

研究ノート

貯蔵日数の経過にともなうオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.)
サイレージの構造的炭水化物の分解および栄養価の変化木村 文香・原井 純弥・河合 正人・松岡 栄
帯広畜産大学, 帯広市 080-8555The breakdown of structural carbohydrates of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.)
and change in nutritive value of silage during ensiling

Ayaka KIMURA, Junya HARAI, Masahito KAWAI and Sakae MATSUOKA

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

キーワード: オーチャードグラス, 貯蔵日数, 構造的炭水化物の分解, 栄養価

Key words: orchardgrass, length of ensiling, breakdown of structural carbohydrates, nutritive value

要 約

オーチャードグラスを原料草として用い、5, 21, 56日と異なる貯蔵日数でサイレージを調製し、貯蔵中における構造的炭水化物の分解の程度を測定した。また、この分解を含め貯蔵中の化学成分の変化がサイレージの栄養価に及ぼす影響を検討するため、めん羊を用いて消化試験および窒素出納試験を行った。サイレージ貯蔵中の可溶性炭水化物の消失率は貯蔵日数5日で50%、56日で88%であった。ヘミセルロースの分解率は5, 21, 56日でそれぞれ6.3, 14.8, 17.2%であり、セルロースは貯蔵期間を通して2.5%以下であった。ヘミセルロースの消化率は56日で76.4%と原料草の80.5%より低い傾向にあったが、セルロースの消化率は原料草、各サイレージ間で差がなかった。56日の可消化エネルギー含量は原料草よりも低い傾向にあった。窒素蓄積率は貯蔵日数の経過にともない低くなる傾向にあり、特に56日サイレージ給与時で原料草給与時よりも有意に低かった ($P < 0.05$)。

緒 言

一般にサイレージ発酵において発酵基質として用いられるのは可溶性炭水化物 (WSC) を中心とする非構造的炭水化物であるとされている (大山, 1971)。一方で基質となりにくいとされてきたヘミセルロース、セルロースなどの構造的炭水化物もサイレージ貯蔵中にかなりの程度で分解され、McDONALD *et al.* (1962) はイネ科牧草を90日間貯蔵した時、ヘミセルロース、

セルロースの分解率はそれぞれ30および5%程度であったと報告している。また、ブランダら (1996) はアルファルファとチモシーの混播草を35日間貯蔵したとき、ヘミセルロースの分解率は18%であったと報告している。

サイレージの発酵過程は大きく分けると3つに分かれる (ENSMINGER *et al.*, 1990)。第1段階は植物細胞による呼吸作用と好気性菌の活動が継続し、それにもないサイロ内の酸素が減少している段階、第2段階は乳酸菌を中心とした嫌気性菌の活動により、乳酸、揮発性脂肪酸 (VFA) などの有機酸が生成される段階、そして第3段階は、生成された有機酸により pH が低下し、嫌気性菌の活動が抑制され、それにもない詰め込み材料の化学変化も微弱となり、サイロ内が安定した状態となっている段階である。一般に、第1段階および第2段階が終了する時期は詰め込み後それぞれ3日後、2~3週間後とされている。これまで、サイレージ貯蔵中の構造的炭水化物の分解についての報告は、通常の貯蔵期間の終了時点での分解についてのものが多く、発酵段階との関係について検討した報告は少ない。

そこで本実験では、異なる貯蔵日数 (5, 21, 56日) でサイレージを調製し、発酵段階における構造的炭水化物の分解の様相について検討した。また、構造的炭水化物が分解された場合、家畜に対する栄養価も変化するものと考えられるのでめん羊を用いて消化試験、窒素出納試験を行い、構造的炭水化物の分解にともなう栄養価の変化についても検討した。

材料および方法

本学附属農場で6月2日に刈り取ったオーチャードグラス一番草を一日予乾し、原料草とした。原料草は分析用サンプルを採取した後、ビニール袋に小分けし消化試験に供するまで-15℃で冷凍保存した。また、120l容ポリ容器9個にそれぞれ約60kgの原料草をよく踏圧しながら詰め込み、ビニールで密封後、45kgの重りで加重し貯蔵した。詰め込み後5, 21, 56日にポリ容器を3個ずつ開封し、分析用サンプルを採取した。その後3個の容器のサイレージを混ぜ合わせ、ビニール袋に小分けして冷凍保存した。

