



Title	乾草の自由摂取量と反芻胃内飼料片の粒度別動態との関連
Author(s)	上田, 宏一郎
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 20(1), 1-57
Issue Date	1997-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12173
Type	bulletin (article)
File Information	20(1)_p1-57.pdf



[Instructions for use](#)

乾草の自由摂取量と反芻胃内飼料片の粒度別動態との関連

上 田 宏一郎

(北海道大学農学部畜牧体系学講座)

(平成 8 年 3 月 4 日受理)

Ruminal dynamics of various particulate fractions as related to the voluntary intake of hay

Koichiro UEDA

(Laboratory of Animal Production System, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

目 次

- I. 緒 論
 - A. 研究の目的
 - B. 従来の研究
- II. 反芻胃内飼料片の粒度別動態のモデルおよび解析方法の検討 (試験 1)
 - A. 目 的
 - B. 材料および方法
 - C. 結果および考察
 - D. 小 括
- III. 乾草を給与しためん羊における反芻胃内飼料片の粒度別動態 (試験 2)
 - A. 目 的
 - B. 試験方法
 - C. 総反芻胃内容物の消失と飼料片の粒度別動態の関係
 - a. 目 的
 - b. サンプル採取, 分析, および解析方法
 - c. 結 果
 - d. 考 察
 - D. 反芻胃内飼料片の粒度微細化と繊維質発酵との関係
 - a. 目 的
 - b. 分析および解析方法
 - c. 結 果
 - d. 考 察
 - E. 小 括
- IV. 自由採食量と反芻胃内容物の消失速度との関係 (試験 3)

- A. 目 的
- B. 材料および方法
- C. 結 果
- D. 考 察
- V. 結 論
- 要 約
- 謝 辞
- 引用文献
- Summary
- 補 遺

I. 緒 論

A. 研究の目的

反芻動物は、その栄養的環境に消化管の構造的な拡大や生理的な面で進化することによって順応してきた。前胃の構造上の拡大によって摂取した植物組織の滞留時間が長くなり、その結果、多くの消化管内微生物が遅発酵性の植物繊維を栄養素とし生存することが可能となった³⁵⁾。これにより、反芻動物は反芻胃内の微生物による発酵産物をエネルギー源として利用し、微生物自体を下部消化管で消化し蛋白質源として利用するという独特の消化システムを持つに至った。植物繊維質は地球上の最も豊富な資源であり、同時にそれらは反芻動物にとっての主要なエネルギー源である。全世界に存在する永年草地は 3170.8×10^6 ha, 反芻家畜は 1319.6×10^6 単位 (水牛 1.0; 牛 0.8; めん山羊 0.1 として計算) と報告されており⁴⁾、人類が反芻家畜により乳、肉、毛などを生産するに当たっては、これらの植物繊維質資源は

最大限かつ効率的に利用されるべきである。地球規模での人口の増加や草地の持続的利用が問題にされていることから、反芻家畜による草資源の利用効率の向上が将来的に必要であり²⁸⁾、反芻家畜の管理技術および栄養生理の面からの精力的な研究が求められる。

反芻家畜は広範な生産システムにおいて用いられているが、その基礎飼料である粗飼料の種類や質は環境的、地理的、および経済的条件によって異なる。それに従って、粗飼料の自由採食量や消化性も多様であり、最終的には反芻家畜の生産効率に影響する¹²⁵⁾。粗飼料の反芻家畜に対する飼料価値は、自由摂取量、消化性、および養分の利用効率によって決定される^{85,126)}。Dulphy & Demarquilly³¹⁾ は、中でも、自由採食量は最も重要であり、反芻家畜に粗飼料を自由採食させた場合には自由採食量がエネルギーおよび他の養分の利用可能量の規制要因となる場合が多いと述べている。Crampton *et al.*²⁵⁾ は、イネ科とマメ科の両牧草とも、自由摂取量および消化率の nutritive value index に対する相対的な寄与率は、70%および30%と算出している。このようなことから、反芻家畜による粗飼料の自由摂取量の調節に関する研究は古くから行われてきた。

反芻家畜による飼料の自由摂取量は、他の動物と同様に、要求する養分量とその供給量のバランスを代謝的に維持するように調節されるが、それには反芻動物に特有の消化管の構造とその生理による制限が働く¹²⁶⁾。粗飼料を反芻家畜に任意に利用させた場合、その摂取量は、反芻胃の最大容積と反芻胃内の内容物容積との物理的なバランス、すなわち反芻胃の物理的膨張の程度によって調節されるとする説が一般的である^{11,20,36)}。これは、粗飼料は消化速度の遅い繊維質を主成分としていること、粗飼料は構造的に容積が大きいこと、および反芻胃には大きい飼料片を選択的に滞留させる機能があることを主たる原因としている。いいかえると、粗飼料の自由摂取量は、主として反芻胃内容物の単位時間当たりの消失量が遅延することによって制限されるといえる。反芻胃の内容物の消失速度は、粗飼料、反芻家畜、および反芻胃内微生物のそれぞれに由来する要因が非常に複雑に関与した結果である³⁶⁾。広範な反芻家畜生産システムにおいて、粗飼料の自由摂取量の予測や制御を可能とし、効率的な粗飼料の利用技術の開発を行うためには、粗飼料の物理的・化学的性質、

反芻胃内微生物による発酵、および反芻家畜の消化生理の相互作用の面から、反芻胃内容物の消失速度を決定するメカニズムを明らかにすることが重要である⁹¹⁾。

反芻胃内容物の消失は、摂取された飼料片の通過と発酵よってもたらされるが、反芻胃は飼料片の大きさによって選択的に流出させる機能をもつがゆえにその過程は複雑である。飼料片の選択的流出の機能は、反芻家畜による養分の利用上で大きな意味を持つ⁶⁷⁾。反芻胃から飼料片を通過できる粒度の最大値（臨界粒度）は、約1 mmの目開きの篩にあるとされている¹⁰³⁾。しかし、粗飼料の摂取時の咀嚼によって産出される飼料片は、それよりも大きいものがほとんどである¹²⁴⁾。これらの大きな飼料片は、主に反芻によって微細化を受け、臨界粒度以下となり反芻胃を通過する。それらの飼料片が微細化され反芻胃から通過するに至るまでの間には、微生物が飼料片中の基質の発酵を行い、それは微細化や通過のしやすさに大きな影響を及ぼす。一方で、微細化や通過の速度は飼料片の発酵程度に影響を与える。このように、反芻胃内の飼料片の微細化、通過、および発酵は相互に関連した消化システムを形成しており、それぞれの動態は反芻胃からの内容物の消失速度を決定する重要な要因である³⁶⁾。したがって、反芻胃内容物の消失メカニズムを解明するためには、反芻胃内飼料片の微細化、発酵、および通過のそれぞれの動態、さらにはそれらの相互の関係を明らかにすることが重要である。

Forbes & France⁴⁷⁾ および VanSoest¹²⁷⁾ は、消化過程のメカニズムの定量的把握の重要性を訴えており、そのためにはそれぞれの要因の因果関係を定量的に明確にできる機械的モデル (mechanistic model) の利用が有効であると述べている。反芻胃内の飼料片を粒度で分割した複数のコンパートメントを設け、それぞれに各動態の経路を与えたモデルとそれによる解析が検討されてきている。このような反芻胃内の飼料片の粒度別動態モデルの活用により、反芻胃内飼料片の微細化、通過、発酵の動態を速度定数として量的に明らかにし、また各動態の相互関係を明確にできるだろう。一戸⁶²⁾ は、モデルを活用した反芻胃内飼料片の粒度別動態の解析方法について検討したが、飼料間の違いを明確にするまでには至っていない。世界的にみても、反芻胃内飼料片の粒度別動態の飼料間の違いを明確にした例はな

く、結果の精度に信頼の置ける解析方法は確立されていない。

本研究は、一戸⁶²⁾の提示した解析方法とモデルの改良を行い、反芻胃内飼料片の粒度別動態の面から、反芻胃内容物の消失速度を調節するメカニズムと粗飼料の自由摂取量との関連について量的に明確にすることを目的とした。本研究での検討項目は次の3つにまとめられる。

- 1) 反芻胃内飼料片の粒度別動態の詳細な解析方法とその汎用性
- 2) 反芻胃内容物の消失速度に影響する要因の相互関係
- 3) 反芻胃内飼料片の粒度別動態と自由採食量との関係

B. 従来の研究

a. 反芻胃内容物の消失速度と粗飼料の自由摂取量

Balch & Campling¹¹⁾は、反芻家畜における飼料の採食量を調節するメカニズムについて1960年代までの報告をまとめ、物理的な要因と生理的な要因に分けて総説した。その中で、粗飼料では特に物理的要因が重要であることを提示した。すなわち、粗飼料では反芻胃の物理的膨張によって採食が停止し、物理的膨張の緩和が次の採食を誘起するというfill theoryである。この仮説は、反芻胃内に人為的に飼料、不活性物質、あるいは他の動物の胃内容物を投入することにより採食量が低下するとした報告^{11,21,57)}、飼料摂取後の反芻胃内容物量が飼料種に関わらず一定であったとする報告⁵⁰⁾、反芻胃の容積が採食量と相関していたという報告¹⁰⁸⁾、反芻胃壁には膨張を感じる受容器が存在するとする報告⁷³⁾などによって多くの支持がなされてきた。しかし、現在においても、個々の採食期の開始および停止の時期と反芻胃の充満状態との関係は明確にはならず検討が続いている^{45,46)}。

一方、様々な粗飼料の1日当たりの自由摂取量を問題とする場合には、fill theoryは、反芻胃内容物の滞留時間、逆に言えば消失速度と読み変えて検討されてきている。反芻胃内容物の滞留時間は、暖地型牧草および寒地型牧草、あるいはそれらの葉部および茎部において、自由摂取量と負に相関していることが確認されている^{70,104)}。Campling¹⁹⁾は、反芻胃内容物の消失に介在する要因として、飼料の不消化物の通過だけでなく発酵や飼料片の微細化を挙げて

いる。飼料を粉碎あるいはペレット成型して給与すると、滞留時間が減少するため採食量は増加する⁸⁵⁾。葉部は茎部より微細化されやすいので、滞留時間は短く採食量は多いと報告されている⁸⁵⁾。Conrad²³⁾は、消化率と摂取量の間に正の相関を認めている。このようなことから、1970年以降、反芻胃内飼料片の微細化、発酵、および通過のメカニズム、あるいは反芻胃内容物の消失に対するそれらの重要度に関して注目されるようになった。

b. 反芻胃内からの飼料片の通過

飼料片の反芻胃内からの通過速度は古くから測定されているが、その方法は非常に多様である。中性デタージェント処理した飼料にクロムを媒染することにより反芻胃内で不消化にし、その糞中の濃度の減少から不消化物質の通過速度を測定した例が多い¹²³⁾。しかし、クロム媒染を行った飼料片では実際の反芻胃内の飼料片よりも比重が大きき³²⁾、本来の値を反映したものとならないことが指摘されている。最近では、希土類元素(原子番号57から71までのランタノイド)は細胞壁に高い親和性を持つことから、反芻胃内飼料片マーカーとして適性が検討され^{7,128)}、多く活用されるようになってきた^{16,88,98,102)}。糞だけではなく、反芻胃や十二指腸などマーカーの回収を行う消化管の部位についても検討がなされている^{14,60)}。マーカー濃度曲線から通過速度を解析する方法については、Grovmum & Williams⁵⁹⁾が提唱したtwo-compartment age independent modelから、反芻胃内での微細化過程を考慮したage dependent model^{33,101)}や、multi compartment model^{29,49)}など、用いるモデルは研究者によって様々で検討段階にある。これまで反芻胃内の通過速度を測定した報告は多数あるが、以上のように方法が多様であるため、報告間での比較は難しく、統一的な見解が得られにくい現状にある。

飼料片のサイズと通過速度の関係の検討により、飼料片のサイズが小さいものほど通過速度が速いことが明らかになっている³⁷⁾。その関係は直線的なものではなく、指数関数的なものであることが指摘されている⁹¹⁾。反芻胃内飼料片の通過確率が大きく変化する飼料片の粒度から、反芻胃内飼料片の通過に対する臨界粒度が議論されるようになった。めん羊においては1180 μm 篩に残留するサイズにあるとする報告があるが¹⁰³⁾、牛では3200 μm 篩に残留するサイズにあるとする報告もある³⁰⁾。しかし、Poppi

*et al.*¹⁰⁷⁾ は牛とめん羊の両者ともに臨界粒度は1180 μm 篩に残留するサイズにあると報告している。

最近では、反芻胃内の飼料片サイズだけでなく、反芻胃内での存在位置や挙動に影響する物理的な性質として飼料片の比重の重要性が取りあげられてきている^{92,93,113,117,130,131)}。これらの報告で注目されている比重は、反芻胃内での実際の比重 (functional specific gravity) であり、それには、水和、内部空隙、微生物の発酵による飼料片に付着した気泡などの影響が含まれる。Sutherland¹¹⁷⁾ は反芻胃内の飼料片通過の確率を低下させると思われる原因として、1) 第一胃背部にあるマット内への飼料片の隔離、2) 第一胃腹部から第二胃までの移動における選別機構、3) 第二・三胃孔におけるふるい分け効果を挙げている。彼は、アルファルファ乾草を給与しためん羊を用い、反芻胃内容物の飼料片サイズ、飼料片の浮沈のパラメータを測定し、それらの各要因に対して飼料片のサイズと実効比重の相互関係が大きく影響していることを示唆した。

以上のように、これまで反芻胃内からの飼料片の通過に関して、測定方法や飼料の通過メカニズムについてはかなり活発に研究されてきているが、粗飼料の自由採食量との関係については量的に明確にした例はほとんどない。

c. 反芻胃内での飼料片の微細化

反芻胃内における飼料片の微細化速度に関する報告例は少ない。通過速度の場合と同様に、測定に用いるマーカー、モデル、標識飼料片の粒度など方法的に多様であり報告間の比較は難しい。牛において第一胃内で最も大きい飼料片の微細化速度は、外部マーカーを大飼料片に標識して推定したところ、Worrell *et al.*¹³⁵⁾ は4~5%/hと報告し、Ellis *et al.*³⁴⁾ は16~45%/hと報告した。また、Weston¹³²⁾ および Faichney⁴¹⁾ は、めん羊における大飼料片の微細化速度は、それぞれ約5および8%/hと推定した。10 mm のプラスチック片の微細化速度は牛とめん羊ともに、2~6%/hの範囲にあったと報告されている^{66,71)}。通過速度の場合とは逆に、微細化速度は粒度とは正の関係にあることが示されている⁶⁶⁾。また、その傾きには比重が関与していることが指摘されている⁶⁶⁾。

反芻胃内飼料片の微細化をもたらす要因には、反芻時の咀嚼、微生物による分解、および反芻胃の運

動による摩擦が挙げられている。しかし、その中でも反芻時咀嚼の寄与が最も大きく、微生物による分解と反芻胃運動による摩擦の寄与は17%であることが示されている⁷⁷⁾。微生物による発酵は飼料片を直接的に微細化するよりは、むしろ飼料片を脆弱化し反芻の効率を高めることに意義があると思われる^{22,124)}。*in situ* 培養の時間経過にもなって、大飼料片の粉碎エネルギーは減少することが示されている⁹¹⁾。

最近の総説において、Murphy & Kennedy⁹¹⁾ は反芻胃内飼料片の微細化のパターンに関する研究の必要性を訴えている。反芻胃内飼料片の微細化のパターンについて、反芻時の吐き戻し食塊と再嚥下食塊の粒度分布から検討されている。Kennedy⁶⁹⁾ は、4種類の乾草を給与した去勢牛において、反芻時に微細化された大飼料片は、大部分(57~72%)は再嚥下食塊内の中飼料片となり、残りは小(18~30%)、細(6~21%)飼料片分画となったと報告している。一方、*Lolium* と *Medicago* の葉部と茎部を別々に去勢牛に給与した試験においては、大飼料片は34~40%が中飼料片、19~41%は小飼料片、13~52%は細飼料片分画に微細化し、葉部は茎部より、*Lolium* は *Medicago* よりも、小飼料片の代わりに細飼料片へと微細化されたと報告されている⁷⁶⁾。Moseley & Johnes⁸⁹⁾ は、高品質の粗飼料を給与しためん羊において、採食後時間の経過にもなって中飼料片よりも小飼料片の方が多く産出されることを示している。微細化のパターンは飼料によって必ずしも一定ではなく、様々な要因を介して変化する可能性が想定される。さらに、それは反芻胃からの飼料片の通過速度に予期できない影響をもたらす可能性があるだろう。

d. 反芻胃内における飼料片の発酵

飼料の反芻胃内での発酵速度を測定する方法は、*in situ* 法が定法となっているが、多様な要因を考慮したモデルから発酵速度を解析する方法が未だ検討されている⁸⁰⁾。*in situ* 法を活用した報告は非常に多くなされており、英米の飼養標準のデータとして活用されるに至っている。しかし、特に粗飼料においては実際に反芻胃内に流入する際の飼料片の粒度は大きいにも関わらず、その発酵速度への影響についての詳しい検討はこれまでほとんどなされていない。粉碎した飼料は粉碎していないものとは、発酵速度が異なること、あるいはその影響の程度が草種

によって異なることが示されている^{83,93})。Ellis *et al.*³⁴⁾ は、摂取食塊の粒度別飼料片の発酵速度は粒度によって異なることを示し、それは粒度によって植物体組織が異なるためであると報告している。粒度による組織の違いに関して Pond *et al.*⁹⁹⁾ は摂取食塊の粒度別飼料片の検鏡観察によって確認している。上田ら¹²²⁾ は、反芻胃内飼料片の粒度別分画中の繊維成分含量を測定し、反芻胃内の飼料片は微細化されながら徐々に発酵することを示した。反芻胃内の微細化の過程で、微細化だけでなく様々な要因に影響され、飼料片の発酵速度がどのような値を示すかについては検討されていない。反芻胃内飼料片の発酵速度を粒度別に測定した例は全くない。

反芻胃内飼料片の発酵速度の粒度による違いをもたらす原因には、組織構造の違い、それにとりまう細菌の付着程度の違い、またその飼料片の反芻胃内での滞留時間があげられる。Pond *et al.*⁹⁹⁾ は、摂取時の食塊の粒度別飼料片を検鏡観察し、微細飼料片ではクチクラなど微生物が利用可能な組織を攻撃する際の障壁となる組織の断片が多くみられたと報告した。反芻胃内の細菌の70%以上は飼料片に付着した状態で存在し^{24,27,46)}、また飼料片に付着した細菌体の量は粒度によって異なることが示されている^{12,74)}。McLeod *et al.*⁷⁸⁾ は、反芻胃内の粒度別飼料片の *in vitro* でのセルラーゼ消化率を測定し、消化率と粒度との関係は給与飼料によって異なり、それは微細化のパターンを反映した結果であると考察した。以上のことから、反芻胃内における粒度別飼料片の発酵は、粉碎飼料をサンプルとした *in situ* 法では推測できないメカニズムを有していることは明らかである。そのメカニズムは、粒度別飼料片の動態と反芻胃内容物の消失速度との関係を明確にする上では非常に重要である。

e. 反芻胃内飼料片の粒度別動態モデル

反芻胃内の飼料片の動態を表すモデルを提示した報告は数少ないが、それらは2つのタイプに分けることができる。1つは、想定したモデル内のパラメータを既存の報告値の変動の範囲内で変動させ、出力として摂取量や消化率をシミュレーションするものである。これにより、各パラメータの変動に対する出力の変動が大きいものを検出するものである。Mertens & Ely⁸¹⁾ は、多数の粗飼料サンプルの *in vitro* での消化速度のみを実測データとして用い、微細化速度や通過速度は一定としたモデルでシミュ

レーションを行った。さらに、それを用いて自由摂取量および消化率の推定を試みたが、その精度は低いものであった^{79,82)}。この研究では、想定したモデルは非常に複雑なものであったが、各経路の値の実測値がなく牧草種に関わらず一定にしてしまったためにこのような結果になったのであろう。Poppi *et al.*¹⁰⁶⁾ は自ら実測した各動態の速度定数の範囲内で、想定したモデルにおけるパラメータを変動させ自由摂取量をシミュレーションした。その結果、自由摂取量の制限要因としては、微細化よりはむしろ通過の方が重要である可能性を示唆した。しかし、このモデルにおいても発酵速度は飼料と同じとしており、粒度による違いは考慮されていない。

他方、シミュレーションに重点を置かず、想定したモデルにおける各パラメータを実測し、より詳細に消化過程のメカニズムを明確にしようとした報告がある。Worrell *et al.*¹³⁵⁾ は、刈り取り時期の異なる乾草において、粒度別動態モデルにおける微細化および通過速度を測定した。それにより、刈り取り時期によって微細化および通過速度が異なることを示し、さらに発酵の経路をモデルに組み込む必然を指摘した。Faichney⁴³⁾ は、酸性デタージェントリグニンをマーカーとして微細化と通過の経路を考慮したモデルにおける各パラメータを報告している。Lirette & Milligan⁷⁵⁾ は、低濃度の放射性Crをマーカーとし、発酵、通過、および微細化の経路を考慮したモデルにおける、それぞれの経路流量を示した。Ellis *et al.*³⁴⁾ は、摂取食塊由来のものとして存在していた反芻胃内容物とを分別した反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルを想定し、バミュダグラス生草における各パラメータを測定している。一戸⁶²⁾ は、1日1回乾草給与と下で反芻胃内飼料片の微細化、発酵、通過の動態の速度定数および実量をモデルにより解析する方法を提示した。これらの全ての報告では、モデル自体の検討にとどまっておらず、反芻胃内容物全体の消失に対してどの段階の動態が、どの程度で影響しているのか、ひいては粗飼料の自由摂取量と関連しているのかどうかという検討は行われていないのが現状である。

II. 反芻胃内飼料片の粒度別動態のモデルおよび解析方法の検討 (試験1)

A. 目的

反芻胃内飼料片の動態を測定するための多くのモ

デルおよび解析方法では、消化管内容物の量的および質的狀態を一定と仮定している。反芻胃内に投与したマーカーの糞や後部消化管内容物中濃度の変化から反芻胃内飼料片の動態を解析する場合には、飼料給与方法の影響が打ち消されるため、この仮定は有効である。しかし、糞や後部消化管中のマーカー濃度の変化から、反芻胃内飼料片の粒度別の動態を定量するのは困難である。反芻胃内での飼料片の微細化、通過、および発酵の粒度別動態を正確に定量するためには、反芻胃内容物中のマーカー濃度の変化の測定が必要である。しかし、反芻胃内容物中のマーカー濃度から解析する場合には、マーカー濃度自体およびその変化パターンに及ぼす飼料給与方法の影響は大きい。給与回数が1日1回である場合、反芻胃内容物量および粒度別分画割合は経時的に変化するため^{63,64)}、分画中のマーカー濃度変化から反芻胃内飼料片の粒度別動態を検析する方法は複雑となる⁶¹⁾。各飼料が本質的にもつ反芻胃内飼料片の動態の特徴を正確に把握するためには、そのような影響を除去でき反芻胃内の量的および質的狀態を一定とみなせる飼料給与方法が望ましい。一日を通して1時間に1回飼料を給与する hourly feeding は、このような状態を維持できる給与方法である。

hourly feeding は、D. J. Minson を中心とするオーストラリアの研究者たちによって活用されはじめ^{84,86,87)}、その後、反芻胃内飼料片の動態に関する多くの意義ある成果が公表されてきた^{77,78,104,105,106,120)}。hourly feeding は、実際の飼料給与ではありえない状態ではあるが、それぞれの粗飼料が本質的に持つ反芻胃内飼料片の動態特性を見いだすには、他の要因を除外できる非常に有効な方法である。一戸⁶²⁾ は、反芻胃内飼料片の微細化、発酵、および通過の動態を含むモデルを開発し、1日1回飼料給与と条件下で粒度別動態を解析した。しかし、飼料間の違いを検出できるデータは得られなかった。その原因として、飼料の給与方法あるいは採食および反芻時間の日間変動に起因するマーカー濃度の変動が大きかったことが指摘されている。一戸⁶²⁾ のモデルは、他の報告にみない発酵の経路をモデルに同時に与え解析している点で非常に優れたものであったが、粒度別分画間での微細化は単一の経路しか設定しておらず、このことも飼料間の違いを明確にできなかった原因であろう。

本章では、hourly feeding 下における反芻胃内飼

料片の粒度別動態モデルおよび各速度定数の解析方法について、一戸⁶²⁾ のモデルと解析方法を基礎にして検討を行った。予備的調査として、hourly feeding 下での採食行動および反芻活動の日内のパターンを測定した。

B. 材料および方法

a. 飼料および動物

アルファルファ乾草(購入乾草、アメリカ合衆国ワシントン州産)を手動の切断機で約10 cmに細切し、ルーメンおよび十二指腸カニューレを装着したサフォーク×コリデール雑種去勢めん羊1頭(試験開始時体重:65 kg)に給与した。ルーメンカニューレは内径7.5 cmのものであった。十二指腸カニューレはKomarekタイプ⁶⁸⁾のT型カニューレであり、第4胃噴門部と十二指腸の総胆管の間に装着した。

b. 飼料給与および管理

1時間に1回飼料を給与し、次の飼料給与直前に残食を除去する飼料給与自動装置を自作した。この装置を取り付けた代謝檻にめん羊を係留し、実験動物舎内で管理した。細切アルファルファ乾草を、維持要求量以上、自由採食量以下となるよう1回に原物で80 g(1日当たり1920 g)、1時間に1回給与を行った。めん羊の光周期による採食行動および反芻活動の日内変動を除去するため、ガラス窓を遮蔽した。また、温度変化および騒音による行動の日内変化を除去するために、換気扇および温風器によって舎内温度を約20度に保ち、ラジオを1日中鳴らした。以上の様な管理方法は、Minson⁸⁴⁾にならったものであった。水およびミネラルブロックの摂取は自由とした。サンプル採取および各測定を始める約2カ月前から、めん羊を以上のような管理方法で飼養した。

本期において、採食および反芻時間の測定(3日間)、標識飼料片の反芻胃内投与および内容物の経時スポットサンプルの採取(2日間)、*in situ*法での反芻胃内粒度別飼料片の分解度測定(7日間)、および十二指腸内容物の採取(6日間)を行った。

c. 採食行動および反芻活動の観察

採食と反芻時間の日内変動を確認するために、タイムラプスビデオに接続したカメラを用い、めん羊の行動を記録した。飼料給与から次の飼料給与までの1時間を1区分とし、各区分の採食時間と反芻時間を測定した。

d. 粒度別標識飼料片の調製および投与

予備期間中に反芻胃内容物を1回、8:30に全量採取し、総反芻胃内容物量の20%量を湿式篩別法によって4つの粒度に分画した。各粒度別分画の全量を異なる4種の希土類元素で標識した。篩は、目開き5600, 2360, 1180, 600, 300, 150, および47 μ m (JIS標準篩)のセットであったが、5600 μ m篩残留物をLP (Large particle), 2360と1180 μ m篩残留物をまとめてMP (Medium particle), 600と300 μ m篩残留物をまとめてSP (Small particle), 150と47 μ m篩残留物をまとめてFP (Fine particle)とした。LaCl₃·7H₂O, YbCl₃·6H₂O, SmCl₃·6H₂O, およびDyCl₃·6H₂Oから各希土類元素の1%溶液を調製し、それぞれに反芻胃内容物のLP, MP, SP, およびFPを24時間浸漬して各元素を吸着させた。その後、吸着していない元素を取り除くため、2時間流水で洗浄した。それらを搾汁後、個別に冷蔵保存した。以上の湿式篩別法および標識飼料片調製方法は、一戸^{61,62)} および田村¹¹⁸⁾ に詳しく記されている。

標識飼料片の投与の直前に反芻胃内容物を約3kg採取し、その内容液を搾汁した。この内容液に調製した4粒度の標識飼料片全量を混合・攪拌した後、反芻胃内の様々な部位に投与した。投与時刻は8:30であった。

e. 反芻胃内容物サンプル採取

標識飼料片投与後、3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, および36時間後に、反芻胃の頭側部、腹側部、背側部、および尾側部のそれぞれからほぼ均等量のスポットサンプルを手で採取し、合計約600g採取し混合した。特に腹側部の内容物は、液相部分を含むように注意して採取した。これらのサンプルは、ホルマリンを約10ml添加し、後の湿式篩別に供するまで冷蔵保存した。投与48時間後には反芻胃内容物を全量採取し、総内容物重量を測定した。スポットサンプルの場合と同様に約600gの代表サンプルを採取し、ホルマリンを約10ml添加し、冷蔵保存した。それとは別に約300gの代表サンプルを採取し、通風乾燥(60°C, 48h)の後、1mmスクリーンを通るように粉砕し、乾物(DM: Dry matter)含量の測定に供した。

f. *in situ* 法による粒度別飼料片の分解度測定

標識飼料片に用いるための反芻胃内容物の採取時に、別の反芻胃内容物代表サンプルを採取し、湿式

篩別によりLP, MP, SP, およびFPに分画した。粒度別飼料片を通風乾燥(60°C, 48h)し、そのままの粒度の状態ですら約4~3gをナイロンバッグに詰めた。ナイロンバッグは目開き47 μ mのナイロン布で7×15cmの大きさに作成したもので、中に約11gの重りを入れた。反芻胃内での培養時間は、1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 13, 18, 24, 31, 40, 54, 77, および154時間とした。取り出したバッグは、流水中で2時間、洗浄液が透明になるまで洗浄した。60°Cで2時間乾燥し、その後105°Cで4時間乾燥し恒量重量を測定した。これからバッグ自体の乾燥恒量重量を差し引き、バッグ中の残渣のDM量とした。

g. 十二指腸内容物サンプルの採取

十二指腸カニューレに漏出管を導入し、8:30から約500g得られるまで十二指腸内容物サンプルを採取した。採取は6日間行い、各日のサンプルは混合しホルマリンを添加し冷蔵保存した。このサンプルの一部(300g)を凍結乾燥し、1mmスクリーンを通るように粉砕し、DM含量の測定に供した。

h. サンプルの分析およびデータの解析

標識飼料片投与後の各時間における反芻胃内容物サンプルを、前述の湿式篩別法によってLP, MP, SP, およびFPに分画した。粒度別飼料片を通風乾燥(60°C, 48h)の後、1mmスクリーンを通るように粉砕した。各粒度別飼料片、総反芻胃内容物、および十二指腸内容物の粉砕サンプルのDM含量を測定した(135°C, 2h)。各投与後時間における粒度別飼料片中の希土類元素含量を、田村¹¹⁸⁾の方法に従い、ICP発光分光分析装置によって測定した。

標識飼料片投与48時間後に採取した総内容物サンプルから、一戸⁶¹⁾の方法により反芻胃内の各粒度別分画の重量および割合を測定した。同様の方法で、十二指腸内容物の各粒度別分画の割合を測定した。

一戸⁶²⁾の反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルと、微細化、発酵、および通過速度を解析するための微分方程式を基礎にして、本試験で得られたデータから反芻胃内飼料片の粒度別動態の解析を行った。

C. 結果および考察

a. hourly feeding 下での採食および反芻時間の日内パターン

図1に1時間ごとに区分した採食時間と反芻時間の日内分布を示した。各時間の乾草給与時に採食を行わなかった例は一回もなく、飼料給与後ただちに採食を開始した。飼料給与後7から8分の間に乾草

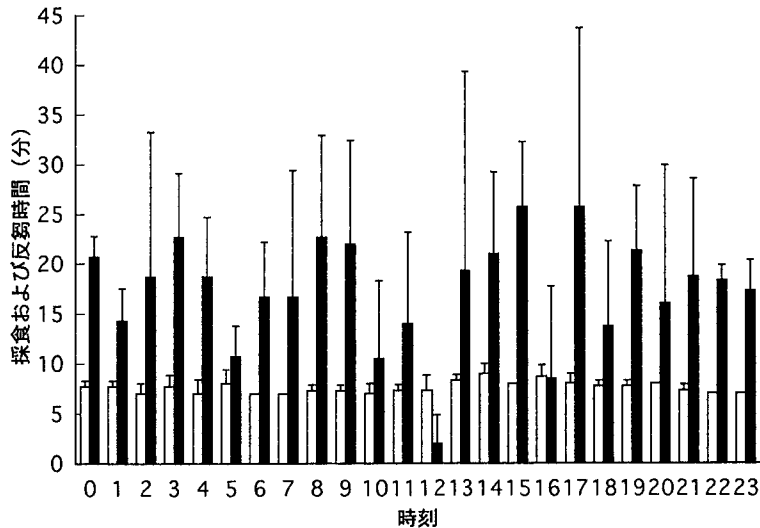


図 1. 1 時間に 1 回アルファルファ乾草を給与したためん羊の各飼料給与の時間間隔における採食および反芻時間の日内変化。各柱および棒線は 3 日間の平均および標準偏差を示す。

□ : 採食, ■ : 反芻

Figure 1. Diurnal variation of time spent for eating and ruminating between feeding interval of sheep fed alfalfa hay once a hour. Each column and bar represents mean and standard deviation for three days.

