

第Ⅱ章 粗飼料の消化管通過速度測定における固相マーカースとしての 希土類元素の標識方法についての検討

第1節 希土類元素の標識方法の比較

1. 目的

消化管通過速度の測定において、希土類元素を固相マーカースとして利用する場合の標識方法は、現在のところ、給与飼料に直接、希土類元素溶液を散布するスプレー法と、溶液中に飼料片を浸漬した後、水洗する浸漬法がある。Teeter et al.(1984)は、スプレー法では希土類元素が家畜消化管において標識飼料片より遊離するとし、浸漬法がスプレー法よりも標識方法としては適するとしている。また、希土類元素の吸着程度は飼料の種類によって異なる(Teeter et al., 1984)ことから、希土類元素の標識による消化管通過速度の解析精度は、草種によっても異なることが予想されるが、異なる草種を供試して標識法による差異を検討した例は少ない(Mader et al., 1984)。Goetsch and Galyean(1983)はイッテルビウム(Yb)とディスプロシウム(Dy)を用いて、浸漬法で標識したアルファルファ乾草から消化管通過速度定数を推定し、標識元素による差はなかったとしている。そこで本研究は、草種および生育ステージの異なる7種類の乾草を供試し、DyとYbをそれぞれ浸漬法とスプレー法で標識し、各草種ごとにそれぞれの通過速度を測定し、標識方法と飼料による差異について比較検討した。

2. 材料および方法

1) 供試飼料

東北農業試験場(岩手県盛岡市)で栽培・調製した7種類の乾草を消化試験および通過速度の測定に供した。1991年にはオーチャードグラス(*Dactylis glomerata* L., 品種:オカミドリ)1番草を出穂期に, アルファルファ(*Medicago sativa* L., 品種:サラナック)1番草を着蕾期および開花盛期に収穫し, 乾草を調製した。1992年には, イタリアンライグラス(*Lolium multiflorum* L., 品種:エバグリーン)1番草およびチモシー(*Phleum pratense* L., 品種:クライマックス)1番草を出穂期に, また, 前年と同一圃場のアルファルファ1番草および2番草を開花期にそれぞれ収穫し, 乾草を調製した。各乾草とも1cmに切断し消化試験および通過速度の測定に供した。

2) 動物試験

消化率および通過速度の測定には18頭の去勢雄成ヒツジ(品種:コリデール種, 平均体重:62.3±2.3kg)を完全無作為抽出法で各飼料に2ないし3頭ずつ割り当て供試した。消化試験は予備期7日間, 本期7日間の全糞採取法で行った。供試飼料の給与量は, 代謝体重あたり40gを一応の目安とし, 予備期間内に給与量を増減して残食が出ないように調整した。飼料は一日一回午前9時に給与し, ミネラル含有食塩ブロック(鈹塩:全薬工業(株))および水は自由に摂取させた。

3) 標識方法および通過速度の測定

Teeter et al.(1984)の方法に準じて, 1cmに切断した乾草片を塩化ディスプロシウム($DyCl_3$)の0.5%(w/v)溶液に24時間浸漬し, 1時間流水洗浄した後, 55

7で48時間乾燥し、標識飼料を調製した。一日当たりの給与量の1/4量に、塩化イッテルビウム(YbCl_3)の1%(w/v)溶液を25ml噴霧し、さらに、Dyで標識した飼料片20gを混合し、消化試験終了時の午前9時に各ヒツジに採食させた。30分後に、標識飼料の残食を除去し、一日あたり給与量の残りを採食させた。部分糞の採取は、標識飼料投与時を0時として以後3日目までは4時間、3～5日目は8時間、5～7日目は12時間間隔で168時間まで行い、部分糞採取期間中の飼料給与は、消化試験時と同様に行った。

4) 飼料成分および希土類元素の分析

採取した糞は55℃で48時間、熱風乾燥した後、1mmのスクリーンのウィリーミルで粉碎し、分析試料とした。各飼料のサンプルは、消化試験予備期間中に1回、本期間中に2回の計3回採取し、糞と同様に処理し分析試料とした。一般成分組成は常法(堀井, 1971)で、中性デタージェント繊維(NDF)、酸性デタージェント繊維(ADF)およびリグニン(ADL)は阿部(1988)の方法でそれぞれ測定した。DyおよびYbは、試料を硝酸・過塩素酸で湿式灰化し、誘導結合高周波プラズマ発光分析装置(ICP-AES: 日本ジャーレルアッシュ社製, ICPA757s)で分析した。

5) 計算および統計処理

通過速度定数は糞中に排泄されたYbおよびDyの濃度に、以下に示すGrover and Williams (1973)の two compartment model に当てはめ計算した。

$$t \geq TT \text{ の時, } Y = Ae^{-k_1(t-TT)} \cdot Ae^{-k_2(t-TT)}$$

$$t < TT \text{ の時, } Y = 0$$

ただし、Y=糞中希土類元素濃度

A=TT時のマーカ一濃度

k_1 =反芻胃通過速度定数

k_2 =下部消化管通過速度定数

t =マーカ－投与後の経過時間

TT =マーカ－の初期出現時間

さらに、全消化管平均滞留時間(TMRT)は、 $TMRT=1/k_1+1/k_2+TT$ の式より算出した。

統計処理はSAS(1990)のGLMプロシジャーより、次のモデルを用いて行った。

$$Y_{ij} = \mu + F_i + M_j + FM_{ij} + e_{ij}$$

μ : 総平均

F_i : 飼料の効果

M_j : 標識方法の効果

FM_{ij} : 飼料と標識方法の交互作用

e_{ij} : 誤差

3. 結果

1) 供試乾草の飼料成分組成および消化率

Table 1に試験に供した乾草の飼料成分組成、乾物摂取量および消化率を示した。粗タンパク質(CP)含量は9%から13%、繊維成分のNDF含量は44から70%、ADF含量は35から50%の範囲にあり、ADL含量は最高が11.6%、最低が2.9%であった。乾物摂取量は35から44g/W^{0.75}/dayの範囲にあり、乾物消化率は50から67%の範囲にあった。アルファルファはイネ科牧草に比較して、NDFで15から30%程度、ADFで20%程度消化率が低かった。

2) 消化管内通過速度

Dyを浸漬法で、Ybをスプレー法で標識した飼料片の消化管通過速度定数をTable 2に示した。浸漬法で測定した反芻胃通過速度定数(k_1)、下部消化管通過速度定数(k_2)および初期出現時間(TT)の平均はそれぞれ、2.9%/hr, 7.2%/hr, 17.0時間で、スプレー法による k_1 , k_2 , TTはそれぞれ、2.8%/hr, 9.4%/hr, 15.3時間であった。また、全消化管平均滞留時間(TMRT)は、それぞれ、68.1, 63.4時間となった。飼料と標識方法を要因とした二元配置による分散分析の結果をTable 3に示した。 k_1 において標識方法間に有意差は認められなかったが、 k_2 , TTおよびTMRTにおいて、浸漬法とスプレー法の間有意差(k_2 , $p<0.01$; TT, $p<0.001$; TMRT, $p<0.05$)が認められた。また、いずれのパラメータにおいても飼料間に有意差($p<0.01$)が認められた。

Fig. 1に、消化管通過速度の各パラメータについて、浸漬法とスプレー法の相関および回帰式を示した。 k_1 では、測定値が $Y=X$ の直線付近に分布しているのに対して、 k_2 では、全ての測定値において、スプレー法が浸漬法よりも大きかった。TTでは2頭を除き、浸漬法の値がスプレー法のそれに比べ長かった。下部消化管平均滞留時間($1/k_2$)およびTTが、スプレー法より浸漬法で長いため、TMRTにおいても浸漬法がスプレー法よりも長かった。各パラメータの傾きは k_1 , k_2 , TT, TMRTの順に1.17, 0.95, 1.06, 1.04で、y切片は、-0.54, 2.74, -2.66, -7.34となった。2つの標識方法間の相関係数は、 k_1 , k_2 , TT, TMRTの順に0.94, 0.84, 0.79, 0.96となり、すべてのパラメータで高い有意な相関($p<0.001$)が認められた。

Table 1. Chemical composition, daily dry matter intake and digestibility of forages¹⁾ used in the experiment.

