

子牛の第一胃内,十二指腸内低級脂肪酸濃度および血漿グルコースとインスリン濃度に及ぼすプロトゾアの影響

誌名	畜産試験場研究報告 = Bulletin of the National Institute of Animal Industry
ISSN	0077488X
著者	板橋, 久雄 小林, 剛 森井, 良三 岡本, 昌三
巻/号	39号
掲載ページ	p. 21-32
発行年月	1982年10月

子牛の第一胃内，十二指腸内低級脂肪酸濃度および血漿 グルコースとインスリン濃度に及ぼすプロトゾアの影響

板橋久雄，小林 剛，森井良三*，岡本昌三**

要 約

子牛の第一胃内と十二指腸内 VFA 濃度および血漿グルコース，尿素とインスリン濃度の採食後の変動におよぼす第一胃内プロトゾアの影響を検討した。第一胃と十二指腸にカニューレを装着した体重約 150kg のホルスタイン去勢牛 6 頭を供試し，このうち 3 頭をプロトゾア不在牛 (U 区) とし，他をプロトゾア存在牛 (F 区) とした。実験 1 では乾草と濃厚飼料を，実験 2 では乾草のみをそれぞれ 2 時間だけ給与した。なお，採食後の経時変化の測定では各区 2 頭を用い，採食 4 時間後のみでの測定では各区 3 頭を用いた。

1. 飼料給与後 2 時間における採食量に関しては，いずれの実験においても両区間で差は認められなかった。第一胃内 pH は，両区とも実験 1 では採食開始 4 時間後に最低値を示したが実験 2 では明確な変動はみられなかった。十二指腸内 pH は，いずれの場合にも採食 1～2 時間後に最高値を示した。しかし，これらの pH 値変動に対するプロトゾアの影響は明らかではなかった。

2. いずれの実験においても第一胃内総 VFA 濃度には両区間で差は認められなかった。実験 1 では，採食 4 時間後のプロピオン酸のモル比率は U 区の方が，酪酸のモル比率は F 区の方がそれぞれ有意に高く，実験 2 でも同様な傾向が認められたが有意差はなかった。NH₃-N 濃度はいずれの場合も F 区の方が U 区よりも有意に高かった。

3. 十二指腸内総 VFA 濃度は，第一胃内濃度の約 1/100 と低く，給与飼料の違いやプロトゾアの有無とは関係なくほぼ一定であった。ルーメン内容と比べ酢酸のモル比率は高く，プロピオン酸と酪酸のモル比率は低かったが両区間で明確な差はなく，経時的にも大きな変動は認められなかった。

4. 血漿グルコース濃度は，両区とも実験 1 では採食

6 時間後に最高値がみられたが，実験 2 では明確な経時変化はみられなかった。いずれの場合も U 区の方がグルコース濃度は高い傾向が示されたが，有意差は認められなかった。血漿尿素 N 濃度は全体的に F 区の方が高く，実験 1 の採食 4 時間後ではその差は有意であった。血漿インスリン濃度は，実験 1 では採食 4～6 時間後に最高値がみられたが，実験 2 では採食後の明確な変動はみられなかった。採食 4 時間後での F 区の濃度は U 区に比べ約 1.5 倍 (実験 1)，1.3 倍 (実験 2) と高かった。

緒 言

各種の反芻胃内微生物の中で，ある種の細菌や原生動物 (プロトゾア) は特定の飼料給与時や子牛の発育初期には胃内に定着しないことがしばしばあり¹⁾，それらが子牛の消化生理に及ぼす面に関して近年関心もたれている。特に，人工乳給与による早期離乳や病原微生物の感染防止を主目的とした隔離哺育ではプロトゾアの胃内定着が遅れたり，定着しないことが考えられ，すでに著者らも一部これを認めている。

プロトゾアは，細菌類とは多くの点で物質代謝様式が異なるので，その存否により反芻胃での発酵パターンが変化することがこれまでにいくつか報告されている。それらの中で，糖質代謝については低級脂肪酸 (VFA) の産生に関する研究が多く，プロトゾア不在による総 VFA 濃度の低下²⁾，酪酸/プロピオン酸比の低下^{3,4)}等が報告されているが，それらの変化は必ずしも一定していない。糖新生の主要な基質であるプロピオン酸の産生比率のこのような変化は，血中グルコースやインスリン濃度に影響を及ぼすと考えられるが，これに関する研究は極めて少ない。

反芻胃内の発酵産物や血中の諸成分は採食に伴ない変動することが知られているが，従来の研究は採食後の一定時間のみでのこれらの測定が多くプロトゾアの有無に

昭和 57 年 1 月 27 日受付

* 岐阜県種畜場

** 現中国農試畜産部

よる違いを明確にしえなかった面がある。

そこで、本研究では、二種類の飼料を用いて、反芻胃内容液と血液中の糖代謝関連物質の動きを採食後より経時的に測定し、それらに及ぼすプロトゾアの影響について究明した。さらに第四胃を通過して十二指腸に流入するVFAに関する研究は極めて少ないので、本報告ではこの点についても検討を加えた。

実験材料および方法

1. 供試牛と管理

体重約150kgの当場産ホルスタイン種去勢牛を6頭用いた。これらは出生後直ちに隔離し、初乳を5日間給与後、人工乳を用いて早期離乳⁴⁾、その後はオーチャードグラス乾草(一番草)と濃厚飼料(表1)を給与して個別飼養により育成したものである。生後4週齢には、3頭の子牛に成牛の反芻胃内容液を経口的に投与し、プロトゾアを定着させ通常牛(Faunated calf, F区)とし、他の子牛にはこの処置を行わず無繊毛虫牛(Unfaunated calf, U区)とした。約3カ月齢で去勢後、すべての供試牛に第一胃カニューレと十二指腸カニューレ(T字型)を外科的手術により装着した。

実験は給与飼料を変えて2回実施した。いずれの場合も飼料は1日に2回等量ずつ給与した。実験1では午前9時に上記の乾草と濃厚飼料を1頭当たりそれぞれ、2, 1.5kg給与し、実験2では同様に乾草のみを3kg給与した。給与開始2時間後に飼料を取り除き、残飼量を測定した。いずれの実験においても、2週間の予備飼育を行なった後に試料を採取した。なお、飲水は自由に給与した。

Table 1. Composition of concentrate mixture

Ingredients	%
Barley	20.0
Corn	20.0
Milo	30.0
Wheat bran	10.0
Alfalfa meal	10.0
Urea	1.0
Molasses	5.5
Vitamins and Minerals ¹⁾	3.5
Calculated DCP	9.9
Calculated TDN	68

1) This contains 1.8% calcium carbonate, 0.5% dicalcium phosphate, 1.0% sodium chloride, 0.1% trace mineral mixture and 0.1% vitamin A, D, E. mixture.

