

乳牛被毛のPIXE分析値に対する各種要因の影響

青木康浩^{1,3)}、安藤 貞²⁾、山田明央¹⁾、小林良次¹⁾、張建国¹⁾

1) (独)農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
329-2793 栃木県那須郡西那須野町千本松 768

2) (独)農業・生物系特定産業技術研究機構 近畿中国四国農業研究センター
694-0013 島根県大田市川合町吉永 60

3) 現所属 (独)農業・生物系特定産業技術研究機構 北海道農業研究センター
062-8555 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 1

1 緒言

乳牛の飼養管理を合理的に行う上で、その栄養生理状態を的確に把握することは不可欠である。乳牛の栄養生理状態を把握する手法に関してはこれまで多くの検討がなされており、例えば血液中の各種物質濃度に基づく代謝プロファイルテストのように実用されているものも多い。これらに加えて被毛中の各種元素含量は、いくつかの元素において牛の健康状態や栄養状態と連動して被毛中含量が変動する¹⁻⁴⁾こと、および被毛の採取は採血に比べて家畜への侵襲が少ないという利点があることなどから、今後、牛の栄養生理状態を把握するための有用な指標となる可能性がある。

このような観点から、著者らは牛被毛中の各種元素含量について、畜産学、草地学分野での応用例がこれまでほとんどなかったPIXE (Particle Induced X-ray Emission) による分析を試み、牛の栄養生理状態が著しく変化すると被毛中の各種微量元素あるいは一部の主要元素含量も変動することを報告⁵⁾した。しかしながら、元素によっては牛の栄養生理状態が類似しても個体間で顕著に異なる場合があり⁵⁾、被毛中各種元素含量の生理的変動の程度について確認する必要がある。この点について前報⁶⁾で16試料を用いて検討し相当の変動があることを確認したが、例数を増やしてさらに検討する必要性があると考えられた。

そこで被毛中各種元素含量のPIXE分析値が、栄養状態および健康状態の良好な乳牛において通常の生理状態の範囲でどの程度変動し、その変動に対して被毛を採取する時期(季節)、搾乳牛の産次数、分娩後日数、体重、乳生産水準などの要因がどのように関与するか検討した。

2 材料および方法

2.1 供試牛およびその飼養管理

畜産草地研究所草地研究センター(栃木県西那須野町)で飼養する搾乳牛のうち、2002年5月、11月および2003年9月にそれぞれ12頭、16頭および20頭、延べ48頭から試料を採取した。このうち2002年5月における供試牛は前報⁶⁾において搾乳牛のデータとして採り上げたものである。供試牛の産次数、分娩後日数、体重、ボディコンディション(BCS)および脂肪補正乳(FCM)量について、表1に示した。

表1. 供試牛(のべ48頭)の概要.

	産次	分娩後日数 (日)	体重(kg)	BCS*	FCM量(kg)**
平均	2.2	162.9	641.2	3.13	35.88
最大	5	295	748	3.6	65.8
最小	1	7	535	2.6	21.5

* ボディコンディションスコア. 体脂肪蓄積の程度を表現する指標.
極端にやせた牛の1から過度の肥満牛の5に区分.

**脂肪補正乳量. 脂肪率4%の牛乳を基準とした乳量.

ここでBCSとは乳牛の体脂肪蓄積の程度を示す指標であり、外観や触感に基づいて極端にやせた牛の1から過度の肥満牛の5までに区分され、同じ体重でも牛によってBCSは異なることがあるというように体重とは異なる指標として扱われている。またFCM量とは、生乳の有するエネルギー価を脂肪率4%の生乳を基準として補正した乳量であり、脂肪率の異なる牛乳間で生産水準を比較するために用いられる。

供試牛の管理は、畜産草地研究所動物実験指針に従って行った。給飼は、牛群が必要とする可消化養分総量の110%を与えるように行った。飼料は、同研究所で栽培するトウモロコシおよび牧草のサイレージ、原料と構成比が一定である指定配合飼料、市販の牧乾草および製造副産物(ビートパルプ)などからなる混合飼料で、試料採取時における飼料内容はいずれの時期においても大きく異なることはなかった。給水は給水槽から自由飲水させて行った。

