泌乳牛における飼料給与法別および 採取部位別第一胃液性状の経時的比較

生田健太郎^{1,2)} 西森一浩²⁾ 岡田啓司^{2,3)} 安田 準^{2,3)}

¹⁾兵庫県立農林水産技術総合センター・淡路農業技術センター、

²⁾岐阜大学大学院連合獣医学研究科、³⁾岩手大学農学部

Comparison of diurnal variation of the rumen fluid character between the different sampling sites or feeding systems in dairy cows

Kentarou Ikuta^{1,2)}, Kazuhiro Nishimori²⁾, Keiji Okada^{2,3)}, Jun Yasuda^{2,3)}

¹⁾Awaji Agricultural Institute, Hyougo Prefectural Technology Center
for Agriculture, Forestry and Fishers.

²⁾The United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University

³⁾Faculty of Agriculture, Iwate University

要 約 第一胃フィステルを装着した泌乳牛2頭を供試し、噴門付近の固形物層（上部）と腹囊の液状層（底部）における第一胃液性状を経時的に比較した。pHは両部位とも飼料給与前と給与後1時間にはほぼ同一の値を示し、その後急激に低下した後、底部では数時間にわたりが低値で推移した。総揮発性脂肪酸（VFA）濃度は概ね底部が高値で推移した。pH、総VFA濃度ともに上部の大きな変動により、部位間に有意差の生じる時間帯があり、pHと総VFA濃度との間に有意な負の相関が認められた。VFA構成比率とアンモニア態窒素（NH₃-N）濃度は両部位とも採取時間を通じてほぼ同一の値で推移し、部位間に有意差はなかった。上部から第一胃液を採取する経口カテーテル法の採取時間は、pHが最低値付近で部位間に差がなく、NH₃-N濃度が最高値に達する飼料給与後1時間が、最も盛んな第一胃発酵状態を把握・評価する上で最適であると考えられた。

——キーワード：乳牛、経時変化、第一胃、採取部位、採取時間

.....家畜臨床誌 26(2):47-52, 2003

Received 12 September 2003 / Accepted 30 September 2003

*Correspondence to K. Ikuta. Awaji Agricultural Institute, Hyougo Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry and Fishers, 560-1 Youginaka, Yagi, Mihara, Hyougo, 656-0402, Japan (〒656-0402 兵庫県三原郡三原町八木養宜中560-1 TEL 0799-42-4883, Fax : 0799-42-2990 E-mail : kikuta@sannet.ne.jp)

ABSTRACT Two rumen-fistulated Holstein multiparous cows were used to compare the characteristics of rumen fluid obtained from two sampling sites within the rumen. The rumen fluid was collected from the cardiac region in the cranial sac (site A) and the fluid in the ventral sac (site B) at the beginning (0 hrs) and at each consecutive hour after morning feeding for 10 hours on two days. There was no difference in pH between the two sampling sites before feeding and one hour after feeding. However, the pH values were lower at site B than at site A at the later sampling times. The total volatile fatty acid (VFA) concentrations were higher at site B than site A for all sampling times. There were significant differences in the pH and the VFA concentrations between the two sampling sites at the sampling times. These values for site A fluctuated greatly. The change of pH and total VFA concentrations exhibited inter-relatedness. Therefore, significant correlations were observed between the pH and the VFA concentrations. There was no difference in the molar percentage of VFA and the concentration of ammonia nitrogen (NH_3N) over time. The total number of protozoa became higher in site A over time. There was no difference for pH between the two sampling sites and the values were at very low levels. NH_3N concentration attained peak value one hour after feeding and this was the optimum time for oral sampling by catheter for evaluating the condition of the rumen at peak fermentation level.

— **Key words:** cow, diurnal variation, rumen, sampling site, sampling time

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 26(2):47-52, 2003

はじめに

第一胃液性状は反芻家畜の飼養状況を把握する上で有用な情報源である。しかし、牛群検診などの指導現場で飼養改善の指標として第一胃液性状を活用している事例は少ない。この原因の1つとして、第一胃液に関しては未だ、血液の様に栄養モニタリング項目としての検体採取条件や指標値が明確にされていないことが考えられる。

第一胃内は胃運動や反芻によって絶えず攪拌されているが、内容物が完全に均一になることはなく、部位によって性状が異なる [1, 12-14]。また、第一胃液性状は飼料摂取後における発酵の進行に伴って経時的に変動する [1, 3, 4, 9, 10, 12-14]。従って、第一胃液性状を的確に評価するには、採取部位や採取時間による性状の違いを踏まえて、採取条件を整備しておく必要がある。