Item	Orchardgrass Italian ryegrass Timothy Alfalfa-V Alfalfa-B Alfalfa-1 Alfalfa-2					
	Orchardgrass	Italian ryegrass	Timothy	Alfalfa-V	Alfalfa-B	Alfalfa-1 Alfalfa-2
Chemical composition (% of dry matter) ²⁾						
Crude protein (CP)	9.6	9.0	9.0	12.7	11.1	12.7 9.0
Neutral detergent fiber (NDF)	65.9	53.4	69.9	49.1	57.2	43.7 56.3
Acid detergent fiber (ADF)	40.4	34.6	43.5	43.0	49.7	36.8 47.9
Acid detergent lignin (ADL)	4.5	2.9	5.9	9.9	11.6	7.5 11.3
Daily dry matter intake (g/W ^{0.75} /day) ³⁾	44.5	37.6	34.9	44.7	42.7	40.2 40.6
Digestibility (%) ³⁾						
Dry matter (DM)	61.1	66.5	59.4	56.9	49.9	63.5 52.4
Crude protein (CP)	57.7	62.8	63.3	71.7	67.8	69.6 61.0
Neutral detergent fiber (NDF)	63.0	63.0	60.6	36.8	33.2	46.2 36.6
Acid detergent fiber (ADF)	62.1	63.4	58.6	41.4	37.3	48.3 39.0

1) Abbreviations: Alfalfa-V, alfalfa harvested in the vegetative stage in 1991; Alfalfa-B, alfalfa harvested in the blooming stage in 1991; Alfalfa-1, alfalfa harvested in the first growth in 1992; Alfalfa-2, alfalfa harvested in the second growth in 1992.

2) Mean values for three determinations.

3) Mean values based on three wethers.

Table 2. Comparison of passage rates measured by two different marking methods in wethers fed seven different type forages¹⁾.

Item ²⁾	ORG		ITR		TIMO		AL-V		AL-B		AL-1		AL-2		Significance ⁵⁾				
	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	SEM ⁴⁾	F	M	FXM	
k ₁ (%/hr)	3.1	3.1	2.5	2.3	2.8	2.7	3.3	3.5	3.3	3.3	3.6	3.2	3.0	2.3	2.2	0.07	***	NS	NS
k ₂ (%/hr)	9.3	13.3	4.3	7.6	5.3	8.1	8.6	12.0	7.7	9.7	9.7	7.2	8.9	9.1	10.8	0.46	**	**	NS
TT (hr)	15.8	11.5	18.5	17.1	17.6	16.4	15.1	13.3	15.9	12.8	17.3	16.5	17.2	15.3	0.25	***	***	***	NS
TMRT (hr)	59.3	54.6	82.1	75.4	72.2	68.0	57.3	50.3	59.9	51.2	61.4	61.3	73.5	71.8	1.65	***	*	NS	NS

1) Abbreviations: ORG, orchardgrass; ITR, italian ryegrass; TIMO, timothy; AL-V, alfalfa harvested in the vegetative stage in 1991; AL-B, alfalfa harvested in the blooming stage in 1991; AL-1, alfalfa harvested in the first growth in 1992; AL-2, alfalfa harvested in the second growth in 1992.

2) k₁, ruminal passage rate; k₂, post-ruminal passage rate; TT, transit time; TMRT, total mean retention time in the alimentary tract calculated from the equation of Grovum and Williams (1973).

3) I, immersion method; S, spraying method.

4) Standard error of the mean.

5) F, forages; M, marking methods; FXM, forages X marking methods interaction; NS, not significant; *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001.

Table 3. P-values for method and forage type comparisons with analysis of variance¹⁾.

	df	k ₁	k ₂	TT	TMRT
		P-value			
Forage type (F)	6	.0001	.0060	.0001	.0001
Method (M)	1	.9175	.0015	.0001	.0494
F×M interaction	6	.7912	.9831	.6715	.9776
Residual ²⁾	22	-	-	-	-

- 1) Abbreviations: df, degrees of freedom; k₁, ruminal passage rate; k₂, post-ruminal passage rate; TT, transit time; TMRT, total mean retention time in the alimentary tract.
- 2) Error term used to test model.

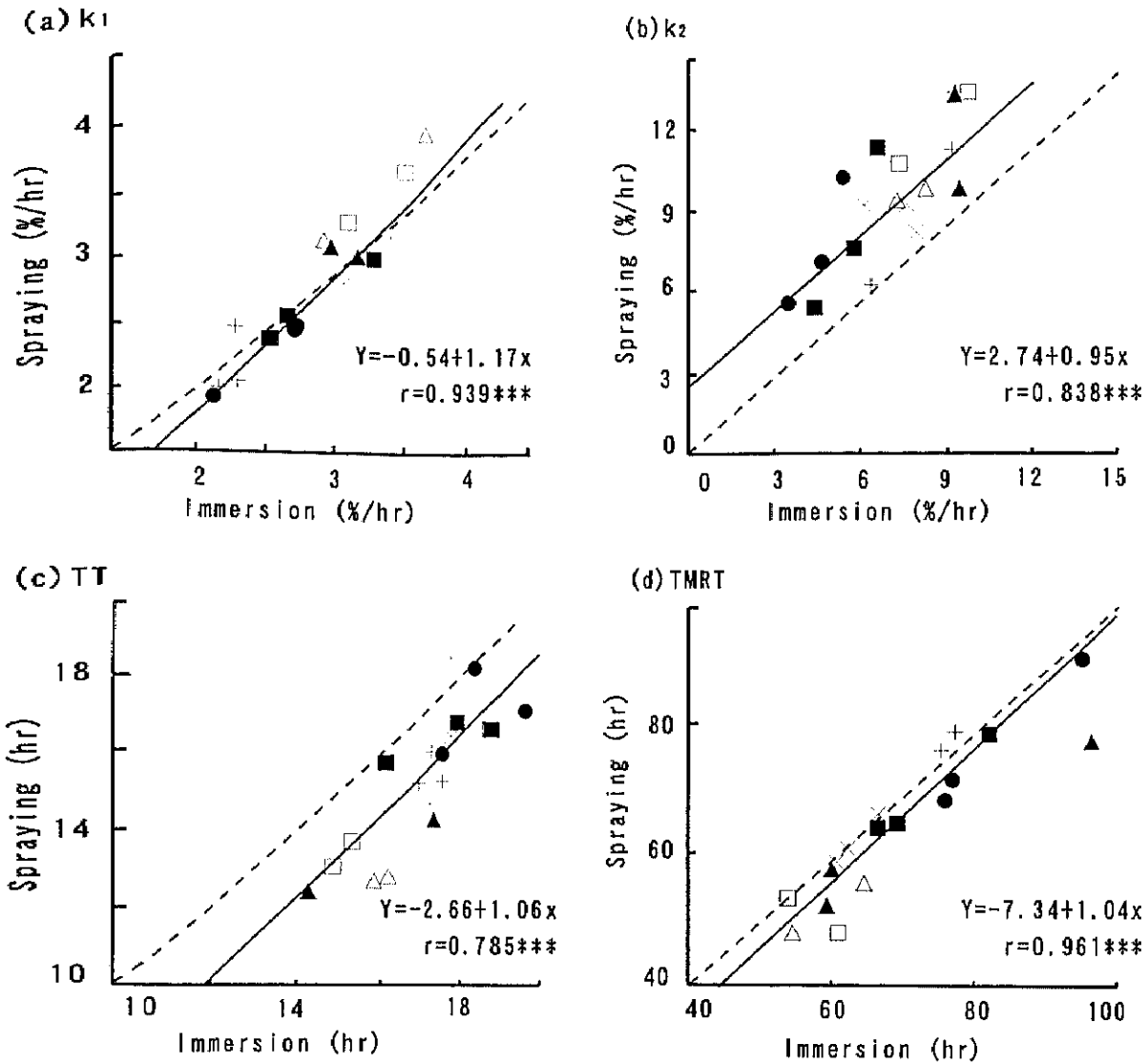


Fig. 1. Relationship between passage rates of ytterbium (Yb)-labeled hay by spraying method and those of dysprosium (Dy)-labeled hay by immersion method. Symbols represent the results of individual wether fed seven diets (\square , Alfalfa-V; \triangle , Alfalfa-B; \times , Alfalfa-1; $+$, Alfalfa-2; \blacksquare , Timothy; \bullet , Italian ryegrass; \blacktriangle , Orchardgrass). Diets and passage parameters abbreviations are the same as Table 1 and 2. The broken lines represent $Y=X$.

