アンモニア水無添加 (無処理) と NH_3 0.3% 処理について, 実験用サイロである各 5 本の 1 L 容ポリビンに力を加えながら一杯に詰め, 密閉後に室温で静置した。詰め込み量は 700 g 前後であった。この 2 処理について詰め込み 3, 9, 17, 35, 50 日後にそれぞれ 1 本ずつ開封し, pH と微生物相を調べた。50 日後のサイレージについては乳酸含量と乾物損失率も測定した。乾物損失率は詰め込み時と 50 日後の乾物量の差から求めた。なお, 無処理材料について微生物相, pH を測定し, これを NH_3 およびサイレージ処理前の詰め込み時 (0 日) の値とした。

微生物は *Lactobacilli*, *Streptococci*, 好気性グラム陰性細菌, 酵母, 糸状菌を測定した。*Lactobacilli* は変法 LBS 寒天培地 (光岡, 1980) を用い, ガスパック (BBL 社) を用いた嫌気ジャーで 32°C, 3 日間嫌気培養した。この際, いずれの培養についてもコロニーを無作為にグラム染色したところ, ほとんどがグラム陽性桿菌であった。*Streptococci* は TATAC 寒天培地 (光岡, 1980) を用い, 32°C で 2 日間培養した。好気性グラム陰性細菌は酵母エキス, トリプトンにクリスタルバイオレットを添加した寒天培地 (大山ら, 1970) を用い, 32°C で 2 日間培養した。酵母と糸状菌はポテトデキストロース寒天培地 (光岡, 1980) を用い, 25°C で 3 日間

培養した。

上記の微生物数の測定はいずれも希釈平板法で行った。

また、サイレーシ 70 g に水 140 ml を加えて、24 時間冷蔵庫に静置後、ガーゼでろ過し、ろ液の pH と乳酸含量を測定した。pH は pH メータを用い、乳酸は BARKER and SUMMERSON 法 (森本, 1971) で測定した。

結 果

サイレーシ発酵過程における pH の変化を図 1 に示した。無処理では pH は詰め込み後すみやかに低下して、3 日後以降は 3.5 前後に保たれた。NH₃ 処理した場合は 3 日後の pH は高かったが、その後すみやかに

低下し、9 日後以降は 4 以下に保たれた。

Lactobacilli, *Streptococci*, 好気性グラム陰性細菌、酵母の菌数のサイレーシ発酵過程における変化を図 2 に示した。なお、図では微生物が検出されない場合の logCFU/g を 2 とした。*Lactobacilli* については、無処理は詰め込み 3 日後で菌数が 9.4 と最も高くなったが、その後は 8 前後で推移した。NH₃ 処理では詰め込み後ゆるやかに菌数が増し 17 日後には 9.8 に達し、その後低下したものの無処理を下回ることにはなかった。

Streptococci は *Lactobacilli* と同様に、詰め込み 3 日後までは無処理で菌数が高かったが、9 日後以降 NH₃ 処理の菌数が増して無処理を上回った。両処理ともその後菌数は低下し、35 日後では検出されなくなった。

好気性グラム陰性細菌は詰め込み後、無処理ではす

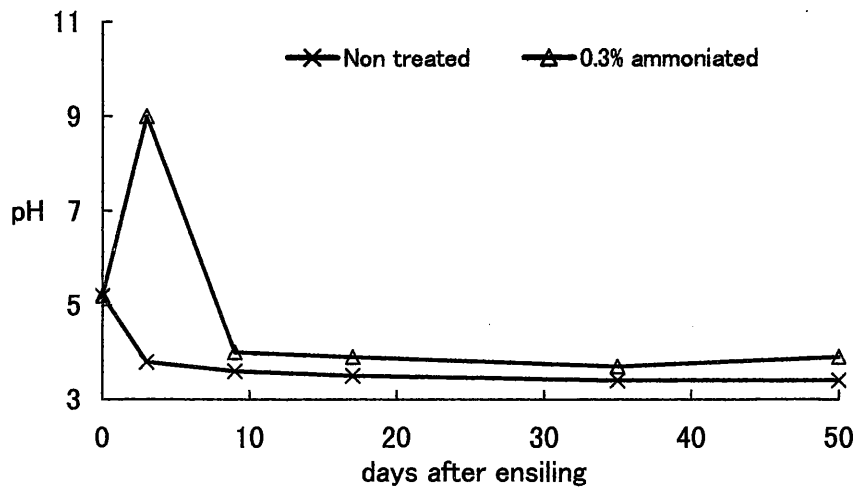


Fig. 1 Change of pH during silage fermentation

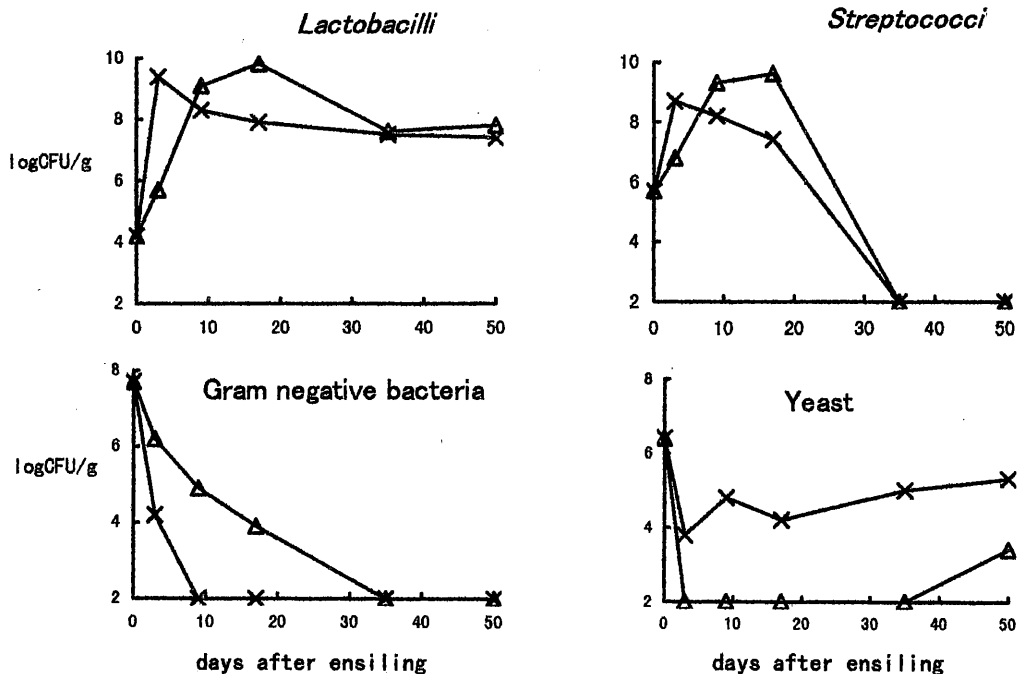


Fig. 2 Change of microorganisms during silage fermentation

—x— Non treated —Δ— 0.3% ammoniated

みやかに低下した。NH₃ 処理ではこれよりも遅れて低下したが、35 日後には検出されなくなった。酵母については、無処理の場合 3 日後の菌数は詰め込み時よりも低かったが、その後やや増し 9 日後以降は 5 前後で推移した。NH₃ 処理した場合は 3 日後以降は検出されなくなったが、50 日後にやや出現した。糸状菌 (図なし) は、無処理では 9 日後に、NH₃ 処理の場合は 3 日後には検出されなくなった。

表 1 に詰め込み 50 日後のサイレージの乳酸含量と乾物損失率を示した。乳酸含量は無処理、NH₃ 処理でそれぞれ 1.5 および 2.5 原物%であった。乾物損失率は NH₃ 処理が高い値であった。

Table 1 Lactic acid content and dry matter loss of silage at 50days after ensiling

	Lactic acid (FM%)	Dry matter loss (%)
Non treated	1.5	5.2
0.3% ammoniated	2.5	9.2

考 察

サイレージ調製の目的は嫌気的条件下を付与することで好気性微生物による損耗を防止すること、および嫌気的条件下で増殖する *Clostridia* による酪酸発酵を防止することにある (大山と森地, 1979)。これを達成するためには詰め込み直後における乳酸菌の急速な増殖とそれによる pH の低下が必要である。

無処理では乳酸桿菌、球菌ともすみやかに増殖したが、その後の菌数低下もすみやかであった。このことはサイレージ発酵過程では一般に観察されることであり、これは pH の急激な低下により乳酸菌の増殖が抑制されたためと考えられる。一方、NH₃ 処理では乳酸桿・球菌の増殖は遅れたが、無処理と比べては高い菌数が長く保たれた。HUBER and SANTANA (1972) は NH₃ 処理による乳酸の増加は NH₃ がサイレージの緩衝能を高めサイレージ発酵を持続させるためとしている。また、大山と柁木 (1968) は牧草サイレージ詰め込み時に炭酸カルシウムとグルコースを添加すると、pH はあまり低下しないものの乳酸が顕著に増えたとしている。本試験の結果はこれらを裏付けたものといえる。なお、*Clostridia* については pH4.2 以下では増殖しないとされ (内田, 1999)、NH₃ 処理の pH は 9 日以降は 4 以下であった。

好気性グラム陰性細菌は乳酸菌と競合するとされ (大山と柁木, 1968)、好気性菌の指標と考えられるが、これは無処理ではすみやかに低下したのに反し、NH₃ 処理では乳酸菌の増殖が遅れたのに伴ってその低下もやや遅れた。このことと乾物損失率が無処理の 5.2%

に対し NH₃ 処理では 9.2%であることを考慮すると、本条件下ではサイレージ過程における乾物損失は抑制されず、むしろ無処理を上回ることが考えられた。このことは NH₃ 処理により乾物回収率は低下するという BOLSEN らの指摘 (KUNG ら, 2000) を裏付けるものである。

他方、酵母や糸状菌の増殖によって好気的変敗が発生するとされる (内田, 1999) が、本試験でも KUNG ら (2000) の報告と同様に、NH₃ 処理することでこれらの菌はすみやかに検出されなくなることから、好気的変敗の抑制が推測される。

このように、サイレージ用とうもろこしを NH₃ 0.3%処理してサイレージ化すると、乳酸桿菌、球菌の増殖が旺盛になって乳酸含量が高まることが明らかになった。また、この条件下ではサイレージ過程での乾物損失はやや高くなるものの、開封後の好気的変敗が抑制される可能性が推測された。

引用文献

- HUBER, J. T. and O. P. SANTANA (1972) Ammonia-Treated Corn Silage for Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, **55**, 489-493.
- HUBER, J. T., J. FOLDAGER and N. E. SMITH (1979) Nitrogen Distribution in Corn Silage Treated with Varying Levels of Ammonia. *J. Anim. Sci.*, **48**, 1509-1515.
- JOHNSON, C. O. L. E., J. T. HUBER and W. G. BERGEN (1982) Influence of Ammonia Treatment and Time of Ensiling on Proteolysis in Corn Silage. *J. Dairy Sci.*, **65**, 1740-1747.
- KUNG, JR. L., J. R. ROBINSON., N. K. RANJIT., J. H. CHEN., C. M. GOLT and J. D. PESEK (2000) Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid -Based Preservative. *J. Dairy Sci.*, **83**, 1479-1486.
- 萬田富治・村井 勝・山崎昭夫・鶴川洋樹 (1996) わら類の飼料化処理技術。北海道農業試験場。札幌。68-69.
- 光岡知足 (1980) 腸内菌の世界—嫌気性菌の分離と同一。叢文社。東京。321-326.
- 森本 宏監修 (1971) 動物栄養試験法。養賢堂。東京。413-416.
- 大山嘉信・柁木茂彦 (1968) サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究 I 可溶性炭水化物および蛋白質の含量がサイレージの品質に及ぼす影響。日畜会報, **39**, 61-67.
- 大山嘉信・柁木茂彦・森地敏樹 (1970) サイレージ発酵に影響する諸要因に関する研究 VIII 空気を導入したサイレージにおける微生物相および有機酸組成の

経時的变化. 日畜会報, **41**, 625-631.

京. pp 161-178.

大山嘉信・森地敏樹 (1979) サイレージにおける微生物の動態. 微生物の生態 6, 学会出版センター. 東京.

内田仙二編集 (1999) サイレージ科学の進歩. デーリィジャパン社. 東京. 86-89.

研究ノート

Relationships between polymorphic variants and expression level of the corresponding constituents in major milk protein loci of Holstein-Friesian cows

Michinari Yokohama and Tatsuya Watanabe

Tokyo University of Agriculture, Faculty of Bioindustry, Abashiri-shi, Hokkaido, 099-2493, Japan

Key words : polymorphism, casein, lactoglobulin, expression quantity, Holstein-Friesian

Abstract

The relationship between polymorphic variants of major milk protein (α_{s1} -casein (Cn), β -Cn, κ -Cn and β -lactoglobulin (Lg)) and expression quantity of the corresponding constituents in Holstein-Friesian cows was examined to obtain information on the relevance of protein polymorphisms to functionality.

In an ELISA (sandwich method) using purified monoclonal antibody (mAb), detection sensitivity improved to about 10^2 to 10^5 fold compared to the solid phase method which was previously reported for determining the quantity of α_{s1} -Cn, β -Cn, κ -Cn and β -Lg per 1 ml of skim milk. As a result of comparing the expression quantity (A_{405}) of a component with the corresponding variants within four major milk protein loci, individuals with κ -Cn·B/B type and β -Lg·A/A type were found to have excellent expression quantity for κ -Cn and β -Lg constituents, respectively. Though for the β -Cn type, the result differed from that obtained with the solid phase method, the result which A^2/A^2 type produced more β -Cn quantity than A^1/A^1 type was the same as the previous one. As an example of bovine milk protein polymorphism, it was observed that the expression quantity of constituents was significantly different among polymorphic variants within the corresponding locus.

Introduction

Protein markers in domestic animals have mainly been applied to pedigree registration and the phylogeny of livestock together with blood group factors. Though economically useful, such information is of little value. Linkage among the porcine halothane sensitivity (*Hal*) locus, phosphohexose isomerase (*PHI*) locus and 6-phosphogluconate dehydrogenase (*6-PGD*) locus, and the association between cattle milk protein variants and milk yields or milk fat, etc. was clarified (Rasmusen *et al.* 1980, Komatsu *et al.* 1981, Ng-Kwai-Hang *et al.* 1984, 1986, 1990).

Protein variants are electrophoretically detected based on differences in molecular size and microheterogeneity which are caused by glycosylation of the protein molecule and conformation of the polypeptide chain etc.. The association between many protein variants and physiological functions

have not been precisely explained. And relationship between polymorphic variants and the expression level of the corresponding constituents has not yet been reported.

Accordingly, for the dairy milk protein constituent, the relationship between genetic variants and expression quantity of the corresponding constituents was examined to elucidate relevance of polymorphism to functionality.

Materials and methods

1. Cow milk samples

811 milk samples from Holstein-Friesian cows were used for typing and the estimation of the amount of protein components. The samples were mainly collected from 15 farms in the Ubaranai region of Abashiri City, Hokkaido. Milk fat and admixtures were removed by centrifugal separation (3000 rpm, for 20 minutes), and made into skim milk. α_{s1} -casein (Cn), β -Cn, κ -Cn and β -lactoglobulin (Lg) type for all samples were detected by urea-isoelectric focusing (Yokohama and Hirayama

1996). Still, factors such as the breeding conditions, parity, stage of lactation and age were carried out without purposely considering the measurement of each component.

2. Avidin-Biotin system ELISA (Sandwich method)

Blood was sampled after the milk protein sample (α_{s1} -Cn; C7891, β -Cn; C6905 κ -Cn; C0406 and β -Lg; L6879, SIGMA) was injected into a rabbit intracutaneously. Then anti-cattle milk protein polyclonal antibodies obtained by ammonium sulfate precipitation were coated in the solid phase in microtiter plates as a primary antibody, and milk protein antigen was added. Next, secondary antibody labeled with biotin after being purified from serum-free culture filtrate of α_{s1} -Cn (two cell lines), β -Cn (five cell lines), κ -Cn (three cell lines) and β -Lg (two cell lines) of anti-cattle milk protein monoclonal antibodies (mAbs) which we produced (Yokohama *et al.* 1996), reacted to the antigen combined on the plate. Afterwards, the antigen level was measured based on absorbance (A_{405}) using the sandwich method applied Avidin-Biotin system (Javois L.C. 1999). Still, the pH of the Tris-HCl buffer for washing and reagent dilution was the optimum for each mAb in the antigen-antibody reaction as reported by Watanabe *et al.* (1999). Preparation of a standard curve was carried out by the method of Hirayama and Yokohama (1997), and was used to estimate the average content per 1ml of the major four milk components. However, relation between polymorphism and milk component amounts were analyzed using the absorbance value (A_{405}). The significance of the expression quantity was analyzed by method of analysis of variance.

Results and discussion

The average amounts (mg/ml $\pm$ S.E.) of major cattle milk components (α_{s1} -Cn, β -Cn, κ -Cn and β -

Lg) calculated from the standard curve for each was $(13.53\pm 1.89)\times 10^{-1}$, $(6.42\pm 1.65)\times 10^{-1}$, $(0.31\pm 1.18)\times 10^{-2}$ and $(1.37\pm 4.78)\times 10^{-2}$, respectively. The detection limit was therefore about 10^2 to 10^5 fold lower than that of the ELISA solid phase method reported by Hirayama and Yokohama (1997) as shown in Table 1. As we used the primary purified polyclonal antibody and purified mAb from the culture supernatant, the detection sensitivity might be improved. However, in order to determine protein quantity, the calibration curve must be reset for every measurement. The absorbance value (A_{405}) was used as the quantitative value of polymorphic variant in order to measure multispecimens to save on cost and time. As a result of comparing expression levels between each variant of the milk component based on the absorbance value (Table 2), in the α_{s1} -Cn type, even though there was no difference in α_{s1} -Cn amount between B/B and B/C types, the former tended to have a slightly higher output. However, the B/B type had a significantly high α_{s1} -Cn amount in a previous results (Hirayama and Yokohama 1997). Though the β -Cn A^2/A^2 type had the highest β -Cn amount in the previous report, the β -Cn quantity of A^1/B type was the highest in the present study, followed by the A^2/A^2 type in experiments used over 20 samples. There was a significant difference between dimorphous. In A^1/A^1 , A^1/A^2 and A^2/A^2 types, for which many examples could be investigated, A^2/A^2 type had a higher β -Cn amount than A^1/A^1 and A^1/A^2 types.

κ -Cn B/B type had the most κ -Cn as in the previous study, followed by A/B type. B/B type had the highest output (Hirayama and Yokohama 1997). Since there was a report that the κ -Cn B/B type individuals had higher milk yields and milk protein productivity (Komatsu *et al.* 1981, Ng-Kwai-Hang *et al.* 1984), it seemed that κ -Cn productivity may be improved by increasing the B/B type individuals in the Holstein-friesian popula-

Table 1 Detection limit between sandwich method and solid phase method

Milk proteins	Sandwich method	Solid phase method *
α_{s1} -Cn	$(13.532\pm 1.89)\times 10^{-1}$	$(1.573\pm 8.45)\times 10^{-2}$
β -Cn	$(6.420\pm 1.65)\times 10^{-1}$	$(0.019\pm 3.54)\times 10^{-4}$
κ -Cn	$(0.312\pm 1.18)\times 10^{-2}$	$(0.003\pm 7.80)\times 10^{-5}$
β -Lg	$(1.369\pm 4.78)\times 10^{-2}$	$(0.001\pm 3.83)\times 10^{-5}$

Cn: Casein, Lg: Lactoglobulin

Figures: Average $\pm$ S.E. (mg/ml)

*: by Hirayama H. and M. Yokohama (1997)

Table 2 Relationship between polymorphic variants and expression level of the corresponding bovine milk components

α_{s1} -Cn type		B/B		B/C		Average	
Number (%)		792 (97.7)		19 (2.3)		811	
α_{s1} -Cn (Average $\pm$ S.E.)		$(0.230 \pm 0.2) \times 10^{-2}$		$(0.228 \pm 0.9) \times 10^{-2}$		$(0.230 \pm 0.2) \times 10^{-2}$	
β -Cn type		A^1/A^1		A^1/A^2		A^2/A^2	
Number (%)		116 (14.3)		374 (46.1)		249 (30.7)	
β -Cn (Average $\pm$ S.E.)		$(0.135 \pm 0.5) \times 10^{-2b}$		$(0.141 \pm 0.3) \times 10^{-2b}$		$(0.142 \pm 0.4) \times 10^{-2b}$	
κ -Cn type		A/A		A/B		B/B	
Number (%)		576 (71.0)		225 (27.7)		10 (1.2)	
κ -Cn (Average $\pm$ S.E.)		$(0.303 \pm 1.3) \times 10^{-2}$		$(0.346 \pm 2.1) \times 10^{-2}$		$(0.388 \pm 1.1) \times 10^{-2}$	
β -Lg type		A/A		A/B		B/B	
Number (%)		84 (10.4)		370 (45.6)		357 (44.0)	
β -Lg (Average $\pm$ S.E.)		$(0.836 \pm 0.6) \times 10^{-1a}$		$(0.723 \pm 2.6) \times 10^{-1b}$		$(0.570 \pm 2.1) \times 10^{-1c}$	

A significant difference was recognized at a 5 % level between different codes without β -Cn $\cdot$ B/B type. Average value; Each component amount was shown by absorbance(A_{405})

Cn: Casein, Lg: Lactoglobulin

tion. β -Lg $\cdot$ A/A type had more amount of β -Lg component than the other genotypes. A/B type showed a value between those of both homozygotes as well as the κ -Cn type, and there was a statistically significant difference. For the α_{s1} -Cn and β -Cn types, there was different results from that in the previous study (Hirayama and Yokohama 1997). The same results for κ -Cn and β -Lg types as last time indicated that the reliability was high.

In the experiment using multispecimens, it was considered that the superiority of the β -Cn $\cdot$ A²/A² type did not change which was the same as previously. The β -Lg $\cdot$ A/A type individuals were generally predominant. Though it was reported that the A/A type was also predominant in terms of milk protein percentage (Komatsu *et al.* 1981, Ng-Kwai-Hang *et al.* 1984), the frequency of the A/A type individuals were also low (10.4%).

Referring to bovine milk protein polymorphisms, it was observed that the expression level of each component in milk protein was respectively different among polymorphic variants within the corresponding four major milk protein loci. Though the association between protein polymorphism and economical characteristics had been clarified, this time, the relationship between the polymorphic variants and the expression level of the corresponding protein was clarified by using an immunochemical technique.

References

Hirayama H. and M. Yokohama (1997) Quantitative analysis of cow milk proteins by immunochemical method. Hokkaido Anim. Sci. Agr. Soc. 39: 11-14.
Javois L. C. (1999) Immunocytochemical method and protocol. Methods in Molecular Biology, 115: 203-214. HUMANA PRESS (USA).
Komatsu M., K. Yokouchi and T. Abe (1981) Relationships between milk protein genotypes and milk production in Holstein and Jersey cattle. Jpn. J. Zootech. Sci., 52(7): 439-497.
Ng-Kwai-Hang K. F., J. E. Hayes, J. E. Moxley and H. G. Monardes (1984) Association of genetic variants of casein and milk serum protein with milk fat, and protein production by dairy cattle. J. Dairy Sci., 67: 835-840.
Ng-Kwai-Hang K. F., J. F. Hayes, J. E. Moxley and H. G. Monardes (1986) Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-friesian cows, J. Dairy Sci.,

- 69: 22-26.
- Ng-Kwai-Hang K. F., H. G. Monardes and J. F. Hayes (1990) Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations, *J. Dairy Sci.*, **73**: 3414-3420.
- Rasmusen B. A., C. K. Beece and L. L. Christian (1980) Halothane sensitivity and linkage of genes for H red blood cell antigens, phosphohexose isomerase (PHI) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD) variants in pigs. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.*, **11**: 93-107.
- Watanabe T., H. Hirayama and M. Yokohama (1999) Examination of quantitative analysis for determining cow milk proteins by immunochemical method. *Hokkaido Anim. Sci. Agr. Soc.*, **41**: 63-66.
- Yokohama M. and H. Hirayama (1996) Detection of cow milk protein polymorphisms by urea-isoelectric focusing. *Hokkaido Anim. Sci. Agr. Soc.*, **38**: 19-22.
- Yokohama M., T. Kondoh, A. Nakagawa and H. Hirayama (1996) Development of monoclonal antibodies specific cattle milk proteins. *Hokkaido Anim. Sci. Agr. Soc.*, **38**: 43-45.

