

リンゴジュース粕混合による粗飼料の嗜好性向上の機構解明と飼料調製利用への応用に関する研究

2018.12.14

岩手大学大学院
連合農学研究科
生物生産科学専攻
(弘前大学)

梅木直哉

目次

第1章 序論

飼料の嗜好性	1
イネホールクロップサイレージ	6
リンゴジュース粕	9
リンゴジュース粕混合によるイネホールクロップサイレー ジの嗜好性向上の可能性	10
本研究の目的	11

第2章 リンゴジュース粕混合イネホールクロップサイレー ジの嗜好性と飼料成分との関係

緒言	13
材料と方法	15
結果	19
考察	30
小括	34

第3章 嗜好性試験の繰り返し数が粗飼料の嗜好性評価に及 ぼす影響

緒言	36
材料と方法	39
結果	45

考 察	58
小 括	63
第4章 イネホールクロップサイレージおよびリンゴジュース粕混合イネホールクロップサイレージに含まれる酪酸および酪酸エステルと嗜好性との関係	
緒 言	65
材 料 と 方 法	67
結 果	70
考 察	81
小 括	83
第5章 総 合 考 察	85
謝 辞	91
引 用 文 献	92

略 語

ADF	acid detergent fiber, 酸性デタージェント繊維
AP	apple pomace, リンゴジュース粕
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
GC-MS	ガスクロマトグラフ質量分析計
IBP20	WAB450-IBP-20-HB (ネリカの系統名)
IBP69	WAB450-IBP-69-HB (ネリカの系統名)
MS	質量分析計
ネリカ	New Rice for Africa (イネの系統名)
NH ₃ -N	アンモニア態窒素
NDF	neutral detergent fiber, 中性デタージェント繊維
NFE	nitrogen free extracts, 可溶無窒素物
リンゴ粕	リンゴジュース粕
TDN	total digestible nutrients, 可消化養分総量
TMR	total mixed ration, 混合飼料
WCS	whole crop silage, ホールクロップサイレージ

第 1 章 序 論

飼 料 の 嗜 好 性

家畜による飼料の採食量は、血液中の栄養成分や代謝産物の濃度（鈴木 1978）、反芻胃からの飼料片の流出速度（Deswysen ら 1987）、環境温度（鈴木 1978）等によって規定されるといわれている。また、家畜に 2 種類以上の飼料を同時に給与する場合は、甘味や酸味のように味覚に作用する成分やサイレージに含まれる揮発性脂肪酸のように嗅覚にも作用する成分も採食量に影響を及ぼすことが予想される（豊川 1976, 土肥 1996）。畜産物の生産性を向上させるためには家畜による飼料の乾物採食量を増加させることが重要であることから、飼料を家畜に自由に採食させた際の自由採食量（宮地ら 2003）や複数の飼料を家畜に給与した場合の選択採食性（秦ら 1982）によって評価される飼料の嗜好性に関する研究が長い間行われている（自給粗飼料品質評価研究会 2001）。日本では、近年エコフィード等の新たな飼料を利用するようになっており（大森 2009, 関ら 2017）、今後も飼料の嗜好性に関する研究が必要と考えられる。

Deswysen ら（1978）はサイレージの切断長と乾物採食量との関係を解析するため、イタリアンライグラスサイレージの切断長が 53 mm のものと 18 mm のものをめん羊に給与し

て乾物採食量を比較した。その結果，切断長 18 mm の場合の乾物採食量が有意に多かったことから，切断長が短いサイレージではめん羊の反芻胃からの流出速度が上がり，乾物採食量が増える可能性があるとした。一方，サイレージの場合には切断長の他に，乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 等の発酵産物が採食量に影響を及ぼすことが確認されている（Wilkin ら 1971, Huhtanen ら 2007, Krizsan・Randby ら 2007）。Wilkin ら（1971）はめん羊に 70 種類のサイレージを給与した研究を行い，サイレージの乾物採食量と総酸中乳酸の割合に有意な正の相関が，酢酸含量および全窒素中 $\text{NH}_3\text{-N}$ の割合と有意な負の相関があったと報告した。Deswysen ら（1978）や Wilkin ら（1971）の研究から，サイレージでは切断長が短く，発酵産物である酢酸と $\text{NH}_3\text{-H}$ 含量が低いものほど嗜好性が向上することが推察された。

Kmicikewycz・Heinrichs（2015）は，切断長が異なる飼料を混合して調製した発酵 TMR の乾物採食量を調査するため，ホルスタイン種の泌乳牛 12 頭を供試し，発酵 TMR に約 36～39% 混合したトウモロコシサイレージの切断長が長い場合（8.0 mm 以上の割合が約 50.0%）と短い場合（8.0 mm 以下の割合が 95% 以上）の採食量を測定した。さらに，発酵 TMR のみを牛に給与する試験区とオーチャードグラス乾草を併せて給与する試験区に分けて試験を実施した結果，オーチャー

ドグラス乾草を併給した場合としなかった場合のいずれにおいても，トウモロコシサイレージの切断長が短い発酵 TMR の乾物採食量が，長い試験区より有意に多かった。

一方，Na ら（2014）は，Kmicikewycz・Heinrichs（2015）と同じく飼料の切断長に関する研究を実施し，発酵 TMR の原料とする飼料の種類や切断長が異なる場合の牛の乾物採食量，乳量および乳成分等を調査したが，これらの値に差はなかった。供試した発酵 TMR は，原料の約半分をトウモロコシとダイズ粕とし，残りの約半分を粗飼料源としてチモシーにしたもの（以下，チモシー区）と稲ワラ（20%）およびアルファルファペレット（30%）にしたもの（以下，RSAP 区）であり，これらをホルスタイン種の泌乳牛 16 頭に 33 日間自由摂取させた。両試験区の発酵 TMR の化学組成はほぼ同じ値を示し，チモシー区では発酵 TMR の切断長は 1.18 mm 以下の割合が 11.39%，1.18～19 mm の割合が 69.92%，19 mm 以上の割合が 18.68%を示し，RSAP 区では 1.18 mm 以下の割合が 25.45%，1.18～8 mm の割合が 65.51%，19 mm 以上の割合が 9.04%を示した。RSAP 区は発酵 TMR の切断長がチモシー区より短いと考えられるが，両試験区の間には乾物採食量の差はなかった。

Kmicikewycz・Heinrichs（2015）の研究では，発酵 TMR の切断長が異なると嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された

が、Naら（2014）の研究では、切断長が異なる 2 種類の発酵 TMR の間に嗜好性の差はなかった。この理由として、Kmicikewycz・Heinrichs（2015）が供試した 2 種類の発酵 TMR は原料が同じであったのに対し、Naら（2014）が供試した 2 種類の発酵 TMR は異なる原料で調製されたことが考えられる。Naら（2014）の研究では、チモシー区と RSAP 区の間で発酵 TMR の発酵品質に差があり、嗜好性に影響を及ぼした可能性が予想される。

飼料の嗜好性評価を行う場合、1 種類の飼料を家畜に給与し一定時間の採食量を比較する採食速度法（自給粗飼料品質評価研究会 2001）、2 種類の飼料を並べて給与し採食量を比較する一対比較法（自給粗飼料品質評価研究会 2001）、3 種類以上の飼料を並べて給与し採食量を比較するカフェテリア法（自給粗飼料品質評価研究会 2001）のいずれかによる嗜好性試験が行われる。林ら（1965）はこれらの試験結果が同じであるか検証するため、牛 8 頭と嗜好性の差が小さいと予想される 8 種類のクローバーサイレージを供試して、60 分間の採食速度法、15 分間の一対比較法および 60 分間のカフェテリア法による試験を実施した。また、牛 2 頭と嗜好性の差が大きいと予想される 3 種類のオーチャードグラス乾草を供試して、同様の嗜好性試験を実施した。その結果、クローバーサイレージの試験では採食速度法の場合に採食量の差が僅か

であり，別の個体を供試した際に違った結果になる可能性が考えられた。これに対し，一対比較法およびカフェテリア法の場合には嗜好性の差が顕著にみられたため，嗜好性の差が小さいと思われる飼料では一対比較法やカフェテリア法による嗜好性試験が望ましいことが示唆された。一方，オーチャードグラス乾草の試験では採食速度法および一対比較法の場合に嗜好性の差が顕著にみられたが，カフェテリア法の場合には牛が1種類の乾草のみを採食したため，2位と3位の嗜好性の順位がつけられなかった。このため，嗜好性の差が大きいと思われる飼料では採食速度法または一対比較法による嗜好性試験が適していると考えられる。

しかし，Harperら（2016）は牛16頭を供試して，カフェテリア法で異なる種類の香料を添加した配合飼料4点を1列に並べて給与したところ，中央に置かれた配合飼料2点の採食量が外側より有意に多かったと述べた。この結果から，主体は嗜好性が異なると思われる飼料の比較であっても，結果に差がみられない場合もあると考えられる。また，Villalbaら（2011）はアルファルファとオオムギの混合粗飼料に3種類の香料のいずれかを添加したものと香料を添加しないものの計4種類の混合粗飼料を調製し，子めん羊35頭にいずれか1種類の混合粗飼料を給与する4つの試験区と4種類すべての混合粗飼料を同時に給与する試験区を設けて60日間の

飼養試験を実施し、毎日の自由採食量を測定した。その結果、試験開始後 19～43 日の期間は 4 種類すべての混合粗飼料を給与した試験区の自由採食量がその他の試験区より有意に多かったが、その他の期間では 5 つの試験区に自由採食量の差はなかった。この結果から、試験の継続期間や繰り返し数が異なると結果の再現性に影響を及ぼすことが示唆された。

林ら（1965）、Villalba ら（2011）、Na ら（2014）、Kmicikewycz・Heinrichs（2015）および Harper ら（2016）の研究から、飼料の嗜好性試験では、供試する飼料の数、他飼料との混合割合および試験の繰り返し数等の違いにより結果が異なる可能性が考えられる。このため、飼料の嗜好性評価は一度の試験のみで行うのではなく、複数回の試験を実施して結果の再現性についても検証を行う必要があると考えられる。

イネ WCS

日本では家畜に給与する飼料の大部分を輸入に依存しており、飼料自給率は 28%と低い（石井 2017）。飼料自給率の向上を図るため、近年では水田の有効利用を目的とした飼料イネの栽培が積極的に行われている。飼料イネは、飼料用米イネ品種と WCS 用イネ品種の 2 種類があり、飼料の繊維源としての利用を意図した WCS 用イネ品種では、穂の比率が小

さく茎葉部が多収の茎葉型品種が利用されることが多い（石井 2017, 野中 2017）。高平ら（2011）は黒毛和種去勢牛 18 頭を用いて，これらの肥育期間に給与する粗飼料として，イネ WCS を給与する試験区，イタリアンライグラス乾草と稲ワラを給与する試験区，イネ WCS と稲ワラを給与する試験区を設け，肥育試験を実施した。その結果，イネ WCS のみを給与した試験区の乾物採食量がその他の試験区より有意に多かった。高平ら（2011）の報告のようにイネ WCS は牛の嗜好性が良いといわれている（日本草地畜産種子協会 2014）。一方で，茎葉型で耐倒伏性が高いイネ品種では，茎に含まれる難消化性のリグニンとケイ酸による嗜好性の低下が危惧されるという報告もある（細田ら 2005）。また，一般にイネは糖含量と乳酸菌の付着数が少なく，サイレージ調製した際の乳酸含量が低く pH 低下が緩やかなため，カビの発生や酪酸菌による不良発酵が起こりやすい（蔡ら 2003, 日本草地畜産種子協会 2014, 草ら 2018）。このため，イネ WCS の調製では乳酸生成を促進させる「畜草 1 号」（蔡ら 2003）や「畜草 2 号」（遠野 2017）等のイネ WCS 用乳酸菌製剤が開発利用されているが，イネ WCS の嗜好性と耐倒伏性や発酵品質との関係について詳細な解析を行った研究例は少なく，これらの関係についての解析が必要と考えられる。

近年，茎葉多収で繊維の消化性が良く，さらに茎葉の可溶性糖類含量が高いイネ品種たちすずかの普及が関東以西で進んでいる（石井 2017）。草ら（2018）はたちすずかの発酵品質を調査するため，たちすずかを異なる窒素施肥処理（0，10 および 20 g/m² の 3 水準）で栽培し，これらを乳熟期，黄熟期および完熟期に収穫し，乳酸菌を添加する試験区と添加しない試験区に分けてイネ WCS を調製した。黄熟期以降に収穫したたちすずかは窒素施肥量や乳酸菌の添加量に関わらず，材料草の可溶性糖類含量とイネ WCS の乳酸含量が乳熟期のものより有意に多かった。また，黄熟期以降に調製したイネ WCS の酪酸含量と全窒素中の NH₃-N の割合が乳熟期の値より有意に小さかったことから，イネの可溶性糖類含量が多いとイネ WCS の発酵品質が改善されることが示唆された。

アフリカの食料事情を改善させるために育成されたネリカは，多収性のアジアイネと耐乾燥性を持つアフリカイネを掛け合わせて育成されたイネ（曾根ら 2010）であり，系統によってはたちすずかと同じく可溶性糖類含量が高いことが確認されている（姜，未発表）。ネリカは耐倒伏性が高く茎の低消化性が懸念されるものの，乾物収量とイネの地上部全体に占める茎葉の割合が高いこと（姜，未発表）から，多収で優れた繊維給源となるイネ WCS としての利用が期待できる。しかし，ネリカをサイレージ調製した場合の飼料成分や嗜好

性に関する報告は少ないため，現在国内で利用されている飼料イネ品種と飼料成分や嗜好性を比較する必要があると考えられる。

以上のようにイネ WCS は茎葉部割合，化学組成および発酵品質について研究が進められているものの，これらと嗜好性との関係について詳細な解析を行った研究は少なく，この点についての更なる研究が必要と考えられる。

リンゴ粕

国内のリンゴ果実の半分以上を生産している青森県では，年間 2 万トン程度のリンゴ粕が産出される（泉谷 2010）。リンゴ粕の用途は，飼料利用と堆肥・土壌改良材利用が大半を占め，一部は食品素材や化粧品に利用されている（松崎 2014）。リンゴ粕は牛の嗜好性が良い（Fang ら 2016）が，成分組成は水分と糖含量が多く CP 含量が少ないため，飼料として牛に給与する際は栄養成分のバランスやルーメンアシドーシス等の消化器官障害の危険性を考えると，単味での給与は現実的ではない（松崎 2014）。しかし，リンゴ粕を嫌気的に貯蔵すると多量に含まれる可溶性糖類からエタノールと乳酸が生成して品質が安定に保たれ，長期間の保存が可能となる（松崎 2014）。このため，リンゴ粕を前述したイネ WCS のような発酵品質の低さが懸念される飼料と混合してサイレ

ージ調製することで、リンゴ粕の有効利用とサイレージの発酵品質および嗜好性の改善が期待される。

リンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性向上の可能性

Fang ら（2016）は、トウモロコシ、フスマ、ダイズ粕、オーチャードグラスおよび稲ワラの発酵 TMR にリンゴ粕を 0, 5, 10 および 20% 混合した 4 種類の発酵 TMR を調製し、黒毛和種繁殖牛 4 頭を用いてこれらの飼料成分と嗜好性や消化性等との関係を解析した。リンゴ粕を 5 および 10% 混合した発酵 TMR では、乳酸含量がリンゴ粕を混合しなかったものより有意に増え、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量はリンゴ粕混合割合が高いものほど有意に少なかった。発酵 TMR の乾物採食量は、リンゴ粕 10 および 20% のものがリンゴ粕を混合しなかったものより有意に多く、リンゴ粕を発酵 TMR に混合することで発酵品質と嗜好性が向上することが示唆された。リンゴ粕は、アルファルファ、ダイズ粕、稲ワラと混合してサイレージ調製した場合にも、乳酸が生成して pH が低い値を示すことが確認されており（逢坂 2001）、リンゴ粕を粗飼料と混合したサイレージでは、乳酸含量の増加と pH 低下により、発酵品質が改善されるものと考えられる。このため、可溶性糖類含量と乳酸菌の付着数が少ないイネ品種にリンゴ粕を混合してイ

ネ WCS を調製した場合にも発酵品質と嗜好性の向上が期待される。

しかし、一方で近年トウモロコシサイレージのようにエタノールが生成されるサイレージにおいて、エタノールと有機酸との化合物であるエステルが嗜好性を低下させる可能性があると考えられている（Weiss ら 2016）。リンゴ粕をサイレージ調製した際にも多量のエタノールが生成されるため（松崎 2014）、イネ WCS とリンゴ粕を混合する場合はエタノールと乳酸、酢酸、プロピオン酸および酪酸等の有機酸のエステルが嗜好性に及ぼす影響についても分析が必要かもしれない。

本研究の目的

青森県で毎年大量に産出されるリンゴ粕は牛の嗜好性が良く、サイレージ発酵の基質となる可溶性糖類含量が多い。近年生産量が増えているイネ WCS にリンゴ粕を混合してイネ WCS を調製することで嗜好性および発酵品質の向上が期待されるが、リンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性および飼料成分については明らかになっていない。この点を明らかにするため、本研究ではイネの地上部全体に占める穂と茎葉の割合や飼料成分含量が異なるとされるイネ品種・系統のリンゴ粕混合イネ WCS を調製し、嗜好性と飼料成分との関係について

て解析を行った。イネ WCS の嗜好性評価は、めん羊を用いた一対比較法とカフェテリア法による嗜好性試験で行ったが、めん羊に提示するイネ WCS の数や試験の繰り返し数の違いによって結果が異なる可能性が考えられるため、一対比較法による試験では試験の繰り返し数の違いが結果に及ぼす影響についての検証も行った。また、リンゴ粕混合イネ WCS ではエタノールと有機酸から生成されるエステルが嗜好性を左右することが予想されるが、イネ WCS の嗜好性とエステルとの関係については明らかになっていない。そこで、本研究ではイネ WCS とリンゴ粕混合イネ WCS のエステル含量を測定し、嗜好性との関連についても解析を行った。

第 2 章 リンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性と飼料成分との関係

緒言

サイレージの嗜好性と飼料成分との関係については多くの研究が行われているが、一貫した結果が得られていない (Gordon 1981, Peoples・Gordon 1989, Rook・Gill 1990, Yan ら 1996, Steen ら 1998, Huhtanen ら 2002, Dewhurst ら 2003, Khalili ら 2005, Huhtanen ら 2007)。Huhtanen ら (2007) は、サイレージの嗜好性と飼料成分との関係を明らかにするため、乳牛にイネ科牧草サイレージを給与して自由採食量を測定した研究の文献を集め、サイレージの調製方法 (材料草の熟期, 添加剤, 予乾処理, 刈取り回数および他飼料との混合割合) が異なる 500 点以上のサイレージのデータから、採食量を従属変数、飼料成分含量を説明変数とした回帰式を求めた。その結果から、サイレージの採食量は可消化有機物含量および乾物率が高いほど増加し、乳酸および揮発性脂肪酸の総含量が高いほど減少することを示唆している。Krizsan・Randby (2007) は、チモシーおよびメドウフェスクを供試し、これらの切断長、添加剤および貯蔵方法 (6 m³ のタワーサイロ, スタックサイロまたはロールバールサイレージ) が異なるサイレージ 24 点を調製し、去勢牛 30 頭に

給与した際の自由採食量と飼料成分含量との関係を重回帰分析のステップワイズ法により解析した。その結果から、サイレージの採食量はプロピオン酸，酪酸および乳酸含量が高いほど低下することを報告している。Huhtanen ら（2007）と Krizsan・Randby（2007）が示した回帰式では，説明変数となる飼料成分や特性は一致してはいないものの，いずれもサイレージに含まれる乳酸および揮発性脂肪酸が嗜好性を左右することを示唆している。また，Huhtanen ら（2007）が示した回帰式では，イネ科牧草サイレージにマメ科牧草サイレージ等の他飼料を混合した場合に回帰式の精度が低下しており，サイレージの草種や他飼料との混合割合が異なると，嗜好性と飼料成分との関係に影響を及ぼすことが考えられる。

リンゴ粕をイネ WCS に混合すると嗜好性および発酵品質の向上が期待されるが，これらの向上の度合やリンゴ粕とイネ WCS を混合した場合の嗜好性と飼料成分との関係については未解明である。このため，本章ではイネの地上部全体に占める穂と茎葉の割合，耐倒伏性および可溶性糖類含量が異なると思われる 4 種類のイネを供試してイネ WCS とリンゴ粕混合イネ WCS を調製し，これらの嗜好性と飼料成分含量を測定した。さらに，乾物採食量と飼料成分含量からイネ

