



Title	第一胃内産生プロピオン酸の若齢子牛における栄養上の意義：精製飼料胃内注入法の適用による研究
Author(s)	小櫃, 剛人
Citation	北海道大学. 博士(農学) 乙第4430号
Issue Date	1993-12-24
DOI	10.11501/3076750
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/50143
Type	theses (doctoral)
File Information	000000272828.pdf



[Instructions for use](#)

第一胃内産生プロピオン酸の
若齡子牛における栄養上の意義

— 精製飼料胃内注入法の適用による研究 —

小 櫃 剛 人

①

目次

第一 胃内産生プロピオン酸の
若齢子牛における栄養上の意義

—— 精製飼料胃内注入法の適用による研究 ——

小櫃 剛 人

目次

第 I 章	緒論	1
1.	反芻家畜の蛋白質・エネルギー栄養と 第一胃内産生揮発性脂肪酸	1
2.	若齡子牛の蛋白質・エネルギー栄養と 第一胃内産生揮発性脂肪酸	3
3.	研究手法	5
4.	本研究の目的	6
第 II 章	若齡子牛への胃内注入法の適用	7
1.	試験方法（実験 1）	7
1)	供試動物と飼養管理	7
2)	外科的手術	8
3)	精製飼料注入法	11
4)	消化管重量の測定と反芻胃形態の観察	13
2.	結果と考察	15
1)	カニューレ装着状態および注入システム	15
2)	注入期間と注入方法	15
3)	消化管の形態	19
3.	小括	25
第 III 章	第一胃内揮発性脂肪酸組成と第一胃吸収能の 発達	26
1.	試験方法（実験 2）	26
1)	供試動物と試験処理	26
2)	測定	27

2.	結果	29
1)	VFAおよび緩衝液注入量	29
2)	第一胃内容液性状	29
3)	第一胃内容液量と流出速度	33
4)	VFA吸収速度と吸収量	33
3.	考察	34
4.	小括	43

第IV章 第一胃内揮発性脂肪酸組成と若齢子牛の

	蛋白質・エネルギー代謝	44
1.	試験方法	45
1)	実験3	45
2)	実験4	48
3)	実験5	49
2.	結果	50
1)	健康状態と日増体量	50
2)	血漿中代謝物濃度	53
3)	窒素蓄積量	53
4)	熱発生量	54
3.	考察	66
1)	第一胃内注入VFA組成が血漿中代謝物 濃度に及ぼす影響	66
2)	第一胃内注入VFA組成が窒素蓄積量に及 ぼす影響	68
3)	第一胃内注入VFA組成がエネルギー出納 に及ぼす影響	69

4) 窒素蓄積に対するグルコースとVFAの影響	71
5) グルコースとVFAのエネルギー利用率	73
4. 小括	76
第V章 総括および結論	78
1. 若齢子牛への精製飼料胃内注入法の適用	78
2. 若齢子牛の蛋白質栄養に対する プロピオン酸の意義	79
3. 若齢子牛のエネルギー栄養に対する プロピオン酸の意義	79
要約	82
謝辞	87
参考文献	88
Summary	97

第 I 章

緒 論

1. 反芻家畜の蛋白質・エネルギー栄養と第一胃内産生揮発性脂肪酸

反芻家畜は維持や生産のためのエネルギーを、主として反芻胃内での微生物発酵により産生される揮発性脂肪酸(VFA)から得ている。反芻胃内産生VFAのエネルギー量は、摂取飼料の代謝エネルギー量の60-80%を占める⁵⁾。反芻胃内で産生される主なVFAは酢酸、プロピオン酸および酪酸であるが、給与飼料によってその組成は変動する。一般に粗飼料多給時では酢酸割合が高まり、濃厚飼料多給時ではプロピオン酸割合が増加する^{2,3)}。第一胃内容液中のVFA組成について多くの報告値をとりまとめたChurchの著書^{2,3)}では、酢酸は38-71mol/100mol、プロピオン酸は16-47mol/100mol、酪酸は4-23mol/100molの範囲で変動することが示されている。

反芻胃からの各酸の吸収量は反芻胃内の各酸の濃度にほぼ比例すると考えられる^{2,5)}ため、給与飼料による反芻胃内VFA組成の変動は、宿主におけるエネルギーや栄養素利用の変動要因となる。反芻胃内VFA組成の変動と成長中の反芻家畜のエネルギー利用との関係については、ArmstrongとBlaxter^{7-9, 11)}によって酢酸エネルギーの利用効率が他のVFAに比べ劣ることが報告されて以来、膨大な研究が行われており、これに関する総説^{14, 46, 47, 64)}も多数発表されている。

酢酸の第一胃内単独投与等により実験的に反芻胃内の酢酸割

合を過度に高くすると、確かに熱発生量が増加し代謝エネルギー利用効率は低下する^{7-9, 38, 97}。逆に、プロピオン酸割合が過度に高い場合の影響については、現時点では一致した見解は得られていない^{1, 40}。また、基礎飼料の違い^{37, 59, 68, 97}、VFA産生の日内変動^{58, 76}や試験期間²¹の影響、動物の成長段階^{38, 57}によって、VFA組成の変動に対する動物のエネルギー利用の様相は異なるようである。しかし、子めん羊にVFA塩を給与した比較屠殺試験⁵⁶⁻⁵⁹や、種々の組成のVFA混合液を子めん羊や去勢牛に胃内注入した試験^{60, 65}では、通常のVFA組成の範囲内であれば、反芻胃内VFA組成の変動は代謝エネルギー利用効率に影響を及ぼさないことも示されている。

各VFAは体組織において直接酸化されエネルギー源として利用される他、生合成の前駆体として個別の経路で代謝される。反芻胃内で産生された酢酸は、その約70%が反芻胃組織で代謝されることなく門脈血中に吸収され^{17, 33}、主として末梢組織で脂肪酸合成に利用される³⁴。反芻胃内産生プロピオン酸の30-50%が反芻胃組織で代謝される^{17, 33, 99}が、門脈をへて肝臓へ移行したプロピオン酸のうち少なくとも約60%がグルコース合成に利用される⁸⁷。反芻胃内産生酪酸の33-78%¹⁰¹あるいは90%¹⁷が反芻胃組織で代謝され、 β ヒドロキシ酪酸等のケトン体に転換されるとみられている³³。

一方、反芻家畜は単胃家畜に比べ小腸からのグルコース吸収量が少ない⁷³ため、動物の必要とするグルコースは肝臓での糖新生により賄われる^{87, 98}。この糖新生量の43-54%がプロピオン酸に^{87, 98}、10-25%がアミノ酸に由来する^{18, 75}とみられて

いる。また、肝臓へのプロピオン酸供給量が低下すると、アミノ酸からの糖新生量が増加することも報告されている⁷⁴⁾。そのため、反芻胃内のプロピオン酸割合が低い場合には、体蛋白質合成のためのアミノ酸の意義が損なわれることが懸念される^{77, 97)}。

以上のような反芻家畜における栄養上の特色のために、給与飼料による反芻胃内産生VFAの量や組成の変動は、個々のVFAの代謝や、他の栄養素間の相互作用を通じて、個体レベルでのエネルギー代謝や窒素代謝に影響することが予想される。近年の集約的な反芻家畜生産においては、飼料の繊維成分を反芻胃内発酵によってVFAに転換できるという反芻家畜の特色を生かしながら、種々の生産目的や生産段階に応じた効率的なエネルギー源を選択することが、重要な戦略の一つとなるであろう。そのためには、第一胃内産生VFAの広範な変動に対する家畜の反応に関する知見が必要となる。

2. 若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養と第一胃内産生揮発性脂肪酸

出生時の反芻家畜は、反芻胃が未発達なために、反芻家畜としての特徴を有していない⁵⁴⁾。しかし、固形飼料摂取量の増加にともない、反芻胃は形態的^{12, 36)}・機能的^{91, 92)}に発達する。固形飼料摂取開始とともに、反芻胃内のVFA産生量が増加する⁵⁵⁾。このVFAは反芻胃発達にも重要な役割を果たしており、VFAの化学的刺激効果により第一胃粘膜組織や絨毛の形態的な発達が促進される^{32, 93)}。この第一胃絨毛の形態的発達にともない

反芻胃のVFA吸収能も発達するとみられている⁹¹⁾。第一胃絨毛の発達に対するVFAの刺激効果は、酸の種類によって異なる^{79, 93)}が、VFA吸収能発達に対する各酸の影響に関しては明かにされていない。

子牛のVFA吸収能の発達に関して、Suttonら⁹¹⁾は内容物を除去した反芻胃内にVFA液を投与し、その後の濃度変化からVFA吸収速度を求める手法により、固形飼料給与子牛と哺乳子牛との吸収能発達の違いを報告している。また、Sasakiら⁸⁰⁾は第一胃静脈血中のVFA濃度の変化を調べることにより、早期離乳子牛のVFA吸収能は4週齢までに成牛レベルに達することを報告している。しかしこれらの研究^{80, 91)}では、吸収能の指標として相対的な濃度変化を調べているに過ぎず、VFA吸収能発達に関する定量的な検討は行われていない。

反芻胃のVFA吸収能の発達により、子牛はVFAを体組織で利用することが可能となる。哺乳期の子牛は、主として液状飼料からのグルコースや脂肪をエネルギー源としている。固形飼料摂取量増加によりVFA産生量が増加すると、エネルギー源としてのVFAへの依存度が高まる⁵⁵⁾。現在普及している早期離乳による子牛育成法⁵¹⁾は、易発酵性の固形飼料を早期に給与することにより、反芻胃を急激に発達させ、エネルギー源の転換に短期間で適応させるものと言える。しかし、早期離乳方式による離乳直後の子牛では、反芻胃は完全には発達しておらず¹²⁾、体組織でのVFA利用能も発達段階にあることが指摘されている⁸⁰⁾。

若齢子牛における蛋白質・エネルギー栄養の特徴の一つとして、蛋白質だけでなくグルコースの要求が高いことが指摘され

ている^{69, 96)}。主なエネルギー源がグルコースからVFAへと移行する離乳期においても、依然としてグルコースの要求が高い⁸⁸⁾。従って、この時期の子牛ではプロピオン酸の糖原性物質としての意義が大きいと考えられる。若齢子牛でも、飼料構成の違いは反芻胃内のVFA組成に影響を及ぼすことが報じられている^{15, 102)}。しかし、若齢子牛におけるエネルギーや蛋白質の個体レベルでの利用に関して、動物体に吸収される栄養素レベルまで飼料要因を限定した研究は少なく、この時期の子牛の蛋白質やエネルギー栄養に対する第一胃内VFA、特にプロピオン酸の意義については不明な点が残されている。

3. 研究手法

反芻胃内産生VFAとその体利用の関係について明確な知見が得られていないのは、反芻胃内産生VFA自体の定量的把握が困難な点に一つの原因がある¹⁴⁾。また、反芻胃内発酵は複雑であり、給与飼料によって反芻胃以降に移行する栄養素量も同時に変動するため、VFAの変動を単一の要因として取り上げることは難しい。この解決策として、VFA塩の飼料への添加⁵⁶⁻⁵⁹⁾や、基礎飼料を給与した家畜に対するVFA液の第一胃内^{77, 97)}あるいは静脈内^{29, 30)}への注入といった実験的な手法が試みられている。しかし、いずれの場合も基礎飼料の影響や、添加あるいは注入量の限界等、種々の制約をうける¹⁴⁾。

一方、反芻胃内産生VFAの量や組成と個体レベルでのエネルギーや窒素利用との関連を直接的に把握する研究手法の一つとして、近年イギリスRowett研究所のØrskovら⁶¹⁾によって、VFAや

蛋白質などの精製飼料を胃内へ注入し、注入精製飼料だけで反芻家畜を長期間飼育する手法（胃内注入法）が開発された。この手法では、VFA液とは別に緩衝液を第一胃内へ注入することで、従来VFA塩を用いる際の弊害となっていた過剰な塩類を抑えることに成功している^{44, 61)}。さらに胃内注入法では、動物体に供給されるVFAの量と組成の制御を、他の栄養素とは独立に、しかも広範に行うことが可能となり、反芻家畜の栄養研究の発展に大きな貢献をもたらした。しかし、彼らの手法は専ら発育の進んだ家畜に適用されており、若齢子牛に適用した研究は見あたらない。

4. 本研究の目的

本研究の目的は、精製飼料の胃内注入法を若齢子牛に適用することによって、若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養に対する第一胃内産生プロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることである。具体的には、第II章で精製飼料胃内注入法の若齢子牛への適用法を検討し、第III章では第一胃内注入VFA組成の違いが子牛のVFA吸収能の発達に及ぼす影響について、第IV章では第一胃内注入VFA組成の違いが子牛の窒素およびエネルギー出納に及ぼす影響について検討した。

第 II 章

若 齡 子 牛 へ の 胃 内 注 入 法 の 適 用

1970年代後半、イギリス Rowett の研究グループによって開発された精製飼料の胃内注入法は、専ら成長の進んだ動物に適用されており^{44, 61, 62)}、反芻胃が未発達な若齡子牛に適用した研究は見あたらない。反芻胃の絨毛はVFAの化学的刺激によって発達することが知られており^{32, 79, 93)}、第一胃内に注入するVFAにより、若齡子牛の反芻胃の発達を促進させることができると考える。本章では、胃内注入法の若齡子牛への適用法とその有効性を、第一胃内容液性状や消化管の形態をもとに検討した(実験1)。

1. 試験方法 (実験1)

1) 供試動物と飼養管理

ホルスタイン種初生雄子牛延べ9頭を用いた。子牛には生後3日間初乳を給与し、生後3日目からは室温を20℃に調節した試験室内の代謝ケージに収容した。その後離乳(5-7週齡)まで、1日当たり体重の10%量の全乳を朝夕2回に分けて哺乳器を用いて給与した。2-4週齡において、第一胃カニューレおよび第四胃カテテルを装着した。手術後7日目から、Orskovら⁶¹⁾の方法を参考にして、精製飼料の胃内注入を開始した。注入開始(3-5週齡)から最初の2週間は、段階的に注入量を増加させ、離乳時には維持代謝エネルギー相当量⁸⁴⁾(438kJ/kg BW^{0.75})のVFAを注入した。その際、VFAと第四胃内に注入したカゼイン(1.0gN/kg BW^{0.75})

とを合わせた総エネルギー量は、維持エネルギー量の約1.3倍に相当した(表1)。VFA液の注入量は、2週間毎に測定した生体重と各酸の燃焼熱²⁰⁾をもとに決定した。またカゼイン注入量は、実測したカゼインの熱量(21.9kJ/g)と窒素含量(13.5%)をもとに決定した。

17週齢までは維持の1.3倍水準で飼育し、17週齢以降は段階的に維持の2.0倍水準まで注入レベルを高め、最長7カ月齢まで飼育した。

2) 外科的手術

第一胃カニューレ(ポリエチレン製)は内径20, 外径26, 長さ70mmの円筒部と、第一胃内留置用の内つば、胃壁と体壁の間に留置する中つば、さらに体外部に取り付ける外つば、計3枚の円盤状のつば(いずれも外径60mm, 厚さ3mm)からなるものを用いた(図1)。第四胃カテーテルは外側のビニール製チューブ(内径7, 外径9, 長さ400mm)と、内側のポリエチレン製のチューブ(内径3, 外径5, 長さ400mm)からなっており、内側のチューブが詰まった際には、これを取り外して交換した。末端部には第四胃内留置用のつば(外径40mm)を取り付けた(図2)。

カニューレおよびカテーテル装着に際しては、まず麻酔の前処理として塩酸キシラジン(0.3mg/kg, セラクタール, バイエルジャパン)と硫酸アトロピン(0.01mg/kg, 扶桑薬品工業)を筋肉内注射した後、左体側を上に向けて手術台に保定し、ペントバルビタールナトリウム(2mg/kg, ネンブタール, 大日本製薬)静脈内投与による全身麻酔を施した。第一胃カニューレは、Cookの方法²⁷⁾を参考にして装着した。まず最後肋骨と腰突起の間を

Table 1. Daily amounts of infusion to supply 1.3 times maintenance energy for calves given different VFA mixtures in Exp. 1

	VFA mixture	
	HP	LP
VFA, mmol/kg BW ^{0.75}		
Acetic acid	167	304
Propionic acid	143	56
Butyric acid	34	40
Total	344	400
Casein, g/kg BW ^{0.75}	7.4	7.4
Gross energy, kJ/kg BW ^{0.75}		
VFA	440	440
Casein	162	162
Total	602	602
Nitrogen, g/kg BW ^{0.75}	1.0	1.0

HP:Acetic:propionic:butyric acid=48:42:10 (molar basis).

LP:Acetic:propionic:butyric acid=76:14:10 (molar basis).

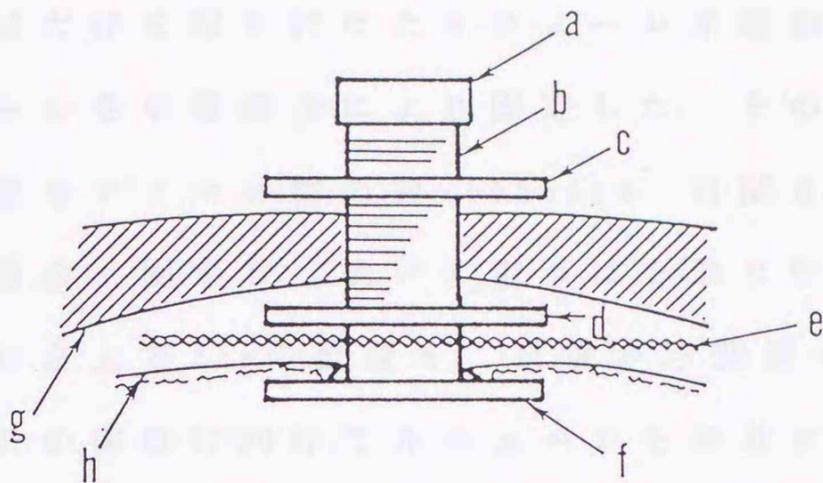


Fig. 1. Scheme of rumen cannulation: (a) screw cap, (b) barrel.
 (c) external disc, (d) middle disc, (e) nylon mesh, (f) internal disc.
 (g) abdominal wall, (h) rumen wall.

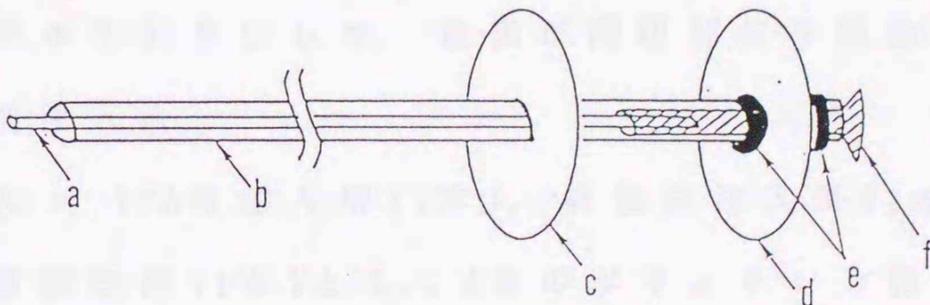


Fig. 2. Abomasal catheter: (a) inner tube, (b) outer tube.
 (c) external disc placed onto the abomasal wall, (d) internal disc
 inserted into the abomasum, (e) collar, (f) jointed tube.

肋骨縁に沿って約10cm開腹，続いて第一胃背嚢部を約5cm切開した後，内つばだけを取り付けたカニューレ末端部を挿入し，胃壁とカニューレを巾着縫合により固定した．その後，カニューレ周囲の胃壁をナイロン製の網(50x50mm，目開き3mm)で覆い，網と胃壁を縫合・固定し，続いて中つばを取り付けた．さらに，開腹部位より左上方3cmの位置を，皮膚から腹膜まで2cm切開し，腹腔内からその部位に向けてカニューレを体外に引き出した．最後に外つばを付けて開腹部位を縫合した．第一胃カニューレ装着後，直ちに体を反転させ，第四胃カテーテルを装着した．即ち，最後肋骨下縁に沿って約10cm開腹，第四胃大湾部を約2cm切開した後，内つばを付けたカテーテル末端部を第四胃内に挿入，巾着縫合により固定した．次にナイロン網をかぶせ，網と第四胃壁を縫合・固定した後，中つばを取り付けた．続いて第11-12肋骨間，脊椎から約20cmの位置を皮膚から腹腔まで，カテーテルが通るように切開し，その部位を通して腹腔内から体外にカテーテルを引き出した．最後に開腹部位を縫合した．

3) 精製飼料注入法

第一胃内注入：VFA液注入用(1本)，緩衝液注入用(2本)および第一胃内容液採取用(1本)として4本のポリエチレン製チューブ(内径2，外径4，長さ250mm)を，第一胃カニューレを通して第一胃内に挿入し，シリコン栓を用いてカニューレに固定した．第一胃に挿入した注入用チューブにシリコン製チューブ(内径2，外径4mm)を接続し，送液ポンプ(COLE-PARMER社，Masterflex P A-21)3台を用いてVFAと緩衝液を別々に連続的に注入した．

VFA液には，酢酸：プロピオン酸：酪酸のモル比を48：42：10とす

るHP液、76:14:10とするLP液の2種類の混合液を用いた(表1)。これらのVFA混合液の組成は、通常見られる反芻胃内容液VFAのプロピオン酸割合の最大値および最小値^{2,3)}に近い値として設定した。いずれのVFA混合液もストック用原液(総VFA濃度7.5mol/L, CaCO₃ 15g/L, MgCl₂·6H₂O 4g/L)を調製した。この原液における主要ミネラル源の炭酸カルシウムと塩化マグネシウムの添加量は、Φ rskovらの報告値⁶⁾を参考にして算出した。なお主要ミネラル源のうち、リン酸二水素カルシウムは溶解度が低いため、別途リン酸二水素カルシウム溶液(15g/L)を作製した。1日毎に必要な量の濃厚VFA液とリン酸二水素カルシウム溶液を混合し、さらに水で希釈(最大10L)して注入用VFA混合液を調製した。

緩衝液には、重炭酸ナトリウム、重炭酸カリウム、塩化ナトリウムを62:32:6(重量比)の割合で混合したストック用濃厚緩衝液(重炭酸塩濃度1.0mol/L)を作製した。この濃厚液から必要量採取し水で希釈して注入緩衝液を調製した。注入にあたっては、第一胃内容液のpHと浸透圧を1日2回測定し、pHは5.5以上、浸透圧は350mOsm/l以下を保つように緩衝液の注入速度や濃度を調節した。pHはpHメーター(東亜電波工業, HM-60S)、浸透圧は微量浸透圧測定器(KNAUER社)を用いて測定した。

子牛には生時より固形飼料は一切給与しなかった。固形飼料の代わりに、粗飼料様の物理的刺激物質として、3cmに細切したポリプロピレン製ロープ(巴工業, #100)を8本束ねたものを、数珠状に80個つないで作製した反芻胃刺激物(全長3m)を、第一胃内へ挿入留置した。

第四胃内注入：第四胃カテーテルの内側のポリエチレンチュー-

ブに、シリコンチューブ(内径2, 外径4mm)を接続し、送液ポンプ(東京理化, MP-3)によりカゼイン・ビタミン混合液を連続注入した。カゼイン・ビタミン混合液は、1日分の必要量(表1)のストック用カゼイン原液(カゼイン100g/L, NaCO₃ 5g/L)と、別途作製したビタミン液とを混合し、最終的に水で3Lに希釈することにより調製した。微量ミネラル液は1日1回、第四胃カテテルから急速に注入した。その際、カゼインのチューブ内での凝固を防ぐため、注入前後に水を流してチューブ内を洗浄した。ビタミン液および微量ミネラル液は、Φ rskovらの報告⁶⁾を参考にして調製し、エネルギー注入量に応じた量を注入した。また、ビタミンA, D₃, Eについては、ビタミン製剤(デュファフルAD₃E, DUPHAR社)を2週間に1回(2mL)筋肉内に注射した。なお、これらの第一胃と第四胃への注入液の調製には水道水を用いた。胃内注入飼育時の状況を写真1に示した。

4) 消化管重量の測定と反芻胃形態の観察

上述した胃内注入法により4-6カ月間飼育した子牛のうち4頭を屠殺解体し、消化管重量および第一胃絨毛の長さや密度を測定した。放血屠殺後、消化管を摘出し、反芻胃、第三胃、第四胃、全腸管に分離した。内容物を除去後、各消化管重量を測定した。このうち2頭について第一胃の背前盲嚢、腹前盲嚢、腹後盲嚢から組織片(25cm²)を採取した。ホルマリン液(10%)で固定後、各組織片から2個の小組織片(1cm²)を分離し、1cm²あたりの絨毛数を肉眼で計測するとともに、この小組織片の全ての絨毛長を測定し、平均および最大絨毛長を求めた。



a



b

Plate 1. The 10-wk-old calf nourished by intragastric infusion:
(a) arrangement of infusion tubes. (b) peristaltic pumps and infusion reservoirs.