□ : eating, ■ : ruminating.

をほぼ全量採食し、その後に採食行動が観察されることはなかった。Minson & Cowper⁸⁷⁾は、給与量が自由採食量に近い場合には hourly feeding を行っても残食が蓄積し反芻胃内容物の恒常状態は保てないが、それは毎回残食を除去することにより解決されるとしている。その理由としては、新鮮な飼料の給与と刺激によるものが大きいと考えられる。本試験での給与量は、自由採食量にどの程度近いものかは不明ではあるが、少量ではあるものの残食があった場合には、残食を除去した後に飼料を給与した。本試験において採食行動が上記の様な結果となったのは、給与と刺激の影響が大きかったか、あるいは給与量が少なかったためと考えられる。自由採食量より給与量が少ない場合であっても、少量でも残食を毎回除去することが、一日の採食時間の日内変動をなくす上で望ましいと考えられる。

反芻を行わなかった時間区分の数は一日当たり 3 もしくは 4 回で、それ以外の時間帯では 10 分以上の反芻が観察された。反芻時間は各区分間で統計的な差はなく (17.8 ± 9.4 分, $P < 0.01$)、日内の変動に一定のパターンを伺うことはできなかった。hourly feeding 下における採食時間や反芻時間の日内パ

ターンについて報告された例はない。唯一、hourly feeding 下における家畜の生理の日内パターンについて報告した例として、Minson & Cowper⁸⁶⁾はめん羊にアルファルファ乾草を hourly feeding し、排糞量および排尿量の日内パターンを測定している。その結果、一日一回給与の場合にみられたような日内のパターンは除去されたと報告している。反芻は通常の飼料給与下では、深夜から早朝にかけて集中して行われることが指摘されているが^{88,95)}、本試験の結果ではそのようなパターンは伺うことはできなかった。

hourly feeding によって反芻胃内容物の恒常状態を仮定するには、採食や反芻に日内の変動が少なく、各時間帯に均等に採食と反芻時間が分布していることが必要とされる。以上の結果より、環境についても日内変化を除去して hourly feeding を行うことによって、本試験では反芻胃内容物は量的および質的に一定に保たれたものと考えられる。

1 日 24 回までの多数回の給与は行わず、反芻胃内容物の量的および質的な状態を一定と仮定して、反芻胃内容物の粒度別動態を解析した報告はある^{88,51,135)}。飼料給与と頻度が少ない場合には、動態測

定値がマーカーの投与時刻によって変動すること¹⁰⁰⁾、小飼料片の通過速度が日内で変化すること⁵⁵⁾、飼料採食速度の日内変動によって動態測定値の再現性が低下すること⁵¹⁾が指摘されている。反芻胃内容物の動態の普遍的な測定値を得る上で、反芻胃内容物の質的および量的状態を一定と仮定できる飼料給与回数については検討された報告はない。

本研究で行った hourly feeding では、採食時間および反芻時間ともに日内を通して均等に分布しており、反芻胃内容物の質的および量的な恒常状態が保たれ、精度に信頼のおける反芻胃内飼料片の粒度別動態の解析が行えるものと思われた。

b. 粒度別飼料片中のマーカー濃度変化

標識飼料片の粒度に対応する反芻胃内粒度別分画中の希土類元素濃度(LP中のLa, MP中のYb, SP中のSm, FP中のDy)の標識飼料片投与後変化を図2に示した。全ての粒度別分画においてマーカー濃度は投与後時間とともに指数関数的に減少し、それぞれの粒度別分画からDMがfirst order reaction⁸⁰⁾に従って消失していることが示された。これらの濃度変化を次の曲線式に非線形回帰法により当てはめることにより、粒度別分画からのDMの消失速度を推定した。

$$C = A \cdot e^{-kd \cdot t}$$

ここで、Cは投与後時間tにおけるマーカー濃度、Aはt=0におけるマーカー濃度、kdは粒度別分画からのDM消失速度である。

一戸⁶²⁾は、乾草を1日1回給与しためん羊に、飼料採食終了直後の反芻胃内容物から本試験と同様に調製した粒度別標識飼料片を飼料給与前に投与し、反芻胃内の各粒度別分画のマーカー量の投与後推移を測定した。それをを用いて各粒度別分画の消失速度を推定する際に、粒度の大きい飼料片分画ではマーカー投与後経過時間が長い時点での実測値が指数式に適合し、一方、粒度の小さい分画では投与後経過時間が短い時点での実測値が指数式に適合したと報告している。その原因として、反芻活動、微生物による発酵、および通過の日内変動を指摘した。本試験におけるマーカー濃度にはこのような傾向は認められず、反芻胃内での微細化、発酵、および通過の動態の恒常状態を反映した結果であると考えられた。本試験において反芻時間は日内に均等に分散していたことから(図1)、反芻胃内大飼料片の微細化が日内で間断なく一定の割合で行われていたことが示唆

される。

回帰により得られた曲線の決定係数は0.97以上と高いものと非常に当てはまりがよく、これらから得られた消失速度はモデルのための基礎データの精度としては十分なものと思われた。各粒度の消失速度(kd)は、LP, MP, SP, およびFPでそれぞれ6.02, 3.13, 2.73, および5.12 (%/h)であった。

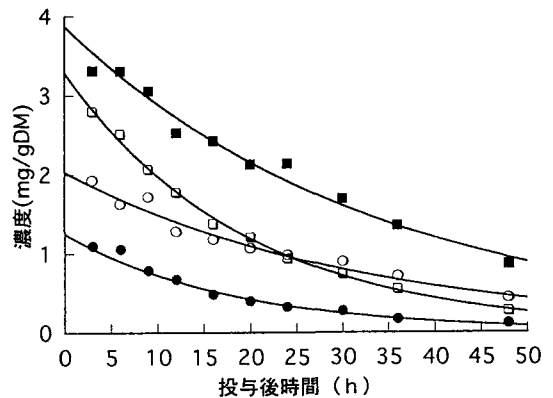


図2. 各マーカー投与後の各時間におけるめん羊の反芻胃内容物粒度別分画中のマーカー濃度。各マーカーの指数曲線は非線形回帰による。●: LP (large particle: 5.6 mm の篩に残留した飼料片)中のLa, ○: MP (medium particle: 2.36 および 1.18 mm 篩に残留した飼料片)中のYb, ■: SP (small particle: 0.6 および 0.3 mm 篩に残留した飼料片)中のSm, □: FP (fine particle: 0.15 および 0.047 mm 篩に残留した飼料片)中のDy。

Figure 2. Marker concentration in each particulate fraction in the ruminal digesta of sheep at various time after marker dosing. Exponential curves for respective markers were fitted by non-linear regression method. ●: La in LP (large particle: retained on 5.6mm sieve), ○: Yb in MP (medium particle: retained on 2.36 and 1.18mm sieves), ■: Sm in SP (small particle: retained on 0.6 and 0.3mm sieves), □: Dy in FP (fine particle: retained on 0.15 and 0.047mm sieves).

c. in situ 法での粒度別飼料片の分解度の変化

一戸⁶²⁾は各粒度別分画におけるDMの発酵速度を、FPより微細な飼料片(VFP, <47 μm)への各マーカーの移行量によって推定した。しかし、DMの発酵によって飼料片から消失したマーカーは、必ずしもVFPだけではなく液相部分にも存在しうるこ

とを考慮しておらず、また、超微細な飼料片でも液相よりは通過速度は遅いとする事実が報告されているにも関わらず⁶⁶⁾、VFPの通過速度を液相と同じとして解析に用いていることには問題があると考えられる。本試験では、各粒度別分画におけるkd中に含まれるDMの発酵速度(kf)を、*in situ*法による粒度別飼料片のDM分解パターンから推定した。

*in situ*法により測定した粒度別飼料片のDM分解率の経時的变化を図3に示した。MPおよびSPでは培養時間の後半で異常値を示し、それらについてはプロットせず解析から除外した。それぞれの粒度の分解パターンをØrskov & McDonald⁹⁷⁾による次式に非線形回帰により当てはめた。SPやFPの分解パターンは、必ずしもモデル式に当てはまりにくいことが予想されたが、粒度別動態モデルの簡便化のため、これ以上複雑なモデル式の当てはめについ

での検討は行わなかった。

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

ここで、Pは培養時間tにおけるナイロンバッグからのDM分解割合、aは易分解性分画割合、bは遅分解性分画割合、cは遅分解性分画の分解速度である。

Ørskov & McDonald⁹⁷⁾の式の当てはめによって得られた各粒度別飼料片におけるa、b、cの値と、以下の仮定をもとにして推定した反芻胃内粒度別分画の発酵速度(kf)、およびその計算に要したデータを表1に示した。通常の飼料における分解パターンの結果では可溶性の分画とみなされるa分画は、本試験では*in situ*培養を行う前に湿式篩別による水洗処理を行っているため存在しないものと当初は予想した。しかし、SPおよびFPにおけるaの値は0にはならず、特にFPにおいてその値が大きかった。篩別した後の乾燥処理がこのような結果をもたらしたと思われ、また、特にFPで多かったことから、a分画は全て濾過性の分画であると思なした。したがって、可発酵分画にはa分画は存在しないものと

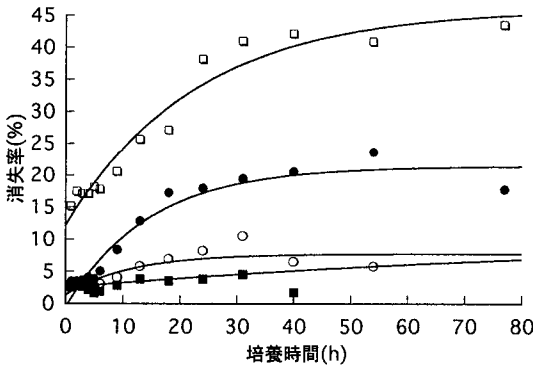


図3. 1時間1回飼料給与を行っためん羊の反芻胃内容物のLP(●)、MP(○)、SP(■)、およびFP(□)の*in situ*培養による乾物の消失。消失パーセントは培養前の重量に対する値。各曲線は $a + b(1 - \exp(-c \cdot t))$ (Ørskov and McDonald⁹⁷⁾) に非線形回帰により当てはめたもの。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図2の脚注を参照。

Figure 3. Dry matter disappearance of LP (●), MP (○), SP (■) and FP (□) of the rumen digesta in sheep fed hourly during *in situ* incubation. Disappearance percentages were based on gram of incubated material. Each curve was regressed on the equation $a + b(1 - \exp(-c \cdot t))$ (Ørskov and McDonald⁹⁷⁾) by nonlinear method. For details particulate fractions of rumen digesta, see caption of Figure 2.

表1 アルファルファ乾草を1時間1回給与しためん羊の反芻胃内容物の各粒度別分画の発酵パラメーターおよびプールサイズ

Table 1 Fermentation kinetic parameters and pool size for each particulate fraction* of rumen digesta of sheep fed alfalfa hay hourly.

	LP	MP	SP	FP
a (%)	0.0	0.0	2.5	13.5
b (%)	21.4	7.6	7.9	31.9
c (%/h)	6.87	11.8	0.9	3.2
プールサイズ (g)	213	247	365	223
可発酵 (g)	46	19	30	82
不可発酵 (g)	167	228	335	141
発酵量 (g/h)	3.1	2.2	0.3	2.6
kf (%/h)	1.47	0.90	0.08	1.19

a,b,c: 式 $a + b(1 - \exp(-c \cdot t))$ (Ørskov and McDonald⁹⁷⁾) 中のパラメーター

a,b,c: Parameters in the equation $a + b(1 - \exp(-c \cdot t))$ (Ørskov and McDonald⁹⁷⁾)

kf: 1時間当たりの乾物発酵量をプールサイズで除して算出した粒度別分画の発酵速度

kf: Fermentation rate of particulate fraction in the rumen as calculated by dividing digested dry matter per hour by pool size.

*反芻胃内容物の粒度別分画の詳細については図2の脚注参照

*For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

仮定し、反芻胃内の粒度別分画中の可発酵分画の割合は $b/(100-a)$ とした。この割合に反芻胃内の粒度別分画重量を乗じることによって、反芻胃内の粒度別分画のうちの可発酵量を算出した。反芻胃内の粒度別分画は恒常状態が仮定されているので、単位時間当たりの各粒度別分画からの発酵量は、粒度別分画の可発酵重量に c を乗じることによって推定した。単位時間当たりの各粒度別分画の発酵量を粒度別分画重量で割って、各粒度別分画における DM の発酵速度 (k_f) を算出推定することができた。

一戸⁶²⁾ は、標識した希土類元素が DM の発酵と平行して飼料片中から消失することを *in situ* 法で確認している。そのため、前節でマーカーにより推定した k_d には発酵速度が含まれており、 k_f が k_d を上回することは理論的にあり得ない。さらに、 k_d には微細化あるいは通過速度が含まれている。表 1 に示した全ての粒度別分画における k_f は k_d を上回ることはなく、後の微細化速度および通過速度の解析の上で妥当な範囲の値であるものと思われた。

d. 反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルにおける各速度定数

一戸⁶²⁾ が提示した反芻胃内飼料片の粒度別分画の動態モデルに、マーカー濃度変化および *in situ* 法から得られた各粒度別分画の k_d および k_f をあ

てはめ、微細化速度および通過速度の推定を行った。モデルは図 4 に示した。LP および MP の微細化速度 (kr_L および kr_M) は、それぞれの k_d から k_f を差し引いて推定した。FP の通過速度 (kp_F) は、 k_dF から k_fF を差し引いて推定した。SP の通過速度

表 2 アルファルファ乾草を 1 時間 1 回給与しためん羊の反芻胃内粒度別分画* の反芻胃内発酵 (k_f)、微細化 (kr) および通過 (kp) 速度定数

Table 2 Rate constants of fermentation (k_f), size reduction (kr) and passage from the rumen (kp) for each particulate fraction* in the rumen of sheep fed alfalfa hay once a hour.

	LP	MP	SP	FP
	%/h			
k_f	1.47	0.90	0.08	1.19
kr	4.56	2.23	0.84	—
kp	—	—	1.82	3.94
k_d	6.03	3.13	2.74	5.13

k_d : k_f , kr および kp の和としての総消失速度。

k_d : total disappearance rate as the sum of k_f , kr and kp .

* 反芻胃内容物の粒度別分画の詳細については図 2 を参照

*For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

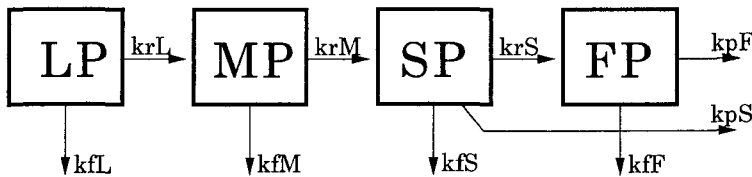


図 4. 各粒度別分画における微細化、発酵、および通過速度定数を推定するために用いた 4 粒度別分画モデル。 kr_L : LP から LP より小さい飼料片への微細化速度, kr_M : MP から MP より小さい飼料片への微細化速度, kr_S : SP から SP より小さい飼料片への微細化速度, k_fL : LP の発酵速度, k_fM : MP の発酵速度, k_fS : SP の発酵速度, k_fF : FP の発酵速度, kp_S : SP の通過速度, kp_F : FP の通過速度。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図 2 の脚注を参照。

Figure 4. Schematic representation of the four-compartmental model used to estimate rate constants of particle size reduction, fermentation and passage for each particulate fraction. kr_L : rate of size reduction from LP to particles smaller than LP, kr_M : rate of size reduction from MP to particles smaller than MP, kr_S : rate of size reduction from SP to particles smaller than SP, k_fL : rate of fermentation of LP, k_fM : rate of fermentation of MP, k_fS : rate of fermentation of SP, k_fF : rate of fermentation of FP, kp_S : rate of passage from the rumen of SP, kp_F : rate of passage from the rumen of FP. For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

(kpS) は、FPの反芻胃内通過量 (FP分画重量×kpF) に十二指腸での粒度分布比SP/FPを乗じてSPの通過量を算出し、これをSPの分画量で割って推定した。SPの微細通過速度 (krS) はkdSからkpSとkfSを差し引いたものとした。各粒度別分画における各動態の速度定数の推定値を表2に示した。

微細化速度は粒度が小さいほど小さく、通過速度は粒度が小さいほど大きいという結果が得られた。Kennedy⁶⁶⁾ は、微細化速度は飼料片のサイズと正の関係にあるが、通過速度は飼料片サイズとは負の関係にあることを総説している。これを支持する証拠としては、反芻時の咀嚼を受ける確率が粒度が大きいほど高く微細化されやすいこと、粒度が小さいほど比重が大きく通過しやすいことが挙げられている⁹¹⁾。一戸⁶²⁾ が、早刈りおよび遅刈り乾草を1日1回給与しためん羊において測定した微細化および

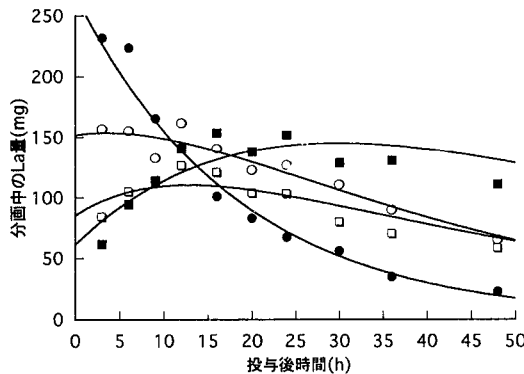


図5. アルファルファ乾草を1時間1回給与しためん羊の総反芻胃内容物におけるLP(●), MP(○), SP(■)およびFP(□)中のLa量の投与後変化。曲線は各粒度別分画中のLa量をあらわすそれぞれの関数に非線形回帰により当てはめたもの。それぞれの関数は補遺に示す。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図2を参照。

Figure 5. Post dosing changes in La weight in LP (●), MP (○), SP (■) and FP (□) in the total ruminal digesta of sheep fed alfalfa hay once a hour. Curves were regressed on each function which represents La weight in the specific particulate fraction by non-linear method. Respective functions are shown in Appendix. For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

通過速度では、このような関係に従っておらず個体差も大きかった。本試験では、粒度が小さいほど微細化速度が遅く、逆に通過速度が速いという理論的に支持できる結果を得ることができた。

e. 反芻胃内飼料片の微細化の経路

図4で示したモデルにより解析した粒度別分画の微細化速度は、それ以下のサイズの飼料片に微細化される速度を示しており、どの粒度別分画に微細化されるかは特定されていない。採食時および反芻時の咀嚼によって生じる飼料片のサイズ分布は多様であることから^{9,10,65)}、実際にはある粒度の飼料片の微細化は様々なサイズに微細化されていることが想定される。

LPに標識して投与したLaの反芻胃内LP, MP, SP, およびFP分画中の総量の投与後推移を図5に、MPに標識して投与したYbの反芻胃内MP, SP, およびFP分画中の総量の投与後推移を図6に、SPに標識して投与したSmの反芻胃内SPおよ

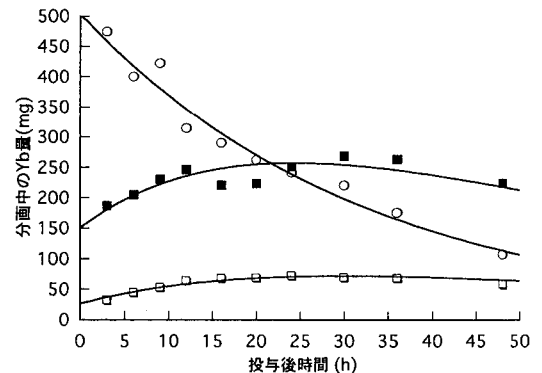


図6. アルファルファ乾草を1時間1回給与しためん羊の総反芻胃内容物におけるMP(○), SP(■)およびFP(□)中のYb量の投与後変化。曲線は各粒度別分画中のYb量をあらわすそれぞれの関数に非線形回帰により当てはめたもの。それぞれの関数は補遺に示す。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図2を参照。

Figure 6. Post dosing changes in Yb weight in MP (○), SP (■) and FP (□) in the total ruminal digesta of sheep fed alfalfa hay once a hour. Curves were regressed on each function which represents Yb weight in the specific particulate fraction by non-linear method. Respective functions are shown in Appendix. For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

びFP分画中の総量の投与後推移を図7に,FPに標識して投与したDyの反芻胃内FP分画中の総量の投与後推移を図8に示した。図5,6,7において,標識した粒度より小さい粒度の分画中マーカー量の投与後推移に特徴的なパターンをうかがうことができた。すなわち,一定推移の後に減少(MP分画中のLa総量,FP分画中のSm総量),増加の後に減少(SPおよびFP分画中のLa総量),増加の後に一定(SPおよびFP分画中のYb総量)というマーカー投与後の推移のパターンである。これらのマーカーの量的変化は,複数のコンパートメントをもつ動態システムにおいて,マーカー投与を行ったコンパートメントの下部に設定したコンパートメントにおいて理論的に考えられるマーカーの量的変化の特徴を表しており¹²⁷⁾,LPおよびMPからの微細化経路の分割についてマーカー量を用いた解析がおこなえる可能性が示されている。Ewing *et al.*³⁹⁾は,去勢牛におけるトウモロコシ粒の反芻胃内での微細化

速度を推定するために,複数の粒度別分画を与えたモデルを設定した。そして,粒度別標識飼料片を反芻胃内に投与することにより,本試験と同様に投与した粒度より一段階小さい粒度別分画のマーカー濃度の増加を認め,その増加曲線をモデルから導いた理論関数に当てはめ微細化速度の推定を行った。本研究では,投与を行った粒度より2段階もしくは3段階小さい分画においても,上で記したようなマーカーの量的変化が検出された。そこで,LPおよびMPにおける微細化経路を分割したモデルを考案した(図9)。この動態システムに従う各粒度別分画のマーカー量の変化を表す一連の微分方程式を導き,それぞれの分画における各希土類元素のマーカー量を表す関数を求めた。以下にその微分方程式を示した。これらの微分方程式の解としての各関数については,補遺に記した。

La量の変化

$$\frac{dLL}{dt} = -kdL \cdot LL$$

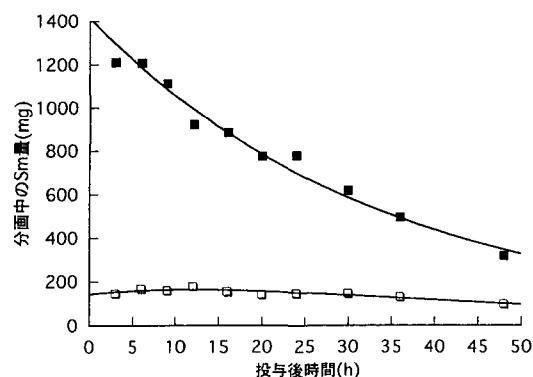


図7. アルファルファ乾草を1時間1回給与しためん羊の総反芻胃内容物におけるSP(■)およびFP(□)中のSm量の投与後変化。曲線は各粒度別分画中のSm量をあらわすそれぞれの関数に非線形回帰により当てはめたもの。それぞれの関数は補遺に示す。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図2を参照。

Figure 7. Post dosing changes in Sm weight in SP (■) and FP (□) in the total ruminal digesta of sheep fed alfalfa hay once a hour. Curves were regressed on each function which represents Sm weight in the specific particulate fraction by non-linear method. Respective functions are shown in Appendix. For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

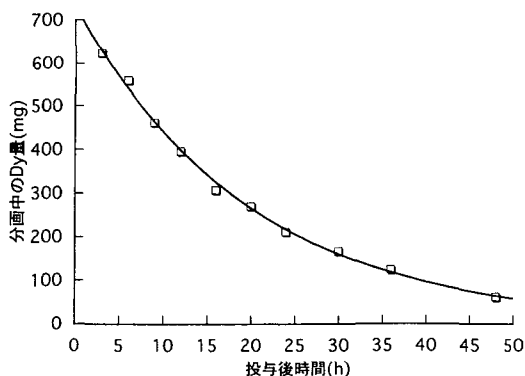


図8. アルファルファ乾草を1時間1回給与しためん羊の総反芻胃内容物におけるFP(□)中のDy量の投与後変化。曲線は各粒度別分画中のDy量をあらわす関数に非線形回帰により当てはめたもの。それぞれの関数は補遺に示す。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図2を参照。

Figure 8. Post dosing change in Dy weight in FP (□) in the total ruminal digesta of sheep fed alfalfa hay once a hour. The curve was regressed on the function which represents Dy weight in the FP by non-linear method. Functions is shown in Appendix. For detail of particulate fraction of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

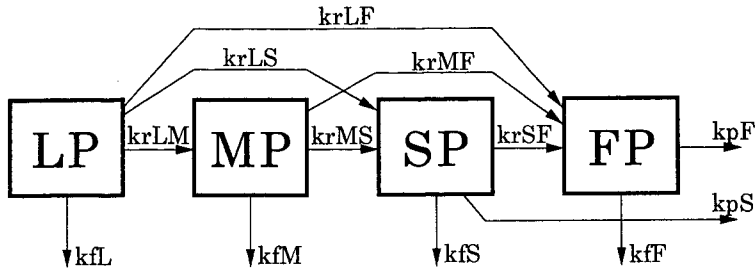


図 9. 各粒度別分画における微細化, 発酵, および通過速度定数を推定するために用いた 4 粒度別分画モデル。このモデルは図 4 に示したモデルの微細化の経路が分割され改良されたものである。krLM: LP から MP への微細化速度, krLS: LP から SP への微細化速度, krLF: LP から FP への微細化速度, krMS: MP から SP への微細化速度, krMF: MP から FP への微細化速度, krSF: SP から FP への微細化速度, kfL: LP の発酵速度, kfM: MP の発酵速度, kfS: SP の発酵速度, kfF: FP の発酵速度, kpS: SP の通過速度, kpF: FP の通過速度。反芻胃内容物の粒度別分画についての詳細は図 2 の脚注を参照。

Figure 9. Schematic representation of the four-compartmental model used to estimate rate constants of particle size reduction, fermentation and passage for each particulate fraction. This model was modified from the model shown in Figure 4 in terms of dividing the size reduction pathway. krLM: rate of size reduction from LP to MP, krLS: rate of size reduction from LP to SP, krLF: rate of size reduction from LP to FP, krMS: rate of size reduction from MP to SP, krMF: rate of size reduction from MP to FP, krSF: rate of size reduction from SP to FP, kfL: rate of fermentation of LP, kfM: rate of fermentation of MP, kfS: rate of fermentation of SP, kfF: rate of fermentation of FP, kpS: rate of passage from the rumen of SP, kpF: rate of passage from the rumen of FP. For details of particulate fractions of rumen digesta, see the caption of Figure 2.

$$\frac{dML}{dt} = krLM \cdot LL - kdM \cdot ML$$

$$\frac{dSL}{dt} = krLS \cdot LL + krMS \cdot ML - kdS \cdot SL$$

$$\frac{dFL}{dt} = krLF \cdot LL + krMF \cdot ML + krSF \cdot SL - kdF \cdot FL$$

Yb 量の変化

$$\frac{dMY}{dt} = -kdM \cdot MY$$

$$\frac{dSY}{dt} = krMS \cdot MY - kdS \cdot SY$$

$$\frac{dFY}{dt} = krMF \cdot MY + krSF \cdot SY - kdF \cdot FY$$

Sm 量の変化

$$\frac{dSS}{dt} = -kdS \cdot SS$$

$$\frac{dFS}{dt} = krSF \cdot SS - kdF \cdot FS$$

Dy 量の変化

$$\frac{dFD}{dt} = -kdF \cdot FD$$

上式の略号の意味は以下の通り

LL: マーカー投与後時間 t における LP 分画中の La 量

ML: マーカー投与後時間 t における MP 分画中の La 量

SL: マーカー投与後時間 t における SP 分画中の La 量

FL: マーカー投与後時間 t における FP 分画中の La 量

MY: マーカー投与後時間 t における MP 分画中の Yb 量

SY: マーカー投与後時間 t における SP 分画中の Yb 量

FY: マーカー投与後時間 t における FP 分画中の Yb 量

SS: マーカー投与後時間 t における SP 分画中の Sm 量

FS: マーカー投与後時間 t における FP 分画中の Sm 量

FD：マーカー投与後時間 t における FP 分画中の Dy 量

kdL：LP 分画の消失速度

kdM：MP 分画の消失速度

kdS：SP 分画の消失速度

kdF：FP 分画の消失速度

krLM：LP 分画から MP 分画への微細化速度

krLS：LP 分画から SP 分画への微細化速度

krLF：LP 分画から FP 分画への微細化速度

krMS：MP 分画から SP 分画への微細化速度

krMF：MP 分画から FP 分画への微細化速度

krSF：SP 分画から FP 分画への微細化速度

各元素について関数式のパラメータが少ないもの順に非線形回帰をおこない、そこで得られたパラ

表 3 各理論関数†をそれぞれの粒度別分画中のマーカー量に非線形回帰によって当てはめた際の決定係数 (R²), 最小平均平方和 (MSE), およびカイ自乗値 (χ²).

