無菌ウズラの栄養に関する研究 (第2報)

Nutrition of Germfree Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) (II)

成長中の N, Ca, Mg および P の蓄積率について

On the Ratio of Retention of N, Ca,
Mg and P during the Growth

(昭和43年12月9日受理)

吉田 勉* 平野 敬子*
(Tsutomu Yoshida) (Keiko Hirano)

神 蘭 稔** 倉 益 茂 実**
(Minoru Kamizono) (Shigemi Kuramasu)

For six weeks after hatching of Japanese quail, protein efficiency ratio, ratio of apparent digestibility of N and ratios of retention on N, Ca, Mg and P of the germfree birds were compared to those to the conventional birds and of the germfree birds contaminated with bacteria at eighteen days old.

(1) Lower protein efficiency ratios for the germfree birds than for the conventional birds for six weeks and with increased weeks of age for the both groups, except for the second week of the conventional group, were obtained. After contamination of the germfree birds suppressed protein efficiency ratio was observed, and it was recovered afterwards.

(2) Higher ratios of apparent digestibility of N for the germfree birds than for the conventional birds were found, and no appreciable effect on the ratios was shown after contamination.

(3) Highest ratios of retention on N, Ca, Mg and P for the conventional and germfree groups at the first week after hatching and lower ratio of N retention in the germfree birds than in the conventional birds at six weeks of age were obtained. At the third week after contamination, same ratio of N retention for the contaminated birds as for the germfree birds of similar weeks of age was shown.

(4) Higher ratios of retention on Ca, Mg and P in the germfree birds than in the conventional birds were observed for the whole experimental period, except for the first week. After contamination each ratio of retention was decreased.

無菌ウズラは実験動物としてのSPFウズラ生産の前段階に必要であると共に、鳥類の栄養に及ぼす消化管内微生物の影響を調べるためにきわめて有益な動物である。

ここにおいて著者らは、まずフォルマリン燻蒸による無菌ウズラの作出法を考案したのちに、その成長、飼料摂取量、排泄物量および飼料効率などについてききに報告した¹⁾。今回は引き続き同じ動物を用いて、成長時における無菌ウズラの蛋白質効率 (Protein efficiency ratio), Nのみかけの消化吸収率、およびN・Ca・Mg・Pの蓄積率をふ化後6週間にわたって調べたので、その

結果を以下に報告する。

実験方法

実験に用いた動物は前報¹⁾と同じで、無菌ウズラ、通常の飼育条件下に管理したウズラ (以下通常ウズラと称する) および無菌飼育中ふ化後18日目に *Bacillus* の汚染をこうむったウズラ (以下汚染ウズラと称する) の飼育法、試験飼料、排泄物の採取・処理法および微生物汚染の確認法は前報¹⁾に記した通りである。

Nの定量はKjeldahl法を用い、糞中Nは、ニワトリについて行なわれた Ekman 法²⁾の吉田らによる変法³⁾を用いて、糞尿混合排泄物から化学的に分別して定量した。

* 都立立川短期大学

** 日本生物科学研究所

Fig. 1. Protein efficiency ratio
(PER, g weight gain/g protein intake)

Fig. 2. Coefficient of apparent digestibility of nitrogen

Ca および Mg は EDTA 滴定法⁹⁾ で、P は Allen 法⁹⁾ でそれぞれ定量した。

飼料中 N のみかけの消化吸収率（以下単に消化率と略記する）の測定には、1 週間分の飼料中 N 摂取量および排泄された糞中 N 量を測り、その差を 1 週間分の消化吸収された N 量として計算した。1 週間分の N, Ca, Mg および P 各元素の摂取量から、糞尿への排泄量を引いた量を各元素 1 週間分の蓄積量とし、この週間蓄積量の週間摂取量に対する比率を各元素の週間蓄積率として計算した。

実験結果および考察

各群の蛋白質効率（摂取蛋白質 1 g に対する体重増加量の g 数）を第 1 図に示した。各週別の、ならびにふ化後から各週までの全体（以下累積と略称する）の蛋白質効率はともに、通常ウズラの第 3 週以外は、通常ウズラおよび無菌ウズラとも週令の増加にしたがって低下した。また全期間を通じて無菌群の蛋白質効率が通常群よりも劣っていた。各週別の蛋白質効率をみると、汚染ウズラは、汚染直後 1 週間の蛋白質効率は著しく低下した

