

氏 名(本籍) 小 倉 振 一 郎
学位の種類 博 士 (農 学)
学位記番号 農 博 第 5 3 3 号
学位授与年月日 平 成 9 年 3 月 25 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻 東北大学大学院農学研究科畜産学専攻
(博士課程)
学位論文題目 反芻家畜のルーメン内泡沫形成がシロクロバ栄養素
利用性に及ぼす影響

論文審査委員(主査) 教 授 菅 原 和 夫
教 授 秋 葉 征 夫
教 授 山 岸 敏 宏

論文内容要旨

近年、地球環境の保全と永続的食糧生産のため、物質循環を中心にすえた低投入、環境重視型農業が提唱されている。シロクローバ(*Trifolium repens* L.)は高栄養で高い窒素固定能を有し、かつ放牧適性に優れることから、その草地への導入により低コストかつ高家畜生産性を可能とする(Fig. 1)。しかし一方で、反芻家畜のシロクローバ多量採食にともなうルーメン内泡沫化とそれによる鼓脹症発生が危惧され、その活用は十分とはいえない。

本研究は、シロクローバを活用した家畜生産拡大の観点から、家畜のシロクローバ採食性ならびにルーメン発酵、シロクローバ栄養素利用性について、特に反芻家畜の鼓脹症に直結する問題としてルーメン内泡沫形成との関連から検討した。

1. 反芻家畜によるシロクローバの採食性

1. シロクローバ・オーチャードグラス共存下における定時または不断給餌下での緬羊の採食性

シロクローバ・イネ科草混生草地における反芻家畜のシロクローバ採食状況を把握するため、1日2回定時給餌(07:00と17:00、反芻開始時まで給餌)または不断給餌により緬羊の採食欲を変化させシロクローバとオーチャードグラスの自由選択下での採食量の経時的变化を調べた。家畜の採食欲が高揚する定時給餌下では、シロクローバの採食量(6.44kg/日)はオーチャードグラス(1.28kg/日)にくらべ有意に大きかった($P < 0.001$)。シロクローバの採食速度は給餌直後の20分間で特に高く、以後採食の進行にともない減少したのに対し、給餌直後には少なかったオーチャードグラスの採食量は採食の進行にともない徐々に増加した(Fig. 2)。一方不断給餌下ではシロクローバ、オーチャードグラスとも採食量はほぼ等しかった(シロクローバ; 4.99kg/日、オーチャードグラス; 4.93kg/日、 $P > 0.05$)。採食速度はシロクローバ給餌直後に高い値を示したが、90分後には低下し、以後各草が一定の割合で採食された(Fig. 3)。シロクローバ・イネ科草混生草地では、移牧や入牧直後など家畜の採食欲高揚時に一時的に多量のシロクローバが採食されるが、採食の進行にともない共存イネ科草の採食へ移行するものと推察された。

2. シロクローバ単一給餌下での緬羊の採食性とルーメン内物理性

反芻家畜のシロクローバ単一採食による採食量とルーメン内物理性への影響を

明らかにするため、緬羊にシロクローバとオーチャードグラス（WC+OG区）をまたはシロクローバのみ（WC区）を不断給餌し、採食量の経時的变化とルーメン内物理性の変化を調べた。シロクローバは低繊維含量かつ易消化性であるにもかかわらずWC区の採食量は増加せず、各区の1日あたりの採食量はほぼ等しかった（Table 1）。またWC区では試験開始72時間後のルーメン液起泡性がWC+OG区にくらべ高かった（Table 2）。

以上より、シロクローバ・イネ科草混生草地では、反芻家畜の採食高揚時には短時間で多量のシロクローバが採食され、ルーメン液起泡性は増加するが、長期間の放牧時など家畜の採食欲の安定した状態ではシロクローバとイネ科草が一定の割合で採食され、ルーメン液起泡性は低く保持されるものと考えられた。またシロクローバ単一給与での採食量の向上が認められないこととあわせて、シロクローバは反芻家畜よるシロクローバそれ自身の採食を調節する機能を備えている可能性が示唆された。

II. 反芻家畜のシロクローバ採食時におけるルーメン特性

1. シロクローバまたはオーチャードグラス制限給餌下における緬羊のルーメン液物理性、ルーメン発酵およびルーメン運動

反芻家畜のシロクローバ給餌下でのルーメン性状を知るため、緬羊にシロクローバを制限給餌（30gDM/kg体重/日、1日2回）し、給餌後のルーメン液泡沫安定性、ルーメン発酵およびルーメン運動をオーチャードグラス給餌下と比較した。

シロクローバ給餌下のルーメン液泡沫安定性は給餌後2時間で顕著に高く、その後低下したのに対し、オーチャードグラス給餌下ではほとんど変化しなかった（Fig. 4）。シロクローバ給餌下ではオーチャードグラス給餌下にくらべ給餌後2時間のルーメン内揮発性脂肪酸（VFA）、アンモニア態窒素（ NH_3N ）濃度が有意に高かった（Table 3）。またシロクローバ給餌により採食、反芻中のルーメン収縮頻度が増加し、全行動を通してその振幅が減少した（Table 4）。

2. イネ科草からシロクローバ採食への移行にともなう緬羊の採食行動とルーメン内性状の初期変化

放牧地における家畜のシロクローバ多量採食による生理的变化を想定し、オーチャードグラスからシロクローバ採食への移行にともなう採食行動とルーメン内

変化を緬羊の舎飼試験にて調べた。採食時間 (ET) と反芻時間 (RT) および RT/ET 比はいずれもオーチャードグラスからシロクローバ給餌への移行により大きく減少した (Table 5)。またシロクローバ給餌への移行後48時間以降でルーメン液泡沫安定性が高まり (Fig. 5)、VFA、NH₃N濃度、プロトゾア密度もシロクローバ採食にともない上昇した (Fig. 6)。このようなルーメン内変化はシロクローバ・イネ科草混生草地への家畜の放牧時においてもしばしば生じうるものと考えられた。

III. 反芻家畜のシロクローバ採食時に生じるルーメン内泡沫形成と摂取草の栄養素利用率

本章では、従来鼓脹症との関連でのみ捉えられてきた反芻家畜のシロクローバ採食時に生じるルーメン内泡沫形成が栄養学的機能を有する可能性を探るため、緬羊にシロクローバ単一給与 (WC)、シロクローバ単一給与+消泡剤 (ルミノン液2-2.5ml/頭/日) 投与 (WR区)、シロクローバ・オーチャードグラス同時給与 (乾物で1:1、WO区) を設定し、ルーメン発酵および下部消化管流入栄養素の変化を調べた。

