サイレージ発酵に関連する諸問題

大 山 嘉 信

(農林省畜産試験場栄養部)

Problems in Silage Fermentation

Yoshinobu OHYAMA

(Department of Animal Nutrition, National Institute of Animal Industry)

S. J. WATSON はサイレージを次のように定義している。“サイレージとは、青刈り作物その他の高水分の材料を用い、vital change を制御することによって調製した多汁質の生産物であり、この過程自体が ensilage とよばれる”¹⁹⁷⁾。この場合、“高水分の材料”“多汁質の生産物”の中に水分 50% 程度までのものを含めて考えれば、いわゆるヘイレージをも包含するものと考えることができる。また、“vital change”の中には、植物自体の酵素作用と微生物による発酵が含まれる。

家畜の飼料としてサイレージが利用されるようになった起源は非常に古いものとされているが、最初はおそらく偶然のきっかけによるものであったと想像される。たとえば、余剰草を堆積しておいた結果、たまたま芳香を発するものになり、これが嗜好性もよく飼料として十分利用できることが経験的に認められたのであろう。そして、これが穴 (pit) に貯蔵されるようになり、さらに発展して種々の形のサイロを作って利用するようになったものと思われる。

このように、技術としてのサイレージ調製が成立するためには、最初偶然に見出した自然現象の本質を解明し、さらに積極的にこれを制御する立場がとられるに至ったことは当然であろう。

サイレージ発酵の機序を解明するための科学研究は、主として今世紀に入ってから行なわれるようになった。中でも、フィンランドの生化学者 A. I. VIRTANEN はサイレージ発酵の生化学の発展に顕著な足跡を残した¹⁰⁾が、彼の研究が発表されているのは、主として 1930 年代である¹⁹⁷⁾。

また、この頃、英国において、サイレージ調製の際の化学的、細菌学的変化、あるいはサイレージの化学組成

に関する詳細な研究が発表されている^{1,196)}。

その後、発酵に関する微生物学的研究、また埋蔵中の物質変化に関する生化学的研究は数多く発表され、添加物の利用等の技術に貢献しつつ現在に至っている。

この間の進歩の跡を総説した著書としては、BARNETT によるサイレージ発酵の生化学的解説¹⁰⁾あるいは WATSON による 1960 年までの業績を網羅したもの¹⁹⁷⁾が著名である。

第1図 サイレージ調製に関する要因

その後、サイレージ調製の問題を取扱った総説は、いくつか発表されている^{17,104,111,134,174)}。

サイレージ調製に関係する生物学的要因とその相互関係は、第1図のように纏めることができる²¹²⁾が、問題をサイレージ調製の主軸をなすサイレージ発酵ということに限るならば、これを次のように考えることができる。

すなわち、サイレージの本質が、制御された発酵によって飼料を貯蔵すること、換言すれば、好ましくない微生物を抑制し、このために(多くの場合)好ましい微生物の増殖を促進することにある以上、微生物の問題が重要であることは当然といえる。しかしながら、これらの微生物は規格化された培地で培養される場合と異なり、物理的、化学的な要因の支配を大きく受ける。さらに、サイロ内の物理的、化学的条件は材料作物の性質並びに詰込み方法の影響を受ける。しかも、微生物相互の競合関係もあって問題は一層複雑になっている。サイレージ発酵の問題が、一応解明されたかに見えて、なお詳細について未知の点が多いのは以上のような事情に基づくものであろう。

また、飼料としてサイレージを見る場合には、複雑な生化学的変化によって、材料作物に含まれる物質がいかなる変化を受け、いかなる物質がサイレージの中に存在するかということ、かつこれが発酵条件とどのような関係をもつかを知ることが重要である。

よって、本稿においては、生物学的、物理的、化学的の順に、サイレージ発酵に関する現在までの知見と問題点を述べたい。

なお、本稿において、サイレージの品質という表現を屢々用いるが、これは次のように考える。すなわち、生成された有機酸のうち、酪酸およびこれ以上の揮発性脂肪酸(VFA)の比率の高いものを品質が劣るとし、乳酸の割合の高いものを品質が優れているとする。すなわち現在もなおひろく使用されている^{46,47,173)} FLIEG による評価²⁷⁾の考え方に立ったものであるが、これらはまた一般に揮発性塩基態窒素(VBN)の全窒素に対する比率の高(=劣)低(=優)に対応している。

言うまでもなく、サイレージの飼料価値は、“材料作物の飼料価値”と“サイレージ発酵の良否(品質)”の2つの因子によって規定されるものであり、前者が低ければ、いかに後者が優れていても飼料価値の高いサイレージは得られない。しかし、同一の材料から出発した場合、その飼料価値は化学的品質に対応していることが一般に認められているので、本稿では、問題をサイレージ発酵に限って論ずることとする。

I 微生物学的問題

サイレージ発酵は次のような経過を辿るものとされている。すなわち、第1期:植物細胞の呼吸が続き、単純な炭水化物を消費して炭酸ガスを生成する、第2期:コリ型細菌により少量の酢酸が生産される、第3期:乳酸菌の増殖によって炭水化物から乳酸が生成される、第4期:乳酸の量が1~1.5%になり、pHが4.2以下になって安定する。もし、乳酸の生成量が不十分な場合には、第5期に移行し、酪酸菌が、残存している炭水化物および一旦生成された乳酸を消費して酪酸および高級揮発性脂肪酸(VFA)を生産し、また、アミノ酸からアンモニアを生産する。以上の変化のうち第3期までは詰込み後約3日間で完了し、第4期が終るまでは2~3週間かかる。

BARNETT の著書¹⁰⁾に記載されている上記の説明は、サイレージの出来る機構を明解に示しているので、屢々引用されている^{100,173)}。この過程は条件によって若干異なる場合があるとしても、一般に通用するものと考えられる。

したがって、ここに登場する3種の細菌すなわち乳酸菌、酪酸菌およびコリ型細菌が、サイレージ発酵に関与する主要な微生物ということができる。

1. 乳酸菌

サイレージ発酵に関与する乳酸菌としては、*streptococci*, *pediococci*, *leuconostocs* などの乳酸球菌と、*lactobacilli* に属する乳酸桿菌とがある。そして、前者は詰込み後早期に増殖して酸を生成するが、pHの低下によって増殖が鈍り、最終的には *lactobacilli* が支配的になることが知られている^{75,180,182)}。

なお、発酵初期にpHを低下させ、良質サイレージを得るための乳酸球菌の役割を強調している報告もある⁷⁶⁾。

牧草サイレージの乳酸球菌および乳酸桿菌の性質については、LANGSTON らによって詳細に調べられている^{73,74)}。また、サイレージに見出される *lactobacilli*, *pediococci* などの乳酸菌の生育におよぼす温度、水分活性の影響について調べた研究があり^{79,80)}、サイレージの乳酸菌のアミノ酸要求とその代謝に関する研究も発表されている¹⁶⁾。

材料植物に付着している細菌の種類と数は、植物の種類、成熟度、部位、季節および環境によって大きい変動を示し、サイレージ発酵において主要な役割を果たす *lactobacilli* は、作物そのものにはごくわずしか見出されないことがある^{67,108,109,120,172)}。

しかし、収穫作業の過程で、あるいはサイロに詰込ま

れた後、比較的短時間のうちに、*lactobacilli* の数が増大することは、ひろく認められている^{67,72,67,180,146,173}。

しかしながら、*lactobacilli* の数が増加することは、必ずしもサイレージの品質がよくなり、これが安定するための十分条件ではない。たとえば、材料草の *lactobacilli* 数が 1 g あたり 10^2 前後で、これが詰込み後 2 日で 10^8 を越し、4 日後には 10^9 以上になっても、乳酸の生成量は十分でなく、最終的には品質が低下する場合があることが認められている¹⁴⁶。また、新鮮草に *lactobacilli* が多いことは、必ずしもサイレージの品質をよくするとは限らないことも指摘されている⁷⁶。

乳酸発酵がサイレージにおいて重要な役割を占めていることから、詰込みに際して乳酸菌を添加することによって、品質の優れたサイレージを調製しようということは、きわめて古くから試みられている^{160,197}。

近年、わが国においても、乳酸菌添加の効果を調べた報告がいくつかあるが^{107,123,124,131,160,175}、乳酸菌添加の効果を論ずる場合には、材料の条件とくに可溶性炭水化物の量を考慮に入れなければならない。

すなわち、WIERINGA は、乳酸菌添加は材料の乾物中の糖含量が 6 % 以上²⁰¹あるいは 8 % 以上²⁰²のときにのみ効果があるとしている。一方 McDONALD らは、可溶性炭水化物 16.2 % のイタリアンライグラス および同じく 11.8 % の赤クローバーの場合には、乳酸菌を加えても加えなくても良質のサイレージができたのに反し、可溶性炭水化物 4.3 % のオーチャードグラスにおいては、圧傷しなければ乳酸菌添加の有無にかかわらず品質は悪く、圧傷すれば無添加よりも添加区の方が品質がよくなったと報告している^{102,103}。また、SVENSSON らは乳酸菌単独の添加では品質改善効果なく、糖蜜と乳酸菌を併用した場合には糖蜜単独の添加による効果と同様の結果であったとしている¹⁷⁷。LESINS らも *pediococci* と *lactobacilli* を添加する実験を行なって、材料によって効果がある場合とない場合とがあると報告している⁸³。

乳酸菌の添加効果は、詰込み材料の条件とくに可溶性炭水化物の量と関連があることに注目し、大山らは糖（グルコース）の添加量（4 段階）と乳酸菌（*L. plantarum*）の添加の有無を組合わせて、その相乗効果を調べる実験を行なった。その結果、6 回の実験のうち 1 回、糖 2 % 添加区にのみ、相乗効果が認められた。しかし、一般には、乳酸菌添加の有無にかかわらず糖の添加効果が支配的であり、さらに、糖を添加せぬ場合には、乳酸菌添加によって却って品質が低下した例が 2 回あったとしている¹⁴⁷。

GROSS らは、“糖（1 % および 2 %）”、“乳酸菌（lac-

tobacilli）”、ならびに“糖（1 %）+乳酸菌”の添加実験を、それぞれ約 20 種類の材料を用いて実施し、FLIEG 法による評点が、無添加の対照区よりも、平均して、それぞれ 31 点、29 点、および 47 点上昇したことを認めている⁴⁶。すなわち糖と乳酸菌を併用すると、それぞれ単独の場合よりも大きい効果があった。なお、興味深いことには、ルーサンを材料として、有機酸量の経時の変化を調べた際に、乳酸菌のみを加えた区は、無添加の対照区に比して乳酸が明らかに少なくなり、酪酸が著しく多くなっている。これは、前記大山らの結果¹⁴⁷とも一致するものである。