けれども、その後回復した。一般に蛋白質効率は前報¹⁾に記した飼料効率と同様な傾向を示した。

N の消化率を第 2 図に示した。通常ウズラについて各週別消化率をみると、最高は第 1 週の 91% で、最低は第 6 週の 80% であった。通常ニワトリにおける飼料中 N の消化率は、普通に使われている飼料ならばその組成や給与量あるいは年令には余り関係なく、85% 前後であると報告³⁾されており、この値はウズラを用いた今回の結果とはほぼ同様であった。ニワトリにおける飼料中 N の消化率測定用の pilot 動物として、ウズラを用いる可能性が考えられる。

N の消化率は通常、無菌の両群とも第 1 週が最高で、第 2 週以後はそれぞれの群内での変動はあまり認められなかった。両群の N 消化率を比較すると、常に無菌群のほうがやや優れており、成熟ウサギについて行なった実験⁶⁾と同様な傾向が示された。このことは、消化管内微生物の活動によって高分子量の N 化合物が分解された結果、低分子量の吸収されやすい N 化合物を生成する反応よりも、その逆に低分子量の N 化合物が高分子量に合成される反応のほうがより多く進行しているのか、あるいは消化管内微生物の存在が内因性 N の分泌を高めているのかによると考えられる。しかし Evrard ら⁷⁾の実験では、飼料摂取量 1 g あたりの糞中 N の排泄量は通常ラットよりも無菌ラットのほうが大量であることが認められており、また Luckey⁸⁾や Levenson ら⁹⁾の実験から計算した結果からも、無菌ラットのほうが通常ラットよりも N の消化率がやや劣っていることが示された。ラットで得られている結果はウズラおよびウサギの場合と逆で、N の消化に対する消化管内微生物の働きに関して、動物の種類による違いが認められた点は将来検討する必要がある。

汚染群の N 消化率は通常群よりも無菌群に近く、今回の実験のような汚染状態では N の消化率への影響はあまりないことが示された。

つぎに N, Ca, Mg および P の蓄積率を測定し、各週別の成績を第 3 図に、累積蓄積率を第 1 表に示した。

N 蓄積率は通常、無菌の両群とも、第 1 週が 75% 程度でもっとも高く、その後低下したが、通常群では第 3 週に最低を示し、第 4 週以降は再び上昇した。通常群の N 蓄積率が第 3 週で著しく低下した原因は不明であるが、その週以外の N 蓄積率は第 1~2 週では両群間に差はなく、第 4 週以降は常に無菌群のほうが通常群よりも悪く、そのため実験期間全体としては、各週別および累積 N 蓄積率ともに無菌群のほうが劣った。

第 2 図に示したように N 消化率については無菌群が通常群よりもやや勝っていたが、それにもかかわらず、N 蓄

Table 1. Ratio of cumulative retention on N, Ca, Mg and P
(% of g retained/g consumed)

Week		1	2	3	4	5	6
N	Conventional	76.0	69.1	55.3	58.2	61.2	60.9
	Germfree	74.6	68.3	61.6	58.1	55.4	53.6
Ca	Conventional	63.5	26.7	15.1	15.3	12.8	13.3
	Germfree	58.1	52.6	46.1	44.2	44.0	45.2
Mg	Conventional	58.2	11.2	18.5	12.2	11.5	12.9
	Germfree	66.5	50.1	49.7	44.3	43.1	46.6
P	Conventional	67.2	36.4	23.3	22.9	20.2	18.4
	Germfree	71.6	66.0	55.6	52.4	49.5	46.8

Fig. 3. Ratio of weekly retention on N, Ca, Mg and P
(% of g retained/g consumed)

積率については逆に無菌群のほうが通常群よりも悪かったということは、蛋白質含量約30%（風乾物中）の飼料を与えている場合には、無菌ウズラの体内におけるN利用性が通常ウズラに比べて劣っていることを示している。これはラットを用いた Levenson ら⁹⁾の実験成績に基づいて計算した結果、すなわち蛋白質含量20%の飼料を与えた場合には無菌群のN蓄積率が通常群よりも劣っていたという結果と一致する。Miller¹⁰⁾は3週令のニワトリに蛋白質含量26.4%の飼料を給与して、1週間にわたってNet protein utilizationを調べたが、通常、無菌両群間に差を認めなかった。ニワトリの成長はウズラに比べれば著しく遅いので、このことは今回のウズラの実験で、1~2週令では両群間のN蓄積率に大差が存在し

