

人工第一胃における牧草の消化とガス産生

唐澤 豊・清水 拓司

信州大学農学部 家畜飼養飼料学教室

緒 論

反芻家畜による飼料の栄養価の評価には、多くの労力、経費および時間を必要とする。一方、飼料を基質とし人工第一胃での消化を調べ消化率を算出する人工消化法は、実際家畜を使った場合と比べ正確さは劣るが、簡便なため広く用いられている。この方法の欠点を克服するため種々の工夫がなされているが、中でも Tilley and Terry¹⁾ は人工第一胃での消化に続きペプシンによる消化を行う二段階の人工消化法を考案し、in vivo 法により近い消化率を得た。また Van Soest et al.²⁾ は、ペプシン処理のかわりに中性デタージェント液による抽出を行い好成績を得ている。

第一胃では、微生物の基質発酵による代謝性ガスや揮発性脂肪酸と重炭酸塩との緩衝作用によって生ずる CO₂ ガスが多量に発生する。この発酵ガスの測定によって、小原らは³⁾ 配合飼料原料の TDN と DCP を Menke et al.⁴⁾ は乾草粉末を種々の割合で含む配合飼料の ME と消化率を推定することが可能であることを示した。この方法は非常に簡便であるが、牧草の乾物と NDF の消化率を人工第一胃でのガス産生量によって推定しようとする試みは少なく、唐澤と清水⁵⁾ が牧草を基質とした人工第一胃で新に開発したピペット法によってガス産生像を調べ、その可能性を示唆したにすぎない。

本研究は、成育段階の異なる荳科牧草と禾本科牧草を基質として人工第一胃でガス産生量と基質の乾物および NDF 消化率との関係を調べ、ガス産生量の測定によってこれら牧草の NDF 消化率を推定することが可能かどうか検討した。

材料および方法

供試草種は、一番刈りの白クローバー、赤クローバー、オーチャードグラスおよびトールフェスクで、それぞれ栄養成長期、開花期、結実期に採取し、前報⁵⁾ で述べたように基質を調製した。新鮮草は細切後蒸留水を加えてミキサーで磨碎、四重ガーゼで絞って得た残渣を蒸留水とメタノールで洗滌、さらにこの残渣を通風乾燥、最後に粉砕機で 2 mm に粉砕しこれを基質とした。

ヘイキューブを 1.5kg、トウモロコシを主体とする濃厚飼料を約 150 g 毎日給与して飼養したフィステル装着成雌山羊（日本ザーネン種）より第一胃内容物を採取し、ただちに四重ガーゼでろ過して第一胃微生物叢液を得た。人工唾液として McDougall⁶⁾ の重炭酸緩衝液

を用い、この緩衝液に CO_2 ガスを通気して pH 6.9 とした後、各発酵槽当り第一胃微生物叢液 15ml と緩衝液 25ml を分注して培養液とした。

発酵槽は前報⁵⁾ で述べたと同様の物を用いた。すなわち培養発酵槽としての機能の他に、NDF (Neutral Detergent Fiber) を測定するための煮沸器、洗滌用ろ過器およびろつぼとして使うことのできる四種類の機能を有するものであった。この発酵槽は試料の移し換えが全く不用なため従来の方法と比べ労力を大いに節減することが可能であった。培養は培養液 40ml に基質 0.4 g を加え $39 \pm 1^\circ\text{C}$ で 5 分間の予備培養後 5 時間、10 時間あるいは 15 時間振盪培養した (117~118 住復/分)。その間 1 時間毎に前に報告したように⁵⁾ ピペット法でガス産生量を測定し累積ガス産生量を計算した。

