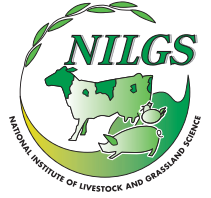


略 号

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10号〈No.10〉平成22年3月 -March2010-

**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

松 本 光 人
Mitsuto MATSUMOTO

草地研究監
Director, Grassland Research

加 茂 幹 男
Mikio KAMO

編集委員長
Editor-in-Chief

梶 雄 次
Yuji KAJI

副編集委員長
Deputy Editor

下 田 勝 久
Katsuhisa SHIMODA

編集委員
Associate Editor

鈴 木 一 好
Kazuyoshi SUZUKI

菅 野 勉
Tsutomu KANNO

井 出 保 行
Yasuyuki IDE

山 本 嘉 人
Yoshito YAMAMOTO

長 嶺 慶 隆
Yoshitaka NAGAMINE

澤 村 篤
Atsushi SAWAMURA

小 林 真
Makoto KOBAYASHI

千 國 幸 一
Koichi CHIKUNI

浦 川 修 司
Shuji URAKAWA

畜産草地研究所研究報告

第10号 (平成22年3月)

— 目 次 —

— 原著論文 —

- 低カリウム飼料の給与が泌乳牛の尿量低減化に及ぼす効果
.....大谷文博・田鎖直澄・甘利雅拈・小笠原俊介・森田総一郎・
松浦庄司・鈴木知之・栗原光規・樋口浩二・野中最子..... 1
- 野菜におけるデタージェント分析法適用上の問題点
.....甘利雅拈・永西 修・寺田文典・野中和久..... 9

— 技術論文 —

- 畜産草地研究所大中家畜代謝実験棟における新データ収集処理装置の設計
.....樋口浩二・小林洋介・野中最子・永西 修.....15

— 学位論文 —

- 非破壊変形に対する選抜による卵殻強度の遺伝的改良に関する研究
.....葦澤圭二郎.....29
- 草地土壌の温室効果ガス・シンク・ソース機能に関する研究
.....森 昭憲.....85

BULLETIN OF
NATIONAL INSTITUTE OF
LIVESTOCK AND GRASSLAND SCIENCE

No.10 (2010.3)

CONTENTS

Research Papers

- Fumihito OHTANI, Naozumi TAKUSARI, Masahiro AMARI, Shunsuke OGASAWARA, Souichirou MORITA, Shouji MATSUURA, Tomoyuki SUZUKI, Mitsunori KURIHARA, Kouji HIGUCHI and Itoko NONAKA :
Effect of low potassium diet feeding on urine volume reduction for lactating dairy cows 1
- Masahiro AMARI, Osamu ENISHI, Fuminori TERADA and Kazuhisa NONAKA :
The problem for application of detergent analysis method to vegetables 9

Technical Paper

- Kouji HIGUCHI, Yousuke KOBAYASHI, Itoko NONAKA and Osamu ENISHI :
A new data acquisition system for respiration trial system on metabolism laboratory in
National Institute of Livestock and Grassland Science15

Doctoral Dissertations

- Keijiro NIRASAWA :
Studies on Genetic Improvement of Eggshell Strength by Selection for Nondestructive Deformation29
- Akinori MORI :
Sink-source function of grassland soils for greenhouse gases85

低カリウム飼料の給与が泌乳牛の尿量低減化に及ぼす効果

大谷文博¹⁾・田鎖直澄²⁾・甘利雅抆³⁾・小笠原俊介⁴⁾・森田総一郎⁵⁾・
松浦庄司⁶⁾・鈴木知之⁷⁾・栗原光規⁸⁾・樋口浩二¹⁾・野中最子⁹⁾

¹⁾ 栄養素代謝研究チーム

²⁾ 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

³⁾ 畜産研究支援センター

⁴⁾ 長崎県農林技術開発センター

⁵⁾ 飼料作生産性向上研究チーム

⁶⁾ 草地多面的機能研究チーム

⁷⁾ 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター

⁸⁾ 独立行政法人農業生物資源研究所

⁹⁾ 畜産温暖化研究チーム

要 約

粗飼料および濃厚飼料にカリウム (K) 含量の少ない飼料資源を積極的に活用した実用的な低 K 飼料を泌乳牛 4 頭に給与し、生産性を損なうことなく効果的に尿量を減少させることができるか検証した。粗飼料源にイタリアンライグラスサイレージおよびアルファルファヘイキューブを使用した対照飼料区 (K 含量 1.80%) と、K 含量を低減するために粗飼料源をコーンサイレージとし、配合原料にもビール粕を利用した低 K 飼料区 (同 1.19%) の 2 区を設定した。両飼料区の乳成分率と成分消化率には差がなかったが、乾物摂取量は低 K 飼料区よりも対照飼料区の方が少なく、これを反映して乳量も対照飼料区の方が少なかった。この違いは対照飼料区で使用したイタリアンライグラスサイレージの嗜好性が悪かったことに起因するものであったが、少なくとも低 K 飼料の給与が乳牛の採食性と生産性に悪影響を与えることはなかったものと判断された。糞中への水分排せつ量は両飼料区で違いがなかったが、尿中への水分排せつ量は対照飼料区の 15.6kg/日 から、低 K 飼料の給与によって 9.2kg/日 まで有意に減少した。一方、低 K 飼料区は乾物摂取量と乳量が対照飼料区よりも多かったにもかかわらず、総水分摂取量が対照飼料区と変わらなかったことから、低 K 飼料区では尿量の減少に伴って自発的な飲水量の減少があったと推察された。加えて、血漿中のミネラル濃度と浸透圧および尿素濃度は両飼料区間に差がなく、低 K 飼料給与時も電解質と窒素の恒常性は保たれていたと考えられた。これらの結果は K 低減による泌乳牛の尿量減少が生理的な反応であったことを示唆している。また、両飼料区の固形塩も含めた総ナトリウム (Na) 摂取量に有意な差は観察されず、K 摂取量減少が代償的な Na 摂取量の増加を引き起こすことはなかった。

キーワード：泌乳牛，低カリウム飼料，尿量低減化

緒 言

乳牛の糞尿は我が国の家畜排せつ物量の約 3 分の 1 を占め、その処理には多大な労力とコストを必要とす

る⁹⁾。特に、泌乳牛は尿量が多く、また、糞中水分含量も高いことから、畜舎内で糞尿が混合したスラリー状になり易く、これを堆肥化して利用しようとするれば、固液分離システムの設置や多量の水分調整材の使用を余儀な

くされる²⁰⁾。従って、栄養管理によって泌乳牛の尿量を減少させることができれば、糞尿の分離や水分調整が容易となり、酪農経営にとって大きな利益をもたらすものと考えられる。しかし、泌乳牛の栄養と尿量に関するこれまでの報告の多くは、主に回帰分析によって尿量とその規制要因との関係を解明することに主眼が置かれ^{3,10,13,15,21)}、積極的な尿量低減化を目的とした栄養管理については、あまり検討されていない。また、いくつかの報告^{2,4)}では尿量低減化手法として飲水制限が試みられているが、飲水制限は尿量を減少させる効果はあるものの、同時に乾物摂取量や乳量を低下させることから、泌乳牛にとっては非生理的な栄養管理手法であり、生産性の観点からも問題がある。

カリウム (K) はナトリウム (Na) および窒素 (N) とともに、生体内において乳牛の尿生成に関わる栄養素要因のひとつと考えられている^{3,8,12,13)}。従って、泌乳牛に給与する K 量を制御する栄養管理を行えば、泌乳牛の生理に矛盾することなく、尿量を減少させることが可能になると思われる。ただし、泌乳牛の飼料となる我が国の粗飼料に関しては、近年、K 含量の増加が問題化しており¹⁹⁾、2001 年版日本標準飼料成分表¹⁷⁾ではオーチャードグラスやイタリアンライグラスなどの牧草の K 含量に 4% を超える値も見られる現状にあるため、給与飼料の K 含量を日本飼養標準¹⁸⁾や NRC 飼養標準¹⁶⁾に示されている泌乳牛の要求量に近いレベルにまで制御するには、飼料原料の選択が重要となる。そこで本研究では、泌乳牛へ給与する粗飼料および濃厚飼料に K 含量の少ない飼料資源を積極的に活用することで、農家での給与を想定した実用的な低 K 飼料を設計し、その給与によって泌乳牛の生産性を損なうことなく、効果的に尿量を減少させることが可能かを、出納試験を実施して検証した。

材料および方法

泌乳中期のホルスタイン種泌乳牛 4 頭を、温度 20℃、湿度 60% に調節した代謝実験施設に収容し、K 含量の異なる 2 飼料を給与して出納試験を実施した。供試牛は試験開始時点で平均分娩後日数 90 ± 17 日、平均体重 566 ± 23kg で、3 頭が 2 産、1 頭が 3 産であった。試験は予備期 9 日間、出納試験 7 日間、出納試験終了 3 日後に第一胃液および頸静脈血を採取するまでの連続した 19 日間で 1 期とし、2 期 2 飼料処理区に 2 頭ずつを割り付けるクロスオーバー法によって実施した。なお、試験

は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所動物実験指針に従って行った。

飼料処理は対照飼料区と低 K 飼料区の 2 区で (表 1)、両区とも粗濃比は 1 : 1 とした。対照飼料はイタリアンライグラスサイレージおよびアルファルファハイキューブを粗飼料源とした。一方、低 K 飼料は粗飼料源に K 含量が比較的少ないコーンサイレージを利用し、その分不足する蛋白質と繊維を補う配合原料として、K 含量の少ないビール粕を利用する飼料構成とした。その結果、K 含量は対照飼料の 1.80% に対して、低 K 飼料では 1.19% となった (表 2)。また、両飼料の成分組成は、乾物率が大きく異なり、ADF 含量もやや差があったが、その他の成分組成は概ね同程度であった (表 2)。

飼料給与量は試験開始に先だつ馴致期間中に、当所の慣行的な飼養条件下で観察された各試験牛の乳量と、試験飼料の栄養価から、日本飼養標準¹⁸⁾の要求量に基づいた TDN 充足率が概ね 100% となるように給与量を設定した。飼料は粗飼料と濃厚飼料のすべてを混合し、1 日 2 回に分けて朝夕の搾乳 (8:30 および 18:00) 終了後に給与した。また、ウォーターカップからの飲水と固形塩の摂取は自由とした。

出納試験は全糞尿採取法により実施した。出納試験期間中は毎日、飲水量、乳量、糞量、尿量を、また残飼がある場合には残飼量を個体毎に定時に測定し、糞、尿、残飼は 7 日分を日量に応じて按分混合して分析サンプルとした。牛乳も各搾乳時毎の乳量に応じて按分混合して分析サンプルとしたが、乳脂肪、乳蛋白質、乳糖については各搾乳時毎のサンプルを分析し、乳量による加重平均を行って出納試験期間における成分値を算出した。固形塩摂取量は 7 日間の出納試験期間前後で固形塩重量を測定し、その差から求めた。

出納試験終了 3 日後の朝の搾乳が終了して飼料を給与する直前に、真空採血管を用いた頸静脈血の採取と、第一胃液の経口的な採取を行った。採取した第一胃液は二重ガーゼでろ過した後、一部は直ちにアンモニア濃度を測定し、残りは分析用サンプルとして凍結保存した。血液は 3,000rpm、30 分間の遠心分離により得られた血漿を分析用サンプルとして凍結保存した。

飼料、残飼、糞の一般成分と乳および尿中の水分と N は常法¹⁾に従い、また、飼料、残飼、糞の NDF²⁵⁾ および ADF²⁴⁾ はデタージェント法により分析した。また、それらサンプルと血漿および第一胃液サンプルは硝酸-過塩素酸による湿式灰化後、原子吸光分光分析計 (AA-6400F、島津製作所) により K と Na 濃度を測定した。乳

Table 1. Ingredient composition of control and low K diets, and K content of each feedstuffs (% DM)

Ingredient	(K content)	Control	Low K
Corn silage	(1.54)	–	49.3
Italian ryegrass silage	(2.65)	40.3	–
Alfalfa hay cube	(2.64)	10.0	–
Brewer's grains	(0.01)	–	13.4
Barley	(0.50)	9.9	10.1
Corn	(0.39)	16.9	5.1
Oats	(0.60)	11.2	10.2
Soybean meal	(2.66)	10.0	10.2
Vitamin-Mineral mixture		1.7	1.7

DM : dry matter

Table 2. Chemical composition of control and low K diets (% DM)

	Control	Low K
DM (% FM)	81.1	40.3
OM	91.5	94.3
CP	16.0	15.6
EE	2.9	3.9
ADF	19.6	15.5
NDF	38.1	38.2
K	1.80	1.19
Na	0.04	0.03

DM : dry matter, FM : fresh matter, OM : organic matter,
CP : crude protein, EE : ether extracts, ADF : acid detergent fiber,
NDF : neutral detergent fiber

脂肪、乳蛋白質、乳糖の分析には赤外線自動分析計（ミルコスキャン 133B, ホスエレクトリック社）、血漿浸透圧の分析には浸透圧計（OSMOMAT 030, ゴノテック社）をそれぞれ用いた。血漿カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）、塩素（Cl）、尿素および第一胃アンモニア濃度は市販キット（それぞれカルシウム C テスト、マグネシウム B テスト、クロライドテスト、尿素窒素テストおよびアンモニアテスト、和光純薬）を用いて分析を行った。

見かけの K 蓄積量（発汗による損失量を含む）は、K 摂取量から総 K 排せつ量（糞中および尿中排せつ量と乳中移行量の合計）を差し引いて求めた。見かけの水分保持量（蒸発量を含む）は総水分摂取量（飼料水量、飲水量、代謝水量の合計）から総水分排せつ量（糞中および尿中排せつ量と乳中移行量の合計）を差し引いて求め、代謝水量は Dennis ら⁶⁾ の報告に従って、可消化粗蛋白

質摂取量と可消化非蛋白質有機物摂取量から算出した。

統計処理は統計解析ソフト StatView（5.0 日本語版）を用い、処理区間の平均値の差を対応のある t 検定によって比較し、危険率 5% 水準で有意な差があるものとした。

結 果

表 3 に摂取量、排せつ物量、乳量、乳成分率、消化率および栄養価の測定結果を示した。低 K 飼料区ではいずれの牛も定量給与した飼料のほとんどを食べ、残飼はわずかであったが、対照飼料区ではすべての牛が 1kgDM/ 日以上を食べ残したため、平均の乾物摂取量は低 K 飼料区の 21.7kg/ 日に対して対照飼料区では 19.0kg/ 日と、対照飼料区の方が少なかった。この乾物摂取量の違いを反映して、N 摂取量は低 K 飼料区の方が対照飼料区よりも有意に多くなったが、K 摂取量については低 K 飼料区が対照飼料区よりも 73g/ 日少なかった。Na は飼料および飲水に由来する摂取量が低 K 飼料区で有意に少なかったものの、鉍塩由来の摂取量を含めた総摂取量では両飼料区間に有意な違いはなかった。ただし、鉍塩由来の Na 摂取量は個体間の変動が大きく、飼料処理間の統計的な差は検出されなかった。

原物の排せつ糞量には飼料処理による差が認められなかったが、尿量は対照飼料区の 16.3kg/ 日が低 K 飼料区の 9.7kg/ 日へと、約 4 割も減少した。そのため、糞尿合わせた排せつ物量も、低 K 飼料の給与によって対照飼料よりも約 1 割減少する低減効果が示された。平均日乳量は乾物摂取量の多かった低 K 飼料区が 31.4kg と、対照飼料区の 25.9kg と比べて 5kg 以上多かったが、乳成分率には乳中 K 濃度も含め有意な差は認められなかった。また、各飼料成分の消化率と可消化養分総量および可消化粗蛋白質含量にも有意な差は観察されなかった。

両飼料を給与した際の K および水分出納の結果を表 4 に示した。K の糞中への排せつ量には両飼料区間の違いは観察されなかったが、尿中への排せつ量が対照飼料区に比べて低 K 飼料区で半減したため、糞尿合わせた排せつ物中への K 排せつ量は低 K 飼料区の方が有意に少なくなった。一方、低 K 飼料区では乳量の多かった分、乳中への K 移行量が有意に増加した。糞尿中への K 排せつ量と乳中への K 移行量を合計した値は、対照飼料区が約 301g/ 日、低 K 飼料区が約 230g/ 日であり、その差 71g/ 日は両飼料区の K 摂取量の差 73g/ 日にはほぼ相当するものであった。そのため、摂取量と総排せつ量

の差から算出された見かけの K 蓄積量は、両飼料区でほぼ等しいという結果であった。

飼料水摂取量および代謝水量は、給与飼料の水分含量が高く乾物摂取量が多かった低 K 飼料区で有意に多くなり、逆に飲水量は対照飼料区の方が有意に多かったが、総水分摂取量は対照飼料区と低 K 飼料区でそれぞれ 106kg/日および 107kg/日で、両飼料区間に違いは

Table 3. Intake, excreta, milk performance, digestibility and nutrient values of cows fed control and low K diets ¹

	Control	Low K
Intake		
DM (kg/day)	19.0 ± 1.0	21.7 ± 1.8 *
N (g/day)	494.4 ± 32.4	547.1 ± 38.7 *
K (g/day)	332.5 ± 23.9	259.4 ± 20.6 *
Na (g/day)		
Feed	8.1 ± 0.3	5.8 ± 0.7 *
Drinking water	3.7 ± 0.3	2.6 ± 0.3 *
Salt block	4.8 ± 6.7	7.1 ± 4.3
Total	16.6 ± 6.7	15.6 ± 4.1
Excreta (kg/day)		
Feces	51.3 ± 5.5	50.5 ± 5.1
Urine	16.3 ± 4.2	9.7 ± 2.7 *
Feces + Urine	67.6 ± 5.2	60.2 ± 7.0 *
Milk yield (kg/day)		
	25.9 ± 4.4	31.4 ± 5.0 *
Milk composition (%)		
Fat	4.34 ± 0.65	4.69 ± 0.37
Protein	3.18 ± 0.37	3.35 ± 0.31
Lactose	4.44 ± 0.14	4.48 ± 0.13
K	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.01
Digestibility (%)		
DM	67.0 ± 1.8	66.9 ± 0.9
OM	69.1 ± 1.6	69.0 ± 1.0
CP	64.8 ± 4.8	63.3 ± 2.5
EE	78.8 ± 2.4	81.2 ± 2.8
ADF	50.9 ± 12.2	45.8 ± 10.9
NDF	49.2 ± 4.3	52.7 ± 4.7
Nutritive values (%DM)		
TDN	66.3 ± 1.6	69.0 ± 1.0
DCP	10.5 ± 0.9	10.0 ± 0.3

¹ Mean ± SD, * P<0.05

DM : dry matter, OM : organic matter, CP : crude protein, EE : ether extracts, ADF : acid detergent fiber, NDF : neutral detergent fiber, TDN : total digestible nutrients, DCP : digestible crude protein

なかった。一方、水分排せつ量では低 K 飼料区で尿中への排せつ量が有意に減少したため、糞尿中への水分排せつ量が対照飼料区よりも平均で約 8kg/日の有意な減少を示した。しかし、低 K 飼料区では乳量の増加によって乳中への水分移行量が増えたため、糞尿中排せつ量と乳中移行量を合計すると対照飼料区が 83kg/日、低 K 飼料区が 80kg/日となって差がなく、見かけの水分保持量についても両区には有意な差はないという結果であった。

異なる K 含量の飼料を給与しても、朝の給飼前に採取した血漿中のミネラル濃度、浸透圧および尿素濃度には有意な変化は認められなかった (表 5)。一方、第一胃液中の K 濃度は低 K 飼料区でやや低下する傾向にあり、第一胃液 Na/K 比には低 K 飼料区で有意な上昇が観察された。第一胃液アンモニア濃度には両飼料区間に差はなかった。

Table 4. K and water balance of cows fed control and low K diets ¹

	Control	Low K
K intake (g/day)		
	332.5 ± 23.9	259.4 ± 20.6 *
K excretion (g/day)		
Feces	90.0 ± 28.9	97.1 ± 6.0
Urine	166.5 ± 47.2	79.6 ± 17.4 *
Milk	44.6 ± 8.2	53.2 ± 8.1 *
Feces + urine	256.6 ± 19.3	176.7 ± 16.2 *
Total ²	301.1 ± 19.8	229.9 ± 21.1 *
K balance ³ (g/day)	31.4 ± 12.9	29.5 ± 2.2
Water intake (kg/day)		
Feed	3.7 ± 0.4	31.6 ± 3.2 *
Drinking	96.1 ± 6.8	68.2 ± 6.7 *
Metabolic ⁴	5.9 ± 0.3	7.0 ± 0.5 *
Total ⁵	105.7 ± 7.4	106.8 ± 10.4
Water excretion (kg/day)		
Feces	45.0 ± 5.2	43.3 ± 4.4
Urine	15.6 ± 4.0	9.2 ± 2.5 *
Milk	22.5 ± 4.0	27.1 ± 4.5 *
Feces + urine	60.6 ± 4.8	52.6 ± 6.1 *
Total ²	83.2 ± 8.6	79.7 ± 10.5
Water balance ³ (kg/day)	22.6 ± 4.7	27.1 ± 2.5

¹ Mean ± SD, * P<0.05

² Sum of feces, urine and milk

³ Subtracted total excretion from total intake

⁴ Calculated from the intake of digestible crude protein and digestible non-protein organic matter ⁴⁾

⁵ Sum of feed, drinking and metabolic

Table 5. Composition of ruminal fluid and plasma of cows fed control and low K diets ¹

	Control	Low K
Ruminal fluid		
K (mmol/L)	20.0 ± 4.3	15.1 ± 3.7
Na (mmol/L)	115.4 ± 14.5	124.1 ± 3.2
Na/K ratio	5.9 ± 1.3	8.5 ± 1.7 *
Ammonia (mgN/dl)	12.8 ± 2.8	10.3 ± 2.0
Plasma		
K (mmol/L)	4.3 ± 0.2	4.1 ± 0.1
Na (mmol/L)	137.4 ± 2.1	137.5 ± 1.7
Na/K ratio	31.9 ± 2.0	33.3 ± 1.0
Ca (mg/dl)	10.7 ± 0.3	10.8 ± 0.3
Mg (mg/dl)	2.7 ± 0.2	2.8 ± 0.1
Cl (mEq/L)	98.9 ± 5.6	100.1 ± 1.0
Osmolality (mOsm/kg)	283.5 ± 2.1	283.5 ± 3.4
Urea (mgN/dl)	18.3 ± 0.8	17.0 ± 3.0

¹ Mean ± SD, * P<0.05

考 察

対照飼料区と低 K 飼料区の乾物摂取量には明らかな差が観察された。これは低 K 飼料の摂取量が想定通りであったのに対し、対照飼料の摂取量が想定よりも大きく減少したものである。本試験の対照飼料区では当研究所で生産されたイタリアンライグラス 2 番草のロールバールサイレージを粗飼料として使用したが、発酵品質があまり良好ではなかったことから牛の嗜好性が悪く、それが対照飼料区における乾物摂取量の低下を引き起こした大きな原因であったと思われる。

対照飼料区でこのような採食量の減少があったことから、低 K 飼料給与の採食性と生産性への影響については、対照飼料区との単純な比較からは結論し難いが、対照飼料区とは異なり、低 K 飼料区の乾物摂取量と乳量は、慣行的な飼養管理を行った馴致期間にこれらの供試牛で想定された水準が維持されており、乳成分率の低下も観察されなかった。給与飼料中の最適な K 含量に関しては、Sanchez ら²²⁾ が泌乳牛を用いた栄養試験成績のデータベースから検討しており、彼らは K 含量に対する乾物摂取量と乳量の反応が曲線的であり、乳牛の最大の生産能力は K 含量 1.5% の時に発揮されると結論した。しかし、この結論に対しては、データの元となった試験の飼料が K 以外のミネラル含量も大きく変動していることから、他のすべてのミネラルが要求量を十分に満たした場合にも、このような結果になるかは不明との指摘もな

されている¹⁶⁾。一方、実験的な飼料を給与して乳牛の K 要求量を検討した研究^{6,7)} は、K 含量が概ね 0.6% 以下になるまでは採食量の低下は観察されないことを報告している。これらのことを勘案すれば、本試験で用いた K 含量 1.19% という低 K 飼料が、少なくとも泌乳牛の採食性や生産性に悪影響を与えることはなかったと判断しても妥当と思われる。

低 K 飼料の給与は尿量を 10kg/日以下にまで減少させた(表 3)。低 K 飼料区では、尿量の増加を引き起こすもう一つの栄養素要因と考えられる N の摂取量が¹⁶⁾、対照飼料区よりも有意に多かったにもかかわらず、尿量には明確な低減効果が現れるという結果であった。しかし、水分出納の結果を見る限りでは(表 4)、低 K 飼料区で対照飼料区よりも減少した尿中水分排せつ量 6.4kg/日の大部分は、乳中水分移行量増加分の 4.6kg/日に分配されたかたちであり、一見すると尿量減少の多くが乳量の増加によって引き起こされた様にも見える。実際に、乳量と尿量には負の相関があることが知られており、乳量の増加は尿量を減少させる^{15,21)}。しかし、Holter ら¹⁰⁾ が 329 例の泌乳牛を用いた出納試験の結果を基にして算出した乳牛の尿量推定式では、独立変数のひとつである乳量の係数は -0.2175 とされており、通常であるならば、本試験で観察された 4.6kg/日の乳中水分移行量の増加によって減少する尿中水分排せつ量は、1.0kg/日程度と推定される。これは通常の場合、乳量が増加すると同時に飲水量が増加して総水分摂取量が増えるため、乳量の増加分がそのまま尿量に反映されることにはならないからである^{15,21)}。また、総水分摂取量は乾物摂取量とも高い正の相関があることも確認されており^{15,21)}、本来ならば乳量も乾物摂取量も多い低 K 飼料区で総水分摂取量が増加しても然るべきところであるが、本試験の両飼料区間に総水分摂取量の違いは観察されなかった。

両飼料の乾物率は大きく異なり、低 K 飼料区の飼料水摂取量は対照飼料区を大きく上まわったため、飼料水摂取量と相補的な関係にある飲水量が²¹⁾、低 K 飼料区で少なくなるのは当然のことである。一般的に高水分サイレージベースの飼料を給与した時に飲水量が減少することは良く知られている⁵⁾。しかし、Holter ら¹⁰⁾ が報告している泌乳牛の飲水量を乾物摂取量、乳量、飼料乾物率、年日数の 4 つの変数から推定する式に本試験の条件を当てはめてみると、対照飼料区と低 K 飼料区でそれぞれ 88.4kg/日および 73.0kg/日という飲水量の推定値が得られる。低 K 飼料区の推定値が対照飼料区より

も 15.4kg/日 少なくなるのは、飼料乾物率の違いであることは言うまでもない。ところが、実測の飲水量はそれぞれ 96.1kg/日 と 68.2kg/日 であり、その差は推定値の差の倍近い 27.9kg/日 もあった。これは実際の両飼料区の飲水量に、飼料乾物率の違いに起因する以上の大きな差があったことを示している。すなわち、乳量と乾物摂取量が対照飼料区よりも増加したにもかかわらず、総水分摂取量が増えなかった低 K 飼料区では、飼料水摂取量が増えたことによる以上に、実質的な飲水量の減少があったと考えられる。従って、低 K 飼料区の尿量減少は、乳量増加の直接的な結果と言うよりは、むしろこの実質的な飲水量の減少によってもたらされたものと解釈するべきである。

このように、K 給与量の低減による尿量減少は、強制的な飲水制限²⁴⁾ によって引き起こされる尿量減少とは異なり、泌乳牛の自発的な飲水調節に基づいた生理的な反応であると言える。生体液成分の動態も、これが生理的な反応であったことを示している。すなわち、第一胃液中では低 K 飼料区の K 濃度がやや低下傾向にあったことによって、第一胃液 Na/K 比が有意に低 K 飼料区で高くなっていったものの、血漿中のミネラル濃度および浸透圧は両飼料区に差はなく、低 K 飼料区でも電解質の恒常性は良く保たれていたと考えられる。また、K の摂取量が乳牛の N 動態に影響を及ぼす可能性も報告されているが¹¹⁾、本試験では第一胃液アンモニア濃度も血漿尿素濃度も両飼料区に差は認められず、N の恒常性に関しても K 摂取量減少による顕著な影響はなかったものと思われる。

K 出納の結果から明らかなように、低 K 飼料の給与による K 摂取量の減少は、K の糞中排せつ量や見かけの蓄積量は変化させず、尿中排せつ量の減少となって現れた (表 4)。今回は乳量増加による乳中 K 移行量の増加があったため、量的には摂取量の減少分以上に尿中 K 排せつ量の減少が見られたが、腎臓における K の排せつが K の摂取量によって直接左右されることは疑いがなく、尿量の変化もそれに伴った反応であると考えられる。腎臓における K の排せつはアルドステロンによる調節を受けるが、アルドステロンは K 排せつに付随して Na の再吸収を促進する²³⁾。また、泌乳牛では飼料中 K 含量によって唾液中 Na 濃度が変化することや、採食量と乳量に対して飼料中 K 含量と Na 含量の相互作用があることなども報告されおり¹⁴⁾、K と Na は生体内で密接に関連した動態を示すと考えられる。Erdman ら⁷⁾ は飼料中 K 含量の低下によって起こる乳牛の採食量の減

少は、Na を増給しても回復しないと報告しているが、Na は乳牛の尿量を規制する主要な栄養要因のひとつであることから¹⁵⁾、固形塩を不断給与する飼養体系で K 摂取量を減少させた時に、もしも乳牛が代償的に固形塩を介した Na 摂取を増加させるようなことがあれば、尿量の低減効果は相殺されてしまう可能性がある。しかし、本試験の結果では、両飼料区の総 Na 摂取量に有意な差は見られず (表 3)、Na が K の尿量低減効果を減じるようなことはなかったと推察される。ただし、低 K 飼料区では飼料および飲水に由来する Na 摂取量が対照飼料区よりも有意に少なかったにもかかわらず、総 Na 摂取量が対照飼料区と同じレベルになっており、統計的な差はないものの、固形塩からの Na 摂取量が増加傾向にあった可能性は否定できない。従って、K 給与量低減飼養時の乳牛の固形塩摂取行動については、今後さらに検討する必要があると思われる。

今回の試験では粗飼料にコーンサイレージ、配合飼料にビール粕を利用して調製した実用的な低 K 飼料を乳牛に給与し、生産性を損なうことなく尿量が減少できることを実証した。低 K 粗飼料源としてのコーンサイレージの有用性については久米ら¹²⁾ も指摘しているところであるが、国内の牧草の K 含量が高まっている現状¹⁷⁾ を考えれば、広く酪農現場で低 K 飼料を設計していくためには、コーンサイレージ以外の有用な低 K 粗飼料源を探索していくことが必要と思われる。同時に、その粗飼料と組み合わせる K 含量の少ない配合原料についても、食品製造副産物などを中心としたどのようなものが利用できるか検討することも必要である。さらに、暑熱環境のようなミネラルと水分の代謝が大きく変動する条件下で、乳牛の生産性に悪影響を与えずに尿量を低減できる K 給与技術の開発も今後の課題である。

引用文献

- 1) 阿部 亮 (2001). 栄養実験のための分析方法, 新編動物栄養試験法 (石橋 晃監修), 養賢堂, 東京, 455-466.
- 2) Agricultural Research Council (1980). The nutrient requirement of ruminant livestock, 259-309, Commonwealth Agricultural Bureaux, England
- 3) Bannink, A., Valk, H. and Van Vuuren, A.M. (1999). Intake and excretion of sodium, potassium, and nitrogen and the effects on urine production by lactating dairy cows, J. Dairy Sci., 82, 1008-1018.

- 4) Burgos, M.S., Senn, M., Sutter, F., Kreuzer, M. and Langhans, W. (2001). Effect of water restriction on feeding and metabolism in dairy cows, *Am. J. Physiol.*, 280, R418-R427.
- 5) Dahalborn, K., Akerlind, M. and Gustafson, G. (1998). Water intake by dairy cows selected for high or low milk-fat percentage when fed two forage to concentrate ratios with hay or silage, *Swedish J. Agric. Res.*, 28, 167-176.
- 6) Dennis, R.J., Hemken, R.W. and Jacobson, D.R. (1976). Effect of dietary potassium percent for lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 59, 324-328.
- 7) Erdman, R.A., Hemken, R.W. and Bull, L.S. (1980). Effect of dietary calcium and sodium on potassium requirement for lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 63, 538-544.
- 8) Fisher, L.J., Dinn, N., Tait, R.M. and Shelford, J.A. (1994). Effect of level of dietary potassium on the absorption and excretion of calcium and magnesium by lactating cows, *Can. J. Anim. Sci.*, 74, 503-509.
- 9) Haga, K. (1998). Animal waste problems and their solution from the technological point of view in Japan, *Jap. Agric. Res. Quart.*, 32, 203-210.
- 10) Holter, J.B. and Urban Jr., W.E. (1992). Water partitioning and intake prediction in dry and lactating Holstein cows, *J. Dairy Sci.*, 75, 1472-1479.
- 11) Kojima, H., Kume, S., Nonaka, K., Ohsita, T., Kozakai, T. and Hirooka, H. (2005). Effects of feeding and animal performance on nitrogen, phosphorus and potassium excretion by Holstein cows, *Anim. Sci. J.*, 76, 139-145.
- 12) 久米新一・野中和久・大下友子・小酒井貴晴・小島英紀 (2004). 自給粗飼料多給時における乾乳牛、妊娠牛および泌乳牛のカリウム排せつ量, *日本畜産学会報*, 75, 179-184.
- 13) Kume, S., Nonaka, K., Ohsita, T., Kozakai, T. and Hirooka, H. (2008). Effects of urinary excretion of nitrogen, potassium and sodium on urine volume in dairy cows, *Livestock Sci.*, 115, 28-33.
- 14) Mallonee, P.G., Beede, D.K. and Wilcox, C.J. (1982). Lactational and physiological responses of dairy cows to varying potassium and sodium quantities and rations in complete mixed diets, *J. Dairy Sci.*, 65(suppl.1), 212-213.
- 15) Murphy, M.R. (1992). Symposium: Nutritional factors affecting animal water and waste quality, *J. Dairy Sci.*, 75, 326-333.
- 16) National Research Council (2001). Nutrient requirements of dairy cattle, 7th. ed., National Academy Press, Washington, D.C.
- 17) 農業技術研究機構 (2001). 日本標準飼料成分表, 2001年版, 128-149.
- 18) 農業・食品産業技術総合研究機構 (2006). 日本飼養標準 乳牛, 2006年版, 中央畜産会, 東京, 41-42.
- 19) 大谷文博・田鎖直澄 (2007). 泌乳牛の排せつカリウム有効利用のための栄養管理, *畜産の研究*, 61, 259-264.
- 20) 岡本英竜・原田靖生 (2006). 新編畜産ハンドブック (扇元敬司他編), 講談社, 東京, 471-484.
- 21) Paquay, R., De Baere, R. and Lousse, A. (1970). Statistical research on the fate of water in the adult cow. II. The lactating cow, *J. Agric. Sci.*, 75, 251-255.
- 22) Sanchez, W.K., Beede, D.K. and Delorenzo, M.A. (1994). Macromineral element interrelationships and lactational performance: Empirical models from a large data set, *J. Dairy Sci.*, 77, 3096-3110.
- 23) 津田恒之・小原嘉昭・加藤和雄 (2004). 第2次改訂増補 家畜生理学, 養賢堂, 東京, 82-84.
- 24) Van SOEST, P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen contents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 46, 825-829.
- 25) Van SOEST, P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of Plant cell wall constituents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50, 50-55.

Effect of low potassium diet feeding on urine volume reduction for lactating dairy cows

Fumihito OHTANI ¹⁾, Naozumi TAKUSARI ²⁾, Masahiro AMARI ³⁾,
Shunsuke OGASAWARA ⁴⁾, Souichirou MORITA ⁵⁾, Shouji MATSUURA ⁶⁾,
Tomoyuki SUZUKI ⁷⁾, Mitsunori KURIHARA ⁸⁾, Kouji HIGUCHI ¹⁾ and Itoko NONAKA ⁹⁾

¹⁾Endocrinology and Metabolism Research Team

²⁾National Agricultural Research Center for Hokkaido Region

³⁾Livestock Research Support Center

⁴⁾Nagasaki Agricultural and Forestry Technical Development Center

⁵⁾Forage Productivity Research Team

⁶⁾Ecosystem Functions Research Team

⁷⁾National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

⁸⁾National Institute of Agrobiological Sciences

⁹⁾Livestock Research Team on Global Warming

Summary

The practical low potassium (K) diet that was prepared by actively utilizing the feed sources with low K content as roughage and formula feed was fed to 4 lactating dairy cows and examined whether urine volume could decrease effectively without damaging milk production. Two feed treatments were arranged that control diet (1.80% of K) was used Italian ryegrass silage and alfalfa hay cube as roughage and low K diet (1.19% of K) was used corn silage as roughage and brewer's grain as one of formula feed ingredients in order to decrease K content of diet. Dry matter intake and thereby milk yield were significantly lower for cows fed control diet compared to low K diet, although there were no differences in milk composition rates and digestibility between two diets. This difference observed in dry matter intake was attributed to poor in palatability of Italian ryegrass silage used for control diet, so it was deemed at least that low K diet did not exert adversely effects on feeding and milk production of cows. While fecal water excretion was not affected by feed treatments, urinary water excretion significantly decreased from 15.6 kg/day in control diet to 9.2 kg/day in low K diet. On the other hand, since total water intake did not increase in cows fed low K diet despite the increments of dry matter intake and milk yield, it was guessed that voluntary drinking water intake might be decreasing associated with the reduction of urinary water excretion in low K diet. It was thought that the homeostasis of electrolyte and nitrogen was maintained even when cows were fed low K diet, because there were no differences in plasma mineral concentrations, osmolarity, and urea concentration between two diets. These observations suggested that the decrease of urine volume induced by reduction of K intake was a physiological reaction in lactating dairy cow. Additionally, even though K intakes were reduced when cow fed low K diets, the total sodium intakes included salt block by cows were not increased.

Key words : Lactating dairy cows, Low potassium diet, Urine volume reduction

Present address: ²⁾ 1 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido, 062-8555 Japan

⁴⁾ 3600 Ariakechouetei, Shimabara, Nagasaki, 859-1404 Japan

⁷⁾ 2421 Suya, Koshi, Kumamoto, 861-1192 Japan

⁸⁾ 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8602 Japan

野菜におけるデタージェント分析法適用上の問題点

甘利雅弘¹⁾・永西 修²⁾・寺田文典³⁾・野中和久⁴⁾

¹⁾ 畜産研究支援センター

²⁾ 畜産温暖化研究チーム

³⁾ 企画管理部

⁴⁾ 飼料調製給与研究チーム

要 約

余剰野菜等を家畜飼料として有効利用するためには、飼料成分を正確に把握する必要がある。しかし、野菜のデタージェント分析では、酸性デタージェント繊維（ADFom）含量が中性デタージェント繊維（NDFom）含量より大きい値を示す事例がみられる。そこで野菜におけるデタージェント分析法について検討した。供試試料はキャベツ、白菜、大根であった。キャベツ、白菜、大根におけるNDFomとADFomの分析値は、それぞれ14.6、15.6、11.5%および14.2、19.0、14.2%であり、キャベツを除きADFomがNDFomより大きくなる結果であった。ADFom、NDFom中に残留する粗タンパク質（CP）は、それぞれ0.2～0.6%、0.1～0.8%の範囲にあり、ADFom、NDFom分析値に大きく影響を与えるものではなかった。酵素分析法による細胞壁物質（OCW）はNDFomより7.4～12.4%大きく、これはペクチン質の残留程度による違いと考えられ、このペクチン質がAD溶液による加熱処理過程でろ過し難い物質の生成に関与しADFomを過大に評価しているものと推察される。NDF処理によりペクチン質を除去した残渣をADF分析したもの（n-ADFom）では、キャベツ、白菜、大根でそれぞれ11.1、12.3、10.0%とNDFom分析値より大きな値は示さなかった。このことから、野菜におけるADFomの分析方法としてn-ADFomは適切な方法であると考えられた。

キーワード：デタージェント分析、ADF、n-ADF、野菜、飼料利用

緒 言

乳牛の飼養管理においては、その能力を最大限に引き出して安定的な乳生産を図るため、成長や生産量に応じた栄養要求量の適正給与が必要である。また、酪農経営での生産費の45%を超える飼料費⁸⁾の節減は経営の安定・強化を図る上で重要な課題である。特に、飼料価格が高騰している近年では、飼料の合理的な給与に向けた取り組みはさらに重要性を増している。このような状況の中で、飼料の未利用資源として余剰野菜の有効利用が求められている。キャベツ、大根、白菜等の野菜類は天候による豊凶変動が大きく、また、流通量も多く、しか

もこれらの野菜にはペクチン等の易発酵性炭水化物が多く含まれ³⁾、栄養価も高いと考えられ、その飼料化が注目されている。家畜への適正給与を図るためには、飼料成分を正確に把握することが重要なことであるが、これらの野菜の中には中性デタージェント繊維（NDFom）より酸性デタージェント繊維（ADFom）の分析値の方が大きくなるなどの事例⁷⁾がみられる。本来、飼料中の総繊維量として定義されるNDFom中の難消化性繊維がADFomであることから、明らかに矛盾することであり、適正な分析値として評価されていないことになる。NDFomおよびADFomは、その残渣中にCPの一部が残留することが知られている。一方、繊維質のペクチン

質は、OCWでは残渣中に含まれNDFomでは流出してしまうことが確認されている⁶⁾。NDFomが野菜等の試料だけ過小に評価されることは分析法の原理から考えてもあり得ないことであり、ADFomが過大に評価されている可能性が高い。その要因としては、ADFom中に残留するCPまたはペクチン質によるものと考えられる。そこで、主要野菜のキャベツ、白菜、大根について、デタージェント分析法の残渣物中のCP残留率、並びに酵素分析法による細胞壁物質との比較から、その原因を解明することとし、さらに、デタージェント分析法の野菜試料適用における有効な手法について検討した。

材料と方法

1. 供試試料

供試試料は、市販されているキャベツ、白菜、大根ならびに、イタリアンライグラス乾草(1番草, 出穂期, IRG)、アルファルファ乾草(1番草, 開花期, ALF)であった。供試試料は熱乾法により60℃で18時間乾燥させ、室温で1日間放置した後、1mmのメッシュを通過する粒度で粉碎し飼料分析に供した。

2. 飼料成分分析

飼料成分分析は、一般分析法¹⁾による粗タンパク質(CP)、粗灰分(Ash)、酵素分析法²⁾による細胞壁物質(OCW)、デタージェント分析法^{9,10)}によるNDFom、ADFomおよびNDF処理残渣をADF分析したもの(n-ADFom)、ならびにデタージェント分析の各種成分残渣中のCP含量を定量した。n-ADFomの分析手順を図1に示した。

また、OCWとNDFomとの差をペクチン質とし、NDFom、ADFom残渣中の残留CPを補正し、デタージェ

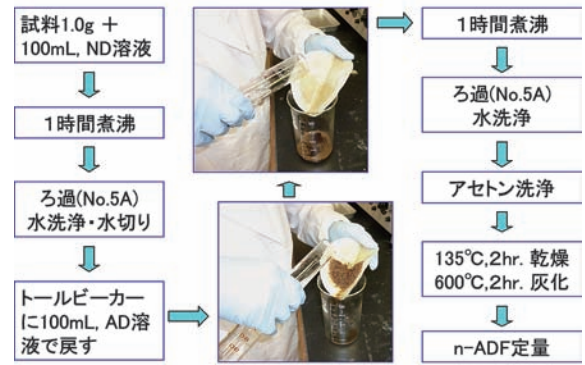


図1. n-ADFom 分析の手順

ント分析による各成分値の差を比較することにより検討した。

結果と考察

供試試料の分析結果を表1に示した。キャベツ、白菜、大根の水分は91～96%、CPおよびAshは乾物中でそれぞれ15～31%、10～22%の範囲にあり、各成分とも牧草と比べ高い値を示した。Ashは、分析材料としたキャベツ、白菜、大根の乾物率が3.8～9.0%と低いことに加え無洗浄のものであったため、土砂等の混入が大きく影響して高い値を示したものと考えられる。IRGおよびALFは、各成分とも発育ステージに見合った値⁵⁾を示した。NDFomと同様に総繊維量を示すOCWは、キャベツ、白菜、大根でそれぞれ27.0、23.1、22.8%とNDFomより大きく、それぞれNDFomの1.8、1.5、2.0倍の値を示し、IRGおよびALFのNDFomとOCWとの比率1.0、1.1に比べ、OCWは異常に大きな値であった。これは、ビートパルプ等の飼料でもみられる現象であり、コロイド状多糖類を主要部とするペクチン質がこ

表1. 供試試料の主要な飼料成分

	水分	CP	Ash	NDFom	ADFom	OCW	ペクチン質
					DM%		
キャベツ	91.0	14.9	10.0	14.6	14.2	27.0	12.4
白菜	96.2	30.5	22.4	15.6	19.0	23.1	7.5
大根	95.0	15.8	13.1	11.5	14.2	22.8	11.3
IRG	-	6.0	8.7	65.7	41.2	66.7	1.0
ALF	-	21.4	8.8	43.1	32.3	49.4	6.3

CP: 粗タンパク質, Ash: 粗灰分, NDFom: 中性デタージェント繊維,
ADFom: 酸性デタージェント繊維, ペクチン質: OCW-NDFom,
IRG: イタリアンライグラス乾草, ALF: アルファルファ乾草

表2. 供試試料データジェント分析の比較

	DM%								
	NDFom		ADFom			n-ADFom			
	NDFom	CP 補正	ADFom	CP 補正	$\Delta 1$	n-ADFom	CP 補正	$\Delta 2$	$\Delta 3$
キャベツ	14.6	14.2	14.2	14.0	0.4	11.1	10.9	3.1	3.5
白菜	15.6	14.8	19.0	18.6	-3.4	12.3	12.1	6.7	3.3
大根	11.5	11.4	14.2	13.6	-2.7	10.0	9.9	4.2	1.5
IRG	65.7	63.4	41.2	40.7	24.5	37.2	36.8	4.0	28.5
ALF	43.1	36.7	32.3	31.3	10.8	28.3	27.4	4.0	14.8

CP, NDFom, ADFom, IRG, ALF: 表1 参照

$\Delta 1$: NDFom - ADFom, $\Delta 2$: ADFom - n-ADFom, $\Delta 3$: ヘミセルロース, NDFom - n-ADFom

これらの野菜には多く含まれているためと考えられる^{3,4)}。すなわち NDFom は ND 溶液で煮沸処理, OCW は酵素溶液で処理するため, NDFom ではペクチン質が流出し, OCW はペクチン質がヘミセルロース部位として残留することから分析値が異なる。このことから, これら野菜等では, 繊維を構成する物質および構造が牧草に含まれるそれらとは異なることが明らかである。NDFom と ADFom の比較では, キャベツは NDFom が大きい値を示したものの白菜および大根では ADFom が NDFom より大きい値となる逆転現象が認められた。

NDFom, ADFom, n-ADFom を比較するため, これらの分析値, 並びにこれら残渣中の CP を除いた値を表2に示した。NDFom と ADFom との差をみると, 白菜および大根ではそれぞれ - 3.4, - 2.7% と ADFom が NDFom より大きい値を示し, キャベツはその差が 0.4% と NDFom の方が大きい値を示したもののその差は非常に小さいものであった。キャベツ, 白菜, 大根における NDFom および ADFom 残渣中の CP 含量は, それぞれ 0.1 ~ 0.8%, 0.2 ~ 0.6% の範囲にあり大きな違いは認められなかった。NDF および ADF 中の残留 CP を除いた NDFom 補正值および ADFom 補正值の差でも, それぞれの試料で 0.2, - 3.8, - 2.2% と補正前の結果と比べ違いは認められなかった。次に NDFom と n-ADFom 分析値についてみると, その差はそれぞれ 3.5, 3.3, 1.5% と逆転現象はみられず, 残留 CP 含量も 0.1 ~ 0.2% と小さい値であり, 残留 CP 含量を除いた n-ADFom 補正值との差でも補正前と違いは認められなかった。このことから, キャベツ, 白菜, 大根に残留する CP 含量は NDFom, ADFom, n-ADFom 分析値には大きく関与していないといえる。

一方, これら野菜にはペクチン質が多く含まれ, これらは糖と酸の存在下でゼリー状になる性質を持つ。ペクチン質の多糖体はその構造が複雑でその定量法も確立さ

れていないことから含有量を示すことができ得ないが, ペクチン質が AD 溶液による加熱処理過程でろ過し難い物質の生成に寄与しているものと推察され, ADFom 中に残留し過大にその含量を評価してしまうものと考えられる。キャベツ, 白菜, 大根では, ADFom 分析値と n-ADFom 分析値との差は 3.1 ~ 6.7% であり, それぞれ 22, 35, 30% 過大に評価されることになる。このことは, 飼料の栄養的な価値を過小評価することにもなる。しかも白菜および大根のように ADFom が NDFom を上回る現象は理論的に不合理なことであり, 必ず解決していかなければならない問題である。また, キャベツのように NDFom が大きい値を示したものについてもその差からみて適切な値であるとは言い難い。NDFom 並びに ADFom が持つ飼料中の総繊維, 総繊維中の難消化性繊維区分という観点からその差をヘミセルロースとするならば, NDFom 含量から考えても NDFom 残渣について ADFom 分析する n-ADFom は, 理論的には適切な方法と言える。しかしながら, 粗飼料として代表的なイネ科およびマメ科牧草の IRG や ALF では, ADFom と n-ADFom 分析値との間に 4% 程度の差が認められることから, n-ADFom 分析値を従来の ADFom 分析値と同一に扱うことはできない。このことから, 野菜等の ADF 分析では, NDF 処理後に ADF 分析を行う方が適切と考えられるものの, n-ADFom 分析値を使用する場合には, これら画分の化学的な性質を理解し, 分析法を明記した上で用いるべきであると考ええる。

引用文献

- 1) 阿部 亮 (2001). 栄養実験のための分析方法, 新編動物栄養試験法 (石橋 晃監修), 養賢堂, 東京, 455-466.
- 2) 阿部 亮・堀井 聡 (1979). 細胞壁物質の定量に

- における中性デタージェント法と酵素分析法との比較, 日本草地学会誌, 25, 70-75.
- 3) 浅岡久俊 (1986). 化学セミナー 14 糖質, 丸善株式会社, 東京, 149-151.
 - 4) Cassida, K.A., Turner, K.E., Foster, J.G. and Hesterman, O.B. (2007). Comparison of detergent fiber analysis methods for forages high in pectin, *Anim. Feed Sci. & Tech.*, 135, 283-295.
 - 5) 独立行政法人農業技術研究機構 (2001). 日本標準飼料成分表, 2001年版, 中央畜産会, 東京, 52-56.
 - 6) 梶川 博 (1998). 乳牛用飼料における有効繊維とは, ルーメン5, デーリィ・ジャパン, 東京, 74.
 - 7) 野中和久・名久井忠・篠田 満 (1994). ニンジンサイレージの調製と飼料価値, 北海道農業試験場研究報告, 159, 73-85.
 - 8) 農林水産省大臣官房統計部 (2009). 農林水産統計 農業経営統計調査 平成20年度牛乳生産費(全国), <http://www.maff.go.jp/j/press/tokei/keikou/pdf/091225-01.pdf>
 - 9) Van SOEST, P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen contents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 46, 825-829.
 - 10) Van SOEST, P.J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of Plant cell wall constituents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 50, 50-55.

The problem for application of detergent analysis method to vegetables

Masahiro AMARI¹⁾, Osamu ENISHI²⁾, Fuminori TERADA³⁾
and Kazuhisa NONAKA⁴⁾

¹⁾Livestock Research Support Center

²⁾Livestock Research Team on Global Warming

³⁾Department of Planning and General Administration

⁴⁾Research Team for TMR Preparation and Feeding Technology

Summary

It is necessary to know chemical composition of feed exactly to use a surplus vegetable effectively as an animal feed. However, it is frequently observed phenomenon that amount of acid detergent fiber (ADFom) content is larger than amount of neutral detergent fiber (NDFom) content by analytical detergent method in vegetables. Then, the detergent analysis method in a cabbage, a napa cabbage and a Japanese radish was examined in this study. The value of NDFom and ADFom contents in cabbage, napa cabbage and Japanese radish were 14.6, 14.2%, 15.6, 19.0% and 11.5, 14.2%, respectively. In napa cabbage and Japanese radish, the amounts of ADFom content were shown larger than NDFom content. Crude protein (CP) that remained in ADFom and NDFom was 0.2-0.6%, 0.1-0.8% respectively, and no one that greatly influenced ADFom and the NDFom analysis value. Amounts of organic cell wall (OCW) by the enzyme analysis method are 7.4-12.4% larger than amounts of NDFom. This is thought to be a difference according to the residual extent of the pectines. It is guessed that it takes part in the generation of the material that doesn't filter these pectines easily during heat-treatment with the AD solution and ADFom is evaluated excessively. The amount of ADFom that removed the pectines by the ND solution (n-ADFom) in the cabbage, the napa cabbage, and the radish were 11.1, 12.3 10.0%, respectively. The value of n-ADFom did not exceed that of NDFom in each vegetable. As a result, it was considered that n-ADFom was a proper procedure as methods of analysis of ADFom in the vegetable.

Key words : Detergent analysis, ADF, n-ADF, Vegetables, Feed

畜産草地研究所大中国家畜代謝実験棟における新データ収集処理装置の設計

樋口浩二¹⁾・小林洋介¹⁾・野中最子²⁾・永西 修²⁾

¹⁾ 栄養素代謝研究チーム

²⁾ 畜産温暖化研究チーム

要 約

大中国家畜代謝実験棟の呼吸試験装置について、データ収集処理装置を再構築し、その測定値を従来のもものと比較検討した。データ収集処理装置はできるだけ一般的に入手可能な機器で構成し、将来の改良や更新に十分対応できるように設計した。また、ソフトウェアは簡便でかつ発展性が高くなるよう設計した。すなわち、1. 一般的に利用されているオペレーティングシステム上で動作し、起動および操作が簡単に行えるようにした。2. 呼吸試験データの収集と演算に機能を特化し、簡素な構成にした。3. 設備や機器構成の変更にも柔軟に対応できるような仕様でプログラミングを行った。今回設計したデータ収集処理装置と従来のもものとで同時に呼吸試験データを収集してデータを比較したところ、相対誤差 ($0.1 \sim 0.7 \pm 0.1 \sim 0.3\%$) は小さく、相関 (相関係数 $r = 0.99562 \sim 0.99999$) は高く、加えて両システム間の系統誤差は軽微であったことから、今回設計したデータ収集処理装置は、従来のもものと同等の呼吸試験データが得られる非常に簡便なシステムであるといえた。

キーワード：開放型呼吸試験装置、エネルギー代謝、反すう家畜

緒 言

当研究所における大中国家畜代謝実験棟（代謝実験棟）は、ウシ、ヤギ、ヒツジなどのエネルギーやタンパク質の要求量およびそれらの利用効率等を多角的に研究・解明するために設置された世界有数の施設である。代謝実験棟で得られた成果は日本飼養標準や日本標準飼料成分表に記載され、公立試験研究機関や普及組織などに広く用いられている。また、反すう家畜からのメタンガス発生量の把握や制御技術の開発といった温室効果ガスに関する先導的な研究も当施設において実施され、国内外へと展開されている。このような代謝実験棟の最大の特徴は、家畜の物質出納を測定するための設備として、消化試験装置と家畜のガス代謝量を高精度で計測可能な開放式呼吸試験装置を装備していることである。呼吸試験装置は、独立の試験室、大家畜から中小家畜に至るまで収容可能なチャンバー（大家畜用4基、中小家畜用4基）、

環境計測・制御装置、通気量計測・制御装置、ガス分析装置、データ収集処理装置より構成されている。これらは、昭和27年（1952年）に日本で初めて千葉市に大家畜用の呼吸試験装置が設置されて以来⁴⁾、改造や改修^{1,2)}を逐次おこない、昭和55年（1980年）、筑波研究学園都市に移転された際の新設時にほぼ現在の仕様にまで完成されたものである³⁾。その後、平成4年（1992年）にチャンバーの増設（大家畜用2基）およびコンピューターを刷新して以来、基本的な構成に変更は加えられていない。今回、呼吸試験装置全体の機能は維持・継続しながら、データ収集処理装置について新たな設計を試みた。

データ収集処理装置にはいち早くコンピューターが導入されており、極めて繁雑で労力を要する呼吸試験の省力化が図られてきた²⁾。また、コンピューターの性能向上にともない、環境制御、ガス分析、データ処理といった呼吸試験に関わる全ての制御をコンピューターで処理する方向へとも進んだが、現在は設備の制御と試験デー

タの収集を分離し、環境制御等は組込型のマイクロコンピュータで制御をおこない、ガス分析の一部とデータ処理をコンピュータに担当させている。現有のコンピュータ（ワークステーション）は、設置当時のパーソナルコンピュータ（PC）の性能に比べて極めて堅牢で安定したハードウェアとソフトウェアを有しており、これまで長期間安定稼働してきた。しかし、現在のPCと比べると、記憶容量の少なさ、データ入出力の不便等の問題が顕在化している。また、データ収集処理装置のワークステーションに組み込まれたソフトウェアは、データ収集機能、記録されたデータの整理、加工、解析機能、環境制御機能等々非常に多機能で重厚なものであり、仕様を変更するなど再構成するには莫大な経費と時間を要する。仮にデータ収集処理装置を更新・新設した場合、その試運転やデータの検討などに長期間実験の中断を余儀なくされることが想像される。

そこで、PCの性能は現在ハードウェアおよびソフトウェアともに飛躍的に向上していること、コンピュータと連携する小型高性能のデータ入出力装置も安価に入手できることから、安価で将来的な拡張にも柔軟に対応できるデータ収集処理装置の設計および現有システムと同時並行的にデータを収集することを試み、収集したデータについて現有システムとの整合性を検討した。

材料と方法

基本設計

呼吸試験装置の中核をなすデータ収集処理装置（Fig. 1, 点線内）は計測コントローラーとコンピュータ（ワークステーション）で構成され、それらはガス分析装置、通気量計測・制御装置および環境計測・制御装置と接続されている。データ収集処理装置の役割は、ガス分析装置を制御すること、通気量計測値、環境計測値およびガス分析値を収集すること、そしてこれらを連携して呼吸試験を実行し、ガス代謝量を計算することである。今回設計したデータ収集処理装置（新システム）は、既存のデータ収集処理装置（旧システム）と完全に並列的にガス分析装置等と接続した（Fig. 1, 赤点線内）。そのため、新システム独自で呼吸試験を実行する本来の動作も、旧システムにより呼吸試験を実行しながら新システムではその背後でデータ収集のみをおこなう動作も可能となっている。

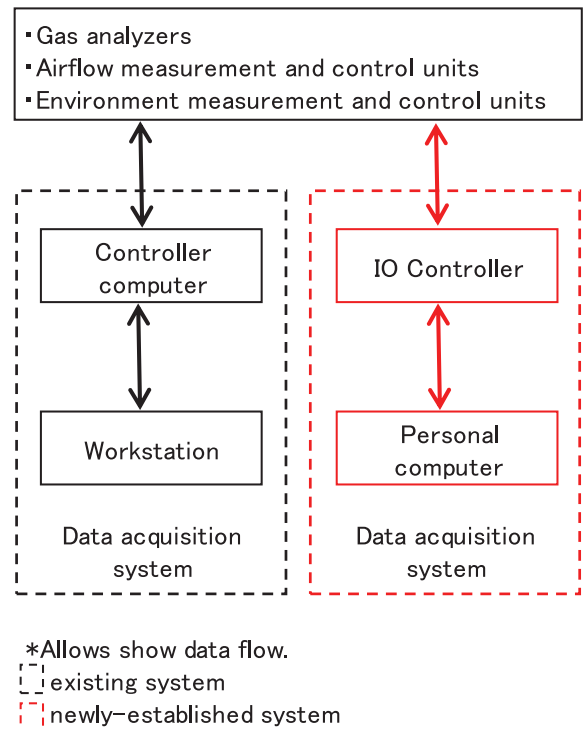


Fig. 1. Outline of data acquisition

ハードウェア

新システムの基本的なハードウェア構成は、Fig. 1にある通りIOコントローラーおよびPCである。IOコントローラーとPCは、ハブを介したイーサネットで接続した。IOコントローラーを構成するモジュール（Table 1）および計測制御に用いられる信号（資料1, 2）をそれぞれ示した。

ソフトウェア

ソフトウェアは、マイクロソフト社のMicrosoft Foundation Classライブラリおよびコンテック社のI/Oコントローラー用ドライブライブラリAPI-CAP (W32)を用い、マイクロソフト社のVisual C++ 6.0で制作した。ソフトウェアのフローチャートをFig. 2に示した。ソフトウェアの起動後、初期化処理をおこない、測定待機状態となる。測定の指示を与えると、1秒間隔でIOコントローラーよりアナログおよびデジタルデータが取得され、ガス分析値、通気量および環境計測値等の演算、表示、積算がおこなわれる。代謝演算値の出力が指示されていれば、1分毎に代謝演算値を集計し、CSV形式のファイルとしてチャンバー毎に出力される。新システムで出力されるCSVファイルの内容は、旧システムに実装された同じくCSV形式の時系列データである小試験テキストファイルの仕様に準じた。

Table 1. Equipments and specifications

Units	Products	Input (Output) range	Resolution	Conversion rate	Channels
IO Controllers	Contec, I/O Controller Module, CPU-CA20(FIT)GY				
IO Module	Contec, Isolated Analog Input Module, ADI12-8(FIT)GY	DC 0-5V	12-bit	(Number of conversion channels×10 + 20) μsec	8
IO Module	Contec, Isolated Digital Input Module, DI-32(FIT)GY	DC 12-24V	-	< 1msec.	32
IO Module	Contec, Isolated Digital Output Module, DO-32(FIT)GY	DC 12-48V	-	< 1msec.	32
Power supply	Contec, AC-DC Power Supplies, POW-AD13GY				
Power supply	Keyence, Compact Switching Power Supply, MS2-H50	DC 24V			

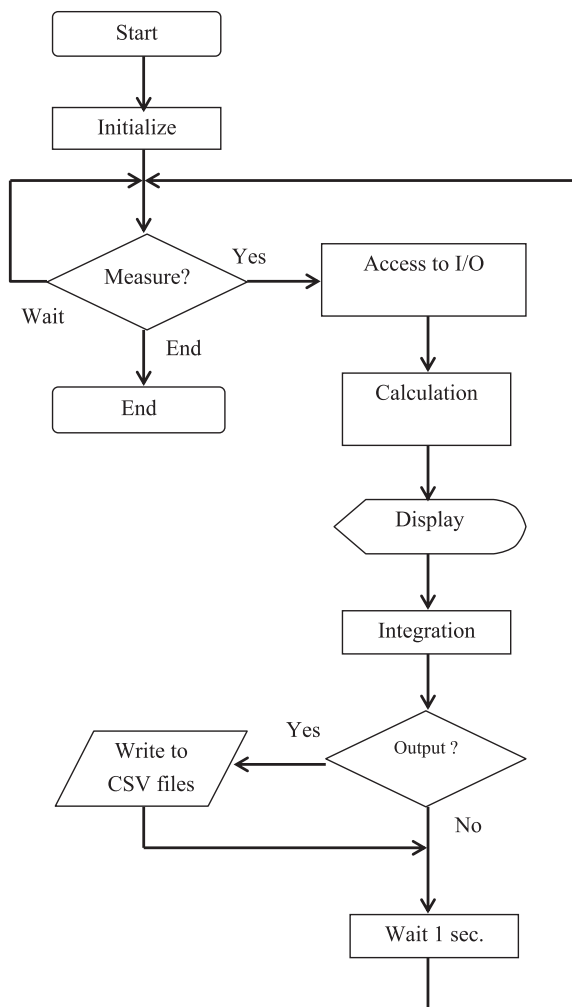


Fig. 2. Flowchart for data collection

以上のシステムを用いて、泌乳牛 24 例、乾乳牛 34 例ならびにヤギ 16 例の呼吸試験について、旧システムで収集処理したデータと、同時並行的に収集処理した新システムのデータとの整合性を検討した。全ての統計計算は SAS 9.2⁵⁾ を用いておこなった。両システムデータ間の相関係数は CORR プロシジャ、相対誤差および測定値間差の平均値と標準偏差は MEANS プロシジャを用いた。対応のある t 検定は TTEST プロシジャに PAIRED ステートメントを用いておこなった。新システムデータにおける系統誤差の検定は、旧システムデータに対する新システムデータの回帰分析をおこない、得られた回帰式の傾きが 1 であることと、切片値が 0 であるかを検定することによりおこなった。回帰式の計算には REG プロシジャを用い、MODEL ステートメントに CLB オプションを用いて回帰係数推定値の 95% 信頼区間を求めた。

結果と考察

新システムにより、呼吸試験 74 例すなわち延べ 74 日間にわたるデータ収集に成功した。その結果、いずれの家畜を用いた呼吸試験においても、酸素消費量、二酸化炭素発生量、メタン発生量および熱発生量全ての測定項目について高い相関（相関係数 0.99562 ~ 0.99999）が得られ（Table 2）、データの相対誤差の平均値および標準偏差は 0.1 ~ 0.7 ± 0.1 ~ 0.3% であった（Table 2）。但し、代謝量の多い泌乳牛、乾乳牛、ヤギの順に誤差は大きかった。新システムによる測定値から旧システムに

よる測定値を差し引いた測定値間差には、家畜毎に傾向が異なった。すなわち、泌乳牛において測定値間差は正の値、乾乳牛では負の値となり、ヤギにおいて値は小さかったが正の値となった。両システム間で得られた値について対応のあるt検定をおこなうと、いずれの値においても有意差となった (Table 2)。

旧システムデータに対する新システムデータの回帰分析により、新システムデータに含まれる系統誤差を検定

した。泌乳牛およびヤギについては、全ての回帰式の傾きの95%信頼区間内に1が含まれたことから、これらの回帰式の傾きは1とみなせた (Table 3)。一方、乾乳牛の全てのデータについても、傾きの値およびその信頼区間も1にほぼ近似した値と考えてよいと思われた (Table 3)。回帰式の切片については、ヤギのメタンの値を除いた全てのデータにおいて回帰式の切片は0と有意差はなかった (Table 3)。切片値が有意となったヤ

Table 2. Correlation coefficient, relative error, difference of measurements, and result of paired t-test from data collected with new and existing system.

