

略 号

畜草研研報

Bull. Natl. Inst. Livest.
Grassl. Sci.

ISSN:1347-0825
CODEN:CSKKCS



Bulletin of National Institute of Livestock and Grassland Science



第8号〈No.8〉平成20年3月-March2008-

**National Institute
of Livestock and
Grassland Science
(NILGS)**

Ibaraki, Japan

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

畜産草地研究所

畜産草地研究所編集委員会
Editorial Board

所 長
Director-General

柴 田 正 貴
Masaki SHIBATA

草地研究監
Director, Grassland Research

加 茂 幹 男
Mikio KAMO

編集委員長
Editor-in-Chief

寺 田 文 典
Fuminori TERADA

副編集委員長
Deputy Editor

中 西 直 人
Naoto NAKANISHI

編集委員
Associate Editor

佐 藤 義 和
Yoshikazu SATO

長 嶺 慶 隆
Yoshitaka NAGAMINE

千 國 幸 一
Koichi CHIKUNI

花 島 大
Dai HANAZIMA

山 本 嘉 人
Yoshito YAMAMOTO

井 村 治
Osamu IMURA

井 出 保 行
Yasuyuki IDE

小 林 真
Makoto KOBAYASHI

伊 吹 俊 彦
Toshihiko IBUKI

畜産草地研究所研究報告

第8号（平成20年3月）

— 目 次 —

— 原著論文 —

藤荷田山長期生態研究草地の糞虫相の特徴と動態	井村 治・森本信生・時 坤..... 1
---------------------------------	----------------------

— 学位論文 —

交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）雌牛による効率的な子牛生産に関する研究	青木真理.....11
---	-------------

BULLETIN OF
NATIONAL INSTITUTE OF
LIVESTOCK AND GRASSLAND SCIENCE

No.8 (2008.3)

CONTENTS

Research Papers

Osamu IMURA, Nobuo MORIMOTO and Kun SHI :

Fauna and Temporal Dynamics of Dung Beetles of the Fujinita-Yama Pasture, a Long-Term

Ecological Research Site..... 1

Research Note

Mari AOKI : Studies on Efficient Calf Production in Crossbred (Japanese Black X Holstein-Friesian)

Beef Cows..... 11

藤荷田山長期生態研究草地の糞虫相の特徴と動態

井村 治・森本信生¹⁾・時 坤²⁾

草地多面的機能研究チーム

¹⁾ 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター

²⁾ College of Nature Conservation, Beijing Forestry University

要 約

畜産草地研究所の藤荷田山長期生態研究草地（藤荷田山）のシバ型放牧草地の糞虫相とその動態について、1999年から2001年と2003年から2005年にザルを用いた牛糞トラップを使い5月から10月の放牧期間に月1回調査し、その特徴を近隣の畜産草地研究所西地区（畜草研西）と自由学園那須農場南地区（自由学園南）の放牧草地での調査結果と比較して明らかにした。また藤荷田山生態研究草地の糞虫による生物多様性保全機能および養分循環に係わる糞分解への働きについても考察した。藤荷田山ではセンチコガネ亜科2種、ダイコクコガネ亜科6種、マグソコガネ亜科10種を含む18種が記録された。藤荷田山のChao2（Chao 1987）で推定した期待種数（18.4）は畜草研西（15.8）とは有意に異ならなかったが、自由学園南（11.1）より有意に大きかった。藤荷田山の糞虫相の種多様度（Shannon-Wienerの多様度指数 H' ）は1.816で大きく、畜草研西と自由学園南の糞虫相の種多様度（それぞれ1.365と1.521）と比較して有意に大きかった。藤荷田山の糞虫相では住込み屋（dwellers）と穴掘り屋（tunnelers）タイプの同数の種数が生息していた。藤荷田山の糞虫相は畜草研西と自由学園南の糞虫相との類似度（Morishita-Hornの類似度指数）は低かった。これらの結果、藤荷田山の糞虫相は他の二つの放牧草地とは異なる多様で特徴的な群集構成を持っており、藤荷田山長期生態研究草地は糞虫の多様性保全の観点から重要な草地であることが示された。藤荷田山の糞虫の年間の個体数変動は春から夏にかけて上昇し、9月、10月に減少するパターンと夏に減少して逆に10月に上昇するパターンが見られた。個体数の季節的変動は近隣の放牧草地のそれと同調しており、藤荷田山の変動はこの地域の共通の変動パターンを示していると考えられた。藤荷田山草地の糞虫相の6年間の年次的な個体数変動は安定しており、また季節的変動では終牧時の10月あるいは夏に個体数が減少する年があるものの、概ね個体数は高く保たれていた。これらは藤荷田山の糞虫相は糞の分解による養分循環に有効な機能を果たしていることを示唆した。

キーワード：藤荷田山長期生態研究草地、シバ型放牧草地、糞虫相、多様性、個体数動態

緒 言

畜産草地研究所（以下畜草研）の藤荷田山の長期生態研究草地では様々な研究が行われてきた⁵⁾。その多くは一次生産者である植生の動態や物質生産また牛を含めた草地の物質・エネルギー循環に係わる研究であるが、牛を除く消費者や分解者に係わる調査・研究も少なからず行われてきた^{10, 20-25, 35)}。

放牧草地では大量の糞が家畜によって排泄される。放

牧草地にはその糞を利用し分解する糞虫（コガネムシ上科 Scarabaeoidea の食糞性の昆虫）が多数生息しており、1）草地の養分循環の促進、2）土壌構造の改善、3）ハエ等の発生の抑制、4）家畜の内部寄生虫の減少、5）不食過繁地の減少等、有益な機能を果たしている¹⁾。藤荷田山草地では中村^{21, 22)}、Nakamura²³⁾によって牛糞の分解との関連で糞虫相が報告されているが、詳細な糞虫相や長期的動態に関する研究は行われていない。また、

近年これらの重要な働きをしている糞虫の多様性が減少しその保全が重要な問題となっており¹¹⁾、放牧草地の糞虫の多様性についての現況を明らかにしておく必要がある。

本研究では1999年から2001年と2003年から2005年に調査した藤荷田山長期生態研究草地の糞虫相とその動態について、それらの特徴を近隣の草地の調査結果と比較して明らかにする。また藤荷田山生態研究草地の糞虫相から見た生物多様性保全機能および養分循環に係わる糞分解への糞虫の働きについても考察する。

材料および方法

調査草地

藤荷田山南斜面の約4haのシバ (*Zoysia japonica*) 型放牧草地 (北緯 36°55'12", 東経 139°57'20", 標高 316m, 1976年造成) を4牧区に分け、黒毛和種 (*Bos taurus*) 成牛10頭前後を1週間間隔で5月から10月まで輪換放牧を行った。藤荷田山南面草地は1974年に人工草地として造成され、以後放牧密度や施肥量を変えた放牧実験が行われてきたが²⁷⁾、1994年以後は上記放牧条件でシバ草地化が図られた。2005年は同草地を1牧区として同頭数による定置放牧に変更した。

比較のために1999年～2001年は所内の畜草研西地区 (北緯 36°54'40", 東経 139°55'52", 標高 308m, 藤荷田山調査地から2.8km西方, ペレニアルライグラス (*Lolium perenne*) 混播草地 8ha, ホルスタイン 21～25頭放牧) と2003年～2005年は近隣の自由学園那須農場の南地区 (北緯 36°5'54", 東経 139°58'48", 標高 303m, 藤荷田山調査地から2.1km東方, ペレニアルライグラス草地 8～10ha, ホルスタイン育成+乾乳牛 26～35頭放牧, 2001年放牧開始) の放牧草地を調査対象とした。畜草研西地区の放牧草地は調査開始以前も同様の管理が行われていた。また自由学園南地区では駆虫薬イベルメクチンが使用された。

各調査放牧地周囲の植生・土地利用は、藤荷田山：クリ・クヌギ・コナラ優占保全林、落葉広葉樹林帯を挟んで高速道路、アズマネザサとススキ草地および採草・放牧兼用の人工草地；畜草研西地区：アカマツの優占する二次林、採草・飼料作物圃場、畜舎、パドックおよび水田；自由学園南地区：採草・飼料作物圃場 (2004年より一部を搾乳牛の放牧草地として利用)、河畔林を挟んで河川敷、クヌギ・コナラ優占二次林、杉林、宿泊・研修施設、畜舎、および水田であった。

糞虫調査

1999年～2001年と2003年～2005年に5月から10月までの放牧期間に各月1回 (1999年5月, 2003年5, 7月は実施せず) 糞虫の個体数調査を行った。糞虫の調査は以下のザル (箒) を用いた牛糞トラップ法を用いて行った¹²⁾。直径 20cm, 深さ 8cm のプラスチックのザルを縁まで土中に埋め、ザルの中に上部まで園芸用黒ボク土を満たして、その上に 400g の生牛糞を置いた。牛糞は予め生草または乾草だけを食べた舎飼の牛より集め、秤量してポリ袋に詰めて冷凍庫で保存し、使用前に解凍した。ザルトラップは各調査草地にトランセクトにそって約 10m 間隔で3個設置した。およそ 24 時間後に糞をザルごと回収し持ち帰って、水の入ったバケツに入れて攪拌後水面に浮上した成虫を網ですくって採集した。

データ解析

以下の解析は上記調査による成虫の種数と個体数に基づいて行った。各糞虫相の種数の比較には、藤荷田山の調査期間 (6年) は畜草研西地区 (3年) や自由学園南地区 (3年) と等しくなかったため、在-不在データによる Chao2³⁾ で推定した期待種数を用いた³¹⁾。また各糞虫相間の類似性を種数とサンプルサイズに影響を受け難い Morishita-Horn の類似度 (similarity) 指数により評価した¹⁹⁾。糞虫相の期待種数、種多様度 (species diversity, Shannon-Wiener の情報量指数 H') および Morishita-Horn の類似度指数の計算は SPADE (Species Prediction And Diversity Estimation)⁴⁾ を用いた。住込み屋 (dwellers) 種数/穴掘り屋 (tunnelers) 種数の比率の検定は G -test²⁹⁾ で行った。Wilcoxon の符号順位検定および Spearman の順位相関係数の計算には JMP6²⁶⁾ を用いた。

結果と考察

糞虫相

表1に藤荷田山と近隣の畜草研西地区および自由学園南地区の糞虫相を示した。1999年から2005年にかけて調査した藤荷田山のシバ型放牧草地ではセンチコガネ亜科2種、ダイコクコガネ亜科6種、マグソコガネ亜科10種を含む18種が記録された。この他に放牧牛の排泄糞の中からオオフタホシマグソコガネ *Aphodius elegans* Allibert, また草地の節足動物調査のための吸引サンプリングでコケシマグソコガネ *Myrnessus samurai* (Balthasar) が採集された。この内、オオセンチコガネ、ツノコガネ、ゴホンダイコクコガネ、オオフタホシマグソコガネ、オオマグソコガネ、スジマグソコガネ、コマグソコガネ、

マキバマグソコガネおよびコケシマグソコガネは、栃木県のレッドリストには挙げられていないがレッドリスト種として挙げている都道府県もあり、特に初めの4種は絶滅の危険度指数が高く保全上注意を要する種である¹⁾。藤荷田山の放牧草地で記録された糞虫の種数は近隣の畜草研西地区と自由学園南地区の放牧草地の糞虫相に比べて種数が多かった。異なるサンプルサイズに基づく種数を比較するために、Chao2³⁾で推定した期待種数を表2に示した。藤荷田山の期待種数18.4は畜草研西地区(15.8)とは有意に異ならなかったが、自由学園南

地区(11.1)より有意に大きかった($p<0.05$)。また藤荷田山は栃木県北東部で調査した放牧草地のなかでも最も糞虫の種数の多い草地の一つであった(Imuraら未発表)。栃木県ではこれまでにこれら3亜科に属する糞虫は55種が記録されており³⁴⁾、オオフタホシマグソコガネとコケシマグソコガネを含めると藤荷田山では栃木県内記録種の36.4%の種が出現している。

藤荷田山糞虫相の種多様度(Shannon-Wienerの多様度指数 H')は1.816と大きく、畜草研西地区と自由学園南地区の糞虫相の多様度指数(それぞれ1.365と1.521)と

表1. 牛糞トラップで調査した藤荷田山と近隣の放牧草地の糞虫相

種名	機能グループ ¹⁾	藤荷田山 ²⁾	畜草研西地区	自由学園南地区 ³⁾
センチコガネ亜科 Geotrupinae				
オオセンチコガネ <i>Phelotrupes auratus</i> (Motschulsky)	T	○	○	
センチコガネ <i>Phelotrupes laevistriatus</i> (Motschulsky)	T	○		
ダイコクコガネ亜科 Scarabaeinae				
ツノコガネ <i>Liatongus minutus</i> (Motschulsky)	T	○		
ゴホンダイコクコガネ <i>Copris acutidens</i> Motschulsky	T	○	○	
カドマルエンマコガネ <i>Onthophagus lenzii</i> Harold	T	○	○	○
クロマルエンマコガネ <i>Onthophagus ater</i> Waterhouse	T	○	○	○
フトカドエンマコガネ <i>Onthophagus fodience</i> Waterhouse	T	○	○	
コブマルエンマコガネ <i>Onthophagus atripennis</i> Waterhouse	T	○		○
マグソコガネ亜科 Aphodiinae				
オオマグソコガネ <i>Aphodius quadratus</i> Reiche	T	○	○	○
ウスグロマグソコガネ <i>Aphodius comatus</i> A. Schmidt	D	○		
スジマグソコガネ <i>Aphodius rugosostriatus</i> Waterhouse	D	○	○	○
フチケマグソコガネ <i>Aphodius urostigma</i> Harold	D	○	○	○
コマグソコガネ <i>Aphodius pusillus</i> (Herbst)	D	○	○	○
マグソコガネ <i>Aphodius rectus</i> (Motschulsky)	D	○	○	○
マキバマグソコガネ <i>Aphodius pratensis</i> Nomura et Nakane	D	○	○	
ヨツボシマグソコガネ <i>Aphodius sordidus</i> (Fabricius)	D	○	○	○
オビマグソコガネ <i>Aphodius uniplagiatus</i> Waterhouse	D	○	○	○
ウスイロマグソコガネ <i>Aphodius sublimbatus</i> Motschulsky	D	○	○	○
総 種 数		18	14	11
D (住込み屋) / T (穴掘り屋) 比 ⁴⁾		1.00 n.s.	1.33 n.s.	1.75 n.s.

¹⁾穴掘り屋：T, 住込み屋：D。

²⁾草地に牛が排泄した糞よりオオフタホシマグソコガネ *Aphodius elegans* Allibert が採集された。草地の吸引サンプリングによりコケシマグソコガネ *Myrnessus samurai* (Balthasar) が採集された。

³⁾同農場北地区の牧場でフトカドエンマコガネが採集された。センチコガネが落葉樹林内に仕掛けたトラップで採集された。

⁴⁾ n.s.: G-test による3放牧草地の糞虫相のD/T比の比較で有意差なし。

表2. 藤荷田山, 畜草研西地区, 自由学園南地区の放牧草地における糞虫相の多様性指数

多様性指数	藤荷田山			畜草研西地区			自由学園南地区		
	推定値	標準誤差	95%信頼区間	推定値	標準誤差	95%信頼区間	推定値	標準誤差	95%信頼区間
種数 ¹⁾	18.4 ^a	1.1	18.0-25.3	15.8 ^a	2.4	14.2-27.4	11.1 ^b	0.3	11.0-13.3
多様度 ²⁾	1.816 ^a	0.013	1.791-1.841	1.365 ^b	0.019	1.327-1.403	1.521 ^c	0.01	1.550-1.514

¹⁾ Chao2³⁾で推定した期待種数。在-不在データを用いて計算。異記号間は有意差あり($p<0.05$)。

²⁾ Jackknife 法による Shannon-Wiener の情報量指数 H' の推定値⁴⁵⁾。異記号間は有意差あり($p<0.001$)；有意水準は Solow³⁰⁾ の boot-strap 法で推定。

比較しても有意に大きかった ($p<0.001$) (表2)。

糞虫は糞を利用する方法にいくつかのタイプがあり、機能グループと呼ばれている^{2,7)}。藤荷田山の糞虫相は、排泄された地表の糞の中に入って摂食し産卵する機能グループ(住込み屋, dwellers)と糞の下に縦穴を掘って地表の糞から糞塊を運び込み、これに卵を産んで幼虫を育てる機能グループ(穴掘り屋, tunnelers)に分けられ、前者は緯度の高い冷涼な地域、後者は緯度の低い温暖な地域で優占する^{2,8,17)}。住込み屋と穴掘り屋の種数の比(D/T比)は藤荷田山で1.00であり、畜草研西地区と自由学園南地区はそれぞれ1.33と1.75で住込み屋が優勢であるが、三放牧草地のD/T比に統計的有意差は認められず(G -test, $p>0.05$)、またD:T=1:1からも有意に乖離しておらず(G -test, $p>0.05$)、この地域では二つの機能グループの間ではほぼ同数の種数が生息していると言える。どちらの機能グループの糞虫種にとってもこの地域の気候条件は生息に適していることを示唆している。

藤荷田山および比較した二つの放牧草地の糞虫相の類似度を Morishita-Horn 指数¹⁹⁾ で評価した(表3)。指数は畜草研西地区と自由学園南地区の糞虫相は類似度が高い

が、藤荷田山の糞虫相は両糞虫相との類似度が低いことを示した。藤荷田山の糞虫相は比較した他の二つの草地の糞虫相とは異なる特徴的な群集構成を持っていると言える。

イベルメクチンを含むマクロライド系の駆虫薬は施用された家畜の糞とともに排泄されてそれを利用する糞虫の生存、発育や繁殖に悪影響を与えることが知られている^{13,14,18,36,38)}。自由学園南地区は放牧牛にイベルメクチンが施用されていたため、その糞虫相は駆虫薬によって影響を受けていた可能性がある。しかしイベルメクチンの野外の糞虫相への影響は必ずしも明確でない^{15,33)}。

藤荷田山の放牧草地の糞虫相は多様性が高く、また特徴的な群集構成を持っているのは、生態研究草地内の落葉樹林が保全されており草地の周辺環境の自然度が高いこと(Imura ら未発表)と、おそらく放牧草地としての歴史が長いこと³⁷⁾(畜草研の前身である1941年開設の馬事研究所時代を入れると約60年)がその要因だと推測される。これらの結果から、藤荷田山の放牧草地はその糞虫相から見て生物多様性を保全する上で重要な草地だと言える。

表3. 藤荷田山、畜草研西地区および自由学園南地区の放牧草地における糞虫相の Morishita-Horn 指数による類似度

	藤荷田山	畜草研西地区	自由学園南地区
藤荷田山	1	0.304	0.413
畜草研西地区		1	0.827
自由学園南地区			1

個体数動態

藤荷田山の糞虫のトラップ当たり個体数(全種の個体数をプールした)の変化を図1に示した。また比較のために同日に調査した畜草研西地区(1999年～2001年)および自由学園南地区(2003年～2005年)の放牧草地の糞虫の個体数変動を図2に示した。藤荷田山の糞虫の季節

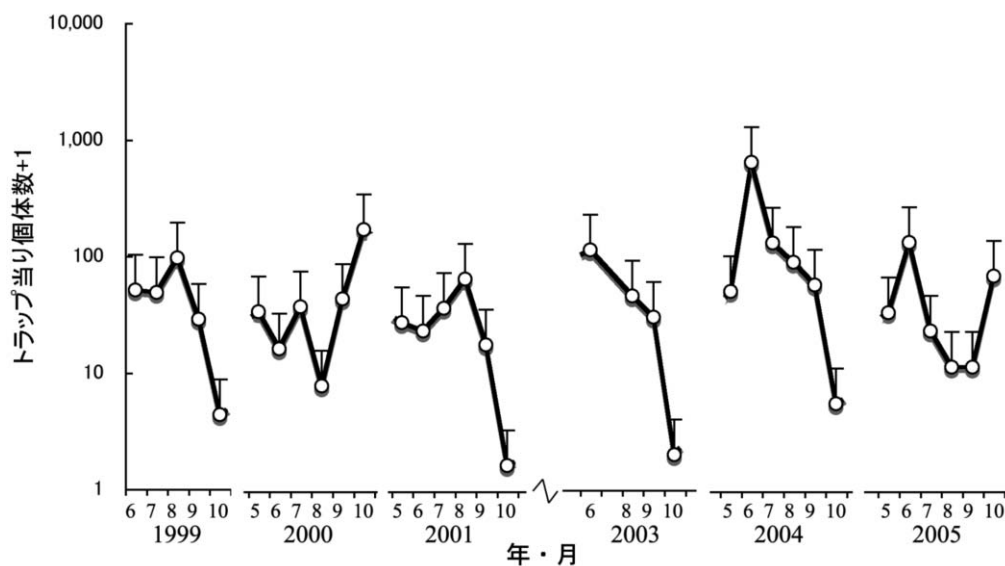


図1. 藤荷田山放牧草地における糞虫個体数(トラップ当たり)の変動。(縦棒は標準偏差)

的な個体数変動は春から夏にかけて上昇し、9月、10月に減少するパターンと夏に減少して逆に10月に上昇するパターンが見られた。個々の種について見ると、コマグソコガネとオオマグソコガネは春に、スジマグソコガネとオビマグソコガネは6～7月、またカドマルエンマコガネはいずれの月にも個体数が多い傾向が見られた(図3)。同様の種に特徴的な個体数の季節的変動は他地域の放牧草地の糞虫相でも報告されている^{16, 37, 39, 44)}。藤荷田山の糞虫個体数の6年間の季節的変動パターンは対応する時期の畜草研西地区および自由学園南地区のパターンと類似しており(図1, 図2)、個体数の高い相関

を示した(Spearmanの順位相関係数 $\rho=0.584$, $p<0.001$)。この結果は糞虫個体数の季節的変動は地域的に同調しており、藤荷田山の変動はこの地域の共通の変動パターンを示していると考えられる。

前後半各3年間の藤荷田山の月ごとの糞虫個体数(トラップ当たり)の平均値は同日に調査した畜草研西地区または自由学園南地区の方が多く、また変動係数で評価した個体数の変動幅は藤荷田山と比較して畜草研西地区は大きく、自由学園南地区は小さかった(表4)。しかし藤荷田山と近隣の放牧草地の糞虫の平均個体数と変動の大きさに統計的に有意な違いは認められなかった(表4)。ま

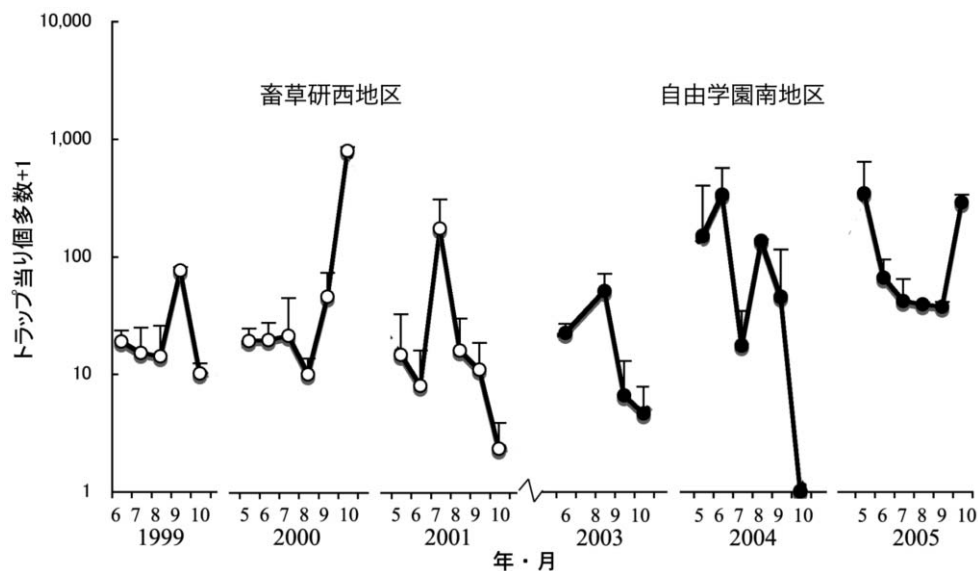


図2. 畜草研西地区(1999年～2001年)と自由学園南地区(2003年～2005年)の放牧草地における糞虫個体数(トラップ当たり)の変動。(縦棒は標準偏差)

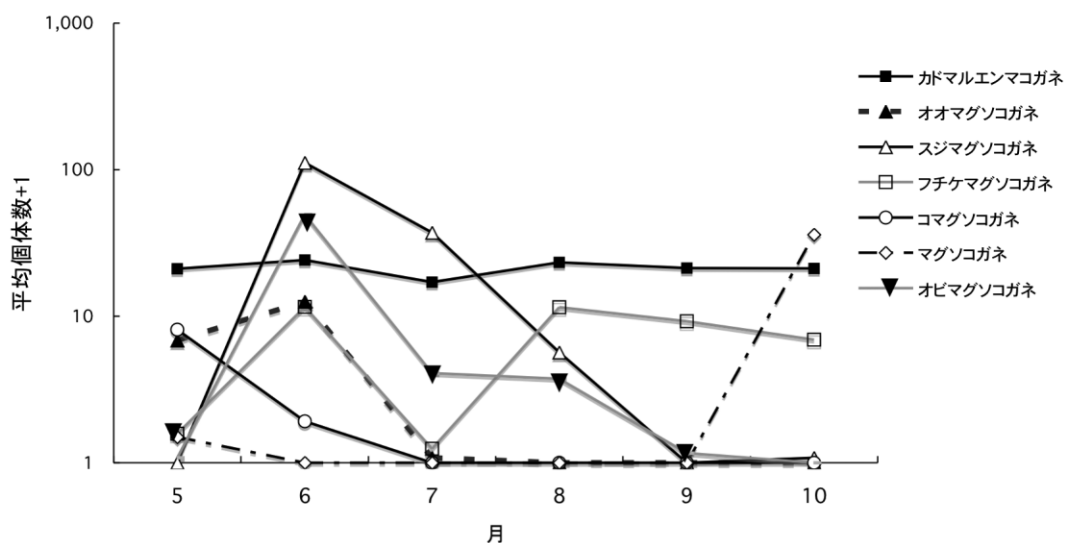


図3. 優占種のトラップ当たり個体数の季節的変動。(欠測月の無い2000年, 2001年, 2004年, 2005年の平均値)

表4. 藤荷田山と畜草研西地区(1999年～2001年)および藤荷田山と自由学園南地区(2003年～2005年)の放牧草地の糞虫の個体数変動の比較

年	放牧草地 変数\統計量	藤荷田山		畜草研西地区		差の検定 ³	
		平均	標準誤差	平均	標準誤差		
1999- 2001	個体数 ¹	41.4	10.1	73.7	46.1	$p > 0.40$	n. s.
	変動係数 ²	101.9%	30.4	261.5%	169.5	$p > 0.30$	n. s.
2003- 2005	放牧草地 変数\統計量	藤荷田山		自由学園南地区		差の検定 ³	
		平均	標準誤差	平均	標準誤差		
	個体数 ¹	41.4	10.1	73.7	30.4	$p > 0.70$	n. s.
	変動係数 ²	101.9%	30.4	261.5%	43.7	$p > 0.60$	n. s.

¹各月の3サンプルの平均個体数。²月個体数の平均値と標準偏差に基づく修正変動係数とその標準誤差²²⁾。³個体数はWilcoxonの符号順位検定, 変動係数は正規分布すると仮定したt-検定²⁸⁾。

た個体数の季節的変動はあるものの、藤荷田山の糞虫個体数の6年間の年次変動は安定しており、その年の最大個体数(各月の3サンプルの平均)の変動幅で見ると、最も少なかった65.3/トラップ(2001年8月)と最も多かった667.7/トラップ(2004年6月)との比は10.2倍であった。個々の種で見ると、穴掘り屋の年次変動は少ないが、住込み屋のスジマグソコガネ、マグソコガネおよびオビマグソコガネでは大きな変動が見られた。放牧密度が毎年一定で糞虫の利用出来る資源(牛糞)量が安定していることと、糞塊を作って子を育てる穴掘り屋の糞虫は産卵数が少ない^{40, 41)}ことが個体数の安定性をもたらしている要因であると推測される⁹⁾。同様に安田^{42, 43)}は愛知県放牧場で行った5年間の糞虫調査で、種ごとの成虫個体数の年次変化は少ないと述べている。しかし、Doubé⁶⁾は南アフリカの狩猟保護区の穴掘り屋と転がし屋(rollers, 糞球を作って転がして運び、糞から離れた土に埋めて子を育てるグループ)が優占する糞虫相の5年間の調査で、最少年と最多年の平均個体数で126倍の大きな年次的変動を認めており、干ばつによる気象変動によるものであると述べている。上述のように近隣の放牧草地間で個体数の変動パターンが共通していたことは、Doubé⁶⁾の例からも気象条件が糞虫個体数の季節的・年次的変動に重要な影響を与えている可能性を示唆しているが、今後詳細な分析が必要である。

藤荷田山放牧草地の糞虫相の年次的な個体数変動は安定しており、また季節的変動では終牧時の10月(年によっては8, 9月)に個体数が減少する年があるものの、概ね個体数は高く保たれていた。また出現した穴掘り屋と住込み屋の個体数の優劣には季節的な入れ替わりが見られたが、両機能グループの種数の比率は均衡していた。糞食性の昆虫は糞を食べるだけでなく、糞の土への埋込や破碎によっても糞の分解を促進し、埋込には穴掘り屋、破碎には住込み屋の働きの大いことが認められてい

る³²⁾。これらのことは藤荷田山の糞虫相は糞の分解による養分循環にも有効な機能を果たしていることを示唆している。また中村²²⁾の結果もこの推測を支持している。

謝 辞

本研究は環境省地球環境推進費(1999年～2001年)および畜草研戦略研究費「府県土地利用型酪農経営」現地プロジェクト(2003年～2005年)の一部として行われた。研究に協力と理解をいただいた自由学園那須農場および放牧データをいただいた的場和宏氏、また調査を手伝っていただいた岩越充子さんと高野名保子さんに深謝する。梨木研究調整役と査読者には論文に対して貴重なコメントをいただいた。

引用文献

- 1) Bornemissza, G. F. (1960). Could dung eating insects improve our pastures?, J. Aust. Inst. Agric. Sci., 26, 54-56.
- 2) Camberfort, Y. and Hanski, I. (1991). Dung beetle population biology, In Dung Beetle Ecology (Eds. Hanski, I. and Camberfort, Y.), 36-50, Princeton University Press, Princeton.
- 3) Chao, A. (1987). Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability, Biometrics, 43, 783-791.
- 4) Chao, A. and Shen, T.-J. (2003). Program SPADE (Species Prediction And Diversity Estimation), Program and User's Guide (<http://chao.stat.nthu.edu.tw>).
- 5) 畜産草地研究所草地生態部 (2005). 藤荷田山における長期生態研究, 畜産草地研究所草地生態部, 那須塩原市, 102 p.
- 6) Doubé, B. M. (1987). Spatial and temporal organization in communities associated with dung pads and carcasses, In Organization of communities, past and present, 27th