1. ルーメン内泡沫形成が採食行動、ルーメン発酵に及ぼす影響

- 制限給餌下での調査 -

1日2回制限給餌 (30g乾物/頭/日) 下における採食行動と給餌後のルーメン内性状について調べた。WC区のルーメン液泡沫安定性は給餌後2時間に最大で以後経時的に減少したが、WO区のルーメン液泡沫安定性はほぼ一定であった (Fig. 7)。一方WR区のルーメン液ではほとんど泡沫が形成されなかった。採食時間は各処理区間で有意差はみられなかったが、反芻時間はWO区 > WR区 > WC区となった (Table 6)。給餌後2時間におけるWR区のVFA濃度は他区にくらべ23-26mM高く、また給餌後4、6時間におけるWR区のプロトゾア密度は他区にくらべ26-32%低下した (Table 7)。これより、シロクローバ採食にともなうルーメン内泡沫形成は採食後の急激なルーメン発酵を抑制する可能性が示唆された。

2. ルーメン内泡沫形成が採食量、ルーメン発酵およびルーメン液希釈率に及ぼす影響 - 自由採食下での調査 -

家畜の放牧下におけるルーメン内泡沫形成が栄養素利用性に及ぼす影響を明らかにするため、自由採食下での緬羊のルーメン液泡沫安定性、ルーメン発酵およびシロクロバのルーメン内分解速度を調べた。試験期間を通じたWC区とWO区のルーメン液泡沫安定性はほぼ同様であったが、WR区ではほとんど泡沫は形成されなかった(Fig. 8)。WR区の採食量(56.5g/頭/日)はWC区(45.5g/頭/日)にくらべやや低かったが、ルーメン内VFA、NH₃N濃度はWC区とほぼ同様であり、特にプロピオン酸の割合の上昇、酪酸濃度の低下がみられた。またWR区のプロトゾア密度はWC区にくらべ有意に低かった(Table 8)。ルーメン液希釈率とシロクロバ乾物およびCP分解率に処理区間差はみられなかった。

3. ルーメン内泡沫形成が下部消化管流入窒素成分に及ぼす影響

WC区とWR区の下部消化管流入窒素成分を自由採食下で調べた。WC区ではWR区にくらべ十二指腸流入物中のRNA量/窒素量が小さく、かつ十二指腸流入窒素量/摂取窒素量が大きかったことから、WC区では下部消化管に流入する微生物割合が小さく、バイパス窒素量が多いことが明らかとなった(Table 9)。

以上より、反芻家畜のシロクロバ採食時に生じるルーメン内泡沫形成はシロクロバ採食後の急激なルーメン発酵を抑制し、下部消化管流入窒素量を増加させることが明らかとなった。すなわち、従来反芻家畜のシロクロバ採食時における鼓脹症発生要因としてのみ捉えられていたルーメン内泡沫形成が栄養学的意義を有することが示された。

IV 反芻家畜のルーメン内泡沫形成とシロクロバサポニン

シロクロバ採食時のルーメン内泡沫形成にはシロクロバ中の生理活性成分であるサポニンが関与しているものと考えられる。本章では、シロクロバサポニンとルーメン内泡沫安定性との関連、草中サポニンのルーメン内溶出過程を調べた。

1. サポニンがルーメン液泡沫安定性に及ぼす影響

オーチャードグラス給餌緬羊のルーメン液にダイスサポニンを0.01、0.025、0.05、0.1%添加し、泡沫安定性を比較した。サポニン濃度の上昇にともないルーメン液泡沫安定性は有意に増加した(Fig. 9)。

2. 反芻家畜のシロクローバ採食時におけるルーメン液中サポニンの変化

反芻家畜のシロクローバ採食時におけるルーメン液中サポニン濃度の変化を薄層クロマトグラフィーにより調べた。ルーメン液泡沫安定性の上昇にともないサポニン濃度が上昇し、引き続きサポゲニンとみられる物質が増加した (Fig. 10 および 11)。これよりサポニンは家畜のシロクローバ採食後ルーメン液中に溶出し、泡沫安定性に寄与する一方で、ルーメン微生物による分解を受けているものと推察された。

3. シロクローバのルーメン内分解にともなう草中サポニン含量の変化

シロクローバのルーメン内分解過程における草中サポニン含量の変化をナイロンバッグ消化試験により調べた。ルーメン内浸漬時間の増加とともに草中サポニン含量は減少したが、20時間浸漬後 (分解率71.5%) のものからもわずかながら検出された (Fig. 12)。したがって、家畜のシロクローバ採食後サポニンのルーメン液中への溶出には採食時の咀嚼が重要であると考えられた。またサポニンは葉柄部に比べ小葉部に多く含まれていたことから、小葉部が主に採食される放牧条件下では、刈取り給与に比べ家畜のサポニン摂取量が多くなるものと推察された。

シロクローバ・イネ科草混生草地では、反芻家畜の採食高揚時には短時間に多量のシロクローバが採食される。その結果ルーメン内に多量の泡沫が形成されるが、飼養環境への馴馳にともない共存イネ科草の採食へと移行することから、反芻家畜のシロクローバ採食による鼓脹症発生はシロクローバ採食欲高揚の持続や他の生理的異常の併存下で発現するものと考えられる。一方ルーメン内泡沫化はシロクローバ採食後の急激なルーメン発酵を抑制しバイパスたんぱく質量を増加させる効果があり、それにはシロクローバサポニンが寄与していることが明らかとなった。したがって、従来鼓脹症発生要因とされてきた反芻家畜によるシロクローバ利用時に生じるルーメン内泡沫化が、シロクローバ含有窒素を家畜生産に効率的に結びつける上で栄養学的に重要な機能を有することが明らかとなった。同時に、従来鼓脹症誘因物質とされてきた草中サポニンもまたルーメン内泡沫化を介してシロクローバ中窒素利用効率の向上に寄与するという新たな作用の可能性が提出された。