Animal	Item	Correlation coefficient	Relative error, %	Difference of measurements between systems ¹	Paired t-test
Lactating cow	O ₂ consumption	0.99574	0.7±0.3	27.9±10.8	*
	CO ₂ production	0.99763	0.5±0.2	23.3±12.2	*
	CH ₄ production	0.99971	0.5±0.2	2.1±1.3	*
	Heat production	0.99562	0.6±0.2	564±230	*
Dry cow	O ₂ consumption	0.99997	0.3±0.2	-6.2±5.9	*
	CO ₂ production	0.99998	0.3±0.2	-6.6±6.2	*
	CH ₄ production	0.99997	0.3±0.2	-0.5±0.6	*
	Heat production	0.99998	0.3±0.2	-130±112	*
Goat	O ₂ consumption	0.99991	0.2±0.1	0.3±0.3	*
	CO ₂ production	0.99997	0.1±0.1	0.3±0.2	*
	CH ₄ production	0.99999	0.3±0.1	0.1±0.0	*
	Heat production	0.99994	0.1±0.1	7±5	*

¹Data were calculated as (new system)-(existing system). O₂ consumption, CO₂ and CH₄ production were shown in L. Heat productions were shown in kJ.

*p<0.01

Table 3. Test of systematic error of the data collected with new system.

Animal	Item	Test for slope and intercept ¹	95% confidence interval for slope value
Lactating cow	O ₂ consumption	y = 0.9829 x + 101.1107 (r ² = 0.9915)	0.9427 ~ 1.0231
	CO ₂ production	y = 0.9822 x + 111.3264 (r ² = 0.9953)	0.9523 ~ 1.0122
	CH ₄ production	y = 1.0056 x - 0.4539 (r ² = 0.9994)	0.9949 ~ 1.0163
	Heat production	y = 0.9824 x + 2205.5554 (r ² = 0.9913)	0.9416 ~ 1.0231
Dry cow	O ₂ consumption	y = 0.9960 x + 2.4493 (r ² = 0.9999)	0.9933 ~ 0.9987
	CO ₂ production	y = 0.9949 x + 5.7408 (r ² = 1.0000)	0.9926 ~ 0.9972
	CH ₄ production	y = 0.9960 x + 0.3903 (r ² = 0.9999)	0.9931 ~ 0.9988
	Heat production	y = 0.9957 x + 71.9088 (r ² = 1.0000)	0.9935 ~ 0.9979
Goat	O ₂ consumption	y = 0.9994 x + 0.5158 (r ² = 0.9998)	0.9915 ~ 1.0072
	CO ₂ production	y = 1.0022 x - 0.2792 (r ² = 0.9999)	0.9979 ~ 1.0065
	CH ₄ production	y = 1.0001 x + 0.0618* (r ² = 1.0000)	0.9978 ~ 1.0025
	Heat production	y = 1.0011 x + 0.6724 (r ² = 0.9999)	0.9949 ~ 1.0072

¹Slope and intercept values were tested from regression of the data from new system on the data from existing system.

*p<0.05

ギのメタンについても、実測値の差は極めて小さいため (Table 2), 切片値が0とならない要因は軽微なものと考えられた。以上の回帰分析の結果より、新システムで収集したデータに含まれる系統誤差は軽微なものと考えられた。

これらの検討結果より、代謝量の多い泌乳牛における相対誤差の増大、家畜種毎の測定値間差、乾乳牛の測定値およびヤギのメタン値に見られる軽微な系統誤差等については今後のデータにおいても注視する必要があると考えられる。また、対応のあるt検定の結果では両システムの測定値間に有意な差が見出されたが、新システムによって得られるデータは実用上満足のいくものと思われた。

新システムで満足のいくデータが得られたことに加え、汎用PCを利用しているため、データ収集処理装置としての継続性・発展性は大きく高まったと考えられる。まず、出力データの管理はPCのOS上におけるファイルの管理と同義となり、大容量の記憶装置や簡便な入出力装置の恩恵を受けることが可能となり、操作も容易になった。出力データはCSV形式であるため表計算ソフト等で容易に編集・加工できるが、代謝演算を簡便におこなうためのソフトウェアも別途用意した (資料6)。また、汎用PCと接続可能な周辺機器およびソフトウェアで運用が可能であることから、機材の調達からデータの整理・解析等まで、制約を受けることなく運用が可能であると考えられる。ソフトウェアの内部構造として、設備とソフトウェアのダイアログを1対1で対応させてプログラミングしたことで、設備の変更にも柔軟に対応できるようになっており、ガス分析計やチャンバーの増設など既設設備を拡充した場合、あるいは新規のガス分

析系統や動物の活動を測定・記録する装置を増設するような場合においても、またIOコントローラーのような入出力装置を一式変更するような場合においても最小限のプログラミングで再構築が可能である。従って、今回制作したデータ収集処理装置は既設の呼吸試験装置のものを代替するだけでなく、将来的な呼吸試験装置の再構成や拡張にも十分応用できるものと考えられた。

引用文献

- 1) 橋爪徳三・海塩義男・森本 宏・安保庄一郎・増淵敏彦・安部道夫・浜田龍夫・田中孝之助 (1961). 牛における物質およびエネルギーの代謝 II. 代謝試験装置について, 農業技術研究所報告, G (畜産) 20, 21-52.
- 2) 伊藤 稔・針生程吉・田野良衛・岩崎和雄 (1977). 家畜のエネルギー代謝における動特性追跡機能を附加した省力的呼吸試験装置-その構成と機能-, 畜産試験場研究報告, 32, 45-61.
- 3) 岩崎和雄・針生程吉・田野良衛・寺田文典・伊藤稔・亀岡暄一 (1982). 畜産試験場に新設した家畜代謝実験装置について-とくに呼吸試験装置の機能を中心として-, 畜産試験場研究報告, 39, 41-73.
- 4) 海塩義男・橋爪徳三・安保庄一郎・阿部彦郎・増淵敏彦・安部道夫・森本 宏・堀井 聰・倉田陽平・石原盛衛・土屋平四郎 (1955). 牛における物質及びエネルギーの代謝, 農業技術研究所報告, G (畜産) 11, 157-231.
- 5) SAS 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

資料1. A室入出力データ割付表

信号名称	信号種	モジュール名	モジュールID	チャンネルNo
A室ガス分析装置1 O2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	0
A室ガス分析装置1 CO2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	1
A室ガス分析装置1 CH4 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	2
A室ガス分析装置2 O2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	3
A室ガス分析装置2 CO2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	4
A室ガス分析装置2 CH4 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	5
A室チャンバー1 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	6
A室チャンバー2 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	7
A室チャンバー3 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	0
A室チャンバー4 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	1
A室チャンバー1内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	2
A室チャンバー2内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	3
A室チャンバー3内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	4
A室チャンバー4内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	5
A室チャンバー1出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	6
A室チャンバー2出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	7
A室チャンバー3出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	0
A室チャンバー4出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	1
A室チャンバー1内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	2
A室チャンバー2内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	3
A室チャンバー3内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	4
A室チャンバー4内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	5
A室チャンバー1出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	6
A室チャンバー2出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	7
A室チャンバー3出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	0
A室チャンバー4出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	1
A室実験室内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	2
A室実験室内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	3
外気乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	4
外気相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	5
大気圧	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	6
ガス分析装置1 ストリーム01 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	0
ガス分析装置1 ストリーム02 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	1
ガス分析装置1 ストリーム03 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	2
ガス分析装置1 ストリーム04 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	3
ガス分析装置1 ストリーム05 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	4
ガス分析装置1 ストリーム06 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	5
ガス分析装置1 ストリーム07 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	6
ガス分析装置1 ストリーム08 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	7
ガス分析装置1 ストリーム09 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	10
ガス分析装置1 ストリーム10 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	11
ガス分析装置1 メインゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	12
ガス分析装置1 メインスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	13
ガス分析装置1 サブゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	14
ガス分析装置1 サブスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	15
ガス分析装置1 分析モードCH	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	16
ガス分析装置1 分析モードHC	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	17
ガス分析装置1 分析モード手動	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	20

信号名称	信号種	モジュール名	モジュール ID	チャンネル No
ガス分析装置 1 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	21
ガス分析装置 1 自動チェック	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	22
ガス分析装置 1 自動校正	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	23
ガス分析装置 1 校正中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	24
ガス分析装置 1 O2 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	25
ガス分析装置 1 CO2 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	26
ガス分析装置 1 CH4 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	27
ガス分析装置 1 サンプルング	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	30
ガス分析装置 1 電源断	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	31
ガス分析装置 2 ストリーム 01 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	32
ガス分析装置 2 ストリーム 02 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	33
ガス分析装置 2 ストリーム 03 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	34
ガス分析装置 2 ストリーム 04 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	35
ガス分析装置 2 ストリーム 05 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	36
ガス分析装置 2 ストリーム 06 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	37
ガス分析装置 2 ストリーム 07 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	0
ガス分析装置 2 ストリーム 08 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	1
ガス分析装置 2 ストリーム 09 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	2
ガス分析装置 2 ストリーム 10 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	3
ガス分析装置 2 メインゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	4
ガス分析装置 2 メインスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	5
ガス分析装置 2 サブゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	6
ガス分析装置 2 サブスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	7
ガス分析装置 2 分析モード CH	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	10
ガス分析装置 2 分析モード HC	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	11
ガス分析装置 2 分析モード手動	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	12
ガス分析装置 2 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	13
ガス分析装置 2 自動チェック	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	14
ガス分析装置 2 自動校正	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	15
ガス分析装置 2 校正中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	16
ガス分析装置 2 O2 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	17
ガス分析装置 2 CO2 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	20
ガス分析装置 2 CH4 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	21
ガス分析装置 2 サンプルング	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	22
ガス分析装置 2 電源断	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	23
ガス分析装置 1 主 SW 変化 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	24
ガス分析装置 1 ストリームチェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	25
ガス分析装置 1 校正チェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	26
ガス分析装置 1 校正値読取 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	27
ガス分析装置 1 自動校正 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	30
ガス分析装置 2 主 SW 変化 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	31
ガス分析装置 2 ストリームチェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	32
ガス分析装置 2 校正チェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	33
ガス分析装置 2 校正値読取 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	34
ガス分析装置 2 自動校正 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	35
A 室チャンバー 1 通気レンジ 大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	36
A 室チャンバー 1 通気レンジ 中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	5	37
A 室チャンバー 1 通気レンジ 小	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	0
A 室チャンバー 2 通気レンジ 大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	1

信号名称	信号種	モジュール名	モジュール ID	チャンネル No
A 室チャンパー 2 通気レンジ 中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	2
A 室チャンパー 2 通気レンジ 小	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	3
A 室チャンパー 3 通気レンジ 大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	4
A 室チャンパー 3 通気レンジ 中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	5
A 室チャンパー 4 通気レンジ 大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	6
A 室チャンパー 4 通気レンジ 中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	7
A 室チャンパー 1 起伏状態	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	10
A 室チャンパー 2 起伏状態	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	11
A 室チャンパー 3 起伏状態	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	12
A 室チャンパー 4 起伏状態	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	13
A 室チャンパー 1 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	14
A 室チャンパー 2 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	15
A 室チャンパー 3 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	16
A 室チャンパー 4 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	6	17
ガス分析装置 1 ストリーム 01 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	0
ガス分析装置 1 ストリーム 02 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	1
ガス分析装置 1 ストリーム 03 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	2
ガス分析装置 1 ストリーム 04 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	3
ガス分析装置 1 ストリーム 05 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	4
ガス分析装置 1 ストリーム 06 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	5
ガス分析装置 1 ストリーム 07 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	6
ガス分析装置 1 ストリーム 08 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	7
ガス分析装置 1 ストリーム 09 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	10
ガス分析装置 1 ストリーム 10 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	11
ガス分析装置 1 メインゼロ選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	12
ガス分析装置 1 メインスパン選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	13
ガス分析装置 1 サブゼロ選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	14
ガス分析装置 1 サブスパン選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	15
ガス分析装置 2 ストリーム 01 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	16
ガス分析装置 2 ストリーム 02 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	17
ガス分析装置 2 ストリーム 03 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	20
ガス分析装置 2 ストリーム 04 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	21
ガス分析装置 2 ストリーム 05 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	22
ガス分析装置 2 ストリーム 06 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	23
ガス分析装置 2 ストリーム 07 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	24
ガス分析装置 2 ストリーム 08 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	25
ガス分析装置 2 ストリーム 09 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	26
ガス分析装置 2 ストリーム 10 選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	27
ガス分析装置 2 メインゼロ選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	30
ガス分析装置 2 メインスパン選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	31
ガス分析装置 2 サブゼロ選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	32
ガス分析装置 2 サブスパン選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	33
ガス分析装置 1 チャンパー選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	34
ガス分析装置 1 校正選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	35
ガス分析装置 2 チャンパー選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	36
ガス分析装置 2 校正選択	デジタル出力	DO-32(FIT)GY	7	37

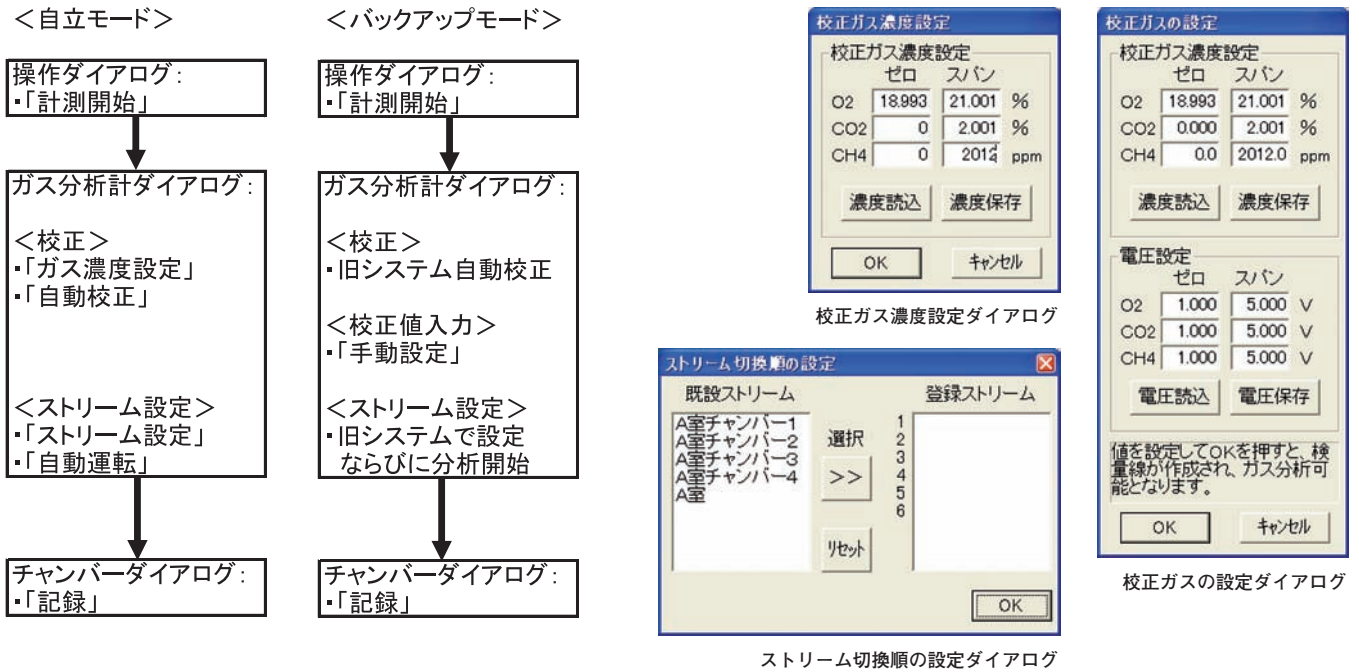
資料2. CD室入出力データ割付表

信号名称	信号種	モジュール名	モジュール ID	チャンネル No
CD室ガス分析装置 O2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	0
CD室ガス分析装置 CO2 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	1
CD室ガス分析装置 CH4 ガス濃度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	2
外気乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	3
外気相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	4
大気圧	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	5
C室チャンバー1 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	6
C室チャンバー2 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	0	7
C室チャンバー1内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	0
C室チャンバー2内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	1
C室チャンバー1出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	2
C室チャンバー2出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	3
C室チャンバー1内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	4
C室チャンバー2内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	5
C室チャンバー1出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	6
C室チャンバー2出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	1	7
C室実験室内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	0
C室実験室内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	1
D室チャンバー1 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	2
D室チャンバー2 通気量	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	3
D室チャンバー1内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	4
D室チャンバー2内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	5
D室チャンバー1出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	6
D室チャンバー2出口 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	2	7
D室チャンバー1内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	0
D室チャンバー2内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	1
D室チャンバー1出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	2
D室チャンバー2出口 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	3
D室実験室内 乾球温度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	4
D室実験室内 相対湿度	アナログ入力	ADI12-8(FIT)GY	3	5
ガス分析装置 ストリーム 01 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	0
ガス分析装置 ストリーム 02 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	1
ガス分析装置 ストリーム 03 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	2
ガス分析装置 ストリーム 04 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	3
ガス分析装置 ストリーム 05 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	4
ガス分析装置 ストリーム 06 選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	5
ガス分析装置 メインゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	6
ガス分析装置 メインスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	7
ガス分析装置 サブゼロ選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	10
ガス分析装置 サブスパン選択	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	11
ガス分析装置 分析モードCH	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	12
ガス分析装置 分析モードHC	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	13
ガス分析装置 分析モード手動	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	14
ガス分析装置 保守中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	15
ガス分析装置 自動チェック	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	16
ガス分析装置 自動校正	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	17
ガス分析装置 校正中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	20
ガス分析装置 O2 サプレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	21

信号名称	信号種	モジュール名	モジュール ID	チャンネル No
ガス分析装置 CO2 サブレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	22
ガス分析装置 CH4 サブレンジ	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	23
ガス分析装置 サンプリング	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	24
ガス分析装置 電源断	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	25
ガス分析装置 主 SW 変化 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	26
ガス分析装置 ストリームチェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	27
ガス分析装置 校正チェック (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	30
ガス分析装置 校正値読取 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	31
ガス分析装置 自動校正 (INT)	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	32
C室チャンバー 1 通気レンジ大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	33
C室チャンバー 1 通気レンジ中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	34
C室チャンバー 1 通気レンジ小	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	35
C室チャンバー 2 通気レンジ大	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	36
C室チャンバー 2 通気レンジ中	デジタル入力	DI-32(FIT)GY	4	37
C室チャンバー 2 通気レンジ小	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	0
C室チャンバー 1 起伏状態	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	1
C室チャンバー 2 起伏状態	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	2
C室チャンバー 1 保守中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	3
C室チャンバー 2 保守中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	4
D室チャンバー 1 通気レンジ大	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	5
D室チャンバー 1 通気レンジ中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	6
D室チャンバー 1 通気レンジ小	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	7
D室チャンバー 2 通気レンジ大	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	10
D室チャンバー 2 通気レンジ中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	11
D室チャンバー 2 通気レンジ小	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	12
D室チャンバー 1 起伏状態	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	13
D室チャンバー 2 起伏状態	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	14
D室チャンバー 1 保守中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	15
D室チャンバー 2 保守中	デジタル入力	DIO-16/16(FIT)GY	5	16
ガス分析装置 ストリーム 01 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	0
ガス分析装置 ストリーム 02 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	1
ガス分析装置 ストリーム 03 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	2
ガス分析装置 ストリーム 04 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	3
ガス分析装置 ストリーム 05 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	4
ガス分析装置 ストリーム 06 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	5
ガス分析装置 ストリーム 07 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	6
ガス分析装置 ストリーム 08 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	7
ガス分析装置 ストリーム 09 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	10
ガス分析装置 ストリーム 10 選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	11
ガス分析装置 メインゼロ選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	12
ガス分析装置 メインスパン選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	13
ガス分析装置 サブゼロ選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	14
ガス分析装置 サブスパン選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	15
ガス分析装置 チャンバー選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	16
ガス分析装置 校正選択	デジタル出力	DIO-16/16(FIT)GY	5	17

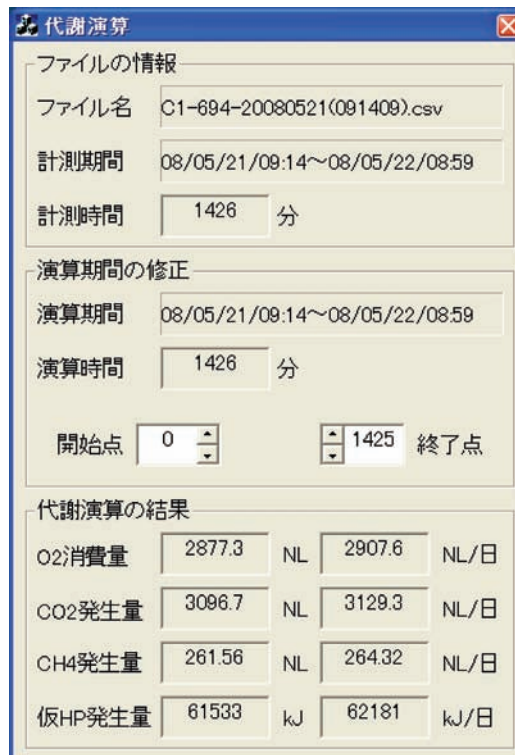
資料 3. A 室用データ収集処理ソフトウェアの概観

資料 4. CD 室用データ収集処理ソフトウェアの概観



資料5. 自立モードおよびバックアップモードにおける操作手順

解説：呼吸試験のデータを収集するためには、ガス分析装置を制御して各ガス収集経路（ストリーム）より適切にガスを採取すること、ガス濃度を正確に測定する必要がある。新システムにおいて、ガス分析装置の制御を独自に行うことを“自立モード”、制御を旧システムで行うことを“バックアップモード”と、ここでは呼ぶことにする。自立モードでは、ガス分析計ダイアログにおいて、「ガス濃度設定」ボタンをクリックして表示される校正ガス濃度設定ダイアログにより校正ガス濃度を設定し、「自動校正」ボタンをクリックすることにより旧システムと同様の自動校正が実行され、ガス分析計の校正値が得られる。次に、「ストリーム設定」ボタンをクリックして表示されるストリーム切換順の設定ダイアログにおいてストリームの切換順序を設定、「自動運転」ボタンをクリックすることによりガス分析計が設定順序に従い計測ストリームを自動的に切り替える。バックアップモードでは、旧システムで従来通り自動校正とストリームの切換順序を設定する。自動校正で得られた校正値を、新システムのガス分析計ダイアログにおいて、「手動設定」ボタンをクリックして表示される校正ガスの設定ダイアログに入力する。旧システムでガス分析を開始するとガス分析計は順次ストリームを切り替えてガス濃度を測定するが、新システムもこれに追従し適切に各ストリームのガス分析値を収集する。以上の自立モードおよびバックアップモードにおける手順を整理すると図のようになる。



資料6. 代謝演算ソフトウェアの概観

A new data acquisition system for respiration trial system on metabolism laboratory in National Institute of Livestock and Grassland Science

Kouji HIGUCHI¹⁾, Yousuke KOBAYASHI¹⁾, Itoko NONAKA²⁾ and Osamu ENISHI²⁾

¹⁾Endocrinology and Metabolism Research Team

²⁾Livestock Research Team on Global Warming

Summary

A new data acquisition system for open-circuit indirect calorimetry has been constructed and validated. Equipments of the system are consisting with commercially-available computer and input-output control units. The function of the software is specialized to monitor and calculate the respiration trial data under personal computer system, and the design of the software is oriented to simplicity, flexibility and user-friendliness. When the respiration trial data acquired from this system were compared with the data from existing system, the relative errors were very low ($0.1\sim 0.7 \pm 0.1\sim 0.3\%$), the correlations were very high ($r = 0.99562\sim 0.99997$), and few systematic errors were found. The data obtained from this system were sufficient, thus, it is assumed that the function of new system is equivalent to the existing system. Furthermore, the new system has flexibility for expansion or reformation of apparatus in the future use.

Key words : open-circuit indirect calorimetry, ruminants

非破壊変形に対する選抜による卵殻強度の遺伝的改良に関する研究

菑澤圭二郎

家畜育種増殖研究チーム

要 約

卵用鶏では卵殻強度の低下による破卵の増加が問題になっており、卵殻強度の遺伝的改良が望まれている。非破壊変形は卵殻形質の1つで、卵を非破壊で測定できるという利点がある。そこで本研究では、卵殻強度の遺伝的改良における、非破壊変形に対する選抜の有用性を明らかにすることを目的とした。

1. 白色レグホーンを用いて、非破壊変形に対する大（弱系）及び小（強系）方向への2方向選抜実験を10世代にわたって行った。選抜形質である非破壊変形は、強系、弱系ともに選抜に伴い選抜反応が認められ、第1世代では強系が $59.9 \pm 10.4 \mu\text{m}/\text{kg}$ 、弱系が $64.7 \pm 11.8 \mu\text{m}/\text{kg}$ だったが、第10世代では強系が $51.9 \pm 6.2 \mu\text{m}/\text{kg}$ 、弱系が $100.6 \pm 13.4 \mu\text{m}/\text{kg}$ となった。選抜反応は強系の方が小さく、強弱2系統間で非対称な反応を示した。破壊強度は、第1世代では強系が $2.95 \pm 0.45\text{kg}$ 、弱系が $2.77 \pm 0.45\text{kg}$ だったが、第10世代では強系が $3.75 \pm 0.46\text{kg}$ 、弱系が $2.17 \pm 0.34\text{kg}$ となった。このことから非破壊変形を指標とした選抜によって、卵殻強度の改良が可能であることが示された。また非破壊変形の実現遺伝率は、強系では0.16、弱系では0.38と推定され、強弱2系統間で非対称な値を示した。

2. 他の卵殻諸形質及び産卵能力における間接選抜反応は以下の通りであった。卵重は強系、弱系ともに選抜に伴い減少し、弱系の方がその傾向が著しかった。卵殻厚は、選抜によって強系は卵殻が厚く、弱系は卵殻が薄くなった。卵殻重は、強系ではほぼ一定の値で推移したが、弱系では直線的に減少した。卵殻卵重比は、強系では増加する傾向を示したが、弱系では減少する傾向を示し、卵殻厚とよく似た推移を示した。初産日齢は、強系が遅くなる傾向を示したが、弱系は早くなる傾向を示した。短期産卵率は、弱系では一定の水準で推移したが、強系ではほぼ直線的に低下した。長期産卵率は、短期産卵率とよく似た推移を示した。したがって非破壊変形の小方向への選抜により、卵殻厚や卵殻卵重比は増加し、卵重や産卵率は低下することが明らかとなった。また弱系では破卵の出現率が高くなり、また軟卵の割合が高く、卵殻強度の低下が確認された。

3. 卵殻諸形質の遺伝率は0.22～0.48と推定され、非破壊変形と破壊強度、卵殻卵重比は弱系の方がやや高かった。また産卵能力形質では、0.19～0.41と推定され、強系の方が高い値が推定された。卵重と卵形係数では両系とも0.5～0.6の高い値が推定された。非破壊変形と卵殻諸形質の間には、高い負の遺伝相関が推定され、特に卵殻卵重比と卵殻厚との相関が高く、非破壊変形は遺伝的には卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大きいことが示された。非破壊変形と産卵率との遺伝相関は、強系が弱系よりも高い正の値が推定された。また他の卵殻諸形質と産卵率の間には、負の遺伝相関が推定され、強系の方が弱系よりも高かった。一方、非破壊変形及び破壊強度と卵重との遺伝相関には系統間で差がみられ、卵殻強度と卵重との相関関係において強系と弱系で違いがあると推定された。選抜指数法を用いて卵殻形質の情報を取り入れて卵重や産卵率を低下させずに破壊強度を改良する場合、取り入れる卵殻形質としては卵殻卵重比が最も効率が良く、次いで非破壊変形、卵殻厚の順と推定されたが、破壊強度を用いる場合の効率には及ばなかった。

4. 対受精卵孵化率は世代の推移に伴い、強系がしだいに高くなるのに対し弱系は70%付近で推移した。したがって非破壊変形の小方向への選抜が、孵化率を向上させる効果があることが示された。また強系の発生中止卵の出現率が、孵卵初期および孵化直前の両方の時期で選抜に伴い低下し、特に孵化直前時期に選抜の影響が強く現れていた。非破壊変形の小方向への選抜は2週間以上の長期保存卵の孵化率を改善する効果があった。しかし個々の受精卵の非破壊変形の大きさと孵化率には一定の傾向は認められなかった。長期保存した受精卵の孵化率に非破壊変形が関係することから、受精卵のパッキングによる長期保存の孵化率に及ぼす影響を調べたところ、3～5週間保存における孵化率の向上がみられ、6週間保存でも孵化例が得られた。パッキング保存では卵重は減少しなかった。したがって保存中の卵重の減少を抑えることが孵化率を改善することが示唆され、このことが強系の孵化率の向上の一因と考えられた。このように卵殻は胚の培養器として重要なものであり、また卵殻強度の強い系統の卵の方が保存容器としても培養器としても優れていることが示された。そこでこうした卵殻の特性を利用して、ウズラ初期胚を強系のニワトリの卵殻を用いて培養し孵化させることを試みた。3つの方法で培養したところ、3つの方法とも孵化例が得られ孵化率は11.4～17.6%であった。これによってニワトリ卵殻を用いてウズラ胚を放卵直後の発生初期の段階から孵化まで培養できること、また孵化において卵殻が重要であることを示した。

5. 卵形成において子宮部への移行時間は強系の方がわずかに早かった。また子宮部滞留時間は強系の方が長かった。したがって卵殻強度と子宮部滞留時間の間に関連のあることが示唆された。卵管の長さは弱系の方が長かったが、卵殻を形成する子宮部の割合は強系が弱系よりも大きかった。これらの結果から、非破壊変形に対する選抜が、卵形成における子宮部滞留時間と卵管における子宮部の割合に影響を与えることが明らかとなり、子宮部における卵殻形成が卵殻強度と大きく関連することが示された。

以上の結果をまとめると、非破壊変形に対する大小2方向への選抜実験によって、非破壊変形の大系統（弱系）と小系統（強系）を作出することに成功し、選抜の効果を確認した。そして破壊強度における間接選抜反応から、非破壊変形の小方向への選抜は卵殻強度を遺伝的に改良することを明らかにした。また非破壊変形の小方向への選抜が、卵重や産卵率を低下させることが明らかとなった。また非破壊変形は、破壊強度よりは劣るものの、その他の卵殻形質と同程度の改良効率であることを明らかにした。さらに非破壊変形の小方向への選抜は長期保存卵の孵化率を改善することを明らかにした。非破壊変形に対する選抜は、卵形成における子宮部滞留時間と、卵管における子宮部の割合に影響を与えることが明らかとなった。

以上のことから、卵殻強度の遺伝的改良において、非破壊変形は有用な形質であることが明らかとなった。

キーワード：非破壊変形、卵殻強度、選抜、孵化率、破卵

緒 言

近年養鶏産業においては、経済効率の高い鶏卵生産をめざして、ニワトリの産卵能力の向上と、飼養技術の改善が行われてきた。特に卵用鶏の育種では、まず産卵率の改良に重点が置かれ、次いで卵重の改良にも重点が置かれるようになり、多産で大卵の方向に改良が進んだ。その結果、鶏卵の生産効率は著しく向上したが、その一方で卵殻質の低下を招き、それによる破卵の増加が問題になってきた^{3,41,50}。破卵は殻付き鶏卵としての商品価値をなくすとともに、他の正常卵への汚染をひきおこすなど、経済的な損失をもたらす。

破卵による損失について、Andersonら²⁾はイギリスで生産される卵のうち、6.7%が破卵などの卵殻不良卵であると推定し、Roland⁹⁷⁾はアメリカでは生産卵の6.4%が卵殻不良卵であると推定している。Hamiltonら⁴¹⁾は、これらの数値をもとに生産卵のうち6～8%の卵が卵殻不良卵となると推定している。この数値は養鶏場から消費者までの流通段階も含んでいる。

破卵は産卵時から消費者までのあらゆる段階で起こるが、卵の格付けや洗卵などを行うGPセンターでの発生が多く、この段階の発生率については1～11%という値が報告されている^{11,41,111)}。また産卵時の破卵の割合については、3.5～6.1%という値が報告されてい

る^{11,41,97)}。Roland⁹⁸⁾は、養鶏業者を対象とした調査を行い、鶏舎の時点で生産卵の7.7%が卵殻不良卵で、その後GPセンターでさらに5.16%の卵が破卵になると推定し、消費者段階までの損失卵の割合は全体で13～20%にのぼると推定した。また損失額も採卵鶏1羽当たり1.32～2ドルと推算した。この推定に基づく、本来産卵率が90%のニワトリでも、鶏舎の時点では破卵の発生のない産卵率が83%のニワトリと同じと評価されてしまう。現在は卵用鶏における産卵率の改良が限界に近づきつつあり、産卵率の向上があまり期待できなくなっている。そのため破卵の発生が少なくなることは、経済的効果が大きい。

Carter²¹⁾は、破卵は外から卵殻に加わる圧力に対して、卵殻構造を支える力の方が弱い場合に生じるとしている。この卵殻構造を支える力が卵殻強度である。したがって卵殻強度の大きい卵ほど卵が割れにくく、破卵になりにくいことになる。そのため、卵殻強度を遺伝的に改善して、破卵の発生を防止することが望まれるようになった。

卵殻強度を遺伝的に改良するためには、まず卵殻強度を評価するのに、どのような形質を指標として用いるかが問題となる。そしてその形質が遺伝的変異を持ち、選抜による改良ができるものでなければならない。これまで卵殻強度の指標として取り上げられた卵殻形質には、卵殻厚^{115,116)}、卵殻重¹¹⁴⁾、卵殻卵重比¹¹⁸⁾、卵比重¹¹⁸⁾、破壊強度¹⁴⁾、非破壊変形¹⁰⁰⁾、単位表面積当たりの卵殻重^{118,137)}などがある。またシミュレーター³³⁾や衝撃テスト^{13,119,138)}による破卵の発生率を指標とした研究も報告されている。

破壊強度は卵(卵殻)に直接荷重して卵殻が壊れた時の荷重の大きさのことで、卵殻構造を支える力という意味での卵殻強度に最も近い形質である。この形質の測定法は1955年にBrooksら¹⁴⁾によって初めて報告され、その後測定精度や測定速度が改善され、一般にも普及している。しかしこの方法は、卵殻卵重比や卵殻厚と同じように、卵を破壊しないと測定できないという欠点がある。

これに対し、卵比重は卵殻厚との相関が高く、卵を非破壊的に測定できるという利点があるが、直接卵殻強度を評価する指標というわけではない。また温度の影響や気室の大きさによる影響が指摘されている¹²⁹⁾。そこで非破壊で測定できる卵殻強度ということで非破壊変形という形質が考え出された。卵殻強度を非破壊で測定することは、測定卵の経済的価値を損なわずにすむ点で、コ

ストのかかる実際の育種改良の場では、経済的メリットが大きい。

非破壊変形は、1962年に卵殻質の新しい測定法として、SchoorlとBoersma¹⁰⁰⁾によって初めて紹介された。この測定法は、一定の荷重を卵(卵殻)にかけた時の卵の変形量を測定するものである。しかし当初の測定器は精度の上で問題があった¹³²⁾。すなわち変形大きさが0.1mm以下と小さく、これをダイヤルゲージで測定するため精度の上で誤差が大きく、また操作も難しかった。そのため卵殻強度の指標としての評価も、高い報告^{95,100,137)}と低い報告¹⁰²⁾に分かれた。その後、Voiseyら^{127,128,130,132)}によって改良が加えられ、精度の高い破壊強度測定器と非破壊変形測定器が開発され、非破壊変形が卵殻強度の指標として適していることが報告された^{42,131,134)}。

このようにいろいろな形質が卵殻強度の指標として検討され、これを用いた選抜実験も試みられるようになった。選抜実験では、卵の比重^{36,62,68,120,121)}、卵殻厚^{110,121)}、卵殻卵重比¹⁸⁾、破壊強度²⁶⁾、非破壊変形^{83,120,121)}、破卵率³³⁾などの形質が、単一もしくは組み合わせて、卵殻強度の指標として用いられた。これらの選抜実験の多くは、選抜対象形質に選抜による効果がみられたと報告している。しかし選抜世代は5世代以下のものがほとんどで、長期にわたる選抜実験の報告例はなかった。

これらの形質の中で、非破壊変形を卵殻強度の指標とした選抜実験では、Pevznerら⁸³⁾はSchoorlとBoersmaの方法で非破壊変形を測定しており、産卵率も改良目標に加えていたが、非破壊変形の選抜による変動は一定でなかったと報告している。またVan Tijen¹²¹⁾は、非破壊変形の他に卵殻厚と卵比重を組み合わせて卵殻強度の指標としており、測定もSchoorlとBoersmaの方法で行っていたが、選抜による改良効果がみられたと報告している。したがって複数の形質が選抜の指標とされており、非破壊変形だけを指標とした単一形質の選抜実験は行われていない。また非破壊変形の測定も、Voiseyらの改良型を使ったものではなく、選抜による改良効果も報告によって異なっていた。そのため、選抜における卵殻強度の指標としての非破壊変形の有用性については明らかではない。また非破壊変形に対する選抜が、経済形質である卵重や産卵性に及ぼす影響も明らかではない。

そこで本研究では、卵殻強度の改良における非破壊変形の有用性、及び経済形質との関連性について検討をおこなった。まず第1章において、Voiseyらの開発した測定器による非破壊変形を選抜形質として、10世代に

わたり大小2方向への選抜実験を行い、選抜の効果を検討したので、その結果について述べる。その結果、非破壊変形の大系統（弱系）と小系統（強系）を作出することに成功し、選抜の効果を確認した。また破壊強度における間接選抜反応から、卵殻強度の改良効果を明らかにした。そこで第2章では、非破壊変形に対する選抜が、他の卵殻形質や卵重や産卵率などの経済形質に及ぼす影響について検討した結果について述べる。その結果、非破壊変形の小方向への選抜（強系）が、卵重や産卵率を低下させることを明らかにした。このような経済形質の低下は、実際の育種改良の場では大きな問題となるため、第3章において、非破壊変形を卵殻強度の指標とした場合の改良効率について、種々の条件を設定して検討した結果について述べる。その結果非破壊変形は、破壊強度よりは劣るものの、その他の卵殻形質と同程度の改良効率であることを明らかにした。ここで実際の育種では孵化率はコマースの鶏を生産する上で重要な経済形質であり、さらに卵殻が胚の発生場所として重要な役割を果たすことから、第4章では非破壊変形に対する選抜の孵化率に及ぼす影響について述べる。また孵化における卵殻の重要性について、胚培養実験を行った結果を述べる。また卵殻形成と卵殻強度の関係について明らかにするために、第5章において、選抜実験で作出された選抜系統の卵形成における特徴について調べた結果について述べる。

第1章 非破壊変形に対する大小2方向選抜実験における直接選抜反応と破壊強度における相関反応

1.1 緒言

破卵は外部からの圧力に、卵殻構造が耐えられなくなった場合に生じる。破卵は殻付き鶏卵としての商品価値をなくすため、養鶏経営においては最も大きな経済的損失をもたらす^{41,50}。これを補うためには、生産性をあげる方法と損失を減らす方法の2つの方法がある。しかし産卵能力が限界に近づきつつある現在、産卵能力の急激な改良は難しくなっている。そのため卵殻強度を改善して、破卵の発生を防止する試みが行われるようになった。

これまで卵殻強度の遺伝的改良をめざして、多くの選抜実験が試みられた。これらの選抜実験では、卵比重^{62,68,121}、卵殻厚¹²¹、卵殻卵重比¹⁸、破壊強度²⁶、非破壊変形^{83,121}、破卵率³³などの形質が、単一もしくは

組み合わせて、卵殻強度の指標として用いられた。

このうち、卵比重と非破壊変形は卵殻強度を非破壊的に測定する方法である。しかし、非破壊変形の測定については測定精度や測定機器の面で十分なものがなく、非破壊変形だけを指標とした単一形質の選抜実験は行われなかった。その後、Voiseyらは卵殻強度測定法に関する一連の研究から、精度の面で従来のものよりすぐれた破壊強度測定器と非破壊変形測定器を開発し、これらが卵殻強度の指標として適していると報告した^{42,131,134}。しかしながら、選抜における卵殻強度の指標としての、非破壊変形の有用性については明らかでない。

そこで第1章では、Voiseyらの開発した測定器による非破壊変形を選抜形質として、10世代にわたり大小2方向への選抜実験を行い、非破壊変形の大系統（弱系）と小系統（強系）の作出を試み、非破壊変形における選抜の効果を検討した。また破壊強度における間接選抜反応から、卵殻強度に対する改良効果を明らかにすることとした。

1.2 選抜実験計画

供試動物

選抜実験の基礎集団は農林水産省岡崎種畜牧場（現家畜改良センター岡崎牧場）で保有されている白色レグホーン種のG2系統を用いた。G2系統は岡崎種畜牧場の保有する系統の中では、卵重は大きくないが産卵率が高いのが特徴である。

選抜方法

選抜実験においては、後述の非破壊変形を選抜基準とした。非破壊変形では数値が小さいほど、卵殻強度が強いとされている^{42,131,134}。この非破壊変形に対して大小2方向への選抜を行い、大方向への選抜系統を弱系、小方向への選抜系統を強系とした。羽数は両系統それぞれ成鶏時の雌で320羽とした。雌は個体記録に基づき選抜した。雄は、全きょうだい雌の平均値の集団平均からの偏差に、重みづけ係数 k で加重した値に基づいて選抜した。重みづけ係数 k は $k = n / (2 + (n - 1)h^2)$ の式より求めた³⁰。ここで n は全きょうだい雌の数、 h^2 は遺伝率を表し、 $h^2 = 0.3$ と仮定した。選抜羽数は両系統とも雄10羽、雌80羽とした。選抜は1年1世代として10世代行い、その間の卵殻強度の変化を調査した。ただし1回目の選抜においては、非破壊変形の測定装置が未完成であったため、破壊強度を選抜基準として選抜を行った。

卵殻強度の測定

卵殻強度の指標として非破壊変形と破壊強度を取り上げ、産卵のピークを過ぎた36～38週齢時に測定を行い、選抜のデータとした。なおこの週齢は時期としては盛夏を過ぎた9月にあたる。測定期間中に産卵された3個について、非破壊変形と破壊強度を測り、その平均値を雌個体のデータとした。測定は産卵後24時間以内に行った。

非破壊変形は卵殻強度測定器（インテスコ製）を用いて測定した。この測定器は、Voiseyらの開発した測定器と同じ原理に基づいて製作されたものである。すなわち横にした卵の短軸方向に、クロスヘッドの移動速度10mm/minで卵に圧力を加え、その荷重値が1.1kgとなった時点の、クロスヘッドが卵に接触してからの移動距離を電氣的に検出するもので、この移動距離を変形量とした。この変形量を荷重値で割って、荷重1kgあたりに換算した値を非破壊変形とした。

また破壊強度は、破壊強度測定装置（インテスコ製）を用い、横にした卵の短軸方向にクロスヘッドの移動速度を50mm/minとして加圧し、卵が割れた時の最大荷重を測定した。

交配と飼養管理

選抜個体の交配は人工授精で行い、全きょうだい及び半きょうだい間を避けた無作為交配とした。種卵は貯卵室（温度14℃、相対湿度85%）に保存し、保存期間は最大3週間とした。採取した種卵はすべて孵卵に供した。孵化は毎世代12月15日前後とした。孵化したヒナのうち、雌はすべての個体を、また雄は各母家系あたり2羽ずつを無作為に選んで育成した。17週齢時に雄は各母家系あたり1羽を無作為に選び、雌は育成集団から無作為に320羽を選んだ。

ヒナは4週齢までは育雛器で、その後17週齢までペンケージで雌雄別に群飼で育成した。点灯は15L（15時間明期）：9D（9時間暗期）とした。17週齢で開放鶏舎に移動し、雌は個体毎にケージで、雄は2羽ずつ雄用ケージで飼育した。点灯は育成時と同じ15L：9Dとした。換気は自然換気のみで、温度コントロールはしなかった。飼料及び水は自由摂取とした。飼料の組成は表1に示した。その他の飼養管理は畜産試験場の慣行によった。

1.3 非破壊変形と破壊強度の関係

非破壊変形の測定器の完成が基礎世代の選抜時に間に合わなかったため、選抜第1世代において、卵殻強度の

表1. 給与飼料の組成

成分	割合 (%)
トウモロコシ	56.3
マイロ	9.0
大豆粕	7.0
魚粕	7.0
フスマ	5.0
脱脂米ぬか	2.3
アルファルファミール (乾)	2.0
コーングルテンミール	1.8
リン酸カルシウム	1.2
炭酸カルシウム	7.1
食塩	0.2
動物性油脂	1.0
ビタミンB添加物	0.1
代謝エネルギー (Mcal/kg)	2.82
粗タンパク質 (%)	16.25
カルシウム (%)	3.57
有効リン (%)	0.77

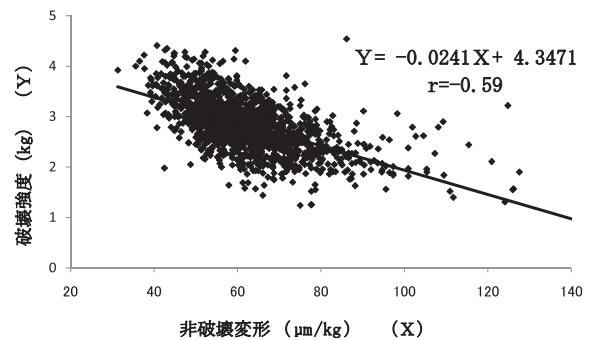


図1. 第1世代における非破壊変形と破壊強度の関係

非破壊測定法としての非破壊変形と破壊強度との関係について検討した。

材料と方法

用いた鶏は選抜第1世代の強弱両系統の雌584羽で、36週齢時に産卵された1455個の卵について、破壊強度と非破壊変形の測定を行った。測定方法は選抜実験計画のところで述べたとおりである。

結果

非破壊変形と破壊強度の分布を図1に示した。卵殻強度を直接表現する形質と考えられる破壊強度と非破壊変

形の間には、 -0.59 と負の相関が認められた。このことは破壊強度が大きい卵つまり卵殻強度が強い卵は、非破壊変形が小さいことを意味する。

また非破壊変形 (X) に対する破壊強度 (Y) の一次回帰を求めたところ、

$$Y = (-0.024)X + 4.348$$

となり、有意な一次回帰 ($P < 0.01$) が得られた。

Voisey ら¹³¹⁾ は形質間の相関係数として破壊強度と非破壊変形との間で -0.73 、破壊強度と卵殻厚との間では 0.64 と報告している。また Potts ら⁸⁶⁾ の報告では、5種類のコマーシャル鶏で求めた形質間の相関係数は、破壊強度と非破壊変形との間で $-0.78 \sim -0.93$ 、破壊強度と卵殻厚との間では $0.64 \sim 0.83$ であった。また Hunton⁴⁹⁾ の報告では、破壊強度と非破壊変形との間で -0.71 、破壊強度と卵殻厚との間では 0.67 、また非破壊変形と卵殻厚との間では -0.78 であった。さらに Voisey ら¹³³⁾ は非破壊変形測定時の加圧を 0.5kg とした場合、破壊強度と非破壊変形との間の相関係数は -0.62 、破壊強度と卵殻厚との間では 0.69 、破壊強度と卵殻重との間では 0.46 、破壊強度と卵殻卵重比との間では 0.64 と報告している。Voisey ら¹²⁸⁾ は破壊強度と非破壊変形との相関係数を卵のサイズ別に求めたところ、 $-0.52 \sim -0.76$ であったと報告している。いずれの報告も非破壊変形と破壊強度との間には、高い負の相関のあることを示している。また相関の大きさも卵殻厚や卵殻卵重比などと破壊強度との相関と同じくらいであると報告している。

本実験の結果からは破壊強度と非破壊変形との間では、同様の傾向が示された。また相関の大きさもこれまでの報告の範囲内であったが、やや低い値であった。この差は本実験で使用した非破壊変形測定器の測定条件などの違いによる影響も考えられる。しかしながら個々の卵の卵殻強度を評価しようとする場合、非破壊変形は卵殻厚や卵殻重、卵殻卵重比と同じ程度有効な特性値であると考えられ、以後の選抜実験においても引き続き選抜対象形質とした。

1.4 非破壊変形にみられた直接選抜反応と破壊強度における相関反応

非破壊変形に対する10世代にわたる大小2方向選抜実験のデータをもとに、非破壊変形における直接選抜反応と、破壊強度における相関反応を評価し、選抜の効果を検討した。

材料と方法

選抜実験

非破壊変形を卵殻強度の指標とした2方向選抜実験の概要は1.2で述べたとおりである。

データの分析と実現遺伝率の推定

データの分析にはHarveyの最小二乗分散分析プログラムLSML76⁴⁵⁾を用いた。

実現遺伝率は累積選抜差に対する累積選抜反応の回帰によって推定した³⁰⁾。なお各世代の選抜差は、雄側と雌側から求めた選抜差を平均して求めた。雌の選抜差は自分の記録の集団平均からの偏差に、次世代に残した子ども数で重み付けして求めた。雄の選抜差は、全きょうだいの雌の記録に重み付けして求めた値をもとに、雌と同様にして求めた。

結果

選抜反応

世代の経過に伴う非破壊変形の推移を図2に示した。選抜形質である非破壊変形では、強系、弱系ともに世代の経過に伴い選抜反応が認められ、第10世代では強系が $51.9 \pm 6.2 \mu\text{m/kg}$ 、弱系が $100.6 \pm 13.4 \mu\text{m/kg}$ となった。しかし反応の程度は系統によって異なった。すなわち強系の反応はあまり大きくなく、第7世代以降では一定の方向を示さなかった。一方弱系は第7世代まで安定して増加し、第8世代以降はさらに大きな増加を示した。その結果大小2方向への選抜は非対称な反応を示した。標準偏差は強系が世代の経過とともに小さくなるのに対し、弱系は一時小さくなったが第8世代以降はやや大きくなった。また世代ごとの系統平均値の最小二乗推定値間の差と分散分析の結果を表2に示した。第1世代から系統間に有意な差が認められ、第2世代以降はその差が広がり、第8世代以降さらに差が大きくなる傾向が認められた。

世代の経過に伴う破壊強度の推移を図3に示した。破壊強度は世代の経過に伴い、強系、弱系ともに明らかな相関反応がみられた。強系は第2世代までは基礎世代とほぼ同じであったが、第3世代以降は増加する傾向を示した。弱系は第4世代までは大きな変動を示さなかったが、第5世代以降明らかな減少傾向を示した。したがって系統間差は世代の経過とともに大きくなった(表2)。また強系の場合、非破壊変形では第5世代以降に選抜反応があまり大きくなかったが、破壊強度では増加を示した。その結果第10世代では強系が $3.75 \pm 0.46\text{kg}$ 、弱系

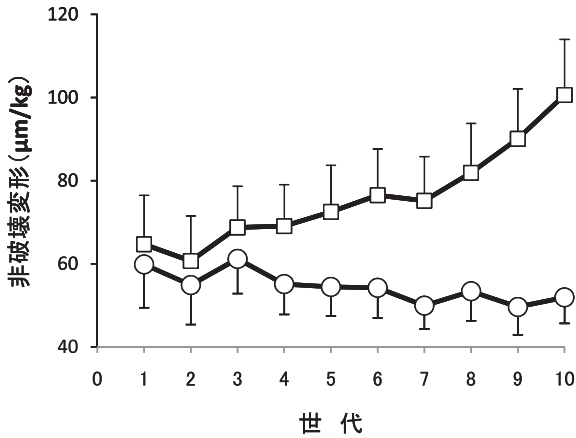


図2. 選抜に伴う強系 (□) 及び弱系 (○) における非破壊変形の推移。
各点は世代毎の平均値を、各縦線はその標準偏差を表す。

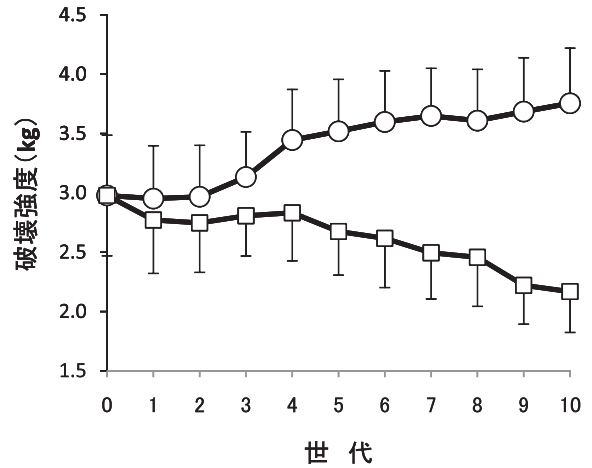


図3. 選抜に伴う強系 (□) 及び弱系 (○) における破壊強度の推移。
各点は世代毎の平均値を、各縦線はその標準偏差を表す。

表2. 非破壊変形および破壊強度の世代別の系統間差

	世 代									
	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄	G ₅	G ₆	G ₇	G ₈	G ₉	G ₁₀
非破壊変形										
系統間差の最小二乗推定値										
弱系 - 強系 (μm/kg)	4.83	5.78	7.55	13.95	18.06	22.26	25.22	28.97	40.46	48.69
系統間差の有意性	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
破壊強度										
系統間差の最小二乗推定値										
強系 - 弱系 (kg)	0.18	0.22	0.32	0.61	0.84	0.98	1.15	1.15	1.46	1.59
系統間差の有意性	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

** : P<0.01 有意水準 1 % で有意差あり

が $2.17 \pm 0.34\text{kg}$ となった。したがって非破壊変形を指標とした選抜によって、卵殻強度の改善が可能であることが示された。

非破壊変形と破壊強度の個体分布

非破壊変形に基づく個体分布について、世代の経過に伴う推移を図4に示した。強系の場合、第1世代では $40 \sim 100 \mu\text{m/kg}$ の範囲に分布していたが、世代が進むにつれて、非破壊変形の小さい方に分布の範囲が狭まり、分布の尖りが高くなった。その結果第10世代の分布は $40 \sim 70 \mu\text{m/kg}$ の範囲になった。一方弱系の場合、第1世代では強系と同じく $40 \sim 100 \mu\text{m/kg}$ の範囲に分布していたが、世代が進むにつれて、分布全体が非破壊変形の大きい方に移動し、分布の幅も第10世代では $70 \sim 140 \mu\text{m/kg}$ に広がって、分布のピークが低くなった。

破壊強度に基づく個体分布について、世代の経過に伴

う推移を図5に示した。強系の場合、第1世代では $2 \sim 4\text{kg}$ の範囲に分布していたが、世代が進むにつれて、破壊強度の大きい方に分布が移動した。その結果第10世代では $3 \sim 5\text{kg}$ の範囲に分布し、その形はあまり変化しなかった。一方弱系の場合、第1世代では強系と同じく $2 \sim 4\text{kg}$ の範囲に分布していたが、世代が進むにつれて、分布全体が破壊強度の小さい方に移動し、分布の幅が第10世代では $1.6 \sim 3.0\text{kg}$ とやや狭まった。

非破壊変形の実現遺伝率

非破壊変形の選抜差と選抜反応を表3に示した。強系の選抜差は世代の経過とともに小さくなる傾向を示した。これに対して弱系は多少の変動はあるものの、平均選抜差はしだいに大きくなった。その結果第10世代までの累積選抜差は弱系が強系の約1.6倍となった。

非破壊変形の実現遺伝率の推定値は、累積選抜差に対

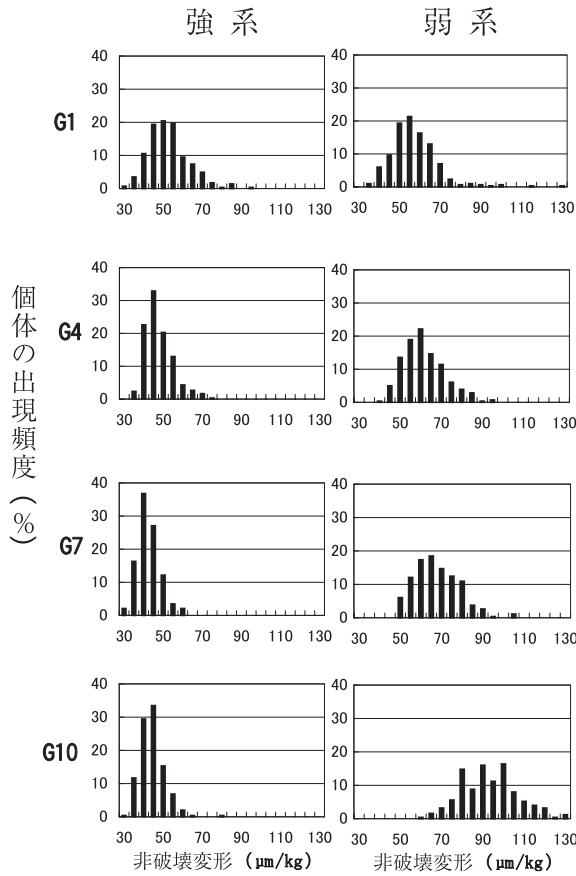


図4. 強系及び弱系における非破壊変形に基づく個体分布の世代推移

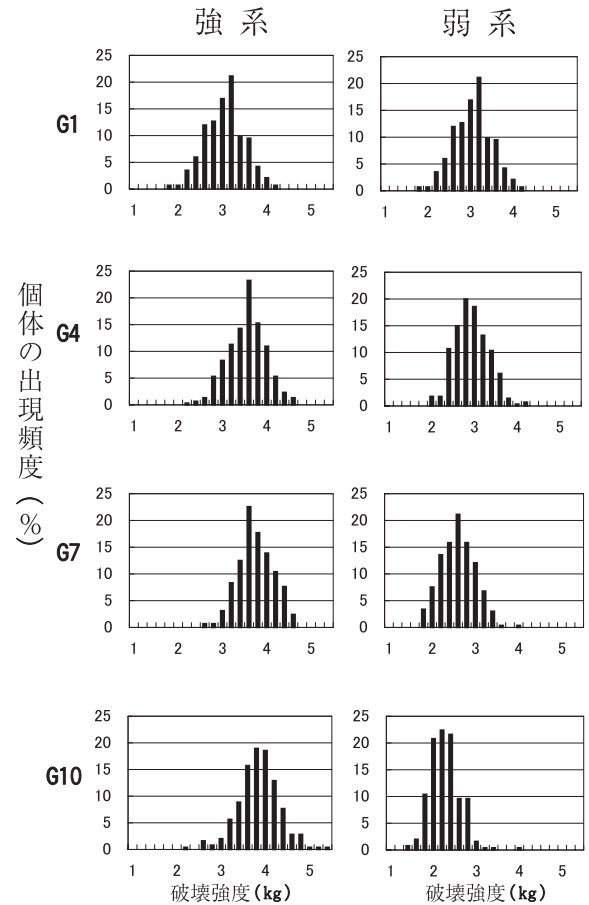


図5. 強系及び弱系における破壊強度に基づく個体分布の世代推移

表3. 非破壊変形の各世代における選抜差と選抜反応

世代	選抜差 (μm/kg)				選抜反応 (μm/kg)	
	雌	雄	平均	累積	反応	累積
強系						
G ₁	9.61	7.21	8.41	8.41	4.98	4.98
G ₂	9.43	6.54	7.98	16.39	-6.30	-1.32
G ₃	8.21	6.83	7.52	23.91	6.08	4.76
G ₄	6.61	4.92	5.76	29.67	0.67	5.43
G ₅	7.62	5.38	6.50	36.17	0.21	5.63
G ₆	5.09	4.17	4.63	40.80	4.30	9.93
G ₇	6.18	4.29	5.24	46.04	-3.46	6.47
G ₈	7.23	5.62	6.43	52.47	3.78	10.25
G ₉	6.34	2.42	4.38	56.85	-2.30	7.95
実現遺伝率				0.16		
弱系						
G ₁	9.56	9.21	9.39	9.39	-4.02	-4.02
G ₂	13.28	5.86	9.57	18.96	8.07	4.04
G ₃	10.22	9.89	10.05	29.01	0.32	4.36
G ₄	12.11	5.91	9.01	38.02	3.44	7.80
G ₅	12.93	7.06	9.99	48.01	3.99	11.79
G ₆	8.98	8.51	8.74	56.76	-1.33	10.46
G ₇	12.30	10.03	11.17	67.92	6.74	17.20
G ₈	13.11	10.66	11.89	79.81	8.18	25.38
G ₉	13.63	11.82	12.73	92.54	10.53	35.91
実現遺伝率				0.38		

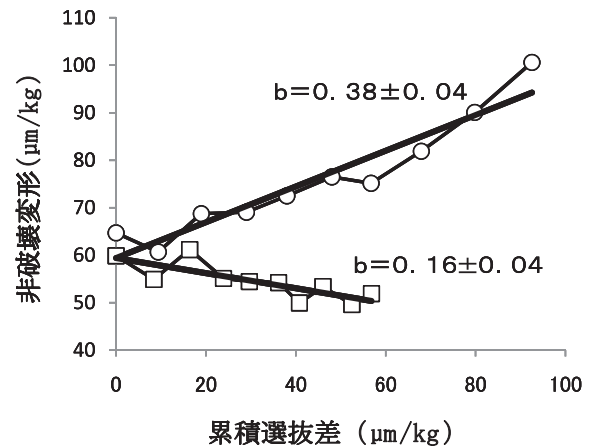


図6. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における非破壊変形の直接選抜反応と累積選抜差に対する回帰