PAPENDICK らは、糖 2 % 添加区と“乳酸菌培養物+糖”を 0.2~0.8 % 添加した区を比較した場合、いずれも最終的には良質のサイレージが得られるが、埋蔵初期における乳酸量の増加ならびに pH の低下は、“乳酸菌培養物+糖”添加区の方が早かったと報じている¹⁶⁰。

以上のように、乳酸菌添加がサイレージの品質を改善し、あるいは少なくとも初期における乳酸発酵の速度を早める可能性はある。ただし、いかなる条件のもとに効果が発揮されるかという点については、なお検討の余地があろう。この場合、考慮せねばならないことは、材料の性質とくに可溶性炭水化物含量、埋蔵条件、添加乳酸菌の菌株ならびに添加方法などであろう。

2. 酪酸菌

サイレージの発酵を好ましくない方向に向け、品質を劣化させる元凶は酪酸を生成する嫌気性芽胞菌（*clostridia*）であることがつとに認められている^{1,10,72,197}。

Clostridia は糖および乳酸を消費して酪酸を生成し、かつ、蛋白質の分解生成物であるアミノ酸をさらに分解してアンモニアを生成する。このために、貯蔵中の養分損失は大きくなり、また、臭、味などが悪くなり、サイレージは嗜好性の低いものとなる。

サイレージの *clostridia* は、pH が低くなると増殖が抑えられ、また水分が少ない条件において抑制される。したがって、この種の菌によるサイレージの劣化を防止するためには、pH を低くするか、あるいは予乾処理によって材料の水分を少なくすればよい。すなわち、高水分の材料を用いる場合には、乳酸発酵を盛んにするか、あるいは酸を添加して pH を低くすれば、酪酸菌の増殖による品質の低下を防ぐことができる。

Clostridia は土壤中に生育し、かつ孢子の形で存在するので、当然、サイレージの詰込みに際して材料に付着してサイロ内に入り、好適な条件になれば発芽して増殖する。

このように、嫌気性芽胞菌はサイレージの品質を劣化

させる働きがあるので、人為的に良質サイレージと劣質サイレージを作することを意図し、一方には乳酸菌を、他方には嫌気性芽胞菌を接種して埋蔵し、それぞれ所期の品質のサイレージを得ている報告がある^{82,91)}。

しかし、一方、土を混入してサイレージを調製しても、劣質のものはできなかったとする成績もあり¹⁰¹⁾、また、大山らも、劣質サイレージから分離した *clostridia* を添加して調製しても必ずしも劣質のサイレージはできなかったことを認めている¹⁴⁷⁾。この場合、添加した菌は、グルコースあるいは乳酸塩をエネルギー源として加えた培地で嫌氣的に培養すれば、多量の酪酸その他の揮発性脂肪酸を生成する能力があることを確かめている¹⁰⁰⁾。

一方、後に述べるように、埋蔵初期に空気を導入した後に密封すれば、*clostridia* を添加しなくても、高水分の場合には例外なしに酪酸の生成による品質の劣化が認められている^{145,146)}。

以上のことから、サイレージの品質を劣化させる酪酸菌についても、その増殖には環境条件が決定的な影響を及ぼすことがわかる。なお、サイレージにおいて常に酪酸菌が存在したとする報告がある¹⁶¹⁾。

乳製品における *clostridia* については Goudcov らの総説⁴⁰⁾ があり、チーズの *clostridia* による乳酸その他の酸の発酵を ¹⁴C を用いて調べた報告⁶⁰⁾ がある。また、各種の *clostridia* の生産する VFA をガスクロマトグラフィによって調べた結果も発表されている⁸⁴⁾。

3. グラム陰性菌（コリ型細菌）

さきに述べたように、グラム陰性菌は、サイレージの埋蔵初期に好氣的条件のもとで生育し、比較的短期間に、サイロ内が嫌氣的状態になるとともに、消失するのが常である¹⁰⁾。サイレージ調製におけるこの種の菌の意義は、乳酸菌あるいは酪酸菌のように積極的ではないが、これらとの競合関係などにおいて、サイレージ発酵の方向を決める可能性はある。

グラム陰性菌の数は、材料がサイロに詰込まれた後に一旦増加し、その後減少すること¹⁷¹⁾、コリ型細菌（大部分は *Aerobacter* に属する）が収獲過程で増加すること⁸⁷⁾、あるいは埋蔵温度が 22～30℃ の時には詰込みの 3 日後までに最高値に達し、その後減少すること^{81,82)} などが報告されている。

一方、詰込後 3 日でほとんど消失する場合と、5 日後でも依然として多い場合とがあることも認められている⁸⁷⁾。

以上のようにグラム陰性菌の数の増減の様相に種々の型があるのは、詰込み条件と関係があるものと思われ、

埋蔵初期の通気によってグラム陰性菌の数が増加することが報告されている^{76,146)}。

埋蔵初期に、グラム陰性菌と乳酸菌が競合することを認めた報告は少なくない^{81,82,76,97,146)}。したがって、できるだけ早期にグラム陰性菌の増殖を抑えることが、乳酸発酵を促進し良質サイレージを調製するために必要と考えられる。

なお、グラム陰性菌ではないが、材料草に認められ、かつ埋蔵初期に存在する好気性芽胞菌 (*Bacillus*) について記載した報告もかなりあるが^{76,180,161)}、サイレージ調製においては、重要な因子ではないとされている⁷⁶⁾。

4. カビ、酵母

何らかの意味でサイレージに関係ある微生物として、細菌の他にカビと酵母がある。

カビはサイレージに認められることがあるが^{161,197)}、好気性である故、詰込み後短期間に嫌気性となる通常のサイレージの条件では顕著な生育はせず、したがって本来のサイレージ発酵にとっては直接関係がないものといえる。ただし、開封後の変敗に深い関係をもつものであるが、本稿ではこの問題は省略する。

サイレージの酵母について調べた研究はかなり発表されている^{96,130,181,162,197)}。酵母は、サイレージの品質を支配する主要な要因とは考えられない。ただし、サイレージ中のこれまであまり研究されていない物質、たとえばアルコールの生成などを通じてその香気に関係する可能性もあるが、その重要性については明らかでない。なお、サイレージの保存性に酵母が関係し、開封後劣化しやすいサイレージには酵母が多いとする報告がある¹²⁾。

II 物理的問題

サイレージ発酵における微生物の活動に影響を及ぼし、サイレージの品質を左右する因子の一つとして、詰込み材料の性質ならびに詰込み方法に関連する物理的な要因が考えられる。これを便宜上、次のように分けて述べる。

1. 水分

水分は微生物の生育にとって必須のものであるが、サイレージ調製の際、材料牧草に予乾処理 (wilting あるいは pre-wilting) を施し、水分含量を少なくしてから詰込むことによって、良質のサイレージが得られることはかなり以前より認められ、かつ、実際の技術として推奨されてきた^{82,112-115,166,186,196,199,201)}。

ただし、以前には、材料の水分が少なくなり過ぎると、サイロに密に詰まり難くなり、高温発酵の弊害が生じ易いので、予乾は水分含量 70% 程度までにとどめる

べきであるとされていた^{110,114,187)}。

ところが、金属製気密サイロの出現によって、サイロ内を嫌氣的条件に保つことが容易になり、水分含量 50% 程度まで予乾した材料を用いることができるようになった。このように低水分化することは、埋蔵中の発酵損失の軽減、家畜による乾物摂取量の増加等の利点がある。その後、この方法は、細切、踏圧および密封に留意するならば、慣用のサイロによっても調製が可能であることが認められた。これがヘイレージあるいは低水分サイレージといわれるものである^{2,9,18,19,35,36,38,39,52,54,55,154,160,189)}。

予乾をした材料を用いると良質のサイレージができる理由は、乳酸発酵の促進によって pH の低下をはかる高水分サイレージの場合とは異なる。

予乾サイレージの方が対照サイレージよりも乳酸含量が多いという報告^{110,213)}と、逆に、予乾によってサイレージのすべての酸の含量が対照区よりも少なくなったという成績¹¹²⁾、あるいは材料の水分が少なければサイレージの総酸量および乳酸量が顕著に減少したという結果¹⁵⁴⁾が報告されている。GORDON らは材料の水分が少ないほど発酵が低下すると述べており⁸⁸⁾、また、予乾処理をすると埋蔵中の微生物の活動が低下するという報告も少なくない^{68,171)}。

GOUET らの実験は、予乾処理とサイレージ中の乳酸の多少との関係を明解に説明している¹⁴¹⁾。すなわち、材料の水分含量を種々の段階に調節してサイレージを調製し、埋蔵過程における酸の生成の経時的変化をみると、水分の少ないものほど初期の乳酸の生成量は少ない。しかし、高水分の場合には一旦生成された乳酸が時間の経過につれて消失し、酪酸が増大する。これに対して、低水分の場合には生成した乳酸がそのまま維持される。したがって、最終的には、予乾した区の方が高水分区より乳酸の量が多いという結果になる。

大山らの実験によれば、予乾によって材料の水分含量を少なくすれば、生成する有機酸の総量が少なくなるが、とくに酪酸がほとんど認められなくなり、一方、水分が高い場合には、生成する酸の総量は多いが、その中の乳酸の多少は条件によって異なることが認められている¹⁴¹⁾。

以上のことから、予乾の効果は、乳酸発酵を促進する点にあるのではなく、発酵全体を抑え、とくに酪酸発酵を抑制する点にあるということが出来る。因みに、WIERINGA は、予乾処理によって材料牧草の浸透圧が高まり、その結果比較的高い pH においても酪酸菌の生育が阻害されるとしている¹⁹⁹⁾。

2. 細切、圧傷、踏圧

サイレージ調製の際に、材料を細切あるいはさらに圧傷すると、発酵が促進されることはひろく認められている。これは、上記の処理によって植物汁液が浸出し、微生物の初期活動が促進される¹⁷¹⁾ ことによるものと考えられる。ただし、促進される発酵が好ましい方向に向くか否かは条件によって異なる可能性がある。すなわち、WIERINGA は、圧傷によって材料草中の糖が放出されて発酵が促進されるが、この際温度が高いと酪酸発酵が盛んになると報告している²⁰¹⁾。また、圧傷の程度が進むにつれて、乳酸菌添加の効果が小さくなることも認められている²⁰⁰⁾。一般には、圧傷によって乳酸発酵が盛んになるとする報告が多い^{11,109,112)}が、この影響は材料自体の性質によってかなり異なることが予想される。ことに、生育時期の違いによる機械的強度の差は、細切や圧傷の効果に差を生ずるのである。