会員からの声

初乳の利用

齋藤 善一

北海道科学技術総合振興センター

初乳が食材として優れていることは酪農関係者の間でよく知られている。酪農家は、酢を加え加熱し凝固したものを牛乳豆腐と称して自家用に利用するという。一方、乳及び乳製品の規格等に関する省令（乳等省令）では、分娩後5日以内の牛から搾取してはならないとしている。このため、一般的にこの期間の乳を初乳とし、食材として使用できないと思われる。乳等省令の規制は、生乳に初乳が混入するのを防ぐのが目的であり、それは初乳が耐熱性に劣るからであって、衛生的に問題があるからではない。

初乳は本来、子牛に十分に与えられるべきものである。しかし、分娩1回当たり生産される初乳は70～100 kgといわれ、子牛が飲み得る量はその1/4程度に過ぎないという。初乳期後半においては代用乳を与えられ、初乳は廃棄されるから、有害なものでなければ、栄養豊富な食材として利用されることが望ましい。ニュージーランドや北欧においては、初乳が粉末や錠剤として販売され、わが国にも輸入されている。

わが国においても初乳を利用しようとする試みはあるが、既存の規則を順守する行政側が、食材として使うのは違反と考えるのは当然である。例えば、分娩後5日以内の牛の乳を生乳に加えてはならない、と乳等省令を改正するか、自治体からの問合わせに回答する形や通達により、同省令に示す牛乳・乳製品以外に初乳が使用されるのを規制するものではないことが確認されるのを願っている。それでも、食品衛生法の壁があるが、とにかく、行政においても初乳に対する理解を深めて戴きたいと思う。

成分組織と風味

分娩直後に得られる初乳の組成は正常乳（生乳）の場合と著しく異なり、搾乳回数の進行にともない、急速に生乳の組成に近づき、3、4日目にはその差はわずかになる。表1は、乳牛8頭による初乳および生乳の平均値である。初乳期前半において、タンパク質と灰分の含量が高かった（著者、未発表）。

分娩直後は、耐熱性の低いホエイタンパク質がカゼインより多く、特に免疫グロブリンが多い（JENNESS, 1998）。その後、ホエイタンパク質含量は低くなるが、それでも初乳期前半においては生乳に比べるとホエイタンパク質の割合が高い。初乳を通して子牛は免疫性

を獲得し、さらに塩類濃度が高いので下痢効果があり、胎便の排せつが促進される。

分娩直後に得られる初乳は、黄褐色を呈し、口に入れるのはばかりが、生臭いなどの異臭がある。搾乳を重ねるにしたがって生乳と同様になる。生乳の様に初乳も多くの酵素を含む。風味に関連して問題になるのは脂肪分解臭（加水分解性ランシッド）発生の原因となる脂肪分解酵素（リパーゼ）である。搾乳直後からの遊離脂肪酸の増加、ならびにリパーゼ活性を測定したところ、いずれも初乳期は低いが生乳期に向かって増加している（齋藤と金, 1955）。すなわち、均質化しない限り、リパーゼによる異常風味の発生はない。

初乳の利用

初乳では、成分組成および構成タンパク質の割合が日々変化していく。したがって、初乳の利用にあたっては、分娩後の日数に応じて最適の方法を考える必要がある。分娩直後の量は少ないがラクトフェリンや免疫グロブリンの含量が高い初乳、後半の泌乳量組成も生乳とあまり変らないもの、あるいは両者の中間、など区分して考えることが望ましい。初乳期前半においては、医薬用の高価な成分の抽出が利用の中心になると思われる。一方、免疫グロブリンの機能性を期待するのであれば、粉末として流通させるのがよいが、量的に少ないわが国の初乳が外国製品に対抗するのは難しいであろう。なお、乾乳期治療として乳房に注入された抗生物質は、2ヶ月の乾乳期中に効果を失うとい

表1. 泌乳期による乳組成 (%) の変動*

分娩後の期間	脂肪	タンパク質	灰分	炭水化物**	水分
1日	5.64	14.23	1.12	1.96	77.05
2	4.39	5.38	0.90	4.07	85.39
4	4.73	3.93	0.79	4.95	85.73
6	4.38	3.64	0.76	4.85	86.39
0.5月	3.96	3.27	0.79	5.46	86.63
1	3.86	2.99	0.69	5.55	86.91
2	3.94	3.05	0.68	5.34	86.99
3	4.57	2.82	0.67	4.77	87.16
4	4.63	2.86	0.69	4.56	87.22
5	4.68	3.16	0.70	4.70	86.77
7	4.64	3.30	0.71	4.81	86.63

* 8頭平均、夕乳

**差引法（水分、脂肪、タンパク質、灰分の合計を100から差引く）

う (National Mastitis Council, 1996).

酪農家が、自家産あるいは近隣で生産された生乳を用いて牛乳・乳製品を製造販売する例が増加しているが、初乳を利用できるとなれば、熱凝固性を利用した特色のある製品の製造が可能である。さらに、実際には初乳期後半の成分的に生乳に近いものの利用が多くなると考えられるが、生乳に添加して利用できるだけでも大きな利点になる。

終わりに

初乳を飼料や医薬品の原料としてではなく、食材として利用するとなれば、乳等省令との関係を解決しないと何もできないので、法的条件への対応が急がれる。乳等省令の改正、あるいは通達等により初乳を食材として利用する途を開くことは、難しいが努力をしてみ

たい。会員諸兄姉の御助言、御協力を戴けると幸いである。

文 献

- JENNES, R. (1988) Composition of milk. Fundamentals of Dairy Chemistry 3rd. ed. (Wong, N. P. ed.) 1-38. Van Nostrand Reinhold CO. New York.
- 齋藤善一・金 居猷 (1995) 個乳の温度活性化リポリシスとリパーゼ活性に及ぼす泌乳期の影響。酪農科学・食品の研究, 44 : A 139-A145.
- The National Mastitis Council (1996) Current concepts of bovine mastitis 4th. ed. (十勝乳房炎協議会 訳) 35-36. The National Mastitis Council. Madison.

シンポジウム報告

第7回 International Colloquium on Paratuberculosis に参加して

尾上 貞雄

北海道立畜産試験場 畜産工学部 遺伝子工学科

はじめに

2002年6月11日から14日に、ビルバオ市の Palacio Euskalduna Convention Hall で開催された International Colloquium on Paratuberculosis (ICP) に参加した。

このヨーネ病国際学会が行われたビルバオ市は、スペインとフランス両国の大西洋側にピレネー山脈をはさんで広がるバスク地方のスペインのバスク自治州にある中心都市であり、サッカーチーム「アスレチック・クラブ・デ・ビルバオ」や分離独立闘争で有名である。このスペインリーグ強豪ビルバオはレアル・マドリードと覇権を争う名門クラブであり、バスク出身者しか入団できないそうである。ビルバオの街は、散策路が多く、プラタナスが高くそびえているのが印象的であった。

ICP はヨーネ菌およびヨーネ病に関する国際学会で、世界から280人の研究者が集まり、病因論、免疫学、培養法、診断法、分子生物学、疫学など多分野にわたって、一般講演86、ポスター発表145が行われた。

基調講演

基調講演(招待講演)には、Vivek Kapur (アメリカ, ミネソタ大)の「ヨーネ菌の塩基配列解析」, Richard Whittington (オーストラリア, エリザベスマッカーサー農業試験場)の「ヨーネ病診断法の概要」, John Hermon-Taylor (イギリス, セントジョージ病院医科大学)の「ヨーネ菌とヒトのクロン病との関係」および Ramon A. Juste (スペイン, ネイカー)の「ワクチンによるヨーネ病の制圧」があった。

Vivek Kapur は、ヨーネ菌と鳥結核菌のゲノムを比較して、ヨーネ病診断のための塩基配列を明らかにし、また、ヨーネ菌の制限酵素切断片をPCR法によって選択的に増幅し、ゲノムDNAの多型を検出する方法(AFLP)の標準化を行っている。講演では、ヨーネ菌の病原性に関する遺伝学的な解明や正確で感度の高い検査方法がないことから研究を始めたヨーネ菌の全塩基配列の決定についての発表があった。その方法は、プラスミドライブラリーを構築して、全遺伝子を実験的に決定する。その後、鳥結核菌の塩基配列を足がかりに、PCR法や直接塩基配列を読む方法で空白を埋め

て、全塩基配列を決定するというものであり、ヨーネ菌の全ゲノム(4.92 M, 5178個のORF, GC含量69.3%)を解読したとのことであった。さらに、抗原をコードする遺伝子や発現の調節を同定するために、マイクロアレイの技術を用いて研究をしており、細菌の浸襲性や病原性に関する研究を促進することで、新しい抗生物質の開発だけでなく、診断薬やワクチンに使用される抗原の同定も可能になるだろうとのことであった。

John Hermon-Taylor は、マイコバクテリアに関して多くの分子生物学的研究をしており、John J. McFadden らとのヨーネ菌挿入配列 *IS900* の研究は有名である。また、Mark Tizard らとヨーネ菌とクロン病との関連を研究しており、今回は、クロン病についての発表があった。1913年にグラスゴーの外科医 Thomas Kennedy Dalziel によって、ヨーネ菌がクロン病を起こすとの発表があった後、1994年から1999年の臨床研究では、クロン病で炎症をおこしている腸にヨーネ菌は存在するのかどうかについては、相反するはっきりしない結果が出ていた。最近、幾つかの研究室で行われた有効な方法を用いたこの解答は、明解にイエスである。John Hermon-Taylor の研究では、クロン病の腸でのヨーネ菌は90%の確立で存在するとのことであり、ヨーネ菌は、ウシおよびヒツジの株があり、またヒトに馴化した株が出現していることがわかっている。しかし、ヨーネ菌は、クロン病の腸では単にわき役であり、ヒトにとっては無害であろうとのことであった。病原性を示す機構や薬剤感受性は結核と似ておらず、免疫を介してクロン病における細胞内のヨーネ菌をなくす上で、DNA ワクチンは必要であり、また、種々の改善策の他に、動物やヒトのためのヨーネ菌感染予防ワクチンが必要であるとの見解であった。

スペイン、ネイカー社の Ramon A. Juste は、ヒツジにおけるヨーネ病を他の消耗性疾患と比較し、またヨーネ菌に対する抗体の研究をしている。本学会では、ヒツジとウシの血液を用いたPCRとELISAの比較をしており、ウシ、ヒツジおよびヤギにおけるワクチンについて発表した。講演では、ワクチン接種によるヨーネ病の制圧について、その歴史、ワクチン接種が普及しない理由およびワクチン使用の再評価の話が

あった。ヨーネ病のワクチン接種は、フランスの Vallee と Rinjard によって 20 世紀初頭にウシで成功して以来、フランスではウシで、アイスランドではヒツジで、ノルウェーではヤギでというように世界で古くから用いられたが、現在は行われていない。これらの実験は、臨床症状が消失し、ワクチン接種が実用的な制圧方法であることを証明している。ヨーネ病を経済的な問題として考えると、ワクチン接種は大変有利な方法である。ヒツジにおいては、少なくともヨーネ病の免疫病原性を変化させ、初期の無症状感染の進行を停止させることが明らかになっている。しかし、ワクチン接種は、獣医師が誤って自分に注射する危険があり、またワクチン接種が結核診断を妨害することから、ヨーネ病制圧のための選択として受け入れられていない。これらの問題は、改善されたワクチンで克服されるかもしれないが、ワクチン接種の主な弱点は、完全に感染を防御しないことであり、ワクチン単独でヨーネ病を根絶に導けないことである。野生動物と臨床的に健康な家畜の群にヨーネ病が伝播しているという最近の証拠は、ワクチン使用を再評価する一つの道を開くかもしれないとの話であった。

遺伝子診断

本学会における我々のポスター発表は、"Use of loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*." (LAMP 法によるヨーネ菌の迅速な検出) であったが、従来から遺伝子診断に用いられている PCR 法に関する報告は、病因学の分野で 3 題、分子生物学の分野で 11 題、公衆衛生分野で 1 題および疫学と疾病制御の分野で 2 題あった。PCR 法も従来の PCR や Nested-PCR の他に、PCR-ELISA, immunomagnetic PCR, TaqMan PCR, Alternative PCR, real-time PCR, sequence capture-PCR, optimized PCR, IMS-PCR があり、マイクロアレイなど種々の検出法開発の報告があった。なかでも、real-time PCR 法は、アイルランド大学の Jim O'Mahony と Hill C. によるサイバーグリーンとライトサイクラーを使ったヨーネ菌の検出と定量に関する方法の発表があり、精度の高い方法とのことであった。この方法は、標的遺伝子に非常に特異的なプライマーとサイバーグリーン色素とを用いて、ヨーネ菌を検出するものであり、サンプルの PCR サイクル毎の蛍光を測定し、記録する。その感度は、精製した鋳型 DNA で 20 コピー、単離した DNA で 50 fg、培養液中のヨーネ菌で 25 細胞であり、夾雑物があっても特異性が高く、また、培養液中のヨーネ菌数を正確に測定するとのことであった。

これに対して、我々が発表した国産技術の LAMP 法は、現在、この real-time PCR 法と同等の感度が得

られるようになっており、簡単な操作で検出できるなどコスト面での長所が多いと思われた。また、オーストラリアの CSIRO (CSIRO Livestock Industries) の Vaughan J. A. (動物におけるヨーネ病の細菌学者) らは、この LAMP 法に非常に興味があり、実用化についての質問を受けた。

日本からの参加者

また、本学会には、日本から農研機構動物衛生研究所免疫研究部長の横溝祐一氏、百溪英一氏、北海道支所の西森敬氏、九州支所の田中省吾氏、静岡県東部家畜保健衛生所の片山信也氏および島津製作所の児嶋浩一氏が参加した。

横溝氏は、「最近の日本における牛ヨーネ病防疫の進展」を発表した。その概要を以下に記す。

日本のコントロールプログラムは、1998 年に、5 年間隔でフレイ菌を吸収させたエライザ検査を全ての成牛で行うことになった。2 週間隔の 2 重検査で陽性を示すか、糞便培養が陽性であった牛は、補償を受けて屠畜されている。改善プログラムでは、感染牛群は、全ての牛が陰性となるまで、3 ないし 6 ヶ月間隔のエライザおよび糞便検査を受けなければならない。コントロールプログラムにより牛ヨーネ病で屠畜された頭数は、1997 年から 2001 年の期間に、3712 頭(乳牛 2272 頭、肉牛 1440 頭)に達した。また、高い感染の危険がある牛、主に患畜から生まれた子牛と同年齢の集団の牛は淘汰の対象になり、その結果、3181 頭が、この 2 年間の撲滅キャンペーンで屠畜された。1998 年から 1999 年に、日本における代表的な畜産県の北海道では、エライザ検査で 0.09% (675 頭/701692 頭)、糞便培養で 0.53% (772 頭/143250 頭) がヨーネ病と診断された。このことから、酪農の 1.6% (177 頭/10944 頭)、肉牛農家の 2.6% (76 頭/2926 頭) が、ヨーネ病に感染していることがわかった。現在、ヨーネ病の診断法が再審査されており、糞便培養の代わりの(補助的に)適切な方法として、新しくなったエライザキットに加えて糞便の PCR 検査を評価している。食肉検査では、糞便培養陽性の牛が食肉処理場に持ち込まれるのは許されておらず、検査の課程でヨーネ病感染と診断された牛は、食肉として利用されない。供給されている全ての乳製品は、完全にヨーネ菌を不活化するために加熱処理されている(チーズで 73℃/15 秒、ヨーグルトで 95℃/60 秒、生乳で 130℃/2 秒)。このことは、我国は、ヨーネ菌に対して厳密なコントロールを規定しており、その結果、ヨーネ菌の混入を制御するために酪農および食肉製品の高い清浄度を保証している。

同じく動衛研の百溪氏は、ヨーネ菌の病原性における IL-18 の役割を理解するために IL-18 ノックアウトマウスにヨーネ菌 ATCC10698 株を腹腔内に注射し、接種後、1, 2, 3, 5 週後に組織および免疫組

織病理学的変化、臨床知見、炎症性のサイトカインおよびケモカインの発現について検討して、「IL-18欠損マウスを用いたヨーネ菌の実験感染」を発表した。ここでは、組織における肝臓の類上皮細胞の肉芽腫、腸間膜リンパ節の肉芽腫性変化を調べ、炎症性のサイトカインおよびケモカインのパターンをRT-PCRで測定して、肉芽腫形成と宿主の防御におけるIL-18の役割を検討した。

動衛研北海道支所の西森氏は、「VNTR型別（縦列反復配列の反復数による型別）に基づくヨーネ菌の分子型」を発表した。ヨーネ菌遺伝子の17座位にある縦列の反復DNAの可変数に基づくフィンガープリント法は、BLASTサーチ（相同性検索）とPCRを用いて開発され、184分離株に7対立遺伝子のプロファイルが検出された。それらは、鳥結核菌の参考株と比較して、相同的なプロファイルを示した。この方法はヨーネ菌だけでなく鳥結核菌分子疫学のための計数的なデータベースを作製する迅速で簡易な方法であることが示唆されたとのことであった。

動衛研九州支所の田中氏は「ヨーネ病罹患牛の回腸の異なった肉芽腫性病変におけるサイトカイン遺伝子の発現」を発表した。

牛ヨーネ病の肉芽腫性病変はライ腫型および類結核型の2つの型に分類される。ライ腫型の病変は多数のマクロファージからなる肉芽腫と多くのヨーネ菌を有する類上皮細胞が拡散したものになる。類結核型の病変は少しのマクロファージと多数のリンパ球からなる限局的な肉芽腫として分類される。この研究では、回腸組織の2タイプの肉芽腫性病変におけるサイトカイン遺伝子発現を比較した。回腸の試料は、感染していない対照の雌牛とエライザや糞便培養検査で診断した感染雌牛から採取し、サイトカインmRNAを検出するためにRT-PCRやin situ hybridizationを行った。全ての感染雌牛は、臨床徴候のない初期にあり、類結核型の病変は4頭で観察され、ライ腫型の病変は2頭で観察された。サイトカインを調べたところ、IL-2、Th2型サイトカイン、IL-4およびIL-10は、類結核型よりもライ腫型でより多く発現した。しかし、IL-12の発現は感染と非感染の群間で異なり、しかも、IL-18は、類結核型よりもライ腫型で、また非感染群で低く発現した。さらに、IL-1 β と腫瘍壊死因子TNF α は類結核型よりもライ腫型でより多く発現した。それに反して、Th-1型サイトカイン、インターフェロンIFN- γ は、ライ腫型よりも類結核型でより多く発現した。これらの結果は、ライ腫型病変や類結核型病変の形成が、Th-1/Th-2型のサイトカイン産生に影響しており、IL-18はTh-1とTh-2のスイッチの切替に重要な役割を果たしていることを示したとのことであった。

静岡県東部家畜保健衛生所の片山氏は口頭発表で「低水分の粗試料に接種したヨーネ菌の生存に対する

アンモニア処置の効果」を、またポスターで「ヨーネ菌の生存への紫外線Bの影響」を発表した。

口頭発表では、ヨーネ病の感染があると診断された農場において自給飼料はヨーネ菌の感染の原因になるかもしれないとのことで、低水分粗試料に接種したヨーネ菌の生存に対するアンモニア処置の効果を調べている。実験は、100gのアルファルファ乾草を樹脂製のバッグに入れ、アンモニア処置として水酸化アンモニウムを加え、封をする前に菌を含む濾紙を入れて、検討している。菌数を減少させる有効性は、材料への水の添加>調製温度の上昇>アンモニア濃度の上昇>調製期間の延長であり、材料の水分や温度が高く維持されている条件では菌数が減少するが、1、2%のアンモニアを添加することで、ヨーネ菌は低温、低水分条件で生存し、3%濃度で、生存はみられなかったとのことであった。

また、太陽光に含まれる紫外線は、牧草地の病原体に対して消毒効果があると考えられているが、ヨーネ菌に対する相対的な有効性はほとんど報告されていない。ポスターでは、ヨーネ菌BBM2201株とATCC19851株を用いて、蒸留水に懸濁したり、スラリーで希釈したりして、ヨーネ菌細胞の生存性における紫外線B照射の影響を検討し、発表した。水分条件に無関係に蒸留水中の生菌数は1.5から2.0 kJ/m²の照射レベルで減少し、8.5 kJ/m²の照射で検出限界以下の数まで減少したが、スラリー中のヨーネ菌は1,085 kJ/m²の照射で生存し、それは数ヶ月間の日射量に等しかった。この結果は、スラリー中のまた草に隠れているヨーネ菌はたとえ太陽の光に曝されたとしても長期間生存することを示しているとのことであった。

島津製作所の児嶋氏は、糞便試料から細菌のDNAを効率的に抽出し、抑制物質を除去することができる新しい方法を開発し、「牛糞便試料中のヨーネ菌検出のための新しいDNA抽出法と増幅法を用いたPCRの効率性」を発表した。その方法は、菌を溶解した緩衝液中で微小なビーズを使ってDNAを抽出し、有機溶剤を使って精製する方法で、ヨーネ菌のPCR検査のため、そのDNA抽出法の有用性を古典的な熱抽出法と比較した。多数のヨーネ菌を含む鳥結核菌群のある糞便試料を用いて検討したところ、IS900特異的なPCR産物は、児嶋氏らの方法で調製した糞便DNA画分から検出されたが、加熱処理によって調製された試料からは検出されなかった。さらに、PCRのために、DNAを増幅させる試料中の抑制効果を中和する反応試薬混液（アンプダイレクト試薬）を開発し、児嶋氏らのDNA抽出方法とこのアンプダイレクト試薬を使って、実験的に感染させた子牛の糞便培養でコロニーがみられないか少ししかいない糞便試料からヨーネ菌を検出したとのことであった。

ヨーネ菌のゲノム解読

この報告にあるように、いよいよヨーネ菌の全塩基配列が、アメリカの National Animal Disease Center (NADC) とミネソタ大によって解読された。また、オーストラリアの CSIRO (CSIRO Livestock Industries) は、インターフェロン γ テストを試みており、これらの他に DNA ワクチンでマウスに免疫した報告もあった。

このヨーネ病は、イギリス、アメリカ、オーストラリアで大きな損失となっており、会場ではこれらの国から参加している研究者の熱心さが伝わってきた。

おわりに

世界の著名なヨーネ病研究者が参加する学会に出席でき、大変有意義な講演を聴くことができました。このような海外での発表に参加させていただきました関係者の皆様に感謝いたします。

シンポジウム報告

スコットランドで開催された第 13 回国際サイレージ学会

増子 孝義

東京農業大学生物産業学部, 網走市 099-2493

1. はじめに

第 13 回国際サイレージ学会が 2002 年 9 月 11-13 日に、スコットランドのエアで開催された。会場にはエア郊外に位置するスコットランド農科大学 (SAC) が使われ (写真 1), C. Thomas 教授を中心に学会は運営された。この大学は現在、スコットランド各地にキャンパスをもつ連合大学になっているが、そのうちの一つにエディンバラ農科大学がある。そこには、1970-1980 年代のサイレージ研究を牽引してきた P. McDonald 博士や A. R. Henderson 博士の業績が蓄積されており、1991 年に出版された名著「The Biochemistry of Silage」第 2 版は、わが国の多くのサイレージ研究者に影響を与えた。筆者は 1981 年にその初版が出されて以来、翻訳本を出版したいと考えていたが、1995 年 (第 2 版) にその願いがやっとかなえられた。

これまでに、国際サイレージ学会に参加した研究者は少なく、あまりなじみのある学会ではなかった。故大山嘉信博士は幾度となく招待され、講演や座長を担当し、活躍しておられた。当時、博士は参加するたびに「畜産の研究」に学会の内容を紹介した。第 1 回目の学会は、1970 年に P. McDonald 博士を中心にエディンバラ大学で開催され、その後、第 6 回目も同大学で行われている。当初は、イギリスの研究者 (普及関係の技術者を含む) を対象に行われていたが、しだいに国際化し海外から著名な研究者を招待して、発表・討論するようになった。

筆者はスウェーデンのウプサラで開催された第 2 回

学会に、帯広畜産大学の高橋潤一博士とともに初めて参加した。その内容はデーリィ・ジャパン誌 (1999.12, 2000.1, 2) に掲載した。スコットランドは、田園地帯に古風なたたずまいの街があり、質素な生活をイメージさせるところであった。農業的には北部、東部および西部に分けられ、アバディーン、エディンバラおよびエアにある SAC が大きな役割を担っている。会場に向かうバスの車窓からも、丘一帯に広がる草地に羊と牛が放牧されている光景が見られた (写真 2)。

