

ヨシ (*Phragmites communis* Trin.) の
飼料化に関する研究

石川県立大学 生物資源環境学研究科
自然人間共生科学専攻

浅野 桂吾

ヨシ (*Phragmites communis* Trin.) の飼料化に関する研究

目次

略語

第1章 研究の背景と目的.....	1
1-1. 日本の畜産業の概況	1
1-2. ヨシの未利用資源としての位置付け.....	1
1-3. ヨシの飼料化研究の概況	2
1-4. 本研究の目的と論文の構成.....	3
第2章 刈取年次及び刈取回次がヨシの収量及び栄養価に与える影響.....	6
2-1. 緒言	6
2-2. 材料及び方法.....	6
2-2-1. 試験圃場の概要.....	6
2-2-2. 実験区画の設置、管理及びサンプリング方法.....	7
2-2-3. 収量及び化学成分の測定.....	7
2-2-4. 生育速度の解析.....	8
2-2-5. 統計解析	8
2-3. 結果及び考察	8
第3章 ヨシの付着乳酸菌の解析ならびに乳酸菌及び糖の添加がヨシサイレージの発酵品質に与える影響.....	12
3-1. 緒言	12

3-2.	材料及び方法	13
3-2-1.	サイレージ材料草及び付着乳酸菌の分析サンプルの採取	13
3-2-2.	付着乳酸菌の単離培養及び菌数の測定	13
3-2-3.	16SrDNA 配列解析による菌種の同定	13
3-2-4.	サイレージ材料草の化学成分の分析	14
3-2-5.	サイレージ調製試験	14
3-2-6.	サイレージ発酵品質の分析	14
3-2-7.	統計解析	14
3-3.	結果及び考察	15
第4章	窒素施肥、刈取回次、セルラーゼ・乳酸菌混合剤の添加がヨシサイレージ発酵品質に与える影響	19
4-1.	緒言	19
4-2.	材料及び方法	20
4-2-1.	実験区画の設置、管理及びサイレージ材料草の採取	20
4-2-2.	サイレージ材料草の化学成分組成の分析	20
4-2-3.	サイレージ調製試験	20
4-2-4.	サイレージ発酵品質の分析	21
4-2-5.	統計解析	21
4-3.	結果及び考察	21
第5章	ヨシサイレージのヒツジにおける栄養価と粗飼料としての利用性の評価	28
5-1.	緒言	28
5-2.	材料及び方法	29
5-2-1.	ヨシサイレージの調製	29
5-2-2.	試験1：ヨシサイレージ消化率の測定	29

5-2-3.	試験 2 : ヨシサイレージと輸入乾草を給与した維持期ヒツジにおける養分摂取量、咀嚼行動、消化管通過速度の比較	30
5-2-4.	ヨシサイレージ発酵品質の分析	30
5-2-5.	化学成分組成の分析	31
5-2-6.	咀嚼行動の測定	31
5-2-7.	消化管通過速度の測定	31
5-2-8.	統計解析	32
5-3.	結果及び考察	32
5-3-1.	ヨシサイレージの消化率及び TDN 含量	32
5-3-2.	維持期成雌ヒツジにおけるヨシサイレージ主体飼料と輸入乾草の養分摂取量、咀嚼行動、消化管通過速度の比較	34
第 6 章	維持期黒毛和種繁殖雌ウシにおけるヨシサイレージ給与水準の違いが養分摂取量、咀嚼行動、第一胃液性状、血液性状に与える影響	38
6-1.	緒言	38
6-2.	材料及び方法	38
6-2-1.	ヨシサイレージの調製	38
6-2-2.	黒毛和種繁殖雌ウシにおけるヨシサイレージ給与試験	39
6-2-3.	化学成分組成の分析	40
6-2-4.	咀嚼行動の測定	40
6-2-5.	統計解析	40
6-3.	結果及び考察	41
第 7 章	総括と今後の展望	46
7-1.	本研究の総括	46
7-2.	飼料としてのヨシサイレージ利用の今後の展望	48

謝辞	51
引用文献	53
本論文を構成する論文	58

略語

CA	crude ash	粗灰分
CP	crude protein	粗タンパク質
DM	dry matter	乾物
EE	ether extract	粗脂肪
FM	fresh matter	新鮮物
NCWFE	nitrogen cell wall free extracts	糖・デンプン・有機酸類
NDF	neutral detergent fiber	中性デタージェント繊維
Oa	organic a	低消化性繊維
Ob	organic b	高消化性繊維
OCC	organic cellular contents	細胞内容物質の有機物部分
OCW	organic cell wall	細胞壁物質（総繊維）
OM	organic matter	有機物
TDN	total digestible nutrients	可消化養分総量

第1章 研究の背景と目的

1-1. 日本の畜産業の概況

国内における自給食糧であるコメの消費量の減少と油脂類や畜産物などの自給率の低い食品の消費量の増加により、2014年における日本の食料自給率はカロリーベースで39%となっている（農林水産省 2015a）。畜産物の60%は国内で生産されているが、飼料自給率はTDNベースで27%と低く、飼料用穀類に至っては88%が輸入されている。粗飼料自給率においては1989年の86%から2012年かけて10ポイントもの低下がみられ、粗飼料輸入量は392千トンほど増加した（農林水産省 2015b）。つまり、日本の畜産業は輸入飼料に大きく依存しているのが現状である。しかし、近年のアジアをはじめとする新興国の飼料需要の増加や、アメリカ合衆国、カナダ、オーストラリアなど飼料生産国における異常気象による生産の不安定化によって、輸入飼料の生産減少と価格高騰が顕著となるとともに、今後の持続的な飼料輸入が困難になることが懸念されている。このことから、国内飼料自給率の低迷が続くことによる畜産経営の負担増大、小規模畜産経営の破綻など国内畜産業への影響の深刻化が問題視されており、その解決策が切望されている。飼料自給率の向上にむけて、国内では様々な研究および取り組みが行われているが、その一つとして未利用資源の飼料活用がある。食品の製造過程で排出されて廃棄されてきた食品残渣や山地や原野などに自生する野草などを、飼料として利用する方法である。例として、食品製造残渣であるキノコ廃菌床（小柳ら 2001）やタケノコ皮（川口ら 1977）、山野に豊富に自生するササ（奥山ら 2009）などはウシなどの反芻家畜の粗飼料としての利用が可能であるという報告があり、そうした循環型畜産に向けた粗飼料資源の開発が数多く進められている。

1-2. ヨシの未利用資源としての位置付け

ヨシ（*Phragmites communis* Trin.）は湿地帯に分布するイネ科多年性の野草種である。この野草は頑丈な茎、長い葉、地下で水平あるいは垂直に広がる20-200cmの地下茎を有しており、この地下茎に蓄えた栄養やホルモンを利用して生育する（図 1-1）。ヨシは春から秋にかけて生育し、草丈は4m以上に達することもある。4月に地下茎から出芽した後、貯蔵栄養と光合成によって7月頃まで草丈が伸張し、7月以降に出穂、開花すると晩夏から初冬にかけて地下茎に栄養を蓄えると同時に地下茎の伸長が起こる。このようにヨシは地域一帯に群落を形成し、分布を拡げる大型の野草とされている（Cross and Fleming 1989）。ヨシはアジア、欧米、アフリカなど世界中に分布しており、日本でも全国の耕作放棄地や河川敷に豊富に存在している。しかし、国内ではそのほとんどが焼却処分あるいは放置されている未利用資源である。河川域や湖沼では水質浄化機能を持つヨシ群落の重要性が認められている（田畑ら 1996）が、一方で、水路や耕作地付近で繁茂するヨシは除草が困難なことや病害虫の発生源となりうることから強害雑草とされている（Holm *et al.* 1977）。また、ヨシ群落が拡大し、密に繁茂することからその地域内の他の植物コミュニティを侵

食し、植物生態系を破壊することも指摘されており、生物多様性の維持にむけたヨシの管理方法が検討されている (Cross and Fleming 1989 ; Ailstock *et al.* 2001)。

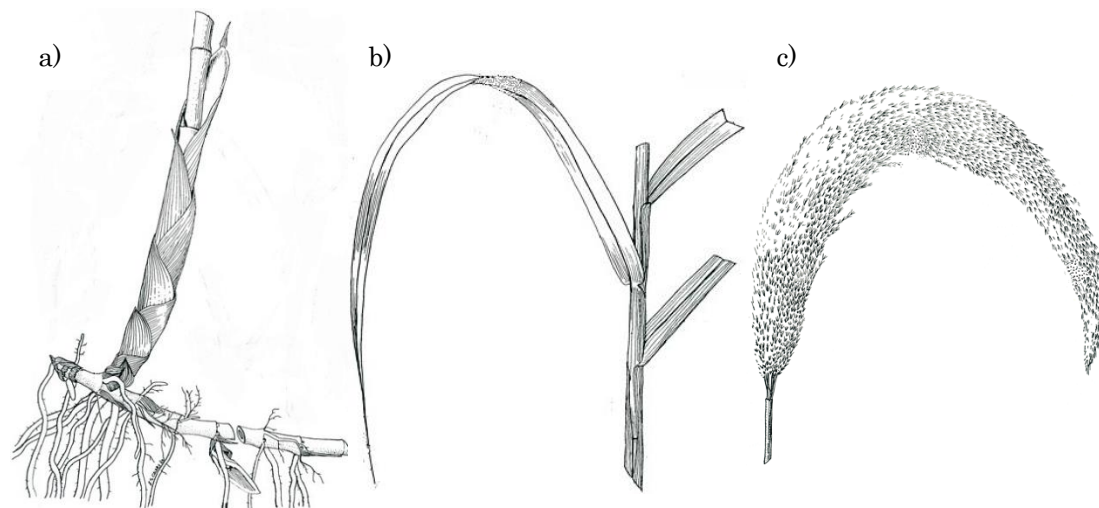


図 1-1 ヨシの a)地下茎、b)茎葉、c)穂の形態 (Holm *et al.* 1977)

石川県中部に位置する河北潟干拓地は 1985 年までに農地化された。現在、農地面積は 1356ha であり、田畑や酪農団地が広がっているが、未入植の不耕作地も存在する。その干拓地内にはいくつかの大きな農業用水路や排水路、河川が巡っている。そうした不耕作地や水路護岸、河川敷には、ヨシ群落が繁茂しているが、そこでは景観保護や法面管理を目的に、ヨシを含めた雑草の刈取り除草を年数回行っている。刈取ったヨシは放置されており、現状では未利用の野草となっている。そこで、本研究は、国産粗飼料の生産拡大、自給飼料に立脚した循環型畜産に向けて、河北潟の未利用資源であるヨシの飼料化を目指した。

1-3. ヨシの飼料化研究の概況

これまでも、ヨシの飼料化を試みた研究報告がいくつかあり、ヨシの収量やサイレージとしての利用方法が検討されている (堀ら 2004a, 2004b; 小笠原ら 2004; 松井ら 2009)。堀ら (2004a) は 6 月と 11 月に収穫したヨシの乾物収量は、年間 1.45kg m^{-2} であったと報告している。一方、松井ら (2009) は 5 月から 10 月まで 1 ヶ月間隔で収穫し、年間 9.51kg m^{-2} の乾物収量を得ている。サイレージ調製を行う理由は、多雨多湿な日本の気候において、良質な乾草の調製が難しいことと、サイレージ飼料は長期貯蔵が可能であることにある。また、ヨシは干拓地などの湿地で生育するため、刈り倒してその場で天日乾燥することは難しく、サイレージのほうが質の高い粗飼料を調製できるものと推察される。堀ら (2004b) は、ヨシサイレージの発酵品質は、サイレージ用添加物を無添加の場合に酢酸発酵型の低品質なサイレージとなるが、フスマを添加することにより発酵品質を改善できると報告し

ている。また、松井ら（2009）は乳酸菌の添加によって乳酸発酵型の良質なサイレージを調製できることを報告している。彼らは、ヨシまたはヨシサイレージの化学成分組成や栄養価についても報告しているが、堀ら（2004b）は6月収穫のヨシサイレージは嗜好性に問題はないが、TDN 含量が 42.8%と低く、反芻家畜の TDN 維持要求量を充足できないことから、単味での利用については難しいことを示唆している。一方、小笠原ら（2004）はおおよそ糊熟期に収穫したヨシサイレージの TDN 含量は 54%であったとし、乳牛において飼料乾物中 1 割程度をヨシサイレージに置き換えても、健康に悪影響はなかったことを報告している。以上のいずれの報告でもヨシサイレージは粗飼料として利用でき、有用な粗飼料資源となる可能性を見出したが、これらの研究以降の報告はなく、実用化にまでは至っていない。

1-4. 本研究の目的と論文の構成

本研究において遂行された実験の概要についてのフローチャートを図 1-2 に示した。

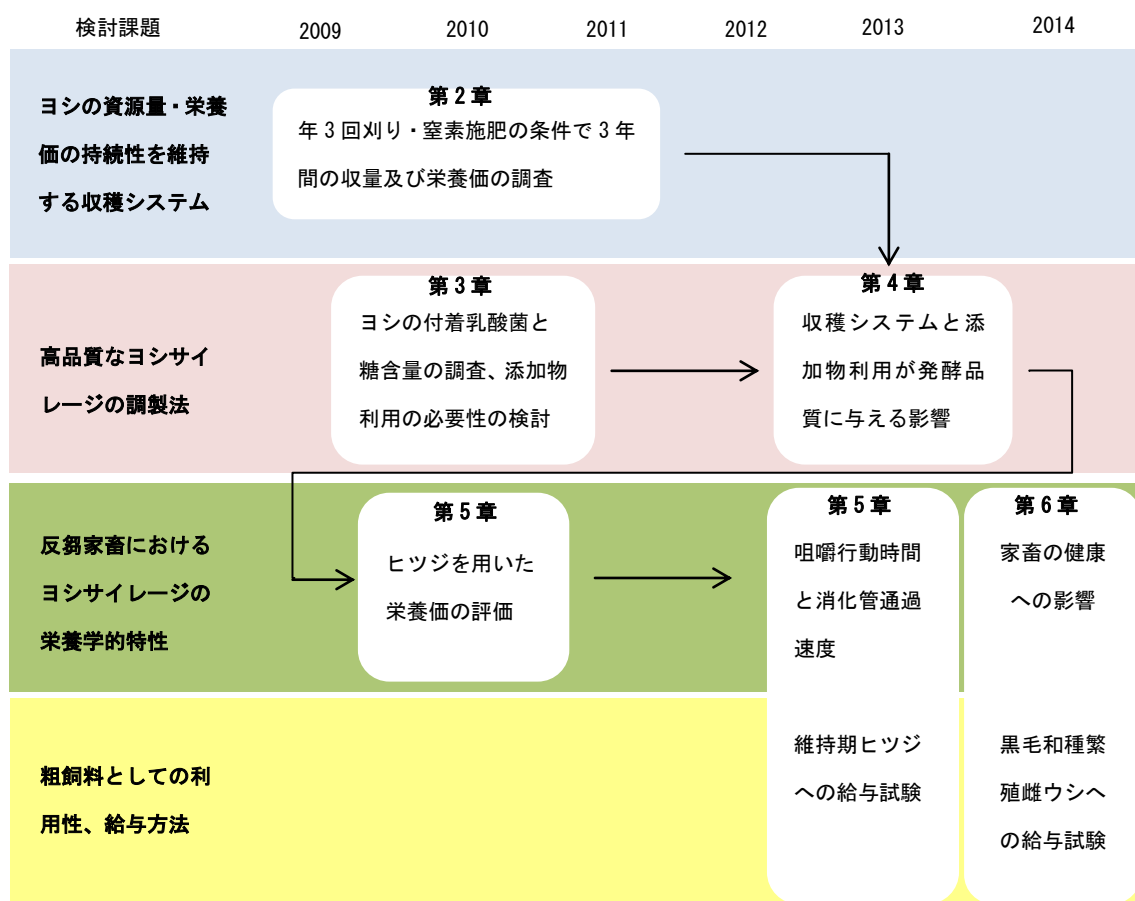


図 1-2 本研究における実験フローチャート

上述の過去の研究では、それぞれで収穫の時期や回数、ヨシの生育日数が異なり、ヨシの収量の差についての要因を一概に結論付けることができない。そうした収穫方法の違い

は収量だけでなく、化学成分組成や栄養価にも影響を及ぼすことが推察されるが、それらを明らかにした研究報告はない。また、このような粗飼料資源には持続性が重要となるため、複数年にわたりヨシを収穫して、その資源量の動態を調査することも必要であると考えられた。そこで本研究の第 2 章では、収穫方法とヨシの栄養的、量的持続性の関係を明らかにすることを目的に、年 3 回の多回刈りと窒素施肥を 3 年間継続して行い、刈取年次と刈取回次が収量及び栄養価に与える影響を調査した。

サイレージの乳酸発酵には、糖と乳酸菌の双方の存在が不可欠である (McDonald *et al.* 1991)。ヨシサイレージの発酵品質は、無添加の場合に低く、添加物を利用することで改善されることが明らかとなっているが、堀ら (2004b) のフスマ添加サイレージの乳酸含量は、松井ら (2009) の乳酸菌添加サイレージに比べて低い値であった。このことから、まずヨシには良質なサイレージ発酵のための乳酸菌が不足していることが推察できる。一方で、松井ら (2009) が報告するヨシの糖含量は新鮮物中 1.6% であり、Gordon *et al.* (1964) が示すサイレージ発酵に必要な糖含量 2.0% よりも低い。しかし、上述のように松井ら (2009) は、良質な発酵品質のヨシサイレージを調製できている。この矛盾については糖や乳酸菌以外の要素が関連していることが推察され、ヨシから安定して良質なサイレージを調製するためには解明すべき点であると考えた。そこで、第 3 章では、添加物を利用した安定的な高品質ヨシサイレージ調製法を確立することを目的として、糖及び乳酸菌を添加するサイレージ調製試験を行うとともに、ヨシの糖含量、付着乳酸菌の菌種同定及び菌数測定を行った。

堀ら (2004a) は、ヨシの収量の持続に窒素施肥の必要性を示唆している。通常、牧草などでは窒素の施肥がサイレージの発酵品質に影響を与えることが知られており、多肥条件下のサイレージでは pH の上昇や酪酸含量の増加、乳酸含量の低下といった発酵品質の低下が起こる (和泉ら 1981)。ヨシにおいて、窒素施肥がサイレージの発酵品質に及ぼす影響は明らかでなかった。また、第 3 章の結果を踏まえて、ヨシサイレージ調製に利用できる実用的な添加物としてアクレモニウムセルラーゼと乳酸菌の混合製剤が考えられた。第 4 章では、ヨシの管理方法とサイレージ発酵品質の関係から高品質なヨシサイレージ調製法を見出すことを目的として、異なる窒素施肥条件下で多回刈りしたヨシにアクレモニウムセルラーゼと乳酸菌を添加するサイレージ調製試験を行った。

粗飼料として利用するためには、反芻家畜を用いた栄養学的評価は必須であり、第 4 章までの飼料化法を踏まえて調製されたヨシサイレージの飼料価値の評価が必要とされた。そこで、第 5 章では反芻家畜を用いた消化試験から、ヨシサイレージの消化率や TDN 含量などの栄養学的特性を解明した。さらに、家畜の飼養が可能であるかどうかを検討するため、ヨシサイレージ主体で構成した飼料について維持期ヒツジへの給与試験を行い、飼料摂取量及び養分摂取量からその利用性を評価するとともに、咀嚼行動時間や消化管通過速度を測定し、一般的な輸入乾草と比較することで、粗飼料としての特性を検討した。

