



Title	ウシにおける反芻時の飼料片微細化メカニズムに関する研究
Author(s)	鈴木, 知之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第5575号
Issue Date	2001-03-23
DOI	https://doi.org/10.11501/3182458
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/51508
Type	doctoral thesis
File Information	000000400047.pdf



ウシにおける反芻時の飼料片微細化メカニズム
に関する研究

鈴木 知之

ウシにおける反芻時の飼料片微細化メカニズム
に関する研究

生物資源生産学専攻 博士後期課程

鈴木知之

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたり、北海道大学教授田中桂一博士、大久保正彦博士、同助教授小林泰男博士には、終始懇切なるご指導と論文校閲の労を賜った。

飼料の物性測定においては、北海道大学教授伊藤和彦博士、同助教授川村周三博士、同助手樋元淳一博士よりご指導をいただいた。北海道大学助教授近藤誠司博士、秦寛博士、同助手申辻浩喜博士には有益なご助言、ご協力をいただいた。北海道大学助手上田宏一郎博士には本研究の遂行からとりまとめまで、終始懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜った。北海道大学附属農場技官、岩倉隆氏、新海秀史氏、高橋太郎氏、八巻憲和氏には供試動物の管理から実験の遂行まで終始有益なご指導、ご協力をいただいた。潘軍氏、高野透氏、小林明日香さん、津田昌朋氏には、本研究の共同研究者として絶大なるご協力をいただいた。小池聡氏、安乗基氏、大島千周氏、Abu Sadeque Md. Selim 氏、谷口宣男氏、泉友子さん、宮地慎氏はじめ、北海道大学農学部ならびに同大学院農学研究科の学生諸氏には、実験遂行にあたり、多大なご協力をいただいた。ここに、以上の各位に深く感謝の意を表する。

目次

1 緒言	1
2 反芻時微細化の様相 (試験 1, 試験 2)	14
2-1 目的	
2-2 材料および方法	
2-3 結果および考察	
2-4 小括	
3 反芻時微細化に影響する要因	47
3-1 目的	
3-2 飼料摂取量が飼料片微細化におよぼす影響 (試験 3)	
3-2-1 目的	
3-2-2 材料および方法	
3-2-3 結果	
3-2-4 考察	
3-3 尿素添加が飼料片微細化におよぼす影響 (試験 4)	
3-3-1 目的	
3-3-2 材料および方法	
3-3-3 結果	
3-3-4 考察	
3-4 小括	
4 総合考察	83
5 結論	101
要約	103
引用文献	108

第 1 章 緒言

現在、世界の永久草地は $3,385 \times 10^6$ ha であり、これは陸地の 26% および農地の 70% を占め、世界の反芻家畜（ウシ、水牛、ヒツジ、ヤギおよびラクダ）飼養頭数は、ウシに換算した場合でおよそ $1,500 \times 10^6$ 頭にのぼる（FAO, 1996）。世界人口は 1999 年に 60 億人を超え、2050 年には 89 億人に達することが推定されており（UNFPA, 1999）、人類は反芻家畜の生産物という形で草地からエネルギーを得ているため、今後、草資源を有効に利用した反芻家畜の生産性向上がのぞまれる。

家畜の生産性は自由摂取量によって制限を受けており、自由摂取量の制限要因が研究されてきた。動物の消化管および肝臓には、伸張、浸透圧、pH あるいは特定の化学物質を感知する受容器が存在し、これら受容器からのシグナルが、中枢神経系で統合され、採食活動を制御している（Forbes, 2000）。牧草、あるいはその貯蔵飼料である乾草やサイレージといった粗飼料を摂取した場合、主要成分である繊維質の分解速度が遅いため、発酵産物を感知する化学受容器よりも、飼料の反芻胃内充満を感知する伸張受容器からのフィードバックにより摂取量が制限されている。このような、摂取量制限に影響する物理的要因の重要性を Balch and Campling (1962) が唱えて以来、反芻胃内の充満状態の解消をもたらす、飼料片の消失動態（微細化、発酵および通過）を明らかにすることにより、精度の高い摂取量予測モデルを組み立てることを目的とした研究が発展してきた。このような研究の中で上田（1996）は、消失動態の中で、

飼料片の微細化パターン（微細化の程度）が飼料の発酵速度および反芻胃から通過する速度に影響していることを明らかにした。このため反芻胃内飼料片微細化の過程を明らかにすることが、消失動態、ひいては反芻家畜の自由摂取量制限要因を解明する上で重要であると考えられる。

反芻胃内飼料片は、第二・三胃孔でそのサイズにより通過が制限されているため、通過するまでに一定サイズ以下に微細化される必要がある（Poppi *et al.*, 1980）。この飼料片の通過可能な粒度（臨界粒度）は、動物種により異なることが知られており、ヒツジで 1.0 から 2.0mm、ウシで 2.0 から 4.0mm と考えられている（Ulyatt *et al.*, 1986）。この臨界粒度までの微細化は、採食時および反芻時における咀嚼、反芻胃内での胃運動にともなう飼料片どうしの磨砕および発酵によってもたらされると考えられているので（McLeod and Minson, 1988a）、それぞれの微細化をもたらす要因について以下にまとめた。

採食時咀嚼

乾草あるいはわら類給与下のウシでは、採食時咀嚼により 30 から 40% の大飼料片 (>1mm) が微細化される（Lee and Pearce, 1984）。生草と乾草では、乾草の方が微細化される程度が大きい（Ulyatt *et al.*, 1986; Gill *et al.* 1966）。微細化の程度は、飼料の強度および化学組成と密接な関係がないという報告もあるが（Lee and Pearce, 1984）、一般的に、採食時咀嚼の役割は嚥下可能な食塊を形成することであり、このため採食時

には嚥下可能な程度にまでしか微細化しないと考えられている (Ulyatt *et al.*, 1986)。乾草の刈り取り時期が遅いものほど、採食時における乾草摂取量あたりの唾液分泌量が多いことも (Beauchemin and Iwaasa, 1993)、嚥下を容易するための反応のひとつと言えるかもしれない。採食時咀嚼により植物体組織が損傷を受け、タンパク質 (Bailey, 1962)、葉緑素 (Waghorn *et al.*, 1989b) などの可溶性成分が溶出する。乾物の溶出率はアルファルファ乾草の方がオーチャードグラス乾草よりも高く、また遅刈り乾草よりも早刈り乾草の方が溶出率が高い (Beauchemin and Iwaasa, 1993)。さらに、損傷を受けることにより反芻胃内微生物の付着可能部位が増加し (Wilson *et al.*, 1989b)、NDF 消失速度が増加する (Olubobokun *et al.*, 1990; Uden, 1992)。このように、採食時の咀嚼は粒度の低下だけでなく、これにともなう組織の損傷や細胞内容物の溶出により、反芻胃内発酵にも寄与していることが明らかにされている。

反芻時咀嚼

反芻時咀嚼が口輪 (Pearce and Moir, 1964; Chai *et al.*, 1988) あるいは噴門付近の腫瘍 (Okamoto *et al.*, 1990) により阻害された場合、飼料片の反芻胃内滞留時間は著しく増加する。乾草を粉碎あるいはペレット化することにより、1日の反芻時間は大幅に減少する (Pearce and Moir, 1964; Kennedy, 1985)。飼料摂取量によっても反芻時間は変動し、飼料摂取量の増加にともない反芻時間が増加する (Welch and Smith,

1969; Waghorn *et al.*, 1986)。これらのことから Ulyatt *et al.* (1986) は、採食時咀嚼の主要な役割が食塊形成とすると、反芻時咀嚼の主要な役割は飼料片を微細にすることによって飼料片の反芻胃通過を促進させることにあると述べている。しかし、反芻時咀嚼前後の食塊を *in situ* 培養することにより NDF 消失率が咀嚼を受けた食塊の方で高くなること (鈴木ら, 2000)、あるいは反芻が阻害されることにより乾物消化率が低下することから (Chai *et al.*, 1988)、反芻時咀嚼についても採食時咀嚼のような、微細化あるいは損傷による発酵促進にも貢献していると考えらるべきだろう。

乾物摂取量あたりの反芻時間は、マメ科乾草とイネ科乾草では同程度であるが (Grenet, 1989; Beauchemin and Iwaasa, 1993)、NDF (中性デタージェント繊維) 摂取量あたりの反芻時間はイネ科よりもマメ科乾草の方が長い。刈り取り時期の違いも乾物摂取量あたりの反芻時間に影響をおよぼし、イネ科、マメ科乾草ともに早刈りよりも遅刈り乾草の方が長い (Beauchemin and Iwaasa, 1993; 大下ら, 1997a)。反芻時の大飼料片微細化量は、葉部および茎部、イネ科およびマメ科で測定されているが (McLeod *et al.*, 1990; Ueda *et al.*, 1997)、結果は報告によって異なっている。このような反芻時間あるいは微細化量の相違は、飼料中の繊維質含量あるいはリグニン含量から説明されているが、反芻時に咀嚼される飼料片の繊維質は、反芻胃内発酵による影響を受けているため、解釈は難しい。

咀嚼以外の微細化

反芻胃内発酵による飼料片微細化への寄与について、*in situ* 培養により検討されている。Grenet (1989) は、採食時嚥下食塊を *in situ* 培養したところ、食塊の粒度は培養時間に関係なく一定であったことを報告している。また、McLeod and Minson (1988b) は、反芻胃運動を模した人工ルーメン内で培養した飼料片は、溶液の攪拌がない状態では粒度の低下が起きなかったが、攪拌がある状態では飼料片粒度が低下したことを報告している。これらのことから反芻胃内発酵単独では、微細化におよぼす影響は小さいものと考えられる。

in vitro あるいは *in situ* で培養した飼料片は、微生物の附着および消化を受けて葉肉、師部あるいは柔組織といった組織が先に消失する (Akin, 1986)、このためイネ科葉部では維管が分離することにより幅が低下する (Wilson and McLeod, 1989a)。このことから、*in situ* 培養した飼料片の引っ張り強度や (Evans *et al.*, 1974)、粉碎に必要なエネルギー (Murphy and Kennedy, 1993) は減少する。このような強度の低下は、咀嚼や磨砕による微細化を促進すると考えられている。わら類あるいは低品質の乾草を給与した時、大豆粕を添加することによって、飼料摂取量あたりの反芻時間が低下する (Mawuenyegah *et al.*, 1997; 大下ら, 1997b)。この原因は、添加された窒素が微生物体タンパク質源となり、微生物の増殖が活発になった結果、飼料片の脆弱化が進行するためと考えられる。しかし、これらの報告は反芻活動のみを測定しているた

め、発酵による飼料片微細化への影響は推測の域を出ない。
Waghorn *et al.* (1986) および Ueda *et al.* (1997) は、飼料
および反芻胃内飼料片のリグニン含量を発酵の指標とし、脆弱
化と微細化効率の関係を検討している。しかし、発酵による脆
弱化の程度が、反芻時微細化に影響するメカニズムは明らかにな
っていない。

以上のことから、摂取した飼料が微細化されていく過程で、
採食および反芻時の咀嚼が微細化の主要因となっており、発酵
は反芻時咀嚼や反芻胃内における飼料片どうしの磨砕に、脆弱
化を介して寄与しているものと考えられる。しかし、反芻時咀
嚼について、特に発酵との関係については明らかにされていない。
その原因として測定方法の問題点があげられる。

反芻時咀嚼による微細化について、多くの研究では、咀嚼
活動と飼料摂取量から、また、反芻胃にフィステルを形成した
動物を用いることにより、咀嚼活動と反芻胃内飼料片粒度の変
動から、反芻時微細化の様相を検討している。しかし、反芻胃
内飼料片粒度の変動から反芻時微細化を推測する方法を用いた
場合、反芻時微細化を過大評価してしまう可能性がある。なぜ
ならば、反芻胃内飼料片の減少は反芻時咀嚼による微細化だけ
でなく、飼料片どうしの磨砕による微細化やサイズの減少がな
いままでの通過も含んでいるためである (McLeod and Minson,
1988a)。

このような問題を克服するために、Ulyatt *et al.* (1986)
は、反芻咀嚼前後の食塊を食道フィステルから採取し、粒度を

比較することにより反芻時微細化を評価した。この方法を用いて Kennedy (1985) および鈴木ら (2000) は、飼料種による検討、Chai *et al.* (1984, 1988) は、給与後異なる時間における検討を行った。しかし、このような方法を用いた研究は非常に少なく、飼料摂取量、飼料種あるいは飼料形態との関連はほとんど明らかになっていない。その原因として、動物の馴致あるいは‘Tail’食塊（吐き戻し直後、咀嚼開始直前に咀嚼を受けずに反芻胃へ送り返される画分）の採取または分離が困難であることがあげられる (Grenet, 1989; Beauchemin and Iwaasa, 1993; McLeod and Minson, 1988a)。以下に、反芻時微細化様相を反芻時食塊採取によって検討した既往の研究についてまとめた。

反芻時食塊採取による反芻時微細化に関する研究

吐き戻し食塊に含まれている茎部や葉部の割合は、給与飼料の茎部および葉部の割合で異なり、また草種によっても異なる (Kelly and Sinclair, 1989)。吐き戻し食塊中の大飼料片の割合は反芻胃内の平均大飼料片割合よりも低いが、ウシでは吐き戻し食塊中大飼料片割合の方が高い (Ulyatt *et al.*, 1986)。これは、反芻胃内上層には大きな飼料片がからまりあった層(ラフト)が形成されている (Evans *et al.*, 1973) といった、粒度別飼料片の不均一な分布が関与しているものと思われる。すなわち、反芻胃内容物と吐き戻し食塊との粒度分布の相違は、反芻胃内における吐き戻される内容物の部位が関連していること

が考えられる。しかし、吐き戻される内容物の部位に関しての明確な報告はない。

反芻動物は食塊の吐き戻し直後、吐き戻した内容物の一部を反芻胃へ送り返し、その結果口腔に残された食塊を咀嚼し、嚥下している。このことから、動物は吐き戻した食塊そのものを咀嚼しているわけではない。Ulyatt *et al.* (1986) は、この反芻時の各食塊をそれぞれ、'Up'、'Tail'、'Retained'および'Down'食塊と呼んでいる。'Tail'食塊の乾物含量および大飼料片割合は、吐き戻し食塊よりも低いため、'Tail'食塊の送り返しは、咀嚼を効率よくおこなうためのシステムと考えられている (Ulyatt *et al.*, 1986; 鈴木ら, 2000)。1回の吐き戻しで微細化される大飼料片 (>1mm) の割合 (微細化効率) は、ウシでは 62 から 88% (鈴木ら, 2000)、めん羊では 57 から 65% (Ulyatt *et al.*, 1986; Chai *et al.*, 1988) と報告されているが、例数が少ないため動物種間の差は明確ではない。微細化効率の草種間差は、報告により評価が分かれているが (Kennedy, 1985; Ulyatt *et al.*, 1986; Chai *et al.*, 1984, 1988; 鈴木ら 2000)、草種間差には飼料の発酵特性が関与していることが考えられる。Chai *et al.* (1984, 1988) は、異なる時間帯で食塊を採取し、飼料の滞留時間 (飼料給与後時間) の異なる反芻時微細化を比較することで、脆弱化と反芻時微細化の関係を検討した。この中で、食塊あたりの微細化効率が経時的に増加したことから、飼料片の反芻胃内滞留による強度の低下が、微細化に影響しているものと考察している。

反芻胃内飼料片には強度の異なる茎部および葉部が含まれており、滞留時間によっても強度は変化する。さらに、通過速度は葉部と茎部で異なるため、吐き戻し大飼料片中の茎葉比が経時的に変動している可能性もある。また、飼料片は、採食時咀嚼や磨砕により損傷を受けたり幅が低下することが考えられ、吐き戻される飼料片の強度低下に影響する要因は、必ずしも発酵による影響だけではないだろう。このようなことから、反芻時微細化と摂取後時間の経時的な検討だけでは、発酵による強度低下以外の要因も含まれてしまうことが推察される。

飼料片の強度

反芻時に吐き戻されて咀嚼される飼料片は、咀嚼や磨砕による損傷を受けたり、発酵により脆弱化し強度が変動する。このため、反芻時微細化に影響する要因を検討するためには、咀嚼を受ける飼料片の強度を測定する必要がある。

飼料の強度は、飼料の嗜好性、微細化の効率、微細化量に影響すると考えられるため、様々な方法で測定が試みられてきた。測定方法は、間接的方法と直接的方法の2つに分けられるだろう。ここで間接的方法とは、飼料を動物に採食させたときの咀嚼活動から推定する方法であり、直接的方法とは機器を用いた実験室内での測定方法である。

咀嚼活動からの推定は、方法が比較的容易である上に、実際に飼料を給与する動物を利用している利点がある。飼料摂取量が咀嚼時間におよぼす影響を除いた、乾物あるいは繊維摂取

量あたりの咀嚼時間（採食、反芻あるいは総咀嚼時間）が、古くから利用されてきており、現在でも多くの研究で利用されている。また、食道あるいは反芻胃にフィステルを形成した動物から、採食時食塊を採取し、食塊中の粒度別飼料片の分布からも推定されている（Lee and Pearce, 1984）。Balch（1971）は、飼料の粗剛性の指標として乾物摂取量あたりの総咀嚼時間であらわされる、roughage index を提唱した。彼は roughage index が 60 から 40 単位程度まで低下することにより、牛乳中の脂肪含量が明らかに低下することを確認し、反芻家畜飼料の栄養学的効果に影響する物理的特性の定量化を可能とした。しかし、roughage index で表される強度には飼料自体が持つ強度に加え、発酵による強度低下も含まれているが、このことは考慮されていない。

直接的方法としては、インストロン、レオメーターあるいは Warner-Bratzler 剪断力測定機等による、茎部や葉部といった植物体各部位の測定と、磨砕機あるいは粉碎機を用いた飼料全体の物性の測定に分けられる。前者における測定装置の原理は、サンプル台の一定速度での移動と応力の連続測定という点で、基本的には同じである。

牧草では部位別の測定として、Warner-Bratzler 測定機を用いたアルファルファ茎部（Iwaasa *et al.*, 1996, 1998, 1999）、ペレニアルライグラス（Mckinnon *et al.*, 1988）の剪断力、水分含量の異なるイネ科牧草の引っ張り破断時の圧力（Vincent, 1983）といった報告がみられる。また、飼料全体の物性の測定

としては、磨砕機による測定を Balch (1971) が紹介している。また、Lee and Pearce (1984) は、10g のサンプルを粉砕機で 1 分間粉砕したときに要する電氣的エネルギーで、強度をあらわしている。このような牧草の剪断特性には、硬膜組織あるいは維管の存在が影響していることから、強度には繊維質含量あるいは繊維質組成が関連している (Wright and Illius, 1995)。以上のような飼料強度の測定法を用い、反芻胃内飼料片強度が測定されている。

間接的方法として、McLeod *et al.* (1990) および Ueda *et al.* (1997) は、反芻胃内飼料片の経時的採取と咀嚼活動の測定により、1 回の咀嚼あたりの大飼料片減少量を指標とした。また、Kennedy (1985) および Chai *et al.* (1988) は、反芻時食塊を食道フイステルから採取し、咀嚼前の大飼料片あたりの、1 回の咀嚼で微細化された大飼料片量を Specific fragility とし、飼料片の脆弱性の指標としている。咀嚼あたりの大飼料片微細化量で強度を表現しようとする場合、実際の強度が高くても吐き戻し量が多ければ値は大きくなってしまいが、Specific fragility はこれを補正している。

直接的方法として、粉砕に要する電氣的エネルギー (Murphy and Kennedy, 1993)、磨砕機で一定回数磨砕したときの微細化量 (Kennedy *et al.*, 1997)、引っ張り破断時の力 (Evans *et al.*, 1974; Akin, 1986; Fonty *et al.*, 1999)、剪断力 (Fonty *et al.*, 1999) が反芻胃内飼料片強度の指標として利用されている。Fonty *et al.* (1999) は大麦稈を異なる微生物

下で培養した場合、大麦稈の破断に必要な力は低下し、その程度は微生物種あるいは破断の方法によって異なることを報告している。反芻胃内飼料片の強度に影響する要因として繊維質の発酵があげられるが、発酵による飼料片の組織構造あるいは繊維質組成の変動と、強度を検討した報告は非常に少ない。生体内での強度を検討する場合、生体内における微細化の様相を模した測定方法およびパラメーターの選択が必要になるものと思われる。

本研究の目的

前述したように摂取飼料は、採食時咀嚼、反芻時咀嚼および反芻胃内での磨砕を経て微細化されていくが、微細化の主要因は採食時と反芻時咀嚼である。反芻胃内の発酵は飼料片の強度低下をとおして、反芻時および磨砕による微細化に貢献していると考えられる。このなかで、採食時微細化のメカニズムについてはかなり解明されてきている。反芻時微細化については、飼料の切断長、繊維質含量、強度あるいは発酵特性と反芻時微細化との関連から明らかにされてきているが、その知識は断片的である。また、反芻時に咀嚼される飼料片は、反芻胃内に滞留していた飼料片を吐き戻していることから、採食時咀嚼、反芻胃内での磨砕および発酵の影響を受けている。このため、単に飼料の特性と反芻時微細化との比較では、反芻時微細化のメカニズムを明らかにすることはできないだろう。

本研究では、反芻時に吐き戻される飼料片の性状を検討し、

飼料、採食時咀嚼、反芻胃内での磨砕および反芻胃内発酵との
関連を明らかにすることから、反芻時微細化メカニズムを解明
することを目的とした。

そのために第2章ではまず、反芻時微細化の様相を明らか
にし、そこから第3章では反芻時微細化に影響する要因を検討
した。そして、最終章では採食時咀嚼、反芻胃内発酵および磨
砕と、反芻時微細化との関係を検討した。

第 2 章 反芻時微細化の様相

2-1 目的

反芻時に微細化される飼料片は、採食時に咀嚼を受けた後、反芻胃内で滞留したものであり、吐き戻し時に飼料片は食道へ吸引され、咀嚼を受ける前にその一部を送り返すという 2 段階の選抜を受けている。このことから反芻時に咀嚼を受ける飼料片の性状は、反芻胃内飼料片と異なる可能性がある。また、吐き戻される飼料片には、前日あるいは前々日から反芻胃内に滞留している飼料片も含まれていることが考えられ、草種によっては吐き戻し飼料片中の茎葉比は給与飼料と異なる (Kelly and Sinclair, 1989)。さらに、茎部の微細化速度は葉部よりも遅いことから (Kennedy and Doyle, 1993)、吐き戻し飼料片中の茎部および葉部の割合および滞留時間の異なる飼料片の割合は変動している可能性がある。これらのことは明らかとはなっておらず、反芻時微細化を検討するためには、吐き戻され、咀嚼を受ける飼料片の性状を把握しておく必要があるだろう。

反芻時微細化に影響する要因として、飼料片の反芻胃内発酵による脆弱化が関与していると考えられており、飼料による微細化速度の違い (Kennedy and Doyle, 1993) には、飼料の持つ物理的性質に加え、飼料の発酵特性も影響しているだろう。反芻胃内微生物による繊維質分解が飼料片の組織構造におよぼす影響 (Wilson *et al.* 1989b)、繊維質発酵が飼料片強度の低下におよぼす影響が (Kennedy *et al.*, 1997) 検討されている。また、飼料給与後時間によって、吐き戻しあたりの反芻時微細

化量が異なることから、発酵による飼料片強度の低下が示唆されている (Chai *et al.*, 1988)。このように、発酵による飼料片強度の低下が反芻時微細化におよぼす影響について検討されてきてはいるが、その知識は断片的であり十分ではない。

本章では、1日1回の飼料給与下で、反芻時食塊および反芻胃内容物を経時的に採取することにより、吐き戻され咀嚼を受ける飼料片の性状を明らかにすること (試験 1)、飼料片の微生物による繊維質分解が、強度の低下および反芻時の微細化におよぼす影響を明らかにすること (試験 2) を目的とした。

2-2 材料および方法

2-2-1 試験 1

2-2-1-1 飼料および動物

食道および反芻胃にフイステルを装着したホルスタイン種去勢牛 2 頭 (平均体重 414.5 ± 36.9 kg) を供試した。試験に使用した乾草はオーチャードグラス主体イネ科乾草 (設定切断長 60 mm) であり、北海道大学附属農場において 1998 年に生産されたものである。乾草の化学組成は、粗タンパク質 (CP)、粗脂肪、中性デタージェント繊維 (NDF)、酸性デタージェント繊維 (ADF)、および酸性デタージェントリグニン (ADL) が、それぞれ乾物あたり、9.6, 1.9, 68.4, 37.7, および 3.6%であった。

2-2-1-2 飼養管理

試験期間中、供試牛は北海道大学附属農場内のストールで個別に係留した。乾草は両供試牛とも、維持要求量に相当する5kgを、1日1回給与した。ミネラルブロックおよび水は自由摂取とした。馴致期間は10日間とし、本期は、反芻時食塊採取期(20日間)、反芻胃内容物採取期(10日間)、咀嚼回数測定期(3日間)および採食時食塊採取期(1日)よりなる。

2-2-1-3 標識飼料片の調製および給与

給与乾草を茎部と葉部に分類し、サンプリング前日に投与する茎部にサマリウムおよび葉部にディスプレイシウム、サンプリング当日に給与する茎部にはイッテリビウムおよび葉部にランタンを吸着させた。吸着においては茎部および葉部をそれぞれ、 $\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ および $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の各1%溶液に24時間浸漬させた。その後、流水で洗浄、搾汁し、吸着していない元素を取り除いた。これを2日間乾燥させ保存した。反芻時食塊採取の前日および当日の飼料給与時、茎部については200g、葉部については186gの標識飼料片を飼料に混合して給与し、すべて摂取させた。給与した飼料と吸着させた希土類元素の関係は以下のようなになる。

