

未利用資源を利用したリードカナリーグラス
発酵 TMR の飼料価値の向上に関する研究

2011

岩手大学大学院
連合農学研究科
生物生産科学専攻
(山形大学)

田川伸一

未利用資源を利用したリードカナリーグラス
発酵 TMR の飼料価値の向上に関する研究
Studies on Improvements of Feeding Value of
Fermented Total Mixed Ration of Reed Canarygrass
Used with Unused Resources

2011

岩手大学大学院連合農学研究科
生物生産科学専攻
The United Graduate School of Agriculture Science,
Iwate University,
Course of Science of Bioproduction
(Yamagata University)

田川伸一
(Shin-ichi Tagawa)

目 次

第 1 章	緒 言	1
第 2 章	リードカナリーグラスのアルカロイド含量および細胞壁構成成分 に及ぼす酵素製剤の影響	10
第 1 節	リードカナリーグラスに含まれているアルカロイドの 定量調査に関する研究	
	緒 言	12
	材料と方法	13
	結果と考察	14
第 2 節	リードカナリーグラスサイレージの細胞壁構成成分に 及ぼす酵素製剤の影響	
	緒 言	20
	材料と方法	21
	結果と考察	22
第 3 章	リードカナリーグラス発酵 TMR の品質に及ぼす未利用資源と酵 素の影響	28
第 1 節	1 番草リードカナリーグラス発酵 TMR の発酵品質に及 ぼす未利用資源と酵素の影響	
	緒 言	30
	材料と方法	31
	結果と考察	33
第 2 節	2 番草リードカナリーグラス発酵 TMR の発酵品質に及 ぼす未利用資源と酵素の影響	
	緒 言	42
	材料と方法	44

結果と考察-----	44
第 3 節 リードカナリーグラス発酵 TMR の発酵品質に及ぼす 新規酵素製剤の影響	
緒 言-----	51
材料と方法-----	51
結果と考察-----	53
第 4 節 リードカナリーグラス発酵 TMR に及ぼすトウモロコ シジスチラーズグレインソリュブルの配合割合の影響	
緒 言-----	62
材料と方法-----	62
結果と考察-----	63
第 5 節 リードカナリーグラス発酵 TMR 中に添加したビタミ ン剤の消長	
緒 言-----	73
材料と方法-----	74
結果と考察-----	75
第 4 章 リードカナリーグラス発酵 TMR の嗜好性と消化性に及ぼす未利 用資源と酵素の影響-----	86
第 1 節 リードカナリーグラス発酵 TMR の嗜好性に及ぼす未 利用資源と酵素の影響	
緒 言-----	88
材料と方法-----	89
結果と考察-----	90
第 2 節 リードカナリーグラス発酵 TMR のルーメン内消失率 に及ぼす未利用資源と酵素の影響	

緒 言	100
材料と方法	101
結果と考察	102
第 5 章 総合考察	107
第 6 章 総 括	114
謝 辞	117
引用文献	118

第1章 緒言

本実験の背景

日本の飼料自給率と飼料情勢

日本の飼料の需要量は平成 2007 年度可消化養分総量（Total digestible nutrients ; TDN）ベースで 2,532 万トン、純国産飼料自給率は 25%と計算されている（農林水産省 2010a）。反芻家畜の飼養に欠かせない粗飼料についてみると、純国内産粗飼料の同年度の自給率は 77%と発表され、粗飼料は 89.7 万 ha で生産された。一方、同年度には 213.7 万トンの乾草と 30.1 万トンのヘイキューブが輸入されている。2007 年の食料自給率は、日本では 40%であったが、アメリカは 124%，フランスは 111%，ドイツは 80%，イギリスは 65%（日本経済新聞社 2010a）に比較すると日本の自給率は突出して低い。

世界の食料需給には様々な不安定要因があり、その一つとして BRICs（ブラジル、ロシア、インド、中国）を中心とした国々の経済成長に伴う食料需要の増大が挙げられる。そして、50 年後にはイラン、インドネシア、エジプト、韓国、トルコ、ナイジェリア、バングラディッシュ、パキスタン、フィリピン、ベトナム、メキシコから成る「ネクスト 11」の世界経済への成長の寄与が加速する可能性があるといわれている（ゴールドマン・サックス 2007）。将来、トウモロコシをはじめとする穀物の取引が熾烈になることが予想される。シカゴ相場のトウモロコシの価格は、2006 年 6 月には主要産地での天候不順、穀物市場への投機資金の流入等により、7 ドル/1 ブッシュェル（bushel, Bu）を超えるまで値上がりした。世界各国では自国の穀物について戦略的な動きをみせて、例えば 2010 年 8 月には小麦不作のためロシアが穀類の輸出を禁止している（日本経済新聞社 2010b）。

もう 1 つの不安定要因は、日本は飼料の大部分を輸入に頼っているため外

国為替の影響を大きく受けることである。アメリカドルの価格については1995年4月に1ドル79円75銭まで円高ドル安になったが、2010年8月は1ドル85円61銭まで円安ドル高になった。輸入飼料穀物の価格は、穀物相場の市場の価格以外に、為替相場の影響を大きく受けることになる。

そして、飼料原料の価格は、飼料原料の輸入のために船を使うことから、バラ積船やコンテナによる飼料原料運送の費用の相場にも影響される。バルチック海運指数（Baltic Dry Index：BDI）は、ロンドンのバルチック海運取引所が発表する外航不定期船の運賃指数で、指数の上昇は運賃の上昇を示すものである。1985年1月4日の数字を1,000として、2010年10月1日は2,452であったが、2008年5月22日には11,648と約4.5倍まで高くなった。

食料・農業・農村基本計画(農林水産省 2010c)では、飼料の価格だけではなく需給の安定もはかるため、飼料作物の年間生産量を2008年度の435万TDNトンから、2020年度生産量は527万TDNトンに増加させることが発表された（2010年3月30日閣議決定）。日本の耕地面積は1965年の600万haから2008年の463万haにまで減少しているものの、2020年には495万haまで増やす目標が立てられた（農林水産省 2009）。

一般に飼料には、一種以上の栄養素を含み、家畜の栄養に供することができるもの、家畜にとって安全であること、家畜から生産される畜産物がヒトにとって安全であることが必要である。すなわち、飼料に有害な物質が含まれていると家畜の健康に悪影響を及ぼして生産性を阻害するのみならず、有害物質が畜産物に移行してこれを摂取したヒトの健康を害する可能性もある（宮崎2007）。飼料の安全性は、飼料安全法（飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律35号）、農林水産消費安全技術センター 2007）で厳しく取り締まられている。2008年には主に残留農薬、かび毒および重金属等の有害物質の混入を防止するために、飼料等への有害物質混

入防止のためのガイドライン（農林水産消費安全技術センター 2008）が制定された。自給飼料を多く活用し効果的に配合飼料を使うことができれば、配合飼料に僅かな有害物質が混入されていてもリスクは低減される。自給飼料の利用が有害物質の混入防止に資するものと思われる。

リードカナリーグラス

リードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）は、アジア原産（山田 1997）といわれ、寒地型イネ科クサヨシ属の多年性牧草である（日本畜産学会（編） 2001）。19 世紀前半に北欧、特にスウェーデンで栽培され、19 世紀後半にはアメリカ東北部でその高い生産性が認められた（大谷ら 1992）。国内では 1960 年代から新潟県内の採草地へ普及したこと（星野 1983）、北海道では昭和初期に泥炭草地等で推奨されたこと（井内 2008）が報告されている。RCG の「ベンチャー」および「パラトン」の 2 品種が、青森県、秋田県、岩手県、山形県、宮城県、福島県、新潟県、山口県および大分県で奨励品種に指定されている。RCG の種子は、「ベンチャー」が雪印種苗株式会社（北海道）、「パラトン」がカネコ種苗株式会社（群馬県）とタキイ種苗株式会社（京都府）の 2 社から発売されている。RCG は、奨励品種に指定されていない北海道（井内 2008）や熊本県（中畠ら 1993）でも栽培されており、日本国内で栽培されている飼料作物と考えられる。

RCG は、湿潤、冷涼な気候に適する反面、夏枯れに対しても抵抗力を示し、匍匐茎を有して地下に拡がり叢状を呈するため、収量の安定化および裸地化抑制によるギシギシ等強害雑草との競争力が期待されている（大竹ら 1993）。また、永年牧草である RCG を導入することにより、作季毎の耕起、播種等の造成に係わる作業を省き、省力的な粗飼料生産の試みが報告されている（山本ら 1999；半杭と高萩 2006）。また、中畠ら（1995）は RCG の栽培並びに肥培管理技術の確立のため草生と土壌水分および施肥量の関係に

について検討し、土壌水分が高いほど日伸長量と乾物生産量が高いことを報告し、土壌水分を高めに維持すべきものと報告した。

RCGの生産性は、オーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) に比べて高いことが報告されている (大谷ら 1992)。また低アルカロイド品種である「ベンチャー」や「パラトン」は、普通種と比べて収量が低いこと (大竹ら 1993) が報告されている。大谷ら (1994) は RCG の 4 品種「カスター」、「バンテージ」、「パラトン」および「ベンチャー」をオーチャードグラス、チモシー (*Phleum pratense* L.)、ペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) およびメドフesk (*Festuca elatior* L.) と比較し、RCG4 品種の収量が高いことを報告した。RCG の乾物収量は、 $500\text{g}/\text{m}^2$ まで、また、茎葉比 1.5 まで急増し、それ以降の増加が鈍化したことが報告されている (大谷ら 2004)。また、RCG の酸性デタージェント繊維 (acid detergent fiber ; ADF)、中性デタージェント繊維 (neutral detergent fiber ; NDF)、酸性デタージェントリグニン (acid detergent lignin ; ADL) は茎葉比 1.5 (出穂前、葉鞘+節間が全収量の 60%) を超えると急速に増加し、品質悪化が進行するため、RCG の 1 番草をより高い品質で利用するためには茎葉比の変化を十分に考慮することが必要であるといわれている (大谷ら 2004)。

生産性の高い RCG ではあるが、嗜好性・採食性に難のある牧草として一般的に位置付けられている (国分ら 1984 ; 井内 2008)。Otani ら (1996) は、RCG の生育段階と乳牛による嗜好性を検討し、草丈の小さい時期にはトールフェスク (*Festuca arundinacea* Schreb.) と比較して嗜好性は同程度であることから、出穂期では茎部で節間伸長するためリグニン化して嗜好性が低くなること、1 番草では出穂前の早期刈取が適当であると報告した。国分ら (1984) は、20 日の間隔で刈り取った RCG のサイレージの嗜好性は発酵品質に差がみられなかったにもかかわらず、刈取時期の違いにより嗜好性に差

がみられたことを報告した。そのため嗜好性の劣る RCG と品質の優れるアルファルファ (*Medicago sativa* L.) の混播栽培について研究し、良品質の粗飼料を永続的に生産する技術開発を報告している (田村ら 1996; 田村ら 1998; 田村 2001)。また、RCG は、地下茎で増殖するため一度定着すると根絶するのが難しく、他の草種に替えようとしても、経年化とともに RCG が再生し優占するため、RCG を利用せざるを得ない状況であると報告されている (井内 2008)。すなわち、RCG は栽培しやすいが利用が難しい草種であるため、RCG を効率的に利用する技術を確立する必要がある。

RCG にはアルカロイドが含まれることが知られている (Burns 1978; Woods ら 1979; Cheeke 1995; Otani ら 1997; 藤井と橋爪 2005)。嗜好性に影響する物質としてインドール系アルカロイド、特にグラミン (Simons と Marten 1971) とフェノール系のホルデニンが指摘されている (Burns 1978)。Otani ら (1997) は、RCG に含まれるアルカロイドが品種間で差があり、出穂期では「ベンチャー」、「ミネソタ 76」、「パラトン」、「カスター」、「バンテージ」の順に低かったこと、1 番草では生育時期によって差があったことを報告した。

サイレージとして貯蔵するための理想的な作物の特徴は、十分な量の発酵基質を可溶性炭水化物の形で含み、相対的に低い緩衝能を有し、乾物含量が 20% 以上でなければならない (McDonald ら 1995)。RCG は糖含量が少ない草種である (落合ら 1998; 北村 2010)。RCG サイレージの乳酸含量はオーチャードグラス、トールフェスクおよびチモシーを材料にしたサイレージと比較して少なく、その発酵品質は劣っている (国分ら 1984; Cherney ら 2006) という報告がみられる。そのため、RCG はサイレージ適性が低い草種と考えられる。発酵品質を向上させるサイレージ添加剤としてのセルラーゼ等の酵素製剤は、可溶性炭水化物含量を増加させる (McDonald ら 1995) といわ

れている。飼料安全法で指定されている酵素製剤はセルラーゼだけでなくプロテアーゼ等の数種の酵素を混ぜたものが多く、近年多くの酵素が開発されている。田川ら（2001）は、RCGサイレージの発酵品質が酵素製剤（セルラーゼ）の添加によって改善したことを報告している。

発酵 TMR

完全混合飼料（total mixed ration ; TMR）は選択採食できないように粗飼料を細断する等して濃厚飼料と混合し、家畜が要求する飼料成分が適正に配合された飼料である（日本草地学会（編）2008）。自給粗飼料と食品残さ等を活用した TMR センターでは、TMR を梱包してサイレージに調製する発酵 TMR 方式が増えている（塩谷ら 2007）。これは発酵 TMR の乳用牛による乾物摂取量が非発酵のフレッシュ TMR と比べて高いため、また、発酵により TMR 中の脂肪の酸化が抑えられるため、非発酵 TMR に比べて飼料中の栄養価の損失を抑えられるためと考えられている（塩谷ら 2007）。しかし、Kawamoto ら（2009）は、オーチャードグラスを発酵 TMR に調製した場合には、発酵 TMR とフレッシュ TMR の間で採食量に差がみられなかったと報告している。近年、緑茶残さ、豆腐粕、醤油粕等の食品残さを使った発酵 TMR に関する研究は、未利用資源の飼料化による飼料自給率向上の観点から報告されている（須藤ら 2007 ; Uddin ら 2009 ; Cao ら 2010）。

サイレージの乳酸含量を増加させる添加（配合）原料として、果物の搾り粕は適しているといわれている（McDonald ら 1995）。世界ではカンキツ果物の残さは 6,900 万トン/年生産されており、単味でも、麦わらのようなわら類と混ぜてサイレージ調製しても比較的高品質なサイレージが調製されるといわれている（Bampidis と Robinson 2006）。また、乾燥ミカンジュース粕の添加により発酵品質が改善されたことが報告された（崎田ら 1979）。

豆腐・油揚げ用の大豆使用量は、2007 年は 50 万トンであった（農林水産

省 2010d)。同年の国産大豆年間生産量は 22 万トン，その内豆腐への供給割合は 61%（12.8 万トン）といわれており，豆腐・油揚げ用の大豆だけでは，自給率は 25.6%と計算されるが，大豆の自給率は 5%（農林水産省 2010d）と発表された。豆腐・油揚げ用に使われた 50 万トンの大豆から 3 割程度が豆腐粕として廃棄された場合には，著者の推計によると，豆腐粕が水分 80%程度と仮定すると 65 万トン程度と考えられる（著者推計：1 丁 300g 程度で水分 80%程度の豆腐が水分 15%程度大豆 100g 程度から作られると仮定。）年間 65 万トン程度の豆腐粕を家畜の飼料として利用することは飼料自給率の向上に資するものと考えられる。豆腐粕を反芻家畜に給与すると温暖化に関係しているメタンガスの生産量が低くなることが報告されている（板橋 2006）。発酵 TMR の原料としての豆腐粕は，その利用によって乳酸含量が増えることが報告されている（Cao ら 2009；Wang と Nishino 2008）。これらのことから，豆腐粕は低コスト，品質向上，嗜好性から発酵 TMR の原料として適しているといわれている（堀と奥 2001）。

米国のトウモロコシを原料とするエタノールの義務使用量は 2015 年までに 150 億ガロンといわれている（川俣 2010）。エタノールの併産物であるトウモロコシジスチラーズグレインソリュブル（Corn distiller's dried grains plus soluble; DDGS）の生産数量は，エタノールの生産数量の上昇に伴い，増加することが予想される。そのため乳牛用飼料としての利用も検討されている（Palmquist と Conrad 1982；Janicek ら 2008）。Anderson ら（2006）は，乳牛用 TMR に高水分と乾燥後の DDGS を給与し，両方とも給与によって乳脂率，乳タンパク質，乳生産量が増加し，飼料効率が高くなったと報告している。日本でも DDGS についての栄養評価試験が行われた（木村と高橋 2007）。また，生田ら（2010）は DDGS を大豆とトウモロコシの代わりに泌乳牛に給与して，乳量が増加したことを報告している。また，使用量を高めるため

に発酵 TMR の原料としての研究が開始されている（浅田ら 2009）。DDGS には NDF の割合が 32%と 35%の低いものと 37%から 41%の高いものの 2 グループに分けられるが、何れもルーメン内で 92%から 95%までの消化率を示したことが報告されている（梶川 2009）。

一般的に広く流通している配合飼料は飼料の栄養成分に保証値が定められている。粗タンパク質，粗脂肪，粗繊維等の分析値の他，TDN の保証値が記してある。添加されているビタミン A，ビタミン D など飼料添加物の名称も表記されている。配合飼料用の原料となっている飼料添加物は，2009 年には 93,480 トンの使用量といわれている。一方，抗菌性製剤，微量ミネラルやビタミン類を混合している飼料添加物（プレミックス）は，化学変化しやすく，空気，光，熱，水分，脂肪などの影響を受け経時的に減少していくことが知られている（Tavčar-Kalcher と Vengušt 2007）。Tavčar-Kalcher と Vengušt（2007）は，塩化コリンとビタミン類が混ざって管理されたときビタミン A，ビタミン D，ビタミン K の経時的な失活が大きくなることを報告した。プレミックスの処方次第で保存性が変化することが示されている。発酵 TMR は，調製から発酵が安定するまでの 1 ヶ月程度の間保管されること，発酵により pH が低下すること，常温保管のため直射日光の当たる場所で保管されることがあることから，ビタミンからみた場合には酷暑で管理されることが考えられる。発酵 TMR に脂溶性ビタミンのビタミン A，ビタミン D およびビタミン E が添加された場合には，それらは失活することが懸念される。

本論文の構成

本論文では，乳牛用発酵 TMR の開発のための基礎的知見を得ることを目標として実験を行った。第 2 章では，RCG 発酵 TMR の基礎的知見を得るため，RCG に含まれるアルカロイドのうちグラミンとホルデニンの量を定量

調査した。さらに、RCG サイレージの細胞壁構成成分に及ぼす酵素製剤（セルラーゼ）の影響について検討した。

第3章第1節では1番草のRCGを供試して発酵TMRをミカンジュース粕，豆腐粕，DDGSを混ぜて調製し，それらの発酵品質に及ぼす市販酵素製剤（商品名プロセアーゼ，セルラーゼと酸性プロテアーゼの混合酵素）の影響を検討した。第2節では2番草のRCGを供試して発酵TMRを豆腐粕と2種類のDDGSを用いて調製し，それらの発酵品質に及ぼす市販酵素製剤（商品名プロセアーゼ，セルラーゼと酸性プロセアーゼの混合酵素）の影響を検討した。第3節では，2種類の市販酵素製剤を用いてRCG発酵TMRを調製し，発酵品質に及ぼす市販酵素製剤（商品名プロセアーゼ）の影響を検討した。第4節では，RCG発酵TMRをDDGSの割合を変えて調製し，発酵品質に及ぼすDDGSの影響を検討した。第5節では貯蔵中のビタミンAの消長について検討した。

第4章第1節ではRCG発酵TMRを，黒毛和種雌牛を使って嗜好性に及ぼす未利用資源と酵素の影響，第2節ではRCG発酵TMRのルーメン内消失率に及ぼす未利用資源と市販酵素製剤（商品名プロセアーゼ）の影響について検討した。

第2章 リードカナリーグラスのアルカロイド含量および細胞壁構成成分 に及ぼす酵素製剤の影響

リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) には家畜に害を与える有毒物質であるアルカロイドが含まれていることが知られている (Burns 1978 ; Woods ら 1979 ; Cheeke 1995 ; Otani ら 1997 ; 藤井・橋爪 2005)。家畜へのアルカロイドの影響は、日増体量の低下、下痢、中枢神経系の混乱、突然死等が報告されている (Burns 1978)。アルカロイドは乾物中 0.2%以上の含有量で家畜に影響が出るといわれている (藤井と橋爪 2005)。RCG のアルカロイドは2つの種類、フェノールとインドールに属するといわれている (Woods ら 1979)。フェノールのアルカロイドにはホルデニン、インドールのアルカロイドにはグラミンが含まれる。1 番草の場合はグラミンよりホルデニンの方が多く含まれることが知られている (Woods ら 1979)。

RCG 中に含まれているアルカロイドは、乾草調製によって減ることはあるが、サイレージ調製によって減ることはないこと (Cheeke 1995)、アルカロイドの量は水ストレスによって増えること (Burns 1978) が知られている。そのため材料草に含まれるアルカロイド量を知ることは重要である。

サイレージ添加物としての酵素製剤は、材料草に含まれる構造的炭水化物を分解して乳酸菌が利用できる糖をつくり、サイレージの発酵品質を改善する目的で使用されている (増子 1994)。酵素製剤はサイレージ用の添加材としてだけでなく、飼料添加物に指定されて、配合飼料用にも利用されている。飼料添加物としての酵素製剤は、飼料中の細胞壁構成物質を分解し、消化を助けて飼料を分解しやすくすることが期待される。サイレージの添加材としての酵素製剤にも同様の効果が期待される。RCG サイレージの発酵品質は

酵素製剤の添加によって改善されることが報告されている（田川ら 2001）。

第2章では、RCG 発酵 TMR に関する基礎的知見を得るため、RCG に含まれるアルカロイドと RCG サイレージの細胞壁構成成分の量を把握するために以下の実験を行った。

第1節では、生育ステージを変えてサンプリングした RCG に含まれるアルカロイド含量（グラミンおよびホルデニン）を調査した。

第2節では酵素製剤（セルラーゼ）を添加して調製した RCG サイレージを用い、細胞壁構成成分に及ぼす酵素製剤の影響を検討した。

第2章 第1節 リードカナリーグラスに含まれているアルカロイドの定量 調査に関する研究

緒言

我が国の酪農および肉用牛生産については、これまでも飼料自給率の向上を目標に施策が展開されてきたが、配合飼料原料となるトウモロコシ等を海外からの輸入に依存しているため、近年の国際的な穀物価格の高騰は経営に影響を与えた（農林水産省 2010b）。資源循環型で環境負荷軽減に資する自給飼料基盤に立脚した酪農および肉牛生産への転換のため、我が国の多様な気象条件や土地条件等に適合した多様な飼料生産を推進することとし、各地域の条件に適合した品種や飼料生産技術の開発・普及や地域における飼料生産体制の確立による効率的な飼料生産を進めるなど飼料生産利用の拡大を図る方針が示されている（農林水産省 2010b）。

リードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）は、第1章でも述べたが、19世紀にスウェーデンで利用が始まり（大谷ら 1992）、我が国の例では北海道では昭和初期に泥炭草地等で推奨された（井内 2008）。また新潟県では1960年代から普及がはじまった（星野 1983）と報告されている。これは、RCGが乾燥・高温、湿潤・低温といった相互に相反する環境要因の何れにも強い耐性を持ち、劣悪な条件や粗放管理下でも他の寒地型牧草に優る安定生産と永續利用が可能なためである（大谷ら 1992）。RCGの生産数量は、年間生草収量が6トン/10aを超えており、他の主要イネ科牧草に比べて優れていると報告されている（大谷ら 1994）。RCG草地は使用9年目になり単草化しても安定した植生と収量を維持している（星野ら 1984）。しかし、RCGを利用する問題点は、第1に茎葉全体が粗剛で嗜好性に難があり、適正利用を怠ると極端に嗜好性が低下すること（Otaniら 1996）、第2に地下茎で増殖するため一度定着すると根絶が難しく、優占

した草地を利用せざるを得ないこと（井内 2008）、第3にホルデニンおよびグラミン、5-メトキシ-N-メチルトリプタミン、ジメチルトリプタミン等のインドールアルカロイドを含んでいる（藤井と橋爪 2005）ことが挙げられる。アルカロイドは、RCGの嗜好性など飼料価値に影響している（Burns 1978）。そのためグラミン以外のアルカロイドをほとんど含まないRCGの低アルカロイド品種が育成され（Otani ら 1997）、低アルカロイド含量のRCGを給与すると家畜の嗜好性は改善されたこと（Burns 1978）が報告されている。近年「ベンチャー」や「パラトン」などの低アルカロイド品種が宮城県などで県奨励品種として指定されている。

田川ら（2001）では低アルカロイド品種の「ベンチャー」を用いてRCGサイレージの発酵品質が酵素添加によって改善されたことを報告している。アルカロイドは、生草よりも乾草の方が少ないが、サイレージ調製によって少なくなることはないことが報告されている（Burns 1978）。RCGを利用する場合、アルカロイドの量については調査しておく必要がある。そこで本実験ではグラミンとホルデニンの含量の関係を明らかにするため、RCGの化学組成とグラミンおよびホルデニン含量を調べた。

材料と方法

2010年5月2日、8日、14日、22日、30日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センターの牧草畑で栽培しているRCG（品種不明）をサンプリングした。サンプリングは10時から12時の間に行った。サンプリング後2-3cmに切断し、直ちに60℃の通風乾燥機（送風定温恒温機DKM400, ヤマト科学株式会社, 東京）で2日間乾燥し、1日放置後風乾物率を求めた。グラミンとホルデニンの分析は財団法人日本食品分析センター（東京）に依頼した。また一般成分、細胞壁成分およびミネラルの分析は十勝農業協同組合連合会（北海道）に依頼した。グラミンとホルデニンは高速液体クロマト

グラフィー法，一般成分，細胞壁成分およびミネラルの分析は，粗飼料の品質評価ガイドブック（自給飼料利用研究会 2009）にしたがって分析を行った。

試料の反復は1回であったが，刈取5回の平均値を求めた。補足として5回の分析結果を表にした。統計処理はSAS（1995）のGLMプロシジャを使って分散分析を行った。

結果と考察

RCGの刈取日と草丈，茎葉比を表2-1-1に示した。RCGの草丈は，5月2日刈取の45cmから5月30日刈取の124cmまで，28日間で79cm伸びた。また，茎葉比は5月30日には3.2まで高くなった。5月30日の生育ステージは出穂期であった。サイレージ利用の場合，出穂前が適当（大竹ら1993）といわれていること，RCGの1番草は穂孕み期のような早刈取が望ましいといわれている（井内2008）。これらのことから，5月22日の収穫が適当と思われた。

表2-1-2にRCGの水分，粗タンパク質，粗脂肪，NDF，ADF，ADL，OCW（Organic cell wall；総繊維），Oa（Organic a fraction in cell wall；高消化性繊維）およびOb（Organic b fraction in cell wall；低消化性繊維）の分析結果を示した。生草中の水分は81%から86%の間であった。粗タンパク質は5月2日刈取の生育期で最も高く乾物中21%，出穂期の5月30日刈取では乾物中10%で生育ステージの進行とともに低くなった。これは，風乾物中の茎葉比3.2の時期の大谷ら（1992）のRCGの粗タンパク質18.7%と比較して低かった。RCGの生育は2番草時までは窒素施肥に反応する（中畠ら1993）という報告より施肥効果の差によるものと推察された。粗脂肪含量は生育期間内ではばらつきが大きく，3%から15%の間であった。NDF，ADF，ADLおよびOCWは生育ステージの進行とともに高くなった。しかし，Oaは生育

ステージの進行とともに低くなった。茎葉比 3.2 の Oa の値は 5.1%で同時期の大谷ら（1992）の値（葉身 2.4%，茎と葉鞘合せて 6.6%）と同程度であった。

アルカロイドの分析値を表 2-1-3 に示した。アルカロイドの分析値の平均値は、グラミンは 212ppm，ホルデニンは 1,162ppm 合せて 1,374ppm であった。刈取日毎の値をみると，生育ステージの進行に従って，グラミンは 456ppm から 45ppm，ホルデニンは 1,443ppm から 504ppm へと少なくなる傾向を示した。家畜への影響が出るのは，総インドールアルカロイド 2,000ppm 以上といわれている（藤井と橋爪 2005）。茎葉比 0.7 程度の生育段階の RCG を生草で給与する場合は注意する必要があると思われた。

本実験では，アルカロイド含量と生育ステージの関係については，生育ステージごとのサンプル採取の数が少なく，明瞭ではなかった。しかし，本実験で供試した RCG 中のグラミンとホルデニンの量はホルデニンの方が有意に高かった。1 番草ではグラミンよりホルデニンの量が多いことが知られている（Woods ら 1979）が，本実験の結果は同様の傾向がみられた。

一般にインドール系アルカロイドが家畜の嗜好性に影響を及ぼしていることが知られている。Woods ら（1979）の報告のグラミン含量は 500ppm 以上であり，生育と共に高くなった。しかし，本実験結果は平均 212ppm と低く，また生育ステージの進行に伴って低くなった。この理由は判然としないが，嗜好性に及ぼすリスクは少なくなっていると思われた。今後は品種と生育ステージとアルカロイド量の関係を調べる必要があると思われた。

本フィールド科学センターでは RCG を乾草に調製し，20 年以上家畜に給与しているが特に家畜（牛）への障害はみられていない。そのため家畜への危険性は少なくなっているものと推察された。RCG を乾草調製するためには数日間の乾燥が必要である。降雨を避けて RCG の収穫から乾燥までの作

業をしなくてはならないため、作業予定を作ることが難しい。そこで RCG をダイレクトカットで利用し、アルカロイドの少ない配合飼料と混ぜて利用した場合には飼料中の相対的なアルカロイド含量を低減することができると考えられた。さらに、配合飼料は風乾物であることから、水分調整剤になると思われる。また、TMR は家畜の要求量に合わせて飼料成分を配合飼料である（日本草地学会（編） 2008）。RCG を配合飼料と混ぜて TMR を調製・給与することが RCG の利用性を高めることになるものと思われた。

表2-1-1. リードカナリーグラスの刈取日，草丈，生育ステージ

刈取日	草丈 (cm)	生育ステージ	茎葉比 ¹
5月2日	44.6	栄養生長期	0.73
5月8日	74.6	栄養生長期	1.16
5月15日	77.7	栄養生長期	1.51
5月22日	129.9	出穂前	1.68
5月30日	124.0	出穂期	3.24

¹風乾物あたりの割合.