すでに黒毛和種繁殖雌ウシや乳牛を用いた過去の研究で、ヨシサイレージ単味でのウシ

の養分要求量の充足は困難であるが、飼料中に少量配合した場合、ウシの健康に悪影響がないことが確認されている（堀ら 2004b；小笠原ら 2004）。しかし、ヨシの飼料利用を拡大するためには、既存の飼料を可能な限りヨシサイレージに置き換えることを目指さなければいけない。つまり、一般的に用いられる飼料とヨシサイレージを組み合わせる上で、ウシの飼養が可能であるヨシサイレージの給与水準を明らかにする必要がある。そこで、第 6 章では、ウシにおいてヨシサイレージの給与水準が消化率や養分充足率、ウシの健康状態に与える影響についても検討した。

第 7 章では、本研究についての総括を述べるとともに、本研究の成果から期待されるヨシの飼料利用に関して、今後の展望を述べた。

第 2 章 刈取年次及び刈取回数がヨシの収量及び栄養価に与える影響

2-1. 緒言

ヨシを飼料として利用する場合、安定した収量及び栄養価を確保し、持続させることが重要である。ヨシは春から夏にかけて生育が旺盛となり草丈が 4m にも達するため、草丈が高い時期の年 1 回刈りによって高い収量を見込むことができる。しかし、その場合、飼料としての栄養価が低下することが懸念された。堀ら (2004a, 2004b) は、刈取りを年 2 回 (6・11 月) とし、サイレージ調製を行った結果、一番草サイレージでも TDN 含量が 42.8%DM で、栄養価が低いことを報告している。また、収穫における機械の利用は迅速な作業と大規模な資源利用を可能にする。ヨシが繁茂するような湿地において、機動性の面で利用できる大型収穫機械は限られており、また、小型収穫機械では刈取りが可能な草丈に制限があることから、堀ら (2004a, 2004b) のように年 2 回刈りの場合では草丈が高すぎて (2.5m)、そのような小型機械収穫にも適さないと考えた。そこで、これらの問題を解決するヨシの刈取方法としては、多回刈りによって草丈の管理と栄養価の低下を防止することが考えられた。しかし、過去に、ヨシを年 2 回以上刈取り、複数年継続して収量や栄養価を調査した報告がなく、それらの持続性についても明らかではなかった。

本試験では、草丈が約 1m に生育したヨシの多回刈りを 3 年間繰り返し実施し、刈取年次及び刈取回数がヨシの収量及び栄養価に与える影響を調査することで、ヨシの飼料資源として持続性及び有用性を評価した。

2-2. 材料及び方法

2-2-1. 試験圃場の概要

試験圃場は石川県かほく市の河北潟干拓地内の耕作放棄地 (36°40'N, 136°41'E) で、試験期間は 2009 年から 2011 年であった。本圃場は約 40 年間不耕作であり、ヨシが優占繁茂していた。試験期間中の気象状況は表 2-1 に示すとおりであった。

表 2-1 試験期間中の気象状況

月	月間降水量(mm)			平均気温(°C)			日照時間(h)		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
4月	121.0	208.0	121.0	11.4	9.9	10.2	217.3	139.2	181.2
5月	84.0	121.5	216.0	16.7	15.5	16.0	175.2	179.9	169.4
6月	138.5	215.5	118.5	20.6	20.9	21.2	169.0	190.4	154.6
7月	479.5	310.0	129.5	23.9	25.5	25.8	87.4	220.3	188.8
8月	139.5	65.5	197.0	24.7	28.2	26.2	176.2	265.3	189.4

2-2-2. 実験区画の設置、管理及びサンプリング方法

試験圃場内に、図 2-1 のように 10×10m の実験区画を設け、4m×1m のプロットを 3 プロット設置した。2009 年 4 月 30 日に実験区画内のヨシを掃除刈りした後、プロット内のヨシが草丈約 1m に達した時点でサンプリングし、その後実験区画内を再び掃除刈りした。これらの操作を年 3 回繰り返した。各年次のサンプリング月日は、表 2-2 に示すとおりであった。実験区画内の掃除刈りは、草刈り機を用いて行い、刈り取った植物は全て区画外に持ち出して取り除いた。各プロット内の全てのヨシを地上部 10 cm の部位を鎌で刈取ってサンプリングし、別種の植物については取り除いた。また、サンプリング後のプロット内には、毎回 6gN m⁻² を施肥した。窒素施肥には 2009 年次は尿素、2010 年及び 2011 年次は化学肥料 (14-14-14) を用いた。

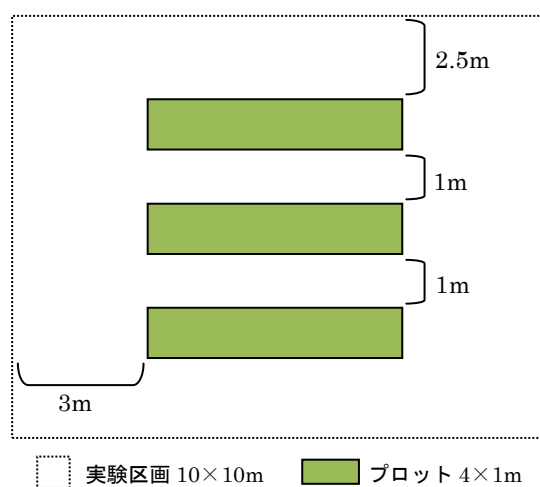


図 2-1 実験区画及びプロットの概要

表 2-2 試験期間中のサンプリングの年月日

刈取回次	刈取年次		
	2009	2010	2011
一番草	5月28日	5月20日	5月26日
二番草	6月25日	6月25日	7月11日
三番草	8月16日	8月3日	8月22日

2-2-3. 収量及び化学成分組成の測定

ヨシはプロットごとに FM 重量を測定後、設定細断長 22mm の飼料カッター (CH-15NF; ヤンマー, 大阪, 日本) によって細断し、60°C で 24 時間乾燥した。それらは 2mm のスクリーンを取りつけた粉碎機 (Heavy-Duty Cutting Mill SM2000; Retsch, Hann, Germany)

で粉碎後、1mmのフルイを取り付けた粉碎機(Cyclone Sample Mill Model 3010-030; UDY, Fort Collins, USA)で粉碎して分析試料とした。阿部(2001)の方法に従って、DM、CA、EEを分析した。DMは135°Cで2時間通風乾燥した後、乾燥前後の重量から求めた。CAは灰化後の残滓重量を測定して求めた。EEはジエチルエーテルを用いたソックスレー抽出法によって測定した。OCC、NCWFE、OCW、Oa、Obはアミラーゼ、アクチナーゼ、セルラーゼを用いた酵素分析法(Abe *et al.* 1979)により測定した。CPは窒素・炭素分析装置(Sumigraph Model NL-220F; 住化分析センター, 東京, 日本)を用いて測定した。TDN(%DM)はOCC、Oa、Ob(%DM)を用いた以下の式(阿部 1988)から算出された。

$$\text{TDN} = 1.111 \times (\text{OCC} + \text{Oa}) + 0.605 \times \text{Ob} - 18.8$$

2-2-4. 生育速度の解析

一番草、二番草、三番草の生育日数は、出芽後の生育ならびにサンプリング後の再生に要した日数で示した。一番草については掃除刈りを行った4月30日(2009年)、地上部に出芽が確認できた4月19日(2010、2011年)を生育開始日とし、サンプリングまでの日数を生育日数とした。生育速度は各刈取回次のDM収量(g m^{-2})及び生育日数(days)を用いて、以下の式から算出した。

$$\text{生育速度} (\text{g m}^{-2} \text{ day}^{-1}) = \text{DM 収量} / \text{生育日数}$$

2-2-5. 統計解析

統計解析にはSPSS (SPSS 18 for Windows; SPSS Japan, 東京, 日本)を用い、刈取年次及び刈取回次の収量と化学成分組成、生育速度への効果と相互作用、刈取年次の年間総収量への効果についてRepeated Measures ANOVAによって解析した。平均値の比較にはBonferroniの方法を用いた。生育日数と化学成分組成との相関関係をSPSSのBivariate Correlationsによって求めた。

2-3. 結果及び考察

ヨシのDM収量(kg m^{-2})には刈取年次及び刈取回次のそれぞれの効果($P < 0.05$)とそれらの相互作用($P < 0.001$)が認められた(表2-3)。2009年次の三番草のDM収量は二番草よりも有意に高かった($P < 0.05$)が、三番草については年次間で有意差は見られなかった($P > 0.05$)。各刈取回次におけるDM収量の差異は、生育日数と生育速度、あるいはその両方に起因すると推察されるが、本研究では生育期間の気象条件が全く異なるにも関わらず、生育速度は2010年次の一番草及び二番草を除いて、 $11 \text{gDM m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ であり、おおむね一定であった(表2-4)。このことから、刈取回次間におけるDM収量の差異は、気象条件の差異と生育速度が主な要因ではなく、刈取回次間の生育日数の差に起因することが示唆された。

表 2-3 刈取年次及び刈取回次がヨシの収量及び化学成分組成に及ぼす影響

	2009			2010			2011			効果		
	F	S	T	F	S	T	F	S	T	Y	H	Y×H
生育日数 (day)	28	28	52	31	36	39	37	46	42	-	-	-
収量 (kg m ⁻²)												
FM	1.71	1.52	1.91	2.55	1.53	1.45	1.84	1.78	1.75	NS	*	**
DM	0.33	0.30	0.60	0.46	0.31	0.44	0.46	0.55	0.45	*	*	***
化学成分組成 (%DM)												
OCC	23.5	22.5	16.9	22.9	21.8	20.3	21.7	12.5	11.9	***	***	***
CP	18.6	17.8	12.8	17.6	17.2	15.9	17.9	12.6	12.9	**	***	***
EE	2.3	2.2	2.3	4.1	4.3	4.2	3.1	2.5	2.2	***	NS	**
NCWFE	5.3	5.2	4.1	3.9	2.9	2.7	3.4	0.6	0.4	**	NS	NS
OCW	64.9	65.8	72.7	65.9	66.1	66.0	67.5	76.7	75.9	***	***	***
Oa	10.1	9.0	2.9	14.1	10.9	6.9	14.1	12.3	12.7	***	**	**
Ob	54.7	56.9	69.8	51.7	55.2	59.1	53.4	64.4	63.2	***	***	***
CA	11.7	11.6	10.4	11.3	12.1	13.8	10.8	10.8	12.2	**	***	***
TDN	51.6	50.6	45.5	53.6	50.9	47.1	53.3	47.7	46.8	**	***	***

F: 一番草, S: 二番草, T: 三番草, Y: 刈取年次, H: 刈取回次, *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001, NS: P>0.05

表 2-4 ヨシの一番草、二番草、三番草の生育速度 (gDM m⁻² day⁻¹)

刈取年次	一番草	二番草	三番草	平均	SE
2009	11.8	10.7	11.6	11.4	0.4
2010	15.0 ^a	8.5 ^b	11.3 ^a	11.6	0.3
2011	12.4	11.9	10.7	11.6	0.5

^a^b: 各刈取年次内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意, SE: 標準誤差

EE 及び NCWFE を除いた化学成分組成では、刈取年次及び刈取回次のそれぞれの効果 (P<0.01) とそれらの相互作用 (P<0.01) が認められた (表 2-3)。2009 年次及び 2010 年次の一番草と二番草、2011 年次が一番草の CP 含量は 17.2-18.6%DM であり、出穂前のイネ科牧草や開花期のアルファルファ (農業・食品産業技術総合研究機構 2010) に匹敵することが明らかとなった。一番草の TDN は 51.6-53.6%DM であり、チモシーの一番草開花後期 (農業・食品産業技術総合研究機構 2010) に匹敵した。しかし刈取回次間では、CP 含量は 2009 年次及び 2010 年次の三番草、2011 年次の二番草及び三番草で有意に低下した (P<0.05)。2009 年次、2010 年次、2011 年次の TDN 含量も二番草及び三番草、あるいはそのどちらかで有意に低下した (P<0.05)。TDN 含量は、三番草で 45.5-47.1%DM であり、

オーチャードグラスの一番草開花後期（農業・食品産業技術総合研究機構 2010）と同等の値であった。

ヨシは NCWFE 含量低く、OCW 含量が高いことから、デンプンをはじめとする可溶性炭水化物含量が低く、繊維含量が高いことが特徴であった。これらの結果は過去の研究報告と一致する。松井ら（2009）はヨシのグルコース、スクロース、フルクトース、OCW 含量はそれぞれ 2.0、1.1、1.2、75.5%DM であったとし、堀ら（2004a）はヨシの NDF 含量は高く、73.8%DM であったと報告している。NCWFE 含量は刈取年次のみの効果が確認され（ $P<0.01$ ）、刈取年次を重ねることで減少する傾向が見られた。しかし、多回刈りを複数年継続することと NCWFE 含量の減少について、その関係を明らかにするためにさらなる研究が必要であると考えられた。

OCC、CP、OCW、Oa、Ob、TDN 含量と生育日数の関係については、Oa と生育日数の相関関係は認められなかった（ $P\geq 0.05$ 、図 2-2d）が、生育日数の増加に伴い OCC、CP、TDN 含量は低下し（ $P<0.05$ 、図 2-2a, b, f）、OCW、Ob 含量は増加する（ $P<0.05$ 、図 2-2c, e）ことが明らかとなった。また、CP 及び TDN 含量については、生育日数が 40 日を過ぎることで急激に低下することが明らかとなった。つまり、ヨシは 35-40 日間隔の刈取りを行うことで、栄養価の高い状態での最大収量が得られるということが示唆された。

年間総 DM 収量は $1.21\text{-}1.45\text{kg m}^{-2}$ の範囲であり、刈取年次間での有意差は認められなかった（ $P>0.05$ ）。本試験の結果は、松井ら（2009）による年 2 回刈り時の年間総 DM 収量 $1.61\text{-}2.59\text{kgDM m}^{-2}$ よりも低かったが、堀ら（2004a ; 2004b）の報告する 1.45kgDM m^{-2} に近い値であった。したがって、本試験の年 3 回刈りの年間総 DM 収量は 2 回刈りの場合と比較しても必ずしも低い値ではないということが示唆された。ヨシは春に地下茎から出芽し、光合成によって生産された、または前年地下茎に貯蓄された炭水化物を利用して生育する。Karunaratne *et al.*（2004）や湯谷ら（2004）は、ヨシを 6 月に刈取ることによって地下茎の炭水化物貯蓄が減少し、翌年の生育が低下するが、7 月の刈取りではそのようなことは起きないと報告している。つまり、ヨシの年間総 DM 収量は前年の刈取りを行う時期や刈取回数によって影響を受けることを示唆している。しかし、本試験では 5 月下旬から 8 月にかけての年 3 回刈りにより 6 月の刈取りも行ったが、年次間の年間総 DM 収量の低下は認められず、彼らの報告とは一致しなかった。この理由のひとつとして、本試験では刈取り後に窒素の追肥が行われており、年間 18g m^{-2} の窒素が供給されていたことにあると考えられ、刈取り後に窒素施肥することによって収量を維持できることが推察された。

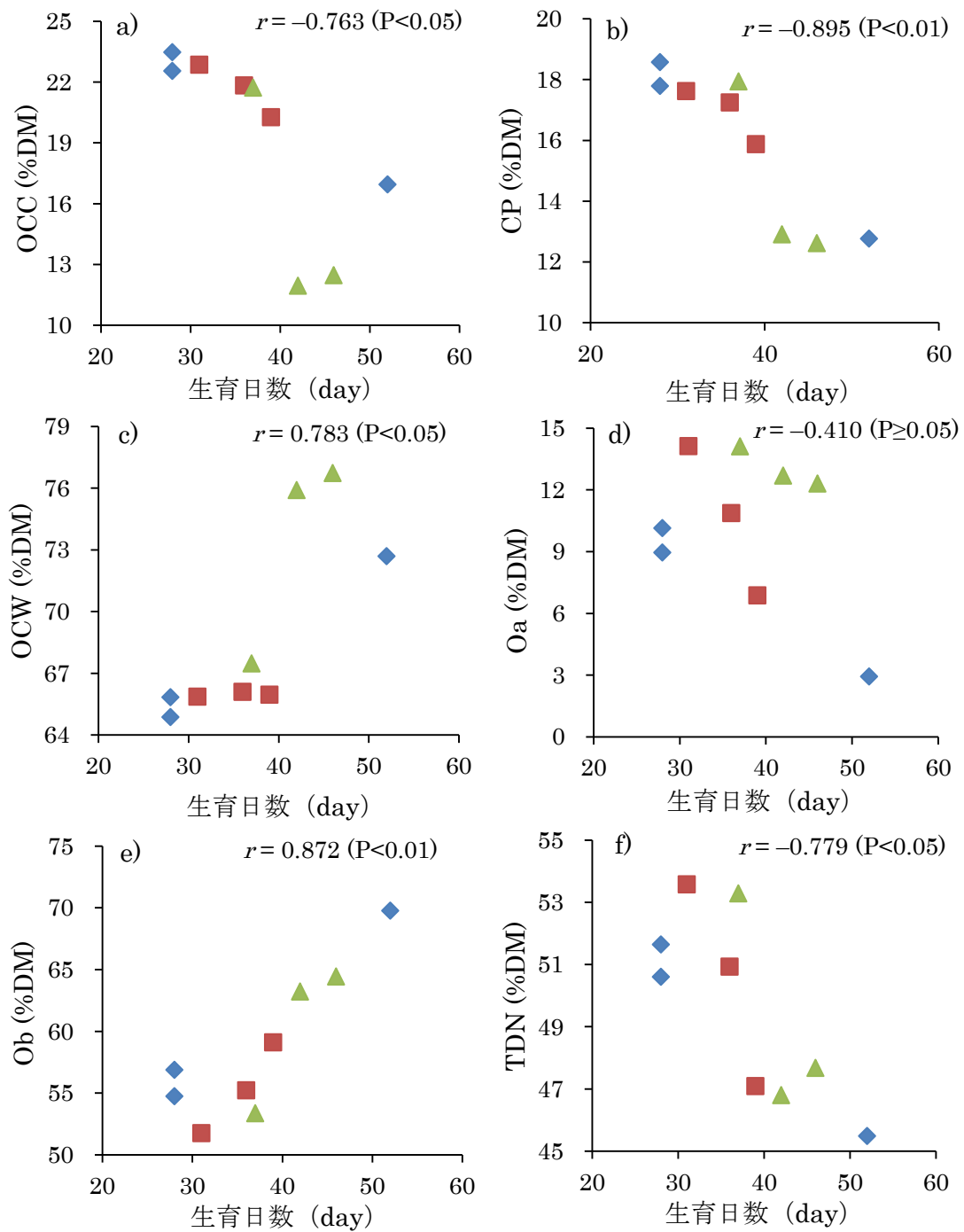


図 2-2 ヨシの化学成分組成と生育日数の関係
 ◆: 2009 年次, ■: 2010 年次, ▲: 2011 年次

第3章 ヨシの付着乳酸菌の解析ならびに乳酸菌及び糖の添加がヨシサイレー ジの発酵品質に与える影響

3-1. 緒言

ヨシを粗飼料として利用する場合、湿地での収穫と品質劣化が起こらない貯蔵を行わなければならない。すでに堀ら (2004a, 2004b) は自走式フレール型収穫機を用いることで、ヨシの収穫とロールベールサイレージの調製が可能であることを報告している。しかし、彼らが調製したヨシサイレージの pH は 5.1 と高く、発酵品質は低いことが示唆されている (堀ら 2004a)。