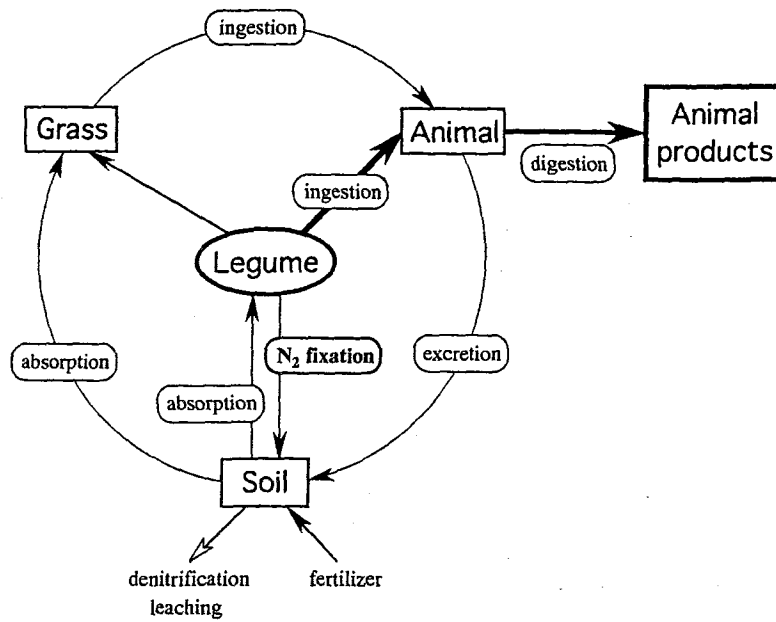


Fig. 1. Nitrogen cycle in the grass/legume grazing pasture ecosystem.

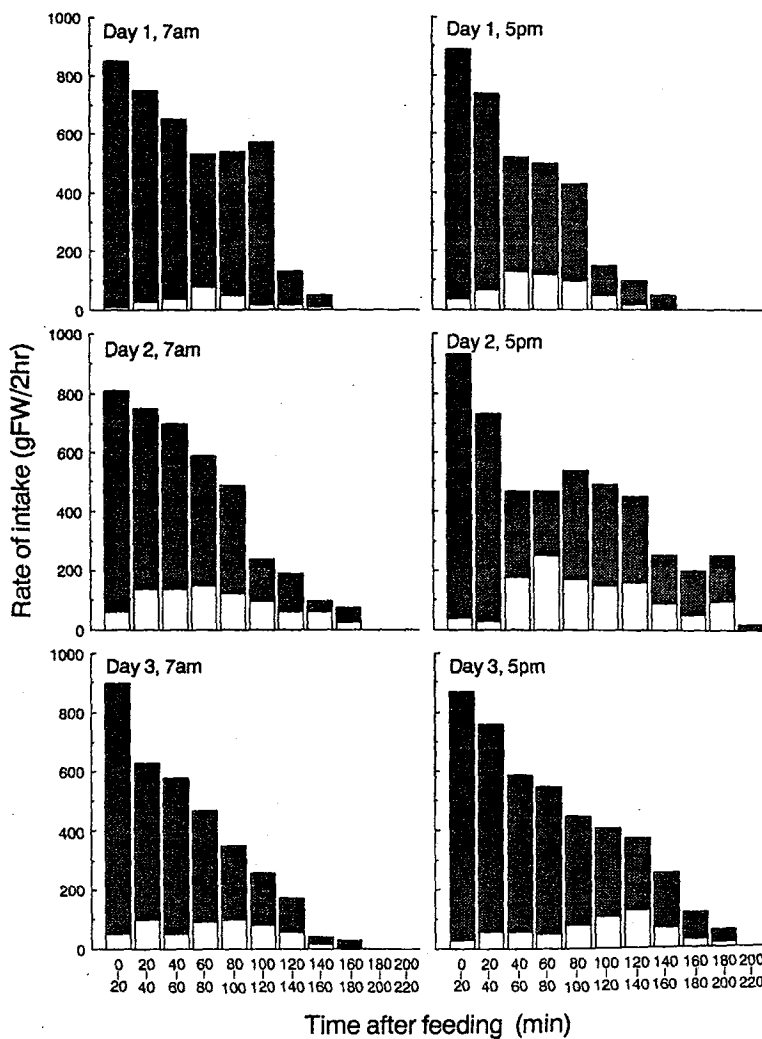


Fig. 2 Rate of intake of white clover (■) and orchardgrass (□) by sheep in fixed feeding.

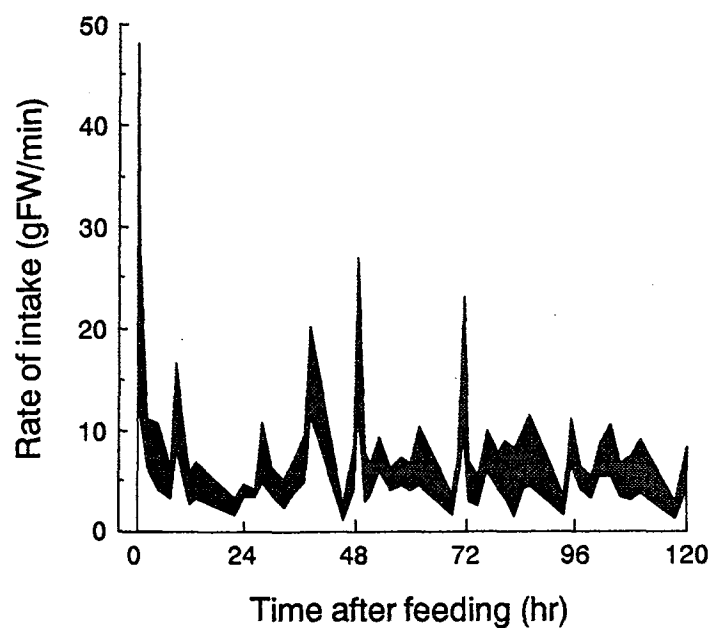


Fig.3 Rate of intake of white clover (■) and orchardgrass (□) by sheep in free feeding.

Table 1. Voluntary intake of herbage by sheep fed white clover alone (WC) or white clover and orchardgrass (WC+OG).

| Day | WC+OG | | | Ingested white clover (%) | WC |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | White clover Intake (kgFW/head) | Orchardgrass Intake (kgFW/head) | Total | | Intake (kg/head) |
| 1 | 5.29 ± 0.45 ¹⁾ | 2.81 ± 0.42 | 8.08 ± 0.50 | 65.3 | 7.29 ± 0.37 |
| 2 | 7.70 ± 0.79 | 4.15 ± 0.60 | 11.87 ± 0.76 | 65.0 | 12.61 ± 0.36 |
| 3 | 6.60 ± 0.53 | 3.76 ± 0.50 | 10.36 ± 0.70 | 63.7 | 11.69 ± 0.22 |
| Average | 6.53 ± 0.58 ^{b 2)} | 3.57 ± 0.50 ^c | 10.10 ± 1.69 ^a | 64.7 | 10.54 ± 0.26 ^a |

1) Mean values ± SD (n=6).