2. 試料の採取と分析方法

血液試料は、あらかじめ頸静脈に挿入した留置針を用いて、採食直前と採食開始後5, 15, 30分および1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 9, 12時間目に採取した。直ちに氷冷後、遠心分離により血漿を得、これを分析用試料とした。血漿グルコースと尿素N濃度は Technicon Autoanalyzer を用い、それぞれ、フェリシアン化カリ法およびシアセチルモノオキシム法により測定した。インスリン濃度はインスリンリアキット(日本ダイナポットRI研究所)を用いて二抗体法⁵⁾により測定した。

反芻胃内容と十二指腸内容は、それぞれカニューレより、採食直前と採食開始後1, 2, 4, 6, 9および12時間目に採取し、反芻胃内容については二重ガーゼ濾過による濾液を試料とし、十二指腸内容はそのままを試料とした。採取後、直ちにpHをガラス電極pHメーターにより測定したのち、試料を氷冷した。VFAの濃度と個々の酸の比率はガスクロマトグラフィー⁶⁾により、アンモニア濃度は微量拡散法⁶⁾により測定した。

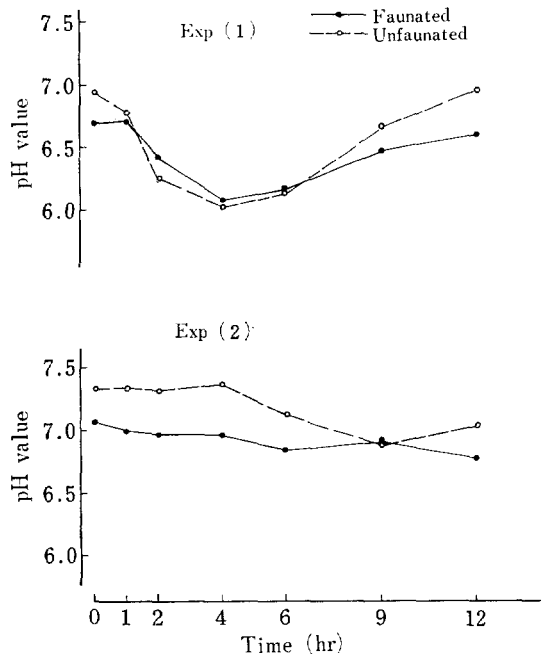


Fig. 1 Postprandial changes in rumen pH values

なお、以上の経時変化の測定では各区2頭ずつの子牛を用い、採食4時間後のみの測定では各区3頭ずつを用

い2回繰返して実施した。

実験結果

1. 反芻胃内容液と十二指腸内容液成分の経時変化

実験1での飼料給与後2時間における採食量の平均は，F区では濃厚飼料；1.5kg，乾草；1.5kgであり，U区ではそれぞれ1.5kg，1.4kgであった。すべての子牛は，濃厚飼料を給与後15分以内でそれを全て摂取した。実験2での乾草の採食量は同様にF区2.2kg，U区2.1kgであり，いずれの場合も両区間に差は認められなかった。

実験1と実験2における第一胃内容と十二指腸内容のpHの経時変化は，それぞれ図1と図2に示すとおりである。第一胃内容pHは実験1ではF区，U区とも採食直後から低下し始め，4時間後には6.0～6.2の最低値を示し，その後次第に上昇し12時間後にはほぼ採食前の値に回復した。乾草のみを給与した実験2では，実験1と比べ採食後の明確な低下はみられず，9～12時間後迄ゆるやかに低下した。両区とも実験1よりもpH値は高く推移し，U区はF区よりも高い傾向がみられた。

