

第IV章 総合考察

1. 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評価

粗飼料の消化管通過速度に関するこれまでの研究は、主に固相マーカーの選定およびマーカー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を目的として行われてきた。通過速度の解析モデルとしては、反芻家畜の消化管を反芻胃と下部消化管の2つのコンパートメントに分けて考えるtwo compartment age-independent model (Grofum and William, 1973) や、反芻胃内での微細化過程を考慮したtwo compartment age-dependent model (Pond and Ellis, 1988) および複数のコンパートメントから成るmulti compartment model (Dhanao, 1985) があげられる。Huhtanen and Kukkonen (1995) は、固相の消化管通過速度の解析モデルとしてはtwo compartment age-dependent model が最も適当とし、Bernard et al. (1998) は、multicompartment model が最適としている。このように、研究者によって用いられるモデルあるいはモデルに対する解釈は様々であり、検討段階にあること、また、Moore et al. (1992) や Bernard et al. (1998) は、いずれのモデル式を用いても、推定される反芻胃通過速度定数 (k_1) に差は認められなかったとしていることから、本研究では、Grofum and Williams (1973) のtwo compartment age-independent model を用いた。

一方、消化管通過速度の固相マーカーに関しては、1950年代に行われた Balch (1950) あるいは Blaxter et al. (1956) のフクシンによる染色飼料片があげられる。この方法は飼料の栄養価と消化管における摂取飼料の動態と関連づけて解析しようとした先駆的なものであったが、大変な労力と時間を要すること、また、染色飼料片が消化管内容物の挙動を代表していることについて疑問

が投げられた等の問題があった(Ellis and Huston, 1968)。1960年代に入り、希土類元素の放射性同位体が固相に吸着しやすい化学的性質を持つことが報告され(Kyker, 1961)、それ以降、放射性のディスプロシウムやセリウムを利用して、固相の消化管通過についての研究がなされてきた(Huston and Ellis, 1968)。その後さらに分析手法が飛躍的に進歩し、発光分析法、原子吸光法によって、放射性同位体でない希土類元素が測定できるようになったことから、多くの研究者が希土類元素を固相マーカーとして利用するようになった(Ellis et al., 1979; Hartnell and Satter, 1979; Pond et al., 1989)。しかしながら、Comb et al.(1992)は希土類元素を固相マーカーとして利用する事に対して批判的な見解を示し、その理由として、*in vitro*の試験成績に基づく希土類元素の標識飼料片からの解離と再吸着をあげている。一方、Mader and Teeter(1984)、Pond et al.(1989)およびTeeter et al.(1984)はスプレイ法で標識した場合、飼料片に吸着していない遊離の希土類元素がルーメン液や第四胃液中で溶離するが、浸漬法で標識し水洗した場合は、標識飼料片からの解離は少なく、その影響は小さいとしている。

本研究はヒツジを用いた*in vivo*の試験から、希土類元素のマーカーとしての妥当性について検討したものであるが、スプレイ法と浸漬法では、反芻胃通過速度定数(k_1)には有意差が認められなかったものの、下部消化管通過速度定数(k_2)や全消化管滞留時間(TMRT)ではスプレイ法が浸漬法よりも有意に速いことを認めた。このことは、浸漬法がスプレイ法に比べ、消化管における液相への溶出が少ないことを間接的に示している。また、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、反芻胃通過速度は遅いこと、特にその差はイネ科牧草よりもマメ科牧草で大きいことから反芻家畜消化管における挙動は飼料とそのNDFでは異なり、NDF処理の過程で、化学的変性が起こることが示唆された。以上の結果を踏まえ、

飼料に直接浸漬法で標識した場合に、実際の反芻家畜消化管内で希土類元素がどのような挙動を示すかをヒツジ4頭を屠殺して調べた。その結果、粗飼料と大豆粕に希土類元素を標識した場合、ルーメン内あるいは第四胃内において、希土類元素が標識飼料片から液相部に溶離するが、その程度は粗飼料においては、投与量に対して1-2%と低く、消化管通過に対する影響は小さいことを確認した。このように、希土類元素を浸漬法で直接飼料に標識した場合は、*in vivo* における標識飼料片からの解離は、*in vitro*の試験から Comb et al. (1992)が指摘したルーメン液あるいは第四胃液での希土類元素の標識飼料片から解離した程度よりもかなり小さく、その影響も無視できるものと判断された。

