

ヒツジにおける消化機能，血漿グルコース およびロイシン代謝に及ぼすエノキタケ廃菌床給与の影響

畢 雪¹・関口奈都美^{2,a}・梁 曦¹・Md. Kamruzzaman^{1,b}・佐々木茂子³・登丸 瑛⁴・佐野宏明^{2,*}

¹ 岩手大学大学院連合農学研究科，盛岡市 〒020-8550

² 岩手大学農学部，盛岡市 〒020-8550

³ 岩手大学地域連携推進センター，盛岡市 〒020-8551

⁴ 株式会社ベクセル，前橋市 〒371-0233

現所属：^a 栃木県畜産酪農研究センター，那須塩原市 〒329-2747

^b Bangladesh Agricultural University, Mymensingh 2202, Bangladesh

2014年12月22日受付，2015年1月20日受理

要 約

本研究は反芻家畜における消化機能，血漿グルコースおよびロイシン代謝に及ぼすエノキタケ廃菌床（MC）給与の影響を解明するために実施した。ヒツジ4頭を供試し，対照区とMC給与区の2飼料区を設定した。対照区は維持代謝エネルギーの120%に相当する乾草と配合飼料の給与比を5:5とし，MC給与区は乾草と配合飼料，MCの給与比を5:3:2とした。実験は1期21日間のクロスオーバー法に従い実施した。5日間連続して窒素（N）出納試験を実施した。20日目に第一胃内容液を採食前，採食開始3および6時間後に採取し，pH，揮発性脂肪酸（VFA）およびアンモニア濃度を測定した。21日目には[U-¹³C]グルコースと[L-¹³C]ロイシンの同位元素希釈法を用いて血漿グルコースおよびロイシン代謝回転速度を測定した（それぞれGluTR，LeuTR）。MCはCa，Mg，Fe，Mn，Znを豊富に含み，嗜好性も優れていた。MC給与区のN消化率は対照区よりも低かったが（ $P < 0.01$ ），N保持量，第一胃内VFA，血漿GluTR，LeuTRは飼料間に差がなかった。本研究の結果から，MCはヒツジの第一胃発酵性および栄養素代謝に影響を与えることなく，給与飼料の一部と代替できることが示唆された。

キーワード：エノキタケ廃菌床，ヒツジ，第一胃発酵，グルコース代謝，ロイシン代謝

東北畜産学会報 64(3): 32 ~40 2015

緒 言

日本国内の食料自給率は39%と低いにも関わらず，食品製造業過程で発生する食品廃棄物は年間約2,000万トンにも達する（農林水産省，2012，2014）。その約50%が飼料として再利用されているものの，飼料自給率は極めて低い状態が続いている。資源の有効利用や飼料自給率の向上，さらには環境保全の観点から未活用資源の有効利用，いわゆる「エコフィード」の利活用推進が強く求めら

れている。そのため，食品廃棄物の飼料化に関する研究が行なわれている（岡田，2005；小嶋，2010；Harjantiら，2012；Galmessaら，2013）。

近年，キノコの生産量が急速に増加しており，2012年の年間キノコ類生産量約45万トンのうち，エノキタケの生産量が最も多く（約13万トン），主に菌床栽培で生産されている（林野庁，2013）。そのため，エノキタケ廃菌床（MC）の処理が大きな課題となっており，飼料化や堆肥化などの再利用が検討されている（大矢ら，1998；増野ら，2000）。

反芻家畜は第一胃を有するため，飼料の消化・吸収過程は単胃動物と著しく異なっている。セルロースやデンプンなどの飼料中炭水化物は主に第一胃内微生物によって酵

* 連絡者：佐野宏明（さの ひろあき）

（岩手大学農学部）

〒020-8550 岩手県盛岡市上田三丁目18-8

Tel: 019-621-6165 Fax: 019-621-6165

E-mail: sano@iwate-u.ac.jp

酸、プロピオン酸、酪酸などの揮発性脂肪酸（VFA）にまで分解されるため、グルコースは消化管からほとんど吸収されない。したがって、体内で利用されるグルコースは主に肝臓における糖新生によって供給されている。体内に吸収されたVFAは主にエネルギー源として利用されるが、プロピオン酸は糖新生の主要な前駆物質としても利用される。また、飼料中タンパク質は微生物のはたらきによって一旦アミノ酸、アンモニアまで分解された後、それらを材料として微生物態タンパク質が合成される。FazaeliとTalebian Masoodi（2006）は給与量の10、20、30%の麦わらを麦わら主体のマッシュルーム廃菌床で代替してヒツジに給与した結果、窒素（N）保持量は20%の代替まで影響を受けないことを報告した。エノキタケの菌床栽培では主にコーンコブが培養基として使用され、オカラやフスマなどもエノキタケの栄養源として添加されている。これらは反芻家畜の飼料原料としても利用されており、ヤギにおいてコーンコブはライグラスストローとほぼ同等の飼料価値を持つことが報告されている（小柳ら, 1999）。さらに、Ohら（2010）は稲わらの40%をエリンギまたはヒラタケ廃菌床で代替した飼料を去勢牛に給与しても血漿グルコース濃度は変化しないことを報告している。しかしながら、MC給与時における反芻家畜の消化機能および栄養素代謝に関する研究成果はこれまで報告されていない。