WCS 単味とリンゴ粕混合イネ WCS の間で嗜好性に影響を及ぼす飼料成分が異なるかどうか解析を行った。

材 料 と 方 法

1. イネの栽培条件

イネは，東北地域の飼料用イネ品種べこごのみ（福嶋ら 2017），青森県の主力食用米品種つがるロマン，ネリカ 2 系統 IBP20 および IBP69 の合計 4 品種・系統を供試した。

イネの栽培は，青森県五所川原市にある弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター金木農場で行った。栽培様式はイネ各品種・系統ともに，圃場面積 60 m²，条間 30 cm，株間 15 cm，1 株 3 本の手植えとした。2015 年 4 月 22 日に苗箱播種，5 月 25 日に移植し，基肥は複合肥料（N・P・K，14-18-14）を用いて窒素分量 10 a あたり 9 kg の水準で施用，追肥は複合肥料（N・P・K，10-0-15）を用いてつがるロマンは窒素分量 10 a あたり 2 kg，その他のイネ 3 品種・系統は窒素分量 10 a あたり 7 kg の水準で施用した。

2. サイレージ調製

イネの収穫は黄熟期に行った。2015 年 8 月 31 日にべこごのみ，9 月 7 日につがるロマン，9 月 15 日に IBP69，9 月 24 日に IBP20 を刈取り，シリンダカッター（CX-201SJM2，株式

会社山本製作所，山形）で細切（19 mm）して 200 L 容量のドラム缶サイロに詰め込み（0.25–0.30 kg/L），2015 年 10 月 13 日まで密閉貯蔵した。同日，これら 4 種類のイネ WCS にリンゴ粕（リンゴ果汁搾汁直後に 100 L 容量のドラム缶サイロへ詰め込み 1 週間屋外で保存したもの）を原物で 0，10，25 および 50% の比率で混合して 120 L のビニール袋に詰めた後，100 L または 200 L 容量のドラム缶サイロに入れて約 2 ヶ月間サイレージ貯蔵したものを嗜好性試験に供試した。

3. 嗜好性試験

嗜好性試験は，弘前大学動物実験委員会で承認された動物実験計画書（承認番号：A08023）に従って実施した。サフォーク種の雄めん羊 2 頭と去勢雄めん羊 2 頭の合計 4 頭（ 3.1 ± 0.6 才齢，体重 77.1 ± 2.4 kg）を単飼で飼養して嗜好性試験に供試した。基礎飼料として，各個体の維持および 1 日当たり増体 100 g に要する TDN 相当量をアルファルファヘイキューブと配合飼料（CP：15.5%，TDN：70%）で給与した。基礎飼料は毎日 9：00 と 17：00 に 2 等分して給与し，アルファルファヘイキューブと配合飼料は TDN 比 1：1 で給与した。水と鉱塩は自由摂取させた。カフェテリア法による嗜好性試験は，めん羊各個体にリンゴ粕混合割合が同じでイネ品種・系統が異なるイネ WCS 4 点を 1 kg ずつ給与する方法で

実施した。試験開始時刻を 9:00 とし，試験開始から 15 分，30 分，1 時間，2 時間および 3 時間後までの採食量を測定した。各個体で供試するリンゴ粕混合割合の順番はラテン方格法で無作為化した。各試験期を 4 日間とし，2 日目と 4 日目に嗜好性試験を実施した。試験実施日の午前は基礎飼料を給与しなかった。

4. 化学分析

リンゴ粕と嗜好性試験に供試したイネ WCS の一般成分，NDF および ADF 含量を常法により測定した（自給飼料品質評価研究会 2001）。水分含量はトルエン蒸留法で測定した（自給飼料品質評価研究会 2001）。リンゴ粕およびイネ WCS 新鮮物 100 g に蒸留水 300 mL を加えて 4℃で一晩抽出し，4 重ガーゼでろ過した抽出液を調製し，pH をガラス電極 pH メーター（KR5E，アズワン，大阪）で測定した後，以下の分析に供するまで -10℃以下で凍結保存した。Shodex KC-811（昭和電工株式会社，東京）カラムを装着した日本分光株式会社（東京）製の高速液体クロマトグラフィーシステム（送液ポンプ PU-980，カラムオーブン CO-965，UV 検出器 UV-970，オートサンプラー AS-950-10）を使用したプロモチモールブルーポストラベル法により乳酸，酢酸，プロピオン酸および酪酸含量を分析した（大桃ら 1993，河本ら 2018）。エタノ

ール含量を F キット（176290，株式会社 J. K. インターナショナル，東京）で， $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量を微量拡散法で測定した（自給粗飼料品質評価研究会 2001）。有機酸および全窒素に占める $\text{NH}_3\text{-N}$ の割合から V スコアとフリーク評点を求めた（自給粗飼料品質評価研究会 2001）。イネ WCS の pH および飼料成分含量は，嗜好性試験の開始日および最終日に採取したサンプル 2 点についてのみ分析を行った。

5. 統計解析

カフェテリア法で比較したべこごのみ，つがるロマン，IBP20 および IBP69 の合計乾物採食量を算出し，試験開始から 15 分，30 分，1 時間，2 時間および 3 時間後の時点でラテン方格法による分散分析を行った。リンゴ粕混合割合に有意差が認められた場合は，水準間（0，10，25 および 50%）で Tukey の検定による多重比較を行った。リンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量について，時間とイネ品種・系統を要因とする反復測定分散分析を行い，時間とイネ品種・系統の交互作用に有意差が認められた場合は Tukey の検定で各測定時点の多重比較を行った。イネ WCS の pH および飼料成分含量は，嗜好性試験の開始日および最終日に採取したサンプル 2 点についてのみ分析したため，これらのイネ品種・系統間または同一品種・系統内におけるリンゴ粕混合

割合間の統計解析は行わなかった。イネ WCS の嗜好性に影響を及ぼしている飼料成分を特定するため、リンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の 3 時間後における乾物採食量、pH、水分および乾物中の飼料成分含量 13 項目（CP、粗脂肪、粗繊維、粗灰分、NFE、NDF、ADF、乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ ）の主成分分析（Daniel ら 2013、本谷ら 2015）と重回帰分析のステップワイズ法（Krizsan・Randby 2007）による解析を行った。主成分分析は R Version 3.4.3、その他の計算には IBM SPSS Statistics Version 22 を用い、有意水準はすべて 5% とした。

結果

リンゴ粕とイネ WCS の化学組成を表 1 に示した。イネ WCS の水分含量は、ネリカ 2 系統 IBP20 と IBP69 が高かった。乾物中の CP および NFE 含量は、べこごのみとつがるロマンがネリカ 2 系統より高く、粗繊維、NDF および ADF 含量は、逆にネリカ 2 系統がべこごのみとつがるロマンより高かった。リンゴ粕は水分、乾物中の粗脂肪、NFE および ADF 含量がイネ WCS 単味より高く、CP、粗繊維および粗灰分含量がイネ WCS 単味より低かった。リンゴ粕混合イネ WCS の水分、CP、粗脂肪、NDF および ADF 含量の平均値は、いずれのり

リンゴ粕混合割合においてもイネ WCS 単味の平均値より高かった。

リンゴ粕とイネ WCS の pH, 発酵産物含量, V スコアおよびフリーク評点を表 2 に示した。イネ WCS 単味の乾物中の発酵産物含量は, べこごのみでは乳酸とエタノール含量が低かったのに対し, プロピオン酸と $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量が高かった。逆に IBP20 では乳酸とエタノール含量が高く, pH が低かった。リンゴ粕乾物中のエタノール含量はイネ WCS 単味より高く, pH が低かった。リンゴ粕にはプロピオン酸, 酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ は検出されなかった。リンゴ粕混合イネ WCS は, 乾物中の乳酸およびエタノール含量の平均値がイネ WCS 単味より高く, pH が低かった。

つがるロマンと IBP20 は, いずれのリンゴ粕混合割合においても新鮮物中の酢酸, プロピオン酸および酪酸含量がべこごのみと IBP69 に比べて低く, V スコアも 80 点以上を示した。また, IBP20 は新鮮物中の有機酸の総含量に占める乳酸の割合がいずれのリンゴ粕混合割合においても高く, フリーク評点も他のイネ品種・系統より高かった。リンゴ粕 25 および 50% のイネ WCS では V スコアとフリーク評点の平均値がイネ WCS 単味より高かった。

図 1 にカフェテリア法で比較したイネ WCS 4 点の合計乾物採食量を示した。各測定時点でリンゴ粕混合割合の水準間に

差はなかった。図 2 にはリンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量を示した。イネ WCS 単味ではイネ品種・系統間に乾物採食量の差はなかった。一方でリンゴ粕を 10% 混合した場合、つがるロマンの乾物採食量は IBP69 より有意に多かった。さらに、リンゴ粕 25% および 50% でも同様、つがるロマンの乾物採食量は他のイネ 3 品種・系統より有意に多かった。特に、リンゴ粕 25% では時間とイネ品種・系統の交互作用にも有意差が認められた。各測定時点で Tukey 検定による多重比較を行ったところ、すべての測定時点でつがるロマンの乾物採食量が他のイネ 3 品種・系統より有意に多かった。

リンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量、pH、水分および乾物中の飼料成分含量 13 項目の主成分分析結果を表 3 と図 3 に示した。いずれのリンゴ粕混合割合においても第 1 主成分と第 2 主成分の累積寄与率が 85% 以上であった（表 3）ことから、さらに、この 2 項目を用いてイネ WCS の乾物採食量と pH および飼料成分含量との関係を評価した。第 1 主成分を横軸、第 2 主成分を縦軸としたグラフ（図 3）に各項目（乾物採食量、pH および飼料成分含量）の固有ベクトルを加えたところ、イネ WCS 単味の乾物採食量と NFE 含量との間に正の相関がみられたが、水分、NDF および ADF 含量との間には負の相関がみられた。リンゴ粕 10、25 およ

び 50% を混合したイネ WCS では乾物採食量と酪酸含量との間に負の相関がみられた。

リンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量, pH, 水分および乾物中の飼料成分含量 13 項目の重回帰分析による解析結果を表 4 に示した。イネ WCS 単味の乾物採食量は, 乾物および粗脂肪含量と有意な正の相関がみられたが, リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は酪酸含量と有意な負の相関がみられた。また, リンゴ粕を 25% 混合したイネ WCS の乾物採食量は粗灰分含量とも有意な負の相関がみられた。イネ WCS 単味の重回帰分析では回帰式の 3 つ目の説明変数に酢酸含量が選ばれたが, 自由度の関係で説明変数が 3 つ以上の回帰式では有意差が求められなかったため, 水分および粗脂肪含量の 2 つを回帰式の説明変数とした。

表 1. イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の化学組成.

	AP (%FM)	水分 (%FM)	CP (%)	粗脂肪 (%)	粗繊維 (%)	粗灰分 (%)	NFE (%)	NDF (%)	ADF (%)
リンゴ粕	—	82.1	1.0 ^a (5.7) ^b	0.9 (5.2)	3.7 (20.6)	0.5 (2.8)	11.8 (65.6)	8.0 (44.8)	5.8 (32.5)
べこごのみ	0	67.4	2.3 (6.9)	0.8 (2.5)	7.4 (22.6)	4.1 (12.6)	18.0 (55.3)	13.8 (42.5)	7.5 (23.1)
つがるロマン	0	65.5	2.1 (6.1)	0.8 (2.3)	8.2 (23.6)	5.1 (14.6)	18.4 (53.4)	15.8 (45.8)	8.6 (24.9)
IBP20	0	74.8	1.4 (5.7)	0.6 (2.3)	6.6 (26.1)	3.4 (13.6)	13.2 (52.3)	12.9 (51.1)	7.6 (30.1)
IBP69	0	75.2	1.4 (5.8)	0.5 (1.8)	6.4 (25.9)	3.7 (14.9)	12.8 (51.6)	13.2 (53.3)	7.9 (32.1)
平均	0	70.7	1.8 (6.1)	0.7 (2.2)	7.1 (24.6)	4.1 (13.9)	15.6 (53.1)	13.9 (48.2)	7.9 (27.5)
べこごのみ	10	70.7	2.0 (7.0)	0.8 (2.8)	6.9 (23.7)	3.8 (12.8)	15.7 (53.7)	13.5 (45.9)	8.0 (27.3)
つがるロマン	10	67.4	2.0 (6.1)	0.8 (2.5)	7.6 (23.4)	4.5 (13.8)	17.7 (54.2)	16.0 (48.9)	9.4 (28.7)
IBP20	10	75.7	1.5 (6.0)	0.6 (2.6)	6.9 (28.3)	3.6 (15.0)	11.7 (48.1)	13.3 (54.7)	8.3 (34.2)
IBP69	10	77.8	1.4 (6.4)	0.5 (2.1)	6.1 (27.4)	3.2 (14.2)	11.1 (49.9)	11.8 (53.1)	7.7 (34.7)
平均	10	72.9	1.7 (6.4)	0.7 (2.5)	6.9 (25.7)	3.8 (14.0)	14.0 (51.5)	13.6 (50.6)	8.4 (31.2)
べこごのみ	25	75.1	1.7 (6.8)	0.8 (3.3)	6.2 (24.9)	3.3 (13.1)	12.9 (51.9)	13.3 (53.3)	7.5 (29.9)
つがるロマン	25	70.5	1.8 (6.8)	0.8 (2.7)	5.9 (20.2)	3.0 (10.3)	17.9 (60.7)	12.8 (43.4)	6.7 (22.8)
IBP20	25	76.8	1.5 (6.3)	0.7 (2.9)	6.2 (26.5)	3.1 (13.4)	11.8 (50.9)	12.2 (52.4)	8.0 (34.3)
IBP69	25	77.3	1.4 (6.4)	0.6 (2.6)	5.7 (25.0)	2.9 (12.8)	12.1 (53.1)	11.1 (48.8)	7.7 (34.0)
平均	25	74.9	1.6 (6.4)	0.7 (2.9)	6.0 (24.2)	3.1 (12.4)	13.7 (54.2)	12.3 (49.5)	7.5 (30.2)
べこごのみ	50	76.9	1.6 (7.1)	0.9 (3.7)	5.6 (24.2)	2.4 (10.2)	12.6 (54.8)	10.5 (45.6)	7.0 (30.4)
つがるロマン	50	74.2	1.6 (6.3)	0.9 (3.4)	6.1 (23.5)	2.6 (10.2)	14.6 (56.5)	12.2 (47.4)	7.6 (29.3)
IBP20	50	80.0	1.2 (6.2)	0.7 (3.4)	5.4 (27.0)	2.2 (10.9)	10.5 (52.5)	10.3 (51.4)	7.0 (35.1)
IBP69	50	80.2	1.3 (6.6)	0.7 (3.4)	5.0 (25.3)	2.0 (10.2)	10.8 (54.5)	10.3 (52.2)	6.7 (33.8)
平均	50	77.8	1.5 (6.6)	0.8 (3.5)	5.5 (25.0)	2.3 (10.4)	12.1 (54.6)	10.8 (49.1)	7.1 (32.1)

^a 上段 : 新鮮物中 % . ^b 下段 () 内 : 乾物中 % .

表 2. イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の発酵品質.

	AP (%FM)	pH	乳酸 (%)	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)	エタノール (%)	NH ₃ -N (%)	V スコア	フリーク 評点
リンゴ粕	—	3.67	0.28 ^a (1.56) ^b	0.17 (0.96)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	3.01 (16.8)	0.00 (0.00)	—	—
べこごのみ	0	4.67	0.07 (0.20)	0.49 (1.51)	0.13 (0.39)	0.27 (0.81)	0.48 (1.48)	0.03 (0.08)	70.9	1
つがるロマン	0	4.69	0.22 (0.63)	0.46 (1.33)	0.02 (0.07)	0.17 (0.48)	1.00 (2.89)	0.02 (0.06)	81.3	3
IBP20	0	4.24	0.50 (2.00)	0.38 (1.53)	0.01 (0.05)	0.21 (0.85)	1.26 (4.99)	0.01 (0.03)	81.4	19
IBP69	0	4.70	0.11 (0.46)	0.51 (2.05)	0.03 (0.13)	0.26 (1.03)	0.64 (2.57)	0.01 (0.04)	76.9	1
平均	0	4.57	0.23 (0.82)	0.46 (1.61)	0.05 (0.16)	0.23 (0.79)	0.84 (2.98)	0.02 (0.05)	77.6	6.0
べこごのみ	10	4.32	0.19 (0.64)	0.69 (2.35)	0.19 (0.64)	0.29 (0.98)	0.62 (2.13)	0.03 (0.09)	64.9	1
つがるロマン	10	4.17	0.58 (1.78)	0.59 (1.81)	0.02 (0.08)	0.15 (0.47)	0.93 (2.85)	0.02 (0.06)	82.2	17
IBP20	10	4.09	0.62 (2.54)	0.35 (1.46)	0.01 (0.05)	0.21 (0.86)	1.42 (5.83)	0.01 (0.02)	81.9	28
IBP69	10	4.20	0.47 (2.11)	0.67 (3.01)	0.03 (0.13)	0.35 (1.58)	0.80 (3.63)	0.02 (0.07)	64.8	4
平均	10	4.19	0.46 (1.77)	0.58 (2.16)	0.06 (0.23)	0.25 (0.97)	0.94 (3.61)	0.02 (0.06)	73.4	12.5
べこごのみ	25	4.13	0.23 (0.93)	0.60 (2.39)	0.16 (0.64)	0.23 (0.91)	0.90 (3.60)	0.02 (0.09)	71.7	3
つがるロマン	25	3.99	0.57 (1.94)	0.47 (1.61)	0.02 (0.08)	0.12 (0.42)	1.21 (4.12)	0.01 (0.04)	87.8	22
IBP20	25	3.88	0.66 (2.84)	0.36 (1.53)	0.01 (0.04)	0.16 (0.69)	1.95 (8.40)	0.01 (0.03)	86.0	33
IBP69	25	3.85	0.70 (3.07)	0.48 (2.11)	0.02 (0.08)	0.25 (1.10)	1.30 (5.71)	0.01 (0.04)	77.8	23
平均	25	3.96	0.54 (2.20)	0.48 (1.91)	0.05 (0.21)	0.19 (0.78)	1.34 (5.46)	0.01 (0.05)	80.8	20.3
べこごのみ	50	3.73	0.25 (1.06)	0.53 (2.29)	0.11 (0.49)	0.16 (0.70)	1.99 (8.64)	0.02 (0.07)	81.5	6
つがるロマン	50	3.79	0.30 (1.16)	0.45 (1.75)	0.02 (0.07)	0.09 (0.35)	2.33 (9.02)	0.01 (0.03)	90.7	13
IBP20	50	3.69	0.56 (2.81)	0.38 (1.88)	0.01 (0.03)	0.11 (0.54)	2.59 (12.95)	0.00 (0.00)	89.9	28
IBP69	50	3.66	0.35 (1.74)	0.47 (2.36)	0.01 (0.06)	0.17 (0.84)	2.30 (11.58)	0.00 (0.02)	84.6	12
平均	50	3.72	0.36 (1.69)	0.46 (2.07)	0.04 (0.16)	0.13 (0.61)	2.30 (10.55)	0.01 (0.03)	86.7	14.8

^a 上段 : 新鮮物中 % . ^b 下段 () 内 : 乾物中 % .

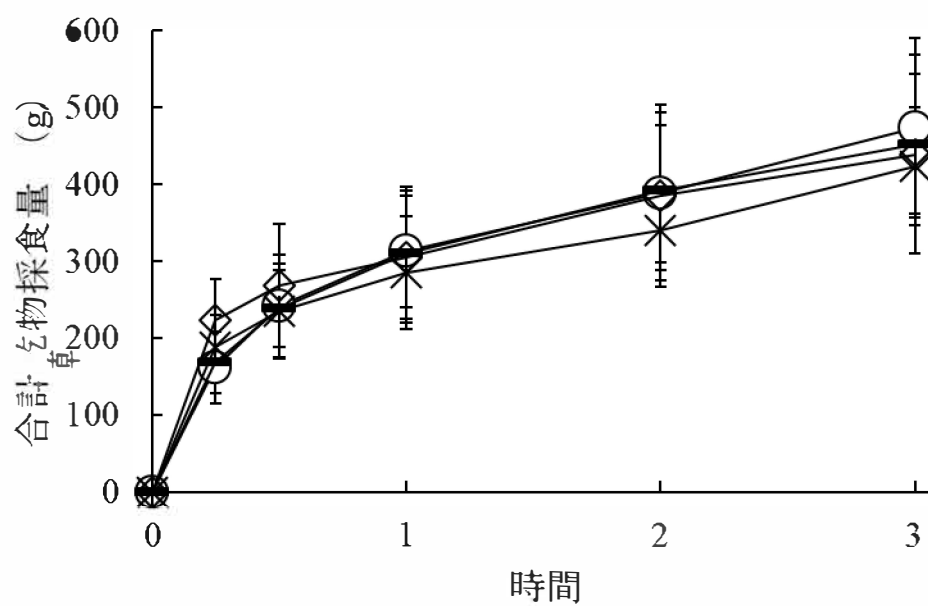


図 1. カフェテリア法で比較したイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の合計乾物採食量の推移.