する選抜反応の回帰から求め、強系では0.16、弱系では0.38であった (図6)。

1.5 考察

今回の選抜実験で、非破壊変形の大小2方向への選抜

により、明らかな選抜反応が認められた。卵殻強度の遺伝的改良については、これまで多くの研究者が選抜実験を試み、非破壊変形を選抜形質に使っている報告もある。Van Tijen¹²¹⁾は、非破壊変形と卵殻厚と比重からなる卵殻質指数を選抜指標として、卵殻質指数が高くなる方向への4世代選抜を行い、非破壊変形は小さくなったと報告した。Pevznerら⁸³⁾は、白色レグホーン種2系統について、非破壊変形と産卵率を選抜指標に、非破壊変形は小さく、産卵率は高くなる方向へ3世代選抜を行ったが、非破壊変形が減少しない系統があり、破卵の発生にも改善が見られなかった。しかしいずれも非破壊変形を含む複数形質の選抜であるため、非破壊変形に対する選抜の効果を正確には反映していない。特にPevznerら⁸³⁾の場合は産卵率との関係が関与しているものと考えられる。これに対し、今回の選抜実験は非破壊変形のみを対象とした単一形質の選抜であり、非破壊変形が選抜によって変化する形質であることを示すことができた。

Combら²⁶⁾は破壊強度を指標にして強弱2方向へ2世代選抜を行い、破壊強度が強系で3.45kg、弱系で3.04kgになったと報告した。本実験では第2世代の破壊強度は強系が2.96kg、弱系が2.74kgであり、系統間の差はやや小さいが有意であり、その後世代の経過とともに系統間差は広がった。したがって卵殻強度の選抜の指標として非破壊変形が十分利用できると考えられた。ただし第2世代における系統間の差がCombら²⁶⁾ほど大きくなかったが、これは直接選抜と間接選抜の違いによるものと考えられた。またVoiseyら¹³¹⁾は非破壊変形と破壊強度との間に非線形の関係があり、破壊強度を推定する指

標として非破壊変形を用いる場合は、二次もしくは対数変換することにより推定精度が上がるという報告している。

非破壊変形に対する2方向への選抜により非対称な選抜反応がみられた。このことは選抜が進むにつれて、系統により非破壊変形の個体分布の形が変化してきたことと関連していると考えられる。非対称な選抜反応の原因の1つとして、非破壊変形の形質としての特性があると考えられた。まず、Falconer³⁰⁾が指摘した尺度効果(Scale effects)の影響がある。すなわち、今回の選抜実験では非破壊変形の平均値が大きくなるにつれて標準偏差も大きくなった。また第10世代での非破壊変形の変動係数は強系が12.0%、弱系が13.3%とあまり差がなかった(表4)。次に世代の経過とともに、強系における分布の幅が狭くなったが、非破壊変形では40 $\mu\text{m}/\text{kg}$ より小さい値を示す個体は少なく、このあたりに非破壊変形の測定値としての下限があると考えられた。Van Tijen¹²¹⁾の選抜実験においても、非破壊変形の測定条件は異なるものの、同様の結果が報告されている。

本実験の結果から、非破壊変形を指標とした選抜によって、卵殻強度を改良できることが示された。しかし非破壊変形を実際のニワトリの選抜育種へ応用するためには、経済形質である卵重や産卵率などとの関連性を明らかにする必要がある。また非破壊変形を指標とした選抜が破卵の出現率にどう影響するのか、明らかにする必要がある。

1.6 小括

非破壊変形を卵殻強度の指標とした場合の卵殻質の改良の可能性を検討するために、非破壊変形に対する大(弱

表4. 非破壊変形の各世代の平均値、標準偏差と変動係数

世 代	強 系			弱 系		
	平均	標準偏差	変動係数	平均	標準偏差	変動係数
	$\mu\text{m}/\text{kg}$	$\mu\text{m}/\text{kg}$	%	$\mu\text{m}/\text{kg}$	$\mu\text{m}/\text{kg}$	%
G ₁	59.86 a	10.41	17.39	64.69 b	11.79	18.22
G ₂	54.88 a	9.49	17.29	60.67 b	10.86	17.90
G ₃	61.18 a	8.35	13.64	68.73 b	9.93	14.45
G ₄	55.10 a	7.29	13.24	69.05 b	9.99	14.47
G ₅	54.43 a	7.01	12.88	72.49 b	11.23	15.49
G ₆	54.22 a	7.22	13.31	76.48 b	11.15	14.58
G ₇	49.93 a	5.59	11.19	75.15 b	10.63	14.15
G ₈	53.39 a	7.07	13.25	81.89 b	11.89	14.52
G ₉	49.61 a	6.69	13.49	90.07 b	12.01	13.33
G ₁₀	51.91 a	6.24	12.01	100.60 b	13.39	13.31

a,b：同一世代で異符号間に有意差あり (P<0.01)

系)及び小(強系)方向への2方向選抜実験を10世代にわたって行い、非破壊変形の選抜反応と破壊強度への影響について調べた。選抜形質である非破壊変形は、強系、弱系ともに世代の経過に伴い選抜反応が認められ、第10世代では強系が $51.9 \pm 6.2 \mu\text{m/kg}$ 、弱系が $100.6 \pm 13.4 \mu\text{m/kg}$ となった。しかし選抜反応は強系の方が小さく、強弱2系統間で非対称な反応を示した。破壊強度については、非破壊変形に対する選抜反応が小さかった強系においても、安定した増加を示し、その結果第10世代では強系が $3.75 \pm 0.46\text{kg}$ 、弱系が $2.17 \pm 0.34\text{kg}$ となった。このことから非破壊変形を指標とした選抜によって、卵殻強度の改良が可能であることが示された。また非破壊変形の実現遺伝率は、強系では0.16、弱系では0.38と推定され、強弱2系統間で非対称な値を示した。

第2章 非破壊変形に対する大小2方向選抜実験における間接選抜反応

2.1 緒言

ある量的形質に対して選抜を行うと、その形質以外の形質にも種々の影響が現れる。このような関係を明らかにすることは、実際の選抜育種の上では重要である。

選抜実験における形質間の関係については、ニワトリでは産卵数と卵重との間で負の相関関係があることが知られている^{4,28,85)}。最近の報告でも、産卵数に対する選抜を行うと、卵重や卵殻諸形質が低下することが観察されている⁷²⁾。また卵殻形質を対象とした選抜実験では、卵重や産卵率あるいは選抜形質以外の卵殻形質における相関反応が報告されている^{18,26,33,62,83,96,121)}。その多くが、選抜形質以外の卵殻形質にかなり高い相関反応がみられたことを報告している。それに対し卵重や産卵率における相関反応はあまり高くなく、また報告による違いがみられた。非破壊変形についてもPevznerら⁸³⁾やVan Tijenら¹²¹⁾が種々の形質との相関反応を報告しているが、非破壊変形のみを対象とした単一形質の選抜実験ではない。そのため非破壊変形に対する選抜による影響を正確に反映しているとはいえない。したがって非破壊変形を対象とした単一形質の選抜実験を行うことによって、種々の形質との相関反応を明らかにする必要がある。

卵殻強度の選抜は、遺伝的に卵殻強度を強くして破卵の出現を減らすことが、大きな目的である。したがって破卵の出現率を指標に、選抜実験の成果を評価することは重要である。しかしながら、これまでいろいろな卵殻形質を指標に行われてきた卵殻強度の選抜実験では、こ

の面からの検討がほとんどなされていない。選抜系統の破卵の出現率を検討したものとしては、シミュレーターによる破卵の発生率を直接選抜指標としたGarwoodら³³⁾を別にすると、卵比重を選抜指標としたMcPheeら⁶²⁾の報告や、3つの卵殻形質について単一形質の2方向選抜実験を行ったHartmannら⁴⁴⁾の報告がある。両者とも破卵の出現率に選抜効果がみられたと報告している。

破卵の出現率と卵殻強度との一般的な関係については、多くの報告がある。Tylerら¹¹⁶⁾は、単位面積当たりの卵殻重と破卵の出現率に、負の相関関係を認め指数関数による回帰式を求めている。Bowmanら¹³⁾は、卵殻厚との間に -0.84 の高い負の相関を報告した。Wells¹³⁷⁾は卵比重や単位面積当たりの卵殻重を卵殻強度の指標として取り上げ、いずれも破卵の出現率と $-0.73 \sim -0.77$ の高い負の相関関係にあると報告した。Holderら⁴⁸⁾も卵比重は破卵のなりやすさの指標として優れていると報告した。Strong¹⁰⁷⁾は、卵比重と卵殻卵重比は破卵の出現率と $-0.85 \sim -0.88$ と高い負の相関関係にあるが、破壊強度は -0.16 と低かったと報告した。Thompsonら¹¹¹⁾やGrunderら⁴⁰⁾は、破壊強度や卵比重、卵殻卵重比と破卵の出現率には $+0.3 \sim 0.5$ の正の相関を、また非破壊変形と破卵の出現率には $-0.31 \sim -0.35$ の負の相関を報告した。このように破卵の出現率と卵殻強度の指標として使われる形質との間には、相関の大きさには違いがあるものの、相関関係が認められる。そこで、今回の非破壊変形を選抜形質とした10世代にわたる大小2方向への選抜実験について、卵殻強度に対する改良効果を破卵の出現率を指標に検討することは重要である。

以上のことから第2章では、第1章で述べた非破壊変形に対する10世代にわたる大小2方向への選抜実験のデータを用いて、非破壊変形と他の卵殻諸形質及び経済形質である卵重や産卵能力との遺伝的関連性について検討する。また実際の改良効果について破卵の出現率を指標に検討する。

2.2 卵殻諸形質と産卵能力における間接選抜反応

非破壊変形を選抜形質とした、10世代にわたる大小2方向への選抜実験のデータを用いて、選抜による卵殻諸形質及び卵重や産卵能力にみられた相関反応を明らかにし、非破壊変形との遺伝的関連性について検討する。

材料と方法

供試動物と選抜実験

非破壊変形に対する大小2方向選抜実験の概要については第1章で述べたとおりである。すなわち農林水産省岡崎種畜牧場（現家畜改良センター岡崎牧場）由来の白色レグホーン種のG2系統のニワトリを用いて、非破壊変形に対して大小2方向へ選抜を行い、大方向を弱系、小方向を強系とした。羽数は両系統それぞれ成鶏時の雌で320羽とした。雌は個体記録に基づき選抜した。雄は全きょうだい雌の平均値の集団平均からの差に、重みづけをした値に基づいて選抜した。選抜羽数は両系統とも雄10羽、雌80羽とした。選抜は10世代行い、その間の卵形質、産卵性などの変化について調査した。ただし1回目の選抜においては、非破壊変形の測定装置が未完成であったため、破壊強度を選抜基準として選抜を行った。

卵形質と産卵能力の測定

卵形質として取り上げた形質は、卵重、卵殻厚、卵殻重、卵殻卵重比、卵形係数である。産卵性としては初産日齢、産卵率を取り上げた。

卵形質の測定は、産卵のピークを過ぎた36～38週齢時に、破壊強度と非破壊変形の測定と同時に行った。期間中に産卵された3個の卵について測定を行い、その平均値を雌個体のデータとした。測定は産卵後24時間以内に行った。

卵殻厚は赤道部の卵殻の卵殻膜を除いて、リニアゲージ（小野測器製）を用いて測定した。卵殻重は割卵後水洗し、100℃で1時間乾燥した後に測定した。卵形係数

は長径に対する短径の比率を百分率で表したもので、卵形測定器（富士平工業製）で測定した卵の長径と短径の値から求めた。卵殻卵重比は卵重に対する卵殻重の比率を百分率で表したものである。

また産卵能力については、個体毎の産卵記録をもとに、初産日齢、短期産卵率（181～270日齢）、長期産卵率（181～370日齢）を調査した。

データの分析

データの分析にはHarveyの最小二乗分散分析プログラムLSML76⁴⁵⁾を用いた。

結果

卵形質及び産卵能力における間接選抜反応

世代の経過に伴う卵形質の推移を図7～14に示した。また強弱2系統間の各形質における系統間差の推移を表5に示した。

1. 卵重（図7）

卵重は強系、弱系ともに第4世代を除き、世代の経過に伴い減少する傾向を示し、弱系の方がその傾向が著しかった。また系統間の差は第1世代から有意であったが、世代によって変動がみられ、一定の傾向は見られなかった。

2. 卵殻厚（図8）

卵殻厚は、強系では第2世代以降、世代の経過に伴い増加する傾向が見られた。一方弱系では第1世代でやや減少してから第4世代まではあまり変化しなかったが、第4世代以降は減少する傾向を示し、特に第7世代以降は直線的に減少した。その結果非破壊変形に対する選抜

表5. 選抜における各世代の卵殻諸形質と産卵能力の系統間差（最小二乗推定値）

世代	卵重	非破壊変形	破壊強度	卵殻厚	卵殻重	卵形係数	卵殻卵重比	初産日齢	短期産卵率	長期産卵率
	g	μm/kg	kg	μm	g	%	%	日	%	%
G ₁	1.03 **	4.83 **	0.18 **	11.7 **	0.21 **	0.40 *	0.23 **	1.5 *	0.21	0.22
G ₂	1.79 **	5.78 **	0.22 **	13.7 **	0.31 **	0.46 *	0.27 **	1.4	1.78 *	1.18
G ₃	2.32 **	7.55 **	0.32 **	16.2 **	0.42 **	0.49 *	0.42 **	2.3 **	3.46 *	3.95 *
G ₄	1.81 **	13.95 **	0.61 **	32.2 **	0.63 **	0.54 **	0.83 **	3.6 **	5.07 **	6.18 **
G ₅	2.11 **	18.06 **	0.84 **	41.0 **	0.80 **	0.77 **	1.11 **	3.5 **	9.06 **	10.51 **
G ₆	1.85 **	22.26 **	0.98 **	49.4 **	0.90 **	0.16	1.35 **	7.8 **	10.70 **	10.81 **
G ₇	1.70 **	25.22 **	1.15 **	60.9 **	1.06 **	0.06	1.66 **	13.3 **	12.74 **	13.64 **
G ₈	1.57 **	28.97 **	1.15 **	59.1 **	1.03 **	0.19	1.68 **	14.8 **	12.91 **	14.29 **
G ₉	3.59 **	40.46 **	1.46 **	88.7 **	1.57 **	0.28	2.36 **	19.4 **	13.26 **	15.29 **
G ₁₀	2.55 **	48.69 **	1.59 **	99.5 **	1.63 **	0.30	2.72 **	19.1 **	15.02 **	15.47 **

**：有意水準1%で有意差あり
*：有意水準5%で有意差あり

によって、強系は卵殻が厚く、弱系は卵殻が薄くなった。また系統間の差は第1世代から有意であり、世代の経過に伴って差が広がる傾向を示した。

3. 卵殻重 (図9)

卵殻重は、強系では第3世代まではほとんど変化せず、第4世代にやや増加して以降はほぼ一定の値で推移した。一方弱系は第4世代を除き、世代の経過に伴い直線的に減少する傾向を示した。その結果、系統間差は第1世代から有意であり、世代の経過に伴って差が広がる傾向を示した。

4. 卵殻卵重比 (図10)

卵殻卵重比は、強系では第8世代を除き世代の経過に伴って増加する傾向を示した。一方弱系では第1世代で少し減少し、それ以後第4世代までは一定の値で推移したが、第4世代以降は減少する傾向を示し、特に第7世代以降は直線的に減少した。卵殻卵重比の推移は卵殻厚における推移とよく似ていた。また系統間の差は第1世代から有意であり、世代の経過に伴って差が広がる傾向を示した。

5. 卵形係数 (図11)

卵形係数は、強系、弱系とも第1世代で増加したが、それ以後はほぼ一定の値で推移した。系統間差は第1世代から第5世代までは有意な差が認められ、わずかながら差が広がる傾向を見せたが、第6世代以降は差が認められなくなった。したがって両系統ともほぼ同じ推移を示した。

6. 初産日齢 (図12)

初産日齢は、第3世代までは強系、弱系とも大きな変

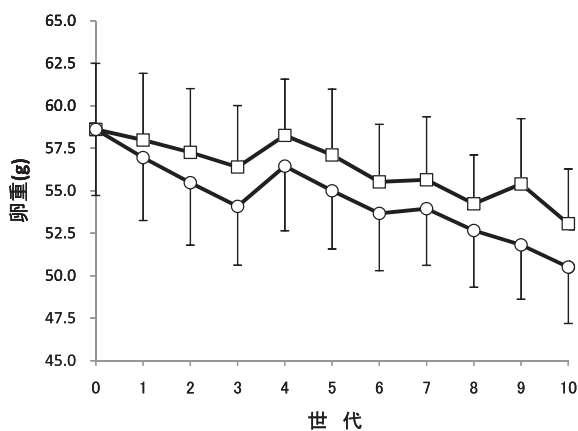


図7. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における卵重の推移。
各点は世代ごとの平均値を、各縦線は標準偏差の大きさを表す。

化は見せなかった。しかし強系は第4世代から遅くなる傾向を示し、第7世代以降は一定の水準で推移した。また弱系は第4世代から第7世代まで値が変動したが、第7世代以降は早くなる傾向を示した。系統間の差は第3世代から有意な差が認められ、世代の経過に伴い徐々に広がる傾向を示し、第9世代以降はさらに大きく広がった。

7. 短期産卵率 (181 ~ 270 日齢) (図13)

短期産卵率は、弱系では第4世代までは一定の値で推移し、第5世代で少し高くなって以降はほぼ一定の水準で推移した。一方強系では第1世代から多少の変動はあるものの直線的に低下した。系統間差は第2世代から有意な差が認められ、世代の経過に伴って広がる傾向を示した。

8. 長期産卵率 (181 ~ 370 日齢) (図14)

長期産卵率は、短期産卵率とよく似た推移を示した。すなわち弱系では、第5世代以降は85%台で安定して推移し、強系では第1世代から世代の経過に伴って直線的に低下した。系統間差は第3世代から有意な差が認められ、世代の経過に伴って差が広がった。

世代数に対する回帰係数

世代の経過に伴う反応の傾向をみるために、調査した形質について系統ごとの世代数に対する回帰係数を求めた (表6)。調査した形質のうち、卵重と卵形係数の場合を除いて、回帰係数の符号が系統間で異なり、非破壊変形に対する選抜の方向によって反応が異なることを示した。このうち卵殻卵重比の回帰係数は、系統間で符号

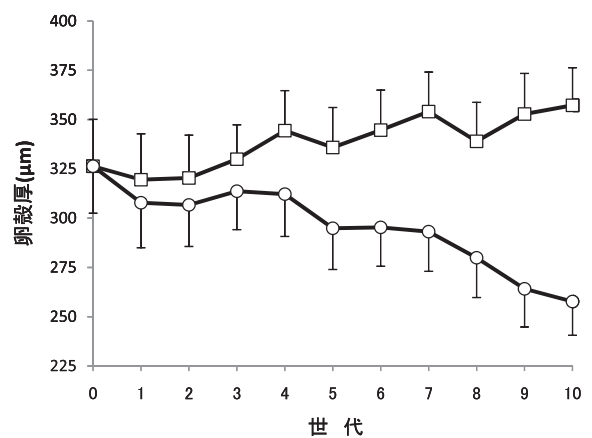


図8. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における卵殻厚の推移。
各点は世代ごとの平均値を、各縦線は標準偏差の大きさを表す。

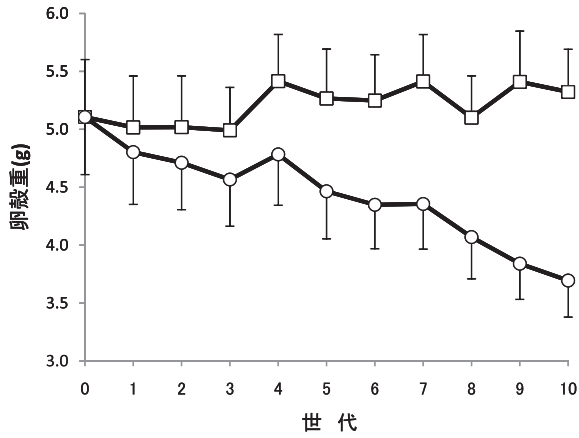


図 9. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における卵殻重の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

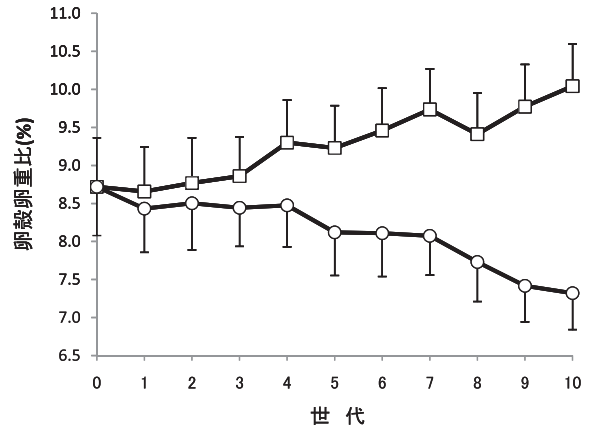


図 10. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における卵殻卵重比の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

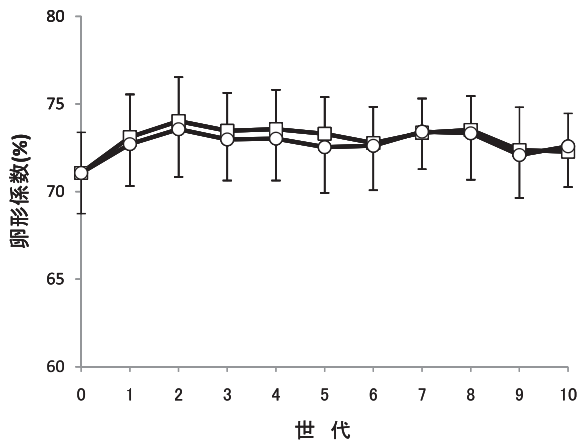


図 11. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における卵形係数の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

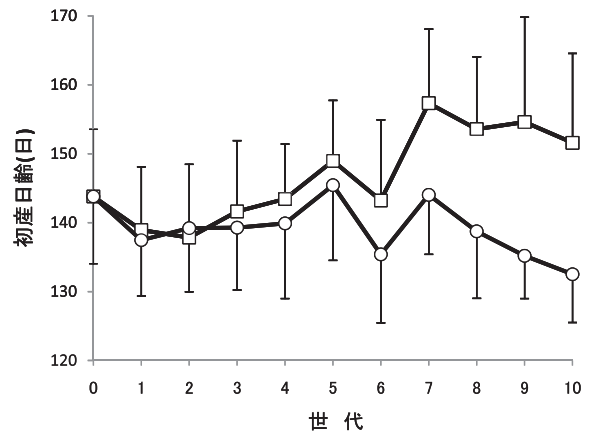


図 12. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における初産日齢の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

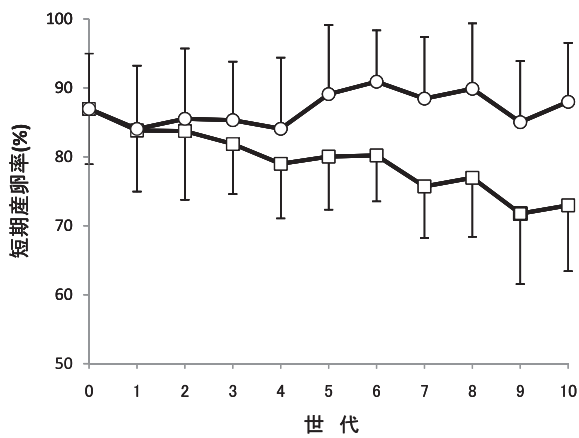


図 13. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における短期産卵率の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

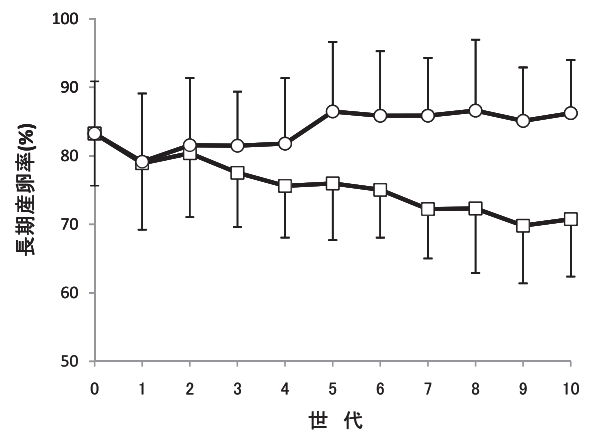


図 14. 選抜に伴う強系 (□) および弱系 (○) における長期産卵率の推移.
各点は世代ごとの平均値を, 各縦線は標準偏差の大きさを表す。

表6. 系統別の最小二乗平均値の世代数に対する回帰係数

形質	強系			弱系		
	回帰係数	標準誤差	R ²	回帰係数	標準誤差	R ²
卵重	-0.467 **	0.079	0.796	-0.660 **	0.089	0.861
非破壊変形	-0.989 **	0.264	0.636	3.740 **	0.494	0.877
破壊強度	0.090 **	0.010	0.892	-0.072 **	0.009	0.879
卵殻厚	3.565 **	0.629	0.781	-5.966 **	0.768	0.870
卵殻重	0.032 *	0.013	0.406	-0.125 **	0.012	0.921
卵形係数	0.005	0.083	0.000	0.044	0.069	0.043
卵殻卵重比	0.136 **	0.014	0.909	-0.132 **	0.015	0.898
初産日齢	1.636 **	0.393	0.659	-0.562	0.359	0.214
短期産卵率	-1.360 **	0.137	0.917	0.320	0.216	0.197
長期産卵率	-1.221 **	0.109	0.933	0.606 **	0.165	0.600

** : 有意水準 1% で有意

* : 有意水準 5% で有意

表7. 主要形質間の表型相関

形質	破壊強度	卵重	卵殻厚	卵殻重	卵殻卵重比	初産日齢	短期産卵率	長期産卵率
非破壊変形	-0.69	0.06	-0.79	-0.60	-0.85	-0.07	0.07	0.09
	-0.72	-0.07	-0.82	-0.70	-0.87	-0.05	0.04	0.01
破壊強度		0.05	0.68	0.56	0.67	0.20	-0.11	-0.09
		0.17	0.71	0.66	0.71	0.11	-0.14	-0.12
卵重			0.19	0.66	-0.20	0.14	-0.12	-0.10
			0.25	0.66	-0.07	0.16	-0.11	-0.14
卵殻厚				0.80	0.84	0.13	-0.12	-0.12
				0.84	0.88	0.09	-0.11	-0.09
卵殻重					0.59	0.18	-0.16	-0.15
					0.70	0.15	-0.13	-0.13
卵殻卵重比						0.08	-0.08	-0.09
						0.04	-0.07	-0.03
初産日齢							-0.12	-0.06
							-0.07	-0.06
短期産卵率								0.78
								0.75

G₁ ~ G₁₀ 世代を系統ごとにプール。上段が強系，下段が弱系

は異なるが大きさはほとんど同じで、反応が対称であることが示された。これに対し世代推移が卵殻卵重比と似ていた卵殻厚の場合は、回帰係数の大きさが弱系の方が大きく、反応が非対称であることが示され、この傾向は卵殻重においてさらに顕著であった。一方、弱系の初産日齢と短期産卵率では有意な回帰係数は得られなかったが、初産日齢、短期産卵率、長期産卵率とも強系の回帰係数の方が大きく、反応が非対称であることが示された。

非破壊変形と卵形質及び産卵能力との相関

卵形質及び産卵能力形質間の相関を表7に示した。

卵重と非破壊変形との相関係数は、強系、弱系それぞれ + 0.06, - 0.07 と、非常に小さい値を示し、系統によって符号が異なるが、相関はほとんどないことが示された。これに対し卵殻厚、卵殻重及び卵殻卵重比などの卵殻関連形質の場合は、強系、弱系とも - 0.60 ~ - 0.87 の範囲で、かなり高い負の相関を示した。特に卵殻卵重比は強系で - 0.85, 弱系で - 0.87 と最も高い負の相関を示し、卵殻厚もほぼ同じであった。卵殻重はそれらよりやや低い値を示した。またいずれの形質においても系統間の差はほとんどなく、卵殻重において弱系の方が強系よりも少し高い値を示した程度である。破壊強度の場合は、

強系、弱系それぞれ - 0.69, - 0.72 と卵殻関連形質と同様にかなり高い負の相関を示したが、卵殻卵重比や卵殻厚よりも低い相関であった。初産日齢、短期産卵率、長期産卵率の非破壊変形との相関係数はいずれも - 0.07 ~ + 0.09 と非常に小さく、相関がほとんどなかった。

その他の形質間の相関

非破壊変形以外の卵殻関連形質間にはかなり高い正の相関がみられ、特に卵殻厚と卵殻卵重比の相関は、強系が + 0.84, 弱系が + 0.88 と、形質間の中で最も高い正の相関を示した。

産卵能力関連の形質では、長期産卵率と短期産卵率の間で高い相関が見られる他は、- 0.16 ~ + 0.20 の範囲で特に高い相関はみられなかった。また短期及び長期産卵率と卵重との相関は、それぞれ強系では - 0.12 と - 0.10, 弱系では - 0.11 と - 0.14 で、いずれも負の低い相関を示した。

2.3 破卵の出現率を指標とした選抜効果の検討

卵殻強度に対する選抜は、遺伝的に卵殻を強くして破卵の出現を減らすことが、大きな目的である。したがって破卵の出現率を指標に、選抜実験の成果を評価することは重要である。

ここでは非破壊変形を選抜形質とした 10 世代にわたる大小 2 方向への選抜実験における、卵殻強度に対する改良効果を、選抜第 3 世代と第 7 世代の時に、破卵の出現率を指標に検討した。

材料と方法

選抜第 3 世代と第 7 世代のニワトリについて、定期的には検卵を行い破卵と軟卵の出現状況を調査した。調査期間は 180 ~ 370 日齢の間で、第 3 世代では週に 1 回、第 7 世代では 2 週に 1 回調査を行った。調査は鶏舎で集卵直後の卵について、透視法により行った。

結果

選抜第 3 世代と第 7 世代における破卵及び軟卵の出現状況を表 8 に示した。

破卵出現率は、強系では第 3 世代と第 7 世代の破卵出現率が、0.68% と 0.83% で差が認められなかった。一方弱系では第 3 世代ですでに 1.1% と強系よりも高く、第 7 世代ではさらに高くなって 3.5% となり、強系との差が大きくなった。

軟卵出現率は、第 3 世代では系統間で差がみられ、弱

表 8. 主要形質間の表型相関

世代	系統	正常卵数	破卵数		軟卵数			
			個	個 (%)	個 (%)	個 (%)		
G3	強系	5932	41	0.68	*	77	1.27	**
	弱系	6056	70	1.11		197	3.12	
G4	強系	2607	22	0.83	**	19	0.72	**
	弱系	2852	106	3.52		52	1.73	

** : 有意水準 1 % で有意差あり

* : 有意水準 5 % で有意差あり

系の方が高かった。第 7 世代でも同様の結果だったが、出現率は低くなった。

以上の結果から、非破壊変形に対する 2 方向選抜において、大方向への選抜 (弱系) によって破卵の出現率が增加すること、また軟卵の割合が高いことが示され、卵殻の強度が低下することが確認できた。一方小方向への選抜 (強系) では、第 3 世代と第 7 世代で破卵出現率は変化しなかったが、選抜第 3 世代までの間に、すでにある程度の改善があったことは、系統間に差が認められたことから明らかである。したがって弱系との破卵出現率の差は明らかであり、非破壊変形に対する選抜による効果が確認された。

2.4 考察

非破壊変形と卵殻形質及び卵重との関係

本実験で取り上げた卵形質の中で、非破壊変形と最も関係があるのは卵殻卵重比と卵殻厚であった。卵殻卵重比は卵の大きさと卵殻重の比であり、間接的に卵の単位表面積あたりの卵殻重の大きさを示していると考えられる。一方卵殻厚は卵殻の密度に差がないとすれば、厚い方が卵の単位表面積あたりの卵殻重は重くなる。今回の選抜実験では、卵殻厚は強系では厚くなり、弱系では薄くなった。したがって卵殻の厚さが非破壊変形に強く影響することが示された。

また強系では卵殻重があまり増加しなかった。一方非破壊変形に対する小方向への選抜は、卵殻厚を厚くし、卵殻卵重比を上げる方向に作用することが示されている。そのため強系では相対的に卵が小さくなる方向に作用したと考えられ、このことが卵重の減少として現れたと考えられる。

しかしながら卵重は重要な経済形質であり、卵殻強度の選抜によってどう影響されるかは大きな問題である。

これまで行われてきた卵殻強度に関する選抜実験の報告では、卵重と卵殻強度の関係は一定ではない。たとえば2方向選抜における系統間差では、Bussら¹⁸⁾は、卵殻卵重比の大方向への選抜系統の方が小方向への選抜系統より、卵殻厚が厚く、卵重が大きいと報告している。本実験でも系統間差でみた場合、非破壊変形の小方向へ選抜した強系の方が、大方向へ選抜した弱系よりも卵殻厚が厚く、卵殻卵重比と卵重が大きくて、Bussらの結果と同じであった。一方Combsら²⁶⁾は破壊強度に対する2方向選抜で、破壊強度の小方向へ選抜した方が、卵殻厚が薄く、卵重が大きいと報告している。Garwoodら³³⁾の報告では、実験に用いた6系統において、破卵率に対する2方向選抜を行った結果、破卵率の高い方がすべて卵殻厚が薄かったが、卵重は系統によって反応が異なった。McPheeら⁶²⁾は卵比重の高い方への選抜を行い、対照群より卵重が小さいと報告している。卵比重、破壊強度、非破壊変形の3つの卵殻形質について、それぞれ3世代にわたり、大小2方向選抜実験を行ったHartmannら⁴⁴⁾は、選抜対象形質によって卵重の変化が異なり、破壊強度と非破壊変形の場合は強方向への選抜系統の方が卵重が小さくなり、卵比重の場合は大方向（強方向）への選抜の方が卵重が大きくなったと報告している。しかしいずれの報告も世代の経過に伴う卵重の変化については不明である。これについては、Pevznerら⁸³⁾は2系統のニワトリで非破壊変形の小さい方向への選抜を3世代行い、2系統とも非破壊変形は減少し、卵重は同じか大きくなったと報告しているのに対し、Van Tijenら¹²¹⁾の実験では、2系統のニワトリで卵殻質指数を指標に卵殻強度の強い方へ4世代選抜したところ、非破壊変形は減少して卵殻厚は厚くなり卵重は同じかやや小さくなっており、本実験の結果と一致する傾向を示した。

このように卵重については、卵殻強度に関する選抜による反応が必ずしも一定ではない。その原因としては、選抜対象形質の違いも考えられるが、選抜実験を複数の系統で行ったGarwoodら³³⁾やPevznerら⁸³⁾、VanTijenら¹²¹⁾の報告では、系統によって反応の方向や程度が異なっており、品種や系統の違いが影響していることも考えられる。一方卵殻厚については、選抜対象形質の違いにかかわらず、卵殻強度の強い方が厚い。したがって卵殻の厚さが卵殻強度に強く影響することが示された。

非破壊変形と産卵能力の関係

種々の卵殻形質を用いた選抜実験において、産卵

率と卵殻強度との関係について報告されている。Van Tijen¹²¹⁾は非破壊変形を卵殻強度の指標に用いた選抜で、産卵率に低下傾向のあることを報告している。これに対しBussらの選抜実験¹⁰⁶⁾では、卵殻卵重比の高低2系統間に産卵率の差はみられなかったと報告している。またMcPheeら⁶²⁾も、選抜によって作出した卵比重の高系統と対照群の間に産卵率の差はみられなかったと報告している。Hartmannら⁴⁴⁾は、選抜対象形質が破壊強度と非破壊変形の場合は世代によって一定の傾向がみられず、また卵比重の場合は大方向（強方向）への選抜の方がわずかに産卵率が高い程度で、いずれにしても顕著な傾向は認められなかったと報告している。またRodda⁹⁶⁾は卵殻厚と産卵率の関係は鶏種によって異なると報告している。したがってこれらの報告からは、卵殻強度に対する選抜によって、産卵率がどのように影響を受けるのかは、明確ではない。

本選抜実験では、強系において卵重と負の相関関係にあるといわれる産卵率が、世代の経過とともに低下した。この結果は、本実験と同じ非破壊変形を指標に取り入れたVan Tijen¹²¹⁾の結果と一致した。このことは、卵殻強度の指標として、卵比重や卵殻卵重比、卵殻厚といった卵殻形質を使った場合と、今回の実験のように非破壊変形を使った場合で、反応が異なる可能性があることを示唆している。

また本実験では、選抜形質である非破壊変形と産卵率の相関が、強系、弱系とも+0.01~0.09と非常に小さく、2つの形質間にはあまり関係がないという結果が得られた。すなわち、選抜実験の相関反応としては、世代数に対する回帰でも、かなり顕著な傾向をみせたのにもかかわらず、相関としては小さいということである。この原因の1つとして、今回求めた相関が表型相関であることが考えられる。すなわち表型は遺伝と環境の2つの影響を受ける。そのため環境による種々の影響によって、遺伝的な傾向が明確でなくなることがある。この場合、選抜の影響を明確にするには、遺伝相関を求める必要があり、これについては第3章でさらに検討する。

強系における卵殻強度の改善効果

本実験では、強系において破卵出現率の減少がみられず、具体的な卵殻強度の改善は確認できなかった。これは強系の破卵出現率の値が、1%以下の非常に小さい値で、改良効果が数値として表れにくいことが原因していると考えられる。また本実験における調査は、鶏舎において集卵前の卵を対象に行っており、卵どうし

の接触がまだない状態である。したがってその後の集卵、流通段階における破卵については調査していないが、さらに破卵の出現率が高くなることは、これまでの報告^{11,41,97,98,111,112)}から十分に考えられる。また弱系との破卵出現率の差は明らかであり、非破壊変形に対する小方向への選抜によって、卵殻強度は改善されていると考えられる。

McPheeら⁶²⁾の報告では、5世代にわたる卵比重の高方向への選抜の結果、対照群との間で破卵及び軟卵の出現率に差がみられたとしている。卵比重、破壊強度、非破壊変形の3つの卵殻形質について、それぞれ3世代大小2方向選抜実験を行ったHartmannら⁴⁴⁾も、選抜系統間で破卵の出現率に差を認めたと報告している。したがって破卵の出現率に対する選抜効果は、比較的早い世代に現れるのではないかと考えられる。

軟卵の発生と卵殻強度

弱系では軟卵の出現率が高かった。同様の結果を、McPheeら⁶²⁾が報告している。彼らは、卵比重の高低2系統で破卵及び軟卵の出現率に差がみられ、低系統の方が高かったと報告し、これは卵比重に対する選抜が卵殻沈着効率に影響したためであると考察している。しかしこれ以外の選抜実験では、軟卵の発生について言及しているものはなかった。軟卵は、卵形成のうち排卵から卵殻膜形成までは正常過程を経た後に、子宮部に滞留することなく、体外に放出された卵のことをいう⁵¹⁾。軟卵が産卵されるメカニズムは明らかではないが、子宮部の卵殻線分泌液のリン酸濃度との関連が指摘されている^{76,77)}。すなわち卵殻沈着過程の終わる時期に、リン酸濃度が高くなって卵殻沈着が終了する現象がみられ、リン酸濃度の上昇が卵殻沈着の終了をうながすと考えられている。このリン酸濃度の上昇が卵形成と同調していない場合、もしくは卵が子宮部に到達した後の早い段階でおきた場合、卵殻の形成が不十分なまま卵が軟卵の形で体外に放出されると考えられる。したがって生理的な調節が正常に機能していない可能性がある。一般に産卵開始直後の時期に軟卵の発生が多いこともこれを裏付けていると考えられる。

またこの現象は卵殻の薄い卵の産生とも関連があると考えられる。すなわち軟卵の出現率の高い弱系の産生する卵は、卵殻厚が強系に比べ明らかに薄い。McPheeら⁶²⁾の考察もこのような考えに基づいていると思われる。

2.5 小括

非破壊変形に対する10世代にわたる大小2方向選抜において、非破壊変形と同時に測定した卵殻諸形質のデータと、個体ごとの産卵データをもとに、非破壊変形と他の卵殻諸形質との関連性、及び経済形質である卵重や産卵能力との関連性について検討した。また実際の改良効果について、破卵の出現率を指標に検討した。

卵重は、非破壊変形の小方向への選抜系統である強系と、大方向への選抜系統である弱系ともに、世代の経過とともに減少し、弱系の方がその傾向が著しかった。卵殻厚は、強系では増加する傾向が見られたが、弱系では第4世代以降は減少する傾向を示し、第7世代以降は直線的に減少した。その結果非破壊変形に対する選抜によって、強系は卵殻が厚く、弱系は卵殻が薄くなった。卵殻重は、強系ではほぼ一定の値で推移したが、弱系では直線的に減少した。卵殻卵重比は、強系では増加する傾向を示したが、弱系では減少する傾向を示し、卵殻厚とよく似た推移を示した。初産日齢は、強系が遅くなる傾向を示したが、弱系は早くなる傾向を示した。短期産卵率は、弱系では一定の水準で推移したが、強系ではほぼ直線的に産卵率は低下した。長期産卵率は、短期産卵率とよく似た推移を示した。したがって非破壊変形の小方向への選抜によって、卵殻厚や卵殻卵重比は増加し、卵重や産卵率は低下することが明らかとなった。形質間の相関では、非破壊変形と卵殻厚や卵殻卵重比との相関が高かった。

また非破壊変形に対する選抜の破卵防止に対する効果を、第3世代と第7世代で検討した。破卵の出現率は、強系では世代間の差がなかったが、弱系では第3世代で1.1%と強系の0.68%よりも高く、第7世代では3.5%とさらに高くなった。軟卵の出現率は両世代とも弱系の方が高かった。その結果、弱系では破卵の出現率が高くなり、また軟卵の割合が高く、卵殻強度の低下が確認された。一方強系では、破卵の出現率の減少は確認できなかったが、弱系との差は明らかであり、非破壊変形を指標とした卵殻強度の選抜が、破卵や軟卵の出現率に影響を与えることが示された。

第3章 各形質の遺伝パラメータの推定と卵殻強度改良のための選抜方法の検討

3.1 緒言

量的形質に対する選抜を行う場合、遺伝的改良量を推定するにはその形質の遺伝率が必要である。また卵用鶏

の育種改良を行う種鶏会社では、複数の形質を改良の対象とするのが一般的で、その場合選抜による相関反応や各形質の遺伝的改良量を予測するためには、形質間の遺伝的な関係を表す遺伝相関のデータが必要である。この遺伝パラメータを推定するには主として分散分析法、親子回帰法、選抜実験による方法の3つの方法がある¹⁴⁰⁾。

卵殻質の遺伝パラメータ推定に関しては数多くの報告がある。1970年以前の研究成果については、Kinney⁵⁶⁾が総説として報告しているが、卵殻強度を含む卵殻諸形質の遺伝率については、たとえば卵比重は0.35、卵殻厚は0.27～0.38と、ほとんどの形質が0.3～0.5の中程度の値を示し、0.2以下の形質はなかった。卵比重の遺伝率としては、Johnsonら⁵⁴⁾は、鶏種や測定時期で0.21～0.60の間で変動したと報告し、Morris⁶⁵⁾は0.25～0.35という値を報告し、Nagaiら⁶⁸⁾は0.29～0.44であったと報告している。またFarnsworthら³¹⁾は卵殻厚の遺伝率を0.27と報告した。このように卵比重や卵殻厚など、卵殻質の指標として古くから使われている形質については、報告も多いが、比較的新しく指標として開発された非破壊変形の遺伝率については、Van Tijenら¹²⁴⁾が0.35～0.40と推定し、Pottsら⁸⁷⁾が0.18～0.38と推定している程度で報告が少なく、最近になってGrunderら⁴⁰⁾が0.10～0.26という値を報告している。また破壊強度の遺伝率についても報告例は少なく、Van Tijenら¹²⁴⁾の調査では、0.34～0.52と中程度の値が報告されており、その後Grunderら⁴⁰⁾が0.21～0.33と中程度の値を報告している。またこれらの多くは分散分析法や親子回帰法によって推定されている。

しかしながら、卵殻形質に対する実際の選抜実験のデータをもとに、遺伝パラメータの推定を行った報告は少なかった。1970年代に入ってから、ようやく報告例がみられるようになり、まずRodda⁹⁶⁾は卵殻厚に対する選抜実験から、卵殻厚の遺伝率が鶏種と測定時期によって0.07～0.57の範囲で変動すると報告した。その後Pevznerら⁸³⁾は、非破壊変形と産卵率を対象とした選抜実験の結果から、非破壊変形の遺伝率は0.32～0.45の範囲であると報告した。またVan Tijen¹²³⁾は卵殻質に対する選抜実験¹²⁰⁾から遺伝率を推定し、非破壊変形は0.15～0.44、卵殻厚は0.18～0.56、卵比重は0.18～0.54であったと報告している。Garwoodら³³⁾はシミュレータによる破卵出現率について選抜し、その遺伝率を0.48と推定した。

また遺伝相関についても報告は少ない。Jaffe⁵³⁾は卵比重は産卵率、卵重との遺伝相関が0.15以下と小さい

と報告したのをはじめ、Van Tijenら¹²⁴⁾が卵重と非破壊変形の遺伝相関を、Goweら³⁶⁾が卵比重と初産日齢、産卵率、卵重との遺伝相関を、またRodda⁹⁶⁾が卵殻厚と卵比重、産卵率、卵重との遺伝相関を報告し、その後PottsとWashburn⁸⁷⁾が卵殻諸形質と卵重について、またGrunderら^{37,40)}が卵重も含めた卵殻諸形質間の遺伝相関を報告している。しかしながら選抜実験データに基づく多形質間の遺伝パラメータ推定の報告はなく、この点を明らかにする必要がある。

育種の面からニワトリの量的形質を改良する方法としては、個体の能力を選抜によって改良する方法と、品種あるいは系統間の交雑によるヘテロシス効果を利用する方法がある。卵殻質の遺伝的な改良方法についても、選抜による改良方法^{68,69)}と、品種あるいは系統間のヘテロシス効果を利用する方法¹²²⁾が検討されているが、非破壊変形を卵殻形質に取り上げた検討は、まだ十分には行われていない。

ヘテロシス効果を利用する方法については、対象形質や用いる品種や系統の組合せによって効果が異なる。一般にヘテロシス効果は、繁殖性や強健性などの形質に対して発現し、品質に関わる形質では小さいといわれている⁵²⁾。卵殻質に関するヘテロシス効果についての報告は少ない。Van Tijen¹²²⁾は白色レグホーンとロードアイランドレッドの2鶏種について、産卵能力選抜系と卵殻質選抜系の2系統を作出し、これら4系統を用いた交雑試験を行ない、ヘテロシス効果を検討した。その中では卵殻形質として卵殻厚、卵比重、非破壊変形について検討しているが、顕著なヘテロシス効果はみられなかったと報告している。またFairfullの総説²⁹⁾でも、卵比重についてはヘテロシス効果はないとしている。Pevznerら⁸³⁾は非破壊変形について選抜した系統を用いて交雑試験を行い、破卵の発生率におけるヘテロシス効果を検討したが、両親平均よりも低くなったものの、低い方の両親を下回ることはなかった。これらの結果は卵殻形質にはヘテロシス効果があまり期待できないことを示唆している。

一方選抜による改良については、Nagaiら^{68,69)}は卵比重が選抜による改良が可能な形質であると報告したのをはじめ、緒論で述べたようにいくつかの選抜実験が報告されており、改良が可能であることが示されている。また本選抜実験においても、卵殻強度の指標の1つである非破壊変形のみを選抜対象形質として、大小2方向への選抜を行った。その結果、非破壊変形の大系統(弱系)と小系統(強系)を作出することに成功し、選抜の効果

を確認した。また小方向への選抜群である強系では、卵重の減少と産卵率の低下が相関反応として現れ、また大方向への選抜群である弱系でも、産卵率は高くなったが卵重は低下した。このうち卵殻強度が改善される方向である強系において、このような生産形質の低下が認められたことは、経済性が重視される卵用鶏の育種を考える場合、好ましいことではない。

実際の卵用鶏育種の場合では、産卵率と卵重は最も重要な経済形質であり、これに体重、初産日齢、卵殻強度なども考慮した総合的な能力について選抜が行われている。そこで卵殻強度の改良目標に破壊強度を取り上げ、その情報形質として非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比を用いた場合の選抜効率について明らかにし、さらに実際の育種の場面を想定して、卵重と産卵率を改良対象形質として加えた場合の選抜効率について明らかにすることにした。

そこで第3章では、第1章及び第2章で述べた、非破壊変形に対する大小2方向選抜実験のデータに基づき、遺伝パラメータの推定を行い、さらにその遺伝パラメータを用いて、卵殻強度の改良のための選抜方法の検討を行う。

3.2 各形質の遺伝パラメータの推定

卵殻強度の選抜による遺伝的改良量やその他の形質に及ぼす相関反応を予測するため、非破壊変形に対する大小2方向選抜実験のデータに基づき、卵殻諸形質及び産卵能力形質の遺伝率と、これら各形質間の表型相関と遺伝相関の推定を行なった。

材料及び方法

非破壊変形に対する大（弱系）及び小（強系）方向への2方向選抜実験を10世代にわたって行った。第1世代から第10世代までの強系2832羽、弱系2743羽のデータを、それぞれの系統ごとに、世代の効果をプールして遺伝パラメータを推定した。

対象とした形質は、卵重、非破壊変形、破壊強度、卵殻厚、卵殻重、卵殻卵重比、卵形係数、初産日齢、短期産卵率（181～270日齢）、長期産卵率（181～370日齢）の10形質である。このうち各個体の卵重をはじめとする卵殻関連形質のデータは、3個の卵の平均である。

これらの形質について遺伝率と、各形質間の表型相関と遺伝相関を、枝分かれ分散分析法⁶⁾により推定した。すなわちすべてのデータについて、次のモデルAを用いて父の分散成分、母の分散成分及び残差成分を算出し、

遺伝パラメータを推定した。

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + s_{ij} + d_{ijk} + e_{ijkl} \quad (\text{モデルA})$$

Y_{ijkl} : i番目の世代のj番目の父と交配したk番目の母から生産されたl番目の個体の測定値

μ : 全平均

T_i : i番目の世代の効果

s_{ij} : i番目の世代内のj番目の父の効果

d_{ijk} : i番目の世代内のj番目の父と交配したk番目の母の効果

e_{ijkl} : 残差, $N(0, \sigma_e^2)$ にしたがうと仮定する。

分散成分の期待値 σ_s^2 と σ_d^2 は、それぞれ父の分散成分、母の分散成分であり、ともに遺伝分散の1/4の推定値である。 σ_e^2 は全きょうだい内の分散である。遺伝率は次式を用いて推定した⁶⁾。

$$h_{SD}^2 = \frac{2(\sigma_s^2 + \sigma_d^2)}{\sigma_s^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2}$$

また形質間の共分散成分も、分散成分と同じモデルAを用いて計算し、遺伝相関および表型相関は次式から推定した⁶⁾。

$$r_G = \frac{(\text{Cov}_s + \text{Cov}_d)}{\sqrt{\sigma_{s(1)}^2 + \sigma_{d(1)}^2} \sqrt{\sigma_{s(2)}^2 + \sigma_{d(2)}^2}}$$

$$r_P = \frac{(\text{Cov}_s + \text{Cov}_d + \text{Cov}_e)}{\sqrt{\sigma_{s(1)}^2 + \sigma_{d(1)}^2 + \sigma_{e(1)}^2} \sqrt{\sigma_{s(2)}^2 + \sigma_{d(2)}^2 + \sigma_{e(2)}^2}}$$

ここで、それぞれの記号は、形質1と形質2について次のことを意味する。

Cov_s : 父方共分散成分

Cov_d : 母方共分散成分

Cov_e : 全きょうだい内の共分散成分

$\sigma_{s(1)}^2, \sigma_{s(2)}^2$: 形質1あるいは2の分散の父成分

$\sigma_{d(1)}^2, \sigma_{d(2)}^2$: 形質1あるいは2の分散の母成分

$\sigma_{e(1)}^2, \sigma_{e(2)}^2$: 形質1あるいは2の全きょうだい内分散。

計算にはHarveyの最小二乗法分散分析用コンピュータプログラムLSMLMW⁴⁵⁾を用いた。

結果

各形質の遺伝率

強系及び弱系における各形質の遺伝率を表9に示した。卵殻および卵殻強度関連形質の遺伝率は0.22～0.48と中程度の値が推定された。遺伝率推定値の標準誤差は、0.03～0.05の範囲にあり、ここで推定された遺伝率の正確度は高いと考えられた。

非破壊変形の遺伝率推定値は強系が 0.24 ± 0.04 、弱系が 0.30 ± 0.04 と弱系がやや高く推定された。第1章において推定した非破壊変形の実現遺伝率は、強系が0.16、弱系が0.38であり、弱系の方が高い値であった。3種類の遺伝率推定法の中では、実現遺伝率は狭義の遺伝率と同義であり、最も正確な推定値と考えられる⁴³⁾。今回の枝分かれ分散分析法により推定した遺伝率は、実現遺伝率とよく似通った値であり、標準誤差も小さいことから、精度の高い推定値と考えられる。また、これらの値はこれまでの報告^{40,83,87,123,124)}の0.10～0.45の範囲内にあり、非破壊変形の遺伝率は中程度の大きさと推察された。また選抜の際に、雄の能力を評価するのに重みづけ係数を用いたが、この係数を算出する時に仮定した非破壊変形の遺伝率は0.3であった。今回推定した値は、それとほぼ一致する結果となった。

破壊強度の遺伝率は強系が 0.22 ± 0.04 、弱系が 0.32 ± 0.04 と弱系の方が高めに推定された。これらの推定値は非破壊変形の遺伝率とほぼ同じ値であった。これまで破壊強度の遺伝率は報告例が少なく、最近になってGrunderら⁴⁰⁾が0.21～0.33という報告をしている。今回の推定値は標準誤差も小さく、精度の高い推定値と考えられた。またGrunderら⁴⁰⁾の推定値と同様の値を示しており、破壊強度の遺伝率は0.2～0.3の中程度の遺

伝率であると推察された。

他の卵殻関連形質では、卵殻卵重比の遺伝率は強系が 0.29 ± 0.04 、弱系が 0.36 ± 0.04 と推定され、非破壊変形や破壊強度とほぼ同様の傾向を示したが、卵殻厚と卵殻重では、強系、弱系それぞれ 0.32 ± 0.04 と 0.35 ± 0.04 、 0.48 ± 0.04 と 0.47 ± 0.04 とほぼ同じ値が推定された。卵殻厚の遺伝率は、これまで $0.27 \sim 0.38$ ⁵⁶⁾や $0.18 \sim 0.56$ ¹²³⁾といった値が報告されており、今回の推定値はこれらとよく一致した値であった。

産卵能力形質の遺伝率は、初産日齢が強系で 0.54 ± 0.04 、弱系で 0.41 ± 0.04 とやや高く、短期産卵率(181～270日齢)は強系で 0.26 ± 0.04 、弱系で 0.19 ± 0.03 、長期産卵率(181～370日齢)は強系で 0.40 ± 0.04 、弱系で 0.29 ± 0.04 であり、いずれにおいても、強系の方が高い値が推定された。卵重と卵形係数については両系とも0.5～0.6の高い値が推定された。産卵能力の遺伝率はこれまで数多く報告されており、内藤(1975)の調査では、卵重は0.3～0.8、初産日齢は0.2～0.6、産卵率は0.1～0.4、また卵形係数については0.3～0.7¹²⁴⁾とまとめられている。今回得られた推定値は、従来の報告とほぼ一致していた。

各形質間の遺伝相関と表型相関

分散分析法により推定した遺伝相関と表型相関を、表10(強系)及び表11(弱系)に示した。

形質間の遺伝相関については、まず非破壊変形と卵殻関連形質の遺伝相関では、強系及び弱系とも-0.52以上の高い負の相関が推定され、形質の中では卵殻卵重比の間が-0.92と最も負の相関が高く、ついで卵殻厚が-0.81～-0.86、破壊強度が-0.7、卵殻重が-0.6の順であった。したがって非破壊変形は遺伝的には卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大きいことが示された。

非破壊変形と産卵率の間の遺伝相関は、強系が0.48～0.52と、弱系の0.22～0.25よりも高い正の値が推定された。また他の卵殻関連形質と産卵率との間には、-0.21～-0.48と負の遺伝相関が推定され、強系の方が弱系よりも相関係数は高かった。Grunderら³⁷⁾は、非破壊変形と産卵率の間の遺伝相関について、0.11～0.34と推定し、他の卵殻関連形質と産卵率との間の遺伝相関についても、-0.09～-0.42と負の遺伝相関を報告しており、本実験では両系統ともこれとほぼ一致する結果が得られた。

非破壊変形と卵重の間の遺伝相関は、強系ではゼロに近い正の値が推定されたのに対し、弱系では-0.1と値

表9. 強系および弱系の主要形質の遺伝率

形質	強系		弱系	
	遺伝率	標準誤差	遺伝率	標準誤差
卵重	0.60	0.05	0.59	0.05
卵形係数	0.50	0.04	0.54	0.05
卵殻厚	0.32	0.04	0.35	0.04
卵殻重	0.48	0.04	0.47	0.04
卵殻卵重比	0.29	0.04	0.36	0.04
破壊強度	0.22	0.04	0.32	0.04
非破壊変形	0.24	0.04	0.30	0.04
初産日齢	0.54	0.04	0.41	0.04
短期産卵率	0.26	0.04	0.19	0.03
長期産卵率	0.40	0.04	0.29	0.04

G₁～G₁₀世代を系統ごとにプール。

表 10. 強系の主要形質間の表型相関と遺伝相関

形質	卵重	卵形係数	卵殻厚	卵殻重	卵殻卵重比	破壊強度	非破壊変形	初産日齢	短期産卵率	長期産卵率
卵重	……	-0.21	0.38	0.82	-0.18	0.00	0.02	0.26	-0.11	-0.09
卵形係数	-0.06	……	-0.22	-0.25	-0.09	0.29	0.03	0.15	0.27	0.22
卵殻厚	0.19	-0.08	……	0.83	0.81	0.64	-0.81	0.22	-0.48	-0.41
卵殻重	0.66	-0.08	0.80	……	0.41	0.43	-0.52	0.31	-0.36	-0.32
卵殻卵重比	-0.20	-0.04	0.84	0.59	……	0.77	-0.92	0.10	-0.42	-0.39
破壊強度	0.05	0.29	0.68	0.56	0.67	……	-0.78	0.25	-0.43	-0.42
非破壊変形	0.06	-0.05	-0.79	-0.60	-0.85	-0.69	……	-0.19	0.52	0.48
初産日齢	0.14	0.16	0.13	0.18	0.08	0.20	-0.07	……	-0.09	-0.11
短期産卵率	-0.12	0.19	-0.12	-0.16	-0.08	-0.11	0.07	-0.12	……	0.93
長期産卵率	-0.10	0.18	-0.13	-0.15	-0.09	-0.09	0.09	-0.06	0.78	……

G₁ ~ G₁₀ 世代をプール。対角要素の下側が表型相関，上側が遺伝相関

表 11. 弱系の主要形質間の表型相関と遺伝相関

形質	卵重	卵形係数	卵殻厚	卵殻重	卵殻卵重比	破壊強度	非破壊変形	初産日齢	短期産卵率	長期産卵率
卵重	……	0.24	0.35	0.76	-0.06	0.36	-0.10	0.33	-0.15	-0.19
卵形係数	0.06	……	-0.02	0.12	-0.10	0.36	-0.12	0.23	0.25	0.13
卵殻厚	0.25	-0.08	……	0.85	0.87	0.77	-0.86	0.28	-0.35	-0.31
卵殻重	0.66	-0.01	0.84	……	0.60	0.73	-0.68	0.38	-0.31	-0.28
卵殻卵重比	-0.07	-0.07	0.88	0.70	……	0.67	-0.92	0.16	-0.29	-0.21
破壊強度	0.17	0.26	0.71	0.66	0.71	……	-0.71	0.29	-0.34	-0.37
非破壊変形	-0.07	-0.06	-0.82	-0.70	-0.87	-0.72	……	-0.19	0.25	0.22
初産日齢	0.16	0.14	0.10	0.15	0.04	0.11	-0.05	……	0.06	-0.02
短期産卵率	-0.11	0.14	-0.11	-0.13	-0.07	-0.14	0.04	-0.07	……	0.94
長期産卵率	-0.15	0.12	-0.09	-0.13	-0.03	-0.12	0.01	-0.06	0.75	……

G₁ ~ G₁₀ 世代をプール。対角要素の下側が表型相関，上側が遺伝相関

は小さいものの負の相関関係を示した。また破壊強度と卵重の間の遺伝相関においては、強系ではほぼゼロに近い値が推定されたのに対し、弱系では + 0.36 と正の相関関係を示した。このように卵殻強度を示す形質では、卵重との相関関係において強系と弱系で違いがあると推定された。また卵殻強度と卵重との遺伝相関は小さいことが推察された。

一方形質間の表型相関では、遺伝相関と類似の傾向を示したが、系統間の大きな差は認められなかった。

3.3 卵殻強度改良のための選抜方法の検討

卵殻強度の遺伝的な改良方法として選抜による方法がある。しかし非破壊変形を卵殻形質に取り上げた検討は、まだ十分には行われていない。

本研究において作出した非破壊変形の小方向への選抜群である強系では、卵重の減少と産卵率の低下が相関反

応として現れたが、このような生産形質の低下は、卵用鶏の育種を考える場合、好ましいことではない。

そこでまず卵殻強度の改良目標に破壊強度を取り上げ、その情報形質として非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比を用いた場合の選抜効率について検討し、次に実際の育種の場面を想定して、卵重と産卵率を改良対象形質として加えた場合について検討した。

材料及び方法

選抜指数法

複数形質の改良には選抜指数法が用いられる。選抜指数法では次の選抜指数式のように、各形質の情報 X_i に重みづけ係数 b_i をかけて選抜指数値 I を求め、この指数値 I に基づいて選抜を行う。

$$I = b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$$

選抜指数式の重みづけ係数を推定する方法には、選抜に

際してそれぞれの形質に与えられる相対経済価値があらかじめわかっている場合⁴⁶⁾と、それらの経済的な重要度はわかっているが、明確な改良目標を持つ場合¹⁴²⁾とによって、2通りの作成法がある。ここでは卵殻強度の経済的評価が困難なことから、選抜反応の予測には、Yamada ら¹⁴²⁾の改良目標に基づく選抜指数法を用いた。選抜指数の一般化については、横内ら^{143,144)}が報告している。まず相対経済価値に基づく選抜指数法においては、選抜指数 I の重みづけ係数ベクトル **b** は、次の正規方程式から求められる^{1,145)}。

$$Xb = R Ga$$

ここで

X：情報分散共分散行列

G：遺伝分散共分散行列

R：血縁係数行列

a：相対経済価値のベクトル

これを **b** について解くと、

$$b = X^{-1} R Ga$$

となり、選抜指数の重みづけ係数を求めることができる。

この時、各形質の世代あたりの遺伝的改良量の期待値 ΔG_i のベクトル ΔG は次式によって与えられる。

$$\Delta G = (i_i / \sigma_i) G b$$

これはさらに、血縁情報を入れると

$$\Delta G = (i_i / \sigma_i) G' R b$$

この式の i_i は指数の標準化された選抜差（選抜群の平均と全体の平均との差を標準偏差 σ_i で除した値）である。

さて、ここで改良目標は改良しようとする形質の目標値と現在の水準との差とし、これを **Q** ベクトルとする。

$$Q = q [\Delta G_{1,i}, \Delta G_{2,i}, \dots, \Delta G_{m,i}]$$

ベクトルの要素 ΔG_{i-1} は形質 *i* に生ずる 1 世代あたり

の間接選抜による相関反応で、*q* は目標達成までの所要世代数である。いま各形質に生ずる間接選抜反応のベクトルを ΔG で示すと、

$$Q = q \Delta G$$

となる。

したがって

$$Q = i_i q G' R b / \sigma_i$$

さらに

$$Q = G' R b$$

となる。この関係に着目し、あらかじめ改良目標ベクトル **Q** がわかっている場合の選抜指数式の作成法が開発された¹⁴²⁾。

改良目標に基づく選抜指数法における重みづけ係数のベクトル **b** は次式によって計算される。

$$b = [G' R]^{-1} Q$$

世代あたりの改良量は、

$$\Delta G = (i_i / \sigma_i) G' R b$$

によって求められる。

目標達成までの所要世代数 *q* は、

$$q = \sigma_i / i_i$$

によって求められ、所要世代数が少ないほど選抜指数の効率が高いことを意味する。

選抜指数式の計算

選抜指数式の計算には、古川ら³²⁾のプログラムを用いた。選抜指数の作成に用いたパラメータは表 12 に示した。このうち形質の平均値は第 1 世代における強系と弱系の中間値を用い、その他のパラメータは前節で推定した強系のパラメータを用いた。