反芻時食塊採取前日に投与した標識飼料片茎部：Sm

反芻時食塊採取前日に投与した標識飼料片葉部：Dy

反芻時食塊採取当日に投与した標識飼料片茎部：Yb

反芻時食塊採取当日に投与した標識飼料片葉部：La

2-2-1-4 食塊採取

採食時食塊は、飼料給与後 10 分程経過してから、食道フィステルより 10 食塊採取した。採取した食塊は重量を計量した後、ホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。反芻時食塊は、1 日を 4 時間毎（飼料給与後 4-8, 8-12, 12-16, 16-20, 20-24 時間）の採取期に区切り、各採取期に生じた反芻期に、'Up'、'Tail' および 'Down' の各食塊を食道フィステルより 1 食塊ずつ採取した。また、'Down' 食塊採取時には咀嚼回数を計測した。各採取期の間には、サンプリングの影響をなくすために、5 日間の休止期をもうけた。得られた食塊は各採取期毎に混合し、そのうちの一部を通風乾燥機で乾燥（60℃, 48 時間）し、粉碎（1mm）した。残りのサンプルは、ホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。

2-2-1-5 反芻胃内容物採取

反芻胃内容物採取期では、1 日目に飼料給与 4, 12, および 20 時間後に、6 日目に飼料給与 8, 16, および 24 時間後に、反芻胃背嚢部、腹嚢部および第二胃よりそれぞれ約 300g をビーカーでスポット採取した。そのうちの一部を通風乾燥機で乾燥（60℃, 48 時間）し、粉碎（1mm）した。残りのサンプルは、ホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。

2-2-1-6 採食・反芻活動の測定

採食および反芻時の咀嚼活動にともなう顎運動を、頭絡に装着したストレインゲージにより測定した。測定は 24 時間連続で、3 日間おこなった。

2-2-1-7 試料の分析およびデータの解析

採食時食塊、反芻時各食塊（‘Up’、‘Tail’、‘Down’食塊）および反芻胃各部胃内容物は、湿式篩別法を用いて大飼料片（LP, 5,600 および 2,360 μ m 篩残留飼料片）、小飼料片（SP, 1,180, 600 および 300 μ m 篩残留飼料片）および微小飼料片（FP, 150 および 47 μ m 篩残留飼料片）に画分した。画分後、各粒度別飼料片は通風乾燥機で乾燥した後（60°C、2 日間）、粉碎（1mm）し分析に供した。

採食時および反芻時食塊、反芻胃内容物およびそれぞれの粒度別飼料片は 135°C で 2 時間乾燥し、乾物（DM）含量を求めた。これから、LP から FP の粒度別飼料片 DM 重量にしめる各粒度画分飼料片 DM 重量の割合を求め、粒度分布とした。反芻時各食塊については、食塊あたりの LP 重量および食塊 DM 重量に占める LP の割合を求めた。

標識飼料片および反芻時各食塊に含まれる各粒度別飼料片の希土類元素濃度は、田村（1993）の方法に従い、サンプルを湿式灰化した後に ICP 発光分光分析装置を用いて測定した。これにより各粒度別飼料片に含まれる、前日および当日に給与した茎部または葉部乾物割合および乾物重量を推定した。例として、ある時間帯の吐き戻し食塊に含まれる、前日に摂取された

茎部大飼料片 (LP) 重量の推定式を以下に示す。

‘Up’食塊 LP 中 Sm 重量

$$= \text{‘Up’食塊 LP 中 Sm 濃度} \times \text{‘Up’食塊 LP 重量}$$

‘Up’食塊 LP 中の前日に摂取された茎部重量

$$= \text{‘Up’食塊 LP 中 Sm 重量} / \text{Sm 摂取量} \times \text{茎部前日摂取量}$$

反芻時の咀嚼開始直前に口腔に残されている食塊 (‘Retained’食塊) の DM 重量、LP 重量、LP 割合および LP 中の茎葉比は、同一のサイクルで採取した ‘Tail’ および ‘Down’ 食塊と、その前後のサイクルで採取した ‘Up’ 食塊の各値から算出した。反芻時の 1 食塊あたり大飼料片微細化量は、以下の式から求めた。

LP 微細化量 = ‘Retained’食塊中 LP 重量

$$- \text{‘Down’食塊中 LP 重量}$$

2-2-2 試験 2

2-2-2-1 飼料および動物

食道および反芻胃にフイステルを装着したホルスタイン種去勢牛 2 頭 (平均体重 550.2 ± 36.3 kg) を供試した。乾草は試験 1 (2-2-1-1 参照) と同様の乾草を給与した。

2-2-2-2 飼養管理

乾草は両供試牛とも、維持要求量に相当する 6kg を 1 日 1 回給与した。馴致期間は 10 日間とし、本期は、反芻時食塊採取期（15 日間）および反芻胃内培養期（6 日間）よりなる。

2-2-2-3 食塊採取

採取期は試験 1 と同様、4 時間毎（飼料給与後 4-8, 8-12, 12-16, 16-20, 20-24 時間）に区切り、各採取期に生じた反芻期に、吐き戻し食塊を食道フィステルより 1 食塊ずつ採取した。各採取期終了後、得られたサンプルを混合し、すみやかに篩別した後、大飼料片については茎部（100 本）と葉部（50 本）に分別し、その後の分析に供した。

2-2-2-4 *in situ* 法による飼料片の培養

給与乾草を茎部および葉部に分別し、それぞれ 1cm に切断したものをサンプルとし、目開き 47 μ m のナイロンバッグに封入し、反芻胃内で培養した。

繊維含量測定用として、約 4g のサンプルを封入し、1 頭、各培養時間（2, 6, 12, 24, 48, 72, 144 時間）あたり 2 バッグとした。強度測定用として、30 本を封入し、1 頭、各培養時間（2, 6, 12, 24, 48, 時間）あたり 2 バッグとした。また、胃運動による強度測定用飼料片の磨砕を防ぐため、バッグはヘアカーラー（内径 2cm）内に保持した。

培養後、繊維含量測定用バッグは流水中で洗浄後、通風乾燥機

で乾燥し（60℃、2日間）、分析に供した。強度測定用バッグは流水中で軽く洗浄した後、すみやかに分析に供した。

2-2-2-5 飼料片物性の測定

吐き戻し食塊大飼料片および反芻胃内培養飼料片のそれぞれ茎部と葉部について、レオメーター（NR-2002J型、フドー社）を用いて測定した。飼料片の破断方法は咀嚼時を模して、剪断とし、物性の指標はこの剪断に要したエネルギーとした。サンプル台移動速度は5mm/秒、移動距離は1cmとし、剪断には剃刀をもちいた。サンプルは、剃刀が維管の走行方向と垂直に剪断するようにサンプル台に固定した。剃刀の摩耗による測定値への影響を防ぐため、剃刀は20サンプル毎に交換した。剪断時、剃刀にかかる応力のデータを0.02秒毎にコンピューターに転送した。各サンプルごとに、剪断時の応力-移動距離曲線（図1）を得て（Wright and Illius, 1995）、この曲線からサンプルの厚さと剪断に要したエネルギーを以下の式から求めた。

図1において、

y, 剃刀にかかる応力 (g)

x, サンプル台移動距離 (cm)

a, 剃刀のサンプル接触時のサンプル台移動距離 (cm)

b, サンプルが破断したときのサンプル台移動距離 (cm)

f(x), 破断までの曲線の式

とすると、

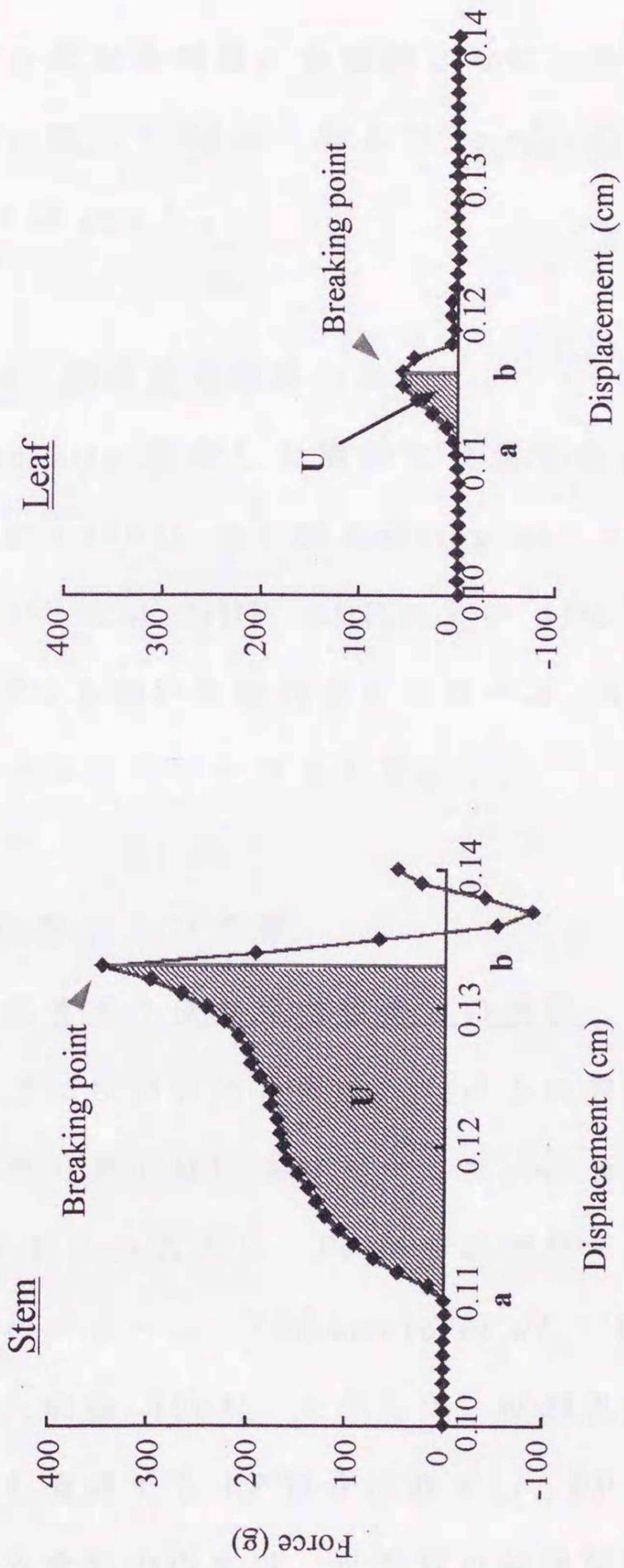


Figure 1. Examples of force-displacement curves.
 U , Energy required for breaking (Shearing energy, $g \times cm$).
 b-a , Displacement during shearing (Thickness, cm).

サンプルの厚さ (D, cm) = b - a

剪断に要したエネルギー (U, g×cm) = $\int_a^b f(x) dx$

サンプル数は各時間、各個体ともに、吐き戻し大飼料片茎部で 100 本、葉部で 50 本、および *in situ* 培養飼料片は茎部葉部ともに 30 本とした。

2-2-2-6 繊維成分組成の測定

in situ 培養した繊維含量測定用サンプルについては、A.O.A.C (1980) および Goering and Van Soest (1970) の方法に従い、DM, NDF, ADF, および ADL 含量を測定した。ADF から ADL を除いた画分をセルロース、NDF から ADF を除いた画分をヘミセルロースとした。

2-3 結果および考察

吐き戻し食塊と反芻胃内容物との関係

図 2 に反芻胃内各部位における内容物と吐き戻し食塊の飼料片粒度分布の経時推移を示した。反芻胃内容物は各部位ともに、LP 割合が低下し、FP 割合が増加するという、一般的な経時推移のパターン (Okamoto *et al.*, 1990b; Ichinohe *et al.*, 1994; 上田ら, 1994) を示した。反芻胃内容物の推移と同様、吐き戻し食塊でも LP 割合は低下し、FP 割合は増加した。吐き戻される食塊の由来は、反芻胃の解剖学的構造の違いからウシとヒツジでは異なり、ウシでは第二胃背部あるいは反芻胃前部

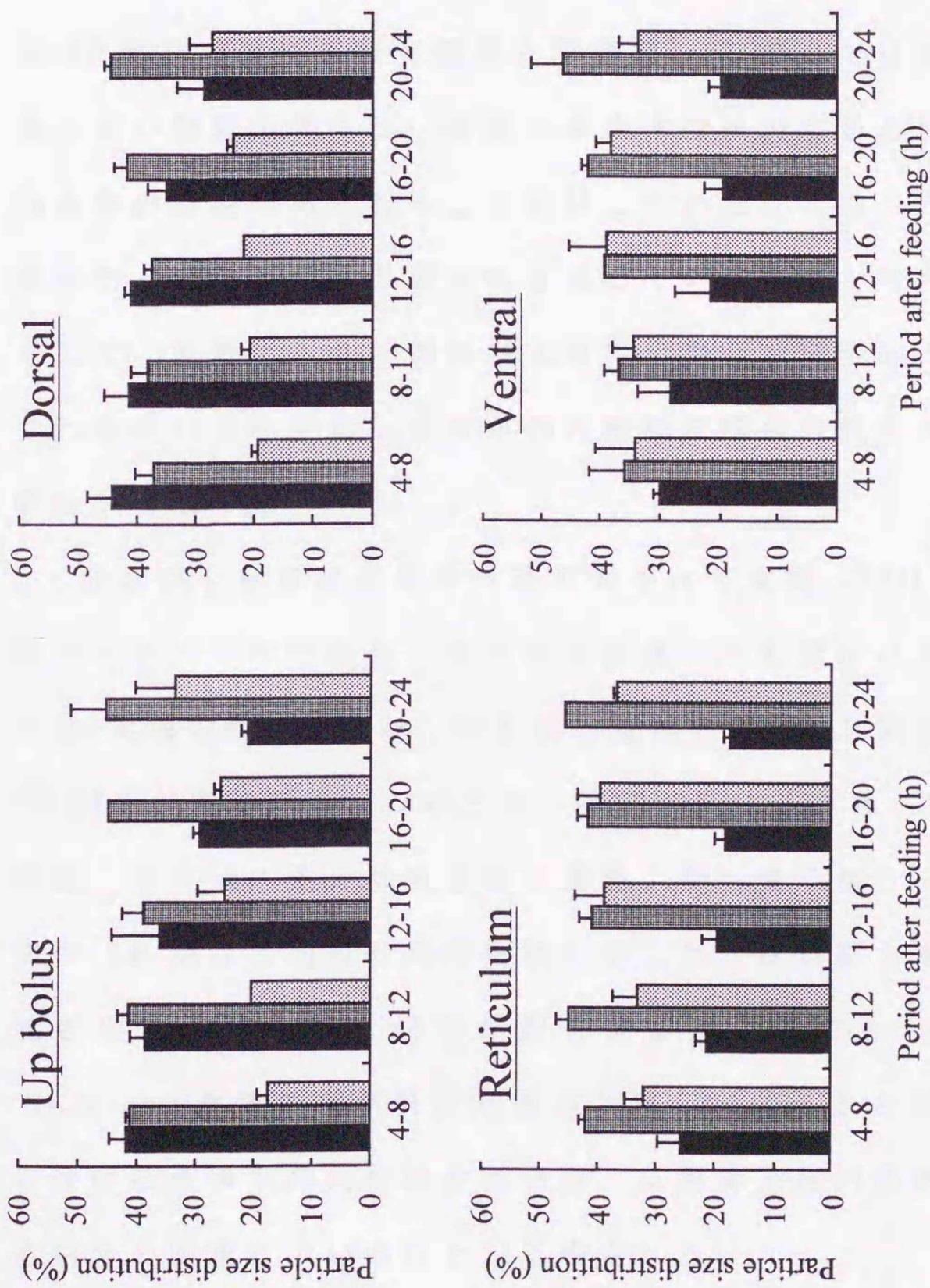


Figure 2. Particle size distribution of regurgitated bolus (Up bolus) and digesta in the dorsal and ventral sac of the rumen, and reticulum.

■, LP(>2,360 μm); ▨, SP(2,360-300 μm); ▩, FP(300-47 μm)

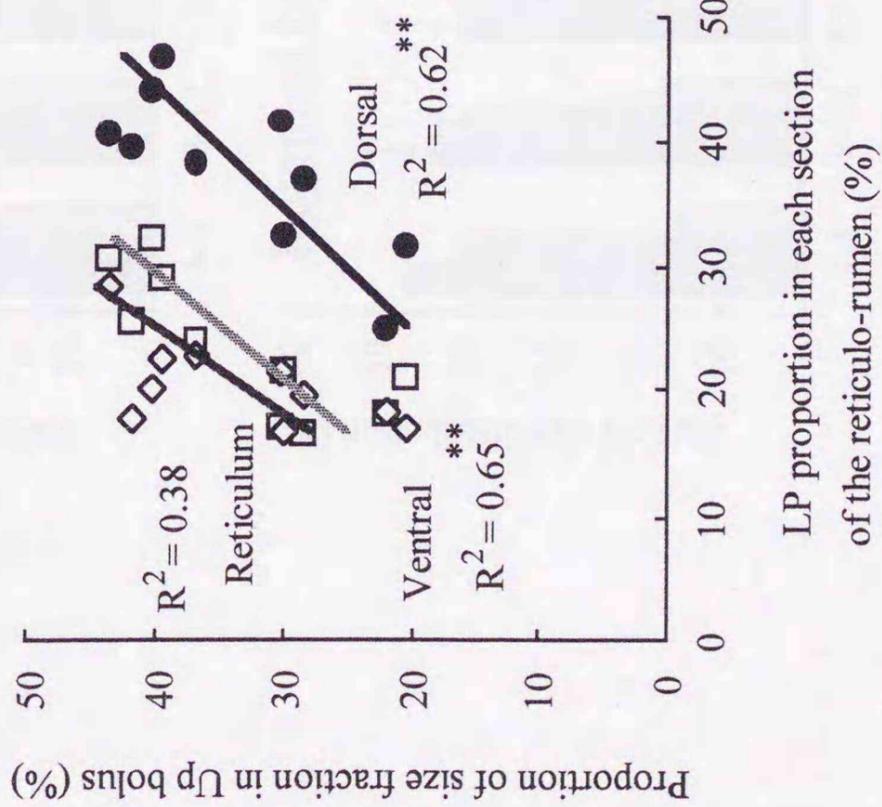
と考えられている (Ulyatt *et al.*, 1986)。しかし、反芻胃内容物と吐き戻し食塊の飼料片粒度分布を比較した報告はない。そこで吐き戻し食塊と各部位の内容物について粒度別飼料片割合の相関を求めた (図 3)。その結果、吐き戻し食塊は、LP および SP 割合では反芻胃背囊部と腹囊部、FP 割合では背囊部内容物と正の相関が見られ、粒度分布全体で検討すると反芻胃背囊部内容物の粒度分布ともっとも類似していた。このことから、背囊部あるいは内容物上層を吐き戻しているものと考えられる。そして、反芻により反芻胃内大飼料片割合は経時的に低下し、これを受けて吐き戻し食塊中の大飼料片割合も低下することが明らかとなった。

吐き戻し直後に反芻胃へ送り返される食塊、'Tail'食塊の LP 割合はすべての時間帯で吐き戻し食塊よりも低かった (図 4)。
'Tail'食塊の粒度分布は、吐き戻し食塊と同様 LP 割合が低下し FP 割合が増加した。このため、咀嚼を受ける食塊 ('Retained' 食塊) 中の LP 割合は吐き戻し食塊よりも高くなり、背囊内容物中 LP 割合と同様の経時推移を示した。反芻胃上層内容物と吐き戻し食塊中の大飼料片割合は関連し、吐き戻し食塊と 'Retained' 食塊の大飼料片割合が関連していることから、咀嚼を受ける食塊中の大飼料片割合は、反芻胃上層内容物の大飼料片割合と関連していることが示唆された。

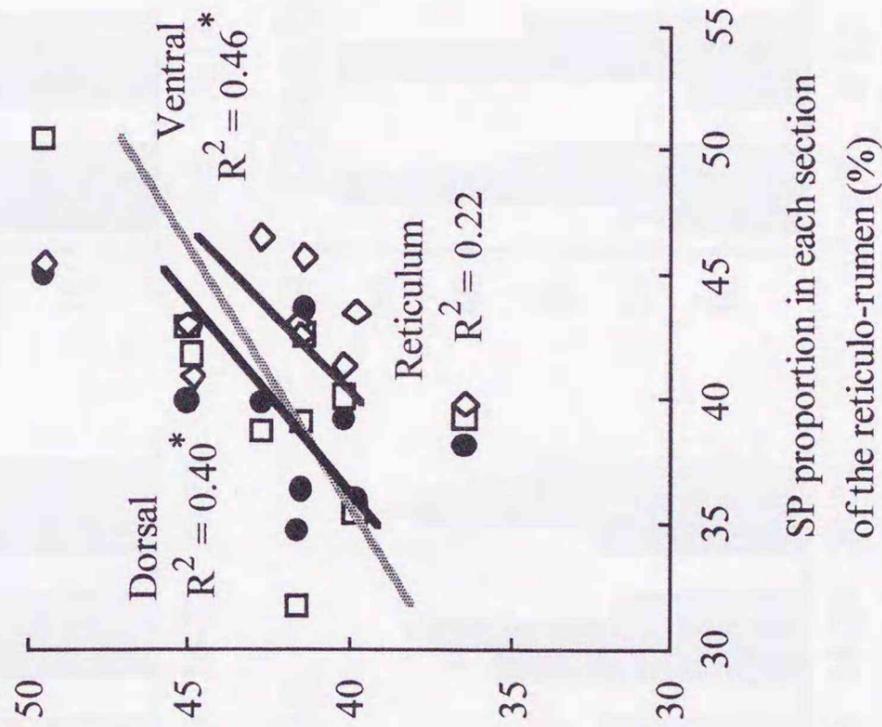
咀嚼を受ける大飼料片の強度

給与乾草および吐き戻し大飼料片の剪断エネルギーを表

LP(>2,360 μm)



SP (2,360-300 μm)



FP (300-47 μm)

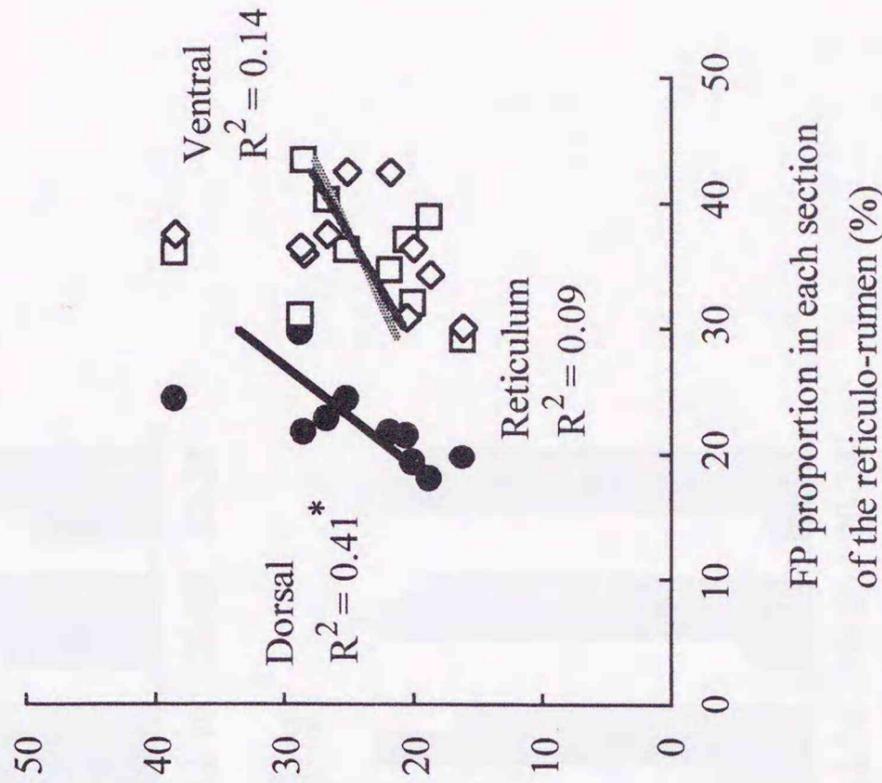


Figure 3. Correlation between proportions of each size fraction in Up bolus and in each section of the reticulo-rumen (●, dorsal sac; □, ventral sac; ◇, reticulum).