表2-1-2. リードカナリーグラスの化学組成と刈取日の関係¹

刈取日	5月2日	5月8日	5月15日	5月22日	5月30日	SEM ²
水分（原物中%）	83.7	86.3	85.0	85.8	80.8	0.98
粗タンパク質	21.4	16.7	18.7	17.7	10.3	1.84
粗脂肪	12.9	13.2	9.8	15.0	3.1	2.10
NDF ³	40.5	50.3	51.7	55.8	64.3	3.87
ADF ⁴	22.0	28.7	29.7	32.6	38.4	2.67
ADL ⁵	0.2	1.5	2.6	3.1	4.7	0.76
OCW ⁶	39.8	50.3	51.8	56.3	65.4	4.17
Oa ⁷	13.2	14.6	7.2	8.2	5.1	1.82
Ob ⁸	26.6	35.7	44.6	48.1	60.3	5.70

¹水分を除いてすべて乾物中%, ²SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ³NDF : neutral detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁴ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁵ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁶OCW : organic cell wall ; 総繊維, ⁷Oa : organic a function in cell wall ; 高消化性繊維, ⁸Ob : organic b function in cell wall, 低消化性繊維.

表2-1-3. リードカナリーグラスに含まれるアルカロイド
含量

刈取日	グラミン	ホルデニン	合計
	(乾物中ppm)		
5月2日	456	1,443	1,899
5月8日	269	1,733	2,002
5月15日	169	1,158	1,327
5月22日	121	973	1,094
5月30日	45	504	549
平均	212 ^b	1162 ^a	1,374
SEM ¹	71	209	

¹ SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ^{a, b}: 異符号間に有意差あり (P<0.05) .

第2章 第2節 リードカナリーグラスサイレージの細胞壁構成成分に及ぼす酵素製剤の影響

緒言

田川ら（2001）は、リードカナリーグラス（*Phalaris arundinacea* L., Reed canarygrass, RCG）サイレージの発酵品質が、*Acremonium cellulolyticus* Y-94 由来のセルラーゼ（AC）または市販の酵素入り乳酸菌製剤（（SL）商品名：スノーラクト L アクレモパウダー，雪印種苗株式会社，北海道）の添加により著しく改善されることを報告した。

サイレージ添加物としてのセルラーゼ等の酵素製剤は、材料草に含まれる構造的炭水化物を分解して乳酸菌が利用できる糖をつくり、サイレージの発酵品質を改善する目的で使用されている（増子 1994）。無添加でサイレージを調製した場合であっても材料草中のヘミセルロースの一部は、その調製過程で分解量は明らかでないものの、酸による加水分解を受け、ペントースを生成すると考えられている（McDonald ら 1995；岡本と花田 1999）。サイレージ調製時に酵素製剤の添加を施した場合にはヘミセルロースを含む構造的炭水化物はさらに著しく分解され、NDF や ADF をはじめとする細胞壁成分が減少することが認められている。これまで Van Vuuren ら（1989）はペレニアルライグラス、メドフェスク、チモシーおよびシロクロバサイレージの実験により、また Nadeau と Buxton（1997）はオーチャードグラスおよびアルファルファサイレージの実験により、NDF および ADF の含量が酵素製剤の添加によって低下することを明らかにしている。一方、サイレージ発酵の基質となる材料草中の可溶性炭水化物（water soluble carbohydrate：WSC）の挙動については多くの研究が行われている（増子ら 1994ab；Okajima と Smith 1964；Seale ら 1986；Selmer-Olsen ら 1993ab）。しかし、RCG サイレージについて酵素製剤の添加効果を検討した報告は少なく、田川ら（2001）が

発酵品質に及ぼす影響を検討したものの、サイレージ中の構造的炭水化物についてはまだ調べられていない。

そこで本節では、酵素製剤（セルラーゼ）または市販の酵素製剤（セルラーゼ）入り乳酸菌製剤の添加および予乾処理が RCG サイレージの構造的炭水化物含量に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

田川ら（2001）が調製したサイレージを供試した。すなわち，1997 年 6 月 5 日に RCG，品種ベンチャーを平均草丈 116 cm，出穂間に刈取り，刈取り後直ちに 1 cm に細切して材料草とした。試験区には，対照区，*Acremonium cellulolytics* Y-94 由来のセルラーゼ（明治製菓株式会社，東京，以下 AC）をそれぞれ原物当たり 0.01% および 0.05% 添加した区（それぞれ AC0.01 区および AC0.05 区），酵素入り市販乳酸菌製剤（商品名スノーラクト L アクレモパウダー，酵素は *Trichoderma viride* 由来のセルラーゼと *Acremonium cellulolytics* Y-94 由来のセルラーゼの混合剤，雪印種苗株式会社，北海道，以下 SL）を原物当たり 0.05% 添加した区（SL 区）を設けた。なお，乾物率が 25% になるように予乾した区（W 区）を設けた。すべての処理は 4 反復で行った。サイレージ調製容器には 1 リットル容の広口ポリ瓶を用いた。サイレージの埋蔵期間は 60 日とした。このサイレージを 60℃ で 18 時間乾燥後，ウィレー式粉碎器を用いて粉碎した。この試料を用い，一般成分は常法（森本 1971），NDF は Van Soest と Wine （1967）の方法，ADF および ADL は Van Soest （1963）の方法，WSC はアンスロン法（農林省農林水産技術会議事務局監修 1975）で分析した。NDF と ADF，ADF と ADL の含有量の差をそれぞれヘミセルロース，セルロースとした。各成分の含有率の差は，SAS （1995）による分散分析を行い，5% 水準で有意差が認められた場合，Duncan の多重検定を行った。

結果と考察

本実験で用いた RCG 材料草の一般成分と NDF と ADF の含量を表 2-2-1 に示した。NDF と ADF の含量は、時田ら（2001）の RCG の茎葉いずれの NDF と ADF の含量と比べて高く、それぞれ 69.6%および 43.3%だった。一方、WSC 含量は著しく低く 1.9%であり、増子ら（1994a）の出穂初期の RCG の WSC 含量 4.0%と比べても低く、サイレージ材料草として不適なものであると判断された。

RCG サイレージのヘミセルロース含量は（図 2-3-2）、対照区の 26.5%に比べて AC0.01 区、AC0.05 区および SL 区ともに有意差がなかったが、わずかに低くなる傾向だった。

セルロース含量は、対照区の 38.6%に比べて AC0.01 区、AC0.05 区はそれぞれ 35.5%、32.7%であり、AC 添加割合の増加に伴って有意に低下した。これらの結果は、*Trichoderma viride* 由来のセルラーゼを添加してペレニアルライグラス、アルファルファおよびレッドクローバサイレージを調製し、セルロース含量の低下を認めた Henderson ら（1982）の結果と同様に、セルラーゼが十分にセルロースを分解する効果を発揮したことによるものと考えられた。本実験で用いた AC は結晶性セルロースを分解するアビセラーゼ活性が高く、また、従来のセルラーゼと同様に非結晶性セルロースを分解するカルボキシメチルセルラーゼ活性も高い（友田ら 1997）。これらの知見によれば、AC 添加による消化率の向上も期待される。

高橋（1989）は、セルラーゼ製剤（商品名メイセラーゼ、明治製菓株式会社、東京）を添加して調製した稲わらサイレージのセルロース含量が、サイレージ埋蔵日数の増加に伴い低下したことを報告している。本実験では埋蔵日数の違いについて調べていないが、セルラーゼの添加効果と埋蔵日数の関係について検討する必要がある。

セルロース含量は、SL 添加によっても有意に低下し、36.5%であった。セルロース含量からみた SL の添加効果を AC の添加効果と比べると、AC0.01 区の酵素添加効果と同程度もしくはそれ以下であった。このような SL の添加効果が酵素によるものか、乳酸菌によるものなのか、あるいはそれらの相乗効果なのかは、SL に含まれる乳酸菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) のみの添加区を設けなかった本実験結果からは明らかにできなかった。しかし、Higginbotham ら (1998) は、乳酸菌 (*L. plantarum* および *Pediococcus cerevisiae*) を添加してトウモロコシサイレージを調製しても、NDF や ADF の含量に変化がなかったことを報告している。この知見から、本実験のセルロース含量の低下は、SL に含まれている酵素の効果による可能性が高いと考えられた。

RCG サイレージの NDF および ADF の含量 (図 2-2-3) は、AC0.05 区ではそれぞれ 63.1% および 37.4% と最も低かった。NDF と ADF の含量は、AC0.05 区では対照区と比べて有意に低くなった。Nadeau と Buxton (1997) はオーチャードグラスとアルファルファ, Jacobs と McAllen (1991), Jacobs ら (1991), Jacobs と McAllen (1992a) および Jacobs ら (1992b) はペレニアルライグラス, No ら (1985) はチモシーとアルファルファを材料草としてそれぞれサイレージを調製し、いずれもセルラーゼの添加によって NDF および ADF の含量が低下したことを報告している。本実験で NDF および ADF の含量が低下した原因は、これらと同様にセルラーゼの添加により細胞壁構成成分が分解されたためと考えられる。RCG サイレージの NDF 含量は、AC0.01 区においても AC0.05 区ほどではないが低下する傾向がみられ、添加割合の増加に伴い減少する様子がみられた。また、SL 区でも有意ではないが、低くなる傾向がみられた。一方、艾尻瓦爾ら (1998) のチモシーサイレージに対する AC 添加試験によれば、0.01% の添加で ADF 含量が有意に低下することを報告している。しかし、本実験での AC の 0.01% 添加による ADF 含量の低下は

明瞭ではなかった。大谷ら（1992）は、RCG は茎葉比が 1 程度の生育初期において、難消化性の分画がオーチャードグラスと比べて多く含んでいることを指摘している。すなわち、本実験の結果は RCG がチモシーよりも多く難消化性の分画を含んでいることを示唆するものと考えられた。ADL 含量は、対照区の 4.60%と比べて AC0.05 区は 4.55%であった。対照区と AC0.05 区の差に有意性がみられたが、その差はわずかであった。一方、SL 区では 4.84%で対照区と比べて有意差は認められなかった。すなわち、本実験の結果では ADL 含量を減少させる AC の添加効果はわずかであり、SL の添加効果は認められないと判断された。

なお、予乾処理の効果を検討したが、ヘミセルロース、セルロース、NDF、ADF および ADL の含量に及ぼす影響は認められなかった（図 2-2-3, 図 2-2-4）。すなわち、材料草の WSC の含量が低い場合、予乾処理をしても発酵品質を改善する効果はなく（田川ら 2001）、細胞壁構成成分の含量は対照区と比べて同程度であったことから、予乾処理による細胞壁構成成分に及ぼす影響はなかったものと考えられた。

表2-2-1. サイレージ調製したリードカナ
リーグラスの化学組成¹

水分（原物中%）	84.0
粗タンパク質	17.2
粗脂肪	1.8
NFE ²	41.5
粗繊維	32.6
粗灰分	6.9
NDF ³	69.6
ADF ⁴	43.3
ヘミセルロース	26.2
セルロース	38.6
ADL ⁵	4.7
ADIN ⁶	0.2
WSC ⁷	1.9

¹水分を除き乾物中%，²NFE：Nitrogen free extract；可溶性無窒素物，³NDF：Neutral detergent fiber；中性デタージェント繊維，⁴ADF：Acid detergent fiber；酸性デタージェント繊維，⁵ADL：Acid detergent lignin；酸性デタージェントリグニン，⁶ADIN：Acid detergent insoluble nitrogen；酸性デタージェント不溶性窒素，⁷WSC：Water soluble carbohydrate；可溶性炭水化物。

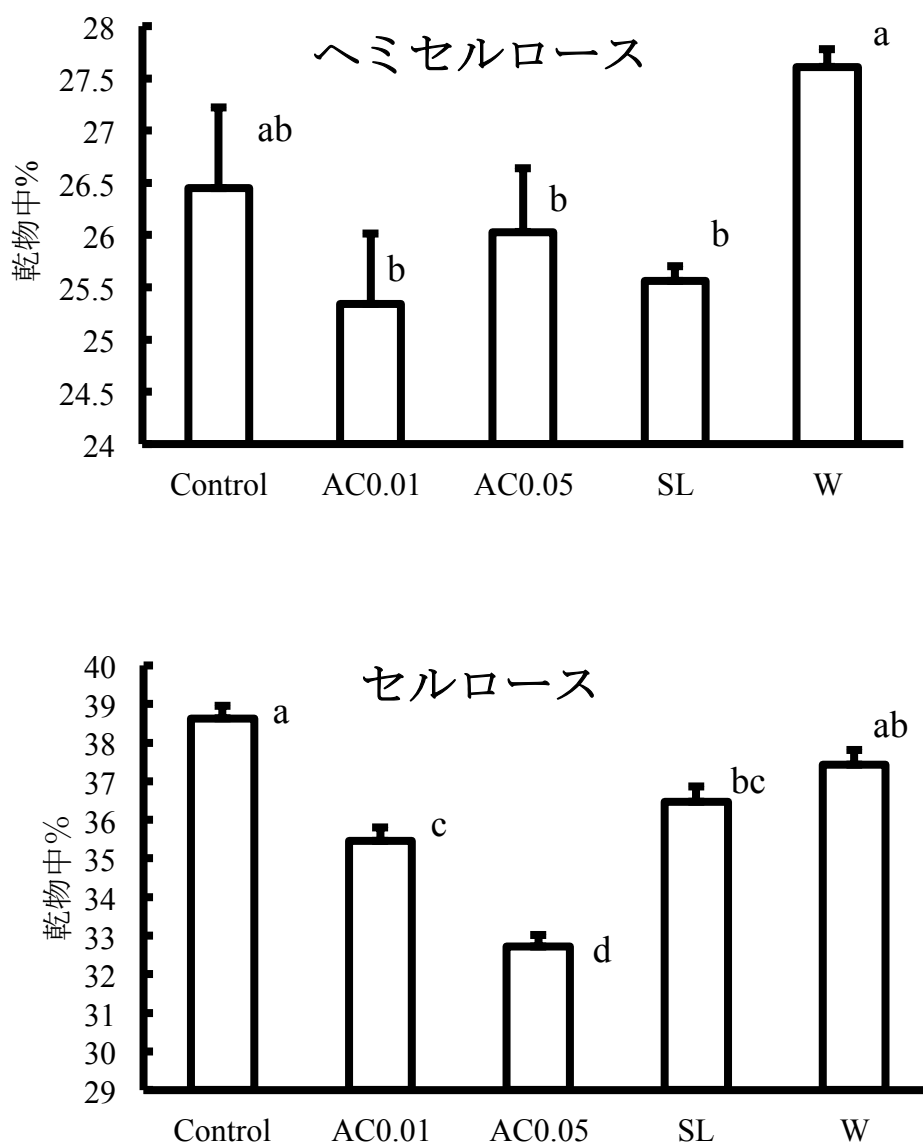


図 2-2-2. RCG サイレージのヘミセルロースおよびセルロース含有率

Control: 無処理, AC0.01: *Acremonium cellulolytics* Y-94 由来セルラーゼを 0.01%添加した区, AC0.05: *Acremonium cellulolytics* Y-94 由来セルラーゼを 0.05%添加した区 SL: 市販酵素入り乳酸菌製剤を添加した区, W: 予乾区, ^{a,b,c,d}: 異符号間に有意差あり ($P < 0.05$), 誤差棒は標準誤差を示す.

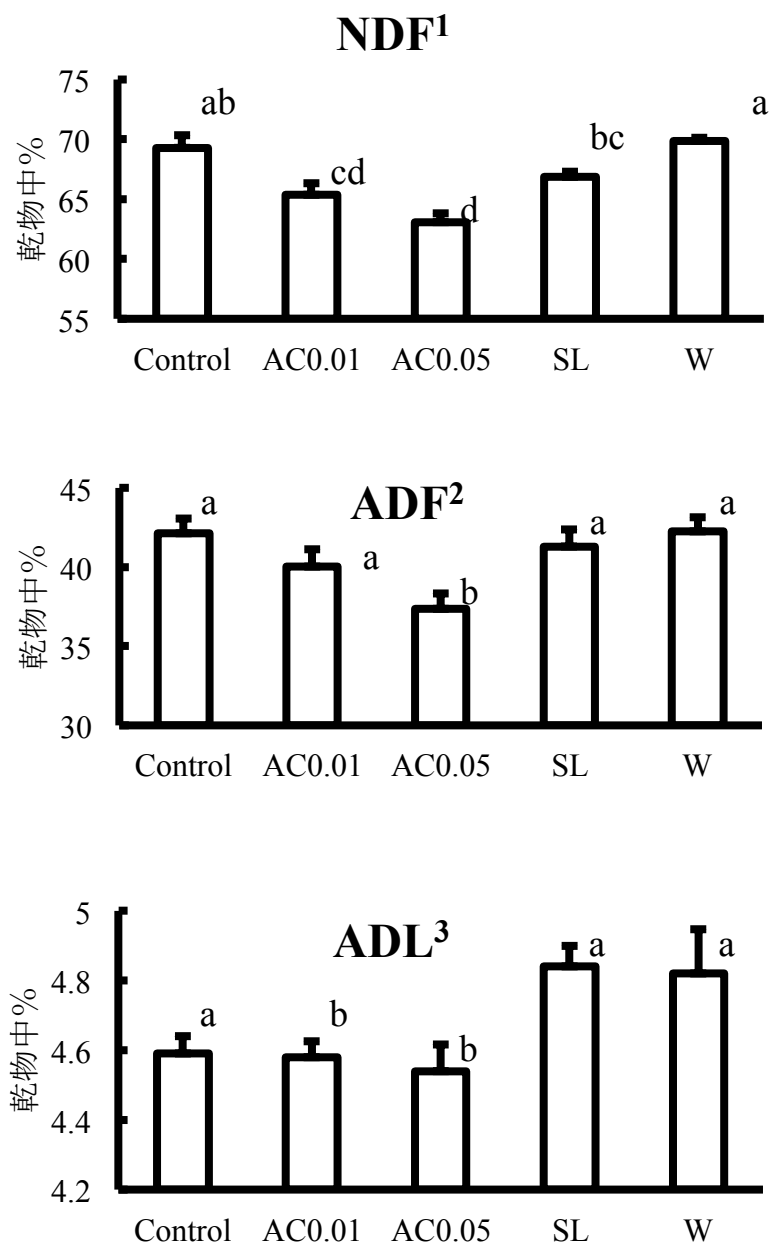


図 2-2-3. RCG サイレージの NDF, ADF および ADF の含有率.

処理区の説明は図 2-2-2 参照, ¹NDF ; 中性デタージェント繊維, ²ADF ; 酸性デタージェント繊維, ³ADL ; 酸性デタージェントリグニン, ^{a,b,c,d} : 異符号間に有意差あり (p<0.05), 誤差棒は標準誤差を示す.

第3章 リードカナリーグラス発酵 TMR の品質に及ぼす未利用資源と酵素の影響

第2章では、リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) に含まれるアルカロイド含量と RCG サイレージの細胞壁構成成分に及ぼす酵素製剤の影響を検討した。

RCG は単体ではアルカロイドを含むなどのため嗜好性が劣るといわれている (雑賀 1990)。すなわち RCG と配合飼料の分離給与といった RCG の単体での利用は問題があるものと考えられる。そこで、RCG を嗜好性の良い配合飼料と混ぜて有効活用する、若しくは配合飼料と合せて発酵させ、保存性を高める技術が RCG を利用するために適していると思われる。また、自家産の RCG と未利用資源の利用は自給率の向上に資することになる。第1節では1番草 RCG を材料とした発酵 TMR を調製し、発酵品質に及ぼすミカンジュース粕、豆腐粕および DDGS と酵素の影響を検討した。

RCG の1番草と2番草では単位面積当たりの茎数に差があり、2番草の方が多いことが知られている (大谷ら 2004)。2番草の方が1番草より茎数が多ければ繊維成分が多く、発酵 TMR を調製するとき粗剛であることが考えられる。すなわち1番草と2番草では生育の面で特徴が異なるため、発酵 TMR を調製したときに1番草と2番草の間で性質が異なると考えられる。第2節では2番草 RCG を材料として発酵 TMR を調製して発酵品質に及ぼす未利用資源と酵素の影響を検討した。また、DDGS はエタノール工場のプラント毎に品質に差があることが知られている。そこで2工場から生産された DDGS を供試して発酵 TMR の発酵品質に及ぼす DDGS の違いについても検討を加えた。

酵素製剤は、発酵品質改善効果の他に繊維の消化性が向上し、乳生産性の向上につながるものと考えられている (横山ら 2009a)。そのため近年酵素

製剤が新規に開発されて飼料添加物として使われ始めている。第3節では RCG 発酵 TMR を第1節と第2節で使った酵素製剤の他に、近年開発された酵素製剤を添加して発酵 TMR を調製し、RCG 発酵 TMR の発酵品質に及ぼす新規酵素製剤の影響を検討した。

第1節から第3節までは DDGS を 20%程度配合して発酵 TMR を調製し、RCG 発酵 TMR の発酵品質に及ぼす DDGS の添加効果を調べた。これまで発酵品質に及ぼす DDGS 単体の影響についての知見は少ない。第4節では、RCG 発酵 TMR に及ぼす DDGS の影響について検討するため、0%から 40% の4段階で DDGS を添加して RCG サイレージを調製し、発酵品質に及ぼす DDGS の添加効果を明らかにする。

発酵 TMR にビタミンおよびミネラル類の添加した報告はみられるが(Cao ら 2009), 添加したビタミン類の消長について検討した報告はみあたらない。添加したビタミン剤が TMR 発酵によって減る場合には、注意が必要となる。例えば、2産次日乳量 30kg の乳牛でのビタミン A の要求量は、3,300IU/給与飼料乾物 kg でビタミン D と比べて大きい(農業・食品産業技術総合研究機構編 2007)。第5節では、ビタミン A を添加した RCG 発酵 TMR を調製し、発酵 TMR 調製時に添加したビタミン剤の消長について検討した。

第3章 第1節 1 番草リードカナリーグラス発酵 TMR の発酵品質に及ぼす 未利用資源と酵素の影響

緒言

リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) は、日本海側の草地で栽培されており (星野 1971)、収量と永続性が高いことが認められている (大谷ら 2004)。しかしながら、RCG は、オーチャードグラスやトールフェスクに比べて WSC が少ない (佐藤 1973) ため、RCG サイレージの乳酸含量が低いことが報告されている (Cherney ら 2006)。これまで、RCG サイレージの発酵品質は酵素製剤の添加により改善されることが報告されている (田川ら 2001)。近年、牧草をサイレージとして調製するだけでなく、穀類や糟糠類、その他の原料と合わせて成分を調整し、発酵品質や嗜好性を高めることを目的として発酵 TMR を調製して家畜に給与する技術が取り上げられている (Bargo ら 2002, 曹ら 2009)。

一方、食品製造粕を飼料として利用することは、自給率向上と飼料費低減のためにメリットがあると報告されている (片山 2001)。これまで豆腐粕 (Tofu cake ; TC) (丹羽 2001 ; Wang と Nishino 2008; Cao 2009)、ミカンジュース粕 (Citrus pulp ; CiP) (今井 2001 ; 片山 2001 ; 長崎県畜産実験場 2006 ; Bampidis と Robinson 2006) などのサイレージ化が試みられている。TC を使った発酵 TMR では乳酸含量が高いこと (曹ら 2009)、CiP がサイレージの調製に適していることが報告されている。しかし、RCG を用いた発酵 TMR の発酵品質に及ぼす食品製造粕利用の影響を調べた報告はみあたらない。

また、アメリカ農務省は、トウモロコシの 2009 年の単収を史上最大となる 161.98Bu/エーカーと予想し、その内エタノール向けトウモロコシの需要は前年の 3,675 から 4,200(百万 Bu)へ上昇すると発表している (USDA 2009)。エタノール向けのトウモロコシの使用量の増加が予想されているため、エタ

ノールと併せて生産される DDGS の量も増えることが予想される。

これまで DDGS は、家畜用飼料として利用する研究が国外で多く報告されており (Spiehs ら 2002 ; Anderson ら 2006 ; Janicek ら 2008), 国内でも DDGS の化学成分に関する研究が報告され (平野ら 2007 ; 中央畜産会 2008, 2009, 2010), トウモロコシ蒸留粕の名称が提案されている (木村と高橋 2007)。しかし、発酵 TMR の原料として DDGS の効果を検討した報告はみあたらない。

そこで本研究では、RCG と食品製造粕または DDGS を組み合わせた乳牛用発酵 TMR の調製技術を確立することを目的とし、併せて、飼料添加物として酵素製剤が発酵 TMR の発酵品質の改善に及ぼす影響を調べた。

材料と方法

1. 発酵 TMR の調製

TMR 調製のための原料には、RCG, CiP, TC, DDGS, ビートパルプ, トウモロコシ, 大豆粕, 炭酸カルシウムおよび酵素を用いた。RCG (品種不明) は、2008 年 5 月 10 日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター牧草畑の 1 番草 (平均草丈約 90cm, 出穂前) を刈取り、即日約 2cm に細切したものをを用いた。RCG を除く原料は全て乾燥されたものをを用いた。

RCG 発酵 TMR の配合割合を表 3-1-1 に示した。TMR の配合割合は、RCG の割合を新鮮物重量比で 45% と 65% の 2 段階とし、また、TC, CiP および DDGS の割合を 20% から 30% の割合とした。発酵 TMR の粗タンパク質含有率は 17%, また、TDN は 74% を目標にしてビートパルプ, トウモロコシおよび大豆粕を使って調整した。全ての処理区にセルラーゼ 2,000IU/g と酸性プロテアーゼ 10,000IU/g を含む酵素 (商品名: プロセアーゼ, 明治製菓株式会社, 東京) を製品の指示通り 2g/kg 添加した区を設けた。発酵品質を改善する酵素は、繊維分解酵素であるセルラーゼが考えられる。飼料安全法に

認められているセルラーゼが見つからず、セルラーゼとプロテアーゼの混合された市販の飼料用酵素を用いた。また、TMR のカルシウムの含有率が日本飼養標準・乳牛（農業・食品産業技術総合研究機構（編）2007）を満たしていないことから、全ての TMR に炭酸カルシウムを 0.6%添加した。発酵 TMR は、パウチ法（田中・大桃 1995）で調製した。発酵 TMR の材料 400g と炭酸カルシウム 2.4g をよく混ぜてプラスチックフィルムバック（飛龍 N-9, 旭化成パックス株式会社, 東京）に詰込み、真空包装機（SQ303, シャープ株式会社, 東京）を用いて十分に脱気を行い密封した。また、酵素添加区では酵素 0.8g を添加してよく混ぜてただちに密封した。発酵 TMR は常温で保管した。反復数は 3 反復とした。

2. 化学分析

十勝農業協同組合連合会農産化学研究所(北海道)に TMR の原料の水分, 粗タンパク質, 粗脂肪, NDF, ADF, ADL, OCW, Oa, Ob, 粗灰分, カルシウムおよびリンの分析を依頼した。分析は, 粗飼料の品質評価ガイドブック（自給飼料利用研究会 2009）に準じて行った。WSC は F キット（株式会社ジェイ・ケイ・インターナショナル, 東京）を使って分析した。