- Symposium of the British Ecological Society (Eds. Gee, J. H. R. and Giller, P. S.), 255-280, Blackwell, Oxford.
- 7) Doube, B. M. (1991). Dung beetles in southern Africa, In *Dung Beetle Ecology* (Eds. Hanski, I. and Camberfort, Y.), 133-155, Princeton University Press, Princeton.
- 8) Hanski, I. (1991). North temperate dung beetles, In *Dung Beetle Ecology* (Eds. Hanski, I. and Camberfort, Y.), 75-96, Princeton University Press, Princeton.
- 9) Hunter, A. F. (1995). Ecology, life history, and phylogeny of outbreak and nonoutbreak species, In *Population Dynamics* (Eds. Cappuccino, N. and Price, P. W.), 14-64, Academic Press, San Diego.
- 10) 五十嵐良造 (1985). 藤荷田山野草地における昆虫群集の動態, 農林水産省草地試験場生態部編, 草地動態に関する研究 (第2次中間報告Ⅱ牧草地編), 草地試・生態部 資料, 59-9, 231-240.
- 11) 井村 治 (2007). 放牧草地における糞虫の多様性と働き, 日草誌, 53, 47-51.
- 12) 井村 治・森本信生 (2004). 節足動物, 草地科学実験・調査法 (日本草地学会編), 全国農村教育協会, 東京, 337-340.
- 13) Iwasa, M., Nakamura, T., Fukaki, K. and Yamashita, N. (2005). Nontarget effects of ivermectin on coprophagous insects in Japan. *Environ. Entomol.* 34, 1485-1492.
- 14) Krüger, K. and Scholtz, C. H. (1997). Lethal and sublethal effects of ivermectin on the dung-breeding beetles *Euoniticellus intermedius* (Reihe) and *Onitis alexis* Klug (Coleoptera, Scarabaeidae). *Agric. Ecosyst. Environ.* 61, 123-131.
- 15) Kryger, U., Deschodt, C. and Scholtz, C. H. (2005). Effects of fluazuron and ivermectin treatment of cattle on the structure of dung beetle communities. *Agric. Ecosyst. Environ.* 105, 649-656.
- 16) Kuramochi, K., Isai, N. and Yamashita, T. (2000). Distribution and seasonal prevalence of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in grazing pastures in Tokachi district, *Grassl. Sci.* 46, 229-233.
- 17) Lobo, J. M. (2000). Species diversity and composition of dung beetle (Coleoptera: Scarabaeoidea) assemblage in North America, *Can. Entomol.* 132, 307-321.
- 18) Lumaret, J. P., Galante, E., Lumbreras, C., Mena, J., Bertrand, M., Bernal, J. L., Cooper, J. F., Kadiiri, N. and Crowe, D. (1993). Field effects of ivermectin residues on dung beetles. *J. Appl. Ecol.* 30, 428-436.
- 19) Magurran, A. E. (1988). *Ecological Diversity and Its Measurement*, Princeton University Press, Princeton, 179 p.
- 20) 中村好男 (1973a). 草地土壌動物相に関する研究, 第3報 放牧, 採草の差異による中型土壌動物相の変動, 草地試研報, 2, 1-7.
- 21) 中村好男 (1973b). 牛糞の分解消失と土壌動物相 (予報), 草地試研報, 3, 130-133.
- 22) 中村好男 (1975). 草地における牛糞の分解消失に対するフン虫の影響, 草地試研報, 7, 48-51.
- 23) Nakamura, Y. (1975). Decomposition of organic materials and soil fauna in pasture, 3. Disappearance of cow dung and associated soil macrofaunal succession, *Pedobiologia*, 15, 210-221.
- 24) 農林水産省草地試験場生態部 (1972). 藤荷田山の生物相に関する基礎資料 (付表), 草地試・生態部 資料, No2, 11-22.
- 25) 農林水産省草地試験場生態部 (1974). 藤荷田山の生物相に関する基礎資料, 草地試・生態部 資料, No3, 30-46.
- 26) SAS Institute (2005). *JMP 統計およびグラフ機能ガイド*, SAS Institute Inc, Cary, 927 p.
- 27) 塩見正衛 (2005). 放牧草地の生産力の長期変動, 藤荷田山における長期生態研究, 畜産草地研究所草地生態部, 那須塩原市, 5-27.
- 28) Sokal, R. R. and Braumann, C. A. (1980). Significance tests for coefficients of variation and variability profiles, *Syst. Zool.* 29, 50-66.
- 29) Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1995). *Biometry*, Third edition, W. H. Freeman and Company, New York, 887 p.
- 30) Solow, A. R. (1993). A simple test for change in community structure, *J. Anim. Ecol.* 62, 191-193.
- 31) Southwood, T. R. E. and Henderson, P. A. (2000). *Ecological Methods*. Third edition. Blackwell Science, Oxford, 575 p.
- 32) Stevenson, B. G. and Dindal, D. L. (1987). Functional ecology of coprophagous insects: A review. *Pedobiologia*, 30, 285-298.
- 33) Suarez, V. H. (2002). Helminthic control on grazing ruminants and environmental risks in South America, *Vet. Res.* 33, 563-573.
- 34) 栃木県 (2003). 栃木県自然環境基礎調査—とちぎの昆虫Ⅱ, 栃木県林務部自然環境課, 宇都宮, 557 p.
- 35) Tsukada, H., Imura, T., Sutoh, M., Kosako, T. and

- Fukasawa, M. (2004). Small mammal fauna of public pastures in Northern Tochigi, Japan, Grassl. Sci, 50, 329-335.
- 36) Wall, R. and Strong, L. (1987). Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin. Nature, 327, 418-421.
- 37) 山下 泉・小島圭三・細木康彦 (1978). 高知県内のふん虫, ふん虫利用に関する基礎研究 I, げんせい, 34, 1-16.
- 38) 山下伸夫・吉田信代・渡辺彰・三上暁子 (2004). 牛用駆虫薬が牛糞分解に関与する昆虫類の発育に及ぼす影響, 東北農業研究, 57, 119-120.
- 39) 安田弘法 (1984). 愛知県の山地における食ふん性コガネムシの発生活長, 応動昆, 28, 217-222.
- 40) Yasuda, H. (1986). Fecundity of two dung beetle species, *Onthophagus lenzii* Harold and *Liatongus phanaeoides* Westwood (Coleoptera: Scarabaeidae), Appl. Entmol. Zool., 21, 177-179.
- 41) Yasuda, H. (1987). Reproductive properties of two sympatric dung beetles, *Aphodius haroldianus* and *A. elegans* (Coleoptera: Scarabaeidae), Res. Popul. Ecol, 29, 179-187.
- 42) 安田弘法 (1991). 糞虫の数はどのようにして決まるのだろうか, インセクタリウム, 28, 288-296.
- 43) 安田弘法 (1996). 食糞性コガネムシ群集の多様性と変動機構, 日生態会誌, 46, 321-325.
- 44) Yoshida, N. and Katakura, H. (1985). Life cycles of *Aphodius* dung beetles (Scarabaeidae, Coleoptera) in Sapporo, Northern Japan, Environ. Sci. Hokkaido, 8, 209-229.
- 45) Zahl, S. (1977). Jackknifing an index of diversity, Ecology, 58, 907-913.

Fauna and Temporal Dynamics of Dung Beetles of the Fujinita-Yama Pasture, a Long-Term Ecological Research Site

Osamu IMURA, Nobuo MORIMOTO ¹⁾ and Kun SHI ²⁾

Ecosystem Functions Research Team

¹⁾National Agricultural Research Center

²⁾College of Nature Conservation, Beijing Forestry University

Summary

Dung beetle fauna was surveyed on a *Zoysia japonica* pasture in the Fujinita-Yama long-term ecological research site of National Institute of Livestock and Grassland Science at Nasu (NILGS-Fujinita) once a month during grazing period of May - October from 1999 to 2001 and 2003 to 2005 using a dung-baited basket trap. Dung beetle fauna and its temporal dynamics of the Fujinita-Yama pasture were characterized by comparing those to those of two neighbor pastures (within a distance of 3 km), the west pasture of NILGS (NILGS-West) and the south pasture of Jiyuu-Gakuen farm (Jiyuu-South). Eighteen species of dung beetles were collected, representing two Geotrupinae, six Scarabaeinae, and 10 Aphodiinae species. Species richness of the NILGS-Fujinita fauna as estimated by Chao 2 was 18.4, significantly larger than that the 11.1 of Jiyuu-South. Species diversity (Shannon-Wiener's H') of the NILGS-Fujinita fauna was significantly larger than those of NILGS-West and Jiyuu-South. The Dwellers/Tunnelers ratio based on species number was not significantly deviated from one. Similarity analysis among the faunas of the pastures by the Morishita-Horn index indicated that the dung beetle community structure of NILGS-Fujinita was different from those of NILGS-West and Jiyuu-South. The results suggested that the NILGS-Fujinita pasture was of conservation value for dung beetle diversity. Seasonal change in number of dung beetles in the NILGS-Fujinita pasture had two patterns over six years: a population increase from spring to summer followed by a decline to a low number by October; a decrease in number in midsummer followed by an increase until October. The seasonal changes in insect number of the NILGS-Fujinita pasture highly correlated with those of the other two pastures, representing a pattern that was common in the local dung beetle communities. The population dynamics of NILGS-Fujinita fauna during six years was stable. The dung beetles that were generally abundant in number might contribute to effective decomposition of cattle dung and thereby nutrients cycling in the NILGS-Fujinita pasture.

Key words: Fujinita-Yama long-term ecological research site, *Zoysia japonica* pasture, Dung beetle fauna, Diversity, Temporal dynamics

交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）雌牛による 効率的な子牛生産に関する研究

青木真理

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター

要 約

肉用交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）雌牛は、需要の増加に伴い、飼養頭数が増えているが、その効率的な繁殖牛としての利用方法は知られていない。そこで放牧飼養による低コスト肥育素牛生産における可能性を検討するために、親子放牧下での交雑種雌牛の単子および双子哺育と繁殖性能、親子放牧下での交雑種母牛の哺育能力を分析した。しかし、効率的な子牛生産を行うための双子生産では、分娩時の事故による子牛の損耗率がきわめて高い。この問題点を解決するために、周産期における生理変化の特性や母子の相互作用を捉え、双胎妊娠牛の膣温連続測定および解析と妊娠末期胎子血液の採取方法の開発によって分娩予知のための基礎データを蓄積し、双胎妊娠牛の膣温連続測定による分娩時の事故を防ぐ看護を効率的に行う分娩予知技術を開発した。さらに、交雑種母牛の夜間給餌による分娩時刻制御によって、安全で簡易な飼養管理による分娩時刻制御方法の確立を試みた。

その結果、交雑種を母牛とした親子放牧で、単子哺乳子牛の哺育においては補助飼料無給与でも優れており、双子哺育は可能であるが、分娩後母牛の体重減少が顕著な草地においては、母牛への補助飼料給与も必要と考えられた。また、双胎妊娠末期牛の生理的特徴は、双胎と単胎妊娠牛の膣温には差がみられず、雄胎子同士の双子と雌同士の双子の場合、子牛の体重の和は母牛の膣温と強い正の相関がみられた。周産期の内分泌の変化を母子相互作用から検討するための、採材技術を確認した。分娩前の膣温低下から分娩予知技術の開発を検討したところ、高い確率で分娩予知が可能であった。さらに肉用牛の分娩時刻は給餌時間や飼料構成によって影響を受けることが示唆され、ストレスを与えることなく、比較的短時間で食べることができる適切な飼料を夜間に与えれば、牛の昼間分娩率は高くなることが明らかになった。

キーワード：交雑種雌牛，分娩予知，親子放牧，夜間給餌

目 次

I. 緒 言

1. 研究の背景と目的
2. 本研究の構成

II. 放牧飼養における交雑種雌牛の単子哺育および繁殖能について

1. 親子放牧下での交雑種雌牛の単子哺育と繁殖能
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括

2. 親子放牧下での交雑種雌牛の泌乳能力の解析

- 1) はじめに
- 2) 材料および方法
- 3) 結果および考察
- 4) 小 括

III. 放牧飼養での交雑種雌牛の双子哺育能と補助飼料給与の検討

1. 双子哺育により交雑種母牛が受ける栄養学的影響
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察

- 4) 小 括
2. 交雑種雌牛を母牛とした親子放牧下での双子子牛の生態
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括
- IV. 交雑種雌牛の周産期における生理特性について
 1. 双胎妊娠牛の膈温の連続測定およびその特性
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括
 2. 妊娠末期胎子血液の採取方法の検討
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括
- V. 交雑種雌牛の分娩予知および分娩制御について
 1. 交雑種雌牛の膈温による分娩予知技術の開発
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括
 2. 交雑種雌牛の夜間給餌による分娩時刻制御
 - 1) はじめに
 - 2) 材料および方法
 - 3) 結果および考察
 - 4) 小 括
- VI. 総 括
- 謝 辞
- 引用文献
- Summary

I. 緒 言

1. 研究の背景と目的

わが国の食料自給率は長期的に大きく低下しており、食料を安定的に供給していくためには、国内農業および水産業の生産の維持・増大を図っていくことが必要である（農林水産省，2003）。「酪農及び肉用牛生産の近代化を図るための基本方針 2000 年 4 月公表」（農林水産省，2004）では、肉用牛生産は、土地利用型農業の基軸であるという本来の意義を再認識し、「土，草，牛」という

生産要素のバランスがとれた肉用牛経営を確立することが重要であり、資源循環型の肉用牛の振興、生産から流通までを含めた効率化および合理化を総合的に推し進めることが明記されている。さらに、飼料自給率の向上を図るため、遊休農地等、未・低利用地の活用による飼料生産および衛生管理を含めた放牧技術体系を確立する研究が必要とされている（農林水産研究基本目標，1999）。

近年、酪農家から生産される交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）に関しては、1992 年の飼養頭数が約 21 万頭（畜産統計，1992），2001 年には 68 万頭（畜産統計，2002）と、この 10 年間で急激に増加した。これら交雑種は、雌子牛もほとんどが直接肥育に回され、繁殖牛として利用される場合は少ない。交雑種雌牛は、黒毛和種よりも高い泌乳能力を有するほかに、雑種強勢による繁殖性、強健性の向上（富永ら，1963）も期待されるため、交雑種雌牛の繁殖牛としての利用は、肉牛資源の拡大再生産と効率的な子牛生産を図るうえできわめて有効であると考えられる。土地利用型酪農を基軸とした北海道酪農経営は、1990 年代には比較的安定した経営状態を維持してきた（鶴川ら，2004）が、近年さらなる飼料費高騰、牛乳の需要低下などにより、より一層生産物の高付加価値化およびコスト削減が求められている。日本有数の土地利用型酪農地帯である北海道において、交雑種雌牛の繁殖供用により、自給飼料を利用し、低投入・低コストで肥育素牛生産を行うことができれば、より一層の経済的効果が見込まれる。

そこで本研究は、交雑種雌牛の持つ繁殖能力を明らかにし、その能力を発揮できる飼養方法の確立と、省力的な飼養体系への改善を目的とするものである。

2. 本研究の構成

交雑種雌牛の発情周期、受胎性、分娩後の発情回帰などの繁殖能および子牛への授乳能力などの哺育能の研究には、次のような問題点が考えられる。

放牧飼養において大きな障害となっているのは哺乳子牛の発育遅延であり、子牛の初期の発育に最も強く影響をおよぼしているのは、母牛の乳量である（農林水産技術会議事務局，1970；島田，1987；島田ら，1990）。放牧条件下で哺乳子牛に良好な発育をさせるためには、相応の別飼料の給与、あるいは母牛の泌乳性の向上が不可欠となっている。しかし子付き交雑種授乳牛を用い、放牧地で親子放牧を行った試験は見当たらず、交雑種雌牛の単子子牛哺育能を明らかにする必要がある。また、

自然哺乳の場合、哺乳初期の子牛の発育は、母牛の乳量に強い影響を受けることが報告されている（久馬ら、1976）が、自然哺乳中の母牛の乳成分を正確に測定する方法は確立されていない。母牛の授乳量および乳成分を調査することは、子牛の栄養摂取量を推定し、母牛の哺育能力を評価するために必要である。

そのため、本報告の「第Ⅱ章 放牧飼養における交雑種雌牛の単子哺育および繁殖能について」では、交雑種雌牛を単子付きで放牧飼養し、その結果から交雑種雌牛の繁殖および単子哺育能を明らかにした。

このように、第Ⅱ章では、交雑種雌牛は単子子牛の哺育が十分に可能であることが示唆されたが、より効率的な肥育素牛生産のために双子哺育が可能であるか、実証的な試験を行う必要がある。双子哺育に関しては、多胎による生産性向上、経済的効果が知られており（Gregoryら、1997）、胚移植技術の進歩によって、多胎での高い子牛生産率を得ることが可能となった（木村ら、1996）。また、第Ⅱ章において、交雑種雌牛は、双子哺育も可能なことが推測されている。しかし、親子放牧飼養試験の報告はほとんどない。そこで、双子を哺育中の親牛の栄養状態や増し飼いの飼料の給与の影響を検討する必要がある。なお、交雑種母牛に哺育された放牧飼養下の子牛の発育、補助飼料摂食行動を調査することで、双子子牛の育成時の飼養管理について、補助飼料給与の必要性の有無や、方法などの検討が求められる。

そして、「第Ⅳ章 交雑種雌牛の周産期における生理特性について」では、「第Ⅲ章 放牧飼養での交雑種雌牛の双子哺育能と補助飼料給与の検討」での研究において、新たに生じた下記の問題点について検討を行った。

第Ⅲ章では、交雑種雌牛を母牛とした双子哺育で、肥育素牛の生産性向上が望めることが判明した。しかし、双子では単子に比べて分娩時の事故による子牛の損耗率がきわめて高いこと（Suzukiら、1998）から、双子でも安全で、かつ管理者が介助しやすい分娩を行わせるための方法が求められる。しかし、双胎妊娠牛の妊娠末期における生理的変化の報告は少なく、妊娠末期牛に特有な生理的変化の1つといわれている体温変化も詳細には解析されていない。薬物を使用せず、安全で簡易に牛の分娩時刻を予知するために、妊娠末期牛の体温に焦点をあて、単体妊娠牛と双胎妊娠牛の特性を明らかにする必要がある。そこで、第Ⅳ章では、双胎妊娠牛の生理的変化を捉えるために、体温および胎子血液を採取する技術を開発し、妊娠末期牛の生理的変化の特性を明らかにした。

一方、分娩時刻の予知は、分娩時の介助をより簡易にすることができるが、それでも分娩までの時間を待ち、それに作業者が合わせなければいけないことには変わりがない。分娩予知よりも、能動的に分娩時刻を制御できれば、さらに省力的な分娩管理が可能である。しかし、黄体退化因子他、薬物を投与する分娩誘起法は、後産停滞などの疾病が起こることがあり、より安全な分娩制御方法が求められている。安全で簡易な方法として、牛の生理的变化を利用して分娩を制御する方法があれば問題を解決できるが、そのためには、分娩発来における生理的变化、特に胎子から母体に送られる分娩開始の信号や相互作用を捉える必要がある（Hunterら、1977）。しかし、妊娠末期の生きている胎子血液の採取は、成功例も少なく、特殊な施設と高度な技術を要するため（Comlineら、1976；Hunterら、1977；Adamsら、1998）、簡便な方法の開発が求められる。

「第Ⅴ章 交雑種雌牛の分娩予知および分娩制御について」では、第Ⅳ章での結果に基づき分娩予知、および分娩時刻制御について次の事柄を踏まえ、実証的な検討を行った。

分娩時の事故は、その大部分が分娩看護により防ぐことができると考えられ、分娩予知は、子牛の損耗を防ぎ、かつ分娩看護の労力を軽減する。牛では、分娩直前に体温が低下する現象が報告されており（GrafとPetersen、1953；PorterfieldとOlson、1957；Ewbank、1963）、かなり古くから分娩の予知に利用されてきたが（Dufty、1971；池滝ら、1982；藤本ら、1988）、体温低下を指標とした分娩予知には、詳細な基準が作られていないので、分娩予知方法は曖昧なままである。そのため、高確率で分娩予知が可能な基準の策定が必要である。

また、給餌によって分娩時刻を制御する方法は昔から慣習的に行われてきたが、その機構は解明されておらず、給餌回数や飼料の種類、給餌時刻など、給餌方法は研究者によって様々であり（Edwards、1979；Lowmanら、1981；Yarneyら、1982；PenningtonとAlbright、1985；Stevenson、1989）、昼間分娩率も安定していない。そのため、牛を高率に昼間分娩させる分娩時刻制御方法の確立が必要である。このように本章では、体温による分娩予知、ならびに給餌による簡易、かつ安全な分娩制御技術の開発について検討を行った。

なお、本報告は東京農工大学に学位論文として提出したものであり、本内容の一部はすでに公表（青木ら、1994、1996、2002；Aokiら、2002、2005、2006）されている。

Ⅱ. 放牧飼養における交雑種雌牛の単子哺育および繁殖能について

1. 親子放牧下での交雑種雌牛の単子哺育と繁殖能

1) はじめに

従来の子付き授乳牛の放牧飼養では、哺乳子牛の発育遅延や病気・事故の発生、さらには母牛の栄養管理などの問題から、一部地域を除いて子付き授乳牛の放牧を行っている農家は少ないのが現状である。放牧飼養の推進に当たっては、これらの問題点が解決されなければならない、特に放牧飼養の推進の大きな障害となっているのは哺乳子牛の発育遅延である。この発育遅延に関しては気温や風雨などを初めとする自然環境への暴露、過大な運動負荷によるエネルギーの消費も一因とされているが、最も強く影響をおよぼしているのは母牛の乳量（農林水産技術会議事務局，1970；農林水産技術会議事務局，1970；島田，1987；島田ら，1990）である。わが国の代表的な肉用種である黒毛和種の日乳量は4～10kgと低くかつ、ばらつきが大きい（島田，1987）、放牧条件下で哺乳子牛に良好な発育をさせるためには相応の別飼料を給与すること、あるいは母牛の泌乳性の向上が不可欠となっている。この点、高い泌乳能力を持つ交雑種雌牛では、濃厚飼料無給与の放牧飼養においても哺乳子牛の発育、主に日増体量や体格の改善に大きな期待が持て、コスト低減を図ることができると考えられる。さらに、放牧飼養を行った場合の交雑種雌牛の泌乳能力を十分に発揮させるために、養分供給力の高い草種が適すると考えられる。ペレニアルライグラスは、わが国の一般的な放牧用草種であるオーチャードグラスやトールフェスクに比べて栄養価が高く、安定的な牧草生産や放牧期間の延長が期待できる草種である（農林水産技術会議事務局，1979a）。そこで、ペレニアルライグラスの高栄養に注目した育成牛の放牧試験（落合ら，1993）が開始されているが、子付き交雑種授乳牛を用い、草種間比較を行った試験は見当たらないため、生産現場に活用するために参考となる実用的な数値は不明である。

そこで本節では、補助飼料無給与の条件下で、ペレニアルライグラス草地における交雑種母牛の体重、養分摂取量、授乳量および子牛の発育を調査し、トールフェスク・オーチャードグラス草地における成績と比較検討することによって、肥育素牛生産現場に参考となる数値を得、放牧による効率的な肥育素牛生産技術の確立を目的とする。

2) 材料および方法

(1) 供試牛および放牧方法

1991年および1992年の4月上旬から11月上旬まで、1.2haのペレニアルライグラス優占草地（PR区）と1.2haのトールフェスク・オーチャードグラス優占草地（T・O区）に、それぞれ子付きの交雑種雌牛（黒毛和種×ホルスタイン種）を3組親子放牧した。子牛は黒毛和種精液を授精して生まれたF1バッククロスである。親牛の試験開始時平均体重および平均産次は第2-1表で示す。なお、1991年は供試牛6頭のうち入牧前1か月以内に分娩した1頭を除いた5頭が放牧試験開始後1か月以内に分娩した。しかし、1992年は全頭が入牧前1か月以内に分娩した。放牧方法は、草地の状態を見ながら転牧の判断をし、4月から9月までは各草地を2牧区に区切り、1牧区（約0.6ha）当たりほぼ1週間で輪牧した。10月からは仕切りを取り払い、各1牧区として終牧まで放牧した。掃除刈りは、1991年は両区とも機械刈り2回、供試牛以外の10頭の放牧牛による採食4回を含めると計6回であった。1992年は、牧草の状態から、掃除刈りを行わなかった。施肥ならびに放牧草地管理については、佐藤ら（1995）の報告に詳細が記述されている。親牛、子牛とも補助飼料は放牧期間を通じ給与しなかった。

(2) 体重と背脂肪厚、ボディコンディションスコアおよび血液成分の測定および採血

親牛の体重を週1回測定し、背脂肪厚を分娩後1か月ごとに第12～13肋骨間の背中線から10cmの部位において超音波診断装置で測定した。背脂肪厚測定と同時に、Bellowsらの方法に準じて（鈴木，1989）1992年にはボディコンディションスコア（BCS）を測定した。採血は分娩後8週目までは約1週間おきに、その後は13、17、21、26週目に行い、分析に供した。ただし、1992年は分娩前

Table 2-1. The average of parity and body weight of dams at the start of the trial

Year	Traits	Parity (times)	Body weight of dams (kg)
1991	PR	5.0 ± 0.0	610.0 ± 102.8
	T・O	4.7 ± 0.6	637.0 ± 23.7
1992	PR	6.7 ± 0.6	613.2 ± 89.5
	T・O	6.0 ± 0.0	602.3 ± 12.5
Means			
± SD			

の1か月と2週間前後に採血した。血中グルコース濃度は日立簡易血液自動分析装置で、血清蛋白質濃度はアタゴ血清蛋白計により測定した。親牛への人工授精は、分娩後の初回発情時に、黒毛和種の凍結精液を用いて行った。

(3) 採食量および摂取養分量の測定

採食量を刈り取り前後差法(佐藤ら, 1995; 梶村, 1996; Leave, 1982)で測定した後、Linehan らの方法(Meijs ら, 1982)で補正、その量を算出した。乾物消化率については放牧直前の牧区からサンプリングした牧草を *in vitro* 消化試験法(Tilley と Terry, 1963)によって測定した。牧草の可消化粗蛋白質(DCP)含量については、ケルダール法で測定した粗蛋白質含量を阿部らの回帰式(1988)に当てはめ、その含量を推定した。また、可消化養分総量(TDN)も阿部らの単回帰式で粗脂肪含量から推定した。TDN, DCP 摂取量を、上記による成分含量と採食量から算出した。TDN, DCP 必要量を日本飼養標準・肉用牛(1987)に基づき、体重維持、授乳および放牧時の維持の要求量を加算して求め、これらの必要量に対する摂取推定量の割合を TDN 充足率, DCP 充足率とし、放牧中の養分過不足について検討を行った。

(4) 授乳量の測定

授乳量については、一定時間子牛を母牛から分離後、授乳させ、その前後の子牛の体重差から推定する体重差法で測定した(島田ら, 1990)。日授乳量については分娩後18週までは2週ごとに、それ以降は21, 26週に、1日3回、約8時間おきに測定した2日間の授乳量を平均して求めた。しかし、1991年は分娩後26週前に終牧とし、21週までの測定とした。

(5) 子牛の発育調査

子牛の体重を生時、3か月齢、離乳時および授乳量測定時に同時に調査した。子牛を約6か月齢で離乳させ、離乳時体重をすべて180日に補正した(熊崎と松尾, 1968)。1991年では両区の性比は同じであったが、1992年においては性比が異なっていたため、体重に関しての有意差の検定は、値を補正しない場合と、熊崎ら(1967)の方法により値を補正した場合の両方について行った。

子牛の体型については生時と離乳時に体高、体長、胸囲、胸深、胸幅、十字部高、尻長、腰角幅、寛幅、坐骨幅、および管囲の測定を行い、体型測定値については、1991年は両区の性比が同じであったので、性の補正は行わなかった。熊崎ら(1956)は生時、離乳時共に体高と管囲は雄の方が大きく、明らかな性差がみられたとしている。しかし、本試験の1992年では性比が異なっていた

が、両区間の体高と管囲に有意差は認められず、また、補正した値でも PR, T・O 区における有意差は認められなかったもので、性による補正は行わず、実測値の平均値で検討した。

3) 結果および考察

(1) 母牛の体重と背脂肪厚、ボディコンディションスコア

試験期間中の母牛の体重推移を試験開始時の体重を100とした指数で示した(第2-1図)。1991年では、両区とも放牧の経過にともない、体重が全体的に減少傾向を示した。その減少の程度は T・O 区でやや大きかった。1992年における PR 区の体重は、終牧時にも試験開始時の体重を維持していたのに対し、T・O 区では、試験期の後半で体重が大きく減少した。第2-2図に、母牛の背脂肪厚の推移を示した。1991年では、分娩直後まで T・O 区の母牛の背脂肪厚は PR 区よりも厚かったが、その厚さは分娩後から急激に減少し、終牧時には PR 区の場合と同程度の値になった。1992年では両区とも母牛の背脂肪厚は試験期間を通じ、減少する傾向がみられたが、PR 区に比べて T・O 区におけるその厚さの減少程度が大きかった。試験開始時の背脂肪厚は、PR 区と T・O 区では有意ではなかったもののかなりの差があり、T・O 区の供試牛は過肥気味であった。このため、1991年にみられた T・O 区での背脂肪厚の急激な減少は、ペレニアルライグラス草地とトールフェスク・オーチャードグラス草地からの養分摂取量が異なっていたことが原因となっているほかに、T・O 区では過剰な蓄積脂肪が放牧による運動で燃焼された可能性が強いと考えられた。試験開始前の過肥判定が重要と考えられたため、1992年には、ボディコンディションスコアを測定したところ、1992年の試験開始時における背脂肪厚は PR 区 12mm, T・O 区 11mm とほぼ同じで、スコアも PR 区 7.3, T・O 区 7.5 と、過肥の具合に差はみられなかった。しかし、試験終了時には、スコアが PR 区で1ポイント近く上昇したのに対して、T・O 区では 0.5～1ポイント減少し、試験開始時の背脂肪厚を1とした背脂肪厚比も T・O 区の減少が激しく、したがって、T・O 区での体重減少や背脂肪厚の減少は主として養分摂取量の不足によるものと考えられた。

(2) 母牛の血液成分

血中グルコース濃度は両区においてほぼ 70mg/dl 前後の値であり、正常値の範囲内で推移した。血清蛋白質濃度も血中グルコース濃度と同様にあまり変動はみられず、両区間に大差はなかった(第2-3図)。

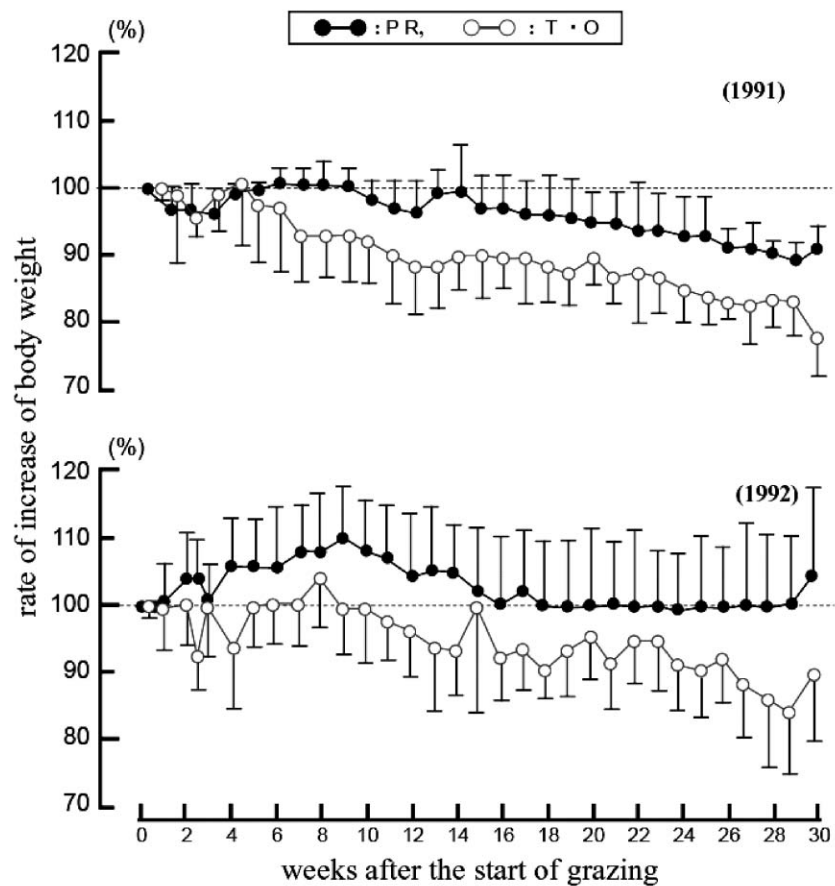


Fig. 2-1. Changes in body weight of dams during trial period. The vertical axis shows the rate of increase of the body weight. When the trial started (0), the rate is 100%.

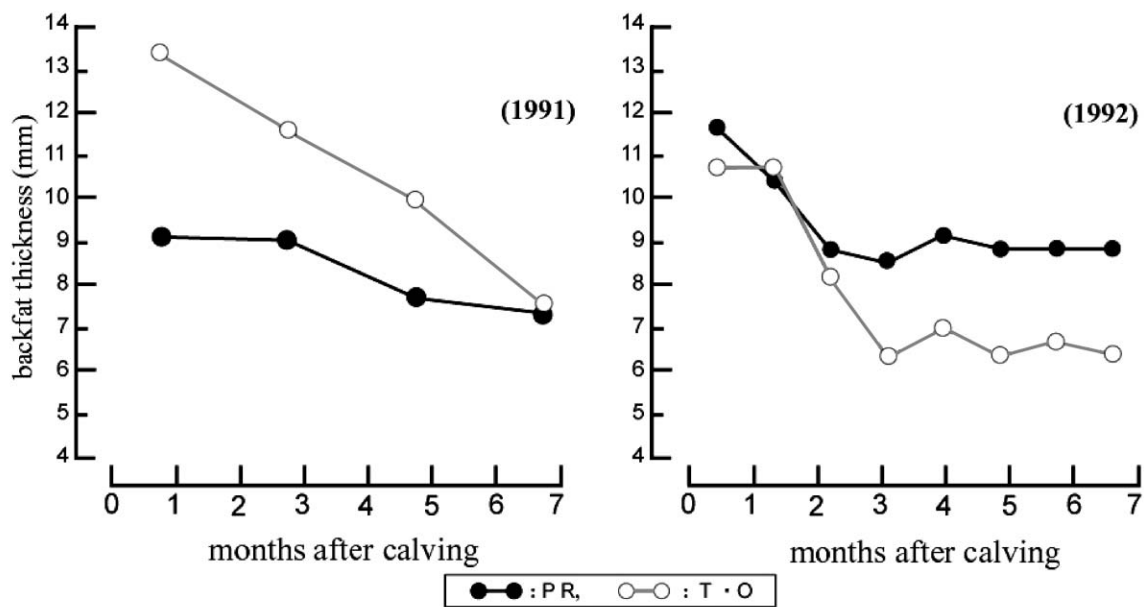


Fig. 2-2. Changes in backfat thickness of dams during trial period.