2. 結果と考察

1) カニユーレ装着状態および注入システム

成長中の動物に消化管カニユーレを装着した場合、成長にともないフィステラが拡張し、内容物の漏出やカニユーレの脱落を招きやすい²⁷⁾。しかし本実験では、胃内注入を行った6カ月間ではフィステラが拡張せず、内容物の漏出やカニユーレの脱落は全く認められなかった。カニユーレ装着後6カ月目に屠殺解剖したところ、胃壁に固定したナイロン製の網と組織との癒着を確認した。この癒着によりカニユーレが堅固に保持されたものと考えられた。

注入システムに関連する問題として、析出物により緩衝液注入用のチューブが詰まり、送液が停止する事態が散見された。緩衝液注入の停止により第一胃内pHが急激に低下すると、動物はアシドーシス症状を呈し、場合によっては死亡することもあり得る。しかし、緩衝液注入用に2本のチューブを用いたため、緩衝液が全く注入されない事態を防止できた。

2) 注入期間と注入方法

胃内注入開始初期(注入開始6-20日目)の注入方法の例として、LP液を注入した子牛のうち3頭(A, B, C号牛)について、注入したVFAと緩衝液の量と濃度、ならびにそれらの子牛の第一胃内容液のpHと浸透圧を表2に示した。胃内注入法により長期間動物を維持するには、第一胃内容液のpHを5.2以上、浸透圧を350mOsm/L以下に維持することが重要であると指摘されている³⁹⁾。A号牛に注入したVFA液と緩衝液の濃度は、Φrskovら⁶¹⁾が発育の進んだ子めん羊に用いたものとはほぼ等しかったが、浸透圧を350

Table 2. Daily amount and concentration of VFA and buffer infused into the rumen, and ruminal pH and osmotic pressure (OP) during 6 to 20 d after infusion started for calves given the low propionate mixture in Exp. 1

Calf	Infusate						Rumen liquor	
	Amount			Concentration			pH	OP
	VFA ^a	Buffer ^b	HCO ₃ ⁻ /VFA	VFA ^a	Buffer ^b			
— mmol/kg BW ^{0.75} —	— mol/mol —	— mol/L —	— mol/L —	— mOsm/L —				
6 to 10 d								
A	191	73	0.39	1.73	0.40	5.6	354	
B	215	121	0.55	0.97	0.28	6.0	323	
C	119	94	0.78	0.55	0.27	7.0	326	
11 to 15 d								
A	310	180	0.58	1.64	0.59	5.8	422	
B	272	164	0.61	0.85	0.29	5.8	302	
C	180	121	0.68	0.76	0.28	5.6	331	
16 to 20 d								
A	441	279	0.64	1.57	0.69	5.8	440	
B	302	173	0.57	1.02	0.29	5.9	297	
C	263	165	0.63	0.89	0.25	6.5	326	

^aContaining acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 76:14:10.

^bTotal bicarbonate containing sodium and potassium bicarbonate in the ratio 66:34 (weight basis).

mOsm/L以下に維持することは困難であった。A号牛に用いた液よりも低濃度の液(VFA液では総VFAとして0.7-1.0mol/L, 緩衝液では重炭酸塩として0.2-0.3mol/L)を注入した他の2頭の子牛では, 第一胃内容液の浸透圧は350mOsm/L以下となり, 胃内注入開始3週間後には, 維持の代謝エネルギー相当量のVFAを注入することができた。Hovellら³⁹⁾も, 低濃度のVFA液(1.0-1.3mol/L)や緩衝液(0.1-0.25mol/L)を4-6カ月齢子めん羊の第一胃に注入することにより, 第一胃内容液浸透圧を正常に維持することに成功している。

胃内注入開始後20日目までの重炭酸塩必要量は, 注入VFA 1molあたり約0.6molであった(表2)。この値は, 胃内注入法により飼育した発育の進んだ子めん羊での重炭酸塩必要量^{39, 61)}(0.2-0.4mol/mol VFA)の約1.5-3倍に相当した。反芻胃の未発達な子牛では, VFAの吸収速度が低いことが報告されている⁹¹⁾。胃内注入開始初期(約3週間)では反芻胃のVFA吸収能が充分発達しておらず, 注入したVFAを中和するのに多くの重炭酸イオンを必要としたものと推察した。胃内注入開始20日目から, さらにVFA注入レベルを高めることを試みたが, 低濃度の注入液を用いた場合でも, 第一胃内容液浸透圧の増加やpHの低下, あるいは下痢の発症のために, 維持レベル以上のVFA注入を続けることは不可能であった。

表3には9-15週齢において, 維持水準のVFAを注入した場合の例を示した。この場合での注入VFAあたりの必要重炭酸塩量は, 注入開始後20日目までの必要量(表2)に比べ少ない傾向にあった。このことは, 注入期間の進行に伴い, 反芻胃でのVFA吸収能が増

Table 3. Daily amount and concentration of VFA and buffer infused into the rumen, and ruminal pH and osmotic pressure (OP) during 9 to 15 wk of age for calves given different VFA mixtures at maintenance level in Exp. 1^a

VFA mixture	Calf	Infusate						
		Amount			Concentration		Rumen liquor	
		VFA	Buffer ^b	HCO ₃ ⁻ /VFA	VFA	Buffer ^b	pH	OP
		— mmol/kg BW ^{0.75} —	— mol/mol—	— mol/L —		— mOsm/L—		
HP	F	340±35	145±27	0.43±0.07	0.98±0.04	0.25	6.4±0.5	292±11
	K	341±10	109±19	0.32±0.06	0.81±0.04	0.25	6.5±0.3	257±21
LP	C	377±26	146±24	0.39±0.07	1.04±0.11	0.25	5.8±0.4	314±26
	I	392±12	185±24	0.47±0.07	0.95±0.11	0.25	6.2±0.4	282±16

^aMeans ± standard deviations of 4 observations every 2 wk.

^bTotal bicarbonate containing sodium and potassium bicarbonate in the ratio 66:34 (weight basis).

HP:Acetic:propionic:butyric acid=48:42:10 (molar basis).

LP:Acetic:propionic:butyric acid=76:14:10 (molar basis).

加することを示唆している。

17週齢まで維持レベルのVFAを注入し、その後2週間かけて維持の1.6倍までVFA注入レベルを増加させた場合(カゼインを合わせた総エネルギー量は維持の2.0倍)の例を表4に示した。この場合は、離乳直後に比べ高濃度のVFAを注入することが可能であり、注入VFA当りの重炭酸塩必要量も少なかった。また、低プロピオン酸液(LP液)を注入した方が、高プロピオン酸液(HP液)を注入した場合に比べ、重炭酸塩必要量が多い傾向にあった。これは、同一エネルギー量の場合、プロピオン酸より酢酸の方がモル数が多く、これを中和するのにより多くの重炭酸イオンが必要のため^{6,1)}と推察した。

胃内注入期間の増体量は、注入栄養レベルに見合うものであり、維持代謝エネルギーの1.3倍および2.0倍の注入レベルでは、それぞれ約0.3および0.8kg/dの増体が得られた。

3) 消化管の形態

胃内注入法で4-6カ月間飼育した子牛のうち4頭について測定した消化管組織重量を表5に示した。全胃および全消化管に占める反芻胃の割合(重量比)は平均で72%および49%であった。この値は、本試験と同程度の体重、月齢の慣行的な早期離乳法で育成した子牛における報告値^{1,2, 5,2, 9,0)}(60-70%および30-40%)とほぼ等しかった。空体重に対する反芻胃重量の割合(平均3.1%)も、既往の報告値^{5,2, 9,0)}(3.0-3.6%)と同程度であった。これらのことから、注入したVFAの化学的刺激による粘膜組織の発達^{3,2, 7,9)}だけでなく、第一胃内に留置したポリプロピレンロープによる物理的刺激が、反芻胃の筋層の発達に寄与したものと考えら

れた。Tamateら⁹³⁾は、第一胃内へVFAとともにプラスチックスポンジを投与した場合に、反芻胃の容積と筋層の発達が進められることを報告している。

胃内注入法で5および6カ月間飼育した子牛の第一胃絨毛は、背前盲嚢で最も発達していた(表6)。この部位の絨毛の最大長は10mmに達しており、形態は幅の狭い櫛状であった(写真2)。腹前盲嚢、腹後盲嚢の絨毛も指状から櫛状に発達していた。この3部位の平均絨毛長や絨毛密度の平均値(4.0mmおよび78本/cm²)は、慣行的な飼育をした子牛での報告値⁵³⁾(5.0mmおよび95本/cm²)に比べ小さかった。第一胃粘膜の色調は淡色であった。Tamateら⁹³⁾は、固形飼料を摂取した子牛の第一胃粘膜は暗褐色となるが、牛乳だけで飼育した場合や、哺乳子牛の第一胃にVFAを投与した場合では、淡色となることを報告している。第一胃粘膜の色調は、飼料の鉄含量や、反芻胃微生物の発酵産物と関係があることが指摘されている⁹⁴⁾。

空体重に対する第三胃と腸管重量の割合(0.5%および2.1%)は、慣行的な飼育を行った子牛での報告値^{52, 90)}(0.7-1.3%および3.4-7.2%)に比べ小さかった(表5)。第三胃と腸管重量における他の報告値との違いは、反芻胃から流出する不消化の固形物が、反芻胃以降の消化管組織の発達に影響を及ぼす可能性を示唆している。胃内注入法により飼育した子めん羊や育成牛では、腸管壁が薄くなることが指摘されている⁹²⁾。

Table 4. Daily amount and concentration of VFA and buffer infused into the rumen, and ruminal pH and osmotic pressure (OP) for calves given different VFA mixtures at 1.6 times maintenance level in Exp. 1

VFA mixture	Calf	Age	Infusate					Rumen liquor	
			Amount			Concentration		pH	OP
			VFA	Buffer ^a	HCO ₃ ⁻ /VFA	VFA	Buffer ^a		
- wk -	- mmol/kg BW ^{0.75} -	- mol/mol -	- mol/L -	- mOsm/L -					
HP	I	23	551	100	0.18	2.12	0.25	6.2	293
	B	25	539	102	0.19	2.18	0.25	6.9	271
LP	I	25	580	140	0.21	2.11	0.25	6.0	281
	B	21	580	170	0.30	2.00	0.25	6.4	286

^aTotal bicarbonate containing sodium and potassium bicarbonate in the ratio 66:34 (weight basis).

HP:Acetic:propionic:butyric acid=48:42:10 (molar basis).

LP:Acetic:propionic:butyric acid=76:14:10 (molar basis).

Table 5. Organ weight of stomach compartments and intestine of calves nourished by intragastric infusion for 4-6 mo in Exp. 1

Item	Calf			
	E	F	G	H
Slaughter age, wk	29	23	25	19
Body weight at slaughter, kg	130	146	128	94
Empty body weight, kg	118	133	114	84
Organ weight, kg				
Reticulo-rumen	3.00	4.29	3.02	3.34
Omasum	0.57	0.76	0.32	0.43
Abomasum	1.41	0.77	0.59	0.58
Intestine	3.14	2.73	1.63	2.00
% of total stomach				
Reticulo-rumen	36.9	50.2	54.3	52.6
% of empty body weight				
Reticulo-rumen	2.54	3.22	2.65	3.99
Omasum	0.48	0.57	0.28	0.51
Abomasum	1.19	0.58	0.51	0.69
Intestine	2.65	2.05	1.43	2.40

Table 6. The density and length of papillae of the rumen in calves nourished by intragastric infusion for 5-6 mo in Exp. 1^a

Calf	Density		Length			
	number/cm ²		Mean		Maximum	
	E	F	E	F	E	F
Craniodorsal sac	75 ± 8	65 ± 3	5.2 ± 0.2	4.6 ± 1.2	10.0 ± 0.2	10.2 ± 1.4
Cranioventral sac	89 ± 12	76 ± 13	4.6 ± 0.3	3.4 ± 0.6	8.2 ± 0.9	8.0 ± 0.7
Caudovertral sac	78 ± 9	85 ± 1	3.1 ± 0.6	3.4 ± 0.8	8.3 ± 0.4	6.3 ± 1.1

^aMeans ± standard deviations of 2 sections (1 cm²) for each sac.



Plate 2. Ruminal papillae taken from the dorsal cranial sac of the calf
E nourished by intragastric infusion for 6 mo. Scale bar=10 mm.

3. 小括

胃内注入法により若齢子牛を長期間飼育する手法について、延べ9頭の子牛を用いて検討した。5-7週齢にかけて離乳した子牛の第一胃内へVFA, 主要ミネラル, 緩衝液, 第四胃内へカゼイン, 微量ミネラル, ビタミンを注入し, 離乳後から最長7カ月齢までこれらの注入精製飼料だけで飼育した。反芻胃の発達を促進するため, 3cmに細切したポリプロピレン製ロープを第一胃内へ挿入留置した。

胃内注入開始初期では; 原法より希薄な注入液を用いることにより, 維持代謝エネルギー相当量のVFAを注入することが可能であった。胃内注入開始後4カ月目には, 維持エネルギーの2.0倍相当量の精製飼料を注入できた。胃内注入飼育時の日増体量は, 精製飼料の注入レベルに応じた期待増体量に近似していた。胃内注入法で4-6カ月間飼育した子牛の反芻胃重量は, 慣行的な飼育をした子牛の反芻胃重量に関する報告値と比べて劣るものではなかったが, 第三胃と腸管重量は小さかった。第一胃粘膜は淡色であり, 第一胃絨毛の形態は権状であった。

以上のように, 注入液の濃度を調節し, 第一胃内容液の浸透圧やpHを正常範囲に維持することにより, 離乳直後の子牛であっても, 維持量以上の栄養水準で長期間にわたり飼育することが可能であった。

第 III 章

第一胃内揮発性脂肪酸組成と 第一胃吸収能の発達

固形飼料摂取開始による第一胃内発酵量増加にともない、VFAによる絨毛の発達が促進され^{32, 93)}、第一胃粘膜のVFA代謝能⁹²⁾や第一胃からのVFA吸収能^{80, 91)}が発達する。第一胃絨毛の発達に対するVFAの効果は、VFAの量や種類により異なることが指摘されている⁷⁹⁾。従って、給与飼料による第一胃内産生VFA量の変動は、成長にともなう第一胃VFA吸収能の発達に影響すると考えられる。しかし、第一胃でのVFA吸収量について定量的に測定することは困難であり、VFA吸収能の発達に及ぼす第一胃内産生VFA組成の影響については明かでない。

本章ではVFA吸収能の発達に対するプロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることを目的として、胃内注入法を用い、第一胃内注入VFA組成の違いが若齢子牛の第一胃VFA吸収能発達に及ぼす影響について検討した(実験2)。

1. 試験方法(実験2)

1) 供試動物と試験処理

ホルスタイン初生雄子牛6頭(出生時体重 47 ± 7.7 kg)を用いた。このうち4頭(11, 12, 14, 15号牛)には2週齢で、残りの2頭(13, 16号牛)には5週齢で第一胃カニューレと第四胃カテーテルを装着した。カニューレ装着1週間後、精製飼料の胃内注入を開始した。胃内注入開始日齢は、11, 12, 14, 15号牛ではそれぞれ25,

22, 27, 22日齢, 13と16号牛は45日齢であった。また, 11, 14号牛は39日齢まで, 12, 15, 13, 16号牛は53日齢まで, 1日当たり体重の10%量の全乳を給与した。

注入液の調製法と注入方法は実験1と同様であり, 第一胃内へは主要ミネラルを含むVFA混合液と緩衝液を別々に注入した。

11, 12, 13号牛には酢酸, プロピオン酸, 酪酸のモル比を48:42:10とする高プロピオン酸VFA混合液を, 14, 15, 16号牛には同76:14:10とする低プロピオン酸VFA混合液を注入し, それぞれHP区およびLP区とした。これらのVFA液の組成は実験1と同様, 通常見られる第一胃内VFA組成の範囲内での, プロピオン酸割合の最大および最小値²³⁾に近い値として設定した。第四胃内へはカゼイン, 微量ミネラル, ビタミン液を注入した。注入開始後は段階的に注入レベルを増加させ, 注入開始14日後には, VFAについては維持代謝エネルギー相当量⁸⁴⁾を, カゼインは窒素として代謝体重当り1g相当量を注入した。VFAとカゼインを合わせた注入エネルギー量は維持の1.3倍量に相当した。緩衝液(重炭酸塩濃度0.25mol/L)は注入VFA1molあたり重炭酸塩として0.4molに相当する量を目途として注入したが, 第一胃内容液のpHが6.0-6.5, 浸透圧が250-300mosm/Lとなるように, 適宜注入量を調節した。ミネラルおよびビタミンはエネルギー注入量に応じた量を注入した。12, 13, 15, 16号牛については約100日齢(注入開始後約70日目)まで, 11, 14号牛については別の試験を行ったため, 約60日齢(注入開始後約35日目)まで胃内注入法で飼育した。

2) 測定

Smithの方法⁸⁶⁾を参考にして, 胃内注入開始後から約1-2週間

毎に、第一胃内容液量と第一胃内容液の流出速度定数を測定した。具体的な測定日齢とその時のVFA注入量については表7に示した。測定日の10:00に、ポリエチレングリコール(PEG, 平均分子量3000)溶液(20 W/V%)50mLを注射器を用いて第一胃内へ1回投与し、投与後0.5, 1, 2, 4, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30時間目に第一胃内容液(50mL)を採取した。PEG投与後の時間と各時間に於ける第一胃内容液中PEG濃度の自然対数値との回帰式の傾きから、第一胃内容液の流出速度定数を算出した。PEG投与量をこの回帰式から外挿して求めたPEG初期濃度で割ることにより、第一胃内容液量を推定した。

第一胃内へ注入したVFAは、第一胃壁への吸収と第三胃以降への流出により第一胃内から消失すると考えられるため、以下の式が成り立つと仮定して総VFAの第一胃内吸収速度定数を算出した。

$$I = (k_p + k_a) \times C \times V / 100$$

I: 総VFA注入量 (mol/h)

k_p : 総VFA流出速度定数 (%/h)

k_a : 総VFA吸収速度定数 (%/h)

C: 第一胃内容液中総VFA濃度 (mol/L)

V: 第一胃内容液量 (L)

また、酢酸、プロピオン酸、酪酸の吸収速度定数は、各酸の注入量と第一胃内容液中濃度を上式にあてはめて算出した。総VFAおよび各酸の濃度には、6, 14, 22時間目に採取した第一胃内容液中濃度の平均値を用いた。VFA流出速度定数は第一胃内容液の流出速度定数と等しいと仮定した。さらに、第一胃からの総VF

A吸収量は吸収速度定数に第一胃内容液総VFA濃度と内容液量を乗じることにより算出した。

第一胃内容液のPEG濃度はSmithの方法^{8,9)}により、総VFA濃度は水蒸気蒸留法により分析した。各酸の濃度はガスクロマトグラフィ（島津製作所、GC7A）により測定した。ガスクロのカラム（2.1m）には、充填剤としてShimalite TPA（60-80メッシュ）にFAL-Mを10%添加したもの（和光純薬）を用いた。また、VFA濃度を測定した第一胃内容液サンプルについては、試料採取時にpHと浸透圧を測定した。

2. 結果

1) VFAおよび緩衝液注入量

代謝体重当りのVFA注入量は、酢酸の方がプロピオン酸よりも1mol当りのエネルギー量が小さいため、LP区の方がHP区に比べ多かった（表7）。緩衝液として注入した重炭酸塩量は、LP区の15号牛で多い傾向にあった。またいずれの処理区の子牛も、注入期間の進行にともない代謝体重当りの重炭酸塩注入量は低下した（表7）。緩衝液注入量の変化を反映して、第一胃内への総注入液量は、代謝体重当りあるいは生体重当りでみた場合、注入期間の進行にともない低下した（図3）。

2) 第一胃内容液性状

図4には胃内注入開始後日数と第一胃内容液性状との関係を示した。第一胃内容液pHと浸透圧については、緩衝液の注入量を調節して個体間や試験期間での変動を抑えたが、LP区では胃内注入開始初期のpHや浸透圧を調整することが困難であった。そ

Table 7. Experimental days and the daily amount of ruminal infusate for each calf in Exp. 2

Treatment HP			Treatment LP		
Day ^a	Infusate		Day ^a	Infusate	
	VFA ^b	Buffer ^c		VFA ^d	Buffer ^c
— d —	— mmol/kg BW ^{0.75} —		— d —	— mmol/kg BW ^{0.75} —	
Calf 11			Calf 14		
21 (46)	339	173	19 (46)	374	152
36 (61)	357	125	32 (59)	341	120
Calf 12			Calf 15		
15 (37)	280	123	16 (38)	303	169
30 (52)	244	123	36 (58)	354	165
43 (65)	336	122	42 (64)	405	174
58 (80)	340	126	55 (77)	405	131
71 (93)	342	104	69 (91)	411	108
Calf 13			Calf 16		
14 (59)	313	146	19 (64)	386	152
24 (69)	363	152	36 (81)	330	149
50 (95)	321	107	48 (93)	382	130
64 (109)	306	138	62 (107)	369	118
Mean ± S.D.	322 ± 35.0	131 ± 20.1	Mean ± S.D.	373 ± 34.8	140 ± 23.1

^aDays after start of infusion. Values in parenthesis are days of age.

^bContaining acetic, propionic and butyric acid in the molar proportions 48:42:10.

^cTotal bicarbonate containing sodium and potassium bicarbonate in the ratio 66:34 (weight basis).

^dContaining acetic, propionic and butyric acid in the molar proportions 76:14:10.