そこで、本研究ではMCを反芻家畜の飼料として有効活用することを目指し、MCを含む飼料を給与したヒツジにおける消化機能、血液代謝産物濃度および栄養素代謝を明らかにすることを目的とした。

材料および方法

1. 実験動物および飼料

実験は岩手大学動物実験管理規則にしたがって計画し、岩手大学動物実験委員会の承認を得たうえで実施した。実験には去勢ヒツジ4頭（1歳、体重32.7±1.6 kg）を用いた。飼料区はオーチャードグラスとリードカナリーグラスの混播乾草およびトウモロコシなどの穀類を主体とする市販配合飼料（a ビーフ, 中部飼料）を乾物重量比5:5の割合で給与する対照区と総乾物給与量の20%に相当する配合飼料をコメヌカ、コーンコブミールを主体とするMC（表1）と代替したMC給与区の2飼料区を設定した。対照区の飼料給与量は維持代謝エネルギー量の120%とした。混播乾草、配合飼料およびMCの主な飼料成分を表2に示した。本実験で使用したMCは水分の割合が高かったため（44%）、通風乾燥器（AT-S13, いすづ, 新潟）を用いてMCを乾燥し（60℃, 48時間）、5日間以上風乾した後に使用した。実験は1期21日間のクロスオーバー法

Table 1 Ingredients of mushroom compost (MC)

Materials	Substance (%)
Rice bran	45
Corn cob meal	31
Beat flour	9
Cottonseed hull	4
Wheat bran	4
Dried soybean curd residue	3
Fossil shell	4

Table 2 Chemical compositions of the diets

Chemical composition	Mixed hay (DM ^a)	Concentrate (DM)	MC ^b (DM)
Crude protein (%)	12.1	13.0	12.9
Neutral detergent fiber (%)	68.4	31.4	44.0
Crude ash (%)	8.0	3.7	14.0

^aDM: dry matter.

^bMC: Mushroom Compost.

に従って実施した。14日間にわたり動物を動物飼育舎の個別ペン内で飼料に馴致させた後、生物環境制御室（温度23℃, 湿度70%, 照明点灯8:00～22:00）に移動し、7日間個別代謝ケージで実験を実施した。給餌は1日2回（8:30と20:30）とし、飲水は自由とした。週に1回体重を測定した。

2. サンプルの採取

各期の16日目から5日間にわたりN出納試験を行った。24時間ごとに糞尿を全量採取し、糞は通風乾燥器を用いて乾燥（60℃, 48時間）した後、室内で5日間風乾し、重量を測定した。次いで、粉砕器（Cyclotec 1093, Foss, Sweden）を用いて糞の一部を粉砕し、分析まで室温で保存した。尿は50mlの6N硫酸を入れた尿入れを代謝ケージの底にセットして採取した。尿量を測定し、十分に攪拌した後、サンプル瓶に約50mlを採取し、分析まで-30℃で冷凍保存した。

実験20日目の採食開始前、採食開始3および6時間後に第一胃液採取器（ルミナー胃汁採取器, NFM90, 富士平工業, 東京）を用いて約50mlの第一胃内容液を採取した。遠心分離機（RS-18IV, トミー精工, 東京）を用いて第一胃内容液を遠心分離し（4℃, 8,000rpm, 10分間）、上清を分離した。第一胃内アンモニア濃度を測定するため、上清1mlに0.1N塩酸1mlを加えて希釈し、残りの第一胃内容液上清とともに分析まで-30℃で冷凍保存した。

3. 同位元素希釈法実験

実験21日目の9:30に注入用と採血用カテーテルをヒツジの両側頸静脈に挿入した。血液凝固防止のため、滅菌した3.8%クエン酸ナトリウム溶液でそれぞれのカテーテル内を満たした。12:00にプライミングインジェクショ

ンとして滅菌した0.9%生理食塩水に溶解した $[1-^{13}\text{C}]$ ロイシン $7.2\mu\text{mol}/\text{kg}^{0.75}$ および $[\text{U}-^{13}\text{C}]$ グルコース $2.9\mu\text{mol}/\text{kg}^{0.75}$ を注入用カテーテルから注入した。その後、直ちに送液ポンプ(Bio-Minipump, AC-2120, アトー, 東京)を用いてそれぞれ $7.2, 2.9\mu\text{mol}/\text{kg}^{0.75}/\text{h}$ で注入用カテーテルから4時間にわたり連続定速注入した。血液はヘパリン処理した注射筒を用い、注入前に12ml、注入開始2時間後から4時間後まで30分ごとに6mlずつ採血用カテーテルから採取した。採取した血液は直ちにヘパリン処理した遠沈管に移して氷冷し、サンプリング終了後に遠心分離(4°C , 8,000rpm, 10分間)して血漿を分離した。血漿を保存用チューブに移して分析まで -30°C で冷凍保存した。カテーテルは実験終了後に速やかに取り外した。

