

短 報

パウチ法を用いてリンゴ酸添加でサイレージ調製した特定外来生物ウスゲオオバナミズキンバイ (*Ludwigia grandiflora* subsp. *hexapetala*) の発酵品質

山中麻帆¹・奥美沙紀²・稗田真也³・小林大輝⁴・平山琢二¹・野間直彦⁵・中川敏法⁵

¹石川県立大学、生物資源環境学部、石川県野々市市 921-8836

²岐阜大学大学院 自然科学技術研究科、岐阜県岐阜市 501-1193

³豊橋市自然史博物館、愛知県豊橋市 441-3147

⁴滋賀県立大学大学院 環境科学研究科、滋賀県彦根市 522-8533

⁵滋賀県立大学 環境科学部、滋賀県彦根市 522-8533

要約 本研究では、特定外来生物として駆除されたウスゲオオバナミズキンバイの飼料利用を目的とし、パウチ法により調製したウスゲオオバナミズキンバイのリンゴ酸添加サイレージの発酵特性について検討した。対照区 (0%区) およびリンゴ酸を新鮮物重比で0.4%、1.0%添加した区 (0.4%区、1.0%区) の計3区を設け、室温で2週間貯蔵した。フリーク評点は0%区 (51.7) および0.4%区 (56.7) と比べて1.0%区 (73.7) で有意に高かった ($P < 0.05$)。このことから、リンゴ酸を添加してパウチ法によりサイレージ調製したウスゲオオバナミズキンバイは、比較的良好な発酵品質を示し、飼料利用の可能性が示唆された。

キーワード : ウスゲオオバナミズキンバイ、リンゴ酸、パウチ法、サイレージ

受領日: 29.11.2021. 受理日: 12.01.2022

日本畜産環境学会会誌 No.21(1) pp39-45. 2022

緒 言

オオバナミズキンバイ (*Ludwigia grandiflora*) は、アメリカ原産の淡水性の水陸両生植物で、種子繁殖および栄養繁殖の能力を備え分布拡大しやすい特徴がある [17]。滋賀県では、その亜種であるウスゲオオバナミズキンバイ (*L. grandiflora* subsp. *hexapetala*; 以下、ウスゲオオバナ) が侵入しており [4]、2013年頃から琵琶湖での異常繁茂が見られ [8]、在来植物を駆逐するなど地域の自然環境に悪影響を及ぼしている。さらに、琵琶湖では船舶の

航行障害や漁具への絡みつきなどの社会的・経済的損失も引き起こされている状況にあり、ウスゲオオバナの異常繁茂による被害が深刻化している。なお、図1にウスゲオオバナの琵琶湖での繁茂の様子を示した。2014年に外来生物法において特定外来生物に指定され [9]、水中ジェットポンプ、林業用建設機械および水草刈り取り船などを利用し、大規模な駆除が進められている [16]。一方、駆除されたウスゲオオバナのほとんどは焼却処分されており、その費用負担が課題となっている。今後の持続可能な駆除



図1. ウスゲオオバナミズキンバイが繁茂する琵琶湖の様子。

活動を考えた場合、駆除したウスゲオオバナの有効活用などが望まれている状況にある。さらに、ウスゲオオバナなどの外来生物の飼料利用は、飼料自給率の向上の点においても重要な課題である。

家畜用飼料は主に、栄養価や調製コストに加え、保存性も重要となる。したがって、水分含量の多い植物資源などの飼料調製では、調製コストや保存性の面から一般的にサイレージなどとして処理される場合が多い。ウスゲオオバナと同様に駆除の対象となっているホテイアオイは、サイレージ調製によって飼料化できる可能性が示されている [19]。さらに、ウスゲオオバナの成分組成はホテイアオイと類似しており、粗タンパク質含量は高く、*in vitro* 乾物消化率も高いこと [14] が報告されている。これらのことから、ウスゲオオバナをサイレージ調製によって低コストで飼料化することができるかと予想される。

一般に、サイレージ調製では、品質や嗜好性の改善などを目的に発酵基質や種菌などを添加する場合が多い。リンゴ酸は、サイレージ原料への添加による発酵品質の向上、タンパク質分解の低減および脂肪酸組成の向上などが報告されている [10, 11]。また、リンゴ酸は*in*