RCG 発酵 TMR は, 1 ヶ月間貯蔵後, 開封して抽出液を調製した。抽出液は 50g に蒸留水 200ml を加えてミキサーで十分に攪拌し, 4℃の冷蔵庫内で 12 時間放置した後, 4 重ガーゼで濾過し, その濾液を抽出液とした。抽出後ただちにガラス電極 pH メーター（D-21S, 堀場製作所株式会社, 京都）で抽出液の pH を測定した。乳酸は Baker と Summerson（1941）の方法, 揮発性塩基態窒素（volatile basic nitrogen, VBN）は Conway（1962）の方法, 揮発性脂肪酸（volatile fatty acid, VFA）はガスクロマトグラフィ（G-5000A, 日立製作所株式会社, 東京）により分析した。全窒素は堀井（1971）の方法により分析した。分析結果から V - スコア（自給飼料利用研究会 2009）を

計算した。

3. 統計処理

分析結果について、CiP、TC および DDGS の原料の差、酵素添加の差およびその相互作用の検定を行うため、2 元配置の分散分析を行った（新城 1995）。また、5%水準で有意差が認められた場合、SAS（1995）の GLM プロシジャ用いて Duncan の方法により処理間の多重検定（新城 1995）を行った。

結果と考察

原料の化学分析のデータ（表 3-1-2）を使い、配合割合から粗タンパク質と NDF 含量を計算した（表 3-1-1）。発酵 TMR の計算値の原物中の粗タンパク質と NDF 含量は、RCG が 45%の区では 65%と比べて低いが、TDN の割合は RCG が 45%の区では 65%の区と比べて高く、RCG45%区の TC 配合で 73%と最も高くなった。

RCG 発酵 TMR の原料の化学組成を表 3-1-2 に示した。水分は、RCG は 71.6%，その他の原料は 18%以下であった。乾物中の粗タンパク質含量は、TC が 27.4%で CiP と DDGS に比べて高い値であった。トウモロコシと大豆粕の乾物中粗タンパク質含量は、日本標準飼料成分表（農業技術研究機構 2001）の乾物中 9.2%と 52.2%と比較していずれも低い濃度だった。

RCG 発酵 TMR の発酵品質を表 3-1-3 および表 3-1-4 に示した。TMR の水分含量は RCG の割合が 45%では平均 46.0%，また 65%では平均 60.1%だった。RCG が 45%配合の場合（表 3-1-3）の発酵 TMR の pH は、酵素を添加しない TC 区、DDGS 区では共に 4.6，酵素を添加した DDGS 区で 4.3 まで低くなった。しかし、CiP 区の pH は、5.1 と 5.2 で TC 区や DDGS 区ほどは低くなかった。新鮮物中乳酸含量は TC 区が最も高く、酵素無添加で 2.6%，酵素添加で 2.7%だった。CiP 区では酵素添加した場合でも乳酸含量は 1.2%で TC

区や DDGS 区と比べて有意に低い値だった。プロピオン酸含量はいずれの実験区とも検出されないか検出されても僅少だった。酪酸含量は TC 区で 0.1%以上あり, CiP 区と酵素添加 DDGS 区と比べて有意に高い値だった。RCG が 45%の場合には, 総窒素に占める VBN の割合は CiP 区<DDGS 区<TC 区の順で TC 区が最も高く, 酵素添加では 2.7%, 酵素無添加では 3.1%であった。フリーク評点は酵素添加 DDGS 区では 100 点がみられた。V-スコアは, DDGS 区は 96 点以上と酵素添加 TC 区よりも有意に高かった。

また, RCG が 65%配合の場合 (表 3-1-4) の発酵 TMR の pH は DDGS 区の酵素添加では 4.0, 無添加では 4.4 まで低下した。しかし, CiP 区では TC 区と DDGS 区に比べて有意に高い値であった。乳酸含量は, CiP 区<DDGS 区<TC 区の順で TC 区が最も高くなり, 酵素無添加で 2.5%, 添加で 3.5%だった。酢酸含量は, RCG の割合が 45%と 65%の場合共に全ての発酵 TMR で原物中 0.2%から 0.5%みられ, DDGS 区では酵素を添加すると高くなる傾向を示した。酪酸含量は, DDGS 区で最も低く平均 0.02%, TC 区では 0.16%と有意に高かった。

一方, RCG の割合が 65%の場合でも, 総窒素に占める VBN の割合は TC 区が最も高く, 酵素添加で 3.9%, 酵素無添加で 4.6%だった。V-スコアは, TC 区だけが 90 点以下だったが, CiP 区で酵素無添加と添加それぞれ 94 点と 93 点, DDGS 区は 97 点と DDGS 区が酵素添加 CiP 区と TC 区より有意に高かった。フリーク評点は酵素無添加および添加 DDGS 区が有意に高く, それぞれ 93 点と 100 点だった。

本実験で材料として利用した RCG は品種不明であったので, アルカロイド含量が高い場合には家畜に下痢や採食量の低下などの発生 (Cheeke 1995) が懸念されるが, 前述のとおり当フィールド科学センターでは長期にわたり肉牛に給与しており, 中毒による事故の発生は認められていない。

RCG の割合が 45%では、調製された発酵 TMR の水分含量は 50%未満であった。一般に発酵 TMR の水分含量は 50%未満が推奨されている(須藤ら 2007)ことから、RCG を収穫した後に予乾処理をせずに原料となる配合飼料を混ぜて TMR を調製すれば、水分が調整され、予乾の工程を省くことができると考えられる。

本実験で用いた CiP の WSC 値は TC の 0.7%に比べて 33.8% (乾物) で顕著に多かった。しかし、CiP を用いた場合、乳酸含量は TC や DDGS を原料にした場合と比べて低くなった

ミカンのような果物から果汁を絞り出した後に残る湿潤残さは高 WSC 含量を有するためサイレージに適している素材である (McDonald ら 1995)。生の CiP のように高水分で酸度が高く、糖含量が多いものは密封だけで長期間安定保存が可能である (片山 2001) と報告されている。崎田ら (1979) も CiP 粉碎粉末を混ぜて高水分サイレージを調製し、発酵品質を検討した結果、イタリアンライグラス、アルファルファ、稲わらを供試材料にした場合は高い乳酸含量がみられことを報告した。しかし、本実験では CiP を添加して RCG 発酵 TMR を調製したが、高い乳酸含量はみられなかった。

CiP の原料はミカンであるが、ミカンに代表されるカンキツ果物にはフラボノイドなどの機能性成分が含まれており、カンキツ果物の抗炎症作用と抗酸化作用が報告されている (野方 2005)。本実験で高乳酸含量が得られなかった原因として、水分が 50%程度と低い場合、発酵 TMR では CiP に含まれる特有の機能性成分が乳酸菌の増殖を抑制したこと、もしくは CiP の抗酸化作用が低下したことが考えられる。本実験では乳酸菌数を調べていないので明らかではないが、今後乳酸菌数の消長を調べる必要があると考えられた。

TC を原料として RCG 発酵 TMR を調製した場合、乳酸含量が CiP や DDGS を原料にした場合と比べて高くなった。TC の配合により発酵 TMR 中の乳酸

含量が高くなったことは、Wang と Nishino (2008) および曹ら (2009) の報告と同様の結果であった。曹ら (2009) は、この原因を TC に非構造的炭水化物の量が多いためと指摘している。本試験の結果から TC の WSC 量は 0.7% であった。発酵基質となる WSC が少ないにもかかわらず発酵品質が改善されたことは今後検討する必要があると考えられた。

DDGS の品質に関する報告 (木村と高橋 2007 ; 高橋ら 2008) では乾物中の粗脂肪含量は約 12%以上, Waldo ら (2009) は 16%と報告されている。本実験で用いた DDGS の粗脂肪含量は 14%(乾物)あり, 粗脂肪含量に差が認められた。原料のトウモロコシの粗脂肪の値は 4.4%(農業技術研究機構 2001) であり, エタノール発酵の過程で 3 倍に濃縮されるとしても, それより多くの粗脂肪が含まれていることになる。一般に粗脂肪にはエーテル可溶の VFA と乳酸も含まれることから, DDGS に含まれる両成分が発酵品質に影響を及ぼした可能性が推察される。しかし, 本実験では DDGS の粗脂肪含量を調べておらず, 粗脂肪の効果かどうかは判然としない。浅田ら (2009) は DDGS を混ぜて発酵 TMR を調製し, 乳酸含量が高くなったことを報告している。本試験の原因も浅田ら (2009) の報告と同様と考えられた。Janicek ら (2008) の報告でも, DDGS の配合割合は 20%程度であり, 今後の DDGS の生産量によっては, この配合割合は将来増加することも予想されている。本実験では 23%の配合割合により発酵 TMR の発酵品質が改善されたことから, DDGS は, RCG 発酵 TMR を調製のための材料として優れていることが明らかとなった。

セルラーゼと酸性プロテアーゼを含む市販酵素製剤 (商品名プロセアーゼ) の添加により発酵 TMR の pH は低下し, 乳酸含量, 酢酸含量は増える傾向がみられた。この酵素添加により発酵品質が改善された結果は田川ら (2001) の報告と同様だった。一方, TC 区では酵素の添加により pH は低くなった

にもかかわらず、全窒素に占める VBN の割合が高くなった。これは酵素に含まれる酸性プロテアーゼの作用により、タンパク質が分解されたためと考えられた。本実験で用いた酵素にはセルラーゼの最大の活性を示す pH が 4.0 と表示されている。本実験では RCG の割合が 45% および 65% とともに、酵素添加した TC 区と DDGS 区の pH が 4.4 以下になった。特に、RCG が 65% の酵素添加 DDGS 区では pH が 4.0 まで低下した。DDGS 区は良質サイレージ調製のために最大の効果を示していたことが予想された。以上の結果から、RCG を素材として発酵 TMR を調製する場合には、CiP の利用では発酵品質の改善がみられなかった。しかし、RCG を原物で 65% 程度含んだ場合では DDGS を 20% 程度混合すると、また RCG を原物で 45% 程度含み、TC と DDGS をそれぞれ 20% 程度混合して調製すると良質の発酵 TMR ができ、酵素を利用するとさらに発酵品質が改善されることが明らかとなった。

表3-1-1. リードカナリーグラス発酵TMR¹の配合割合と栄養価

	CiP ²		TC ³		DDGS ⁴	
配合割合（原物あたり％）						
リードカナリーグラス	45.0	65.0	45.0	65.0	45.0	65.0
ミカンジュース粕	30.0	20.0				
豆腐粕			22.5	20.0		
DDGS					23.0	23.0
ビートパルプ	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
トウモロコシ	10.0		27.5	10.0	27.0	7.0
大豆粕	10.0	10.0				
炭酸カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
栄養価と化学成分の計算値（乾物あたり％）						
粗タンパク質	14.2	16.4	16.1	17.9	15.6	18.2
NDF ⁵	27.3	29.5	29.8	32.4	36.2	39.6
TDN ⁶	70.2	65.7	72.8	68.0	72.0	67.5

¹TMR : total mixed ration ;完全混合飼料, ²CiP : citrus pulp ;ミカンジュース粕, ³TC : tofu cake ;豆腐粕,

⁴DDGS:corn distiller's dried grains plus solubles ;トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁵NDF : neutral detergent fiber ;中性デタージェン繊維, ⁶TDN : Total digestible nitrients ;可消化養分総量.

表3-1-2. リードカナリイグラス発酵TMR¹に使われた原料の化学組成²

	リードカナ リーグラス	CiP ³	TC ⁴	DDGS ⁵ ビートパルプ	トウモロコシ	大豆粕
水分 (原物中%)	71.6	17.5	10.8	13.4	12.9	17.9
粗タンパク質	14.8	8.0	27.4	26.0	11.2	7.7
粗脂肪	3.6	0.3	13.4	14.0	0.3	1.4
WSC ⁶	7.2	33.8	0.7	0.0	3.7	1.7
NDF ⁷	59.5	16.8	28.6	48.0	51.7	8.6
ADF ⁸	30.5	19.6	19.3	16.0	28.5	3.6
ADL ⁹	3.0	1.9	0.3	0.4	7.5	0.1
粗灰分	7.6	7.3	3.9	4.7	3.9	1.4
カルシウム	0.15	1.70	0.20	0.02	0.48	0.03
リン	0.28	0.13	0.34	0.87	0.08	0.29

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³CiP : citrus pulp ; ミカンジュース粕, ⁴TC : tofu cake ; 豆腐粕, ⁵DDGS : corn distiller's dried grains plus soluble ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁶WSC : water soluble carbohydrate ; 可溶性炭水化物, ⁷NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁸ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁹ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン.

表3-1-3. リードカナリグラスを45%使った発酵TMR¹の発酵品質

	CiP ²			TC ³			DDGS ⁴			SEM ⁵		P ⁶	
	- ⁷	+ ⁸		-	+		-	+		SEM ⁵	材料	酵素	材料×酵素
水分(%)	47.6 ^a	48.1 ^a		41.8 ^c	44.0 ^b		47.1 ^a	47.1 ^a		0.60	P<0.01	NS	NS
pH	5.23 ^a	5.07 ^a		4.64 ^b	4.39 ^{bc}		4.64 ^b	4.27 ^c		0.09	P<0.01	P<0.01	NS
乳酸(%新鮮物)	0.94 ^f	1.18 ^{bc}		2.56 ^a	2.70 ^a		1.71 ^b	2.58 ^a		0.18	P<0.01	P<0.05	NS
酢酸(%新鮮物)	0.24 ^{ab}	0.29 ^a		0.27 ^a	0.24 ^{ab}		0.21 ^b	0.28 ^a		0.01	NS	P<0.05	P<0.05
プロピオン酸(%新鮮物)	0.00 ^b	0.00 ^b		0.00 ^b	0.00 ^b		0.01 ^a	0.00 ^b		0.00	NS	NS	NS
イン酪酸(%新鮮物)	0.02 ^a	0.00 ^b		0.00 ^b	0.00 ^b		0.00 ^b	0.00 ^b		0.00	P<0.01	NS	P<0.05
酪酸(%新鮮物)	0.02 ^c	0.03 ^c		0.10 ^{ab}	0.12 ^a		0.05 ^{bc}	0.02 ^c		0.01	P<0.01	NS	NS
VBN ⁹ (%全窒素)	1.4 ^a	1.4 ^a		2.7 ^a	3.1 ^a		2.0 ^a	2.2 ^a		0.16	P<0.01	NS	NS
フリーク評点	76 ^b	84 ^{ab}		75 ^b	70 ^b		77 ^b	100 ^a		3.30	NS	NS	NS
V-スコア	96 ^{ab}	97 ^a		91 ^{bc}	90 ^c		96 ^{ab}	98 ^a		0.91	P<0.01	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ;完全混合飼料, ²CiP : citrus pulp ;ミカンジュース粕, ³TC : tofu cake ;豆腐粕, ⁴DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ;トウモロコシデンプラスチラスチラインソユブル, ⁵SEM : standard error of the mean ;標準平均誤差, ⁶p : Probability ;有意性, ⁷- : 酵素無添加, ⁸+ : 酵素添加 酵素 : プロテアーゼとセルラーゼの混合物 明治製菓株式会社, 東京)), ⁹VBN : volatile basic nitrogen ;揮発性塩基態窒素, ^{a, b, c} : 異符号間に有意差あり P<0.05), NS : 有意差がないことを示す.

表3-1-4. リードカナリーグラスを65%使った発酵TMR¹の発酵品質

	Cip ²			TC ³			DDGS ⁴			SEM ⁵	P ⁶		
	- ⁷	+ ⁸		-	+		-	+			材料	酵素	材料×酵素
水分(%)	60.2 ^{ab}	62.6 ^a		58.1 ^b	59.0 ^b		60.6 ^{ab}	60.2 ^{ab}		0.44	P<0.05	NS	NS
pH	4.99 ^a	4.72 ^{ab}		4.61 ^{bc}	4.28 ^{de}		4.37 ^{cd}	4.04 ^e		0.08	P<0.01	P<0.01	NS
乳酸(%新鮮物)	1.74 ^c	2.00 ^{bc}		2.45 ^b	3.49 ^a		2.40 ^b	3.40 ^a		0.17	P<0.01	P<0.01	NS
酢酸(%新鮮物)	0.27 ^b	0.33 ^b		0.25 ^b	0.35 ^b		0.31 ^b	0.48 ^a		0.02	P<0.05	P<0.01	NS
プロピオン酸(%新鮮物)	0.00 ^c	0.00 ^c		0.01 ^b	0.01 ^b		0.02 ^a	0.01 ^b		0.00	P<0.01	P<0.01	P<0.01
イソ酪酸(%新鮮物)	0.00 ^a	0.00 ^a		0.00 ^a	0.00 ^a		0.01 ^a	0.00 ^a		0.00	NS	NS	NS
酪酸(%新鮮物)	0.07 ^{bc}	0.08 ^b		0.15 ^a	0.16 ^a		0.02 ^{cd}	0.01 ^d		0.02	P<0.01	NS	NS
VBN ⁹ (%全窒素)	1.7 ^d	2.5 ^c		3.9 ^b	4.6 ^a		2.8 ^c	2.8 ^c		0.24	P<0.01	P<0.01	NS
フリーク評点	73 ^b	71 ^b		60 ^b	70 ^b		93 ^a	100 ^a		3.44	P<0.01	NS	NS
V-スコア	94 ^{ab}	93 ^b		87 ^c	86 ^c		97 ^a	97 ^a		1.16	P<0.01	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²Cip : citrus pulp ; ミカンジュース粕, ³TC : tofu cake ; 豆腐粕, ⁴DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラスチラーズグレインソリユブル, ⁵SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁶p : Probability ; 有意性, ⁷- : 酵素無添加, ⁸+ : 酵素添加 (酵素 : プロテアーゼとセルラーゼの混合物 (明治製菓株式会社, 東京)), ⁹VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b, c, d} : 異符号間に有意差あり (P<0.05) , NS : 有意差がないことを示す.

第3章 第2節 2番草リードカナリーグラス発酵 TMR の発酵品質に及ぼす 未利用資源と酵素の影響

緒言

放牧管理だけの場合と比べて配合飼料給与は乾物摂取量と牛乳生産量が高めるが、TMR 給与は配合飼料給与と放牧管理の場合に比べて乾物摂取量と牛乳生産量が高い (Bargo ら 2002)。併せて、機械化によって労働力を抑えることができるため、TMR を調製する方法が広がっている (Keane ら 2006)。これまで TMR に関する研究報告は多く (須藤ら 2007 ; Pinos-Rodríguez ら 2008 ; 横山ら 2009ab ; Cao ら 2009)，予乾しない高水分の牧草を TMR 調製するときでも、乾燥した材料と混ぜると廃汁発生が抑制されることが期待されること (Kawamoto ら 2006)，発酵 TMR の方がフレッシュ TMR に比べて消化率が高い (Cao ら 2010b) こと，などが報告されている。第1節で，1番草リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Pharalis arundinacea* L.; RCG) の発酵 TMR の発酵品質が，TC や DDGS の利用により，ミカンジュース粕を材料にした場合に比べて優れていたことを報告した。

RCG の1番草と2番草の採食量はチモシー (*Phleum pratense* L.) 1番草と比較して低いこと (井内 2008)，また2番草 RCG の *in vitro* 乾物消化率は，1番草に比べて低かったこと (大竹ら 1993) が報告されている。井内 (2008) は，北海道での2番草の刈取りは1番草刈取り後平均 60 日と報告している。大谷ら (1994) は，再生期間 40 日を過ぎると生育抑制が生じると報告している。

また RCG 品種「パラトン」の茎数密度を調べた大谷ら (2004) の報告では，1番草は生育に伴って茎数が 600 本/m³ 以下まで少なくなるが，2番草では 1,000 本/m³ 程度を維持しており，地上部全体の生育が緩慢に推移していた。刈取後に新生した高密度を回復した茎数の多くが長寿命となって個体群

が維持されているといわれている。茎数が多い場合は、早刈りをしても生育初期の段階から難消化性繊維が多く、発酵 TMR の品質に影響が出ることが考えられる。これまで RCG の 2 番草を材料として TMR を調製した報告はみあたらない。

一般に、WSC は発酵 TMR の乳酸発酵の基質となる。増子ら (1994a) によると北海道で刈取った RCG の WSC 量は、1 番草と 2 番草共に生育が進むにしたがって増加したことが報告されている。WSC は主にグルコースやフルクトースのような単糖類とスクロースのような二糖類で構成されており、RCG の WSC は生育が進むにつれて増加するものの、1 番草および 2 番草 RCG のグルコース量は増加しなかったことが報告されている (増子ら 1994b)。これまで 1 番草 RCG サイレージの発酵品質が酵素製剤の添加によって改善されることが報告されている (田川ら 2001)。しかし、2 番草 RCG 発酵 TMR の発酵基質を高めるための酵素の添加効果を検討した報告はみあたらない。

星野 (1983) は、RCG とオーチャードグラスの再生特性を調査し、RCGの方がオーチャードグラスよりも収量が高いことを報告した。RCG の利用では 1 番草、2 番草共に高水準であることから 2 番草の有効利用を検討することは重要である。

DDGS は、トウモロコシの処理やハイオイルコーンの使用など原料の違いや、乾燥時間の違いなどエタノールを生産する工程等の違いにより、化学成分に差がみられることが報告されている (Spiehs ら 2002)。これまで異なるエタノール生産工場から出荷された DDGS が発酵 TMR の発酵品質に及ぼす影響を調べた報告はみられない。そこで日本に輸入されている異なる 2 種類の DDGS を供試した。DDGS は生産現場の許可を得ることができなかったため A および B として表記する。

本実験では、2 番草の RCG を有効利用することを目標に、2 番草 RCG の

発酵 TMR の発酵品質に及ぼす TC, 生産工場が異なる 2 工場から生産された DDGS および酵素製剤の影響を検討する。

材料と方法

1. TMR 調製

TMR 調製のための原料には, RCG, TC, DDGS (DDGS-A, DDGS-B), ビートパルプ, トウモロコシ, 大豆粕, 炭酸カルシウムおよび酵素を用いた (表 3-2-1)。RCG (品種不明) は, 2009 年 7 月 19 日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センターで, 2 番草 (平均草丈 94cm, 出穂期) を刈取り, 直ちに 2cm に細切したものをを用いた。2 番草の刈取りは, 1 番草刈取り後 60 日で北海道での平均刈取り間隔の 60 日 (井内 2008) と同じであった。RCG 発酵 TMR の配合割合は前節と同様とした (表 3-2-2)。すなわち, RCG の割合を 45% と 65% の 2 段階として発酵 TMR を調製した。また酵素 (商品名プロセアーゼ) は 0.2% 添加した。発酵 TMR はパウチ法により行い, 反復は 3 回行った。調製した発酵 TMR は室温で保管した。

2. 分析

1 ヶ月貯蔵後, 開封して抽出液を調製した。pH を測定し, 乳酸, VFA, VBN, 全窒素を分析した。分析方法は前節と同様に行った。分析結果からフリーク評点と V - スコア (自給飼料利用研究会 2009) を計算した。

3. 統計処理

分析結果について, TC, DDGS-A および DDGS - B の原料の差, 酵素添加の差およびその相互作用の検定を行うため, 二元配置の分散分析を行った (新城 1995)。また, 5% 水準で有意差が認められた場合, SAS (1995) の GLM プロシジャ用いて Duncan の方法により処理間の多重検定 (新城 1995) を行った。

結果と考察

2 番草 RCG 発酵 TMR に使った原料の化学組成を表 3-2-1 に示した。RCG の水分は 70.3%，粗タンパク質含量は 16.5%（乾物中），NDF は 65.1%（乾物中），ADF は 38.2%（乾物中），ADL は 4.3%（乾物中），WSC は 1.2%（乾物中）であった。同じ牧草畑で収穫された RCG の 1 番草と比較して粗タンパク質，NDF，ADF および ADL は高かったが，WSC は 1 番草の 7.2%と比較して低く 1.2%であった。トウモロコシ，ビートパルプペレット，TC および DDGS-A は第 1 節と同じ原料を用いた。

TC（Cao ら 2009；曹ら 2009），麦焼酎粕濃縮液（横山ら 2009b），米ぬか（曹ら 2009；Cao ら 2010），糖蜜（Cao ら 2010）および緑茶飲料製造残さ（Cao ら 2009）のような食品副産物が TMR の栄養価を向上させることが報告されている。これまで TC の利用により発酵 TMR 中の乳酸含量が増えることが報告されている（Cao ら 2009）。本実験でも RCG が 65%および 45%の配合割合（表 3-2-3，表 3-2-4）とともに酵素添加 TC 区の乳酸含量は DDGS-A 区および DDGS-B 区に比べて有意に高くなった。また，RCG の割合が 45%と 65%では，水分含量はそれぞれ 45%以下と 60%以下であった。しかし，pH は酵素添加 TC 区でも 5.0 程度までしか低下がみられなかった。酢酸含量は 0.2%から 0.4%の間ではほとんど差がなく，プロピオン酸含量および酪酸含量は検出されなかった。調製された発酵 TMR のフリーク評点と V - スコアは RCG が 45%ではそれぞれ 89 点と 99 点以上，65%ではそれぞれ 97 点と 98 点以上で優良なものであった。本実験で用いた RCG には WSC は 1.2%しかみられず，TC や DDGS - A および DDGS - B に WSC はほとんど含まれていないことから，このように良質な乳酸発酵が行われた発酵基質の供給源については判然としない。発酵 TMR の水分は一般に 50%程度（塩谷ら 2007；須藤ら 2007）と報告されている。本実験の結果から 60%程度の水分含量によっても発酵が制御されたことが推察されるが，本実験では 60%以上の水分含量の試

験を行っていないので水分含量により発酵が制御されたかについても判断としない。

全窒素に占める VBN 含量は、RCG45%では酵素添加 TC 区が酵素無添加 TC 区、DDGS-A 区および DDGS-B 区より有意に高い値だった。また RCG65%でも酵素添加 TC 区で高くなる傾向がみられた。これは酵素に含まれる酸性プロテアーゼによるタンパク質の分解作用によるものと考えられた。すなわち、TC はプロテアーゼの効果が得やすいことが示された。

本実験で使用した DDGS-A は前節と同じものを用いた。DDGS-B の化学組成との間に大きな差はみられなかった。外見は両方共に黄色いゴールデンタイプで臭いも大きな差がなかった。両方ともアメリカ合衆国産であり、性状は似たものであったと評価された。発酵 TMR の発酵品質については、RCG が 65%の pH は酵素添加 DDGS-B 区で有意に低い値であった。酵素添加 DDGS-B 区の乳酸含量は 1.4%で DDGS-A 区の 1.7%と比べてほとんど同じ値であった。乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸および VBN の各含量と V-スコアは DDGS-A 区と DDGS-B 区の間に差がみられなかったが、フリーク評点は酵素添加 DDG-A 区が 100 点と有意に高い値だった。しかしながら、全て 97 点以上の「優」と評価された。

本実験の結果から、2 番草 RCG 発酵 TMR の発酵品質は優れたものであることが示された。しかし、2 番草 RCG の NDF および ADF の含量は、1 番草 RCG の NDF および ADF 含量と比較すると高かった（前節：表 3-1-2）。採食量に影響する ADF が高い 2 番草を利用するに当たり、RCG と比べて NDF、ADF および ADL 含量の少ない DDGS 等の原料を TMR に配合して栄養価を向上させる技術が必要と考えられた。

表3-2-1. 2番草リードカナリーグラスを使って調製した発酵TMR¹原料の化学組成²

	リード カナリーグラス	トウモロコシ	ビートパルプ ペレット	TC ³	DDGS ⁴ -A	DDGS-B
水分 (原物中%)	70.3	17.9	12.9	10.8	13.4	14.5
粗タンパク質	16.5	7.7	11.2	27.4	26.0	25.8
灰分	7.0	1.4	3.9	3.9	4.7	4.8
粗脂肪	2.4	1.4	0.3	13.4	14.0	13.0
NDF ⁵	65.1	8.6	51.7	28.6	48.0	46.1
ADF ⁶	38.2	3.6	28.5	19.3	16.0	17.7
ADL ⁷	4.3	0.1	7.5	0.3	0.4	0.3
カルシウム	0.07	0.03	0.48	0.20	0.02	0.06
リン	0.38	0.29	0.08	0.34	0.87	0.88
WSC ⁸	1.2	1.7	3.7	0.7	0.0	0.2

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分を除き乾物中%, ³TC : tofu cake; 豆腐粕, ⁴DDGS : com distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁵NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェン繊維, ⁶ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェン繊維, ⁷ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁸WSC : water soluble carbohydrate ; 可溶性炭水化物.