4. 考 察

消化管内容物は固相、液相の2つの相に分けられ、液相の通過速度のマーカ－としては、Co-EDTAやCr-EDTAが広く使用されている (Grofum and Williams, 1973; Udén et al., 1980)。一方、固相は不均一な相であり、標識飼料の投与方法、マーカ－の種類および標識方法などの要因が通過速度の測定結果に影響を及ぼすと考えられ、多くの研究者 (Beauchemin and Buchanan-Smith, 1989; 一戸, 1994; Moore et al., 1992) がこれらの問題について検討している。

7種類の乾草を調製し、これらを18頭のヒツジに給与した本試験では、反芻胃通過速度定数の k_1 には、標識方法による差異は認められず、スプレイ法が浸漬法に比べ有意に小さかった ($p < 0.05$) とする Mader et al. (1984) の報告とは異なった結果が得られた。Turnbull and Thomas (1987) および Hartnell and Satter (1979) は、薄い希土類元素の溶液 (0.012%) をスプレイ標識した穀実のルーメン液による *in vitro* の24時間培養では、数%しか解離しなかったとしている。Mader et al. (1984) の試験では、スプレイ法による Yb 給与量が $108\text{mg}/\text{W}^{0.75}$ であったのに対して、本研究では $14.1\text{mg}/\text{W}^{0.75}$ と少なかったことが、標識方法による反芻胃通過速度定数への影響が小さかったことの一因と考えられた。

希土類元素の吸着の部位や安定性に関する詳細は不明であり、希土類元素を通過速度のマーカ－として利用することに対して一部の研究者 (Comb et al., 1992; Crooker et al., 1982; Udén et al., 1980) は批判的である。その主な理由は希土類元素が消化管 (特に下部消化管) において標識飼料から解離するためとしている。Teeter et al. (1984) は、標識方法が消化管における解離の程度に影響を及ぼす重要な要因であるとし、Pond et al. (1989) はスプレイ法で標識する

と、解離しやすいとしている。本試験においても、スプレイ法は浸漬法に比べ、下部消化管通過速度定数(k_2)が大きく、初期出現時間(TT)、全消化管平均滞留時間(TMRT)が短かった($p < 0.01$)。これは、スプレイ法によって標識したYbは、反芻胃以降の下部消化管で標識飼料片から解離して速く通過した可能性を示唆している。しかしながら、それぞれの乾草についてスプレイ法と浸漬法で測定した通過速度の各パラメータを比較した場合、いずれも高い正の相関が認められた。したがって、いずれかの方法で得たパラメータは、回帰により高い精度で相互に変換することが可能であると考えられる。

また、繊維成分含量および消化率の異なる飼料では、希土類元素の吸着・解離・再吸着の程度が異なり、標識方法による消化管通過速度への影響は草種によって異なることが予想されたが、本試験では、いずれの乾草においても標識方法による違いについては同様な成績が得られた。このことは草種に関わらず、浸漬法がスプレイ法に比べ、より安定した標識方法であることを示している。

第2節 希土類元素標識対象としての乾草およびその中性デタージェント繊維の比較

1. 目的

前節では、DyやYb等の希土類元素を消化管通過速度測定の固相マーカーとして利用する場合の標識方法について検討し、浸漬法はスプレイ法に比べ、液相への溶出が少ないことを示した。そこで本節では、希土類元素を消化管内容物固相の通過速度マーカーとして利用する場合の標識対象について検討した。

希土類元素は主に植物細胞壁に吸着するとされているが(Smith, 1989), 摂取飼料固相の消化管通過速度を測定する場合, 飼料を希土類元素溶液に直接浸漬して利用する方法(Cochran et al., 1986; Ewing et al., 1986; Hartnell and Satter, 1979)と, 飼料の中性デタージェント繊維(NDF)を調製し, それを希土類元素溶液に浸漬してマーカーとして利用する方法(Beauchemin and Buchanan-Smith, 1989; Moore et al., 1990; Smith, 1989)が用いられている。Ellis et al. (1979)は, NDFに一旦吸着させた希土類元素は中性デタージェント溶液に数%しか解離しないと, 希土類元素を粗飼料に標識する場合は, 中性デタージェント溶液で抽出した繊維が固相の通過速度のマーカーとして望ましいとしている。一方, NDFはその調製過程において化学的処理を受けるため, 飼料の化学的性質が変化することが予想されるが, これまで乾草とそのNDFを標識対象として, 両者の消化管通過速度の差異を直接比較した例はない。すなわち, 固相マーカーとして希土類元素を用いる場合, その標識対象として飼料あるいはそのNDFを用いるかは研究者によって異なっている。飼料およびそのNDFを標識対象とした場合, どちらが摂取飼料の消化管における挙動をより正確に反映するかについては不明である。

そこで、本研究では、4種類の乾草とそれらから調製したNDFを用い、乾草をDyで、NDFをYbで標識し、それらを同時にヒツジに給与することにより、標識材料(乾草とそのNDF)の相違が消化管通過速度の測定成績に及ぼす影響について比較した。また、各飼料給与時の液相の通過速度をCo-EDTAをマーカ―として測定し、固相の通過速度との関係を検討した。

2. 材料および方法

1) 供試飼料

東北農業試験場(岩手県盛岡市)で栽培・調製した4種類の乾草を消化試験および通過速度の測定に供した。1991年にはアルファルファ(*Medicago sativa* L., 品種:サラナック)1番草を開花盛期に、1993年にはオーチャードグラス(*Dactylis glomerata* L., 品種:オカミドリ)1番草を出穂期に、アルファルファ(*Medicago sativa* L., 品種:タチワカバ)2番草を開花期に、チモシー(*Phleum pratense* L., 品種:クライマックス)1番草を出穂期にそれぞれ収穫し、乾草を調製した。各乾草とも1cmに切断し消化試験および通過速度試験に供した。

2) 消化試験

消化率および通過速度の測定には11頭の去勢ヒツジ(平均体重 60.5±1.2kg)を完全無作為抽出法で各飼料に2ないし3頭ずつ割り当て供試した。消化試験は予備期7日間、本期7日間の全糞採取法で行った。供試飼料は1日1回午前9時に給与した。ミネラル含有食塩ブロックおよび水は自由に摂取させた。

3) 通過速度の測定

Teeter et al.(1984)の方法に準じて、切断した飼料片およびそのNDF各200g

を、塩化ディスプレイウム(DyCl₃)の0.5%(w/v)溶液と塩化イッテルビウム(YbCl₃)の0.5%(w/v)溶液にそれぞれ24時間浸漬した後、1時間流水洗浄、55℃で48時間乾燥し、標識飼料を調製した。以後、各標識飼料をDy-hay、Yb-NDFとする。1日当たりの飼料給与量の1/4量に3%のCo-EDTA水溶液を25mlスプレイし、さらに、Dy-hay10gとYb-NDF10gを混合し、消化試験終了時の午前9時に各ヒツジに採食させた。30分後標識飼料の残食を除去し、1日あたり給与量の残りを採食させた。部分糞の採取は、標識飼料投与時を0時として以後3日目までは4時間、3～5日目は8時間、5～7日目は12時間間隔で168時間まで行なった。

4) 飼料成分および希土類元素の分析

採取した糞の処理は第1節と同様に行った。また、各飼料のサンプルは、消化試験開始前に1回、本期中に2回採取し、糞と同様に処理し分析試料とした。一般成分組成、NDF、ADF、ADLおよび細胞内容物(OCC)は第1節の方法に準じてそれぞれ測定した。Dy、YbおよびCoは、試料を硝酸・過塩素酸で湿式灰化し、ICP-AES(機種:日本ジャーレルアッシュ社製、ICPA757)で分析した。