なかったことと一致している。

無菌ウズラの細菌汚染によって、各週別N蓄積率はやや低下することが示されたけれども、汚染後第3週（5週令前後）ではそのN蓄積率は回復して無菌群と同程度までになった。すなわち、今回の実験のような細菌汚染にあつては、侵入細菌によるN蓄積率への影響はあまりないか、あったとしても一時的なものであるといえよう。

つぎにCaにつき各週別および累積の蓄積率をみると通常、無菌両群とも第1週は60%前後であったが、その後第3週までは低下し、かつその低下は通常群のほうが極めて著しかった。引き続き第3週以降も両群間の蓄積率には顕著な差が存在していた。しかし各群内における

Ca 蓄積率の変動はあまり認められなかった。従って実験期間全体としての累積 Ca 蓄積率は、無菌群では約45%であったのに対し通常群は約15%で、極めて無菌群のほうが優れていた。

無菌動物は一般に通常動物に比べて小腸全重量が軽く¹¹⁾、かつその回腸壁について組織別の観察を行なった結果でも、各組織について無菌動物のほうが軽く¹²⁾、また回腸壁各組織の厚さを百分率で比較すると無菌動物のほうが上皮組織が大で結合組織が小¹³⁾であった。このような構造の腸管においては、物質吸収がより容易に起こることが推測され、Edward ら¹⁴⁾は無菌ニワトリのほうで通常ニワトリよりも Ca 吸収がよいことを見出しており、これが無菌群の Ca 蓄積率を顕著に高めている一因と考えられる。

また Gustafsson ら¹⁵⁾はラットで、Yoshida ら⁶⁾はウサギで、それぞれ尿中への Ca 排泄量は無菌動物のほうが通常動物よりも多いことを報告している。一方、宮川¹⁶⁾は無菌マウスでは腎臓の石灰沈着が著しいことを、Glas ら¹⁷⁾は無菌ラット（特に雄）に尿結石が多く見出されることを、それぞれ認めている。従って無菌動物では、Ca の吸収が優れているために尿中への Ca 排泄量が多くなり、このことは無菌動物において腎臓への石灰沈着や尿結石の多発しやすいことと関連していると考えられる。極めて Ca 吸収がよくかつ蓄積率も優れている無菌動物において、成長完了して骨形成用の Ca を必要としなくなった時期以降は、特に産卵のための Ca を要求しない雄の無菌ウズラに対しては、試験飼料中 Ca 含量（乾物中3.60%）を低下させる方向の検討が望まれる。それとともに Gershoff ら¹⁸⁾が認めているように、腎臓結石防止に対する Mg およびビタミン B₆ 添加などの効果をも、無菌動物に対しては検討することが必要であろう。

無菌ウズラの細菌汚染によって、各週別の Ca 蓄積率は次第に低下し、汚染後第2週（4週令前後）以降は通常ウズラと同じレベルまでになることが示された。これはNおよび後記の Mg や P の蓄積率の結果と異なる点で、高い Ca 蓄積率を示していた無菌群が今回のような細菌汚染によって直ちにその蓄積率を低下させたことは、消化管内微生物が宿主の Ca 利用に大きな役割を持っていることを示し、極めて興味深い現象であるといえよう。

各週別および累積の Mg 蓄積率は Ca 蓄積率と同様に、第1週に最高でかつ全実験期間にわたり常に無菌群のほうが通常群よりも勝っていた。

細菌汚染により各週別 Mg 蓄積率は急激に低下したけれども、その後ふたたび著しく上昇したのち、汚染後第

3週（5週令前後）にはほぼ無菌群と同一レベルになった。従って今回のような細菌汚染では、Mg の体内蓄積は一時的には乱されるが、しばらくすると無菌群と同じになることが示された。

各週別および累積の P 蓄積率も今回調べた他の栄養素と同様に第1週に最高で、かつ全期間を通じて常に無菌群のほうが通常群よりも優れていた。また Ca 蓄積率の場合と同様に第3週までは低下し、それ以降はほぼ一定していた。通常、無菌両群の尿中への P の排泄を比較した実験としては、ラットについては Gustafsson ら¹⁹⁾、ウサギについては Yoshida ら⁶⁾の報告があり、ともに通常群に比べて無菌群の尿中 P 排泄量のほうが大量であることを示している。尿結石を構成する無機成分としては、Ca 以外には P が多い¹⁸⁾ことが知られており、上記の結果から考えて、無菌ウズラ用の飼料としては Ca 以外に P 含量（乾物中0.93%）低下の方向での検討も要求される。