一方、やや異なる観点からの研究が GREENHILL によって行なわれている。すなわち、彼は、サイレージ発酵初期における植物細胞の崩壊、汁液の浸出、乳酸の生成の関係について研究し、これに影響する要因を調べて、通気が細胞の崩壊を遅らせること、踏圧そのものはとくに水分が少ない時には植物組織の崩壊にあまり影響を与えないこと、浸出した汁液の水分活性は材料の水分含量に大きく支配されること、などを認めている⁴²⁻⁴⁴⁾。

サイレージ調製の際に十分に踏圧を行なうことの重要性は古くから指摘されている。これは、サイロ内をできるだけ早く嫌氣的にして、植物細胞の呼吸ならびに好氣的細菌の増殖によって温度が上昇し養分が損失することを防ぐ意味があるとされていた。一方、好ましい発酵を起こすためには、ある程度温度が高くなる方が望ましいという考えもあり、したがって若い草の場合にはあまり踏圧せず、生育の進んだ草では十分に踏圧した方がよいとされていた。しかし、LANCASTER ら⁷⁰⁾は 3 種類の生育段階の草について、それぞれ踏圧程度を強・中・弱の 3 段階に分けてサイレージ調製実験を行ない、どの生育段階についても、踏圧が強いほど、乳酸が多く、良質のサイレージができ、しかもその効果はもっとも若い草で最大であったと報告している。

しかし、常に踏圧が好結果を生むとは限らない。すなわち、大山ら¹⁴¹⁾の実験によると、材料の違いによって、詰込み密度の大小が異なる影響をもたらしている。すなわち、密に詰めた方が品質が良い場合と、その逆の場合があることが認められた。この場合、生成する有機酸の総量は常に密に詰めた方が多いが、その内容が材料によって異なり、乳酸が多い形と酪酸が多い形とがあった。

これより、前述の水分に関する説明と同様に、密に詰めることによって促進された発酵が望ましい方向に向くかその逆になるかは、材料の可溶性炭水化物含量などの条件によって左右されものと推察される。

また、密封を完全にした場合のサイレージ発酵における踏圧の意義は、詰込み時にサイロ内に残存する空気の排除よりも、むしろ植物体を圧傷して汁液を浸出させる点にあることが示されている¹⁴⁴⁾。

3. 空気

前項に述べたように、材料の細切、あるいは踏圧という処理は、詰込みの際のサイロ内に残存する空気を少なくするという意味があると考えられていた。

サイレージの品質に及ぼす埋蔵時の空気の混入率の影響については、高橋が一連の研究を行なっている¹⁷⁸⁻¹⁸⁶⁾。すなわち、一定容積のサイロに詰込む材料草の量を3段階として、空気混入率を大・中・小の3段階とする方法によって、高水分材料の場合¹⁷⁸⁾、低水分材料の場合¹⁷⁹⁾、細切との関連¹⁸⁰⁾、材料の水溶性炭水化物含量との関係¹⁸¹⁾、温度との関係¹⁸²⁾ などについて実験を行なっている。この場合、高水分サイレージにおいては、空気混入率が低いものよりも中程度の方が品質がよくなる例^{178, 179)}と、逆に、空気混入率が低いほど良い結果が得られる例^{180, 181)}とがあることが報告されている。

一方、最近、プラスチック・シートを用いた簡易なサイロでサイレージを調製する場合に、単に密封を完全にした場合と、詰込みの際して内部の空気を排除した場合との比較が行なわれ、高水分材料の場合にも²⁰⁸⁾ 低水分材料の場合にも⁵⁴⁾、単なる密封区と排気区との間に差がないことが認められている。なお、低水分サイレージ調製の際の排気の効果を一応認めた報告もあるが¹⁷⁶⁾、その後の実験で、サイロの気密が保たれるなら排気は必要としないという結果が出されている¹⁸⁹⁾。また、山田らは低水分サイレージ調製における密封の意義を強調している²¹¹⁾。

この点について、さらに詳しい実験が行なわれている¹⁴¹⁾。すなわち、埋蔵中に内部のガスの排出は自由に起こるが、外部の空気の侵入はまったくない構造の実験室サイロを用い、単に軽く詰めた区、内部の空気を窒素で置換した区および同じく酸素で置換した区の3区を設けて比較した結果、サイレージの有機酸組成について各区の間にほとんど差がないことが認められた。これより、詰込み時にサイロ内に残存する空気(酸素)そのものは、発酵に対してとくに大きい悪影響をもたらすものではないとしている。

しかしながら、埋蔵初期に外部より空気を導入すれ

ば、高水分材料の場合には例外なく品質が劣化することが明らかに証明された¹⁴⁶⁾。そして、これを経時的に調べると、空気導入によりグラム陰性菌数が増加し、その後密封することによって、酪酸その他の高級VFAおよびVBNが著しく増加することがわかった¹⁴⁶⁾。

以上のことから、詰込みの際にサイロ内に空気が残存することよりも、埋蔵過程において外部より空気が侵入することが決定的に悪影響を及ぼすものということができる。

なお、実際のサイロにおいて、詰込み後暫時被覆せず通気する処理を行なうと、ただちに密封したものに比して、温度が高くなり、品質が悪くなることが認められている^{61, 77)}。

このように考えれば、踏圧の意義の一つは、材料を密に詰めることによって材料自体による空気の遮断作用が発揮されることと説明でき、また、密封が重要な意味をもつことが理解される。

4. 温度

サイレージの埋蔵過程における変化が主として微生物のはたらきによるものであるので、温度が大きい影響をもつことは当然予想される。

BARNETT¹⁰⁾ は、サイレージをその発酵温度によって、(1) Cold Fermentation Silage(20°C以下)、(2) Low Fermentation Silage(20~30°C)、(3) Warm Fermentation Process(50°C以上)の3種に分けており、WATSONの著書¹⁹⁷⁾においてもほぼ同様に、(1) Cold Fermentation Silage(27°C以下)、(2) Low Temperature Process(27~50°C)、(3) Warm Fermentation Process(50°C以上)と分類している。いずれも、材料の性質と詰込み方法によって埋蔵過程で到達する最高温度が左右され、若刈りで水分の多い草を密に詰めれば温度は低く、遅刈りで茎の多い草を粗に詰めれば温度が高くなるとしている。すなわち、サイロ内が好気的条件になるほど、呼吸作用による発熱のために温度が上昇するのである。

上記の分類によると、(3)は時に芳香を有し、嗜好性が高いこともあるが、養分の損失ならびに消化率の低下が起こる。(2)がもっとも望ましく、(1)は酪酸発酵を起こし易いという意見もあるが、この方法による成功例もある。

サイレージの温度は、前記のように、材料の性質、詰込み条件などの結果として定まるものであるが、これが次に微生物の活動を規定することになる。そこで、実験条件として温度を定め、その条件におけるサイレージ発酵を調べるという方法もとられている。

細菌の増殖に及ぼす温度の影響について、STIRLINGは、30°Cの方が早く増加するが、最高値は22°Cの方

が高く、40°C にすれば終始低いと報告している¹⁷¹⁾。また、NILSSON は嫌気性芽胞菌の増殖が 28°C では 16°C の 10 倍になるとしている¹¹⁹⁾。LANIGAN は埋蔵温度と乳酸菌の種類を調べ、温度が 36°C 以上になると *pediococci* の割合が次第に増加し、44°C では *lactobacilli* がほとんど認められなくなると報告している⁸⁰⁾。

WIERINGA は、20~60°C の間を 5°C 間隔にとって埋蔵初期の温度の影響を調べ、35°C の場合に酪酸の生成が最大になったとしている²⁰¹⁾。また、実験室サイロで嫌気的条件下にしておけば 20~50°C の範囲でいずれも良質サイレージができたが、初期に 1~2 日通気すると 40~45°C の場合には酪酸とアンモニアの生成が顕著になったことを報告し、同時に圃場のサイロでは最高温度が 45~50°C のときに劣質サイレージができたとしている²⁰⁴⁾。

その他、埋蔵温度は比較的低温の方が、高温よりも良い発酵が行なわれることが多く報告されており^{72,99,118,121)}、また、糖蜜を同一量添加した場合でも、温度が低い方が乳酸が多く酪酸が少ないことが認められている^{78,200)}。

大山らは、埋蔵温度とグルコース添加効果の関係を調べる実験を行ない、グルコースを 2% 添加した場合には 15°C でも 30°C でも例外なく良質サイレージが調製されたが、無添加の場合には 30°C では常に劣質となり、15°C では材料によって異なることを認めている¹⁵¹⁾。

以上のように、最近では、埋蔵温度が低い方が高い場合よりも酪酸の生成がなく良質サイレージが出来るとする報告が圧倒的に多い。

古い時代に、低温発酵 (Cold Fermentation) サイレージでは酪酸ができることが多いので、むしろ温度が 80~100°F (27~38°C) まで上昇するようにした方がよいと勧められていた理由は何故だろうか。この点については、次のように考えられる。すなわち、低温発酵をするような材料は、水分と蛋白質が多く、可溶性炭水化物含量が少ない若い材料の場合が多く、一方、ある程度温度が上昇するものは、比較的生育の進んだ牧草であったためではないだろうか。すなわち、低温そのものが悪いのではなく、低温発酵をするような材料の化学的組成に問題があったものと推察される。

III 化学的問題

サイレージの品質は材料の性質によって大きく左右される。たとえば ARCHIBALD はマメ科牧草のサイレージの方がイネ科牧草のそれよりも有機酸の総量および乳酸含量が高いことを報告している⁴⁾ が、一般にマメ科牧草の

方が良質サイレージを調製し難いとされている。また、LANGSTON らの成績においても、同一処理を行なって調製したサイレージの品質が、草種、刈取回次の違いで広い範囲にわたって変動している⁷²⁾。

また、同様の材料牧草を用いて無処理のまま詰込んで調製したサイレージの品質が、年によって一定しないことが認められている^{84,92)}。

材料牧草の性質に影響を及ぼす要因としては、草種、生育時期、施肥などの栽培条件等があるが、これらとサイレージの品質の関係については、多くの研究が発表されている^{29,37,69,81,170,187,202,207)}。

