

Lactobacillus buchneri を添加したイタリアンライグラスサイレージの乳用牛に対する嗜好性

田辺裕司*・横内百合香

Effect of *L. buchneri* on the palatability of Italian ryegrass silage

Yuji TANABE and Yurika YOKOUCHI

要 約

L. buchneri 添加により調製したイタリアンライグラスロールベールサイレージについて、ホルスタイン種搾乳牛を用いた嗜好性試験を実施した。

- 1 サイレージ発酵品質は乳酸含量が低く、酢酸含量が高い *L. buchneri* 特有の発酵パターンを示した。また、乾物中 $1.95 \pm 0.92\text{g/kg}$ の 1,2-プロパンジオール生成が認められた。
- 2 *L. buchneri* 添加サイレージの 1 日当たり乾物摂取量は市販の添加剤添加及び無添加のサイレージと同程度であり、サイレージ中に含まれた 1,2-プロパンジオール量は、乳用牛の嗜好性に影響を及ぼさなかった。
- 3 給与期間中の乳生産性、血液性状及びルーメン液成分にも *L. buchneri* 添加サイレージ給与による影響は見られなかった。

キーワード : *L. buchneri*、1,2-プロパンジオール、発酵品質、嗜好性

緒 言

L. buchneri (以下、「LB」) は発酵過程で乳酸及び乳酸以外のものを生成するヘテロ型発酵乳酸菌に分類され、生成物として 1,2-プロパンジオールの存在が知られている¹⁾。この物質は一般的にプロピレングリコール (以下、PG) と呼ばれ、分娩後の栄養改善あるいはルーメン絨毛の発達促進などに効果があるとして乳用牛の飼養管理に広く利用されている²⁾。本課題は LB のこのような PG 産生能を利用した乳用牛に対する機能性飼料の開発を最終目的とし、第 1 段階としてサイレージ添加剤としての利用性を検討したものである。

サイレージ添加剤としての LB 研究は実験室規模のものが中心であること^{3) 4) 5)}、さらには PG を含む飼料を与えた場合には採食性の低下が懸念されることから、今回はイタリアンライグラスを材料草に用いた実規模でのロールベールサイレージを調製し、乳用牛に対する嗜好性の確認とサイレージ中に含まれる PG の牛体への効果について検討を行った。

材料及び方法

1 試験飼料の調製

平成 16 年 7 月 13 日に総合畜産センター内において刈り取りしたイタリアンライグラス 2 番草を材料草に用いた。1 日予乾した後、それぞれ乳酸菌を噴霧しながら直径 120cm のロールベールサイレージを作製した。LB は岡山大学で分離した NK02 株を使用し、添加量は 1×10^8 個/kgFW に調整した。対照として市販のサイレージ添加剤 (*L. rhamnosus*: ホモ型乳酸菌、以下「市販菌」) 添加及び乳酸菌無添加のロールベールサイレージを作製した。サイレージは分析用サンプルを採取するまで屋外で貯蔵した。

2 サイレージ発酵品質

平成 17 年 1 ~ 3 月にドリル式円筒型サンプラー (直径 7 cm、長さ 26cm) を用いてロールベールの上・中・下部の 6 か所から合計 1000g のサンプルを採取し、発酵品質等の分析に供した。分析項目は pH、有機酸 (酢酸・酪酸・乳酸) 及び VBN/T-N 比とした。また、サンプル中の PG 濃度をガスクロマトグラフにより測定した。

3 嗜好性試験

(1) 試験設定

平成17年2月10日から1期3週間、3×3のラテン方格法により嗜好性試験を実施した。供試牛には泌乳中～後期のホルスタイン種搾乳牛6頭（平均産次数1.7産）を用いた（表1）。試験区はLB添加サイレージ給与区（LB添加区）、市販菌添加サイレージ給与区（市販菌区）及び無添加サイレージ給与区（無添加区）の3区を設けた。なお、給与サイレージは分析用サンプル採取後の残りをを用いた。

表1 試験牛の概要

個体 No.	産次数	分娩後日数(日)	体重(kg)	濃厚飼料給与量(kg/日)
A	3	185	633	13
B	3	242	641	14
C	1	245	546	15
D	1	148	618	14
E	1	214	520	13
F	1	154	534	13
平均	1.7	198		

