

学 位 論 文 要 旨

氏 名

モハマド ミジャヌール ラーマン

題 目

暖地型牧草におけるシュウ酸に関する研究 一特に施肥との関連について—
(Studies on Oxalic Acid in Tropical Forage
with Special Reference to the Effect of Fertilizer Application)

牧草中のシュウ酸は、カルシウムと結合して不溶性の塩を形成し、ミネラルの吸収を阻害したり、結石によって腎臓に障害を与えたりする負の栄養成分であり、家畜生産上重要な問題であるにもかかわらず、体系的な研究は多くない。そこで本研究では、暖地型牧草におけるシュウ酸の蓄積について、各種の要因、特に施肥との関連において検討した。研究に当たって、まず始めに牧草中のシュウ酸を、可溶性シュウ酸（一般に有毒とされる）と不溶性シュウ酸（一般に無害とされる）に分別し、高速液体クロマトグラフィーで簡便に、しかも精度高く定量出来る方法を確認した。次いで、この方法を用いて、暖地型牧草におけるシュウ酸含量について種々検討した。得られた結果の概要は以下の通りである。

1. ネピアグラス (*Pennisetum purpureum*) のシュウ酸含量を季節、品種、部位、刈取間隔との関連において調査した。その結果、シュウ酸含量は季節的に変化し、初夏で最も高く、中には家畜中毒限界を越す値も見られたが、晩秋に低くなった。また、矮性種において含量が高く、葉身で含量が高い傾向が見られ、刈取間隔を延ばすと含量が低くなった。
2. ネピアグラス、ローズグラス (*Chloris gayana*)、ギニアグラス (*Panicum maximum*)、スーダングラス (*Sorghum vulgare*) を用いて窒素 (N) 施用との関係について一連の研究を行った。その結果、尿素や硝酸アンモニウムの施用ではシュウ酸の過剰な蓄積は生じないこと、硝酸の施用でシュウ酸および Ca、マグネシウム (Mg)、カリウム (K)、ナトリウム (Na) の含量が高まることを認めた。また、可溶性シュウ酸と K 含量との間に、不溶性シュウ酸と Ca および Mg 含量との間にそれぞれ有意な相関 ($r=0.87$, $r=0.83$, $r=0.81$) を認めた。
3. NaCl がネピアグラスのシュウ酸含量に及ぼす影響を調べた。その結果、海浜に生育する植物が通常被る程度の NaCl はネピアグラスのシュウ酸含量に重大な影響を及ぼさないことを示した。
4. ネピアグラスにおける N および K 施用がシュウ酸含量に及ぼす影響を調べた。その結果、K 施用を高めると可溶性シュウ酸と全シュウ酸含量が高まり、逆に不溶性シュウ酸含量は低くなる傾向を示した。また、N および K 施用がシュウ酸含量に及ぼす効果については交互作用が認められたが、番草によって一定ではなかった。
5. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の施用により、ネピアグラスの可溶性シュウ酸含量は低下し、逆に不溶性シュウ酸と Ca 含量は上昇する傾向を示し、 90 g m^{-2} の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 施用効果は有意であった。

以上、本研究では暖地型牧草のシュウ酸含量に影響を及ぼすいくつかの重要な要因、すなわち生育季節、草種・品種、植物部位、成熟度等について検討するとともに、特に N, K, Ca 等の要素施用との関連性について論じた。

学 位 論 文 要 旨

氏 名

Mohammad Mijanur RAHMAN

題 目

Studies on Oxalic Acid in Tropical Forage
with Special Reference to the Effect of Fertilizer Application
(暖地型牧草におけるシュウ酸に関する研究
-特に施肥との関連について-)

Oxalate is one of the anti-nutrients in forage that can bind with calcium (Ca) in the blood to form insoluble Ca oxalate, which may lead to low serum Ca level and renal failure. Information of oxalate in forage is limited in spite of its importance in animals. The objective of this work was to investigate the oxalate accumulation in tropical forage especially in response to fertilizer application. To perform proposed research, author initially established a simple and accurate method for determination of oxalic acid in forage using high-performance liquid chromatography (HPLC).