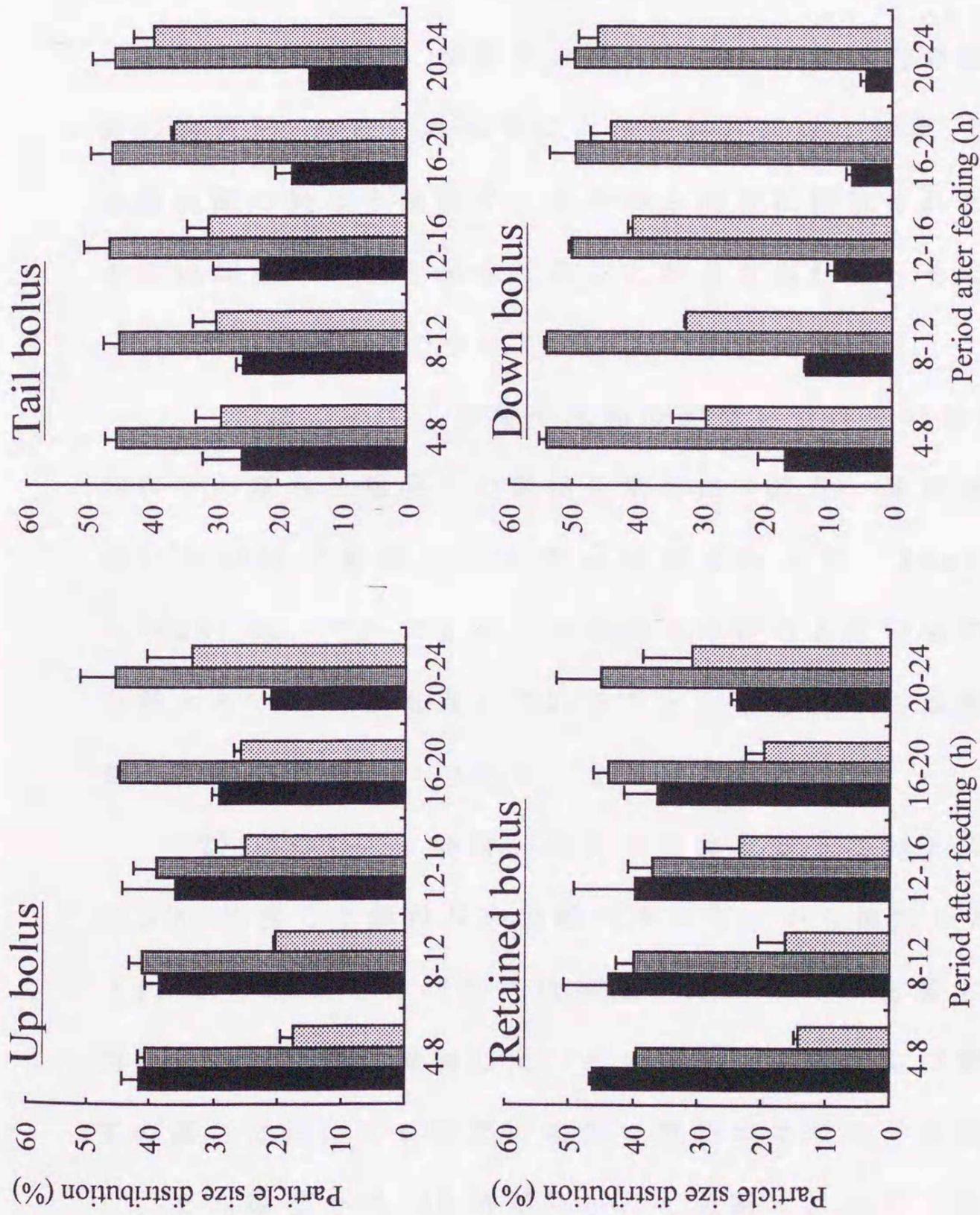


Figure 4. Particle size distribution in regurgitated bolus (Up bolus), immediately swallowed bolus after regurgitated (Tail bolus), retained bolus in the mouth before chewing (Retained bolus), and swallowed bolus after chewing (Down bolus).

■, LP(>2,360 μm); ▨, SP(2,360-300 μm); ▩, FP(300-47 μm)

1 に示した。大飼料片の厚さおよび剪断エネルギーは茎部、葉部ともに給与した乾草の方が反芻時のサンプルよりも高かった。反芻時では、茎部の厚さが経時的に低下し、茎部葉部ともに剪断エネルギーが低下した。この剪断エネルギーの変動に影響する要因として、(1) 飼料片の厚さ、(2) 反芻胃内発酵による組織の脆弱化、あるいは水和による飼料片組織の膨潤、および(3) 滞留時間の異なる飼料片、すなわち前日に摂取された滞留時間の長い飼料片が吐き戻されることが考えられる。そこで、これら(1)から(3)について、以下で検討した。

(1) について、発酵や水和の影響を受けていない乾草で、飼料片の厚さと強度との関係を求めた(図5)。茎部葉部ともに厚いものほど剪断エネルギーは高くなった。Iwaasa *et al.* (1996) は、アルファルファ茎部で外径の大きいものほど剪断力が大きいことを報告していることから、厚さは剪断エネルギー変動要因の一つであることが示された。

(2) について、発酵が飼料片の強度低下におよぼす影響を、*in situ* 培養した飼料片の剪断エネルギーから検討した(表2)。

(1) より、飼料片の厚さは剪断エネルギーに影響するため、飼料片の厚さ別に検討した。その結果、茎部および葉部のすべての厚さにおいて2時間の培養で剪断エネルギーは急激に低下し、その後2から48時間にかけて剪断エネルギーは緩やかに低下した。茎部では厚い画分ほど、培養にともなう剪断エネルギー低下の程度が大きかった。

in situ 培養した飼料片の繊維成分組成を図6に示した。

Table 1. Thickness and shearing energy of the large particle (>2,360 μ m) of stem and leaf in the hay and regurgitated bolus.

	Hay	4-8 ¹⁾	8-12	12-16	16-20	20-24h
Stem						
Thickness (cm)	0.19 \pm 0.00	0.14 \pm 0.11	0.12 \pm 0.12	0.12 \pm 0.00	0.13 \pm 0.13	0.10 \pm 0.00
Shearing energy (g \times cm)	80.8 \pm 14.5	14.0 \pm 2.2	10.8 \pm 0.8	10.0 \pm 1.6	11.0 \pm 0.8	7.2 \pm 0.9
Leaf						
Thickness (cm)	0.11 \pm 0.00	0.09 \pm 0.00	0.08 \pm 0.00	0.08 \pm 0.00	0.08 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01
Shearing energy (g \times cm)	14.7 \pm 1.4	2.6 \pm 0.0	2.2 \pm 0.0	1.7 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2

¹⁾ Period after feeding (h).

²⁾ Mean \pm SD.

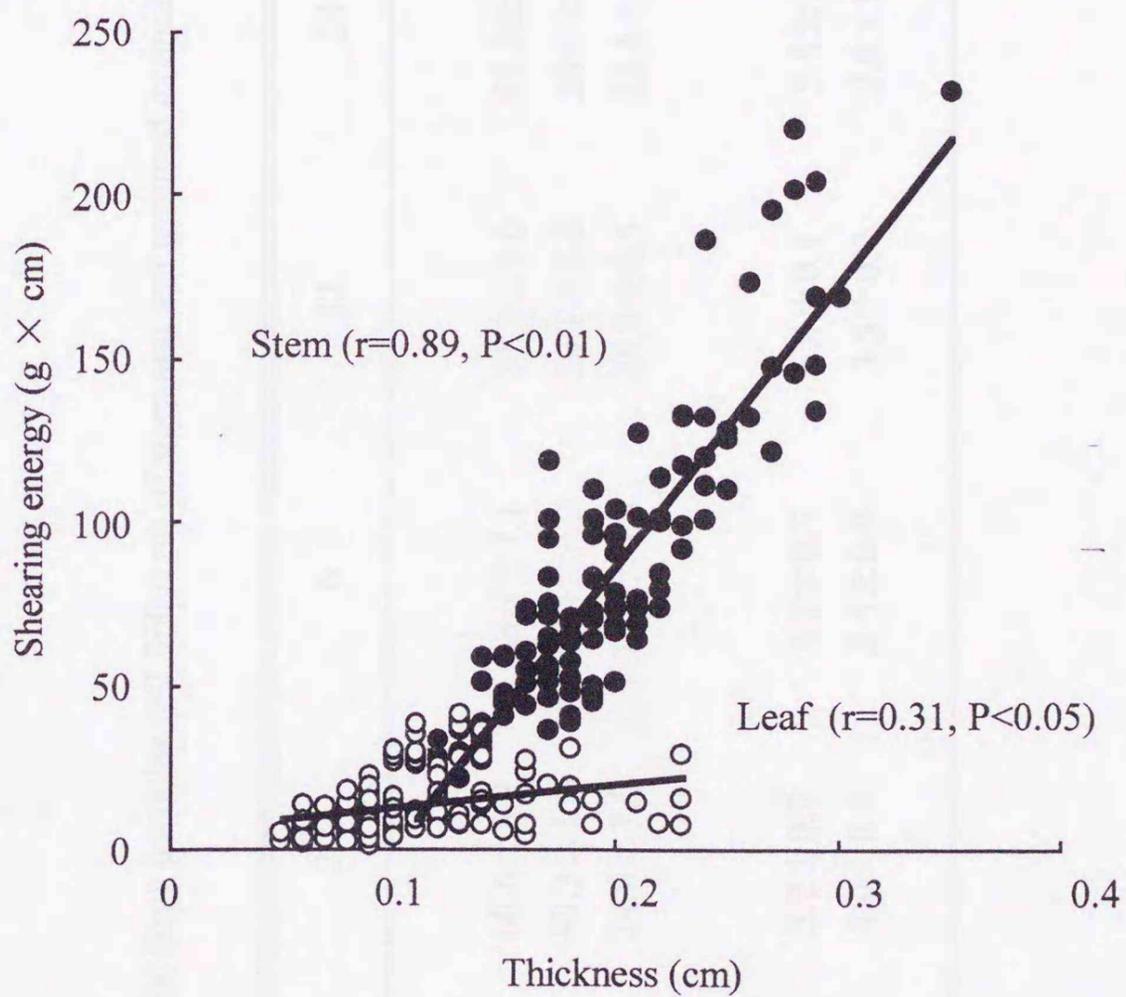


Figure 5. Correlation between shearing energy and thickness of regurgitated large stem (●) or leaf (○) of orchardgrass hay.

Table 2. Shearing energy ($\text{g} \times \text{cm}$) of the large particles ($>2,360 \mu \text{m}$) of stem and leaf grouped in thickness after *in situ* incubation.

Thickness (cm)	Hay	¹⁾				
		2	6	12	24	48h
Stem						
0.25-0.30	154.2 ± 20.1 ²⁾	60.6 ± 8.9	63.7 ± 7.1	51.2 ± 1.6	53.5 ± 1.3	48.5 ± 7.4
0.20-0.25	99.5 ± 22.7	40.3 ± 1.6	41.4 ± 4.2	38.1 ± 2.5	38.6 ± 3.0	39.2 ± 4.5
0.15-0.20	64.5 ± 4.4	24.0 ± 1.0	24.6 ± 0.6	24.4 ± 0.5	23.4 ± 0.6	21.6 ± 0.4
Leaf						
0.10-0.15	19.3 ± 2.2	5.2 ± 0.7	5.7 ± 0.5	5.4 ± 0.3	5.3 ± 1.1	4.5 ± 0.8
0.05-0.10	8.6 ± 2.2	4.0 ± 0.4	3.5 ± 0.0	3.5 ± 0.0	3.8 ± 0.5	3.3 ± 0.1

¹⁾ Incubation time (h).

²⁾ Mean ± SD.

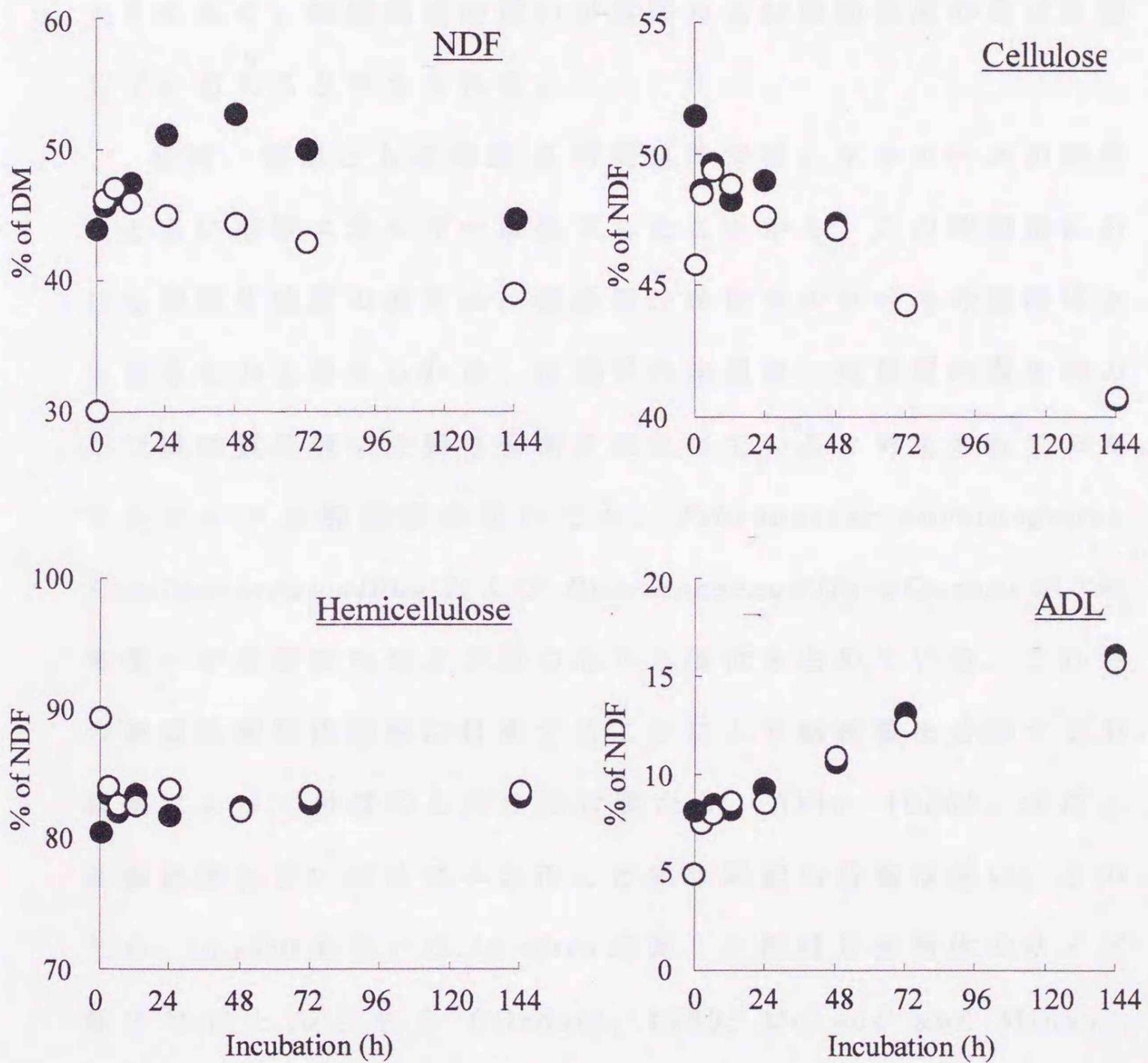


Figure 6. Changes in fiber composition of stem (●) and leaf (○) particles with *in situ* incubation time.

NDF あたりの ADL 含量が増加していたことから、繊維質の発酵は進行しており、特にセルロースで顕著であった。葉部と茎部の繊維成分組成の差は表 2 に示した剪断エネルギーの差ほど大きくなく、組織構造の違いが茎部および葉部強度の差に影響しているものと考えられる。

茎部、葉部ともに培養 2 時間以降では、セルロースの消失とともに剪断エネルギーは低下したことから、この時間帯における飼料片強度の低下は、繊維質、特にセルロースの発酵にもなるものと考えられる。反芻胃内細菌は、反芻胃内微生物の中で繊維質分解に主要な役割を果たしていると考えられており、セルロース分解菌種のなかでも、*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, および *Ruminococcus flavefaciens* が、植物体への攻撃能力および数の点から優位を占めている。これらの細菌は植物体組織に付着することにより繊維質を分解するが、組織によって付着のしやすさは異なり (Akin, 1986)、表皮、硬膜組織あるいはリグニン化した維管組織の分解は遅い。このため、*in situ* あるいは *in vitro* 培養した飼料片植物体のサイズ減少はほとんどなく (Grenet, 1989; McLeod and Minson, 1988b)、立体的な構造は比較的变化しないが構造は脆弱になり、この脆弱化が植物体の剪断に必要なエネルギーの低下をもたらしたのだろう。Akin (1986) は、反芻胃内容液で 48 時間培養したシバ (*Digitaria pentzii*) 葉部は、抗生物質を添加し細菌を除去した内容液で培養した場合よりも葉部の乾物消失率は大きく、破断に要する力は小さいことを示した。Fonty *et al.*

(1999) は、大麦稈を真菌、細菌および両者を接種源として *in vitro* 培養したとき、剪断に要する力は細菌のみ、真菌のみ、真菌および細菌の順に小さくなることを示している。このことは、繊維質分解には細菌のみでなく、真菌の影響も大きいことを示唆している。真菌と細菌の相互作用について Akin (1986) は、リグニン化した維管組織に付着した真菌胞子が植物体組織に仮根を伸ばし植物体の構造を脆弱にすることによって細菌の付着が促進され、植物体の脆弱化が一層進行するのであろうと推察している。Grenet (1991) は、柔組織細胞壁に仮根をのびした真菌を観察している。茎部では厚いものほど培養にともなう強度低下の程度が大きかったが、これは厚い飼料片ほど繊維質の実量が多いため、微生物による分解の程度も大きくなったことによるだろう。

培養開始から 2 時間における剪断エネルギーの急激な低下は、繊維成分組成の変動とは関連しておらず、この時間帯での強度低下に対する繊維質発酵の関与は小さいものと思われる。Vincent (1983) は、ペレニアルライグラスおよびチモシー葉部を乾燥させることにより水分含量を調整し、引張時の破断特性を測定したところ、水分含量が高いものほど伸張性は増加するが、破断に要する力は低下したことを報告している。これらのことから、2 時間の反芻胃内浸漬における強度の低下は、飼料片組織が反芻胃内の液体を吸収したことも原因と考えられる。

(3) 吐き戻し大飼料片中に、滞留時間の異なる飼料片が含まれている可能性について、図 7 に吐き戻された粒度別飼料片

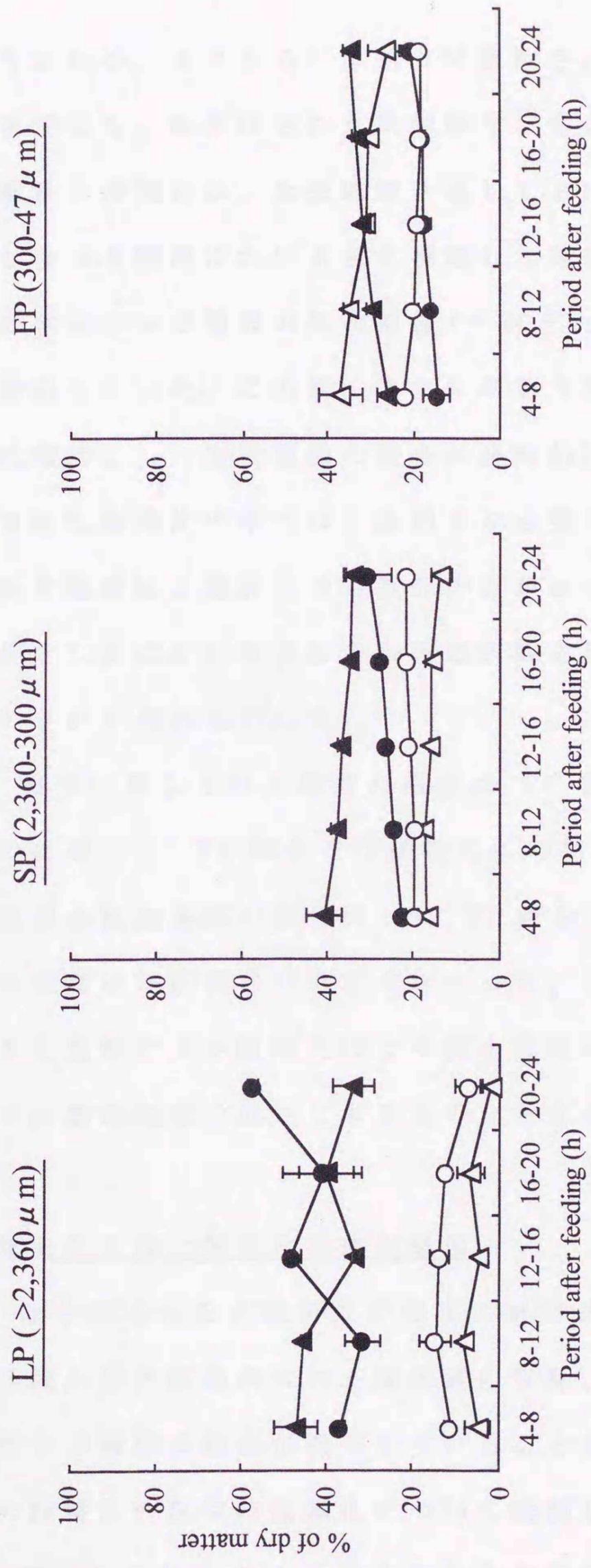


Figure 7. Dry matter distribution of stem and leaf fed on the day and the previous day in LP, SP and FP in the Up bolus.

- , Stem fed on the day.
- ▲, Leaf fed on the day.
- , Stem fed on the day before.
- △, Leaf fed on the day before.

に含まれる、当日あるいは前日に摂取された茎部と葉部の乾物比を示した。吐き戻された大飼料片に含まれる当日に摂取された飼料片の割合は、全採取期を通して80%程度であった。飼料給与後4-8時間における当日摂取した茎部と葉部の割合は、乾草の茎部および葉部の乾物割合（それぞれ、42.1および53.2%）と類似していた。この後、当日に摂取された茎部の割合は経時的に増加し、一方で葉部の割合が経時的に低下した。前日に摂取された飼料片の中では、茎部よりも葉部の割合が低かった。飼料片強度は、葉部よりも茎部の方が高いことから、大飼料片全体としては、吐き戻しの当日に摂取された茎部の強度の影響が大きいものと思われた。

当日に摂取された葉部の割合はSP画分で経時的に低下するのに対して、FP画分では経時的に増加していた。また、当日に摂取された茎部の割合は、SP, FP画分ともに増加したが、増加の程度はSP画分の方が大きかった。これらのことは、茎部よりも葉部の方が経時的により微小になっていることを示しており、葉部強度の低さによるものと考えられる（表2）。

食塊あたりの大飼料片微細化様相

吐き戻される大飼料片の強度の経時的な低下には、反芻胃内へ流入した直後の水和、繊維質の発酵、滞留時間の異なる茎部および葉部の割合が関与していることが示された。このような大飼料片の反芻時微細化について検討してみる。

摂取した飼料の1食塊あたり大飼料片微細化量を茎部と葉

部について飼料給与から 48 時間後まで示した (図 8)。茎部および葉部の 1 食塊あたり微細化量は、以下のように希土類元素濃度から推定した。

採食時の 1 食塊あたり微細化量

茎部：食塊採取当日に給与した茎部 (Yb) の微細化量

葉部：食塊採取当日に給与した葉部 (La) の微細化量

反芻時 (飼料摂取後 4-24 時間) の 1 食塊あたり微細化量

茎部：食塊採取当日に給与した茎部 (Yb) の微細化量

葉部：食塊採取当日に給与した葉部 (La) の微細化量

反芻時 (飼料摂取後 28-48 時間) の 1 食塊あたり微細化量

茎部：食塊採取前日に給与した茎部 (Sm) の微細化量

葉部：食塊採取前日に給与した葉部 (Dy) の微細化量

その結果、反芻時における 1 食塊あたりの大飼料片微細化量は経時的に減少していた。茎部と葉部の微細化の様相は異なり、飼料給与 12 時間後までの葉部微細化量は茎部微細化量よりも高かった。これは吐き戻し大飼料片中の葉部割合の高さが影響していたものと考えられる。この給与 12 時間後までの葉部微細化量が高かったことにより、反芻胃内の大飼料片葉部量の低下をもたらし、以降の葉部吐き戻し量の低下および微細化量の低下をもたらしたものと考えられる。

1 食塊あたりの大飼料片微細化量を採食時と反芻時について示した (表 3)。反芻胃内容物量は経時的に低下するが

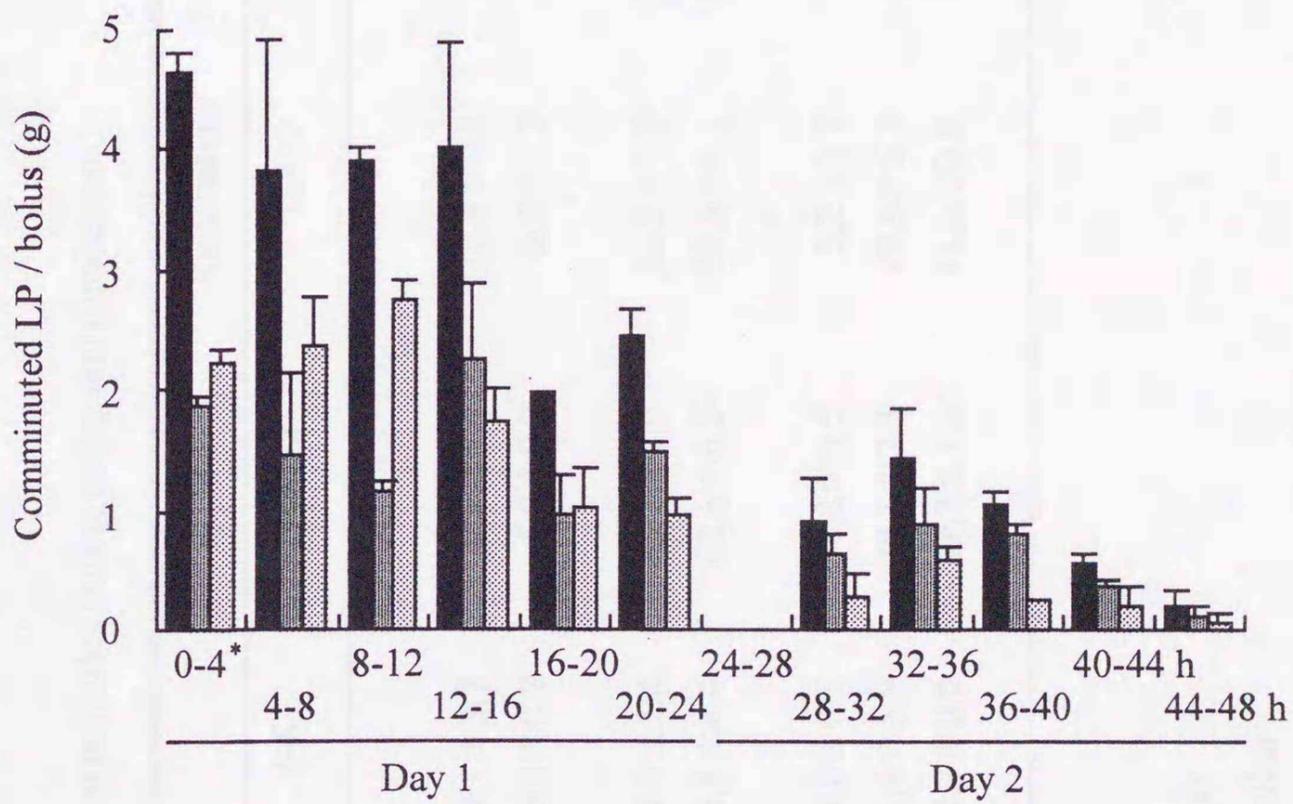


Figure 8. Dry matter weight of comminuted total large ($2,360 \mu\text{m}$) particles (■), stem (▨) and leaf (▩) fractions per bolus derived from the day 1 feeding.