サイレージ発酵とは、一般的に嫌気条件下で植物自体に付着する乳酸菌が植物由来の糖から乳酸を生成し、pH を低下させ不良微生物の増殖を抑制することである (McDonald *et al.* 1991; 蔡ら 1994)。従って、乳酸菌及び糖の役割が重要である。*Lactobacillus* 属乳酸菌は、植物に付着する乳酸桿菌のひとつで、乳酸生成能はホモ発酵型とヘテロ発酵型の二種類に分けられる。ホモ発酵型では糖から効率良く乳酸を生成することができるため、サイレージ調製にはホモ発酵型乳酸桿菌の利用が適している (安宅 2011)。また、良質なサイレージの調製に必要な乳酸菌数は材料草 1gFM 当たり 10^5 cfu 以上とされている (安宅 2011)。一般に草類に付着している乳酸菌数は 10^2 – 10^3 cfu gFM⁻¹ 程度であると言われるが、飼料作物などに付着する乳酸菌の種類や菌数は、季節や地域、ヒト及び家畜の生活圏によってそれぞれ異なる (蔡ら 1991)。これまでにヨシに付着する乳酸菌種や菌数を調査した報告はなく、サイレージ調製に適した乳酸菌の存在やその数は不明であった。松井ら (2009) はヨシサイレージに乳酸菌を添加することで pH4.05、乳酸含量 1.25% の高品質なサイレージを調製可能であるとしており、ヨシには乳酸菌が不足していることが推察された。また、Gordon *et al.* (1964) は材料草の糖含量が 2.0%FM 以下の場合、良質なサイレージ調製が困難であるとしている。松井ら (2009) はヨシの糖含量が 4.3%DM (1.63%FM) であったと報告していることから、ヨシは良質なサイレージ調製のための糖含量についても不足していることが考えられたが、彼らのヨシサイレージの発酵品質は高かった。この理由として考えられることは彼らの材料草はサイレージ発酵に適した水分含量 (62.2%) であったためと考えられる。しかし、本研究におけるヨシは、第2章の結果から水分含量が 70–80% と高いことが分かっており、こうした高水分のヨシを材料として高品質なサイレージ調製が可能であるか否かは明らかでなく、添加物の必要性についても検討すべきであると考えられた。

そこで、本試験では高品質なヨシサイレージ調製法を確立することを目的として、ヨシの付着乳酸菌の解析と化学成分を測定し、乳酸菌及び糖が十分量存在するか否かを調査するとともに、乳酸菌及び糖を添加するサイレージ調製試験を行い、ヨシサイレージの発酵品質の改善に効果的な添加物を検討した。

3-2. 材料及び方法

3-2-1. サイレージ材料草及び付着乳酸菌の分析サンプルの採取

乳酸菌の解析及びヨシサイレージ材料としてのヨシの採集は、第2章の試験で利用した石川県かほく市の河北潟干拓地内の耕作放棄地内（36°40'N, 136°41'E）で行った。圃場内を2010年4月19日に掃除刈り後、草丈約1mに生育したヨシを5月20日に無作為に選び、地上部10cmから上部を鎌で刈取った。刈取ったヨシは、設定細断長22mmの飼料カッター（CH-15NF; ヤンマー, 大阪, 日本）で細切してサイレージの材料草とした。また、同圃場内からヨシを草丈が1m以上、0.5-1m、0.5m未満に別けて採取し、それぞれを細切して10gFMを取り、付着乳酸菌の解析に供するサンプルとした。また、6月23日に掃除刈りを行い、8月3日に再度草丈別に採取したヨシを付着乳酸菌の解析に供した。

3-2-2. 付着乳酸菌の単離培養及び菌数の計測

付着乳酸菌の培養は平板培養法により行った。サンプル10gFMに、生理食塩水（0.85% NaCl）90mLを加え、攪拌したものを10倍希釈液とし、さらに生理食塩水を加えて10²倍、10³倍希釈液を作成した。MRS寒天培地（MRS Agar [De Man, Rogosa, Sharpe]; Oxoid, Cambridge, UK）に、各希釈液0.1mLを塗布した。希釈液を塗布した培地は、脱酸素剤（Anaero Pack Kenki A-03; 三菱ガス化学, 東京, 日本）とともに嫌気培養ジャーに封入し、30°Cで2日間培養した。その後、培地上に出現したコロニーについて色調、形状、大きさが同様なものを同一菌種とみなし、その数をカウントした。10²倍、10³倍希釈液のそれぞれのコロニーについて16SrDNA配列解析による菌種同定を行い、同一菌種であることを確認した後、両希釈液のコロニー数を新鮮物中のコロニー数に換算し、それらの平均値を生菌数とした。両希釈液のコロニーはMRS液体培地（Difco Lactobacilli MRS Broth; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA）に移し、30°Cで2日間培養して16SrDNA配列解析に供した。

3-2-3. 16SrDNA配列解析による菌種の同定

乳酸菌のゲノムDNAは、Wizard Genomic DNA Purification Kit（Promega, Fitchburg, WI, USA）を用いて、添付説明書に従い調製した。このゲノムDNAを鋳型としてEx Taq DNA Polymerase（タカラバイオ, 東京, 日本）、プライマー7-F（5'-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3'）及び1510-R（5'-ACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'）を用いて16SrDNA断片の増幅を行った。増幅断片をQIAquick PCR Purification kit（Qiagen, Cambridge, MA, USA）を用いて精製し、シーケンス反応を行った。Genetic Analyzer（3130xl Genetic Analyzer; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA）を用いてシーケンス解析した後、得られた16S rDNAの塩基配列についてBLASTプログラム（National Center for Biotechnology Information 1990）を用いてDNAデータバンク

(GemBank/EMBL/DDBJ) に対する相同性検索を行い、菌種の簡易同定を行った。

3-2-4. サイレージ材料草の化学成分組成の分析

採取したサイレージ材料草の一部を化学成分の分析に供した。60°Cで24時間乾燥した後、第2章(2-2-3)で示した方法と同様に粉碎し、分析試料とした。DM、OM、EE、OCC、NCWFE、OCW、Oa、Ob、CPについても第2章(2-2-3)と同様の方法によって分析した。可溶性炭水化物(グルコース、スクロース、フルコース)は、分析試料1gに80%エタノール40mLを加えて振とうし、3000rpmで30分間遠心分離した上清液をイオンクロマトグラフィー(ICS-3000; Dionex, Camberley, UK)を用いて分析した。

3-2-5. サイレージ調製試験

サイレージ調製は田中・大桃(1995)の方法に従い、小規模サイロを用いて行った。処理区は無添加区、乳酸菌添加区(L区)、グルコース添加区(G区)、グルコース及び乳酸菌添加区(G+L区)とした。乳酸菌は*Lactobacillus plantarum* 畜草1号株(畜草1号; 雪印種苗, 北海道, 日本)を新鮮物の材料草100gに対して1.7mg添加し、グルコースは材料草に対して2%FM添加し混合した。それぞれの処理区の混合物100gをストマッカー用積層フィルム(飛竜KN-208; 旭化成パックス, 東京, 日本)に詰め、ヒートシーラー(SQ-203S; シャープ, 大阪, 日本)で脱気密封した。1処理区につき5袋作成し、室温・暗所で貯蔵した。サイレージは密封後80日目に全て開封し、約5mmの長さに細切して、発酵品質の分析に供した。

3-2-6. サイレージ発酵品質の分析

サイレージを60°Cで24時間通風乾燥し、その後、135°Cで2時間通風乾燥してDM重量を測定した。乾燥前の重量とDM重量との差をサイレージの水分含量とした。15gDMに相当するサイレージサンプルに蒸留水140mLを加えて攪拌し、4°Cで24時間静置した後、二重ガーゼを用いて濾過した。その濾液を3000rpmで15分間遠心し、上清を分析用抽出液とした。pHはガラス電極pHメーター(F-52; 堀場製作所, 京都, 日本)を用いて測定した。有機酸含量は高速液体クロマトグラフ有機酸分析システム(HPLC Prominence; 島津製作所, 京都, 日本)を用いて測定した。NH₃-N含量はインドフェノール法(Wetherburn 1967)によって測定した。

3-2-7. 統計解析

統計解析はSPSSのGLM Models procedureによる一元配置分散分析を行った。平均値の比較にはTukey HSD testを用いた。全ての統計解析において有意水準は5%とした

3-3. 結果及び考察

ヨシの付着乳酸菌の同定及び菌数の測定を行った結果、5月に刈取った草丈1m以上、0.5-1mのものからは乳酸菌は検出されなかった。0.5m未満のものから得られたコロニーの16SrDNA配列について図3-1に示す配列をBLASTの相同性検索に用いた結果、相同性100%で*Carnobacterium maltaromaticum*に一致した(表3-1)。また、その菌数は 1.8×10^2 cfu gFM⁻¹であった。8月に刈取った1m以上、0.5m-1mのものからは乳酸菌は検出されず、0.5m未満のものから得られた図3-2に示す配列は、相同性100%で*Enterococcus sulfureus*に一致し(表3-2)、その菌数は 1×10^2 cfu gFM⁻¹であった。*Carnobacterium maltaromaticum*は乳酸桿菌であるが、一般に食肉や魚からよく検出される乳酸菌であり、サイレージ調製に有効であるという報告はない。*Enterococcus sulfureus*は乳酸球菌であり、植物への付着がよく確認される乳酸菌である。サイレージ発酵に特に有用とされるのは*Lactobacillus*属乳酸菌であるが、森地と大山(1972)は201点の飼料作物の付着菌種の分布を調査したところ、全試料の1/3でそれらの乳酸菌が検出されなかったことを報告している。さらに、彼らは6月以前または11月以降の牧草には少なく 10^2 cfu gFM⁻¹以下であったのに対して、6~8月の夏期に採取した牧草には多く 10^3 cfu gFM⁻¹以上の菌数を示したとも報告している。また、蔡ら(1991)も飼料作物および牧草に付着する乳酸球菌および乳酸桿菌は夏>秋>春>冬の順で菌数が高いことを認めている。本試験においても、春5月のヨシには一般に植物に付着する乳酸菌は検出できず、夏8月には*Enterococcus*属乳酸球菌が 10^2 cfu gFM⁻¹検出された。従って、ヨシに付着する乳酸菌の動態も彼らの報告に一致することが示唆されたが、夏においても*Lactobacillus*属乳酸菌は付着していないことが明らかになった。また、付着していた*Enterococcus sulfureus*の菌数は 10^2 cfu gFM⁻¹であり、サイレージ発酵に必要とされる 10^5 cfu gFM⁻¹には達しなかった。Li and Nishino(2013)によると、サイレージ中の乳酸含量が増えても乳酸桿菌である*Lactobacillus plantarum*は生存するのに対し、*Enterococcus sulfureus*は消失することが報告されている。これらの結果から、ヨシに付着する乳酸菌種はサイレージ発酵に適さず、菌数も不足していることが明らかとなった。

```
TGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCATTAGAGGGGATAACATTCGGAACCGGATGCTAATACCGCATAGTTTCAGGAATCGCATGATTCTTGA  
AGGAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTAATGGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCAATGATACGTAGCC  
GACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGT  
CTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACAAGGATGAGAGTAAGTCTCATCCCC  
TGACGGTATTTAACCGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGCGTAA  
AGCGAGCCGAGCGGTTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGAGAAGTGGAGTGACAG
```

図3-1 5月採取の付着乳酸菌16SrDNA配列の一部抜粋

表 3-1 5 月採取の付着乳酸菌の BLAST 検索結果

	Max score	Total score	E value	Max ident
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> strain MMF-32	1031	1031	0.0	100%
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> strain MMF-31	1031	1031	0.0	100%

Max score: 配列内断片の類似性の最大スコア, Total score: 配列内断片の類似性の合計スコア, E value: 偶然同じスコアになる配列数の期待値, Max indent: 配列内断片の相同性割合の最大値

CATATCATGCAGTCGACGCTTCTTACTTATCGAACTTCGGTTCACCAAGTAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGTAACTGCC
 ATCAGAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGCATAATTCAGTTTACCGCATGGTAGAGTGATGAAAGGCGCTTTTGCCTCACTGA
 TGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACTG
 GGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAA
 GAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAAAATGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACG
 GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGG

図 3-2 8 月採取の付着乳酸菌 16SrDNA 配列の一部抜粋

表 3-2 8 月採取の付着乳酸菌の BLAST 検索結果

	Max score	Total score	E value	Max ident
<i>Enterococcus sulfureus</i> strain ATCC 49903	542	542	0.0	100%
<i>Enterococcus sulfureus</i>	542	542	0.0	100%

Max score: 配列内断片の類似性の最大スコア, Total score: 配列内断片の類似性の合計スコア, E value: 偶然同じスコアになる配列数の期待値, Max indent: 配列内断片の相同性割合の最大値

材料草ヨシの化学成分組成は表 3-3 に示すとおりであった。DM 含量は 18.3%と、水分の高い材料草であった。また、グルコース、スクロース、フルクトース含量はそれぞれ 1.1、0.2、4.0%DM であり、それらの合計から可溶性炭水化物含量を算出すると 5.3%DM であった。松井ら (2009) はグルコース、スクロース、フルクトース、可溶性炭水化物含量がそれぞれ 2.0、1.1、1.2、4.3%DM であったと報告しているが、本試験のヨシは可溶性炭水化物含量がわずかながら高い傾向があると言えた。しかし、この可溶性炭水化物含量を新鮮物あたりに換算すると 0.95%となり、松井ら (2009) の報告における 1.63%FM よりも低く、Gordon *et al.* (1964) が報告したサイレージ発酵に必要な 2.0%FM を大きく下回った。つまり、本試験で用いたサイレージ材料草のヨシの糖含量は極めて低いことが明らかとなった。

表 3-3 サイレージ材料草のヨシの化学成分組成と糖含量

DM(%)	%DM								可溶性炭水化物(%DM)		
	OM	OCC	CP	EE	NCWFE	OCW	Oa	Ob	グルコース	スクロース	フルクトース
18.3	88.6	23.6	17.7	4.2	4.3	65.1	13.5	51.6	1.1	0.2	4.0

ヨシサイレージの発酵品質を表 3-4 に示した。無添加区、L 区、G 区、G+L 区の水分含量はそれぞれ 82.53、81.85、80.86、79.87%FM であった。pH 及び酢酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、吉草酸含量は無添加区及び L 区で G 区及び G+L 区よりも有意に高く、G+L 区は G 区よりも有意に低かった (P<0.05)。NH₃-N 含量は、無添加区、L 区、G 区、G+L 区の順に有意に低下した (P<0.05)。プロピオン酸含量は G 区と G+L 区の間に有意差はなかったものの、それらは無添加区と L 区よりも有意に低かった (P<0.05)。酪酸含量については、G+L 区で有意に低く (P<0.05)、L 区で無添加区と G 区より高い傾向を示した (P>0.05)。乳酸含量は無添加区及び L 区が G 区及び G+L 区よりも有意に低く、G+L 区は G 区よりも有意に高かった (P<0.05)。本試験では乳酸菌やグルコースを単体で添加しても、pH、酪酸及び NH₃-N 含量は高く、乳酸もほとんど生成されなかった。松井ら (2009) は、ヨシに *Lactobacillus plantarum* 畜草 1 号株を添加しサイレージを調製したところ、pH4.05、乳酸含量 1.25% となり良質なサイレージ発酵が行われたことを報告しており、本試験の結果は、彼らの報告とは一致しなかった。この理由の一つは、上述したように本試験の材料草中の糖含量が低かったことが考えられる。さらに、彼らの試験で用いられたサイレージ材料草であるヨシの水分含量は 62.2% であったのに対し、本試験のサイレージ中の水分含量は 79-83% であり、比較的高水分であった。材料草が高水分の場合、サイレージ中では酪酸菌の増殖が活発となり、糖や乳酸、タンパク質が分解され、発酵品質の低いサイレージになりやすい (McDonald *et al.* 1991)。従って、本試験の L 区及び G 区では、酪酸菌が増殖したため乳酸含量が高くなり、pH の低下が緩慢になり、良質なサイレージ発酵ができなかったと推察できる。一方、G+L 区は pH3.9、乳酸含量 1.42% となり、酪酸及び NH₃-N の生成もほとんど認められなかった。つまり、本試験のように約 80% の水分含量の材料草ヨシを用いた場合、グルコースあるいは乳酸菌単体の添加では、酪酸菌の増殖を抑えるほどの乳酸生成ができないということが示唆された。

表 3-4 ヨシサイレージ発酵品質の比較

	無添加区	L 区	G 区	G+L 区
水分(%FM)	82.53 ^a	81.85 ^{ab}	80.86 ^{bc}	79.87 ^c
pH	5.16 ^a	5.13 ^a	4.63 ^b	3.90 ^c
NH ₃ -N(mg 100g ⁻¹)	233.22 ^a	204.74 ^b	101.81 ^c	35.43 ^d
有機酸(%)				
乳酸	0.03 ^c	0.04 ^c	0.63 ^b	1.42 ^a
酢酸	1.01 ^a	0.94 ^a	0.53 ^b	0.23 ^c
プロピオン酸	0.40 ^a	0.27 ^b	0.09 ^c	0.04 ^c
イソ酪酸	0.03 ^a	0.03 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c
酪酸	0.39 ^a	0.44 ^a	0.29 ^a	0.00 ^c
イソ吉草酸	0.08 ^a	0.06 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c
吉草酸	0.13 ^a	0.11 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c

^{abc}: 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意

以上のことから、草丈約 1m のヨシを材料草にサイレージ調製を行う場合、材料草中の水分含量が高く、ヨシ由来の糖及び付着乳酸菌による良質なサイレージ発酵は期待できないが、グルコースなどの糖と *Lactobacillus plantarum* のような乳酸桿菌の両方を添加することで良質なヨシサイレージの調製が可能となることが明らかになった。

第4章 窒素施肥、刈取回次、セルラーゼ・乳酸菌混合剤の添加がヨシサイレー ジの発酵品質に与える影響

4-1. 緒言

第2章では、ヨシは生育日数約40日までに刈取ることにより栄養価の低下を防ぐことができ、年3回刈りが可能であることを明らかにした。また、年3回刈りという方法と窒素施肥が収量を持続させている可能性が推察された。しかし、窒素施肥や刈取回次がヨシサイレージの発酵品質に与える影響については明らかではなかった。牧草では、窒素施肥によってCP含量が増加し、糖類の画分である可溶性無窒素物が減少することが報告されている(和泉ら1981; Tremblay *et al.* 2005)。オーチャードグラスやチモシーなどでは、窒素施肥を行うことによる材料草中のCP含量の増加や糖類の低下が、サイレージ発酵品質を劣化させることが明らかとなっている(Jacobson *et al.* 1962; Gordon *et al.* 1963, 1964)。第2章及び第3章で示したように、ヨシは糖含量が低く、CP含量が高いが、窒素施肥によってそれらがどのように変動するかは明らかではなかった。このことから、収量の持続のためにヨシに窒素施肥を行うことを考え、サイレージ発酵への影響を調査する必要がある。

