

都市酪農の乳成分に関する研究

粗繊維含量及び粗飼料の種類が乳脂肪低下に及ぼす影響

関口 博*・遠畑 亮*・中野房次*

Studies on Milk Compositions in Urban Dairy Farms

Influence of fiber content in the diet and sorts of roughages on milk fat depression

Hiroshi SEKIGUCHI, Ryo TOHATA and Fusaji NAKANO

(要 旨)

3頭のホルスタイン種搾乳牛を分娩2週後から予備期(4週)、試験期(12週)、慣行期(4週)に区切り、試験期は4週づつ3種の粗飼料別3×3ラテン方格の実験計画を組んで試験飼養した。全飼料DM中粗繊維含量は予備期の17.4%に対し、試験期は10.5%と低く($P<0.001$)、乳脂率は予備期、試験期、慣行期でそれぞれ3.50、2.23、3.63%と試験期に低かった($P<0.01$)。尿pHは試験期に低かったがその他の尿、血液検査で試験期を特徴づけるものはなかった。これに対して第1胃液揮発性脂肪酸の構成比は試験期と他の2期とで異なり、酢酸比の低下($P<0.01$)、プロピオン酸比の上昇($P<0.05$)が明らかに認められた。粗飼料の種類の影響は不明瞭であった。平均値で見ると、ビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらでそれぞれ1.97、2.10、2.63%といなわら給与でやや高かったが統計的有意ではなかった。生理検査では赤血球数、血清蛋白でいなわら給与が低く(ともに $P<0.10$)血清カルシウムではビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらの順に低く、各飼料間で有意であった($P<0.01$)。しかし第1胃液性状はどの項目も有意差を見なかった。乳脂率と各飼料成分の摂取DM比との相関は粗繊維が最も高く(0.704)、重回帰分析の結果からも最も強い変動要因とされた。同様に第1胃液の揮発性脂肪酸比との相関は酢酸とプロピオン酸とで絶対値がほぼ等しかった(それぞれ0.638、-0.678)。乳脂率低下の経時変化を検討した結果、乳脂率低下に影響する粗繊維含量は12.9~12.6%で、その反応への猶予期間は1ないし2日と推測された。粗繊維含量を17%から除々に低下させた場合乳脂率が低位の定常状態に達するには24日を要し、乳脂量では更に3~5日遅延するので、同様の実験を実施するには4週間以上の観察期間が必要と推察された。

ま え が き

濃厚飼料多給による乳脂率の低下は、飼料成分的には粗繊維含量の不足によると一般に言われている¹⁾。しかし国内におけるこの種の実験報告例は比較的少なく^{2), 3)}、なおあいまいな点を残していることも否めない。著者らは管内に低脂肪乳が発生したのを機会に、次のねらいをもつ

てこの試験を実施した。

その第1は、飼料中粗繊維含量を低下することによって乳脂率低下を実験的に証明することであり、第2に、粗繊維率を低水準で一定にした場合、一般の流通粗飼料の種類によって乳脂率が影響されるか否かを検証しようとした。また第3として、粗繊維含量と乳脂率との変化

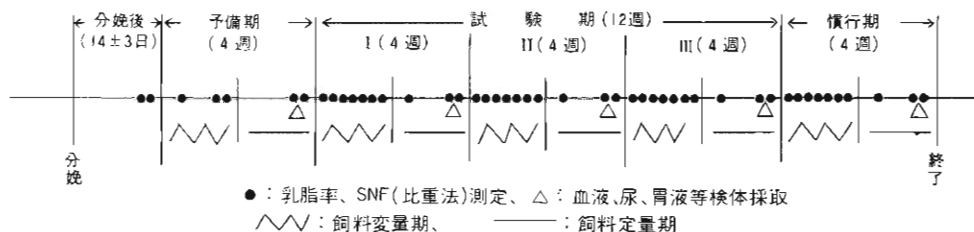


図1 試験期の構成及び検体採集日

表1 給与飼料とそのTDN割合(%)

飼料名	分娩後	予備期	試験期 1)			慣行期
			A	B	C 2)	
ビートパルプ	乾草主体 の場慣行 飼料	20	○	—	—	サイレージ、生草 主体の場慣行飼料
ヘイキューブ		10	—	○	—	
いなわら		10	—	—	○	
せんかんふすま		30	○	○	○	
配合		30	50	50	50	

1) 3種のうち1種の粗飼料とせんかんふすまの給与割合を変えて、TDN要求量を満たし、且つ全給与飼料の粗繊維/D.M.を一定とする

2) A, B, Cは粗飼料としてそれぞれビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらを用いる

を経時的にとらえ、乳脂率に影響する粗繊維の下限水準を求めるとともに、この種の実験を行うに当って適正な試験期間を定めるように努めた。

最近乳成分に対する関心は乳脂率よりむしろ無脂固形分率に移っているようだが、牛乳取り引きに際して脂肪単価制は多くの地域で採用されており、酪農経営に占める意義も大きい。当場の置かれているこの地域では一般に乳牛に対する粗飼料供給は不十分なため、給与飼料と乳脂率に関する的確な資料を集積する必要にせまられている。本報告はその一例であるが、地域の酪農家の乳質向上の一助となれば幸いである。

試験材料および方法

2産以上のホルスタイン種搾乳牛3頭を図1に示す如く試験飼養した。すなわち、分娩後約2週間は場慣行に従って飼料を漸増し、その後の4週間を予備期、その後の12週間を試験期、その後の4週間を慣行期とした。試験期12週は4週づつ区切り、I、II、III期とした。各4週の前半は飼料の種類、量を徐々に変える飼料変量期、後半2週はこれらを一定とする飼料定量期とした。乳量は毎搾乳時、乳脂率は各期末2日連続採乳して試験処理間の比較に供したが、試験期以降の飼料変量期には隔日採取してその経時変化を探ろうとした。体重は採乳連続

2日に合わせて測定し、尿、血液、第1胃液も同様に各期末2日連続採取した。

養分要求量の算出は日本飼養標準(1974年版)に準拠するが、ここに用いる体重は各測定2日間の平均値を、乳量は2週間の直線回帰による予測値を、また予備期までの乳脂率はその前日2日間の測定値を用い、試験期以降は変動を予想して予備期最終日の測定値を使った。このようにして求めたTDN要求量の5%増を表1に示す割合で各飼料の給与量を算出した。試験期の給与量は、3種のうち1種の粗飼料とせんかんふすまの給与割合を変えてTDN給与水準(105%)と全DMに対する粗繊維率(12.5%)とを一定にするため、次式を用いて算出した。

$$\begin{cases} a = \frac{b}{100}x + \frac{c}{100}y \\ z = \frac{d}{100}x + \frac{e}{100}y \\ \frac{i}{100} = \left(\frac{f+z}{x+y+h} \right) \left(\frac{100}{g} \right) \end{cases}$$

ただし、粗飼料給与量をx(kg)、ふすま給与量をy(kg)、粗飼料とふすまの合計粗繊維給与量をz(Kg)としたとき、a:粗飼料とふすまで給与すべきTDN(g)、b:粗飼料

表2 供試牛及び試験期粗飼料の組合せ

牛No	分娩日	産次	試験期		
			I	II	III
⑤	51. 3. 18	2	A	B	C
②⑤	51. 5. 11	2	B	C	A
⑨	51. 5. 26	3	C	A	B