○ AP 0% , - AP 10% , × AP 25% , ◇ AP 50% , AP : リンゴ粕混合割合 . 合計乾物採食量は , 平均値 ± 標準偏差で示した .

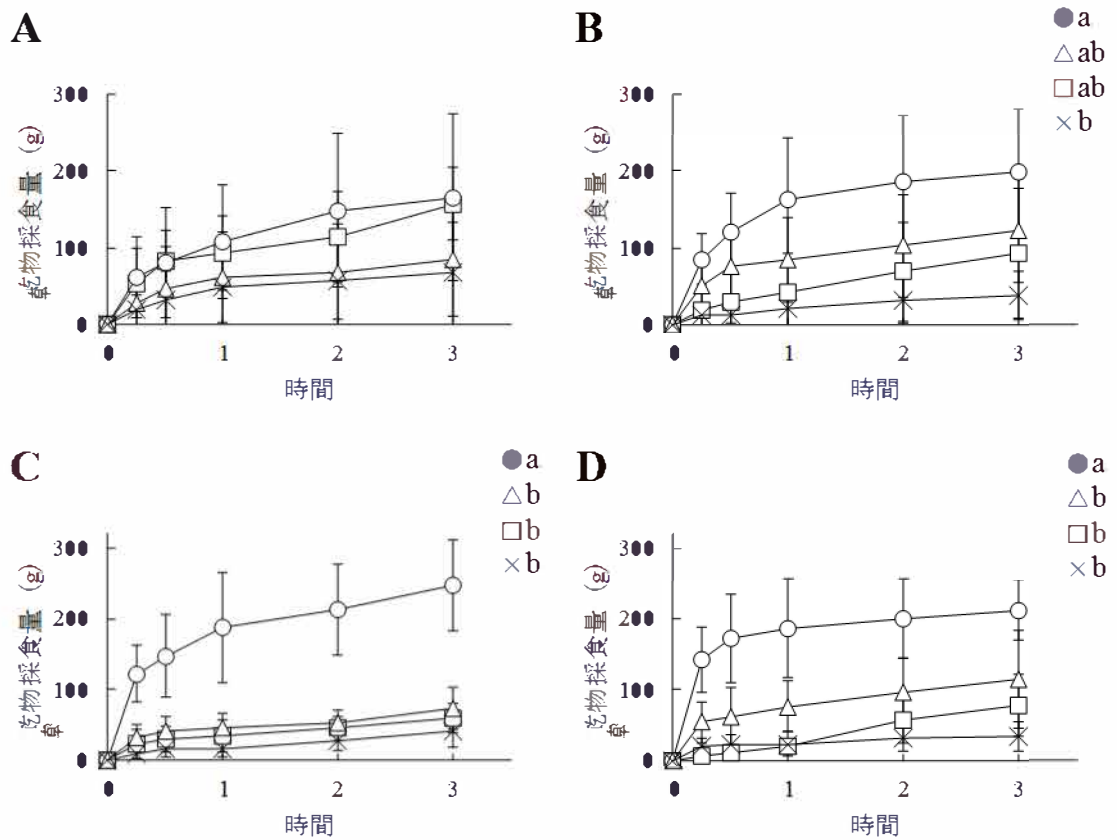


図 2. イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量の推移.

A: リンゴ粕 0%, B: リンゴ粕 10%, C: リンゴ粕 25%, D: リンゴ粕 50%, □ベこごのみ, ○つがるロマン, △IBP20, ×IBP69, a, b: 異文字間に有意差あり ($P < 0.05$). 乾物採食量は, 平均値 ± 標準偏差で示した. 時間とイネ品種・系統を要因とした反復測定分散分析を行い, イネ品種・系統間に有意差が認められた場合に Tukey 検定による多重比較を行った.

表 3. イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量，
pH および飼料成分含量の主成分得点．

	リンゴ粕 0%		リンゴ粕 10%		リンゴ粕 25%		リンゴ粕 50%	
	PC1 ¹	PC2 ²	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
乾物採食量	-0.29	-0.12	-0.05	-0.45	0.33	-0.08	-0.13	-0.40
pH	-0.15	0.42	-0.28	0.21	-0.03	-0.39	-0.26	-0.27
水分	0.28	0.08	0.22	0.32	-0.30	0.20	0.29	0.22
CP	-0.29	0.10	-0.24	0.27	-0.28	-0.24	-0.19	0.35
粗脂肪	-0.23	-0.31	-0.16	-0.23	-0.20	-0.27	-0.15	0.32
粗繊維	0.31	-0.03	0.29	0.15	-0.31	0.15	0.32	0.04
粗灰分	0.18	0.16	0.31	-0.06	-0.33	0.10	0.25	-0.12
NFE	-0.30	-0.05	-0.29	-0.13	0.33	-0.09	-0.27	-0.13
NDF	0.30	0.09	0.32	0.05	-0.33	-0.02	0.30	-0.01
ADF	0.30	0.11	0.29	0.17	-0.28	0.23	0.32	0.09
乳酸	0.19	-0.42	0.31	-0.07	0.02	0.39	0.31	-0.07
酢酸	0.19	0.42	-0.07	0.41	-0.21	-0.24	0.00	0.42
プロピオン酸	-0.23	0.22	-0.26	0.15	-0.17	-0.34	-0.21	0.28
酪酸	0.17	0.28	0.08	0.45	-0.28	0.04	0.09	0.40
エタノール	0.22	-0.39	0.29	-0.07	-0.08	0.35	0.33	0.02
NH ₃ -N	-0.30	0.13	-0.28	0.21	-0.13	-0.37	-0.29	0.20
固有値	3.25	1.82	3.16	2.16	2.89	2.51	3.03	2.29
寄与率 (%)	65.8	20.8	62.3	29.2	52.3	39.4	57.2	32.8
累積寄与率 (%)	65.8	86.6	62.3	91.5	52.3	91.6	57.2	90.0

¹PC1：第 1 主成分得点．²PC2：第 2 主成分得点．

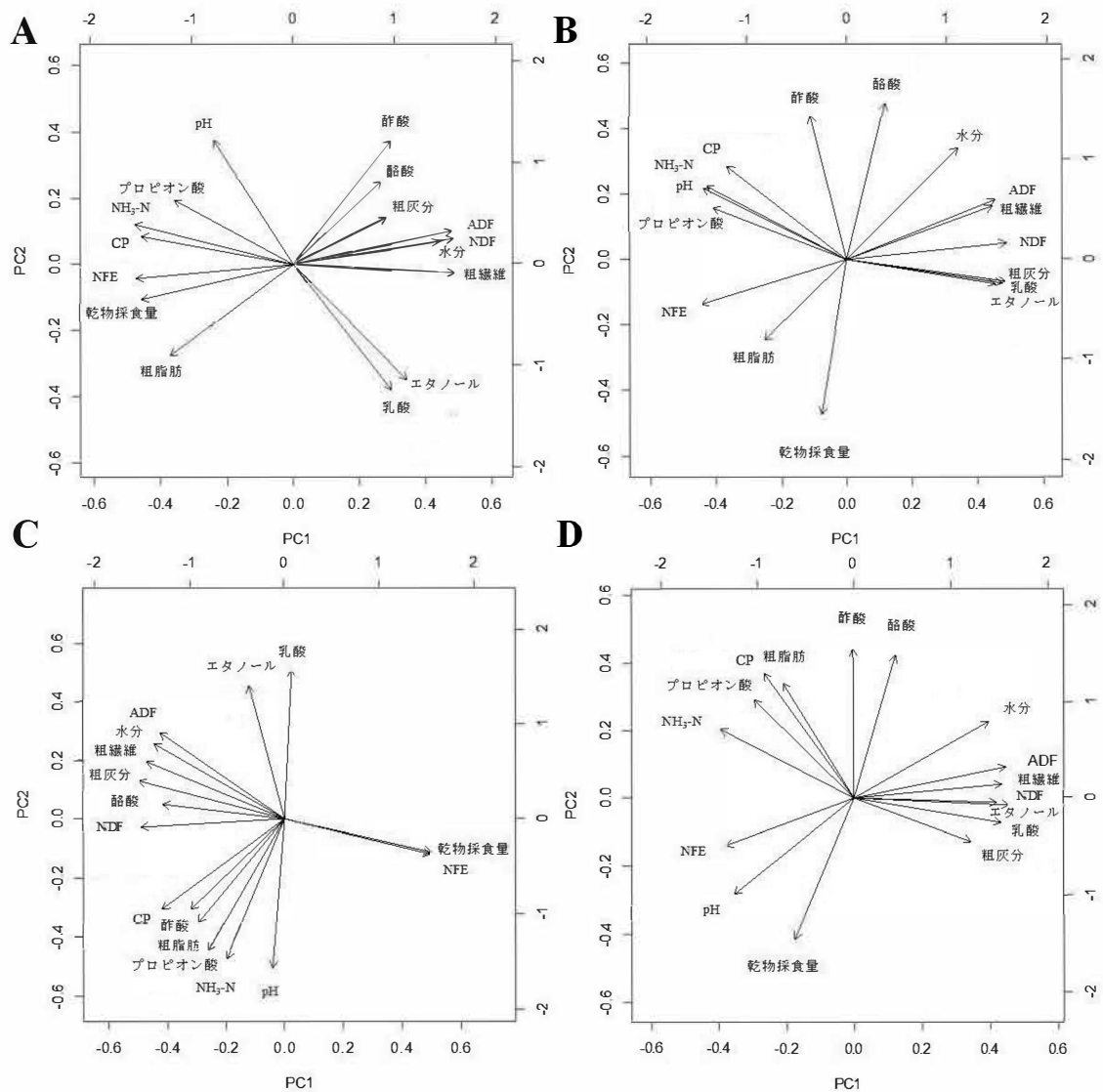


図 3. イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量，
pH, 水分 および 乾物中の飼料成分 13 項目の主成分分析．
A：リンゴ粕 0%，B：リンゴ粕 10%，C：リンゴ粕 25%，D：
リンゴ粕 50%，PC1：第 1 主成分得点，PC2：第 2 主成分得
点．固有ベクトル（矢印）の向きが同じ項目間に正の相関，
向きが反対の項目間に負の相関があることを示している．

表 4. 重回帰分析のステップワイズ法で解析したイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と飼料成分含量との関係.

AP (%FM)	回帰式	X	X ₁	調整済R ²	P
0	$Y^1 = -8.76X + 29.76X_1 + 671.48$	水分	粗脂肪	>0.999	0.009
10	$Y = -141.79X + 251.14$	酪酸		0.921	0.027
25	$Y = -44.74X - 134.55X_1 + 764.87$	粗灰分	酪酸	>0.999	0.000
50	$Y = -349.69X + 321.94$	酪酸		0.952	0.016

¹Y : 試験開始から 3 時間後のイネ WCS の乾物採食量.

考 察

本章で供試したイネ 4 品種・系統の地上部全乾物重に占める穂の重さの割合は，IBP20（21.2％）と IBP69（22.2％）がべこごのみ（56.8％）とつがるロマン（53.2％）より有意に小さいことが確認されている（姜，未発表）。ネリカ 2 系統とその他のイネ 2 品種との間にみられた化学組成の違いは，イネ品種・系統間の穂の割合の違いによるものと考えられる。また，序論で述べたように IBP20 および IBP69 の 1 株あたりの可溶性糖類含量はべこごのみとつがるロマンより有意に多いことが報告されており（姜，未発表），本章で供試したネリカ 2 系統の材料草に含まれる可溶性糖類含量はべこごのみとつがるロマンより多かった可能性がある。このことが，IBP20 において乳酸およびエタノール含量が高かった原因と考えられる。IBP69 の乳酸およびエタノール含量が IBP20 より低かったことについては，IBP69 の可溶性糖類含量や付着乳酸菌数が IBP20 より少なかった可能性が考えられる（蔡ら 2003，日本草地畜産種子協会 2014，草ら 2018）。

本章で用いたリンゴ粕乾物中の NFE 含量はイネ WCS 単味の平均値より 10％以上高く，リンゴ粕に含まれる可溶性糖類が乳酸およびエタノールの生成に使われたと考えられる（房 2009，豊川ら 2010）。リンゴ粕乾物中の CP 含量はイネ WCS 単味の平均値より低かったが，リンゴ粕混合イネ WCS では

CP 含量の平均値がイネ WCS 単味より高かった。草ら(2018)は、イネ WCS の pH が低下すると酪酸菌の増殖が抑えられて CP の分解が抑制されると述べており、本章ではイネ WCS にリンゴ粕を混合したことで pH が下がり、酪酸菌による CP の分解が抑制されたことが推察される。また、イネ WCS にリンゴ粕を混合すると乳酸含量が増加したことから、乳酸菌増殖による菌体由来の CP が増加した可能性も考えられる。

イネ WCS 単味 4 点の乾物採食量はイネ品種・系統間に差がなかったものの、リンゴ粕を 25% 以上混合したイネ WCS では、つがるロマンの乾物採食量が他のイネ品種・系統より有意に多かった。この結果から、イネ WCS にリンゴ粕を混合することによってイネ品種・系統間の嗜好性の順位が単味給与の場合とは異なることが示唆された。リンゴ粕を混合したつがるロマンは、イネ 4 品種・系統の中で酪酸含量が最も少なく、V スコアは最も高かった。また、リンゴ粕を混合したつがるロマンのフリーク評点は単味の場合より 10 点以上高い値となった。このことが、リンゴ粕混合による発酵品質および嗜好性改善の程度がつがるロマンで大きいことの原因になっているものと考えられる。

本章で解析したリンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量と飼料成分含量との重回帰分析の結果、イネ WCS 単味の乾物採食量と水分含量との間に有意な負の相関がみら

れた。また，イネ WCS 単味 4 点の乾物採食量と飼料成分含量との主成分分析では，乾物採食量と NDF および ADF 含量にも負の相関がみられた。この結果は，サイレージの乾物率が高いほど乳牛の自由採食量が増加したという安宅・大島（1995）および Huhtanen ら（2007）の報告やイネ科牧草サイレージの NDF 含量が高いほど牛の乾物採食量が低下するという安宅・大島（1995），Huhtanen ら（2007），Krizsan・Randby（2007）および新出（2009）の報告と一致する。一方，リンゴ粕混合イネ WCS の重回帰分析では乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられ，イネ WCS 単味の嗜好性と有意な相関がみられた水分および粗脂肪含量とは関連がなかった。イネ WCS の水分含量は，いずれのリンゴ粕混合割合においても IBP69 がイネ 4 品種・系統の中で最高値，つがるロマンが最低値となり，IBP69 の水分含量はつがるロマンの 1.1～1.2 倍であった。また，イネ WCS 乾物中の粗脂肪含量は，いずれのリンゴ粕混合割合においてもべこごのみがイネ 4 品種・系統の中で最高値，IBP69 が最低値となり，イネ WCS 単味の粗脂肪含量はべこごのみが IBP69 の 1.4 倍，リンゴ粕を混合するとべこごのみが IBP69 の 1.1～1.3 倍であった。このため，リンゴ粕混合イネ WCS の水分および粗脂肪含量の違いが嗜好性に及ぼす影響は，イネ WCS 単味の場合と同程度かそれより小さいと考えられる。これに対し，

イネ WCS 乾物中の酪酸含量は，いずれのリンゴ粕混合割合においても IBP69 がイネ 4 品種・系統の中で最高値，つがるロマンが最低値となり，イネ WCS 単味の酪酸含量は IBP69 がつがるロマンの 2.1 倍，リンゴ粕を混合すると IBP69 がつがるロマンの 2.4～3.4 倍であった。このため，リンゴ粕混合イネ WCS の酪酸含量の違いが嗜好性に及ぼす影響は，イネ WCS 単味の場合より大きいことが推察される。以上のことが，イネ WCS 単味とリンゴ粕混合イネ WCS の間で，嗜好性と飼料成分との関係が異なった原因と考えられる。

本章では，リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量を増加させる飼料成分を特定できなかった。この点については，本章で分析を行わなかった飼料成分を分析する必要があると考えられる。豊川・坪松（1977）は，イナワラにスクロースを添加してめん羊に給与すると乾物採食量が有意に増加することを報告し，Goatcher・Church（1970）は水にスクロースを 0.01～20% 添加してめん羊に給与したところ，濃度が 5% のときに嗜好性が向上したことを報告している。これらの結果から，飼料に含まれる糖類がめん羊の採食量を増加させる可能性が考えられる。本章でリンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量と飼料成分含量との重回帰分析を行ったところ，いずれのリンゴ粕混合割合においても，糖含量やデンプン含量を示す NFE 含量と乾物採食量に有意な相関は

なかった。しかし，これらの主成分分析では，いずれのリンゴ粕混合割合においても乾物採食量と NFE 含量の固有ベクトルが近い向きを指しており，イネ WCS の NFE 含量として示される糖含量やデンプン含量を測定して乾物採食量との関係を解析することで，関連がみられる可能性が考えられる。

小 括

イネの地上部全体に占める穂の割合と可溶性糖類含量が異なるべこごのみ，つがるロマン，IBP20 および IBP69 のイネ 4 品種・系統を黄熟期に刈取り，細切して調製したイネ WCS にリンゴ粕を混合すると，乳酸とエタノール含量が増加し，pH の低下，V スコアとフリーク評点の向上がみられた。めん羊 4 頭を供試し，各個体にリンゴ粕混合割合が同じでイネ品種・系統が異なる WCS 4 点についてカフェテリア法で嗜好性試験を実施した結果，イネ WCS 単味の嗜好性はイネ品種・系統間に差がなかった。これに対し，リンゴ粕混合イネ WCS ではつがるロマンの嗜好性向上の度合が他のイネ品種・系統より有意に大きかった。イネ WCS の乾物採食量と乾物中の飼料成分との重回帰分析を行ったところ，イネ WCS 単味の乾物採食量は乾物率および粗脂肪含量と有意な正の相関がみられたが，リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は酪酸含量と有意な負の相関がみられた。以上の結果から，リンゴ粕を

イネ WCS に混合するとイネ品種・系統によっては嗜好性が有意に上昇することが示唆された。また，イネ WCS にリンゴ粕を混合すると嗜好性に影響を及ぼす飼料成分が単味の場合とは異なることが明らかとなった。

第 3 章 嗜好性試験の繰り返し数が粗飼料の嗜好性評価に及ぼす影響

緒言

Villalba ら (2011) は飼料に添加する香料と嗜好性の関係を明らかにするため、アルファルファとオオムギを混合して調製した粗飼料（以下、混合粗飼料）に甘味、旨味および苦味を呈する 3 種類の香料のいずれかを添加するものと香料を添加しないものを調製した。サフォーク種の子めん羊 35 頭を用いて、これら 4 種類の混合粗飼料のいずれかを給与する 4 つの試験区（以下、sweet 区、umami 区、bitter 区および plain 区）と 4 種類すべての混合粗飼料を同時に給与する試験区（以下、diversity 区）の計 5 つの試験区に割振り、60 日間の飼養試験を実施した。各試験区の自由採食量を毎日測定した結果、試験開始後 19～43 日の期間における各試験日の自由採食量は diversity 区が他の試験区より有意に多かったが、その他の試験日の自由採食量は試験区間で差がなかった。この結果から、飼料の嗜好性試験では試験継続日数や繰り返し数が異なると結果の再現性に影響を及ぼすことが予想されるが、繰り返し数等の違いが結果に及ぼす影響については明らかになっていない。

Harper ら（2016）は、牛を用いて異なる種類の香料を添加した4種類の配合飼料をカフェテリア法で牛に給与した際に、香料の違いよりも飼料の並べ方が採食量に影響を及ぼしたと報告した。この研究では、ホルスタイン種の泌乳牛16頭を供試し、配合飼料に6種類の香料（アニシード、コロハ、ハチミツ、オレンジ、タイム、糖蜜およびバニラ）のいずれかを添加した場合と香料を添加しなかった場合の嗜好性を調査した。これら計7種類の配合飼料の中から4種類を無作為に選び、カフェテリア法で供試牛各個体の5分間の採食量を測定したところ、バニラとコロハを添加した配合飼料の採食量が最も多く、アニシードとオレンジを添加した場合の採食量は最も少なかった。しかし、カフェテリア法で1列に並べて給与した配合飼料4点の中で中央2点の採食量が両端より有意に多かったことから、Harper らは配合飼料の並べ方が採食量に影響を及ぼしたと主張しており、嗜好性試験に供試する飼料の数が多いとそれらの並べ方が結果に影響を及ぼすことが示唆された。