表 12. 選抜指数法による選抜反応の予測に用いた遺伝パラメータ

形質	平均	標準偏差	遺伝率	遺伝相関と表型相関 ¹⁾								
				卵重	卵殻厚	卵殻重	卵殻卵重比	破壊強度	非破壊変形	初産日齢	短期産卵率	長期産卵率
卵重 (g)	57.5	3.9	0.60	0.38	0.82	-0.18	0.00	0.02	0.26	-0.11	-0.09
卵殻厚 (μm)	310	23	0.32	0.19	0.83	0.81	0.64	-0.81	0.22	-0.48	-0.41
卵殻重 (g)	4.90	0.44	0.48	0.66	0.80	0.41	0.43	-0.52	0.31	-0.36	-0.32
卵殻卵重比 (%)	8.50	0.58	0.29	-0.20	0.84	0.59	0.77	-0.92	0.10	-0.42	-0.39
破壊強度 (kg)	2.80	0.45	0.22	0.05	0.68	0.56	0.67	-0.78	0.25	-0.43	-0.42
非破壊変形 (μm/kg)	62.5	10.4	0.24	0.06	-0.79	-0.60	-0.85	-0.69	-0.19	0.52	0.48
初産日齢 (日)	138.0	9.2	0.54	0.14	0.13	0.18	0.08	0.20	-0.07	-0.09	-0.11
短期産卵率 (%)	84.0	8.9	0.26	-0.12	-0.12	-0.16	-0.08	-0.11	0.07	-0.12	0.93
長期産卵率 (%)	79.0	9.7	0.40	-0.10	-0.13	-0.15	-0.09	-0.09	0.09	-0.06	0.78

1) 対角要素の右上が遺伝相関、左下が表型相関

表 13. 選抜指数法により破壊強度を +1 σ 改良する場合の改良量
—情報形質として卵殻形質のみを用いる場合

形質	所要世代数	世代あたり改良量			目標到達時の改良量		
		卵重 (g)	短期産卵率 (%)	長期産卵率 (%)	卵重 (g)	短期産卵率 (%)	長期産卵率 (%)
非破壊変形	5.58	-0.03	-1.16	-1.44	-0.17	-6.45	-8.05
卵殻厚	5.89	0.65	-1.23	-1.42	3.83	-7.26	-8.38
卵殻卵重比	5.14	-0.29	-1.03	-1.29	-1.51	-5.28	-6.62
破壊強度	4.55	0.00	-0.92	-1.21	0.00	-4.16	-5.50

選抜指数の条件設定と検討事項

選抜指数に取り上げる情報形質の検討にあたり、破壊強度を改良の対象形質とし、これを1標準偏差プラスの方向に改良することを改良目標とした。まず選抜指数に取り上げる情報形質として、卵殻形質のみを用いた場合の選抜効率と、これに卵重、短期産卵率(181～270日齢)、長期産卵率(181～370日齢)の3形質を情報形質に加えた場合を検討し、さらに卵殻形質として複数形質を用いた場合についても検討した。なおここで取り上げた卵殻形質は、非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比、破壊強度である。

次に、改良目標として破壊強度を1標準偏差プラスの方向に改良するとともに、短期及び長期産卵率と卵重を変化させないという制限を加えた場合について検討した。ここでは情報形質として卵殻形質と卵重、短期産卵率(181～270日齢)、長期産卵率(181～370日齢)を用いた。また卵殻形質として複数の形質を用いた場合についても検討した。

なお改良目標を設定する際に、対象形質の平均値を変化させない場合は、改良目標を0とした。また選抜はすべて個体自身の情報を用いることとし、選抜率は雄、雌とも1標準偏差(約38%)と仮定した。選抜効率の比較は目標達成までの所要世代数を用いた。

結果

1. 破壊強度を改良目標とし、情報形質として卵殻形質のみを用いた場合

情報形質として単一形質を用いた場合の所要世代数と産卵形質の改良量を表13に示した。

非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比の3つの形質の中では、所要世代数では卵殻卵重比が5.14世代と最も効率が良く、次いで非破壊変形の5.58世代、卵殻厚の5.89世代の順であった。また形質間の差は小さかった。しかしいずれの形質も、破壊強度を直接卵殻強度の情報とし

て用いた場合の4.55世代より早くなることはできなかった。また経済形質への影響をみると、卵重に対しては卵殻厚がプラスの方向に作用するのに対し、非破壊変形と卵殻卵重比はマイナスの方向に作用し、破壊強度では変化しないというように形質によって異なる反応を示した。しかしながら産卵率に対しては破壊強度も含めて、4つの形質ともマイナスに作用した。またその程度を長期産卵率でみると、卵殻厚が最も大きく-8.38%、次いで非破壊変形が-8.05%、卵殻卵重比が-6.62%で、破壊強度が最も小さく-5.50%と予測された。その結果、単一形質で選抜を行う場合、選抜効率の上でもまた生産形質に及ぼす影響からみても、破壊強度が最もすぐれていると考えられた。また非破壊変形は、選抜効率は卵殻卵重比より劣るが、卵重に対する影響が小さいので、選抜対象形質として実用的であると考えられた。

2. 情報形質として卵重、短期産卵率及び長期産卵率を加えた場合

卵重、短期産卵率及び長期産卵率を情報形質として加えた場合の所要世代数と産卵形質の改良量を表14に示した。

改良対象形質は破壊強度に固定したまま、情報形質として、経済形質である卵重と、短期及び長期産卵率の3形質を加えた場合は、破壊強度を+1 σ 改良するのに、いずれの形質も単一形質の場合よりも0.5～1世代選抜効率が良くなって、4.08～4.92世代となった。また形質間の差も小さくなった。しかし単一形質の場合と同様に、非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比が4.47～4.92世代であるのに比べ、破壊強度は4.08世代と最も選抜効率がよかった。経済形質では、卵重については破壊強度以外の3形質がプラスに作用し、破壊強度はマイナスに作用した。しかし変化量は目標到達時で-0.5～0.63gと小さく、卵重に対する影響は小さい結果となった。これに対し、産卵率については4形質ともマイナスに作用

し、その変化量も長期産卵率で-11.06~-15.28%と、情報形質が卵殻形質のみの場合の1.8~2倍となった。したがって経済形質を情報形質に加えると、選抜効率は良くなるが産卵率を大幅に低下させる結果となり、改良対象形質を単一形質にすることは、実用的には問題のあることが示唆された。

3. 情報形質として用いる卵殻形質を複数にした場合

2の条件に加えて情報形質として用いる卵殻形質を複数にした場合の、所要世代数と産卵形質の改良量を表15に示した。

情報形質として用いる卵殻形質を複数にすると、わず

かながら所要世代数が小さくなり、選抜効率が良くなる。しかし破壊強度以外の3つの形質を取り入れても4.42世代かかり、2の条件における破壊強度の所要世代数4.08世代より早くなることはできなかった。また破壊強度に他の卵殻形質を加えても3.93~4.07世代かかる。したがって破壊強度にさらに他の卵殻形質の情報を加えても、選抜効率はあまり改善されないことが示された。また破壊強度が情報形質に入っていると、卵重に対してはマイナスに作用することが示され、また産卵率に対しては卵殻4形質をどう組み合わせてもマイナスに作用することが示された。

表14. 選抜指数法により破壊強度を+1σ改良する場合の改良量
—卵重、短期産卵率、長期産卵率の情報を加えた場合

形質	所要世代数	世代あたり改良量			目標到達時の改良量		
		卵重(g)	短期産卵率(%)	長期産卵率(%)	卵重(g)	短期産卵率(%)	長期産卵率(%)
非破壊変形	4.76	0.05	-2.34	-3.18	0.25	-11.13	-15.12
卵殻厚	4.92	0.13	-2.34	-3.11	0.63	-11.51	-15.28
卵殻卵重比	4.47	0.12	-2.18	-2.96	0.53	-9.73	-13.23
破壊強度	4.08	-0.13	-1.93	-2.72	-0.52	-7.86	-11.06

表15. 選抜指数法により破壊強度を+1σ改良する場合の改良量
—情報形質に用いる卵殻形質が複数の場合¹⁾

形質	所要世代数	世代あたり改良量			目標到達時の改良量		
		卵重(g)	短期産卵率(%)	長期産卵率(%)	卵重(g)	短期産卵率(%)	長期産卵率(%)
2形質の場合							
変形+厚 ²⁾	4.92	0.13	-2.34	-3.11	0.63	-11.51	-15.28
変形+比	4.47	0.12	-2.18	-2.96	0.53	-9.73	-13.23
変形+破	4.08	-0.13	-1.93	-2.72	-0.52	-7.86	-11.06
厚+比	4.76	0.05	-2.34	-3.18	0.25	-11.13	-15.12
厚+破	4.92	0.13	-2.34	-3.11	0.63	-11.51	-15.28
比+破	4.47	0.12	-2.18	-2.96	0.53	-9.73	-13.23
3形質の場合							
変形+厚+比	4.76	0.05	-2.34	-3.18	0.25	-11.13	-15.12
変形+厚+破	4.92	0.13	-2.34	-3.11	0.63	-11.51	-15.28
変形+比+破	4.47	0.12	-2.18	-2.96	0.53	-9.73	-13.23
厚+比+破	4.08	-0.13	-1.93	-2.72	-0.52	-7.86	-11.06
4形質の場合							
変形+厚+比+破	4.76	0.05	-2.34	-3.18	0.25	-11.13	-15.12

1) 情報形質として卵殻形質の他に、卵重、短期産卵率、長期産卵率を用いる。

2) 変形：非破壊変形、厚：卵殻厚、比：卵殻卵重比、破：破壊強度

4. 改良目標として短期及び長期産卵率と卵重を変化させない制限を加えた場合

実際の育種の場合を想定して、改良目標として短期及び長期産卵率と卵重を変化させないことを加えた場合の所要世代数は表 16 の通りであった。所要世代数は 1 の条件の場合より 1～3 世代長くなって選抜効率は悪くなった。また卵殻形質間の差は大きくなり、破壊強度が最も所要世代数が少なく 5.76 世代、次いで卵殻卵重比の 7.16 世代、非破壊変形の 8.57 世代、卵殻厚の 9.19 世代の順であった。卵殻形質を複数にして情報量を増やした場合、破壊強度以外の 3 形質では、どの組合せでも選抜効率は若干良くなるが、破壊強度のみを卵殻形質として用いる場合の 5.76 世代より早くなることはなかった。また破壊強度との組合せでは、卵殻卵重比と卵殻厚の情報を加えると 5.41 世代となり、少し選抜効率が良くなったが、大きな改善はみられなかった。

表 16. 選抜指数法により、産卵率と卵重を一定とし、破壊強度を +1 σ 改良する場合の所要世代数¹⁾

形質	所要世代数
情報形質に用いる卵殻形質が 1 つ	
非破壊変形	8.57
卵殻厚	9.19
卵殻卵重比	7.16
破壊強度	5.76
情報形質に用いる卵殻形質が複数 ²⁾	
2 形質の場合	
変形 + 厚	8.46
変形 + 比	7.14
変形 + 破	5.76
厚 + 比	6.77
厚 + 破	5.75
比 + 破	5.71
3 形質の場合	
変形 + 厚 + 比	6.77
変形 + 厚 + 破	5.56
変形 + 比 + 破	5.75
厚 + 比 + 破	5.41
4 形質の場合	
変形 + 厚 + 比 + 破	5.34

- 1) 情報形質として卵殻形質の他に、卵重、短期産卵率、長期産卵率を用いる。
- 2) 変形：非破壊変形、厚：卵殻厚、比：卵殻卵重比、破：破壊強度

3.4 考察

非破壊変形の遺伝率推定値

本実験で推定された非破壊変形の遺伝率は、分散分析法により推定した遺伝率および実現遺伝率のいずれにおいても、弱系の推定値の方が強系の推定値よりも大きかった。このことは図 6 のように、弱系の選抜反応が強系のそれよりも大きいことによっても裏付けられている。一般に閉鎖群での選抜実験では世代が進むにつれて、遺伝子の固定により遺伝分散が減少して遺伝率が小さくなる¹⁵⁾。ところが図 4 にみられるように、非破壊変形に対する大小 2 方向選抜では、世代が進むにつれて、強系ではばらつきの幅が減少し分布の尖りが高くなったのに対し、弱系ではそのような傾向は認められなかった。

本実験における非破壊変形の表型分散と遺伝分散および遺伝率推定値の、世代の経過に伴う推移を表 17 に示した。非破壊変形の表型分散は、強系の場合、第 4 世代までは急激に減少したが、第 5 世代以降は減少傾向が鈍くなった。一方弱系の場合は第 3 世代までは減少する傾向を示したが、第 5 世代以降は同じかやや増加する傾向を示した。その結果第 10 世代では強系の分散の値が弱系の 5 分の 1 になった。また非破壊変形の遺伝分散は、強系の場合は世代に伴い少しずつ減少する傾向を示した。一方弱系の場合は第 5 世代までは減少する傾向を示したが、第 6 世代以降は増加する傾向を示した。

これは非破壊変形という形質の持つ特性に起因すると考えられた。すなわち選抜により測定値が大きくなり、それに伴って尺度効果 (Scale effects)³⁰⁾ により遺伝分散も大きくなるが、強系は測定値の幅が限られ、遺伝分散が小さくなったと考えられた。このことから強系の場合、遺伝分散の減少とともに選抜による改良が難しくなると考えられるが、表型分散の減少の方が大きいため、推定される遺伝率の値は遺伝分散の推移と連動していなかった。一方弱系の場合は、選抜が進んだ第 5 世代以降も遺伝分散の減少は見られず、まだ選抜効果が期待されることが示唆された。

次に本実験で推定した卵殻諸形質及び産卵能力形質の遺伝率は、従来の報告とよく一致していた。一般に分散分析法から推定した遺伝分散には、優性偏差、上位性効果および母性効果が含まれるため、これを用いて推定した遺伝率はやや大きくなる傾向がある¹⁴⁰⁾。しかし推定した遺伝率は従来の報告とほぼ一致していた。これはニワトリは卵生であり、母性効果が小さいと考えられること、また推定に用いたデータが、強系 2832 羽、弱系 2743 羽と多かったことによるものと考えられた。

表 17. 非破壊変形における表型分散, 分散成分 (父間および母間), 遺伝分散, 環境分散および遺伝率の世代に伴う推移

世 代	σ^2_p	σ^2_s	σ^2_D	V_G	V_E	h^2_s	h^2_D	h^2_{SD}
強系								
G ₁	109.08	5.19	2.31	15.00	101.58	0.19	0.08	0.14
G ₂	91.23	8.05	14.36	44.83	68.82	0.35	0.63	0.49
G ₃	70.25	5.05	5.50	21.08	59.71	0.29	0.31	0.30
G ₄	53.53	2.89	2.50	10.78	48.14	0.22	0.19	0.20
G ₅	49.55	2.57	7.41	19.95	39.58	0.21	0.60	0.40
G ₆	53.82	5.07	⋯⋯	10.14	48.76	0.38	⋯⋯	0.19
G ₇	31.72	2.38	⋯⋯	4.76	29.34	0.30	⋯⋯	0.15
G ₈	50.59	5.48	1.14	13.24	43.97	0.43	0.09	0.26
G ₉	48.25	0.95	⋯⋯	1.89	47.31	0.08	⋯⋯	0.04
G ₁₀	39.13	1.91	4.36	12.22	32.86	0.20	0.45	0.32
弱系								
G ₁	139.62	4.07	12.35	32.85	123.19	0.11	0.35	0.24
G ₂	118.36	2.70	9.09	23.57	106.57	0.09	0.31	0.20
G ₃	99.59	7.59	10.75	36.70	81.24	0.31	0.43	0.37
G ₄	100.27	3.42	5.73	18.30	91.12	0.14	0.23	0.18
G ₅	127.02	3.06	⋯⋯	6.13	123.96	0.10	⋯⋯	0.05
G ₆	126.33	17.15	17.30	68.89	91.89	0.54	0.55	0.55
G ₇	114.06	8.82	7.78	33.21	97.46	0.31	0.27	0.29
G ₈	142.36	8.35	7.57	31.85	126.43	0.23	0.21	0.22
G ₉	146.09	17.35	13.68	62.06	115.07	0.48	0.37	0.42
G ₁₀	181.51	19.68	23.33	86.01	138.50	0.43	0.51	0.47

非破壊変形と卵殻関連形質の関係

本実験では非破壊変形は遺伝的には卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大きいことが示された。Grunderら⁴⁰⁾は、非破壊変形と卵殻関連形質の遺伝相関について、卵殻卵重比の $-0.56 \sim -0.99$ 、破壊強度が $-0.57 \sim -1.02$ 、卵殻重が $-0.50 \sim -0.74$ と報告しており、卵殻厚の推定に使われる単位表面積あたりの卵殻重との遺伝相関も $-0.62 \sim -0.98$ と本実験と一致していた。したがって非破壊変形は遺伝的には卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大きいことが示唆された。

卵殻強度と卵重の関係

本実験では非破壊変形と卵重の間の遺伝相関は、強系では $+0.02$ 、また弱系では -0.1 と非常に小さかった。また破壊強度と卵重の間の遺伝相関も強系ではほとんど相関がみられず、弱系では $+0.36$ と正の弱い相関関係を示した。非破壊変形と卵重の遺伝相関についてはVan Tijenら¹²⁴⁾が $0.02 \sim 0.05$ 、またGrunderら⁴⁰⁾が $-0.21 \sim +0.13$ と推定したように、非破壊変形と卵重の間の

遺伝相関は小さいものと推察された。またPottsら⁸⁶⁾の推定では、 $-0.29 \sim -0.57$ と比較的高い遺伝相関だったが、表型相関は $-0.04 \sim 0.06$ と小さかった。破壊強度と卵重の遺伝相関については、Grunderら⁴⁰⁾が $0.04 \sim 0.22$ と推定しており、小さいと考えられる。このように卵殻強度と卵重との遺伝相関は小さいことが推察された。

卵殻強度改良のための選抜方法

本実験の結果から、破壊強度だけを改良目標とする選抜は、生産性、特に産卵率の低下をもたらす、実用的ではないことが示唆された。たとえ選抜の情報として産卵率の情報を加えても、改良目標が破壊強度だけでは生産性は低下する。そのため、卵殻強度と生産形質を組み合わせた改良目標の設定が不可欠である。

これまで卵殻形質を含む複数形質の選抜実験としては、Pevznerら⁸³⁾が非破壊変形と産卵率を、またVan Tijen¹²¹⁾は非破壊変形、卵殻厚、卵比重を組み合わせた卵殻質指数で行った例がある。Pevznerら⁸³⁾は、2系

統を用いたが1つは産卵数が増え、非破壊変形は小さく
なったが、もう1つは産卵数が減って、非破壊変形は大
きくなり、一定の選抜反応ではなかったと報告している。

また Van Tijen¹²¹⁾ は非破壊変形をはじめ卵殻厚、卵比
重を使って考案した卵殻質指数を用いており、卵殻関連
形質に改善効果が認められたと報告している。いずれの
報告も選抜指数を用いていない。

ここでは卵重、産卵率については現状を維持しながら、
卵殻強度を改良する育種計画について検討した。破壊強
度を卵殻強度の指標として考えると、やはり破壊強度を
選抜指数の情報形質として用いた場合、選抜効率が最も
良かった。非破壊変形は破壊強度との遺伝相関が-0.78
と高かったが、選抜効率は破壊強度の67%にすぎなか
った。また破壊強度と他の卵殻形質を組み合わせた場合
は、破壊強度だけの場合に比べて、2形質では0~1%、
3形質では0.2~6%、4形質すべて組み合わせた場合
は7.3%改善されたにすぎない。非破壊変形以外の卵殻
形質はいずれも卵を割らないと測定できない。したがっ
て測定上は破壊強度と同時に測定できることから、破壊
強度と組合せて卵殻形質の情報として用いることができ
る。しかしすでに述べたように、それによって改良の効
率がそれほど向上するわけではない。一方の非破壊変形
は非破壊で測定できるため、割卵する必要はなく、非破
壊変形だけで卵殻強度の指標にする可能性が高いと考え
られる。非破壊変形は単一形質としては卵殻厚より選抜
の効率が良いが、破壊強度や卵殻卵重比よりは劣る。非
破壊変形が破壊強度にまさるのは、測定による卵の損失
がないことによる経済的メリットであると考えられる。
したがって今後測定器や測定方法の改良が進めば、非破
壊変形はさらに実用的形質となると考えられる。以上の
ことから現在の実用的な育種においては、破壊強度と産
卵性を選抜指数の情報として用いる選抜法が、最も効率
的な育種計画であると推察された。

3.5 小括

非破壊変形に対する大小2方向選抜実験のデータをも
とに、分散共分散分析法により遺伝パラメータを推定し
た。非破壊変形をはじめとして破壊強度及び卵殻諸形質
の遺伝率は0.22~0.48と中程度の値が推定され、非破
壊変形と破壊強度、卵殻卵重比は弱系の方がやや高か
った。また産卵能力形質では、0.19~0.41と中程度の遺
伝率が推定され、強系の方が高い値が推定された。卵重
と卵形係数では両系とも0.5~0.6の高い値が推定され
た。

形質間の遺伝相関については、非破壊変形と卵殻諸形
質との遺伝相関は、強系及び弱系とも高い負の相関が推
定され、特に卵殻卵重比と卵殻厚との相関が高く、非破
壊変形は遺伝的には卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大き
いことが示された。非破壊変形と産卵率との遺伝相関は、
強系が弱系よりも高い正の値が推定された。また他の卵
殻諸形質と産卵率との間には、負の遺伝相関が推定され、
強系の方が弱系よりも高かった。非破壊変形及び破壊強
度と卵重との遺伝相関には系統間で差がみられ、卵殻強
度と卵重との相関関係において強系と弱系で違いがある
と推定された。

これらの遺伝パラメータの値をもとに、卵重や産卵率
が低下しないように考慮した場合の卵殻強度の改良効率
を、破壊強度を改良形質として選抜指数法を用いて検討
した。卵殻強度の情報として非破壊変形、卵殻厚、卵殻
卵重比の3つの形質について検討したところ、破壊強度
を改良する場合の予測では卵殻卵重比が最も効率が良
く、次いで非破壊変形、卵殻厚の順であった。しかし破
壊強度を直接卵殻強度の情報として用いた場合の効率を
上回ることはできなかった。

第4章 卵殻強度と孵化の関係

4.1 緒言

卵殻は、食品としての卵を保持する保存容器である一
方、生物学的には、受精卵の孵化における胚発生の場所
を形成し、胚を保護するという非常に重要な役割を持つ
ている。また発生中の胚への無機物の供給源としても機
能している^{24,55,104)}。したがって卵殻強度の強弱は、卵殻
の持つ発生中の胚を保護するという役割に影響すること
が考えられる。

卵殻強度と孵化率の関係については古くから関心が持
たれており、非破壊で測定できる卵比重が、卵殻厚の推
定法として利用されてきた。Mussehl⁶⁷⁾ や Munro⁶⁶⁾
はニワトリで、Payne⁸¹⁾ はシチメンチョウで、卵比
重と孵化率との間には正の相関があると報告している。
これに対し Phillips⁸⁴⁾ は、シチメンチョウを使って
卵比重と孵化率にはそのような相関はないと報告し意見
が分かれた。その後 Coleman²⁵⁾ や McDaniel⁶¹⁾ の
研究によって、卵比重の低い卵は孵化率が低く相関関係
があるが、卵比重の高い卵では孵化率との相関が小さく
なることを明らかにした。しかしながらその他の卵殻強
度の指標については、受精卵自体を非破壊で測定するこ
とができないため、検討されていない。また非破壊形質

である非破壊変形についても、孵化率との関係を検討した報告はほとんどなく、Hartmannら⁴⁴⁾やGrunderら³⁷⁾が報告を行った程度で、非破壊変形と孵化との関係についてはまだ明らかではない。また個々の受精卵について、その非破壊変形の大きさと孵化の関係を検討した報告もなく、この点からの検討を行うことで卵殻強度と孵化の関係を明らかにすることができると考えられた。

また卵比重と孵化率に相関があることはすでに述べたが、孵化率を向上させる要因については、孵卵前の保存の状態と孵卵環境とに分けて考えることができる。

これまで孵化に関しては多くの研究がなされてきた。孵卵環境については、養鶏産業の発展に伴い大規模養鶏が行われるようになって、大量のヒナを供給する必要がでてきたことから、孵卵作業の機械化を進める上で詳細な検討がなされ今日に至っている。そこで得られた成果について、Lundy⁶⁰⁾が総説としてまとめている。それによれば、孵化率を左右する要因として、温度、湿度、転卵操作、卵の置き方、震動、気圧、光、酸素濃度、炭酸ガス濃度などを上げている。このうち特に温度と湿度については、水分蒸散による卵重の減少に影響し、このことが孵化率に影響すると述べている。これを卵殻の側からみた場合は、卵殻を通して水分が失われることであり、卵殻強度と卵殻厚との関係からも、孵化との関連が考えられる。

また孵卵前の保存の状態についても、種卵の保存の面から孵化率向上のための検討がなされている。たとえば保存の最適温度範囲は多くの報告から10～15℃とされている^{20,64,78,88,103)}。またProudfoot^{92,93)}は、鋭端を上にして保存した方が孵化率が良いと報告している。さらに保存期間中の予備加温^{7,59,90,94)}や転卵⁹⁰⁾などによる孵化率の向上が試みられ、ある程度の効果が認められている。こうした試みのうち、保存温度や卵の置き方などは、保存中の水分蒸発や炭酸ガスの蒸散の抑制と関連していると考えられている。

そこでこのような観点から、合成樹脂製の袋を使って受精卵を密閉する方法が試みられた。Proudfoot^{88,89,90,91,93)}やBecker⁵⁾、Beckerら⁸⁾、Bowman¹²⁾、Gowe³⁵⁾、Warrenら¹³⁵⁾、Gordonら³⁴⁾などはクライオバック（ポリ塩化ビニリデンシート）を使って保存を行い、孵化率が改善されたと報告している。しかし保存中の卵重減少については明らかでない。卵殻質と孵化率との関係では、Colemanら²⁵⁾やMcDanielら⁶¹⁾の研究によって、卵比重の低い卵は孵化率が低く相関関係があること、ま

た保存中の卵重の減少と卵比重には負の相関があることから、水分蒸発と孵化率に関連のあることを示唆している。またMcPheeら⁶²⁾は卵比重の高い系統は保存中の卵重減少が小さいと報告している。したがって保存中の卵重減少の抑制効果が孵化率を改善する可能性が考えられた。

また冒頭に述べたように、卵殻は受精卵の孵化において、胚発生の場所を形成し、胚を保護するという非常に重要な役割を持っている。最近のバイオテクノロジー研究の発展に伴い、鳥類においても胚操作技術の開発が望まれてきた。これまでは、卵殻を使わない無卵殻培養を中心に胚培養が試みられてきたが、孵化までは到達できなかった。そのため胚操作した胚を培養し孵化させることができず、胚の培養技術の開発が特に望まれていた。そこで、胚の培養器としての卵殻に着目し、卵殻を用いた胚の培養技術の開発が行われるようになった。卵殻をニワトリ胚の培養器として最初に利用したのはKinutaniら⁵⁷⁾で、窓開け法によって孵卵1.5日のニワトリ胚に、ウズラ胚の神経管を移植して神経管キメラ胚を作出し、それを孵化させることに成功している。またRowlettら⁹⁹⁾は、卵殻を用いた汎用性のある培養技術を考案した。さらに1988年にイギリスのPerry⁸²⁾は、ニワトリ卵殻を培養器として用いることにより、初期胚（1細胞期）から孵化までの培養に成功し、その後Naitoら⁷¹⁾によって培養法が改良されている。ニワトリ以外の家禽類では、ウズラについて培養が試みられてきた。Onoら⁸⁰⁾は、孵卵2.5日のウズラ胚をニワトリ卵殻に移して培養し、孵化に成功した。またOnoら^{79,80)}はウズラの卵殻外培養も試みたが、孵化には成功していない。また丹ら¹⁰⁹⁾は、窓開け法によって、ウズラ胚にニワトリ胚の神経管を移植して作ったキメラ胚を、孵化させることに成功した。しかしいずれの場合も1～3日間孵卵して発生が進んだ受精卵を用いた培養であり、放卵直後の胚盤葉期の初期胚からニワトリ卵殻を用いて培養を試みた例はみられない。

本章では、卵殻強度の強弱が孵化に及ぼす影響および胚発生における卵殻の重要性を明らかにすることとした。そのためまず10世代にわたる非破壊変形に対する大小2方向選抜における孵化率の推移から、孵化率に対する選抜の影響を明かにし、次いで受精卵自体の非破壊変形の大きさと孵化の関係について検討した。一方受精卵の長期保存性との関連から、卵殻強度との関連について検討した。さらに家禽胚の孵化における卵殻の重要性について、ウズラ胚の培養実験により明らかにすること

とした。

4.2 選抜に伴う孵化率の変化

非破壊変形に対する10世代にわたる大小2方向選抜実験における、系統ごとの孵化率の推移を比較することにより、孵化率に対する選抜の影響を明らかにしようとした。

材料と方法

供試動物と調査項目

非破壊変形に対する大小2方向への選抜実験の概要は、第1章で述べたとおりである。この選抜実験において、選抜した雌から後代を得る時の孵化記録を分析に用いた。調査した項目は対受精卵孵化率、卵の保存期間別の対受精卵孵化率、発生中止卵の数とその出現時期である。

交配及び孵化作業

交配時期は毎世代11月から12月とし、12月15日前後に孵化させるようにした。交配の組合せは両系統とも選抜された雄10羽と雌80羽について、雄1羽に対し雌8羽ずつを無作為に交配した。なおこの際全きょうだい、半きょうだいでどうしの交配を避けるようにした。交配方法は人工授精で、1週間に1回行った。種卵は貯卵室(温度14℃、相対湿度85%)に保存し、保存期間は最大3週間とした。採取した種卵はすべて孵化に供した。

孵卵は大型の立体孵卵器で17日目まで鈍端部を上にして転卵しながら行い、18日目に専用の大型発生器に移して発生させた。温度管理等は畜産試験場の慣行に従って行った。

検卵は孵卵期間中に2回、検卵器を用いた透視法で行い、1回目を孵卵5日目に、2回目を18日目に行って、無精卵と発生中止卵を取り除いた。

雛は22日目に発生したものを孵化したものとし、この時点で発生しなかったものはすべて死籠もり卵とした。

結果および考察

対受精卵孵化率の推移

世代の経過に伴う対受精卵孵化率(以下孵化率と略)の推移を図15に示した。第1世代では強系が68.3%、弱系が67.5%とほとんど差がなかったが、第2世代以降多少の上下はあるものの、世代の経過に伴い、強系がしだいに孵化率が上がっていくのに対し、弱系は70%付

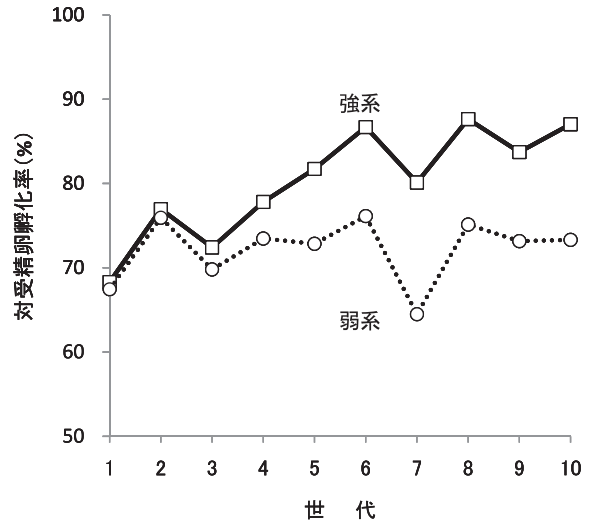


図15. 世代の経過に伴う対受精卵孵化率の推移

近で推移した。そのためしだいに系統間の差は大きくなり、第10世代では強系が87.0%、弱系が73.3%となった。その結果、強系は選抜当初に比べ10%以上孵化率が改善された。このことは非破壊変形の小方向への選抜が、孵化率を向上させる効果があることを示唆した。

非破壊変形と孵化率の関係については、Hartmannら⁴⁴⁾の2方向選抜実験でも、非破壊変形の小方向の系統の方が孵化率が高いことが認められ、またGrunderら³⁷⁾の報告でも、非破壊変形と孵化率は、 $-0.17 \sim -0.42$ と負の遺伝相関が推定されており、本研究と同様の結果を得ている。したがって非破壊変形と孵化率には遺伝的に負の相関関係があることが示唆された。

発生中止卵の孵卵時間別の出現状況

世代の経過に伴う発生中止卵の孵卵時間別の出現状況の推移を図16に示した。

孵卵5日目までの発生中止卵の割合は、第5世代まではあまり差がなかったが、第6世代から差がみられるようになった。特に強系の発生中止卵の割合が低くなる傾向を見せた。孵卵6日目から18日目までの発生中止卵の割合は、両系統とも5%以下と低かったが、常に弱系の方が高い値を示し、第9世代以降やや高くなる傾向を見せた。孵卵19日目以降の発生中止卵の割合は、弱系が10~15%の間を推移しているのに対し、強系は徐々に下がっていく傾向を示した。

対受精卵孵化率において系統により差がみられたが、時期的には孵卵初期と孵化直前の両方の時期で選抜による影響がでていると考えられた。またその効果は強系の方で中止卵の出現率の低下として現れており、特に孵化

直前の中止卵の減少により強くでていると考えられる。その原因として、孵化直前の死亡は尿膜呼吸から胚呼吸に変わる時期の死亡で、卵殻強度の改善が卵殻の気孔を介した水分調整やガス交換の改善につながったのではないかと推定された。一方弱系では強系で見られたような顕著な変化は見られなかった。

保存期間の影響

保存期間を0～1週間、1～2週間、2～3週間の3つに分けた時の、世代の経過に伴う孵化率の推移を図17に示した。

0～1週間の保存では、両系統とも80～90%の間で推移し、大きな変化は見られなかった。また系統間の差もあまりなかったが、常に強系の方がやや高い孵化率を示した。1～2週間の保存では弱系が80%前後で推移しているのに対し、強系は第1世代では弱系よりも低かったが、世代の経過とともに徐々に高くなり、第10世代では89.9%と約13%高くなった。その結果、系統間の

差も徐々に広がる傾向を見せた。2～3週間の保存では弱系が40～65%の範囲で上下しているのに対し、強系は第5世代以降著しく上昇し、80%台の高い孵化率を示した。その結果、第5世代以降常に10～20%強系が弱系より高い孵化率を示した。

長期保存卵における孵卵初期と孵化直前の発生中止卵の出現状況

強系において、孵卵初期と孵化直前の発生中止卵が、選抜に伴って少なくなることを前に述べた。そこで2～3週間の長期保存卵について、孵卵初期と孵化直前の発生中止卵の出現状況の世代の経過に伴う推移を調査した(図18)。

孵卵5日目までの発生中止卵の割合は、両系統とも世代の経過とともに低くなる傾向を示した。系統間では第6世代以降強系の方が低くなった。孵卵19日目以降の発生中止卵の割合は、弱系が15～25%の間を推移しているのに対し、強系は徐々に下がっていく傾向を示した。

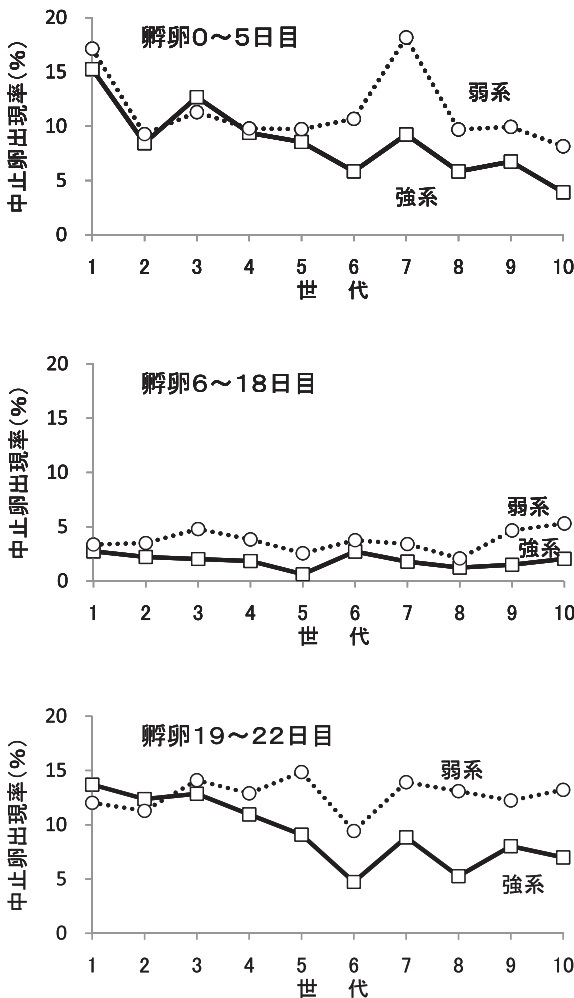


図16. 世代の経過に伴う孵卵時間別の発生中止卵の出現率の推移

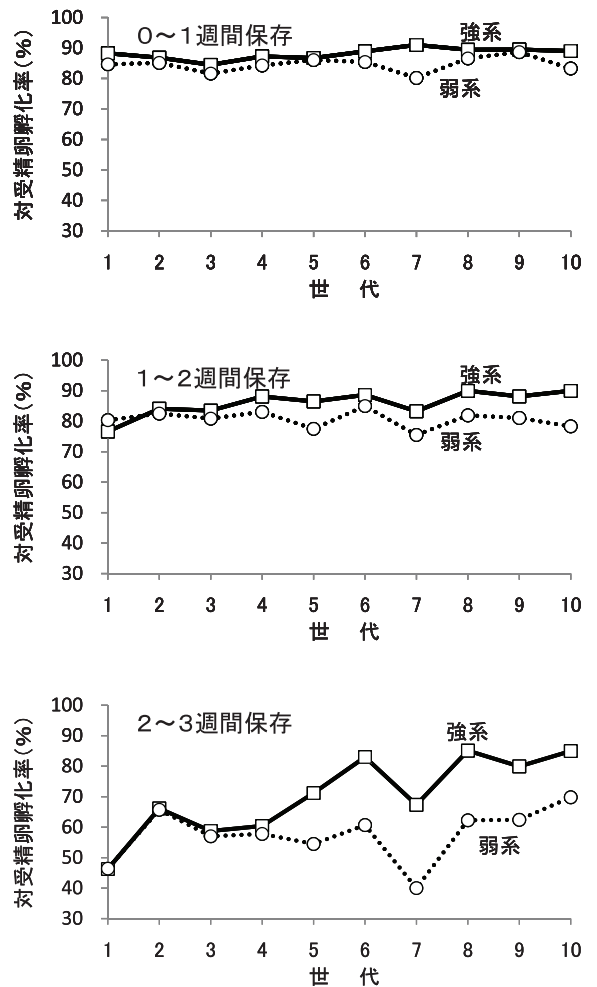


図17. 世代の経過に伴う保存期間別の対受精卵孵化率の推移

その結果第5世代以降は強系の発生中止卵の出現率は、常に弱系の半分以下と非常に低い値を示した。この推移は、孵卵時間別でみた全体の発生中止卵の出現率の推移の動向と、非常によく一致していた。

したがって長期保存卵における、強系における孵化率の改善は、孵卵初期と孵化直前の両方の時期で、発生中止卵の出現率が低下したことによることが明らかとなった。さらにその効果は孵化直前の時期の方がやや大きいように思われた。また孵化直前の発生中止卵の出現率は、選抜実験の早い段階で系統間に差がみられた。孵卵初期の発生中止卵の出現率は、選抜第6世代以降に系統間に差がみられるようになった。

McDaniel ら⁶¹⁾は、卵殻強度が弱いとされる卵比重の小さい卵は、孵卵7日前までの胚死亡率が高いと報告している。本実験においても、弱系の孵卵初期の発生中止率が強系よりも高く、その傾向は認められた。しかし弱系内では、孵卵後期の発生中止率の方が孵卵初期よりも高い傾向がみられた。

McDaniel ら⁶¹⁾は、卵比重の低い受精卵の早期胚死亡率が高い理由について、保存および孵卵中の水分蒸発に

よる卵重減少が大きいことによると考察している。したがって卵殻の水分保持機能が孵化率に影響することが考えられた。

以上のことから非破壊変形の小方向への選抜では、保存期間が長くなるにつれて孵化率に改善効果が見られるようになり、2週間以上の長期保存した受精卵の孵化率を改善する効果が最も大きいことが示された。すでに保存中の水分蒸発と孵化率に関連があることが報告されている^{25,61)}ことから、非破壊変形の小方向への選抜によって卵殻の水分保持機能が高まり、受精卵の発生能の維持期間が長くなったものと推察された。そしてこのことが強系全体の孵化率を向上させている原因と考えられた。一方非破壊変形の大方向への選抜では顕著な傾向はみられなかった。

4.3 非破壊変形の大きさと孵化率の関係

卵殻強度と孵化率の関係については、非破壊で測定できる卵比重について多くの研究がなされてきた。その結果、卵比重の低い卵は孵化率が低く相関関係があることが明らかになった。しかしながら同じ非破壊変形である非破壊変形については、孵化率との関係を検討した報告は少なく、個々の受精卵について、その非破壊変形の大きさと孵化の関係を検討した報告はない。本実験では、この点からの検討を行うことで卵殻強度と孵化率の関係を明らかにしようとした。

材料と方法

非破壊変形に対する大小2方向選抜実験における、第8世代の孵化の時の受精卵2250個（強系1044個、弱系1206個）を調査に用いた。種卵（受精卵）の保存期間は最長で3週間であった。これらの受精卵について孵卵開始日の前日に非破壊変形を測定した。非破壊変形は選抜実験と同様に卵殻強度測定器（インテスコ製）を用いて測定した。孵卵開始後、個々の受精卵について孵化の状況を調査した。調査した項目は対受精卵孵化率、卵の保存期間別の対受精卵孵化率、発生中止卵の数とその出現時期である。なお種卵の保存方法、孵卵操作及び検卵方法は前節で述べたとおりである。

結果および考察

非破壊変形の大きさと対受精卵孵化率の関係

第8世代における対受精卵孵化率は強系が87.6%、弱系が75.1%であった。また受精卵の非破壊変形の平均

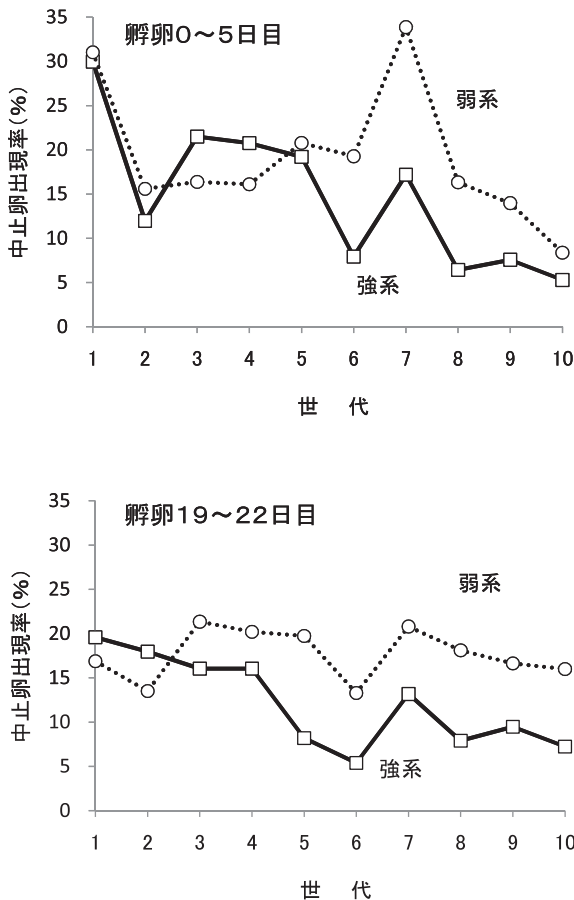


図 18. 2週間以上の保存卵における発生中止卵の出現率の選抜に伴う推移

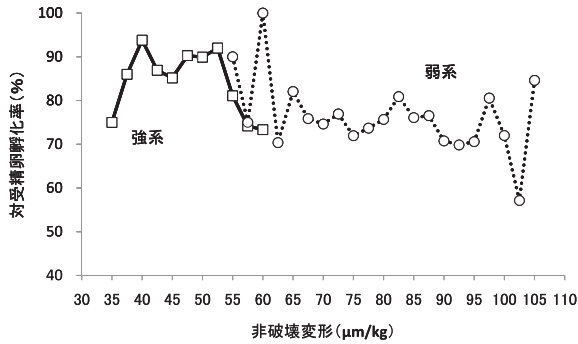


図 19. 強系 (□) および弱系 (○) における非破壊変形の大きさと対受精卵孵化率の関係

は強系が $47.9 \pm 6.9 \mu\text{m/kg}$, 弱系が $82.9 \pm 12.6 \mu\text{m/kg}$ であった。これらの受精卵を非破壊変形の大きさで $2.5 \mu\text{m/kg}$ 毎の区に分けて, サンプル数が 10 個以上のものについて系統別に孵化率を求め, 非破壊変形の大きさと孵化率の関係について検討した。その結果は図 19 の通りであり, 強系と弱系とでは $60 \mu\text{m/kg}$ 付近を境に分布が分かれた。

強系の受精卵は $37.5 \sim 62.5 \mu\text{m/kg}$ に分布した。孵化率は $40 \sim 55 \mu\text{m/kg}$ では 85% 以上の高い値で推移したが, $57.5 \mu\text{m/kg}$ 以上では非破壊変形が大きくなるにつれて急激に低下した。一方非破壊変形が最も小さい $37.5 \mu\text{m/kg}$ の区では, 孵化率 72% に低下した。そのため非破壊変形と孵化率の間に一定の傾向は見いだせなかった。弱系の受精卵は $57.5 \sim 107.5 \mu\text{m/kg}$ の広い範囲に分布した。孵化率は, $57.5 \sim 62.5 \mu\text{m/kg}$ では 90% 以上の区もみられたが, $65 \mu\text{m/kg}$ 以上では $70 \sim 85\%$ の範囲で推移した。そのため強系同様, 非破壊変形と孵化率の間に一定の傾向は見いだせなかった。

McDaniel ら⁶¹⁾ は, 卵比重が 1.080 より低い卵では, 卵比重が小さいほど孵化率が低くなり, 相関関係が認められるが, 卵比重が 1.080 より高い卵では, 孵化率との相関が小さいと報告している。このことは卵殻形質と孵化率の関係は, ある一定の水準以下に卵殻形質がなると相関が認められるようになる可能性を示唆している。今回の実験では選抜第 8 世代の孵化の時に実施していることから, 選抜によって非破壊変形が, 孵化率の間に相関関係が認められる範囲よりも大小それぞれの方向に大きく移動してしまった可能性も考えられる。

保存期間の影響

保存期間を 0～1 週間, 1～2 週間, 2～3 週間の 3 つに分けた時の, 非破壊変形と孵化率の関係を図 20 に示した。

0～1 週間では, 強系では非破壊変形の大きい方で孵化率の低い区がみられ, また弱系では $70 \sim 80 \mu\text{m/kg}$ と $95 \sim 97.5 \mu\text{m/kg}$ で孵化率の低い区がみられた。そのため両系とも, 弱いながらも非破壊変形が大きくなるにつれて, 孵化率が低くなる傾向がみられた。1～2 週間の貯卵では, 強系及び弱系とも区によって孵化率がかなり上下したが, ほぼ同じ水準で推移しており, 非破壊変形の大きさとの関連性はなかった。これに対し 2～3 週間の貯卵では, 弱系の場合孵化率がかなり低くなって $40 \sim 70\%$ の範囲で上下した。また非破壊変形の大きさでみると, $92.5 \mu\text{m/kg}$ 以上の区では 50% 台で, $92.5 \mu\text{m/kg}$ 以下の区に比べ低い傾向をみせたが, 非破壊変形の大きさによる顕著な変化はみられなかった。また強系では非破壊変形が $50 \mu\text{m/kg}$ 以下では 80% 以上の高い孵化率を示したが, $55 \sim 60 \mu\text{m/kg}$ の範囲で孵化率の急激な低下がみられた。

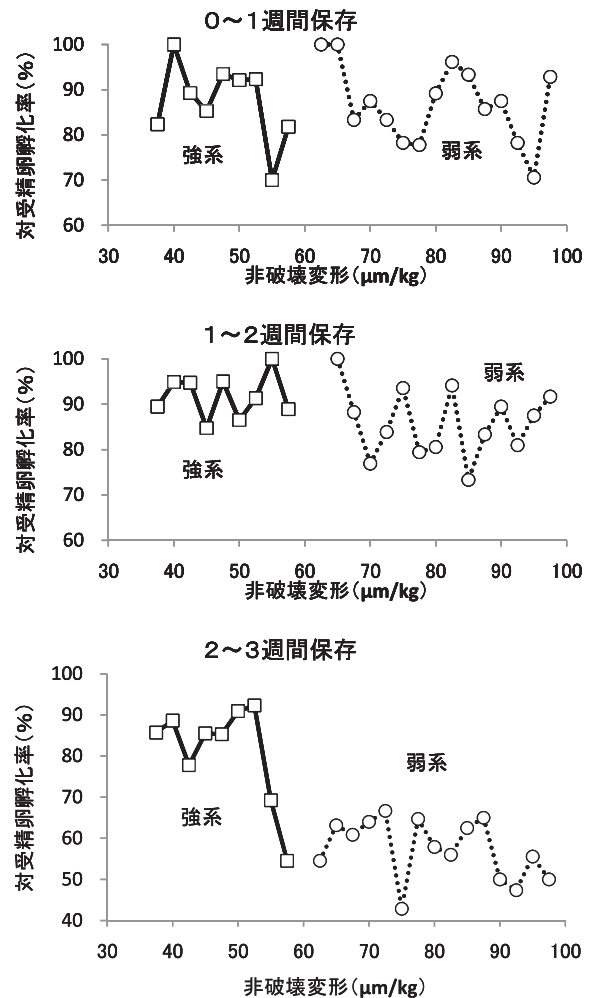


図 20. 保存期間別の非破壊変形の大きさと対受精卵孵化率の関係

4.4 パッキングによるニワトリ受精卵の長期保存

前節において、非破壊変形の小方向への選抜（強系）によって孵化率が改善され、特に長期保存における改善による効果が大いことを述べた。この受精卵の発生能の長期保存性は何によってもたらされたのであろうか。

これまでの研究から、保存中の水分蒸発や炭酸ガスの蒸散の抑制と関連していると考えられた。そこでこのような観点から、合成樹脂製の袋を使って受精卵を密閉保存し、孵化率を改善する試みがなされた^{5,8,12,34,35,88,89,90,91,93,135}。その結果孵化率は改善されたと報告されているが、保存中の卵重減少については明らかでない。

一方卵殻質と孵化率との関係では、卵殻強度の指標として使われている卵比重について、卵比重の低い卵は孵化率が低く相関関係があることが報告され、また保存中の卵重の減少と卵比重には負の相関があること、卵比重の高い系統は保存中の卵重減少が小さいことが報告されている^{25,61,62}。

そこで本実験では、パッキング保存による卵重減少の抑制効果と孵化率の関係について検討し、非破壊変形の小方向への選抜による受精卵の長期保存性の原因を明らかにしようとした。

材料及び方法

供試鶏は、白色レグホーン種（シューバー系）の雌26羽で、この鶏が56～68週齢時に産卵した卵を実験に用いた。交配方法は62週齢までは、13羽ずつ2群の単雄交配で、63週以後は人工授精とした。なお、今回は供試鶏の個体別のサンプリングは行わず、採取した卵をランダムに試験区に割り当てた。これらの卵について午後集卵したものを、その日にうちにパッキング処理した。

パッキングに使用した袋（包材）は、ポリ塩化ビニリデンで被覆したポリエチレン袋（クライオバックと同種のプラスチック）で、厚さは50 μmである。この材質の特徴は水蒸気透過率が7g/m²・24hr、酸素透過率が6～10ml/m²・atm・24hrと非常に低いという点にある。この袋に種卵を1個ずつ入れて、アスピレーターで中の空気を抜き、なるべく袋と卵が密着するようにして封入した。保存期間として2, 3, 4, 5, 6, 8, 12週間の7区を設けた。対象としてパッキングをしない区を設け、保存期間として2週間から6週間までの5区を設定した。卵は保冷庫を用いて10℃で保存した（湿度は無制御）。また、卵は鋭端部を上にして保存した^{92,93}。なお、パッキング処理区、対照区とも各保存期間の受精卵が50個

以上になるようにした。

孵化は通常の方法（孵卵温度37.6℃、湿度60%前後）で行い、7日目、12日目、18日目に透視法による検卵を行った。この検卵で7日目に発生中止と判断した卵については割卵して、肉眼で発生が認められなかったものは無精卵とした。

保存開始と孵化開始時に卵重を測定し、卵重減少量を求めた。なお、今回用いた卵の保存開始時の重さは各保存期間毎の平均でみると67.8g～70.8gであった。

結果および考察

対受精卵孵化率の推移

保存期間にともなう対受精卵の孵化率の推移を図21に示した。それぞれの保存期間における孵化率は2週間保存で処理区が77.4%、対照区が98.2%、以下3週間保存で82%と68.5%、4週間保存で66.7%と42.3%、5週間保存で32.2%と15.1%、6週間保存で10.0%と3.9%であった。処理区の8週間保存と12週間保存では、孵化率はなかった。処理区の4週間保存までの孵化率はこれまでの報告例とほぼ同じであった。両区とも保存期間が長くなるにつれて孵化率が低下するが、3週間以上の保存では処理区の方が孵化率が高く、4週間保存と5週間保存では5%水準で有意差が認められた。このことからパッキング処理による効果は5週間までは十分にあることが示された。しかしながら、パッキングをしても孵化率の低下は抑えられずいったん低下が始まれば低下の速さは、対照区とほとんど差がなかった。そのため結果的には孵化率の低下を1週間程度遅らせた形となった。このことからパッキングによって受精卵の保存期間を1～2週間長くすることは可能であることが示された。

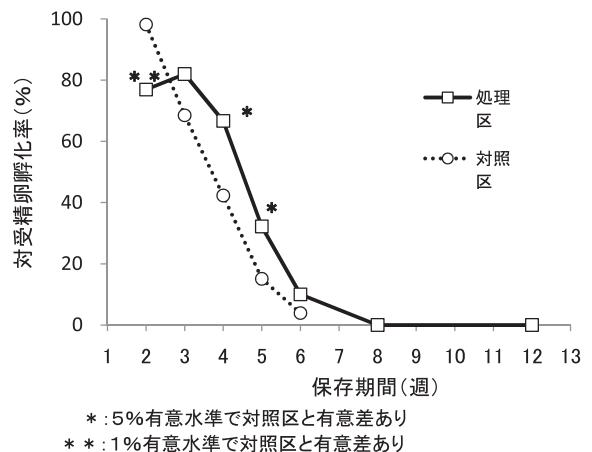


図21. 保存期間に伴う対受精卵孵化率の推移

保存中の卵重減少

保存にともなう卵重の推移を、保存開始時の卵重に対する孵化開始時の卵重の割合として図 22 に示した。対照区は保存期間が長くなるにつれて、ほぼ直線的に卵重が減少するが、処理区は保存期間が長くなっても、ほとんど卵重の減少はみられなかった。卵重の減少は卵内の水分が気孔を通じて失われることによるので、処理によって水分の消失をほぼ完全に抑えることができたと考えられる。

Davis ら²⁷⁾ は未受精卵をクライオバックでパッキング処理した場合の卵重の減少は 6 週間で 0.4g と報告しているが、本実験では 6 週間で 0.06g (保存開始時の 0.09%)、12 週間で 0.11g (保存開始時の 0.16%) と非常に少なかった。これは卵と包材を密着させたためと考えられる。

しかしながら、孵化卵と発生中止卵の間には、保存中の卵重減少に差は認められなかった。これらのことから 6 週間以上の保存の場合、水分の消失は孵化率を左右

する大きな要因ではない可能性がある。

Davis ら²⁷⁾ は同じく未受精卵の pH やハウユニットについても測定し、pH については無処理区では 2 週間で 8.0 から 9.0 に上昇するのに対し、クライオバックを使った場合は 6 週間で 7.8 から 8.1 までしか上昇せず、またハウユニットは無処理ほどではないが保存とともに低下する傾向がみられたと報告している。このことはクライオバックを使った場合、二酸化炭素の蒸散は抑制されるが、濃厚卵白の水様化はやはり起きていることを示している。本実験では受精卵を用いているが、保存にともなう pH やハウユニットの変化は受精卵と未受精卵とともに同じ傾向にあると考えられる。もし濃厚卵白が孵化に対して重要な役割を果たしているならば、その構造がくずれれることを意味するハウユニットの低下は、孵化率の低下につながることになる。したがって、濃厚卵白も孵化率を左右する要因の一つとして考慮する必要があると考えられる。

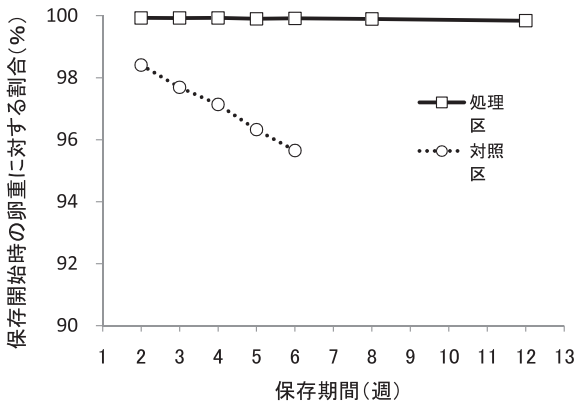


図 22. 保存期間に伴う卵重の減少

保存期間と発生中止時期の関係

発生中止卵の内容を表 18 に示した。処理区、対照区とも保存期間が長くなるにつれて、1 回目 (7 日目) の検卵での発生中止の割合、つまり初期胚の死亡率が高くなる傾向がみられた。一方死籠もり卵でみると、孵化率で差が認められた 4 週間と 5 週間保存では、対照区の方が高い傾向がみられた。しかしながら 6 週間以上の保存では、死亡胚のほとんどが、発生初期の段階であった。

保存期間と孵化所要日数

卵の孵化に要した日数について表 19 に示した。通常

表 18. 保存期間にともなう発生中止卵の出現状況

処理	孵卵日数 (日)	保存期間 (週)						
		2	3	4	5	6	8	12
		個	個	個	個	個	個	個
パッキング 処理区	1~7	5	2	11	32	38	49	61
	8~12	0	1	3	5	4	1	0
	13~18	0	0	0	0	1	0	0
	死籠もり	7	6	3	3	2	0	0
	孵化	40	41	34	19	5	0	0
対照区	1~7	0	5	20	29	43
	8~12	0	0	3	4	3
	13~18	0	1	0	1	0
	死籠もり	1	11	7	11	3
	孵化	54	37	22	8	2

表 19. 保存期間にともなう孵化所要日数の推移

処理	孵卵日数 (日)	保存期間 (週)						
		2	3	4	5	6	8	12
		個	個	個	個	個	個	個
パッキング 処理区	21	2	15	4				
	22	35	36	22	11	1		
	23	3		8	8	3		
	24					1		
	計	40	41	34	19	5	0	0
対照区	21	33	11	5		
	22	21	24	16	7	1
	23		2		1	1
	24			1		
	計	54	37	22	8	2

の場合孵化に要する日数は21日であるが、いずれの区も保存期間が長くなるにつれて、孵化に要する日数が増える傾向がみられた。また、4週間以上の保存では、処理区の方が対照区に比べて孵化に23日以上要した卵が多かった。これは同時期の対照区で死籠もり卵が多い点と考えあわせると、処理をしなければ死籠もりになる卵が、日数は要するとはいえ、パッキングによって孵化まで到達するようになるという考え方もできる。

一方2週間保存でみると、処理区の方は、ほとんどの卵が22日で孵化しており、23日かかった例もみられるのに比べ、対照区は21日で孵化したものが半分以上を占めた。孵化率でも2週間保存では対照区の方が高かったことを考えあわせると、パッキング処理そのものか、またはパッキング処理技術上の何らかの問題が、短い保存期間での孵化率及び孵化日数に影響を及ぼす可能性が示唆された。

パッキング処理の効果

以上のことから、プラスチックを使ったパッキング処理による受精卵の保存は、孵化率の低下の開始時期を1週間程度遅らせる効果があり、保存の限界は6週間前後であることが示された。またパッキング処理の最も大きな効果は水分の蒸発による卵重の減少を抑えることであり、実際に12週間保存した受精卵でも卵重の低下は0.2%以下で、その効果を確認できた。したがって卵重減少の抑制が受精卵の発生能の長期保存性を改善する要因の1つであることが示唆された。しかし、水分を保持しても保存期間が長くなるにつれて孵化率は低下する。この場合、卵重の減少以外の要因が影響することが考えられる。

先に、非破壊変形に対する小方向選抜（強系）により、種卵としての長期保存性が改善され、その原因として水分の保持機能が高まったものと推察した。今回の実験により、パッキング処理で人工的に水分保持機能を高めることにより、種卵としての長期保存性が改善されることが示された。しかしパッキング処理では、卵が密閉され呼吸などの生体膜としての機能は抑制されると考えられる。一方卵殻自体を強化することは、生体膜としての機能は損なわれることなく、水分保持機能を改善させることとなり、胚の培養器としての機能が強化されると推察された。したがって種卵の孵化率向上の手段として、卵殻質を強化することは重要であると考えられた。

4.5 ニワトリ卵殻を用いたウズラ初期胚の培養

鳥類における胚の培養は、卵殻を使わない無卵殻培養を中心に試みられてきたが、孵化までは到達できなかった。孵化まで可能な胚の培養技術の開発が特に望まれていた。

一方、前節までに明らかにしてきたように、卵殻は胚の培養器として重要なものであり、卵殻強度の強い系統の卵の方が、孵化率が高く、したがって培養器としても優れていることを示した。この卵殻をニワトリ胚の培養器として、1988年にイギリスのPerry⁸²⁾は、初期胚(1細胞期)から孵化までの培養に成功し、その後Naito⁷¹⁾によって培養法が改良されている。

ウズラにおいてもニワトリ卵殻を用いた培養が試みられ、孵化例が報告されている^{80,109)}。しかしいずれの場合も1~3日間孵卵して発生が進んだ受精卵を用いた培養であり、放卵直後の胚盤葉期の初期胚から培養を試み

た例はみられない。

そこで本研究ではウズラについて、放卵直後の初期胚(胚盤葉期)を、ニワトリ卵殻を利用した培養を行い、孵化させることを試みた。

材料と方法

供試したウズラ受精卵は、当场で飼養している 12 ~ 19 週齢のウズラから得た。培養器には、ニワトリの白色レグホーン種(強系)の卵重が 45 ~ 55 g の比較的小さい卵の鈍端部に、工作用の電気ドリルで直径約 3 cm の穴をあけたものを用いた。培養は、孵化の可能性をさぐるために、Perry⁸²⁾ および Naito⁷¹⁾ のニワトリ受精卵の培養法を参考に、以下の 3 つの方法(図 23)で行い、その結果を比較検討した。