*vitro*でのルーメン発酵の促進やウシへの給与による飼料効率の向上なども報告されており、サイレージ添加剤などとして用いられている [2, 12]。一方、リンゴ酸添加効果は、材料草の種類などによって異なることが示唆されている [1, 3]。しかし、ウスゲオオバナに対するリンゴ酸添加の影響については不明である。また、ウスゲオオバナは特定外来生物で、その取り扱いの観点から予備乾燥が困難であるため、本研究では、リンゴ酸を添加したウスゲオオバナの高水分サイレージの発酵特性について、簡易発酵試験法であるパウチ法を用いて検討した。

材料と方法

1. 供試材料

供試材料には、2019年6月25日に滋賀県守山市木浜町付近（北緯 35.100187、東経 135.9480616）および滋賀県草津市の湖岸緑地北山田 3 付近（北緯 35.0339450、東経 135.9123487）で採取したウスゲオオバナ（種子や根を除く）を用いた。また、ウスゲオオバナは特定外来生物に指定されていることから、環境省より飼養等許可を得て実験を行った（許可番号：14000287）。

2. サイレージの調製

サイレージの調製は、ウスゲオオバナ採取当日にパウチ法で実施した。約3 cmに細切した新鮮物50 gをプラスチックフィルムのパウチ（バキュームシーラー用ポリ袋150×200、アズワン株式会社）に入れ、添加処理し、市販の密封包装機（バキュームシーラーエコノミーVS-400N、アズワン株式会社）で脱気密封した。密封したパウチは、田中と大桃の方法 [18] に準じて室温で2週間（2019年6月25日～2019年7月10日）貯蔵した。処理区には、対照区（0%区）およびリ

外来水草のサイレージ発酵特性

ンゴ酸を新鮮物重比で0.4%、1.0%添加した2区(0.4%区、1.0%区)の計3区を設けた。なお、試験は1処理区当たり4反復で実施した。2週間の貯蔵後、測定まで冷凍庫(-20°C)で保存した。

3. サイレージの発酵品質

測定項目は、水分含量、pH値、揮発性塩基態窒素含量(VBN)、全窒素含量(TN)および有機酸含量(乳酸、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、n-酪酸、イソ吉草酸および吉草酸)とし、各サイレージの開封後に測定した。水分含量は凍結乾燥法(VD-800F; タイテック株式会社、埼玉)で測定した。また、5~10 mm程度に細切したサイレージ約10 gに蒸留水30 mlを加え、4°Cで24時間静置して調製した抽出液を2重ガーゼで濾過し、濾液をpH値、VBNおよび有機酸含量の測定に用いた。pH値はガラス電極法、VBNは水蒸気蒸留法、TNはケルダール法により測定した[6, 15]。有機酸含量の測定は、高速液体クロマトグラフ(LC-20A、島津製作所)を用いて行った。測定条件は、カラム: Shim-pack SPR-H (250 mm×7.8 mm i. d.)、カラム温度: 40°C、移動相: 4mM p-トルエンスルホン酸水溶液、流速: 0.8 mL/min、検出器: 電気伝導度検出器(CDD-10A_{WP}、島津製作所)とした。フリーク評点は、乳酸、酢酸および酪酸含量の測定結果を用いて算出し、発酵特性を評価した[6]。

4. 統計処理

処理区間の比較には、一元配置分散分析法および多重比較検定(等分散性ありの場合はBonferroniの補正法、等分散性なしの場合はDunnettのT3法)を用いた。フリーク評点と各有機酸含量の関連性については、Pearsonの相関

表1. オオバナミズキンバイのサイレージ調製におけるリンゴ酸添加割合と発酵特性

項目	リンゴ酸添加割合		
	0%区	0.4%区	1.0%区
水分含量(%)	82.2 ± 1.92	82.4 ± 2.06	84.6 ± 1.11
pH	4.52 ± 0.03 ^a	4.26 ± 0.06 ^a	3.49 ± 0.34 ^b
VBN/TN比(%)	0.82 ± 0.67	0.28 ± 0.09	0.12 ± 0.10
乳酸(新鮮物中 ppm)	109.3 ± 9.3	118.3 ± 11.6	128.1 ± 31.5
酢酸(新鮮物中 ppm)	326.9 ± 107.7 ^a	194.7 ± 39.4 ^a	78.8 ± 0.3 ^b
プロピオン酸(新鮮物中 ppm)	96.8 ± 69.1	42.0 ± 1.5	27.2 ± 23.5
イソ酪酸(新鮮物中 ppm)	75.7 ± 1.9 ^a	75.2 ± 3.0 ^a	68.3 ± 2.8 ^b
n-酪酸(新鮮物中 ppm)	N.D.	N.D.	N.D.
イソ吉草酸(新鮮物中 ppm)	245.1 ± 99.4	203.8 ± 58.2	207.1 ± 40.7
吉草酸(新鮮物中 ppm)	N.D.	N.D.	N.D.
フリーク評点	51.7 ± 1.7 ^a	56.7 ± 0.8 ^a	73.7 ± 3.8 ^b
等級	可	可	良