しかし、林ら（1966）は嗜好性の差が小さいと思われる8種類のクローバーサイレージと牛8頭を用いて、60分間の採食速度法、15分間の一対比較法および60分間のカフェテリア法による嗜好性試験を実施した際に、一対比較法とカフェテリア法の結果に大きな違いはなかったと述べている。林ら

(1966) と Harper ら (2016) の試験結果が異なった理由として, Harper らが実施したような短時間の嗜好性試験では供試する飼料の数が結果を左右する可能性が考えられるが, 試験時間を延ばすと飼料の数の違いが結果に及ぼす影響は小さいと推察される。

第 2 章では, イネの地上部全体に占める穂の割合や可溶性糖類含量が異なるべこごのみ, つがるロマン, IBP20 および IBP69 を用いて, リンゴ粕を 0, 10, 25 および 50% 混合したイネ WCS を調製し, イネ品種・系統間で嗜好性の比較を行った。これらの飼料成分含量は, いずれのリンゴ粕混合割合においてもイネ品種・系統間で差がみられたが(表 1, 表 2), イネ WCS 単味の乾物採食量はイネ品種・系統間に差がなかったのに対し, リンゴ粕を 25% ないし 50% 混合したイネ WCS の乾物採食量はイネ品種・系統間に有意差がみられた(図 2)。この結果から, イネ WCS にリンゴ粕を混合すると嗜好性試験の結果に影響を及ぼす可能性が示唆された。

本章では, 東北地域の飼料用イネ品種べこごのみと第 2 章でイネ WCS 単味の V スコアやフリーク評点が高かった IBP20 を供試し, これら単味のイネ WCS とリンゴ粕を 50% 混合したイネ WCS の嗜好性を評価した。第 2 章では, カフェテリア法でめん羊にリンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点を給与する嗜好性試験を行い, リンゴ粕混合割合 1 水準に

つき 2 回の試験を実施したが，Villalba ら（2011）の報告で指摘されたように，試験の繰り返し数が増えるとイネ品種・系統間で嗜好性の順位が異なる可能性が考えられる。そこで，本章ではめん羊を用いて，べこごのみと IBP20 のイネ WCS 2 点とリンゴ粕混合イネ WCS 2 点の一对比較法による嗜好性試験を 5 回ずつ実施し，試験の繰り返し数が結果に及ぼす影響について評価した。併せて，チモシー乾草とオーツヘイ乾草を供試し，これらの一对比較法による嗜好性試験 5 回ずつの実施を，間隔を空けて 3 回，計 15 回実施して嗜好性評価結果に及ぼす繰り返し数の影響を調べた。さらに，第 2 章と同様にイネ WCS の乾物採食量と飼料成分含量の重回帰分析を行い，嗜好性と飼料成分含量との関係について解析を行った。

材 料 と 方 法

1. イネの栽培条件

イネは，東北地域の飼料用イネ品種べこごのみと IBP20 の 2 品種・系統を供試した。イネの栽培は，青森県五所川原市にある弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター金木農場で行った。栽培様式はイネ各品種・系統ともに，圃場面積 40 m²，条間 30 cm，株間 15 cm，1 株 3 本の手植えとした。2016 年 4 月 12 日に苗箱播種，5 月 24 日に移植し，

基肥は複合肥料（N・P・K，14・18・14）を用いて窒素成分量 10 a あたり 9 kg の水準で施用，追肥は複合肥料（N・P・K，10・0・15）を用いて窒素成分量 10 a あたり 7 kg の水準で施用した。

2. サイレージ調製

イネの収穫は黄熟期に行った。2016 年 9 月 1 日にべこごのみ，9 月 20 日に IBP20 を刈取り，シリンダカッター（CX-201SJM2，株式会社山本製作所，山形）で細切（19 mm）して 100 または 200 L 容量のドラム缶サイロに詰込み（0.22–0.26 kg/L），約 5 ヶ月間密閉貯蔵した。2017 年 2 月 17 日にこれら 2 種類のイネ WCS の半分に同日リンゴ果汁搾汁後に産出されたリンゴ粕を原物で 50% の比率で混合し，120 L のビニール袋に詰めた後，100 L 容量のドラム缶サイロに入れて約 1 ヶ月間サイラージ貯蔵して嗜好性試験に供試した。

3. 乾草

チモシーとオーツヘイは輸入乾草を供試し，シリンダカッター（CX-201SJM2，株式会社山本製作所，山形）で細切（19 mm）して嗜好性試験に供試した。

4. 嗜好性試験

嗜好性試験は、弘前大学動物実験委員会で承認された動物実験計画書（承認番号：A08023）に沿って実施した。サフォーク種の去勢雄めん羊4頭（ 4.7 ± 0.02 歳齢，体重 80.2 ± 19.4 kg）を単飼で飼養して嗜好性試験に供試した。基礎飼料として，各個体の維持に要する TDN 相当量の 1.1 倍（農林水産省農林水産技術会議事務局 1996）をアルファルファヘイキューブと配合飼料（CP：12.5%，TDN：75.0%）で給与した。基礎飼料は毎日 10：00 と 16：00 に 2 等分して給与し，アルファルファヘイキューブと配合飼料は TDN 比 1：1 で給与した。水と鉱塩は自由摂取させた。

一対比較法でめん羊各個体に給与する飼料の組合せは，チモシー乾草とオーツヘイ乾草，ベこごのみと IBP20 のイネ WCS，ベこごのみと IBP20 にリンゴ粕を 50% 混合したイネ WCS の計 3 組とし，すべて原物で 1 kg ずつ給与した。試験期間を 50 日間，供試する粗飼料の順番を乾草，イネ WCS 単味，乾草，リンゴ粕混合イネ WCS，乾草とし，1 つの組合せの試験を 1 日おきに 5 回実施してから次の組合せの試験を実施した（表 4）。試験開始時刻を 10：00 とし，試験開始から 15 分，30 分，45 分および 60 分後までの原物採食量を測定した。試験実施日の午前は基礎飼料を給与しなかった。

表 4. 一対比較法による粗飼料の嗜好性試験日程.

試験日	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
供試した粗飼料	¹	乾草 ²		乾草		乾草		乾草		乾草		イネ ³ WCS単味		イネWCS単味		イネWCS単味		イネWCS単味		イネWCS単味
試験日	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
供試した粗飼料		乾草		乾草		乾草		乾草		乾草		リンゴ粕混合イネWCS		リンゴ粕混合イネWCS		リンゴ粕混合イネWCS		リンゴ粕混合イネWCS		リンゴ粕混合イネWCS
試験日	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50										
供試した粗飼料		乾草		乾草		乾草		乾草		乾草										

¹ 供試した粗飼料：一対比較法でめん羊に給与した粗飼料．² 乾草：チモシー乾草とオーツヘイ乾草．³ イネ WCS 単味：べこごのみと IBP20 のイネ WCS．⁴ リンゴ粕混合イネ WCS：リンゴ粕を 50% 混合したべこごのみと IBP20 のイネ WCS．

5. 化学分析

イネ WCS の水分含量をトルエン蒸留法で測定した（自給飼料品質評価研究会 2001）。イネ WCS 新鮮物 100 g に蒸留水 300 mL を加えて 4℃ で一晩抽出し，4 重ガーゼでろ過した抽出液を調製した後，pH をガラス電極 pH メーター（KR5E，アズワン，大阪）で測定して，以下の分析に供するまで -10℃ 以下で凍結保存した。Shodex KC-811（昭和電工株式会社，東京）カラムを装着した日本分光株式会社（東京）製の高速液体クロマトグラフィーシステム（送液ポンプ PU-980，カラムオーブン CO-965，UV 検出器 UV-970，オートサンプラー AS-950-10）を使用したプロモチモールブルーポストラベル法によりイネ WCS の有機酸（乳酸，酢酸，プロピオン酸および酪酸）含量を分析した（大桃ら 1993，河本ら 2018）。エタノール含量を F キット（176290，株式会社 J. K. インターナショナル，東京）で，NH₃-N 含量を微量拡散法で測定した（自給粗飼料品質評価研究会 2001）。イネ WCS 単味 2 点のサンプルを嗜好性試験 12 および 20 日目に，リンゴ粕混合イネ WCS 2 点のサンプルを嗜好性試験 32 および 40 日目に採取し，これら計 8 点のサンプルの pH，水分および発酵産物含量 6 項目（乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸，エタノールおよび NH₃-N）を分析した。

チモシー乾草とオーツヘイ乾草は，嗜好性試験 6，26 および 46 日目に原物サンプルを採取して水分含量を 135℃，2 時間乾燥法で測定した（自給飼料品質評価研究会 2001）。

6. 統計解析

一対比較法で比較したチモシー乾草とオーツヘイ乾草，べこごのみと IBP20 のイネ WCS，べこごのみと IBP20 のリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量を算出し，時間（試験開始から 15，30，45 および 60 分後）と飼料の品種・系統を要因とする反復測定分散分析を行い，時間と飼料の品種・系統の交互作用に有意差が認められた場合は，各測定時点で一元配置分散分析を行った。イネ WCS の pH，水分および発酵産物含量 6 項目（乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸，エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ ）についてはサンプルを 2 点ずつしか採取しなかったため，これらのイネ品種・系統間または同一品種・系統内におけるリンゴ粕混合割合間の統計解析は行わなかった。チモシー乾草とオーツヘイ乾草の水分含量についても，嗜好性試験 6，26 および 46 日目のサンプルを 1 点ずつしか採取しなかったため，統計解析は行わなかった。イネ WCS の嗜好性に影響を及ぼしている飼料成分を特定するため，嗜好性試験 12 および 20 日目のイネ WCS 単味の乾物採食量，pH，水分および乾物中の発酵産物含量 6 項目について，乾物採食

量を従属変数，pH，水分および発酵産物含量 6 項目を説明変数として，重回帰分析のステップワイズ法（Krizsan・Randby 2007）による解析を行った。また，嗜好性試験 32 および 40 日目のリンゴ粕混合イネ WCS についても同様の解析を行った。計算はすべて IBM SPSS Statistics Version 22 で行い，有意水準はすべて 5% とした。第 2 章では，イネ WCS の乾物採食量と pH および飼料成分含量全項目との関係を評価するためにこれらの主成分分析を行ったが，本章ではイネ WCS の乾物採食量と飼料成分含量に有意な相関があるかどうかを解析できる重回帰分析のみを行った。

結 果

嗜好性試験 12 および 20 日目に採取したイネ WCS 単味の pH，水分および発酵産物含量を表 5 に示した。水分含量の平均値は，IBP20 がべこごのみより高かった。乾物中の乳酸含量の平均値はイネ品種・系統間に大きな差はみられなかったが，酢酸とプロピオン酸含量の平均値はべこごのみが IBP20 より高く，pH はべこごのみが IBP20 より低かった。乾物中のエタノール含量の平均値は IBP20 がべこごのみより高く，NH₃-N 含量の平均値はイネ品種・系統間に大きな差はみられなかった。嗜好性試験 20 日目の IBP20 は，プロピオン酸を

除く発酵産物含量が嗜好性試験 12 日目より増えたが，べこごのみではこのような発酵産物含量の変化はみられなかった。

嗜好性試験 32 および 40 日目に採取したリンゴ粕混合イネ WCS の pH，水分および発酵産物含量を表 6 に示した。水分含量の平均値は IBP20 がべこごのみより高く，単味の場合と同じ結果であった。エタノールを除く乾物中の発酵産物含量の平均値はいずれのイネ品種・系統とも単味より低かったが，エタノール含量は単味より高かった。pH の平均値は，イネ 2 品種・系統とも単味より低かった。

嗜好性試験 6，26 および 46 日目に採取したチモシー乾草とオーツヘイ乾草の水分含量を表 7 に示した。各試験日の水分含量はオーツヘイ乾草がチモシー乾草より高く，いずれの草種も試験が進むほど水分含量が増えた。

一対比較法で比較した乾草の乾物採食量を図 4，図 6 および図 8 に，イネ WCS 単味 2 点の乾物採食量を図 5 に，リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量を図 7 に示した。嗜好性試験 2，4，6，8 および 10 日目のチモシー乾草とオーツヘイ乾草の乾物採食量について時間と草種を要因とした反復測定分散分析を行った結果，いずれもチモシー乾草がオーツヘイ乾草より有意に多かった。嗜好性試験 4，6，8 および 10 日目は，時間と草種の交互作用にも有意差が認められたため各測定時点で一元配置分散分析を行ったところ，試験開始から

15 分後以降すべての測定時点でチモシーの乾物採食量がオーツヘイより有意に多かった。嗜好性試験 12, 14, 16, 18 および 20 日目のイネ WCS 単味の乾物採食量は, 12 および 14 日目では IBP20 がべこごのみより有意に多かったが, 16, 18 および 20 日目はイネ品種・系統間に差はなかった。嗜好性試験 22, 24, 26, 28 および 30 日目のチモシー乾草とオーツヘイ乾草の乾物採食量は, 26 日目のみ草種間に差はなかったが, 他の試験日はチモシー乾草がオーツヘイ乾草より有意に多かった。嗜好性試験 24 および 28 日目は時間と草種の交互作用にも有意差が認められたが, 各測定時点で一元配置分散分析をした結果, 試験開始から 15 分後以降すべての測定時点でチモシー乾草の乾物採食量がオーツヘイ乾草より有意に多かった。嗜好性試験 32, 34, 36, 38 および 40 日目のリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は, 36 日目のみべこごのみが IBP20 より有意に多かったが, 他の試験日はイネ品種・系統間に差はなかった。嗜好性試験 42, 44, 46, 48 および 50 日目のチモシー乾草とオーツヘイ乾草の乾物採食量は, いずれの試験日においても草種間に差はなかった。

イネ WCS 単味およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と pH, 水分および乾物中の発酵産物含量 6 項目の重回帰分析による解析結果を表 8 に示した。嗜好性試験 12 および 20 日目のイネ WCS 単味の乾物採食量は酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量

と有意な負の相関がみられたが，嗜好性試験 32 日目と 40 日目のリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と発酵産物含量に関連はなかった。イネ WCS 単味の重回帰分析では回帰式の 3 目の説明変数に水分含量が選ばれたが，自由度の関係で説明変数が 3 つ以上の回帰式では有意差が求められなかったため，酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量の 2 つを回帰式の説明変数とした。

表 5. イネ WCS 単味の発酵品質.

	AP (%FM)	試験日	pH	水分 (%FM)	乳酸 (%)	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)	エタノール (%)	NH ₃ -N (%)
べこごのみ	0	12	4.39	72.8	0.13 ^a	0.39	0.20	0.14	0.06	0.04
					(0.45) ^b	(1.38)	(0.70)	(0.49)	(0.21)	(0.13)
	0	20	4.48	71.0	0.10	0.40	0.22	0.16	0.01	0.04
					(0.36)	(1.41)	(0.78)	(0.56)	(0.02)	(0.13)
平均	0	-	4.44	71.9	0.11	0.39	0.21	0.15	0.03	0.04
					(0.40)	(1.40)	(0.74)	(0.52)	(0.12)	(0.13)
IBP20	0	12	4.89	78.0	0.09	0.17	0.04	0.08	0.03	0.02
					(0.39)	(0.73)	(0.18)	(0.36)	(0.14)	(0.10)
	0	20	4.96	75.5	0.12	0.26	0.04	0.14	0.06	0.04
					(0.52)	(1.13)	(0.16)	(0.62)	(0.27)	(0.17)
平均	0	-	4.93	76.7	0.11	0.22	0.04	0.11	0.05	0.03
					(0.45)	(0.93)	(0.17)	(0.49)	(0.21)	(0.14)

^a 上段 : 新鮮物中 % . ^b 下段 () 内 : 乾物中 % .

表 6. リンゴ粕混合イネ WCS の発酵品質.

	AP (%FM)	試験日	pH	水分 (%FM)	乳酸 (%)	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)	エタノール (%)	NH ₃ -N (%)
べこごのみ	50	32	4.06	70.8	0.04 ^a	0.19	0.10	0.08	0.11	0.02
					(0.14) ^b	(0.68)	(0.35)	(0.28)	(0.39)	(0.05)
平均	50	40	4.01	73.5	0.04	0.18	0.10	0.08	0.11	0.02
					(0.15)	(0.65)	(0.34)	(0.27)	(0.38)	(0.07)
平均	50	-	4.04	72.2	0.04	0.18	0.10	0.08	0.11	0.02
					(0.14)	(0.66)	(0.35)	(0.28)	(0.83)	(0.06)
IBP20	50	32	4.17	76.3	0.10	0.12	0.01	0.06	0.27	0.01
					(0.42)	(0.50)	(0.03)	(0.28)	(1.20)	(0.06)
平均	50	40	4.20	78.8	0.09	0.09	0.01	0.05	0.32	0.02
					(0.39)	(0.43)	(0.02)	(0.24)	(1.41)	(0.07)
平均	50	-	4.19	77.5	0.09	0.10	0.01	0.06	0.29	0.01
					(0.41)	(0.47)	(0.03)	(0.26)	(1.30)	(0.07)

^a 上段 : 新鮮物中 % . ^b 下段 () 内 : 乾物中 % .

表 7. 乾 草 の 水 分 .

乾草	試験日	水分 ¹ (%)
チモシー	12	9.82
チモシー	26	9.86
チモシー	46	10.16
平均	-	9.99
オーツヘイ	12	11.20
オーツヘイ	20	11.55
オーツヘイ	46	12.75
平均	-	11.98

¹ 水分 : 乾 草 原 物 中 の 水 分 含 量 .

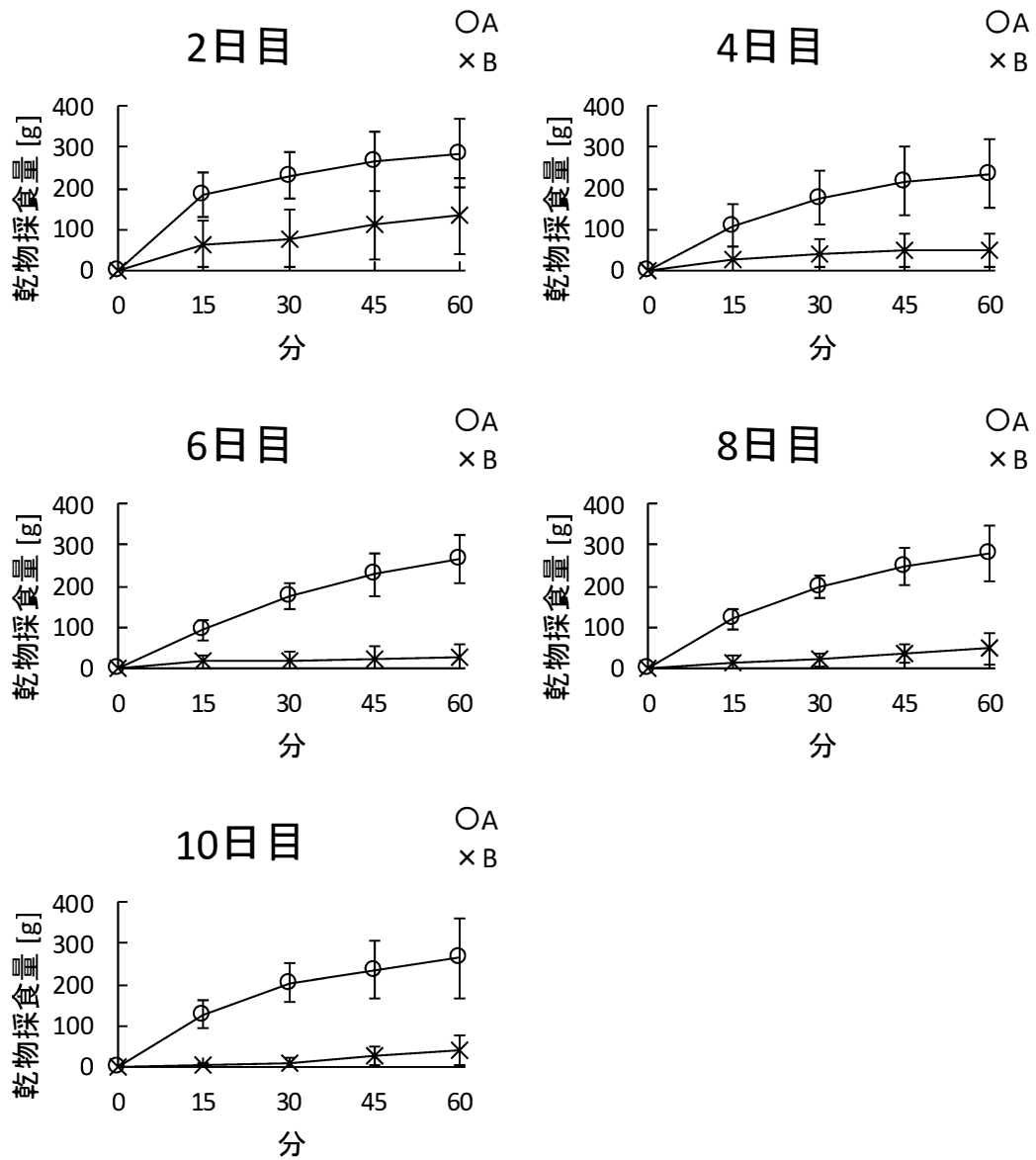


図 4. 嗜好性試験 2～10 日目の乾草の乾物採食量.