1) A, B, Cはそれぞれ粗飼料としてビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらを用いる(表1参照)

TDN(%), c: ふすまTDN = 76.6%, d: 粗飼料粗繊維率(%), e: ふすま粗繊維率 = 4.4%, f: 配合飼料の粗繊維給与量(kg), g: 粗飼料・ふすま・配合飼料のDM = 88%, h: 配合飼料給与量(kg), i: 全体の粗繊維率 = 12.5%, とする。これらを粗飼料の種類, 期間, 個体別の3×3ラテン方格に組み合わせた(表2)。予備期, 試験期はほかに総合栄養剤(ニュートレスG, フジタ製菓)と食塩とをそれぞれ1日1頭当たり30gづつ給与した。慣行期の飼料給与量, 成分分析, 残飼測定は行わなかったが, 通常, サイレージまたは生草30~40kgビートパルプ2~3kg, 配合飼料(試験使用と同一名柄)6~12kg, その他時期に応じて牧乾草, 飼料カブ等を給与し概ねTDN要求量の5%増としている。予備期, 試験期の各飼料定量期に残飼が出た場合, その全量秤量, 水分測定, 各飼料の分類を行って摂取量の正確な把握に努めたが, ふすまと配合飼料は分離することなく給与量に比例配分して算出した。このような飼料給与方法をとれば, 乳脂率に対する粗繊維含量の影響は粗繊維の多い予備期, 慣行期とそれの少ない試験期との比較によって検出され, また粗飼料の種類の影響はTDN給与水準及び粗繊維率の影響を除去したラテン方格試験によって把握されるものと想定した。

表3 飼料成分分析値

飼料名	水分	DM	粗蛋白	粗脂肪	粗繊維	粗灰分	NFE	ADF	DCP	TDN	摘要
ビートパルプ	12.1	87.9	7.1	1.0	20.2	3.2	56.4	27.2	3.6	68.3	摘要消化率は日本標準飼料成分表(1975年版)による。 DCP, TDNはメーカー表示
ヘイキューブ	13.5	86.5	15.1	1.5	25.0	10.4	34.5	30.2	11.6	51.1	
いなわら	14.5	85.5	4.8	1.1	32.2	16.1	31.3	35.2	1.2	36.6	
せんかんふすま	12.3	87.7	14.9	2.5	4.2	2.7	63.4	11.5	11.2	76.3	
配合飼料 ¹⁾	11.7	88.3	15.3	2.7	6.0	7.4	56.9	11.4	(12.5)	(68.0)	

1) 配合飼料は東日本くみあい飼料(株)クインエース15

ここに用いた飼料はすべて, この地域の酪農家に広く利用されているものであって, ビートパルプは米国産ペレット状を浸水後に, ヘイキューブは米国産アルファルファをそのまま, いなわらは埼玉県産のものを3~5cmに切断後それぞれ給与した。せんかんふすまは東京都経済連より購入, 配合飼料は東日本くみあい飼料(株)製造のもの(商品名:クインエース15)であった。給与量算出に用いた粗繊維, DCP, TDNの含量は日本標準飼料成分表(1975年版)に従ったが, 配合飼料はメーカー表示(粗繊維10.0%, DCP 12.5%, TDN68.0%)を用いた。供試牛はすべてスタンチオン繋留とし, 朝6:00, 夕15:00に1日分の飼料を等量給与し, また朝8:30, 夕15:30の2回バケツ式ミルクカーで搾乳した。朝搾乳後9:30~15:00まで完全に除草した運動場に放飼したが慣行期には生草の繁茂する運動場に放した。体重測定は9:30に, 生理検体は血液, 尿, 胃液の順序を変えることなく10:00より採取した。

乳量は毎搾乳時秤量記録し, 体重は牛衝器によった。乳成分は1日の場合朝夕2サンプルを, 2日間連続の場合は4サンプルを乳量に応じて合乳し, 乳脂肪はバブコック法, 全固形分は混砂法(公定法), 無脂固形分(以下SNF)はすべて比重法で測定したほか全固形分測定時(各期末2日間)には公定法の値をも算出した。尿は尿道カテーテルで採取直後, アセトン体はシノテスト3号法で, 蛋白質はスルホサリチル酸法で, pHはpHメーター(日立掘場)で, 結石は遠心後鏡検でそれぞれ検査した。赤血球数は二重蔭酸塩入り試験管で採取して同日中にThoma法で測定, 別に50ml遠心管に採血したものを約3時間後遠心分離し, 直ちに血清蛋白質を屈折計(日立)で, グロス反応をHayem液所要量値で記録した。残余の血清はガラス試験管にゴム栓を付し-20℃で凍結保存後6ヶ月以内に2回に分けて分析した。アルブミン, 尿素窒素, コレステロール, リン(以下P), GOT, α -GPTは迅速血液成分分析ユニット(VET-AID,

富士平工業)で凍結融解後1週間以内で処理したが、その他の測定条件はすべて所定に従った。カルシウム(以下Ca)、マグネシウム(以下Mg)はストロンチウム1250 ppmを含む0.1 N 過塩素酸溶液でそれぞれ20倍、100倍に稀釈した後原子吸光分光分析装置(日本ジャーレルアッシュ, AA-780)で分析した。それぞれの測定波長は 4227 \AA 、 2852 \AA で、電流10 mA、アセチレンガス 0.4 kg/cm^3 、 2.5 l/分 、空気 1.5 kg/cm^3 、 12 l/分 であった。第1胃液は経鼻カテーテルで採取、始めの150~200 mlを捨てた後のものをガーゼで濾過後直ちにpHを測定(pHメーター, 同上)、更に遠沈後上澄み100 mlあて5% HgCl_2 2 ml添加してポリサンプルビン2個に分注して $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ ストッカーに保存した。第1胃液揮発性脂肪酸の測定にはガスクロマトグラフィ(島津GC-4C MP F, 水素イオン化検出器)を使用、胃液2 mlに10 mMol/l クロトン酸液1 ml, 1N 硫酸1 mlを加え遠沈上澄み2 μl を打ち込む。カラムはガラス, 180 cm, 充填剤は10% DEGA + 2% H_3PO_3 をC-22(60~80メッシュ)に吸着、カラム温度は $131 \text{ }^\circ\text{C}$ 、注入部・検出部温度は $160 \text{ }^\circ\text{C}$ 、窒素ガスは 38 ml/分 、空気 1.1 kg/cm^3 、水素 0.45 kg/cm^3 であった。供試飼料の一般成分分析方法は公定法に従い、Acid Detergent Fiber(以下ADF)の分析は森本らに準じた。

分散分析等一般統計手法はスネデカーとコクラジ¹⁰⁾によったが、尿アセトン体等¹¹⁾表示の項目は田口の累積度数法を適用した。乳脂率、乳脂量の経時的変化の解析には大塚の開発した手法とフォートランプログラムに従って実施した。

試験結果

1. 飼料成分分析結果

供試飼料の成分分析結果は表3の通りであり、標準値⁶⁾と大幅に異なるものはなかった。ADFは粗繊維より3~7%高く、ビートパルプ、せんかんふすまでこの差は大きく、いならで小さかった。日本標準成分表⁶⁾の消化率を適用してDCP, TDNを算出したが、配合飼料はメーカー表示の値をそのまま用いた。