本試験では、酪農家を対象とした牛群検診などでの第一胃液採取を想定して、泌乳期経産牛を供試し、通常の採取法である経口カテーテル法で採取する部位（上部）と経口カテーテル法では採取が困難な腹囊の液状層（底部）で、第一胃液性状の変動を経時的に比較した。

材料と方法

供試牛と飼養管理：第一胃フィステルを装着したホルスタイン種経産牛2頭を供試した。供試牛の産次は3産

と4産、試験開始時の体重は692kgと724kg、分娩後日数は300日と287日、乳量は19.4kgと22.6kgであった。供試牛はタイストール牛舎に繋留し、朝は8時30分、夕方は16時から飼料給与と搾乳を行った。なお、第一胃液の採取日には、朝の飼料給与から10時間後までの経時の変化を観察するため、夕方の飼料給与は採取終了後に行った。飼料の給与法は、分離給与での採取を行ったのち、完全混合飼料（TMR）給与に変更した。両給与法とも供試牛が泌乳後期であることから、給与法間で乾物給与量と可消化養分総量（TDN）が等しくなるように設計した飼料を制限給餌した。乾物給与量と養分含量（TDN、粗蛋白質、中性デタージェント繊維）は順に、分離給与が18.4kg、71.6%、13.0%、37.8%、TMR給与が18.0kg、71.5%、15.5%、33.7%であった。

第一胃液の採取：第一胃液の採取は、分離給与とTMR給与でそれぞれ2日間行った。なお、TMR給与への変更から採取実施までは10日間の馴致期間を設けた。第一胃液の採取は、朝の飼料給与直前と給与後1時間間隔で10時間後まで計11回行った。第一胃液の採取部位は経口胃汁採取器^{a)}の先端部が到達する噴門部付近の固形物層（上部）とフィステル直下の固形物層をかき分けた腹囊の液状層（底部）の2箇所とした。第一胃液は両部位ともフィステルから手を挿入し、当該部位の内容物を

つかみ出し、4重ガーゼで包んで50mlの保存容器に搾り込み、濾過胃液とした。

調査項目と分析方法：採取した第一胃液のpH、揮発性脂肪酸（VFA）およびアンモニア態窒素（ NH_3N ）について分析・計測した。pHは採取直後にガラス電極法^{b)}により測定した。VFAは前処理〔8〕した検体を凍結保存し、ガスクロマトグラフィー^{c)}で測定した。 NH_3N は濾過胃液を凍結保存し、水蒸気蒸留法〔7〕にて測定した。

統計処理：各採取時点ごとに、上部と底部それぞれ4検体（2頭×2日間）の平均値を算出し、対応のあるt検定により差の検定を行った。

^{a)} ルミナー、富士平工業（株）、東京。

^{b)} pHメーター（F-8L）、堀場製作所（株）、京都。

^{c)} HITACHI-163、日立製作所（株）、東京。

結 果

pH：pHの変動を図1上段に示した。両給与法とも飼料給与前と給与後1時間では両部位ともほぼ同一の値を示し、給与後急激に低下した。その後、底部は分離給与では7時間まで最低値付近で推移した後に上昇したが、TMR給与では2時間以降緩やかに上昇した。一方、上

部は分離給与では3時間以降、TMR給与では2時間以降、一旦急激に上昇し、それぞれ給与前の水準に達した後、再度、軽微な低下と上昇を繰り返し、分離給与では7時間以降、TMR給与では5時間以降は上昇のみとなった。このような上部の変動に伴い、分離給与では3、4、6、7時間に、TMR給与では2～4時間に、それぞれ部位間に有意差が認められた。

総VFA濃度：総VFA濃度の変動を図1下段に示した。両給与法とも概ね底部が高い値で推移した。分離給与では給与後、両部位ともわずかに上昇し、底部は緩やかに低下したが、上部は大きく変動し、4および6時間において部位間に有意差が認められた。一方、TMR給与でも給与後、両部位とも上昇し、底部は分離給与と同様の変動パターンをとったが、上部では大きな変動がなく、2時間で部位間に有意差が認められたが、その差は底部の緩やかな低下に伴って次第に縮まった。

pHと総VFA濃度の関係：pHと総VFA濃度の変動パターンには関連性がみられたので、給与法と部位ごとに回帰分析を行ったところ、いずれも有意（ $p<0.01$ ）な負の相関が認められた。このうち上部の回帰式（Y：総VFA濃度、X：pH）は、分離給与で $Y=-10.103X+80.498$ （ $r=-0.858$, $R^2=0.737$ ）、TMR給与では $Y=-7.184X+60.120$ （ $r=-0.836$, $R^2=0.698$ ）となった。

