

北海道の肉牛における血液,飼料ならびに草地のセレンウム とトコフェロールの動態

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
巻/号	418
掲載ページ	p. 565-570
発行年月	1988年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



北海道の肉牛における血液、飼料ならびに草地 のセレンウムとトコフェロールの動態

一条 茂* 納 敏* 竹田孝夫*

(昭和 63 年 6 月 24 日受理)

Changes in Selenium and the Tocopherol Levels in the Blood of Beef
Cattle, Feed and Soil of Grassland in Hokkaido
SHIGERU ICHIJO, SATOSHI OSAME and TAKAO TAKEDA (Obihiro
University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido 080)

SUMMARY

Selenium and tocopherol levels in the blood of female beef cattle (3 to 7 years old), feed and soil of grassland were determined at an early (November, 1985) and end stage (May, 1986) of housing on 21 farms in Hokkaido.

The average levels of serum selenium and blood glutathione preoxidase (GSH-Px) activity of the beef cattle showed deficient values lower than 35 ppb in selenium and 30 enzyme units in GSH-Px activity in all the farms at the early stage and in 71.4% of the farms at the end stage of housing.

The selenium level in the feed and hay showed a lower value than 0.05 ppm in 25 samples out of 42 (59.5%) at both the early and end stages of housing. In addition 10 samples out of 20 (50%) of other roughages including grass silage, haylage, rice and wheat straws examined, revealed low levels of selenium under 0.05 ppm.

Upon examining the selenium level in the soil of the grassland, water soluble selenium, which is available for the plant, was lower than 0.1 ppm and the selenium level of the grass was also at a very low level.

The α -tocopherol level in the feed, hay was lower than 3 mg/100 g in 13 samples out of 18 (72.2%) at the end stage of housing. However the other roughages and concentrates also showed low levels. Accordingly, serum tocopherol of the beef cattle at the end stage of housing showed a lower level than 200 μ g/100 ml in 5 out of 21 farms (23.3%).

From the results described above, it was observed that if beef cattle in Hokkaido are mainly fed with roughage, it might cause probable marked low levels in both serum selenium throughout the year and of serum tocopherol at the end stage of housing.

要 約

肉牛のセレンウム (Se) とトコフェロール (Toc) の動態を明らかにする目的で、北海道の 21 牛舎を対象に、舎飼初期 (1985 年 11 月) と舎飼末期 (1986 年 5 月) の雌牛 (3~7 歳) の血液と飼料、および草地の土壌を検査した。

血清 Se 濃度と血液グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性は、舎飼初期に全牛舎、舎飼末期に 71.4% の牛舎で欠乏値 (血清 Se 35 ppb 以下、血液 GSH-Px 活性値 30 酵素単位以下) を示した。

乾草の Se 含量では、舎飼初期と舎飼末期の 59.5% (25/42 点) が 0.05 ppm 以下であり、他の粗飼料 (グラスサイレージ、コーンサイレージ、ヘイレージ、稲ワラ、麦ワラ) では 50% (10/20 点) が 0.05 ppm 以下であった。

草地の土壌では水溶性 Se 含量が減少 (0.1 ppm 以下) し、牧草の Se も低値であった。

乾草の α -Toc 含量では、舎飼末期に 72.2% (13/18 点) が 3 mg/100 g 以下の低値であり、他の粗飼料と濃厚飼料もまた低含量であった。

供試牛の血清 Toc の平均値では 23.8% (5/21 牛舎) が 200 μ g/100 ml 以下の低値を示した。

以上のように、粗飼料主体の北海道の肉牛飼育では、年間を通して牛の血清 Se の低値と、特に舎飼末期における血清 Toc の低値が認められた。

* 帯広畜産大学畜産学部 (北海道帯広市稲田町)

すでにわれわれは、わが国の子牛白筋症の原因は諸外国での報告^{8,13)}とはほぼ同時に、セレンウム (以下, Se) とトコフェロール (以下, Toc) の欠乏による栄養性ミオパチーであり、母牛に給与される飼料中の両成分の欠乏が主因であることを報告した^{9,11)}。