サイレージの材料としての牧草の性質の中でとくに重要なのはその化学的性質、すなわち発酵に影響を及ぼす成分の種類と量であり、中でも発酵に利用される炭水化物と蛋白質が主要なものと考えられる。さらに、この両者は牧草中の主な栄養素であり、サイレージ調製過程において顕著な変化を受ける。

よって、本章においては、これらについて逐次述べることにする。

1. 可溶性炭水化物

植物の茎葉に含まれる炭水化物は、大別して、構造炭水化物 (structural carbohydrate) と可溶性炭水化物 (soluble carbohydrate) に分けられる。前者は植物体の機械的強度に関係するもので、セルロースとヘミセルロースよりなる (ペントサンとヘキソサンという分け方もある²²⁾)。後者がサイレージ発酵に利用される炭水化物であって、発酵性炭水化物、有効炭水化物、水溶性炭水化物あるいは可溶性糖類などもよばれているが、本稿では可溶性炭水化物 (SC) と称することにする。

炭水化物が乳酸発酵の基質としてサイレージ発酵にとって重要な役割を果していることは、つとに認められている²⁰⁶⁾。古くは可溶無窒素物 (NFE) をもってこれにあて、NFE と粗蛋白質との比率をサイレージ調製の難易の目安とすることも行なわれていた¹⁹⁷⁾。しかし、NFE の中にはリグニンのようにまったく利用されない物質も含まれており、しかもその内容が大幅に変動するので適当ではなく、実際に微生物が利用しうる SC の量に着目すべきである。

a) 材料作物の可溶性炭水化物

サイレージの材料となる作物のうちで、その炭水化物について、もっとも多く研究が行なわれているのは、オーチャードグラス、ライグラスのような北方系のイネ科牧草であるが、これらに含まれる SC の内容は、グルコース、フルクトース、ショ糖ならびにフルクトースの重合物であるフルクトサンが主要なものである^{89,97,210)}。

この他にガラクトース、アラビノース、キシロースも含まれることがあるが、その量はわずかである⁹⁷⁾。これらはヘミセルロースの構成成分であり、とくにサイレージ発酵の結果増加することが認められている²¹⁰⁾。

なお、マメ科植物については、クローバーにかなりの量のデンプンが含まれること⁶⁾、また、アルファルファにグルコース、フルクトース、ショ糖のほかにメリビオース、ラフィノース、スタキオースが認められたこと²⁰⁾も報告されている。

牧草の SC 含量は、草種、生育段階、施肥条件などによって大幅に変動するばかりでなく、日照、気温などの気象条件によって左右されることが知られている。

すなわち、草種については、イネ科牧草についてかなり報告があり^{8, 69, 69, 162, 191, 194)}、条件にもよるが、一般にはオーチャードグラスよりもライグラスの方が SC 含量が高いことが認められている。なお、マメ科牧草についても若干調べられており^{6, 7, 49, 168)}、トウモロコシおよびソルガムに関する研究¹⁶⁹⁾もある。

生育時期と SC 含量あるいはフルクトサン含量の関係についてもかなり調べられている^{21, 81, 86, 126, 162, 195)}。一方、再生草と一番草の違いについても報告されており^{126, 127, 162, 191)}、概して再生草の方が SC 含量が少ないとされている。

施肥、とくに窒素肥料の施用と SC 含量の関係も調べられており^{60, 128, 128, 193, 207)}、窒素多肥によって SC が少なくなり、これより調製したサイレージが品質の劣るものになるとする知見も少なくない^{28, 97, 99)}。一方、アルファルファにおいて、窒素施肥によって SC が減少しないという結果が得られているが、これはフルクトサンがないためとしている²⁰⁾。

その他の環境条件として、日照^{86, 106, 129)}、年次による差^{191, 192)}、時刻による違い^{25, 94, 105)}、気温⁵⁾などとの関係も調べられている。

b) 埋蔵中における SC の変化

刈取られた牧草が実際にサイロに詰込まれる前の予乾過程で、条件によっては植物の呼吸作用のために SC が分解する可能性がある。一般に、速やかに日乾すれば分解は軽度であるが¹⁴¹⁾、時によってかなり減少している例もある²⁰⁾。

それよりも著しい SC の減少が起こるのは、サイロにきわめて軽く詰められ、密封不完全で空気の侵入があるような場合である。KEARNEY らは、密に詰込み密封する前に、軽く袋に詰めておく時間が長いほど、糖の量が少なくなり、それに応じて、サイレージの乳酸が少なく酪酸が多くなることを認めている⁶¹⁾。

通常の高水分サイレージにおいては、埋蔵中に SC はほとんど消費されてしまうことがひろく認められている^{97, 138, 210)}。ただし、詰込み前に予乾処理を施した場合には、発酵が抑制されるため、最終的に SC が若干残存していることが多い^{100, 138, 141)}。

前述のように、牧草中の主要な SC はグルコース、フルクトース、ショ糖およびフルクトサンであるが、後の二者は詰込み後に速やかに分解される。したがって、グルコースとフルクトースの2種類の糖が微生物によって利用されることになる。ところで全体としてのフルクトースとグルコースの比率は、ペレニアルライグラスでは1.1~3.7の範囲で⁸⁶⁾、またイタリアンライグラスでは1.7~3.9の範囲で¹⁹⁸⁾変動することが認められている。

第1表 乳酸菌による炭水化物の発酵

ホモ型発酵	
(a) グルコース	1 モル → 乳酸 2 モル
(b) フルクトース	1 モル → 乳酸 2 モル
(c) ペントース	1 モル → 乳酸 1 モル + 酢酸 1 モル
ヘテロ型発酵	
(a) グルコース	1 モル → 乳酸 1 モル + エタノール 1 モル + CO ₂ 1 モル
(b) フルクトース	3 モル → 乳酸 1 モル + マンニッ ト 2 モル + 酢酸 1 モル + CO ₂ 1 モル
(c) ペントース	1 モル → 乳酸 1 モル + 酢酸 1 モル

一方、乳酸菌による糖の発酵形式の主なもの第1表のとおりであり、したがって、ホモ型の乳酸菌の場合には上記2種の糖の乳酸生産効率には差がないが、ヘテロ型の乳酸菌による場合には、フルクトースはグルコースより劣るとされている¹⁹⁸⁾。

McDONALD らは、イタリアンライグラスの低水分サイレージ調製の際の物質変化を詳細に調べ、予乾が進み乾物含量が高くなったものほど、サイレージに残存する糖の量が多くなり、発酵が抑えられることを示し、さらに各々の糖、有機酸、エタノール、マンニット等の各種成分を測定して、諸種の発酵形式の可能性を論じている¹⁰⁰⁾。

ANDERSON らは、予乾処理によって乾物含量を19.8~45.0%の範囲とした牧草について、サイレージ調製の際の物質変化、とくに炭水化物の変化を調べ、予乾サイレージにとくにマンニットが多いことから、予乾サイレージでは乳酸菌によるフルクトースのヘテロ型発酵、高水分サイレージでは同じくホモ型発酵を推定している²⁾。彼らはさらに予乾材料に糖蜜を加えてフルクトース:グルコース比を低くして詰込み、マンニットの生成量を少なくする効果を認めている⁸⁾。

以上のように、SC が乳酸発酵を促進することはよく

知られており、したがって、SC の少ない材料を用いる場合に、これを含む添加物 一多く用いられているのは産業的理由から糖蜜であるが一を用いて良質サイレージが出来ることを立証した実験は枚挙にいとまがない^{53,139,147,175,197}。

なお、糖蜜吸着物、粉碎トウモロコシ、トウモロコシデンプン、可溶性デンプン、デキストリンはそれぞれ乳酸の生成を増大する効果があるが、いずれもグルコースそのものには及ばないことが報告されている¹³⁹。

放射性炭素 (^{14}C) を含むシヨ糖を添加してサイレージ調製実験を行ない、その行方を調べる実験が HARTFIEL らによって行なわれ、47 日の埋蔵後に、 ^{14}C の約 20% が炭酸ガスの中に、約 25% が有機酸 (乳酸、酢酸、酪酸) の中に見出されたとしている⁴⁷。

c) 生成された酸と消費された SC の量的関係

詰込み材料の SC が乳酸その他の有機酸に変化することは前述のとおりであるが、生成された酸の総量と最初に存在した SC の量との関係については、2 とおりの結果が報告されている。すなわち、前者が後者より少ないとするもの^{96,140}) とその逆の場合^{4,72,77,140}) とである。発酵中におけるガスとしての損失などを考慮すれば、前者の方が妥当であると考えられる。しかし、屢々後者すなわち、生成された酸の量が消失した SC の量より多くなるのはいかなる理由によるものであろうか。

これについては、(1) ヘミセルロース、(2) アミノ酸 (3) 材料作物の有機酸、のいずれかに由来することが考えられる。

ヘミセルロースがサイレージ調製過程で減少する場合があることは報告されており、その理由としては、植物の酵素、または微生物の酵素による分解、あるいは酸による化学的な分解などの可能性が指摘されている^{28,48,97,100,210}。

最近、GOERING らは、 ^{14}C で標識した小麦の細胞壁成分 (主としてヘミセルロース、セルロースおよびリグニンより成る) をオーチャードグラス粉末に混ぜ、水を加えてモデルサイレージを調製して ^{14}C の行方を調べた³³。その結果、 ^{14}C は、水溶性区分、有機酸および炭酸ガスの中に認められるようになり、最初は乳酸および酢酸の ^{14}C が同様な速度で増大した。そして、 ^{14}C で標識した細胞壁成分の約 8% が分解し、その 80% が有機酸の中に、4.5% が炭酸ガスの中に認められたとしている。このように、ヘミセルロース等が発酵に利用されることは実証されている。

また、品質の悪いサイレージにおいては多量の VBN (そのほとんどはアンモニアと考えられる⁶⁶) が存在す

るが、このような場合には、酪酸のみならずさらに高級な VFA がかなりの量生成されている。このことから蛋白質の分解 (後述) によってできたアミノ酸がさらに脱アミノを受けて VFA になることも十分推察される。