2. 試験経過の概要

図2は個体別の乳脂率, SNF, 乳量の推移を示したものである。まず乳脂率の動きを追って見ると予備期から試験期前半にかけて3%以上の高い位置にあったものが、試験I期中頃に至って3頭とも急速に低下している。その後個々に変動あるもの試験期中は概ね3%以下の低い水準で移行したが、慣行期に入るや急速に上昇に転じ再び3%以上に戻った。一方SNFは試験処理に関係なく全期間9%前後で移行しその変動幅も小さい。

乳量は個体差が強く、牛⑤は20kg前後をII期前半を頂点とする山形に推移し、牛⑥は分娩後の上昇がII期前半に急速に低下し、又牛⑨は試験期中30kg以上あったもの(最高37.5kg, II期第14日目)が慣行期に入って急速に減少した。牛⑤の試験III期の前半即ち飼料変量期の14日間は隣接スタンションから生草盗食の可能性が発見され直ちに場所を移したが、この間のデータは遺棄しなければならなかった。期間中所々に食欲不振が見られた。牛⑤ではI期の前半, II期の後半に、牛⑥では予備期中頃(全廃1日間)とIII期の後半に、牛⑨はI期中頃, II期の後半及び慣行期前半(軽度鼓腸症を伴う)にそれぞれ食欲不振に陥った。そのほか乳房炎等特筆すべき事故障害は見られなかった。(尿結石症については後述)。

3. 粗繊維含量の影響

粗繊維含量の乳脂率に対する影響を探るため予備期、試験期、慣行期間の一元配置分散分析を試みた(表4, 5, 6)。摂取養分は慣行期には測定されなかったため予備期と慣行期とを比較して見ると、DM摂取量では試験期にやや低い有意ではなく、養分充足率ではDCP, TDNとも試験期に高く、前者は有意であった。試験期給与TDN算出に用いた乳脂率は予備期の測定値を使ったため、試験期に入って乳脂率が低下すると実際の要求量より過剰に給与されていたことになった。各成分摂取量のDM比ではいずれも有意差を生じたが、特に粗繊維とADFはその程度が強く($P < 0.001$)、試験期に低粗繊維飼料を給与するという目的は充分達せられた。しかしこれが計画値(12.5%)より下まわったのは配合飼料粗繊維が計算値10.0%に対し分析値6.0%(表3)だったからであった。体重は予備期から慣行期へと乳期の進行に伴って増加の傾向にあった。個体差が大きいためいずれも統計的有意でないが、乳量は予備期、試験期に比べて慣行期が低く、FCMは試験期、慣行期に対して予備期が高かった。両者の関係は試験期では乳量高く乳脂率低く、慣行期ではその逆であり、乳に排出されるエネルギー量は試験期、慣行期がほぼ等しいのに対して予備期に高かったことを意味している。乳全固形分は予備期($P < 0.05$)、試験期($P < 0.01$)に対して慣行期が有意に高かった。乳脂率は予備期、慣行期に対して試験期は明らかに($P < 0.01$)低く、その差も1%以上と大きかった。SNFは前述の通り大幅な変化はないが予備期から慣行期に向って上昇の傾向にあった。乳脂量は乳量の変動に影響されて有意に至らないが乳脂率と同様の傾向にあった。