○チモシー乾草，×オーツヘイ乾草，A，B：異文字間に有意差あり（ $P < 0.05$ ）. 時間と草種を要因とした反復測定分散分析を行い，時間と草種の交互作用に有意差が認められた場合に各測定時点で一元配置分散分析を行った.

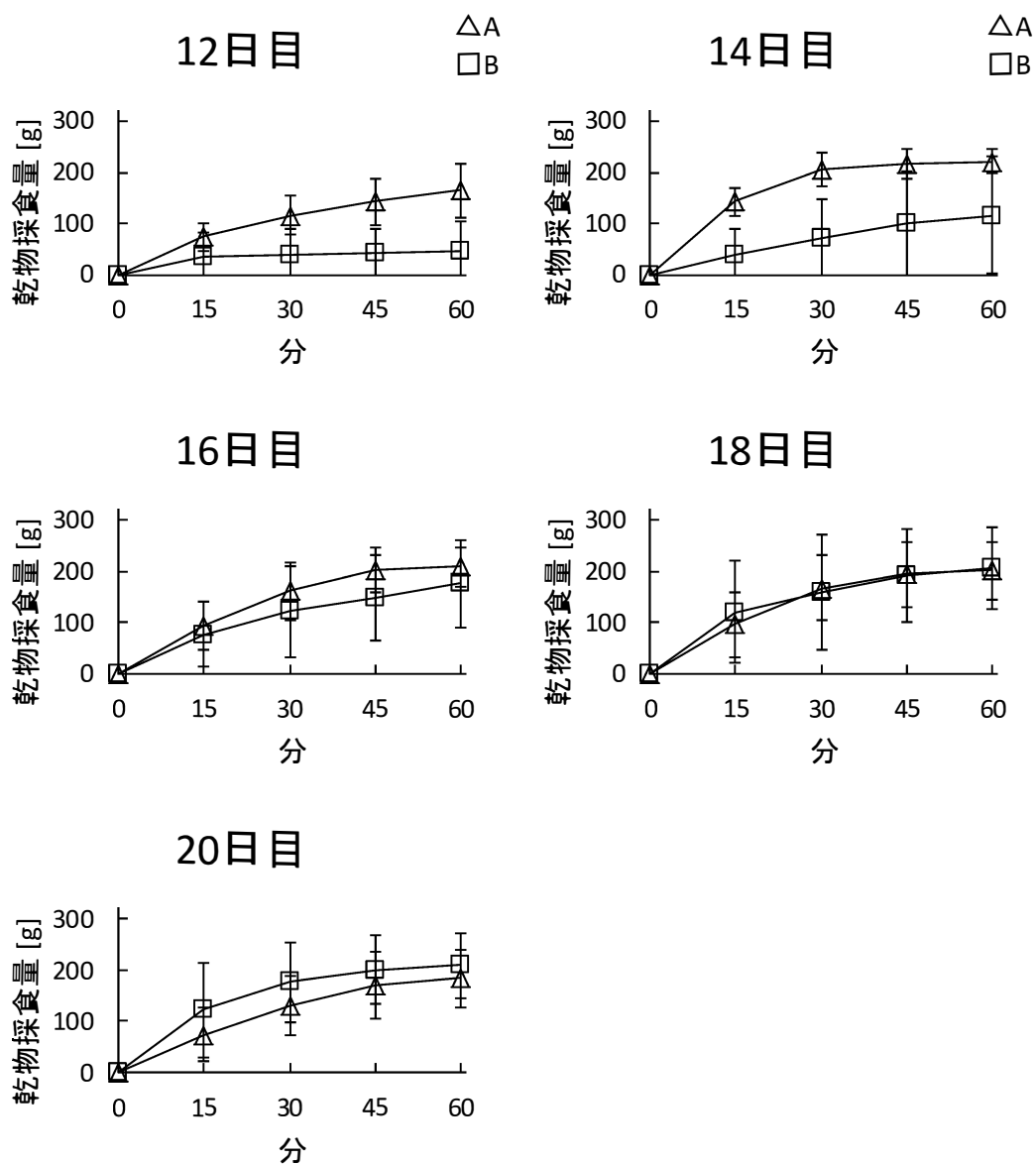


図 5. 嗜好性試験 12～20 日目のイネ WCS 単味の乾物採食量.

□ベこごのみ，△IBP20，A，B：異文字間に有意差あり（ $P < 0.05$ ）。時間とイネ品種・系統を要因とした反復測定分散分析を行い，時間とイネ品種・系統の交互作用に有意差が認められた場合に各測定時点で一元配置分散分析を行った。

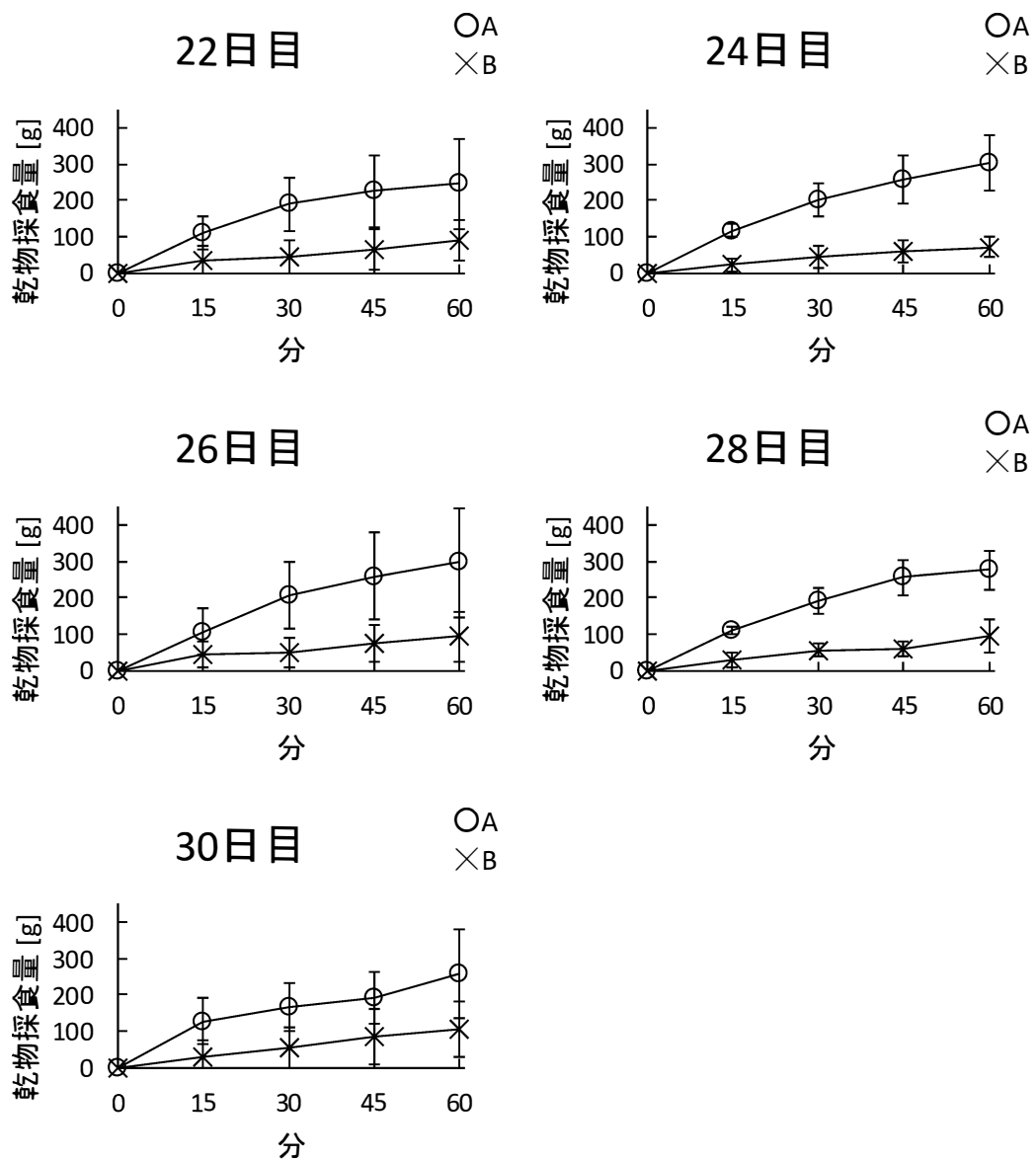


図 6. 嗜好性試験 22～30 日目のチモシー乾草とオーツヘイ乾草の乾物採食量.

○チモシー乾草，×オーツヘイ乾草，A，B：異文字間に有意差あり（ $P < 0.05$ ）。時間と草種を要因とした反復測定分散分析を行い，時間と草種の交互作用に有意差が認められた場合に各測定時点で一元配置分散分析を行った。

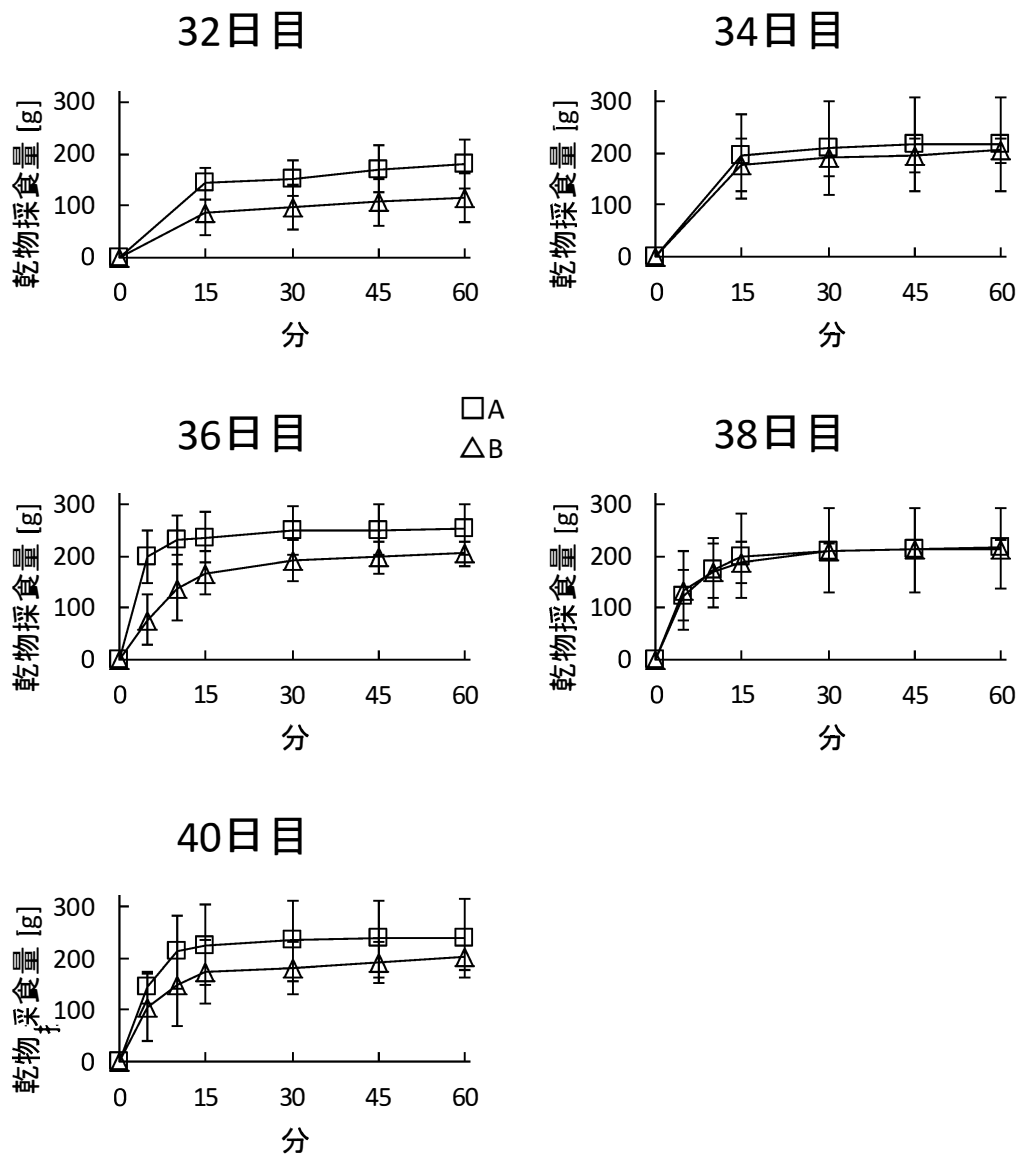


図 7. 嗜好性試験 32～40 日目のリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量.

□ベここのみ, △IBP20, A, B: 異文字間に有意差あり ($P < 0.05$). 時間とイネ品種・系統を要因とした反復測定分散分析を行い, 時間とイネ品種・系統の交互作用に有意差が認められた場合に各測定時点で一元配置分散分析を行った.

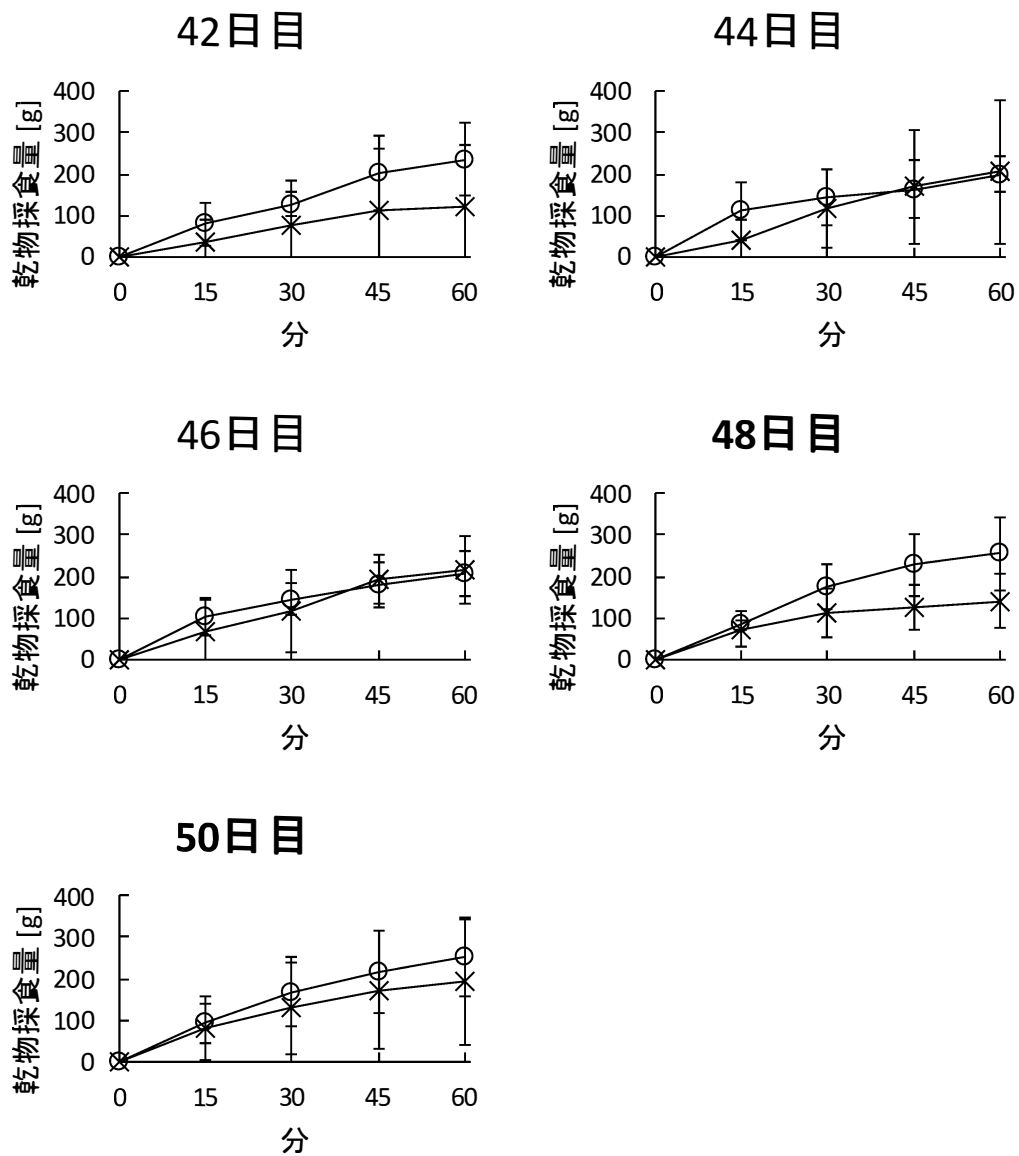


図 8. 嗜好性試験 42～50 日目のチモシーとオーツヘイの乾物採食量.

○チモシー乾草，×オーツヘイ乾草．時間と草種を要因とした反復測定分散分析を行い，時間と草種の交互作用に有意差が認められた場合に各測定時点で一元配置分散分析を行った．

表 8. 重回帰分析のステップワイズ法で解析したイネ WCS の
乾物採食量と飼料成分含量との関係.

AP (%FM)	回帰式 ¹	X	X ₁	調整済R ²	P
0	$Y^2 = -758.16X - 578.92X_1 + 496.20$	酪酸	NH ₃ -N	>0.999	0.012
50	—	—	—	—	—

¹ 回帰式: 嗜好性試験 12 および 20 日目のイネ WCS 単味 2 点または
嗜好性試験 32 および 40 日目のリンゴ粕混合イネ WCS 2 点の乾物
採食量と発酵産物含量の回帰式. ² Y: 試験開始から 60 分後のイネ
WCS の乾物採食量.