Table 3 Decision coefficient (R²), the smallest mean error square (MSE) and chi square (χ²) of the respective function† when fitted to the marker weight in each particulate fraction‡ by nonlinear procedure.

	R ²	MSE	χ ²
LL	0.984	98.7	7.27**
ML	0.920	86.0	4.94**
SL	0.698	16.0	18.25*
FL	0.776	127.8	10.72**
MY	0.964	535.0	13.46**
SY	0.563	318.9	10.35**
FY	0.909	17.2	2.40**
SS	0.976	2380.8	24.88
FS	0.835	93.1	4.81**
FD	0.997	109.7	2.74**

LL: LP 中の La, ML: MP 中の La, SL: SP 中の La, FL: FP 中の La, MY: MP 中の Yb, SY: SP 中の Yb, FY: FP 中の Yb, SS: Sp 中の Sm, FS: FP 中の Sm, FD: FP 中の Dy.

LL: Lain LP, ML: Lain MP, SL: Lain SP, FL: FP in La, MY: MP in Yb, SY: Yb in SP, FY: Yb in FP, SS: Sm in SP, FS: Sm in FP, FD: Dy in FP.

†理論関数の詳細は補遺を参照.

‡For details of functions for fitting curves, see Appendix.

‡粒度別分画の詳細については図 2 の脚注を参照.

‡For details particulate fractions, see the caption of Figure 2.

*P<0.05, **P<0.01.

メータを次の関数式に代入し、非線形回帰をおこなった (常に回帰式の未知パラメータは 2 つであった)。

それぞれの関数の非線形回帰において、誤差平方和が最小値となった時点での決定係数、平均誤差平方和、およびカイ 2 乗値を、表 3 に示した。決定係数は SL と SY において低くなる傾向があったが、カイ 2 乗適合度検定ではそれらの適合度は有意であり、全体的に非常によく理論式に当てはまる結果が得られた。これから、モデルと微分方程式の妥当性が判断された。

それぞれの回帰によって推定された速度定数、krLM, krLS, krLF, krMS, krMF, および krSF は、2.05, 1.41, 2.57, 3.08, 0.81, および 0.84(%/h) であった。回帰によって得られた LP および MP における各微細化速度の和は (LP: 6.03%/h, MP: 3.89%/h), 未分割の微細化速度 (表 2) とは

表 4 アルファルファ乾草を 1 日 1 回給与しためん羊の反芻胃内各粒度別分画における分割された微細化速度定数.

Table 4 Divided rate constants of size reduction of each particulate fraction* in the rumen of sheep fed alfalfa hay once a hour.

LP由来		MP由来		SP由来	
krLM	krLS	krLF	krMS	krMF	krSF
%/h					
1.55	1.06	1.94	1.76	0.46	0.84

krLM: LPからMPへの微細化速度定数

krLM: Rate constant of size reduction from LP to MP

krLS: LPからSPへの微細化速度定数

krLS: Rate constant of size reduction from LP to SP

krLF: LPからFPへの微細化速度定数

krLF: Rate constant of size reduction from LP to FP

krMS: MPからSPへの微細化速度定数

krMS: Rate constant of size reduction from MP to SP

krMF: MPからFPへの微細化速度定数

krMF: Rate constant of size reduction from MP to FP

krSF: SPからFPへの微細化速度定数

krSF: Rate constant of size reduction from SP to FP

*粒度別分画の詳細については図 2 の脚注を参照

*For details of particulate fractions, see the caption of Figure 2.

一致しなかった。そのため、回帰により得られた速度定数の総和当たりの各経路の微細化速度の割合を算出し、これに表2に示した総微細化速度に乗じてモデルにおける各経路の微細化速度とした。LPやMPの微細化速度の場合とは異なり、理論式の間接回帰によって推定されたSPからFPへの微細化速度は0.836、前モデルにおける方法では0.840であり、一致を示した。しかし、この方法で得られるkrSFをモデルに適用すると、SPからFPよりもさらに微細な分画への微細化の経路を与えてしまう可能性がある。これはモデルの複雑化を招くので、SP以下への微細化はすべて、FPへのものであると仮定する前モデルにおける方法が望ましいと思われる。また、飼料によってはこのような一致はみられない可能性もある。このようなことから、本モデルにおけるkrSFには前モデルにおけるkrSを適用した。以上の仮定と方法で推定された、各粒度別分画における微細化速度、通過速度、および発酵速度を表4に示した。

以上、LPおよびMPにおいて微細化の経路を分割した発展形モデルとその解析方法が確立され、これを活用すれば反芻胃内飼料片の微細化、通過、発酵の動態をより詳細に把握できるものと考えられた。

D. 小 括

環境の日内変動を除去したもとのhourly feedingを行うことによって、めん羊の採食行動および反芻活動の時間的分布が日内で均一となった。この条件下で、希土類元素をマーカーとする粒度別標識飼料片による反芻胃内粒度別分画の消失速度の測定、および*in situ*法による反芻胃内粒度別分画の発酵速度の測定を行うことによって、一戸⁶²⁾のモデルにおいて精度の高い反芻胃内の粒度別動態の解析が可能となった。さらに、このモデルを各粒度別分画からの微細化の経路を考慮したモデルに改良し、そのモデルの微細化の各経路における速度定数を粒度別分画中の複数のマーカー量変化から推定することも可能となった。このモデルおよび解析方法によって、反芻胃内飼料片の粒度別動態に関して詳細かつ正確な結果が得られるものと考えられた。しかし、本試験での結果は1頭のめん羊および1種の乾草のものであるため、飼料種および個体間の変動の解析精度については未検討である。本試験で確立された反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルとそれによる解析方

法について、汎用性を検討する必要がある。

III. 乾草を給与しためん羊における反芻胃内飼料片の粒度別動態 (試験2)

A. 目 的

乾草はサイレージとならんで反芻家畜の生産における非常に重要な貯蔵粗飼料である。しかし、その自由採食量あるいは消化率は牧草種や刈り取り時期により大きな変動をもち、生産に大きな影響をおよぼす。サイレージに比べると乾草では、反芻胃の物理的充満すなわち反芻胃内容物の消失速度による自由摂取量への制限の寄与が大きいことが指摘されている⁵⁴⁾。

総反芻胃内容物の消失を決定しているのは、反芻胃内飼料片の微細化、通過、および発酵の動態であることは確かである。しかし、これらの動態が反芻胃内容物の消失に対して相対的にどの程度の重要度をもっているかについては明らかにされていない。1980年初頭にはこのようなテーマに関して、オーストラリアの研究者とアメリカ合衆国の研究者との間で議論が分かれた。消失速度の制限段階となっている動態は、前者は反芻による微細化であると主張し、後者は通過であると主張していた。しかし、その様な議論を行う以前に測定および解析の方法の確立および統一が先決であろうとし、反芻胃内の飼料片動態の測定方法に関するワークショップがカナダにおいて1984年に開催されている。その後、現在まで多くの研究者が様々な面から検討してきたにも関わらず、各動態の寄与率を定量的に明らかにした例はない。

反芻胃内飼料片の微細化および通過は繊維質分解と関係し、反芻胃内容物の消失速度を決定している可能性がある。著者は、アルファルファ乾草、早刈りオーチャードグラス乾草、および遅刈りオーチャードグラス乾草を1日1回給与しためん羊を用いて、反芻胃内飼料片の微細化および通過と繊維質発酵の関連について検討している¹²⁾。その中で、反芻胃内容物の粒度別分画割合の経時変化、粒度別分画中の繊維含量、および粒度別分画の消失速度から、反芻胃内の飼料片は微細化されるとともに繊維質の分解を受けること、およびその程度は乾草間で異なることを明らかにし、その乾草間の違いは微細化速度や程度によってもたらされた可能性を示唆した。しかし、この研究では微細化速度は測定されておら

ず、繊維質の分解と微細化速度の詳細な関係については明確とならなかった。

本章では、II章で確立した反芻胃内飼料片の粒度別動態解析法を用いて、牧草種および刈り取り時期の異なる乾草を給与しためん羊における反芻胃内飼料片の粒度別動態を測定した。C節では、反芻胃内飼料片の粒度別動態の速度定数の解析、反芻胃内飼料片の粒度別動態と総反芻胃内容物の消失との関連の検討、および粒度別動態モデルの汎用性についての評価を行った。D節では、反芻胃内飼料片の微細化と繊維質発酵の関係について、採食時および反芻時の咀嚼、反芻胃内細菌の分布、および粒度別飼料片の繊維質発酵特性の面から検討した。これから、反芻胃内容物の消失速度に対する反芻胃内飼料片の粒度別動態の影響のメカニズムについて解明することを本章の目的とした。

供試乾草の牧草種には、一般農家で多く用いられていることからアルファルファ、オーチャードグラス、およびチモシーを採択した。チモシーについては早刈りと遅刈りの2種を供試した。これらの乾草間では、化学的および物理的な性質、自由摂取量に違いがあることが予め想定された。

B. 試験方法

a. 供試動物

ルーメンおよび十二指腸カニューレを装着したサフォーク×コリデール雑種去勢雄めん羊を2頭用いた。各カニューレは、試験1で用いたものと同様のものであった。試験開始時の平均体重は約76kgであり、試験に用いる1週間前に胃腸管内の寄生虫の駆除を行った。

b. 供試飼料

アルファルファ乾草(ALF)、オーチャードグラス乾草(OG)、早刈りチモシー乾草(ETM)、および遅刈りチモシー乾草(LTM)を供試した。アルファルファ乾草は、流通業者から購入したアメリカ合衆国ワシントン州産のものであり、1994年に刈り取ったものであった(開花期、刈り取り月日は不明)。OGは、酪農学園大学附属農場で生産されたものであり、1994年6月6日に完全出穂期において刈り取ったものであった。ETMおよびLTMは、北海道大学附属農場の同一草地を半分に分けて調製したもので、それぞれ1994年6月3日(出穂前期)、1994年6月24日(開花後期)に刈り取ったものであった。

c. 試験設計

ALFとOGを試験2A、ETMとLTMは試験2Bで給与した。各試験を2期にわけ飼料を反転させて2頭のめん羊に給与し試験を実施した。ALF、OG給与期は1994年9月5日から11月16日まで、ETM、LTM給与期は1995年5月5日から6月18日までであった。各試験の1つの期のスケジュールを表5に示した。1つの期は、予備期を15日間、本期を22日間とする37日間からなっていた。本期において、反芻胃内消化率測定および液相の通過速度

表5 試験2のサンプリングおよび測定期のスケジュール
Table 5 Schedule for sampling and measurement period of exp. 2.

日付	試験期名	測定事項	サンプリング
1	馴致		
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			反芻胃内容物
9			
10			
11	十二指腸		
12			
13			反芻胃内容物
14			
15			
16			
17			↑ 飼料片および細菌の分布 十二指腸内容物
18			↑ 飼料片および細菌の分布 十二指腸内容物
19			↑ 飼料片および細菌の分布 十二指腸内容物
20			↑ 飼料片および細菌の分布 十二指腸内容物
21		↑ 飼料片および細菌の分布 十二指腸内容物	
22		↓ 十二指腸内容物流量 十二指腸内容物	
23		↓ 液相通過速度 十二指腸内容物	
24		↓ 液相通過速度 十二指腸内容物	
25	in situ	↑ 飼料片のDM分解度	
26		↑ 飼料片のDM分解度	
27		↑ 飼料片のDM分解度	
28		↑ 飼料片のDM分解度	
29		↑ 飼料片のDM分解度	
30		↓ 飼料片のDM分解度	
31			
32	糞&咀嚼	↑ 消化率および咀嚼活動	糞
33		↑ 消化率および咀嚼活動	糞
34		↓ 消化率および咀嚼活動	糞
35	↑ マーカー投与	反芻胃内飼料片の動態	反芻胃内容物
36	反芻胃	反芻胃内飼料片の動態	反芻胃内容物
37	↓	反芻胃内飼料片の動態	反芻胃内容物, 摂取食塊

測定のための十二指腸内容物の採取(9日間), 粒度別分画の発酵速度のための粒度別飼料片の *in situ* 分解度測定(7日間), 全消化管消化率測定のための糞の採取(3日間), 咀嚼効率測定のための咀嚼活動測定(3日間), および反芻胃内粒度別飼料片の消失速度の測定のための標識飼料片投与およびルーメン内容物採取(3日間)を行った。

d. 飼養管理

試験1と同様に, 環境の日内変動を除去したもとの hourly feeding を行った。試験2Aでは, 乾草の給与量は維持要求量以上, 自由採食量以下の範囲にあるように設定し, 1回の給与量は原物で80g(1日当たり1920g)であった。試験2Bでは, 遅刈り乾草における選択採食を避けるために給与量の設定を維持要求量とし, 1回の給与量は原物で50g(1日当たり1200g)であった。その他の飼養管理の詳細は, 試験1と同様であった。

C. 反芻胃内飼料片の粒度別動態と総内容物消失の関係

a. 目的

乾草の種類や品質によって反芻胃内飼料片の粒度別動態が異なり摂取量に影響することは, 定性的には明らかにされている。しかし, 反芻胃内飼料片の粒度別動態におけるどの段階で, どの程度の影響を持って, 自由摂取量に影響するかについて明確にはされていない。

本節では, めん羊の反芻胃内飼料片の粒度別動態の給与乾草種間の比較を行なった。比較に当たっては, 各速度定数だけでなく反芻胃内飼料片の実量的な面からの検討を行った。これらから, 総反芻胃内容物の消失速度に及ぼす飼料片の粒度別動態の影響について検討した。また, 4種の乾草および2頭のめん羊から得られた結果から, II章で検討したモデルと解析方法の汎用性の面での評価を行い, 問題点の整理を行った。

b. サンプル採取, 分析, および解析方法

1) 乾草のDM摂取量, 成分含量, および全消化管消化率

予備期および本期を通して, 毎日, 残食量を計量した。乾草と残食のサンプルは毎日採取し, 表5で示した各期ごとにサンプルをまとめ, 通風乾燥し(60°C, 48h), 1mmスクリーンを通るように粉碎した。それぞれDM含量(135°C, 2h)を分析し, 毎日のDM摂取量を測定した。各期におけるDM

摂取量を表6に示した。本期において, 毎日, 飲水量を測定した。各期における飲水量を表7に示した。

32日目の8:30から35日目の8:30まで, 全糞採取を行った。めん羊に糞袋を装着し, 8:30と20:30に排糞量の測定とその10%量の代表サンプル採取を行い, ホルマリン添加後, 混合して冷蔵保存した。採取期の終了後, 4%硫酸を噴霧して通風乾燥し(60°C, 48h), 1mmスクリーンを通るように粉碎した。この期間の乾草, 残食, および糞の粉碎サンプルについて, AOAC法¹⁾に従い有機物(OM: Organic matter)および粗蛋白質(CP: Crude protein)含量を, Goering & VanSoest⁵⁶⁾に従い中性デタージェント繊維(NDF: Neutral detergent fiber), 酸性デタージェント繊維(ADF: Acid detergent fiber), および酸性デタージェントリグニン(ADL: Acid detergent lignin)含量を測定した。

2) 反芻胃内DM消化率

総反芻胃内容物のDMの消失速度を, 発酵速度と通過速度に分割するのに必要とされる, 反芻胃内の真のDM消化率を得るために, Faichney⁴⁰⁾の double marker method を用いて, 以下のマーカー投与およびサンプル採取による十二指腸DM流量および細菌体DM流量の測定を行った。

液相マーカーとしてCo-EDTAを, 固相マーカーとしてEr(CH₃COO)₃・4H₂Oを用いた。16日目の8:30から23日目の8:30までマーカーの連続注入を行った。16日目から22日目の8:30までの注入で反芻胃内のマーカー濃度を安定させた。マーカーの連続注入を開始する直前に, 反芻胃内のマーカー濃度を早く安定させるために prime dose を行った(Co-EDTA: 1.0g, Er(CH₃COO)₃・4H₂O: 0.3g)。連続注入による1日当たりのマーカーの投与量はおおむねCoとして300mg, Erとして150mgとした。ペリスターポンプを用いて1時間に1回, 約10秒間にわたり10mlの注入を行った。各マーカー溶液の濃度はこれらの条件に従うものを調製した(Co: 1.25, Er: 0.63 mg element/ml)。希土類元素とCo-EDTAを混合すると沈殿が生じるため⁹⁸⁾, 各溶液を別々のチューブでポンプからカニューレへ送り, 反芻胃内に注入した。22日目の8:30から23日目の4:30まで4時間間隔で計6回, 試験1と同様の方法で十二指腸内容物をそれぞれ50gずつ採取した。全てのサンプルは混合し, 凍結保存した。このサンプルを解凍し, 一部は凍結乾

表6 4種の乾草*を1時間1回給与した2頭のめん羊の各サンプリングおよび測定期における平均乾物摂取量
Table 6 Mean dry matter intake during each measurement and sampling period for two sheep fed four kinds of hay* once a hour.

Period name	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
	gDM/d											
馴致	1525	1589	1557	1571	1358	1465	1073	1180	1126	994	1033	1014
十二指腸	1531	1578	1555	1523	1156	1340	1039	1157	1098	842	964	903
in situ	1528	1555	1542	1298	1321	1310	1043	1020	1031	776	859	818
糞&咀嚼	1511	1546	1529	998	1517	1258	1016	1004	1010	787	1020	904
反芻胃	1534	1550	1542	1067	1329	1198	1084	1123	1103	932	1103	1017
全期間	1526	1574	1550	1430	1312	1371	1054	1119	1087	887	985	936

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

**めん羊の名前

**Sheep name.

表7 4種の乾草*を1時間1回給与した2頭のめん羊の各サンプリングおよび測定期における平均飲水量
Table 7 Mean water intake during each measurement and sampling period for two sheep fed four kinds of hay* once a hour.

Period name	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
	kg/d											
十二指腸	6.78	3.47	5.13	5.88	6.27	6.08	4.63	3.53	4.08	2.53	3.17	2.85
in situ	5.82	4.81	5.32	5.18	3.54	4.36	4.23	3.44	3.84	3.12	3.11	3.12
糞&咀嚼	6.21	4.79	5.50	4.92	2.50	3.71	4.12	3.32	3.72	6.40	2.99	4.70
反芻胃	5.14	5.20	5.17	6.91	5.51	6.21	5.02	3.14	4.08	3.22	3.92	3.57
全期間	6.22	4.31	5.27	5.61	4.75	5.18	4.46	3.42	3.94	3.48	3.20	3.34

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

**めん羊の名前

**Sheep name.

燥し1mmスクリーンを通るように粉碎した。他の一部は遠心分離(30000 G, 30 min), 上澄み10mlを恒量重量を測定したビーカーに取り, ウォーターバス内で乾固した。両試料ともDM含量を測定し(135°C, 2h), 試験1での反芻胃内粒度別飼料片中の希土類元素含量の測定と同様にして, CoおよびErの含量を測定した。両サンプルのDM含量, CoとEr含量, およびCoとErの反芻胃内投与速度から, Faichney⁴⁰⁾の示した式により十二指腸内容物のDM流量(g/d)を推定した。

細菌体分画用のサンプルとして, 16日目から21日目までの毎日8:30に約500gの十二指腸内容物サンプルを採取した。これらは, ホルマリン添加後, 混合し, 冷蔵保存した。このサンプルの一部を凍結乾燥の後, 1mmスクリーンを通るように粉碎し,

DM含量を測定した(135°C, 2h)。さらに, 別の一部のサンプルの原物約2000gをD節で詳細に述べる細菌分画方法と同様に処理し, 十二指腸内容物の細菌体含量を測定し, 上記の十二指腸内容物のDM流量とから細菌体DM流量を算出した。

22日目と23日目の平均DM摂取量(g/d)と飼料由来DM流量から, 真の反芻胃内DM消化率を算出した。

3) 総反芻胃内DMの消失速度, 発酵速度, および通過速度

反芻胃内容物サンプルの採取期の平均DM摂取量(g/d)を1時間当たりの摂取量に換算し, これを総反芻胃内DM重量で除して総反芻胃内DMの消失速度とした⁸⁴⁾。

反芻胃内容物サンプルの採取期の平均DM摂取

量 (g/d) に、真の反芻胃内 DM 消化率を乗じて、反芻胃内 DM 発酵量を算出し、これを1時間当たりで換算した値を総反芻胃内 DM 重量で除して総反芻胃内 DM の発酵速度とした。

総反芻胃内 DM の通過速度は、消失速度から発酵速度を差し引いて算出した。

4) 反芻胃内粒度別分画の微細化、発酵、通過速度

8日目と13日目の8:30に反芻胃内容物の全量採取を行い、計量および代表サンプル採取を行った。採取した代表サンプルの量は、ともに約6kgであった。1回目に採取した反芻胃内容物は、ルーメン内容物スポットサンプル採取時において内容物を一定にするために、採取しスポットサンプル分だけ戻すためのものであり、2回目のものは粒度別標識飼料片の調製および粒度別飼料片の *in situ* 分解度測定に必要なものであった。

24日目から31日目にかけて、*in situ* 法での粒度別飼料片の分解度測定を実施した。培養の時間を3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 84, および144時間とした以外は、試験1と同様の方法で行った。

試験1と同様の方法で、各めん羊、各飼料について調製した粒度別標識飼料片を、35日目の8:30に反芻胃内に投与した。その後のサンプル採取時間および採取方法は試験1と同様であったが、スポットサンプルの採取後には予備期において採取、凍結保存してあった反芻胃内容物を解凍、加温し、その約600gを反芻胃内に戻した。マーカー投与48時間後の反芻胃内容物全量採取時に採取する反芻胃内容物代表サンプルとしては、試験1と同様のもの以外に、細菌体分画用として約1200g採取し、ホルマリンを添加して冷蔵保存した。また、反芻胃を空にした状態で、適量の乾草を給与し反芻胃の噴門部より摂取食塊を約300g採取し、半量はDM含量測定用とし、半量は粒度別分画用とし、反芻胃内容物のサンプルと同様に処理した。次期の飼料に馴致させることを考慮して、1期の終了時にはサンプル採取後の残った反芻胃内容物を、2頭のめん羊間で入れ替えて戻した。通風乾燥する反芻胃内容物および摂取食塊サンプルには4%硫酸を添加した。

摂取食塊、反芻胃内容物、および十二指腸内容物の粒度別分画割合を測定するために、標識飼料片投与48時間後に採取した摂取食塊と反芻胃内容物、および細菌体分画用の十二指腸内容物の一部を、湿式

篩別法によって粒度別に分画した。湿式篩別法はFPよりもさらに細かい粒子 (VFP: very fine particle) の分画割合についても測定するために、試験1で用いた湿式篩別法の修正を行った。VFPの回収のために給水ポンプを用いて水を循環させ、約250gのサンプルを5回にわけて湿式篩別した。回ごとに水量を増やしたため最終的には循環水は15ℓとなった。これらの一部もしくは全部を遠心分離し (500 G, 30 min), 凍結乾燥した後、ミキサーミルで粉碎し、DM含量 (135°C, 2 h) を測定した。その他は試験1と同様にして粒度別分画割合を測定した。可溶性部分 (SOL: soluble fraction) を、差し引きにより算出した。

微細化経路を分割した粒度別動態モデルにおける各速度定数 (図9) を、試験1での分析および解析方法に従って推定した。ただし、反芻胃内飼料片の粒度別分画中の各マーカー量については、サンプル採取によって反芻胃内から失われるマーカー量を、採取したサンプル重量の総反芻胃内容物重量に対する比によって補正した。

5) 粒度別動態モデルの各経路におけるDM移動量

各粒度別分画の分画重量に、それぞれの分画における各速度定数を乗じて、モデル上の各経路における飼料片DMの移動量を算出した。

6) 粒度別分画の反芻胃内流入・流出量の実測値とモデルによる推定値

反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルと解析方法の精度を評価するために、モデルから推定される各粒度別分画の反芻胃内流入および流出量と、摂取食塊の粒度別分画の反芻胃内流入量および十二指腸への粒度別分画の流出量の実測値とを比較した。

総摂取食塊と反芻胃内容物採取期の給与乾草のNDF含量を測定し、それらの比 (乾草中NDF含量/摂取食塊中NDF含量) に反芻胃内容物の採取期のDM摂取量を乗じて、摂取食塊の反芻胃内へのDM流入量を求めた¹⁵⁾。この計算では、乾草摂取量に唾液の混入量を上乗せした量を算出しており、乾草のNDF摂取量と食塊のNDF流入量は等しいものと仮定している。摂取食塊の粒度別分画割合を、摂取食塊の流入量に乗じて、反芻胃内への各粒度別分画の流入量を求めた。

十二指腸内容物のDM流量に十二指腸内容物の粒度別分画割合を乗じて、反芻胃内からの各粒度別

分画の流出量を算出した。ただし、十二指腸内容物サンプル採取時の摂取量とルーメン内容物サンプル採取時の摂取量は異なる場合があったので、それらの期のDM摂取量の比によって十二指腸内容物流量をルーメン内容物サンプル採取時の値に補正した。

モデルにおける各粒度別分画の反芻胃内流入量の推定値は、それぞれの粒度別分画から微細化、通過、および発酵によって流出した量から、他の分画から微細化によって流入した量を差し引いて算出した。モデルにおける反芻胃からの流出量の推定値は、SPおよびFPの反芻胃内通過量とした。

7) 反芻胃内溶液の通過速度

Co-EDTAを液相マーカーとして反芻胃内溶液の通過速度を測定するために、23日目の8:30にマーカーの注入を停止したあと、25日目の8:30まで、注入停止後2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, および48時間に、十二指腸内容物をそれぞれ約100gずつ採取した。各時間のサンプルは別々に凍結乾燥し、1mmスクリーンを通るように粉砕した後、DM含量を測定した(135°C, 2h)。

各時間のサンプルを、以前に述べた方法で十二指腸内容物中のCo含量を測定した。マーカー注入停止後時間に対するCoの濃度変化を次式に非線形回帰により当てはめ、反芻胃内溶液の通過速度を推定した。

$$C = A \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

ここで、Cはマーカー注入停止後時間tにおける十二指腸内容物中のCo含量、Aはt=0におけるCo

含量、k1は液相の反芻胃内通過速度である。

VFPとSOLはこのk1に従って反芻胃から流出するものとし、VFPとSOLの反芻胃内の重量にk1を乗じて、それらの反芻胃内流出量を推定した。

c. 結果

1) 乾草の成分含量および全消化管での消化率

表8に給与乾草の成分含量を示した。CP含量はALFで最も多く、LTMで最も少なかった。逆に、NDF含量はALFで最も少なく、LTMで最も多かった。

表8 4種類の供試乾草*の化学成分組成。

Table 8 Chemical composition of four kinds of hay*.

	ALF	OG	ETM	LTM
	% ——— % ———			
乾物	83.3	83.9	82.1	83.9
	%DM ———			
有機物	89.1	90.6	91.0	93.4
粗蛋白質	23.3	12.5	12.7	7.6
中性デタージェント繊維	39.3	59.8	59.4	69.9
酸性デタージェント繊維	31.6	33.4	32.9	40.9
酸性デタージェントリグニン	6.4	2.8	3.1	5.8
セルロース	25.2	30.6	29.8	35.1
ヘミセルロース	7.7	26.4	26.5	29.0

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草。

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

表9 4種の乾草*を1時間1回給与した2頭のめん羊における全消化管消化率

Table 9 Whole tract digestibility for two sheep fed four kinds of hay* once a hour.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
	%											
乾物	64.6	62.9	63.8	70.7	74.4	72.5	71.0	67.4	69.2	59.5	54.7	57.1
有機物	66.1	65.0	65.5	72.7	76.5	74.6	72.7	69.4	71.0	60.8	56.2	58.5
粗蛋白質	82.7	80.2	81.5	68.5	71.2	69.9	69.9	68.4	69.2	55.0	53.8	54.4
中性デタージェント繊維	47.9	47.6	47.7	74.4	76.7	75.6	71.9	66.5	69.2	58.8	53.2	56.0
酸性デタージェント繊維	52.7	48.9	50.8	72.8	75.9	74.3	68.1	62.2	65.2	54.1	48.9	51.5
セルロース	64.1	61.6	62.8	82.7	84.2	83.5	79.7	75.8	77.7	67.0	60.8	63.9
ヘミセルロース	26.8	42.1	34.4	76.6	77.7	77.1	76.7	71.8	74.2	65.4	59.5	62.4

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草。

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

**めん羊の名前

**Sheep name.

表9に全消化管での消化率を示した。DMの消化率は、OGおよびETMでは他の乾草より高い値を示し、ALFはLTMより高い値を示した。CPの消化率はALFで最も高い値を示した。NDFの消化率は、OGで最も高く、OG、ETM、LTM、ALFの順に低い値を示した。

2) 摂取食塊、反芻胃内容物、および十二指腸内容物の粒度別分画割合

摂取食塊の粒度別分画割合の2頭の平均値を、図10に示した。摂取食塊の粒度別分画割合は個体差が

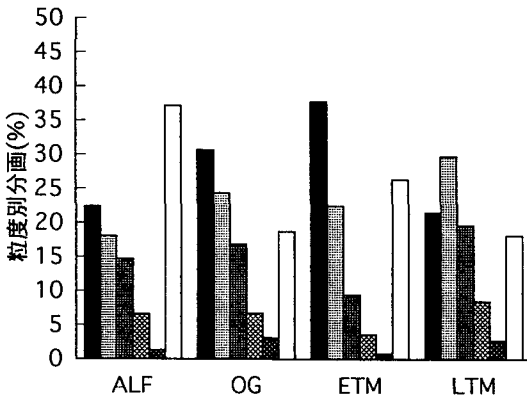


図10. 4種の乾草(ALF:アルファルファ乾草, OG:オーチャードグラス乾草, ETM:早刈りチモシー乾草, LTM:遅刈りチモシー乾草)を給与しためん羊の摂取食塊における6粒度別分画の重量分布割合。

■: LP(大飼料片:5.6mm以上), ▨: MP(中飼料片:1.18mm以上5.6mm以下), ▩: SP(小飼料片:0.3mm以上1.18mm以下), ▤: FP(細飼料片:0.047mm以上0.3mm以下), ▥: VFP(微細飼料片:500G遠心分離での沈降物), □: SOL(可溶性物質:非粒子状物質)。

Figure 10. Weight distribution of six fractions in the ingested bolus of sheep fed four kinds of hay (ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay). ■: LP (Large particle: >5.6mm), ▨: MP (Medium particle: <5.6 but >1.18mm), ▩: SP (Small particle: <1.18mm but >0.3mm), ▤: FP (Fine particle: <0.3mm but >0.047mm), ▥: VFP (Very fine particle: sediment by centrifugation at 500G), □: SOL (Soluble: non-particulate matter).