(2) 試験方法

嗜好性は1日当たりの採食量で比較を行った。供試サイレージは飽食とし、各期第3週の8:30及び16:00に残食量を測定して7日間の平均値を使用した。濃厚飼料は4回/日の頻度で個体毎に設定した量を給与した。乳量及び乳成分は3日間の平均とした。ルーメン液は各期最終日の11:30に採取し、pH及び有機酸含量を測定した。同時刻に尾静脈から採血し、血清中遊離脂肪酸（NEFA）及び総ケトン体を酵素法により測定した。結果はTukeyの方法により有意差の検定を行った。

結果及び考察

1 サイレージの発酵品質

今回調製したサイレージは予乾によりLB添加で水分54%、他の2区も49、47%と概ね50%

前後であった（表2）。サイレージ中乳酸含量は市販菌添加で3.20%と最も高く、LB添加では2.77%で無添加とともに若干少ない傾向を示したが区間に有意差は見られなかった。酢酸含量はLB添加が0.99%と他2区よりも有意（ $p < 0.01$ ）に高い値を示した。また、LB添加では1.95g/kgDMのPGが検出された（表3）。市販菌添加及び無添加では検出できなかった。

LBは代謝産物として乳酸を生成すると同時に、乳酸を分解して酢酸とPGを生成する。今回のような実規模の試験でも酢酸生成量の増加及び特異的なPG産生が確認でき、添加したLBが有効に活動していたことが推察された。

しかし、今回検出されたPG濃度は過去のイタリアンライグラスでの報告（約18g/kgDM）⁴⁾に比べ1/9程度と非常に少量であった。原因として今回調製したサイレージが水分50%前後の低水分サイレージであったために、乳酸菌の活動がやや抑えられた可能性が考えられる。さらに、前述の報告はより機密性の高いボトルサイロを用いた結果であり、フィルム本体あるいは層間の通気性を完全に遮断することが難しいロールベールサイレージではLBの活動が十分に行えずPG産生量に影響した可能性も考えられた。

しかし、一般農家では今回の水分を更に下回るロールベールサイレージは珍しくない。今後LB添加の実用性を高めていくうえでは、このような水分条件下で調製したサイレージについてもPG産生量等を把握していく必要があると思われる。

フリーク評点は全区「優」判定であったが、LB添加は81点で最も低い値であった。V-SCORE法においても同様の傾向が見られた。ヘテロ型乳酸菌に分類されるLB添加時にサイレージとしての評価が低くなることは予測された結果であり、LB添加サイレージの良否判定にあたっては、その特性を考慮した評価法や評価項目を検討する必要があると思われる。

表2 各種乳酸菌添加サイレージの発酵品質

区分	n	水分 (%)	pH	VBN/T-N (%)	有機酸含有率 (%)			フリーク 評点	V-SCORE
					乳酸	酢酸	酪酸		
LB添加	9	54.8	4.7 ^a	11.9 ^a	2.77	0.99 ^a	0.05	81	72
市販菌添加	9	48.8	4.3 ^c	9.8 ^b	3.20	0.60 ^c	0.01	97	86
無添加	8	47.4	4.8 ^a	10.1 ^b	2.86	0.62 ^c	0.06	92	80

有機酸含有率は対新鮮物%（飼料100g中の各有機酸量g）

a-b間に5%、a-c間に1%で有意差あり

表3 各種乳酸菌添加サイレージ中PG濃度

区分	n	PG濃度 (g/kgDM)
LB添加	4	1.95 ± 0.92
市販菌添加	4	検出域以下
無添加	4	検出域以下

平均値 ± SD

2 乳用牛に対する嗜好性試験

各試験区のサイレージ乾物摂取量、産乳量及び血清成分を表4に示した。平均乾物摂取量はLB添加区で7.3kg/日であり、市販菌添加区で若干少ない傾向を示したが、無添加区とともにLB添加区と比較して有意差は認められなかった。乳量及び乳成分とも区間で差は見られなかった。さらにデータは採取していないが、給与直後の食い付きについても良好なことを観察しており、LB添加サイレージを乳用牛に給与しても嗜好性あるいは生産性に影響はないものと考えられた。飼料中PG濃度と嗜好性との関係については乳用牛では30g/kgDMまで⁹⁾、ヤギでも20g/kgDM¹⁾では影響がないとの報告もあり、今回給与したサイレージに含まれるPG濃度(1.95g/kgDM)では乳用牛に対する嗜好性に問題ないものと思われた。