方法 1

産卵直後のウズラ受精卵の表面を 70% アルコールで消毒後、卵を割って、内容物を全部培養器のニワトリ卵殻に移した。次に卵殻の開口部を台所用ラップ(ワンラップ - 十条特殊紙器, ポリエチレン製, 以下ラップ)で密封した後、38℃, 湿度 60% で角度 45 度で 1 時間に 1 回転しながら 14 日間培養した。その後孵化までの約 5 日間は孵化に備えて転卵を停止して培養した。この間に胚の膜が乾いてきたら、呼吸を助けるために注射針で

ラップに穴を開けた。さらに孵化直前にはラップを取り除き、代わりにプラスチックシャーレをかぶせた。

方法 2

方法 1 と同様にして、産卵直後のウズラ受精卵の内容物を、ニワトリ卵殻に移した。これにさらに約 1ml のニワトリ水様性卵白を添加した後、ラップで密封した。そのあとは方法 1 と同じ方法で培養した。

方法 3

Perry⁸²⁾ および Naito⁷¹⁾ のニワトリ受精卵の培養法のシステム II を応用して、ウズラ受精卵を培養した。まず培養器として用いるニワトリ卵殻に、ニワトリ水様性卵白を約 30ml 入れた。次に産卵直後のウズラ受精卵の表面を 70% アルコールで消毒後、卵を割って卵白を取り除き、卵黄だけをニワトリ卵殻に移した。さらにニ

表 20. 3種類の培養方法における生存率の推移

培養日数	方法 1	方法 2	方法 3
	(N=51)	(N=52)	(N=44)
	%	%	%
1	96.1	100.0	100.0
2	94.1	96.2	100.0
3	92.2	88.5	100.0
4	92.2	86.5	95.5
5	90.2	80.8	86.4
6	84.3	75.0	86.4
7	84.3	73.1	86.4
8	78.4	71.2	84.1
9	78.4	71.2	84.1
10	76.5	71.2	84.1
11	76.5	71.2	81.8
12	76.5	69.2	81.8
13	76.5	67.3	81.8
14	70.6	63.5	81.8
15	64.7	61.5	81.8
16	54.8	50.0	81.8
17	39.2	25.0	50.0
18	19.6	13.5	15.9
19	17.6	13.5	11.4
孵化率	17.6 (9羽孵化)	13.5 (7羽孵化)	11.4 (5羽孵化)
奇形胚数 (奇形胚出現率)	12 (23.5%)	13 (25.0%)	0 (0.0%)

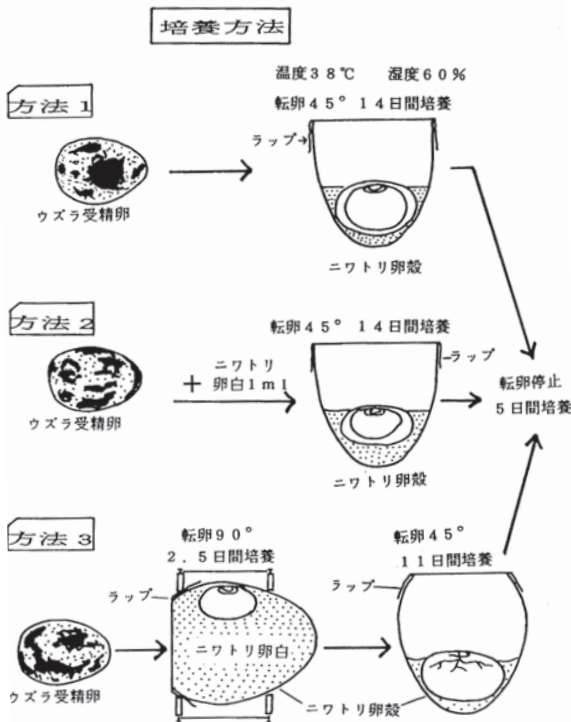


図 23. ウズラ初期胚の培養方法

表 21. 3種類の培養方法により孵化したヒナの特徴 (平均値 ± 標準偏差)

培養方法	孵化数	卵重 (g)	培養器卵 (g)	孵化時体 (g)	第3趾長 (mm)	孵化時体重割合 ¹⁾ (%)
方法1	9	10.5 ± 0.2	50.2 ± 1.0	6.3 ± 0.8	13.2 ± 1.1	60.3 ± 3.3
方法2	7	10.6 ± 0.2	51.2 ± 1.7	6.9 ± 0.4	13.0 ± 1.1	64.4 ± 7.2
方法3	5	11.1 ± 0.2	51.1 ± 2.2	6.6 ± 1.0	12.8 ± 0.8	59.2 ± 9.8

1) 孵化時体重割合 = 孵化時体重 × 100 / 卵重

ワトリ水様性卵白を加えて満たした後、ラップで開口部を密閉し、プラスチックリングと輪ゴムで保定した。これを38℃、湿度60%で角度90度で1時間に1回転卵しながら2.5日間培養した。培養後ラップをはずし、卵殻内の卵白が約8mlになるよう注射筒で余分な卵白を吸い取った。次にラップで再び密封し、38℃、湿度60%で角度45度で1時間に1回転卵しながら11日間培養した。その後孵化までの5日間は方法1と同様にした。

以上の実験操作のうち、細菌などによる汚染を避けるため、受精卵の移し換えはクリーンベンチ内で行い、また培養に用いた孵卵器は内部を逆性石鹼液で消毒して培養に供した。3つの方法の結果は、生存率の推移、孵化率、胚の成長、奇形出現率を指標として比較した。

結果

胚の生存率の推移と孵化率

3つの方法によって、ウズラ胚の培養を行ったが、どの方法によっても孵化させることができた。培養にともなう胚の生存率の推移を表20に示した。

方法1では培養8日まで生存率が徐々に低下して78.4%になり、以後13日までは安定した生存性が認められた。しかし14日から急激に低下し、18～19日にかけて培養した51例から9例が孵化し、孵化率は17.6%であった。

方法2も方法1と類似した生存率の推移を示した。ただし、培養5日までの生存率の低下が大きく、培養8日では71.2%となり、実施した3つの方法のうちで最も低率であった。最終的には培養した52例から7例が孵化し、孵化率は13.5%であった。

方法3では培養3日までは死亡胚はなく、卵白の抜き取りをおこなったあとの4～5日に死亡する胚がみられ、5日の生存率は86.4%であった。それ以後16日までは生存率が80%台で推移し、16日の生存率は81.8%で他の2つの方法よりも20%以上高かった。しかし17日以降急激な生存率の低下が生じ、培養した44例のうち5

例が孵化し、孵化率は11.4%となり、3つの方法の中では最も低い成績となった。

3つの方法を比較してみると、共に14日以降に死亡胚の急激な増加がみられた。特に方法3における17～18日の死亡が多かった。この時期での死亡胚は卵黄を体内に引き込めない状態のままの死亡胚が多く認められた。

したがってニワトリ卵殻を用いて、ウズラ胚を胚盤葉期から孵化まで培養することが可能であることが示された。

孵化したヒナの特徴

孵化したヒナの特徴を表21に示した。ヒナの平均体重には、培養方法間に統計的な有意差は認められなかった (P > 0.05)。培養直前のウズラ卵重に対するヒナの体重の割合は、方法2がわずかに高いが3つの方法の間で有意差はみられなかった (P > 0.05)。また、孵化したヒナのうち、方法1で3例、方法2で5例、方法3で3例が、脚部に何らかの運動障害を示し、そのほとんどが孵化後2週間以内に死亡した。この期間に死亡しなかったヒナはすべて性成熟に達するまで成長した。

奇形胚の出現率

培養6日以降の奇形の出現率を表22に示した。方法1が23.5%、方法2が25.0%であるのに対し、方法3では出現が観察されなかった。奇形の症例は、大部分は脳または眼の形成不全で、その他の形態異常は見られなかった。こうした奇形胚はほとんど培養途中で死亡した

表 22. 培養6日目以降に出現した奇形の種類と出現数

奇形の種類	方法1	方法2	方法3
頭蓋閉鎖不全	3	0	0
無眼	5	9	0
片眼	3	4	0
無眼・頭蓋閉鎖不全	1	0	0
計	12	13	0

表 23. 培養 16 日目以降の死亡胚の体重と第3趾長 (平均値 ± 標準偏差)

培養方法	形質	胚の死亡時期		
		16日目	17日目	18日目
方法1	胚体重 (g)	3.74 ± 0.56 (3)	4.29 ± 1.39 (10)	5.53 ± 0.79 (10)
	第3趾長 (mm)	10.2 ± 1.3	10.9 ± 1.4	12.3 ± 1.0
方法2	胚体重 (g)	3.64 ± 0.56 (6)	4.55 ± 0.95 (15)	6.63 ± 1.43 (4)
	第3趾長 (mm)	9.4 ± 1.3	10.8 ± 1.2	12.5 ± 0.9
方法3	胚体重 (g)		6.87 ± 1.69 (14)	7.20 ± 1.44(15)
	第3趾長 (mm)		11.9 ± 1.2	12.1 ± 1.4

() 内数字はサンプル数

が、方法2で1例だけ片眼のヒナが孵化した(孵化翌日に死亡)。

死亡胚の体重と第3趾長

3つの方法とも培養途中で死亡した胚の50%以上が、培養16日目以降の死亡であった。表23に孵化直前の培養16日目以降の死亡胚の平均体重と第3趾長を示した。このうち17～18日に死亡した胚の体重は、方法3が最も重く、ついで方法2、方法1の順であった。方法3の培養において、この2日間に死亡した胚の体重は、ともに方法1より有意に重かった ($P < 0.01$)。方法3の培養における18日の死亡胚の平均体重は孵化したヒナのそれよりも重かった。また第3趾長は3つの方法ともほとんど同じであったが、18日の死亡胚では孵化したヒナよりも長い傾向がみられた。

考察

ウズラ胚の培養は、Onoら⁸⁰⁾によって、ニワトリ卵殻を用いた培養により初めて孵化に成功したが、培養開始が2.5日間の正常孵卵後で、発生がある程度進んだ段階からの培養であり、しかも孵化率は3%と低率であった。

本実験では放卵直後のウズラ受精卵から培養を試み、孵化させることに成功した。放卵直後のウズラ受精卵は、明域と暗域による明瞭なリングが形成され、発生の段階としては胚盤葉期にあたり、ウズラ胚を胚盤葉期から孵化まで培養することが可能であることが示された。

本実験では、Perry⁸²⁾のニワトリ胚の培養と同様に転卵を行った。転卵の効果について、Rowlettら⁹⁰⁾やTullettら¹¹³⁾は、漿尿膜の発達を促進し、栄養の吸収を良くして、胚の成長と孵化に良い影響を与えると報告している。本実験の結果もこれを支持するものと考えられる。

Shanawany¹⁰¹⁾は孵化したヒナの体重の、もとのウズラ卵重に対する比率について55.2～76.0%と報告しているが、本実験では3つの方法ともこの範囲に含まれたが、低い方の値に近いものであった。

3つの培養方法を比較した場合、方法3は16日までの生存率が80%台と高く、また発生途中での奇形の出現がまったくみられなかったことから、初期の胚発生にはよい影響を与えていると考えられる。その理由としては、転卵角度が大きかったことと、培養初期の段階で卵内容物が空気から完全に遮断されていたためと考えられる。しかし孵化率が3つの方法の中で最も低かった点については、孵化直前に死亡した胚の体重が重いことから、水分調整がうまくいかなかったためではないかと考えられる。本実験では培養3日に行った卵白抜取りの際に、卵殻内の卵白の残量を8mlにしたが、これが少し多すぎたことによる影響ではないかと思われる。また添加した卵白は、ウズラの卵白ではなくニワトリの卵白であり、そのため免疫的な影響の可能性も考えられる。

方法1は最も操作が簡単で、卵黄に濃厚卵白を付けたままニワトリ卵殻に移して培養しても孵化させることができ、孵化率も最も高い結果となった。方法1は方法3に比べ培養初期の空気との遮断が不十分で、そのことが孵化にも影響するのではないかと予想されたが、奇形が多かった点を除けば、生存率は高率であった。その理由は卵黄が濃厚卵白に完全に覆われていたため、胚盤部が空気からある程度遮断されたことによるのではないかと推察される。

方法2は水分補正を考慮してニワトリ卵白を添加したのであるが、その効果は見られなかった。ただし程度は小さいが、方法3よりは孵化直前に死亡した胚の体重が、方法1に比べやや重い傾向がみられた。これも方法3の場合と同様に、卵殻内の卵白の量による影響と考えられる。

方法1と2では奇形の出現がみられたが、その奇形の多くが眼の形成異常であった。眼の形成は培養6日頃までには、ある程度終了することから、培養初期の転卵が眼の形成に影響することが考えられる。

培養17日に死亡した胚の第3趾長をみると、方法3は方法1と2に比べ第3趾長が長く、胚の発育が進んでいることが示された。また培養18日の死亡胚の第3趾長は、3つの方法とも12mm以上になっており、孵化までには到達しなかったものの、胚が順調に成長してきたと考えられる。したがって卵殻を用いた培養によって胚の発育は通常の孵卵の状態に近くなることが示唆された。

ニワトリではすでに未分割の受精卵から孵化までの一貫した培養法が開発されており、キメラの作製⁷³⁾や遺伝子導入⁸²⁾の研究に利用されている。本研究によって、ウズラにおいてもニワトリ卵殻を用いて、胚盤葉期からの培養が可能であることが示され、卵殻が小さな家禽であっても、異種の大型卵殻を利用することによって胚の培養ができる可能性が示された。

4.6 小括

非破壊変形に対する10世代にわたる大小2方向選抜実験の結果から、非破壊変形と孵化率の関係について検討した。対受精卵孵化率は世代の推移に伴い、強系がしだいに高くなるのに対し、弱系は70%付近で推移し、系統間の差がしだいにひろがった。したがって非破壊変形の小方向(強系)への選抜が、孵化率を向上させる効果があることを示唆した。また強系の発生中止卵の出現率が、孵卵初期と孵化直前の両方の時期で、選抜に伴い低下し、特に孵化直前時期に選抜の影響が強く現れていた。また2～3週間の長期保存の場合、強系は第5世代以降著しく孵化率が上昇し、80%台の高い値を示した。したがって非破壊変形の小方向への選抜は、2週間以上の長期保存した受精卵の孵化率を改善する効果があることが示された。

個々の受精卵の非破壊変形の大きさと孵化率の関係を、第8世代の孵化の時に検討した。その結果、系統間には孵化率のレベルに差がみられたが、系統内では一定の水準で推移しており、非破壊変形の大きさと孵化率には、はっきりとした傾向はみられなかった。保存期間の影響も検討したが、2週間以上の長期保存の場合、系統間の差はみられたが、系統内では非破壊変形の大きさによる変化はみられなかった。

受精卵の長期保存に伴う孵化率の変化に卵殻質が関係

することから、受精卵のパッキングによる長期保存の孵化率に及ぼす影響を調べた。その結果、パッキングによって3～5週間保存における孵化率の向上がみられ、6週間保存でも孵化率が得られた。したがって保存中の水分蒸散による卵重の減少を抑えることが、孵化率の改善に関連のあることが示され、このことが強系における孵化率の向上の一因と考えられた。

次に卵殻質が孵化に影響を与えることから、胚の培養器としての卵殻の重要性を検討するために、ニワトリ卵殻を培養器に用いて、胚盤葉期のウズラ初期胚を培養し、孵化させることを試みた。強系のニワトリ卵殻を用いて、3つの方法で培養を行った。その結果3つの方法とも孵化率が得られ、孵化率は11.4～17.6%であった。これによってウズラ胚を、ニワトリ卵殻を用いて放卵直後の発生初期の段階から孵化まで培養できることが示され、孵化における卵殻の重要性を確認することができた。

第5章 選抜鶏の卵形成における特徴

5.1 緒言

ニワトリの卵形成は、卵巣において卵黄が作られ、排卵後卵管内で卵白、卵殻膜、卵殻が形成されて完成する。卵管は機能や組織学的な違いから、卵巣に近い部位から順に、漏斗部、膨大部(卵白形成部位)、峡部(卵殻膜形成部位)、子宮部(卵殻形成部位)、膣部に分かれる⁵²⁾。このため、各卵質成分の量や質に形成部位の影響があると考えられる。

その中では、産卵率の観点から卵形成と卵管内での卵の滞留時間の関係について研究されてきた。Warrenら¹³⁶⁾は、連産内の放卵後の次の卵の排卵から放卵までの卵管各部位の時間を調査した。その結果、放卵から次の卵の排卵まで31分、排卵から漏斗部が卵を包み始めるまで3分、漏斗部が卵を包み込むまでが13分、漏斗部18分、膨大部2時間54分、峡部1時間14分、子宮部と膣部で20時間40分と推定し、卵は卵管通過時間の約82%を子宮部で過ごすことを明らかにした。

最近の報告ではMelekら⁶³⁾は通常照明下では、放卵から次の卵の排卵まで24分、排卵から漏斗部が卵を包み込むまでが7分、漏斗部から峡部まで5時間9分、子宮部で19時間46分と推定した。Naitoら⁷⁰⁾も通常照明下では、放卵から次の卵の排卵まで25分、排卵から峡部まで4時間43分、子宮部で19時間24分と推定した。いずれの報告も卵は卵管内通過時間の約80%を子宮部で滞留することが示され、放卵間隔の変動は子宮部内滞

留時間の変動によることが大きいと報告している。また Naito ら⁷⁰⁾ は、放卵間隔が短く子宮部内滞留時間の短い系統の方が、卵殻強度が弱い傾向のあることを報告した。

卵殻質と子宮部内滞留時間の関係については、Berg¹⁰⁾ は、卵殻厚と放卵間隔の関係を調べ、放卵間隔が長いほど卵殻厚が厚くなると報告した。Burmester ら¹⁶⁾ や Talbot ら¹⁰⁸⁾ は、子宮部内で卵が吸水膨張した後の時間と卵殻沈着量との間に相関があり、一定の割合で卵殻沈着量が増加すると報告している。一方 Buss らは、卵殻卵重比に対する選抜実験¹⁸⁾ で作出した厚卵殻系と薄卵殻系を用いて、卵殻沈着に関する研究を行なった結果、厚卵殻系と薄卵殻系の間で、放卵間隔や子宮部滞留時間に差はなく、したがって卵殻卵重比の差は卵殻沈着速度の差によると推定した^{17,106)}。また Combs ら²⁶⁾ も、破壊強度の大小 2 系統間で子宮部滞留時間に差はなかったと報告している。

そこで非破壊変形を選抜形質とした大小 2 方向への選抜実験で作出した、非破壊変形の大系統（弱系）と小系統（強系）を用いて、卵殻強度と卵形成時間の関係について明らかにすることにした。またこれまで卵殻強度と卵管形状との関係についての報告はほとんどないため、同じ系統を用いて形態学的な側面からの研究を試みた。

5.2 選抜鶏の卵形成時間の特徴

卵殻は卵管の子宮部で形成される。したがって卵管子宮部での卵殻形成と卵殻強度には何らかの関係があると推定される。そこで、非破壊変形を選抜形質とした大小 2 方向への選抜実験で作出した、非破壊変形の大系統（弱系）と小系統（強系）について、卵形成時間を比較し、その特徴から卵殻強度と卵形成時間の関係について明らかにしようとした。

材料及び方法

実験に用いた鶏は、非破壊変形に対する選抜実験の第 9 世代、及び第 10 世代の鶏で、64～68 週齢時に調査を行った。

まず第 9 世代の鶏を用いて、放卵から次の排卵までの時間と、子宮部への到達時間を調査した。調査は Naito ら⁷⁰⁾ の方法により行った。すなわち放卵から次の排卵までの時間を推定するために、強系では放卵後 10, 20, 30, 40, 60, 80 分に、また弱系は 20, 30, 40, 60, 80 分に、各区 10 羽ずつをと殺し、排卵の有無と排卵していた場合は卵の位置を調査した。次に子宮部への到達時間を推定するために、放卵後 300, 320, 330, 340,

350, 360, 370, 380 分に、強系では各区 7 羽、弱系では各区 8 羽ずつをと殺し、直ちに開腹して卵管内の卵の位置を調査した。と殺は翼下静脈よりペントバルビタールナトリウム（ネンブタール注射液、大日本製薬）を 1 羽あたり 100～150mg 注射することによって行った。と殺後放卵から次の排卵までの時間及び子宮部への到達時間の推定はプロビット分析¹⁴⁶⁾の中央有効値によって推定した。

次に第 10 世代の鶏を用いて卵の子宮部における滞留時間を推定した。子宮部における滞留時間は、平均放卵間隔から子宮部への平均到達時間を差し引くことにより算出した。平均放卵間隔は実験開始前 28 日間の放卵時刻の記録より個体ごとに算出した。放卵時刻は各系統から 40 羽ずつを無作為に選び、産卵時刻自動記録装置の設置してある個体ケージで飼育し調査した。子宮部への到達時間は放卵後 300, 330, 360 分後に両系統とも各区 10 羽ずつをと殺し、卵管内の卵の位置を記録して、第 9 世代の時と同様にしてプロビット分析より推定した。

なお調査鶏は原則として連産している個体で、調査日の午前中に放卵のみられた個体を選定した。

結果

第 9 世代における調査結果を表 24 に示した。弱系では放卵後 40 分ですべての排卵が確認され、放卵後 60 分には卵管内に卵が取り込まれていた。これに対し強系では、やや遅れて放卵後 60 分にすべての排卵が認められ、また卵管内への卵の取り込みも放卵後 80 分と弱系より時間がかかった。また子宮部への到達時間では、弱系では放卵後 320 分で初めて卵が子宮部へ到達した個体が観察されたが、強系では放卵後 300 分ですでに子宮部へ到達した個体が観察され、その後の時間区でも子宮部到達個体の割合が弱系よりも高く、放卵後 380 分ではすべての個体で卵が子宮部に完全に取り込まれていた。

これらのデータをもとに推定した放卵から次の排卵までの時間と、子宮部への到達時間を表 26 に示した。放卵から次の排卵までの推定時間は弱系の方が 8 分早いにもかかわらず、子宮部到達推定時間は強系の方が 18 分早かった。その結果排卵から子宮部に至る時間は強系の方が 26 分短かった。また強系は弱系よりも産卵率が低く、平均放卵間隔が長いと推察されることから、その後の子宮部での滞留時間は強系の方が長くなると推察された。

次に第 10 世代における調査結果を表 25 に示した。第 9 世代の時と同様に、弱系では放卵後 300 分では卵が子

表 24. 放卵後の時間と卵管内の卵の位置 (第9世代時)

孵卵日数 (日)	放卵後の時間 (分)													
	10	20	30	40	60	80	300	320	330	340	350	360	370	380
	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽	羽
弱系														
調査羽数	10	9	10	10	10	10	8	8	9	8	8	8	7	8
卵胞	9	3	2											
体腔	1	4	4	3										
卵の位置														
漏斗部		2	4	7	1	1								
膨大部					9	9								
峡部							8	5	7	6		2	1	
峡部-子宮部								2	1	2	3	4	1	1
子宮部								1	1		5	2	5	7
強系														
調査羽数		7	10	11	10	10	6	7	5	8	6	7	6	7
卵胞		5	4	1										
体腔		2	4	4	2									
卵の位置														
漏斗部			2	6	3	1								
膨大部					5	9								
峡部							4	5	1	3	2	1		
峡部-子宮部							1	1	1	1	1		1	
子宮部							1	1	3	4	3	6	5	7

表 25. 放卵後の時間と卵管内の卵の位置 (第10世代時)

	放卵後の時間 (分)	弱系			強系		
		300	330	360	300	330	360
		羽	羽	羽	羽	羽	羽
卵の位置	調査羽数	8	10	10	8	11	10
	峡部	8	6		7	4	
	峡部-子宮部		1	1	1	1	
	子宮部		3	9		6	10

表 26. 放卵から次の排卵までの時間と卵の卵管内通過時間

	第9世代		第10世代	
	強系	弱系	強系	弱系
	時間:分	時間:分	時間:分	時間:分
放卵から次の	0:26	0:18		
排卵までの時間 (A)	(48) ¹⁾	(48)		
放卵から次の卵の子宮	5:30	5:48	5:25	5:33
部到達までの時間 (B)	(52)	(64)	(29)	(28)
平均放卵間隔 (C)			27:12	25:38
			(18)	(20)
排卵から子宮部到達	5:04	5:30		
までの時間 (B-A)				
子宮部滞留時間 (C-B)			21:47	20:05

1) カッコ内の数字は推定に使用した羽数

宮部に到達した個体は認められず、放卵後 360 分でもまだ子宮部に到達していない個体が認められた。これに対し強系では、放卵後 300 分で卵が子宮部への移行を始めた個体が観察され、放卵後 360 分ではすべての個体の卵が子宮部に到達していた。

このデータをもとに推定した子宮部到達時間と、個体ごとの産卵時刻記録から求めた平均放卵間隔、及び子宮部滞留時間を表 26 に示した。卵の子宮部到達時間は第 9 世代の時と同様に強系の方が弱系に比べ 8 分早く推定された。一方平均放卵間隔は強系の方が 1 時間 34 分長かった。その結果子宮部での滞留時間は強系の方が 1 時間 42 分長く推定された。

以上の結果から、非破壊変形に対する大小 2 方向選抜が、卵の卵管子宮部における滞留時間に影響することが示された。このことは卵殻形成部位である卵管子宮部での卵の滞留時間の差と、卵殻強度や卵殻質の差との間に関連のあることを示唆している。

5.3 選抜鶏の卵管形状の特徴

非破壊変形に対する大小 2 方向選抜によって作出された強弱 2 系統間には、卵殻強度と産卵率に大きな差が認められた。卵管は卵形成器官であることから、選抜による卵管形状への影響を明らかにしようとした。

材料及び方法

調査には第 9 世代の雌の鶏を用いた。70～72 週齢時に強弱各系統から 15 羽ずつを無作為に選び、体重測定後と殺し、直ちに開腹して卵管を摘出した。と殺は翼下静脈よりペントバルビタールナトリウム（ネンプタール

注射液、大日本製薬）を 1 羽あたり 100～150mg 注射することによって行った。摘出した卵管は、腹膜によって折りたたまれた状態になっているので、この腹膜をできるかぎり取り除いてまっすぐになるようにした。測定項目は卵管の全長、膨大部長、峡部長、子宮部長、及び子宮部の重量である。なお漏斗部については先端部の特定が難しいため、膨大部開始位置から子宮部端までを卵管の全長とした。膨大部と峡部の境界は、明瞭な境界線により判定した^{51,136)}。また峡部と子宮部の境界は、内部のひだ状組織を子宮部の先端として判定した。長さを測定した後に子宮部分を切り取り、ガーゼで軽く表面の水分を吸収してから重量を測定した。なお臏部は切り離して測定した。

結果

調査結果を表 27 に示した。卵管全体（膨大部入口から子宮部端）の長さは、弱系の方が有意に長く、強系の 1.1 倍の長さであった。部位別では膨大部と峡部が弱系の方が有意に長かった。このことは卵形成時間の調査で排卵から子宮部に至る時間が強系の方が短いことと関連していると考えられた。子宮部の長さには有意差は認められなかったが、強系の方が大きい値を示した。一方、各部位の卵管全体に対する割合で見ると、膨大部では差がなかったのに対して、峡部と子宮部では有意差が認められ、弱系は強系よりも峡部の割合が大きく、子宮部の割合は小さいことが示された。また子宮部の重さも強系よりも弱系の方が小さかった。したがって強系の方が卵管全体の長さは短いものの、卵殻を形成する子宮部の割合が大きいことが示された。このことから、非破壊変形に対す

表 27. 第 9 世代における卵管各部位の長さとう宮重量 (平均値 ± 標準偏差)

	強系	弱系	有意差
羽数 (羽)	15	15	
体重 (g)	1720 ± 115	1658 ± 176	
卵管の長さ			
全長 (cm)	50.6 ± 3.3	55.0 ± 3.5	**
膨大部 (cm)	31.5 ± 2.7	34.5 ± 2.5	**
峡部 (cm)	9.8 ± 1.0	11.6 ± 1.3	**
子宮部 (cm)	9.3 ± 0.9	8.8 ± 1.5	
卵管各部位の割合 (対全長)			
膨大部 (%)	62.2 ± 2.4	62.8 ± 2.2	
峡部 (%)	19.3 ± 1.4	21.1 ± 1.8	**
子宮部 (%)	18.5 ± 1.8	16.1 ± 2.6	**
子宮重量 (g)	14.8 ± 1.8	12.8 ± 1.4	**

**：有意水準 1% で系統間に有意差あり

る大小2方向選抜が、卵管形状に対して影響を与えたことが示された。

5.4 考察

卵殻強度と放卵間隔

放卵間隔は産卵率と関係があり、一般に放卵間隔が短いほど産卵率は高くなる⁴⁷⁾。つまり産卵率の差が大きい場合、放卵間隔にも差があると推定される。

種々の卵殻形質を用いた選抜実験において、産卵率と卵殻強度との関係について報告されているが、Van Tijen¹²¹⁾は卵殻強度の改善によって産卵率に低下傾向のあることを報告している。これに対しMcpheeら⁶²⁾は、選抜によって作出した卵比重の高系統と対照群の間に産卵率の差はみられなかったと報告している。Combsら²⁶⁾も、破壊強度の大小2系統間で産卵率に差はなかったと報告している。Hartmannら⁴⁴⁾は、選抜対象形質が破壊強度と非破壊変形の場合は世代によって一定の傾向がみられず、また卵比重の場合は大方向（強方向）への選抜の方がわずかに産卵率が高い程度で、いずれにしても顕著な傾向は認められなかったと報告している。これらの報告から卵殻強度に対する選抜による、産卵率に対する影響は大きなものではなく、したがって放卵間隔の差もあまり大きくないことになる。

これを裏付けるように、実際に放卵間隔を調査したBussらは、卵殻卵重比に対する選抜実験¹⁸⁾で作出した厚卵殻系と薄卵殻系の間で、放卵間隔に差はなかったと報告している¹⁰⁶⁾。またCombsら²⁶⁾も、破壊強度の大小2系統間で放卵間隔に差はなかったと報告している。

しかしながら本実験では、非破壊変形に対する大小2方向への選抜によって作出した系統間で、放卵間隔に1時間30分の差がみられ、強系の方が長くなり、これらの報告とまったく異なる結果が得られた。この原因については、今回の結果からは十分に解明することはできなかったが、1つには選抜対象形質の違いによる影響が考えられる。また報告の多くが、選抜世代が5世代までで、本実験のような10世代にわたる長期選抜実験ではないことも原因している可能性がある。すなわち本実験においても、強弱2系統間に産卵率の差がみられたのは第3世代以降であり、選抜世代が少ない段階では産卵率に差がみられない可能性がある。

選抜系統ではないが、Berg¹⁰⁾は放卵間隔が長くなるほど卵殻厚が厚くなると報告した。このことは、第2章、第3章で明らかにしたように、非破壊変形と卵殻厚には負の高い相関が認められていることから、放卵間隔が長

くなるにつれて、卵殻厚が厚く、非破壊変形が小さくなっていくと考えることができる。Choiら²²⁾は、放卵間隔の長い卵の方が卵殻沈着量が多くなると報告した。また放卵間隔が長くなるクラッチ最終卵について、それまでの卵に比べ卵殻厚が厚くなる傾向¹¹⁸⁾や、卵比重が大きくなる傾向⁹⁾が報告されており、本実験結果と類似の傾向を示した。したがって放卵間隔と卵殻強度には関係があると考えられる。

卵殻強度と子宮部滞留時間

Burmesterら¹⁶⁾やTalbotら¹⁰⁸⁾は、子宮部内で卵が吸水膨張した後の時間と卵殻沈着量との間に相関があり、一定の割合で卵殻沈着量が増加すると報告している。このことは子宮部滞留時間が卵殻沈着量と卵殻強度に影響する可能性のあることを示している。本実験結果でも強系の方が1時間42分も子宮部滞留時間が長く、子宮部滞留時間と卵殻強度との関連が示唆された。

これに対して、Bussらは厚卵殻系と薄卵殻系の間で、放卵間隔や子宮部滞留時間に差はなく、したがって卵殻卵重比の差は卵殻沈着速度の差によるとしている^{19,106)}。またCombsら²⁶⁾も、破壊強度の大小2系統間で子宮部滞留時間に差はなかったと報告している。これらの報告は、子宮部への移行時間を触診法によって判定しているため、複数個体のデータを得ることができる点で信頼性が高い。しかし有意差はなかったものの、Stoutら¹⁰⁶⁾は子宮部滞留時間は厚卵殻系が27分長く推定されている。またCombsら²⁶⁾も有意差はなかったが、強系の方が子宮部滞留時間が0.4時間（24分）長く推定されている。これら2つの実験は選抜世代が3世代までの結果であり、有意差はないものの強卵殻系の方が滞留時間が長く推定されている。したがって卵殻強度と子宮部滞留時間に関連がないと断定することはできないと考えられる。

一方、子宮部滞留時間の差だけで卵殻強度の差を説明することはできない。なぜなら第2章に示した卵殻重の推移からも分かるように、本実験の強系では選抜実験の後半では卵殻重が余り変化していない。その一方で産卵率は低下しているため、子宮部滞留時間も長くなっている可能性がある。したがって子宮部滞留時間が長くなるほどには、卵殻蓄積量が増えていないことになり、矛盾してしまう。本実験では、Bussら^{19,106)}の指摘する卵殻沈着速度については本実験では測定していないため、この点をさらに解明する必要があると思われる。

いずれにしても卵形成過程においては、子宮部滞留時

間だけが卵殻強度に関連するわけではなく、卵殻沈着速度や、その他のもっと複合した要因が関係していることが考えられる。

卵管形状の系統間差

本実験結果から、非破壊変形に対する大小2方向選抜が、卵管形状に対して影響を与えたことが示された。

卵管全長にみられた系統間差は、卵形成において卵殻形成に関係するのが卵管子宮部であることから、卵殻強度との関連よりも、産卵能力との関連で考えた方が良いと思われる。

部位別の長さで強系の方が膨大部と峽部が短かったが、このことは卵形成時間の調査で排卵から子宮部に至る時間が、強系の方が短いことと関連していると考えられる。すなわちこれまでの研究^{16,136)}から、卵の卵管内通過速度はあまり変わらないといわれており、子宮部までの卵管の長さが短い方が相対的に時間が短くなる可能性がある。

本実験では、強系の方が卵殻形成器官である子宮部の割合が大きく、子宮部重量も重かった。また外見上も組織が良く発達しているように見えた。このことは卵殻形成機能との関係や卵の大きさとの関係が考えられる。本実験では卵殻形成機能との関連については検討していないが、卵の大きさについては、卵重は強系の方が重く、卵重から卵殻重を差し引いた卵内容重も強系の方が大きい(表28)。したがって子宮部の大きさもその分大きい可能性がある。

これまで卵殻強度と卵管形状についての報告はほとんどないが、Cipera²³⁾は卵比重の小さいニワトリより卵比重の大きいニワトリの方が、卵管に卵が存在しない時は

卵管重量(乾重)が重い、卵管に卵がある場合はほとんど差がなく、また子宮部の重さもほとんど差がなかったと報告している。本実験では、卵管全体では弱系の方が長かったが、子宮部の重量(湿重)は強系の方が重かった。これは強系及び弱系が長期選抜実験によって作出された系統であることや、測定法の違い、また卵の大きさなどが影響していると思われる。

選抜鶏の利用

本実験では、非破壊変形に対する大小2方向選抜によって作出された強弱2系統について、卵形成における特徴を明らかにすることで、卵殻強度と卵の子宮部滞留時間に関連のあることや、選抜によって子宮部の卵管に占める割合が変わることを示すことができた。

このように同一集団から選抜によって作出された卵殻強度に差のある系統を使うことで、卵殻形成に関する種々の生理機構を解明することができると考えられる。これまでもBussらのグループは、卵殻卵重比に対する選抜で作出した厚卵殻系と薄卵殻系¹⁸⁾を使って、子宮部における卵殻沈着機構やカルシウム代謝の研究を行い、成果を上げている^{17,19,38,39,58,106,139)}。またCombsらのグループは、破壊強度に対する選抜で作出した強弱2系統を用いて、卵殻強度と卵殻構造の関係や、カルシウムやリンの代謝について報告している^{26,125,126)}。

またこのような選抜系統は、卵殻形成に関わる形質以外の遺伝的な差異が少ないと考えられることから、DNAレベルでの差異を検索することで、ニワトリにおける卵殻形成にかかわる遺伝子の解明に利用することができると思われる。

しかしながら、これまで多くの卵殻強度に対する選抜

表28. 卵殻強度に対する選抜における各世代の卵重、卵殻重、卵内容重推定値の推移

世代	強系			弱系		
	卵重 (g)	卵殻重 (g)	卵内容重 (g)	卵重 (g)	卵殻重 (g)	卵内容重 (g)
G ₀	58.61	5.11	53.50	58.61	5.11	53.50
G ₁	57.98	5.02	52.96	56.95	4.80	52.15
G ₂	57.26	5.02	52.24	55.47	4.71	50.76
G ₃	56.40	4.99	51.41	54.08	4.57	49.51
G ₄	58.26	5.42	52.82	56.45	4.78	51.67
G ₅	57.11	5.27	51.84	55.00	4.46	50.54
G ₆	55.52	5.25	50.27	53.67	4.35	49.32
G ₇	55.64	5.41	50.23	53.94	4.36	49.58
G ₈	54.23	5.10	49.13	52.66	4.07	48.59
G ₉	55.40	5.41	49.99	51.81	3.84	47.97
G ₁₀	53.06	5.32	47.74	50.50	3.70	46.80

実験が試みられてきたにもかかわらず、現在卵殻強度に特徴を持つ選抜系統は、非常に少ない。Somes の編集した「家禽遺伝資源の国際登録」¹⁰⁵⁾の中でも、卵殻強度選抜系統としては217系統中1系統(強弱2系統)しかない。本選抜実験によって作出された強弱2系統は、遺伝資源の上でも貴重であり、現在は農林水産省の農林水産ジーンバンクに登録されている⁷⁵⁾。したがって今後は選抜鶏の卵殻強度における特性を利用し、遺伝子レベルでの研究を進めるなど、まだ解明の進んでいない卵殻形成に関わる遺伝子を明らかにしていく必要があると考えられる。

5.5 小括

非破壊変形に対する選抜によって、卵殻厚と卵殻卵重比が、卵殻強度に大きく関わるようになったので、選抜鶏の卵形成における特徴を調査した。

まず第9世代の鶏で推定した子宮部への移行時間は、強系の方がわずかに早かった。また第10世代の鶏で推定した子宮部滞留時間は、強系の方が長いことが示された。したがって非破壊変形に対する大小2方向選抜が、卵の卵管子宮部における滞留時間に影響することが示された。また卵殻形成部位である卵管子宮部での卵の滞留時間の差と、卵殻強度や卵殻質の差との間に関連のあることを示唆した。

次に卵管形状への選抜の影響を第9世代の雌の鶏を用いて調査した。卵管長は弱系の方が長く、部位別では膨大部と峡部が長かった。一方、各部位の卵管全体に対する割合で見ると、弱系は強系よりも峡部の割合が大きく、子宮部の割合は小さかった。また子宮部の重さも強系よりも弱系の方が小さかった。したがって強系の方が卵管の長さは短いものの、卵殻を形成する子宮部の割合が大きいことが示された。このことから、非破壊変形に対する大小2方向選抜が、卵管形状に対して影響を与えたことが示された。

総 括

近年、卵用鶏の産卵能力は著しく向上したが、その一方で卵殻質の低下による破卵の増加が問題になってきた。破卵は多大な経済的損失をもたらすため、卵殻強度の改善による破卵の発生防止が望まれるようになった。これまで卵殻強度の遺伝的改良をめざして、多くの選抜実験が試みられた。これらの選抜実験では、卵比重、卵殻重、卵殻厚、卵殻卵重比、破壊強度、非破壊変形、破

卵率などの形質が卵殻強度の指標として用いられた。このうち、卵比重と非破壊変形は卵を割らずに測定する方法で、測定による経済的損失がない点で優れている。しかし非破壊変形については、当初精度の面で問題があり単一形質の選抜実験は行われなかった。その後非破壊変形測定器の改良がなされたことから、卵殻強度の遺伝的改良における、非破壊変形に対する選抜の有用性を明らかにする必要がでてきた。

本研究では、この非破壊変形に対して、10世代にわたり大小2方向への選抜実験を行い、卵殻強度の改良における非破壊変形の有用性について検討した。また非破壊変形と他の卵殻諸形質や産卵能力との関連性について明らかにした。ついでこれらの知見をもとに、実際の選抜育種の場における、非破壊変形に対する選抜による卵殻強度の改良効率について予測した。次に卵殻強度の改良が孵化率に及ぼす影響について検討し、卵殻を利用した家禽胚の培養法の開発を試みた。最後に、選抜系統の卵形成における特徴から、卵形成と卵殻強度の関係について検討した。

1. 非破壊変形に対する選抜による卵殻強度の改良の可能性

非破壊変形に対する大(弱系)及び小(強系)方向への2方向選抜実験を10世代にわたって行い、非破壊変形の選抜反応と破壊強度への影響について調べた。

選抜形質である非破壊変形は、強系、弱系ともに選抜に伴い選抜反応が認められ、第10世代では強系が $51.9 \pm 6.2 \mu\text{m}/\text{kg}$ 、弱系が $100.6 \pm 13.4 \mu\text{m}/\text{kg}$ となった(図2)。しかし選抜反応は強系の方が小さく、強弱2系統間で非対称な反応を示した。破壊強度については、非破壊変形に対する選抜反応が小さかった強系においても、安定した増加を示し、その結果第10世代では強系が $3.75 \pm 0.46\text{kg}$ 、弱系が $2.17 \pm 0.34\text{kg}$ となった(図3)。

このことから非破壊変形を指標とした選抜によって、卵殻強度の改良が可能であることが示された。また非破壊変形の実現遺伝率は、強系では0.16、弱系では0.38と推定され、強弱2系統間で非対称な値を示した(図6)。

2. 非破壊変形と他の卵殻諸形質及び産卵能力との関連性

選抜において、非破壊変形と同時に測定した卵殻諸形質のデータと、個体ごとの産卵データをもとに、非破壊変形と他の卵殻諸形質との関連性、及び経済形質である卵重や産卵能力との関連性について検討した。

卵重は強系、弱系ともに減少し、弱系の方がその傾向が著しかった(図7)。卵殻厚は、強系では増加する傾向が見られたが、弱系では減少する傾向を示し、選抜によって強系は卵殻が厚く、弱系は卵殻が薄くなった(図8)。卵殻重は、強系ではほぼ一定の値で推移したが、弱系では直線的に減少した(図9)。卵殻卵重比は、強系では増加する傾向を示したが、弱系では減少する傾向を示すなど、卵殻厚とよく似た推移を示した(図10)。初産日齢は、強系が遅くなる傾向を示したが、弱系は早くなる傾向を示した(図12)。短期産卵率は、弱系では一定の水準で推移したが、強系ではほぼ直線的に産卵率は低下した(図13)。長期産卵率は、短期産卵率とよく似た推移を示した(図14)。したがって非破壊変形への選抜によって、卵殻諸形質及び卵重や産卵能力に相関反応のあることが示された。特に非破壊変形の小方向への選抜では、卵殻厚や卵殻卵重比は増加し、卵重や産卵率は低下することが明らかとなった。

また破卵防止における選抜の効果を、第3世代と第7世代で検討したところ、破卵の出現率は、強系では両世代とも1%以下で差は認められなかったが、弱系では第3世代で1.1%と強系よりも高く、第7世代では3.5%とさらに高くなった。また両世代とも軟卵の出現率は弱系の方が高かった。したがって弱系では破卵の出現率が高くなり、また軟卵の割合が高く、卵殻強度の低下が確認された。一方強系では、破卵の出現率の減少は確認できなかったが、弱系との差は明らかであり、非破壊変形に対する選抜が、破卵や軟卵の出現率に影響を与え、卵殻強度に影響することが示された(表8)。

3. 非破壊変形を卵殻強度の指標とした場合の選抜方法の検討

そこで選抜実験で得られたデータをもとに遺伝パラメータを求め、卵殻強度の遺伝的改良のための選抜法を検討した。

非破壊変形をはじめとして破壊強度及び卵殻諸形質の遺伝率は0.22～0.48と中程度の値が推定され、非破壊変形と破壊強度、卵殻卵重比は弱系の方がやや高かった。また産卵能力形質では、0.19～0.41と中程度の遺伝率が推定され、強系の方が高い値が推定された。卵重と卵形係数では両系とも0.5～0.6の高い値が推定された(表9)。

形質間の遺伝相関については、非破壊変形と卵殻諸形質との遺伝相関は、高い負の相関が推定され、特に卵殻卵重比と卵殻厚との相関が高く、非破壊変形は遺伝的に

は卵殻卵重比や卵殻厚との関係が大きいことが示された。非破壊変形と産卵率との遺伝相関は、強系が弱系よりも高い正の値が推定された。また他の卵殻諸形質と産卵率との間には、負の遺伝相関が推定され、強系の方が弱系よりも高かった。非破壊変形及び破壊強度と卵重との遺伝相関には系統間で差がみられ、卵殻強度と卵重との相関関係において強系と弱系で違いがあると推定された(表10, 表11)。

これらの遺伝パラメータをもとに、卵重や産卵率が低下しないように考慮した場合の卵殻強度及び卵殻諸形質の改良量を、選抜指数法を用いて予測した。卵殻強度の情報として非破壊変形、卵殻厚、卵殻卵重比の3つの形質について検討したところ、破壊強度を改良する場合の予測では卵殻卵重比が最も効率が良く、次いで非破壊変形、卵殻厚の順であった。しかし破壊強度を直接卵殻強度の情報として用いた場合の効率を上回ることはできなかった(表16)。

4. 卵殻強度と孵化の関係

また卵殻は、食品としての卵を保持する保存容器である一方、受精卵の孵化において胚発生の場所を形成し、胚を保護する役割を持っていることから、卵殻強度と孵化の関係について、非破壊変形に対する選抜実験の結果を中心に検討した。

対受精卵孵化率は世代の推移に伴い、強系がしだいに高くなるのに対し、弱系は70%付近で推移し、系統間の差がしだいにひろがった。したがって非破壊変形の小方向への選抜が、孵化率を向上させる効果があることが示された(図15)。また強系の発生中止卵の出現率が、孵卵初期と孵化直前の両方の時期で、選抜に伴い低下し、特に孵化直前時期に選抜の影響が強く現れていた(図16)。また2～3週間の長期保存卵の場合、強系においては孵化率が改善され、80%台の高い値を示したことから、非破壊変形の選抜は、2週間以上の長期保存卵の孵化率を改善する効果があることが示された(図17)。

しかし個々の受精卵の非破壊変形の大きさと孵化率の関係について、第8世代の孵化時に検討したが、系統間に差は認められたが、非破壊変形の大きさと孵化率には、一定の傾向は認められなかった(図19)。

長期保存卵の孵化率に非破壊変形が関係することから、受精卵のパッキングによる長期保存の孵化率に及ぼす影響を調べたところ、3～5週間保存における孵化率の向上がみられ、6週間保存でも孵化例が得られた(図

21)。したがってパッキングにより保存中の卵重の減少を抑えることが、孵化率の改善に関連のあることが示され、このことが強系の孵化率の向上の一因と考えられた。

このように卵殻は胚の培養器として重要なものであり、卵殻強度の強い系統の卵の方が、保存容器としても、また培養器としても優れていることが示された。

そこでこうした卵殻の特性を利用して、ウズラ初期胚をニワトリ卵殻を用いて培養し孵化させることを試みた。強系のニワトリ卵殻を用いて3つの方法で、培養を行ったところ、3つの方法とも孵化例が得られ、孵化率は11.4～17.6%であった(表20)。これによってウズラ胚をニワトリ卵殻を用いて、放卵直後の発生初期の段階から孵化まで培養できることが示され、孵化における卵殻の重要性を確認した。

5. 選抜鶏の卵形成に見られた特徴

非破壊変形に対する選抜実験から、卵殻厚と卵殻卵重比が、卵殻強度に大きく関わるようになったので、選抜鶏の卵形成における特徴を調査した。

まず第9世代の鶏で推定した子宮部への移行時間は、強系の方がわずかに早かった。また第10世代の鶏で推定した子宮部滞留時間は、強系の方が長いことが示された。したがって卵殻強度と子宮部滞留時間の間に関連のあることが示唆された(表26)。次に卵管形状への選抜の影響を第9世代の鶏を用いて調査した。その結果卵管長は弱系の方が長かった。各部位の卵管全体に対する割合では、弱系は強系よりも子宮部の割合は小さかった。したがって強系の方が卵管の長さは短いものの、卵殻を形成する子宮部の割合が大きいことが示された(表27)。これらの結果から、非破壊変形に対する選抜が、卵形成における子宮部滞留時間と、卵管における子宮部の割合に影響を与えることが明らかとなり、子宮部における卵殻形成が卵殻強度と大きく関連することが示された。

本研究では、卵殻強度の改良における非破壊変形の有用性、及び経済形質との関連性について、非破壊変形に対する大小2方向への選抜実験を行い検討した。

その結果、非破壊変形の太系統(弱系)と小系統(強系)を作出することに成功し、選抜の効果を確認した。そして破壊強度における間接選抜反応から、卵殻強度の改良効果を明らかにした。また非破壊変形の小方向への選抜が、卵重や産卵率を低下させることが明らかとなった。このような経済形質の低下は、実際の育種改良の場

では大きな問題となるため、非破壊変形を卵殻強度の指標とした場合の改良効率について、種々の条件を設定して検討した。その結果非破壊変形は、破壊強度よりは劣るものの、その他の卵殻形質と同程度の改良効率であることを明らかにした。また卵殻は孵化において重要な役割を果たしており、実際の育種でも孵化率は重要な経済形質である。これについても、非破壊変形の小方向への選抜は孵化率を改善し、特に長期保存卵の孵化率を改善することを明らかにした。

以上のことから、卵殻強度の遺伝的改良において、非破壊変形は有用な形質であることが明らかとなった。

謝 辞

本論文をとりまとめるにあたり多大の御指導と多くの御助言をいただきました。東北大学農学部扇元敬司教授(現日本獣医生命科学大学客員教授)に深甚の謝意を表します。また、多くの御助言をいただきました。山岸敏宏教授(現名誉教授)、菅原和夫教授(現名誉教授)に深甚の謝意を表します。

本研究のとりまとめにあたり多大の御指導をいただきました。東北大学農学部中井裕助教授(現教授)に深く感謝いたします。

本研究の開始にあたって多くの御助言をいただき、また、遂行しとりまとめるまで多大の御指導と御激励をいただきました。社団法人畜産技術協会附属動物遺伝学研究所、小宮山鐵朗所長(前農林水産省畜産試験場長、現全日本家禽協会会長)に深く感謝いたします。

本研究を遂行しとりまとめるにあたり、多大の御協力と御助言をいただきました農林水産省畜産試験場育種部内藤充主任研究官(現農業生物資源研究所主任研究員)、ならびに多大の御協力と御指導をいただきました農林水産省農業生物資源研究所大石孝雄遺伝資源第2部長(現東京農業大学教授)に深く感謝いたします。

本研究のとりまとめにあたり多大の御指導と御激励をいただきました宇都宮大学農学部村松晋前教授に深く感謝いたします。

本研究のとりまとめにあたり、研究環境を整えていただき、また多大なる御指導と御助言をいただきました。農林水産省農業生物資源研究所古川力動物探索評価研究チーム長(現九州沖縄農業研究センター研究管理監)、農林水産省畜産試験場武田尚人主任研究官(現北海道農業研究センター主任研究員)に深く感謝いたします。

本研究のとりまとめにあたり御指導御協力をいただき

ました, 農林水産省農業生物資源研究所居家義昭動物保存研究チーム長 (現岩手大学獣医学部教授), 高橋秀彰研究員 (現畜産草地研究所主任研究員), 菊地和弘研究員 (現農業生物資源研究所主任研究員) に深謝します。

本研究で使用した鶏の飼養管理に御協力いただいた大塚茂前農林水産省畜産試験場動物第2管理室長をはじめ, 農林水産省畜産試験場動物第2管理室 (現畜産草地研究所業務第2科) の皆様に厚く感謝いたします。

引用文献

- 1) 阿部猛夫・横内圀生 (1975). 選抜指数作成における血縁個体群の記録の利用について, 日本家禽学会誌, 12, 247-248.
- 2) Anderson, G.B. and Carter, T.C. (1976). The hen's egg, Shell crackage at impact on a heavy, stiff body and factors that affect it, *British Poultry Science*, 17, 613-626.
- 3) Anderson, G.B., Carter, T.C. and Jones, R.M. (1970). Some factors affecting the incidence of cracks in hen's egg shells, *British Poultry Science*, 11, 103-116.
- 4) Ayyagari, V., Mohapara, S.C., Renganathan, P., Johri, D.C., Thiagasundaram, D. and Panda, B.K. (1982). Cross performance as influenced by selection in pure lines, *British Poultry Science*, 23, 469-479.
- 5) Becker, W.A. (1964). The storage of White Leghorn hatching eggs in plastic bags, *Poultry Science*, 43, 1109-1112.
- 6) Becker, W.A. (1984). *Manual of quantitative genetics*. 4th ed., Academic Enterprises, Pullman, USA
- 7) Becker, W.A. and Bearnse, G.E. (1958). Pre-incubation warming and hatchability of chicken eggs, *Poultry Science*, 37, 944-948.
- 8) Becker, W.A., Spencer, J.V. and Swartwood, J.L. (1967). Hatchability of eggs held in plastic bags two temperatures, *Poultry Science*, 46, 311-314.
- 9) Belyavin, C.G., Boorman, K.N. and Volynchook, J. (1987). Egg quality in individual birds, In *Egg Quality-Current Problems and Recent Advances*, *Poultry Science Symposium Series 20*, (Ed. R.G. Wells and C.G. Belyavin), 105-121, Butterworths, London, UK
- 10) Berg, L.R. (1945). The relationship of clutch position and time interval between eggs to eggshell quality, *Poultry Science*, 24, 555-563.
- 11) Berry, J.G. (1976). Extending egg shell damage survey results into the field, *Poultry Science*, 55, 758-761.
- 12) Bowman, J.C. (1966). Storage of hatching eggs : An experiment on alternative methods of storing chicken hatching eggs, *British Poultry Science*, 7, 219-225.
- 13) Bowman, J.C. and Challender, N.I. (1963). Egg shell strength. A comparison of two laboratory tests and field results, *British Poultry Science*, 4, 103-116.
- 14) Brooks, J. and Hale, H.P. (1955). Strength of the shell of the hen's egg, *Nature*, 175, 848-849.
- 15) Bulmer, M. G. (1971). The effect of selection on genetic variability, *American Naturalist*, 105, 201-211.
- 16) Burmester, B.R., Scott, H.M. and Card, L.E. (1939). Rate of eggshell formation in the hen, *Proceedings of the 7th World's Poultry Congress*, 99-101.
- 17) Buss, E.G. and Guyer, R.B. (1981). A comparison of thick and thin egg shell lines of chickens for net absorption of calcium, *Proceeding 1st European Symposium on the quality of eggs*, 239-249, Spelderholt Institute for Poultry Research
- 18) Buss, E.G., Leach Jr., R.M. and Stout, J.T. (1977). Eggshell quality for chickens in selected lines, F1's and F2's, *Poultry Science*, 56, 1699-1700.
- 19) Buss, E.G., Merkur, P. and Guyer, R.B. (1980). Urinary excretion of calcium in the presence or absence of shell formation by chickens producing thick or thin shells, *Poultry Science*, 59, 885-887.
- 20) Byng, A.L. and Nash, D. (1962) The effects of storage on hatchability, *British Poultry Science*, 3, 81-87.
- 21) Carter, T.C. (1970). Why do egg shells crack?, *World's Poultry Science Journal*, 26, 549-561.
- 22) Choi, J.H., Miles, R.D., Arafa, A.S. and Harms, R.H. (1981). The influence of oviposition time on egg weight, shell quality, and blood phosphorus, *Poultry Science*, 60, 824-828.
- 23) Ciperia, J.D. (1980). Comparison of oviductal tissues isolated at various stages of shell formation from hens producing high or low quality egg shells, *Poultry Science*, 59, 2787-2792.

- 24) Coleman, J.R., Dewitt, S.M., Batt, P. and Terepka, A.R. (1970). Electron probe analysis of calcium distribution during active transport in chick chorioallantoic membrane, *Experimental Cell Research*, 63, 216-220.
- 25) Coleman, M.A. and McDaniel, G.R. (1975). The effect of light and specific gravity on embryo weight and embryonic mortality, *Poultry Science*, 54, 1415-1421.
- 26) Combs Jr, G.F., Parsons, A.H. and Ross, M.B. (1979). Calcium homeostasis in pullets of two lines selected for differences in eggshell strength, *Poultry Science*, 58, 1250-1256.
- 27) Davis, G.T. and Beeckler, A.F. (1962). Plastic packaging of eggs, 1. Methods of packaging, *Poultry Science*, 41, 391-397.
- 28) Emsley, A., Dickerson, G.E. and Kashyap, T.S. (1977). Genetic parameters in progeny-test selection for field performance of strain-cross layers, *Poultry Science*, 56, 121-146.
- 29) Fairfull, R.W. (1990). Heterosis. In *Poultry Breeding and Genetics*(Ed. R.D. Crawford), 913-933, Elsevier, New York, USA
- 30) Falconer, D.S. (1981). *Introduction to Quantitative Genetics*, 2nd ed., Longman, London & New York
- 31) Farnsworth, G.M. and Nordskog, A.W. (1955). Breeding for egg quality. 3. Genetic differences in shell characteristics and other egg quality factors, *Poultry Science*, 34, 16-26.
- 32) 古川 力・小畑太郎 (1988). 豚育種関係プログラム集 (PPPHI), 第1回農林水産試験研究におけるソフトウェア開発・利用研究会, 講演要旨, 122-123.
- 33) Garwood, V.A., Lowe, P.C. and Haugh, C.G. (1979). Method for improving eggshell strength by selection, *British Poultry Science*, 20, 289-295.
- 34) Gordon, C.D. and Siegel, H.S. (1966). Storage of pedigreed hatching eggs in cryovac, *Poultry science*, 45, 1369-1371.
- 35) Gowe, R.S. (1965). On the hatchability of chicken eggs stored in plastic bags flushed with nitrogen gas, *Poultry science*, 44, 492-495.
- 36) Gowe, R.S., Lentz, W.E. and Strain, J.H. (1973). Long-term selection for egg production in several strains of White Leghorns: Performance of selected and control strains including genetic parameters of two control strains, *Proceedings 4th European Poultry Congress*, London, England, 225-245.
- 37) Grunder, A.A., Fairfull, R.W., Hamilton, R.M.G. and Thompson, B.K. (1991). Correlations between measures of eggshell quality or percentage of intact eggs and various economic traits, *Poultry Science*, 70, 1855-1860.
- 38) Grunder, A.A., Guyer, R.b., Buss, E.G. and Clagett, C.O. (1980a), Calcium binding proteins in serum: quantitative differences between thick and thin shell lines of chickens, *Poultry Science*, 59, 880-884.
- 39) Grunder, A.A., Guyer, R.b., Buss, E.G. and Clagett C.O. (1980b). Effects of estradiol on calcium and calcium binding in serum of thick and thin shell lines of chickens, *Poultry Science*, 59, 2776-2781.
- 40) Grunder, A.A., Hamilton, R.M.G., Fairfull, R.W. and Thompson, B.K. (1989). Genetic parameters of egg shell quality traits and percentage of eggs remaining intact between oviposition and grading, *Poultry Science*, 68, 46-54.
- 41) Hamilton, R.M.G., Hollands, K.G., Voisey, P.W. and Grunder, A.A. (1979a). Relationship between egg shell quality and shell breakage and factors that affect shell breakage in the field- a review, *World's Poultry Science Journal*, 35, 177-190.
- 42) Hamilton, R.M.G., Thompson, B.K. and Voisey, P.W. (1979b). The effects of age and strain on the relationships between destructive and non-destructive measurements of eggshell strength for White Leghorn hens, *Poultry Science*, 58, 1125-1132.
- 43) Hartl, D.L. and Clark, A.G. (1988). *Principles of Population Genetics*, 2nd ed., Sinauer Associates, Massachusetts, USA.
- 44) Hartmann, W., Heil, G. and Rauch, H.W. (1981). Formation of lines differing in egg shell quality traits to investigate their relevance for the frequency of broken eggs, *Proceeding 1st European Symposium on the quality of eggs*, 271-278, Spelderholt Institute for Poultry Research
- 45) Harvey, W.R. (1977). *User's Guide for LSML 76*, Ohio State University Press. Columbus.
- 46) Hazel, L.N. (1943). The genetic basis for

- constructing selection indexes, *Genetics*, 28, 476-490.
- 47) Heywang, B.W. (1938). The time factor in egg production, *Poultry Science*, 17, 240-247.
- 48) Holder, D.P. and Bradford, M.V. (1979). Relationship of specific gravity of chicken eggs to number of cracked eggs observed and percent shell, *Poultry Science*, 58, 250-251.
- 49) Hunton, P. (1969). The measurement of egg shell strength: a comparison of four methods, *British Poultry Science*, 10, 281-289.
- 50) Hunton, P. (1982). Genetic factors affecting egg shell quality, *World's Poultry Science Journal*, 38, 75-84.
- 51) 今井 清 (1980). 産卵の生理学, 食卵の利用と科学 (佐藤 泰編著), 地球社, 東京, 1-21.
- 52) 猪 貴義 (1982). 雑種強勢の利用, 家畜育種学 (水間 豊・猪 貴義・岡田育穂共著), 朝倉書店, 東京, 139-146.
- 53) Jaffe, W.P. (1966). Egg production, body weight and egg quality characters; their heritability and the correlations between them, *British Poultry Science*, 7, 91-98.
- 54) Johnson, A.S. and Merritt, E.S. (1955). Heritability of albumen height and specific gravity of eggs from White Leghorns and Barred Rocks and the correlations of these traits with egg production, *Poultry Science*, 34, 578-587.
- 55) Johnston, P.M. and Comar, C.C. (1955). Distribution and contribution of calcium from the albumin, yolk and shell to the developing chick embryo, *American Journal of Physiology*, 183, 365-370.
- 56) Kinney, T.B.Jr. (1969). A summary of reported estimated of heritabilities and of genetic and phenotypic correlations for traits of chickens, U.S.D.A. Agricultural Handbook. No. 363.
- 57) Kinutani, M. and Le Douarin, N.M. (1985). Avian spinal cord chimeras 1. Hatching ability and posthatching survival in homo- and heterospecific chimeras, *Developmental Biology*, 111, 243-255
- 58) Koch, J., Buss, E.G. and Wideman, R.F. (1983). Blood ionic calcium responses of hens from thick- and thin-shell lines to ethyleneglycol-bis-(B-amino-ethyleter)-N,N'-tetraacetic acid injections, *Poultry Science*, 62, 172-175.
- 59) Kosin, I.L. (1956). Studies on pre-incubation warming of chicken and turkey eggs, *Poultry Science*, 35, 1384-1392.
- 60) Lundy, H. (1969). A review of the effects of temperature, humidity, turning and gaseous environment in the incubator on the hatchability of the hen's egg, In *The Fertility and Hatchability of the Hen's Egg*. Poultry Science Symposium Series 5, (Ed. T.C. Carter and B.M. Freeman. Oliver and Boyd), 143-176, Edinburgh, UK
- 61) McDaniel, G.R., Roland, D.A. and Coleman, M.A. (1979). The effects of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality, *Poultry Science*, 58, 10-13.
- 62) McPhee, C.P., Burton, H.W. and Fuelling, D.E. (1982). Selection for high specific gravity of eggs in a flock of Australorp hens, *British Poultry Science*, 23, 215-223.
- 63) Melek, O., Morris, T.R. and Jennings, R.C. (1973). The time factor in egg formation for hens exposed to ahemeral light-dark cycles, *British Poultry Science*, 14, 493-498.
- 64) Merritt, E.S. (1964). Pre-incubation storage effects on subsequent performance of chicken, *British Poultry Science*, 5, 67-73.
- 65) Morris, J.A. (1964). Estimates of genetic parameters relevant in selection for certain aspects of egg quality, *Australian Journal of Agricultural Research*, 15, 719-727
- 66) Munro, S.S. (1940). The relation between specific gravity of the egg and its hatching power, *Poultry Science*, 19, 357.
- 67) Mussehl, F.G. and Halbersleben, D. L. (1923). Influence of the specific gravity of hen's egg on fertility, hatching power and growth of chicks, *Journal of Agricultural Research*, 23, 717-720.
- 68) Nagai, J. and Gowe, R.S. (1969a). Genetic control of egg quality. 1. Source of variation, *British Poultry Science*, 10, 337-350.
- 69) Nagai, J. and Gowe, R.S. (1969b). Genetic control of egg quality. 2. Selection for maximum rate of improvement, *British Poultry Science*, 10, 351-358.
- 70) Naito, M., Nirasawa, K. and Oishi, T. (1990a). Duration of egg formation in hens selected for

- increased rate of lay under 23 h and 24 h light-dark cycles, *British Poultry Science*, 31, 351-358.
- 71) Naito, M., Nirasawa, K. and Oishi, T. (1990b). Development in culture of the chick embryo from fertilized ovum to hatching, *Journal of Experimental Zoology*, 254, 322-326.
- 72) Naito, M., Nirasawa, K., Oishi, T. and Komiyama, T. (1989). Selection experiment for increased egg production under 23 h and 24 h light-dark cycles in the domestic fowl, *British Poultry Science*, 30, 49-60.
- 73) Naito, M., Watanabe, M., Kinutani, M., Nirasawa, K. and Oishi, T. (1991). Production of quail-chick chimaeras by blastoderm cell transfer, *British Poultry Science*, 32, 79-86.
- 74) 内藤元男 (1975). 新編家畜育種学, 第5版, 養賢堂, 東京, 410p.
- 75) 農林水産省畜産試験場 (1990). 動物遺伝資源の特性調査成績 (1) - 農林水産省ジェーンバンク事業による動物遺伝資源の特性調査 -, 174p.
- 76) Ogasawara, T., Koga, O. and Nishiyama, H. (1974). Effect of a shell gland irritant on the secretion rate, calcium and inorganic phosphorus levels of the shell gland fluid in the laying hen, *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 45, 668-673.
- 77) Ogasawara, T., Koga, O. and Nishiyama, H. (1975). Premature oviposition induced by intrauterine injection of phosphate solution in the laying hen, *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 45, 668-673.
- 78) Olsen, M.W. and Haynes, S.K. (1948). The effect of different holding temperatures on the hatchability of hens' eggs, *Poultry Science*, 27, 420-426.
- 79) Ono, T. and Wakasugi, N. (1983). Development of cultured quail embryos, *Poultry Science*, 62, 532-536.
- 80) Ono, T. and Wakasugi, N. (1984). Mineral content of quail embryos cultured in mineral-rich and mineral-free conditions, *Poultry Science*, 63, 159-166.
- 81) Payne, L.F. and McDaniel, G.R. (1958). Shell thickness as related to "shuck-outs" in turkey eggs, *Poultry Science*, 37, 825-828.
- 82) Perry, M.M. (1988) A complete culture system for the chick embryo, *Nature*, 331, 70-72.
- 83) Pevzner, I.Y., Friars, G.W., Orr, H.L. and Reinhart, B.S. (1976). The use of selection and strain crossing to reduce egg shell breakage, *British Poultry Science*, 17, 185-194.
- 84) Phillips, R.E. and Williams, C.S. (1944). Relationship of specific gravity and shell appearance to the hatchability of fertile turkey eggs, *Poultry Science*, 23, 110-113.
- 85) Poggenpoel, D.G. and Erasmus, J.E. (1978). Long-term selection for increased egg production, *British Poultry Science*, 19, 111-123.
- 86) Potts, P.L. and Washburn, K.W. (1974). Shell evaluation of white and brown egg strains by deformation, breaking strength, shell thickness and specific gravity. 1. Relationship to egg characteristics, *Poultry Science*, 53, 1123-1128.
- 87) Potts, P.L. and Washburn, K.W. (1985). Genetic variation in shell strength and its relationship to egg size, *Poultry Science*, 64, 1249-1256.
- 88) Proudfoot, F.G. (1964a). The effect of plastic packaging and other treatments on hatching eggs, *Canadian Journal of Animal Science*, 44, 87-95.
- 89) Proudfoot, F.G. (1964b). The effect of nitrogen and other gases on the hatchability of eggs stored in plastic bags, *Canadian Journal of Animal Science*, 44, 120-121.
- 90) Proudfoot, F.G. (1966). Hatchability of stored chicken eggs as affected by daily turning during storage and prewarming and vacuuming eggs enclosed in plastic with nitrogen, *Canadian Journal of Animal Science*, 46, 47-50.
- 91) Proudfoot, F.G. (1967a). The effect on hatchability of shipping eggs after storage for different periods of time in a nitrogen gaseous environment, *Canadian Journal of Animal Science*, 47, 137-138.
- 92) Proudfoot, F.G. (1967b). Advance note on the hatchability of chicken eggs stored small-end-up, *Canadian Journal of Animal Science*, 47, 142-143.
- 93) Proudfoot, F.G. (1969). Effect of packing orientation, daily positional change and vibration on the hatchability of chicken eggs stored up to four weeks, *Canadian Journal of Animal Science*, 49, 29-35.
- 94) Proudfoot, F.G. (1970). The influence of different pre-incubation holding temperatures the hatchability of chicken eggs, *Poultry Science*, 49, 812-813.