1. Napiergrass (*Pennisetum purpureum*) was examined for oxalate levels with regard to season, variety, botanical fractions and cutting interval. Oxalate content was affected ($P < 0.001$) by the season with the highest value (3.77%) being associated with early summer samples and the lowest value (1.76%) with late autumn samples. Compared to a normal variety, a dwarf variety exhibited higher oxalate content but the difference was not significant. Oxalate content was higher ($P < 0.05$) in leaf tissue (2.78%) compared to stem with leaf sheath (2.05%). Oxalate content in napiergrass declined ($P < 0.05$) as the cutting interval increased.
2. A series of nitrogen (N) fertilization studies were conducted to examine the oxalate content in forage. Fertilizing napiergrass, Rhodesgrass (*Chloris gayana*), Guineagrass (*Panicum maximum*) and Sudangrass (*Sorghum vulgare*) with urea did not result in excessive oxalate accumulation in the forage. In addition, fertilizing napiergrass with ammonium nitrate had no pronounced effect on oxalate content in the forage. In a nutrient solution study, nitrate nutrition showed higher contents of oxalate, Ca, magnesium (Mg), potassium (K) and sodium (Na) in napiergrass than the ammonium nutrition. The soluble oxalate content in plants was positively correlated ($r = 0.87$) with K concentration, while the insoluble oxalate content was positively correlated with Ca ($r = 0.83$) and Mg ($r = 0.81$) concentrations.
3. It was demonstrated that where the soil is high in sodium chloride (NaCl), dwarf napiergrass will tend to grow well and be low in oxalate. The 100 mM NaCl treatment exhibited higher soluble oxalate content compared to other treatments, but the differences were not significant.
4. It was tested the interaction effects of N and K fertilization on oxalate in napiergrass. The soluble and total oxalate contents showed an increasing trend and insoluble oxalate content showed a reverse trend with increasing K level. Interaction effects were found between N and K for oxalate, but no similar trend was observed among the cuttings.
5. Soluble oxalate content in napiergrass showed a decreasing trend and insoluble oxalate and Ca showed a reverse trend with increasing Ca(OH)_2 level. The $90 \text{ g m}^{-2} \text{Ca(OH)}_2$ treatment was most effective to reduce soluble oxalate by increasing insoluble oxalate, with significant ($P < 0.05$) differences between the 0 and $90 \text{ g m}^{-2} \text{Ca(OH)}_2$ treatments.

It is concluded that oxalate content in forage could vary considerably with some factors. These include season, plant species, plant part, plant maturity and fertilizer application (such as nitrate, ammonia, K and Ca).

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	Mohammad Mijanur RAHMAN
審査委員	主 査 宮崎大学 教授 川村 修
	副 査 鹿児島大学 教授 林 國興
	副 査 琉球大学 教授 川本 康博
	副 査 鹿児島大学 教授 中西 良孝
	副 査 宮崎大学 准教授 石井 康之
審査協力者	
題 目	Studies on Oxalic Acid in Tropical Forage with Special Reference to the Effect of Fertilizer Application (暖地型牧草におけるシュウ酸に関する研究 - 特に施肥との関連について-)
<p>シュウ酸は、植物における常在成分と言っても良いほど多くの植物種にみられ、特にタデ科、カタバミ科、アカザ科などに多く含まれ、牧草では熱帯・亜熱帯原産の暖地型イネ科牧草に多く含まれている。動物に対してのシュウ酸は、それ自体が種々の消化器症状を誘発する他、Caなどの陽イオンと結合して不溶性の塩を形成し、ミネラルの吸収を阻害したり、結石によって腎臓に障害を与えたりすることから、これらの植物を野菜や飼料として利用する場合、負の成分となる。熱帯・亜熱帯に位置する国々では、暖地型イネ科牧草が含むシュウ酸の過剰摂取によると思われる家畜の中毒例が古くから報告されており、死亡例もあるほどシュウ酸の存在は重要な問題であるにもかかわらず、体系的な研究は多くない。一方我が国では現在まで中毒発生の報告はない。この理由としては、暖地型イネ科牧草の給与割合が低いことや家畜衛生のレベルが高いことなどが考えられる。しかし、近年の地球温暖化傾向により、暖地型イネ科牧草の栽培・利用が拡大しつつあることから、急性のみならず慢性をも含め、シュウ酸中毒の危険性は潜在的に高まっていると考えなければならない。</p> <p>以上のような観点から、申請者は、暖地型牧草におけるシュウ酸に関する研究を、特に施肥との関連において実施し、以下のような成果を得た。</p>	

(i) 牧草中のシュウ酸を、可溶性シュウ酸（一般に有害とされる）と不溶性シュウ酸（一般に無害とされる）に分別し、高速液体クロマトグラフィーで簡便に、しかも精度高く定量出来る方法を確立した。

(ii) 採草地と放牧地のネピアグラスを用いてシュウ酸含量を測定したところ、家畜中毒限界を越すものが散見された。

(iii) ネピアグラスにおいて、収穫方法とシュウ酸含量との関係を系統的に調べ、若い植物体を家畜に多量に与えることの危険性を示した。

(iv) 南九州で一般に普及している暖地型イネ科牧草（ローズグラス、ギニアグラスおよびスーダングラス）のシュウ酸含量を、窒素施肥レベルとの関連で調べた。従来、窒素を多量に施用するとシュウ酸含量が高まるとされていたが、窒素を尿素（アンモニア態）として施用すると、シュウ酸含量は余り高まらないことを示した。また、これはネピアグラスにおいても確認された。これらの結果から、シュウ酸を蓄積し易い牧草に対しては、窒素を硝酸態として施用することは避け、アンモニア態として施用すべきであることを示唆した。