また、第2章において、刈取回次で化学成分組成が変化しており、生育日数との関係が示唆された。CP含量については刈取回次が進むことによる低下が認められたが、生育日数を40日以下に合わせることで、CP含量の低下を抑えることができると推察された。しかし、各刈取回次の生育日数を40日以下で合わせた場合における、刈取回次間のヨシの化学成分組成の変化は明らかでなく、化学成分組成の変化によるヨシサイレージ発酵品質への影響についても定かではなかった。

第3章では、高水分であるヨシは糖及び付着乳酸菌が少なく、発酵品質の高いヨシサイレージ調製にはグルコースや乳酸菌の添加物の利用が不可欠であることが明らかとなった。しかし、大規模なサイレージ調製の場合、グルコースの利用は価格や取り扱いの面で実用性が低く、その代替となる添加物が求められた。Zang and Kumai (2000) はネピアグラスにアクレモニウムセルラーゼ(AC)及び乳酸菌を添加することで、無添加のサイレージよりも発酵品質が改善されたことを報告している。また、Bayorbor *et al.* (1993) はギニアグラスサイレージにAC及び乳酸菌を添加することで、粗繊維、NDF、セルロース、ヘミセルロース含量が減少し、可溶性無窒素物が増加したことを報告している。つまり、サイレージ発酵の過程で、ACが植物の細胞壁成分を分解し、糖類を生成したことを示唆している。このことから、ACを添加することによりヨシサイレージにおいても糖生成が可能となれば、グルコース添加の代替物として利用できることが期待される。

そこで、本試験ではヨシに窒素施肥と年3回刈りという管理方法を行うことを踏まえて、異なる窒素施肥水準、刈取回次、AC・乳酸菌混合剤の添加がヨシサイレージの発酵品質に及ぼす影響を調査した。

4-2. 材料及び方法

4-2-1. 実験区画の設置、管理及びサイレージ材料草の採取

試験圃場は石川県かほく市の河北潟干拓地内の河川敷（36°49'N, 136°40'E）とし、圃場内に 17×22m の実験区画を設けた。区画内には 3×3m のプロットを 12 プロット設置し、窒素水準を 0g、4g、8g、12gN m⁻² とする 4 水準の窒素施肥区を 3 プロットずつ無作為で割り当てた（図 4-1）。施肥は化学肥料（14-14-14）を用いて、実験区画内の掃除刈り後と一番草、二番草及び三番草の刈取り後に行った。4 月 19 日に実験区画内全ての掃除刈りを行い、一番草は 5 月 25 日、二番草は 6 月 27 日、三番草は 7 月 31 日に採取した。各刈取回次の刈取り後は実験区画内全ての掃除刈りを行った。採取したサイレージ材料草は設定細断長 22mm の飼料カッター（CH-15NF; ヤンマー, 大阪, 日本）を用いて細切した。

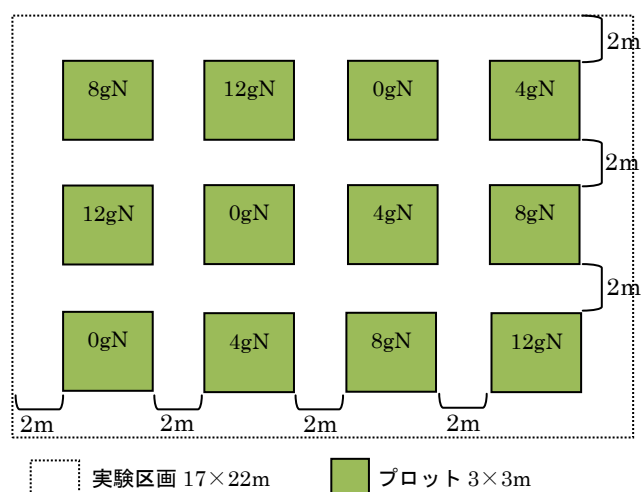


図 4-1 実験区画及びプロットの概要

4-2-2. サイレージ材料草の化学成分の分析

各プロットから採取したサイレージ材料草の一部は、60℃で 24 時間乾燥した後、第 2 章 (2-2-3) で示した方法と同様に粉碎し、分析試料とした。DM、OM、EE、OCC、NCWFE、OCW、Oa、Ob、CP についても第 2 章 (2-2-3) と同様の方法によって分析した。

4-2-3. サイレージ調製試験

採取した材料草を用いて、プロットごとに無添加区と AC・乳酸菌混合剤添加区のサイレージを小規模実験用サイロ（田中・大桃 1995）を用いて調製した。AC・乳酸菌混合剤添加区では、市販のアクレモニウムセルラーゼと *Lactococcus lactis* 及び *Lactobacillus paracasei* 乳酸菌の混合製剤（サイマスターAC; 雪印種苗, 北海道, 日本）を、新鮮物の材料草 100g に対して 1.7mg 添加した。細断したヨシ 100g をストマッカー用積層フィルム（飛

竜 KN-208; 旭化成パックス, 東京, 日本)に詰め、ヒートシーラー (SQ-203S; シャープ, 大阪, 日本) で脱気密封したものをプロットごとの各処理区につき 3 袋作成し、室温・暗所で貯蔵した。サイレージは密封後 60 日目に、全て開封し、各パウチの 50g を約 5mm の長さに細切して、発酵品質の分析に供した。

4-2-4. サイレージ発酵品質の分析

サイレージの水分含量、pH、有機酸含量、NH₃-N 含量は第 3 章 (3-2-6) で示した方法と同様に測定した。

4-2-5. 統計解析

統計解析には SPSS を用いて、窒素施肥水準及び刈取回次のサイレージ材料草の化学成分組成及びサイレージ発酵品質への効果と相互作用について Repeated Measures ANOVA によって解析した。平均値の比較には Bonferroni の方法を用いた。材料草中の水分含量及び化学成分組成とサイレージ中の pH、有機酸含量、NH₃-N 含量については相関関係を SPSS の Bivariate Correlations によって求めた。

4-3. 結果及び考察

サイレージ材料草中の水分含量及び化学成分組成を表 4-1 に示した。窒素施肥による効果は CP 含量でのみ認められ (P<0.01)、刈取回次の効果は Oa を除いた化学成分と水分含量において認められた (P<0.001)。窒素施肥と刈取回次の相互作用は認められなかった (P>0.05)。CP 含量は、0gN m⁻²区よりも 12gN m⁻²区で有意に増加しており (P<0.05)、NCWFE 含量では施肥により各区の平均値が低下する傾向が見られた (P=0.19)。Gordon *et al.* (1964)、和泉ら (1981)、岡元ら (2011) は、オーチャードグラスやチモシーで無施肥よりも施肥区、あるいは少肥区よりも多肥区で CP 含量が増加し、糖類の画分である可溶性無窒素物や可溶性炭水化物が低下したと報告しており、本試験の結果からヨシも同様の傾向にあることが確認された。NCWFE 及び CP 含量は刈取回次が進むに従って有意に低下した (P<0.05)。刈取回次が進むことによって CP 及び NCWFE 含量が低下する傾向は第 2 章の試験でも確認されており (表 2-3)、CP 含量の低下については刈取回次の効果とともに、ヨシの生育日数の増加に伴って低下するという相関が示された (図 2-1)。しかし、本試験ではいずれの刈取回次のヨシも生育日数が 35 日前後であり、生育日数との関係は低いと推察されたが、本試験において刈取回次が進むことによる NCWFE 及び CP 含量の低下について、その原因は明らかではなく、今後のさらなる研究が必要とされた。

表 4-1 窒素施肥と刈取回次がサイレージ材料草中の水分含量及び化学成分組成に与える影響

	0gN m ⁻² 区			4gN m ⁻² 区			8gN m ⁻² 区			12gN m ⁻² 区			効果		
	一番草	二番草	三番草	一番草	二番草	三番草	一番草	二番草	三番草	一番草	二番草	三番草	N	C	N×C
水分(%)	80.0	77.1	75.2	79.9	78.6	77.1	80.4	78.8	75.7	80.9	79.1	76.6	NS	***	NS
化学成分組成(%DM)															
OM	89.4	89.7	88.5	88.6	88.7	87.3	88.5	87.7	86.7	88.5	88.2	87.2	NS	***	NS
OCC	26.5	25.0	20.0	25.7	20.6	18.5	26.4	23.1	18.8	27.5	25.0	19.2	NS	***	NS
CP	20.1	17.2	15.9	19.3	17.4	16.3	20.7	20.0	19.8	21.3	19.5	19.7	**	***	NS
EE	2.6	2.8	2.6	2.7	2.6	2.3	2.7	3.0	2.6	2.8	2.9	2.6	NS	***	NS
NCWFE	6.7	7.6	4.0	6.6	3.3	2.4	6.0	3.5	0.1	6.5	5.5	0.0	NS	***	NS
OCW	62.9	64.8	68.6	62.8	68.0	68.8	62.1	64.7	67.9	61.0	63.2	68.1	NS	***	NS
Oa	9.3	7.5	9.8	9.9	10.8	9.4	10.0	9.9	9.8	8.8	8.0	9.0	NS	NS	NS
Ob	53.6	57.2	58.8	52.9	57.2	59.5	52.1	54.8	58.1	52.2	55.2	59.1	NS	***	NS

N: 窒素施肥, C: 刈取回次, **: P<0.01, ***: P<0.001, NS: P>0.05

ヨシのサイレージの発酵品質における窒素施肥、刈取回次、AC・乳酸菌混合剤添加の効果について有意性を検定した結果を表 4-2 に示した。ヨシサイレージの発酵品質に及ぼす窒素施肥の効果は酪酸含量のみで確認された ($P<0.05$)。刈取回次の効果はサイレージ水分含量、pH、乳酸及び酢酸を除く有機酸含量、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量で確認された ($P<0.05$)。AC・乳酸菌混合剤添加の効果はサイレージのイソ吉草酸を除く有機酸含量、水分含量、pH、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量で確認された ($P<0.05$)。窒素施肥と刈取回次の相互作用は酢酸含量でのみ確認された ($P<0.05$)、窒素施肥と AC・乳酸菌混合剤添加の相互作用、窒素施肥と刈取回次と AC・乳酸菌混合剤添加の相互作用は確認されなかった ($P>0.05$)。刈取回次と AC・乳酸菌混合剤添加の相互作用はプロピオン酸及びイソ酪酸を除く有機酸、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量で確認された ($P<0.05$)。Gordon *et al.* (1964) は窒素施肥を行ったサイレージは無施肥に比べ pH、酪酸含量、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量が高いと報告している。しかし、本試験では窒素施肥の効果は酪酸含量のみでしか認められず、また、0g、4g、8g、12g N m^{-2} 区の酪酸含量はそれぞれ 0.14%、0.14%、0.11%、0.08%と施肥水準の上昇とともに低下した ($P<0.05$, 表 4-3)。従って、ヨシサイレージにおいては、窒素施肥により発酵品質が低下することはなく、逆に酪酸含量が低下するという発酵品質の改善効果が認められた ($P<0.05$, 図 4-2a)。

ヨシサイレージの発酵品質の差異における主たる効果は、刈取回次及び AC・乳酸菌混合剤添加によるものであった。pH では無添加に比べ、AC・乳酸菌混合剤添加区の全ての刈取回次において有意な低下が認められた ($P<0.05$, 図 4-2a)。乳酸含量では、一番草、二番草で有意な低下が認められた ($P<0.05$, 図 4-2b) が、三番草で有意差は認められなかった。酪酸含量では一番草、三番草で有意な低下が認められた ($P<0.05$, 図 4-2c) が、二番草で有意差は認められなかった。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量では無添加に比べ、AC・乳酸菌混合剤添加区の全ての刈取回次において有意な低下が認められた ($P<0.05$, 図 4-2d)。これらの結果から、AC と乳酸菌の双方の添加により、ヨシサイレージの発酵品質は改善されることが明らかとなった。一方、AC・乳酸菌混合剤添加区内における pH、乳酸、酪酸、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量の結果から、一番草よりも二番草、三番草で発酵品質が低下する傾向が認められた。つまり、AC・乳酸菌混合剤を添加することによる発酵品質の改善効果は刈取回次が進むことによって小さくなることが示唆された。この原因としては、刈取回次が進むことによる材料草中の NCWFE 含量の低下が考えられた。

そこで、材料草中の NCWFE 含量と AC・乳酸菌混合剤添加サイレージの発酵品質の関係を図 4-3 に示した。材料草中の NCWFE 含量と AC・乳酸菌混合剤添加サイレージの pH、乳酸、酢酸の間で相関関係が確認されており、NCWFE 含量が低いとサイレージの pH、酢酸含量は高くなり、乳酸含量は低くなった ($P<0.05$, 図 4-3)。材料草中の NCWFE 含量の増加に伴って、pH、酢酸、乳酸含量は改善方向に収束する傾向が認められることから NCWFE 含量が高い場合に安定して高い発酵品質を得ることができると考えられたが、低い NCWFE 含量における値のばらつきが大きくなる点について、その理由は定かでない。Jacobson *et al.* (1962) は材料草中の糖類と CP 含量の比が 0.35 以下である場合、Gordon

et al. (1964) は 0.5 以下である場合、発酵品質が低くなることを示唆している。本試験における材料草ヨシの糖単体の含量は明らかではないが、糖・デンプン・有機酸類である NCWFE と CP 含量の比は、一番草、二番草、三番草それぞれ 0.32、0.27、0.09 であることから、彼らの報告と同様に糖・CP 比が低下することにより AC・乳酸菌混合剤添加区の発酵品質が低下すると考えられた (図 4-2)。つまり、上述したように刈取回次が進むことにより NCWFE 含量は低下し、CP 含量との比が低くなるため、AC・乳酸菌混合剤を添加した場合でも発酵品質が低いサイレージになりやすいことが示唆された。

また、刈取回次が進むことで材料草の水分含量も低下した (表 4-1)。本試験で添加した製剤で用いられている乳酸菌は *Lactococcus lactis* 乳酸球菌及び *Lactobacillus paracasei* 乳酸桿菌であり、高水分サイレージに使用することを推奨されている (北村 2015)。彼の報告では水分含量約 82%の材料草を用いて高品質サイレージの調製が可能であること示しており、本試験の二番草及び三番草の材料草の水分含量 75.2-79.1%よりも高いことが分かった。従って、材料草中の水分含量の低下も、刈取回次が進むことによる発酵品質低下要因のひとつであるとともに、これが刈取回次と AC・乳酸菌混合剤添加の相互作用 (表 4-2) が認められた要因であると推察された。

表 4-2 サイレージ発酵品質における窒素施肥、刈取回次、AC・乳酸菌混合剤添加による効果

	効果						
	N	C	L	N×C	N×L	C×L	N×C×L
水分	NS	***	*	NS	NS	NS	NS
pH	NS	***	***	NS	NS	NS	NS
有機酸							
乳酸	NS	NS	***	NS	NS	***	NS
酢酸	NS	NS	***	*	NS	**	NS
プロピオン酸	NS	***	***	NS	NS	NS	NS
イソ酪酸	NS	*	*	NS	NS	NS	NS
酪酸	*	***	***	NS	NS	***	NS
イソ吉草酸	NS	*	NS	NS	NS	***	NS
吉草酸	NS	**	***	NS	NS	**	NS
NH ₃ -N	NS	*	***	NS	NS	*	NS

N: 窒素施肥, C: 刈取回次, L: AC・乳酸菌混合剤添加, *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001, NS: P>0.05

表 4-3 ヨシサイレージの発酵品質

	0gN m ⁻² 区						4gN m ⁻² 区					
	一番草		二番草		三番草		一番草		二番草		三番草	
	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+
水分(%)	80.36	78.23	76.40	74.49	73.99	72.79	80.16	77.32	75.98	74.62	75.68	74.22
pH	5.59	4.31	6.17	4.74	6.19	4.73	5.70	4.26	6.17	4.72	6.30	5.38
有機酸(%)												
乳酸	0.20	1.01	0.34	0.86	0.82	0.69	0.20	1.02	0.38	0.79	0.66	0.39
酢酸	0.56	0.21	0.64	0.31	0.59	0.27	0.62	0.22	0.60	0.26	0.68	0.41
プロピオン酸	0.09	0.04	0.08	0.03	0.06	0.03	0.09	0.04	0.06	0.03	0.07	0.03
イソ酪酸	0.07	0.01	0.03	0.01	0.02	0.00	0.04	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01
酪酸	0.47	0.03	0.15	0.03	0.13	0.06	0.48	0.01	0.11	0.02	0.13	0.09
イソ吉草酸	0.04	0.00	0.03	0.01	0.04	0.00	0.07	0.00	0.03	0.01	0.04	0.02
吉草酸	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NH ₃ -N (mg 100g ⁻¹)	120.55	42.64	116.26	71.92	113.81	43.90	121.65	44.60	116.49	71.78	97.21	63.95

	8gN m ⁻² 区						12gN m ⁻² 区					
	一番草		二番草		三番草		一番草		二番草		三番草	
	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+	L-	L+
水分(%)	79.17	78.13	76.87	75.75	75.03	73.81	81.16	78.80	76.21	75.46	74.99	73.77
pH	5.75	4.27	6.34	4.99	6.72	4.84	5.81	4.38	5.78	4.53	6.12	4.86
有機酸(%)												
乳酸	0.28	0.94	0.38	0.67	0.36	0.69	0.14	0.90	0.62	0.93	0.46	0.80
酢酸	0.53	0.19	0.52	0.36	0.61	0.28	0.62	0.21	0.37	0.24	0.44	0.29
プロピオン酸	0.07	0.04	0.06	0.03	0.06	0.03	0.09	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03
イソ酪酸	0.04	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
酪酸	0.39	0.00	0.06	0.10	0.08	0.03	0.41	0.00	0.02	0.00	0.03	0.00
イソ吉草酸	0.07	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
吉草酸	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NH ₃ -N (mg 100g ⁻¹)	121.02	34.95	113.06	80.05	110.34	46.81	137.79	47.71	94.08	60.20	82.13	45.34