2. セッション 1-8 の発表内容

参加者は 33 カ国から 203 名に上り (表 1), 発表数は招待講演と一般講演 (口頭とポスター発表) 合わせて 140 課題であった。発表と議論は 8 セッションに分かれて行われ、内容は下記の通りである。

セッション 1: サイレージの埋蔵過程が品質に及ぼす影響—座長 C. Thomas— 招待講演: A. Aro, 反芻動物の脂肪が人間の健康に及ぼす影響, C. K. Reynolds and R. J. Dewhurst, 健康特性を改善するための反芻動物生産物の操作, 一般講演: N. W. Offer, 切断および埋蔵牧草が牛乳の CLA レベルに及ぼす影響, A. P. Moloney ら, 牧草サイレージと小麦サイレージを基礎にした飼料から生産された牛肉の官能特性

セッション 2: ポスターによる発表

セッション 3: 熱帯、亜熱帯および乾燥地域におけるサイレージの役割—座長 L. Manntje— 招待講演: F. Y. Chin, 東南アジアにおける熱帯作物のサイレージ調製, M. Titterton ら, アフリカにおける熱帯



写真 1 学会会場の SAC キャンパス

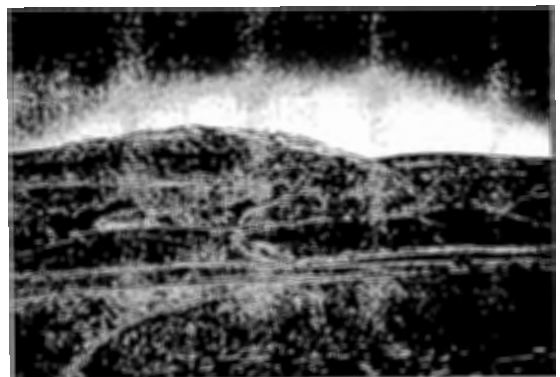


写真 2 車窓からの放牧風景

表1 学会への参加国と登録者数

参 加 国	登録者数 (人)
イギリス	34
ドイツ	27
スウェーデン	27
フィンランド	18
アイルランド	15
アメリカ	13
ノルウェー	9
日本	8
ポーランド	6
オーストラリア	4
チェコ	3
エストニア	3
オーストリア	3
オランダ	3
スイス	3
カナダ	2
イタリア	2
フランス	2
マレーシア	2
トルコ	2
リサニア	2
デンマーク	2
ハンガリー	2
ブラジル	2
スロバキア	1
クウェート	1
エジプト	1
ブルガリア	1
ラトビア	1
ニュージーランド	1
西アフリカ	1
ツンバジエ	1
イスラエル	1
合 計	203

作物のサイレージ調製, 南アフリカの半乾燥地帯における小自作酪農家の乾期用飼料のための飼料作物生産と貯蔵, A. G. Kaiser and J. W. Piltz, オーストラリアにおける熱帯作物からのサイレージ調製

セッション4: (A会場) ホールクロップ穀類およびマメ科牧草サイレージ — 座長 R. Jones — 一般講演: K. K. Bolsen ら, 表面スポイレージがトウモロコシサイレージの栄養価に及ぼす影響, J. S. White ら, 穀類サイレージの安定性にかかわる新しい知見, A. T. Adesogan ら, 豆類, 小麦およびそれらの混播サイレージの発酵特性および好氣的安定性に及ぼす乳酸菌とギ酸添加の影響, L. Cavallarin ら, 乾物含量と牧草コンディショニングがセインフォインサイレージのタンパク質自己分解に及ぼす影響, A. Winters and F. Minchin, 埋蔵されたアカローバのタンパク質含量に及ぼすポリフェノール酸化酵素 (PPO) の影響, (B会場) 発酵, スポイレージおよび埋蔵テクニック — 座長 J. Weddell — 一般講演: D. Slottner and P. Lingvall, 刈り取り時あるいは切断後に添加した添加物の影響, F. Driehuis ら, *Lactobacillus buchneri* あるいはホモ型発酵乳酸菌を添加した牧草サイレージの好氣的スポイ

レージの発生抑制, N. Nishino ら, ホールクロップトウモロコシサイレージに対するイノキュラムとして, 食品副産物由来 *Lactobacillus buchneri* の評価, P. O'kiely and P. D. Forristal, 埋蔵牧草の貯蔵特性に及ぼす密度と嫌気性の相互関係, K. McNamara ら, プラスチックストレッチフィルム梱包ベールサイレージに対する鳥害抑制, S. Holmquist and C. E. Mueller, 馬への飼料作物給餌に関する問題点

セッション5: サイレージ基礎飼料の摂取と利用の予測 — 座長 M. Mo — 招待講演: P. Huhtanen, サイレージ基礎飼料の摂取予測に関する新開発, R. E. Agnew and T. Yan, サイレージ基礎飼料からのエネルギー利用, D. I. Givens and H. Rulwain, サイレージ基礎飼料からのタンパク質利用, 一般講演: T. W. J. Keady ら, 泌乳牛による飼料摂取の予測, M. Rinne ら, 牧草の主要な生育時より利用が減少する再生草の D-value 開発モデル

セッション6: ポスターによる発表

セッション7: 新しい作物と新テクニック — 座長 R. Wilkins — 招待講演: R. E. Muck and P. O'kiely, 埋蔵の新技法, E. Kaiser ら, 飼料作物の埋蔵可能性の評価に対する新しい概念, G. Pahlow, 作物の範囲に対する埋蔵可能性の評価のための新しい概念の応用

セッション8: 新しい作物, 新しいテクニックおよび全体システム — 座長 G. Broderick — 一般講演: P. Conaghan ら, 窒素肥料施肥水準がサイレージ調製のために高可溶性糖類 (WSC) 濃度と生育に対して選抜したペレニアルライグラスに及ぼす影響, R. J. Merry ら, 高可溶性糖類 (WSC) 含量の牧草の利用によるルーメン内サイレージN利用性の効率改善, J. L. W. Rademaker ら, 末端制限断片長多型 (T-RFLP) DNA フィンガープリントによるサイレージの微生物数の動態測定, H. E. Johnson ら, サイレージメタボロームを研究する新しい方法, J. Harrison ら, 動態と最適を特徴とする酪農生産システムに対する統合した栄養管理モデルのツール, C. P. Ferris ら, 乳牛に対して異なる労働投入を考慮した2種類のサイレージ給餌システムの比較

3. 興味ある発表課題

セッション1では血中 LDL-コレステロールレベルが心臓の冠状動脈疾患 (CHD) を引き起こす原因であると考えられ, 畜産物製品の脂肪摂取量の増加と CHD の危険性が関係するのかどうかを議論した. 乳製品の摂取に大きく依存している欧米人にとっては重要な問題なのかもしれない. セッション4 (A) で発表したカンサス州立大学の K. K. Bolsen 博士は, ホールクロップトウモロコシサイレージを詰め込んだバンカーサイロの表層部に発生するスポイレージ (廃棄部分) を取り除かないで乳牛に給与すると, 栄養価が大

きく低下することを警告している。トウモロコシサイレージは、北アメリカにおいて乳牛と肉牛の重要なエネルギー源になっているが、きちんと密封しないで大型バンカーサイロを詰め込むアメリカ流においては、表層から45 cmまでは腐敗したスライム層が多く、この部分をできるだけ牛に給与しないように啓蒙している。わが国のサイレージ調製システムとは大違いである。セッション4 (B) ではスウェーデン大学のD. Slottnér氏が、ギ酸や乳酸菌製剤などの添加物を刈り取り時と切断時に添加した比較を発表した。*Lactobacillus buchneri*の乳酸菌種に着目した課題が数題発表された。オランダのF. Driehuisらと岡山大学の西野らは、この菌種を添加したサイレージの発酵品質と好氣的安定性を調べ、酵母や糸状菌の増殖が抑制され、好氣的安定性が高まることを報告した。

フィンランド、ノルウェーおよびスウェーデンではビッグベールサイレージの研究が盛んであり、予乾時間、ストレッチフィルムの品質、梱包密度、添加物などの観点から発表があった。また、サイレージの好氣的安定性の課題は国にかかわらず、共通の問題であり、発表数が多かった。

セッション5では、フィンランドのP. Huhtanen氏がサイレージ基礎飼料の摂取量予測の発表を行い、「よく食うサイレージづくり」を目指す筆者は大変興味があった。乳牛の生産能力は貯蔵飼料の摂取量をいかに高めるかに依存している。乾草では消化率とD-value (乾物1 kg中の可消化有機物g)が最も重要なパラメータであるが、サイレージの場合、草種、収穫時の化学成分や有機物消化率、併用濃厚飼料および発酵過程における炭水化物やタンパク質分画などの補正が必要である。

セッション7ではドイツのハンボルト大学E. Kaiserら、草地研究所G. Pahlowが飼料作物の埋蔵ポテンシャルの評価の新しい概念というタイトルで発表した。埋蔵ポテンシャル (ensiling potential) とは、嫌氣的に安定なサイレージ、簡素化された酪酸生成のないサイレージを調製するための材料草の適合性を意味している。サイレージの発酵品質は材料草の化学成分、特に乾物含量および可溶性糖類 (WSC) と緩衝能 (BC: pHを4.0以下に低下するのに必要な乳酸量) の比率 (WSC/BC) に大きく影響され、発酵係数 $FC = DM(\%) + 8 \text{ WSC/BC}$ の式が得られている。この概念に加え、硝酸態窒素の重要性を確認し、クロストリディウムの活性を抑える最少硝酸態窒素含量を定義する必要性を唱え、その値を材料乾物中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 1.2 gkg⁻¹ とした。発酵品質を良くするには硝酸態窒素の存在が必要で、その含量が少ない場合には亜硝酸態窒素を添加物として利用しようとする結論には多数の質問や意見があり、議論が白熱した。

セッション8では、オランダのNIZO食料研究所J.

L. W. Rademaker博士が末端制限断片長多型 (T-RFLP) DNAフィンガープリント法によるサイレージ微生物数の動態を発表した。*Lactobacillus plantarum* strain B 1318株、*Lactobacillus buchneri* strain B 1306株を添加したサイレージの発酵過程において、T-RFLP DNAフィンガープリント法によって測定した添加菌種の存在や菌数を把握した。この手法により、特定の菌種の動態が分かれば、添加菌種の役割を調べることができる。従来までの乳酸菌種の同定試験を行わなくても特定菌種の動態が分かるこの手法は優れており、サイレージ発酵を微生物学的にとらえる場合、有効な方法として今後の発展が望まれる。

世界のサイレージ研究者が一同に会して研究成果を発表するこの学会は、酪農先進地における粗飼料の利用形態をどのようにするべきかを考えさせる。栄養価の高い材料によりサイレージを調製し、それをできるだけ多く摂取させて濃厚飼料を節約する、しかもサイロ開封後の好氣的変敗の発生を抑制する、というのはサイレージを利用している国に共通の目標である。目標が達成されない限りは、それに向かって研究を継続しなければならない。最後に、閉会の辞でR. Wilkins博士は国際サイレージ学会でも若手の研究者層が薄く、研究の将来を心配していた。わが国においても同様である。サイレージの実験は、実験室サイロ→パイロットサイロ→農場規模サイロとステップを踏んで行い、できるだけサイレージを家畜に給与する試験を多くすることが、飼料としての価値を明らかにするものと思われる。

4. イギリスからのサイレージ情報発信

今回の学会において、イギリスあるいはスコットランドのサイレージ事情が紹介されなかったため、詳細は不明である。イギリスは北緯50~60度と日本より高緯度に位置しながら、メキシコ湾流と偏西風の影響で気候は温暖で湿度が高く、年間を通して降雨の頻度が高い。しかし、年間雨量は日本より少なく、夏でもそれほど強い日差しはない。このような条件から強い予乾が困難であり、ダイレクトカットあるいは軽い予乾による詰め込みが多い。サイロはほとんどがバンカーサイロである。古くから環境汚染防止のために、排汁処理を行っている。大学農場で調製されたサイロからも排汁が出ていたが(写真3)、フリーストール牛舎の通路から出される糞尿排出溝に、排汁流路が繋がっており、スラリータンクに貯留されていた。

学会運営委員の一人であるJ. M. Wilkinsonは、「Silage in Europe—A Survey of 33 Countries—」を1996年に出版し、ヨーロッパにおけるサイレージ利用の情報を提供している。近々、改訂版を出版するそうので、掲載する国を増やすため、日本の利用状況データを求められたが、残念ながらサイレージや乾草の年間

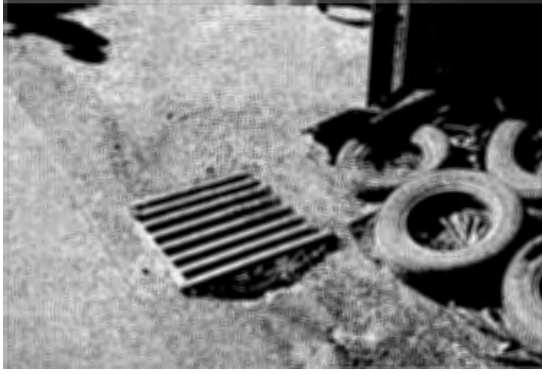


写真3 サイロからの排汁回収溝

使用量、サイロの設置数などの統計データがなく、要求された内容のうち、極わずかのデータのみを送った

経緯がある。

このたび、Wilkinson 博士から帯広畜産大学の高橋教授を経由して、「World Silage」を新刊で出版する予定で、前回要求した内容と同様のデータをぜひほしいといわれた。以前にこのようなデータを作成したことのある五十嵐弘昭氏に相談したところ、そのような生データはなく、畜産統計、作物統計および畜産物生産費の統計値から推定値として算出作成するものと教わった。彼からの教えにより、要求されたデータやコメントの大部分を作成することができた。これまでに、研究論文以外にわが国のサイレージ利用状況が海外で紹介されたことはほとんどないと思われる。これを機会に、わが国のサイレージ利用状況が伝わり、サイレージ先進国に認知されることを強く望む。

シンポジウム報告

第 36 回国際応用動物行動学会 (ISAE) 参加報告

瀬尾 哲也

帯広畜産大学 食糧生産科学講座 家畜生産科学分野

1. 開催場所

2002 年 8 月 6 日から 10 日まで、オランダのリゾート地 Egmond aan Zee にある Zuiderduin ホテルで行われた第 36 回国際応用動物行動学会へ参加した。近くには伝統的なチーズ市で有名なアルクマールがある。オランダの国土面積も人口もほぼ日本の 10 分の 1 程度であるが、山がなく見渡す限り平地が続いている。国土のほぼ全域が海拔 100 m 以下、その 3 分の 1 が海面下であるそうだ。車窓からの風景は、牧柵や電牧ではなく、水路で区切られた放牧地に牛、馬、羊が放牧されているのがとても印象的であった。

2. 内 容

本大会の主要なピックスは、家畜やコンパニオンアニマルのウェルフェアの評価であったが、養殖魚の知覚・感覚能力、ストレス、ウェルフェアに関してもトピックとして採り上げられた。プレナリー発表 4 題、口頭発表 74 題、ポスター発表 87 題、ワークショップ 6 題であった。日本からの発表参加者は、15 名であった。

家畜のストレス性の評価やアニマルウェルフェアに関する研究では、常同行動の遺伝的要因や迷路やオープンフィールドテストを用いた個体差の研究、さらにはオペラント条件付けを用いて横臥行動や社会行動の欲求を明らかにしようとする研究、社会行動による農家牛群のウェルフェアの評価、心拍数や ACTH およびコルチゾル濃度を指標としたストレス性の評価といった研究が発表された。さらに家畜や実験動物の同

居群の構成、飼育面積、新奇物設置といった側面からの環境エンリッチメントに関するものもあった。

3. エクスカーション

設定された 6 つのコースのうち、酪農家を見学するコースに参加した。レリー社の搾乳ロボットが 2 台導入されたフリーストールに隣接した放牧地があった(図 1、写真 1)。放牧地への出入り口にはセレクションユニットが設置してあり、餌槽には青刈り牧草が給与されていた。放牧地の土壌は非常に軟らかく、人が飛び跳ねただけでも弾力性が感じられた。牛舎内にいた搾乳牛は少し痩せている感じがした。

4. バンケット

貸切りのボートで運河をクルージングというとても

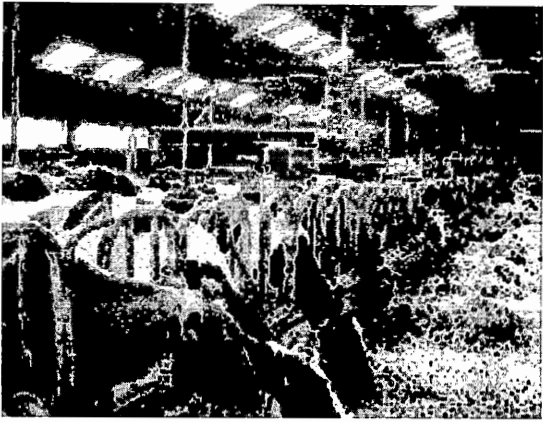


写真 1 見学した酪農家のフリーストール牛舎
(写真中央：搾乳ロボット)

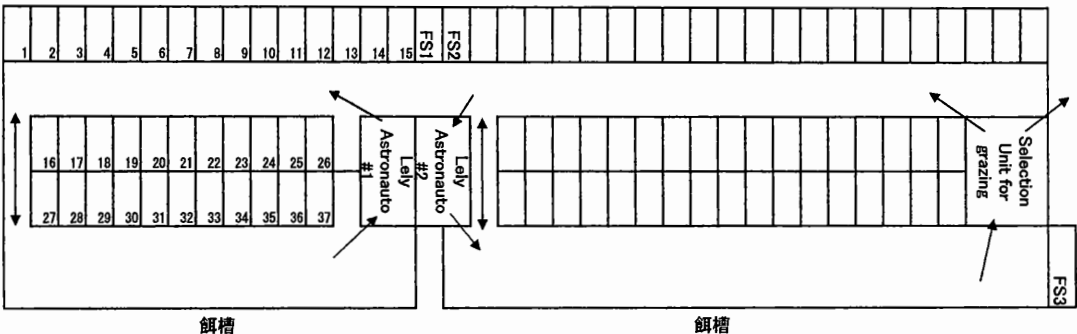


図 1 見学した酪農家のフリーストール牛舎概略図 (酪農学園大学 森田茂氏提供)
FS: フィードステーション

豪華で優雅なものであった。バイキング形式の料理は床からせり上がってくる。外にはオランダの象徴である風車と放牧地がみえる。大変感激した。

5. そ の 他

口頭発表での各人の持ち時間の終了合図は、ランプやブザーで行われるのが通常であったが、本大会では音楽（インストルメンタル）が会場に流れ始め、次第

に音量を増していくため質問や回答を中止せざるを得ない状況になる。そのため、通常の学会でよくあるようなスケジュールが遅れていくことはなかった。音楽で無理やり質疑応答を終了させるのは賛否両論あると思うがとても新鮮であった。

なお、2005 年は日本で本学会の大会が開かれることが決定している。

第 58 回 北海道畜産学会大会

2002 年 9 月 2 日(月)・3 日(火)

会場：北海道立畜産試験場

2002 年度北海道畜産学会賞

北海道立北見農業試験場 田中義春

「乳中尿素窒素データおよび乳検成績の活用等による 北海道酪農技術改善」

シンポジウム

「食品とくに畜産物の安全性を求めて」

「安全・安心フードシステムの構築に向けて」

北海道 道産食品安全室 参事 羽貝 敏彦 氏

「Non-GMO 牛乳の取り組み」

ホクレン農業共同組合連合会酪農畜産事業本部酪農部生乳受託課
生乳受託課課長補佐 川原 徹夫

「薄農場における安全・安心の取り組み」

薄農場 代表理事 薄 一郎 氏

遺伝・育種

- A 01 豚の初発情日齢と産肉能力との関係
○岩上弦太郎・梶野清二・内藤 学・小泉 徹(道立畜試)
- A 02 豚の肢蹄スコアと産肉能力との関係
○梶野清二・岩上弦太郎・内藤 学・小泉 徹(道立畜試)
- A 03 黒毛和種における脂肪交雑基準値と B.M.S.No.による育種価評価の比較
○酒井稔史・藤川 朗・宝寄山裕直・山本裕介(道立畜試)
- A 04 黒毛和種における枝肉形質の近交退化, 血統構造の推移および近交係数計算プログラムの作成
○藤川 朗・酒井稔史・宝寄山裕直・山本裕介(道立畜試)
- A 05 オープンソースを利用した牛枝肉横断面画像データベースの構築とその応用に関する研究
○口田圭吾・植田美緒・加藤貴之・鈴木三義・三好俊三(帯畜大・*十勝農協連)
- A 06 制約されたデータによる育種価推定に関する検討
○藤井千恵¹・鈴木三義¹・山崎裕子²・村田伸夫²(1, 帯畜大・2, ホクレン牧場)
- A 07 乳牛における在群期間と初産泌乳形質および体型形質に関する遺伝的パラメータの推定
○藤田千賀子・鈴木三義・松本成生*(帯畜大・*家畜改良事業団)
- A 08 国内のホルスタイン集団において利用された種雄牛とそれに由来した近交退化量との関連性
○萩谷功一・河原孝吉・後藤裕作・渥美 正(日ホ協会)・鈴木三義(帯畜大)・曾我部道彦(酪検協)
- A 09 北海道 MOET で生産されたホルスタイン乳牛の遺伝的能力
○佐藤 光¹・寺脇良悟²・斉藤祐介³・河原孝吉⁴・後藤裕作⁴(¹酪農大酪農・²酪農大短大部・³北酪検・⁴日ホ協会)

遺伝・育種

- A 10 北海道における調整交配された雌牛の遺伝的能力
○岩崎早生里¹・寺脇良悟²・斉藤祐介³・河原孝吉⁴・後藤裕作⁴ (¹酪農大酪農・²酪農大短大部・³北酪検・⁴日ホ協会)
- A 11 飼養形態ごとに推定したホルスタイン乳牛集団における群寿命の遺伝率
中野泰弘 (酪農大酪農)・○寺脇良悟 (酪農大短大部)
- A 12 酪農学園附属農場におけるホルスタイン乳牛の改良傾向
○今津明泰¹・寺脇良悟²・斉藤祐介³・河原孝吉⁴・後藤裕作⁴ (¹酪農大酪農・²酪農大短大部・³北酪検・⁴日ホ協会)
- A 13 ミトコンドリア DNA 配列によるエゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) の系統分類—12SrRNA 遺伝子, COX II 遺伝子および D-loop—
○和田健太・早川千里・横濱道成 (東農大生物産業)
- A 14 ウシ MUC1-VNTR の多型検出ならびに乳中体細胞数との関連性について
○山本直幸・西浦明子・富樫研治 (北農研)
-

生理

- A 15 ウマ新生子における同種免疫性溶血性貧血に関与する血液型不適合抗体の解析
○及川隆広・白尾淳之・横濱道成 (東農大大学院生物産業学研究所)
- A 16 エゾシカにおける角の伸長と血中骨代謝関連物質の関係
亀山祐一・○國井彰子・伊藤雅夫・石島芳郎 (東農大 生物生産)
- A 17 ウシ脊髄における正常型細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) の局在
○中村富美男・田中誠一・小林 謙・山川育生・竹之内一昭・福永重治 (北大院農)
-