いっぽう、日本の土壌は Se 含量が低いため、生産される粗飼料の Se も低含量であることが最近明らかにされた^{6,14)}。また、飼料の Toc 含量は、貯蔵期間中に破壊されて減少する場合が多いことも知られている⁹⁾。

以上の観点から、牛の Se と Toc の欠乏は単に白筋症の子牛だけでなく、粗飼料主体で飼育される肉牛全体に共通する所見ではなかろうかと考え、北海道の肉牛を対象に血液、飼料ならびに土壌の Se と Toc の動態について検討を行った。

1. 材料と方法 (表1)

1) 供試牛

供試牛は北海道の9支庁(十勝, 根室, 網走, 上川, 空知, 後志, 檜山, 日高, 留萌)管内の21牛舎(A-U牛舎)で、飼育中の肉牛(黒毛和種とアバディーンアンガス種)、3~7歳の雌牛、合計157頭で、1牛当たり、無作為に選んだ5~10頭を対象とした。

2) 採材および供試方法

供試牛からの採材は、同一牛の舎飼初期(1985年11月)と舎飼末期(1986年5月)の2回にわたり採血し、血清Toc(蛍光法)¹⁾、血清Se(蛍光法)^{19,20)}および血液

グルタチオンペルオキシダーゼ活性(以下GSH-Px, Paglia-Valentine法)²¹⁾の測定を行った。また、両時期の給与飼料中の α -Toc(高速液体クロマトグラフ法)²⁾とSe(蛍光法)¹⁾の含量を測定し、さらに舎飼初期に草地の土壌と牧草のSe(蛍光法)^{5,6)}含量についても測定した。

2. 成績

1) 血液のSe値, GSH-Px活性値およびToc値の変化

(1) 血清Se値(図1): 舎飼初期の牛舎別供試牛の血清Se値の平均は、最高33.6 \pm 6.3ppb(L牛舎)、最低10.2 \pm 1.5ppb(B牛舎)で、いずれの牛舎も平均35ppb以下の低値であり、20ppb以下の明瞭な欠乏値例が57.1%(12/21牛舎)を示した。舎飼末期の平均では、最高69.1 \pm 8.9ppb(D牛舎)、最低7.7 \pm 1.3ppb(N牛舎)で、平均35ppb以下が71.4%(15/24牛舎)、20ppb以