乾物消化率 (DMD) は次のようにして求めた。培養後発酵槽の上下のゴム栓をはずし培養液をろ過してガラスフィルター上の残渣を常法により乾燥し恒量値を求め、この恒量値からあらかじめ求めてあるガラスろ過器の恒量値を差し引きこれを未消化の DM(W) とした。この値を未培養の DM 量 (D) から差し引くことによって消化された DM 量を算出することができる。

$$\text{DMD} = (D - W) \times 100 / D$$

また NDF 消化率 (NDFD) は、DM 測定後 Van Soest の方法を改変した堀井・阿部⁷⁾ の方法で前報と同様に分析し算出した。すなわち、ND 溶液 50ml、デカリン 2ml および亜硫酸ナトリウム 0.5 g を加え 1 時間 10 分煮沸し、その後吸引ろ過、さらに熱水 50ml、アセトン 15ml で交互に 3 回洗滌し、常法により恒量値を求めた後、 500°C で 5 時間灰化、秤量して前後の値の差から未消化の NDF 量 (CW) を求めた。この値を未培養時の NDF 量 (C) から減ずることによって消化された NDF 量を得、消化率を算出することができる。

$$\text{NDFD} = (C - CW) \times 100 / C$$

結果および考察

著者らは前報⁵⁾ で、人工第一胃での牧草のガス産生像は発酵過程の特徴を示すが NDF 消化率との関係はむしろ累積ガス量にあることを示唆した。そこで本実験では、培養開始後 5 時間、10 時間および 15 時間の累積ガス量を求め、このガス量と DM 消化率、NDF 消化率との関係を栄養成長期、開花期、結実期の牧草について調べ Fig. 1, 2 に示した。

著者らは、牧草を基質とした人工第一胃のガス産生曲線から禾本科牧草より荳科牧草の場合にガス産生量が多いことを前報⁵⁾ で指摘した。これは扇元ら⁸⁾ の第一胃内容物のガス産生能は禾本科乾草よりクローバーの生草を給与した時に活発であるとの報告と一致するものであるが、本実験においても累積ガス量は、いずれの育成段階であってもクローバー類でトールフェスクやオーチャードグラスより、培養開始後 5 時間にすでに多く、さらにこの関係は 15 時間の培養でも認められた。一方白クローバーを基質とした時の累積ガス量は、5 時間あるいは 10 時間培養した時には開花期と結実期に、15 時間培養した時にはいずれの育成段階でも、赤クローバーより多く (Fig. 1)、またトールフェスクのガス産生量は、5 時間、10 時間