考 察

イネ WCS の水分含量は、いずれのリンゴ粕混合割合においても IBP20 がべこごのみより高かった。この水分含量の違いは、第 2 章で述べたように、べこごのみと IBP20 のイネ地上部全体に占める穂の割合の違いによるものと考えられる（姜，未発表）。第 2 章で供試したイネ WCS 単味乾物中の乳酸含量は IBP20（2.00%）がべこごのみ（0.20%）の 10 倍であり、pH は IBP20（4.24）がべこごのみ（4.67）より低かった。これに対し、本章のイネ WCS 単味乾物中の乳酸含量はべこごのみと IBP20 の間に大きな差はなく、pH はべこごのみの IBP20 より低かった。本章と第 2 章で IBP20 単味の乳酸含量や pH が異なった理由として、本章では IBP20 単味の発酵が抑制されていた可能性が考えられる。本章の嗜好性試験 20 日目に採取した IBP20 単味のイネ WCS は、プロピオン酸を除く発酵産物含量が 12 日目より高かったが、べこごのみ単味ではこのような変化はみられなかった。このため、IBP20 では嗜好性試験 12 日目までサイレージ発酵が抑えられ、その後嗜好性試験 20 日目までの間に二次発酵が起っていたことが推察される。このことが、IBP20 単味のイネ WCS において乳酸含量が第 2 章より低かった一因と推察される。

リンゴ粕混合イネ WCS 乾物中の乳酸含量は、いずれのイネ品種・系統においてもイネ WCS 単味より低かったが、エタ

ノール含量はイネ WCS 単味より高かった。この結果から、リンゴ粕に含まれる可溶性糖類が主にエタノールの生成に使われた可能性が考えられる（松崎 2014）。また、リンゴ粕混合イネ WCS は乳酸，酢酸，プロピオン酸および酪酸含量がイネ WCS 単味より低かったにも関わらず，pH がイネ WCS より低かった。この理由として，リンゴ粕混合イネ WCS では本研究で分析した有機酸の他に，リンゴ粕で生成が確認されているクエン酸等の酸性物質が含まれていた可能性が考えられる（Dhillon ら 2011）。

嗜好性試験 2，4，6，8 および 10 日目のチモシー乾草とオーツヘイ乾草の乾物採食量は，いずれもチモシー乾草の方が有意に多かった。しかし，嗜好性試験 22，24，26，28 および 30 日目では，26 日目以外の試験日はチモシー乾草の乾物採食量が有意に多かったものの，26 日目に草種間で乾物採食量の差がなくなり，嗜好性試験 42，44，46，48 および 50 日目になると 5 日間とも草種間に乾物採食量の差がなくなった。この結果から，チモシー乾草の選択採食性はオーツヘイ乾草より高いが，試験の繰り返し数が増えるとめん羊がその差を識別しなくなり，これらの自由採食量に差がなくなることが示唆された。

嗜好性試験 12，14，16，18 および 20 日目に比較したイネ WCS 単味 2 点の乾物採食量は，12 および 14 日目は IBP20

がべこごのみより有意に多かったが，16，18 および 20 日目はイネ品種・系統間に差がなかった。このため，IBP20 の選択採食性はべこごのみより高いことが推察されるが，チモシー乾草およびオーツヘイ乾草と同様に，試験の繰り返し数が増えるとめん羊がその差を識別しなくなることが示唆された。

一方，嗜好性試験 32，34，36，38 および 40 日目に測定したリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は 32，34，38 および 40 日目はイネ品種・系統間に差がなく，36 日目はイネ WCS 単味とは逆にべこごのみの乾物採食量が IBP20 より有意に多かった。この結果から，べこごのみと IBP20 のイネ WCS にリンゴ粕を混合するとべこごのみの嗜好性改善の度合いが IBP20 より大きく，べこごのみの選択採食性が IBP20 と同等またはそれ以上になることが推察された。

第 2 章の嗜好性試験ではべこごのみと IBP20 のイネ WCS 単味の乾物採食量に差はなかったが，本章の嗜好性試験 12 および 14 日目に測定したイネ WCS 単味の乾物採食量は，IBP20 がべこごのみより有意に多かった。また，イネ WCS 単味の乾物採食量と pH および飼料成分含量の重回帰分析において，第 2 章では乾物採食量と乾物および粗脂肪含量に有意な正の相関がみられたのに対し，本章では嗜好性試験 12 および 20 日目の乾物採食量と酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に有意

な負の相関がみられ，第2章とは異なる結果となった。本章の嗜好性試験12日目に採取したIBP20単味のイネWCSは，20日目に採取したものより乳酸，酢酸，酪酸，エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量が低く，12日目の時点でサイレージ発酵が抑制されていたことが推察された。これに対してべこごのみ単味のイネWCSは，嗜好性試験12および20日目の間で乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に大きな差はなく，嗜好性試験12日目の時点でサイレージ発酵が十分に進んでいたことが考えられる。サイレージの発酵産物含量は嗜好性を低下させるという主張が多く（Wilkinら1971，Huhtanenら2007，Krizsan・Randbyら2007），嗜好性試験12および14日目でIBP20の乾物採食量がべこごのみより有意に多かった理由として，嗜好性試験12日目の時点でIBP20のサイレージ発酵が抑制されていたことが嗜好性に何らかの影響を及ぼしたと推察される。

本章と第2章でイネWCSの乾物採食量と飼料成分含量の重回帰分析を行った結果，本章ではイネWCS単味の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられた。また，第2章ではリンゴ粕を10，25および50%混合したイネWCSの乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関が認められたことから，酪酸がイネWCSの嗜好性に影響を及ぼす可能性が示唆された。Arnoldら（1980）は，酪酸を脱脂綿に添加して乾草と

一緒に飼槽に入れてめん羊に給与したところ嗜好性が有意に高かったと述べ、Gherardi・Black（1991）は酪酸を乾草に添加してめん羊に給与した場合に嗜好性が有意に向上したと報告した。一方で、Goatcher・Church（1970）は酪酸水溶液をめん羊に給与した場合に嗜好性が有意に低かったと報告しており、酪酸と嗜好性との関係については異なる結果が得られている。

近年、サイレージ調製の際にエタノールが生成されるトウモロコシサイレージ等では、エタノールと乳酸や揮発性脂肪酸との化合物であるエステルが嗜好性に及ぼすと主張されている（Danielら 2013, Gerlachら 2013, Weissら 2016）。Weissら（2016）は、トウモロコシサイレージの乳酸，酢酸およびエタノールとこれらの化合物である乳酸エチルおよび酢酸エチル含量を定量し、エタノールと乳酸エチルおよび酢酸エチル含量に有意な正の相関があることを報告した。本章と第2章で調製したイネ WCS 単味とリンゴ粕混合イネ WCS では、エタノールと乳酸，酢酸，プロピオン酸および酪酸が検出されており、これらのエステル化合物が生成されている可能性が考えられる。本章と第2章で供試したイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と酪酸に有意な負の相関がみられた理由として、酪酸だけではなく、酪酸と

エタノールから生成した酪酸エチルが嗜好性に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

小 括

めん羊を供試して一対比較法による乾草 2 点（チモシーとオーツヘイ）、イネ WCS 単味 2 点（べこごのみと IBP20）およびリンゴ粕を 50% 混合したイネ WCS 2 点（べこごのみと IBP20）の嗜好性試験（以下、試験）を実施した。試験期間を 50 日間、供試する粗飼料の順番を乾草 2 点、イネ WCS 単味 2 点、乾草 2 点、リンゴ粕混合イネ WCS 2 点、乾草 2 点の順番とし、1 つの組合せの試験を 1 日おきに 5 回実施してから次の組合せの試験を実施した。試験 2, 4, 6, 8 および 10 日目に供試した乾草の乾物採食量は、チモシー乾草がオーツヘイ乾草より有意に多かった。しかし、22, 24, 26, 28 および 30 日目の乾草の試験では、26 日以外はチモシーの乾物採食量がオーツヘイより有意に多かったものの、26 日目は草種間に乾物採食量の差がなくなり、乾草の試験 42, 44, 46, 48 および 50 日目になると 5 日間とも草種間に乾物採食量の差はなくなった。この結果から、試験の繰り返し数が増えるともめん羊がチモシー乾草とオーツヘイ乾草の選択採食性の差を識別しなくなり、これらの自由採食量に差がなくなることが示唆された。

試験 12, 14, 16, 18 および 20 日目に測定したイネ WCS 単味の乾物採食量は, 12 および 14 日目に IBP20 がべこごのみより有意に多かったが, 16, 18 および 20 日目はイネ品種・系統間に乾物採食量の差がなくなった。このため, イネ WCS 単味の場合も試験の繰り返し数が増えるとめん羊がこれらの選択採食性の違いを識別しなくなることが示唆された。一方, リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は, 試験 32, 34, 38 および 40 日目はイネ品種・系統間に乾物採食量の差がなく, 36 日目はイネ WCS 単味とは逆にべこごのみの乾物採食量が IBP20 より有意に多かった。これらの結果から, イネ WCS にリンゴ粕を混合するとべこごのみの嗜好性向上の度合いが IBP20 より大きく, べこごのみの選択採食性が IBP20 と同等またはそれ以上になることが推察された。

イネ WCS 単味の乾物採食量と pH, 水分および発酵産物含量の重回帰分析の結果, 乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられた。一方, 第 2 章で調製したリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と pH および飼料成分含量の重回帰分析においても乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられたことから, 酪酸がイネ WCS の嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。また, イネ WCS 単味とリンゴ粕混合イネ WCS に含まれるエタノールと酪酸から生成される酪酸エチルも嗜好性を左右する可能性が考えられた。

第 4 章 イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS に含まれる酪酸および酪酸エステルと嗜好性との 関係

緒 言

近年，サイレージに含まれるアルコールと有機酸から生成されるエステルと嗜好性との関係について研究が行われているが，これらの関係については一貫した結果が得られていない（Daniel ら 2013, Gerlach ら 2013, Weiss ら 2016）。Daniel ら（2013）はサトウキビサイレージ 25 点の発酵産物含量について主成分分析を行い，乾物中のエタノール，乳酸，乳酸エチルおよび酢酸エチル含量に正の相関が示されたことを報告した。また，Gerlach ら（2013）はトウモロコシ WCS の乾物率（33% または 40%），切断長（10 mm または 21 mm），サイロに詰め込む際の密度（乾物で 235 kg/m³ または 270 kg/m³）が異なるサイレージ 48 点を調製し，これらを 3 ヶ月以上サイレージ貯蔵してから 0, 2, 4, 6 および 10 日間開封した後の飼料成分含量とヤギによる乾物採食量との関係を解析した。その結果，トウモロコシ WCS に乳酸，酢酸，エタノール，乳酸エチルおよび酢酸エチルが検出され，ヤギの乾物採食量と乳酸エチルに有意な負の相関が認められた。Daniel ら（2013）および Gerlach ら（2013）の報告

から，サイレージのエタノール含量や有機酸含量が高いとこれらのエチルエステル含量が増加すること，またこれらのエステルが嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。

本論文の第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS とリンゴ粕混合イネ WCS では，イネ品種・系統によっては多量のエタノール，乳酸，酢酸，プロピオン酸および酪酸が検出された。また，第 2 章ではリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられ，第 3 章ではイネ WCS 単味の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられたことから，酪酸または酪酸エチルが嗜好性に影響を及ぼす可能性が示唆された。

本章では，GC-MS により第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS とリンゴ混合イネ WCS の酪酸エチル含量を定量し，それらが乾物採食量ならびに嗜好性に及ぼす影響を調べた。また，定量の際にイネ WCS に酪酸とブタノールの化合物である酪酸ブチルも一定量検出されたため，本章では酪酸ブチルの定量も行った。これらのイネ WCS には乳酸，酢酸およびプロピオン酸のエステルも生成されていることが予想されるが，第 2 章と第 3 章でイネ WCS の乾物採食量と乳酸，酢酸およびプロピオン酸含量に関連がなかったことから，本章では酪酸エステル含量のみを定量した。

材料と方法

イネ WCS の調製，嗜好性試験および化学分析の方法については，第 2 章と第 3 章の材料と方法に記載した通りである。

1. GC-MS によるイネ WCS の定性分析

イネ WCS に含まれるエステルの種類を特定するため，GC-MS（JMS-Q1500GC，ジーエルサイエンス株式会社，東京）を用いて，第 2 章で調製したべこごのみと IBP20 のイネ WCS（リンゴ粕 0 および 50%）の定性分析を実施した。−10℃以下で凍結保存されたイネ WCS の原物サンプルを 4℃または室温で速やかに解凍し，サンプル 2.5 g を 22 mL ガラス製バイアルビンに入れてセプタムで密栓した。これらのバイアルビンを 60℃で 60 分間加熱して分析に供した。サンプルの GC-MS への注入は，テナックス充填管をトラップ管としたヘッドスペースオートサンプラー（MS-62070STRAP，日本電子株式会社，東京）で行い，サンプルの注入量を 1 μL，スプリット比を 50：1 または 60：1 とした。GC-MS の注入口温度は 200℃とした。カラムは内径が 0.32 mm，長さが 60 m でポリエチレングリコールを充填剤としたキャピラリーカラム（PW170203，ジーエルサイエンス株式会社，東京）を使用し，カラム温度は 35℃で 2 分間保温した後，5℃/min で 240℃まで昇温させて 5 分間保温した。キャリアガスとして，

ヘリウムを 2 mL/min で流した。MS は、イオン化電圧 720 V、イオン源温度 200℃、イオン加速電圧 400 V で操作した。検出される揮発性成分は、ピーク面積が 2000000 以上の成分のみになるように設定した。

2. GC-MS によるイネ WCS の定量分析

第 2 章で供試したべこごのみ、つがるロマン、IBP20 および IBP69 にリンゴ粕を 0、10、25 および 50% 混合して調製したイネ WCS 16 点と第 3 章で供試したべこごのみおよび IBP20 にリンゴ粕を 0 または 50% 混合して調製したイネ WCS 4 点の酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量を GC-MS (JMS-Q1500GC, ジーエルサイエンス株式会社, 東京) で定量した。-10℃ 以下で凍結保存されたイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の水抽出液サンプルを 4℃ または室温で速やかに解凍し、抽出液 500 μ L を 22 mL ガラス製バイアルビンに入れ、蒸留水で 10 倍に希釈してセプタムで密栓した。これらのバイアルビン を 70℃ で 20 分間加熱して分析に供した。サンプルの GC-MS への注入、カラムの温度および MS の操作条件等はすべて定性分析と同じとしたが、サンプルを注入する際のスプリット比はすべて 50 : 1 とした。酪酸エチルおよび酪酸ブチル濃度の検量線作成のため、これらの濃度が 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 および 1 ppm となるようにエタノール

と蒸留水で希釈した標準液を 22 mL ガラス製バイアルビンに 5 mL ずつ調製し，イネ WCS と同様の条件で定量分析を行った。

3. 統計解析

本章では第 2 章で供試したイネ WCS 16 点の乾物採食量をめん羊 4 個体の平均値，pH および飼料成分含量を 2 回の化学分析の平均値として統計解析に用いた。また，第 3 章で化学分析を行ったイネ WCS 計 8 点の乾物採食量（めん羊 4 個体の平均値）と pH および飼料成分含量を統計解析に用いた。これらのイネ WCS 24 点の酪酸，エタノールおよび酪酸エチル含量の関係を調べるため，酪酸エチル含量を従属変数，酪酸およびエタノール含量を説明変数として重回帰分析のステップワイズ法による解析を行った。また，酪酸含量と酪酸ブチル含量の関係を調べるため，酪酸ブチル含量を従属変数，酪酸含量を説明変数として重回帰分析のステップワイズ法による解析を行った。第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS 24 点の 1 時間の乾物採食量を従属変数，pH，水分および乾物中の発酵産物含量 8 項目（乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸，エタノール， $\text{NH}_3\text{-N}$ ，酪酸エチルおよび酪酸ブチル）を説明変数として，重回帰分析のステップワイズ法による解析を行った。計算はすべて IBM SPSS Statistics Version 22 で行い，

有意水準はすべて 5% とした。第 2 章では，イネ WCS の乾物採食量と pH および飼料成分含量全項目との関係进行评估するためにこれらの主成分分析を行ったが，本章では第 3 章と同様に，イネ WCS の乾物採食量と飼料成分含量に有意な相関があるかどうかを解析できる重回帰分析のみを行った。

結果

図 9～12 に GC-MS の定性分析で検出されたイネ WCS の揮発性成分をクロマトグラムで示した。第 2 章で供試したリンゴ粕 0 ないし 50% のべこごのみおよび IBP20 のイネ WCS は，いずれのリンゴ粕混合割合においても酪酸エチル (butanoic acid, ethyl ester) および酪酸ブチル (butanoic acid, butyl ester) が検出され，イネ WCS 単味では酪酸プロピル (butanoic acid, propyl ester)，リンゴ粕混合イネ WCS では酪酸メチル (butanoic acid, methyl ester) も検出された。また，イネ両品種・系統とも酪酸エステルの他に酢酸エチル (ethyl acetate) やプロピオン酸エチル (propanoic acid, ethyl ester) 等のエステルが検出された。本分析で，これらのエステルの生成に使われたエタノール (ethanol) および 1-ブタノール (1-Butanol) はすべてのイネ WCS で検出され，リンゴ粕混合イネ WCS ではメタノール (methyl alcohol) も

検出されたが，プロパノールはいずれのイネ WCS でも検出されなかった。

表 9 に第 2 章で測定したイネ WCS の水分，酪酸およびエタノール含量と GC・MS で定量した酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量を示した。水分は表 1，酪酸およびエタノール含量は表 2 と同じ値である。イネ WCS 乾物中の酪酸エチル含量の平均値は，いずれのリンゴ粕混合割合においても同程度であったが，酪酸ブチル含量はリンゴ粕混合割合が大きいものほど少なかった。表 10 に第 3 章で供試したイネ WCS の水分，酪酸およびエタノール含量と GC・MS で定量した酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量を示した。水分，酪酸およびエタノール含量は表 5 および表 6 と同じ値である。イネ WCS 乾物中の酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量の平均値は，いずれのイネ品種・系統においてもリンゴ粕を混合したイネ WCS が単味より低かった。

表 11 には，第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS 乾物中の酪酸エチルを従属変数，酪酸およびエタノール含量を説明変数とした重回帰分析の結果と，酪酸ブチル含量を従属変数，酪酸含量を説明変数とした重回帰分析の結果を示した。イネ WCS の酪酸エチルと酪酸ブチル含量は，酪酸含量と有意な正の相関がみられ，酪酸エチル含量はエタノール含量とも有意な正の相関がみられた。

表 12 に第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS 24 点の試験開始から 1 時間後の乾物採食量と pH, 水分および乾物中の発酵産物含量 8 項目の重回帰分析による解析結果を示した。イネ WCS 24 点の乾物採食量は, 酪酸, エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量と有意な負の相関がみられた。

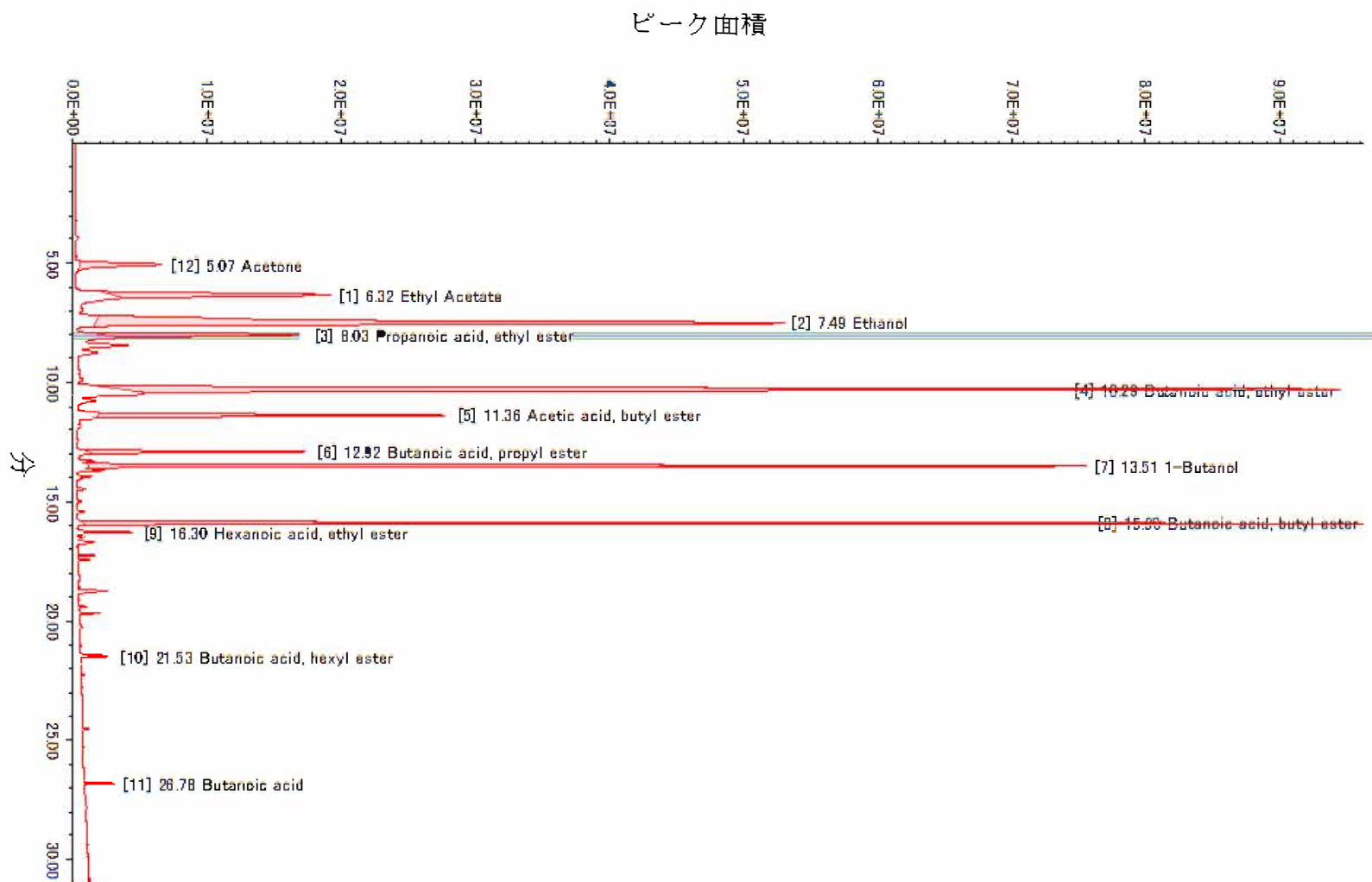


図 9. GC-MS の定性分析で検出されたべここのみ単味の揮発性成分.