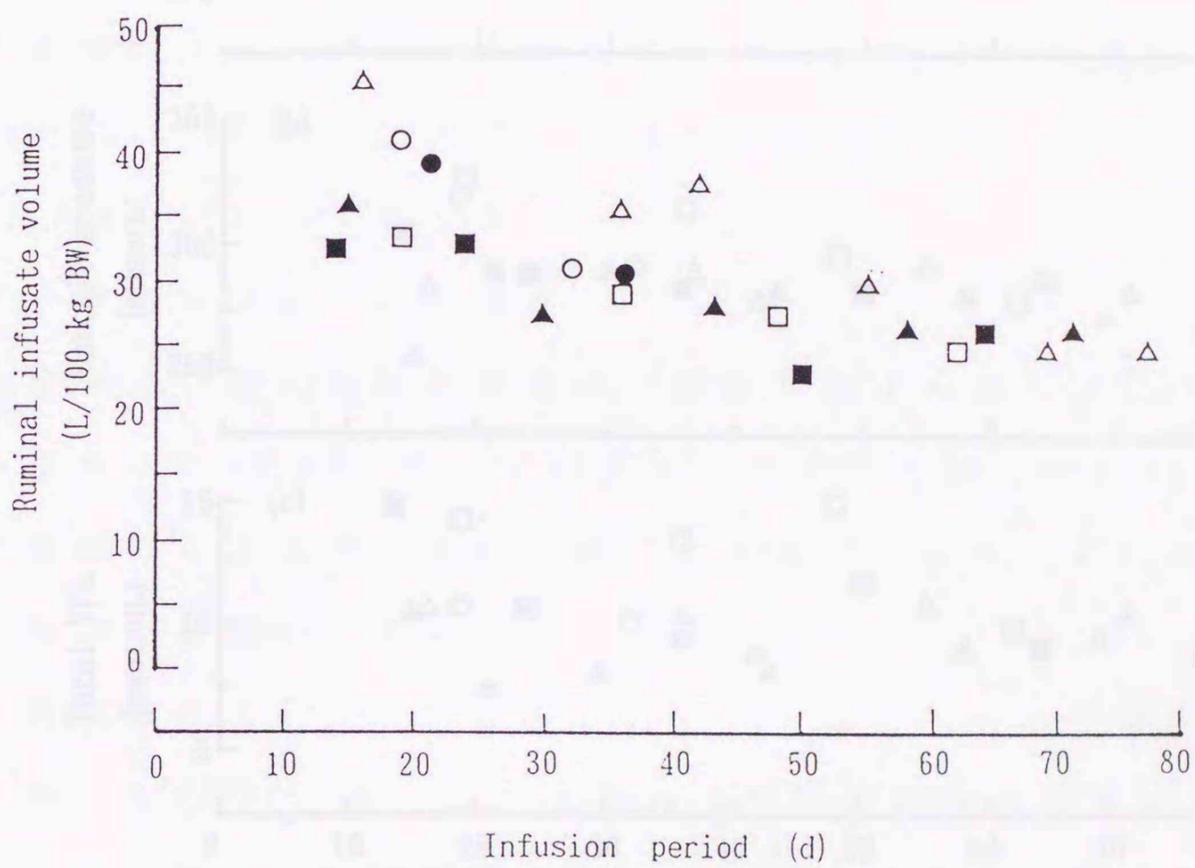


Fig. 3. Changes in the daily amount of liquid infused into the rumen during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

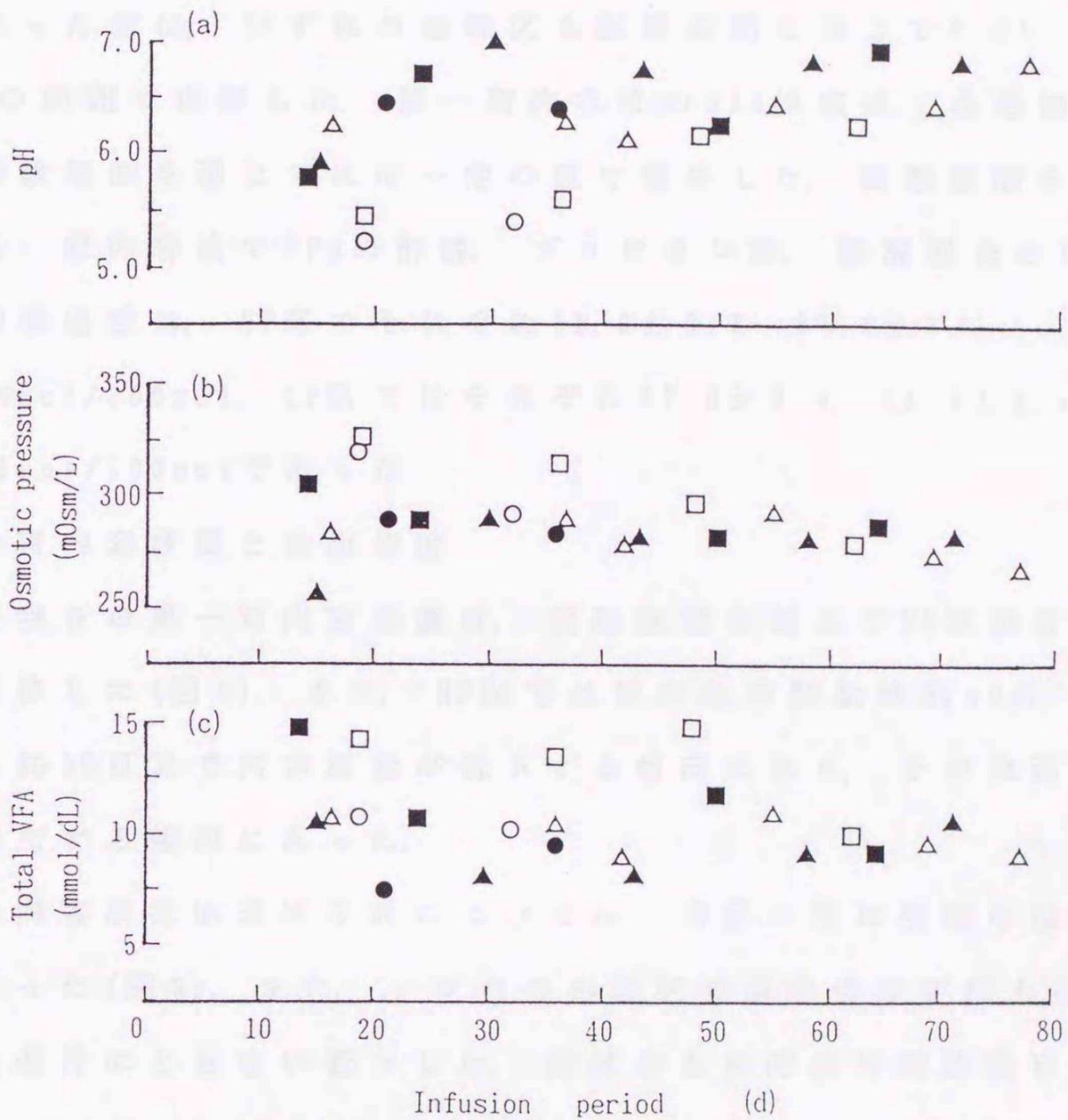


Fig. 4. Changes in pH (a), osmotic pressure (b) and total VFA concentration in the rumen liquor during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

のため約40日目までは、LP区でpH6.0以下、浸透圧300mosm/L以上となる場合が散見された。

第一胃内容液の総VFA濃度は16号牛(LP区)の19, 36, 48日目で高い値となった他は、いずれの処理区も試験期間を通じて8-11 mmol/dLの範囲で推移した。第一胃内容液のVFA組成は、各処理区とも試験期間を通じてほぼ一定の値で推移した。試験期間を通じた第一胃内容液中VFAの酢酸、プロピオン酸、酪酸割合の平均値と標準偏差は、HP区でそれぞれ 53.6 ± 2.7 , 37.5 ± 3.0 , 8.9 ± 0.6 mol/100mol, LP区ではそれぞれ 77.0 ± 3.4 , 14.3 ± 2.7 , 8.7 ± 1.6 mol/100molであった。

3) 第一胃内容液量と流出速度

生体重当りの第一胃内容液量は、試験期間を通じてLP区の方が高く推移した(図5)。また、HP区では胃内給与開始後約40日、LP区では約50日まで内容液量が低下する傾向にあり、その後両区とも増加する傾向にあった。

第一胃内容液流出速度定数については、両区の間には明確な違いはなかった(図6)。また、いずれの処理区の通過速度定数も注入期間の進行にともない低下した。両区とも胃内給与開始後日数と通過速度との間には有意な負の相関が得られ、相関係数はHP区で -0.81 ($P < 0.01$)、LP区では -0.64 ($P < 0.05$)であった。

4) VFA吸収速度と吸収量

HP区の総VFA吸収速度定数は、胃内注入開始直後から急激に増加し、約40日目には開始直後の約2.5倍に達した。しかし約40日目以降からは低下する傾向にあった(図7)。一方LP区の総VFA吸収速度定数は、約70日目まで緩やかに増加した。その結果、約

40日までの吸収速度の増加の程度は、HP区の方がLP区よりも大きかった。各酸の吸収速度定数の試験期間進行にともなう変化は総VFAと同様な傾向にあり、約40日までは、いずれの酸の吸収速度定数もHP区の方がLP区よりも高かった(図8)。またいずれの処理区も、酢酸に比べプロピオン酸や酪酸の方が吸収速度定数は高い傾向にあった。

総VFA吸収量は、HP区では約40日目まで増加しその後ほぼ一定の値で推移したのに対し、LP区では約70日目まで直線的に増加した(図9)。

3. 考察

第一胃内容液量は、いずれの処理区とも胃内注入開始直後が最も高く、その後40-50日目まで減少した(図5)。この変化は第一胃内への注入液量の低下に対応したものとみられた。即ち、約50日までの生体重100kgあたりの第一胃内注入液量と第一胃内容液量との間には有意な正の相関が得られ、その相関係数はHP区で0.78($P < 0.05$)、LP区で0.72($P < 0.05$)であった。一方、50日以降でも、生体重当りの第一胃内注入液量は低下する傾向にあったが、生体重当りの第一胃内容液量は増加する傾向にあった。試験期後半の第一胃内容液量増加は、第一胃自体の容積の増加を反映したものと推察した。Tamateら^{9,3)}は、哺乳子牛の第一胃へVFAとプラスチックスポンジを投与した場合、第一胃容積の増加がみられたことを報告している。また実験1では、胃内注入法で4-6カ月飼育した子牛の反芻胃組織重量は、慣行的な飼育をした子牛と大きく異ならなかった。従って本実験においても、第

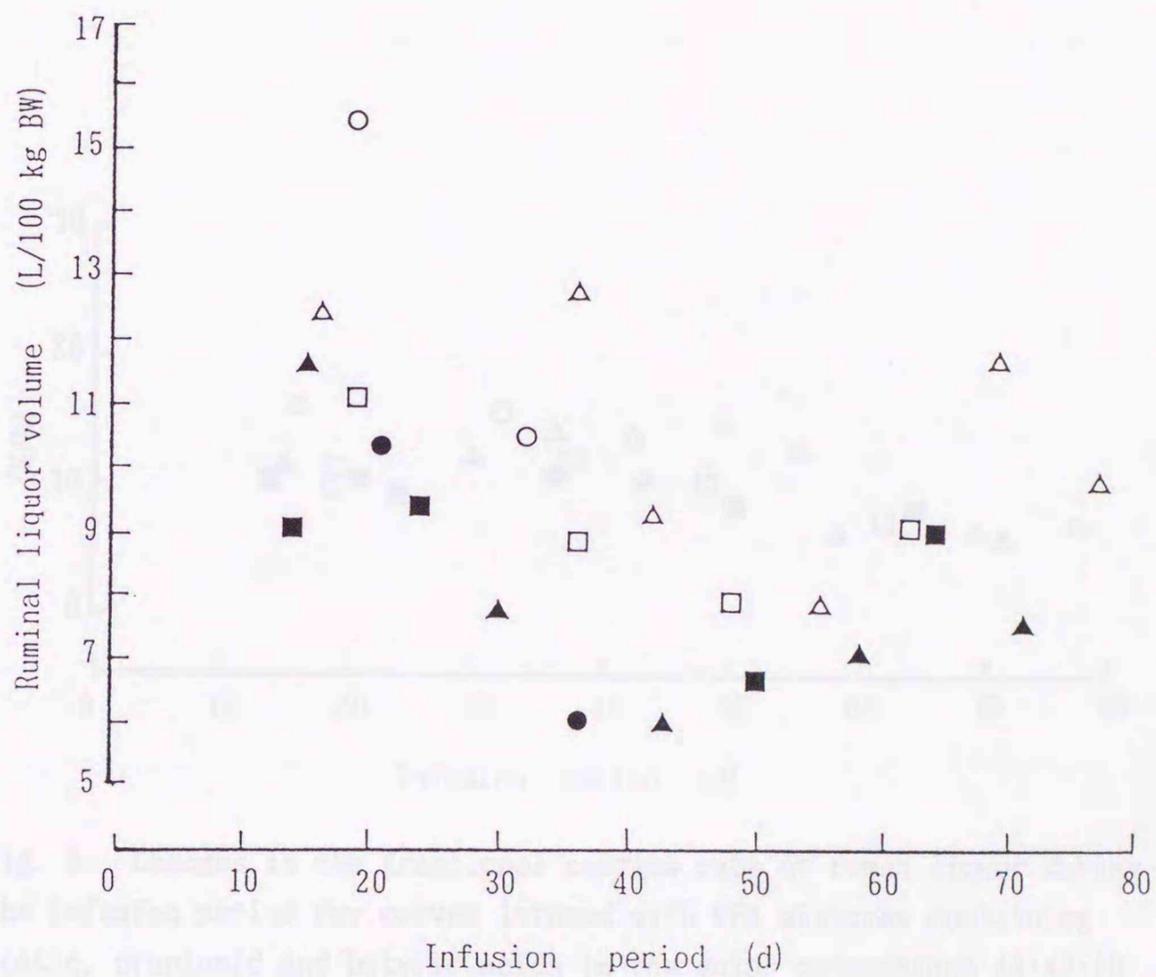


Fig. 5. Changes in the volume of rumen liquor during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

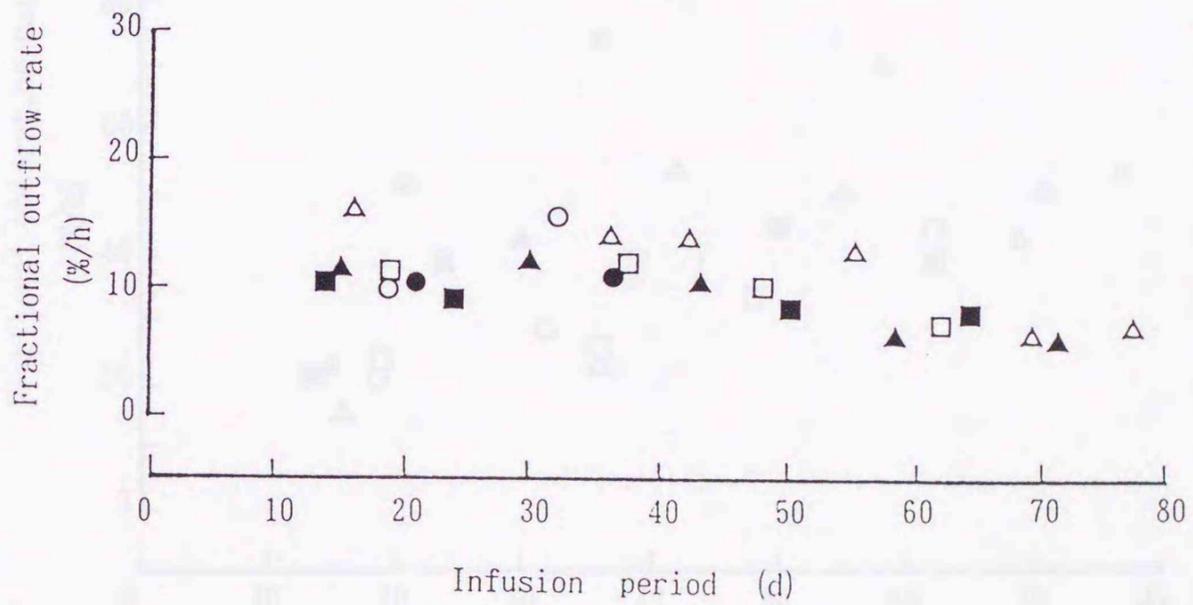


Fig. 6. Changes in the fractional outflow rate of rumen liquor during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

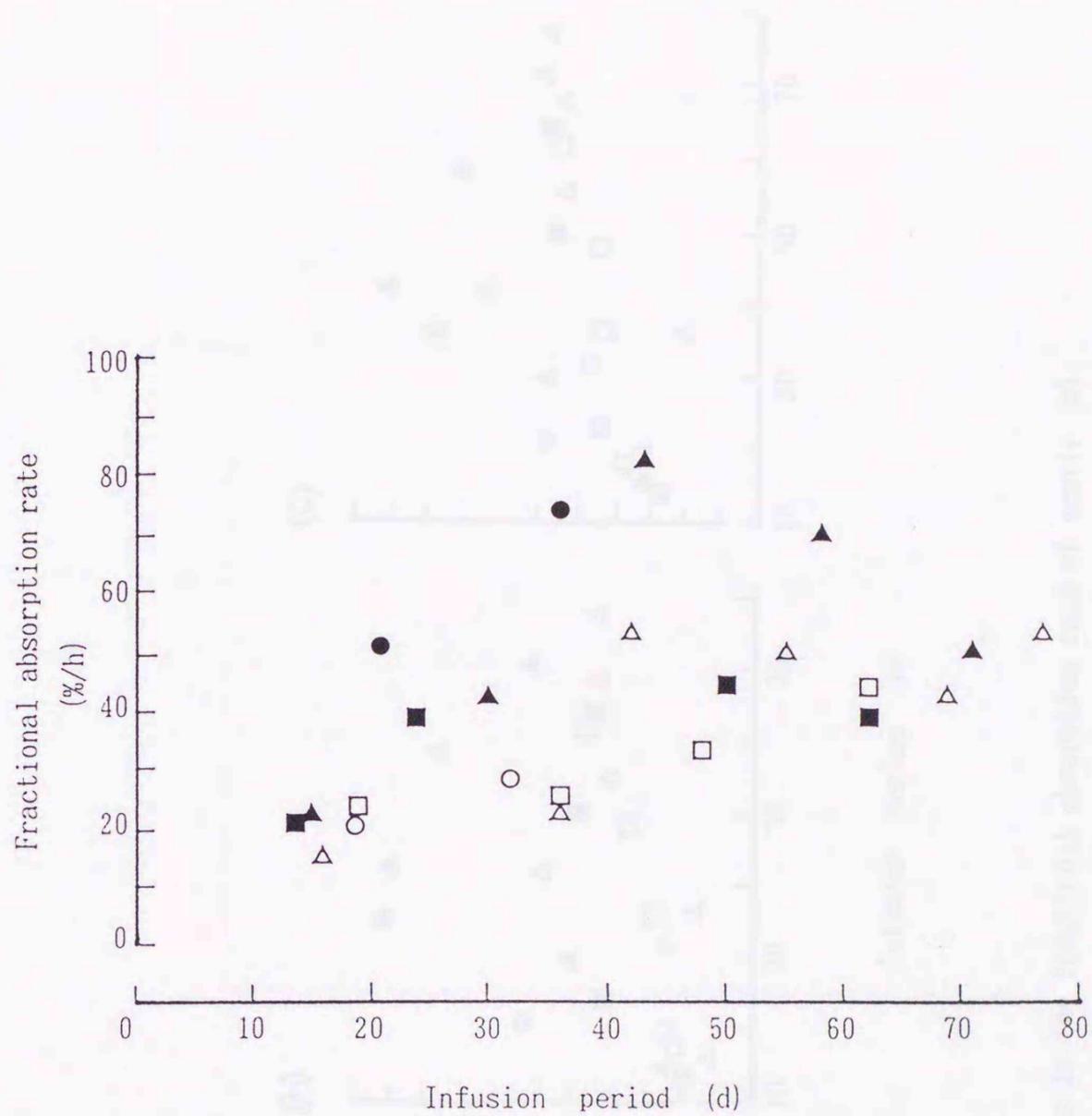


Fig. 7. Changes in the fractional absorption rate of total VFA during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

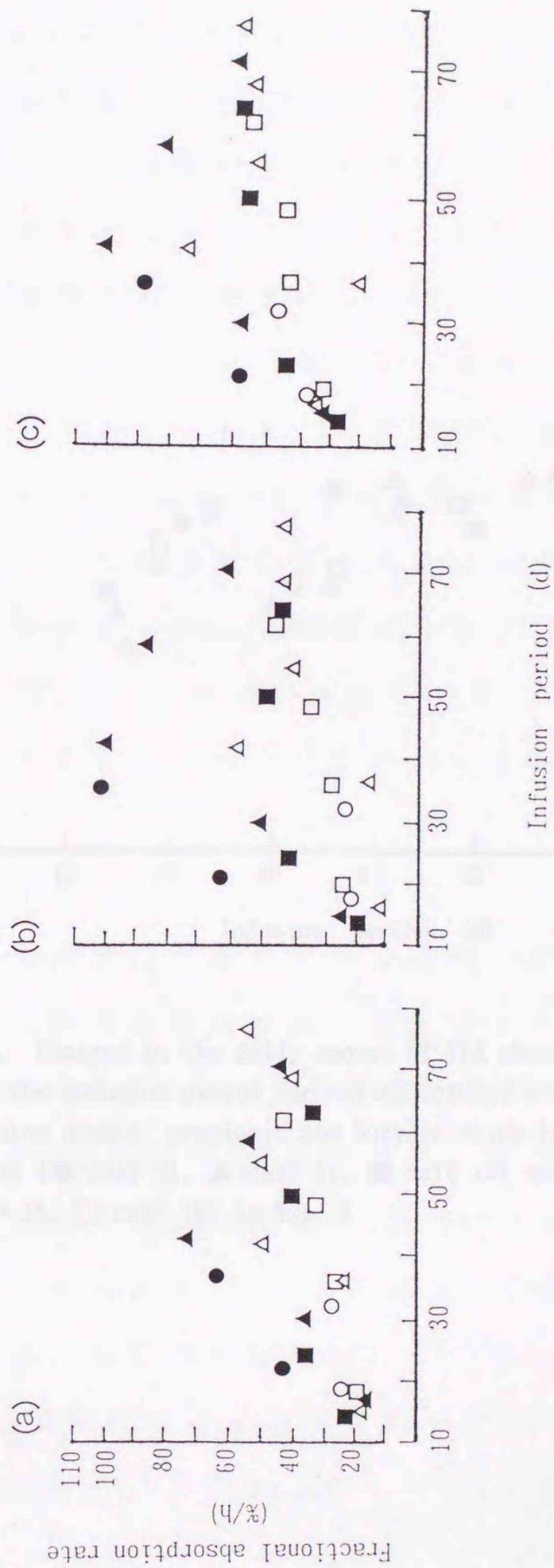


Fig. 8. Changes in the fractional absorption rate of acetic (a), propionic (b) and butyric acid (c) during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

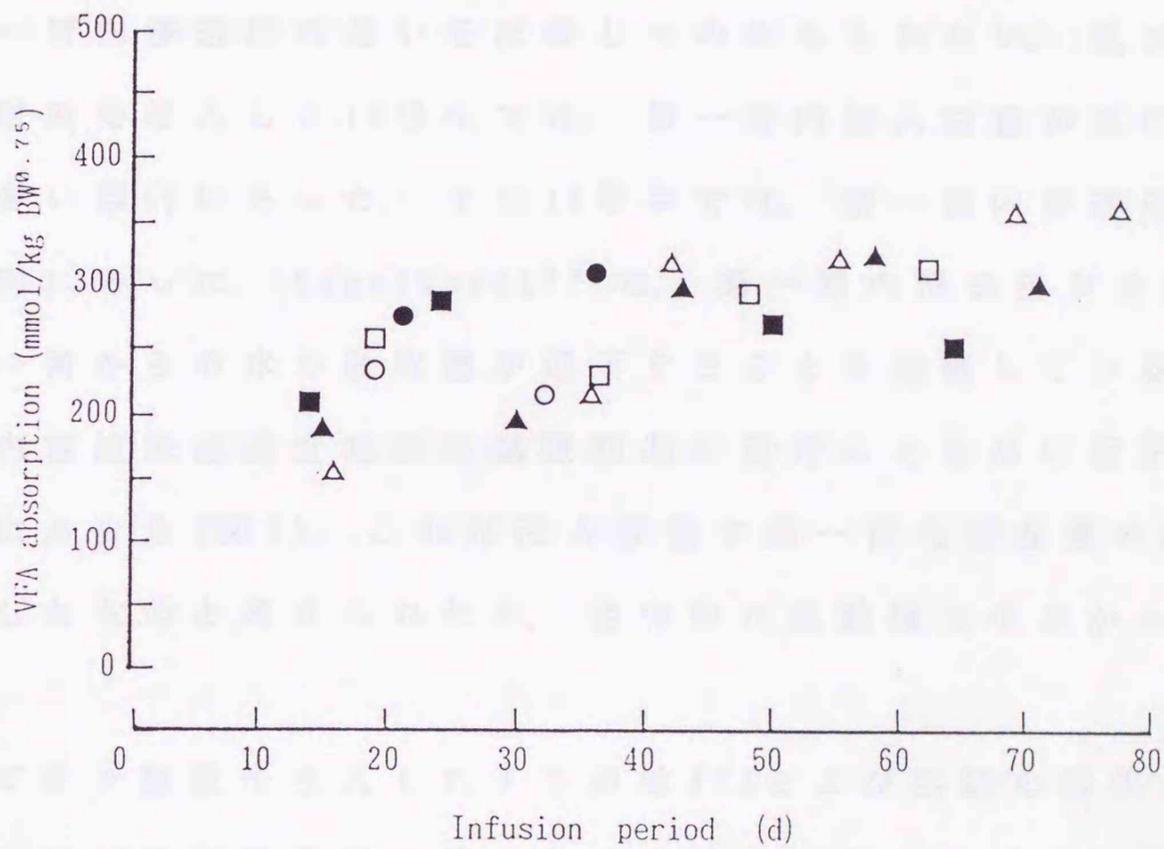


Fig. 9. Changes in the daily amount of VFA absorbed from the rumen during the infusion period for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●:calf 11, ▲:calf 12, ■:calf 13) and 76:14:10 (○:calf 14, △:calf 15, □:calf 16) in Exp. 2.