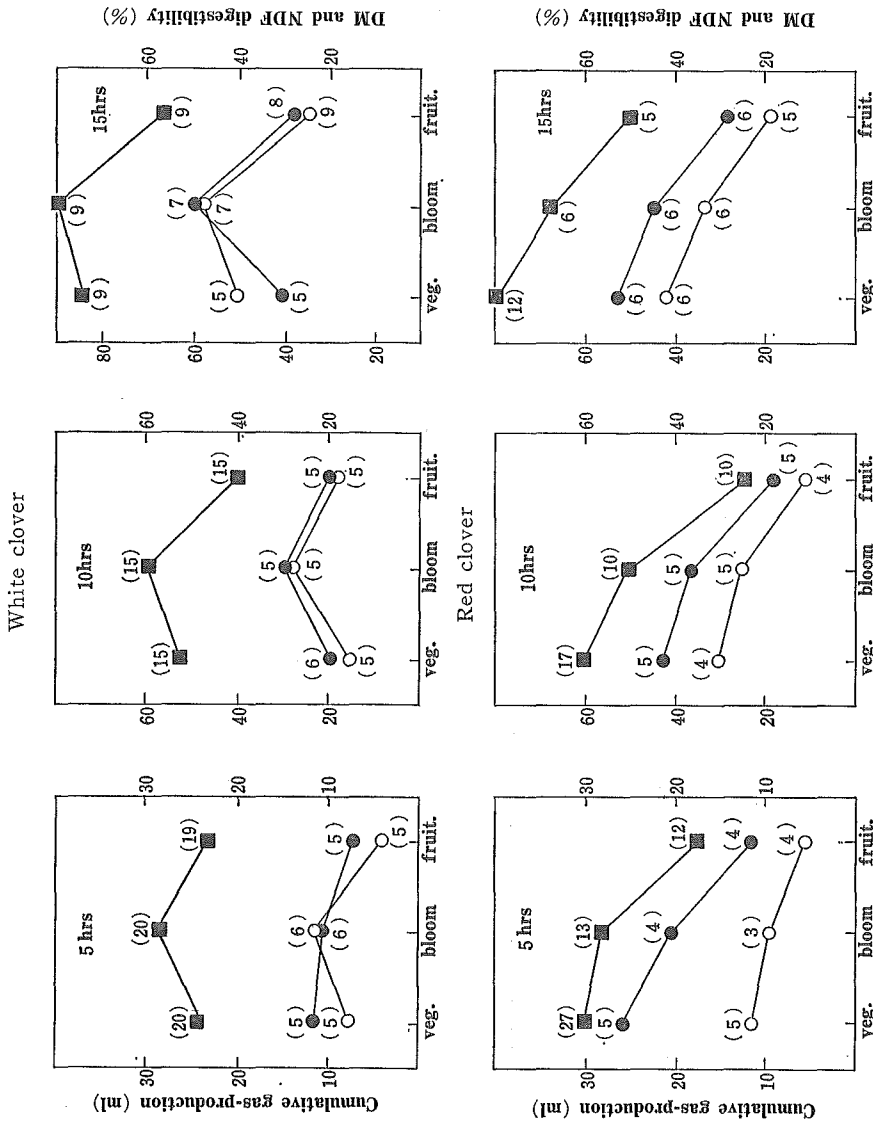


Fig. 1. DM and NDF digestibility and cumulative gas-production when white clover or red clover at different stages of maturity was incubated for 5, 10 and 15 hrs. ■, cumulative gas-production; ●, DM digestibility; ○, NDF digestibility. Figures in parentheses indicate number of samples.

あるいは15時間培養した場合、いずれの成育段階でもオーチャードグラスより多くなった (Fig. 2)。したがって本実験の結果は、人工第一胃の基質がクローバー類の時培養開始後速やかにしかも多くのガスが禾本科牧草と比べ産生されることを確認するとともに、ガス産生量は同じクローバー類や禾本科牧草であってもそれぞれ異なることを示した。

白クローバーのガス産生量は、他の供試牧草と異なり栄養成長期から開花期に増加し結実期には栄養成長期より低下した (Fig. 1)。一方赤クローバーを基質とした時のガス産生は、栄養成長期に最も多くさらに成育が進むにつれ著しく低下した (Fig. 1)。これらクローバー