4. 分析方法

飼料, 糞および尿中Nはケルダール法による自動分解装置(Tecator Digester System, Foss Teactor, Sweden)と自動蒸留滴定装置(Kjeltec 2300, Foss Teactor, Sweden)を用いて測定した。飼料中中性デタージェト繊維(NDF)はVan Soestら(1991)の方法によるファイバーキャップ(2021, Foss, Sweden)を用いて測定した。飼料中NaおよびKは希酸抽出法, Clは純水抽出法, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Znはマイクロ波分解, Iはアルカリ抽出法(Fecherら, 1998; RadlingerとHeumann, 1998)によってそれぞれの試料溶液を調製した。これらの飼料中ミネラル含量は誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS, SPQ9400, SII ナノテクノロジー, 東京)を用いて測定した。

第一胃内容液のpHはpHメーター(F-51, 堀場製作所, 京都)を用いて測定した。第一胃内アンモニア濃度はインドフェノール法(Weatherburn, 1967)により測定した。第一胃内VFA濃度は第一胃内容液を水蒸気蒸留した後, ガスクロマトグラフィー(5890, Hewlett Packard, USA)を用いて測定した。

血漿ロイシンおよび α -ケトイソカプロン酸(α -KIC)濃度, 血漿 $[1-^{13}\text{C}]$ ロイシンおよび α - $[1-^{13}\text{C}]$ KICエンリッチメントはRocchiccioliら(1981)およびCalderとSmith(1988)の方法に従って前処理を行い, ガスクロマトグラフィー質量分析計(QP-2010, 島津製作所, 京都)を用いて測定した。血漿 $[\text{U}-^{13}\text{C}]$ グルコースエンリッチメントは, Fujitaら(2006)がTserngとKalhan(1983)の方法を修正した方法に従って前処理を行い, ガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて測定した。血漿グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法(HuggettとNixon, 1957)により測定した。血漿遊離アミノ酸および尿素濃度は全自動アミノ酸分析器(JLC-500/V, 日本

電子, 東京)を用いて測定した。血漿乳酸濃度は酵素法(デタミナーLA, 協和メデックス, 東京)による自動分析装置(Accute TBA-40FR, 東芝メディカルシステムズ, 東京)を用いて測定した。血漿NEFA濃度は酵素法による市販測定キットを用いて測定した(NEFA C-テスト, 和光純薬工業, 大阪)。

5. 計算方法

ヒトや家畜の体内タンパク質動態を測定するために, $[1-^{13}\text{C}]$ ロイシンの同位元素希釈法が利用されている(Motilら, 1996; Liangら, 2013)。また, ロイシンからアミノ基転移反応で生成される α -KICもロイシン代謝の計算に使用される(Magniら, 1994)。本実験では α - $[1-^{13}\text{C}]$ KICエンリッチメントからロイシン代謝回転速度を算出した。

血漿ロイシンおよびグルコース代謝回転速度(TR)は次式により算出した(Wolfe, 1984)。

$$\text{TR} (\text{mmol}/\text{kg}^{0.75}/\text{h}) = I \times (1/E - 1)$$

ここで, I は $[1-^{13}\text{C}]$ ロイシンあるいは $[\text{U}-^{13}\text{C}]$ グルコース注入速度 $[\text{mmol}/\text{kg}^{0.75}/\text{h}]$, E は血漿 α - $[1-^{13}\text{C}]$ KICエンリッチメント(atom%excess)あるいは血漿 $[\text{U}-^{13}\text{C}]$ グルコースエンリッチメント[atom% excess]である。

6. 統計処理

統計処理はSASのMIXED procedureにより実施した(SAS, 1996)。飼料区および実験の順序を要因とする二元配置分散分析を行い, $P < 0.05$ のとき有意差ありとみなした。また, 経時的变化のあるデータは飼料区および時間を要因とする反復測定二元配置分散分析を行った。交互作用が有意な場合($P < 0.05$)は採食に伴う変化が飼料間で異なることを示すため, それぞれの飼料区においてTukey-Kramerの多重検定を行った。 $P < 0.05$ のとき有意差ありとみなした。

Table 3 Mineral content of the diets

Chemical composition	Mixed hay	Concentrate	MC ^b
Na (DM ^a %)	0.20	0.13	0.09
K (DM%)	1.57	0.80	1.09
Mg (DM%)	0.24	0.24	0.56
Ca (DM%)	0.36	0.29	2.54
Cl (DM%)	0.95	0.15	0.09
Fe (mg/kg DM)	131	101	208
Zn (mg/kg DM)	23	44	64
Cu (mg/kg DM)	19	67	47
Mn (mg/kg DM)	109	77	160
I (mg/kg DM)	0.48	0.19	0.26

^aDM: dry matter.

^bMC: Mushroom Compost.

結果

飼料中ミネラル含量を表3に示した。MCのCa含量は乾草および配合飼料よりも著しく高く、Mg, Fe, Znお

Table 4 Effects of feeding mushroom compost (MC) on body weight change, nitrogen (N) intake, N retention and N digestibility in sheep^a.