生理検査のうち尿アセトン体は30検査例中24例が十以

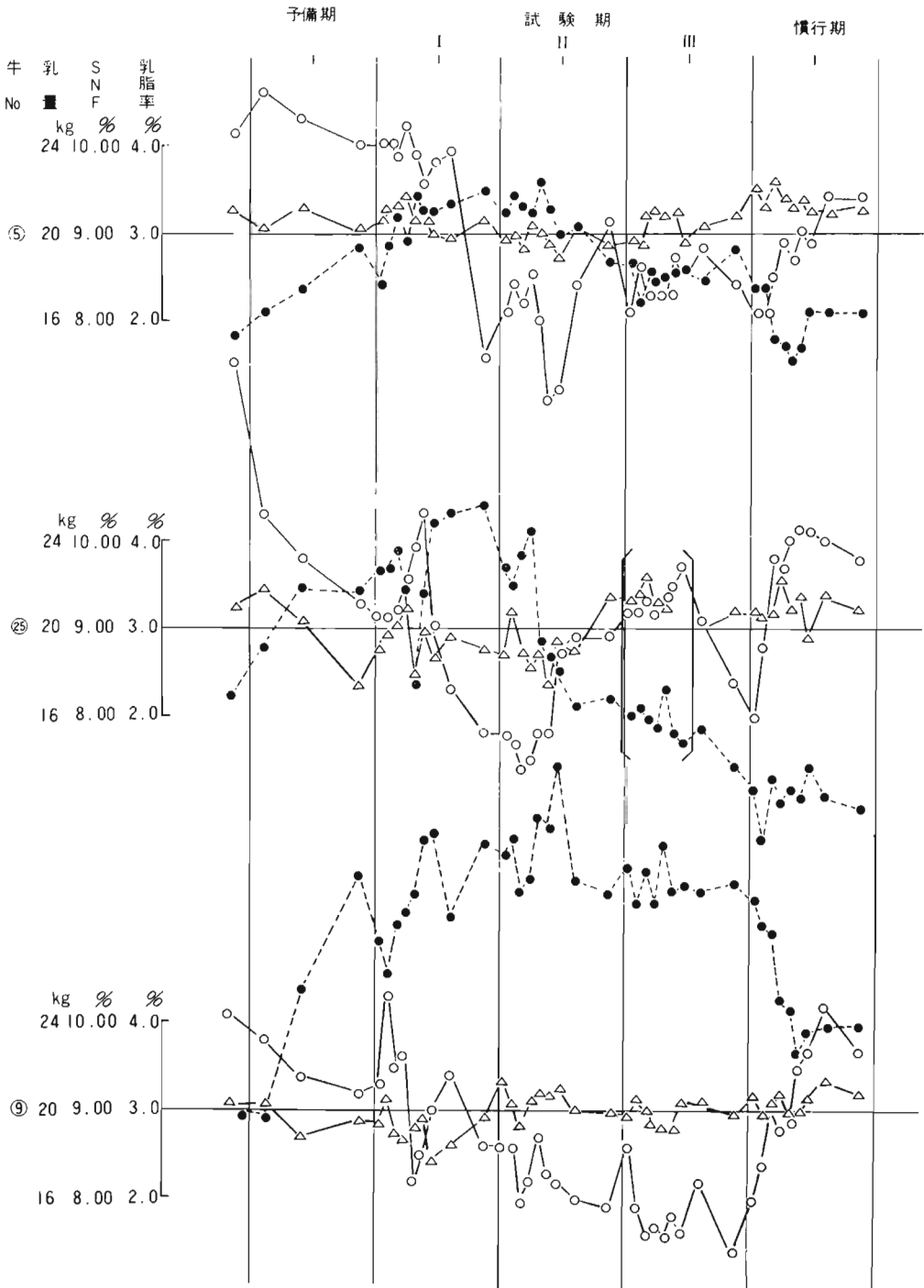


図2 個体別乳脂率、SNF、乳量の推移

○—○ 乳脂率 △—△ SNF ●—● 乳量

{ } 内はデータとして取り扱わない

表4 粗繊維含量の影響：(1) 摂取養分及び生産物

検査項目	予備期 n : 3	試験期 n : 9	慣行期 n : 3	F 値 : 有意性	
DM摂取量 kg/日	16.2	14.9	—	0.63 NS	
摂取/要求	DCP %	119 a	152 b	—	8.61 *
	TDN %	106	118	—	3.84 NS
成分摂取量	粗蛋白質 %	13.6 A	15.9 B	—	14.28 **
	粗脂肪 %	2.2 (A)	2.7 (B)	—	60.51 ***
	粗繊維 %	17.4 (A)	10.5 (B)	—	543.74 ***
	のDM比	8.2	7.2	—	3.87 NS
粗灰分 %	NFE %	58.7 (A)	63.8 (B)	—	21.90 ***
	ADF %	24.0 (A)	17.3 (B)	—	579.17 ***
	体 重 kg	510	540	574	3.39 NS
乳 量 (期末1週) kg/日	23.1	23.3	17.6	0.85 NS	
FCM (期末1週) kg/日	21.2	16.9	16.7	0.93 NS	
乳全固形分 %	11.640 a	11.152 A	12.680 Bb	8.18 **	
乳 脂 率 %	3.50 A	2.23 B	3.63 A	11.88 **	
SNF (公定法) %	8.33	8.85	9.01	3.18 NS	
乳脂量 (期末1週) g/日	797	504	640	3.17 NS	

1) 異なるアルハベットは、統計的有意。ただし、a、b : $P < 0.05$, A、B : $P < 0.01$, (A), (B) : $P < 0.001$

2) *** : $P < 0.001$, ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.05$ それぞれ統計的有意

上であったが、その程度の強さは慣行期に比べて予備期、試験期が強いものと受けとられた ($P < 0.01$)。

尿蛋白は全期間すべて陰性又は±(2例)であった。尿pHは試験期に低く、慣行期に対して有意 ($P < 0.05$) であった。遠沈、鏡検による尿結石の出現は試験期のみ認められ、その6例の内容は、牛⑤Ⅱ期、Ⅲ期はともにリン酸アンモニウムマグネシア結晶、牛⑥Ⅱ期、Ⅲ期は前者はリン酸アンモニウムマグネシア結晶、後者は無晶性尿酸塩、牛⑦Ⅰ期、Ⅱ期は、前者はリン酸アンモニウムマグネシア結晶、後者は無晶性尿酸塩とされるものであった。血液関係の諸検査では血清Pを除き期別に、即ち試験処理によって大差はなかった。ただし個別の検査例では変動幅の大きいものもあり、例えば尿素窒素では5.5~24.4mg/dl、コレステロールでは154~255mg/dlと大きい、これら2、3の異常値を除けば概ね正常範

囲にあるものと見なされた¹⁴⁾。血清Pは2.5~5.95mg/dlの範囲であるが慣行期には他の2期に比べて有意に ($P < 0.01$) 低く、その平均値は生理範囲を越すものであった。血液性状が期別に大差ないのに比較して第1胃液性状は試験処理による影響が強く表出していた。先ずpHでは有意でないが試験期に低かった。総VFA、酢酸、酪酸の各モル濃度は試験処理を特徴づけるものではなかったが、プロピオン酸とその他の酸はともに試験期は慣行期に対して有意に高かった。これらの関係はVFAの構成比を見れば更に明らかとなり、試験期が他の2期に比し酢酸で低く ($P < 0.01$)、プロピオン酸で高く ($P < 0.05$)、酪酸で大差なく、その他のVFAでは高く ($P < 0.01$)、それぞれ統計的に有意であった。

4. 粗飼料の種類による影響

給与粗飼料の種類が牛体、特に乳脂率に与える影響を

表5 粗繊維含量の影響：(2)尿及び血液検査

検査項目	予備期 n : 3	試験期 n : 9	慣行期 n : 3	F 値 : 有意性	
尿アセトン (+以上/検査数)	6 / 6 A	15 / 18 A	3 / 6 B	3.67	**
尿蛋白 (+以上/検査数)	0 / 6	0 / 18	0 / 6	-	NS
尿 pH	7.99 ab	7.33 a	8.35 b	3.99	*
尿結石 (出現/検査数)	0 / 3 (A)	6 / 9 (B)	0 / 3 (A)		***
赤血球数 万/ mm^3	633	616	649	0.26	NS
グロス反応 (HAYEM液 ml)	3.65	3.56	3.24	3.16	NS
総蛋白 g/dl	7.1	7.4	7.5	0.72	NS
アルブミン g/dl	3.4	3.5	3.4	0.32	NS
A/G	0.91	0.91	0.86	0.49	NS
尿素窒素 mg/dl	10.0	12.2	8.1	0.83	NS
血清中のコレステロール mg/dl	219	221	217	0.04	NS
Ca mg/dl	8.40	8.57	8.68	0.12	NS
Mg mg/dl	2.48	2.69	2.58	1.44	NS
P mg/dl	4.72 A	4.91 A	2.75 B	19.51	**
GOT KU	77	84	85	0.27	NS
δ -GTP mU/ml	9.07	9.82	8.07	2.33	NS

1) 異なるアルハベットの統計的有意。ただし, a, b : $P < 0.05$, A, B : $P < 0.01$, (A), (B) : $P < 0.001$

2) *** : $P < 0.001$, ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.05$ それぞれ統計的有意

探るためラテン方格分散分析を行い、その平均値と各要因(ブロック)別F値を表7, 8, 9に示した。自由度が小さい(各要因とも2)ため統計的有意水準を10%まで上げて検定した。養分摂取状況の各項目はいずれも統計的に有意でなかった。ただしDM摂取量やDCP充足率が平均値間でやや差があるのに対してTDN充足率と粗繊維含量とはそれぞれ116~119%, 10.4~10.6%と粗飼料の種類間ではほぼ一定しており、試験設定条件を満たしていた。ADFも粗繊維より7%多いまま一定していた。体重、乳量、FCMそしてSNFは粗飼料の種類によっていずれも多少の差異はあるが有意ではなかった。乳全固形分はビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらの順に高く、F値も他の項目に比べて大きい。乳脂率も同様の傾向にあって、特にいなわらで高いが、F値は低く各級内の変動が大きいことを示唆している。乳脂量も同

様の傾向であった。体重は期間で有意($P < 0.10$)であり試験期I, II, IIIの順に増加した。体重、乳量(ともに $P < 0.05$)、FCM($P < 0.10$)は個体別に有意であった。尿アセトン体は陽性率で大差ないが、その程度はヘイキューブで強く、いなわらで軽かった。尿結石の出現率はこれと逆の傾向を示していた。赤血球数はいなわら給与で有意に($P < 0.10$)低く、血清総蛋白質も同様($P < 0.10$)だがその構成成分のひとつであるアルブミンは大差なかった。尿素窒素はビートパルプで生理範囲を越えて低下しているが他の2処理と比較して有意ではなかった。Caは各試験処理間で強い有意差($P < 0.01$)を示し、ビートパルプ、ヘイキューブ、いなわらの順に明らかに低くなっていた。しかしそれぞれの平均値は生理範囲(8~10mg/dl)を大幅に越えるものではなかった。ほかに試験処理によって有意な項目はなかった。赤