一胃自体の容積は試験期間の進行にともない増加したと考えられる。約70日における体重100kgあたりの第一胃内容液量は7-12Lであった。この値は胃内注入法で飼育した体重370-405kgの去勢牛の第一胃内容液量⁶³⁾(9-13L/100kg)とほぼ一致した。

第一胃内容液量は、試験期間を通じて低プロピオン酸液注入子牛の方が大きい傾向にあった。これは、第一胃内への注入液量や、第一胃内浸透圧の違いを反映したのかもしれない。低プロピオン酸液を注入した15号牛では、第一胃内注入液量が他の子牛より多い傾向にあった。また16号牛では、第一胃内浸透圧が高い傾向にあった。Engelhardt²⁸⁾は、第一胃内浸透圧が上昇すると第一胃からの水の吸収量が低下することを指摘している。

第一胃内容液流出速度定数は試験期間の進行にともない低下する傾向にあった(図6)。これは注入液量や第一胃内容液量の変化を反映したものと考えられたが、全体的に変動幅は小さかった。

高プロピオン酸液を注入した子牛の総VFAおよび各酸の吸収速度定数は、約40日で最大値に達したのに対し、低プロピオン酸液を注入した子牛の吸収速度定数は、約70日まで緩やかに増加した(図7,8)。Quigleyら⁷¹⁾は、濃厚飼料と乾草を自由採食させた子牛の頸静脈血中VFA濃度が3週齢まで低い値で推移した後急激に増加し、離乳(4および7週齢)後1-2週間で成牛レベルに達したことを報告している。彼ら⁷¹⁾は、静脈血中VFA濃度と固形飼料摂取量との間に正の相関関係がみられたことから、固形飼料摂取にともなうVFA吸収能の増加が、静脈血中VFA濃度に反映されたものと推察している。またSasakiら⁸⁰⁾は、濃厚飼料と乾草

を自由採食させた子牛の第一胃静脈血中のVFA濃度は4週齢までに急激に増加し、その後13週齢まで一定であったことを報告し、子牛のVFA吸収能は4週齢でほぼ成牛レベルに達するものと推察している。さらにSuttonら⁹¹⁾は、第一胃カニューレを装着した子牛を用い、全乳を制限給与、濃厚飼料と乾草を2:1とした混合飼料を自由採食とした条件下で、内容物を除去した第一胃内へVFA液を投与し、週齢の進行にともなうVFA吸収速度の変化を調べた。その結果VFA吸収速度は13週齢まで増加し続けたことを報告している。本実験や他の報告^{71), 80), 91)}の結果から、子牛の第一胃VFA吸収能発達の程度は給与飼料に影響されることがうかがえる。

第一胃粘膜はVFAの主な吸収部位である²⁾ため、VFA吸収速度の増加は第一胃粘膜の絨毛の発達と関係があるものと考えられる。Sanderら⁷⁸⁾は1カ月齢の子牛の第一胃に、酢酸、プロピオン酸、酪酸のナトリウム塩を11週間にわたり投与したところ、絨毛発達の程度は酪酸>プロピオン酸>酢酸の順で大きかったことを報告している。本実験では絨毛発達の程度は測定していないが、酸の種類による絨毛発達効果の違いにより、高プロピオン酸注入の方が、低プロピオン酸注入に比べ、VFA吸収能発達の程度は優れたものと推察した。

胃内注入開始初期では、低プロピオン酸液注入子牛の方が第一胃内容液pHは低い傾向にあった(図4)。VFA吸収速度は第一胃内容液のpHに影響されること⁸⁹⁾が知られている。pHが低下すると未解離VFAの割合が多くなるが、未解離VFAは解離VFAに比べ吸収速度が高いため、pHの低下にともないVFA吸収速度は増加する

とみられている^{25, 101)}。しかし本実験では、低プロピオン酸注入の方が第一胃内容液pHは低い傾向にあったにもかかわらず、吸収速度は低かった。pHの変化とVFA吸収速度との関係における本実験と他の報告^{25, 101)}との相違にも、注入VFA組成による絨毛の発達の程度の違いが関与しているのかもしれない。

いずれの処理区でも、試験期間を通じて、プロピオン酸の吸収速度定数は酢酸に比べ高い傾向にあった(図8)。酸の種類と吸収速度の関係については諸説報じられているが、解離状態では酢酸とプロピオン酸の吸収速度には違いはなく⁶⁶⁾、未解離状態では、酪酸>プロピオン酸>酢酸の順に高いとする報告^{25, 45, 91, 95)}が多い。従って、酢酸とプロピオン酸自体の吸収速度の違いも、高プロピオン酸液注入時の高い吸収速度に寄与したものと推察した。

さらに、注入VFA組成による第一胃内容液量の相違(図5)も、処理区による試験期間進行にともなう吸収速度増加の程度に違いをもたらしたのかもしれない。Suttonら⁹¹⁾は内容物を除去した第一胃内へVFA液を注入した際、注入液量の多い個体の方がVFA吸収速度が低いことを報告している。

以上のような注入VFA組成によるVFA吸収速度定数の違いを反映して、VFA吸収量は高プロピオン酸液を注入した場合には約40日目で最大値に達し、低プロピオン酸液を注入した場合には約70日まで緩やかに増加した。そのため、約40日までは高プロピオン酸液を注入した子牛の方がVFA吸収量は多かった(図9)。従って、第一胃内プロピオン酸割合の高い場合、第一胃のVFA吸収能の発達が促進されるものと推察した。

4. 小括

3-5週齢から胃内注入法による飼育を開始し、第一胃内注入VFA組成と子牛の第一胃VFA吸収能発達との関連を検討した。胃内注入開始後約35あるいは約70日まで、酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10あるいは76:14:14とするVFA混合液を維持エネルギー相当量注入した。その間、1-2週間毎に第一胃内容液VFA濃度、第一胃内容液量、第一胃内容液流出速度定数を測定することにより、第一胃からのVFA吸収速度定数および吸収量を算出した。第一胃内容液中総VFA濃度は、試験期間を通じてほぼ一定で、注入VFA組成の影響は認められなかった。第一胃内VFA中の酢酸、プロピオン酸、酪酸割合はいずれのVFA液注入でも、試験期間を通じてほぼ一定であった。生体重当りの第一胃内容液量は、胃内注入開始後約40-50日目まで低下し、その後約70日目まで増加した。また、低プロピオン酸液注入子牛の方が第一胃内容液量は多かった。第一胃内容液の流出速度定数は、注入VFA組成によって影響されなかったが、試験期間の進行にともない低下した。総VFAおよび各酸の吸収速度定数は、高プロピオン酸液注入子牛では約40日で最大値に達したが、低プロピオン酸液注入子牛では約70日まで緩やかに増加した。そのため、胃内注入開始初期では、高プロピオン酸液注入子牛の方がVFA吸収速度および吸収量は高かった。

以上の結果より、第一胃内産生VFA中のプロピオン酸割合が高い場合に、子牛の第一胃VFA吸収能発達が促進されることが示唆された。

第 IV 章

第一 胃内揮発性脂肪酸組成と 若齡子牛の蛋白質・エネルギー 代謝

反芻胃の発達に対応して、子牛は成長のために必要なエネルギー源を、反芻胃内産生VFAに依存するようになる。しかし、離乳直後の子牛では反芻胃は完全には発達しておらず¹²⁾、内臓や末梢組織でのVFA利用能も発達段階にあると考えられる⁸⁰⁾。そのため、離乳子牛のVFAエネルギーの利用性は、成畜とは異なるかもしれない。

成長の進んだ反芻家畜においては、通常の飼料給与時での第一胃内VFA組成の変動は、成長や肥育のための代謝エネルギー利用効率や窒素利用効率に影響しないと考えられている⁷²⁾。一方、増体に占める蛋白質の割合の多い若齡子牛では、蛋白質要求量が高いと同時に、グルコース要求量も高い^{69, 96)}。そのため、離乳直後の子牛では、個体レベルでのエネルギーや窒素利用に対する反芻胃内産生プロピオン酸の意義は、成畜に比べ大きいと考えられる。しかし、若齡子牛において、第一胃内産生VFA組成と蛋白質利用効率やエネルギー利用効率の関係について検討した報告は見あたらない。

本章では、若齡子牛の蛋白質・エネルギー利用におけるプロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることを目的に、第一胃内注入VFA組成と、子牛の血液中代謝物濃度およびエネルギーならびに窒素出納との関連を検討した。具体的には、実験3で維

持の1.3倍水準での第一胃内注入VFA組成の影響を、実験4では第四胃からさらにグルコースを注入し、動物へのグルコース供給を高めた場合での第一胃内注入VFA組成の影響を調べ、さらに実験5では高プロピオン酸VFA混合液注入時の蛋白質・エネルギー利用効率について検討した。

1. 試験方法

1) 実験3

(1) 供試動物と飼養管理

実験3の概要については図10に示した通りで、ホルスタイン種初生雄子牛6頭(生時平均体重 43 ± 7.7 kg)を用いた。いずれの子牛も生後3日間初乳を給与し、生後3日目から室温を20℃に調節した試験室内の代謝ケージに収容した。その後子牛には、体重の10%量の全乳を朝夕2回に分けて哺乳器を用いて給与した。哺乳期間は、2頭(1および2号牛)については39日齢まで、残りの4頭(3, 4, 5および6号牛)については54日齢までとした。哺乳期間の間、前者の2頭については18日齢に、後者の4頭については33日齢に第一胃カニューレおよび第四胃カテーテルを装着した。手術後1週間の回復期間の後、胃内注入を開始した。注入量は注入開始から段階的に増加させ、2週間後の離乳時には、維持の1.3倍量のエネルギーを注入精製飼料により供給した。

(2) 胃内注入飼育方法と試験処理

精製飼料の注入方法は、実験1と同様であった。総エネルギー注入量はVFAとカゼインを合わせて、維持代謝エネルギー⁸⁴⁾の1.3倍(570 kJ/kg BW^{0.75}, 日増体量0.3 kg相当)とした。カゼイン

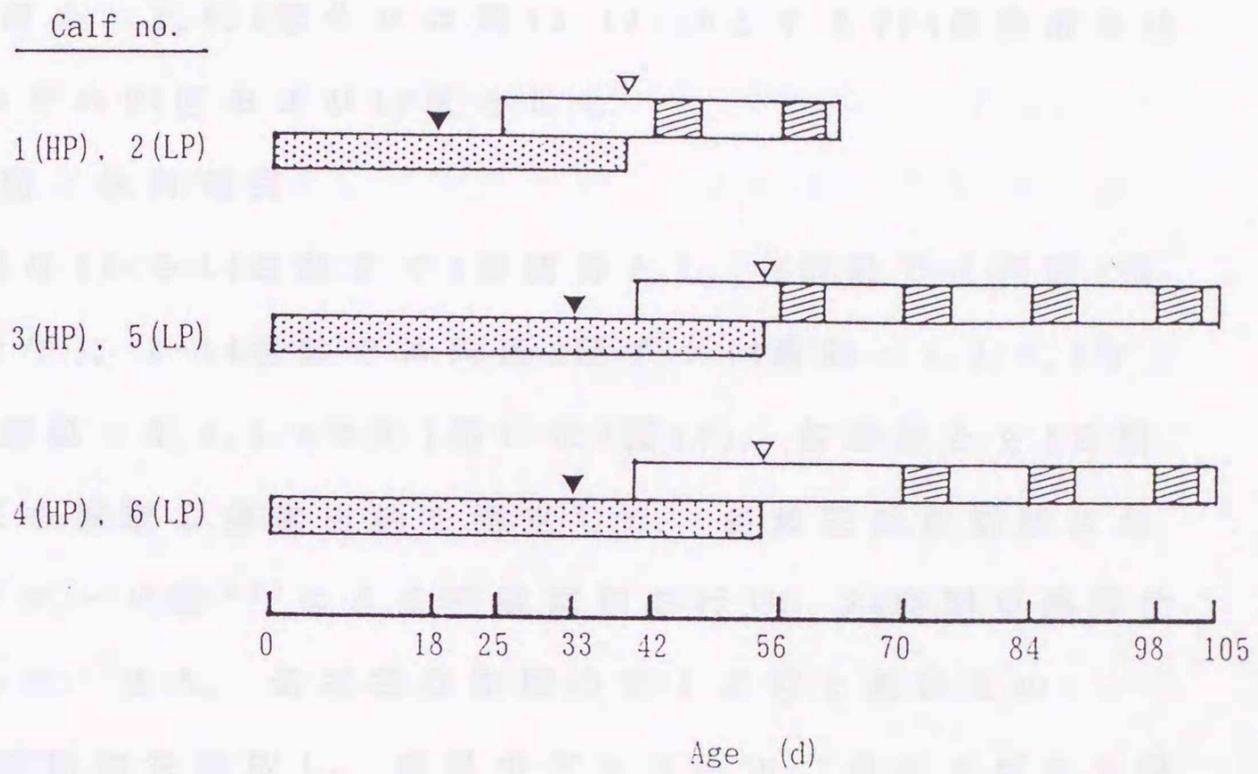


Fig. 10. Experimental scheme during milk-fed period (▤) and infusion period (□) for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (HP) and 76:14:10 (LP) in Exp. 3.

▨: measurement period, ▼: cannulation, ▽: weaning.

注入量は、体重50kgの子牛の日増体量0.3kgに必要な量^{2, 3)} (1.0g/kg BW^{0.75})とした。ビタミン液および微量ミネラル液は、Φ rskovら^{6) 1)}の報告をもとに維持の1.3倍相当量を注入した。

第一胃内へ注入したVFA液の組成は実験2と同様であり、1, 3, 4号牛には、酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA混合液を、2, 5, 6号牛には同76:14:10とするVFA混合液を注入し、それぞれHP区およびLP区とした。

(3) 試験期間と検討項目

試験期間は6から14週齢まで2週間毎とし、6週齢では両区1頭ずつ(1, 2号牛)、8-14週齢では両区2頭ずつ(8週齢: 1, 2, 3, 5号牛; 10-14週齢: 3, 4, 5, 6号牛)用いた(図10)。各週齢とも5日間全糞と全尿を採取し窒素出納を測定した。各糞尿採取期間においてヘッドケージ法⁴⁾による呼吸試験を行い、24時間の熱発生量を測定した。また、糞尿採取期間の第1日目と最終日の15:00に頸静脈血を採取し、血漿中グルコース、βヒドロキシ酪酸、尿素態窒素および遊離アミノ酸濃度を測定した。

呼吸試験には容積0.43m³(0.6x0.8x0.9m)のヘッドケージを用いた。換気量(100L/minに設定)は質量流量計(小島製作所, 2010型)により測定した。換気量測定後のガスの一部を吸引ポンプで連続採取し、呼気ガス分析用質量分析計(ウエストロン, WSM R-1400)により酸素濃度を測定した。吸気ガスは4時間に1回15分間採取した。換気量と酸素濃度のデータは、データロガー(日本電気三栄, DL1200型)を用いて12秒間隔で記録した。換気量および吸気と呼気ガスの酸素濃度差から、McLeanの式⁴⁾を用いて熱発生量を算出した。糞と尿中の窒素含量はケールダール

法により測定した。血漿中グルコース¹²⁾と β ヒドロキシ酪酸濃度¹³⁾は酵素法により、尿素態窒素濃度は比色法²²⁾により分析した。遊離アミノ酸濃度は高速液体クロマトグラフィー(日本分光)を用いて分析した²⁶⁾。

2) 実験 4

(1) 供試動物と試験処理

ホルスタイン種初生雄子牛4頭(生時平均体重 46 ± 2.5 kg)を用いた。離乳までの飼養管理方法は実験3と同様で、33日齢で第一胃カニューレと第四胃カテーテルを装着、40日齢から胃内注入を開始し、54日齢で離乳した。4頭の子牛のうち2頭(7および8号牛)には酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA混合液を、残りの2頭(9および10号牛)には同76:14:10とするVFA混合液を第一胃内へ注入し、それぞれHPGおよびLPG区とした。VFA、主要ミネラル、カゼイン、微量ミネラルおよびビタミン注入量は実験3と等しくした。第四胃内へはさらに維持代謝エネルギー⁸⁴⁾の30%相当量のグルコースをカゼインと共に注入した。従って、総エネルギー注入量は $700 \text{ kJ/kg BW}^{0.75}$ で、このうちVFA、グルコースおよびカゼイン由来のエネルギーは、それぞれ58、19、23%を占めた。なお、グルコースの熱量は 15.7 kJ/g ²⁰⁾として計算した。

(2) 試験期間と検討項目

試験期間は8から14週齢まで2週間毎とした。各週齢とも5日間全糞と全尿を採取し窒素出納を測定した。糞尿採取期間において、実験3と同様のシステムを用いて呼吸試験を行い、24時間の熱発生量を測定した。また、尿中窒素排泄量から尿中エネルギー

一排泄量を推定⁸³⁾し、代謝エネルギー注入量およびエネルギー蓄積量を算出した。さらに実験3と同様に頸静脈血を採取し、血漿中グルコース⁴²⁾、尿素態窒素²²⁾および遊離アミノ酸濃度²⁶⁾を測定した。

3) 実験5

(1) 供試動物と試験処理

実験3,4で用いたホルスタイン種雄子牛4頭(5,6,8,10号牛)を用いた。これらの子牛を14週齢以降も継続して胃内注入法で飼育し、15週齢から約2-4週間かけて、注入方法を以下のように変更した。8,10号牛については、グルコースの注入を停止し、酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA混合液を維持代謝エネルギー⁸⁴⁾の1.3倍相当量、カゼインを代謝体重当り1.0g窒素相当量注入した。5,6号牛については、酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA混合液を維持の1.6倍相当量、カゼインを代謝体重当り1.2g窒素相当量注入した。従って、注入方法変更後は、全頭とも酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA液を注入した。また、VFAとカゼインを合わせた総エネルギー注入量は、維持代謝エネルギー⁸⁴⁾の1.6倍(8,10号牛)および2.0倍(5,6号牛)とした。

(2) 試験期間と検討項目

個体によって、目標注入水準に到達する期間が異なったため、8,10号牛については、それぞれ17と25週齢において、5,6号牛についてはそれぞれ21と25週齢において、4日間全糞と全尿を採取し窒素出納を測定した。糞尿採取期間において、24時間の熱発生量を測定した。窒素およびエネルギー利用効率の算出にあた

っては、栄養水準の範囲を広くするために、実験3におけるHP区
の14週齢での測定値もあわせて検討した。

2. 結果

1) 健康状態と日増体量

実験3,4とも、各週齢における総エネルギーおよび窒素注入量
(表8,9)は、ほぼ設定通りであった。実験3での日増体量は1,2号
牛の6-8週齢ではそれぞれ0.16および0.28kg, 3,4,5,6号牛の8-
14週齢ではそれぞれ0.24, 0.30, 0.24, 0.50kgであった。実験
4では、7,8,9,10号牛の8-14週齢の日増体量はそれぞれ0.64,
0.42, 0.50および0.60kgであった。これらの値は、注入エネル
ギー量から予想される増体量^{8,4)}とほぼ一致した。胃内注入期間
中、いずれの子牛も第一胃カニューレからの内容液の漏出はな
く、外見上の異常や、栄養素欠乏症状は認められなかった。離
乳直後から10週齢にかけて下痢症状が散見されたが、12週齢以
降はほとんど認められなかった。

実験5では個体によって測定時期が異なった。これは、VFA注
入レベルを急激に増加させることができなかったことによるも
のであり、特に栄養水準を維持の2.0倍に増加させる場合には、
第一胃内pHの低下や浸透圧の上昇、あるいは下痢の発症のため、
目標水準を一定期間保つことが困難であった。しかし、注入量
が目標水準に達した測定期間中の日増体量は、維持の1.6倍水準
では8号牛0.59, 10号牛0.63kg, 維持の2.0倍水準では5号牛
0.84kg, 6号牛0.96kgとなり期待増体量^{8,4)}と概ね一致した。

Table 8. Daily amount of infusate for calves from 6 to 14 wk of age in Exp. 3^a

Infusate	Treatment	
	HP	LP
VFA, mmol/kg BW ^{0.75}		
Acetic acid	155 ± 13.8	286 ± 19.3
Propionic acid	136 ± 10.7	50 ± 3.3
Butyric acid	35 ± 2.8	38 ± 2.6
Casein, g/kg BW ^{0.75}	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.2
Gross energy, kJ/kg BW ^{0.75}	581 ± 36.5	571 ± 29.6
Nitrogen, g/kg BW ^{0.75}	1.0 ± 0.04	1.0 ± 0.03

^aMeans with standard deviations of 9 measurement periods of nitrogen balance.

Table 9. Daily amount of infusate for calves from 8 to 14 wk of age in Exp. 4*

Infusate	Treatment	
	HPG	LPG
VFA, mmol/kg BW ^{0.75}		
Acetic acid	152 ± 6.6	287 ± 27.0
Propionic acid	132 ± 5.9	50 ± 4.8
Butyric acid	34 ± 1.5	38 ± 3.8
Casein, g/kg BW ^{0.75}	7.3 ± 0.3	7.4 ± 0.3
Glucose, g/kg BW ^{0.75}	8.4 ± 0.4	8.4 ± 0.4
Gross energy, kJ/kg BW ^{0.75}	700 ± 24.2	703 ± 36.6
Nitrogen, g/kg BW ^{0.75}	1.0 ± 0.04	1.0 ± 0.04

*Means with standard deviations of 8 measuremental periods of nitrogen balance trial.