Items	Treatment ^b		SEM	P-value
	Con diet	MC diet		
Body weight change (kg/day)	0.03	0.01	0.28	0.76
N intake (g/kg ^{0.75} /day)	0.97	0.96	0.003	0.02
N in feces (g/kg ^{0.75} /day)	0.38	0.51	0.03	<0.01
N in urine (g/kg ^{0.75} /day)	0.41	0.32	0.04	0.03
N excretion (g/kg ^{0.75} /day)	0.78	0.83	0.03	0.45
N retention (g/kg ^{0.75} /day)	0.19	0.13	0.03	0.24
N digestibility (%)	61	47	3	<0.01
Urine volume (mL/kg ^{0.75} /day)	34	35	4	0.88

^a Values represent means for n=4 and standard error of the mean (SEM).

^b Treatment: Con diet, mixed hay and concentrate (at ratio of 5:5) and MC diet, mixed hay, concentrate and MC (at ratio of 5:3:2).

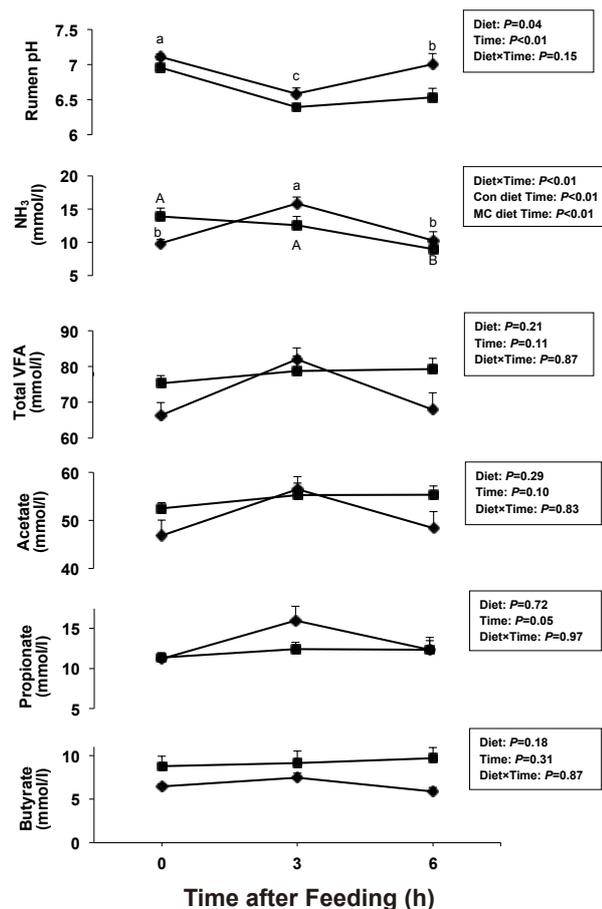


Figure 1: Time course changes of ruminal characteristics in sheep fed the Con diet (■) and the MC diet (◆). Con diet, mixed hay and concentrate (at ratio of 5:5) and MC diet, mixed hay, concentrate and mushroom compost (at ratio of 5:3:2). Values are expressed as mean±SEM for n=4. Different letters (A,B and a,b,c) indicate significant difference ($P < 0.05$) among times before and after feeding.

びMn含量は高かった。NaおよびCl含量は低かった。

両飼料区においてヒツジは全期間を通じて給与量全量を採食し、採食速度も差がなかった。ヒツジの体重変化、N出納およびN消化率の結果を表4に示した。体重は両飼料区とも変化しなかった。N摂取量は対照区と比較してMC給与区が低かったが ($P = 0.02$), 差はわずかであった。糞中N排泄量はMC給与区が高く ($P < 0.01$), 尿中N排泄量は低く ($P = 0.03$), N保持量は飼料間に差がなかった。N消化率はMC給与区が低かった ($P < 0.01$)。尿排泄量は飼料間に差がなかった。

採食に伴う第一胃発酵性状の経時変化を図1に示した。第一胃内pHはMC給与区が対照区よりも高く ($P = 0.04$), 採食に伴って低下した ($P < 0.01$)。第一胃内アンモニア濃度には交互作用が認められ ($P < 0.01$), MC給与区では採食開始3時間後に増加し、採食6時間後に採食前の値まで低下した ($P < 0.01$)。一方、対照区は徐々に低下した ($P < 0.01$)。第一胃内総VFA, 酢酸, プロピオン酸および酪酸濃度は飼料間に差がなく、採食に伴う変化も有意ではなかった。

同位元素希釈法の実験開始前における血漿遊離アミノ酸, 乳酸, アンモニア, 尿素およびNEFA濃度を表5に

Table 5 Effects of feeding mushroom compost (MC) on plasma free amino acids, lactic acid, ammonia, urea and non-esterified fatty acids (NEFA) concentrations at the pre-infusion period in sheep^a.

Items	Treatment ^b		SEM	P-value
	Con diet	MC diet		
Amino acids (μmol/l)				
Threonine	87	75	8	<0.01
Valine	136	131	8	<0.01
Methionine	20	21	3	0.30
Isoleucine	63	65	3	0.54
Leucine	82	76	5	0.13
Phenylalanine	34	33	3	0.32
Histidine	53	49	10	0.17
Lysine	70	71	7	0.84
Tryptophan	33	31	2	<0.05
Serine	79	103	6	0.01
Asparagine	36	37	4	0.80
Glutamic acid	51	52	4	0.82
Glutamine	321	357	20	0.23
Glycine	460	491	47	0.10
Alanine	154	151	9	0.49
Tyrosine	33	35	3	0.43
Arginine	109	123	5	<0.05
Proline	74	73	3	0.78
Lactic acid (mmol/l)	0.92	1.03	0.12	0.19
Ammonia (μmol/l)	103	107	10	0.57
Urea (mmol/l)	3.7	3.3	0.2	0.53
NEFA (mEq/l)	0.16	0.17	0.03	0.67

^a Values represent means for n=4 and standard error of the mean (SEM).