5) 計算および統計処理

通過速度定数は第1節と同様、糞中に排泄されたYb、DyおよびCoの濃度に、Grover and Williams(1973)の式を当てはめて計算した。統計処理はSAS(1990)のGLMプロシジャーを用いて、標識材料および草種を要因とし、次のモデルを用いて行った。

$$Y_{ij} = \mu + F_i + M_j + FM_{ij} + e_{ij}$$

μ : 総平均

F_i : 飼料の効果

M_j : 標識材料の効果

FM_{ij} : 飼料と標識材料の交互作用

e_{ij} : 誤差

3. 結果

1) 供試乾草の飼料成分組成および消化率

Table 4に試験に供した乾草の飼料成分組成を示した。CP含量は12%から16%、繊維成分のNDF含量はいずれの飼料も55%程度であった。アルファルファ乾草のADF含量は約46%でリグニン含量は11%程度であったのに対して、イネ科乾草ではADF含量が36%、リグニン含量は3.5%であった。Table 5には、乾物摂取量と各飼料成分の消化率を示した。乾物、有機物、NDF、ADFおよびセルロースの消化率はチモシー、オーチャードグラス、アルファルファ2番草、アルファルファ1番草の順に高かった。

2) 消化管通過速度

Table 6にDy-hayとYb-NDFのヒツジ消化管通過速度定数を示した。Dy-hayより算出した反芻胃通過速度定数(k_1)は、アルファルファ1番草、アルファルファ2番草、オーチャードグラス、チモシーの順に、2.91, 2.31, 1.67, 1.91%/hrであったのに対して、Yb-NDFでは、1.67, 1.67, 1.56, 1.66%/hrで、Dy-hayとYb-NDFの k_1 の差には1%水準の、飼料間の k_1 には5%水準の有意差がそれぞれ認められた。下部消化管通過速度定数(k_2)はDy-hayで4.75–8.76%/hr, Yb-NDFで3.55–6.82%/hrの範囲にあり、飼料間にだけ有意差が認められた($p < 0.01$)。マーカの初期出現時間(TT)はDy-hayで14.2–15.9時間、Yb-NDFでは11.6–17.3時間の範囲にあり、Yb-NDFのTTはDy-hayのTTよりも飼料間の

差が大きかった。また、 k_2 およびTTでは、Dy-hayとYb-NDF間に有意な差は認められなかった。4種類の乾草のDy-hayの平均滞留時間(TMRT)は62–99.4時間の範囲にあり、Yb-NDFでは、88.7–111時間でいずれの乾草もNDFに標識した場合は、乾草に標識した場合に比べて有意に長かった($p<0.05$)。また、飼料間のTMRTにも5%水準で有意差が認められた。

Fig. 2に、4種類の乾草を摂取した各ヒツジ消化管の液相の通過速度パラメータとDy-hayおよびYb-NDFをマーカーとして算出した固相の通過速度パラメータとの関係を示した。Co-EDTAによる液相とDy-hayをマーカーとした固相間には、それぞれ k_1 で $r=0.853$ ($p<0.01$)、TMRTで $r=0.899$ ($p<0.001$)の相関が認められたが、 k_2 およびTTには有意な相関は認められなかった。Yb-NDFをマーカーとして算出した固相と液相との関係では、 k_1 、 k_2 、TTにおいては有意な相関は認められなかったが、TMRTでは $r=0.790$ ($p<0.01$)の相関が認められた。

Table 4. Chemical composition of forages¹⁾ used in the experiment.

	Alfalfa-1	Alfalfa-2	Orchardgrass	Timothy
	% of dry matter			
Organic matter (OM)	90.4 ³⁾	92.4	88.4	90.3
Crude protein (CP)	15.7	12.6	13.5	15.0
Neutral detergent fiber (NDF)	53.2	54.0	57.4	58.8
Acid detergent fiber (ADF)	45.6	46.8	35.7	35.6
Acid detergent lignin (ADL)	10.3	11.4	3.8	3.2
Cellulose ²⁾	35.3	35.4	31.9	32.4

1) Abbreviations: Alfalfa-1, alfalfa harvested in the first growth in 1991;

Alfalfa-2, alfalfa harvested in the second growth in 1993.

2) Cellulose= ADF-ADL.

3) Mean values for triplicate determinations.

Table 5. Daily dry matter intake and apparent digestibility of forages¹⁾ used in the experiment.

	Alfalfa-1	Alfalfa-2	Orchardgrass	Timothy	SEM ²⁾
Daily dry matter intake (g/W ^{0.75} /day) ³⁾	41.9 ^{a, 4)}	35.9 ^b	33.1 ^b	34.3 ^b	0.32
Digestibility (%)					
Dry matter (DM)	48.6 ^a	54.9 ^b	63.8 ^c	70.6 ^d	0.26
Organic matter (OM)	48.8 ^a	55.6 ^b	65.8 ^c	72.9 ^d	0.21
Crude protein (CP)	72.6 ^a	68.3 ^b	64.4 ^c	69.1 ^{a,b}	0.45
Neutral detergent fiber (NDF)	33.0 ^a	41.5 ^b	68.7 ^c	77.9 ^d	0.27
Acid detergent fiber (ADF)	35.3 ^a	43.6 ^b	68.5 ^c	77.4 ^d	0.28
Cellulose	47.6 ^a	54.5 ^b	77.6 ^c	86.8 ^d	0.22

1) Abbreviations: Alfalfa-1, alfalfa harvested in the first growth in 1991; Alfalfa-2, alfalfa harvested in the second growth in 1993.

2) Standard error of the mean.

3) Mean values based on four wethers.

4) Means within the same row with different superscript letters were significantly different ($p < 0.01$).

Table 6. Fractional passage rates¹⁾, transit time and total mean retention time of dysprosium-labeled hay and ytterbium-labeled NDF as a particulate phase marker.

	<u>Alfalfa-1</u>		<u>Alfalfa-2</u>		<u>Orchardgrass</u>		<u>Timothy</u>		SEM ²⁾	<u>Significant effects³⁾</u>		
	hay	NDF	hay	NDF	hay	NDF	hay	NDF		F	S	F×S
k ₁ (%/hr)	2.91	1.67	2.31	1.67	1.67	1.56	1.91	1.66	0.10	*	**	NS
k ₂ (%/hr)	8.76	6.82	5.07	4.94	4.77	4.82	4.75	3.55	0.33	**	NS	NS
TT (hr)	15.8	14.0	14.2	11.6	15.9	17.3	15.9	15.8	0.52	*	NS	NS
TMRT (hr)	62.0	88.7	77.3	92.3	99.4	111	89.6	108	4.84	*	*	NS

1) k₁, ruminal passage rate; k₂, post-ruminal passage rate; TT, transit time; TMRT, total mean retention time in the alimentary tract calculated from the equation of Grovum and Williams (1973).

2) Standard error of the mean.

3) F, forages; S, labeling sources; F×S, forage×labeling source interaction; NS, not significant; *, p<0.05; **, p<0.01.