L-: 無添加区, L+: AC・乳酸菌混合剤添加区

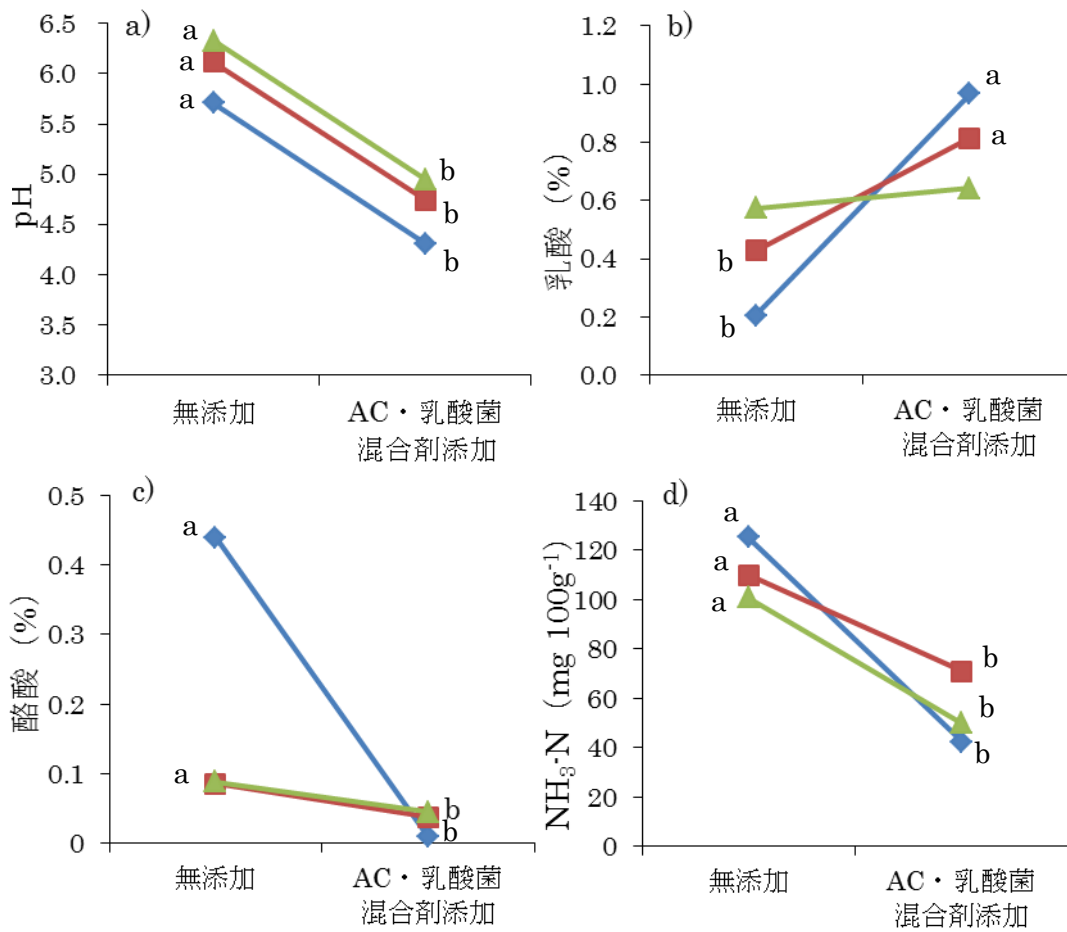


図 4-2 刈取回次及び AC・乳酸菌混合剤の添加が発酵品質に及ぼす影響

◆: 一番草, ■: 二番草, ▲: 三番草,

ab: 無添加区と AC・乳酸菌混合剤添加区の各刈取回次間で 5%水準で有意

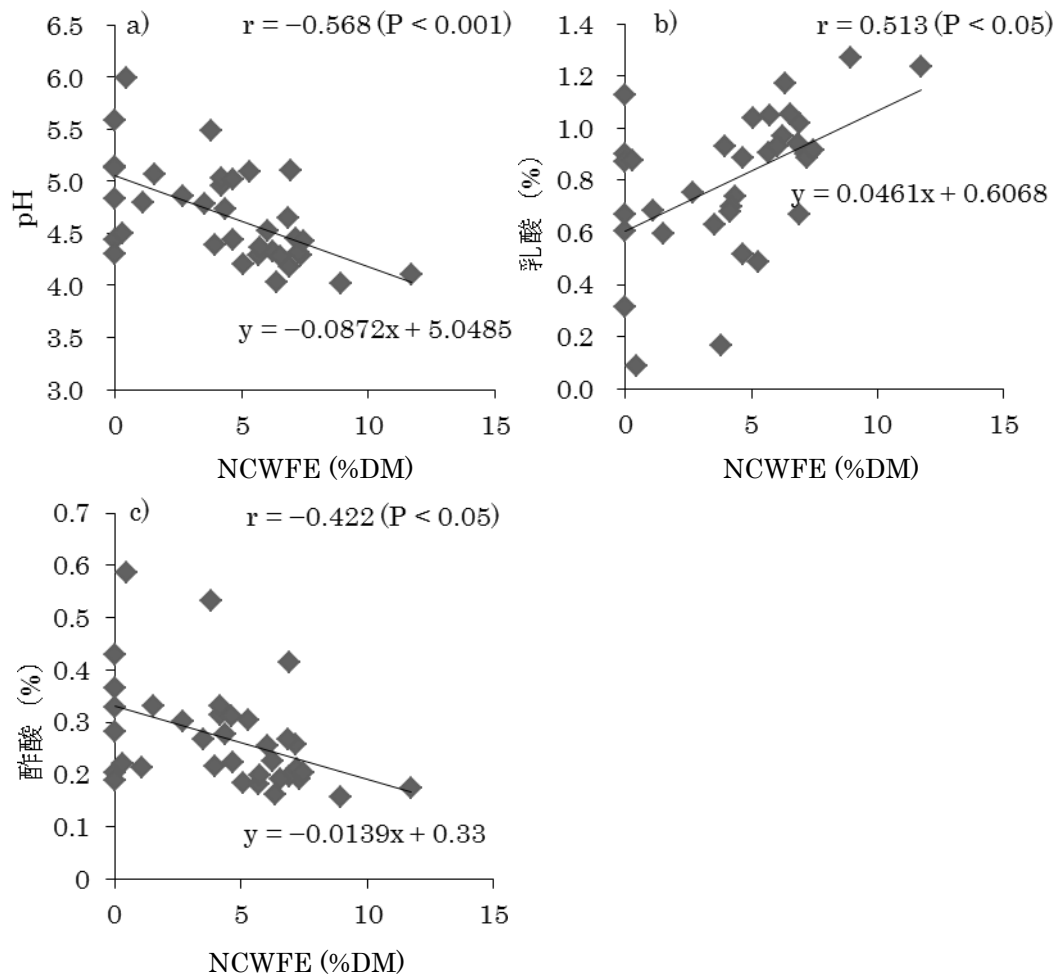


図 4-3 AC・乳酸菌混合剤添加サイレージの発酵品質と材料草 NCWFE 含量の相関関係

以上のことから、高水分である一番草の場合は、AC と *Lactococcus lactis* や *Lactobacillus paracasei* といった乳酸菌を用いることで、高品質なサイレージ調製あるいは発酵品質の改善が可能であることが明らかとなったが、一方で、刈取回次が進み、材料草の水分含量と NCWFE 含量が低下するとその効果は小さくなり、サイレージの発酵品質は不安定になった。従って、今後は二番草以降の比較的低水分・低糖含量の場合、または糖と CP 含量の比が低い場合で、良質な発酵品質となる添加物を検討することが求められた。

第 5 章 ヨシサイレージのヒツジにおける栄養価と粗飼料としての利用性の評価

5-1. 緒言

未利用資源を飼料として利用するためには反芻家畜を用いた栄養学的評価が必須である。すでに、堀ら (2004a ; 2004b) 及び小笠原ら (2004) の肉用牛または乳牛を用いた消化試験を行った報告では、無添加で調製したヨシサイレージ及び乳酸菌を添加したヨシサイレージの TDN 含量はそれぞれ 42.8%DM と 54.0%DM であった。両者の報告での TDN 含量に差があるのは、材料草ヨシの刈取時期や生育日数あるいはサイレージ調製法の違いによるものであると推察された。第 2 章では約 1 ヶ月間隔、草丈約 1m で刈取ったヨシの TDN 含量について、化学成分組成を用いた推定式 (阿部 1988) から算出し、45.5-53.6%DM であることを明らかにした。しかし、本研究の前章までに確立された材料草ヨシの管理方法及びアクレモニウムセルラーゼ (AC) と乳酸菌を添加する方法を基に調製されたヨシサイレージの反芻家畜での栄養価は評価されていなかった。そこで、試験 1 では AC・乳酸菌混合剤を添加して調製したヨシサイレージについて、ヒツジを用いた消化試験から消化率及び TDN 含量を明らかにした。

反芻家畜において粗飼料の摂取は反芻行動を誘起し、唾液の流入によって第一胃内の環境を維持する効果がある。そのため、反芻家畜への粗飼料の給与は必須であり、その給与量で家畜の各生理段階の養分要求量を満たすことが必要となる。家畜の養分要求量の充足の可否は、飼料の構成と栄養価、摂取量によって左右されるが、ヨシサイレージを粗飼料として用いる場合に養分要求量を充足させることができるか明らかではなかった。そこで、試験 2 ではヨシサイレージ主体で構成した飼料について維持期ヒツジへの給与試験を行い、飼料摂取量、消化率、養分摂取量を調査し、粗飼料としての利用性を検討した。

また、摂取された飼料が第一胃から第二・第三胃といった下部消化管へ流入・通過するためには、通過可能な粒度まで消化されなければならない。しかし、飼料にリグニンなどの不消化・難消化性成分が多い場合、細胞壁構造は強固となっており、消化を受けての粒度の低下が遅く、消化管内での滞留時間が長くなるとされている (大下 2001)。そして、飼料の第一胃滞留時間が長くなると、飼料摂取量が制限される (Balch 1950)。これまでの試験で、ヨシサイレージの場合、Ob のような難消化性の繊維含量が高いことが明らかになっていることから、それによって消化管通過速度あるいは飼料摂取に何らかの影響を与えることが懸念された。さらに、上述したように、反芻などの咀嚼行動を誘起する特性は粗飼料価値の代表的な指標のひとつである。これらのことから、試験 2 ではヨシサイレージ主体で構成した飼料の咀嚼行動時間、ヨシサイレージの消化管通過速度を測定し、一般的な輸入乾草と比較することで、粗飼料としての特性を調査した。

5-2. 材料及び方法

5-2-1. ヨシサイレージの調製

石川県かほく市の河北潟干拓地内の耕作放棄地内（36°40'N, 136°41'E）において、試験 1 に用いるヨシサイレージ調製を行った。掃除刈り後、草丈約 1m に生育したヨシを 2010 年 7 月に乳酸菌添加装置を搭載した自走細断型飼料イネ専用収穫機（WB1010; タカキタ, 三重, 日本）を用いて、AC・乳酸菌の混合剤（acromo conc.; 雪印種苗, 北海道, 日本）を添加しながらロールペールを成形し、それをラッピングマシン（SW1110W; タカキタ）を用いて、ロールペールサイレージに調製した。ヨシサイレージは屋外で 3 ヶ月貯蔵して、試験 1 に供した。

試験 2 に用いたヨシサイレージの材料草は、石川県かほく市河北潟干拓地の河川敷（36°49'N, 136°40'E）の圃場内で、5 月に草丈約 1m となったヨシをイネ収穫用バインダ（RJN55-HD; クボタ, 大阪, 日本）を用いて刈取った。それらを一夜野外で干し、設定細断長 22mm の飼料カッター（CH-15NF; ヤンマー, 大阪, 日本）で細切した後、AC・乳酸菌混合剤（acromo conc.）を添加、混合してドラム缶に詰めて屋外で 2-3 ヶ月貯蔵し、試験 2 に供した。両試験で用いた AC・乳酸菌混合剤は、新鮮物の材料草 100g に対して 1.7mg の割合で添加した。

5-2-2. 試験 1 : ヨシサイレージ消化率の測定

供試動物はサフォーク種ヒツジ 4 頭（雌 3 頭、雄 1 頭、平均月齢 8 ヶ月、平均体重 26.3 ± 1.2kg）を用いた。試験期間中、ヒツジは代謝ケージ内で飼養した。試験期間を 1 期につき、馴致期 7 日、予備期 7 日、本試験期 5 日間とした 2 期の消化試験を実施した。供試飼料は、ヨシサイレージ配合割合の異なる 2 種類の飼料（A : ヨシサイレージ 30%DM と大麦 70%DM、B : ヨシサイレージ 60%DM と大麦 40%DM）を各期に割り当てた。飼料給与量は維持要求量（農林水産省農林水産技術会議事務局 1997）を満たす量として、等分して 12:00 と 19:00 に給与した。水は自由摂取とした。本試験期間中、糞サンプルを全糞採取法によって毎日採取し、各飼料サンプルは、飼料の秤量時に採取した。それらのサンプルは 60°C で 48 時間乾燥し、これらを化学成分の分析に供した。

ヨシサイレージ単体の各化学成分の消化率については、ヨシサイレージの消化率を x 、大麦の消化率 y とした下記の連立方程式の解を求めて、算出した。

$$\begin{cases} a \times x + b \times y = (a + b) \times c \\ d \times x + e \times y = (d + e) \times f \end{cases}$$

a : A 飼料ヨシサイレージ摂取量 (gDM day⁻¹)

b : A 飼料大麦摂取量 (gDM day⁻¹)

- c : A 飼料の各成分消化率 (%DM)
 d : B 飼料ヨシサイレーン摂取量 (gDM day⁻¹)
 e : B 飼料大麦摂取量 (gDM day⁻¹)
 f : B 飼料の各成分消化率 (%DM)

5-2-3. 試験 2 : ヨシサイレーンと輸入乾草を給与した維持期ヒツジにおける養分摂取量、咀嚼行動、消化管通過速度の比較

給与試験は、サフォーク種成雌ヒツジ 4 頭 (平均月齢 43 ヶ月、平均体重 64.4±5.7kg) に 4 飼料処理区を割り当て、3 試験期行う 4×3 のユーデン方格法によって実施した。1 試験期は予備期 10 日、本試験期 5 日間として、試験期間中は代謝ケージ内で飼養した。粗飼料として、ヨシサイレーン (C 区)、輸入スーダングラス乾草 (S 区)、輸入オーツ乾草 (O 区)、輸入アルファルファ乾草 (A 区) を用いた 4 飼料処理区を設けた。各飼料処理区は、National Research Council (1985) の維持期ヒツジの養分要求量 110% を満たすように粗飼料と濃厚飼料の給与量を算出した (表 5-1)。それらの給与量を等分して 12:00 と 19:00 に給与し、水は自由摂取とした。本試験期中、糞サンプルを全糞採取法によって毎日採取し、各飼料サンプルは飼料の秤量時に採取した。それらのサンプルは 60°C で 48 時間乾燥し、これらを化学成分の分析に供した。

表 5-1 給与試験における各飼料の配合割合

配合割合 (%DM)	C 区	O 区	S 区	A 区
粗飼料				
ヨシサイレーン	80.6	-	-	-
輸入オーツ乾草	-	88.2	-	-
輸入スーダングラス乾草	-	-	87.9	-
輸入アルファルファ乾草	-	-	-	100.0
濃厚飼料				
大麦	19.4	-	-	-
大豆粕	-	11.8	12.1	-

5-2-4. ヨシサイレーン発酵品質の分析

試験 1 及び試験 2 で用いたヨシサイレーンは、それぞれ開封後に一部を採取し、約 5mm の長さに細切した。それらの水分含量、pH、有機酸含量、NH₃-N 含量を第 3 章 (3-2-6) と同様の方法により測定した。

5-2-5. 化学成分組成の分析

試験 1 の各飼料及び糞、試験 2 の各飼料、残飼及び糞は第 2 章 (2-2-3) で示した方法と同様に粉碎し、分析試料とした。DM、OM、EE、OCC、NCWFE、OCW、Oa、Ob、CP についても第 2 章 (2-2-3) と同様の方法によって分析した。TDN は化学成分と消化率から可消化成分含量を求め、下記の式 (伊藤 1977) から算出した。

$$\text{TDN (\%DM)} = \text{可消化 OM (\%DM)} + 1.25 \times \text{可消化 EE (\%DM)}$$

5-2-6. 咀嚼行動の測定

試験 2 の本試験期間中、2 日間の咀嚼行動観察を実施した。採食と反芻行動に別け、3 分間隔で行動を記録した。各飼料処理区の飼料乾物摂取量 (DMI) 1kg に対する採食時間 (ET) 及び反芻時間 (RT) を算出し、それらの合計値を総咀嚼時間 (CT) とした。

5-2-7. 消化管通過速度の測定

試験 2 の本試験期間において、各粗飼料 (ヨシサイレージ、輸入スーダングラス乾草、輸入オーツ乾草、輸入アルファルファ乾草) の消化管通過速度を、Krysl *et al.* (1985) の方法に従って、測定した。各粗飼料を 2-5cm に細切し、0.5% イッテルビウム ($\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 溶液に 24 時間浸漬して、吸着させた後、50°C で 48 時間乾燥して Yb 吸着粗飼料とした。各イッテルビウム吸着粗飼料 15g をヒツジに給与して 30 分以内に摂取された後、0、4、8、12、16、20、24、28、32、36、48、54、60、72、84、96、108、120 時間後に、直腸から部分糞を採取し、60°C で 48 時間乾燥した後、粉碎して分析用試料とした。糞中のイッテルビウム含量は、濃硝酸を用いてイッテルビウムを抽出し、希硝酸によって溶解後、原子吸光度計を用いて測定した。通過速度定数は SPSS の非線形回帰分析を用いて、糞中イッテルビウム濃度を以下の Grovum and Williams (1973) の Two compartment model に当てはめて算出した。

$$t \geq \text{TT} \text{ の場合、} Y = A e^{-k_1(t-\text{TT})} - A e^{-k_2(t-\text{TT})}$$

$$t < \text{TT} \text{ の場合、} Y = 0$$

Y : 糞中イッテルビウム含量

A : TT 時のイッテルビウム濃度

k1 : 第一胃通過速度定数 (h^{-1})

k2 : 下部消化管通過速度定数 (h^{-1})

t : イッテルビウム投与後の経過時間 (h)

TT : イッテルビウムの初期出現時間 (h)

全消化管平均滞留時間 (TMRT) は以下の式から算出した。

$$TMRT = 1/k_1 + 1/k_2 + TT$$

5-2-8. 統計解析

試験 2 の統計解析は SPSS の GLM Models procedure による一元配置分散分析を用いて行い、平均値の比較には Tukey HSD test を用いて、有意水準は 5%とした。

5-3. 結果及び考察

5-3-1. ヨシサイレージの消化率及び TDN 含量

試験 1 で用いたヨシサイレージの発酵品質を表 5-2 に示した。pH は 3.93、乳酸含量は 1.55%であり、アンモニア及び酪酸などの有機酸の生成はほとんど認められず、良質な発酵品質であった。ヨシサイレージの化学成分組成、消化率及び TDN 含量は表 5-3 に示した。ヨシサイレージの CP 含量及び CP 消化率はそれぞれ 20.0%DM、77.3%であり、出穂前のオーチャードグラス (15.5%DM、70.0%) やイタリアンライグラスサイレージ (15.5%DM、70.0%) よりも高く、開花期アルファルファサイレージ (19.4%DM、73.0%) と同等の値であった (農業・食品産業技術総合研究機構 2010)。TDN 含量は 50.4%DM で、結実期オーチャードグラス (46.7%DM) やイタリアンライグラスサイレージ (46.2%DM) よりも高い値であり (農業・食品産業技術総合研究機構 2010)、第 2 章の試験の TDN 含量 (45.5-53.6%DM) に近似した値であった。

表 5-2 ヨシサイレージの発酵品質(試験 1)

水分(%)	77.59
pH	3.93
NH ₃ -N(mg 100g ⁻¹)	49.35
有機酸(%)	
乳酸	1.55
酢酸	0.31
プロピオン酸	0.02
イソ酪酸	0.00
酪酸	0.00
イソ吉草酸	0.00
吉草酸	0.00

表 5-3 ヨシサイレージと大麦の消化率及び栄養価

	ヨシサイレージ	大麦
DM(%)	22.4	88.4
化学成分組成(%DM)		
OM	86.0	96.5
OCC	23.7	70.9
CP	20.0	9.6
EE	4.2	2.4
NCWFE	2.5	60.9
OCW	62.2	25.6
Oa	9.6	0.0
Ob	54.9	23.7
消化率(%)		
OM	54.7±5.7†	77.6±7.5
OCC	83.1±3.5	92.0±2.0
CP	77.3±3.3	55.8±13.6
EE	66.1±5.1	78.7±8.9
NCWFE	—	—
OCW	46.4±6.9	30.3±24.1
Oa	—	—
Ob	45.6±13.7	27.0±15.6
可消化成分(%)		
OM	47.0±4.9	74.9±7.2
OCC	19.7±0.8	65.2±1.4
CP	15.5±0.7	5.3±1.3
EE	2.8±0.2	1.9±0.2
NCWFE	—	—
OCW	28.9±4.3	7.8±6.2
Oa	—	—
Ob	25.1±7.5	6.4±3.7
TDN(%DM)	50.4±5.1	77.2±7.5