サイレージ貯蔵中の乾物(DM), WSC, および粗エネルギー(GE)の消失率と構造化炭水化物の分解率は、詰め込み時の原料草と開封時におけるサイレージの重量および成分含量を用いて下記の通り算出した。

$$\frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A: 詰め込み時における原料草の重量×化学成分(もしくはエネルギー)含量

B: 開封時におけるサイレージの重量×化学成分(もしくはエネルギー)含量

原料草と貯蔵日数の異なる3つのサイレージについて、去勢成めん羊4頭(平均体重: 64.4kg)を用い、4×4のラテン方格法により消化試験および窒素出納試験を行った。試験は全糞全尿採取法により行い、予備期7日間、糞尿採取期5日間とした。飼料給与量は代謝体重当り乾物で50g/日とし、朝夕2回、1日分の半量づつを給与した。水およびミネラルブロックは自由摂取とした。

原料草およびサイレージの化学成分およびエネルギー含量は以下の方法により分析した。水分含量は凍結乾燥法、粗蛋白質(CP)含量はKJELDAHL法(倉田ら, 1971)、WSC含量はアンスロン試薬による比色法(梶木, 1971)により測定した。粗脂肪(EE)および粗灰分含量の測定は常法に従った(A. O. A. C., 1996)。中性デタージェント繊維(NDF), 酸性デタージェント繊維(ADF)および酸性デタージェントリグニン(ADL)含量はVAN SOEST *et al.* (1963; 1967)の方法に従って測定し、ヘミセルロース含量はNDF含量からADF含量を、セルロース含量はADF含量からADL含量を差し引いて算出した。GE含量は熱研式ボンパカロリメーター(島津製作所; CA-4P型)を用いて測定した。サイレージの発酵品質において、pHはガラス電極メーター(堀場株式会社; F13型)、VFAはガスクロマトグラフィー(島津製作所; GC-14A型)を用いて測定した。乳酸はBARKER and SUMMERSON (1961)の方法で、アンモニア態窒素についてはCONWAY and O'MALLEY (1942)の微量拡散法により測定した。

貯蔵中の化学成分の分解率または消失率およびサイレージの発酵品質のデータについては、一元配置分散分析法により、また、原料草とサイレージの消化率、養分含量および給与時の窒素出納のデータについては、ラテン方格法により解析を行った。処理間の有意差検定は、前者においてはFISHERの方法、後者においてはTUKEYの方法により行った(吉田, 1975)。

結果および考察

原料草とサイレージの化学成分およびエネルギー含量を表1に示した。水分含量は原料草、サイレージともに約70%であった。WSC含量は原料草で約10%と、サイレージ発酵に十分な量であり(安宅, 1986)、貯蔵日数の経過にともなって、4.4, 1.7, 1.2%と減少した。構造化炭水化物のうち、ヘミセルロース含量は貯蔵日数の経過に伴って低くなり、原料草、56日でそれぞれ23.8, 20.5%であった。セルロース含量は原料草とサイレージで約30%と同程度であった。

サイレージの発酵品質を表2に示した。貯蔵日数の経過にともないpHは低下した(P<0.05)。また、乳酸含量は貯蔵日数の経過に伴い増加し(P<0.05)、21, 56日でそれぞれ4.4, 5.3%であった。VFAでは、酢酸、酪酸が貯蔵日数の経過に伴い増加した(P<0.05)が、プロピオン酸はどの貯蔵日数においても検出されなかった。一般に、サイレージの発酵品質は、pHや乳酸含量、酪酸含量によって評価される(安宅・野, 1986)。本実験で用いた56日サイレージの品質は乳酸含量が高いとはいえなかったが、pHによる品質評価では「良」、酪酸含量では「普通」と評価され、総合的にみると一般的な品質のものであった。

Table 1 Chemical composition of grass and silages (%)

	Length of ensiling			
	0day	5day	21day	56day
DM	31.4	31.0	30.6	30.5
OM	88.7	89.5	89.4	89.3
CP	10.9	11.0	11.1	10.9
EE	2.9	3.7	3.9	4.0
WSC	9.5	4.4	1.7	1.2
NDF	55.8	55.3	53.4	53.6
ADF	32.1	32.5	32.4	33.1
ADL	2.6	2.7	2.7	2.6
Hemicellulose	23.8	22.8	21.0	20.5
Cellulose	29.5	29.9	29.8	30.5
GE (Mcal/kg)	4.37	4.24	4.21	4.23

Moisture is expressed in fresh matter, other values in dry matter basis.