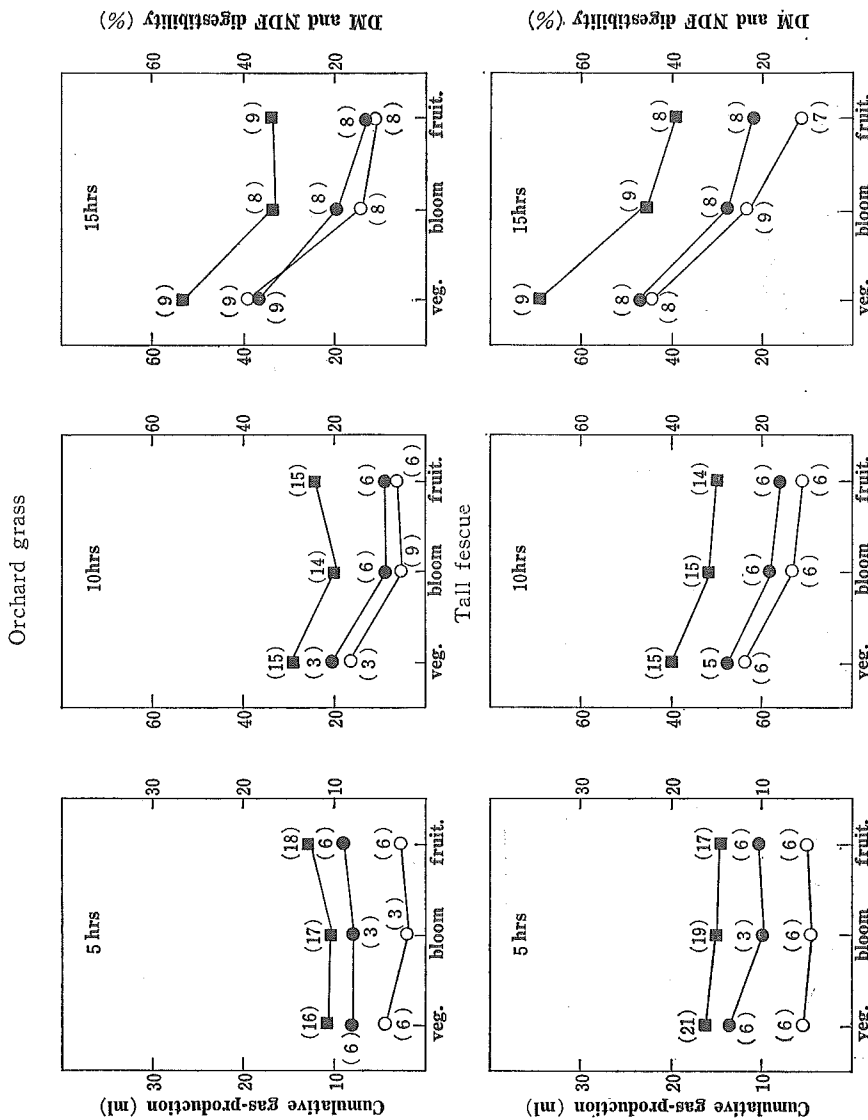


Fig. 2. DM and NDF digestibility and cumulative gas-production when orchard grass or tall fescue at different stages of maturity was incubated for 5, 10 and 15 hrs. ■, cumulative gas-production; ●, DM digestibility; ○, NDF digestibility. Figures in parentheses indicate number of samples.

類の場合には培養開始後5時間にこのような傾向が認められるのに対し、オーチャードグラス、トールフェスクの場合これらの成育段階の違いによるガス産生へのはっきりした影響は、15時間培養することによってようやく認められた (Fig. 2)。オーチャードグラスとトールフェスクのガス産生量は、苜科牧草と対象的に栄養成長期から開花期にかけて急激に低下し結実期にはほとんど変化しないパターンを示した。

牧草のDM消化率とNDF消化率は、牧草の発育に伴ってガス産生量と同様の変化を示した。これら消化率とガス産生量のパターンの一致は、培養期間が15時間の場合ばかりで

なく5時間と10時間の場合にもみられ、人工第一胃の発酵に伴うDMの消化とNDFの消化はガス産生量と密接な関係があることを、本実験で供試したすべての牧草について示している。また全般にDM消化率の方がNDF消化率よりすべての培養期間でどの発育段階の牧草でも高い傾向が認められ、特に培養初期の5時間にこの傾向が顕著であった。この現象は、DM中のNDF以外の物質が培養初期に容易に消化されるのに対し、NDFは培養開始後10時間以後に急激な消化の増加が起ることによるものと推定される。

Van Soest⁹⁾はNDFは主として細胞膜構成物質(CWC)から成ることを報告し、堀井・阿部も⁷⁾NDFの97%以上はCWCであることを示した。さらに彼らは、イタリアンライグラスやアルファルファのNDFは50%以上がヘキソザン、20~30%がペントザン、10~20%がリグニン、そして3~4%が粗蛋白質から構成されていることを報告した。CWCのin vitro消化はリグニンによって抑制され¹⁰⁾、CWCのin vitroの初期反応速度はCWC自体の重合度と結晶性により律速される¹¹⁾といわれている。したがって、本実験において観察さ