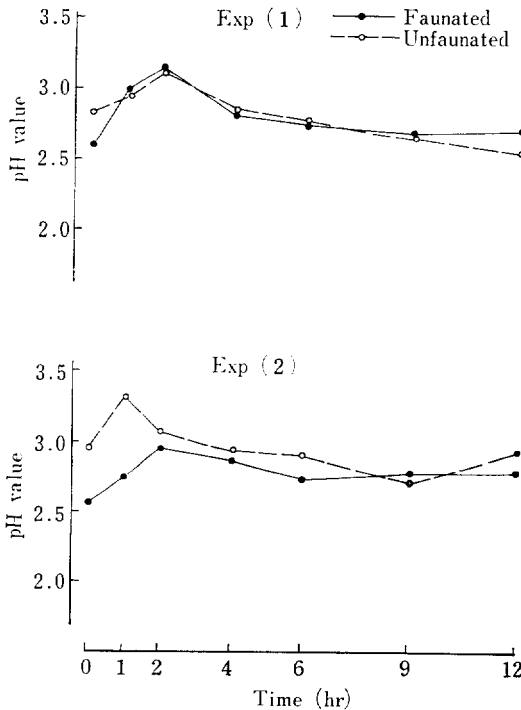


Fig. 2 Postprandial changes in duodenum pH values

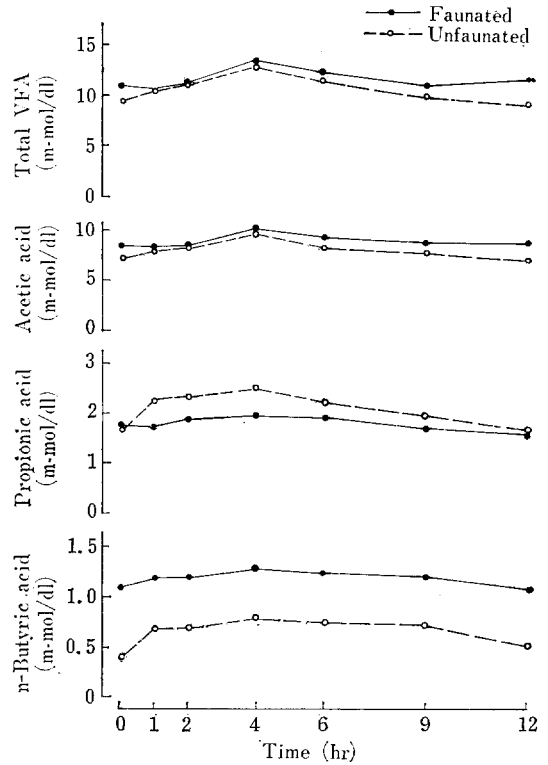


Fig. 3 Postprandial changes in rumen VFA concentration (Exp 1)

これに対して，十二指腸内容のpHは採食後上昇する傾向を示し，1～2時間後に最高値に達し，以後はゆるやかに低下した。実験1では両区間に差は認められなかったが，実験2では第一胃内容と同様にU区の方がやや高く推移した。

図3は実験1における第一胃内VFA濃度を示したものである。総VFA濃度は採食後ゆるやかに増加する傾向を示したが明確な頂値は認められず，両区の子牛とも約10 m-mol/dlの濃度で推移した。酢酸濃度についても同様にプロトゾアの影響はみられなかったが，プロピオン酸の採食後の濃度は常にU区の方が高く，酪酸の濃度は逆にF区の方が高かった。一方，実験2では総VFA濃度は7 m-mol/dl前後で推移し，プロピオン酸濃度はU区の方が高い傾向がみられたが，その他に関しては両区で差は認められなかった(図4)。

次に，十二指腸内のVFA濃度の変動を図5と図6に示した。実験1における総VFA濃度は0.4～1.3 m-mol/lの範囲にあり，第一胃内に比べ約1/10と低かった。第一胃内ではU区の方が高濃度を示したプロピオン酸は十二指腸内でも同様な傾向を示したが，酪酸については

差はなくなり、総VFAと酢酸はU区の方がやや高く推移した(図5)。実験2では総VFA濃度は、0.5~1.4mmol/lであり、実験1での濃度とほぼ等しかった。この場合もプロピオン酸濃度はU区の方がやや高く推移した(図6)。

図7は第一胃内アンモニアN濃度の経時変化を示したものである。実験1では、いずれの子牛も採食直後に急増し、1時間後に最高値に達し、その後比較的速やかに減少するパターンを示した。採食直後の急増は、濃厚飼料中に1%含有されている尿素が第一胃内発酵で速やかにアンモニアに分解されたことによると考えられる。いずれの飼料採取時刻においても、F区の方がU区よりも明らかに高い濃度を示した。乾草のみ給与の実験2では、アンモニアNは採食後ゆるやかに増加し、2時間後に最高値を示したが、実験1での濃度と比べるとはるかに低かった。この場合も実験1と同様にF区の方がU区よりも高濃度で推移した。

反芻胃内容と十二指腸内容の採食4時間後のVFA濃度、各酸の比率をまとめた結果は表2に示すとおりである。実験1ではプロピオン酸の比率はU区の方が、また

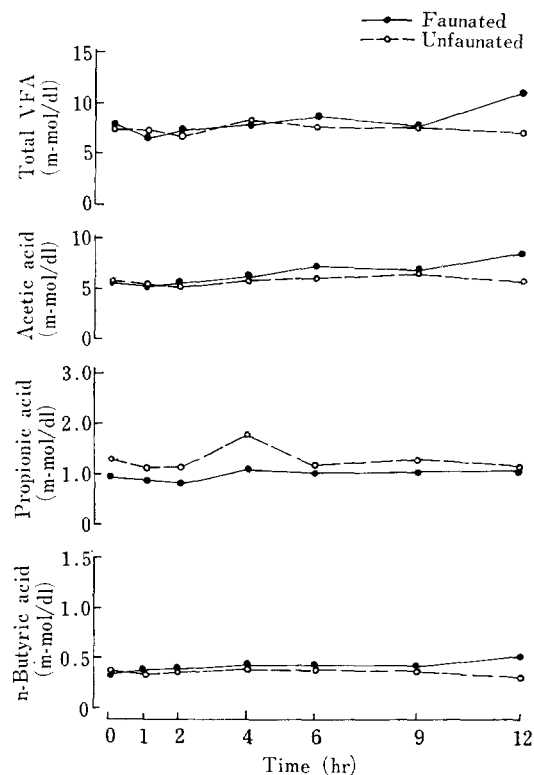


Fig. 4 Postprandial changes in rumen VFA concentration (Exp 2)

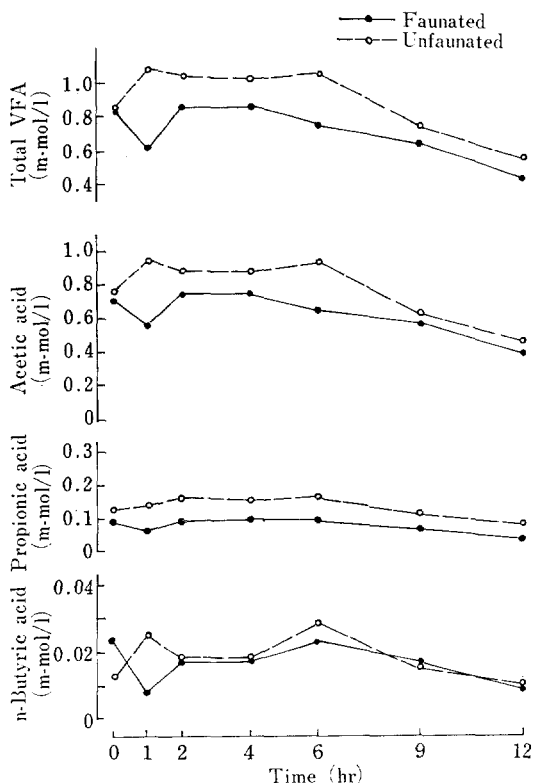


Fig. 5 Postprandial changes in duodenum VFA concentration (Exp 1)