さらに WHITTENBURY らは、材料植物に存在するリンゴ酸、クエン酸などの有機酸が VFA になる経路を第 2 表のように推定している¹⁹⁸。

第 2 表 乳酸菌による有機酸の発酵

(a)	クエン酸 1 モル	→	酢酸 2 モル + 乳酸 1 モル + CO_2 1 モル
	クエン酸 2 モル	→	酢酸 2 モル + アセトイン 1 モル + CO_2 4 モル
	クエン酸 2 モル	→	酢酸 3 モル + 乳酸 1 モル + CO_2 3 モル
(b)	リンゴ酸 1 モル	→	乳酸 1 モル + CO_2 1 モル
	リンゴ酸 2 モル	→	アセトイン 1 モル + CO_2 4 モル
	リンゴ酸 1 モル	→	酢酸/エタノール 1 モル + 乳酸 1 モル + CO_2 1 モル

2. 蛋白質

a) 発酵に及ぼす蛋白質の影響

蛋白質含量の高い牧草を材料にすると、品質の良好なサイレージができていくことは、ひろく知られている。施肥とサイレージの品質の関係を調べた研究においても、ほとんどの場合、窒素肥料の施用によって材料牧草の粗蛋白質含量が増加し、かつ、これを用いて調製したサイレージの品質は悪くなるという結果が得られている^{29,37,69}。

では、何故に高蛋白条件が悪いのであろうか？

サイレージ調製の難易を知る目安として SC (古くは NFE) と粗蛋白質の比率が取上げられることが屢々ある^{37,67}。一方、一般に、生育時期、施肥などと関連して、蛋白質が多いことは SC が少ないことと結びついている。そこで、むしろ後者が主な原因であって、蛋白質そのものは悪影響がないのではないかと考えられる。

この点を確かめるために、大山らは、種々の SC 含量 (グルコース添加処理を含む) の材料について詰込みの際にグルテンを添加してその影響を調べた。その結果、(1) 対照区もグルテン添加区も共に良質となる例、(2) 対照区は良質で、添加区が劣質となる例、(3) 対照区の品質が悪く、グルテン添加によってさらに品質が劣化する例、と 3 種類の型が認められた^{139,142,148}。これより、糖の量如何にかかわらず、高蛋白条件が品質を劣化する影響を示す場合が確かにあることがわかった。しかし常にこれが起こるわけではなく、その条件については今後の検討を要する。なお、蛋白質添加による悪影響は、詰込

み後 2 週間頃ないしそれ以降において現われることも認められている¹⁴⁸⁾。

蛋白質ないしはその分解生成物の緩衝作用が乳酸発酵による pH の低下を妨げ、酪酸菌の増殖を阻止できなくなるという可能性もあるが、蛋白質の緩衝作用は全体の 10~20 % に過ぎないとされている¹⁵⁶⁾。これについては後の項で詳しく述べる。

b) 埋蔵中の蛋白分解

サイレージ調製の際に蛋白質が著しく分解することは、つとに知られている^{1,197)}。すなわち、材料牧草中の蛋白態窒素は全窒素の 80 % 内外であるが、サイレージにおいてはこれが 50 % 以下になることも稀ではない¹⁸⁵⁾。

サイレージ埋蔵過程における蛋白質の分解は、蛋白質が加水分解されて遊離アミノ酸が出来る第 1 段階と、アミノ酸がさらに分解されてアンモニアあるいはアミン類が生ずる第 2 段階とに分けられる。

そして、種々の方法によって、植物体の蛋白分解酵素の作用と微生物の作用とを分離して検討した結果、第 1 段階の分解は主として植物の酵素によるものであり、第 2 段階の分解は微生物の作用によるものであることが認められている^{13,24,62,93,197)}。

植物茎葉の蛋白分解酵素については、TRACEY¹⁸⁸⁾、BRADY¹⁴⁾、SINGH¹⁶⁷⁾らによって研究され、最適 pH 5~6 で、システイン、チオグリコール酸ナトリウムのような還元剤によって活性化される酵素であることが認められている。また、水分が急速に逸散しない状態においた場合に、顕著な蛋白分解が起こりアミノ酸が遊離されること^{69,87)}、さらに、植物体を細切して好氣的に incubate したり、直接ブレンダーで磨砕したりした場合には、蛋白分解が著しく阻害されること¹³⁷⁾、などが明らかにされている。これに関連して、埋蔵後しばらく空気を導入すると、蛋白質の第 1 段階の分解は抑制されることが認められている¹⁴⁹⁾。

第 1 段階の分解は、急速に pH が低下する条件ではある程度抑制されるが^{71,161,197)}、一般のサイレージ調製の場合にこの分解が起こることは避けられないものであり、しかもこれは直接サイレージの劣化とは対応せず、サイレージの劣化に結びつくものは第 2 段階の分解であることが明らかにされている^{62,143,149)}。

なお、第 1 段階の分解の速度は温度が高い方が早く行なわれることが認められている^{86,151)}。

また、予乾処理を行なっている過程で蛋白質の分解が起こるか否かは、条件によって異なるが、短時間の予乾であれば、分解の程度は僅かであると考えられる^{13,30,141)}。そして、予乾材料と新鮮材料との埋蔵中における蛋

白分解の程度の差についても、前者の方が軽度であるという成績^{80,112,197)}と、ほとんど差がないという成績^{13,141)}とが報告されており、これまた条件によって異なるものと思われる。なお、かなり予乾を行なって水分含量を低くした草においても、自己分解はかなり起こることが認められている¹³⁷⁾。

なお、埋蔵後期に蛋白態窒素の減少がひきつづき起こる場合も認められている^{30,62,149)}ことから、とくに品質が劣化するときには、微生物による第 1 段階の分解も起こる可能性は十分考えられる。

さきに、品質の悪いサイレージにおいては、蛋白質の第 2 段階の分解が著しく、したがって VBN/TN 比が高くなり、これが酪酸含量の高いことと対応すると述べた。ところが、最近 WHITTENBURY らは、サイレージに存在する clostridia には proteolytic clostridia と saccharolytic clostridia の 2 種類があり、前者はアミノ酸の脱アミノと脱炭酸を行ない、後者は乳酸を分解して酪酸、炭酸ガスおよび水素を生成すると述べている¹⁹⁸⁾。これより、酪酸が認められなくても VBN が高くて劣質の場合^{20,203)}と、酪酸が存在しても VBN 比が低い場合²⁾とがあることが説明できるかも知れない。

c) 遊離アミノ酸、アミン

サイレージにおける遊離アミノ酸の種類については数多くの報告があるが、これはサイレージの品質すなわち発酵形態と関係していることが知られている。

一般に、蛋白質の分解の結果生じた遊離アミノ酸は埋蔵中に減少し、その程度は劣質サイレージの場合に顕著であることが知られている^{62,65,163,164)}。これは、劣質サイレージにおいて、アンモニアが多量に生成することと対応している。

サイレージ中に認められる遊離アミノ酸は大部分が材料作物の蛋白質を構成するアミノ酸であるが、特徴的な点は次のとおりである。

第 1 に、 γ -アミノ酪酸がかなり普遍的に存在する^{51,65,71,92,132)}。 γ -アミノ酪酸は wilting によっても増加することが認められている⁸⁹⁾。

第 2 に、アラニンの量がサイレージ埋蔵過程において著しく多くなる。なお、条件によって、これは一旦増加した後消失することもある^{62,65,132a,165)}。

第 3 に、 β -アラニンの存在が認められることがある⁶⁵⁾。

第 4 に、品質の悪いサイレージにおいては、 α -アミノ酪酸^{62,166,169)}、 δ -アミノ吉草酸^{50,60)}の生成が認められている。以上のような特徴的なアミノ酸の出現は、埋蔵過程におけるアミノ酸の代謝の特質を示すものとして興

味深い。なお、これより、 α -アミノ酪酸、 δ -アミノ吉草酸およびカダベリン（後述）を劣質サイレージの指標とすることも提唱されている⁶⁴⁾。

前述のように、アミノ酸の代謝の形式には、脱アミノ反応によるアンモニアと脂肪酸の生成のほか、脱炭酸反応によるアミンの生成が想定されるが^{10,197)}、事実サイレージにおいては種々のアミンの存在が証明されている。すなわち、チラミン^{88,116,117,135)}、ヒスタミン^{88,136)}、トリプタミン^{88,190)}、エタノールアミン²⁸⁾の存在が報告されている。

MACPHERSON らは、サイレージ中のオルニチン、プトレシンおよびカダベリンを定量し⁹⁰⁾、アルギニン、リジンの分解によるこれらの生成は、埋蔵の初期に急速に pH が低下する場合に抑制されると報告している⁹¹⁾。

また、JACKSON は、諸種のサイレージについて揮発性

塩基の内容を調べ、その 97.8~99.5% はアンモニアであり、残りはエチルアミンおよびトリメチルアミンであることを認めている。そして、前者は α -あるいは β -アラニンから、後者はコリン、ベタイン、あるいはアルカロイドの分解によって生じたものと推定している⁵⁶⁾。

Voss は、サイレージ中のチラミンの量は、材料牧草の乾物含量が高くなるほど、また、生育期が進むほど、そして、粗蛋白質含量が低くなるほど、少なくなることを認めている¹⁹⁰⁾。また、HOUGHS は、非揮発性のアミンと塩基性アミノ酸の定量法を検討し、サイレージ中にチラミン、カダベリン、プトレシン、ヒスタミンの他に β -フェニルエチルアミンの存在を報告している⁶⁰⁾。

前記のようなサイレージに特有なアミノ酸およびアミンの生成経路については、次のように考えることができる⁵³⁾。すなわち、チラミン、ヒスタミン、トリプタミン、

第2図 サイレージに関係あるアミノ酸の代謝

カダペリン, およびエタノールアミンは, それぞれ対応するアミノ酸であるチロシン, ヒスチジン, トリプトファン, リジンおよびセリンよりの脱炭酸によって生成される。

アルギニンの代謝経路としては第2図Ⅰに示すようにアグマチン, オルニチン, シトルリンおよびブトレシンを生ずることが知られているので, これらの化合物がサイレージに存在することは説明できる。δ-アミノ吉草酸の生成経路としては, 第2図Ⅱのようにリジンに起源を有する経路が知られている。

アスパラギン酸およびグルタミン酸は新鮮植物中に多量に存在する。よって, 前者から2種の脱炭酸によってそれぞれアラニンとβ-アラニンが生成されること(第2図Ⅲ), とくにアラニンがサイレージ中にきわめて多いことが説明できる。グルタミン酸については, アミノ基に隣接するカルボキシル基が除かれることによってγ-アミノ酪酸が生成される経路が知られているが(第2図Ⅳ), アスパラギン酸の場合と異なり, もう一方のカルボキシル基が除かれてα-アミノ酪酸になる経路は知られておらず, α-アミノ酪酸の生成経路としては第2図Ⅴのようにスレオニンあるいはメチオニンよりの経路が知られている。かなり以前に ROBERTSON らは, 磨砕したケールを incubate した実験において, α-アミノ酪酸が出来る場合にはスレオニンが消失することを認めている¹⁵⁹⁾。