畜産物利用

- A 18 牛初乳を利用したアイスクリームタイプ氷菓作製への試み
○筒井静子¹・藤園 藍² (酪農大短大部¹・酪農大酪農²)
- A 19 醗酵食肉製品に用いる有用細菌の食塩による生育阻害に対するアルギニンの緩和効果
河村多美・○藤井はるか・関川三男・島田謙一郎・三上正幸 (帯畜大・食料生産科学)
- A 20 大腸菌に対する非致死性のストレスが細胞損傷とその修復に及ぼす影響
○菊地政則・梶原仁誠・二平佳苗・上川真里佳・村松 圭 (酪農大・食品科学)
- A 21 *Lactococcus* sp.の生成するバクテリオシンの特性
○林 匡史・林 健一・木村園子・村松 圭・菊地政則 (酪農大・食品科学)
- A 22 ウシ初乳ホエー画分調製過程における抗原特異的抗体価の変化
○竹田保之・曾田春水・安藤功一 (酪農大・食品科学)
- A 23 新たな食肉製品創出のための食肉タンパク質水可溶化技術の開発
土岐真治・○伊藤友希子・大森 丘・井手 弘 (日本ハム中研) 若松純一・西邑隆徳・服部昭仁 (北大院農)
- A 24 アルカリ処理鶏肉を使用した含気食肉製品の開発
○三浦孝之¹・若松純一¹・沼田正寛²・岩崎智仁³・山本克博³・西邑隆徳¹・服部昭仁¹ (¹北大院農・²伊藤ハム中研・³酪農大食品科学)
- A 25 加熱に伴う食肉の微細構造の変化
○安川淳志・若松純一・西邑隆徳・服部昭仁 (北大院農)
- A 26 培養筋衛星細胞におけるミオスタチンおよびデコリンの発現
○岸岡康博・若松純一・西邑隆徳・服部昭仁 (北大院農)
- A 27 黒毛和種受精卵クローン牛肉の理化学性状の相似性
○葛岡修二・酒井稔史・南橋 昭・山本裕介・佐藤幸信 (道立畜試)
-

繁殖

- B 01 灸が乳牛の繁殖成績、体表面温度及び血流量に及ぼす影響
○小山久一¹・杉浦健太郎¹・大石 篤¹・堂地 修¹・加藤清雄²・井上博紀² (¹酪農大酪農・²酪農大獣医)
-

繁殖

- B 02 プロピレングリコールおよびプロピオン酸ナトリウムの給与が分娩後の発情回帰に及ぼす影響
○川田 訓・小林修司・藤田博巳・田嶋敏明・國行将敏・舛田正博・桑原佐和子・工藤 茂（家畜改良センター新冠牧場）
- B 03 放牧期および舎飼期における人工授精時の MUN 濃度が乳牛の受胎に及ぼす影響
○大滝忠利¹・草刈直仁¹・二階堂 聡¹・芹川 慎²・遠谷良樹¹（¹根釧農試、²現ホクレン）
- B 04 分娩後乳牛の空胎期間に影響する要因
○坂口 実¹・笹本良彦²・鈴木貴博²・高橋芳幸²・山田 豊¹（¹北農研・²北大院獣医）
- B 05 乳牛における連続膣温測定による排卵時間の予測
○佐久間元希¹・坂口 実²・高橋芳幸¹（北大院獣医¹・北農研²）
- B 06 乳牛における連続的歩行数および乗駕検知装置を用いた発情発見の検討
○北村祥子¹⁾・青木春佑¹⁾・西寒水 将¹⁾・森田 茂¹⁾・小宮道士¹⁾・寺脇良悟¹⁾・堂地 修¹⁾・小山久一¹⁾・笹栗紘二²⁾（¹⁾酪農大、²⁾㈱コムテック）
- B 07 過剰排卵誘起処置を行った黒毛和種経産牛の排卵観察
○西寒水 将¹⁾・青木春佑¹⁾・北村祥子¹⁾・菅原 紀¹⁾・岸 昌生²⁾・堂地 修¹⁾・小山久一¹⁾（¹⁾酪農大、²⁾雪印 ET 研）
- B 08 空气中保持時間が凍結ウシ裸化卵子の透明帯の破損率および破損状態に及ぼす影響
○成田真知・西寒水 将・青木春佑・北村祥子・藤澤泰之・堂地 修・小山久一（酪農大）
- B 09 ニュージーランドから輸入された凍結精液で人工授精された雌羊の分娩成績
○福井 豊・飯田憲司・岡田亜紀・亟々幸生・和知祥子・外川守彦（帯畜大）

飼養・飼料

- B 10 放牧主体泌乳牛への異なる併給飼料給与が乳生産、窒素およびエネルギー出納に及ぼす影響
○中辻浩喜・馬渡祐子*・竹井 悠*・三谷朋弘*・近藤誠司*・大久保正彦（北大北方生物圏 FSC・*北大院農）
- B 11 放牧主体泌乳牛への異なる併給飼料給与がルーメン内性状に及ぼす影響とその経時変化
○三谷朋弘・水野明子・竹井 悠・中辻浩喜*・近藤誠司・大久保正彦*（北大院農・*北大北方生物圏 FSC）
- B 12 ラフィノース（ビートオリゴ糖）給与が哺乳子牛の成長と糞便に及ぼす影響
○中井朋一¹・名倉泰三¹・佐藤 忠¹・佐渡谷裕朗¹・田中勝三郎¹・岡本明治²・花田正明²（¹日本甜菜製糖・²帯畜大）
- B 13 微生物処理した水産加工残渣の反芻家畜用飼料としての特徴
○李 慧全・花田正明・上杉幸子・渡辺正和・岡本明治（帯畜大）
- B 14 ペパーミント給与が豚の肉質や風味および肥育成績に及ぼす効果について
○野口華奈・向井優子（酪農大中小家畜研究会）泉 賢一・筒井静子・上野光敏（酪農大）
- B 15 牧草蛋白質のサイレージ化にともなう窒素分画区分、第一胃内分解率、利用率の変化（1）水分含量の影響
○ Nguyen Hunn Van・松瀬研祐・河合正人・高橋潤一・松岡 栄（帯畜大）

栄養

- B 16 給与粗飼料の違いがルーメン内における共役リノール酸（CLA）および trans-11C18:1（TVA）生成に及ぼす影響
○泉 友子・安 秉基・小林泰男・田中桂一（北大院農）
- B 17 熟期の異なるともろこしサイレージの給与が乳牛の蛋白質および炭水化物利用性におよぼす影響
○谷川珠子・大坂郁夫・川本 哲（道立畜試）
- B 18 サイレージ及び濃厚飼料を給与しためん羊における乾物摂取量、ルーメン内アンモニア態窒素濃度及びブリン誘導体排出量に及ぼすガラクトオリゴ糖、ユッカシリゲラ及びナイシンの影響
○ Budi Santoso¹・Mwenya Benson¹・蒲生夕子¹・Sar Chetra¹・小林竹雄¹・森川玲奈¹・木村一雄²・水越晴美²・高橋潤一¹（¹帯畜大・²ヤクルト本社中央研究所）

栄 養

- B 19 アルファルファサイレージとコーンサイレージの併給が採食量および乳生産に及ぼす影響
○中村正斗・佐藤義和¹・矢用健一・伊藤秀一²・山田 豊・坂口 実・久米新一（北農研・畜草研¹・学振科技特²）
- B 20 生菌剤及びオリゴ糖の添加が乳牛のメタン生成、消化率及びエネルギー代謝に及ぼす影響
○小林竹雄¹・周 效桂¹・蒲生夕子¹・塩崎智史¹・小山愛子¹・Sar Chetra¹・Budi Santoso¹・高橋潤一¹・木村一雅²・水越晴美²（¹帯畜大、²ヤクルト本社中央研究所）

管 理

- B 21 野生エゾシカの餌付け手法による樹皮食害防止の試みー餌場を基点とした行動範囲とビートパルプペレットの採食性ー
増子孝義・○福井絵美・高崎ゆかり・春上結希乃・北原理作（東農大・生産）佐藤健二（池田鹿実験牧場）高村隆夫・西田力博（前田一歩財団）
- B 22 野生エゾシカの餌付け手法による樹皮食害防止の試みー餌場を利用しているエゾシカの行動範囲ー
増子孝義・春上結希乃・○高崎ゆかり・福井絵美・北原理作（東農大・生産）・佐藤健二（池田鹿実験牧場）高村隆夫・西田力博（前田一歩財団）
- B 23 石炭灰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（道立畜試）
- B 24 肥育牛に対する敷料としての石炭灰の評価
○杉本昌仁・八代田千鶴・葛岡修二・佐藤幸信（道立畜試）
- B 25 ふん尿処理からみた乳牛のフリーバーン方式、特に搾乳牛での事例
○阿部英則・田村 忠・渡部 敢・吉田 悟（道立畜試）・浦谷孝義（十勝農試）
- B 26 電気伝導度および乾物率を用いた豚ふん尿処理物の肥料成分含量推定法
○渡部 敢・湊 啓子・田村 忠・山崎 昶・阿部英則（道立畜試）
- B 27 堆積ふん尿の下部に敷設する床材の種類による排汁特性・床の物理性の違い
○田村 忠・渡部 敢・湊 啓子・阿部英則・新名正勝（道立畜試）
- B 28 自動搾乳機を使用したフリーバーンにおける乳牛の採食および横臥行動
○森田 茂・広瀬大介・三浦 実・坂田賢司・干場信司（酪農大）
- B 29 ササ類優占の林間放牧地における肉用牛の採食分布位置
○新宮裕子・近藤誠司・大久保正彦（北大院農）
- B 30 放牧型へ転換した酪農家群の総合的評価
干場信司・森田莉穂*・河上博美・猫本健司・森田 茂（酪農学園大、*現レイクヒル牧場）

第 58 回 北海道畜産学会大会報告

遺伝・育種

酪農学園大学	寺 脇 良 悟
日本ホルスタイン登録協会	萩 谷 功 一
北海道農業研究センター	山 本 直 幸
帯広畜産大学	田 口 圭 吾
北海道立畜産試験場	藤 川 朗

A 01 北海道立畜産試験場において系統造成された大ヨークシャーの第 1 世代雌豚について、繁殖能力と生産形質との表型ならびに遺伝相関を調査した報告である。繁殖能力としては生産性に大変重要な初発情日齢を取り上げ、体重 30~90 kg の間の 1 日平均増体重と体重 90 kg 時の超音波測定背脂肪厚を生産形質の形質としている。初発情日齢と 1 日平均増体重ならびに背脂肪厚との間には表型相関は認められなかった。しかし、遺伝相関が初発情日齢と 2 つの生産形質との間に認められ、とくに背脂肪厚との遺伝相関係数は -0.9 と推定されている。初発情日齢の遺伝率推定値 0.4 は選抜による遺伝的改良の可能性を示唆するものであり、背脂肪厚との高い負の遺伝相関係数は相関反応の利用が十分に考慮される値である。

A 02 前報告と同様研究対象は系統造成された大ヨークシャーであるが、豚数は 504 頭である。分析形質は肢蹄スコアと生産形質 2 形質である。2 つの生産形質は前報告と同様である。肢蹄スコアとくに前後のツナギの遺伝率推定値は 0.7 および 0.5 であり、遺伝的改良の可能性が認められる。さらに、前後肢の立ちスコアと背脂肪厚との間に -0.4 および -0.7 と高い負の遺伝相関係数が推定され、将来生産現場での選抜淘汰の決定における情報として有効に利用できる可能性があると期待される。前報告と同様であるが、分析データが第 1 世代のみであること、さらには比較的小規模なデータであることから、精度の高い遺伝的パラメータ推定に必要なデータの集積と世代の積み重ねを期待する。

A 03 黒毛和種の市場価値に重要な役割をもつ脂肪交雑に関する評価は、育種家、繁殖、育成そして肥育農家とすべての生産段階で最も関心のある事項である。脂肪交雑基準値（基準値）と B. M. S. No. (BMS) の分析結果から、種雄牛についての両育種価間の相関係数は 1.00 と推定され、育種価による種雄牛のランキングはどちらの形質でもまったく同一で問題はないと考えられる。また、BMS 育種価に対する基準値育種価

の回帰係数は種雄牛ならびに雌牛についてそれぞれ 0.349 と 0.341 であり、妥当な推定値であった。これらの結果から、基準値の育種価による評価は BMS 育種価と比較して、実際上の大きな問題を生じないと考えられた。

A 04 北海道内の黒毛和種における近交係数と種雄牛の寄与率の推移について検討するとともに枝肉形質に対する近交退化量を推定し、さらに、VBA プログラムを利用して作成し、EXCEL 上で簡易に利用できる近交係数計算ソフトを紹介した報告である。近交係数は、年次とともに上昇し、1995 年に誕生した雌の平均で 3.1% に達した。また、遺伝的寄与率の推移から、近年、特定の種雄牛が交配に利用される傾向が高まっていることが示された。アニマルモデルによる分析の結果、枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さ、皮下脂肪圧、歩留基準値および BMS ナンバーの近交退化量は、すべて負の推定値であった。血統データの整備および蓄積によって、今後の近交係数の推移が興味深いところである。近交係数計算ソフトは、明解な実演により紹介された。近交係数を考慮した交配シミュレーションシステムへの発展が期待される。

A 05 ロース芯の脂肪交雑の状態・形状・肉色などの情報を含む枝肉画像と関連情報をデータベース化し、一般に公開することで生産現場における実用化を考慮した情報還元システムについての報告である。データベースは、PostgreSQL を使用して構築され、Windows 上で利用可能である。条件を入力して検索することにより、BMS ナンバー、枝肉単価などとともに枝肉画像が速やかに表示された。また、条件に該当したデータの件数およびデータの平均値が瞬時に計算されて表示された。システムの実演から、誰でも利用可能な完成度の高いシステムであることが伺えた。インターネットなどを利用しての一般公開が望まれる。

A 06 特定の農場のみからの限られたデータから精度の高い育種価を推定する手法について報告した。推定の精度は、北海道全体のホルスタイン雌牛の泌乳記録から推定した育種価（グローバルな育種価）とホクレン牧場のみのデータから推定した育種価（ローカルな育種価）との比較において検討した。ローカルな育種価の推定において、年次を母数効果としてモデルに含めた場合、年次効果と相加的遺伝子効果が交絡した。年次の分散を推定して、年次を変量効果としてモデルに含めた場合、グローバルな育種価とローカルな育種価間の相関がもっとも高くなった。このことから、

モデルおよび分散成分を検討することで少数のデータのみから、育種価を推定することが可能であることを示した。少数のデータから正確な分散成分を推定することが困難であることから、今後、利用できるパラメータについての検討が期待される。

A 07 乳牛においては在群期間は経済的に重要な要因であるが、その測定には長期間を要し、また改良には間接的選抜に頼らざるをえない。そこで本報告では、遺伝率、初産の泌乳形質、体型形質と在群期間との遺伝的関連について検討がなされた。その結果、在群期間の遺伝率では低い値が推定された。乳器および肢蹄においては中程度の正の遺伝相関が推定され、乳器、肢蹄による選抜は乳牛の在群期間の増加に有効であることを示した。一方、体積では負の遺伝相関が推定され、体積による選抜は在群期間を減少させる傾向にあることが明らかにされた。また、線形式体型形質では、後乳房の高さ、乳房の懸垂、乳房の深さに関する形質で正の遺伝相関が推定され、強さ、体の深さ、尻の幅に関する形質では一貫して負の遺伝相関が推定されることを示した。今後の更なる成果の蓄積が期待される。

A 08 本報告は国内のホルスタイン集団の近交係数を推定するとともに、近親交配の個体由来別の近交退化量について検討したものである。日本ホルスタイン登録協会の血統記録、北海道酪農検定検査協会の産乳能力検定記録を用い、近交係数の推定には再帰的アルゴリズムを、近交退化量の推定にはアニマルモデルを用いて解析を行っている。その結果、1980、1990、2001年生まれの雌牛および雄牛の近交係数は上昇的に推移していることを示した。2001年生まれの雄牛の祖先として多く登場した4頭に由来する近交退化量は個体毎に異なり、初産乳量に対する近交退化量は近交係数1%増加当たり-11.9 kgから-25 kgの範囲と推定されることを示した。今後の更なる分析への発展が期待される。

A 09 MOETによる育種改良計画は、北海道においても1995年より実施されている。本報告は、輸入受精卵から生まれた1世代雌牛とこれらの雌牛へのMOET処理で生まれた2世代雌牛の遺伝的能力を全道の検定牛能力と比較検討したものである。その結果、全道検定牛の平均乳量育種価は1990年から2000年まで一貫して増加していた。一方、MOETで生産された雌牛の平均乳量育種価は全道に比べいずれの年次においても約500 kg高いものであった。平均乳脂量育種価、平均乳タンパク量育種価においても、MOET集団は全道平均値を上回るものであった。また、第2世代雌牛では乳脂量と乳タンパク量が1998年から1999年にかけて飛躍的に増加したのに対し、乳量は逆に減少していることが明らかとなった。今後の展開が期待される。

A 10 候補種雄牛の遺伝評価を目的とした雌牛生産のための交配を調整交配というが、岩崎ら（酪農大ほか）は、調整交配される雌牛の遺伝的能力について、全道の遺伝的能力と比較検討を行った。北酪検に集積された育種価ファイルより、乳量、乳脂量および乳タンパク質量の育種価を用い、その中から、調整交配で生まれた雌牛を抽出した。抽出された調整交配娘牛は約42千頭であった。調整交配娘牛の平均育種価と全道の平均育種価を比較したところ、乳脂量において、1986年以前は、調整交配娘牛の平均が全道平均を上回り、最大4.29 kgの差があったが、1986年には全道平均が0.58 kgの差まで近づき、その後はほぼその差で推移した。同様の傾向が乳量でも認められた。乳タンパク質量においては、1980年以前は全道平均が調整交配雌牛平均を上回ることがあったが、その後1.0 kgから1.2 kgの差で調整交配雌牛平均がやや高い値を示した。さらに研究を進展させ、線形審査項目や在群期間などに対する調整交配の影響に関する報告を期待したい。

A 11 中野ら（酪農大）は、飼養形態を2つ（タイストール牛舎・フリーストール牛舎）に分け、ホルスタイン乳牛集団における群寿命の遺伝的パラメータを生存時間解析により推定した。群寿命を示す指標は、初産分娩日から除籍日（左右打ち切りあり）までの日数とした。分析にはSurvival Kitを用い、18万頭の記録を飼養した。両飼養形態において長命性に対する貢献度は有意であり、初産分娩日齢が高いほど相対的淘汰危険率（RCR）が高くなる傾向にあった。体型審査を受けている個体は、受けていない個体よりRCRが有意に低かった。群寿命の遺伝率は、0.15程度であり、飼養形態による顕著な違いは認められなかった。群寿命に対し、乳房に関わる体型形質が影響しているという報告が多数認められるが、今後、体型を含めた遺伝的解析を期待したい。

A 12 今津ら（酪農大ほか）は、酪農大附属農場で飼養されたホルスタイン乳牛の遺伝的能力について、その経時的な変化を全道の平均を対照として比較した。分析には、1966年から1999年に生まれた農場の個体（ $n=453$ ）を含む、179万個体の305日齢検定記録を用い、育種価の推定には、アニマルモデルを使用した。なお、対象とした形質は、乳量、乳脂量および乳タンパク質量である。乳量の育種価について、調査期間の前半は、農場平均が全道平均を上回る傾向が認められたが、1992年から1997年の間、農場平均は全道平均より一貫して小さな値をとった。乳脂量の育種価は、調査期間後半で農場平均が全道平均を上回る傾向にあった。乳タンパク質量の育種価は、乳量とほぼ同じ傾向が認められた。1990年代に、乳量および乳蛋白質量の育種価の農場平均が、全道平均より下回った原因の調査検討をのぞみたい。

A 13 この研究はミトコンドリア DNA 配列によりエゾシカの系統分類を試みたものである。検討された DNA 配列は 12 rRNA 遺伝子、COX II 遺伝子および D-loop 領域の全長であり、シカ科・ウシ科動物との系統分類が行われた。エゾシカは農作物への被害が問題になる一方で新たな肉用資源としても注目を集めている。しかし口蹄疫等の国際重要疾病のレゼルボアとなる危険性も孕んでおり、このような基礎的研究の蓄積により遺伝的特性の把握が必要であると考えられる。

A 14 この研究は乳中ムチン蛋白質遺伝子のエクソン領域 (VNTR) の多型と乳中体細胞数との関連性を検討したものである。乳牛 103 個体において VNTR の繰り返し数 (3 タイプ) により乳中体細胞数が有意に異なっていた。しかし、乳房炎の臨床症状の詳細については検討を行っておらず、今後検討していくとのことであった。乳房炎は酪農産業に最も大きな損失を与えている疾病であり、このような感染防御能に関連があると考えられる遺伝子の多型と乳房炎との関連性についてさらなる研究の進展が望まれる。

生 理

酪農学園大学 宮 川 栄 一

A 15 ウマの新生子期における疾病の一つである同種免疫性溶血性貧血 (新生子黄疸症) は初乳中に含まれる血液型不適合抗体が原因である。著者らは既に、予防検査の間接赤血球凝集反応において、抗ウマ γ グロブリン・モノクローナル抗体 (Anti- γ mAb) 検査試薬をもちいた方がポリクローナル抗体よりも、検出精度及び感度が高く、非特異的反応も低下させることを報告している。今回は血液型不適合抗体の免疫グロブリン (Ig) クラスの判定を行い、mAb の抗原認識部位の分離及び同定を行った。血液型不適合抗体活性のある Ig クラスは黄疸発症ウマ血清 6 検体とも IgG であった。ウエスタンブロット法による同定の結果 mAb 検査試薬は IgG の可変領域である Fab を特異的に認識していた。血液型不適合抗体の Fab 画分を抗原とし、mAb の作成を試みれば、高感度の検査試薬の開発が可能と考えられる。

A 16 シカ類の Ca 代謝に関する論文は極めて少ない。本報告はエゾシカにおける角の伸長と血中骨代謝関連物質の関連について検討した。臨床検査で血清総 Ca、P、Mg、クレアチニン、総 ALP、骨型 ALP (BAP)、 $1.25(\text{OH})_2$ ビタミン D_3 量を、高周波プラズマ発光分析で血清総 Ca、P、Mg、Sr 量を測定した。3 歳以上の個体では落角が 4 ~ 5 月、剥皮が 9 月に観察された。角の伸長のピークは 6 月であった。総 ALP は 5 ~ 8 月にかけて上昇し、9 月に急激に減少した。BAP は総 ALP とほぼ同じ推移を示した。総 ALP の多くが

BAP であり、BAP は袋角の伸長部に由来すると思われる。 $1.25(\text{OH})_2$ ビタミン D_3 は、7 月にピーク濃度を記録した。これは袋角の伸長を反映したものと思われる。総 Ca 及び Ca^{2+} は年間を通してほぼ一定値を示した。Sr で骨の伸長と関連した変動が疑われた。エゾシカの血中骨代謝関連成分に周年変動のあることが判明し、その変動は角の伸長に起因するものと思われた。

A 17 正常型細胞性プリオンタンパク質 (PrPc) に関する研究報告は少なく、中枢神経系における詳細な局在及び生理学的な役割も未だ明らかにされていない。本報告は、牛脊髄における PrPc の局在を免疫組織化学的に検討した。PrPc、ニューロフィラメント (NF)、グリア繊維酸性タンパク質 (GFAP) に対する各抗体を第一抗体とする間接蛍光抗体法を、ウシ頸髄の凍結横断切片及びマウス胎子由来の神経系培養細胞に対して行った。メタノール固定で明確な染色像が得られ、PrPc は、神経細胞体、軸索、神経突起、髄鞘、表在性神経膠性限界膜、血管周囲、結合組織性支柱や膠質性支柱等に存在していた。PrPc の局在の一部は NF あるいは GFAP の局在と一致していた。神経系培養細胞においても、抗 NF あるいは GFAP 抗体によって染色された多様なネットワーク構造と類似した染色像が抗 PrPc 抗体によっても観察された。これらの結果から、PrPc は、中枢神経系の様々な構成要素に存在すると考えられた。

繁 殖

帯広畜産大学	福 井 豊
酪農学園大学	小 山 久 一
北海道農業研究センター	坂 口 実
北海道立畜産試験場	山 本 裕 介

B 01 この演題は、乳牛の分娩後の繁殖成績、体表面温度および血流量に及ぼす灸の効果について検討したものである。分娩後 3、30 および 50 日目の乳牛 14 頭 (施灸群) を用いて、ウシの後軀を中心に背部 10 カ所に灸を施し、無施灸の対照群 (乳牛 11 頭) と比較した。体表面温度はサーモビュアを用い、血流量は陰部皮下の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンおよび総ヘモグロビンの相対変化量を近赤外線装置を用いて測定した。その結果、初回発情回帰日数、初回授精日数、実空胎日数、人工授精回数のいずれも施灸群で短縮する傾向みられ、空胎日数では有意差が認められた。体表面温度は施灸後 20 分で尾根部から大腿部後方および乳房は 38 度に上昇した。血流量は、2 牡目開始後 2 分から急増し、施灸終了時には開始時まで低下した。以上のように、本研究は分娩後の乳牛の繁殖成績の向上の灸の有効性を示した。