一方、Udén et al. (1980)の提唱したクロム標識飼料片や酸化クロムは100%固相に回収されることから、消化管通過速度マーカーとして広く利用されているが、飼料片に比べ比重や粒度が異なることから、消化管における挙動は摂取飼料と異なる可能性が指摘されている。本試験においても、反芻胃における酸化クロムの残存率に個体間差が認められた。このことは、消化管において酸化クロムと摂取飼料の挙動が必ずしも一致していないことを示している。さらに、酸化クロムから通過速度を推定した場合は、チモシー乾草に予想される生育ステージによる飼料間差が認められなかったのに対して、希土類元素をマーカーとした場合では、妥当な飼料間差が認められたこと、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速かったことを考え合わせると、希土類元素は摂取飼料の消化管における挙動をより適切に反映していると思われる。ただし、浸漬法の過程における飼料の浸漬・水洗によって細胞内容物の流出が起これ、消化率の低下を招く可能性があること、また、標識飼料片から解離した希土類元素の再吸着の程度についてはいまだ検討が不十分であり、これらが消化管通過速度の測定精度にどの程度影響するのかについては今後さらなる検

討が必要であるが、固相マーカ－の好ましい性質として、1) 生体に吸収されず、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 (Faichney, 1975) という条件に照らしてみれば、希土類元素標識飼料片の消化管通過速度のマーカ－としての実用性はかなり高いと結論される。

2. 採食・反芻時における微細化と反芻胃通過速度の関係

反芻家畜によって摂取された飼料が反芻胃を通過するためには、臨界粒度 (critical particle size) と呼ばれる一定のサイズ以下まで微細化される必要があることが、飼料、消化管内容物および排泄糞の粒度分布の解析結果 (Lee and Pearce, 1984; McLeod and Minson, 1988) から示されており、摂取飼料の微細化は反芻胃通過の必須要因と考えられる。また、この飼料の微細化の主要因が採食反芻時の咀嚼であることを、多くの研究者 (岡本, 1991; Poppi et al., 1980; Ulyatt et al., 1986) が指摘している。そこで、本研究では、採食反芻時間を摂取飼料の微細化に要する時間と仮定して、反芻胃における微細化と通過との関係について解析を試みた。第Ⅲ章の第1節ではチモシー乾草の生育に伴う繊維構造の変化と消化管通過速度との関係について検討した。その結果、結実期は生育 (出穂前) 期に比べると、採食反芻時間が長く、反芻胃通過速度は有意に低くなる成績を得た。また、第2節では窒素源の添加の有無が消化管通過速度に及ぼす影響を検討したが、この場合においても、大豆粕の添加の有無に関わらず、結実期刈りの乾草は反芻胃通過速度は出穂期に比べ有意に遅いことを確認した。さらに、第3節において、消化性に劣るソルガムはトウモロコシよりも、また、切断長が長いサイレージは短いものよりも、採食反芻時間が長く、かつ反芻胃通過速度が遅いという結果を得た。これらの成績は、家畜に

摂取された粗飼料粒子の反芻胃通過は、反芻胃内における飼料片の微細化の難易度の影響を受けることを示しており、これが植物形態の差異あるいは繊維構造の違いに由来することが成分組成や消化率の結果から推察された。また、単位摂取量当たりの咀嚼時間が飼料の種類によって異なったことは、Sudweeks et al.(1981)や久馬ら(1992)の提唱するように、乾物あるいは繊維摂取量当たりの咀嚼時間が飼料の微細化の難易度の指標として有効であるとの考えを支持するものである。

ここで、第Ⅲ章第1節の試験成績に基づいて、生育に伴う繊維構造の変化、すなわちリグニン化の進行と咀嚼および反芻胃通過との関係をさらに詳細に比較すると、以下のとおりである。