大きいことが他の報告でも指摘されているが⁷²⁾、本試験においても2頭に共通して認められた乾草間の違いは限られていた。全ての乾草においてSOLを除けば粒度が小さいほど割合は少なくなる傾向がみられた。LPおよびMPをあわせた割合は、ALFで40.4%、OGで54.9%、ETMで60.1%、LTMで51.2%であり、全ての乾草においてcritical size¹⁰³⁾以上の飼料片が摂取食塊中には約半分は存在した。しかし、ALF、OG、およびETMでは、MPよりもLPの方が多かったが、LTMではMPがLPより多かった。SPおよびFPについては乾草間で明確な違いは認められなかった。VFPはどの乾草でも非常に少なく、0.5~4.6%の範囲にあった。SOLは、咀嚼中に溶解した物質および唾液中の溶解成分からなっていると想定されるが、特にALFでは他の乾草に比べると多かった。

反芻胃内容物の粒度別分画割合の2頭の平均値を図11に示した。LPとMPはともに乾草間で顕著な違いはなく、また、どの乾草でもLPとMPの割合の間に大きな差はなかった。SPおよびFPについては乾草間で大きな違いが認められた。ALFとLTMにおけるSPは、他の2つの乾草のものより多く(ALF:27.4, OG:15.0, ETM:17.7, LTM:35.3%)、また両乾草ともにその割合はFP(ALF:19.2, OG:25.3, ETM:19.6, LTM:23.2%)より大きいものであった。特に、LTMにおけるSPは顕著に他の分画より大きな値を示した。一方、OGのFPはSPよりも大きいものであった。ETMでは、SPとFPの割合は同程度であり、またその値はLPおよびMPとほぼ同程度であった。VFPとSOLは、LTMで他の乾草より低い値を示したが、その他の乾草間に顕著な差はなかった。反芻胃内容物の粒度別分画割合と摂取食塊の粒度別分画割合とを比較すると、全体的にはどの乾草でも粒度は低下していたが、その程度はOGおよびETMで大きかった。

十二指腸内容物の粒度別分画割合の2頭の平均値を、図12に示した。全ての乾草においてLPは全く存在せず、また、MPは0.4~2.3%とかなり少なかった。SPはALFで最も大きく、FPはOGで最も大きかった。どの乾草でもSPよりもFPとして流出してくる割合が大きい、その比は異なった。すなわちSP/FPは、ALFで0.73と最も大きく、OGで0.21と最も小さかった。ETMとLTMではそれぞれ、0.35および0.39であった。相対的にはALF

ではSPとして流出したものが多く、OGではFPとして流出したものが多かった。反芻胃内容物におけるこの比はALF, OG, ETM, およびLTMでそれぞれ、1.43, 0.59, 0.91, および1.52であった。これらの比は十二指腸内容物における比の、ALF, OG, およびETMでは約2~3倍であったが、LTMでは3.9倍であった。ALF, OG, およびETMでは反芻胃内容物の粒度別分画割合を反映していたようであるが、LTMでは反芻胃内容物ではどの乾草よりもかなりSPが多かったにも関わらず、それほど

SPとして反芻胃から流出してきたものは多くはなかった。

3) 総反芻胃内容物の消失速度

総反芻胃内容物のDMの消失速度、それを通過と発酵に分割した速度、およびそれらの推定に要したデータを表10に示した。反芻胃内の消失に占める発酵もしくは通過の割合は、OGでは発酵が占める割合が約58%であったのに対し、ALFおよびETMではほぼ通過と発酵の消失に占める割合が対等であり、LTMでは通過が占める割合が約58%であった。総反芻胃内容物の消失速度はALFで最も大きく、

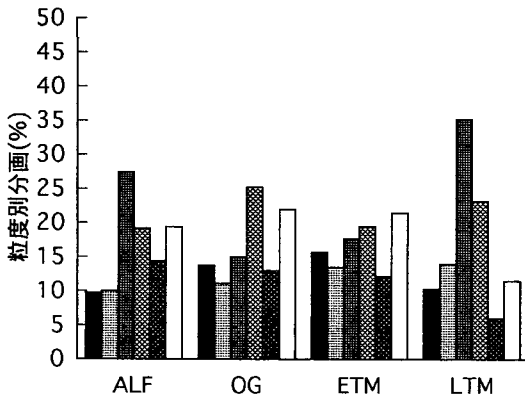


図 11. 4種の乾草 (ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草) を給与しためん羊の反芻胃内容物における6粒度分画の重量分布割合。

■: LP(大飼料片: 5.6 mm 以上), ▨: MP (中飼料片: 1.18 mm 以上 5.6 mm 以下), ▩: SP (小飼料片: 0.3 mm 以上 1.18 mm 以下), ▧: FP (細飼料片: 0.047 mm 以上 0.3 mm 以下), ▦: VFP (微細飼料片: 500 G遠心分離での沈降物), □: SOL (可溶性物質: 非粒子状物質)。

Figure 11. Weight distribution of six size fractions in the ruminal digesta of sheep fed four kinds of hay (ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay). ■: LP (Large particle: >5.6mm), ▨: MP (Medium particle: <5.6 but >1.18mm), ▩: SP (Small particle: <1.18mm but >0.3mm), ▧: FP (Fine particle: <0.3mm but >0.047mm), ▦: VFP (Very fine particle: sediment by centrifugation at 500G), □: SOL (Soluble: non-particulate matter).

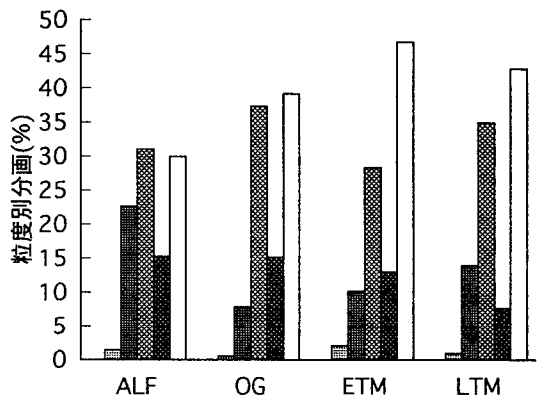


図 12. 4種の乾草 (ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草) を給与しためん羊の十二指腸内容物における6粒度別分画の重量分布割合。

▨: MP (中飼料片: 1.18 mm 以上 5.6 mm 以下), ▩: SP (小飼料片: 0.3 mm 以上 1.18 mm 以下), ▧: FP (細飼料片: 0.047 mm 以上 0.3 mm 以下), ▦: VFP (微細飼料片: 500 G遠心分離での沈降物), □: SOL (可溶性物質: 非粒子状物質)。

Figure 12. Weight distribution of six size fractions in the duodenal digesta of sheep fed four kinds of hay (ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay). ▨: MP (Medium particle: <5.6 but >1.18mm), ▩: SP (Small particle: <1.18mm but >0.3mm), ▧: FP (Fine particle: <0.3mm but >0.047mm), ▦: VFP (Very fine particle: sediment by centrifugation at 500G), □: SOL (Soluble: non-particulate matter).

表10 4種の乾草*を1時間1回給与した2頭のめん羊における反芻胃内乾物の発酵, 通過, および消失速度定数.
Table 10 Rate constants of fermentation, passage and disappearance of dry matter in/from the rumen of two sheep fed four kinds of hay* once a hour, and data for their calculation.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
摂取量 (g/d)	1534	1550	1542	1067	1299	1183	1084	1047	1066	931	1103	1017
反芻胃内容物量 (g)	989	1076	1032	870	1307	1088	805	900	852	1037	1190	1114
十二指腸内容物流量 (g/d)	762	747	755	424	578	501	504	501	502	557	596	577
反芻胃内発酵量 (g/d)	772	804	788	643	721	682	580	547	563	374	507	441
反芻胃内消化率 (%)	50.3	51.8	51.1	60.3	55.5	57.9	53.5	52.2	52.8	40.2	46.0	43.1
発酵速度 (%/h)	3.25	3.11	3.18	3.08	2.30	2.69	3.00	2.53	2.77	1.50	1.78	1.64
通過速度 (%/h)	3.21	2.89	3.05	2.03	1.84	1.94	2.61	2.32	2.47	2.24	2.09	2.16
消失速度 (%/h)	6.47	6.01	6.24	5.11	4.14	4.63	5.61	4.85	5.23	3.74	3.86	3.80

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

**めん羊の名前

**Sheep name.

LTMで最も小さい値を示した。OGとETMの消失速度はそれらの中間にあったが、ETMの方がOGより若干大きい値を示した。発酵速度は、OGとETMでほぼ同様の値を示した以外は、消失速度の乾草間の違いと同様であった。通過速度はALFで最も大きい値を示し、ALF, ETM, LTM, OGの順に小さい値を示した。

4) 反芻胃内飼料片の微細化, 発酵, 通過速度

表11に、微細化経路を分割したモデル(図9)における、微細化, 発酵, および通過の速度定数を示した。また、Co-EDTAをマーカーとして推定した反芻胃内溶液の通過速度(kl)についても同時に示した。発酵速度は、どの分画においてもLTMが最も小さい値を示した。ALFにおいてkfLはkfMに比べ若干低い値を示したが、他の乾草ではkfLとkfMの間に差はなかった。LPより小さい粒度においては、粒度が小さいほど発酵速度は小さい傾向にあり、特にALFとLTMではkfMとkfSの間の差は大きいものであった。どの乾草においてもkfFは他の粒度の発酵速度よりかなり低い値を示した。

通過速度については、全ての乾草においてkpSよりもkpFの方が大きい値を示した。kpSはALFで最も大きく、LTMで最も小さかった。それらの中間の値を示したOGとETMでは、ETMの方が若干大きい値を示した。kpFはkpSと同様にALFで最も大きく、ETMがOGより若干大きい値を示した

が、LTMとOGには差はなかった。

LPにおける全ての微細化の経路をあわせた総微細化速度は、ALFで最大であり、次にLTMが若干他より大きい値を示し、OGとETMはほぼ同等の値を示した(ALF: 12.14, OG: 8.60, ETM: 8.29, LTM: 9.96%/h)。ALFではkrLSがかなり大きい値を示し、krLMはかなり小さい値を示した。OGでは粒度が小さい分画への経路のものほど微細化速度は大きくなり、krLFはどの乾草よりも高い値を示した。ETMでは、微細化速度は経路間で大きな差はなく、2.0~3.5%/hの範囲にあった。LTMのkrLSはALFほど大きな値ではないが、他の粒度別分画への微細化速度よりも大きかった。MPにおける総微細化速度はLTMとOGは同等で他より高い値を示し、ALFはETMよりも低い値を示した(ALF: 5.08, OG: 7.46, ETM: 6.13, LTM: 7.49%/h)。krMSは乾草間に大きな差はみられなかったが、LTMのものは他より若干高い値を示した。krMFはどの乾草においてもkrMSよりも小さい値を示し、OGで最も大きく、ALFで最低であった。SPの微細化速度、すなわちkrSFはOGとLTMのものが他より若干高い値を示した。

反芻胃内溶液の通過速度には、乾草間で明瞭な違いは認められなかった。

5) 粒度別動態モデルの各経路における流量

各粒度別分画のDM重量と、粒度別動態モデル内

表11 4種の乾草**を1時間1回給与した2頭のめん羊の反芻胃内において測定した反芻胃内粒度別動態モデル*内の微細化、発酵、および通過速度定数(%/h).

Table 11 Rate constants (%/h) of size reduction, fermentation and passage in the ruminal particulate dynamics model* when measured in the rumen of two sheep fed four kinds of hay** once a hour.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
LP												
kdL	12.76	16.02	14.39	10.83	11.32	11.08	9.29	11.79	10.54	12.23	10.38	11.31
kfL	1.97	2.58	2.28	2.36	2.60	2.48	2.19	2.32	2.26	1.26	1.44	1.35
krLM	0.88	0.64	0.76	1.94	1.09	1.52	2.43	3.48	2.96	3.77	2.75	3.26
krLS	6.81	8.68	7.75	2.79	2.73	2.76	2.48	2.96	2.72	4.50	4.13	4.32
krLF	3.11	4.14	3.63	3.74	4.90	4.32	2.18	3.04	2.61	2.70	2.05	2.38
MP												
kdM	6.96	8.38	7.67	10.25	9.45	9.85	8.33	8.46	8.40	7.67	9.78	8.73
kfM	2.41	2.78	2.60	2.55	2.23	2.39	2.17	2.88	2.53	1.24	1.26	1.25
krMS	3.16	4.28	3.72	4.13	3.87	4.00	4.42	3.75	4.09	4.50	6.48	5.49
krMF	1.40	1.32	1.36	3.57	3.35	3.46	2.24	1.83	2.04	1.94	2.05	2.00
SP												
kdS	4.78	5.91	5.35	6.75	5.44	6.10	5.97	5.47	5.72	4.77	4.60	4.69
kfS	0.49	1.27	0.88	1.00	2.20	1.60	1.13	2.58	1.86	0.61	0.62	0.62
krSF	0.70	1.43	1.07	3.69	1.77	2.73	2.56	1.15	1.86	2.62	2.89	2.76
kpS	3.59	3.21	3.40	2.06	1.47	1.77	2.28	1.74	2.01	1.54	1.08	1.31
FP												
kdF	8.33	6.20	7.27	6.38	4.89	5.64	6.84	4.94	5.89	5.52	4.89	5.21
kfF	0.61	0.43	0.52	0.66	0.70	0.68	0.45	0.57	0.51	0.36	0.32	0.34
kpF	7.72	5.77	6.75	5.72	4.19	4.96	6.39	4.37	5.38	5.16	4.57	4.87
kl	7.40	6.00	6.70	7.65	5.45	6.55	5.11	6.36	5.74	6.63	5.25	5.94

*モデル、粒度別分画、および速度定数の詳細については図9を参照。

*For details of the model, particulate fraction and rate constants, see Figure 9.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

***めん羊の名前.

***Sheep name.

kl: 反芻胃内液相の通過速度定数

kl: Passage rate constants of ruminal liquid phase.

のそれぞれの経路におけるDMの流量について表12に示した。OGおよびETMのLPにおける発酵量は、他の乾草より高い値を示した。粒度別分画の発酵速度定数を反映してLTMでは、LPおよびMPでの発酵量が他の乾草より少なかった。ALFおよびLTMのSPにおける発酵速度は低かったにも関わらず、分画重量が大きかったために、それほど発酵量は小さい値にはならなかった。SPにおける発酵速度や粒度別分画重量は乾草間で大きな差があったにも関わらず、互いに相殺する値を示したために全ての乾草で同様の値を示した。全ての乾草においてFPにおける発酵量はどの粒度別分画のもの

よりも小さい値を示し、発酵速度を反映していた。しかし、OGではFPの粒度別分画重量が大きかったため、発酵量の低下は他の乾草のものほどではなかった。

通過量はどの乾草においてもSPよりもFPからのものの方が多かったが、その差はALFでは小さく、OGではかなり大きかった。SPからの通過量はALFで最も大きく、次にLTMのものが大きかった。LTMではSPの通過速度が他の乾草に比べて遅かったが、SPの分画重量が他の乾草に比べかなり大きかったため、OGやETMよりもSPからの通過量が大きくなった。FPからの通過量は、

表12 4種の乾草**を1時間1回給与しためん羊の反芻胃内粒度別分画*の乾物重量(g)と、分画からの発酵、微細化、および通過による流出乾物量(g/h)。

Table 12 Pool size (g) and outflow (g/h) by fermentation, size reduction and passage from the rumen of dry matter of each particulate fraction* in the rumen of sheep fed four kinds of hay** once a hour.

		ALF			OG			ETM			LTM		
		S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
LP	分画重量	101.2	100.1	100.7	110.9	193.0	152.0	129.0	140.0	134.5	78.3	153.2	115.8
	総流出	12.9	16.1	14.5	12.0	21.9	16.9	11.8	16.5	14.2	9.6	15.9	12.7
	発酵	2.0	2.6	2.3	2.6	5.0	3.8	2.8	3.2	3.0	1.0	2.2	1.6
	微細化	10.9	13.5	12.2	9.4	16.8	13.1	9.0	13.3	11.1	8.6	13.7	11.1
	MPへ移行	0.9	0.6	0.8	2.2	2.1	2.1	3.1	4.9	4.0	3.0	4.2	3.6
	SPへ移行	6.9	8.7	7.8	3.1	5.3	4.2	3.2	4.2	3.7	3.5	6.3	4.9
	FPへ移行	3.2	4.1	3.6	4.2	9.5	6.8	2.8	4.3	3.5	2.1	3.1	2.6
MP	分画重量	94.7	111.0	102.9	89.6	155.6	122.6	107.1	123.3	115.2	152.7	157.3	155.0
	総流出	6.6	9.3	7.9	9.2	14.7	11.9	9.5	10.4	9.9	11.7	15.4	13.5
	発酵	2.3	3.1	2.7	2.3	3.5	2.9	2.3	3.6	2.9	1.9	2.0	1.9
	微細化	4.3	6.2	5.3	6.9	11.2	9.1	7.1	6.9	7.0	9.8	13.4	11.6
	SPへ移行	3.0	4.8	3.9	3.7	6.0	4.9	4.7	4.6	4.7	6.9	10.2	8.5
	FPへ移行	1.3	1.5	1.4	3.2	5.2	4.2	2.4	2.3	2.3	3.0	3.2	3.1
SP	分画重量	266.3	299.3	282.8	148.0	168.1	158.1	150.4	149.4	149.9	345.2	443.1	394.2
	総流出	12.7	17.7	15.2	10.0	9.2	9.6	9.0	8.2	8.6	16.5	20.4	18.4
	発酵	1.3	3.8	2.6	1.5	3.7	2.6	1.7	3.9	2.8	2.1	2.8	2.4
	微細化	1.9	4.3	3.1	5.5	3.0	4.2	3.9	1.7	2.8	9.0	12.8	10.9
	FPへ移行	1.9	4.3	3.1	5.5	3.0	4.2	3.9	1.7	2.8	9.0	12.8	10.9
	通過	9.6	9.6	9.6	3.1	2.5	2.8	3.4	2.6	3.0	5.3	4.8	5.1
	通過	9.6	9.6	9.6	3.1	2.5	2.8	3.4	2.6	3.0	5.3	4.8	5.1
FP	分画重量	169.0	229.6	199.3	231.4	311.8	271.6	155.4	176.0	165.7	226.9	290.6	258.8
	総流出	14.1	14.2	14.2	14.8	15.2	15.0	10.2	8.7	9.5	12.5	14.2	13.4
	発酵	1.0	1.0	1.0	1.5	2.2	1.9	0.7	1.0	0.9	0.8	0.9	0.9
	通過	13.0	13.3	13.1	13.3	13.1	13.2	9.5	7.7	8.6	11.7	13.3	12.5
VFP+SOL	分画重量	357.5	335.6	346.6	290.0	478.0	384.0	264.7	310.9	287.8	234.1	145.8	190.0
	総流出	26.5	20.1	23.3	22.2	26.1	24.1	13.5	19.8	16.7	15.5	7.6	11.6

* 粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照。

**For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草。

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

***めん羊の名前

***Sheep name.

ALF, OG, および LTM の間には差はなかった。ETM の FP からの通過量は他の乾草のものより少なく、これは FP の分画重量が小さいことによるものであった。ALF では FP の通過速度は他より大きかったが分画重量が比較的小さかったため、通過量に他の乾草との差がみられなかった。

LP の総微細化速度は乾草間に違いがあったが、分画重量によって相殺されたため、総微細化量は乾草間で差はなかった。しかし、LP から MP, SP, および FP への微細化の各経路の流量は乾草間で大き

く異なった。ALF では総微細化量のうち約 64% は SP に微細化され、MP へ微細化されるものはほとんどなかった(7%)。OG では FP へ微細化するものが約 52% を占めた。ETM および LTM では他の 2 種の乾草とは異なって、MP への微細化量が比較的大きかった。ETM は 3 つの経路に対して均等量が微細化された。LTM では、SP へ微細化する量が多く全体の約 44% を占めていた。

MP における総微細化量は、LTM が分画重量が最も大きいために最も多く、そのほとんど(73%)

表13 4種の乾草**を給与しためん羊の反芻胃内の各粒度別分画*に流入した摂取食塊に由来する乾物流量の実測値、推定値、および実測値から推定値を差し引いた差

Table 13 Observed and estimated dry matter inflows originated from ingested bolus to respective particulate fractions* in the rumen of sheep fed four kinds of hay**, and difference as subtracting estimated value from observed value.

		ALF			OG			ETM			LTM		
		S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
g/h													
実測値	LP	16.6	15.1	15.9	9.5	23.5	16.5	16.5	19.7	18.1	8.2	12.2	10.2
	MP	13.2	12.3	12.7	15.0	9.3	12.2	10.1	11.3	10.7	15.1	12.3	13.7
	SP	11.3	9.6	10.5	11.5	5.1	8.3	4.4	4.6	4.5	11.6	6.3	8.9
	FP	5.0	4.3	4.6	4.7	1.9	3.3	1.4	2.0	1.7	5.2	2.5	3.8
推定値	LP	12.9	16.1	14.5	12.0	21.9	16.9	11.8	16.5	14.2	9.6	15.9	12.7
	MP	5.7	8.7	7.2	7.0	12.6	9.8	6.4	5.6	6.0	8.8	11.2	10.0
	SP	2.9	4.3	3.6	3.2	-2.1	0.5	1.1	-0.6	0.2	6.1	3.9	5.0
	FP	7.7	4.3	6.0	2.0	-2.4	-0.2	1.2	0.5	0.8	-1.6	-5.0	-3.3
差	LP	3.7	-0.9	1.4	-2.5	1.6	-0.5	4.7	3.2	3.9	-1.4	-3.7	-2.6
	MP	7.5	3.6	5.5	8.0	-3.3	2.4	3.7	5.7	4.7	6.3	1.2	3.7
	SP	8.5	5.3	6.9	8.3	7.2	7.7	3.3	5.2	4.2	5.5	2.4	4.0
	FP	-2.8	0.0	-1.4	2.7	4.3	3.5	0.2	1.5	0.9	6.8	7.5	7.1

* 粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照

**For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

***めん羊の名前

***Sheep name.

がSPへ微細化された。ALFのMPの総微細化量は他の乾草に比べ最小であったが、LTMと同様の割合でSPに微細化された(74%)。OGでは、SPとFPへほぼ均等量が微細化された。ETMではSPへ微細化された割合は67%であった。

SPからFPへの微細化量は、LTMにおいて他の乾草より著しく高い値を示した。これは、その経路の微細化速度とSPの分画重量が両者とも他の乾草に比べ大きいことによるものであった。その他の乾草では、ETMが若干低い値を示したが大きな差はなかった。

6) 粒度別分画の反芻胃内流入・流出量のモデルによる推定値と実測値

表13に摂取食塊から実測した各粒度別分画の反芻胃内流入量、モデルにおけるその推定値、および実測値と推定値との差を示した。表14に十二指腸内容物から実測した各粒度別分画の反芻胃内流出量、モデルにおけるその推定値、および実測値と推定値との差を示した。表14には、VFPとSOLをあわせ

た流出量も加えて表示した。これらのデータを全てまとめて、実測値に対する推定値をプロットした散布図を、流入について図13、流出について図14に示した。

粒度別分画の反芻胃内への流入は、32例中で6例は推定値の方が若干大きいものがあったが、図13から明らかのように実測値より推定値の方が小さくなる傾向にあった。LPにおいては、絶対量が大きい割には推定値と実測値の差は比較的小さく、推定値が実測値を若干上回った6例のうち4例はLPのものであった。その他の粒度では、各粒度で特有の傾向がみられることはなく、すべての粒度で実測値より推定値が小さいものが多かった。また、推定値が負の値になる例が5例あり、そのうち2例はLTMのFPのものであった。

モデルにおいては、SPとFPにしか通過の経路を設定していないので、図14にはSPとFPのみのプロットを示した。反芻胃からの粒度別分画(SPおよびFP)の流出量は、流入量の場合と比べると比較的

表14 4種の乾草**を給与しためん羊の反芻胃内の各粒度別分画*から流出した乾物流量の実測値, 推定値, および実測値から推定値を差し引いた差

Table 14 Observed and estimated dry matter outflows from respective particulate fractions* in the rumen of sheep fed four kinds of hay**, and difference as subtracting estimated value from observed value.

		ALF			OG			ETM			LTM		
		S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
		g/h											
実測値	MP	0.9	0.3	0.6	0.1	0.1	0.1	0.7	0.5	0.6	0.3	0.2	0.3
	SP	11.5	9.6	9.5	3.9	4.0	3.9	4.4	4.2	4.3	5.6	6.4	6.0
	FP	13.9	11.6	11.4	10.0	12.8	11.4	8.8	8.7	8.8	9.7	13.0	11.4
	VFP+SOL	18.7	18.1	20.7	14.3	18.9	16.6	17.5	19.6	18.5	19.5	13.7	16.6
推定値	MP	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	SP	9.6	9.6	9.6	3.1	2.5	2.8	3.4	2.6	3.0	5.3	4.8	5.1
	FP	13.0	13.3	13.1	13.3	13.1	13.2	9.5	7.7	8.6	11.7	13.3	12.5
	VFP+SOL	26.5	20.1	23.3	22.2	26.1	24.1	13.5	19.8	16.7	15.5	7.6	11.6
差	MP	0.9	0.3	0.6	0.1	0.1	0.1	0.7	0.5	0.6	0.3	0.2	0.3
	SP	2.0	0.0	-0.1	0.8	1.5	1.2	1.0	1.6	1.3	0.3	1.6	0.9
	FP	0.8	-1.7	-1.8	-3.2	-0.3	-1.7	-0.7	1.0	0.2	-2.0	-0.2	-1.1
	VFP+SOL	-7.8	2.6	-2.6	-7.9	-7.1	-7.5	4.0	-0.2	1.9	4.0	6.1	5.0

* 粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照

**For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

***めん羊の名前

***Sheep name.

よく一致していた。しかし、FPの流出量における8例のうち6例は推定値が実測値より大きく、その中には推定値と実測値の一致直線から大きく離れたデータが含まれていた。SPの流出量では全体的に推定値は実測値より小さかったが(8例中7例), それらの差は大きいものではなく、図14における推定値と実測値の一致直線から大きく隔たるものはなかった。

d. 考 察

1) 反芻胃内の粒度別飼料片の微細化, 通過, および発酵速度定数

II章で確立した反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルと解析方法によって, 4種の乾草間の反芻胃内飼料片の動態の違いが明確となり, それぞれが特徴的な微細化, 通過, および発酵の速度を有していた。

反芻胃内の飼料片の微細化速度を測定した報告例は非常に限られており, 用いるマーカー, モデル, および対象とする粒度といった測定方法が様々であり比較は難しい。それらの報告^{37,41,42,132,134,135})をまとめると, 微細化速度は概ね1~10%/hの範囲に

あった。本研究においても, 各粒度分画の総微細化速度は, ALFのLPのものを除けば, 10%/h以内であった。

微細化速度の変動要因として粒度が挙げられる。Smith *et al.*¹¹⁴⁾は, 植物体細胞壁をC₁₄で標識した飼料片を用い, 微細化速度は粒度と正の関係にあることを報告した。また, Ellis *et al.*³⁴⁾も同様に, バミュダグラスを給与した去勢牛において, 粒度が小さいほど微細化速度は小さくなる結果を報告している。Murphy *et al.*⁹²⁾は, 様々な比重と径のプラスチック粒子を用いて, 微細化速度は粒子径が大きいほど増大するが, その増加が認められるのは4mm以上の粒子においてであり, また増加率は比重の増加とともに低減したと報告している。本研究で供試したどの乾草においても, 粒度が小さいほど各分画の総微細化速度は低下した。反芻において反芻胃内容物が吐き戻される際には, 小粒子は口腔内に残留せず即座に再嚥下され, 大粒子のみが選択的に口腔内に残留し咀嚼を受けることが報告されている⁶⁵⁾。また, Murphy & Kennedy⁹¹⁾は, 口腔内にお

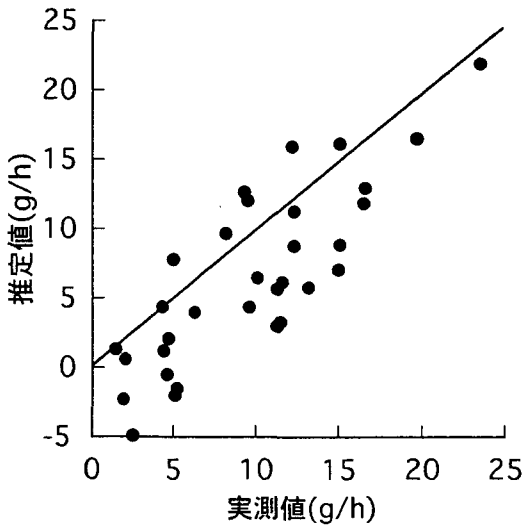


図13. 表13に示した反芻胃内粒度別分画への乾物流入量の推定値と実測値間の関係。グラフ内の直線は推定値と実測値の一致を表す。

Figure 13. Relationship between estimated and observed values of dry matter inflow to particulate fractions of the rumen, which is shown in Table 13. The line in the graph represents the equality of estimated value to observed value.

