

## 第 I 章 緒言

### 1. 反芻家畜消化管の特徴と粗飼料の利用性

世界全体には、約33億頭の反芻家畜が飼育されており (FAO, 1997)、これら反芻動物の家畜としての優位性は、地球上に存在する最大のバイオマス資源であり、かつ、ヒトや単胃動物が利用できない植物繊維 (リグノセルロース) をエネルギー源として利用できることにある。地球規模の食糧事情や環境問題を考えると、反芻家畜による植物繊維質資源の利用性に関する研究が今後ますます重要になると予想される。

反芻家畜は4つの胃からなる複胃を持つ家畜で、第一胃と第二胃は反芻胃 (reticulo-rumen) と呼ばれる。その栄養における最大の特徴は、複胃の約80%を占める第一胃 (ルーメン) に生息する微生物が摂取飼料の植物繊維を嫌気発酵し、その結果、酢酸、プロピオン酸等の有機酸が産生され、これらが宿主側家畜の胃壁より吸収されエネルギー源として利用される仕組みにある (阿部, 1994)。また、反芻胃内に共生するルーメン微生物は、反芻家畜の下部消化管に移行して宿主の良質な窒素源として利用される (小野寺, 1985)。このように、反芻家畜における植物繊維質の消化特性は、乳、肉、毛等の生産効率を決定する重要な要因であることから、粗飼料の利用性を高めるための種々の研究が飼料ならびに家畜の側から精力的に進められてきた (板東, 1993; 和泉, 1988; Minson, 1990b; Sollenberger and Cherney, 1995)。

反芻家畜の生産性は、飼料中の養分の摂取量とその利用効率で決定され、養分摂取量は、家畜が植物繊維資源である粗飼料を主体に飼養される場合、粗飼料の栄養価、乾物消化率および自由採食量に大きく左右される (Minson, 1990a; Van Soest, 1994a)。粗飼料の栄養価や乾物消化率に関しては、飼料成

分との関係や、草種、品種、生育ステージ、調製方法あるいは物理的形態による差異について、多くの知見が蓄積されてきた (Akin, 1989; 出岡と板東, 1981; 井上と春日, 1998; Jung and Allen, 1995; Kondo et al., 1987; 名久井, 1995; 岡本, 1979)。牧草類では、作物の生育に伴い、反芻胃微生物に不消化であるリグニン含有率が増加する。このため、生育に伴う乾物消化率の低下および摂取量の低下はルーメン微生物による細胞壁多糖の消化に対するリグニンの阻害作用によると理解されている (Jung, 1989; 近藤, 1992; Murphy, 1990)。一方、イネ科牧草とマメ科牧草では、乾物消化率が同程度の場合、その採食量はマメ科牧草がイネ科牧草よりも高いことが広く知られている。しかし、このような草種間の採食量の差異は、飼料成分や消化率の差異だけでは説明できない。

ところで、反芻動物の自由採食量は、単胃動物とは異なり、反芻胃の最大容積と反芻胃内の内容物容積との物理的バランスによって調節されると考えられている (Conrad et al., 1964; Mertens, 1987)。すなわち、反芻胃の充満度が主要な制限要因として関与し、この充満度は、反芻胃内容物の密度、消化速度、消化物の吸収、不消化物の流出・通過等の要因の影響を受ける (Van Soest, 1994a)。植物細胞壁の消化は、細胞内容物に比べ比較的緩やかで、消化管に滞留する時間が長いほど消化率は向上する一方、長時間の滞留は、飼料摂取量を低下させるという相反関係がある。このように、反芻家畜における粗飼料の消化率、消化速度あるいは通過速度は相互に複雑に関与しており、要因間の関係解明が求められている。すなわち、摂取飼料の家畜消化管における微細化－消化－通過の一連の変化の動的な把握が必要であり、そのためには、消化管における粗飼料の挙動を的確に反映する通過速度の測定法の確立が不可欠である。