酪酸の比率はF区の方がそれぞれ他の区よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。これらの傾向は実験2でも認められたがその差は有意ではなかった。アンモニアN濃度はいずれの実験でもF区の方がU区よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。

2. 血漿グルコース、尿素Nおよびインスリン濃度の経時変化

採食後の血漿グルコース濃度の経時変化を図8に示した。実験1では両区を通じて採食前の濃度は65~80mg/dlであったが採食後徐々に減少し2時間後には最低となり、その後ゆるやかに増加し、6時間後には最高値に達し、以後再び減少するパターンを示した。採食2時間目以降では、U区の方がF区よりも濃度はやや高い傾向がみられたが、明確な差は認められなかった。実験2では採食前値は62~76mg/dlの範囲にあり、実験1と同様に採食後徐々に減少し2時間目以降ではやや増加の傾向がみられたが、明らかなピークはみられず、全体に実験1に比べ低い濃度で推移した。U区での濃度はF区よりも

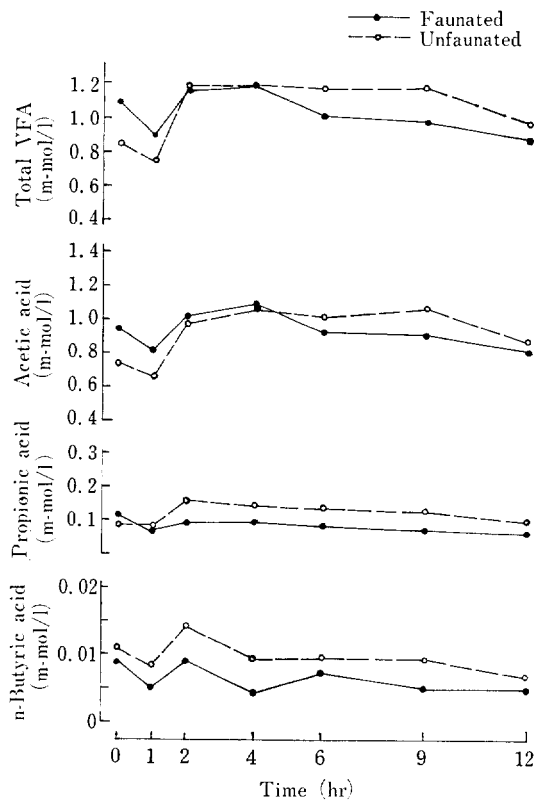


Fig. 6 Postprandial changes in duodenum VFA concentration (Exp 2)

やや高い傾向がみられた。

血漿尿素N濃度の経時変化は図9のとおりである。実験1では，尿素Nは採食後直ちに増加し，2～4時間後に15～21mg/dlのなだらかなピークを示した後，12時間目には採食前値に回復した。2時間目以降の濃度はF区の方がU区よりも明らかに高かった。実験2でも同様な変化のパターンがみられたが，実験1に比べ変動幅は小さく，また，両区間の差は明確でなかった。

次に，インスリン濃度の採食後の経時変化を図10に示した。実験1では，両区の子牛とも採食直後にやや増加した後，30分後には減少し，1～1.5時間後には再び増加した。さらに3時間後には低値を示し，以後増加して4～6時間後に最高値に達した後ゆるやかに減少し採食前の濃度に回復した。U区での濃度はF区より高い傾向がみられた。実験2においても採食開始直後にインスリン濃度の一時的な上昇がみられたが，以後の変動幅は比較的小さく，明らかなピークは認められなかった。採食後30分以降では，U区はF区よりも約50%高い状態で推

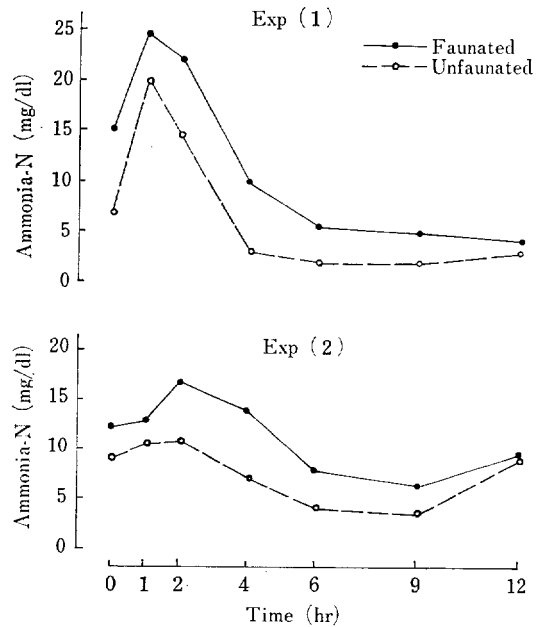


Fig. 7 Postprandial changes in rumen ammonia-N concentration

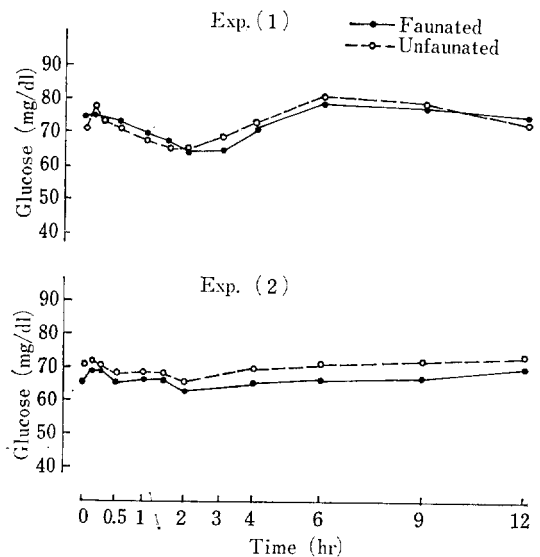


Fig. 8 Postprandial changes in plasma glucose concentration

Table 2. Effects of protozoa on concentration and molar ratio of VFA in rumen and duodenum digesta taken 4hr after feeding.