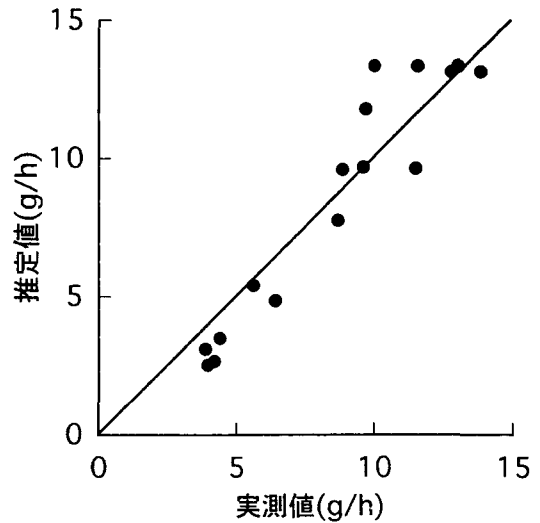


図14. 表14に示した反芻胃内粒度別分画からの乾物流出量の推定値と実測値間の関係。グラフ内の直線は推定値と実測値の一致を表す。

Figure 14. Relationship between estimated and observed values of dry matter outflow from particulate fraction of the rumen, which is shown in Table 14. The line in the graph represents the equality of estimated value to observed value.

ける粒子が咀嚼を受ける確率は、サイズの大きさに従って指数関数的に増加することを、人間での報告をもとに総説している。

総微細化速度がALFのLPにおいて他の乾草より大きかったことは、粒度以外の要因として、植物体構造の違いが関与していた可能性がある。Grenet⁵⁸⁾は、リグニン化した木部はアルファルファでは環状配列しているのに対し、ライグラスでは分散配列をしていることが、アルファルファの方が破碎されやすいことの原因として考察している。

微細化速度を複数の経路に分割したモデルにおいて各速度を実測した報告例は少なく、多くの場合の粒度別動態モデルでは、反芻胃内の粒度を大小の2分画のみとするか^{75,106)}、それ以上の分画を設けても微細化の経路は分割していない^{41,62)}。微細化の経路を考慮したモデルは非常に限られている^{34,43,135)}。さらに、微細化の経路における給与飼料種間差を明確にした研究例はない。Murphy & Kennedy⁹¹⁾は最

近の総説において、反芻胃内粒子の微細化のパターンに関する研究が不足しており、それが粒子動態モデル化の研究進展の障壁となっていることを指摘している。世界的にみてもこのような現状にある中で、本研究では、微細化の経路を分割したモデルによって各速度定数を測定することが可能となり、さらに微細化のパターンに乾草間で大きな違いを検出することができた。

粒度別飼料片の反芻胃内通過速度を測定した報告は比較的多く、一般的に粒度が小さいものほど通過速度は速いようである^{18,107,112)}。本研究では、モデル上でSPとFPしか通過速度は与えていないが、他の報告ではさらに分画を細分し、また大粒子を含めて通過速度を測定したものもある^{42,109)}。Murphy & Kennedy⁹¹⁾は、通過速度と粒度とは指数関数的な関係にあることを結論している。本研究においても、SPよりFPの通過速度は非常に大きく、この関係を支持するものであろう。しかし、FPの通過速度と

SPの通過速度との差は、乾草間で異なり粒度以外の要因が関与している可能性が暗示される。

反芻胃内飼料片の発酵速度を測定した報告例はこれまでにない。モデルにおいて、粒度別分画の発酵速度は、飼料と同じ、あるいは粒度間で差はないと仮定している場合が多い^{81,106)}。また、発酵の経路は設けずに不消化物の動態を追跡したものがある⁴¹⁾。唯一考慮したのは摂取食塊の粒度別飼料片の発酵速度を測定した Ellis *et al.*³⁴⁾ の報告であり、彼らは粒度によって発酵速度は異なることを示した。

2) 総反芻胃内容物の消失速度に及ぼす反芻胃内飼料片の粒度別動態の影響

図15に、ALF, OG, ETM, および LTM 給与における反芻胃内飼料片の動態の模式図を示した。この模式図では、動態のパターンの比較のため総反芻胃内容物を 1000 g として換算し、2頭のめん羊の平均値で示した。総反芻胃内容物の DM 量の実測値は 900~1200 g の範囲にあり、また、その値には乾草種による違いがみられなかったため、このような仮定に基づいて結果を解析しても問題はないと思われる。

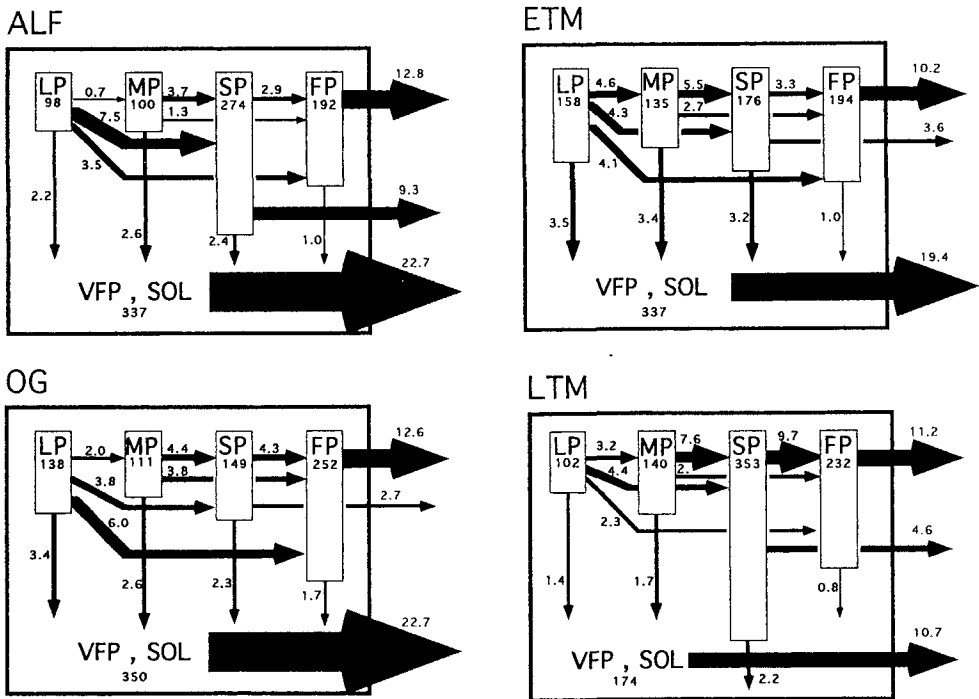


図15. 4種の乾草を給与しためん羊の反芻胃内の各粒度別分画における量的な出入り (g/h)。それぞれの値は総反芻胃内容物を 1000 g に補正したもので2頭のめん羊の平均値である。粒度別分画の重量は長方形の面積およびその中の数値で表されている。矢印の太さは流量を表す。図中の粒度別分画および値の詳細については図10および表12、他を参照。ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草。

Figure 15. Mass action (g/h) in each particulate fraction in the rumen of sheep fed four kinds of hay. Values are means of two sheep and corrected total rumen digesta to 1000g. Particulate pool size are shown as area of respective diagrams and values in them. Boldness of the allow shows the amount of the flow. For details of particulate fraction and values in this figure, see Figure 10 and Table 12 or elsewhere. ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

ALF では、LP からの微細化が SP に集中しており、また SP のまま反芻胃から通過していく量が他の乾草に比べ非常に多いことが特徴的であった。すなわち、ALF では MP を介さない微細化のパターンと、SP における高い通過の確率が、総反芻胃内容物の消失速度、とくに通過速度を高めている大きな原因といえる。FP としての通過量は、速度定数は大きかったが通過量は他の乾草と同程度であるので総反芻胃内容物の通過速度を高めた原因とはいえないであろう。ALF では総反芻胃内容物の発酵速度も他の乾草より高かったが、各分画からの発酵量は他の乾草と比べて多いものではなかった。摂取食塊の粒度別分画割合において、ALF では SOL の割合が非常に大きかったことから(図 10)、総反芻胃内容物の発酵速度が他の乾草より高い値を示したのは、易発酵性の物質が多かったためと考えられる。総反芻胃内容物の発酵速度は正確には発酵・吸収速度であるが、このモデルにおける発酵の経路、すなわち VFP と SOL の消失には吸収は考慮されておらず、結果の解釈は単純ではない。しかしながら、SP における発酵速度は小さいが、その分画重量が大きいため発酵量は LP および MP におけるものとは差がなかった。このことも、総反芻胃内容物の発酵速度の大きい値を支えていた原因として考慮される。

OG における反芻胃内飼料片の微細化の特徴は、LP が直接 FP まで微細化される経路が大きかったことである。また、MP と SP ついても FP にまで微細化されてから反芻胃を流出するものが多かった。そのため、SP として反芻胃を通過した量はどの乾草のものより少なく、このことが OG における総反芻胃内容物の通過速度が ETM や LTM より若干低かったことの原因と考えられる。また、LP および FP において発酵量が比較的大きかったことが、消失に占める発酵の割合が大きかったことの原因として考えられる。

ETM が OG より総反芻胃内容物の通過速度が速かったのは、SP からの通過量が ETM で多かったことによる可能性がある。これは、ETM の LP の微細化が各粒度へ均等量行われたこと、また、MP から FP および SP から FP への微細化量が比較的少なかったことを原因としているであろう。MP および SP までの発酵量の値は OG より大きく、総反芻胃内容物の発酵速度が OG より若干大きかったことの原因であろう。VFP と SOL の流量が OG より少な

いが、これはこれらの分画重量が小さかったためであるが、その原因は不明である。しかし、表 14 で示した VFP と SOL の流量の実測値は OG と ETM では差は認められず、これらの流量が総反芻胃内容物の通過速度に影響したとは考えにくい。

LTM において総反芻胃内容物の消失速度が他の乾草より低かった原因は、通過速度は OG や ETM と大きく異ならなかったことから、主に発酵速度にあるといえる。総反芻胃内容物の総発酵速度が遅かったのは、どの分画においても発酵量が他の乾草に比べて少ないことによるものであろう。LTM では SP の分画重量がかなり大きい、もしこのような分画重量がなければ総反芻胃内の発酵速度はもっと低くなっていたであろう。LTM における微細化のパターンは、程度はそれほど大きくないが ALF と同じく LP の微細化が SP に集中する傾向にあった。このことが SP としての通過量を多くし、総反芻胃内容物の通過速度を OG よりも若干大きくした原因である可能性が考慮される。一方、他の乾草とは異なり MP から SP、SP から FP への微細化量が非常に多く、各粒度の段階を経て反芻胃を通過していく傾向が伺われた。特に、SP から FP への微細化量が他の乾草より多かったことは特徴的で、これは SP の分画重量と krSF が大きかったことの両者に起因していた。もし、LTM においてこのように SP の分画重量が大きくなかったとしたら、FP の通過量は低下し、総反芻胃内容物の通過速度は消失速度の大きな低下要因となっていたと考えられる。摂取食塊の粒度別分画割合において MP の割合が大きい傾向にあったが、このような反芻胃内での微細化のパターンに影響したと思われる。VFP と SOL の分画重量は少なかったため、それらの通過量は他の乾草のものより著しく少なかった。これは、発酵量が少なかったためと考えられる。

4 つの乾草と 2 頭のめん羊のデータをまとめ、変数減少法による重回帰分析によって総反芻胃内容物の通過速度定数および発酵速度定数が、反芻胃内飼料片の粒度別動態のどの段階において、どの程度の寄与率で関与しているかについて検討した。

各粒度別分画の総微細化量および通過量(総反芻胃内容物を 1000 g として換算したデータ)を説明変数として総反芻胃内容物の通過速度定数に対する重回帰分析を行った。その結果、有意に以下の式が導かれた。

$$k_p = 0.149 \cdot SPP - 0.027 \cdot SPR + 1.79$$

$$(R^2 = 0.924, P < 0.01)$$

k_p は総反芻胃内容物の通過速度 (%/h)

SPP は SP の通過量 (g/h)

SPR は SP の微細化量 (g/h)

したがって、総反芻胃内容物の通過速度に対して、SP の通過量は正に、また SP の微細化量は負に影響し、それらは k_p を左右する上で他の動態の中でも重要であることが示された。それぞれの標準偏回帰係数は SPP で 0.91, SPR で -0.20 であり、SPP の寄与率が高かった。一方、それぞれの乾草の粒度別動態の特徴において示されていたように、SP の通過量や微細化量は LP や MP といった大飼料片の微細化のパターンに大きく左右されていた。これらのことから、総反芻胃内容物の消失の一部を占める通過の速度は、通過可能な粒度でも比較的大きな範囲の飼料片の主に通過量、もしくはその粒度以下への微細化量によって決定されると考えられた。さらに、SP の通過量や微細化量は LP と MP の微細化のパターンの影響を受けていたことから、総反芻胃内容物の通過速度は LP および MP の微細化パターンが SP の微細化量と通過量に影響した結果として決定されるものと考えられた。

各粒度別分画の発酵量(総反芻胃内容物を 1000 g として換算してデータ)を説明変数として総反芻胃内容物の発酵速度定数に対する重回帰分析を行った。その結果以下の式が導かれた。

$$k_f = 1.14 \cdot MPF - 0.63 \cdot SPF + 1.19$$

$$(R^2 = 0.647, P < 0.1)$$

k_f は総反芻胃内容物の発酵速度 (%/h)

MPF は MP の発酵量 (g/h)

SPF は SP の発酵量 (g/h)

それぞれの標準偏回帰係数は、MPF が 1.15, SPF が -0.90 であった。各粒度別分画の発酵速度についても同様の回帰分析を行った結果、MP と SP の発酵速度定数が残された式が導かれ、この場合には 1%水準で有意であった。したがって、総反芻胃内容物の発酵速度は主に MP および SP における発酵量もしくは発酵速度によって左右されることが示された。SP の係数は負であり、SP における発酵量が多い場合には、総反芻胃内容物としての発酵速度は低くなる傾向があることを意味している。微細化のパターンによっては SP での発酵が多い場合には他の粒度での発酵量(発酵速度)が低下するという結果

のためと考えられる。これらのことから、総反芻胃内容物の発酵速度に及ぼす各粒度別分画の発酵の影響は、全ての粒度で共通ではなく、粒度によって異なり特に中程度の粒度における発酵の影響が大きいたことが示された。こういった粒度による違いをもたらした原因には、粒度微細化のパターンの違いによってもたらされる残存基質の量の低下の程度の違い、また粒度の縮小によって微生物の基質利用性が変化したことが考えられる。

以上から、総反芻胃内容物の消失速度を構成する通過速度および発酵速度には、両者ともに反芻胃内飼料片の微細化のパターンが間接的に影響を及ぼしたものと考えられた。さらに、総反芻胃内容物の発酵速度に関しては飼料片の発酵速度が粒度によって異なることが、それを支配する要因になっていることが示された。飼料片の微細化のパターンに関しては、反芻時の咀嚼と発酵の程度が相互関連して違いをもたらされるものと考えられる。一方、飼料片の発酵速度の粒度による違いは、特に繊維質分解性の細菌の反芻胃内での存在様式、すなわち、飼料片への付着程度の飼料片粒度による違いが大きく関与しているものと考えられる。モデルから明らかとなった反芻胃内飼料片の微細化のパターンは、摂取食塊の粒度別分画割合とは一致していない。反芻胃内飼料片の微細化のパターンには、発酵による植物組織の構造上のあるいは成分的な変化が関与しているものと考えられる。したがって、反芻胃内飼料片の粒度による発酵速度の違いは、微細化のパターンに影響している可能性がある。

3) 反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルの汎用性

hourly feeding では反芻胃内の粒度別分画の重量は一定であり、各分画における流入量と流出量は等しくなるという仮定に基づいて、モデルの検証と実用上の問題点を整理した。

本試験では 4 種の質的に異なる乾草において、粒度別飼料片の動態の特徴が明確になり、それらが反芻胃内容物の DM の消失速度に密接に関連していることが示されており、この点からは本試験で開発したモデルと解析方法は非常に実用性が高いといえる。これを活用し更に多様な飼料、給与量、および補助飼料の影響などの検討の可能性が拡大したといえる。

摂取食塊の反芻胃内粒度別分画への流入量に関しては、モデルからの推定値と実測値とは若干異なる

傾向にあった。また、全体的に実測値に対して、推定値が低くなる傾向にあった。この原因としては、以下の2点が考慮される。摂取食塊のサンプリング時には、めん羊によっては非常に神経質になり、採食および咀嚼の仕方に影響した例がみられた。それにより、摂取食塊の粒度別分画割合に影響した可能性がある。また、実際の飼料摂取下では飼料摂取の時間に伴い採食および咀嚼の様式が変化しており、採取したサンプルがそのような意味での代表サンプルになり得ていない可能性がある。Gill *et al.*⁵³⁾ は、摂取食塊の平均粒子サイズは採食期内の時間経過とともに減少し、これは、採食期の初期では食塊当たりの顎運動が少なく、食塊重量が軽く、食塊を早く嚥下するためであると報告している。もう一点には、モデルにおいて各粒度別分画には易発酵性の部分はないものとしているが、摂取食塊からの流入量が多い分画では易発酵性の分画の流出が実際には起こっている可能性があることが挙げられる。推定値がマイナスになるような場合があったのは、分画からのおそらくは易発酵による流出量を過小推定したためであろう。このような問題は特に易発酵性の部分が多い飼料で問題となるであろう。飼料の成分についてこのモデルを基礎に反芻胃内の動態を把握することが将来的には求められるが、そのためにはこの問題を解決しなければならない。特に、それは易発酵性の部分の大きい蛋白質について検討する際の大きな障壁となると考えられる。湿式篩別法を用いて粒度別分画を行っている限り限界があり、何らかの別の手法を開発、あるいは補正する方法が必要である。

一方、反芻胃からの各分画の流出量に関しては、実測値と比較的よく一致していた。このことは、小飼料片の通過に関してはかなり精度よく推定できたことを意味している。したがって、前段で示した流出と流入の不均衡が生じている原因が発酵あるいは微細化の量における誤差に起因している可能性が高いものと考えられる。本研究では *in situ* 法でのDMの発酵と希土類元素の消失が平行している⁶²⁾ ことを仮定していたが、この仮定自体に問題がないとはいえない。一戸⁶²⁾ は1種の乾草のみでの結果からこの仮説を導いており、飼料によってはDMの発酵と希土類元素の消失が必ずしも平行していない可能性がある。

以上のように、本研究で開発した反芻胃内飼料片の粒度別動態を解析するモデルと解析方法は、易発

酵性部分の動態に関して問題を持っていたが、繊維質含量の高い飼料や飼料中の繊維質の動態を追跡する場合においては有効であると考えられた。

D. 反芻胃内飼料片の粒度微細化と繊維質発酵との関係

a. 目的

C節において、総反芻胃内容物の消失速度には、反芻胃内飼料片の微細化のパターン、および反芻胃内飼料片の粒度による発酵速度の違いが影響することが示された。反芻胃内ではこれら両者は相互に関与しあっているため、その影響を別々に考慮することは不可能である。反芻胃内の飼料片は発酵により脆弱化^{22,124)}、反芻時の微細化のパターンに影響するであろう⁹¹⁾。また、逆に、飼料片は微細化されることによって細菌の利用可能基質の表面積を拡大し、発酵速度に影響するであろう^{4,67)}。反芻胃内飼料片の成分はほとんどが繊維であり^{122,129)}、また、繊維の本質的に有する粗剛性や遅消化性を考慮すると、繊維質の発酵がこれらの両者に大きく寄与していることは間違いないと考えられる。

反芻胃内飼料片の繊維質の発酵は、飼料片に付着した細菌によるものであることが検鏡的に確認されている^{3,5)}。また、細菌の飼料片の付着程度は粒度によって異なることが指摘されている^{12,74)}。したがって、飼料片の粒度による発酵速度の違いをもたらしている要因は、飼料片への細菌の付着程度である可能性が大きく⁶⁾、それは反芻胃内飼料片の繊維質発酵の粒度による違いを明確にする上で大きな手がかりとなるであろう。

そこで、本節では、C節において総反芻胃内消失速度に影響すると考えられた、反芻胃内飼料片の微細化のパターンと粒度による発酵速度の違いを、反芻胃内の飼料片の微細化と細菌による繊維質発酵の相互関連の面から明らかにすることを目的とした。反芻活動、反芻胃内細菌の分布および飼料片への付着程度、および粒度別飼料片の繊維質の発酵特性から、C節での結果をふまえ、反芻胃内飼料片の粒度微細化が繊維質発酵に及ぼす影響、および反芻胃内飼料片の繊維質発酵が微細化に及ぼす影響について検討した。

b. 分析および解析方法

1) 粒度別分画中の繊維成分含量

反芻胃内容物の各粒度別飼料片のOM、NDF、ADF、およびADLの含量を、前に記した方法に従っ

て分析した。NDF から ADF を差し引いたものをヘミセルロース、ADF から ADL を差し引いたものをセルロースとした。

2) 反芻胃内飼料片への付着程度に基づく細菌の分画

粒度別標識飼料片の反芻胃内投与後 48 時間に採取した細菌分画用の反芻胃内容物約 1000 g から、図 16 に示した過程により、反芻胃内の細菌を、飼料片に付着していない細菌 (NAB: Non-associated bacteria)、飼料片に緩く付着した細菌 (LAB: Loosely-associated bacteria)、および飼料片に強固に付着した細菌 (TAB: Tightly-associated bacteria) に分画した。この方法は、Legay-Carmier & Bauchart⁷⁴⁾ を参考にした。得られた細菌分画は凍結乾燥し、DM 含量を測定した (135°C, 2 h)。TAB については、100% 回収することは不可能であるので、DAPA (Diaminopimelic acid) を細菌体のマーカーとして用いて定量した。反芻胃内の各粒度別飼料片および回収 TAB の DAPA 含量を測定し、前者を後

者で除すことによって、各粒度別分画中の TAB 含量を推定した。各粒度別分画中の TAB 含量を反芻胃内粒度分画重量に乗じて総和し、反芻胃内 TAB 割合を算出した。NAB および LAB については図 16 の通過で全量を回収することになるので、反芻胃内容物サンプル中の割合を反芻胃内中の割合とした。

DAPA の含量の分析は、液体クロマトグラフィーを用いる Czerkawski²⁶⁾ の方法を修正した方法で行った。試料の加水分解を 6 N 塩酸で 24 時間行い、その後、遠心型エバポレータにより塩酸を 40°C にて揮発させ、加水分解物を乾固させた。加水分解物に pH 2.0 のクエン酸緩衝液を 10 ml 加え、ウォーターバスで湯煎し (1 h)、ガラスフィルター (3 G 4) で濾過した。

アンバーライトを充填したカラム (id 20 mm) を用い、pH 2.0, pH 3.0, および pH 4.2 のクエン酸緩衝液による液体クロマトグラフィーを行った。pH 4.2 での DAPA 溶出液を 2 倍に濃縮し、ニンヒ

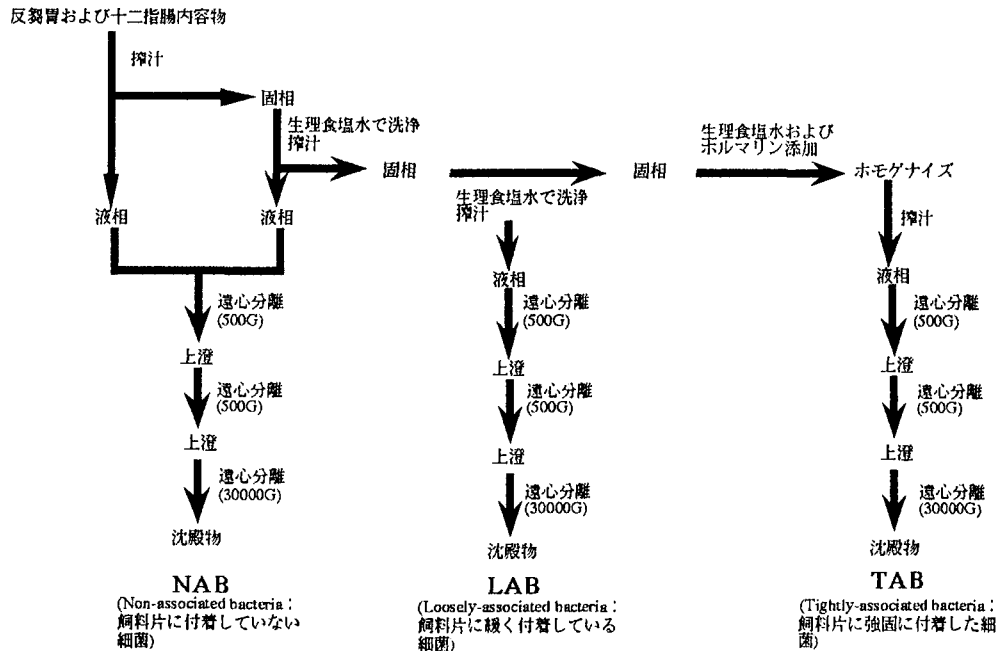


図 16. 反芻胃および十二指腸内容物中の飼料片に付着していない細菌 (NAB)、飼料片に緩く付着している細菌 (LAB)、飼料片に強固に付着した細菌 (TAB) の分画のための連続工程。

Figure 16. Successive step in the fractionation of non-associated bacteria (NAB), loosely-associated bacteria (LAB) and tightly-associated bacteria (TAB) of the rumen and duodenal digesta.

ドリン反応による比色定量を吸光度測定 (540 nm) により行い DAPA 濃度を測定した。

3) *in situ* での反芻胃内粒度別飼料片の繊維質分解性および細菌の付着量

in situ での粒度別飼料片の DM 分解度を測定したバッグ内の残渣、および培養を行っていない飼料片の NDF 含量を測定した。それらから各培養時間における NDF の分解度を算出した。得られた各培養時間の NDF 分解度を、Ørskov & McDonald⁹⁷⁾ の式に当てはめることにより、各粒度別飼料片の NDF の可発酵分画割合、および可発酵分画の発酵速度を推定した。DM の場合と同様に、可溶性分画は存在しないものとして補正し、可発酵分画割合を推定した。

各粒度別分画の kd から kf を差し引いた値を、各分画からの NDF の発酵以外 (微細化および通過) による消失速度とみなし、NDF の各分画における実効的な発酵程度を算出した。その算出式は、以下の通りである。

実効発酵程度 =

$$\frac{\text{可発酵分画割合} \cdot \text{可発酵分画の発酵速度}}{\text{発酵以外の消失速度} + \text{可発酵分画の発酵速度}}$$

前述した方法により、各培養時間のバッグ内残渣および培養を行っていない飼料片中の DAPA 含量を測定した。これと、それぞれの反芻胃内容物中の TAB の DAPA 含量とから、各培養時間の残渣中の TAB 含量を推定した。

4) 咀嚼の時間、回数、および効率

32 日目から 34 日目まで、ニューモグラフ・ターンブル法⁹⁵⁾を用いて咀嚼活動を測定した。ニューモグラフにおける空気圧の変化は接近リレーにより電気信号に変換することにより、めん羊が採食時と反芻時に咀嚼を行っている時間をチャートレコーダーに記録させた。また、同信号はコンバーターを介してコンピューターへ送られ、咀嚼の回数を 1 分間あたりの回数として記録した。

チャート紙に記録された波形の特徴から採食と反芻を区別し、これとコンピューターに記録させた 1 分当たりの咀嚼回数から、1 時間当たりの採食および反芻の時間および咀嚼回数を解析した。

採食時および反芻時における大飼料片 (LP と MP のあわせたもの) の 1g 微細化当たりの咀嚼時間および回数の咀嚼効率として算出した。採食時に

ついては、給与飼料はすべて LP もしくは MP とみなして、摂取量から摂取食塊の大飼料片の反芻胃内流入量を差し引いた値を、採食時に大飼料片が微細化された量とした。これを採食時の咀嚼時間および回数で除したものを咀嚼効率とした。反芻時については、C 節の結果で掲げた LP と MP から小飼料片への微細化量を反芻時の咀嚼時間および回数で除したものとした。

c. 結果

1) 反芻胃内の粒度別飼料片中の繊維成分含量

粒度別飼料片中の NDF 含量を表 15 に示した。どの乾草においても、VFP の NDF 含量は他の粒度のものに比べるとかなり低い値を示し、その値は LTM で最も高く、LTM, ETM, OG, ALF の順に小さい値を示した。それ以外の粒度別分画の NDF 含量は、80~90% の範囲にあり、飼料片のほとんどは NDF で占められていた。LP および MP では乾草間で明瞭な差はなく、両粒度間にも差はみられなかった。SP の NDF 含量はどの乾草でも他の粒度の値より高くなる傾向にあり、LTM では他の乾草のものより高く 90% を越える値を示した。FP の NDF 含量は、どの乾草でも SP より低く、VFP と同様に 4 種の乾草の中で LTM のものが最も高い値を示し、ALF では最も低い値を示した。SP と FP の NDF 含量の差は ALF において最も大きかった。

各粒度別飼料片の NDF 中のセルロース、ヘミセルロース、およびリグニン含量の 2 頭の平均を図 17 に示した。全ての乾草において、セルロース含量は粒度が小さくなるにつれて低下し、特に VFP は他の粒度に比べるとかなり低い値を示した。LP から FP までの粒度でのセルロース含量の低下は ALF において最も大きく、OG で最も小さかった (ALF: 12.7, OG: 4.8, ETM: 9.5, LTM: 8.0% 単位)。ETM および LTM では、SP から FP への低下の程度が他の粒度間での低下に比べて大きかった。ヘミセルロース含量は、OG 以外の乾草では、FP における値が VFP を除く他の粒度に比べて高い値を示した。OG では VFP を除く粒度間にヘミセルロース含量の差はなかった。VFP 中のヘミセルロース含量は、OG, ETM, および LTM では他の粒度のものよりかなり高い値を示したが、逆に ALF ではかなり低い値を示した。以上のようなセルロースおよびヘミセルロース含量の粒度間の違いを反映して、リグニン含量は粒度低下とともに増加した。LP から

表15 4種の乾草**を1時間1回給与しためん羊の反芻胃内粒度別分画*の中性デタージェント繊維含量

Table 15 Neutral detergent fiber concentration of respective particulate fractions* in the rumen of sheep fed four kinds of hay** once a hour.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
	-%OM											
LP	77.2	87.1	82.1	86.4	84.9	85.6	85.3	84.6	85.0	84.4	85.8	85.1
MP	79.3	86.8	83.1	85.1	82.0	83.6	83.0	85.5	84.2	88.0	83.8	85.9
SP	85.1	86.5	85.8	86.5	85.6	86.1	85.5	87.5	86.5	91.2	90.8	91.0
FP	79.5	81.3	80.4	84.6	85.2	84.9	85.4	84.1	84.8	89.7	89.9	89.8
VFP	10.2	10.7	10.4	21.4	27.8	24.6	31.9	29.6	30.8	56.5	56.4	56.5

*粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照

*For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

***めん羊の名前

***Sheep name.

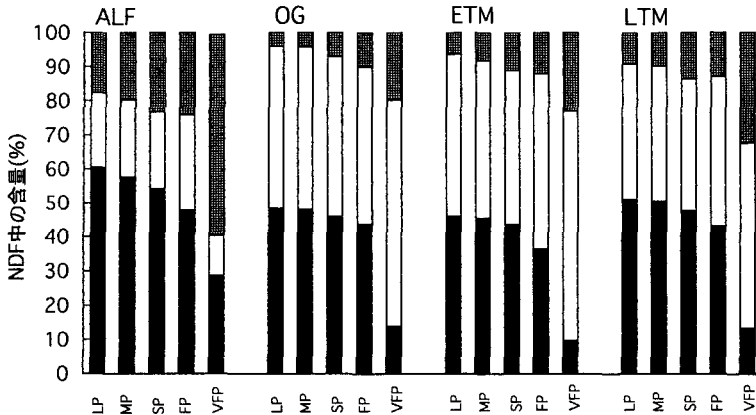


図 17. 4種の乾草を給与しためん羊の反芻胃内容物の各粒度別分画におけるNDF構成成分割合 (■:セルロース, □:ヘミセルロース, ▨:リグニン)。粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照。ALF:アルファルファ乾草, OG:オーチャードグラス乾草, ETM:早刈りチモシー乾草, LTM:遅刈りチモシー乾草。

Figure 17. NDF constituents (■: Cellulose, □: Hemicellulose, ▨: Lignin) proportion in each particulate fraction of the rumen digesta of sheep fed four kinds of hay. For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10. ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay.