表6 粗繊維含量の影響：(3) 第1胃液pH及びVFA

検査項目	予備期 試験期 慣行期			F値：有意性		
	n : 3	n : 9	n : 3			
pH	6.64	6.08	6.90	3.08	NS	
VFAの モル濃度	総VFA mMol/dl	9.64	9.61	8.47	0.27	NS
	酢酸 mMol/dl	6.29	4.98	5.31	0.96	NS
	プロピオン酸 mMol/dl	2.09 ab	3.00 a	1.70 b	4.41	*
	酪酸 mMol/dl	1.12	1.11	1.21	0.09	NS
	その他 mMol/dl	0.31 ab	0.53 a	0.25 b	4.71	*
VFAの 比率	酢酸 %	64.1 A	51.7 B	62.6 A	11.25	**
	プロピオン酸 %	21.5 a	30.9 b	20.1 a	6.31	*
	酪酸 %	11.3	11.9	14.3	1.31	NS
	その他 %	3.1 A	5.4 B	2.9 A	12.46	**

1) 異なるアルハベットは、統計的有意。ただし、a, b : $P < 0.05$, A, B : $P < 0.01$

2) ** : $P < 0.01$, * : $P < 0.05$ それぞれ統計的有意

表7 粗飼料の種類の影響：(1) 摂取量及び生産物

検査項目	ビートパルプ ハイキューブ いなわら			F値：有意性			
	n : 3	n : 3	n : 3	粗飼料の種類	期間	個体	
DM摂取量 kg/日	13.7	15.5	15.6	1.64	1.23	8.79	
摂取/要求	D C P %	138	168	151	1.83	0.10	0.44
	T D N %	117	119	116	0.02	0.02	0.06
摂取繊維の DM比	粗繊維 %	10.4	10.5	10.6	0.17	1.72	0.24
	A D F %	17.4	17.3	17.2	0.15	1.41	0.20
体重 kg	554	535	542	2.14	14.49†	71.49*	
乳量(期末1週) kg/日	22.2	24.9	22.9	1.57	6.50	40.53*	
F C M(期末1週) kg/日	15.2	17.3	18.1	1.60	3.39	14.57	
乳全固形分 %	10.736	11.039	11.681	4.89	4.95	0.91	
乳脂率 %	1.97	2.10	2.63	0.76	0.74	0.32	
S N F(公定法) %	8.77	9.02	8.76	0.28	1.00	0.19	
乳脂量(期末1週) g/日	424	490	599	0.95	0.83	1.38	

1) * : $P < 0.05$, † : $P < 0.10$ それぞれ統計的有意

表8 粗飼料の種類の影響：(2)尿及び血液検査

検査項目	粗飼料の種類			F 値：有意性		
	ブートパルプ n : 3	ヘイキューブ n : 3	いなわら n : 3	粗飼料の種類	期間	個体
尿アセトン (+以上/検査数)	6/6	6/6	3/6	7.14	2.45	2.45
尿蛋白 (+以上/検査数)	0/6	0/6	0/6	—	—	—
尿 pH	7.27	7.18	7.55	0.69	3.35	6.25
尿結石 (出現/検査数)	2/3	1/3	3/3	1.00	1.00	—
赤血球数 万/㎥	658 (a)	645 (a)	579 (b)	10.46 †	11.06 †	18.13 †
グロス反応 (HAYEM液 ml)	3.59	3.45	3.66	0.99	0.94	1.19
総蛋白質 mg/dl	7.6 (a)	7.5 (a)	7.1 (b)	17.69 †	1.69	22.75 *
アルブミン mg/dl	3.6	3.5	3.4	1.86	0.76	3.33
A/G	0.89	0.91	0.93	0.40	0.83	4.49
尿素窒素 mg/dl	6.1	17.3	13.1	6.36	1.06	0.58
血清中のコレステロール mg/dl	225	227	213	0.07	0.17	0.04
Ca mg/dl	9.3 A	8.6 B	7.8 C	259.74 **	23.08 *	59.32 *
Mg mg/dl	2.7	2.6	2.7	0.46	2.70	7.58
P mg/dl	4.6	4.6	5.5	1.73	0.27	0.00
GOT KU	250	282	220	1.50	1.20	1.13
γ-GPT mU/ml	10.4	8.9	10.2	0.99	0.21	0.89

1) 異なるアルハベットは統計的有意。ただし, (a), (b) : P < 0.10, A, B, C : P < 0.01

2) ** : P < 0.01, * : P < 0.05, † : P < 0.10 それぞれ統計的有意

血球数, 血清Caは期別に有意(それぞれP < 0.10, P < 0.05)であり, 試験期が進むに従って増加した。赤血球数, 血清総蛋白, 血清Caは個体間で有意であった。

第1胃液の性状ではブートパルプのpHが6を切ってやや酸性に傾いていた。総VFAモル濃度ではブートパルプ, ヘイキューブ, いなわらの順に低下し, その傾向は酢酸, プロピオン酸でも同様であった。VFAの構成比では全体に酢酸が低く(50~53%), プロピオン酸比が高かった(26~33%)。処理間ではヘイキューブのプロピオン酸が低く, 酪酸も粗飼料の種類によって差があった。しかしこれらはいずれも統計的有意を示すものではなく, 又期間, 個体によっても有意な項目はなかった。

考 察

濃厚飼料多給による乳脂率の低下は古くから知られて

いるが, その成分的主因が全飼料DM中の粗繊維含量にあることを指摘したのは KESLER¹⁷⁾らであった。彼らはその下限水準を13%と報じ, 後藤¹⁹⁾らもこれに同調する結果を示しているが, 一方 GORDON²⁰⁾ら, 橋本²⁾らは10.5~10.8%の水準でもなお乳脂率の低下を見ることはなかったとしている。著者らはTDN給与水準をほぼ等しくしたまま粗繊維含量を低下せしめて, 乳脂率にどのような影響があるかを検証しようとした。

その結果, 粗繊維含量を17.4%から10.5%に落とすと乳脂率は3.50%から2.23%へと著しい低下を見, 両者に密接な関係があることが示された。この結果はGORDON²⁰⁾らと相反するものとなったが, 彼らは供試牛にフリージアン種とショートホーン種を使っていた。品種によるこの反応への差異は8~12%の水準で乳脂率に有意差を見なかった JORGENSEN²¹⁾らも指摘するところ

表9 粗飼料の種類の影響：(3) 第1胃液pH及びVFA

検査項目	ビートパルプ n : 3	ハイキューブ n : 3	いなわら n : 3	F 値 : 有意性			
				粗飼料の種類	期間	個体	
pH	5.72	6.15	6.38	2.74	6.78	3.70	
VFA のモル 濃度	総VFA mMol /dl	11.57	9.93	7.32	1.97	1.52	0.48
	酢酸 mMol /dl	6.04	5.20	3.69	2.10	1.58	0.55
	プロピオン酸 mMol /dl	3.83	2.80	2.37	6.08	1.34	1.49
	酪酸 mMol /dl	1.15	1.35	0.82	0.88	0.62	0.17
	その他 mMol /dl	0.55	0.61	0.43	0.68	1.89	0.27
VFA の比率	酢酸 %	51.9	52.8	50.3	1.05	0.72	6.43
	プロピオン酸 %	33.7	26.4	32.5	1.72	0.14	1.55
	酪酸 %	9.7	14.7	11.4	1.55	0.01	0.05
	その他 %	4.7	6.1	5.4	8.14	4.84	1.03