^b Treatment: Con diet, mixed hay and concentrate (at ratio of 5:5) and MC diet, mixed hay, concentrate and MC (at ratio of 5:3:2).

示した。血漿スレオニン, バリン, トリプトファン濃度は MC 給与区が対照区に比べて低く ($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$), 血漿セリン, アルギニン濃度は MC 給与区が対照区より高かった ($P = 0.01$, $P < 0.05$)。他の血漿アミノ酸, 乳酸, アンモニア, 尿素および NEFA 濃度は飼料間に差がなかった。

血漿グルコースおよびロイシン代謝動態の結果を表 6 に示した。血漿ロイシンおよび α -KIC 濃度は MC 給与区が対照区より低かったが ($P = 0.02$, $P < 0.01$), 血漿グルコース濃度, グルコースおよびロイシン代謝回転速度は飼料間に差がなかった。

Table 6 Effects of feeding mushroom compost (MC) on plasma glucose and leucine kinetics in sheep^a

Items	Treatment ^b		SEM	P-value
	Con diet	MC diet		
Glucose Concentration (mmol/l)	3.87	3.81	0.08	0.77
GluTR (mmol/kg ^{0.75} /h)	2.11	2.33	0.23	0.36
Leucine Concentration (μ mol/l)	95.7	75.7	2.8	0.02
α -KIC ^c Concentration (μ mol/l)	13.6	11.2	0.4	<0.01
LeuTR (μ mol/kg ^{0.75} /h)	516	416	37	0.11

^a Values represent means for n=4 and standard error of the mean (SEM).

^b Treatment: Con diet, mixed hay and concentrate (at ratio of 5:5) and MC diet, mixed hay, concentrate and MC (at ratio of 5:3:2).

^c α -KIC = α -Ketoisocaproate.

考 察

飼料成分および N 出納試験

本実験で得られた混播乾草のミネラル (Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, Mn) 含量は NRC 飼養標準 (1985) のオーチャードグラスおよびリードカナリーグラスと類似した値であった (表 3)。一方, MC には 4% の貝化石が含まれており, Ca 含量は混播乾草や配合飼料よりも著しく高かった。貝化石は Ca を比較的多く含み, ほかの無機化合物も含んでいる (森本ら, 1985)。したがって, 本研究で用いた分析法によるミネラル含量は妥当な値であり, MC に貝化石が含まれていたため Ca はじめ, Mg, Fe, Zn, Mn などの含量が高かったと考えられる。

総乾物給与量の 20% に相当する配合飼料を MC と代替することによって N 消化率は低下した。Kholif ら (2014) は飼料給与量の 25 および 45% のクローバーを稲わら主体のヒラタケ廃菌床と代替してヤギに給与すると, N 消化率は低下することを報告した。稲わら主体の廃菌床は可溶性タンパク質含量がクローバーより低く, ミネラル含量が高いため, 微生物による繊維質の分解が進まず, 有機物の消化率は低下したと述べている。本実験で使用した MC もミネラル含量が高く, MC が N 消化率に影響を与えたと考えられる。したがって, MC 給

与によって N 消化率は低下したものの, 第一胃内 N の再循環が活発になったため, N の利用効率が高まり, N 保持量は変化しなかったと考えられる。

第一胃発酵性状

MC 給与によって第一胃内アンモニア濃度の経時的変化は飼料間に差が認められた ($P < 0.01$)。第一胃内アンモニアの大部分は第一胃内微生物が飼料中タンパク質を分解して生成される。Agle ら (2010) は粗濃比 4.8:5.2 および 2.8:7.2 の飼料をウシに給与すると, 第一胃内粗タンパク質の分解速度は配合飼料が粗飼料よりも速く, 第一胃内アンモニア濃度は両飼料区とも 2 時間以内に最高値に達することを報告した。また, Oh ら (2010) は去勢牛に配合飼料および稲わらを給与すると, 第一胃内アンモニア濃度は採食開始 1 時間後に最高値に達することを観察した。これらの実験結果を考慮すると, 本実験における乾草と配合飼料を 1:1 で給与した対照区のアンモニア濃度は採食開始 3 時間以前に最高値に達し, その後に低下した可能性が考えられる。

去勢牛において粗繊維の給与割合が高くなるに伴い乾物摂取量および総 VFA 濃度が低下することが報告されている (Tjardes ら, 2002)。この時, 第一胃内酢酸の割合が増加し, プロピオン酸の割合は低下した。したがって, 粗繊維含量は第一胃内 VFA 濃度に影響を与えるが (Wang ら, 2010), 本実験で使用した MC は NDF 含量が配合飼料より高かったものの, 嗜好性にすぐれ, 給与量全量を採食したため, MC 給与区および対照区における第一胃内各 VFA 濃度は飼料間に差がなかったと考えられる。また, ウシにおいて飼料に Ca として 0.60% の CaCO_3 を添加しても第一胃内酢酸およびプロピオン酸濃度は影響を受けないことが報告されている (Fellner と Spears, 2004-2005)。したがって, 総乾物給与量の 20% に相当する配合飼料を MC で代替してヒツジに給与しても第一胃内 VFA 濃度は影響を受けず, 通常的第一胃発酵が維持されることが示唆された。