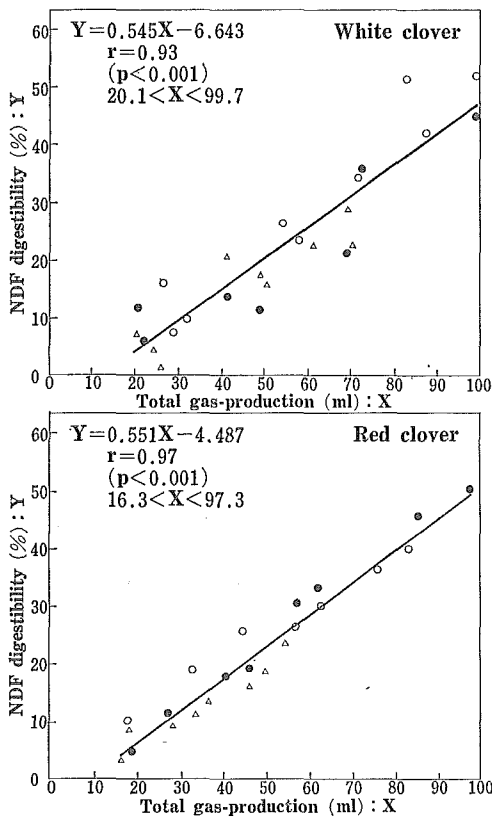


Fig. 3. Correlation between NDF digestibility and total gas-production when white clover or red clover was incubated for 5, 10 and 15 hours.

●, vegetative; ○, bloom; △, fruitage.

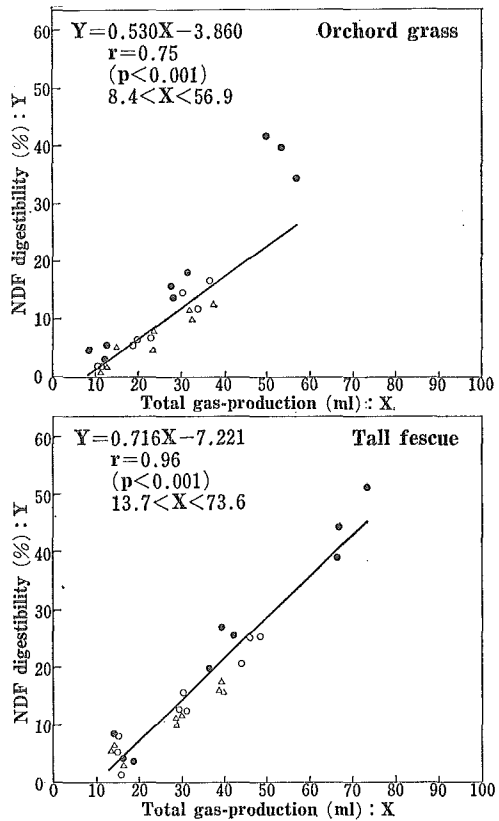


Fig. 4. Correlation between NDF digestibility and total gas-production when orchard grass or tall fescue was incubated for 5, 10 and 15 hours.

●, vegetative; ○, bloom; △, fruitage.

れた牧草の成育ステージの進行に伴う DM および NDF 消化率の低下のおもな原因は、リグニンの沈着すなわち木化にあるものと考えられる。また牧草中の NDF 以外の成分も発育に伴って変化するので、発酵槽中に共存する牧草の NDF 以外の成分の変動が NDF 消化にどのような影響を与えるかについても検討が加えられなければならない。

前述のように、牧草の NDF 消化率と累積ガス量との間には牧草の発育段階と培養時間に関係なく密接な関係があると考えられた。そこでそれぞれの牧草について NDF 消化率 (Y) と累積ガス量 (X) の回帰分析を試みた。その結果を Fig. 3, 4 に示した。回帰式は、白クローバー: $Y=0.545X-6.643$ ($r=0.93$, $p<0.001$), 赤クローバー: $Y=0.551X-4.487$ ($r=0.97$, $p<0.001$), オーチャードグラス: $Y=0.530X-3.860$ ($r=0.75$, $p<0.001$), トールフェスク: $Y=0.716X-7.211$ ($r=0.96$, $p<0.001$) が得られ、いずれの牧草についても NDF 消化率と累積ガス量との間に有意な高い相関が認められた。したがって、各牧草についてこれらの回帰式を用いれば、牧草の生育ステージや培養時間にかかわらず、累積ガス量によって消化率を推定することが可能である。

以上のように本実験の結果は、人工第一胃における牧草の NDF 消化率を培養中に発生する累積ガス量によってかなり正確に推定できることを示した。このことは、牧草を基質とした人工第一胃におけるガス産生量から、牧草の *in vivo* 消化率を推定することが可能であることを示唆するものであり、この点についての今後の研究が待たれる。本実験条件で得られた牧草の *in vitro* 消化率は、高くても60%を越えることがなく、*in vivo* 消化率と比べいずれも低いものであった。一方岡本・広瀬¹²⁾は、牛の人工第一胃でオーチャードグラスについては48時間、アルファルファについては36時間の培養で、高い場合には90%の DM 消化率を得ている。本実験での15時間の培養時間をこのように延長すれば高い消化率が得られるものと思われるが、このような培養条件では発生するガス量も多く、本実験とは異なるガス測定法を工夫しなければならない。また培養時間の延長は、実験の簡便さからいっても望ましくない。したがって、これらの点を考慮した検討が必要であろう。