†: 平均値(n=4)±標準偏差

5-3-2. 維持期成雌ヒツジにおけるヨシサイレージ主体飼料と輸入乾草の養分摂取量、咀嚼行動、消化管通過速度の比較

試験 2 に用いたヨシサイレージの pH は 3.81、乳酸含量は 1.71%であり、アンモニア及び酪酸などの有機酸の生成はほとんど認められず、良質な発酵品質であった (表 5-4)。

表 5-4 ヨシサイレージの発酵品質
(試験 2)

水分 (%)	75.83
pH	3.81
NH ₃ -N (mg 100g ⁻¹)	20.17
有機物 (%)	
乳酸	1.71
酢酸	0.16
プロピオン酸	0.02
イソ酪酸	0.00
酪酸	0.00
イソ吉草酸	0.00
吉草酸	0.00

各飼料処理区の DMI 及び CP 摂取量 (CPI)、残飼量、化学成分組成、消化率及び TDN 含量を表 5-5 に示した。粗飼料の残飼は O 区を除く飼料処理区で認められたが、1.3-3.2%と極めて少量であった。DMI は飼料処理区間に有意差は認められたものの、その差は最大で C 区と O 区間の 89g day⁻¹であった。CPI は飼料処理区間で有意差が認められ (P<0.05)、A 区で最も高く 245.4g day⁻¹であったが、維持期ヒツジの CP 要求量と比較すると、全ての飼料処理区で大きく上回っていた (図 5-1a)。このことから、維持期ヒツジにヨシサイレージ主体飼料を給与した場合、補足飼料による CP の補給は必要ないことが明らかとなった。可消化 EE (DEE) が 0.4-2.1%DM であったことから、TDN 含量の差異は可消化 OM (DOM) 含量に依存していた。さらに、DOM は可消化 OCC (DOCC) 及び可消化 OCW (DOCW) から構成される成分であることから、TDN 含量は DOCC 及び DOCW 含量に依存する。C 区の TDN 含量は O 区よりも有意に低く (P<0.05)、これは OCC 含量の差異によって DOCC 含量が O 区よりも低くなったことに起因すると考えられた。一方で、DOCC 含量は A 区よりも有意に低いが (P<0.05)、TDN 含量に有意差が認められなかったのは、A 区よりも DOCW 含量が有意に高かったためであった (P<0.05)。C 区の TDN 摂取量は、O 区よりも低かったが、TDN 要求量は上回ることができた (図 5-1b)。維持期ヒツジの飼料中 TDN 含量の要求量は 55%DM (National Research Council 1985) であり、試験 1 の結果からもヨシサイレージ単味での要求量の充足は困難であると考えられた。しかし、ヨシサイレージ

80%と大麦のような濃厚飼料 20%を配合することによって TDN 要求量を満たすことができたことから、ヨシサイレーズ主体飼料をよって維持期ヒツジの飼養が可能であることが明らかとなった。

表 5-5 飼料処理区の DMI、CPI、消化率及び栄養価

	C 区	O 区	S 区	A 区
DMI (g day ⁻¹)	1098 ^a	1009 ^c	1029 ^{cb}	1050 ^b
残飼 (%)	2.6	0.0	1.3	3.2
CPI (g day ⁻¹)	136.1 ^c	133.1 ^c	150.2 ^b	245.4 ^a
化学成分組成(%DM)				
OM	91.4 ^c	95.7 ^a	91.5 ^b	91.2 ^c
OCC	35.3 ^b	48.4 ^a	30.1 ^c	48.8 ^a
CP	12.4 ^c	13.2 ^{bc}	14.6 ^b	23.4 ^a
EE	3.5 ^a	1.5 ^{bc}	1.3 ^c	2.4 ^b
OCW	56.2 ^b	47.3 ^c	61.4 ^a	42.5 ^d
Oa	9.9 ^a	8.3 ^b	8.9 ^b	9.6 ^a
Ob	46.3 ^b	39.0 ^c	52.4 ^a	32.9 ^d
消化率(%)				
OM	59.9 ^b	66.4 ^a	53.6 ^c	64.1 ^{ab}
OCC	81.2 ^{ab}	85.2 ^a	76.3 ^b	85.7 ^a
CP	64.6 ^b	66.5 ^{ab}	68.0 ^{ab}	72.3 ^a
EE	57.5 ^a	28.4 ^b	31.9 ^b	33.1 ^b
OCW	46.5	47.2	42.5	39.2
Oa	100.0	98.9	99.1	94.8
Ob	35.0 ^a	36.3 ^a	32.8 ^{ab}	23.0 ^b
可消化成分(%DM)				
OM	54.8 ^c	63.6 ^a	49.0 ^d	58.5 ^b
OCC	28.6 ^b	41.2 ^a	23.0 ^c	41.8 ^a
CP	8.0 ^c	8.8 ^{bc}	9.9 ^b	16.9 ^a
EE	2.1 ^a	0.4 ^b	0.4 ^b	0.8 ^{ab}
OCW	26.1 ^a	22.3 ^{ab}	26.1 ^a	16.7 ^b
Oa	9.9 ^a	8.2 ^c	8.8 ^{bc}	9.1 ^b
Ob	16.2 ^a	14.2 ^a	17.2 ^a	7.6 ^b
TDN(%DM)	57.4 ^b	64.1 ^a	49.5 ^c	59.5 ^b

abcd. 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%の水準で有意

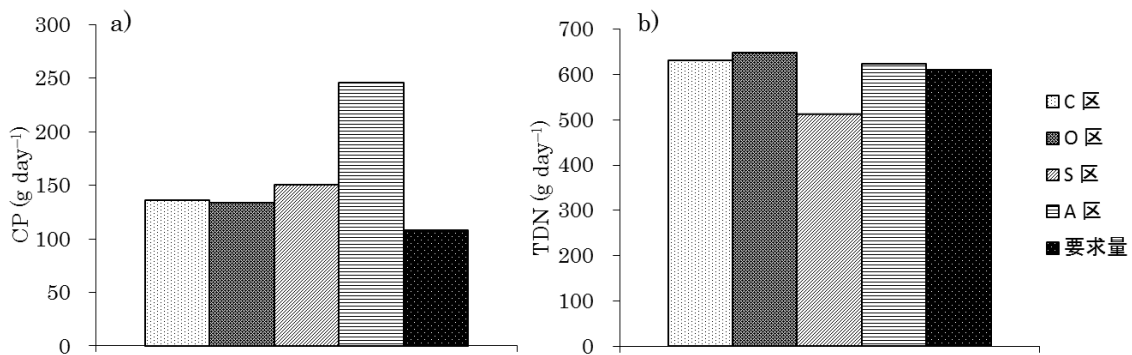


図 5-1 要求量に対する各飼料処理区の CP 及び TDN 摂取量

各飼料処理区の粗飼料及び濃厚飼料の DMI、ET、RT、CT の測定結果を表 5-6 に示した。粗飼料の DMI は A 区で最も高く ($P<0.05$)、C 区、O 区、S 区に有意差はなかった。濃厚飼料の DMI は C 区で最も高く ($P<0.05$)、O 区と S 区に有意差は認められなかった。ET は飼料処理区間に有意差は認められなかったが S 区で最も高く、次いで C 区が高かった。RT は C 区で有意に高かった ($P<0.05$)。CT は C 区及び S 区で有意に高く ($P<0.05$)、両区間に有意差は認められなかった。O 区と S 区において、粗飼料及び濃厚飼料の DMI に大きな差はなかったが、S 区のほうが ET と RT が高く、そのため CT も有意に高かった。両区と比較し、粗飼料の DMI に差がなかった C 区は、濃厚飼料の DMI が高かったが、RT 及び CT は O 区よりも高く、S 区と差はなかった。このことから、粗飼料単体の ET、RT 及び CT は不明であるが、ヨシサイレージの RT 及び CT はオーツ乾草以上、スーダングラス乾草と同等あるいはそれ以下であることが推察された。つまり、ヨシサイレージはスーダングラス乾草ほどではないが、オーツ乾草よりも咀嚼行動を誘起できることが明らかになり、粗飼料としての利用に問題はないことが示唆された。

表 5-6 粗飼料及び濃厚飼料の摂取量と咀嚼時間

	C 区	O 区	S 区	A 区
DMI (g day ⁻¹)				
粗飼料	879.6 ^b	890.3 ^b	903.5 ^b	1050.4 ^a
濃厚飼料	219.0 ^a	118.8 ^b	125.9 ^b	0.0 ^c
合計	1098.7 ^a	1009.2 ^c	1029.4 ^{cb}	1050.4 ^b
咀嚼時間 (min kgDMI ⁻¹)				
ET	133.2	70.2	153.0	73.0
RT	511.5	412.6	483.0	229.7
CT	644.7 ^a	482.8 ^b	636.0 ^a	302.7 ^c

abc: 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意

また、粗飼料の消化管通過速度では、飼料処理区間に TT、k1、k2、TMRT に有意差は認められなかった ($P>0.05$, 表 5-7)。つまり、ヨシサイレージの第一胃及び下部消化管を通過する速度はオーツ乾草、スーダングラス乾草、アルファルファ乾草と同等であると言える。飼料の消化管通過速度は、飼料の DMI に影響を及ぼすことが知られている (Balch 1950)。ヨシサイレージの OCW や Ob の消化率が低く、第一胃内に長く滞留することを懸念していたが、消化管通過速度の結果から、ヨシサイレージは一般的な輸入乾草と同様に消化または飼料摂取への悪影響はないことが示された。

表 5-7 粗飼料の消化管通過速度

	ヨシサイレージ	スーダングラス乾草	オーツ乾草	アルファルファ乾草
k1 (h^{-1})	0.028	0.028	0.028	0.030
k2 (h^{-1})	0.111	0.061	0.129	0.100
TT (h)	16.017	16.437	16.493	16.533
TMRT (h)	61.634	69.836	61.086	60.909

第 6 章 維持期黒毛和種繁殖雌ウシにおけるヨシサイレージ給与水準の違いが養分摂取量、咀嚼行動、第一胃液性状、血液性状に与える影響

6-1. 緒言

第 5 章では、ヨシサイレージの TDN 含量が約 50%であることを明らかにした。また、消化管通過速度や咀嚼行動の結果から、輸入乾草と同様に粗飼料として利用が可能であるとともに、維持期のヒツジをヨシサイレージ 80%と大麦 20%という飼料構成で飼養が可能であることを明らかにした。しかし、ウシでの評価は実施されていなかった。堀ら (2004a, 2004b) はヨシサイレージの TDN 含量は 42.8%DM であり、単味での給与では黒毛和種繁殖雌ウシの TDN 要求量を充足することができないと報告している。黒毛和種繁殖雌ウシの飼料中 TDN 含量の要求量は 50%DM (農業・食品産業技術総合研究機構 2009) であり、ヨシサイレージの TDN 含量と同等の値であるが、ヨシサイレージ単味での給与の場合については、TDN 要求量を充足できるかどうかは定かでない。そこで、本試験では一般的な飼料とヨシサイレージ給与水準を異にして配合した飼料を黒毛和種繁殖雌ウシに給与し、摂取量及び消化率を比較するとともに TDN 充足率に及ぼす影響を検討した。また、ヨシサイレージは高い CP 含量 (14-20%DM) が特徴であり、ヨシサイレージの給与水準が高まることで補足飼料によるタンパク質の補給が不必要となることが期待されたため、本試験では CP 充足率に与える影響も検討した。

小笠原ら (2004) は飼料中の 12%DM をヨシサイレージで置き換えて、ホルスタイン種乳牛における給与試験を行ったところ、血液性状は正常な範囲値内であったと報告している。しかし、ヨシサイレージの給与水準がより高まった場合、ウシの血液性状や健康状態に与える影響は明らかでない。本試験では、飼料中のヨシサイレージ配合割合の違いが、ウシの健康状態に与える影響を検討するため血液性状ならびに第一胃液性状を調査するとともに、それらに関連して咀嚼行動についても調査した。

6-2. 材料及び方法

6-2-1. ヨシサイレージの調製

ヨシは、石川県かほく市河北潟干拓地の河川敷 (36°49'N, 136°40'E) の圃場内で、6 月に掃除刈りと窒素肥料を 4gN m⁻² 施肥した後、7 月に再生した草丈約 1m のヨシを乳酸菌添加装置を搭載した自走細断型飼料イネ専用収穫機 (WB1030; タカキタ, 三重, 日本) を用いて刈取った。アクレモニウムセルラーゼ及び乳酸菌の混合製剤 (サイマスター AC; 雪印種苗, 北海道, 日本) を添加しながらロールペールを成形し、ラッピングマシン (SW1110W; タカキタ) を用いて、ロールペールサイレージを調製した。それらを屋外で 3 ヶ月貯蔵して、給与試験に供試した。

6-2-2. 黒毛和種繁殖雌ウシにおけるヨシサイレージ給与試験

給与試験は石川県白山市の畜産農家の畜舎において、同農家の黒毛和種繁殖雌ウシ 4 頭（平均体重 $525 \pm 21.4\text{kg}$ ）に 4 飼料処理区を割り当て、4 試験期行う 4×4 ラテン方格法によって実施した。1 試験期は予備期 10 日間、本試験期 4 日間とした。供試飼料は、ヨシサイレージ、スーダングラス乾草、大豆粕であり、対照区（スーダングラス 92.4%DM と大豆粕 7.6%DM の飼料処理区）、25%区、50%区、80%区（それぞれ対照区の 25%DM、50%DM、80%DM をヨシサイレージで置き換えた飼料処理区）の 4 飼料処理区を設けた（表 6-1）。各処理区の給与量は、TDN 維持要求量の 110%（農業・食品産業技術総合研究機構 2009）を満たす量とし、一日の飼料給与量を等分して 6:00 と 16:00 に給与し、試験期間中、供試牛はタイストール方式で飼養され、鉱塩および飲水を自由摂取させた。本試験期中は、毎日朝夕の飼料給与 4 時間後に直腸糞、飼料秤量時にヨシサイレージ、スーダングラス乾草、大豆粕を採取し、糞は -20°C で保存した。分析に供した糞は、各試験期で供試牛ごとに混合して、一部を 60°C で 48 時間乾燥した。採取したヨシサイレージは試験期ごとに混合して 60°C で 48 時間乾燥した。糞および供試飼料の全てのサンプルは第 2 章（2-2-3）で示した方法と同様に粉碎し、分析試料とした。

第一胃液は、各試験期の本試験期最終日 10:00 に、各供試牛からルーメンカテーテル（三紳工業，神奈川，日本）を用いて採取した後、速やかに pH を測定した。その後、15000rpm で 15 分間遠心分離し、上清を $\text{NH}_3\text{-N}$ 及び揮発性脂肪酸（VFA）の分析まで -20°C で保存した。血液は、各試験期の本試験期最終日午前 10:00 に各供試牛の微静脈から採取し、3000rpm で 15 分間遠心分離し、上清を一般生化学検査まで -20°C で保存した。

表 6-1 飼料処理区の配合割合および化学成分組成

	対照区	25%区	50%区	80%区
配合割合 (%DM)				
ヨシサイレージ	0.0	25.0	50.0	80.0
スーダングラス乾草	92.4	71.5	50.0	20.0
大豆粕	6.6	3.5	0.0	0.0
化学成分組成 (%DM)				
DM(%)	92.3	46.7	31.3	22.4
OM	93.7	92.1	90.5	88.5
OCC	25.0	23.3	21.9	22.3
CP	9.1	9.5	10.2	12.9
EE	1.4	2.2	3.0	3.9
NCWFE	16.4	13.5	13.5	7.8
OCW	68.7	68.8	68.6	66.2

6-2-3. 化学成分組成の分析

供試飼料および糞の分析試料を化学分析に供した。DM、OM、EE、OCC、NCWFE、OCW、CP は第 2 章 (2-2-3) と同様の方法によって分析した。消化率は酸不溶性灰分 (AIA) を用いたインデックス法によって求め、分析試料中の AIA は Thonney *et al.* (1985) の方法に従って測定した。TDN は、第 5 章 (5-2-5) と同様に化学成分と消化率から算出した。CP 及び TDN 充足率は黒毛和種雌ウシの要求量 (農業・食品産業技術総合研究機構 2009) に対する摂取量の比率とした。

第一胃液の VFA 含量はガスクロマトグラフィー (Agilent 7820A GC; Agilent technologies, California, USA) を用いて測定した。NH₃-N 含量はインドフェノール法 (Wetherburn 1967) によって測定した。血液中のアルブミン (Alb)、尿素態窒素 (BUN)、グルコース (Glu)、無機リン (IP)、総コレステロール (T-Cho)、非エステル脂肪酸 (NEFA)、総タンパク質 (TP)、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、ガンマグルタミルトランスペプチターゼ (γ -GTP) は生化学自動分析装置 (CA-180; 古野電気, 兵庫, 日本) によって測定した。

6-2-4. 咀嚼行動の測定

本試験期中は、各供試牛の咀嚼行動を記録した。採食 (ET) および反芻時間 (RT) を咀嚼モニタリングシステム (USHI3-DLU02; 三宅, 広島, 日本) 用いて測定し、総咀嚼時間 (CT) を採食時間と反芻時間の合計値として求めた。

6-2-5. 統計解析

統計解析は SPSS の GLM Models procedure を用いて分散分析を行った。平均値の比較には Tukey HSD test を用いて、有意水準は 5%とした。

6-3. 結果及び考察

ヨシサイレージの発酵品質は pH が 4.32、乳酸及び酢酸含量がそれぞれ 0.14%と 0.13% となったが酪酸や NH₃-N 含量は低かった (表 6-2)。ヨシサイレージはスーダングラス乾草に比べ、OM、NCWFE、OCW 含量は低い、CP や EE 含量が高かった (表 6-3)。そのため、対照区からその 25%、50%、80%をヨシサイレージに置き換えたことによって、給与飼料中の DM、OM、NCWFE、OCW 含量は低下し、CP 及び EE 含量は増加した (表 6-1)。

表 6-2 供試ヨシサイレージの発酵品質

水分(%)	81.15
pH	4.32
NH ₃ -N(mg 100g ⁻¹)	0.30
有機酸(%)	
乳酸	0.14
酢酸	0.13
プロピオン酸	0.01
イソ酪酸	0.00
酪酸	0.02
イソ吉草酸	0.00
吉草酸	0.00

表 6-3 各飼料の化学成分組成(%DM)

	ヨシサイレージ	スーダングラス乾草	大豆粕
DM (%)	18.9	92.7	88.3
OM	87.2	93.8	93.3
OCC	22.6	21.2	71.6
CP	14.7	5.7	50.4
EE	4.5	1.5	1.1
NCWFE	5.8	14.6	25.7
OCW	64.6	72.6	21.7