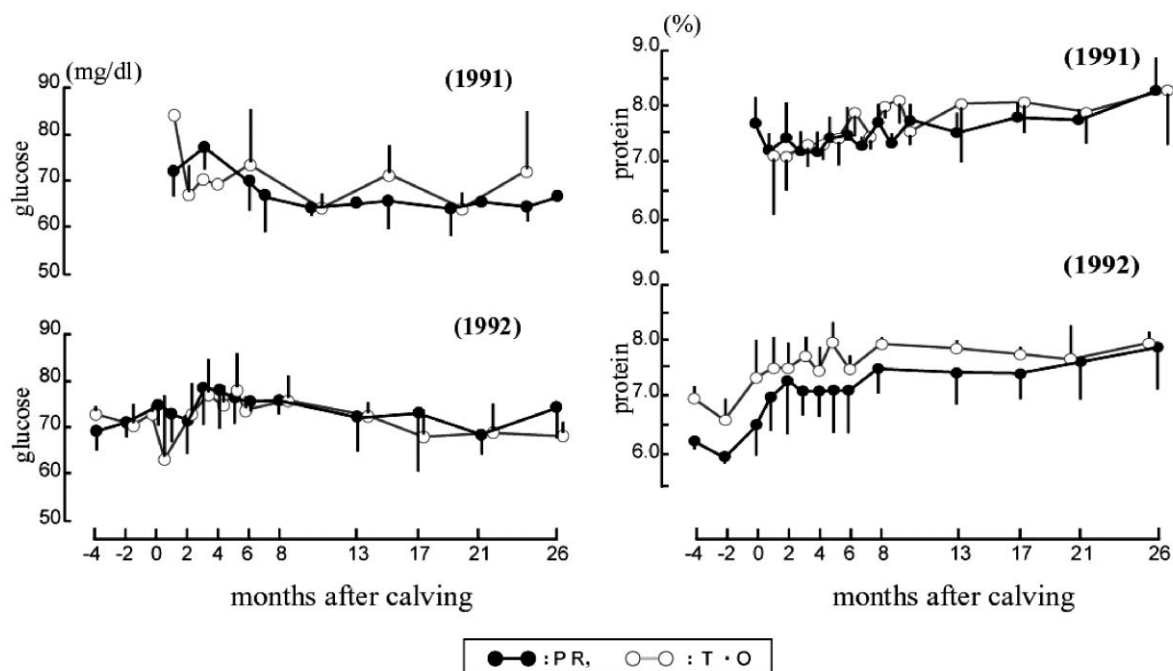


Fig. 2-3. Changes in contents of glucose and protein in blood of dams before and after calving.

(3) 母牛の摂取栄養量

採食量は変動が大きかったが、全期間を通じ、T・O区よりPR区の方が総じて高く推移した。また、1991年に比べ1992年において変動が少なく、乾物消化率の推移では、1991年ではほぼ全期間にわたってPR区において消化率が高く推移し、1992年の場合は前半でPR区がやや高い消化率を示したが、後半はT・O区と同様の値に

なった（第2-4図）。

TDNおよびDCP摂取量は非常に変動が大きく、特にTDNの充足率は30～300%の範囲であった。1991年では両区ともTDN必要量はほぼ満たされていたが（第2-5図）、DCP充足率は試験期間の前半には必要量を下回ることが多かった。また、終牧直前ではTDN、DCP摂取量ともに必要量を下回った。1992年におけるTDN摂取量は全期

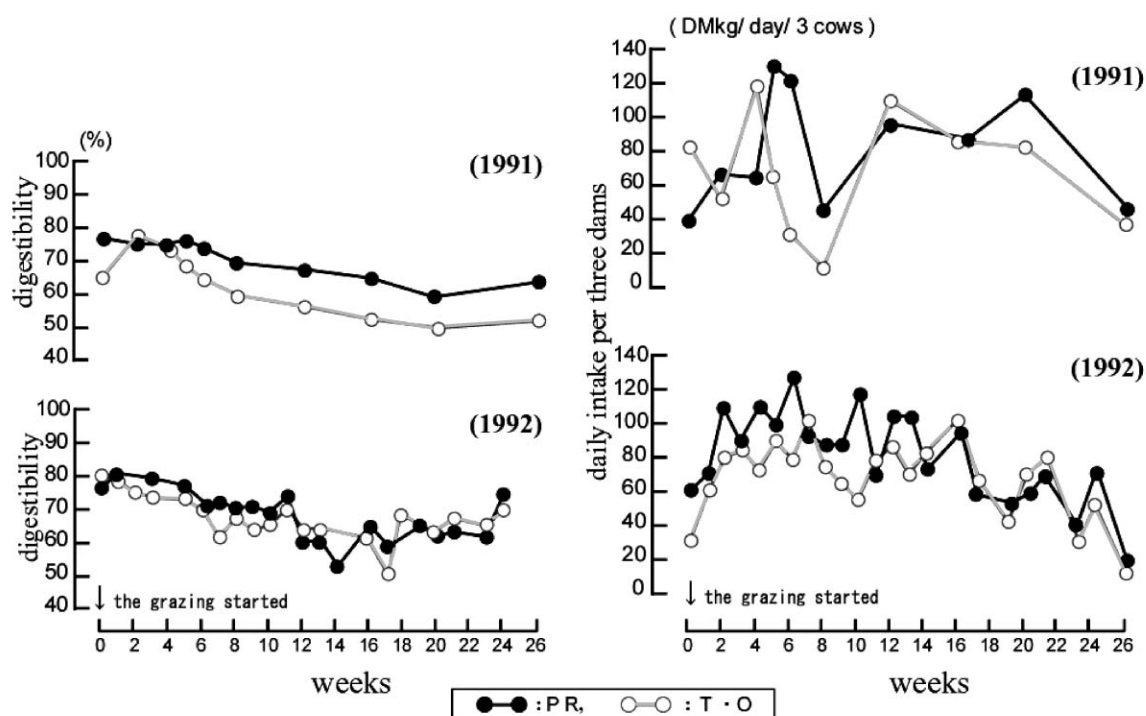


Fig. 2-4. Changes in digestibility and daily intake of grass in dams during trial periods.

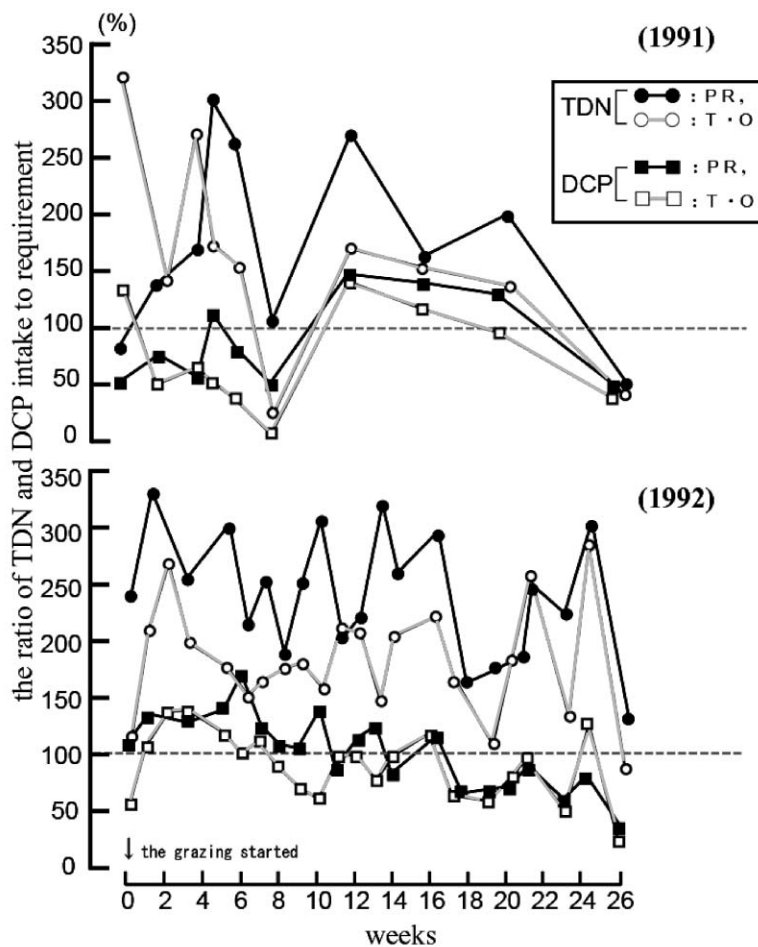


Fig. 2-5. Changes in the ratio of TDN and DCP intake to requirement in dams during trial period. The horizontal dotted lines (-----) correspond to the TDN and DCP requirement (100%).

間を通して必要量を大きく上回り、特にPR区では前半期でT・O区より高い充足率を示した。DCP充足率は前半期では100%を超えていたが、後半期に徐々に減少し、後半期のDCP摂取量がやや不足する傾向がみられた。刈り取り前後差法から推定した採食量は変動が大きいものの、PR区でやや摂食量が高く、また、牧草の消化率も放牧期間を通してPR区が高く推移していた。この結果、PR区では1991年、1992年ともにT・O区に比べ、高いTDN、DCP充足率を示し、PR区ではより安定した養分供給が行われていたと考えられた。ただし、血中グルコース濃度や蛋白質濃度は両区とも正常値の範囲内で推移し、また両区間に大差がみられず、両区の養分摂取量の違いを血液成分からは明確に捉えられなかった。これは、供試牛の栄養摂取に差があっても、その代謝過程において生体の調節機能により血液成分が正常範囲内に保たれる傾向にあることと、個体差が大きいためと考えられ、今後、血液成分に関しては、さらなるデータ蓄積が必要であると考えられる。

(4) 繁殖成績

第2-2表に供試牛の繁殖成績を示した。1991年ではPR区がT・O区に比較して、分娩から初回発情までの日数で約6日、分娩から受胎までの日数で約14日短かったが、1992年では逆にT・O区が分娩から発情までの日数で約13日、分娩から受胎までの日数で約5日短かった。しかしながら、いずれも両区間に有意差は認められなかった。また本試験の繁殖成績を、1992年の舎飼の単子分娩牛と比較しても(鈴木ら、1993)、分娩から初回発情までの日数に差はみられなかった。ただし、本試験の授精回数および分娩から受胎までの日数は年によって大きく異なった。この原因については明らかではないが、人工授精の手技等、人為的なものと考えられる。

(5) 子牛の発育状態

第2-3表に子牛の生時と離乳時の体重および体型測定値を示した。生時体重は1991年、1992年においてPR区の方がT・O区よりも3～4kg重かったが、有意差はみられなかった。1991年の生時の体型測定値については

Table 2-2. The days of postpartum intervals to estrus and to conception, and number AI services to the conception

Year	Traits	Intervals to estrus (days)	Intervals to conception (days)	AI services (times)
1991	PR	46.3 ± 6.0	81.0 ± 30.3	2.0 ± 0.0
	T・O	52.7 ± 8.5	95.0 ± 39.6	2.5 ± 0.5
1992	PR	42.7 ± 2.9	54.0 ± 12.1	1.0 ± 0.0
	T・O	30.0 ± 3.0	49.0 ± 4.6	1.0 ± 0.0
Means ± SD				

Table 2-3. Growth of the calves

Year	Trial group	Weight	Withers height	Body length	Chest girth	Chest depth
1991 At birth	PR	35.4 ± 2.7	71.1 ± 1.7	60.4 ± 4.5	75.4 ± 2.1	31.6 ± 5.6
	T・O	31.2 ± 8.2	68.1 ± 3.6	63.1 ± 2.5	74.6 ± 5.7	28.0 ± 1.4
1991 At weaning (6 months)	PR	221.8* ± 6.2	104.5 ± 0.9	113.8 ± 4.9	141.5 ± 2.1	49.6 ± 0.9
	T・O	187.6* ± 2.9	102.1 ± 1.4	107.3 ± 4.7	136.5 ± 7.5	48.3 ± 1.9
1992 At birth	PR	36.1 ± 2.4	71.4 ± 4.4	63.1 ± 6.6	77.9* ± 1.7	28.3 ± 0.8
	T・O	32.8 ± 2.0	71.0 ± 2.6	62.0 ± 3.0	74.6* ± 0.5	27.0 ± 1.0
1992 At weaning (6 months)	PR	249.1 ± 10.1	108.3 ± 2.2	120.4 ± 3.1	142.3 ± 2.3	50.8 ± 1.2
	T・O	221.2 ± 6.2	105.2 ± 4.1	115.4 ± 1.9	140.7 ± 3.1	50.4 ± 1.3

Chest width	Hip heigh	Rump length	Hip width	Thurl width	Pin bone width	Cannon circumference
15.1 ± 0.1	75.3 ± 1.4	21.6 ± 0.6	16.5 ± 2.1	18.9 ± 0.8	9.8 ± 0.6	9.6 ± 0.1
14.4 ± 3.5	72.6 ± 1.3	20.9 ± 1.3	15.3 ± 2.0	17.9 ± 2.4	9.5 ± 1.8	9.4 ± 1.4
33.2 ± 0.9	109.1* ± 2.4	42.4 ± 4.3	33.2 ± 2.0	35.6 ± 0.9	23.3 ± 0.4	14.9 ± 0.6
30.4 ± 2.0	104.8* ± 0.9	37.3 ± 1.8	35.1 ± 3.5	33.0 ± 2.6	20.6 ± 2.1	13.8 ± 1.1
14.5 ± 0.5	73.2 ± 7.0	21.6 ± 1.4	16.9 ± 1.2	20.0** ± 0.2	10.2 ± 1.2	11.4 ± 0.6
14.9 ± 1.5	72.9 ± 2.2	21.4 ± 1.3	15.6 ± 0.4	18.8** ± 0.4	10.2 ± 0.5	10.3 ± 0.4
32.7 ± 0.6	113.6 ± 3.8	41.9 ± 1.0	33.6 ± 0.7	37.6* ± 0.6	22.9 ± 0.8	16.5 ± 0.9
31.9 ± 0.7	110.1 ± 2.3	40.2 ± 1.2	32.9 ± 1.1	35.2* ± 1.0	21.8 ± 0.1	15.3 ± 0.7

*: P < 0.05, **: P < 0.01

両区間で有意差はなかったが、離乳時は体重と十字部高に有意差が認められ、いずれの日数の場合も PR 区の方が大きかった。1992 年は生時の体型測定値で PR 区の胸囲と寛幅が有意 (P<0.05) に大きかった。しかし、離乳時には寛幅のみに有意差 (P<0.05) がみられた。第 2-6 図は子牛の生時～6 か月齢離乳時の日増体量 (DG) を示した。1991 年の平均 DG は PR 区が 1.04kg, T・O 区が

0.90kg で有意に PR 区が高く (P<0.01), また、1992 年も PR 区で 1.18kg, T・O 区で 1.05kg と PR 区の方が高い傾向が認められた。PR 区と T・O 区の差について、試験年次をブロック要因とした乱塊法 (吉田, 1982) により検定したところ、PR 区の方が有意に高く (P<0.05), その差は、性による補正 (熊崎と松尾, 1967) の有無に影響されず有意であった。子牛の発育は、1991 年では生時で

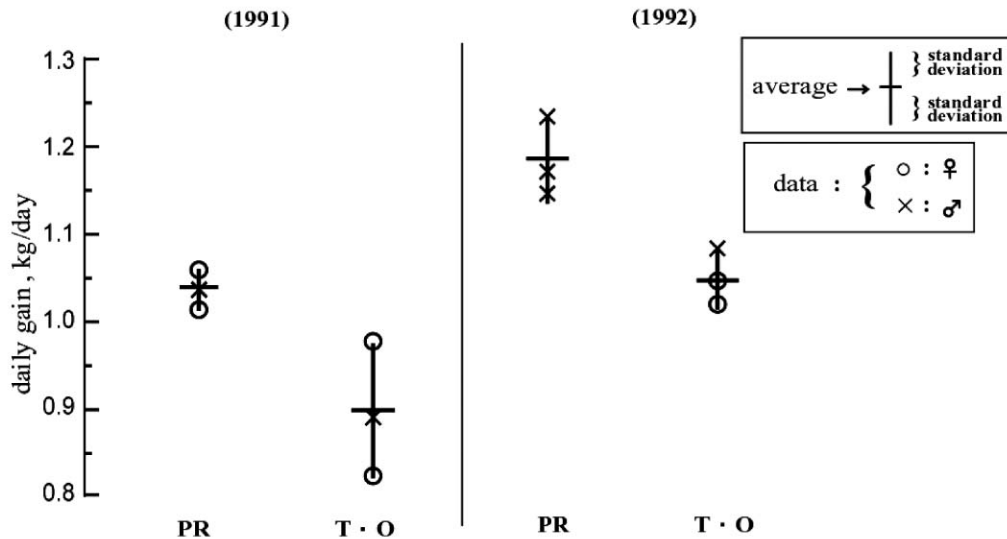


Fig. 2-6. Daily gain of the calves.

みられなかった両区間の有意差が、離乳時の体重と十字部高で認められ、その他の体型測定部位も有意差が認められないもののPR区が大きく、PR区の子牛の発育がT・O区を上回る傾向がみられた。この傾向は1992年においても同様であった。子牛のDGについてみると、両区とも1.0kg前後の良好な増体が得られたが、特にPR区の子牛では1991, 1992年ともに1.0kgを上回り、舎飼F1バッククロス子牛のDG(赤川ら, 1993)と同様の優れた成績を示すことが確認された。

(6) 母牛の授乳量

授乳量の推移を第2-7図に示した。1991年, 1992年のいずれにおいても授乳量は両区とも分娩後10週前後で最大に達した。1991年の全期間における平均日授乳量はPR区で12.2kg, T・O区で11.1kgであり、PR区において有意に高かった($P < 0.05$)。しかし、1992年の全期間平均日授乳量はPR区で11.1kg, T・O区で11.3kgであり、有意差はみられなかった。このように授乳量に関しては、1991年においてPR区とT・O区に有意差がみられ、1992

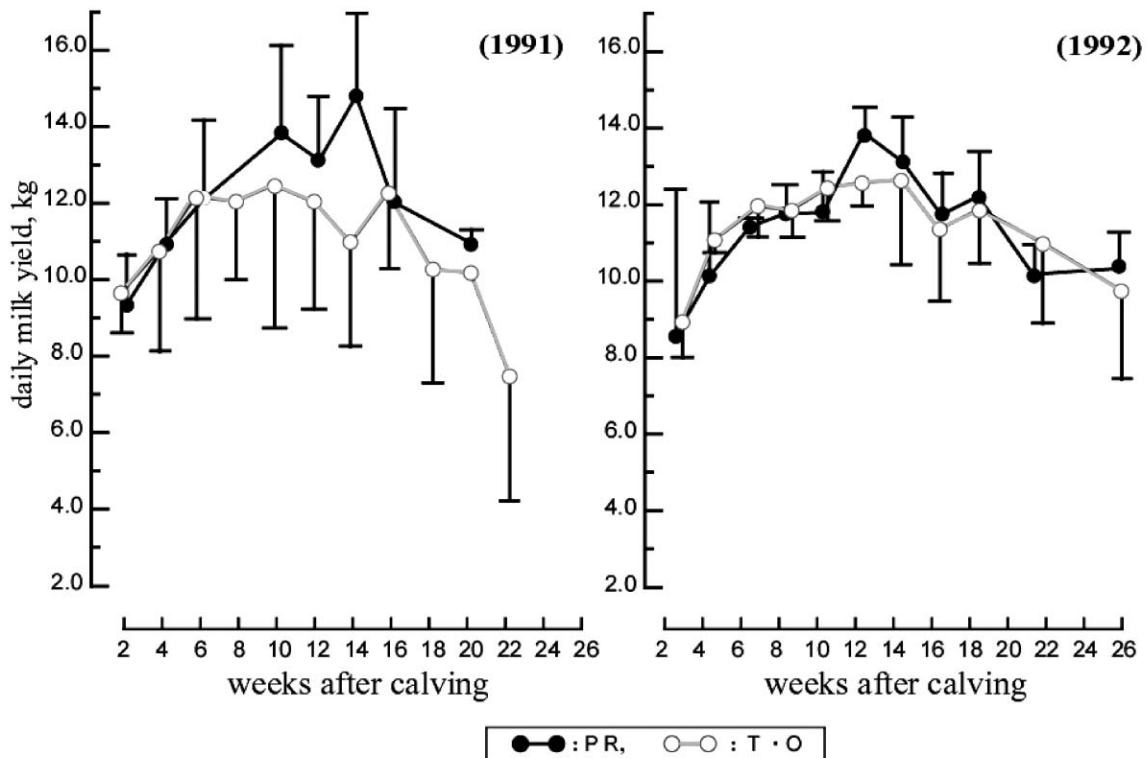


Fig. 2-7. Changes in daily milk yields which were suckled by the calf.

年にはPR区がやや上回っていたものの、明らかな差は認められなかった。このことより、母牛の乳量が子牛の発育に密接に関連していると考えられた。

4) 小 括

ペレニアルライグラス (PR) 優占草地 1.2ha とトールフェスク・オーチャードグラス (T・O) 優占草地 1.2ha にそれぞれ交雑種母牛とその単子子牛の3組を補助飼料無給与で昼夜放牧し、両草地における母牛の繁殖成績、血液成分、体重、授乳量、子牛の発育の状態を2年にわたって比較検討した。同時に草地の栄養供給量として牧草の可消化養分総量 (TDN) と可消化粗蛋白質 (DCP) を測定し、これらの値に関して両草地の比較を行った。1991年と1992年において、母牛の繁殖成績、血液成分については両草地間で有意差はなかったが、放牧期間中の母牛の体重減少はトールフェスク・オーチャードグラス優占草地に比べてペレニアルライグラス優占草地で少なく、草地の栄養供給量についてもペレニアルライグラス区における季節と年次の変動が少なかった。また、子牛の日増体量 (DG) は両草地とも、0.9kg以上と高かったが、ペレニアルライグラス区において増体が優れていた。

以上の結果から、補助飼料無給与の放牧条件下における授乳牛としての交雑種雌牛利用においては、その単子子牛は舍飼の場合に劣らず高い増体を得ることができ、特に、ペレニアルライグラス優占草地での放牧によってトールフェスク・オーチャードグラス優占草地に比べて、より栄養供給量が充足し、母牛の体重維持と哺乳子牛の増体が向上できることが示唆された。

2. 親子放牧下での交雑種雌牛の泌乳能力の解析

1) はじめに

自然哺乳の場合、哺乳初期の子牛の発育は、母牛の乳量に強い影響を受けることが報告され (久馬ら, 1976), 前節においても同様の傾向が示唆されている。したがって、母牛の授乳量および乳成分を明らかにすることは、子牛の栄養摂取量と子牛の発育との関連を検討するうえで重要である。肉用牛の授乳量については、体重差法 (Williamら, 1979; 中西と佐藤, 1989; 島田ら, 1990) のほかに、子牛の増体量から間接的に推定する方法 (寺田ら, 1979b) が報告されている。しかし、乳成分についての報告は、子牛を離乳し、機械搾乳で測定した例 (富永ら, 1963) 以外にはほとんどなく、自然哺乳中の母牛の乳成分を正確に測定する方法は確立されていない。ま

た、交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 雌牛は、雑種強勢による優れた強健性や繁殖能力を持ち、特に黒毛和種よりも泌乳性に優れているといわれる。この交雑種雌牛の授乳量については、いくつかの報告 (富永ら, 1963; 中西と佐藤, 1989) があるが、自然哺乳中の交雑種牛の乳成分値を詳細に検討した報告はほとんどみられない。そこで、本試験は授乳直前と授乳直後に手搾りで採取した少量の乳の成分を分析し、単子あるいは双子を自然哺乳している交雑種雌牛の乳成分の泌乳期における変化を調査した。

2) 材料および方法

供試牛は1992年から1994年にかけて農林水産省 草地試験場で3～5月に分娩し、放牧主体で飼養された交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 雌牛22頭で、その内訳は単子哺育牛16頭 (平均産次5.3)、双子哺育牛6頭 (平均産次6.5) である。

授乳量は、子牛の体重差法により求めた。すなわち、分娩後2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 21および26週目に1日に夕 (16:00)、夜 (22:30)、朝 (08:30) の3回、連続する2日間の哺乳前後の体重を測定した。分娩後4, 8, 12, 16, 21, 26週の授乳量調査時に、1日に3回授乳直前および授乳直後の乳頭全てから、ほぼ均等に手搾りで乳を約50ml採取し、赤外線分析装置 (Milko-Scan 133B, N. Foss Electric 社) によって乳成分を測定した。また、4, 12, 21週目の授乳量調査後、08:30から16:00まで再び母子を分離し、16:00に母牛の乳を全量手搾りで採取した。乳成分は乳脂肪、乳蛋白質、乳糖、無脂固形分 (SNF)、全固形分の濃度を測定した。1日の平均乳成分濃度は次のように求めた。すなわち、授乳前後の成分の平均値に授乳量をかけて夕、夜、朝の各サンプリング時の乳成分量を求め、この合計量を日授乳量で割って求めた。

3) 結果および考察

試験期間を通じた各サンプリング時 (夕、夜、朝) の乳成分濃度の平均値は、単子哺育牛では乳脂肪が授乳前に比べ授乳後が2～5倍高かった。乳蛋白質は、授乳前より授乳後の方がやや低くなり、乳糖も授乳前より授乳後の方がやや低かった。SNFも授乳前より授乳後の方が0.2～0.8%低く、全固形分は、授乳前より授乳後の方が3～5%高かった。双子哺育牛では、乳脂肪は授乳後の方が授乳前の3～9倍高く、双子哺育牛では単子哺育牛に比べ、乳脂肪濃度が授乳前で低く ($P<0.01$), 授乳後に高い ($P<0.05$) 傾向がみられた。双子哺育牛の乳蛋白質、

乳糖とSNFは、授乳前より授乳後の方がやや低く、全固形分は授乳前と授乳後の濃度の高低は単子哺育牛と同様の傾向がみられた（第2-4表）。

第2-8図のように、単子哺育牛の日授乳量は試験開始後、分娩後の週齢が進むにつれて増加し、12週前後で最

高に達し、その後減少した。双子哺育牛の日授乳量は、試験開始時から8週まで14kg前後で推移した後、急激に減少した。試験期間を通じた平均日授乳量は単子哺育牛（ $9.7 \pm 2.4\text{kg}$ ）に比べ、双子哺育牛（ $11.7 \pm 3.2\text{kg}$ ）が有意（ $P<0.01$ ）に多かった。単子哺育牛の日授乳量は、乳

Table 2-4. Composition of milk sampled before and after suckling in crossbred beef dams

	Evening term			Night term			Morning term		
	Before suckling	After Suckling	Average	Before suckling	After suckling	Average	Before suckling	After suckling	Average
Dams with single calves:									
Milk fat	1.52	6.36	4.0	2.87	6.68	4.8	1.69	6.90	4.3
	± 1.14	± 1.72	± 1.0	± 0.97	± 1.64	± 0.9	± 0.88	± 1.50	± 0.8
Milk protein	3.32	3.14	3.2	3.23	3.13	3.2	3.24	3.05	3.1
	± 0.25	± 0.29	± 0.2	± 0.27	± 0.31	± 0.3	± 0.23	± 0.41	± 0.3
Lactose	4.44	4.17	4.3	4.23	4.17	4.2	4.41	4.13	4.3
	± 0.46	± 0.30	± 0.3	± 0.54	± 0.43	± 0.4	± 0.52	± 0.32	± 0.4
SNF	8.75	8.32	8.5	8.45	8.29	8.4	8.64	8.13	8.4
	± 0.53	± 0.40	± 0.4	± 0.64	± 0.47	± 0.5	± 0.62	± 0.36	± 0.4
Total solids	10.26	14.64	12.5	11.21	15.00	13.1	10.32	15.00	12.7
	± 1.14	± 1.63	± 1.0	± 1.00	± 1.71	± 1.1	± 0.81	± 1.48	± 0.9
Dams with twin calves:									
Milk fat	0.82	7.35	4.1	2.50	7.36	4.9	1.17	8.11	4.6
	± 0.54	± 1.85	± 0.8	± 0.60	± 1.92	± 1.1	± 0.45	± 2.50	± 1.0
Milk protein	3.38	3.01	3.2	3.31	3.01	3.2	3.26	2.90	3.1
	± 0.35	± 0.30	± 0.3	± 0.32	± 0.30	± 0.3	± 0.40	± 0.37	± 0.4
Lactose	4.85	4.37	4.6	4.59	4.37	4.5	4.79	4.30	4.6
	± 0.24	± 0.25	± 0.2	± 0.26	± 0.22	± 0.2	± 0.20	± 0.21	± 0.2
SNF	9.20	8.36	8.8	8.89	8.29	8.6	9.02	8.19	8.6
	± 0.41	± 0.39	± 0.4	± 0.27	± 0.53	± 0.3	± 0.44	± 0.50	± 0.5
Total solids	10.01	15.71	12.9	11.37	14.71	13.5	10.02	15.77	12.9
	± 0.69	± 1.93	± 1.0	± 0.72	± 2.08	± 1.3	± 1.22	± 2.18	± 1.9

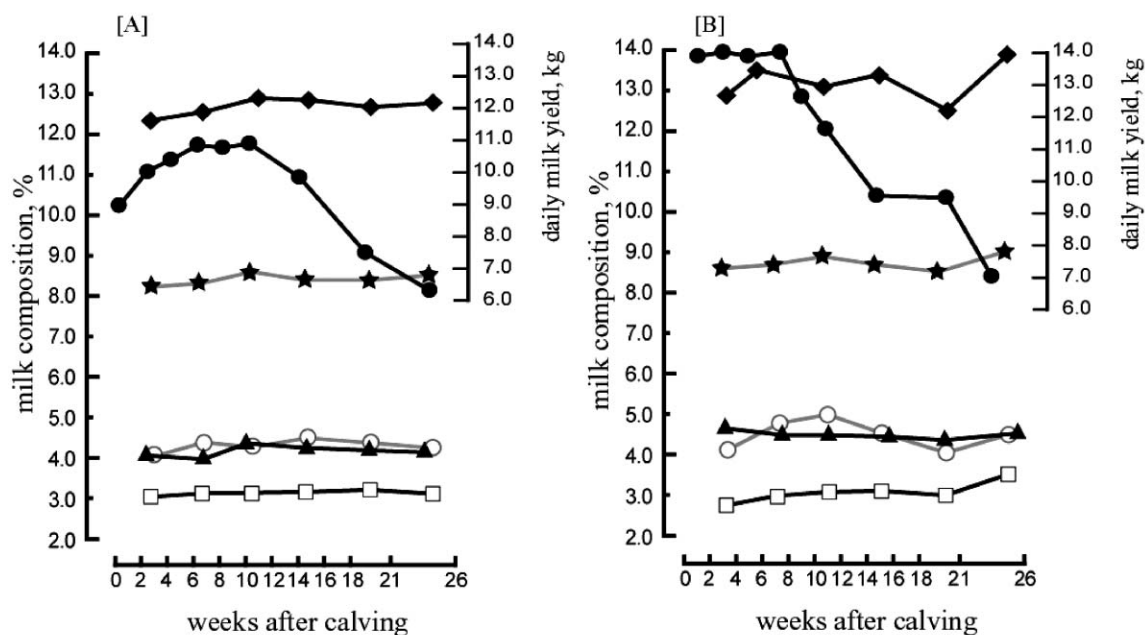


Fig. 2-8. Changes in daily milk yield and milk composition during 26 weeks after calving. [A]: dams with single calves, [B]: dams with twin calves, ●—●: milk yield, ○—○: fat, □—□: protein, ▲—▲: lactose, ★—★: SNF, ◆—◆: total solids.

