

研究ノート

マメ科牧草サイレージ貯蔵中における構造的炭水化物の分解

鷺巣 紋子・河合 正人・高橋 潤一・松岡 栄
帯広畜産大学, 帯広市 080-8555

Breakdown of Structural Carbohydrates during the Ensiling Process of Legumes

Ayako WASHIZU, Masahito KAWAI, Junichi TAKAHASHI and Sakae MATSUOKA

Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro-shi 080-8555

キーワード マメ科牧草, サイレージ, 貯蔵, 構造的炭水化物, 分解

Key words : legumes, silage, ensiling process, structural carbohydrates, breakdown

要 約

アカクロバーとアルファルファを材料として、植物体地上部全体、葉部のみ、茎部のみをサイレージを調製し(以下全体、葉部、茎部と呼ぶ)、発酵品および35日間貯蔵中における乾物、可溶性炭水化物(WSC)消失率およびヘミセルロース、セルロース分解率を測定した。WSCはサイレージ発酵によってアカクロバー、アルファルファでそれぞれ72.8、85.9%消失した。部位別でのWSC消失率はアカクロバーでは葉部より茎部で低く、アルファルファでは逆に葉部より茎部で高かった。ヘミセルロース分解率はアカクロバー、アルファルファ全体でともに25%程度であった。部位別のヘミセルロース分解率は、両草種とも葉部より茎部で高く、アカクロバーでは42.0、アルファルファでは35.9%であった。セルロース分解率はヘミセルロース分解率に比べて小さく、5%以下であった。

緒 言

サイレージ発酵は、非構造的炭水化物である可溶性炭水化物を主な基質としておこる(大山, 1971)。一方、ヘミセルロース、セルロース、リグニン、ペクチン等から構成される構造的炭水化物、この中でもヘミセルロースはサイレージ貯蔵中にかなりの程度で分解され、最終的に発酵基質として利用できるという報告もされている(McDONALD *et al.*, 1960; McDONALD *et al.*, 1962)。

サイレージ貯蔵中におけるヘミセルロース分解の要

因として①牧草中のヘミセルロース分解酵素の働き、②細菌のヘミセルロース分解酵素の働き、③発酵中に生成した有機酸による加水分解が指摘されている(DEWAR *et al.*, 1963)。McDONALD *et al.* (1962)はイタリアンライグラスを111日間貯蔵したとき、およびオーチャードグラスを84日間貯蔵したときのヘミセルロース分解率はともに30%程度、セルロース分解率はそれぞれ4、5%であったと報告している。また、イネ科牧草に硫酸や蟻酸などの酸や(MORRISON, 1979)、酵素製剤(松岡ら, 1997)を添加するとヘミセルロース、セルロース分解率が高くなるという報告もある。

サイレージの貯蔵中の構造的炭水化物の分解に関しては、これまでイネ科牧草についての報告が多く、マメ科牧草についての報告は少ない。イネ科牧草とマメ科牧草とでは化学成分、緩衝能などが異なる(McDONALD *et al.*, 1991)ためサイレージ発酵も異なり、ひいては貯蔵中の構造的炭水化物の分解様相も異なるものと考えられる。そこで本実験では、北海道で広く栽培されているアカクロバーとアルファルファを用いて、サイレージ貯蔵中の構造的炭水化物の分解について検討した。また、マメ科牧草は葉部と茎部で化学成分が大きく異なる(ALBRECHT *et al.*, 1987)ので部位による違いについても検討した。

材料および方法

サイレージの調製

本学附属農場で1998年6月17日、22日に刈り取った開花初期～開花期のアカクロバーおよび、開花前～開花初期のアルファルファを供試した。この供試材料を植物体地上部全体、葉部のみ、茎部のみに分け水