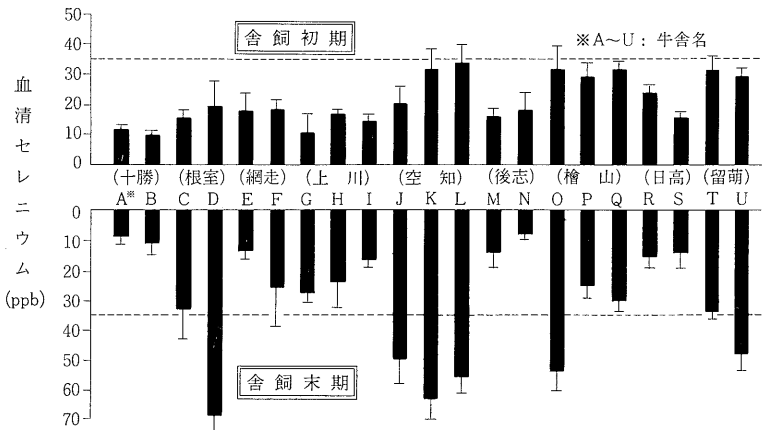


図1 北海道における肉用牛の血清セレンウム値の季節変化

表1 供試材と検査項目

支庁名	供試牛舎数	供試牛の種類	年齢	性別	頭数	材料および検査項目
十勝	2 (A, B)	黒毛和種	3~5	雌	20	○採材時期 1) 舎飼初期(1985.11) 2) 舎飼末期(1986.5)
根室	2 (C, D)	黒毛和種	3~6	雌	20	
網走	2 (E, F)	黒毛和種 アバディーンアンガス種	3~6	雌	20	○材料と検査項目 1) 血液: 血清トコフェロール 血清セレンウム 血液グルタチオンペルオキシダーゼ
上川	3 (G, H, I)		アバディーンアンガス種	3~6	雌	
空知	3 (J, K, L)	黒毛和種	3~7	雌	16	2) 飼料: α -トコフェロール セレンウム
後志	2 (M, N)	黒毛和種	3~6	雌	15	
檜山	3 (O, P, Q)	黒毛和種	3~6	雌	19	3) 土壌: pH 総セレンウム 水溶性セレンウム
日高	2 (R, S)	黒毛和種	3~6	雌	13	
留萌	2 (T, U)	黒毛和種	3~5	雌	14	

下の明瞭な欠乏値例が38% (8/21牛舎) にみられた。

両期を通じ、血清 Se 値には多少の地域差があり、一部地域 (空知、檜山、留萌) では他と較べ高い値を示した。

(2) 全血中 GSH-Px 活性値 (図2) : 全血中 GSH-Px は血清 Se と類似した変化を示した。舎飼初期の牛舎別供試牛の平均では、最高 22.8 ± 6.8 酵素単位 (以下 eu, O牛舎), 最低 6.9 ± 3.4 eu (A牛舎) で、全牛舎例が平均 30 eu 以下の低値であった。また、舎飼末期では最高 42.3 ± 4.4 eu (D牛舎), 最低 9.7 ± 1.6 eu (E牛舎) で、平均 30 eu 以下の低値例が 71.4% (15/21牛舎) でみられた。

(3) 血清 Toc 値 (図3) : 舎飼初期の牛舎別供試牛の血清 Toc 値の平均は、最高 $806.7 \pm 123.2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (I牛舎), 最低 $222.7 \pm 65.1 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (B牛舎) で、全牛舎で平均が $200 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ を上回っていた。舎飼末期では最高 $592.8 \pm 77.6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (T牛舎), 最低 $145.8 \pm 26.3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (Q牛舎) で、平均 $200 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ を下回る牛舎が 23.8% (5/21牛舎) であった。

2) 飼料の Se と α -Toc 含量の変化

(1) 乾草 (図4, 5) : 供試牛の給与乾草 (チモシー, ホワイトクローバー, オーチャード・グラスの混播) の Se 含量では、舎飼初期の 24 点の平均が $0.0597 \pm 0.0321 \text{ ppm}$ (範囲 0.0276~0.1490 ppm), 舎飼末期の 18 点では平均が $0.0482 \pm 0.0201 \text{ ppm}$ (範囲 0.0174~0.1011 ppm) であった。両期での合計 42 点の Se 含量の平均では、0.1 ppm 以下が 40 点 (95.2%), 0.05 ppm 以下の低値例が 25 点 (59.5%) であった。乾草の Se 値には多少の地域差があり、一部の地域 (檜山、留萌) では 0.05 ppm を上回る例が多か