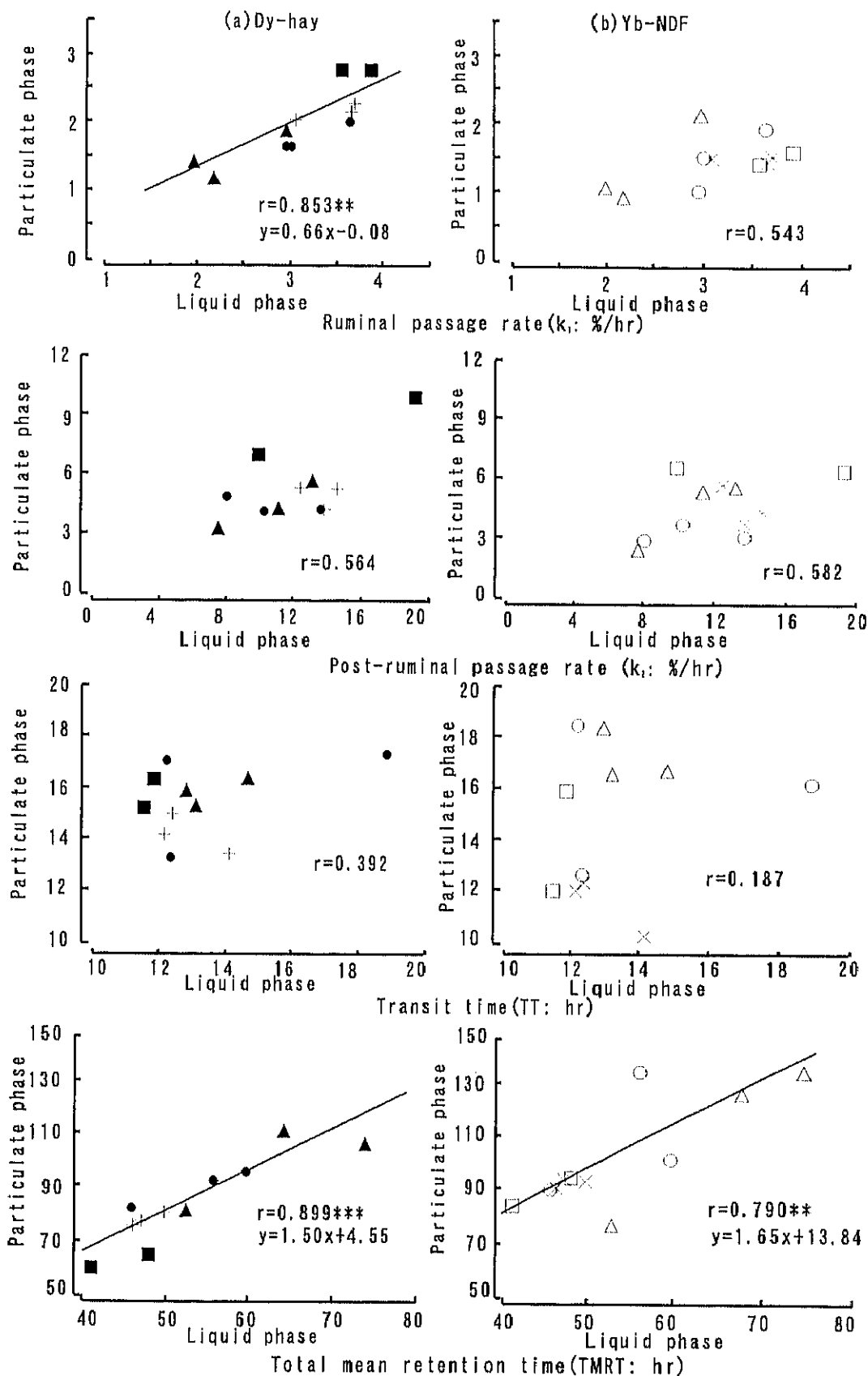


Fig. 2. Relationship between passage rates of dysprosium-labeled hay (Dy-hay:(a)) and ytterbium-labeled NDF (Yb-NDF:(b)) as a particulate phase marker and those of Co as a liquid phase marker. Symbols represent individual wether fed one of four diets (■□, alfalfa-1; +×, alfalfa-2; ●○, Timothy; ▲△, Orchardgrass). Diets abbreviations are the same as in Table 4.

4. 考 察

イネ科牧草とアルファルファは、その繊維構造が大きく異なることが報告されている (Grenet, 1989)。本試験でも、ADFおよびADL含有率ならびにADFおよびNDF消化率がイネ科牧草とアルファルファでは大きく異なっており、両者の繊維成分に構造的な差異が存在することが示唆された。アルファルファは、イネ科牧草に比べ自由採食量が多い。また、飼料の乾物摂取量やNDF摂取量は、通過速度に影響する重要な要因とされている (Faichney and Gherardi, 1986; Shaver et al., 1986)。本試験ではNDF含量のほぼ等しいアルファルファおよびイネ科牧草の4種類の乾草を供試し、NDF摂取レベル ($19-22\text{g/W}^{0.75}/\text{day}$)を同程度にして試験を行った結果、Dy-hayから推定したアルファルファの k_1 はイネ科乾草のそれよりも大きかった。アルファルファ細胞壁は、オーチャードグラス細胞壁よりも消化速度が速いこと (Abe and Abe, 1991)から考えて、アルファルファ乾草は急速に微細化されるため、反芻胃をより速く通過すると推察される。しかしながら、Yb-NDFを用いた場合、刈り取り時期の異なる2種類のアルファルファNDFの通過速度はイネ科乾草NDFと同様な値であった。また、アルファルファでは1, 2番草ともイネ科牧草に比べ、Dy-hayとYb-NDFの k_1 の差が大きく、このことは、イネ科牧草では、乾草とそのNDFの反芻胃滞留時間が同程度であったの対し、アルファルファでは、乾草よりもそのNDFが反芻胃に長く滞留していたことを示している。

Dy-hayとYb-NDFの k_1 の違いについて、2つの解釈が考えられる。一つは、Dy-hayではDyが標識飼料片より解離して、液相部分に移行した結果、液相マーカーに近い動きをしたという解釈であり、もう一つは k_1 の違いはNDFと乾草の物理化学的性質の違いに起因するという解釈である。Ellis et al. (1979)はNDFに希土類元素を標識した場合、希土類元素はデタージェント液に数%し

か溶出しないとしているが、ルーメン液等の消化管溶液におけるNDFからの希土類元素の解離の程度については不明である。また、Teeter et al. (1984)やMader et al. (1984)の報告によれば、スプレイ法による標識では反芻胃内で未標識飼料片への再吸着が見られるが、飼料自体に浸漬法で標識した後、十分に水洗して、遊離の希土類元素を除去することにより、消化過程における希土類元素の解離・再吸着はほとんど問題にならないとしている。同様に、Hartnell and Satter(1979)はルーメン発酵により標識飼料片から溶脱した希土類元素が他の飼料片へ転移した量は微量であるとし、一戸(1994)は *in situ*の試験で希土類元素標識飼料片は反芻胃微生物による発酵を受けるが、その過程で溶脱した希土類元素は再吸着することなく、内容液とともに反芻胃以降に流出することを認めている。これらの報告を考えあわせると、Dy-hayからの希土類元素の解離の程度は小さいと考えられる。従って、Dy-hayとYb-NDFの k_1 の違いは、希土類元素の標識飼料片からの解離と解釈するよりも、乾草とそのNDFの通過速度の違いを反映したものであると解釈するのが妥当と思われる。

植物細胞壁はフィブリルと呼ばれる結晶性の繊維構造(セルロース)と、その繊維の間を埋めているマトリックスと呼ばれる不定形の物質からなり、その主成分が単子葉植物ではヘミセルロースであり、双子葉植物ではペクチン質とされている(桜井ら, 1991)。NDF溶液はペクチン質を除去する作用がある(Van Soest, 1982)ことから考えると、アルファルファから調製したNDFでは、細胞壁マトリックスの主成分であるペクチン質の溶脱が起こり、植物体本来の細胞壁とは異なる繊維構造に変化した結果、Dy-hayとYb-NDFの k_1 で差が生じるのではないかと推論される。反芻家畜に摂取された粗飼料粒子は、反芻時の咀嚼やルーメン微生物によって臨界粒度以下の大きさまで微細化される過程において、その比重が変化することが知られている(Hooper and Welch, 1984; Lechner-Doll et al., 1991)。また、比重が1.0から1.4g·ml⁻¹前後の粒子が最も

速く反芻胃を通過し (Welch, 1986), 反芻胃滞留時間は粒子の比重と負の相関があるとされている (Lechner-Doll et al., 1991)。本試験においても, アルファアルファではNDFの調製過程において飼料粒子の比重が変化し, そのことが反芻胃通過速度に影響を及ぼしたのかもしれない。いずれにせよ, アルファアルファでは標識したNDFの反芻胃における挙動が植物本体のそれと異なったことから, NDFの調製過程で, 繊維の物理化学的な構造に変化が生じたと推察される。