図1. 噴門部固形物層（上部；■）および腹囊液状層（底部；○）における第一胃液のpHと総VFA濃度の変動

矢印：飼料給与、平均±標準偏差、底部に対して有意差 *： $P<0.05$ 、**： <0.01

図2. 噴門部固形物層（上部；■）および腹囊液状層（底部；○）における第一胃液のVFA構成比率の変動

矢印：飼料給与、平均±標準偏差

VFA構成比率：VFA構成比率の変動を図2に示した。いずれの項目も給与法間で類似した変動パターンがみられ、両部位とも採取時間を通じてほぼ同一の値で推移し、部位間に有意差はなかった。プロピオン酸比率は給与後急激に上昇し、1時間で最高値に達した後、低下した。逆に、酢酸比率と酪酸比率および酢酸/プロピオン酸比（AP比）は給与後急激に低下し、1～2時間で最低値に達した後には上昇した。

NH₃N濃度：NH₃N濃度の変動を図3に示した。給与法間で類似した変動パターンがみられ、両部位とも採取時間を通じてほぼ同一の値で推移し、部位間に有意差はなかった。両部位とも給与後1～2時間で最高値に達して下降し、3時間で給与前の値に戻った後さらに低下し、5～6時間で最低値を示し、その後わずかに上昇した。

図3. 噴門部固形物層（上部；■）および腹囊液状層（底部；○）における第一胃液のアンモニア態窒素濃度の変動

矢印：飼料給与、平均±標準偏差

考 察

経口カテーテル法において、噴門を通過したカテーテル先端は第一胃背側に向かい、そこにある固形物の層に達するとされている〔8〕。本試験でも挿入した経口カテーテルの先端部は同様の位置にあることを確認し、その採取部位を上部とした。本試験では経時採取により頻繁に経口カテーテルを挿入するとストレスで正常な胃運動が阻害されるため、上部についてもフイステルを介して採取した内容物を搾って検体とした。

pHの部位による差異については、既報〔1, 14〕において有意差が認められている。pHの部位間の差は本試験から飼料給与後における上部の変動によるものであると考えられた。また、飼料給与後同一の採取時間帯であっても、給与法の違いにより部位間の差の程度は異なるものと考えられた。佐藤ら〔10〕は分離給与とTMR給与でpHの変動係数を比較し、TMR給与で変動が小さくなったとしている。しかし、本試験では上部は両給与法とも大きく変動し、W字型の変動パターンを呈した。一方、底部は分離給与のU字型に対し、TMR給与では給与後1時間を最低値とするV字型を呈し、両部位の値は5時間以降、ほぼ等しくなった。これらのことから、一般に認識されているようなTMR給与によるpHの安定性は上部にはあてはまらず、底部についても給与後の低下が緩やかで軽度というわけではなかった。従って、TMR給与の優位性は底部の値の回復が分離給与より速い点にあると考えられた。

総VFA濃度の部位による差異については、背囊が前囊や腹囊よりも高く、前囊と腹囊では差はないとするYangらの報告〔14〕もあるが、本試験では阿部らの報告〔1〕と同様、両給与法とも底部の方が安定して高い値で推移した。Yangらの報告〔14〕の前囊と腹囊は本試験の上部と底部に該当する部位と考えられたが、同じ

前囊からの採取であっても、本試験では経口カテーテル先端の到達部位を意識して噴門に近い部位で採取したこと、さらにYangら〔14〕の飼養条件がTMR自由採食（飽食）であったことが結果に影響したものと考えられた。底部の総VFA濃度が安定して推移したのに対し、分離給与の上部では大きく変動し、大幅に低下した時点で部位間に有意差が認められた。このような上部における総VFA濃度の変動は胃運動や反芻による第一胃内容物の攪拌と移動が関与する一方、底部における総VFA濃度の安定には反芻時に腹囊が収縮しないことが多い〔12〕ことが関与していると考えられた。総VFA濃度の変動パターンは、時間制限給餌では給与後3～6時間で明瞭なピークに達する〔4〕とされているが、本試験ではYangら〔14〕の報告と同様、両給与法・両部位ともに、それより早い1～2時間でピークに達した。

VFA構成比率の部位による差異については、既報〔1, 14〕においても差はないとされている。本試験でも給与法、採取時間にかかわらず部位間で差はなかったことから、VFA構成比率の評価においては採取部位を考慮する必要はないと考えられた。

pHと総VFA濃度は密接な負の相関関係にあることが知られている〔4, 6, 9, 14〕。本試験でもpHと総VFA濃度の変動は関連しており、回帰分析の結果、給与法や採取部位にかかわらず、有意な負の相関が認められ、類似した回帰式が得られた。また、VFA構成比率とpHの間にも相関関係が示唆されており〔5, 6〕、本試験でも酢酸比率とAP比の変動パターンが底部pHの変動パターンと類似していた。