	Exp (1)		Exp (2)	
	Fau ¹⁾	Unfau ²⁾	Fau	Unfau
Rumen digesta				
VFA concentration (m-mol/dl)	11.2	11.3	7.6	8.3
Acetic acid (%)	71.0	71.4	78.4	76.5
Propionic acid (%)	16.4*	20.7	14.3	16.7
n-Butyric acid (%)	10.6*	6.4	5.7	5.0
Others (%)	2.0	1.5	1.6	1.8
NH ₃ -N concentration (mg/dl)	13.2*	5.5	14.2*	7.0
Duodenum digesta				
VFA concentration (m-mol/l)	0.87	1.05	1.17	1.19
Acetic acid (%)	86.3	83.1	90.9	87.3
Propionic acid (%)	11.5	14.9	8.3	11.6
n-Butyric acid (%)	2.0	1.8	0.7	0.9
Others (%)	0.2	0.2	0.1	0.2

1) Faunated

2) Unfaunated

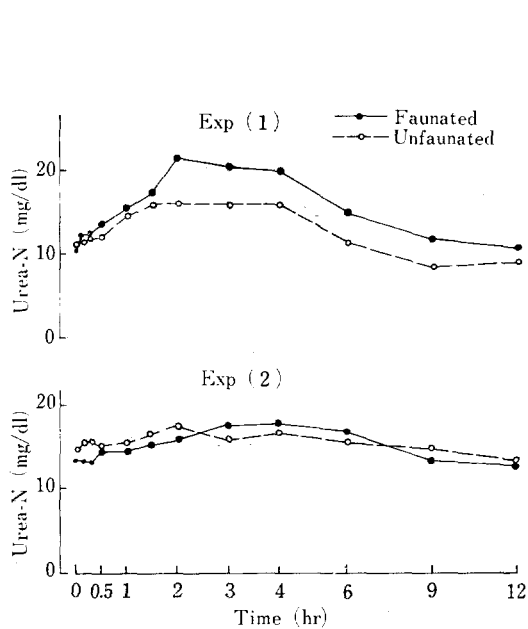
* Significantly ($P < 0.05$) different from the comparable unfaunated value

Fig. 9 Postprandial changes in plasma urea-N concentration

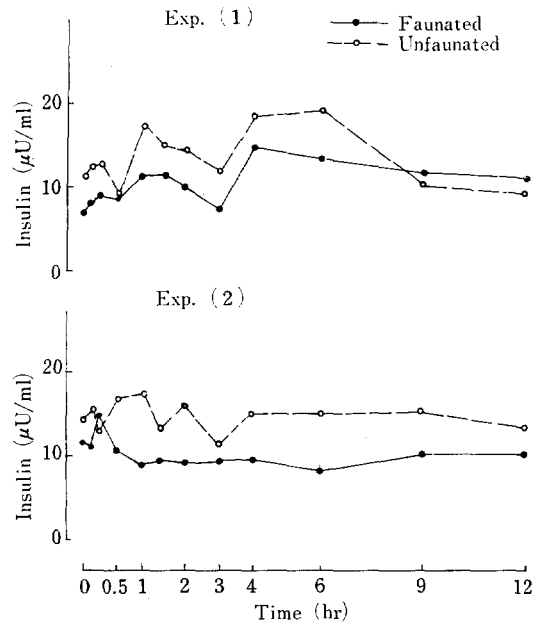


Fig. 10. Postprandial changes in plasma insulin concentration

Table 3. Effects of protozoa on concentration of glucose, urea-N and insulin in blood plasma taken 4 hr after feeding.

	Exp (1)		Exp (2)	
	Fau ¹⁾	Unfau ²⁾	Fau	Unfau
Glucose (mg/dl)	69.0	78.1	67.3	72.8
Urea-N (mg/dl)	20.0*	16.2	18.3	16.5
Insulin (μ U/ml)	10.8	15.7	8.7	11.3

1) Faunated

2) Unfaunated

* Significantly ($p < 0.05$) different from the comparable unfaunated value

移した。

表3は採食4時間後の血漿グルコース，尿素Nおよびインスリン濃度に及ぼすプロトゾアの影響を示したものである。グルコース濃度は実験1と実験2ともU区の方がF区よりも高かったが有意差は認められなかった。尿素Nは逆に両実験ともF区の方が高く，実験1ではその差は有意であった($P < 0.05$)。実験1と実験2でのU区のインスリン濃度はF区の値に比べそれぞれ1.5倍，1.3倍と明らかに高かった。

考 察

反芻胃内での嫌氣的発酵産物であるVFAが反芻家畜の主要な代謝エネルギー源であることがBARROFT等によって見い出されて以来，VFA生成に影響する要因に関して多くの研究がなされてきた⁷⁾。この要因の中で最も大きく影響するのは給与飼料の質であり，例えば飼料中の繊維含量が増すと酢酸/プロピオン酸比は増大する⁷⁾。このような場合，一般に体内での熱発生量が増加し，代謝エネルギーの利用効率は低下するが，エネルギー要求量の高い離乳後の子牛や高位生産乳牛に対していかに効率よくエネルギーを供給するかという点から第一胃内での発酵様式に最近新たな関心が向けられている⁸⁾。