Table 1. Chemical composition of the grasses

	Red Clover			Alfalfa		
	All	Leaf	Stem	All	Leaf	Stem
DM,%	20.6	22.3	26.7	24.0	24.0	23.5
	% Dry matter					
CP	14.5	21.9	7.8	20.6	32.2	11.1
WSC	10.3	9.8	12.3	6.2	3.0	8.0
NDF	38.8	29.3	45.1	41.1	21.3	60.7
ADF	27.4	15.8	34.9	32.7	16.0	50.7
ADL	5.2	3.0	6.4	7.4	3.3	11.8
Hemicellulose	11.4	13.5	10.2	8.4	5.3	10.0
Celulose	22.2	12.8	28.5	25.3	12.7	38.9

DM: Dry matter, CP: Crude protein, WSC: Water-soluble carbohydrate, NDF: Neutral-detergent fiber, ADF: Acid-detergent fiber, ADL: Acid-detergent lignin

分含量が同じになるように予乾した(以下全体、葉部、茎部と呼ぶ)。原料草の化学成分を Table 1 に示した。なお、本実験で用いたアカクローバーの葉部と茎部の重量割合は、原物でほぼ 3:1 であり、アルファルファでは 1:3 であった。これらの原料草を各処理につき 3 個の 500 ml 容ガラス瓶に乾物で約 80 g ずつ圧搾しながら詰め込み、35 日間 28℃ の恒温器内で貯蔵した。

分析方法

原料草およびサイレージの化学成分は以下の方法にしたがって分析した。水分含量は凍結乾燥法、可溶性炭水化物(WSC)はアンスロン試薬による比色法(梶木, 1971)、全窒素は KJELDARL 法(倉田ら, 1971)により測定した。中性デタージェント繊維(NDF)、酸性デタージェント繊維(ADF)、酸性デタージェントリグニン(ADL)は VAN SOEST *et al.* (1963; 1967) の方法により測定した。ヘミセルロースは、NDF から ADF、セルロースは、ADF から ADL を差し引いた計算値とした。

サイレージの発酵品質について、pH はガラス電極 pH メーター(堀場株式会社; F-13)を、VFA はガスクロマトグラフィー(島津製作所; GC-14A)を用いて測定した。乳酸は BARKER and SUMMERSON (1961) の方法、アンモニアは CONWAY & O'MALLEY (1942) の微量拡散法を用いて測定した。

サイレージ貯蔵中の化学成分消失率および構造化炭水化物の分解率は以下のように算出した。すなわち、詰め込み時における原料草の詰め込み量と成分含量から詰め込んだ成分量(A)を、35 日貯蔵後のサイレージ取り出し量と成分含量から取り出した成分量(B)を求めて、次式により算出した。

$$\text{消失率または分解率} = (A - B) / A \times 100$$

得られたデータはスチューデントの t 検定により統計処理した。

Table 2. Chemical composition of Red Clover and Alfalfa silage

	Red Clover			Alfalfa		
	All	Leaf	Stem	All	Leaf	Stem
DM,%	20.7	22.7	25.6	23.8	22.3	22.6
	% Dry matter					
WSC	3.4	2.1	4.9	0.9	1.6	1.0
NDF	35.1	26.1	42.6	40.9	22.1	59.1
ADF	26.8	16.0	38.4	34.5	18.1	51.6
Hemicellulose	8.3	10.1	6.2	6.4	4.0	7.5
Cellulose	21.6	13.0	32.0	27.1	14.8	39.8

結果および考察

サイレージの化学成分を Table 2 に示した。WSC 含量は、両草種ともに全体、葉部、茎部において、原料草よりも著しい減少がみられた。また、ヘミセルロース含量も WSC 含量ほどではなかったが、かなりの減少がみられた。しかし、セルロース含量については、原料草との間に大きな差はみられなかった。

全体サイレージの発酵品質を Table 3 に、部位別の発酵品質を Table 4 に示した。

全体サイレージについてみると、アカクローバー、アルファルファの乳酸含量は乾物あたりそれぞれ 7.8、7.4% であり、これを原物あたりに換算すると両草種ともに 1.5~2.5% の範囲内にあった。また、全窒素に対するアンモニア態窒素の割合は 10% 以下であった。これらの成分含量から判断(安宅, 1984)す