2. 2 P I X E 試料の準備

供試牛の背の体幹部付近から、鋏またはバリカンを用いておおむね5 cm × 5 cm にわたりなるべく皮膚近くから被毛を採取した。

分析は無標準無調整法によって以下のように行った。

被毛を5分間強く攪拌して水洗し、濾紙上で十分に乾燥させた。長さおよび太さが平均的な3ないし5本をアセトンで清拭し、なるべく隙間のないように束ねてP I X E分析用ホルダーにウェル中央部を横断させて接着テープで貼り付けた。その際、ウェルの中央に被毛の先端からの距離がおおむね8ないし10mm程度の部位が当たるようにした。P I X E分析は日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターにおいて行った。

2. 3 結果の解析

測定値の得られた元素のうち、安定的に分析値が得られたものを解析の対象とすることとした。その判断基準をここでは、測定値に対する測定値の標準誤差の比が自由度1のt-分布に従うとして5%水準で有意となる元素とした。

対象となった元素における各種要因の影響については、採取時期(ダミー変数)、産次、分娩後日数、体重、BCSおよびFCM量を独立変数とする変数増減法による重回帰分析によって解析した。また影響を及ぼす要因が採取時期のみの場合には、1元配置分散分析とSchefféの多重検定を施した。

3 結果および考察

今回の供試牛は、飼料給与や通常の管理が好適になされている牛群から、個体に関する要因がある程度ばらつくように、かつ臨床的に健康な牛を抽出したものであった。全体として乳生産水準は高く、日本では近年遺伝的能力および飼養管理の改善にともなって乳牛の乳生産水準は向上しており、今回の供試牛もその状況をよく反映するものとみなされた。

48試料のP I X E分析によって35種類の元素がいずれかの試料から分析された。そのうち全試料で安定的に分析値が得られた元素はいずれも必須元素⁷⁾で、主要元素のうちK, Ca, Na, Mg およびS, 微量元素のうちZn, Fe, Cu およびBrの計9種類であった。前報⁶⁾では今回も対象とした12試料について16種類の元素を採り上げて検討したが、この16種類は測定値に対する標準誤差の比率が50%以下のものという暫定的な基準に従ったものであった。これに対して、今回は試料数を多くしたことに加えて検討対象として

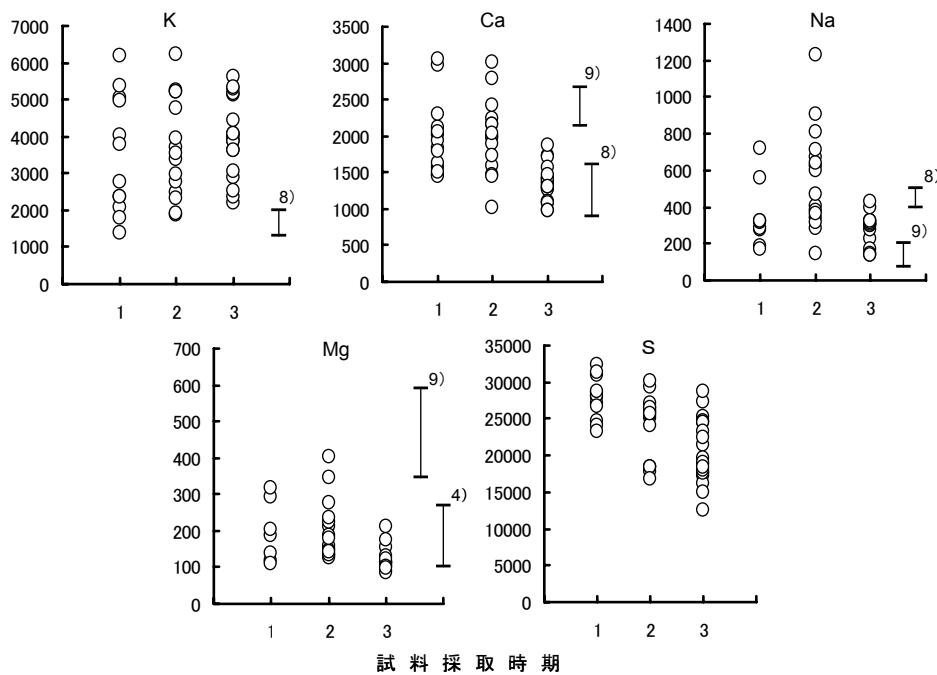


図1. 牛被毛中主要元素含量(μg/g)の個体間変動. 試料採取時期の1, 2および3はそれぞれ2002年5月, 11月および2003年9月を示す. 図中の垂直バー(Sを除く)はそれぞれの番号に対応する報告を参照したもの.