- 95) Richards, J.F. and Staley, L.M. (1967). The relationships between crushing strength, deformation and other physical measurements of the hen's egg, *Poultry Science*, 46, 430-437.
- 96) Rodda, D.D. (1972). Breeding for late egg shell quality in the domestic hen, *British Poultry Science*, 13, 45-60.
- 97) Roland Sr., D.A. (1977). The extent of uncollectable eggs due to inadequate shell, *Poultry Science*, 56, 1517-1521.
- 98) Roland Sr., D.A. (1988). Research Note: Egg shell problems: Estimates of incidence and economic impact, *Poultry Science*, 67, 1801-1803.
- 99) Rowlett, K. and Simkiss, K. (1987). Explanted embryo culture: in vitro and in ovo techniques for domestic fowl, *British Poultry Science*, 28, 91-101.
- 100) Schoorl, P. and Boersma, H.Y. (1962). Research on the quality of the egg shell, *Proceedings of the 12th World's Poultry Congress*, 432-435.
- 101) Shanawany, M.M.. (1987). Hatching weight in relation to egg weight in domestic birds, *World's Poultry Science Journal*, 43, 107-115.
- 102) Shrimpton, D.H. and Hann, C.M. (1967). Shell deformation in predicting breakage due to transport and handling, *British Poultry Science*, 8, 317-320.
- 103) 芝田清吾・村田 章 (1936). 鶏卵の孵化に関する研究, *畜産試験場彙報*, 13, 1-27.
- 104) Simkiss, K. (1961). Calcium metabolism and avian reproduction, *Biological Research*, 36, 321-367.
- 105) Somes Jr., R.G. (1988). *International Registry of Poultry Genetic Stocks*, The University of Connecticut, Bulletin 476, USA
- 106) Stout, J.T. and Buss, E.G. (1980). Influence of the interval of shell deposition on eggshell quality, *Poultry Science* 59, 168-171.
- 107) Strong Jr., C.F. (1989). Relationship between several measures of shell quality and egg-breakage in a commercial processing plant, *Poultry Science* 68, 1730-1733.
- 108) Talbot, C.J. and Tyler. C. (1974). A study of the progressive deposition of shell in the shell gland of the domestic hen, *British Poultry Science*, 15, 217-224.
- 109) 丹 京子・絹谷政江 (1990). ニワトリ・ウズラ神経系キメラ-神経と免疫の可塑性-, *感染・炎症・免疫*, 20 (1) 別冊, 医薬の門社, 東京, 40-49.
- 110) Taylor, L.W. and Lerner, I.M. (1939). Inheritance of eggshell thickness in White Leghorn pullets, *Journal of Agricultural Research*, 58, 383-396
- 111) Thompson, B.K. and Hamilton, R.M.G. (1986). Relationships between laboratory measures of egg shell strength and breakage of eggs collected at a commercial grading station, *Poultry Science*, 65, 1877-1885.
- 112) Thompson, B.K., Hamilton, R.M.G. and Grunder, A.A. (1985). The Relationship between laboratory measures of egg shell strength and breakage in commercial egg washing and candling equipment, *Poultry Science*, 64, 901-909.
- 113) Tullett, S.G. and Deeming, D.C. (1987). Failure to turn eggs during incubation : Effects on embryo weight, development of the chorioallantois and absorption of albumen, *British Poultry Science*, 28, 239-243.
- 114) Tung, M.A., Staley, L.M. and Richards, J.F. (1968). Studies on egg shell strength, shell stiffness, shell quality, egg size and shape, *British Poultry Science*, 9, 221-229.
- 115) Tyler, C. (1961). Shell strength: its measurement and its relationship to other factors, *British Poultry Science*, 2, 3-19.
- 116) Tyler, C. and Geake, F.H. (1960). Studies on egg shells. XIII. Influence of individuality, breed, season and age on certain characteristics of egg shells, *Journal of Science Food Agriculture*, 11, 535-547.
- 117) Tyler, C. and Geake, F.H. (1961a). Studies on egg shells. XIV. Variation in egg weight, shell thickness and membrane thickness between eggs within a clutch, *Journal of Science Food Agriculture*, 12, 273-280.
- 118) Tyler, C. and Geake, F.H. (1961b). Studies on egg shells. XV. Critical appraisal of various methods of assessing shell thickness, *Journal of Science Food Agriculture*, 12, 281-289.
- 119) Tyler, C. and Geake, F.H. (1963). A study of various impact and crushing methods used for measuring shell strength, *British Poultry Science*, 4, 49-61.
- 120) Van Tijen, W.F. (1973). The consequences of

- selection for shell quality in poultry, *Annales de Genetique et de Selection animale*, 5, 403-410.
- 121) Van Tijen, W.F. (1977a). Shell quality in poultry as seen from the breeder's viewpoint. 1. Improvement reached after four years of selection and the effect on productivity, *Poultry Science*, 56, 1107-1114.
- 122) Van Tijen, W.F. (1977b). Shell quality in poultry as seen from the breeder's viewpoint. 2. Search for heterosis effects, *Poultry Science*, 56, 1115-1120.
- 123) Van Tijen, W.F. (1977c). Shell quality in poultry as seen from the breeder's viewpoint. 3. Heritabilities: Expected versus accomplished response, *Poultry Science*, 56, 1121-1126.
- 124) Van Tijen, W.F. and Kuit, A.R. (1970). The heritability of characteristics of egg quality, their mutual correlation and the relationship with productivity, *Archiv fur Geflugelkunde*, 34, 201-210
- 125) Van Toledo, B., Parsons, A.H. and Combs Jr., G.F. (1980). Mamillary structure as a determinant of eggshell strength, *Poultry Science*, 59, 1667.
- 126) Van Toledo, B., Parsons, A.H. and Combs Jr., G.F. (1982). Role of ultrastructure in determining eggshell strength, *Poultry Science*, 61, 569-572.
- 127) Voisey, P.W. and Hamilton, R.M.G. (1975). Behavior of egg shell under compression in relation to deformation measurements, *British Poultry Science*, 16, 461-470.
- 128) Voisey, P.W. and Hamilton, R.M.G. (1976). Factors affecting the non-destructive and destructive methods of measuring egg shell strength by the quasi-static compression test, *British Poultry Science*, 17, 103-124.
- 129) Voisey, P.W. and Hamilton, R.M.G. (1977a). Sources of error in egg specific gravity measurements by the flotation method, *Poultry Science*, 56, 1457-1462.
- 130) Voisey, P.W. and Hamilton, R.M.G. (1977b). The effect of deformation rate and other factors on the force required to fracture egg shells in measuring shell strength, *Poultry Science*, 56, 1994-2002.
- 131) Voisey, P.W., Hamilton, R.M.G. and Thompson, B.K. (1979). Laboratory measurements of eggshell strength. 2. The quasi-static compression, puncture, non-destructive deformation, and specific gravity methods applied to the same egg, *Poultry Science*, 58, 288-294.
- 132) Voisey, P.W. and Hunt, J.R. (1973). Apparatus and techniques for measuring eggshell strength and other quality factors, Engineering Specifications, 6176, Engineering Research Service. Canada Department of Agriculture, Ottawa
- 133) Voisey, P.W. and Hunt, J.R. (1976). Comparison of several eggshell characteristics with impact resistance, *Canadian Journal of Animal Science*. 56, 299-304
- 134) Voisey, P.W. and MacDonald, D.C. (1978). Laboratory measurements of eggshell strength. 2. An instrument for measuring shell strength by quasi-static compression, puncture, non-destructive deformation, *Poultry Science*, 57, 860-869.
- 135) Warren, D.C., Roff, H.A. and Long, D.E. (1965). Hatchability of eggs stored in plastic-lined egg cases, *Poultry Science*, 44, 1278-1280.
- 136) Warren, D.C. and Scott, H.M. (1935). The time factors in egg formation, *Poultry Science*, 14, 195-207.
- 137) Wells, R.G. (1967a). Egg shell strength. 1. The relationship between egg breakage in the field and certain laboratory assessments of shell strength, *British Poultry Science*, 8, 131-139.
- 138) Wells, R.G. (1967b). Egg shell strength. 2. The relationship between egg specific gravity and shell deformation and their reliability as indicators of shell strength, *British Poultry Science*, 8, 193-199.
- 139) Wideman, R.F. and Buss, E.G. (1985). Percent shell and plasma mineral concentrations in three strains of domestic fowl selected for thick or thin egg shell production, *Poultry Science*, 64, 388-395.
- 140) 山田行雄 (1978). 育種の原理, 畜産大事典 (内藤元雄監修), 養賢堂, 東京, 181-221.
- 141) 山田行雄 (1982). 閉鎖群育種法, 新編養鶏ハンドブック (田先威和夫ら編著), 養賢堂, 東京, 108-120.
- 142) Yamada, Y., Yokouchi, K. and Nishida, A. (1975). Selection index when genetic gains of individual traits are of primary concern, *Japanese Journal of Genetics*, 50, 33-41.
- 143) 横内 剛生・阿部猛夫 (1978a). 選抜指数法の家畜育種への適用. I. 理論, 畜産試験場年報, 17,

- 95-102.
- 144) 横内圀生・阿部猛夫 (1978b). 選抜指数法の家畜育種への適用. II. 適用事例, 畜産試験場年報, 17, 103-108.
- 145) 横内圀生・山田行雄 (1973). 選抜指数作成におけるRマトリクスの導入, 日本家禽学会誌, 10, 151-155.
- 146) 吉田 実 (1975). 畜産を中心とする実験計画法, 養賢堂, 東京, 374-381.

Studies on Genetic Improvement of Eggshell Strength by Selection for Nondestructive Deformation

Keijiro NIRASAWA

Animal Breeding and Reproduction Research Team

Summary

Broken and cracked eggshells cause major economic losses for egg producers. Genetic improvement of eggshell strength for egg laying hens is thus needed. A nondestructive deformation is an indicator of egg shell quality, and can be measured without breaking the eggs. This study aimed to clarify the usefulness of nondestructive deformation as a selection criterion for the genetic improvement of eggshell strength.

1. A White Leghorn population was used for two-way selection to increase (weak line) or decrease (strong line) nondestructive deformation over 10 generations. The differences in nondestructive deformation between both lines became larger due to selection. Nondestructive deformation from the first to the 10th generation was changed from 64.7 ± 11.8 to 100.6 ± 13.4 $\mu\text{m}/\text{kg}$ in the weak line and from 59.9 ± 10.4 to 51.9 ± 6.2 $\mu\text{m}/\text{kg}$ in the strong line. The selection response in the strong line was smaller than in the weak line. An asymmetrical response between the two lines was observed. Breaking strength was thought to be the most reliable indicator of eggshell strength. Breaking strength was changed from 2.77 ± 0.45 to 2.17 ± 0.34 kg in the weak line and from 2.95 ± 0.45 to 3.75 ± 0.46 kg in the strong line. This indicated that the selection to decrease nondestructive deformation improved eggshell strength. Realized heritabilities for nondestructive deformation were asymmetrical with respect to the direction of selection, and were 0.16 in the strong line and 0.38 in the weak line.

2. Egg weight declined in both lines as the selection proceeded, and was smaller in the weak line than in the strong one. Shell thickness in the strong line became thick but declined in the weak line due to selection. Shell weight in the strong line generally continued to be flat, and to decrease linearly in the weak line as the selection proceeded. Percentage shell increased in the strong line and decreased in the weak line due to selection, and indicated a similar tendency to shell thickness. Age at first egg in the strong line tended to be later and in the weak line to be earlier as the selection proceeded. The rate of lay over the short term in the weak line generally continued to be flat and to decline in a linear fashion in the strong line as the selection proceeded. The rate of lay over the long term indicated a similar tendency to the rate of lay over the short term. These results demonstrated that the selection to decrease nondestructive deformation increased egg thickness and percentage shell but reduced egg weight and the rate of lay. In the weak line, the percentages of broken eggs and soft shell eggs increased. This indicated that eggshell strength in the weak line declined.

3. Heritability estimates for eggshell traits were 0.22-0.48, and those for nondestructive deformation, breaking strength and percentage shell were somewhat higher in the weak line than in the strong one. Heritability estimates for egg productivity traits were 0.19-0.41, and were higher in the strong line than in the weak line. Heritability estimates for egg weight and shape index were high (0.5-0.6) in both lines. Genetic correlations between nondestructive deformation and the other egg shell traits were negative and large, and those of nondestructive deformation with percentage shell and shell thickness were especially larger. This showed that nondestructive deformation had a genetic relationship with percentage shell and shell thickness. The genetic correlation between nondestructive deformation and rate of lay was positive and higher in the strong line than in the weak one. The genetic correlations between the other eggshell traits and rate of lay were negative

and larger in the weak line than in the strong line. However, the genetic correlations of egg weight with nondestructive deformation and breaking strength showed a different tendency between lines. When breaking strength was improved without decline of egg weight and rate of lay by the selection index method using an eggshell trait, percentage shell was estimated to be the most efficient eggshell trait, followed by nondestructive deformation and shell thickness. However, those traits were inefficient compared to breaking strength.

4. Hatchability for fertile eggs in the strong line became increasingly higher as the selection for nondestructive deformation proceeded, but remained at the 70% level in the weak line. The difference in hatchability between the strong and weak lines became gradually larger as the selection proceeded. This suggested that the selection to decrease nondestructive deformation had a good effect on hatchability. In the strong line, the percentages of early and late embryo mortality decreased with selection. Selection to decrease nondestructive deformation was effective in improving the hatchability of fertile eggs stored for more than two weeks. However, there was no definite relationship between the magnitude of nondestructive deformation and hatchability. The effect of plastic packaging on the hatchability of fertile eggs was investigated in order to clarify the relationship between nondestructive deformation and the hatchability of fertile eggs stored for more than two weeks. The hatchabilities of fertile eggs stored for 3~5weeks were improved. There were chicks hatched from fertile eggs stored for 6 weeks. The eggs in plastic bags did not lose weight. Therefore, it was suggested that the reduction in egg weight loss improved hatchability and was thought to contribute to the increasing hatchability in the strong line. Since strong eggshells are thought to be good culture vessels, an experiment was carried out to culture early embryos of Japanese quail to hatch in eggshells of the strong line. The culture was conducted using three methods. All methods had some hatching success. The rates of hatching of the cultured embryos were 11.4~17.6%. This showed that it was possible to culture early embryos of Japanese quail to hatch using chicken eggshells as the culture vessels.

5. An experiment was carried out to investigate the effect of selection for nondestructive deformation on egg formation. The interval from oviposition to entry of the next ovum into the uterus in the strong line was slightly shorter than in the weak line. Time spent by the ovum in the uterus in the strong line was longer than in the weak line. This suggests an association between eggshell strength and time spent by the ovum in the uterus. Oviduct length in the weak line was longer than in the strong line. But the proportion of the uterus in which the eggshell was formed to oviduct length in the strong line was larger than in the weak line. The results suggested that the selection for nondestructive deformation affected the time spent by the ovum in the uterus and the proportion of uterus to oviduct length, and that there was a strong relation between the eggshell formations in the uterus and eggshell strength.

The results are summarized as follows. Large (weak line) and small (strong line) nondestructive deformation lines were founded to increase or decrease nondestructive deformation by the two-way selection, and it showed the efficacy of selection. Breaking strength was increased by the selection to decrease nondestructive deformation. This showed that selection to decrease nondestructive deformation exhibited the effect of genetic improvement on eggshell strength. Selection to decrease nondestructive deformation reduced egg weight and the rate of lay. Nondestructive deformation was as effective as the other eggshell traits for genetic improvement of eggshell strength, but that it was inefficient compared to breaking strength. Selection to decrease nondestructive deformation was effective in improving the hatchability of fertile eggs stored for more than two weeks. Selection for nondestructive deformation affected the time spent by the ovum in the uterus and the proportion of uterus to oviduct length.

The above findings clarified that nondestructive deformation as a selection trait was useful for genetic improvement of eggshell strength.

Key words : nondestructive deformation, eggshell strength, selection, hatchability, broken egg

草地土壌の温室効果ガス・シンク・ソース機能に関する研究

森 昭憲

草地多面的機能研究チーム

要 約

草地は畑地より炭素貯留機能が大きいですが、草地管理は温暖化係数の高いメタン (CH_4) や亜酸化窒素 (N_2O) の排出量を変化させる。本研究は、草種構成、草地更新、堆肥散布が CH_4 と N_2O の排出量に及ぼす影響を明らかにするため、那須の火山灰土壌の草地において実証試験を行った。第3章では、草地の草種構成が CH_4 と N_2O の排出量に及ぼす影響を述べた。オーチャードグラス (OG) 単播草地、シロクローバ (WC) 単播草地、OG/WC 混播草地の CH_4 と N_2O の排出量は、それぞれ -1.8 , -2.4 , $-1.8 \text{ kg C ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$, 0.39 , 1.59 , $0.67 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ であった。WC は土壌通気性を高めたが CH_4 年間吸収量を有意に増加させなかった。WC が栽培されると N_2O 年間排出量が有意に増加した。第4章では、草地更新時の N_2O 排出量を述べた。草地更新を行った草地 (更新草地) と行わない草地 (対照草地) の N_2O 排出量は、それぞれ $2.1 \sim 5.3$, $0.96 \sim 2.8 \text{ kg N ha}^{-1}$ で草地更新は N_2O 排出量を有意に増加させた。更新草地では、すき込まれた根と刈株から窒素無機化が起こり、土壌水分は N_2O が生成され易く、また排出され易い領域に分布した。更新時期の土壌水分や更新直後の降雨量が多いと N_2O 排出量が増加した。第5章では、堆肥散布が草地からの N_2O と CH_4 の排出量に及ぼす影響を述べた。堆肥と化学肥料を散布した草地 (堆肥区) と化学肥料のみを散布した草地 (化学肥料区) の N_2O と CH_4 の排出量を比較した。なお、両処理区の窒素供給量は $210 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ に調整した。堆肥区と化学肥料区の N_2O 年間排出量は、それぞれ $7.0 \sim 11.0$, $4.7 \sim 9.1 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ で堆肥散布が N_2O 年間排出量を増加させた。堆肥区と化学肥料区の CH_4 年間排出量は、それぞれ $-0.74 \sim -0.16$, $-0.84 \sim -0.52 \text{ kg C ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ で堆肥散布は CH_4 年間排出量を増加させなかった。以上の結果から、 N_2O 排出量を抑制するため、WC の窒素固定や堆肥の無機化を考慮して施肥量を削減し、地温や土壌水分の高い時期を避けて更新を行うことが重要と指摘される。

キーワード：亜酸化窒素, 温室効果ガス, 草地, 土壌, メタン

第1章 緒 言

第1節 研究の背景と目的

地球規模の炭素循環に及ぼす土壌有機物の重要性が注目され、農耕地における土壌有機物の適切な管理が重要であると指摘されている。陸域生態系の炭素貯蔵量は、植物バイオマスとして約 550 Gt C 、土壌有機物として約 1500 Gt C であり、土壌有機物中の炭素量は植物バイオマス中の炭素量の約3倍、大気中の炭素量の約2倍に相当する⁵⁹⁾。黒ボク土の腐植層は良く発達し、腐植

含量が高く、黒色味の強い腐植酸の割合が多い。腐植はススキ、ササなどのイネ科草本からも多量に供給され、活性アルミニウムと安定な複合体を形成して集積する⁹⁰⁾。草地は長期間に渡り不耕起で管理される場合が多いため、畑地より有機物の蓄積機能が大きいことが知られている⁴⁹⁾。農耕地に施用される有機物は土壌微生物による分解過程で反応性に富む分子を生成して互いに結合し、複雑な巨大分子である腐植物質を形成する。負の荷電を持つ腐植物質と粘土鉱物は陽イオンを介して結合し土壌粒団を形成する。土壌粒団は土壌の通気性と排

水性を改善し作物根に養水分と空気を供給する重要な働きを持つ³¹⁾。腐植物質は微生物に分解され難い分子同士が結合した分子であるが、土壤微生物により少しずつ分解されるため、酸化的な土壤水分条件下で栽培を行う農耕地では定期的に有機物を補う必要がある。

草地は全陸域面積の約27%を占める主要な土地利用である²⁷⁾。日本では森林が極相となるため、草地を維持するためには人為的管理が必要である。このため、日本の草地の多くはススキ型草地やシバ型草地など半自然草地と集約度の高い人工草地に分類される。採草地、放牧地など利用方法で分類される場合もあり、粗飼料生産により乳肉生産を支えることが期待されている重要な土地利用である。農林水産統計(平成20年耕地面積)によれば、日本の牧草地面積は約62万haで、全耕地面積の約13.4%を占める。北海道には、約52万haが分布し、北海道の全耕地面積の約44.6%を占める。本研究で研究対象とした草地は、適切な人為的管理により高い生産性を維持することを目的とし、集約的な粗飼料生産が期待されている人工草地(採草地)である。

草地の植生は、半自然草地ではススキ型草地、シバ型草地、ササ型草地に分類され、人工草地では寒地型牧草、暖地型牧草に分類される。暖地型牧草は25~30℃が生育適温で多くは多年生であるが、九州以北で牧草が越冬できない場合は一年生の作物として利用される場面もある。日本では、暖地型のマメ科牧草はほとんど利用されていない。寒地型牧草は15~22℃が生育適温でオーチャードグラス、シロクロバなど多くは多年生であるが、イタリアンライグラスは一年生である。寒地型のマメ科牧草は粗タンパクやミネラルの濃度が高く、飼料としての品質が優れるため、イネ科牧草と混播して利用されることが多い。本研究で調査対象とした草地は、寒地型の多年性牧草を主体とした草種構成である。寒地型牧草は、関東以南で夏期の高温により夏枯れの被害を受ける場合も多い。夏枯れなどで草地の植生が劣化した場合には、草地を耕起して再播種し生産性を高める必要がある。このような草地では7~8年に1回の草地更新が推奨されている。

人工草地には堆肥やスラリーなどの家畜排泄物や化学肥料が表面散布され、牧草は土壤から養水分を吸収して生育し家畜飼養に利用される。家畜排泄物の処理法は地域により異なるが、日本で最も広く行われている処理法は堆肥化である。堆肥化が適切に行われると、有機物の分解に伴う高温条件で芳香族の有害物質が分解され病原菌や雑草種子が死滅する。堆肥には窒素を含む分解し易

い有機物からリグニンのように難分解性の有機物まで様々な有機物が含まれる。堆肥化過程で敷料や副資材として添加されるバーク、オガクズ、イナワラ、モミガラなどの有機物はC/N比が高いため、堆肥の分解速度を相対的に低下させる。本研究で用いた家畜排泄物は、フリーストール牛舎から排出された乳牛の排泄物を堆肥化したものであり、牛舎内で敷料として用いられたバークを含んでいる。このような堆肥を草地に散布すれば、ふん尿をそのまま散布した場合に比べ、草地土壤への有機物蓄積量を多くする効果が期待できる。また、堆肥分解に伴い大気中に放出される二酸化炭素(CO₂)の一部は、作物生育の盛んな時期に作物群落内で光合成に再利用される¹³³⁾。堆肥の有効活用は、草地の生産性と養分循環の輪を適切に維持していく上で必要不可欠である。

しかし、マメ科牧草など分解し易い牧草残渣の還元、草地の生産性を高めるために行われる草地更新、家畜排泄物に由来する堆肥などの有機物施用は、土壤中の無機態窒素や易分解性有機物の濃度を増加させ、温暖化係数の高いメタン(CH₄)や亜酸化窒素(N₂O)の排出量を変化させる可能性がある。以上の理由から、草地の持つ温暖化の抑制効果を適切に評価するためには、CH₄やN₂Oの排出量にも注意を払う必要がある。

以上の背景に基づき、本研究では、草地の土壤有機物の動態と関係の深い植生構成、草地更新、堆肥散布がCH₄とN₂Oの排出量に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。そこで、まず、イネ科単播草地、マメ科単播草地、混播草地のCH₄とN₂Oの排出量を比較し、窒素固定能を有するシロクロバの作物残渣を介した土壤への窒素移譲や土壤通気性の改善に注目しながら、草種構成の影響を明らかにした。次に、更新を行った草地と行わなかった草地のN₂O排出量を比較し、古い牧草の根と刈株をすき込むことによる土壤理化学性の変化に注目しながら、更新の影響を明らかにした。続いて、堆肥と化学肥料を組み合わせる施用した草地と化学肥料のみを単独施用した草地のCH₄とN₂Oの排出量を牧草生育時期ごとに比較し、堆肥散布や施肥後の降雨とCH₄とN₂Oの排出量の関係に注目しながら、堆肥散布の影響を明らかにした。そして、これらの知見と既往研究を統合し、草地の有機物管理がCH₄とN₂Oの排出量に及ぼす影響を、特に施用有機物の質に重点を置いて考察した。

第2節 CH₄排出量の既往研究

CH₄は大気中で長寿命、かつ、温室効果を有する微量

ガスで人為的な地球温暖化に寄与している。大気中の CH_4 濃度は、1745 ppb で、年間 7 ppb ずつ増加していたが、最近の CH_4 濃度の増加率は頭打ち状態である^{26, 28)}。 CH_4 は成層圏オゾン (O_3) が塩素ラジカルにより破壊されるのを抑制する²¹⁾。大気中 CH_4 の増加には、人為的な CH_4 発生源の増加と CH_4 吸収源の減少の両者が関与すると考えられている。土壌生態系は土壌水分により CH_4 の吸収源と発生源の両者になり得る⁵⁶⁾。好氣的条件では土壌の嫌氣的部位で生成された CH_4 と大気中 CH_4 の両者が CH_4 酸化菌により酸化される¹⁰¹⁾。土壌断面での CH_4 酸化活性は多くの場合、鈳質土壌の最上層で最大となる¹⁾。土壌表層の物理的性質と窒素施肥は CH_4 吸収量を制御する重要因子である。

家畜排泄物の施用直後を除けば草地飼料畑では CH_4 吸収が観測されることが多い。この CH_4 吸収は CH_4 酸化菌の働きによる¹³⁰⁾。 CH_4 酸化菌は CH_4 を CO_2 に酸化する働きを持つ。土壌中では CH_4 生成と CH_4 酸化の両者が同時進行し、 CH_4 の生成量が CH_4 の酸化量より多ければ地表面で CH_4 放出が観測され、 CH_4 酸化量が CH_4 生成量より多ければ地表面で CH_4 吸収が観測されることが多い。 CH_4 吸収は以下のように様々な土壌環境因子や人為的管理の影響を受ける。トラクタによる土壌圧密は CH_4 吸収量を低下させることが知られている。表層土壌の通気性が低下し、土壌中の CH_4 や O_2 の拡散速度が低下するためである³⁰⁾。土壌水分は CH_4 吸収量を変動させる。土壌水分の高まりとともに土壌中の CH_4 や O_2 の拡散速度が低下するためである¹¹⁶⁾。また、極めて低い土壌水分では CH_4 酸化菌が低水分ストレスを受け CH_4 吸収量が減少する。施肥は CH_4 吸収を低下させる場合が多い^{83, 89)}。その原因は土壌微生物相の変化、分子形状の類似する NH_4^+ による CH_4 酸化の阻害、 NO_2^- 生成や土壌酸性化による CH_4 酸化菌の活性低下など複合的である⁴⁶⁾。草地土壌は畑地土壌より CH_4 酸化菌数が多いとの報告もあるが、草地土壌で CH_4 酸化に関与する土壌微生物の種類は必ずしも明らかではない¹²⁴⁾。

草地にふん尿を施用した直後には多量の CH_4 排出が観測される。この CH_4 排出の大部分は、ふん尿が草地に還元されて新たに CH_4 が生成されたのではなく、ふん尿自体に含まれていた CH_4 が排出された結果と推察されている⁶⁰⁾。放牧牛のふんからの CH_4 排出量は飼料の種類やふんの C/N 比の影響を受けることが示され⁵⁰⁾、豚スラリー散布直後の CH_4 排出は土壌中の揮発性脂肪酸 (VFA) の消失とともに認められなくなったと報告さ

れている¹⁰⁶⁾。放牧牛のふん尿からの CH_4 排出量は、降水量と気温の影響を受けることが示され¹²⁸⁾、ふんが排泄された後 10 日以内の降雨量が少なければ CH_4 排出量は少ないが、この期間の降雨量が多ければ、ふん内部に嫌氣的部位が維持され CH_4 排出量は多くなったと報告されている³⁷⁾。畜草研の草地では、生ふん 1 Mg 当たり約 42 g、スラリー 1 Mg 当たり約 13 g の CH_4 が排出された。草地土壌の CH_4 吸収量を $1.3 \text{ kg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ とすると、生ふん $32 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ 、または、スラリー $100 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ 以下の還元量であれば、生ふんやスラリーから大気中への CH_4 排出量より草地土壌の CH_4 吸収量の方が大きいと見積もられた⁶⁰⁾。高水分のスラリーは土壌に浸透するため CH_4 排出量は土壌特性の影響を受け易いが、土壌に浸透しない程度の水分であれば、スラリー自体から CH_4 が排出されるため土壌特性の影響を受けにくいと言われている¹⁷⁾。放牧地の溶脱水が河川へと移動する過程で、 CH_4 の間接排出の可能性が指摘された⁹⁶⁾。

しかし、日本の草地における CH_4 排出量の測定例は極めて少なく、 CH_4 の排出量 (吸収量) がどのような量的範囲に分布し、どのような季節変化や年次変動を伴うかも明らかではない。また、窒素固定能を有するマメ科の牧草による土壌への窒素移譲や土壌物理性の変化がどのように CH_4 吸収量に影響を及ぼすか、堆肥散布により CH_4 排出量が増加するか、集約的な草地で窒素施肥により CH_4 吸収量が低下するかなどに対する情報もほとんど存在しない。

第3節 N_2O 排出量の既往研究

N_2O は大気中で長寿命、かつ、温室効果を有する微量ガスで人為的な地球温暖化に寄与している。大気中の N_2O 濃度は、314 ppb で、年間 0.8 ppb ずつ増加している^{26, 81)}。 N_2O は成層圏 O_3 の破壊にも寄与する²¹⁾。農耕地と自然生態系は、 N_2O の主要な排出源と考えられている^{64, 82)}。窒素肥料^{4, 66, 83)}、スラリー^{19, 29)}、堆肥^{18, 121)}、牧草残渣^{8, 111)} は、 N_2O 排出源となる。

草地飼料畑を含む農耕地では、窒素施肥後、数日～2週間程度で N_2O 排出量が増加する。その後、 N_2O 排出量は減少し施肥前の水準に戻るが、降雨により土壌水分が高まると、再び排出が認められる場合がある。土壌から排出される N_2O は微生物による脱窒と硝化の過程で生成する¹³¹⁾。脱窒は NO_3^- や NO_2^- が嫌氣的な微生物により最終的に N_2 に還元される反応であるが、中間産物として N_2O が生成する。脱窒は有機物を電子供与体に用い、酸化的な窒素化合物を電子受容体として用

いる一種の呼吸であり、酸素 (O_2) が無い環境では最初に NO_3^- の還元が起こる。 N_2O は脱窒の中間産物であるため、土壌通気性と関わりの深い土壌物理性も N_2O 排出量に影響を及ぼす。硝化は NH_4^+ が NH_4^+ 酸化菌により NO_2^- に酸化され、続いて NO_2^- が NO_2^- 酸化菌により NO_3^- に酸化される反応であるが、前者の副産物として N_2O が生成する。好氣的条件下では、酸化された NH_4-N 、または、生成した NO_3-N の量に応じて N_2O が生成され、その生成比は約 0.1 % である。しかし、この N_2O 生成比は O_2 が制限された条件では大きく増加する。 N_2O 排出量を制御する因子は施肥量、土壌水分、地温、土壌中の易分解性有機物、土壌 pH などである^{12, 22, 69, 81, 126}。

作物に由来する有機物投入は N_2O 排出量を変化させることが知られている。C/N 比が小さな作物残渣は土壌中で分解され易く、主に脱窒により N_2O の排出係数が大きくなること示された。無機態窒素の有機化や脱窒促進により N_2O の排出係数は負の値となる場合も認められている^{111, 112}。 N_2O 排出量抑制のため早春の草地更新が適切であると指摘された⁹。また、牧草刈り取り後に N_2O 排出量が増加することが示され、根分泌物中の易分解性有機物が根圏の脱窒活性を高めた結果と推察されている¹⁰。

家畜排泄物に由来する有機物投入も N_2O 排出量を変化させることが知られている。鶏ふんを施用した草地では、化学肥料を施用した場合に比べて多くの N_2O 排出量が認められている⁵⁴。スラリー散布は土壌中で硝化や脱窒を受け易い窒素源、易分解性有機物、水分を増加させて N_2O 排出量を増加させ¹⁰⁶、スラリーを散布した草地からの N_2O 排出量は畜種や散布時期により異なることが報告されている¹⁸。放牧草地では放牧しない草地より N_2O 排出量が多く、ふん尿からの窒素供給や蹄圧の影響が示唆された^{14, 56}。畑地における化学肥料由来の N_2O 排出係数は 0.62 ± 0.48 % であったが⁴、牛堆肥など分解が遅い家畜排泄物の場合には、0.05 % 程度の小さな排出係数が報告された。豚堆肥や鶏堆肥のように C/N 比の小さな有機物は化学肥料より N_2O 排出係数が大きい、牛堆肥のように C/N 比の大きな有機物は化学肥料より N_2O の排出係数が小さいことが示された²。スラリーを 60 Mg ha^{-1} および 150 Mg ha^{-1} 連用した飼料畑では、 N_2O の排出係数は 0.4 % に過ぎなかったが、 300 Mg ha^{-1} を連用した飼料畑では平均で 4.7 % に達した⁸⁶。 N_2O 排出量を抑制するために適切な窒素の施用量を遵守することが重要であると指摘されている¹¹⁵。

農耕地からの窒素溶脱に伴う N_2O の間接排出の排出係数が 0.24 % と見積もられた⁹⁷。

しかし、日本の草地における N_2O 排出量の測定例は極めて少なく、 N_2O 排出量がどのような量的範囲に分布し、どのような季節変化や年次変動を伴うかも明らかでない。また、窒素固定能を有するマメ科牧草による土壌への窒素移譲が N_2O 排出量に影響を及ぼすか、更新に伴う根や刈株のすき込みにより N_2O 排出量が増加するか、堆肥化された家畜排泄物の利用が草地からの N_2O 排出量に影響を及ぼすかなどの情報はほとんど存在しない。

第 2 章 試験方法

第 1 節 観測サイト

本研究は、畜草研那須研究拠点（北緯 36 度 55 分、東経 139 度 55 分）の草地で行った。これらの草地は標高 320 m、農耕地と林地の境界領域に位置し、林地を開墾後 30 年間以上草地として管理された。土壌は火山灰由来であり、倉島ら⁶⁵により、Entic Haplumbrept, loamy, mixed, mesic、または、Entic, Haplumbrepts, loamy over fragmental, mixed, mesic として分類された¹⁰⁵。地下水面は少なくとも地表から 23 m 以下であり、30 年平均の降水量と気温は 1561 mm y^{-1} 、 $12.0 \text{ }^\circ\text{C}$ であった¹⁰⁷。草地の地表面はほぼ水平であった。

第 2 節 測定方法

1) ガスフラックスの測定方法 (1)

長方形の鉄枠（縦 332 mm × 横 402 mm × 高さ 50 mm）を設置し、土壌中に約 30 mm の深さまで挿入した。鉄枠は、最初の測定の前日に設置し、測定期間の最初から最後まで継続して同一箇所に設置した。直方体の塩化ビニル製のチャンバー（縦 315 mm × 横 386 mm × 高さ 220 mm）を鉄枠の最上部に静かに載せ、チャンバーと鉄枠を発泡ゴムのパッキンで密封した。チャンバーの被覆面積は 0.133 m^2 、容積は 26.7 L であった。チャンバー内の大気試料はサンプルチューブから電池式エアポンプ（MP-30CF, SHIBATA, 吸引速度 100 mL m^{-1} 以下、採取時間 30 秒間）で採取し、1L のテドラーバッグに保存した。大気試料はチャンバーを密封してから 0, 10, 20 分後に採取した。フラックス観測は午前 8 時から午後 1 時の間に行った（第 3 章）。

2) ガスフラックスの測定方法 (2)

円筒型チャンバー（直径約 400 mm、高さ 300 mm）

を地表面から 30 mm の深さまで埋設した。チャンバーは測定の前日までに設置し、約 2 ヶ月毎に設置位置を移動した。チャンバー内の大気試料 (20 mL) をプラスチックシリンジで採取しバイアル瓶 (10 mL) に保存した。大気試料はチャンバーを密封後 0, 30 分後に採取した。フラックスの測定は、日内変化の影響を避けるため、午前 8 時から午前 11 時までの間に行った (第 4, 5 章)。

3) ガスフラックスと積算排出量の計算方法

N_2O と CH_4 のフラックスは以下の式¹²⁹⁾で求めた。

$$F = \rho \times \frac{V}{A} \times \frac{\Delta c}{\Delta t} \times \frac{273}{T} \times 10^3 \quad (\text{式 1-1})$$

F は N_2O と CH_4 のフラックス ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$)、 ρ は 273K, 1 気圧における気体の密度 ($\mu\text{g m}^{-3}$)、 A はチャンバーの底面積 (m^2)、 V はチャンバーの容積 (m^3)、 $\Delta c/\Delta t$ は観測されたチャンバー内の濃度の平均増加速度 ($\text{m}^3 \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$)、 T はチャンバー内、または、大気中の平均気温 (K) である。 CH_4 と N_2O に対する ρ の値は、 $\rho_{CH_4-C} = 0.536 \times 10^9$ 、 $\rho_{N_2O-N} = 1.25 \times 10^9$ である。

N_2O と CH_4 の積算排出量は以下の式で求めた。

$$T_n = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(t_{i+1} - t_i) \times (f_i + f_{i+1})}{2} \times 10^{-5} \quad (\text{式 1-2})$$

T_n は N_2O または CH_4 の積算排出量 ($\text{kg ha}^{-1} \text{period}^{-1}$)、 t_i は i 回目のフラックス測定を行った時間、 f_i は i 回目の測定時における N_2O または CH_4 のフラックス ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$) である。

4) ガス分析

CH_4 濃度は、FID 検出器を装備したガスクロマトグラフ (島津製作所, GC-8A, モレキュラーシーブ 5A カラム) で測定した。カラムと検出器の温度は、それぞれ 70, 200 °C であった。1.02, 2.98 $\mu\text{L CH}_4 \text{L}^{-1}$ の標準ガスで測定値を補正した。 N_2O 濃度は、ECD 検出器を装備したガスクロマトグラフ (島津製作所, GC-9A, または, GC-14B, ポラパック Q カラム) で測定した。カラムと検出器の温度は、それぞれ 70, 340 ~ 348 °C であった。1.91 $\mu\text{L N}_2O \text{L}^{-1}$ の標準ガスを N_2 ガスで 0 ~ 0.995 $\mu\text{L N}_2O \text{L}^{-1}$ の範囲に希釈し、測定値を補正した。

5) 土壌物理性の測定

100 mL のステンレス製コア (大起理化工業, DIK-1801) で、地表面から 0 ~ 5 cm の深さの土壌を採取した。容積重は試料を 105 °C で 24 時間乾燥して求めた。土壌水分の季節変化は TDR プローブ (IMKO, TRIME-IT) で測定した。プローブは、地表面から 10 cm の深度に水平方向 (第 3 章)、または、地表面から 0 ~ 10 cm までの深度に垂直方向 (第 4, 5 章) に設置した。土壌水

分は黒ボク土用の検量線³²⁾により再計算した。補正式は以下の通りである。

$$\theta_g = 0.954 \times \theta_v + 0.1168 \quad (\text{式 1-3})$$

θ_v は TDR の表示 ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)、 θ_g は体積土壌水分率 ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$) である。地温はデジタル温度計 (Sato, PC-2200) で測定した。土壌水分と地温はフラックスの観測直後に測定した。降水量のデータは畜草研那須研究拠点の気象観測施設から入手した。

6) 土壌化学性の測定

0 ~ 5 cm の深さから生土を採取し 2 mm の篩を通し十分に混合した。生土 (15 g) を 100 mL の 2 mol L^{-1} の塩化カリウム水溶液で振とうして抽出し、濾紙 (アドバンテック, No.6) で濾過した。濾液中のアンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) の濃度を比色法で測定した (Aquatec, 5400, または, Foss, FIAstar5000)。生土 (15 g) を 25 mL の蒸留水で振とうし、pH(H_2O) を pH メータ (堀場製作所, F-22) で測定した。土壌の全炭素濃度、全窒素濃度を CN コーダ (ヤナコ, MT-600, または, J-サイエンス, JM1000CN) で測定した。

第 3 章 草地の草種構成が CH_4 と N_2O の排出量に及ぼす影響

第 1 節 はじめに

土壌の CH_4 生成能と吸収能は土地利用や生態系により異なる¹¹³⁾。一般に、林地は大気中 CH_4 の吸収源と考えられている。Keller ら⁵⁷⁾ は、林地を農地化することで土壌の CH_4 吸収能が低下することを示した。Mosier ら⁸³⁾ は自然草地をかく乱すると CH_4 吸収能が低下することを示した。牧草を栽培することで CH_4 吸収能はさらに低下する⁸⁹⁾。草地と農耕地では、 CH_4 の発生と吸収の両者が観測されている^{44, 55)}。このように土壌の CH_4 吸収能の低下は耕起による土壌かく乱と窒素施肥が原因と考えられる。しかし、窒素固定を行うマメ科牧草による土壌への窒素移譲や土壌物理性の改善が草地の CH_4 吸収能に及ぼす影響は明らかにされていない。

Corre ら¹⁶⁾ は土地利用が N_2O フラックスを制御することを示唆した。彼らは林地と草地からの N_2O 年間排出量は施肥された農耕地に比べ極めて小さいことを示した。Keller ら⁵⁸⁾ によれば、 N_2O フラックスは林地を草地化した最初の数年間は増加するが 10 ~ 20 年以内にバックグラウンド値以下に減少する。Mosier ら⁸⁴⁾ は草地を小麦畑に変えることにより N_2O 排出量が増加する

ことを示した。しかし、窒素固定を行うマメ科牧草による土壌への窒素移譲が草地からの N_2O 排出量に及ぼす影響は明らかにされていない。

草地は全陸域面積の 27 % を占めるため²⁷⁾、草地生態系の CH_4 と N_2O のガス交換がどのように制御されているかを理解することは重要である。草地土壌には地上部リターや枯死根が絶え間なく供給されるため、豊富な土壌微生物相を有する。しかし、草種が草地の CH_4 と N_2O のガス交換に及ぼす影響に関する情報は少ない。本研究の目的は、オーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) 単播草地、シロクローバ (*Tritolium repens* L.) 単播草地、オーチャードグラスとシロクローバの混播草地からの CH_4 と N_2O の排出量を比較することである。シロクローバは土壌の物理的構造を迅速に改善⁸⁵⁾、その牧草残渣は無機態窒素と易分解性有機物の両者を土壌微生物に供給する⁵³⁾。シロクローバの窒素固定は草地生態系への正味の窒素供給量を増加させ、有機物のターンオーバーを促進する³⁴⁾。本研究では、シロクローバは土壌物理性の改善と土壌への窒素移譲により土壌の物理・化学・生物的性質を変化させ草地土壌の CH_4 と N_2O の排出量を変化させると推定した。

第2節 方法

1) 観測サイト

観測は畜草研那須研究拠点の草地で行った(第2章第1節を参照)。

2) 草地植生の処理方法

各試験区 (100 m² × 3) は互いに隣接し、3種類の異なる草種構成、すなわちオーチャードグラス (plot1)、シロクローバ (plot2)、オーチャードグラスとシロクローバの混播 (plot3) であった。plot1, 2, 3 は、それぞれ 1999, 1999, 1996 年に更新された。全ての試験区には、200 kg N ha⁻¹ y⁻¹ の窒素肥料が施肥されていたが、フラックスの観測を開始する 18 ヶ月前から試験開始までの期間 (1999 年 10 月～2001 年 3 月) と試験開始から試験終了までの期間 (2001 年 4 月～2002 年 3 月)、窒素肥料は施用されなかった。収穫は 2001 年 5 月 7 日、6 月 20 日、8 月 6 日、9 月 26 日、11 月 21 日の計 5 回行われた。収量と草種構成をそれぞれの収穫時期ごとに調査した。

3) フラックス観測

それぞれの試験区に 4 箇所ガス採取地点を設置し、2001 年 4 月～2002 年 3 月の 1 年間、 CH_4 と N_2O のフラックスを観測した(第2章第2節 1)を参照)。フラックス観測は 1 週間に 1 回行った。

4) ガス分析

試料採取から 8 時間以内に CH_4 と N_2O を分析した(第2章第2節 4)を参照)。

5) 土壌物理性の測定

試験区ごとに TDR プローブを地表面から 10 cm の深さに水平方向に 2 本設置し、土壌水分を測定した。深さ 10 cm の地温を測定した(第2章第2節 5)を参照)。

6) 土壌化学性の測定

土壌中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度、土壌 pH(H_2O) を約 2 週間間隔で測定した(第2章第2節 6)参照)。

7) 微生物数の計測

0～5 cm の土壌中の CH_4 酸化菌、 NH_4 酸化菌、脱窒菌の数を最確値法 (MPN 法) で計測した。MPN 法は、培地を入れた多数の試験管に、水で段階的に希釈した土壌懸濁液を一定量ずつ接種して十分な期間培養した後、計測対象の菌の生育の有無を判定して統計処理により菌数を計測する方法である。新しく採取した土壌を 2 mm の篩を通した後十分に混合した。それぞれの土壌試料について標準希釈 (10 倍希釈、5 反復) を行った。試料希釈液を 10 mL の CH_4 酸化菌培地¹⁰⁸⁾ の入った 30 mL のバイアル瓶 (無色) に移し変え、ブチルゴム栓で密封した。ヘッドスペース体積の 50 % の空気を除去後、同量の CH_4 を添加した。30 °C 暗条件で 4 週間培養後、ヘッドスペースの CH_4 濃度を測定し、 CH_4 酸化菌生育の有無を判定した。試料希釈液を 3 mL の NH_4 酸化菌培地⁶¹⁾ の入った 10 mL 試験管に移し替え、25 °C 暗条件で 4 週間培養後、 NO_2^- の生成を示す発色の有無で、 NH_4^+ 酸化菌生育の有無を判定した⁹⁹⁾。試料希釈液をグラム管と 10 mL の脱窒菌培地⁸⁷⁾ の入った 25 mL 試験管に移し替え、30 °C 暗条件で 1 週間培養後、 NO_3^- の消失を示す発色の有無とグラム管内の気泡の有無で、脱窒菌生育の有無を判定した¹¹⁰⁾。

8) 統計解析

統計解析は STATISTICA 2000 (StatSoft 社) で行った。シャピロ・ウィルキスの検定で CH_4 と N_2O のフラックスの頻度分布の正規性を確認し、 p 値が 0.05 以下で正規分布と異なると判定した。ウィルコクソンの検定で各試験区の CH_4 と N_2O のフラックスの比較を行い、 p 値が 0.05 以下で試験区間の有意差を検出した。回帰分析では各試験区のフラックスの平均値を用いた。全ての試験区の CH_4 と N_2O のフラックスと土壌環境因子 (水分、地温、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度、土壌 pH 値) に対してピアソンの相関係数とスピアマンの相関係数を算出した。

第3節 結果

1) 土壌化学性

オーチャードグラス草地である plot1 の土壌中の

$\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は年間を通じてほぼ一定に維持されたが、4～8月の間、シロクロバ草地である plot2 では plot1 より高い濃度を示した (図 1a, b)。

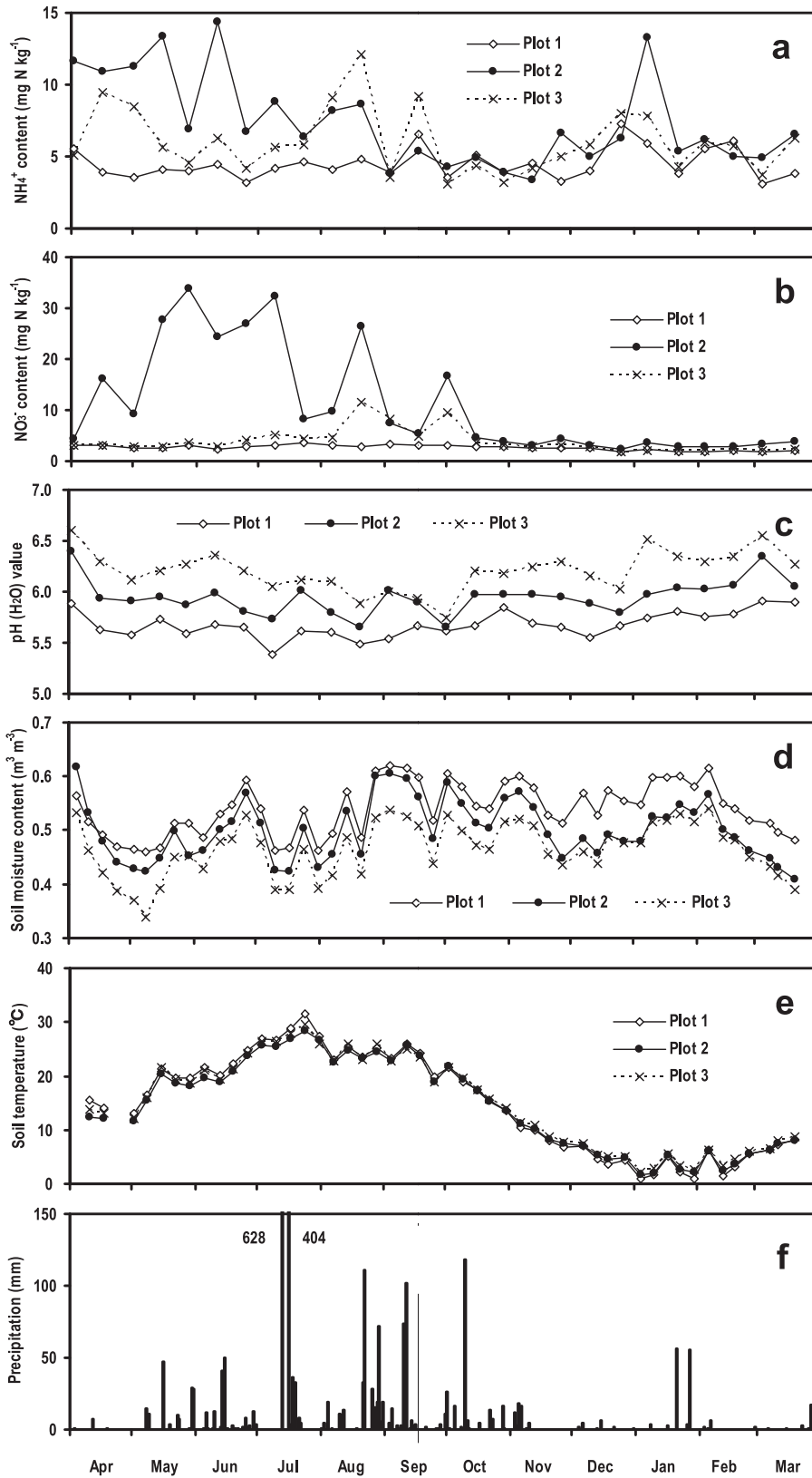


図 1. オーチャードグラス草地 (Plot1) シロクロバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) の土壌中の (a) NH_4^+ 濃度, (b) NO_3^- 濃度, (c) pH (H_2O), (d) 水分, (e) 地温, (f) 降雨量 (4月21日～5月6日, 9月20日, 1月1日～1月6日, 2月19日～2月24日の期間の降雨量は欠測)

plot2は7月中旬にNO₃-N濃度が急速に低下した。オーチャードグラスとシロクローバの混播草地であるplot3では、4～8月の間、NH₄-N濃度がplot1より高かったが、plot2より低く、8～9月を除けば、NO₃-N濃度は、plot1とほぼ同じであった。C/N比は全ての試験区で同等の値を示した(表1)。シロクローバの植栽は、無機態窒素を高める傾向にあった。plot1, plot2, plot3の土壌pH値は、それぞれ5.5～5.9, 5.8～6.6, 5.9～6.4の範囲に分布した(図1c)。

2) 土壌物理性

plot2の容積重はplot1, plot3より小さかった(表1)。plot1, plot2, plot3の土壌水分は、それぞれ0.46～0.62, 0.41～0.62, 0.34～0.54 m³ m⁻³の範囲に分布した(図1d)。地温は全試験区でほぼ同じであった(図1e)。地温の最高値と最低値は、それぞれ2001年7月24日、2002年1月4日に観測された。7月13日(628 mm d⁻¹)と7月16日(404 mm d⁻¹)に豪雨が記録された(図1f)。

3) 収量

収量は全ての試験区で9月に最大となり(図2), plot1, plot2, plot3の年間収量は、それぞれ2.1 ± 0.6, 3.4 ± 0.5, 4.5 ± 0.3 Mg DW ha⁻¹ y⁻¹であった。各試験区の収量は、それぞれ互いに異なっていた。plot1, plot2, plot3の年間を平均したマメ科率は、それぞれ0, 90, 28%であった。

4) 土壌微生物数

6～10月、シロクローバが栽植されているplot2, plot3では土壌中のCH₄酸化菌数がplot1より多かった(図3a)。9月には、plot2, plot3の土壌中のNH₄酸化菌数が少し多くなったが、plot1では季節変化が明らかではなかった(図3b)。土壌中の脱窒菌数は全試験区で9月に最大となった(図3c)。11月にはplot1, plot3で脱窒菌数が減少したが、plot2では夏期とほぼ同じ値を示した。

5) CH₄フラックス

各試験区から大気中へのCH₄フラックスは負の値、または、ほぼゼロであった(図4)。plot1を除き、各試

表1. 試験区の土壌理化学性

	容積重 [†] (Mg m ⁻³)	全炭素 [‡] (g N kg ⁻¹)	全窒素 [‡] (g C kg ⁻¹)	C/N比 [‡]
イネ科草地 (Plot1)	0.95 ± 0.05	46 ± 1	3.3 ± 0.1	14 ± 0
マメ科草地 (Plot2)	0.83 ± 0.06	51 ± 5	3.6 ± 0.3	14 ± 0
混播草地 (Plot3)	0.94 ± 0.05	39 ± 8	2.9 ± 0.5	13 ± 0

それぞれの値は平均値 ± 標準偏差を示す。†n=12. ‡n=2.