表3-2-2. 2番草リードカナリーグラス発酵TMR¹の配合割合

	TC ²		DDGS ³ -A		DDGS-B	
リードカナリーグラス	45.0	65.0	45.0	65.0	45.0	65.0
TC	22.5	20.0				
DDGS			23.0	23.0	23.0	23.0
ビートパルプ	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
トウモロコシ	27.5	10.0	27.0	7.0	27.0	7.0
炭酸カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
栄養価と化学成分の計算値 乾物中%)						
粗タンパク質	15.1	16.5	16.4	15.4	16.4	15.4
NDF ⁴	37.2	48.3	53.0	45.0	53.0	45.0
TDN ⁵	70.2	65.7	68.0	72.0	68.0	72.0

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²TC : tofu cake ; 豆腐粕, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴NDF : neutral detergent fiber ; 酸性デタージェン繊維, ⁵TDN : total digestible nutrients ; 可消化養分総量.

表3-2-3. 2番草リーードカナリーグラスを45%使った発酵TMR¹の発酵品質

	TC ²			DDGS ³ -A			DDGS-B			SEM ⁴	P ⁵		
	- ⁶	+ ⁷		-	+		-	+			材料	酵素	材料×酵素
水分(%)	42.2	44.5		43.4	44.6		42.1	45.4		0.60	P<0.01	NS	NS
pH	5.37	5.03		5.26	5.30		5.25	5.24		0.09	P<0.01	P<0.01	NS
乳酸(%新鮮物)	1.32 ^b	1.92 ^a		0.75 ^{bc}	0.62 ^c		0.71 ^{bc}	0.59 ^c		0.18	P<0.01	P<0.05	NS
酢酸(%新鮮物)	0.24 ^{ab}	0.32 ^a		0.20 ^b	0.20 ^b		0.19 ^b	0.27 ^b		0.01	NS	P<0.05	P<0.05
プロピオン酸(%新鮮物)	0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	NS	NS	NS
イン酪酸(%新鮮物)	0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	P<0.01	NS	P<0.05
酪酸(%新鮮物)	0.00 ^b	0.00 ^b		0.00 ^{ab}	0.01 ^a		0.00 ^b	0.00 ^b		0.01	P<0.01	NS	NS
VBN ⁸ (%全窒素)	2.4 ^b	3.7 ^a		2.3 ^b	1.9 ^b		2.1 ^b	2.1 ^b		0.16	P<0.01	NS	NS
フリーク評点	99 ^a	99.33 ^a		97 ^{ab}	90 ^b		97 ^{ab}	89 ^b		3.30	NS	NS	NS
V-スコア	99.16 ^a	98.67 ^b		99.33 ^a	99.04 ^{ab}		99.54 ^a	99.37 ^a		0.91	P<0.01	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²TC : tofu cake ; 豆腐粕, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレンインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁵P : Probability ; 有意性, ⁶- : 酵素無添加, ⁷+ : 酵素添加 酵素 : プロデアアーゼとセルラーゼの混合物 明治製菓株式会社, 東京), ⁸VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b, c} : 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS : 有意差がないことを示す.

表3-2-4. 2番草リードカナリーグラスを65%使った発酵TMR¹の発酵品質

	TC ²		DDGS ³ - A		DDGS-B		SEM ⁴	P ⁵	
	- ⁶	+ ⁷	-	+	-	+		材料	酵素
水分(%)	54.0 ^{ab}	51.5 ^b	54.2 ^{ab}	59.6 ^a	57.3 ^{ab}	55.7 ^{ab}	0.60	P<0.01	NS
pH	5.08 ^a	4.97 ^a	5.11 ^a	4.95 ^a	5.07 ^a	4.64 ^b	0.09	P<0.01	P<0.01
乳酸(%新鮮物)	2.16 ^{ab}	2.40 ^a	1.12 ^{cd}	1.70 ^{bc}	1.05 ^d	1.44 ^{cd}	0.18	P<0.01	P<0.05
酢酸(%新鮮物)	0.35 ^{ab}	0.38 ^a	0.25 ^b	0.28 ^{ab}	0.27 ^b	0.32 ^{ab}	0.01	NS	P<0.05
プロピオン酸(%新鮮物)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS	NS
イン酪酸(%新鮮物)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	P<0.01	NS
酪酸(%新鮮物)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.01 ^{ab}	0.00 ^b	0.01 ^a	0.00 ^b	0.01	P<0.01	NS
VBN ⁸ (%全窒素)	3.7 ^{ab}	4.1 ^a	2.5 ^b	3.0 ^{ab}	2.6 ^b	2.6 ^b	0.16	P<0.01	NS
フリーク評点	100 ^a	100 ^a	98 ^b	100 ^a	97 ^c	98 ^{bc}	3.30	NS	NS
V-スコア	98	98	99	99	98	98	0.91	P<0.01	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²TC : tofu cake ; 豆腐粕, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシデンプラスチラーズグレインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁵P : Probability ; 有意性, ⁶- : 酵素無添加, ⁷+ : 酵素添加 酵素 : プロテアーゼとセルラーゼの混合物 明治製菓株式会社, 東京), ⁸VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b, c, d} : 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS : 有意差がないことを示す.

第3章 第3節 リードカナリーグラス発酵TMRの発酵品質に及ぼす新規 酵素製剤の影響

緒言

第1節および第2節ではリードカナリーグラス(*Reed canarygrass*, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) 発酵 TMR を調製する場合, 1 番草を利用した場合には豆腐粕もしくは DDGS を利用すると良質な発酵品質の発酵 TMR を調製することができ, 酵素製剤の添加によりさらに発酵品質は改善されることが示された。

田川ら(2001)は, RCGサイレージが酵素製剤(セルラーゼ)の添加により発酵品質が改善されることを報告した。酵素製剤はサイレージ用の添加物として乳酸菌と組み合わせて一般的に市販流通しており, 酵素製剤の添加効果が認められている(McDonaldら1995)。酵素製剤(*Aspergillus usami mut. shiro-usami* 起源, ペクチナーゼ・キシラナーゼ複合酵素剤)の添加によって繊維の消化性が向上し, 乳生産性の向上につながると考えられるため(横山ら2009a), 飼料安全法でも酵素製剤は飼料添加物として認められており(農林水産消費安全技術センター 2007), 新規に開発されている。そこで本実験では, 第1節で用いた酵素を含めた2種類(新規に開発された酵素および商品名プロセアーゼ)の酵素が発酵TMRの発酵品質に及ぼす効果について検討した。新規酵素製剤の添加効果を比較するため, イタリアンライグラスを材料として発酵TMRを調製し, その発酵品質に及ぼす新規酵素製剤の効果を比較検討した。なお, 新規に開発された酵素を利用するに当たり, RCGのサイレージに及ぼす酵素製剤の影響も重ねて検討した。

材料と方法

2009年5月22日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター牧草畑の1番草(平均草丈約117cm, 出穂期, 品種不明)を刈取り, 即日

約 2cm に細切したものをを用いた。TMR の配合割合と予想した発酵 TMR の粗タンパク質，TDN および NDF を表 3-3-1 に示した。すなわち，RCG を 45% と 65% の 2 段階に設定し，ビートパルプを一律 5% 添加した。DDGS とトウモロコシの割合は RCG45% 区ではそれぞれ 23% と 27%，RCG65% 区では 23% と 7% とした。日本飼養標準乳牛 2006 年版（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）のカルシウム要求量の値に適するようにカルシウムを補うため，全ての TMR に 0.6% 炭酸カルシウムを添加した。試験区は酵素を添加しない無添加区，市販酵素製剤（商品名プロセアーゼ，明治製菓株式会社，東京）を 0.2% 添加する酵素区、新規に開発中の酵素製剤（新酵素，開発中，明治製菓株式会社，東京）を 0.02% 添加する新酵素区の 3 処理とした。酵素の添加割合は全て製品の指示通りにしたがった。これらの酵素の由来となっている菌種については開示の許可を得ることができなかったため，詳細を明らかにできなかった。酵素の効果を調べるため，同じ RCG の材料を用いて RCG 単体のサイレージも調製した。さらに，比較のため同じ牧草畑で栽培しているイタリアンライグラス（Italian ryegrass, *Lolium multiflorum* Lam.; IRG）を刈取り，IRG65%，DDGS23%，トウモロコシ 7% を良く混ぜて発酵 TMR を調製した。炭酸カルシウムを 0.6% と新規酵素を 0.02% 添加した。反復は RCG 区と同様に 3 回行った。市販酵素製剤は，セルラーゼ 2,000IU/g と酸性プロテアーゼ 10,000IU/g を含む酵素（商品名：プロセアーゼ，明治製菓株式会社，東京）であった。また，新酵素（明治製菓株式会社，東京）は，セルラーゼ 500IU/g，酸性プロテアーゼ 62,500IU/g を有するものであった。調製したフレッシュ TMR400g をプラスチックフィルムバック（飛龍 N-9，旭化成パックス株式会社，東京）に詰込み，真空包装機（SQ303，シャープ株式会社，東京）を用いで十分に脱気を行い密封して，室温で 8 カ月間貯蔵した。反復は 3 回行った。

分析は十勝農業協同組合連合会農産化学研究所(帯広市)へ依頼し, 水分, 粗タンパク質, ADF, NDF, OCC, カルシウム, リン, マグネシウム, カリウム, pH, 乳酸, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸, 全窒素中の VBN を分析し, 分析結果から V - スコアを計算した。これらは粗飼料の品質評価ガイドブック(自給飼料利用研究会 2009)に準じて行った。分析結果は SAS (1995) の GLM プロシジャを使って検定を行った。差について Duncan の多重範囲検定を行った。

結果と考察

材料の化学組成を表 3-3-2 に示した。RCG の成分値は, 前章第 1 節で用いた 5 月 22 日刈取り RCG と同じものである。1 週間前に刈り取った RCG の粗タンパク質 19.6% (乾物中) と比較して低く 17.2%, また ADF および NDF 含量はそれぞれ 31.9% と 64.7% と比較して高く, それぞれ 39.6% と 69.5% だった。この差は大谷ら(1992)の報告と一致しており, 生育ステージの違いによるものと考えられた。また, IRG の一般成分は日本標準飼料成分表 2009 年版(農業・食品産業技術研究機構 2010)の出穂前と出穂期の間であった。トウモロコシは, 日本標準飼料成分表 2009 年版(農業・食品産業技術研究機構 2010)の水分 14.5% と比較して高く 16.2% で, 粗脂肪は 4.4% と比較して低く 3.1% であった。トウモロコシの品質は劣るものであった。

RCG 発酵 TMR の一般成分の分析値を表 3-3-3 に示した。一般成分については調査した項目全てが RCG45%, 65% および IRG の間に有意な差が認められた ($P < 0.01$)。発酵 TMR の水分は RCG45% 区では 44% から 45% の間, RCG65% 区は 59% から 60% の間に一定であった。一般的な TMR の水分は 50% 程度といわれることから RCG65% 区の水分はやや多いと考えられた。粗タンパク質は, RCG45% 区では 19% から 20%, 65% 区では 23% から 24% に間であった。RCG45% 区および 65% 区共に, 計画した粗タンパク質の割合それぞれ

15.4%, 16.7%より高い値だった。これは RCG の粗タンパク質値が日本標準飼料成分表 2009 年版（農業・食品産業技術研究機構 2010）の 14.3%より高かったためと考えられた。非繊維性炭水化物は RCG45%区では 42%から 45%の間で、RCG65%区の 19%から 25%の間と比べて高い値であった。これは RCG45%区の方が非繊維性炭水化物 78%のトウモロコシが多く入っていたためと考えられた。NDF, ADF, ADL, OCW, カルシウム, リン, マグネシウムおよびカリウムのそれぞれの含量は RCG45%区と比較して 65%区では高く、これも配合割合に影響されたものと考えられた。

次に酵素の効果についてみると、酵素製剤の添加によって粗タンパク質、非繊維性炭水化物、粗灰分、NDF, ADF, ADL, OCW, リンおよびマグネシウムに有意な効果が認められた。RCG65%区および 45%区で非繊維性炭水化物含量は、酵素区および新酵素区で無添加区に比べて高く、逆に NDF, ADF および OCW のそれぞれの含量は低くなった。酵素区と新酵素区の NDF, ADF および OCW のそれぞれの含量を比較すると、酵素区の方が新酵素添加区と比較して低く、RCG65%区ではそれぞれ 35%, 18%, 34%だった。RCG45%区では酵素添加によって NDF 含量は 24.6%まで低下した。繊維給与の指標は日本飼養標準・乳牛（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）によると NDF 含量は 30%から 35%が必要である。RCG を 45%含む場合は NDF 含量は酵素の添加によって低下したため、酵素を添加する場合には NDF を多く含むビートパルプの割合を増やすことや実験では使用しなかった大豆皮等の原料利用を検討する必要があると考えられた。

これは添加した酵素と新酵素に含まれる酵素の力価に影響されていたこと、添加量が 0.02%と 0.2%と異なること、および酵素が活躍しやすい環境条件が異なることが考えられた。すなわち、新酵素は市販酵素製剤と比べてセルラーゼの力価が少なく、効果が発揮されなかったためと考えられた。繊

維分解能力を強く望む場合には添加量を増やす必要があると思われた。

IRG 新酵素添加区は RCG65%区の新酵素添加区と比べて非繊維性炭水化物の含量が高く、NDF、ADF、ADL および OCW の含量は低かった。これは IRG の方が RCG より材料草のときから非構造的炭水化物が高く、NDF、ADF、ADL および OCW の含量は低かったためと考えられた。すなわち酵素の効果は RCG と IRG での差がなかったことが示された。

表 3-3-4 に調製された発酵 TMR の発酵品質を示した。pH、乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸および VBN の含量と V - スコアに RCG の配合割合による差が認められた。RCG45%区、65%区ともに酵素無添加でも pH は 4.3 以下まで低下し、RCG65%酵素添加区では 3.9 まで低下した。これは水分が RCG65%区では 45%区より高かったため、発酵が盛んだったためと推察された。IRG65%新酵素添加区では 3.8 だった。全ての TMR で乳酸は、4.4%（乾物中）以上みられた。RCG45%と比べて 65%区では乳酸の生成量が多く乳酸発酵が活発に行われたと考えられた。また、酢酸と酪酸はそれぞれ乾物中 2.4%、0.1%以下、プロピオン酸はみられなかった。しかし全窒素中の VBN は 3.9%以上みられた。これは原料の粗タンパク質含量が最低 18.3%と高く、さらに長い間の保存により分解されたものと考えられた。全窒素中の VBN の割合は RCG65%区の方が 45%区と比べて高かった。しかし酪酸はほとんどみられず、酪酸発酵は起こらなかったと思われる。これらの結果から計算されるフリーク評点は 80 点から 98 点、V - スコアは 89 点から 96 点の間で「良」と判断された。田川ら（2001）は RCG サイレージの発酵品質が酵素製剤の添加により改善されたことを報告した。RCG サイレージは高水分であるため酵素を添加して品質を改善する必要があったと考えられるが、RCG を発酵 TMR として利用する場合、水分は 60%から 44%の間まで低下し、酵素を添加しなくても pH は 4.3 まで低下した。この結果より、発酵 TMR という保

存方法を考えると十分良質な発酵品質を得られるといえる。

本実験で調製した RCG サイレージの発酵品質を表 3-3-5 に示した。RCG サイレージの水分は 87%から 88%の間で高水分サイレージであった。非繊維性炭水化物は酵素無添加区と比較して酵素添加区では有意に高く、NDF、OCW および Oa は有意に低くそれぞれ 63%、64%および 3%だった。第 2 章第 2 節と同じように繊維分解酵素の添加効果がみられた。しかし pH は 4.9 から 4.8 の間までしか低下せず、また乳酸は新鮮物中で 0.1%までしか生成されなかった。繊維分解酵素の影響はみられず、酢酸は新鮮物中 1.1%以上みられ、酪酸は新鮮物中 0.8%以上みられたため酢酸発酵と酪酸発酵が起こっていたと考えられた。全窒素中の VBN は 39%以上であった。V - スコアは 2 点、フリーク評点はマイナス 10 点と著しく悪いサイレージだった。酵素製剤の添加によって改善が認められず、田川ら（2001）の報告とは異なる結果だった。この結果は、サイレージの保存期間は 8 ヶ月と長期間だったため、サイレージ発酵の後期で酪酸菌が活発に活動していることも考えられる。また、酵素を添加しても発酵基質となる WSC の量は十分でなく、発酵初期の pH の低下が十分でなかったことが考えられた。しかし、本実験では貯蔵期間の違いが発酵品質におよぼす影響を調べていないため、今後検討が必要であった。

本実験の結果から酵素の添加効果は添加された酵素に含まれる繊維分解酵素の力価に影響されることが示された。RCG 発酵 TMR は、RCG を 45%もしくは 65%配合した場合には良好な発酵品質が得られることが前節に引き続き確認された。また高水分の RCG サイレージは、酵素添加されていても 8 ヶ月の間貯蔵された場合には酪酸発酵が起きる可能性があることが示唆された。

表3-3-1. リードカナリイグラス発酵TMR¹の配合割合

	リードカナリイグラス						IRG ²
	45%			65%			
	酵素無添加	酵素	新酵素	酵素無添加	酵素	新酵素	新酵素
配合割合（原物あたり%）							
リードカナリイグラス	45	45	45	65	65	65	65
イタリアンライグラス							
DDGS ³	23	23	23	23	23	23	23
ビートパルプペレット	5	5	5	5	5	5	5
トウモロコシ	27	27	27	7	7	7	7
酵素		0.2			0.2		
新酵素			0.02			0.02	0.02
炭酸カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
化学成分・栄養価（乾物中%）							
粗タンパク質	15.4	15.4	15.4	16.7	16.7	16.7	16.7
NDF ⁴	45	45	45	56.5	56.5	56.5	56.5
TDN ⁵	72	72	72	67.5	67.5	67.5	67.5

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²IRG : Italian ryegrass ; イタリアンライグラス, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁵TDN : total digestible nutrients ; 可消化養分総量.

表3-3-2. リードカナリーグラス発酵TMR¹の原料の化学組成²

	リード カナリーグラス		ビートパルプ ペレット	とうもろこし	DDGS ³	イタリアン ライグラス
水分 (原物中%)	85.6		15.4	16.2	17.3	85.91
粗タンパク質	17.2		10.4	8.2	27.2	12.1
粗脂肪	3.0		0.7	3.1	13.1	2.8
粗灰分	10.6		4.3	1.4	4.4	9.8
ADF ⁴	35.6		29.1	3.1	22.5	31.0
NDF ⁵	69.5		55.5	10.8	52.0	57.5
NFC ⁶	5.4		37.8	77.8	14.6	21.7
ADL ⁷	2.8		3.1	0.2	0.7	2.6
カルシウム	0.42		0.79	0.26	0.26	0.44
リン	0.48		0.09	0.29	0.86	0.35
マグネシウム	0.19		0.30	0.12	0.35	0.16
カリウム	3.62		0.30	0.38	0.92	3.39

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³DDGS : corn distiller's grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソルブル, ⁴ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁵NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁶NFC : non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ⁷ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン.

表3-3-3. リードカナリイグラスおよびイタリアンライグラスから調製した発酵TMR¹の一般成分²

	リードカナリイグラス						イタリアン ライグラス			SEM ³	p ⁴		
	65%			45%			65%				原料	酵素	原料×酵素
	酵素無添加	酵素添加	新酵素添加	酵素無添加	酵素添加	新酵素添加	新酵素添加	新酵素添加	新酵素添加				
水分（原物中%）	59.5 ^a	60.4 ^a	59.3 ^a	45.6 ^b	44.4 ^b	45.3 ^b	59.1 ^a	1.63	p<0.01	NS	NS		
粗タンパク質	23.0 ^a	23.5 ^a	23.5 ^a	18.5 ^c	19.7 ^c	18.5 ^c	21.3 ^b	0.50	p<0.01	p<0.01	NS		
非繊維性炭水化物	19.3 ^d	25.1 ^{bc}	23.1 ^{cd}	41.5 ^a	45.3 ^a	42.1 ^a	28.7 ^b	2.23	p<0.01	p<0.05	NS		
粗脂肪	11.9 ^{ab}	12.8 ^a	12.7 ^a	8.3 ^d	10.1 ^c	10.7 ^{bc}	12.0 ^{ab}	0.38	p<0.01	NS	NS		
粗灰分	6.7 ^a	6.8 ^a	6.9 ^a	4.8 ^b	4.8 ^b	4.9 ^b	6.7 ^a	0.22	p<0.01	p<0.01	NS		
NDF ⁵	44.6 ^a	34.9 ^{bc}	38.2 ^b	31.9 ^c	24.6 ^c	28.0 ^d	35.5 ^b	1.42	p<0.01	p<0.01	NS		
ADF ⁶	23.5 ^a	17.6 ^d	20.1 ^b	17.4 ^d	12.6 ^f	15.3 ^e	19.1 ^c	0.73	p<0.01	p<0.01	NS		
ADL ⁷	1.8 ^{ab}	2.1 ^a	1.5 ^{bc}	1.0 ^d	1.3 ^{cd}	1.2 ^{cd}	1.4 ^{bcd}	0.09	p<0.01	p<0.05	NS		
OCW ⁸	42.1 ^a	33.6 ^c	38.8 ^b	27.2 ^d	21.8 ^e	27.5 ^d	34.2 ^c	1.48	p<0.01	p<0.01	p<0.05		
カルシウム	0.8 ^a	0.8 ^a	0.8 ^a	0.6 ^b	0.6 ^b	0.6 ^b	0.8 ^a	0.03	p<0.01	NS	NS		
リン	0.6 ^a	0.6 ^a	0.6 ^a	0.5 ^c	0.6 ^b	0.5 ^c	0.6 ^{ab}	0.01	p<0.01	p<0.05	NS		
マグネシウム	0.3 ^b	0.3 ^a	0.3 ^{ab}	0.2 ^c	0.3 ^c	0.2 ^c	0.3 ^b	0.01	p<0.01	p<0.05	NS		
カリウム	1.6 ^a	1.7 ^a	1.6 ^a	1.2 ^b	1.2 ^b	1.1 ^b	1.6 ^a	0.06	p<0.01	NS	NS		
デンプン	8.9 ^b	9.7 ^b	8.9 ^b	29.2 ^a	27.1 ^a	28.1 ^a	10.6 ^b	2.10	p<0.01	NS	NS		

¹TMR: total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³SEM: standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴p: Probability ; 有意性, ⁵NDF: neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁶ADF: acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁷ADL: acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁸OCW: organic cell wall ; 細胞壁物質, ^{abcde}: 異符合間に有意差あり (P<0.05), NS: 有意差がないことを示す。

表 3-3-4. リードカナリイグラスおよびイタリアンライグラスから調製した発酵 TMR¹ の発酵品質²

	リードカナリイグラス						イタリアンライグラス			
	65%			45%			65%			
	酵素無添加	酵素添加	新酵素添加	酵素無添加	酵素添加	新酵素添加	新酵素添加			
水分 (現物中%)	59.5 ^a	60.4 ^a	59.3 ^a	45.6 ^b	44.4 ^b	45.3 ^b	59.1 ^a	1.64	P<0.01	NS
pH	4.3 ^a	3.9 ^{de}	4.0 ^{cd}	4.2 ^{ab}	4.2 ^{ab}	4.1 ^{bc}	3.8 ^e	0.04	P<0.01	P<0.01
乳酸 新鮮物中%	2.5 ^{bc}	3.6 ^a	2.8 ^{bc}	2.4 ^{bc}	2.4 ^c	2.7 ^{bc}	3.1 ^{ab}	0.12	P<0.05	P<0.05
酢酸 (新鮮物中%)	0.9 ^a	0.9 ^a	0.8 ^{ab}	0.6 ^c	0.6 ^c	0.6 ^c	0.7 ^{bc}	0.03	P<0.01	NS
プロピオン酸 (新鮮物中%)	0.0 ^{ab}	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^a	0.00	P<0.05	NS
酪酸 新鮮物中%	0.1 ^a	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.1 ^a	0.01	P<0.01	NS
VBN ⁵ /全窒素	5.7 ^a	6.1 ^a	5.7 ^a	4.3 ^b	3.9 ^b	4.2 ^b	4.2 ^b	0.22	P<0.01	NS
V-スコア	89 ^c	92 ^{bc}	92 ^b	96 ^a	96 ^a	96 ^a	91 ^{bc}	0.68	P<0.01	NS
フリーク評点	80	97	96	98	98	98	92	1.87	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外現物中%, ³SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴P : Probability ; 有意性, ⁵VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a b c d e} : 異符合間に有意差あり (P<0.05) .

表3-3-5. リードカナリーグラスサイレージの一般成分および発酵品質

	酵素無添加	酵素添加	新酵素添加	SEM ¹
水分	88.1	87.9	87.4	0.16
粗タンパク質（乾物中％）	16.4 ^b	17.1 ^a	16.2 ^{ab}	0.33
非繊維性炭水化物（乾物中％）	1.6	4.6	3.4	0.55
粗脂肪（乾物中％）	5.0	4.4	4.8	0.15
粗灰分（乾物中％）	12.2 ^a	12.0 ^{ab}	11.4 ^b	0.16
NDF ² （乾物中％）	66.1 ^a	63.1 ^b	65.4 ^{ab}	0.62
ADF ³ （乾物中％）	41.3	37.9	40.4	0.80
ADL ⁴ （乾物中％）	3.8	4.1	5.0	0.33
OCW ⁵ （乾物中％）	67.3 ^a	64.0 ^b	66.6 ^{ab}	0.66
Oa ⁶ （乾物中％）	8.5 ^a	3.3 ^b	5.0 ^b	0.83
Ob ⁷ （乾物中％）	58.7	60.7	61.5	0.64
カルシウム（乾物中％）	0.3	0.3	0.2	0.01
リン（乾物中％）	0.5	0.5	0.5	0.01
マグネシウム（乾物中％）	0.2	0.2	0.2	0.00
カリウム（乾物中％）	5.3 ^a	5.1 ^a	4.3 ^b	0.18
pH	4.9	4.8	4.9	0.02
乳酸（新鮮物中％）	0.1	0.0	0.1	0.01
酢酸（新鮮物中％）	1.2	1.1	1.1	0.04
プロピオン酸（新鮮物中％）	0.1	0.1	0.1	0.01
酪酸（新鮮物中％）	0.8 ^b	1.0 ^a	0.8 ^{ab}	0.04
VBN ⁸ （全窒素中％）	43.4	38.9	41.7	1.07
Vスコア	2	2	2	0.37
フリーク評点	-3 ^a	-10 ^b	-8 ^{ab}	1.21

¹SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ²NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ³ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁴ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁵OCW : organic cell wall ; 細胞壁物質, ⁶Oa : organic a fraction in cell wall ; 高消化性繊維, ⁷Ob : organic b fraction in cell wall ; 低消化性繊維, ⁸VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b}異符号間に有意差あり ($p<0.05$).