Table 3. Fermentation quality of Red Clover and Alfalfa silage

	Red Clover	Alfalfa
pH	4.25 ^b	4.72 ^a
Lactic acid, % DM	7.8	7.4
Ammonia-N, % total N	4.3 ^b	7.8 ^a
Total VFA, % DM	0.96 ^b	1.68 ^a
Acetic acid, % DM	0.86 ^b	1.59 ^a
Propionic acid, % DM	0.10	0.04
Butyric acid, % DM	—	0.05

^{a,b}: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 4. Fermentation quality of Leaf and Stem of Red Clover and Alfalfa silage

	Red Clover		Alfalfa	
	Leaf	Stem	Leaf	Stem
pH	4.02	4.01	4.14 ^x	4.74 ^x
Lactic acid, % DM	9.2 ^a	4.8 ^b	9.1 ^x	7.4 ^y
Ammonia-N, % total N	4.1 ^b	6.3 ^a	14.8 ^x	6.7 ^y
Total VFA, % DM	1.50 ^a	0.83 ^b	3.46 ^x	1.11 ^y
Acetic acid, % DM	1.38 ^a	0.73 ^b	2.49 ^x	0.95 ^y
Propionic acid, % DM	0.12	0.10	0.22	0.16
Butyric acid, % DM	—	—	0.75	—

^{a,b, x, y}: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

ると、両草種とも良質なサイレージであったと評価できる。ちなみに、フリーク評点を試算してみると、それぞれ 100, 98 点であった。

部位別についてみると、原料草中の WSC 含量は両草草ともに茎部より葉部で低かったが、サイレージの乳酸および総 VFA 含量は茎部より葉部で高く (P<0.05), 特にアルファルファ葉部の総 VFA で顕著であった。マメ科牧草にはリンゴ酸, クエン酸, キナ酸, マロン酸, グリセリン酸など多くの有機酸が存在し, リンゴ酸やクエン酸などはサイレージ発酵時に乳酸菌や酢酸菌に利用され, 乳酸または酢酸となる (McDONALD *et al.*, 1991)。また, これらの有機酸は葉部により多く存在する (McDONALD *et al.*, 1991)。これらのことから, 本実験では葉部においてより多くの有機酸が発酵基質として利用されたことが推定される。さらに, 大山 (1971) は, 品質の悪いサイレージにおいて, 多量の揮発性塩基態窒素が存在するような場合には酪酸のみならずさらに高級な VFA がかなりの量生成されていることを認め, このことから蛋白質の分解によってできたアミノ酸が脱アミノ作用を受けてサイレージ発酵の基質となり, VFA に変化することを推察している。アルファルファ葉部サイレージではアンモニア態窒素含量が多かったことから, このサイレージでは上述のようなアミノ酸からの VFA 生成も起こっていたものと考えられる。

サイレージ貯蔵中における乾物, WSC 消失率およびヘミセルロース, セルロース分解率を Table 5 に, 部位別での消失率および分解率を Table 6 に示した。アカクローパー, アルファルファ全体の乾物消失率はそれぞれ 3.0, 2.1% であった。McDONALD *et al.*

(1991) は, 良好に調製されたサイレージの場合, 発酵によって生じる乾物損失率は 2~4% であると報告しており, 本実験での乾物消失率もこの範囲にあった。