*, Period after feeding (h); 0-4h, Comminution during eating; Other periods, Comminution during rumination.

Table 3. Large particle (LP, >2,360 μ m) comminution per bolus during eating and rumination.

	Eating				Rumination			
	0-4 ¹⁾	4-8	8-12	12-16	16-20	20-24h		
Bolus before chewing								
DM(g)	11.3 \pm 0.1 ²⁾	19.1 \pm 2.7	22.6 \pm 2.8	22.0 \pm 0.8	17.2 \pm 0.6	19.5 \pm 0.1		
LP(g)	11.3 \pm 0.1	6.8 \pm 0.8	6.0 \pm 0.9	6.5 \pm 1.7	3.4 \pm 0.3	3.4 \pm 0.3		
Chewing								
Time (sec)	22.5 \pm 3.5	47.0 \pm 1.4	53.5 \pm 4.9	54.5 \pm 7.8	57.5 \pm 10.6	51.5 \pm 7.8		
Number	32.2 \pm 3.9	56.1 \pm 4.4	62.6 \pm 6.5	68.6 \pm 0.1	52.1 \pm 2.4	66.0 \pm 3.2		
LP comminution								
g ³⁾	4.6 \pm 0.2	4.8 \pm 0.1	4.2 \pm 0.5	5.2 \pm 1.7	2.8 \pm 0.4	2.9 \pm 0.4		
% ³⁾	41.0 \pm 1.7	71.4 \pm 5.9	70.1 \pm 2.3	79.4 \pm 5.3	80.4 \pm 4.7	86.6 \pm 3.2		
Specific fragility ⁴⁾	12.9 \pm 2.1	12.7 \pm 0.0	11.3 \pm 1.5	11.6 \pm 0.8	15.5 \pm 1.6	13.1 \pm 0.2		

1) Period after feeding (h).

2) Mean \pm SD.

3) Comminuted LPg / LPg in the Retained bolus \times 100

4) Comminuted LP mg /chews / LPg in the Retained bolus

(Ichinohe *et al.*, 1995)、吐き戻され咀嚼を受ける食塊の重量に経時的な変動はなかった。一方、吐き戻し食塊中の大飼料片割合は、上層の内容物とともに低下したため(図2)、咀嚼を受ける食塊中の大飼料片割合も低下したこと(図4)、咀嚼を受ける大飼料片の重量は経時的に低下した。その結果、大飼料片の微細化量は減少し、一方で、咀嚼を受ける前の大飼料片に対する微細化した大飼料片の割合(大飼料片微細化割合)は増加した。飼料片の脆弱性の指標となる Specific fragility は、飼料給与後4-16時間よりも16-24時間の方が高かった。Chai *et al.*もヒツジ(1988)およびウシ(1984)で、飼料給与後前半と後半の反芻では、後半の方が微細化量は低く、微細化の割合および Specific fragility は高くなることを報告している。咀嚼回数に経時的な一定の推移は見られなかったことから、大飼料片微細化割合は、飼料片の咀嚼による微細化のされやすさ、微細化効率を示している。このため、大飼料片微細化割合の経時的な増加には、厚さの減少、水和および発酵による飼料片組織の脆弱化による強度の低下が影響しているものと考えられる。一方、人間の場合、咀嚼による食物片の微細化効率には食物片の量も影響することが報告されていることから(Vincent, 1999)、本試験における大飼料片微細化効率にも、飼料片の強度といった物性だけでなく、咀嚼前の大飼料片重量の影響を受けているだろう。

咀嚼あたりの大飼料片微細化量は反芻時よりも採食時の方が高かった。反芻胃内大飼料片の減少量と咀嚼回数から、

Waghorn *et al.* (1986) はアルファルファ乾草で、McLeod *et al.* (1990) は暖地型イネ科乾草で、最近では Ueda *et al.* (1997) がオーチャードグラスあるいはアルファルファ乾草で同様の結果を報告している。Waghorn *et al.* (1986) および Ueda *et al.* (1997) は、発酵にともなうリグニン含量の増加により、反芻胃内飼料片の方が給与乾草よりも強度が高いことを推察している。しかし、本試験では、剪断エネルギーは茎部および葉部ともに乾草の方が吐き戻し大飼料片よりも2倍以上大きかった。このことから、採食時と反芻時の微細化様相の違いは、乾草の強度によるものではなく、咀嚼力といった動物側の要因によるものが大きいのではないかと考えられる。咀嚼速度は採食時の方が反芻時よりも速かった（採食時、1.4回/秒；反芻時0.9～1.3回/秒）ことは、採食時と反芻時で咀嚼力を変動させている一つの指標なのかもしれない。

反芻時の大飼料片微細化様相

摂取された大飼料片が反芻時咀嚼により微細化されていく様相を大飼料片と、これを構成する茎部および葉部について検討した（図9、表4と5）。

図9には、採食および反芻時咀嚼による累積微細化量を大飼料片摂取量に対する割合で示した。吐き戻しあたりの大飼料片微細化量は経時的に低下することから、累積微細化量の増加率は、大飼料片全体、茎部および葉部ともに低下した。

このことから、反芻時の微細化割合について Ørskov and

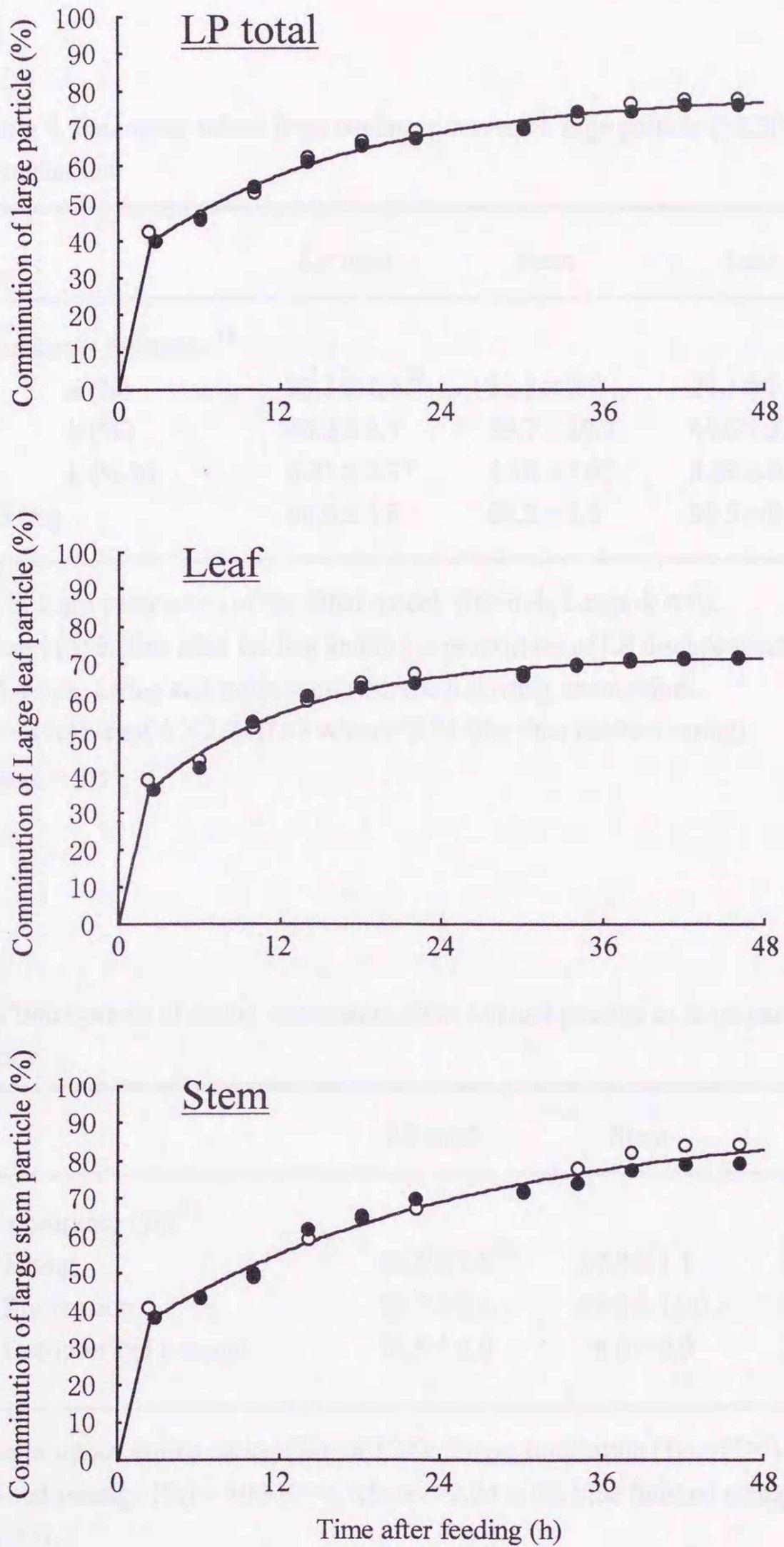


Figure 9. Kinetics of comminution of large particle, large stem particle and large leaf particle (●, Steer J; ○, Steer S).

Table 4. Parameter values from nonlinear curves of large particle (>2,360 μ m) comminution.

	LP total	Stem	Leaf
Parameter estimates ¹⁾			
a (%)	33.3 \pm 1.7 ²⁾	32.3 \pm 0.7	27.1 \pm 3.6
b (%)	46.2 \pm 3.7	59.7 \pm 10.7	44.6 \pm 3.0
k (%/h)	6.31 \pm 0.37	4.18 \pm 1.07	8.83 \pm 0.75
R ² (%)	98.6 \pm 0.8	98.2 \pm 1.3	98.5 \pm 0.3

¹⁾a, b, k are parameters of the fitted model: $f(t)=a+b(1-\exp(-k \times t))$, where t (h) is time after feeding and f(t) is proportion of LP disappearance (%) during eating and rumination with the following assumptions: $f(t)=(a+b(1-\exp(-k \times 2.24))) \times t$ when $t < 2.24$ (the time finished eating).

²⁾Mean \pm SD.

Table 5. Contributions of eating, rumination, detrition and passage to large particle comminution.

	LP total	Stem	Leaf
LP Disappearance (%) ¹⁾			
Eating	39.8 \pm 1.6 ²⁾	37.8 \pm 1.1	35.6 \pm 2.4
Rumination	39.7 \pm 3.5	54.2 \pm 11.0	36.1 \pm 1.8
Detrition and passage	20.5 \pm 2.0	8.0 \pm 9.9	28.3 \pm 0.6

¹⁾LP disappearance during eating (%) = $f(2.24)$; during rumination (%) = $f(\infty)-f(2.24)$; detrition and passage (%) = $100-f(\infty)$, where $t=2.24$ is the time finished eating.

²⁾Mean \pm SD.

McDonald (1979) による非線形曲線で表される消失モデルに当てはめた (表 4)。なお、採食終了時 (飼料給与 2 時間 14 分後) まで微細化は一定速度で進行するものとした。決定係数はどの画分も 98% 以上と、実測値はモデルとよく適応した。この式の適用により、反芻咀嚼時の微細化による消失率は経時的に増加すること、咀嚼によらない微細化、すなわち飼料片どうしの磨砕による微細化あるいは大飼料片のまま反芻胃から通過することにより消失する画分が存在することがあらわされ、パラメーターの意味を鑑みてもモデルへの適用は妥当なものと思われた。

大飼料片全体では、採食と反芻咀嚼時の微細化による大飼料片微細化量は同程度であり、20.5% が磨砕による微細化あるいは通過に相当していた (表 5)。茎部と葉部を比較すると、反芻咀嚼時の微細化割合は茎部の方が高く、一方で、磨砕あるいは通過した画分は葉部の方が高かった。また、式中の k で表される、反芻咀嚼時における消失速度 (微細化速度) は、葉部の方が高かった。Kennedy and Doyle (1993) も反芻家畜における飼料片微細化に関する総説で、茎部よりも葉部の微細化速度の方が速いことを紹介している。茎部と葉部の微細化速度の違いは茎部と葉部の吐き戻し量の相違 (図 7) と強度の相違 (表 2) によるものであろうと推察された。

2-4 小括

オーチャードグラス乾草を 1 日 1 回給与した去勢牛 2 頭か

ら、反芻時食塊および反芻胃内容物を経時的に採取することにより、反芻時微細化の様相を検討した。

反芻時には反芻胃内容物の上層部を吐き戻しており、吐き戻し直後に小粒子を反芻胃へ送り返している。このことにより、実際に咀嚼を受ける食塊中の大飼料片割合が吐き戻し食塊に比べて高くなった。吐き戻され咀嚼を受ける食塊の重量は経時的に大きな変化は見られなかったが、咀嚼される大飼料片重量は反芻胃内上層内容物中の大飼料片割合とともに低下した。

反芻時に咀嚼を受ける大飼料片の強度は、茎部、葉部ともに経時的に低下した。強度の低下は、発酵だけによるのではなく、咀嚼や磨砕による厚さの低下および水和にもよるものと推察された。発酵による強度の低下には、繊維質分解菌による飼料片植物体のセルロース分解が関与していることが示唆され、飼料片が厚いものほどその影響が大きいことが示唆された。

吐き戻される大飼料片には、前日に摂取した茎部あるいは葉部も含まれ、その割合は全時間帯をとおして20%以下であった。このため、大飼料片全体の強度としては、当日に摂取した茎部強度の影響が大きいものと思われた。茎部と葉部では反芻時の微細化様相が異なり、葉部の方が茎部よりも微細化速度が速く、これは葉部の吐き戻し量の多さと、強度の低さが関与していた。

反芻時の1食塊あたり大飼料片微細化量は時間の経過にもなって低下したが、これは吐き戻される大飼料片の重量が低下したためであった。一方で、1食塊あたりの大飼料片微細化

効率は経時的に増加しており、これには咀嚼を受ける大飼料片の強度だけでなく、重量も影響していることが示唆された。

第 3 章 反芻時微細化に影響する要因

3-1 目的

前章より、吐き戻しあたりの大飼料片微細化効率、咀嚼を受ける大飼料片の量と強度によって影響を受けることが示唆された。しかし、前章における経時的な検討では、重量および強度が同時に変動するため、両者の影響の程度を明らかにすることができなかった。そこで試験 3 では、吐き戻し大飼料片重量を変動させることを意図して飼料の給与量を 2 段階設定し、大飼料片重量が反芻時微細化量に与える影響を検討した。

また、大飼料片全体の強度には、発酵による脆弱化だけでなく、茎葉比、水和および厚さの要因の影響を受けていることが明らかにされた。しかし、発酵が微細化にどの程度影響しているのかを特定することができなかった。このことから試験 4 では、吐き戻し大飼料片の発酵による強度低下を意図して、反芻胃内に尿素を添加して反芻胃内発酵環境を変動させ、発酵による強度低下が反芻時微細化量に影響する程度を検討した。

3-2 飼料摂取量が飼料片微細化におよぼす影響(試験 3)

3-2-1 目的

第 2 章で述べた、反芻咀嚼時の大飼料片微細化に影響をおよぼす要因として、本試験では、吐き戻し大飼料片重量に着目した。咀嚼される大飼料片の重量は反芻胃内上層内容物の大飼料片割合と関連していることを第 2 章で述べた。このことから、反芻胃内上層内容物の大飼料片割合を変動させることにより、

吐き戻し大飼料片量を変動させることができると考えられる。飼料摂取量が増加することにより、反芻胃内容物中の大飼料片割合が増加することが Faichney (1986) および Okine and Mathison (1991) によって報告されており、飼料摂取量が増加したとき、動物はより多くの大飼料片を吐き戻し、咀嚼していることが推察される。

そこで本節では、同一の乾草を異なったレベルで給与し、吐き戻し大飼料片重量が変動することによる反芻時微細化への影響を検討した。

3-2-2 材料および方法

3-2-2-1 飼料および動物

北海道大学附属農場で 1999 年に生産された、出穂期オーチャード主体イネ科一番刈り乾草を、食道および反芻胃にフィステルを形成した去勢牛 3 頭 (平均体重 625 ± 108 kg) に給与した。乾草の化学組成は、CP、粗脂肪、NDF、ADF、および ADL が、それぞれ乾物あたり、11.8, 2.2, 64.2, 40.7, および 5.7% であった。

3-2-2-2 試験計画および飼養管理

本試験は 1 期と 2 期の 2 つの処理期を設定し、1 期では 40 g / 代謝体重 (低摂取量区) を、2 期では 80 g / 代謝体重 (高摂取量区) の細切乾草 (設定切断長 60 mm) を給与した。低摂取量区における飼料摂取量は、ほぼ維持要求量に相当した。給与

した乾草は両区ともすべて採食した。各期は馴致期と本期よりなる。馴致期間は7日間とし、本期は反芻時食塊採取期(6日間)、反芻胃内培養期(5日間)、咀嚼回数測定期(3日間)、消化試験期(2日間)、反芻胃内容物採取期(2日間)および採食時食塊採取期(1日)を設定した。

3-2-2-3 食塊および反芻胃内容物採取

採食時食塊の採取は2-2-1-4と同様の方法でおこなった。

反芻時食塊は1日を飼料給与後6から12時間、12から18時間および18から24時間の3つの時間帯にわけて採取した。各採取期の間には24時間の休止期を設けた。食塊の採取は2-2-1-4と同様、各採取期に生じた反芻期に‘Up’、‘Tail’および‘Down’の各食塊を食道フイステルより1食塊ずつ採取し、‘Down’食塊採取時には咀嚼回数を計測した。‘Tail’および‘Down’食塊サンプルは各採取期毎に混合し、その一部を通風乾燥機で乾燥(60℃, 48時間)し、粉碎(1mm)した。残りのサンプルはホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。

‘Up’食塊については、剪断強度および茎葉比測定用サンプルとして、採取期終了後すみやかに湿式篩別し(2-2-1-6参照)、大飼料片を茎部と葉部に分類し分析に供した。大飼料片の分類は目視によりおこない、茎部、葉部、維管および穂に分類した。残りの‘Up’食塊サンプルは‘Tail’および‘Down’食塊サンプルと同様に処理した。

反芻胃内容物の採取は、1日目に飼料給与6および18時間

後、2日目に飼料給与12および24時間後に、背囊内に存在する内容物上層部を約300g、腹囊内容物を約500g採取した。得られた背囊内容物はホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。腹囊内容物については8層のガーゼで濾過し、pH測定後、冷凍保存した。

3-2-2-4 糞採取

消化試験期に糞の全量を2日間採取した。糞は計量後、その一部を通風乾燥機で乾燥(60℃, 48時間)し、粉碎(1mm)した。残りのサンプルはホルマリンを数滴添加し、冷蔵保存した。

3-2-2-5 *in situ* 法による飼料片の培養

2-2-2-4と同様、乾草の葉部および茎部(切断長1cm)を*in situ*法により反芻胃内で培養した。剪断強度を測定するため茎部、葉部とも各ウシ、各培養時間(2,12,24,48および96時間)で1バッグ(30本)ずつ、ヘアカーラー内に保持し、培養した。培養後のバッグは水で軽く洗浄した後、すみやかに剪断強度を測定した。また、繊維質の消失率を測定するために、茎部と葉部(切断長1cm)をそれぞれ約5gずつナイロンバッグに封入し、それぞれ1頭、各培養時間(2,12,24,48および96時間)あたり1バッグずつ培養した。培養後の処理は2-2-2-4と同様の方法でおこなった。

3-2-2-6 飼料片物性の測定

乾草、吐き戻し食塊中大飼料片、*in situ*培養飼料片の茎部および葉部について、2-2-2-5の方法に従い、剪断に要するエネルギーおよびサンプルの厚さを測定した。

3-2-2-7 分析およびデータの解析

乾草、採食時食塊、反芻時各食塊、反芻胃内上層内容物および糞は、2-2-1-7と同様、湿式篩別により大飼料片(LP, >2,360 μm)、小飼料片(SP, 2,360-300 μm)および微小飼料片(FP, 300-47 μm)に画分した。画分した粒度別飼料片は乾燥(105°C, 4時間)し、乾物含量を求めた。これから、LPからFPの粒度別飼料片DM重量にしめる各粒度画分飼料片DM重量の割合を求め、粒度分布とした。また、食塊あたりの大飼料片重量および食塊乾物重量に占める大飼料片の割合を求めた。なお、糞以外のサンプルの大飼料片については、その一部を篩別後、茎部、葉部および維管に分類し、乾燥(105°C, 4時間)後、各部位の乾物重量比を求めた。腹囊液相サンプルは、アンモニア態窒素濃度と総VFA濃度を測定した。糞についてはDM, CP, 粗脂肪, NDF, ADF, およびADL含量を測定し、見かけの全消化管消化率を求めた。

*in situ*培養飼料片はDMおよびNDF含量を測定し、分解パターンをØrskov and McDonald (1979)による非線形曲線にあてはめた。式は、 $Y=a+b(1-e^{-kt})$ で表され、各変数は以下のように定義される。

t=培養開始後時間 (h)

Y=時間 t における分解率 (%)

a=易分解性画分 (%)

b=遅分解性画分 (%)

k=遅分解性画分の分解速度 (%/h)

採食・反芻時の咀嚼回数および咀嚼時間を 2-2-1-6 の方法に従って 2 日間連続で測定し、解析した。

1 日における大飼料片摂取量に対する採食時および反芻時大飼料片微細化量の割合を求めた。反芻胃内発酵による大飼料片の乾物重量消失分は *in situ* 培養 24 時間における乾物消失率を給与乾草中の大飼料片乾物重量に乗じることにより補正した。採食時大飼料片微細化量の大飼料片摂取量に対する割合は採食時の 1 食塊あたり大飼料片微細化割合を用いた。反芻時大飼料片微細化量の大飼料片摂取量に対する割合は、この補正をした大飼料片摂取量に対する反芻時大飼料片微細化量の割合で示した。

データの統計解析は、SAS の GLM プロシジャーを用いて分散分析および多重検定をおこなった。

3-2-3 結果

1 日の平均反芻胃内 pH、アンモニア態窒素濃度および VFA 濃度は、低摂取量区と高摂取量区でそれぞれ、6.8 と 6.6、6.5 と 4.9mg/100mL、および 61.2 と 83.5mM であった。

*in situ*DM および NDF 消失曲線の各パラメータを表 6 に

示した。茎部では、DM の易分解性画分および分解速度は高摂取量区より低摂取量区の方が高かった。葉部では、DM、NDFともに各パラメーターとも摂取量による差は見られなかった。

in situ 培養飼料片の剪断エネルギーを表 7 に示した。第 2 章と同様、茎部では、飼料摂取量に関係なく厚いものほど剪断エネルギーは高くなり、高摂取量区茎部 0.10-0.15 画分を除いた葉部茎部ともに、培養 2 時間よりも 96 時間の方が剪断エネルギーは低かった。茎部では培養時間によって処理区間で剪断エネルギーに差がみられたが、培養時間を通した一定の傾向はみられなかった。これに対して葉部では、全培養時間を通して高摂取量区の方が低摂取量区よりも剪断エネルギーが高くなった。

表 8 に、乾草および反芻時に吐き戻される大飼料片の茎部および葉部について、これらの乾物比、厚さおよび剪断エネルギーを求めた。乾草と吐き戻し食塊中大飼料片を比較すると、大飼料片中の茎部割合は、吐き戻し大飼料片の方が乾草よりも高く、葉部割合は逆に乾草の方が高かった。大飼料片の厚さは、茎部、葉部とも乾草と吐き戻し大飼料片中では差はなかったが、剪断エネルギーは茎部、葉部ともに乾草の方が吐き戻し大飼料片よりも大きかった。吐き戻し大飼料片茎部では両区とも厚さが経時的に低下し、剪断エネルギーも経時的に低下した。吐き戻し飼料片について、茎部の割合は高摂取量区よりも低摂取量区で高かったが、厚さおよび剪断エネルギーに飼料摂取量間の差はみられなかった。

Table 6. Parameter estimates for *in situ* DM and NDF degradation of orchardgrass hay stem and leaf fractions in steers fed at low and high intake levels.