NH₃-N濃度の部位による差異について、既報〔1, 13, 14〕では、背囊は前囊や腹囊よりも有意に高く、これは高密度の微生物数に由来し、NH₃-N濃度が高くなると同時に、低pHによるイオン化で吸収も低下するためと

している [13,14]。しかし、前囊と腹囊では有意差がなく [1,13,14]、経口採取と腹囊の経時的比較でも有意差は認められていない [13]。本試験でも給与法、採取時間にかかわらず部位間で差はなかったことから、 NH_3N 濃度の評価においては採取部位を考慮する必要はないと考えられた。 NH_3N 濃度の変動パターンに関する報告 [2,3,11,13,14] を総合すると、採食後の急激な蛋白質分解により2時間以内に最高値に達し、その後発酵エネルギーの供給により低下するが、4～8時間後には微生物の代謝と発酵エネルギーの不足、さらには唾液の影響によって、上昇傾向になるとしている。本試験結果はこれらと一致した。

以上より、経口カテテル法による第一胃液の採取と性状評価に際しては、採取時間と、pH、総VFA濃度における腹囊部との差を考慮する必要があることが示唆された。しかし、pHと総VFA濃度は密接な関連性があることから、牛群検診などの現場では、pHの正確な把握に絞って最適な採取時間帯を設定すればよいと考えられた。pHは給与後1時間では部位間に差はなく、最低値に近い値であり、この時 NH_3N 濃度はほぼ最高値に達している。従って、最も盛んな第一胃発酵状態を把握・評価するには、給与後1時間の採取が最適であり、給与直前または給与後8時間以降でもpHや NH_3N 濃度の変動幅を把握すれば、より正確な評価が可能になると考えられた。

文 献

1. 阿部又信, 中川洋子, 入来常德 (1986). 粗:濃比の異なる飼料給与時の牛における第一胃内異部位間の性状比較. 日畜会報 57:395-403.
2. Erdman, R. A., Proctor, G. H. and Vandersal, J. H. (1986). Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. J. Dairy Sci., 69: 2312-2320.
3. Gustafsson, A. H. and Palmquist, D. L. (1993). Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. J. Dairy Sci. 76:475-484.
4. Hidari, H. (1977). Diurnal changes of volatile fatty acid concentration in the rumen of sheep fed in free access. Jpn. J. Zootech. Sci. 48: 38-46
5. 日野常男(1985). ルーメン発酵のパターン:ルーメンの世界 (神立 誠, 須藤恒二監修), 531-533, 農山漁村文化協会, 東京.
6. Lana, R. P., Russell, J. B. and Van Amburgh, M. E. (1998). The Role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. J. Anim. Sci. 76: 2190-2196
7. 浜田龍夫 (1971). ルーメン内容物の採取および分析: 動物栄養試験法 (森本 宏監修), 428-431, 養賢堂, 東京.
8. 五十嵐幸男, 栗原 康, 武智辰夫, 須藤恒二(1973). ルーメン液検査: 牛の臨床検査法 (中村良一, 米村寿男, 須藤恒二編), 第6章4-44, 農山漁村文化協会, 東京.
9. 小原嘉昭, 柿野 淳, 元井霞子 (1994). 濃厚飼料多給および粗飼料多給ホルスタイン去勢牛の採食に伴う体液酸塩基平衡の変動. 日畜会報 65: 347-354.
10. 佐藤 博, 工藤吉夫, 三島哲夫, 柏木 甲(1987): 乳牛における飼料給与の方法が第一胃内発酵, 血液性状および採食行動に及ぼす影響. 日畜会報58: 461-466.
11. Satter, L. D. and Roffler, R. E. (1981). Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation. Recent development in ruminant nutrition. Haresign W, et al eds. 115-139, Butterworth, London.
12. 板底外茂雄(1987).消化の生理: 新乳牛の科学 (津田恒之監修), 19-41, 農山漁村文化協会, 東京.
13. Wohlt, J. E., Clark, J. H. and Blaisdell, F. S. (1975). Effect of sampling location time and method of concentration of ammonia nitrogen in rumen fluid. J. Dairy Sci. 59: 495-464.
14. Yang, C. M. J. and Varga, G. A. (1989). Effect of sampling site on protozoa and fermentation endproducts in the rumen of dairy cows. J. Dairy Sci. 72: 1492-1498.