なお, クローバーの汁液に ¹⁴C-アスパラギン酸あるいは ¹⁴C-グルタミン酸を添加して incubate し, それぞれ, ¹⁴C がアラニンあるいはγ-アミノ酪酸に移行したことを認めた報告がある¹³³⁾。

以上のように, サイレージ中には多量の非蛋白態窒素(NPN)化合物が存在するが, これらをアンモニア態窒素, アמיד態窒素, アミノ態窒素, ペプチド態窒素として分別定量すると, なお, これらのいずれにも属さない未同定窒素がかなり存在することになるとする報告がある^{18,16,62,92,139,140)}。生の牧草中の NPN は, ほとんど上記の各形態の窒素によって説明できること¹³⁾から, サイレージ調製中に, 特殊な窒素化合物が生成されるという可能性がある。しかし, 各アミノ酸ならびにアンモニアを定量して, サイレージ中の NPN はほとんどこれらによって説明できるとする報告もある⁶⁵⁾ので, この点についてはさらに検討が必要であらう。

なお, 材料植物中に存在する硝酸塩ならびにその分解に関する研究があるが, ここでは詳細は省略し, 一般にサイレージ調製過程で硝酸塩が減少するという点を記すにとどめる^{9,58,203,209)}。

3. 緩衝作用

すでに述べたように, 予乾せぬ新鮮な作物を用いて良質のサイレージが調製されるためには, 糖から多量の乳酸が生成され, これによって pH が低下し, 酪酸菌の増殖が阻止されることが必要である。しかし, この場合, 植物の有する緩衝能によって pH の低下が妨げられることがあれば, 酪酸発酵が抑制されず, 品質の低下をもたらす可能性がある。かかる観点から, 緩衝作用について注目され, かなりの報告が現われている。

すなわち, SMITH は, 1モルのヘキソースから2モルの乳酸が生成するとして, 乳酸の解離常数から計算すると, pH を 4.0 にするために理論的に必要なヘキソースの量は乾物中わずか 0.13% であるが, アルファルファの場合, 実際には 6~7% のヘキソースが必要になるとし, これは主として緩衝作用のためだと説明している¹⁶⁸⁾。

また, GREENHILL は, 季節, 生育時期, 時刻, 予乾処理などと, 牧草の緩衝能の強さの関係を調べ, 埋蔵過程における緩衝能の増大にうちかつだけの酸生成の速度が, サイレージ調製の成否を決めるとしている⁴⁹⁾。

かなり古く, WILSON は, 飼料作物の成分が有機酸および無機酸を中和する力を測定し, マメ科植物の方が他の植物より pH 1 単位を下げるのに多くの酸を必要とすることを示した。そして, 蛋白質含量の高いことがこれと関係していると論じている²⁰⁵⁾。同様に高蛋白材料を用いた場合に良質サイレージが調製しにくい事実を, 緩衝作用と結びつけた報告がある⁹⁹⁾。

しかし, McDONALD らは, 乳酸に対する緩衝能が, マメ科の方がイネ科よりも強いこと, またイネ科の中ではオーチャードが最大であるとし, これがサイレージ調製の困難さに対応することを認めながらも, マメ科に多く含まれる蛋白質そのものが緩衝作用の原因ではなく, 有機酸の塩が重要な役割を果たすと述べている⁹⁸⁾。

さらに彼らは, 数種の牧草およびこれらより調製されたサイレージの緩衝能が, 草種によって異なること, サイレージでは材料草の 2~3 倍になることなどを認め, 蛋白質の緩衝能は全体の 10~20% に過ぎないとしている。そして, イタリアンライグラスではリンゴ酸とクエン酸が, 赤クローバーではグリセリン酸とリンゴ酸が主な有機酸であり, 緩衝能の大部分はこれらの有機酸によるものであるとしている。また, 埋蔵過程で上記の有機酸は分解し, サイレージにおける緩衝能の増加は乳酸塩および酢酸塩によるものだとしている¹⁵⁶⁾。

以上のような緩衝能との関係ならびに, サイレージにおける物質変化の収支を明確に把握するという立場から, 最近, サイレージにおける乳酸, VFA 以外の有機

酸に関心がもたれるようになり、これらを定量した成績がかなり報告されている。

PLAYNE らは、無菌的に栽培したチモシーを用い、乳酸菌接種の有無に分けて incubate して、コハク酸、リンゴ酸等の有機酸の変化に關与する植物酵素と細菌酵素の作用を解析している¹⁶⁷⁾。

また、サイレージ埋蔵過程におけるコハク酸の増加を報じた報告は少なくない^{20,166,167)}。

以上のように、サイレージ発酵における緩衝作用は興味深い問題であるが、これがサイレージの品質といかに関係するにつについては、また新しい観点から研究される必要があると思われる。たとえば、実験室サイロにおいて、高水分条件で、乳酸の生成がさほど大きくなく pH の低下は十分でなくとも、酪酸の生成が認められず品質が劣化しないことがある^{139,142,146)}。また、炭酸カルシウムをグルコースとともに添加してサイレージを調製すると、pH は非常に高いが、きわめて多量の乳酸が生成され、酪酸の生成は皆無になるという成績もある¹³⁹⁾。これについては、pH のみではなく、乳酸の濃度そのものが酪酸菌の増殖を抑制しているという可能性もある¹⁰⁴⁾。

一方、埋蔵過程で一旦 pH が 4 近くないしそれ以下になっても、その後乳酸が減少し、最終的には品質が劣化する例がかなり報告されている^{30,59,72,122,148)}。

む す び

以上紹介したように、サイレージ発酵に關係する微生物的、物理的および化学的要因ならびにサイレージ埋蔵中における物質変化については、古くより研究が行なわれ、多くのことが明らかにされた。

しかしながら、残されている問題も少なくない。とくに、サイレージ埋蔵過程における物質変化の詳細を知ること、もっとも重要なことのひとつと思われる。近年における機器分析技術の進歩は、従来“乳酸・酢酸・酪酸”で片づけられていたサイレージ中の多種の物質の動態をより詳細に解明することを可能にしている。

これらの物質変化は主として微生物によって行なわれると考えられるが、最初に述べたように、この場合の微生物は孤立したものではなく、サイレージ調製過程における物理的、化学的諸要因との関係ならびに他の微生物との生態的関連のもとに存在しているものである。

以上のことから、サイレージ発酵の研究にあたっては、つねに、問題を他の諸要因との関連において全体的に把握し、また、時間的要因を考慮して動的にとらえることが重要と考えられる。また、サイレージにおける一般性と特殊性との関係の理解の上に、普遍的な法則性を

見出すことが必要であろう。

文 献

- 1) ALLEN, L. A., J. HARRISON, S. J. WATSON and W. S. FERGUSON (1937) J. Agr. Sci., 27: 271-293.
- 2) ANDERSON, B. K. and N. JACKSON (1970) J. Sci. Food Agr., 21: 228-234.
- 3) ANDERSON, B. K. and N. JACKSON (1970) *ibid.*, 21: 235-241
- 4) ARCHIBALD, J. G. (1953) J. Dairy Sci., 36: 385-390.
- 5) ARCHIBALD, J. G. (1961) *ibid.*, 44: 511-514.
- 6) BAILEY, R. W. (1958) J. Sci. Food Agr., 9: 743-747.
- 7) BAILEY, R. W. (1958) *ibid.*, 9: 748-753.
- 8) BAILEY, R. W. (1964) N. Z. J. Agr. Res., 7: 496-507.
- 9) BARNETT, A. J. G. (1952) Nature, 169: 459-461.
- 10) BARNETT, A. J. G. (1954) Silage Fermentation. Butterworths Scientific Publication, London.
- 11) BAXTER, H. D., J. R. OWEN and D. R. WALDO (1966) J. Dairy Sci., 49: 1441-1445.
- 12) BECK, Th. and F. GROSS (1964) Wirtschafts-eigene Futter, 10: 298-312.
- 13) BRADY, C. J. (1960) J. Sci. Food Agr., 11: 276-284.
- 14) BRADY, C. J. (1961) Biochem. J., 78: 631-640.
- 15) BRADY, C. J. (1965) J. Sci. Food Agr., 16: 508-513.
- 16) BRADY, C. J. (1966) Aust. J. Biol. Sci., 19: 105-122, 123-130.
- 17) BREIREM, K. and O. ULVESLI (1960) Herb. Abstr., 30: 1-8.
- 18) BROWN, W. O. and J. A. M. KERR (1965) J. Brit. Grassland Soc., 20: 227-232.
- 19) BROWN, W. O. and N. JACKSON (1967) *ibid.*, 22: 135-140.
- 20) CARPINTERO, M. C., A. J. HOLDING and P. McDONALD (1969) J. Sci. Food Agr., 20: 677-681.
- 21) COUCHMAN, J. S. (1959) J. Aust. Inst. Agr. Sci., 25: 315-319.
- 22) DERIAZ, R. E. (1961) J. Sci. Food Agr., 12: 152-160.
- 23) DEWAR, W. A., P. McDONALD and R. WHITTEN-BURY (1963) *ibid.*, 14: 411-417
- 24) DURAND-SALOMON, M. and S. Z. ZELTER (1960) Proc. 8 th Int. Grassland Congr., 510-514.
- 25) EAGLES, C. F. (1967) J. Sci. Food Agr., 18: 186-187.
- 26) 遠藤 明 (1957) 農化, 31: 845-848, 849-853.
- 27) FLIEG, O. (1938) Futterbau u. Gärfutterbereitung, 1: 1-8.
- 28) FOWLER, H. D. (1962) Ir. J. Agr. Res., 1: 212.
- 29) FOX, J. B. and S. M. BROWN (1969) J. Brit.