言うまでもなく，VFAは第一胃内微生物により生成され，給与飼料の種類の影響も主に微生物相の変化を介するものであるが，プロトゾアは主に酢酸と酪酸を生成し，プロピオン酸生成はほとんど細菌の代謝活性に依存するように両者の発酵様式はかなり異なっている⁹⁾。しかし，これに関する*in vivo*での研究は比較的少なく，それらの結果は必ずしも一致していない。本研究では*in vivo*でのVFA生成に及ぼすプロトゾアの影響を明確にすることを第一の目的とした。

総VFA濃度は本実験ではプロトゾアの有無で差は認められなかった。従来の研究ではプロトゾア不在により総VFA濃度はいく分低下するという報告が多いが^{2,4)}，

最近，DEMEYER and VAN NEVEL¹⁰⁾は，濃厚飼料一乾草(2:1)の飼料を用いて本実験と同様な結果を報告している。一方，WHITELAW *et al.*³⁾は大麦を85%含む飼料ではプロトゾア不在によりVFA濃度は著しく増加することを示しており，給与飼料の種類により結果は左右されると考えられる。

VFAの比率に及ぼすプロトゾアの影響についても，その不在により酪酸の比率は低下するという報告^{3,4)}とむしろプロピオン酸の比率が低下するという報告¹¹⁾があり，一致した結果は得られていない。今回の実験1の結果は前者であり，プロトゾア不在による酪酸の比率の低下と同時にプロピオン酸の比率の増加が認められたが，乾草のみ給与の場合にはそれらの差は明確ではなかった。EADIE *et al.*¹²⁾は，*Entodinium*，*Epidinium*と*Polyplastron*が酪酸生成を高めプロピオン酸生成を低めるのに関わっているとしている。プロトゾアは飼料中のテンブンを摂取し発酵に影響を及ぼすが，濃厚飼料+乾草の実験1ではプロトゾアの有無によるVFA組成の差が明確となり，乾草のみの実験ではその差が小さかったのは，テンブンを多量に含む濃厚飼料を用いたか否かによると考えられる。なお，実験1でのプロトゾア数が $3 \sim 5 \times 10^5/ml$ であったのに対し，実験2ではその数は半減したが，このことも両実験の間でのVFA組成の不一致をもたらした一因と考えられる。

DEMEYER and VAN NEVEL¹⁰⁾は，プロトゾア除去による酪酸の比率の低下は採食後24~48時間にみられ，プロピオン酸の比率の増大は採食3.5時間後であったとし，その要因は前者ではプロトゾアの代謝活性が活発になるのは採食長時間後のためであり，後者についてはプロピオン酸生成菌の発酵能が最高になるのは採食短時間後のためであるとしている。本実験でもプロピオン酸についてはこの傾向は認められたが，酪酸については特に実験1では採食後の時間とは無関係にF区の方が常にその比率は高かった。BIRD and LENG¹³⁾は糖蜜を添加した低

タンパク質—高エネルギー飼料を給与した場合、プロトゾア除去で酪酸の比率が高まるとしているが、これは糖蜜による酪酸生成菌の増加に起因すると解されている¹⁰⁾。このような特殊な飼料を別とすれば、濃厚飼料+粗飼料の条件下ではプロトゾアは酪酸比率の増大をもたらし、間接的にプロピオン酸の比率の低下をもたらすといえよう。

第一胃内発酵でヘキソースのエネルギーは酢酸生成の場合には37%、酪酸生成では22%、それぞれ減少し、逆に、プロピオン酸生成の場合には9%増加するとされている⁸⁾。これに基づいたCHALUPAの式⁸⁾により本実験での発酵効率を表2から算出すると、実験1ではF区:72.2%、U区:72.9%となり、実験2ではF区:69.8%、U区:70.8%となり、実験1の方が実験2よりも発酵効率はやや高いが、プロトゾアの有無では差は認められないことがわかる。さらに、代謝過程では多量の代謝性水素が生成されるが、その生成量を同様に推定⁸⁾すると、第一胃内容100mlあたりのm-molとして、実験1ではF区:24.8、U区:21.9となり、実験2ではF区:14.8、U区:14.8となる。これは、濃厚飼料を同時給与した実験1の方が実験2よりも発酵が活発であることを意味しており、さらに実験1ではプロトゾアにより発酵は高まることを示している。著者らは飼料の第一胃内消化率がプロトゾアにより向上することを認めたが、本実験の結果はこれと軌を一にするものといえる。代謝性水素はプロピオン酸と酪酸の生成に用いられるほかに、二酸化炭素からのメタン生成にも利用されるが、実験1のような飼料の場合にはメタン生成量にもプロトゾアの影響が及ぶと推察されるので今後はこの点の検討が重要である。

以上のべた第一胃内でのVFA生成における変化が下部消化管と組織での糖代謝にどのような影響を及ぼすかを知ることは牛の栄養生理上のプロトゾアの意義を明らかにする上で重要と考えられるが、本研究ではこの点を第二の目的とした。反芻家畜における糖新生で、一般にプロピオン酸は糖源物質として30~50%を占めるとされているので、第一胃内でのその多少が血糖値に影響することが考えられる。本実験では、プロピオン酸生成はU区の方が活発であり、これを反映して血漿グルコース濃度もプロトゾア不在で上昇する傾向がみられたが、有意差は認められなかった。これはEADIE and GILL¹¹⁾の結果と一致するが、WHITELAW *et al.*³⁾は、大麦主体飼料を用いてこの点に関して有意差を認めている。プロトゾアとグルコース濃度との関係については今後例数を積み重ねてさらに明確にしたい。

血漿尿素N濃度は全体にF区の方がU区よりも高く特に実験1では有意差が認められたが、これは従来のいくつかの報告^{3,4)}と一致する。これが第一胃内アンモニアN濃度の差に基づくのは図7より明らかであり、同時に飼料タンパク質の分解はF区の方が活発であることを示している。OKORIE *et al.*¹⁴⁾は、第一胃内アンモニアN濃度が5 mM以下になるとN源の不足で微生物態タンパク合成の効率が低下するとしているが、実験1のU区では採食4時間以降はこのような状態であり、タンパク合成の渋滞が生じた可能性がある。