WSC の消失率はアカクローパー全体で 72.8% と, アルファルファ全体の 85.9% よりも低かった (P<0.05)。これは, アルファルファ全体の総 VFA 含量がアカクローパー全体よりも高く (P<0.05), アルファルファでサイレージ発酵がより活発であったことを反映している。部位別にみると, アカクローパーでは葉部より茎部のほうが WSC 消失率が高く (P<0.05), 葉部と全体の消失率が同程度であった。一方, アルファルファでは逆に, 葉部より茎部の消失率が低く (P<0.05), 茎部と全体の消失率が同程度であった。本実験で用いたアカクローパーの葉部と茎部の原物重量比は約 3:1 であり, 全体の中で葉の占める割合が多かったため全体の WSC 消失率も葉の影響を受けたものと考えられる。同様に, アルファルファの葉部と茎部の原物重量比は約 1:3 であり, 茎の占める割合が多かったため全体の WSC 消失率は茎の影響を受けたものと考えられる。

全体サイレージのヘミセルロース分解率についてみると, 両草種ともに約 25% であった。McDONALD *et al.* (1962) は, 111 日間貯蔵したイタリヤンライグラスと 84 日間貯蔵したオーチャードグラスのヘミセルロース分解率はともに 30% 程度であったと報告している。この分解率に比べると, 本実験の値は低いものであった。これには, 本実験の貯蔵期間が 35 日間と短かったことが一部関係しているものと思われる。また, DEWAR *et al.* (1963) は, イネ科牧草のヘミセルロースの主要な成分はアラビノキシランであり, アラビノースの側鎖は主骨格であるキシランより容易に加水分解されやすいことを報告しており, このことは, アラビノースが多いほどヘミセルロースは分解されやすいことを示唆するものである。さらに, McDONALD *et al.* (1991) は, イネ科牧草はマメ科牧草よりも多くのアラビノースを含んでいると報告している。これらのことから, ヘミセルロースを構成する単糖の組成の違いも, 本実験のヘミセルロースの分解率が低かったことに関係しているものと考えられる。

松岡ら (1997) は, 35 日間貯蔵したアルファルファでのヘミセルロース分解率が 38.3% であったと報告しており, 本実験の結果よりも高い値を示している。この報告ではサイレージの pH が高く (6.93), アンモニア態窒素含量と酪酸が異常に多く (全窒素あたり 20.3%, 乾物あたり 6.2%), 乳酸含量が少ない (乾物あたり 0.6%) 劣質なサイレージであった。ヘミセルロースの分解には発酵品質も関係していることが考えられるが, この点を検討するためには, さらにデータを集積する必要がある。

部位別でのヘミセルロース分解率は, 葉部に比べて

Table 5. Losses of DM, WSC, hemicellulose and cellulose contents during ensiling

	Red Clover	Alfalfa
DM, %	3.0	2.1
WSC, %	72.8 ^b	85.9 ^a
Hemicellulose, %	25.5	24.1
Cellulose, %	5.1 ^a	-0.3 ^b

^{a,b}: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 6. Losses of DM, WSC, hemicellulose and cellulose contents of Leaf and Stem during ensiling

	Red Clover		Alfalfa	
	Leaf	Stem	Leaf	Stem
DM, %	2.9 ^b	4.7 ^a	8.2 ^x	4.9 ^y
WSC, %	78.8 ^a	54.6 ^b	51.7 ^y	88.0 ^x
Hemicellulose, %	24.4 ^b	42.0 ^a	20.7 ^y	35.9 ^x
Cellulose, %	1.2 ^b	3.6 ^a	-2.9 ^y	3.4 ^x

^{a,b,x,y}: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

茎部で高く ($P < 0.05$), アカクローバーでは 42.0%, アルファルファでも 35.9%であった。ALBRECHT *et al.* (1987)は, アルファルファの葉と茎の細胞壁構成成分を調べ, 葉部よりも茎部でアラビノースが少なかったと報告している。したがって, 部位別でのヘミセルロース分解率の相違はヘミセルロース構成単糖の違いだけからでは明らかにできなかった。また, 本実験のデータからだけではヘミセルロース分解率と発酵品質との間には明確な関係は得られなかった。