給与飼料の DMI 合計量は、ヨシサイレージの給与水準が高くなるにつれて増加し、対照区及び 25%区よりも 50%区及び 80%区で有意に高くなった ($P<0.05$, 表 6-4)。また、試験期間中、全ての飼料処理区で残飼の発生は認められず、これらのことから、ヨシサイレージの給与は飼料摂取量に悪影響を及ぼさないことが示唆された。これは、第 5 章のヨシサイレージの消化管通過速度と摂取量の関係性からも支持される結果であった。ヨシサイレージの OCW 含量がスーダングラス乾草よりも低いに関わらず、OCW 摂取量が対照区に比べてヨシサイレージを配合することで増加した ($P<0.05$) のは、大豆粕の配合量が低下し、DMI が増加したためであった。ヨシサイレージの給与水準が高くなることで、NCWFE 摂取量は有意に低下するが、CP 及び EE 摂取量は有意に増加した ($P<0.05$)。OCC、CP、EE、NCWFE の消化率についてはヨシサイレージを配合することによる有意差は認められなかったが、OM 及び OCW の消化率はヨシサイレージの給与水準が高くなるにつれて低下し、対照区に比べ 80%区で有意に低くなった ($P<0.05$)。このため、80%区の TDN 含量が対照区に比べて有意に低くなった ($P<0.05$)。対照区の TDN 含量は 68.6%DM で最も高く、給与飼料中 92.4%がスーダングラス乾草であったことから、本試験で用いたもの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）に記載されるスーダングラス乾草に比べても高い TDN 含量を有していたことが推察された。TDN 充足率は飼料処理区間に有意差はなかったものの、対照区に比べ、80%区で大きく低下した（表 6-4, $P=0.084$ ）。これは、DMI が増加しても給与飼料中の TDN 含量が低く、TDN 摂取量が低下したためであった。しかし、最もヨシサイレージ給与水準の高い 80%区においても、おおよそ 100%の TDN 充足率を得ることができた。第 4 章における維持期ヒツジの TDN 充足率に近い値であったが、本試験においては大麦よりもエネルギー価の低いスーダングラス乾草を 20%配合することによっても TDN 要求量を充足できた。これは、ヒツジの飼料中 TDN 含量の要求量が 55%DM（National Research Council 1985）であるのに対し、黒毛和種繁殖雌ウシの要求量は飼料中 50%DM（農業・食品産業技術総合研究機構 2009）となっているためであると考えられる。一方、ヨシサイレージの給与水準が高くなるにつれて CP 充足率は増加し、飼料処理区間で 80%区が有意に高く、唯一 100%を超えた ($P<0.05$, 表 6-4)。つまり、ヨシサイレージを飼料の 80%配合することによって黒毛和種繁殖雌ウシの CP 要求量を満たすことができ、大豆粕のような CP の補足飼料が不要となることが分かった。これらのことから、本試験に用いたようなスーダングラス乾草 20%とヨシサイレージ 80%という飼料構成により、CP 及び TDN 要求量の双方を充足した黒毛和種繁殖雌ウシの飼養が可能であることが示唆された。

表 6-4 ヨシサイレージの配合割合の違いが飼料摂取量、消化率、TDN 含量、CP 及び TDN 充足率に与える影響

	対照区	25%区	50%区	80%区
DMI (g day ⁻¹ BW ^{0.75})				
ヨシサイレージ	0.0	15.3	31.8	51.2
スーダングラス乾草	54.8	43.5	31.7	12.8
大豆粕	4.5	2.1	0.0	0.0
合計	59.3 ^b	61.0 ^b	63.5 ^a	64.0 ^a
摂取量 (g day ⁻¹ BW ^{0.75})				
OM	55.6	56.1	57.4	56.6
OCC	14.9	14.2	13.9	14.3
CP	5.4 ^b	5.8 ^b	6.5 ^b	8.3 ^a
EE	0.9 ^c	1.3 ^d	1.9 ^b	2.5 ^a
NCWFE	9.7 ^a	8.2 ^{ab}	6.8 ^{bc}	5.0 ^c
OCW	40.7 ^b	42.0 ^{ab}	43.6 ^a	42.3 ^{ab}
TDN	40.8	35.3	34.8	30.9
消化率 (%)				
OM	71.9 ^a	61.0 ^{ab}	57.8 ^{ab}	50.8 ^b
OCC	86.1	76.3	76.5	82.2
CP	68.6	58.6	59.0	61.4
EE	64.0	60.8	67.2	67.6
NCWFE	94.4	88.7	92.1	98.2
OCW	67.0 ^a	55.8 ^{ab}	52.0 ^{ab}	40.4 ^b
TDN (%DM)	68.6 ^a	57.9 ^{ab}	54.9 ^{ab}	48.2 ^b
CP 充足率 (%)	73.2 ^b	78.2 ^b	87.4 ^b	111.4 ^a
TDN 充足率 (%)	131.9	114.0	112.6	99.8

^{abcd}: 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意

ウシの咀嚼行動については、飼料処理区間の ET 及び RT で有意差は認められなかったが、ヨシサイレージの給与水準が高くなるにつれて増加する傾向があり、80%区は対照区よりも CT が有意に高かった (P<0.05, 表 6-5)。咀嚼行動はウシの第一胃の恒常性維持に不可欠であり、粗飼料はそれらが有する繊維成分による物理刺激によって咀嚼行動（特に反芻行動）を誘起する役割を担っている。これについては、DMI1kg に対する咀嚼に費やす時間 (min) を Roughage value index (RVI) として、飼料の物理特性を指標化することによって咀嚼行動維持効果の評価がなされている (Sudweeks *et al.* 1981)。乳牛において給与飼料の RVI

が 31min kgDMI⁻¹を下回った場合、乳脂率が低下することや生産病のリスクが高まること
 が分かっており（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）、咀嚼行動時間がウシの健康状態
 に関与することが示唆されている。本試験では CT はヨシサイレージを無給与の対照区で
 66.87min kgDMI⁻¹、80%区で 83.62min kgDMI⁻¹であった。これらの値は、一般的な輸入
 粗飼料であるアルファルファ乾草やチモシー乾草の RVI(それぞれ 61.5、79.4min kgDMI⁻¹)
 と比較しても、低い値ではなかった（農業・食品産業技術総合研究機構 2007）。そして、ヨ
 シサイレージの給与水準が高まることで給与飼料の OCW 含量および摂取量が高くなり、第
 一胃への物理刺激が高まった結果、CT が有意に増加したと推察される。

表 6-5 ヨシサイレージの配合割合の違いが咀嚼行動に与える影響

	対照区	25%区	50%区	80%区
咀嚼行動 (min kgDMI ⁻¹)				
ET	26.48	24.64	27.50	31.81
RT	40.38	48.37	47.76	51.81
CT	66.87 ^b	73.00 ^{ab}	75.26 ^{ab}	83.62 ^a

^{ab}: 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意

咀嚼行動の役割のひとつは、飼料の採食反芻により起こる唾液分泌と第一胃への流入に
 よって、第一胃液の pH を 6.5-7.0 に維持することにあるが、第一胃液の pH が 5.8 以下と
 になるとアシドーシスとなり、ウシに重篤な健康被害を与えることが知られている
 (Beauchemin and Yang 2005)。本試験では、ヨシサイレージ給与水準が高まるにつれて
 咀嚼行動時間が増加したが、pH は有意に低下した（表 6-6、P<0.05）。これは、乾物摂取
 量の増加による pH の低下 (Fenner *et al.* 1967; 和泉ら 1974) であると考えられ、その範
 囲は 6.67-6.99 であり、ウシの pH 正常値内であった。VFA 総量は飼料処理区間に有意差は
 認められなかったが、ヨシサイレージ給与水準が高まるにつれて増加する傾向がみられた。
 NH₃-N 含量はヨシサイレージ給与水準が高まるにつれて有意に高くなった (P<0.05)。
 Fenner *et al.* (1967) や Hogan (1964) は、飼料摂取量の増加が、第一胃液中の VFA や
 NH₃-N 含量も増加させることを報告しており、本試験の DMI の結果は彼らの報告に一致
 している。また、NH₃-N 含量の著しい増加はヨシサイレージ給与水準の増加による CP 含
 量の増加に伴って起こったと推察された。このことから、CP 含量の高いヨシサイレージを
 高水準で給与することで、第一胃内の低 VFA から引き起こされる血中 Glu 含量の急激な低
 下や第一胃内の高 NH₃-N から引き起こされる血中 BUN 含量の増加が懸念された。しかし、
 VFA 含量に大きな変化はなく、血中 Glu 含量にも有意差はなかった（表 6-7）。また、NH₃-N
 含量は増加したものの、血中 BUN 含量にも有意差はなく、血中 Glu 及び BUN 含量はいず
 れも基準範囲値内 (猪熊ら 2014) あるいはそれに近い値であった。その他の血液性状につ
 いても飼料処理区間で有意差はなく基準範囲値内 (猪熊ら 2014) あるいはそれに近い値で

あった。以上の結果から、ウシへのヨシサイレージの給与または給与飼料中 80%という高水準での給与によって、第一胃液性状や血液性状に悪影響を及ぼすことなく、ウシの飼養が可能であることが分かった。

表 6-6 ヨシサイレージの配合割合の違いが第一胃液性状に及ぼす影響

	対照区	25%区	50%区	80%区
pH	6.99 ^a	6.90 ^{ab}	6.67 ^b	6.69 ^b
総 VFA (mmol dL ⁻¹)	7.2	8.4	8.6	8.9
酢酸(A)	5.2	6.0	6.0	6.3
プロピオン酸(P)	1.2	1.5	1.5	1.6
酪酸	0.6	0.7	0.7	0.7
A:P 比	4.3	4.0	4.0	4.1
NH ₃ -N(mg 100g ⁻¹)	5.7 ^b	6.7 ^b	8.2 ^{ab}	11.2 ^a

^{ab}: 各測定項目内で異なるアルファベットはそれぞれ 5%水準で有意

表 6-7 ヨシサイレージの配合割合の違いが血液性状に及ぼす影響

	対照区	25%区	50%区	80%区
TP(g dL ⁻¹)	8.63	8.33	8.58	8.93
Alb(g dL ⁻¹)	3.78	3.75	3.80	3.93
T-Cho(mg dL ⁻¹)	75.25	84.25	91.50	87.50
Glu(mg dL ⁻¹)	59.50	61.75	65.75	64.00
BUN(mg dL ⁻¹)	8.70	7.00	8.90	10.40
IP(mg dL ⁻¹)	7.43	6.80	7.25	6.63
Ca(mg dL ⁻¹)	1.83	1.38	1.45	1.50
Mg(mg dL ⁻¹)	101.59	101.98	89.07	106.35
GOT(IU L ⁻¹)	49.00	47.50	58.25	60.25
γ-GTP(IU L ⁻¹)	25.50	20.00	23.00	22.25
NEFA(mEq L ⁻¹)	304.50	306.00	271.75	260.75

第7章 総括と今後の展望

7-1. 本研究の総括

第1章では、本研究の産業的背景と研究目的について述べた。現在、日本の畜産業では、輸入飼料の価格高騰による経営負担の増大が懸念されることから、飼料自給率の低迷からの脱却が課題となっている。その解決方策のひとつとして、食品残渣や野草などの未利用資源の飼料利用が考えられる。本研究では、世界中に分布し、日本全国にも豊富に自生する未利用資源であるヨシを、反芻家畜の粗飼料として利用するために、粗飼料資源としての栄養学的な価値の評価を行うことを目的とした。

第2章では、多刈りによるヨシの収量及び栄養価の変動を3年間にわたって調査し、刈取年次と刈取回次がそれらに与える影響を明らかにし、粗飼料資源としての持続性についても評価した。

1. 4月から8月にかけてヨシの生育速度は、雨量、気温、日照時間に関わらずおおむね一定で、1日あたり11gDMであることを明らかにした。
2. 生育を開始する4月から8月頃までに約1ヶ月間隔で3回の刈取りを行えば、1.21-1.45kg m⁻²の乾物収量が得られ、年間18gN m⁻²の窒素施肥を行うことによって刈取年次の進行による収量減少は避けることができると推察された。
3. 生育日数が40日を超えると、OCWやOb含量は大きく増加し、CPやTDN含量は低下することから、35-40日間隔の刈取りによって収量と栄養価の双方が高いヨシを収穫できることを明らかにした。
4. ヨシの栄養価はCP含量が約18%DMと高いことが特徴であり、TDN含量は45-53%DMであると推定された。

以上の結果から、ヨシを約35日間隔で年3回刈りし、刈取り毎に6gN m⁻²の窒素施肥を行うことによって、粗飼料として利用可能な資源にできることが分かった。

第3章では、高品質なヨシサイレージを調製することを目的に、ヨシの付着乳酸菌の解析と化学成分組成の分析からサイレージ材料草としての適性を評価するとともに、乳酸菌及び糖を添加するサイレージ調製試験から、ヨシサイレージにおける添加物の必要性について検討した。

1. 春に採取したヨシからサイレージ発酵に適した乳酸菌は検出されず、夏のヨシからは10² cfu gFM⁻¹の *Enterococcus* 属乳酸球菌が検出されたが、サイレージ発酵に適した菌数及び菌種ではなかった。
2. サイレージの原料としては、ヨシは水分含量が高く、可溶性炭水化物含量(5.3%DM)が低いことを明らかにした。
3. 乳酸菌及び糖をそれぞれ単体で添加した場合、酪酸菌の増殖によって発酵品質の改善は期待できないが、その双方を添加することで発酵品質の高いサイレージにできることを明らかにした。

以上の結果から、高品質なヨシサイレージの調製には材料草に乳酸菌と糖が不足しており、その双方を添加することが必要であるということを明らかにした。

第4章では、ヨシの収穫管理方法として窒素施肥と多刈りが、ヨシサイレージ調製法として糖及び乳酸菌の添加がそれぞれ必要であることを踏まえ、窒素施肥、刈取回次、アクレモニウムセルラーゼ・乳酸菌混合剤の添加がヨシサイレージの発酵品質に与える影響を検討した。

1. 窒素施肥は材料草ヨシの CP 含量にのみ効果を示したが、サイレージの酪酸含量を低下する効果が認められた。
2. 刈取回次が進むことで、材料草ヨシの水分含量および NCWFE 含量は低下した。
3. 無添加に比べ、アクレモニウムセルラーゼ・乳酸菌混合剤の添加は発酵品質を大きく改善したが、水分ならびに NCWFW 含量が低下する二番草及び三番草ではその効果は小さかった。

以上の結果、収量持続のために窒素施肥を行っても、ヨシサイレージの発酵品質には悪影響を及ぼさず、高水分である一番草の場合、アクレモニウムセルラーゼ・乳酸菌混合剤の添加によって発酵品質の高いサイレージ調製が可能であった。しかし、二番草、三番草ではその効果は低くなるため、より発酵品質を改善する添加物の検討が必要であった。

第5章では、まず、生育日数約1ヶ月のヨシを材料草にアクレモニウムセルラーゼ・乳酸菌混合剤を添加して調製したヨシサイレージについて、ヒツジを用いた消化試験から消化率及び TDN 含量を測定し、栄養学的評価を行った。次に、維持期成雌ヒツジを用いたヨシサイレージを主体とする飼料の給与試験を行い、消化率及び養分摂取量の結果からヒツジ飼養における利用性を検討した。同時に、咀嚼行動及び消化管通過速度を測定し、一般的な輸入乾草と比較することで、ヨシサイレージの粗飼料としての特性を評価した。

1. CP 含量及び消化率は出穂前イネ科牧草サイレージよりも高く、開花期アルファルファサイレージと同等の値であった。TDN 含量は 50.4%DM で、結実期イネ科牧草サイレージよりも高い値であった。
2. ヨシサイレージ 80%、大麦のような濃厚飼料 20%というヨシサイレージ主体飼料の給与で、維持期ヒツジの TDN 要求量を充足する飼養が可能であり、大豆粕のような補足飼料による CP の補給が不必要となることが明らかとなった。
3. ヨシサイレージの給与によって、一般的な輸入粗飼料に劣らずヒツジの咀嚼行動を誘起できることを明らかにした。
4. ヨシサイレージと輸入粗飼料の消化管通過速度に大きな差異はなく、第一胃内での滞留による飼料摂取量の抑制は認められなかった。

以上のことから、ヨシサイレージは CP 及び TDN 含量ともに一般的な牧草サイレージと比較しても劣るものではなく、維持期成雌ヒツジの飼養において粗飼料としての利用が可能であり、また、咀嚼行動や飼料摂取に問題のないことから、有用な粗飼料であることを明らかにした。

第 6 章では、ヒツジに続いて黒毛和種繁殖雌ウシにおいて、ヨシサイレージの給与水準を異にした飼料を用いて給与試験を行い、養分摂取量からその利用性を検討した。また、咀嚼行動、第一胃液性状、血液性状の分析から、ヨシサイレージ給与水準が増加することによるウシの健康状態への影響について検討した。

1. スーダングラス乾草 20%とヨシサイレージ 80%という飼料構成により、維持期黒毛和種繁殖雌ウシの CP 及び TDN 要求量を充足することが可能であった。
2. 一般的な輸入粗飼料と比較してもヨシサイレージの給与によってウシの咀嚼行動は十分に誘起されることが明らかになり、給与水準の違いにより第一胃液性状に変化はあったものの、第一胃内環境に悪影響をもたらすものではなかった。
3. ヨシサイレージの給与水準を増加しても、血液性状に変化はなく、すべて正常な値であった。

以上のことから、維持期黒毛和種繁殖雌ウシにおいて、ヨシサイレージ 80%という給与水準によって TDN 要求量を充足できるとともに、大豆粕のような CP 補足飼料の利用が不要となり、粗飼料のみでの飼養が可能となることを明らかにした。さらに、ウシの第一胃内環境や健康に悪影響を与えないことも確認されたことから、ヨシサイレージは黒毛和種繁殖雌ウシの粗飼料としても利用できることが示された。

本研究によりヨシの飼料化において 1)ヨシの収量及び栄養価の持続が可能である収穫システム、2)高品質なヨシサイレージ調製法、3)ヒツジにおけるヨシサイレージの給与方法、4) 黒毛和種繁殖雌ウシにおけるヨシサイレージの給与方法、が確立され、粗飼料としての栄養学的特性についても明らかにした。このようにヨシの生育から家畜への給与まで一貫した基礎研究を行い、ヨシサイレージという新規粗飼料の安定した生産・利用技術を提示した知見は過去にない。これらの成果は、日本の飼料資源拡大に役立つ実用技術開発につながるものと期待される。

7-2. 飼料としてのヨシサイレージ利用の今後の展望

本研究では、石川県の河北潟干拓地内に自生する野草ヨシをヨシサイレージとして飼料化することができた。収穫システムや反芻家畜への給与方法が確立されたヨシサイレージは、畜産農家という実際の生産現場において直ちに実用できる。また、本研究でも述べたように、ヨシは飼料イネ専用収穫機によって収穫が可能であり、ラッピングマシーンを用いたロールベールサイレージの調製が可能である。機械収穫及びサイレージの機械調製による大規模な生産が可能であることは、今後の普及、利用拡大を大いに進めると考えられる。しかし、本研究ではヨシサイレージの生産コストと利用する畜産農家における経済的な評価はできなかった。これらの経済性の評価は、新規飼料の普及のためには不可欠である。ここでは、耕種農家が栽培する飼料作物の収穫及びサイレージ調製を請け負う収穫コントラクターの導入によって、生産されるヨシサイレージとそれらの流通について一例を挙げるとともに (図 7-1)、畜産農家における利用について展望を述べる。