2) Mean values within rows with different subscripts are significantly different (P<0.01).

Table 2. Ruminal pH, foam strength and conductivity in sheep 72hr after started feeding white clover and orchardgrass (WC+OG) or white clover alone(WC).

| Treatment | Sheep No. | pH | Foam volume (ml) | Electric conductivity (mS/cm) |
|----------------------------|-----------|-----------|------------------|-------------------------------|
| WC+OG | 784 | 6.6 | 3.4 | 11.4 |
| | 805 | 6.5 | 9.2 | 11.9 |
| | 809 | 6.7 | 5.3 | 11.8 |
| | mean ± SD | 6.6 ± 0.1 | 6.0 ± 2.9 | 11.7 ± 0.3 |
| WC | 762 | 6.4 | 12.7 | 13.4 |
| | 805 | 5.8 | 12.4 | 15.1 |
| | 809 | 7.1 | 13.1 | 12.3 |
| | mean ± SD | 6.4 ± 0.7 | 12.7 ± 0.4 | 13.6 ± 1.4 |
| significance ¹⁾ | | ns | * | + |

1) ns; not significant (P>0.1), *, P<0.05, +; P<0.1.

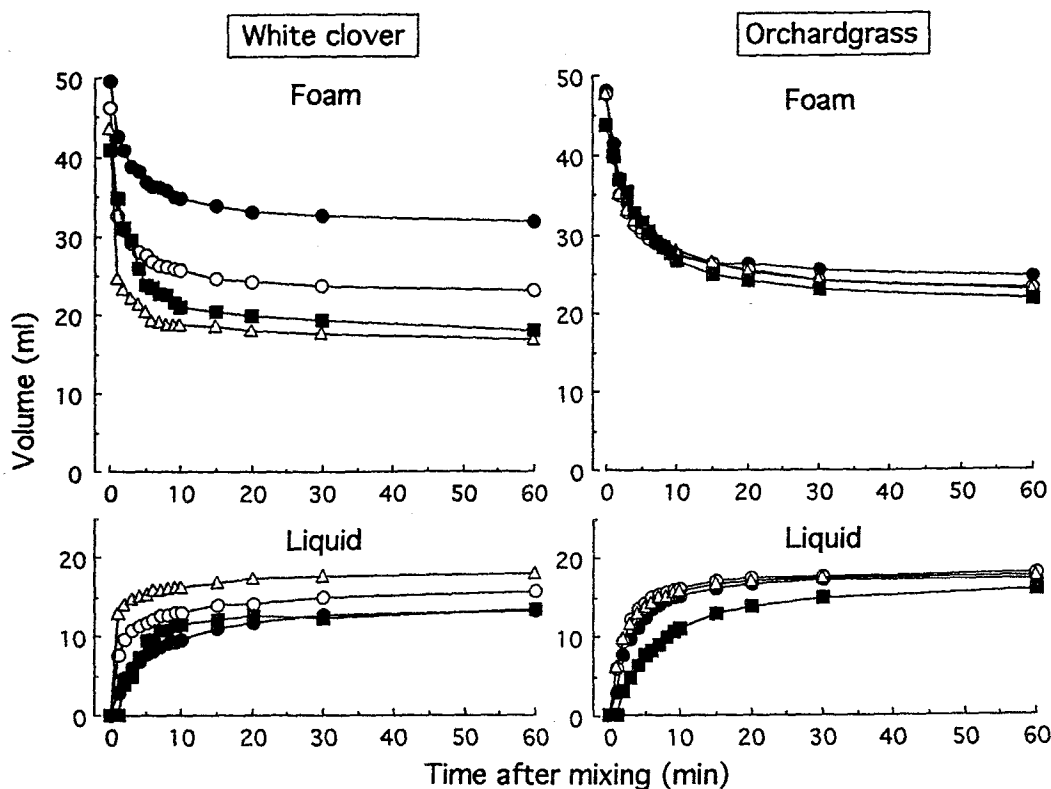


Fig. 4. The change of foam and liquid volume in each time after mixing of ruminal fluid of sheep offered white clover or orchardgrass.
 —●—; 2hr, —○—; 4hr, —△—; 6hr, —■—; 12hr after feeding.

Table 3. Ruminal fermentation of sheep fed white clover or orchardgrass (30gDM/kg BW).

| Forage species | White clover | | | | Orchardgrass | | | |
|--|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 2 | 4 | 6 | 12 |
| pH | 6.5 | 6.3 | 6.2 | 6.8 | 6.6 | 6.3 | 6.0 | 6.8 |
| VFA concentration (mM) | 107.8 ^{*1)} | 110.2 ^{**} | 105.5 [*] | 73.9 | 79.2 | 83.5 | 86.7 | 65.6 |
| Acetate | 63.3 ^{**} | 63.1 ^{**} | 59.6 [*] | 44.8 [*] | 47.0 | 48.5 | 50.8 | 38.9 |
| Propionate | 31.0 [*] | 30.9 ^{**} | 29.6 ^{**} | 18.1 | 19.7 | 21.3 | 21.4 | 15.7 |
| Butyrate | 10.4 | 12.4 | 12.9 | 8.7 | 10.0 | 11.4 | 12.0 | 8.7 |
| Acetate/Propionate ratio | 2.05 | 2.04 | 2.01 | 2.47 | 2.39 [*] | 2.29 [*] | 2.37 ^{**} | 2.49 |
| Ammonia-nitrogen (mg/dl) | 35.9 ^{***} | 41.8 ^{***} | 35.9 ^{***} | 14.1 | 18.8 | 16.4 | 12.8 | 10.9 |
| Protozoal density ($\times 10^5$ /ml) | 3.43 | 2.91 | 2.22 | 3.50 | 1.93 | 1.97 | 1.69 | 3.25 |

1) The values with asterisks is significantly high to another forage species within the same time after feeding.

*; P<0.05, **; P<0.01, ***; P<0.001.

Table 4. Frequency and amplitude of ruminal contractions of sheep fed orchardgrass and white clover.

| Behavioral type ; | Orchardgrass ¹⁾ | | White clover | | | | | |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | | | Day1 | | Day2 | | Day3 | |
| | Frequency (/min) | Amplitude (mm Hg) | Frequency (/min) | Amplitude (mm Hg) | Frequency (/min) | Amplitude (mm Hg) | Frequency (/min) | Amplitude (mm Hg) |
| Eating | 2.91 ^{b2)} | 20.0 (6-34) ³⁾ | 3.45 ^a | 17.2 (8-31) | 3.10 ^a | 18.4 (7-31) | 3.02 ^a | 16.5 (6-30) |
| Ruminating | 2.20 ^b | 18.7 (4-36) | 2.42 ^a | 17.0 (6-28) | 2.35 ^{ab} | 17.7 (9-28) | 2.25 ^{ab} | 17.3 (6-31) |
| Idling | 1.67 | 19.8 (4-38) | 1.73 | 17.7 (3-31) | 1.65 | 18.0 (4-32) | 1.59 | 17.9 (4-30) |

1) Average in two days

2) Values within rows with different subscripts are significantly different (P<0.05).