2) 血漿中代謝物濃度

実験3での血漿中グルコース濃度(図11a)は、離乳時期の早かった1,2号牛では6-8週齢にかけて増加した。8週齢以降の血漿中グルコース濃度は、両区ともほぼ一定の値で推移したが、LP区(5,6号牛)に比べHP区(3,4号牛)の方が高い傾向にあった。βヒドロキシ酪酸濃度(図11b)は、いずれの処理区も6-10週齢にかけて増加し、その後ほぼ一定の値で推移した。また、10週齢以降はLP区の方がHP区よりも高かった。尿素態窒素濃度および遊離アミノ酸濃度(図12)には、週齢や注入VFA組成の違いによる明確な影響は認められなかった。

実験3とほぼ同一条件でさらに第四胃内へグルコースを注入した実験4では、血漿中グルコース濃度には週齢やVFA組成の影響は認められなかった(図13)。血漿尿素態窒素、遊離アミノ酸濃度は8-10週齢においてLPG区の方がHPG区よりも高い傾向にあったが、12週齢以降では処理間の差は明瞭ではなかった(図14)。

3) 窒素蓄積量

実験3での週齢の進行にともなう代謝体重あたりの窒素蓄積量の変化を図15に示した。いずれの子牛、週齢においても、糞中への窒素排泄量はわずかであり(8-44mg/kg BW^{0.75})、週齢の進行にともなう窒素蓄積量の変化は、尿中窒素排泄量の変化を反映したものであった。HP区では週齢の進行にともない窒素蓄積量が低下する傾向にあり、週齢と窒素蓄積量の間を負の相関($r = -0.66$, $P < 0.10$)が認められた。一方、LP区では5,6号牛の10-12週齢での窒素蓄積量が、他の週齢の値に比べ低かった。そのため、10-12週齢ではHP区に比べLP区の方が窒素蓄積量は低かっ

た。しかし、6-8週齢および14週齢では、第一胃内注入VFA組成の違いは、窒素蓄積量に影響を及ぼさなかった。各処理区の窒素蓄積量の平均値と標準偏差はHPおよびLP区それぞれ 435 ± 44.6 および $373 \pm 105.6 \text{ mg/kg BW}^{0.75}$ であった。

実験4における週齢の進行にともなう窒素蓄積量の変化を図16に示した。いずれの子牛、週齢においても、糞中への窒素排泄量はわずかであった($8-30 \text{ mg/kg BW}^{0.75}$)。また、週齢およびVFA組成の違いは窒素蓄積量に影響を及ぼさなかった。各処理区の窒素蓄積量の平均値と標準偏差はHPGおよびLPG区それぞれ 563 ± 76.4 および $588 \pm 66.3 \text{ mg/kg BW}^{0.75}$ であった。

実験5における個体毎の窒素蓄積量については、実験3で酢酸、プロピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA液を注入した2頭の子牛(3,4号牛)の14週齢での測定値とともに表10に示した。注入水準の増加にともない、窒素蓄積量は増加した。

4) 熱発生量

実験3における週齢の進行にともなう熱発生量の変化を図17に示した。なお、3号牛の10週齢と5号牛の12週齢では、測定機器故障のため測定できなかった。代謝体重当りの熱発生量は、いずれの処理区においても、6週齢よりも14週齢の方が低い傾向にあった。そのため、LP区では週齢と熱発生量との間に有意な負の相関($r=-0.810$, $P<0.05$)が認められた。HP区では週齢と熱発生量との間には有意な関係($r=-0.59$, $P>0.10$)は認められなかったが、週齢の進行にともない低下する傾向にあった。しかし、いずれの週齢においても、注入VFA組成の違いの影響は明瞭なものではなかった。各処理区の熱発生量の平均値と標準偏差は、

HP, LP区それぞれ 545 ± 37.5 および $522 \pm 43.6 \text{ kJ/kg BW}^{0.75}$ であ
った。

実験4における週齢の進行にともなう熱発生量の変化を図18に
示した。注入VFA組成および週齢の違いが熱発生量に及ぼす影響
は認められなかった。各処理区の熱発生量の平均値と標準偏差
は、HPGおよびLPG区それぞれ 569 ± 38.7 および $547 \pm 48.3 \text{ kJ/kg}$
 $\text{BW}^{0.75}$ であった。

実験5での個体毎の熱発生量については、実験3で酢酸、プロ
ピオン酸、酪酸のモル比を48:42:10とするVFA液を注入した2頭
の子牛(3,4号牛)の14週齢での測定値とともに表10に示した。注
入水準の増加にともない、熱発生量は増加した。

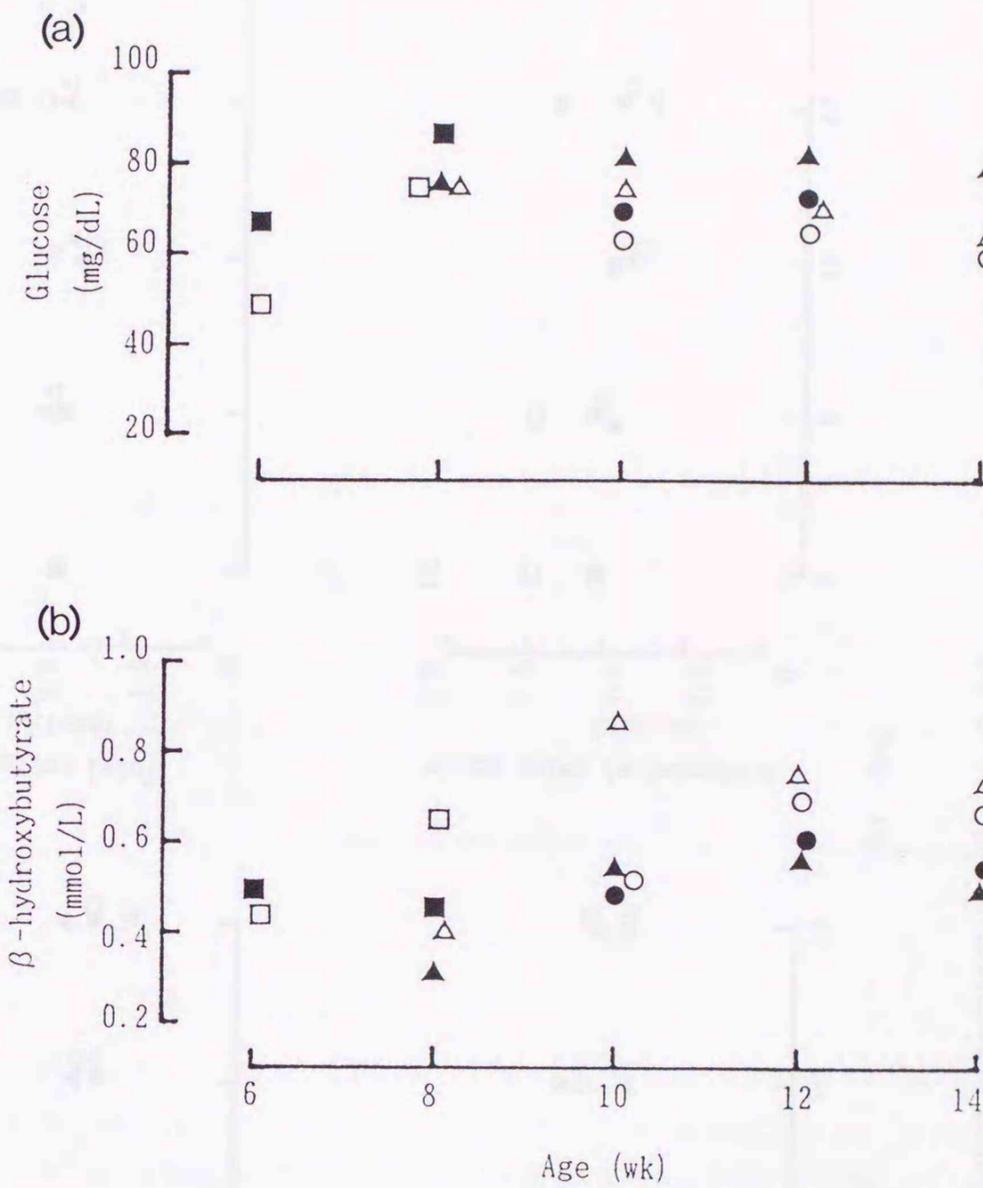


Fig. 11. Plasma concentration of glucose (a) and β -hydroxybutyrate (b) from 6 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (■:calf 1, ▲:calf 3, ●:calf 4) and 76:14:10 (□:calf 2, △:calf 5, ○:calf 6) in Exp. 3.

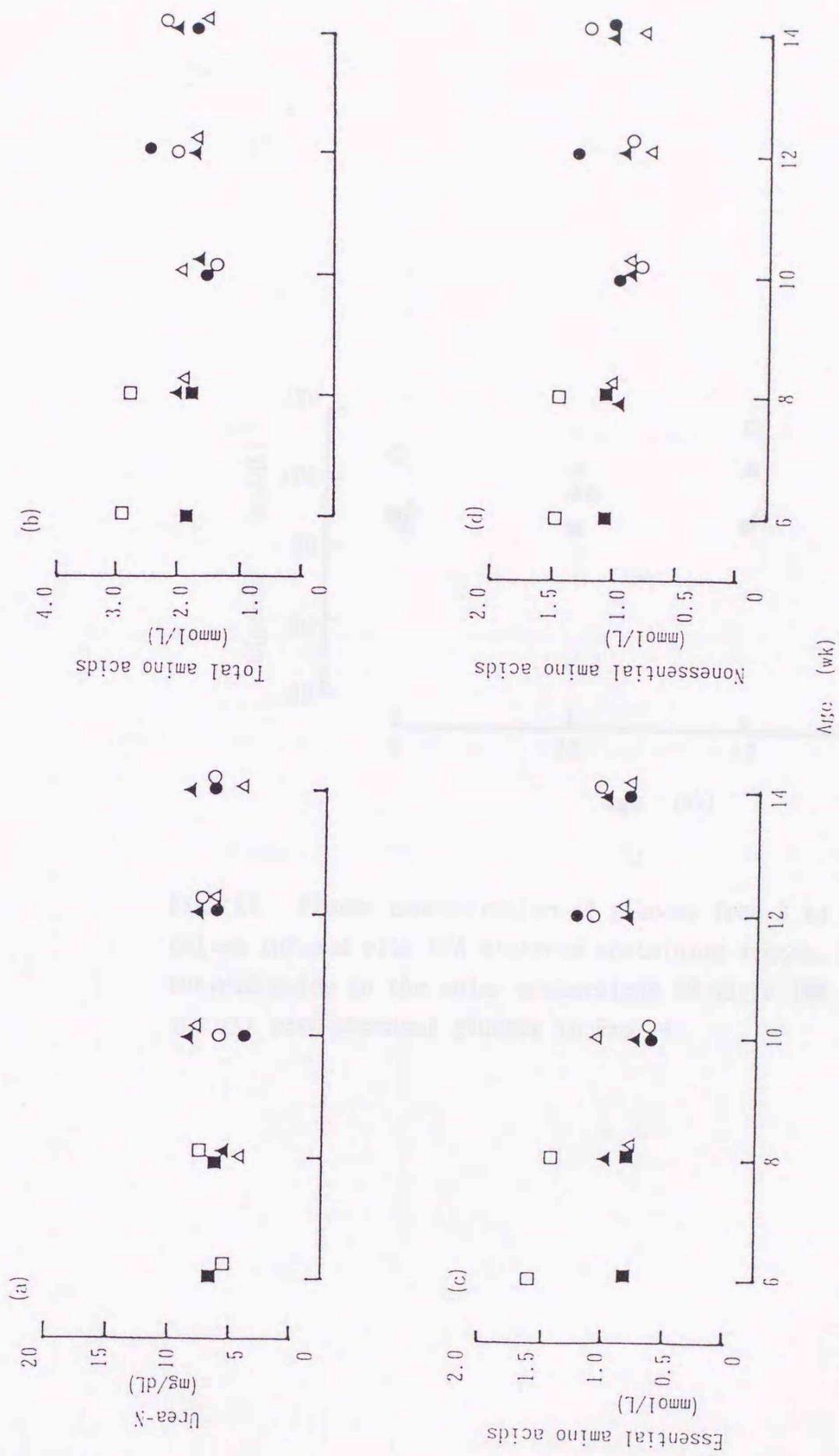


Fig. 12. Plasma concentration of urea-N (a), total amino acids (b), essential amino acids (c) and nonessential amino acids (d) from 6 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (■:calf 1, ▲:calf 3, ●:calf 4) and 76:14:10 (□:calf 2, △:calf 5, ○:calf 6) in Exp. 3.

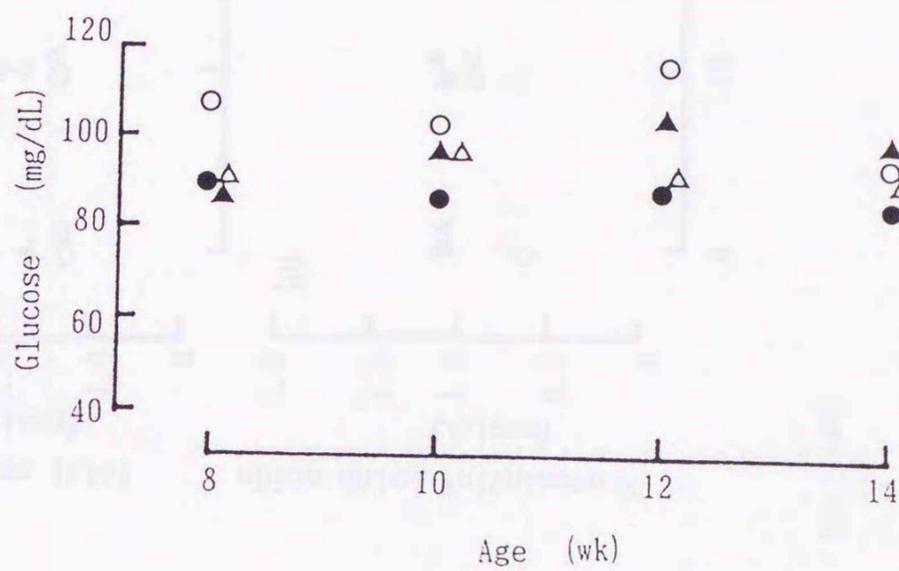


Fig. 13. Plasma concentration of glucose from 8 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●,▲) and 76:14:10 (○,△) with abomasal glucose in Exp. 4.

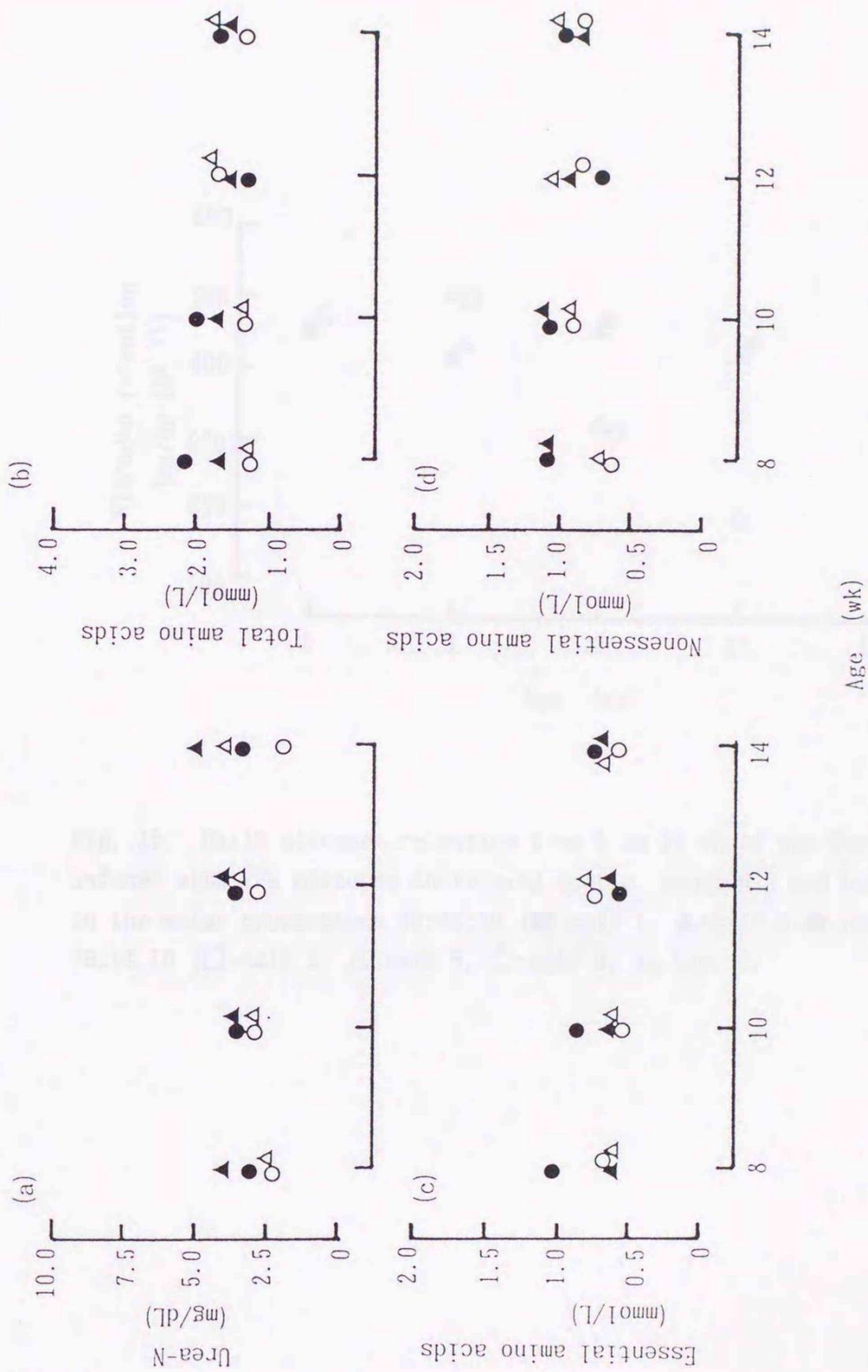


Fig.14. Plasma concentration of urea-N (a), total amino acids (b), essential amino acids (c) and nonessential amino acids (d) from 8 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●,▲) and 76:14:10 (○,△) with abomasal glucose in Exp. 4.

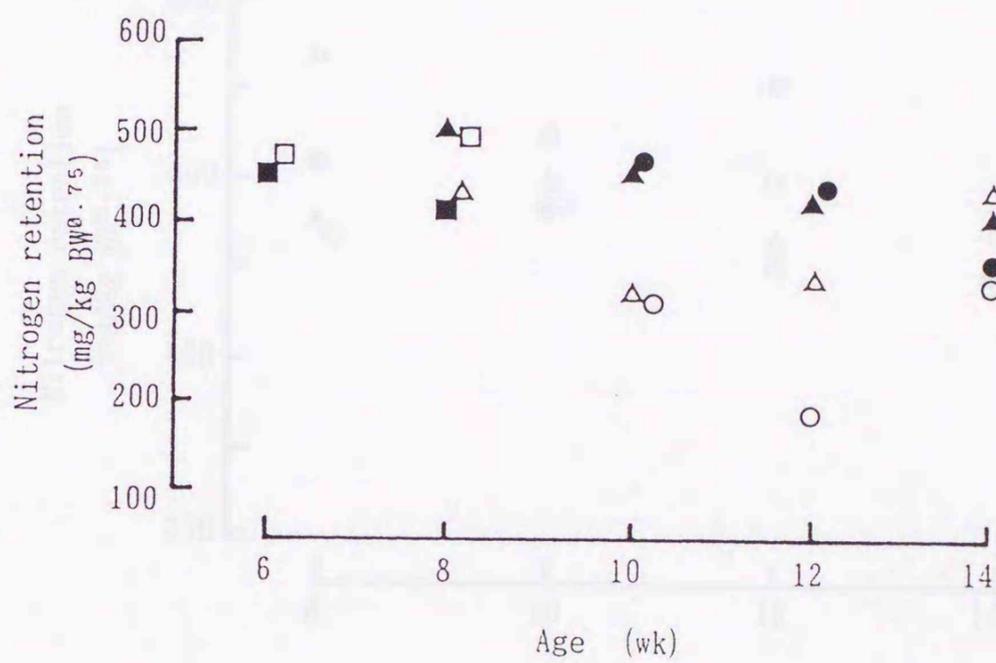


Fig. 15. Daily nitrogen retention from 6 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (■:calf 1, ▲:calf 3, ●:calf 4) and 76:14:10 (□:calf 2, △:calf 5, ○:calf 6) in Exp. 3.

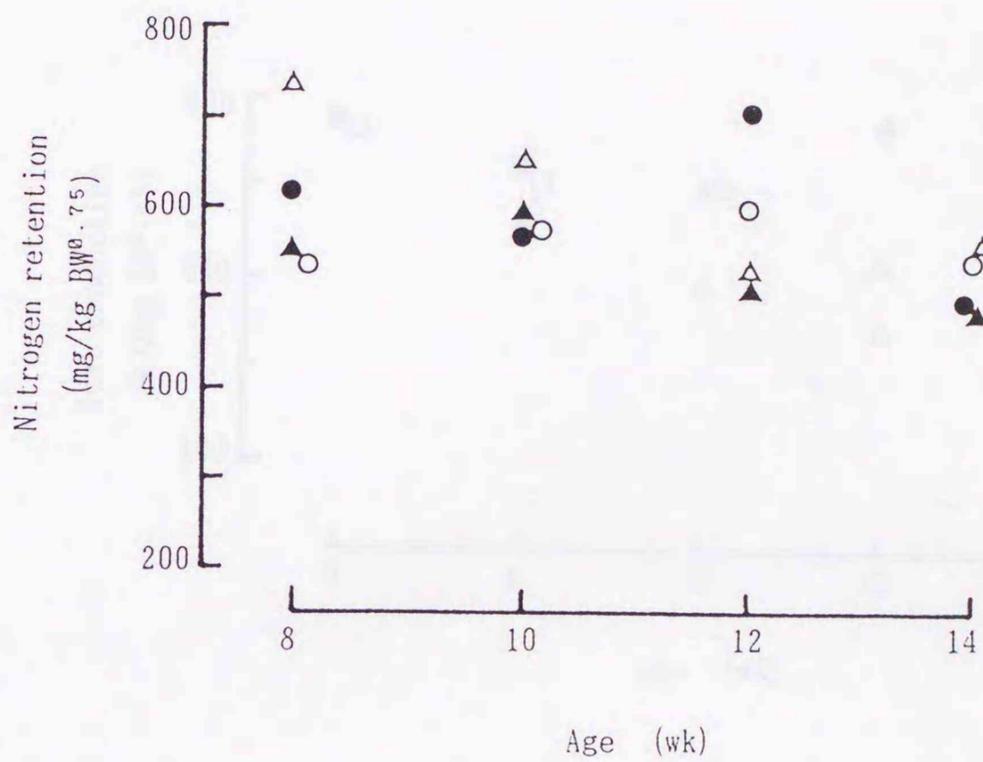


Fig. 16. Daily nitrogen retention from 8 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●,▲) and 76:14:10(○,△) with abomasal glucose in Exp. 4.

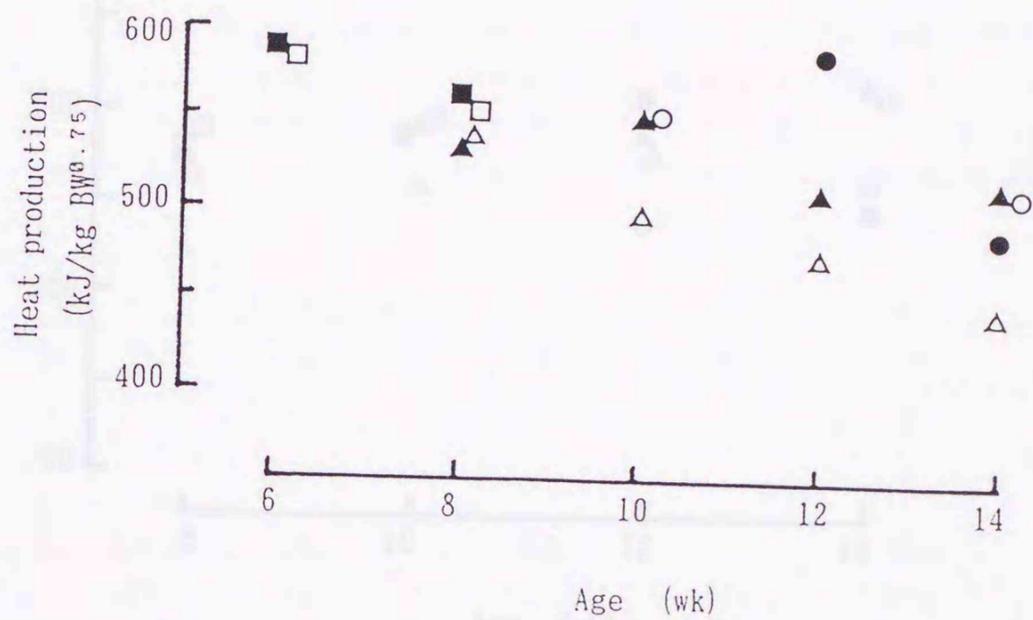


Fig. 17. Daily heat production from 6 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (■:calf 1, ▲:calf 3, ●:calf 4) and 76:14:10 (□:calf 2, △:calf 5, ○:calf 6) in Exp. 3.