生育期刈りの乾草を摂取した場合（E区）に比べ、出穂期刈り乾草を摂取したヒツジ（M区）では採食反芻時間が有意に長くなったものの、反芻胃通過速度には差が認められなかった。このことは、摂取量が維持量レベルでリグニン化が中程度の乾草の場合、反芻胃通過が可能なサイズまでへの微細化は咀嚼時間の増加によって速やかに達成可能であったことを示唆している。一方、さらにリグニン化の進んだ結実期刈りの乾草を給与した場合（L区）には、採食・反芻時間の増加は出穂期刈り乾草給与（M区）と同程度であったにも関わらず、反芻胃通過速度は有意に遅かった。これは、リグニン化の進んだ乾草では咀嚼そのものによる飼料の微細化は反芻胃通過になお十分でなかったことを示している。上田（1997）は、独自に開発した反芻胃飼料片の粒度別動態モデルと解析方法を用いて、反芻胃内における飼料粒子の消失速度、発酵（微生物による分解・可溶化）速度および通過（反芻胃からの流失移行）速度を推定し、遅刈りのイネ科乾草は早刈り乾草に比較して、反芻胃からの摂取飼料の消失は発酵によるものよりも通過による消失が大きいとしている。このことから考えると、本試験の結実期刈りの乾草が出穂期刈りの乾草と採食反芻時間が同様な値であ

ったにも関わらず、反芻胃通過速度が遅かったのは、リグニン化が進んだ結実期の乾草を摂取している時は、飼料粒子の微細化により多くの咀嚼を必要とするものの、1日当たりの咀嚼時間が上限に近かったため、反芻胃により長く滞留して発酵による微細化を受けたものと予想される。また、第2節の試験で、窒素源を添加した場合、乾草単独給与に比べ、採食反芻時間が有意に短くなるものの、反芻胃通過速度は変化しないという結果を得たが、この理由については次の二つが考えられた。一つは、大豆粕添加によって、乾草単独給与時に比べ、反芻を引き起こすサイズまでの微細化は速く進むものの、リグニン化した繊維含量が多いため、反芻胃を通過できるサイズまでへの微細化が進まず、反芻胃通過速度が乾草単独給与区と変わらなかったという考えと、もう一つは、反芻家畜における尿素の再循環機能に基づくもの（小原，1987）で、遅刈りのチモシー乾草を単一給与した場合は窒素出納が負になるため、家畜は反芻を活発に行うことによって、唾液による尿素的循環を促進し、反芻胃内における窒素レベルを維持するが、大豆粕の添加によってその必要がなくなったという考えである。このように、本成績の一部は、制限給餌下では咀嚼時間と反芻胃滞留時間（1/k_i）の関係が、単純な比例関係にない場合もあること、微細化の難易が採食反芻時間に反映されない場合もあり得ることを示している。

しかしながら、飼料の反芻胃通過が飼料粒子の微細化速度に規制されるのは周知の事実であり、第Ⅲ章における各節の結果もこのことを裏付けている。また、これらの結果は飼料の反芻胃通過が草種間の植物構造の形態的差異や繊維の物理化学的構造によって左右されることを示唆している。第Ⅲ章の第3節および第4節では、反芻胃通過に影響する飼料側要因として、切断長と摂取水準を取り上げて検討した結果、トウモロコシサイレージはソルガムサイレージに比べ、これらの要因の反芻胃通過速度に対する影響が小さいこと、また、チモシー乾草とアルファルファハイキューブでは消化管通過速度に対する摂取水準

の影響が異なることが明らかとなった。これらの成績もまた、摂取飼料の微細化が反芻胃通過を規制する重要な要因であることに間違いはないが、飼料の微細化は飼料の物理的性状や摂取水準によって異なるため、消化管通過速度に対する種々の飼料側要因の影響は見かけ上、草種あるいは飼料の種類によって大きく異なることを示している。

3. 消化管通過速度に影響する飼料側要因の解析

これまでのところ、反芻胃通過速度に対する飼料の摂取量、繊維含量あるいは繊維消化率の影響が草種によって異なる理由については、十分に明らかとなっていない。そこで次に、反芻胃通過に対する摂取量、消化率あるいは繊維含量の影響について考察したい。