3) Mean value (min-max)

Table 5. Eating time (ET), rumination time (RT) and RT/ET ratio of sheep with intake of white clover. Mean values \pm SE (n=4).

| | OG ¹⁾ | WC-day1 | WC-day2 | WC-day3 | WC mean |
|---------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| ET (hr) | 9.95 \pm 0.64 ^{A2)} | 4.93 \pm 0.74 ^C | 6.80 \pm 1.16 ^B | 6.14 \pm 0.75 ^{BC} | 5.96 \pm 0.80 ^{BC} |
| RT (hr) | 8.00 \pm 0.41 ^A | 4.71 \pm 0.22 ^B | 3.06 \pm 0.24 ^C | 3.38 \pm 0.21 ^C | 3.72 \pm 0.13 ^C |
| RT/ET | 0.82 \pm 0.08 ^B | 1.01 \pm 0.12 ^A | 0.50 \pm 0.10 ^D | 0.58 \pm 0.09 ^{CD} | 0.66 \pm 0.09 ^C |

1) OG : orchardgrass, WC : white clover.

2) Mean values within rows with different subscripts are significantly different (P<0.05).

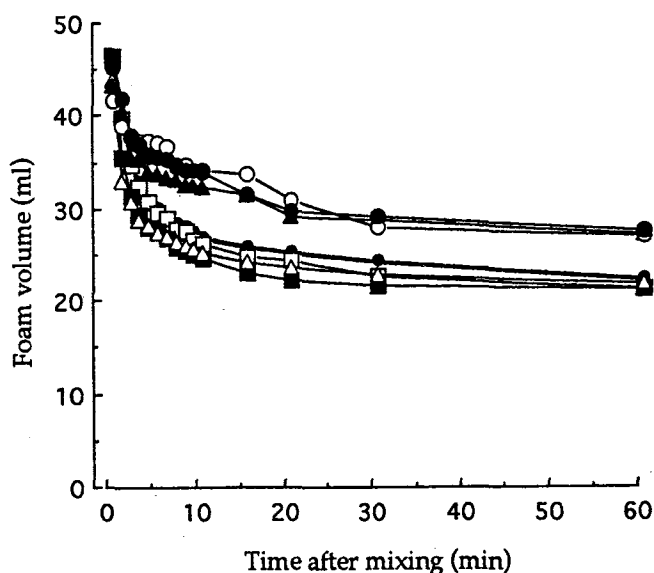


Fig. 5. The change of foam stability of ruminal fluid of sheep with intake of white clover from orchardgrass feeding. —□—; 12hr, —■—; 24hr, —△—; 36hr, —▲—; 48hr, —○—; 60hr, —●—; 72hr after switching to white clover feeding. —●—; control.

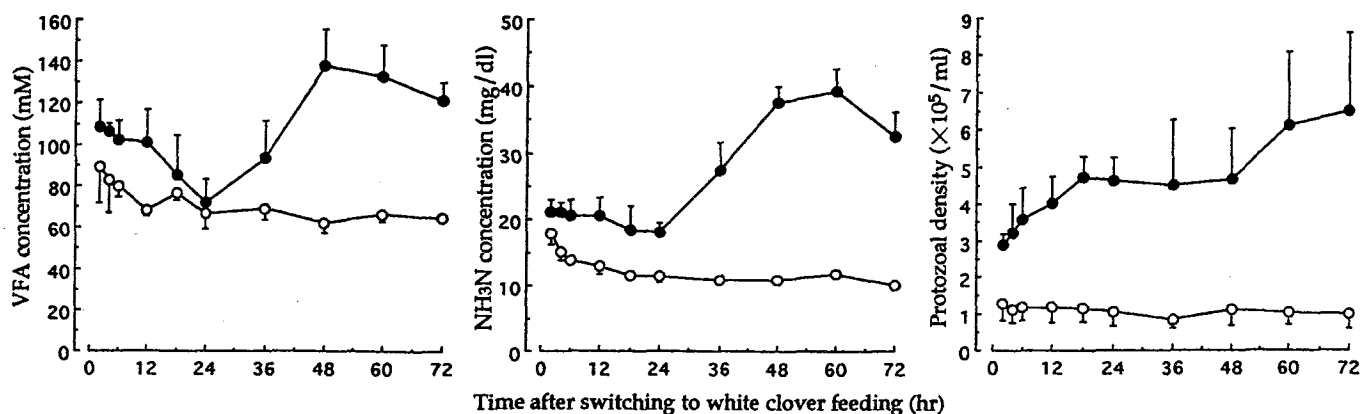


Fig. 6. The change of ruminal volatile fatty acid (VFA), ammonia nitrogen (NH₃N) concentration and protozoal densities of sheep with intake of white clover from orchardgrass feeding. ●; white clover feeding, ○; control.