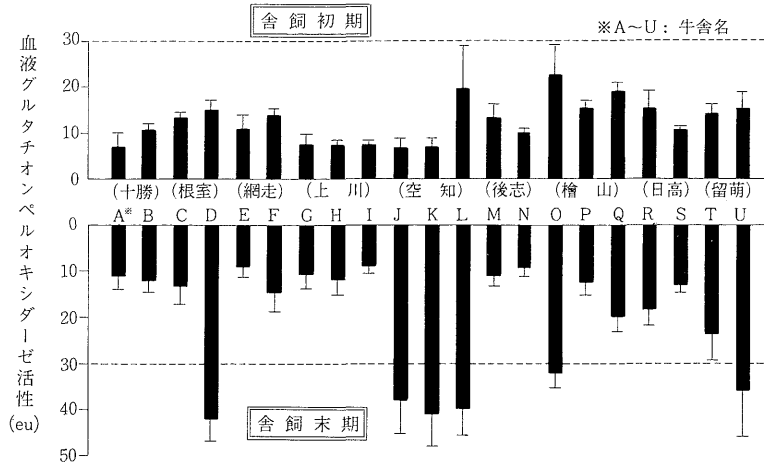


図2 北海道における肉用牛の血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性の季節変化

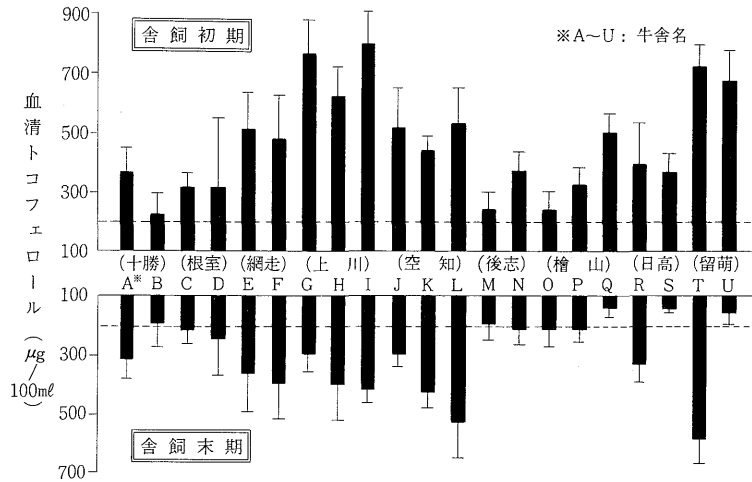


図3 北海道における肉用牛の血清トコフェロール値の季節変化

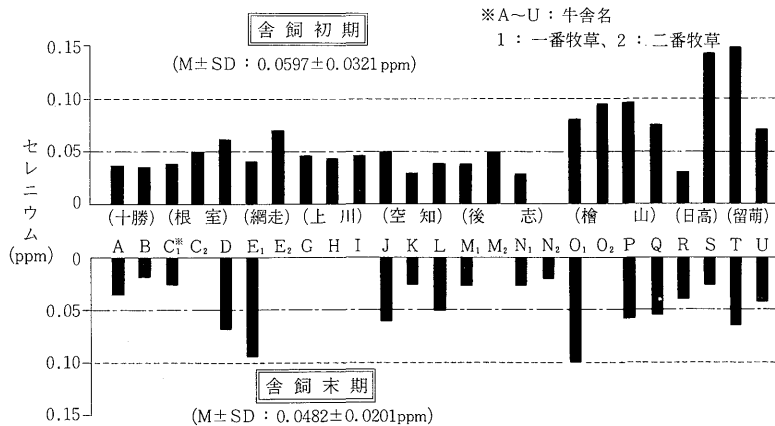


図4 肉用牛に給与した乾牧草のセレンウム含量

った。

α -Toc 含量は、舎飼初期の 24 点の平均が $5.70 \pm 2.11 \text{ mg}/100 \text{ g}$ (範囲 $1.86 \sim 19.28 \text{ mg}/100 \text{ g}$) で、 $3.0 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 以下の低値は 3 点 (12.5%) であった。舎飼末期の 18 点の平均は $3.23 \pm 1.17 \text{ mg}/100 \text{ g}$ (範囲 $1.11 \sim 7.08 \text{ mg}/100 \text{ g}$) で、 $3.0 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 以下が 13 点 (72.2%) の多数をしめた。

(2) 他の粗飼料 (表 2) : 乾草以外の他の給与飼料 (ヘイレージ, グラスサイレージ, コーンサイレージ, ヘイキューブ, ビートパルプ, 稲ワラ, 麦ワラ) について, 舎飼初期 12 点, 舎飼末期 8 点を検査した。

Se 含量は, 舎飼初期の平均が $0.0680 \pm 0.0276 \text{ ppm}$ で, 0.1 ppm 以下が 83.3% (10/12 点), 0.05 ppm 以下が 33.3% (4/12 点) であり, 舎飼末期の平均は $0.0699 \pm 0.06070 \text{ ppm}$ で, 0.1 ppm 以下が 87.5% (7/8 点), 0.05 ppm 以下が 75.0% (6/8 点) であった。