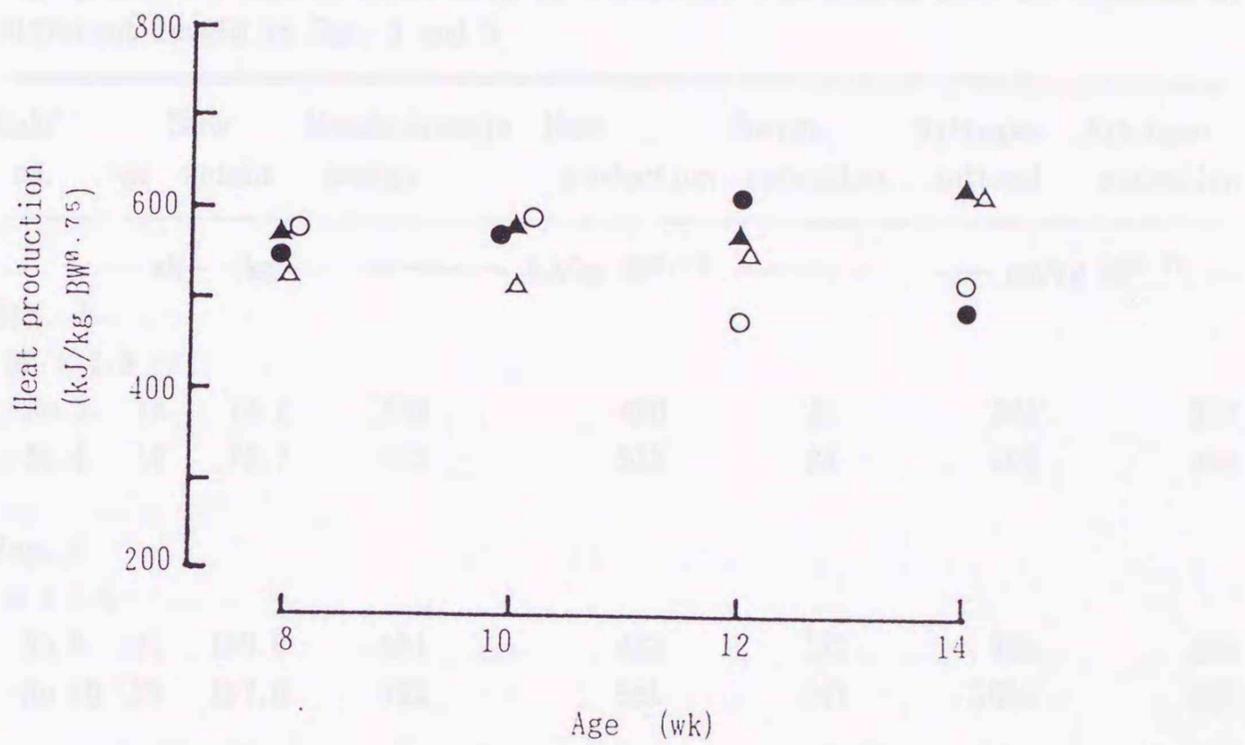


Fig. 18. Daily heat production from 8 to 14 wk of age for calves infused with VFA mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 (●,▲) and 76:14:10 (○,△) with abomasal glucose in Exp. 4.

Table 10. Balance of energy and nitrogen for individual calves infused with high propionate VFA mixtures into the rumen and with casein into the abomasum at different levels in Exp. 3 and 5

Calf no.	Body Age	Body weight	Metabolizable energy	Heat production	Energy retention	Nitrogen infused	Nitrogen retention
	- wk -	- kg -	kJ/kg BW ^{0.75}			mg/kg BW ^{0.75}	
Exp. 3							
M ^a x 1.3							
No.3	14	74.2	532	490	42	941	352
No.4	14	76.7	546	522	24	999	409
Exp. 5							
M x 1.6							
No.8	17	100.0	661	488	173	955	484
No.10	25	107.0	722	581	141	1055	487
M x 2.0							
No.5	21	112.9	879	629	250	1260	702
No.6	25	93.9	849	631	218	1285	705

^aMaintenance energy.

Table 11. Balance of energy and nitrogen, and concentration of plasma metabolites for calves infused with different VFA mixtures into the rumen with or without abomasal glucose in Exp. 3 and 4*

VFA proportions ^b	Without glucose (Exp. 3)		With glucose (Exp. 4)	
	48:42:10	76:14:10	48:42:10	76:14:10
Number of observations	7	7	8	8
Energy, kJ/kg BW ^{0.75}				
Metabolizable energy	560 ±19.9	529 ±32.9	672 ±25.2	676 ±37.9
Retention	21 ±25.9	15 ±57.5	102 ±33.9	129 ±44.6
Nitrogen, mg/kg BW ^{0.75}				
Retention	429 ±49.5	386 ±77.6	563 ±76.4	588 ±66.3
Plasma metabolites				
Glucose, mg/dL	79.7 ± 5.6	69.9 ± 7.2	93.5 ± 5.6	99.6 ±10.3
Urea-N, mg/dL	7.1 ± 1.1	6.3 ± 1.3	3.9 ± 0.5	3.1 ± 0.8
Free amino acids, mmol/L	1.97 ± 0.34	1.95 ± 0.51	1.74 ± 0.27	1.54 ± 0.19

*Means with standard deviations of 8 or 7 observations from 8 to 14 wk of age.

^bMolar proportions of acetic, propionic and butyric acids.

3. 考察

1) 第一胃内注入VFA組成が血漿中代謝物濃度に及ぼす影響

実験3では、血漿中 β ヒドロキシ酪酸濃度は8-10週齢にかけて増加した(図11b)。子牛の血中 β ヒドロキシ酪酸濃度は、離乳後に急激に増加する⁷⁰⁾。これは、第一胃粘膜組織での酪酸の代謝による β ヒドロキシ酪酸の生成が、第一胃粘膜組織の代謝能発達にともない増加するためと考えられている¹⁵⁾。従って、胃内注入法で飼育した子牛の第一胃粘膜組織の酪酸代謝能は、通常の飼育をした子牛と同様に発達したものと推察した。

実験3において、高プロピオン酸液注入子牛では、低プロピオン酸液注入子牛に比べ、8-14週齢の血漿中グルコース濃度が高い傾向にあった(図11a)。また、低プロピオン酸液注入子牛では、高プロピオン酸液注入子牛に比べ、10週齢以降の血漿中 β ヒドロキシ酪酸濃度が高かった(図11b)。注入VFA組成による血漿中グルコースや β ヒドロキシ酪酸濃度の相違は、動物への糖原性物質供給量の違いを反映したものと推察した。反芻胃内プロピオン酸産生量の増加にともない、糖新生量が増加し体組織で利用可能なグルコース量も増加する⁴¹⁾。逆に、肝臓へのグルコースやグルコース前駆体供給量の減少は、これらからのオキザロ酢酸生成量の低下を招き、その結果アセチルCoAからのケトン体合成量が増加することが指摘されている⁷⁸⁾。しかし、本実験と同様な手法により組成の異なるVFAを去勢牛に注入した場合⁶⁵⁾では、注入VFAのプロピオン酸割合が6-11mol/100molに低下するまで、血中グルコース濃度の低下や β ヒドロキシ酪酸濃度の上昇は認められなかった。

グルコース無注入の実験3とグルコースを注入した実験4を比較すると(表11), いずれのVFA組成であってもグルコース注入により血漿中グルコース濃度は増加した。このことは、第四胃内へのグルコース注入により動物体へのグルコース供給量が増加したことを裏付けている。グルコース無注入時に対するグルコース注入時の血漿中グルコース濃度の増加率は、低プロピオン酸液注入の場合は42%であったのに対し、高プロピオン酸液注入の場合は17%であった(表11)。体組織でのグルコース利用速度は、動物へのグルコースや糖原生物質供給量と関係があり、第一胃内のプロピオン酸割合が低い場合には、グルコース利用速度は減少することが報告されている³¹⁾。従って、低プロピオン酸液注入時には、外因性グルコースの体組織での利用速度が低く、第四胃内グルコース注入に伴う血漿中グルコース濃度の増加率が高かったものと推察した。

血中の尿素態窒素や遊離アミノ酸濃度は、動物の蛋白質栄養の指標として用いられている。しかし実験3では、これらの濃度には週齢や処理の違いによる明瞭な影響は認められず(図12)、必ずしも窒素出納の結果を反映しなかった。一方、Eskelandら³⁰⁾は子めん羊の静脈内に単一のVFA塩溶液を注入し、酢酸注入に比べプロピオン酸注入の方が窒素蓄積量は高く、血漿中必須アミノ酸濃度は低下することを示した。第一胃内に注入したプロピオン酸は第一胃組織や肝臓で代謝される⁶⁾ため、循環血中に現れるプロピオン酸量は少なく、静脈内注入による実験結果³⁰⁾とは異なると考えられた。

実験4では、低プロピオン酸液注入区の8,10週齢において、血

漿尿素態窒素，遊離アミノ酸濃度が高い傾向にあった(図14)。
これはインシュリンの作用によるものかもしれない。第一胃内のプロピオン酸割合が低い高い場合にはグルコース利用速度が低い³¹⁾ため，外因性グルコースに対して，血糖レベルを正常値に維持するためにより多くのインシュリンが分泌されたとも考えられる。インシュリンは末梢組織でのアミノ酸の取り込みを促進すること¹⁰⁰⁾が知られている。しかし，このような血漿中窒素成分の変動は，窒素出納の結果には反映されなかった。

一方，実験3と4を比較すると(表11)，いずれの組成のVFAを注入した場合でも，グルコース注入により尿素態窒素，アミノ酸濃度は低下した。AmosとEvans⁴⁾も，第四胃内へのグルコース注入にともない，血中尿素態窒素や遊離アミノ酸濃度が低下することを報告している。

2) 第一胃内注入VFA組成が窒素蓄積量に及ぼす影響

実験3では，低プロピオン酸液を注入した場合，10-12週齢で窒素蓄積量は低下した(図15)。一方，低プロピオン酸液を注入しても同時に第四胃にグルコースを注入した場合(実験4)では，実験3でみられた10-12週齢での窒素蓄積量の低下傾向は認められなかった(図16)。実験3と4の相違から，実験3における低プロピオン酸液注入の際の窒素蓄積量の低下は，糖原性物質の不足にともなうアミノ酸からの糖新生量の増加によるものであることが，間接的に示唆される。肝臓へのプロピオン酸供給量の低下は，アミノ酸からの糖新生量を増加させることが指摘されている⁷⁴⁾。

成長の進んだ去勢牛を用いたOrskovら⁶⁵⁾の試験では，注入

VFAのプロピオン酸割合が6mol/100molに低下するまで窒素蓄積量は低下しなかった。実験3で用いた子牛は、Φ rskovら⁶⁵⁾が用いた去勢牛よりもグルコースの要求量が高く、この要求を賄うためにアミノ酸からの糖新生量が増加したのかもしれない。実験3の子牛とΦ rskovら⁶⁵⁾の用いた去勢牛とのグルコース要求量の違いは、低プロピオン酸注入に対する血漿中グルコース濃度やβヒドロキシ酪酸濃度の反応の相違からもうかがえる。

しかし、実験3における低プロピオン酸液注入での窒素蓄積量の低下は一時的なもので、14週齢ではVFA組成の影響は認められなかった(図15)。これは、子牛のグルコース要求量が変化したためか²⁴⁾、あるいは糖原性物質の不足に対して適応したためかもしれない⁵⁰⁾。ラットでは給与飼料を高炭水化物飼料から高脂肪飼料に切り替えると尿中窒素排泄量が増加するが、飼料切り替え後4から8日目には元の値に戻ることが報告されている⁵⁰⁾。この報告⁵⁰⁾での窒素蓄積量の変化は、肝臓でのアミノ酸分解酵素の活性の変化と関連していたという。成反芻家畜でも飼料の切り替えにともない肝臓の糖新生系酵素の活性が変化する⁸¹⁾。また、若齢反芻家畜では反芻胃の発達にともない糖新生系酵素の活性が増加することが報告されている¹⁶⁾。

3) 第一胃内注入VFA組成がエネルギー出納に及ぼす影響

実験3では注入VFA組成の違いは熱発生量に大きな影響は及ぼさなかった(図17)。Φ rskovら^{60), 65)}は、本実験と同様な胃内注入法により、種々の組成のVFA液をめん羊⁶⁰⁾(25kg, 3-4カ月齢)と去勢牛⁶⁵⁾(260-330kg, 9-12カ月齢)に注入し、VFAエネルギーの利用効率を調べた。その結果、注入VFAのプロピオン酸割

合が15-45mol/100molの範囲であれば、VFAエネルギーの利用効率はその組成の影響を受けず、めん羊で約0.64、去勢牛で約0.55であったことを報告している。

また、実験3ではいずれの処理区も週齢の進行にともない熱発生量が減少する傾向にあり、低プロピオン酸液注入の場合にその傾向は顕著であった(図17)。一方、Sekineら⁸⁵⁾は早期離乳子牛のエネルギー代謝について測定し、6週齢離乳子牛の7-13週齢における成長のための代謝エネルギー利用効率は0.48-0.52で、週齢の影響はなかったことを報告している。

実験3における週齢の進行にともなう熱発生量低下は、週齢の進行にともなう体蛋白合成量の減少が第一の原因として考えられた。窒素蓄積量は週齢の若い子牛ほど高い傾向にあった(図15)。体蛋白質合成速度は幼齢な動物ほど高く、発育にともない低下する³⁵⁾。また、体蛋白質合成のためのエネルギーコストは脂肪合成のためのエネルギーコストに比べ高い⁷²⁾。従って、供給エネルギーが同一ならば、体蛋白質合成量が少ないほど、熱発生量は低下すると考えられる。

第二の原因として、週齢の進行にともない酢酸エネルギーの利用効率が変化したとも考えられる。体組織での酢酸代謝の際、グルコースに由来するオキザロ酢酸やNADPH₂供給量が少ないと、ある種の無益代謝回路(脱共役)による酢酸の酸化量が増加し、エネルギー効率が低下するという仮説が提唱されている⁴⁶⁾。体組織での利用可能なグルコースは主として肝臓での糖新生により供給される。糖新生量は、糖原性物質の量と共に、糖新生系酵素の活性に影響されるであろう。子牛の糖新生系酵

素の活性は哺乳中の子牛では低いものの、離乳にともなう糖原性物質供給量の減少に対応して増加すること¹⁶⁾が知られている。従って、離乳直後では糖新生量が少なく、酢酸エネルギーの利用効率が低かったのかもしれない。事実、5週齢で離乳した子牛の血漿中グルコース濃度は、6-8週齢にかけて増加している(図11a)。また、第四胃内グルコース注入によりグルコース供給量を高めた実験4では、熱発生量には週齢の進行にともなう一定した傾向は認められなかった(図18)ことから、離乳直後におけるVFAエネルギーの利用性は、動物体へのグルコース供給量によって影響される可能性がうかがえる。

4) 窒素蓄積に対するグルコースとVFAの影響

8-14週齢の窒素蓄積量の平均値について、実験3と4の結果を比較すると、窒素蓄積量はグルコース注入により高プロピオン酸注入区で31%、低プロピオン酸注入区で52%増加した(表11)。窒素摂取量が要求量に対し過剰な場合は、代謝エネルギー摂取量の増加にともない窒素蓄積量が増加することが知られている¹⁹⁾。実験3における窒素供給レベルは、エネルギー供給に対しては過剰であったのかもしれない。

実験3,4において8-14週齢で得られた結果をもとに、代謝体重当りの代謝エネルギー注入量(MEI)と窒素蓄積量(Nr)との回帰式を、同一VFA液を注入した処理毎に求めたところ、以下の有意な式を得た。

高プロピオン酸液注入区：

$$Nr = -264 + 1.23(\pm 0.217)MEI$$

$$(n=15, r=0.817, SE=55.9, P<0.01) \quad (1)$$

低プロピオン酸液注入区：

$$Nr = -268 + 1.25(\pm 0.226)MEI$$

$$(n=15, r=0.837, SE=70.8, P<0.01) \quad (2)$$

両回帰式の傾きと切片には有意な差はなく、両式をプールした回帰式は

$$Nr = -267 + 1.25MEI \quad (3)$$

となった。(3)式の傾きから、第一胃内注入VFA組成にかかわらず、グルコース注入による代謝エネルギー1MJ増加当たり、窒素蓄積量が1.25g増加することが示された。この値は哺乳中の子牛の第四胃にグルコースを注入したPetitら⁶⁷⁾の報告値(1.0g 窒素/MJ ME)と近似している。一方MatrasとPreston⁴⁸⁾は、成めん羊の頸静脈にグルコースを注入した場合、注入グルコース1MJあたり窒素蓄積量が0.8g増加したことを報告している。グルコースエネルギー増加量あたりの窒素蓄積増加量が報告により異なるのは、供試動物の成長段階の相違によるものであろう¹⁹⁾。

一方、VFAエネルギー増加にともなう窒素蓄積の増加量を求めるため、実験3と5で得られた結果(表10)から、代謝エネルギー注入量(MEI)と窒素蓄積量(Nr)の回帰分析を行ったところ、以下の式を得た。

$$Nr = -162 + 0.98(\pm 0.118)MEI$$

$$(n=6, r=0.972, SE=38.7, P<0.01) \quad (4)$$

この回帰式の傾きから、VFAエネルギー注入量1MJ増加につき、窒素蓄積量が0.98g増加することが示された。この値は、実験3と4において得られた、グルコースによる代謝エネルギー増加に対する窒素蓄積量の増加(1.25g/MJ ME)よりも小さかった。

糖原性物質であるプロピオン酸の割合を高めたVFA液を用いた場合でも、VFAによる注入エネルギー量増加に対する窒素蓄積量の増加が、グルコースによるものに比べ小さかったのは、実験5では、実験3,4よりも週齢の進んだ子牛を用いたことが原因の一つとして考えられた。成長にともなう空体重増加量に占める蛋白質の割合は、体重の増加に伴い減少する²⁾ので、週齢の進んだ子牛では供給エネルギーあたりの窒素蓄積量は低下する可能性^{19), 43)}がある。

他の原因として、注入エネルギーの質による違いも考慮されなければならない。Eskelandら²⁹⁾は、子めん羊の静脈内へ等エネルギー量のグルコース、酢酸、プロピオン酸、酪酸を注入し、窒素出納に及ぼす影響を比較したところ、グルコースに比べ、VFAを注入した場合の方が窒素蓄積量が低かったことを報告している。また、Asplundら¹³⁾は子めん羊を用いた胃内注入法による試験で、グルコースの第四胃内注入に比べ、同一エネルギー量の酢酸を第一胃内に注入した方が、内因性尿中窒素排泄量が高かったことを報告している。VFAに比べグルコース注入の方が窒素蓄積効果が高いのは、門脈血中へのグルコース吸収量の増加が、肝臓でのアミノ酸からの糖新生を節約⁷⁴⁾し、アミノ酸の蛋白質合成への利用を増加させるためと理解される。従って動物に供給されるエネルギー量が同一であっても、グルコースとして供給される場合よりも、VFAとして供給される方が、窒素蓄積量の増加の程度が小さいものと推察した。

5) グルコースとVFAのエネルギー利用効率

実験3と4で8-14週齢の間に得られた測定値について、代謝エ

エネルギー注入量から熱発生量差し引きエネルギー蓄積量を求め、その平均値を表11に示した。LPG区でのエネルギー蓄積量はHPG区に比べ高い傾向にあったが、標準偏差が大きいため、両者の間には大きな違いはないものと判断した。

成長のためのグルコースのエネルギー利用効率を推定するため、実験3と4で8-14週齢の間に得られた代謝エネルギー注入量(MEI)とエネルギー蓄積量(ER)について、同一のVFA液を注入した処理毎に回帰分析を行い、以下の式を得た。

高プロピオン酸液注入区：

$$ER = -331.8 + 0.640(\pm 0.144)MEI$$

(n=15, r=0.776, SE=33.4, P<0.001) (5)

高酢酸液注入区：

$$ER = -390.0 + 0.765(\pm 0.143)MEI$$

(n=15, r=0.830, SE=44.3, P<0.001) (6)

両回帰式の傾きには有意な差はなく、両回帰式の共通の傾きは0.721となった。従って、第四胃内注入グルコースの成長のためのエネルギー利用効率は、第一胃内注入VFA組成の違いにかかわらず0.72であると推定された。この値は、Armstrongら¹⁰⁾が飼料を給与した成めん羊の第四胃にグルコースを注入して推定した、肥育のためのグルコースのエネルギー利用効率(0.71)に一致した。

一方、実験3の14週齢と実験5で得られた値(表10)を用いて、代謝エネルギー注入量(MEI)とエネルギー蓄積量(ER)の回帰分析を行ったところ、以下に示す回帰式を得た。

$$ER = -274.3 + 0.595(\pm 0.096)MEI$$

$$(n=6, r=0.952, SE=31.6, P<0.01) \quad (7)$$

この回帰式の傾きから、3-6カ月齢子牛の第一胃に注入した酢酸、プロピオン酸、酪酸を48:42:10モルの割合で含むVFA混合物のエネルギー利用効率は、約0.60であると推定された。

実験5では個体によって測定時期が異なった。しかし、関根ら⁸²⁾は4および6カ月齢子牛のエネルギー代謝を比較し、この時期の子牛のエネルギー代謝に及ぼす月齢の影響は小さいことを報告している。従って、(7)式は週齢の異なる子牛の値を含んでいるものの、この回帰式の傾きは、3-6カ月齢子牛でのVFAのエネルギーの利用効率の推定値として妥当なものと考えられる。

本試験で得られた子牛でのVFAのエネルギー利用効率は、種々の組成のVFA液をめん羊⁶⁰⁾(25kg, 3-4カ月齢)と去勢牛⁶⁵⁾(260-330kg, 9-12カ月齢)に注入し、VFAエネルギーの利用効率を調べたΦ rskovらの報告値の範囲内であった。従って、3-6カ月齢子牛でのVFAのエネルギー利用効率は、より成長の進んだ反芻家畜と大きく異ならないものと考えられた。しかし、実験3でみられた週齢の進行にともなう熱発生量の低下は、より週齢の若い子牛では、VFAのエネルギー利用効率が成畜とは異なる可能性を示唆している。

高プロピオン酸VFA混合物のエネルギー利用効率(0.60)は、実験3,4で得られた8-14週齢子牛でのグルコースのエネルギー利用効率(0.72)に比べ低い傾向にあった。VFAのエネルギー効率の理論値は、グルコースに比べ低いことが指摘されている²⁰⁾。また、プロピオン酸からのグルコース合成はエネルギー消費を伴うことも指摘されている⁶⁾。従って、高プロピオン酸液注入により、

体組織で利用可能なグルコースが増加したとしても⁴¹⁾、エネルギー効率はグルコースが直接小腸から吸収される場合に比べ劣るものと考えられた。

4. 小括

子牛の個体レベルでの蛋白質・エネルギー代謝に対する、第一胃内産生プロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることを目的に、精製飼料の胃内注入法で飼育した子牛を用い3つの実験を行った。