であり、ホルスタイン種を供試した橋本²³⁾らも個体差の強いことを報じていた。全飼料中の粗繊維含量を変えれば当然ながら他の構成成分比も変化し、本試験でも予備期と試験期との粗蛋白、粗脂肪、NFEはそれぞれ有意に異なるDM比を示している。今乳脂率と各飼料成分との相関係数を見れば(表10)、他に比べて粗繊維が最も強く関係していることが明らかであり、又各飼料成分を独立変量に、乳脂率を従属変量にとって重回帰分析を試みれば、変数選択(前進選定法)の結果とり上げられた要因は粗繊維のみであった。

$$Y_1 = 0.412 + 0.175^{**} x_3 \quad \text{寄与率: 49.6\%}$$

$$Y_1 = -3.338 - 0.314 x_1 + 2.674 x_2 + 0.230 x_3 + 0.149 x_4$$

$$\text{寄与率: 60.5\%}$$

$$Y_1: \text{乳脂率\%, } x_1: \text{粗蛋白/DM\%, } x_2: \text{粗脂肪/DM\%, } x_3: \text{粗繊維/DM\%, } x_4: \text{粗灰分/DM\%}$$

われわれはこれらの結果と第1胃内消化に関する既往^{20) 31) 32)}の知見から、ここでの乳脂率変動の主要な成分的要因は粗繊維にあると推察した。生体側の反応としては第1胃液VFA構成比が試験期と他の2期とで明らかに異なり、酢酸比の低下、プロピオン酸比の上昇が顕著に認められた。この結果は JORGENSEN^{20) 25)}ら、KESLER⁷⁾らと一致し、すでに VAN SOEST²⁴⁾は乳脂肪を構成する短鎖の脂肪酸は主に第1胃液VFAから供給されるとしているところからも、これらの比率の変化が乳脂率低下に強

表10 乳脂率、乳脂量と各摂取成分DM比及び第1胃液各VFA比の相関

項目	乳脂率	乳脂量	
DM 摂取量	- 0.061	0.609	
養分摂取量のDM比	粗蛋白	- 0.588	- 0.422
	粗脂肪	- 0.597	- 0.464
	粗繊維	0.704	0.597
DM比	粗灰分	0.601	0.544
	NFE	0.642	- 0.598
総 VFA	0.086	- 0.152	
モル濃度	酢酸	0.379	0.120
	プロピオン酸	- 0.470	- 0.455
	酪酸	0.307	0.011
構成比	その他	- 0.312	- 0.456
	酢酸	0.638	0.483
	プロピオン酸	- 0.678	- 0.455
	酪酸	0.293	0.161
その他	- 0.614	- 0.476	

表 11 折線モデルの分散分析表 (平均値について)

項 目	変 動 因	自 由 度	平 方 和	平 均 平 方	F ₀ 1)	b ₁ 2)	寄 与 率
乳脂率下降時	回 帰 残 差	3	10.173	3.391	62.749***	- 0.1325	92.2%
		16	0.865	0.054			
乳脂率上昇時	回 帰 残 差	3	6.659	2.220	41.007***	0.1316	88.5
		16	0.866	0.054			
乳脂量下降時	回 帰 残 差	3	48.817	16.272	58.399***	- 34.525	91.6
		16	4.458	0.279			
乳脂量上昇時	回 帰 残 差	3	6.636	2.212	7.597**	12.861	58.8
		16	4.658	0.291			

1) *** : P < 0.001, ** : P < 0.01 それぞれ統計的有意

2) b₁ : 傾斜線のこうばい

く関与していることが追認された。すなわち本試験の結果から、飼料中粗繊維の不足が第1胃液VFAの構成比を変化させ、これが乳脂肪合成を阻害するという一連の低乳脂発生機構の各断面が明らかに示されている。乳脂率と各VFAの相関係数は(表10)、そのモル濃度で0.3~0.5、構成比で0.6~0.7と酪酸を除けばほぼ等しかった。この点に関して McCULLOUGH は重回帰分析の結果プロピオン酸が最も強い変動要因(寄与率84%、 $r = -0.867$)としたが、本試験で選択(前進選定法)された独立変量は酢酸のみであった。

$$Y_1 = -1.296 + 0.072^{**} x_5, \quad \text{寄与率: 40.6\%}$$

$$Y_1 = -20.996 + 0.250 x_5 + 0.220 x_6 + 0.306 x_7,$$

寄与率: 48.9%

Y_1 : 乳脂率%, x_5 : 酢酸%, x_6 : プロピオン酸%,

x_7 : 酪酸%

彼はまた、乳脂率低下のプロピオン酸上限値を20%としこれを越すと乳脂率は低下すると報じたが、本試験の予備期、慣行期はともに20~21%程度で必ずしも一致しなかった。著者らは特定脂肪酸が特に強い相関を示してないことから、乳脂率低下の変動要因を、個々のVFAに求めるよりその構成比全体の変化、特に酢酸、プロピオン酸のそれぞれ低下、上昇に求めるべきと考えた。他の生理検体では試験期における胃液及び尿pHの低下や尿結石の出現など、体内の酸塩基失調及び代謝最終産物の形成過程等に粗繊維不足は微妙な影響を与えていたものと推察される。しかしそのほかの生理値は概ね正常範

囲にあって、このような繊維不足にあっても生命維持に関する諸機能は際立った異常を呈していたとは思われない。乳量は予備期、試験期で、FCMは試験期、慣行期でそれぞれほぼ等しく、全固形分、無脂固形分とも著変を見ないことは、繊維不足は総体としての牛乳生産に強い影響を与えるものではなく、その一成分である乳脂肪にのみ影響していたことを意味する。

いなら等粗飼料の種類乳脂率に与える影響に関する報告は寡聞にして知らない。HAWKINS²¹⁾、EMERY²²⁾らも粗飼料の種類と乳脂率との関係について報告しているが対象飼料が異なるため議論されなかった。本試験の結果では3種の粗飼料の影響はいまいなものであった。平均値で見ると限りいなら乳脂率は高いが、その個々の値はビートパルプ(1.6, 1.9, 2.4%)、ヘイキューブ(1.8, 3.1, 1.4%)、いなら(2.6, 2.9, 2.4%)と各級内の変動が大きかった。従ってこの点に関する議論の進展はなお試験データの集積を待たねばならないが、著者らの印象ではいなら給与で乳脂率低下の程度はやや弱く、この段階で乳脂率を基準に粗飼料の選択を求められればいならを選ぶべきと考えるし、また3者に差のないものであれば経済的理由を根拠に同様の選択をすべきと考える。第1胃液VFAも3者に大差なく、この点からはいなら給与で乳脂率低下が緩和されるとする根拠は得られなかった。血清のCaは3者間に高い有意差を示した唯一の検査値であるが、飼料中ミネラルの分析は実施されずその意味するところは明らかでない。同様にいなら給与で赤血球数、血清蛋白値が低いことの意味も不明瞭であった。