α -Toc 含量は, 舎飼初期 12 点の平均が $3.69 \pm 1.94 \text{ mg}/100 \text{ g}$, 舎飼末期 8 点の平均が $4.00 \pm 3.67 \text{ mg}/100 \text{ g}$ とやや低値で, とくにコーンサイレージとビートパルプ

表 2 肉用牛に給与した粗飼料の α -トコフェロール, セレンウム含量

区分	牛舎	舎飼初期		舎飼末期	
		α -トコフェロール (mg/100g)	セレンウム (ppm)	α -トコフェロール (mg/100g)	セレンウム (ppm)
ヘイレージ	A	5.10	0.0368	3.70	0.0481
	E			5.98	0.0959
	H	3.29	0.0763	2.81	0.0411
	I	5.23	0.0647		
グラスサイレージ	J	4.91	0.0464		
	R	4.11	0.0737	4.66	0.0493
	S	2.77	0.1285		
コーンサイレージ	B			1.10	0.0330
	M			0.87	0.0278
	P	1.00	0.0566		
ヘイキューブ	D			12.41	0.2220
ビートパルプ	C	0.31	0.0499	0.50	0.0427
稲ワラ	J	3.51	0.0537		
	R	7.78	0.1148		
麦ワラ	K	1.97	0.0367		
	M	4.25	0.0804		
平均		3.69	0.0682	4.00	0.0699
標準偏差		± 1.94	± 0.0276	± 3.67	± 0.0607

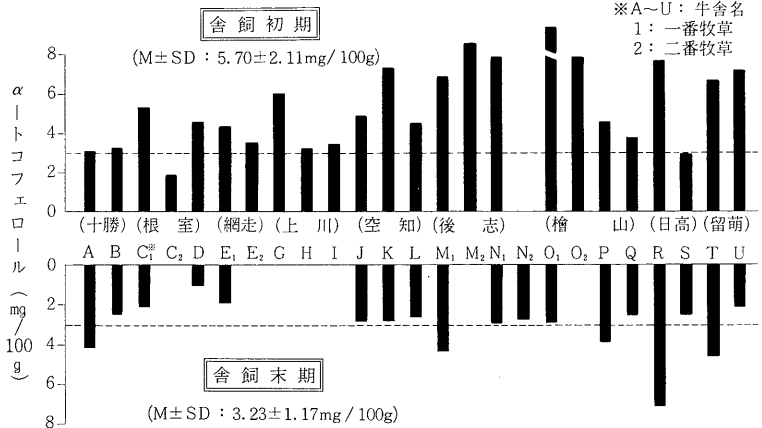


図 5 肉用牛に給与した乾牧草の α -トコフェロール含量

は両期を通じ, すべて $1.1 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 以下の明瞭な低値を示した。

(3) 濃厚飼料 (表 3) : 21 牛舎のうち 13 牛舎のみが日量約 0.5 kg の濃厚飼料を追給していた。そのうち, 10 牛舎よりの配合飼料 12 点 (舎飼初期 5 点, 舎飼末期 7 点), フスマ 6 点 (両期に各 3 点), 飼料用古米 1 点 (舎飼初期) を含む合計 19 点の Se と α -Toc 含量を測定した。Se 含量では, 舎飼初期の 9 点の平均が $0.3388 \pm 0.2541 \text{ ppm}$, 舎飼末期の 10 点の平均が $0.3790 \pm 0.2270 \text{ ppm}$ で, いずれも比較的高い値を示した。 α -Toc は, 舎飼初期の 9 点の平均が $2.16 \pm 1.18 \text{ mg}/100 \text{ g}$, 舎飼末