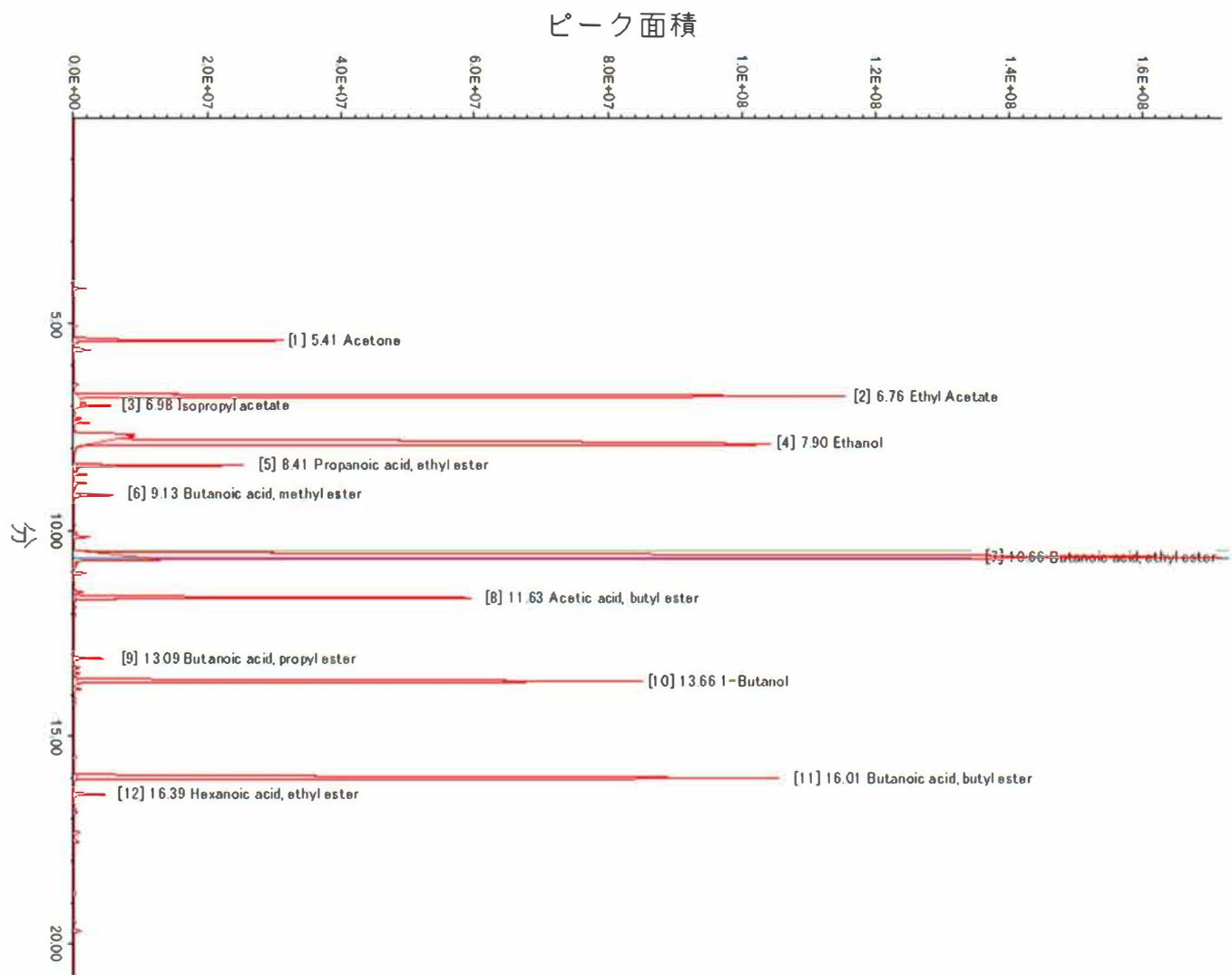


図 10. GC-MS の定性分析で検出された IBP20 単味の揮発性成分。

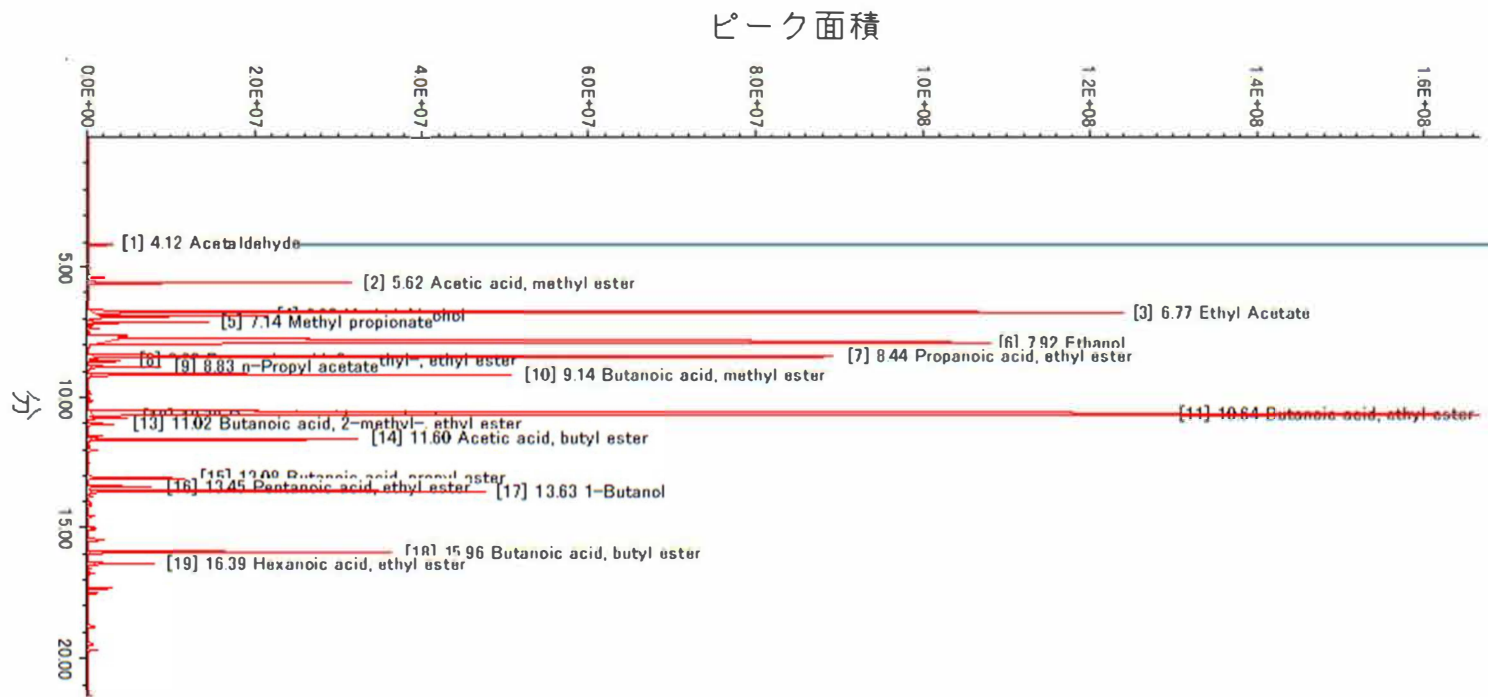


図 11. GC-MS の定性分析で検出されたベニコのみのリンゴ粕混合イネ WCS の揮発性成分.

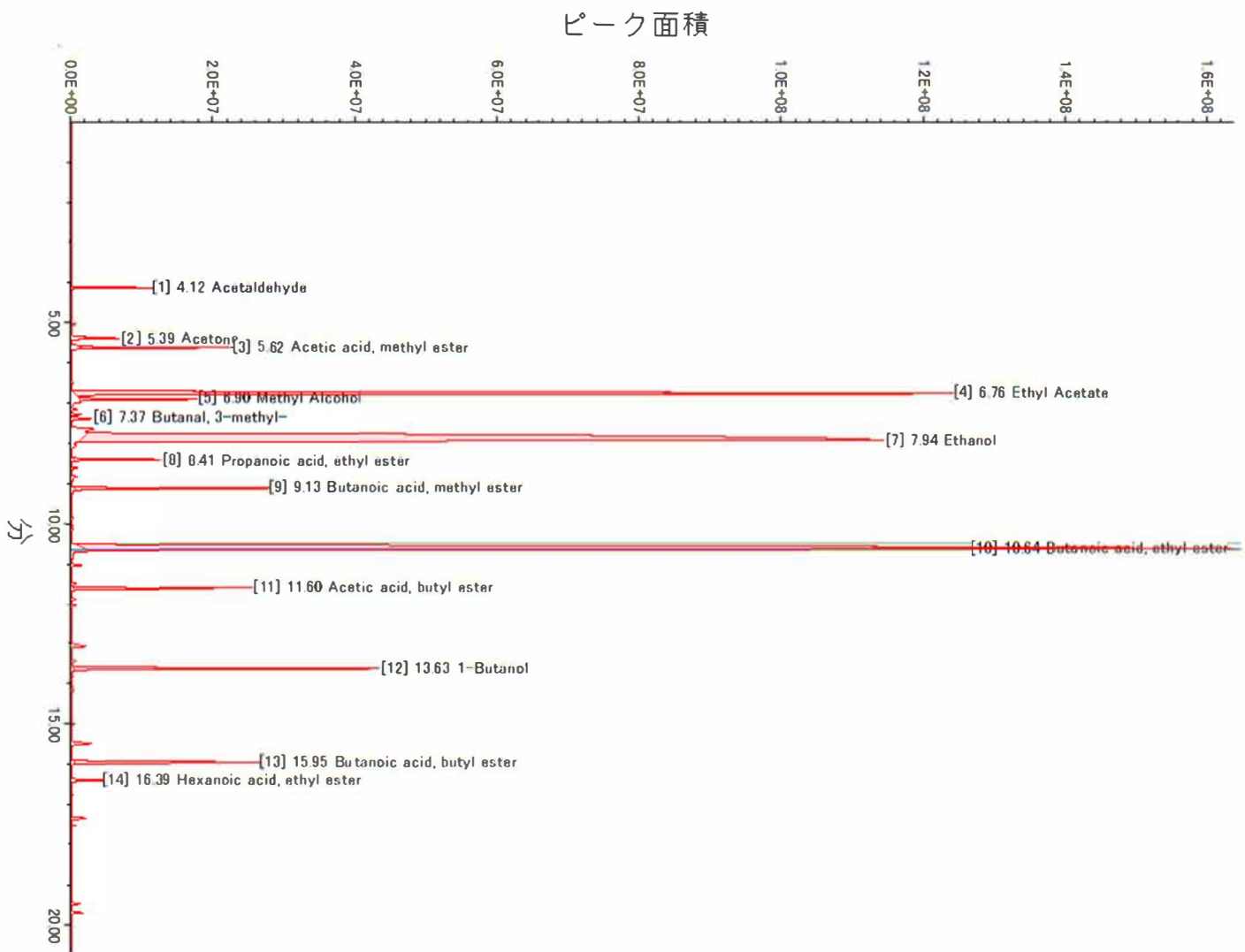


図 12. GC-MS の定性分析で検出された IBP20 のリンゴ粕混
イネ WCS の揮発性成分.

表 9. 第 2 章で供試したイネ WCS16 点の飼料成分.

	AP (%FM)	水分 (%)	酪酸 (%)	エタノール (%)	酪酸エチル (%)	酪酸ブチル (%)
べこごのみ	0	67.4	0.27 ^a (0.81) ^b	0.48 (1.48)	0.003 (0.008)	0.003 (0.008)
つがるロマン	0	65.5	0.17 (0.48)	1.00 (2.89)	0.003 (0.010)	0.002 (0.005)
IBP20	0	74.8	0.21 (0.85)	1.26 (4.99)	0.006 (0.024)	0.002 (0.008)
IBP69	0	75.2	0.26 (1.03)	0.64 (2.57)	0.004 (0.017)	0.006 (0.024)
平均	0	70.7	0.21 (0.79)	0.84 (2.98)	0.004 (0.015)	0.003 (0.011)
べこごのみ	10	70.7	0.29 (0.98)	0.62 (2.13)	0.003 (0.011)	0.001 (0.005)
つがるロマン	10	67.4	0.15 (0.47)	0.93 (2.85)	0.003 (0.008)	0.001 (0.003)
IBP20	10	75.7	0.21 (0.86)	1.42 (5.83)	0.006 (0.023)	0.001 (0.006)
IBP69	10	77.8	0.35 (1.58)	0.80 (3.63)	0.006 (0.026)	0.003 (0.014)
平均	10	72.9	0.25 (0.97)	0.94 (3.61)	0.004 (0.017)	0.002 (0.007)
べこごのみ	25	75.1	0.23 (0.91)	0.90 (3.60)	0.003 (0.011)	0.001 (0.002)
つがるロマン	25	70.5	0.12 (0.42)	1.21 (4.12)	0.002 (0.008)	0.000 (0.002)
IBP20	25	76.8	0.16 (0.69)	1.95 (8.40)	0.006 (0.026)	0.001 (0.003)
IBP69	25	77.3	0.25 (1.10)	1.30 (5.71)	0.006 (0.026)	0.001 (0.006)
平均	25	74.9	0.19 (0.78)	1.34 (5.46)	0.004 (0.017)	0.001 (0.003)
べこごのみ	50	76.9	0.16 (0.70)	1.99 (8.64)	0.002 (0.010)	0.000 (0.001)
つがるロマン	50	74.2	0.09 (0.35)	2.33 (9.02)	0.003 (0.012)	0.000 (0.001)
IBP20	50	80.0	0.11 (0.54)	2.59 (12.95)	0.005 (0.023)	0.000 (0.001)
IBP69	50	80.2	0.17 (0.84)	2.30 (11.58)	0.005 (0.027)	0.000 (0.002)
平均	50	77.8	0.13 (0.61)	2.30 (10.55)	0.004 (0.018)	0.000 (0.001)

^a 上段 : 新鮮物中 % . ^b 下段 () 内 : 乾物中 % .

表 10. 第 3 章で供試したイネ WCS 8 点の飼料成分.

	AP (%FM)	試験日 ¹	水分 (%)	酪酸 (%)	エタノール (%)	酪酸エチル (%)	酪酸ブチル (%)
べこごのみ	0	12	72.8	0.14 ^a	0.06	0.0012	0.0007
				(0.49) ^b	(0.21)	(0.0043)	(0.0025)
	0	20	71.0	0.16	0.01	0.0008	0.0005
				(0.56)	(0.02)	(0.0029)	(0.0019)
平均	0	-	71.9	0.15	0.03	0.0010	0.0006
				(0.52)	(0.12)	(0.0036)	(0.0022)
IBP20	0	12	78.0	0.08	0.03	0.0040	0.0005
				(0.36)	(0.14)	(0.0171)	(0.0020)
	0	20	75.5	0.14	0.06	0.0042	0.0008
				(0.62)	(0.27)	(0.0182)	(0.0035)
平均	0	-	76.7	0.11	0.05	0.0041	0.0006
				(0.49)	(0.21)	(0.0176)	(0.0027)
べこごのみ	50	32	70.8	0.08	0.11	0.0006	0.0005
				(0.28)	(0.39)	(0.0021)	(0.0017)
	50	40	73.5	0.08	0.11	0.0006	0.0004
				(0.27)	(0.38)	(0.0021)	(0.0016)
平均	50	-	72.2	0.08	0.11	0.0006	0.0004
				(0.28)	(0.83)	(0.0021)	(0.0016)
IBP20	50	32	76.3	0.06	0.27	0.0016	0.0003
				(0.28)	(1.20)	(0.0070)	(0.0015)
	50	40	78.8	0.05	0.32	0.0014	0.0002
				(0.24)	(1.41)	(0.0063)	(0.0009)
平均	50	-	77.5	0.06	0.29	0.0015	0.0003
				(0.26)	(1.30)	(0.0066)	(0.0012)

¹ 試験日：第 3 章ではめん羊を用いて，一対比較法による乾草 2 点，イネ WCS 単味 2 点およびリンゴ粕混合イネ WCS 2 点の嗜好性試験を実施し，イネ WCS 単味の試験を試験開始後 12，14，16，18 および 20 日目に，リンゴ粕混合イネ WCS の試験を試験開始後 32，34，36，38 および 40 日目に実施した．^a 上段：新鮮物中％．^b 下段（）内：乾物中％．

表 11. 重回帰分析のステップワイズ法で解析したイネ WCS

乾物中の酪酸，エタノールおよび酪酸エステルの関係．

n	回帰式	Y	X	X ₁	調整済R ²	P
24	$Y=0.160X-0.168X_1-0.060$	酪酸エチル	エタノール	酪酸	0.823	< 0.001
24	$Y=0.117X-0.037$	酪酸ブチル	酪酸		0.449	< 0.001

表 12. 重回帰分析のステップワイズ法で解析したイネ WCS
の 1 時間の乾物採食量と乾物中の飼料成分含量の関係.

n	回帰式	X	X ₁	X ₂	調整済R ²	P
24	$Y^1 = -172.68X - 9.92X_1 - 579.62X_2$	酪酸	エタノール	NH ₃ -N	0.744	< 0.001

¹Y : 試験開始から 1 時間後の乾物採食量.

考 察

イネ WCS の酪酸，エタノールおよび酪酸エチル含量の重回帰分析を行ったところ，酪酸エチル含量と酪酸およびエタノール含量に有意な正の相関が認められた。また，酪酸および酪酸ブチル含量の重回帰分析の結果，酪酸ブチル含量と酪酸含量に有意な正の相関が認められた。Weiss ら（2016）はトウモロコシ WCS 72 点の化学分析を行った際に乳酸，酢酸，エタノール，乳酸エチルおよび酢酸エチルを検出し，乳酸エチル含量と乳酸およびエタノール含量に有意な正の相関，酢酸エチル含量とエタノール含量に有意な正の相関がみられたことを報告した。本章の結果と Weiss ら（2016）の報告から，有機酸とアルコール含量が高いサイレージでは一定量のエステルが生成されていると考えられる。実際，本章の GC-MS によるイネ WCS の定性分析の結果，第 2 章と第 3 章で酢酸，プロピオン酸，酪酸およびエタノールが検出されたべこごのみと IBP20 のイネ WCS には酢酸エチル，プロピオン酸エチルおよび酪酸エチル等のエチルエステルが検出された。

第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS 24 点の乾物採食量と pH，水分および発酵産物含量の重回帰分析を行った結果，乾物採食量と酪酸，エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に有意な負の相関がみられたが，乾物採食量と酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量には関連がなかった。第 2 章ではリンゴ粕混合イネ

WCS の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関，第 3 章ではイネ WCS 単味の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関，本章では第 2 章と第 3 章で供試したイネ WCS 24 点の乾物採食量と酪酸含量に有意な負の相関がみられた。これらの結果から，イネ WCS に含まれる酪酸が嗜好性を低下させることが予想される。しかし，Arnold ら（1980），Gherardi・Black（1991）および中田ら（1997）は，本研究の結果とは逆に酪酸が飼料の嗜好性を改善させると主張している。中田ら（1997）は，サイレージの発酵産物である酪酸および乳酸が嗜好性に及ぼす影響を評価するため，細切したイタリアンライグラス乾草 1 kg に水 400 mL を混合したものと酪酸または乳酸水溶液 400 mL を混合したものを一対比較法でめん羊 3 頭に給与した。その結果，酪酸水溶液を混合したイタリアンライグラス乾草の採食量は水を混合したものより多かったことから，酪酸が飼料の嗜好性を向上させることを主張した。また，Arnold ら（1980）は酪酸を添加した脱脂綿と乾草を飼槽に入れてめん羊に給与すると嗜好性が向上したことを報告し，Gherardi・Black（1991）は細切したコムギ乾草に原物当たり 1.3 から 10 g/kg の酪酸を添加するとめん羊の採食量が有意に増えたことを報告した。これらの結果から酪酸が飼料の嗜好性を向上させることが推察される。

本研究で供試したイネ WCS の酪酸と嗜好性との関係が Arnold ら (1980), Gherardi・Black (1991) および中田ら (1997) の報告と一致しなかった理由の一つとして、これらの研究では草種や調製方法が異なる飼料を供試したことが考えられる。Arnold ら (1980), Gherardi・Black (1991) および中田ら (1997) は酪酸が乾草の嗜好性を向上させること主張したが、一方で Goatcher・Church (1970) は酪酸または酪酸ナトリウムを水に添加してめん羊に給与すると嗜好性が低下したと報告している。イネ WCS の酪酸が嗜好性に及ぼす影響について明らかにするためには、Goatcher・Church (1970), Arnold ら (1980), Gherardi・Black (1991) および中田ら (1997) の研究のようにイネ WCS に酪酸を添加した際の嗜好性評価が必要であると考えられる。

小 括

第 2 章と第 3 章でイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と飼料成分含量の重回帰分析を行った結果、酪酸がイネ WCS の嗜好性に影響を及ぼしていることが示唆された。しかし、これらのイネ WCS にはエタノールも検出されたため、本章ではイネ WCS の酪酸エチルが嗜好性に影響を及ぼしていると想定し、酪酸エチル含量の分析を行うことにした。GC-MS でイネ WCS の定性分析を実施したところ、