第3章 第4節 リードカナリーグラス発酵TMRに及ぼすトウモロコシ スチラーズグレインソリュブルの配合割合の影響

緒言

前節まで、リードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）発酵 TMR を調製する場合、豆腐粕もしくは DDGS を配合すると優れた発酵品質の発酵 TMR が調製されることが明らかとなった。家畜生産に使用される TMR では飼料を乳牛の要求率に合わせて配合割合を決定するため、DDGS やトウモロコシの他に、多くの原料が使われる。原料の種類を多数使った場合には、発酵品質にどの原料がどの影響を及ぼしたかは明らかにできない。これまで DDGS を配合した発酵 TMR の発酵品質について検討した、または DDGS の配合割合と発酵品質の関係を調べた報告は少ない（浅田ら 2009）。そこで本研究では、RCG 発酵 TMR の発酵品質に及ぼす DDGS の配合割合の影響を調べることを目的として実験を開始した。試験 1 では、DDGS の配合割合を変えて RCG サイレージを調製して一般成分と発酵品質を調べた。しかし、これでは水分の割合も変化してしまうため発酵品質が変わってしまうと思われる。そこで、試験 2 ではトウモロコシの WSC は乾物中 1.7% と少ないため（表 3-1-2）発酵品質に影響しないものと考え、水分調整のためトウモロコシ（*Zea mays* L.）と DDGS を混ぜて RCG サイレージを調製した。

本節では栄養成分を設計しなかったため全て RCG サイレージと称した。

材料と方法

試験 1 RCG サイレージの発酵品質に及ぼす DDGS の配合割合の影響

RCG は、2010 年 5 月 22 日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター牧草畑の 1 番草（平均草丈約 130cm，出穂期，品種不明，茎葉比 1.68）を刈取り，即日約 2cm に細切したものをを用いた。DDGS の配合割合

は原物で 0%, 10%, 20%, 40% の 4 段階として材料の RCG と合せて 400g と
してプラスチックフィルムバック（飛龍 N-9, 旭化成パックス株式会社, 東
京）に詰込み, 真空包装機（SQ303, シヤープ株式会社, 東京）を用いで十
分に脱気を行い密封して, 室温で 30 日間貯蔵した。試験区は DDGS0%区,
DDGS10%区, DDGS20%区および DDGS40%区の 4 区とした。反復は 3 回行
った。

分析は十勝農業協同組合連合会農産化学研究所(帯広市)へ依頼し, 水分,
粗タンパク質, ADF, NDF, OCC, カルシウム, リン, マグネシウム, カリ
ウム, pH, 乳酸, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸, 全窒素中の VBN を分析し,
分析結果から V - スコアを計算した。これらは粗飼料の品質評価ガイドブ
ック（自給飼料利用研究会 2009）に準じて行った。分析結果は SAS（1995）
の GLM プロシジャを使って検定を行った。差について Duncan の多重範囲
検定を行った。

試験 2 RCG サイレージの発酵品質に及ぼすトウモロコシと DDGS の配合 割合の関係

RCG は試験 1 と同じ材料草を用い, DDGS とトウモロコシを合せて原物
で 40%配合した RCG サイレージを調製した。処理は, DDGS とトウモロコ
シの割合を 0 : 4, 1 : 3, 1 : 1 および 4 : 0 の 4 段階とした。すなわち RCG
を 240g と, トウモロコシおよび DDGS を混ぜた原料 160g を合せて 400g と
し, 試験 1 と同様にプラスチックフィルムに詰込み脱気して密封し, 室温で
30 日間保存した。試験区は DDGS0%区, DDGS10%区, DDGS20%区および
DDGS40%区の 4 区とした。分析および分析結果の統計処理は試験 1 と同様
に行った。

結果と考察

材料として用いた RCG, DDGS およびトウモロコシの化学組成を表 3-4-1

に示した。RCG の水分は 85%以上であったが、DDGS とトウモロコシの水分は 15%未満であった。また粗タンパク質およびリンは、DDGS>RCG>トウモロコシの順で高く、ADF, NDF, 粗脂肪, 粗灰分, ADL, OCW, カルシウムおよびカリウムは RCG>DDGS>トウモロコシの順に高かった。NFC, OCC およびマグネシウムは、トウモロコシ>DDGS>RCG の順に高かった。DDGS の粗タンパク質は日本標準飼料成分表（農業・食品産業技術総合研究機構 2010）の値と比べて低い値であった。DDGS は、飼料の安全法の確保及び品質の改善に関する法律（農林水産消費安全技術センター 2007）の飼料の公定規格別表で、ふすまやコーングルテンフィードと同様に「2. そうこう類」に分けられており、リンの含量が高い原料であった。また、RCG は日本標準飼料成分表（農業・食品産業技術総合研究機構 2010）の値である乾物中 14.3%と比較して高く、また、井内（2008）の報告した同じ生育時期の RCG の値 16%と比較しても高い値であった。NDF 含量については同程度であったが、ADF 含量は井内（2008）の値と比べて低くなった。

試験 1. RCG サイレージの発酵品質に及ぼす DDGS の配合割合の影響

表 3-4-2 に RCG サイレージの一般成分に及ぼす DDGS の影響を示した。サイレージの水分, ADF およびカリウムの含量は DDGS の配合割合の増加に伴い低下した。しかし粗タンパク質と OCC の含量は増加し、各添加割合に差が認められた。DDGS の配合率は 10%程度と想定されている（中央畜産会 2008）。RCG を材料とした場合には 10%添加では、水分は 78%と高く、粗タンパク質も 20%を超えていた。この値は RCG サイレージとして給与する場合、日本飼養標準乳牛 2006 年版（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）の給与する飼料の体重 680kg, 乳量 50kg, 3 産次の牛をモデルにした成分値の最大 16.3%と比べても高く、このことから RCG90%, DDGS10%のサイレージでは家畜の要求量と合わないと判断された。このことから RCG と

DDGS とは異なる原料を使い，RCG 発酵 TMR を調製することが RCG の利用性を高めるために勧められると考えられた。

表 3-4-3 に RCG サイレージの発酵品質に及ぼす DDGS の影響を示した。pH は，DDGS の添加割合が増えると低下した。乳酸含量は DDGS0% 区と DDGS10%区の間および DDGS20%区と DDGS40%区の間に有意な差がみられなかった。酢酸およびプロピオン酸含量は，DDGS20%区および DDGS40%区では DDGS0%区に比べて低い値だった。また DDGS40%添加区では酪酸含量は 0.01%まで少なく，全窒素中の VBN は 2.6%であった。DDGS40%添加では計算されたフリーク評点は 82 点，V - スコアは 98 点と良質であったと判断された。この結果より DDGS は 40%程度入れると発酵品質が著しく改善されることが明らかとなった。しかし本実験では DDGS の配合割合の上昇と共に水分が減少しており，40%程度の DDGS を入れたときの水分影響と DDGS の影響のそれぞれの影響を明らかにすることができなかった。そこで水分を調製した試験 2 を行うこととした。

試験 2．RCG サイレージの発酵品質に及ぼすトウモロコシと DDGS の配合割合の関係

試験 1 で DDGS を 40%程度入れたとき，発酵品質は著しく改善された。しかし水分含量は 10%添加で 78%，20%添加で 70%であり，発酵 TMR の一般的な水分 50%程度となったものは 40%添加だけであった。通常発酵 TMR の水分は 50%に調製される（塩谷ら 2007）。そのため，試験 1 の結果では DDGS40%配合で発酵品質が改善された原因が DDGS によるのか，水分によるのか明らかとならなかった。そこで試験 2 では，DDGS と同程度の水分を含み，WSC を乾物中 1.7%しか含まないトウモロコシを使い水分含量を調製して DDGS が RCG サイレージの発酵品質に及ぼす影響を調べた。

表 3-4-4 に一般成分を示した。水分は 55%から 58%の間で同程度であった。

粗タンパク質, ADF, NDF, リン, マグネシウムおよびカリウム含量は DDGS の配合割合の増加に伴って上昇した。本試験では各処理間の栄養成分の差は調整せず, 水分だけを調製することを目的にトウモロコシを用いた。そのため RCG やトウモロコシに少なく, DDGS に多い成分は増加する傾向を示した。しかし OCC 含量は低下した。実際に RCG 発酵 TMR を調製する場合には粗タンパク質含量の高さを考慮して 20%程度が限度であると考えられた。

表 3-4-5 に RCG サイレージの発酵品質を示した。pH は, DDGS40%区が高く 4.5, DDGS10%区が最も低く 3.9 だったが, 有意差が認められなかった。乳酸含量は DDGS10%区がもっとも高く新鮮物中 2.2%であった。これまで発酵 TMR の調製時に乳酸菌を添加する技術が報告されている(Cao ら 2010)。しかし RCG を使った場合には, 材料草の表面に十分な乳酸菌数が存在し, 発酵には十分な量であったことが考えられた。酢酸は DDGS20%区で 0.6%と最も高かった。プロピオン酸, 酪酸, 全窒素に占める VBN の割合は DDGS0%区が高く, それぞれ 0.04%, 0.6%, 9.0%であった。これらの結果から計算される V-スコアは DDGS0%区だけが有意に低く 53 点で, 10%添加区, 20%添加区および 40%添加区では 96 点から 98 点の良質な発酵品質と判断された。乳酸含量は, DDGS40%区では DDGS10%区と DDGS20%に比べて低い結果だったが, この原因については明らかにできなかった。DDGS の配合割合については今後検討が必要であると考えられた。本試験から RCG 発酵 TMR の場合は RCG を出穂期に刈り取った場合には, 水分を 50%程度に調製し, DDGS を 10%から 20%程度混合すると良質な発酵品質が得られることが明らかとなった。以上の結果から, DDGS の利用によりサイレージの発酵品質が改善され, 良質なサイレージが調製されることが明らかとなったが, DDGS の栄養成分の特徴から DDGS 単体でサイレージを調製するのではなく, TMR として調製することが勧められた。

これまで DDGS は乳牛用飼料中に 6.2%配合し給与した研究が報告されている（中央畜産会 2009）。今後グリーンエネルギーの利用状況によっては DDGS の生産は高くなることが予想される。

現在は DDGS というトウモロコシが原料のエタノール生産に伴う副産物をさすことが一般的である。トウモロコシにデオキシニバレノールが含まれていた場合、エタノール生産過程で濃縮され、DDGS 中に多量に含むことが想像される（Schaafsma ら 2009）。飼料中のデオキシニバレノールについては、飼料安全法（農林水産消費安全技術センター 2007）にあるように生後 3 ヶ月以上の牛に給与された飼料に含むことが許容されるデオキシニバレノールの量は 4pm と決められている。本試験で用いた DDGS 中のデオキシニバレノールは定量していないので 10%から 20%の値が適当かどうかはわからない。DDGS の利用については安全面での検討がさらに必要となると考えられた。

表3-4-1. リードカナリーグラス発酵TMR¹の材料の化学成分²

	トウモロコシ	DDGS ³	RCG ⁴
水分（原物中%）	13.8	14.7	85.8
粗タンパク質	7.7	25.2	17.7
粗脂肪	5.5	14.5	15.0
粗灰分	1.6	4.7	10.1
ADF ⁵	2.6	15.0	32.6
NDF ⁶	8.9	45.4	55.8
デンプン	71.1	10.2	-
NFC ⁷	78.8	19.5	4.40
ADL ⁸	0.1	0.7	3.1
OCC ⁹	90.3	58.4	33.6
OCW ¹⁰	8.1	36.9	56.3
カルシウム	0.08	0.11	0.28
リン	0.30	0.89	0.44
マグネシウム	0.12	0.40	0.20
カリウム	0.47	1.16	3.45

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³DDGS : corn distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレイ
ンソリュブル, ⁴RCG : reed canarygrass ; リードカナリーグラス, ⁵ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁶NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁷NFC : non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ⁸ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁹OCC : organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機物部分, ¹⁰OCW : organic cell wall ; 細胞壁物質.

表3-4-2. リードカナリーグラス発酵TMR¹の一般成分²

	DDGS ³ 0%	DDGS10%	DDGS20%	DDGS40%	SEM ⁴
水分	87.6 ^a	78.3 ^b	69.5 ^c	55.6 ^d	3.63
粗タンパク質	14.2 ^d	20.5 ^c	23.6 ^b	25.0 ^a	1.26
ADF ⁵	33.2 ^a	30.9 ^b	25.0 ^c	20.8 ^d	1.48
NDF ⁶	56.7 ^a	54.1 ^b	54.4 ^{bc}	52.8 ^c	0.47
OCC ⁷	31.0 ^d	37.2 ^c	47.4 ^b	57.4 ^a	3.05
カルシウム	0.35 ^a	0.24 ^b	0.21 ^c	0.14 ^d	0.02
リン	0.53 ^c	0.72 ^b	0.75 ^b	0.84 ^a	0.03
マグネシウム	0.27 ^c	0.33 ^b	0.36 ^a	0.37 ^a	0.01
カリウム	5.14 ^a	2.38 ^b	1.89 ^c	1.28 ^d	0.45

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³DDGS : corn distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁵ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁶NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁷OCC : organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機物部分, ^{a,b,c,d} : 異符号間に有意差あり (P<0.05).

表3-4-3. リードカナリーグラス発酵TMR¹の発酵品質²

	DDGS ³ 0%	DDGS10%	DDGS20%	DDGS40%	SEM ⁴
水分	87.6 ^a	78.3 ^b	69.5 ^c	55.6 ^d	3.6
pH	5.17 ^{ab}	5.37 ^a	4.83 ^{bc}	4.53 ^c	0.11
乳酸	0.01 ^b	0.11 ^b	0.68 ^a	0.68 ^a	0.11
酢酸	0.83 ^a	0.5 ^{ab}	0.32 ^b	0.23 ^b	0.09
プロピオン酸	0.13 ^a	0.17 ^a	0.06 ^b	0.00 ^b	0.02
酪酸	0.43 ^a	0.58 ^a	0.32 ^a	0.01 ^b	0.07
VBN ⁵ (全窒素中%)	50.7 ^a	23.9 ^b	8.27 ^c	2.63 ^d	5.67
V-スコア	9 ^c	6 ^c	69 ^b	98 ^a	12.20
フリーク評点	-1 ^b	-5 ^b	39 ^{ab}	82 ^a	12.64

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外新鮮物中%, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean;標準平均誤差, ⁵VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a,b,c,d}: 異符号間に有意差あり (P<0.05).

表3-4-4. リードカナリーグラス発酵TMR¹の一般成分²に及ぼす配合割合の関係

	DDGS ³ 0%			DDGS10%			DDGS20%			DDGS40%			SEM ⁴
	トウモロコシ40%			トウモロコシ30%			トウモロコシ20%			トウモロコシ0%			
水分	57.6			56.83			55.03			55.63			0.56
粗タンパク質	9.30 ^d			13.50 ^c			17.70 ^b			25.03 ^a			1.76
ADF ⁵	9.27 ^d			13.47 ^c			16.00 ^b			20.80 ^a			1.27
NDF ⁶	19.73 ^d			27.50 ^c			35.37 ^b			52.77 ^a			3.71
OCC ⁷	80.87 ^a			74.27 ^b			67.13 ^c			57.43 ^d			2.68
カルシウム	0.14			0.12			0.12			0.14			0.00
リン	0.33 ^d			0.48 ^c			0.61 ^b			0.84 ^a			0.06
マグネシウム	0.15 ^d			0.21 ^c			0.26 ^b			0.37 ^a			0.02
カリウム	0.91 ^c			1.07 ^{bc}			1.14 ^{ab}			1.28 ^a			0.04

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³DDGS : corn distiller's dried grains plus solubles ;

トウモロコシグラスチラーズブレインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁵ADF :

acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁶NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維,

⁷OCC : organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機物部分, ^{a,b,c,d} : 異符号間に有意差あり (P<0.05).

表3-4-5. リードカナリイグラス発酵TMR¹の発酵品質²に及ぼす配合割合の影響

配合割合	DDGS ³ 0% トウモロコシ40%			DDGS10% トウモロコシ30%			DDGS20% トウモロコシ20%			DDGS40% トウモロコシ0%			SEM ⁴
水分	57.6			56.8			55.0			55.6			0.6
pH	4.37			3.93			4.07			4.53			0.09
乳酸	1.12 ^b			2.15 ^a			1.49 ^{ab}			0.68 ^b			0.18
酢酸	0.12			0.20			0.57			0.23			0.06
プロピオン酸	0.04 ^a			0.00 ^b			0.00 ^b			0.00 ^b			0.01
酪酸	0.55 ^a			0.03 ^b			0.01 ^b			0.01 ^b			0.09
VBN ⁵ (全窒素中%)	9.0 ^a			4.2 ^b			3.0 ^b			2.6 ^b			0.82
V-スコア	53 ^b			98 ^a			96 ^a			98 ^a			5.89
フリーク評価点	37 ^b			90 ^a			89 ^a			82 ^a			7.73

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外新鮮物中%, ³DDGS : corn distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラスチラズグレインソリュブル, ⁴SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁵VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a,b,c,d} : 異符号間に有意差あり (P<0.05).

第3章 第5節 リードカナリーグラス発酵 TMR 中に添加したビタミン剤の 消長

緒言

現在流通している発酵 TMR は、水分が 50%程度（塩谷ら 2007；須藤ら 2007）、粗タンパク質含量およびミネラル含量等が給与される家畜に合わせて調整されて設計される。発酵 TMR を調製するにあたり、原料にビタミンを添加しない事例（岡田 2004；Pinos-Rodríguez ら 2008；横山 2009a,b）と添加する事例（須藤ら 2007；Cao ら 2009）がみられる。

一般に乳牛用発酵 TMR の粗飼料の栄養価については、同一草種であっても、刈取時期により粗タンパク質、粗脂肪、ミネラルおよびビタミン類の含有量に差がみられる。日本標準飼料成分表（農業食品産業技術総合研究機構 2010）によると同じ刈取時期に収穫された材料草であっても、予乾した場合には β カロチンが激減することが指摘されている。

家畜の生体内ではビタミン A を合成できないので、カロチンを牧草を通じて摂取している。ビタミン A は動物の成長、正常な視覚などに必須物質で上皮組織を正常に保ち、健全な免疫機能を維持する作用がある（農業食品産業技術総合研究機構 2007）。体重 650 kg の 3 産の搾乳牛では、ビタミン A の必要量は 1 日 70,000IU といわれている（農業食品産業技術総合研究機構 2007）。ビタミン類の中で最大の要求量である。ビタミン A 摂取においては中毒の起こらない飼料中の最大許容量が 66,000IU/乾物 kg であるといわれている（農業食品産業技術総合研究機構 2007）。

ビタミン類は種類が多く、配合飼料メーカーでビタミン類を単体で利用するには煩雑になってしまう。そこで微量なビタミン類と米ぬか油粕や炭酸カルシウムを混ぜて一定程度の量に調整して使うことが一般的である（一般にプレミックスと称する）。プレミックスの保存については、ビタミン A、D、

E および K が脂溶性，B および C が水溶性である（農業食品産業技術総合研究機構 2007）。プレミックス中のビタミン含量の変化については，Tavčar-Kalcher・Vengušt（2007）が経時的にビタミンが失活していくことを報告した。そのため保管にあたっては安定性に十分配慮する必要がある。発酵 TMR には酵素製剤等の添加物が使われている。しかし発酵 TMR 調製によってビタミン類の消長を調べた報告は少ない。そこで本節ではリードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）を粗飼料として，ビタミン A を含むプレミックス製剤を混合して発酵 TMR を調製し，発酵後のビタミン A の消長を検討し，酵素添加 RCG 発酵 TMR のビタミン A の消長についても検討した。

材料と方法

RCG は，2010 年 5 月 22 日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター牧草畑の 1 番草（平均草丈約 130cm，出穂期，品種不明，茎葉比 1.68）を刈取り，即日約 2cm に細切したものをを用いた。発酵 TMR には，RCG，ビートパルプ，DDGS，トウモロコシ，酵素，炭酸カルシウム，ビタミン A 製剤（商品名：AD₃-103，ビタミン A として 10,000IU/g，コーキン化学株式会社，大阪府）0.06%を用いた。表 3-5-1 の通りの配合割合，すなわち RCG を 45%と 65%の 2 段階の配合割合，DDGS23%，ビートパルプペレット 5%，トウモロコシを 27%と 7%の 2 段階でよく混ぜて，400g をプラスチックフィルムバック（飛龍 N-9，旭化成パックス株式会社，東京）に詰込み，真空包装機（SQ303，シャープ株式会社，東京）を用いで十分に脱気を行い密封して，20℃と 30℃の 2 段階で 30 日間貯蔵した。ビタミン剤と炭酸カルシウムを全ての発酵 TMR に添加し，酵素添加区（E）には前節までに効果のあった酵素（商品名プロセアーゼ，明治製菓株式会社，東京）を 0.2%添加した。反復は 3 回行った。

分析は十勝農業協同組合連合会農産化学研究所(帯広市)へ依頼し, 水分, 粗タンパク質, ADF, NDF, OCC, カルシウム, リン, マグネシウム, カリウム, ビタミンA, pH, 乳酸, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸, 全窒素中の VBN を分析し, 分析結果から V-スコアとフリーク評点を計算した。これらはビタミンAを除いて粗飼料の品質評価ガイドブック(自給飼料利用研究会2009)に準じて行った。ビタミンAは, 食品分析センターの方法に準じて分析を行った。分析結果は SAS (1995) の GLM プロシジャを使って検定を行った。差について Duncan の多重検定を行った。

結果と考察

表 3-5-2 に RCG, ビートパルプ, DDGS, トウモロコシの分析結果を示した。RCG の水分は 85.8%と高水分だった。ビートパルプペレット, DDGS およびトウモロコシの水分は 10.1 から 14.7%の間で, 風乾状態のものを用いた。粗タンパク質は DDGS が最も高く 25.2%で最も高かった。RCG の粗タンパク質は 17.7%で本章第1節の RCG の値 14.8%より高い値だった。ADF, NDF, ADL および OCW は RCG が最も高かった。粗脂肪は, RCG と DDGS はそれぞれ 15.0%と 14.5%でほとんど同じ値だった。

表 3-5-3 に RCG を 45%含む発酵 TMR の一般成分を示した。発酵 TMR の水分含量は 45.2%から 47.0%の間で, 第1節で用いた TMR の水分とはほぼ同程度あった。水分からみた場合は RCG の割合は 45%程度であることが望ましいものと考えられた。水分含量は 30℃で保管された場合には 20℃で保管された場合と比べて有意に高い結果となった。本実験で水分の計測は 135℃で2時間乾燥して求めたので, 何らかの原因で有機酸なども一緒に揮発して水分として計算されたことが心配される。しかし, 水分は同程度になることを想定しており, 原因は明らかではなかった。粗タンパク質含量は 16.1%から 16.3%の間であった。保管温度および酵素添加の効果により変化はみられ

なかった。ADF および NDF の値は保管温度が 20℃および 30℃共に、酵素添加区では酵素無添加区に比べて低く、ADF はそれぞれ 13.1%および 12.8%、NDF はそれぞれ 29.0%および 29.2%だった。この結果は、第 2 章第 2 節の結果と同様であり、酵素によって発酵細胞壁構成物質が減少したことが明らかとなった。NFC 含量は酵素の添加によって保管温度 20℃および 30℃共に有意に増加した。粗脂肪含量は、酵素添加 30℃保管の 7.1%の方が酵素無添加 20℃保管の 6.6%に比べて有意に高い値となった。しかし酵素、管理温度ともに有意性がみられなかった。粗灰分、カルシウム、リン、マグネシウムおよびカリウムの含量は、保管温度の影響を受け 30℃の方が 20℃に比べて有意に高く、リンについては酵素と保管温度の相乗作用についても有意性が示された。しかしそれらの差は小さいものと考えられた。

表 3-5-4 に RCG65%で調製した RCG 発酵 TMR の一般成分を示した。水分と粗タンパク質の含量はそれぞれ 58.4%から 61.4%の間および 19.9%から 20.2%の間で、酵素および保管温度の影響がみられなかった。ADF と NDF の含量については酵素の添加によって低くなり、保管温度 20℃ではそれぞれ 17.8%と 38.9%、保管温度 30℃の場合それぞれ 18.9%と 39.0%だった。ADF は保管温度の影響もみられた。20℃で保管された方が値は小さく 17.8%だった。この結果より、酵素の添加効果に温度が関係していることが示された。OCW も酵素の影響を受け、30℃保管では 32.6%まで少なくなった。OCW は温度による効果はみられなかった。しかし OCC は酵素の添加により高くなり、保管温度 30℃では 60.3%だった。粗灰分、カルシウム、リンおよびマグネシウムの含量は、酵素の影響を受け、保管温度 30℃では高い値であった。しかし、デンプンとリンの量は酵素、保管温度の影響を受けなかった。

表 3-5-5 に RCG の割合を 45%で調製した発酵 TMR の発酵品質とビタミン A 含量を示した。水分含量は発酵品質をみるために重要であるため、参考と

して表に載せた。発酵 TMR の pH は、保管温度 20℃の酵素添加区で最も低く 4.30 だった。このときの乳酸含量は 1.80%だったが、乳酸含量は酵素や保管温度の影響を受けなかった。また、プロピオン酸、酪酸含量、VBN も酵素や保管温度の影響を受けなかった。しかし、酢酸含量は、保管温度 20℃で酵素無添加の 0.17%と比べて、その他の TMR では有意に高かった。この原因はわからないが、酢酸含量は 0.17%から 0.33%の間にあり、その差は小さいものと考えられた。V-スコアやフリーク評点は、それぞれ 98 点以上もしくは 92 点以上の優れた品質であり、酵素の添加効果と保管温度の影響は明らかではなかった。このことから RCG を 45%程度使って発酵 TMR を調製すれば酵素を使わずとも良質発酵 TMR を調製することができるものと考えられた。

発酵 TMR 中のビタミン A の量は 2,607IU から 4,683IU の間で、酵素や保管温度の影響が明らかでなかった。ビタミン製剤の添加量は 0.06%で行い、調製された直後の原料 TMR 中ビタミン A 濃度の計算値は 6,000IU/kg だった。しかし、添加直後のビタミン A 含量は本実験では調べておらず、今後経時的に調べる必要があるものと考えられた。発酵 TMR 調製 30 日後に開封すると、多いもので 56%、少ないもので 22%が減少しており、RCG 発酵 TMR にビタミン剤を添加すると大きく減ることが明らかとなった。ビタミン剤は飼料原料の中でも高価であり、微量での利用が必要となる。添加したうち 20%以上が減ることを考えるとビタミン剤の添加は進められないと思われた。

表 3-5-6 に RCG を 65%含む発酵 TMR の発酵品質を示した。表 3-5-5 と同様に発酵品質に水分が重要であることから、水分の値も表に載せた。pH は、酵素の添加によって低下し、保管温度が 20℃、30℃共に 4.33 だった。乳酸は酵素の添加によって増加し保管温度 20℃で 2.2%まで高くなった。しかし保管温度の効果は認められなかった。保管温度を 30℃に設定したことは、

20℃を常温と仮定し、30℃の条件で発酵を促進し、長期貯蔵した場合を仮定した。

この結果から RCG 発酵 TMR の乳酸含量と pH は異なる保管温度条件によって変化しないことが明らかとなった。酢酸は、酵素、温度および酵素と温度の相乗効果が認められ、20℃保管の酵素添加で 0.5%、30℃保管の酵素添加で 0.9%まで高くなった。これは、発酵 TMR 中の発酵が温度と酵素によって盛んにおこなわれるようになったことを示すものと考えられた。しかし、RCG が 45%の割合ではこのような結果がみられず、RCG が 65%の割合でみられたことは水分の効果により発酵の程度が影響されていると考えられた。しかし、プロピオン酸、酪酸、VBN 含量および V-スコアは、酵素、保管温度および酵素と保管温度の相乗効果で有意差が確認されず、また各処理区間に差がみられなかった。有意な差は認められなかったが、酪酸含量は酵素無添加の方が酵素添加に比べて多くなる傾向がみられた。V-スコアも有意な差は認められなかったが、20℃で保管された場合は 96 点、30℃で保管された場合は 80 点から 82 点の間であった。20℃で保管された方が高いスコアである傾向がみられた ($P<0.07$)。発酵 TMR のフリーク評点は、保管温度によって差が認められた ($P<0.05$)。保管温度 20℃、30℃共に酵素の添加によって高くなる傾向がみられ、20℃保管の酵素添加区では 97 点であった。

ビタミン A 含量は、保管温度 20℃では酵素の添加によってビタミン A 含量は、3,508IU に低くなった。30℃で保管した場合は、酵素添加と酵素無添加の間に差がみられなかったが、それぞれ 2,659IU と 2,798IU であり、保管温度 20℃と比べて低いものであった。この結果から、RCG 発酵 TMR に添加したビタミン A は発酵によって変化し、20℃の一定温度に保管された場合でも最大 89%まで、30℃の一定温度で保管された場合には最小で 46%まで減ることが明らかになった。発酵 TMR 中の乳酸の量が高く、発酵品質が良好

であればビタミン A が多く残っていることを期待したが、一定の傾向は見られなかった。発酵 TMR へのビタミン A の添加は、ビタミン A が失活して減少することが考えられるため、ビタミン剤の添加はしない方が良いと考えられた。

表3-5-1. リードカナリイグラス発酵TMR¹⁾の配合割合と保管温度²⁾

試験区	R45-20℃	R45E-20℃	R45-30℃	R45E-30℃	R65-20℃	R65E-20℃	R65-30℃	R65E-30℃
配合割合								
リードカナリイグラス	45	45	45	45	65	65	65	65
DDGS ³⁾	23	23	23	23	23	23	23	23
ビー トパ ³⁾ ル プベレット	5	5	5	5	5	5	5	5
トウモロコシ	27	27	27	27	7	7	7	7
酵素 ⁴⁾	0	0.2	0	0.2	0	0.2	0	0.2
炭酸カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
ビタミン製剤 ⁵⁾	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
保管温度	20	20	30	30	20	20	30	30

¹⁾TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²⁾原物あたり%, ³⁾DDGS : corn distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシデンプラークグレーン
 リュブル, ⁴⁾酵素製剤 ; 商品名プロセアーゼ, 明治製菓株式会社, 東京, ⁵⁾ビタミン製剤 ; 商品名ビタミンAD₃-102, コーキン化学株式会社,
 大阪府.