DM: Dry Matter, OM: Organic Matter, CP: Crude Protein, EE: Ether Extract, WSC: Water Soluble Carbohydrates, NDF: Neutral Detergent Fiber, ADF: Acid Detergent Fiber, ADL: Acid Detergent Lignin, GE: Gross Energy. Hemicellulose = NDF-ADF, Cellulose = ADF-ADL.

Table 2 Fermentation characteristics of silages

	Length of ensiling				SEM
	0day	5day	21day	56day	
pH	5.35	4.72 ^a	4.34 ^b	4.19 ^c	±0.08
Lactic acid (%DM)	—	2.5 ^c	4.4 ^b	5.3 ^a	±0.42
VFA (%DM)					
Acetic acid	—	0.5 ^c	0.7 ^b	1.0 ^a	±0.08
Propionic acid	—	—	—	—	
Butyric acid	—	0.1 ^b	0.2 ^a	0.4 ^a	±0.04
Ammonia N (% Total-N)	—	4.8 ^c	6.6 ^b	8.0 ^a	±0.47

Means on the same line with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

SEM: Standard error

サイレージ貯蔵中の化学成分およびエネルギー消失率と構造性炭水化物の分解率を表3に示した。乾物(DM)の消失率は2~4%の範囲にあった。WSCの消失率は貯蔵日数5日で55.3%と、発酵初期段階で50%を上回り、56日で88.0%に達した。サイロ詰め込み直後の発酵初期段階では、植物は糖を利用し呼吸作用を継続している(菊地, 1986)。このため、WSCが発酵基質としてだけでなく、植物の呼吸作用にもかなりの量が利用されていたため、5日までの発酵初期段階に大きく分解が進んだと考えられる。

構造性炭水化物のうち、ヘミセルロースの分解率は5日で6.3%、21日で14.8%と5~21日にかけて大きく分解が進んだ。また、その後も緩やかな分解が見られ、56日では17.2%であった。ここで、原料草乾物100g当たりのWSCとヘミセルロースの消失および分解量を算出すると、56日でWSCは約8.4g、ヘミセルロースは約4.1gとなる。従ってヘミセルロースの分解率はWSCの消失率より低いものであったが、分解量としては約半分と比較的大きいものであり、サイレージの品質、栄養価に影響を及ぼし得ると考えられる。

また、ヘミセルロースの分解量を発酵段階ごとにみると、5日までで1.5g、5~21日にかけては2g、21~56日にかけては0.6g分解されたことになり、WSCは貯蔵後5日までで約半分が消失したのに対し、ヘミセルロースでは5~21日にかけて全体の約半

Table 3 Losses of DM, WSC, structural carbohydrates and disappearance rate of GE (%)

	Length of ensiling				SEM
	5day	21day	56day		
DM	2.2	3.4	3.9		±0.48
WSC	55.3 ^c	82.6 ^b	88.0 ^a		±5.08
Hemicellulose	6.3 ^b	14.8 ^a	17.2 ^a		±1.77
Cellulose	0.9 ^b	2.5 ^a	0.5 ^b		±0.39
GE	5.1 ^b	7.1 ^a	7.0 ^a		±0.37

Means on the same line with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

SEM: Standard error

分が分解された。ヘミセルロースを分解する要因として、DEWAR *et al.* (1963) は①牧草中のヘミセルロース分解酵素の働き、②嫌気性菌のヘミセルロース分解酵素の働き、③発酵中に生成された有機酸による加水分解を挙げている。これらの分解が起きる時期をサイレージの発酵段階と関連付けてみると、それぞれ、原料草詰め込み後の植物細胞による呼吸作用が行われている段階、嫌気性菌の活動により乳酸発酵がおこっている段階、生成された有機酸により、サイロ内が安定している段階に対応するものと考えられる。本実験ではヘミセルロースの分解は貯蔵後6~21日までの期間で最も大きかった。このことはDEWAR *et al.* (1963) が示す要因のうちで②の要因が最も大きく働いたことを示すものである。