期が進むにともない変動したが、1日の平均乳成分濃度は乳期を通じてほとんど変動はみられなかった。双子哺育牛の日授乳量は、乳期が進むにつれ変動し、乳成分は試験期間中に若干の変動がみられたが、日授乳量と乳成分の変動との間に明確な関係はみられなかった。

試験期間を通じた1日の平均乳成分濃度は、第2-5表に示した。試験期間を通じた夕の授乳前後の平均値とは、特に乳脂肪濃度と全固形分濃度で一致しなかった。なお、これまでに報告された交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）牛の乳成分濃度は、機械搾乳では乳脂肪が4.14%、乳蛋白質が3.49%、乳糖が4.38%、SNFが8.54%、全固形分が12.67%であり（富永ら、1963）、本試験の授乳前後の平均値は、これと近似していた。また、黒毛和種の乳成分濃度（機械搾乳）は乳脂肪が5.31%、乳蛋白質が3.90%、乳糖が4.89%、SNFが9.56%で（富永ら、1963）、栃木県で飼養されたホルスタイン種の乳成分濃度（機械搾乳）は乳脂肪が3.70%、乳蛋白質が3.12%、乳糖が4.60%、SNFが8.73%と報告されている（栃木県酪農試験場、1993）。本試験の授乳前後の平均による交雑種牛の乳成分は、このホルスタイン種と黒毛和種の乳成分のほぼ中間値となった。この乳量および乳成分から、補助飼料なしでも単子哺育が充分でき、なおかつそれ以上の双子哺育が可能なが考えられた。授乳量調査後に手搾りで夕全量採取した乳は、体重差法で測定した夕授乳量に比べ著しく少なく、そのため授乳前後の平均値や機械搾乳値に比べ、乳脂率と全固形分濃度で低い値になった。こ

れは、本試験の供試牛が、今まで一度も人為的な搾乳を経験していないために乳房中の乳汁を全て排出しなかったことと、子牛による吸乳刺激と手による搾乳刺激が異なった（Dawson ら、1960）ためと考えられる。

一般に乳期が進むと授乳量の変化に伴い、乳成分濃度が変化することが知られている（富永ら、1963）が、本試験では、乳期が進んでも授乳前後の平均乳成分値は変動せず、特に単子哺育牛では、ほぼ一定に推移した。この乳量および乳成分から、補助飼料なしでも単子哺育が充分でき、なおかつそれ以上の双子哺育が可能なが考えられた。また、自然哺乳中の交雑種牛から子牛が哺乳していない1分房全量の乳を搾乳し、乳成分を測定した試験（長谷川ら、1993）でも、乳期に影響を受けず、乳成分が一定に推移したことが報告されている。このことが自然哺乳中の交雑種牛特有の現象であるのか、それとも試験方法の違いによるものなのかは明らかではなく、今後の詳細な検討が必要である。

4) 小 括

搾乳牛（ホルスタイン種）の乳成分濃度は、搾乳中の時間の経過にしたがって直線的に変化することが報告されている（農林水産技術会議事務局、1979b; 島田、1987; 島田ら、1990; 長谷川ら、1993）。また、個体における各分房乳の乳成分濃度は、潜在性乳房炎などによりそれぞれ異なることが報告されている（大島ら、1974）。このことから本試験では、自然哺乳中の交雑種（黒毛和種×ホ

Table 2-5. Comparison of milk composition in milks sampled by different methods

	Milk fat	Milk protein	Lactose	SNF	Total solids
Dams with single calves:					
	4.3c	3.2	4.2	8.4a	12.7
Daily average	± 0.7	± 0.2	± 0.4	± 0.4	± 0.8
Average of before and after suckling in evening term	4.0	3.2	4.3	8.5	12.5
	± 1.0	± 0.2	± 0.3	± 0.4	± 1.0
Evening handmilking	3.6	3.0	4.3	8.4	11.9
	± 0.8	± 0.5	± 0.9	± 1.1	± 1.5
Dams with twin calves:					
	4.6d	3.2	4.7	8.9b	13.4
Daily average	± 0.9	± 0.4	± 0.4	± 0.7	± 1.6
Average of before and after suckling in evening term	4.1	3.2	4.6	8.8	12.9
	± 0.8	± 0.3	± 0.2	± 0.4	± 1.0
Evening handmilking	3.3	3.1	4.7	8.9	12.2
	± 0.7	± 0.4	± 0.2	± 0.5	± 0.9

a,b Values within a column with different superscripts are significantly ($p < 0.01$)

c,d Values within a column with different superscripts are significantly ($p < 0.05$)

ルスタイン種) 雌牛について授乳前と授乳後の乳房全ての乳をサンプリング対象とし、哺乳子牛が摂取した乳成分の推定を試みた。

その結果、授乳前後の平均による交雑種牛の乳成分は、このホルスタイン種と黒毛和種の乳成分のほぼ中間値となった。この乳量および乳成分から、補助飼料なしでも単子哺育が充分でき、なおかつそれ以上の双子哺育が可能と考えられた。授乳量調査後に手搾りで夕全量採取した乳は、体重差法で測定した夕授乳量に比べ著しく少なく、そのため授乳前後の平均値や機械搾乳値に比べ、乳脂率と全固形分濃度で低い値になった。これは、本試験の供試牛が、今まで一度も人為的な搾乳を経験していないために乳房中の乳汁を全て排出しなかったことと、子牛による吸乳刺激と手による搾乳刺激が異なったためと考えられた。

このように、人為的搾乳に慣れていない供試牛からの全量搾乳によってサンプリングされた乳は、実際に子牛が摂取した乳よりも乳量、乳脂率および全固形分含量が低くなる可能性があると考えられる。したがって、自然哺乳中の交雑種雌牛の乳成分を正確に推定するためには、手搾りによって全乳採取するよりも、授乳前後に少量の乳を採取して、その平均値を求めた方が良いと判断された。

Ⅲ. 放牧飼養での交雑種雌牛の双子哺育能と補助飼料給与の検討

1. 双子哺育により交雑種母牛が受ける栄養学的影響

1) はじめに

交雑種(黒毛和種×ホルスタイン種)牛の飼養頭数は、市場価値が乳用種雄子牛に比べ、高位安定するに伴い、約21万頭(平成4年)から約65.2万頭(平成11年)となり、この7年で3倍以上の大幅な増加がみられる(農林統計協会, 1999; 農林水産省畜産局畜産経営課, 2000)。このうち交雑種雌牛は、繁殖牛として優れた能力を持っているにもかかわらず、繁殖に供されことなく直接肥育されることが多く、その能力を発揮することは少ない。交雑種雌牛は、黒毛和種よりも泌乳量が多く、哺育能力が優れていることを前章で明らかにした。また、雑種強勢により強健性・繁殖能力の向上が期待でき、放牧飼養でも効率的な肥育素牛生産が可能であると考えられる。

牛肉生産費を低減するためには、一方策として高い飼料摂取能力と増体を持つ子牛の利用が考えられるが、交

雑種雌牛を繁殖牛として活用することで、人工哺育の手間もかからず、省力的に高増体の子牛生産が可能であることを前章で明らかにした。これまでの試験では、人工授精した交雑種雌牛に体内受精凍結胚を追い移植することにより、移植頭数に対して110%を超える子牛生産率を得ることが示されている(木村ら, 1996)。また、交雑種雌牛を昼夜親子放牧し、単子なら別飼料無給与でも舎飼いの子牛と同等の発育が見込めること、双子でも舎飼いで比較的高い増体が得られることを前章において明らかにした。

そこで本試験では、交雑種雌牛から胚移植などで生産された双子子牛を母牛とともに放牧し、母牛の哺育能力や栄養状態の推移と母牛への栄養補給の影響を検討した。

2) 材料および方法

1996年と1997年に双子を分娩した交雑種雌牛17頭(平均産次7.6)を供試し、双子付き親子10組(1996年5組, 1997年5組)を子牛への別飼料無給与区(以下別飼料区)、残り7組(1996年5組, 1997年2組)を子牛への別飼料無給与、かつ母牛への増し飼料無給与区(以下増し飼料区)とした。供試牛親子は分娩1週間後から順次放牧し、4月から11月下旬まで放牧に供した。別飼料区では、約1.8haのペレニアルライグラス主体草地で昼夜放牧し、母牛には濃厚飼料を給与しなかったが、子牛には草地に設置した別飼料施設で子牛用別飼料(DCP15%, TDN75%)を自由採食させた。増し飼料区では、交雑種親子を09:00~16:00の間ペレニアルライグラスもしくはオーチャードグラスとイタリアンライグラスの混播草地に輪換放牧し、母牛には日量1~2kgの濃厚飼料(農林水産省 草地試験場指定配合飼料: CP12%, TDN70%)を給与するために16:00~翌09:00までパドック内で飼養した。増し飼料区の母牛には濃厚飼料を分娩直後から給与したが、子牛には別飼料を給与しなかった。親牛に関する栄養状態の調査期間は、両区とも分娩時から分娩後6か月までであった。

哺乳量は2, 4, 8, 12, 16, 21および26週齢に1日2回2日間ずつ、体重差法(島田, 1990)で調査した。母牛の栄養状態については月に1回、体重と背脂肪厚、ボディコンディションスコア(鈴木, 1989)を測定し、把握した。背脂肪厚は、背中線と第12~13肋骨間の交点から下ろした垂線の10cm部位を超音波診断装置(Super Eye SSD-500, Aloka Co. Ltd.)により測定した。

測定結果の解析は、SASによる分散分析(PROC GLM)またはt検定を用いて行った(市川, 1995)。

3) 結果および考察

1頭当たりの哺乳量は、別飼い区(C区)では5.8～6.4kg、増し飼い区(NC区)では5.2～7.2kgの範囲にあり、21-26週齢を除いて増し飼い区の方がやや多かった(第3-1表)。試験期間を通じての平均授乳量は、別飼い区が1日につき子牛1頭当たり6.1kg(双子哺育親牛1頭当たり12.2kg)、増し飼い区が6.6kg(同13.2kg)程度であり、前報(赤川ら, 1993)の舎飼いで多子哺育交雑種雌牛の平均授乳量(15.9kg/日)に比して少なかった。これは放牧飼養下での養分摂取量低下および要求量の増大が一因と考えられ、さらに、別飼い・増し飼いの両区とも放牧地に著しく雑草が侵入し、試験終了時には、特に増し飼い区で、主体牧草の大幅な減少や裸地が所々にみられるなど、過放牧気味であったことも影響したと推察される。いずれにせよ本試験における授乳量は、日本飼養標準(2000年版)による肉用種子牛50kg時、75kg時、100kg時、125kg時に日増体量1.0kgを期待するには不足すると考えられた。

母牛の体重は、分娩後一様に減少する傾向を示し、別飼い区では、分娩6か月後に分娩直後の体重から約70kg

減少し、増し飼い区では約120kg減少し、増し飼い区の減少程度が大きかった(第3-1図)。ボディコンディションスコアおよび背脂肪厚も、体重変化と同様の減少傾向を示した(第3-2図)。

増し飼い区では母牛の体重、ボディコンディションスコア、背脂肪厚が別飼い区に比べ、大きな減少傾向を示したが、授乳量では別飼い区より高かった。肉用牛の授乳量は、放牧の強弱や、TDNの給与水準などの影響を比較的受けない(寺田ら, 1979b)といわれているが、TDN量維持分を充足する飼料を給与された牛とTDN不足の牛では、TDN不足飼料を与えられた母牛の体重は減少したが、乳量には差がなかったという報告(太田ら, 1979; 寺田ら, 1979a)もある。高泌乳牛では、泌乳初期に種々のホルモンの作用により乳生産が急激に促進され、摂取した養分量では不足する産乳エネルギーを補うために体脂肪が動員される(津田, 1987)といわれている。また、分娩前にエネルギーの高い飼料をホルスタインに給与しても乳量に影響しないが、分娩後にエネルギーの高い飼料を給与すると乳量が平均1.5kg/日増加し、同時に分娩前から高エネルギー飼料を給与した区では、他の給餌

Table 3-1. Changes in volume of suckled milk (kg) per one calf

Trait	Ages of calves (week)						
	2-4	4-8	8-12	12-16	16-21	21-26	
C	6.2±0.8 (n=20)	6.4±0.9 (n=20)	6.3±1.0 (n=20)	6.0±0.9 (n=10)	5.8±1.6 (n=10)	5.8±2.0 (n=10)	kg/head/day
NC	6.7±0.9 (n=14)	7.2±1.5 (n=14)	6.6±1.2 (n=14)	7.0±1.1 (n=4)	6.9±0.5 (n=4)	5.2±1.0 (n=4)	

Values are mean ± standard deviation (SD).

C : Calves were fed concentrated feeds, NC: Calves were not fed concentrated feeds.

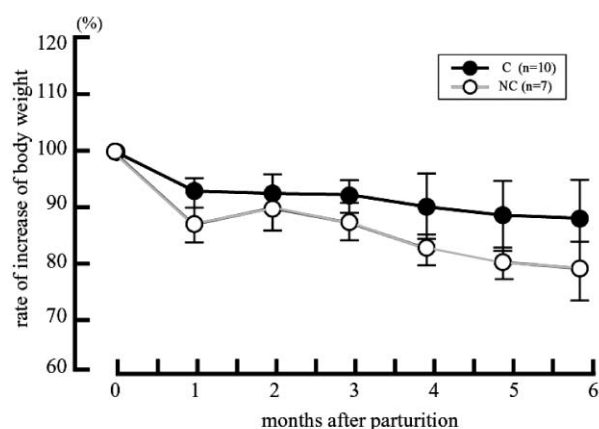


Fig. 3-1. Changes in body weight of dams (ratio to the weight at parturition).

C: Calves were fed concentrated feeds, and dams were not fed, NC: Calves were not fed concentrated feeds, and dams were fed.

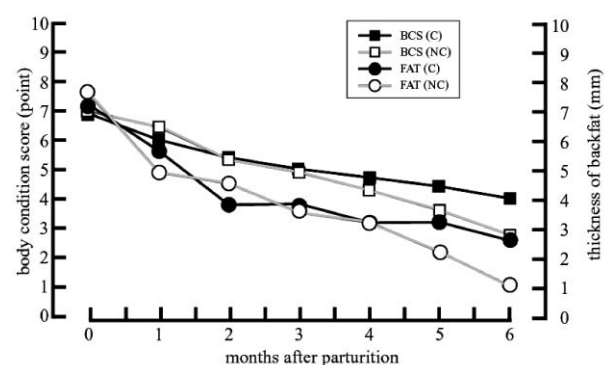


Fig. 3-2. Changes in Body Condition Score and thickness of backfat in dams.

BCS: Body condition score, FAT: Thickness of backfat. C (n=10), NC (n=7): See footnotes of Fig.3-1.

区よりも分娩後のBCSと体重の低下がみられることが報告されている (Grummer ら, 1995)。このことから、交雑種のような泌乳能力の高い牛では、低栄養条件下で、母体の維持より泌乳量がある程度優先されることを示唆しているが、交雑種における母牛の栄養水準と乳生産の関係は、今後詳細な検討が望まれる。

以上のように、交雑種雌牛を母牛とした子付き放牧飼養において、双子哺育も可能であるが、子牛は母牛からの受乳のみで、日増体量 1.0kg の發育を期待するのは困難と考えられた。また、草地の状態によっては、母牛の体重および産乳能力を見ながら、母牛への増し飼い飼料給与について検討する必要があると考えられた。

4) 小 括

交雑種雌牛の親子放牧における双子哺育能力と母牛への栄養補給効果を検討した。1996 年から 1997 年にかけて、のべ 17 組の双子とその母牛をベレニアルライグラス主体草地に分娩約 1 週間後から輪換放牧し、子牛への別飼い飼料を給与する区 (別飼い区) と子牛へ給与せず母牛へのみ増し飼いする区 (増し飼い区) に分け、哺乳量、母牛の栄養状態を調査した。別飼い区では、のべ 10 組の親子を昼夜放牧し、子牛には放牧地内の別飼い施設で別飼い飼料を自由採食させた。増し飼い区では、のべ 7 組の親子を 09:00 ~ 16:00 の間に放牧し、母牛には日量 1 ~ 2kg の濃厚飼料を給与した。その結果、母牛の泌乳量は日量 10.4 ~ 14.4kg あり、1 頭当たり 5.2 ~ 7.2kg 摂取した。これらから、交雑種雌牛を母牛とした子付き放牧飼養において、双子哺育も可能であることが示されたが、母牛の栄養状態は、両区において低くなる傾向を示し、増し飼い区での栄養不足が顕著であったことから、分娩後母牛の体重減少が顕著な草地においては、母牛への補助飼料の給与が必要と考えられた。

2. 交雑種雌牛を母牛とした親子放牧下での双子子牛の生態

1) はじめに

交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 牛の飼養頭数は、需要に応じて大幅な増加がみられる (農林統計協会, 1999; 農林水産省畜産局畜産経営課, 2000)。このうち交雑種雌牛は、黒毛和種よりも泌乳量が多く、哺育能力が優れていると考えられ、雑種強勢により強健性・繁殖能力の向上が期待でき、放牧飼養でも効率的な肥育素牛生産が可能であると考えられるものの、繁殖牛として飼養されることはあまり多くなく、繁殖能・哺育能力につい

ても詳細な研究は少ない。

前節では、交雑種のような泌乳能力の高い牛では、低栄養条件下で母体の維持より泌乳量がある程度優先されるので、双子を哺育している交雑種母牛の栄養状態は放牧草地の状態に影響を受け、増し飼い飼料給与時でも体重およびボディコンディションの減少が生じることを述べた。また、授乳量も双子子牛がそれぞれ日増体量 1.0kg を得るには不足することが示唆された。そのため子牛への別飼い飼料給与は、子牛の發育に重要な意味を持つと考えられる。

そこで本試験では、双子子牛を交雑種母牛とともに放牧し、子牛の發育および子牛の別飼い飼料摂食行動から、親子放牧における放牧管理の集約度および栄養補給法の影響を検討した。

2) 材料および方法

前節で供試した交雑種親子 10 組 (1996 年 5 組, 1997 年 5 組) を子牛への別飼い飼料給与区 (以下別飼い区)、残り 7 組 (1996 年 5 組, 1997 年 2 組) を子牛への別飼い飼料無給与、かつ母牛への増し飼い飼料給与区 (以下増し飼い区) とし、子牛 34 頭の發育、別飼い飼料摂食行動を調査した。子牛 34 頭中 18 頭が黒毛和種で、16 頭が交雑種 (交雑種×戻し交配) であった。供試牛親子の試験期間と増し飼い、別飼い飼料は前節に記載したとおりである。子牛は、1996 年は 3 か月齢まで、1997 年は 6 か月齢まで調査の対象とした。

哺乳量は 2, 4, 8, 12, 16, 21 および 26 週齢に 1 日 2 回 2 日間ずつ、体重差法 (島田, 1990) で調査した。子牛の体重は、哺乳量測定時の値を用いた。なお、子牛の性および品種間に有意な差がみられなかったため、体重の補正は行わなかった。しかし、日増体量については、0-4, 4-8, 8-12, 12-16, 16-21, および 21-26 週齢のそれぞれの調査期間ごとに求めたところ、生時体重に若干の性差がみられた。そこでこの期間の影響で、0-4 週齢期間中のみ平均日増体量に性差がみられたので、日増体量については生時体重あるいは摂取量の違いによるものとみなして性補正 (熊崎と松尾, 1967) を行った。子牛の体型測定は生時と 3 か月齢および 6 か月齢で行った。

子牛の別飼い飼料摂食行動調査は 06:00 ~ 18:00 の間、目視による個体の飼料摂食行動および飼料摂取時間の測定、試験前後の重量差による摂取飼料量の測定を行い、1996 年は 9 月 30 日 (平均 56 日齢)、10 月 23 日 (平均 79 日齢)、11 月 14 日 (平均 101 日齢) に、1997 年は 9 月 9 日 (平均 109 日齢) と 10 月 16 日 (平均 136 日齢) に行った。

結果の解析は SAS による分散分析 (PROC GLM) または t 検定を用いて行った (市川, 1995)。

3) 結果および考察

子牛の平均体重は, 別飼区において生時で 28.2kg, 3 か月齢時で 94.7kg, 6 か月齢時 148.8kg を示し。増し飼区の場合, 生時 26.9kg, 3 か月齢時 91.5kg, 6 か月齢時 139.7kg と, いずれの場合も別飼区の子牛が優位な傾向を示した (第 3-2 表)。

子牛の平均日増体量は, 0-4 週齢時では増し飼区の方が有意 ($P<0.05$) に高かったが, その後は離乳まで, 別飼区の方が高く推移した (第 3-3 表)。

Table 3-2. Changes in the body weight of calves

Trait	Age of calves			
	At birth	90day	180day	
C	28.2±3.9 (n=20)	94.7±10.6 (n=20)	148.8±19.3 (n=10)	Kg
NC	26.9±4.1 (n=14)	91.5±9.9 (n=14)	139.7±22.6 (n=4)	

Values are mean ± SD

C: Calves were fed concentrated feeds,

NC: Calves were not fed concentrated feeds.

子牛の体型は, 生時の胸深と 3 か月齢時の体高がほぼ同様であったが, 6 か月齢時では別飼区の方が増し飼区よりやや大きい傾向にあり, 特に 6 か月齢の胸囲で別飼区の方が有意 ($P<0.05$) に大きかった (第 3-4 表)。

子牛の平均日増体量が, 0-4 週齢時では増し飼区で高かったのは, 増し飼区の母牛には濃厚飼料を給与したため, 別飼区の母牛よりも授乳量がやや多かったためであり, このことは放牧下での双子子牛の初期発育改善に, 交雑種母牛への増し飼いによる子牛への間接的栄養補給が有効であることを示唆している。一方, 別飼区の子牛で 21 週齢までの哺乳量が, 増し飼区より低かったにもかかわらず, 4 週齢以上の平均日増体量が増し飼区の子牛より良好であったのは, 別飼飼料による子牛への直接的栄養補給は母牛を介しての間接的栄養補給に比べ, その効果が高いことを示唆している。

第 3-3 図は観察時間帯 (06:00 ~ 18:00) の別飼飼料摂取頭数を示したものである。両年ともに, 初回調査時は特定の時間帯に集中的に摂取する傾向があったが, 月齢が進むにつれて摂取頻度が急増し, 観察時間を通じて摂取する傾向がみられた。放牧地での子牛の別飼飼料採食行動は, 1996 年, 1997 年の 2 回の実験とも子牛の月齢

Table 3-3. The daily gain of calves with or without supplementary concentrate feeds

Group	0-4	4-8	8-12	12-16	16-21	21-26	(week)
C	0.80 ^{sa} ± 0.09 (n=20)	0.65 ± 0.19 (n=20)	0.73 ± 0.16 (n=20)	0.75 ^a ± 0.11 (n=10)	0.73 ± 0.13 (n=10)	0.73 ± 0.23 (n=10)	kg/day
NC	0.94 ^{sb} ± 0.22 (n=14)	0.56 ± 0.21 (n=14)	0.61 ± 0.20 (n=14)	0.45 ^b ± 0.26 (n=4)	0.57 ± 0.24 (n=4)	0.72 ± 0.22 (n=4)	

Values are mean ± SD

C, NC : See footnotes of table 3-2.

^{a,b} Means in a column with different superscripts differ ($P<0.05$).

^{sa} Corrected by sex adjustment

Table 3-4. The body measurements of calves at birth and 3 and 6 months after parturition

Part	Wither height		Body length		Chest width		Chest depth		Thurl width		Rump length		Heart girth	
Trait	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
At birth	66.1 ± 2.5	65.0 ± 2.3	57.2 ± 8.9	60.3 ± 5.0	13.6 ± 1.6	13.6 ± 1.4	24.9 ± 1.6	25.0 ± 1.4	17.0 ± 1.2	16.8 ± 1.0	19.8 ± 1.0	19.8 ± 1.4	69.0 ± 2.8	68.2 ^{cm} ± 4.4
3 months	85.5 ± 2.9	86.4 ± 2.5	86.1 ± 5.0	85.5 ± 4.3	21.5 ± 1.9	20.5 ± 2.1	39.1 ± 1.9	38.7 ± 1.2	26.2 ± 1.6	25.8 ± 1.3	29.9 ± 1.3	29.6 ± 1.6	105.0 ± 5.2	102.9 ± 4.0
6 months	97.3 ± 3.2	96.6 ± 1.5	102.7 ± 5.6	100.5 ± 5.1	28.4 ± 2.1	27.4 ± 2.8	46.6 ± 1.4	45.0 ± 1.4	31.1 ± 2.1	30.6 ± 1.3	34.6 ± 1.0	34.3 ± 1.3	126.8 ^a ± 3.8	120.3 ^b ± 6.1

Values are mean ±SD

C, NC : See footnotes of table 3-2.

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

At birth and 3 month, n=20(C) and n=14(NC) and at 6 month, n=10(C) and n=4(NC)

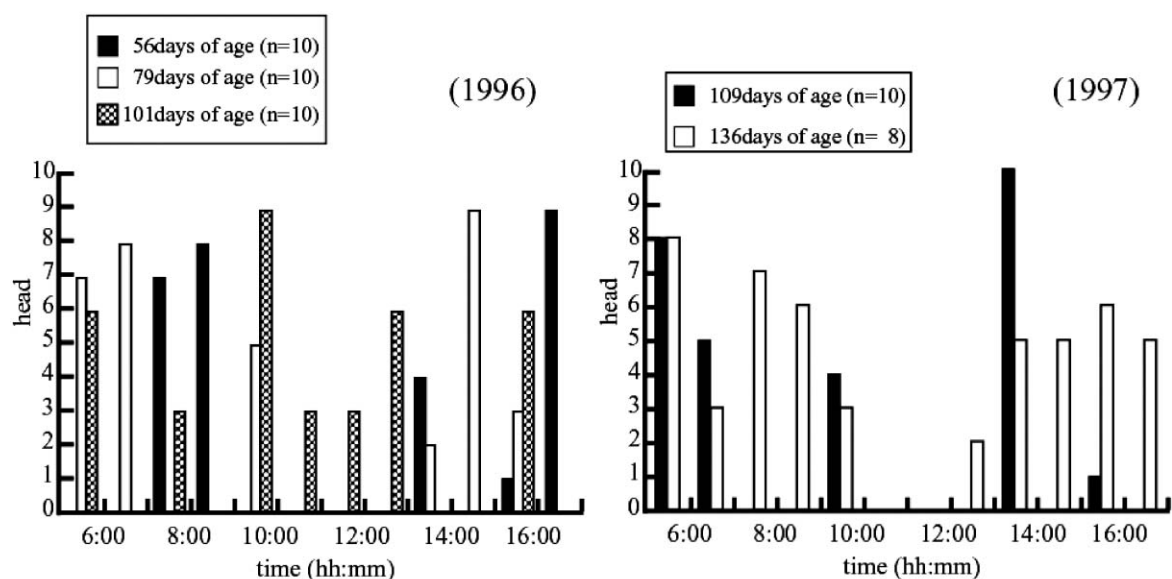


Fig. 3-3. The number of calves eating concentrate during observation time.

Table 3-5. Mean frequency and duration of concentrate intake of calves

Year	1996			1997	
Date of observation (month/day)	9/30 (n=10)	10/23 (n=10)	11/14 (n=10)	9/9 (n=10)	10/16 (n=8)
Age of calf (day)	55.6	78.6	100.6	109.0	136.0
SD	± 13.3	± 13.3	± 13.3	± 35.0	± 30.6
Eating frequency (times/calf)	5.2	7.4	6.9	7.6	17.4
SD	± 2.8	± 5.0	± 4.7	± 4.8	± 4.2
Eating duration (min./calf/one time)	2.8	3.2	5.5	6.0	4.6
SD	± 0.9	± 0.7	± 1.5	± 1.9	± 0.5
Total eating duration (min./calf)	15.7	24.1	35.7	41.3	79.8
SD	± 9.3	± 17.1	± 21.5	± 21.7	± 22.1
Amount of concentrate eaten(kg/calf)*	0.15	0.47	0.99	2.00	3.83

Values are mean ± SD.

*Total amount of concentrate feed (kg)÷Numbers of calves.

が進むにつれて、別飼い飼料の摂取回数、量、および時間が増加する傾向がみられ、特に3ヵ月齢以降では摂取量が増加する傾向があった（第3-5表）。

子牛の初期発育は、母牛からの哺乳量が重要な役割を占めている（熊崎と松尾，1967）ことが知られているが、母牛の泌乳量が少ない場合や子牛の栄養摂取量が不足している場合には、クリープフィーディングの効果が認められており（農林水産技術会議事務局 1970；Scarth ら，1968），自然哺乳子牛では、生後1週間から別飼い飼料の摂取行動が認められている（久馬ら，1976）。本試験では、生後1か月からすでに別飼い飼料による子牛への直接的栄養補給が、母牛を介した間接的栄養補給と同等以上の効果を示すことが明らかになった。このことは本試験のように草量不足などの理由が考えられ、母牛の養分摂取が不足する場合、交雑種雌牛でも双子子牛への別飼い飼

料による栄養補給が早い時期から効果的であることを示している。

以上のように、交雑種雌牛の親子放牧による双子哺育においては、双子の哺育も可能であるが、子牛の発育を向上させるためには、子牛への補助飼料の給与が必要である。また、草地の状態によっては、母牛の体重および産乳能力を勘案し、母牛への増し飼い飼料給与を検討しなければならないと考えられた。

4) 小 括

交雑種雌牛の親子放牧における哺育能力と母牛あるいはその双子子牛への栄養補給効果を検討した。のべ17組の双子とその母牛をペレニアルライグラス主体草地に分娩約1週間後から輪換放牧し、子牛への別飼い飼料を給与する区（別飼い区）と子牛へ給与せず母牛へのみ増

し飼いする区（増し飼い区）に分け、哺乳量、母牛の栄養状態および子牛の別飼い飼料の摂食行動を調査した。別飼い区では、のべ10組の親子を昼夜放牧し、子牛には放牧地内の別飼い施設で別飼い飼料を自由採食させた。増し飼い区では、のべ7組の親子を09:00～16:00の間放牧し、母牛には日量1～2kgの濃厚飼料を給与した。その結果、別飼い区では、子牛の別飼い飼料の摂食行動と摂取量が3か月齢以降で顕著に増加した。子牛の平均日増体量は、増し飼い区の方が0.4週齢時で有意に高かったが、その後は別飼い区の方が高く推移した。子牛の体型は、月齢が進むにつれて別飼い区が増し飼い区を上回る傾向にあり、6か月齢の胸囲が別飼い区で有意に大きかった。このように、交雑種雌牛の親子放牧による双子哺育においては、双子の哺育も可能であるが、子牛の発育を向上させるためには、子牛への補助飼料の給与が必要であることが示された。

Ⅳ. 交雑種雌牛の周産期における生理特性について

1. 双胎妊娠牛の膣温の連続測定およびその特性

1) はじめに

第Ⅲ章の結果から、交雑種雌牛は放牧飼養での双子哺育も可能であることが示唆されたが、Suzukiら（1998）は、分娩時の事故により、双子の新生子牛の損耗率が25%と単子（1.7%）に比べて非常に高いことを報告している。他の研究者も同様に双子は単子よりも分娩介助をする必要性が高いことを示している（Andersonら、1979；Gordonら、1962；Guerra-Martinezら、1990）。

牛では分娩前に体温が低下する現象が知られており（GrafとPetersen, 1953；PorterfieldとOlson, 1957；Ewbank, 1963）、この変化を利用した分娩予知の試みが、報告されている（Dufty, 1971；池滝ら1982；藤本ら1988）。また、分娩発来機構を解明するために内分泌的アプローチも試みられている。藤本ら（1988）は、母牛の血漿中プロジェステロンと体温の低下は相関があると報告し、一方Lammogliaら（1997）は、分娩前の牛の体温低下は性ホルモン（プロジェステロン、エストラジオール-17 β など）とは直接的な関係はないとしており、牛の分娩前体温低下の機構は未解明のままである。また、双胎妊娠牛の分娩周辺時の膣温を連続的に、かつ詳細に計測し、単胎妊娠牛と比較した報告は見当たらない。

そこで本項では、双胎妊娠牛と単胎妊娠牛の体温変化の特徴とその違いを詳細に検討し、双胎牛の周産期の生理的变化を膣温の推移から推測することを試みた。

2) 材料および方法

(1) 膣温の計測

分娩7日前から分娩時まで、妊娠末期牛の膣温を熱電対センサーによって計測し、データロガー（Data-logger L820, Unipulse Inc.）を用いて収集した。供試牛には、データロガーを入れた鞆を鞍につけて背負わせた。熱電対センサーは背線に沿って鞆の下を這わせて後方へ延ばしてある。センサーの先端にはプラスチックカバーを被せ、およそ直角に折り曲げて、センサーの先端約25cmを膣内に挿入し、陰部に絆創膏と接着剤で固定した（第4-1図）。膣温は毎分ごとに測定し、20分ごとの平均値を記録した。データはデータロガーに蓄積し、分娩後にダウンロードした。36℃以下の膣温は、センサーの抜け落ちや膣壁への密着不良、機器の破損や接触不良などが原因のエラー値として削除した。

(2) 供試動物

交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）経産牛で、人工授精、受精卵移植またはその両方を組み合わせた方法で作出した単胎あるいは双胎妊娠牛を使用した。産次と分娩後体重は第4-1表に示した。子牛の品種は黒毛和種、交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）またはF1クロス（黒毛和種×交雑種）である。膣温の連続データは分娩6日前（d-6）から分娩日（d0）まで6時間以上のエラーデータがない31頭のものを使用した。18頭が単胎妊娠で、13頭が双胎妊娠であった。18頭中8頭は単胎妊娠で雄胎子（M）、10頭は雌胎子（F）、13頭中4頭は胎子が雄同士の胎子ペア（MM）、3頭は雌同士の胎子ペア（FF）で、残り6頭は異性（雌と雄；FM）の胎子ペアの双胎妊娠であった。胎子の数は超音波診断装置（Super Eye SSD-500, Aloka Co. Ltd.）で、妊娠30, 60, 90日目に確認した。

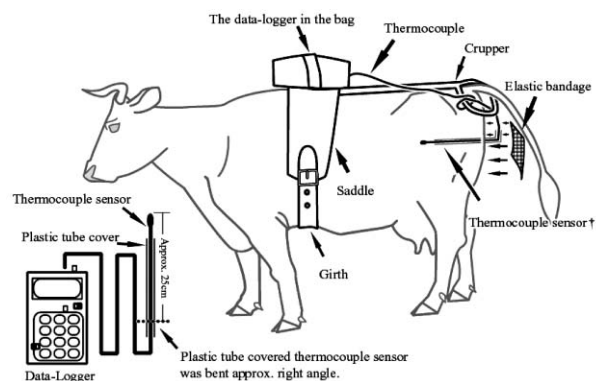


Fig. 4-1. A diagram of cow instrumented with data-logging apparatus for measuring vaginal temperature (VT).
† Thermocouple sensor covered by the plastic tube was firmly bonded to the vulva by the elastic bandage with adhesive.