平均値±標準偏差(水分含量:n=4, 水分以外:n=3). N.D.: 検出限界以下. 各項目内の異符号間に有意差あり(P < 0.05).

係数を算出し、その有意性を検定した。

結果

表1に各処理区におけるサイレージの水分含量、pH値、VBN/TN比、有機酸含量、フリーク評点の結果を示した。水分含量(%)は、いずれの処理区においても80%程度で、有意差は認められなかった。pH値は0%区で4.52、0.4%区で4.26、1.0%区で3.49となり、前2者に比べ、後者で有意に低かった(P < 0.05)。VBN/TN比は、1.0%区で最も低い値(0.12)を示したが、処理区間に有意差はみられなかった。酢酸含量は、0%区(326.9)、0.4%区(194.7)および1.0%区(78.8)の順に低く、0%区および0.4%区に比べて1.0%区で有意に低かった(P < 0.05)。イソ酪酸含量は0%区(75.7)および0.4%区(75.2)に比べて1.0%区(68.3)で有意に低く(P < 0.05)、0%区と0.4%区との間に有意差はなかった。なお、n-酪酸および吉草酸含量は、いずれの処理区も検出限界以下であった。また、乳酸、プロピオン酸およびイソ吉草酸含量は、いずれの処理区間にも有意差はみられなかった。フリーク評点は0%区(51.7)、0.4%区(56.7)および1.0%区(73.7)の順に高くなり、0%区と比べて1.0%区で有意

外来水草のサイレージ発酵特性

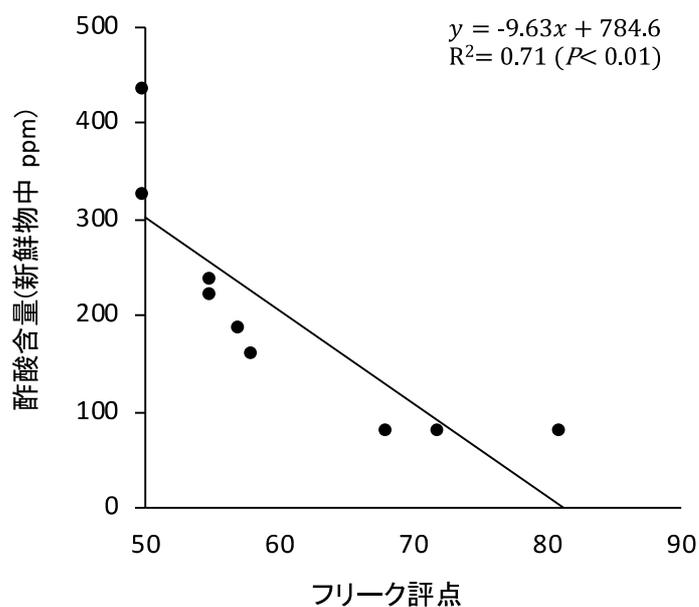


図2. ウスゲオオバナミズキンバイサイレージにおけるフリーク評点と酢酸含量の関連性.

に高かった ($P < 0.05$).