B 02 この演題は、プロピレングリコール (PG) とプロピオン酸ナトリウム (NaP) を分娩後の乳牛の子

宮、卵巢回復状態を確認するフレッシュチェックに併せて給与することで発情回帰に影響するかどうかを検討したものである。2つの実験を行っている。実験1では試験区はPG+NaP区、NaP区とし、実験2では、PG+NaP区と無給与区で比較した。PG (175 ml), NaP (25 g)は分娩後4-7週間目まで1日1回給与した。発情は発情日から2日目までで排卵したものとした。卵巢状態を約1週間毎に観察し、採血も分娩予定2週間前から分娩後1-8週間目まで、約1週間毎に実施し、遊離脂肪酸 (NEFA), 血糖 (GUL), ケトン体を測定した。その結果、実験1および実験2において分娩後13週間目までの初回発情頭数、発情回帰日数には差は認められなかった。しかし、分娩後の発情回帰日数はPG+NaP区が無給与区より有意に早かった。また、分娩後4週目までに黄体または排卵を確認した場合、発情回帰日数はPG+NaP区が無給与区より早い傾向にあったが、分娩後4週目以降の場合では差はなかった。PG, NaPの投与期間中のNEFA, GULおよびケトン体は各区分で差はなく、既報と異なる結果となった。以上のことから、フレッシュチェックに併せてPG+NaPを給与することによって、分娩後の発情回帰を早め、早期の受胎促進に有効であることが示唆された。

B 03 この演題は、放牧期および舎飼期における乳牛の栄養状態と受胎との関係を明らかにするため、人工授精当日の乳中尿素窒素 (MUN) 濃度と受胎成績との関係について検討したものである。分娩後150日以内に人工授精を行った79頭、延べ158例を用いた。授精当日のMUNと授精後8日目の血漿中プロジェステロン (P4) 濃度ならびに血液生化学性状を調べた。結果は、授精後8日目のP4濃度が1 ng/ml以上の152例について解析した。放牧期にMUNが8 mg/dl未満で受胎した個体はなく、16から20 mg/dl未満の区で最高の受胎率 (53%) を示した。舎飼期では12から16 mg/dl未満の区で最も高い受胎率 (59.3%) であった。受胎牛と不受胎牛における授精後8日目のGOT, MUN, NEFAおよびP4濃度には有意差は認められなかった。以上のことから、放牧期にはMUN度が比較的高い傾向にあっても、エネルギー給与量が考慮されていれば受胎率に大きな支障はないことが示唆された。

B 04 この報告は、北農研と北大院獣医との共同研究で、乳牛の空胎期間延長の要因を探ろうとして、分娩後の初回排卵日数、初回発情日数、乳量、産次および分娩季節との関係について検討した研究である。結果として、これらの要因と空胎期間延長との間に直接的関係はみられないと結論している。すなわち、初回排卵日の遅い群 (43~79日) は、初回発情や初回人工授精 (AI) 日数が遅れるものの、初回卵巢周期や子宮径回復日の短縮およびAI回数の減少によって空胎期

間が短縮し、結果的に初回排卵日の早い群 (10~21日) との間に差のなくなることを認めている。また、初回発情日の早い群 (21~42日) と遅い群 (64~107日)、初産と経産および夏期分娩と冬期分娩との比較においても空胎期間に差のないことを確認している。本研究は空胎期間の延長を分娩後の卵巢機能の回復時期に着目して検討したところに意義深いものがある。空胎期間の短縮には、発情発見率の向上は重要な課題なので、発情発見との関連も含めて研究を継続していただきたい。

B 05 この報告は北大院獣医と北農研との共同研究で、乳牛の排卵時期を腔温の上昇から予測できることを示唆した研究である。自然発情牛とPGF2 α 投与牛を供試して、腔温を連続測定したところ、排卵のみられた13例中12例 (92.3%) において、前2日間の平均値より0.3℃腔温の上昇すること、ならびにその上昇時刻と排卵までの時間が12例中10例において平均25.6時間であることを見出している。また、この腔温上昇がエストラジオール17 β と関連していることも示した。本研究は、腔温上昇時刻から排卵時間を予測し、排卵時間から授精適期を把握できる新しい試みなので、今後は簡便で正確な腔温測定法を開発していただきたい。

B 06 行動を自動計測・送信する機械を用いた、乳牛の発情を発見する方法について検討した報告である。酪農現場では空胎期間が延長し続けており、この原因の一つとして発情発見率の低下が指摘されてきた。肉用牛繁殖の現場で実用化されつつある乗駕検知装置を、万歩計とともに用いると発情発見に有効であるとの結論が示された。どちらの装置も、ほぼリアルタイムでデータが得られるため、授精適期を特定するためには実用的な方法であると評価できた。とりわけ万歩計は、スタンディングを示さない牛にも有効であるが、従来の方法ではデータの収集が搾乳時に限られていたため、今回の方法の実用化が期待される。そのためにも万歩計を装着する位置による行動計測データの違いについて、より詳細な検討が待たれるところである。

B 07 過剰排卵処置による採卵成績の変動を少なくすることを目的に、処置後の排卵時間を調べている。過剰排卵処置は、CIDR, FSH, PG, GnRHを組み合わせた方法で行われ、排卵時刻は超音装置を用いて特定された。その結果、PG投与後52~67時間に最初の排卵が確認され、その5時間後以内に、約半数の排卵が起こることが示された。ただし、これらの結果にはばらつきが大きく、また供試頭数も4頭と少ないことから、将来的には、より例数を増やした詳細な検討や、異なる過剰排卵プロトコルでの検討により、採卵成績の向上への寄与が期待される。

B 08 凍結ウシ卵子の融解法が融解後の透明帯破

損率に及ぼす影響を調べた報告である。透明帯が破損を受ける原因は加温中の氷晶内の亀裂と考えられており、透明帯のみならず、細胞にも破損をもたらす可能性が高い。従って透明帯への破損を減らすことは胚の生存性を高めることにもつながる。融解は液体窒素から取り出して0, 3, 5, 7, 10 および 30 秒間の空気中保持時間を設定し、保持時間が短い程透明帯破損率が高いことを示した。また、破損は透明帯が一部欠損するケースが最も多かった。現在凍結胚の融解は空気中保持 10 秒間が一般的であり、その有効性を裏付ける結果と考えられる。メディアの種類、血清の濃度、凍結速度による影響についての質疑応答があった。

B 09 ニュージーランドから輸入しためん羊凍結精液の非繁殖季節における人工授精成績を報告したものである。北海道内の 3 カ所のめん羊牧場において 6-7 月（非繁殖季節）に発情・排卵誘記を施して子宮内人工授精した。2 頭の雄羊精液を使用したのが分娩率は 58.3% と 59.5%、産子率は 2.03 と 1.61 で差はなかった。また子宮内注入量は 1 頭当たり 0.2 ml で充分であることを示した。凍結精液の価格は一本 2 千円であり、高価な雄羊を輸入することを考えると海外の新たな血統の低コストな導入法として利用できると提言している。希釈液の組成や精子生存率についての質疑応答があった。

飼養・飼料

酪農学園大学 泉 賢 一
北大北方生物圏 FSC 中 辻 浩 喜

B 10 中辻らの報告で、放牧主体飼養の泌乳牛に対して NFC 含量の高いコーンサイレージ（試験 1）および小麦あるいはビートパルプ（試験 2）を給与し、RDP と NFC のバランスを考慮に入れた上で、乳生産、N およびエネルギー出納に及ぼす影響について検討したものである。試験 1 と試験 2 では供試牛群の泌乳ステージが異なっていたため、乳量、消化率あるいはエネルギー代謝率に差が認められた。しかし、摂取 N に占める排泄 N の割合や乳中および体蓄積 N の割合には両試験で差がみられなかった。また、牛乳生産のエネルギー粗効率も乳量の低かった試験 2 において低下しないことも示された。本報告のように、放牧条件下における N 出納やエネルギーの代謝効率を踏まえた上で、放牧地草と併給飼料の組合せを検討した例は非常に少ない。放牧に対して注目が集まってきている現在、科学に基づいた放牧技術が求められており、さらなる研究の発展が期待される。

B 11 演者らは放牧飼養時における併給飼料源として NFC を多く含むコーンサイレージ（試験 1）、小麦およびビートパルプ（試験 2）を泌乳牛に給与し、ルーメン内性状に及ぼす影響とその経時変化について

検討した。その結果、コーンサイレージ給与下と小麦あるいはビートパルプ給与下では傾向が異なり、試験 2 においては飼料摂取後ルーメン内で発酵が急激に進行することが示された。とりわけ、NFC の発酵状況を表す酢酸：プロピオン酸比が試験 2 において給与後減少した。このような結果を受けて、今後は飼料のルーメン内分解性についても検討を加える必要があると演者は結んでいる。放牧飼養下では乳成分の低下など依然解決されていない多くの問題が存在するので、ルーメンの発酵バランスに着目した本報告は非常に意義深いものである。放牧下の最適な飼養管理方法を確立すべく、今後も研究を重ねていただきたい。

B 12 本報告は、ビート糖蜜から分離・精製して得られるオリゴ糖であるラフィノースを哺乳子牛に給与し、成長と糞便性状に及ぼす影響について検討したものである。その結果、ラフィノース給与区において糞便中に乳酸菌が増加することはなかった。一方、生後 6 週齢時の糞中有機酸含量は対照区と比べ少なかったことから、ラフィノースは大腸以前で乳酸菌に利用され、その際発生した有機酸が消化機能を刺激し、飼料の消化吸收が高まった可能性が示唆された。質疑において、両処理とも下痢の発生は認められなかったことから、下痢が多発している牛群において試験を行えばラフィノースの効果がより一層明確になったのではないかと、という意見が提案された。哺乳子牛における下痢の発生は酪農経営にとって大きな問題であり重要なテーマである。ラフィノースのような機能性飼料に関する研究は報告例が少ないので、引き続き継続していただけることを期待する。

B 13 水産業が盛んな北海道において、水産加工残渣の処理問題が深刻である。李ら（帯広畜大）は、水産加工残渣の反芻家畜に対する飼料としての可能性を検討するため、ホッケのあらを米ぬかとともにバチルス菌群と混合して発酵・乾燥させる処理を行い、それらの反芻胃内分解性および消化率を測定した。その結果、CP の反芻胃内有効分解度は、大豆粕、および菌を加えず乾燥した水産加工残渣よりも低かった。また、本実験の範囲では嗜好性にも大きな問題はなく、各成分消化率は大豆粕とほぼ同等であった。これらのことから、演者らは、微生物処理した水産加工残渣は反芻家畜へのバイパス蛋白質の供給源として有効であると結論した。質疑として、脂肪含量が高いことによる保存性、および製造コストが話題となった。今後、嗜好性および畜産物への風味移行の問題も含め、実際の給与と限界量などの査定が必要となろう。

B 14 食品に対して美味しさ、ヘルシーさおよび安全性を求める傾向が高まっている現在、畜産物への香り付け効果、あるいは抑臭効果を期待した、家畜へのハーブ給与などが消費者からも関心を集めている。そこで、野口ら（酪農大）は、豚飼料中にペパーミント

(原物中3%)を添加し、それらの飼料採食量、肥育成績、さらには肉質および肉の風味に及ぼす影響を検討した。その結果、採食量、日増体量および枝肉の格付けには、両区で大きな差は認められなかった。一方、官能検査(色合い、におい、軟らかさ、美味、総合評点の5項目)では、「におい」においてペパーミント添加豚が好ましいという結果となり、ペパーミント給与は豚肉の風味を改善する可能性が示唆された。今回は頭数(5頭のうちペパーミント添加区1頭のみ)が少なかったこともあり、「におい」の改善が何によるものなのか(抑臭なのか香り付けなのか?)は不明であった。そのためには例数を重ね、より詳細な解析が必要である。

B 15 牧草蛋白質の性質はサイレージ化にともない変化し、家畜による利用率に影響することが知られている。Nguyen Huu Van ら(帯広畜大)は、水分含量の異なるサイレージを調製し、蛋白質の変化について、緩衝液可溶窒素(BSSN)と不溶窒素(BSIN)、中性デタージェント不溶窒素(NDIN)および酸性デタージェント不溶窒素(ADIN)など、新しく提案されている窒素分画区分、およびそれらの第一胃内分解率を測定し、それらとめん羊による窒素利用率との関係を検討した。その結果、めん羊による窒素蓄積率は原料草にくらべてサイレージで低かったが、サイレージの水分含量が低くなるにつれて高まった。牧草のサイレージ化にともなう窒素利用性の低下にはBSSN区分の増加、(NDIN-ADIN)区分の減少、および不溶性窒素分解率の低下が関係していることが示唆された。これらのことは、サイレージ化にともなう牧草蛋白質の変化と家畜による利用性における新しい知見であり今後の研究の進展が期待される。

畜産物利用

酪農学園大学	竹 田 保 之
帯広畜産大学	荒 井 威 吉
北海道立畜産試験場	葛 岡 修 二
酪農学園大学	菊 地 政 則

A 18 酪農家における牛初乳の利用方法の一つとして初乳豆腐への加工があるが、若年層での嗜好性は低いことが知られている。この報告は、牛初乳の利用範囲を拡大することを目的として、アイスクリームタイプ氷菓を作製し、品質試験および官能試験を行ったものである。使用した初乳は、常乳と比べて粗灰分、乳脂肪、無脂乳固形分とも高いものであったが、一般のアイスクリームとは異なり乳脂肪率や無脂乳固形分率がオーバーランに影響することはなかった。また官能検査では、用いた初乳の搾乳回数の違いで異なる評価が得られたもののいずれも総合評価は高いことから、アイスクリームタイプ氷菓は初乳の利用方法とし

て充分期待できることが示された。今後は、実際の普及に向けた活動等が必要になると思われる。

A 19 非加熱の発酵食肉製品は、腐敗性あるいは病原性微生物の増殖を阻止するため高濃度の食塩を添加するが、スターター微生物の代謝も阻害する場合がある。この報告は、食塩による発酵食肉製品スターターの生育阻害に対するアルギニンの作用について *Staphylococcus carnosus* および *Pediococcus acidilactici* を供試菌として検討したものである。食塩による増殖抑制は、アルギニンの添加で軽減されるが、硝酸還元活性やタンパク質分解活性などの代謝機能や乾燥菌体のアミノ酸組成には影響を与えないこと、電子顕微鏡による観察では食塩の添加による菌体の膨化・凝集がアルギニン添加により抑えられたことなどから、アルギニンは供試菌の形態に影響を及ぼし食塩による生育阻害を緩和していることを示した。発酵肉製品の品質保持において興味深い知見を提供した報告であった。

A 20 食品工業で衛生指標菌とされる大腸菌および大腸菌群は、加工工程で非致死のストレスを受けると検出が困難となる。菊池ら(酪農大)は大腸菌および大腸菌群の加熱処理による非致死の損傷について検討した。58℃で4分間程度加熱すると *E. coli* の非致死の損傷は約99%で、損傷菌の細胞内からのタンパク質の漏出と幾つかの酵素群の欠落が確認された。損傷菌はDESO-Na感受性が高いが、TSB培地で予備培養するとDESO-Na感受性が低下し、細胞損傷の修復が確認された。損傷菌はTSA平板に表面塗抹して約35℃で60分間予備培養した後、その表面にDESO培地を重層して培養すると、効率よく検出できることが示された。

A 21 乳酸菌産生バクテリオシンは、近縁のグラム陽性菌に対して抗菌作用を示すが、ヒトの消化酵素で分解されるのでバイオプレザバティブの1つとして期待される。林ら(酪農大)は *Lactococcus* sp. 2057 の産生するバクテリオシンの特性について検討した。Lc. 2057 は m-CGB 培地で pH 7.0, 32℃ で 18 時間培養した上澄液に力価の安定した粗バクテリオシン液を生成することが確認された。粗バクテリオシン液は低温、酸性域で長期間安定であり、加熱による活性の安定性も酸性域で高かった。粗バクテリオシン液は NaCl と反応させると抗菌活性が高まり、またその溶菌作用は試験菌 (*M. luteus* JCM 3333) の代謝活性の高い温度、pH 域で高いことが示された。

A 22 ウシ初乳は生理活性物質を多く含み、食品素材として期待できる。竹田ら(酪農大)はウシ初乳中の免疫グロブリンの抗体価測定系を構築し、*E. coli* 菌体を固相抗原とし、初乳を加熱、遠心分離、酸およびレンネット処理した時の抗体価を ELISA 法で検討した。初乳の *E. coli* 菌体抗原に対する抗体価は初産牛よりも経産牛で高く、搾乳回数が増加すれば減少した。

初乳の抗体価は 63℃, 30 分または 72℃, 15 秒の加熱ではほとんど変化しないが, 70℃, 30 分または 80℃, 15 秒の加熱では減少した。初乳の IgA の抗体価は脂肪と脱脂乳画分に分散していたが, IgG および IgM は脱脂乳画分に移行し, また脱脂した初乳ホエー画分の抗体価は, 全脂初乳ホエーよりも高いことが示された。

A 23 日本ハム中所および北大のグループは「新たな食肉製品創出のための食肉タンパク質水可溶化技術の開発」について発表した。食肉タンパク質は, 可溶化の際に比較的高濃度の塩が必要と考えられているため, 利用形態が限定されてきた背景がある。本研究の中では, 食肉タンパク質の利用形態を新たな方向へ導く技術として同グループが開発した, 水可溶化筋原線維タンパク質調製技術を産業的に利用するため, プラントスケールでの水可溶化技術および保存法について検討された。プラントスケールにおいても筋原線維タンパク質の水可溶化割合は 90%以上と良好であることが明らかにされた。しかし, 保存のための濃縮・乾燥法についての検討では, 乾燥後の製品の形状あるいは再可溶化率について向上の余地を残し, 今後, 実用化へ向けて更なる検討が期待される。

A 24 北大, 伊藤ハム中研および酪農大のグループは「アルカリ処理鶏肉を使用した含気食肉製品の開発」について発表した。本研究では, 食肉の新たな利用形態として期待されるアルカリ処理鶏肉を原材料とした含気食肉製品のミートエマルジョン組成について検討され, 食塩濃度が 2.0%, 加水割合が 10%の時にミートエマルジョン中の含気量が最も高く, 加水量を 10%以上に増やしていくと気泡含量は低下したが 30%加水したもののでも柔軟な加熱ゲルを形成したことが報告された。形成されたゲルの物性は, 魚肉すり身のハンペンとよく似ており, 含気食肉製品の開発が可能であることが示された。発表後, 牛肉や豚肉に対するアルカリ処理利用の可能性についての質問があった。

A 25 北大のグループは「加熱に伴う食肉の微細構造の変化」について発表した。本研究では豚半腱様筋および筋上膜を用いて, 食肉の性状および微細構造の加熱に伴う変化について検討された。半腱様筋および筋上膜の性状変化として, 加熱温度上昇による加熱歩留の低下, 60~70℃の加熱温度における加熱収縮率の顕著な増大などが観察された。また, 微細構造の変化として, 半腱様筋では, 70℃以上で筋線維間隙が減少すること, 筋上膜では, 50~70℃への温度上昇時にコラーゲンの線維構造が板状構造へ変化することなどが観察された。このことから, 筋肉内結合組織の構造変化は 50~70℃でおこる豚肉の性状変化に関与が大きいことが示された。今回は, 豚から採取した屠畜 1 週間後のサンプルが用いられたが, 屠畜直後から経時的に調製したサンプル, あるいは鶏肉や牛肉等の畜種が異なるサンプルを用いた結果との比較についても興味

深いところである。

A 26 ミオスタチンは筋芽細胞の増殖を抑制することによって骨格筋の発達を制御するとされている。筋形成におけるミオスタチンの生理活性の制御機構を明らかにする目的で, 雄ラットの骨格筋より筋衛星細胞を分離培養し, 培養筋衛星細胞におけるミオスタチンとデコリンの関係を検討した。培養 2 日から融合を開始し, 3 から 4 日目には筋衛星細胞の急激な融合が進んだ。更に 5 日目には自発的な攣縮を示す筋管が認められた。また, ミオスタチン mRNA の発現量は筋衛星細胞の融合が進む時期に減少したが, デコリン mRNA の発現量は逆にこの時期に増加することから両者が何らかの関連があると示唆した。

A 27 一卵性多子である受精卵クローンは同一の遺伝的能力を持つことから能力検定のための肥育試験に用いられる。報告は, 同一の飼養条件で肥育された受精卵クローン牛 5 頭を供試牛として肉の理化学性について比較検討した。その結果, 5 頭の枝肉重量の変動係数は 5.9%で, 比較に用いた一般黒毛和種 10.2%に比べ小さかった。また第 9-11 肋骨間ロース部の赤肉, 脂肪, 骨の構成割合の変動係数もクローン牛で小さかった。さらに理化学性状においても, クローン牛の粗脂肪含量の変動係数 1.4%, 一般黒毛和種 26.7%とクローン牛で小さく, 殆どの形質について個体間のばらつきが小さかった。このことから受精卵クローン去勢牛間の肉の理化学性状について相似性が高いと示唆した。

栄 養

北海道農業研究センター 中 村 正 斗
北海道立畜産試験場 大 坂 郁 夫

B 16 乾草やサイレージよりも放牧草を給与した方が, 反芻家畜に由来する畜産物中の共役リノール酸 (CLA) 含量が増加することが報告されている。本研究は, 給与粗飼料の違いと CLA 生成に有効であると考えられる大豆油 (SO) 添加の有無が, めん羊ルーメン内における CLA とその前駆物質である TVA 生成に及ぼす影響について検討したものである。その結果, ルーメン内 CLA 含量は青刈り草給与区と乾草給与区で差がなかったが, TVA 含量は青刈り草給与区の方が高い値を示した。また, 青刈り草に SO 添加区と乾草に SO 添加区との比較では, 給与 2 時間後までの CLA 及び TVA 含量が前者が後者に比べ高くなる傾向であった。CLA は抗ガン作用があるといわれ, 最近注目を集めている物質である。本研究は, まだ基礎的なものであるが, 乳牛への応用による牛乳の高付加価値化などが考えられ, 今後の発展が大いに期待される。

B 17 とうもろこしの登熟が進むと子実の割合が増加するため, 蛋白質および炭水化物の量と質が変化

すると考えられる。本研究は、熟期の異なるコーンサイレージ (CS) の給与が、乳牛の蛋白質および炭水化物利用性に及ぼす影響について検討したものである。その結果、乾物摂取量には熟期による差は認められなかった。登熟に伴い十二指腸への菌体由来の蛋白質移行量は低下したが、飼料由来の蛋白質移行量は増加した。登熟が進むと CS の栄養価は高くなるが、ルーメン内の炭水化物利用性が低下し、菌体蛋白質合成量は減少することが示唆された。これに関し、コーンサイレージの利用に当たって、総合的に考えて、とうもろこしの熟期でどれが最善なのかということが議論された。自給飼料の有効利用という観点からも重要な研究であり、今後の発展が期待される。引き続き研究を継続していただきたい。

B 18 本研究は、めん羊の乾物摂取量、ルーメン内アンモニア態窒素濃度および微生物態蛋白質合成に対するガラクトオリゴ糖、ユッカシリゲラおよびナイシンの飼料添加の影響を検討したものである。その結果、ガラクトオリゴ糖添加区の乾物摂取量および有機物摂取量は無添加対照区、ユッカシリゲラ添加区およびナイシン添加区に比べ有意に高かった。アラントイン尿中排泄量、全プリン誘導体および十二指腸への微生物態窒素供給量は、ガラクトオリゴ糖添加区が他の区に比べ有意に高い値を示した。ガラクトオリゴ糖の添加はサイレージおよび濃厚飼料給与めん羊の十二指腸への微生物態蛋白質供給量を高めることが示唆された。本研究は、まだ基礎的なものであるが、乳牛の栄養管理などへの応用による今後の発展が望まれる。

B 19 中村らによる、アルファルファの有効利用に関する報告で、粗飼料源をアルファルファサイレージ (AS) とコーンサイレージ (CS) にした区と牧草サイレージ (GS) と AS にした区を設けて、泌乳初期における乾物摂取量および乳生産に及ぼす影響について検討した。AS 給与区では繊維含量が低いため乾物摂取量が増加した。その結果、乳量・乳成分の向上と養分要求量の早期充足傾向が認められた。AS 給与では乳量および乾物摂取量がいずれも増加しているため、乳生産効率という点から検討する必要性が指摘された。これに対し、未検討なので今後検討していくとの回答があった。