Sutherland (1988) は反芻胃からの固形物の流出速度は反芻胃内容液の通過速度に影響されるとし, また, Faichney and Boston (1983) は, Cr-EDTAを液相マーカーとし, ルテニウムフェナントロン (Ru-Phen) を固相マーカーとして用いた試験で, 液相および固相の各滞留時間を求め, 両者に高い相関を認めている。このように, 液相と固相の移動が一定の相互関係を有しているとすれば, 本試験において, 液相マーカーであるCo-EDTAの k_1 と有意な正の相関が認められたDy-hayから推定した k_1 が, Yb-NDFから推定した k_1 よりも消化管固相の動態を反映しているといえる。一方, 一戸ら (1992) は刈り取り期の異なるオーチャードグラスを摂取したヒツジの反芻胃内容物 (乾物) の消失と反芻胃内容液の通過速度に関連は認められなかったとしており, 摂取飼料の液相と固相の関係解明には, さらなる検討が必要であろう。

以上, 本試験の成績から, 希土類元素を飼料の中性デタージェント繊維 (NDF) に標識した場合, 飼料に直接標識した場合に比べて反芻胃通過速度は遅くなり, その差はマメ科牧草で大きいこと, また, 反芻家畜消化管における挙動は飼料とそのNDFでは異なることが明らかとなり, その理由として, NDFの調製過程における繊維構造の物理化学的変化が推察された。従って, 消化管における飼料片の動態を解析するには抽出NDFを用いるよりも飼料に直接標識したマーカーを用いる方が, 精度が向上することが明らかとなった。

第3節 消化管通過速度の固相マーカーとしての酸化クロムと希土類元素の比較

1. 目的

消化管通過速度測定における固相マーカーとしての希土類元素の標識方法に関する検討の一環として、前節では、標識対象としての乾草および抽出NDFの適合性について検討し、それぞれから推定される通過速度定数の比較から、抽出NDFを用いるよりも飼料に直接標識した方がより正確に消化管における飼料片の動態を解析できることを明らかにした。本節では、従来から消化管通過速度のマーカーとして利用されている酸化クロム (Cr_2O_3) と希土類元素の生体内における挙動、あるいはこれらをマーカーに用いて推定される消化管通過速度定数を比較することによって、希土類元素の固相マーカーとしての特徴を明らかにしようとした。

Cr_2O_3 および希土類元素は消化管内で不消化かつ不活性であることから、消化試験のインディケータあるいは消化管固相通過速度のマーカーとして広く用いられている (松本と菅原, 1996; Momont et al., 1994; Moore et al., 1990; Shaver et al., 1988)。一方、 Cr_2O_3 は粉末であるため、消化管内における Cr_2O_3 の移動と摂取粗飼料の移動は必ずしも一致しないとする報告もあり (滝川, 1988)、同様に希土類元素についても *in vitro* の試験から、反芻胃液および第四胃液中においてその一部が標識飼料から解離することが報告されている (Comb et al., 1992; Crooker et al., 1982)。しかしながら、マーカーとして投与された Cr_2O_3 および希土類元素の反芻動物の消化管内における動態の詳細についてはいまだ十分には明らかとなっていない。さらに、これらの物質をマーカーに用いて推定した摂取飼料の消化管通過速度について比較した例はほとん

どない。そこで、本節では、 Cr_2O_3 および希土類元素を同時に投与した去勢ヒツジを経時的に屠殺して、第一・二胃および第四胃内容物固相と液相における各マーカの分布を調べた。また、刈り取り時期が異なり、消化率も異なる2種類の乾草をヒツジに給与して、糞中への各マーカの排泄濃度パターンより、各マーカ間で消化管固相通過速度を推定し比較した。

2. 材料および方法

1) 飼料

供試動物には飼料成分組成および消化率が既知の出穂期刈りおよび結実期刈りのチモシー(*Pheleum pratense* L., 品種:クライマックス)1番乾草と市販の大豆粕(CP44%以上)を給与した。供試した飼料の成分組成および消化率をTable 7に示した。

2) 実験計画と飼料採取

(1) 試験1

去勢ヒツジ4頭(コリデール種, 平均体重 $57.1 \pm 4.2\text{kg}$)に結実期刈りのチモシー乾草800gと大豆粕200gを1日1回午前9時に給与し、ミネラル含有食塩ブロックおよび水は自由に摂取させた。7日間の馴致期間後、8日目の飼料給与前にDy標識乾草(Dy-H)10g, Yb標識大豆粕(Yb-SB)5gおよび Cr_2O_3 10gを1日当たり給与飼料の1/10量に混合し、採食させた。30分後に、標識飼料の残餌を回収し、残り9/10量の飼料を給与した。希土類元素の標識方法は、第1節と同様に浸漬法で行った。飼料給与6時間後と24時間後に、ヒツジ各2頭を屠殺して反芻胃(第一・二胃)および第四胃の内容物を全量採取し秤量した。反芻胃および第四胃の内容物は $47\mu\text{m}$ のナイロンメッシュでろ過し、さらにろ液を $15,000\times\text{g}$,

15分で遠心分離し、上清液と沈殿物に分離した。47 μ mナイロンメッシュ上の残渣と遠心分離後の沈殿物(微生物を含む微細な飼料片)を併せて固相とし、上清液を液相とした。内容物および各相のサンプルは真空凍結乾燥し、分析試料とした。

(2) 試験2

8頭の去勢雄ヒツジ(コリデール種, 平均体重: 60.8 \pm 4.3kg)を無作為に2群に分け, 一方の群には出穂期刈りチモシー乾草800gと大豆粕200gを1日1回午前9時に給与した。また, 他の群には, 結実期刈りのチモシー乾草800gと大豆粕200gを同様に給与した。両群ともミネラル含有食塩ブロックおよび水は自由摂取とした。14日間の馴致後, 15日目の飼料給与前にDy-H, Yb-SB, Cr₂O₃を添加混合し, Co-EDTA水溶液25ml (Co-EDTA 1gを含有)を噴霧した標識飼料を採食させ, これらの標識飼料の動態から消化管通過速度を測定した。希土類元素の標識方法, 標識飼料の給与方法は第1節ならびに試験1に準じて行い, 標識飼料投与後2日間は4時間ごとに, 以後6時間おきに144時間まで糞を採取した。採取した糞は55 $^{\circ}$ Cで48時間乾燥し, 1mmのスクリーンをつけたウィリーミルで粉碎し, 分析試料とした。

3) 化学分析

Yb, DyおよびCoは, 試料を硝酸・過塩素酸で湿式灰化し, ICP-AES(機種: 日本ジャーレルアッシュ社製, ICPA757s)で分析し, Crはリン酸カリ試薬法(小坂, 1971)によって分析した。

4) 計算および統計処理

通過速度定数は第1節と同様, 糞中に排泄されたYb, DyおよびCoの濃度に,

Grovum and Williams (1973)の式を当てはめて計算した。

統計処理はSAS (1990)のGLMプロシジャーより、次のモデルを用いて行った。

$$Y_{ij} = \mu + F_i + M_j + FM_{ij} + e_{ij}$$

μ : 総平均

F_i : 飼料の効果

M_j : マーカーの効果

FM_{ij} : 飼料とマーカーの交互作用

e_{ij} : 誤差

3. 結果

1) 各マーカーの胃内容物における分布 (試験1)

標識した大豆粕中のYb濃度およびチモシー乾草のDyは、それぞれ46.7, 59.1 $\mu\text{mol/g}$ 飼料であった。Table 8に、マーカーの投与後6および24時間の反芻胃における各マーカー投与量に対する残存率を示した。飼料給与6時間後のYb, Dy, Crの平均残存割合は、76.3, 95.5, 89.8%であった。24時間後のマーカー残存率はYb, DyおよびCrの順に29.8, 60.0, 47.7%であった。希土類元素では、2頭のヒツジとも同様な値を示したが、Crでは個体差が大きかった(62.0%と33.5%)。反芻胃における6時間後の乾物残存量に対する24時間後の乾物残存量の割合は $57.4 \pm 0.4\%$ であり、各マーカーのそれは、Dy, YbおよびCrの順に62.8, 32.3, 53.1%となった。本試験では、チモシー乾草と大豆粕を8:2の割合で混合給与していることから、DyとYbの割合から算出される6時間後の乾物残存量に対する24時間後の乾物残存量の割合を求めると56%となり、これは実際の回収量から求めた乾物残存割合(57.4%)にほぼ等しかった。