第一胃内容液 pH は第一胃発酵によって影響を受けるが (Calsamiglia ら, 2008), 通常は 6.0 ~ 7.0 に維持されている (Astuti ら, 2014)。両飼料区の pH はこの範囲内であったが, MC 給与区が高く推移した。この結果には各飼料区的第一胃内におけるアンモニアと VFA の産生比率が関与している可能性が考えられる。また, 飼料の摂取にともなって第一胃内に唾液が流入するが, 粗繊維給与量が多くなると, 反芻および咀嚼回数が多くなり, 第一胃内容液 pH が上昇することが報告されている (Wang ら, 2010)。MC は配合飼料より NDF 含量が高く, 咀嚼回数の増加による唾液分泌の増加が第一胃内容

液 pH に影響を及ぼしたかもしれない (Allen, 1997)。さらに、本実験では MC に含まれている貝化石に Ca 含量が高く、このことも第一胃内容液の pH が高かった要因の 1 つであると考えられる (James と Wohlt, 1985)。

血漿成分、血漿グルコースおよびロイシン代謝回転速度

血漿遊離アミノ酸濃度は粗タンパク質給与量および飼料中の N 源に影響される (Bergen ら, 1973)。MC 給与区において血漿スレオニン、バリン、トリプトファン濃度が対照区より低かったものの、血漿セリン、アルギニン濃度は MC 給与区が対照区より高かった。また、他の遊離血漿アミノ酸濃度は飼料間に差がなかった。したがって、ヒツジに総乾物給与量の 20% に相当する配合飼料を MC で代替しても血漿遊離アミノ酸濃度は大きな影響を受けなかったと考えられる。血漿 NEFA 濃度は、体脂肪分解の程度を表す指標の 1 つと考えられており、エネルギー供給不足の場合に上昇する (Chilliard ら, 2000)。血漿 NEFA 濃度は MC 給与区と対照区の違いに差がなく、少なくとも MC 区はエネルギー不足による脂肪分解の促進は起こらなかったと考えられる。

VFA を主要なエネルギー源とする反芻家畜においても、グルコースは体内で必要な栄養素である (Khan と Ludri, 2002; Ndlovu ら, 2007)。エネルギー給与量が血漿グルコース代謝回転速度に影響を及ぼすことが報告されている (Sano ら, 2007)。また、反芻家畜は主に肝臓の糖新生によってグルコースが体内に供給されているため、プロピオン酸、糖原性アミノ酸、乳酸などの糖新生の前駆物質の供給量がグルコース代謝に影響を及ぼす (Ortigue-Mary ら, 2003)。本実験では MC 給与時に第一胃内のプロピオン酸、大部分の血漿糖原性アミノ酸および乳酸濃度は飼料間に差がなかった。したがって、体内で利用されるエネルギー供給量および糖新生の前駆物が十分に供給されていたため、血漿グルコース代謝回転速度は影響を受けなかったと考えられる。

これまで、MC をヒツジに給与した際のタンパク質代謝に関する研究は報告されていないが、代謝エネルギー給与量が血漿ロイシン代謝回転速度に影響を及ぼすことが報告されている (Sano ら, 2009)。本実験では、総乾物給与量の 20% に相当する配合飼料を MC と代替しても MC 給与区と対照区のエネルギー給与量に大きな差がなかったため、血漿ロイシン代謝回転速度は飼料間に差がなかったと考えられる。

MC は豊富なミネラルを含んでおり、嗜好性も良好であった。さらに、ヒツジに MC 添加飼料を給与しても第一胃発酵性状、血漿グルコースおよびロイシン代謝回転速度は変化しなかった。以上のことから、MC はヒツ