B 20 本生菌剤は、めん羊の第一胃内において繊維分解促進効果が期待できるが、水素増加によりメタン生成量が増加することが懸念される。オリゴ糖は水素を基質とする細菌によりメタン抑制効果が *in vitro* で示されている。このことから、小林らは、乳用育成雌牛を供試して、生菌剤とオリゴ糖の同時添加が第一胃内メタン生成量、消化率、エネルギーおよび窒素出納に及ぼす影響について検討した。その結果、オリゴ糖添加によりメタン生成量が低くなる傾向が見られたが、生菌剤を添加しても抑制効果は見られなかった。

また、エネルギーおよび窒素出納は処理の差が見られなかった。給与飼料の種類、粗濃比その影響による pH で第一胃内細菌相が変化することから、供試した生菌剤がより有効に作用する条件についても、今後検討する必要がある。

管 理

北海道立畜産試験場	阿 部 英 則
酪農学園大学	森 田 茂
酪農学園大学	干 場 信 司
北海道立畜産試験場	杉 本 昌 仁

B 21 野生エゾシカの冬期間の樹皮食いによる林業被害が深刻であることから、餌付けによる防止を検討している。餌付け飼料としてビートパルプブロックを用いて2年間検討したところ、2年目では餌場の利用個体数、ブロックの設置個数が増し、餌付けが順調に進んでいることが示されている。その一方で、樹皮食いの事例は減っているという興味深い結果が得られている。

B 22 前課題に続いて、3年目の調査では、餌場の利用個体数、ビートパルプの設置個数がさらに増す傾向で、樹皮食害も餌付け後では低減していることがうかがわれている。また、ビートパルプブロックに代わるものとしてペレットの利用性が示された。マーカーで染色した飼料を用いたエゾシカの行動範囲も調査されており、今後、適正な餌場の設置箇所・数などが明らかになることが期待される。

B 23 本発表では石炭灰の堆肥化副資材への利用性について検討した。石炭灰をオガクズの代替として、容積比で 10, 30 および 50% 混合し、処理区とした。試験は、温暖期として7月に、寒冷期として2月に実施された。得られた結果は、季節の影響および代替率の影響を、品温や水分などから比較した。結論として、堆肥副資材としての石炭灰のオガクズの代替は可能であるが、多量の混合が発酵の抑制につながるため 30% を上限として利用すべきとの指針が示された。集中型の堆肥化施設計画では、水分調整のための多量の副資材が必要であり、副資材の確保は大きな問題である。現在十分に利用されているとはいえない資源に着目した研究は、極めて現場的であり、有意義であると思われる。

B 24 前の発表が堆肥化副資材としての石炭灰の利用であるのに対し、この発表は敷料としての利用を検討することが目的であった。敷料として利用する際には、そこで飼養される家畜の反応についても検討が必要となる。そこで、オガクズを石炭灰に一部代替した場合の肥育牛の行動を検討した。あわせて、敷料として利用する際に重要な要素となる含水量についても調査した。得られた結果は、石炭灰の代替による横臥

や採食行動への影響がないことが確認された。ただし、石炭灰の混合比率の上昇に伴う容水量の急激な低下から、代替率は20-40%が上限であろうとの指摘がなされた。乳牛飼養でも敷料資材の不足が発生しており、乳牛の敷料として石炭灰の利用が可能であるかとの質問に対し、石炭灰は黒色であり、牛体への着色の問題があり、不適切であろうとの回答であった。

B 25 北海道においても、搾乳牛をフリーバーン方式の牛舎に収容する農家が増えてきている。本研究では、アンケート調査および聞き取り調査により、ふん尿処理の視点からフリーバーン方式の牛舎の実態を報告している。床部分と通路部分の仕分け、面積の割合、飼育密度、敷き料の厚さ、除ふん作業の仕方、敷料の費用などの基本的事項に関して、概況を表す数値を提供している。また、この方式の長所・短所については、それぞれ、「除ふん作業の省力」および「敷料量増加」をあげていた。今後フリーバーン方式により搾乳牛を管理する上で、貴重な資料を与えている。

B 26 「家畜排せつ物法」による罰則規定の執行開始を16年に控え、ふん尿の搬出・貯留・処理・利用に関する検討が急がれているが、その際の隘路となっていることの一つに、ふん尿の成分分析に多くの労力と時間を要するという点が上げられる。本研究では、電気伝導度と乾物率からふん尿の肥料成分含量を推定するという、簡易推定法についての検討結果を報告している。この方法は、すでに乳牛ふん尿においては検討されているが、これまで検討されていない豚ふん尿について検討したものである。結果として、堆肥に含まれるT-N、 P_2O_5 、 K_2O 、 NH_4-N に関して、また、尿に含まれるT-N、 P_2O_5 に関して、この簡易推定法で求めた値と常法による値との間に、危険率1%水準で有意な相関が認められた。さらに、尿については、電気伝導度と K_2O 、 NH_4-N との間の単相関で、危険率1%水準の有意性が認められた。

B 27 前発表と同様に、「家畜排せつ物法」による罰則規定の執行開始を16年に控え、早急な対応が求められる中、道立農畜試では、簡易な堆肥舎の建設や被覆による対応を実証してきている。本研究では、後者の一つである「シート利用簡易ふん尿堆積施設」を用いた場合の排汁処理に関連して、床材と排汁の特性・物理性について検討したものである。床材として用いたのは、花崗岩風化物、火山灰(2種)、ライムケーキ、バークであった。検討した項目は、排汁量、その成分、

床材の化学・物理性、重量などであり、設定した実験装置における結果が報告された。現場における重要な検討項目であり、注目される。

B 28 自動搾乳機を導入したフリーバーン牛舎における乳牛の行動について検討した報告である。これは、近年糞尿管理上の利点からフリーストールではなくフリーバーン牛舎を採用する事例が増えていることから、フリーバーンにおける乳牛の採食や休息の様子を行動学的に解析している。その結果、フリーバーンで飼養されている乳牛では、採食に約5時間、反芻に7時間を費やしていた。横臥休息の時間は12時間で、牛舎の高い位置で横臥する割合の高いことが示された。また、牛は高い位置に頭を向けて横臥する割合が高いことが明らかとなった。フリーバーンでの牛群管理上価値のある報告であり、今後のデータ蓄積に期待される。

B 29 ササは林床植物をして優先するケースが多いことから、それを家畜生産に有効活用するため、放牧している肉牛のササ利用を行動学的な視点からとらえた研究である。全体の83%を林地が占める放牧地で観察した結果、林地内で採食する割合が37%であり、改良草地の方が利用する割合が高いことが明らかとなった。また、林地内では、採食場所の決定が有意に選択的で特定の箇所を優先して採食利用していることも示された。これは、採食場所の選択が改良草地に隣接した部分の利用が高いことと、傾斜が急な場所ではあまり利用されないことに起因していた。現状では選択的に偏って利用されているササを有効かつ持続的に利用するための牛群制御の方向で今後の研究が期待される。

B 30 放牧を活用した乳生産を評価した報告である。乳量や所得率からその是非を検討するだけではなく、経営全体でのエネルギー収支や環境負荷あるいは人が受ける満足度などの総合的視点から放牧型酪農をとらえた点が興味深い。放牧型へ転換すると農業収入は減少するにもかかわらず所得が増加していた。これは、支出が大きく減少したためで、化石エネルギー、窒素負荷、家畜の治療費ともに大きく低下している。また、時間的なゆとりが生み出され人の満足度も高まっていたと報告されている。本報告は、「放牧利用」という生産技術の評価が、経済的な側面からだけではその価値全体を表していないことを明らかにした価値ある研究である。

会 務 報 告

声 明

北海道畜産学会は家畜生産および畜産食品の研究と技術開発をととして、北海道畜産の発展に寄与し、社会の要請に応じてきた。この間、食糧や食品への社会的要請は量より質あるいは多様性へと変化し、昨今は加工乳の食中毒事件や牛海綿状脳症の発生を契機として、食の安全性が強く求められている。

北海道畜産学会は北海道の畜産関連産業において発生した事件や社会不安を深刻に受け止め、畜産食品の安全性に疑問をいだかせる事件の再発防止と不安の解消に少しでも寄与できることを願って、第58回大会においてシンポジウム「食品とくに畜産物の安全性を求めて」を開催した。

科学技術の発展は人類の福祉に貢献するが、研究者や成果の使用者のモラルが欠如すると大きな災厄をもたらす可能性を否定できない。現在では、例えば遺伝子組み換え技術を応用することにより、移植用臓器の生産やヒトのホルモンを牛乳中に分泌させることすら現実性を帯びてきている。また、体細胞クローン技術や様々な生理活性物質・化学物質をはじめ、あらゆる分野で新技術が応用されるようになり、大きな成果をあげる一方で、このような技術に不安を感じる消費者が存在することも認識している。

北海道畜産学会の会員は、いっそうの良識を持って研究し、研究情報の開示や啓発に積極的に取り組む。さらに、北海道の豊かで清らかな自然環境を基盤とした、畜産物の生産、加工、流通から消費までの全過程にわたる研究と技術開発をととして、北海道の畜産物が消費者からよりいっそうの信頼を得られるよう努力し、北海道畜産の発展に寄与する所存である。

2002年9月3日

北海道畜産学会

1. 2002年度第1回評議員会

2002年5月25日、KKR札幌において会長、副会長2名、評議員19名、監事1名および幹事3名が出席して開催され、2001年度庶務報告、2001年度会計報告、2001年度会計監査報告が行われ、承認された。次いで、2002年度事業計画案および2002年度予算案が提案され、承認された。また、2002年度北海道畜産学会賞は以下の通りに決定した。

受賞者：田中義春氏（北海道立北見農業試験場 主任専門技術員）

業 績：乳中尿素窒素データおよび乳検成績の活用等による北海道の酪農技術改善に関する普及活動

2. 2002年度第2回評議員会

2002年9月2日、北海道立畜産試験場において会長、副会長2名、評議員16名、監事1名および幹事3名が出席して開催され、2003・2004年度役員、2003年度大会、声明文案などについて審議された。

3. 2002年度総会

2002年9月3日、北海道立畜産試験場において田村

千秋氏（道立畜試）を議長として本年度総会を開催した。議事は以下の通りで、原案通り可決された。

＜報告事項＞

1) 2001年度庶務報告

(1) 2001年度第1回評議員会

2001年5月26日、札幌グランドホテルにおいて会長、副会長2名、評議員13名、監事1名および幹事2名が出席して開催され、2000年度庶務報告、2000年度会計報告、2000年度会計監査報告が行われ、承認された。次いで、2001年度事業計画案および2001年度予算案が提案され、承認された。また、2001年度北海道畜産学会賞は以下の通りに決定された。

受賞者：扇 勉氏（北海道立根釧農業試験場）

業 績：乳牛の生産病予防と栄養管理に関する一連の研究

(2) 2001年度第2回評議員会

2001年9月4日、北海道大学学術交流会館において、会長、副会長2名、評議員17名、監事1名および幹事3名が出席して開催され、評議員の交替、2002

年度大会などについて審議された。

(3) 2001 年度総会

2001 年 9 月 4 日、北海道大学学術交流会館において大久保正彦氏（北大農）を議長として開催された。議事は以下の通りで、原案通り承認された。

- ① 2000 年度庶務報告、会計報告および会計監査報告
- ② 2001 年度事業計画、2001 年度予算案、評議員の交替

(4) 第 57 回北海道畜産学会大会

2001 年 9 月 3 日、4 日に北海道大学学術交流会館において第 57 回北海道畜産学会大会が開催された。受賞講演、シンポジウム 4 題および一般講演 40 題の発表が行われた。参加者は 144 名であった。なお、シンポジウムは北海道家畜管理研究会ならびに北海道草地研究会との共催で行われ、参加者は 216 名であった。

(5) 講演要旨および学会報の発行

- ① 第 57 回北海道畜産学会大会講演要旨を 2001 年 8 月に発行

- ② 北海道畜産学会報第 44 巻を 2002 年 6 月に発送

内容は原書論文 11 編、研究レポート 2 編、シンポジウム報告 4 編および会員からの声 1 編。

(6) 会員現況（2002 年 6 月現在）

名誉会員：7 名、正会員：312、学生会員：7 名、賛助会員：30 団体

2) 2001 年度会計報告（別表 1）

3) 2001 年度会計監査報告

＜審議事項＞

4) 2002 年度事業計画

- (1) 第 58 回北海道畜産学会大会の開催

開催月日：2002 年 9 月 2 日（月）、3 日（火）

開催場所：北海道立畜産試験場

大会内容：一般講演、シンポジウム、学会賞受賞講演、総会、懇親会

- (2) 講演要旨および会報の発行

① 第 58 回大会講演要旨：2002 年 8 月発行

② 北海道畜産学会報第 45 巻：2003 年 3 月発行予定

- (3) 評議員会の開催

第 1 回評議員会：2002 年 5 月 25 日（土）

第 2 回評議員会：2002 年 9 月 2 日（月）

- (4) 編集委員会の開催

年 2 ～ 3 回の予定

5) 2002 年度予算案（別表 2）

6) 日本畜産学会（北海道支部）評議員の交替

裏 悦次（ホクレン）→前田善夫（根釧農試）

7) 2003・2004 年度役員の選出（新役員名簿参照）

8) その他

- (1) 北海道畜産学会声明文

別表 1

2001 年度 北海道畜産学会会計報告
(自 2001 年 4 月 1 日 至 2002 年 3 月 31 日)

一 般 会 計

収入の部 (円)

項 目	予 算 額	決 算 額	差 異	備 考
会 費	1,513,000	1,010,000	503,000	正 会 員 (314名) 450,000 学生会員 (15名) 30,000 賛助会員 (30社) 530,000
広 告 料	100,000	200,000	△100,000	第43巻掲載広告料
投 稿 料	148,500	148,500	0	第43巻超過頁・別刷代
交 付 金	43,000	42,000	1,000	(社)日本畜産学会より
雑 収 入	50,000	32,169	17,831	利子, 会報, 著作権
繰 越 し 金	1,738,265	1,738,265	0	2001年度から
合計 (A)	3,592,765	3,170,934	421,831	

支出の部 (円)

項 目	予 算 額	決 算 額	差 異	備 考
印 刷 代	1,200,000	957,600	242,400	第44巻, 講演要旨集
大 会 費	150,000	150,000	0	北大 (2001年 9 月)
通 信 費	200,000	164,622	35,378	
会 議 費	150,000	129,385	20,615	事務局引継ぎ, 評議員会 2 回
旅 費	150,000	38,800	111,200	役員・幹事旅費等
謝 金	50,000	28,000	22,000	事務補助費等
事 務 費	50,000	17,203	32,797	事務消耗品, コピー代等
振 込 手 数 料	20,000	11,515	8,485	
繰 入 金	1,000,000	1,000,000	0	特別会計へ繰り入れ
予 備 費	622,765	200,000	422,765	シンポジウム運営費 (北大, 2001年 9 月)
合計 (B)	3,592,765	2,697,125	895,640	

収支 (A - B) 3,170,934 - 2,697,125 = 473,809 (次年度繰越金)

特 別 会 計

収入の部 (円)

項 目	予 算 額	決 算 額	差 異	備 考
雑 収 入	5,000	2,154	2,846	利子
繰入れ金	1,000,000	1,000,000	0	一般会計より
繰越し金	2,004,630	2,004,630	0	貸付信託 (¥2,000,000)
合計 (a)	3,009,630	3,006,784	2,846	

支出の部 (円)

項 目	予 算 額	決 算 額	差 異	備 考
学会賞副賞	50,000	50,000	0	¥50,000 × 1
雑 費	20,000	3,536	16,464	賞状・筒等・手数料
合計 (b)	70,000	53,536	16,464	

収支 (a - b) 3,006,784 - 53,536 = 2,953,248 (次年度繰越金)

別表2

2002 年度 北海道畜産学会予算
(自 2002 年 4 月 1 日 至 2003 年 3 月 31 日)

一 般 会 計

収入の部 (円)

項 目	予 算 額	備 考
会 費	1,512,000	正 会 員 3,000×314名=942,000 学生会員 2,000×15名=30,000 賛助会員 10,000×54口=540,000
広 告 料	125,000	第44巻掲載広告料
投 稿 料	458,650	第44巻投稿料・別刷代
交 付 金	42,000	(社)日本畜産学会
雑 収 入	50,000	利子, 会報, 著作権
繰 越 し 金	473,809	2001年度から
合 計	2,661,459	

支出の部 (円)

項 目	予 算 額	備 考
印 刷 代	1,200,000	第45巻, 講演要旨集
大 会 費	150,000	道立畜産試験場
通 信 費	200,000	
会 議 費	150,000	評議委員会, 編集委員会
旅 費	150,000	役員・幹事旅費等
謝 金	50,000	事務補助費等
事 務 費	50,000	事務消耗品, コピー代等
振 込 手 数 料	20,000	
予 備 費	691,459	
合 計	2,661,459	

特 別 会 計

収入の部 (円)

項 目	予 算 額	備 考
雑 収 入	2,000	利子
繰 越 し 金	2,953,248	2001年度より
合 計	2,955,248	

支出の部 (円)

項 目	予 算 額	備 考
学 会 賞 副 賞	50,000	50,000×1
雑 費	5,000	賞状・筒等・手数料
予 備 費	2,900,248	貸付信託 (¥2,000,000)
合 計	2,955,248	

北海道畜産学会役員

(任期：2001 年 4 月 1 日～2003 年 3 月 31 日)

会 長	岡 本 全 弘(酪農大)	
副会長	服 部 昭 仁(北大農)	田 村 千 秋(道立畜試)
評議員	大久保 正 彦(北大農)	島 崎 敬 一(北大農)
	田 中 桂 一(北大農)	三 好 俊 三(帯畜大)
	松 岡 栄(帯畜大)	三 上 正 幸(帯畜大)
	岡 本 明 治(帯畜大)	鮫 島 邦 彦(酪農大)
	安 藤 功 一(酪農大)	千 場 信 司(酪農大)
	宮 川 栄 一(酪農大)	石 島 芳 郎(東農大)
	増 子 孝 義(東農大)	竹 下 潔(北農研)
	山 田 豊(北農研)	川 崎 勉(道立畜試)
	森 清 一(道立畜試)	新 名 正 勝(道立畜試)
	裏 悦 次(ホクレン)	杉 本 亘 之(天北農試)
	橋 立 賢二郎(北海道酪農畜産協会)	土 門 幸 男(ジェネティクス北海道)
	澤 口 則 昭(ホクレン)	寺 西 正 俊(雪印乳業)
	清 家 昇(酪総研)	熊 野 康 隆(北酪検)
	西 部 潤(十勝農協連)	前 田 善 夫(根釧農試)
監 事	左 久(帯畜大)	大 原 益 博(道立畜試)
幹 事	寺 脇 良 悟(酪農大) (庶務)	泉 賢 一(酪農大) (会計)
	堂 地 修(酪農大) (編集)	

(社)日本畜産学会役員

(任期：2001～2002 年度)

理 事	岡 本 全 弘(酪農大)	服 部 昭 仁(北大農)
評議員	大久保 正 彦(北大農)	田 中 桂 一(北大農)
	田 村 千 秋(道立畜試)	川 崎 勉(道立畜試)
	竹 下 潔(北農研)	三 好 俊 三(帯畜大)
	三 上 正 幸(帯畜大)	左 久(帯畜大)
	鮫 島 邦 彦(酪農大)	安 藤 功 一(酪農大)
	千 場 信 司(酪農大)	裏 悦 次(ホクレン)

2003・2004 年度北海道畜産学会役員

会 長
副会長

田 村 千 秋(道立畜試)
服 部 昭 仁(北大農) 三 上 正 幸(帯畜大)

評議員
(28 名)

田 中 桂 一(北大農)	中 村 富美男(北大農)
近 藤 誠 司(北大農)	高 橋 潤 一(帯畜大)
鈴 木 三 義(帯畜大)	柏 村 文 郎(帯畜大)
鮫 島 邦 彦(酪農大)	宮 川 栄 一(酪農大)
干 場 信 司(酪農大)	石 島 芳 郎(東農大)
増 子 孝 義(東農大)	竹 下 潔(北農研)
山 田 豊(北農研)	川 崎 勉(道立畜試)
新 名 正 勝(道立畜試)	森 清 一(道立畜試)
扇 勉(道立畜試)	前 田 善 夫(根釧農試)
田 中 義 春(北見農試)	杉 本 亘 之(天北農試)
澤 口 則 昭(ホクレン)	熊 野 康 隆(北酪検)
橋 立 賢二郎(北海道酪農畜産協会)	土 門 幸 男(ジェネティクス北海道)
清 家 昇(酪総研)	西 部 潤(十勝農協連)
古 川 修(雪印種苗)	(編集委員長)

監 事

岡 本 全 弘(酪農大) 左 久(帯畜大)

幹 事

斉 藤 利 朗(道立畜試) (庶務) 宝寄山 裕 直(道立畜試) (会計)
南 橋 昭(道立畜試) (編集)

2003・2004 年度(社)日本畜産学会（北海道支部）役員

理 事

田 村 千 秋(道立畜試) 服 部 昭 仁(北大農)

評議員
(13名)

田 中 桂 一(北大農)	中 村 富美男(北大農)
近 藤 誠 司(北大農)	高 橋 潤 一(帯畜大)
左 久(帯畜大)	三 上 正 幸(帯畜大)
鮫 島 邦 彦(酪農大)	岡 本 全 弘(酪農大)
干 場 信 司(酪農大)	竹 下 潔(北農研)
川 崎 勉(道立畜試)	森 清 一(道立畜試)
前 田 善 夫(根釧農試)	

北海道畜産学会会則

- 第1条 本会は北海道畜産学会と称し、その事務所を原則として会長の所属する機関に置く。
- 第2条 本会は畜産に関する学術の進歩を図り、併せて北海道に於ける畜産の発展に資することを目的とする。
- 第3条 本会は正会員、学生会員、名誉会員、賛助会員をもって構成する。
1. 正会員は第2条の目的に賛同する者とする。
 2. 学生会員は第2条の目的に賛同し、大学またはこれに準ずる学校に在籍し、別に定める会費を納める学生とする。ただし、大学院も含む。
 3. 名誉会員は本会に功績のあった正会員とし、評議員会の推薦により、総会において決定する。名誉会員は終身とし、会費は徴収しない。
 4. 賛助会員は本会の目的事業を賛助する会社団体とし、評議員会の議を経て決定する。
- 第4条 本会は下記の事業を行う。
1. 研究発表会・学術講演会などの開催
 2. 会報の発行
 3. 学術の進歩発展に貢献したものの表彰
 4. 社団法人日本畜産学会北海道支部の事業の代行
 5. その他必要な事業
- 第5条 本会には次の役員を置く。
- 会長 1名 副会長 2名 評議員 若干名 監事 2名 幹事 若干名
- 第6条 会長は会務を総括し、本会を代表する。副会長は会長を補佐し、会長が職務遂行に支障のある時または欠けた時は、その職務を代理する。評議員は本会の重要事項を審議する。幹事は会長の命を受け、会務を処理する。監事は本会の事業及び会計の監査を行う。
- 第7条 会長、副会長、評議員及び監事は会員より選出する。その選出に際して、会長は若干名の選考委員を委嘱する。選考委員会は会長、副会長、評議員および監事の候補者を推薦し、評議員会の議を経て総会において決定する。幹事は会長が会員より委嘱する。役員の任期は2年とし、重任は妨げない。ただし、会長及び副会長の重任は1回限りとする。
- 第8条 総会は毎年1回開く。ただし、必要な場合には臨時にこれを開くことができる。総会では会務を報告し、重要事項について協議する。
- 第9条 本会の事業遂行に要する費用は、正会員および賛助会員の会費および寄付金をもって充てる。ただし、寄付金であって寄付者の指定のあるものは、その指定を尊重する。
- 第10条 正会員の会費は年額3,000円とし、学生会員の会費は年額2,000円とする。賛助会員の会費は1口以上とし、1口の年額は10,000円とする。名誉会員からは会費を徴収しない。
- 第11条 会費を納めない者および会員としての名誉を毀損するようなことのあった者は、評議員会の議を経て除名する。
- 第12条 本会の事業年度は、毎年4月に始まり、翌年3月31日に終わる。
- 第13条 本会則の変更は、総会の議決による。
- 付 則 本会則は1992年4月1日より施行する。