無菌ウズラの細菌汚染後第1週（3週令前後）における各週別の P 蓄積率はあまり変化しなかったが、Ca の場合と同様に汚染後第2週（4週令前後）に顕著に低下した。しかしその蓄積率はふたたび無菌群と同程度までに上昇した。従って、今回の実験における細菌汚染では Mg の場合のような急激な変動は示さなかったけれども、一時的に P 蓄積率が乱されたが、のちにしばらくすると無菌群と同様な蓄積率を示した点は、Mg 蓄積率の場合と同じであった。

要 約

前報に引き続き、無菌ウズラおよび通常ウズラについて、ふ化後6週間にわたり蛋白質効率、Nのみかけの消化吸収率および N・Ca・Mg・P の蓄積率を比較した。無菌飼育中のふ化後18日目に細菌汚染をうけた汚染ウズラについても同様に調べた。

1. 通常ウズラの第2週以外は、通常、無菌両群とも週令の増加とともに蛋白質効率は低下し、常に無菌ウズラのほうが通常ウズラよりも劣った。汚染によって蛋白質効率は低下したがその後回復した。

2. Nのみかけの消化吸収率は無菌ウズラのほうが通常ウズラよりもややよく、汚染によっても大きな影響をうけなかった。

3. N蓄積率は第1週にもっともよく、実験期間全体としては無菌ウズラのほうが通常ウズラよりも劣った。細菌汚染によってさらにやや低下したが、汚染後第3週では無菌ウズラと同様になった。

4. Ca, Mg および P 蓄積率も第1週にもっともよく、その第1週を除き、全実験期間を通して無菌ウズラ

のほうが通常ウズラよりも極めてよかった。細菌汚染によって各蓄積率は低下する時期が認められ、汚染後第3週で Ca では通常ウズラと同様になったが、Mg および P では無菌ウズラと同様になった。

本研究の概要は第55回日本畜産学会大会(1968年)において発表した。

文 献

- 1) 吉田 勉, 平野敬子, 神菌 稔, 倉益茂実: 栄養と食糧, **22**, 208 (1969)
- 2) Ekman, P.: *Kungl. Lantbrukshögskolans Annaler*, **16**, 749 (1949)
- 3) 吉田 実, 星井 博, 森本 宏: 畜試研報, No. 3, 131(1963)
- 4) 関 博磨: 総合医学, **14**, 835 (1957)
- 5) Allen, R. J. L.: *Biochem. J.*, **34**, 858 (1940)
- 6) Yoshida, T., Pleasants, J. R., Reddy, B. S. & Wostmann, B. S.: *Brit. J. Nutr.*, **22**, 723, (1968)
- 7) Evrard, E., Hoet, P. P., Eyssen, H., Charlier, H. & Sacquet, E.: *Brit. J. Exp. Pathol.*, **45**, 409 (1964)
- 8) Luckey, T. D.: *Germfree Life and Gnotobiology*, p. 252, Academic Press, New York (1963)
- 9) Levenson, S. M. & Tennant, B.: *Fed. Proc.*, **22**, 109 (1963)
- 10) Miller, W. S.: *Proc. Nutr. Soc.*, **26**, x (1967)
- 11) Gordon, H. A. & Wostmann, B. S.: *Anal. Rec.*, **137**, 65 (1960)
- 12) Gordon, H. A. & Bruckner-Kardoss, E.: *Acta Anatomia*, **44**, 210 (1961)
- 13) Luckey, T. D.: 上記 (8) p. 340
- 14) Edward, Jr., H. M. & Boyd, F. M.: *Poultry Sci.*, **42**, 1030 (1963)
- 15) Gustafsson, B. E. & Norman, A.: *J. Exp. Med.*, **116**, 273 (1962)
- 16) 宮川正澄: 無菌動物, p. 227, 医歯薬出版, 東京 (1963)
- 17) Glas, J. E. & Gustafsson, B. E.: *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.*, **1**, 363 (1963)
- 18) Gershoff, S. N.: *Metabolism*, **13**, 875 (1964)
- 19) Gershoff, S. N. & Prien, E. L.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **20**, 393 (1967)