	DM		SEM ¹⁾		NDF		SEM		Significant effect ²⁾	
	Low intake	High intake	Low intake	High intake	Low intake	High intake	Low intake	High intake	DM	NDF
Stem										
a (%) ³⁾	17.3	14.2	0.5	0.5	4.9	2.8	0.0	0.0	NS	*
b (%)	62.5	74.6	0.5	0.5	71.6	95.7	4.7	4.7	*	NS
k (%/h)	2.11	1.42	0.03	0.03	1.70	1.08	0.15	0.15	*	NS
Leaf										
a (%)	11.1	13.3	0.7	0.7	6.2	8.5	0.9	0.9	NS	NS
b (%)	75.3	72.4	0.6	0.6	81.2	72.5	0.9	0.9	NS	NS
k (%/h)	3.94	3.39	0.07	0.07	3.17	3.03	0.08	0.08	NS	NS

¹⁾Standard error of mean.

²⁾Significant effect of intake level: * P<0.05; NS, not significant.

³⁾a, b, k are parameters of the fitted model: $f(t)=a+b(1-\exp(-k \times t))$, where t (h) is incubation time and f(t) is NDF degradability (%).

Table 7. Shearing energy (g × cm) of the large particles (LP, >2,360 μ m) of stem and leaf grouped in thickness after *in situ* incubation using steers fed on orchardgrass hay at two intake levels.

	Thickness (cm)	Intake level	Incubation time (h)					SEM ¹⁾	Significant effect ²⁾	
			2	12	24	48	96		Incubation	Intake
Stem	0.10-0.15	Low	13.9	15.3	12.6	11.3	9.4	0.6	*	**
		High	8.8	13.4	13.1	8.9	10.1	0.5	**	**
	0.15-0.20	Low	28.2	24.4	22.4	25.0	15.4	0.8	**	*
		High	22.9	28.3	22.3	25.2	20.7	1.7	NS	NS
Leaf	0.20-0.25	Low	49.7	56.6	50.8	44.7	39.2	1.7	**	**
		High	42.0	48.1	45.4	40.6	31.5	1.9	*	*
	0.05-0.10	Low	2.0	2.1	1.8	1.9	1.1	0.1	**	**
		High	2.5	2.3	2.3	2.1	1.6	0.1	**	**

1) Standard error of mean.

2) Significant effects: Incubation, main effect of incubation time; Intake, main effect of intake level; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

Table 8. Stem and Leaf proportions, thickness and shearing energy in the large particle (LP, >2,360 μ m) of hay and regurgitated bolus in steers fed on orchardgrass hay at two intake levels.

	Hay			Regurgitated LP			SEM ²⁾	Significant effect ³⁾		
	Low intake			High intake				Intake	Period	I \times P
	6-12 ¹⁾	12-18	18-24h	6-12	12-18	18-24h				
Stem										
Proportion of DM in LP (%)	57.0	69.7	69.7	62.9	53.4	54.7	2.6	NS	*	**
Thickness (cm)	0.14	0.13	0.13	0.15	0.13	0.13	0.00	NS	*	NS
Shearing Energy (g \times cm)	39.0	11.3	11.4	15.3	12.9	12.2	0.7	NS	*	NS
Leaf										
Proportion of DM in LP (%)	37.0	7.5	2.5	15.3	8.7	7.8	0.9	*	NS	NS
Thickness (cm)	0.08	0.09	0.07	0.06	0.07	0.07	0.00	NS	NS	*
Shearing Energy (g \times cm)	6.0	3.2	2.1	2.2	1.9	2.0	0.2	NS	*	*

1) Period after feeding (h)

2) Standard error of mean in regurgitated LP.

3) Significant effects in regurgitated LP: Intake, main effect of intake level; Period, main effect of period after feeding; I \times P, interaction between intake and period; **, P < 0.01; *, P < 0.05; NS, Not significant.

表 9 に採食時および反芻時の 1 食塊あたりの大飼料片微細化様相を示した。採食時において、1 食塊あたりの咀嚼時間が高摂取量区で低摂取量区よりも高くなり、大飼料片の微細化量が高摂取量区で高くなった。反芻胃内上層内容物中の大飼料片割合は、処理区間に差はなく経時的に低下した。反芻時においては、両摂取量区とも咀嚼を受ける大飼料片の重量は経時的に減少したが、咀嚼回数は一定であった。両区とも大飼料片の微細化量は経時的に低下し、一方、大飼料片微細化割合は経時的に増加した。‘Retained’食塊中の大飼料片割合は、両摂取区間で同程度であったが、食塊重量は高摂取量区の方が低摂取量区よりも高く、‘Retained’食塊中大飼料片重量は高摂取量区の方が低摂取量区よりも高かった。咀嚼時間および咀嚼回数は高摂取量区の方が低摂取量区よりも高かった。大飼料片の微細化量は高摂取量区が低摂取量区よりも高かったが、大飼料片の微細化割合は低摂取量区の方が高かった。Specific fragility は低摂取量区では 6-12、12-18 時間よりも 18-24 時間の方が高く、高摂取量区でも 6-12 時間よりも 18-24 時間の方が高くなった。反芻時の Specific fragility は高摂取量区よりも低摂取量区の方が高かった。

表 10 に一日の採食および反芻時咀嚼活動と大飼料片の微細化量を示した。飼料摂取量の増加により総採食時間が増加し、微細化量が増加した。反芻時には、吐き戻し回数および吐き戻しあたりの微細化量が増加したため、反芻時総微細化量は、高摂取量区で高くなった。しかし、微細化量の増加は飼料摂取量

Table 9. Characteristics of bolus before chewing, chewing activity and large particle (LP, >2,360 μ m) comminution per bolus during eating and rumination in steers fed on orchardgrass hay at two intake levels.

	Low intake						High intake			SEM ²⁾	Significant effect of intake ³⁾		
	Eating			Ruminating			Eating				Ruminating		
	6-12	12-18	18-24h ¹⁾	6-12	12-18	18-24h	6-12	12-18	18-24h		Eating	Ruminating	
LP in the dorsal sac (%)	-	39.8 ^a	30.9 ^b	25.8 ^c	-	36.0 ^a	29.7 ^b	23.8 ^c	0.8	-	NS		
Bolus before chewing													
DM (g)	-	18.1 ^b	22.1 ^{ab}	18.6 ^a	-	36.2	34.7	32.7	2.7	-	**		
LP (%)	89.9 ^a	47.8 ^b	37.1 ^d	43.3 ^c	89.9 ^a	46.6 ^b	36.4 ^{bc}	27.0 ^c	1.2	-	NS		
LP (g)	20.2 ^a	6.9 ^b	6.3 ^b	3.4 ^c	18.3 ^a	11.7 ^b	8.6 ^{bc}	6.2 ^c	0.5	NS	**		
Chewing													
Time (sec)	21.1 ^c	51.5 ^a	50.8 ^a	46.6 ^b	28.5 ^b	58.1 ^a	58.2 ^a	55.2 ^a	0.8	*	**		
Number	26.8 ^b	40.8 ^a	39.0 ^a	40.1 ^a	27.3 ^b	50.0 ^a	49.3 ^a	46.7 ^a	1.1	NS	**		
LP comminution													
% ⁴⁾	21.2 ^c	69.2 ^b	68.2 ^b	82.0 ^a	24.5 ^c	57.6 ^b	65.9 ^a	71.7 ^a	1.6	NS	**		
g	4.3 ^a	4.7 ^a	4.3 ^a	2.8 ^b	4.5 ^{ab}	6.7 ^a	5.7 ^{ab}	4.4 ^b	0.3	*	**		
Specific fragility ⁵⁾	8.0 ^c	17.1 ^b	17.5 ^b	20.3 ^a	8.0 ^c	11.5 ^b	13.4 ^{ab}	15.5 ^a	0.6	NS	**		

1) Period after feeding (h).

2) Standard error of mean.

3) Significant effect of intake during eating or rumination; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

4) Comminuted LPg / LPg in the Retained bolus \times 100

5) Comminuted LP mg / Chews / LPg in the Retained bolus

a,b,c,d; Means with different superscripts in the same row within the same intake level are significantly different (P<0.05).

Table 10. Total chewing activity and large particle (LP, >3,360 μ m) comminution in steers fed on orchardgrass hay at two intake levels.

	Duration		Chewing		Rumination cycle		LP comminution	
	min	no.	/ min	no.	Chews	g/ cycle	g	/ LP intake(%) ¹⁾
<u>Low intake</u>								
Eating	74	5659	76.3				911	21
Rumination -6 ²⁾	57	2688	47.5	59	47.6	4.7	280	
6-12	60	2878	47.3	70	40.8	4.7	319	
12-18	101	4760	46.4	121	39.0	4.3	510	
18-24	55	2560	47.4	71	38.8	2.8	203	
Total	274	12886	47.1	319	41.5		1312	57
Total	348	18545	53.3				2223	81
<u>High intake</u>								
Eating	223	14379	65.0				2089	25
Rumination -6	42	2158	51.6	44	49.2	6.7	283	
6-12	155	8106	52.7	160	50.0	6.7	1070	
12-18	131	6716	51.2	136	49.3	5.7	769	
18-24	121	6129	50.7	131	46.7	4.4	591	
Total	449	23109	51.6	471	48.8		2714	53
Total	671	37488	55.8				4803	80

¹⁾ Corrected with fermented DM.

²⁾ Period after feeding.

の増加と同程度であったため、大飼料片摂取量に占める採食時あるいは反芻時総微細化量の割合は、両摂取量区で同程度であった。

3-2-4 考察

飼料摂取量を変動させることにより、反芻時に吐き戻され、咀嚼される大飼料片の重量を変動させることができた。このときの反芻時微細化について考察する。

反芻胃内容物と吐き戻し

本試験において、飼料給与後 6-12 時間における、反芻胃上層内容物に占める大飼料片の割合は両区で同程度であった。これは、両区の飼料採食時における、食塊あたりの大飼料片微細化量の差が小さかったためであろう。この結果は、Okine and Mathison (1991) の報告とは一致しない。彼らの報告では、背囊内容物を前部、中部および後部の 3 カ所から採取し、飼料給与後 3 時間毎に採取した内容物の平均値で示している。一方、本試験では、1 日の平均値ではないこと、反芻胃内容物の最上層部のみを採取したことが、本試験結果と Okine and Mathison (1991) の結果が一致しなかった原因かもしれない。一方、Luginbuhl *et al.* (1990) は給与後 2 時間における、反芻胃上層内容物に占める大飼料片の割合は、飼料摂取量による影響を受けず一定であったことを報告しており、本試験結果と一致する。

反芻胃上層内容物中の大飼料片割合が飼料摂取量の差によって影響が認められなかったこと、反芻時には内容物上層が吐き戻されていることから、'Retained'食塊中の大飼料片割合も両区で同程度であった。一方、吐き戻される食塊の重量が高摂取量区で高かったため、咀嚼を受ける大飼料片の重量は、高摂取量区の方が低摂取量区よりも高くなった。吐き戻し時、第二胃の収縮と同時に噴門が開口し、胃内容物は陰圧となっている食道下部へ吸引される。第二胃へ液体を注入することにより、第二胃の内圧が増加するという報告があるが (Iggo and Leek, 1970)、飼料摂取量が増加することにより反芻胃内容物重量が増加し、第二胃あるいは第一胃の内圧が高まったことにより、吐き戻し量が増加したことが考えられる。一方、経時的に観察した場合、両区とも反芻胃内容物量は経時的に低下していると考えられるが (Ichinohe et al., 1995)、吐き戻し食塊重量は大きな変化がなく影響が認められなかった。両区間の反芻胃内容物の差は、経時的 (飼料給与後 6-12 と 18-24 時間) な内容物の差よりも大きかったものと考えられ、1日の反芻胃内容物の変動程度では、吐き戻し食塊重量に影響しないのかもしれない。

1 食塊あたりの微細化様相

高摂取量区では低摂取量区に比べ、'Retained'食塊重量および咀嚼を受ける大飼料片重量が高くなり、咀嚼回数が多くなった (表 9)。飼料摂取量が増加すると、1食塊あたりの咀嚼回

数が増加することを Bae *et al.* (1969) も確認している。一方で、経時推移を検討した場合、両区とも咀嚼を受ける大飼料片の重量は低下したが、'Retained'食塊重量および咀嚼回数は一定であった。このことから、1食塊あたりの咀嚼回数は咀嚼直前に口腔に残された大飼料片重量の影響を受けるが、吐き戻し大飼料片重量の日内変動程度では、咀嚼回数は影響を受けないのかもしれない。あるいは、咀嚼回数は咀嚼を受ける大飼料片の重量ではなく、食塊全体の重量により決まっていることも考えられる。

大飼料片中の茎葉比、茎部および葉部剪断強度は両区で同じであったため、大飼料片微細化割合および Specific fragility の処理区間差には、強度以外の要因が関与していたものと考えられる。Perez-Barberia and Gordon (1998) は、人間で、口腔中の食物片サイズが同じで量が異なる場合、これを同回数咀嚼したとき、食物片量の多い方が微細化効率は低いことを報告している。このことから、本試験で、咀嚼を受ける大飼料片の重量が低摂取量区よりも高摂取量区の方が高いが、微細化される大飼料片の割合および Specific fragility が低かったことは、大飼料片の多さが、微細化の効率を低下させていたものと考えられる。このことは試験 1 における微細化効率の経時的増加(表 3) には、吐き戻される大飼料片量の経時的な低下も影響していたことを示唆している。

1日の反芻時微細化様相

1日の大飼料片摂取量に対する反芻時微細化量の割合は、53-57%と処理区によらず同程度であった。このことは、大飼料片摂取量の増加に対して微細化量を多くするためのメカニズムが存在することを意味している。

吐き戻し回数は、低摂取量区よりも高摂取量区で多かった(表 10)。これは、反芻胃内の大飼料片量が増加し、胃壁粘膜炎中に存在する機械受容器への刺激頻度が高くなったため(Iggo and Leek, 1970)と思われる。この吐き戻し回数、および食塊あたりの大飼料片微細化量が、高摂取量区で低摂取量区よりも高くなったため、1日の反芻時総微細化量が高摂取量区で低摂取量区よりも高くなった。飼料摂取量と反芻時間をグラフで表した場合、飼料摂取量増加にともない反芻時間は増加するが、増加の程度は小さくなり、やがてプラトーに達する曲線を描く(Balch, 1971; Welch and Smith, 1969; Bae *et al.*, 1981; Okine and Mathison, 1991)。また、吐き戻し回数も、飼料摂取量増加にともない増加し、やがて一定となる(Bae *et al.*, 1981)。このことから動物は、飼料摂取量(反芻胃内容物量)増加に対して、吐き戻し回数を増加させることにより、微細化量を増加させるが、飼料摂取量(反芻胃内容物量)が一定量を超えると、吐き戻し回数よりも吐き戻し食塊量を増加させることにより、反芻時総微細化量を調整していることを示唆している。これらのことから、本試験における低摂取量区は、採食量-反芻時間曲線の前半部に位置し、高摂取量区は一定値に達し

た後半部に位置していただろう。

3-3 尿素添加が大飼料片微細化におよぼす影響

3-3-1 目的

本試験では、反芻時微細化に影響する要因のうち、発酵による飼料片の脆弱化を検討する。吐き戻し大飼料片量は、飼料給与後時間の経過とともに低下することから、経時的な検討では、発酵による影響の程度はわからない。そこで、吐き戻される大飼料片の量は等しいが、強度が異なる状態をつくるために、飼料の給与量および種類が等しい飼養条件下で、窒素源の添加により反芻胃内発酵環境を変動させることを意図した。

反芻胃内微生物の増殖に必要な主な窒素源はアンモニアであり、飼料中タンパク質は反芻胃内でアンモニアにまで分解され、微生物に利用される。このため、反芻動物は非タンパク態窒素を窒素源として利用できるという特性を持っている。この特性を利用して Virtanen (1966) は、乳牛の飼料中窒素源として尿素のみを用い、飼養および乳生産が可能であることを証明した。

一般的にタンパク質含量の低い低質な粗飼料を給与した場合、反芻胃内微生物増殖のための窒素源が不足する。このため、微生物増殖のための窒素源として、大豆粕 (Warly *et al.*, 1992, 1994; 大下ら, 1997b)、魚粉 (McAllan and Smith, 1984; England and Gill, 1985; Kabre *et al.*, 1995)、アルファアルファ乾草 (Ndlovu and Buchanan-Smith, 1985)、綿実 (Freeman *et al.*, 1992)、Berseem (Das and Singh, 1999) および尿素 (Judkins *et al.*, 1991; Dyness *et al.*, 1994) 等が利用されて

いる。

窒素源の添加は繊維分解菌の増殖を促し、繊維質の分解が促進されることが期待され、窒素源添加が繊維質分解を促進するという報告が多数見られるが (Judkins *et al.*, 1991; Warly *et al.*, 1994; Kabre *et al.*, 1995; 大下ら, 1997b; Das and Singh, 1999)、効果がなかったとする報告も少なくない (England and Gill, 1985; Warly *et al.*, 1992; Dyness *et al.*, 1994)。

窒素源添加により繊維質分解が促進され、試験 2 で示されたように飼料片の強度が低下し、反芻時微細化に影響することが考えられる。(Freer *et al.*, 1962) は、反芻胃への尿素的連続注入により反芻時間が減少することを報告している。

(Warly *et al.*, 1992, 1994; 大下ら, 1997b; Mawuenyegah *et al.*, 1997) は、窒素源として大豆粕を添加した場合、飼料摂取量あたりの反芻時間が減少することを報告している。このような窒素源添加による反芻時間の減少は、反芻胃内飼料片の強度が低下したことにより、微細化が容易になったことが原因と考えられる。一方で、尿素投与 (Fujihara *et al.*, 1994) あるいは大豆粕添加 (Warly *et al.*, 1994) によっても反芻活動が変動しなかった報告も見られる。このように、反芻活動への窒素源添加の影響に関する評価は定まっておらず、さらに、窒素源添加と反芻時の飼料片微細化様相との関連を検討した報告は見られない。

本節では、低品質乾草給与下で、反芻胃内飼料片粒度分布

に添加物の影響がでない、尿素を微生物体窒素源として反芻胃へ連続注入することにより、繊維質発酵が反芻時咀嚼による微細化におよぼす影響を検討した。

3-3-2 材料および方法

3-3-2-1 飼料および動物

北海道札幌市近郊の農家で 1999 年に生産された結実期チモシー一番刈乾草を、食道および反芻胃にフィステルを形成した去勢牛 3 頭（平均体重 625 ± 102 kg）に給与した。乾草の化学組成は、CP、粗脂肪、NDF、ADF および ADL が、それぞれ乾物あたり、8.1, 1.1, 73.9, 43.9 および 6.3%であった。

3-3-2-2 試験設計および飼養管理

試験は 1 期目を対照区、2 期目を尿素添加区とし、両区とも細切（設定切断長 60mm）した乾草（70g/代謝体重）を 1 日 1 回給与した。尿素の添加量は、試験 1 と窒素摂取量が同程度となるように、乾草からの窒素摂取量の 70%とした。尿素は 3L の水に溶解し、ペリスターポンプを用いて反芻胃フィステルより 24 時間連続注入した。給与した乾草はすべて採食された。試験 3 と同様、各期は馴致期と本期よりなる。馴致期間は 7 日間とし、本期には、反芻時食塊採取期（6 日間）、反芻胃内培養期（5 日間）、咀嚼回数測定期（3 日間）、消化試験期（2 日間）、反芻胃内容物採取期（2 日間）、および採食時食塊採取期（1 日）を設定した。

3-3-2-3 *in situ* 法による飼料片の培養

反芻胃内培養飼料片の強度および繊維質消失率測定用のサンプルを、試験 3 と同様の方法で準備し、培養した。

3-2-2-4 試料の採取、分析および解析

採食時および反芻時食塊、反芻胃内容物および糞の採取は試験 3 と同様の方法でおこなった。乾草、採食時および反芻時食塊、反芻胃内容物、糞、および *in situ* 培養飼料片の分析およびデータの解析を試験 3 と同様におこなった。

3-3-3 結果

図 10 に反芻胃内 pH、アンモニア態窒素および総 VFA 濃度を示した。すべてのパラメーターは、尿素添加により増加した。

表 11 には、*in situ* 培養した茎部および葉部の乾物および NDF 消失率を、Ørskov and McDonald (1979) による消失モデルに当てはめた結果を示した。茎部葉部ともに尿素添加により潜在的可消化画分 (b) が高くなった。

また、表には示していないが、乾物および NDF の見かけの全消化管消化率が尿素添加により増加した ($P < 0.05$)。

表 12 には *in situ* 培養した飼料片の剪断エネルギーを厚さ別に示した。対照区の茎部では、いずれの画分においても培養時間の経過にともなって剪断エネルギーの変動は観察されなか

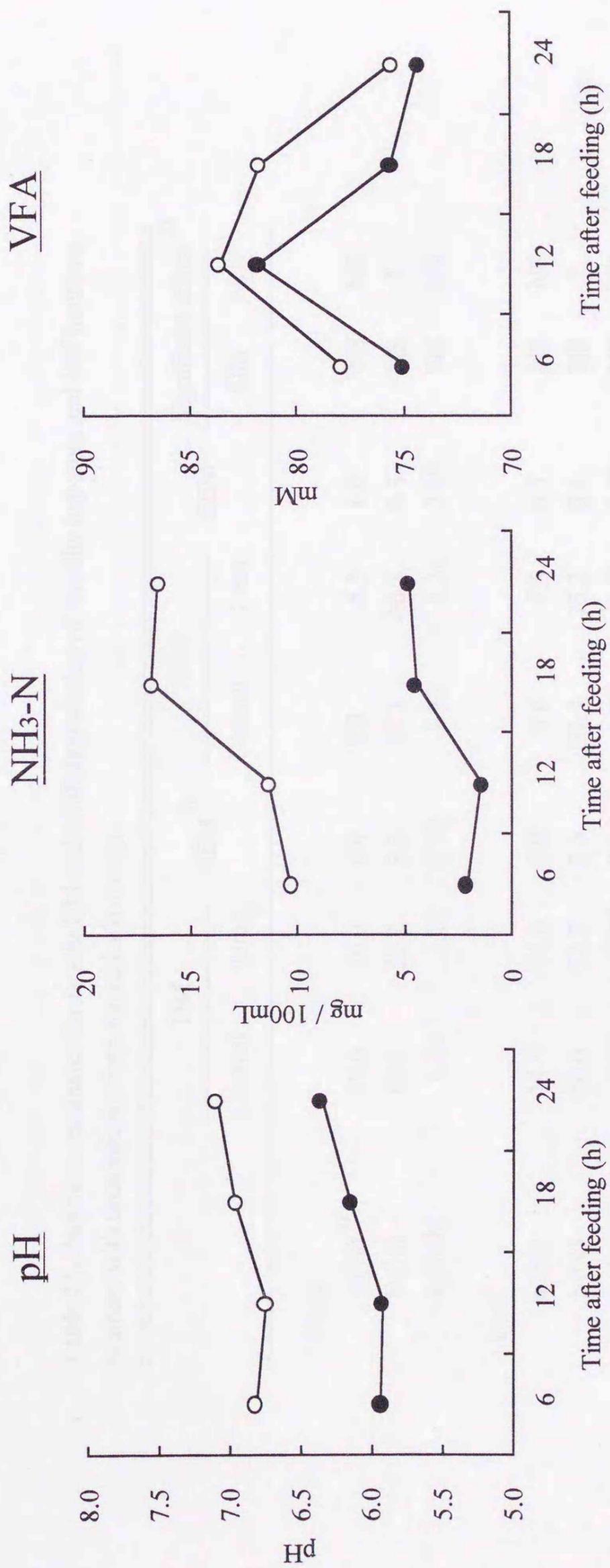


Figure 10. Effects of urea infusion on rumen pH, ammonia and total VFA concentrations in steers fed on timothy hay.

● , Control.
○ , Urea infusion.

Table 11. Parameter estimates for *in situ* DM and NDF degradation of timothy hay stem and leaf fractions in steers with urea infusion into the reticulo-rumen.

	DM		SEM ¹⁾		NDF		SEM		Significant effect ²⁾	
	Control	Urea	Control	Urea	Control	Urea	Control	Urea	DM	NDF
Stem										
a (%) ³⁾	19.6	16.0	0.4	0.4	8.9	5.5	1.6	1.6	NS	NS
b (%)	49.1	59.2	3.3	3.3	57.1	66.8	0.3	0.3	NS	*
k (%/h)	1.24	1.18	0.12	0.12	1.22	1.31	0.10	0.10	NS	NS
Leaf										
a (%)	14.5	14.0	0.9	0.9	9.6	7.5	0.5	0.5	NS	NS
b (%)	60.6	55.7	3.6	3.6	57.3	75.2	0.6	0.6	NS	*
k (%/h)	3.32	2.27	0.37	0.37	3.27	2.01	0.21	0.21	NS	NS

¹⁾Standard error of mean.

²⁾Significant effect of urea infusion: * P<0.05; NS, not significant.

³⁾a, b, k are parameters of the fitted model: $f(t)=a+b(1-\exp(-k \times t))$, where t (h) is incubation time and f(t) is NDF degradability (%).

Table 12. Shearing energy ($g \times cm$) of the large particles of stem and leaf (LP, $>2,360 \mu m$) grouped in thickness after *in situ* incubation using steers fed on timothy hay with urea infusion (Urea) into the reticulo-rumen.

	Thickness (cm)	Treatment	Incubation time (h)					SEM ¹⁾	Significant effect ²⁾	
			2	12	24	48	96		Incubation	Urea
Stem	0.15-0.20	Control	30.8	29.2	30.2	28.0	25.1	1.2	NS	**
		Urea	26.4	24.9	26.0	23.2	18.6	0.9	*	
	0.20-0.25	Control	47.0	48.0	50.8	45.6	45.4	1.7	NS	NS
		Urea	47.6	43.8	50.7	43.3	37.6	1.3	*	
Leaf	0.25-0.30	Control	108.5	115.3	113.5	89.1	93.6	6.2	NS	**
		Urea	94.3	89.4	84.3	74.0	71.5	4.8	NS	
	0.05-0.10	Control	2.8	2.3	2.2	1.9	1.8	0.1	**	*
		Urea	2.9	2.9	2.5	2.0	1.8	0.1	**	

¹⁾ Standard error of mean.