乾物摂取量の増加に伴い、反芻胃通過速度が大きくなることは、多くの研究者が報告している (Tyrell and Moe, 1974; Shaver et al., 1986; Huhtanen and Kukkonen, 1995)。また、本研究の第Ⅲ章第4節の結果からも、摂取量の反芻胃通過速度に対する影響は草種によって異なることが示唆されたものの、摂取量に対する反応がどのような理由で草種によって異なるか否かについては、明らかでない。そこで、ここでは、第Ⅱ章第1, 2節、第Ⅲ章第1, 2, 4節の成績 (アルファルファ乾草11点とイネ科乾草11点の計22点) と著者らの既報のデータ (大下ら, 1998) を含めた合計27点の乾草 (アルファルファ乾草14点, イネ科乾草13点) からなる延べ70頭の去勢ヒツジを用いた測定データを用いて、飼料摂取量と反芻胃滞留時間 ($1/k_1$) との関係について要因解析を行った。まず、乾物摂取量 ($\text{kg}/\text{W}^{0.75}/\text{day}$) と反芻胃滞留時間の関係相関を求めた結果、反芻胃滞留時間と乾物摂取量との間には、有意な負の相関が認められ、イネ科乾草とアルファルファでは、それぞれ以下の有意な回帰式が得られた。

アルファルファ: $y=60.01-0.59x$ ($n=14$, $r=-0.6640$ ($p<0.01$)).....①

イネ科乾草 : $y=71.84-0.76x$ ($n=13$, $r=-0.6965$ ($p<0.01$)).....②

次にこの①と②の両回帰式が併合可能か検討した。すなわち、回帰係数の差についてt検定を異なった結果、 $t=0.560$ と有意でなく、回帰係数には違いが認められなかった。そこで、共通の回帰係数を求めた結果、以下の二つの平行な回帰式が得られた (Fig. 5)。

アルファルファ: $y=63.31-0.67x$... (1)

イネ科乾草 : $y=68.54-0.67x$... (2)

さらに、(1)と(2)の回帰式が完全に併合可能かどうかを検定した。すなわち、回帰定数の差のt検定を行った結果、 $t=2.105$ ($p<0.05$)でこの差は有意であった。従って、両回帰式は回帰定数に関しては併合できず、平行な独立した回帰式であると判断された。

以上の検定結果から、同じ摂取量レベルで見ると、イネ科乾草の反芻胃滞留時間は、アルファルファよりも5.2時間ほど長いことが明らかである。換言すれば、この約5時間という値が摂取量以外の反芻胃通過に寄与する要因の大きさと考えられる。

前述のとおり、上田(1997)は、アルファルファではイネ科乾草に比べ、摂取飼料の反芻胃からの消失率に対する微細化による流失の寄与率が高いことを指摘しており、さらに、本研究の第Ⅲ章第4節の結果を併せて考えると、アルファルファがイネ科乾草よりも反芻胃通過が速い理由として摂取量以外に微細化の難易の影響が窺われる。粗飼料の反芻胃における微細化には、反芻胃内における飼料繊維の発酵速度が関与していることが指摘されている(上田, 1997)。そこで、反芻胃滞留時間と摂取量、消化率(乾物, ADF, NDF)、繊維含量(ADF, NDF, ADL)との関係を見るために重回帰分析を行ってみると、反芻胃滞留時間(y)と乾物摂取量(x_1)とNDF消化率あるいはADF消化率(x_2)との間に、

以下の有意な重回帰式が得られた。

NDF消化率の場合:

$$y=51.57-0.601x_1+0.213x_2 \quad (R^2=0.575 \quad (p<0.01))$$

ADF消化率の場合:

