

氏名	Suraya Parvin
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第4016号
学位授与の日付	平成21年9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Bacterial Community Associated with the Ensiling of Tropical Grasses (暖地型牧草の貯蔵に関わる細菌群集)
論文審査委員	准教授 西野 直樹 教授 宮本 拓 教授 村田 芳行

### 学位論文内容の要旨

Lack of feed supply is a major constraint in animal production in the tropics. Tropical forages have good potential to ameliorate the deficiency in ruminants, but information is still insufficient on the utilization of tropical forages. It is generally held that acetic acid fermentation may proceed in tropical grass ensiling, while lactic acid fermentation may occur in temperate species. So far microflora associated with this property has not been yet clarified, and few studies have been made on tropical silages prepared with farm-scale silos. This study was aimed to evaluate the microflora associated with wilted tropical grass silage using laboratory-scale and practical silos.

Wilted guinea grass [dry matter (DM) 286 g/kg and DM 443 g/kg] and rhodes grass (DM 511 g/kg and DM 581 g/kg) were ensiled for 15, 30, 90, 180 days. Bacterial communities were assessed by plate culture (PC) and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Lactic acid was prevalent in both silages, whilst acetic acid increased as storage was prolonged. Both PC and DGGE analyses indicated that *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* and *Lactococcus lactis* were representative bacteria over the whole ensiling.

*L. plantarum* and *L. brevis* isolated from guinea grass silage were inoculated to wilted guinea grass (DM 476 g/kg) and stored for 30 and 90 days. Both strains accelerated lactic acid production, but acetic acid increased after 30 days even in *L. plantarum*-inoculated silage. Based on DGGE results from two experiments, tropical grass was assumed to proceed acetate fermentation without marked changes in bacterial community. Therefore, these results can emphasize the importance of metabolic changes in bacterial community rather than community structure.

To compare the effects of inoculation on tropical and temperate forages, rhodes grass (DM 503 g/kg), Italian ryegrass (DM 467 g/kg) and whole crop corn (DM 347 g/kg) were ensiled with or without *L. plantarum* and *L. brevis* for 30 days. Lactic acid production increased with the addition of *L. plantarum* in all silages, whereas *L. brevis* enhanced acetate in Italian ryegrass silage. The DGGE profiles indicated that inoculated bacteria remained in treated silages. The effects of inoculation on innate bacterial community were similar between tropical and temperate silages.

Wilted guinea grass (DM 521 g/kg) was ensiled in plastic pouch and big-bale to compare laboratory-scale and farm-scale silos. Fermentation products varied from bale to bale, but data from plastic pouch and big-bale did not differ except for DM and ethanol. The DGGE profiles appeared similar between plastic pouch and big-bale, suggesting that the results obtained from lab-scale experiments can be regarded as what would occur in farming practice. Unlike previous experiments, however, *Weissella cibaria* and *Weissella paramesenteroides* were found in all silages.

## 論文審査結果の要旨

本研究は、暖地型牧草の発酵貯蔵（サイレージ調製）に関わる細菌群集について、モデルサイロおよび実規模サイロを用いて調査したものである。牧草サイレージに関する研究は冷涼な気候の欧州を中心に発展してきたため、熱帯・亜熱帯地域で利用される暖地型牧草に関する情報は非常に少ない。微生物学的研究はとくに少なく、途上国の食料生産および畜産食品の生産を向上させるために、関連する取り組みが望まれていた。本研究では、暖地型牧草を主体として数種のサイレージを調製し、その細菌群集を調べて貯蔵性改善に寄与する応用的知見を得ることを目的とした。

暖地型牧草としてギニアグラスとローズグラス、寒地型牧草としてイタリアンライグラスを材料とした。これに長大作物であるトウモロコシを加えてモデルサイロによる調製実験を行い、細菌群集、乳酸菌添加に対する反応および貯蔵期間延長にともなう発酵生成物の変化を精査して、暖地型牧草の貯蔵特性を明らかにした。優勢菌種は*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus brevis*、*Lactococcus lactis*等であり、寒地型牧草で確認されている優勢菌種と同じであったが、*L. plantarum*と*L. brevis*添加に対する反応は暖地型牧草と寒地型牧草で違いがみられた。すなわち、細菌群集の構造は暖地型牧草と寒地型牧草で大きな違いはないが、貯蔵期間を延長すると細菌群集の発酵様式が変化して暖地型牧草では酢酸が多くなると考えられた。これらのモデルサイロによる実験に加え、宮崎県で調製された実規模サイロを対象として細菌群集の解析を行った。その結果、モデルサイロと実規模サイロは似かよった細菌群集を示すこと、岡山県と宮崎県のサイレージでは同じ暖地型牧草でも優勢菌種に違いがあることを明らかにした。

これらの結果は、熱帯・亜熱帯地域の家畜生産および牧草利用に有益な知見を与えるだけでなく、DNA情報を基礎とした細菌群集の解析が貯蔵飼料の微生物学的理解にきわめて有用であることを示している。学位論文発表会における発表ならびに質疑応答も適切であり、Suraya Parvin氏は自然科学研究科の博士（学術）の学位を受ける資格があるものと判断した。