酪酸エチルだけでなく、酪酸ブチルも一定量検出されたため、その後の定量分析では酪酸エチルと酪酸ブチルの定量を行った。また、イネ WCS の定性分析では酢酸エチルやプロピオン酸エチル等のエステルも検出されたが、第 2 章および第 3 章でイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量と酢酸やプロピオン酸含量に関連はなかったため、これらのエステルは定量しなかった。

第 2 章および第 3 章で供試したイネ WCS 24 点の乾物採食量と酪酸エチルおよび酪酸ブチルを含めた発酵産物含量の重回帰分析を行ったところ、乾物採食量と酪酸、エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に有意な負の相関がみられた。イネ WCS の嗜好性と酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量に関連はなかったことから、イネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS では酪酸が嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。

第5章 総合考察

飼料の嗜好性は、家畜の栄養状態（鈴木 1978）、反芻胃からの飼料片の流出速度（Deswysen ら 1987）および環境温度（鈴木 1978）等に左右されると考えられる。また、家畜に2種類以上の飼料を同時に給与する場合は、味覚や嗅覚等の五感に作用する飼料成分も嗜好性に影響を及ぼすことが予想される（豊川 1976, 土肥 1996）。飼料の嗜好性については長い間研究が続けられており、飼料の切断長（Deswysen ら 1978, Kmicikewycz・Heinrichs 2015）やサイレージの発酵産物（Wilkin ら 1971, Huhtanen ら 2007, Krizsan・Randby ら 2007）等が嗜好性に影響を及ぼすことが報告されているが、一貫した結果は得られていない。

青森県で毎年大量に産出されるリンゴ粕は牛の嗜好性が良く（Fang ら 2016）、サイレージ発酵の基質となる可溶性糖類含量が高いため（松崎 2014）、粗飼料と混合してサイレージ調製することで発酵品質と嗜好性の向上が期待される。一方、近年生産量が増えているイネ WCS（石井 2017; 野中 2017）は牛の嗜好性が良いといわれるものの（高平ら 2011）、耐倒伏性が高い品種（細田ら 2003）や可溶性糖類と乳酸菌の付着数が少ない品種では嗜好性や発酵品質の低下が危惧されている（蔡ら 2003, 日本草地畜産種子協会 2014, 草ら 2018）。

イネ WCS にリンゴ粕を混合することで嗜好性と発酵品質の向上を図る可能性が考えられるが，リンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性や飼料成分についての報告は少ない。

そこで，リンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性と飼料成分との関係を解析するため，飼料成分含量が異なるべこごのみ，つがるロマン，IBP20 および IBP69 にリンゴ粕を 0，10，25 および 50% 混合してイネ WCS を調製し，嗜好性と飼料成分の分析を行った。可溶性糖類含量が多いリンゴ粕をイネ WCS に混合したことで，リンゴ粕混合イネ WCS では乳酸およびエタノール含量が増加し，pH の低下と V スコアおよびフリーク評点の向上がみられた。めん羊 4 頭を用いて，カフェテリア法でリンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量を比較した結果，イネ品種・系統によってはリンゴ粕の混合により嗜好性が有意に上昇した。リンゴ粕混合割合が同じイネ WCS 4 点の乾物採食量と飼料成分含量の重回帰分析を行ったところ，イネ WCS 単味の乾物採食量は乾物および粗脂肪含量と有意な正の相関がみられたのに対し，リンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は酪酸含量と有意な負の相関がみられた。リンゴ粕混合イネ WCS の乾物および粗脂肪含量は，イネ品種・系統間の差が単味の場合と同程度またはそれより小さいのに対し，リンゴ粕混合イネ WCS の酪酸含量はイネ品種・系統間の差が単味の場合より大きく，リンゴ粕混合イ

ネ WCS では乾物または粗脂肪含量の違いが嗜好性に及ぼす影響よりも，酪酸含量の違いが嗜好性に及ぼす影響の方が大きいと推察された。

家畜による飼料の嗜好性評価を行う場合，採食速度法，一対比較法およびカフェテリア法による嗜好性試験が行われる（林ら 1965）が，その際，供試する飼料の数，他飼料との混合割合および試験の繰り返し数等が異なると違った結果が得られることが予想される（林ら 1965, Villalba ら 2011, Harper ら 2016）。このため，飼料の嗜好性評価は一度の試験のみで行うのではなく，複数回の試験で行う必要があると考えられる。

本研究では，イネ WCS とリンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性試験において，試験の繰り返し数が結果に及ぼす影響について評価した。べこごのみと IBP20 にリンゴ粕を 0 および 50% 混合したイネ WCS とめん羊 4 頭を供試し，一対比較法でイネ WCS 単味の試験を 5 回，リンゴ粕混合イネ WCS の試験を 5 回実施した。さらに，チモシー乾草とオーツヘイ乾草の一対比較法による試験を 15 回実施し，イネ WCS の試験結果と比較した。イネ WCS 単味の乾物採食量は，1 および 2 回目の試験で IBP20 がべこごのみより有意に多かったが，3 回目以降はイネ品種・系統間に差がなくなった。乾草の試験においても，試験 10 回目まではチモシー乾草の乾物採食量がオー

ツヘイ乾草より有意に多かったが，11回目以降は草種間に乾物採食量の差がなくなった。この結果から，めん羊に飼料成分含量が異なる2種類のイネ WCS または乾草を同時に給与すると，試験開始時には選択採食性に差がみられるものの，試験を繰り返すとめん羊がその差を識別しなくなり，これらの自由採食量の差がなくなることが推察された。これに対してリンゴ粕混合イネ WCS の乾物採食量は，3回目の試験でべこごのみが IBP20 より有意に多く，他の試験日ではイネ品種・系統間に差がなかった。このため，べこごのみと IBP20 のリンゴ粕混合イネ WCS ではべこごのみで嗜好性向上の度合いが大きく，単味でみられたイネ品種・系統間の選択採食性の差がなくなることが示唆された。イネ WCS の乾物採食量と pH, 水分および発酵産物含量の重回帰分析を行った結果，イネ WCS 単味の乾物採食量と酪酸および $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に有意な負の相関がみられ，これらの発酵産物含量が嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。

本研究で実施したイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS の嗜好性試験の結果から，酪酸がイネ WCS の嗜好性を低下させる可能性が考えられたが，一般に酪酸は乾草の嗜好性を向上させるといわれている（Arnold ら 1980, Gherardi・Black 1991, 中田ら 1997）。一方，近年トウモロコシサイレージのようにエタノールが生成されるサイレージでは，エタ

ノールと有機酸から生成されるエステルが嗜好性に影響を及ぼすといわれている（Weissら 2016）。本研究で供試したイネ WCS およびリンゴ粕混合イネ WCS にはエタノールが検出されており，酪酸とエタノールから生成される酪酸エチルが嗜好性に影響を及ぼすことが推察された。

イネ WCS の嗜好性と酪酸エチルとの関係を明らかにするため，本研究で供試したイネ WCS 計 24 点の揮発性成分を GC-MS で分析した。その際，酪酸エチルだけではなく酪酸ブチルも一定量検出されたため，本研究では酪酸エチルおよび酪酸ブチルの定量を行った。イネ WCS 24 点の乾物採食量と酪酸エチルおよび酪酸ブチルを含めた発酵産物含量の重回帰分析を行った結果，乾物採食量と酪酸，エタノールおよび $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量に有意な負の相関がみられ，乾物採食量と酪酸エチルおよび酪酸ブチル含量との間に関連はなかった。この結果から，イネ WCS では酪酸が嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。前述のように，酪酸は乾草に添加した際にめん羊の採食量を増加させると主張されている（Arnoldら 1980, Gherardi・Black 1991, 中田ら 1997）が，酪酸を添加した水をめん羊に給与すると嗜好性が悪いことが報告されている。このため，酪酸は添加する飼料によっては嗜好性を低下させる可能性が考えられる。酪酸とイネ WCS の嗜好性との

関係を明らかにするためには，酪酸をイネ WCS に添加した際の嗜好性評価等が必要と考えられる。

本研究の結果をまとめると，イネ WCS に可溶性糖類含量が多いリンゴ粕を混合すると，乳酸およびエタノール含量の増加，pH 低下，V スコアおよびフリーク評点の向上がみられ，イネ品種・系統によっては嗜好性が有意に上昇することが明らかとなった。しかし，飼料成分含量が異なるイネ 4 品種・系統のリンゴ粕混合イネ WCS を調製すると，イネ品種・系統間の酪酸含量の差がイネ WCS 単味の場合より大きくなり，この違いが嗜好性に影響を及ぼすことが示唆された。また，めん羊に飼料成分含量が異なる 2 種類のイネ WCS または乾草を同時に給与すると，嗜好性試験の開始時にはこれらの選択採食性の差がみられるが，試験を繰り返すとめん羊がその差を識別しなくなり，自由採食量に差がなくなることが示唆された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり，嗜好性試験に供試するイネおよびめん羊を提供して下さり，イネについて多くの御助言を賜りました弘前大学農学生命科学部附属農場准教授 姜東鎮博士，同農場の職員の方々に深謝の意を表します。また，リンゴ粕を提供していただいた JA 相馬の職員の方々に謝意を表します。

研究遂行上，貴重な御助言を頂いた山形大学農学部准教授 松山裕城博士，サイレージの飼料成分分析に御協力頂き，分析方法について御指導を頂いた東北農業研究センター畜産飼料作研究領域飼料利用グループ領域長 河本英憲博士，同研究領域の方々に心より感謝致します。

研究計画の作成から実験手技の習得，また本論文の執筆に至るまで終始懇切なる御指導と多くの御助言を頂きました弘前大学農学生命科学部 松崎正敏教授に深く感謝致します。

引用文献

- 逢坂徳政(2001)高水分粕類のサイレージ化と利用(その1).
- 5.リンゴジュース粕のサイレージ化と利用. 日草誌 47:
327-331
- 新出昭吾(2009)イネ WCS 給与による乳牛での乳量の維持・
向上技術. 農山漁村文化協会 編著(2009)最新農業技
術 畜産 vol.2. 飼料イネで自給力アップ. 農山村文化
協会, 東京, p83-90
- 安宅一夫・大島光昭(1995)サイレージの栄養価. 内田仙二・
大島光昭 監修(1995)サイレージの生化学 第2版.
株式会社デーリィ・ジャパン社, 東京, p295-358
- Arnold GW, de Boer ES, Boundy CAP (1980) The influence
of odour and taste on the food preferences and food
intake of sheep. J Agric Res 31: 571-587
- 蔡 義民・藤田泰仁・村井 勝・小川増弘・吉田宜夫・北村
亨・三浦俊浩(2003)飼料イネサイレージ調製への乳酸
菌(*Lactobacillus plantarum* 畜草1号)の利用. 日草
誌 49: 477-485
- Corkum MJ, Bate LA, Lirette A, Tennessen T (1994)
Effects of flavoring agents on intake of silage by
feedlot steers. J Anim Sci 74: 387-389

- Daniel JLP, Weiss K, Custódio L, Neto ASá, Santos MC, Zopollatto M, Nussio(2013) Occurrence of volatile organic compounds in sugarcane silages. J Anim Sci Technol 185: 101–105
- Deswysen AG, Ellis WL, Pond KR (1987) Interrelationships among voluntary intake, eating and ruminating behavior and ruminal motility of heifers fed corn silage. J Anim Sci 64: 835–841
- DewHurst RJ, Fisher WJ, Tweed JKS, Wilkins RJ (2003) Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. J Dairy Sci 86: 2598–2611
- Deswysen A, Vanbelle M, Focart M (1978) The effect of silage chop length on the voluntary intake and rumination behaviour in sheep. J Br Grassld Soc 33: 107–115
- Dhillon GS, Brar SK, Verma M, Tyagi RD (2011) Enhanced solid-state citric acid bio-production using apple pomace waste through surface response methodology. J Applied Microbiology 110: 1045–1055
- 房 家 琛 (2009) リンゴ粕のサイレージ化がメシ洋における栄養価の向上に及ぼす影響. 日畜会報 59: 1–6

Fang J, Cao Y, Matsuzaki M, Suzuki H (2016) Effects of apple pomace proportion levels on the fermentation quality of total mixed ration silage and its digestibility, preference and ruminal fermentation in beef cows. Anim Sci J 87: 217–223

福 陽・太田久稔・横上晴郁・津田直人（2017）東北地域におけるイネ WCS 用水稲品種の乾物特性および飼料成分．日作紀 86：1–6

Gerlach K, Ross F, Weiss K, Büscher W, Südekum K-H (2013) Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. Agric Food Sci 22: 168–181

Goatcher WD, Church DC (1970) Taste responses in ruminants. I. Reactions of sheep to sugars, saccharin, ethanol and salts. J Anim Sci 30: 777–783

Goatcher WD, Church DC (1970) Taste responses in ruminants. II. Reactions of sheep to acids quinine, urea and sodium hydroxide. J Anim Sci 30: 784–790

Gordon FJ (1981) The effect of wilting of herbage on silage composition and its feeding value for milk production. Anim Prod 32: 171–178

Gherardi SG, Black JL (1991) Effect of palatability on
voluntary feed intake by sheep. 1. Identification of
chemicals that alter the palatability of a forage. J
Agric Res 42: 571-584

Huhtanen P, Khalili H, Nousiainen JI, Rinne M, Jaakkola
S, Heikkilä T, Nousiainen J (2002) Prediction of the
relative intake potential of grass silage by dairy cows.
Livest Prod Sci 73: 111-130

細田 謙次・西田 武弘・石田 元彦・松山 裕城・吉田 宜夫 (2005)
飼料用イネ「ホシアオバ」ロールベールサイレージ給与
泌乳牛の採食量, 消化率および乳生産. 日草誌 51: 48-
54

秦 寛・宮崎 元・米道 裕弥・杉本 亘之・所 和暢 (1982)
肉豚におけるとうもろこしサイレージの採食性. 日豚研
誌 19: 89-97

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 給与草の嗜好性に対する数種
測定と比較. 日草誌 11: 168-173

Harper MT, Oh J, Giallongo F, Lopes JC, Weeks HL,
Faugeron J, Hristov AN (2016) Short communication:
Preference for flavored concentrate premixed by dairy
cows. J Dairy Sci 99: 6585-6589

Huhtanen P, Rinne M, Nousiainen J (2007) Evaluation of the factors affecting silage intake of dairy cows: a revision of the relative silage dry-matter index. *Animal* 1: 758–770

Islam S, Fang J, Suzuki H, Matsuzaki M (2014) Postprandial hyperketonemia after feeding of alcoholic fermented apple pomace silage in suffolk ewes. *J Anim Sci Adv* 4: 845–854

石井卓朗(2017)飼料用イネ向け品種の開発動向. 日草誌 63: 29–33

泉谷眞実(2010)エコフイードの活用促進. 食品循環資源飼料化のリサイクル・チャネル. 農山漁村文化協会, 東京, p72–73

自給粗飼料品質評価研究会(編)(2001)改訂 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, p1–196

Khalili H, Sairanen A, Nousiainen JI, Huhtanen P (2005) Effects of silage made from primary or regrowth grass and protein supplementation on dairy cow performance. *Livst Prod Sci* 96: 269–278

Kmicikewycz DA, Heinrichs JA (2015) Effect of corn silage particle size and supplemental hay on rumen pH and

feed preference by dairy cows fed high-starch diets. J Dairy Sci 98: 373-385

Krizsan SJ, Randby AT (2007) The effect of fermentation quality on the voluntary intake of grass silage by growing cattle fed silage as the sole feed. J Anim Sci 85: 984-996

河本英憲・嶺野英子・内野 宙・出口 新・魚住 順（2018）
ダイズホールクロップサイレージの牛における消化率
および第一胃内発酵．日草誌 63：183-189

草 佳耶子・上垣隆一・木村俊之（2018）窒素施肥と収穫時期が稲発酵粗飼料用品種「たちすずか」の材料草およびサイレージの化学成分と発酵品質に及ぼす影響．日草誌 64：7-17

松崎正敏（2014）りんご粕．木村信熙・阿倍 亮・野中和久・永西 修 監修（2014）飼料特性を理解して上手に設計に活かす．株式会社デリー・ジャパン社，東京，p297-302

宮地 慎・上田宏一郎・秦 寛・塙 友之・近藤誠司。大久保正彦（2003）グラスサイレージを給与したウマにおける自由採食量，消化率および採食行動．日畜会報 74：213-219

本谷綾香・足立憲隆・江波戸宗大・上垣隆一（2015）副資材
を利用した飼料用米サイレージの発酵品質．日畜会報
86：441-448

Na JY, Lee HI, Park SS, Lee RS (2014) Effects of
combination of rice straw with alfalfa pellet on milk
productivity and chewing activity in lactating dairy
cows. Asian-Australasian J Anim Sci 27: 960-964

中田順子・渡部千鶴・高橋敏能・萱場猛夫（1997）メン羊に
おける酪酸および乳酸を添加した飼料の嗜好性．Jpn J
Sheep Sci 34: 20-24

日本草地畜産種子協会（2014）稲発酵粗飼料生産・給与技術
マニュアル第6版．日本草地畜産種子協会，東京，p5-
104

野中和久（2017）飼料用イネに関する研究開発動向と今後の
展望．はじめに．日草誌 63：28

大桃定洋・田中 治・北本宏子（1993）高速液体クロマトグ
ラフィーによるサイレージ中の有機酸の定量．草地試研
報 48：51-56

大森英之（2009）．技術用語解説．エコフィード（Ecofeed）．
日食工誌 56：118

Peoples AC and Gordon FJ (1989) The influence of wilting
and season of silage harvest and the fat and protein

concentration of the supplement on milk production and food utilization by lactating cattle. Anim Prod 48:305-317

Rook A J, Gill M (1990) Prediction of the voluntary intake of grass silages by beef cattle. 1. Linear regression analyses. Anim Prod 50: 425-438

関 誠・小橋有里（2017）飼料用稲とエコフィードを活用した日乳牛への TMR 給与と新潟県内への波及効果．日草誌 63：171-174

曽根千晴・津田誠・平井儀彦（2010）アジアイネ（*O.sativa* L.）とアフリカイネ（*O.glaberrima* Steud.）の種間交雑品種 NERICA1 の耐塩性．日作紀 79：184-192

Steen RWJ, Gordon FJ, Dawson LER, Park RS, Mayne CS, Agnew RE, Kilpatrick DJ, Porter MG (1998) Factors affecting the intake of grass silage by cattle and prediction of silage intake. Anim Sci 66: 115-127

鈴木省三（1978）D. 飼料の給与方法．内藤元男 監修（1978）畜産大辞典．養堅堂，東京，p573-580

高平寧子・金谷千津子・吉野英治・紺 博昭・丸山富美子・粕谷健一郎（2011）β-カロテン含量を低減した稲発酵粗飼料の給与が黒毛和種去勢牛肥育全期間の肥育成績におよぼす影響．日草誌 56：245-252

- 遠野雅徳（2017）高糖分・高消化性イネホールクロップサイ
レージ調製に対応する乳酸菌「畜草2号」の紹介．牧草
と園芸 65：6-7
- 豊川好司・坪松戒三（1977）メン羊における呈味成分付与稲
わらの嗜好性，特にショ糖液浸漬稲わらの摂食量増大効
果．日畜会報 48：397-402
- 豊川好司・泉谷眞実・村山成治（2008）リンゴ粕の飼料化技
術（牛用）．未利用バイオマス・リサイクル技術の基礎．
弘前大学出版会，青森，p1-74
- 土肥宏志（1996）草食家畜の嗜好性と化学因子．日畜会報 67：
314-321
- Villalba JJ, Bach A, Ipharraguerre IR (2011) Feeding
behavior and performance of lambs are influenced by
flavor diversity. J Anim Sci 89: 2571-2581
- Weiss K, Kroschewski B, Auerbach H (2016) Effects of air
exposure, temperature and additives on fermentation
characteristics, yeast count, aerobic stability and
volatile organic compounds in corn silage. J Dairy Sci
99: 8053-8069
- Wilkins RJ, Hutchinson KJ, Wilson RF, Harris CE (1971)
Treatment of whole-crop cereals with alkali. 2.
Voluntary intake and digestibility by sheep of rye,

barley and wheat crops ensiled with sodium hydroxide.

J Agric Sci 77: 531–537

Yan T, Patterson DC, Gordon FJ, Porter MG (1996) The effects of wilting of grass prior to ensiling on the response to bacterial inoculation. 2. Intake and animal performance by dairy cattle over three harvest. Anim Sci 62: 419–429