- Grassland Soc., 24: 23-24.
- 30) 藤田 裕・神谷俊雄・重野嘉吉 (1962) 岐大農研報, 16: 301-305.
- 31) GIBSON, T., A.C. STIRLING, R.M. KEDDIE and R.F. ROSENBERGER (1958) J. Gen. Microbiol., 19: 112-129.
- 32) GIBSON, T., A.C. STIRLING, R.M. KEDDIE and R.F. ROSENBERGER (1961) J. Appl. Bacteriol., 24: 60-70.
- 33) GOERING, H.K., L.W. SMITH, S. LAKSMANAN and C.H. GORDON (1970) Agron. J., 62: 532-535.
- 34) GORDON, C.H., H.M. IRVIN, C.G. MELIN, H.G. WISEMAN and J.R. MCCALMOUNT (1957) J. Dairy Sci., 40: 789-799.
- 35) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE, H.G. WISEMAN, E.A. KANE and C.G. MELIN (1961) *ibid.*, 44: 1299-1311.
- 36) GORDON, G.H., J.C. DERBYSHIRE, W.C. JACOBSON, C.G. MELIN and J.R. MCCALMOUNT (1963) Agron. J., 55: 314-316.
- 37) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE, H.G. WISEMAN and W.C. JACOBSON (1964) J. Dairy Sci., 47: 987-992.
- 38) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE, W.C. JACOBSON and J.L. HUMPHREY (1965) *ibid.*, 48: 1062-1068.
- 39) GORDON, C.H., J.C. DERBYSHIRE and J.R. MENEAR (1967) *ibid.*, 50: 1109-1115.
- 40) GOUDCOV, A.V. and M.E. SHARPE (1965) J. Appl. Bacteriol., 28: 63-73.
- 41) GOVET, P., N. FATIANOFF, S.Z. ZELTER, M. DURAND and R. CHEVALIER (1965) Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 5: 79-100.
- 42) GREENHILL, W.L. (1964) J. Brit. Grassland Soc., 19: 30-37.
- 43) GREENHILL, W.L. (1964) *ibid.*, 19: 231-236.
- 44) GREENHILL, W.L. (1964) *ibid.*, 19: 336-339.
- 45) GREENHILL, W.L. (1964) Aust. J. Agr. Res., 15: 511-519.
- 46) GROSS, F. and TH. BECK (1969) Bayer. Landw. Jb., 46: 370-388.
- 47) HARTFIEL, W. and B. MARQUERING (1968) Wirtschaftseigene Futter, 14: 102-111.
- 48) HARWOOD, V.D. (1954) J. Sci. Food Agr., 5: 276-277.
- 49) HIRST, E.L., D.J. MACKENZIE and C.B. WYLAM (1959) *ibid.*, 10: 19-26.
- 50) HUGHES, A.D. (1969) J. Agr. Sci., 72: 459-466.
- 51) HUGHES, A.D. (1969) J. Brit. Grassland Soc., 24: 193-194.
- 52) 井上司朗・小川キミエ・大山嘉信 (1965) 畜試研報, 9: 71-77.
- 53) 石木 眞・水上茂樹・水島昭二・和田 博 (1966) Metabolic Maps. 共立出版, 東京.
- 54) JACKSON, N. (1969) J. Brit. Grassland Soc., 24: 17-22.
- 55) JACKSON, N. and B.K. ANDERSON (1968) J. Sic. Food Agr., 19: 1-4.
- 56) JACKSON, R.B. (1964) *ibid.*, 15: 308-312.
- 57) JACOBSON, W.C. and H.G. WISEMAN (1962) J. Dairy Sci., 45: 664.
- 58) JACOBSON, W.C. and H.G. WISEMAN (1963) *ibid.*, 46: 617-618.
- 59) JONES, D.I.H. (1970) J. Agr. Sci., 75: 293-300.
- 60) JONES, D.I.H., G. APGRIFFITH and R. J.K. WALTERS (1965) *ibid.*, 64: 323-328.
- 61) KEARNEY, P.C. and W.K. KENNEDY (1962) Agron. J., 54: 114-115.
- 62) KEMBLE, A.R. (1956) J. Sci. Food Agr., 7: 125-130.
- 63) KEMBLE, A.R. and H.T. MACPHERSON (1954) Biochem. J., 58: 46-49.
- 64) KIRCHMEIER, O. (1965) Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk., 20: 271-273.
- 65) KIRCHMEIER, O. and F. KIERMEIER (1962) *ibid.*, 17: 264-271.
- 66) KISHONTI, E. and G. SJÖSTRÖM (1967) Milch-wissenschaft, 22: 292-301.
- 67) KROULIK, J.T., L.A. BURKEY and H.G. WISEMAN (1955) J. Dairy Sci., 38: 256-262.
- 68) KROULIK, J.T., L.A. BURKEY, C.H. GORDON, H.G. WISEMAN and C.G. MELIN (1955) *ibid.*, 38: 263-272.
- 69) LAIDLAW, R.A. and S.G. REID (1952) J. Sci. Food Agr., 3: 19-25.
- 70) LANCASTER, R.J. and M. McNAUGHTON (1961) N.Z.J. Agr. Res., 4: 504-515.
- 71) LANDIS, J. (1960) Proc. 8th Int. Grassland Congr., 625-628.
- 72) LANGSTON, C.W., H. IRVIN, C.H. GORDON, C. BOUMA, H.G. WISEMAN, C.G. MELIN and L.A. MOORE (1958) U.S.D.A. Tech. Bull., No. 1187, pp. 73.
- 73) LANGSTON, C.W. and C. BOUMA (1960) Appl. Microbiol., 8: 212-222.
- 74) LANGSTON, C.W. and C. BOUMA (1960) *ibid.*, 8: 223-234.
- 75) LANGSTON, C.W. and C. BOUMA (1960) J. Dairy Sci., 43: 1575-1584.
- 76) LANGSTON, C.W., C. BOUMA and R.M. CONNER (1962) *ibid.*, 45: 618-624.
- 77) LANGSTON, C.W., H.G. WISEMAN, C.H. GORDON, W.C. JACOBSON, C.G. MELIN and L.A. MOORE (1962) *ibid.*, 45: 396-402.
- 78) LANIGAN, G.W. (1961) Aust. J. Agr. Res., 12: 1023-1038.
- 79) LANIGAN, G.W. (1963) Aust. J. Biol. Sci., 16: 606-615.

- 80) LANIGAN, G.W. (1965) *ibid.*, 18: 555-563.
- 81) LANIGAN, G.W. and V.R. CATCHPOOLE (1962) Aust. J. Agr. Res., 13: 853-863.
- 82) LAUBE, W. and F. WEISSBACH (1967) Arch. Tierernähr., 17: 361-368.
- 83) LESINS, K. and F.H. SCHULZ (1968) Can. J. Anim. Sci., 48: 15-25.
- 84) LEWIS, V.J., C.W. MOSS and W.L. JONES (1967) Can. J. Microbiol., 13: 1033-1040.
- 85) MACKENZIE, D.J. and C.B. WYLAM (1957) J. Sci. Food Agr., 8: 38-45.
- 86) MACPHERSON, H.T. (1952) *ibid.*, 3: 362-365.
- 87) MACPHERSON, H.T. (1952) *ibid.*, 3: 365-367.
- 88) MACPHERSON, H.T. (1962) *ibid.*, 13: 29-32.
- 89) MACPHERSON, H.T. and J.S. SLATER (1959) Biochem. J., 71: 654-660.
- 90) MACPHERSON, H.T. and P. VIOLANTE (1966) J. Sci. Food Agr., 17: 124-127.
- 91) MACPHERSON, H.T. and P. VIOLANTE (1966) *ibid.*, 17: 128-130.
- 92) MACPHERSON, H.T. and R.A. WALL (1970) *ibid.*, 21: 129-130.
- 93) MACPHERSON, H.T., C.B. WYLAM and S. RAMSTAD (1957) *ibid.*, 8: 732-739.
- 94) 松本達郎・阿部範男・早川 実 (1963) 日草誌, 9: 8-12.
- 95) McCULLOUGH, M.E. (1961) J. Anim. Sci., 20: 288-290.
- 96) McCULLOUGH, M.E. and A.R. STASCH (1959) J. Agr. Food Chem., 7: 210-212.
- 97) McDONALD, P., A.C. STIRLING, A.R. HENDERSON, W.A. DEWAR, G.H. STARK, W.G. DAVIE, H.T. MACPHERSON, A.M. REID and J. SLATER (1960) Edinburgh Sch. Agr., Tech. Bull., No. 24, pp 83.
- 98) McDONALD, P. and A.R. HENDERSON (1962) J. Sci. Food Agr., 13: 395-400.
- 99) McDONALD, P., A.R. HENDERSON and R. WHITTENBURY (1966) *ibid.*, 17: 476-480.
- 100) McDONALD, P., A.R. HENDERSON and A.W. MACGREGOR (1968) *ibid.*, 19: 125-132.
- 101) McDONALD, P., A.C. STIRLING, A.R. HENDERSON and R. WHITTENBURY (1962) *ibid.*, 13: 581-590.
- 102) McDONALD, P., A.C. STIRLING, A.R. HENDERSON and R. WHITTENBURY (1964) *ibid.*, 15: 429-436.
- 103) McDONALD, P., A.C. STIRLING, A.R. HENDERSON and R. WHITTENBURY (1965) *ibid.*, 16: 549-557.
- 104) McDONALD, P., S.J. WATSON and R. WHITTENBURY (1966) Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk., 21: 103-110.
- 105) MELVIN, J.F. (1965) Aust. J. Agr. Res., 16: 951-960.
- 106) MELVIN, J.F. and M.A. SUTHERLAND (1961) Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb., 1: 153-155.
- 107) 三浦高義・加藤康彦・本好茂一・山崎九市・鍵和田和男・光岡知足・越智勇一 (1965) 日畜会報, 36: 308-316.
- 108) 森地敏樹・大山嘉信 (1971) 日畜会報, 投稿中.
- 109) MUNDT, J.O. and J.L. HAMMER (1968) Appl. Microbiol., 16: 1326-1330.
- 110) MURDOCH, J.C. (1960) J. Brit. Grassland Soc., 15: 70-73.
- 111) MURDOCH, J.C. (1961) *ibid.*, 16: 253-259.
- 112) MURDOCH, J.C., D.A. BALCH, M.C. HOLDSWORTH and M. WOOD (1955) *ibid.*, 10: 181-188.
- 113) MURDOCH, J.C. and M.C. HOLDSWORTH (1960) *ibid.*, 15: 240-245.
- 114) NASH, M.J. (1959) *ibid.*, 14: 107-116.
- 115) NASH, M.J. (1959) *ibid.*, 14: 177-182.
- 116) NEUMARK, H. (1961) Nature, 190: 839.
- 117) NEUMARK, H. (1962) *ibid.*, 195: 626-627.
- 118) NEUMARK, H., A. BONDI and R. VOLCANI (1964) J. Sci. Food Agr., 15: 487-492.
- 119) NILSSON, P.E. (1956) Arch. Mikrobiol., 24: 396-411.
- 120) NILSSON, G. and P.E. NILSSON (1956) Arch. Mikrobiol., 24: 412-422.
- 121) NILSSON, R., L. TOTH and C. RYDIN (1956) *ibid.*, 23: 366-375.
- 122) 西部慎三・荒 智・平尾厚司・名久井忠 (1965) 北農試彙報, 86: 76-80.
- 123) 西部慎三・箭原信男・荒 智 (1969) 北農, 36: (11)37-43.
- 124) 西山京子・小野村智子・有川勇二郎・小林邦彦・芥田三郎 (1970) 山口大農学報, 21: 129-138.
- 125) NORMAN, A.G. (1936) Biochem. J., 30: 1354-1362.
- 126) NORMAN, A.G. (1939) *ibid.*, 33: 1201-1208.
- 127) NORMAN, A.G. and H.L. RICHARDSON (1937) *ibid.*, 31: 1556-1566.
- 128) NOWAKOWSKI, T.Z. (1969) J. Sci. Food Agr., 20: 666-670.
- 129) NOWAKOWSKI, T.Z. and R.K. CUNNINGHAM (1966) *ibid.*, 17: 145-150.
- 130) 越智勇一・光岡知足・瀬賀利夫・池上竹二・三浦高義 (1965) 日畜会報, 36: 317-323.
- 131) 越智勇一・光岡知足・瀬賀利夫・池上竹二・三浦高義 (1965) 同誌, 36: 353-357.
- 132) 大島光昭・田先威和夫・柴田章夫 (1965) 同誌, 36: 488-494.
- 132a) 大島光昭・小川郁夫 (1968) 同誌, 39: 402-409.
- 133) 大島光昭 (1970) 同誌, 41: 97-103.
- 134) 大山嘉信 (1969) 日草誌, 15: 297-300.
- 135) 大山嘉信 (1969) 日畜会報, 40: 334-340.
- 136) 大山嘉信 (1969) 同誌, 40: 384-389.
- 137) 大山嘉信 (1970) 同誌, 41: 585-592.
- 138) 大山嘉信・井上司朗・小川キミエ (1966) 畜試研報, 10: 1-7.
- 139) 大山嘉信・榎木茂彦 (1968) 日畜会報, 39: 61-67.
- 140) 大山嘉信・榎木茂彦 (1968) 同誌, 39: 133-139.
- 141) 大山嘉信・榎木茂彦 (1968) 同誌, 39: 168-174.