各マーカーの6および24時間後の反芻胃と第四胃の内容物画分中の分布割合をTable 9に示した。Dyは、24時間後の反芻胃液相中でも1.2–2.4%しか存在せず、6時間後の反芻胃および第四胃の液相中ではほとんど存在しなかった。一方、Ybは6時間後の反芻胃および第四胃の液相中にはほとんど存在しなかったが、24時間後の液相中には反芻胃で3.1–14.3%、第四胃で0–6.3%存在した。Crはいずれの時間においても反芻胃および第四胃の液相中にはほとんど存在しなかった。

2) 各マーカーの糞中排泄濃度から推定した摂取飼料の消化管通過速度 (試験2)

糞中に排泄された各元素の濃度推移をFig. 3に示した。Fig. 3から推定した消化管通過速度定数をTable 10に示した。いずれのパラメータにおいても、元素間に有意差が認められた。Coの k_1 、 k_2 はいずれの固相マーカーよりも大きく($p < 0.05$)、TMRTは短かった($p < 0.01$)。Crの k_1 はCoよりも小さいがYbおよびDyよりも大きく、TMRTも有意に短かった。

k_1 とTMRTにおいてチモシー乾草間に有意差が認められ、Co、Yb、Dyの k_1 は結実期刈りの乾草が出穂期刈りの乾草より小さい傾向が認められた。Crではいずれのパラメータにおいても乾草間の差は認められなかった。Coの k_2 およびYbとDyのTMRTにおいてチモシー乾草間に有意差が認められた。

Table 7. Chemical composition and digestibility of timothy hay and soybean meal used in the experiments.

	Timothy hay		Soybean meal
	Heading	Seed setting	
Chemical composition ¹⁾ (% of dry matter)			
Organic matter (OM)	92.8	93.0	93.9
Crude protein (CP) ²⁾	6.6	4.7	48.3
Neutral detergent fiber (NDF) ³⁾	69.3	70.3	11.0
Acid detergent fiber (ADF)	44.3	44.9	9.8
Acid detergent lignin (ADL)	5.7	6.9	2.7
Digestibility ⁴⁾			
OM	61.7±0.2 ^{a,5)}	55.0±0.6 ^b	
CP	55.5±1.9 ^a	35.3±3.9 ^b	
NDF	61.2±0.9 ^a	54.7±1.3 ^b	
ADF	61.7±1.0 ^a	54.2±1.5 ^b	

1) Mean values for triplicate determinations.

2) Nitrogen content×6.25.

3) Determined according to Goering and Van Soest (1970), except that neutral detergent fiber was analyzed without sodium sulphite and decahydronaphthalene.

4) Mean±SE based on four wethers.

5) Mean values with different superscript letters were significantly different ($p<0.01$).

Table 8. Retention of particulate phase markers in the rumen at 6 and 24 hours after dosing of markers (Experiment 1).

Marker	Time after dosing (hours)			
	6		24	
	1) ¹⁾	2	3	4
	--- % of initial marker amount ---			
Yb (marked soybean meal)	70.0	82.5	26.6	33.1
Dy (marked timothy)	95.2	95.8	57.2	61.0
Cr ₂ O ₃	87.8	91.8	62.0	33.5

1) Identification number of wethers used in the experiment.

Table 9. Distribution of particulate phase markers in each fraction of the rumen and abomasum digesta at 6 hours and 24 hours after dosing of the markers (Experiment 1).

Marker	Time (hr)	Wether No.	Rumen			Abomasum		
			Solid ¹⁾	Pellet ²⁾	Supernatant ³⁾	Solid	Pellet	Supernatant
			----- % -----			----- % -----		
Yb (marked soybean meal)	6	1	74.3	25.1	0.6	57.1	42.9	0
		2	87.0	12.6	0.4	50.0	50.0	0
	24	3	57.1	28.7	14.3	68.8	25.0	6.3
		4	87.6	9.3	3.1	66.7	33.3	0
Dy (marked timothy)	6	1	88.5	11.6	0	73.3	26.7	0
		2	92.2	7.7	0.1	80.0	20.0	0
	24	3	88.9	8.6	2.4	80.0	20.0	0
		4	93.5	5.3	1.2	75.9	24.1	0
Cr ₂ O ₃	6	1	69.0	31.0	0	90.8	9.1	0.1
		2	81.8	18.2	0	89.0	8.5	0.2
	24	3	78.4	21.5	0	92.0	7.9	0
		4	90.3	9.7	0	93.1	6.9	0

1) Particles retained on a 47 μ m screen.

2) Particles of hay and microbial material passed through a 47 μ m screen, and precipitated by centrifugation at 15,000 \times g for 15 minutes.

3) Supernatant from centrifugation at 15,000 \times g for 15 minutes.

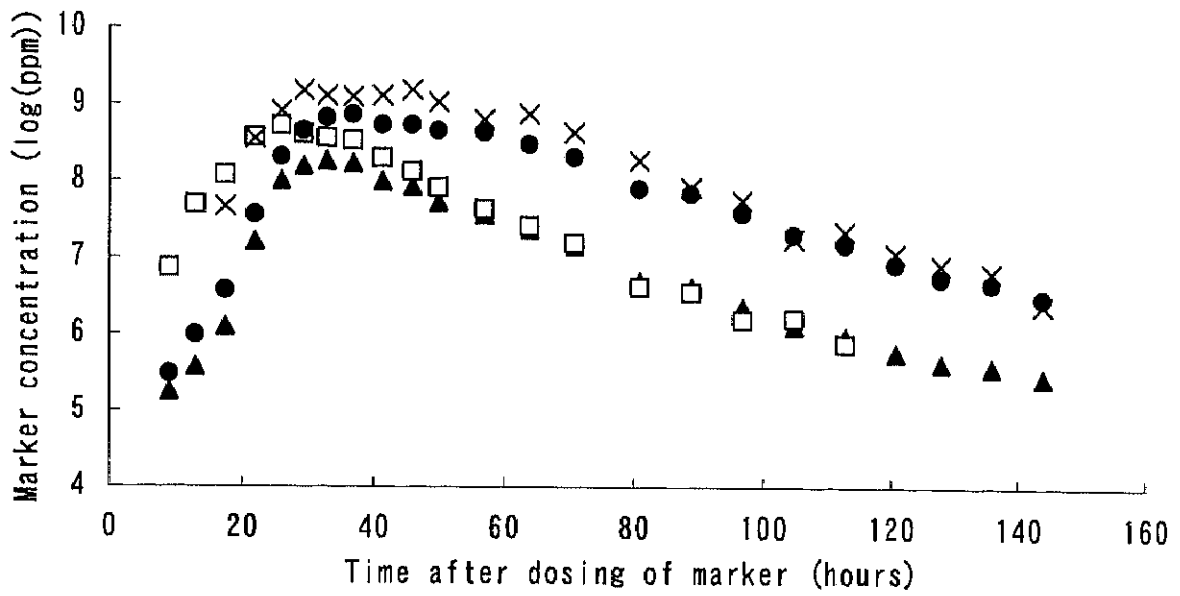


Fig. 3. Changes in concentrations of chromium and rare earth element markers in feces of a wether fed 800 g timothy hay and 200 g soybean meal once daily.

●: Dysprosium, ▲: Ytterbium, □: Cobalt, ×: Chromium

Table 10. Passage parameters¹⁾ calculated from concentrations of markers in feces (Experiment 2).