表3-5-2. リードカナリグラス発酵TMR¹に用いた原料の化学成分²

	リード カナリグラス	トウモロコシ	ビートパルプ ペレット	DDGS ³
水分 (原物中%)	85.8	13.8	10.1	14.7
粗タンパク質	17.7	7.7	8.2	25.2
ADF ⁴	32.6	2.6	21.7	15.0
NDF ⁵	55.8	8.9	43.7	45.4
粗脂肪	15.0	5.5	2.5	14.5
ADL ⁶	3.1	0.1	2.6	0.7
OCW ⁷	56.3	8.1	45.3	36.9

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分を除いて乾物中%, ³DDGS : corn distiller' s dried grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁵NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁶ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁷OCW : organic cell wall ; 細胞壁物質.

表3-5-3. リードカナリイグラスを45%含む発酵TMR¹の一般成分²

試験区	R45-20℃	R45E-20℃	R45-30℃	R45E-30℃	SEM ³	P ⁴	
						酵素	温度 酵素×温度
水分 (原物中%)	45.4 ^b	45.2 ^b	47.0 ^a	46.3 ^{ab}	0.3	NS	P<0.01 NS
粗タンパク質	16.1	16.3	16.2	16.3	0.0	NS	NS NS
粗脂肪	6.6 ^b	6.9 ^{ab}	6.9 ^{ab}	7.1 ^a	0.1	NS	NS NS
粗灰分	4.9 ^b	5.0 ^{ab}	5.1 ^a	5.0 ^a	0.0	NS	P<0.05 NS
ADF ⁵	14.0 ^a	13.1 ^b	14.3 ^a	12.8 ^b	0.2	P<0.01	NS NS
NDF ⁶	33.8 ^a	29.0 ^c	31.9 ^b	29.2 ^c	0.6	P<0.01	NS NS
デンブレン	38.3	35.4	36.7	35.7	0.7	NS	NS NS
NFC ⁷	43.5 ^b	47.0 ^a	44.77 ^b	46.53 ^a	0.5	P<0.01	NS NS
OCC ⁸	74.5	74.6	72.0	75.0	0.6	NS	NS NS
OCW ⁹	20.6	20.5	16.4	20.0	1.3	NS	NS NS
ADL ¹⁰	0.8	0.7	0.9	0.8	0.1	NS	NS NS
カルシウム	0.61 ^b	0.59 ^b	0.66 ^a	0.65 ^a	0.0	NS	P<0.01 NS
リン	0.53 ^b	0.53 ^b	0.53 ^b	0.55 ^a	0.0	NS	P<0.05 P<0.05
マグネシウム	0.25 ^c	0.25 ^{bc}	0.26 ^a	0.26 ^{ab}	0.0	NS	P<0.05 NS
カリウム	1.01 ^b	1.03 ^b	1.08 ^a	1.04 ^{ab}	0.0	NS	P<0.05 NS

¹TMR: total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分を除いて乾物中%, ³SEM: standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴p: probability ; 有意性, ⁵ADF: acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁶NDF: neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁷NFC: non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ⁸OCC: organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機物部分, ⁹OCW: organic cell wall ; 細胞壁物質, ¹⁰ADL: acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, a,b,c,d: 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS: 有意差がないことを示す.

表3-5-4. リードカナリーグラスを65%含む発酵TMR¹の一般成分²

試験区	R65-20℃	R65E-20℃	R65-30℃	R65E-30℃	SEM ³	P ⁴	
						酵素	温度 酵素×温度
水分 (原物中%)	61.43	61.37	58.40	60.73	0.60	NS	NS
粗タンパク質	19.83	20.00	19.87	20.20	0.09	NS	NS
粗脂肪	8.47 ^b	9.60 ^a	8.33 ^b	9.93 ^a	0.23	P<0.01	NS
粗灰分	6.70 ^b	7.17 ^a	6.73 ^b	7.17 ^a	0.08	P<0.01	NS
ADF ⁵	20.00 ^b	17.83 ^d	21.80 ^a	18.90 ^c	0.46	P<0.01	P<0.01
NDF ⁶	45.97 ^a	38.87 ^b	45.60 ^a	38.97 ^b	1.05	P<0.01	NS
デンブレン	16.90	15.90	14.47	14.97	0.60	NS	NS
NFC ⁷	26.70 ^b	29.50 ^a	26.53 ^b	28.70 ^a	0.52	P<0.01	NS
ADL ⁸	0.80 ^b	0.77 ^b	1.07 ^b	1.50 ^a	0.10	NS	P<0.01
OCC ⁹	57.23 ^b	58.70 ^{ab}	56.30 ^b	60.30 ^a	0.57	P<0.01	NS
OCW ¹⁰	36.07 ^{ab}	34.13 ^{bc}	36.97 ^a	32.57 ^c	0.60	P<0.01	NS
カルシウム	0.79 ^c	0.84 ^{ab}	0.80 ^{bc}	0.86 ^a	0.01	P<0.01	NS
リン	0.63 ^b	0.65 ^{ab}	0.63 ^b	0.67 ^a	0.01	P<0.01	NS
マグネシウム	0.31 ^{bc}	0.32 ^{ab}	0.30 ^c	0.32 ^a	0.00	P<0.01	NS
カリウム	1.38	1.47	1.42	1.45	0.02	NS	NS

¹TMR: total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分を除いて乾物中%, ³SEM: standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴P: probability ; 有意性, ⁵ADF: acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁶NDF: neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁷NFC: non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ⁸ADL: acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁹OCC: organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機物部分, ¹⁰OCW: organic cell wall ; 細胞壁物質, ^{a,b,c,d}: 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS: 有意差がないことを示す.

表3-5-5. リードカナリーグラスを45%含む発酵TMR¹の発酵品質²

試験区	R45-20℃	R45E-20℃	R45-30℃	R45E-30℃	SEM ³	P ⁴	
						酵素	酵素×温度
水分 (原物中%)	45.4 ^b	45.2 ^b	47.0 ^a	46.3 ^{ab}	0.30	NS	NS
pH	4.50 ^{ab}	4.30 ^b	4.63 ^a	4.43 ^{ab}	0.05	NS	NS
乳酸	1.62	1.80	1.32	1.46	0.09	NS	NS
酢酸	0.17 ^b	0.33 ^a	0.30 ^a	0.30 ^a	0.02	P<0.05	P<0.05
プロピオン酸	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NS	NS
酪酸	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00	NS	NS
VBN ⁵ (全窒素中%)	2.2	2.1	2.5	2.7	0.1	NS	NS
ビタミンA (IU/kg)	4,684	3,833	3,632	2,607	371	NS	NS
Vスコア	99	99	98	98	0	NS	NS
フリーク評点	100	99	92	99	2	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分, VBNを除いて乾物中%, ³SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴P : probability ; 有意性, ⁵VBN

: volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b}: 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS : 有意差がないことを示す.

表3-5-6. リードカナリナーグラスを65%含む発酵TMR¹の発酵品質²

試験区	R65-20℃	R65E-20℃	R65-30℃	R65E-30℃	SEM ³	P ⁴	
						酵素	酵素×温度
水分	61.4	61.4	58.4	60.7	0.6	NS	NS
pH	5.03 ^a	4.33 ^b	4.87 ^a	4.33 ^b	0.10	P<0.01	NS
乳酸	1.23 ^b	2.17 ^a	1.42 ^b	1.82 ^{ab}	0.14	P<0.05	NS
酢酸	0.18 ^c	0.54 ^b	0.19 ^c	0.87 ^a	0.09	P<0.01	P<0.01
プロピオン酸	0.00	0.01	0.02	0.02	0.01	NS	NS
酪酸	0.04	0.01	0.23	0.14	0.04	NS	NS
VBN ⁵ (全窒素中%)	5.0	4.2	5.4	5.8	0.4	P<0.05	NS
ビタミンA (IU/kg)	5,348 ^a	3,508 ^b	2,798 ^b	2,659 ^b	366	NS	NS
Vスコア	96	96	80	82	4	NS	NS
フリーク評点	81 ^{ab}	98 ^a	55 ^b	65 ^{ab}	7	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分, VBNを除いて乾物中%, ³SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ⁴p : probability ; 有意性, ⁵VBN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素, ^{a, b} : 異符号間に有意差あり (P<0.05), NS : 有意差がないことを示す.

第4章 リードカナリーグラス発酵 TMR の嗜好性と消化性に及ぼす未利用資源と酵素の影響

発酵 TMR の利点は発酵による栄養損失が少なく、良好な発酵品質により良質な貯蔵性が得られ、嗜好性の向上、開封後の変敗、脂質酸化の抑制などが期待でき、特に夏季の飼料として利用価値が高いといわれている（塩谷ら 2007）。市販されている発酵 TMR の事例では発酵 TMR の魅力は採食量の向上が挙げられている（岡田 2004）。飼料などの嗜好性は、特異的なものであり、家畜の種類、個体によって異なる（日本畜産学会（編）2001）。そのため家畜の嗜好性については多くの報告がある（林と伊沢 1966；林ら 1966；林と二瓶 1967；林ら 1967；雑賀 1990）。第3章までにリードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）発酵 TMR の調製について報告した。しかし RCG 発酵 TMR の嗜好性についての報告はみられない。

採草利用のように草丈が高い RCG の嗜好性は、チモシー（井内 2008）およびトールフェスク（Otani ら 1996）と比較して劣っていることが報告されている。嗜好性の劣る RCG と配合飼料を混ぜて給与すれば、RCG の採食量は高まり、利用性の向上に資するものと考えられる。RCG の嗜好性が低いものであれば、RCG の割合が多い方が嗜好性は劣るものと思われる。そこで第3章第1節では、黒毛和種雌牛4頭を供試して、RCG 発酵 TMR を給与して嗜好試験を行い、RCG 発酵 TMR に及ぼす未利用資源と酵素の影響を検討した。

一般に生育ステージが進むにつれて細胞壁構成成分の割合は変化する。RCG の ADL の割合が2%から4%に、2倍になると採食量が半分以下になることが報告されている（Otani ら 1996）。発酵 TMR は RCG と未利用残さ等濃厚飼料が多く入っているので、RCG の割合によってルーメン内消失率が変化することが考えられる。そこで第2節では、ルーメンフィステル装着牛

2頭を供試して、RCG発酵TMRのルーメン内消失率を調べた。

泌乳牛用TMRに酵素を添加して調製すれば、繊維の消化性が向上し乳生産性が向上すると思われる。横山ら（2009a）はスーダングラス乾草を29%含むフレッシュTMRに酵素を添加して調製し乾乳牛に給与して、*in situ* 乾物消失率と *in situ* NDF 消失率が向上したことを報告した。本実験で使用した市販の繊維分解酵素の至適 pH が 4.0 といわれており（商品名：プロセアーゼ，明治製菓株式会社，東京），発酵によって繊維分解酵素の働きは高まるものと考えられ，RCG発酵TMRにおいても同様の効果が期待される。そこで酵素添加によるルーメン内消失率に及ぼす影響についても検討を行った。

第4章 第1節 リードカナリーグラス発酵TMRの嗜好性に及ぼす未利用 資源と酵素の影響

緒言

リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) は、寒地型牧草の中で採食性の低いグループに属しているといわれている (雑賀 1990)。乳牛による RCG の嗜好性は、茎葉比が 1.0 を超えた場合には茎部が葉部より嗜好性が劣ること、トールフェスクと比べた場合には、短草状態で放牧した場合では同程度であることを報告している (Otani ら 1996)。一般に、サイレージ調製と嗜好性の関係については、サイレージ発酵という生物学的ないし化学的作用によって、原材料の草質差が攪乱され、また緩和されるといわれている (林ら 1967)。RCG サイレージの嗜好性については、井内ら (2008) は、出穂開始から出穂期で刈取った 1 番草水分 57% の RCG サイレージは、水分 22% のチモシーロールバールサイレージと比較して 70% の採食量であったことを報告している。また、落合ら (1998) は、RCG ロールバールラップサイレージは出穂後生育の進行と共に低下し、結実期には採食量が大幅に減少したことを報告した。

林ら (1967) は、オーチャードグラスの乾草およびサイレージの嗜好性を調べ、早期刈取りの高水分サイレージよりも中期刈取りの低水分サイレージの嗜好順位は高く、調製法による影響が強く働いていると報告した。

第3章では、RCG 発酵 TMR の発酵品質については豆腐粕と DDGS の添加が発酵品質を改善すること、また酵素製剤の添加が発酵品質をさらに改善することが明らかとなった。発酵 TMR の利点の一つに嗜好性の向上が期待できることが挙げられ、機能性成分等を含むが嗜好性が悪い飼料資源でも有効に活用できる可能性が示されている (塩谷ら 2007)。そのため発酵 TMR の嗜好性に関係する乾乳牛を用いた試験が報告されている (横山ら 2009b ;

Kawamoto ら 2009)。RCG の嗜好性について調べた報告では、RCG の抽出液を絞った残さは抽出前の RCG より採食性が高い (Simons と Marten 1971) といわれていることから、RCG は匂いによって嗜好性が悪いことが考えられている。この嗜好性の悪い RCG を配合飼料と混ぜて発酵 TMR にして食べさせる研究はみられない。

本節では RCG 発酵 TMR の嗜好性を調査するため、RCG の割合を 2 段階に設定した発酵 TMR を調製し、RCG の割合と酵素添加が発酵 TMR の嗜好性に及ぼす影響を調べた。

材料と方法

1. 発酵 TMR の調製と分析

RCG は、2009 年 5 月 19 日に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター牧草畑の 1 番草 (平均草丈約 100cm, 出穂前, 品種不明) を刈取り、即日約 2cm に細切したものをを用いた。細切は、農業用さい断機を用いて行った (型式 CD-250C, 株式会社山本製作所, 山形)。RCG 発酵 TMR は、RCG の割合を原物で 45% と 65% の 2 段階として、ビートパルプペレット, トウモロコシ, DDGS, 炭酸カルシウムを用いて調製した。配合割合は、表 4-1-1 に示した。刈取日当日にビニールバックに 25kg の TMR を調製し、2 重にしたビニールバックに入れて脱気して紐で縛って固定した。TMR はプラスチック 100 リットル容のドラム缶 (前田製作所株式会社, 千葉) に入れ、さらに上からおもりとなるように石を入れた。同年 10 月 14 日に取り出した (埋蔵日数 148 日)。

調製された発酵 TMR は取り出した後すぐに 1kg ずつ小分けにして 4℃ の冷蔵庫で保管するとともに、十勝農業協同組合連合会農産化学研究所 (北海道) へ水分, 粗タンパク質, ADF, NDF, デンプン, NFE, NFE, 粗脂肪, 粗灰分, ADL, OCC, OCW の一般成分, カルシウム, リン, マグネシウムお

よびカリウムのミネラル，そして pH，乳酸，プロピオン酸，酢酸，酪酸，全窒素中の VBN の発酵品質に係わる分析を依頼した。分析方法は粗飼料の品質評価ガイドブック（自給飼料利用研究会 2009）に準じて行った。これらの結果から V-スコアおよびフリーク評点を計算した。

2. 嗜好試験

嗜好試験は，調製した 4 種類の発酵 TMR を用いて，2009 年 10 月 16 日から 21 日までの 6 日間に山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センターで飼育している繁殖用黒毛和種雌牛 4 頭を用いて行った。基礎飼料は粗飼料に稲わら（品種：はえぬき，2009 年度山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター産）5kg と配合飼料（商品名：和牛繁殖用，清水港飼料㈱，宮城県石巻市）1kg を給与し，十分に採食し終わった後に，二者択一法（林ら 1966）により嗜好試験を行った。すなわち，それぞれの牛の餌槽に発酵 TMR を 2 種類，現物で 0.8 kg ずつを入れた 1 組のコンテナ（三甲工業株式会社，東京）を準備し，6 日間，毎日 1 分毎に採食した量を計量した。計量の時間には供試家畜は何も食べられないようにした。なお，水と鉱塩は自由摂取とした。また給与時に供試牛が最初に採食したものをマークして採食の順位を調べることにした。

3. 統計処理

採食量については 1 分毎の全ての採食量を計算した。採食の順位は先に口をつけた方の TMR を記録し最初に採食される割合を計算し，それぞれの差について有意差検定を行った。有意差検定は SAS（1995）を用いて行った。

結果と考察

リードカナリーグラス発酵 TMR の原料の化学分析の結果を表 4-1-2 に示した。水分は，リードカナリーグラスは 86.8%であり，ビートパルプペレット，トウモロコシ，DDGS は 15.4%から 17.3%の間であった。本実験で原料

は4種類を用いたが、Kawamotoら(2009)は7種類、横山ら(2009a)は9種類、Uddinら(2009)は19種類の原料を用いて発酵TMRを調製した。原料の成分値を合わせるためには種類を多く使う必要があるものと考えられた。粗タンパク質は、DDGSが最も高く27.2%、トウモロコシが最も低く8.2%であった。ADF、NDFおよび粗灰分はRCGが最も高く、それぞれ31.9%、64.7%および10.6%であった。ADLおよびカルシウムの量はビートパルプペレットが最も高かった。NFCはトウモロコシが最も高く77.8%であった。粗脂肪、リンおよびマグネシウムの量はDDGSが最も高く、それぞれ13.1%、0.86%および0.35%であった。日本標準飼料成分表(農業・食品産業技術研究機構編2010)のRCGのカリウム含量は1.21%であり、本実験で用いたRCGのカリウム含量はその2倍以上の量だった。

調製された発酵TMRの一般成分、ミネラルおよび発酵品質を表4-1-3に示した。RCGの割合が45%のTMR-AとTMR-Bでは水分はそれぞれ47.7%と51.9%、65%のTMR-CとTMR-Dでは水分はそれぞれ63.9%と62.5%だった。粗タンパク質はTMR-AとTMR-Bがそれぞれ18.5%と18.3%、TMR-CとTMR-Dがそれぞれ23.8%と24.8%であった。成雌牛の給与飼料中の粗タンパク質要求量は乾物中で12.2%から16.0%の範囲といわれている(農業・食品産業技術総合研究機構編2007)。設計値(表4-1-1)と比べてもTMR-A、TMR-B、TMR-C、TMR-D共に高い値であった。ADFとNDFは酵素を添加したTMR-AとTMR-Cは添加していないTMR-BとTMR-Dと比較して低くなると思われたが、その傾向はTMR-AとTMR-Bの間にみられるだけであった。TMRのサンプル採取は縮分法(自給飼料利用研究会編2009)により、注意を払って行ったが、偏りが起こった可能性が考えられる。今後はサンプル数を増やす必要があると思われた。

デンプンはTMR-AとTMR-Bがそれぞれ35.4%と30.8%、TMR-Cと

TMR - D がそれぞれ 15.8%と 15.5%で RCG の割合が 45%の区の方が高くなった。これは配合飼料が多いために高くなったと考えられた。NFE と OCC についても同様に配合飼料が多いため TMR - A と TMR - B が TMR - C と TMR - D に比べて高くなった。OCW については粗タンパク質と同じように TMR - C と TMR - D の方が TMR - A と TMR - B よりも多く、それぞれ 38.5%と 31.5%であった。これは RCG の割合に影響されていることが考えられた。粗灰分およびミネラル（カルシウム、リン、マグネシウム、カリウム）の分析値は、TMR - C と TMR - D の方が TMR - A と TMR - B より高い値であった。原料別にみるとカルシウム、リンおよびマグネシウムの量は、DDGS とビートパルプが高く RCG の割合に影響されたかどうか明らかではない。しかし、TMR - C と TMR - D に含まれるカリウムが多くなった原因は RCG の割合によるものと考えられた。

発酵品質については TMR - A から TMR - D の 4 つの発酵 TMR 共に pH は 4.3 まで低くなり、乳酸は新鮮物中 2.2%以上みられた。VBN は 4%以上生成されていたが、酪酸はみられなかった。しかし、TMR - C では酢酸が 1.29%みられ、V - スコアとフリーク評点はそれぞれ 88 点と 73 点だった。TMR - C を除く 3 つの発酵 TMR は 91 点以上の良質と判断された。

このような発酵 TMR を繁殖用黒毛和種雌牛に給与して嗜好試験を行った。嗜好試験にあたり基礎飼料として給与した稲わらの分析値を表 4-1-4 に示した。稲刈り直後の稲わらのため水分は 67.6%、日本標準飼料成分表（農業・食品産業技術総合研究機構 2010）の値 12.2%と比較しても高いものであった。すなわちこの稲わらを 5kg 給与した場合には、水分が 3.4kg、乾物は 1.6kg でほとんどが水分だったと考えられた。しかし、乾物中の粗タンパク質、ADF および NDF は低く、それぞれ 3.6%、36.1%、60.8%であった。稲わらロールバールサイレージについて分析した徐ら（2006）が報告した値と比較し

でも低い値であった。

RCG 発酵 TMR を供試家畜に給与した結果を表 4-1-5 に示した。供試家畜はいずれの発酵 TMR を給与した場合にも 6 分以内に全て食べ尽くし、1 分毎に計測した採食量に有意な差はみられなかった。横山ら（2009b）は嗜好試験を行うとき 2kg を給与した。供試家畜が繁殖和種で常に空腹の状態で飼養されているため、乳牛用飼料のように高栄養価の飼料を給与された場合には勢いよく採食していたことが考えられた。本試験の結果から RCG 発酵 TMR は良く採食することが明らかとなった。今後自由採食量について検討する必要があると考えられた。家畜の採食量は、消化性だけでなく 1 噛みの量、噛む速度という食べ易さも関係していたといわれている（雑賀 1990）。TMR の材料として使う RCG の細断長について検討する必要があるものと思われた。

表 4-1-6 に発酵 TMR が最初に採食された割合を示した。給与した TMR を良く食べることが分かったが、TMR - C のフリーク評点は低く、その嗜好には差が出る可能性があると思われた。しかし、いずれのサイレージもほぼ 4 分の 1 の確率で良く選ばれており、やや TMR - D が低いものの統計的に有意な差はみられなかった。この表からも発酵 TMR は良く食べることが明らかとなった。

以上の結果より、RCG 発酵 TMR が繁殖用黒毛和種雌牛には積極的に良く採食されることが明らかとなった。今後は乳牛に給与した場合の自由採食量を計測する必要があるものと考えられた。

表4-1-1. リードカナリーグラス発酵TMR¹の配合割合

	TMR-A	TMR-B	TMR-C	TMR-D
配合割合（原物中%）				
リードカナリーグラス	45	45	65	65
DDGS ²	23	23	23	23
ビートパルプペレット	5	5	5	5
トウモロコシ	27	27	7	7
酵素	0.2	0.0	0.2	0.0
炭酸カルシウム	0.6	0.6	0.6	0.6
化学組成と栄養価の計算値（乾物中%）				
粗タンパク質	15.4	15.4	16.7	16.7
NDF ³	45	45	56.5	56.5
TDN ⁴	72	72	67.5	67.5

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²DDGS: corn distiller's grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ³NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁴TDN : total digestible nutrients ; 可消化養分総量.

表4-1-2. リードカナリーグラス発酵TMR¹に使われた原料の化学組成²

	リード カナリーグラス	ビートパルプ ペレット	トウモロコシ	DDGS ³
水分（原物中%）	86.8	15.4	16.2	17.3
粗タンパク質	19.6	10.4	8.2	27.2
粗脂肪	2.9	0.7	3.1	13.1
粗灰分	10.6	4.3	1.4	4.4
ADF ⁴	31.9	29.1	3.1	22.5
NDF ⁵	64.7	55.5	10.8	52.0
NFC ⁶	8.1	37.8	77.8	14.6
ADL ⁷	2.0	3.1	0.2	0.7
カルシウム	0.37	0.79	0.26	0.26
リン	0.47	0.09	0.29	0.86
マグネシウム	0.19	0.30	0.12	0.35
カリウム	3.42	0.30	0.38	0.92

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²水分以外乾物中%, ³DDGS : corn distiller's grains plus solubles ; トウモロコシジスチラーズグレインソリュブル, ⁴ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁵NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁶NFC : non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ⁷ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン.

表4-1-3. リードカナリーグラス発酵TMR¹の化学組成と発酵品質

	TMR-A	TMR-B	TMR-C	TMR-D
一般成分（水分を除き乾物中%）				
水分（原物中%）	47.7	51.9	63.9	62.5
粗タンパク質	18.5	18.3	23.8	24.8
粗脂肪	7.8	6.4	9.1	8.5
NFE ²	49.3	44.7	24.1	35.7
粗灰分	4.6	5.0	7.2	6.7
ADF ³	10.3	15.8	21.1	15.2
NDF ⁴	22.6	30.1	40.4	28.3
デンプン	35.4	30.8	15.8	15.5
ADL ⁵	0.2	0.8	0.8	0.8
OCC ⁶	75.5	65.1	54.0	62.1
OCW ⁷	19.9	29.9	38.5	31.5
ミネラル（乾物中%）				
カルシウム	0.44	0.54	0.83	0.72
リン	0.52	0.52	0.64	0.61
マグネシウム	0.21	0.21	0.25	0.27
カリウム	0.75	1.33	1.66	1.71
発酵品質（新鮮物中%）				
pH	4.0	4.2	4.3	3.9
乳酸	3.15	2.16	2.23	3.15
プロピオン酸	0.02	0.04	0.12	0.04
酢酸	0.67	0.73	1.29	0.87
酪酸	0.0	0.0	0.0	0.0
VCN ⁸ （全窒素中%）	4.2	4.2	6.1	4.8
Vスコア	96	96	88	95
フリーク評点	98	91	73	96

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²NFC : non fibrous carbohydrate ; 非繊維性炭水化物, ³ADF : acid detergent fiber ; 酸性デタージェント繊維, ⁴NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維, ⁵ADL : acid detergent lignin ; 酸性デタージェントリグニン, ⁶OCC : organic cellular contents ; 細胞内容物質の有機質部分, ⁷OCW : organic cell wall ; 細胞壁物質, ⁸VCN : volatile basic nitrogen ; 揮発性塩基態窒素.

表4-1-4. 稲わらの化学成分¹

水分（原物中%）	67.6
粗タンパク質	3.6
粗脂肪	2.1
粗灰分	12.2
ADF ²	36.1
NDF ³	60.8
NFC ⁴	22.8
ADL ⁵	4.6
カルシウム	0.4
リン	0.12
マグネシウム	0.11
カリウム	1.14

¹水分を除き乾物中%，²ADF：acid detergent fiber；酸性デタージェント繊維，³NDF：neutral detergent fiber；中性デタージェント繊維，⁴NFC：non fibrous carbohydrate；非繊維性炭水化物，⁵ADL：acid detergent lignin；酸性デタージェントリグニン。

表4-1-5. リードカナリーグラス発酵TMR¹の1分あたりの採食量²

採食の時間	TMR				SEM ³
	A	B	C	D	
1分	0.35	0.35	0.36	0.37	0.03
2分	0.61	0.50	0.56	0.62	0.02
3分	0.75	0.68	0.69	0.71	0.01
4分	0.78	0.76	0.75	0.78	0.00
5分	0.80	0.79	0.79	0.79	0.00
6分	0.80	0.80	0.80	0.80	0.00

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²単位 : kg, ³SEM : Standard error of the mean ; 標準平均誤差.

表4-1-6. 最初に選択された割合¹

供試牛番号	TMR ²			
	A	B	C	D
1	27.3	18.2	36.4	18.2
2	36.4	27.3	36.4	0.0
3	36.4	18.2	27.3	18.2
4	18.2	36.4	9.1	36.4
平均	29.5	25.0	27.3	18.2
SEM ³	4.4	4.4	6.4	7.4

¹単位 : %, ²TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ³SEM : Standard error of the mean ; 標準平均誤差.