- 142) 大山嘉信・榎木茂彦 (1969) 同誌, 40: 109-115.
- 143) 大山嘉信・榎木茂彦 (1969) 同誌, 40: 249-254.
- 144) 大山嘉信・榎木茂彦 (1970) 同誌, 41: 557-562.
- 145) 大山嘉信・榎木茂彦・滝川明宏 (1970) 同誌, 41: 620-624.
- 146) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹 (1970) 同誌, 41: 625-631.
- 147) 大山嘉信・榎木茂彦・滝川明宏・森地敏樹(1971) 同誌, 42: 1-8.
- 148) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹 (1971) 同誌, 42: 9-15.
- 149) 大山嘉信・榎木茂彦 (1971) 同誌, 42: 318-325.
- 150) 大山嘉信・榎木茂彦・滝川明宏・森地敏樹(1970) 同誌, 41(2)学会記事, 35 (57回大会講演)
- 151) 大山嘉信・榎木茂彦・森地敏樹 (1971) 同誌, 42 (増刊) 39-40 (59回大会講演)
- 152) 大山嘉信・小川 キミエ (1966) 同誌, 37: 336-343.
- 153) ORLA-JENSEN, S., A.D. ORLA-JENSEN and A. KJAER (1947) *Antonie van Leeuwenhoek*, 12: 97-114. ((72)より引用)
- 154) OWEN, F.G. and S.H. SENEL (1963) *J. Dairy Sci.*, 46: 993-994.
- 155) PAPENDICK, K. and G.A. BRUHN (1970) *Wirtschaftseigene Futter*, 16: 15-24.
- 156) PLAYNE, M.J. and P. McDONALD (1966) *J. Sci., Food Agr.*, 17: 264-268.
- 157) PLAYNE, M.J., A.C. STIRLING and P. McDONALD (1967) *ibid.*, 18: 19-20.
- 158) RAGUSE, C.A. and D. SMITH (1966) *J. Agr. Food Chem.*, 14: 423-426.
- 159) ROBERTSON, H. and A.J.A. BARNETT (1954) *J. Agr. Sci.*, 45: 36-40.
- 160) 佐々木西二 (1966) 乳酸菌の研究 (北原覚雄編) 東大出版会, 116-137.
- 161) 佐々木西二・佐々木 博 (1966) 日畜会報, 37: 451-457.
- 162) 佐々木西二・佐々木 博 (1966) 同誌, 37: 458-464.
- 163) SCHARRER, K. and K.O. BÄKER (1958) *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk.*, 13: 65-73.
- 164) SCHARRER, K. and K.O. BÄKER (1959) *ibid.*, 14: 108-113.
- 165) SHEPHERD, J.B., C.H. GORDON, H.G. WISEMAN, C.G. MELIN, L.E. CAMPBELL and G.D. ROANE (1953) *J. Dairy Sci.*, 36: 1190-1200.
- 166) SHEPHERD, J.B., R.E. HODGSON and W.J. SWETMAN (1946) *ibid.*, 29: 551-552.
- 167) SINGH, N. (1962) *J. Sci. Food Agr.*, 13: 325-332.
- 168) SMITH, L.H. (1962) *Agron. J.*, 54: 291-293.
- 169) SMITH, L.H. (1962) *Crop Sci.*, 2: 432-434.
- 170) SPRAGUE, M.A. and B.B. TAYLOR(1970) *Agron. J.*, 62: 749-753.
- 171) STIRLING, A.C. (1951) *Proc. Soc. Appl. Bacteriol.*, 14: 151-156.
- 172) STIRLING, A.C. and R. WHITTENBURY (1963) *J. Appl. Bacteriol.*, 26: 86-90.
- 173) 須藤 浩 (1968) サイレージの調製と利用法, 養賢堂, 東京.
- 174) 須藤 浩 (1967) 日畜会報, 38: 233-244.
- 175) 須藤 浩・内田仙二・坂本広司 (1967) 岡大農学報, 30: 37-50.
- 176) 須藤 浩・内田仙二 (1968) 同誌, 32: 35-42.
- 177) SVENSSON, L. and M. TVEIT (1964) *J. Sci. Food Agr.*, 15: 78-82.
- 178) 高橋正行 (1968) 日草誌, 14: 32-37.
- 179) 高橋正行 (1968) 同誌, 14: 38-43.
- 180) 高橋正行 (1968) 同誌, 14: 255-259.
- 181) 高橋正行 (1968) 同誌, 14: 260-265.
- 182) 高橋正行 (1969) 同誌, 15: 131-137.
- 183) 高橋正行 (1970) 富山県立大谷技術短大研報, 3: 10-14.
- 184) 高橋正行 (1970) 日草誌, 16: 98-104.
- 185) 高橋正行 (1970) 同誌, 16: 105-111.
- 186) 高野信雄・三股正年 (1959) 北農試報告, 52, pp. 83.
- 187) 高野信雄・山下良弘 (1970) 日草誌, 16: 22-28.
- 188) TRACEY, M.V. (1948) *Biochem. J.*, 42: 281-287.
- 189) 内田仙二・須藤 浩・原田征一 (1970) 岡大農学報, 36: 49-57.
- 190) VOSS, N. (1966) *Wirtschaftseigene Futter*, 2: 161-171.
- 191) WAITE, R. (1953) *J. Sci. Food Agr.*, 4: 257-261.
- 192) WAITE, R. (1957) *ibid.*, 8: 422-428.
- 193) WAITE, R. (1958) *ibid.*, 9: 39-43.
- 194) WAITE, R. (1965) *Proc. Nutr. Soc.*, 24: 38-46.
- 195) WAITE, R. and J. BOYD (1953) *J. Sci. Food Agr.*, 4: 197-204.
- 196) WATSON, S.J. and W.S. FERGUSON (1937) *J. Agr. Sci.*, 27: 1-42.
- 197) WATSON, S.J. and M.J. NASH (1960) *The Conservation of Grass and Forage Crops*. Oliver and Boyd, Edinburgh and London.
- 198) WHITTENBURY, R., P. McDONALD and D.G. BRYAN-JONES (1967) *J. Sci. Food Agr.*, 18: 441-444.
- 199) WIERINGA, G.W. (1958) *Neth. J. Agr. Sci.*, 6: 204-210.
- 200) WIERINGA, G.W. (1959) *ibid.*, 7: 237-241.
- 201) WIERINGA, G.W. (1960) *Proc. 8th. Int. Grassl. and Congr.*, 497-502.
- 202) WIERINGA, G.W. (1961) *Futterkonservierung*, 1: 27-35.
- 203) WIERINGA, G.W. (1966) *Proc. 10th Int. Grassl. and Congr.*, 537-540.
- 204) WIERINGA, G.W., SCHUKKING, D. KAPPELLE and S. DE HAAN (1961) *Neth. J. Agr. Sci.*, 9: 210-

- 216.
- 205) WILSON, J.K. (1935) J. Dairy Sci., 18: 317-325.
- 206) WILSON, J.K. and H.J. WEBB (1937) *ibid.*, 20: 247-263.
- 207) WILSON, R.K. (1969) Ir. J. Agr. Res., 8: 307-318.
- 208) WILSON, R.F., R.A. TERRY and D.F. OSBOURN (1969) J. Brit. Grassland Soc., 24: 119-122.
- 209) WISEMAN, H.G. and W.C. JACOBSON (1965) J. Agr. Food Chem., 13: 36-39.
- 210) WYLAM, C.B. (1953) J. Sci. Food Agr., 4: 527-531,
- 211) 山田豊一・高木啓輔 (1964) 日草誌, 10: 83-89.
- 212) ZIMMER, E. (1969) Berichte des 3 Kongr. der Europ. Grünland Vereinigung, 221-227.
- 213) ZIMMER, E. and C.H. GORDON (1964) J. Dairy Sci., 47: 652-653.