また、ルーメン液中有機酸含量及び栄養状態の指標となる血清中NEFA並びに総ケトン体濃度の測定を行い、LB添加サイレージに含まれるPGが乳牛の栄養状況改善に及ぼす影響について調べた

(表4及び5)。血清中NEFA及び総ケトン体濃度に差は見られなかったが、ルーメン液中プロピオン酸含量はLB添加区が若干高くなる傾向を示した。経口投与されたPGはルーメン内でプロピオン酸を経てグルコースに分解される。しかしながら今回の試験牛が摂取したPG量は1日当たり摂取量に換算すると14g/頭程度であり、治療等に使用される量と比較して明らかに少ない。したがって、給与飼料中のPGはルーメン液中プロピオン酸含量の上昇に関与した可能性はあるものの、血清成分に変動を及ぼす量ではなかったものと考えられた。

以上、今回調製したLB添加サイレージは酢酸含量の増加及びPGの生成などLB特有の発酵パターンを示した。生成されたPGによる栄養状態改善も期待されたが、今回の生成量では十分な効果を確認することができなかった。しかし、嗜好性については市販の添加剤に劣らない結果が得られたことから、今後のLBを用いた飼料開発に期待が持たれた。

謝 辞

L. buchneri NK02株の提供をはじめ、試験実施にあたり多くの助言及び協力を頂いた岡山大学大学院動物機能開発学講座の西野直樹助教授に深くお礼申し上げます。

表4 各乳酸菌添加サイレージ給与時の乾物摂取量、乳量、乳脂肪率及び血清成分

区分	n	サイレージ			血清成分	
		乾物摂取量 (kgDM/日)	産乳量 (kg)	乳脂肪率 (%)	NEFA (mEq/l)	総ケトン体 (μ mol/l)
LB添加区	6	7.3 ± 1.2	26.4 ± 3.4	4.2 ± 0.5	0.072 ± 0.015	664 ± 99
市販菌添加区	6	6.5 ± 1.7	25.5 ± 1.9	4.0 ± 0.5	0.087 ± 0.020	661 ± 204
無添加区	6	7.5 ± 2.5	24.9 ± 4.3	3.9 ± 0.4	0.083 ± 0.012	600 ± 108

平均値 ± SD

産乳量は4%FCM補正乳量

表5 各乳酸菌添加サイレージ給与時のルーメン液性状

区分	pH	酢酸	プロピオン酸	酪酸	A/P比
		(対総酸%)			(%)
LB添加区	6.9 ± 0.2	71.0 ± 6.2	8.5 ± 1.5	20.0 ± 5.1	8.6 ± 2.4
市販菌添加区	6.8 ± 0.3	73.2 ± 6.4	7.8 ± 3.5	18.7 ± 3.0	11.2 ± 5.4
無添加区	6.8 ± 0.2	73.2 ± 9.7	7.5 ± 2.9	19.1 ± 7.9	12.3 ± 8.2

平均値 ± SD (n=6)

引用文献

- 1) 西野直樹(2003)：サイレージ中 1,2-プロパンジオールの生成要因と採食量調整因子としての評価. 平成 13-14 年度科学研究費補助金研究成果報告書. 45-59.
- 2) 小野寺幸雄、田口 哲、石井巖宏(1984)：ケトosis 牛に対するプロピレングリコールの投与について－投与前後における血液成分の推移. 家畜診療, 257, 35-39.
- 3) Ranjit NK and Kung Jr L (2000):The effect of Lactobacillus buchneri, Lactobacillus plantarum, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J.Dairy Sci., 83(3), 526-535.
- 4) Nishino N and Touno E(2005):Ensiling characteristics and aerobic stability of direct-cut and wilted grass silages inoculated with Lactobacillus casei or Lactobacillus buchneri. J.Sci.Food Agric., 85, 1882-1888.
- 5) Nishino N, Yoshida M, Shita H and Sakaguchi E (2003): Accumulation of 1,2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with Lactobacillus buchneri. J.Appl.Microbiol., 94, 800-807.
- 6) Fisher LJ, Erfle JD, Lodge GA and Sauer FD (1973):Effects of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. Can. J. Anim. Sci., 53, 289-296.