一方、セルロースの分解率は2.5%以下とどの貯蔵日数においても非常に低かった。セルロースは、ヘミセルロースと比較して一般に分解率が低く、McDONALD *et al.* (1962) は5%程度と報告している。本実験においても、セルロースはほとんど分解されず、ヘミセルロースの分解率に比べ非常に低いものであった。

原料草および各サイレージの消化率を表4に示した。粗脂肪の消化率は各サイレージ間に差はなかったが、原料草よりも高かった($P < 0.05$)。サイレージ発酵によって乳酸やVFAといった有機酸が生成されるがこれらはエーテルに可溶なため粗脂肪として検出される。粗脂肪の消化率が原料草よりもサイレージで高くなったのは、サイレージに含まれるこれらの有機酸が反芻胃内に入ると急速に吸収されるためだと考えられる。

ヘミセルロースの消化率は原料草に比べサイレージで低い傾向にあり、貯蔵日数56日では特に低い傾向がみられた。DAUGHTRY *et al.* (1978) はイネ科牧草のヘミセルロースの消化率を、その構成成分ごとに検討し、主鎖の成分であるキシロースの消化率は48~53%、側鎖成分のアラビノースは68~78%、その他の側鎖成分では54~93%であったと報告している。

Table 4 Digestibility of grass and silages (%)

	Length of ensiling				SEM
	0day	5day	21day	56day	
DM	67.5	67.9	68.9	66.9	±0.67
OM	69.6	70.1	71.0	69.2	±0.61
CP	60.5	61.7	62.8	59.5	±1.41
EE	44.6 ^b	59.2 ^a	61.0 ^a	59.9 ^a	±1.57
NDF	75.5	74.3	74.9	73.2	±0.73
ADF	71.8	72.5	73.4	71.0	±0.71
Hemicellulose	80.5	77.0	77.1	76.4	±0.84
Cellulose	79.1	79.2	80.1	78.7	±0.66
GE	65.5	65.1	65.8	63.7	±0.74

Means on the same line with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

SEM: Standard error

この報告はヘミセルロースの中にも、消化されやすい部分と消化されにくい部分があることを示している。また、McDONALD *et al.* (1960) はイネ科牧草をサイレージ化すると、ヘミセルロースの分解率は31.1%であり、その構成成分のうち、キシランが24.8%、アラバンが52.7%であったと報告している。従ってヘミセルロースのうち、消化されやすい部分がサイレージ貯蔵中に分解され、消化されにくい部分は分解されずにそのまま残るため消化率が低下したと考えられる。

一方、セルロースの消化率は原料草およびサイレージの間で差はなかった。サイレージ貯蔵中にヘミセルロースが分解されたのに対し、セルロースはほとんど分解が行われてなかった。従って原料草およびサイレージ中のセルロース含量とその構成成分にもほとんど変化がないと思われ、消化率にも差がなかったと考えられる。

原料草およびサイレージの養分含量を表5に示した。DCP含量は原料草、サイレージで差がなかったが、DE含量は原料草よりもサイレージで低い傾向にあり、特に貯蔵日数56日で最も低かった。本試験では貯蔵日数56日でヘミセルロースは17.2%分解され、その消化率は低下した。このヘミセルロース消化率の低下がDE含量の低下に反映していると考えられる。

原料草およびサイレージ給与時の窒素出納を表6に示した。窒素蓄積率は貯蔵日数の経過にともない低下し、特に56日サイレージ給与時は、原料草給与時よりも有意に低かった ($P < 0.05$)。サイレージ発酵によって牧草中の植物酵素の作用による蛋白質分解が起こり (HERON, 1986)、このときの分解産物は主に非蛋白態

窒素化合物 (NPN) である (McDONALD, 1976)。OH-SHIMA and McDONALD (1978) は、牧草中の蛋白態窒素は、全窒素中75~90%存在しており、サイレージ貯蔵によって、その割合は30~45%に減少し、NPN、特にアミノ酸の増加割合が大きいと報告している。また和泉(1975)は、チモシー主体牧草を調製したサイレージと乾草を乳牛に給与したときに、サイレージ給与時のほうがルーメン内アンモニア濃度が著しく高いのは、乾草よりもサイレージで可溶性窒素含量が高いためであると報告している。一般に、ルーメン内で生成されたアンモニアはルーメン内微生物によって菌体蛋白質に合成されるが、一部はルーメン壁から血中へ吸収され、尿素として尿中に排泄される。従って貯蔵日数の経過にともないサイレージ中のNPNもしくは可溶性窒素含量が高くなり、ルーメン内のアンモニア濃度が高くなった結果、菌体蛋白質合成が間に合わず、尿中窒素排泄量が増加したため窒素蓄積率が低下したと考えられる。