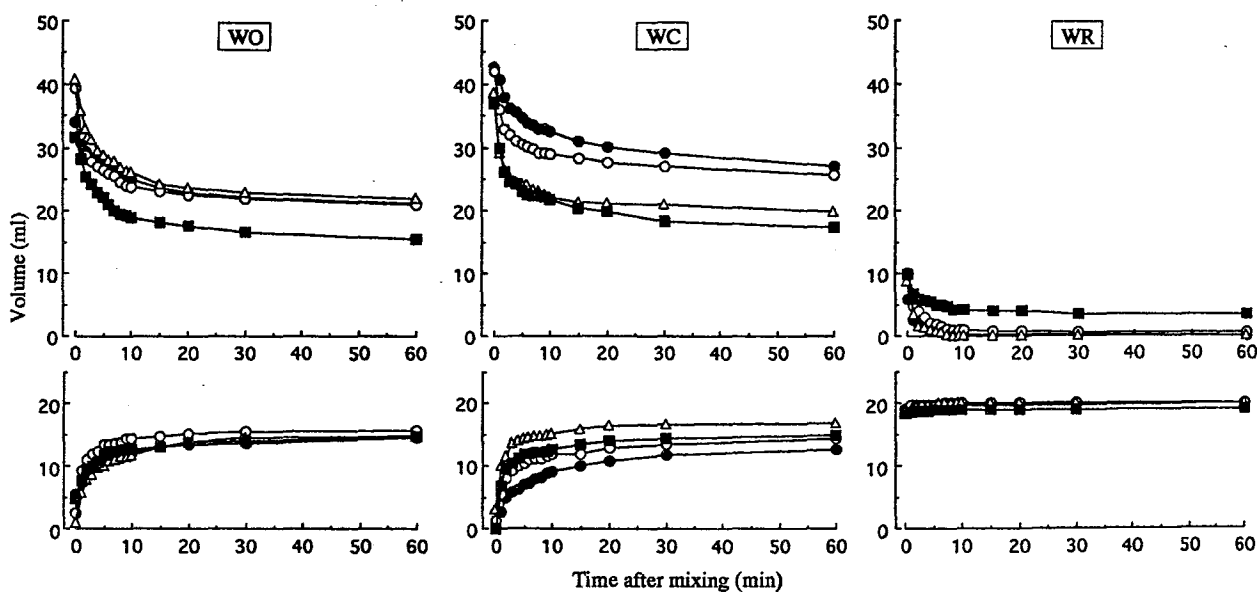


Fig. 7. Changes of foam and liquid volume of ruminal fluid after mixing in each treatment. Upper and lower graph illustrates the volume of foam layer and liquid layer, respectively. WC; white clover sole feeding. WR; white clover sole feeding with addition of anti-foaming agent (ruminon 5ml/day), WO; white clover and orchardgrass (1:1 in dry matter basis) feeding. ●; 2hr, ○; 4hr, △; 6hr, ■; 12hr after feeding.

Table 6. The effect of foaming in the rumen on daily eating time (ET), rumination time (RT) and RT/ET ratio of sheep. Mean values \pm SE (n=3).

| | WC | WR | WO |
|----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| ET (min) | 231 \pm 33 | 202 \pm 21 | 206 \pm 17 |
| RT (min) | 198 \pm 42 ^{B1)} | 230 \pm 56 ^{AB} | 405 \pm 34 ^A |
| RT/ET | 0.84 \pm 0.07 ^B | 1.11 \pm 0.23 ^B | 1.98 \pm 0.15 ^A |

1) Mean values within same rows with different subscripts are significantly different (P<0.05).

Table 7. Ruminal characteristics of sheep fed fresh white clover (WC), white clover with addition of anti-foaming agent (WR), and white clover and orchardgrass (1:1 in dry matter basis) (WO).

| Treatment... | WC | | | | WR | | | | WO | | | | SEM ¹⁾ |
|--|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------------------|
| | 2 | 4 | 6 | 12 | 2 | 4 | 6 | 12 | 2 | 4 | 6 | 12 | |
| pH | 6.12 | 5.98 | 6.15 | 6.81 | 6.18 | 6.02 | 6.20 | 6.97 | 6.28 | 6.15 | 6.26 | 6.91 | 0.06 |
| VFA concentration (mM) | 112.8 | 139.8 | 112.9 | 73.7 | 139.0 | 128.9 | 111.6 | 78.3 | 116.2 | 123.1 | 103.2 | 68.8 | 4.24 |
| Acetate | 61.4 | 78.7 | 61.3 | 42.9 | 78.5 | 69.9 | 61.4 | 44.8 | 67.0 | 70.9 | 57.7 | 39.5 | 2.36 |
| Propionate | 31.1 | 36.5 | 29.8 | 16.4 | 37.4 | 34.8 | 28.3 | 16.5 | 29.6 | 31.4 | 26.5 | 16.0 | 1.34 |
| Butyrate | 16.1 | 19.1 | 16.8 | 11.2 | 18.5 | 19.1 | 17.5 | 12.8 | 15.2 | 16.6 | 15.2 | 10.7 | 0.60 |
| A:P ratio | 1.97 | 2.15 | 2.18 | 2.63 | 2.17 | 2.01 | 2.17 | 2.71 | 2.26 | 2.26 | 2.18 | 2.48 | 0.05 |
| Ammonia-nitrogen (mg/dl) | 43.6 | 49.7 | 41.1 | 18.7 | 48.4 | 53.1 | 42.7 | 19.1 | 39.2 | 40.7 | 23.0 | 16.3 | 2.11 |
| Protozoal density ($\times 10^5$ /ml) | 6.13 | 5.02 | 4.81 | 6.20 | 4.61 | 3.43 | 3.54 | 6.03 | 5.25 | 4.90 | 4.94 | 6.50 | 0.21 |

1) Standard of the mean.

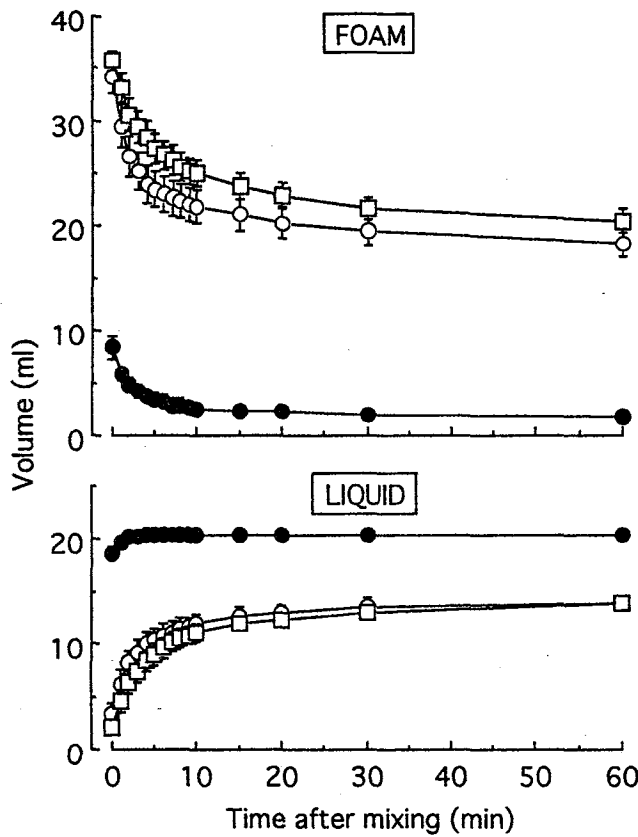


Fig. 8. Foam stability of ruminal fluid of sheep fed white clover (WC; \circ), white clover with addition of anti-foaming agent (WR; \bullet) and white clover and orchardgrass (1:1 in dry matter basis, WO; \square) in ad libitum feeding.