維持の1.3倍水準での胃内注入試験(実験3)では、第一胃内注入VFA組成の違いは、6-14週齢子牛のエネルギー出納には影響を及ぼさなかったが、低プロピオン酸液を用いた場合に、離乳後一時的に窒素蓄積量が低下した。しかし、低プロピオン酸液注入による窒素蓄積量の低下は、同時に第四胃内へグルコースを注入した場合(実験4)には認められなかった。このことから、糖原性物質であるプロピオン酸の、若齢子牛の窒素蓄積に対する意義は大きいと判断した。

3-6カ月齢子牛に高プロピオン酸VFA液を異なる水準で注入した試験(実験5)では、この時期の子牛でのVFAのエネルギー利用効率が、成長の進んだ反芻家畜と大きく異なることを明らかにした。しかし、6-14週齢の子牛を維持の1.3倍水準で胃内給与飼育した場合には、週齢の進行にともない熱発生量が低下する傾向がみられた。離乳直後の子牛では、VFAのエネルギー利用効率が、成長の進んだ反芻家畜に比べ劣るのかもしれない。

高プロピオン酸VFA液注入により、血漿中グルコース濃度が増

加し、組織での利用可能グルコース量が増加することがわかれた。しかし、高プロピオン酸VFA混合物の窒素蓄積やエネルギー蓄積に対する効率は、小腸から直接吸収されるグルコースに比べると劣るものと判断した。

2. 乳牛が小腸で吸収可能なグルコース量を増加させる方法

本報告では、高プロピオン酸VFA混合物を飼料として与えることで、小腸で吸収可能なグルコース量を増加させる方法について検討した。結果として、高プロピオン酸VFA混合物を飼料として与えることで、小腸で吸収可能なグルコース量が増加することを確認した。

高プロピオン酸VFA混合物を飼料として与えることで、小腸で吸収可能なグルコース量が増加することを確認した。これは、高プロピオン酸VFA混合物が小腸で吸収されることで、小腸で吸収可能なグルコース量が増加することによるものと考えられる。また、高プロピオン酸VFA混合物を飼料として与えることで、小腸で吸収可能なグルコース量が増加することを確認した。これは、高プロピオン酸VFA混合物が小腸で吸収されることで、小腸で吸収可能なグルコース量が増加することによるものと考えられる。

第 V 章

総括および結論

本研究は、精製飼料の胃内注入法を若齢子牛に適用することにより、第一胃 VFA 吸収能の発達と個体レベルでの蛋白質・エネルギー代謝に及ぼす第一胃内注入 VFA 組成の影響を検討し、若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養における第一胃内産生プロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

1. 若齢子牛への精製飼料胃内注入法の適用

本研究では、イギリス Rowett の研究グループにより開発された精製飼料の胃内注入法^{4), 61), 62)}を、一部改変して若齢子牛に適用した。第 II 章では、出生後固形飼料を全く摂取していない若齢子牛にこの手法を適用する際には、彼らの原法⁶¹⁾よりも希薄な注入液を用いる必要があることを示した。

胃内注入法により飼育中の増体量は注入栄養量に概ね見合うものであった。また、胃内注入法で 4-5 カ月間飼育した子牛の反芻胃重量は、慣行飼育子牛に匹敵することがうかがえた。第 III 章では、反芻胃の未発達な子牛に胃内注入法を適用した場合でも、第一胃の VFA 吸収能が発達することを明らかにした。さらに第 IV 章では、血漿中 β ヒドロキシ酪酸濃度が週齢の進行にともない増加することを明らかにし、胃内注入法により飼育した子牛でも反芻胃組織の酪酸代謝能が発達することを推察した。これらのことから、胃内注入法で飼育した子牛であっても、通常に飼育した子牛のモデルとして適用できるものと判断した。

胃内注入法は、反芻胃内微生物の関与を排除することで広範囲の栄養比を設定でき、注入精製飼料の変更に対する動物の反応も極めて速いため、反芻家畜の蛋白質・エネルギー栄養の基礎的研究の一手法として、研究の発展に大きく寄与するものと思われる。本研究では、この手法の適用範囲を反芻胃の未発達な若齢反芻家畜にも広げうることを明らかにした。

2. 若齢子牛の蛋白質栄養に対するプロピオン酸の意義

成長の進んだ反芻家畜では、窒素蓄積に対する第一胃内VFA組成の変動の影響は軽微であるとみられている^{60, 65)}。しかし、本研究では第IV章において、離乳直後の子牛における窒素蓄積量は、エネルギー源として供給される栄養素の質に影響されることを明らかにした。即ち、維持の1.3倍水準の胃内注入量では、第一胃内注入VFAのプロピオン酸割合が14mol/100molの場合に、離乳後窒素蓄積量が低下した。しかし、同時にグルコースを第四胃内注入した場合には、低プロピオン酸液注入での窒素蓄積量の低下はみられなかった。このことは、離乳子牛の蛋白質栄養に対して、グルコースやプロピオン酸などの糖原性物質の供給が重要な意味を持つことを示唆している。

実際の飼料給与条件下の早期離乳子牛では、粗飼料多給時に反芻胃内VFAのプロピオン酸割合が14mol/100mol近くまで低下することも報告されている⁶⁰⁾。このような条件下では、子牛における蛋白質の利用性が低下する可能性も否定できない。

3. 若齢子牛のエネルギー栄養に対するプロピオン酸の意義

第一胃内注入VFA組成とVFA吸収能発達の関係を検討した第三章では、同一エネルギー量のVFA混合液であっても、プロピオン酸割合が高い場合にVFA吸収能の発達が促進される傾向がうかがえた。VFA吸収能の早期の発達は、発育の早い段階であっても体組織で利用可能なVFAエネルギーを多量に得られることを意味している。この点からは、第一胃内プロピオン酸のエネルギー栄養に対する意義は大きいものと判断される。

一方第四章では、第一胃から吸収されたVFAエネルギーの体組織での利用に対しては、第一胃内VFA組成の違いは大きな意味を持たないことが示唆された。また、注入VFA組成にかかわらず、熱発生量は離乳直後が高く、週齢の進行にともない低下する傾向にあった。このことは、離乳直後の子牛でのVFAのエネルギー利用効率は、発育の進んだ家畜に比べ劣る可能性を示唆している。

反芻家畜の成畜では小腸から吸収されたグルコースの、エネルギー蓄積のための利用効率は71%であると見積られている¹⁰⁾。第四章では、8-14週齢子牛であっても、第四胃内へ注入したグルコースエネルギーの72%が蓄積されることを明らかにした。しかし、プロピオン酸割合の高いVFA混合物を第一胃内注入した場合のエネルギー利用効率は、第四胃内注入グルコースのエネルギー利用効率には及ばなかった。プロピオン酸供給量の増加により体組織で利用可能なグルコースが増加したとしても、エネルギー効率は直接小腸からグルコースが吸収される場合よりも劣るものとみられた。

以上のことから若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養に対する第一胃内で産生されるプロピオン酸の意義は、

① 第一胃VFA吸収能の発達を促進し、動物体に吸収されるVFAエネルギー量を増加させる、

② 糖原性物質として蛋白質の有効利用に寄与する点にあるといえる。

本研究で得られた知見は、易発酵性の濃厚飼料を多給する早期離乳法の有効性を、消化管から吸収される栄養素レベルから支持するものである。また、第一胃内産生プロピオン酸割合が極端に低くなる給飼条件下では、動物への糖原性物質供給量の不足に留意する必要があることを示唆するものである。

要 約

反芻家畜は代謝エネルギーの大部分を反芻胃内産生揮発性脂肪酸(VFA)に依存している。反芻胃内VFA産生量は給与飼料によって変動し、粗飼料多給時には酢酸割合が、濃厚飼料多給時にはプロピオン酸割合が増加する。本研究は、精製飼料の胃内注入法を用い、異なる組成のVFA液を第一胃内へ注入することにより、若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養に対するプロピオン酸の意義に関する基礎的知見を得ることを目的とした。得られ結果は以下の通りである。

1. 若齢子牛への精製飼料胃内注入法の適用

1) 2-4週齢子牛に第一胃カニューレと第四胃カテーテルを装着、3-5週齢から第一胃内へはVFA液と緩衝液、第四胃内へはカゼインと微量栄養素を注入する胃内注入法による飼育を開始した。最長7カ月齢まで注入精製飼料だけで飼育した。第一胃内容液の浸透圧とpHおよび消化管の形態から、若齢子牛への胃内注入飼育法の適用方法と有効性を検討した(実験1)。

2) ナイロン製の網を用いることで、第一胃カニューレを堅固に保持することができた。これにより、6カ月間にわたる長期間の胃内注入を行っても、カニューレ装着部位からの内容液漏出を防止できた。

3) 緩衝液注入には2本のチューブを使用することで、チューブ内の析出物によって緩衝液注入が停止するという事故を防止できた。

4) 胃内注入開始初期では、VFA液に0.7-1.0mol/L、緩衝液に0.2-0.3mol/Lの注入液を用い、維持相当量のVFA液を注入できた。

胃内注入開始初期では、原法より希薄な注入液を用いることが必要とされた。

5) 17週齢以降は、胃内注入開始初期よりも濃厚な注入液を用いて、維持の2.0倍まで注入水準を高めることができた。

6) 胃内注入飼育期間中の日増体量は注入水準に見合うものであり、維持の1.3倍注入では約0.3kg、維持の2.0倍では約0.8kgであった。

7) 胃内注入法により4-6カ月間飼育した子牛の第一胃組織重量は慣行飼育子牛に匹敵したが、第三胃と腸管組織重量は小さかった。第一胃の絨毛長は最大約10mmに達し、形状は櫛状であった。第一胃粘膜の色調は淡色であった。

2. 第一胃内プロピオン酸とVFA吸収能の発達

1) 酢酸：プロピオン酸：酪酸のモル比を48：42：10および76：14：10とする維持相当量のVFA混合液を第一胃内へ、カゼインを第四胃内へ注入する胃内注入飼育を3-6週齢から開始し、注入VFA組成の違いが子牛の第一胃VFA吸収能発達に及ぼす影響を検討した。胃内注入開始後約35および70日まで、1-2週間毎に第一胃内VFA濃度、第一胃内容液量、第一内容液流出速度を測定し、これらの測定値と注入VFA量から、第一胃内VFA吸収速度定数および吸収量を算出した(実験2)。

2) 第一胃内総VFA濃度は試験期間を通じてほぼ一定で、注入VFA組成によって影響されなかった。

- 3) 体重当りの第一胃内容液量は胃内給与開始後40-50日目まで低下し、その後増加する傾向にあり、低プロピオン酸液を注入した方が高プロピオン酸注入に比べ高い値で推移した。
- 4) 第一胃内容液の流出速度定数は注入VFA組成によって影響されなかったが、注入期間の進行にともない低下した。
- 5) 総VFAの吸収速度定数は、高プロピオン酸注入では胃内給与開始後約40日で最大値(約70%/h)に達したが、低プロピオン酸注入では約70日後まで緩やかに増加した。各酸の吸収速度定数にも同様な傾向がみられた。
- 6) 胃内注入開始初期では、高プロピオン酸注入の方が総VFAおよび各酸の吸収速度定数ならびに総VFA吸収量は高かった。

3. 第一胃内プロピオン酸と若齢子牛の蛋白質・エネルギー代謝

- 1) 酢酸:プロピオン酸:酪酸のモル比を48:42:10および76:14:10とする2種類のVFA混合液を用い、維持1.3倍水準で胃内注入法による飼育をした場合(実験3)、同一条件でさらにグルコースを第四胃内注入した場合(実験4)について、第一胃内注入VFA組成の違いが若齢子牛の血液中代謝物濃度、窒素出納および熱発生量に及ぼす影響を検討した。さらに、高プロピオン酸VFA混合液を異なる水準で注入し、子牛における高プロピオン酸混合物のエネルギー利用効率を推定した(実験5)。
- 2) 胃内注入法による飼育時の日増体量はいずれの条件下でも、各注入水準での期待増体量に近似していた。
- 3) 血漿中グルコース濃度は、維持1.3倍水準の場合、6-8週齢に

かけて増加し、その後一定値で推移した。また、低プロピオン酸注入に比べ高プロピオン酸注入の方が高い傾向にあった。同時に第四胃内へグルコースを注入した場合には、注入VFA組成および週齢の影響はなかった。グルコース無注入に比べ、グルコース注入で増加した。

4) 血漿中 β ヒドロキシ酪酸濃度は、維持1.3倍水準の場合、6-10週齢にかけて増加し、その後一定値で推移した。また、低プロピオン酸注入に比べ高プロピオン酸注入の方が低い傾向にあった。

5) 血漿中尿素態窒素および遊離アミノ酸濃度は、維持1.3倍水準の場合、注入VFA組成や週齢に影響されなかった。同時に第四胃内へグルコースを注入した場合には、8-10週齢で低プロピオン酸注入に比べ高プロピオン酸注入の方が高い傾向にあった。また、グルコース無注入に比べ、グルコース注入で低下した。

6) 窒素蓄積量は、維持1.3倍水準の場合、低プロピオン酸液注入時に10-12週齢で低下した。同時に第四胃内へグルコースを注入した場合には、注入VFA組成および週齢の影響はなかった。また、グルコース無注入に比べ、グルコース注入で増加した。

7) 熱発生量は、維持1.3倍水準の場合、週齢の進行にともない減少したが、注入VFA組成の影響は明瞭ではなかった。同時に第四胃内へグルコースを注入した場合には、注入VFA組成および週齢の影響はなかった。

8) 8-14週齢子牛では、グルコースによる代謝エネルギー増加1MJにつき窒素蓄積量が1.25g増加した。また、グルコースのエネルギー利用効率は72%であった。

9) 3-6カ月齢子牛では、高プロピオン酸混合物による代謝エネルギー増加1MJにつき窒素蓄積量が0.98g増加した。また、高プロピオン酸VFA混合物のエネルギー利用率は60%であった。

以上のことから、第一胃内で産生されるプロピオン酸は、

- ① 第一胃VFA吸収能の発達を促進し、動物体に吸収されるVFAエネルギー量を増加させる、
 - ② 糖原性物質として蛋白質の有効利用に寄与すること、
- 若齢子牛の蛋白質・エネルギー栄養に対して大きな意義をもつものと結論した。

謝 辞

本研究をとりまとめるに当たり、終始懇切なるご指導を賜り、かつご校閲の労をおとりいただいた北海道大学教授朝日田康司博士に衷心から感謝の意を表す。また、北海道大学教授上山英一博士ならびに同助教授大久保正彦博士には、ご校閲の労をおとりいただき、多大なご教示、ご指導を賜った。さらに広島大学教授山谷洋二博士ならびに同助教授谷口幸三博士には、常に有益なご助言とご教示を賜り、様々な面で研究遂行の便宜をはかっていただいた。また、広島大学生物生産学部家畜飼養学研究室の学生諸氏には、絶大なるご協力をいただいた。ここに、以上の各位に衷心より感謝の意を表する次第である。

参考文献

- 1) Abdul-Razzaq, H.A., R. Bickerstaffe and G.P. Savage, The influence of rumen volatile fatty acids on blood metabolites and body composition of growing lambs. *Aust. J. Agric. Res.*, 39:505-515. 1988.
- 2) Agricultural Research Council, The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. 1-181. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. 1980.
- 3) Agricultural Research Council, The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Supplement no. 1. 15-24. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. 1984.
- 4) Amos, H.E. and J.J. Evans, Nitrogen metabolism of growing lambs fed coastal bermudagrass as influenced by formaldehyde treatment and glucose. *J. Anim. Sci.*, 51:712-721. 1980.
- 5) Annison, E.F. and D.G. Armstrong, Volatile fatty acid metabolism and energy supply. in *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (Phillipson, A.T., ed.) 422-437. Driel Press. Newcastle upon Tyne. 1970.
- 6) Armentano, L.E., Ruminant hepatic metabolism of volatile fatty acids, lactate and pyruvate. *J. Nutr.*, 122:838-842. 1992.
- 7) Armstrong, D.G. and K.L. Blaxter, The heat increment of steam volatile fatty acids in fasting sheep. *Br. J. Nutr.*, 11:247-270. 1957.
- 8) Armstrong, D.G. and K.L. Blaxter, The heat increments of mixtures of steam volatile fatty acids in fasting sheep. *Br. J. Nutr.*, 11:392-408. 1957.
- 9) Armstrong, D.G. and K.L. Blaxter, The utilization of acetic, propionic and butyric acids by fattening sheep. *Br. J. Nutr.*, 11:413-425. 1957.
- 10) Armstrong, D.G., K.L. Blaxter and N.M. Graham, Fat synthesis from glucose by sheep. *Proc. Nutr. Soci.*, 19:31-32. 1960.
- 11) Armstrong, D.G., K.L. Blaxter and N.M. Graham, The heat increment in fasting sheep of acetic acid partially neutralized with sodium hydroxide. *Br. J. Nutr.*, 15:169-175. 1961.
- 12) 浅井豊太郎・佐々木康之, 子牛の消化器官の解剖学的発達に関する研究. *東北農試研報*, 40:209-224. 1970.
- 13) Asplund, J.M., E.R. Ørskov, F.D. DeB. Hovell and N. MacLeod, The effect of intragastric infusion of glucose, lipids or acetate on fasting nitrogen excretion and blood metabolites in sheep. *Br. J.*

- Nutr., 54:189-195. 1985.
- 14) Asplund, J.M., Somatic nutrient requirements of ruminants. *Ann. Rev. Nutr.*, 6:95-112. 1986.
 - 15) Baldwin, R.L., VI, and B.W. Jesse, Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep ruminal cells. *J. Nutr.*, 122:1149-1153. 1992.
 - 16) Bartley, J.C., R.A. Freedland and A.L. Black, Effect of aging and glucose loading on the activities of glucose-6-phosphatase and phosphorylase. *Am. J. Vet. Res.*, 27:1243-1248. 1966.
 - 17) Bergman, E.N., Production and utilization of metabolites by the alimentary tract as measured in portal and hepatic blood. in *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (McDonald, I.W. and A.C.I. Warner, eds.) 292-305. University of New England Publishing Unit. Armidale. 1975.
 - 18) Bergman, E.N. and R.N. Heitmann, Metabolism of amino acids by the gut, liver, kidneys, and peripheral tissues. *Fed. Proc.*, 37:1228-1232. 1978.
 - 19) Black, J.L. and D.A. Griffiths, Effects of live weight and energy intake on nitrogen balance and total N requirement of lambs. *Br. J. Nutr.*, 33:399-413. 1975.
 - 20) Blaxter, K.L., *Energy Metabolism in Animal and Man*. 260-297. Cambridge University Press. Cambridge. 1989.
 - 21) Bull, L.S., J.T. Reid and D.E. Johnson, Energetics of sheep concerned with the utilization of acetic acid. *J. Nutr.*, 100: 262-276. 1970.
 - 22) Ceriotti, G., Ultramicrodetermination of plasma urea by reaction with diacetylmonoxime-antipyrine without deproteinization. *Clin. Chem.*, 17:400-402. 1971.
 - 23) Church, D.C., *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants vol.1. Digestive Physiology*. 2nd ed. 280-291. O & B Books. Oregon. 1976.
 - 24) Colvin, H.W. Jr., J.T. Attebery and L.B. Daniels, Effect of diet on glucose tolerance of dairy calves one to thirteen weeks old. *J. Dairy Sci.*, 50:362-370. 1967.
 - 25) Danielli, J.F., M.W.S. Hitchcock, R.A. Mrrshall and A.J. Phillipson, The mechanism of absorption from the rumen as exemplified by the behavior of acetic, propionic and butyric acids. *J. Exp. Biol.*, 22:75-84. 1945.
 - 26) Deyle, Z. and M. Horakova, Profiling of amino acids in fluids and tissues by means of liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 379:177-250. 1986

- 27) Dougherty, R.W., Fistulas and pouches in ruminants. in *Experimental Surgery in Farm Animals*. 24-48. The Iowa State University Press. Iowa. 1981.
- 28) Engerhardt, W.V., Movement of water across the rumen epithelium. in *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (Phillipson, A.T., ed.) 132-146. Oriel Press. England. 1970.
- 29) Eskeland, B., W.H. Pfander and R.L. Preston, Utilization of volatile fatty acids and glucose for protein deposition in lambs. *Br. J. Nutr.*, 29:347-355. 1973.
- 30) Eskeland, B., W.H. Pfander and R.L. Preston, Intravenous energy infusion in lambs: effects on nitrogen retention, plasma free amino acids and plasma urea nitrogen. *Br. J. Nutr.*, 31:201-211. 1974.
- 31) Evans, E. and J.G. Buchanan-Smith, Effects upon glucose metabolism of feeding a low- or high-roughage diet at two levels of intake to sheep. *Br. J. Nutr.*, 33:33-44. 1975.
- 32) Flatt, W.P., R.G. Warner and J.K. Loosli, The influence of purified materials on the development of the ruminant stomach. *J. Dairy Sci.*, 41:1593-1600. 1958.
- 33) Gross, K.L., D.L. Harmon and T.B. Avery, Portal-drained visceral flux of nutrients in lambs fed alfalfa or maintained by total intragastric infusion. *J. Anim. Sci.*, 68:214-221. 1990.
- 34) Hanson, R.W. and F.J. Ballard, The relative significance of acetate and glucose as precursor for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants. *Biochem. J.*, 105:529-536. 1967.
- 35) Harris, P.M. and G.E. Lobley, Amino acids and energy metabolism in peripheral tissues of ruminants. in *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. (Tsuda, T., Y. Sasaki and R. Kawashima, eds.) 201-230. Academic Press. San Diego. 1991.
- 36) Harrison, H.N., R.G. Warner, E.G. Sander and J.K. Loosli, Changes in the tissue and volume of the stomachs of calves following the removal of dry feed or consumption of inert bulk. *J. Dairy Sci.*, 43:1301-1312. 1960.
- 37) Hovell, F.D. DeB, J.F.D. Greenhalgh and F.W. Wainman, The utilization of diets containing acetate salts by growing lambs as measured by comparative slaughter and respiration calorimetry, together with rumen fermentation. *Br. J. Nutr.*, 35:343-363. 1976.
- 38) Hovell, F.D. DeB. and J.F.D. Greenhalgh, The utilization of diets containing acetate, propionate and butyrate salts by growing lambs. *Br. J. Nutr.*, 40:171-183. 1978.