以上より、サイレージ貯蔵中のヘミセルロースの分解は嫌氣的発酵が最も活発に行われている貯蔵日数5日から21日にかけて大きく進んだ。また、ヘミセルロースの分解が進むとその消化率も低下し、このことがサイレージのDE含量にも反映することが示唆された。一方、セルロースの貯蔵中の分解は非常に小さいものであった。

文 献

A. O. A. C. (1996) Official Methods of Analysis of AOAC International. Volume I.
 安宅一夫 (1986) サイレージバイブル. 第3章サイレージ発酵の制御技術の項執筆 (高野信雄・安宅一夫監修), 47-51, 酪農学園出版部, 江別.
 安宅一夫・野 英二 (1986) サイレージバイブル. 第8章サイレージの品質の見分け方の項執筆 (高野信雄・安宅一夫監修), 93-97, 酪農学園出版部, 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.
 ブラング ローラデス 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合物の分解と消化率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 μ g. N). *Biochem. J.*, **38**: 655-611.
 DAUGHTRY, C. S. T., D. A. HOLT and V. L. LECHTENBERG (1978) Concentration, composition, and in vitro disappearance of tall fescue and orchardgrass. *Agro. J.*, **70**: 550-554.

Table 5 Nutritive value of grass and silages (DM basis)

	Length of ensiling				SEM
	0day	5day	21day	56day	
DE (Mcal/kg)	2.86	2.76	2.77	2.69	± 0.04
DCP (%)	6.6	6.8	7.0	6.5	± 0.16

DE: Digestible energy,
 DCP: Digestible crude sprotein

Table 6 Nitrogen (N) balance while feeding grass and silages

		Length of ensiling				SEM
		0day	5day	21day	56day	
N intake	(g/kgBW ^{0.75/day})	0.87	0.88	0.87	0.84	± 0.21
Fecal N	(g/kgBW ^{0.75/day})	0.34	0.34	0.32	0.33	± 0.01
Urinary N	(g/kgBW ^{0.75/day})	0.42	0.51	0.51	0.57	± 0.03
Digestible N	(g/kgBW ^{0.75/day})	0.53	0.54	0.54	0.51	± 0.02
Retained N	(g/kgBW ^{0.75/day})	0.11	0.03	0.03	-0.06	± 0.03
Retained/intake	(%)	12.9 ^a	4.0 ^{ab}	3.2 ^{ab}	-6.6 ^a	± 3.2
Retained/digestible	(%)	21.3 ^a	6.5 ^{ab}	4.8 ^{ab}	-11.2 ^a	± 5.1

Means on the same line with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)
 SE: Standard error

- DEWAR, W. A., P. McDONALD and R. WHITTENBURY (1963) The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilages. *J. Sci. Food and Agric.*, **14**: 411-417.
- HERON, S. J. E., R. A. EDWARDS., P. McDONALD. (1986) Changes in nitrogenous components of gamma-irradiated and inoculated ensiled rygrass. *J. Sci. Fd. Agric.*, **37**: 979-985.
- 和泉康史 (1975) 窒素施用水準および刈り取り時期を異にする乾草及びサイレージの給与がウシ第一胃内揮発性脂肪酸の産生に及ぼす影響. *日畜会報*, **46**: 24-28.
- 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.
- 倉田洋平・林弥太郎 (1971) 動物栄養試験法. ケルダール法の項執筆 (森本 宏監修), 第1版, 286-291, 養賢堂, 東京.
- 榎木茂彦 (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, 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貯蔵中における構造性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. ALATER (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., R. A. EDWARDS (1976) The influence of conservation methods on digestion and utilization of forages by ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* **35**: 201-211.
- 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.
- OHSHIMA, M. and P. McDONALD (1978) A Review of the Changes in nitrogen as compounds of herbage during ensilage. *J. Sci. Fd. Agric.* **29**: 497-505.
- 大山嘉信 (1971) サイレージ発酵に関する諸問題. *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.
- 吉田 実 (1975) 畜産を中心とする実験計画法. 第1版, 69-86, 101-115, 養賢堂, 東京.