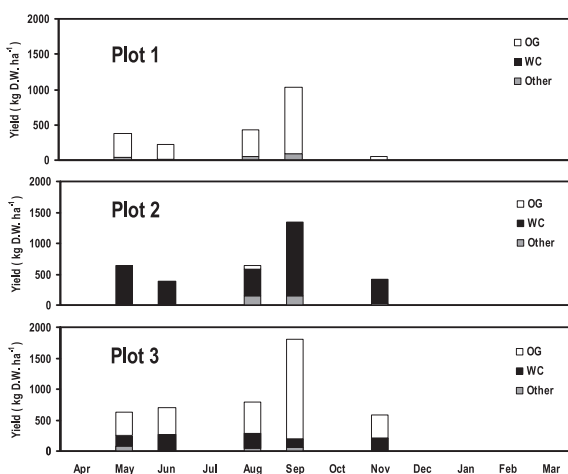


図2. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクローバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) の乾物収量 (OG, WC は、それぞれオーチャードグラス, シロクローバの収量を示す)

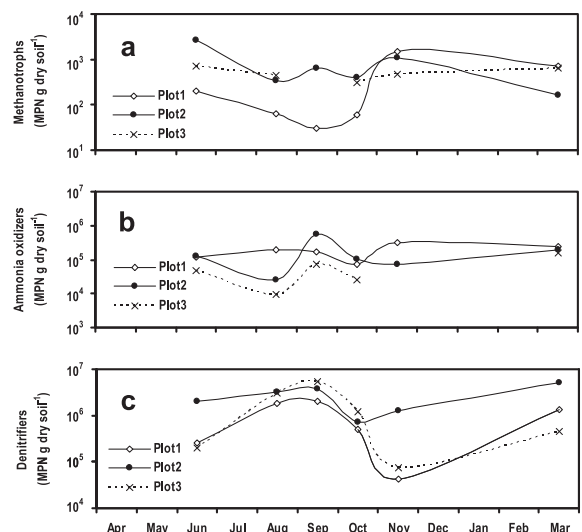


図3. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクローバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) の (a) CH₄酸化菌数, (b) NH₄酸化菌数, (c) 脱窒菌数

験区のフラックスは正規分布とは異なる判断された。plot1, plot2, plot3からのCH₄フラックスは、それぞれ-45~-3, -65~-9, -45~-3 μg C m⁻² h⁻¹の範囲に分布した。観測されたCH₄フラックスの範囲は、無施肥の別の草地で以前に観測されたフラックス、具体的には-31~0 μg C m⁻² h⁻¹ ⁷²⁾, -46~-5 μg C m⁻² h⁻¹ ⁸³⁾ とほぼ同じであった。plot2のCH₄フラックスは、plot1, plot3より有意に低かった。plot1, plot2, plot3は、それぞれ1.8 ± 0.5, 2.4 ± 1.2, 1.8 ± 0.4 kg C ha⁻¹ y⁻¹のCH₄吸収源であった。各試験区のCH₄年間吸収量に処理間差は認められなかった。CH₄フラックスは土壌水分(p < 0.001), 土壌中のNH₄-NとNO₃-Nの濃度(p < 0.05)と相関関係を有した(表2)。

6) N₂O フラックス

各試験区から大気中へのN₂Oフラックスは正の値、または、ほぼゼロであった(図5)。各試験区のフラッ

クスは正規分布とは異なる判断された。plot1, plot2, plot3からのN₂Oフラックスは、それぞれ1~10, 2~122, 1~38 μg N m⁻² h⁻¹の範囲に分布した。plot1とplot3からのN₂Oフラックスは、無施肥の別の草地で以前に観測されたフラックス、具体的には1~15 μg N m⁻² h⁻¹ ⁷²⁾, 0~45 μg N m⁻² h⁻¹ ⁸³⁾ とほぼ同じであった。plot2からのN₂Oフラックスは、これらの文献値より少し多かった。N₂O排出量は、plot2で最多、plot1で最少、plot3ではその中間であった。シロクロバが栽培されるとN₂O放出が増加した。各試験区で観測されたN₂Oフラックスは、それぞれ互いに異なっていた。plot1, plot2, plot3は、それぞれ0.39 ± 0.19, 1.59 ± 0.15, 0.67 ± 0.15 kg N ha⁻¹ y⁻¹のN₂O排出源であった。各試験区からのN₂O年間排出量は互いに異なっていた。N₂Oフラックスは、土壌中のNO₃-N濃度(p < 0.001), 地温(p < 0.001)と正の相関関係を有した(表3)。

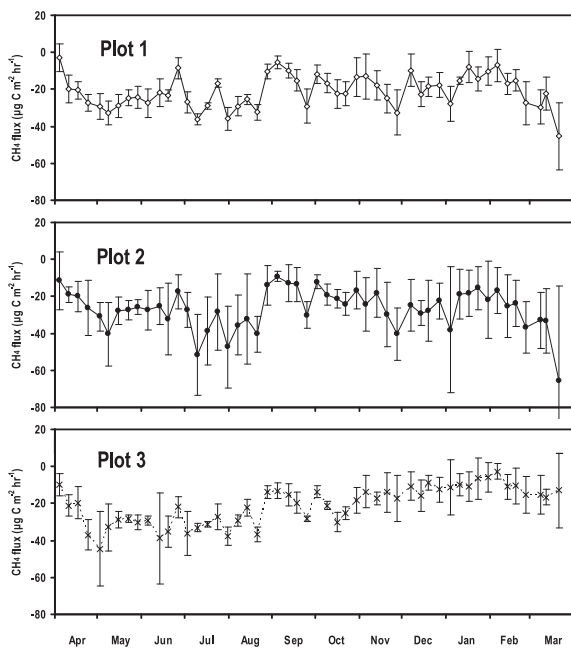


図4. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクロバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) のCH₄フラックス。エラーバーは標準偏差を示す (n=4)。

表2. CH₄フラックスと土壌環境因子の相関係数

	Pearson's R	Spearman's R
NO ₃ ⁻	-0.24 *	-0.30 **
NH ₄ ⁺	-0.23 *	-0.24 *
pH (H ₂ O)	0.08	0.07
土壌水分	0.65 ***	0.68 ***
地温	-0.18	-0.22

*, **, *** は、それぞれ、5, 1, 0.1%水準で有意な相関であることを示す。

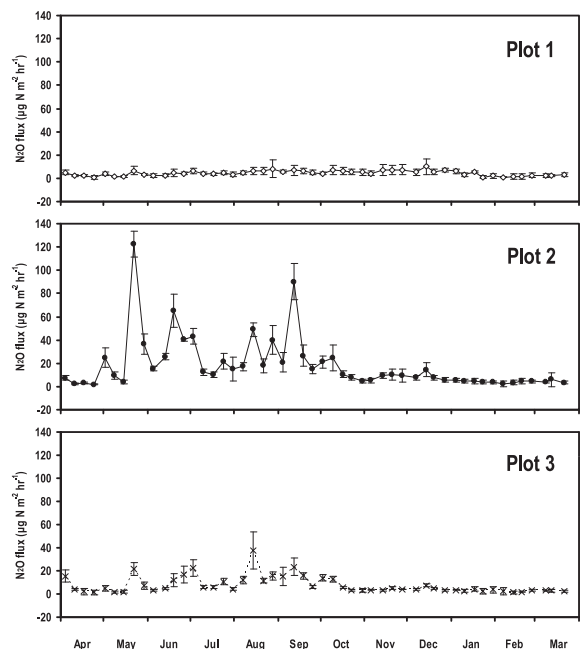


図5. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクロバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) のN₂Oフラックス。エラーバーは標準偏差を示す (n=4)。

表3. N₂Oフラックスと土壌環境因子の間の相関係数

	Pearson's R	Spearman's R
NO ₃ ⁻	0.66 ***	0.69 ***
NH ₄ ⁺	0.24 *	0.18
pH (H ₂ O)	-0.12	-0.18
土壌水分	0.04	-0.01
地温	0.41 ***	0.47 ***

*, **, *** は、それぞれ、5, 1, 0.1%水準で有意な相関であることを示す。

第4節 考察

1) 窒素のターンオーバー

シロクロバによる窒素移譲は、草地生態系に対する窒素供給を増加させ、有機物のターンオーバーを活性化させる³⁴⁾。シロクロバは3~4%の窒素を含み、このように窒素濃度の高い牧草は土壤中で迅速に分解される⁶⁾。東田ら³⁵⁾によれば、シロクロバからオーチャードグラスへの窒素移譲の主な機作は地上部リターの土壤還元と報告されている。本研究で、plot2の土壤中の高い $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は分解過程のシロクロバから無機化する窒素量が牧草の窒素吸収量より多かったことを示唆している。

シロクロバの無いplot1は収量も少なく、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度が年間を通して低い値を示した(図1a, b)。plot3では、分解過程のシロクロバから放出された無機態窒素をオーチャードグラスが迅速に吸収した。これらの結果は、シロクロバがplot2とplot3の土壤中の窒素のターンオーバー速度を増加させたことを示す。

2) CH_4 吸収の制御要因

表層土壌の物理性は CH_4 吸収を制御する重要な因子である^{30,44)}。表層土壌の物理性は大気中の CH_4 と O_2 の土壌中への拡散や土壌孔隙中の CH_4 と O_2 の CH_4 酸化菌への拡散を制御する。本研究で、plot2の容積重はplot1とplot3より小さかった(表1)。plot2の容積重が小さかった原因は、おそらく土壌構造の変化と密接に関連し、この変化は明らかにシロクロバによりもたらされたと考えられる。Myttonら⁸⁵⁾によれば、シロクロバは土壌中の粗孔隙の割合を増加させ、ライグラスより速く土壌構造を改善する。本研究では、plot2の CH_4 吸収量が多かったことをplot2の容積重が小さかったことで部分的に説明可能である。また、各試験区の CH_4 フラックスの季節変化は土壌水分の変化により説明できる(図4, 1d)。すなわち、各試験区の CH_4 フラックスは土壌水分の増加とともに増加したことから、(図6, 表2)、土壌水分が土壌中の CH_4 と O_2 の拡散速度を減少させ、地表面での CH_4 吸収を抑制したと推察された。

好気的な土壌水分条件では、土壌中の嫌氣的部位で生成された CH_4 と大気中 CH_4 の両者が CH_4 酸化菌により酸化されるため、地表面で観測される CH_4 フラックスは、これらを全て含めた正味のフラックスである¹⁰¹⁾。土壌粒団内部には、嫌氣的環境が発達する場合があり、土壌粒団の内部で CH_4 生成が起こる可能性が指摘されている¹²⁵⁾。本研究でも、土壌水分の増加に伴って土壌中で微量の CH_4 が生成し、地表面で観測される CH_4 吸収量

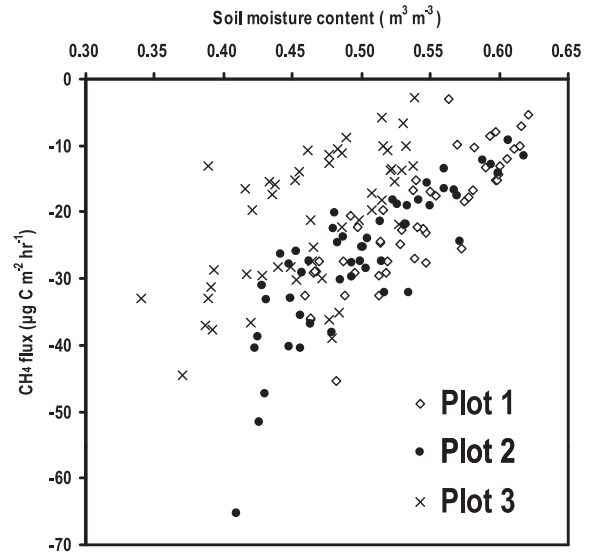


図6. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクロバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) における土壌水分と CH_4 フラックスの関係

が相対的に減少した可能性も考えられる。

Mosierら⁸³⁾とHütschら⁴⁷⁾は、土壌中の窒素のターンオーバー速度が増加することで CH_4 吸収が阻害されると結論した。本研究では、plot2とplot3の窒素のターンオーバー速度はplot1より速かったが、これらの試験区はplot1と同等か、より大きな CH_4 吸収能を示した。すなわち、シロクロバによる土壌への窒素移譲は、草地土壌の CH_4 吸収量を減少させなかった。 CH_4 フラックスと土壌中の $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度との間に認められた弱い負の相関関係(表2)も分解過程のシロクロバから放出された無機態窒素は CH_4 吸収を減少させなかったことを示唆する。Hütschら⁴⁷⁾は、 240 kg N ha^{-1} 相当量の堆肥施用を毎年行った土壌は、無施肥土壌と同等の CH_4 酸化能を持つことを示した。彼らの試験結果は、堆肥施用で窒素のターンオーバー速度が2~3倍に増加しているにもかかわらず、 CH_4 吸収能は無施肥土壌に匹敵することを示したもので、本研究とほぼ同様の傾向と考えられた。

Hütsch⁴⁵⁾は、塩酸で土壌pHを0.2~0.3変化させただけで、 CH_4 酸化活性が大きく低下することを示し、土壌pHの急激な変化が CH_4 酸化活性を減少させたと報告した。Amaralら⁵⁾は土壌の CH_4 酸化菌は不完全であるが、環境pHに適応しており、土壌pHが CH_4 酸化菌の種類に影響を与えることを示唆している。本研究では、 CH_4 フラックスとpH値の間に相関関係は認められなかった(表2)。全ての試験区で土壌pHの季節変化が穏やかであり、各試験区の土壌中の CH_4 酸化菌は環境pH

に適応していたためと考えられた。

Willison ら¹²⁴⁾ は、草地と林地の土壌は農耕地の土壌と比較して CH_4 酸化菌数が多いことを見出した。この結果は、植生の種類により土壌の CH_4 酸化能が異なることを理解するための端緒となる。 CH_4 酸化菌の存在は、 CH_4 酸化菌が生息するのに十分な量の CH_4 が存在したか、あるいは、状況に応じて CH_4 以外の有機化合物が生育や生命維持に利用されたことを意味する⁶²⁾。本研究で、 CH_4 酸化菌数の多かった試験区は牧草収量が多かった試験区と一致していた (図 2)。土壌に供給される収穫残渣、枯死根、根分泌物が、 CH_4 酸化菌が利用可能な CH_4 、または、1-C 化合物の濃度を高め、その菌数を増加させたのかも知れない。

3) N_2O 排出の制御要因

Luo ら⁶⁸⁾ は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ と易分解性有機物の濃度が脱窒活性を制御することを示唆した。本研究では、 N_2O フラックスと土壌中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度に正の相関関係が認められ (表 3)、5～9月に plot2 と plot3 で観測された N_2O フラックスの増加は、高い $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度に起因することを示す (図 5, 1b)。plot2 と plot3 では、夏期に分解過程のシロクローバに由来する窒素無機化量が増加し、牧草の窒素吸収量より多かった。分解過程のシロクローバから放出される易分解性有機物も plot2 と plot3 で脱窒による N_2O 排出を助長した可能性がある。しかしながら、硝化と脱窒の両者が N_2O 排出量の増加に寄与したと考えられる。根粒菌による脱窒は plot2 と plot3 におけるもうひとつの N_2O 排出源である⁸⁸⁾。7月後半と8月の第1週に、plot2からの N_2O フラックスが減少したことは、7月中旬の豪雨により $\text{NO}_3\text{-N}$ が溶脱され、土壌中の $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度が低下したことによって説明できる (図 1f)。plot1 では N_2O フラックスの増加は観測されなかった (図 5)。土壌からの窒素無機化量が少なかったため、plot1 からの N_2O 排出量が制限されたと推察される。Glatzel ら²⁹⁾ も、低投入でルートマットが発達した草地で小さな N_2O フラックスを観測しており、無機態窒素の供給量が少ないため N_2O 排出量が制限されたと推察している。11～3月の間、plot1, plot2, plot3 で観測された極めて小さい N_2O フラックスも、低い $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度に起因する (図 5, 1b)。 N_2O フラックスは、plot2, plot3 で地温の上昇とともに増加した (図 7)。夏期の高い地温が土壌有機物からの無機態窒素の放出を増加させ (図 1a, b, e)、脱窒菌の生育を促進し (図 3c)、 N_2O の排出を増加させたと推察された。年間を通じて土壌中の無機態窒素の濃度が低く維持された plot1 では、 N_2O

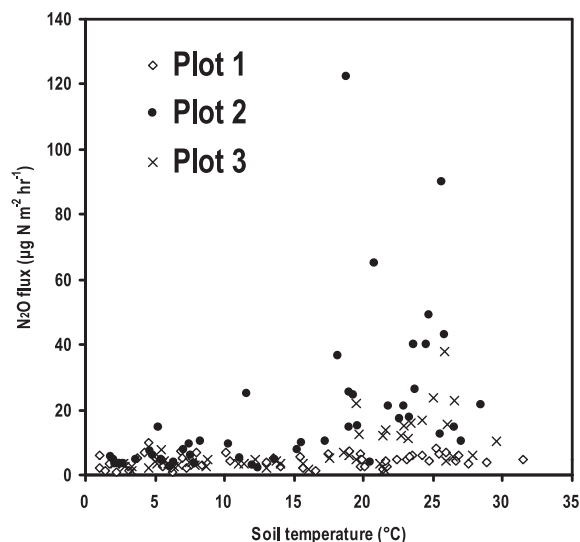


図 7. オーチャードグラス草地 (Plot1), シロクローバ草地 (Plot2), 混播草地 (Plot3) における地温と N_2O フラックスの関係

フラックスの温度依存性は認められなかった。

土壌の pH は N_2O 排出量を制御するもうひとつの要因である⁸²⁾。低 pH は窒素の形態変化 (硝化と脱窒) に関与する土壌微生物の活性を低下させる。Yumuki ら¹²⁶⁾ は、pH 値が永年にわたって 3.9, 5.9, 7.6 に維持された草地土壌からの N_2O フラックスを測定し、 N_2O フラックスは pH 低下とともに減少することを示した。しかし、本研究では、土壌 pH は N_2O フラックスに影響しなかった (表 3)。この原因として、土壌 pH の季節変化は比較的穏やかで、試験区間の pH 値の差が小さかったことが考えられた。

第 5 節 要約と結論

シロクローバは、表層土壌の通気性を改善することで CH_4 吸収量を増加させた。 CH_4 吸収量の季節変化は土壌水分の経時変化に起因した。土壌への窒素移譲は CH_4 吸収量を減少させなかった。また、シロクローバは土壌中の CH_4 酸化菌数を増加させた可能性が示唆された。シロクローバは分解され易い牧草残渣を還元することにより土壌中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度を増加させ、 N_2O 排出量を増加させた。また、シロクローバは土壌中の脱窒菌数を増加させた可能性が示唆された。

第 4 章 草地更新時の N_2O 排出量

第 1 節 はじめに

農耕地にすき込まれる作物残渣は重要な N_2O の排出

源である³⁹⁾。しかしながら、草地更新に伴う N_2O 排出量に関する情報はほとんど存在しない。生産性の高い草地を維持するには、土壤酸性化、土壤緻密化、雑草侵入などにより土壤や植生の状態が劣化した場合に、草地更新（耕起と再播種）が必要である。永年草地は平均5～10年に1回更新される¹²⁰⁾。草地が更新されると、牧草残渣は表層土壤にすきこまれ、土壤微生物による分解を受け、牧草残渣から無機態窒素が放出され、硝化と脱窒を行う微生物に基質を供給する⁹³⁾。耕起後最初の1年間に無機化する窒素量は $40 \sim 360 \text{ kg ha}^{-1}$ と見積もられており、前回の草地更新からの経過年数と管理に依存することが知られている¹²³⁾。更新後に放出される窒素は新たに播種される牧草により吸収されるが、一部は溶脱や脱窒によって失われる^{23,118)}。さらに、更新は土壤と大気間の通気性、土壤水分、地温を変化させ、 N_2O 排出量に影響する可能性がある。本研究は、草地更新が火山灰草地土壤からの N_2O 排出量に及ぼす短期的影響を明らかにすることを目的とした。

第2節 方法

1) 更新を行った草地

観測は畜草研那須研究拠点の草地（ 500 m^2 ）で行った。2005、2006年に草地更新を行った圃場は、それぞれ1999、2000年に前回の更新を行った。主要な草種はオーチャードグラス（*Dactylis glomerata* L.）であった。これらの草地は更新の開始前に1年間以上無施肥で管理された。2005、2006年とも、隣接する草地（ 500 m^2 、前回の草地更新からそれぞれ5、1年経過）を対照草地として供試した。主な草種はオーチャードグラスであり1年間以上無施肥で管理された（第2章第1節を参照）。

2) 草地更新方法

2005、2006年の8月22日に耕起、施肥、播種を含む更新作業を那須地域の農家慣行と同じ方法で行った。牧草は地表から5 cmの高さで刈り取り、更新作業の1週間前に収穫した。プラウ耕により根と刈り株を含む表層土壤を約20 cmの深さまで反転し、苦土石灰（ $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$ ） 1500 kg ha^{-1} をロータリー耕により土壤と混和した。続いて、土壤表層をローラーで鎮圧し、 40 kg N ha^{-1} 、 $87.2 \text{ kg P ha}^{-1}$ 、 $33.2 \text{ kg K ha}^{-1}$ を複合肥料（Urea-N： $\text{NH}_4\text{-N} = 10:7$ ）と過リン酸石灰で表面散布した後、オーチャードグラス種子を 30 kg ha^{-1} 播種した。対照草地は更新草地と同様に、あらかじめ牧草を収穫し、 40 kg N ha^{-1} 、 $17.5 \text{ kg P ha}^{-1}$ 、 $33.2 \text{ kg K ha}^{-1}$ を複合肥料（Urea-N： $\text{NH}_4\text{-N} = 10:7$ ）と過リン酸石灰で表面散布した。

3) 牧草残渣

2006年の更新直前に、コドロード内（ $25 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ ）の牧草地上部（地上部残渣）を地表面から刈り取った。次に、コドロード内の土壤を0～20 cm層から採取し、2 mmの篩で牧草地下部（地下部残渣）を水洗により土壤と分離した。地上部残渣と地下部残渣は70℃で3日間乾燥後、微粉碎し全炭素と全窒素の濃度をCNコーダ（J-サイエンス、JM1000CN）で測定した。

4) フラックス観測

それぞれの草地に6個の円筒型チャンバーを設置し、 N_2O フラックスを測定した（第2章第2節2）を参照）。フラックス観測は、更新、または、施肥の1～3日前、1、3～4、7、10、13～14、22～24、30、36～37、42、51、65日後に行った。

5) ガス分析

第2章第2節4）を参照。

6) 土壤物理性測定

地表面から0～10 cmの体積土壤水分率を測定した。地表面から5、10 cmの深さの地温を測定した（第2章第2節5）を参照）。

7) 土壤化学性測定

土壤中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度、土壤pH(H_2O)を約2週間間隔で測定した（第2章第2節6）参照）。

8) 統計解析

統計解析はStatistica 2003(StatSoft社)で行った。マン・ホイットニーのU検定で N_2O フラックス、 N_2O 積算排出量、土壤環境因子の処理間差、年次間差を判定した。

第3節 結果

1) N_2O フラックス

更新草地と対照草地で観測されたフラックスは、2005年は $10 \sim 3659$ 、 $11 \sim 1322 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ 、2006年は $10 \sim 706$ 、 $20 \sim 175 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ の範囲に分布した（図8a、9a）。最初の2週間に、更新草地から対照草地より多くの N_2O が排出された。2005年8月23日～9月27日の間、8月29日、9月8日、13日を除いて、更新草地からの N_2O フラックスは対照草地より大きかった（ $p < 0.05$ ）。2006年8月25日から9月15日の間、更新草地からの N_2O フラックスは対照草地より大きかった（ $p < 0.05$ ）。更新草地と対照草地からの N_2O フラックスは、それぞれ更新、または、施肥の1日後から増加し始め、1週間以内に最大値となり、その後急速に低下した。2週間経過後、 N_2O フラックスは2005年の場合は、 $557 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ 以下、2006年の場合は、

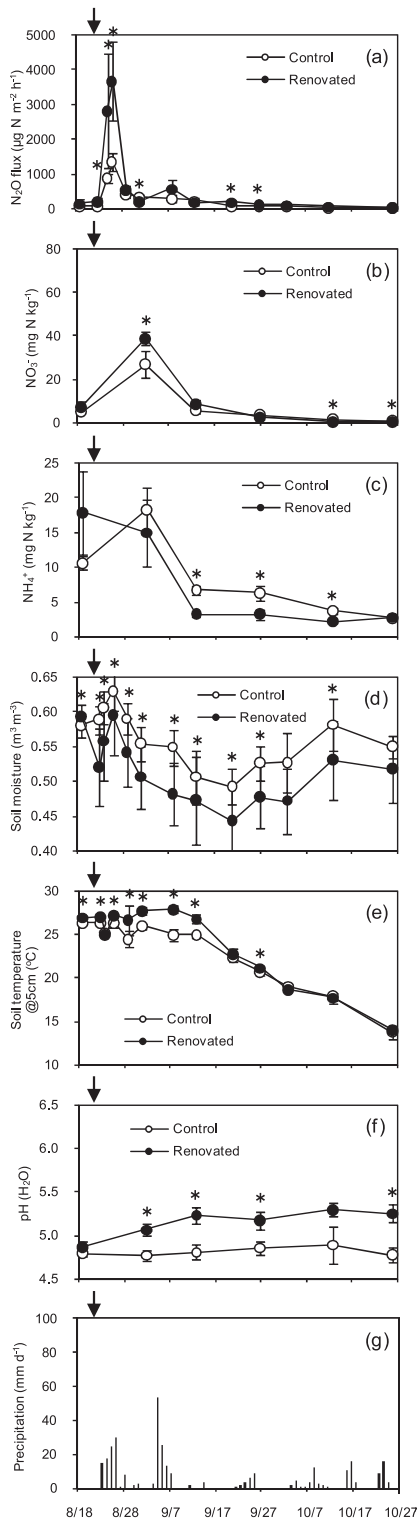


図 8. 2005 年における N_2O フラックスと土壌環境因子の経時変化

(a) N_2O フラックス, (b) NO_3^- , (c) NH_4^+ , (d) 土壌水分, (e) 地温 (5cm), (f) pH (H_2O), (g) 降雨量. エラーバーは標準偏差を示す [n=6 (a, d, e), n=3 (b, c, f)]. *は5%水準で処理間差があることを示す. 矢印は更新の時期 (2005年8月22日) を示す.

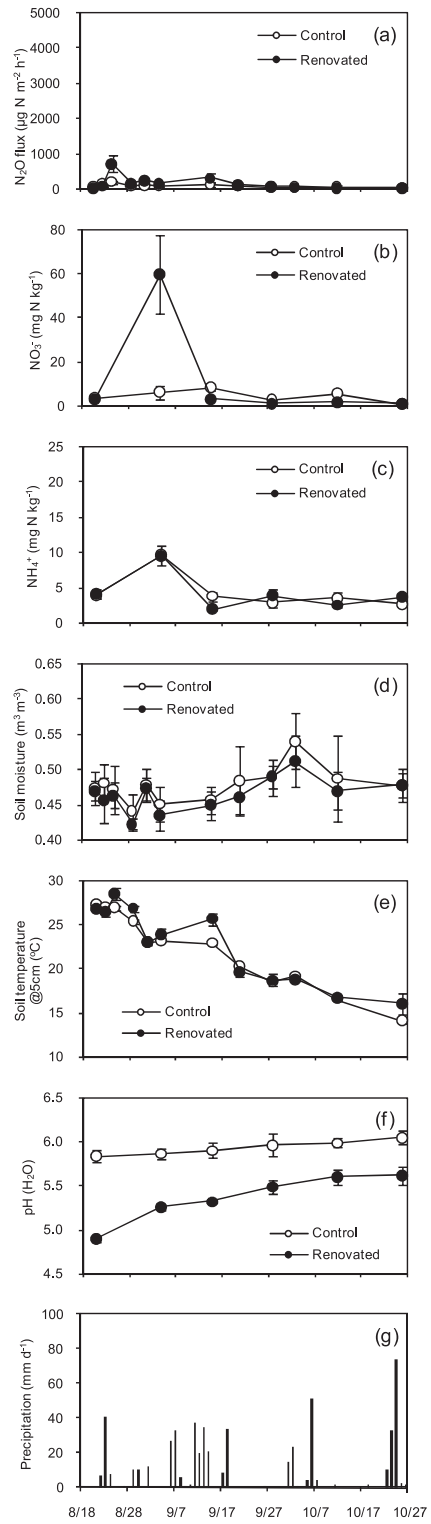


図 9. 2006 年における N_2O フラックスと土壌環境因子の経時変化

(a) N_2O フラックス, (b) NO_3^- , (c) NH_4^+ , (d) 土壌水分, (e) 地温 (5cm), (f) pH (H_2O), (g) 降雨量. エラーバーは標準偏差を示す [n=6 (a, d, e), n=3 (b, c, f)]. *は5%水準で処理間差があることを示す. 矢印は更新の時期 (2006年8月22日) を示す.

表4. 試験区の土壤理化学性

更新年	試験区	容積重 [†] (Mg m ⁻³)	全炭素 [‡] (g kg ⁻¹)	全窒素 [‡] (g kg ⁻¹)	C/N 比 [‡]
2005	対照草地	0.98 ± 0.04	58 ± 1	3.9 ± 0.1	15 ± 0
	更新草地	0.91 ± 0.05	53 ± 1	4.0 ± 0.1	13 ± 0
2006	対照草地	0.97 ± 0.04	49 ± 0	3.5 ± 0.0	14 ± 0
	更新草地	0.89 ± 0.04	58 ± 1	4.0 ± 0.1	15 ± 0

[†]更新後に測定 (n=10). [‡]更新前に測定 (n=3). それぞれの値は平均値 ± 標準偏差を示す.

296 $\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ 以下で推移した。

2) N_2O 積算排出量

2005年8月19日～10月26日までの67日間の N_2O 積算排出量は、更新草地、対照草地で、それぞれ 5.3 ± 1.4 , $2.8 \pm 0.7 \text{ kg N ha}^{-1}$ (図8a)であり、2006年8月21日～10月26日までの65日間の N_2O 積算排出量は、更新草地、対照草地で、それぞれ 2.1 ± 0.6 , $0.96 \pm 0.42 \text{ kg N ha}^{-1}$ であった (図9a)。両年も、更新草地から対照草地より多くの N_2O が排出された ($p < 0.01$)。両草地からの N_2O 排出量は2005年が2006年より多かった ($p < 0.01$)。

3) 土壤の無機態窒素と牧草残渣からすき込まれた窒素量

更新、または、施肥から2週間の間、更新草地の土壤中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は対照草地より高かった (図8b, 9b, $p < 0.05$)。その後、両草地の土壤中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は徐々に低下し更新前より低い濃度に達した。しかし、両草地の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の差は明らかではなかった (図8c, 9c)。すなわち、2005年は、対照草地が更新草地より $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が高かったが、2006年は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度に処理間差は認められず、更新を行った年によって $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の傾向は少し異なった。更新草地の地上部と地下部の残渣 (乾物として、それぞれ 2.5 ± 0.3 , $5.5 \pm 0.3 \text{ Mg ha}^{-1}$) は、それぞれ20, 15 g N kg^{-1} の窒素を含み、それぞれ 50 ± 9 , $84 \pm 4 \text{ kg N ha}^{-1}$ 相当量の窒素が表層土壤にすき込まれた。C/N比は地上部残渣が21, 地下部残渣が26であった。

4) 地温と土壤水分

更新草地の土壤水分は対照草地より少なかった (図8d, 9d)。更新草地の5 cmの深さの地温は対照草地より高かった (図8e, 9e)。なお、10 cmの深さでも地温の差は認められた (データ略)。2005年の9月8日、更新草地の5 cmの深さの地温は対照草地より $3.0 \text{ }^\circ\text{C}$ 高く (図8e), 更新草地で大きな N_2O 排出量 ($557 \mu\text{g N}_2\text{O-N}$

$\text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$, 図8a) が認められた。同様に、2006年の9月15日、更新草地の5 cmの深さの地温は対照草地より $2.7 \text{ }^\circ\text{C}$ 高く (図9e), 更新草地で大きな N_2O 排出量 ($296 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, 図9a) が認められた。

5) その他の土壤および環境因子

更新草地の容積重は対照草地より小さかった (表4, $n = 10$, $p < 0.01$)。更新草地の土壤pH値は苦土石灰の施用により上昇した (図8f, 9f)。2005年は更新草地のpH値は対照草地より高かったが、2006年は更新草地のpH値は対照草地より低かった。更新、または、施肥後2週間の間に、2005年は 152.5 mm , 2006年は 86.5 mm の降雨が観測された (図8g, 9g)。

第4節 考察

これらの結果から、更新草地の土壤中の牧草残渣から無機化した窒素と両草地に施肥された窒素の一部が N_2O として失われたと考えられた (図8a, 9a)。更新草地からの N_2O フラックスの範囲は、更新時に 48 kg N ha^{-1} を硝酸アンモニウムで施肥した英国の草地で観測されたフラックス ($25 \sim 4050 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{h}^{-1}$) より小さかった¹²⁷⁾。スペインの更新草地では、極めて大きな N_2O フラックス ($9.5 \sim 11009 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{h}^{-1}$) が観測された⁹³⁾。しかし、彼らの研究では、より多くの窒素 (硝酸カルシウムとして 150 kg N ha^{-1}) が施用され、ガスフラックスを増加させるため、毎日スプリンクラーで灌水が行われた。スコットランドの無施肥草地の更新では、極めて小さな N_2O フラックス (最大値で約 $85 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{h}^{-1}$) が観測された⁸⁾。

Whiteheadら¹²³⁾は更新後3年が経過した草地 ($300 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ を施用)の根と刈株に含まれる窒素量を、それぞれ 80 , 48 kg N ha^{-1} と見積もった。本研究の結果 (地下部牧草残渣: 84 kg N ha^{-1} , 地上部牧草残渣: 50 kg N ha^{-1}) は、彼らの見積もりと良く一致した。両草地からの N_2O 排出量の差が牧草残渣のすき込みのみに由来す

ると仮定すると、牧草残渣に含まれた窒素の0.85%が2006年の更新後65日間に N_2O として排出されたと計算される。この値は、Akiyamaら⁴⁾によって見積もられた排水性の良い土壌の排出係数(0.32 ± 0.49%)と類似した値であった。しかし、土壌にすき込まれた牧草残渣は翌年以降も分解され続け、翌年以降の N_2O 排出量に寄与する可能性がある。

牧草残渣に含まれた窒素は、そのC/N比が比較的小さいため容易に無機化されると考えられた⁵¹⁾。さらに、更新草地の幼植物の窒素吸収量は対照草地の牧草による窒素吸収量より小さいため、更新草地の土壌中の NO_3^- -N濃度は相対的に高くなったと推察される(図8b, 9b)。対照草地では、地表面がオーチャードグラスの刈株で覆われていたが、更新草地では、オーチャードグラス種子が更新から数日後に発芽したばかりで地表面は裸地のような状態であった。

無機態窒素の濃度推移から、更新草地の牧草残渣から無機化した NH_4^+ -Nは直ちに硝化され(図8c, 9c)、土壌中の NO_3^- -N濃度を高めたと考えられた(図8b, 9b)。したがって、更新草地で更新後2週間以内に観測された N_2O 排出量のピークは、部分的には硝化由来と考えられた(図8a, 9a)。2005年、対照草地の NO_3^- -N濃度は、施肥から2週間以内に増加したが(図8b)、2006年には、対照草地の NO_3^- -N濃度は増加しなかった(図9b)。2006年の対照草地は、2005年の対照草地よりも前回の更新からの経過年数が短く、土壌pHも高かったことから、2006年の対照草地の方が2005年の対照草地より牧草生育に伴う窒素吸収が旺盛であった可能性が考えられた。

Yamulkiら¹²⁶⁾は、土壌の酸性度が高いほど N_2O フラックスは小さくなることを示し、おそらく低い土壌pHが窒素の形態変化に関与する微生物活性を減少させたためと考察した。しかし、本研究では対照草地の土壌pHにかかわらず(図8f, 9f)、更新草地から多くの N_2O が排出されており、苦土石灰の施用が N_2O 排出量に及ぼす影響は比較的小さいことが示唆された。

更新草地の土壌中では牧草残渣の分解によって嫌気的部が拡大した可能性がある^{8, 20)}。有機物施用後には、脱窒に必要な易分解性有機物と微生物活性が増加し、 O_2 が消費され嫌気的な微少部が発達し、脱窒に適した環境が形成される^{3, 54, 68)}。本研究では、主として脱窒が更新草地からの N_2O 排出量の増加に寄与した可能性が高い。

両草地の土壌水分(図8d, 9d)と地温(図8e, 9e)

から更新草地の表層土壌は対照草地に比べより多くの日射を受け、排水性が改善し、温まり易くなり、対照草地より多くの N_2O を生成したと考えられた(図8a, 9a)。Linnら⁶⁷⁾は、硝化速度は土壌水分の増加とともに直線的に増加して60%WFPSで最大値に達し、それ以上では減少することを示した。これに対し、脱窒速度は、60%WFPS以下では無視できるが、土壌水分の増加とともに増加し飽和水分条件で最大値となる。硝化は60%WFPS以下では主要な N_2O 排出源であるが²²⁾、 N_2O/NO_3^- 比は嫌気的になるにつれて増加する⁴⁸⁾。これに対し、脱窒は60%WFPS以上では主要な N_2O の排出源であるが²²⁾、土壌水分の増加とともに、 N_2O/N_2 のフラックスの比は減少する⁹⁵⁾。その結果、 N_2O の生成比率は60%WFPS付近で最大値となることがDavidson²²⁾のモデルにより示された。土壌の粒子密度を2.65 $Mg\ m^{-3}$ と仮定し、5~10cmの容積重は0~5cmの容積重と同じと仮定すれば、土壌水分は、2005年の場合、対照草地で90~100%WFPS、更新草地で75~90%WFPSの範囲に、2006年の場合、対照草地で70~80%WFPS、更新草地で65~75%WFPSの範囲に分布したと考えられた。以上のことから、更新草地の土壌水分は対照草地より N_2O を生成し易く、排出し易い領域に分布した可能性が高い。

Tobertら¹¹⁴⁾は、脱窒活性は飽和された孔隙量だけでなく土壌孔隙の構造と大きさに依存することを示唆した。本研究で、容積重は、対照草地より更新草地で小さいため(表4)、土壌孔隙の大きさは、対照草地より更新草地の方が大きい可能性が高い。この差は N_2O 排出量に影響した可能性が高いが、土壌の孔隙分布が草地土壌からの N_2O 排出量に及ぼす影響については更に検討が必要である。

2005, 2006年の N_2O 積算排出量の差は、更新、または、施肥前の土壌水分履歴や更新、または、施肥後の降雨量に起因すると考えられた。更新、または、施肥直前の土壌水分は2005年が2006年より高かった(図8d, 9d)。更新、または、施肥から2週間の期間に、2005年は152.5mm、2006年は86.5mmの降雨が認められた(図8g, 9g)。これらの結果から、降雨後の脱窒による N_2O 生成は2006年より2005年の方が多かったと考えられる。

那須地域では、牧草と雑草の生育競合を避けるため晩夏(8月下旬~9月中旬)に更新が行われる。この時期は地温が高く降雨量が多いため、 N_2O 排出量を最も増加させる気象条件下で更新が行われることを意味する。晩夏より地温が低く降雨量の少ない早春に更新を行え

ば、 N_2O 排出量を抑制できる可能性がある。

更新時に土壤中に無機態窒素として放出される窒素量は、前回の更新からの経過年数が長いほど多いことが知られている¹²³⁾。また、採草地より放牧地、叢生型より地下茎型の草種が優先する草地を更新した時の方が、土壤中に無機態窒素がより多く放出され、更新後の牧草による窒素吸収量も多かったと報告されている⁷¹⁾。したがって、前回の更新からの経過年数や草種などの条件に応じて、窒素施肥量を適切に削減出来れば、 N_2O 排出量を抑制できる可能性が高い。日本の草地で、更新からの経過年数と根や刈株の増加速度の情報を蓄積する必要がある。

第 5 節 要約と結論

草地更新時に、すき込まれた根と刈株は、分解過程で土壤中の NO_3-N 濃度を高め、土壤中の嫌氣的部位を拡大させ、主として脱窒により N_2O 排出量を増加させた。また、更新後の地温上昇、土壤水分減少、牧草による窒素吸収量の減少は、 N_2O 排出量の増加を助長したと考えられた。 N_2O 排出量の年次間差は、更新時の土壤水分、降雨量の差に伴う脱窒由来の N_2O 生成量の違いと推察された。更新に伴う N_2O 排出量を抑制するため、更新時期を適切に選択し、更新頻度を少なくすることが重要である。早春に更新を行えば、 N_2O 排出量を抑制できる可能性がある。

第 5 章 堆肥散布が草地からの N_2O と CH_4 の排出量に及ぼす影響

第 1 節 はじめに

家畜ふん尿などの施用は易分解性有機物、硝化され易い窒素源、水分を土壤に供給することで、硝化反応と脱窒反応が起こり易い条件を醸成する¹⁸⁾。さらに、家畜ふん尿などの施用後には、微生物活性が高まり O_2 が消費され、土壤中などに嫌氣的な微少部位が形成される³⁾。これらの結果、堆肥やふん尿の施用は草地からの N_2O 排出量を増加させる^{54,81)}。

CH_4 の場合には、草地で排出と吸収の両者が観測される^{44,55,72)}。なお、地表面の CH_4 フラックスは土壤から大気中への排出が正と定義されている。窒素施肥は土壤の CH_4 吸収量を減少させたが^{43,52,83)}、ふん尿施用は土壤の CH_4 吸収量を変化させなかった⁴⁷⁾。 CH_4 吸収量を制御する環境因子は施肥量、土壤水分、地温、土壤 pH などである^{5,15,25,77,122)}。スラリー散布後の草地から CH_4

が大気中に放出されたが、その大部分はスラリー自体に由来した¹⁷⁾。降雨量と気温は放牧家畜の排泄物からの CH_4 放出量を制御する最も重要な要因であったが¹²⁸⁾、草地へのスラリー散布は CH_4 年間排出量には影響しなかった²⁹⁾。

草地の生産性と養分循環の輪を維持するには、堆肥や化学肥料の散布が不可欠である。しかし、日本では堆肥散布や施肥が草地からの N_2O や CH_4 のフラックスに及ぼす長期的な影響に関する情報がほとんど存在しない。さらに、ふん尿処理法、ふん尿や堆肥の散布時期や気候条件は国や地域により大きく異なる。日本では、堆肥化過程で乳牛などのふん尿にバークやオガクズが添加されることが多く、冬期の堆肥化スペースを確保するため晩秋に堆肥が散布されることが多い。本研究は、乳牛バーク堆肥を晩秋に散布することで草地土壤からの N_2O や CH_4 の排出量がどのように変化するかを調べるため、堆肥と化学肥料を併用した試験区と化学肥料のみを施用した試験区からの N_2O と CH_4 のフラックスを 2 年間に渡り測定した。さらに、土壤環境因子の経時変化により N_2O と CH_4 のフラックスの季節変化の説明を試みた。

第 2 節 方法

1) 観測地点

観測は畜草研那須研究拠点の草地で行った。主要な草種はオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) とイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) であった。地表面は約 5 mm の厚さの牧草リターで覆われていた。Ap 層は約 0 ~ 25 cm、ルートマットは約 0 ~ 5 cm の深さに認められた (第 2 章 第 1 節を参照)。

2) 草地管理

堆肥区 (2.3 ha) と化学肥料区 (2.4 ha) は隣接して配置された。本研究の開始以前、両試験区は窒素肥料 ($200 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$) が施用され 1 年に 3 ~ 4 回収穫が行われていた。堆肥区は、牛堆肥からの窒素無機化量と硫酸としての窒素施肥量の合計が $210 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ となるよう施肥量が調整された (表 5a, b)。化学肥料区は、 $210 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ の窒素が硫酸として施肥された (表 5a, b)。両試験区とも 6 箇所のサブプロット (5 m × 5 m) が設置されフラックス観測のため精密管理された。2004 年 11 月 10 日に堆肥区へ堆肥 (15 Mg ha^{-1} 、乳牛バーク堆肥、C/N 比 25、全窒素 5.0 g kg^{-1} 、水分 69 %、表 6) が施用された。2005 年は 3 月 15 日、5 月 26 日、7 月 19 日、9 月 15 日に堆肥区と化学肥料区へ化学肥料が散布され、5 月 16 日、7 月 11 日、9 月 12 日、11 月 21 日に

収穫が行われた。2005年11月28日に堆肥区へ堆肥(30 Mg ha⁻¹, 乳牛バーク堆肥, C/N比19, 全窒素6.1 g kg⁻¹, 水分68%, 表6)が散布された。2006年は, 3月16日, 5月25日, 7月20日, 9月8日に堆肥区と化学肥料区に化学肥料が散布され, 5月21日, 7月14日,

9月1日, 11月8日に収穫が行われた。堆肥からの窒素無機化量は内田の式から求めた¹⁰³⁾。この式から積算窒素無機化率(1 - \hat{y}_t)は, 1年目(施用年)には0.132 ($t = 1$), 2年目には0.202 ($t = 2$)と見積もられた。推定式は以下の通りである。

表 5a. 1年目(2004年11月9日~2005年11月8日)の化学肥料と堆肥からの養分供給量

試験区	化学肥料散布量 (kg ha ⁻¹)				2004年11月10日に散布した堆肥からの無機化量 (kg ha ⁻¹ y ⁻¹) [†]	年間供給量計 (kg ha ⁻¹ y ⁻¹)	
	3月15日	5月26日	7月19日	9月15日			
化学肥料区	N	60	60	60	30	—	210
	P ₂ O ₅	60	30	30	15	—	135
	K ₂ O	60	60	60	30	—	210
堆肥区	N	50	60	60	30	9.9	210
	P ₂ O ₅	50	25	25	12.5	23.4	136
	K ₂ O	50	0	0	0	165	215

[†] N: 内田の式に基づく。PK: 北海道の施肥指針に基づく。

表 5b. 2年目(2005年11月9日~2006年11月8日)の化学肥料と堆肥からの養分供給量

試験区	化学肥料散布量 (kg ha ⁻¹)				2004年11月10日と2005年11月28日に散布した堆肥からの無機化量合計 (kg ha ⁻¹ y ⁻¹) [†]	年間供給量計 (kg ha ⁻¹ y ⁻¹)	
	3月16日	5月25日	7月20日	9月8日			
化学肥料区	N	60	60	60	30	—	210
	P ₂ O ₅	30	30	30	15	—	105
	K ₂ O	60	60	60	30	—	210
堆肥区	N	30	60	60	30	29.4	209
	P ₂ O ₅	12.35	24.7	24.7	12.35	65.7	140
	K ₂ O	0	0	0	0	269	269

[†] N: 内田の式に基づく。PK: 北海道の施肥指針に基づく。

表 6. 散布した堆肥の性状と堆肥からの養分無機化量

散布日	2004年11月10日	2005年11月28日
散布量 (Mg ha ⁻¹ y ⁻¹)	15	30
水分 (%)	69	68
全窒素 (g N kg FW ⁻¹)	5.0	6.1
全リン酸 (g P ₂ O ₅ kg FW ⁻¹)	7.8	9.0
全カリウム (g K ₂ O kg FW ⁻¹)	15.7	11.7
C/N比	25	19
散布した堆肥中の全窒素量 (kg N ha ⁻¹ y ⁻¹)	75	183
1年目の窒素無機化量 (kg N ha ⁻¹ y ⁻¹)	9.9	-
2年目の窒素無機化量 (kg N ha ⁻¹ y ⁻¹) [†]	5.3	24.2
散布した堆肥中の全リン酸量 (kg P ₂ O ₅ ha ⁻¹ y ⁻¹)	117	270
1年目のリン酸無機化量 (kg P ₂ O ₅ ha ⁻¹ y ⁻¹)	23.4	-
2年目のリン酸無機化量 (kg P ₂ O ₅ ha ⁻¹ y ⁻¹) [†]	11.7	54.0
散布した堆肥中の全カリウム量 (kg K ₂ O ha ⁻¹ y ⁻¹)	236	351
1年目のカリウム無機化量 (kg K ₂ O ha ⁻¹ y ⁻¹)	165	-
2年目のカリウム無機化量 (kg K ₂ O ha ⁻¹ y ⁻¹) [†]	24	246

[†] 2年目の窒素, リン酸, カリウムの無機化量は2004年11月10日と2005年11月28日に散布した堆肥からの無機化量の和

$$\hat{y}_t = a \times 0.01^t + c \times 0.63^t + f \times 0.955^t \quad (\text{式 5-1})$$

\hat{y}_t は堆肥散布 t 年後に堆肥中に残存する窒素の割合、 t は堆肥施用後の年数 (施用年を含む)、 a 、 c 、 f は分解率を異にする有機物画分の割合 ($a + c + f = 1$) である。 a 、 c 、 f は牛堆肥の場合、それぞれ 0.04、0.15、0.81 であり、施用年と翌年の窒素無機化率は、それぞれ 13.2、7.0 % と見積もられた。堆肥からのリン酸とカリウムの無機化量は「家畜ふん尿処理・利用の手引き 2004」³⁶⁾ を基礎に推定し、1 年目にはリン酸の 20 % とカリウムの 70 % が、2 年目にはリン酸の 10 % とカリウムの 10 % が、それぞれ牧草に供給されると見積もった。供試堆肥は畜草研那須研究拠点に隣接する民間の牧場から入手した。窒素、リン酸、カリウムの化学肥料は、それぞれ硫酸、過リン酸石灰、硫加で施用した。

3) フラックス観測

2004 年 11 月～2006 年 11 月の期間、それぞれのサブプロットに円筒型チャンバーを設置し、 N_2O と CH_4 のフラックスを測定した (第 2 章 第 2 節 2) を参照)。フラックス観測は、堆肥散布、または、施肥から、1、3、7、10、14 日後を基本として集中的に行い、それ以後は 1～2 週間に 1 回行った。

4) ガス分析

北海道大学土壌学研究室で採取後 1 週間以内に行われた (第 2 章 第 2 節 4) を参照)。

5) 土壌物理性の測定

地表面から 0～10 cm 深さの体積土壌水分率を測定した。地表面から深さ 5、10 cm の地温を測定した (第 2 章 第 2 節 5) を参照)。

6) 土壌化学士の測定

土壌中の $NH_4\text{-N}$ 濃度、 $NO_3\text{-N}$ 濃度、土壌 pH (H_2O) を約 2 週間間隔で測定した。2004 年 11 月に採取した土壌の全炭素と全窒素の濃度を測定した (第 2 章 第 2 節 6) 参照)。

7) 統計解析

統計解析は Statistica2003 (StatSoft 社) で行った。マン・ホイットニーの U 検定で N_2O と CH_4 のフラックス、土壌環境因子の処理間差を調べた。分散分析で、処理、年次、生育期間と N_2O 、 CH_4 フラックス積算値の関係を調べた。6 チャンバーの平均の N_2O フラックスと土壌水分、地温、土壌中の $NH_4\text{-N}$ 濃度、 $NO_3\text{-N}$ 濃度、土壌 pH 値の間でスピアマンの順位相関係数を求めた。6 チャンバーの平均の CH_4 フラックスと上記と同じ係数間でピアソンの相関係数を求めた。重回帰分析は 6 チャンバーの平均の N_2O 、または、 CH_4 フラックスと土壌水分、地温、

土壌中の $NH_4\text{-N}$ 濃度、 $NO_3\text{-N}$ 濃度、土壌 pH 値で行った。前進ステップワイズ法を用いて説明変数を選択した。説明変数は F 値が 2 以上で有意と判断した。

第 3 節 結果

1) N_2O フラックスの経時変化と年間排出量

堆肥区と化学肥料区からの N_2O フラックスは、それぞれ 1～1464、2～1226 $\mu\text{g } N_2O\text{-N } m^{-2} h^{-1}$ の範囲に分布した (図 10a)。2004 年 11 月には、堆肥散布から 2 日後に観測された降雨 (8 mm d^{-1} 、図 10h) の直後に N_2O フラックスが増加した (715 $\mu\text{g } N_2O\text{-N } m^{-2} h^{-1}$)。2005 年の 11 月には、堆肥散布から 5～6 日後に観測された降雨 (6.5 mm d^{-1} と 1.5 mm d^{-1}) の直後に N_2O フラックスが増加した (1464 $\mu\text{g } N_2O\text{-N } m^{-2} h^{-1}$)。この堆肥散布を含む 11～3 月までの冬期間の N_2O フラックス積算値は堆肥区が化学肥料区より多かった (図 11, $p < 0.01$)。

その他の牧草生育期間では、 N_2O フラックスは化学肥料散布後に増加し、三番草生育期間に最高値に達した。しかし、一番草から四番草のいずれの生育期間もフラックス積算値に処理間差は認められなかった。冬期間のフラックス積算値は 2005 年が 2004 年より多かった ($p < 0.001$)。一番草の生育期間のフラックス積算値は 2005 年が 2006 年より多かった ($p < 0.001$)。二番草、四番草の生育期間のフラックス積算値は、2006 年が 2005 年より多かった ($p < 0.001$, $p < 0.01$)。しかし、三番草の生育期間のフラックス積算値は、2005 年と 2006 年で差が認められなかった。

N_2O 年間排出量は堆肥区が化学肥料区より多かった (表 7, 8, $p < 0.05$)。また、2005 年 11 月 9 日～2006 年 11 月 8 日までの積算値は 2004 年 11 月 9 日～2005 年 11 月 8 日までの積算値より多かった (表 7, 8, $p < 0.001$)。

2) CH_4 フラックスの経時変化と年間排出量

堆肥区、化学肥料区からの CH_4 フラックスは、それぞれ -32～29、-34～21 $\mu\text{g } CH_4\text{-C } m^{-2} h^{-1}$ の範囲に分布した (図 10b)。なお、負のフラックスは CH_4 吸収を意味する。2004 年には、 CH_4 フラックスは堆肥散布から 2 日後に観測された降雨 (8 mm d^{-1} 、図 10h) の直後に増加した。しかし、観測された CH_4 フラックスは比較的小さかった (20 $\mu\text{g } CH_4\text{-C } m^{-2} h^{-1}$)。2005 年は、堆肥散布後の CH_4 フラックスの増加はごく僅かであった。その他の牧草生育期間では、施肥後、一時的に、堆肥区の CH_4 フラックスが化学肥料区の CH_4 フラックスに対し相対的に増加した。7～9 月の三番草の生育期間の CH_4 フラックスの積算値は、堆肥区が化学肥料区よ

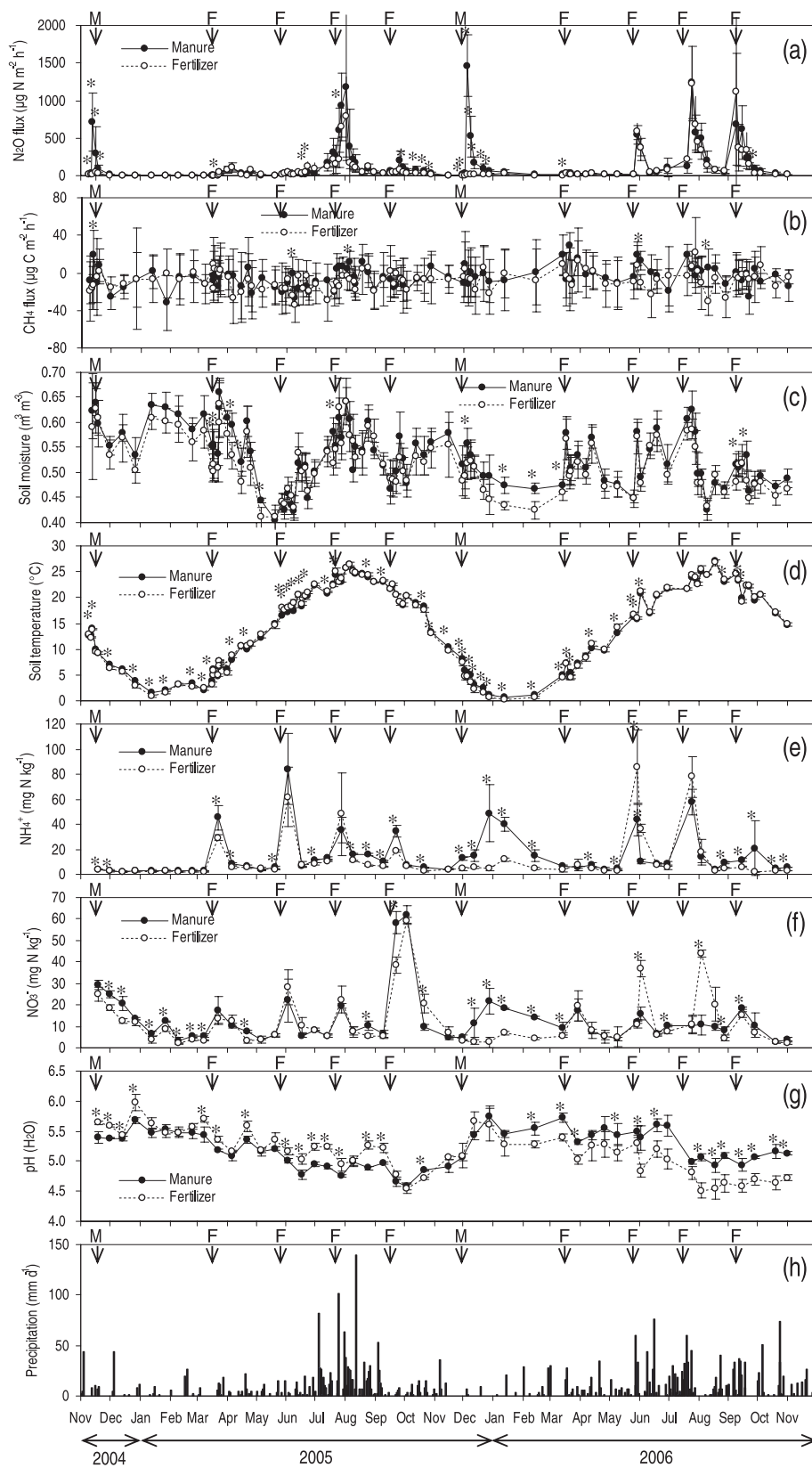


図 10. (a) N_2O フラックス, (b) CH_4 フラックス, (c) 土壌水分, (d) 地温 (10cm), (e) NH_4^+ 濃度, (f) NO_3^- 濃度, (g) $pH(H_2O)$, (h) 降雨量の経時変化。エラーバーは標準偏差を示す。* は 5%水準で処理間に有意差があることを示す。矢印は堆肥 (M) または化学肥料 (F) の施用時期を示す。

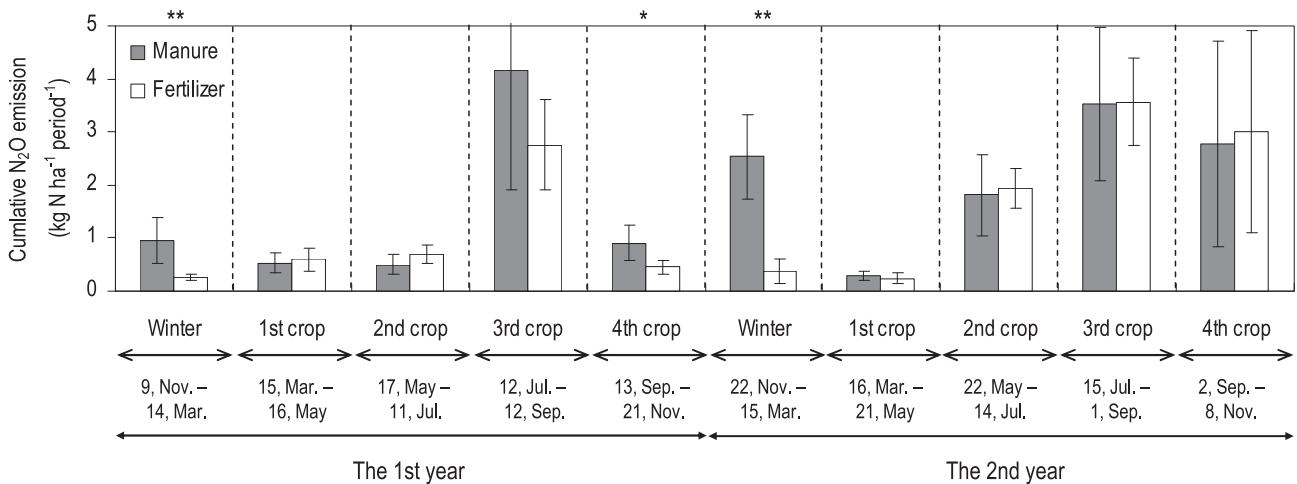


図 11. 冬期間および牧草生育期間における N₂O の積算排出量. エラーバーは標準偏差を示す. *, ** は 5% または 1% 水準で処理間に有意差があることを示す.

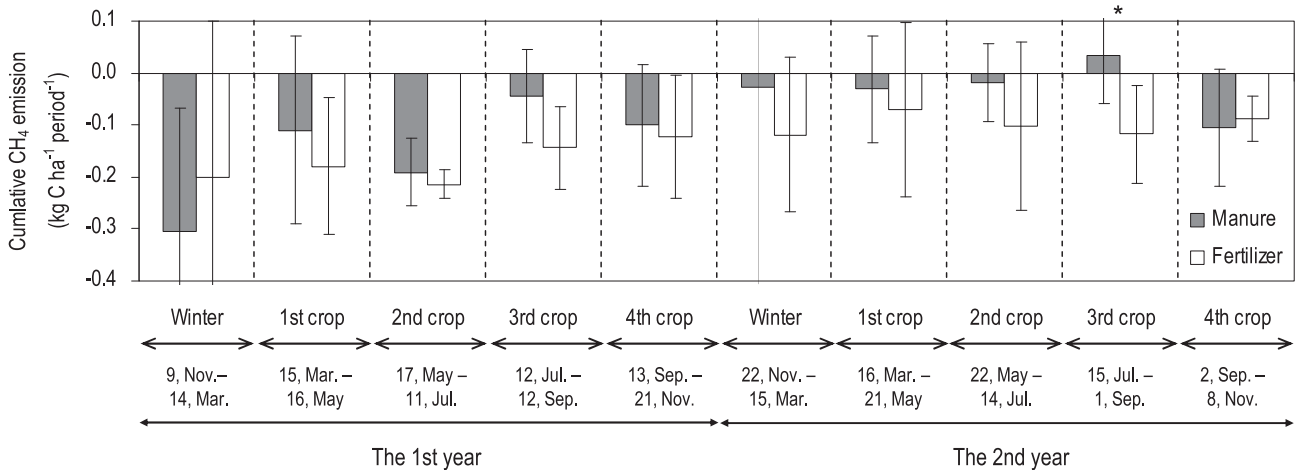


図 12. 冬期間および牧草生育期間における CH₄ の積算排出量. エラーバーは標準偏差を示す. *, ** は 5% または 1% 水準で処理間に有意差があることを示す.