セルロースの分解率はヘミセルロースに比べて小さく, 分解率が最も高かったアカクローバー全体でも 5%であった。McDONALD *et al.* (1962)は, セルロースの分解率をオーチャードグラスは 4%, イタリアンライグラスでは 5%と報告している。また, ブランダら (1996)は, アルファルファとチモシー混播サイレージでセルロース分解率が 2%であったと報告しており, 本実験でのセルロース分解率もこれらの報告と同程度であった。また, セルロースは部位別でも全体と同じく大きな分解はみられなかった。

以上, 本実験においてはアカクローバーおよびアルファルファの貯蔵中のヘミセルロース分解率は同程度で, おおよそ 25%であった。また, 部位別の比較では両草種とも葉部より茎部で高かった。セルロース分解率は全体, 各部位ともに 5%以下と大きなものではなかった。

文 献

- ALBRECHT K. A., W. F. WEDIN and D. R. BUXTON (1987) Cell-Wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves. *Crop Sci.*, **27**: 735-741.
- 安宅一夫 (1984) サイレージの理論と実際。第 7 章サイレージ品質の見分け方の項執筆 (高野信雄・安宅一夫監修), 131-139, 酪農学園短期大学酪農学校, 江別。
- BARKER, S. B. and W. H. SUMMERSON (1961) The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, **138**: 535-554.
- ブランダ ロールデス ノエミ・藤田裕・松岡栄 (1996) 牧草のサイレージ化にともなう構造的炭水化物の分解と消化率の変化およびそれに与える添加剤の影響。北畜会報, **38**: 50-54.
- CONWAY, E. J. and E. O'MALLEY (1942) Microdiffusion methods: ammonia and urea using buffered absorbents (revised method for ranges greater than 10%. N). *Biochem. J.*, **38**: 655-611.
- DEWAR W. A., P. McDONALD and R. WHITTENBURY (1963) The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. *J. Sci. Food and Agric.*, **14**: 411-417.
- 菊地正則 (1986) サイレージバイブル。第 2 章サイレージ発酵と微生物の項執筆 (高野信雄・安宅一夫監修), 23-44, 酪農学園出版部, 江別。
- 倉田陽平・林弥太郎 (1971) 動物栄養試験法。ケルゲール法の項執筆 (森本宏監修), 第 1 版, 286-291, 養賢堂, 東京。
- 柁木茂彦 (1971) 動物栄養試験法。材料 (牧草) 中の可溶性炭水化物の定量の項執筆 (森本宏監修), 第 1 版, 422-424, 養賢堂, 東京。
- 松岡栄・L. N. BRANDA・藤田裕 (1997) 乳酸菌, セルラーゼ添加牧草サイレージの貯蔵中における構造的炭水化物の分解とその *in vitro* 消化率に及ぼす影響。日畜会報, **68**: 661-667.
- McDONALD P., A. C. STERING, A. R. HENDERSON, W. A. DEWAR, G. H. STARK, DAVIE, H. T. MACPHERSON, A. M. REID and J. SLATER (1960) Studies on ensilage. *Edin. Sci. Agric. Tech. Bull.*, **24**: 1-83.
- McDONALD P., A. C. STERING, A. R. HENDERSON and R. WHITTENBURY (1962) Fermentation studies on wet herbage. *J. Sci. Fd Agric.*, **13**: 581-590.
- McDONALD P., A. R. HENDERSON and S. J. E. HERON (1991) The biochemistry of silage. 2nd ed. 19-57. 58-94. 95-177. 196-278. 279-294. Chalcombe Publications. Marlow.
- MORRISON I. M. (1979) Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effect of various additives on these changes. *J. agric. Sci., Cambridge.*, **93**: 581-586.
- 大山嘉信 (1971) サイレージ発酵に関連する諸問題。日畜会報, **42**: 301-317.
- VAN SOEST P. J. (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. ASS. Off. Analytical Chemists.*, **46**: 829-835.
- VAN SOEST P. J. (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents. *J. ASS. Off. Analytical Chemists.*, **50**: 50-55.