Table 4-1. Maternal body weights and parity just after parturition

Pregnancy status		(n)	Maternal wt, kg		Parity times	
			Avg	SD	Avg	SD
Singles						
	M	(8)	539	66	6.6	2.0
	F	(10)	539	67	6.0	2.9
	Total	(18)	539	64	6.3	2.4
Twins						
	MM	(4)	533	58	8.8	0.5
	FM	(6)	577	63	7.7	2.3
	FF	(3)	534	59	7.7	2.3
	Total	(13)	547	56	8.0	1.8

M = male, F = female, MM = male twins,

FM= one female and one male twin, FF = female twins.

胎子の性別は分娩時に確認し、新生子牛の生時体重（胎子の体重）を計測した。双子の場合、「体重和」とは、同じ母牛から1回の分娩で生まれた双子子牛2頭の生時体重の和を表す。

供試牛は分娩房（3m×3m）で飼養し、同牛には、適切な量の水と飼料を給与した。

(3) 統計手法

膣温は、分娩日を基準とする分娩6日前（d 0, -1, -2, -3, -4, -5, -6）まで遡って、その分散をSASにより解析した。前処理として、分娩6日前（d -6）から分娩日（d 0）までは、膣温に影響を与える要因についてPROC MIXED MODELのTukey's検定を行った。その結果、日の経過による影響がみられたので、日ごとの比較をPROC GLMでScheffe's testを使い、Chronological variationの解析を行ったところ、分娩3日前（d -3）から分娩6日前（d -6）までは日の経過による影響がみられなかった。そこで、d -3からd -6までの膣温を用い、胎子の性ごとに胎子の生時体重と母牛の膣温との分析を行い、相関を求めた（第4-4表）。

3) 結果および考察

供試牛のうち、何頭かは分娩に際し軽い助産が必要であったが、単子、双子とも全頭健全な子牛が娩出された。母牛の体重と産次には、妊娠状態（単胎か双胎の別や胎子の性）による差はみられなかった（第4-1表）。

牛の体温に影響を与える要因は種々あると報告されているが（Kelly, 1974; Chikamuneら, 1986; Mosherら, 1990）, 本試験では、母牛の分娩後の体重、産次、分娩した季節（月）、胎子の性、胎子の体重（新生子牛の生時体重、双子の場合は体重和）と分娩までの日数の経過を母牛の

膣温に影響を与える要因として検討した。その結果、d -6からd 0までの膣温には、日の経過による影響だけがみられた（ $P<0.01$ ）。そこで、d -6から0までの膣温を比較したところ、単胎では、[d 0 vs. -2], [d 0 vs. -3], [d 0, -1 vs. -2, -3]と[d 0, -1 vs. -2 to -6], 双胎では[d 0, -1 vs. -2 to -6]に差がみられた（第4-2表）。

d -3からd -6までの膣温に差はみられなかったので、胎子の性別とd -3からd -6までの母牛の膣温との関係を第4-4表に示した。単胎では母牛の膣温に胎子の性と分娩月が影響（ $P<0.05$ ）しており、双胎では胎子の性と胎子の生時体重が影響（ $P<0.05$ ）していた。他の要因に有意な影響はみられなかった。単胎では、母牛の膣温が3月と8月で差がみられた。雌胎子を妊娠している2頭の牛だけが8月分娩であった。母牛の膣温と月ごとの環境温度の平均を比較したところ（第4-3表）、単胎妊娠母牛の膣温は環境温度と弱い相関がみられた（ $r=-0.7, P<0.05$ ）。

しかしながら、単胎、双胎両方の母牛の膣温と環境温度の平均には有意な影響はみられなかった。8月分娩の2頭を除いても分娩月は母牛の膣温に有意な影響はなく、また単胎妊娠母牛の膣温において、胎子の性（MかFか）による違いは認められなかった。子牛の生時体重の平均は単子では、ほぼ同様であった。FFとFMの間には差（ $P<0.05$ ）がみられたが、双胎妊娠牛では母牛の膣温と胎子の性による違いはみられなかった（第4-4表）。

Lammogliaら（1997）は、牛の分娩56～144時間前の体温が雌胎子より雄胎子の方が高かったと報告している。本実験では、同様に分娩56～144時間前の膣温と胎子の性別を分析してみたが、差はみられなかった。もし、単子胎子の性ホルモンが母牛の膣温に影響をおよぼしているのならば、同性の双胎の場合は、これらの影響が相乗

Table 4-2. Changes in vaginal temperature (VT) on the day before expulsion in cows with single and twin fetuses

Days before expulsion	Vaginal temperature, °C (Means ± SE)	
	Singles ^a	Twins ^b
0	38.02 ± 0.001	37.92 ± 0.002
-1	38.41 ± 0.001	38.28 ± 0.000
-2	38.64 ± 0.001	38.54 ± 0.002
-3	38.54 ± 0.002	38.56 ± 0.003
-4	38.62 ± 0.002	38.61 ± 0.005
-5	38.42 ± 0.004	38.67 ± 0.005
-6	38.50 ± 0.004	38.30 ± 0.010
— Comparison of the day before expulsion	Probability [#]	
0 vs. -1	<0.01**	0.69
0 vs. -2	<0.01**	0.09
0 vs. -3	<0.01**	0.96
0, -1 vs. -2, -3	<0.01**	0.09
0, -1 vs. -2, -3, -4, -5, -6	<0.01**	0.04*
-3 vs. -4	0.94	0.99
-4 vs. -5	0.24	0.99
-5 vs. -6	0.99	0.91
-3 vs. -4, -5, -6	0.99	0.99
-4, -5 vs. -5, -6	0.44	0.99

[#] P values by Scheffe's multiple range test.

^a VT in the cows with single (n = 18), ^bVT in the cows with twin (n = 13).

d 0 = 0 to 1420 min. before expulsion, d -1 = 1440 to 2860 min, d -2 = 2880 to 4300 min, d -3 = 4320 to 5740 min, d -4 = 5760 to 7180 min, d -5 = 7200 to 8620 min, d -6 = 8640 to 10060 min.

Table 4-3. Average of maternal vaginal temperature by month of parturition from 3 to 6 days before parturition and environmental temperature

Pregnancy status	Month of parturition (number of cows)						
	Mar.	Apr.	May	June	Jul.	Aug.	Sept.
Vaginal temperature, °C	Single	39.1 ^a	38.5	38.4	38.4	—	37.8 ^b
		(5)	(4)	(5)	(2)	(0)	(0)
	Twin	39.7	39.8	38.6	38.8	38.2	38.4
		(1)	(1)	(2)	(1)	(2)	(3)
	Whole	39.2	38.8	38.5	38.5	38.2	38.5
		(6)	(5)	(7)	(3)	(2)	(3)
Environmental temperature, °C		5.5	10.3	14.9	19.5	22.8	22.9

^{a,b} Values with different superscripts in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

効果で増強されるはずである。しかしながら、MM と FF の間に違いはみられなかった。これらの結果から、正常胎子の性は、母牛の膣温に影響しないことが示唆された。

一方、双胎妊娠母牛の膣温と、MM ($r=0.91$; $P=0.09$), FF ($r=0.89$; $P=0.30$) および MM に FF を加えた ($r=0.84$; $P<0.05$) 生時体重とは、強い相関がみられた。その一方で FM 子牛の生時体重は、母牛の膣温とは相関がみられなかった ($r=-0.26$; $P=0.61$)。

FM 妊娠牛の中だけでは、雄胎子と雌胎子の生時体重は、それぞれ母牛の膣温に影響を与えており(第 4-4 表)、雄胎子の生時体重は、母牛の膣温と正の相関 ($r=0.43$, $P=0.53$) があるが、雌胎子の生時体重は母牛の膣温と強

い負の相関 ($r=-0.82$, $P<0.05$) がみられた。

異性双子の雌胎子のうち 80% 以上が、同腹の雄胎子からの影響を受けており (Gregory ら, 1996; Marcum, 1974; Shore と Shemesh, 1981), フリーマーチン胎子においては内分泌的な異常 (Vigier ら, 1984; Rota ら, 2002; Clemente ら, 1994), 生殖器官の機能障害や、いくつかの性ホルモン生成不全 (Randel ら, 1971; Parkinson ら, 2001; Domínguez ら, 1990) も知られている。本試験では、FM 牛の中で、雌胎子の体重が重い母牛ほど膣温が低かった。対照的に、FF や MM 牛では、一腹の胎子体重和が重いほど母牛の膣温は高くなった。Schroder ら (1988) は、胎盤の血流量が増え、胎子からの熱の放散が母牛の体温に

Table 4-4. Correlations between sex and birth weights of single calf or twin calves, and vaginal temperatures (VT) of cows at days 3 to 6 before parturition

Pregnancy status	Sex of calves	(n)	Variable				Correlation coefficient [‡]	Probability
			VT (°C)		Birth wt, kg			
			Avg	SD	Avg	SD		
Singles								
	M	(8)	38.6	0.64	36.4 ^a	4.6	0.03	0.94
	F	(10)	38.5	0.39	35.8 ^a	6.3	0.44	0.21
	Total	(18)	38.6	0.51	36.1	7.8	0.24	0.35
Twins								
	MM	(4)	38.5	0.54	55.8 ^{bcd†}	9.8	0.91	0.09
	FM	(6)	38.6	0.67	57.2 ^{bt}	4.6	-0.26	0.61
	FF	(3)	38.5	0.34	50.4 ^{ct}	8.3	0.89	0.30
	FF + MM	(7)	38.5	0.44	53.1 ^{bcd†}	9.1	0.84 [*]	0.017
	Total	(13)	38.6	0.60	54.2	7.5	0.26	0.10
Among FM								
	Male fetus of FM	(6)	—	—	29.8	4.9	0.32	0.53
	Female fetus of FM	(6)	—	—	27.3	3.9	-0.82 [*]	0.047

^{a,b,c} Values in the same column with different superscripts are statistically different ($P < 0.05$).

[†] Sum of weights of two calves in the same litter.

^{*} Pearson correlation coefficients between maternal vaginal temperature and fetal birth weight by fetal sex, and between maternal temperature with isosexual twins (FM) and birth weights of male or female calf ($^*P < 0.05$).

M, F, MM, FM, FF : see Table 4-1.

影響を与えることを羊のモデルで報告しており、胎子が大きくなれば、胎子の熱の放散も、その栄養供給のために胎盤血流も、増加する可能性があり、これらが母牛の体温を上昇させると考えられる。

これらの結果は、フリーマーチンでのプロゲステロンやエストロジェンの産生障害、もしくは代謝異常が原因かもしれない。この機構を解明するためには、さらに内分泌動態や分子生物学的な研究が必要である。

4) 小 括

31頭の交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）の分娩6日前（d-6）から分娩日（d 0）まで連続的に膣温を測定し、その値をデータロガーに収集させた。双子妊娠牛と単子妊娠牛とでは、分娩6日前から3日前の膣温で差はみられなかった。母牛の膣温は、分娩後の体重、産次、胎子の性、胎子の体重（新生子牛の生時体重、双子の場合は同腹子牛の体重の和）の影響を受けなかった。しかし、異性双子（FM）を除いた雄胎子同士の双子（MM）と雌同士の双子（FF）の場合、兄弟子牛の体重の和は母牛の膣温と強い正の相関がみられ（ $r=-0.84$, $P<0.05$ ）、MMとFFの母牛の膣温は胎子の体重が大きくなるほど上昇した。一方、異性双子（FM）の生時体重和は、母牛の膣温と相関がみられず（ $r=-0.26$, $P=0.61$ ）、FMを妊娠している母牛の膣温は、双子のうち雌子牛の生時体重が大きくなるほど低下した（ $r=-0.82$, $P<0.05$ ）。

2. 妊娠末期胎子血液の採取方法の検討

1) はじめに

分娩の発来を予測することができれば、分娩の介助は容易にできるようになる。分娩が発来する機構は、まだ詳細は未解明であるが、1つの説として胎子からの信号に母牛の生理活性物質が応答することが原因であると報告されている（Comline ら, 1976; Hunter ら, 1977; Adams ら, 1998）。このため、母牛と胎子双方における生理活性物質の動態を調べることは、分娩の機構、胎子の免疫システムの発達、胎子の栄養生理および母子間の相互作用を解明するうえで重要である。胎子の血液や羊水および尿膜水は、様々な情報を含有している有用な素材であり、これまでに、胎子と母牛における周産期のホルモン動態は、数例報告されている（Comline ら, 1976; Hunter ら, 1977; Adams ら, 1998）。しかし、これらの報告は、全身麻酔によって胎子へのカニューレーションを行っており、全身麻酔は特別な施設や技術が必要である。また、被験動物の健康への影響（Runciman ら, 1985; Høgevoid ら, 2000）を考えると、局所麻酔によるカニューレーションは全身麻酔に比べ、簡便な手段といえる。加えて、これらの報告には素材や長さなどに関するカテーテルの詳細は掲載されていない。そこで本研究では、局所麻酔下において胎子と母牛の静脈にカテーテルを装着するための手術方法と胎子血液採取に最も適したカテーテルの素材を検討した。

2) 材料および方法

(1) 供試動物とカニューレーション術

15頭の妊娠末期牛（黒毛和種8頭，黒毛和種×ホルスタイン種6頭，ホルスタイン種1頭）を供試した。第4・5表に手術時の妊娠日齢，体重，産次など，供試牛の詳細を示し，胎子カテーテル手術の概要は図（第4-2図）に表した。妊娠239～262日に手術を行い，手術48時間前から絶食，24～16時間前から絶水を行った。供試牛には前処理として，手術1時間前に鎮静のためにキシラジン20mgを筋肉注射した。プピバカイン塩酸塩（0.5% Marcain, Fujisawa Pharmaceutical Co.）に2%の塩酸プロカイン溶液を3:2で混合した注射によって施した局所麻酔（尾椎硬膜外麻酔あるいは腰椎麻酔と浸潤麻酔の組み合わせ）下で，左臍部の25から30cmの長さで皮膚と筋肉を切開し，子宮壁の創口を介して胎子の肢を暴露した。カテーテルを胎子の肢あるいは胎子囊の静脈に挿入した。子宮を弛緩させるため，手術の間中，母牛の静脈にリトドリン塩酸塩（約4 μ g/min/kg, Sigma-Aldrich Japan Co.）をグルコース添加リングル液で点滴し続けた。

子宮内感染を防ぐために，抗生物質ペニシリン（150,000IU.）とストレプトマイシン（0.15g）を羊膜水および尿膜水に添加し，羊膜および尿膜を縫合して閉腹した。術後管理として，手術2ないし3日後までアンピシリンを親牛に1800mg/18ml，胎子に200mg/2ml投与した。また，ケトプロフェン400mgを鎮痛剤として親牛に投与した。供試牛は分娩房（3m×3m）にロープで緩く繫留し，適切な量の飼料と水を給与した。供試牛は全て実験動物指針（Animal Care Committee, National Institute of

Grassland Science）に沿って，人に準じる管理を受けた。

(2) カテーテル，固定方法とメンテナンス

医療用採血管を経の大きさと強度の順に4種類の胎子血用カテーテルを検討した。カテーテル“A”は，外径×内径（mm）が1.5×0.97あるいは1.2×0.7，70cm長の塩化ポリビニル製の管で，4胎子に使用した。カテーテル“B”は，外径×内径（mm）が1.27×0.86，長さ100cmの医療用ポリスチレンチューブ（Intramedic Polyethylene Tubing, Becton & Dickinson Ltd.）で胎子1頭に使用した。カテーテル“C”は，胎子3頭に4あるいは5Fr.（外径×内径，mmはそれぞれ1.27×0.86と1.33×0.95）で，長さ1.5mの心臓カテーテル（Medikit Ltd. Japan）を使用した。カテーテル“D”は，5 French（Fr.: 外側周囲の単位，外径×内径，mmは1.33×0.95）長さ1.5mの心臓カテーテル（Medikit Ltd. Japan）にステンレス製のスプリングチューブ（Sanwa Spring Ltd, Japan）をカテーテルの先端約25cmを除いて被覆して，7頭の胎子に使用した。カテーテルには固定具（Unitika Ltd, Japan）をナイロンメッシュで補強し，瞬間接着剤と縫合糸で取り付け付けた。カテーテルは，約25cmを静脈に挿入し，瞬間接着剤をつけた固定具で，胎子肢に固定し，縫いつけた（第4-3, 4図）。全てのカテーテルは，子宮壁から母体の外部へ誘導し，その先端を引き出させた。

羊膜水，尿膜水の採取には，14G，長さ1.4mのヒト血管用留置カテーテルの先端に，膜吸い込みを防止する器具を固定した（第4-5図）。そして，カテーテルの先端から約25cmのところに固定具（Unitika Ltd, Japan）を瞬間接着剤と縫合糸で固定し，羊膜腔あるいは尿膜腔に投入した。カテーテルが羊膜腔あるいは尿膜腔から抜け落ちないように，固定具の上部で羊膜あるいは尿膜を縫合し，子宮壁も固定具の上部で閉じた（特許出願中，特願2000-372724，特願2000-372725）。

毎日採材の度ごとに，カテーテルのメンテナンスのために，胎子血用カテーテルは2mlの抗生物質（ペニシリン100IU/mlとストレプトマイシン100 μ g/ml）を添加した滅菌生理的食塩水で洗浄し，続いて抗生物質（ペニシリン100IU/mlとストレプトマイシン100 μ g/ml）とヘパリンを添加した滅菌生理的食塩水をカテーテルに満たして封をした。

1頭の胎子（no.12）についてのみ，分娩前に2回血栓溶解剤（rt-PA, 1,200,000IU./2ml/time）をカテーテルのメンテナンスに使用した。他の胎子血用カテーテルや尿膜・羊膜水用カテーテルには，抗生物質を添加した滅菌生理的食塩水を使用した。

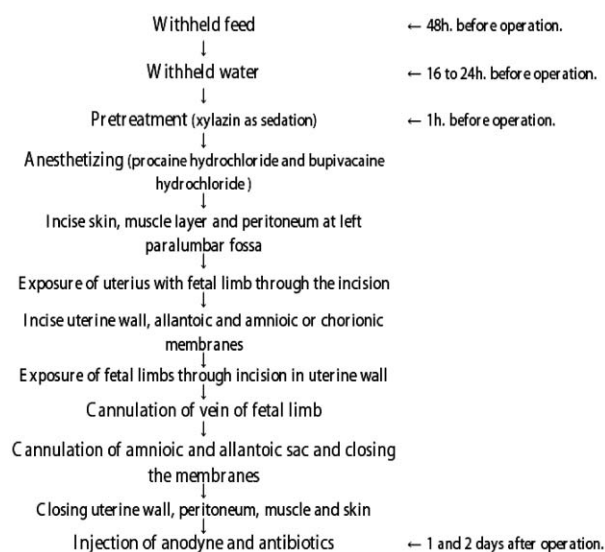


Fig. 4-2. Operating procedure for fetal cannulation under regional anesthesia and care for animal before and after operation.

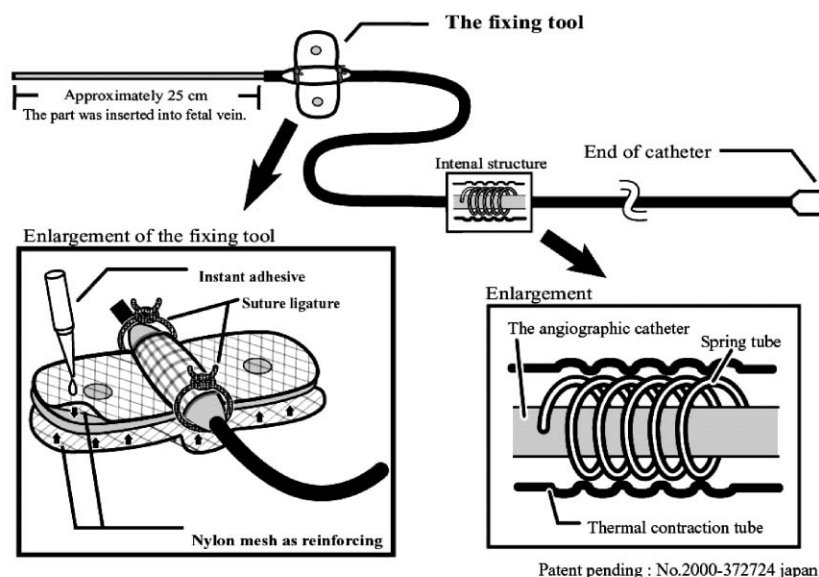


Fig. 4-3. Details of the catheter for collecting fetal blood.

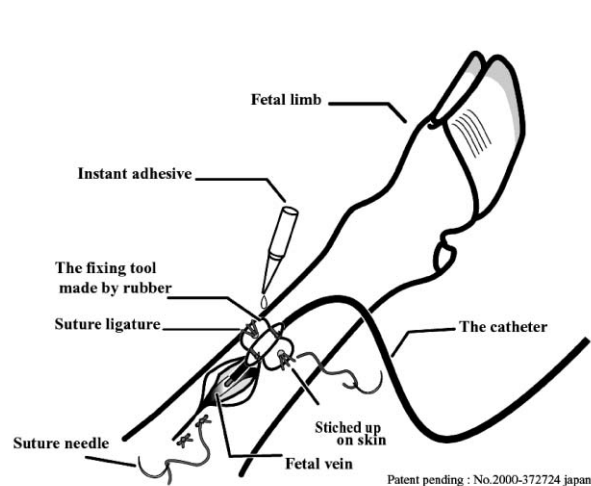


Fig. 4-4. Illustration of catheter fixed to fetal limb.

(3) 採材と分析

胎子では全血で2.8ml/日、親牛では20ml/日を1日1～2回分娩まで、および分娩前後には頻回の採血を行った。親牛と新生子牛から採材は、頸静脈より行った。血液サンプルは、EDTAを加えて、直ちに4℃で遠心分離で得られた血漿を、分析に供するまで-20℃以下で保存した。

カテーテル装着手術の影響を調べるために、母牛と胎子の血漿中コルチゾール濃度を測定した。血漿中コルチゾール濃度はRIA (Ortho-Clinical Diagnostics Inc.) で測定し、全てのデータをt検定で解析した。

3) 結果および考察

妊娠末期の羊に3～5 μg/min/kgのリトドリン塩酸塩を持続的に静脈へ投与すると、子宮が適度に弛緩するこ

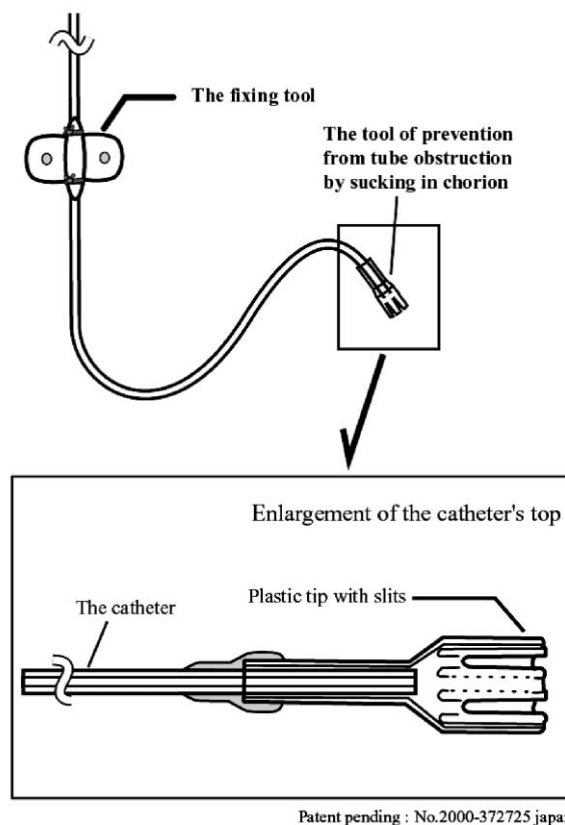


Fig. 4-5. Catheter for fetal fluid with tool to prevent sucking chorion and with fixing tool to prevent catheter from slipping out of uterus.

とが報告 (Fujimoto ら, 1983; Block ら, 1989; Laifer と Rauk, 1993) されている。本試験においてもその場合と同様に、子宮壁越しに胎子の肢をつかみ、胎子の姿勢を制御できるほど、子宮は十分に弛緩していた。供試牛は妊娠 278 ± 7 (mean $\pm$ SD) 日で分娩し、これは正常な妊娠期間の範囲内と考えられた (第4.5表)。

カテーテル A, B, C では、全ての牛で手術後 3 日以上続けてカテーテルから採材することはできなかった。これは、分娩前の絶食からルーメンの容量および運動が術後 2～3 日以内に回復し、臓器の圧迫や運動によってカテーテルが引き抜かれたり、屈折して閉塞したと考えられる。しかし、カテーテル D を使用した 6 頭の牛は、手術後 7 日以上血液サンプルを採取できた。この 6 頭のうち 1 頭は、分娩 36 時間前まで血液を採取でき、3 頭は分娩前 30 分以内まで採血できた。カテーテル D は、スプリングチューブが被覆されているので、内臓に圧されても屈曲するが、屈折することはない。このためカテーテル D では胎子の血液サンプルを 3 日以上続けて採取できることが示唆された。

羊膜水と尿膜水については 1 日 1 回分娩まで完全に採取できたのが 3 頭、1 または 2 日を除いてほぼ毎日採取できたのが 2 頭であった。

カテーテルから採取した血液を測定したところ、母牛と胎子の血漿中コルチゾール濃度は、手術直後は比較的高い濃度であったが、術後 24 時間以内に母牛と胎子の両方において基底値 (Comline ら, 1974; Hunter ら, 1977)

の 10ng/ml 以下に減少した ($P<0.05$)。これは術後 2～3 日の血液サンプルには、手術のストレスの影響がほとんどなく、分析に供することができることを示唆している (第 4-6 図)。

胎子の血漿中コルチゾールは、分娩約 1 週間前から増加し始め、それは母牛の場合よりも早く、また高濃度であった (第 4-7 図)。

コルチゾール濃度のピーク値は、3 頭の胎子／新生子牛で平均 $85.3 \pm 7.2\text{ng/ml}$ (mean $\pm$ SD) であった。娩出の直前にコルチゾール濃度がピークになる牛も、娩出直後にピークになる牛も両方いたが、助産の有無には関係せず、また、いずれもコルチゾールはピークに達した後、急激に減少 ($29 \sim 56\text{ng/ml}$) した。娩出におけるコルチゾール濃度のピークの時間的ずれと、その後の急激な減少は、Hunter ら (1977) や Comline ら (1974) によっても同様に報告されている。

カテーテル D を装着した 7 頭のうち 2 頭は、軽い分娩介助を要したが、5 頭は助産を必要としなかった。この 7 頭のうち 6 頭の新生子牛は、分娩後大変元気であり、また全く正常に成育した。しかし、カテーテルのメンテナ

Table 4-5. Details of catheters and animals

Cow No.	Gestation length at surgery (day)	Outside x inside diameter and length of catheter for fetal blood (mm)	Type of catheter for fetal blood*	Position of catheter	Gravid uterine horn	Duration of collection of fetal blood (day)	Duration of collection of fetal fluid (day)	Gestation length at parturition (days)	Sex of neonate	B.W.of neonate (kg)	Condition of neonate
1	258	1.2x0.7, 700	A	A hindlimb vein#	Left	1	NT	—	—	—	Death for infection
2	258	1.2x0.7, 700	A	An artery on chorion	Left	3	NT	283	M	19.0	Normal
3	239	1.5x0.97, 700	A	An artery on chorion	Right	0	NT	286	F	46.0	Normal
4	255	1.5x0.97, 700	A	An artery on chorion	Right	2	NT	269	F	30.5	Stillbirth
5	255	1.27x0.86, 1000	B	An artery on chorion	Left	1	NT	272	F	23.0	Normal
6	262	1.27x0.86, 1500	C	An artery on chorion	Left	3	NT	—	—	—	Death for accident
7	262	1.27x0.86, 1500	C	A hind limb vein#	Right	1	NT	276	F	21.5	Normal
8	253	1.33x0.95, 1500	C	A left hindlimb vein	Right	1	NT	—	—	—	Death fot dehydrating
9	257	1.33x0.95, 1500	D	A left forelimb vein	Right	15	24	281	M	30.0	Normal
10	251	1.33x0.95, 1500	D	A right forelimb vein	Right	3	NT	267	M	26.0	Normal
11	260	1.33x0.95, 1500	D	A left hindlimb vein	Right	12	11	271	F	19.5	Normal
12*	262	1.33x0.95, 1500	D	A right hindlimb vein	Left	18	18	279	M	21.0	Stillbirth
13	262	1.33x0.95, 1500	D	A right hindlimb vein	Right	11	29	291	M	34.5	Normal
14	255	1.33x0.95, 1500	D	A left forelimb vein	Right	19	NT	273	M	33.0	Normal
15	262	1.33x0.95, 1500	D	A right hindlimb vein	Right	23	12	283	F	31.5	Normal

F : female, M : male.

: Right of left not known.

NT : No tested.

& : treated with rt-PA.

* : A : Polyvinyl tube for indwelling in humans, B : Medical tube made of polyethylene,

C : Angiographic catheter without spring tube, D : Angiographic catheter covered with spring tube.

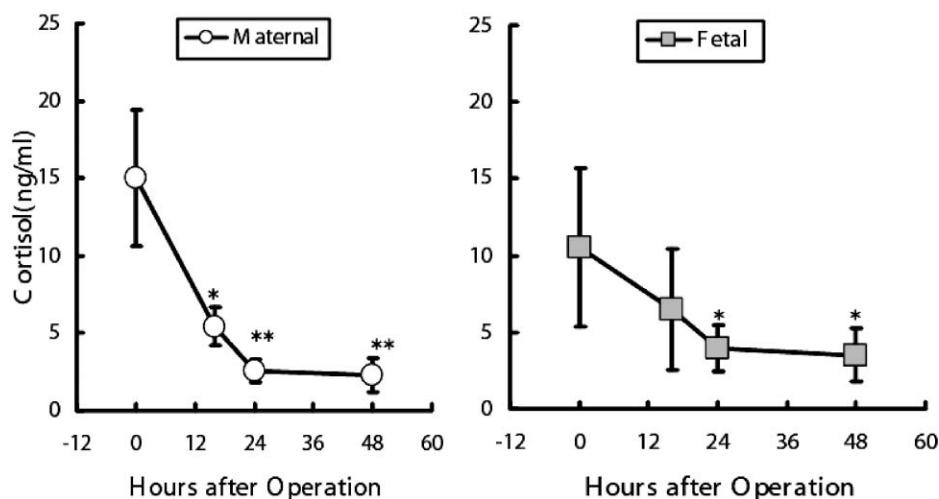


Fig. 4-6. Change in plasma concentrations of maternal and fetal cortisol after operation. (mean±S.E., n=6), * P<0.05 or ** P<0.01 vs respective operation time (0 h).

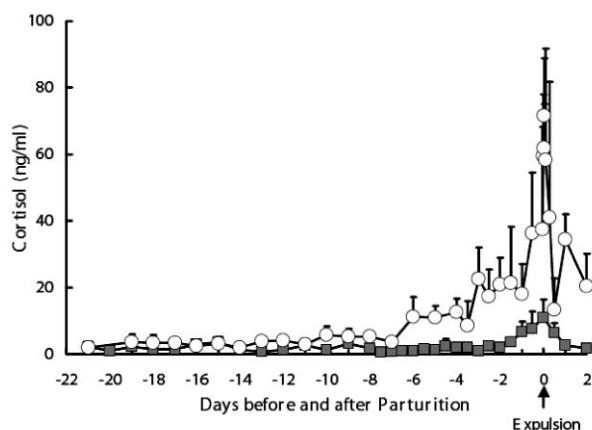


Fig. 4-7. Mean changes in fetal/neonatal (○) and maternal (■) plasma cortisol concentrations before and after parturition.