²⁾ Significant effects: Incubation, main effect of incubation time; Urea, main effect of urea infusion; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; NS, Not significant.

った。対照区の葉部では剪断エネルギーは経時的に低下した。尿素添加区では、茎部 0.15-0.20 および 0.20-0.25 画分で培養 2 時間よりも 96 時間の方が低く ($P < 0.01$)、0.25-0.30 画分でも低くなる傾向にあった ($P < 0.10$)。葉部では剪断エネルギーが経時的に低下した。茎部の厚さ 0.20-0.25cm 画分では尿素添加区の方が対照区よりも剪断エネルギーが低い傾向にあり ($P < 0.10$)、他の画分でも、尿素添加区の方が対照区よりも剪断エネルギーが低くなった。

表 13 に乾草および反芻時に吐き戻される大飼料片の茎部および葉部の乾物比、厚さおよび剪断エネルギーを示した。乾草の大飼料片中の茎部割合は吐き戻し大飼料片のそれより低く、一方、葉部割合は高かった。厚さおよび剪断エネルギーは、茎部、葉部ともに乾草中大飼料片の方が吐き戻し大飼料片よりも大きかった。両区とも、吐き戻し大飼料片に占める茎部の割合は経時的に増加し、逆に葉部割合は経時的に低下した。厚さは両区、茎部、葉部ともに経時的な一定の推移はみられなかった。剪断エネルギーは両区とも茎部で経時的に低下した。茎部、葉部ともに大飼料片中の割合および厚さは、対照区と尿素添加区で差が観察されなかった。しかし、剪断エネルギーは対照区よりも尿素添加区の方が低かった。

表 14 に採食および反芻時における 1 食塊あたりの微細化様相を示した。両区とも、反芻胃上層内容物中の大飼料片割合は経時的に低下した。飼料給与後 18-24 時間における反芻胃内大飼料片割合は尿素添加区の方が対照区よりも低い傾向にあっ

Table 13. Proportion, thickness and shearing energy of the large particles (>2,360 μ m) of stem and leaf from hay and regurgitated bolus taken from three steers fed on timothy hay with urea infusion into the reticulo-rumen.

	Hay			Regurgitated LP			SEM ²⁾	Significant effect		
	Control			Urea infusion				Urea	Period	U×P
	6-12 ¹⁾	12-18	18-24h	6-12	12-18	18-24h				
Stem										
Proportion of DM in LP (%)	71.4	90.0	93.2	87.8	88.1	94.3	0.9	NS	**	**
Thickness (cm)	0.18	0.13	0.12	0.12	0.11	0.11	0.00	NS	NS	NS
Shearing Energy (g×cm)	67.0	13.8	13.1	13.8	12.5	11.2	0.5	*	*	NS
Leaf										
Proportion of DM in LP (%)	21.0	8.7	2.5	9.2	9.1	4.5	0.6	NS	*	**
Thickness (cm)	0.11	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06	0.00	NS	NS	NS
Shearing Energy (g×cm)	6.5	1.7	1.2	1.8	1.3	1.2	0.2	NS	NS	*

1) Period after feeding (h)

2) Standard error of mean in regurgitated LP.

3) Significant effects in regurgitated LP: Urea, main effect of urea infusion; Period, main effect of period after feeding; U×P, interaction between urea infusion and period; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

Table 14. Characteristics of bolus before chewing, chewing activity and large particle (LP, >2,360 μ m) comminution per bolus during eating and rumination from three steers fed on timothy hay with urea infusion into the reticulo-rumen.

	Control						Urea infusion			SEM ²⁾	Significant effect of urea infusion ³⁾	
	Eating			Rumination			Eating				Rumination	
	6-12	12-18	18-24h ¹⁾	6-12	12-18	18-24h	6-12	12-18	18-24h		Eating	Rumination
LP in the dorsal sac (%)	-	27.2 ^a	20.3 ^b	18.6 ^b	-	26.8 ^a	22.7 ^b	14.8 ^c	0.8	-	NS	
Bolus before chewing												
LP (%)	99.6 ^a	34.0 ^b	24.4 ^c	19.3 ^d	99.6 ^a	31.8 ^b	28.0 ^b	18.0 ^c	0.9	-	NS	
LP (g)	18.8 ^a	7.3 ^b	7.9 ^b	5.1 ^c	22.2 ^a	7.6 ^b	7.1 ^b	5.3 ^b	0.4	*	NS	
Chewing												
Time (sec)	43.2 ^b	64.2 ^a	60.6 ^a	55.6 ^a	44.3 ^b	59.0 ^a	59.8 ^a	59.8 ^a	1.5	NS	NS	
Number	29.6 ^b	50.4 ^a	49.7 ^a	47.7 ^a	31.3 ^b	49.0 ^a	49.4 ^a	49.3 ^a	1.0	*	NS	
LP comminution												
% ⁴⁾	41.2 ^c	58.2 ^b	65.5 ^b	78.8 ^a	41.2 ^b	70.1 ^a	72.4 ^a	80.2 ^a	1.7	NS	*	
g	7.8 ^a	4.3 ^b	5.1 ^b	4.0 ^b	9.1 ^a	5.3 ^b	5.2 ^b	4.2 ^b	0.4	NS	NS	
Specific fragility ⁵⁾	11.4 ^b	11.5 ^b	13.4 ^b	16.6 ^a	10.1 ^b	14.4 ^a	14.6 ^a	16.4 ^a	0.4	NS	*	

1) Period after feeding (h).

2) Standard error of mean.

3) Significant effect of intake during eating or rumination; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

4) Comminuted LPg / LPg in the Retained bolus \times 100

5) Comminuted LP mg / Chews / LPg in the Retained bolus

a,b,c,d; Means with different superscripts in the same row within the same intake level are significantly different (P<0.05).

たが ($P < 0.10$)、これ以外の時間帯では両区間に差はみられなかった。採食時では、咀嚼を受ける大飼料片重量および食塊あたりの咀嚼回数以外は、両区間で差はなかった。反芻時では、両区とも反芻胃上層内容物中の大飼料片割合が経時的に低下するのにもない、'Retained'食塊中の大飼料片割合が経時的に低下した。'Retained'食塊中大飼料片重量は対照区で経時的に低下し、尿素添加区でも、18-24時間における大飼料片重量は6-12時間よりも低い傾向を示した ($P < 0.10$)。両区とも食塊あたりの咀嚼回数および時間は採取期による差はみられなかった。大飼料片微細化割合は、対照区では6-12時間に比べ18-24時間で高くなり、尿素添加区でも6-12時間より18-24時間で高くなる傾向 ($P < 0.10$) が観察された。対照区においては18-24時間で他の時間帯よりも Specific fragility は高くなり、尿素添加区でも18-24時間は6-12時間よりも Specific fragility が高くなる傾向にあった ($P < 0.10$)。大飼料片微細化量は両区とも経時的な推移は観察されなかった。反芻時において、大飼料片の微細化割合は対照区に比べて尿素添加区の方が高く、Specific fragility も高い傾向にあった ($P < 0.10$)。大飼料片微細化量は処理間で差が認められなかったが、全期間を通して比較すると、尿素添加区の方が対照区よりも高くなる傾向が観察された ($P = 0.15$)。

表 15 に一日の採食および反芻時咀嚼活動と大飼料片の微細化量を示した。採食時微細化量は尿素添加による影響を受けなかったが、採食時間は尿素添加区の方が短い傾向を示した

Table 15. Total chewing activity and large particle (LP, >2,360 μ m) comminution in steers fed on timothy hay with urea infusion into the reticulo-rumen.

	Duration		Chewing		Rumination cycle		LP comminution	
	min	no.	/ min	no.	Chews	g/ cycle	g	/ LP intake(%) ¹⁾
Control								
Eating	272	13956	51.3				2967	41
Rumination -6 ²⁾	25	1207	47.6	30	43.3	4.3	118	
6-12	135	6312	47.1	126	50.4	4.3	524	
12-18	153	7202	46.8	153	49.7	5.1	786	
18-24	113	5979	53.6	121	47.7	4.0	486	
Total	426	20699	48.5	429	47.8		1915	40
Total	698	34655	49.6				4882	81
Urea infusion								
Eating	234	13454	58.3				2950	41
Rumination -6	54	2556	48.0	55	47.1	5.3	286	
6-12	147	7368	50.1	151	49.0	5.3	825	
12-18	149	7434	49.7	149	49.4	5.2	806	
18-24	115	5701	49.9	114	49.3	4.2	485	
Total	464	23059	49.8	469	48.7		2402	48
Total	699	36513	52.3				5352	89

¹⁾ Corrected with fermented DM.

²⁾ Period after feeding.

($P < 0.10$)。反芻時の咀嚼時間および咀嚼回数は尿素添加による影響を受けなかった。反芻時には、尿素添加によって1食塊あたりの微細化量が増加する傾向を示したために、反芻時総微細化量は増加する傾向にあった($P < 0.10$)。その結果、摂取大飼料片量に占める採食時微細化量の割合は処理間で同程度であったが、反芻時微細化量の割合は尿素添加によって高くなる傾向を示した($P < 0.10$)。

3-3-4 考察

本試験では尿素添加により反芻胃内の発酵環境を変動させ、吐き戻し大飼料片の重量は変えずに強度だけを変動させることを意図した。その結果、尿素添加により吐き戻し大飼料片の剪断エネルギーが低下したが(表13)、吐き戻し大飼料片重量および咀嚼回数は変動しなかった(表14)。このため、発酵による飼料片強度の低下が反芻時微細化におよぼす影響を検討できるものと考えられた。

尿素添加と飼料片強度との関係

反芻胃内に流入した尿素はただちに分解され、アンモニアが生じる。反芻胃内アンモニア体窒素濃度は微生物体タンパク質合成の指標となり、 $5\text{mg}/100\text{mL}$ が至適濃度の下限とされている(小原, 1998)。本試験における対照区のアンモニア態窒素濃度は $5\text{mg}/100\text{mL}$ 以下であり、細菌の増殖が窒素源の不足によ

り抑制されていたことが推察される。このことは、対照区における *in situ* 培養した茎部で、いずれの培養時間においても、剪断エネルギーが一定だったのに対して、尿素添加により剪断エネルギーが経時的に低下したことから推測される(表 12)。窒素不足下で尿素が添加されたことにより、細菌の増殖が活発になり、発酵産物である VFA 総量が増加したのだろう。反芻胃内細菌は菌種により利用できる窒素の形態が異なり、繊維質分解菌は窒素源としてアンモニア態窒素を要求するものが多い(Hungate, 1966)。このため尿素添加により、特に繊維質分解菌の増殖が活発となり、飼料の潜在的 NDF 分解可能画分が増加したのだろう。

in situ 培養飼料片は、尿素添加により剪断エネルギーが低下した(表 12)。また、無添加区における *in situ* 培養飼料片の茎部剪断エネルギーは、培養時間を通して変化が認められなかったが、尿素添加により茎部の剪断エネルギーは経時的に低下した。Fonty *et al.* (1999) は、*F. Succinogenes* あるいは *R. flavefaciens* で培養した大麦稈は滅菌培地で培養した場合よりも剪断強度が低下したことを報告している。このことから、本試験結果は、尿素添加により繊維質分解菌が増殖し、繊維質の分解が促進され、植物体が脆弱化したことを示唆している。

繊維質発酵と微細化との関係

吐き戻し大飼料片の厚さに影響する要因として、採食時の咀嚼と反芻胃内での磨砕による損傷が考えられる。乾草茎部と

吐き戻し大飼料片茎部の厚さを比較した場合、咀嚼により茎部の厚さは低下していた（表 13）。尿素添加により繊維質分解菌が増殖した場合、飼料片強度の低下は反芻胃内における磨砕にも影響をおよぼし、厚さが低下することが考えられたが、処理間で差が観察されなかった。これは本試験で用いた乾草の刈り取り時期が遅かったことが原因と考えられる。イネ科茎部は熟期が進行すると、表皮は厚くなりリグニン化することから（Wilson and Kennedy, 1996）、発酵により脆弱化しても飼料片どうしの磨砕程度では損傷を受けなかったのだろう。

採食時における食塊あたりの大飼料片微細化量は尿素添加区の方が対照区よりも高かったが、採食時の総微細化量では処理区間で差はなかった（表 15）。このため、採食後の 6-12 時間では、反芻胃上層内容物の大飼料片割合は両区同程度となり、吐き戻し後、咀嚼を受ける大飼料片重量および咀嚼回数に処理区による差は認められなかった（表 14）。このことから、尿素添加による微細化割合および Specific fragility の増加には吐き戻し飼料片の強度のみが影響していたと考えられる。

吐き戻し大飼料片についても、*in situ* 培養飼料片と同様、尿素添加により強度が低下し、反芻時大飼料片微細化割合が増加した。尿素添加により吐き戻し大飼料片の厚さ、茎葉比および重量は変わらず、強度のみが低下していたことから、反芻時微細化に影響した要因は、尿素添加による微生物増殖とそれにとりまなう植物細胞の部分分解の促進が飼料片の強度低下を招いたことによるものであった。このことから、発酵が飼料片強度

の低下を通して反芻時微細化に影響することが明らかとなった。

1日の反芻時微細化様相

本試験では、尿素添加によって反芻時間は影響を受けなかった。しかし、Freer *et al.* (1962) は、燕麦桿制限給与下のウシで、反芻胃内に尿素を連続注入することにより、また、大下ら (1997b) はチモシー乾草制限給与下のめん羊に大豆粕を給与することにより、反芻時間が減少したことを報告している。本試験結果とこれらの報告との相違は、飼料摂取量の違いによるものなのかもしれない。Freer *et al.* (1962) は成牛に約 3kg の燕麦桿を給与しており、大下ら (1997b) は代謝体重あたり約 40g の乾草を給与している。体重あたりの飼料摂取量としては、両者とも本試験における飼料摂取量の半分以下であった。飼料摂取量の低い方が反芻胃内容物の滞留時間は長くなるため (Okine and Mathison, 1991)、反芻胃内微生物増殖が飼料片脆弱化におよぼす影響も受けやすかったのかもしれない。

反芻時間は両区で同程度であったため、反芻時総微細化量は、尿素添加区の方が大きくなり、飼料給与後 18-24 時間における反芻胃内上層大飼料片割合は、尿素添加区の方が無添加区に比べ低くなった。このため、反芻胃内の充満度は尿素添加区の方が低くなっていたものと考えられ、これが尿素添加区における採食時間の短縮に影響したと考えられる。同様の現象は Freer *et al.* (1962) も観察している。

3-4 小括

第2章で指摘した吐き戻しあたりの大飼料片微細化様相に影響する要因である大飼料片の重量と強度について、別々に検討するために本章では2つの試験を行った。試験3では、飼料摂取量を2段階（低摂取量区および高摂取量区）に設定し、吐き戻し量を変動させることを意図した。また、試験4では、尿素を反芻胃内に添加することにより、吐き戻し大飼料片強度におよぼす繊維質発酵の影響を変動させた。どちらの試験も食道フィステルおよび反芻胃フィステルを形成した去勢牛3頭を供試し、1日1回の給与下で、反芻時食塊および反芻胃内容物を経時的に採取することによって検討した。

飼料摂取量を変動させた場合、低摂取量区よりも高摂取量区で‘Retained’食塊中の大飼料片重量が高くなった。これは、反芻胃内上層内容物中の大飼料片割合は変動しなかったが、吐き戻し食塊重量が増加したためであった。また、吐き戻し大飼料片の強度は飼料摂取量の影響を受けなかった。高摂取量区は低摂取量区よりも咀嚼回数は増加したが、大飼料片の微細化割合は低下したことから、咀嚼による微細化の効率が低下したものと考えられた。

尿素を添加した場合、咀嚼を受ける大飼料片の重量および厚さは変動しなかったが、強度は尿素添加により低下した。これは窒素源が不足していた対照区に対して、尿素添加により、窒素源として主にアンモニアを要求する繊維質分解菌が増殖し、繊維質発酵が促進されたためと考えられた。これにより1食塊

あたりの大飼料片微細化量は増加する傾向にあり、反芻時の総微細化量も増加した。

以上から、咀嚼を受ける大飼料片重量の増加は、1食塊あたりの大飼料片微細化効率の低下をもたらすが微細化量としては増加すること、繊維質発酵による強度の低下は微細化効率を増加させ、微細化量が増加することが明らかとなった。このことから、1食塊あたりの微細化量は吐き戻される大飼料片の重量と強度により決まることが明らかとなった。

第4章 総合考察

反芻時の大飼料片微細化量には、咀嚼を受ける大飼料片の重量と強度が関与していることが明らかとなった。摂取された大飼料片は、採食時咀嚼、反芻時咀嚼および反芻胃内における飼料片どうしの磨砕といった各過程において微細化されていくが、これらの微細化は相互に密接に関連していると考えられる。本章では、試験3および4で得られたデータを用い、大飼料片重量および強度が各微細化に影響する要因を検討し、採食時微細化および磨砕による微細化と反芻時微細化との関連について考察した。考察にあたっては、McLeod and Minson (1988) による、一日の大飼料片流入量に対する、各過程における大飼料片微細化量の割合（次式）を適用することにより検討した。

大飼料片摂取量（100%）

= 採食咀嚼時大飼料片微細化量 / 大飼料片摂取量 (%)

+ 反芻咀嚼時大飼料片微細化量 / 大飼料片摂取量 (%)

+ 磨砕による大飼料片微細化量 / 大飼料片摂取量 (%)

+ 反芻胃を通過した大飼料片重量 / 大飼料片摂取量 (%)

計算にあたり、大飼料片のまま反芻胃を通過する画分は、乾草と糞中大飼料片の ADL 含量から発酵による乾物消失分を補正し、1日の大飼料片補正後乾物摂取量（3-2-2-7 参照）に対する糞中大飼料片補正後乾物重量の割合で表した。磨砕による大飼料片微細化量の大飼料片乾物摂取量に対する割合は、次式

より求めた。

磨砕による大飼料片微細化量/大飼料片摂取量 (%)

= 100 (%)

— 採食咀嚼時大飼料片微細化量/大飼料片摂取量 (%)

— 反芻咀嚼時大飼料片微細化量/大飼料片摂取量 (%)

— 反芻胃を通過した大飼料片重量/大飼料片摂取量 (%)

試験 3 で給与した乾草（出穂期刈り取りオーチャードグラス乾草）は、試験 4 で給与した乾草（結実期刈り取りチモシー乾草）に比べ CP 含量が高く（11.8 vs. 8.1%）、NDF 含量が低い（64.2 vs. 73.9%）ことから、前者を高品質乾草、後者を低品質乾草とした。また、高品質乾草給与下の高摂取量区と低品質乾草給与下の飼料摂取量は、それぞれ 80g/代謝体重および 70g/代謝体重と差は小さかったため、両者を高摂取量区とした。低品質乾草と高品質乾草の比較のために、反芻胃内培養飼料片の強度、乾草および吐き戻し大飼料片の性状、および食塊あたりの微細化様相をそれぞれ、表 16, 17 および 18 に示した。大飼料片摂取量に対する採食時、反芻時および磨砕時微細化量の各割合を表 19 および図 11 に示した。

採食時微細化

低品質乾草よりも高品質乾草の方が茎部割合が低く、平均剪断エネルギーが低かった（表 17）。このような乾草を摂取し

Table 16. Shearing energy of the large particles of stem and leaf (>2,360 μ m) grouped in thickness after *in situ* incubation using steers fed high quality (Orchardgrass) and low quality grass (Timothy) hay.

	Thickness (cm)	Hay quality	Incubation time (h)					SEM ¹⁾	Significant effect ²⁾	
			2	12	24	48	96		Incubation	Quality
Stem	0.15-0.20	High	22.9	28.3	22.3	25.2	20.7	1.7	NS	**
		Low	30.8	29.2	30.2	28.0	25.1	1.2	NS	
Leaf	0.20-0.25	High	42.0	48.1	45.4	40.6	31.5	1.9	*	*
		Low	47.0	48.0	50.8	45.6	45.4	1.7	NS	
Leaf	0.05-0.10	High	2.5	2.3	2.3	2.1	1.6	0.1	**	NS
		Low	2.8	2.3	2.2	1.9	1.8	0.1	NS	

¹⁾ Standard error of mean.

²⁾ Significant effects: Incubation, main effect of incubation time; Quality, main effect of hay quality; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

Table 17. Stem and leaf proportions, thickness and shearing energy in the large particle (LP, >2,360 μ m) of bolus before chewing during eating and rumination in steers fed high quality grass (Orchardgrass) hay and low quality grass (Timothy) hay.

	High quality				Low quality				SEM ²⁾		Significant effect ³⁾			
	Eating		Ruminating		Eating		Ruminating		6-12	12-18	18-24h	18-24h	Quality	Period Q x P
	6-12	12-18	18-24h ¹⁾	6-12	12-18	18-24h								
Stem														
Proportion of DM in LP (%)	57.0	62.9	53.4	54.7	71.4	90.0	92.6	93.2	1.8	**	**	NS	**	NS
Thickness (cm)	0.14	0.15	0.13	0.13	0.18	0.13	0.12	0.12	0.00	**	**	NS	*	NS
Shearing Energy (g x cm)	39.0	15.3	12.9	12.2	67.0	15.9	13.8	13.1	0.7	NS	NS	NS	NS	NS
Leaf														
Proportion of DM in LP (%)	37.0	15.3	8.7	7.8	21.0	8.7	5.8	2.5	0.7	*	*	NS	NS	*
Thickness (cm)	0.08	0.06	0.07	0.07	0.11	0.06	0.07	0.06	0.00	NS	NS	NS	NS	*
Shearing Energy (g x cm)	6.0	2.2	1.9	2.0	6.5	1.7	2.2	1.2	0.2	NS	NS	NS	*	**

¹⁾ Period after feeding (h)

²⁾ Standard error of mean in regurgitated LP.

³⁾ Significant effects in regurgitated LP: Quality, main effect of urea infusion; Period, main effect of period after feeding; Q x P, interaction between hay quality and period; **P<0.01; *P<0.05; NS, Not significant.

Table 18. Characteristics of bolus before chewing, chewing activity and large particle (LP, >2,360 μ m) comminution per bolus during eating and rumination in steers fed high quality grass (Orchardgrass) hay and low quality grass (Timothy) hay at high intake level.

	High quality			Low quality			SEM ²⁾	Significant effect of quality ³⁾			
	Eating	Ruminating		Eating	Ruminating			Eating	Rumination		
		6-12	12-18		18-24h ¹⁾	6-12				12-18	18-24h
LP in the dorsal sac (%)	-	36.0 ^a	29.7 ^b	23.8 ^c	-	27.2 ^a	20.3 ^b	18.6 ^b	0.8	-	*
Bolus before chewing											
LP (%)	89.9 ^a	46.6 ^b	36.4 ^{bc}	27.0 ^c	99.6 ^a	34.0 ^b	24.4 ^c	19.3 ^d	1.0	-	**
LP (g)	18.3 ^a	11.7 ^b	8.6 ^{bc}	6.2 ^c	18.8 ^a	7.3 ^b	7.9 ^b	5.1 ^c	0.5	NS	*
Chewing											
Time (sec)	28.5 ^b	58.1 ^a	58.2 ^a	55.2 ^a	43.2 ^b	64.2 ^a	60.6 ^a	55.6 ^a	1.1	*	NS
Number	27.3 ^b	50.0 ^a	49.3 ^a	46.7 ^a	29.6 ^b	50.4 ^a	49.7 ^a	47.7 ^a	1.2	NS	NS
LP comminution											
% ⁴⁾	24.5 ^c	57.6 ^b	65.9 ^a	71.7 ^a	41.2 ^c	58.2 ^b	65.5 ^b	78.8 ^a	1.7	*	NS
g	4.5 ^{ab}	6.7 ^a	5.7 ^{ab}	4.4 ^b	7.8 ^a	4.3 ^b	5.1 ^b	4.0 ^b	0.3	*	*
Specific fragility ⁵⁾	8.0 ^c	11.5 ^b	13.4 ^{ab}	15.5 ^a	11.4 ^b	11.5 ^b	13.4 ^b	16.6 ^a	0.8	*	NS

1) Period after feeding (h).

2) Standard error of mean.

3) Significant effect of intake during eating or rumination; **, P<0.01; *, P<0.05; NS, Not significant.

4) Comminuted LPg / LPg in the Retained bolus \times 100

5) Comminuted LP mg / Chews / LPg in the Retained bolus

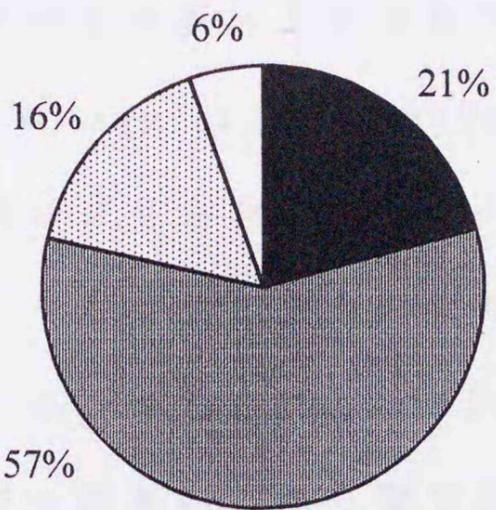
a,b,c,d; Means with different superscripts in the same row within the same intake level are significantly different (P<0.05).

Table 19. Contribution of eating, rumination, detrition and passage to the total large particle (LP, >2,360 μ m) comminution (%) in steers fed high quality grass hay at two intake levels, and fed low quality grass hay with or without urea infusion into the reticulo-rumen.