(v) シュウ酸とミネラル含量との関係を調べると、可溶性のシュウ酸と K 含量との間、ならびに不溶性のシュウ酸と Ca および Mg 含量との間に各々正の相関があった。このことから、無機成分の施用により、牧草中のシュウ酸の質や量を変化させることができることを示唆した。

(vi) 海浜に生育するある種の植物が高濃度のシュウ酸を蓄積すること、バングラデシュなど熱帯の低標高・ゼロメートル地帯で牛のシュウ酸中毒が報告されていることから、NaCl の施用がネピアグラスのシュウ酸含量に及ぼす影響を調べた。その結果、海浜に生育する植物が通常被る程度の NaCl はネピアグラスのシュウ酸含量には影響を及ぼさないことを示した。

これらの成果は7編の主論文にまとめられ、現在までに内外の学術誌に刊行あるいは印刷中となっている。

以上のように、本論文は、発展途上国の畜産物に対する需要の増大や地球的な気象変化に伴って、今後一層重要性が増すと思われる暖地型牧草の利用に際し、配慮しなければならないシュウ酸について数多くの知見を提供するとともに、草地学や家畜飼養学分野の発展に大きく寄与するものであり、審査委員会は、博士（農学）の学位に十分値するものであることを認めた。

最終試験結果の要旨

氏 名	Mohammad Mijanur RAHMAN		
審査委員	主 査	宮崎大学 教授	川村 修
	副 査	鹿児島大学 教授	林 國興
	副 査	琉球大学 教授	川本 康博
	副 査	鹿児島大学 教授	中西 良孝
	副 査	宮崎大学 准教授	石井 康之
審査協力者			
実施年月日	平成 21 年 1 月 16 日		
試験方法 (該当のものを○で囲むこと) (口頭)・筆答			
<p>主査および副査の 5 名は、平成 21 年 1 月 16 日の公開審査会において、学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は、申請者が博士 (農学) の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>			

学位申請者
氏 名

Mohammad Mijanur RAHMAN

主な質疑応答：

〔質問 1〕 実験にローズグラス、ギニアグラス、スーダングラス、ネピアグラスを用いた理由は何か。その中で、ネピアグラスが主な供試草種となっているが、その位置づけはどうか。

〔回答 1〕 実験に用いた 4 草種は南九州でよく使われている暖地型イネ科牧草である。ネピアグラスは、乾物生産性において、あらゆる牧草の中でも、最高位にある草種であり、バイオマス生産の面からも注目されている。

〔質問 2〕 牧草中のシュウ酸が家畜の嗜好性に悪影響を及ぼすとしているが、その理由は何か。

また、動物種によって嗜好性に違いがあるのか。

〔回答 2〕 食品では「sour」や「bitter」と言われている。シュウ酸カルシウムなどの不溶性塩による物理的刺激の可能性もある。しかし、食品と牧草では異なるかも知れない。

動物種によって嗜好性に違いがあると思われる。ヤギは、シュウ酸に対する抵抗性が高いと言われている。

〔質問 3〕 NaCl の施用を「Salinity Stress」と表現しているが、植物にとって本当にストレスになっているのか。

〔回答 3〕 ある論文での表現をそのまま用いた。単純に、「NaCl の施用」としたほうが良いかも知れない。

〔質問 4〕 同じく NaCl の施用の章で、100mM 処理だけシュウ酸含量が高いと強調するのはいかがか。

〔回答 4〕 ご指摘の通りで、この処理による差は統計的に有意ではない。訂正したい。

〔質問 5〕 シュウ酸含量が季節により変化すると述べているが、季節が進んだことにより変化するのか。気象の変化、たとえば気温や日長などとの関連において考察することが必要である。

〔回答 5〕 色々な気象条件が影響していると考えられる。今後の検討課題として論文中に盛り込みたい。

〔質問 6〕硝酸態窒素の施用によるシュウ酸含量の増加の原因として OH^- との関連を述べている。とすれば、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を施用した場合の OH^- の影響は考えなくてよいのか。

〔回答 6〕当然考えなければならないが、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を施用した場合、可溶性シュウ酸が減少し、不溶性シュウ酸が増加した。結果として、全シュウ酸は変化しなかった。このことについては、現在まで合理的な説明が出来ないでいる。

〔質問 7〕カリウムとの関係が気になる。カリウムは溶脱しやすいからである。2 番刈り、3 番刈りのシュウ酸含量が比較的低いのはカリウムの溶脱によるのではないか。

〔回答 7〕そうかもしれない。カリウムとの関係は当初予想しておらず、実験の途中で判明したものである。カリウムを分施した 12 章では、2 番刈り、3 番刈りシュウ酸含量は低下せず、増加傾向を示した。ただし、ハウス内でのポット試験で見られたように、要素の溶脱という点では、ポットでの試験は必ずしも圃場での試験と同じではないということを銘記しておきたい。

〔質問 8〕カリウムとの関係で、シュウ酸中毒の危険性が高まるのは、どのような場合か。

〔回答 8〕酸性土壌で、Ca が少ない場合が問題となる。また、堆肥やスラリーの多用も問題となる。