表 3 肉用牛に給与した濃厚飼料の α -トコフェロール, セレンウム含量

区分	牛舎	舎飼初期		舎飼末期		
		α -トコフェロール (mg/100g)	セレンウム (ppm)	α -トコフェロール (mg/100g)	セレンウム (ppm)	
配合飼料	A			1.20	0.1708	
	C			1.45	0.3095	
	D	0.69	0.1405	2.16	0.6966	
	K	1.04	0.4641	1.33	0.2265	
	L	2.22	0.2710	1.95	0.1290	
	N			3.67	0.3213	
	O	1.11	0.2752			
	T	4.66	0.0656	0.67	0.1490	
	フスマ	J			1.48	0.3823
		K	1.44	0.3247	1.29	0.6183
		O	3.22	0.5347		
	飼料用古米	T	2.56	0.9116	3.31	0.7881
P		2.54	0.0624			
平均			2.16	0.3388	1.85	0.3791
標準偏差			± 1.18	± 0.2541	± 0.90	± 0.2270

期の 10 点の平均は 1.85±0.90 mg/100 g と低含量で、配合飼料の 83.3%(10/12 点)、フスマの 66.0%(4/6 点)、飼料用古米(1 点)はすべて 3 mg/100 g 以下であった。

3) 乾草と血清における Se, Toc 量の相関

舎飼初期と末期の給与乾草中の Se 含量と、同期の供試牛の血清 Se 値との間には相関関係はみられなかった。また、両期の乾草中の α-Toc 含量と同期の供試牛の血清 Toc との間にも相関関係は認められなかった。

4) 土 壌 と 牧 草 の Se 含 量 (表 4)

舎飼初期の 19 牛舎 (9 支庁管内) における放牧草地の土壌と牧草の Se 値を測定した。土壌の総 Se 値は平均 0.7700±0.2535 ppm (範囲 0.3297~1.2996 ppm) とやや高値を示したが、そのうち水溶性 Se は平均 0.0185±0.0075 ppm (範囲 0.0077±0.0335 ppm) と低値を示した。また、牧草の Se は平均 0.0867±0.0264 ppm で、一部の地域(空知, 檜山, 留萌)では 0.1 ppm を上回る値であった。

牧草の Se と土壌の総 Se, 水溶性 Se 含量の間には相関関係はみられなかった。しかし、牧草の Se と舎飼初期の同農家の牛血清 Se との間には正の相関($r=0.7542$, $P<0.01$) がみられた。

表 4 北海道における草地の土壌と牧草のセレンウム含量

支庁名	草 地	土 壌			牧 草 セレンウム (ppm)
		pH (H ₂ O)	総 セ レ ニ ウ ム (ppm)	水溶性 セ レ ニ ウ ム (ppm)	
十 勝	A	5.1	0.6745	0.0078	0.0367
	C	5.0	0.7938	0.0169	0.0918
根 室	D	4.8	1.2039	0.0179	0.0691
	E	5.8	1.2996	0.0311	0.0773
網 走	F	5.4	0.7536	0.0294	0.0854
	G	5.4	0.6658	0.0240	0.0777
上 川	H	4.9	0.9221	0.0335	0.0679
	I	5.2	0.7368	0.0248	0.0666
	J	4.5	0.4870	0.0091	0.1134
空 知	K	4.7	0.5093	0.0108	0.1022
	M	4.9	0.6067	0.0205	0.0828
後 志	N	4.9	0.7284	0.0202	0.0592
	O	5.5	0.3801	0.0232	0.1152
檜 山	P	4.6	0.6994	0.0106	0.0923
	Q	4.8	1.0701	0.0147	0.1360
	R	6.0	1.0234	0.0140	0.0605
日 高	S	6.2	0.8264	0.0190	0.0651
	T	4.7	0.9212	0.0170	0.1405
留 萌	U	4.8	0.3297	0.0077	0.1084
	平均	5.1	0.7700	0.0185	0.0867
標準偏差	±0.5	±0.2535	±0.0075	±0.0264	