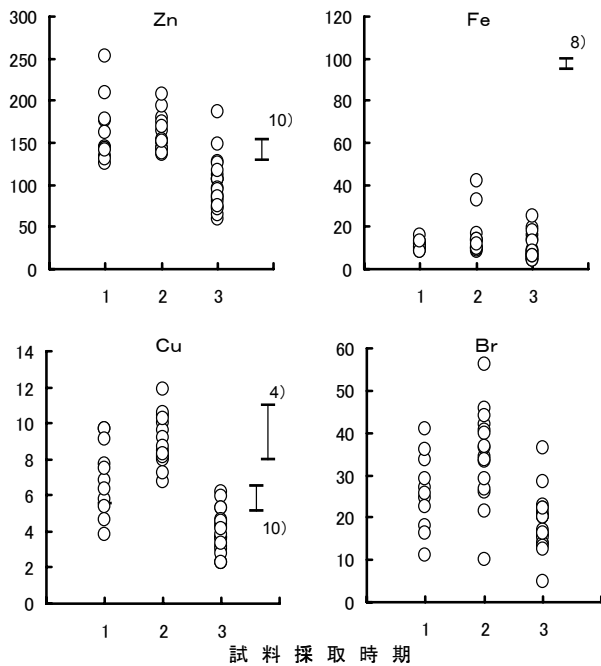


図2. 牛被毛中微量元素含量(μg/g)の個体間変動. 試料採取時期およびBrを除く図中の垂直バーは図1と同様.

ないし 7ppm で必ずしも多くはない¹¹⁾が, 乳中への分泌がない肉牛に比べて, 今回の供試牛のように乳生産水準の高い乳牛では乳中への Fe 分泌量の増加にともない体蓄積量が減少している可能性が考えられた.

採り上げる元素の基準をより厳しくしたことが, 前報に比べて元素数が大幅に少なくなった理由と考えられた.

3. 1 被毛中元素含量の変動幅

検討対象とした元素の分析値の分布を, 主要元素について図1に, および微量元素について図2に示した. これらの図には, 牛被毛中含量に関する報告^{4,8-10)}における値を参照値として付した. なお本報と同じ搾乳牛について同様の飼養条件で得られた報告はみられず, ここでの参照値は放牧主体で飼養される肉牛にお

いてのデータである. また S および Br については参照できる報告がみられなかった.

いずれの元素についても相当大きく変動し, また多くの元素で試料採取時期により被毛中含量が異なるようにみられた. 参照値と比べて相当変動幅が大きい傾向がある理由については, ①参照した報告がアメリカ合衆国^{4,10)}や東欧^{8,9)}におけるもので今回の条件と圃場土壌中ミネラル含量が必ずしも類似しないために飼料中含量が異なる可能性のあること, ②放牧飼養の肉牛に対して搾乳牛は一般に無機物摂取量が多いこと, ③搾乳牛における体内蓄積量は乳中への分泌量に大きく左右されること, などが挙げられると考えられた.

とくに Fe は, Anke と Rich⁸⁾によると被毛中含量の最適な条件における水準が 95 ないし 100μg/g であるのに対して, 3.9 から 41.7μg/g と大きく下回ったものの, 飼料中の Fe 含量は正常な範囲と推定され, Fe 欠乏による考えられる症状は認められなかった. このことから, 今回観察された水準が異常に低い値とは考えられなかった. Fe の乳汁中水準は 6

以上のように、今回供試した乳牛における各種元素の被毛中含量は、従来報告されている肉牛における水準と比べて大きく異なるものがあること、また個体による変動が全般に大きいことがうかがわれた。これまで日本における一般的な能力の乳牛を通常の飼養管理下においた条件で被毛中各種元素含量を調べた報告はほとんどなく、今回のデータはその点で有意義なものと考えられる。

3. 2 搾乳牛における各種要因の影響

被毛中含量の変動に対する各種要因の影響を調べたところ、Ca, Na, Mg および Zn については試料採取時期を含む複数の要因が (表 1)、また S, Br および Cu については試料採取時期のみが (表 2) 有意な影響を及ぼすことが示された。分娩後日数の影響が有意であった元素はみられなかった。また K および Fe の被毛中含量に対する各要因の影響は認められなかった。

表 2. 被毛中含量に対する各種要因の影響. ダミー変数を含む重回帰分析で有意な影響 ($P < 0.05$) の認められた元素について示す. 時期 (試料採取時期) の効果は定数に加算する値, それ以外の要因の効果は係数として示す.