第4章 第2節 リードカナリーグラス発酵 TMR のルーメン内消失率に及ぼす未利用資源と酵素の影響

緒言

前節では繁殖用黒毛和種雌牛によるリードカナリーグラス（Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG）発酵 TMR の嗜好性が非常に高く、良く食べることが明らかとなった。発酵 TMR の長所の一つとして粗飼料と濃厚飼料を混合した均一な飼料を給与することによりルーメン内の発酵が安定し、これによって乳量、乳成分を高位安定させ、消化器病の発生を少なくできる（野中 2009）といわれている。RCG 発酵 TMR の飼料の栄養価を評価することは重要である。反芻家畜による飼料の栄養価の評価法として *in situ* 消失率が提唱されている（Ørskov ら 1977；Ørskov と McDonald 1979；Nocek 1985；Nocek 1988；Broderick ら 1988；Zanton ら 2009）。

これまでルーメン内での飼料の分解特性は、イタリアンライグラス（*Lolium mutliflorum*, Lam）乾草（Nishino ら 1997）、イネ（*Oriza sativa* L.）ホールクroppサイレージ（依米堤ら 2006）、濃厚飼料が多給された場合のルーメン内分解特性（西口ら 2005）や緑茶殻配合 TMR サイレージ（須藤ら 2007）および酵素添加したスーダングラス主体の TMR（横山ら 2009a）を材料に報告されている。

RCG を発酵 TMR に調製し利用した場合にも同様に酵素の添加により *in situ* 消失率を改善する効果があるものと思われる。そこで酵素添加 RCG 発酵 TMR の *in situ* 消失率を調べた。RCG 発酵 TMR 中の RCG の配合割合は、45%と 65%の 2 段階であることから、調製された発酵 TMR の水分含量が異なった。水分の異なる RCG 発酵 TMR の *in situ* 消失率については、知見が得られていない。また、乳牛用 TMR への酵素の添加は繊維の消化性が改善されて乳生産性の向上も期待される（横山 2009a）。酵素を添加した発酵 TMR

の *in situ* 消失率についても十分な知見が得られていない。そこで、第2節では前節で調製した RCG 発酵 TMR の *in situ* 消失率を調べ、未利用資源と酵素の影響を検討した。

材料と方法

1. RCG 発酵 TMR の調製および発酵品質

RCG 発酵 TMR と原料は、前節で用いたものと同じものを用いた。すなわち、RCG の割合を 45% と 65% の 2 段階とし、酵素添加区も併せて表 4-1-3 の通り TMR - A, TMR - B, TMR - C および TMR - D の 4 試験区とした。発酵 TMR の配合割合は前節、表 4-1-1, 発酵 TMR の原料の化学組成は前節、表 4-1-2 に示した。

RCG 発酵 TMR の分析は前節のとおり、すなわち十勝農業協同組合連合会農産化学研究所（北海道）へ分析を依頼した。分析方法とサンプリング方法は粗飼料の品質評価ガイドブック（自給飼料利用研究会編 2009）に従って行った。

2. RCG 発酵 TMR の第1胃内消失率の経時的变化

供試飼料は、前節で調製した RCG 発酵 TMR を 60℃ の通風乾燥器で 3 日間乾燥後、2mm に粉碎したものをを用いた（ナイロンバッグ（BC1020 サンプルバッグポリエステル製大，280 メッシュ/目開き 53 ミクロン（±10）），10cm×20cm，三紳工業株式会社，神奈川）内に 2g 詰込み，基礎飼料（稲わら 5kg，配合飼料（和牛繁殖用，清水港飼料株式会社，宮城）1kg を 1 日に給与しているフィステル装着黒毛和種雌牛 2 頭（平均体重 503kg）のルーメン内に，それぞれ RCG 発酵 TMR を 2 反復ずつ投入した。水と鉱塩は自由摂取とした。培養時間は，0，1，3，6，12，24，48 および 72 時間とし，ナイロンバッグを取り出して流水で洗った後，RCG 発酵 TMR の乾物および NDF の消失率を求めた。なお，0 時間培養については，卓上型振とう恒温槽（パ

ーソナルー11・SD セット, タイテック株式会社, 埼玉) を用い, 39℃の蒸留水に浸し, 100 回/分で 30 分間振とう培養させた。培養の後流水で洗い, 60℃で 48 時間乾燥させ, DM および NDF を分析して, それぞれの消失率を求めた。水分および NDF の分析は常法 (自給飼料品質評価研究会 2009) に準じて行った。

Ørskov と McDonald (1979) の式 $p = a + b(1 - e^{-ct})$ (p :各時間の DM および NDF 消失率 (%), a :直ちに溶解される区分, b :不溶性であるが分解が可能な区分, c : b の分解速度, t :培養時間) に当てはめて a , b , c の係数を求めた。また分解率の流出速度を取り入れた有効分解率 (effective degradability : ED) は, Ørskov と McDonald (1979) の式 $ED = a + b \times c / (c + r)$ を用いて計算した。その際, 流出速度計数 (r) 維持量の 2 倍弱を給与したときに相当する 0.05/h (Ørskov と McDonald 1979) を用いて算出した。計算したパラメータは, SAS (1995) を用いて 5%水準で分散分析を行い, Duncan の方法により処理間の多重検定を行った。本実験期間中における供試動物の管理は山形大学動物実験規程に準じて行った。

結果と考察

ルーメン内における RCG 発酵 TMR の乾物および NDF 消失率のパラメータを表 4-2-1 に示した。

RCG 発酵 TMR の乾物の消失率について, 直ちに溶解される区分 a の値および不溶性ではあるが分解が可能な区分 b は, RCG の割合, 酵素および RCG の割合と酵素の相乗効果が認められた ($P < 0.01$)。 a の値は TMR - A が最も高く 77.9 だった。また b の値は TMR - C の値が最も高く 41.5%だった。 a の値は配合飼料の割合が高い RCG45% (TMR - A と TMR - B) の方が RCG65% (TMR - C と TMR - D) より高く, b の値は, RCG の割合が高い RCG65%の方が高くなるものと考えられた。しかし, TMR - D の a の値が

TMR - B の値より大きく、予想とは異なる結果だった。a の値は、Nishino ら (1997) が報告したイタリアンライグラス乾草の値より高い値であった。本実験では RCG 単体の *in situ* 消失率は調べていないが、RCG においても配合飼料と混ぜて発酵 TMR にすると、消失率は高くなるものと考えられたが、今後 RCG 単体の飼料の *in situ* 消失率を調べる必要があると考えられた。有効分解率は、RCG の割合が低い方 (TMR - A と TMR - B) が高い傾向を示した。このことから配合飼料の割合が高い方が飼料の有効分解効率が高いことが示された。すなわち本実験では RCG の割合は 45% の方が優れた RCG 発酵 TMR であると考えられた。本実験で用いた RCG には DDGS が 23% 使われている。梶川 (2010) は DDGS を多給した羊のルーメン内微生物を調べプロトゾア数が減らなかったことを報告し、DDGS はトウモロコシの主要な炭水化物源であるデンプンの多くがエタノールの原料となって消失していることから、穀類等とは異なり、その多給がルーメン内での著しい発酵を引き起こし、いわゆるアシドーシスに結び付かないことを述べている。RCG 発酵 TMR の原料として DDGS は適しているものと考えられた。

RCG 発酵 TMR の NDF の消失率の a と b の値は、酵素の効果および酵素と RCG の割合の影響の相乗効果が認められた。a の値は、酵素添加の方が (TMR - A と TMR - C) が酵素無添加 (TMR - B と TMR - D) より高く、酵素添加により繊維が分解されて、消失率が高くなり、TMR - A では 77.8 であった。しかし、b の値は酵素添加の方が酵素無添加より低く、酵素の添加は分解されやすい部分が先に分解されることを示すものと考えられた。

RCG 発酵 TMR の最大分解率 (a+b) は、乾物および NDF 共に RCG45% (TMR - A と TMR - B) および 65% (TMR - C と TMR - D) の間に差は認められず、また酵素添加 (TMR - A と TMR - C) と酵素無添加 (TMR - B と TMR - D) の間に差が認められなかった。最大分解率 (a+b) は、一般的に

は配合飼料の割合の高い RCG45%の方が RCG65%よりも高くなることが予想される。しかし、RCG の割合が高い 45%区の方が 65%と比べて高くならなかった原因については明らかでなく今後の検討が必要である。

RCG 発酵 TMR の経時的消失率を図 4-2-1 に示した。表 4-2-1 の a の値の通り、培養 0 時間のルーメン内乾物消失率は TMR - A が最も高い値を示した。培養 6 時間目までは TMR - A, TMR - B, TMR - C および TMR-D の間に有意な差がみられた ($P<0.01$)。横山ら (2009a) は、酵素添加によりスーダングラス乳牛用発酵 TMR のルーメン内乾物消失率が対照区と比べて 12 時間までは差がみられないものの、12 時間から 24 時間にかけて急速に向上したと本実験とは逆の結果を報告している。RCG 発酵 TMR は TMR 調製前に酵素を添加しているため、飼料中の細胞壁部分は酵素により分解され、ルーメン内で分解されにくい部分が残ってしまったことが考えられる。また本実験で使った酵素はセルラーゼとプロテアーゼの合剤であるため、横山ら (2009a) で用いた酵素 (ペクチナーゼとキシラナーゼの合剤) とは異なる。今後酵素の添加の時期 (TMR 調製前と給与前) と酵素の種類について検討が必要であると思われる。

以上の結果から、RCG 発酵 TMR の原料の中に酵素を添加した場合には、最終的に分解される部分 (a+b) に対しては酵素の添加効果は認められなかったが、6 時間以内に分解される部分は多くなることが示された。そのため RCG 発酵 TMR は、給与乾物量が多く、ルーメン内発酵が早くなければならぬ高泌乳牛などにも利用できることが考えられた。本実験で使った供試家畜が黒毛和種のため実際の乳用種での試験が今後必要と思われた。

表4-2-1. リードカナリীগーグラス発酵TMR¹のルーメン内消失率

	TMR-A	TMR-B	TMR-C	TMR-D	SEM ²	P ³		
						M ⁴	E ⁵	M×E
乾物消失率パラメータ								
a ⁶	77.87 ^a	57.01 ^c	55.32 ^c	63.96 ^b	2.62	P<0.01	P<0.01	P<0.01
b ⁷	19.87 ^d	37.83 ^b	41.05 ^a	31.40 ^b	2.47	P<0.01	P<0.01	P<0.01
c ⁸	0.05	0.07	0.05	0.05	0.01	NS	NS	NS
a+b	97.74	95.23	96.38	95.36	0.58	NS	NS	NS
ED ⁹	87.56 ^a	78.94 ^b	74.94 ^c	79.30 ^b	1.52	P<0.01	NS	P<0.01
NDF ¹⁰ 消失率パラメータ								
a	25.11	13.79	30.04	17.75	2.62	NS	P<0.01	P<0.05
b	58.41 ^c	77.64 ^a	65.12 ^b	73.23 ^a	2.32	NS	P<0.01	P<0.01
c	0.04	0.05	0.04	0.04	0	NS	NS	NS
a+b	83.52	91.43	95.38	91.57	2.88	NS	NS	NS
ED	51.29	53.86	58.55	50.80	2.78	NS	NS	NS

¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²SEM : standard error of the mean ; 標準平均誤差, ³P : Probability ; 有意性, ⁴M : リードカナリীগーグラスの割合, ⁵E : Enzyme ; 酵素, ⁶a : ただちに溶解される区分, ⁷b : 不溶性であるが分解が可能な区分, ⁸c : bの分解速度, ⁹ED : effective degradability ; 有効分解率, ¹⁰NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェン繊維, ^{a, b, c, d} : 異符号間に有意差あり (p<0.05), NS : 有意差がないことを示す。

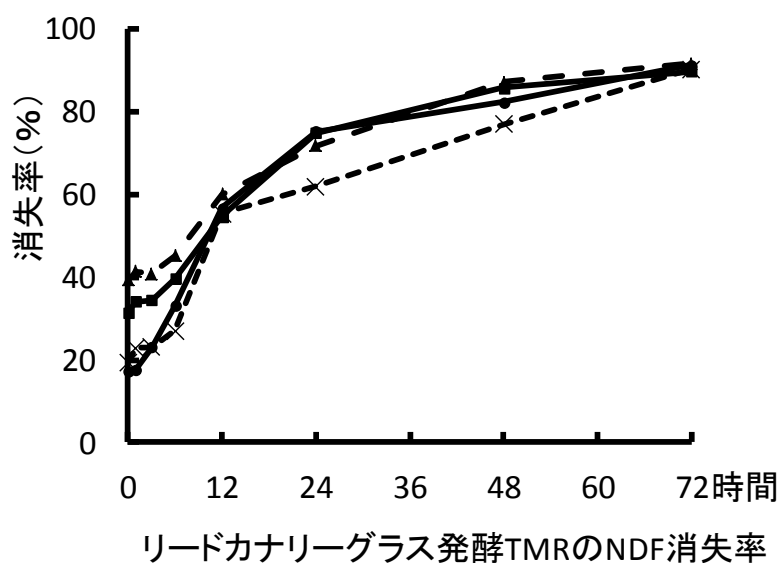
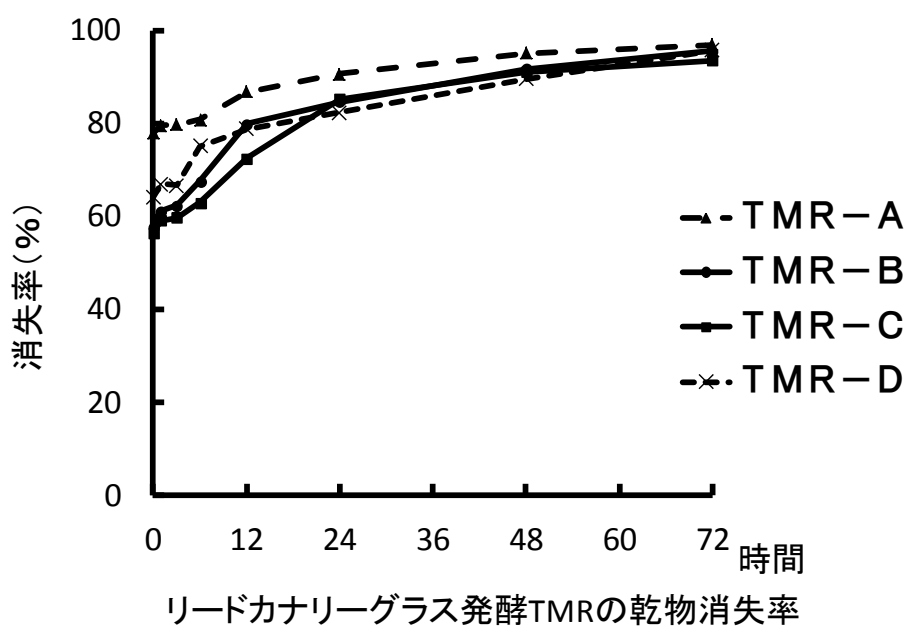


図4-2-1. リードカナリーグラス発酵TMR¹の乾物およびNDF²消失率
¹TMR : total mixed ration ; 完全混合飼料, ²NDF : neutral detergent fiber ; 中性デタージェント繊維 .

第5章 総合考察

リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) は寒地型イネ科クサヨシ属の多年性牧草である(日本畜産学会(編)2001)。現在まで RCG に関する研究は、施肥反応、生産性および飼料特性等、幅広く行われてきた。その結果、RCG は施肥量により乾物生産量が直線的に増加したこと(中畠ら1993)、粗放管理下にあっても永続性が高いこと、生育旺盛な時期における RCG の係数密度回復能力が高いこと(大谷ら2004)、他のイネ科寒地型牧草の奨励品種より収量が優れること(大谷ら1994)が報告されている。しかし、RCG は嗜好性が低いグループに属しているため(雑賀1990)、適期利用を怠ると極端に利用性が低下すること、一度定着すると根絶するのが難しく、他の草種に替えようとしても、経年化とともに RCG が再生し、やがて優占する草種であること(井内2008)が報告されている。そこで、本研究では利用の難しい RCG を積極的に利用できる技術を開発するため研究を行った。

1. RCG 発酵 TMR の調製

発酵 TMR は、発酵による栄養損失が少なく、良好な発酵により貯蔵性が得られ、嗜好性の向上、開封後の変敗、脂質酸化の抑制などが期待でき、自給飼料や食品残さなどの利用に適した調製法といわれている(塩谷ら2007)。RCG を単体で貯蔵利用する場合、良質な発酵品質を得るために予乾処理を施す場合がある。一方、発酵 TMR を調製する場合は、RCG を予乾しないで利用し、配合飼料のような風乾物飼料と混ぜて水分調整を行うことが可能である。すなわち、RCG の収穫作業の集約化が可能となる。第3章、第4章では RCG の割合を原物で45%と65%の2段階で発酵 TMR を調製した。水分は RCG の割合に応じて変化し、RCG の割合が45%の場合には一般的な発酵 TMR の水分50%程度まで低くなった。RCG を出穂期で刈取り、また、RCG

を予乾しないで利用する場合に水分を調整するためには、発酵 TMR 調製における RCG の割合は 45%程度が適するものと考えられた。

第3章では、RCG 発酵 TMR の原料として、未利用資源であるミカンジュース粕、豆腐粕および DDGS について検討した。ミカンジュース粕はサイレージ調製に適していることが報告され (McDonald ら 1995 ; Bampidis と Robinson2006)。崎田ら (1979) はミカンジュース粕を原物当たり 3%程度添加してサイレージを調製し発酵品質が改善されたこと報告した。第3章では1番草 RCG 発酵 TMR ではミカンジュース粕の配合により発酵品質は改善されず、ミカンジュース粕に可溶性炭水化物が多いのにもかかわらず発酵品質が改善されなかった。これらの原因については明らかにできなかった。

豆腐粕は、低コストであること、サイレージとしての品質が良好であること、嗜好性が良好であること等から発酵 TMR に適していると評価されている (堀と奥 2001)。1番草および2番草 RCG を使った場合には、豆腐粕の配合により発酵品質が改善されること、また酵素を添加するとさらに改善効果が高まることが明らかとなった。豆腐粕には WSC 含量が少ないにもかかわらず、RCG 発酵 TMR の発酵品質は優れたものであった。豆腐粕を使った発酵 TMR の報告 (Wang と Nishino 2008 ; 曹ら 2009) と同様の結果であった。しかし、この原因を明らかにすることができず、今後検討が必要であった。

近年、アメリカでエタノール製造の残さとして DDGS が生産され、日本国内においても新しい飼料原料として利用が開始されている。DDGS は生産されるエタノール工場ごとに品質が異なることが知られている。そこで、2種類の DDGS を用いて調製し RCG 発酵 TMR の発酵品質を検討した。いずれの DDGS を材料にした場合も V - スコア、フリーク評点のともに高く、良い発酵品質であった。このように DDGS を使って発酵 TMR の発酵品質が良質であった結果は、浅田ら (2009) で報告された結果と同様であった。DDGS

はWSCが少なく、良い発酵品質になった理由が判然としなかったが、浅田ら（2009）の報告と同じ原因であると考えられた。そこで、第3章でDDGSが発酵品質を改善する効果があるのか検討したところ、DDGSの配合割合の増加に伴い発酵品質が改善された。DDGSが発酵TMRの原料として適していると判断された。しかし、DDGSの割合が増えると水分が減るため発酵品質の改善効果はDDGSによるものか、水分によるものか明瞭ではない。そこで、トウモロコシで水分調整を行い、DDGSの割合を変えて発酵品質を検討した。その結果、DDGSを配合した場合には乳酸含量が増えて発酵品質が改善された。今後、DDGSを添加したサイレージの発酵品質について調査することが必要であると考えられた。

RCGは1番草と2番草では単位面積当たりの茎数が違うこと、2番草では生育期間中に生育抑制が起こることから、1番草と2番草のRCGは品質が異なり、調製されたRCG発酵TMRの品質に異なる特徴をもつことが考えられた。そのため第3章では1番草と2番草を用いたRCG発酵TMRを調製した。その結果、1番草、2番草ともに豆腐粕とDDGSを配合した場合は優れた発酵品質であることが示された。この結果は1番草、2番草ともにRCGを積極的に利用できることを示すものと思われた。

第3章ではRCG発酵TMRの品質に及ぼすミカンジュース粕、豆腐粕、DDGSの未利用資源の利用と酵素の影響について的一端を解明できた。自家産のRCGと未利用資源の利用を行うことができるため飼料自給率の向上に資することになると思われる。しかし、RCG発酵TMR調製の普及についての考察はみられないので検討する。一般にRCGの採草作業では、RCGの生育状況と天気に合わせてそのスケジュールが調整されてしまう。そのため、RCGを除いたTMRの原料は、RCGの利用に合わせて利用できるように前もって準備することが必要であり、言い換えると原料が長期間保存できる形状

であることが望まれる。一般にミカンジュース粕，豆腐粕および DDGS は，排出された直後は高水分の原料のために長期保存が難しく，乾燥するためにはそのコストの上昇が心配される。しかし，飼料安全法（農林水産消費安全技術センター 2007）では，ミカンジュース粕，豆腐粕および DDGS は「乾燥してあるもの」として認められており，乾燥されたミカンジュース粕，豆腐粕および DDGS は配合飼料メーカーでも使うことができる。そのため，配合飼料メーカーから配合飼料として TMR 調製の現場まで配送されることが普及に役立つものと考えられた。このような原料供給が一部始まっているが，乾燥方法が広く普及することにより，一層普及するものと思われる。

2. RCG 発酵 TMR の乳牛用飼料としての可能性

発酵 TMR の評価をするには，家畜による嗜好性や消化特性を知ることが重要である。RCG サイレージの採食量は，出穂期前と出穂期のものを給与したときに差が出ることが報告されている（国分ら 1984）。RCG は嗜好性が劣り，アルカロイドを含むことから，アルカロイドが RCG の採食量に影響を及ぼすことが報告されている（Burns1978；Woods ら 1979；Otani ら 1997；藤井と橋爪 2005）。そこで，第 2 章では RCG に含まれるアルカロイドのグラミンとホルデニンの量を分析した。RCG の栄養生長期から出穂期までのグラミンとホルデニン含量の平均値はそれぞれ 212ppm と 1,162ppm であった。しかし出穂期前の刈取時期では，グラミンとホルデニンの 2 つを合わせて 1,094ppm 程度であった。RCG のアルカロイドが，家畜の嗜好性や中毒症状の影響を及ぼす量は 2,000ppm 以上といわれている（藤井と橋爪 2005）。RCG は出穂期前での刈取りであれば安全なものであることが示された。

このような RCG を供試し，第 4 章では，RCG 発酵 TMR の嗜好性について検討した。その結果，DDGS を配合した RCG 発酵 TMR は非常に良く採食し，供試した黒毛和種雌牛はこの RCG 発酵 TMR を給与 6 分後には全て採食

した。また採食した DDGS を配合した RCG 発酵 TMR の RCG の割合や酵素の添加についての嗜好性の差異はみられなかった。この結果から RCG 発酵 TMR の嗜好性は良いことが示された。すなわち嗜好性が悪い RCG を発酵 TMR に調製すると嗜好性が改善される可能性があるものと考えられた。この原因は、RCG に含まれる難消化性繊維やアルカロイドなどの嗜好性を低下させる物質が、未利用資源と併せて調製することで相対的に減ったこととサイレージ特有の芳香臭がアルカロイドに対する忌避反応（Simons と Marten 1971）を抑制したことなどが推察される。今後、乳用牛を用いた自由採食による採食量の調査が必要であると思われた。

さらに RCG 発酵 TMR のルーメン内消失率を検討した。その結果、RCG 発酵 TMR は、投与開始 6 時間目まで酵素添加および無添加の NDF 消失率に差が認められた。この結果は横山ら(2009)が報告した酵素剤添加スーダングラス乾草の実験結果とは異なるものであった。第 4 章の結果は酵素添加によって分解されやすい部分が先に分解されたこと、投与後 6 時間目以降ではほとんど差がなくなることから、添加した酵素が RCG 発酵 TMR 中の繊維成分を分解していることを示すものと考えられた。すなわち RCG 発酵 TMR に酵素を添加すると、乳酸発酵の発酵基質となる WSC が生成されていることを示すものと考えられた。高泌乳牛については 1 日当たりの乾物摂取量が高く（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）、1 日の給餌回数が増えるとルーメン発酵開始初期のルーメン内乾物消失率が高いことが求められる。そのため酵素を添加し、RCG 発酵 TMR のルーメン発酵開始初期のルーメン内消失率を高めることは、高泌乳牛用の飼料として適すると思われた。

本論文では乳牛、特に 2 産次の乳量 30 kg 程度を想定した。2 産次、体重 630 kg、乳量 30 kg、飼料給与乾物量 20 kg の成雌牛では、給与飼料中の養分含量は乾物中粗タンパク質 14.2%、乾物中 TDN74%であることが日本飼養標

準・乳牛（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）が示されている。泌乳最盛期の牛に発酵 TMR だけを給与するのではなく，補助飼料やサプリメント等との組み合わせにより，305 日乳量 10,000 kg を超える乳牛への RCG 発酵 TMR の利用も可能であると考えられる。

3. RCG 発酵 TMR に用いる添加物

発酵 TMR の調製時にビタミン剤を添加する場合と添加しない場合がみられる。発酵 TMR は貯蔵もしくは発酵期間中にビタミン剤の効力の低下が予想されるが，発酵 TMR 中のビタミン剤の消長を調べた報告はみられない。そこで，ビタミン A を添加して発酵 TMR を調製し，20℃と 30℃の 2 段階の温度環境で保存して RCG 発酵 TMR 中のビタミン A の消長について検討した。その結果，発酵 TMR に含まれるビタミン A は調製後から大きく減少していることが明らかとなった。RCG 発酵 TMR についてはビタミン剤の添加は避けた方が良いことが示された。家畜にビタミンを給与する場合は別添加により給与する方法が望ましいと思われた。

RCG は糖が少ない草種である（北村 2010；落合ら 1998）ため，調製されたサイレージの乳酸含量は少なく，発酵品質が劣っている（Cherney ら 2006；国分ら 1984）。田川ら（2001）は，酵素製剤を添加してサイレージを調製し，酵素製剤の添加により発酵品質が改善されたことを報告した。サイレージ添加物としての酵素製剤は，材料草に含まれる構造的炭水化物を分解して乳酸菌が利用できる糖をつくり，サイレージの発酵品質を改善する目的で利用されている（増子 1994）。そこで，RCG サイレージの細胞壁構成成分に及ぼす酵素製剤の影響を検討した。その結果，RCG サイレージの細胞壁構成成分の NDF および ADF は酵素製剤の添加によって減少することが明らかとなった。

酵素の種類は多く，数種類の酵素製剤の添加が RCG 発酵 TMR の発酵品質

に及ぼす効果を比較検討した。その結果、酵素の種類を変えても、酵素の力価によって発酵品質の改善効果は影響されることが確認され、本研究で用いた市販酵素製剤（商品名：プロセアーゼ）が RCG 発酵 TMR の発酵品質の改善に適した酵素であると判断された。酵素は無機塩と比べて、人体への影響が少ないことから現場での使用時における安全性が高いと考えられる。しかし添加物の利用は発酵 TMR のコストを上昇させてしまう。効果的な酵素の使用方法について検討が必要であると考えられた。

第6章 総括

リードカナリーグラス (Reed canarygrass, *Phalaris arundinacea* L.; RCG) は、湿潤・冷涼な気候に適する反面、夏枯れにも抵抗力を示し、匍匐茎を有して地下に拡がり叢状を呈するため、収量の安定化および裸地化抑制といった利点が挙げられるが、嗜好性が低く、適期刈取りを怠ると飼料の利用性が低くなることが知られている。近年大規模な家畜を生産している現場では、発酵 TMR (Total Mixed Ration: 完全混合飼料) として飼料を調製する事例が多数報告されている。そこで RCG を発酵 TMR として利用するための基礎的知見を得て、RCG の利用性を高めるための技術を開発することを目的に研究を開始した。

飼料の嗜好性を低下させる RCG のアルカロイド含量を測定するため、生育5段階の RCG を刈取り、RCG に含まれるアルカロイド (グラミンとホルデニン) の濃度を検討した。その結果、グラミンとホルデニン含量は刈取り利用の基準となる出穂前後には、家畜に害のある 0.2% (乾物) 以下であり、このような RCG を利用した場合には害がないことが明らかになった。RCG は糖含量が低いため、乳酸発酵の発酵基質となる可溶性炭水化物を増やすため酵素製剤 (アクレモニウム由来セルラーゼ: AC) を添加して RCG サイレージの細胞壁構成成分に及ぼす影響を検討した。その結果、AC の添加によって中性デタージェント繊維と酸性デタージェント繊維含量は減少し、細胞壁構成成分が AC の添加によって分解されたことを示すと考えられた。

RCG の 1 番草および 2 番草を粗飼料として用い、ミカンジュース粕、豆腐粕およびトウモロコシジスチラーズグレインソリュブル (DDGS) を配合して調製した RCG 発酵 TMR の発酵品質に及ぼす酵素製剤 (商品名: プロセアーゼ) の影響を検討した。その結果、ミカンジュース粕の配合は RCG 発酵 TMR の発酵品質を改善する効果は認められなかったが、豆腐粕および