図2にフリーク評点と酢酸含量の関係について示した。フリーク評点と酢酸含量の間に有意な負の相関関係が認められた ($P < 0.01$)。一方、フリーク評点と他の有機酸含量 (乳酸、プロピオン酸、イソ酪酸およびイソ吉草酸) との間には有意な相関関係はみられなかった。

考 察

飼料のサイレージ調製時において、リンゴ酸を添加することでサイレージ原料のpH値を直接的に低下させ、酪酸発酵などの不良発酵を抑制することでサイレージの品質低下を予防できることが報告されている [10]。本研究では、ウスゲオオバナにリンゴ酸を1.0%添加することでpH値が対照区よりも有意に低下し、さらに、リンゴ酸の添加割合が高いほどpH値が低下することが観察された。また、リンゴ酸の添加割合が高いほどサイレージ中の酢酸含量が低下しており、リンゴ酸の添加による酢酸生成の抑制効果を示唆された。さらに、サイレージの腐敗の指標とされるイソ酪酸含量が、リンゴ酸を

1.0%添加することで有意に低下した。これらのことから、ウスゲオオバナをサイレージ調製する場合、リンゴ酸を添加することで、pH低下の促進、酢酸およびイソ酪酸生成の抑制を通して、安定した品質の発酵飼料の調製が可能と考えられる。一方、本研究では、有機酸含量が一般的なサイレージと比べ、低値を示していたこと [7] から、ウスゲオオバナのサイレージ調製では、2週間の貯蔵期間では短かった可能性があり、今後、貯蔵期間との関連性について検討する必要がある。

一般に、飼料が不良発酵した場合、アンモニア態窒素含量が増加することでVBN/TN比が高くなること

知られている。このことから、VBN/TN比の低いものが良質サイレージとされ、10%以下がその目安とされる [13] など、VBN/TN比はサイレージ発酵品質の指標として広く用いられている [5]。本研究では、いずれの処理区もVBN/TN比は10%以下を示しており、発酵品質は良好であったと考えられる。

フリーク評点は、リンゴ酸を1.0%添加することで高まったことから、ウスゲオオバナをサイレージ調製する場合、リンゴ酸を1.0%添加することで発酵品質を向上させる可能性が示唆された。なお、酢酸含量とフリーク評点との間に有意な負の相関関係が認められたことから、本研究における発酵品質は、既報 [6] と同様にサイレージ中の酢酸含量に依存したと考えられた。

本研究では、特定外来生物であるウスゲオオバナミズキンバイの飼料利用に関連して、パウチ法により調製したウスゲオオバナのリンゴ酸添加サイレージの発酵特性について検討した。その結果、リンゴ酸を添加してサイレージ調製したウスゲオオバナは、比較的良好な発酵

品質を示し、飼料として利用できる可能性が示唆された。また、その可能性は新鮮物重当たり0.4%よりも1.0%のリンゴ酸添加においてより高くなると考えられた。今後、リンゴ酸添加による飼料単価への影響についても検討する必要がある。また、高水分サイレージは、多量の排汁流出が課題となる場合があることから、技術の現場移転を想定した水分調節剤の利用や排汁処理などについても検討する必要がある。

謝 辞

本研究を行うに当たり、環境省近畿地方環境事務所からご指導をいただきました。記して感謝します。

文 献

- [1] Carro MD, Ranilla MJ (2003) Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains: Br J Nutr: 89(2): 181-188.
- [2] Castillo C, Benedito JL, Méndez J, Pereira V, Lopez-Alonso M, Miranda M, Hernández J (2004) Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle: Anim Feed Sci Tech: 115(1-2): 101-116.
- [3] Crespo NP, Puyalto M., Carro MD, Ranilla MJ, Mesia J (2002) Acidos orgánicos en dietas para ruminantes: Albeitar: 57: 48-50.
- [4] Hieda S, Kaneko Y, Nakagawa M, Noma N (2020) *Ludwigia grandiflora* (Michx.) Greuter & Burdetsubsp. *hexapetala* (Hook. & Arn.) G. L. Nesom & Kartesz, an invasive aquatic plant in Lake Biwa, the largest lake in Japan: Acta Phytot Geob: 71(1): 65-71
- [5] 自給飼料品質評価研究会 (編) (1994) 粗飼料の品質評価ガイドブック: 79-94頁、日本草地協会、東京。
- [6] 自給飼料利用研究会 (編) (2009) 三訂版粗飼料の品質評価ガイドブック: 9-88頁、日本草地畜産種子協会、東京。
- [7] 蔭山勝弘、森治夫、佐藤勝郎 (1973) ガスクロマトグラフィーによるサイレージの揮発性脂肪酸と乳酸の同時測定法: 日畜会報: 44(9): 465-469.
- [8] 環境省、農林水産省、国土交通省 (2015) 外来種被害防止行動計画: 生物多様性条約・愛知目標の達成に向けて: 環境省自然環境局、東京: https://www.maff.go.jp/j/press/kanbo/kankyo/pdf/150326_1-02.pdf [2021年11月23日参照].
- [9] 環境省 (2020) 特定外来生物等一覧: 環境省自然環境局、東京, <http://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/list.html> [2021年11月23日参照]
- [10] Ke WC, Ding WR, Xu DM, Ding LM, Zhang P, Li FD, Guo XS (2017) Effects of addition of malic or citric acids on fermentation quality and chemical characteristics of alfalfa silage: J Dairy Sci: 100(11): 8958-8986.
- [11] Li M, Zhang L, Zhang Q, Zi X, Lv R, Tang J, Zhou H (2020) Impacts of citric acid and malic acid on fermentation quality and bacterial community of cassava foliage silage: Front Microbiol: 11: 3206
- [12] Martin SA, Streeter MN, Nisbet DJ, Hill GM, Williams SE (1999) Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet: J Anim Sci: 77(4): 1008-1015.