Table 8. Ruminal fermentation characteristics on sheep fed white clover (WC), white clover with addition of anti-foaming agent (WR), and white clover and orchardgrass (1:1 in dry matter basis) (WO). Mean \pm SE (n=21).

| Treatment ... | WC | | WR | | WO | |
|--|---------------------|-------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| pH | 6.17 ^{B1)} | 0.05 | 6.29 ^{AB} | 0.05 | 6.41 ^A | 0.06 |
| VFA concentration (mM) | 103.2 ^A | 3.9 | 99.1 ^A | 3.7 | 88.6 ^B | 3.6 |
| Acetate (ratio in total VFA) | 56.3 ^A | 2.6 | 55.2 ^A | 2.1 | 50.4 ^B | 2.1 |
| | 0.546 ^B | 0.009 | 0.548 ^B | 0.010 | 0.570 ^A | 0.005 |
| Propionate (ratio in total VFA) | 28.5 ^A | 1.2 | 29.7 ^A | 1.3 | 24.4 ^B | 1.1 |
| | 0.275 ^B | 0.004 | 0.295 ^A | 0.008 | 0.275 ^B | 0.005 |
| Butyrate (ratio in total VFA) | 14.4 ^A | 0.6 | 12.2 ^B | 0.5 | 10.7 ^C | 0.5 |
| | 0.143 ^A | 0.006 | 0.122 ^B | 0.002 | 0.120 ^B | 0.002 |
| A/P ratio | 1.98 ^{AB} | 0.06 | 1.90 ^B | 0.09 | 2.09 ^A | 0.05 |
| Ammonia-nitrogen (mg/dl) | 39.19 ^A | 1.90 | 36.63 ^A | 1.20 | 32.56 ^B | 1.54 |
| Protozoal density ($\times 10^5$ /ml) | 7.18 ^A | 0.46 | 5.79 ^B | 0.31 | 5.41 ^B | 0.53 |
| Dilution rate (%/hr) | 11.1 | 0.61 | 10.4 | 0.03 | 10.1 | 0.37 |
| Rate of digestion (%/hr) | | | | | | |
| DM | 9.19 | 0.73 | 7.48 | 0.35 | 9.93 | 0.42 |
| CP | 11.54 | 1.35 | 8.54 | 0.12 | 11.54 | 1.33 |

1) The different subscript with the same row is significantly different ($P < 0.05$).

Table 9. Daily intake (g) of dry matter and total N, and amounts of dry matter, total N and RNA (g/24hr) entering the small intestine.

| Treatment ... | WC | | | WR | | |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 900 | 915 | Mean | 900 | 915 | Mean |
| Daily intake | | | | | | |
| Dry matter | 1592 | 2250 | 1921 | 1970 | 1763 | 1867 |
| Total N | 63.7 | 90.0 | 76.9 | 78.8 | 70.5 | 74.7 |
| Duodenal digesta | | | | | | |
| Dry matter | 530.6 | 784.6 | 657.6 | 555.6 | 488.2 | 521.9 |
| Total N | 29.6 | 43.7 | 36.6 | 30.1 | 26.9 | 28.5 |
| RNA | 19.7 | 29.0 | 24.4 | 22.2 | 18.1 | 20.2 |
| RNA/Total N | 0.666 | 0.665 | 0.665 | 0.739 | 0.674 | 0.707 |
| Duodenal N /N intake | 0.464 | 0.485 | 0.475 | 0.382 | 0.381 | 0.382 |

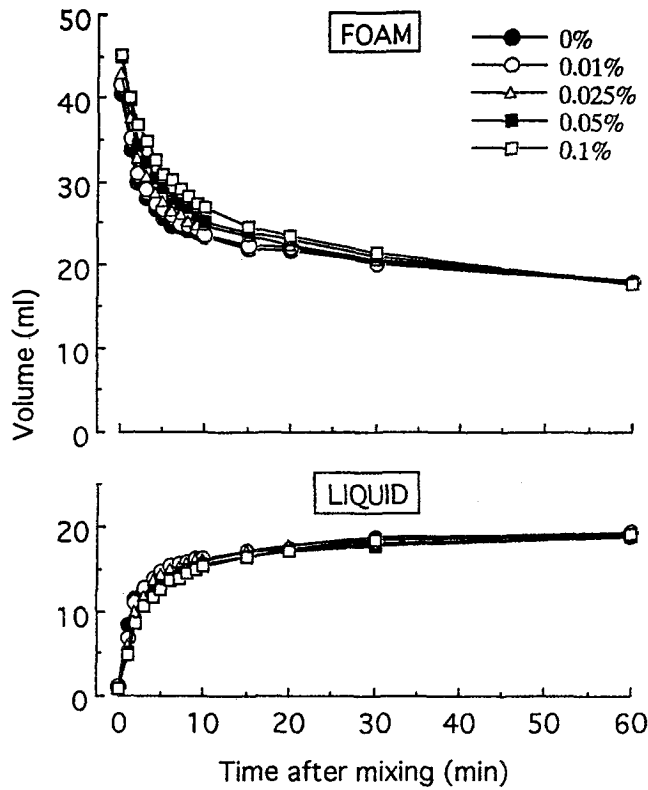


Fig. 9. The changes of foam and liquid volume after mixing of ruminal fluid under various saponin concentrations.

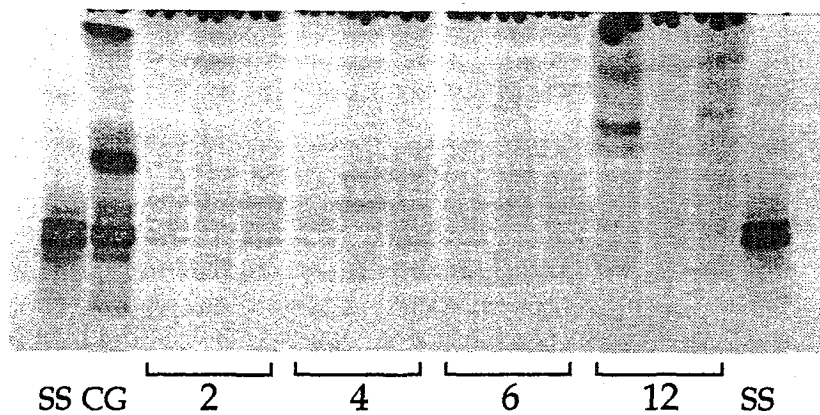


Fig. 10. The change of saponin content in the ruminal fluid of sheep under restricted feeding (30g of dry matter/day, twice a day) of white clover.