	Ca	Na	Mg	Zn
P	0.0011	0.0088	0.0252	0.0221
定数	2309.56	-326.51	-97.39	224.56
時期				
2002年 5月	0	0	0	0
2002年11月	99.99	165.03	-18.11	24.70
2003年 9月	-570.01	-98.14	-76.86	-49.60
産次数 (1産次当り)	—	—	-17.00	—
分娩後日数	—	—	—	—
体重 (1kg当り)	—	1.05	—	—
BCS (1 st イト当り)	—	—	108.93	—
FCM (1kg当り)	-10.32	—	—	-1.86

表 3. 被毛中 S, Br および Cu 含量の試料採取時期による相違. 異文字間に有意差 ($p < 0.05$) があることを示す.

試料採取時期	S	Br	Cu
2002年 5月	27802.3 ^a	25.9 ^{ab}	6.84 ^a
2002年11月	23877.3 ^{ab}	34.8 ^b	8.98 ^a
2003年 9月	20476.2 ^b	19.4 ^a	3.94 ^b

ている¹¹⁾が、それにもかかわらず乳生産水準が高いほど被毛中含量が減少する傾向が認められたことから、とくに高泌乳牛における Ca 給与法については従来知られているように十分な注意が必要であることが確認されたといえる。

Na の被毛中含量が体重の大きい個体ほど多くなる傾向が認められたことは、おそらくそのような牛ほど Na 摂取量が多いことを示すと思われる。Na は NaCl として飼料中に添加するとともに、5kg 程度のブロック状のものを全牛が接近可能な場所に設置して自由に舐めさせることで与えている。今回舐塩の行動を観察してはいないが、体重の大きい牛ほど飼料へ添加された NaCl 摂取量が多いとともに舐塩に由来する摂取量も多くなると推察された。

Mg について被毛中含量の産次の進行にともなう減少がみられた原因については、Mg 欠乏症が老齢牛ほど発生しやすい¹²⁾ことから、飼料中 Mg 吸収率は加齢にともない低下すると考えられ、そのため産次の進行にともない体内への吸収量が減少するためと推察された。また泌乳牛では乳中への Mg 分泌量が比較的多く、摂取量が不足すると被毛中含量も低下しやすいと考えられている⁴⁾。すなわち飼料摂取量の多寡をよく反映

して変動するといえ、その点で BCS が高い牛は飼料摂取量も多いために被毛中 Mg 含量も多くなると考えられた。

Zn は微量元素としては乳中への分泌量が多く¹¹⁾、そのため高乳量の牛では Zn 出納が負になることがある¹³⁾。今回 FCM が多くなるほど被毛中含量が低下する傾向がみられたことは、Ca について述べたのと同様に、乳中への分泌量の増加にともなう体蓄積量の減少を反映するものと考えられた。

以上の元素と S, Br および Cu の被毛中含量が、2003 年 9 月において少なかったおもな原因としては、この時期が夏季の暑熱ストレスの影響を累積して受けている時期であることから、栄養状態や健康状態に著しい影響をもたらすほどではなかったものの、採食量が他の春季や秋季に比べて少なく、それにより各元素の摂取量も減少したためと考えられた。また元素によっては、発汗や呼吸器道からの水分蒸散にともなう体外への損失量がこの時期に多かった可能性もある。

K および Fe の被毛中含量に対する各種要因の影響は有意でなかったが、これらの被毛中含量は相当大きくばらつくようにみられた。すなわち最小および最大値は K においてそれぞれ 1385.6 および 8843.9 $\mu\text{g/g}$ 、Fe においてそれぞれ 3.875 および 41.69 $\mu\text{g/g}$ と、最大値の最小値に対する比率が K において 6.3 倍、Fe において 10.8 倍であった。このような大きな変動が一定の要因によらない原因については、単に個体差の幅がこの程度はあるためか、あるいは例えば被毛試料の洗浄法など分析に関わる要因によるのか、現在まで特定できてない。この点については、さらに検討を要すると思われた。