2001年4月1日 改正

北海道畜産学会編集委員会規定

1. 会則第4条2に基づき本規定を設ける。
2. 会報「北海道畜産学会報」の編集のため、編集委員会を置く。
3. 編集委員会は委員長1名、委員若干名、幹事1名からなり、評議員会の議をへて会長がこれらを委嘱する。
4. 委員長・委員・幹事の任期は2年とし、再任を妨げない。ただし、欠員が生じた場合、補充された委員の任期は前任者の残任期間とする。
5. 編集委員会の任務は、会誌刊行計画の立案、原稿の受理・依頼・整理、各種原稿の審査に関すること、掲載内容の決定、会誌の発行等とする。
6. 投稿規定、原稿作成要領は別に定める。
7. 編集委員会規定の改正に当たっては、評議員会の承認を受けるものとする。

1995年9月18日 制定

1996年9月18日 改正

1999年4月1日 改正

北海道畜産学会投稿規定

1. 北海道畜産学会報は、原著論文・総説・受賞論文・解説・講座・シンポジウム報告・海外報告・書評・文献抄録・研究ノート・技術レポート・現場（会員）からの声等を掲載する。原著論文・研究ノート・技術レポートは会員の投稿による。総説・受賞論文・解説・講座は編集委員会が依頼したものを主とする。
2. 原著論文は畜産学上価値ある内容を持ち、投稿規定に従ったもので、原則として他の学会誌等に未発表のものとする。研究ノートは、新しい知見か有用なデータを含むものとする。技術レポートは、北海道の畜産業の発展に役立つ内容のもので、学術上のオリジナリティは問わない。原稿は審査を受け、字句の訂正や、文章の長さの調節を受けることがある。
3. 原稿は和文とする。
4. 原稿は図、表、写真などを一切を含め総説では刷り上がり6ページ、原著は4ページ、研究ノート・技

術レポートは3ページ以内が望ましい。但し和文の刷り上がり1ページは、24文字×50行×2段組（2,400字程度）である。

5. 提出原稿は正1部、副2部とし、副は複写でよい。ワープロ原稿の場合、この他に、“表題、執筆者、使用したワープロの機種、ソフトウェア名、バージョン名”を明記したフロッピーディスクを受理通知を受けた後に事務局へ送付する。なお、投稿された原稿およびフロッピーディスクは返却しない。
6. 原著論文、研究ノートおよび技術レポートの掲載料については、刷り上がり1ページあたり5,000円とする。また、印刷時に特別な指定のあるものは、その費用を著者負担とする。
7. 原著論文、研究ノートおよび技術レポートの別刷については、投稿時に必要な部数を申し込む。その実費は著者負担とする。編集委員会が依頼した原稿については、50部までの別刷を無料とする。
8. 著者による校正は1回のみとする。校正の際、字句の追加、削除、または文章の移転は許されない。また、指定された期日までに返送されない場合は、次巻号に繰り延べることがある。
9. 原稿の送付は簡易書留にて下記宛とする。封筒には原稿在中と朱書し、表題、連絡者氏名、住所、論文の種類を記した原稿送状を同封する。
〒069-8501 江別市文京台緑町582
酪農学園大学酪農学部酪農学科内
北海道畜産学会事務局
電話 011-388-4841
FAX 011-387-5848
(事務局が移転した場合には送付先は自動的に変更される。)
10. 規定の改正に当たっては、評議員会の承認を受けるものとする。

1993年5月29日 制定

1996年9月18日 改正

1999年4月1日 改正

2001年4月1日 改正

北海道畜産学会報原稿作成要領

1. 原著論文の記述は、表題、著者名、所属機関名、所在地、郵便番号、和文キーワード、英文キーワード、要約、緒言、実験方法(材料と方法)、結果、考察、文献の順序とする。結果および考察はひとまとめにして記述してもよい。謝辞の必要がある場合は考察の後につける。本文の図、表、写真の挿入場所は矢印を付けて指定する。図、表および写真の説明文は英文とする。

研究ノート・技術レポートの記述は、原著論文の記述法を参考にすが、図、表、写真等の説明文は和文でもよい。

別紙に英文の表題、著者名、所属機関名、所在地、郵便番号を記載し添付する。

2. 原稿は、A 4 版 400 字詰原稿用紙に、常用漢字、現代仮名遣い(平仮名)を用いた横書きとする。専門用語については文部省学術用語審議会編の「学術用語集」を参照する。なお、ワープロ原稿の場合は A 4 版用紙に、縦置き、横書きとし、周囲に約 3 cm の空白を残し、全角 35 字/行×34 行/頁=1,190 字/頁とする。
3. 動植物の和名はカタカナで、学名等はイタリック体とする。
4. 本文中の外人名は原名つづりのままで MILLS のように姓のみを書き、2 名連名の場合は MILLS and JENNY のように and でつなぎ並記する。3 名以上の連名の場合は MILLS et al. のように最初の著者名に *et al.* をつけ、他は省略する。
5. 本文中の日本人名も姓のみを記し上記に準ずる。
6. 本文中の文献引用箇所には、以下のように記入する。

SMITH et al. (1992) は食肉の解硬メカニズム、保水性の回復(三浦, 1990 A; 関川と佐藤, 1992) および風味の向上について(三浦, 1990 B) ……

7. 本文中の人名以外の外国語は原字またはカタカナで書く。
8. 数字はすべて算用数字を用いる。また、諸単位の略号は原則として以下のような SI 単位を用いる。
km, m, cm, mm, μ m, nm, kl, l, ml, μ l, kg, g, mg, μ g, ng, pg, h, min, s, mol, M, N, ppm, ppb, J, °C, Pa, rpm, Hz, %
9. 引用した文献のリストは、次の手順により作成する。

- ①雑誌に掲載された文献の記載は、全員の著者名(発行年) 表題、雑誌名、巻: 最初-最終ページ、の順とする。

例

DRORI, D. and J.K. LOOSLI (1959A) Influence of fistulation on the digestibility of feeds by

steers. J. Anim. Sci., **18**: 206-210.

佐々木清綱・松本久喜・西田周作・細田達雄・茂木一重 (1950) 牛の血液型に関する研究. 日畜会報, **27**: 73-76.

- ②単行本の記載は、著者名(発行年) 書名、版、引用ページ、出版社、発行地、の順とする。分担執筆の場合は書名の後に“……の項執筆”と書き、編集または監修者名を加える。

例

NALBANDOV, A.V. (1963) Advances in neuroendocrinology. 2nd ed. 156-187. Univ. of Illinois Press. Urbana.

FOLLEY, S.J. and F.H. MALPRESS (1948) Hormonal control of mammary growth. in The Hormones vol.I. (PINCUS, G. and K.V. THIM ANN, eds.) 695-743. Academic Press. New York.

諏訪紀夫 (1977) 定量形態学. 第 1 版. 12-23.

岩波書店. 東京.

- ③文献の記載には正確を期し、とくに巻、ページを正しく書く。
- ④文献リストは、まず筆頭者名のアルファベット順に、同一著者による複数の文献があれば発表順に整理する。
- ⑤その上で、同一著者による複数の文献が同一年にあれば、発表年の後に大文字のアルファベットで区別する(作成要領 6. 参照)。
10. 特殊な刊行物を引用する場合は、下記の例にならい全タイトルを記す。
農林水産省統計情報部編 (1990) 平成元年食肉流通統計. 347-351, 農林統計協会. 東京.
11. 図版の原図および表については、次の規定に従う。
 - ①原図は刷り上りの 1~2 倍とし、A 4 版の白紙または方眼紙に、製図用インクで、そのまま製版できるように描くのが望ましい。ただし、方眼の色は青に限る。また、鮮明であれば、コンピュータやプロッタの出力を原図としてもよい。
 - ②原図は原則として、図中の文字および数字を含めて、そのまま印刷できるものとする。原図が製版に不相当である場合、トレース費用は著者負担とする。
 - ③原図の周囲には約 2 cm 幅の余白を残し、折り目をつけないようにして送付する。
 - ④図表は、A 4 版の白紙または方眼紙一枚に一つずつ記入する。また、表および図の欄外余白に著者名と表題を記入する。
 - ⑤原稿の最後に、図および表の表題のリストをまとめて添付する。

12. 要約は総説で 600 字程度、原著論文で 400 字程度、研究ノートおよび技術レポートでは 300 字程度とす

る。原著論文には 250 語程度の英文要約もつける。

13. 字体を指定する場合は以下のようにする。

①スモールキャピタル（小文字の大きさの大文字）

は 2 本下線。MACFARLANE

②イタリック体は 1 本下線。Medicago

③ゴシック体は波下線。J.Anim.Sci., 18:

14. キーワードは 5 個以内で、和文と英文の両方で記載し、所在地の次に以下のように記入する。

キーワード：アミノペプチダーゼ、酸性極限 pH、遊離アミノ酸

Key words: amino peptidase, ultimate pH, free amino acid

15. 略表題は 15 文字以内とし、原稿送り状に記入する。

16. 本要領の改正に当たっては、編集委員会の承認を得るものとする。

1996 年 9 月 18 日 改正

1999 年 4 月 1 日 改正

北海道畜産学会表彰規定

第 1 条 本会は北海道の畜産に関する試験・研究および普及に顕著な業績を挙げた会員に対し「北海道畜産学会賞」を送り、これを表彰する。

第 2 条 会員は受賞に値すると思われる者を推薦することができる。

第 3 条 会長は、その都度、選考委員若干名を委嘱する。

第 4 条 受賞者は選考委員会の報告に基づき、評議員会において決定する。

第 5 条 本規定の改正に当たっては、評議員会の承認を受けるものとする。

申し合わせ事項

1. 受賞候補者を推薦しようとする者は、毎年 3 月末日までに候補者の職、氏名、対象となる業績の題目、2,000 字以内の推薦理由、推薦者氏名を記入して会長に提出する。

2. 受賞者の決定は各年度の第 1 回評議員会において行う。

3. 受賞者はその内容を大会において講演し、かつ会報に発表する。

1992 年 4 月 1 日 制定

1996 年 9 月 18 日 改正

原稿送り状 北海道畜産学会

投稿論文の原稿には、必ず本送り状（コピーでもよい）に、所要事項を記入して添付してください。

発送年月日 年 月 日

表題

略表題（15 文字以内）

英文表題

著者氏名および所属

同英文

連絡者氏名

住所・所属 〒

電話（ ）

FAX（ ）

E-mail：

原稿種別：原著論文 研究ノート 技術レポート その他（ ）

原稿枚数：本文 枚，表 枚，図 枚，図の説明 枚，合計 枚

別刷： 部

原稿は、本送り状、本文、図表、図の説明、英文要約（原著論文のみ）を各 3 部（正原稿 1 部、副原稿 2 部）お送り下さい。

名 誉 会 員 (2003 年 3 月現在)

氏 名	郵便番号	住 所
小 野 齊	080-0838	帯広市大空町 4 丁目 11-16
鈴 木 省 三	244-0801	横浜市戸塚区品濃町 553-1 パークヒルズ 1 棟 507 号
八 戸 芳 夫	060-0007	札幌市中央区北 7 条西 12 丁目 サニー北 7 条マンション 807 号
広 瀬 可 恒	001-0000	札幌市中央区北 3 条西 13 丁目 チェリス北 3 条 702 号
三 浦 弘 之	080-0834	帯広市稲田町西 2 線 7-124
安 井 勉	004-0013	札幌市厚別区もみじ台西 5 丁目 11-7
遊 佐 孝 五	064-0923	札幌市中央区南 23 条西 8 丁目 2-30

正 会 員 (2003 年 3 月現在)

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
阿久津 敦 子	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
朝 日 敏 光	夕張市役所 産業経済部 農林課	068-0403	夕張市本町 4 丁目
東 善 行	北里大学獣医畜産学部	034-8628	十和田市東二十三番町 35-1
安 宅 一 夫	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
安 部 直 重	玉川大学農学部	194-8610	町田市玉川学園 6-1-1
阿 部 登		073-1323	樺戸郡新十津川町字幌加 169-1
阿 部 英 則	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
荒 井 威 吉	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
有 賀 秀 子		080-0834	帯広市稲田町西 2 線 7 番地 113
有 馬 俊六郎		861-1115	熊本県菊池郡合志町豊岡 2022-80
安 藤 功 一	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
安 藤 道 雄	石狩中部地区農業改良普及センター	069-0841	江別市大麻元町 154-4
井 内 浩 幸	北海道立北北農業試験場	098-5738	枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘
池 滝 孝	帯広畜産大学附属農場	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
石 井 智 美	光塩学園女子短期大学	005-0012	札幌市南区真駒内上町 3 丁目
石 下 真 人	酪農学園大学食品科学科	069-8501	江別市文京台緑町 582
石 島 芳 郎	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
石 田 亨	北海道立北北農業試験場	098-5738	枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘
泉 賢 一	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
和 泉 康 史		061-3209	石狩市花川南 9 条 2 丁目 235
出 雲 将 之	東胆振地区農業改良普及センター	054-0051	勇払郡鶴川町文京町 1-6
井 芹 靖 彦	オーガニックプランツ井セリファーム	086-1007	標津郡中標津町東 7 条南 11 丁目
市 川 舜		004-0011	札幌市厚別区もみじ台東 2 丁目 6-8
市 野 剛 夫	十勝農業協同組合連合会	080-0331	河東郡音更町雄飛が丘北区 1-31
伊 藤 憲 治	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
伊 藤 浩	デーリィ・ジャパン社 北海道支局	004-0051	札幌市厚別区厚別中央 1 条 5 丁目 1-22-604
伊 藤 雅 夫	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
伊 藤 めぐみ	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
伊 藤 友季子	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
今 村 美 生	雪印乳業㈱冷凍食品開発センター	370-0523	群馬県邑楽郡大泉町吉田 1201
岩 上 弦 太郎	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39 番地
岩 瀬 俊 雄		062-0032	札幌市豊平区西岡 2 条 9 丁目 5-5
上 田 和 夫	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
上 田 宏一郎	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北9条西9丁目
上 田 純 治	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北9条西9丁目
上 田 靖 子	東北農業研究センター	020-0123	盛岡市下厨川字赤平4
植 竹 勝 治	麻布大学	229-8501	相模原市淵野辺1-17-71
上 野 孝 志	独立行政法人畜産草地研究所	305-0901	茨城県稲敷郡茎崎町池の台2
裏 悦 次	ホクレン酪農畜産事業本部	060-8651	札幌市中央区北4条西1丁目
浦 島 匡	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西2線11番地
売 場 利 国	(有)エスエルシー	086-0656	野付郡別海町美原22-21
絵野沢 真 樹	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39番地
及 川 寛		004-0812	札幌市清田区美しが丘2条5丁目4番10号
扇 勉	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町字新得西5線39
大久保 正 彦		060-8589	札幌市東区北20条東22丁目4-13
大久保 義 幸	北留萌地区農業改良普及センター	098-3302	天塩郡天塩町山手裏通り11丁目
大 坂 郁 夫	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
大 下 友 子	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-0045	札幌市豊平区羊ヶ丘1
大泰司 紀 之	北海道大学大学院獣医学研究科	060-0818	札幌市北区北18条西9丁目
大 谷 滋	岐阜大学農学部	501-1193	岐阜市柳戸1-1
大 谷 文 博	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘1
大 原 益 博	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
大 原 睦 生	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
大 森 昭一朗	(社)畜産技術協会	264-0004	千葉市若葉区千城台西1丁目52-7
岡 本 明 治	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西2線11番地
岡 本 英 竜	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町582
岡 本 全 弘	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町582
小 川 伸 一	東胆振地区農業改良普及センター	054-0051	勇払郡鷓川町文京町3-4
小 川 麻衣子	釧路中部地区農業改良普及センター	084-0917	釧路市大楽毛127
小 倉 紀 美	明治飼糧株式会社	089-0554	北海道中川郡幕別町札内みずほ町160-67
押 尾 秀 一	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘1
小 関 忠 雄	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘1-1
落 合 一 彦		329-2747	那須郡西那須野町千本松800-J 203
尾 上 貞 雄	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
小野瀬 勇		088-2304	川上郡標茶町新栄町
海 田 佳 宏	網走支庁清里地区農業改良普及センター	099-4405	清里町羽衣町39
影 山 智		088-2684	標津郡中標津町養老牛377
陰 山 聡 一	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
箆 田 勝 基		064-0808	札幌市中央区南8条西22丁目4-15
梶 野 清 二	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西5線39
柏 村 文 郎	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西2線11番地
糟 谷 広 高	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘1-1
片 岡 文 洋	夢がいっぱい牧場	089-2112	広尾郡大樹町萌和181
片 桐 成 二		064-0921	札幌市中央区南21条西8丁目1-10-901
片 山 正 孝	(社)北海道酪農畜産協会	001-0010	札幌市北区北10条西4丁目1番地
加 藤 勲	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町582
加 藤 清 雄	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町582
角 川 博 哉	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘1
金 井 秀 明	玉川大学農学部弟子屈牧場	088-3331	川上郡弟子屈町美留和444
金 子 朋 美	南根室地区農業改良普及センター	086-0214	野付郡別海町別海緑町38-5
亀 山 祐 一	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂196
河 合 正 人	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西2線11番地

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
川 崎 勉	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
川 田 訓	独立行政法人家畜改良センター新冠牧場	056-0141	静内郡静内町字御園 111 番地
河 津 邦 雄	日本ホワイトファーム株式会社	059-1748	勇払郡厚真町字厚和 75-3
河 原 孝 吉	北海道ホルスタイン農業協同組合	001-8555	札幌市北区北 15 条西 5 丁目
河 原 隆 人	(有)デイリーサポートシステム	098-4455	天塩郡豊富町芦川
川 本 哲	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
菊 一 三 四 二	(有)菊一アグリサービス	089-0103	上川郡清水町清水第 4 線 63-20
菊 池 政 則	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
菊 地 実	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
岸 昊 司	北海道早来食肉衛生検査所	061-1373	恵庭市恵み野西 5 丁目 7-2
岸 上 悦 司		003-0021	札幌市白石区栄通 7 丁目 2 番 7 号
北 村 亨	雪印種苗技術研究所	069-0832	江別市西野幌 36-1
木 村 義 彰	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
草 刈 直 仁	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
葛 岡 修 二	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
口 田 圭 吾	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
工 藤 茂	独立行政法人家畜改良センター新冠牧場	056-0141	静内郡静内町字御園 111
工 藤 卓 二	(社)北海道酪農検定検査協会	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 共済ビル 3 階
熊 瀬 登	帯広畜産大学別科	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
熊 野 康 隆	(社)北海道酪農検定検査協会	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 共済ビル 3 階
久 米 新 一	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
黒 田 裕 教	(社)ジェネティクス北海道	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 北農ビル
畔 柳 正	北里大学八雲牧場	049-3121	山越郡八雲町上八雲 751
剣 持 雅 史	ホシザキ北海道株式会社	003-0801	札幌市白石区菊水 1 条 4 丁目 1-8
小 池 信 明		065-0017	札幌市東区北 17 条東 9 丁目 2-37
小 泉 徹	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
小 阪 進 一	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
小竹森 訓 央		060-8589	札幌市中央区北 3 西 30-4-35
後 藤 裕 作	北海道ホルスタイン農業協同組合	001-0015	札幌市北区北 15 条西 5 丁目ホルスタイン協会ビル内
小 林 道 臣	美幌町役場	092-0027	網走郡美幌町稲美 82-59
小 林 泰 男	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
小 松 輝 行	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
小 山 久 一	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
近 藤 誠 司	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
昆 野 大 次	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
斉 藤 善 一		064-0805	札幌市中央区南 5 条西 15 丁目 2-32
斉 藤 利 朗	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町字新得西 5 線 39
三 枝 俊 哉	北海道立根釧農業試験場	086-1153	北海道標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
酒 井 治	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
酒 井 稔 史	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
寒河江 洋一郎	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
坂 口 実	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
坂 田 徹 雄	ホクレン農業組合連合会	060-8651	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目
坂 本 斉	北見地区農業共済組合	099-0879	北見市美園 497 番地 1
佐々木 道 雪	日高東部地区農業改良普及センター	057-8558	浦河郡浦河町栄丘東通 56 号 日高合同庁舎
佐々木 章 晴	北海道中標津農業高等学校	088-2682	標津郡中標津町計根別南 2 条西 1 丁目
佐 藤 勝 好	(株)科学飼料研究所札幌事業所	060-0061	札幌市中央区南 1 条西 10 丁目 4-1 全農札幌支所内
佐 藤 邦 忠	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
佐 藤 正 三	酪農コンサルタント	080-2472	帯広市西 22 条南 3 丁目 12-9

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
佐 藤 忠	日本甜菜製糖㈱総合研究所	080-0831	帯広市稲田町南 9 線西 13
佐 藤 幸 信	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
佐 藤 義 和	畜産草地研究所	389-0201	長野県北佐久郡御代田町塩野 375-716
佐 藤 博	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
佐渡谷 裕 朗	日本甜菜製糖㈱総合研究所	080-0024	帯広市西 14 条南 35 丁目 3-3
鮫 島 邦 彦	酪農学園大学食品科学科	069-8501	江別市文京台緑町 582
澤 井 健	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
澤 口 則 昭	ホクレン 飼料養鶏課	001-8651	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目
島 崎 敬 一	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
島 田 謙一郎	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
島 本 義 也	北海道大学大学院農学研究科	060-0906	札幌市豊平区豊平 6-6-5-40-903
清 水 弘	北海道大学大学院農学研究科	061-1134	北広島市広葉町 3 丁目 3-10
清 水 良 彦	明治飼糧株式会社	089-0554	中川郡幕別町札内みずほ町 160 番地 67
進 藤 一 典	よつ葉乳業㈱東京工場	270-1502	千葉県印旛郡栄町矢口神明 1-6-1
杉 田 慎 二	滝上町役場	099-5692	紋別郡滝上町旭町
宿野部 猛	オホーツク農業科学研究センター	098-1604	紋別郡興部町春日町
杉 本 亘 之	北海道立天北農業試験場	098-5736	枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘
杉 本 昌 仁	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
鈴 木 三 義	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
鈴 木 善 和	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
須 藤 純 一	(社)北海道酪農畜産協会	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 北農ビル 13F
清 家 昇		066-0017	千歳市日の出 5 丁目 10-13
瀬 尾 哲 也	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
関 川 三 男	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
脊 戸 皓	北見地区農業改良普及センター	090-0008	北見市大正 320-8
仙 名 和 浩	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
相 馬 幸 作	南根室地区農業改良普及センター	086-0214	野付郡別海町別海緑町 38-5 根室支庁 別海合同庁舎
曾 山 茂 夫	渡島北部地区農業改良普及センター	049-3106	八雲町富見町 130
高 木 英 守	デイリーファームリサーチ	090-0836	北見市三輪 657-29
高 木 亮 司		084-0929	釧路市中鶴野 11-1
高 橋 圭 二	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
高 橋 潤 一	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
高 橋 セツ子	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
高 橋 雅 信	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
高 橋 芳 幸	北海道大学大学院獣医学研究科	060-0818	札幌市北区北 18 条西 9 丁目
高 畠 和 紀	JA びえい	071-0202	上川郡美瑛町南町 4 丁目
田 鎖 直 澄	農林水産省畜産試験場	305-0901	茨城県稲敷郡茎崎町池の台 2
田 口 重 信	北海道食糧産業㈱	003-0026	札幌市白石区本通 19 丁目南 2-7 食糧ビル
竹 内 寛		069-0852	江別市大麻東町 2-19
竹 岡 亮	網走市役所	093-8555	網走市南 6 条東 4 丁目
竹 下 潔	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
竹 田 保 之	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
竹 田 芳 彦	北海道立天北農業試験場	098-5736	枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘
竹之内 一 昭	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
竹 花 一 成	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
田 中 桂 一	北海道大学大学院農学研究科	060-0809	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
田 中 勝三郎	日本甜菜製糖㈱総合研究所	080-0831	帯広市稲田町南 9 線西 13 番地
田 中 進		961-8071	福島県西白河郡西郷村大字真船字蒲日向 62
田 中 正 俊		004-0022	札幌市厚別区厚別南 1 丁目 14-1-102