$$y=49.65-0.593x_1+0.238x_2 \quad (R^2=0.570 \quad (p<0.01))$$

前記した乾物摂取量(DMI)の反芻胃滞留時間に対する回帰式は、アルファルファとイネ科乾草では切片が異なったのに対して、説明変数としてNDF消化率やADF消化率を取り入れることによって、草種間差が補正され、1本の式で説明できるようになった。この式は、反芻胃滞留時間は、乾物摂取量以外に、NDF消化率の影響を受けることを示し、NDF消化率が高ければ高いほど、滞留時間が長いことを示している。一般にNDF（中性デタージェント繊維）含量は飼料中の容積を代表し、その大部分が反芻胃内で消化される。このため、飼料摂取量が同量の場合、NDF消化率の低い飼料を摂取した方が、消化率の高いものを摂取した時よりも、反芻胃内の残滓量は多いと考えられる。また、胃運動は、第一・二胃の胃壁や第二・三胃口への伸張刺激によって促進されること(Cottrell and Gregory, 1991)から考えると、反芻胃内の残滓量が多い場合は、胃内の張力受容器あるいは接触受容器が刺激されるため、胃運動が促進され、反芻胃滞留時間の短縮に働く可能性もあり得る。チモシー乾草の刈り取り期の影響を調べた第Ⅲ章第1節の試験では、出穂前と出穂期のNDF含有率およびその消化率に明かな差があるにもかかわらず、それは反芻胃通過速度には反映されていなかった。このことから考えると、摂取量を一定とした場合、微細化は粗飼料の反芻胃通過に最も重要な必要条件とみなされるが、微細化が速やかに進行した場合、不消化物量が多いほど通過が速まることが予想される。また、反芻胃通過には、飼料粒子の比重が関与している(desBordes and Welch, 1984; Lechner-Doll et al., 1991)ことも指摘されている。先に示した重回帰式

は、粗飼料の反芻胃通過が乾物摂取量とNDF消化率の影響を受けることを示しているが、その寄与率は0.575であった。すなわち、残りの約4割は、今回取り上げた変数の繊維含量や繊維消化率では説明できない。これには、第Ⅲ章で示唆されたように、生育ステージや草種の違いに由来する微細化の難易度が反芻胃通過の規制要因として働いていると考えられる。近年、Roughage value index (Sudweeks et al., 1981)や有効繊維 (eNDF) (Mertens, 1997)の概念が提唱されているが、これらの指標が微細化の難易を表すのに適当か否かの検討、あるいは、これらの指標と反芻胃通過速度との関係を明らかにすることがより精緻な消化ダイナミクスモデルの構築へ向けて必要であろう。

本研究において得られた知見、すなわち、希土類元素が消化管通過速度測定 of 固相マーカーとして極めて実用性が高いこと、反芻胃通過速度は乾物摂取量の影響を最も強く受けるがその影響はイネ科とマメ科では異なり、粗飼料の反芻胃通過には乾物摂取量のみならず、繊維含量や繊維消化率が関与しているという成績は、粗飼料の効率的利用技術の開発や栄養的特性に基づいた飼養管理技術の確立、あるいは、家畜の生理反応に基づいたより合理的な飼料評価法の開発等に有益な情報を提供できると考えられる。

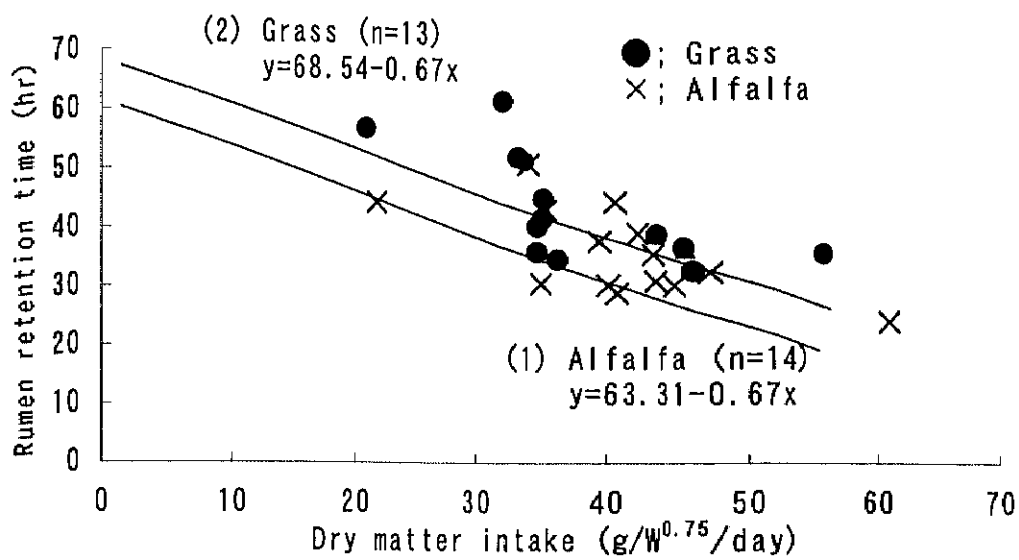


Fig. 5. Relationship between dry matter intake and rumen mean retention time in wethers fed roughage.