反芻動物のインスリン感受性は単胃動物に比べると低いとされているが、反芻家畜でもインスリンが糖代謝を中心とする物質代謝調節のかなめとなっていることは疑いのないところである。反芻動物では採食後の血糖値上昇によるインスリン分泌の刺激はほとんどみられず¹⁵⁾、刺激物質としてはプロピオン酸と酪酸にその作用のあることが認められている¹⁶⁾。最近、第4胃以下の消化管へのタンパク質の流入がインスリン分泌刺激要因となることが示唆されているが¹⁷⁾、このように、インスリン分泌については不明な点が残されており、特に第一胃内微生物相との関係についての研究は皆無に近い。

採食後のインスリン濃度の変化は図10に示したように給与飼料の影響がみられ実験1の方が高濃度であったが、これは可消化有機物含量の高いほど採食後のインスリン濃度は高まるとしたBASSETT¹⁷⁾の見解と一致している。めん羊の採食開始直後に一過性のインスリン分泌が認められ¹⁸⁾、これは副交感神経を介する反射経路によるものと考えられているが、この反応は子牛を用いた本実験でも確認された。図10で採食30分以降には第2の分泌相がみられたが、実験2のF区では明らかなピークはみられなかった。

インスリン濃度は実験1、2ともプロトゾア不在牛の方が高く推移したが、この要因として以下のことが考えられる。第一は炭水化物代謝を中心とした見方であり、すでにのべたプロトゾア不在による第一胃内プロピオン酸生成の増加にもとづくものである。プロピオン酸の増加は血糖値を上昇させたと考えられるが、そのことがインスリン分泌亢進に寄与した程度は佐々木¹⁹⁾が指摘するように意外と小さいと考えられる。図8と図10を比較検討すると、インスリン濃度上昇はグルコース濃度上昇に先行していることがわかり、インスリンはグルコース以外の物質で刺激されると考えるべきであろう。プロピオン酸の静脈投与でインスリン分泌は増加するが¹⁵⁾、通常、第一胃から吸収されたプロピオン酸のほとんどは肝臓で除去されるので、末梢血でみられる割合は極めて

小さく，分泌刺激物質としてのプロピオン酸の実際上の効果には疑問が抱かれている^{17,19)}。BASSETT¹⁵⁾は，十二指腸内にプロピオン酸か酪酸を投与すると，静脈投与の場合ほど顕著ではないが明らかな分泌亢進が認められるとした。本実験ではこの事実に着目し，実際に十二指腸に流入するVFAを測定してみた。その結果，U区の方がプロピオン酸濃度が高い傾向があること等がわかったが，その濃度は第一胃内と比べ著しく低く，経時的変動もほとんど認められないので，これによるインスリン分泌刺激は大きくないと考えられる。

なお，十二指腸内容のVFAのなかで，プロピオン酸と酪酸の比率が，第一胃内容に比べ低下することが両区で認められたが，これは，第三胃通過物について調べた大森²²⁾の結果と一致する。第三胃には，これらのVFAを選択的に吸収または代謝する機構が存在するようである。

プロトゾア不在でインスリン濃度が高まることに対し考えられる第二の要因はタンパク質代謝を中心とした観点に基づくものである。単胃動物ではタンパク食摂取後にインスリン分泌は高まるが，この効果の一部は血漿アミノ酸濃度の上昇によるものであり，他は消化管ホルモンのインスリン分泌刺激を介するものと考えられている¹⁷⁾。

インスリン濃度は反芻家畜でも高タンパク飼料給与で高まる傾向にあり¹⁷⁾，また，血漿アミノ酸濃度はプロトゾア不在牛の方が高い傾向がみられる⁴⁾。後者はプロピオン酸生成増加によって糖新生に用いられるべきアミノ酸の一部が節約された結果とも考えられるが，プロトゾア不在牛でのインスリン増加の一因の可能性もある。最近，各種の消化管ホルモンのインスリン分泌刺激が注目されており，反芻動物の場合にも，ガストリン²⁰⁾，セクレチン²¹⁾およびCCK-PZ^{20,21)}で程度の差はあるもののその効果が認められている。これら消化管ホルモンの分泌動態はほとんど明らかにされていないが，最近ガストリン分泌は十二指腸に流入するタンパク質の濃度にほぼ比例することが報告された。プロトゾア不在で飼料タンパク質の第一胃内分解は低下するが⁴⁾，これはさらに十二指腸に流入する窒素化合物の形態に影響を及ぼし，飼料タンパク質，微生物態タンパク質，ペプチドおよび遊離アミノ酸の分布が変わることが認められた(板橋ら，未発表)。今回の実験においてプロトゾア不在でインスリン濃度が上昇することに対する決定的な要因は見い出せないが，消化管ホルモンの関与の可能性が考えられるので，今後はこの点との関連につきさらに検討を加えることが重要である。