3. 考 察

わが国の子牛の白筋症と麻痺性ミオグロビン尿症の原因が、諸外国の報告^{4,8,13,15})と同様に、Se と Toc の欠乏と関係深いことが明らかにされてきた^{9,11,12})。また、われわれは白筋症発生牛舎では一見健康にみえる同居子牛にも、Se と Toc の欠乏による subclinical な骨格筋障害と思われる血清酵素活性の上昇例¹⁰)が多数存在することを報じ、欠乏症の実態を飼料と土壌の面からも検討する必要があることを指摘した。

今回、北海道の肉牛、飼料および土壌の 3 者間の Se と Toc の動態を知るため、9 支庁管内の 21 牛舎での雌牛 (3~7 歳) を対象に検討した結果、血清 Se の欠乏値 (35 ppb 以下)^{22,24})と血液 GSH-Px 活性の著明な低下 (30 eu 以下)¹¹) が、舎飼初期の全牛舎と舎飼末期の 71% の牛舎例でみられ、原因は主要な飼料である粗飼料の Se 含量が低いと考えた。すなわち、飼料の Se 含量 0.05 ppm 以下^{3,17})を低含量とすると、舎飼両期の給与乾草の 59.5% (25/42 点) がそれに該当し、他の粗飼料でも 50% (10/20 点) が同様の低値であり、それが牛の血清 Se と血液 GSH-Px 活性の低下に反映したと考えられた。乾草の Se 含量は地域により多少の差があり、0.05 ppm 以上を示した一部の地域 (檜山, 留萌) では、牛の血清 Se 値も他の地域より高い傾向がみられた。また、供試牛舎の 61.9% (13/21 牛舎) では、粗飼料のほかに日量約 0.5 kg の濃厚飼料が追加されており、これら濃厚飼料の Se は比較的高い含量 (平均で舎飼初期 0.3388 ppm, 舎飼末期 0.3790 ppm) であった²⁵)。したがって、濃厚飼料の給与量がさらに多量であったならば、血清 Se 値の低下は抑制されたものと推測された。

酸性土壌が主体である日本では、土壌の総 Se は比較的高含量であるが、Se の多くが 3 価の鉄と不溶性の複合体を形成し、そのため植物利用型の水溶性 Se が著しく低下することが牧草 Se 含量の低い理由で、とくに北海道、四国で低値を示すと報告されている^{5,6,14})。

今回の成績でも、放牧地の土壌中水溶性 Se は必要含量 (0.5 ppm)⁷)をはるかに下回る低値 (平均 0.0185 ppm) であった。しかし、土壌の Se 含量と牧草の Se の間には相関関係がみられず¹⁴)、加えて一部の地域 (空知, 檜山, 留萌) では土壌の水溶性 Se が低値を示したにもかかわらず、牧草の Se は 0.1 ppm を上回った点からみて、土壌 Se の植物への詳しい利用機構には今後の検討が必要と思われる。いっぽう、放牧地の牧草の Se 含量と同農家の舎飼初期牛の血清 Se 値の間には正の相関関係 ($r=0.7542$) がみられた点で、放牧地の牧草の Se 摂取が終牧して間もない舎飼初期牛の血清 Se の低値に未だ反映していることがうかがわれた。

つぎに、乾草の α-Toc 含量では、とくに舎飼末期の

72.2% (13/18 点) は牛の Toc の要求レベル^{9,23)} (3 mg/100g) を下回っており、含量の低下原因は乾草の長期保存中の Toc の酸化的破壊によるものと考えられた。Toc 含量は乾草以外の粗飼料や濃厚飼料でも低含量であり、それを反映して舎飼末期の供試牛の血清 Toc では正常の下限界値 (200 μ g/100 ml)¹⁶⁾ 以下が 23.8% (5/21 牛舎) でみられ、この時期の肉牛での Toc 摂取不足がうかがわれた。