DDGS の配合により発酵品質は改善されることが示された。また、プロセアーゼを添加すると更に発酵品質が改善された。DDGS はエタノール生産の残さであり、エタノール工場ごとに化学成分が異なることが知られている。そこで、2 種類の DDGS を用いて発酵 TMR を調製し、発酵品質を比較検討した結果、RCG 発酵 TMR の発酵品質は 2 工場の間に差はみられず、2 工場間の差が小さいことが示された。新規に開発された酵素製剤を用いて発酵 TMR を調製し、発酵品質に及ぼす酵素製剤の影響を検討した。その結果、酵素の添加効果は新酵素よりも従来のプロセアーゼの方が効果は高いことが示された。この原因は、新酵素の方が力価は小さく発酵品質改善効果は小さかったためと考えられた。豆腐粕および DDGS を原料として用いたとき、RCG 発酵 TMR の発酵品質が良好になることが分かったが、DDGS を RCG 発酵 TMR に及ぼす DDGS の影響を詳細に調べるため、0%、10%、20%および 40%（原物）DDGS を配合した RCG サイレージを調製し、発酵品質に及ぼす DDGS の影響を検討した。その結果、DDGS の配合割合を高くするほど乳酸含量がと高くなる傾向を示し、40%配合のフリーク評点は 82 点の高品質サイレージを調製できた。さらに、トウモロコシを使って水分を 55%に調整し、DDGS を 0%、10%、20%および 40%（原物）の割合で RCG 発酵 TMR を調製し、発酵品質改善効果を検討した。その結果、DDGS を使った場合はその発酵品質は改善され、DDGS10%配合すると乳酸は 2.2%（新鮮物）生成された。水分 55%程度の場合、DDGS の利用によって発酵品質が高くなることが示された。しかし DDGS の配合割合と発酵品質の関係は明らかにできなかった。ビタミン剤は脂溶性および水溶性の性質をもつものがあり、発酵 TMR に添加すると発酵によって低下した pH によって減少することが考えられる。そこで、ビタミン A を RCG 発酵 TMR に添加してビタミン A の消長を調べた。ビタミン A は発酵によって減少し、半分以下にまで低下する

ものがみられた。このことから発酵 TMR にビタミン A を添加することは勧められないことが示された。

RCG 発酵 TMR の家畜を供試した飼料価値のうち、飼料の嗜好性とルーメン内消失率を検討した。嗜好試験の結果、黒毛和種雌牛は給与した RCG 発酵 TMR 0.8kg を 6 分以内に全量を採食した。また、発酵 TMR を選択する順位にも傾向はみられなかった。このことから RCG を混合した発酵 TMR は飼料の嗜好性が良いことが示された。さらに、RCG 発酵 TMR のウシのルーメン内消失率を検討した結果、RCG 発酵 TMR 中乾物と NDF 消失率はプロセアーゼを添加すると培養初期の消失率が高く推移した。

以上の結果、RCG を用いて発酵 TMR を調製するとき、豆腐粕、DDGS を配合すると発酵品質が良好になり、酵素（プロセアーゼ）を利用するとさらに発酵品質の改善効果があることが分かった。また、RCG 発酵 TMR は牛による飼料の嗜好性は良好であり、プロセアーゼ添加により培養初期のルーメン内消失率の改善効果があることを示した。

謝 辞

本研究を遂行するにあたって、山形大学農学部教授の高橋敏能博士には、終始懇切丁寧な指導と論文の校閲をしていただいた。山形大学農学部教授の堀口健一博士には実験の詳細部に亘る指導と論文の校閲をしていただいた。また、帯広畜産大学畜産学部准教授の花田正明博士には、終始適切な指導の労を賜った。山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター教授の吉田宣夫博士には本論文の作成にあたり貴重な助言を賜った。弘前大学農学生命科学部准教授の松崎正敏博士、帯広畜産大学畜産学部教授の日高 智博士には論文のご校閲を賜った。

筆者が新潟大学在学中、新潟大学名誉教授の廣田秀憲博士、新潟大学名誉教授の伊東睦泰博士、新潟大学自然科学系 生命・食料科学系列 農学部准教授の岡島 毅博士には多大なご指導を賜った。

実験の実施にあたっては、山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター技術員の森田昌孝氏、山形大学農学部生物生産学科農業生産学講座動物生産学分野の学生諸氏に多大なご協力をいただいた。

試験試料のうち配合飼料原料は清水港飼料株式会社石巻工場、酵素は明治製菓株式会社、DDGS は住友商事株式会社食料部から提供していただいた。

ここに記して各位に感謝を申し上げる。

引用文献

A

浅田 勉・角田成幸・甫立京子・松本 博 (2009) 新たな飼料原料を活用した肉用牛発酵 TMR の開発. 群馬畜試研報 16 : 8-18

Anderson JL, Schingoethe DJ, Kalscheur KF, Hippen AR (2006) Evaluation of dried and wet distillers grains included at two concentrations in the diets of lactating dairy cows. J Dairy Sci 89 : 3133-3142

艾尼瓦尔艾山・安宅一夫・檜崎 昇・野 英二 (1998) *Acremonium cellulolyticus* Y-94 由来の細胞壁分解酵素の添加がサイレージの発酵品質, 乾物回収率および細胞壁成分に及ぼす影響. 日草誌 43 : 406-412

B

Baker SB, Summerson WH (1941) The colorimetric determination of lactic acid in biological material. J Biol Chem 138 : 535-554

Bampidis VA, Robinson PH (2006) Citrus by-products as ruminant feed: A review. Anim Feed Sci Technol 128 : 175-217

Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW (2002) Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. J Dairy Sci 85 : 2948-2963

Burns JC (1978) Symposium: forage quality and animal performance. Antiqually factors as related to forage quality. J Dairy Sci 61 : 1809-1820

Broderick GA, Wallace RJ, Ørskov ER, Hansen L (1988) Comparison of estimates of ruminal protein degradation by in vitro and in situ methods. J Anim Sci 66 : 1739-1745

C

- Cao Y, Takahashi T, Horiguchi K (2009) Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. *Anim Feed Sci Technol* 151 : 1-11
- Cao Y, Takahashi T, Horiguchi K, Yoshida N (2010) Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and in vitro ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. *Grassl Sci* 56 : 19-25
- Cheeke PR (1995) Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock. *J Anim Sci* 73 : 909-918
- Cherney DJR, Alessi MA, Cherney JH (2006) Influence of grass species and sample preparation on ensiling characteristics. *Crop Sci* 46 : 256-263
- 中央畜産会（2008）平成 19 年度国産飼料資源活用促進総合対策事業うち未活用・低利用資源の飼料化促進事業のとりまとめ，新たな飼料資源（とうもろこし DDGS）の活用について.中央畜産会，東京, p1-49
- 中央畜産会（2009）平成 20 年度国産飼料資源活用促進総合対策事業うち未活用・低利用資源の飼料化促進事業のとりまとめ，新たな飼料資源（とうもろこし DDGS）の成分分析等の結果について.中央畜産会，東京, p1-57
- 中央畜産会（2010）平成 21 年度国産飼料資源活用促進総合対策事業うち未活用・低利用資源の飼料化促進事業のとりまとめ，新たな飼料資源（とうもろこし DDGS）の成分分析等の結果について.中央畜産会，東京, p1-106
- Conway EJ (1962) *Microdiffusion Analysis and Volume Tonic Error*, 5th edn. Crosby Lockwood, London, 322

F

藤井義晴・橋爪 健（2005）牧草・飼料作物および雑草に含まれる有害物質
と家畜中毒.牧草と園芸 53 : 9-13

G

ゴールドマン・サックス（2010）BRICs, ネクスト 11 ってなに？／ネクス
ト 11 の基本を学ぼう
[http://www2.goldmansachs.com/japan/gsitm/column/emerging/next11/i
ndex.html](http://www2.goldmansachs.com/japan/gsitm/column/emerging/next11/index.html) [2010 年 11 月 5 日参照]

H

林 兼六・伊沢 健・太田 実（1966）草類嗜好性の測定方法に関する研究
第 1 報給与草の嗜好性に関する数種測定法の比較. 日草誌 11 :
168-173

林 兼六・伊沢 健（1966）草類嗜好性の測定方法に関する研究第 2 報放牧
草の嗜好性測定における数種方法間の比較. 日草誌 11 : 174-179

林 兼六・二瓶 章（1967）草類嗜好性の測定方法に関する研究第 3 報給与
草の嗜好性測定における Cafeteria 法実施要領の検討. 日草誌 12 :
223-230

林 兼六・伊沢 健・小田島守（1967）オーチャードグラスのサイレージお
よび干草における嗜好性の変化. 日草誌 12 : 231-236

Henderson AR, McDonald P, Anderson D (1982) The Effect of a cellulase
preparation derived from *Trichoderma viride* on the chemical changes
during the ensilage of grass, lucerne and clover. J Sci Food Agric 33 :
16-20

半杭真一・高萩淳子（2006）リードカナリーグラスは低投入持続型の土地利
用ができる.福島畜試研報 14 : 1-5

- Higginbotham GE, Mueller SC, Bolsen KK, DePeters EJ (1998) Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. J Dairy Sci 81 : 2185-2192
- 平野 進・堀田三郎・金子武生 (2007) 新登場飼料原料.DDGS - トウモロコシ蒸留粕.畜産技術協会, 東京, p1-113
- 堀 誠・奥 透 (2001) 未利用資源の高度利用技術 1) 豆腐粕保存試験. 長崎畜試研報10 : 59-60
- 堀井 聡 (1971) 栄養実験のための理化学的分析方法. 動物栄養試験法 (森本宏監修), 養賢堂, 東京, p280-285
- 星野四郎・酒井友慶・今井悌三 (1971) リードカナリーグラスの新しい評価. 日草誌 17 : 141-144
- 星野四郎 (1983) リードカナリーグラスの再生特性と採草地への適用. 新潟県農研報 32 : 1-6
- 星野四郎・伊藤公一・宗村明次 (1984) リードカナリーグラスを混播した草地の植生遷移. 新潟県農研報 35 : 53-54
- I
- 生田健太郎・山口悦司・片岡 敏 (2010) 泌乳牛へのバイオエタノール残さ給与が乳生産性と栄養代謝に及ぼす影響. 兵庫農技総セ研報 46 : 15-21
- 今井明夫 (2001) 高水分粕類のサイレージと利用 (その 1) 1. 粕類のサイレージ化の意義. 日草誌 47 : 307-313
- 井内浩幸 (2008) 天北地域におけるリードカナリーグラスの刈取時期と飼料成分. 北農 75 : 14-19
- 板橋久雄 (2006) ルミノロジーの基礎と応用, 高泌乳牛の栄養生理と疾病対策. 小原嘉昭編, 農文協. 東京. p39

J

Jacobs JL, McAllan AB (1991) Enzyme as silage additives 1. Silage quality, digestion and performance in growing cattle. Grass Forage Sci 46 : 63-73

Jacobs JL, Cook JE, McAllen AB (1991) Enzyme as silage additives 2. The effects of grass dry matter content on silage quality and performance in sheep. Grass Forage Sci 46 : 191-199

Jacobs JL, McAllen AB (1992a) Protein supplementation of formic-acid and enzyme-treated silages 1. Digestibilities, organic matter and fibre digestion. Grass Forage Sci 47 : 103-113

Jacobs JL, Haines MJ, McAllan AB (1992b) The effects of different protein supplements on the utilization of untreated, formic acid-treated or enzyme-treated silages by growing steers. Grass Forage Sci 47 : 121-127

Janicek BN, Kononoff PJ, Gehman AM, Doane PH (2008) The effect of feeding dried distillers grains plus soluble on milk production and excretion of urinary purine derivatives. J Dairy Sci 91 : 3544-3553

自給飼料利用研究会（編）（2009）粗飼料の品質評価ガイドブック．日本草地畜産種子協会，東京，p1-195

K

梶川 博（2009）バイオエタノール製造副産物（DDGS）における栄養成分の変動と反芻家畜における利用性に影響を及ぼす要因の解明．新たな飼料資源（とうもろこし DDGS）の成分分析等の結果について（平成 20 年度 国産飼料資源活用促進総合対策事業のうち未活用・低利用資源の飼料化促進事業のとりまとめ）中央畜産会．東京． p1-14

- 片山信也（2001）高水分粕類のサイレージ化とその利用（その1）2．パイ
プロ飼料の栄養特性とその保存方法．日草誌 47：311-317
- 川俣満郎（2010）海外及び日本における DDGS 使用実態．新たな飼料資源
（とうもろこし DDGS）の成分分析等の結果について（平成 21
年度 国産飼料資源活用促進総合対策事業のうち未活用・低利用資
源の飼料化促進事業のとりまとめ）中央畜産会．東京.p1-3
- Kawamoto K, Zhang J, Aoki Y, Kamo M (2009) Preventing a decrease in the
palatability of round baled silage by preserving it as fermented total
mixed ration. Grassl Sci 55：52-56
- Keane MG, Drennan MJ, Moloney AP (2006) Comparison of supplementary
concentrate levels with grass silage, separate or total mixed ration feeding,
and duration of finishing in beef steers. Live Sci 103:169–180.
- 国分洋一・志賀 茂・小山嘉男（1984）リードカナリーグラスの調製，利用．
乾草及びサイレージの嗜好性．東北農業研究 35：181-182
- 北村 亨（2010）よく食い込める嗜好性の良いサイレージを調製しましょ
う！．牧草と園芸 58：11-14
- 木村信熙・高橋奈緒子（2007）DDGS の飼料原料としての特性と栄養価．栄
養生理研究会報 51：25-30
- M
- 増子孝義・小野淳史・古川信明・大谷 忠（1994a）北海道で栽培した寒地
型イネ科牧草における粗蛋白質，ADF および可溶性糖類（WSC）
含量の生育ステージ別，刈取り回次別変化．日草誌 40：227-229
- 増子孝義・兒玉巖雄・植松 斉・久保井栄・前田良之・山中良忠（1994b）北
海道で栽培した寒地型イネ科草における単糖・二糖類含量の生育ス
テージ別，刈取り回次別変化．日草誌 40：230-233

- 増子孝義（1994）サイレージの科学．デイリー・ジャパン社，東京，p95
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (内田仙二・大島光昭監修) (1995) サイレージの生化学第2版．デイリー・ジャパン社，東京，p111-324
- 宮崎 茂（2007）特集 飼料の安全・安心をどのようににかち獲るか 飼料に含まれる可能性のある有毒物質の安全性は？日草誌 52：275-282
- 森本 宏（1971）動物栄養試験法．養賢堂，東京，p280-298
- N
- Nadeau EMG, Buxton DR (1997) Cellulase and bacterial inoculant effects on cocksfoot and lucerne ensiled at high dry matter levels. J Sci Food Agric 73：369-376
- 長崎県畜産試験場（2006）平成17年度長崎県畜産試験場業務報告，長崎，p17
- 中畠吉直・波多江弘・石原 健・吉村征彌（1993）リードカナリーグラスの窒素施肥反応．九州農業研究 55:146
- 中畠吉直・波多江弘・石原 健・岩下秀逸・吉村征彌（1995）リードカナリーグラスの生育に及ぼす土壌水分の影響．九州農業研究 57:144
- 日本経済新聞（2010a）2010年8月7日記事．日本経済新聞社．東京．
- 日本経済新聞（2010b）2010年8月11日記事．日本経済新聞社．東京．
- 日本畜産学会（編）（2001）新編畜産用語辞典．養賢堂．東京．p347
- 日本草地学会（編）（2008）草地学用語辞典．全国農村教育協会．東京．p25
- Nishino N, Miyase K, Ohshima M, Yokota H(1997) Ruminant and whole tract digestion of long cut, short cut and pressed cake hay prepared from italian ryegrass by goats. Grassl Sci 43：83-87
- 西口靖彦・安藤 貞・早坂貴代史（2005）濃厚飼料多給条件下で測定した各種飼料のルーメン内分解特性．近畿中国四国農業研究センター研

究報告 4 : 61-67

丹羽美次 (2001) 高水分粕類のサイレージと利用 (その 1) 2. トウフ粕のサイレージ化と利用. 日草誌 47 : 323-326

No E, Harasawa Y, Ataku K, Narasaki N, Sueyoshi T (1985) Effect of cellulase preparation on fermentation of silage. Proc 15th Int Grassl Congr p937-938

Nocek JE (1985) Evaluation of specific variable affecting in situ estimates of ruminal dry matter and protein digestion. J Anim Sci 60 : 1347-1358

Nocek JE (1988) In situ and other method to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. J Dairy Sci 71:2051-2069

野方洋一 (2005) カンキツ果実の機能性成分の検索とその有効利用に関する研究. 近畿中国四国農業研究センター研究報告 5 : 19-84

野中和久 (2009) 飼料用イネ等を活用した発酵 TMR の調製・給与技術. <http://www.naro.affrc.go.jp/ET/h21/pdf7-7.pdf> [2010 年 10 月 26 日参照]

農林水産省 (2009) 平成 21 年度食料・農業・農村白書全文, 農林水産省, 東京, http://www.maff.go.jp/j/wpaper/w_maff/h21/zenbun.html [2010 年 11 月 13 日参照]

農林水産省 (2010a) 飼料をめぐる情勢.平成22年8月.生産局畜産部畜産振興課, 消費・安全局畜水産安全管理課, 東京, <http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/pdf/siryo8.pdf> [2010 年 12 月 13 日参照]

農林水産省 (2010b) 酪農及び肉用牛生産の近代化を図るための基本方針. 平成22年7月, 農林水産省, 東京, http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/pdf/h2207_kindai_hoshi

n.pdf [2010年11月19日 参照]

農林水産省（2010c）食料・農業・農村基本計画，農林水産省，東京，

http://www.maff.go.jp/j/keikaku/k_aratana/pdf/kihon_keikaku_22.pdf

[2010年11月13日 参照]

農林水産省（2010d）大豆をめぐる事情，農林水産省，東京，

http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/pdf/daizu_meguji_h2211.pdf

[2010年11月13日 参照]

農林水産消費安全技術センター（2007）飼料の安全性の確保及び品質の改善

に関する法律[独立行政法人に係る改革を推進するための独立行政

法人農林水産消費安全技術センター及び独立行政法人森林総合研

究所の一部を改正する法律附則第6条による改正]，平成19年3月30

日法律第8号，農林水産消費安全技術センター，

http://www.famic.go.jp/ffis/feed/hourei/sub1_houritu.html [2010年11

月20日 参照]

農林水産消費安全技術センター（2008）飼料等への有害物質混入防止のため

のガイドライン，（19消安第14006号），農林水産消費安全技術セン

ター， http://www.famic.go.jp/ffis/feed/tuti/19_14006_1.html [2010

年11月21日 参照]

農林省農林水産技術会議事務局監修（1975）牧草の可溶性炭水化物の定量法．

栄養診断のための栽培植物分析測定法（作物分析法委員会編），養

賢堂，東京， p335-339

農業技術研究機構（編）（2001）日本標準飼料成分表 2001 年版．中央畜産会，

東京， p1-245

農業・食品産業技術総合研究機構（編）（2007）日本飼養標準乳牛 2006 年版．

中央畜産会．東京

農業・食品産業技術総合研究機構（編）（2010）日本標準飼料成分表 2009
年版.中央畜産会.東京

O

落合昭吾・多田和幸・村上勝郎（1998）リードカナリーグラスの利用技術.
東北農業研究 51 : 135-136

岡田卓二（2004）当社が展開するウエット飼料“発酵 TMR”のご紹介. 牧草
と園芸 52 : 11-14

Okajima H, Smith D (1964) Available carbohydrate fractions in the stem bases
and seed of timothy, smooth brome grass, and several other northern
grasses. Crop Sci 4 : 317-320

岡本明治・花田正明（1999）サイレージの原料.サイレージ科学の進歩（内
田仙二編）, デーリィ・ジャパン社, 東京, p34-47

大竹浩二・土屋友充・国分洋一（1993）リードカナリーグラスの栽培と調整・
利用.福島畜試研究 7 : 5-19

大谷 忠・伊東睦泰・真島 操・根本正之（1992）リードカナリーグラス
(*Phalaris arundinacea* L.)の利用法の改善に関する研究（第1報）リ
ードカナリーグラスの生育習性と草質の関係. 東農大農学集報
37 : 64-73

大谷 忠・伊東睦泰・前田良之(1994)数種リードカナリーグラス(*Phalaris*
arundinacea L.)品種の生産性の比較.東農大農学集報 39 : 27-32

Otani T, Ito M, Maeda Y, Kurihara Y, Ogihara K, Kameoka K (1996) On the
growth stages of reed canarygrass(*Phalaris arundinacea* L.)and its
palatability by dairy cow. J Agri Sci Tokyo Nogyo Daigaku 41 : 53-37

Otani T, Ito M, Kurihara Y, Kameoka K, Maeda Y, Ogiwara K (1997) Changes in
alkaloids contents of reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) in

relation to cultivar, growth stage and plant parts. J Agri Sci Tokyo

Nogyo Daigaku 42 : 122-126

大谷 忠・栗原良雄・伊藤睦泰 (2004) リードカナリーグラス(*Phalaris arundinacea* L.)における低アルカロイド品種の生育特性と乾物生産との関係. 東農大農学集報 49 : 47 -52

Ørskov ER, Grubb DA, Kay RNB (1977) Effect of postruminal glucose pr protein supplementation on milk yield and composition in Friesian cows in early lactation and negative energy balance.Br J Nutr 38 : 397-405

Ørskov ER, McDonald I (1979) The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measures weighted according to rate of passage. J agric Sci Camb 92 : 499-503

P

Palmquist DL, Conrad HR (1982) Utilization of distillers dried grain plus soluble by dairy cows in early lactation. J Dairy Sci 65 : 1729-1733

Pinos-Rodríguez JM, Moreno R, González SS, Robinson PH, Mendoza G, Álvarez G (2008) Effects of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of total mixed rations fed to lambs. Anim Feed Sci Technol 142 : 210-219

S

雑賀 優 (1990) 牧草草種・品種間にみられる採食性の差異およびそれに影響を及ぼす要因.日草誌 36 : 60-66

崎田昭三・野中直喜・三好祐二・山下恒由 (1979) ミカンジュース粕乾燥粉末添加が高水分, 低蛋白, 低炭水化物材料サイレージの品質に及ぼす影響. 九州農業研究 41 : 132

SAS institute Japan (1995) SAS/STAT ソフトウェアユーザーズガイド. SAS

出版局．東京

佐藤 庚（1973）寒地型イネ科4草種の出穂期における生産構造の比較．日草誌 19：208－214

Schaafsma AW, Limay-Rios V, Paul DE, Miller JD (2009) Mycotoxins in fuel ethanol co-products derived from maize: a mass balance for deoxynivalenol. J Sci Food Agric 89 : 1574–1580

Seale DR, Henderson AR, Pettersson KO, Lowe JF (1986) The effect of addition of sugar and inoculation with two commercial inoculants on the fermentation of lucerne silage in laboratory silos. Grass Forage Sci 41 : 61-70

Selmer-Olsen I, Henderson AR, Robertson S, McGinn R (1993a) Cell wall degrading enzyme for silage1. The fermentation of enzyme-treated ryegrass in laboratory silos. Grass Forage Sci 48 : 45-54

Selmer-Olsen I, Henderson AR, McGinn R (1993b) Cell wall degrading enzymes for silage2. Aerobic stability of enzyme-treated laboratory silages. Grass Forage Sci 48 : 55-63

Simons AB, Marten GC (1971) Relationship of indol alkaloids to palatability of *Phalaris arundinacea* L. Agron J 63 : 915-919

塩谷 繁・細田謙次・松山裕城（2007）発酵TMRの飼料特性と利用の展望．栄養生理研究会報 51：1-5

新城明久（1995）PC SASによる基礎統計学入門 第1版．東海大学出版，東京，p68-112

須藤 立・堀口健一・高橋敏能・豊川好司（2007）緑茶飲料残さの配合割合と水分含量が TMR サイレージの発酵品質と in situ 消失率に及ぼす影響．日草誌 53：127-132

曹陽・堀口健一・高橋敏能（2009）食品残渣と乳酸菌の利用が飼料イネ TMR
サイレージの発酵品質改善並びに in vitro による乾物消失率および
メタンと揮発性脂肪酸生成に及ぼす影響.日草誌 55：1-8

Spiehs MJ, Whitney MH, Shurson GC (2002) Nutrient database for distillers dried
grains with soluble produced from new ethanol plants in Minnesota and
South Dakota. J Anim Sci 80：2639-2645

T

田川伸一・岡島 毅・伊東睦泰（2001）リードカナリーグラス（*Phalaris
arundinacea* L.）サイレージの発酵品質に及ぼす酵素製剤の影響. 日
草誌 47：157-162

高橋正宏・阿部 亮（1991）種々の飼料のルーメン内総繊維消化率に及ぼす
デンプン水準の影響. 日草誌 36：452－457

高橋正行（1989）稲わらサイレージの品質，細胞壁成分および消化率に及ぼ
すセルラーゼ製剤添加の影響. 富山県立技術短期大学研究報告 23：
116-120

高橋奈緒子・川井直子・金子武生・木村信熙（2008）トウモロコシ蒸留粕
（DDGS）の加湿高温保存時における品温，水分，油脂性状，トコ
フェロール含量，色およびにおいの変化.日畜会報 79：369-376

田村良文・伊藤一伸・的場和弘・伏見昭秀・加川珠輝（1996）リードカナリ
ーグラスとアルファルファの持続的混播栽培 1．播種～利用 1 年目
の生育を中心に. 東北農業研究 49：121-122

田村良文・的場和弘・伏見昭秀（1998）リードカナリーグラスとアルファル
ファの持続的混播栽培 2．アルファルファの優占化について. 東北
農業研究 51：137-138

田村良文（2001）リードカナリーグラスとアルファルファの混播栽培農家に

おける実証. 東北農業研究 54 : 119-120

田中 治・大桃定洋 (1995) プラスチックフィルムを用いた小規模サイレー
ジ発酵試験法 (パウチ法) の開発. 日草誌 41 : 55-59

Tavčar-Kalcher G, Vengušt A (2007) Stability of vitamins o premix. Anim Feed
Sci Technol 132 : 148-154

時田昇臣・横山 忠・牧田 昇・羽鳥元治・吉村 格・紺野 耕 (2001) リ
ードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) 部位別生育特性及び
栄養価. 日草誌 47 : 56-61

友田裕代・浜谷 徹・田中 治・北本宏子・大桃定洋・河野敏明・丹野 裕
(1997) アルファルファサイレージ (*Medicago sativa* L.) の発酵品質
に及ぼす *Acremonium cellulolyticus* Y-94 由来部分精製酵素の影響.
日草誌 42 : 343-347

U

Uddin MK, Kita J, Horaoka H, Kondo M, Karita S, Goto M (2009) Effects of
brewer's by-product on the fermentation quality of ensiled total mixed
ration. J Food Agric and Environment 7 : 804-810

内田仙二 (編) (1999) サイレージの科学の進歩, デーリィ・ジャパン社,
東京, p1-287

United States Department of Agriculture (2009) World agricultural supply and
demand estimates. United states department of agriculture world
agricultural outlook board, Washington D.C. ,
<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/> [2009年10月1日 参照]

V

Van Soest PJ (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds II . A rapid
method for the determination of fiber and lignin. J Assoc Offic Anal

Chem 46 : 829-835

Van Soest PJ, Wine RH (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds
IV. Determination of plant cell wall constituents. J Assoc Offic Anal
Chem 50 : 50-55

Van Vuuren AM, Bergsma K, Frol-Kramer F, Van Beer JAC(1989) Effects of
addition of cell wall degrading enzymes on the chemical composition
and the *in sacco* degradation of grass silage. Grass Forage Sci 44 :
223-230

W

Waldo G, Nuez O, Peiqiang Y (2009) Nutrient variation and availability of wheat
DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. J Sci Food
Agric 89 : 1754-1761

Wang F, Nishino N (2008) Ensiling of soybean curd residue and wet brewers
grains with and without other feeds as a total mixed ration. J Dairy Sci
91 : 2380-2387

Woods DL, Hovin AW, Marten GC (1979) Seasonal variation of hordenine and
gramine concentration and their heritability in reed canarygrass. Crop
Sci 19 : 853-857

X

徐春城・蔡 義民・守谷直子・吉田宣夫（2006）乳酸菌添加による稲ワラロー
ールベールサイレージの発酵品質，乾物摂取量および栄養価の改善。
日草誌 52: 166-169

Y

山田豊一（1997）飼料生産 飼料作物の栽培利用と草地の造成管理．東京農
業大学社会通信教育部，東京， p173-174.

- 山本嘉人・小山信明・進藤和政・萩野耕司（1999）ロールベール体系に対応したリードカナリーグラス草地の省力管理技術.九州農業研究. 61 : 133
- 依米堤烏斯満・蒲生夕子・金 完哉・平岡啓司・竹田元治・堀口健一・高橋敏能・吉田宣夫・後藤正和（2006）グルタミン酸発酵副産液添加によるイネ（*Oriza sativa* L.）ホールクロップサイレージの発酵品質ならびに in situ ルーメン消化率の改善効果. 日草誌 52 : 17-22
- 横山 学・浅岡壮平・梅田剛利・古賀康弘・大西遊喜（2009a）乳牛用 TMR への酵素剤添加がスーダングラス乾草の in situ 消失率に及ぼす影響（短報）. 福岡農総試研報 28 : 8-10
- 横山 学・馬場武志・太田 剛・平井一樹（2009b）麦焼酎粕濃縮液を混合した TMR サイレージの発酵品質および乾乳牛の嗜好性. 福岡農総試研報 28 : 1-7

Z

- Zanton GI, Heinrichs AJ (2009) Evaluation of modeling procedure for fitting in situ feed degradation profiles. J Anim Sci 87 : 2080-2088