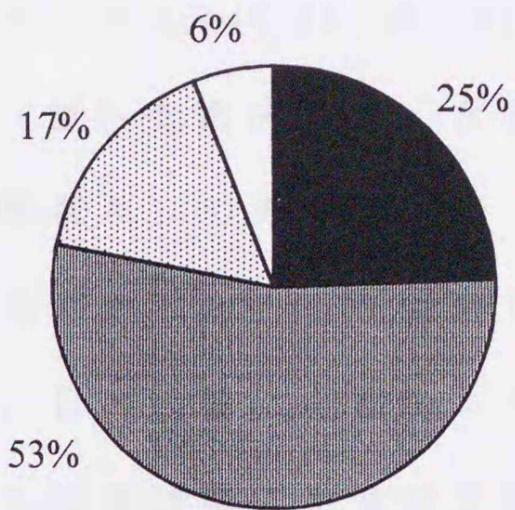
	High quality hay		Low quality hay		SEM ¹⁾
	Low intake	High intake	High intake	High intake + Urea	
Eating	21.2 ^b	24.5 ^b	41.2 ^a	41.2 ^a	0.8
Rumination	57.1 ^a	53.1 ^{ab}	39.7 ^{cd}	47.5 ^{bd}	1.5
Detrition	16.3 ^a	16.5 ^a	16.8 ^a	9.3 ^a	1.8
Passage	5.5 ^a	5.9 ^a	2.2 ^b	2.0 ^b	0.3

¹⁾ Standard error of mean.

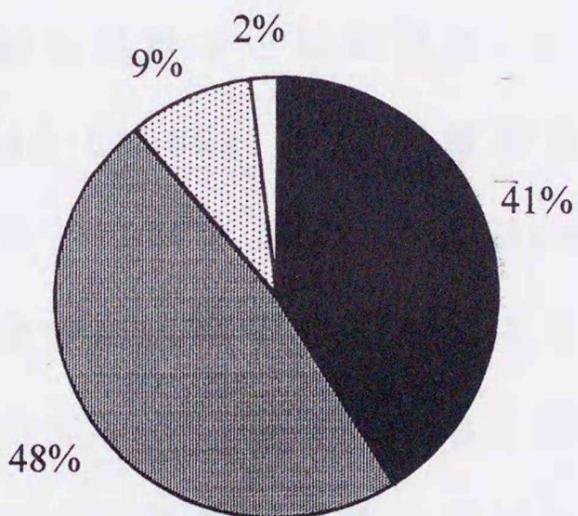
^{a,b,c,d}; Means with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).



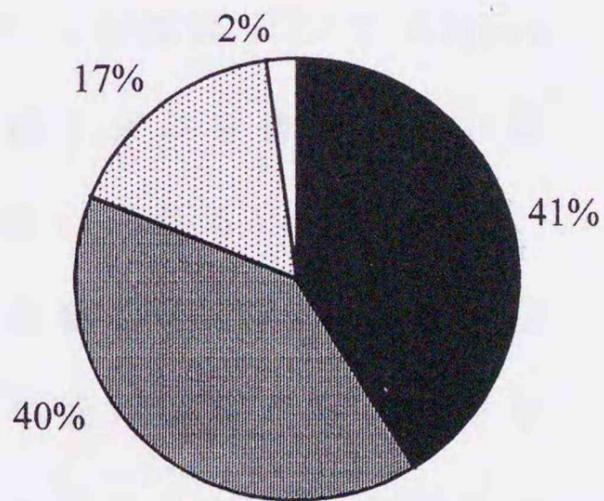
(a) High quality - Low intake



(b) High quality - High intake



(c) Low quality - High intake + Urea



(d) Low quality - High intake

Figure 11. Proportion of the comminuted large particle (LP, $>2,360 \mu m$) per day by eating, rumination, detrition and passage in steers fed high quality grass hay (Orchardgrass) at two intake levels (a and b), and low quality grass hay (Timothy) with or without urea infusion into the reticulo-rumen (c and d).

■ ; Eating ▨ ; Rumination ▩ ; Detrition □ ; Passage

た場合、高品質乾草—高摂取量区の方が、低品質乾草—高摂取量区よりも採食時微細化の占める割合が低かった（図 11, (b) vs. (d)）。これは、食塊あたりの大飼料片微細化量が高品質区の方が低品質区よりも低かったためであった（ $P < 0.05$; 表 18）。

Wilson *et al.* (1989a) は、CWC（細胞壁構成成分）含量の高いグリーンパニック（暖地型イネ科牧草）の方がライグラスよりも咀嚼による飼料片長の減少が大きかったことを報告している。また、Lee and Pearce (1984) は、粉碎に必要なエネルギーの高い、わら類で他の乾草よりも採食時嚥下食塊の平均粒子が低くなる傾向にあるデータを示している。このような、粗剛な飼料ほど採食時に、より微細化される原因として Wilson *et al.* (1989a) は、繊維質含量あるいはリグニン含量が高い飼料ほど“砕け易さ (brittleness)”が高い、あるいは動物が、採食時には嚥下しやすくなるまでしか咀嚼していないことを推察している。後者の場合、飼料片強度の低い飼料の方が嚥下しやすく嚥下可能なサイズは大きいものと考えられる。本試験においては、1 食塊あたりの咀嚼回数は同程度であったが、1 食塊あたりの咀嚼時間は低品質区の方が高品質区よりも長く（ $P < 0.05$ ）、咀嚼速度が遅かった（0.69 vs. 0.96 回/秒; $P < 0.05$; 表 18）。Gill *et al.* (1966) も、ウシにおいて乾草の方が生草よりも咀嚼速度は遅いという報告をしておいた。強度の高い低品質区で咀嚼速度が高品質区よりも低かったことは、動物が咀嚼力を大きくしていた結果なのかもしれない。

乾草茎部の平均強度および厚さは、低品質乾草の方が高品質

質乾草よりも高かったが、採食終了後、最初の採取期 6-12 時間で吐き戻される大飼料片茎部の厚さには、乾草間の差はなくなってしまった。このことは、低品質区では高品質区よりも採食時咀嚼による厚さの低下が大きかったことを示唆している。

Wilson and Kennedy (1996) は、暖地型イネ科牧草の茎部は寒地型イネ科牧草よりも、咀嚼による飼料片長の減少が大きだけでなく、幅の減少も大きいことを報告しており、本試験結果と一致するだろう。このことは前段落で考察したように、飼料の碎け易さ、あるいは動物が低品質乾草摂取時に咀嚼力を高めていたことが大飼料片の微細化だけでなく損傷をも促進し、その結果、厚さあるいは幅が減少していたものと考えられる。

以上から、採食時における咀嚼では強度が高い乾草ほど微細化および厚さの低下が促進されていることが明らかとなり、これには、強度の高い飼料片ほど碎け易いあるいは動物が咀嚼力を高めていたためと考えられた。

反芻時微細化

反芻時微細化の割合は、尿素無添加区よりも尿素添加区の方が高い傾向にあった ($P < 0.10$; 図 11, (c) vs (d))。これは、処理区間で反芻時食塊数に有意差はなかったが (表 15)、尿素添加により繊維質分解菌の増殖が促進され、飼料片強度が低下した結果、食塊あたりの微細化効率が尿素添加区の方が高くなったためであった (表 14)。

飼料摂取量が同じで乾草の品質が異なる場合、高品質区の

方が低品質区よりも反芻時微細化の占める割合は高かった(図, 11; (b) vs (d))。これは、高品質区の方が低品質区よりも反芻時食塊数が多く(表 10 と 15)、1食塊あたりの微細化量も高かったためであった(表 18)。

in situ 培養飼料片茎部の潜在的可消化 NDF 画分は、高品質区の方が低品質区よりも高くなる傾向にあり、DM 画分では高品質区の方が有意に高くなった ($P < 0.05$; 表 11 と 6)。このことから、*in situ* 培養飼料片の茎部剪断エネルギーは、高品質区の方が低品質区よりも低くなった(表 16)。これは尿素を添加した場合と同様、高品質区では低品質区に比べ繊維質分解菌の活性が高く、繊維質分解が促進されていた事によるだろう。しかし、吐き戻し大飼料片茎部は、低品質区よりも高品質区の方が厚く、剪断エネルギーは両区に差がなくなった。低品質区で厚さが低かったことは、すでに考察しているように、低品質区では高品質区よりも採食時の咀嚼力を高めていたことにより、反芻胃内へ流入する大飼料片の厚さが低下していたためと考えられる。このため高品質区の方が低品質区よりも、茎部本来の強度は低く、繊維質発酵による強度の低下程度も大きいのが、採食時にあまり咀嚼されていないために、厚さと相殺されて、吐き戻し大飼料片茎部の強度は両区で同程度になってしまったのだろう。その結果、吐き戻し大飼料片の Specific fragility は両品質とも同程度となった(表 18)。

採食時の総微細化量は高品質区の方が低品質区よりも低かったため(表 10 と 15)、反芻胃上層内容物中の大飼料片割合は

高品質区の方が高くなった（表 18）。Ichinohe *et al.* (1994) も、イネ科早刈り乾草は遅刈り乾草に比べ、採食時食塊中の大飼料片割合が高く、反芻胃内大飼料片割合は早刈り乾草の方が遅刈り乾草よりも低い傾向にあったことを報告している。その結果、反芻時に吐き戻され咀嚼を受ける大飼料片重量は低品質区よりも高品質区の方が高くなり、微細化量は高品質区の方が高くなった（表 18）。吐き戻し大飼料片の剪断エネルギーに品種間差がなかったため、処理間の微細化量の違いは吐き戻し大飼料片重量の差が影響していたものと考えられる。反芻時食塊数は、高品質区の方が低品質区よりも多かった（ $P < 0.05$ ；表 10 と 15）。これも、採食時の微細化量が少なかった高品質区の方が低品質区よりも反芻胃へ流入する大飼料片量が多かったことによるだろう。この反芻胃内における大飼料片割合の高さが、反芻を誘起する機械的受容器の刺激を増加させていたものと考えられる（Campion and Leek, 1996）。

Wright and Illius (1995) は、引っ張りよりも剪断の方が牧草の破断に必要なエネルギーが高いことを報告し、放牧下の反芻家畜では喫食時の牧草の引きちぎりよりも、咀嚼の方がエネルギーが必要であることを指摘している。また、本研究から採食時に咀嚼される飼料片よりも反芻時に咀嚼される飼料片の方が、水和、繊維質の発酵および滞留時間の影響を受けているため、剪断エネルギーが低いことが示された。これらのことから一つの仮説ではあるが、採食時に牧草を引きちぎること、あまり咀嚼せずに嚥下してしまうこと、反芻胃内に滞留し強度の

低下した飼料片を反芻時に咀嚼することといった、放牧下における反芻家畜の一連の物理的消化活動は、咀嚼に要するエネルギーを最小にするようになされているのかもしれない。

磨砕による微細化

磨砕により微細化される画分は、尿素添加区で他の処理区よりも低い傾向にあった ($P=0.13$; 図 11, (d) vs (a, b, c))。尿素添加による飼料片の強度低下は、磨砕による微細化量も増加させるものと考えられるが、実際には磨砕時微細化の占める割合は低下する傾向にあった。磨砕もしくは大飼料片のまま通過する画分が、葉部の 20% に比べて茎部では 8% と低く (表 5)、磨砕により微細化する画分のほとんどは葉部であると考えられる。低品質乾草給与下では乾草の葉部割合が低いため (表 17)、反芻胃内大飼料片に占める葉部の割合は低いと考えられる。このことから、葉部強度の低下が磨砕時微細化量におよぼす影響があったとしても、大飼料片全体でみた場合、その影響は小さいだろう。したがって、強度低下が磨砕時微細化におよぼす影響は、反芻時微細化におよぼす影響に比べて小さかったものと考えられる。

反芻胃通過画分

大飼料片のままで反芻胃からの通過する画分の割合は、飼料摂取量や尿素添加の影響を受けなかったが乾草の品質により異なり、低品質区の方が高品質区よりも低かった (図 11, (c, d))

vs. (a, b))。反芻胃からの通過は、茎部よりも強度の低い葉部の方が容易であることが考えられる。2章において、茎部よりも葉部で反芻胃内での磨砕もしくは大飼料片のまま通過する画分が高かったことも(表5)、このことを示唆しているだろう。飼料片強度の低い、高品質乾草の方が低品質乾草よりも乾草中の葉部割合は高いことから(表8と13)、反芻胃内における葉部大飼料片の割合も低いと思われる。この葉部割合の違いが、大飼料片のままでの通過画分割合の変動に影響したものと考えられる。

反芻時微細化のメカニズム

反芻時の大飼料片総微細化量に影響する要因を図12に示した。反芻時の大飼料片総微細化量は吐き戻し食塊数と1食塊あたり微細化量で表され、1食塊あたりの大飼料片微細化量は吐き戻し大飼料片量と微細化効率によって決まる。このうち微細化効率は吐き戻し大飼料片量と、この大飼料片の強度の影響を受けており、強度には大飼料片の厚さ、茎部および葉部の割合、および反芻胃内での繊維質発酵や水和による強度の低下が影響していた。吐き戻し大飼料片の厚さには採食時咀嚼が影響しており、繊維質発酵や水和にも反芻時咀嚼による微細化や厚さの低下程度が影響していたものと考えられる。採食時咀嚼の微細化量は飼料片強度の影響を受けていたことから、乾草摂取量と強度が反芻胃内へ流入する大飼料片量を決定し、この流入した大飼料片量が、反芻時の吐き戻し回数および吐き戻し大飼

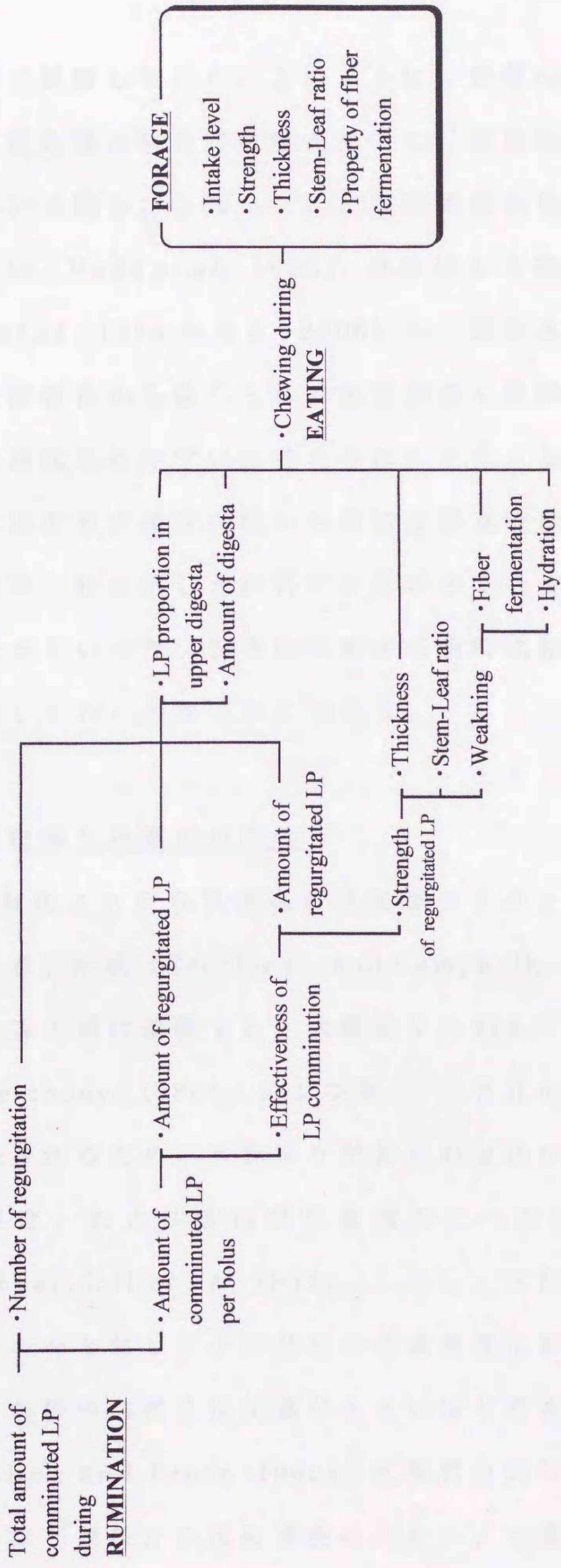


Figure 12. Diagram of factors affecting total comminuted large particles (LP) during rumination .

料片量に影響していた。このように、乾草の物理、化学的特性および摂取量は採食時咀嚼を介して、反芻時微細化に影響していることが明らかとなった。反芻時微細化量の刈り取り時期による違い (Ueda *et al.*, 1996)、草種による違い (Grenet, 1989; Ueda *et al.*, 1996; 鈴木ら, 2000) は、飼料本来がもっている強度と発酵特性から論じられ、強度が低く発酵特性の優れている方が微細化されやすいと考えられてきた。しかし、本章で示したように乾草の強度が低いものほど採食時の微細化量は少なく、その結果、吐き戻し大飼料片の量が多くなり反芻時微細化量が高くなるといった、採食時咀嚼が反芻時微細化におよぼす影響も考慮していく必要があるだろう。

反芻時微細化促進の可能性

微細化され反芻胃通過が可能なサイズとなった飼料片でも、その比重、形状 (Troelsen and Campbell, 1986)、ラフト (反芻胃内容上層に位置する、大飼料片のからまりあった層) の存在 (Faichney, 1986)、および第二・三胃孔の開口度により通過が制限されるため、大飼料片微細化の促進がただちに飼料片通過の促進、および自由摂取量増加につながるわけではない (Lechner-doll *et al.*, 1991)。しかし、大飼料片微細化はラフトの縮小をとおして小飼料片の通過速度に影響するだろう。また、反芻胃内飼料片は比重が大きいほど滞留時間は短くなるが (Campling and Freer, 1962)、反芻胃内飼料片のサイズが小さいものほど飼料片の沈降速度は大きく、比重が大きいことから

(Sutherland, 1988)、微細化は比重の点からも飼料片の反芻胃通過に貢献しているものと考えられる。飼料片は採食時咀嚼および反芻時咀嚼を受けることにより、反芻胃内微生物による繊維質分解が促進される(鈴木ら, 2000)。このことから、反芻時微細化を促進することにより、飼料摂取量および繊維質発酵が促進されるものと考えられる。本研究から、反芻時総微細化量には食塊数(吐き戻し回数)、大飼料片の吐き戻し量および大飼料片の厚さや強度が影響していることが明らかにされたことから、これらの要因に着目し、反芻時微細化量を促進させる可能性を検討した(表 20)。

ブラシの反芻胃内投与は、反芻胃壁粘膜中の機械受容器を刺激し、吐き戻し回数を増加させる。この効果は、濃厚飼料多給下における受容器刺激因子が少ないときに有効となるため(Welch and Smith, 1971; Campion and Leek, 1996; 堀口・高橋, 2000)、粗飼料多給下では効果はあまり期待できないだろう。吐き戻し大飼料片量について、Waghorn *et al.* (1986) はヒツジで、乾草給与量が同じ場合、1日1回給与下では反芻胃内大飼料片(>1.0mm)割合が38.7%から21.0%まで変動するのに対して、1時間毎に給与した場合35.8%であることを報告しており、給与回数の増加により、吐き戻し大飼料片量に変動している可能性がある。マメ科牧草において、刈り取り後の乾燥速度は葉部よりも茎部の方が著しく遅い。刈り取り時の磨砕はこの乾燥速度を早めるだけでなく、反芻胃内微生物が付着可能な面積を増加させ、NDF分解速度を高める(Hintz *et al.*, 1999)。

Table 20 . Possible improvement in total LP comminution during rumination.

Factors to be improved	Methods	Actions	References
Number of regurgitation	Dosing of mechanical stimulating brush	Stimulating mechanoreceptors.	Welch and Smith (1971) Horiguchi and Takahashi (2000)
Amount of regurgitated LP	Feeding frequency	Keeping high proportion of LP in the upper digesta.	Waghorn et al. (1986)
Thickness & Strength of LP	Macerating of forage	Decreasing of thickness.	Hintz et al. (1999)
Strength of regurgitated LP	N supplementation	Improvement of fiber fermentation.	Freer et al. (1962) Mawuenyegah et al. (1997)
Strength of regurgitated LP	NaOH or NH ₃ treatment of forage	Improvement of fiber fermentation.	Goto et al. (1993) Okamoto et al. (1990)
Strength of regurgitated LP	Genetic modification of rumen bacteria	Improvement of fiber fermentation.	Orpin et al. (1988)

このことから、磨砕は飼料片の厚さの低下および繊維質発酵による強度低下を促進し、反芻時微細化量に影響していることが考えられる。尿素添加は、本研究で微細化効率の増加を確認している。水酸化ナトリウムやアンモニアによるアルカリ処理は、ヘミセルロースーリグニン間のエステル結合の切断、および植物体組織の損傷をもたらす繊維質の分解率を上げることから (Goto *et al.*, 1993; Harada *et al.*, 1999)、飼料片の強度低下にも貢献するだろう。実際、Okamoto *et al.* (1990) は、稲わらのアンモニア処理により、反芻胃内飼料片の平均粒度が低下したことを報告している。さらに近年、遺伝子組み換え技術が反芻胃内微生物にも応用されてきており (Orpin *et al.*, 1988)、遺伝子組み換えによる運動性の高い細菌の繊維質分解能強化といった研究は、繊維質分解だけでなく、飼料片の強度低下をとおした反芻時微細化にも影響するだろう。以上から、粗飼料多給下においては飼料給与回数や繊維質発酵を調節することにより、反芻時微細化が促進されることが期待できるものと考えられる。

近年の地球温暖化は、寒地型牧草に比べ繊維質含量が高く消化率の低い暖地型牧草の増加をもたらすだろう。また、高温ではリグニン化が促進されることから (Van Soest *et al.*, 1995)、今後は飼料価値の低い牧草の、反芻家畜による効率的な利用が重要になってくると思われる。その中で摂取飼料の微細化に着目した研究が今後ますます重要となってくるだろう。

第 5 章 結論

本研究は、粗飼料摂取下の反芻家畜において、自由摂取量および繊維質消化に影響をおよぼすと考えられる摂取飼料の微細化について、反芻時の飼料片微細化に着目し、このメカニズムを明らかにすることを目的とした。

反芻時の大飼料片総微細化量は吐き戻し回数と 1 食塊あたりの大飼料片微細化量により決まっており、この 1 食塊あたりの微細化量は吐き戻し大飼料片重量と微細化の効率により表される。この大飼料片微細化効率は、吐き戻し大飼料片重量と飼料片の強度の影響を受けていた。吐き戻し大飼料片重量の増加は、微細化量の増加をもたらす一方で微細化の効率を低下させることが示唆された。

大飼料片の強度は飼料片の厚さ、茎部の割合、繊維質発酵および水和の影響を受けていた。これらの要因の中で、飼料片の厚さは剪断に要するエネルギーと正の相関関係にあった。繊維質発酵による強度低下の程度は厚い飼料片ほど大きかった。反芻胃内へ流入した飼料片は 2 時間程度で急速に強度が低下し、この時間帯における強度の低下には飼料片の水和が大きく影響していることが示唆された。

採食時咀嚼による飼料の微細化および厚さ低下の程度は飼料の強度の影響を受けていたが、その反応は反芻時咀嚼とは異なり、強度の低い飼料ほど採食時における微細化および厚さの低下程度が小さくなっていた。このため、給与飼料の強度および摂取量が、採食時咀嚼を経て反芻胃内へ流入する大飼料片重

量に影響し、これが反芻時の吐き戻し回数および1食塊あたりの吐き戻し大飼料片重量に影響することが明らかとなった。一方で、給与飼料の強度は、採食時咀嚼を経て反芻胃内へ流入する大飼料片の厚さに影響し、これが反芻時の微細化効率に影響することが明らかとなった。

本研究から、乾草給与下での反芻時微細化メカニズムが明らかとなり、飼料の物理・化学的特性および摂取量と反芻時微細化量との関係が明らかにされた。この関係を利用して、飼料の反芻時微細化を促進する可能性が示唆された。

要約

本研究は、反芻時の飼料片微細化メカニズムを明らかにすることを目的として、食道フィステルから反芻時食塊を採取する方法を用いて、反芻時における飼料片の微細化を検討した。また、反芻時微細化に影響する要因を明確にするために、飼料給与は1日1回の制限給与とし、反芻時微細化を経時的に検討した。微細化に影響する要因のひとつである飼料片強度については、レオメーターによる剪断エネルギーを強度の指標とした。

1. 試験1および2では、オーチャードグラス乾草を給与した去勢牛2頭を供試し、反芻時微細化に影響する要因を検討した。反芻時に吐き戻される食塊は反芻胃上層内容物であり、食塊重量は日内変動を示さなかったが、食塊中の大飼料片割合は反芻胃内上層内容物の大飼料片割合と関連していた。吐き戻された食塊の一部は咀嚼直前に反芻胃へ送り返され、その結果口腔に残った大飼料片を動物は咀嚼しており、これらの食塊の大飼料片割合は、吐き戻し食塊の大飼料片割合と関連していた。

2. 希土類元素で標識した茎部および葉部を給与したときの、吐き戻し大飼料片中の希土類元素濃度から1日に摂取された大飼料片の微細化様相を検討した。その結果、同一の乾草でも茎部と葉部では微細化の様相は異なり、反芻時咀嚼に