ンスにrt-PAを使用した1頭は、分娩が正常だったにもかかわらず死産であった。この胎子の血漿中コルチゾール濃度は不規則に変動し、かつ高濃度であり、早期胎盤剥離の可能性が考えられた (France ら, 1988; Ishikawa ら, 1997; Vesce ら, 2001)。このため、rt-PA は、胎子静脈用カテーテルのメンテナンスには使用しない方が望ましいと考えられた。

以上の結果から、この手術方法は胎子カニューレションに有効であり、胎子静脈へのカテーテルは、5Fr, 1.5m の心臓カテーテルにスプリングチューブを被覆したものがもっとも適していることが明らかとなった。また、この方法で採取された血液は、周産期におけるコルチゾール濃度推移を正常値の範囲で測定できることから、牛の周産期における生理活性物質の動態を研究する上で有効であると認められた。

4) 小 括

妊娠牛に生じる様々な生理現象や母子相互関係を明らかにするためには、母牛および胎子の内分泌変化を経時的に捉える必要がある。そこで、妊娠末期の胎子血管および羊・尿膜腔にカテーテルを装着したが、分娩まで連続的に胎子血と羊・尿膜水を採取する方法を確立すべく、用具の検討を行った。妊娠末期牛 15 頭に尾椎硬膜外または腰椎麻酔に局所浸潤麻酔を組み合わせることで、簡易保定枠上で立位のままカテーテル装着手術を行った。胎子血採取では、4 種類のカテーテルを試し、心臓血管カテーテルにスプリングチューブを被覆し、糸掛け具で胎子肢に固定したものが、7 日以上連続して採取が可能であった。そのうち 4 頭が分娩まで採血可能であった。羊・尿膜水については、15 頭中 5 頭にカテーテルを装着し、3 頭で分娩まで完全に採取できた。供試牛は妊娠期間平均 278 日で分娩し、心臓カテーテルを用いた 7 頭のうち、軽い助産を要した 2 頭以外は自然分娩であった。胎子に血栓溶解剤を投与したもの (1 頭) は死産したが、他 6 頭は母子とも正常であった。胎子血漿中コルチゾール濃度は手術直後には高く、術後 24 時間で降下し、手術のストレスは速やかに軽減され、以降の試料を分析に供することができると考えられた。その後は Hunter ら (1977) や Comline ら (1974) の報告と同様の経過をたどり分娩に至った。本研究において検討された手術法および羊・尿膜水用カテーテルは比較的長期間にわたる採取に有効であり、また胎子血の採取には、心臓血管カテーテルにスプリングチューブを被覆したものが最適であることが示された。

V. 交雑種雌牛の分娩予知および分娩制御について

1. 交雑種雌牛の膣温による分娩予知技術の開発

1) はじめに

双子分娩および双子哺育は、交雑種雌牛による肥育素牛生産の効率向上のため、有効な方法である。しかし、双子分娩は事故による新生子牛の事故率が高く、また、それを防ぐための分娩看護には多くの労力が必要である。

また、分娩時刻の予知は、分娩時の事故防止や、新生子牛および母牛の安全に有用である。牛では分娩前に体温が低下する現象が知られており (Graf と Petersen, 1953; Porterfield と Olson, 1957; Ewbank, 1963), この変化を利用した分娩予知の試みは, Duffy (1971), 池滝ら (1982), 藤本ら (1988) によって行われている。Redden ら (1993) と Mosher ら (1990) は、膣温が上昇することを基準にして、発情発見を試みている。しかし、連続体温データからの分娩予知を可能とする基準に関する報告は見当たらない。

前章で明らかになったとおり、膣温は単胎妊娠牛と双胎妊娠牛の分娩前膣温には違いがみられず、分娩後の体重、産次、胎子の性、胎子の体重 (新生子牛の生時体重、双子の場合は同腹子牛の体重の和) による偏りもみられなかった。

そこで本試験では、連続的な膣温データからの分娩時刻予知の新しい基準の確立を試みた。

2) 材料および方法

(1) 膣温の計測

分娩前7日間にわたり、妊娠末期牛の膣温を熱電対センサーによって計測し、データロガー (Data-logger L820, Unipulse Inc.) に収集させた。計測機器の装着方法は第IV章 第1節に詳細を記述した。膣温は毎分ごとに測定し、20分ごとの平均値を記録した。データはデータロガーに蓄積し、分娩後にダウンロードした。36℃以下の膣温は、センサーの抜け落ちや膣壁への密着不良、機器の破損や接触不良などが原因のエラー値として削除した。

(2) 供試動物

交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 経産牛で、人工授精、受精卵移植またはその両方を組み合わせた方法で作出した単胎あるいは双胎妊娠牛を使用した。子牛の品種は黒毛和種、交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) またはF1クロス (黒毛和種×交雑種) であった。膣温の連続データは分娩6日前 (d -6) から分娩日 (d 0) まで

6時間以上のエラーデータがない31頭から得られた値を使用した。これらのうち18頭が単胎妊娠で、13頭が双胎妊娠であった。供試牛は分娩房 (3m × 3m) で飼養し、適切な量の水と飼料を給与した。供試牛のうち、何頭かは軽い助産が必要であったが、単子、双子とも全頭健全な子牛が娩出された。

(3) 統計手法

膣温は、分娩日を基準とする分娩6日前 (d 0, -1, -2, -3, -4, -5, -6) まで遡って、その分散をSASにより解析した。前処理として、分娩6日前 (d -6) から分娩日 (d 0) までは、膣温に影響を与える要因についてPROC MIXED MODELのTukey's検定をかけた。その結果、日の経過による影響がみられたので、日ごとの比較をPROC GLMでScheffe's testを使い、Chronological variationの解析をしたところ、分娩3日前 (d -3) から分娩6日前 (d -6) までは日の経過による影響がみられなかった。単胎妊娠牛と双胎妊娠牛の分娩前膣温には違いがみられず、分娩後の体重、産次、胎子の性、胎子の体重 (新生子牛の生時体重、双子の場合は同腹子牛の体重の和) による偏りもみられなかった。

(4) 分娩予知のための膣温解析

31頭の牛の膣温が下がり始めた時刻から、娩出するまでの時間を調査した。分娩前の膣温が低下し始める時刻は、二つの方法で決定した。一つは“Same hours method (同時刻法)”で、前日と同時刻の膣温を比較し、膣温が0.3℃あるいは0.5℃以上低下した状態が3時間以上続いたときに、膣温が低下し始めたと判断する方法である。d -6からd 0までの膣温は、前の日と同時刻 (00:00から23:40まで) の膣温を20分ごとに比較し、下がり始めた時間を算出した。もう一つは、“Maximum-minimum method (最大・最小値法)”で、前日 (00:00から23:40まで) の膣温の最大値かまたは最小値を、当日の最大値あるいは最小値とそれぞれ比較したとき、0.3℃あるいは0.5℃以上低下した場合に、膣温が低下した、と判断する方法である。この結果から、“同時刻法”で膣温が下がり始めてから36, 48, 60, 72時間以内、または“最大・最小値法”で48, 72時間以内に31頭の牛が娩出する確率を算出した。

(5) 分娩予知の実証

4頭の単胎妊娠末期牛を用い、“同時刻法”で0.3℃以上膣温が低下した時に60時間以内、“最大・最小値法”では0.3℃以上膣温が低下したときに72時間以内に娩出が起こるかどうか検証した。膣温は、分娩予定日の7日前からデータロガーで収集し、データは日に1度排出し

て、前日のデータとの比較を行った。

3) 結果および考察

膣温による牛の分娩予知

Redden ら (1993) と Mosher ら (1990) は、その日の膣温が、3 日前の膣温に比べ、連続して 3 時間以上 0.3℃ 上昇した場合に発情とすることを基準にして、発情発見を試みた。本試験では、彼らの方法を応用して、膣温が連続して 3 時間以上低下することを分娩直前における膣温低下の基準とした。

単胎妊娠牛では、0.3 または 0.5℃ 以上膣温が低下し始めるのは、娩出前 2183 (36 時間 23 分) または 1782 分前 (29 時間 42 分) で、双胎妊娠牛では、それぞれ 1783 (29 時間 43 分) または 1501 分 (25 時間 1 分) であった (第 5-1 表)。これらの結果には子牛の性、生時体重や単胎か双胎かの違いによる差はみられなかった。

膣温が低下し始めてから供試牛が娩出するまでには、どれくらいの時間が必要であるかを調べるために、“同時刻法”を使って、31 頭の牛の推定分娩予知率を計算した (第 5-2 表)。前日の同時刻の膣温に比べて連続して 3 時間以上 0.3℃ 以上膣温が低下したとき、膣温が低下し始めてから 60 時間以内に全頭が娩出していた。

“最大・最小値法”では前日の最大値、または最小値

が当日とそれぞれ比べて 0.3℃ 以上低下した場合、全頭が 72 時間以内に、92.3% が 48 時間以内に娩出していた (第 5-2 表)。

この結果から、それぞれの方法で最も高い娩出率の基

Table 5-1. Average of the starting time from expulsion, when the vaginal temperature (VT) was decreased over 0.5 or 0.3℃

Pregnancy Status	Fetal sex	(n)	≥ 0.5℃		≥ 0.3℃	
			Minutes	SD	Minutes	SD
			(Hours)		(Hours)	
Singles	Total	(18)	1782 (29.7)	503 (8.4)	2183 (36.4)	697 (11.6)
	M	(8)	1464 (24.4)	638 (10.6)	1577 (26.3)	460 (7.7)
	F	(10)	1517 (25.3)	417 (7.0)	1887 (31.4)	615 (10.2)
Twins	Total	(13)	1501 (25.0)	471 (7.9)	1783 (29.7)	574 (9.6)
	MM	(4)	1966 (32.7)	903 (15.1)	2000 (33.3)	799 (13.3)
	FM	(6)	1700 (28.3)	212 (3.5)	2452 (40.9)	863 (14.3)
	FF	(3)	1707 (28.4)	428 (7.1)	2030 (33.8)	863 (14.4)

M = male, F = female, MM = male twins, FM = one female and one male twin, FF = female twins.

Table 5-2. Number of cows calved within 36, 48, 60, or 72 hours, after the decreasing of vaginal temperature was detected by “Same hours method” and “Maximum-minimum method†”

Status (n)		Number of cows calved (Probability)							
		Within 36 h		Within 48 h		Within 60 h		Within 72 h	
		≥ 0.3℃	≥ 0.5℃	≥ 0.3℃	≥ 0.5℃	≥ 0.3℃	≥ 0.5℃	≥ 0.3℃	≥ 0.5℃
Same hours method									
Single (18)		15 (83.3%)	15 (83.3%)	17 (94.4%)	17 (94.4%)	18 (100%)	17 (94.4%)	18 (100%)	17 (94.4%)
Twin (13)		8 (61.5%)	8 (61.5%)	10 (76.9%)	10 (76.9%)	13 (100%)	10 (76.9%)	13 (100%)	10 (76.9%)
Maximum-minimum method									
Singles (18)	Max. ‡	— (—)	— (—)	13 (72.2%)	8 (44.4%)	— (—)	— (—)	16 (88.8%)	8 (44.4%)
	Min. ‡	— (—)	— (—)	12 (66.7%)	9 (50.0%)	— (—)	— (—)	14 (77.8%)	12 (66.7%)
	Max. or Min. ‡	— (—)	— (—)	15 (83.3%)	13 (72.2%)	— (—)	— (—)	16 (88.8%)	13 (72.2%)
Twins (13)	Max. ‡	— (—)	— (—)	11 (84.6%)	10 (76.9%)	— (—)	— (—)	12 (92.3%)	9 (69.2%)
	Min. ‡	— (—)	— (—)	3 (23.1%)	2 (15.4%)	— (—)	— (—)	10 (76.9%)	5 (38.5%)
	Max. or Min. ‡	— (—)	— (—)	12 (92.3%)	10 (76.9%)	— (—)	— (—)	13 (100%)	12 (92.3%)

† To detect maximum and minimum values of the day, the number of cows and the probability were calculated “within “48” or “72” hours”. Not calculated within “36” or “60”.

‡ Method to select data.

準を用いて、実際に分娩予知を試みたところ、“同時刻法”では全頭の牛を、“最大・最小値法”では、75%の牛の分娩を予知することが可能であった（第5-3表）。4頭中3頭の牛で、分娩日を含まず4日以上の上昇データを収集でき、残り1頭は3日間しか収集できなかった。同時刻法”では、3日しかないデータからも体温低下ポイントを検出できたが“最大・最小値法”では、検出できなかった。

Dufty (1971), 池滝ら (1982) と藤本ら (1988) は、分娩までの体温を1日2回（朝と夕方決まった時間）だけ毎日計測している。これらの報告では、体温は、個々の牛によっても異なり、環境温度、飼料形態によっても影響を受けることを示している。このため、より正確に分娩時刻を計算するためには、より多くのデータが必要である。本試験では、この点を改善し、“同時刻法”は“最大・最小値法”よりも高い分娩予知率を得られ、分娩前の体温低下開始時刻も分単位の精度で検出できた。体温は主に摂食の影響を受けるので（鎌田ら, 1984）、体温のサーカディアンリズムは摂食行動（摂取速度や摂食衝動）によって変化すると推測された。もし、体温のサーカディアンリズムが日々変化するようであれば、前日の体温と20分ごとに比較する“同時刻法”では、体温の低下開始を検出することは難しいであろうと予想された。さらに、“同時刻法”では、前日の体温との比較のため、エラーのない連続したデータが必要であり、比較的長期間の連続測定、特に放牧やルーズバーン飼養のような拘束されていない牛を使う場合、しばしば機器の故障や事故が起こる可能性があった。“最大・最小値法”は、“同時刻法”に比べれば、一日の詳細な連続データを必要としない。このため、“最大・最小値法”の方が、“同時刻法”よりも有効であると期待された。しかしながら、本実証試験では予想に反して、“同時刻法”により全4頭の牛から体温低下開始時刻を検出できた。“最大・最小値

法”は、詳細な連続データは必要ではなかったが、測定開始から分娩日まで、最低4日以上の上昇期間が必要であった。このため、“最大・最小値法”は、“同時刻法”の補助的な役割で使用する方が良いと考えられた。

4) 小 括

31頭の交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）の分娩6日前（d-6）から分娩日（d0）まで、連続的に体温を測定し、分娩前の体温低下の開始時刻を2つの方法によって検出した。1つは“Same hours method（同時刻法）”で、前日と同時刻の体温を比較し、体温が0.3℃あるいは0.5℃以上低下した状態が3時間以上続いたときに、体温が低下したと判断する方法である。もう一つは、“Maximum-minimum method（最大・最小値法）”で、前日の体温の最大値かまたは最小値にそれぞれ比較して、当日の最大値あるいは最小値が0.3℃あるいは0.5℃以上低下した場合に、体温が低下したと判断する方法である。この二つの方法を使って実証試験を行ったところ、“同時刻法”の方が分単位で詳細に体温低下時刻を検出することが可能であり、また“最大・最小値法”よりも高い確率で分娩予知が可能であった。

2. 交雑種雌牛の夜間給餌による分娩時刻制御

1) はじめに

牛の体温が分娩前に低下する現象は昔から知られており（Wrenn ら, 1958；Ewbank, 1963；Dufty ら, 1971）、前節ではその現象を利用した分娩予知方法を開発した。このように母牛の体温は、牛の分娩を研究する上で重要であるが、体温は日周変動により大きく変動しやすく、牛の体温に影響をおよぼす要因は多数ある（Yarney ら, 1982；Pennington と Albright, 1985；Stevenson, 1989）。そのうちの一つは給餌であり（Lowman, 1981；Jeffrey, 1989）、夜間給餌によって牛の分娩が昼間に偏ることが報告されている（Lowman ら, 1981；Yarney ら, 1982；Stevenson, 1989）。しかしながら、その機構は明らかにされておらず、また分娩時刻と給餌時刻は関係ないという報告（Edwards, 1979；Pennington と Albright, 1985）もある。また、体温は代謝水準を反映（Gazzola ら, 1995）するといわれ、個体によって基礎体温が異なる（Dufty, 1971；池滝ら, 1982；藤本ら, 1988）ので、変動する体温に応じた適切な解析法が必要である。

周期的に変動するデータを最小二乗法によってコサイン曲線に当てはめる Cosinor 法は、Halberg (1969) によって提唱され、生物学的リズムの定量的評価を表すのに優れ

Table 5-3. Details of animals used for the verification experiment and prediction probability of the parturition time by “Same hours method” and “Maximum-minimum method”

Number of cows	Number of cows calved (Probability)					
	Maternal wt, kg		Parity times		Same hours method	Maximum-minimum method
	Avg	SD	Avg	SD	Within 60 h	Within 72 h
4	570	117	4.0	3.6	4 (100%)	3 (75%)

ており、最近では血圧や心拍数の解析によく用いられている (Ichimaru, 1993; Tabata ら, 2000; Halhuber ら, 2002)。この方法は、周期的に変化するデータの解析に使用でき、体温のように変動するデータの解析に適していると言われている (鎌田ら, 1984; 柏村ら, 1994; Giuseppe と Giovanni, 2002)。

本試験では、本当に給餌時刻が分娩時刻に影響をおよぼすのか否かを検証し、分娩予知よりもより能動的に分娩時刻を制御する方法を試みた。そして、数種の飼料を牛に給餌した試験によって、給餌時刻が分娩時刻に影響する要因を解析し、さらに Cosinor 法を用いて体温の生物のリズム解析を行い、分娩時刻制御の機構を解明する方法を検討した。

2) 材料および方法

(1) 供試動物

69 頭の単胎あるいは双胎妊娠している交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 経産牛および6頭の未經産交雑種牛を用いた。供試期間中は、供試動物を個別の分娩房内 (3m×3m) で繋留することなく飼養した。敷料は、供試牛が食べないようにおがくずを使用した。供試牛の産次、体重と分娩時刻を記録した。本試験では、分娩時刻について 07:00 から 19:00 までを昼間、19:00 から翌朝 07:00 までを夜間とした。

(2) 給餌試験と試験区

試験期間中は、日本飼養標準・肉用牛 (2000) の推奨値を満たすような TDN 量の飼料を給与した。

給餌回数は以下のとおりに設定した。

- (1) 1 日 2 回給餌：1 日のうち 08:30 と 15:30 に給餌し、供試牛は 24 時間自由に飼槽から飼料を摂取することができた。
- (2) 夜間給餌：飼料は毎日 18:00 に 1 日量を一括して給与し、供試牛は 18:00 から翌 08:00 までしか飼料を摂取できず、残滓は、大抵はきわめて少ない量であったが、完全に除去した。既報告では、夜間給餌の時刻が 15:00～22:00 と幅があった (Lowman ら, 1981; Pennington と Albright, 1985; Jeffrey, 1989) ので、本試験では、夜間給餌の時刻をこの幅のほぼ中間の 18:00 に設定した。

飼料の構成は以下のように設定した。

- (1) 粗飼料多給：1 日の TDN 量のうち 70% が粗飼料 (オーチャードグラスまたはイタリアンライグラス乾草) で、30% が配合飼料で構成された飼料。
- (2) 配合飼料多給：1 日の TDN 量のうち 40% が粗飼料

で、60% が配合飼料で構成された飼料。

給餌試験は同一の飼料給与期間が分娩まで少なくとも 10 日以上続くようにし、給餌試験が始まる前は、全ての供試牛は 1 日 2 回粗飼料多給飼料を給与された。飼料構成や試験区、供試動物の詳細は第 5-4 表に示した。試験区は次のように設定した。

trial 1：19 頭は 1 日 2 回粗飼料多給 (TR 区) 飼料を給与された。黒毛和種の妊娠期間は 285 日 (Shimada ら, 1992; Suzuki ら, 1998) と計算されるのが一般的である。以前の報告 (Suzuki ら, 1998) で、多胎および単胎妊娠の交雑種牛のほとんどが、それぞれ 275～289 と 290～294 日の妊娠期間であった。給餌試験を少なくとも 10 日以上行うため、単胎妊娠牛では分娩予定日の 10 日前、双胎妊娠牛では分娩予定日の 3 週間前から試験飼料の給与を行った。供試牛は全頭同じ給餌方法、飼料であり、供試牛同士はお互い見ることができた。

trial 2：19 頭の牛を無作為に 4 つの試験飼料給餌区に割り振った。そのうち 4 頭は分娩までコントロールと同じ飼料のまま、1 日 2 回粗飼料多給 (TR 区) を継続した。3 頭は、夜間給餌で粗飼料多給 (NR 区) で、5 頭は 1 日 2 回配合飼料多給 (TC 区)、そして 7 頭は配合飼料多給で夜間給餌 (NC 区) を行った。違う給餌区の牛同士は隣の分娩房で飼養され、お互いを見ることができた。

trial 3：全牛 (n=37) は夜間 (18:00) に給餌され、無作為に 2 つの試験区に割り振られた。そのうち 24 頭は粗飼料多給 (NR 区) で、残りの 13 頭 (うち 6 頭は未經産牛) は配合飼料多給 (NC 区) であった。それぞれの試験区の供試牛は試験区別に飼養し、お互いが見えることはなかった。trial 2 では予定日より早く分娩する牛がみられたので、trial 3 では trial 2 より給餌試験を早く開始し、単胎妊娠牛は分娩予定 3 週間前、双胎妊娠牛は分娩予定 4 週間前とした。

(3) 膣温の測定

測定方法：供試牛の膣温は、熱電対センサーで測定し、データロガー (Data-logger L820, Unipulse Inc.) で収集した。膣温は毎分ごとに測定し、20 分ごとの平均値を記録した。データはデータロガーに蓄積し、分娩後にダウンロードした。36℃ 以下の膣温は、センサーの抜け落ちや膣壁への密着不良、機器の破損や接触不良などのエラー値として削除した。

(4) 膣温の数学的解析

膣温データは予め正規分布をしているか D'Agostino &

Table 5-4. Composition of diets, feeding time, parity, body weight of dams and time of parturition in trial 1, 2 and 3

							Time of parturition	
							Day N [‡] (%) [#]	Night N [‡] (%) [#]
Composition of diet	Feeding time	Treatment [†] (N)	Parity Ave. ± SE	Bw, kg Ave. ± SE	Term of treatment day, Ave. ± SE			
Concentrate : Roughage								
———— % TDN ————								
Trial 1								
30	70	Twice daily	TR (19)	5.9 ± 0.5	537 ± 16	17 ± 1.3	9 (47.4)	10 (52.6)
Trial 2								
30	70	Twice daily	TR (4)	4.5 ± 2.1	567 ± 35	26 ± 7.3	2 (50.0)	2 (50.0)
30	70	Night feeding	NR (3)	6.3 ± 2.2	552 ± 30	18 ± 2.3	1 (33.3)	2 (66.7)
60	40	Twice daily	TC (5)	7.6 ± 0.2	548 ± 29	18 ± 2.0	3 (60.0)	2 (40.0)
60	40	Night feeding	NC (7)	5.1 ± 1.0	554 ± 33	17 ± 2.3	1 (14.3)	6 (85.7)
Trial 3								
30	70	Night feeding	NR ^a (24)	6.2 ± 0.7	560 ± 18	22 ± 1.6	19 (79.2)	5 (20.8)
60	40	Night feeding	NC ^b (13)	3.2 ± 1.1	600 ± 27	18 ± 1.6	5 (38.5)	8 (61.2)

[†] TC = the cows fed twice daily high-concentrate diets; TR = the cows fed twice daily high-roughage diets; NC = the cows fed a high-concentrate diet at night; NR = the cows fed a high-roughage diet at night.

[‡] Number of cows.

[#] Rate of day or night parturition within same dietary treatment.

^{a,b} Treatment with different superscripts are different rate of day parturition by Fisher's exact test ($P < 0.05$).

Pearson test (D'Agostino, 1986) で検定し、それから Cosinor 法 (Halberg, 1969, 1980; Hildebrand ら, 1984) で解析した。本試験では、cosine 曲線を次のように表し、

$$y = M + A \cos(\omega t + \theta)$$

データを最小自乗法で当てはめ、日周リズムは各パラメータ (MESOR: midline-estimating statistic of rhythm, amplitude, acrophase と bathyphase) によって定義した。

この方程式で M は “MESOR” : 算術的平均値を表し、MESOR は amplitude (振幅) を分割する基線に相当する。

A は “amplitude” (振幅) で、最大値と最小値の半分に相当する。 θ は “acrophase” で、適合曲線の最大値を取る時間で、“bathyphase” は、最小値を取る時間を表す (Tabata ら, 1999; Giuseppe と Giovanni, 2002). acrophase と bathyphase は、例えば第 5-1 図のように、計算された曲線の図を描き、それぞれ当てはめて確認を行った。 ω は角周波数で、リズム変動における完全な 1 周期の期間を意味する。膣温の日周リズムに給餌時間が影響することを考慮して (鎌田ら, 1984; 柏村ら, 1994), 角周波数の値は、周期を探すために 10 時間から 36 時間まで 20 分ごとに異なった試験周期 (trial period) を当てはめた。そして、決定係数が最大値になったときの角周波数に使用した試験周期を、曲線にもっとも適合率が高い値として、“periodicity (周期)” とした。

Cosinor 曲線は、zero-amplitude test (Tong, 1976; Nelson

ら, 1979; Halberg, 1980) で検定し、誤差の二乗和から直接に適合率を求めた (Nelson ら, 1979; Ichimaru, 1993; 柏村ら, 1994)。この適合率が 0.05 より小さいとき、曲線は適合していると判断し、解析に使用した。

膣温データは給餌試験と分娩のために日々変動していくことが予想され (Wrenn ら, 1958; Ewbank, 1963; Dufty ら, 1971; 鎌田ら, 1984; 柏村ら, 1994), 実際、24 時間の single cosinor 法よりも、経時の変化を cosine 方程式に反映させる必要があった。そこで、48 時間で区切り、24 時間ごとのデータを当てはめる (Halberg, 1980) 方が良く適合したので、本試験では、48 時間 serial section 法 (Halberg, 1980; Cornélissen と Halberg, 1998) で解析を行った。48 時間のデータを使用して計算するときは、たとえば、分娩 8 から 7 日前のデータを使用するとき、計算された曲線のパラメータは “分娩 8 日前 (d 8)” と記録した。次の “分娩 7 日前 (d 7)” のデータは 24 時間の間隔でずらして分娩 7 から 6 日前のデータを使用した (第 5-1 図)。分娩時刻と給餌試験との関係は、cosinor 曲線のパラメータの変化で分析した。

(5) 給餌試験前後の膣温変化の解析

給餌試験開始前後の膣温の変化を解析するために、trial 3 の 37 頭中 20 頭の牛の膣温を 10 日間連続して収集した。給餌試験開始 2 日前を d -2 とし、夜間給餌試験開始日を d 0、夜間給餌試験開始 7 日後を d 7 としている。夜間給餌までは、供試牛は 1 日 2 回給餌を 1 か月以上給

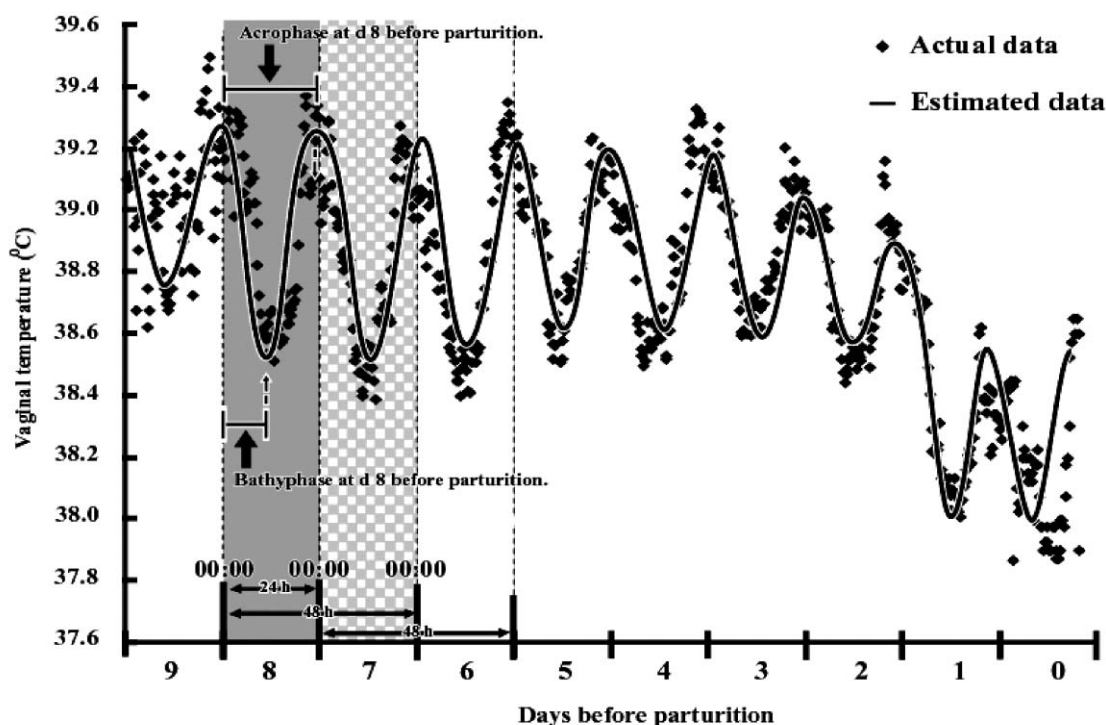


Fig. 5-1. An example of the observed and estimated vaginal temperature. The actual data are one cow that was calved at night-time under night-fed treatment. Estimated data are calculated by cosine curve that fitted actual data with 48 h serial section, shifted with 24 h intervals. Solid line represents the curve line passing through the points of the data that were estimated by the cosinor method with a serial section of 48-h time series. For example, the estimated data in gray zone were calculated by the use of actual data from d 8 to 7 (48 h). Similarly, data in gray checked zone were calculated by actual data of d 7 to 6.