参 考 文 献

- 1) POUNDEN, W. D. and J. W. HIBES: The development of calves raised without protozoa and certain other characteristic rumen microorganisms, *J. Dairy Sci.*, 33, 639—644, 1950
- 2) CHRISTIANSEN, Wm. C., R. KAWASHIMA and W. BURROUGHS: Influence of protozoa upon rumen acid production and liveweight gains in lambs, *J. Animal Sci.*, 24, 730—734, 1965
- 3) WHITELAW, F. G. et al.: Some effects of rumen ciliate protozoa in cattle given restricted amounts of a barley diet, *Br. J. Nutr.*, 27, 425—437, 1972
- 4) 板橋久雄，松川正：牛の反芻胃内繊毛虫類の栄養生理的意義に関する研究，第Ⅲ報，東北農試研報，59, 111—128, 1979
- 5) 小林剛，大森昭一郎：牛の血中インスリン測定のための臨床検査用ラジオイムノアッセイ測定キットの利用とその問題点について，畜試研報，39, 7—12, 1982
- 6) 村上進，小林剛，板橋久雄：牛の第一胃内発酵ならびに乳成分に及ぼす第一胃内プロトゾアの影響，日本畜産学会北陸支部報，41, 20—29, 1980
- 7) ANNISON, E. F. and D. G. ARMSTRONG: Volatile fatty acid metabolism and energy supply, in *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*, Ed. A. T. PHILLIPSON, 422—437, Oriel Press, 1970
- 8) CHALUPA, W.: Manipulating rumen fermentation, *J. Anim. Sci.*, 45, 585—599, 1977
- 9) 阿部周二，神立誠：In vitro法により各種飼料から反芻胃微生物によって産生されるVFAの組成について，日畜会報，49, 637—647, 1978
- 10) DEMEYER, D.I. and C. J. VAN NEVEL: Effect of defaunation on the metabolism of rumen microorganisms, *Br. J. Nutr.*, 42, 515—524, 1979
- 11) EADIE, J. M. and J. C. GILL: The effect of the absence of rumen ciliate protozoa on growing

- lambs fed on a roughage-concentrate diet, *Br. J. Nutr.*, 26, 155—167, 1971
- 12) EADIE, J. M., et al.: Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen in cattle given different quantities of a pelleted barley ration, *Br. J. Nutr.*, 24, 157—177, 1970
 - 13) BIRD, S.H. and R. A. LENG: The effect of defaunation of the rumen on the growth of cattle on low-protein high-energy diets, *Br. J. Nutr.*, 40, 163—167, 1978
 - 14) OKOBE, A. U., P. J. BUTTERY and D. LEWIS: *Proc. Nutr. Soc.*, 36, 38A, 1977
 - 15) BASSETT, J. M.: Plasma glucagon concentrations in sheep: their regulation and relation to concentrations of insulin and growth hormone, *Aust. J. biol. Sci.*, 25, 1277—1287, 1972
 - 16) MANNS, J. G. and J. M. BODA: Insulin release by acetate, propionate, butyrate, and glucose in lambs and adult sheep, *Am. J. Physiol.*, 212, 747—755, 1967
 - 17) BASSETT, J. M.: Dietary and gastro-intestinal control of hormones regulating carbohydrate metabolism in ruminants, in *Digestion and metabolism in the ruminant*, 383—398, Eds. McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, Univ. New England Pub. Unit., Armidale, 1974
 - 18) BASSETT, J. M.: Early changes in plasma insulin and growth hormone levels after feeding in lambs and adult sheep, *Aust. J. biol. Sci.*, 27, 157—166, 1974
 - 19) 佐々木康之: 反芻動物における膵内分泌に関する最近の研究, 日畜会報, 51, 383—392, 1980
 - 20) 高橋秀之ほか: めん羊のインスリン分泌に及ぼす各種消化管ホルモン投与の影響, 日畜学会第69回大会講演要旨, 91, 1979
 - 21) TRENKLE, A.: Radioimmunoassay of plasma hormones: Review of plasma insulin in ruminants, *J. Dairy Sci.*, 55, 1200—1211, 1972
 - 22) 大森昭一郎: 子牛の第3胃通過物の組成について, 畜試研報, 24, 51—57, 1971

Effects of Ciliate Protozoa on the Concentration of Ruminal and Duodenal Volatile Fatty Acids and Plasma Glucose and Insulin after Feeding

Hisao ITABASHI, Takeru KOBAYASHI, Ryozo MORII* and Shozo OKAMOTO**

Summary

Effects of ciliate protozoa on the concentration of ruminal and duodenal volatile fatty acids (VFA) and plasma constituents were studied using three faunated and three unfaunated Holstein calves. Each animal was fitted with cannulae in the rumen and duodenum. They were fed hay-concentrate (1:1) in exp. 1 and hay only in exp. 2 for 2 hr. Postprandial changes were studied throughout 12 hr using two calves in each group and measurements at only 4 hr postprandial were studied using three calves in each group.

1. No differences were observed between the faunated and unfaunated groups in food intake in both experiments. It was shown that rumen pH values were lowest at 4 hr after feeding in exp. 1 in both groups. However, no distinct changes were shown in exp. 2. Duodenal pH values attained a maximum 1-2 hr after feeding in both experiments. There were no differences in these pH values between the faunated and unfaunated.

2. No differences were observed between groups in the concentration of rumen VFA in both experiments. Molar ratio of propionic acid was higher in the unfaunated and that of butyric acid was higher in the faunated after each feeding time in exp. 1. These differences at 4 hr after feeding were significant ($p < 0.05$). However, no significant differences were observed in the molar ratio of rumen VFA between the groups in exp. 2. Rumen ammonia-N concentrations in the faunated were always higher than those in the unfaunated in both experiments and the differences at 4 hr after feeding were significant ($p < 0.05$).

3. Duodenal VFA concentrations were about one hundredth of the ruminal concentration and almost constant throughout 12 hr irrespective of dietary conditions and the presence or absence of protozoa. When compared to ruminal VFA, the duodenal molar ratio of acetic was higher, and that of propionic and butyric was lower.

4. Plasma glucose concentrations in exp. 1 attained a peak at 6 hr after

* Present address: Gifu Prefectural Livestock Breeding Station.

** Chugoku National Agricultural Experiment Station.

feeding in both groups. Those in exp. 2 remained constant throughout 12 hr in both groups. Those in the unfaunated tended to be higher than in the faunated. Plasma urea-N in the faunated was always higher than that in the unfaunated and the difference at 4 hr after feeding in exp. 1 was significant ($p < 0.05$). Plasma insulin concentration in exp. 1 attained a peak at 4-6 hr after feeding in both groups. No clear changes were observed in exp. 2. Its concentration at 4 hr after feeding tended to be higher in the unfaunated, being 1.5 and 1.3 times of the values in the faunated in exp. 1 and exp. 2, respectively.