FPまでの増加は、ALFで最も大きくLTMで最小であった(ALF: 6.6, OG: 6.1, ETM 5.8, LTM: 3.8%単位)。ETMとLTMにおいては、FPにおけるNDF中のヘミセルロースの含量がSPのものより大きかったため、SPとFPとの間のリグニン含量の差は小さかった。VFP中のリグニン含量は、どの乾草においても他の粒度のものに比べると非常に大

きく、特にALFでは60%程度と顕著に大きかった。

2) 粒度別飼料片のNDF発酵速度および程度

表16に *in situ* 法で測定した反芻胃内粒度別飼料片のNDFの可発酵分画割合, 可発酵分画の発酵速度, 粒度別分画における発酵以外の消失速度, およびそれらから推定した各粒度別分画における実効発酵程度を示した。

表16 4種の乾草**を1時間1回給与しためん羊の反芻胃内における各粒度別分画*のNDF発酵動態特性
 Table 16 Fermentation kinetic parameters of NDF of each particulate fraction* in the rumen of sheep fed four kinds of hay** hourly.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S***	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
可発酵分画(%)												
LP	32.0	27.8	29.9	67.2	67.6	67.4	70.3	73.5	71.9	55.9	42.8	49.3
MP	23.0	20.3	21.7	59.1	54.3	56.7	61.6	64.6	63.1	47.9	42.5	45.2
SP	8.2	25.9	17.1	63.7	41.7	52.7	44.9	37.0	41.0	33.4	27.4	30.4
FP	42.9	38.0	40.5	56.6	34.4	45.5	52.6	35.0	43.8	37.6	32.0	34.8
発酵速度(%/h)												
LP	5.34	8.12	6.73	3.30	3.91	3.61	3.19	3.01	3.10	2.35	3.75	3.05
MP	7.76	13.19	10.48	5.13	5.54	5.34	3.40	4.70	4.05	2.59	2.83	2.71
SP	2.74	1.75	2.25	2.12	5.05	3.59	2.17	6.91	4.54	1.96	2.65	2.31
FP	1.37	1.29	1.33	1.14	2.32	1.73	0.96	1.39	1.18	1.25	1.27	1.26
消失速度(%/h)												
LP	10.80	13.46	12.13	8.47	8.72	8.60	7.09	9.48	8.29	10.97	8.93	9.95
MP	4.56	5.60	5.08	7.70	7.22	7.46	6.66	5.58	6.12	6.44	8.53	7.49
SP	4.29	4.64	4.47	5.75	3.24	4.50	4.84	2.89	3.87	4.16	3.97	4.07
FP	7.72	5.77	6.75	5.72	4.19	4.96	6.39	4.37	5.38	5.16	4.57	4.87
実効発酵程度(%)												
LP	10.6	10.5	10.5	18.8	20.9	19.9	21.8	17.7	19.8	9.9	12.6	11.3
MP	14.5	14.2	14.4	23.6	23.6	23.6	20.8	29.5	25.2	13.7	10.6	12.2
SP	3.2	7.1	5.1	17.2	25.4	21.3	13.9	26.1	20.0	10.7	11.0	10.8
FP	6.5	6.9	6.7	9.4	12.3	10.8	6.9	8.4	7.6	7.3	6.9	7.1

* 粒度別分画についての詳細は図10の脚注を参照

**For details of particulate fractions, see the caption of Figure 10.

**ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

**ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

***めん羊の名前

***Sheep name.

表17 4種の乾草*を1時間1回給与しためん羊の反芻胃内中の総細菌体量と、飼料片に付着していない(NAB), 緩く付着している(LAB), および強固に付着している(TAB)細菌体の分布割合.

Tbale 17 Total bacterial content and distribution of non-associated (NAB), loosely-associated (LAB) and tightly-associated (TAB) to particulate matter in the rumen of sheep fed four kinds of hay* hourly.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
総細菌体量(g)	318	436	377	238	383	311	271	266	268	174	258	216
分布割合	%											
NAB	6.7	19.4	13.0	12.4	10.7	11.5	11.9	10.6	11.3	11.0	9.1	10.0
LAB	3.6	2.5	3.1	5.3	3.4	4.4	4.4	4.9	4.6	7.8	9.1	8.5
TAB	89.7	78.0	83.9	82.3	85.8	84.1	83.7	84.5	84.1	81.3	81.8	81.5

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

**めん羊の名前

**Sheep name.

LP, MP, および SP における可発酵分画割合は, ALF ではその他の乾草に比べて非常に小さい値を示した。また, ALF 以外の乾草の中では LTM が最も低い値を示した。LP および MP における可発酵分画割合は ETM が OG より大きかった。FP を除く粒度別分画においては, どの乾草においても粒度が小さいほど可発酵分画割合は低下した。FP の可発酵分画割合は, ALF においては他の粒度に比べると顕著に高い値を示したが, 逆に OG では全ての粒度の中で最も小さい値を示した。

可発酵分画の発酵速度は粒度間で大きく異なり, 全ての乾草で共通して FP において最も小さい値を示した。ALF, OG, および ETM では, LP より MP で高い値を示し, その差は ALF でかなり大きかった。LTM においては MP の発酵速度は LP と同等もしくは低いものであった。ALF における LP および MP の発酵速度は, 他の乾草のものに比べると著しく高い値を示し, それらに比べると SP および FP の値は非常に小さいものであった。LTM では他の乾草ほど粒度間の発酵速度の差は顕著でなかった。

ALF では LP および MP において NDF の発酵速度が非常に大きいものであったにも関わらず, 実効発酵程度は OG および ETM にくらべると低かった。これは可発酵分画割合が小さく, しかも発酵以外の消失速度ががかなり速かったためであった。ALF の実効発酵程度は LP より MP で高い値を示し, この傾向は OG においても認められた。ALF 以外の乾草では, LP, MP, および SP における実効発酵程度は粒度間で大きな差はなく, それらの粒度に比べ FP では低い値を示した。ALF の SP は他の乾草に比べかなり実効発酵程度が低かった。ALF の FP においては潜在的発酵程度が大きい値を示したにも関わらず, 発酵速度が遅いことと発酵以外の消失速度が速いことを原因にして, 実効発酵程度は SP における値と同等に低い値となった。OG と ETM はどの粒度でも同様の値を示したが, FP では若干 OG の方が高い傾向にあった。LTM の実効発酵程度は OG や ETM と比べると, LP, MP, および SP では低い値を示した。

3) 反芻胃内細菌量および付着程度別の分布割合

反芻胃内の総細菌体量およびそれらの細菌を飼料片への付着程度によって分離した各分画の割合について, 表 17 に示した。総細菌体量は 4 種の乾草の中で ALF で最も多く, LTM で最も少なかった。OG

と ETM の間には明瞭な差はなかった。飼料片への付着程度別の細菌分画割合は, どの乾草においても TAB が最も多く約 80% を占めていた。NAB は 10% 前後であり, 乾草間に差はなかった。LAB の値は 3 つの細菌分画の中で最も少なく, LTM における値は他の乾草のものより大きかった。

4) 粒度別飼料片への細菌の付着量

飼料片に強固に付着した細菌 (TAB) の, 各粒度別分画中の含量について図 18 に示した。TAB の含量は飼料片 NDF 当たりの細菌体 OM 量として表した。どの乾草においても粒度が小さいもので TAB 含量は高くなる傾向にあったが, そのパター

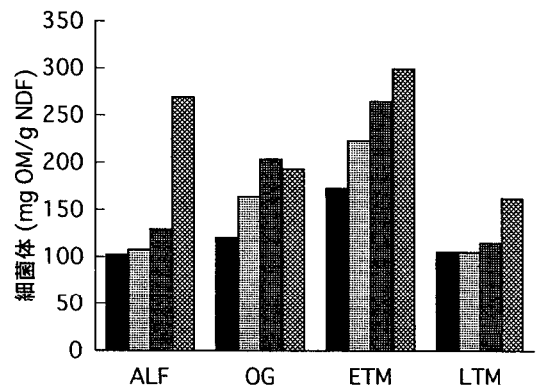


図 18. 4 種の乾草 (ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草) を給与しためん羊の反芻胃内容物の各粒度別分画 NDF 中の強固に付着した細菌体の有機物 (OM) 含量。
 ■: LP (大飼料片: 5.6 mm 以上), ▨: MP (中飼料片: 1.18 mm 以上 5.6 mm 以下), ▩: SP (小飼料片: 0.3 mm 以上 1.18 mm 以下), ▤: FP (細飼料片: 0.047 mm 以上 0.3 mm 以下)。

Figure 18. Tightly-attached bacterial organic matter (OM) content in the particulate fractions as neutral detergent fiber (NDF) basis of rumen digesta in sheep fed four kinds of hay (ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay). ■: LP (Large particle: >5.6mm), ▨: MP (Medium particle: <5.6 but >1.18mm), ▩: SP (Small particle: <1.18mm but >0.3mm), ▤: FP (Fine particle: <0.3mm but >0.047mm)

ンは乾草間で異なった。ALF と LTM の TAB 含量は LP, MP, および SP では粒度間の差は小さく、両乾草の TAB 含量は同様の値であった。ALF と LTM では、ともに FP における TAB 含量が他の粒度に比べ高い値を示したが、その値は ALF ではかなり大きく、LTM では他の乾草より低い値であった。ETM では LP 中の TAB 含量が他の乾草よりも高い値を示した。OG および ETM では、SP までは粒度が小さいほど順に高い値を示したが、両者とも個体差が大きく SP と FP 中の含量の差異に一定の傾向がみられなかった。

5) 粒度別飼料片への細菌の付着量と NDF 発酵程度

図 19 に *in situ* 法で経時的に測定した NDF の発酵程度と、培養前の値を 100 として表した残渣中の TAB 量の相対割合との関係について、それぞれの粒度別分画ごとに示した。ALF では、TAB 量の相対割合の NDF の発酵にともなう変化は LP, MP, および SP には一定の傾向は認められなかったが、FP では相対割合は発酵程度が 20% 程度までは 100% を超す傾向があり、TAB 量の相対割合は発酵程度の増加にともなう大きく減少した。OG および ETM の全ての粒度において、TAB 量の相対割

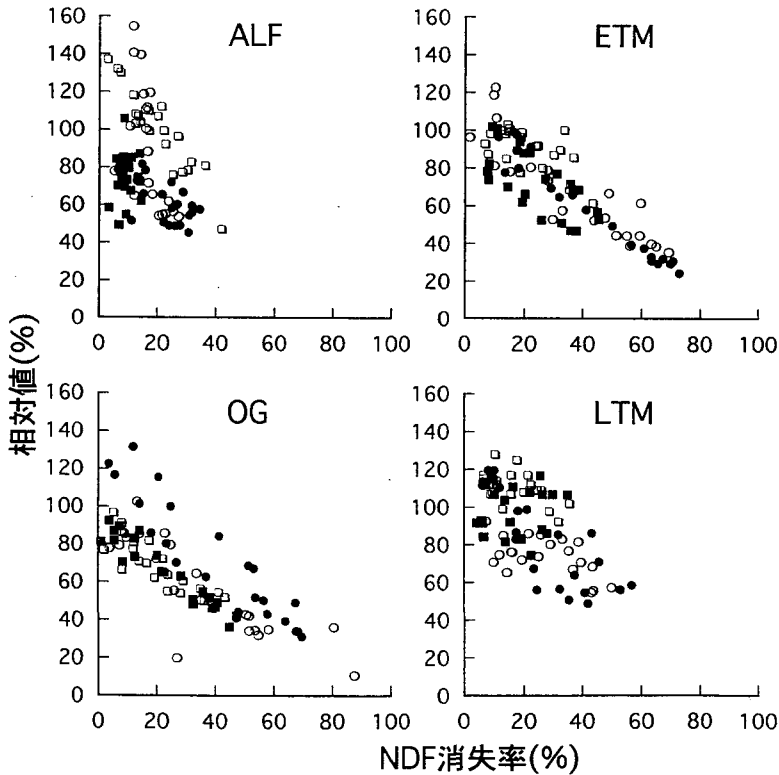


図 19. 4 種の乾草 (ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草) を給与しためん羊の反芻胃内粒度別分画を *in situ* で反芻胃内で培養した時の中性アタージェント繊維 (NDF) の消失率と培養前に対する細菌体含量の相対値との関係。LP (●), MP (○), SP (■), FP (□)。

Figure 19. Relationship between neutral detergent fiber (NDF) disappearance and relative value of bacterial content to the pre-incubation value when ruminal particulate fractions of the sheep fed four kinds of hay (ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay) were incubated in the rumen by *in situ* method. LP (●), MP (○), SP (■) and FP (□).

合は分解度の増加にともなって減少した。OGのLPでは発酵程度が約25%まではTAB量の相対割合が100%を越える傾向にあったが、ETMではそのような傾向をMPで若干認めることができた。LTMでは、MPを除く粒度では発酵程度が低いときにTAB量の相対割合が100%を越える場合が多かった。LTMのMPは発酵が進行しても、ETMやOGの場合のようにTAB量の相対割合はほとんど減少しなかったが、LPにおけるTAB量の相対割合は発酵程度の増加にともなって減少した。

6) 採食および反芻時の咀嚼による大飼料片の微細化効率

表18に採食および反芻時における咀嚼時間、回数、および咀嚼による大飼料片の微細化の効率を示した。OGのめん羊Sにおける採食時のデータは、他のイネ科牧草と比べると異常な値を示したので除外してここでは検討する。

一日当たりの採食時の咀嚼時間および回数はLTMで最も大きい値を示し、ALFでは最も小さい値を示した。採食時における咀嚼1回当たり的大飼料片微細化量は、ALFとその他のイネ科牧草と大き

な差がみられた。OG、ETM、およびLTMでは、ほとんど差はなく10mg/咀嚼程度であった。

1日当たりの反芻時の咀嚼時間と回数は両者ともに、4種の乾草の中でLTMで最大でALFで最低の値を示した。ALFにおける反芻時の1回咀嚼当たり的大飼料片微細化量は、採食時の値に比べて低い値を示した。逆に、その他の乾草では採食時のものに比べると高い値を示しており、その差はOGで最も大きく、ETMはLTMより大きかった。

d. 考察

1) 反芻胃内飼料片の微細化が繊維質の発酵に及ぼす影響

C節において総反芻胃内容物のDMの消失速度に、反芻胃内飼料片のDMの発酵速度の粒度による違いが影響していることを指摘した。本節の結果において、LPからFPまでの反芻胃内飼料片のOM中のNDF含量は、VFPを除く全ての粒度において乾草種に関わらず80~90%の範囲にあった。アルファルファ乾草を給与しためん羊において同様の値が報告されている¹²⁹⁾。また、*in situ*法での反芻胃内飼料片のNDF発酵速度は粒度によって大きく異

表18 4種の乾草*を給与しためん羊の採食および反芻時の1日当たり的大飼料片(LPとMPの和)から小飼料片への破砕量、咀嚼時間、咀嚼回数、咀嚼効率。

Table 18 Breakdown of large particle (sum of LP and MP) to smaller size fraction, chewing time, number of chews per day, and chewing efficiencies during eating and ruminating in sheep fed four kinds of hay* hourly.

	ALF			OG			ETM			LTM		
	S**	T	平均	S	T	平均	S	T	平均	S	T	平均
採食時												
破砕量(g/d)	421	341	381	—	216	216	136	152	144	371	218	295
咀嚼時間(min/d)	168	156	162	—	223	223	173	168	170	348	216	282
咀嚼回数(/d)	11371	11503	11437	—	20510	20510	14316	18859	16588	39367	22207	30787
効率												
g破砕量/min	2.50	2.19	2.35	—	0.97	0.97	0.79	0.90	0.85	1.07	1.01	1.04
mg破砕量/1回咀嚼	37.0	29.7	33.3	—	10.5	10.5	9.5	8.1	8.8	9.4	9.8	9.6
採食時												
破砕量(g/d)	346	456	401	317	624	470	314	372	343	391	574	482
咀嚼時間(min/d)	310	358	334	298	444	371	346	403	374	492	576	534
咀嚼回数(/d)	16582	18910	17746	15026	26705	20866	22344	24180	23262	33665	43634	38650
効率												
g破砕量/min	1.12	1.28	1.20	1.06	1.41	1.23	0.91	0.92	0.92	0.80	1.00	0.90
mg破砕量/1回咀嚼	20.8	24.1	22.5	21.1	23.4	22.2	14.1	15.4	14.7	11.6	13.1	12.4

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草。

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

**めん羊の名前

**Sheep name.

なった。これらのことから、反芻胃内飼料片の粒度によるDM発酵速度の違いは、繊維質の発酵速度の違いによるものといってもよいであろう。飼料の粒度を細かくすると、細菌の酵素に触れる表面積が増加するため、繊維質の発酵性が増加するであろうことを示した *in situ* や *in vitro* 試験での研究はいくつがあるが^{52,94)}、実際の反芻胃内の粒度別の飼料片で検討した報告はない。乾草を飼料とした場合、粉碎やペレット成型などの加工をしない限り、摂取され反芻胃内へ流入する飼料片は比較的大きなサイズ域にあり、これらが微細化されていく過程で発酵を受ける¹²²⁾。すなわち、反芻胃内に存在する小粒子は、その粒度に至るまですでにかなり発酵を受けてきている。したがって、反芻胃内における粒度別飼料片では、飼料を粉碎した場合におけるような粒度そのものの影響を直接的に検討したことにはならない。本試験の結果において、粒度別飼料片中のNDF構成成分は粒度によって異なり、どの乾草においても、粒度が小さいほどリグニン含量が大きくセルロース含量が低くなる傾向があった。これは、粒度が小さいほど反芻胃内に存在する時間が長いためであろう。McLeod *et al.*⁷⁶⁾ は反芻胃内飼料片の *in vitro* でのセルラーゼ消化率が粒度で異なり、それは粒度微細化の過程を反映した結果であることを報告している。このようなことから、反芻胃内の飼料片における粒度微細化が繊維質発酵に及ぼす影響については、粒度そのものの影響だけでなく、粒度微細化過程での繊維質発酵も考慮に入れて考察しなければならない。

LTMを除くすべての乾草においてNDFの発酵速度は、LPよりもMPで高いという結果が得られた。摂取食塊の粒度別分画割合の結果から、反芻胃内に流入する飼料片はLPおよびMPがほとんどであることがC節で示されている。NDF構成成分にはLPとMPの間には大きな差はなかった。また、C節の結果において、LPの微細化がMPに集中しているパターンを持つ乾草はなかった。これらのことは、LPからMPへの微細化の過程での発酵が、LPとMPの間のNDF発酵速度の違いに関与している可能性は小さいことを意味している。粒度別飼料片のNDF当たりの細菌体付着量は、OGおよびETMではLPよりもMPで多くなっており、このことがMPにおいてNDFの発酵速度がLPよりも大きくなったことの説明となる。LTMでは、細菌体

の付着量はLPとMPの間に差はなく、そのためNDFの発酵速度にも差はなかったのであろう。しかし、ALFでは細菌体の付着量はLPとMPで差がないにもかかわらず、NDF発酵速度はMPでかなり高い値を示しており、細菌体付着量だけでは説明することはできない。

付着した細菌による基質の利用性を制限する要因が飼料片側に存在していれば、粒度縮小にともなう発酵速度が細菌の付着量に必ずしも正比例しない可能性があるだろう。また、付着細菌の植物組織への侵入と利用を妨げる飼料片側のもつ特性が、粒度が縮小することによって弱まる、あるいは飼料によってその弱まる程度が異なれば、飼料片に付着した細菌の量が同じでも発酵速度が異なる場合もあるだろう。イネ科牧草とマメ科牧草では本質的に組織の構造が違うことは明らかである。ALFでは他のイネ科牧草とは付着細菌による分解を妨げる物理的もしくは化学的な障壁が粒度縮小によって除去される程度が大きいため^{4,133)}、LPとMPの細菌の付着量が同様であるにも関わらず、発酵速度がMPで大きかったものと考えられる。Nocek & Kohn⁹³⁾ は、アルファルファ乾草とチモシー乾草について飼料粒度の *in situ* 法での発酵速度への影響を検討し、両乾草ともにNDF発酵速度は粒度間で差はなかったと報告している。一方、Robles *et al.*¹¹¹⁾ は *in vitro* で同様の検討を行っており、オーチャードグラス乾草では粒度によってNDF発酵速度には違いはなかったが、アルファルファ乾草では粒度縮小により2倍に増加したと報告している。これらの報告とは異なり、本試験では、OGとETMにおいてもALFと同様にNDFの発酵速度が、LPよりMPにおいて高い値を示した。このような違いをもたらした原因は不明であるが、機械的に粉碎を行った場合と実際の咀嚼での微細化とは、組織の破碎の仕方が異なるであろうことが顕微鏡的に観察されている⁹⁹⁾。Ellis *et al.*³⁴⁾ はバミューダグラスを給与した去勢牛の摂取食塊の粒度別飼料片の発酵速度を *in situ* 法で測定し、500 μm 以上の飼料片では発酵速度は本試験と同様に粒度が小さいほど大きい値となることを示した。しかし、500 μm 以下の飼料片では必ずしも粒度縮小にNDFの発酵速度が比例しないことを示している。イネ科牧草ではリグニン含量と繊維消化率は負の関係にあることは一般的であるが、アルファルファではリグニン含量はイネ科牧草に比べ高いにも関わら

ず繊維消化率はそれほど低くはない¹²⁶⁾。これも、植物の組織が構造的にもつ発酵に対する障壁の存在様式がイネ科牧草とマメ科牧草では異なることに起因しているものと考えられる。

以上のことから、ALFでは粒度縮小自体によって付着細菌体の量が増えなくても、他のイネ科牧草よりかなり繊維質の発酵速度は促進されることが示唆された。しかし、イネ科牧草では粒度によって規制される細菌の付着量が、発酵速度の制限要因となっている可能性が示唆された。*in situ*におけるLPおよびMPのNDF発酵速度の増加に対して細菌の付着量の相対割合が、特にイネ科牧草において減少する傾向にあることは、細菌付着量が発酵基質量に対して一定であることを意味しており、イネ科牧草では付着量が発酵速度の制限要因となっていることを示唆するものであろう。しかし、LTMでは分散が大きく他の要因も関与していたものと考えられる。

反芻胃内飼料片のSPおよびFPでは、どの乾草においてもLPおよびMPよりもリグニン含量が多く、セルロース含量は少なかった。また、摂取食塊に含まれるSPとFPの割合は非常に少なかった。これらのことは、反芻胃内のLPやMPがある程度発酵したものが微細化されてSPやFPの分画に流入していることを示している。また、繊維成分の大飼料片との違いはSPおよびFPとして発酵した結果でもある。SPおよびFPのNDFの発酵速度はLPおよびFPの発酵速度より小さかった。これは、NDF中の成分組成のうち速消化性のものはLPやMPで発酵してしまうため、SPやFPでは遅消化性のものが残された結果であろう。ヘミセルロースはセルロースに比べ発酵速度は遅いと報告されている^{110,116)}。ヘミセルロースのセルロースに対する比率はSPに比べFPでの値の方が高く(ALF: 0.4 vs 0.6, OG: 1.0 vs 1.1, ETM: 1.0 vs 1.4, LTM: 0.8 vs 1.0)、FPにおいてNDFの発酵速度が全ての粒度の中で最も小さいことの説明となるであろう。OGではLPから直接FPに微細化されるものが多いことを前節で明らかにしたが、それはMPやSPでの発酵を介さずFPに流入する飼料片が多いことを意味している。一方、ETMではLPは均等に各粒度別分画に分散して微細化されていた。このことは、OGではヘミセルロースに対するセルロースの含量比のSPとFPの差が0.1しかなかったのに対し、ETMでは0.4の差があったことに反映されている

た。このようなOGとETMにおける微細化のパターンとそれともなう繊維質の発酵の程度の違いは、FPにおけるNDFの発酵速度がETMはOGより低かったことに関連しているであろう。一方、ALFではLPおよびMPはSPに集中して微細化される傾向にあったが、LPおよびMPにおける実効的な発酵程度が可発酵分画が小さいにも関わらず大きかった。また、食塊として反芻胃内に流入するSPおよびFPは少量ではあるが、そのNDF中のヘミセルロース含量はLPおよびMPと比較すると非常に多い¹²¹⁾。これらのことが、ALFにおけるSPおよびFPのNDFの発酵速度を低下させた原因であろう。

飼料片中の付着細菌体含量は、ALFおよびLTMではFPにおいて特異的に他の粒度より大きかった。ALFのFPでは上で述べたような理由から発酵速度は遅かったが、可発酵分画の割合はどの粒度よりもかなり高い値を示した。ALFのFPの発酵の初期段階では付着細菌体の相対割合が100%を越すことから、単位基質量に対する付着細菌体の量が増加することが考えられる。マメ科牧草では発酵の初期段階での飼料片への細菌体付着速度が速いことが、*in situ*法で確認されている^{17,96)}。また、ALFでは細菌体の付着量増加を介さなくても粒度縮小自体による発酵促進効果が大きいことを前段で示した。これらの両者が総合して、FPにおける可発酵分画の割合が増加したのであろう。ALFのFPはこのような理由から可発酵分画の割合が大きいと考えられたが、実際の反芻胃内での実効発酵程度は遅い発酵速度と速い通過速度が影響して非常に低いものであった。しかし、ALFのFPは付着細菌体の量は多く、下部消化管への細菌体蛋白質供給の面では大きな意味を持っていると考えられる。若干ではあるがLTMにおいてもFPの可発酵分画割合の増加がみられている。これは、LTMのFPでは細菌体の付着量が他の粒度より多いだけでなく、付着細菌体の相対割合が発酵初期で100%以上となり、基質量に対する細菌体量が増加したことから説明することができる。OGではFPとSPとの細菌体付着量の差が小さい傾向にあったのは、細菌体付着量の少なかったLPが微細化によってFPへ流入する量が多かったためと考えられる。

以上から、反芻胃内の飼料片の繊維質発酵の速度および程度の粒度による違いは、飼料片への細菌体

の付着程度、粒度微細化のパターン、および粒度微細化にともなう繊維質発酵が相互に関連しあってもたらされるものと考えられた。特に反芻胃内のLPとMPの比較から、イネ科牧草の場合には細菌体の付着量の増加をとまなえば飼料片の微細化によって発酵速度は高くなるが、ALFでは付着量の増加をとまなわなくても発酵速度が増加することが示された。付着細菌による基質の利用の障壁となる植物体構造と粒度縮小の関係を明確にする必要があるだろう。一方、SPやFPの多くは大飼料片に由来しており、そのため、微細化されるまでの発酵程度およびそれにとまなう繊維質の質的变化、大飼料片からの微細化のパターン、それにとまなう付着細菌体の移動、さらには微細化自体による付着細菌体量の増加といった要因が複雑に関与していた。それらの関与のメカニズムは各乾草において様々であり、それぞれに固有の発酵速度や程度に影響していることが示された。

2) 反芻胃内飼料片の繊維質発酵が粒度の微細化に及ぼす影響

反芻胃内に存在する大飼料片の微細化は、発酵、反芻胃内容物の攪拌時の摩擦、および反芻時の咀嚼によってもたらされる。しかし、反芻胃内の大飼料片の微細化に最も大きく寄与しているのは反芻時の咀嚼であることは間違いない^{77,90,124}。発酵は、むしろ飼料片の繊維質を脆弱化し反芻時の咀嚼による微細化を間接的に促進すると考えられる^{91,124}。採食時の咀嚼1回当たり的大飼料片の微細化量は、ALFで多く、他の乾草では差はなかった。しかし、反芻時における咀嚼1回当たり的大飼料片の微細化量は、ALFとOGでは差はなく、ETMとLTMよりも高い値を示した。また、採食時と反芻時のそれらの値を比較すると、ALFでは低下し、その他の乾草では増加した。さらに、3つのイネ科牧草におけるその増加の程度は、OGで最も大きく、ETMとLTMより大きかった。反芻時に吐き戻される大飼料片の繊維質は、ある程度発酵を受けている。ALF以外の乾草で反芻時の大飼料片の微細化の効率が増加したのは、発酵による脆弱化のためだろう。したがって、反芻時に吐き戻される大飼料片の脆弱化の程度は、OGで最も大きく、ETMはLTMより大きいことが想定される。一方、ALFでは反芻時の値の方が小さかったが、これは給与飼料中には脆い葉部が含まれるが、反芻時の吐き戻し食塊には葉部由来の大飼料