より微細化される割合は、葉部よりも茎部の方が高く、磨砕による微細化あるいは大飼料片のまま反芻胃から通過する画分の割合は葉部の方が高かった。

3. 反芻胃内で *in situ* 培養した大飼料片茎部および葉部の剪断エネルギーは、2時間の培養で大きく低下し、その後、大飼料片のセルロース含量の低下とともに、経時的に剪断エネルギーが低下していた。このことから、大飼料片の茎部および葉部は、水和および繊維質発酵により強度が低下することが示された。また、吐き戻し大飼料片全体の強度も経時的に低下しており、これには大飼料片中の茎部および葉部の水和および発酵による強度低下と、厚さおよび滞留時間の異なる茎部と葉部の割合が関与していることが示唆された。反芻時の大飼料片微細化量は経時的に低下する一方で微細化の効率は増加しており、これらには咀嚼を受ける大飼料片の強度と重量が関与していることが示唆された。

4. 試験3では、反芻時大飼料片微細化に影響していると考えられる、咀嚼を受ける大飼料片重量と反芻時微細化との関係を検討した。吐き戻し大飼料片重量を変動させることを目的として、食道および反芻胃フისტル形成去勢牛3頭に、2段階の摂取レベルで出穂期オーチャードグラス乾草を給与し、反芻時微細化を検討した。その結果、反芻胃内上層内容物中の大飼料片割合は飼料摂取量の影響を受けなかったが、

吐き戻し食塊重量は高摂取量区で低摂取量区よりも高かったことから、咀嚼を受ける大飼料片の重量は高摂取量区の方が高くなった。一方、吐き戻し大飼料片の強度は飼料摂取量による影響は受けなかった。その結果、高摂取量区の方が低摂取量区よりも咀嚼回数は多く、大飼料片微細化量は高く、そして大飼料片微細化割合は低くなった。このことから、吐き戻し大飼料片の重量は微細化量および微細化効率に影響することが示唆された。

5. 試験 4 では、反芻時に咀嚼を受ける大飼料片の重量は一定で、強度だけを変動させることを意図して、結実期刈り取りチモシー乾草給与下で、反芻胃内に尿素を連続注入することにより反芻時微細化を検討した。対照区では、反芻胃内アンモニア態窒素濃度が微生物増殖のための至適濃度の下限である 5mg/100mL を下回っていたが、尿素添加によりアンモニア態窒素濃度は上昇し、*in situ* 培養大飼料片茎部の潜在的可消化 NDF 画分が増加し、剪断エネルギーが低下した。このことから、アンモニアを窒素源として要求するものが多い繊維質分解菌が増殖したことにより、繊維質発酵が促進されて飼料片の強度が低下したものと考えられた。反芻時微細化される大飼料片の重量は尿素添加によっても変化が見られず、強度が低下したことから、大飼料片微細化量および微細化割合は尿素添加により高くなった。このことから、繊維質発酵による大飼料片の強度低下が、反芻時の微細化量およ

び微細化効率に影響することが示唆された。

6. 試験 3 および 4 の結果から、反芻時微細化と採食時微細化、反芻胃内における磨砕による微細化および繊維質発酵との関係を検討した。飼料摂取量が同じであるときは、強度の高い低品質乾草（結実期チモシー乾草）の方が強度の低い高品質乾草（出穂期オーチャードグラス乾草）よりも採食時咀嚼による大飼料片微細化量は高く、飼料片の厚さの低下程度も大きかった。高品質乾草の方が低品質乾草よりも、*in situ* 培養飼料片茎部の剪断エネルギーは低かった。吐き戻し大飼料片茎部の強度は、厚さと発酵による強度低下の関係から両乾草とも同程度となった。しかし、咀嚼を受ける大飼料片重量は、高品質乾草の方が低品質乾草よりも高かったため、微細化量は高品質乾草の方が高くなった。
7. 採食時咀嚼による、大飼料片の微細化と損傷による厚さの低下は、反芻時微細化効率および微細化量に影響していた。採食時微細化、反芻時微細化および反芻胃内での磨砕による微細化は相互に関連しあっており、乾草の強度、茎葉比、発酵特性および飼料摂取量によって、摂取大飼料片の反芻時微細化様相が変動することが示された。
8. 以上の結果から本研究により、粗飼料の物理・化学的特性および摂取量を介して、反芻時の微細化は採食時咀嚼と密

接に関連していることが示された。そこから、反芻時微細化を評価する際には飼料の強度や発酵特性だけでなく、採食時の微細化あるいは厚さの低下も考慮する必要があることが示された。また、明らかとなった反芻時微細化メカニズムを利用して、反芻家畜飼養において反芻時微細化を促進できる可能性が示唆された。

引用文献

1. Akin DE. Chemical and biological structure in plants as related to microbial degradation of forage cell walls. In: Control of digestion and metabolism in ruminants. (Milligan LP, Grovum WL, Dobson A eds.) 139-157. Englewood Cliffs. New Jersey. 1986.
2. A.O.A.C. Official methods of analysis(13th ed.) Association of official analytical chemists. Washington DC. 1980.
3. Bae DH, Welch JG, Smith AM. Efficiency of mastication in relation to hay intake by cattle. *Journal of Animal Science*, 52: 1371-1375. 1981.
4. Bailey CB. Rates of digestion of swallowed and unswallowed dried grass in the rumen. *Canadian Journal of Animal Science*, 42: 49. 1962.
5. Balch CC. Proposal to use time spent chewing as an index of the extent to which diets for ruminants possess the physical property of fibrousness characteristics of roughages. *British Journal of Nutrition*. 26: 383-392. 1971.
6. Balch CC, Campling RC. Regulation of voluntary food intake in ruminants. *Nutrition Abstracts and Reviews*. 32: 669-686. 1962.
7. Beauchemin KA, Iwaasa AD. Eating and ruminating activities of cattle fed alfalfa or orchardgrass harvested at two stages of maturity. *Canadian Journal of Animal Science*, 73: 79-88. 1993.
8. Campling RC, Freer M. The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. *British Journal of Nutrition*, 16: 507-518. 1962.
9. Campion DP, Leek BF. Mechanical stimulation of rumination in sheep by the intraruminal addition of inert fibre particles. *Animal Science*. 62: 71-77. 1996.
10. Chai K, Kennedy PM, Milligan LP. Reduction in particle size during rumination in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 64(Suppl.): 339-340. 1984.
11. Chai K, Milligan LP, Mathison GW. Effect of muzzling on rumination in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 68: 387-397. 1988.

12. Das A, Singh GP. Eating behaviour, VFA production, passage rate and nutrient digestibilities in cattle fed on wheat straw supplemented with different levels of berseem. 12: 1040-1048. 1999.
13. Dyness MM, Kimambo AE, Sundstol F, Madsen J. The influence of urea supplementation or treatment of rice straw and fish meal supplementation on rumen environment and activity in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 49:223-235. 1994.
14. England P, Gill M. The effect of fish meal and sucrose supplementation on the voluntary intake of grass silage and live-weight gain of young cattle. *Animal Production*. 40: 259-265. 1985.
15. Evans EW, Burnett J, Bines JA. A study of the effect of exposure in the reticulo-rumen of the cow on the strength of cotton, grass, hay and straw. *British Journal of Nutrition*, 31: 273-284. 1974.
16. Evans EW, Pearce GR, Burnett J, Pillinger SL. Changes in some physical characteristics of the digesta in the reticulo-rumen of cows fed once daily. *British Journal of Nutrition*. 29: 357-376. 1973.
17. FAO. FAO production yearbook. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 1996.
18. Fonty G, Chavarot M, Lepetit J, Canistro J, Favier R. Mechanical resistance of wheat straw after incubation in cultures of ruminal cellulolytic microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*. 80: 297-307. 1999.
19. Forbes JM. Physiological and metabolic aspects of feed intake control. In: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. (D'Mello JPF eds.) 319-333. 2000.
20. Freeman AS, Galyean ML, Caton JS. Effects of supplemental protein percentage and feeding level on intake, ruminal fermentation, and digesta passage in beef steers fed prairie hay. *Journal of Animal Science*. 70: 1562-1572. 1992.
21. Freer M, Campling RC, BALCH CC. Factors affecting the voluntary intake of food by cows 4. The behaviour and reticular motility of cows receiving diets of hay, oat straw and oat straw with urea. *British Journal of Nutrition*, 16: 279-295. 1962.

22. Fujihara T, Ichinohe T, Harumoto T. Eating and rumination behaviour in sheep fed a hay diet with an oral supplement of urea. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 7: 527-530. 1994.
23. Gerard F, Chavarot M, Lepetit J, Canistro J, Favier R. Mechanical resistance of wheat straw after incubation in cultures of ruminal cellulolytic microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*. 80: 297-307. 1999.
24. Gill J, Campling RC, Westgarth DR. A study of chewing during eating in the cow. *British Journal of Nutrition*, 20:13-23. 1966.
25. Goering HK, Van Soest PJ. Forage fiber analysis(apparatus, reagents, procedures and some applications). In: *Agriculture Handbook*.(USDA eds.) 2-9. U.S. Government printing office. Washington DC. 1970.
26. Goto M, Yokoe Y, Tkabe K, Nisikawa S, Morita O. Effects of gaseous ammonia on chemical and structural features of cellwalls in spring barley straw. *Animal Feed Science and Technology*. 40: 207-221. 1993.
27. Grenet E. A comparison of the digestion and reduction in particle size of lucerne hay (*Medicago sativa*) and Italian ryegrass hay (*Lolium italicum*) in the ovine digestive tract. *British Journal of Nutrition*. 62: 493-507. 1989.
28. Grenet E. Electron microscopy as a method for investigating cell wall degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*. 32: 27-33. 1991.
29. Harada C, Nakamura Y, Minato H. Effect of sodium hydroxide treatment of rice straw on cell wall composition and digestibility of dry matter. *Animal Science Journal*. 70: 61-66. 1999.
30. Hintz RW, Kogel RG, Kraus TJ, Mertens DR. Mechanical maceration of alfalfa. *Journal of Animal Science*. 77: 187-193. 1999.
31. 堀口健一・高橋敏能. 第一胃刺激用具が濃厚飼料多給ホルスタイン種去勢牛の反芻行動および第一胃発酵性状におよぼす影響. *日本畜産学会報*. 71: J475-J482. 2000.
32. Hungate RE. *The rumen and its microbes*. Academic Press. New York. 1966.

33. Ichinohe T, Tamura T, Ueda K, Okubo M, Asahida Y. The particle size distributions of ingested boli, rumen digesta and feces in sheep fed orchardgrass hay harvested at different stages of maturity. *Animal Science and Technology (Japan)*, 65: 701-708. 1994.
34. Ichinohe T, Tamura T, Ueda K, Okubo M, Asahida Y. Effect of orchardgrass growth stage on pool size and kinetics of digesta particles in the rumen of sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 8: 267-273, 1995.
35. Iggo A, Leek BF. Sensory receptors in the ruminant stomach and their reflex effects. In: *Physiology of digestion and metabolism in the rumen*. (Phillipson AT, Annison EF, Armstrong DG, Balch CC, Comline RS, Hardy RN, Hobson PN, Keynes-FRS RD eds.) Oriel press. New castle upon tyne. England. 23-34. 1970.
36. Iwaasa AD, Beauchemin KA, Acharya SN, Bowley SR, Buchanan-Smith. Shearing force of alfalfa stems as affected by seeding rate. *Canadian Journal of Plant Science*. 78: 78:273-280. 1998.
37. Iwaasa AD, Beauchemin KA, Acharya SN, Buchanan-Smith JG. Shearing force of alfalfa stems: effects of cultivar and shearing site. *Canadian Journal of Plant Science*. 79: 49-55. 1999.
38. Iwaasa AD, Beauchemin KA, Buchanan-Smith JG, Acharya SN. Effect of stage of maturity and growth cycle on shearing force and cell wall chemical constituents of alfalfa stems. *Canadian Journal of Animal Science*. 76: 321-328. 1996.
39. Judkins MB, Shain DH, Radloff. Effects of supplemental corn vs. corn fortified with soya-bean meal or urea fed with low-quality mixed grass hay on forage intake, particulate passage rate and neutral detergent fiber digestion in beef heifers. *Animal Feed Science and Technology*. 33: 323-329. 1991.
40. Kabre P, Doreau M, Michalet-Doreau B. Effects of under feeding and of fish meal supplementation on forage digestion in sheep. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*. 124: 119-127. 1995.
41. Kelly KE, Sinclair BR. Size and structure of leaf and stalk components of digesta regurgitated for rumination in sheep offered five forage diets. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 32: 365-374. 1989.

42. Kennedy PM. Effect of rumination on reduction of particle size of rumen digesta by cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 36: 819-828. 1985.
43. Kennedy PM, Murphy MR. The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutrition Research Reviews*, 1: 189-208. 1988.
44. Kennedy PM, Toscas PJ, Faddy MJ, Minson DJ. Use of a multi-exponential model to assess the effect of fermentation in the reticulorumen on particle fragmentability as simulated from artificially macerating leaf and stem fractions of two tropical grasses. *Animal Feed Science Technology*, 66: 111-128. 1997.
45. Lechner-Doll M, Kaske M, Engelhardt WV. Factors affecting the mean retention time of particles in the forestomach of ruminants and camelids. In: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. (Sasaki Y, Tsuda T, Kawashima R eds.) 455-482. Academic press. San Diego. California. 1991.
46. Lee JA, Pearce GR. The effectiveness of chewing during eating on particle size reduction of roughages by cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*. 35: 609-618. 1984.
47. Luginbuhl JM, Pond KR, Burns JC. Changes in ruminal and fecal particles weight distribution of steers fed coastal bermudagrass hay at four levels. *Journal of Animal Science*. 68: 2864-2873. 1990.
48. Mackinnon BW, Easton HS, Barry TN, Sedcole JR. The effect of reduced leaf shear strength on the nutritive value of perennial ryegrass. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*. 111: 469-474. 1988.
49. Mawuenyegah PO, Shem MN, Warly L, Fujihara T. Effect of supplementary feeding with protein and energy on digestion and rumination behaviour of sheep consuming straw diets. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*. 129:479-484. 1997.
50. McAllan AB, Smith BH. The efficiency of microbial protein synthesis in the rumen and the degradability of feed nitrogen between the mouth and abomasum in steers given different diets. 51: 77-83. 1984.
51. McLeod MN, Kennedy PM, Minson DJ. Resistance of leaf and stem fractions of tropical forage to chewing and passage in cattle. *British Journal of Nutrition*, 63:

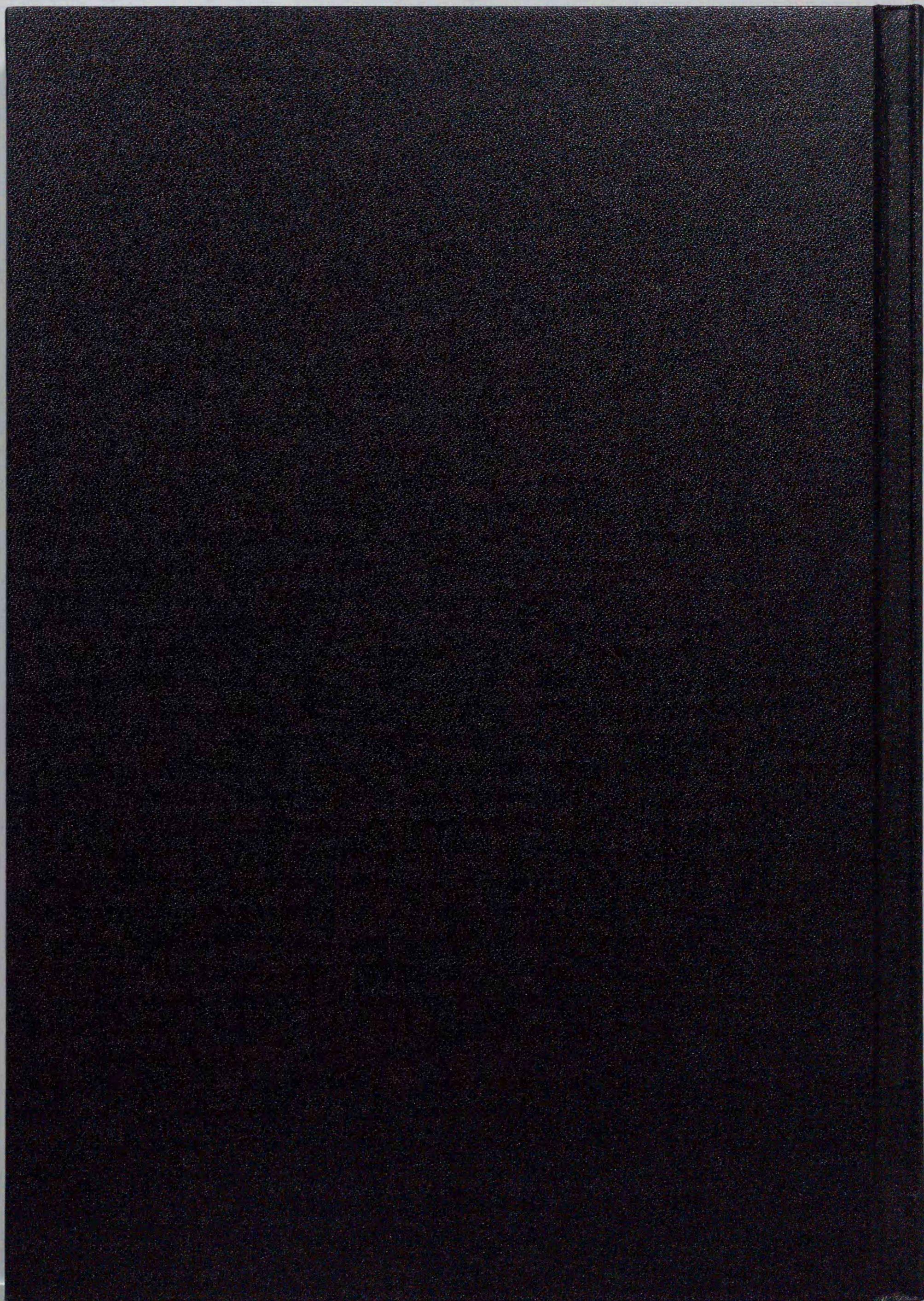
105-119. 1990.

52. McLeod MN, Minson DJ. Large particle breakdown by cattle eating ryegrass and alfalfa. *Journal of Animal Science*, 66: 992-999. 1988a.
53. McLeod MN, Minson DJ. Breakdown of large particle in forage by simulated digestion and detrition. *Journal of Animal Science*, 66: 1000-1004. 1988b.
54. Murphy MR, Kennedy PM. Particle dynamics. In: *Quantitative Aspects of Digestion and Metabolism*. (Forbes JM, France J eds.) 87-105. CAB International. Wallingford, UK. 1993.
55. Ndlovu LR, Buchanan-Smith JG. Utilization of poor quality roughages by sheep: Effects of alfalfa supplementation on ruminal parameters, fiber digestion and rate of passage from the rumen. *Canadian Journal of Animal Science*. 65: 693-703. 1985.
56. 小原嘉昭. 反芻動物の栄養生理学. 農山漁村文化協会. 1998.
57. 大下友子・久馬忠・近藤恒夫. 刈り取り時期が異なるチモシー乾草のめん羊における採食・反芻時間と消化管通過速度. *Grassland Science*. 43: 288-292. 1997a.
58. 大下友子・久馬忠・近藤恒夫. 大豆粕の添加がチモシー乾草摂取めん羊における消化率、採食・反芻時間と消化管通過速度におよぼす影響. *Grassland Science*. 43: 293-297. 1997b.
59. Okamoto M, Miyazaki H. Particle size reduction of reticulo-ruminal contents in sheep fed rice straw and ammoniated rice straw. *Japanese Journal of Zootechnological Science*. 61: 424-427. 1990a.
60. Okamoto M, Miyazaki H, Oura R, Sekine J. Relationship between particle pool size in the reticulo-rumen and chewing time in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 3: 225-230. 1990b.
61. Okine EK, Mathison GW. Effects of feed intake on particle distribution, passage of digesta, and extent of digestion in the gastrointestinal tract of cattle. *Journal of Animal Science*. 69: 3435-3445. 1991.
62. Olubobokun JA, Craig WM, Pond KP. Effects of mastication and microbial contamination on ruminal *in situ* forage disappearance. *Journal of Animal Science*,

- 68: 3371-3381. 1990.
63. Ørskov ER and McDonald. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 92: 499-533. 1979.
64. Pearce GR, Moir RJ. Rumination in sheep I. The influence of rumination and grinding upon the passage and digestion of food. *Australian Journal of Agricultural Research*, 15: 635-644. 1964.
65. Perez-Barberia FJ, Gordon IJ. Factors affecting food comminution during chewing in ruminants: a review. *Biological Journal of the Linnean Society*, 63: 233-256. 1998.
66. Pond KR, Ellis WC, Akin DE. Ingestive mastication and fragmentation of forage. *Journal of Animal Science*, 58: 1567-1574. 1984.
67. Poppi DP, Norton BW, Minson DJ, Hendricksen RE. The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 94: 275-280. 1980
68. Sutherland TM. Particle separation in the fore stomach of sheep. In: *Aspects of digestive physiology in ruminants*. (Dobson A, Dobson MJ eds.) 43-73. Comstock Publishing Associates. Ithaca. New York. 1988.
69. 鈴木知之・潘 軍・泉 賢一・上田靖子・上田宏一郎・田中桂一・大久保正彦. ウシの反芻時咀嚼による飼料片の微細化と繊維質発酵との関連. *日本畜産学会報*, 71: J331-J337, 2000.
70. 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.
71. Troelsen JE, Campbell JB. Voluntary consumption of forage by sheep and its relation to the size and shape of particles in the digestive tract. *Animal Production*, 10: 289-296. 1968.
72. Udén P. The influence of leaf and stem particle size *in vitro* and of sample size *in sacco* on neutral detergent fibre fermentation kinetics. *Animal Feed Science and Technology*, 37: 85-97. 1992.

73. 上田宏一郎. 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. 学位論文. 北海道大学. 1996.
74. 上田宏一郎・一戸俊義・田村 忠・大久保正彦・朝日田康司. 刈り取り時期, 草種の異なる乾草を給与しためん羊における反芻胃および十二指腸内容物の粒度分布. 北海道畜産学会報, 36: 41-44. 1994.
75. Ueda K, Ichinohe T, Tamura T, Okubo M, Asahida Y. Efficiency of chewing for breakdown of large particles during eating and ruminating in sheep fed hays. *Animal Science and Technology*, 68: 917-925. 1997.
76. Ulyatt MJ, Dellow DW, John A, Reid CSW, Waghorn GC. Contribution of chewing during eating and rumination to the clearance of digesta from the ruminoreticulum. In: *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. (Milligan LP, Grovum WL, Dobson A eds.) 498-515. Englewood Cliffs. New Jersey. 1986.
77. UNFPA. The state of world population 1999. United Nations Publications. NY. 1999.
78. Van Soest PJ, Dierenfeld ES, Conklin NL. Digestive strategies and limitations of ruminants. In: *Ruminant physiology : Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. (Engelhardt WV, Leonhard-Marek S, Breves G, Giesecke D eds.) 581-600. Ferdinand Enke Verlag. Berlin. 1995.
79. Vincent JFV. The influence of water content on stiffness and fracture properties of grass leaves. *Grass and Forage Science*. 38: 107-114. 1983.
80. Virtanen AI. Milk production of cows on protein-free feed. *Science*, 153:1603-1614, 1966.
81. Waghorn GC, Reid CSW, Ulyatt MJ, 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. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)*, 106: 287-296. 1986.
82. Waghorn GC, Shelton ID, Thomas VJ. Particle breakdown and rumen digestion of fresh ryegrass (*Lolium perenne* L.) and lucerne (*Medicago sativa* L.) fed to cows during a restricted feeding period. *British Journal of Nutrition*. 61: 409-423. 1989.

83. Warly L, Matsui T, Harumoto T, Fujihara T. Studies on the utilization of rice straw by sheep 2. Effect of soybean meal supplementation on the eating and rumination behavior. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 5: 695-698. 1992.
84. Warly L, Fariani A, Mawuenyegah OP, Mtsui T, Fujihara T, Harumoto T. Studies on the utilization of rice straw by sheep IV. Effect of soybean meal and barley supplementation on eating and rumination behavior. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 7: 273-277. 1994.
85. Welch JG. Physical parameters of fibre affecting passage from the rumen. *Journal of Daily Science*. 69: 2750-2754. 1986.
86. Welch JG, Smith AM. Effect of varying amounts of forage intake on rumination. *Journal of Animal Science*, 28: 827-830. 1969.
87. Welch JG, Smith AM. Physical stimulation of rumination activity. *Journal of Animal Science*, 33: 1118-1123. 1971.
88. Wilson JR, Akin DE, McLeod MN, Minson DJ. Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. II. Relation of anatomical structure to the process of leaf breakdown through chewing and digestion. *Grass and Forage Science*. 44: 65-75. 1989b.
89. Wilson JR, Kennedy PM. Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 47: 199-225. 1996.
90. Wilson JR, McLeod MN, Minson DJ. Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. I Effect of chewing during eating and varying times of digestion. *Grass and Forage Science*. 44: 55-63. 1989a.
91. Wright W, Illius AW. A comparative study of the fracture properties of five grasses. *Functional Ecology*, 9: 269-278. 1995.
92. Wright W, Vincent JFV. Herbivory and the mechanics of fracture in plants. *Biological Review*. 71: 401-413. 1996.



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue	Cyan	Green	Yellow	Red	Magenta	White	3/Color	Black
[Patch 1]	[Patch 2]	[Patch 3]	[Patch 4]	[Patch 5]	[Patch 6]	[Patch 7]	[Patch 8]	[Patch 9]
[Patch 10]	[Patch 11]	[Patch 12]	[Patch 13]	[Patch 14]	[Patch 15]	[Patch 16]	[Patch 17]	[Patch 18]

Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