与されていた。1日2回粗飼料多給の牛は、夜間給餌で粗飼料多給区 (NR 区) に、1日2回配合飼料多給の牛は、夜間配合飼料多給区 (NC 区) とした。膣温の解析は、給餌区を分娩時刻ごとに分けて行った: NRD 区 (n=8); NR 区で昼間分娩した牛, NRN 区 (n=4); NR 区で夜分娩した牛, NCD 区 (n=3); NC 区で昼間分娩した牛 (1頭の未経産牛を含む), NCN 区; NC 区で夜分娩した牛 (2頭の未経産牛を含む)。給餌試験が始まった時, NRD 区, NRN 区, NCD 区と NCN 区の平均分娩前日数は、それぞれ 20 ± 2.4 , 29 ± 6.9 , 16 ± 4.3 , 19 ± 0.9 (平均 $\pm$ SE) 日であった。Serial section 法の性質上、給餌試験2日前から1日前までのデータは d-2、給餌試験1日前から給餌試験開始日までのデータを d-1、給餌試験開始日から給餌試験1日後のデータを d 0 (以下 d 7 まで同上) と略した。

(6) 膣温の分娩前変化の解析

trial 2 の TR 区 牛 (n=17)、trial 3 の NR 区 牛 (n=11) と NC 区 牛 (n=7) の娩出から 10 日前 (d 0 から d 10) まで連続して膣温を収集した。膣温は分娩時刻によって、給餌区を分けて解析を行った。TRD:TR 区の牛で昼間分娩 (n=8)。TRN:TR 区の牛で夜分娩 (n=9)、NRD:NR 区

の牛でひる分娩 (n=8)。NRN:NR 区の牛で夜分娩 (n=3)。NCD:NC 区の牛で昼分娩 (n=3, うち 2 頭は未経産)。NCN:NC 区の牛で夜分娩 (n=4, うち 2 頭は未経産)。給餌試験開始前後の膣温変化の解析と同様に、分娩 8 日前 (d 8) と 7 日前 (d 7) のデータを使った場合は d 8 と略して記載する。

(7) その他の統計的手法

trial 1, 2, 3 の産次と体重、試験給餌期間 (日数) は SAS (Statistical Analysis System, SAS Inst., Inc., Cary, NC) の ANOVA と t 検定により解析した。昼間分娩と夜分娩の頭数は、Fisher's exact test で比較した。牛の体温に影響を与える要因は種々あると報告されているが (Kelly, 1974; Chikamune ら, 1986; Mosher ら, 1990)、本試験では、産次、分娩後体重、給餌試験からの経過日数および分娩までの経過日数を要因として検討した。産次や体重、日数の経過、試験区のようなパラメータに影響を与える要因とそれらの相互作用は SAS の PROC Mixed Model の Tukey's studentized range test で解析した。試験区別の主要効果は slice オプションを使用した。試験区内の日数によるパラメータは PROC Mixed Model の contrast statement に多重比較の Scheffe's multiple range test を組み合わせ、

時間的変異を解析した。日数によるそれぞれのパラメータの傾向を捉えるために、パラメータと給餌を変更した日数、パラメータと分娩前日数の相関係数をSASのPROC CORRで計算した。

3) 結果および考察

(1) 給餌の違いが分娩時刻におよぼす影響

試験区間 (trial 1 ~ 3) において産次や母牛の体重、試験給餌期間による分娩時刻の差はみられなかった (第5-4表)。trial 1の19頭中9頭は昼間に分娩し (47.4%)、残りの牛は夜分娩した (52.6%)。trial 2では昼間分娩：夜分娩は、TC区で60.0%:40.0%、TR区では50.0%:50.0%、NC区では14.3%:85.7%、NR区では33.3%:66.7% (第5-4表)であった。全頭が夜間給餌のtrial 3では、NR区の79.2%が、NC区の38.5%が昼間に分娩した。そして昼間分娩する頭数はNR区の方がNC区より多かった ($P<0.05$) (第5-4表)。

既報告 (Pennington と Albright, 1985) の結果と同様に、trial 1, 2では1日2回給餌の牛は分娩時刻が昼間と夜ほぼ同じであった。一方、trial 3では、既存の報告 (Lowman ら, 1981; Yarney ら, 1982; Stevenson, 1989) と同様に、夜間給餌によりほとんどの牛が昼間に分娩した。しかし、trial 2では、夜間給餌にもかかわらず、粗飼料多給区も配合飼料多給区も昼間に分娩が偏ることがなかった。飼料を与えられていない牛が、給餌されている牛を見た場合、特に空腹時間が長い夜間給餌牛が、昼間に餌を与えられている牛を見たとき、激しく興奮した。trial 2では、夜間給餌によって昼間に分娩を偏らせることはできなかったが、これは視覚的ストレスが原因である可能性がある。そのため、trial 3では全ての牛を夜間給餌で飼養したところ、79.2%の牛が昼間に分娩した (第5-4表)。

羊 (Sharafeldin ら, 1971) とラット (Bosc ら, 1986) では、配合飼料を摂食する周辺時間には分娩率が少ないという報告があるが、飼料の構成と牛の分娩時刻との関係を検討した報告は見当たらない。このため、trial 3では飼料構成が牛の分娩時刻に与えるかどうか検討した。Sharafeldin ら (1971) は、摂食時間に分娩が起これにくいのは、飼料に対する競争的闘争行動 (これはオキシトシンの動態に拮抗するアドレナリンの分泌を誘導する) が関係しており、このため陣痛が遅延するということを提言している。加えて、飼料の物理的性状が羊の反芻胃に影響をおよぼしていることも報告されている (Deswysen ら, 1978)。本試験では、粗飼料多給の夜間

給餌で比較的高い昼間分娩率を得られた。夜間給餌牛のうち粗飼料を多給された牛は、ほとんどが真夜中までに集中して飼料を食べきっていた。それに比べ、配合飼料多給の牛では、多くの牛が与えられた飼料のうち配合飼料だけを先に摂食し、そののち真夜中まで摂食を中断した。その後、明け方に残りの飼料を食べることがあった。trial 3での配合飼料構成によって夜間給餌でも昼間分娩率が異なる結果は、これらの摂食行動に原因がある可能性がある。また、Lowman ら (1981) は、22:00の夜間給餌で79%の牛が昼間に分娩しており、これらの牛は主に摂食に時間がかかる粗飼料を摂取していたと報告している。しかしながら、反芻運動や摂食時間と分娩時刻との影響については、乾草とヘイレージを比較した羊での試験の報告しか見当たらず、そこでHudgens ら (1986) は、物理性状が異なる飼料を与えても分娩時刻に影響はなかったと報告している。配合飼料を多給した夜間給餌では、なぜ分娩が昼に偏らないのかについては、今後研究が必要である。

(2) 給餌の違いが牛の体温に与える影響

給餌試験開始前後の体温に対して、分娩後体重は影響がみられなかったが、一方、産次はパラメータや、試験区における体温のパラメータと産次の相互作用対し影響がみられた。しかしながら、未経産牛と経産牛のパラメータ間には差はみられず、試験区間に産次の偏りもみられなかった。

trial 3において、体温のperiodicity (周期) には、日の経過と給餌の影響がみられ ($P<0.05$)、夜間給餌開始前後では違いがみられた (d -2, -1 vs. d 1, 2, 3, 4, 5; $P<0.05$)。amplitude (振幅) は、給餌による効果がみられ ($P<0.01$)、給餌と日の経過の相互効果もみられた ($P<0.05$)。acrophaseでは日の経過 ($P<0.05$)、bathyphaseは、日の経過 ($P<0.05$) と給餌 ($P<0.05$) の効果がみられた。給餌方法が変わってから6日まで、periodicity, amplitude, acrophaseとbathyphaseは、日の経過の影響を受け ($P<0.05$)、不規則に変動した (第5-5表)。

NRN区牛のamplitudeは、NRD区 ($P<0.01$)、NCD区 ($P<0.01$)、そしてNCN区 ($P<0.01$) の牛に比べて高く、またNRD区牛はNCN区牛 ($P<0.05$) より高かった。また、NRD区のbathyphaseは、NCN区より遅かった ($P<0.05$) (第5-6表, 第5-2図)。

さらに分娩前の体温では、MESORが日の経過 ($P<0.05$) と給餌 ($P<0.01$) の影響を受け、amplitudeは給餌の影響を受けた ($P<0.01$) (第5-7表)。

NRN区牛のMESORはNRD区 ($P<0.01$)、NCN区 ($P<0.05$)、

Table 5-5. Probability of main effects and its relationship between the parameters fitted cosinor curve for variations of vaginal temperature around the initiation of night feeding (2 days before to 8 days after), and comparison the elapse of the day for the parameters in the Trial 3

Effect of factors†	Probability for parameter				
	Periodicity	MESOR	Amplitude	Acrophase	Bathyphase
Day	0.0860	0.9964	0.2421	0.0155*	0.0130*
Treatment	0.9785	0.1431	0.0001**	0.1462	0.0438*
Day and Treatment	0.0155*	1.000	0.0017*	0.3945	0.8859
Comparison of the day before and after changing diets (day versus day) for parameter					
	Parameter				
	Periodicity	MESOR	Amplitude	Acrophase	Bathyphase
	-2 vs. 2*		0 vs. 7*	-2 vs. 7**	-2 vs. -1*
	-2 vs. 4*		1 vs. 6*	-1 vs. 6*	-2 vs. 4*
	-2 vs. 6*		1 vs. 7*	-1 vs. 7**	-2 vs. 5*
	-2 vs. 7**		2 vs. 7*	0 vs. 7**	-1 vs. 6*
	-1 vs. 7**		3 vs. 7*	1 vs. 6*	-1 vs. 7**
	2 vs. 3*		4 vs. 7*	1 vs. 7**	0 vs. 7**
	3 vs. 4*		4,5 vs. 6,7**	2 vs. 7**	1 vs. 7*
	0 vs. 7**		5 vs. 6,7**	3 vs. 6*	2 vs. 7**
	1 vs. 7**			3 vs. 7**	3 vs. 7*
	2 vs. 7*			4 vs. 6*	4 vs. 6**
	3 vs. 6*			4 vs. 7**	4 vs. 7**
	3 vs. 7**			5 vs. 6*	5 vs. 6*
	4 vs. 7*			1, 2, 3 vs. 4, 5, 6, 7*	4 vs. 5, 6, 7*
	-2, -1 vs. 1, 2, 3, 4, 5*			4 vs. 5, 6, 7*	4, 5 vs. 6, 7**
	1, 2, 3 vs. 4, 5, 6, 7**			4, 5 vs. 6, 7**	5 vs. 6, 7**
	4, 5 vs. 6, 7*			5 vs. 6, 7**	
	5 vs. 6, 7**				

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

vs. : versus.

†Effects of elapse of the day (day), dietary treatment (treatment) and both relationship were analyzed mixed model procedure.

Table 5-6. Parameters of the cosinors curve fitted to variations in the vaginal temperature over 10 days around the initiation (2 days before to 8 days after) of night feeding pregnant beef cows (Data from trial 3)

Parameter	Treatment [#]	N [†]	Mean	SEM
Periodicity, hours	NRD	8 (70)	22.6	0.42
	NRN	4 (32)	22.7	0.63
	NCD	3 (27)	22.5	0.70
	NCN	5 (39)	22.4	0.57
MESOR, °C	NRD	8 (70)	38.43	0.07
	NRN	4 (32)	38.28	0.10
	NCD	3 (27)	38.58	0.11
	NCN	5 (39)	38.53	0.09
Amplitude, °C	NRD	8 (70)	0.3054 ^a	0.0137
	NRN	4 (32)	0.4430 ^b	0.0203
	NCD	3 (27)	0.2938 ^{ac}	0.0224
	NCN	5 (39)	0.2259 ^c	0.0184
Acrophase, 分 minutes	NRD	8 (70)	1363.4	26.5
	NRN	4 (32)	1371.8	39.3
	NCD	3 (27)	1308.9	43.2
	NCN	5 (39)	1272.7	35.5
Bathyphase, 分 minutes	NRD	8 (70)	683.5a	19.6
	NRN	4 (32)	689.9ab	29.0
	NCD	3 (27)	632.4ab	31.9
	NCN	5 (39)	600.7b	26.2

a, b, c Values within rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

†Number of cows (number of observations).

[#]NRD = cows that delivered during the daytime fed a high-roughage diet at night; NRN = cows that delivered during night-time fed a high-roughage diet at a night; NCD = cows delivered in daytime fed a high-concentrate diet at a night; NCN = cows that delivered during night-time at a high-concentrate diet at night.

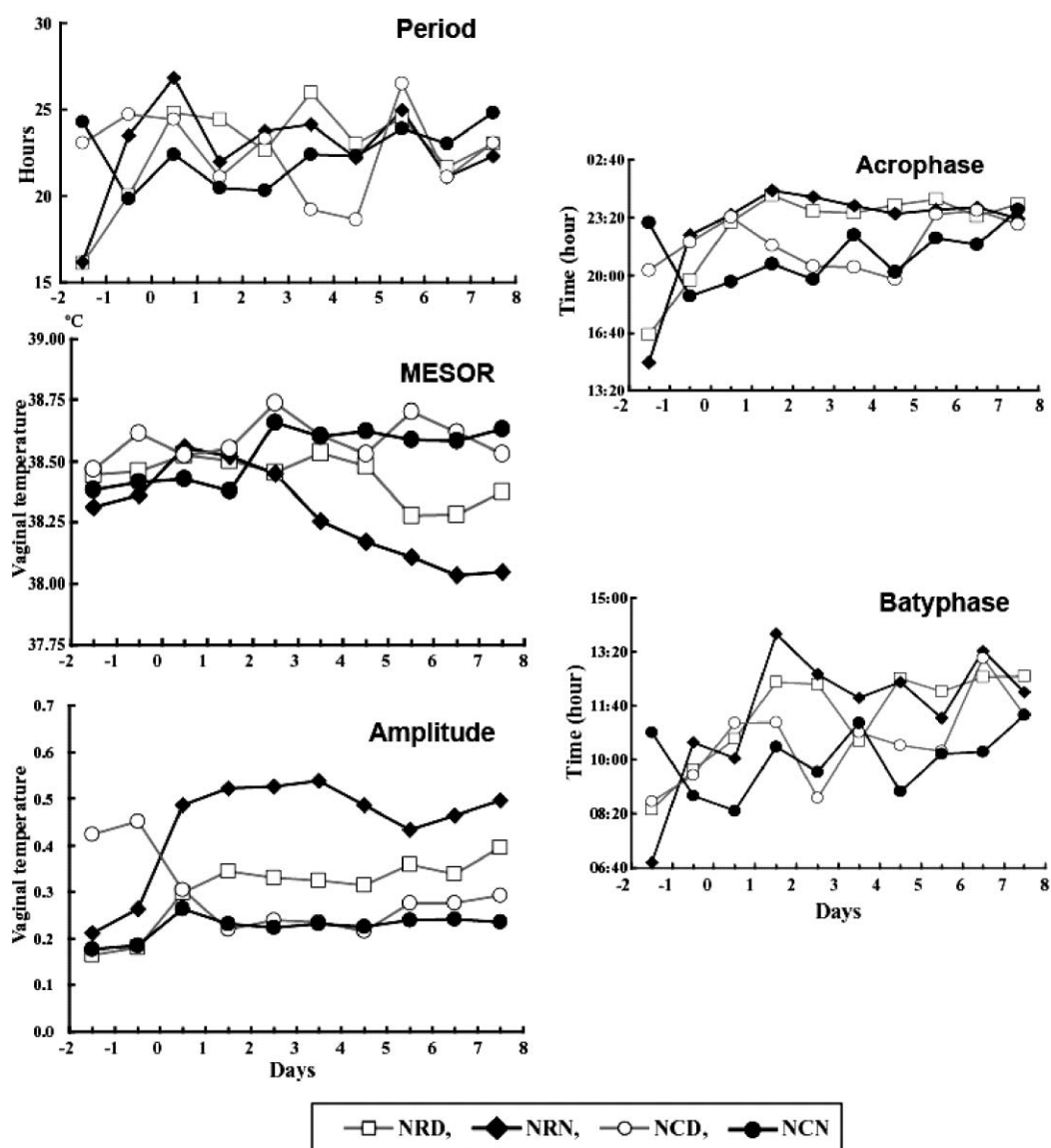


Fig. 5-2. Changes in means of parameters of cosine equations fitted vaginal temperatures of cows which fed high-roughage diet and calved at daytime (NRD; n=8), fed high-roughage and calved at nighttime (NRN; n=4), fed high-concentrate diet and calved at daytime (NCD; n=3), and fed high-roughage diet and calved at nighttime (NCN; n=5) before and after the night feeding started (d 0). From d -2 to 0, the cows fed the diets twice daily. And, the cows were treated night feeding from d 0 to 8.

TRD 区 ($P<0.05$) より有意に低く, NRN 区の amplitude は TRN 区 ($P<0.05$), NRD 区 ($P<0.01$), NCD ($P<0.05$) より有意に高かった (第 5-7 表, 第 5-3 図)。

膣温は, 個体によっても, 飼養管理によっても, 大きく日周変動をするので, 給餌方法が異なる牛の膣温を単純に比較することは困難である。常に変動する膣温を比較し, 検討するためには, 適切な統計処理が必要である。この試験では, 48 時間のシリアルセクション法で, ほとんどの膣温データが, コサイン曲線に当てはまった。加えて, この解析で, 牛の分娩前の膣温低下を明確に示すことができた。牛は分娩前に体温が低下することは以前より知られており (Graf と Petersen, 1953; Porterfield と

Olson, 1957; Ewbank, 1963), この現象は, MESOR の変化によって示された (第 5-3 図)。

また, periodicity, acrophase と bathyphase といったパラメータの変化から, 膣温が安定するためには, 給餌(回数, 時間, 構成)を変更してから少なくとも 7 日は必要であることが示された。

夜間給餌で粗飼料多給 (NR 区) の 17 頭の牛のうち 5 頭 (NRN) だけが, なぜ昼間に分娩しないのであろうか。NRD 牛の amplitude は, 試験給餌開始後, 低下する傾向がみられた (第 5-2 図)。対照的に NRN 牛の amplitude は, 他の試験区に比べ高く, MESOR は, 他の試験区に比べ低かった (第 5-2, 3 図)。これらの結果は, 夜間給餌で

Table 5-7. The comparison between the parameters fitted curve in the experiment for variations of vaginal temperature prior to parturition (from 10 days before to the parturition day)

Parameters	Effect of factors [†] (Probability)			Treatment ^{&}	N [‡]	Means	SE
	Day	Treatment	Treatment and day [#]				
Periodicity, hours	0.4365	0.3798	0.9905	TRD	8 (52)	22.4	0.9
				TRN	9 (56)	22.8	0.6
				NRD	8 (48)	24.2	0.8
				NRN	3 (25)	22.4	0.6
				NCD	3 (20)	23.2	0.6
				NCN	4 (39)	23.5	0.7
MESOR, °C	0.0427	0.0022	1.0000	TRD	8 (52)	38.62 ^a	0.10
				TRN	9 (56)	38.51	0.08
				NRD	8 (48)	38.76 ^a	0.08
				NRN	3 (25)	38.16 ^b	0.12
				NCD	3 (20)	38.52	0.14
				NCN	4 (39)	38.65 ^a	0.09
Amplitude, °C	0.9989	0.0001	0.9767	TRD	8 (52)	0.2390	0.0226
				TRN	9 (56)	0.2577 ^a	0.0192
				NRD	8 (48)	0.3292 ^a	0.0195
				NRN	3 (25)	0.4563 ^b	0.0270
				NCD	3 (20)	0.2614 ^a	0.0324
				NCN	4 (39)	0.3139	0.0213
Acrophase, 分 minutes	0.9400	0.4336	0.9995	TRD	8 (52)	1337.3	37.2
				TRN	9 (56)	1317.0	31.6
				NRD	8 (48)	1408.2	32.1
				NRN	3 (25)	1383.8	44.4
				NCD	3 (20)	1360.3	53.3
				NCN	4 (39)	1346.5	35.0
Bathyphase, 分 minutes	0.3055	0.5371	0.8754	TRD	8 (52)	665.6	26.5
				TRN	9 (56)	632.3	22.5
				NRD	8 (48)	681.9	22.9
				NRN	3 (25)	691.2	31.7
				NCD	3 (20)	661.9	38.0
				NCN	4 (39)	639.7	24.9

^{a,b,c} Group with different superscripts are different ($P < 0.05$).

[†] Effects of elapse of the day (day), dietary treatments and both relationship were analyzed mixed model procedure.

[‡] The number of cows (number of data).

[#] Effect of relationship with dietary treatment and day.

[&] See Table 5-6.

夜分娩する牛において、代謝が低いことを示唆している (Gazzola ら, 1995)。加えて、体温が低下して、体温の日周の振幅が大きくなるという例がヒトで報告されており (Rutkowska ら, 1996 ; Kim と Tokura, 1996 ; Park ら, 1998), これは、日中に受けるある種のストレス (騒音や光, 温度刺激) が深部体温に関係するアドレナリン動態に夜間影響を与えるのが原因とされている (Fruhstorfer ら, 1988; Akerstedt と Froberg, 1979)。本試験では, NRN 牛になんらかのストレスが, 低 MESOR, 高 amplitude をもたらしたと考えられる。言いかえれば, ある牛は, ストレスを受けやすく, NR 区のなかでもそのような牛が, 給餌試験によって, 分娩時刻に影響を受けなかったのか

もしれない。しかしながら, このアドレナリン動態の仮説では, Sharafeldin ら (1971) の報告を説明できないので, 今後この機構の解明には, 詳細な内分泌的研究が必要である。

4) 小 括

75 頭の肉用牛 (黒毛和種×ホルスタイン種) の分娩時刻を調査した。異なった時刻, 回数, 構成の飼料を給餌された牛同士が, お互いを見ることが出来る環境で飼養した場合, 分娩時刻は昼に偏ることはなかった。一方, 粗飼料多給 (TDN 基準で 70% が乾草, 30% が配合飼料) を夜間に給餌 (18:00) され, 他の異なった給餌形態の牛を

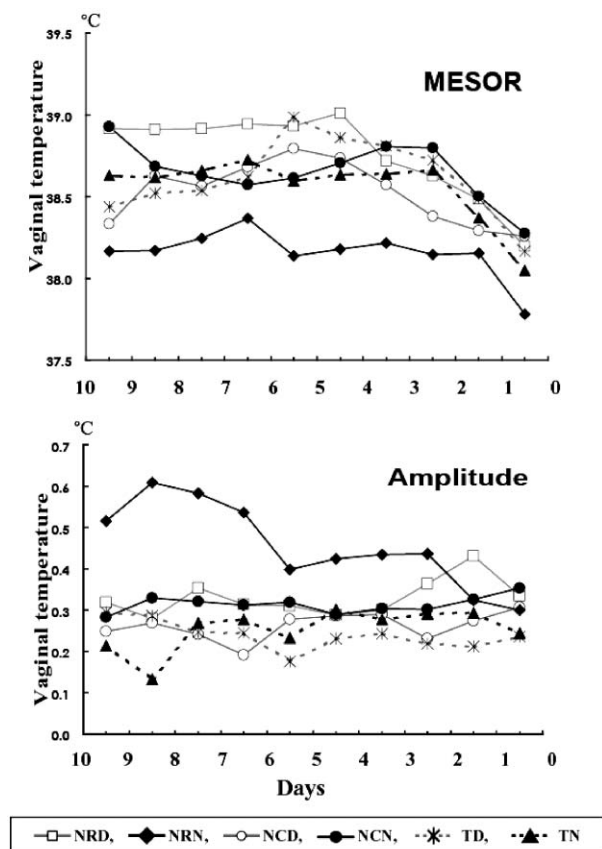


Fig. 5-3. Changes in the means of the parameters of the cosine equations that fitted the vaginal temperatures of the cows that were fed twice daily before parturition and have parturition (d 0) at daytime (TD; n=8) and night-time (TN; n=9). Moreover, under night feeding, changes in the means of the parameters of cosine equations fitted vaginal temperatures of cows that were fed high-roughage diet and calved at daytime (NRD; n=8), fed high-roughage and calved at night-time (NRN; n=3), fed high-concentrate diet and calved at daytime (NCD; n=3), and fed high-concentrate diet and calved at night-time (NCN; n=4) prior to parturition.

見ることがない場合には、79.2%の牛が昼間（7:00 から 19:00）に分娩した。そして、粗飼料多給の牛は、配合飼料多給（TDN 基準で 40%が乾草、60%が配合飼料）の牛よりも昼間分娩率が高かった（ $P<0.05$ ）。しかしながら、粗飼料を多給した夜間給餌でも、残りの 20.8%の牛は昼間に分娩しなかった。

これらの妊娠牛の膣温を Cosinor 法によって解析したところ、ほとんどの膣温データは 48 時間 serial section 法によって cosine 曲線に適合させることができた。この方法を使って、牛の分娩前特有の現象（分娩前に体温が低下する）を cosine 曲線のパラメータの一つである MESOR（midline-estimating statistic of rhythm）で捉えることが可能であった。粗飼料多給の牛を 1 日 2 回（08:30 と 15:30）給餌から夜間給餌（18:00）に給餌時刻と回数を変更した

場合、周期が明らかに変化した（ $P<0.05$ ）。夜間給餌で粗飼料多給にかかわらず、夜分娩した牛では、膣温の amplitude（振幅）が他の給餌区の牛に比べ高く（ $P<0.05$ ）、MESOR が低い（ $P<0.05$ ）傾向がみられた。

これらの結果から、分娩時刻は給餌時刻や飼料の構成に影響を受けることが示唆された。また、給餌によって分娩時刻が影響を受けないような牛は、膣温が低い傾向があることが示された。

Ⅵ. 総括

交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）雌牛は、牛肉需要の増加に伴い、飼養頭数が増えているが、その効率的な利用方法は知られていない。本研究は、交雑種雌牛の繁殖供用に関して、一連の試験を行ったものである。すなわち第Ⅱ章では、交雑種雌牛を母牛として、単子子牛への哺育能および繁殖能を明らかにし、第Ⅲ章では、双子子牛への哺育能と親子放牧時の増し飼いおよび子牛への別飼い飼料の必要性を明らかにした。第Ⅳ章では、双胎妊娠末期牛の生理的变化を捉えるため、膣温の連続的計測および膣温変化の特性を明らかにし、胎子血採取方法を開発した。第Ⅴ章では、双子生産のための分娩予知、並びに分娩制御技術の確立を検討した。その結果、以下のことが明らかになった。

（1）放牧飼養における交雑種雌牛の単子哺育および繁殖能について

①ペレニアルライグラス優占草地での単子哺育交雑種雌牛の性能について試験を行った結果、交雑種雌牛を母牛とすることにより、補助飼料無給与の放牧においても単子哺乳子牛の発育が舎飼いのものに劣らなかった。また、特に高栄養草地（ペレニアルライグラス優占草地）においては放牧された母牛の栄養状態も良好で発情回帰も早かった。このため、交雑種母子牛の高い性能が期待できると考えられた。

②放牧飼養されている単子および双子哺乳中の交雑種雌牛から授乳前および授乳後の分房全ての乳をサンプリングし、乳期における乳成分の変化と、自然哺乳中の乳成分の推定方法を検討したところ、人為的搾乳に慣れていない供試牛からの全量搾乳によってサンプリングされた乳は、実際に子牛が摂取した乳よりも乳量、乳脂率および全固形分含量が低くなる可能性があると考えられた。したがって、自然哺乳中の交雑種雌牛の乳成分を正確に推定するためには、手搾りによって全乳採取するよりも、授乳前後に少

量の乳を採取して、その平均値を求めた方が良いと判断された。本試験の授乳前後の平均による交雑種牛の乳成分は、このホルスタイン種と黒毛和種の乳成分のほぼ中間値となった。また、この時の交雑種雌牛の乳量および乳成分から、補助飼料なしでも単子哺育が充分でき、なおかつそれ以上の双子哺育が可能なが考えられた。

(2) 放牧飼養での交雑種雌牛の双子哺育能と補助飼料給与の検討

③先の②の結果から、実際に双子子付き放牧飼養での交雑種母牛の栄養状態および泌乳量を調査し、交雑種雌牛の親子放牧における哺育能力と母牛への栄養補給効果を検討した。その結果、母牛の泌乳量は日量 10.4 ~ 14.4kg あり、子牛は 1 頭当たり 5.2 ~ 7.2kg の乳量を摂取した。このように、交雑種雌牛を母牛とした親子放牧において双子哺育も可能であったが、放牧における母牛の栄養状態は、両区とも低下傾向を示し、分娩後母牛の体重減少が顕著な草地においては、母牛への補助飼料給与も必要と考えられた。

④交雑種雌牛を母牛とした双子子牛の育成時における飼養管理について検討したところ、子牛は別飼い飼料の摂食行動と摂取量が 3 か月齢以降で顕著に増加した。子牛の平均日増体量は、母牛に増し飼い飼料を給与した区において 0.4 週齢時で有意に高かったが、その後は子牛に別飼い飼料を給与した区において高く推移した。子牛の体型は、月齢とともに別飼い飼料を給与した区において母牛への増し飼い給与を上回る傾向にあり、6 か月齢の胸囲で子牛の別飼い飼料給与区が有意に大きかった。交雑種雌牛を母牛とした親子放牧において双子哺育も可能であるが、子牛の発育をより向上させるためには、生後 1 か月齢から別飼い飼料が有効であることが示された。

(3) 交雑種雌牛の周産期における生理特性について

⑤受精卵移植技術の普及により双子生産の増加は、繁殖性と経済性の向上をもたらした。しかし、一方では新しい妊娠期の管理と周産期の看護が必要とされるようになった。安全でかつ管理者が介助しやすい分娩を行わせるためには、分娩発来兆候を捉え、分娩の予知を行う必要がある。牛では、分娩直前に体温が低下する現象が報告されており、分娩の予知に利用されてきたが、比較的長期間の連続的な体温の測定はなされておらず、また双胎妊娠牛の体温についての報告はほとんどみられない。そこで、牛の

分娩直前に起こる体温の変化、殊に双胎妊娠牛の生理的特徴を調べたところ、双胎妊娠牛と単胎妊娠牛においては、体温の差はみられなかった。雄胎子同士の双子と雌同士の双子の場合、子牛の体重の和は母牛の体温と強い正の相関があることが明らかになった。

⑥多胎妊娠牛の分娩時の事故は、分娩介助があれば減少させることが可能である。分娩看護の軽労化には分娩予知技術を確立しなければならない。そこで、交雑種雌牛の周産期の生理的・生態的变化を明らかにするため、周産期の内分泌的变化を母子相互作用から検討できるよう、採材技術を確立した。妊娠末期に尾椎硬膜外または腰椎麻酔に局所浸潤麻酔を組み合わせて施し、簡易保定枠場上で立位のままカテーテル装着手術を行った。胎子血採取では、心臓血管カテーテルにスプリングチューブを被覆し、糸掛け具で胎子肢に固定したもののにおいて、7 日以上連続して採取が可能であり、そのうち 4 頭が分娩まで採血可能であった。羊・尿膜水は、3 頭が分娩まで完全に採取できた。手術によるストレスにかかわる胎子血漿中コルチゾール濃度は、手術直後には高く、術後 24 時間で降下した。その後は既存の報告と同様の推移を示したので、手術のストレスは速やかに軽減され、術後 24 時間以降の試料は、分娩周辺時の生理的变化を解析するための分析に供することができると考えられた。その後は既存の報告と同様の経過をたどり分娩に至った。これらから、本手術法および羊・尿膜水用カテーテルは比較的長期間にわたる採取に有効であり、また胎子血の採取には、心臓血管カテーテルにスプリングチューブを被覆したものが最適であることが示された。

(4) 交雑種雌牛の分娩予知および分娩制御について

⑦第Ⅲ章で明らかにされた生理的特徴を利用し、分娩前の体温低下から分娩予知技術を検討した。本節では、分娩前の体温低下開始時刻を 2 つの方法によって検出した。1 つは“Same hours method (同時刻法)”で、前日と同時刻の体温を比較し体温が 0.3℃ あるいは 0.5℃ 以上低下した状態が 3 時間以上続いた場合に、体温が低下したと判断する方法である。もう一つは、“Maximum-minimum method (最大・最小値法)”で、前日の体温の最大値かまたは最小値にそれぞれ比較して、当日の最大値あるいは最小値が 0.3℃ あるいは 0.5℃ 以上低下した場合に、体温が低下したと判断する方法である。この二つの方法を

使って分娩予知を行ったところ，“同時刻法”の方が分単位で詳細に陰温低下時刻を検出することが可能であり，また“最大・最小値法”よりも高い確率で分娩予知が可能であった。以上のことから連続的な陰温測定による単胎妊娠牛と双胎妊娠牛の分娩予知には，同時刻法が有効であることが示された。本試験の結果は，周産期の牛のトラブルへの対処と看護の省力化に有効であり，双胎妊娠牛の生理的变化を解明するのに貢献できる。加えて，もし，データが1日ごとにダウンロードされるのではなく，ラジオテレメトリーモニタリングシステム（Clapper ら，1990；Redden ら，1993）のようにリアルタイムでモニターができたなら，どんなトラブルにも即座に対応が可能であり，本分娩予知方法はより効果的で，より広く活用されると考えられる。

- ⑧分娩時刻と飼養管理，および体温の推移から，分娩予知よりも能動的に，簡便でしかも安全に分娩を制御する方法の検討を行った。その結果，肉用牛の分娩時刻は給餌時間や飼料構成によって影響を受けることが示唆された。そして，ストレスを与えることなく，比較的短時間で食べることができる適切な飼料を与えれば，牛の昼間分娩率は高くなることが明らかになった。これは，牛の周産期看護における労力を軽減させることに利用できるが，一部の牛は，給餌によって分娩時刻が影響を受けなかった。そのような牛は，夜間給餌で昼間分娩した牛に比べ，体温レベルが低く，また体温の振幅が大きかった。このような夜間給餌をしても夜分娩する牛と，夜間給餌で昼間分娩する牛とを比較することは，分娩時刻を決定する要因を解明できる可能性がある。

以上の結果から，本研究により交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）雌牛の単子および双子の生産性について有用な知見が得られた。すなわち，第Ⅱ章および第Ⅲ章において得られた知見は，交雑種雌牛を母牛とすれば，放牧飼養下でも自然哺乳させている子牛の増体が単子では大変良く，放牧地の草量によって母子双方に補助飼料が必要な場合があるが，双子でも哺育が可能であり，分娩後の繁殖回帰も問題が見られなかったことである。そのため，放牧飼養下での省力的，低コスト的な肥育素牛生産技術を指導するにあたり有用であると考えられる。第ⅡおよびⅢ章で示された多胎による効率的な肥育素牛生産における分娩事故の多発という問題点を解決するため，第Ⅳ章では，分娩発来を母子間の内分泌的相互作用

を検討するのに必要な生体胎子血採取技術の開発を行い，妊娠末期牛から陰温およびその胎子血の採材技術の提供，並びに分娩周辺時の生理的变化における基礎的情報を提供した。さらに，第Ⅴ章で得られた知見は，給餌管理による簡易，かつ安全な分娩時刻の制御が可能であることを示し，軽労的な分娩看護による分娩事故の防止に有効な技術を提供した。これらの技術は，酪農の盛んな北海道で，副産的に生産できる交雑種雌牛を有効に活用し，高品質な肉用子牛の生産が粗放的に行えることが示唆しており，北海道の酪農および広大な大地を利用した高品質肉用牛生産システム，あるいは副業として肉用子牛生産も取り入れた新しい酪農経営の構築が期待できる。なお，給餌による分娩制御の研究は，今後の分娩発来機構の研究の発展に貢献すると考えられる。これらの知見を利用することにより，自給飼料を基盤とした，より高い生産性の向上を肥育素牛生産現場に実現することが可能である。

謝 辞

本稿を終えるにあたり，主指導教官として，貴重な御意見，御指導を賜りました宇都宮大学 農学部 吉澤 緑 教授，ならびに，本論文の審査にあたり御指導，御助言を賜りました東京農工大学 農学部 鎌田 寿彦 教授，茨城大学 農学部 中村 豊 教授，宇都宮大学 農学部 福井 えみ子 助教授，宇都宮大学 農学部 長尾 慶和 助教授に厚く御礼申し上げます。さらに，本研究の企画，実験の実施および結果のとりまとめに終始適切な助言，指導を戴きました北海道農業研究センター 鈴木 修 所長，集約放牧研究チーム 坂口 実 上席研究員，九州沖縄農業研究センター 周年放牧研究チーム 中西雄二 チーム長，イネ発酵 TMR 研究チーム 佐藤健次 チーム長，畜産草地研究所 家畜育種増殖研究チーム 木村康二 主任研究員 に深く感謝申の意を表します。また，研究の遂行にあたり，御尽力，御支援くださった畜産草地研究所 放牧管理研究チーム 假屋喜弘 上席研究員 と石崎 宏 主任研究員，飼料作生産性向上研究チーム 西田智子 主任研究員，近畿中国四国農業研究センター 粗飼料多給型高品質牛肉研究チーム 安藤 貞 主任研究員，原島徳一 前業務 4 科長 に深謝いたします。なお，試験の実施にあたり，快く御協力くださった畜産草地研究所 草地研究支援センターの関係者各位に，試験材料を提供してくださったユニチカ株式会社，サワネスプリング株式会社，玉芳堂