外来水草のサイレージ発酵特性

- [13] 扇元敬司、葺澤圭二郎、桑原正貴、寺田文典、中井裕、杉浦勝明 (2014) 最新 畜産ハンドブック : 200-208頁、講談社、東京.
- [14] Oku M, Inoue C, Hieda S, Noma N, Nakagawa T (2021) Chemical composition and in vitro ruminal digestibility of *Ludwigia grandiflora*: Anim Sci J: 92(1): e13509
- [15] 作物分析法委員会 (編) (1976) 栄養診断のための栽培植物分析測定法 : 63-67 頁、養賢堂、東京.
- [16] 滋賀県 (2017) 侵略的外来水生植物 (オオバナミズキンバイ・ナガエツルノゲイトウなど) への対策 : 滋賀県琵琶湖環境部自然環境保全課生物多様性戦略推進室、滋賀 : <https://www.pref.shiga.lg.jp/ippan/kankyoshizen/shizen/140>
- 22.html [2021年11月23日参照].
- [17] 田中周平、高見航、田淵智弥、大西広華、辻直亨、松岡知宏、藤井滋穂 (2020) 琵琶湖岸の有義波高と生育地盤高に基づいた特定外来植物オオバナミズキンバイのポテンシャルハビタットの推定 : 水環誌 : 43(1) : 9-15
- [18] 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(1) : 55-59.
- [19] Tham HT, Ngo VM, Thomas P (2013) Fermentation quality of ensiled water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) as affected by additives: Asian-Aust J Anim Sci: 26(2): 195-201.

Short Communication

Evaluation of the invasive alien plant species *Ludwigia grandiflora* subsp. *hexapetala* silage treated with malic acid by means of laboratory ensiling method using a plastic pouch for packing as a feed.

Maho Yamanaka¹, Misaki Oku², Shinya Hieda³, Hiroki Kobayashi⁴, Takuji Hirayama¹,

Naohiko Noma⁵, Toshinori Nakagawa⁵

¹Faculty of Bioresources and Environmental Sciences, Ishikawa Prefectural University, Nonoiichi, Ishikawa 921-8836, Japan

²Graduate School of Natural Science and Technology, Gifu University, Gifu 501-1193, Japan

³Toyohashi Museum of Natural History, Toyohashi, Aichi 441-3147, Japan

⁴Graduate School of Environmental Science, University of Shiga Prefecture, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

⁵School of Environmental Science, University of Shiga Prefecture, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

We studied the effect of malic acid on the fermentation characteristics of *Ludwigia grandiflora* silage. *L. grandiflora* is being exterminated in Japan as an invasive alien plant species. *L. grandiflora* was divided into three groups, and malic acid was added to each group at a different level: 0, 0.4, and 1.0% of fresh weight). These samples were ensiled for 2 weeks at room temperature in vacuum-sealed plastic bags. Flieg's score of silage treated with 1.0% malic acid (73.7) was significantly higher than those for the 0% (51.7) and 0.4% (56.7) addition groups ($P < 0.05$). This result shows the possibility of using *L. grandiflora* silage treated with malic acid as a feed resource.

Key word: *Ludwigia grandiflora* subsp. *hexapetala*, malic acid, pouch method, silage.

Corresponding: Toshinori NAKAGAWA nakagawa.t@ses.usp.ac.jp

Receipt of Ms: 29.11.2021. Accepted: 12.01.2022

Journal of Animal Production Environment Science No.21(1) pp39–45. 2022