## 2. 粗飼料の消化管通過速度に関する既往の研究

これまで、摂取飼料の反芻家畜消化管における消化や通過の動態解析 (Blaxter et al., 1956; Matis, 1972; Mertens and Ely, 1979; Van Soest, 1994c, 1994d)には、システムダイナミクス的手法 (宇田川, 1986)が適用され、主に粗飼料の自由採食量の推定を目的に、反芻胃内容物の通過速度や分解速度を指標とした動的 (ダイナミック) モデルの構築が図られてきた。このうち、消化管通過速度に関する研究としては、マーカールの検討およびマーカールの濃度曲線に最も適合したコンパートメントモデルの開発 (Grovm and Williams, 1973; Pond and Ellis, 1988; Dhanoa et al., 1985)が進められてきた。従来のこれらの研究は、反芻胃内容物を単一な相とみなし、内容物の通過速度や分解速度についての定性的な解析あるいは測定法そのものの方法論的な検討が行われてきた。その後、消化管内容物は比較的均一な液相部と不均一な固相部からなると考えられるようになり、液相の指示物質として、ポリエチレングリコール (PEG) やコバルト-EDTAが広く用いられるようになった (Oshio, 1992; Udén et al., 1980)。一方、固相の通過速度マーカールとしては、酸性デタージェントリグニン (ADL)、酸化クロム、フクシンによる染色飼料片等が用いられているが、ADLは糞中への回収率が低いこと (Judkins et al., 1990)、酸化クロムは家畜消化管において内容物と挙動が必ずしも一致しないこと (滝川, 1971)、また、フクシンは分析に多大な労力を必要とすること (Ellis and Huston, 1968)などの問題が指摘されている。このように、いくつかの物質が通過速度のマーカールとして使用されてきたが、いずれも一長一短があり、現在のところ統一された固相の通過速度測定法は確立されていない。

飼料の消化管通過速度を測定するには、適切な指示物質が必要であり、その条件として、1) 生体に吸収されず、生理的な影響を及ぼさないこと、2) 飼料

片に対して親和性が高く、標識飼料片からの解離がないこと、3)分析が容易であること等が上げられる(Ellis et al., 1979; Faichney, 1975)。

1970年代後半から、クロム(Cr)および希土類元素が固相の通過速度のマーカースとして利用されている。このうち、Udén et al.(1980)が用いたCr吸着飼料片は未標識の飼料に比べ比重が重く、反芻胃通過が抑制されるばかりでなく、反芻胃でほとんど分解を受けないことが報告されている(Murphy, 1990; Pond et al., 1989; Udén et al., 1980)。一方、希土類元素は、1700年代の終わりから1900年初めにかけて発見された周期律表Ⅲ族に属する17元素であるが、これらは発光材料や触媒、あるいは超伝導の素材として幅広く用いられており、その地殻中の濃度は金や白金よりも高いことが知られている(足立, 1992)。希土類元素のうち、第6周期の原子番号57のランタン(La)から71のルテチウム(Lu)はランタノイドと呼ばれ、最外部電子配置が同一であるため、化学的性質が極めて類似している。これらの元素はいずれも、植物細胞壁成分に対して高い親和性を示し(Ellis and Huston, 1968; Young et al., 1976)、また、生体内で不活性であり、かつ生体に吸収されないとされており(Kyker, 1961)、指示物質として優れた性質を有している。分析機器の発達により、希土類元素の分析が比較的容易になったことから、この希土類元素を飼料消化率の指示物質あるいは消化管通過速度のマルチマーカースとして用いることにより、反芻胃内における飼料片の粒度別動態を解析しようとする試みが数多くなされている(一戸, 1994; Moore et al., 1992; Poore et al., 1990)。しかしながら、希土類元素を通過速度マーカースとして利用する際の測定方法は、研究者によって異なり、統一された手法は確立されていない。また、固相マーカースとしての希土類元素に対しては、研究者の一部(Comb et al., 1992; Crooker et al., 1982)に否定的意見もあり、評価は一定していない。このため、希土類元素の消化管通過速度測定マーカースとしての適用性については、さらに詳細な検討が求められている。

反芻家畜によって摂取された粗飼料は、まず、口腔内で咀嚼され、唾液と混合され、嚥下されるが、反芻胃において、物理的あるいは化学的な消化作用を受け、第二・三胃口を通過できる大きさの粒子サイズ（粒度）まで微細化された後、反芻胃を通過する（岡本, 1991; Poppi et al., 1980）。このため、摂取飼料の反芻胃通過を規制する重要な要因として飼料粒子の微細化が取り上げられ、多くの研究者によって飼料の微細化と反芻胃通過との関係について研究が進められてきた（Grenet, 1989; Poppi et al., 1980; 上田, 1997; Ulyatt et al., 1986; Welch, 1986）。反芻胃内容物の粒度は、摂取飼料の物理的形態に左右され、切断長やキューブ化、ペレット化といった加工方法によって異なる。しかしながら、第三胃以降の内容物および糞中の粒度分布から、摂取飼料は反芻胃内で一定の粒子サイズ以下に微細化された後、下部消化管に送られると考えられており、Poppi et al. (1980) は、 $1,180\ \mu\text{m}$ の篩に残留するサイズがウシとヒツジ両者の臨界粒度（critical particle size）であるとしている。一方、反芻胃内には1mm以下の微粒子が常に大量に存在していること（Okamoto et al., 1990; Pearce and Moir, 1967）、第二・三胃口の大きさは臨界粒度より大きいこと（McBride and Milligan, 1983）、最も微細な粒子であっても液相の流出速度よりも遅いこと（Eagan and Doyle, 1984）等の報告から、摂取飼料の微細化は反芻胃通過に対する必要条件ではあるが、十分条件ではないとも考えられ、微細化された飼料片の反芻胃通過には、さらに複雑な分別機構の存在が類推されている。