要 約

人工第一胃で、栄養成長期、開花期、結実期の赤クローバー、白クローバー、オーチャードグラスあるいはトールフェスクを基質とした時のガス産生量と DM 消化率あるいは NDF 消化率との関係を調べ、累積ガス量を測定することによって NDF 消化率を測定することが可能かどうかについて検討した。なお培養は5分間の予備培養後5時間、10時間あるいは15時間行い、ガスはピペット法で測定した。

1. 白クローバー、赤クローバを基質とした時累積ガス量は、栄養成長期、開花期、結実期のいずれであっても、オーチャードグラス、トールフェスクを基質とした場合より多かった。
2. 供試牧草の累積ガス量、DM 消化率、および NDF 消化率は牧草の発育に伴って同じように変化した。
3. 累積ガス量と NDF 消化率の間には、培養時間と牧草の発育段階に関係なく高い相関が認められ、人工第一胃における累積ガス量の測定によって牧草の NDF 消化率を推定する

ことが可能であった。

引用文献

- 1) Tilley, J. M. A. and R. A. Terry, J. Brit. Grassld. Soc. 18, 104-111. 1963.
- 2) Van Soest, P. J., R. H. Wine and L. A. Moore, Proc. 10th Intern. Grassld Congr., Helsinki, 438-441. 1966.
- 3) 小原正哉・山本勝夫・大木加津子, 日畜会報 45 : 477-487. 1974.
- 4) Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider, J. agric. Sci. 93 : 217-222. 1979.
- 5) 唐澤 豊・清水拓司, 信大農紀要 21 : 111-118. 1984.
- 6) McDougall, E. I., Biochem. J. 43 : 99-109. 1948.
- 7) 堀井 聡・阿部 亮, 畜試研究報告 23 : 83-87. 1970.
- 8) 扇元敬司・柴田章夫・古坂澄石, 日畜会報 32 : 330-333. 1963.
- 9) Van Soest, P. J. R. H. Wine J. of the A. O. A. C. 50 : 50-55. 1967.
- 10) Mowat, D. N., M. L. Kwain and J. E. Winch, Can. J. Plant Sci. 49 : 499-504. 1969.
- 11) 堀井 聡・阿部 亮, 畜試研究報告 23 : 89-94. 1970.
- 12) 岡本全弘・広瀬可恒, 日畜会報 43 : 499-505. 1972.

Digestion and Gas Production of Grass in an Artificial Rumen

By Yutaka KARASAWA and Takuji SHIMIZU

Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Fac. Agric., Shinshu Univ.

Summary

This experiment was conducted with an artificial rumen to examine whether NDF (Neutral Detergent Fiber) digestibility of forage used as substrate can be evaluated by the cumulative gas production during fermentation. The forages used as substrate were white clover, red clover, orchard grass and tall fescue at the vegetative, blooming and fruitage stages and CO₂-treated incubation medium (pH 6.9) consisted of goat rumen juice and McDougall's synthetic saliva other than forage substrate. Incubation was performed for 5 hours, 10 hours or 15 hours, and the gas produced was determined by the pipett method.

The results obtained are as follows:

- 1) Cumulative gas production during fermentation was more when white clover or red clover was used as substrate than when orchard grass or tall fescue was used, irrespective of the maturity stages of forages and incubation time.
- 2) Cumulative gas production, dry matter digestibility and NDF digestibility responded to the maturity of each forage tested in similar manners.
- 3) Significant high correlations were found between cumulative gas production and NDF digestibility in all forages tested, regardless of the maturity of forages and incubation time, suggesting that NDF digestibility of forage substrate can be evaluated by the cumulative gas production in an artificial rumen.