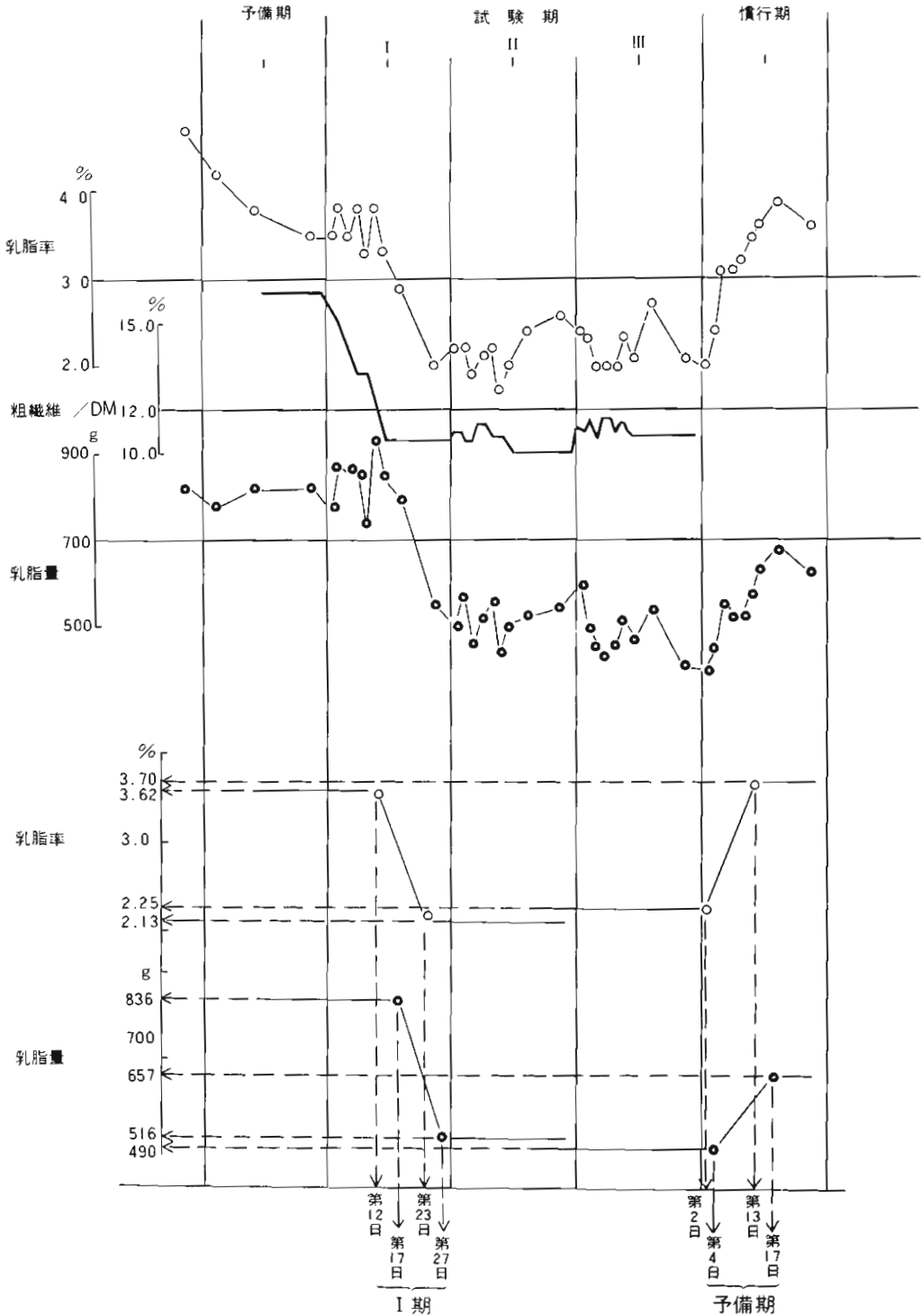


図3 乳脂率、乳脂量と粗繊維/DM%の経時平均値とその折線モデルのあてはめ図

表 12 折線モデルの不適合度検定のための分散分析結果（個体値による）

項目	変動因	自由度	平方和	平均平方	F ₀
乳脂率 下降時	回帰	3	30.489	10.146	36.761 ***
	残差	56	15.447	0.276	
	不適合度 処理内誤差	16	3.047	0.190	0.613 NS
		40	12.400	0.310	
	全体	59	45.886		
乳脂率 上昇時	回帰	3	18.376	6.125	27.222 ***
	残差	49	11.052	0.225	
	不適合度 処理内誤差	16	2.804	0.175	0.700 NS
		33	8.248	0.250	
	全体	52	29.428		
乳脂量 下降時	回帰	3	141.690	47.230	17.275 ***
	残差	56	153.101	2.734	
	不適合度 処理内誤差	16	13.889	0.868	0.249 NS
		40	139.210	3.480	
	全体	59	294.791		
乳脂量 上昇時	回帰	3	19.168	6.389	2.979 *
	残差	49	105.090	2.145	
	不適合度 処理内誤差	16	14.038	0.877	0.315 NS
		33	91.862	2.784	
	全体	52	124.258		

1) *** : $P < 0.001$, * : $P < 0.05$ それぞれ統計的有意

粗繊維低下による乳脂率の低下は明らかとなったが、その経時変化はどのようになっているか。すなわち、飼料中粗繊維含量を低下させていって何日目から乳脂率に変化を与え始め、何日目に何%の一定水準に達するかを知ることを本試験の目的のひとつであった。幸い大塚の開発した折線モデルのあてはめはこの目的に合致する統計的手法なのでこれを適用して検討を進めた。図3の上段は乳脂率、乳脂量と粗繊維/DM%の各経時平均値を明示したもので、その下段はこれを用いて折線モデルのあてはめを適用した結果である。乳脂率、乳脂量とも下

降時の適用範囲は予備期第11日目から試験Ⅱ期第26日目までの20点、上昇時も同様試験Ⅱ期第18日目から慣行期最終測定日までの20点であった。回帰折線の分散分析結果は表11に示す通りいずれもF検定で有意であり、乳脂量上昇時を除き寄与率も高い。これらは3頭（一部2頭）の平均値を用いているため個体値による不適合度の検定を行った。表12に見る通りいずれも不適合度は有意でなく、この折線モデルへのあてはめは適切と思われるが、乳脂量上昇時の個体値による回帰のF検定では有意水準が低かった。しかしほかは高い水準で有意であった。図

3 から明らかな通り乳脂率の低下は飼料変更開始後12日目から始まり、低位の一定水準に達するのは23日目(飼料定量給与時から9日目)で、この間11日を要した。一方慣行飼料に変え始めるとその翌日から乳脂率は上昇し、13日目で高位の定常状態(正常値と見なせる)に達した(この間やはり11日間)。乳脂率下降時の変化は一見、粗繊維推移線を平行移動し(傾斜線のこうばいは乳脂率でやや急)、12日間の遅れで乳脂率に変化を与えているように見られる。しかし上昇時には飼料変更第2日目から始まっているところから見て、繊維供給量変化に対する生体側の反応は意外に早く、1ないし2日目で乳脂率に変化を与えていると見るのが妥当と思われる。しかるに下降時12日間の遅れは生体側反応の実際の遅れではなく、予備期における繊維含量が17.4%と高かったためこれを徐々に低下させていっても影響する水準には達しなかったと見るべきであり、粗繊維率18.7~14.1%で乳脂率に影響ないと SPAHR²⁰⁾らの報告もこれを裏づけている。そして更に粗繊維を下げた一定水準に達すると、それから1ないし2日目に乳脂率に変化を来たすものと推測される。今乳脂率変化の起点第12日の2ないし1日前、すなわち飼料変量第10, 11日の平均粗繊維率を見ればそれぞれ12.9, 12.6%であって、KESLER¹⁷⁾らが指摘し、後藤らが推定する乳脂率低下の粗繊維水準にはほぼ一致する。すなわち、繊維供給による乳脂率の経時変化に関してこのような推論が成り立つとすれば、その水準は12.9~12.6%であり、反応の猶予期間は1ないし2日との結論に達する。次に乳脂量の変化は下降時の場合、起点終点とも乳脂率のそれより4~5日遅れており、乳脂率の低下が始っても乳脂生産量はこの間維持されていたことを示す。上昇時も同様であるが乳脂率に対する遅れは2~4日であった。ただし乳脂量上昇時のこのモデルの寄与率は58.8%とやや悪く、個体値による回帰の有意水準が低いことから、これらの検討は乳量の影響と全体の傾斜傾向を加味した解析方法を適用すべきと思われる。下降時及び上昇時の高位、低位の一定水準は乳脂率の場合それぞれ3.6~3.7%, 2.1~2.2%と等しいが、乳脂量では乳量低下のため慣行期の高位水準(657g)が予備期の水準(836g)まで戻らなかった。この試験では乳脂率が低位の定常状態に達するまで23日、乳脂量では27日を要していた。予備期の粗繊維含量を17%前後にとって今後この種の試験を実施する場合、乳脂率を指標にとるなら少なくとも4週間、乳脂量ならそれ以上の観察期間が必要と思われる。ただし予備期の繊維含量をこれより低い水準に設置すれば、この期間は幾分短縮できるものと推察する。