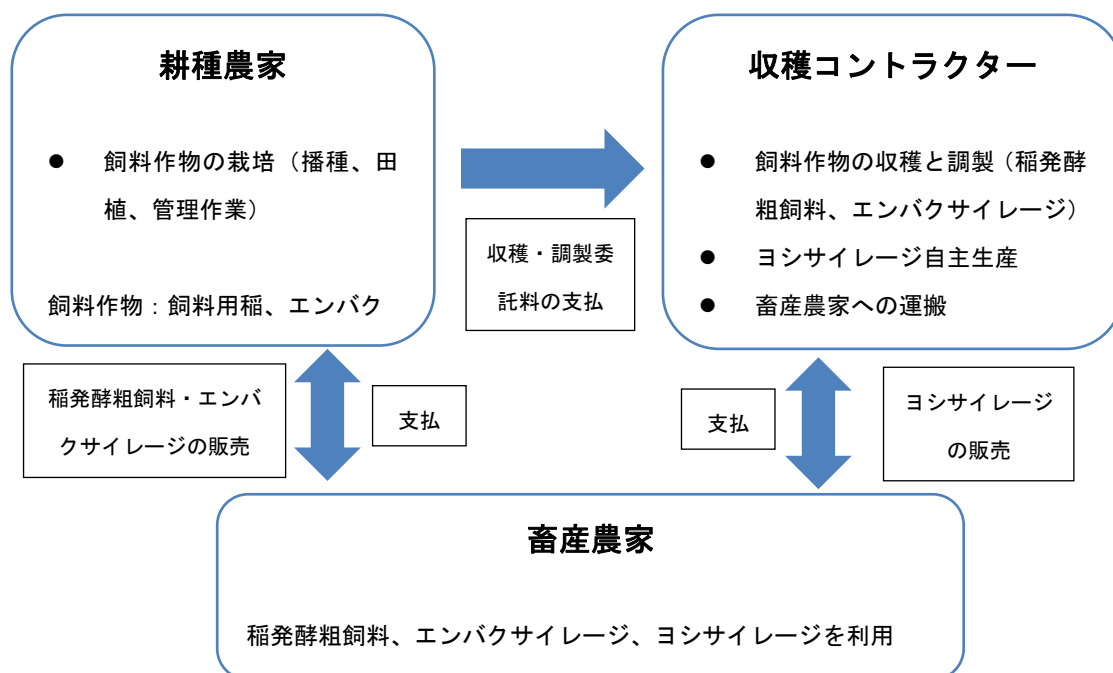


図 7-1 収穫コントラクターの導入による飼料生産・流通の一例

収穫コントラクターによる飼料用稲と飼料用エンバクの収穫委託に加えて、ヨシの収穫とサイレージロール販売を行うことによる収支の試算を表 7-1 に示した（石田ら 2013）。本試算は収穫コントラクターが購入する収穫機及びロールベール調製機械の減価償却期間を 7 年として、また、飼料用稲とエンバクの栽培面積を 520a、ヨシの栽培面積 400a として、単年の収支についてのみ示した。ヨシロールベールサイレージ 1 個 4000 円とし、5、6、7 月の 3 回の作成で年間 72 万円の収入を見込むことができる。また、収穫コントラクターの年間の収支もヨシの収穫物販売により黒字化し、ビジネスとして成り立つ可能性が考えられる。このように、他作物の収穫コントラクターの導入によって、ヨシサイレージ生産の経済面についても実用性があると言える。ヨシロールベールサイレージ 1 個当たりの乾物重量を 90kg とした場合、ヨシサイレージの価格は乾物 1kg 当たり約 45 円となる。石川県での輸入乾牧草の価格は約 70 円 kg^{-1} となっている（石川県酪農業協同組合からの私信 2015）。つまり、現時点において、ヨシサイレージの価格は輸入乾牧草より 25 円 kg^{-1} ほど安値となり、経済性も優れていると考えられる。さらに、輸入飼料の価格高騰がどこまで続くのか定かでないことから、45 円 kg^{-1} のヨシサイレージを利用することで畜産農家の負担を大きく軽減できると言える。また、こうした自給飼料は、海外の生産国の不作による日本への供給量の減少があった場合、国内での飼料不足を回避し、安定供給を可能にするという点で、大きなメリットになる。価格高騰や飼料不足となったとき、畜産農家は、品質を度外視した低価格の輸入飼料を利用するか、自給飼料を利用するかという選択を迫ら

れるであろう。今後の新興国の飼料の需要拡大や飼料生産の情勢に伴って、ヨシサイレー
 ジを含めた未利用資源飼料は、その需要が一層高まることが予想され、今後の普及が進む
 ものと考えられる。

表 7-1 収穫コントラクターの収支

	飼料用稲	エンバク	ヨシ		
	9月	6月	5月	6月	7月
栽培面積 (a)	520	520	400	400	400
ロール数 10a ⁻¹ (個)	8.8	6.2	1.5	1.5	1.5
支出(生産費)(千円)					
ラップ・ネット	438.8	309.2	57.5	57.5	57.5
燃料	144.4	101.7	18.9	18.9	18.9
労働費	175.3	123.5	23.0	23.0	23.0
機械減価償却費	2214.3	0.0	0.0	0.0	0.0
ロール運搬費	435.6	306.9	57.1	57.1	57.1
小計	3408.4	841.3	156.6	156.6	156.6
収入(千円)					
作業受託費	2182.2	1829.3	0.0	0.0	0.0
ロール販売収入	0.0	0.0	240.0	240.0	240.0
小計	2182.2	1829.3	240.0	240.0	240.0
作物ごとの収支(千円)	-1226.3	988.0	83.4	83.4	83.4
全収支(千円)	-1226.3	-238.3	-154.9	-71.4	12.0

謝辞

本研究の遂行と学位論文をまとめるに当たり、多くのご支援とご指導を賜りました、指導教員である石田元彦教授に深く感謝の意を表します。学部 4 年生の時からこれまで、指導教員として時に厳しく、また辛抱強くみまもってくださり、私に研究の楽しさを教えていただきました。これらは今後の研究活動の糧となるものであり、さらなる成長にむけて努力していく所存です。本研究は、共に研究してきた中村亮さん、新家彩子さん、小池りりいさん、川角安里さん、石川貴大さんをはじめとする石川県立大学動物栄養学研究室の皆様、小木野瑞奈助教をはじめとする動物管理学研究室の皆様のご支援、ご協力があったこそ遂行できたものであり、ここに深く感謝の意を表します。また、日々の学校生活、研究活動において多大なご支援と励ましの言葉、ご厚意をいただいた石川県立大学松野隆一前学長と熊谷英彦学長には深く感謝の意を表します。両先生に温かくみまもっていただいたことで、論文発表や学会での授賞という研究成果に繋がる努力ができたと感じています。

本研究における河北潟干拓地での実験にあたり、耕作放棄地と河川敷の利用許可、除草機械の貸出をしてくださいました河北潟干拓土地改良区の鈴木時秀事務局長ならびに除草作業にご助力頂いたスタッフの皆様にご心よりお礼申し上げます。ヨシの掃除刈りや収穫、運搬には有機センター白山宮井宏氏にご尽力いただき、心よりお礼申し上げます。大麦を提供していただいた石川県 JA 小松米穀対策課の吉田秀昭課長に、心よりお礼申し上げます。ウシの給与試験において、ウシの実験使用を認めていただいた上、実験期間中の飼養管理やサンプリング等、多大なご支援を賜りました杉本信夫獣医師に、心よりお礼申し上げます。また、ウシの採血や第一胃液採取の際に、ご協力いただいた石川県農林総合研究センター畜産試験場の石田美保氏に心よりお礼申し上げます。

本研究において、窒素・炭素分析装置の操作をご指導いただいた塚口直史准教授、糖の分析をご指導いただいた榎本俊樹教授、乳酸菌の単離同定及び菌数測定についてご指導いただいた小柳喬准教授に深く感謝しております。また、第一胃液性状の分析をしていただいた麻布大学獣医学部栄養学研究室の鈴木武人准教授、血液性状を分析していただいた石川県南部家畜衛生所には深く感謝しております。消化管通過速度の分析に際して、施設訪問の機会を与えてくださった農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所の永西修上席研究員、分析方法と分析機器の操作をご指導いただいた同研究所の大森英之主任研究員には深く感謝しております。

本研究は、公益社団法人畜産技術協会ならびに石川県立大学学内プロジェクトよりご支援を受け、遂行できました。ここに深く感謝申し上げます。

また、博士後期課程 3 年間は、公益財団法人尚志社からの奨学金によって学生生活のご支援を受けました。生活面のゆとりから研究に打ち込む環境を支えてくださった尚志社の皆様には心からお礼申し上げます。

最後に、これまで自分の進む道を温かくみまもり、応援してくださった両親と、迷い悩

んだ時にいつも背中を押してくださった兄弟に対して深い感謝の意を表して謝辞と致します。

引用文献

- 阿部亮 (1988) 炭水化物成分を中心とした飼料分析法とその飼料栄養価評価法への応用. 畜産試験場研究報告 2, 1-75
- 阿部亮 (2001) 一般成分. 動物栄養試験法 (編集. 石橋晃). 養賢堂, 東京, 455-466
- Abe A, Horii S, Kameoka K (1979) Application of enzymatic analysis with glucomylase, pronase and cellulase to various feeds for cattle. *J Anim Sci* 48: 1483-1490.
- Ailstock MS, Norman CM, Bushmann PJ (2001) Common reed *Phragmites australis*: Effects Upon Biodiversity in Freshwater Nontidal Wetland. *Restoration Ecology* 9: 49-59
- 安宅一夫 (2011) サイレージの新しい研究と技術. 畜産技術 678: 17-20
- Balch CC (1950) Factors Affecting the Utilization of Food by Dairy cows. *Br J Nutr* 4: 361-388.
- Bayorbor TB, Kumai S, Fukumi R, Hattori I (1993) Effects of Acremonium Cellulase and Lactic Acid Bacteria Inoculant on the Fermentation Quality and Digestibility of Guineagrass Silages. *J Japan Grassl Sci* 39(3): 317-325.
- Beauchemin KA, Yang WZ (2005) Effects of physically effective fiber intake, chewing activity, ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. *J Dairy Sci* 88: 2117-2129.
- 蔡義民・熊井清雄・福見良平 (1991) 標高と季節の差異が飼料作物・牧草に付着する微生物、とくに乳酸菌数も及ぼす影響. 日草誌 37: 247-253
- 蔡義民・大桃定洋・熊井清雄 (1994) 飼料作物に付着する乳酸菌の分布とその乳酸発酵特性. 日草誌 39:420-428
- Cross DH, Fleming KL (1989) Control of Phragmites or Common Reed. US Fish & Wildlife Service, USA, available from URL: <http://digitalcommons.unl.edu/icwdmwfm/> [cited 20 December 2015].
- Fenner HF, Dickinson N, Barnes HD (1967) Relationship of Digestibility and Certain Rumen Fluid Components to Level of Feed Intake and Time of Sampling after Feeding. *J Dairy Sci* 50: 334-344.

- Gordon CH, Derbyshire JC, Jacobson WC (1963) Some effects of harvest date and nitrogen fertilization on the chemical quality and feeding value of orchardgrass silage. *J Dairy Sci* 46: 630–631.
- Gordon CH, Derbyshire JC, Wiseman HG, Jacobson WC (1964) Variations in initial composition of orchardgrass as related to silage composition and feeding value. *J Dairy Sci* 46: 987–992.
- Grovum WL, Williams VJ (1973) Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *Br J Nutr* 30: 313–329.
- Hogan JP (1964) The digestion of food by the grazing sheep. II The production of ammonia in the rumen. *Aust J Agric Res* 15: 397–407.
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV, Herberger JP (1977) *The World's Worst Weeds*. University Press of Hawaii, Honolulu, 373–378.
- 堀誠・深川聡・岩永圭紀・吉田久司・大川鐘一 (2004a) 諫早湾干拓地におけるヨシの生育特性とサイレージの飼料成分. 九州農業研究 66: 140
- 堀誠・深川聡・岩永圭紀・大川鐘一 (2004b) ヨシ (*Phragmites communis* Trin.) のサイレージ発酵品質、嗜好性および栄養価. 日草九支報 34(2): 11–15
- 猪熊・北川均・内藤善久 (2014) 臨床検査項目の基準範囲. 獣医内科学第2版 (大動物編) (編集: 日本獣医内科学アカデミー). 文永堂, 東京, 386–389
- 石田元彦・小林雅裕・塚口直史・大橋伸行・吉川勇・宮井宏 (2013) 稲発酵粗飼料、葦サイレージ、飼料麦サイレージを収穫するコントラクターを中心とする営農モデルの開発. 生産コスト低減畜産技術開発推進事業. 平成24年度完了課題研究成果報告書. 社団法人畜産技術協会, 東京, 134–135
- 伊藤稔 (1977) ウシの消化率に伴う誤差の大きさと2, 3の性質. 日畜会報 48(5): 243–249
- 和泉康史・黒沢弘道・石田亨・尾上貞雄・小倉紀美・蒔田秀夫 (1981) 窒素施肥量が牧草サイレージの飼料価値に及ぼす影響. 日畜会報 53(5): 313–320
- 和泉康史・岡本全弘・裏悦次 (1974) 牧草サイレージの摂取量がウシ第一胃内揮発性脂肪酸の産生に及ぼす影響. 日畜会報 45(4): 200–205

- Jacobson WC, Weiseman HG (1962) Relationship between chemical composition of orchardgrass forage and the chemical quality of the resulting silage. *J Dairy Sci* 45: 664.
- Karunaratne S, Asada T, Yutani K (2004) Why summer harvesting of comomo reed is a viable management practice? 信州大学山地水環境教育研究センター研究報告 2: 41–46
- 川口俊春・井出確・上田允祥・福田誠実 (1977) タケノコ皮 (ボイル) サイレージ調製試験. 日草九支報 7(2): 31–33
- 北村亨 (2015) 高水分牧草サイレージに対するサイレージ用乳酸菌「サイマスター」の効果. 牧草と園芸 63(2): 19–22
- 小柳渉・本間暁子・今井明夫・石崎和彦 (2001) キノコ廃菌床の飼料利用に関する研究. 新潟県畜産センター研究報告 13 : 37–39
- Krysl LJ, Mccollum FT, Galyean ML (1985) Estimation of Fecal Output and Particulate Passage Rate with a Pulse Dose of Ytterbium-labeled Foliage. *J Range Management* 38: 180–182.
- Li Y, Nishino N (2013) Changes in the bacterial community and composition of fermentation products during ensiling of wilted Italian ryegrass and wilted guinea grass silages. *Anim Sci J* 84: 607–612.
- 松井繁幸・岩澤敏幸・池谷守司 (2009) 佐鳴湖ヨシの水質浄化機能と刈り取り後の飼料利用技術. 静岡畜産技術研究所中小家畜試験場研究センター研究報告 2: 35–42
- McDonald P, Henderson N, Heron S (1991) *The biochemistry of silage, Second edition*. Chalcombe Publications, Berkshire, 48–249.
- 森地敏樹・大山嘉信 (1972) 牧草における乳酸菌 (*Lactobacilli*) の分布. 日畜会報 43(5): 264–267
- National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1990) BLAST. National Center for Biotechnology Information, Bethesda, available from URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> [cited 1 February 2015].
- National Research Council (NRC) (1985) Nutrient Requirements of Sheep. 6th rev. ed. National Academy Press. Washington DC.
- 農業・食品産業技術総合研究機構 (2010) 日本標準飼料成分表 2009 年版. 中央畜産会, 東京

- 農業・食品産業技術総合研究機構（2009）日本飼養標準（肉牛用）2008年版．中央畜産会，東京
- 農業・食品産業技術総合研究機構（2007）日本飼養標準（乳牛用）2006年版．中央畜産会，東京
- 農林水産省（MAFF）（2015a）平成26年度食料自給率について．MAFF，
http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/zikyu_ritu/pdf/26ritu.pdf [2015年12月20日参照].
- 農林水産省（MAFF）（2015b）飼料をめぐる情勢．MAFF，
http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/l_hosin/pdf/09_meguji_data.pdf [2015年12月20日参照].
- 農林水産省農林水産技術会議事務局（1997）日本飼養標準めん羊（1996年版）．中央畜産会，東京
- 小笠原俊介・廣川順太・谷山敦・松尾信明（2004）泌乳牛におけるヨシサイレージの飼料利用．九州農業研究 66: 141
- 岡元秀樹・古館明洋・益子孝義（2011）窒素施肥量がチモシー（*Phleum pretense* L.）の飼料成分とサイレージ発酵に及ぼす影響．日草誌 56(4): 274–277
- 奥山恭平・大嶋竜也・前田竜志（2009）ミヤコザサの飼料価値解明．帯畜大学別科研報 23: 43–47
- 大下友子（2001）反芻家畜における粗飼料の消化管通過速度の解析に関する研究．東北農業試験場研究報告 99: 111–163
- Sudweeks EM, Ely LO, Mertens DR, Sisk LR (1981) Assessing Minimum Amounts and Form of Roughages in Ruminant Diets: Roughage Value Index System. *J Anim Sci* 53: 1406–1411.
- 田畑真佐子・加藤聡子・川村晶・鈴木潤三・鈴木静夫（1996）ヨシ植栽水路における河川水中の窒素・リンの除去効果．水環境学会誌 19(4): 331–338
- 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
- Thonney ML, Palhof BA, Decarlo MR, Ross DA, Firth NL, Quaas RL, Perosio DJ, Duhaime DJ, Rollins SR, Nour AYM (1985) Sources of Variation of Dry Matter Digestibility Measured by the Acid Insoluble Ash Marker. *J Dairy Sci* 68: 661–668.

- Tremblay GF, Belanger G, Drapeau R (2005) Nitrogen fertilizer application and developmental stage affect silage quality of timothy (*Phleum pratense* L.). *Grass Forage Sci* 60: 337–355.
- Wetherburn MW (1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry* 39: 971–974.
- 湯谷賢太郎・浅枝隆・田中規夫・Shiromi Karunaratne (2004) 観測と再生長モデルによる刈取られたヨシ *Phragmites australis* の回復過程の評価. 応用生態学 6(2): 177–190
- Zhang J, Kumai S (2000) Effluent and Aerobic Stability of Cellulase and LAB-Treated Silage of Napier Grass (*Pennisetum purpureum* Schum). *Asian Australas J Anim Sci* 13(8): 1063–1067.

本論文を構成する論文

査読付き論文

Asano K, Nakamura R, Araie A, Koike R, Takahashi K, Madachi T, Ishida M (2015) Effects of year and harvest time within the year on yield and chemical composition of common reed (*Phragmites communis* Trin.) as ruminant feed. *Grassl Sci* 61: 1–5.

国際会議要旨集（査読付き）

Asano K, Araie A, Nakamura R, Ishida M (2012) Effect of cutting frequency and nitrogen application level on the yield and nutritive value of common reed (*Phragmites communis* Trin.). *Proceedings of the 4th Japan-China-Korea Grassland Conference*. Aichi, Japan.

Asano K, Araie A, Koike R, Takahashi K, Madachi T, Ishida M (2013) Effect of using additives at ensiling on the fermentation quality of common reed (*Phragmites communis* Trin.) silage. *Proceedings of the 22nd International Grassland Congress*, Sydney, Australia.

Asano K, Kawasumi A, Takahashi K, Ishida M (2015) Comparison of protein and energy intake, passage rate and roughage value index of common reed (*Phragmites communis* Trin.) silage-based diet with those of hay-based diet in ewes at maintenance. *Proceedings of the 23rd International Grassland Congress*, New Delhe, India.