微細化に関与する要因としては、採食反芻時の咀嚼（Lee and Pearce, 1984）、微生物による分解消化（Nocek and Kohn, 1988）、および反芻胃の運動（Murphy et al., 1989）が上げられる。McLeod and Minson (1988) は、微生物による分解と反芻胃運動による摩耗の寄与は17%と推定しており、微細化の主役が反芻時の咀嚼であることは、衆目の一致するところである。咀嚼反芻行動

は、飼料の種類、摂取量、加工形態に大きく左右され、乾草の粉碎、ペレット化やサイレージの過度の細切によって反芻時間は短縮されることが知られている (Beauchemin et al., 1997; Kennedy, 1985; 岡本, 1979)。また、Ueda et al. (1997) は、アルファルファはオーチャードグラスに比べ、飼料片の微細化効率が高いことを指摘している。一方、イネ科牧草においては、リグニンあるいはフェノール酸が細胞壁消化を阻害する実験的証左 (Jung and Allen, 1995; 近藤, 1992) が得られており、生育ステージによる飼料成分の変化が微細化や消化管通過に影響することが予想される。また、飼料摂取量の増加に伴い、飼料の消化管通過は速くなり消化率が低下することが広く知られている (Robinson et al., 1985; Shaver et al., 1986; Tyrell and Moe, 1974)。しかしながら、飼料摂取量の相違に基づく消化管通過の変化が、草種によって異なるか否かについては検討されていない。以上のように、粗飼料の消化管通過速度、特に反芻胃通過速度は、巨視的には咀嚼による飼料の微細化に規制されることが明らかであるが、草種、飼料の成分組成、摂取量等の飼料側要因がどのように微細化の過程を修飾するのかについては、未だ十分に解明されていない。また、粗飼料の微細化を規制する反芻咀嚼時間は飼料の性質によって影響されるが、この飼料-動物間の相互作用についてはさらに知見が乏しいのが現状である。

### 3. 本研究の目的と概要

粗飼料の消化管における挙動を的確に反映する通過速度の測定法が確立すれば、草種、調製時期、調製加工方法および摂取量等の消化管通過に関与する要因あるいは要因間の関係解明が可能となる。また、前述のとおり、反芻咀嚼による飼料の微細化は消化管全体の通過速度を規制する主要因と考えられることから、摂取飼料の微細化-通過-消化の相互関係を詳細に解析することができ

れば、その成果を基に、より精緻な粗飼料の消化ダイナミックモデルの構築が可能となる。粗飼料の自由採食量や消化率を予測し得るモデルの開発は、粗飼料の効率的利用技術や栄養的特性に基づいた飼養管理技術の確立につながり、さらに、家畜本来の生理反応に依拠した汎用性の高い飼料評価法の開発にも貢献すると思われる。

本研究は、このような観点に立ち、1)希土類元素を固相マーカーとして利用した反芻家畜消化管通過速度の測定方法についての検討、2)粗飼料の消化管通過に影響を及ぼす種々の飼料側要因の解明を主な目的として行ったものである。本研究では、飼料の微細化が消化管通過速度を規制する主要因であると考え、採食反芻時の咀嚼時間を微細化に要した時間と定義し、飼料の微細化－消化管通過－消化率の相互関係を解析した。研究成果の一部は既に公表済みである(大下ら, 1995; 大下ら, 1997a-e; 大下ら, 1998)が、本論文ではそれらに未発表データを加え、以下のようにとりまとめた。まず、希土類元素の標識方法として、浸漬法とスプレー法の比較検討を行い(第Ⅱ章第1節)、次いで、希土類元素の標識対象として、飼料およびその中性デタージェント繊維を用いた場合の比較(第Ⅱ章第2節)、固相マーカーとしての希土類元素と酸化クロムの比較(第Ⅱ章第3節)を行い、消化管内における希土類元素の挙動を明らかにするとともに、希土類元素の固相マーカーとしての適用性について検討した。続く第Ⅲ章では、飼料の種類、摂取量および物理的形態が消化管通過速度に及ぼす影響を調査し、飼料微細化の主要因である咀嚼行動との関係について検討した。すなわち、消化管通過速度に影響を及ぼす飼料側の要因として、牧草の生育時期(第Ⅲ章第1節)、低タンパク質飼料給与時における窒素源添加の有無(第Ⅲ章第2節)、飼料の物理的形態としてサイレージの切断長(第Ⅲ章第3節)および飼料摂取量(第Ⅲ章第4節)の各要因を取り上げ、それぞれについて反芻胃通過速度と咀嚼行動との関係から消化管通過速度への関与について解析した。