Phase of digesta Marker	Liquid		Particle						SEM ³⁾	Significant effects ⁴⁾				
	Co		Cr ₂ O ₃		Yb-soybean		Dy-timothy			M	T	M×T		
	H	S	H	S	H	S	H	S						
Maturity of timothy hay ²⁾														
k ₁ (%/hr)	3.6 ⁵⁾	3.3	2.9	2.9	2.6	2.3	2.2	1.9	0.1	***	*	NS		
k ₂ (%/hr)	18.1 ^{5,6)}	14.8 ^b	9.6	11.5	11.2	9.5	8.6	8.4	0.7	***	NS	NS		
TT (hr)	11.6	11.6	12.7	13.5	13.0	13.0	14.5	15.2	0.5	***	NS	NS		
TMRT (hr)	45.0	48.7	57.7	56.8	60.1 ^a	67.6 ^b	71.5 ^a	79.7 ^b	1.4	***	**	NS		

1) k₁, ruminal passage rate; k₂, post-ruminal passage rate; TT, transit time; TMRT, total mean retention time in the alimentary tract calculated from the equation of Grovum and Williams (1973).

2) H, Heading stage; S, Seed setting stage.

3) Standard error of the mean.

4) M, Marker; T, Maturity of timothy hay; M×T, Interaction; NS, not significant; *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001.

5) Mean values based on four wethers.

6) Mean values with different superscript letters were significantly different (p<0.01).

4. 考察

1) 各マーカのヒツジ胃内容物における分布

希土類元素は高蛋白質，高繊維含量の飼料に高い親和性を示すが，Teeter et al. (1984)の報告（188.4 μ mol/g, 大豆粕）に比べ，本試験の大豆粕に吸着されたYb濃度（46.7 μ mol/g, 大豆粕）は低かった。この理由の一つとして，Teeter et al. (1984)の試験では浸漬に用いたYb溶液の濃度が28mMであったのに対して本試験ではその約半分の13mMであったことが考えられる。

試験1での飼料給与24時間後の反芻胃における希土類元素の残存率は供試した2頭のヒツジとも同様な値を示した。これに対して，Cr₂O₃の残存率は62.0%および33.5%と個体差が大きかった。供試頭数が少ないことを考慮しなければならないが，この成績はCr₂O₃の反芻胃からの移動が粗飼料の移動と必ずしも一致しないことを強く示唆している。

本試験では，希土類元素の飼料への標識は浸漬法で行ない，未吸着のものは水洗で除去しており，大部分の元素は飼料片に吸着していると考えられる。よって，反芻胃および第四胃の液相中に希土類元素の存在が認められたことは，*in vitro*の試験（Comb et al., 1992; Crooker et al., 1982）と同様に*in vivo*においても希土類元素の一部が反芻胃および第四胃で標識飼料から液相中に溶出したことを示している。大豆粕とチモシー乾草では，希土類元素の吸着濃度は同程度であったが，24時間後の液相への溶出の程度は異なった。この理由として，大豆粕の消化速度がチモシー乾草に比較して速い（Abe and Abe, 1991）ことや，チモシー乾草と大豆粕では細胞壁構成成分（CWC）の違いにより，希土類元素の親和力（Binding affinity）が異なること（Teeter et al., 1984）などが影響したものと推察される。

Comb et al. (1992)は，標識飼料片から解離した希土類元素は他の飼料に再

吸着されると指摘し、一方、Hartnell and Satter (1979)はこの再吸着の程度は無視しようとしている。また、一戸 (1994)は、発酵を受け標識飼料片から溶脱した希土類元素は、反芻胃内溶液とともに反芻胃以降に流出すると報告している。このように、液相中に溶出した希土類元素の固相への再吸着については研究者によって意見が異なり、今後、さらに検討が必要であるが、本試験の成績は少なくともチモシー乾草に関する限り、標識した希土類元素は、そのほとんどが固相に回収されることを示しており、希土類元素をマーカーとする粗飼料の消化管通過速度測定は実用的かつ精度の高い方法であるといえるであろう。

2) 糞中の酸化クロムおよび希土類元素濃度から推定した消化管通過速度

Oshio (1992)は第一胃フィステル装着牛に数種類のマーカーを投与し、推定した k_1 を比較した試験で、PEG (液相)、 Cr_2O_3 、フクシン染色乾草の順に k_1 が大きかったと報告している。本試験でも、酸化クロムから推定した k_1 は、いずれの飼料においても液相マーカーとして用いられているCo-EDTAよりも小さく、かつDy標識乾草よりは有意 ($p < 0.01$)に大きかった。結実期刈りのチモシー乾草と出穂期刈り乾草は、リグニン含量および繊維の消化率が異なることから、反芻胃における通過動態は異なることが予想されたが、 Cr_2O_3 から推定した k_1 はいずれの乾草においても同様であった。これに対して、Dy標識乾草の k_1 は結実期刈りで小さい傾向があり、特にTMRTは有意に長かった ($p < 0.05$)。このように、 Cr_2O_3 から推定した k_1 が、希土類元素標識飼料片の k_1 より大きく、また摂取飼料間に差が認められなかった理由としては、 Cr_2O_3 はその形態が不溶性の微粉末であり、比重も大きいいため、飼料より速く下部消化管に移動したことが考えられる。

以上、試験1と試験2の結果を総合すると固相マーカーとして用いた Cr_2O_3 と

希土類元素では、反芻胃および第四胃における挙動が異なることが明白である。また、糞中のCr排泄濃度から推定した k_1 が大豆粕に標識したYbの排泄濃度およびチモシー乾草に標識したDyの排泄濃度から推定した k_1 より有意に大きかったことや、Cr₂O₃をマーカ―として推定した k_1 に摂取飼料間の差違が認められなかったことから、摂取飼料の消化管通過速度を測定する場合、固相マーカ―として希土類元素とCr₂O₃から推定した値を直接比較するのは適當ではないと結論できる。

第4節 小括

希土類元素の反芻家畜消化管通過速度の固相マーカーとしての適用性を評価する目的で、1)希土類元素の飼料片への標識方法の検討、2)希土類元素標識対象としての乾草とその中性デタージェント繊維の比較、3)固相マーカーとしての酸化クロムと希土類元素の比較を行い、以下の成績を得た。

1) 7種類の乾草について、浸漬法とスプレイ法によって標識した飼料片を18頭のヒツジに同時投与して消化管通過速度定数を推定した結果、浸漬法とスプレイ法との間には高い相関が認められること、反芻胃通過速度定数(k_1)には、方法間に差は認められなかったものの、スプレイ法では浸漬法よりも下部消化管通過速度定数(k_2)が大きく、初期出現時間(TT)および平均滞留時間(TMRT)が短くなった。このことから、浸漬法はスプレイ法に比べ消化管における液相への溶出が少ないことが示唆された。

2) 11頭の去勢ヒツジに4種類の乾草を給与し、固相マーカーとして希土類元素を直接飼料片に標識したDy-hayと、乾草より調製した中性デタージェント繊維に標識したYb-NDFを同時に投与して、糞中に排泄される希土類元素濃度より消化管通過速度を推定した。その結果、①希土類元素を飼料の中性デタージェント繊維(NDF)に標識した場合、飼料に直接標識した場合に比べ、 k_1 は小さな値を示し、逆にTMRTは大きくなった。②特に k_1 の差はイネ科牧草よりもマメ科牧草で大きかった。これらの成績から反芻家畜消化管における挙動は飼料とその抽出NDFでは異なることが示唆された。

3) 消化管固相通過速度マーカーとしての希土類元素と酸化クロムの特徴を

明らかにする目的で、各マーカーの上部消化管における挙動を直接回収試験によって実測するとともに、希土類元素と酸化クロムを固相マーカーとして、2種類の乾草の通過速度を比較測定した。その結果、①粗飼料に標識した希土類元素はほぼ100%固相に回収されること、②酸化クロムの反芻胃内残存率は個体差が大きいこと、③酸化クロムは希土類元素標識飼料片に比べ、通過速度が有意に大きいことが示され、これら2種類のマーカーの反芻胃内での動態が異なることが明らかとなった。

以上の成績は、希土類元素は、従来の固相マーカーに比べ、摂取飼料の反芻家畜消化管における挙動をよりの的確に反映することを示しており、希土類元素を利用した消化管通過速度の測定手法は、草種、摂取量、切断長等の飼料側要因が消化管通過速度に及ぼす影響の解析、ならびに摂取飼料の反芻胃における微細化－消化－通過という一連の動的過程に関与する種々の要因の相互作用解明に極めて有効であると判断された。