ジの第一胃発酵性状および栄養素代謝に影響を与えずに、給与飼料の一部と代替できることが示唆された。

引用文献

- Agle M, Hristov AN, Zaman S, Schneider C, Ndegwa P, Vaddella VK. The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 93: 1625-1637. 2010.
- Allen MS. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.*, 80: 1447-1462. 1997.
- Astuti T, Amir YS, Yelni G, Isyaturriyadhah. The result of biotechnology by local microorganisms to banana peel on rumen fluid characteristics as ruminant feed. *J. Adv. Agric. Technol.*, 1: 28-31. 2014.
- Bergen WG, Henneman HA, Magee WT. Effect of dietary protein level and protein source on plasma and tissue free amino acids in growing sheep. *J. Nutr.*, 103: 575-585. 1973.
- Calder AG, Smith A. Stable isotope ratio analysis of leucine and ketoisocaproic acid in blood plasma by gas chromatography/mass spectrometry. Use of tertiary butyldimethylsilyl derivatives. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2: 14-16. 1988.
- Calsamiglia S, Cardozo PW, Ferret A, Bach A. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *J. Anim. Sci.*, 86: 702-711. 2008.
- Chilliard Y, Ferlay A, Faulconnier Y, Bonnet M, Rouel J, Bocquier F. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, 59: 127-134. 2000.
- Fazaeli H, Talebian Masoodi AR. Spent wheat straw compost of *Agaricus Bisporus* mushroom as ruminant feed. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 19: 845-851. 2006.
- Fecher PA, Goldmann I, Nagengast A. Determination of iodine in food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction. *J. Anal. Atomic Spectrom.*, 13: 997-982. 1998.
- Fellner V, Spears WJ. Effect of calcium propionate on ruminal soluble calcium and microbial fermentation. North Carolina State University Animal Science Departmental Report. MD; [cited 16 October]. Available from URL: http://www.ncsu.edu/project/swine_extension/swinereports/2004-2005/contents.htm. 2004-2005.
- Fujita T, Kajita M, Sano H. Responses of whole body protein synthesis, nitrogen retention and glucose kinetics to supple-

- mental starch in goats. *Comp. Biochem. Physiol.*, 114B: 180-187. 2006.
- Galmessa U, Abera H, Dessalegn J, Merera C. Utilization of brewer's waste as replacement for maize in the ration of calves. *Webpub J. Agric. Res.*, 1: 8-11. 2013.
- Harjanti DW, Sugawara Y, Al-Mamun M, Sano H. Effects of replacing concentrate with soybean curd residue silage on ruminal characteristics, plasma leucine and glucose turnover rates in sheep. *J. Anim. Sci. Adv.*, 2: 361-374. 2012.
- Huggett AG, Nixon DA. Enzymatic determination of blood glucose. *J. Biochem.*, 66: 12. 1957.
- James LG, Wohlt JE. Effect of supplementing equivalent cation amounts from NaCl, MgO, NaHCO₃ and CaCO₃ on nutrient utilization and acid-base status of growing Dorset lambs fed high concentrate diets. *J. Anim. Sci.*, 60: 307-315. 1985.
- Khan JR, Ludri RS. Changes in maternal blood glucose and plasma non-esterified fatty acid during pregnancy and around parturition in twin and single fetus bearing cross-bred goats. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15: 504-508. 2002.
- Kholif AE, Khattab HM, El-Shewy AA, Salem AZM, Kholif AM, EL-Sayed MM, Gado HM, Mariezcurrena MD. Nutrient digestibility, ruminal fermentation activities, serum parameters and milk production and composition of lactating goats fed diets containing rice straw treated with *Pleurotus Ostreatus*. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 27: 357-364. 2014.
- 小嶋禎夫. 食品残さの飼料利用による産卵鶏の生産性に関する研究. *東京農総研研報*, 5: 1-37. 2010.
- 小柳 洪, 本間暁子, 今井明夫, 石崎和彦. キノコ廃菌床の飼料利用に関する研究. *日本畜産学会北陸支部会報*, 79: 19-21. 1999.
- Liang X, Yamazaki K, Kamruzzama M, Bi X, Panthee A, Sano H. Effects of Chinese herbal medicine on plasma glucose, protein and energy metabolism in sheep. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 4: Article No.51. 2013.
- Magni F, Arnoldi L, Galati G, GalliKienle M. Simultaneous determination of plasma levels of α -ketoisocaproic acid and leucine and evaluation of α -[1-¹³C]ketoisocaproic acid and [1-¹³C]leucine enrichment by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Biochem.*, 200: 308-314. 1994.
- 増野和彦, 小出博志, 大矢信次郎. きこの廃菌床等の畜産的利用に関する調査. *長野県林総セ研報*, 14: 52-62. 2000.
- 森本 宏, 吉田 実, 大山嘉信. 飼科学. 第1版. p.229. 養賢堂. 東京. 1985.
- Motil KJ, Davis TA, Montandon CM, Wong WW, Klein PD, Reeds PJ. Whole-body protein turnover in the fed state is reduced in response to dietary protein restriction in lactating women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64: 32-39. 1996.
- National Research Council. Nutrient requirements of sheep. 6th Ed. National Academy Press, Washington, DC. 1985.
- Ndlovu T, Chimonyo M, Okoh AI, Muchenje V, Dzama K, Raats JG. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. *Afr. J. Biotechnol.*, 6: 2727-2734. 2007.
- 農林水産省. 平成 22 年度食品循環資源の再生利用等実態調査報告. 農林水産省統計部統計情報. 東京. MD; [cited 16 October 2014]. Available from URL: http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/zyunkan_sigen/index.html. 2012.
- 農林水産省. 平成 25 年度食料自給率について. 農林水産省大臣官房食料自給率. 東京. MD; [cited 16 October 2014]. Available from URL: <http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/index.html>. 2014.
- Oh YK, Lee WM, Choi CW, Kim KH, Hong SK, Lee SC, Seol YJ, Kwak WS, Choi NJ. Effects of spent mushroom substrates supplementation on rumen fermentation and blood metabolites in Hanwoo steers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23: 1608-1613. 2010.
- Ortigue-Mary I, Verent J, Majdoub L. Whole body glucose turnover in growing and non-productive adult ruminants: meta-analysis and review. *Reprod. Nutr. Dev.*, 43: 371-383. 2003.
- 大矢信次郎, 一ノ瀬幸久, 馬渡栄達. 木炭及びその炭化過程で得られる各種成分の高度利用に関する研究. *長野県林総セ研報*, 13: 105-117. 1998.
- 岡田卓士. 食品製造副産物の特性・利用について. *牧草と園芸*, 53: 6-8. 2005.
- Radlinger G, Heumann KG. Iodine determination in food samples using inductively coupled plasma isotope dilution mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 70: 2221-2224. 1998.
- 林野庁. 特用林産物の生産動向きのこ類(えのきたけ). 林野庁分野別情報. 東京. MD; [cited 16 October 2014]. Available from URL: <http://www.rinya.maff.go.jp/j/tokuyou/tokusan/1.html>. 2013.
- Rocchiccioli F, Leroux JP, Cartier P. Quantitation of 2-ketoacids in biological fluids by gas chromatography chemical ionization mass spectrometry *o*-trimethylsilyl-quinoxalinol derivatives. *Biomed. Mass Spectrom.*, 8: 160-164. 1981.
- Sano H, Sawada H, Takanami A, Oda S, Al-Mamun M. Effects of dietary energy intake and cold exposure on kinetics of plasma glucose metabolism in sheep. *J. Anim. Physiol.*