り多かった (図 12, $p < 0.01$)。その他の牧草生育期間では、CH₄ フラックス積算値に処理間差は認められなかった。二番草の生育期間では CH₄ フラックス積算値は 2006 年が 2005 年より多かった ($p < 0.05$)。

CH₄ 年間排出量は堆肥区と化学肥料区で処理間差が認められなかった (表 7, 9)。また、2005 年 11 月 9 日～2006 年 11 月 8 日までの積算値は、2004 年 11 月 9 日～2005 年 11 月 8 日までの積算値より多かった (表 7, 9, $p < 0.05$)。

3) 土壌水分と地温

土壌水分は、堆肥区が化学肥料区より多い傾向にあった (図 10c)。土壌表面は両試験区ともほぼ水平であった。容積重に処理間差は認められなかった (表 10)。11～3 月の期間、地表面から 10 cm の地温は堆肥区が化学肥料区より高い傾向にあった (図 10d)。しかし、6

～9 月の期間、地温は化学肥料区が堆肥区より高い傾向にあった。地温の処理間差は最大で 1.3～1.5℃に達した。2005 年、最低と最高の地温は、それぞれ 1 月 13 日、8 月 5 日に記録された。2006 年、最低と最高の地温は 1 月 12 日と 8 月 18 日に記録された。

4) 土壌中の無機態窒素と土壌 pH

土壌中の NH₄-N と NO₃-N の濃度は、堆肥区が化学肥料区より高い傾向にあった (図 10e, 10f)。この傾向は、堆肥からの窒素無機化と堆肥に最初から含まれていた無機態窒素に起因すると考えられた。堆肥区より化学肥料区の無機態窒素濃度が高かったのは、2006 年 6 月 2 日の NH₄-N 濃度、2005 年 10 月 21 日、2006 年 6 月 2 日、8 月 3 日の NO₃-N 濃度だけであった。一番草の生育期間には、化学肥料による窒素施肥量は化学肥料区が堆肥区より多かった (表 5a, b) にもかかわらず、NH₄-N と

表 7. N₂O と CH₄ の年間排出量

試験区		1 年目 (2004 年 11 月 9 日～2005 年 11 月 8 日)	2 年目 (2005 年 11 月 9 日～2006 年 11 月 8 日)
		(kg N ha ⁻¹ y ⁻¹)	(kg N ha ⁻¹ y ⁻¹)
N ₂ O	堆肥区	7.0 ± 2.8	11.0 ± 3.6
	化学肥料区	4.7 ± 1.0	9.1 ± 2.2
		(kg C ha ⁻¹ y ⁻¹)	(kg C ha ⁻¹ y ⁻¹)
CH ₄	堆肥区	-0.74 ± 0.32	-0.16 ± 0.48
	化学肥料区	-0.84 ± 0.33	-0.52 ± 0.25

それぞれの値は平均値 ± 標準偏差を示す。

表 8. N₂O 排出量の分散分析表

	自由度	偏差平方和	平均平方	F 値	P 値
試験区	1	5.10	5.07	5.70	0.019
年次	1	20.3	20.3	22.8	< 0.001
期間	4	132	33.1	37.2	< 0.001
試験区 × 年次	1	0.10	0.07	0.08	0.779
試験区 × 期間	4	10.1	2.53	2.84	0.028
年次 × 期間	4	23.5	5.87	6.60	< 0.001
試験区 × 年次 × 期間	4	7.1	1.78	2.00	0.100

表 9. CH₄ 排出量の分散分析表

	自由度	偏差平方和	平均平方	F 値	P 値
試験区	1	0.06	0.06	2.37	0.127
年次	1	0.3	0.3	10.5	0.002
期間	4	0	0	1.2	0.337
試験区 × 年次	1	0.02	0.02	0.64	0.427
試験区 × 期間	4	0.1	0.02	0.62	0.646
年次 × 期間	4	0.1	0.03	1.01	0.406
試験区 × 年次 × 期間	4	0.05	0.01	0.49	0.74

表 10. 試験区の土壌理化学性

試験区	容積重 [†] (Mg m ⁻³)	全炭素 [‡] (g C kg ⁻¹)	全窒素 [‡] (g N kg ⁻¹)	C/N 比 [‡]
堆肥区	0.97 ± 0.07	4.1 ± 0.3	0.34 ± 0.02	12 ± 0
化学肥料区	1.02 ± 0.15	3.3 ± 0.6	0.27 ± 0.04	12 ± 1

[†] n=6. [‡] n=3. それぞれの値は平均値 ± 標準偏差を示す。

NO₃-Nの濃度は、堆肥区が化学肥料区よりも高かった。土壌中のNH₄-NとNO₃-Nの濃度は施肥から2週間以内に増加し、その後は両試験区とも急速に減少した。2006年の二番草、三番草の生育期間では、堆肥区のNO₃-N濃度は、ほとんど増加しなかった。土壌の全窒素濃度、全炭素濃度、C/N比に、試験区間の差は認められなかった(表10)。

2004年11月～2005年11月まで、土壌pHは堆肥区が化学肥料区より低い傾向にあったが、2005年11月～2006年11月まで、土壌pHは堆肥区が化学肥料区より高い傾向にあった(図10g)。すなわち、2年間の内に土壌pHは堆肥区が化学肥料区より相対的に高くなった。この傾向は硫安散布に伴う土壌酸性化、堆肥自体のpHが高いこと、堆肥分解過程で放出されるカリウム、カルシウム、マグネシウムの影響と推察された。硫安の施用量は堆肥区が化学肥料区より少なく、堆肥は堆肥区のみ散布されたためである。

5) 降雨量

2004年の冬期間、2005年の一番草、二番草、三番草、四番草の生育期間に、それぞれ186, 135, 303, 810, 170 mmの降雨が認められた(図10h)。2005年の冬期間、2006年の一番草、二番草、三番草、四番草の生育期間に、それぞれ149, 213, 428, 390, 477 mmの降雨が認められた。

6) 収量

2004年の年間収量は、堆肥区と化学肥料区で、それぞれ11.2 ± 0.9, 10.4 ± 0.9 Mg DM ha⁻¹ y⁻¹であり、2005年の年間収量は、堆肥区と化学肥料区で、それぞ

れ9.6 ± 1.2, 9.0 ± 1.6 Mg DM ha⁻¹ y⁻¹であった。2005, 2006年とも堆肥区が化学肥料区より収量が多い傾向が認められたが、年間収量に大きな処理間差は認められなかった。

7) 回帰分析

N₂Oフラックスは地温、土壌中のNH₄-N濃度、土壌pH、土壌中のNO₃-N濃度と相関関係を有した(表11)。しかし、重回帰分析を行うとNH₄-N濃度、地温、土壌水分のみが有意と判定された(表12)。さらに、冬期間を除いた各牧草生育期間の施肥から10日間の降雨量と[各牧草生育期間のN₂O排出量] / [各牧草生育期間の硫安としての窒素施肥量]の比の値は正の相関関係を有した(図13)。CH₄フラックスは土壌中のNH₄-N濃度、土壌水分と相関を有した(表11)。重回帰分析を行うとNH₄-N濃度と土壌水分の両者が有意と判定された(表13)。

第4節 考察

堆肥散布は草地からのN₂O年間排出量を増加させた。この結果は冬期間の堆肥散布後に認められたN₂O排出が原因と考えられた(図10a, 11)。堆肥散布直後にはN₂O排出はほとんど認められなかったが、堆肥散布後の降雨後にN₂O排出量が増加した。散布直後の堆肥は無機態窒素と水分を含んでおり、降雨により堆肥中、または、表層土壌中で新たにN₂Oの生成が促進されたためと考えられた。ふん尿に含まれる易分解性有機物は脱窒を活性化¹⁸⁾する。また、晩秋に堆肥散布を行うと、牧草による窒素吸収量が少ないため、N₂O生成はさらに

表11. 土壌環境因子とN₂O, CH₄フラックスの相関係数

	土壌水分	地温	NH ₄ ⁺ 濃度	NO ₃ -濃度	pH(H ₂ O)	
N ₂ O	-0.02	0.70 ***	0.67 ***	0.40 ***	-0.46 ***	Spearman's R [†]
CH ₄	0.20 *	0.02	0.21 *	-0.06	0.09	Pearson's R [‡]

*, **, ***は5, 1, 0.1%水準で有意な相関であることを示す。

[†] N₂Oフラックスの値の分布は、正規分布と異なるため、Spearman's Rで相関関係を調べた。

[‡] CH₄フラックスの値の分布は、正規分布に近いので、Pearson's Rで相関関係を調べた。

表12. N₂Oフラックス(μg N₂O-N m⁻² h⁻¹)の重回帰分析結果

	標準化回帰係数	回帰係数		P値
	β	B	標準偏差	
NH ₄ ⁺ 濃度(mg N kg ⁻¹)	0.52	6.70	0.95	<0.001
地温(°C)	0.36	10.1	2.1	<0.001
土壌水分(m ³ m ⁻³)	0.26	1077	299	<0.001

n=98, R²=0.47

助長された可能性がある。堆肥に含まれる窒素を最大限に活用するため、窒素吸収量が最大となる牧草生育が旺盛な時期にできるだけ近い時期に堆肥散布を行うべきである²⁴⁾。このことは、スラリーや鶏ふんのように速効性窒素を多く含むふん尿の場合に、特にあてはまる。本研究では、通常は速効性窒素をあまり含まない乳牛パーク堆肥が散布されたにもかかわらず、堆肥散布後に多くのN₂O排出が認められた(図11)。

三番草生育期間には、土壌水分と地温が高い条件が堆肥分解を促進した(図10c, 10d)。しかし、この期間のN₂O積算排出量には処理間差が認められなかった(図11)。施肥直後の土壌中の無機態窒素濃度とN₂Oフラックスが同時に増加する時期でも(図10e, 10f), N₂Oフラックスに堆肥散布の影響は認められなかった。この結果は、供試堆肥はC/N比が比較的高く、ゆっくり分解されたためと考えられた。Tomaら¹¹⁾は、[N₂O排出量] / [作物残渣として投入された窒素量]の比が-0.43~0.86%の範囲に分布し、この比は作物残渣のC/N比と負の相関関係を有することを示した。草地に散布された堆肥

からのN₂O排出量は畜種に依存する。飼料が異なり、飼料利用率やふん尿処理が異なり、畜種ごとにふん尿の組成が異なるためである¹⁸⁾。Akiyamaら²⁾は、C/N比が比較的大きい有機質肥料、具体的には乾燥牛ふん(C/N比24.3)、オガクズを含む牛ふん堆肥(C/N比15.9)からのN₂O-N排出量は施用窒素量の0.08, 0.05%に過ぎなかったと報告した。しかしながら、堆肥を長期間連用すれば、三番草生育期間のN₂O排出量が増加する可能性もある。さらに、表面散布された堆肥は表層土壌の水分や地温を変化させるかも知れない(図10c, 10d)。本研究では、堆肥施用が各試験区の土壌水分や地温に及ぼす影響は明らかではなかった。堆肥連用が今後どのようにN₂O排出量に影響を及ぼすかを明らかにするため、さらに観測の継続が必要である。

二番草と四番草の生育期間には、硫酸としての窒素施肥量は2005年と2006年で同じであったにもかかわらず(表5a, b), それぞれの生育期間のN₂O積算排出量は2006年が2005年より多かった(図11)。2005年の降雨量は三番草生育期間に集中していたが、2006年の降雨量は年間を通じてより平均的に分布し、数回の降雨は偶然、施肥直後に認められ、それに対応して土壌水分が増加した(図10c)。それぞれの牧草生育期間において、施肥から10日間の降雨量と[N₂O排出量] / [硫酸としての窒素施肥量]の比の値は正の相関関係を有した(図13)。降雨後直ちにN₂Oが生成され、肥料由来のN₂O排出量を増加させたと推察された。土壌水分は土壌の通気性を制御するため、土壌中で生成されたN₂Oの土壌中での拡散は降雨直後に抑制される。また、N₂Oは水への溶解度が高く(0.64 mL mL⁻¹, 20℃, 1気圧)、土壌溶液にしばらく貯留される³³⁾。したがって、N₂O生成と続いて起こる拡散との間には時間的なずれが生じる。本研究では、N₂Oのフラックスは多くの場合、施肥後約10日間までの期間に最大値となった。土壌水分は0.40~0.65 m³ m⁻³の範囲に分布し(図10c)、65~105% WFPSに相当することから、主に脱窒によりN₂Oが生成されたと考えられた²²⁾。

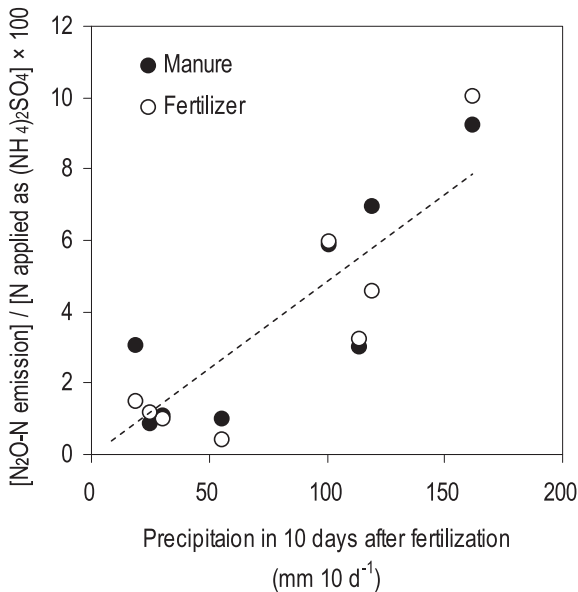


図13. 施肥後10日間の降雨量と[各牧草生育期間におけるN₂O排出量] / [硫酸による窒素施肥量]の関係(冬期間は除外)

表13. CH₄フラックス(μg CH₄-C m⁻² h⁻¹)の重回帰分析結果

	標準化回帰係数	回帰係数		P値
	β	B	標準偏差	
NH ₄ ⁺ 濃度 (mg N kg ⁻¹)	0.20	0.110	0.053	0.04
土壌水分 (m ³ m ⁻³)	0.20	34.8	17.1	0.04

n=98, R²=0.08

降雨量が比較的少ない条件では、土壌表層で生成された N_2O のほとんどが数時間から1日以内に大気中に排出されると考えられている¹³²⁾。本研究では、施肥直後に $100 \text{ mm } 10 \text{ d}^{-1}$ を超える大量の降雨が多く観測されたことから (図13)、窒素施肥後に生成された N_2O の一部は土壌溶液に溶解し土壌溶液とともに下方移動した可能性がある。施肥後 100 mm d^{-1} 以上の降雨を対象に、地表面から排出された N_2O は、降雨量と等量の土壌溶液に N_2O が一旦溶解後、土壌水分の減少に伴い地表面から排出されたものと仮定すれば、土壌溶液中の N_2O 溶解量は $1 \sim 3 \text{ mL L}^{-1}$ と計算される。しかし、降雨の土壌浸透に伴う N_2O の下方移動に関する情報はほとんど存在しないため³³⁾、このような移動がどの程度起こるか詳しい検証が必要である。本研究では、土壌水分が $65 \sim 105 \%$ WFPS に相当したため、 N_2O の下方移動が生じていたとすれば、 N_2O は土壌中を移動する過程で脱窒による N_2O から N_2 への還元反応の影響を強く受けたと推察される^{7, 38)}。

重回帰分析の結果は、夏期の地温が高い時期に施肥により土壌中の $NH_4\text{-N}$ 濃度が高まり、土壌微生物による N_2O 生成が促進されたことを示唆する (表12)。また、既述のように土壌水分は N_2O 排出量を制御するもうひとつの重要な因子である。

第3章では、無施肥草地からの N_2O 排出量は、イネ科単播草地、マメ科単播草地、混播草地で、それぞれ $0.39, 1.59, 0.67 \text{ kg } N_2O\text{-N } ha^{-1} y^{-1}$ ⁷⁷⁾ であった。マメ科牧草を含まない草地からの N_2O 排出量は僅かであったことを考慮すると、本章の堆肥区と化学肥料区で、それぞれ測定された $7.0 \sim 11.0, 4.7 \sim 9.1 \text{ kg } N_2O\text{-N } ha^{-1} y^{-1}$ の N_2O 排出量の大部分は試験で散布された堆肥と化学肥料に由来すると考えられた。

両試験区から正と負の両者の CH_4 フラックスが観測された (図10b)。したがって、観測された CH_4 フラックスは CH_4 酸化と CH_4 生成の結果であると考えられた。2004年の冬期間には、堆肥施用から2日後の降雨後 (8 mm d^{-1} , 図10h), CH_4 フラックスは正の値となった。このことは、降雨が堆肥内部または表層土壌に嫌気的な微小部位を形成し新たに CH_4 が生成されたことを示唆する。Chadwick ら¹⁷⁾ は、乾物率の高いふん尿からの CH_4 排出量は、ふん尿が土壌中に浸透しないため土壌の影響を受け難いことを示した。本研究では、堆肥の乾物率が $31 \sim 32 \%$ と高かったため、降雨により堆肥に最初から含まれていた易分解性有機物の一部が表層土壌に溶解されたと考えられた。その結果、有機物分解に伴う微

生物呼吸が堆肥や表層土壌への O_2 供給を抑制し、堆肥中や表層土壌中で新たに CH_4 が生成されたと考えられた。しかし、観測された CH_4 排出量はごく僅かであり CH_4 年間排出量に影響しなかった (図12)。この結果は、堆肥やスラリーを散布した草地で、一時的に CH_4 排出が認められるが、 CH_4 年間排出量には影響を及ぼさないという点で、Glatzel ら²⁹⁾ の報告と良く一致した。

三番草生育時期には、堆肥施用は CH_4 排出量の積算値を増加させた (図12)。すなわち、化学肥料区で CH_4 排出量の積算値は負の値であったが、堆肥区ではほぼゼロであった。この結果は、堆肥分解により微生物が表層土壌中の O_2 濃度を低下させ、表層土壌の CH_4 酸化速度が低下したためと考えられた。 O_2 は微生物による CH_4 酸化に必須であるため、 O_2 濃度は土壌中の CH_4 酸化速度を制御する¹⁰⁰⁾。また、堆肥の分解過程で放出された易分解性有機物から新たに CH_4 が生成された可能性もある。

重回帰分析の結果は、土壌中の $NH_4\text{-N}$ が CH_4 酸化を阻害したことを示唆する (表13)。この結果は、草地や林地で既に報告されている結果と一致した^{52, 80, 83)}。三番草生育期間中には土壌中の $NH_4\text{-N}$ 濃度は堆肥区が化学肥料区より高い傾向にあったため (図10e), 分解過程の堆肥から放出された $NH_4\text{-N}$ は土壌による CH_4 酸化速度を低下させたと考えられた。

第3章では、畜草研那須研究拠点の別の無施肥草地からの CH_4 排出量は $-2.4 \sim -1.8 \text{ kg } CH_4\text{-C } ha^{-1} y^{-1}$ ⁷⁷⁾ の範囲に分布した。本章で、 CH_4 フラックスは、施肥後、一時的に低下する傾向が認められた (図10b)。したがって、硫安由来の $NH_4\text{-N}$ は土壌中の CH_4 酸化を阻害したと考えられた。さらに、本章の土壌水分 (図10c) は、第3章よりも少し高い傾向にあった。したがって、第3章との CH_4 年間排出量の差は、窒素施肥と土壌通気性の両者に起因する可能性が考えられた。

二番草生育期間中には CH_4 排出量の積算値は2006年が2005年より多かった (図12, $p < 0.05$)。この年次間差は降雨量の違いによると考えられた (図10h)。二番草生育期間中には2006年に2005年より多くの降雨が観測された。この降雨量の違いは、この期間の土壌水分にも明確に反映され (図10c), 土壌水分が土壌通気性を制御することで、 CH_4 の拡散を制御したと考えられた⁷⁷⁾。また、土壌水分の増加に伴って土壌中で微量の CH_4 が生成し、地表面で観測される CH_4 吸収量が相対的に減少した可能性も考えられる。

第5節 要約と結論

堆肥散布後の降雨によって N_2O 排出量が高まり、堆肥区からの N_2O 年間排出量を化学肥料区に比べて増加させる原因となった。 N_2O 排出量の季節変化は、土壌中の NH_4-N 濃度、地温、土壌水分の経時変化に起因した。特に、施肥後10日間の降雨量が多いほど、 N_2O 排出量が多くなった。堆肥散布後の CH_4 排出量はごく僅かであり、 CH_4 年間排出量は堆肥散布の影響を受けなかった。 CH_4 吸収量は、土壌中の NH_4-N 濃度の増加や降雨に伴う土壌通気性の低下により減少した。降雨パターンは N_2O と CH_4 の積算排出量の年次間差を制御する重要な因子であった。

第6章 総合議論および結論

草地土壌には牧草の収穫残渣や枯死残渣が絶えず還元され、表層土壌に有機物を供給し続けている。牧草残渣は分解される過程で土壌中に無機態窒素を放出し、その一部は N_2O として大気中に排出される。第3章では、マメ科牧草の残渣はイネ科牧草の残渣よりも分解し易く、窒素のターンオーバーを高め、草地からの N_2O 排出量を増加させることを明らかにした⁷⁷⁾。作物残渣のC/N比は、 N_2O 排出係数と負の相関関係を有すると報告されており¹¹¹⁾、分解され易い作物残渣が N_2O 排出量を増加させることが草地でも確認された。無施肥のチモシー草地とアルファルファ草地を比較した研究例でも後者からの N_2O 排出量の方が高い傾向が認められており⁹⁴⁾、第3章の結果とほぼ一致する。混播草地では、マメ科牧草による窒素固定量を考慮し窒素施肥量を削減することが推奨されている。慣行に基づき窒素施肥を行ったイタリアンライグラス草地、ほとんど窒素施肥を行わなかったアカクローバ草地およびイタリアンライグラス・アカクローバの混播草地からの N_2O 排出量には有意差が無かったと報告されている¹⁰⁴⁾。これらの結果は、混播草地のマメ科率を考慮し、窒素施肥量を適正化し余剰窒素を生じさせないことが、 N_2O 排出抑制の観点からも重要であることを示唆している。

他方、土壌中の窒素のターンオーバー速度が増加すれば CH_4 吸収量は低下すると言われている^{47, 83)}。しかし、本研究で窒素のターンオーバー速度はマメ科単播草地や混播草地の方がイネ科単播草地より速かったにもかかわらず、マメ科単播草地と混播草地の CH_4 吸収量はイネ科単播草地と同等以上の値を示した。ほぼ同様の事例は堆肥を連用した圃場でも認められている⁴⁷⁾。シロクロー

バによる土壌通気性の改善によりマメ科単播草地の CH_4 吸収量が高まったと推察されるが、 CH_4 酸化菌数がマメ科牧草のリター還元により増加し、 CH_4 吸収量を助長した可能性も示唆される。

草地植生は施肥に伴う土壌酸性化、トラクタ走行に伴う土壌緻密化、牧草の夏枯れに伴う雑草侵入などにより徐々に劣化するため、5～10年に1回の頻度で草地更新が必要である。草地更新時には、古い牧草の根と刈株が土壌にすき込まれ化学肥料が施用される。第4章では、牧草残渣の分解過程で土壌中に放出される無機態窒素の一部が N_2O として大気中に排出されることが示された⁷⁸⁾。更新の直後には、牧草残渣の分解過程で放出された無機態窒素と易分解性有機物が脱窒に適した土壌環境を醸成したと考えられた。さらに、表層土壌の排水性と通気性が改善された結果、更新草地の土壌水分は、硝化と脱窒の両者から N_2O が生成され易く、大気中に排出され易い領域(60% WFPS付近)に分布したと考えられた。また、更新草地では、古い牧草が除去されるため牧草の窒素吸収量は僅かであり、更新草地からの N_2O 排出が助長された可能性も考えられた。那須地域では、牧草と雑草の生育競合を避けるため晩夏に更新が行われる。この時期は地温が高く降雨量が多いため、 N_2O 排出量を最も増加させる気象条件で更新が行われることを意味する。更新に伴う N_2O 排出量を抑制するには、できるだけ更新頻度を少なくするとともに、地温の高い時期や土壌水分の多い時期を避けて更新を行うことが重要である。混播草地とイネ科単播草地の更新が N_2O 排出量に及ぼす影響を比較した研究では、更新後7週間に渡り混播草地から脱窒由来の N_2O が多く排出されたと報告された²³⁾。既述のように、牧草残渣はイネ科よりもマメ科の方が分解され易いことが原因と考えられた。これらの結果は、第3, 4章の結果と符合し、 N_2O 排出量を抑制する観点から、草種選択と植生維持の重要性を示唆している。

草地の生産性と養分循環の輪を適切に維持するため、堆肥の有効利用が重要である。第5章では、標準的な収穫量を得ることを目標とした場合、堆肥と化学肥料を組み合わせた施肥は化学肥料のみの施肥に比べ N_2O 年間排出量を増加させることが明らかとなった⁷⁹⁾。堆肥施用により N_2O 年間排出量が多くなった原因は堆肥施用後に排出された N_2O であり、降雨直後に堆肥中の無機態窒素と易分解性有機物から新たに N_2O が生成されたと推察された。第5章では、水分率が約70%の乳牛バーク堆肥を表面散布したが、堆肥の塊が混在し物理的性状

は均質でなかった。このため、堆肥の塊の内部で N_2O が生成された可能性も考えられた。

施用有機物の化学組成なども N_2O 排出量を変化させることが知られている。畜種の異なるふん尿を添加した土壌培養実験では、無機態窒素や易分解性窒素の濃度が高い豚スラリーからの N_2O 排出量が多かった¹¹⁹⁾。異なる飼料を給与した羊スラリーの組成と N_2O 排出量の関係を土壌培養実験で調べた研究では、タンパク態窒素の濃度が高いほど、揮発性脂肪酸 (VFA) やセルロースの濃度が低いほど、 N_2O 排出量が多く、 NH_4-N の濃度が高いほど、VFA やセルロースの濃度が高いほど N_2O/N_2 比は小さかった¹³⁾。固液分離後のふんと尿、固液分離を行わないスラリーを添加した土壌培養実験では、ふんからの N_2O 排出量が尿、スラリーの場合より少なく、58日の培養期間 (63% WFPS, 200 kg N ha⁻¹ 相当量) でふん、尿、スラリーからの N_2O 排出係数は、それぞれ 1.0, 2.6, 4.8% と報告された¹¹⁾。畜種とふん尿処理法の違いは、無機態窒素、易分解性有機物の濃度に加え、ふん尿処理物の物理的性状と水分条件にも反映され、これらの違いが相加的に N_2O 排出量に影響を及ぼしたと推察された。

以上の培養実験は圃場容水量に近い水分条件で行われ、 NH_4-N 濃度や易分解性窒素濃度が高いほど N_2O 排出量が多くなった点は概ね一致するが、易分解性有機物濃度と N_2O 排出量との関係は必ずしも一致しない。この原因として土壌やふん尿の水分履歴の違いが考えられた。圃場容水量に近い水分条件で土壌コアにグルコースと NO_3-N を添加した培養実験では、実験前に好気的な培養を行った土壌コアの N_2O/N_2 比は 1.7、実験前に嫌気的な培養を行った土壌コアの N_2O/N_2 比は 0.15 であり、 N_2O 排出量は前者が後者より 77% 多かった⁹⁸⁾。これらの結果は、土壌の水分履歴が N_2O/N_2 比や N_2O 排出量に及ぼす影響が大きいことを示唆する。易分解性有機物を多く含むスラリー散布に伴う N_2O 排出量は、脱窒が卓越する土壌水分履歴より、硝化が卓越する土壌水分履歴の方が多可能性も指摘されている¹¹⁷⁾。

堆肥は腐熟が進むにつれ乾燥し、揮散、硝化、有機化により NH_4-N 濃度、微生物分解により易分解性有機物濃度が低下する。したがって、腐熟した堆肥を草地に施用すれば、堆肥に含まれた NH_4-N の硝化と生成された NO_3-N の脱窒が抑制され N_2O 排出量が抑制されると考えられる。堆肥の貯留期間と施用後の N_2O 排出量の関係を圃場条件で調べた研究では、腐熟していない堆肥は腐熟した堆肥より NH_4-N 濃度が高く、耕地に施用後よ

り多く N_2O を排出させ、堆肥中 NH_4-N 当たりの N_2O 排出量は両堆肥で差が無かったと報告された¹⁰⁹⁾。しかし、このような傾向は堆肥を土壌にすき込んだ場合に認められ、堆肥を表面散布した場合、堆肥の腐熟度が N_2O 排出量に及ぼす影響は明らかではなく、 N_2O 排出割合も T-N の 0.00 ~ 0.23% に過ぎなかった¹⁰⁹⁾。スラリーの場合にも、土中施用での N_2O 排出係数は 0.29 ~ 0.72%、表面施用での N_2O 排出係数は、0.06 ~ 0.35% で、表面散布により N_2O 排出量が少なくなったと報告されている¹⁰²⁾。根釧地域の草地では、表面散布した NH_4-N 当たりの N_2O-N 排出割合は、スラリーで 0.10%、堆肥で 0.96%、T-N 当たりでは、スラリーで 0.05%、堆肥で 0.04% と報告された⁶³⁾。 NH_4-N 当たりの N_2O-N 排出割合が堆肥よりもスラリーで少なかった原因は、アンモニア揮散による窒素損失がスラリーで堆肥よりも多いこと、スラリーの方が堆肥より塊になり難いことが考えられた。これらの結果は、堆肥の腐熟度と草地に表面散布後の N_2O 排出量の関係を理解するために、堆肥の腐熟化過程の物理・化学的な性質の変化を副資材の種類などに注目しながら、詳しく調べる必要があることを示唆する。また、どのような家畜排泄物処理法を選択すれば温室効果ガスの排出量を削減できるか、処理過程から圃場還元までを含めて検討する必要がある。

草種構成が異なる草地からの N_2O 排出量 (第3章) を牧草収量 1 Mg DW 当たり換算すると、オーチャードグラス草地 (plot1)、シロクローバ草地 (plot2)、混播草地 (plot3) で、それぞれ 0.18, 0.46, 0.15 kg N_2O-N Mg DW⁻¹ となり、オーチャードグラス草地と混播草地は同等の値であったが、シロクローバ草地は少し大きな値であった。混播草地では、シロクローバから土壌に移された窒素が速やかにオーチャードグラスに利用された結果、3処理区中で収量が最も多かったにもかかわらず牧草収量当たり N_2O 排出量は少なかった。しかし、通常、オーチャードグラス草地や混播草地には窒素施肥が行われ、また、シロクローバは、オーチャードグラスなどのイネ科牧草と混播されるため、第3章の処理区は一般的な管理とは異なる。これに対し、より一般的な管理に近く標準の収量が得られた堆肥区 (第5章) と化学肥料区 (第5章) で、牧草収量 1 Mg DW 当たり N_2O 排出量を計算すると、堆肥区と化学肥料区で、それぞれ 0.63 ~ 1.1, 0.45 ~ 1.0 kg N_2O-N Mg DW⁻¹ となった。牧草収量当たり N_2O 排出量が比較的大きな値となったシロクローバ草地 (第3章)、堆肥区 (第5章)、化学肥料区 (第5章) の共通点は、地温と土壌水分が高くなる夏

期に、土壌中の無機態窒素の濃度が上昇し、それに伴い比較的大きな N_2O 排出が認められた点である。以上を踏まえれば、地温の季節変化を基に牧草残渣や堆肥からの窒素無機化量を各番草の生育期間別に推定し、窒素無機化が盛んとなる夏期（特に三番草）の窒素施肥量を適切に削減することで、生産性を維持しつつ N_2O 排出量を削減できると考えられる。すなわち、適切な草種を選択し堆肥の施用量や連用年数に応じて夏期の施肥量を段階的に削減し、夏期に土壌中の無機態窒素の濃度上昇を出来るだけ抑制する管理を行うことが N_2O 排出量を抑制するための基礎と言える。

堆肥が畜産農家に滞留する地域では、堆肥が炭化処理される場合がある。堆肥は炭化されることにより CO_2 への酸化速度が著しく低下する。このため、炭化処理を経た堆肥を土壌に還元すれば、より長期間の炭素貯留効果が期待できる。また、堆肥に含まれた窒素の多くは炭化の過程で窒素 (N_2) ガス等となり、環境への負荷は少ないと考えられる。土壌改良資材として用いられてきた木炭との違いは、栄養塩類を多く含む点である。堆肥化やスラリーの曝気過程では窒素成分のかなりの部分が NH_3 として揮散する^{41, 42, 70)}。この NH_3 を堆肥炭化資材に吸収させれば、大気中への NH_3 拡散を防止でき回収された NH_3 を窒素肥料として再利用できる可能性がある。

木炭は多孔質であるため様々な化学物質を吸着するとともに内部に貯留された溶質を少しずつ放出する機能を持つ。既往の研究では、木炭が $\text{NO}_3\text{-N}$ を孔隙内部に保持した後、土壌中に少しずつ放出する機能を持つことが明らかにされた⁷⁶⁾。また、木炭を塩化鉄溶液で浸漬処理することで $\text{NO}_3\text{-N}$ の吸着機能が付加されることが示された⁷⁵⁾。木炭は土壌物理性の改善を目的として用いられてきたが、肥料成分を保持・脱着する機能を活用できれば資材としての価値は高まる。堆肥は、牛舎内で敷料として使用されたパーク、オガクズなど木質系の副資材を含む場合が多いため、堆肥を炭化すれば、木炭の場合と同じように、肥料成分を保持・脱着する機能を活用できる可能性もある。

木炭の性質は、樹種や材料によって異なるが、炭素濃度は 50 ~ 95 %、容積重は 0.2 ~ 0.85 Mg m^{-3} の範囲に分布する。木炭の炭素濃度を 75 %、容積重を 0.5 Mg m^{-3} と仮定し、深さ 10 cm までの表層土壌に 10 % の体積割合で混和すると仮定すると、50 Mg ha^{-1} の木炭が必要となり、炭素貯留量は 37.5 Mg ha^{-1} と計算される。木炭は土壌中でほとんど分解しないため、木炭として施用され

た炭素は長期間に渡って土壌に保持され続ける。我が国の森林資源は伐採後の再生力が高いため⁹¹⁾、間伐材を堆肥化の副資材や木炭として活用できれば、さらに温室効果ガスの排出量削減に貢献できる可能性がある。

なお、家畜ふん尿は飼料由来の微量元素を含み農耕地への微量元素の供給源となる。しかし、堆肥やスラリーを介して草地飼料畑土壌に投入される銅、亜鉛は、牧草飼料作物による収奪量よりも多く、草地飼料畑土壌は、バックグラウンド値より高濃度の亜鉛を含むことが示された⁷³⁾。ところが、牧草飼料作物の亜鉛濃度は、乳牛の亜鉛要求量の 40 mg kg^{-1} より低いものがほとんどであり、ふん尿の還元により高まった草地飼料畑の表層土壌の亜鉛濃度は、牧草飼料作物の亜鉛濃度には反映されていなかった。銅、亜鉛が過剰になる（作物体の銅濃度は 20 ~ 30 mg kg^{-1} 以上、亜鉛濃度は 400 mg kg^{-1} 以上）と、作物の鉄吸収が低下し、銅、亜鉛誘導鉄クロロシスとなって現れることが知られているが、銅、亜鉛は、作物、家畜にとって必須元素であり、かなりの高濃度になるまで、農産物の汚染は、ほとんど問題にならないことが知られている⁹²⁾。日本全国から収集した牧草飼料作物の銅、亜鉛濃度は、ほぼ正常範囲であった⁷³⁾。

草地飼料畑単位面積当たり飼養密度は、相対的に北海道で低く、他地域で高いという空間的な偏りが存在する⁴⁰⁾。飼養密度を考慮し地域別の推定を行った結果、北海道以外の地域では、牧草飼料作物による収奪量を大きく上回る銅、亜鉛が堆肥やスラリーを介して草地飼料畑に投入されることが明かとなった⁷⁴⁾。北海道以外の地域では、堆肥や生ふん尿を還元するための草地飼料畑面積が狭小で耕種農家への堆肥提供も少ないことが原因である。飼養密度の高い地域では、微量元素の土壌蓄積への注意が必要と考えられ、土壌中の微量元素濃度の定期的なモニタリングが求められる。家畜ふん尿の過剰問題が栄養塩類だけでなく微量元素にまで及ぶことを意味する。

謝 辞

本研究をとりまとめるに当たって、北海道大学大学院農学研究院教授 波多野隆介博士には、終始懇切なる御指導をいただき、本論文の御校閲を賜った。北海道大学大学院農学研究院教授 長谷川周一博士、北海道大学大学院農学研究院教授 平野高司博士には、本論文の御校閲を賜り、貴重な御助言をいただいた。

本研究は、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構

畜産草地研究所那須研究拠点で実施された研究成果をとりまとめたものである。寶示戸雅之博士には、本研究の端緒を与えていただくとともに、研究途上で御指導と御激励を賜った。近藤 熙博士、松波寿弥博士には、第3章の研究実施に多大なる御支援をいただくとともに、有益な議論を共にしていただいた。北海道大学大学院農学研究院 清水真理子博士には、第5章の研究実施に多大なる御支援をいただくとともに、有益な議論を共にしていただいた。

(独) 農業環境技術研究所 小野信一博士、八木一行博士、(社) 国際環境研究協会 鶴田治雄博士、英国草地環境研究所 (IGER) デービット・スコールフィールド博士、酪農学園大学 澤本卓治博士、(独) 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 永田 修博士、古賀伸久博士、農林水産省農林水産技術会議事務局 原田久富美博士、北海道立根釧農業試験場 甲田裕幸氏、秋田県農林水産技術センター 渋谷 岳氏、畜産草地研究所 井村 治氏には、折に触れて研究遂行上の貴重な御助言をいただくとともに、終始変わらぬ御激励をいただいた。

圃場試験と試料分析に際しては、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 業務第3科の技術専門職員と草地多面的機能研究チームの磯飛サト氏に多大なる御支援をいただいた。

以上の諸氏に深く感謝の意を表する。

引用文献

- Adamsen, A.P.S. and King, G.M. (1993). Methane consumption in temperate and subarctic forest soils: rates, vertical zonation and responses to water and nitrogen, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 485-490.
- Akiyama, H. and Tsuruta, H. (2003). Effect of organic matter application on N_2O , NO, and NO_2 fluxes from an Andisol field, *Global Biogeochem. Cycl.*, 17, 1100.
- Akiyama, H., McTaggart, I.P., Ball, B.C. and Scott, A. (2004). N_2O , NO, and NH_3 emissions from soil after the application of organic fertilizers, urea and water, *Water, Air, Soil Pollut.*, 156, 113-129.
- Akiyama, H., Yan, X. and Yagi, K. (2006). Estimation of emission factors for fertilizer-induced direct N_2O emission from agricultural soils in Japan: summary of available data, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52, 774-787.
- Amaral, J.A., Ren, T. and Knowles, R. (1998). Atmospheric methane consumption by forest soils and extracted bacteria at different pH values, *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 2397-2402.
- Aoyama, M. and Nozawa, T. (1993). Microbial biomass nitrogen and mineralization-immobilization processes of nitrogen in soils incubated with various organic materials, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 39, 23-32.
- Arah, J.R.M., Smith, K.A., Crichton, I.J. and Li, H.S. (1991). Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils, *J Soil Sci.*, 42, 351-367.
- Baggs, E.M., Rees, R.M., Smith, K.A. and Vinten, A.J.A. (2000). Nitrous oxide emission from soils after incorporating crop residues, *Soil Use Manage.*, 16, 82-87.
- Ball, B.C., Watson, C.A. and Crichton, I. (2007). Nitrous oxide emissions, cereal growth, N recovery and soil nitrogen status after ploughing organically managed grass/clover swards, *Soil Use Manage.*, 23, 145-155.
- Beck, H. and Christensen, S. (1987). The effect of grass maturing and root decay on N_2O production in soil, *Plant Soil*, 103, 269-273.
- Bertora, C., Alluvione, F., Zavattaro, L., van Groenigen, J.W., Velthof, G. and Grignani, C. (2008). Pig slurry treatment modifies slurry composition, N_2O , and CO_2 emissions after soil incorporation, *Soil Biol. Biochem.*, 40, 1999-2006.
- Bouwman, A.F. (1996). Direct emission of nitrous oxide from agricultural soils, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 46, 53-70.
- Cardenas, L.M., Chadwick, D., Scholefield, D., Fychan, R., Marley, C.L., Jones, R., Bol, R., Well, R. and Vallejo, A. (2007). The effect of diet manipulation on nitrous oxide and methane emissions from manure application to incubated grassland soils, *Atmos. Environ.*, 41, 7096-7107.
- Carran, R.A., Theobald, P.W. and Evans, J.P. (1995). Emission of nitrous-oxide from some grazed pasture soils in New Zealand, *Australian J. Soil Research*, 33, 341-352.
- Castro, M.S., Steudler, P.A., Melillo, J.M., Aber, J.D., Bowden, R.D. (1995). Factors controlling atmospheric methane consumption by temperate

- forest soils, *Global Biogeochem. Cycles.*, 9, 1-10.
- 16) Corre, M.D., Pennock, D.J., Van Kessel, C. and Elliot, D.K. (1999). Estimation of annual nitrous oxide emissions from a transitional grassland-forest region in Saskatchewan, Canada, *Biogeochemistry*, 44, 29-49.
- 17) Chadwick, D.R. and Pain, B.F. (1997). Methane fluxes following slurry application to grassland soils: laboratory experiments, *Agric. Ecosystem Environ.*, 63, 51-60.
- 18) Chadwick, D.R., Pain, B.F. and Brookman, S.K.E. (2000). Nitrous oxide and methane emissions following application of animal manure to grassland, *J. Environ. Qual.*, 29, 277-287.
- 19) Christensen, S. (1983). Nitrous oxide emission from a soil under permanent grass: seasonal and diurnal fluctuations as influenced by manuring and fertilization, *Soil Biol. Biochem.*, 15, 531-536.
- 20) Christensen, S., Simkins, S. and Tiedje, J.M. (1990). Spatial variation in denitrification: dependency of activity centers on the soil environment, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 54, 1608-1613.
- 21) Cicerone, R.J. (1987). Change in stratospheric ozone, *Science*, 237, 35-42.
- 22) Davidson, E.A. (1991). Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems, In *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides and halomethanes*, Rogers, J.E. and Whitman, W.B. (eds.), 219-235, American Society for Microbiology, Washington DC
- 23) Davies, M.G., Smith, K.A. and Vinten, A.J.A. (2001). The mineralization and fate of nitrogen following ploughing of grass and grass-clover swards, *Biol. Fertil. Soils*, 33, 423-434.
- 24) DEFRA (Department for Environment, Food and Rural Affairs) (2001). Making better use of livestock manures on grassland, 2nd ed., 10-12, ADAS Gleadthorpe Research Center, Notts
- 25) Dunfield, P., Knowles, R., Dumont, R. and Moore, T.R. (1993). Methane production and consumption in temperate and subarctic peat soils: response to temperature and pH, *Soil Biol. Biochem.*, 25, 321-326.
- 26) Ehhalt, D. and Prather, M. (2001). Atmospheric chemistry and greenhouse gases, In *Climate Change 2001: The Scientific Basis*, Houghton, J.T., Ding, Y. and Griggs, D.J. (eds.), 239-287, Cambridge University Press, Cambridge
- 27) FAO (2005). Land use and human settlements, Earth trends data table: Forests, grasslands, and drylands, http://earthtrends.wri.org/pdf_library/data_tables/for1_2005.pdf
- 28) Forster, P. and Ramaswamy, V. (2007). Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing, In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*, Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M. and Miller, H.L. (eds.), 131-234, Cambridge University Press, Cambridge
- 29) Glatzel, S. and Stahr, K. (2001). Methane and nitrous oxide exchange in differently fertilised grassland in southern Germany, *Plant Soil*, 231, 21-35.
- 30) Hansen, S., Maehlum, J.E. and Bakken, L.R. (1992). N₂O and CH₄ fluxes in soil influenced by fertilization and tractor traffic, *Soil Biol. Biochem.*, 25, 621-630.
- 31) 波多野隆介 (1998). 土は植物へ水と空気を送る, 土と食糧 - 健康な未来のために (日本土壌肥科学会編), 朝倉書店, 東京, 47-51.
- 32) 波多野隆介・長谷川周一・佐久間敏雄 (1995). TDR土壌水分計のキャリブレーション, *土肥誌*, 66, 678-680.
- 33) Heincke, M. and Kaupenjohann, M. (1999). Effects of soil solution on the dynamics of N₂O emission: a review, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 55, 133-157.
- 34) 東田修司 (1993). 天北地方における重粘土草地の土壌微生物活性と牧草生産, *北海道立農試報告*, 80, 1-123.
- 35) 東田修司・宝示戸雅之・西宗昭 (1987). 天北地方のマメ科混播草地におけるN移譲, *北海道立農試集報*, 56, 19-30.
- 36) 北海道立農業・畜産試験場 家畜ふん尿プロジェクト研究チーム (2004). 家畜ふん尿処理・利用の手引き, 北海道立畜産試験場, 札幌, 64-67.
- 37) Holter, P. (1997). Methane emissions from Danish cattle dung pats in the field, *Soil Biol. Biochem.*, 29, 31-37.
- 38) Hosen, Y., Tsuruta, H. and Minami, K. (2000). Effects of the depth of NO and N₂O productions

- in soil on their emission rates to the atmosphere: analysis by a simulation model, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 57, 83-98.
- 39) Hou, A.X. and Tsuruta, H. (2003). Nitrous oxide and nitric oxide fluxes from an upland field in Japan: effect of urea type, placement, and crop residues, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 65, 191-200.
- 40) 寶示戸雅之・池口厚男・神山和則・島田和宏・萩野暁史・三島慎一郎・賀来康一 (2003). わが国農耕地における窒素負荷の都道府県別評価と改善シナリオ, *土肥誌*, 74, 467-474.
- 41) 寶示戸雅之・林健太郎・村野健太郎・森 昭憲 (2006a). 集約的畜産地帯における大気中アンモニア濃度の実態, *土肥誌*, 77, 53-57.
- 42) 寶示戸雅之・松波寿弥・林健太郎・村野健太郎・森 昭憲 (2006b). 集約的畜産地帯における窒素沈着の実態, *土肥誌*, 77, 47-52.
- 43) Hu, R., Hatano, R., Kusa, K. and Sawamoto, T. (2002). Effect of nitrogen fertilizer on methane flux in a structured clay soil cultivated with onion in central Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 48, 797-804.
- 44) Hu, R., Kusa, K. and Hatano, R. (2001). Soil respiration and methane flux in adjacent forest, grassland, and cornfield soils in Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 47, 621-627.
- 45) Hütsch, B.W. (1998). Methane oxidation in arable soil as inhibited by ammonium, nitrate and organic manure with respect to soil pH, *Biol. Fertil. Soils*, 28, 27-35.
- 46) Hütsch, B.W. (2001). Methane oxidation in non-flooded soils as affected by crop production, *European J. Agronomy*, 14, 237-260.
- 47) Hütsch, B.W., Webster, C.P. and Powlson, D.S. (1993). Long-term effects of nitrogen fertilization on methane oxidation in soil of the Broadbalk wheat experiment, *Soil Biol. Biochem.*, 25, 1307-1315.
- 48) Hynes, R.K. and Knowles, R. (1984). Production of nitrous oxide by *Nitrosomonas europaea*: effects of acetylene, pH, and oxygen, *Can. J. Microbiol.*, 30, 1397-1404.
- 49) IPCC (2000). Global carbon cycle overview, Land use, land-use change and forestry, A Special Report of the IPCC (SPM), <http://www.ipcc.ch/pdf/special-reports/spm/srl-en.pdf>
- 50) Jarvis, S.C., Lovell, R.D. and Panayides, R. (1995). Patterns of methane emission from excreta of grazing animals, *Soil Biol. Biochem.*, 27, 1581-1588.
- 51) Jensen, E.S. (1994). Mineralization-immobilization of nitrogen in soil amended with low C: N ratio plant residues with different particle sizes, *Soil Biol. Biochem.*, 26, 519-521.
- 52) Jensen, S. and Olsen, R.A. (1998). Atmospheric methane consumption in adjacent arable and forest soil systems, *Soil Biol. Biochem.*, 30, 1187-1193.
- 53) John, P.S., Buresh, R.J., Prasad, R. and Pandey, R.K. (1989). Nitrogen gas (N_2+N_2O) flux from urea applied to lowland rice affected by green manure, *Plant Soil*, 119, 7-13.
- 54) Jones, S.K., Rees, R.M., Skiba, U.M. and Ball, B.C. (2005). Greenhouse gas emissions from a managed grassland, *Global Planet. Change*, 47, 201-211.
- 55) Kammann, C., Grünhage, L., Jäger, H.-J. and Wachinger, G. (2001). Methane fluxes from differentially managed grassland study plots: the important role of CH_4 oxidation in grassland with a high potential for CH_4 production, *Environ. Pollut.*, 115, 261-273.
- 56) Katayanagi, K. and Hatano, R. (2005). Spatial variability of greenhouse gas fluxes from soils of various land uses on a livestock farm in southern Hokkaido, Japan, *Phyton*, 45, 309-318.
- 57) Keller, M., Mitre, M.E. and Stallard, R.F. (1990). Consumption of atmospheric methane in soils of central Panama: effects of Agricultural development, *Global Biochem. Cycl.*, 4, 21-27.
- 58) Keller, M., Veldkamp, E., Weitz, A.M. and Reiners, W.A. (1993). Effect of pasture age on soil trace-gas emissions from a deforested area of Costa Rica, *Nature*, 365, 244-246.
- 59) 木村真人・波多野隆介 (2005). 土壌圏と地球温暖化, 名古屋大学出版会, 名古屋, 1-3.
- 60) 木村 武 (2002). メタン, 草地におけるメタン及び亜酸化窒素の発生と制御, 畜産における温室効果ガスの発生制御 (総集編), 畜産技術協会, 東京, 111-138.
- 61) 木村龍介 (1997). 硝化作用の測定と硝化菌の計数, 分離, 新編土壌微生物実験法 (土壌微生物研究会編), 第2版, 養賢堂, 東京, 207-214.

- 62) Knowles, R. (1993). Methane: processes of production and consumption, In *Agricultural Ecosystem Effects on Trace Gases and Global Climate Change*, Harper, L.A. et al. (eds.), 145-156, American Society of Agronomy Inc., Madison.
- 63) 甲田裕幸・三枝俊哉・三木直倫・寶示戸雅之・竹田芳彦 (2004). 北海道東部の採草地における亜酸化窒素およびメタンの発生要因, 北海道農業試験会議 (成績会議) 資料, 1-23.
- 64) Kroeze, C., Mosier, A. and Bouwman, L. (1999). Closing the global N₂O budget: a retrospective analysis 1500-1994, *Global Biogeochem. Cycles*, 13, 1-8.
- 65) 倉島健次・太田 健・草場 敬・天野洋司・山本克巳・木村 武・近藤 熙・斎藤元也 (1993). 草地試験場内土壌の分類とその特性, 草地試資料, 3, 1-47.
- 66) Kusa, K., Hu, R., Sawamoto, T. and Hatano, R. (2006). Three years of nitrous oxide and nitric oxide emissions from silandic andosols cultivated with maize in Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52, 103-113.
- 67) Linn, D.M. and Doran, J.W. (1984). Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non-tilled soils, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 1267-1272.
- 68) Luo, J., Tillman, R.W. and Ball, P.R. (1999). Factors regulating denitrification in a soil under pasture, *Soil Biol. Biochem.*, 31, 913-927.
- 69) Maag, M. and Vinther, F.P. (1996). Nitrous oxide emission by nitrification and denitrification in different soil type and at different soil moisture contents and temperatures, *Appl. Soil Ecol.*, 4, 5-14.
- 70) 松中照夫・石井岳浩・岡本英竜 (1998). 曝気処理した乳牛由来液状きゅう肥のオーチャードグラスに対する肥料的効果, 土肥誌, 69, 598-603.
- 71) 三木直倫 (1993). 寒冷地における草地土壌の有機物並びに窒素の経年的動態とそれに基づく窒素施肥管理法に関する研究, 北海道立農業試験場報告, 79, 1-98.
- 72) Minami, K. and Kimura, T. (1993). The significance of grasslands in absorption of atmospheric methane and emission of nitrous oxide, *J. Agr. Met.*, 48, 719-722.
- 73) 森 昭憲・寶示戸雅之・近藤 熙・松波寿弥 (2004). 我が国の草地飼料畑における微量重金属の堆肥による投入量と牧草および飼料作物による収奪量, 土肥誌, 75, 651-658.
- 74) 森 昭憲・寶示戸雅之・神山和則 (2007). 家畜ふん尿に由来する重金属の草地飼料畑に対する投入量と牧草飼料作物による収奪量の地域別推定値, 土肥誌, 78, 23-31.
- 75) 森 昭憲・小野信一 (1995). 木炭の塩化鉄処理による硝酸イオン吸着能の発現, 土肥誌, 66, 415-417.
- 76) 森 昭憲・藤野雅丈・竹崎あかね (2001). 木炭の孔隙特性が硝酸イオンの保持機能に及ぼす影響, 土肥誌, 72, 642-648.
- 77) Mori, A., Hojito, M., Kondo, H., Matsunami, H. and Scholefield, D. (2005). Effects of plant species on CH₄ and N₂O fluxes from a volcanic grassland soil in Nasu, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 51, 19-27.
- 78) Mori, A. and Hojito, M. (2007). Grassland renovation increases N₂O emission from a volcanic grassland soil in Nasu, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 53, 812-818.
- 79) Mori, A., Hojito, M., Shimizu, M., Matsuura, S., Miyaji, T. and Hatano, R. (2008). N₂O and CH₄ fluxes from a volcanic grassland soil in Nasu, Japan: comparison between manure plus fertilizer plot and fertilizer-only plot, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 54, 606-617.
- 80) Morishita, T., Hatano, R., Nagata, O., Sakai, K., Koide, T. and Nakahara, O. (2004). Effect of nitrogen deposition on CH₄ uptake in forest soil in Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 50, 1187-1194.
- 81) Mosier, A.R. (1998). Soil processes and global change, *Biol. Fertil. Soils*, 27, 221-229.
- 82) Mosier, A.R., Delgado, J.A. and Keller, M. (1998). Methane and nitrous oxide fluxes in an acid Oxisol in western Puerto Rico: effects of tillage, liming and fertilization, *Soil Biol. Biochem.*, 30, 2087-2098.
- 83) Mosier, A., Schimel, D., Valentine, D., Bronson, K. and Parton, W. (1991). Methane and nitrous oxide fluxes in native, fertilized and cultivated grassland, *Nature*, 350, 330-332.
- 84) Mosier, A.R., Parton, W.J., Valentine, D.W., Ojima, D.S., Schimel, D.S. and Heinemeyer, O. (1997). CH₄ and N₂O fluxes in the Colorado shortgrass steppe 2. Long-term impact of land use change, *Global Biogeochem. Cycl.*, 11, 29-42.

- 85) Mytton, L.R., Cresswell, A. and Colbourn, P. (1993). Improvement in soil structure associated with white clover, *Grass Forage Sci.*, 48, 84-90.
- 86) Niimi, H. (2001). Dynamics of nitrogen in upland field applied with a large amount of slurry barnyard manure in southern Kyusyu, *Proceeding of International Workshop on Nitrogen Fertilization and the Environment in East Asian Countries*, 25-26.
- 87) 西尾 隆 (1997). 脱窒作用の測定と脱窒菌の計数, 分離, 新編土壤微生物実験法 (土壤微生物研究会編), 第2版, 養賢堂, 東京, 215-222.
- 88) O'Hara, G.W. and Daniel, R.M. (1985). Rhizobial denitrification: a review, *Soil Biol. Biochem.*, 17, 1-9.
- 89) Ojima, D.S., Valentine, D.W., Mosier, A.R., Parton, W.J. and Schimel, D.S. (1993). Effect of land use change on methane oxidation in temperate forest and grassland soils, *Chemosphere*, 26, 675-685.
- 90) 小野信一 (2006a). 「土と人のきずな」補遺 (1) - 土壌窒素をめぐる疑問, 季刊肥料, 103, 肥料協会新聞部, 東京, 11-13.
- 91) 小野信一 (2006b). 「土と人のきずな」補遺 (2) - 土を見て森を見ず, 季刊肥料, 104, 肥料協会新聞部, 東京, 15-17.
- 92) 小野信一・阿部 薫 (2007). 農用地における重金属汚染土壌の対策技術の最前線, *土肥誌*, 78, 323-328.
- 93) Pinto, M., Merino, P., Del Prado, A., Estavillo, J.M., Yamulki, S., Gebauer, G., Piertzak, S., Lauf, J. and Oenema, O. (2004). Increased emissions of nitric oxide and nitrous oxide following tillage of a perennial pasture, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 70, 13-22.
- 94) Rochette, P., Angers, D.A., Bélanger, G., Chantigny, M.H., Prévost, D. and Lévesque, G. (2004). Emissions of N₂O from alfalfa and soybean crops in eastern Canada, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 68, 493-506.
- 95) Ruser, R., Flessa, H., Russow, R., Schmidt, G., Buegger, F. and Munch, J.C. (2006). Emission of N₂O, N₂ and CO₂ from soil fertilized with nitrate: effect of compaction, soil moisture and rewetting, *Soil Biol. Biochem.*, 38, 263-274.
- 96) Sawamoto, T., Kusa, K., Hu, R. and Hatano, R. (2002). Dissolved N₂O, CH₄, and CO₂ in pipe drainage, seepage, and stream water in a livestock farm in Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 48, 433-439.
- 97) Sawamoto, T., Nakajima, Y., Kasuya, M., Tsuruta, H. and Yagi, K. (2005). Evaluation of emission factor for indirect N₂O emission due to nitrogen leaching in agro-ecosystems, *Geophys. Res. Lett.*, 32, L03403.
- 98) Scholefield, D., Hawkins, J.M.B. and Jackson, S.M. (1997). Use of a flowing helium atmosphere incubation technique to measure the effects of denitrification controls applied to intact cores of a clay soil, *Soil Biol. Biochem.*, 29, 1337-1344.
- 99) Schmidt, E.L. and Belser, L.W. (1982). Nitrifying Bacteria, In *Methods of Soil Analysis, Part 2*, 2nd ed., Page, A.L. et al. (eds.), 1027-1041, American Society of Agronomy Inc., Wisconsin
- 100) Schnell, S. and King, G.M. (1995). Stability of methane oxidation capacity to variations in methane and nutrient concentrations, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 17, 285-294.
- 101) Segers, R. (1998). Methane production and methane consumption: a review of processes underlying wetland methane fluxes, *Biogeochemistry*, 41, 23-51.
- 102) 渋谷 岳・野中邦彦・川内郁緒 (1999). 草地における CH₄, N₂O 管理手法に関する研究, B-16 地球温暖化抑制のための CH₄, N₂O の対策技術開発と評価に関する研究, 環境庁地球環境研究総合推進費終了研究報告書, 133-142.
- 103) 志賀一・大山信雄・前田乾一・鈴木正昭 (1985). 各種有機物の水田土壌中における分解過程と分解特性に基づく評価, *農研センター研報*, 5, 1-19.
- 104) Šimek, M., Elhottová, D., Klimeš, F. and Hopkins, D.W. (2004). Emissions of N₂O and CO₂, denitrification measurements and soil properties in red clover and ryegrass stands, *Soil Biol. Biochem.*, 36, 9-21.
- 105) Soil Survey Staff (1999). *Key to soil taxonomy*, 8th ed., 1-328, Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture, Pocahontas Press, Blacksburg
- 106) Sommer, S.G., Sherlock, R.R. and Khan, R.Z. (1996). Nitrous oxide and methane emissions from pig slurry amended soils, *Soil Biol. Biochem.*, 28, 1541-1544.
- 107) 草地試験場 (2001). 草地試験場 (本場・支場) 気象観測データブック, 草地試資料, 4, 3-5.

- 108) 武田 潔・本松成和・蜂谷好照・福岡誠一・高原義昌 (1974). メタン酸化菌の同定と培養条件の検討, 醸工, 52, 793-798.
- 109) Thorman, R.E., Chadwick, D.R., Harrison, R., Boyles, L.O. and Matthews, R. (2007). The effect on N₂O emissions of storage conditions and rapid incorporation of pig and cattle farmyard manure into tillage land, *Boisystems Engineering*, 97, 501-511.
- 110) Tiedje, J.M. (1982). Denitrification, In *Methods for Soil Analysis, Part 2*, 2nd ed., Page, A.L. et al. (eds.), 1011-1024, American Society of Agronomy Inc., Wisconsin
- 111) Toma, Y. and Hatano, R. (2007). Effect of crop residue C: N ratio on N₂O emissions from grey lowland soil in Mikasa, Hokkaido, Japan, *Soil Sci Plant Nutr.*, 53, 198-205.
- 112) Toma, Y., Kimura, S.D., Hirose, Y., Kusa, K. and Hatano, R. (2007). Variation in the emission factor of N₂O derived from chemical nitrogen fertilizer and organic matter: a case study of onion fields in Mikasa, Hokkaido, Japan, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 53, 692-703.
- 113) Topp, E. and Pattey, E. (1997). Soils as sources and sinks for atmospheric methane, *Can. J. Soil Sci.*, 77, 167-178.
- 114) Torbert, H.A. and Wood, C.W. (1992). Effect of soil compaction and water-filled pore space on soil microbial activity and N losses, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 23, 1321-1331.
- 115) 鶴田治雄 (2000). 地球温暖化ガスの土壌生態系との関わり - 3. 人間活動による窒素化合物の排出と亜酸化窒素の発生, *土肥誌*, 71, 554-564.
- 116) Van den Pol-van Dasselaar, A., Van Beusichem, M.L. and Oenema, O. (1998). Effects of soil moisture content and temperature on methane uptake by grassland on sandy soils, *Plant Soil*, 204, 213-222.
- 117) Vallejo, A., Skiba, U.M., García-Torres, L., Arce, A., López-Fernández, S. and Sánchez-Martín, L. (2006). Nitrogen oxides emission from soils bearing a potato crop as influenced by fertilization with treated pig slurries and composts, *Soil Biol. Biochem.*, 38, 2782-2793.
- 118) Vellinga, T.V., Van den Pol-van Dasselaar, A. and Kuikman, P.J. (2004). The impact of grassland ploughing on CO₂ and N₂O emissions in the Netherlands, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 70, 33-45.
- 119) Velthof, G.L., Kuikman, P. and Oenema, O. (2003). Nitrous oxide emission from animal manures applied to soil under controlled conditions, *Biol. Fertil. Soils*, 37, 221-230.
- 120) Velthof, G.L. and Oenema, O. (2001). Effects of aging and cultivation of grassland on soil nitrogen, *Alterra Report No. 399*, 11-53, Alterra, Green World Research, Wageningen
- 121) Watanabe, T., Osada, T., Yoh, M. and Tsuruta, H. (1997). N₂O and NO emissions from grassland soils after the application of cattle and swine excreta, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 49, 35-39.
- 122) Whalen, S.C. and Reeburgh, W.S. (1996). Moisture and temperature sensitivity of CH₄ oxidation in boreal forest and tundra soils, *Biol. Fertil. Soils*, 28, 1271-1281.
- 123) Whitehead, D.C., Bristow, A.W. and Lockyer, D.R. (1990). Organic matter and nitrogen in the unharvested fractions of grass swards in relation to the potential for nitrate leaching after ploughing, *Plant Soil*, 123, 39-49.
- 124) Willison, T.W., O'Flaherty, M.S., Tlustos, P., Goulding, K.W.T. and Powelson, D.S. (1997). Variations in microbial populations in soils with different methane uptake, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 49, 85-90.
- 125) 山本吾一・永田 修・田中夕美子・波多野隆介 (2001). 森林-湿地境界域の土壌におけるメタンフラックスと土壌中メタン濃度分布, *土肥誌*, 72, 673-675.
- 126) Yamulki, S., Harrison, R.M., Goulding, K.W.T. and Webster, C.P. (1997). N₂O, NO and NO₂ fluxes from a grassland: effect of soil pH, *Soil Biol. Biochem.*, 29, 1199-1208.
- 127) Yamulki, S. and Jarvis, S. (2002). Short-term effects of tillage and compaction on nitrous oxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, methane and carbon dioxide fluxes from grassland, *Boil. Fertil. Soils*, 36, 224-231.
- 128) Yamulki, S., Jarvis, S.C. and Owen, P. (1999). Methane emission and uptake from soils as influenced by excreta deposition from grazing animals, *J. Environ. Qual.*, 28, 676-682.

- 129) 八木一行 (1997). 温室効果ガス発生・吸収量, 土壤環境分析法 (土壤環境分析法編集委員会編), 博友社, 東京, 129-138.
- 130) 八木一行 (1994). メタン, 土壤圏と大気圏 (陽捷行編著), 朝倉書店, 東京, 56-84.
- 131) 楊宗興 (1994). 亜酸化窒素, 土壤圏と大気圏 (陽捷行編著), 朝倉書店, 東京, 86-105.
- 132) Yoh, M., Toda, H., Kanda, K.-I. and Tsuruta, H. (1997). Diffusion analysis of N_2O cycling in a fertilized soil, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.*, 49, 29-33.
- 133) 吉田 堯・甲斐秀昭・原田登五郎 (1972). 土壤の易分解性有機物の集積に関する研究, *九大農学芸誌*, 26, 67-84.

Sink-source function of grassland soils for greenhouse gases

Akinori MORI

Ecosystem Functions Research Team

Summary

The carbon storage capacity of grassland soils is greater than that of cropland, but grassland management changes the amounts of methane (CH_4) and nitrous oxide (N_2O) emitted from soils. To investigate the effects of forage species, renovation, and farmyard manure (FYM) application on CH_4 and N_2O emissions from grassland soils, substantive experiments were performed on grassland plots in Nasu, Japan. The experiments are described in this thesis as follows. Chapter 3 describes the effects of forage species composition on CH_4 and N_2O emissions. Orchardgrass (OG), white clover (WC), and OG/WC grasslands emitted -1.8 , -2.4 , and -1.8 $\text{kg CH}_4\text{-C ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ and 0.39 , 1.59 , and 0.67 $\text{kg N}_2\text{O-N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$, respectively. WC increased the permeability of the soil to air but did not significantly increase annual CH_4 consumption by grassland soil, although it did significantly increase annual N_2O emissions from the soil. Chapter 4 investigates the effect of grassland renovation on N_2O emissions. Renovated plots emitted 2.1 to 5.3 kg N ha^{-1} and unrenovated control plots emitted 0.96 to 2.8 kg N ha^{-1} . Grassland renovation significantly increased N_2O emission from the soil. In the renovated plots, N was mineralized from incorporated roots and stubble, and the soil moisture was distributed within the range favorable for N_2O production and emission. Greater N_2O emission was observed with increasing soil moisture just before renovation and with precipitation just after renovation. Chapter 5 describes the effects of FYM application on CH_4 and N_2O emissions from grassland soils. Grassland plots that received FYM plus chemical fertilizer (manure plot) or chemical fertilizer only (fertilizer plot) were compared. In both plots, the sum of N applied as fertilizer and N estimated to be mineralized from FYM was adjusted to 210 $\text{kg ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$. The manure plot emitted 7.0 to 11.0 $\text{kg N}_2\text{O-N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ and the fertilizer plot emitted 4.7 to 9.1 $\text{kg N}_2\text{O-N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$. FYM application significantly increased annual N_2O emissions from the grassland soil. The manure plot emitted -0.74 to -0.16 $\text{kg CH}_4\text{-C ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ and the fertilizer plot emitted -0.84 to -0.52 $\text{kg CH}_4\text{-C ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$. FYM application did not significantly increase annual CH_4 emissions. These results show that, to mitigate N_2O emissions from grassland soils, it is important to reduce the amount of N fertilizer applied in accordance with the amount of N fixed by WC and N mineralized from FYM. It is also important not to renovate grassland at a time of year when soil temperature and soil moisture are relatively high.

Key words : grassland, greenhouse gases, methane, nitrous oxide, soil

編集委員会事務局
企画管理部情報広報課
早川忠志
飛鳥井可奈子
那須企画管理室連絡調整チーム
菊池幸夫

本研究報告から転載、複製を行う場合は、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の許可を得て下さい。

平成22年3月 印刷
平成22年3月 発行

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

〒305-0901 茨城県つくば市池の台2
TEL 029-838-8600(代)
FAX 029-838-8606

印刷所 株式会社イセブ

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要領

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、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構刊行物著作権取扱規程（14規程56号）に定めるもののほかこの要領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。

- 一 職員が投稿する内容は、主として畜産草地研究所（以下「研究所」という。）で行った研究とする。
- 二 他の職員が投稿する内容は、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.）
 - 一 原著論文：研究所において行った試験研究及び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。
 - 二 短報：一以外の研究の予報、速報などの短報とする。
 - 三 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。
 - 四 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。
 - 五 学位取得論文：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.）
調査資料・技術資料・研究資料：研究所において行った試験研究及び研究所が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。

(原稿の執筆)

第4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（13畜草B第44号）に基づくものとする。使用する言語は日本語又は英語とする。

(原稿の提出)

第5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。

- 一 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。
- 二 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6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7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。

- 一 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。審査員は研究所内及び研究所外の研究者等とし、その氏名は公表しない。
- 二 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。
- 三 事務局は審査員と著者の間のやり取りの対応にあたる。
- 四 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。
- 五 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8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9条 別刷りは次のとおりとする。

- 一 100部とし、筆頭著者が代表で受け取る。
- 二 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。

附 則

この要領は、平成20年4月1日から施行する。