- 39) Hovell, F.D. DeB., E.R. Ørskov, D.J. Kyle and N.A. MacLeod, Undernutrition in sheep. Nitrogen repletion by N-depleted sheep. *Br. J. Nutr.*, 57:77-88. 1987.
- 40) Jenkins, T.C. and M.L. Thenney, Effects of propionate level in a volatile fatty acid salt mixture fed to lambs on weight gain, body composition and plasma metabolites. *J. Anim. Sci.*, 66:1028-1035. 1988.
- 41) Judson, G. and R.A. Leng, Studies on the control of gluconeogenesis in sheep: effect of propionate, casein and butyrate infusion. *Br. J. Nutr.*, 29:175-195. 1973.
- 42) Kabasakalian, P., S. Kalliney and A. Westcott, Enzymatic blood glucose determination by colorimetry of N, N-diethyl-aniline-4-aminoantipyrine. *Clin. Chem.*, 20:606-607. 1974.
- 43) Lindberg, J.E., Nitrogen metabolism and urinary excretion of purines in goat kids. *Br. J. Nutr.*, 61:309-321. 1989.
- 44) MacLeod, N.A., W. Corrigan, R.A. Stirton and E.R. Ørskov, Intra-gastric infusion of nutrients in cattle. *Br. J. Nutr.*, 47:547-552. 1982.
- 45) MacLeod, N.A., E.R. Ørskov and T. Atkinson, The effect of pH on the relative proportions of ruminal volatile fatty acids in sheep sustained by intra-gastric infusions. *J. Agric. Sci.*, 103:459-462. 1984.
- 46) MacRae, J.C. and G.E. Lobley, Some factors which influence thermal energy losses during the metabolism of ruminants. *Livest. Prod. Sci.*, 9:447-456. 1982.
- 47) MacLae, J.C. and G.E. Lobley, Interaction between energy and protein. in *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants.* (Milligan, L.P., W.L. Grovum and A. Dobson, eds.) 367-385. Prentice-Hall. New Jersey. 1986.
- 48) Matras, J. and R.L. Preston, The role of glucose infusion on the metabolism of nitrogen in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 67:1642-1647. 1989.
- 49) McLean, J.A. and G. Tobin, *Animal and Human Calorimetry.* 94-112. Cambridge University Press. Cambridge. 1987.
- 50) 中野紀和男・芦田淳, エネルギー代謝とアミノ酸代謝—脂肪および炭水化物の蛋白質節約効果の生理学的基礎—。蛋白質 核酸 酵素. 14:1328-1335. 1969.
- 51) 農林水産省農林水産技術会議事務局, 日本飼養標準 乳牛. 40-42. 中央畜産会. 東京. 1987.
- 52) Ohtani, S., Y. Asahida and Y. Hirose, The effect of grazing on the

- development of the alimentary tracts in the young calf. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 47:175-180. 1976.
- 53) Ohtani, S., Y. Asahida and Y. Hirose, The effect of grazing on the development of ruminal mucosa and papillae in the young calf. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 47:218-223. 1976.
- 54) 大森昭一郎, 幼若反芻動物における消化機能の発達と代謝の変化. *日畜会報*, 43:231-238. 1972.
- 55) 大森昭一郎・小林剛, 牛乳と乾草で飼育した子牛の第一胃内低級脂肪酸生産量. *畜試研報*. 31:17-25. 1976.
- 56) Ørskov, E.R. and D.M. Allen, Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. 1. Acetate, propionate and butyrate as source of energy for young growing lambs. *Br. J. Nutr.*, 20:295-305. 1966.
- 57) Ørskov, E.R., F.D. Hovell and D.M. Allen, Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. 2. Effect of stage of maturity and hormone implantation on the utilization of volatile fatty acid salts as source of energy for growth and fattening. *Br. J. Nutr.*, 20:307-315. 1966.
- 58) Ørskov, E.R. and D.M. Allen, Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. 3. Effect of frequency of feeding on the utilization acetate and propionate by young growing lambs. *Br. J. Nutr.*, 20:509-517. 1966.
- 59) Ørskov, E.R. and D.M. Allen, Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. 4. Effects of type of fermentation of the basal diet on the utilization of salts of volatile fatty acids for nitrogen retention and body gains. *Br. J. Nutr.*, 20:519-532. 1966.
- 60) Ørskov, E.R., D.A. Grubb, J.S. Smith, A.J.F. Webster and W. Corrigall, Efficiency of utilization of volatile fatty acids for maintenance and energy retention by sheep. *Br. J. Nutr.*, 41:541-551. 1979.
- 61) Ørskov E.R., D.A. Grubb, G. Wenham and W. Corrigall, The sustenance of growing and fattening ruminants by intragastric infusion of volatile fatty acid and protein. *Br. J. Nutr.*, 41:553-559. 1979.
- 62) Ørskov E.R., N.A. MacLeod and R.N.B. Kay and P.C. Gregory, Method and validation of intragastric nutrition. *Can. J. Anim. Sci.*, 64(suppl.):138-139. 1984.
- 63) Ørskov E.R., N.A. MacLeod and D.J. Kyle, Flow of nitrogen from the rumen and abomasum in cattle and sheep given protein-free nutrients by intragastric infusion. *Br. J. Nutr.*, 56: 241-248. 1986.
- 64) Ørskov E.R. and N.A. MacLeod, Dietary-induced thermogenesis and

- feed evaluation in ruminants. Proc. Nutr. Soc., 49:227-237. 1990.
- 65) Ørskov E.R., N.A. MacLeod and Y. Nakashima, Effect of different volatile fatty acids mixtures on energy metabolism in cattle. J. Anim. Sci., 69:3389-3397. 1991.
- 66) Oshio, S. and I. Tahata, Absorption of dissociated volatile fatty acids through the rumen wall of sheep. Can. J. Anim. Sci., 64(Suppl.):167-168. 1984.
- 67) Petit, H.V., M. Ivan and G.J. Brisson, Effect of duodenal infusion of glucose on blood parameters, ileal flow, and digestibility in preruminant calves fed a nonclotting milk replacer. J. Dairy Sci., 71:2181-2186. 1986.
- 68) Poole, D.A. and D.M. Allen, Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. 5. Effects of type of fermentation of the basal diet on the utilization of salts of acetic acid for body gains. Br. J. Nutr., 24:695-704. 1970.
- 69) Preston, T.R. and R.A. Leng, Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. 51-56. Penambul Books. Armidale. 1987.
- 70) Quigley, J.D., III, L.A. Caldwell, G.D. Sinks and R.N. Heitmann, Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. J. Dairy Sci., 74:250-257. 1991.
- 71) Quigley, J.D. III, Z.P. Smith and R.N. Heitmann, Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. J. Dairy Sci., 74:258-263. 1991.
- 72) Reid, J.T., O.D. White, R. Aarique and A. Fortin, Nutritional energetics of livestock: some present boundaries of knowledge and future reserch needs. J. Anim. Sci., 51:1393-1415. 1980.
- 73) Reynolds, C.K. and G.B. Huntington, Partition of portal-drained visceral net flux in beef steers. 1. Blood flow and net flux of oxygen, glucose, and nitrogenous compounds across stomach and post-stomach tissues. Br. J. Nutr., 60:539-551. 1988.
- 74) Reynolds, C.K., H.F. Tyrrell and P.J. Reynolds, Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: net nutrient metabolism by visceral tissues. J. Nutr., 121:1004-1015. 1991.
- 75) Reynolds, C.K., Metabolism of nitrogen compounds by ruminant liver. J. Nutr., 122:850-854. 1992.
- 76) Robb, J. and J.T. Reid, Energetic efficiency of the utilization of acetic acid and glycerol by fattening sheep. Br. J. Nutr., 28:249-

259. 1972.
- 77) Rook, J.A.F., C.C. Balch, R.C. Campling and L.J. Fisher, The utilization of acetic, propionic and butyric acids by growing heifers. *Br. J. Nutr.*, 17:399-406. 1963.
- 78) Rook, J.A.F., Nutritional imbalances, in *Nutritional Physiology of Farm Animals*. (Rook, J.A.F. and P.C. Thomas, eds.) 369-379. Longman. London. 1983.
- 79) Sander, F.G., R.G. Warner, H.M. Harrison and J.K. Loosli, The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *J. Dairy Sci.*, 42: 1600-1605. 1959.
- 80) Sasaki, Y., K. Takeshita, S. Watanabe and T. Asai, Development of the utilization of volatile fatty acids in young calves observed by arterio-venous difference. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 40:139-150. 1969.
- 81) Scaife, J.R. and N.S. Jessop, The influence of diet on the activity of certain lipogenic and glucogenic enzymes in sheep liver and adipose tissue. *Biochem. Soci. Trans.*, 15:827-828. 1987.
- 82) 関根純二郎・森田茂・諸岡敏生・近藤誠司・大久保正彦・朝日田康司, 発育中の早期離乳牛の4および6カ月齢における維持に要する代謝エネルギー量. *日畜会報*. 56:920-924. 1985.
- 83) Sekine, J., M. Hanada, S. Morita, T. Morooka, S. Kondo, M. Okubo and Y. Asahida, A note on estimation of urinary energy from nitrogen contents of urine in early weaned calves up to 6 months of age. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 57:620-623. 1986.
- 84) Sekine, J., T. Morooka, M. Okubo and Y. Asahida, The estimation of metabolizable energy requirements for maintenance and growth of growing calves weaned at six weeks of age. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 58:266-272. 1987.
- 85) Sekine, J., R. Oura, S. Morita, T. Morooka, and Y. Asahida, Effect of age on energy utilization of early weaned growing calves weighing less than 100 kg. *Anim. Prod.*, 48:75-79. 1989.
- 86) Smith, R.H., The development and function of the rumen in milk-fed calves. *J. Agric. Sci.*, 52:72-78. 1959.
- 87) Steinhour, W.D. and D.E. Bauman, Propionate metabolism: a new interpretation. in *Aspects of Digestive Physiology in Ruminants*. (Dobson, A. and M.J. Dobson, eds.) 238-256. Cornell University Press. Ithaca. 1988.
- 88) Stern, J.S., C.A. Baile and J. Mayer, Growth hormone, insulin, and glucose in suckling, weanling, and mature ruminants. *J. Dairy*

- Sci., 54:1052-1059. 1971.
- 89) Stevens, C.E., Fatty acid transport through the rumen epithelium. in Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. (Phillipson, A.T., ed.) 101-112. Oriel Press. England. 1970.
- 90) Stobo, I.J.F., J.H.B. Roy and H.J. Gaston, Rumen development in the calf. 2. The effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on digestive efficiency. Br. J. Nutr., 20: 189-215. 1966.
- 91) Sutton, J.D., A.D. McGilliard and N.L. Jacobson, Functional development of rumen. I. Absorptive ability. J. Dairy Sci., 46: 426-436. 1963.
- 92) Sutton, J.D., A.D. McGilliard, M. Richard and N.L. Jacobson, Functional development of rumen. II. Metabolic activity. J. Dairy Sci., 46:530-537. 1963.
- 93) Tamate, H., A.D. McGilliard, N.L. Jacobson and R. Getty, Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. J. Dairy Sci., 45:408-420. 1962.
- 94) 玉手英夫, 反芻胃の機能形態に関する諸問題. 日畜会報, 44:83-90. 1973.
- 95) Thorlacious, S.O. and G.A. Lodge, Absorption of steam-volatile fatty acids from the rumen of the cow as influenced by diet, buffers, and pH. Can. J. Anim. Sci., 53:279-288. 1973.
- 96) Trenkle, A.H., Amino acid metabolism and hormonal control during growth. in Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. (Ruckebush, Y. and P. Thivend, eds.) 505-522. MTP Press. England. 1979.
- 97) Tyrrell, H.F., P.J. Reynolds and P.W. Moe, Effects of diet on partial efficiency of acetate use for body tissue synthesis by mature cattle. J. Anim. Sci., 48:598-606. 1979.
- 98) Veenhuizen, J.J., R.W. Russel and J.W. Young, Kinetics of metabolism of glucose, propionate and CO₂ in steers as affected by injecting phlorizin and feeding propionate. J. Nutr., 118:1366-1375. 1988.
- 99) Weekes, T.E.C. and A.J.F. Webster, Metabolism of propionate in the tissue of the sheep gut. Br. J. Nutr., 33:425-438. 1975.
- 100) Weekes, T.E.C., Hormonal control of glucose metabolism. in Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. (Tsuda, T., Y. Sasaki and R. Kawashima, eds.) 183-200. Academic Press. San Diego. 1991.
- 101) Weigand, E., J.W. Young and A.D. McGilliard, Extent of butyrate metabolism by bovine ruminoreticulum epithelium and the relationship to absorption rate. J. Dairy Sci., 55:589-597. 1972.

- 102) Williams, P.E.V., G.M. Innes, A. Brewer and J.P. Magadi, The effect on growth, food intake and rumen volume of including untreated or ammonia-treated barley straw in a complete diet for weaning calves. Anim. Prod., 41:63-74. 1985.
- 103) Williamson, D.H., J. Mellanby and H.A. Krebs, Enzymic determination of D(-)- β -hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. Biochem. J., 82:90-98. 1962.

The Role of Propionate Produced in the Rumen on
the Nutrition of Young Calves

- A Study with Application of the Intra-gastric
Nutrient Infusion Technique

Taketo OBITSU

Summary

Ruminants largely depend on volatile fatty acids (VFA) produced in the rumen to satisfy their needs of metabolizable energy. The quantity and quality of VFA produced in the rumen varies with diets; the propionate proportion in the VFA increases with a high-concentrate diet and that decreases with a high-roughage diet.

The objective of this study is to investigate the role of propionate produced in the rumen on nutrition of protein and energy in young calves, using the intra-gastric nutrient infusion technique.

1. Application of the Intra-gastric Nutrient Infusion Technique to Young Calves

1) Calves fitted with a ruminal cannula and an abomasal catheter at 2-4 wk of age were nourished by purified diets infused into the rumen and abomasum from 3-5 wk of age. A mixture of VFA with major minerals and a bicarbonate buffer solution were infused into the rumen separately. Casein, trace minerals and vitamins were infused into the abomasum. The validity of application of intra-gastric nutrition to young calves was investigated (Exp. 1).

2) Ruminal cannula was fitted securely by nylon mesh placed around the cannula. Leakage of ruminal liquor from the cannula was not observed over 6 months.

3) Substances exuded in the infusion tube for buffer solution sometimes reduced the infusion rate of buffer. Two tubes were used for buffer

infusion to prevent a decrease of the infusion rate.

4) Calves were successfully infused with VFA at the level of maintenance energy when the total VFA concentration of the VFA solution was 0.7-1.0 mol/L and the bicarbonate concentration of buffer solution was 0.2-0.3 mol/L. These concentrations of VFA and bicarbonates were lower than those used for mature ruminants.

5) After 17 wk of age, calves could be infused with nutrients up to twice maintenance level.

6) Daily body weight gain of calves nourished at 1.3 times maintenance level was 0.3 kg, whereas that at 2.0 times maintenance was 0.8 kg. These values were nearly equal to expected body-weight gain based on the infused amount of nutrients.

7) The tissue weight of the reticulo-rumen of calves nourished by intragastric infusion for 4-6 months was similar to that of calves fed conventional diets, but the weights of the omasum and intestine were smaller. The rumen papillae were paddle-shaped and narrow. The rumen mucosa was light in color.

2. Relationships between Propionate Produced in the Rumen and the Development of Ruminal Absorptive Capacity of Volatile Fatty Acids

1) Calves nourished by intragastric infusion from 3-6 wk of age were used to study the influence of VFA compositions infused into the rumen on the ruminal absorption rate of VFA (Exp. 2). Calves were intraruminally infused with VFA-mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 and 76:14:10 at the maintenance energy level. The volume and fractional outflow rate of ruminal liquor were determined every 1-2 weeks during 35 or 70 d of the infusion period with polyethylene glycol as a flow marker. The fractional absorption rate of VFA was calculated kinetically on the basis of the volume and fractional outflow rate of ruminal liquor, ruminal VFA concentration and infused VFA.

2) Neither VFA compositions infused into the rumen nor the infusion

period affected ruminal concentration of total VFA.

3) The volume of ruminal liquor per body weight decreased until the 40-50 d of infusion, and then slightly increased. The volume of ruminal liquor was larger for calves infused with the low-propionic mixture than that with the high-propionic mixture.

4) The fractional outflow rate of ruminal liquor was not affected by the VFA composition infused into the rumen, but decreased with advancing the infusion period.

5) The fractional absorption rates of total VFA and each acid for calves infused with high-propionic mixture reached a maximum at the 40 d of infusion, but that with low-propionic mixture gradually increased until the 70 d of the infusion period.

6) The fractional absorption rates of total VFA and each acid were higher with the high-propionic mixture than those with the low-propionic mixture during the first 40 d of the infusion period.

3. Relationships between Propionate Produced in the Rumen and Metabolism of Nitrogen and Energy in Young Calves

1) Calves nourished by the intragastric infusion were used to study the influence of VFA compositions infused into the rumen on nitrogen balance, heat production and plasma concentrations of metabolites. In Exp. 3, calves aged 6 to 14 wk were intraruminally infused with VFA-mixtures containing acetic, propionic and butyric acids in the molar proportions 48:42:10 and 76:14:10. Total energy infused was 1.3 times maintenance energy level. In Exp. 4, calves aged 8 to 14 wk were infused with the same VFA mixtures as Exp. 3 with abomasal glucose infusion. In exp. 5, the efficiency of utilization of metabolizable energy of the high-propionic VFA mixture for growth was estimated with calves aged 3 to 6 months.

2) Daily body weight gain of calves at each experiment was nearly equal to expected body-weight gain.

3) Plasma glucose concentration for calves infused at 1.3 times

maintenance level increased from 6 to 8 wk of age, and that was higher with the high-propionic mixture than with the low-propionic mixture (Exp. 3). With abomasal glucose infusion, plasma glucose concentration was increased, but neither age nor VFA compositions infused into the rumen affected plasma glucose concentration (Exp. 4).

4) Plasma concentration of β -hydroxybutyrate for calves infused at 1.3 times maintenance level increased from 6 to 10 wk of age, and that was lower with the high-propionic mixture than with the low-propionic mixture (Exp. 3).

5) Neither age nor VFA compositions infused into the rumen affected plasma concentrations of urea and free amino acids for calves infused at 1.3 times maintenance level (Exp. 3). With abomasal glucose infusion, plasma concentrations of urea and free amino acids at 10 to 12 wk of age were higher with the high-propionic mixture than those with the low-propionic mixture (Exp. 4). Plasma concentrations of urea and free amino acids decreased with abomasal glucose infusion.

6) Nitrogen retention decreased with the low-propionic mixture at 1.3 times maintenance level during 10 to 12 wk of age (Exp. 3). With abomasal glucose infusion, VFA compositions infused into the rumen did not affect nitrogen retention (Exp. 4). Abomasal glucose infusion increased nitrogen retention.

7) Heat production for calves infused at 1.3 times maintenance level decreased with advancing age, but that was not affected by VFA compositions infused into the rumen (Exp. 3). With abomasal glucose infusion, neither age nor VFA compositions affected heat production (Exp. 4).

8) Based on the proportional increase in nitrogen retention relative to the increase in metabolizable energy with glucose infusion, nitrogen retention for calves aged 8 to 14 wk was 1.25 g per 1 MJ of glucose. Efficiency of utilization of glucose energy for growth in these calves was 72%.

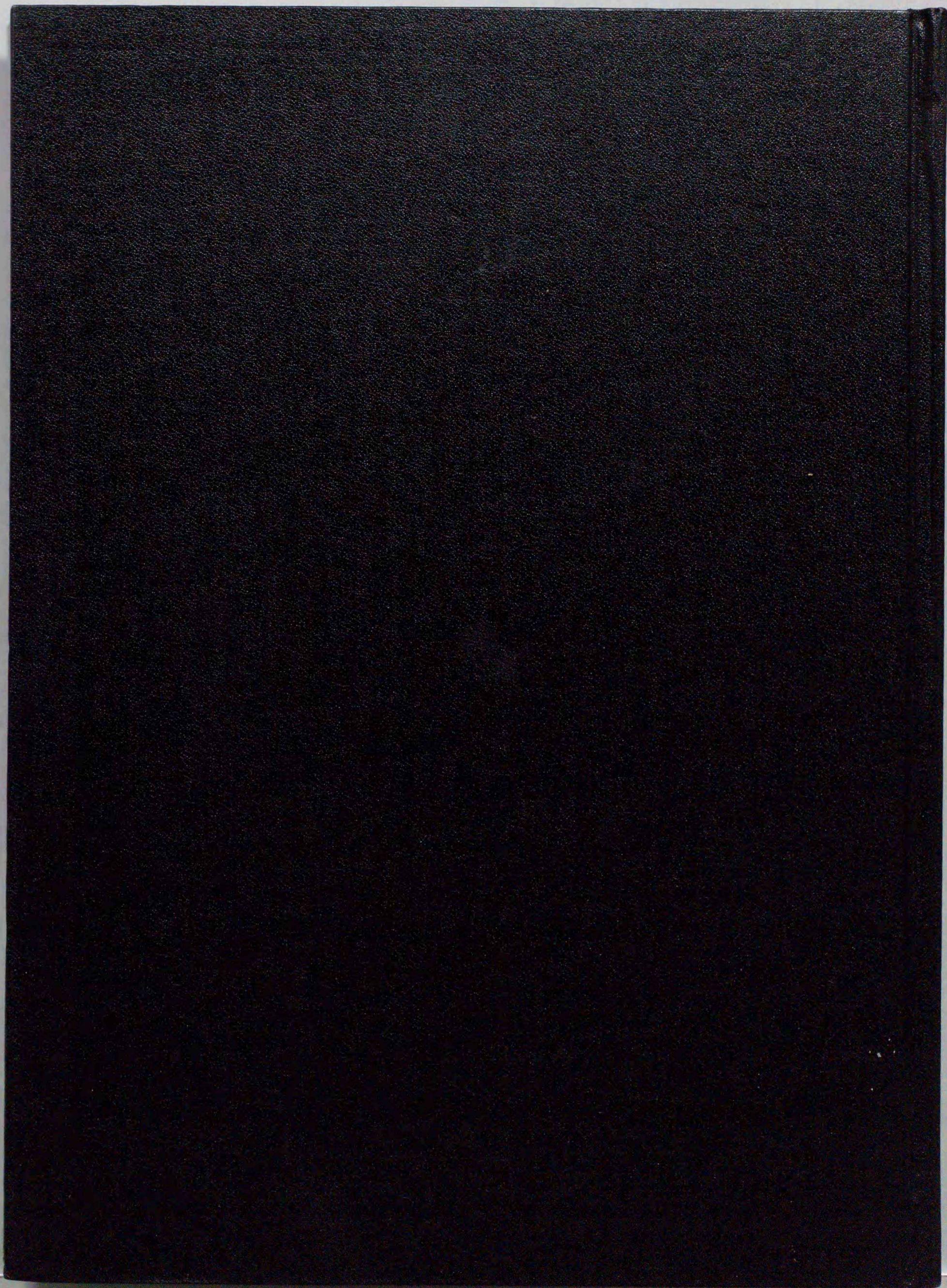
9) Nitrogen retention for calves aged 3 to 6 months was 0.98 g per 1 MJ

of the high-propionic VFA mixture. Efficiency of utilization of metabolizable energy of the high-propionic VFA mixture in these calves was 60%.

These results indicate that propionate produced in the rumen has following important roles on the nutrition of protein and energy in young calves. Firstly, promotive effect of propionate on early development of ruminal absorptive capacity increases VFA energy absorbed from the rumen. Secondly, propionate as a glucogenic precursor contributes to efficient use of amino acids for body protein synthesis.

Key Words:

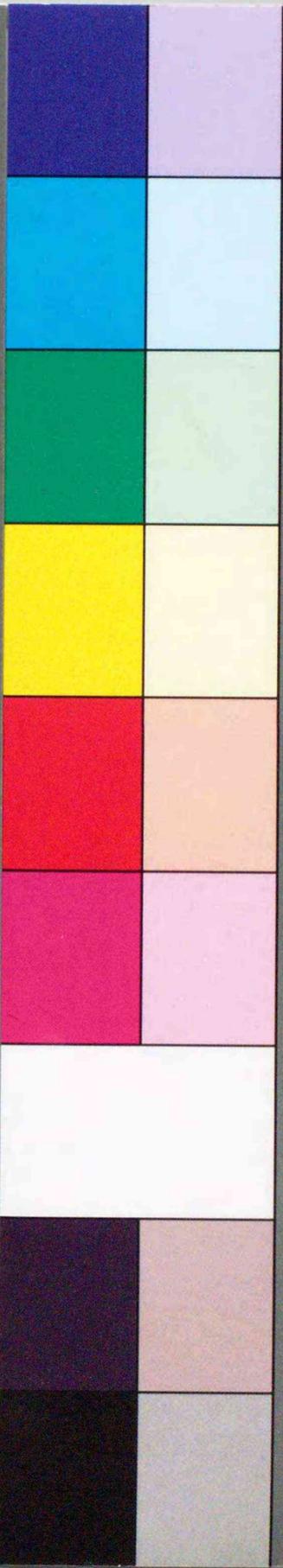
young calf nutrition, propionate, intragastric nutrient infusion



inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19



© Kodak, 2007 TM: Kodak