SS: soybean saponin, CG: crude glycoside fraction of white clover leaf, 2-12: time after feeding.

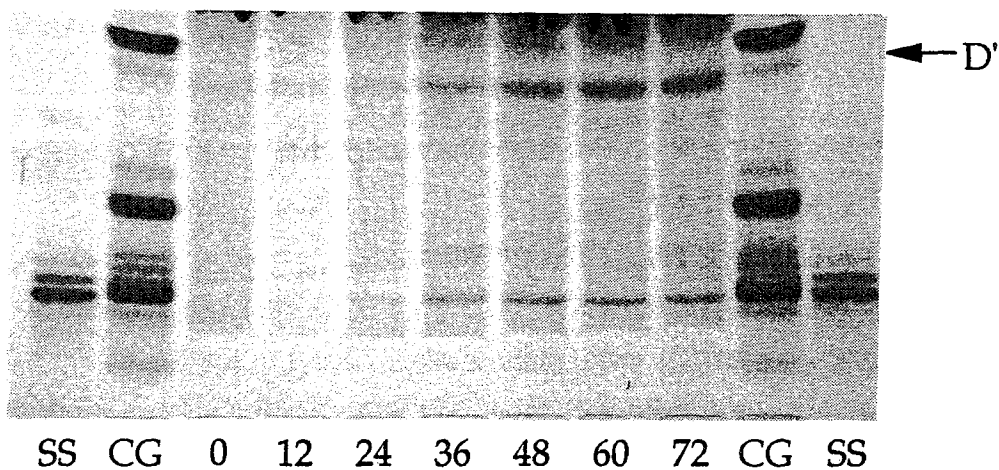


Fig. 11. The change of saponin content in the ruminal fluid of sheep switched from orchardgrass feeding to white clover feeding under free access.

SS: soybean saponin, CG: crude glycoside fraction of white clover leaf. Each time corresponds to the sampling time of ruminal fluid.

Band D' is thought to be sapogenin.

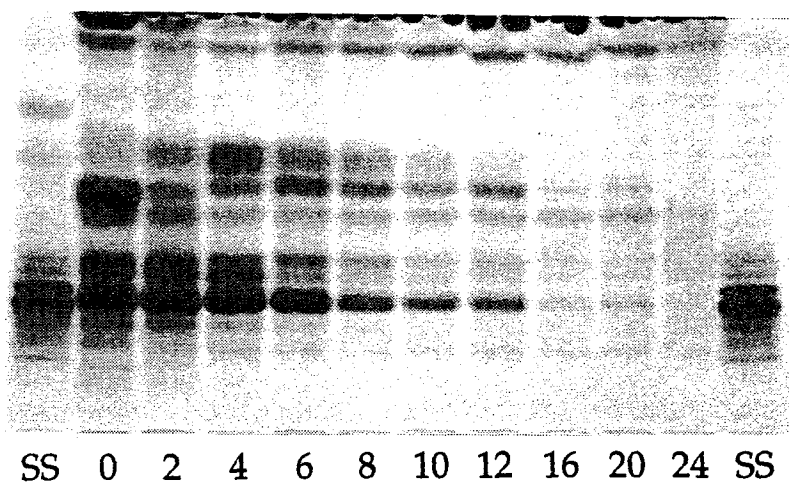


Fig. 12. The change of saponin content in white clover leaf after each time of immersion in the rumen by the nylon bag method.

SS: soybean saponin, CG: crude glycoside fraction of white clover leaf, 0-24: immersion time in the rumen.

論文審査結果要旨

マメ科植物は窒素固定能を有し、かつ栄養価が高いことから低コストな草食家畜生産にとって有用である。しかし反芻動物では多量に採食されるとルーメン内に強固な泡沫が形成され、その結果鼓脹症誘発が危惧される。本論文では広く放牧地に導入されているシロクロバを、より家畜生産に活用しようとする観点から、家畜のシロクロバ採食性とシロクロバ栄養素利用性について、特に反芻家畜の鼓脹症に直結するルーメン内泡沫形成との関連から検討したものである。

まずシロクロバ・イネ科草混生草地における反芻家畜のシロクロバ採食性を把握するため、1日2回の定時給餌と不断給餌処理で食欲を変化させた綿羊を用い、シロクロバとオーチャードグラスの自由採食試験を行った。その結果シロクロバは家畜の採食欲高揚時に一時的に多量採食されるが、採食の進行にともない共存イネ科草が採食されるようになる。すなわち放牧地では移牧や入牧直後といった食欲高揚時にはシロクロバが選択的に採食されルーメン液の起泡性は増加するが、通常はシロクロバ・イネ科草がほぼ等量採食され起泡性は低く保持されることが想定される結果を得た。またシロクロバは易消化性にもかかわらず単一給与の採食量は増加せず採食が調節されている可能性が示唆された。

つぎにシロクロバ採食にともなう綿羊のルーメン特性の変化を調べると、ルーメン液泡沫安定性が高まり、VFA、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度、プロトゾア密度が上昇し、ルーメン運動では採食・反芻中の収縮頻度が増加し、振幅が減少することが明らかとなった。

本論文ではシロクロバ採食により生じる泡沫が従来考えられてきた鼓脹症との関連だけでなくルーメン発酵の調節機能を有している可能性をさぐるため、ルーメン・十二指腸カニューレ装着綿羊を用い、消泡剤投与処理によりルーメン発酵および下部消化管流入栄養素の変化が調べられた。その結果シロクロバ採食時に生じるルーメン内泡沫形成はシロクロバ採食後の急激なルーメン発酵を抑制し、プロトゾア密度を減じ、下部消化管流入窒素量を増加させること、すなわち草中窒素の利用効率を高める機能を有することが明らかとなった。

最後にシロクロバ摂取後のシロクロバサポニンの動態が調べられた。その結果、ルーメン液の泡沫安定性とサポニン濃度とには高い相関が見られること、サポニンはルーメン微生物により分解されるが、サポニンは小葉部に多く存在することから放牧家畜はシロクロバの平均含有率に比べ高いサポニン濃度の草を摂取する可能性のあることが示唆された。

以上のように本研究により従来反芻家畜の鼓脹症誘発要因としてとらえられてきたシロクロバ採食時に生じるルーメン内泡沫化が、一方で草含有窒素の利用性を高めるという栄養学的に重要な機能を有することが明らかとなった。このような新たな知見が提出されたことにたいし、審査員一同は本研究者に博士（農学）の学位を授与するに値するものと認定した。