Se がおもな構成成分である GSH-Px と Toc とは、過酸化脂質などの過酸化物の産生抑制作用により生体膜の安定のため重要な役割をもっている²⁶⁾。

今回われわれは、北海道の土壤、飼料、肉牛での Se と Toc の動態を検討した結果、粗飼料主体の北海道の肉牛飼育では、放牧期、舎飼期を通じて Se の摂取不足を招くおそれがあり、かつ子牛の哺育期にあたる舎飼末期には Toc の摂取不足も加わることなど、両成分の欠乏を招くおそれがあることが指摘された。

稿を終わるにあたり、採材にご協力をいただいた北海道根室家畜保健衛生所、雄武町農業共済組合、女満別町農業共済組合、上川町農業共済組合、中空知農業共済組合、後志農業共済組合、道南農業共済組合今金支所、日高地区農業共済組合家畜診療センター、留萌地区農業共済組合南部支所の獣医師各位に感謝します。

引用文献

- 1) 阿部皓一, 勝井五一郎: 栄養と食糧, 28, 277~280 (1975).
- 2) ABE, K., YUGUCHI, Y. and KATSUI, G.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 21, 183~188 (1975).
- 3) ALLAWAY, W. H. and HODGSON, F.: *J. Anim. Sci.*, 23, 271~277 (1946).
- 4) ALLEN, W. M., et al.: *Brit. Vet. J.*, 13, 292~308 (1960).
- 5) 浅川征男, 串崎光男, 石塚潤爾: 日本土壤肥料誌, 48, 287~292 (1977).
- 6) 浅川征男, 串崎光男, 石塚潤爾: 日本土壤肥料誌, 48, 293~296 (1977).

- 7) CARY, E. E., WIECZOREK, G. A. and ALLAWAY, W. H.: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31, 21~26 (1967).
- 8) HOLCOMBE, R. and HOLCOMBE, R. B.: *Nord. Vet. Med.*, 14, 115~122 (1962).
- 9) 一条 茂, 長谷川光弘, 金 徳煥, ほか: 日獣会誌, 34, 573~579 (1981).
- 10) 一条 茂, 稲田一郎, 納 敏, ほか: 日獣会誌, 37, 145~150 (1984).
- 11) 一条 茂, くみあい畜産技術(全農), 動薬畜産資材だより(診療技術号), No. 15, 23~29 (1987).
- 12) 一条 茂, 納 敏, 飯島良朗, ほか: 日獣会誌, 40, 562~566 (1987).
- 13) KING, J. M. and MALPLEDEN, D. C.: *Can. Vet. J.*, 1, 421~426 (1966).
- 14) 小山雄生, 宮本 進, 須藤まどか, ほか: 日本土壤肥料誌, 55, 395~399 (1984).
- 15) McMURRAY, C. H. and McELDOWNEY, P. K.: *Brit. Vet. J.*, 133, 532~542 (1977).
- 16) 松本知之, 一条 茂, 小西辰雄: 日獣会誌, 38, 170~174 (1985).
- 17) National Research Council; *Nutrient Requirement of Beef Cattle*, 5th ed. National Academy of Science. Washington, D. C. (1976).
- 18) OLSON, O. E., MOXON, A. L. and WHITEHEAD, E. I.: *Soil Sci.*, 54, 47~53 (1942).
- 19) OLSON, O. E.: *J. AOAC.*, 52, 627~634 (1969).
- 20) OLSON, O. E.: *J. AOAC.*, 58, 115~121 (1975).
- 21) PAGLIA, O. E. and VALENTINE, W. N.: *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158~169 (1967).
- 22) PERRY, T. W., CALDWELL, D. H. and PETERSON, R. C.: *J. Dairy Sci.*, 59, 750~763 (1976).
- 23) SORENSON, P. H.: *Acta Agric. Scand. Suppl.*, 19, 177~180 (1973).
- 24) STEVENS, J. B., OLSON, W. G., KRAEMER, R., et al.: *Amer. J. Vet. Res.*, 46, 1556~1560 (1985).
- 25) 須崎 尚, 石田直彦, 川島良治: 日畜会報, 51, 806~807 (1980).
- 26) VAN VLEET, J. F.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 176, 321~325 (1980).