の関係者各位に心からの感謝の意を表します。さらに、終始助力、激励くださった北海道農業研究センター 自給飼料酪農研究チーム 青木康浩 主任研究員 に、深く感謝する次第です。

引用文献

- 1) 阿部 亮 (1988). 炭水化物成分を中心とした飼料分析法とその飼料栄養評価法への応用, 畜産試験場研究資料, 2, 34-64.
- 2) Adams, R., Garry, F., Holland, M.D., Hay, W.W. and Wanger, A. (1998). Cannulation technique for the late gestation bovine fetus, *Theriogenology*, 49, 337.
- 3) 赤川真理・鈴木 修・中西雄二・佐藤健次・西田智子・原島徳一 (1993). 分娩後の飼養形態の違いがF1多子分娩牛および単子分娩牛の繁殖機能と子牛の発育におよぼす影響－2, ボディコンディション, 授乳量, 子牛の発育の推移－, 第87回日本畜産学会大会講演要旨, 87, 300.
- 4) Akerstedt, T. and Froberg, J.E. (1979). Sleep and stressor exposure in relation to circadian rhythms in catecholamine excretion, *Biological Psychology*, 8, 69-80.
- 5) Anderson, G.B., Cupps, P.T. and Drost, M. (1979). Induction of twins in cattle with bilateral and unilateral embryo transfer, *J. Anim. Sci.*, 49, 1037-1042.
- 6) 青木真理・鈴木 修・中西雄二・佐藤健次・西田智子・原島徳一 (1994). ペレニアルライグラス優占草地における交雑種母子牛の性能. 草地試験場研究報告, 49, 61-70.
- 7) 青木真理・鈴木 修・安藤 貞 (1996). 肉用交雑種雌牛の乳成分の変化について, 日本畜産学会報, 67, 647-649.
- 8) 青木真理・木村康二・鈴木 修・平子 誠 (2002). 交雑種雌牛の親子放牧による双子哺育能力と栄養補助効果, 畜産草地研究所報告, 1, 1-7.
- 9) Aoki, M., Kimura, K., Hirako, M., Hanafusa, Y., Ishizaki, H. and Kariya, Y. (2002). Cannulation for a bovine fetus in late gestation under regional anesthesia, *J. Reprod. Dev.*, 48, 455-460.
- 10) Aoki, M., Kimura, K. and Suzuki, O. (2005). Predicting time of parturition from changing vaginal temperature measured by data-logging apparatus in beef cows with twin fetuses, *Anim. Reprod. Sci.*, 86, 1-12.
- 11) Aoki, M., Kimura, K. and Suzuki, O. (2006). Influence of feeding regime on timing of parturition in beef cattle and its relationship of the vaginal temperature rhythm to parturition, *Anim. Sci. Journal*, 77, 290-299.
- 12) Block, B.S., Parer, J.T., Llanos, A.J. and Court, D.J. (1989). Effects of ritodrine and fetal oxygenation after in utero fetal surgery in sheep, *Biology of the Neonate*, 56, 94-100.
- 13) Bosc, M.J., Nicolle, A. and Ducelliez, D. (1986). Time of birth and daily activity mediated by feeding rhythms in the pregnant rat, *Reproduction, Nutrition, Development*, 26, 777-789.
- 14) Chikamune, T., Kanai, Y. and Shimizu, H. (1986). Comparison of effects of seasonal-climatic changes on Thermoregulatory responses and plasma concentrations of thyroid hormones in swamp buffaloes and cattle, *The Japanese Journal of Zootechnical Science*, 57, 778-784.
- 15) Clemente, N.D., Goxe, B., Remy, J.J., Cate, R.L., Josso, N., Vigier, B. and Salesse, R. (1994). Effect of AMH upon aromatase activity and LH receptors of granulosa cells of rat and porcine immature ovaries. *Endocrine*, 2, 553-558.
- 16) Comline, R.S., Hall, L.W., Lavelle, R.D., Nathanielsz, P.W. and Silver, M. (1974). Parturition in the cow : Endocrine changes in animal with chronically implanted catheters in the foetal and maternal circulations, *Journal of Endocrinology*, 63, 451-456.
- 17) Comline, R.S. and Silver, M. (1976). Some aspects of fetal and uteroplacental metabolism in cows with indwelling umbilical and uterine vascular catheters, *Journal of Physiology*, 260, 571-586.
- 18) Cornélissen, G. and Halberg, F. (1998). Chronomedicine. *Encyclopedia of biostatistics*. (Armitage P ed.) 642-649. John Wiley & Sons Ltd. Chichester.
- 19) D'Agostino, R.B. (1986). Tests for the Normal Distribution. (D'Agostino RB, Stephens MA eds.) 367-419. Marcel Dekker, NY.
- 20) Dawson, W.M., Cook, A.C. and Bradford, K. Jr. (1960). Milk production of beef shorthorn cows. *J. Anim. Sci.*, 19, 502-508.
- 21) Deswysen, A., Vanbelle, M. and Focant, M. (1978). The effect of silage chop length on the voluntary intake and rumination behavior of sheep. *J. British Grassl. Soc.*, 33, 107-115.
- 22) Domínguez, M.M., Liptrap, R.M., Croy, B.A. and Basrur, P.K. (1990). Hormonal correlates of ovarian alterations

- in bovine freemartin fetuses, *Anim. Reprod. Sci.*, 22, 181-201.
- 23) Dufty, J.H. (1971). Determination of the onset of parturition in hereford cattle, *Australian Veterinary Journal*, 47, 77-82.
 - 24) Edwards, S.A. (1979). The timing of parturition in dairy cattle, *J. Agric. Sci.*, 93, 359-363.
 - 25) Ewbank, R. (1963). Predicting the time of parturition in the normal cow, A study of the precalving drop in body temperature in relation to the external signs of imminent calving, *Vet. Rec.*, 75, 367-371.
 - 26) France, J.T., Magness, R.R., Murry, B.A., Rosenfeld C.R. and Mason J.I. (1988). The regulation of ovine placental steroid 17 alpha-hydroxylase and aromatase by glucocorticoid, *Molecular Endocrinology*, 2, 193-199.
 - 27) Fruhstorfer, B., Pritsch, M.G. and Pritsch, M.B. (1988). Effects of daytime noise load on the sleep-wake cycle and endocrine patterns in man, III. 24 hours secretion of free and sulfate conjugated catecholamines. *International Journal of Neuroscience*, 43, 53-62.
 - 28) Fujimoto, S., Akahane, M., Uzuki, K., Akira, A., Sakai, K. and Ichinoe, K. (1983). Effect of ritodrine hydrochloride on uterine activity and maternal and fetal circulations in the pregnant sheep, *Asia-Oceania Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 9, 325-333.
 - 29) 藤本泰裕・木村英司・澤田 勉・石川 全・松永 寛・森 純一 (1988). 牛の分娩前徴一直腸温, 心拍数および呼吸数の変化, *日本畜産学会報*, 59, 301-305.
 - 30) Gazzola, C., Magnar, T., Lisle, A.T. and Hunter, R.A. (1995). Effects of alpha-adrenoreceptor agonists and antagonists on metabolic rate in cattl, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111, 73-77.
 - 31) Giuseppe, P. and Giovanni, C. (2002). Biological rhythm in livestock. *J. Vet. Sci.*, 3, 145-157.
 - 32) Gordon, I., Williams, G. and Edwards, J. (1962). The use of serum gonadotrophin (P. M. S.) in the induction of twin-pregnancy in the cow, *J. Agric. Sci.*, 59, 143-198.
 - 33) Graf, G.C. and Petersen, W.E. (1953). Changes in respiration and heart rates, body temperatures, plasma lactic acid levels and plasma creatinine levels caused by stress in dairy cattle. 1953, *J. Dairy Sci.*, 36, 1036-1048.
 - 34) Gregory, K.E., Echternkamp, S.E. and Cundiff, L.V. (1996). Effects of twinning on dystocia, calf growth, carcass traits, and cow productivity, *J. Anim. Sci.*, 74, 1223-1233.
 - 35) Gregory, K.E., Bennett, G.L., Vleck, L.D.V., Echternkamp, S.E. and Cundiff, L.V. (1997). Genetic and enviromental parameters for ovulation rate, twinning rate, and weight traits in a cattle population selected for twinning, *J. Anim. Sci.*, 75, 1213-1222.
 - 36) Grummer, R.R., Hoffman, P.C., Luck, M.L. and Bertics, S.J. (1995). Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows, *J. Dairy Sci.*, 78, 172-180.
 - 37) Guerra-Martinez, P., Dickerson, G.E., Anderson, G.B. and Green, R.D. (1990). Embryo-transfer twinning and performance efficiency in beef production, *J. Anim. Sci.*, 68, 3133-3144.
 - 38) Halberg, F. (1969). Chronobiology. *Annual Review of Physiology*, 31, 675-725.
 - 39) Halberg, F. (1980). Chronobiology : methodological problems. *Acta Medica Romana*, 18, 399-440.
 - 40) Halhuber, M.J., Cornélissen, G., Bartter, F.C., Delea, C.S., Kreze, A., Mikulecky, Y., Müller-Bohn, T., Siegelová, J., Dušek, J., Schwartzkopff, O. and Halberg, F. (2002). Circadian urinary glucocorticoid and rhythmic blood pressure coordination. *Scripta Medica Facultatis Medicae Universitatis Brunensis Purkynianae*, 75, 139-144.
 - 41) 長谷川清寿・安部茂樹・中上寿徳・川平 実 (1993). ホルスタイン雌と黒毛和種雄との一代交雑種牛の受胎牛としての飼養管理並びに繁殖および哺乳能力に関する研究, *島根県立畜産試験場研究報告*, 28, 6-10.
 - 42) Hildebrand, R., Haubitz, I. and Schultz, M. (1984). Problems in fitting a cosine curve. *Chronobiology International*, 1, 93-95.
 - 43) Hudgens, R.E., Albright, J.L. and Pennington, J.A. (1986). Influence of feedig time and diet on time of parturition in multiparous ewes, *J. Anim. Sci.*, 63, 1036-1040.
 - 44) Hunter, J.T., Fairclough, R.J., Peterson, A.J. and Welch, R.A.S. (1977). Foetal and maternal hormonal changes preceding normal bovine parturition. *Acta Endocrinologica*, 84, 653-662.
 - 45) Høgevoid, H.E., Lyberg, T., Kähler, H., Haug, E. and Reikerås, O. (2000). Changes in plasma IL-1 β , TNF- α and IL-6 after total hip replacement surgery in general or regional anaesthesia. *Cytokine*, 12, 1156-1159.
 - 46) Ichimaru, Y. (1993). Least square multivariate cosine spectorum analysis for ambulatory blood pressure and

- heart rate, Therapeutic Research, 14, 1650-1657.
- 47) 池滝 孝・山口光治・石黒敏夫・鈴木省三 (1982). 体温計測による乳牛の分娩時期予測について, 帯広畜産大学学術研究報告, 13, 13-18.
- 48) 市川伸一 (1995). SASによるデータ解析入門, 東京大学出版会, 東京, 182-185.
- 49) Ishikawa, A., Fujiwara, M., Ohata, A., Hoshino, K., Matsuzawa, T., Barrow, P.C., Shimazu, H., Ono, C., Putman, D.L., San, R.H. and Couch, R.C. (1997). Reproductive toxicity, mutagenicity and antigenicity of pamiteplase (genetical recombination), Journal of Toxicological Sciences, 22, 207-217.
- 50) Jeffrey, S.S. (1989). Relationship among climatological variables and hourly distribution of calvings in Holsteins fed during the late afternoon, J. Dairy Sci., 72, 2712-2717.
- 51) 鎌田寿彦・三橋俊彦・山岸規昭・穴戸弘明 (1984). 恒温ならびに変温環境下における泌乳牛の心拍数, 呼吸数および直腸温の日周リズムについて, 家畜の管理, 20, 68-74.
- 52) 柏村文郎・古村圭子・新出陽三 (1994). 牛における体温変動の数式化の試み, 日本畜産学会報, 65, 135-141.
- 53) Kelly, W.R. (1974). Veterinary Clinical Diagnosis. (2nd ed.) 21-16, Bailliere Tindall, London. UK.
- 54) Kim, H.E. and Tokura, H. (1996). Influence of different light intensities during the daytime on evening dressing behavior in the cold. Physiology and Behavior, 58, 779-783.
- 55) 木村康二・青木真理・鈴木 修 (1996). 交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 雌牛への凍結胚のダイレクト移植成績, 東日本家畜授精卵移植技術研究会報, 12, 74-75.
- 56) 熊崎一雄・田中英治・木原靖博 (1956). 和牛の発育に関する研究 (第2報 黒毛和種の発育に関する遺伝的考察), 中国農業試験場報告, 3, 167-186.
- 57) 熊崎一雄・松尾照雄 (1967). 肉用牛の生時体重及び離乳時体重に及ぼす遺伝と環境の要因. 佐賀大学農学彙報, 24, 61-71.
- 58) 熊崎一雄・松尾照雄 (1968). 和牛子牛の生時体重及び180日令体重に及ぼす環境要因の補正, 日本畜産学会報, 39, 426-431.
- 59) 久馬 忠・菊池武昭・高橋政義・滝沢静雄 (1976). 黒毛和種自然哺乳子牛の摂食生態と栄養摂取量, 東北農業試験場研究報告, 52, 145-159.
- 60) Laifer, S.A. and Rauk, P.N. (1993). Ritodrine increases leukotriene B4 concentrations in pregnant sheep. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 169, 956-960.
- 61) Leaver, J.D. (1982). Herbage intake handbook. British Grassland Society. Hurley.
- 62) Lammoglia, M.A., Bellows, R.A., Short, R.E., Bellows, S.E., Bighorn, E.G., Stevenson, J.S. and Randel, R.D. (1997). Body temperature and endocrine interactions before and after calving in beef cows, J. Anim. Sci., 75, 2526-2534.
- 63) Lowman, B.G., Hankey M.S., Scott N.A., Deas D.W. and Hunter E.A. (1981). Influence of time of feeding on time of parturition in beef cows. Vet. Rec., 109, 557-559.
- 64) Marcum, J.B. (1974). The freemartin syndrome. Animal Breeding Abstract, 42, 227-242.
- 65) Meijs, J.A.C., Walters, R.J.K. and Keen, A. 1982. Sward methods. In : Herbage Intake Handbook (Leaver JD eds.) 21-24. The British Grassland Society. Berkshire.
- 66) Mosher, M.D., Ottobre, J.S., Haibel, G.K. and Zartman, D.L. 1990. Estrual rise in body temperature in the bovine. II. The temporal relationship with ovulation. Anim. Reprod. Sci., 23, 99-107.
- 67) 中西雄二・佐藤匡美 (1989). 交雑種 (黒毛和種×ホルスタイン種) 雌牛の放牧条件下における子牛生産性, 草地試験場研究報告, 41, 53-63.
- 68) Nelson, W., Tong, Y.L., Lee, J.K. and Halberg, F. (1979). Methods for cosinor-rhythmometry. Chronobiologia, 6, 305-323.
- 69) 農林水産省 (2003). 我が国の食料自給率—平成14年度食料自給率レポート—, 1-12.
- 70) 農林水産省畜産局 (2000). 平成12年畜産経営の動向, 55-57.
- 71) 農林水産省生産局 (2004). 平成16年畜産経営の動向, 355-359.
- 72) 農林水産技術会議事務局 (1999). 農林水産研究基本目標, 1-25.
- 73) 農林水産技術会議事務局 (1970). 肉用牛の日本飼養標準に関する研究 (哺乳子牛と授乳中の雌牛の飼養), 研究成果, 42, 67-92.
- 74) 農林水産技術会議事務局 (1979a). 肉用牛のためのウインターグレイジング技術確立に関する研究, 研究成果, 117, 10-18.
- 75) 農林水産技術会議事務局 (1979b). 搾乳作業の省力

- 化に関する研究（第5編 乳量計の改善），研究成果，114, 103-114.
- 76) 農林水産技術会議事務局（1987）. 日本飼養標準・肉用牛，12-75，中央畜産会，東京.
- 77) 農林水産技術会議事務局（2000）. 日本飼養標準肉用牛．中央畜産会．東京.
- 78) 農林水産統計情報部（1992）. 畜産統計，（農林水産省経済局）198-199，東京.
- 79) 農林統計協会（1999）. 畜産統計，（農林水産省経済局）12，東京.
- 80) 農林統計協会（2002）. 畜産統計，（農林水産省経済局）15，東京.
- 81) 落合一彦・塩谷 繁・梅村恭子・小林春雄・原島徳一・佐藤健次・西田智子（1993）. 集約放牧における去勢牛の採食量と増体量，草地試験場研究報告，48, 69-75.
- 82) 大島正尚・布施 洋・石井忠雄（1974）. 分房乳中のナトリウムとクロール濃度の増加とそれに伴う乳成分濃度の変化について，日本畜産学会報，45, 543-550.
- 83) 太田垣進・村田敏夫・和田政夫・秦谷 裕（1979）. 肉用牛（黒毛和種）の分娩前後の飼料給与指標の確立に関する研究 2. 母牛の分娩前後の栄養水準が子牛の生時体重，離乳時体重及び授乳量に及ぼす影響，近畿中国地域共同研究成果収録，7, 10-12.
- 84) Park, S.J. and Tokura, H. (1998). Effects of different types pf clothing on circadian rhythms of core temperature and urinary catecholamines. *Japanese Journal of Physiology*, 48, 149-156.
- 85) Parkinson, T.J., Smith, K.C., Long, S.E., Douthwaite, J.A., Mann, G.E. and Knight, P.G. (2001). Inter-relationships among gonadotrophins, reproductive steroids and inhibin in freemartin ewes, *Reproduction*, 122, 397-409.
- 86) Pennington, J.A. and Albright, J.L. (1985). Effect of feeding time, behavior, and environmental factors on the time of calving in dairy cattle, *J. Dairy Sci.*, 68, 2746-2750.
- 87) Porterfield, I.D. and Olson, N.O. (1957). Vaginal temperature of dairy cows before and after calving. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 131, 381-383.
- 88) Randel, R.D., Brown, B.L., Erb, R.E., Niswender, G.D. and Callahan, C.J. (1971). Reproductive steroids in the bovine. II. Comparison of freemartins to fertile heifers, *J. Anim. Sci.*, 32, 318-326.
- 89) Redden, K.D., Kennedy, A.D., Ingalls, J.R. and Gilson, T.L. (1993). Detection of estrus by radiotelemetric monitoring of vaginal and ear skin temperature and pedometer measurements of activity, *J. Dairy Sci.* 76, 713-721.
- 90) Rota, A., Ballarin, C., Vigier, B., Cozzi, B. and Rey, R. (2002). Age dependent changes in plasma anti-Müllerian hormone concentrations in the bovine male, female, and freemartin from birth to puberty, relationship between testosterone production and influence on sex differentiation. *General and Comparative Endocrinology*. 129, 39-44.
- 91) Runciman, W.B., Mather, L.E., Ilsley, A.H., Carapetis, R.J. and Upton, R.N. (1985). A sheep preparation for studying interactions between blood flow and drug disposition. IV : The effects of general and regional anaesthesia on blood flow and cefoxitin disposition. *British Journal of Anaesthesia*, 57, 1239-1247.
- 92) Rutkowska, D., Park, S-J., Okazaki, Y. and Tokura, H. (1996). Effects of the different light intensities on some physiological parameters in terms of circadian rhythm, *Applied Human Science*, 15, 129 (Abstract).
- 93) SAS. (1996). SAS User's Guide; Statistics SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- 94) 佐藤健次・原島徳一・西田智子・青木真理・鈴木修・中西雄二（1995）. 交雑種（黒毛和種×ホルスタイン種）繁殖牛の放牧条件下におけるペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) 優占およびトールフェスク／オーチャードグラス (*Festuca arundinacea* Schreb/*Dactylis glomerata* L.) 優占草地の植生と生産性，草地試験場研究報告，51, 40-49.
- 95) Scarth, R.D., Miller, R.C., Phillips, P.J., Sherritt, G.W. and Ziegler, J.H. (1968). Effect of creep feeding and sex on the rate and composition of growth of crossbred calves. *J. Anim. Sci.*, 27, 596-600.
- 96) Schroder, H., Gilbert, R.D. and Power, G.G. (1988). Computer model of fetal-maternal heat exchange in sheep. *J. Appl. Physiol.*, 65, 460-468.
- 97) Sharafeldin, M.A., Ragab, M.T. and Kandeel, A.A. (1971). Behaviour of ewes during parturition. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 76, 419-422.
- 98) 島田和宏（1987）. 黒毛和種の泌乳性について，和牛，38, 78-84.
- 99) 島田和宏・居在家義昭・鈴木 修・竹之内直樹・高橋政義（1990）. 肉用牛における子牛分離時間が体重差法による乳量推定値に及ぼす影響，近畿中国農業

- 研究, 79, 50-53.
- 100) Shimada, K., Izaiki, Y., Suzuki O., Kosugiyama, M., Takenouchi, N., Ohshima, N. and Takahashi, M. (1992). Effect of milk yield on growth of multiple calves in Japanese Black Cattle (WAGYU). *Asian-australasian J. Anim. Sci.*, 5, 717-722.
 - 101) Shore, L. and Shemesh, M. (1981). Altered steroidogenesis by the fetal bovine freemartin ovary. *J. Reprod. Fertil.* 63, 309-314.
 - 102) Stevenson, J.S. (1989). Relationship among climatological variable and hourly distribution of calving in Holsteins fed during the late afternoon. *J. Dairy Sci.*, 72, 2712-2717.
 - 103) 鈴木 修 (1989). 肉用繁殖牛 (黒毛和種) におけるボディコンディションの利用について. *和牛*, 39, 37-51.
 - 104) 鈴木 修・赤川真理・中西雄二・佐藤健次・西田智子・原島徳一 (1993). 分娩後の飼養形態の違いがF1多子分娩牛及び単子分娩牛の繁殖機能と子牛の発育に及ぼす影響1, 分娩及び分娩後の繁殖成績. 第87回日本畜産学会大会講演要旨, 87, 300.
 - 105) Suzuki, O., Aoki, M. and Kimura, K. (1998). Twin production by embryo transfer in Japanese Black-Holstein Crossbred Cows. *J.A.R.Q.*, 32, 131-138.
 - 106) Tabata, M., Burioka, N. and Takeshima, T. (1999). A 48-hour ECG study in migraineurs during usual daily activities. *Yonago Acta Medica*, 42, 61-68.
 - 107) Tabata, M., Takeshima, T., Burioka, N., Nomura, T., Ishizaki, K., Mori, N., Kowa, H. and Nakashima, K. (2000). Cosinor analysis of heart rate variability in ambulatory migraineurs. *Headache*, 40, 457-63.
 - 108) 寺田隆慶・渡辺昭三・宮重俊一・八幡林芳 (1979a). 肉用牛 (黒毛和種) の分娩前後の飼料給与指標の確立に関する研究 5, 飼養試験より得た妊娠期に要するTDN量, 近畿中国地域共同研究成果収録, 7, 21-27.
 - 109) 寺田隆慶・吉田正三郎・小野寺勉 (1979b). 肉用牛の授乳量に及ぼす2,3の要因の検討ならびに授乳量の推定法について, 中国農業試験場報告, B24, 23-36.
 - 110) Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. (1963). A two-stage technique for the in-vitro digestion of foragecrops. *J. British Grassl. Soc.*, 18, 104-111.
 - 111) 栃木県酪農試験場 (1993). 試験成績及び業務の概要 II 試験研究の概要, 栃木県酪農試験場年報, 3-4.
 - 112) 梅村恭子 (1996). 飼料・栄養研究そのレビューと明日 (4) 4. 放牧草の採食性と採食量推定法, 畜産の研究, 50, 515-520. 養賢堂. 東京.
 - 113) 富永 信・浅井豊太郎・高橋久男・高橋英伍・木下善之・渡辺昭三・針生程吉 (1963). 黒毛和種とホルスタイン種との交雑に関する研究, 東北農業試験場研究報告, 26, 149-255.
 - 114) Tong, Y.L. (1976). Parameter estimation in studying circadian rhythms. *Biometrics*, 32, 85-94.
 - 115) 津田恒之 (1987). 新乳牛の科学 (柴田章夫編). 農山漁村文化協会, 東京, 288-307.
 - 116) 鶴川洋樹・細山隆夫・藤田直聡・安武 正 (2004). 北海道酪農の経営規模階層別にみた動向予測. 北海道農業研究センター研究報告, 180, 41-13 116.
 - 117) Vesce, F. and Scapoli, C., Giovannini G., Piffanelli A., Guerts-Moespot A. and Sweep F.C. (2001). Plasminogen activator system in serum and amniotic fluid of euploid and aneuploid pregnancies. *Obstetrica Si Ginecologie*, 97, 404-408.
 - 118) Vigier, B., Tran, D., Legeai, L., Bézard, J. and Josso, N. (1984). Origin of anti-Müllerian hormone in bovine freemartin fetuses. *J. Reprod. Fertil.* 70, 473-479.
 - 119) Williams, J.H., Anderson, D.C. and Kress, D.D. (1979). Milk production in Hereford cattle. 1. Effects of separation interval on weigh-suckle-weigh milk production estimates. *J. Anim. Sci.*, 49, 1438-1442.
 - 120) Wrenn, T.R., Bitman, J. and Sykes, J.F. (1958). Body temperature variations in dairy cattle during the estrous cycle and pregnancy. *J. Dairy Sci.*, 41, 1071-1076.
 - 121) Yarney, T.A., Rahnefeld, G.W., Parker, R.J. and Palmer, W.M. (1982). Hourly distribution of time of parturition in beef cows. *Canadian J. Anim. Sci.*, 62, 597-605.
 - 122) 吉田 実 (1982). 畜産における統計的方法, 中央畜産会, 東京, 55-58.

Studies on Efficient Calf Production in Crossbred (Japanese Black X Holstein-Friesian) Beef Cows

Mari AOKI

¹⁾ National Agricultural Research Center for Hokkaido Region

Summary

The utilization of crossbred (Japanese Black X Holstein-Friesian) beef cattle as breeding cows is not well known, though this has increased with the increase in demand for beef cattle in Japan. In the first chapter, an examination was conducted to analyze the reproduction ability and the nursing performance in crossbred beef cows under grazing. First, the crossbred cows with their single calves were grazed without supplemental feed. The results indicated that crossbred beef cows had sufficient ability to nurse their single calves under grazing without supplemental feed and the performance of crossbred beef calf may increase on a pasture with nutritious grass, for example, perennial ryegrass. Subsequently, in order to analyze the ability of nursing the calf in a more elaborate manner, milk composition in the crossbred beef cows with suckling calves was estimated using the average of milk sampled before and after suckling. The milk composition in crossbred beef cows with calves was estimated by possibly using the averages of milk sampled before and after suckling irrespective of the number of weeks after calving. Based on these results, it was inferred that the crossbred beef cows were able to nurse twin calves. The aim of the next examination was to evaluate the nursing ability of the crossbred cows for twin and the effect of supplemental nutrition on grazing calves or their dams. It is suggested that supplementary concentrate food for twin calves with their dams under grazing is effective from the first month after parturition, and the supply of the concentrate is required for dams grazing in a pasture where supply of grass is inadequate.

The crossbred beef cows producing twin calves were proved to be more effective and economical in productivity. However, twin pregnancies in cattle tended to result in a difficult parturition, and the loss rate of twin neonates was higher than that of singles. In the second chapter, we reported the difference in the characteristics of maternal vaginal temperature (VT), and attempted to analyze the physiological changes perinatal parturition of cattle, predicted the time of parturition using serial data of maternal VT, and its control by feeding management. We defined the time when the VT began to fall before parturition. We concluded that “same hours method” was useful for predicting parturition time in cattle with single and twin pregnancies by the serial measurement of vaginal temperature. In next paragraph, an experiment was conducted to analyze the physiological changes of parturition in cattle by collecting fetal blood and fluid via long-term catheterization in order to elucidate the interaction between the mother and her fetus. Our method of fetal cannulation would be beneficial, and the sample collected by this method was useful for endocrine study during the perinatal period in cattle. Subsequently, attempts to control the parturition time using the feeding management were undertaken for more proactive and convenient nursing at parturition. Seventy-nine percent of the cows, that were fed a proportion of the high-roughage diet, were calved at daytime under night feeding. We suggest that the time of parturition in most beef cattle was influenced by the feeding time and the diet composition. Moreover, our results implied that such cows as calved at night-time in spite of night feeding had lower temperatures.

In conclusion, the crossbred beef cows have an adequate ability to nurse not only their single calf but also their twin calves under grazing conditions. The production of twin calves using crossbred cows provides an opportunity to increase both reproductive and economic efficiency. Apart from contributing to an understanding of the physiological changes in the late gestation on cattle, the results of this study are also useful in reducing work and trouble at parturition.

Key words: Crossbred Beef Cow, Predicting Parturition, Night Feeding

畜産草地研究所研究報告及び畜産草地研究所研究資料投稿規定

13畜草B第43号
平成13年4月1日

(目的)

第1条 畜産草地研究所研究報告及び畜産草地研究所研究資料への投稿については、この規定の定めるところによる。

(投稿者の資格)

第2条 投稿者は原則として、畜産草地研究所職員（以下、「職員」という。）及び流動研究員、依頼研究員、日本学術振興会特別研究員、日本学術振興会外国人特別研究員等（以下、「他の職員」という。）とする。

- 1 職員が投稿する内容は、主として畜産草地研究所で行った研究とする。
- 2 他の職員が投稿する内容は、畜産草地研究所で行った研究とする。

(投稿原稿の内容)

第3条 投稿原稿の内容は次のとおりとする。

- 1 畜産草地研究所研究報告（Bulletin of National Institute of Livestock and Grassland Science/
略誌名：Bull. Natl. Inst. Livest. Grassl. Sci.）
 - （1）原著論文：畜産草地研究所（以下、「当研究所」という。）において行った試験研究及び当研究所以外の者に委託して行った試験研究の成果に関わる論文とする。
 - （2）短 報：（1）以外の研究の予報、速報などの短報とする。
 - （3）技術論文：新しい技術や技術の組立、実証などを主体とする報告。
 - （4）総 説：畜産草地研究に関わるものとする。総説は投稿のほか、編集委員会が依頼したものを含む。
 - （5）学位取得論文：当研究所において主として行った試験研究による学位取得論文とする。
- 2 畜産草地研究所研究資料（Memoirs of National Institute of Livestock and Grassland Science/
略誌名：Mem. Natl. Inst. Livest. Grassl. Sci.）
 - （1）調査資料・技術資料・研究資料：当研究所において行った試験研究及び当研究所が当研究所以外のものに委託して行った試験研究のうち、学術的・産業的に有用な未発表の資料とする。

(著作権の帰属及び利用の許諾の取扱い)

第4条 掲載された論文の著作権は、著述した者に帰属し、別紙様式により独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構に対して無償にて利用の許諾が行われるものとする。

(原稿の執筆)

第5条 原稿の執筆にあたっては、別に定める畜産草地研究所研究報告及び畜産草地研究所研究資料執筆要領に基づくものとする。使用する言語は日本語または英語とする。

(原稿の提出)

第6条 次の手続きにより原稿及び原稿提出票を事務局に提出する。

- 1 職員は原稿提出票に必要事項を記載し、所属研究チーム長及び担当する研究管理監等の校閲を受ける。
- 2 他の職員は原稿提出票に必要事項を記載し、所属研究チーム長及び研究チームを担当する研究管理監等の校閲を受ける。

(受付)

第7条 原稿及び原稿提出票を事務局が受け取った日を受付日とする。
受理日は編集委員会の審査の結果、掲載が妥当と認められた日とする。

(審査)

第8条 編集委員会は次の手続きにより論文を審査する。

ただし、学位取得論文については審査を省略することができる。

- 1 編集委員会は論文の内容により審査員正副をそれぞれ1名決定し、論文審査を依頼する。
審査員は所内及び所外の研究者等とし、その氏名は公表しない。
- 2 審査員は論文審査票により審査を行う。また必要に応じて指摘事項を書き出し提出する。
- 3 事務局は審査員と著者の間のやり取りの対応にあたる。
- 4 編集委員会は審査員の審査結果を参考にして掲載の可否を判断する。
審査の内容によっては著者に原稿の訂正を求めることができる。
- 5 著者は審査結果を受領後、編集委員会が指定する期日までに修正原稿を事務局に提出する。

(校正)

第9条 著者による校正は原則として初校のみとする。

校正は誤植の訂正程度にとどめる。やむを得ず大きな変更等を行う場合には編集委員会の承認を得なければならない。

(別刷り)

第10条 別刷りは次のとおりとする。

- 1 100部とし、筆頭著者が代表で受け取る。
- 2 別刷りの追加を希望する場合は研究チーム負担で印刷する。

附 則

この規定は、平成14年4月1日から施行する。

附 則

この規定は、平成15年10月1日から施行する。

附 則

この規定は、平成18年4月1日から施行する。