- Anim. Nutr., 91: 1-5. 2007.
- Sano H, Sawada H, Takenami A, Al-Mamun M. Effects of diet and cold exposure on rates of plasma leucine turnover and protein synthesis in sheep. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 147: 91-97. 2009.
- SAS, SAS/STAT Software: Change and enhancements through Release 6.11.423 SAS Inst Inc, Cary 1996.
- Tjardes KE, Buskirk DD, Allen MS, Ames NK, Bourquin LD, Rust SR. Neutral detergent fiber concentration of corn silage and rumen inert bulk influences dry matter intake and ruminal digesta kinetics of growing steers. *J. Anim. Sci.*, 80: 833-840. 2002.
- Tserng KY, Kalhan SC. Estimation of glucose carbon recycling and glucose turnover with [U-¹³C]glucose. *Am. J. Physiol.*, 245: E476-E482. 1983.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597. 1991.
- Wang M, Zhao XG, Tan ZL, Tang SX, Zhou CS, Sun ZH, Han XF, Wang CW. Effects of increasing level of dietary rice straw on chewing activity, ruminal fermentation and fibrolytic enzyme activity in growing goats. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23: 1022-1027. 2010.
- Weatherburn MW. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.*, 39: 971-974. 1967.
- Wolfe RR. Tracers in metabolic research: radioisotope and stable isotope/mass spectrometry methods. Alan R. Liss, Inc, New York. 1984.

Effects of feeding mushroom compost on digestive functions, plasma glucose and leucine metabolism in sheep

Xue BI¹, Natsumi SEKIGUCHI^{2,a}, Xi LIANG¹, Md. KAMRUZZAMAN^{1,b}, Shigeko SASAKI³,
Akira TOMARU⁴, Hiroaki SANO²

¹The United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University, Morioka 020-8550, Japan

²Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020-8550, Japan

³Center for Regional Collaboration in Research and Education, Iwate University, Morioka 020-8551, Japan

⁴Vaxer Company, Maebasi 371-0233, Japan

Present address: ^aTochigi Prefectural Livestock and Dairy Experiment Center, Nasushiobara 329-2747, Japan

^bBangladesh Agricultural University, Mymensingh 2202, Bangladesh

Corresponding : Hiroaki SANO (fax: +81(0) 19-621-6165, e-mail: sano@iwate-u.ac.jp)

Abstract: The study was designed to investigate the effects of feeding mushroom compost (MC) on digestive functions, plasma glucose and leucine metabolism in sheep. Four crossbred sheep were tested with two dietary treatments in a crossover design for a period of 21 days. The control diet (Con diet) was mixed hay and concentrate at a ratio of 5:5 on dry matter, and the experimental diet (MC diet) was mixed hay, concentrate and MC at ratio of 5:3:2. Feed allowance was formulated at 1.2 times of maintenance metabolizable energy. Nitrogen (N) balance test was conducted for 5 days in each dietary treatment. Rumen fluid was collected at before feeding (0 hour), 3 and 6 hours after feeding on day 20 and rumen pH, volatile fatty acids (VFA) and ammonia concentration were determined. The isotope dilution method using [U-¹³C]glucose and [1-¹³C]leucine was performed on day 21 of each dietary treatment for measuring turnover rates of plasma glucose and leucine (GluTR and LeuTR, respectively). Mushroom compost was rich in Ca, Mg, Fe, Mn, Zn and had good palatability. N digestibility was lower for MC diet than for Con diet ($P < 0.01$), but N retention, ruminal VFA concentrations, plasma GluTR and LeuTR did not differ between the diets. The present results indicate that MC can be used as a feed source to replace a portion of the ration without any negative effects on rumen fermentation characteristics and nutrient metabolism in sheep.

Keyword: glucose metabolism, leucine metabolism, mushroom compost, rumen fermentation, sheep