謝 辞

乳脂率、乳脂量の経時変化の解析及び重回帰分析は、フォートランプログラムの借用を含めて農林省農業技術研究所物理統計部主任研究官大塚雍雄氏の多大の御援助によるものであった。報告の完成に際して同氏に深い謝意を表明致します。またデータの集計方針に関して農林省畜産試験場栄養部伊藤稔技官に御助言頂いたことに対して感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 大森昭一朗・津吉炯・野附巖：(1966) 生乳成分の変動要因と改善対策：162~265 全国乳質改善協会・東京
- 2) 橋本力太郎・江川寿夫・赤沢伝郎：(1964) 神奈川県畜産試験場研究報告 第63号：1
- 3) 津吉炯・後藤幸雄・本田幸和・大野光男・江藤哲雄・関口博・原拓夫：(1975) 乳牛における濃厚飼料多給の生理限界究明に関する研究(研究成果81)：84 農林水産技術会議事務局
- 4) 農林省畜産試験場：(1975) 都道府県畜産関係場所における試験研究課題(乳用牛)：322~345
- 5) 農林省畜産試験場：(1976) 都道府県畜産関係場所における試験研究課題(乳用牛)：270~297
- 6) 農林水産技術会議事務局編：(1975) 日本標準飼料成分表：38~51 中央畜産会・東京
- 7) 農林水産技術会議事務局編：(1974) 日本飼料標準・乳牛：6~9 中央畜産会・東京
- 8) 林康之：(1972) 尿沈渣・3版：10~54 医学書院・東京
- 9) 加藤博行・清水義昭・斉藤孝子・川村千恵子：(1975) 獣畜新報No.653：1270
- 10) 森本宏監修：(1971) 動物栄養試験法：349~350 養賢堂・東京
- 11) スネデカーとコ克蘭：(1967) 統計的方法：246~321 岩波書店・東京
- 12) 田口玄一：(1966) 統計解析：157~166 丸善東京
- 13) 大塚雍雄・吉原雅彦：(1976) 1ないし2の折曲点をもつ折線モデルのあてはめ、応用統計学、第5巻：29
- 14) 中村良一・米村寿男・須藤恒二：(1973) 牛の臨床検査法：7・1~9・25 農山漁村文化協会・東京
- 15) 田先威和夫：(1968) 泌乳：410~441 東京大学出版会・東京
- 16) 関口博・高橋忠一・中野房次・中山清・富塚治郎：

- (1970) 濃厚飼料(含粕類)多給に関する試験
：東京畜試・資料：45 - 1
- 17) KESLER, E. M., SPAHR, S. L. and HOGLUND, C. R. : (1964) Symposium : Effects of Various Levels of Grain Feeding. J. Dairy Sci. Vol. 47, : 1122.
- 18) RONNING, M. : (1960) Effect of Varying Alfalfa Hay-Concentrate Rations in a Pelleted Ration for Dairy Cows. J. Dairy Sci. Vol. 43, : 811.
- 19) 後藤幸雄, 合間和夫, 津吉炯, 大野光男, 本田幸和, 江藤哲雄, 関口博, 原拓夫, 大森昭一郎, 針生程吉 : (1974) 乳牛における濃厚飼料多給の限界について. 3. 乳質ならびに第1胃内成分. 日畜会報 Vol. 45. 増刊, 講演要旨 : 161
- 20) GORDON, F. J. and FORBES, T. J. : (1971) Effect of Fiber Level in the Diet of the Dairy Cow on Milk Yield and Composition. J. Dairy Res. Vol. 38. : 381
- 21) JORGENSEN, N. A. and SCHULTZ, L. H. : (1965) Ration Effects on Rumen Acids, Ketogenesis, and Milk Composition. II. Restricted Roughage Feeding. J. Dairy Sci. Vol. 48. : 1040
- 22) NELSON, B. D., ELLZEY, H. D., MORGAN, E. B. and ALLEN, M. : (1968) Effects of Feeding Lactating Dairy Cows Varying Forage to Concentrate Rations. J. Dairy Sci. Vol. 51. : 1796
- 23) 広瀬可恒 : (1975) 乳牛の科学 : 324 ~ 335
農山漁村文化協会・東京
- 24) VAN SOEST, P. J. : (1963) Ruminant Fat Metabolism with Particular Reference to Factors Affecting Low Milk Fat and Feed Efficiency. A Review. J. Dairy Sci. Vol. 46. : 204
- 25) JORGENSEN, N. A., SCHULTS, L. H. and BARR, G. R. : (1965) Factors Influencing Milk Fat Depression on Rations High in Concentrates. J. Dairy Sci. Vol. 48. : 1031
- 26) McCULLOUGH, M. E. : (1966) Relationships Between Rumen Fluid Volatile Fatty Acids and Milk Fat Percentage and Feed Intake. J. Dairy Sci. Vol. 49. : 896
- 27) HAWKINS, G. H. and LITTLE, J. A. : (1967) Combined Effects of Type of Forage Fed, of Concentrate Ingredients, and of Pelleting Concentrates on Rumen Fermentations, Milk Yield, and Milk Composition of Dairy Cattle. J. Dairy Sci. Vol. 50. : 62
- 28) EMERY, R. S., BROWN, L. D. and THOMAS, J. W. : (1964) Comparison of Corn Cobs and Hay in Ground Restricted-Roughage Rations Affecting Milk Composition. J. Dairy Sci. Vol. 47. : 1322
- 29) SPAHR, S. L., BRANDING, A. E., KESLER, E. M. and CLONINGER, W. H. : (1966) Short-Term Effects of Dietary Fiber Level on Feed Intake and Production by Well-Fed Cows. J. Dairy Sci. Vol. 49. : 1046
- 30) ドレイパーとスミス : (1973) 応用回帰分析 : 28 ~ 32, 森北出版・東京
- 31) 亀岡喧一 : (1975) 乳牛の科学 : 247 ~ 248, 農山漁村文化協会・東京
- 32) 榛一 : (1975) 乳牛の科学 : 185 ~ 203, 農山漁村文化協会・東京
- 33) 樽谷和男 : (1968) 泌乳 : 251 ~ 258, 東京大学出版会・東京