片は少なかった可能性がある。あるいは、ALFではADL含量が多く、ADL含量が多い方が粗剛で破碎されにくいと解釈されやすいが、堅いながらもろいという物理的特性を持っている可能性も残される。本試験と同様に、McLeod *et al.*⁷⁸は同様の指標を用い、マメ科牧草では反芻時の咀嚼の抵抗性が採食時に比べ大きく、逆にイネ科牧草では反芻時の咀嚼の抵抗性が採食時に比べ小さいことを示している。

ETMおよびLTMに比べOGでは反芻時の大飼料片の脆弱化の程度が大きかったことは、LPおよびMPのNDFの発酵速度がOGにおいて他のイネ科牧草に比べ大きかったことを反映した結果であろう。また、ETMとLTM間で想定された脆弱化の程度の違いについても同様に繊維質の発酵速度で説明されるだろう。OGにおいて、LPの微細化のパターンがFPに集中するものであったことは、OGの大飼料片の脆弱化の程度が最も大きかったことに起因するものと解釈できる。逆に、LTMでは微細化のパターンはSPに集中する傾向があったが、それは脆弱化の程度が小さかったためであると考えられる。ETMでは脆弱化は中程度であったためLPにおける微細化は均等に各粒度別分画に分散したものと考えられる。Worrell *et al.*¹³⁵はモデルにおいて、通過不可能な分画の微細化の経路を2つ、すなわち次に小さい粒度への微細化と、その粒度を越えて最も小さい粒度への微細化を考慮しているが、刈り取り時期の異なる乾草において微細化のパターンに特に大きな違いは認めていない。一方、ALFでは葉部と茎部では大きく構造や物性が異なるので、イネ科牧草と同様の推論を与えることはできない。大飼料片の発酵による脆弱化が微細化のパターンに及ぼす影響について詳細に検討する必要があるだろう。

以上から、イネ科牧草においては反芻胃内の大飼料片の脆弱化の程度は繊維質の発酵速度によって左右され、それが最終的には大飼料片の微細化のパターンに影響することが示された。しかし、ALFに関しては大飼料片の脆弱化は認められず、葉部と茎部に分けた検討、あるいは実験室内での詳細な検討が求められる。

E. 小 括

アルファルファ、オーチャードグラス、早刈りチモシー、および遅刈りチモシー乾草を給与しためん羊において、II章で確立した微細化の経路を分割した反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルと解析方法を

用い、微細化速度、発酵、および通過速度定数を測定した。それぞれの速度定数において、乾草間で特徴的な結果を得ることができた。これは、従来の報告にみられないものであり、反芻胃内飼料片の粒度別動態の研究の障壁となっている微細化のパターンについて新たな知見を提示するものである。

総反芻胃内容物の消失速度と反芻胃内飼料片の粒度別動態の関連について検討した結果、総反芻胃内容物の消失速度を構成する通過速度および発酵速度には、反芻胃内飼料片の微細化のパターンが間接的に影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、総反芻胃内容物の発酵速度に関しては飼料片の発酵速度が粒度によって異なることが、それを支配する要因になっていることが示された。

以上のような点を明確にした点では、本研究で開発したモデルと解析方法は多様な粗飼料の反芻胃内飼料片の動態の違いを明確にする上で実用性が高く、反芻胃内飼料片の動態解析に関する研究の進展に貢献するものと思われた。しかし、粒度別分画への反芻胃内流入・流出量のモデルにおける推定値と、摂取食塊および十二指腸内容物からの実測値とを比較し、モデルと解析方法の汎用性の検討を行った結果、発酵には易発酵性の部分を考慮していないことがこのモデルにおける欠点であることが指摘された。

総反芻胃内容物の消失速度に影響する反芻胃内飼料片の微細化のパターン、および反芻胃内飼料片の発酵速度の粒度間差異について、反芻胃内飼料片の微細化と細菌による繊維質発酵との相互関連の面から検討した。反芻胃内飼料片の繊維質発酵速度および程度の粒度による違いは、飼料片への細菌体の付着程度、粒度微細化のパターン、および粒度微細化にともなう繊維質発酵が相互に関連してもたらされるものであると結論された。それらの関与のメカニズムは各乾草において様々であり、それぞれに固有の発酵速度や程度をもたらした。一方、繊維質発酵が微細化に与える影響としては、反芻胃内の大飼料片の脆弱化の程度が繊維質の発酵速度によって左右され、それが最終的には大飼料片の微細化のパターンに影響することが、特にイネ科牧草において示された。

IV. 自由採食量と反芻胃内容物の消失速度との関係 (試験3)

A. 目的

試験2で用いた乾草のめん羊による自由採食量を測定し、各乾草における総反芻胃内容物の消失速度との関係について検討することを目的とした。さらに、この検討に用いるために、飼料給与直前の反芻胃内容物の量および粒度別分画割合を測定した。

B. 材料および方法

ルーメンカニューレを装置したサフォーク×コリゲール雑種去勢雄めん羊4頭(試験開始時平均体重:87.6 kg)に、試験2と同じ4種の乾草(ALF, OG, ETM, LTM)を4×4のラテン方格法に従って給与した。めん羊は北海道大学農学部附属農場畜産第2部の牛舎内の個別ペンに係留、終日照明下で管理し、水、ミネラルブロックの摂取は自由とした。試験は1995年6月25日から1995年9月1日まで行った。1期は予備期8日間、本期を9日間とする17日間とし、本期において自由摂取量を毎日測定した。本期の最終日には反芻胃内容物の全量採取を行った。飼料給与は8:30と20:30に行い、給与量は前日の摂取量の120%量とした。毎日8:00と20:00に残食を取り除き残食量を計量し、本期においてはDMおよびNDFの摂取量測定のために、給与乾草のサンプルと残食のサンプルとを採取した。本期の最終日の8:00に反芻胃内容物を全量取り出し、計量後、代表サンプルを採取した。残った内容物は採取しためん羊には戻さず、次にその飼料を給与するめん羊に戻した。試験2と同様の湿式篩別法により、反芻胃内容物の粒度別分画割合を測定した。結果の統計解析には、1元配置の分散分析を行い、Tukeyの多重比較で乾草間の比較を行った¹¹⁵⁾。

C. 結果

a. 自由採食量

各乾草のDMおよびNDFの自由摂取量を、実量、体重当たり、代謝体重当たりで表19に示した。DMの自由摂取量は、乾草間で差が認められ、ALFが全ての乾草の中で最も多かった。しかし、個体変動が大きかったためALF, OG, およびETMの間には統計的に有意な差は認めることはできなかった。LTMはOGとは有意差はなかったが、ETMおよびALFより有意に小さい値を示した。どの指標についても上記の傾向は同じであった。NDFの自由摂取

表19 4種の乾草*を自由採食させためん羊の乾物(DM)および中性デタージェント繊維(NDF)の1日当たりの摂取量

Table 19 Daily dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) intake of sheep fed four kinds of hay* *ad lib.*

	ALF		OG		ETM		LTM	
DM								
kg	2.26 ^a ±	0.45 ^{**}	1.80 ^{ab} ±	0.33	1.99 ^a ±	0.30	1.33 ^b ±	0.25
g/kg体重	24.9 ^a ±	4.6	20.6 ^{ab} ±	4.1	22.0 ^a ±	2.2	15.6 ^b ±	3.3
g/kg ^{0.75} 体重	76.9 ^a ±	14.2	63.0 ^{ab} ±	12.0	67.9 ^a ±	7.4	47.3 ^b ±	9.8
NDF								
kg	0.92±	0.19	1.04±	0.17	1.16±	0.17	0.92±	0.17
g/kg体重	10.2±	2.1	11.9±	2.4	12.9±	1.1	10.8±	2.3
g/kg ^{0.75} 体重	31.3±	6.5	36.3±	6.9	39.7±	3.8	32.9±	6.8

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

**4頭のめん羊の平均値と標準偏差

**Mean values with their standard deviations for four sheep.

a, b, c同じ行の異符号間に有意差があることを示す (P<0.05).

a, b, c Means within a row followed by unlike superscripts differ (P<0.05).

表20 4種の乾草*を自由採食させためん羊の飼料給与前における原物(FM), 乾物(DM)および中性デタージェント繊維(NDF)の総反芻胃内容物量.

Table 20 Total ruminal contents for fresh matter (FM), dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) of sheep fed four kinds of hay* *ad lib.* at the time before feeding.

	ALF		OG		ETM		LTM	
	g/kg体重							
FM	133.1±23.2 ^{**}		143.7±27.7		139.4±20.9		147.5±29.1	
DM	17.2±3.9		15.4±3.5		14.7±1.2		16.9±3.5	
NDF	11.0±3.2		8.6±2.0		8.7±0.6		11.4±2.1	

*ALF: アルファルファ乾草, OG: オーチャードグラス乾草, ETM: 早刈りチモシー乾草, LTM: 遅刈りチモシー乾草.

*ALF: Alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay

**4頭のめん羊の平均値と標準偏差

**Mean values with their standard deviations for four sheep.

量は乾草間で差はなく、ほぼ一定の値を示した。これは、乾草中のNDF含量と摂取量が負に相関していることを意味していた。

b. 反芻胃内容物量

表20に反芻胃内容物の原物(FM), DMおよびNDF量を示した。反芻胃内のFM, DM, およびNDFの量は乾草間で有意差はなく、ほぼ同等の値であった。

c. 反芻胃内容物の粒度別分画割合

図20に反芻胃内容物の粒度別分画割合を示した。各乾草の粒度別分画割合は、試験2での結果とおおむね類似した結果であった。しかし、OGではFPの割合がそれほど大きくないこと、ETMでは大飼料片(LP, MP)と小飼料片(SP, FP)の割合の間に

差がみられた点では試験2での結果と異なった。

D. 考察

本試験で得られた各乾草の体重当たりの自由摂取量から、試験2で供試した2頭のめん羊の体重をもとにそれぞれの4種類の乾草の自由摂取量を推定した。これらの推定自由摂取量の値と、試験2で測定した総反芻胃内容物のDM消失速度との関係について検討した。図21に、自由摂取量と総反芻胃内容物のDM消失速度との関係について示した。直線回帰により、図中に示した式が寄与率84%で得られた。したがって、本試験で供試した4種の乾草においては、その自由摂取量の変動の約84%は反芻胃内容物のDMの消失速度で説明され、乾草を給与されためん羊における自由摂取量が主として反芻胃内容

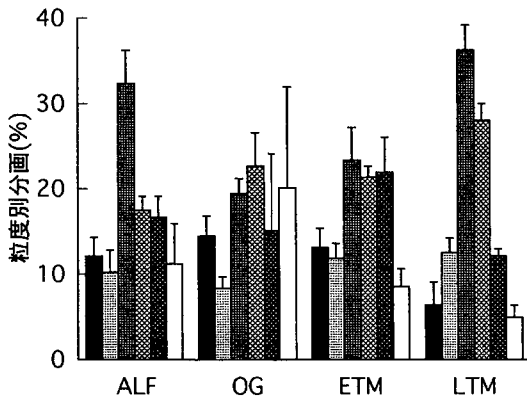


図20. 4種の乾草 (ALF:アルファルファ乾草, OG:オーチャードグラス乾草, ETM:早刈りチモシー乾草, LTM:遅刈りチモシー乾草)を自由採食させためん羊の飼料給与前の反芻胃内容物における6粒度分画の重量分布割合。各柱と棒線は4頭のめん羊の平均値と標準値を意味する。■: LP (大飼料片: 5.6 mm 以上), ▨: MP (中飼料片: 1.18 mm 以上 5.6 mm 以下), ▩: SP (小飼料片: 0.3 mm 以上 1.18 mm 以下), ▤: FP (細飼料片: 0.047 mm 以上 0.3 mm 以下), ▥: VFP (微細飼料片: 500 G 遠心分離での沈降物), □: SOL (可溶性物質: 非粒子状物質)。

Figure 20. Weight distribution of six size fractions in the ruminal digesta before feeding of sheep fed four kinds of hay (ALF: alfalfa hay, OG: Orchardgrass hay, ETM: Early cut timothy hay, LTM: Late cut timothy hay) *ad lib*. Each diagram and bar represent means and standard deviations for four sheep. ■: LP (Large particle: >5.6mm, ▨: MP (Medium particle: <5.6 but >1.18mm), ▩: SP (Small particle: <1.18mm but >0.3mm), ▤: FP (Fine particle: <0.3mm but >0.047mm), ▥: VFP (Very fine particle: sediment by centrifugation at 500G), □: SOL (Soluble: non-particulate matter).

物の消失速度で決定されることが示唆された。ALF等のマメ科牧草では、細胞内容物が多く発酵速度が速いため、反芻胃内での泡沫の形成による反芻胃壁の圧迫やルーメン壁から血中への発酵産物の吸収が採食の停止を調節する要因となっている可能性があることが報告されている⁵⁴⁾。本試験でも、ALFを供試したが、そのような要因が働いていたかどうかは不明である。しかし、そのような要因は採食期の停止

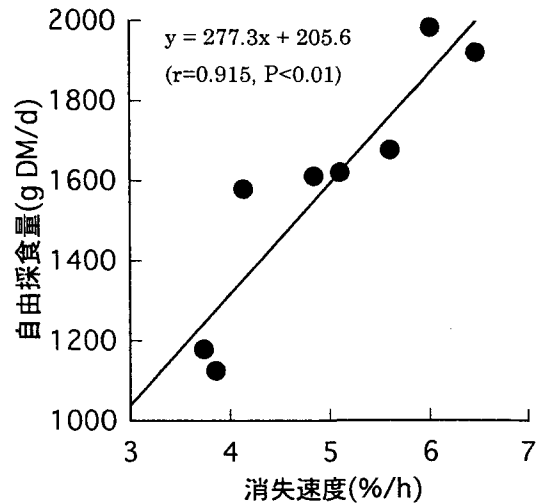


図21. 体重から推定した1時間1回給与を行っためん羊における自由採食量と総反芻胃内容物の消失速度との相関

Figure 21. Correlation between voluntary intake of hay estimated from body weight basis and disappearance rate of total ruminal digesta of sheep fed hourly.

要因となるとは考えられるが、その作用が継続する時間は短いものと思われ、1日当たりの自由採食量に影響する可能性は小さいと考えられる。実際、マメ科牧草では採食期の継続時間が短い、採食期の数が多いため摂取量には影響しないことが報告されている²⁾。サイレージでは1回の採食期の採食量および時間は乾草に比べ小さい値を示すことが報告されており¹¹⁹⁾、マメ科牧草と同様に化学的要因が働いている可能性が指摘されている⁵⁴⁾。本試験における自由採食量の変動を説明できない部分に関しては、消失速度を介しての反芻胃内容物による物理的な制限以外に、代謝的な制限要因が関与していた可能性はぬぐえない。本試験で供試した乾草のうちOGおよびETMは、DM消化率が70%程度と高品質のものであった。ALFだけでなくOGやETMについても反芻胃での物理的な要因以外に代謝的な要因も働いていた可能性がある。しかし、各採食期の停止要因を明らかにすることも重要であるが、自由採食下では採食期の繰り返しによって決定される1日当たりの自由摂取量に対して、それらがどの程度あるいはどのようなメカニズムで影響するかを明確にすることが重要となるであろう。

本試験においては飼料の給与前における反芻胃内容物量に、給与乾草間で差がなかった。自由採食下においても飼料給与の刺激は大きく、飼料給与直後の採食期が1日のうちで最も長く、またその採食量も多いと報告されている¹³⁾。前段で示したように、反芻胃内容物の消失速度は乾草間で大きく異なりそれが直線的に自由摂取量に影響していた。これらのことから、採食期の停止が反芻胃内容物の規定量で規制されるという仮説¹¹⁾をもとに最初の採食期終了後の内容物量についても乾草間で差がないとすれば、1日当たりの採食量の差は消失速度の差によってもたらされる次の採食期との間隔およびその採食期を引き起こす内容物の量によって決定されていたといえる。また、採食期中の内容物の消失量も重要となるであろう。採食中は反芻胃の運動が活発になり、反芻胃からの内容物の通過量が著しく増加するであろうと推測されている⁸⁹⁾。自由採食下では特にこのような現象も重要となると考えられるが、検討された例はない。

試験2の hourly feeding 下での粒度別分画割合と本試験における粒度別分画割合はおおむね類似していた。本試験の結果が自由採食下でのものであり、また飼料給与直前の反芻胃内容物であるため、類似した結果をもたらしたことに對する正確な根拠は提示できない。しかし、このような違いは乾草間における絶対的な違いあるとも想定できる。したがって、III章で得た反芻胃内飼料片の粒度別動態のパターンの違いが自由採食下でも存在していたと考えられる。各乾草が本質的にも飼料片の微細化のパターンや、小飼料片の通過速度を反映した結果である可能性が大きい。このようなことから、絶対値は異なるであろうが、III章で得られた粒度別分画の各速度定数の乾草間の違いが自由採食下においても想定することができ、それらが総反芻胃内容物の消失速度に影響したものと考えられる。

以上のことから、反芻胃内飼料片の粒度別動態のパターンを介して決定される総反芻胃内容物の消失速度が、めん羊の自由採食量の乾草種による変動をもたらすものと結論された。

V. 結 論

本研究では、反芻胃内飼料片の粒度別動態を精度よく把握するためのモデルと解析方法を開発すること、それをを用いて粗飼料の自由摂取量に影響する反

芻胃内容物の消失速度を決定するメカニズムを明確にすることを目的とした。

反芻胃内飼料片の粒度別動態のモデルと解析方法に関しては、反芻胃内の状態を一定に保つ hourly feeding を行うことによって、飼料間の違いが明確にでき、精度に信頼の置けるものが開発できた。また、そのモデルには従来では正確な定量が不可能であった複数の微細化の経路を持たせ、それらの定量を可能とする解析方法を確立した。

この解析方法によって、アルファルファ乾草、オーチャードグラス乾草、早刈りおよび遅刈りチモシー乾草が、それぞれ特徴的な反芻胃内の飼料片の動態を示すことが明らかとなった。これらの乾草間の違いから、総反芻胃内容物の消失速度は、反芻胃内飼料片の微細化パターンと粒度間で異なる発酵速度によって決定されることが明らかとなった。

さらに、反芻胃内飼料片の微細化のパターンと発酵速度の粒度間差異をもたらす原因を、反芻胃内飼料片の微細化と繊維質発酵との相互関連の面から明確にした。反芻胃内飼料片の微細化パターンは、大飼料片における繊維質の発酵速度の違いによる脆弱化の程度と関連していることが示唆された。また、粒度の微細化自体によっても繊維質の発酵速度は増加するが、イネ科牧草では付着細菌体量によりその程度が左右されるのに対し、アルファルファ乾草では付着細菌体量が飼料片の微細化によって変化しなくても発酵速度は増加することが示唆された。反芻胃内小飼料片繊維質の発酵速度に微細化されたこと自体の影響が現れる程度は様々で、それには大飼料片からの微細化のパターンが関係していることが明らかになった。

本試験で用いた乾草の自由採食量は反芻胃内容物の消失速度によって84%の寄与率で説明されることが明らかになった。自由採食下の反芻胃内容物の粒度分布は hourly feeding 下でのものと類似しており、それは hourly feeding 下で明らかにした各乾草の粒度別動態の特徴が、自由採食下においても存在することを意味していた。反芻胃内飼料片の粒度別動態のパターンを介して決定される総反芻胃内容物の消失速度が、めん羊の自由採食量の乾草種による変動をもたらすものと結論された。特に、反芻胃内の飼料片の微細化のパターンが、最終的には反芻胃内容物の消失速度に大きく影響するメカニズムであることが指摘された。

本研究により、反芻胃内の消失速度に及ぼす反芻胃内飼料片の粒度別動態の影響が定性的および定量的に明らかになり、それらが乾草の自由摂取量調節メカニズムの上で、重要な役割を果たしていることが明確となった。本研究において開発した反芻胃内飼料片の動態解析方法を発展活用すれば、粗飼料一般の自由摂取量の調節メカニズム解明に有用と判断され、この調節メカニズムを考慮した粗飼料給与方法の可能性が拡大するものと考えられた。

要 約

本研究は、反芻胃内飼料片の粒度別動態を精度よく把握するためのモデルと解析方法を開発すること、それを用いて粗飼料の自由摂取量に影響する反芻胃内容物の消失速度を決定するメカニズムを明確にすることを目的とした。そのために、アルファルファ乾草、オーチャードグラス乾草、早刈りおよび遅刈りのチモシー乾草を hourly feeding しためん羊を用い、反芻胃内飼料片の粒度別動態を詳細に把握する解析方法とその汎用性、反芻胃内容物の消失速度に影響する要因の相互関係、および反芻胃内飼料片の粒度別動態と自由採食量との関係について検討した。本研究の結果は以下に要約される。

1) hourly feeding では、採食時間、反芻時間とも日内を通して均等に分布しており、反芻胃内容物の質的および量的な恒常状態が保たれ、反芻胃内の粒度別分画の動態解析の精度に信頼のおける測定が行えるものと思われた。

2) 粒度別標識飼料片(LP: La, MP: Yb, SP: Sm, FP: Dy)の投与後の各マーカーの粒度別分画中濃度変化における、指数曲線回帰の決定係数は0.97以上と高く、これらから得られた消失速度定数はモデルのための基礎データの精度としては十分であった。*in situ*法で推定した粒度別分画における発酵速度は消失速度を上回ることではなく、解析の上で妥当な範囲の値であった。一戸(1993)のモデルに以上の結果を当てはめて推定した、粒度別分画の微細化速度は粒度が小さいほど遅く、逆に通過速度は粒度が小さいほど速い結果が得られ、理論的に妥当な推定が行えた。

3) 各マーカーで標識した粒度より小さい反芻胃内粒度別分画中のマーカーの量の投与後推移に特徴的なパターンをうかがうことができた。MP中のLa量およびFP中のSm量は一定に推移した後に減

少、SPおよびFP中のLa量は増加の後に減少、SPおよびFP中のYb量は増加の後に一定で推移した。これらのマーカーの量的変化をLPおよびMPの微細化の経路を分割した発展形モデルにおける理論関数に当てはめ、微細化速度を経路別に分割し解析することができた。

4) 確立した反芻胃内飼料片の粒度別動態モデルと解析方法によって、4種の乾草間の反芻胃内飼料片の動態の違いが明確となり、それぞれが特徴的な微細化、通過、および発酵の速度定数を有していた。特に、微細化の各経路の速度定数は乾草間で大きく異なり、従来に報告例のない微細化のパターンの乾草間の違いを検出することができた。

5) モデルにより推定した反芻胃内飼料片の各粒度別分画における各動態経路の流量と、総反芻胃内容物の通過速度及び発酵速度との重回帰分析をおこなった。総反芻胃内容物の通過速度定数に対して、SPの通過量は正に、またSPの微細化量は負に影響した。総反芻胃内容物の発酵速度は、主にMPおよびSPにおける発酵量、もしくは発酵速度によって左右されることが示された。これらから、総反芻胃内容物の消失速度を構成する通過速度および発酵速度には、両者ともに反芻胃内飼料片の微細化のパターンが間接的に影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、飼料片の発酵速度が粒度によって異なることが、総反芻胃内容物の発酵速度を支配する要因になっていることが示された。

6) アルファルファ乾草では粒度縮小自体によって付着細菌体の量が増えなくても、他のイネ科牧草よりかなり繊維質の発酵速度は促進されることが示された。イネ科牧草では粒度によって規制される細菌の付着量が、発酵速度の制限要因となっている可能性が示唆された。反芻胃内飼料片の繊維質発酵速度および程度の粒度による違いは、飼料片への細菌体の付着程度、粒度微細化のパターン、および粒度微細化にともなう繊維質発酵が相互に関連してもたらされていた。

7) 咀嚼1回当たり的大飼料片微細化量の採食時と反芻時の差を脆弱化の程度の指標とした場合、イネ科牧草の中ではオーチャードグラス乾草で最も大きく、遅刈りチモシー乾草が最も小さかった。イネ科牧草においては反芻胃内の大飼料片の脆弱化の程度は繊維質の発酵速度によって左右され、それが大飼料片の微細化のパターンに影響することが示され

た。

8) 自由採食下での反芻胃内容物の粒度分布は hourly feeding 下でのものとおおむね類似していた。hourly feeding 下で推定された粒度別分画の速度定数の乾草間の違いが自由採食下においても想定され、それらが総反芻胃内容物の消失速度に影響したものと考えられた。

9) 以上より、反芻胃内飼料片の粒度別動態を精度よくかつ詳細に把握するためのモデルと解析方法が開発された。また、反芻胃内飼料片の粒度別動態のパターンを介して決定される総反芻胃内容物の消失速度が、めん羊の自由採食量の乾草種による変動をもたらすものと結論された。特に、反芻胃内の飼料片の微細化のパターンが、最終的には反芻胃内容物の消失速度に大きく影響するメカニズムであることが指摘された。

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたり、北海道大学名誉教授朝日田康司博士、上山英一博士、北海道大学教授大久保正彦博士には終始懇篤なる御指導、御鞭撻を賜わった。また、大久保正彦教授、清水弘教授、近藤誠司助教授には論文の校閲の労をお執り頂き、有益な御助言を賜わった。

本研究の遂行にあたって、北海道大学諸岡敏生助手、秦 寛助教授、中辻浩喜助手には、有益な御助言、御協力を頂いた。島根大学助教授一戸俊義氏には、本研究に関する御助言と激励を頂いた。福岡 哲氏、岡部靖子さん、泉賢一氏、小林千春さん、鈴木知之氏、岡田珠子さんには、本研究の共同研究者として絶大なる御協力を頂いた。

ここに、以上の各位に衷心より感謝の意を表する次第である。

引用文献

1. A. O. A. C.: Official methods of analysis (13th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., 1980
2. AITCHISON, E. M., GILL, M., DHANOA, M. S. and OSBOURN, D. F.: The effect of digestibility and forage species on the removal of digesta from the rumen and the voluntary intake of hay by sheep. *Br. J. Nutr.*, **56**: 463-476. 1986
3. AKIN, D. E.: Microscopic evaluation of forage digestion by rumen microorganisms-A review. *J. Anim. Sci.*, **48**: 701-710. 1979
4. AKIN, D. E.: Histological and Physical factors affecting digestibility. *Agron. J.*, **81**: 17-25. 1989
5. AKIN, D. E. and BARTON II, F. E.: Rumen microbial attachment and degradation of plant cell walls. *Fed. Proc.*, **42**: 114-121. 1983
6. ALLEN, M. S. and MERTENS, D. R.: Evaluating constrains on fiber digestion by rumen microbes. *J. Nutr.*, **118**: 261-270. 1988
7. ALLEN, M. S. and VANSOEST, P. J.: Periodicity and variation in the binding of rare earth ions to plant cell wall particles. in P. M. Kennedy, ed. Techniques in particle size analysis of feed and digesta in ruminants.: 180-183, Can. Soc. Anim. Sci. occ. publ. 1, 1984
8. BAE, D. H., WELCH, J. G. and SMITH, A. M.: Forage intake and rumination by sheep. *J. Anim. Sci.*, **49**: 1292-1299. 1979
9. BAILEY, R. W.: Quantitative studies of ruminant digestion. II. Loss of ingested plant carbohydrates from the reticulorumen. *N. Z. Jl agric. Res.*, **10**: 15-32. 1967
10. BAILEY, A. T., ERDMAN, R. A., SMITH, L. W. and SHARMA, B. K.: Particle size reduction during initial mastication forage by dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, **68**: 2084-2094. 1990
11. BALCH, C. C. and CAMPLING, R. C.: Regulation of voluntary feed intake in ruminants. *Nutr. Abstr. Rev.*, **32**: 669-686. 1962
12. BAUCHART, D., LEGAY-CARMIER, F. and DOREAU, M.: Distribution des bacteries adherentes en fonction de la taille des particules dans les contenus du rumen et du feuillet chez la vache laitiere. *Reprod. Nutr. Develop.*, **27**: 240-242. 1987
13. BAUMONT, R., BURN, J. P. and DULPHY, J. P.: Influence of the nature of hay on its ingestibility and the kinetics of intake during large meals in sheep and cows.: XV-I International Grassland Congress, Nice, 1989, 1989
14. BEACHEMIN, K. A. and BUCHANAN-SMITH, J. G.: Evaluation of markers, sampling sites and models for estimating rates of passage of silage or hay in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **27**: 59-75. 1989

15. BEAUCHEMIN, K. A. and IWAASA, A. D.: Eating and ruminating activities of cattle fed alfalfa or orchardgrass harvested at two stages of maturity. *Can. J. Anim. Sci.*, **73**: 79-88. 1993
16. BOWMAN, J. G. P., HUNT, C. W., KERLEY, M. S. and PATERSON, J. A.: Effects of grass maturity and legume substitution on large particle size reduction and small particle flow from the rumen of cattle. *J. Anim. Sci.*, **69**: 369-378. 1991
17. BOWMAN, J. G. P. and FIRKINS, J. L.: Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization in situ. *J. Anim. Sci.*, **71**: 1623-1633. 1993
18. BRUINING, M. and BOSCH, M. W.: Ruminal passage rate as affected by Cr-NDF particle length. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **37**: 193-200. 1992
19. CAMPLING, R. C.: Physical regulation of voluntary intake. in PHILLIPSON, A. T. ed. Physiology of digestion and metabolism in the ruminant: 226-234, Oriel Press, Newcastle, 1970
20. CAMPLING, R. C. and FREER, M.: The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of cow. *Br. J. Nutr.*, **16**: 507-518. 1962
21. CARR, S. B. and JACOBSON, D. R.: Intraruminal addition of mass of removal of rumen contents on voluntary intake of bovine. *J. Dairy Sci.*, **50**: 1814-1818. 1967
22. CHAI, K., MILLIGAN, L. P. and MATHISON, G. W.: Effect of muzzling on rumination in sheep. *Can. J. Anim. Sci.*, **68**: 387-397. 1988
23. CONRAD, H. R.: Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Physiological and physical factors limiting feed intake. *J. Anim. Sci.*, **25**: 227-235. 1966
24. CRAIG, W. M., BROWN, D. R., BRODERICK, G. A. and RICKER, D. B.: Post-prandial compositional changes of fluid and particle-associated ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, **65**: 1042-1048. 1987
25. CRAMPTON, E. W., DONEFER, E. and LLOYD, L. E.: A nutritive value index for forages. *J. Anim. Sci.*, **19**: 538-544. 1960
26. CZERKAWSKI, J. W.: Methods for determining 2-6-diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in gut contents. *J. Sci. Food Agric.*, **25**: 45-55. 1974
27. CZERKAWSKI, J. W. and CHEN, K. J.: Compartmentation in the rumen. in HOBSON, P. N. ed. The rumen microbial ecosystem: 226-234, Elsevier Science Publishers, NY, 1988
28. DEVENDRA, C.: Herbivores in Asia. in Ho, Y. H., WONG, H. K., ABDULLAH, N. and TAJUDDIN Z. A. eds. Recent advances on the nutrition of herbivores: 1-18, Malaysian Society of Animal Production, Kuala Lumpur, 1991
29. DHANOA, M. S., SIDONS, R. C., FRANCE, J., and GALE, D. L.: A multicompartment model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. *Br. J. Nutr.*, **53**: 663-671. 1985
30. DIXON R. M. and MILLIGAN, L. P.: Removal of digesta components from the rumen of steers determined by sieving technique and fluid, particulate and microbial markers. *Br. J. Nutr.*, **53**: 347-362. 1985
31. DULPHY, J. P. and DEMARQUILY, C.: Voluntary feed consumption as attribute of feeds. in ROBARDS, G. E. and PACKHAM R. G. eds. Feed information and animal production: 135-156, Commonwealth Agriculture Bureaux, Slough, 1983
32. EHLE, F. R., BAS, F., BARNO, B., MARTIN, R. and LEONE, F.: Particulate rumen turnover rate measurement as influenced by density of passage marker. *J. Dairy Sci.*, **67**: 2910-2913. 1984
33. ELLIS, W. C., MATIS, G. R., and LASCANO, C.: Quantitating ruminal turnover. *Fed. Proc.*, **38**: 2702-2706. 1979
34. ELLIS, W. C., MATIS, J. H., POND, K. R. and MAHLOOJI, M.: Physical and chemical digestion of forage fragments with emphasis on stochastic, heterogeneous rate models. in BALDWIN, R. L. and BYWATER, A. C. eds. Modeling ruminant digestion and metabolism. 34-42, University of California, Davis, California, 1984
35. ELLIS, W. C., MATIS, J. H. and KENNEDY, P. M.: Passage and digestion of plant tissues in