3. 3 まとめ

栄養状態や臨床的な健康状態が正常な乳牛において、PIXEによって分析された被毛中各種元素含量に対する各種要因の影響を、前報⁹⁾から例数を増やして検討した。

48 全試料を対象としたところ、安定的に PIXE 分析値が得られた元素は、S, K, Ca, Na, Mg, Zn, Fe, Cu および Br の 9 元素であった。

これらの変動幅は全般に従来報告されているよりも相当大きかった。その変動に対しては、K および Fe を除くと、試料採取時期（季節）が影響を及ぼし、夏季の暑熱の影響を受けたと考えられる時期ほど春季や秋季に比べて被毛中含量が少ないことが明らかにされた。その影響に加えて、Ca および Zn の含量は乳生産水準が高いほど少なくなり、Na 含量は体重が大きいほど多くなることも示された。さらに Mg 含量は産次数の進行にともない減少し、体脂肪の蓄積が多くなるほど増加することも示された。

以上のことから、通常の飼養管理下にある健康な乳牛におけるいくつかの元素の被毛中含量は、生理的な範囲でも従来考えられているよりも大きく変動し、その変動には季節や栄養管理に関わる要因が関与することが示唆された。このことは被毛中の Cu, Mn など¹¹⁾、あるいは Mg および Cu²⁾の含量によって飼料給与の適正さが評価できるとした報告の結論を支持するものである。PIXEによる被毛の無調製無標準測定では、特段の前処理が不要で多元素が同時に測定できるという利点があり、被毛が家畜への侵襲が少なく採取できることをあわせて考慮すると、今後家畜飼養管理の高度化を図る上で有用な手法となることが期待され、さらに畜産・草地分野での応用の拡大が望まれる。

引用文献

- 1) Hidiroglou, M. and D. T. Spurr (1975) Influence of cold exposure and diet change on the trace element composition of hair from Shorthorn cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 55: 31–38.
- 2) 小倉幸子, 牛見忠蔵(1981) 牛の血液および被毛のセレンウム含量. *家畜試研報*. 82 : 41–45.
- 3) Ritter, M., H. Hardebeck, D. Kowertz and H. Sommer (1981) Mineral elements in hair of cattle and their importance for disease and management investigations in dairy herds. *Tierärztliche Umschau*, 36: 549–552.
- 4) Fisher, D. D., L. L. Wilson, R. M. Leach and R. W. Scholz (1985) Switch hair as indicator of magnesium and copper status of beef cows. *Am. J. Vet. Res.* 46: 2235–2240.

- 5) 青木康浩, 安藤貞(2002)乳用牛の栄養条件と体毛 PIXE 分析値との関係. NMCC 共同利用研究成果報文集. 9 : 126-131.
- 6) 青木康浩, 安藤貞(2003)乳牛の被毛 P I X E 分析値の生理的変動. N M C C 共同利用研究成果報文集. 10 : 149-153.
- 7) McDowell, L.R., (2003) Classification of minerals. *In* Minerals in Animal and Human Nutrition, 1-4.
- 8) Anke, M. and M. Rich (1979) Haaranalyse und spurenelementstatus, VEB Fishcer Verlag, Jena
- 9) Szabo, F., E. Zele, J. P. Polgar and Zs. Wagenhoffer (1999) Study on peat bog soil pastures for sustainable development beef cattle farming. *Livest. Prod. Sci.*, 61: 253-260.
- 10) van Ryssen, J.B.J., P. D. Whanger, H. A. Turner and I. J. Tinsley (1994) Mineral and vitamin interactions of steers in a Mediterranean climate. *Livest. Prod. Sci.*, 38: 107-115.
- 11) 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (1999) 無機物. 日本飼養標準・乳牛 (1999 年版), 中央畜産会, 東京, 12-18.
- 12) 寺島福秋(1989)反芻家畜におけるマグネシウム代謝の特異性とその代謝異常. 日畜会報. 60 : 105-114.
- 13) 久米新一, 栗原光規, 柴田正貴, 相井孝允(1991)適温及び高温環境下における泌乳牛のミネラル要求量. 九州農試研報. 26 : 311-359.