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
田 中 義 春	北海道立北見農業試験場	099-1406	常呂郡訓子府町弥生 52
田 辺 安 一	ダンと町村記念事業協会	061-1124	北広島市稲穂町西 8-1-17
谷 川 珠 子	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 番地
谷 本 光 生	南根室地区農業改良普及センター	086-0214	別海町別海緑町 38-5
谷 山 弘 行	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
田 村 千 秋	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
田 村 忠	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39 番地
塚 田 新	北海道別海高等学校	086-0214	野付郡別海町別海緑町 63
塚 本 達		080-0837	帯広市空港南町南 9 線西 31 番地
筒 井 静 子	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
堤 光 昭	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
堤 義 雄		005-0022	札幌市南区真駒内柏丘 5-10
出 岡 謙 太 郎	北海道立根釧農業試験場	086-1153	中標津町桜ヶ丘 1-1
出 口 健 三 郎	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
寺 井 明 喜 子		578-0941	大阪府東大阪市岩田町 3-1-13
寺 西 正 俊	雪印乳業(株)受精卵移植研究所	059-1365	苫小牧市植苗 119 番地
寺 見 裕	北海道石狩支庁	060-8558	北海道札幌市中央区北 3 条西 7 丁目
寺 脇 良 悟	酪農学園大学 短期大学部	069-8501	江別市文京台緑町 582
天 間 征	酪農総合研究所	062-0933	札幌市豊平区平岸 3 条 18 丁目 3-1-321
堂 腰 顕	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
堂 地 修	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
戸 苅 哲 郎	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
時 田 正 彦	酪農総合研究所	060-0003	札幌市中央区北 3 条西 7 丁目 1 番地酪農センタービル
所 和 暢		073-0024	滝川市東町 2 丁目 7-35
土 門 幸 男	(株)ジェネティクス北海道	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 北農ビル 13 F
中 井 朋 一	日本甜菜製糖(株)総合研究所	080-0831	帯広市稲田町南 9 線西 13 番地
長 沢 滋	南根室地区農業改良普及センター	086-0214	野付郡別海町別海緑町 38 番地
中 田 和 孝		069-0845	江別市大麻 256-16
中 辻 浩 喜	北方生物圏フィールド科学センター	060-0811	札幌市北区北 11 条西 10 丁目
中 村 克 己	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町字新得西 4 線 40 番地
中 村 富美男	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
中 村 正 斗	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
永 山 洋	十勝東部地区農業改良普及センター	083-0023	中川郡池田町字西 3 条 5 丁目
名久井 忠	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
奈良岡 武 任	新生飼料(株)千歳工場	066-0077	千歳市上長都 1041-8
新 名 正 勝	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
新 山 雅 美	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
西 埜 進		069-0841	江別市大麻元町 164-32
西 部 潤	十勝農業協同組合連合会	080-0013	帯広市西 3 条南 7 丁目 14
西 道 由紀子	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1 丁目 1 番地
西 村 和 行	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
西 邑 隆 徳	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
野 英 二	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
野 中 和 久	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
信 澤 敏 一	日生薬品株式会社	160-0001	東京都新宿区片町 2 番地 3 号エステートビル
萩 谷 功 一		047-0264	小樽市桂岡町 8-21
橋 詰 良 一	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
橋 立 賢 二 郎	(株)北海道酪農畜産協会	001-0010	札幌市北区北 10 条西 4 丁目 1 番地
橋 本 善 春	北海道大学大学院獣医学研究科	060-0818	札幌市北区北 18 条西 9 丁目

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
長谷川 信 美	宮崎大学農学部	889-2192	宮崎市学園木花台西 1-1
秦 寛	北方生物圏フィールド科学センター 静内研究牧場	056-0141	静内郡静内町御園 111
蜂谷 武 郎	十勝ハンナン	083-0022	中川郡池田町字西 2 条 10 丁目 5-1-325
八田 忠 雄		080-0022	帯広市西 12 条南 27 丁目 17-1
服部 昭 仁	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
花田 正 明	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
原 悟 志	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
坂東 健	芽室町農協	082-0011	河西郡芽室町東 1 条南 1 丁目
日高 智	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
左 久	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
平井 綱 雄	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
平山 秀 介		002-8005	札幌市北区太平 5-1-2-20
平山 博 樹	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
福井 豊	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
福永 重 治	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
藤川 朗	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
藤田 真美子	北海道庁農政部	060-8588	札幌市中央区北 3 条西 6 丁目
古川 修	雪印種苗(株)北海道研究農場	069-1464	夕張郡長沼町字幌内 1066
古川 研 治	十勝農業協同組合連合会	080-0013	帯広市西 3 条南 7 丁目 14
古村 圭 子	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
古谷 政 道	生物系特定産業技術研究推進機構	105-0001	東京都港区虎ノ門 3 丁目 18-19 虎ノ門マリビル 10 階
宝寄山 裕 直	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
干場 信 司	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
本郷 泰 久	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
前田 善 夫	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
蒔田 秀 夫	北海道立花野菜センター	073-0024	滝川市東町 6 丁目 201-55
牧野 司	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
増子 孝 義	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
舩田 正 博	独立行政法人家畜改良センター新冠牧場	056-0141	静内郡静内町御園 587-5
松井 義 貴	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
松岡 栄	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
松崎 重 範	(社)ジェネティクス北海道	089-0103	上川郡清水町字清水第 5 線 18 番地
松長 延 吉	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
松本 啓 一	雪印種苗(株)道東事業部業務課	084-0905	釧路市鳥取南 5 丁目 1 番 17 号
真鍋 就 人	十勝農業協同組合連合会	080-0013	帯広市西 3 条南 7 丁目 14
三浦 俊 一	十勝中部地区農業改良普及センター	080-2472	帯広市西 22 条南 3 丁目 9 番地 16
三浦 祐 輔		004-0022	札幌市厚別区厚別南 1 丁目 16-6
三上 正 幸	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
光本 孝 次		080-0316	河東郡音更町緑陽台北区 21-4
湊 啓 子	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
南橋 昭	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
峰崎 康 裕	北海道立天北農業試験場	098-5738	枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘
宮川 栄 一	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
宮崎 元	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
宮本 明 夫	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
三好 俊 三	帯広畜産大学	080-8555	帯広市稲田町西 2 線 11 番地
村井 勝		329-2747	栃木県那須郡西那須野町千本松 800
森 清 一	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
森 匡	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目

氏 名	勤 務 先	郵便番号	住 所
森 田 茂	酪農学園大学 酪農学科	069-8501	江別市文京台緑町 582
森 田 潤一郎	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
森 津 康 喜	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
森 好 政 晴	酪農学園大学獣医学部	069-8501	江別市文京台緑町 582
諸 岡 敏 生		001-0030	札幌市北区北 30 条西 9 丁目 2-2 シテイプラザナイン 201
安 江 健	茨城大学農学部	300-0393	茨城県稲敷郡阿見町中央 7-6-3
山 内 和 律	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
山 川 政 明	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
山 口 諭		992-0057	米沢市成島町 3 丁目 2-68
山 崎 昭 夫	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
山 崎 昶	北海道立畜産試験場滝川試験地	073-0026	滝川市東滝川 735
山 路 康		076-0033	富良野市新富町 3-1
山 田 渥	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
山 田 豊	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
山 田 正 美	浜中町農業協同組合	088-1350	厚岸郡浜中町茶内市街
山 本 直 幸	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
山 本 裕 介	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
矢 用 健 一	農業技術研究機構北海道農業研究センター	062-8555	札幌市豊平区羊ヶ丘 1
八代田 千 鶴	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
八代田 真 人	岐阜大学農学部	501-1193	岐阜市柳戸 1-1
湯 浅 亮	酪農学園大学	069-8501	江別市文京台緑町 582
湯 藤 健 治	北海道立根釧農業試験場	086-1153	標津郡中標津町桜ヶ丘 1-1
横 濱 道 成	東京農業大学生物産業学部	099-2493	網走市字八坂 196
吉 田 悟	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39
吉 田 義 則	(株)ジェネティクス北海道	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 北農ビル
米 田 裕 紀		073-0027	滝川市東滝川町 4 丁目 18-27
米 道 裕 彌	北海道立畜産試験場	073-0026	滝川市東滝川 735
若 松 純 一	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
渡 辺 智 正	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	札幌市北区北 9 条西 9 丁目
渡 部 敢	北海道立畜産試験場	081-0038	上川郡新得町新得西 5 線 39

学 生 会 員 (2003 年 3 月現在)

氏 名	所 属	郵便番号	研 究 室
石 川 志 保	酪農学園大学	069-8501	家畜管理学研究室
今 津 明 泰	酪農学園大学	069-8501	家畜育種学研究室
岩 崎 早生里	酪農学園大学	069-8501	家畜育種学研究室
及 川 隆 広	東京農業大学生物産業学部	099-2493	動物資源学研究室
Okine Abdul Razak	帯広畜産大学	080-8555	草地利用学研究室
河 上 博 美	酪農学園大学	069-8501	家畜管理学研究室
岸 岡 康 博	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	家畜資源開発学研究室
北 村 祥 子	酪農学園大学	069-8501	家畜繁殖学研究室
Nguyen Huu Van	帯広畜産大学	080-8555	家畜栄養学研究室
國 井 彰 子	東京農業大学生物産業学部	099-2493	動物資源学研究室
小 林 竹 雄	帯広畜産大学	080-8555	家畜栄養学研究室
佐久間 元 希	北海道大学獣医学部	001-0018	繁殖学研究室
佐 藤 光	酪農学園大学	069-8501	家畜育種学研究室

氏 名	所 属	郵便番号	研 究 室
申 仁 先	帯広畜産大学	080-8555	草地利用学研究室
新 宮 裕 子	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	家畜栄養学研究室
高 崎 ゆかり	東京農業大学生物産業学部	099-2493	動物環境管理学研究室
高 橋 励 起	酪農学園大学	069-8501	家畜管理学研究室
成 田 真 知	酪農学園大学	069-8501	家畜繁殖学研究室
西寒水 将	酪農学園大学	069-8501	家畜繁殖学研究室
猫 本 健 司	酪農学園大学	069-8501	家畜管理学研究室
野 口 華 奈	酪農学園大学	069-8501	中小家畜研究会
林 匡 史	酪農学園大学	069-8501	応用微生物学研究室
福 井 絵 美	東京農業大学生物産業学部	099-2493	動物環境管理学研究室
Budi Santoso	帯広畜産大学	080-8555	家畜栄養学研究室
三 谷 朋 弘	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	畜牧体系学研究室
安 川 純 志	北海道大学大学院農学研究科	060-8589	家畜資源開発学研究室
李 慧 全	帯広畜産大学	080-8555	草地利用学研究室
和 田 健 太	東京農業大学生物産業学部	099-2493	動物資源学研究室

賛 助 会 員

会 員 名	郵便番号	住 所	営 業 項 目
エーザイ株式会社 札幌支店	003-0021	札幌市白石区栄通4丁目3-1	
コーンズエージー	061-1433	恵庭市北柏木町3丁目104番地1	
デーリィマン社	060-0004	札幌市中央区北4条西13丁目1番39	
ニチロ畜産株式会社	063-8510	札幌市西区西町北18丁目1-1	食肉および食肉加工品の製造販売
ホクレンくみあい飼料株式会社	060-8651	札幌市中央区北4条西1丁目1番地 北農ビル18F	飼料製造
ホクレン農業協同組合連合会	060-8651	札幌市中央区北4条西1丁目	
メルシャン株式会社 苫小牧工場	059-1373	苫小牧市真砂町38-5	
安積濾紙株式会社 札幌営業所	065-0043	札幌市東区苗穂町3丁目4番31号	牛乳専用濾過紙, 乳房清拭紙, 乳頭仕上げ用ペーパー
井関農機株式会社 営業北海道支店	006-0805	札幌市手稲区新発寒5条1丁目5番1号	
株式会社三幸商会	063-0062	札幌市西区西町南17丁目2-44	科学機器, 乳加工用機器器具, 乳加工用乳酸菌・レンネットの販売
株式会社土谷製作所	065-0042	札幌市東区本町2条10丁目2-35	
株式会社酪農総合研究所	060-0003	札幌市中央区北3条西7丁目 酪農センター	
十勝農業協同組合連合会	080-0013	帯広市西3条南7丁目14	
小野田リンカル販売株式会社	060-0003	札幌市中央区北3条西1丁目 ナショナルビル	
森永乳業株式会社 北海道酪農事務所	003-0030	札幌市白石区流通センター1-11-17	
雪印種苗株式会社	004-8531	札幌市厚別区上野幌1条5丁目1-8	
雪印乳業株式会社 北海道支社 酪農部	065-0043	札幌市東区苗穂町6丁目1-1	牛乳・乳製品の製造, 販売
全国酪農業共同組合連合会 札幌支所	060-0003	札幌市中央区北3条西7丁目 酪農センター内	
日本配合飼料株式会社 北海道支社	060-0031	札幌市中央区北1条東1丁目 明治生命ビル	
日優ゼンヤク株式会社	065-0022	札幌市東区北22条東9丁目	

会 員 名	郵便番号	住 所	営 業 項 目
北海道オリオン株式会社	003-0027	札幌市白石区本通 18 丁目北 3-66 号	酪農機器，酪農施設， 糞尿処理機器，畜産環 境施設の販売
北海道ホルスタイン農業協同組合	001-8555	札幌市北区北 15 条西 5 丁目 20	乳牛（ホルスタイン） の登録，乳牛・肉牛の 斡旋販売，家畜市場
ジェネティクス北海道	060-0004	札幌市中央区北 4 条西 1 丁目 1 北農ビル	自給飼料生産関係の調 査，研究および情報提 供
北海道草地協会	060-0042	札幌市中央区大通西 7 丁目 2 酒造会館内	
北海道農業開発公社 畜産部	060-0005	札幌市中央区北 5 条西 6 丁目 1-23 農地開発センター内	獣医畜産機器，理化学 機器，牛乳分析器，土 壌分析器の販売
北海道富士平工業株式会社	001-0027	札幌市北区北 27 条西 9 丁目 5-22	
北原電牧株式会社	065-0019	札幌市東区北 19 条東 4 丁目	
明治乳業株式会社 北海道事業本部	003-0001	札幌市白石区東札幌 1 条 3 丁目 5-41	
アース技研株式会社	080-0048	帯広市西 18 条北 1 丁目 17 番地	
全国農業協同組合連合会（JA 全農） 札幌支所	060-0061	札幌市中央区南 1 条西 10 丁目 4 番地 1	

北海道畜産学会編集委員会

委員長	宮川 栄一(酪農大)
委員	新名 正勝(道立地試)
	前田 善夫(根釧農試)
	押尾 秀一(北農研)
	柏村 文郎(帯畜大)
	島崎 敬一(北大農)

編集幹事 堂地 修(酪農大)

編集後記

本年度も、関係者の皆さまのご協力により、第45巻を発行することができました。ご寄稿・ご投稿いただきました著者各位ならびに査読を快くお引き受けいただきました審査員の方々に心より感謝いたします。

来年度も内容の充実に努めたいと考えておりますので、会員の皆さまのご協力を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

(編集幹事)

複写をされる方に

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、(財)日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、著作権者から複写権等の行使の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。著作物の転載・翻訳のような複写以外の許諾は、直接本会へご連絡下さい。

〒170-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル

学術著作権協会 (TEL: 03-3475-5618 FAX: 03-3475-5619)

E-mail: kammori@msh.biglobe.ne.jp)

アメリカ合衆国における複写については、次に連絡して下さい。

Copyright Clearance Center, Inc. (CCC)

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA

Phone: (978)750-8400 Fax: (978)750-4744 www.copyright.com

Notice about Photocopying

In order to photocopy any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copyright owner of this publication.

Except in the USA

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

41-6 Akasaka 9-chome, Minato-ku, Tokyo 107-0052, Japan

TEL: 81-3-3475-5618 FAX: 81-3-3475-5619 E-mail: kammori@msh.biglobe.ne.jp

In the USA

Copyright Clearance Center, Inc. (CCC)

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: (978)750-8400, Fax: (978)750-4744, www.copyright.com

くみあい配合飼料

カビ毒による乾物摂取量の低下に悩んでいませんか！

マッシュタイプとフレーク＆ペレットタイプがあります。

ニューマッシュ75・ニューバルキー75

○カビ毒（マイコトキシン）を吸着し、牛の体外へ排出する働きがあるベントナイトを配合しています。

○空胎日数の短縮・受胎率の向上が期待できるミネラル（有機）を増強しています。

○アメリカ最新推奨値に基づきビタミンADEを添加しています。

ホクレン農業協同組合連合会 飼料養鶏課

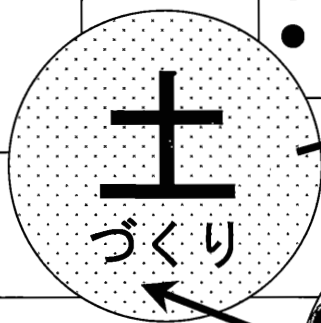
〒060-8651 札幌市中央区北4条西1丁目

TEL 011-232-6185

※ 詳しくはお近くのJA・ホクレンにお問い合わせ下さい。

- 土壌分析、診断
- 施肥設計
- 飼料作物専用肥料の供給
- 堆肥発酵促進剤の供給

- 栽培技術 ● 優良作物種子
- オリジナル作物種子
- 国産粗飼料増産指導



- 直営工場での
高品質配合飼料製造
- コンピューターによる
飼料計算
- 給与評価システム
- 外国産粗飼料の供給
- 資材の供給

●お問い合わせは

Your Partner **全酪連**

札幌支所 Tel 011-241-0765 道北事務所 Tel 01654-2-2368 釧路事務所 Tel 0154-52-1232

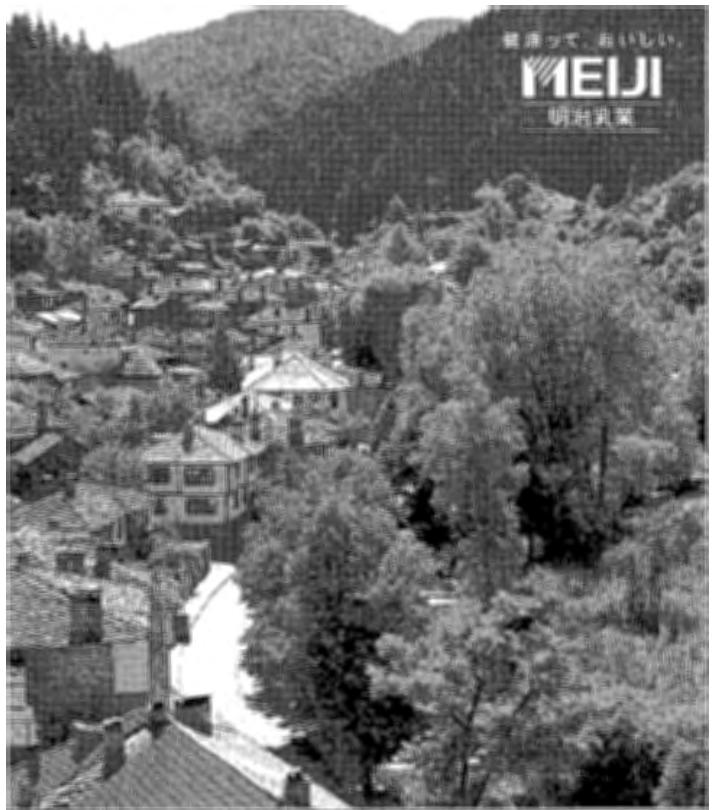
帯広事務所 Tel 0155-37-6051

北見駐在所 Tel 0157-26-5900

豊かな自然。
緩やかな時の流れ。
ヨーグルトの伝統が
生きつづける場所。



ブルガリアで生まれた、私たちのヨーグルト
明治ブルガリアヨーグルト LB81
特定保健用食品



ヨーグルトの故郷 ブルガリア・スモリャン地方

新発売!

自動哺乳機用
代用乳

カープミルクAT

「カープミルクAT」は、自動哺乳機用の代用乳として開発された、牛乳の成分に近づけられた、赤ちゃんに優しいミルクです。

「カープミルクAT」は、自動哺乳機用の代用乳として開発された、牛乳の成分に近づけられた、赤ちゃんに優しいミルクです。

お問合せは最寄りの雪印種苗営業所・研究農場、または下記本社まで。



雪印種苗株式会社

本 社 〒004-8531 札幌市厚別区上野幌1条5丁目1番8号 ☎(011)891-5911

新刊案内

新版

主要症状を
基礎にした

牛の臨床

監修 前出吉光
小岩政照

新版

主要症状を基礎にした
牛の臨床

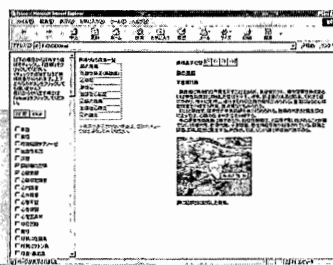


監修 前出吉光
小岩政照

好評発売中!!

特徴的な症状を基にした疾病分類、治療薬の商品名・メーカー名の記載等、実際の臨床現場での応用を重視した構成により、1978年の初版刊行以来、本シリーズは多くの獣医師・研究者・学生に支持されています。本書は監修者・執筆者を一新し、近年注目されている蹄の疾病や、BSE、CVM等の新病も完全網羅。患部写真も一層分かりやすいオールカラー、内容充実の新版です。

※付録CD-ROMは症状から病名検索できる簡易システム。特別なソフトを必要とせず、ユーザーによる内容更新も可能です。



B5判・750頁 CD-ROM付 本体価格 20,000円＋税 (送料 600円)

世界を制覇する
ニュージーランド酪農

—日本酪農は国際競争に生き残れるか—

荒木 和秋



デーリイマン社

世界を制覇する

最新刊!

ニュージーランド酪農

—日本酪農は国際競争に生き残れるか— 荒木和秋 著

生乳生産量は世界全体の僅か3.4%ながら、乳製品輸出量はナンバーワン、世界の30%以上という圧倒的なシェアを誇る、小さな酪農大国ニュージーランド。

本書は現地調査で得た豊富なデータを元に、ニュージーランドが確立してきた優れた生産・経営のシステムを検証。振り返ってわが国、そして北海道酪農・畜産業が国際化時代を生き残るための条件を提言します。

A5判・170頁 定価 1,500円(税込)(送料 310円)

— 図書のお申し込みは下記へ —

デーリイマン社 管理部

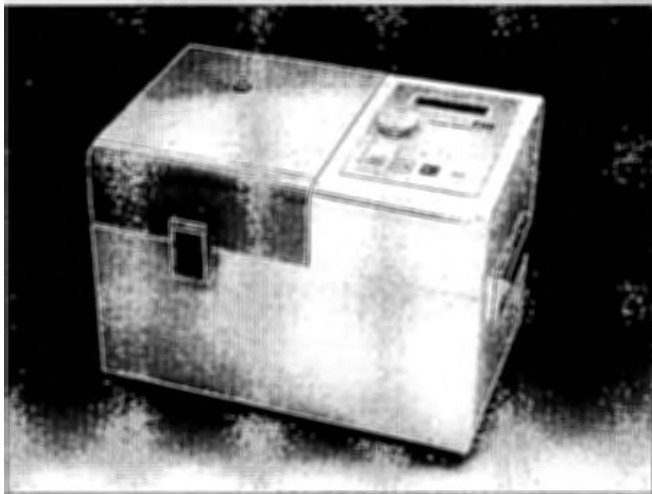
☎ 011(209)1003 FAX 011(209)0534

〒 060-0004 札幌市中央区北4条西13丁目

e-mail kanri@dairyman.co.jp

堆肥熟度判定器 コンポテスター

堆肥の水分を調整し、秤量して判定器にセットするだけで
簡単に堆肥の熟成具合（熟度）を数値で判定することができます。



判定原理

- ・微生物の酸素消費量を計測して堆肥熟度を判定します。

FHK

富士平工業株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷6丁目11番6号
電話 東京(03)3812-2271 ファクシミリ(03)3812-3663

北海道富士平工業株式会社

本社：〒001-0027 札幌市北区北27条西9丁目5番22号
電話(011)726-6576(代表) ファクシミリ(011)717-4406
支店：〒080-0802 帯広市東2条南3丁目7 十勝館ビル
電話(0155)22-5322(代表) ファクシミリ(0155)22-5339

北海道畜産学会報 第45巻

2003年3月31日 発行

発行人 岡 本 全 弘

発行所 北 海 道 畜 産 学 会

〒069-8501 江別市文京台緑町582

酪農学園大学酪農学部酪農学科内

TEL 011-388-4797

FAX 011-357-5848

郵便振替口座番号 02770-4-4947

印刷所 (株)アイワード