- herbivores. in Ho, Y. H., WONG, H. K., ABDULAH, N. and TAJUDDIN, Z. A. eds. Recent advances on the nutrition of herbivores: 227-236, Malaysian Society of Animal Production, Kuala Lumpur, 1991
36. ELLIS, W. C., WYLIE, M. J. and MATIS, J. H.: Dietary-digestive interactions determining the feeding value of forages and roughages. in Feed Science B-4 of World Animal Science. 177-229, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1988
37. EVANS, E. W., PEARCH, G. R., BURNETT, J., and PILLINGER, S. L.: Changes in some characteristics of digesta in the reticulo-rumen of cows fed once daily. *Br. J. Nutr.*, **29**: 357-376. 1973
38. EWING, D. L. and JOHNSON, D. E.: Corn particle starch digestion, passage and size reduction in beef steers: A dynamic model. *J. Anim. Sci.*, **64**: 1194-1204. 1987
39. EWING, D. L., JOHNSON, D. E. and RUMPLER, W. V.: Corn particle passage and size reduction in the rumen of beef steers. *J. Anim. Sci.*, **63**: 1509-1515. 1986
40. FAICHNEY, G. J.: The use of markers to partition digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. in MCDONALD, I. W. and Warner, A. C. I. eds. Digestion and metabolism in the ruminant: 227-291, University of New England Publishing Unit, Armidale, 1975
41. FAICHNEY, G. J.: The kinetics of particulate matter in the rumen. in MILLIGAN, L. P., GROVUM, W. L. and DOBSON, A. eds. Control of digestion and metabolism in ruminants: 173-195, Printice-Hall, New Jersey, 1986
42. FAICHNEY, G. J.: Application of the double-marker method for measuring digesta kinetics to rumen sampling in sheep following a dose of the markers or the end of their continuous infusion. *Aust. J. Agric. Res.*, **43**: 277-284. 1992
43. FAICHNEY, G. J.: Digesta flow. in FORBES, J. M. and FRANCE, J. eds. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism: 53-85, CAB international, Wallingford, 1993
44. FAO: Production year book. FAO, Rome, 1989
45. FISHER, D. S. and BAUMONT, R.: Modeling the rate and quantity of forage intake by ruminants during meal. *Agricultural System*, **45**: 43-53 1994.
46. FORBES, J. M.: Integrative theories of food intake control. in Forbes, J. M. and France, J. eds. Voluntary food intake and diet selection in farm animals: 130-151, CAB international, Wallingford, 1995
47. FORBES, J. M. and FRANCE, J.: Introduction. in FORBES, J. M. and FRANCE, J. eds. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism: 1-10, CAB international, Wallingford, UK, 1993
48. FORSBERG, C. W. and LAM, K.: Use of adenosine 5'-triphosphate as an indicator of the microbiota biomass in rumen contents. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**: 528-537. 1977
49. FRANCE, J., THORNLEY, J. H. M., DHANOA, M. S. and Siddons, R. C.: On the mathematics of digesta flow kinetics. *J. theor. Biol.* **113**: 743-758. 1985
50. FREER, M. and CAMPLING, R. C.: Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 5. The relationship between the voluntary intake of food, the amount of digesta in the reticulo-rumen and the rate of disappearance of digesta from the alimentary tract with diets of hay, dried grass or concentrates. *Br. J. Nutr.* **17**: 79-88. 1963
51. GASA, J., HOLTENIUS, K., SUTTON, J. D., DHANOA, M. S. and NAPPER, D. J.: Rumen fill and digesta kinetics in lactating Friesian cows given two levels of concentrates with two types of grass silage *ad lib*. *Br. J. Nutr.*, **66**: 381-389. 1991
52. GERSON, T., KING, A. S. D., KELLY, K. E. and KELLY, W. J.: Influence of particle size and surface area on in vitro rate of gas production, lipolysis of triacylglycerol and hydrogenation of linoleic acid by sheep rumen digesta or *Ruminococcus flavefaciens*. *J. Agric. Sci., Camb.*, **110**: 31-37 1988
53. GILL, J., CAMPLING, R. C. and WESTGARTH, D. R.: A study of chewing during eating in the cow. *Br. J. Nutr.*, **20**: 13-23 1966
54. GILL, M., ROOK, A. J. and THIAGO, L. R. S.: Factors affecting the voluntary intake of roughages by the dairy cow. in P. C. GARNSWARTHY ed. Nutrition and lactation in

- the dairy cow: 262-279, Butterworths, London, 1988
55. GIRARD, V.: Effect of rate of intake on ruminal rate of passage of small forage particles. *Can. J. Anim. Sci.*, **70**: 243-250. 1990
 56. GOERING, H.K. and VANSOEST, P.J.: Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). in USDA ed.: Agriculture handbook: 2-9, U.S. Government printing office, Washington, D.C., 1970
 57. GREENHALGH, J.F.D. and REID, G.W.: Relative palatability to sheep of straw, hay and dried grass. *Br. J. Nutr.*, **26**: 107-116, 1971
 58. GRENET, E.: A comparison of the digestion and reduction particle size of lucerne hay (*Medicago sativa*) and Italian ryegrass hay (*Lolium italicum*) in the ovine digestive tract. *Br. J. Nutr.*, **62**: 493-507, 1989
 59. GROVUM, W.L. and WILLIAMS, V.J.: Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in feces. *Br. J. Nutr.*, **30**: 313-329. 1973
 60. HUHTANEN, P. and KUKKONEN, U.: Comparison of methods, markers, sampling sites and models for estimating passage kinetics in cattle fed two levels of intake. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **52**: 141-158. 1995
 61. 一戸俊義: 乾草の品質差異が反芻胃内容物の粒度微細化に及ぼす影響, 修士論文, 北海道大学, 1990
 62. 一戸俊義: 反芻胃内飼料片の粒度別動態解析, 博士論文, 北海道大学, 1993
 63. ICHINOHE, T., TAMURA, T., UEDA, K., OKUBO, M. and ASAHIDA, Y.: The particle size distribution of ingested boli, rumen digesta and feces in sheep fed orchardgrass hay harvested at different stages of maturity. *Anim. Sci. Technol. (Jpn)*, **65**: 701-708. 1994.
 64. ICHINOHE, T., TAMURA, T., UEDA, K., OKUBO, M. and ASAHIDA, Y.: Effect of orchardgrass growth stage on pool size and kinetics of digesta particles in the rumen. *AJAS*, **8**: 267-273. 1995
 65. KENNEDY, P.M.: Effect of rumination on reduction of particle size of rumen digesta by cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, **36**: 819-828. 1985
 66. KENNEDY, P.M.: Constraints of rumen dynamics on lignocellulose digestion. in AKIN, D.E., LJUNGDAHL, L.G., WILSON, J.R. and HARRIS, P.J. eds. Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants: 3-16, Elsevier Science Publishing, New York, 1990
 67. KENNEDY, P.M. and MURPHY, M.R.: The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutr. Res. Rev.* **1**: 189-208. 1988
 68. KOMAREK, R.J.: Intestinal cannulation of cattle and sheep with a T-Shaped cannula designed for total digesta collection without externalizing digesta flow. *J. Anim. Sci.* **53**: 796-802. 1982
 69. LAREDO, M.A. and MINSON, D.J.: The voluntary intake, digestibility and retention time by sheep of leaf and stem fractions of five grasses. *Aust. J. Agric. Sci.*, **24**: 875-888. 1973
 70. LAREDO, M.A. and MINSON, D.J.: The voluntary intake and digestibility by sheep of leaf and stem fractions of *Lolium Perene*. *J. Br. Grassl. Soc.* **30**: 73-77. 1975
 71. LECHNER-DOLL, M., KASKE, M. and ENGELHARDT, W.V.: Factors affecting the mean retention time of particles in the forestomach of ruminants and camelids. in SASAKI, Y., TSUDA, T. and R. KAWASHIMA eds. Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants: 455-482, Academic Press, California, 1991
 72. LEE, J.A. and PEARCE, G.R.: The effectiveness of chewing during eating on particle size reduction of roughages by cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, **35**: 609-618. 1984
 73. LEEK, B.F.: Sensory receptors in the ruminant alimentary tract. in MILLIGAN, L.P., GROVUM, W.L. and DOBSON, A. eds. Control of digestion and metabolism in ruminants: 3-17, Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1986
 74. LEGAY-CARMIER, F. and BAUCHART, D.: Distribution of bacteria in the rumen contents of dairy cows given a diet supplemented with soya-bean oil. *Br. J. Nutr.*, **61**: 725-740. 1989
 75. LIRETTE, A. and MILLIGAN, L.P.: A quantitative model of reticulo-rumen particle degra-

- dation and passage. *Br. J. Nutr.*, **62**: 465-479. 1989
76. MCLEOD, M. N.: Physical and biological factors controlling the reduction of feed particles in the rumen. Ph. D. Dissertation, University of Queensland, 1986
77. MCLEOD, M. N. and MINSON, D. J.: Large particle breakdown by cattle eating ryegrass and alfalfa. *J. Anim. Sci.*, **66**: 992-999. 1988
78. MCLEOD, M. N., KENEDY, P. M. and MINSON, D. J.: Resistance of leaf and stem fraction of tropical forage to chewing in cattle. *Br. J. Nutr.*, **63**: 105-119. 1990
79. MERTENS, D. R.: Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Anim. Sci.*, **64**: 1548-1558. 1987
80. MERTENS, D. R.: Rate and extent of digestion. in FORBES, J. M. and FRANCE, J. eds. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism: 13-51, CAB international, Wallingford, 1993
81. MERTENS, D. R. and ELY, L. O.: A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. *J. Anim. Sci.*, **49**: 1085-1095. 1979
82. MERTENS, D. R. and ELY, L. O.: Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization-A dynamic model evaluation. *J. Anim. Sci.*, **54**: 895-905. 1982
83. MICHALET-DOREAU, B. and CERNEAU, P.: Influence of foodstuff particle size on in situ degradation of nitrogen in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **35**: 69-81. 1991
84. MINSON, D. J.: The apparent retention of food in the reticulo-rumen at two levels of feeding by means of an hourly feeding technique. *Br. J. Nutr.*, **20**: 765-773. 1966
85. MINSON, D. J.: Intake of forage by housed ruminants. in Forage in ruminant nutrition: 9-59, Academic Press, California, 1990
86. MINSON, D. J. and COWPER, J. L.: Diurnal variations in the excretion of faeces and urine by sheep fed once dairy or hourly intervals. *Br. J. Nutr.*, **20**: 757-764. 1966
87. MINSON, D. J. and COWPER, J. L.: Equipment for automatically feeding forage to cattle at hourly intervals and removing uneaten feed. *J. Anim. Sci.*, **44**: 814-817. 1977
88. MOORE, J. A., POORE, M. H. and SWING, R. S.: Influence of roughage source on kinetics of digestion and passage and on calculated extents of ruminal digestion in beef steers fed 65% concentrate diets. *J. Anim. Sci.*, **68**: 3412-3420. 1990
89. MOSELEY, G. and JOHNES, J. R.: The physical digestion of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*) in the foregut of sheep. *Br. J. Nutr.*, **52**: 381-390. 1984
90. MURPHY, M. R. and NICOLLETY, J. M.: Potential reduction of forage and rumen digesta particle size by microbial action. *J. Dairy Sci.*, **67**: 1221-1226. 1984
91. MURPHY, M. R. and KENNEDY, P. M.: Particle dynamics. in FORBES J. M. and FRANCE J. eds. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism: 87-105, CAB international, Wallingford, 1993
92. MURPHY, M. R. KENNEDY, P. M. and WELCH, J. G.: Passage and rumination of inert particles varying in size and specific gravity as determined from analysis of faecal appearance using multicompartment models, *Br. J. Nutr.*, **62**: 481-492. 1989
93. NOCEK, J. E. and KOHN, R. A.: Initial particle form and size on change in functional specific gravity of alfalfa and timothy hay. *J. Dairy Sci.*, **70**: 1850-1863. 1987
94. NOCEK, J. E. and KOHN, R. A.: In situ particle size reduction of alfalfa and timothy hay as influenced by form and particle size. *J. Dairy Sci.*, **71**: 932-945. 1988
95. 岡本全弘：反芻行動の消化生理学的意義に関する研究，学位論文，北海道大学，1979
96. OLUBOBOKUN, J. A., CRAIG, W. M. and POND, K. R.: Effects of mastication and microbial contamination on ruminal in situ forage disappearance. *J. Anim. Sci.*, **68**: 3371-3381. 1990
97. ØRSKOV, E. R. and McDONALD, I.: The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.*, **92**: 499-533. 1979
98. ORTIGUES, I., OLDHAM, J. D., SMITH, T., DECOURTENAY, M. B. and SIVITER, W.: A comparison between ytterbium acetate, ruthenium phenanthroline and indigestible acid

- detergent fiber in a double-marker system for intestinal flow measurements in steers. *J. Agric. Sci., Camb.*, **114**: 69-77. 1990
99. POND, K. R., ELLIS, W. C. and AKIN, D. E.: Ingestive mastication and fragmentation of forages. *J. Anim. Sci.*, **58**: 1567-1574. 1984
100. POND, K. R., ELLIS, W. C., MATIS, J. H. and Deswysen, A. G.: Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: Time of dosing kinetics. *J. Anim. Sci.*, **67**: 1020-1028. 1989
101. POND, K. R., ELLIS, W. C., MATIS, J. H., FERREIRO, H. M. and SUTTON, J. D.: Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. *Br. J. Nutr.*, **60**: 571-595. 1988
102. POORE, M. H., MOORE, J. A. and SWINGLE, R. S.: Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. *J. Anim. Sci.*, **68**: 2965-2973. 1990
103. POPPI, D. P., NORTON, B. W., MINSON, D. J. and HENDRICKSEN, R. E.: The validity of the critical size theory for particle leaving the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.*, **94**: 275-280. 1980
104. POPPI, D. P., MINSON, D. J. and TERNOUTH, J. H.: Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. I The voluntary intake, digestibility and retention time in the reticulo-rumen. *Aust. J. Agric. Res.*, **32**: 99-108. 1981
105. POPPI, D. P., MINSON, D. J. and TERNOUTH, J. H.: Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. II Factors controlling the retention of feed in the reticulo-rumen. *Aust. J. Agric. Res.*, **32**: 109-121. 1981
106. POPPI, D. P., MINSON, D. J. and TERNOUTH, J. H.: Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. III The retention time in the rumen of large feed particles. *Aust. J. Agric. Res.*, **32**: 123-137. 1981
107. POPPI, D. P., HENDRICKSEN, R. E. and MINSON, D. J.: The relative resistance to escape of leaf and stem particles from the rumen of cattle and sheep. *J. Agric. Sci., Camb.*, **105**: 9-14. 1985
108. PUSER, D. B. and MOIR, R. J.: Rumen volume as a factor involved in individual sheep differences. *J. Anim. Sci.*, **25**: 509-515. 1966
109. QUIOZ, R. A., POND, K. R., TOLLEY, E. A. and JOHNSON, W. L.: Selection among non-linear models for rate of passage studies in ruminants. *J. Anim. Sci.*, **66**: 2977-2986. 1988
110. RICHARDSON, C. T. and REID, J. T.: The digestibility and interrelationships of various carbohydrate fractions of pasture herbage and resolution of the components of crude fiber and nitrogen-free extract. *J. Dair. Sci.*, **36**: 1006-1015. 1953
111. ROBLES, A. Y., BELYEA, R. L., MARTZ, F. A. and WEISS, M. F.: Effect of particle size upon digestible cell wall and rate of in vitro digestion of alfalfa and orchardgrass forage. *J. Anim. Sci.*, **51**: 783-790. 1980
112. SHAVER, R. D., SATTER, L. D. and JORGENSEN, N. A.: Impact of forage fiber content on digestion and digesta passage in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **71**: 1556-1565. 1988
113. SICILIANO-JONES, J. and MURPHY, M. R.: Specific gravity of various feedstuffs as affected by particle size and in vitro fermentation. *J. Dairy Sci.*, **74**: 896-901. 1991
114. SMITH, L. W., WEEILAND, B. T., WALDO, D. R. and LEFFEL, W. C.: Rate of plant cell wall particle size reduction in the rumen. *J. Dairy Sci.*, **66**: 2124-2136. 1983
115. STEEL, R. G. D. and TORRIE, J. H.: Principles and procedures of statistics. 2nd ed. McGraw-Hill Book Co, New York, 1981
116. SULLIVAN, J. T.: Studies of the hemicellulose of forage plants. *J. Anim. Sci.*, **25**: 83-86. 1966
117. SUTHERLAND, T. M.: Particle separation in the forestomachs of sheep. in DOBSON, A. and DOBSON, M. J. eds. Aspects of digestive physiology in ruminants: 43-73, Cornell Univ. Press, New York, 1988
118. 田村忠: 乾草給与下のめん羊における粒度別反芻胃内飼料片の通過速度, 修士論文, 北海道大学, 1993
119. THIAGO, L. R. and GILL, M.: The effect of conservation method and frequency of feeding on the removal of digesta from the rumen. *Proc. Nutr. Soc.*, **45**: 97A. 1986

120. THORNTON, R. F. and MINSON, D. J.: The relationship between voluntary intake and mean apparent retention time in the rumen. *Aust. J. Agric. Res.*, **23**: 871-877. 1972
121. 上田宏一郎：反芻胃内飼料片の物理的動態と繊維成分分解の関連—乾草の刈取り時期と草種による違い，修士論文，北海道大学，1993
122. 上田宏一郎，一戸俊義，田村忠，大久保正彦，朝日田康司：刈取り時期の異なるオーチャードグラス乾草およびアルファルファ乾草を給与しためん羊における反芻胃内容物粒度別飼料片の繊維成分含量，日畜会報，**66**：949-956. 1995
123. UDEN, P., COLUCCI, P. E. and VANSOEST, P. J., Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food. Agric.*, **31**: 625-632. 1980
124. ULYATT, M. J., DELLOW, D. W., JOHN, A., REID, C. S. W. and WAGHORN, G. C.: Contribution of chewing during eating and rumination as the clearance of digesta from the ruminoreticulum. in MILLIGAN, L. P., GROVUM, W. L. and DOBSON, A. eds. Control of digestion and metabolism in ruminants: 498-515, Englewood Cliffs, New Jersey, 1986
125. VANSOEST, P. J.: Quality of feedstuffs. in Nutritional ecology of ruminant: 23-38, O & B Books, Corvallis, Oregon, 1982
126. VANSOEST, P. J.: Intake. in Nutritional ecology in ruminants 2nd ed: 337-353, Cornell University Press, NY, 1994
127. VANSOEST, P. J.: Digestive flow. in Nutritional ecology of ruminant 2nd ed: 371-384, Cornell University Press, NY, 1994
128. VANSOEST, P. J., Sniffen, C. J. and Allen, M. S.: Rumens dynamics. in DONSON, A. and DOBSON, M. J. D. eds. Aspects of digestive physiology in ruminants: 21-42, Cornell University Press, New York, 1988
129. WAGHORN, G. C., REID, C. S. W., ULYATT, M. J. and JOHN, A.: Feed comminution, particle composition and distribution between the four compartments of the stomach in sheep fed chaffed lucerne hay at two feeding frequencies and intake levels. *J. Agric. Sci., Camb.*, **106**: 287-296. 1986
130. WATTIAUX, M. A., SATTER, L. D. and MERTENS, D. R.: Effect of microbial fermentation on functional specific gravity of small forage particles. *J. Anim. Sci.*, **70**: 1262-1270. 1992
131. WATTIAUX, M. A.: L. D. SATTER and D. R. MERTENS, Factors affecting volume and specific gravity measurements of neutral detergent fiber and forage particles. *J. Dairy Sci.*, **76**: 1978-1988. 1993
132. WESTON, R. H.: Factors limiting the intake of feed by sheep. III. The mean retention time of feed particles in sections of the alimentary tract. *Aust. J. Agric. Res.*, **19**: 261-266. 1968
133. WILSON, J. R.: Plant structures: Their digestive and physical breakdown. in HO, Y. H., WONG, H. K., ABUDULLAH, N. and TAJUDDIN, Z. A. eds. Recent advances on the nutrition of herbivores: 207-216, Malaysian society of Animal Production, Kuala Lumpur, 1991
134. WOODFORD, S. T. and MURPHY, M. R.: Dietary alteration of particle breakdown and passage from the rumen in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **71**: 687-696. 1988
135. WORRELL, M. A., CLANTON, D. C., STROUP, W. W. and NICHOLS, J. T.: Effect of harvest date on meadow hay quality. II. Particle size degradation and particulate passage from the rumen of growing cattle. *J. Anim. Sci.*, **63**: 1538-1546. 1986

Summary

The first aim in this study was to develop the model and method of determining the dynamics of various particle size fractions in the rumen correctly. Another aim was, using the developed method, to clarify the control mechanism of disappearance rate of rumen digesta as related to voluntary intake of forage. Wethers given alfalfa, orchardgrass, early-cut timothy and late-cut time timothy hay by hourly feeding were used to assess 1) model and method which make it possible to determine dynamics of various particulate fractions in the rumen, 2) interrelationships between factors that could affect the disappearance rate of total ruminal digesta, and 3) relationship between voluntary intake and rumen dynamics of various particulate fractions. Results are summarized as follows:

1) Under hourly feeding condition, eating and

rumination time were distributed evenly throughout the day. The eating and ruminating patterns would bring a steady state in the rumen. This suggested that hourly feeding in this study could enable a valid analysis of dynamics of various particle size fractions in the rumen.

2) Four particle size fractions of rumen digesta (LP: >5600, MP: <5600 but >1180, SP: <1180 but >300, FP: <300 but >47 μm by wet sieving) were marked by La, Yb, Sm and Dy, respectively. Post-dosing changes in concentrations of respective rare earth markers in corresponding particulate fractions decreased exponentially. Decision coefficients of exponential curve by nonlinear fitting were over 0.97, implying that disappearance rates for particulate fractions from those regressed equations should be valid basal data for analysis by the dynamics model. The range of fermentation rate of each particulate fraction of rumen digesta which were estimated by *in situ* method was acceptable for analysis. The rates of size reduction decreased as the size was smaller, and the rates of passage increased as the size was smaller; this was obtained by applying above values to the model developed by Ichinohe⁶²⁾. The estimated values were considered to be valid because relationships between size reduction or passage rate and particle size were theoretically acceptable.

3) Post-dosing changes in the amount of rare earth markers in ruminal particulate fractions which were smaller than the size at dosing showed specific pattern respectively. The weight of La in MP and Sm in FP initially maintained a constant level, and declined later. The weight La in SP and FP increased to a peak and decreased, while the weights Yb in SP and FP increased to a peak and then remained constant. Rates of size reduction from LP to MP, from LP to SP, from LP to FP, from MP to SP, and from MP to FP could be estimated respectively by fitting the data above to theoretical differential equations derived from the new model including multiple size reduction processes.

4) By using the established model of particulate dynamics and analyzing methods, the differences among the four kinds of hay were clearly detected in particulate dynamics, that is, in rates of size reduction, passage and fermentation in the rumen of sheep. Especially, rates of size reduction of respective pathways differed largely, and the

difference in pattern of size reduction among the kinds of hay, which has never been reported, could be detected precisely and quantitatively.

5) Multiple regressions were conducted for the passage and fermentation rates of total ruminal digesta against the estimated flows between particulate fractions in the model. Amount of SP passing from the rumen and amount of size reduction from SP, had positive and negative effects on the passage rate of total ruminal digesta respectively. Fermentation rate of total ruminal digesta appeared to depend mainly on amounts or rates of fermentation of MP and SP. These results apparently mean that the pattern of size reduction of particles in the rumen has an indirect effect on both passage and fermentation rate of total ruminal digesta, which were components of disappearance rate of total ruminal digesta. Furthermore, it was shown that the inconsistency of fermentation rate between particle sizes was an important factor, that could limit the fermentation rate of total ruminal digesta.

6) Unlike the grass hay, the increase in fiber fermentation rate from LP to MP for alfalfa hay did, not need the increase in content of bacteria tightly attached to ruminal particles. It was shown for these three kinds of grass hay that bacterial content of particle, which depended on particle size, acted as a limiting factor against fermentation rate of particles. Interrelationship between the extent of attachment of bacteria to particles, the pattern of particle size reduction and the fiber fermentation as size reduction appeared to contribute to the difference in rate and extent of fiber fermentation of particles among sizes of ruminal particles.

7) The difference between eating and ruminating in large particle breakdown per chew was adopted as an index for fragility of ruminal large particle by fermentation. Within the grasses, it was maximum for orchardgrass and minimum for late-cut timothy hay. It was suggested for the grass hay that the extent of fragility of large particles, which was positively related to fiber fermentation rate, would affect the pattern of size reduction of large particles.

8) When the four kinds of hay were fed to another sheep *ad lib*, the particle size distribution of rumen digesta was in agreement with that of hourly feeding. It could be assumed that particulate dynamics in the rumen, which was estimated under hourly

feeding condition, occurred in the rumen of sheep fed *ad lib*. Voluntary intake of hay was positively correlated to the disappearance rate of total ruminal digesta ($r=0.914$, $P<0.01$).

9) This study have developed the model and analyzing method of determining rumen dynamics of various particulate fractions precisely. It was concluded that the variation in voluntary intake of hay by sheep was affected by patterns of dynamics of various particulate fractions that would control the disappearance rate of total ruminal digesta. Especially, the pattern of size reduction of ruminal particles was pointed to be main component of potential mechanism affecting the disappearance rate of ruminal digesta.

補 遺

1) La 量の変化

$$LL(t) = LL(0) \cdot \exp(-kdL \cdot t)$$

$$ML(t) = \alpha \cdot krLM \cdot \exp(-kdL \cdot t) + (ML(0) - \alpha \cdot krLM) \cdot \exp(-kdM \cdot t)$$

$$\alpha = \frac{LL(0)}{kdM - kdL}$$

$$SL(t) = (\delta \cdot krLS + \epsilon) \cdot \exp(-kdL \cdot t) + \xi \cdot \exp(-kdM \cdot t) + (SL(0) - \delta \cdot krLS - \epsilon - \xi) \cdot \exp(-kdS \cdot t)$$

$$\delta = \frac{LL(0)}{kdS - kdL}$$

$$\epsilon = \frac{LL(0) \cdot krLM \cdot krMS}{(kdM - kdL)(kdS - kdL)}$$

$$\xi = \frac{ML(0) \cdot krMS}{kdS - kdM} - \epsilon$$

$$FL(t) = (\lambda \cdot krLF + \mu) \cdot \exp(-kdL \cdot t) + \nu \cdot \exp(-kdM \cdot t) + \xi \cdot \exp(-kdS \cdot t) + (FL(0) - \lambda \cdot krLF - \mu - \nu - \xi) \cdot \exp(-kdF \cdot t)$$

$$\lambda = \frac{LL(0)}{kdF - kdL}$$

$$\mu = \frac{krLM \cdot krMF \cdot \alpha + krSF \cdot (\delta \cdot krLS + \epsilon)}{kdF - kdL}$$

$$\nu = \frac{krMF \cdot (ML(0) - \alpha \cdot krLM) + krSF \cdot \xi}{kdF - kdM}$$

$$\xi = \frac{krSF \cdot (SL(0) - \delta \cdot krLS - \epsilon - \xi)}{kdF - kdS}$$

2) Yb 量の変化

$$MY(t) = MY(0) \cdot \exp(-kdM \cdot t)$$

$$SY(t) = \beta \cdot krMS \cdot \exp(-kdM \cdot t) + (SY(0) - \beta \cdot krMS) \cdot \exp(-kdS \cdot t)$$

$$\beta = \frac{MY(0)}{kdS - kdM}$$

$$FY(t) = (\eta \cdot krMF + \theta) \cdot \exp(-kdM \cdot t) + \kappa \cdot \exp(-kdS \cdot t) + (FY(0) - \eta \cdot krMF - \theta - \kappa) \cdot \exp(-kdF \cdot t)$$

$$\eta = \frac{MY(0)}{kdF - kdM}$$

$$\theta = \frac{MY(0) \cdot krMS \cdot krSF}{(kdS - kdM)(kdF - kdM)}$$

$$\kappa = \frac{SY(0) \cdot krSF}{kdF - kdS} - \theta$$

3) Sm 量の変化

$$SS(t) = SS(0) \cdot \exp(-kdS \cdot t)$$

$$FS(t) = \gamma \cdot krSF \cdot \exp(-kdS \cdot t) + (FS(0) - \gamma \cdot krSF) \cdot \exp(-kdF \cdot t)$$

$$\gamma = \frac{SS(0)}{kdF - kdS}$$

4) Dy 量の変化

$$FD(t) = FD(0) \cdot \exp(-kdF \cdot t)$$